

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO
FACULTAD DE QUIMICA



59

**CONTRIBUCION AL ESTUDIO DE LA SUSTAN-
CIA DENOMINADA PENTOBARBITAL**

FERNANDA MARGARITA BECERRIL MEDINA

QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

1978



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

TESIS 1978

NO. M. 56
CICLO
CARRERA
SEMESTRE



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

LIBRERÍA UNIVERSITARIA

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

JURADO ASIGNADO ORIGINALMENTE
SEGUN EL TEMA

PRESIDENTE	IGNACIO DIEZ DE URDANIVIA
VOCAL	CONSUELO HIDALGO MONDRAGON
SECRETARIO	TERESA COPPOLA FERNANDEZ
1er. SUPLENTE	ANA MARIA CHAVEZ
2do. SUPLENTE	RAFAEL ZENDEJAS GUIZAR

nombre completo y firma del sustentante

FERNANDA MARGARITA BECERRIL MEDINA

nombre completo y firma del asesor del tema

Q.F.B. IGNACIO DIEZ DE URDANIVIA

Al Sacrificio y Abnegación
de mis Padres.

Con Cariño a mis Hermanos

A mi Tío Teodoro que tanto me
quizo y aliento. Mi gratitud
siempre estara contigo.

A mis Amigos:

Porque sin ellos que opaca y
gris sería la vida.

Con afecto y un especial agradecimiento
a los Profesores: Ana María Méndez e
Ignacio Díez, por haberme ayudado a
elaborar el presente trabajo.

I N D I C E

CAPITULOS	Pág.
I.- INTRODUCCION	1
II.-GENERALIDADES	2
a).- Farmacología	4
b).- Síntesis	13
c).- Química	15
III.-IDENTIFICACION	
a).- Microcristalografía	17
b).- Cromatografía	23
c).- Infrarrojo	40
d).- Espectroscopia de Raman	45
e).- Resonancia magnética nuclear.....	49
IV.-CONCLUSIONES	55
V.-BIBLIOGRAFIA	57

C A P I T U L O I

INTRODUCCION

La identificación del pentobarbital, es necesaria para la ciencia forense en vista de la importancia de este compuesto en su aplicación clínica.

Debido a la gran demanda de este tipo de compuestos, y a la facilidad de adquisición que poseen, tiene como consecuencias problemas graves tales como: intoxicaciones, ya sea en forma accidental o de suicidio. Por lo tanto el reconocimiento del petobarbital es un gran problema para la química forense.

Los métodos de identificación de esta substancia no son satisfactorios para los propósitos del análisis toxicológico forense, por lo tanto se requieren métodos más sensitivos, que puedan diferenciar un barbitúrico de otro.

Para identificar al pentobarbital es necesario hallar en las diferencias técnicas analíticas los siguientes requisitos: máxima sensibilidad, especificidad, exactitud, confiabilidad y fácil manipulación.

El presente trabajo tiene como objetivo encontrar diferentes métodos analíticos, para la identificación del pentobarbital.

C A P I T U L O II

GENERALIDADES

El pentobarbital es una barbitúrico usado clínicamente como; hipnótico, anestésico y analgésico.

El descubrimiento de las propiedades hipnóticas de los barbitúricos fué hecha por Fischer y Von Mening en 1903. Fischer y Ditley prepararon un gran número de dialquil barbitúricos por -- condensación del dietil alquil malonatos con la urea, utilizando etilato de sodio como agente condensador.

Trabajos posteriores hechos por los Estados Unidos sobre -- la sustitución del ácido barbitúrico, dió como resultado el desarrollo del 5-iso-amyl-5-etil barbitúrico (amobarbital), anestésico efectivo. Un incremento adicional se encontró, cuando el grupo amílico secundario fué sustituido por un grupo iso-amílico -- primario del amobarbital. Esta sustitución dió como origen al -- pentobarbital, anestésico empleado en menor dosis que el amobarbital y cuyo tiempo de duración es ligeramente más corto.

Estas alteraciones estructurales que aumentan la solubilidad del barbitúrico en lípidos se acompañan del período de latencia para que inicie su actividad, degradación metabólica más rápida y con frecuencia aumento de la potencia hipnótica.

El pentobarbital al igual que los demás barbitúricos son --

generalmente depresores: deprimen la actividad nerviosa, del -- músculo esquelético, del músculo liso y del músculo cardiaco.

Estas sustancias están consideradas como estupefacientes por el código sanitario en vigor. Su empleo en el campo de la medicina, así como su manejo en la investigación científica, -- tiene estrictas medidas de vigilancia y control.

Aún cuando la farmacodependencia por este tipo de sustancias no es grave en México, no por ello deja de ser problema, - cuyas consecuencias registran un incremento fácilmente perceptible.

El código sanitario contiene disposiciones necesarias para encausar el uso adecuado de estas sustancias en la medicina y en la investigación, así también para evitar el empleo indebido, con perjuicios de la salud de las personas y de la colectividad.

FARMACOLOGIA

El pentobarbital, al igual que los demás derivados del -- ácido barbitúrico es un depresor general. Deprimen muchas y di versas funciones celulares en órganos vitales, sin embargo debe señalarse que el sistema nervioso central es muy sencible a sus efectos. En dosis sedante o hipnótica es clara su manifesta--- ción sobre sistema nervioso central, mientras que para observar su acción directa sobre otras estructuras periféricas es neces ario una mayor concentración de dosis.

En efecto de los barbitúricos en los diferentes organis-- mos es el siguiente.

TRANSMISION QUIMICA

Los barbitúricos modifican el mecanismo de la transmisión sináptica, estos medicamentos reducen la excitabilidad de las - células postsinápticas por alteración de la permeabilidad de la memembrana, elevan el umbral y extinción del período refractario de las células postsinápticas.

EFECTOS BIOQUIMICOS

Los barbitúricos desacoplan la fosforilación oxidativa e inhiben el sistema de transporte electrónico. Estos medicamen- tos incrementan los niveles de acetil colina en el tejido cere-

bral e inhiben la actividad de la anhidrasa carbónica cerebral, pero no afectan los niveles de serotonina. Hay un marcado decremento en el proceso metabólico oxidativo y en las actividades del cerebro.

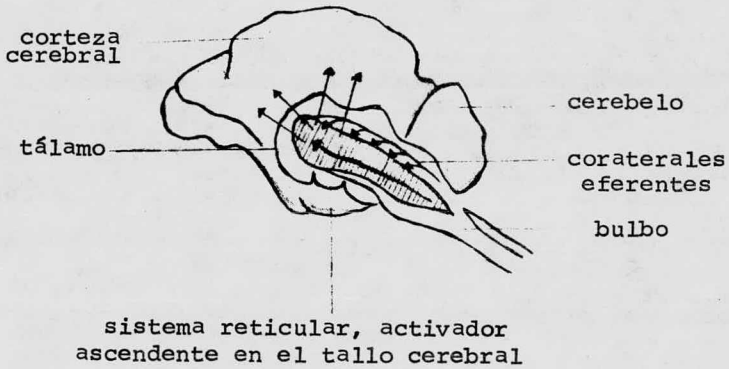
SISTEMA NERVIOSO CENTRAL

Su efecto sobre este sistema depende: del tipo de barbitúrico que se haya escogido, la dosificación, la vía de administración y también en gran parte del nivel de estabilidad refleja del sistema nervioso del paciente en el momento que se administra el medicamento.

Estos compuestos deprimen el sistema nervioso central, el tipo de depresión va desde una ligera sedación hasta el estado de coma.

Los barbitúricos ejercen su acción, en el proceso de la transmisión sináptica del sistema de activación reticular, y la certeza cerebral se torna desactivada (fig. 1). Es el efecto en el sistema reticular el que parece causar la imposibilidad de mantenerse despierto bajo la influencia del barbitúrico.

Por consiguiente, la acción depresora central se utiliza para calmar la exaltación, provocar el sueño, inhibir las convulsiones y lograr una anestesia quirúrgica basal completa.



HIPNOTICOS

Uno de los principales usos de los barbitúricos es el de producir el sueño, este tipo de sueño se parece en sus características, al sueño fisiológico. Su similitud esra en sus cambios cíclicos de estado, actividad en el electroencefalograma de frecuencia relativamente alta, movimientos fásicos de las extremidades, señalada disminución en la tensión muscular tónica y sueño. La diferencia es que hay una disminución en los movimientos oculares por parte de los barbitúricos.

La somnolencia puede durar pocas horas después de una dosis hipnótica, pero sus efectos ulteriores son de larga duración estos efectos pueden ser: turbación del temple, falta de capaci-

dad del juicio, disminución de la destreza motora, etc.

ANESTESIA

En dosis suficiente los barbitúricos, producen anestesia quirúrgica, caracterizada por el mismo tipo de depresión, de de canso irregular en el eje cerebro espinal que los anestésicos vo látiles. Sin embargo hay una gran diferenciación de los barbitúricos, en su acción sobre cerebro y médula.

ANALGESIA

Los barbitúricos no son analgésicos verdaderos. Sin embar go la combinación del barbitúrico con un analgésico, ayuda a potenciar la acción de este último.

RESPIRACION

Por medio de este tipo de medicamentos los centros respira torios se ven afectados en el impulso de la respiración y en el mecanismo de la ritmicidad de los movimientos respiratorios.

Los efectos de una dosis hipnótica de un barbitúrico por vía gástrica se parece bastante, a los inducidos por el sueño na tural. Donde hay disminución de la ventilación alveolar, aumento de la presión alveolar de CO₂, y ligera disminución en la saturación de oxígeno de la sangre arterial.

Conforme se aumenta la dosis del barbitúrico se va disminuyendo la sensibilidad del centro respiratorio, hacia el estímulo normal de CO₂ y del pH. Esto no ocurre con el impulso hipóxico, el cual persiste aún cuando el grado de intoxicación - insensibiliza completamente los centros respiratorios al CO₂ y al pH. Finalmente si la concentración del barbitúrico es muy grande falla el impulso hipóxico.

La muerte por envenenamiento con barbitúricos es debida a una insuficiencia respiratoria. Una de las principales limitaciones del uso de los barbitúricos de acción ultra corta en la anestesia quirúrgica, es precisamente la depresión respiratoria.

APARATO CARDIOVASCULAR

Los barbitúricos aún administrados por vía intravenosa - para dosis anestésica, no son tóxicos para el miocardio y no alteran el ritmo ni la conducción.

En grandes dosis deprimen el centro vasomotor, ocasionando vasodilatación. La concentración excesiva del barbitúrico puede dilatar y lesionar el lecho capilar en tal grado que se origina un choque.

Los efectos cardiovasculares que se observan en la intoxicación aguda con barbitúricos son, en gran medida secundarios

a la hipoxia, causada por la depresión respiratoria. El paro -- respiratorio y no el cardiaco es casi siempre la causa de la -- muerte cuando se administra dosis letales de barbitúricos por -- vía endovenosa en el hombre.

ABSORCION, DISTRIBUCION Y EXCRECION

Los barbitúricos se absorben facilmente en el estómago, -- el intestino delgado, lo mismo que por el recto, el tejido sub- cutáneo y el músculo.

Tras la absorción o la administración intravenosa, los -- compuestos se distribuyen en todos los tejidos y líquidos orgá- nicos debido a que no existe ninguna barrera impenetrable que -- se lo impida. Una vez absorbidos, se fijan en grado variable a las proteínas plasmáticas (principalmente con albúmina), esta -- fijación varia según el tipo de barbitúrico, su fijación por -- los tejidos también muestra diferencias importantes, por ejem-- plo el tiopental puede concentrarse seis veces más en la grasa corporal que en el plasma, mientras que el pentobarbital no se concentra en el tejido grado.

Parte de los barbitúricos se excretan y otra parte se des -- truyen completamente en el organismo.

El hígado es el órgano más importante para la desintoxica -- ción de los barbitúricos, aunque el tejido renal, cerebral y -- muscular pueden inactivar in vitro a muchos de los barbitúricos.

Los barbitúricos destruidos en el hígado lo son principalmente por oxidación de los radicales en la posición 5. Los productos de degradación son inactivos.

Los barbitúricos que no se destruyen en el organismo se excretan en la orina. La eliminación renal de algunos barbitúricos es la causa de la toxicidad acumulativa que ocurre por su uso continuo.

TOXICIDAD

La intoxicación con barbitúricos puede ser con intenciones suicidas o accidentales, es raro que por la idiosincracia sea la base de la intoxicación.

Los signos y síntomas de envenenamiento por barbitúricos son referibles especialmente al sistema nervioso central y al aparato cardiovascular. La intoxicación moderada simula a la embriaguez alcohólica. En la intoxicación grave, el paciente se encuentra comatoso, en gran disminución de la actividad refleja. Durante el curso de la intoxicación, llega a mostrar dilatación parálitica por hipoxia. La respiración se afecta primeramente, y puede ser lenta, o rápida y superficial.

La presión sanguínea desciende en parte por la acción directa del medicamento sobre el miocardio, los ganglio simpáticos y el músculo liso y, en parte por la hipoxemia.

El paciente adquiere entonces el típico síndrome de cho--

que con pulso rápido, piel fría y sudorosa.

TRATAMIENTO

Si el barbitúrico se ha tomado por vía oral, hay que efectuar lavado gástrico con agua caliente, por medio de la sonda gástrica para retirar los restos de la sustancia.

El paciente gravemente intoxicado, hay que mantener sin demora un nivel suficiente en el intercambio respiratorio y la presión. Debe administrarse oxígeno en cantidades suficientes.

La principal causa de muerte por envenenamiento con barbitúrico es el colapso circulatorio, la hipotensión anuncia el comienzo del choque.

Se administra sangre total, plasma o un expansor de plasma, si el choque se disminuye se añade un vasopresor al líquido de infusión.

Cuando se produce insuficiencia renal, se ocurre a la hemodiálisis, la hemodiálisis es más eficaz con los barbitúricos de acción larga que con los de acción corta. Estos por ser liposolubles se extraen mejor empleando un dializado que contenga lípidos.

USOS TERAPEUTICOS

HIPNOTICOS

Si el paciente tiene dificultad para quedarse dormido, se

elige los barbitúricos de acción corta. Si la queja del individuo es que despierta muchas veces durante la noche o muy temprano, puede darse el medicamento de larga duración.

El uso diario de una dosis hipnótica de un barbitúrico puede llegar a producir hábito.

SEDANTE

La dosis sedante de los barbitúricos son de un tercio o de un cuarto de la dosis hipnótica.

Entre las causas más frecuentes en que se usa la dosis hipnótica del barbitúrico figuran los estados de tensión y ansiedad, hipertiroidismo, náuseas de origen funcional, mareos, etc.

La acción sedante tiene también valor para vencer los efectos de estimulación central causados por la efedrina, bencedrina y las sustancias afines.

ANALGESIA

Los barbitúricos no son analgésicos primarios. Los pacientes sufren estímulos dolorosos cuando se le administra dosis anestésica de barbitúricos. Sin embargo se ha visto que el empleo del barbitúrico y el analgésico no narcótico tiene mayor eficacia para calmar el dolor, que si se administra solo el analgésico. Por lo tanto la función del barbitúrico es el de potenciar la acción del analgésico.

SINTESIS DEL PENTOBARBITAL

La síntesis del pentobarbital, se lleva a cabo por medio de la condensación de un éster malónico disustituido y la urea.

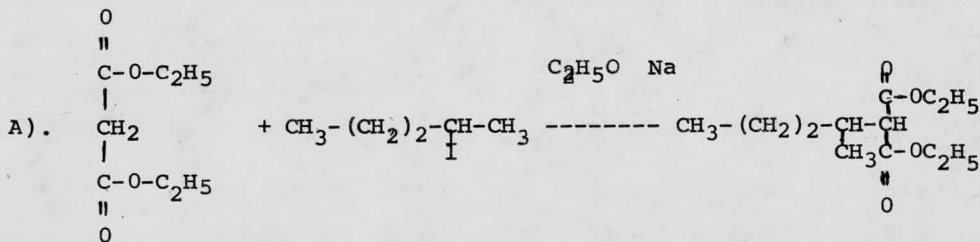
El intermediario éster malónico disustituido fué preparado por la acción del 2-yodo pentano con el éster malónico en presencia del etilato de sodio, formandose el éster dietílico del ácido metil-butil malónico.

A este producto se le trata con yoduro de etilo y etilato de sodio, dando como resultado el éster dietílico del ácido metil-butil, - etil malónico.

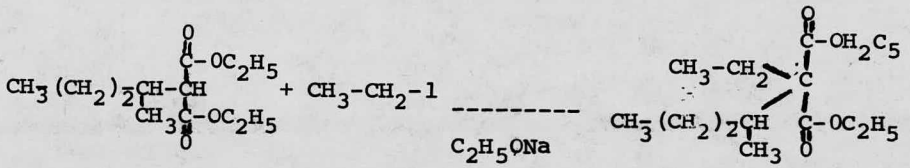
El último paso es llevar a cabo la condensación del éster malónico disustituido con la urea, en presencia de etilato de sodio dando como resultado a el pentobarbital.

REFACCIONES

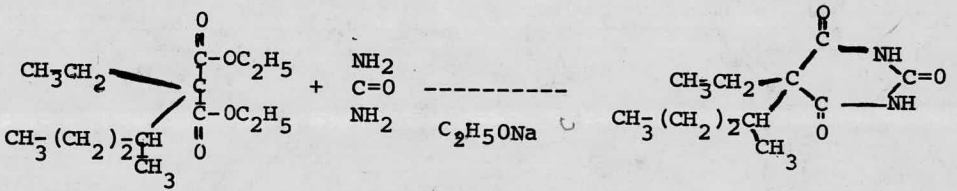
1.- Formación del éster dietílico del ácido metil-butil, etil malónico.



B)

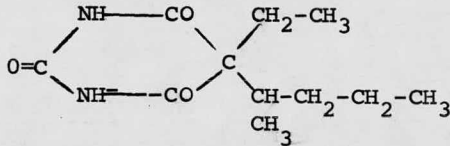


2.- Condensación



QUIMICA

1).- FORMULA ESTRUCTURAL



2).- SINONIMOS.- Pentobarbital (USP)

Pentobarbitone (B.P)

5-etil-5(1-metil butil) barbitúrico

Nembutal

Embutal

Nebutal

3.- PROPIEDADES: FISICAS Y QUIMICAS

a).- Peso molecular.- 266.27

b).- Punto de fusión.- 128-129°C en forma ácida

c).- pKa.- 8.11

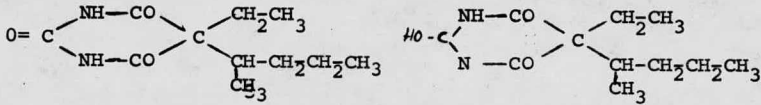
d).- Solubilidad.- Muy soluble en: alcohol, metanol, éter y --
cloroformo.ligeramente soluble en: agua y tetracloruro de carbono, in
soluble en: benceno.

e).- Metales pesados.- Límite 0.002%

f).- Residuos de ignición.- Límite 0.1%

g).- Acidez.- El pentobarbital al igual que los demás barbitú-
ricos, tiene carácter ácido, debido a que la for

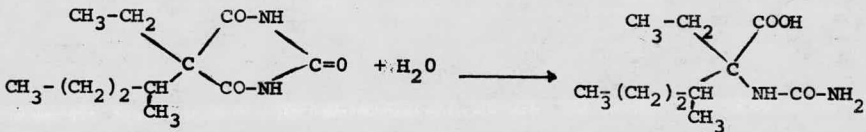
ma lactama esta en equilibrio con la forma lacti-
ma, cuyo hidrógeno es fácilmente sustituible pa-
ra formar sales alcalina:



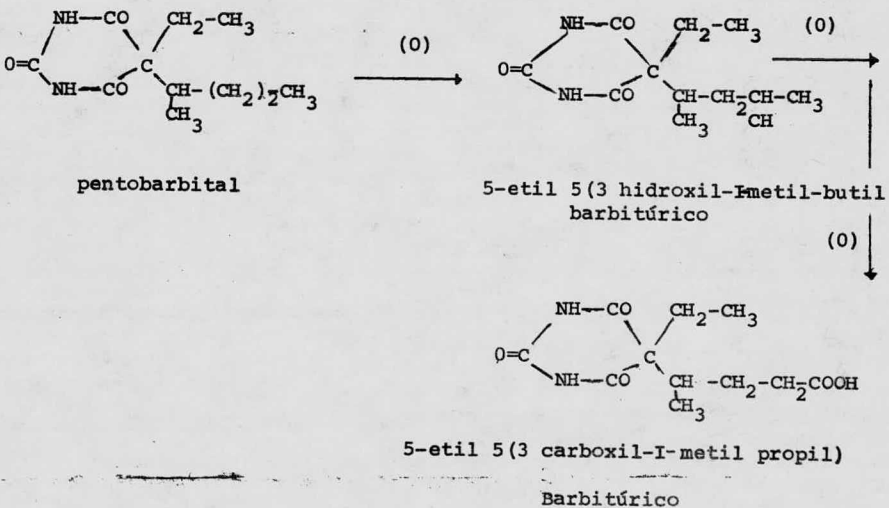
LACTAMA

LACTIMA

h).- **Descomposición hidrolítica.**- El pentobarbital sufre esta -
descomposición, generalmente la ruptura es en la posición
1,6.



i).- **Descomposición oxidativa**



MICROCRISTALOGRAFIA

El análisis microcristalino es un ensayo, en el cual se identifican sustancias químicas en pequeñas cantidades.

Los modernos ensayos microcristalográficos están altamente desarrollados en las reacciones de precipitación química. La reacción del compuesto problema con el reactivo son fácilmente formados, ya que no requiere calentamiento, ni el tener que hacer varias reacciones.

Este tipo de análisis es fácil y espontáneo aunque no profundo, muy a menudo se usa el microscopio de luz polarizada, para observar y distinguir las diferentes clases de formas microcristalinas, y características diferenciales en su naturaleza.

Aunque hoy en día este tipo de ensayo es reemplazado por métodos instrumentales, es de gran valor para propósitos confirmatorios. Es muy útil cuando se tiene que identificar, compuestos de constitución muy similar.

En su forma más simple, esta prueba consiste en mezclar una gota de la solución por analizar con una gota del reactivo, sobre un porta objetos, y observar los cristales formados, en el microscopio, para ser comparados contra patrones de cristales ya establecidos.

IDENTIFICACION MICROCRISTALOGRAFICA

1.- REACCION CON $I-KI-2H_2PO_4$ a).- Reactivo.- $I-KI-2H_2PO_4$

Disolver 5g. de I y 80g. de KI en 78ml. de agua, después se lleva a 100ml. Diluir con dos partes por volumen con H_2PO_4 .

b).- Procedimiento

En un porta objeto, disolver pequeña cantidad de barbitúrico, adicionarle una gota de agua y una de NaOH al 1%, agitar y mezclar. Adicionarle una gota de reactivo, esperar a que -- forme los cristales. Comparar los cristales formados con un -- control.

c).- Resultados

El pentobarbital cristaliza lentamente y en gran número, -- su tamaño es pequeño.

2.- REACCION CON $H_2PtCl_6(NaI)-4H_3PO_4$

a).- Reactivo.

Disolver 0.5g. de NaI en 0.3ml. de agua, adicionarle 2 ml. de H_3PO_4 y ml. de una solución acuosa de ácido cloroplatino -- (1g. de $H_2PtCl_6 \cdot 6H_2O$ en 20 ml. de agua).

b).- Procedimiento.

Dentro de un circulo de cera, disolver poco barbitúrico en una gota de reactivo y esperar a que cristalice. Observar en --

un microscopio polarizado, usando una placa roja.

c).- Resultados.

Los cristales del pentobarbital son de forma cuadrada, de color anaranjado brillante, no presenta dicroismo.

3.- REACCION CON $\text{BiI}_3\text{-HI-H}_3\text{PO}_4$

a).- Reactivo.

Disolver 0.8g. de BiI_3 con 1 ml. de HI al 57%, diluir esta solución con 0.35ml. de ácido acético glacial y 2.85ml. de H_3PO_4 y por último 0.1g. de hipofosfito de sodio.

b).- Procedimiento.

Se disuelve poco barbitúrico en una solución de ácido acético (2:1). evaporar y al residuo adicionarle el reactivo.

c).- Resultados.

Presenta racimos en forma de varilla, dicroismo positivo - oscuro a naranja.

4.- REACCION CON I-RbI

a).- Reactivo.

A 0.8g. de Yodo y 1g. de Rb se disuelven en 10 ml. de --- agua, para el análisis se usa el supernadante.

b).- Procedimiento.

Disolver poco barbitúrico en una gota de NaOH al 2%, sobre un porta objeto. Hacer dos diluciones, a una de ellas deposi--

tar una gota de NaH_2PO_4 (1g./5ml.) y una gota de reactivo. -
Examinar en un microscopio polarizado (en la posición cruzada).

c).- Resultados.

Los cristales del pentobarbital forman pequeñas rosetas,
y presentan dicroísmo.

5.- REACCION CON ETILEN AMINA-KI

a).- Reactivo.

El etilen amina se forma disolviendo 2g. de clorhidrato -
de etilen amina y 2g. de $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ en 100 ml. de agua.

La preparación del KI es la siguiente: disolver 5 g. de -
yodo y 5 g. de KI en suficiente agua. Después se diluye a 100
ml. con agua.

b).- Procedimiento.

A la muestra de pentobarbital se disuelve primeramente --
con el reactivo de etilen amina, y después se le adiciona el de
I-KI.

c).- Resultados.

Se forman cristales en forma de agujas alargadas de tama-
ño pequeño, presenta birrefringencia.

6.- REACCION CON H_2PO_4 (1:2)

b).- Procedimiento.

La muestra del pentobarbital se disuelve primeramente con

una solución de NaOH al 2%, después se adiciona una gota de - ácido.

c).- Resultados

Los cristales del pentobarbital, son dendritas en forma de agujas, presenta birrefringencia.

7.- REACCION CON H_2PO_4 5HA

b).- Procedimiento.

Disolver la muestra con el reactivo, después avaporar el ácido acético, observar la forma de los cristales.

c).- Resultados.

El pentobarbital presenta enormes dendritas en forma de agujas, elongación negativa y birrefringencia.

8.- REACCION CON EL ÉTER

b).- Procedimiento.

Disolver el pentobarbital en el éter, observar los cristales.

c).- Resultados.

Presenta cristales en forma de racimos, con baja birrefringencia.

9.- REACCION CON COBRE

a).- Reactivo.

Es una solución de acetato de cobre al 2% en NH_4OH al --
25%.

c).- Resultados.

Los cristales son en forma de prismas de color azul, el
color disminuye gradualmente en el prisma, su tamaño va de --
300-400 μ .

CROMATOGRAFIA

La cromatografía es un método de análisis de migración - diferencial, en que un flujo de solventes o de gas, causa que una mezcla de componentes emigren diferencialmente de una zona inicial.

Los métodos de cromatografía son comunmente clasificados con respecto a una o más condiciones variables, tales como la naturaleza física de las fases, y el mecanismo de contacto entre ellas.

CROMATOGRAFIA

ADSORCION		REPARTO		INTERCAM
(distribución entre) Sólido y		(distribución entre) líquido y		BIO IONICO
GAS	LIQUIDO	GAS	LIQUIDO	
cromatografía:	cromatografía:	cromatografía:	cromatografía:	
1.- gas	1- en columna 2- en capa fina	1-en columna 2-de gases	1- en columna 2- de papel 3- de capa fina	

CROMATOGRAFIA DE ADSORCION

Aquí la fase estacionaria es un sólido como por ejemplo - la alúmina, gel de sílice u otros. La fase móvil puede ser un gas o un líquido, la separación tiene lugar cuando uno de los -

dos componentes de la mezcla es más extensamente absorbido que el otro por el sólido, el grado de separación depende de la su perficie absorbente que se disponga.

CROMATOGRAFIA DE PARTICION

La cromatografía de partición, como su nombre lo indica, esta basada en la separación de una mezcla de sustancias mediante la participación existente entre la fase móvil y la estacionaria.

CROMATOGRAFIA DE INTERCAMBIO IONICO

La separación de intercambio iónico se lleva a cabo con materiales especiales de estructura porosa e insoluble. Contiene grupos reactivos que estan asociados a iones capaces de inter-cambiarlos con los del medio que les rodea.

CROMATOGRADIA DE PAPEL

La cromatografía de papel es una de las técnicas más simples, se usa papel filtro como soporte de una fase acuosa estacionaria, mientras una orgánica volátil desplaza al compuesto, -- A medida que el disolvente se desplaza a lo largo del papel, -- los componentes de la muestra se separan en zonas, en función -- de sus diferentes adsorciones sobre las fibras de celulosa.

La relación de las distancias de corrimiento de los com--

puestos con el corrimiento del frente del solvente, desde el punto donde se colocó la muestra en el extremo del papel, se llama R_f , la cual es constante importante para identificar diferentes sustancias.

CROMATOGRAFIA DE CAPA FINA

El uso de la cromatografía de capa fina para la separación e identificación de compuestos, se ha desarrollado ampliamente por las siguientes razones: rapidez, sensibilidad, gran capacidad de resolución y al uso de pequeñas cantidades de muestra.

Este método se funda en fenómenos de adsorción, participación y en reacciones de intercambio iónico. El principio del método es la utilización de una fase fija o adsorbente y una móvil o eluyente.

CROMATOGRAFIA DE GASES

La cromatografía de gases es una técnica para separar mezclas de sustancias. La base para la separación de los componentes volátiles, estriba en la diferencia de coeficiente de participación de los componentes al ser distribuidos por un gas inerte a través de la columna.

El análisis se realiza a través de un sistema de inyección que vaporiza la muestra, para que pueda ser inmediatamente

te transportada por el flujo del gas inerte, hacia un sistema que se encarga de realizar la separación.

Una vez de que cada compuesto ha sido separado, es alimentado a un sistema de detección que se encargade identifi--car y de emitir una señal eléctrica proporcional a la canti--dad de elemento presente, lo cual permite conocer la muestra problema.

Un esquema básico de un cromatógrafo de gases, es mostrado en la fig.2.

Los diferentes tipos de cromatógrafos, se diferencian basicamente en el tipo de detector usado. Las diferentes partes de un cromatógrafo de gases, es el siguiente:

1.- FUENTE DE GAS DE ARRASTRE

El gas de arrastre tiene como propósito, mover los compones de la muestra a través de la columna. La elección del gas de arrastre depende fundamentalmente, del tipo de detector que se use.

2.- CONTROL DE FLUJO

Este control es necesario para obtener resultados repetitivos y estables.

3.- SISTEMA DE INYECCION DE LA MUESTRA

Consta de un horno cuya temperatura se controla con un -termostato y al mismo tiempo es conectado con un pirómetro.

4.- COLUMNA

Puede ser de diferentes tipos: los hay de vidrio, plástico y de metal. La columna se encuentra dentro de un horno con termostato y pirómetro, que controla una temperatura fija o programada.

5.- DETECTOR

Tiene la propiedad de enviar señales eléctricas, cuando el gas de arrastre transporta sustancias. Además son altamente sensibles a los compuestos e insensibles a los cambios del fluido o de la temperatura.

Los detectores se clasifican de acuerdo al principio bajo el cual operan. Los más usuales son los siguientes:

a).- Detector de conductividad térmica.

Estos detectores se basan en el principio de la pérdida de calor de un filamento, situado en un gas. Esta pérdida depende de la naturaleza de el gas.

La resistencia del filamento es una función de la temperatura y de la conductividad térmica del gas, por lo tanto el medir la resistencia eléctrica del filamento, la conductividad térmica del gas efluente puede ser medido.

b).- Detector de ionización de flama.

Consiste en un par de electrodos con una flama de hidrógeno-aire entre ellos y un potencial. El gas se introduce en la flama donde el soluto del eluente es quemado, pasando de este -

modo a formar iones.

La corriente es proporcional a la concentración de los -
compuestos y se registra como conductividad térmica de la cel-
da.

6.-AMPLIFICADOR

Los detectores producen señales débiles, estas señales -
pasan al amplificador para posteriormente ser registrados.

7.- REGISTRADOR

Aquí aparece el registro gráfico del compuesto problema.

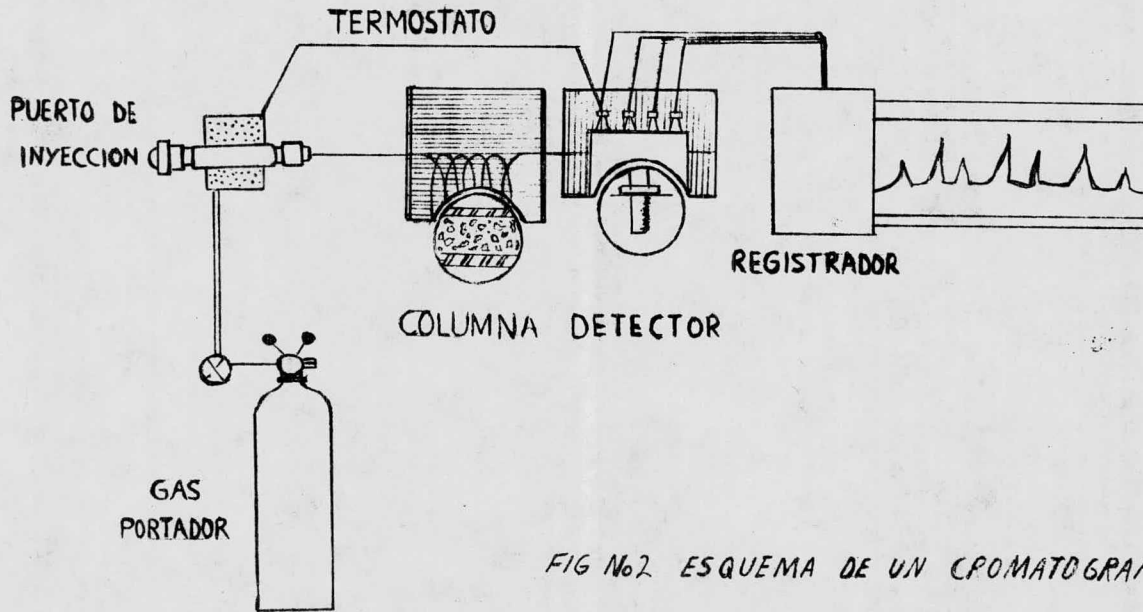


FIG No2 ESQUEMA DE UN CROMATOGRAFO
DE GAS

IDENTIFICACION POR CROMATOGRAFIA

I. CROMATOGRAFIA DE PAPEL

SISTEMA I

Papel.- Usar papel Whatman No. 1 e impregnarlo con una solución de formamida en acetona al 20% por espacio de 10-15 min.

Solventes.- La mezcla de solventes es: cloroformo-benceno-hidróxido de amonio (13:3:6).

Reactivo.- Para preparar el reactivo de plata se hacen las siguientes soluciones: (a) Nitrato de plata A.R., en solución metanólica al 0.5%, (b) Metanol-hidróxido de amonio (9:1), (c) Hidróxido de sodio, A.R., en solución metanólica al 5%. Por último se mezclan las soluciones (a), (b) y (c) en una relación de (5:1:2).

Muestra.- Se usa el pentobarbital a una conc. de 1.5 mcg./ μ l. en cloroformo.

Procedimiento.- Se deposita en el papel Whatman aproximadamente 3-4 μ l. de la solución del pentobarbital, después se lleva a una cámara previamente saturada con la fase estacionaria. Se permite que ascienda el solvente a una altura de 30 -

cm., después se secan con el aire por espacio de 10-15 min. --
Por último se revela con el reactivo de plata.

Resultado.- Rf de 0.41

SISTEMA 2

Papel.- papel Whatman No. 1.

Solventes.- Se emplea el siguiente sistema de solventes:
cloroformo-n butanol-formamida-hidróxido de amonio 5N, en una -
relación de (5:3:1:3).

Reactivo.- Se emplea el reactivo de Plata, prepararlo ---
igual que el sistema 1.

Muestra.- Se usa el pentobarbital a una concentración de
1.5 μ l. en cloroformo.

Procedimiento.- Igual que el sistema 1.

Resultado.- Valor de Rf de 0.83

SISTEMA 3

Papel.- Usar papel Whatman No. 1 e impregnarlo con una so-
lución de carbonato de sodio 0.5N.

Solvente.- Cloruro de etilo.

Reactivo.- Nitrato de plata 0.0 5N, en solución alcohólica.

Muestra.- Se usa el pentonarbital a una concentración de -
20 mg/10 ml.

Procedimiento.- Se deposita en el papel aproximadamente --

1.1 de la muestra , después se deposita en una cámara que contiene cloruro de etileno, permitiendo que ascienda el solvente a una altura de 15cm. Secar a una temperatura de 100°C. Una vez seco se revela con AgNO_3 hasta observar las manchas.

Resultado.- Valor de Rf de 0.47

SISTEMA 4

Papel.- Papel Whatman No. 1, el cual se prepara sumergiendo en una solución de ortofosfato trisódico al 10% y dejarlo secar, antes de usar el papel se sumerge en una mezcla de acetona-agua,

Solventes.- Dicloruro de etileno.

Muestra.- Se usa el pentoharbital al 1% en cloroformo.

Procedimiento.- Al papel Whatman No. 1, se deja que evapore la acetona, después se aplica aproximadamente 10-50 μg . de muestra. Por último se deposita en la cámara que contiene dicloruro de etileno, permitiendo que ascienda a una altura de -- 15 cm. Observar con luz ultravioleta (254 mg).

Resultado.- Valor de Rf de 0.16

2 CROMATOGRAFIA DE CAPA FINA

A) IDENTIFICACION EN PRODUCTOS FARMACEUTICOS

SISTEMA IA.

Adsorbente.- Sílica Gel G (Merck) y tierra de diatomeas-

(Merck) impregnado con formamida.

Fase móvil.- (a) Acetato de etilo-n hexano-hidróxido de amonio en una relación de (20:9:10), para la sílica Gel. (b)-- CCl_4 cloroformo (1:1) para la tierra de diatomáceas.

Muestra.- El pentobarbital se usa a una concentración de 1.5 mcg./ μ l en cloroformo.

Procedimiento.- Unas placas se cubren con con Silica Gel (4g. en 12ml. de agua) y otras con tierra de diatomáceas (g4.- en 16 ml. de formamida al 20% en acetona), después se secan a 105°C por espacio de 15 min. (para la sílica gel) y 60°C por - 1 Hr. (para la tierra de diatomáceas).

En ambas placas se deposita una cantidad de 3-4 μ l. de la solución clorofórmica del pentobarbital, después se colocan en la cámara que previamente se saturo con la fase móvil. Al llegar el solvente a una altura de 15 cm. se sacan las placas y secan con una corriente de aire. Revelar con el reactivo de plata.

Resultados.- Valores de Rf: 0.66 para sílica gel
0.50 para tierra de diatomáceas.

SISTEMA 2A

Placas.- Se usan placas de celulosa de Merck con indicador fluorescente o placas Kodak tipo 606 5 de 20x20 cm.

Fase móvil.- n-amil metil cetona.

Muestra.- La concentración de la muestra del pentobarbital es de $1 \mu\text{g}$. en cloroformo.

Procedimiento.- Las placas se sumergen en una solución de ortofosfato de sodio al 10% ^{w/v}, estas placas son secadas a -- 100°C por espacio de 1 hr. Después de enfriarlas son sumergidas en acetona-agua (75:25) y por último se evapora lentamente la acetona.

Una vez que estan listas las placas, se deposita en ellas una pequeña cantidad de muestra y son colocadas dentro de una cámara, el tiempo que permanece en ella es de 10 min. Las manchas de la muestra son detectadas con luz ultravioleta a 250 nm.

Resultado.- El valor de R_f es siempre excelente., R_f de - 0.80

SISTEMA 3A

Placas.- Placas de tierra de diatomáceas.

Fase móvil.- Cloroformo-acetona (9:1).

Reactivo.- Fuchsina básica y ácida.

Procedimiento.- En primer término hay una activación de - las placas, por calentamiento a 100°C por un tiempo de 80 min., después se deposita en ellas una cantidad aprox. de $1 \text{mcg.}/\mu\text{l}$. de una solución de pentobarbital en cloroformo. Las placas se colocan en una cámara donde se encuentra la fase móvil, esperando que ascienda a una altura de 14 cm. a una temperatura de 21°C .

Después se seca a 22°C por espacio de 24 hrs. Por último se revela con fuchsina tanto ácida como básica, con el fin de apreciar mejor la separación.

Resultado.- Valor de Rf 0.55

B) IDENTIFICACION EN SANGRE

Placas.- Silica Gel (activar a 100°C antes de usarlas).

Fase móvil.- Cloroformo-n butanol-ácido fórmico (14:8:9).

Estandar.- Solución de 1 mg/ml. de pentobarbital sódico en etanol al 95%.

Reactivos.- (a) sec-Difenilcarbazona, 1g. de sec-difenilcarbazona en 100 ml. de etanol al 95%. (b) Nitrato mercúrico, 0.33 g. de nitrato mercúrico en 100 ml. de HNO₃ 0.4N

Procedimiento.- Se extrae 5 ml. de suero con 50 ml. de cloroformo, lavar el extracto con dos porciones de 5 ml. de buffer de fosfato pH 7.4. Filtrar el cloroformo extraído en papel S&S Sharkskin, tomar una alícuota de 10 ml., evaporando después el cloroformo y al residuo disolverlo con 50-100, μ l. de etanol al 95%.

En las placas activadas se deposita la 2 μ l. de la muestra y del estandar en zonas separadas. Llevar las placas en una cámara cromatográfica que contiene dos tubos de 10 ml. de hidróxido de amonio, en cada esquina de la cámara, se dejan por espacio de 30 min. Quitar los tubos y adicionar a la cá-

para la mezcla de solventes dejándolo 45 min., cuando la emigración del solvente es completa las placas se secan con corriente de aire y se llevan a una temperatura de 100°C por espacio de 15 min.

Enfriar a temperatura ambiente, y rociarlas con difenilcarbazona hasta producir un color rosa, permitir que se seque y rociarlo con el reactivo de nitrato de mercurio. Irradiar con luz ultravioleta.

Resultado.- Valor de RF de 0.79

3 CROMATOGRAFIA DE GASES

EXTRACCION

5 ml. de sangre con 27 ml. de cloroformo en presencia de 1 ml. de buffer de fosfato pH 6.5, 0.5 M. Agitar fuertemente eliminar 20 ml. de cloroformo después centrifugar y extraer con 5 ml. de NaOH 0.45N.

SISTEMA 1

Aparato.- Pye Panchromatograph.

Detector.- Ionización de flama (aire 300ml/min, H₂ 50ml/min.)

Columna.- De vidrio (1.5 mX 6 mm.)

Empaque de la columna.- 10% Apiezon L sobre Chrom. W 80/

100.

Gas acarreador.- Argón con flujo de 50 ml/min.

Temperatura de la columna.- 200°C.

PREPARACION DE LA COLUMNA

25 g. de Chromosorb W 80/100 se lavan con HCl concentrado después el ácido se decanta y posteriormente se lava por decantación con agua hasta dar reacción neutra. El material la vado es filtrado por succión y secado a 100°C, después suspenderlo en 200 ml. de una solución de DMCS al 2% en tolueno, donde se depara por varias horas con ligera agitación. La suspensión se filtra y lava con tolueno seguida por metanol. Secar a 110°C.

22.5 g. del polvo anterior se trata con 2.5 g de Apiezon 1 (disuelto en hexano), más tarde el hexano se evapora con vacio a 60°C, con el polvo seco se empaca la columna por succión y vibración.

INYECCION

La muestra extraída anteriormente se acidifica con HCl -- concentrado y se extrae con dos alícuotas de éter. El éter es evaporado a sequedad, el residuo se disuelve con 80 μ l de metanol y se inyectan 2 μ l. de esta solución al cromatógrafo.

Antes de hacer la cromatografía del pentobarbital, debe -- ser cromatografiado una solución de barbitone a fenobarbital -- (1mg/ml) para calcular los tiempos de retención relativos.

Resultado.- Tiempo de retención del pentobarbital con res

pecto a: barbital 2.55, y fenobarbital 0.37

SISTEMA 2

Aparato.- Packer 7307, equipado con un registrador Honeywell.

Detector.- Ionización de flama (aire 600 ml/min, H₂ 60 - ml/min).

Empaque de la columna.- 5% SE-30 sobre Chrom. W (lavada con ácido).

Columna.- Vidrio (1.8m X 0.03 cm).

Gas acarreador.- (Nitrógeno con flujo de 90 ml/min).

Temperatura de columna.- 195°C

Temperatura del detector.- 275°C.

Procedimiento.- A la porción extraída se trata con 5 ml de H₂SO₄ 1.3 N y 30 ml de éter, agitar y filtrar con fibra de vidrio que contenga Na₂SO₄, evaporar a sequedad bajo una corriente de N₂.

Al residuo disolverlo con 0.1ml de cloroformo e inyectar 5 µl al cromatógrafo de gases.

Resultados.- El tiempo de retención del pentobarbital es de 4 minutos.

SISTEMA 3

Aparato.- F&M

Detector.- De flama (aire 32 psi, H₂ 12 psi).

Columna.- Aluminio (6' por 0.25 ''').

Empaque de la columna.- 3% OV-17 sobre gas Chrom Q 60/80.

Gas de arrastre.- Nitrógeno 40 ml/ min.

Temperatura de la columna y del detector.- 200°C, 240°C.

Velocidad de la carta del registrador.- 0.25''/min.

Preparación de la columna.- El OV-17 al 3% en Gas Chrom. Q malla 60/80, se utiliza para el llenado de la columna, el cual se empaqueta con la ayuda de vacío y de vibraciones.

La columna es lavada con dimetildiclorosilano al 5% en tolueno. La columna se acondiciona antes de usarla por espacio de 48 hr con un flujo de gas de (20ml/min) y a una temperatura de 190°C.

Inyección de la muestra.- El contenido de una tableta se disuelve en etanol, filtrándose y diluyéndose a 1 mg/ml, por último se inyecta al cromatógrafo la cantidad de 5 µl.

Resultado.- Tiempo de retención es 0.40

SISTEMA 4

Aparato.- Pye Argón.

Detector.- De ionización de rayos β.

Columna.- Vidrio (4' por 5 mn.).

Empaque de la columna.- 5% SE-30.

Gas de arrastre.- Argón 28.5 ml/min, con una presión de -



105 mm de Hg.

Temperatura de la columna.- 180°C.

Corriente del detector.- 1756 Volts.

Procedimiento.- Al extracto básico se lleva a un pH de 4, volviéndose a extraer con dos porciones de 15 ml de cloroformo, el cual se filtra y seca en un baño de vapor. Los residuos se secan a vacío bajo alúmina activada.

El extracto se lava con acetona, pasándose a una micropipeta de 50 μ l. Después se concentra a una cantidad de 1-5 μ l. el cual se inyecta al cromatógrafo.

Resultado.- Tiempo de retención de 8.8 minutos.

INFRARROJO

El espectro infrarrojo es un modo de identificación y un poderoso elemento para el estudio de la estructura molecular.

Analizando de qué depende la frecuencia de vibración de los átomos, se puede decir que depende de varios factores entre los cuales se puede citar: el tipo de hibridación de la molécula, el tamaño de los átomos que vibran y factores originados -- por la estructura molecular. De este último factor se pueden citar: efectos eléctricos, estéricos, tamaño y electronegatividad de átomos vecinos, cambio de fase del producto analizado y puentes de hidrógeno.

Hay 2 clases de vibraciones fundamentales en las moléculas:

a).- Alargamiento o vibración longitudinal, en el cual la distancia entre los dos átomos aumente o disminuye, pero los átomos permanecen en el mismo eje de enlace. Estas vibraciones se asignan como : simétricas y asimétricas.



simétrica



asimétrica

b).- Deformación, la posición de los átomos cambia con relación al eje de enlace.



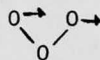
AX_2 en el plano
o de tijera



AX_2 fuera de
plano o de aleteo



AX_2 fuera del
plano o de
torsión.



AX_2 en el
plano o de
bamboleo.

Para una molécula poliatómica se puede esperar un espectro infrarrojo muy complejo del cual muy poca información se podrá obtener, sin embargo cada grupo funcional presenta bandas de absorción características que lo hacen fácilmente identificable.

Se observan también bandas que no se deben al modo normal de vibración y que se denominan: sobretonos, bandas de combinación, bandas de acoplamiento y bandas de resonancia Fermi.

Los sobre-tonos son más armónicos, que la frecuencia fundamental y se presenta en multiples enteros de esta.

Las bandas de combinación son relativamente débiles y aparecen a frecuencias iguales a la suma o diferencia de dos o más frecuencias fundamentales.

Las bandas de acoplamiento se presenta cuando dos bandas de absorción de la misma porción de la molécula interaccionan provocando que la banda de absorción, sea desplazada fuera de la zona de absorción esperada para el cromóforo independiente.

La resonancia Fermi, se presenta cuando un sobre tono o banda de combinación cae cerca de la banda fundamental, provocando un aumento en la intensidad del sobretono o banda de com-

binación o bien una abertura de las bandas.

INFRARROJO

PROCEDIMIENTO

Se hace un registro entre el rango de 4000-650 cm^{-1} con un espectrofotómetro infrarrojo de registro de doble haz, modelo Perkin-Elmer 21, adaptado con un prisma de cloruro de sodio.

El pentobarbital se prepara en un disco de bromuro de potasio, aproximadamente 0.7-0.8 mg, con 300 mg de KBr. Calentar el disco por espacio de 30 min, y enfriar rápidamente a temperatura ambiente, por último se hace un registro del espectro, --- graf.I

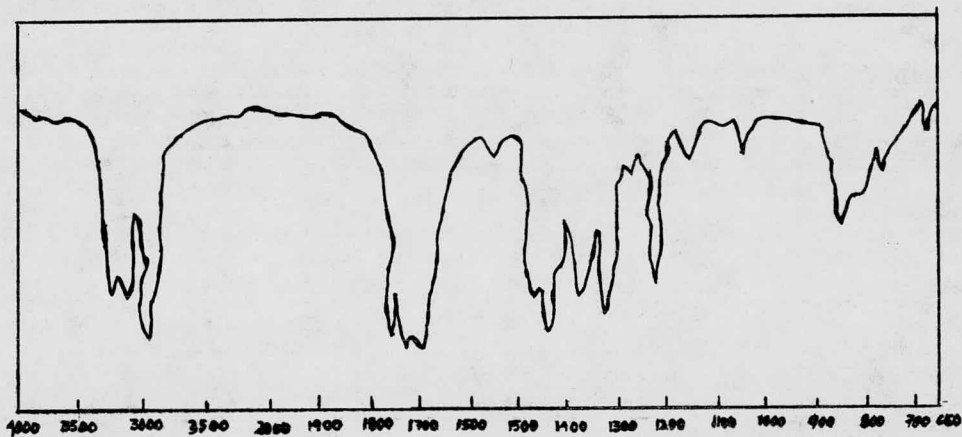
Resultados

frecuencia cm^{-1}

32 50,3130	Corresponde a la vibración stretching del N-H.
1758,1735,1696	Absorción de los tres carbonilos C=O.
1555	Banda débil, ocurre cuando los grupos NH y CO, son trans.
1362	Probablemente es debido a la vibración stretching del C-N.
1320	Probablemente es debido a la vibración C-N.
1240	Vibración C-C, activada por la presencia del C=O.
1050	Vibración caract. del anillo del ác. barbiturico.

- 850 Corresponde a la vibración (N-H), deformación fuera del plano.
- 780 Todos los barbitúricos muestran esta banda.
- 680 Deformación C=O en el plano, del grupo carbonilo dos.

ESPECTRO DE ABSORCIÓN INFRARROJA DEL PENTOBARBITAL

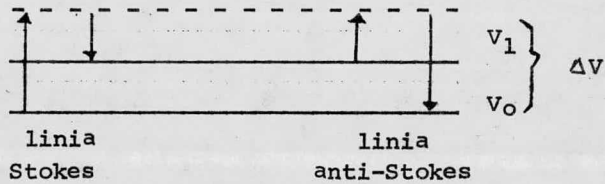
frecuencia en cm^{-1} .

gráfica I.

ESPECTROSCOPIA DE RAMAN

Cuando la radiación electromagnética de energía $h\nu$, irradia una molécula la energía se puede transmitir, absorber o dispersar. Existen varios tipos de dispersión de la luz, como son el efecto Rayleigh y el efecto Tyndall, en ambos no hay cambio de frecuencia en los fotones. En el efecto Raman se producen frecuencias diferentes a las del haz monocromático incidente.

En el siguiente esquema, las líneas designadas como: V_0 y V_1 representan la energía vibratoria de la molécula.



Cuando un fotón interactúa con una molécula en el estado fundamental V_0 , la molécula asciende momentáneamente a un nivel de energía superior, si la molécula en lugar de retornar a su nivel fundamental puede caer a un nivel energético correspondiente a un estado vibratorio excitado, tal como el V_1 . La longitud de onda del fotón difractado es mayor que la de la luz incidente. Existen líneas Raman de longitud más larga, reciben el nombre de líneas Stokes.

Otra posibilidad es que la molécula que está en el nivel excitado de vibración, sea elevada a un nivel superior inestable tal molécula puede difractar un fotón y concluir en su estado -

fundamental ν_0 . La línea espectral observada tiene una línea de onda más corta que la radiación incidente, esta línea se llama - línea anti-Stokes.

No es posible registrar todas las vibraciones moleculares como efecto Raman. Para que una vibración molecular sea activa - en el Raman, debe haber un cambio en el momento dipolar inducido, que resulta de un cambio de la polarizabilidad de la molécula.

La radiación Raman siempre está polarizada y mediante el estudio de la polarización de las bandas de emisión del espectro Raman, se puede obtener información acerca de la simetría de la vibración molecular correspondiente y de la molécula.

ESPECTROSCOPIA DE RAMAN

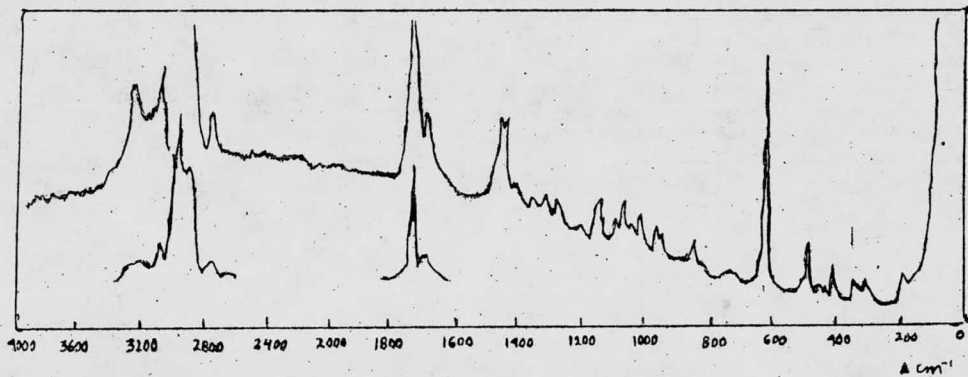
PROCEDIMIENTO

Se usa un espectrofotómetro modelo Cary 82, con fuente de iluminación de rayo laser de argón, la potencia que se usa es de 300 mW.

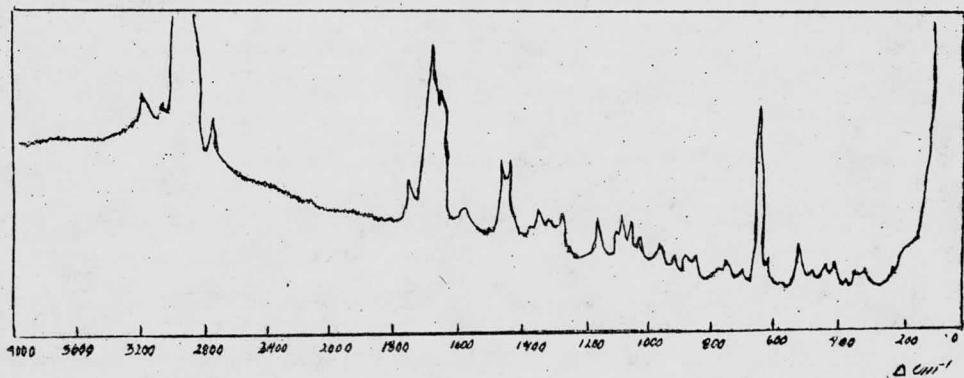
RESULTADOS.- Ver graficas 2 y 3

pentobarbital	BANDAS COMUNES DE LOS BARBITURICOS	BANDAS CARACTERISTICAS DEL PENTOBARBITAL
	629 cm^{-1}	315 cm^{-1}
	1447	340
	1692	856
	1740	873
		1150
		1280
		1450
pentobarbital sódico	BANDAS COMUNES DE LAS SALES DE LOS BARBITURICOS	BANDAS CARACTERISTICAS DEL PENTOBARBITAL SODICO
	657 cm^{-1}	310 cm^{-1}
	1461	875
	1585	920
	1657	1070
	1693	1100
		1150
		1270
		1340
		1450

gráfica. 2. ESPECTRO DEL PENTOBARBITAL.



gráfica. 3 ESPECTRO DEL PENTOBARBITAL SODICO



RESONANCIA MAGNETICA NUCLEAR

El fenómeno de resonancia magnética nuclear es observable por que ciertos núcleos atómicos, se comportan como pequeñas barras magnéticas, debido a la circulación de la carga nuclear -- que genera un dipolo magnético a lo largo de su eje imaginario. Estos núcleos poseen dos propiedades, asociadas con el momento angular de su espín: el número de espín (I) y el momento magnético nuclear.

Cuando tales núcleos se colocan en un campo magnético uniforme de valor H_0 , toman cierto número de orientaciones dadas - por la siguiente acuación $(2I+1)$, las cuales estan caracterizadas por energías que dependen de las magnitudes de μ y H_0 .

En mecánica cuántica se ha comprobado que el núcleo de hidrógeno esta restringido en tomar dos posibles orientaciones en el campo aplicado $[2(I/2)+1=2]$, estas pueden ser consideradas como de alta y baja energía. Estas dos orientaciones corresponden a dos estados de energía, dados por la ecuación $E_p = \mu H_0 \cos \theta$, siendo posible que se induzcan transiciones entre ellos, a - una frecuencia de radiación electromagnética dada por: $h\nu = \mu h / l$.

Para poder detectar estos cambios que se presentan al introducir energía electromagnética, en protones aliniados en un campo magnético, para pasarlos a un nivel más alto de energía y medir la energía así absorvida, tenemos que considerar lo si---

guiente: el movimiento magnético está orientado en un ángulo θ , a la dirección del campo aplicado H_0 .

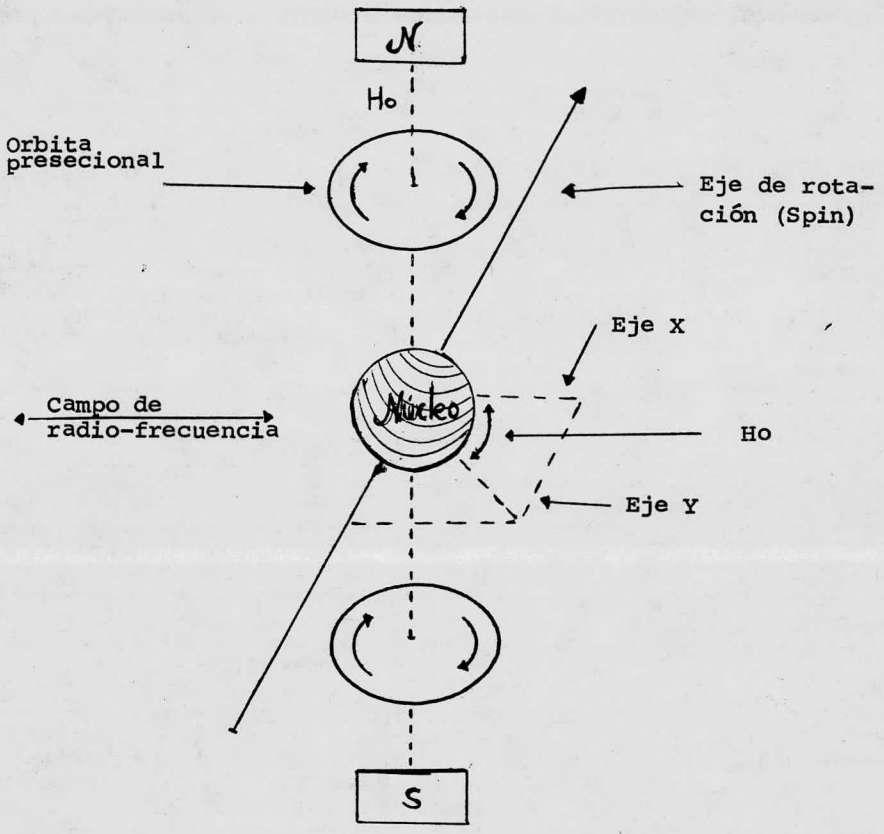
Este campo actúa sobre el magneto nuclear, disminuyendo el ángulo θ . Pero debido a que el núcleo está girando, el eje de rotación del núcleo sufre un movimiento de manera que se describe una trayectoria circular, cuyo plano es paralelo al del campo aplicado, este movimiento del eje, generando una órbita se llama movimiento de precesión.

La frecuencia precesional (ω_0), es directamente proporcional a H_0 y es además del mismo orden de la frecuencia de radiación electromagnética necesaria para inducir una transición de un estado de espín no excitado a otro excitado. El acto de cambiar el núcleo de una orientación a otra, corresponde a una alteración en el ángulo θ ; este cambio puede ser provocado por medio de la aplicación de una radiación electromagnética cuyo componente rotacional está girando en un plano paralelo al del campo magnético principal.

Cuando la frecuencia del campo magnético rotatorio y la frecuencia precesional llegan a ser iguales, se dice que está en resonancia y ocurre la absorción de energía por el núcleo.

Bajo condiciones ordinarias, en un campo magnético hay un pequeño exceso de núcleos en el estado de espín no excitado, según la ley de distribución de Boltzmann (cerca de 0.001%). Este pequeño exceso de núcleos, en tal estado es el que va a dar

lugar a una absorción neta de energía, en la región de radiofrecuencia y es el responsable del fenómeno de resonancia magnética nuclear.



Comportamiento del núcleo

RESONANCIA MAGNETICA NUCLEAR

DESPLASAMIENTO QUIMICO ^{13}C DEL PENTOBARBITAL

APARATO

Espectrómetro de RMN, Bruker HX-90-E equipado con un sistema de datos Bruker-Nicolet, modelo B-NC 12.

PROCEDIMIENTO

Los datos del desplazamiento químico ^{13}C del pentobarbital, se obtienen con los siguientes solventes: dióxido, cloruro de metileno y óxido de deuterio. En las soluciones acuosas se usa dioxano como estándar interno (S, dioxano = 67 ppm de TMS). La concentración del pentobarbital es de 0.5 molal, y el espectro es registrado a 22.6 MHz.

RESULTADOS

, ppm de TMS

SOLVENTE	ANILLO			R		R			CH ₃
	C ₂	C ₁₆	C ₅	C	C ₂	C	C ₂	C ₃	
dioxano	149.4	172.3 172.6	60.2	28.5	9.7	41.9	34.1	21.0	14.0 14.3
cloruro de metileno	149.8	172.4 172.7	60.8	28.5	9.8	42.3	33.8	20.8	13.9 14.2
óxido de deuterio	161.4	181.8	59.9	28.5	1.0	41.9	34.2	21.2	14.1 14.8

(R) .- CH₂ CH₃(R) .- CH(CH₃) (CH₂)₂CH₃

TMS .- tetrametilsilano.

ACOPLAMIENTO DEL PENTOBARBITAL

APARATO

Espectrómetro Bruker, HFX-90

PROCEDIMIENTO

En primer término se hace una síntesis del barbitúrico, - obteniéndose una composición de ^{13}C de 90%, 45.25%, y 90.5% en los carbonos C_2 , C_4 y C_6 respectivamente. La concentración para medir el acoplamiento es de 0.4 molal en metanol.

RESULTADO

		<u>ACOPLAMIENTO DEL ^{13}C-^{13}C</u>		
		<u>pentobarbital (2,4 6 -- ^{13}C)</u>		
$J_{\text{C}-\text{C}}$	(4,5)	48.31	± 0.14	Hz
$J_{\text{C}-\text{C}}$	(6,5)	48.21	± 0.14	Hz
J_{CNC}	(2,4)	3.16	± 0.08	Hz
J_{CNC}	(2,4)	3.16	± 0.08	Hz
J_{CNCC}	(2,5)	1.07	± 0.05	Hz

CONCLUSIONES

La diferenciación de los barbitúricos es difícil, en su identificación, por eso se decidió hacer el presente trabajo, para identificar específicamente el pentobarbital.

Se recomienda efectuar primeramente pruebas de identificación del grupo químico de los barbitúricos, tales como las químicas y las de formación de cristales, estas últimas porque pueden ser específicas.

Para confirmación exacta de la presencia del pentobarbital se sigue cualquiera de los siguientes métodos.

1.- Cromatografía:- de papel; de capa fina y de gases. Las cromatografías de papel y de capa fina son métodos simples, rápidos, de gran sensibilidad y además el no requerir instrumental complicado facilita su mayor uso.

En lo que respecta a la cromatografía de gases, es un método muy rápido ya que solo es necesario obtener el tiempo de retención de la sustancia problema, para poder identificarlo.

2.- Espectrofotometria.

a).- Infrarrojo.- Los grupos funcionales pueden ser identificados por sus frecuencias de vibración características.

b).- Espectroscopia de Raman.- ofrece gran información complementaria a la obtenida por el infrarrojo. Obteniendose de esta forma una identificación exacta del pentobarbital.

c).- Resonancia magnética nuclear.- Revela la estructura total -

de la molécula.

Al hacer una comparación de los métodos de infrarrojo, Raman y el de resonancia magnética nuclear, se deduce que el tiempo empleado en el análisis es el mismo para los tres métodos.

Pero al usar resonancia magnética nuclear, presenta la -- ventaja de ser el más directo en cuanto a la separación que se -- obtiene de los picos conocidos del componente, además los picos que se obtienen presentan absorciones protónicas y no se ven a-- afectados por los disolventes o por interacciones entre solutos -- presentes.

La desventaja que presenta es el elevado costo de su ins-- trumental.

BIBLIOGRAFIA

- 1.- AHMED Z.F.; DARAWY Z.I & ET-LEITHY
Identification of some barbiturates by paper and thin layer chromatography.
J. pharm. Sci. 55 (1966), 433-434.
- 2.- AMELINK F.
Rapid microchemical identification methods in pharmacy in - toxicology
1962
- 3.- AOWARD PURNEL.
Gas chromatography
John Wiley & Sons., Inc.,
New York, (1962).
- 4.- CLEVERLEY B.
Identification of barbiturates from their infra-red spectra
Analyst 85(1960), 582-587.
- 5.- CLARKE E.G.
Isolation and identification of drugs
The pharmaceutical Press. 1969
- 6.- CODIGO SANITARIO (Y SUS DISPOSICIONES REGLAMENTARIAS)
Editorial Porrúa 1976.
- 7.- CROS A.
Introduction to practical infra-red spectroscopy.
Butter Worths
London 1964.
- 8.- CURRY A.S & FOX R.H.
Thin-layer chromatography of common barbiturates.
- 9.- CURRY A.S.; READ J.F. & JENKIS R.N.
Micro infra-red spectroscopy of gas chromatographic frac--- tions
J. Chromat., 38 (1968), 600-607.

- 10.- DRILL V.A
Pharmacology in medicine
Mc Graw-Hill Book Co., 1960
- 11.- DRISCOLL R.C.,; BARR F.S.; GAGG B.J. & MOORE G.W.
Determination of therapeutic blood levels of methampheta--
mina and pentobarbital by C.G.
J. pharm. Sci. 60 (1971), 1492-1495.
- 12.- DYER J.
Application of absorption spectroscopy of organic compounds
Prentice-Hall
New York 1965
- 13.- FRATIELLO A.J. & MARDIROSSIAN M.L.
Carbón-13 N.R.M. chemical shifts of seven barbiturates
J. magnetic resonance 12 (1973), 221-224
- 14.- FULTON C.C.
Modern microcrystal test for drugs
Wiley Interscience 1969.
- 15.- GOODMAN L.S. & GILMAN A.
The pharmacological basis of therapeutic
The Macmillan company, 1974.
- 16.- HARRIS R.K.
Nuclear magnetic resonance vol. I
Burlington House
London 1971.
- 17.- HARTSHORNE N.H. & STEWART A.
Practical optical crystallography
Edward Arnol L.T.D. 1968.
- 18.- HIDALGO MONDRAGON CONSUELO
Farmacia química.

- 19.- IONIN B.I. & ERSHOV
NMR spectroscopy in organic chemistry
Plenum Press.
New York 1970.
- 20.- JACKMAN L.M.
Application of nuclear magnetic resonance spectroscopy in
organic chemistry.
Pergamon Press.
New York 1965.
- 21.- KRANTS J.C. & CARR J.C.
Pharmacology principles of medical practice
The Williams and Wilkins company 1959.
- 22.- LEACH H.C. & TOSELAND P.A.
The determination of barbiturates and some related drugs -
by gas chromatography
Clin. chim. Acta, 20(1968), 195-203
- 23.- LEVI L. & HUBLEY C.
Determination and identification of clinically important -
barbiturates.
Anal. chem. 28, (1956) 1591-1605.
- 24.- LIVIO L.V.
Qualitative test for barbiturates
J.A.O.A.C. 45, (1962), 600-607.
- 25.- LITTER MANUEL
Farmacología experimental y clínica
Editorial Eteneo 1976.
- 26.- LONG R.C. & GOLDSTEIN J.H.
J. of magnetic resonance, 16(1974), 228-234.
- 27.- LARRY L.A.
All-purpose gas-liquid chromatographic column for pharma--
ceuticals
J. of the AOAC. 52 (1969), 1295-1300

- 28.- LUNDQUIST F.
Methods of forensic scienc vol. I
Interscience publishers 1962.
- 29.- MESLEY R.J.
Spectra -structure correlations in polymorphic solids-II,
5.5 disudstituted barbituric acids.
Spectrochim. acta 26A (1970), 1427-14448
- 30.- MODELL M.D. & SCHILLD O.A.
Applied pharmacology
W.B. Suanders company
Philadelphia 1976
- 31.- MORCILLO JESUS
Aplicaciones practicas de la espectroscopia infrarroja
Unjversidad de Madrid 1964.
- 32.- National formulary
XIV
- 33.- SABATINO F.J.
The isolation and identifacation of barbiturates
J. the AOAC, 37(1954) 101-103.
- 34.- SILVERTEIN R.M & BASSLER G.C.
Spectrometric identification of organic compounds
John Wiley & Sons Inc.
New York 1967.
- 35.- SCOOK D.A. & WEST D.M.
Analisis instrumental
Interamericana 1975.
- 36.- STEWERT C.P.
Mechanisma and analitical methods
Vol. II.

- 37.- VAGNINA L.L.
Qualitative test for barbiturates
J. the AOAC, 45(1962), 600-607
- 38.- WALDEMAR A.R. & MILEWSKY K.
Separation and identification of barbiturates and glutethimide by thin-layer chromatography
Clin. chim. Acta., 33(1971), 51-54
- 39.- WANG I.H. & MUELTER M.A.
Identification of barbiturates in orina
J. pharm. Sci. 62(1973), 2047-2049
- 40.- WILBUR J.D.
Medicinal chemistry vol. IV
John Wiley & Sons. Inc.
New York 1969.
- 41.- WILLARD H.H. & MERRIT J.R.
Métodos instrumentales de análisis
Ed. continental s.a
- 42.- WILLIAM K.
Organic Spectroscopy
The Macnillan Press.
- 43.- WILLIS J.N.; COOK R.B.; and JANKOW R.M.
Raman spectrometry of some common barbiturates
Analyt. chem. , 44(1972), 1228-1234.