

$n\alpha = 1,58_4$ (determinado en 5 cristales)
 $n\beta = 1,65_0$ (determinado en 4 cristales)
 $n\beta$ (calculado a partir de $n\alpha$ $n\gamma$ $n\gamma'$) = $1,65_1$
 $n\gamma = 1,68_0$ (determinado en 5 cristales)
 $n\gamma' = 1,66_0$ (determinado con luz incidente perpendicularmente

a (120) en 3 cristales).

$n\beta$ se calculó a partir de la fórmula de Fresnel [Burri (4)].

El ángulo de los ejes ópticos para luz de sodio es:

$2V\alpha = (-) 66,5^\circ$ (valor medido en 6 cristales diferentes).

$2V\alpha = (-) 67^\circ$ (valor calculado a partir de $n\alpha$, $n\gamma$ y $n\gamma'$).

La dispersión de los ejes ópticos es rómbica, siendo $r \gg v$ y aprox. 12° en el plano (100).

El ángulo de extinción determinado sobre (001) en 9 cristales es de $39,5^\circ$; la extinción recta con respecto a (001) se confirmó en 6 cristales.

Agradecemos al Prof. Dr. M. Falco sus consejos y suministro de la muestra.

I. M. de S. agradece a los profesores Dr. Méndez Alzola y Chelataroff haberle permitido emplear el microscopio polarizante de la Facultad de Humanidades para realizar estas medidas; lo mismo que al Prof. Dr. E. Távora por haberle facilitado el empleo de la cámara de precesión de su laboratorio en el Dep. N. de Prod. Mineral Río de Janeiro. También expresa su reconocimiento a este profesor y a la Dra. M. H. Falabella del mismo instituto por valiosas discusiones acerca del trabajo.

— Trabajo recibido en febrero 1961 —

BIBLIOGRAFIA

- (1) Separación del 5 β D glucósido de la \pm naringenina de la *Acacia longifolia* Will. M. Falco. (Trabajo a publicarse).
- (2) R. Hänsel und D. Heise (1959), *Arch. der Phar.* 292, 398.
- (3) *International Tables for X-ray Crystallography*, Vol. I. The Kynoch Press, Birmingham, England (1952).
- (4) C. Burri, *Das Polarisationmikroskop*, Verlag Birkhäuser, Basel (1950), pg. 251.
- (5) Wunderlich (1958), *Bull. Soc. Franç. Mineralogie et Cristallogr.* LXXXI, N.º 7 p. 220.

Contribución al Estudio Químico Analítico de la Sulfametoxipiridazina (S. M. P.)

Luis Rolando Suárez y Dora Ferradans
Instituto de Investigación Libre y Ascensoramiento
Facultad de Química
Montevideo

SUMARIO

Hemos hecho el estudio fármaco-químico de varias muestras de diversos orígenes de un sulfamidado antiinfeccioso (3 sulfanilamida 6 metoxipiridazina) de reciente aplicación en terapéutica logrando para el mismo una reacción característica y por tanto diferencial, al cotejarla con siete sulfamidados de uso corriente.

También hemos constatado que son características las reacciones microcristalinas efectuadas: liberando la sulfametoxipiridazina de su clorhidrato mediante el agregado de reactivo NH_4OH y la obtenida directamente con el ácido picrolómico.

Respecto de los diversos macrométodos de dosificación ensayados (gravimétricos e hidrovolumétricos), hemos deducido que el más indicado es el de diazotación con solución valorada de NO_2Na y aplicamos con resultados satisfactorios este procedimiento determinando la sulfametoxipiridazina en comprimidos de distinto origen.

Adaptando el micrométodo de Bratton y Marshall indicado para sulfamidados con función amina primaria libre a la dosificación de la sulfametoxipiridazina en soluciones acuosas o bien en aplicaciones como ser su determinación en sangre y orina, establecimos que es posible el uso de un simple aparato como el E.E.L. (filtrofotómetro Evans) con las ventajas económicas y prácticas que traen consigo y

trazamos las curvas standard proponiendo su uso a los efectos de la dosificación del sulfamidado en los líquidos biológicos mencionados.

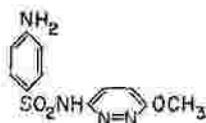
Nombre científico. 3 sulfanilamida 6 metoxipiridazina.

Nombre oficial. Sulfametoxipiridazina

Nombres comerciales. En principio Kynex y actualmente Lederkyn, de los Laboratorios Lederle, Sulpiran de SADEF, etc.

I) CONSTITUCION QUIMICA

Fórmula global = $C_{11}H_{12}O_3N_4S$



P.M. = 280,298

Para esta contribución hemos dispuesto de 4 muestras, 2 de los Laboratorios Parke Davis y 2 de los Laboratorios Lederle; una de éstas rotulada con la designación Kynex y otra que hemos pedido expresamente a dichos laboratorios con la de Lederkyn.

II) CARACTERES FISICO-QUIMICOS

1) *Aspecto.* Las muestras objeto de este estudio se presentan de manera idéntica en lo que respecta a su estado físico; se trata de polvos blancos inodoros. Posteriormente hemos observado que otras muestras comerciales también aparecen con un ligero color blanco-amarillento y con un olor bastante penetrante.

2) *Sabor.* Una pequeña porción en la lengua deja un sabor ácido pasajero y finalmente un amargo muy persistente.

3) *Acción del calor.* Una muestra pequeña del producto sometida a fuego directo en tubo de ensayos, primero funde y cambia de color al amarillo-verdoso y después carboniza despidiendo vapores penetrantes empíreumáticos que enrojecen ligeramente al papel azul de tornasol.

4) *Cenizas.* Se hizo la determinación operando con tomas de 1 g siguiendo la técnica de U.S.P. (1).

El valor encontrado es de 0.02 %, siendo despreciable, pues es muy inferior al error que se puede cometer en el método.

5) *Punto de fusión.* Hemos determinado los puntos de fusión mediante el uso de un microscopio con platina calentable a una velocidad de calefacción de 4° por minuto. Los datos obtenidos fueron: para las muestras de los Laboratorios Parke Davis, 179° y 179°5 y para las de Lederle (Kynex y Lederkyn) 180°5.

6) *Solubilidad.* Probamos su solubilidad tratando en tubo de ensayos unos mg del producto con agua destilada, siendo muy poco soluble. Sometida la suspensión acuosa al calor se solubiliza tomando el líquido color amarillo, lo que indica que es más soluble en caliente, con descomposición.

Ensayamos la solubilidad en medio ácido nítrico y es muy soluble en frío, formándose nitrato por combinación molecular con la función amina primaria dando solución incolora. Sometida esta solución a la acción del calor, se colorea en forma gradual, pasando de amarillo a marrón oscuro, debido a la aparición de derivados nitrados sobre el núcleo aromático. Por dilución da lugar a la formación de un precipitado amarillo que, tratado por amoníaco, se solubiliza obteniéndose coloración rojo-marrón, característica de los derivados nitrados amónicos aromáticos.

En medio alcalino es más lentamente soluble que en medio ácido, aunque lo es de manera apreciable, debido a la sustitución del hidrógeno ácido del grupo sulfonamido por el catión de la base.

De una manera general la sulfametoxipiridazina es muy poco soluble en los solventes orgánicos y de todos ellos el que tiene mayor efecto es la acetona.

El ensayo se hizo con: alcohol rectificado, alcohol amílico, cloroforno, éter etílico, éter de petróleo, benceno, sulfuro de carbono, alcohol absoluto. Para la determinación de solubilidad procedimos haciendo una solución saturada en frío teniendo presente que en caliente se altera; para ello se pesó 1 g del producto y se puso en contacto con 1000 ml de agua destilada, agitando de tiempo en tiempo durante 10 días. Luego se filtró a 20°C y se determinó por evaporación con lámpara de rayos infrarrojos. Observamos que el producto se había alterado pero igualmente proseguimos con la determinación en forma

aproximada pesando el residuo que aparece como cristales con color rojo anaranjado.

El resultado obtenido fué: solubilidad = 0,055 g %. Dada la observación anterior y a los efectos de tener un dato más real fué también determinada la solubilidad por colorimetría en el espectrofotómetro Beckman y fotocolorímetro EEL con 6 determinaciones independientes usando las curvas standard trazadas con anterioridad y que aparecen al tratar las determinaciones cuantitativas, micrométodos IV — 3 A.

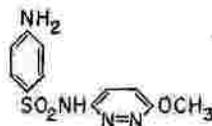
Se llegó a los siguientes resultados:

	Solubilidad
Espectrofotómetro Beckman	0.050 ± 0.001 g %
Filtrofotómetro EEL	0.052 ± 0.001 g %

Efectuando promedio de los datos en los dos aparatos, asignamos como resultado más probablemente exacto el valor 0.051 g % a 20°C.

III) REACCIONES FUNCIONALES Y DE CARACTERIZACION

De acuerdo con la fórmula de constitución



hemos dispuesto el reconocimiento de las siguientes agrupaciones; 1.º — función amina primaria cíclica, 2.º — núcleo benzénico sustituido, 3.º — grupo sulfón, 4.º — grupo —NH—, 5.º — metoxilo, 6.º — núcleo piridazínico, 7.º — reacciones diferenciales con otros sulfamidados y caracterización, 8.º — reacciones microcristalinas.

Para realizar todas estas reacciones, salvo indicación expresa, nos hemos guiado por Sánchez (2).

1. Función amina primaria cíclica.

a) En un tubo de ensayos se colocan unos mg del producto y II gotas de reactivo furfuroil acético, aparece color rojo lila que se intensifica por el agregado de I gota de HCl.

b) A 1 ml de solución al 0.2 % del sulfamidado se le agrega 1 ml de reactivo p. dimetilamino-benzaldehídico apareciendo color amarillo oro.

c) Diazotación y transformación en función fenol.

Unos mg del producto se disuelven en 5 ml de agua destilada, se agrega I gota NaNO_2 al 10 % y I gota H_2SO_4 $\frac{1}{3}$. Se calienta a ebullición, se agregan II gotas de reactivo de Millón y se lleva a baño María, aparece un color rojo naranja fuerte y enturbiamiento.

d) Diazotación y copulación con fenoles.

2 ml de solución al 0.2 % se acidifican con I gota H_2SO_4 concentrado y se agrega I gota NaNO_2 al 10 %. Esta solución se vierte sobre otra de α -naftol en solución diluida de NaOH y aparece un precipitado abundante de color rojo sangre.

e) Formación de Indofenol.

A 1 ml de solución al 0.2 % de S.M.P. se le agrega 0.5 ml de solución saturada de α -naftol y después II gotas NaOCl 15° clorométricos; se produce una coloración rojo vinoso intensa por formación de un derivado de indofenol, que se puede extraer totalmente con cloroformo o alcohol amílico (3).

f) Por transformación en Carbilamina.

Unos mg del producto se disuelven en II gotas de lejía de soda, se calienta hasta oscurecimiento, se enfría y se agregan unas gotas de alcohol y cloroformo, calentando aparece olor característico de carbilamina.

2. Núcleo benzénico sustituido.

a) A 1 ml de solución al 0.2 % en tubo de ensayos se le agrega I gota HCl concentrado y I gota de agua de bromo, aparece un precipitado blanco amarillento del derivado dibromado.

b) Unos mg del producto se disuelven en 1 ml de HNO_3 concentrado dando solución incolora que por calentamiento pasa primero a amarillo y luego a rojo-marrón. Por posterior dilución (aprox. 1/10) da lugar a la formación de un precipitado abundante amarillo del derivado nitrado correspondiente que en medio amoniacal se disuelve apareciendo un color rojizo.

3. Grupo Sulfon ($\text{SO}_2=$)

a) Oxidación al estado de $\text{SO}_3=$.

Se funden en tubo de ensayos, de vidrio poco fusible, unos mg del sulfamidado con una pastilla de NaOH hasta color amarillo marrón y producción de vapores con olor empireumático, enfriar, agregar 2 ó 3 ml de agua destilada, acidular con HCl, cerrar con tapón

atravesado por un tubo acodado en doble ángulo recto y calentar, recibiendo los vapores en solución de yodo que debe mantenerse fría. La solución de yodo se decolora por reducción a I^- al oxidar el SO_2 a SO_4^{2-} que se reconoce mediante el agregado de solución $BaCl_2$ al 10 % en medio clorhídrico.

b) Unos mg del sulfamidado se calientan hasta fusión en un pequeño crisol con mezcla oxidante fundente. Se deja enfriar, el residuo se toma por agua destilada, se filtra si es necesario y en el líquido límpido se reconoce el SO_4^{2-} .

Reducción al estado de H_2S

c) Unos mg del producto se colocan en un erlenmeyer de 125 ml, se disuelven en 2 ml de alcohol a 70°, se agrega una pequeña porción de Zn en polvo, X gotas H_2SO_4 50 %, se obtura con tapón atravesado por un tubo que tiene en su interior una porción de algodón y una tira de papel de filtro impregnada con acetato de plomo secada al aire. Se calienta a baño María y el papel se colorea en negro por formación de PbS .

4. Grupo $-NH-$.

a) A 1 ml de solución al 0.2 % se le agregan II gotas de solución de reactivo de Millón o II gotas $HgCl_2$ al 10 % o II gotas $AgNO_3$ al 5 % dando lugar a la formación, en frío, de precipitados blancos. Estos compuestos insolubles provienen de la sustitución del H del grupo NH por Hg o Ag.

5. Grupo Metoxilo.

a) Unos mg del producto se calientan con V gotas de H_2SO_4 concentrado hasta disolver, se le agregan unos cristales de salicilato de sodio y se calienta. Los vapores que se desprenden tienen el olor característico del salicilato de metilo.

6. Nitrógeno terciario cíclico.

a) Reacción positiva con los reactivos generales de alcaloides: Reactivo de Mayer, Bouchardat, Acido Pírico, Acido cloroáurico, Acido Pícolónico. Con todos estos reactivos la solución saturada del sulfamidado dió lugar a la formación de precipitados que observados al microscopio a los efectos de apreciar la forma cristalina correspondiente, solamente resultó característica con el ácido pícolónico al comparar esta misma reacción con otros sulfamidados. En cuanto a los detalles de esta reacción nos remitimos más adelante cuando tratamos reacciones microcristalinas (4) (5).

7. Reacciones de caracterización y diferenciales con otros sulfamidados.

a) Con solución oficial de Formol en medio clorhídrico.

Unos mg del sulfamidado se disuelven en un tubo de ensayos con 2 ml de agua destilada y II gotas de HCl conc. A esta solución se agregan V gotas de formol al 40 %. La sulfametoxipiridazina da un precipitado blanco-amarillento abundante en frío que persiste en caliente floculando.

Efectuada esta reacción con los demás sulfamidados presenta aspectos diferenciales:

Sulfanilamida: Precipitado blanco en frío y calentando flocula dando solución y precipitado naranja.

Sulfapiridina: En frío, precipitado blanco abundante que se disuelve por el calor dando solución color naranja. Al enfriar esta solución se origina un precipitado color naranja.

Sulfatiazol: Precipitado abundante blanco en frío que floccula en caliente.

Sulfadiazina: Precipitado blanco en frío soluble en caliente.

Sulfamerazina: Precipita poco en frío y en caliente se intensifica pasando del color blanco al amarillo.

Sulfametazina: No precipita en frío y en caliente da precipitado blanco que pasa a amarillento.

b) Con cloroformo en medio alcalino.

Hemos buscado reacciones de reconocimiento de núcleo piridazínico pero la bibliografía de que disponíamos no nos permitió encontrar reacción alguna, por eso tratamos de aplicar reacciones coloreadas que se indican para heterociclos que, como la piridazina, son nitrogenados y de ellas resultó muy satisfactoria la indicada por Sánchez debida al grupo nicotínico de la niquetamida (6) con algunas modificaciones.

20 mg del sulfamidado en un tubo de ensayos se disuelven al baño María con 1 ml de NaOH al 30 %. Se enfría y se agregan X gotas de cloroformo o unos cristales de hidrato de cloral. Se vuelve al baño María a ebullición y aparece con la sulfametoxipiridazina un depósito rojo aceitoso que por enfriamiento solidifica.

Esta reacción efectuada con todos los demás sulfamidados que disponíamos (sulfanilamida, sulfapiridina, sulfatiazol, sulfadiazina, sulfamerazina, sulfametazina y sulfadimetoxidiazina) no conducen a la formación de la perla de color característico.

8. Recciones microcristalinas.

A) *Técnica.* En un tubo de ensayos se hace una solución concentrada de sulfamidado en HCl-4N. Se transporta con pipeta Pasteur I gota de esta solución a una lámina portaobjetos y mediante contacto se agrega I gota NH_3 1/10, se pone el cubreobjeto y se observa al microscopio.

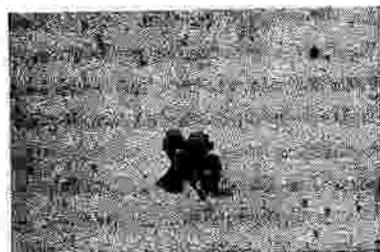
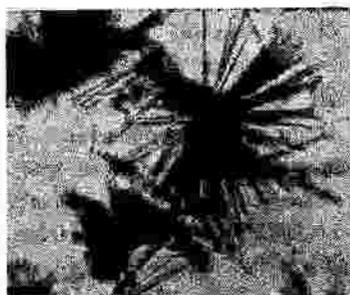
Los cristales de sulfametoxipiridazina aparecen bajo forma de prismas hexagonales aislados o maclados en forma de roseta, aún en pequeños grupos entrecruzados (7). Se adjuntan dos microfotografías.

B) Con ácido picrolónico.

Técnica. En una lámina portaobjeto se ponen unos cristales del sulfamidado y I gota de alcohol a 50° , se agita con movimiento de vaivén y se agrega I cristal de ácido picrolónico. La sulfametoxipiridazina dió lugar a la formación de tabletas largas aisladas o entrecruzadas mientras que con los otros sulfamidados de que disponíamos formaron cristales muy distintos en forma de agujas en grupos o entrecruzados (4). Se adjuntan dos microfotografías.

Cristales de S.M.P.

Cristales de Picrolonato de S.M.P.



IV) DETERMINACIONES CUANTITATIVAS

1. Macrométodos.

A) Dosificación de nitrógeno.

Hemos seguido la técnica indicada en U.S.P. relativa a la dosificación de nitrógeno orgánico por el método de Kjeldahl (8) para tomas de 1 g calentando los matraces $30'$ más después que el líquido aclara (alrededor de 4 horas). La cantidad teórica de N % para la S.M.P. es 19.99 %; y nosotros hemos obtenido como resultado promedio 10.53. El hecho de tener estos datos bajos es debido a que se determinan aproximadamente 2 de los 4 nitrógenos que componen la molécula de sulfametoxipiridazina.

Estos serían los nitrógenos extranucleares (amídico y amínico), siendo una cantidad mínima la que correspondería al núcleo piridazínico.

Hemos encontrado en la bibliografía técnicas muy especiales para la determinación de nitrógeno nuclear que usan HI como catalizador. Intentamos la destrucción total del núcleo piridazínico aumentando el tiempo de calefacción, pero los datos promedio obtenidos fueron los siguientes:

Tiempo	N %
2 h. 30'	10,63
12 h. 30'	10,68
14 h.	11,46

Como se puede apreciar el mayor tiempo de calefacción si bien acusa un porcentaje más elevado de nitrógeno no corresponde a la destrucción total del núcleo piridazínico.

Nuestro objeto fue entonces determinar solamente los nitrógenos extranucleares (amínico y amídico), suspendiendo la calefacción en el momento que el contenido del matraz aparece límpido, siendo el color del líquido obtenido marrón-amarillento que pasa a verde al enfriar.

Los datos obtenidos fueron: 9.90, 9.90, 9.87, 9.85, 9.85 g de N %, siendo la separación máxima en estas determinaciones de -0.14 y el promedio de error 1.16 %.

B) Determinación del Azufre.

En un principio procedimos a efectuar la mineralización que indica la Farmacopea Francesa Ed. 1949 (9) para la determinación de azufre en Neoarsfenamina, esto es, usando HNO_3 y Br_2 como oxidantes del grupo SO_2 a SO_4 y precipitando éste como BaSO_4 . Los datos obtenidos fueron discordantes y bajos; con tomas de 0.250 g los resultados fueron: 9,10; 9,65; 10,92; 10,90 % para un dato teórico de 11,44 %.

Pensamos que los resultados bajos obtenidos se debían a una mineralización y oxidación incompletas, por eso se redujo la toma a la mitad y duplicamos la cantidad de ácido nítrico, también usamos agua regia pero los resultados obtenidos fueron semejantes a los anteriores, dando valores comprendidos entre 8,81 y 10,52 % de S.

Consultando la bibliografía encontramos una técnica indicada por Arthur I. Vogel (10) para semimicroanálisis; nosotros la adaptamos para macro, eligiendo una toma 4 veces mayor y lo mismo para los reactivos. En cuanto a la calefacción adoptamos el siguiente procedimiento: usando crisoles de níquel de 40 ml se calientan directamente con mechero Bunsen aumentando poco a poco la llama, llegando al máximo en 15'. Continuar la calefacción hasta que el contenido del crisol esté líquido y 5' más.

Las operaciones siguientes las indica el autor Vogel y en resumen son: transferir el crisol de níquel limpio a un vaso de 400 ml, cubrir con agua destilada y llevar a ebullición para disolver el sólido. Se agregan III gotas de bromo y se lleva a ebullición para completar la oxidación a SO_4 . Se filtra a través de un filtro para análisis cuantitativo recogiendo el filtrado en una cápsula y se lavan el vaso y el crisol con poca agua destilada.

Este filtrado se evapora a sequedad con cuidado usando al final un baño María para prevenir proyecciones. Se disuelve el residuo en 100 ml HCl 2N y se precipita el sulfato con 8 ml BaCl_2 al 10 %. Dejar en reposo el precipitado durante una hora con pequeña llama, se filtra por papel Whatman N.º 44. Se lava hasta ausencia de cloruros, se calcina y se pesa.

En 5 determinaciones los datos obtenidos fueron: 11,22; 11,22;

11,40; 11,49; 11,64 %. La separación máxima es $-0,22$ y el promedio de error 1,28 %.

C) Métodos basados en la reacción de fijación del bromo en el núcleo bencénico.

a) Método Koppeschaar.

b) Método bromoacidimétrico.

Soluciones valoradas utilizadas:

Se hicieron 2 soluciones de KBrO_3 0.1 N por el procedimiento directo partiendo de 2 productos Merck p. p. a.

La solución valorada de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0.1 N se preparó por el método experimental y se valoró contra otra de yodo standardizada previamente contra tomas en peso de As_2O_3 y también contra una de las soluciones de bromato preparada por el método directo, obteniéndose en ambos casos el mismo factor de normalidad.

Solución NaOH 0.1 N preparada por el método experimental y valorada contra tomas en peso de ácido oxálico y tomas en volumen de un HCl tipo de punto de ebullición constante, habiéndose obtenido datos concordantes en la milésima.

A los efectos del control de los métodos y de los reactivos utilizados, procedimos a efectuar previamente la dosificación de una muestra de sulfanilamida pura obtenida por doble recristalización a partir de un producto medicinal y controlor final del punto de fusión correspondiente.

Los datos obtenidos en dicho control fueron los siguientes: Método Koppeschaar 100.63 ± 0.07 y Método bromoacidimétrico: 99.7 ± 1.1 .

Ensayados ambos procedimientos para la dosificación de la sulfametoxipiridazina los resultados obtenidos fueron muy separados entre sí y por exceso, lo que hace deducir que el bromo se fijaría además del núcleo bencénico en el piridazínico en cantidad variable.

D) Métodos basados en la formación del derivado argéntico por sustitución del hidrógeno amídico del grupo sulfonamida (11).

El hidrógeno amídico del grupo sulfonamida de la sulfametoxipiridazina tiene propiedades débilmente ácidas, pudiendo ser sustituido

por cationes. Cuando el sustituyente es el ión Ag^+ se forma una sal insoluble y en esto se basan algunos métodos de dosificación del sulfamidado.

a) *Procedimientos volumétricos.*

1. *Mohr.*

Disolver una toma de 0.300 g de sulfametoxipiridazina en una mezcla de 25 ml de acetona y 20 ml de acetato de sodio al 10 %. Agregar a esta solución 1 ml $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ al 0.5 % y dejar caer desde una bureta AgNO_3 0.1 N hasta que aparezca un tinte rojo permanente. El punto final es muy difícil de apreciar, pues queda enmascarado por el precipitado y el color amarillo de la solución.

El promedio de 14 determinaciones fué 100.1 % de pureza con un error de ± 0.1 %.

Es conveniente llevar a cabo este procedimiento sobre fondo blanco, con muy buena luz.

2. *Charpentier - Volhard.*

Para seguir este procedimiento nos ajustamos a la técnica de Arthur I. Vogel pero los resultados obtenidos fueron siempre en exceso, lo que puede ser debido a la adsorción de Ag^+ por el derivado argéntico del sulfamidado. El promedio obtenido de 7 determinaciones fué 102.01 %.

A los efectos de evitar el contacto de un exceso grande de iones Ag^+ con el derivado argéntico se modificó la técnica original usando cantidades menores de AgNO_3 0.1 N filtrando por papel Whatman N.º 42 y trabajando con la mitad del volumen. Los resultados obtenidos no fueron mejores.

Por este procedimiento no se puede usar blanco como referencia porque el disolvente, mezcla de acetona y acetato de sodio, consume AgNO_3 originando un precipitado argéntico.

b) *Procedimiento gravimétrico.*

Disolver una toma de 250 mg en una mezcla de 25 ml acetona y 20 ml de acetato de sodio al 10 % en un vaso de Bohemia de 400 ml. Agregar 25.0 ml AgNO_3 0.1 N y llevar a B.M. 30'. El precipitado que se obtiene no es completamente blanco. Se recoge el derivado argéntico en un filtro de vidrio sintético de porosidad G3. Lavar muy bien con agua destilada y secar hasta peso constante a 100-120°.

Los resultados obtenidos, siempre en exceso, dieron como promedio para 8 determinaciones 101.45 %.

Este método presenta una serie de dificultades durante la precipitación; en presencia de la luz el precipitado oscurece, también durante la filtración y es engorroso por lo lenta la filtración y el lavado.

E. *Dosificación por diazotación con nitrito de sodio.*

La solución de NaNO_2 0.1 N usada, se valoró contra sulfanilamida y sulfatiazol puros. La solución de NaNO_2 0.1 N se debe usar como máximo una semana. La solución de almidón-yoduro se preparó de acuerdo a U.S.P.

6. *Técnica.* En un vaso de precipitados de 200 ml poner 300 mg de la muestra, sobre ésta agregar 50 ml de agua destilada y 20 ml HCl 10%. Calentar con llama pequeña y agitando con varilla de vidrio hasta disolución.

Enfriar a temperatura ambiente. Agregar 25 g de hielo picado y dejar caer gota a gota solución de NaNO_2 0.1 N hasta que rayando con una varilla humedecida en el líquido sobre un frotis de almidón-yoduro en papel de filtro se obtenga inmediatamente un azul que se repite al minuto.

El hielo debe alcanzar para toda la valoración, si ello no sucediera se debe agregar nuevas porciones.

El promedio obtenido para 13 determinaciones fué 99.94 % con una separación de ± 0.95 . La técnica indicada ha sido extractada de la Farmacopea de EE. UU.

2. *Aplicación de macrométodos.*

F. *Valoración en comprimidos.*

Para esta contribución disponíamos de muestras distintas de comprimidos de sulfametoxipiridazina con los nombres de fantasía Lederkyn y Sulpiran.

Para proceder a la valoración se parte de 20 comprimidos, se pesan, se muelen y homogenizan con la mano del mortero.

1 comprimido de Lederkyn pesa promedio 0.6112 g.

1 comprimido de Sulpiran pesa promedio 0.6002 g.

Cada comprimido trae asignado 500 mg de sulfametoxipiridazina.

Para ambas muestras se siguió el método de diazotación, obteniéndose como resultado para 1 comprimido de Lederkyn 0.504 g de

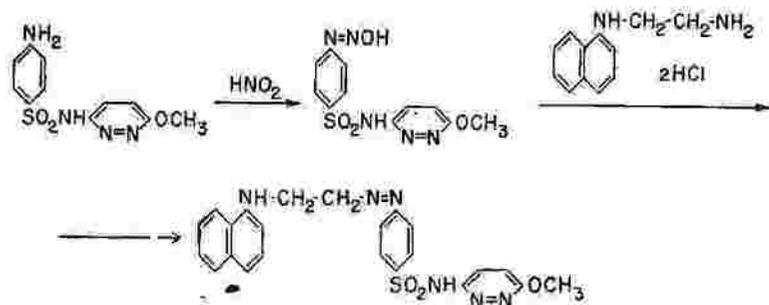
S.M.P. y para 1 comprimido de Sulpiran 0.487 g de S.M.P. como promedio de 8 determinaciones.

Como se puede apreciar la separación porcentual del sulfamidado es +0.8 y -2.6, respectivamente, por lo tanto están dentro de la tolerancia que expresa la U.S.P. cuando se refiere a tabletas de sulfamidados, al permitir para todos ellos un margen de $\pm 5\%$.

3. Micrométodos.

A. Determinación cuantitativa de nitrógeno amínico.

El procedimiento seguido se basa en una reacción de copulación del diazo correspondiente con el reactivo diclorhidrato de N (1-naftil) etilendiamina (12), según la siguiente ecuación:



El compuesto coloreado que se forma se compara con un blanco en el filtrofotómetro EEL y el espectrofotómetro Beckman D.U. y con las lecturas obtenidas se pasa a los datos correspondientes mediante el uso de curvas standard que hemos construido previamente.

Bratton y Marshall por una parte y los Laboratorios Lederle por otra, usan distintos colorímetros fotoeléctricos; los primeros un modelo especial construido por el Dr. Rosenfeld y los segundos el colorímetro fotoeléctrico Beckman.

Nosotros operamos en los filtrofotómetros EEL y Coleman y en el espectrofotómetro Beckman DU.

Desde un comienzo desechamos el uso del Coleman dado que este instrumento requiere para su estabilización un cierto calentamiento y ese calor produce la precipitación del colorante en las paredes de los tubos. Al comenzar esta contribución adoptamos las cantidades indicadas por Bratton y Marshall en su trabajo original que usaban 3

soluciones standard cuyas concentraciones eran de 0.20; 0.50 y 1.0 mg % y estrechamos más aún las diferencias yendo de 0.10 en 0.10 mg %.

Hicimos lecturas en EEL y Beckman y observamos que las curvas obtenidas se asemejan más a una recta para las concentraciones menores y por eso elegimos entre los límites 0.10 y 0.50 mg % para el trazado de nuestra curva standard.

Esto se corrobora porque por encima de 0.50 mg % los valores obtenidos en el Beckman no mantienen la relación que expresan los datos por debajo de esta concentración y en el filtrofotómetro EEL corresponden lecturas muy elevadas donde la escala da menor exactitud.

Al efectuar la reacción de copulación es necesario tener en cuenta las siguientes consideraciones:

a — El material debe estar completamente limpio (tratamiento con mezcla sulfocrómica, lavado con bastante agua, agua destilada y secado a la estufa), pues si no se tiene esta precaución se puede alterar el colorante y producir burbujas que no permiten la lectura de la absorbancia.

b — Es conveniente adoptar frascos de 50 a 100 ml de capacidad para hacer la reacción en lugar de tubos de ensayos, dado que así se facilita la mezcla y homogeneización de los reactivos presentes con un mínimo de agitación.

c — Los tiempos indicados por los autores para el agregado de los reactivos deben ser cuidadosamente controlados. Hemos observado que después de los 20' se desarrolla el máximo de color y éste se mantiene hasta 2 horas.

d — La solución madre se hace disolviendo 200 mg del producto con 950 ml de agua destilada en un matraz aforado de 1 litro. La solubilización de esta cantidad requiere un contacto de varios días a la temperatura ambiente al cabo de los cuales se enrasa a 1000 ml y se conserva en heladera por varios meses. Hemos tratado de acelerar la solubilización calentando ligeramente (40°) pero el compuesto se altera.

e — Las soluciones standard las hemos preparado por dilución de la solución madre midiendo el volumen necesario en microbureta de 2 ml graduada en 0.01 ml verificada previamente, partiendo siempre

de cero y dejando caer gota a gota, tratando de mantener siempre la misma velocidad de derrame.

a) *Curvas de absorción del colorante diazo obtenido.*

Habiendo realizado en el Beckman varias determinaciones para concentraciones comprendidas entre 0.10 y 1.00 mg % de sulfameto xipiridazina y longitudes de onda entre 460 y 620 m μ , obtuvimos las siguientes absorbancias:

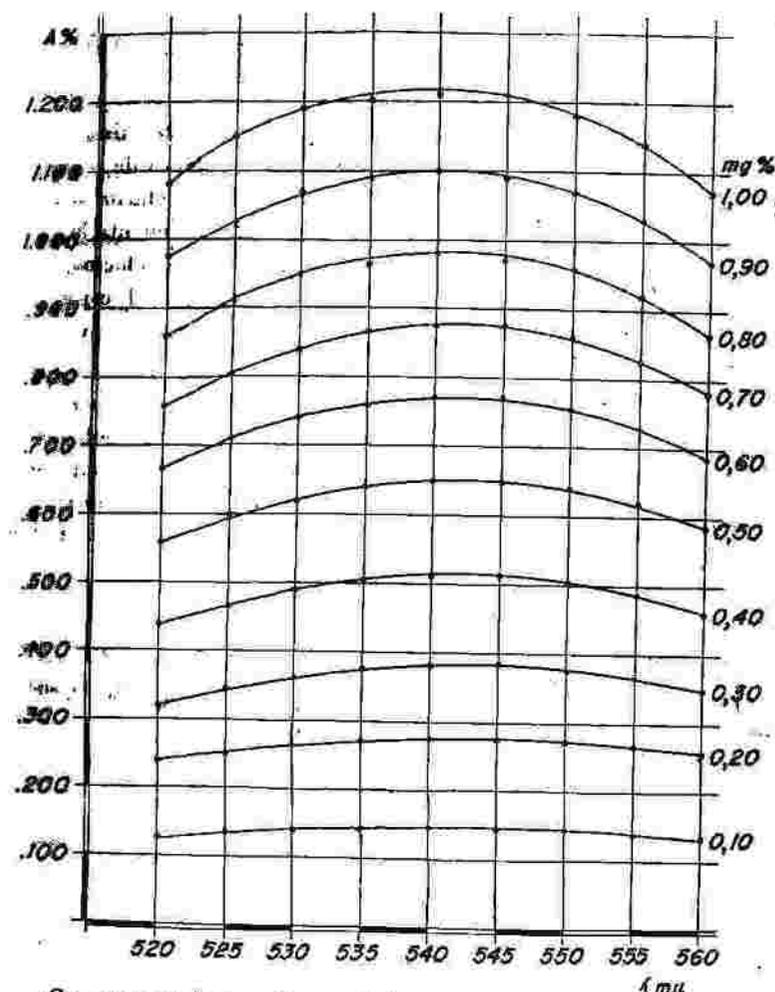
Cuadro N.º 1

λ m μ	Concentración mg %									
	0.10	0.20	0.30	0.40	0.50	0.60	0.70	0.80	0.90	1.00
460	.004	.018	.037	.050	.065	.091	.102	.116	.136	.147
480	.024	.057	.098	.123	.170	.209	.244	.277	.322	.346
500	.057	.123	.201	.266	.298	.410	.474	.537	.620	.678
520	.098	.204	.326	.422	.553	.638	.750	.842	.970	1.06
540	.122	.246	.386	.497	.642	.737	.858	.960	1.09	1.18
545	.122	.244	.383	.497	.642	.737	.858	.960	1.09	1.18
550	.122	.246	.385	.490	.630	.721	.858	.960	1.09	1.18
560	.112	.223	.348	.449	.574	.658	.755	.843	.962	1.04
580	.062	.124	.197	.252	.325	.377	.444	.498	.569	.619
600	.014	.032	.053	.070	.092	.112	.128	.147	.172	.194
620	.002	.005	.011	.010	.013	.022	.027	.034	.043	.053

De acuerdo con estos datos hicimos nuevas experiencias determinando absorbancias en un ámbito más estrecho de longitudes de onda entre 520 y 560 m μ de 5 en 5 m μ , dando los resultados del cuadro N.º 2.

Cuadro N.º 2

λ m μ	Concentración mg %									
	0.10	0.20	0.30	0.40	0.50	0.60	0.70	0.80	0.90	1.00
520	.126	.239	.320	.438	.558	.667	.758	.860	.973	1.08
525	.133	.250	.343	.465	.595	.710	.805	.910	1.02	1.15
530	.139	.263	.361	.489	.620	.740	.840	.950	1.07	1.19
535	.143	.270	.375	.505	.641	.759	.865	.965	1.09	1.202
540	.145	.275	.382	.512	.650	.770	.875	.980	1.10	1.209
545	.145	.276	.384	.512	.649	.770	.873	.970	1.09	1.209
550	.143	.274	.378	.505	.638	.755	.860	.958	1.07	1.18
555	.139	.267	.366	.488	.619	.729	.825	.920	1.03	1.14
560	.132	.256	.349	.460	.585	.685	.780	.865	.970	1.07



Como se puede apreciar se obtiene una curva con forma de meseta cuyo máximo está entre 540 y 545 m μ . Nos inclinamos a elegir 540 m μ porque después de 545 m μ hay una pendiente grande en la curva y pequeños errores en la selección de la banda pueden dar resultados muy distintos, no ocurriendo lo mismo para 540 m μ . En cuanto a la elección del filtro a usar en el filtrofotómetro EEL hicimos determinaciones de trasmisión entre 450 y 590 m μ , obteniéndose los siguientes datos (Cuadro N.º 3) para el filtro que mejor se comportó a la longitud de onda que queríamos operar.

Cuadro N.º 5
Filtro OGR I

λ m μ	% T	También se hicieron determinaciones similares con otros filtros pero de acuerdo con los datos obtenidos preferimos utilizar el OGR I teniendo en cuenta los resultados que se adjuntan, en relación a la longitud de onda usada en el espectrofotómetro.
450	0.0	
470	2.0	
490	8.7	
510	23.8	
520	31.6	
530	37.0	
540	38.8	
550	35.8	
560	29.4	
570	22.0	
580	15.4	
590	9.9	

b) Trazado de Curvas Standard en:

Filtrofotómetro EEL y Espectrofotómetro Beckman DU

La escala de soluciones Standard preparadas a partir de la solución madre queda resumida en el Cuadro N.º 4.

Cuadro N.º 4

Sol. madre	CCl ₄		H ₂ O	Conc. mg. %
	15 %	COOH		
0.00 ml	9 ml	c. s. p.	50 ml	0.00 (blanco)
0.250 "	" "	" "	" "	0.10
0.375 "	" "	" "	" "	0.15
0.500 "	" "	" "	" "	0.20
0.625 "	" "	" "	" "	0.25
0.750 "	" "	" "	" "	0.30
0.875 "	" "	" "	" "	0.35
1.000 "	" "	" "	" "	0.40
1.125 "	" "	" "	" "	0.45
1.250 "	" "	" "	" "	0.50

Para el trazado de las curvas Standard se ha seguido la técnica de Bratton y Marshall, vale decir: en frasco de 100 ml se ponen 20.0 ml de solución standard y se agregan los reactivos en esta forma: 2 ml de solución de nitrito de sodio al 0.1 % recientemente preparada a partir de una solución madre al 10 % cuya conservación máxima es de una semana. Mezclar y dejar 3' quieto. Agregar agitando 2 ml de solución de sulfamato de amonio al 0.5 % para eliminar el exceso de nitrito y evitar la formación de nitroso-compuestos. Dejar reposar 2' y transcurrido este tiempo agregar 2 ml de solución de diclorhidrato de N(1-naftil) etilendiamina al 0.100 g %, mezclar, dejar reposar y leer después de 20'. Usamos 20 ml de solución standard para tener suficiente cantidad de líquido para efectuar las lecturas simultáneamente en los dos aparatos, evitando así el trasvase del mismo a diferentes tubos que provoca posible descomposición del colorante formado.

Datos promedio de 6 determinaciones independientes leídas simultáneamente en los dos aparatos (Cuadro N.º 5).

Cuadro N.º 5

Conc. mg %	Lecturas		Conc. mg %	Lecturas	
	Beckman	EEL		Beckman	EEL
0.10	.145	13.9	0.35	.498	40.9
0.15	.222	20.3	0.40	.567	46.8
0.20	.290	25.7	0.45	.654	51.1
0.25	.349	30.0	0.50	.700	57.0
0.30	.422	36.7			

Para el espectrofotómetro Beckman DU el error cometido es de 1.2 % el límite de confianza para un 95 % de probabilidad oscila entre 0.002 y 0.007.

Para el filtrofotómetro EEL el promedio de error es de 1.5 % y el límite de confianza para la misma probabilidad oscila entre 0.3 y 1.6.

Las ecuaciones de las rectas obtenidas para los dos aparatos aplicando el método de los mínimos cuadrados han sido las siguientes:

$$\text{Beckman } A \% = 1.407 C + 0.005$$

$$\text{EEL } A \% = 105.9 C + 4.03$$

A denota absorbancia y C concentración en mg % de sulfamexipiridazina en la solución.

4. *Aplicación de micrométodos.*

B) *Dosificación de sulfametoxipiridazina en sangre.*

Habiendo consultado datos clínicos respecto de los niveles que alcanza la sulfametoxipiridazina en sangre humana (comunicación de Laboratorios Lederle (13), nos pareció lógico dosificar en las concentraciones 2.5; 5.0; 10.0 y 20.0 mg % del producto en sangre total.

A los efectos del control para tener estas concentraciones procedimos de acuerdo al siguiente Cuadro 6.

Cuadro N.º 6

Sol. madre 0.200 g/l	H ₂ O c.s.p. 15.6 ml	sangre	Cl ₂ COOH 15 %	conc. final en sangre total
0.05 ml	15.55 ml	0.4 ml	4 ml	2.5 mg %
0.10 "	15.50 "	0.4 "	4 "	5.0 "
0.20 "	15.40 "	0.4 "	4 "	10.0 "
0.40 "	15.20 "	0.4 "	4 "	20.0 "

Como se ve de acuerdo con los volúmenes agregados de las diversas soluciones la dilución final de la sangre corresponde a 1/50, que es una de las concentraciones adoptadas por los Laboratorios Lederle (1/20, 1/50 y 1/100), al seguir la técnica de Brattón y Marshall que aconsejan dilución 1/20. Además estos autores usan solución de saponina en tanto que los Lab. Lederle, no y nosotros observamos también que no es necesario, en las determinaciones de control, habiendo obtenido iguales resultados con o sin el uso de este reactivo.

Técnica. En vaso de precipitado de 50 ml se mezclan agua destilada y solución madre (en caso de dosificación en sangre de paciente se usa sólo agua destilada para la dilución). Con pipeta de escurrimiento total, verificada, se mide la sangre oxalataada que se diluye y mezcla con el líquido que contiene el vaso. Se defeca con ácido tricloroacético al 15 % durante 2 a 10 minutos. Se filtra por papel Whatman N.º 44. Operando sobre 10.0 ml del filtrado se hace la copulación en la misma forma que se indicó en el trazado de curvas standard usando en este caso 1 ml de cada reactivo para la obtención del diazo compuesto (IV, 3, A b). Se compara con un blanco según se indicó antes (Cuadro N.º 4) después de transcurridos 20' y hasta las 2 horas.

Los datos obtenidos como promedio de 5 determinaciones inde-

pendientes para cada concentración usando las curvas standard trazadas anteriormente fueron aceptables para el espectrofotómetro Beckman en toda la escala (2.5 a 20.0 mg %), y para el filtrofotómetro EBL dentro del rango de concentraciones 10.0 a 20.0 mg %, separándose más a medida que disminuye la concentración.

Por consiguiente si se trabaja con el espectrofotómetro Beckman DU se puede utilizar la curva standard, ya que al dato obtenido se le puede aplicar un factor de corrección constante a los efectos de obtener el resultado real correspondiente. Esto es posible porque en el rango de concentraciones que hemos trabajado se ha encontrado entre 3 y 5 % menos de la cantidad de sulfa existente debido a pérdidas que inevitablemente se producen al realizar la floculación, filtración, etc.

Cuadro N.º 7

Conc. sangre mg %	dilución 1/50		Conc. sangre		separación	error %	Prom. ± %
	lectura	dato gráfica	hallado	corregido			
2.5	.070	0.046	2.30	2.51	0.01	0.4	2.8
	.072	0.048	2.40	2.62	0.12	4.8	
	.072	0.048	2.40	2.62	0.12	4.8	
	.068	0.045	2.25	2.45	-0.05	2.0	
	.067	0.045	2.25	2.45	-0.05	2.0	
5.0	.133	0.091	4.55	4.96	-0.04	0.8	3.4
	.137	0.094	4.70	5.12	0.12	2.4	
	.135	0.093	4.65	5.07	0.07	1.4	
	.132	0.090	4.50	4.91	-0.09	1.8	
	.133	0.091	4.55	4.96	-0.04	0.8	
10.0	.274	0.191	9.55	10.41	0.41	4.1	2.8
	.257	0.178	8.90	9.70	-0.30	3.0	
	.265	0.185	9.25	10.08	0.08	0.8	
	.257	0.178	8.90	9.70	-0.30	3.0	
	.257	0.178	8.90	9.70	-0.30	3.0	
20.0	.510	0.359	17.95	19.57	-0.43	2.15	1.5
	.509	0.359	17.95	19.57	-0.43	2.15	
	.510	0.359	17.95	19.57	-0.43	2.15	
	.518	0.365	18.25	19.84	-0.16	0.8	
	.521	0.367	18.35	20.00	0.00	0.0	

Observando el cuadro 7 se constata que el promedio de error cometido en la dosificación está comprendido entre ± 1.4 y ± 2.8 % aplicando un único factor de corrección 1.09 a todas las cantidades encontradas en la sangre total, factor que hemos deducido a partir de las cantidades agregadas y halladas de S.M.P. en los rangos 2.5; 5; 10 y 20 mg % para 20 determinaciones.

Cuando estas determinaciones se llevan a cabo utilizando un filtrómetro EEL y se utiliza la curva standard trazada anteriormente se observa que las cantidades de sulfametoxipiridazina halladas están demasiado separadas con respecto a las existentes, siendo siempre inferiores. Dicha separación no es regular, como sucede en el caso del espectrofotómetro Beckman DU, donde es posible aplicar el factor de corrección mencionando y por tal motivo preferimos, a los efectos de lograr una exactitud aceptable, trazar una curva tipo utilizando sangre con cantidades conocidas crecientes y adecuadas del sulfamido.

El trazado de curva tipo se hizo mediante 5 determinaciones independientes para cada una de las concentraciones siguientes: 2.5; 5.0; 10.0 y 20.0 mg % de sulfametoxipiridazina en sangre total. Se aplicó el método de los mínimos cuadrados y se consideró un límite de confianza para un 95 % de probabilidad.

La ecuación de la recta resultante es la siguiente:

$$A \% = 102.6 C + 2.36$$

A = absorbancia .

C = conc. mg % en el filtrado.

Utilizando la curva tipo precedente se han obtenido los datos que figuran en el cuadro N.º 8.

Cuadro N.º 8

sangre conc. mg %	dilución 1/50		encontrado	separación	error %	Prom. \pm %
	lectura	dato gráfico				
2.5	7.0	0.045	2.25	-0.25	10.0	11.6
	7.1	0.046	2.30	-0.20	8.0	
	7.9	0.054	2.70	0.20	8.0	
	6.5	0.040	2.00	-0.50	20.0	
	6.9	0.044	2.20	-0.30	12.0	

5.0	12.8	0.101	5.05	0.05	1.0	3.6
	12.9	0.102	5.10	0.10	2.0	
	13.0	0.104	5.20	0.20	4.0	
	12.0	0.093	4.65	-0.35	7.0	
	12.3	0.096	4.80	-0.20	4.0	
10.0	24.8	0.219	10.95	0.95	9.5	4.0
	23.0	0.202	10.10	0.10	1.0	
	24.0	0.211	10.55	0.55	5.5	
	23.1	0.203	10.15	0.15	1.5	
	23.3	0.205	10.25	0.25	2.5	
20.0	42.6	0.396	19.80	-0.20	1.0	0.5
	43.0	0.400	20.00	0.00	0.0	
	43.5	0.404	20.20	0.20	1.0	
	43.1	0.401	20.05	0.05	0.25	
	43.1	0.401	20.05	0.05	0.25	

Inicialmente hicimos los cálculos utilizando las curvas standard para EEL y Beckman, pero los errores obtenidos para el primer aparato se separaban desde 7.7 a 43 % para concentraciones de 20.0 a 2.5 mg % de sulfametoxipiridazina en sangre total, mientras que para el Beckman, como se dijo anteriormente, eran desde un 8 a un 9 % siempre inferiores.

Debido a estos datos resolvimos utilizar para EEL una curva tipo con sangre, en lugar de agua destilada y los datos que se adjuntan (Cuadro N.º 8) corresponden a errores que oscilan desde 11.6 a 0.5 % para concentraciones de 2.5 a 20.0 mg %.

En cuanto a las determinaciones en el Beckman pudimos resolverlas como se indicó anteriormente aplicando a los datos hallados el factor antes mencionado. Resueltos de esta manera los cálculos en los dos aparatos, el procedimiento analítico puede ser satisfactorio con cualquiera de ellos de acuerdo con el significado biológico de esta determinación.

C) Dosificación de sulfametoxipiridazina libre en orina.

El método seguido es el de Bratton y Marshall.

Técnica. A los efectos de agregar cantidades conocidas del sulfamido en una orina normal se utilizan volúmenes adecuados de la solución madre cuya concentración es 200 mg %.

Cuadro N.º 9

En un matraz aforado de 100 ml se pone la cantidad correspondiente de solución madre medida con microbureta (0.50 a 2.50 ml), sobre ella se dejan caer 2.5 ml de orina, después 5 ml HCl 4N y se enrasa. Luego de homogenizar se hacen dos tomas de 20 ml c/u. que se tratan: una en las condiciones standard y la restante que va a servir para el blanco, con 2 ml H₂O en lugar de solución de NaNO₂ al 0.1 % y luego con los mismos reactivos y en las mismas condiciones que la otra toma.

La dilución de orina resultante es 1/40 para concentraciones iniciales de 6 a 20 mg % en orina. Estos valores han sido elegidos de acuerdo con la información que hemos recibido de los Laboratorios Lederle teniendo presente las concentraciones existentes en la orina de pacientes que han recibido por vía oral dosis diarias de sulfametoxipiridazina comprendidas entre 0.5 y 4.0 g.

Para concentraciones mayores de 20 mg % en la orina se hacen tomas de 1.25 ml en lugar de 2.5 ml.

Inicialmente utilizamos para nuestro trabajo las curvas standard, pero dado que la orina tiene una composición compleja y variable y que tiene influencia por sí misma en la absorción, los datos que obtuvimos eran elevados y sin guardar relación alguna para las distintas concentraciones.

A los efectos de tener una curva tipo resolvimos construirlas mediante el agregado de cantidades conocidas de S.M.P. a orinas de 6 personas y usando para cada una de ellas su blanco respectivo.

Para el trazado de las curvas se usó el método de los mínimos cuadrados y se consideró un límite de confianza para un 95 % de probabilidad.

En cuanto a las ecuaciones de las rectas son las siguientes:

Espectrofotómetro Beckman DU $A \% = 0.0107 + 1.438 C$.

Filtrofotómetro EEL $A \% = 5.75 + 104.63 C$.

A = absorbancia.

C = conc. en mg % en la orina diluida 1/40.

Trazando las curvas correspondientes a las ecuaciones indicadas arriba y utilizándolas de acuerdo con las lecturas obtenidas, se ha confeccionado el siguiente cuadro de valores (Cuadro N.º 9).

S.M.P. en orinas conc. mg %	lectura	dato gráfica	encontrado	separación	error %	Prom. e %
6.0	21.0	0.146	5.84	-0.16	2.7	3.1
	22.0	0.155	6.20	0.20	3.3	
	20.8	0.144	5.76	-0.24	4.0	
	20.9	0.145	5.80	-0.20	3.3	
	21.1	0.147	5.88	-0.12	2.0	
8.0	26.7	0.200	8.00	0.00	0.0	1.9
	27.4	0.207	8.28	0.28	3.5	
	27.3	0.206	8.24	0.24	3.0	
	27.1	0.204	8.16	0.16	2.0	
	26.9	0.202	8.08	0.08	1.0	
10.0	30.4	0.235	9.40	-0.60	6.0	2.7
	35.0	0.260	10.40	0.40	4.0	
	32.0	0.251	10.04	0.04	0.4	
	31.5	0.246	9.84	-0.16	1.6	
	32.3	0.254	10.16	0.16	1.6	
12.0	38.1	0.309	12.36	0.36	3.0	1.8
	38.1	0.309	12.36	0.36	3.0	
	37.9	0.307	12.28	0.28	2.3	
	37.4	0.302	12.08	0.08	0.7	
	37.2	0.300	12.00	0.00	0.0	
14.0	42.7	0.353	14.12	0.12	0.8	0.8
	42.8	0.354	14.16	0.16	1.1	
	42.5	0.351	14.04	0.04	0.3	
	42.9	0.354	14.16	0.16	1.1	
	42.6	0.352	14.08	0.08	0.6	
16.0	48.1	0.404	16.16	0.16	1.0	1.2
	48.2	0.405	16.20	0.20	1.3	
	48.0	0.403	16.12	0.12	0.7	
	48.1	0.404	16.16	0.16	1.0	
	48.5	0.408	16.32	0.32	2.0	

	52.8	0.449	17.96	-0.04	0.2	
	53.2	0.452	18.08	0.08	0.4	
18.0	53.0	0.451	18.04	0.04	0.2	0.3
	53.0	0.451	18.04	0.04	0.2	
	53.2	0.452	18.08	0.08	0.4	
	57.8	0.496	19.84	-0.16	0.8	
	57.0	0.488	19.52	-0.48	2.4	
20.0	57.0	0.488	19.52	-0.48	2.4	1.6
	57.7	0.495	19.80	-0.20	1.0	
	57.5	0.494	19.76	-0.24	1.2	

ESPECTROFOTOMETRO BECKMAN

Cuadro N.º 10

orina conc. mg %	lectura	dato gráfica	encontrado	separación	error %	Prom. e %
	.218	0.144	5.76	-0.24	4.0	
	.237	0.158	6.32	0.32	5.3	
6.0	.221	0.147	5.88	-0.12	2.0	2.8
	.228	0.151	6.04	0.04	0.7	
	.221	0.147	5.88	-0.12	2.0	
	.297	0.199	7.96	-0.04	0.5	
	.305	0.204	8.16	0.16	2.0	
8.0	.306	0.205	8.20	0.20	2.5	1.6
	.306	0.205	8.20	0.20	2.5	
	.301	0.201	8.04	0.04	0.5	
	.351	0.236	9.44	-0.56	5.6	
	.368	0.248	9.92	-0.08	0.8	
10.0	.368	0.248	9.92	-0.08	0.8	2.3
	.359	0.241	9.64	-0.36	3.6	
	.372	0.252	10.08	0.08	0.8	
	.448	0.303	12.12	0.12	1.0	
	.441	0.298	11.92	-0.08	0.7	
12.0	.436	0.295	11.80	-0.20	1.7	1.4
	.436	0.295	11.80	-0.20	1.7	
	.434	0.294	11.76	-0.24	2.0	

	.510	0.346	13.84	-0.16	1.1	
	.510	0.346	13.84	-0.16	1.1	
14.0	.509	0.345	13.80	-0.20	1.4	1.0
	.511	0.347	13.88	-0.12	0.8	
	.512	0.348	13.92	-0.08	0.5	
	.594	0.404	16.16	0.16	1.0	
	.593	0.403	16.12	0.12	0.8	
16.0	.588	0.400	16.00	0.00	0.0	0.6
	.584	0.398	15.92	-0.08	0.5	
	.585	0.398	15.92	-0.08	0.5	
	.649	0.442	17.68	-0.32	1.7	
	.670	0.456	18.24	0.24	1.4	
18.0	.662	0.451	18.04	0.04	0.2	1.1
	.672	0.458	18.32	0.32	1.7	
	.664	0.452	18.08	0.08	0.4	
	.734	0.494	19.76	-0.24	1.2	
	.721	0.491	19.64	-0.36	1.8	
20.0	.735	0.500	20.00	0.00	0.0	0.8
	.729	0.496	19.84	-0.16	0.8	
	.737	0.502	20.08	0.08	0.4	

Se observa en los cuadros 9 y 10 que las separaciones (errores %) utilizando EEL o Beckman son pequeñas y oscilan desde 0.3 a 0.6 hasta un máximo de 3.1 a 2.8 % usando las curvas tipo. Por consiguiente, se puede usar cualquiera de los dos aparatos para estos cálculos, siendo preferible el EEL por razones de economía.

V) CONCLUSIONES

- 1) Hemos hallado una reacción característica de la sulfametoxipiridazina solubilizándola en medio alcalino y agregando hidrato de cloral o cloroformo.
- 2) También constatamos que la sulfametoxipiridazina en solución alcohólica al 50 % origina cristales característicos con el ácido picrolónico.
- 3) Establecimos que es ventajoso el método de diazotación con solución valorada de nitrito de sodio para dosificar la sulfametoxipiridazina como tal o bien formando parte de comprimidos.
- 4) Hemos hecho el control de microdeterminaciones de la sulfam-

toxipiridazina en la sangre y orina usando el espectrofotómetro Beckman DU y el filtrofotómetro EEL (Evans) y establecimos que este último aparato da resultados aceptables de acuerdo con el significado biológico de estas determinaciones.

Otros ensayos para la S.M.P. publicados en la *Farmacopea de los EE. UU.*, ed. XVI, Octubre 1960 (14), simultáneamente con la redacción de esta contribución.

- 1) Rango de fusión: 180-183°.
- 2) Identificación por comparación de los espectros de absorción en el infrarrojo de una muestra standard con la muestra a ensayar.
- 3) Reacción de caracterización usando solución saturada de bromato de potasio y ácido sulfúrico 4 N.
- 4) Determinación de limpidez y color de la solución.
- 5) Determinación de humedad.
- 6) Ensayo de metales pesados.
- 7) Dosificación de la sulfametopiridazina en medio no acuoso usando solución 01 N de metóxido de sodio.

VI) BIBLIOGRAFIA

1. *Farmacopea EE UU.* Ed. XIV, p. 780 o Ed. XVI, p. 907.
2. SANCHEZ, Juan A. *Curso de Química Analítica Funcional de Medicamentos orgánicos.* Tomo II, 2.ª Ed. p. 281.
3. LAPIERE, C. These doct. Sc. Pharm. Liege. 1943. *J. pharm. Belgique*, T. 3, 1944, p. 37.
4. KEENAN, George L. *Microscopic Identification of some of the Crystalline sulfonamides.* *J. Am. Pharm. Assoc. Sc. Ed.* vol. 37, 1948, p. 202.
5. ELDERFIELD, Robert C. *Heterocyclic compounds*, Vol. 6., p. 109.
6. SANCHEZ, Juan A. *Curso de Química Analítica Funcional de Medicamentos Orgánicos.* Tomo II, 2.ª Ed. p. 108.
7. HUCKNALL, E. and TURFITT, G. E. *J. of Pharmacy and Pharmacology.* T. I, 1949, p. 375.
8. *Farmacopea EE. UU.* Ed. XIV, p. 764 o Ed. XVI, p. 905.
9. *Farmacopea Francesa.* Ed. 1949, p. 508.
10. VOGEL, Arthur I. *Elementary Practical Organic Chemistry*, 1.ª Ed., 1953, p. 659.
11. VOGEL, Arthur I. *Elementary Practical Organic Chemistry*, 1.ª Ed., 1958, p. 797.
12. BRATTON, A. C. and MARSHALL, E. K. jr. A new coupling component por sulfanilamide determination. *J. Biol. Chem.* 128. (2) 537, 1939.
13. Comunicación Personal Lab. Lederle.
14. *Farmacopea EE. UU.* Ed. XVI, p. 713.

Manuscrito entregado en febrero de 1961.

Preparación de Algunos Nuevos Compuestos Tiazólicos

Carlos Scherschener

Sumario

Se describe la preparación de los siguientes compuestos no citados hasta ahora en la literatura química:

Ester metílico del ácido tiomalónico (I), por reacción entre el cianacetato de metilo y ácido sulfhídrico;

Bromhidrato de alfa-(4-fenil-tiazol-2) acetato de metilo (II), por condensación de I con omega-acetofenona;

alfa-(4-fenil-tiazol-2) acetato de metilo (III), por desplazamiento de la base de II por agua (hidrólisis de la sal) y extracción con éter;

Acido alfa-(4-fenil-tiazol-2) acético (IV), por hidrólisis alcalina de III.

Por descarboxilación de IV se obtuvo el 2-metil-4-feniltiazol, compuesto conocido, lo que permitió confirmar las estructuras atribuidas a los compuestos intermedios.

En relación con un trabajo de mayor alcance de preparación de derivados del tiazol con posible actividad terapéutica, propuesto por el Prof. Q. Mingoja, se obtuvieron los siguientes compuestos no descritos en la literatura química. Las estructuras que se deducen para los mismos de sus métodos de preparación, están en buena concordancia con sus propiedades y con su degradación a un compuesto conocido.