

CATEDRA DE ANALISIS QUIMICO

Prof. Encargado Dr. R. García Villanova

CATEDRA DE FARMACIA GALENICA Y TECNICA PROFESIONAL Y LEGISLACION

Prof. Dr. J. M.ª Suñé Arbussá

CATEDRA DE TECNICA FISICA Y FISICO-QUIMICA

Prof. Dr. J. M.ª Clavera

Ars. Pharm. III, (n.º 3), 1962.

Micrómetro fotocolorimétrico de valoración de acetilfenetidina

R. García Villanova, J. Thomas, F. Bosch y J. M.ª Suñé

La determinación cuantitativa de la acetilfenetidina no se incluye en ninguna de las farmacopeas consultadas (F. E. IX., F. A., Br. Ph., F. Bras., Codex, Ph. Int., U. S. P. XVI), ni como producto puro, ni en mezclas con sustancias medicamentosas de idéntica o parecida acción, frecuentes en el mercado farmacéutico, sobre todo en forma de comprimidos.

Algo más explícita es la bibliografía científica general, de manera especial en los últimos veinte años, con valoraciones de fundamento muy distinto, lo que por sí sólo es síntoma de no haberse dado con la técnica definitiva.

La mayor parte de los métodos se basan en una hidrólisis de la acetilfenetidina en medio ácido para obtener p-fenetidina que es la que realmente se valora, por ejemplo mediante diazotación, como propusieron C. H. CUNOV y colaboradores en 1943 (1) que hidrolizaban y diazotaban con nitrito sódico, y HELLEVURI y SEYDLITZ (2), aplicando el método del segundo de ellos para procaína a la acetilfenetidina, consistente en la hidrólisis por ebullición con ácido sulfúrico, diazotación y finalmente determinación fotométrica. También es frecuente el que la diazo-

tación se siga de una copulación por ejemplo con timol, como proponen DEVI y KHORANA (3), obteniendo así una disolución coloreada con máxima absorción de luz a 456 m μ , fiel seguidora de la ley de Beer, o con floroglucina como propone DI BACCO (4), que obtiene una disolución que después de alcalinizada y diluída puede compararse colorimétricamente con disoluciones patrón de cloruro férrico y cloruro de cobalto. PANKRATZ y BAUDELIN (5, 6) aplican el método a las mezclas con aspirina y cafeína, previa separación de la aspirina, hidrólisis de la acetilfenetidina y diazotación de la p-fenetidina obtenida seguida de copulación con β -naftol; se colorimetra a 470 m μ la coloración rojo anaranjada obtenida. Las aminas primarias diazotables tales como sulfonamidas, acetanilida y p-aminofenol interfieren la valoración, por lo que deben extraerse previamente; no interfieren el ácido acetilsalicílico, antihistamínicos, cafeína y codeína.

Otro grupo de métodos se inician también con una hidrólisis, pero siguen luego provocando una reacción colorimétrica de la p-fenetidina que suele ser una oxidación. DEGNER y JOHNSON (7), por ejemplo, añaden a la solución clorofórmica de acetilfenetidina, ácido clorhídrico concentrado, calientan para eliminar el cloroformo y hierven hasta reducir el volumen en cierta proporción, con lo que consiguen la hidrólisis de la acetilfenetidina; a la solución diluída se adiciona citrato sódico y disolución de ácido crómico al 1 por 100; a los pocos minutos se determina la densidad óptica a 543 m μ ; la acetanilida interfiere la valoración. DEVI y KHORANA (8) proponen, a su vez, un método colorimétrico basado en añadir p-dimetilaminobenzaldehído a la p-fenetidina obtenida por hidrólisis clorhídrica de la acetilfenetidina; el color amarillo que se obtiene, presenta su máxima intensidad a pH 1-2 y máxima absorción a 412 m μ , siguiendo la ley de Beer; el método es aplicable a mezclas de acetilfenetidina con ácido acetilsalicílico. TAKANOBY ITAI y SHOZO KAMIYA (9) consiguen la hidrólisis por ebullición con ácido bromhídrico, añadiendo luego disolución al 1 por 100 de o-cresol y alcalinizando con sosa; la solución azul por el indofenol formado se colorimetra a 605 m μ ; no interfieren el método acetanilida, cafeína, cafeína-piramidón y clorhidrato de difenhidramina. FALEX (10) propone un método rápido para determinar la acetilfenetidina en presencia de ácido acetilsalicílico, cafeína y codeína, hidrolizándola con ácido sulfúrico diluído y valorando la p-fenetidina formada con nitrito sódico.

Métodos yodométricos se citan para valorar acetilfenetidina. Así, SCANDARELLI (11) propone valorarla en comprimidos con acetanilida por

extracción etanólica en medio acético, oxidación con solución de yodo normalizada y determinación del exceso de yodo con tiosulfato sódico. ADRIANA CASINI (12) disuelve la acetilfenetidina en ácido acético diluido con ayuda de calor (unos 70° C.), añade un exceso de solución 0,25 N de yodo y ácido clorhídrico concentrado, diluye con agua, filtra para separar la tetrayodoacetilfenetidina, y en el filtrado determina el exceso de yodo. BERAL VASILIEV y colaboradores (13) exponen un método yodimétrico basado en la oxidación con yodo en medio alcalino, previa hidrólisis ácida de la acetilfenetidina, y fijación simultánea de dicho elemento por el núcleo aromático; se determina finalmente el exceso de yodo.

Un método bromatométrico aplica POPOV (14), adicionando disolución bromuro-bromato, ácido clorhídrico concentrado y exceso de yoduro potásico a la disolución acética de la acetilfenetidina. Después de quince minutos de permanencia en la obscuridad, determina el yodo liberado con tiosulfato sódico.

Las determinaciones espectrofotométricas directas también se han aplicado a la acetilfenetidina. WASLIBURN y KRUEGER (15) la determinan en mezclas con aspirina y cafeína por absorción en el infrarrojo de la disolución clorofórmica a 899,927 y 1026 μ respectivamente. Si en la mezcla existe también clorhidrato de metapirileno, se insolubiliza este último componente en cloroformo mediante formación de di o triclorhidrato (16). PARKE y colaboradores (17) determinan ácido acetilsalicílico, acetilfenetidina y cafeína por absorción en el infrarrojo, y comprueban que la presencia de fosfato de codeína o clorhidrato de fenilpiramina no interfieren en apreciaciones en las que se admita una desviación media no superior al 2 por 100 por defecto o exceso. JONES y THATCHER (18) determinan espectrofotométricamente la acetilfenetidina en las mismas mezclas, previa separación del ácido acetilsalicílico con bicarbonato sódico de una solución clorofórmica de las tres; consiguen la misma exactitud de los anteriores operando a 250 y 275 $m\mu$ para cafeína y acetilfenetidina respectivamente. La extracción de la acetilfenetidina para proceder a su valoración espectrofotométrica puede hacerse también por absorción en columna cromatográfica (19) y mediante resinas cambiadoras de iones (20).

Métodos en los que se aprovecha una nitración de la acetilfenetidina tampoco son raros para valorarla. HORN (21) calienta la acetilfenetidina con solución de ácido nítrico al 10 por 100 durante cinco minutos, y después de enfriar y filtrar, determina la densidad óptica a 465 $m\mu$;

no interfieren la valoración el ácido acetilsalicílico, quinina, cafeína, almidón o sacarosa, pero en cambio piramidón y antipirina dan coloraciones que interfieren, pudiendo evitarse por calentamiento, excepto si el contenido de antipirina es superior al 50 por 100, en cuyo caso ha de separarse previamente. Tampoco la interfieren fosfato de codeína, clorhidrato de metapirileno, sulfato de hiosciamina, feniloxamida y quinina (22). JINDRA y colaboradores (23) proponen una valoración para varios antipiréticos, entre ellos acetilfenetidina, por nitración en medio acético y posterior reacción con naftol en medio alcalino regulado; se obtiene una coloración roja de intensidad proporcional a la concentración.

MILLER (24) describe un método colorimétrico fundado en la coloración amarilla que produce la disolución de acetilfenetidina en alcohol metílico al ser tratada por el ácido nítrico, coloración que es proporcional a la concentración. Esta reacción no la interfiere la acetanilida. RAPAPORT y colaboradores (25) tratan la solución alcohólica de acetilfenetidina con ácido nítrico concentrado, y comparan coloriméricamente la disolución obtenida con una de dicromato potásico al 0,01 por 100 a la que se ha añadido previamente cuatro gotas de rojo de metilo por cada 100 mililitros; la antipirina interfiere la valoración. AFANAS'EV (26) propone la determinación colorimétrica de la acetilfenetidina previa adición de disolución acuosa de cloramina al 5 por 100; se obtiene coloración amarilla estable que aparece lentamente en frío y rápidamente a ebullición; no la interfieren cafeína, metilcafeína, ácido acetilsalicílico y salicilato sódico. El piramidón reacciona con la cloramina.

Graviméricamente ha sido propuesta la dosificación por EMERY (27) al estado de yodhidrato de tetrayodofenacetina, compuesto muy poco soluble obtenido por precipitación en disolución acética al ser tratada en ese medio la acetilfenetidina por un exceso de disolución yodoyodurada. MIKO (28) propone la pesada del residuo acuoso cuando es separada la acetilfenetidina de otros antipiréticos a los que generalmente se asocia (piramidón, antipirina, acetanilida) al ser tratados por dicho disolvente.

WEISSMANN (29) determina alcaliméricamente la acetilfenetidina en el producto de la saponificación practicada con ácido clorhídrico diluido hirviendo a reflujo.

WOLLISH y colaboradores (30) describen la valoración potenciométrica con ácido perclórico en dioxano de la disolución en medio alcalino de la p-fenetidina obtenida por hidrólisis clorhídrica de la acetilfenetidina. BALDINUS y ROTHBERG (31) la determinan en las mismas condiciones de

hidrólisis y también potenciométricamente, con nitrito sódico en presencia de bromuro potásico como catalizador; no interfieren la valoración aspirina, ácido salicílico, amobarbital, anfetamina, caféina y codeína.

Basándonos en la coloración que desarrolla la acetofenetidina previamente hidrolizada por ebullición con ácido clorhídrico concentrado al adicionarle disolución de dicromato potásico, nos propusimos estudiar la posibilidad de hacer de ella una reacción cuantitativa, fijando los factores que la influncian.

Preparamos una disolución de acetilfenetidina al 0,5 por 1.000 en ácido clorhídrico 3 N, hirviéndola durante un minuto y completando el volumen después de enfriar. En diez tubos de ensayo dispusimos volúmenes crecientes de la solución en progresión aritmética, razón 0,5 ml., empezando con 0,5 ml. en el primer tubo; todos ellos los completamos hasta 5 ml. con ácido clorhídrico 3 N y a todos se adicionó un mismo volumen, 0,1 ml., de disolución de dicromato potásico al 1 por 100. Las densidades ópticas, leídas con filtro verde número 3 (*) a la hora, dos horas y media y cinco horas se incluyen en el Cuadro I y gráfica 1.

(*) Todas las determinaciones se hicieron en fotocolorímetro Speker de la casa Hilger.

CUADRO I

Tubo	ACETILFENETIDINA		ClH 3 N ml.	Cr ₂ O ₇ K ₂ Sol. 0,1 % ml.	Densidad óptica a las horas		
	Sol. 0,5 o/oo ml.	mg.			1	2 1/2	5
I	0'5	0'25	4'5	0'1	0'100	0'106	0'100
II	1	0'50	4	0'1	0'211	0'243	0'260
III	1'5	0'75	3'5	0'1	0'273	0'380	0'402
IV	2	1'00	3	0'1	0'363	0'500	0'518
V	2'5	1'25	2'5	0'1	0'454	0'614	0'600
VI	3	1'50	2	0'1	0'554	0'700	0'648
VII	3'5	1'75	1'5	0'1	0'654	0'757	0'685
VIII	4	2'00	1	0'1	0'714	0'796	0'686
IX	4'5	2'25	0'5	0'1	0'755	0'820	0'653
X	5	2'50	—	0'1	0'820	0'845	0'664

Las lecturas realizadas a las cinco horas de practicada la reacción, acusan una disminución de intensidad de color que se inicia en el tubo V (contenido de acetilfenetidina 1,25 mg.) y se acentúa al aumentar la proporción de acetilfenetidina. Las lecturas efectuadas a la hora parecen seguir la ley de Beer entre los tubos I y VII, y las realizadas a las dos horas y media parecen seguirla entre los tubos I y V.

Consecuentes con los resultados obtenidos preparamos una disolución de acetilfenetidina al 0,25 por 1000 en ácido clorhídrico 3 N, con arreglo a lo anteriormente expuesto que ensayamos de la misma manera, tomando las cantidades que se indican en el Cuadro II y obteniendo las lecturas, que también se expresan, a la hora, dos horas y tres horas.

CUADRO II

Tubo	ACETILFENETIDINA		CIH 3 N ml.	Cr ₂ O ₇ K ₂ Sol 1 % ml.	Densidad óptica a las horas		
	Sol. 0,25 ml.	o/oo mg.			1	2	3
I	2'5	0'625	3'5	0'1	0'121	0'155	0'191
II	3	0'750	3	0'1	0'185	0'220	0'251
III	3,5	0'875	2'5	0'1	0'205	0'257	0'288
IV	4	1,000	2	0'1	0'248	0'308	0'352
V	4'5	1'125	1'5	0'1	0,280	0'357	0,401
VI	5	1'250	1	0'1	0'326	0'407	0'460
VII	5,5	1'375	0'5	0'1	0'392	0'467	0'517
VIII	6	1'500	—	0'1	0'436	0'516	0'559

Se observa una mayor regularidad en los resultados, de manera especial en los correspondientes a las lecturas efectuadas a las dos horas que siguen exactamente una función lineal.

Con el fin de fijar la concentración óptima de la disolución de dicromato potásico se han ensayado concentraciones comprendidas entre el 0,1 y el 1 por 100, determinando en todas las experiencias la densidad óptica a la hora y media, dos horas y dos horas y media, consiguiendo los mejores resultados con la disolución al 0,4 por 100. En el Cuadro III y en la Gráfica n.º 3 se reúnen los valores correspondientes a una media de diez determinaciones con la solución óptima de reactivo.

CUADRO III

Tubo	ACETILFENETIDINA		ClH 3 N ml.	Cr ₂ O ₇ K ₂ Sol. 0,4 % ml.	Densidad óptica a las horas		
	Sol. 0,25 ml.	0,00 mg.			1 1/2	2	2 1/2
I	2'5	0'625	3'5	0'1	0'174	0'187	0'204
II	3	0'750	3	0'1	0'227	0'258	0'272
III	3'5	0'875	2'5	0'1	0'277	0'306	0'323
IV	4	1'000	2	0'1	0'318	0'351	0'369
V	4'5	1'125	1'5	0'1	0'364	0'397	0'419
VI	5	1'250	1	0'1	0'420	0'448	0'468
VII	5'5	1'375	0'5	0'1	0'458	0'484	0'503
VIII	6	1'500	—	0'1	0'512	0'533	0'550

Basándose la reacción de la acetilfenetidina en una oxidación del grupo amino de la p-fenetidina por acción del dicromato en medio ácido, era lógico pensar que el tiempo de hidrólisis debía influir en la intensidad de la reacción coloreada. Con el fin de comprobarlo se ha ensayado la ebullición durante uno, dos, tres y cinco minutos (+ 10 segundos), obteniendo los resultados que se reúnen en el Cuadro IV y Gráfica n.º 4.

CUADRO IV

Tubo	ACETILFENETIDINA		ClH 3 N ml.	Cr ₂ O ₇ K ₂ Sol 0,4 % ml.	Tiempo de ebullición			
	Sol. 0,25 ml.	0,00 mg.			1 min.	2 min.	3 min.	5 min.
I	3	0'750	3	0'1	0'160	0'284	0'278	0'252
II	3'5	0'875	2'5	0'1	0'198	0'335	0,325	0'295
III	4	1'000	2	0'1	0'240	0'385	0'361	0'317
IV	4'5	1,125	1'5	0'1	0'297	0'434	0'401	0'345
V	5	1,250	1	0'1	0'352	0'476	0'430	0,384
VI	5'5	1'375	0'5	0'1	0'404	0'521	0'458	0'400
VII	6	1'500	—	0'1	0'455	0'568	0'480	0'435

La mayor intensidad de color y al mismo tiempo mayor regularidad se consigue con un tiempo de ebullición de dos minutos; si se prolonga, los valores obtenidos son inferiores, de manera especial a medida que aumenta la concentración de la acetilfenetidina. Podría ser debido a que el grupo etoxi de la p-fenetidina que seguramente matiza la coloración, comience a hidrolizarse, ya que como óxido lo hace más lentamente que el grupo acetilamino.

Con el fin de completar el tiempo óptimo de lectura en que se realice de manera más correcta la proporcionalidad entre la intensidad de color y la concentración, se repite el ensayo con la disolución problema al 0,25 por 1000 en ácido clorhídrico 3 N, hirviendo durante dos minutos, adicionando disolución de dicromato potásico al 0,4 por 100, y se lee a la hora, dos horas, dos horas y media y tres horas. Los valores obtenidos se agrupan en el Cuadro V y Gráfica n.º 5.

CUADRO V

Tubo	ACETILFENETIDINA		ClH 3 N ml.	Cr ₂ O ₇ K ₂ Sol. 0,4 % ml.	Densidad óptica a las horas				
	Sol. 0,25 ml.	0,100 mg.			1	2	2 1/2	3	5
I	3	0'750	3	0'1	0'185	0'274	0'289	0'326	0'334
II	4'5	1'125	1'5	0'1	0'280	0'420	0'436	0'432	0'435
III	6	1'500	—	0'1	0'436	0'578	0'583	0'550	0'520

Los mejores resultados se obtienen efectuando las lecturas a las dos horas y media.

Técnica

Para practicar determinaciones en serie debe construirse, previamente, una curva patrón con los valores obtenidos, aplicando la siguiente técnica: Cincuenta miligramos de acetilfenetidina pura y desecada; se colocan en un vaso de precipitados de 300 ml. y se añaden 200 ml. de ácido clorhídrico 3 N; se lleva a ebullición y se cuentan dos minutos (+ 10 segundos) a partir del momento en que empieza a hervir, agitando durante todo este tiempo con una varilla para evitar que quede producto sin ponerse en contacto con el líquido. Se deja enfriar y se trasvasa a un matraz aforado de 200 ml., completando con ácido clorhídrico 3 N hasta el enrase.

En siete tubos de ensayo se disponen cantidades crecientes de 3 a 6 ml. (progresión aritmética de razón 0,5) de la disolución de acetilfenetidina hidrolizada; se completa en todos ellos el volumen a 6 ml con ácido clorhídrico 3 N y se adiciona también a todos ellos 0,1 ml. de disolución de dicromato potásico al 0,4 por 100. Se lee la coloración empleando filtro verde n.º 3; a las dos horas y media y con las lecturas obtenidas se construye la gráfica.

Para efectuar una determinación con acetilfenetidina problema se opera de la misma manera, preparando la disolución problema a una concentración aproximada a 0,25 por 1000. Para lograr la mayor exactitud es aconsejable disponer en dos o tres tubos de ensayo 4,5 ml. de la disolución problema y operar con ellos como se ha indicado para el patrón.

El método se ha utilizado para la valoración de la acetilfenetidina en comprimidos de diversas especialidades farmacéuticas que la contienen con resultados satisfactorios, habiéndose comprobado que no la interfieren antipirina, ácido acetyl-salicílico, isopropilfenazona, efedrina, cafeína, dionina, luminal, fosfato de codeína y sulfato de anfetamina ni los excipientes con que se prepararon. En cambio el método no es válido en presencia de piramidón o meprobramato por no producirse la coloración.

Conclusiones

- 1.^a—Se propone un método colorimétrico para la valoración de acetilfenetidina basado en la oxidación por el dicromato potásico de la acetilfenetidina previamente hidrolizada, aplicable a la determinación de cantidades comprendidas entre 0,75 mg. y 1,50 mg. de la misma.
- 2.^a—No interfieren la valoración sustancias que habitualmente se le asocian en forma de comprimidos como antipirina, ácido acetil-salicílico, isopropilfenazona, efedrina, cafeína, dionina, luminal, fosfato de codeína y sulfato de anfetamina.
- 3.^a—El método no puede emplearse en presencia de piramidón o meprobramato

RESUMEN

Se propone un micrométodo fotolorimétrico de valoración de acetilfenetidina basado en la coloración rojo púrpura que se produce al oxidar con dicromato potásico la p-fenetidina resultante de la hidrólisis de la acetilfenetidina. Permite determinar cantidades de acetilfenetidina comprendidas entre 0,75 mg. y 1,5 mg. El método tiene pocas interferencias.

RESUMÉ

On propose une microméthode photolorimétrique pour le dosage de l'acétylphénétidine basée en la couleur rouge pourpre qu'on obtient par oxidation de la p-phénétidine, provenant de l'hydrolyse de l'acétylphénétidine, avec le dichromate de potassium. On peut titrer un poids de produit problème compris entre 0,75 et 1,5 mg. Cette méthode a peu d'interferences.

SUMMARY

A photolorimetric micromethod for determination of acethylphenetidine, which is based on the red-dye coloration produced in oxidizing with $K_2Cr_2O_7$ the p-phenetidine which results from the hydrolysis of the acethylphenetidine is proposed. Amounts between 0,75 mg. and 1,5 mg. can be determined. The method has few interferences.

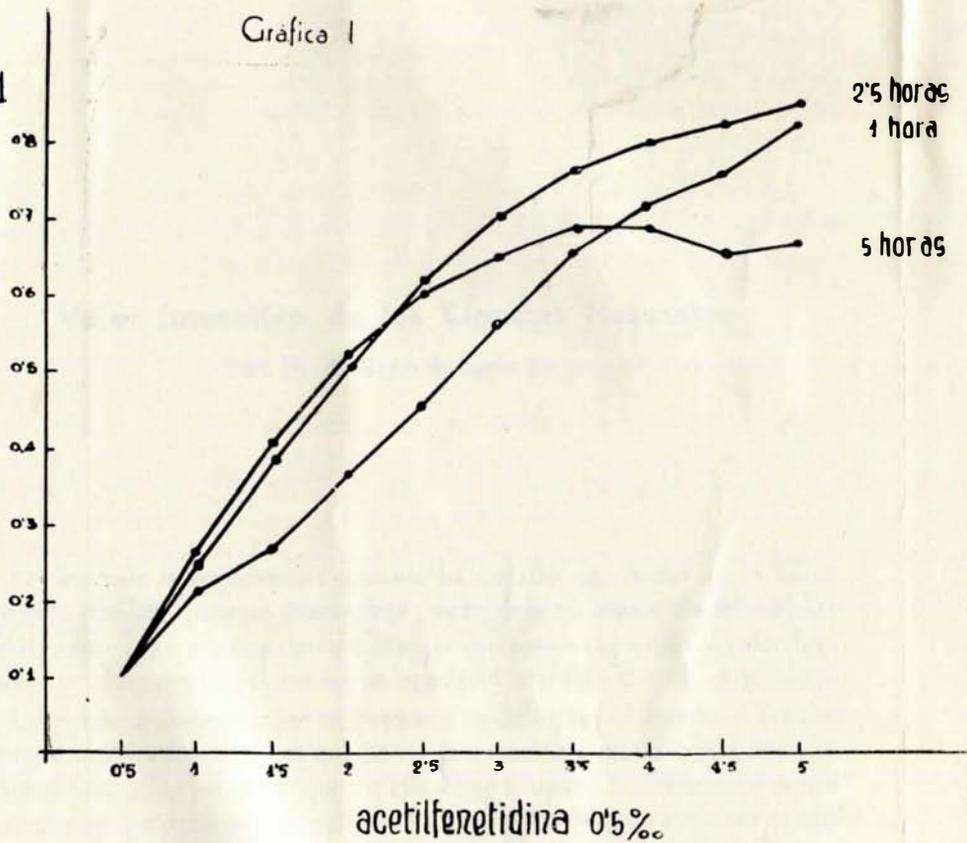
BIBLIOGRAFIA

- 1.—C. H. CUNOV, V. R. AMEISS Y J. F. WEILER.—Proc. Am. Pharm. Mfrs. Assoc. 1943, Mid Year Meeting. 38-40, de Ch. A. 38, 43832 (1944).
- 2.—E. HELLEVURI Y H. SEYDLITZ.—Svensk Farm. Tid. 50, 553 (1946), de Ch. A. 41, 565 b (1947).
- 3.—J. G. DEVI Y M. L. KHORANA.—Indian J. Pharm. 15, 193 (1953), de Ch. A. 48, 11004 i (1954).
- 4.—G. DI BACCO.—Boll. Chim. Farm. 93, 366 (1954).
- 5.—R. E. PANKRATZ Y F. J. BAUDELIN.—J. Amer. Pharm. Ass., Sc. Ed., 45, 364 (1956), de Galenica Acta IX, 351 (1956).
- 6.—F. J. BAUDELIN Y R. E. PANKRATZ.—Anal. Chem. 28, 218 (1956), de Ch. A. 50, 7666 g (1956).
- 7.—E. F. DEGNER Y L. T. JOHNSON.—Anal. Chem. 19, 330 (1947).
- 8.—J. D. DEVI Y M. L. KHORANA.—Indian J. Pharm. 15, 168 (1953), de Ch. A. 49, 3477 i (1955).
- 9.—TAKANOBAY ITAI Y SHOZO KAMIYA.—Yakugaku Zasshi 77, 554 (1957), de Ch. A. 51, 12433 (1957).
- 10.—O. FALEX.—Australasian J. Pharm. 37, 7 (1956), de Ch. A. 50, 11616 h (1956).
- 11.—G. SCANDARELLI. Boll. Chim. Farm. 86, 196 (1947).
- 12.—A. CASSINI.—Ann. Chim. (Roma) 41, 611 (1951), de Ch. A. 46, 9787 g (1952).
- 13.—H. BERAL, R. VASILIEV, D. POPESCU, N. VITEO, V. GAMENTZ Y M. NICOLA.—Lucrarile prezentate conf. natl. farm. (Bucarest) 175 (1958), de Ch. A. 53, 4654 f (1959).
- 14.—S. E. POPOV.—Med. Prom. U. S. S. R. (3) 31 (1949), de Ch. A. 44, 797 a (1950).
- 15.—W. H. WASLIBURN Y E. O. KRUEGER.—J. Amer. Pharm. Ass., Sc. Ed., 38, 623 (1949), de Ch. A. 44, 1648 a (1950).

- 16.—W. H. WASLIBURN Y E. O. KRUEGER. —J. Amer. Pharm. Ass., Sc. Ed. 39, 473. (1950), de Medicamenta IV, 202 (1950).
- 17.—T. V. PARKE, A. M. RIBLEY, E. E. KENNEDY Y W. W. HILTY.—Anal. Chem. 23, 953 (1951), de Ch. A. 45, 9796 i (1951).
- 18.—M. JONES Y R. T. THATCHER.—Anal. Chem. 23, 957 (1951), de Ch. A. 45, 9797 (1951).
- 19.—J. LEVINE. —J. Amer. Pharm. Ass., Sc. Ed., 46, 687 (1957).
- 20.—G. SMITH.—J. Ass. Off. Agr. Chemists, 42, 462 (1959), de Ch. A. 53, 19301. g (1959).
- 21.—D. HORN.—Pharm. Zentralh. 90, 296 (1951), de J. Pharm. Pharmacol. 4, 204 (1952).
- 22.—J. ARIAS C.—An. Fac. Farm. Bioqu., Univ. San Marcos (Lima) 6, 519 (1955)
- 23.—A. JINDRA, M. PALKOVA Y J. ZYKA.—Czechoslov. farm. 1, 320 (1952), de Ch. A. 46, 11581 d (1952).
- 24.—MILLER.—Am. J. Pharm., 89, 156 (1917).
- 25.—L. I. RAPAPORT, F. D. YARATSKAYA Y I. V. RAKSHEUSKAYA.—Aptechnoe. Delo. 5, (2) 15 (1956), de Ch. A. 51, 5370 e (1957).
- 26.—AFANAS EV.—Aptechnoe Delo 2 (4) (1953), de Galenica Acta VII 34 1954.
- 27.—EMERY.—J. Am. Chem. Soc., 38, 114 1916.
- 28.—J. MIKO.—Ph. Zentralh., 33, 179 1932.
- 29.—G. WEISSMANN.—Zeit. Anai. Ch., 93, 31 (1933).
- 30.—E C. WOLLICH, R. J., COLARRUSO, C. W. PIFER Y M. SCHMALL —Anal. Chem. 26, 1753 (1954) de Galenica Acta VIII, 140 (1955) y Ch. A. 49, 2673 (1955).
- 31.—J. G. Baldinus y I. Rothberg; J. Am. Pharm. Ass., Sc. Ed., 48, 318 (1959).

Gráfica 1

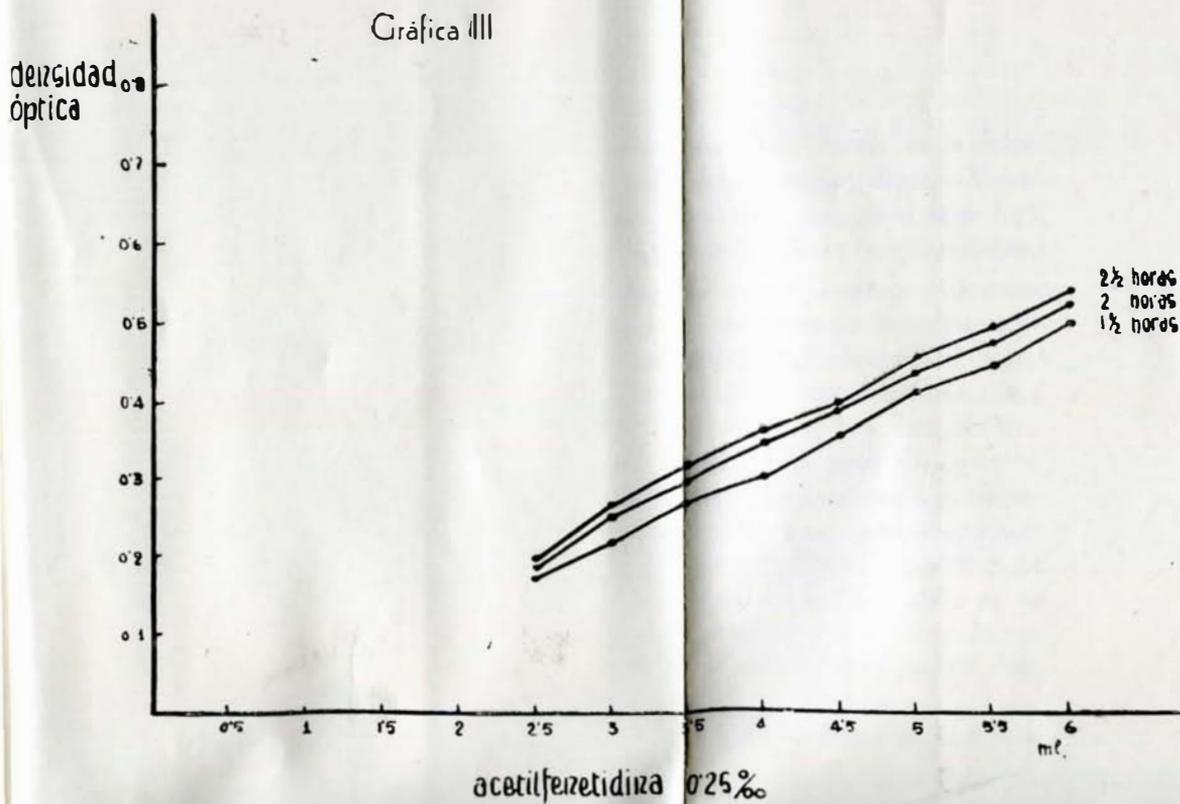
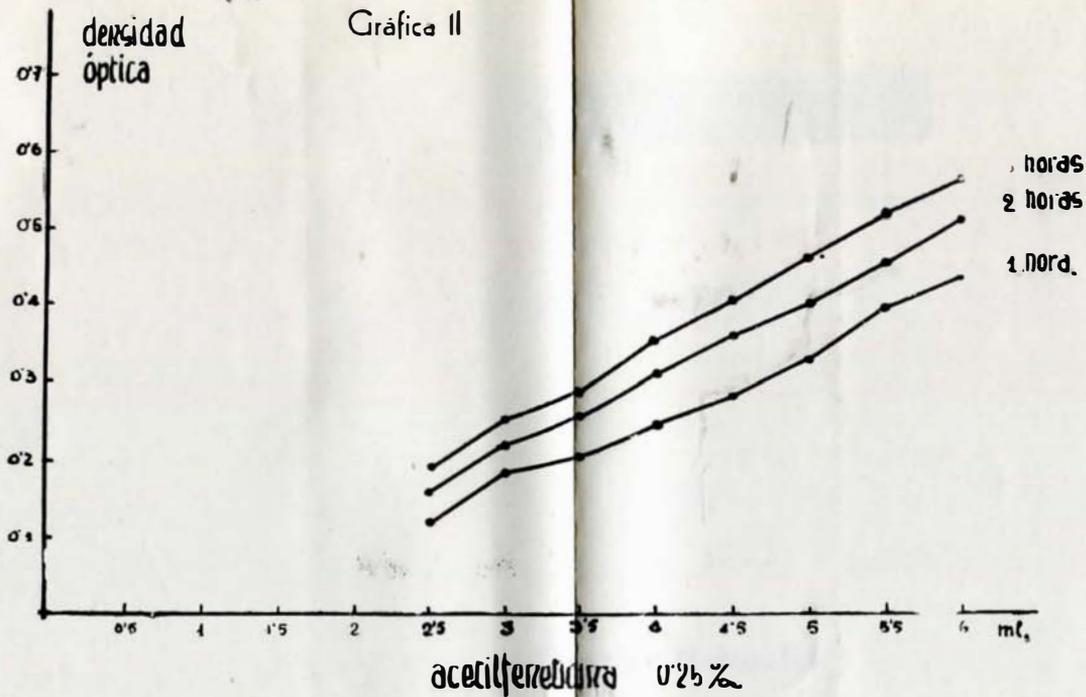
densidad
óptica



2.5 horas
1 hora

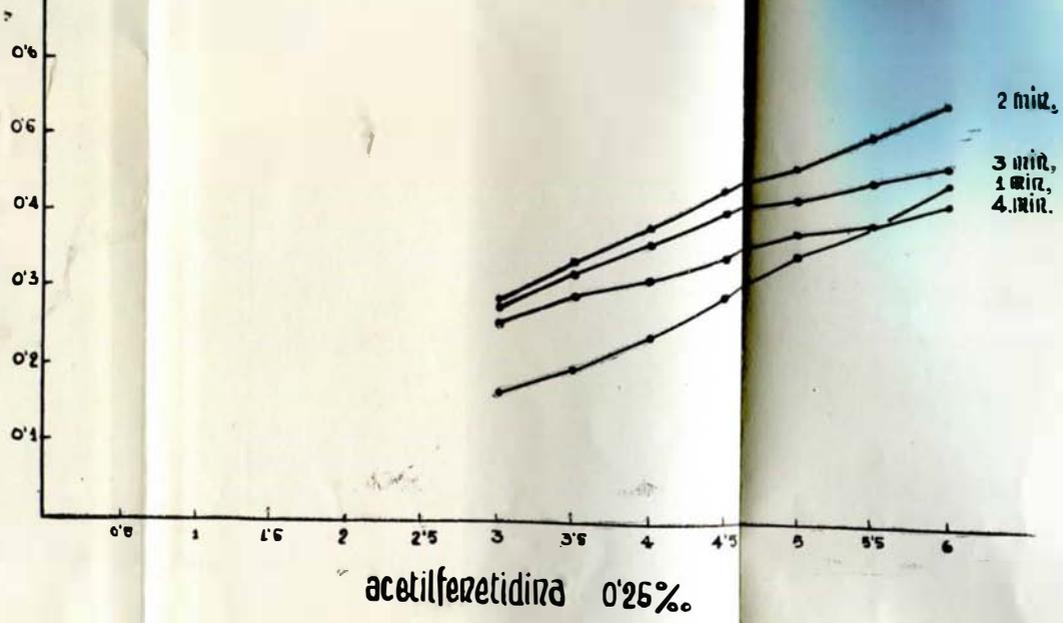
5 horas

acetilfenetidina 0.5%



densidad
óptica

Gráfica IV



Gráfica V,

densidad
óptica

