



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS PROFESIONALES

**ESTUDIO DE ALGUNAS PROPIEDADES DEL METRODINAZOL
APLICABLES A SU DETERMINACIÓN ANALÍTICA**

INFORME DE TRABAJO

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

MAESTRO EN QUÍMICA ANALÍTICA

PRESENTA:

ALEX BISKUPOVIC ORCHARD

ASESOR: ALEX BISKUPOVIC ORCHARD

MÉXICO, D.F.

1975



Universidad Nacional
Autónoma de México



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.

Los Estudios de Maestría han sido posibles **gracias** a una Beca UNESCO - UNAM obtenida por Concurso en Santiago de Chile, para realizarlos en la División de Estudios Superiores de la Facultad de Química de la Universidad Nacional Autónoma de México, en calidad de becario del Centro Latinoamericano de Química, con sede en México.

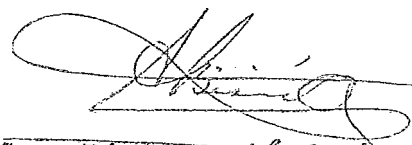
Tan preciosa oportunidad para mí en 1975 obtener el grado de Maestro en Ciencias Químicas en la especialidad de Química Inorgánica.

La continuación de la misma Beca, concedida por el Dr. José F. Herrán Director del Centro Latinoamericano de Química y Director de la Facultad de Química de la UNAM y por el Dr. Francisco Javier Garfías, Jefe de la División de Estudios Superiores de la Facultad de Química de la UNAM, han permitido ahora culminar los estudios de Maestría en Química Inorgánica, por lo cual resulta muy grato para mí expresar a ellos un imperecedero y profundo agradecimiento.

A todo el Personal de la División de Estudios Superiores y muy especialmente al Personal y Cuerpo Docente del Departamento de Química Analítica, por sus enseñanzas de alto nivel científico y sobre todo su calidad humana, mi fraternal reconocimiento.


ALEX BISKUPOVIC ORCHARD.

Al Dr. Helmut Pitsch Kluth,
Director del presente trabajo,
por su virtud para conciliar rigor científico
y amistad, por su permanente preocupación por
mis estudios y realización de este trabajo ,
mis felicitaciones y el más cálido y frater-
nal agradecimiento,



Alex Biskupović Orežard.

INDICE

	pp
OBJETO DEL TRABAJO	
INTRODUCCION	1
CAPITULO I : ANALISIS DEL METRONIDAZOL	10
CAPITULO II : SEPARACIONES	13
CAPITULO III : PROPIEDADES QUIMICAS	20
CAPITULO IV : REACCION DEL METRONIDAZOL CON Fe^{3+}	27
CONCLUSIONES	38
BIBLIOGRAFIA	40
APENDICE	41

OBJETO DEL TRABAJO

El uso creciente del Metronidazol en la terapia antiprotozoaria, de enorme incidencia en los Programas de Salubridad en los países del Tercer Mundo, tan fuertemente afectados por las enfermedades parasitarias, pone en evidencia la necesidad de contar con un método apropiado de análisis químico-clínico, para el Metronidazol y sus metabolitos.

Un buen método de análisis permitirá un mayor conocimiento del grado de aprovechamiento del fármaco por parte del individuo y, en consecuencia, de la adecuación de su posología. Esta información podrá incidir también en la aclaración del mecanismo de acción del Metronidazol.

Los experimentos descritos en este trabajo tuvieron por objeto el desarrollo de un método de análisis más sencillo y más confiable que los métodos reportados. Se exploraron dos posibilidades: la separación cromatográfica y el análisis espectrofotométrico por formación de complejos coloreados.

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

METRONIDAZOL.

Molécula de fórmula global : $C_6H_9N_3O_3$

Corresponde químicamente al 1-etanol-2-metil-5-nitro-imidazol.

El Index Merck (1), describe sus propiedades físicas:

Peso molecular : 171.16

Punto de fusión : 160° C.

Solubilidad a 20°C. en H₂O : 1g/100 ml.

etanol : 0.5g/100 ml.

éter : 0.05g/100 ml.

cloroformo : 0.05g/100 ml.

dimetilformamida : poco soluble.

ácidos diluidos : soluble.

pH solución acuosa saturada : 5.8

PROPIEDADES TERAPEUTICAS.

Se ha encontrado que el Metronidazol tiene potentes propiedades como tricomonocida, lamblicida y amebicida.

Se trata de un fármaco reciente, de gran valor clínico por su alta actividad terapéutica, baja toxicidad, y aparente baja velocidad de desarrollo de resistencia por parte de los protozoos.

Su mecanismo de acción es todavía desconocido (2).

USOS.

La mayor experiencia terapéutica con Metronidazol ha sido en el tratamiento de la tricomoniasis vaginal.

Sólo recientemente ha sido empleado para el tratamiento de severas amebiasis intestinales y abscesos hepáticos amebianos, por su acción directa y de efectos inhibitorios sobre la *Entamoeba Histolytica* (tanto en su etapa vegetativa como quística); con la gran ventaja sobre otros sistemas amebicidas (2) (niridazol, emetina y dehidroemetina) de no ser cardiotóxico.

La droga se suministra oralmente y/o tópicamente. Usada oralmente, es excretada por la orina como Metronidazol sin cambio y varios otros productos de oxidación. (3).

La Industria Farmacéutica en México, a través de diferentes Laboratorios, expende el Metronidazol bajo diversos nombres comerciales (4) : "Flagyl", hecho en México por Rhodia Mexicana S.A. según fórmula de la Société Parisienne D'Expansion Chimique - Specia; "Flagenase", "Flagenase 400", por Laboratorios Liomont, S.A. ; "Triconima", por Industria Medicinal Americana, S.A., etc.

ESTRUCTURA.

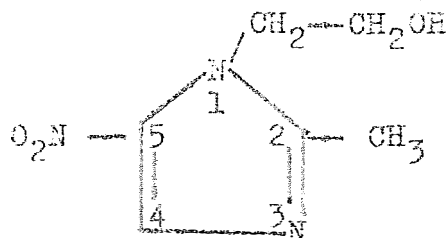


Fig. 1

La Fig. 1 permite apreciar la estructura del Metronidazol :
Un anillo imidazol, con un grupo alcohol (etanol) en el N 1 ,
un grupo alquilo (metilo) en el C 2 y un grupo nitro en el C 5 .

Tal estructura, se encuentra avalada por los datos Espectroscópicos de Infrarrojo y de Resonancia Magnética Nuclear publicados en "The Sadtler Standard Spectra" (5) ; también obtenidos por nosotros para la realización del presente trabajo y que en todo corresponden con los de la referencia (5) .

INFRARROJO.

En el espectro IR. N° 1 , obtenido en un Espectrofotómetro Infrarrojo de Rejilla Perkin-Elmer 337, se observan las bandas que pueden atribuirse a las siguientes vibraciones :

Región Espectral. cm. ⁻¹	Intensidad Relativa.	Vibración. *
3200	banda ancha, fuerte	stretch O-H del grupo hidroxietílico.
1070	banda fina, fuerte	stretch C-O del grupo hidroxietílico.

* Referencia : 3 .

RESONANCIA MAGNETICA NUCLEAR.

En el espectro de RMN N=1 obtenido en un aparato Varian A-60 EM 360 de 60 Hz., se observa lo siguiente:

- a) Un singulete centrado en 2.49 ppm. que integra para 3 H.
- b) Un triplete centrado en 3.73 ppm con una $J=5$ Hz., que integra para 2 H.
- c) Un triplete centrado en 4.4 ppm. con una $J=5$ Hz., que integra para 2 H.
- d) Un singulete del OH centrado en 4.93 ppm. que integra para un protón y que desaparece con D_2O .
- y e) Un singulete centrado en 8.02 ppm., que integra un protón.

En todos sus aspectos, corresponde a lo descrito en la literatura (5).

Cabe hacer notar, que debido al bajo poder de resolución del aparato utilizado, la estructura fina de las bandas descritas anteriormente, no pueden apreciarse con claridad.

Además, se trazaron los espectros en las regiones Ultravioleta y Visible para una disolución de Metronidazol en medio acuoso.

ULTRAVIOLETA.

En el espectro UV. Nº 1, obtenido en un Espectrofotómetro Ultravioleta - Visible Perkin-Elmer 202, se observa un λ máx. = 320 nm. y un ϵ máx. = 9080 l mol⁻¹ cm⁻¹.

Con el propósito de poder hacer un análisis comparativo de absorción del Metronidazol con el Compuesto A sintetizado, se expresa también ϵ máx. en términos de mg/ml. designándolo como ϵ' máx., por cuanto no se dispone aún del peso molecular del Compuesto A.

$$\epsilon' \text{ máx.} = 53.05 \text{ ml mg}^{-1} \text{ cm}^{-1}.$$

TABLA 1 *

	Solvente	λ máx. (nm.)	C (M)	ϵ máx. (l mol ⁻¹ cm ⁻¹)	ϵ' máx. (ml mg ⁻¹ cm ⁻¹)
Metronidazol	H ₂ O	320	9.8017x10 ⁻⁵	9080	53.05

* datos obtenidos empleando una celda de 1 -1 cm.

VISIBLE.

En el espectro VIS. N° 1 , obtenido en un Espectrofotómetro Ultravioleta - Visible Perkin-Elmer 202 , se puede apreciar un λ máx. = 400 nm. y un ϵ' máx. = 0.117 ml mg⁻¹cm⁻¹.

TABLA 2 *

	Solvente	λ máx. (nm)	C.		ϵ máx. (l mol ⁻¹ cm ⁻¹)	ϵ' máx. (ml mg ⁻¹ cm ⁻¹)
			(M)	(mg/ml)		
Metronidazol	H ₂ O	400	10 ⁻²	1.7116	20	0.117

* datos obtenidos en una celda de l = 1 cm.

ANALISIS TEORICO DE SU ESTRUCTURA.

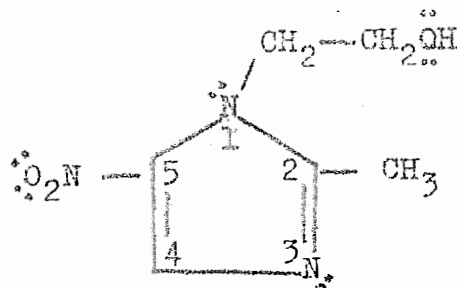


Fig. 2

El análisis teórico de la estructura de la Fig. 2 , permite apreciar en la molécula de Metronidazol una elevada capacidad potencial de actuar como ligando en la formación de compuestos de coordinación, debido a la existencia de pares de electrones libres en los N 1 y 3 del anillo imidazol, en los O del grupo nitro, en el O del grupo OH del alcohol y a través de la nube del anillo.

Además, dada la flexibilidad y libre rotación existente en el grupo etilo, cabe también la posibilidad de que el Metronidazol pueda actuar como ligando bidentado, en dos formas diferentes :

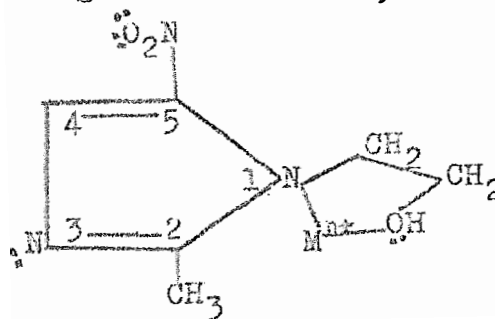


Fig. 3

o bien

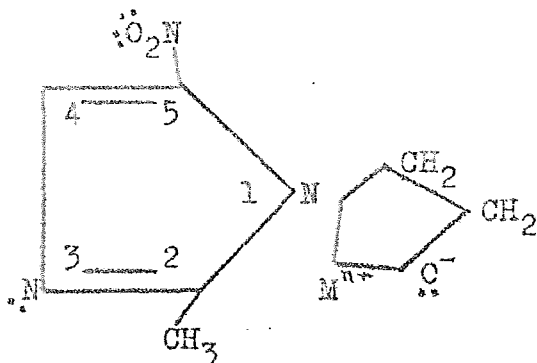


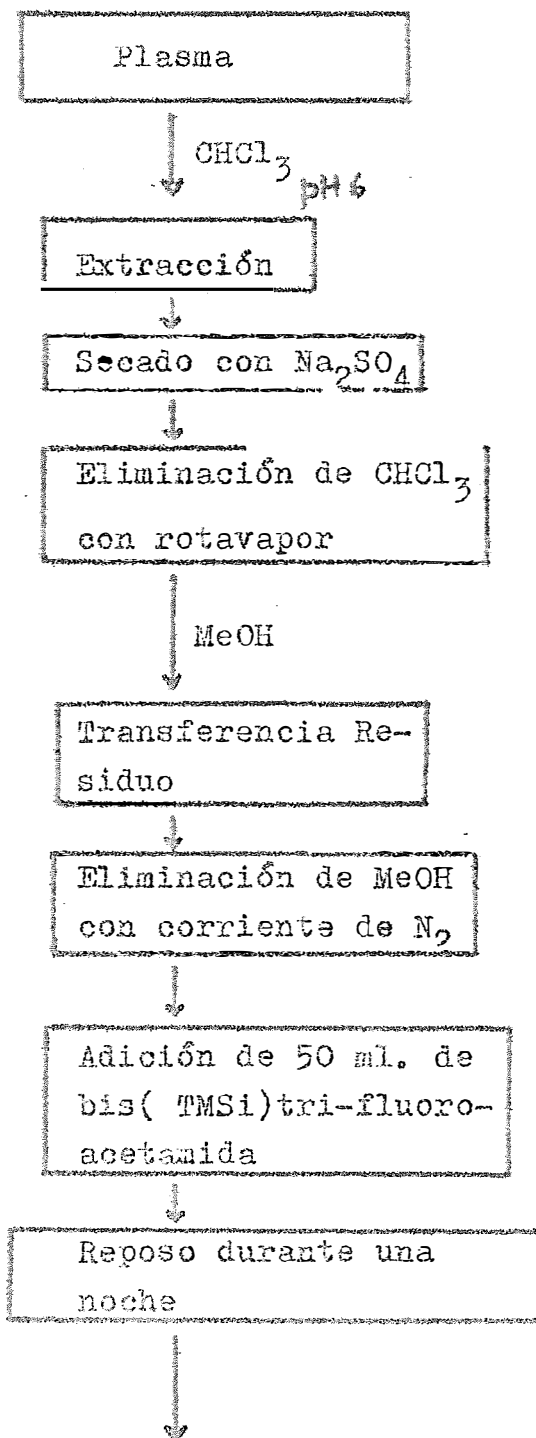
Fig. 4

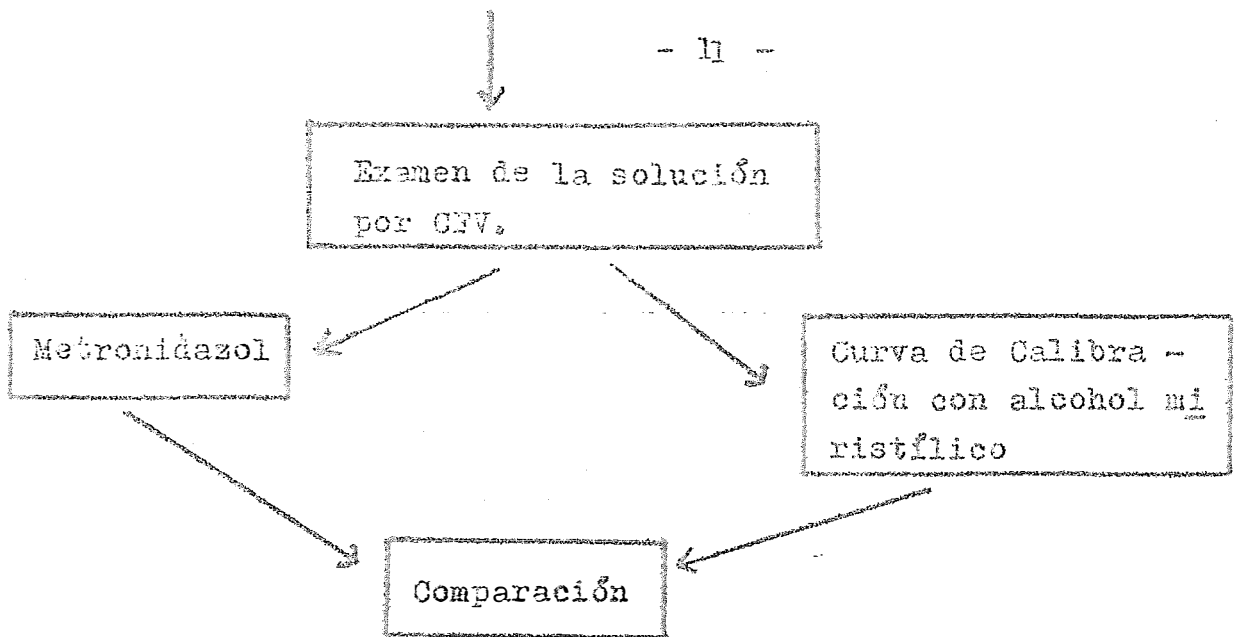
originando en ambos casos (figs. 3 y 4) un anillo de cinco miembros.

C A P I T U L O I

ANALISIS DEL METRONIDAZOL

N. F. Wood (10), describe un método de análisis cuantitativo para Metronidazol en plasma por CFV., que comprende las siguientes etapas:





Otros autores reportan métodos de análisis del Metronidazol por polarografía (12) y espectrofotometría (13).

De todos los métodos reportados, el cromatográfico parece ser el más confiable y reproducible. En particular el método polarográfico parece ser poco preciso, además de ser muy largo. Sin embargo el método por CFV. incluye un tratamiento previo de la mezcla largo y laborioso, así como lo demuestra el esquema anterior.

Otros métodos reportados para compuestos semejantes (6), mostraron tener el mismo inconveniente de una preparación previa muy larga de la muestra por analizar.

Por estas razones, y dadas las propiedades físicas del Metronidazol señaladas en la introducción, se ha pensado en la cromatografía LS. y/o LL. de alta velocidad, que constituiría un método de análisis rápido y eficiente. En todo caso, para simplificar el problema estrictamente cromatográfico, se ha juzgado necesario mantener una etapa previa de extracción

del Metronidasol de la muestra por estudiar.

Sin embargo, problemas técnicos (mal funcionamiento del detector) han retrasado el estudio de la separación cromatográfica y han llevado a estudiar entre tanto, la posibilidad de una valoración espectrofotométrica por formación de complejos coloreados con iones metálicos.

C A P I T U L O III

SEPARACIONES

Cuando el metronidazol se utiliza como medicamento, se le puede encontrar como tal o en parte transformado químicamente, (se reportan 5 metabolitos (1)) en los fluidos biológicos.

Su análisis químico, plantea entonces la necesidad de estudiar su separación desde tales fluidos.

2.1. Extracción.

En la literatura se reporta un método de extracción del Metronidazol desde plasma sanguíneo, en medio tamponado a pH 6, con cloroformo. Sin embargo, no se menciona la naturaleza del tampón utilizado ni el rendimiento de la extracción.

Se estudió la extracción a pH 6 del Metronidazol en solución acuosa $10^{-4}M$ mediante cloroformo, con dos mezclas tampón diferentes:

- a) tampón ácido cítrico/citrato trisódico pH 6.0
- b) tampón $H_2PO_4^-/HPO_4^{=}$ pH 6.0

Para los dos tipos de tampón utilizados se practicó la extracción ajustándose estrictamente a las condiciones descritas por N. F. Wood (10): 2 ml. de solución acuosa de Metronidazol tamponados a pH 6 fueron extraídos con cloroformo (1x20, 1x10 y

lx5 ml.). El extracto fue secado por unos minutos con sulfato de sodio anhidro, decantado en un matraz y evaporado el cloroformo en un rotavapor. Con etanol se transfirió el residuo a una celda de cuarzo, para efectuar su medición espectrofotométrica en el U.V. a 320 nm.

En ambos casos, las mediciones se efectuaron en un Espectrofotómetro Ultravioleta-Visible Perkin-Elmer 202 trazando los espectros correspondientes, tanto para las soluciones etanólicas como para las soluciones acuosas que contienen Metro-nidazol remanente de la extracción.

Las bandas de absorción observadas en el espectro UV. N°2.1 para el caso de la solución tamponada con cítrico/citrato, probablemente debidas a este ácido, determinaron el uso del tampón fosfato, espectro UV. N°2.2.

Los datos de absorbancia obtenidos a $\lambda=320$ nm. ($\epsilon_{\text{Metro-nidazol}}=9080$) de los espectros UV. Nos. 2.1 y 2.2 correspondientes, determinaron un rendimiento de extracción bajo, 89%, para las condiciones descritas en que se practicó.

2.2. Cromatografía en Capa Fina.

En el artículo de J. A. F. de Silva, N. Munno y N. Strojny (6) se describe una técnica de separación de cromatografía en capa fina (CCF) para nitroimidazoles, trabajando con una mezcla solvente compuesta por cloroformo-acetona y ácido acético glacial (85:10:7.5).

Empleando portaobjetos cubiertos con sílica Gel F₂₅₄, probamos la misma mezcla solvente (que designamos como mezcla 1) para el caso del Metronidazol, obteniendo para la zona detectada con lámpara UV. de onda corta un valor de Rf=0.47.

En las mismas condiciones de trabajo, se probaron diversos solventes y mezclas de solventes.

A continuación, se indica en un cuadro resumen la composición de las diversas mezclas utilizadas y los resultados obtenidos para el Metronidazol, expresados en valores de Rf.

Cuadro Resumen de CCF

Mezcla	Nº	Composición	Rf.
cloroformo acetona ác. acético glacial	1	85 10 7.5	0.47
cloruro de metileno acetato de etilo ác. acético glacial	2	85 10 7.5	0.09
cloruro de metileno acetato de etilo ác. acético glacial	3	85 10 5	0.12
etanol	4	100	0.44
metanol	5	100	0.57
etanol ác. acético glacial	6	50 50	no se detectó zona.
metanol ác. acético glacial	7	50 50	no se detectó zona.
etanol ác. acético glacial	8	90 10	0.53
Metanol ác. acético glacial	9	90 10	0.59

2.3. Aplicación.

Siendo la orina uno de los medios en que puede encontrarse el metronidazol, se utilizaron los datos experimentales obtenidos en extracción y CCF. para probarlos en orina natural, aunque sin contenido de metronidazol.

Los resultados obtenidos aparecen en el cuadro siguiente:

Muestra	Extracción		CCF.		Rf.
	Solvente	Tampón	Solvente	Zona	
Orina Natural	Sin efectuar extracción			Compuesto cabeza y cola	0.67 (cabeza)
	Cloroformo	Fosfato pH 6	MeOH 90 HAcO 10	2	0.69 0.52

Hasta el punto donde se han llevado estos experimentos, parece ser que es posible separar el metronidazol de los otros compuestos presentes en la orina en dos etapas sucesivas de extracción con cloroformo y cromatografía.

2.4. Cromatografía Líquido Sólido en Columna.

Los resultados anteriores llevaron a pensar que sería provechoso para analizar el Metronidazol en fluidos biológicos, efectuar después de la extracción con cloroformo una separación por cromatografía LS. ó LL. de alta velocidad. Esta etapa cumpliría al mismo tiempo las funciones de técnica de separación y de método de análisis.

En una primera etapa, apoyándose en los experimentos de CCF se empacó una columna de $l=32$ cm. $\phi_{int.} = 2.1$ mm. con sílice activada Spherosil XOB (diámetro de partícula 100-200 μ m). Se utilizó una bomba neumática marca Varian (presión máxima 1000 psig.) y un detector UV. a 254 nm. marca Varian. La inyección se efectuó con jeringa mediante un inyector de septum. (Figura 2.1)

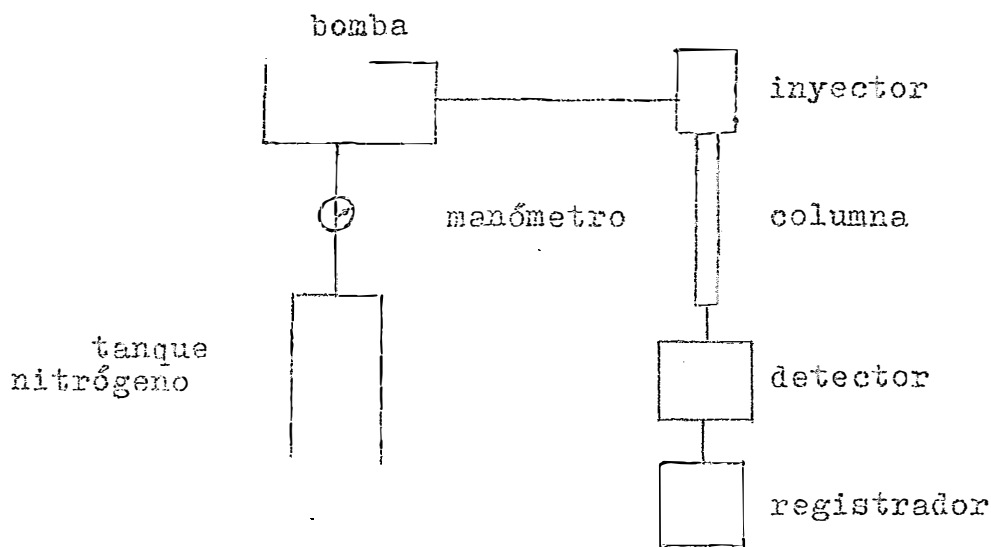


Fig. 2.1

Desgraciadamente, problemas de fugas a nivel de detector limitaron el número de experimentos que se pudieron efectuar. Sin embargo, se pudo demostrar que la hipótesis de trabajo era válida. Utilizando como fase móvil metanol puro (Merck-UVASOL), se encontró un tiempo de retención de 6 min. y un número de platos de 160, o sea, una AEPT de 2 mm. a presión de entrada de 2.5 kg/cm^2 y un flujo de 30 ml./h. Es decir, un volumen de retención de 3 ml. para un volumen muerto de la columna del orden de 2 ml.

Dados estos resultados y sobre todo la eficiencia de la columna (500 platos por metro) parece probable que modificando el poder eluyente de la fase móvil (usando mezcla Metanol-solvente menos polar) se podrá encontrar un sistema en el cual el Metronidazol se separará de otros compuestos que pueda contener el extracto. Inclusive, se puede pensar razonablemente en que es posible encontrar un sistema que permita separar el Metronidazol y sus metabolitos.

C A P I T U L O I I I

PROPIEDADES QUÍMICAS.

3.1 Comportamiento Ácido-Básico en medio acuoso.

Se efectuaron las valoraciones pH-métricas del Metronidazol en medio acuoso con base fuerte y ácido fuerte, utilizando un pH-meter marca Tacusel modelo 2G8N.

Las curvas de valoración respectivas aparecen en el gráfico N° 3.1 (valoración con NaOH y valoración con HCl). Estas no muestran diferencias significativas con las curvas correspondientes de concentración de base o ácido fuerte. En particular no presentan ningún punto de inflexión.

Con el interés de verificar los posibles cambios en la molécula de Metronidazol producidos por la adición de ácido fuerte o de base fuerte, se trazaron los correspondientes espectros UV, en los cuales no se observó ningún cambio apreciable respecto al espectro UV N° 1 del Metronidazol puro, como se puede apreciar en los espectros UV N°^S 3.1 y 3.2.

De estos experimentos se puede concluir que el Metronidazol no presenta propiedades ácido-básicas en medio acuoso. Sin

embargo, la presencia del grupo alcohólico y la de pares de electrones libres en los nitrógenos, hace pensar que pueda tener propiedades ácido-básicas en otros solventes más ácidos o más básicos que el agua.

3.2. REACCIONES CON IONES METÁLICOS.

Considerando la potencialidad de la molécula de Metronidazol de actuar como ligando en la formación de complejos metálicos, se investigó la posibilidad de reacción del Metronidazol con diversos cationes.

3.2.1. Ensayos Cualitativos.

En medio acuoso y en diferentes condiciones de concentración y temperatura se mezcló Metronidazol con soluciones de los siguientes iones metálicos: Li^+ , Mg^{2+} , Sr^{2+} , Mn^{2+} , Co^{2+} , Ni^{2+} , Zn^{2+} , Cd^{2+} y Bi^{3+} .

En ninguna de estas reacciones se observó cambio visible de coloración ni otros indicios de reacción. Lamentablemente, en ninguno de estos casos fue posible comprobar si hubo o no reacción, con la información que puede obtenerse del trazado de los espectros UV correspondientes, por cuanto no se pudo disponer de un espectrofotómetro de ese rango.

3.2.2. Reacciones Estudiadas Espectrofotométricamente.

Este estudio se practicó en diversas condiciones de concentración y temperatura con los siguientes iones: Cu^{2+} , Pb^{2+} , Ag^+ , Fe^{2+} y Fe^{3+} .

Trabajando a temperatura ambiente, las modificaciones de

concentración consistieron, en todos los casos, en hacer reaccionar el Metronidazol con un exceso de catión y a la inversa, el catión con un exceso de Metronidazol, en ambas circunstancias el exceso fue del orden de 50%.

Los espectros UV. y VIS. de los acuocomplejos de estos iones metálicos no se trazaron en todos los casos, debido a que las bandas de absorción correspondientes están reportadas en la literatura (7).

3.2.2.1. Reacción con Cu^{2+} .

Se trazaron los espectros UV. Nº 3.3 y VIS. Nº 3.1.

Para la reacción del catión con exceso de Metronidazol se trazó el espectro UV. Nº 3.4 y el VIS. Nº 3.2.

Para la reacción del Metronidazol con exceso de Cu^{2+} , se trazó el espectro UV. Nº 3.5 y VIS. Nº 3.3.

La comparación de los últimos cuatro espectros con el espectro UV. Nº 1 y VIS. Nº 1 del Metronidazol, no muestra cambios substanciales en las bandas de absorción.

Los espectros anteriores fueron obtenidos alrededor de tres horas de efectuadas las reacciones correspondientes.

3.2.2.2. Reacción con Ag^+ .

Para la reacción con exceso de Metronidazol, se trazaron los espectros UV. y VIS. Nº^S 3.6 y 3.4 respectivamente.

Con exceso de Ag se trazaron los espectros UV. y VIS. Nº^S 3.7 y 3.5 respectivamente.

La comparación de estos espectros con los espectros UV. Nº 1 y VIS. Nº 1 del Metronidazol, no revela cambios substanciales en las bandas de absorción.

Los espectros anteriores fueron tomados alrededor de 3 horas después de efectuadas las reacciones correspondientes; sin embargo dentro de las 24 horas siguientes se pudo observar la aparición de una coloración rosa débil, en la mezcla de reacción, que se intensificó con el tiempo, para terminar por desaparecer finalmente (a las 72 horas de efectuada la reacción), produciéndose un precipitado negro de plata metálica.

3.2.2.3. Reacción con Pb^{2+} .

En la reacción con exceso de Metronidazol se trazó el espectro UV. Nº 3.8 y en la reacción con exceso de Pb^{2+} el espectro UV. Nº 3.9. Para esta misma reacción pero esta vez efectuada a 80° C., se trazó el espectro UV. Nº 3.10.

En ninguno de los tres casos se observa cambio en la banda de absorción del Metronidazol.

A raíz del análisis del modelo a escala de la molécula de Metronidazol se encontró que uno de los posibles sitios de enlace, par electrónico no enlazante del N=O hidroxílico, corresponde a una longitud de 1.15 Å. Siendo esta distancia, la equivalente al radio iónico del Pb^{2+} aproximadamente, se realizó la reacción entre Metronidazol y Pb^{2+} en medio alcalino tamponado (NH_4^+ / NH_3 ; pH 10), con la intención de forzar la salida del protón hidroxílico. La reacción se hizo a temperatura ambiente y a 80°C. Los espectros UV. correspondientes figuran con los N°^s 3.11 y 3.12 los que muestran un muy ligero desplazamiento batocrómico.

Además se tomó el espectro UV. N° 3.13 que corresponde al hidroxocomplejo de plomo utilizando el tampón (NH_4^+ / NH_3), como referencia.

3.2.2.4. Reacción con Fe^{2+} .

Para la reacción del catión con exceso de Metronidazol se trazó el espectro UV. N° 3.14.

Para la reacción del Metronidazol con exceso de Fe^{2+} se trazó el espectro UV. N° 3.15.

En ambos casos no se observa modificación de la banda de absorción del Metronidazol.

3.2.2.5. Reacción con Fe^{3+} .

La reacción del Metronidazol con el Fe^{3+} produjo un intenso color amarillo en la solución, por lo cual se resolvió ampliar el estudio de esta reacción. Al mismo tiempo se resolvió no continuar profundizando en las reacciones previamente descritas.

Se destina el capítulo IV para el estudio de la reacción del Metronidazol con el Fe^{3+} .

C A P I T U L O IV

REACCION DEL METRONIDAZOL CON Fe^{3+} .

4.1. Estudio de la Reacción en función del tiempo de Reacción.

Bajo las mismas condiciones de concentración se siguió es - pectrofotométricamente el curso de la reacción después de 3, 24 y 48 horas de reacción.

En cada caso se trazaron los espectros UV. y VIS., tanto pa ra la reacción de Fe^{3+} con exceso de Metronidazol, como para la reacción de Metronidazol con exceso de Fe^{3+} .

Los espectros correspondientes se signan con los números:

Reacción	Tiempo de reacción	Espectro Nº	
		UV.	VIS.
Fe ³⁺ con exce so de Metroni dazol a tempe ratura ambien te.	3 hrs.	4.1	4.1
	24 hrs.	4.2	4.2
	48 hrs.	4.3	4.3
Metronidazol con exceso de Fe ³⁺ a tempera tura ambiente	3 hrs.	4.4	4.4
	24 hrs.	4.5	4.5
	48 hrs	4.6	4.6

Resultados:

En los espectros UV, de los productos de las reacciones no se observan cambios de desplazamiento de la banda principal de absorción del Metronidazol.

En los espectros VIS. de ambos productos se puede constatar el aumento gradual de la intensidad de la coloración amarilla con el tiempo de reacción, observado a simple vista en las soluciones.

Estos resultados condujeron al estudio de la reacción a temperatura más elevada.

4.2. Estudio de la Reacción en función de la Temperatura.

En las mismas condiciones de concentración y tiempo de reacción que en el punto 4.1, se practicó la reacción en baño ma - ría a 80°C. durante 30 minutos.

Al cabo de solo 3 minutos la solución había adquirido un intenso color amarillo.

Los espectros UV. y VIS. correspondientes se señalan con los números:

Reacción	Espectro N°	
	UV.	VIS.
Fe ³⁺ con exceso de Metronidazol	4.7	4.7
Metronidazol con exceso de Fe ³⁺		4.8

Resultados:

La intensificación de la coloración amarilla de la solución se registra en la comparación de estos espectros VIS. con los del punto 4.1, permaneciendo sin modificación el espectro UV.

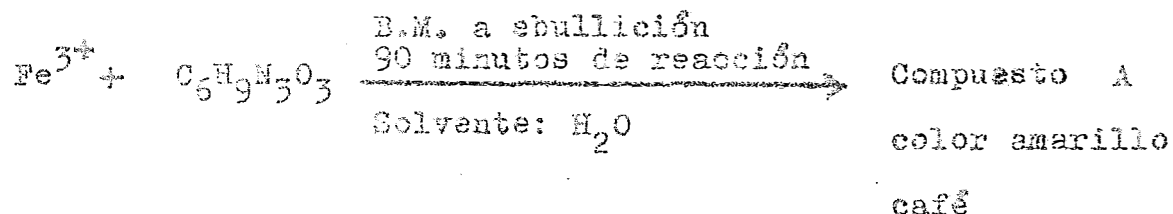
Ensayos posteriores demostraron que en baño maría a temperatura de ebullición la reacción puede considerarse como terminada después de 90 minutos.

4.3. Síntesis, Purificación y Estudio del Compuesto A .



Los resultados obtenidos en los puntos 4.1 y 4.2 incitaron a tratar de aislar el compuesto amarillo, que se designa como compuesto A.

4.3.1. Síntesis.



En un matraz se hicieron reaccionar 4mmoles de Fe^{3+} con un 100% de exceso de Metronidazol a la temperatura de ebullición del baño maría, durante 90 minutos.

La solución resultante, de intenso color amarillo café, se redujo a la mitad de su volumen en un rotavapor a unos 60°C. en baño maría.

4.3.2. Purificación.

El exceso de Metronidazol fue separado por repetidas extracciones con cloroformo de la solución acuosa concentrada hasta desaparición de la mancha de Metronidazol en cromatografía de placa, revelada con lámpara de UV.

Desde la solución acuosa se extrajo un sólido color café por medio de lenta evaporación en rotavapor al baño maría, al que mantuvo en desecadora con cloruro de calcio y al vacío.

4.4. Estudio del Compuesto A .

4.4.1. Propiedades Físicas.

Sólido, color café.

Punto de fusión: 300°C.

Solubilidad: Muy soluble en agua

Soluble en EtOH

Soluble en MeOH

Soluble en DMSO

Ligeramente soluble en acetona

Insoluble en éter

Insoluble en CHCl₃

Insoluble en acetato de etilo

Tabla Comparativa 4.1

Compuesto	Estado Físico	Punto de Fusión	Solubilidad					
			H ₂ O	EtOH	MeOH	Eter	CHCl ₃	DMSO
A	Sólido amarillo café.	300°	Sol.	Sol.	Sol.	Ins.	Ins.	Sol.
Metronidazol	Sólido blanco	160°	1g/100 ml.	0.5g/100 ml.		0.05g/100 ml.		Sol.

Referencia : 1

4.4.2. Prueba de contenido de Fe^{3+} . Reacción con SCN^- .

La adición de SCN^- a una solución acuosa del complejo (compuesto A) produce un resultado negativo para la presencia de Fe^{3+} . La adición ex profeso de $\text{Fe}^{3+} 10^{-3}$ M., permite apreciar la coloración roja del complejo FeSCN^{2+} .

Observamos que la adición de solución de Metronidazol 10^{-2} M. a la solución roja del complejo FeSCN^{2+} produce a temperatura ambiente su decoloración y aparición paulatina de coloración amarilla. El cambio de color se produce con mayor rapidez a mayor temperatura.

Este resultado permite pensar que el compuesto A puede ser un complejo Fe^{III} - Metronidazol.

4.4.3. Estudio Espectroscópico.

4.4.3.1. Ultravioleta.

En la curva del espectro UV. No. 4.8, obtenida en un Espectrofotómetro Ultravioleta-Visible Perkin-Elmer 202, se puede apreciar un λ máx.=317 nm. (descartando la región de baja λ por no haberse podido trabajar en atmósfera inerte) y un ϵ' máx. = 16.07 mlmg⁻¹cm⁻¹. en agua.

Comparado con el Espectro UV. Nº1 del Metronidazol en agua, que muestra un λ máx.=320 nm. y una ϵ' máx.= 53.05 mlmg⁻¹cm⁻¹ calculada, y con el de Fe³⁺, se puede apreciar que para el compuesto A se ha producido un ligero desplazamiento de banda hipsocrómico y una disminución de ϵ' máx. del orden del 70%, como puede apreciarse en la Tabla comparativa 4.2.

Tabla Comparativa 4.2 *

	Solvente	λ máx. (nm.)	C. (mg/ml)	ϵ' máx. (mlmg ⁻¹ cm ⁻¹)
Compuesto A	H ₂ O	317	0.0224	16.07
Metronidazol	H ₂ O	320	0.0171	53.05

*datos obtenidos con una celda de l= 1 cm.

Interpretación: De lo anterior puede deducirse que en el Compuesto A hay un factor que está afectando a la densidad electrónica de la molécula del Metronidazol, cuando reacciona con Fe³⁺.

4.4.3.2. Visible.

En la curva del espectro VIS. N° 4.9 obtenida en un Espectrocolorímetro Metrohm E 1009, se puede apreciar un λ máx.=400nm. y un ϵ' máx.= 3.47 mlmg⁻¹cm.⁻¹, en agua.

Comparado con el espectro VIS. N°1 del Metronidazol en agua, en el que no se aprecia absorción alguna en toda la región, se puede apreciar la fuerte coloración del Compuesto A, determinante de su ϵ'_{400} máx., como se aprecia en la Tabla 4.3

Tabla Comparativa 4.3 *

	λ máx. (nm.)	C. (mg/ml)	ϵ' máx. (mlmg ⁻¹ cm. ⁻¹)
Compuesto A	400	0.265	3.47
Metronidazol	400	1.7116	0.117

*datos obtenidos en solución acuosa y con una celda de 10 1 cm.

4.4.3.5. Infrarrojo.

En el espectro IR. Nº 4.1 obtenido en un Espectrofotómetro Infrarrojo de rejilla Perkin-Elmer 337, se observaron las bandas que a continuación se señalan:

Región Espectral (cm^{-1})	Intensidad Relativa
3500--2800	Banda ancha y fuerte
1065--1010	Varias bandas no definidas, medianas.

Tabla Comparativa 4.4

Región Espectral (cm^{-1})	
Metronidazol (Bandas asignadas)	Compuesto A
3200	3500 ↓ 2800
1070	
	1065 ↓ 1010
	500 ↓ 400
	*

* Fue posible observar algunas bandas de esta región en el espectro IR. Nº 4.2 obtenido en un espectrofotómetro Beckman

con celda de KBr, por lo que solo puede apreciarse hasta al --
rededor de los 350 cm^{-1} .

Cabe mencionar que en la literatura (11) se informa que en los alcoholes, los hidroxilos unidos por puentes de hidrógeno (OH...O) presentan fuerte y ancha absorción en la región entre 3500 y 3200 cm^{-1} . También se informa de absorción en el rango $585-413 \text{ cm}^{-1}$ para la extensión $M^{III}-N$, bandas que es posible observar en Espectrofotómetros IR. de mayor rango y resolución, con celdas de CsI.

4.4.3.4. Resonancia Magnética Nuclear.

En el espectro de RMN. Nº 4.1 y 4.2, obtenida en un aparato Varian EM 360 de 60 Hz., barrido desde 10 ppm. hasta -5 ppm con TMS como referencia interna, es posible observar tan sólo la presencia de una panza, que según describe la literatura (referencias 8 y 9) puede corresponder a compuestos quelatos de iones paramagnéticos.

CONCLUSIONES.

Para fines del análisis del Metronidazol en fluidos biológicos, se desarrollaron experimentos en tres direcciones diferentes :

1) Extracción del Metronidazol.

Se pudo comprobar que la extracción reportada en la literatura es eficiente, sin embargo, sólo tiene un rendimiento de 89%.

2) Valoración espectrofotométrica.

Se encontró que el Metronidazol reacciona con el Fe^{III} dando un compuesto ("A") para el cual se tienen fuertes índices de que se trata de un complejo. Las propiedades espectroscópicas de este compuesto, permiten pensar en su utilización para valoración espectrofotométrica del Metronidazol.

3) Análisis cromatográfico.

Se hicieron experimentos preliminares que incitan a pensar que el método de CLS de alta velocidad es apropiado para analizar Metronidazol y sus metabolitos.

Estas tres direcciones de trabajo han sido exploradas, pero desde luego, no agotadas. Para completar estos estudios se proponen las siguientes vías:

1) Afinación del método de extracción.

Sería necesario comprobar si el método reportado puede dar un rendimiento del 100% o si es necesario desarrollar un nuevo

método para alcanzar este resultado. En caso de no lograrlo, quedaría la posibilidad de comprobar la reproducibilidad del método global de análisis (extracción-cromatografía) que podría funcionar con una extracción no completamente cuantitativa.

2) Compuesto "A".

Queda por comprobar exactamente la estructura del compuesto "A" y estudiar la posible aplicación a la valoración espectrofotométrica del Metronidazol en el Visible.

3) Análisis cromatográfico.

En una primera etapa se debería estudiar la variación del tiempo de retención del Metronidazol, en función de diversos parámetros: presión de entrada, naturaleza de la fase móvil... La estructura del Metronidazol permite pensar también, que se puede separar por cromatografía LL. (fase estacionaria polar).

En segundo lugar, cabría averiguar la buena separación del pico del Metronidazol de otras sustancias extraídas del fluido biológico.

En fin, sería necesario comprobar la reproducibilidad, la precisión y el dominio de aplicación del método de análisis.

BIBLIOGRAFIA.

1. "The Merck Index", Merck y Co., Inc., Eighth Edition, 1968.
2. W. B. Pratt, "Fundamentals of Chemotherapy", Oxford University, 1973.
3. J. Pharm. Exp. Therp., 161, N° 2, 373, (1968).
4. "Diccionario de Especialidades Farmacéuticas", México, 15ª Edición.
5. "The Sadtler Standard Spectra", Sadtler Research Laboratories, Philadelphia, PA. 19104, 1972.
6. J. A. F. de Silva, N. Munno, N. Strojny., J. Pharm, Sc., 59, N° 2, 201, (1970).
7. C. K. Jorgensen, "Absortion Spectra and Chemical Bonding in Complexes", Pergamon, (1962).
8. W. L. Jolly, "The Synthesis and Characterization of Inorganic Compounds", Prentice-Hall, 1968.
9. H. A. O. Hill, P. Day, "Physical Methods in Advanced Inorganic Chemistry", Interscience Publishers, 1968.
10. N. F. Wood., J. Pharm. Sc., 61, N° 6 , 1048, (1975).
11. N. B. Colthup, L. H. Daly, Stephen E. Wberley., "Introduction to Infrared and Raman Spectroscopy", Academic Press, 1964.
12. C. Cosar, M. Dubost, P. Devolze, M. Palliare., Ann. Pharm. Fr., 20, 872 (1962).
13. P. Populaire, B. Decouvellaere, G. Leberton, S. Pascal., Ann. Pharm. Fr., 26, 549 (1968).

A P E N D I C E.

ESPECTROS:

Infrarrojo

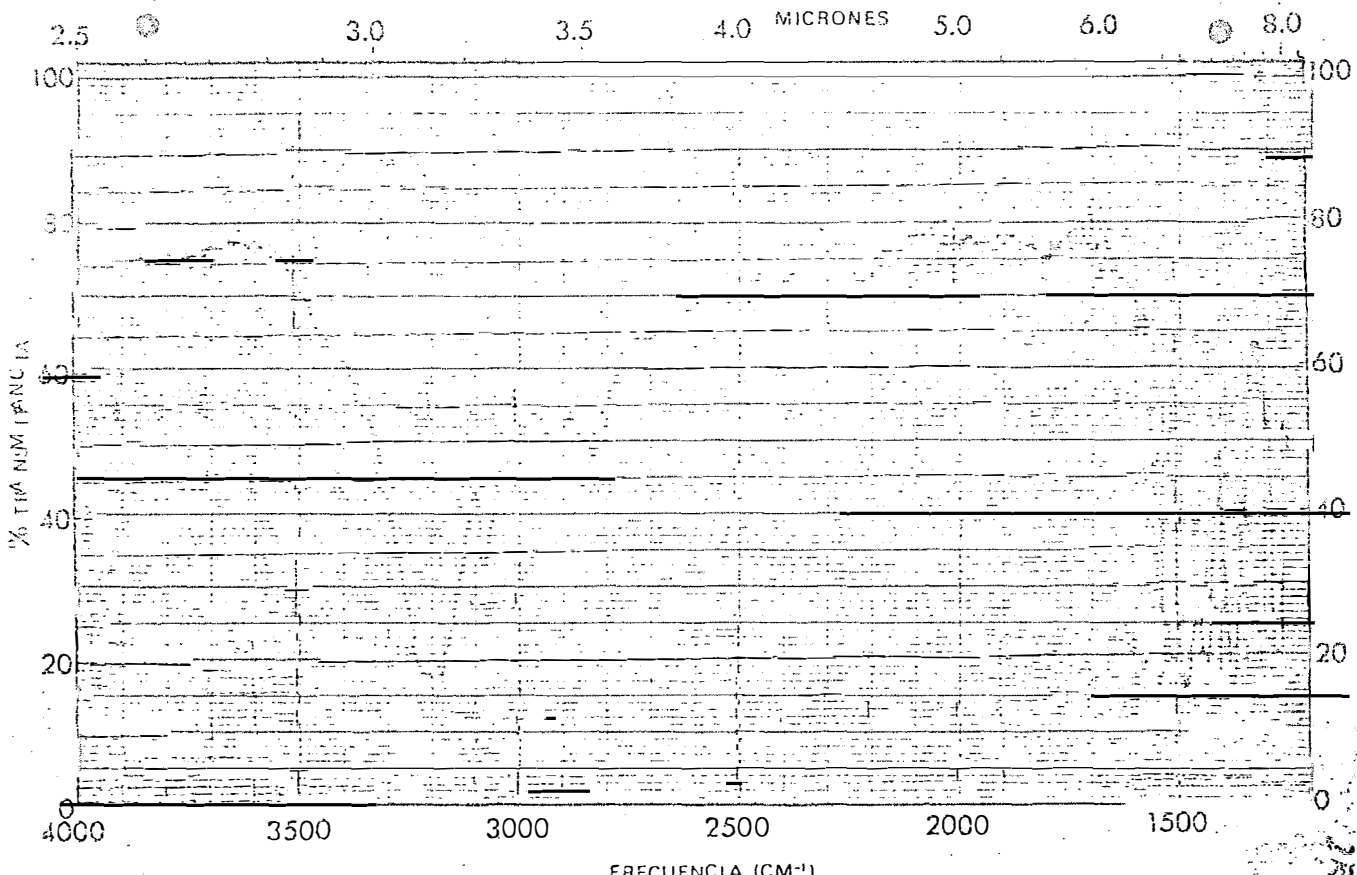
Visible

Ultravioleta

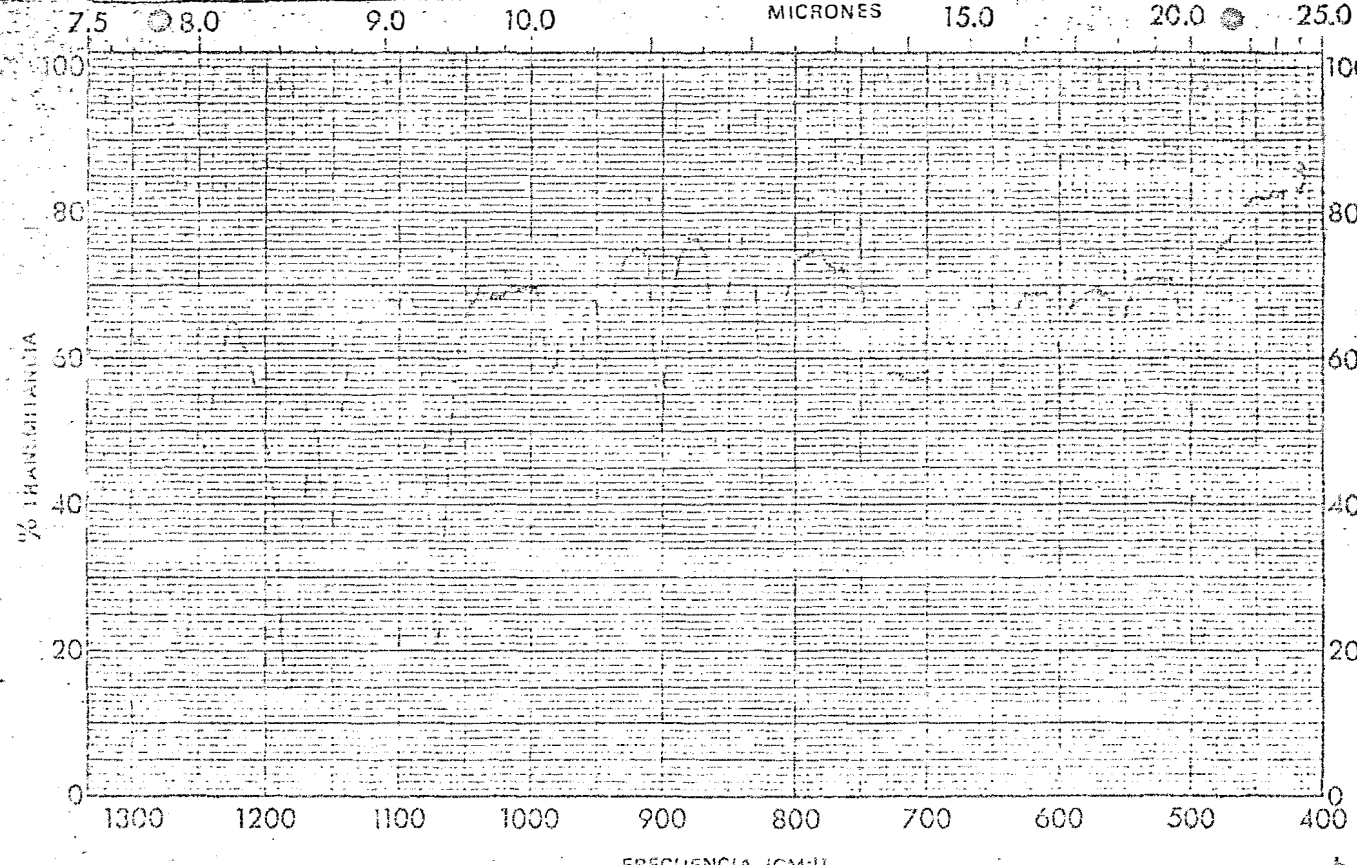
Resonancia Magnética Nuclear

GRAFICAS.

IR Nº 2

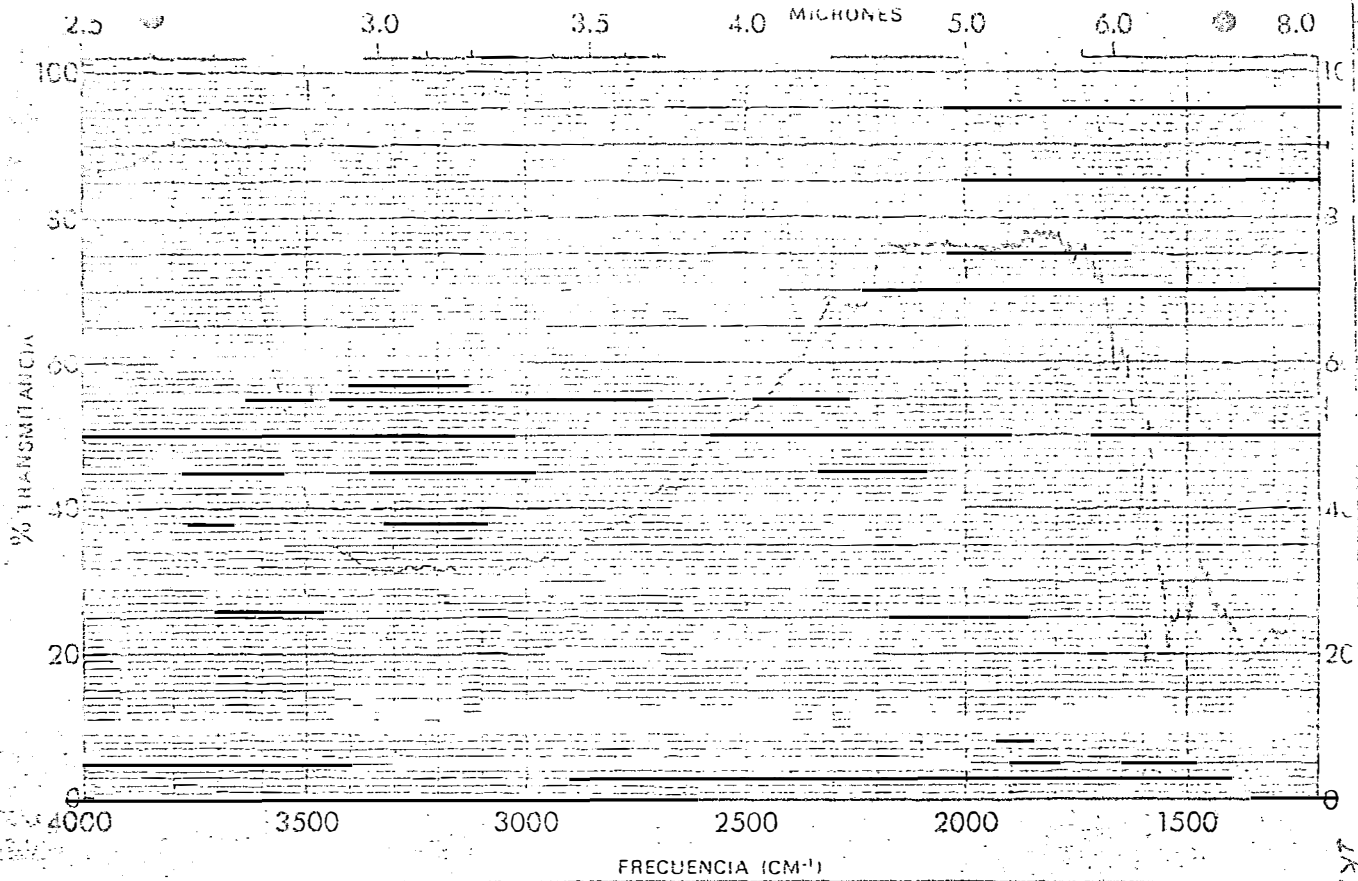


MUESTRA <i>Mitochondrial</i>	CURVA NO. <i>20063</i>	VEL. DE BARRIDO <i>10</i>	OPERADOR <i>Ch</i>
ORIGEN <i>Alol</i>	CONC. <i>—</i>	RENDIJA <i>—</i>	FECHA <i>7-11-56</i>
SOLVENTE <i>—</i>	ESPESOR DE CELDA <i>—</i>	COMENTARIOS <i>—</i>	
	REFERENCIA <i>Alol</i>		




MUESTRA <i>Mitochondrial</i>	CURVA NO. <i>20063</i>	VEL. DE BARRIDO <i>10</i>	OPERADOR <i>Ch</i>
ORIGEN <i>Alol</i>	CONC. <i>—</i>	RENDIJA <i>—</i>	FECHA <i>7-11-56</i>
SOLVENTE <i>—</i>	ESPESOR DE CELDA <i>—</i>	COMENTARIOS <i>—</i>	
	REFERENCIA <i>Alol</i>		

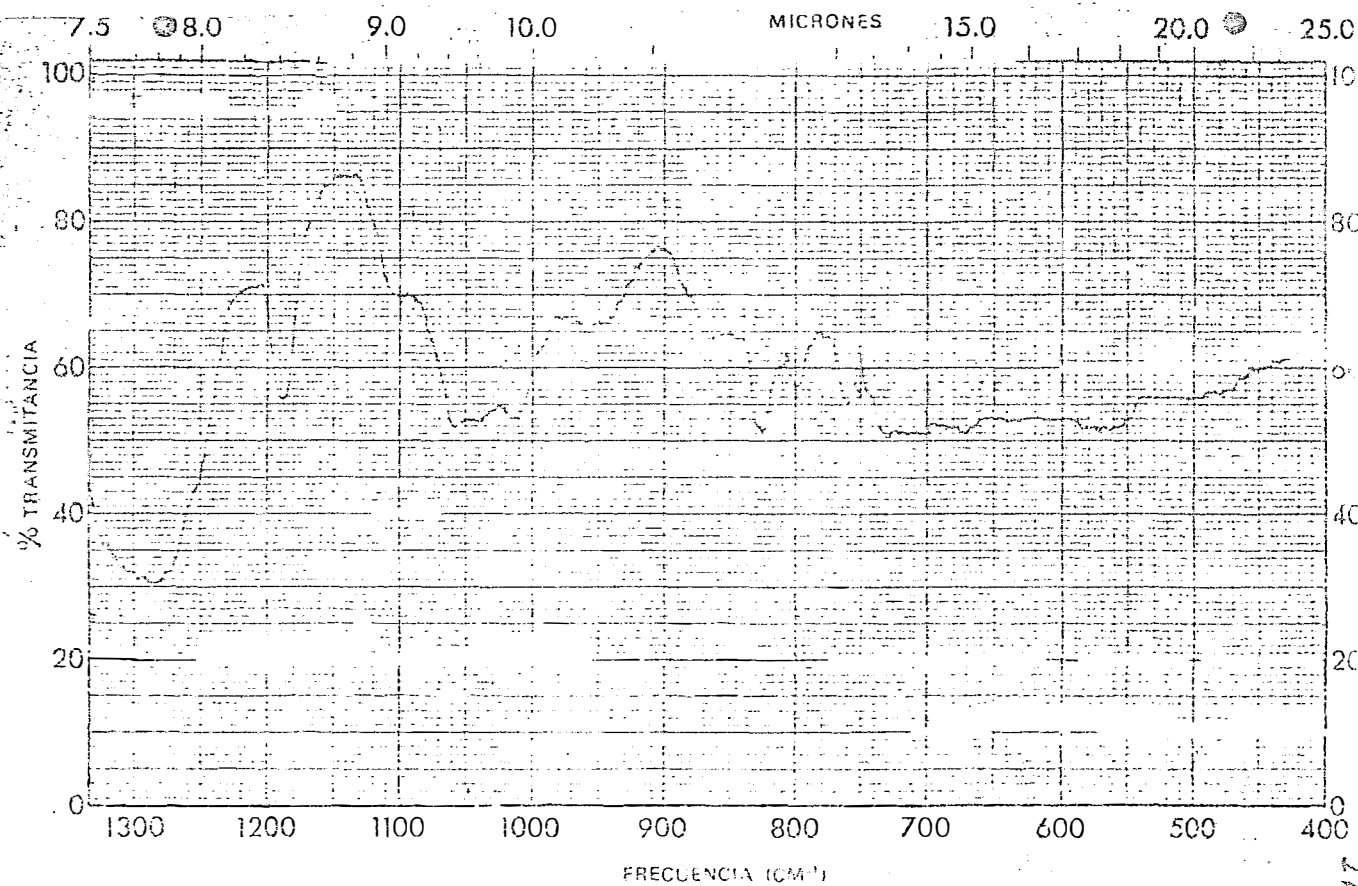
IR Nº 2




IR. N° 4.1

	MUESTRA <u>36</u> COMPUESTO A	CURVA N° <u>22359</u>	VEL. DE BARRIDO <u>lento</u>	OPERADOR <u>del</u>
ORIGEN <u>Alc.</u>	ESPESOR DE CELDA <u>—</u>	CONC. <u>—</u>	LENTIA <u>—</u>	FECHA <u>3</u>
SOLVENTE <u>—</u>	REFERENCIA <u>alc.</u>	COMENTARIOS <u>pequeño</u>		

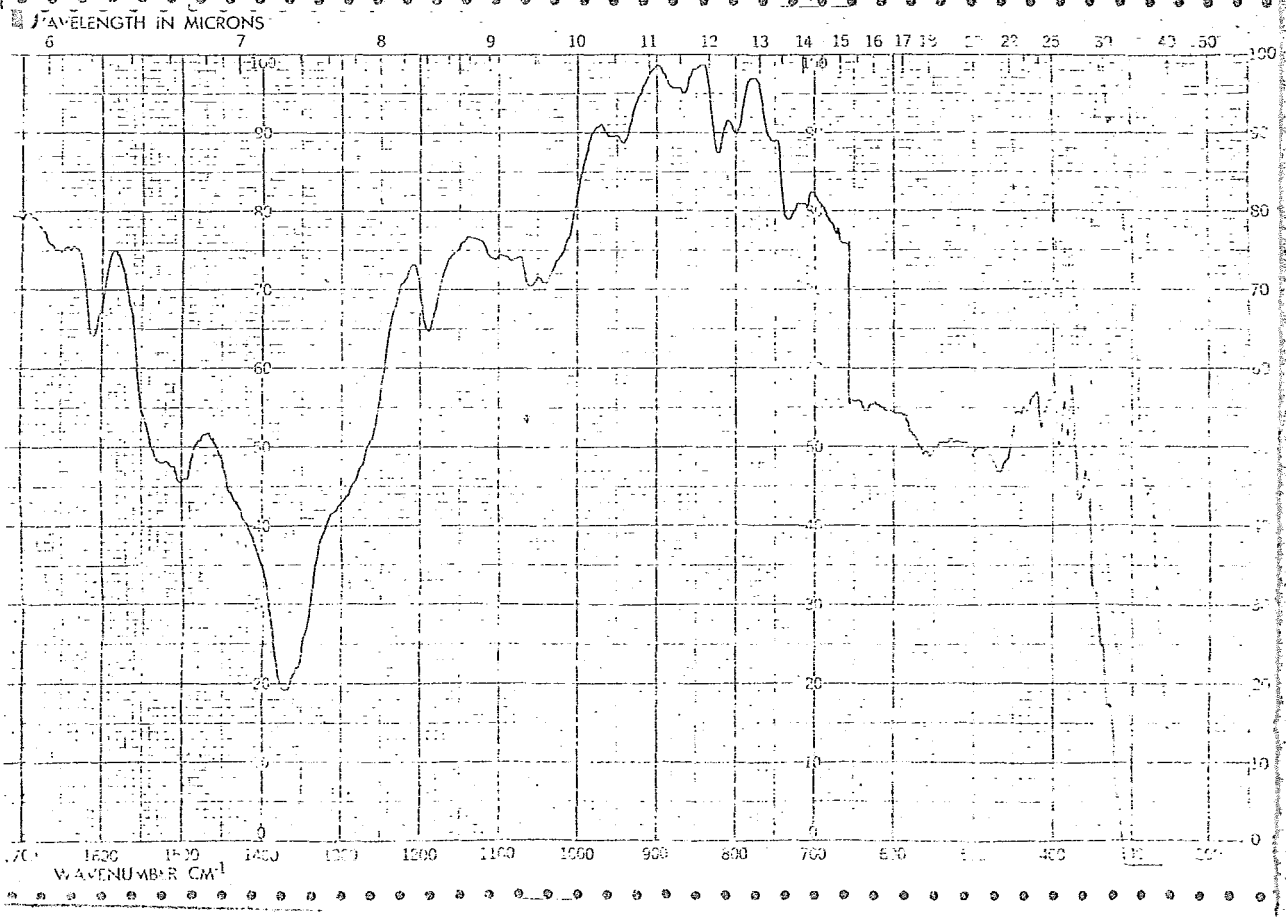
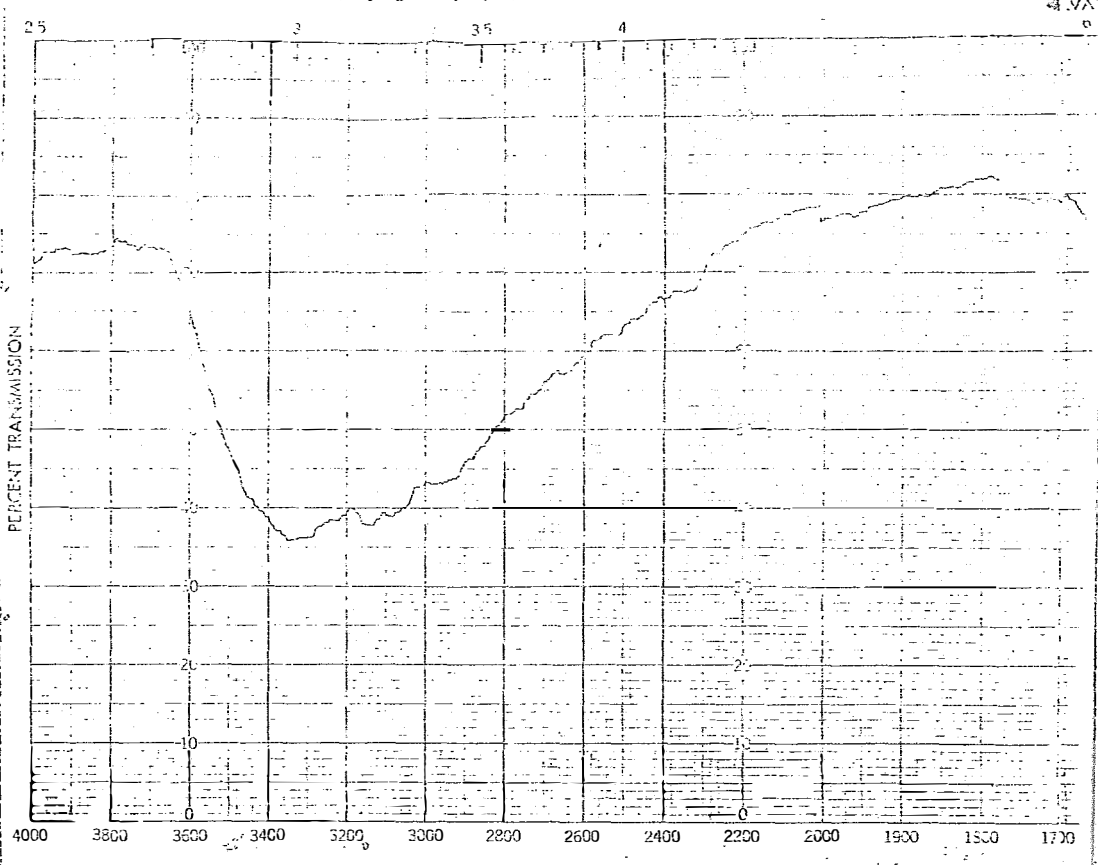
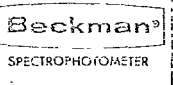
J.K. N° 4.1

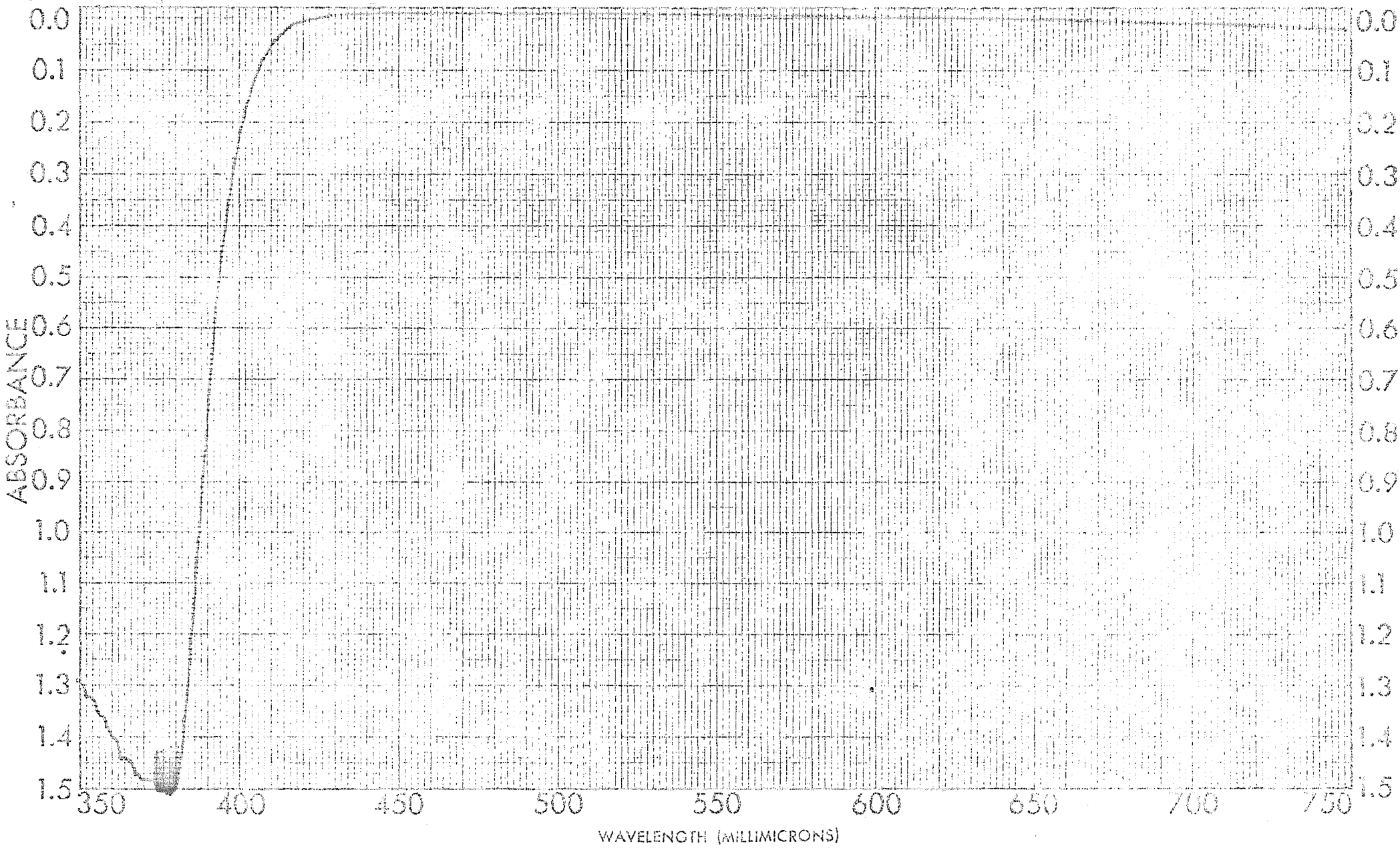


	MUESTRA <u>36</u> COMPUESTO A	CURVA N° <u>22359</u>	VEL. DE BARRIDO <u>rapido</u>	OPERADOR <u>del</u>
ORIGEN <u>Alc.</u>	ESPESOR DE CELDA <u>—</u>	CONC. <u>—</u>	LENTIA <u>—</u>	FECHA <u>3</u>
SOLVENTE <u>—</u>	REFERENCIA <u>alc.</u>	COMENTARIOS <u>pequeño</u>		

J.K. N° 4.1

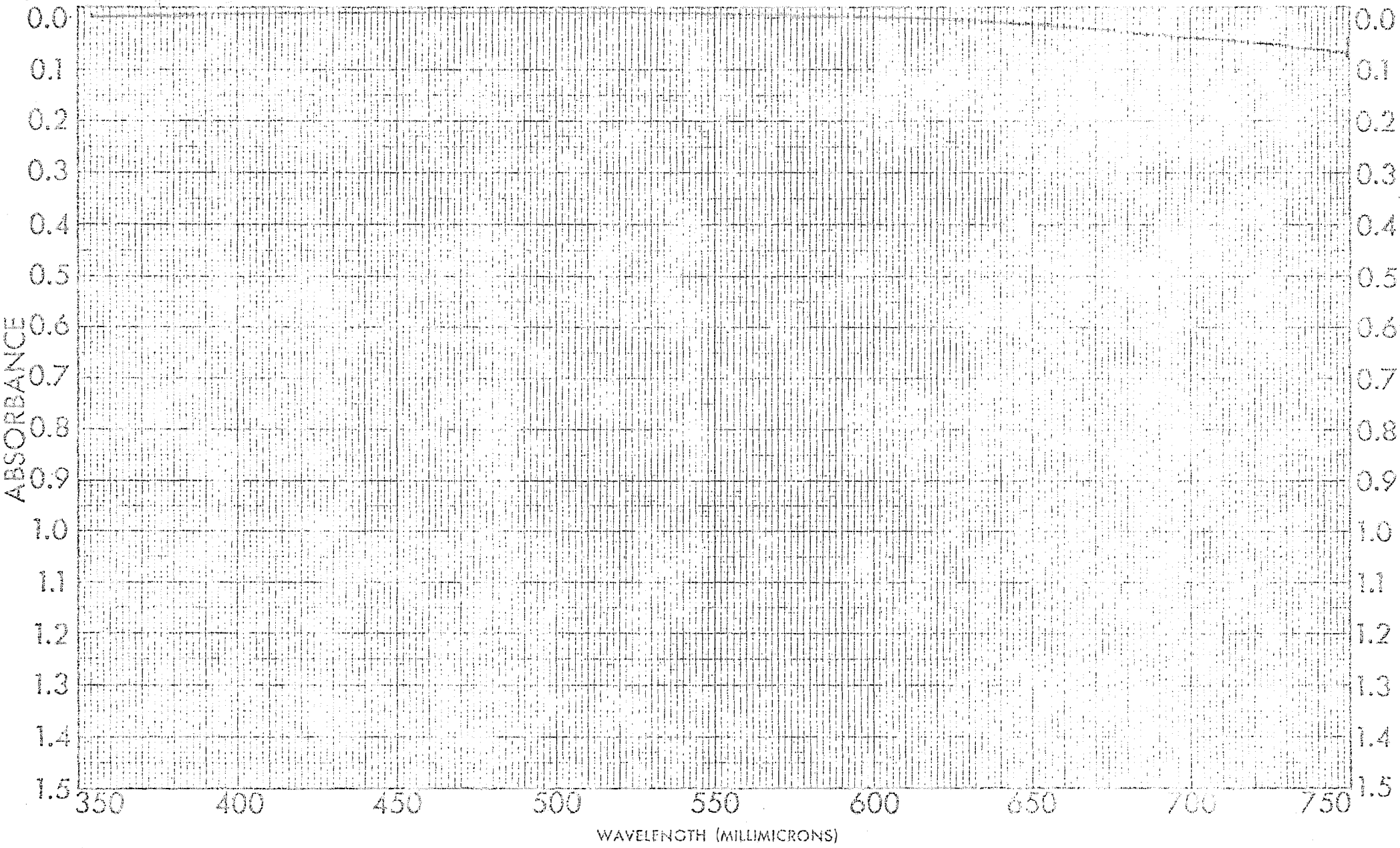
103442
SPECTRUM NO. 2 F
CONCENTR. A
SAMPLE
SOURCE
STRUCTURE
FILM
SCANS ENERGY RATIO
RESOLUTION
SPEED 10-50
GAIN 1.5
PERIOD
ORDINATE SCALE 20000
ANALYST. JF
DATE 8-V-76





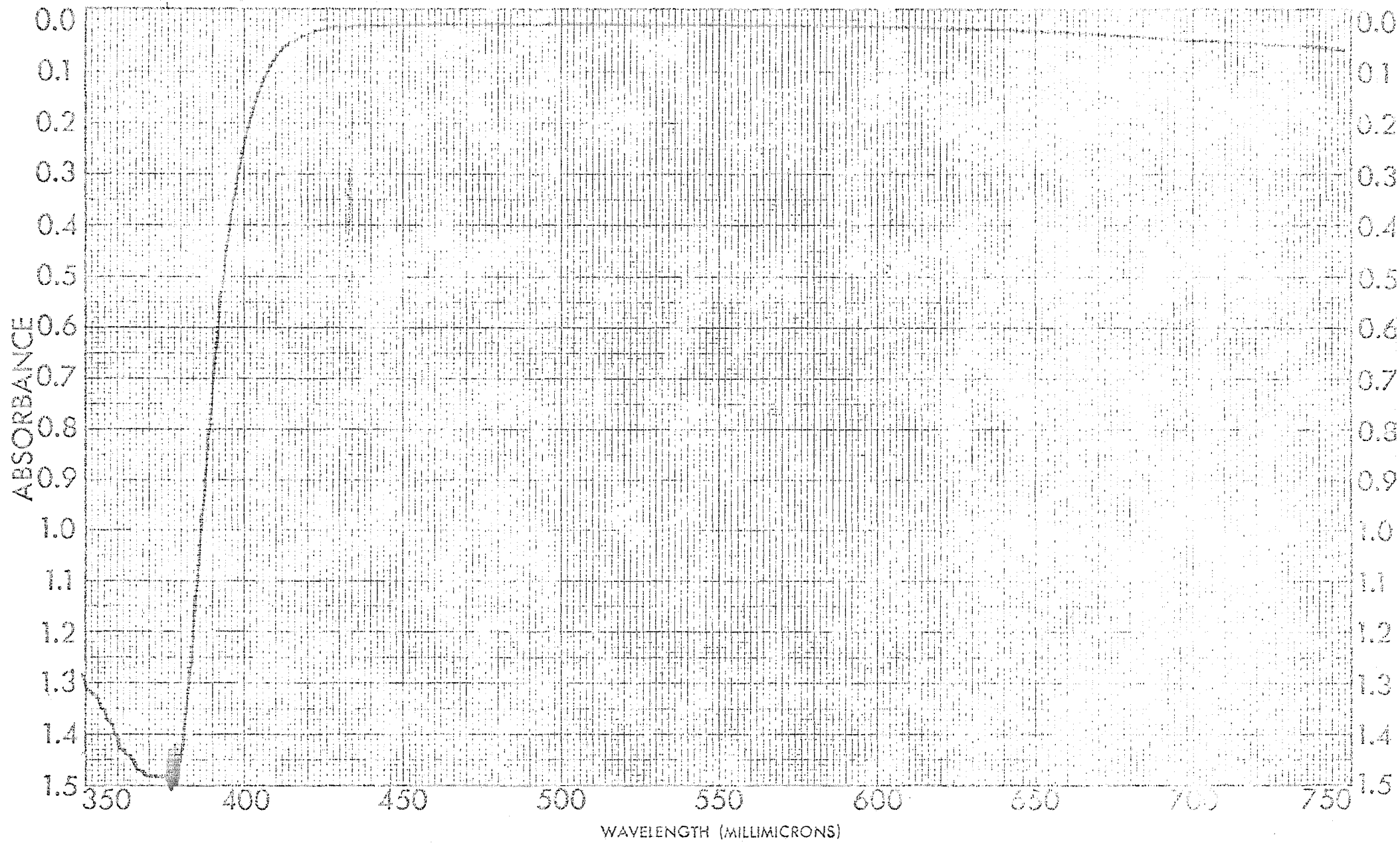
SAMPLE <u>METRONIDAZOL</u>	CURVE NO. <u>5099</u>	SCAN SPEED _____	OPERATOR <u>Polizovic</u>
ORIGIN _____	CONC. _____	SLOT _____	DATE _____
SOLVENT _____	CELL PATH _____	REMARKS _____	
	REFERENCE <u>H₂O</u>		

MS No 1



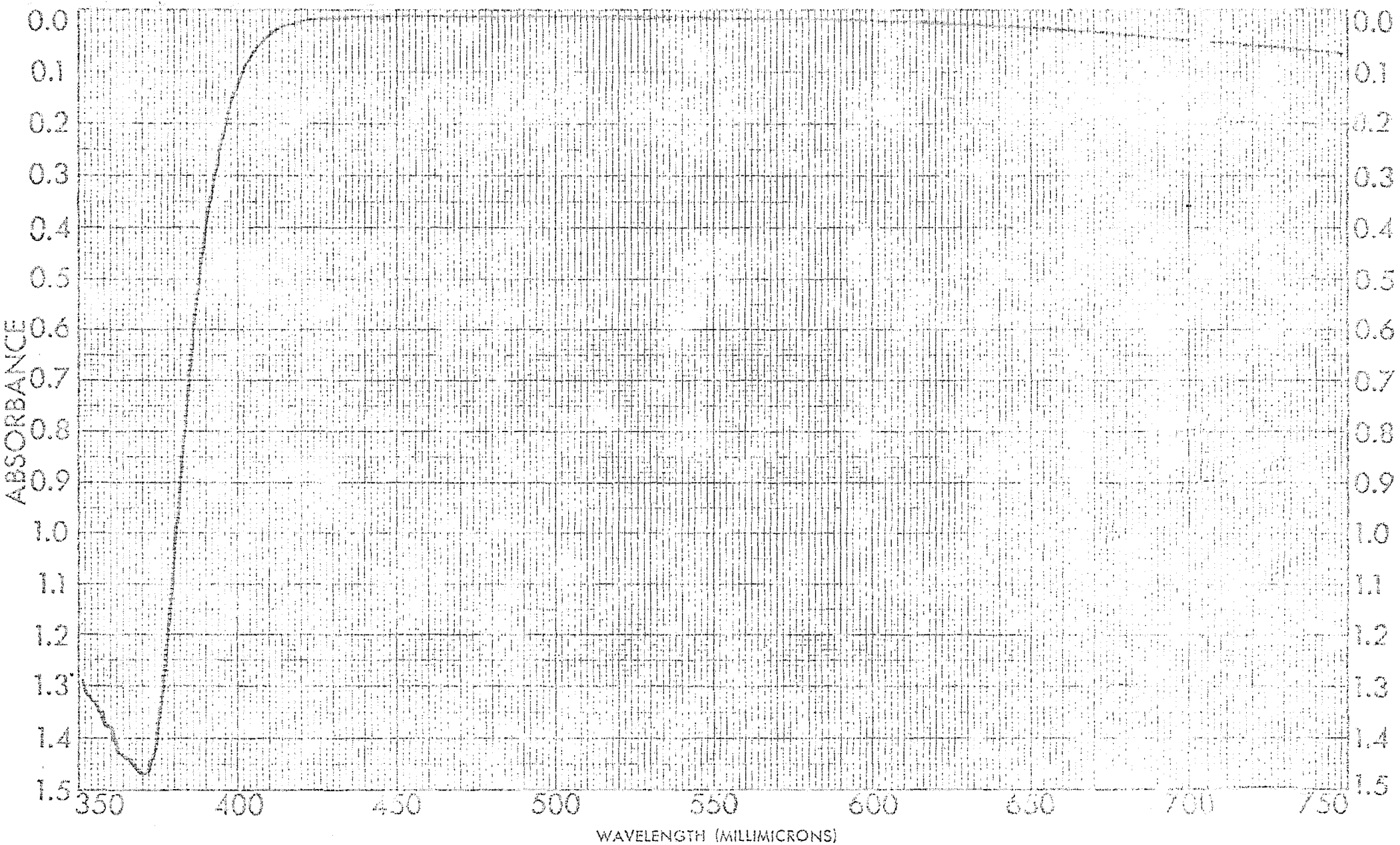
SAMPLE _____	CURVE NO. <u>5101</u>	SCAN SPEED _____	OPERATOR <u>Bib. Jovic</u>
ORIGIN _____	CONC. _____	SLIT _____	DATE _____
SOLVENT _____	CELL PATH _____	REMARKS _____	
	REFERENCE _____		

V.S. N^o 37



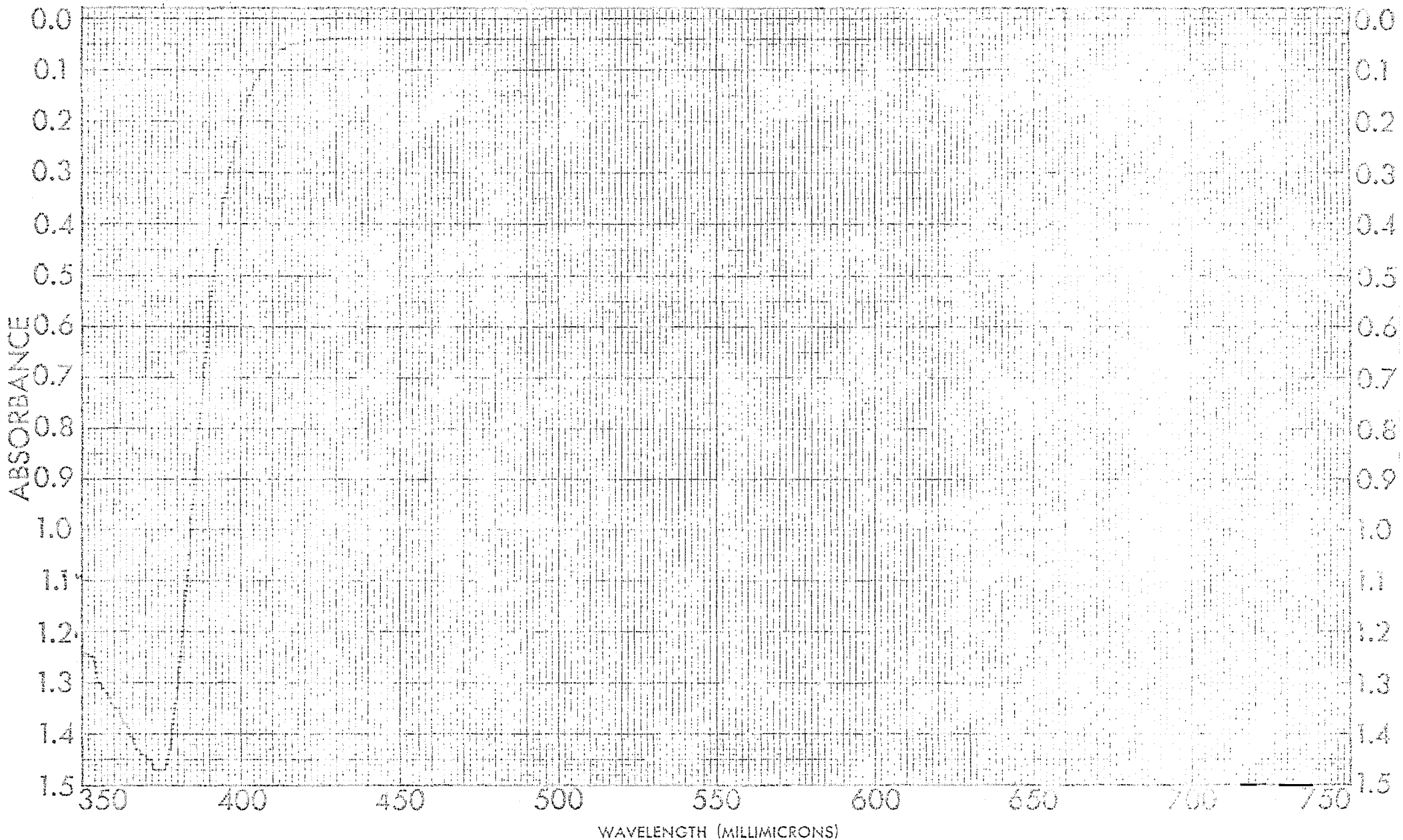
SAMPLE _____	CURVE NO. <u>509 B</u>	SCAN SPEED _____	OPERATOR <u>B. J. J. J.</u>
ORIGIN _____	CONC. _____	SLIT _____	DATE _____
SOLVENT _____	CELL PATH _____	REMARKS _____	
	REFERENCE _____		

V.S. # 3.2



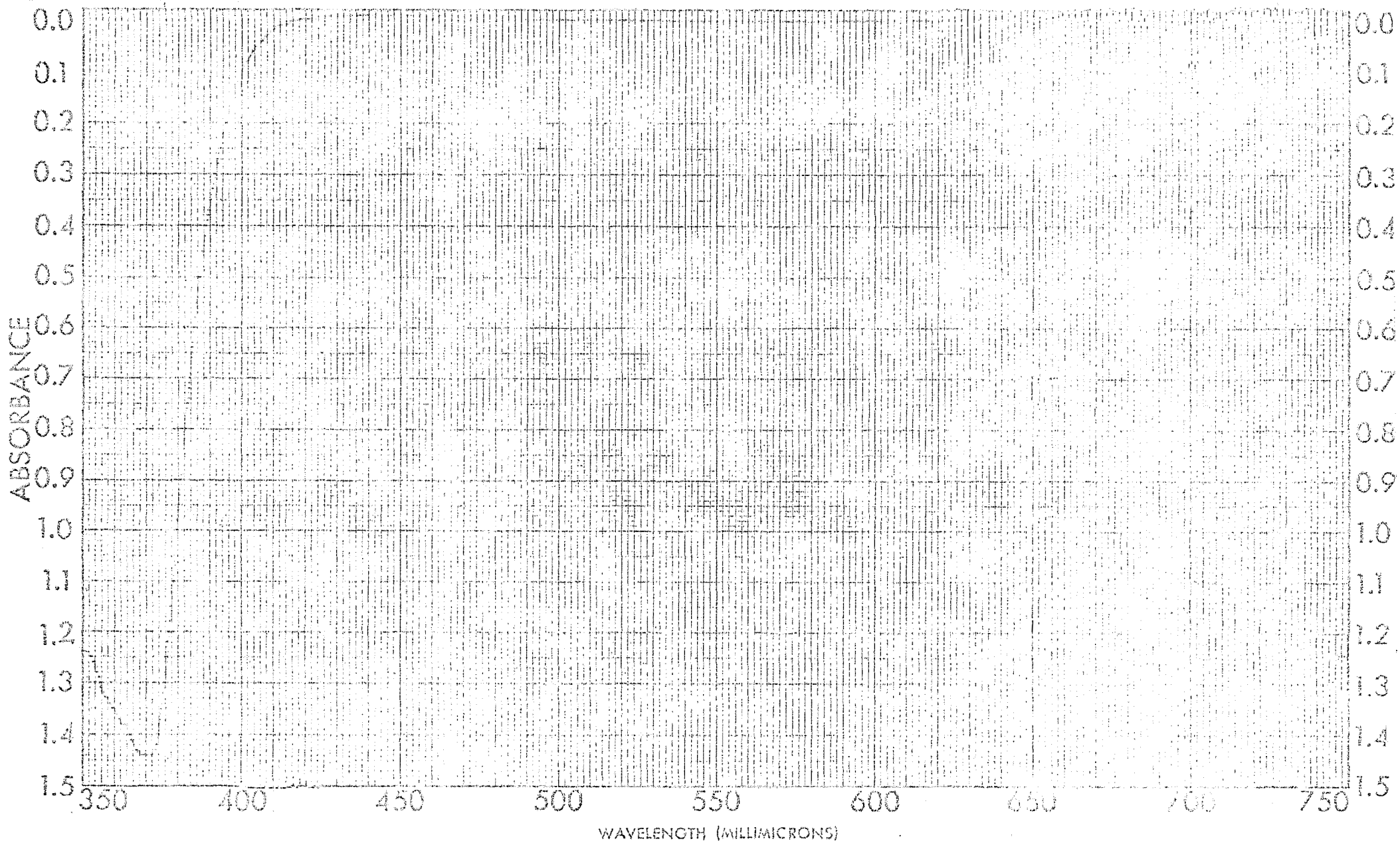
SAMPLE _____	CURVE NO. <i>5100</i>	SCAN SPEED _____	OPERATOR <i>B. J. Ford</i>
ORIGIN _____	CONC. _____	SPLIT _____	DATE _____
SOVENT _____	CELL PATH _____	REMARKS _____	
	REFERENCE _____		

VIS. No. 3.3



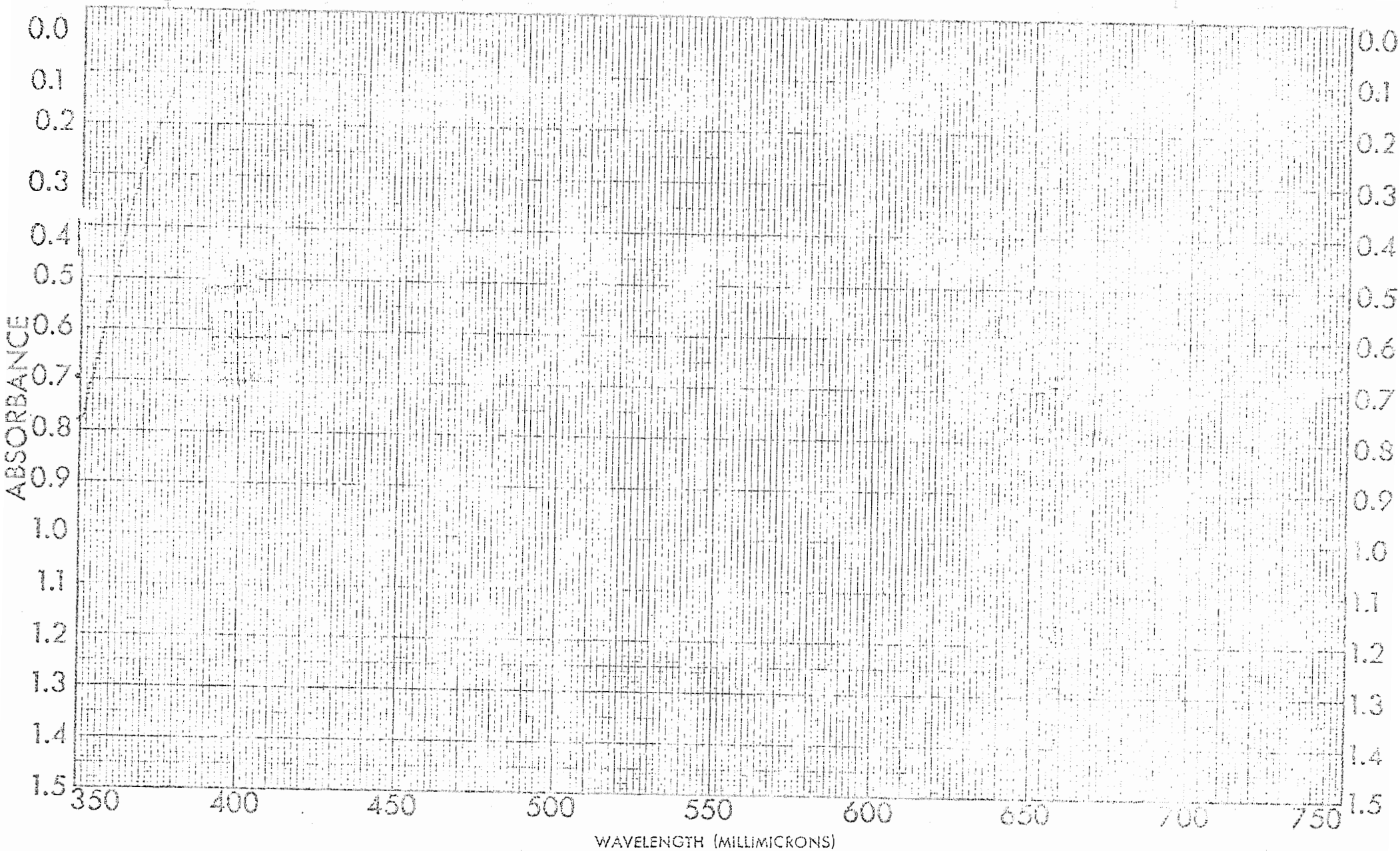
SAMPLE <u>5</u>	CURVE NO. <u>5106</u>	SCAN SPEED _____	OPERATOR <u>P. S. J. W. C.</u>
ORIGIN _____	CONC. _____	SLIT _____	DATE _____
SOLVENT _____	CELL PATH _____	REMARKS _____	
	REFERENCE _____		

V.S. # 34



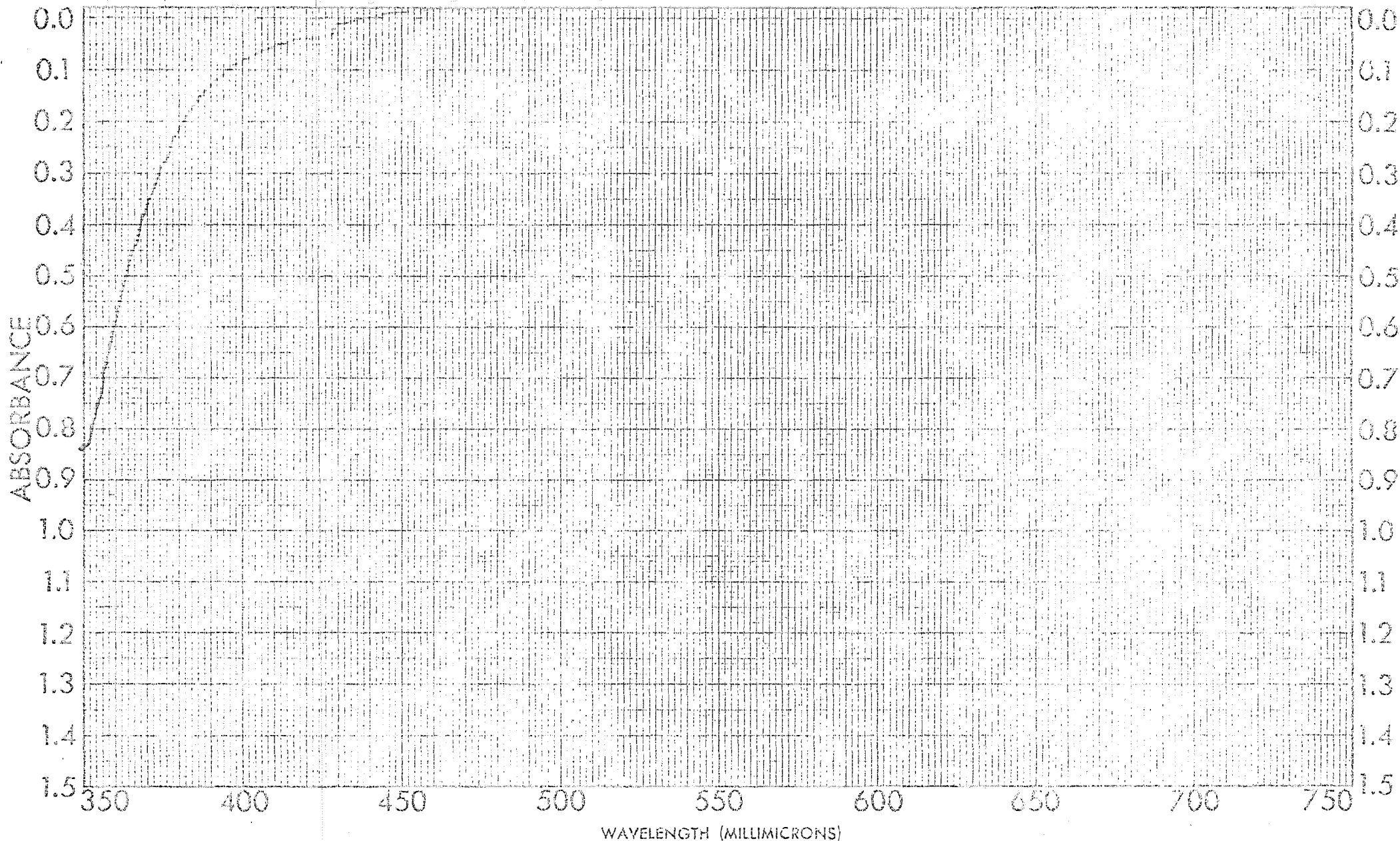
SAMPLE <u>6</u>	CURVE NO. <u>5107</u>	SCAN SPEED _____	OPERATOR <u>Boincovic</u>
ORIGIN _____	CONC. _____	SLIT _____	DATE _____
SOLVENT _____	CELL PATH _____	REMARKS _____	
	REFERENCE _____		

VTS. No. 3.5



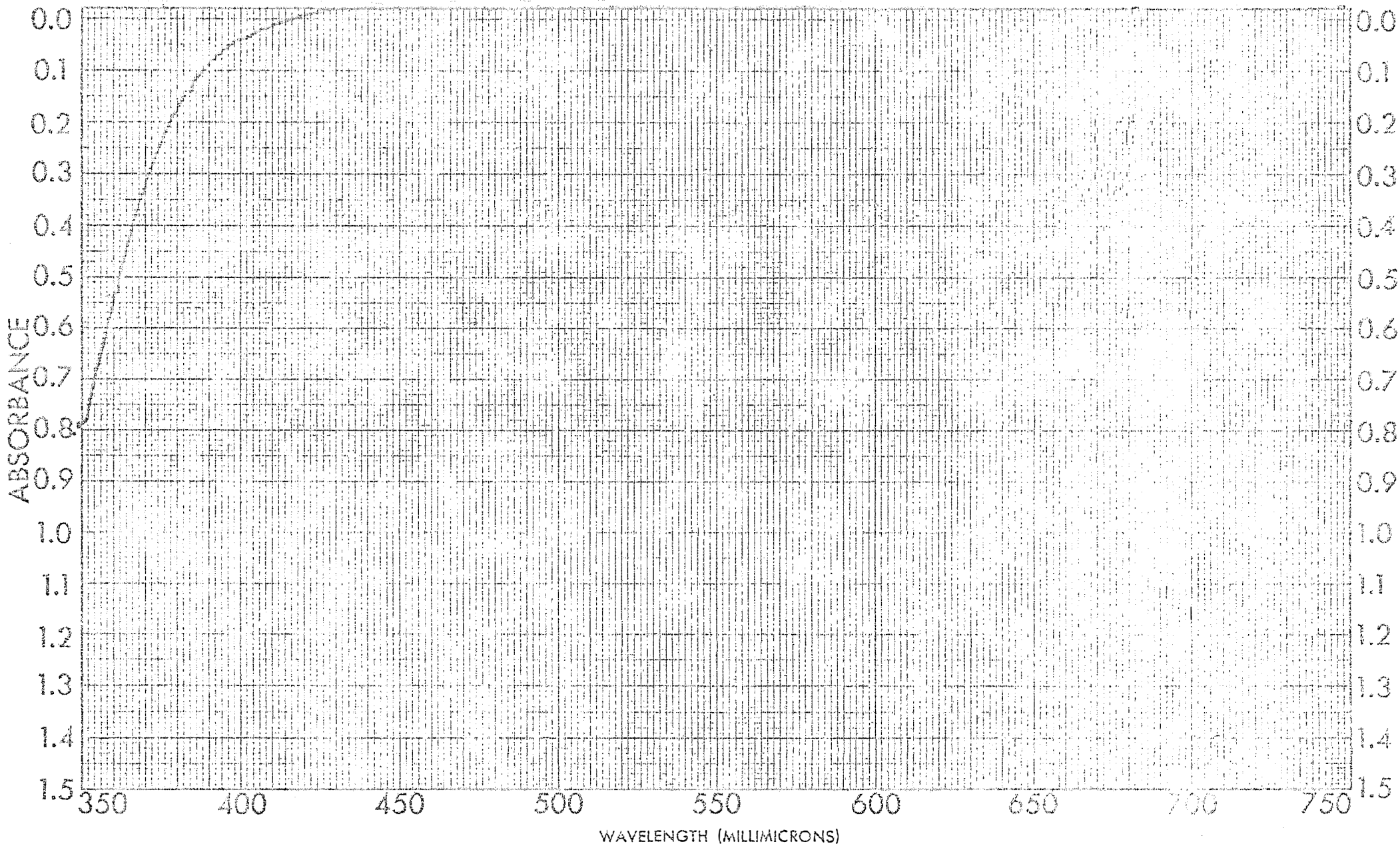
SAMPLE <u>3 min. L exc.</u>	CURVE NO. <u>7-2</u>	SCAN SPEED _____	OPERATOR <u>Putnypovick</u>
<u>$1L1 = 3 \times 10^{-4} M$</u> <u>$1F^{3+} = 2 \times 10^{-11} M$</u>	CONC. _____	SLIT _____	DATE <u>5/1/61</u>
ORIGIN _____	CELL PATH _____	REMARKS <u>3 min. L exc.</u>	
SOLVENT _____	REFERENCE <u>H₂O</u>		

V15. N#42



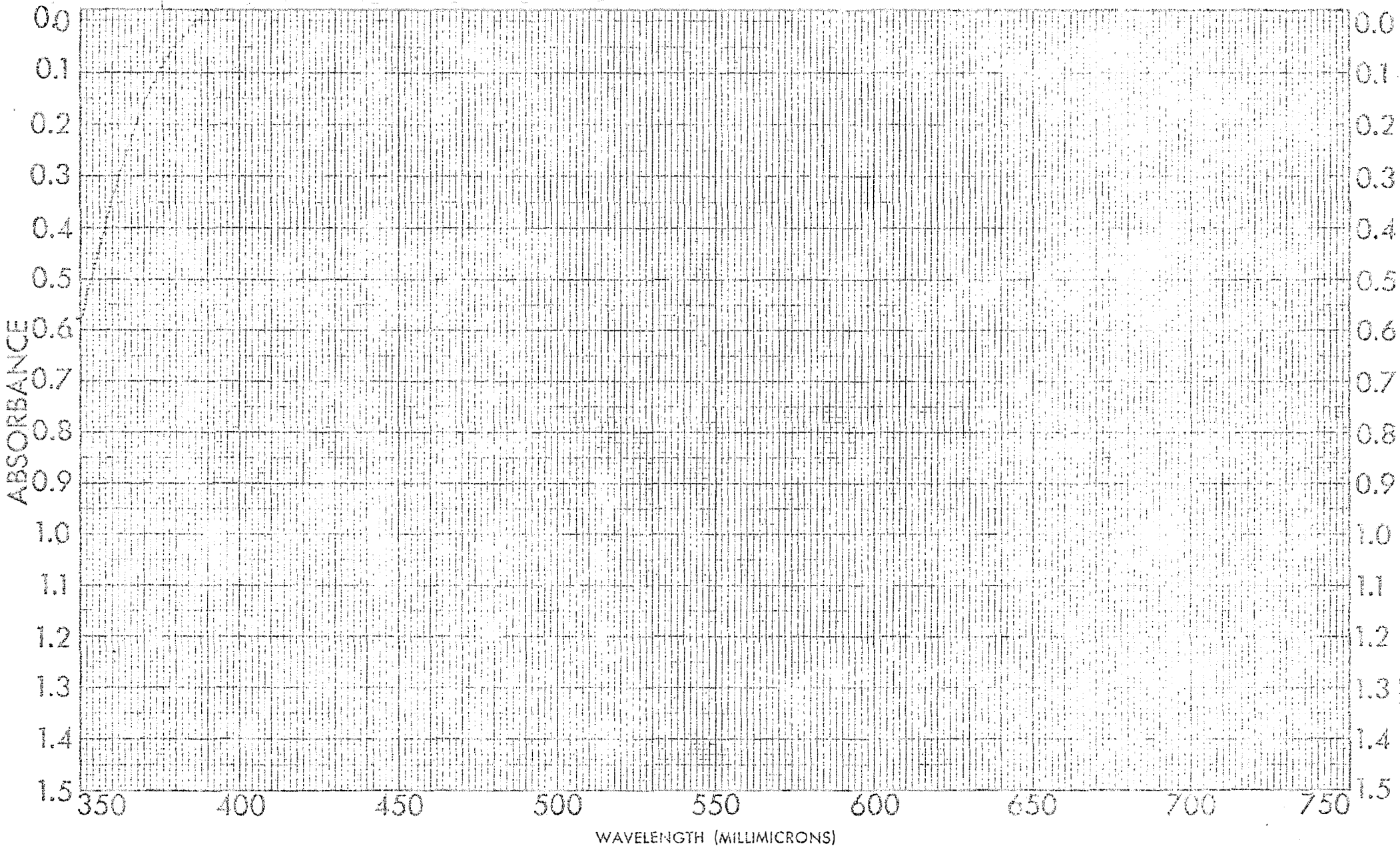
SAMPLE <u>7 mininal. Lenc.</u>	CURVE NO. <u>7-4</u>	SCAN SPEED _____	OPERATOR <u>Bickel/porici</u>
<u>$L = 3 \times 10^{-4} \text{ m}$ $L = 2 \times 10^{-4} \text{ m}$</u>	CONC. _____	SLIT _____	DATE <u>10/10/71</u>
ORIGIN _____	CELL PATH _____	REMARKS <u>100% ...</u>	
SOLVENT _____	REFERENCE <u>H₂O</u>		

V15. 22. 4.2



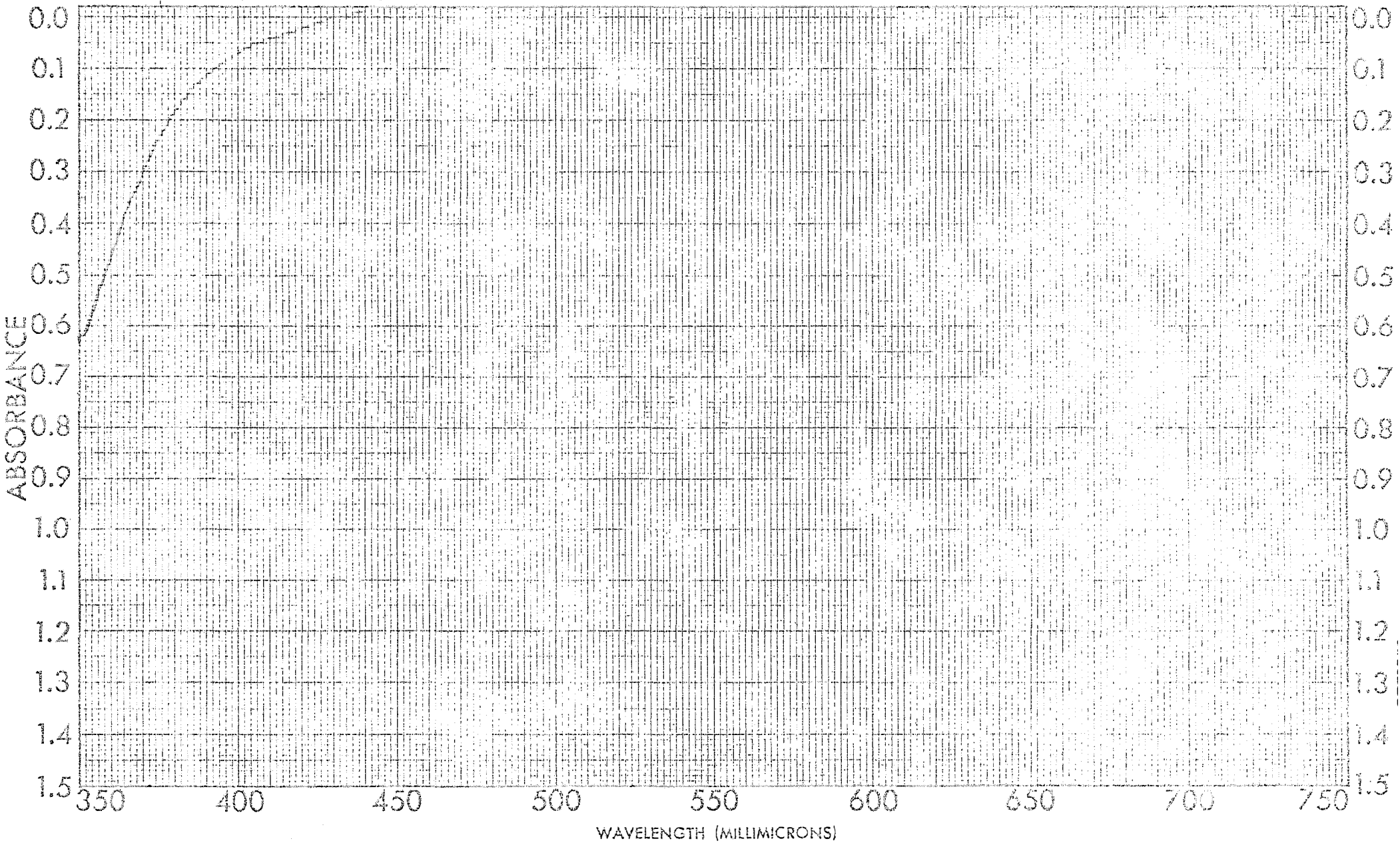
SAMPLE <u>7 original L a c.</u>	CURVE NO. <u>5123</u> <u>7-6</u>	SCAN SPEED <u>1000</u>	OPERATOR <u>B. S. J. P. J.</u>
<u>$L = 3 \times 10^{-4} \text{ cm}$ $R^{3+} = 2 \times 10^{-4} \text{ M}$</u>	CONC. _____	SLIT _____	DATE <u>2/15/56</u>
ORIGIN _____	CELL PATH _____	REMARKS <u>4.0</u>	
SOLVENT _____	REFERENCE <u>H₂O</u>		

VIR. M#43



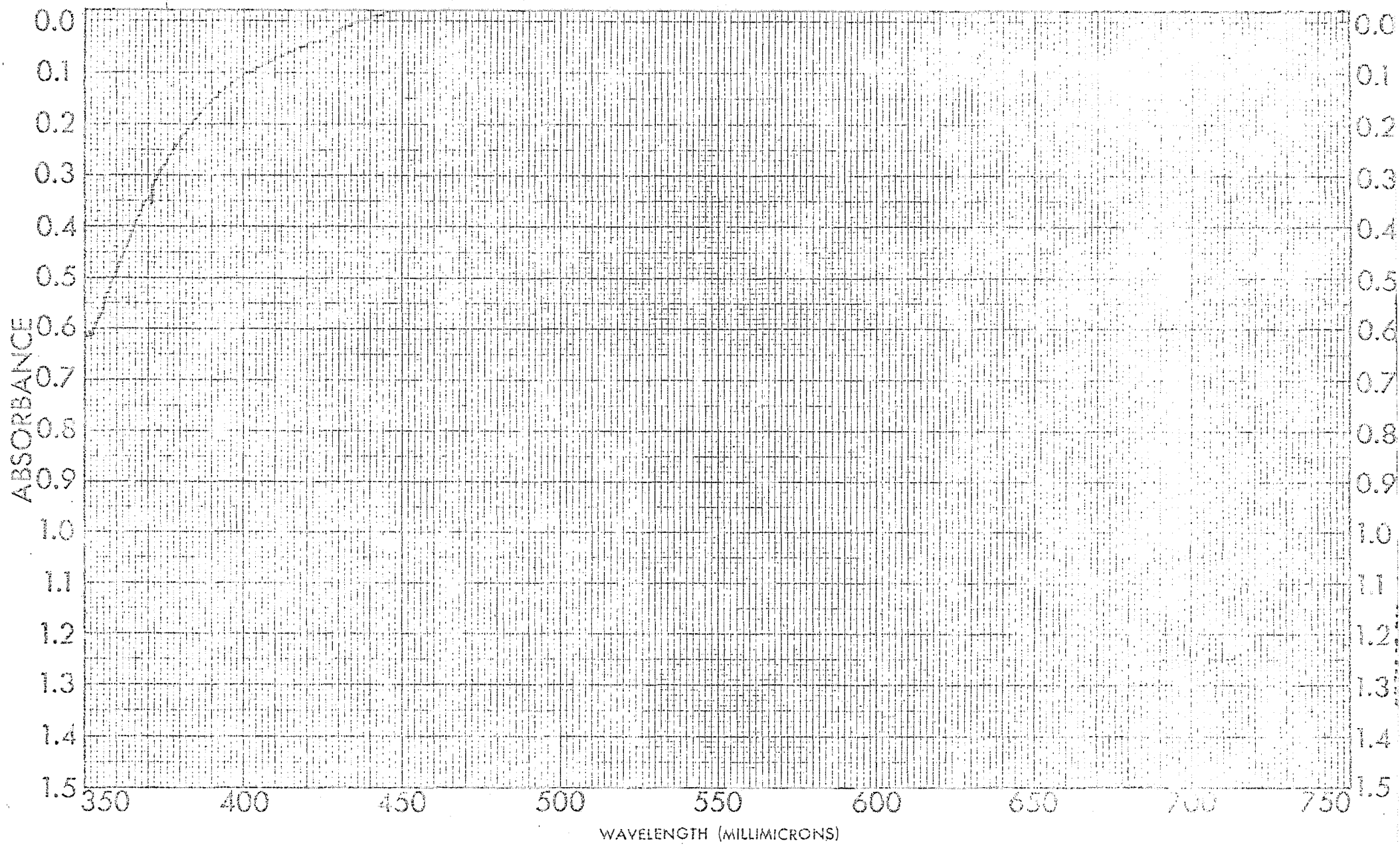
SAMPLE Fe^{III} exc	CURVE NO. 8-2	SCAN SPEED	OPERATOR <i>Priskovic</i>
$[R^{2+}] = 3 \cdot 10^{-4} M$ $[L] = 2 \cdot 10^{-4} M$	CONC.	SLIT	DATE 3/11/44
ORIGIN	CELL PATH	REMARKS	
SOLVENT	REFERENCE H_2O		

V.S. No. 44



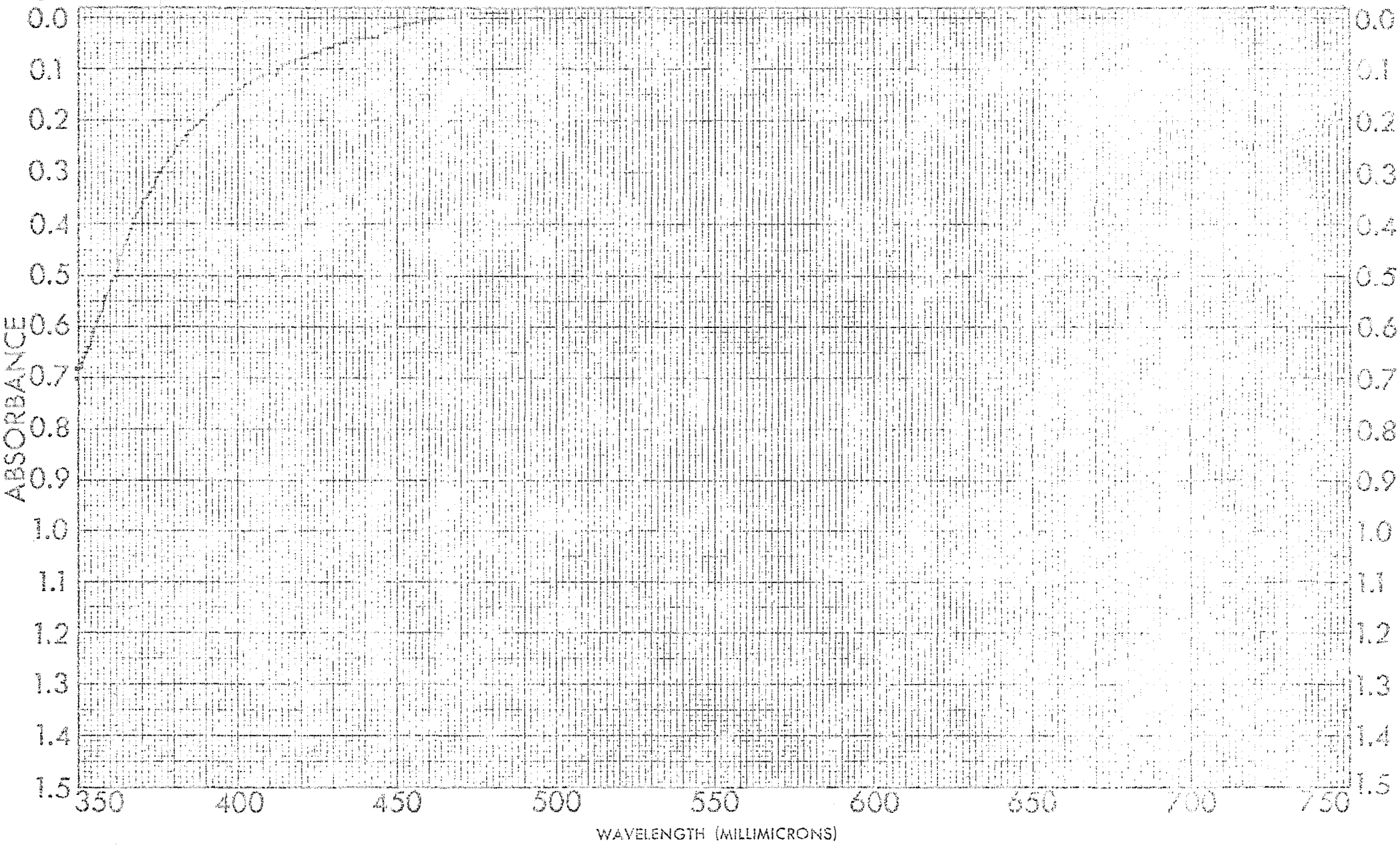
SAMPLE <i>Original Fe^{III} exc.</i> <i>[Fe³⁺] = 3 × 10⁻⁴ M</i> <i>[L] = 2 × 10⁻⁴ M</i>	CURVE NO. <i>3-4</i>	SCAN SPEED _____	OPERATOR <i>Bassupovic</i>
ORIGIN _____ SOLVENT _____	CONC. _____ CELL PATH _____ REFERENCE <i>H₂O</i>	SLIT _____ REMARKS <i>λ_{max} = 380 mμ</i>	DATE _____

V.S. 1345



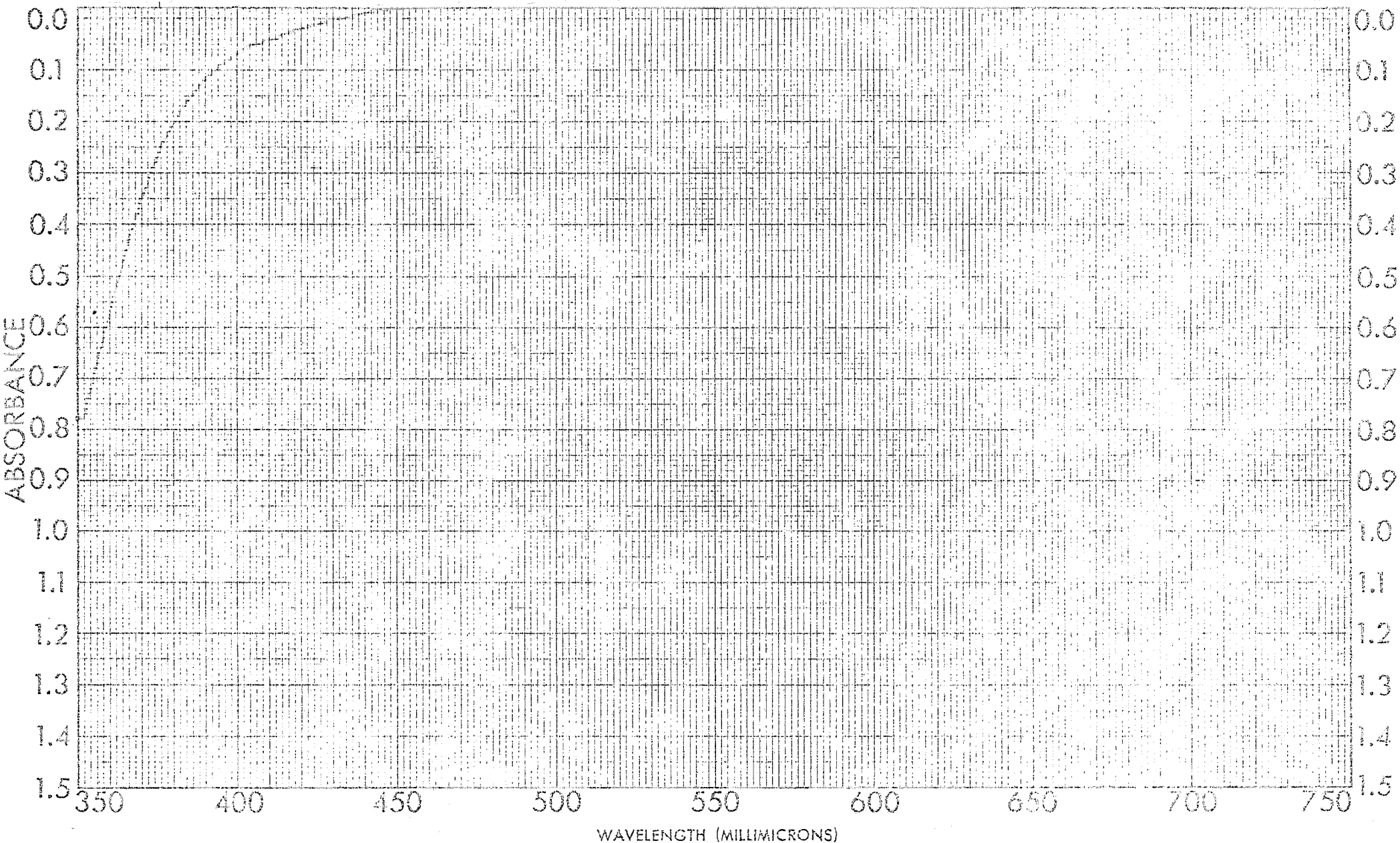
SAMPLE <i>8 ml stock Fe^{III} exc.</i>	CURVE NO. <i>3128 8-6</i>	SCAN SPEED _____	OPERATOR <i>Richardson</i>
<i>[Fe³⁺] = 3 × 10⁻⁴ M [L] = 2 × 10⁻⁴ M</i>	CONC. _____	SLIT _____	DATE <i>2/18/51</i>
ORIGIN _____	CELL PATH _____	REMARKS <i>Compare to 8-6</i>	
SOLVENT _____	REFERENCE <i>H₂O</i>		

VIS. No. 46



SAMPLE <i>S¹ Minimal Fe^{III} conc</i> $[Fe^{3+}] = 3 \times 10^{-4} M$ $[L] = 2 \times 10^{-4} M$	CURVE NO. <i>3-7</i>	SCAN SPEED	OPERATOR <i>B. Langford</i>
ORIGIN <i>1</i>	CONC.	SUI	<i>date 2/11/</i>
SOLVENT	CELL PATH REFERENCE <i>H₂O</i>	REMARKS <i>1° 60°C adsorption curve 3'</i> <i>Calculated to 4 h. temp. 15°C</i>	

VLS. # 47



SAMPLE <u>7¹ original Lenc.</u>	CURVE NO. <u>5132</u> <u>7-8</u>	SCAN SPEED _____	OPERATOR <u>B. S. J. J.</u>
<u>[L] = 3 x 10⁻⁴ M</u> <u>[Fe³⁺] = 2 x 10⁻⁴ M</u>	CONC. _____	UNIT _____	DATE <u>2/14/</u>
ORIGIN _____	CELL PATH _____	REMARKS <u>at 60°C. original color, etc. 3'</u>	
SOLVENT _____	REFERENCE <u>H₂O</u>	<u>colored for 1/2 h. in water 20°C</u>	

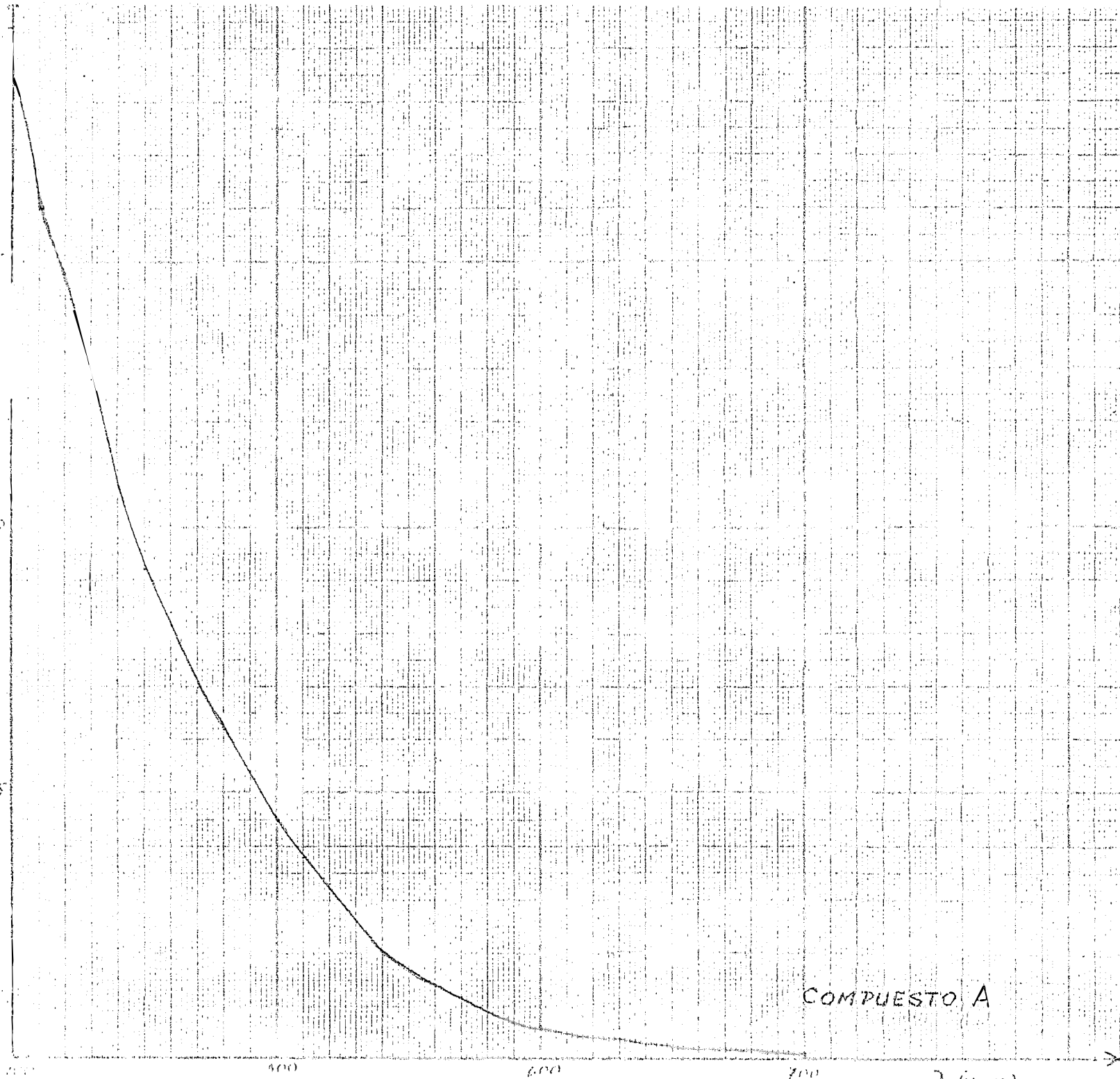
MS. # 48

A

0.75

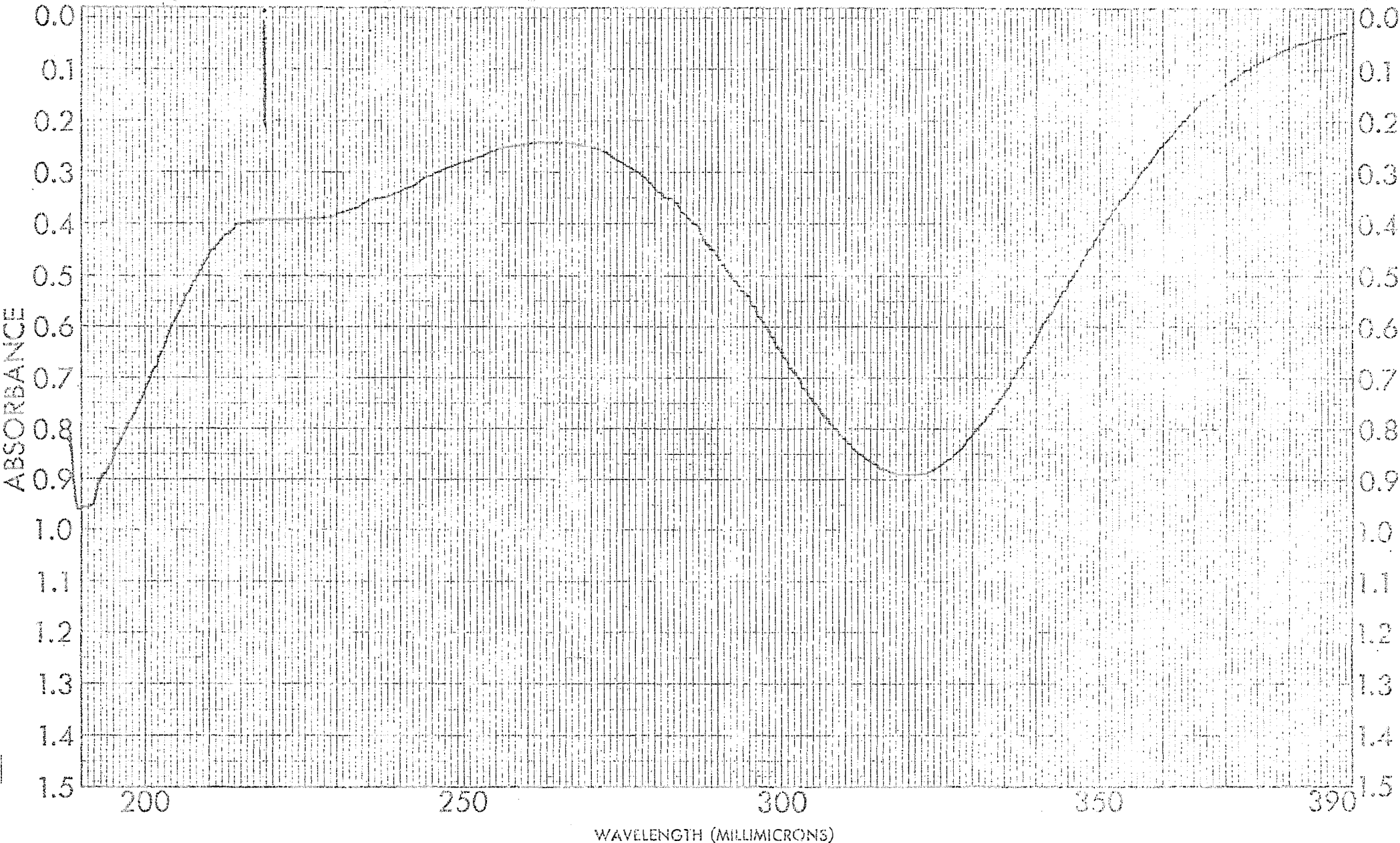
0.50

0.25



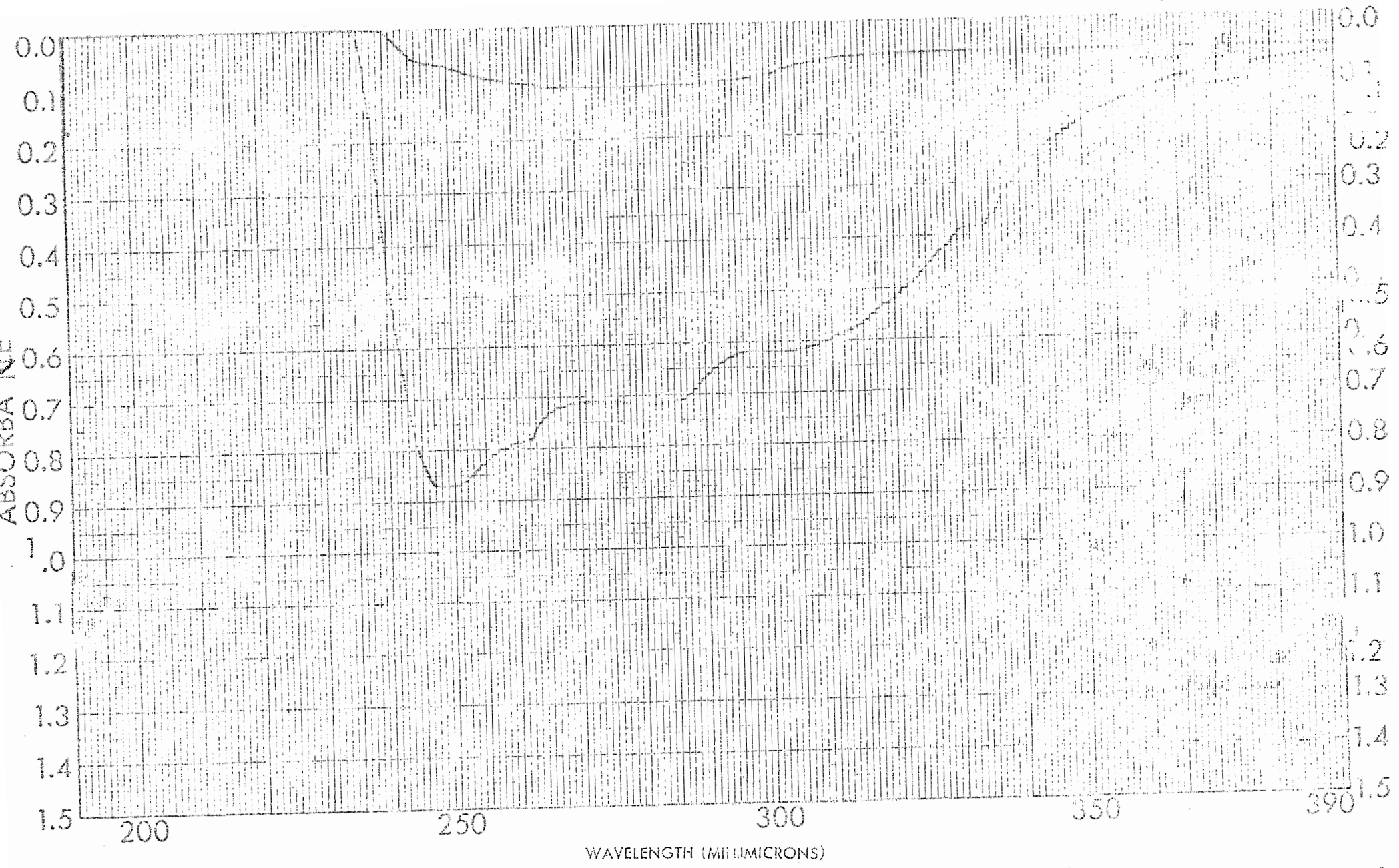
COMPUESTO A

VIS N° 49



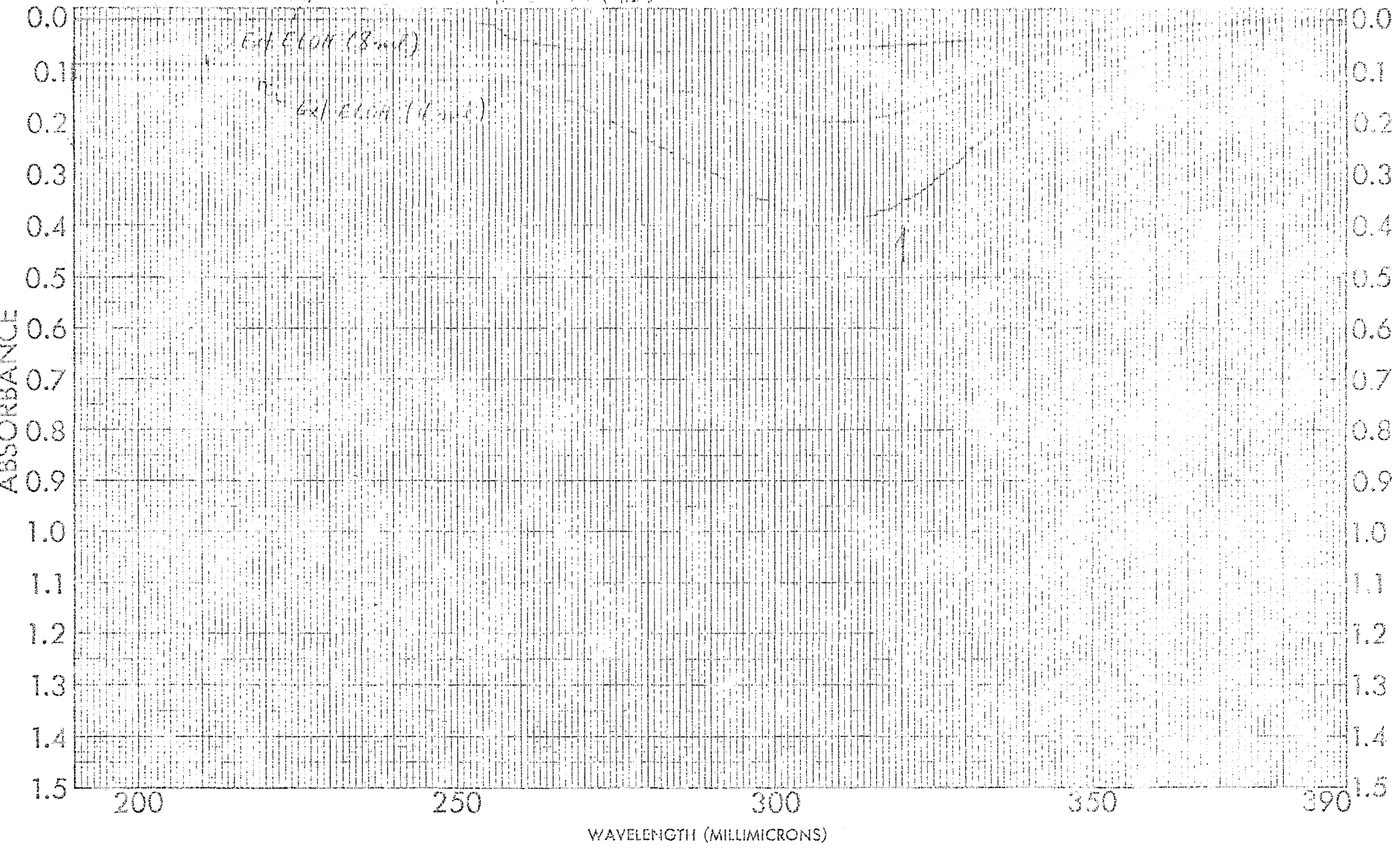
SAMPLE <u>METRONIDAZOL</u>	CURVE NO. <u>5058</u>	SCAN SPEED _____	OPERATOR <u>B. S. Jovic</u>
ORIGIN _____	CONC. _____	SLIT _____	DATE _____
SOLVENT _____	CELL PATH _____	REMARKS _____	
	REFERENCE <u>H₂O</u>		

202-1511
 7-5-72



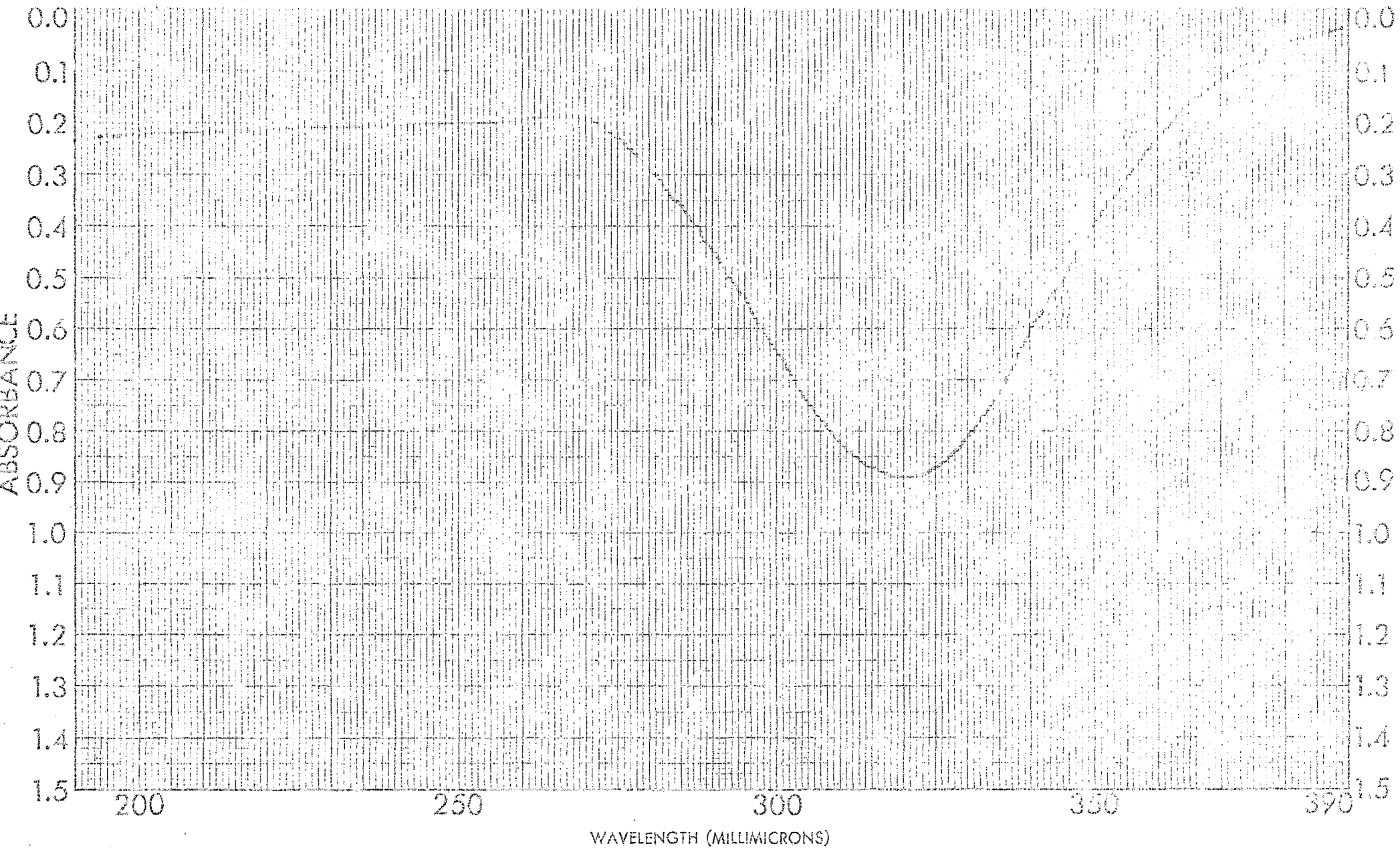
SAMPLE _____	CURVE NO. <u>5150 - 5151</u>	SCAN SPEED _____	MONITOR <u>5150/5151</u>
ORIGIN _____	CONC. _____	SLIT _____	REMARKS _____
SOLVENT _____	CELL PATH _____	REFERENCE _____	

U.V. No. 21



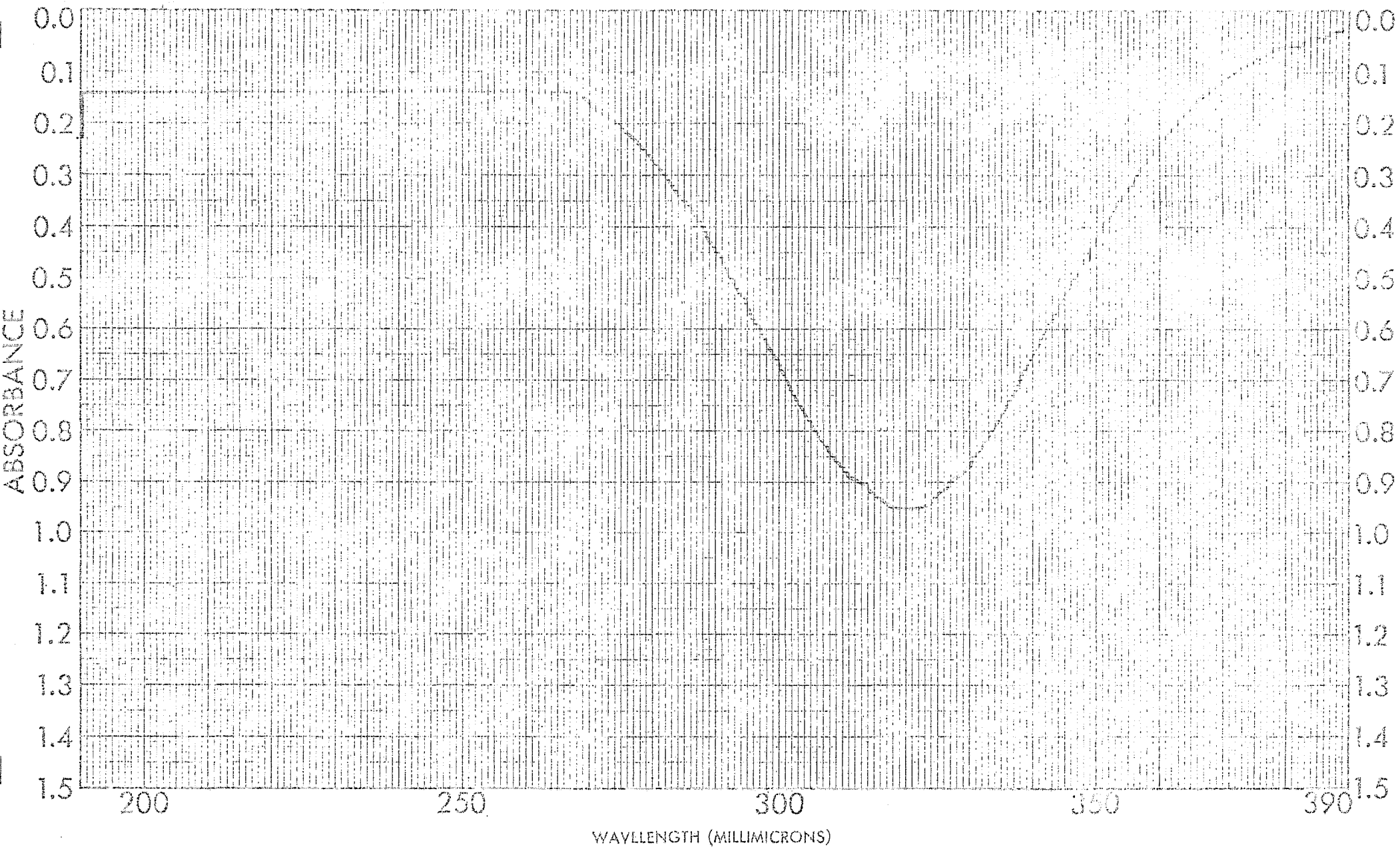
SAMPLE _____	CURVE NO. _____	SCAN SPEED _____	OPERATOR <i>Eden Jovic</i>
ORIGIN _____	CONC. _____	SUT. _____	DATE _____
SOLVENT _____	CELL PATH _____	REMARKS _____	
	REFERENCE _____		

UV. No. 22



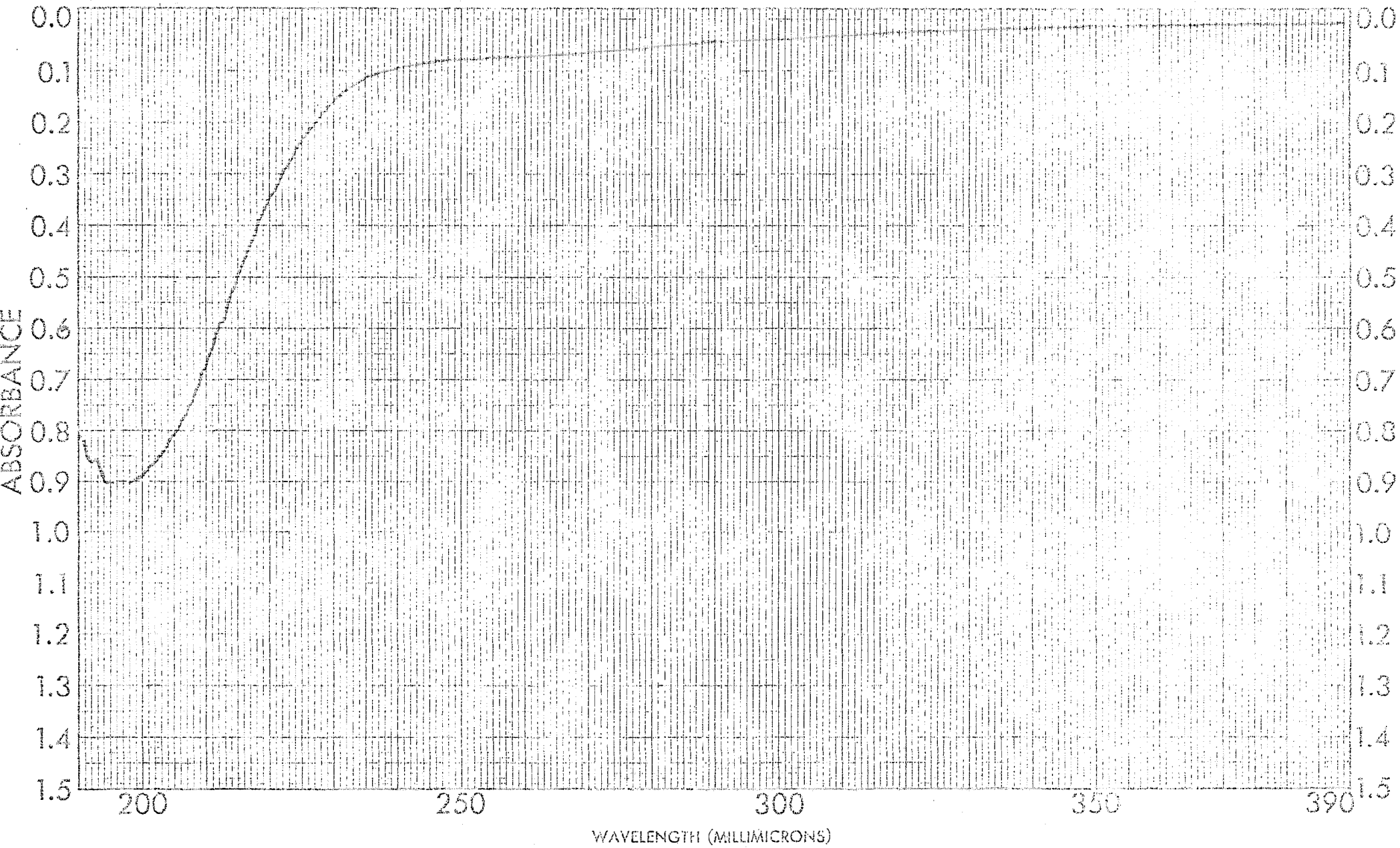
SAMPLE _____	CURVE NO. _____	SCAN SPEED _____	OPERATOR <i>B. S. J. J.</i>
ORIGIN _____	CONC. _____	SLIT _____	DATE _____
SOLVENT _____	CELL PATH _____	REMARKS _____	
	REFERENCE _____		

U.V. No. 3.1



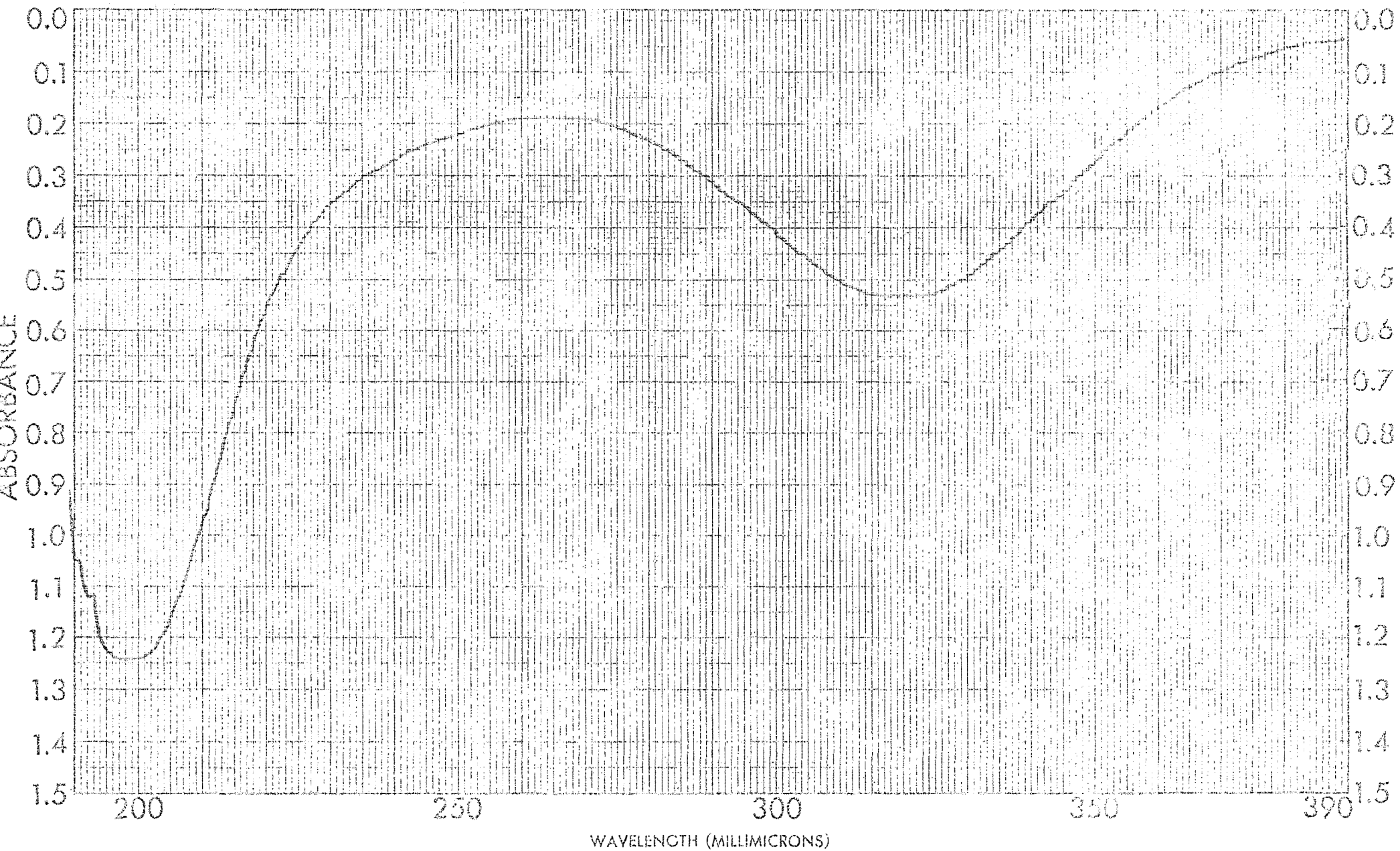
SAMPLE _____	CURVE NO. _____	SCAN SPEED _____	OPERATOR <i>Rushen, J. J.</i>
ORIGIN _____	CONC. _____	SLIT _____	DATE _____
SOLVENT _____	CELL PATH _____	REMARKS _____	
	REFERENCE _____		

U.V. No. 3.2



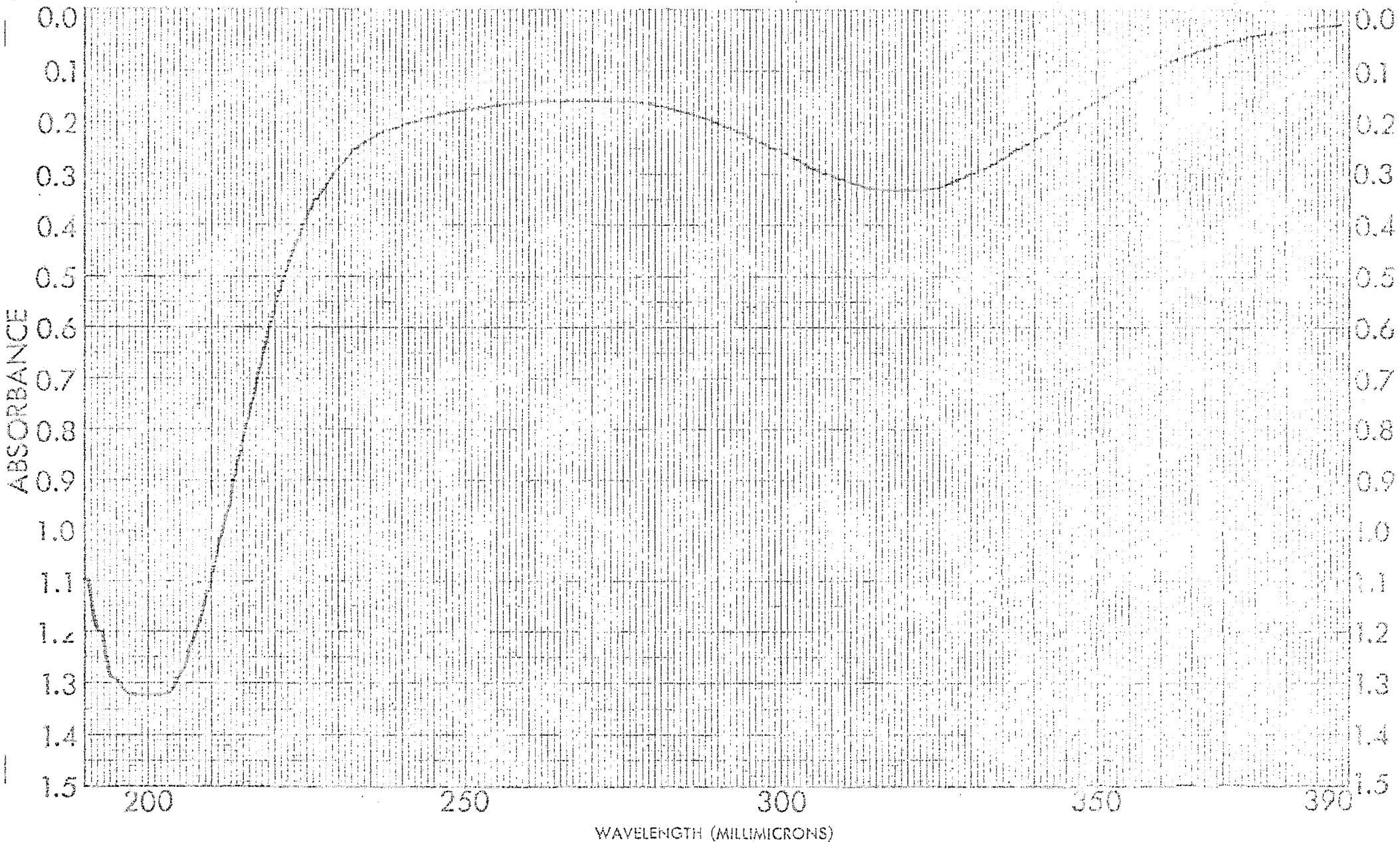
SAMPLE _____	CURVE NO. <u>5902</u>	SCAN SPEED _____	OPERATOR <u>B. J. ...</u>
ORIGIN _____	CONC. _____	SPLIT _____	DATE _____
SOLVENT _____	CELL PATH _____	REMARKS _____	
	REFERENCE _____		

UV. No. 33



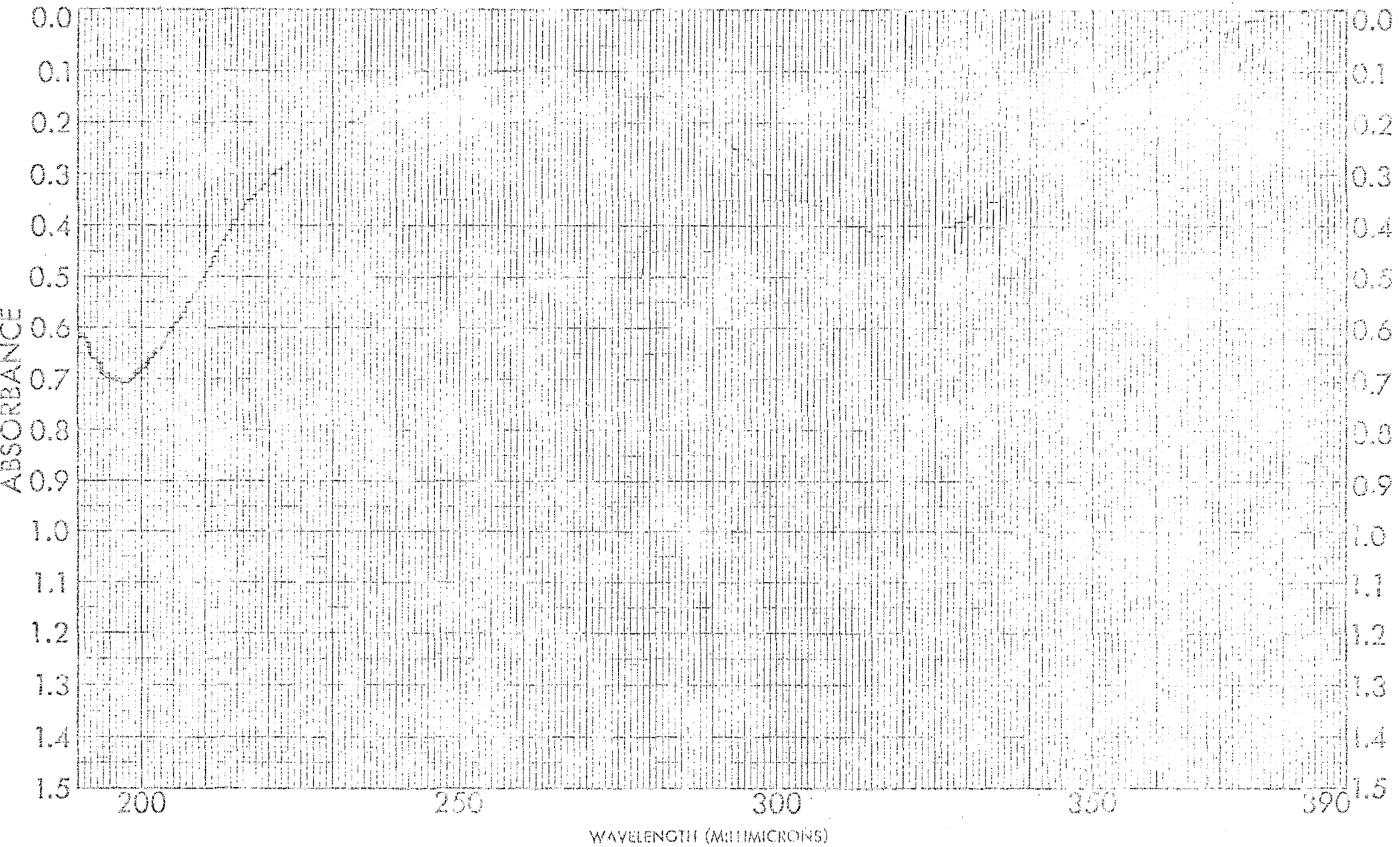
SAMPLE _____	CURVE NO. <u>5097</u>	SCAN SPEED _____	OPERATOR <u>B. B. J. J.</u>
ORIGIN _____	CONC. _____	DATE _____	
SOLVENT _____	CELL PATH _____	REMARKS _____	
	REFERENCE _____		

U.V. No. 34



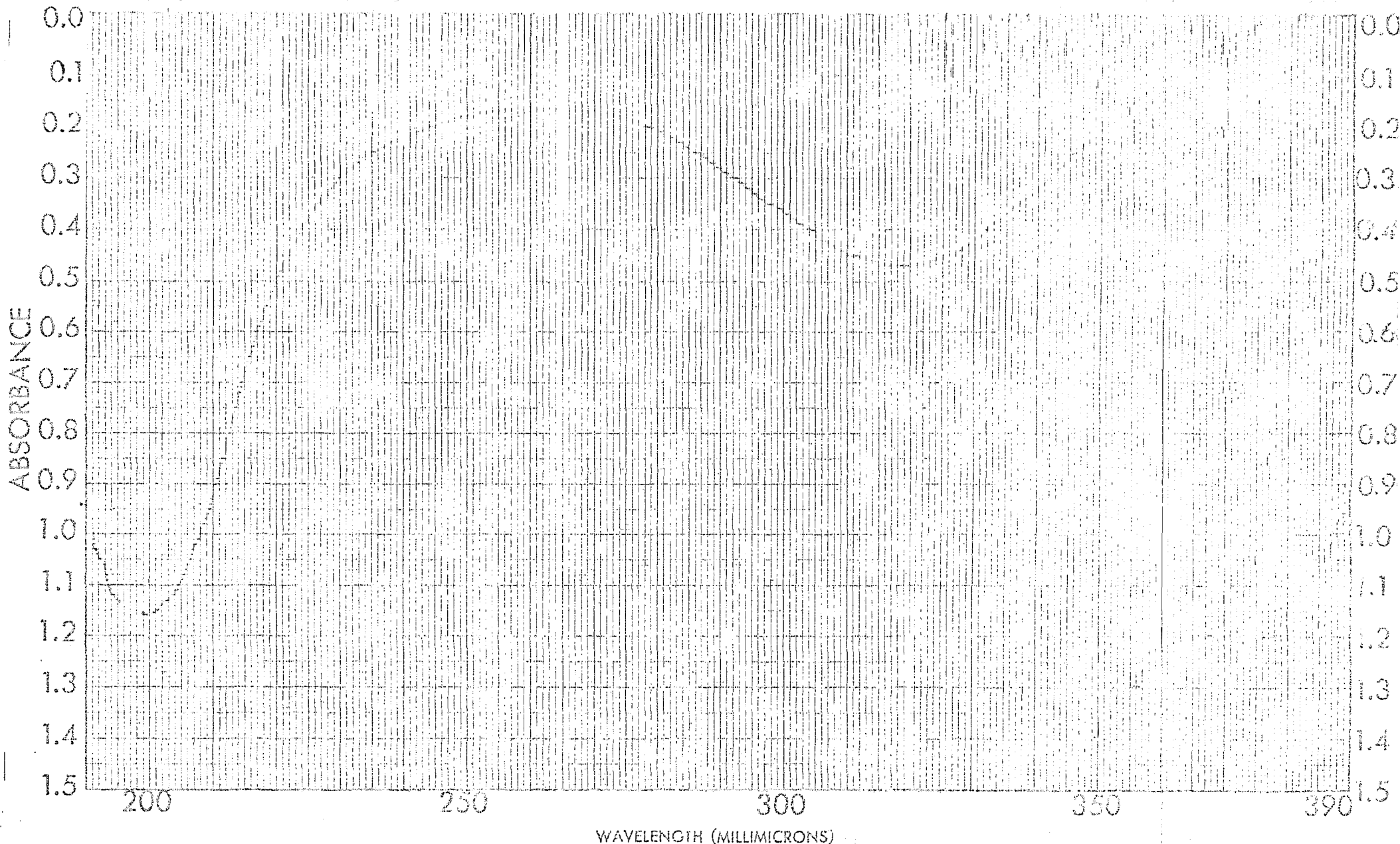
SAMPLE _____	CURVE NO. <u>5094</u>	SCAN SPEED _____	OPERATOR <u>Boehring</u>
ORIGIN _____	CONC. _____	SLIT _____	DATE _____
SOLVENT _____	CELL PATH _____	REMARKS _____	
	REFERENCE _____		

07 APR 57



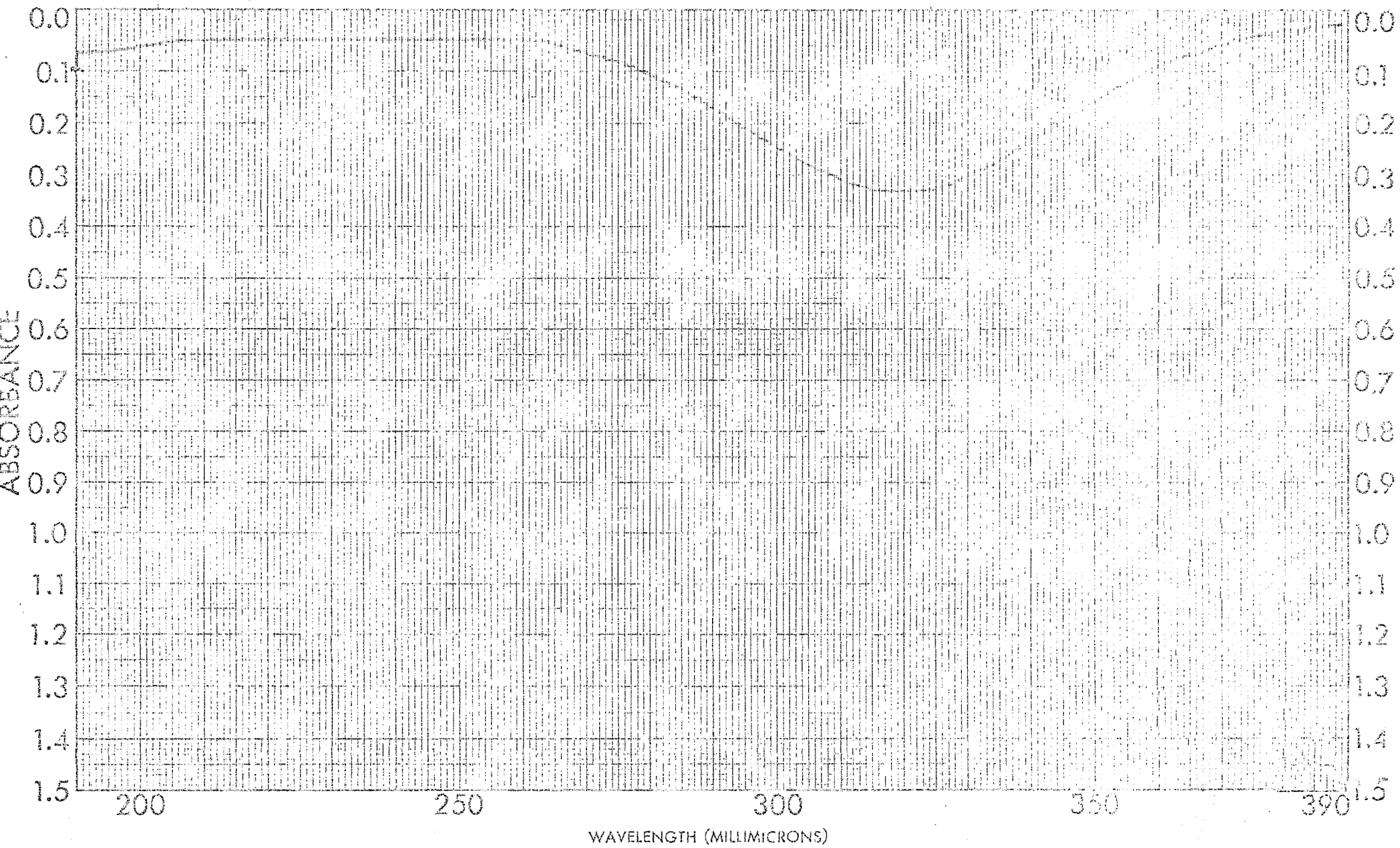
SAMPLE _____	CURVE NO. <u>5104</u>	SCAN SPEED _____	OPERATOR <u>B. J. Jovic</u>
ORIGIN _____	CONC. _____	SLIT _____	DATE <u>5-27-70</u>
SOLVENT _____	CELL PATH _____	REMARKS _____	
	REFERENCE _____		

U.V. No. 34



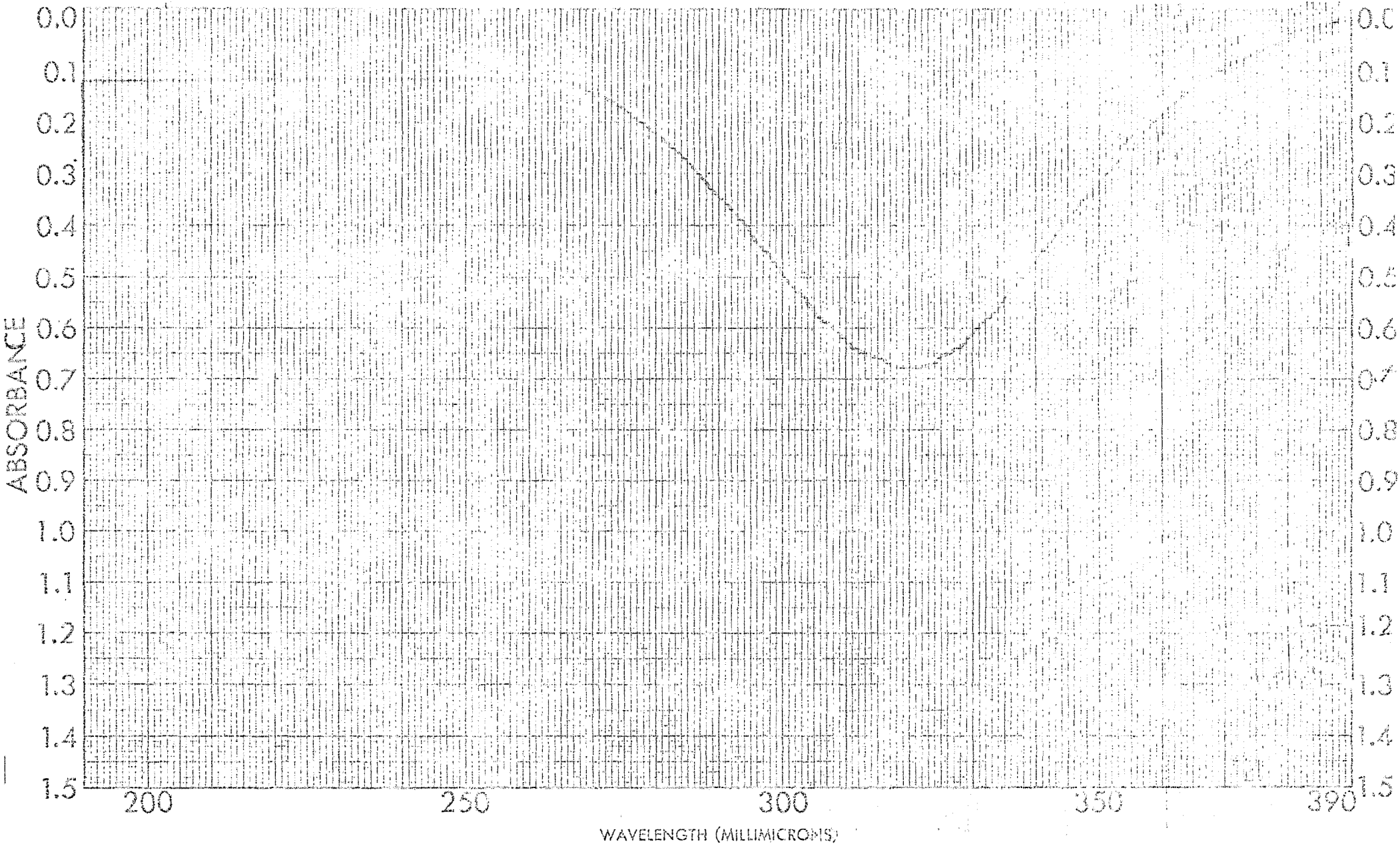
SAMPLE _____	CURVE NO. <u>15127</u>	SCAN SPEED _____	OPERATOR <u>Robson</u>
ORIGIN _____	CONC. _____	SLIT _____	DATE _____
SOLVENT _____	CELL PATH _____	REMARKS _____	
	REFERENCE _____		

UV No 37



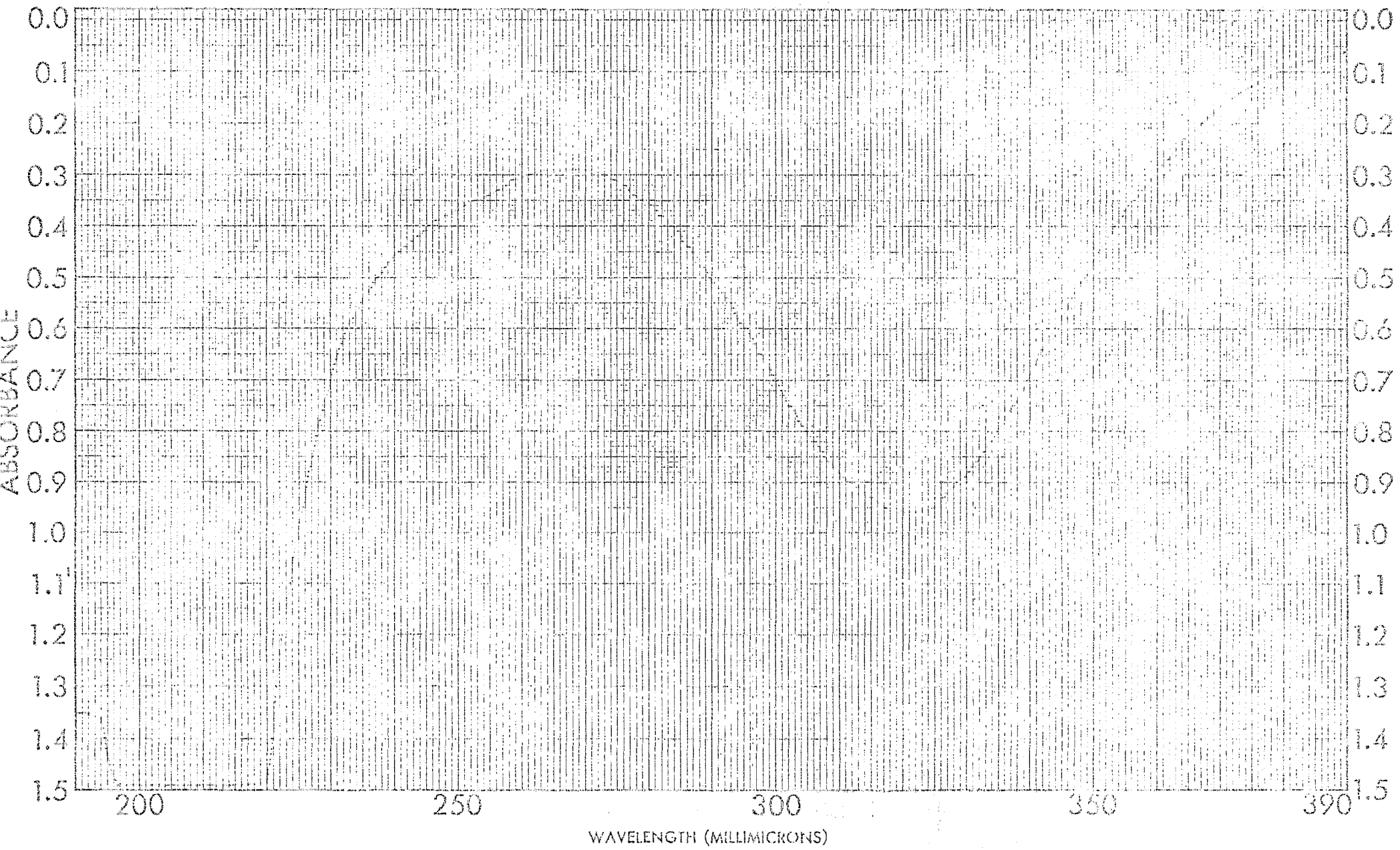
SAMPLE _____	CURVE NO. _____	SCAN SPEED _____	OPERATOR <i>B. B. B. B.</i>
ORIGIN _____	CONC. _____	BLIT _____	DATE _____
SOLVENT _____	CELL PATH _____	REMARKS _____	
	REFERENCE _____		

U.S. #237



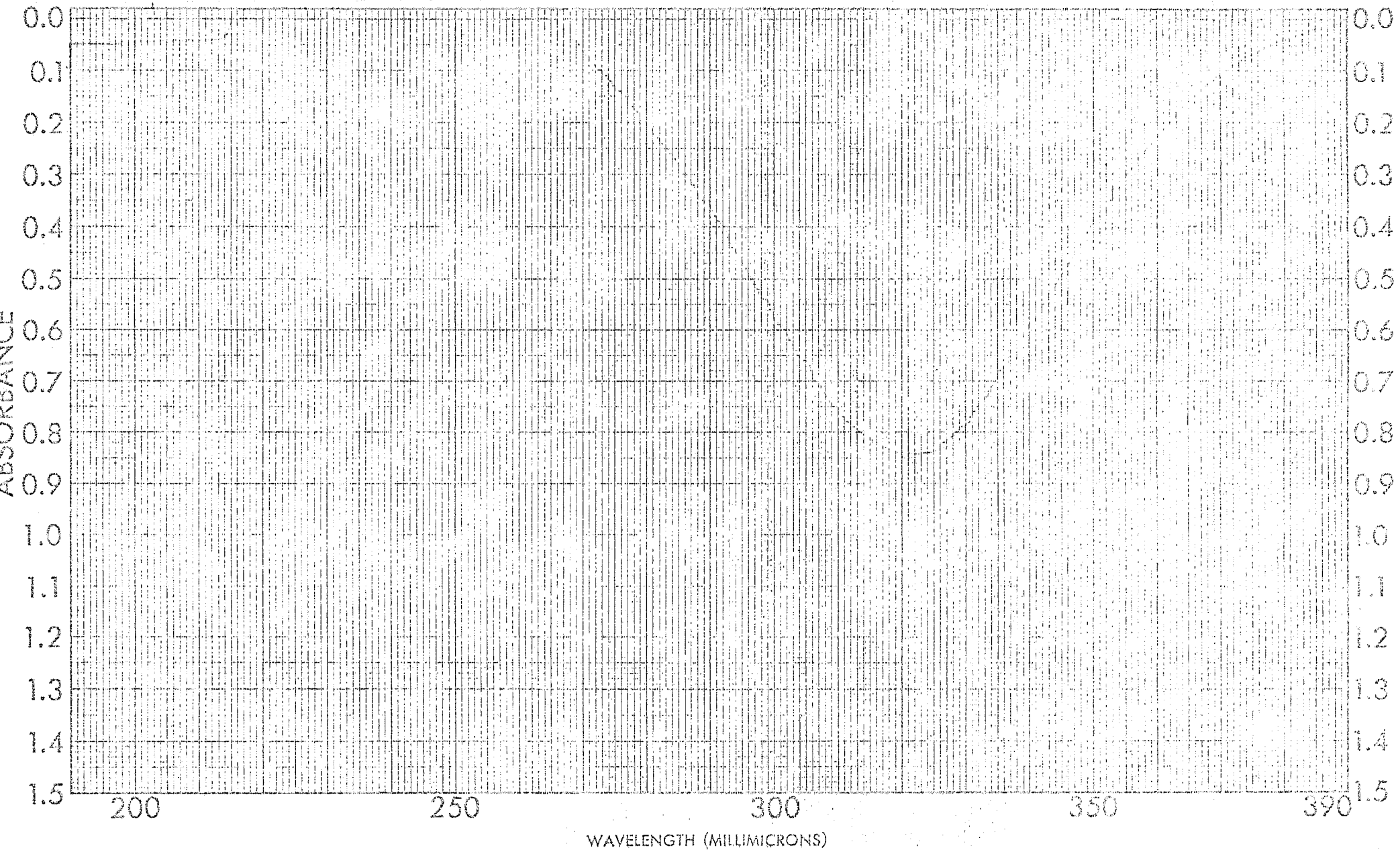
SAMPLE _____	CURVE NO. _____	SCAN SPEED _____	OPERATOR <i>B. S. Smith</i>
ORIGIN _____	CONC. _____	SPLIT _____	DATE _____
SOLVENT _____	CELL PATH _____	REMARKS _____	
	REFERENCE _____		

U.V. No. 39



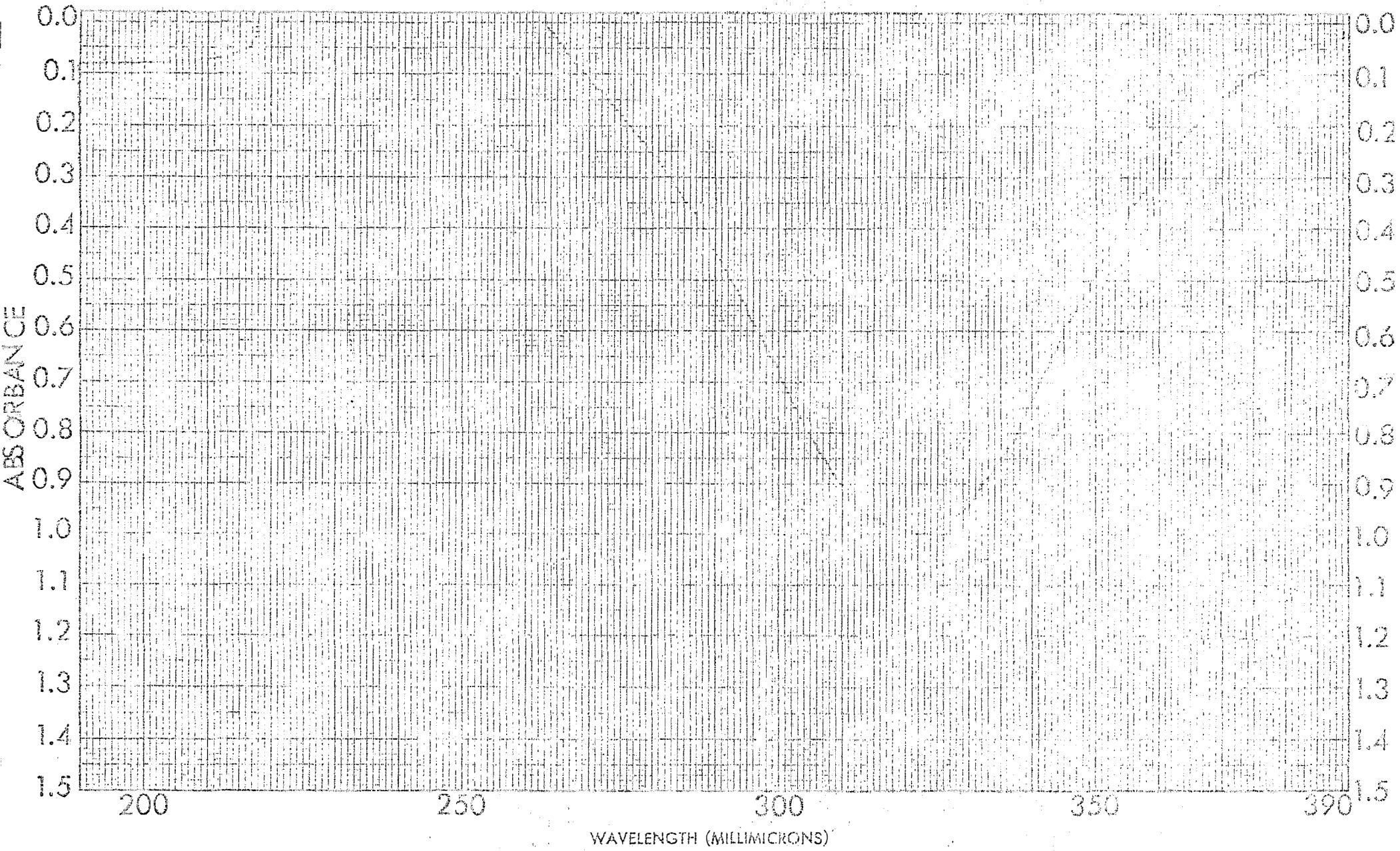
SAMPLE _____	CURVE NO. _____	SCAN SPEED _____	OPERATOR <i>Richard J. ...</i>
ORIGIN _____	CONC. _____	SLIT _____	DATE _____
SOLVENT _____	CELL PATH _____	REMARKS _____	
	REFERENCE _____		

UV # 3.20



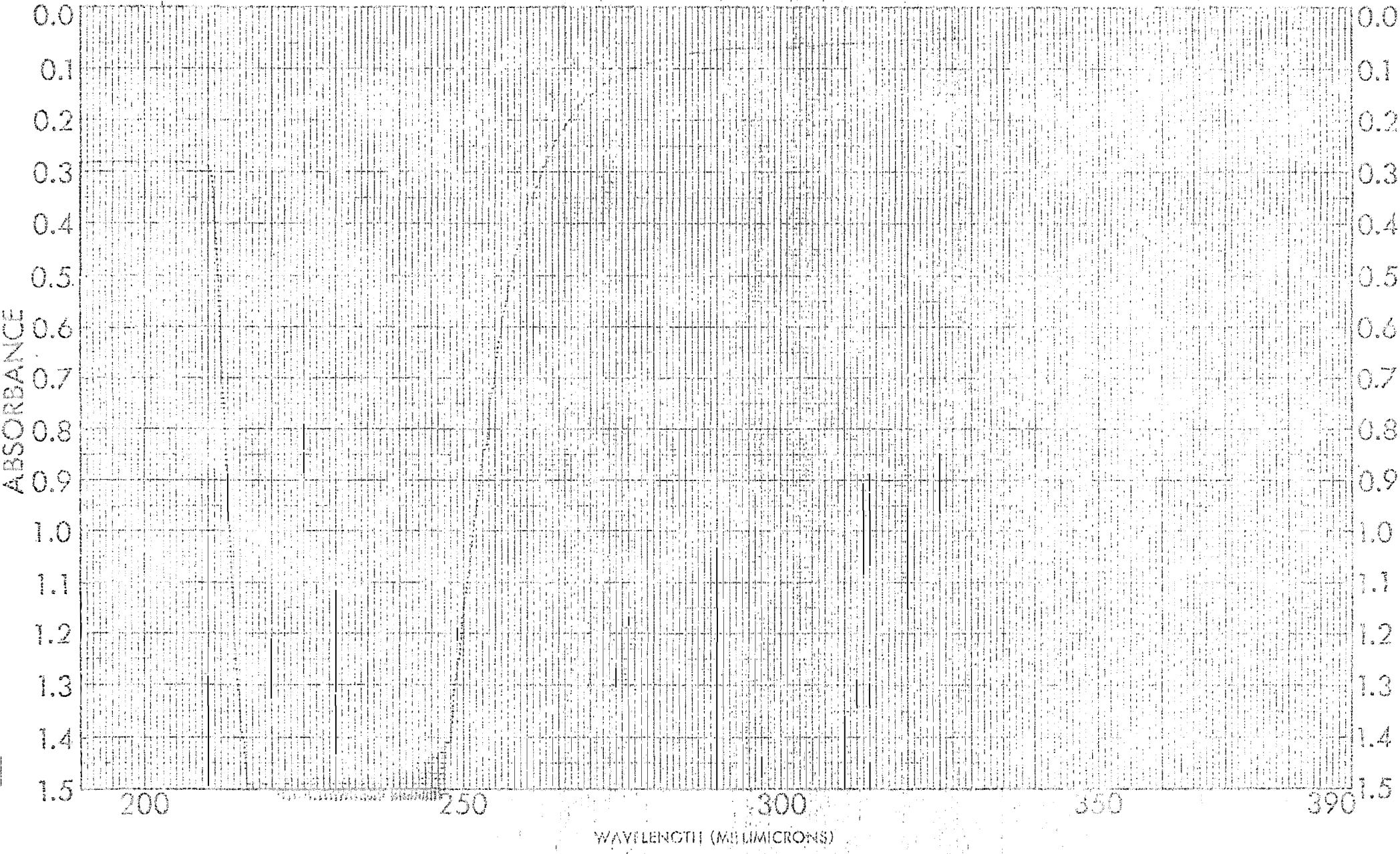
SAMPLE _____	CURVE NO. _____	SCAN SPEED _____	OPERATOR <i>Budupovic</i>
ORIGIN _____	CONC. _____	SPLIT _____	DATE _____
SOLVENT _____	CELL PATH _____	REMARKS _____	
	REFERENCE _____		

U.V. No. 311



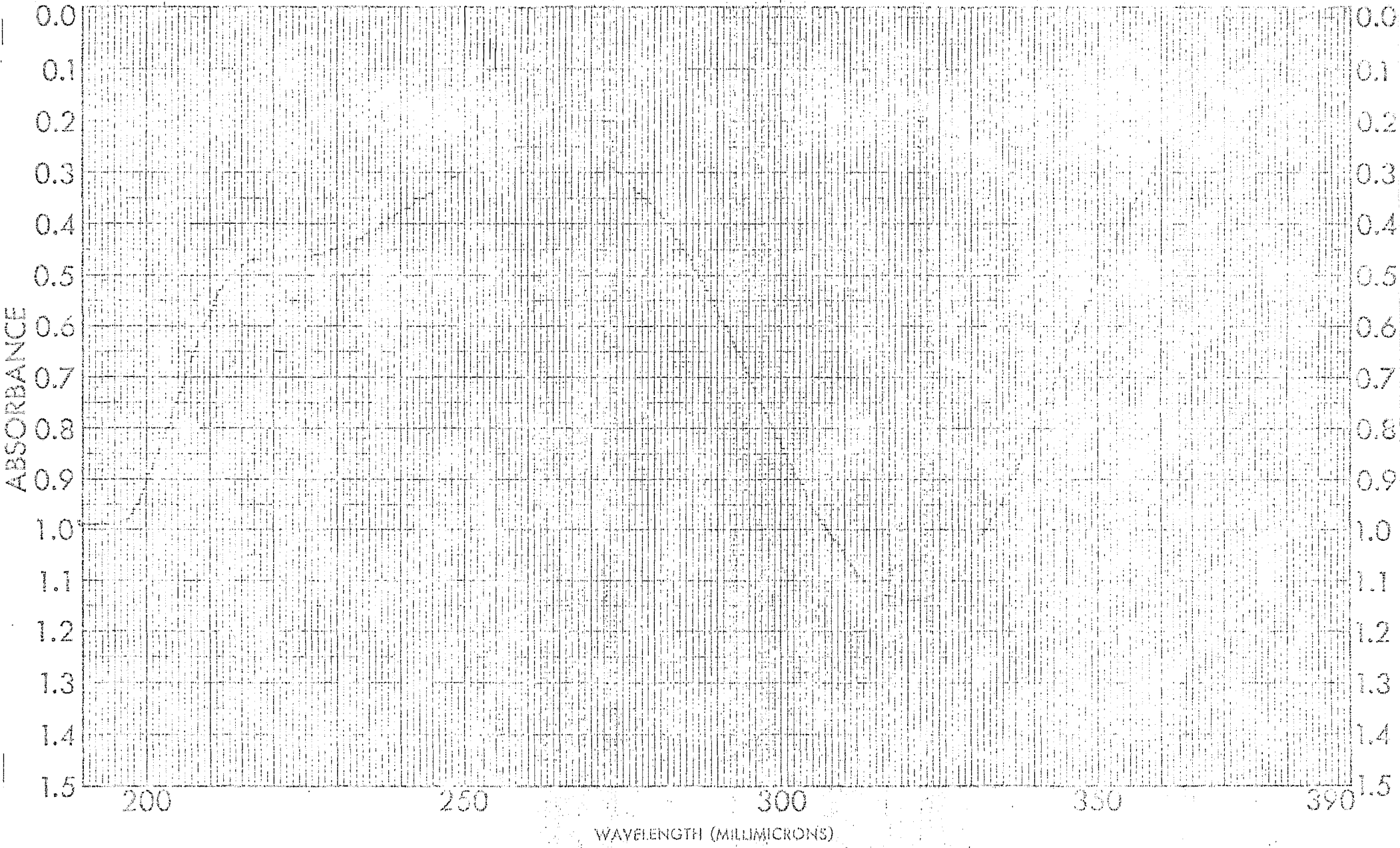
SAMPLE _____	CURVE NO. _____	SCAN SPEED _____	OPERATOR <i>Barb Jovic</i>
ORIGIN _____	CONC. _____	SPLIT _____	DATE _____
SOLVENT _____	CELL PATH _____	REMARKS _____	
	REFERENCE _____		

W. N. # 3.72



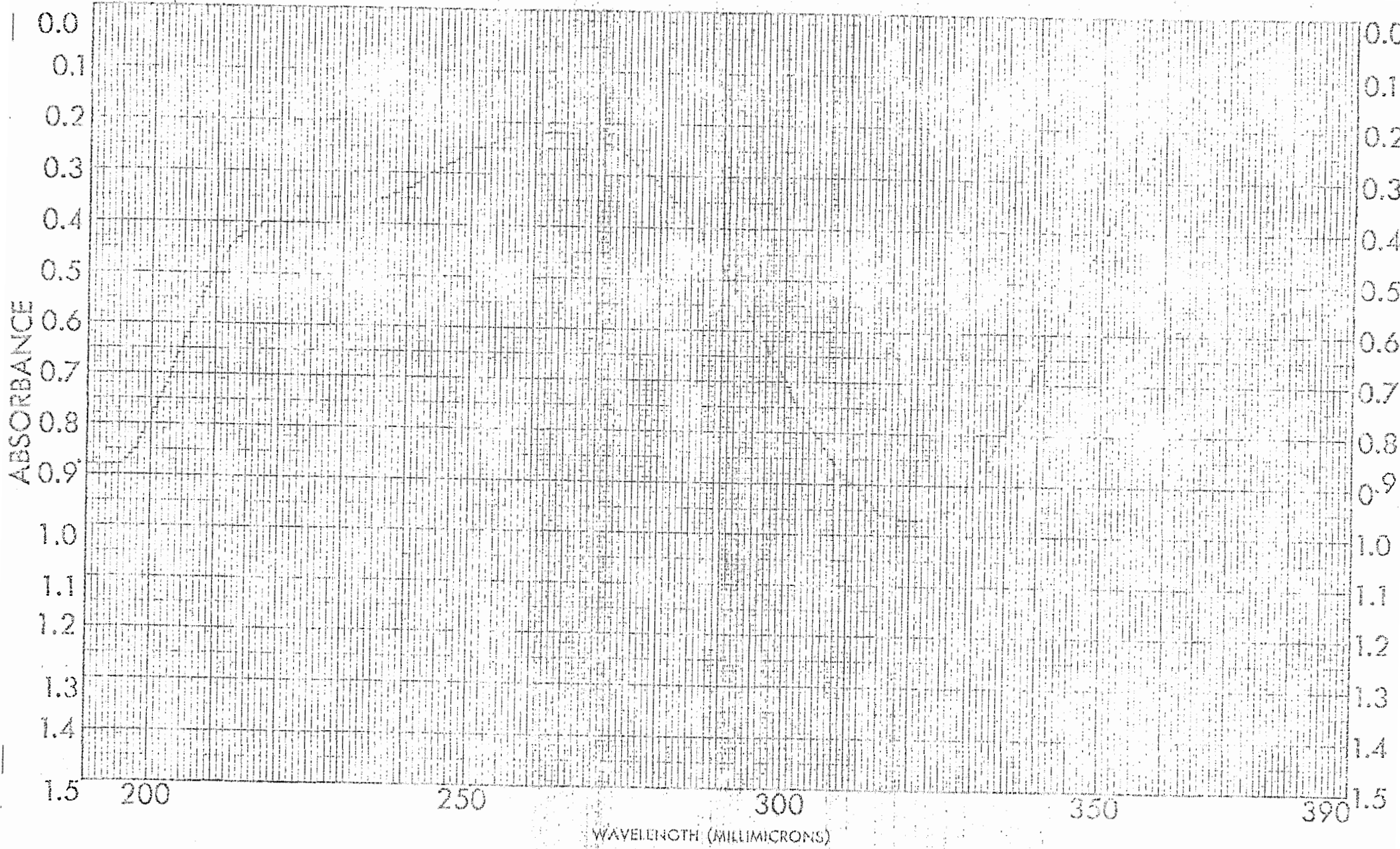
SAMPLE _____	CURVE NO. _____	SCAN SPEED _____	OPERATOR <i>R. S. J. P. J.</i>
ORIGIN _____	CONC. _____	SLIT _____	DATE _____
SOLVENT _____	CELL PATH _____	REMARKS _____	
	REFERENCE <i>Camphor</i>		

J. N. 3. 2. 3



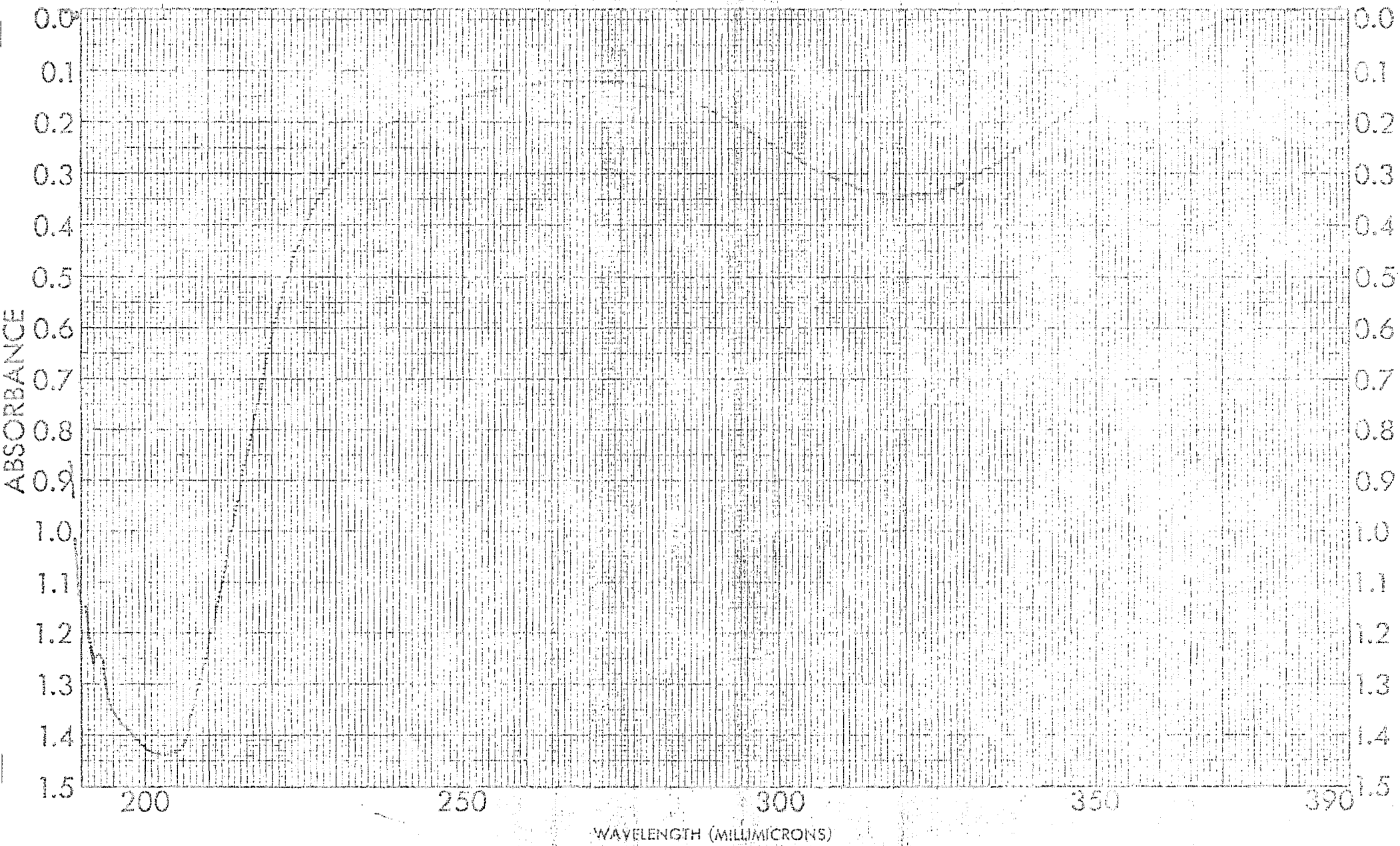
SAMPLE _____	CURVE NO. <u>5109</u>	SCAN SPEED _____	OPERATOR <u>R. Stojanovic</u>
ORIGIN _____	CONC. _____	SLIT _____	DATE _____
SOLVENT _____	CELL PATH _____	REMARKS _____	
	REFERENCE _____		

UV. N° 314
H/S N° 17



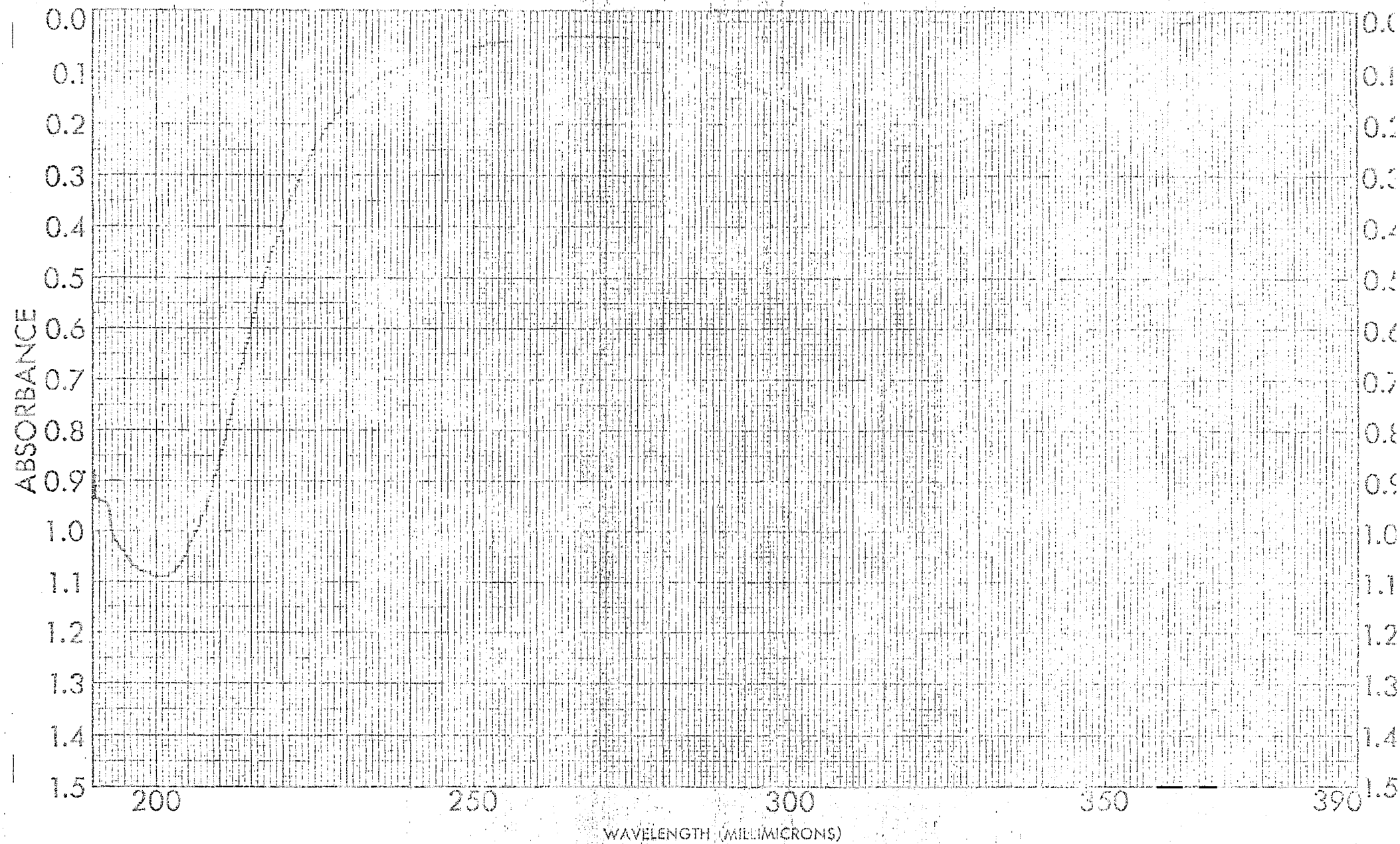
SAMPLE	CURVE NO. <i>51.11</i>	SCAN SPEED	OPERATOR <i>Krisperic</i>
ORIGIN	CONC.	SLIT	DATE
SOLVENT	CELL PATH	REMARKS	
	REFERENCE		

0.0
0.1
0.2
0.3
0.4
0.5
0.6
0.7
0.8
0.9
1.0
1.1
1.2
1.3
1.4
1.5
 200
250
300
350
390
 WAVELENGTH (MILLIMICRONS)
 ABSORBANCE
 51.11
 KRISPERIC



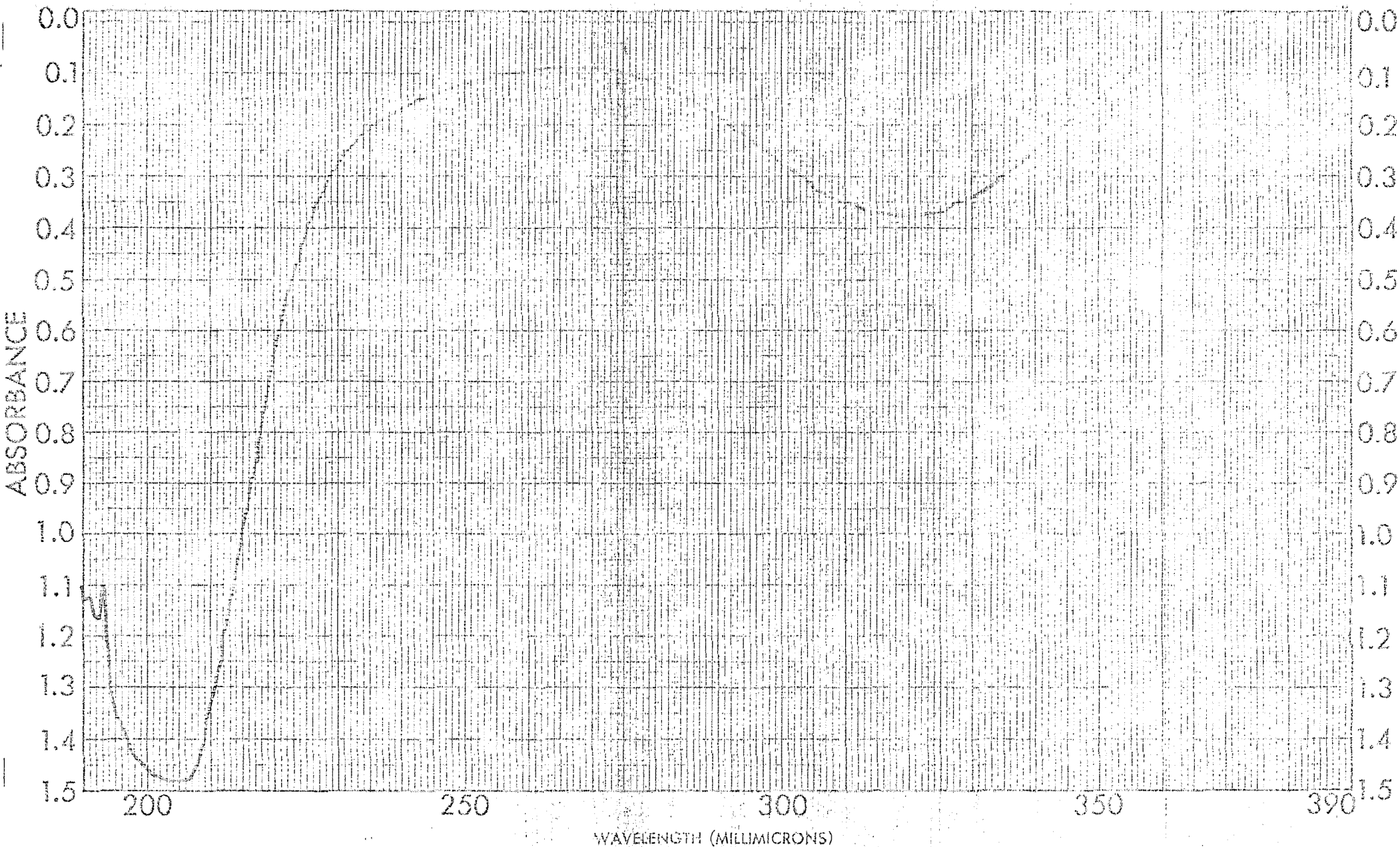
SAMPLE <u>7</u> <u>L. exc.</u>	CURVE NO. <u>1-1</u>	SCAN SPEED _____	OPERATOR <u>P. S. ...</u>
<u>dilution 1:4</u>	CONC. _____	SLIT _____	DATE <u>5/1/41</u>
ORIGIN <u>1/L = 3x10⁻⁴ M</u> <u> Fe³⁺ = 2x10⁻⁴ M</u>	CELL PATH _____	REMARKS <u>transmittance = 1.25</u>	
SOLVENT _____	REFERENCE <u>H₂O</u>		

J.W. M. #41



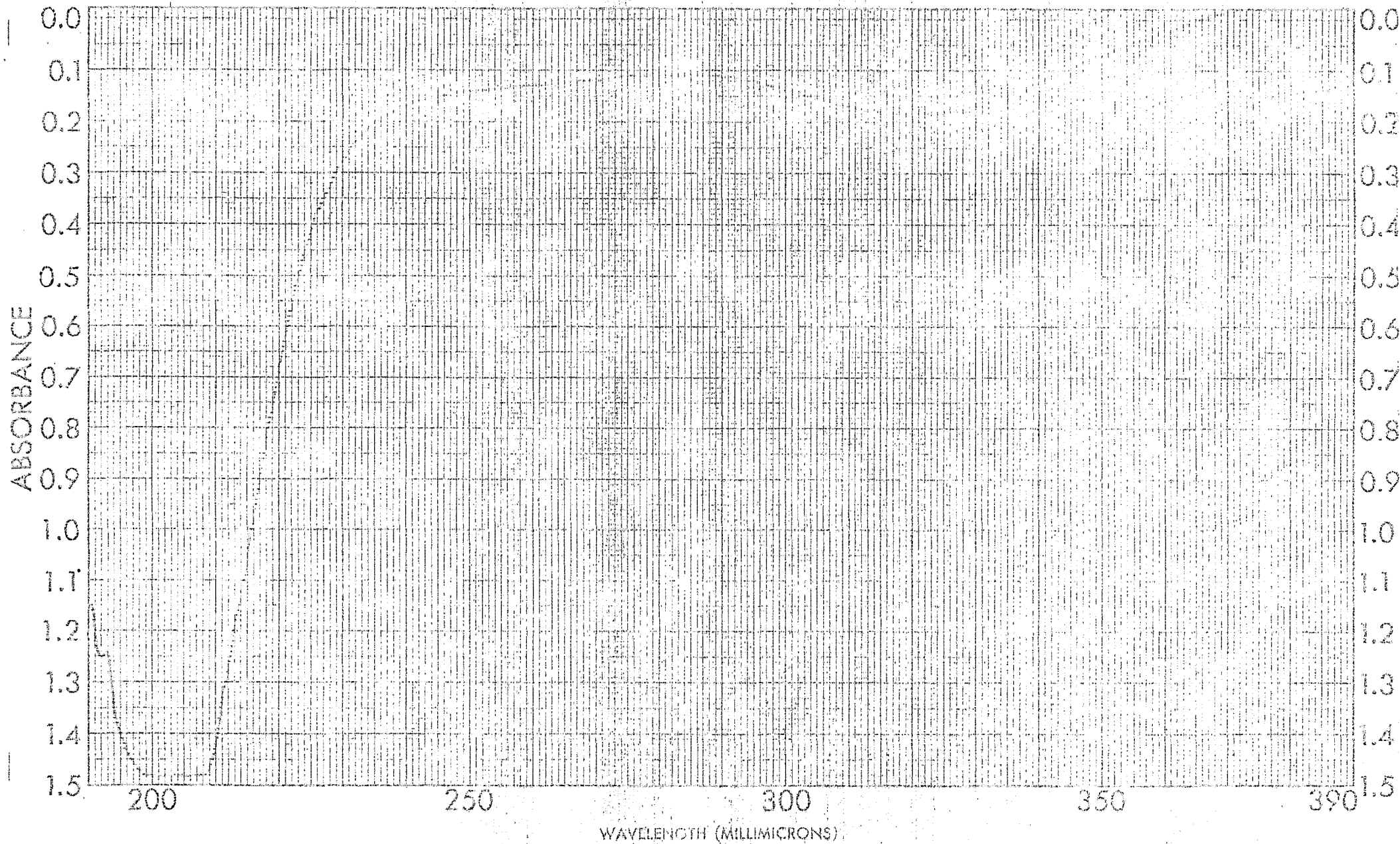
SAMPLE <u>2</u> <u>L. exc.</u>	CURVE NO. <u>7-3</u>	SCAN SPEED	OPERATOR <u>P. G. J. P. J.</u>
dilution <u>1:10</u>	CONC.	SLIT	DATE <u>1/1/51</u>
ORIGIN <u>IL = 3 x 10⁻⁴ M Fe³⁺ = 2 x 10⁻⁴ M</u>	CELL PATH	REMARKS <u>6.5 cm / 2.5 cm</u>	
SOLVENT	REFERENCE <u>H₂O</u>		

U. V. No. 72



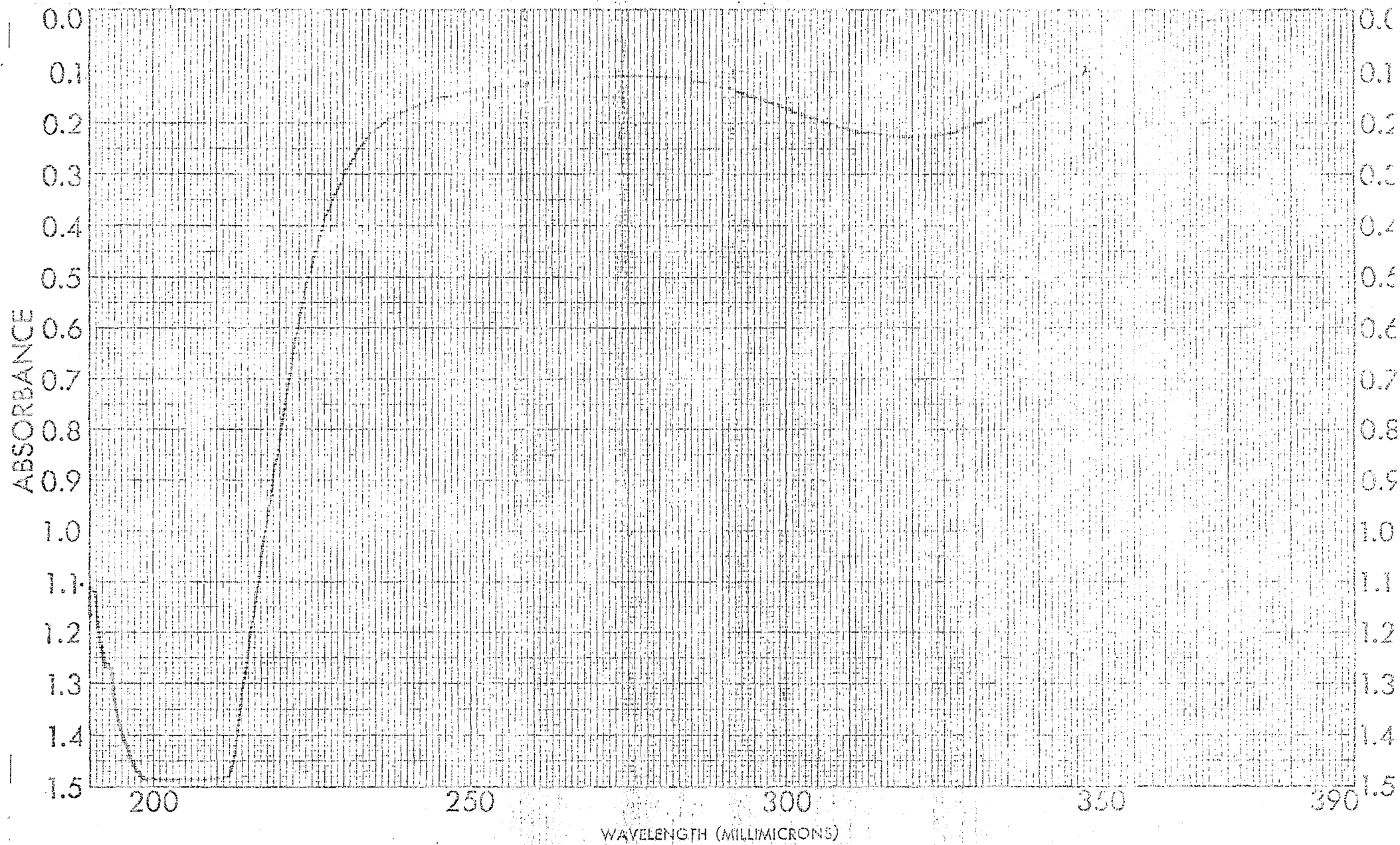
SAMPLE <i>L. acc.</i>	CURVE NO. <i>5124 7-5</i>	SCAN SPEED	OPERATOR <i>B. B. Poire</i>
<i>de base = 1.14</i>	CONC.	SLIT	DATE <i>2/10/56</i>
ORIGIN <i>1L = 3 x 10⁻⁴ M 1R³⁺¹ = 2 x 10⁻⁴ M</i>	CELL PATH	REMARKS <i>6.5 cm path 48°C</i>	
SOLVENT	REFERENCE <i>H₂O</i>		

U.V. No. 43



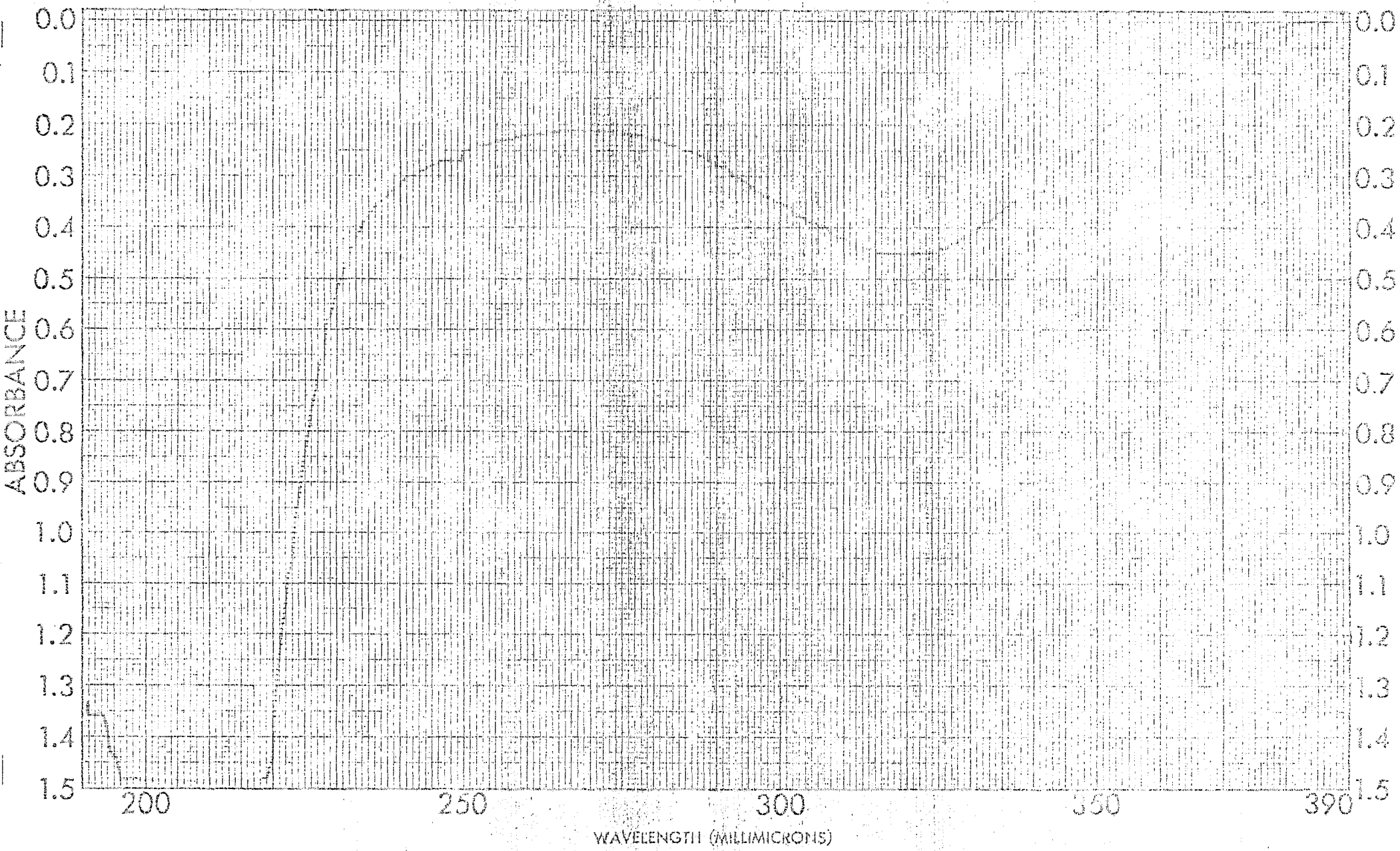
SAMPLE <u>8 Fe^{III} exc.</u>	CURVE NO. <u>8-1</u>	SCAN SPEED _____	OPERATOR <u>Buckuporic</u>
<u>At conc. = 1:4</u>	CONC. _____	SPLIT _____	DATE <u>3/11/56</u>
ORIGIN <u>[Fe³⁺] = 3 · 10⁻⁴ M</u> <u>[L] = 2 × 10⁻⁴ M</u>	CELL PATH _____	REMARKS <u>Sample 8 340</u>	
SOLVENT _____	REFERENCE <u>H₂O</u>		

U.S. N° 442



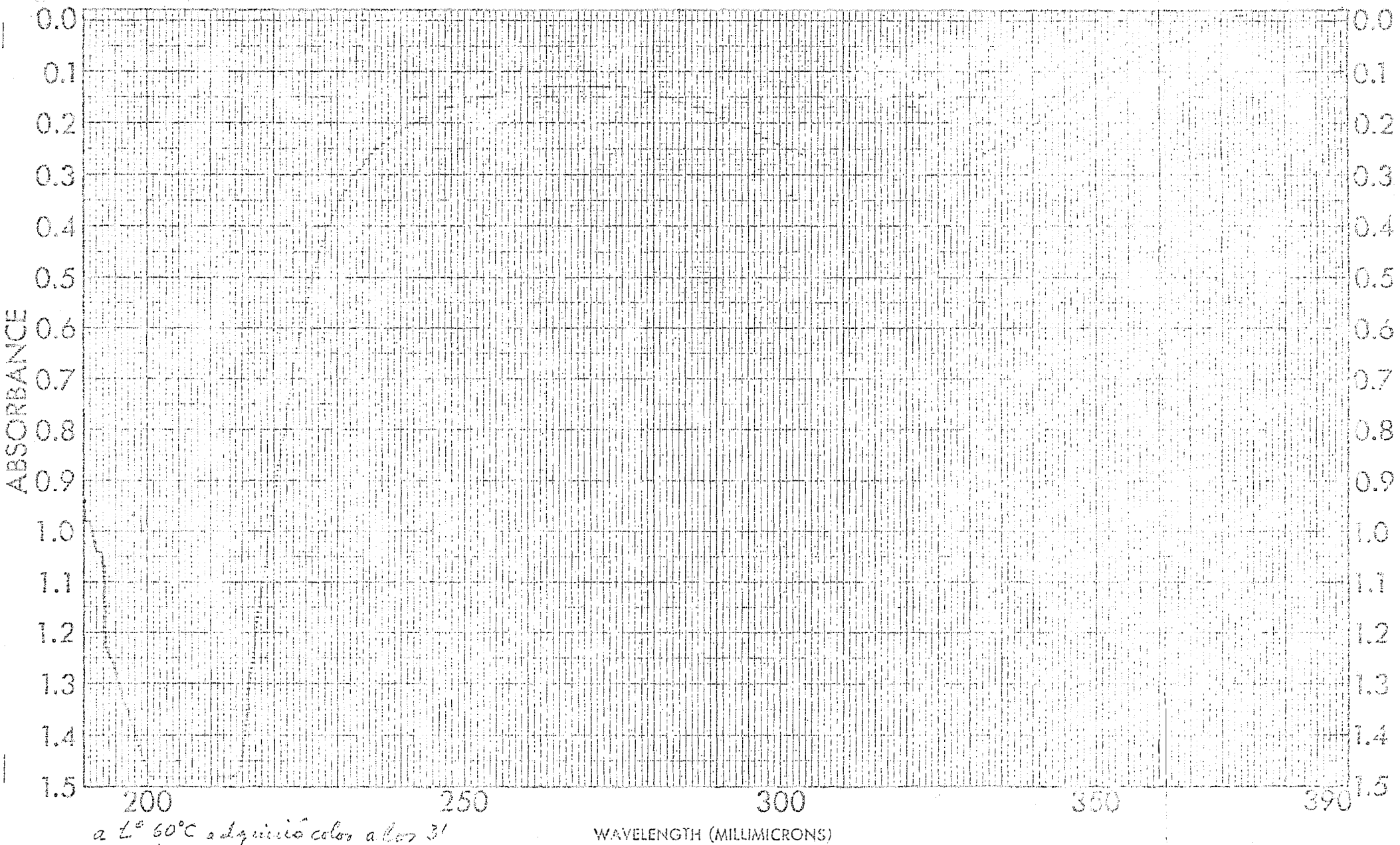
SAMPLE 8 Fe ^{III} e.c.	CURVE NO. 8-3	SCAN SPEED	OPERATOR <i>B. S. J. Peric</i>
dilución 1:10	CONC.	SLIT	DATE
ORIGIN [Fe ³⁺] = 3 × 10 ⁻⁴ M l = 2 × 10 ⁻⁴ M	CELL PATH	REMARKS <i>l = 2 × 10⁻⁴ M</i>	
SOLVENT	REFERENCE <i>H₂O</i>		

U.V. No. 45



SAMPLE <u>8</u> <u>Fe^{III} exc.</u>	CURVE NO. <u>45 (20)</u> <u>3-5</u>	SCAN SPEED	OPERATOR <u>Bishopric</u>
<u>dilution 1:14</u>	CONC.	SLIT	DATE <u>2/10/56</u>
ORIGIN <u>[Fe³⁺] = 3 × 10⁻⁴ M</u> <u>l = 2 × 10⁴ M</u>	CELL PATH	REMARKS <u>6.2 × 10⁻⁴ M</u>	
SOLVENT	REFERENCE <u>H₂O</u>		

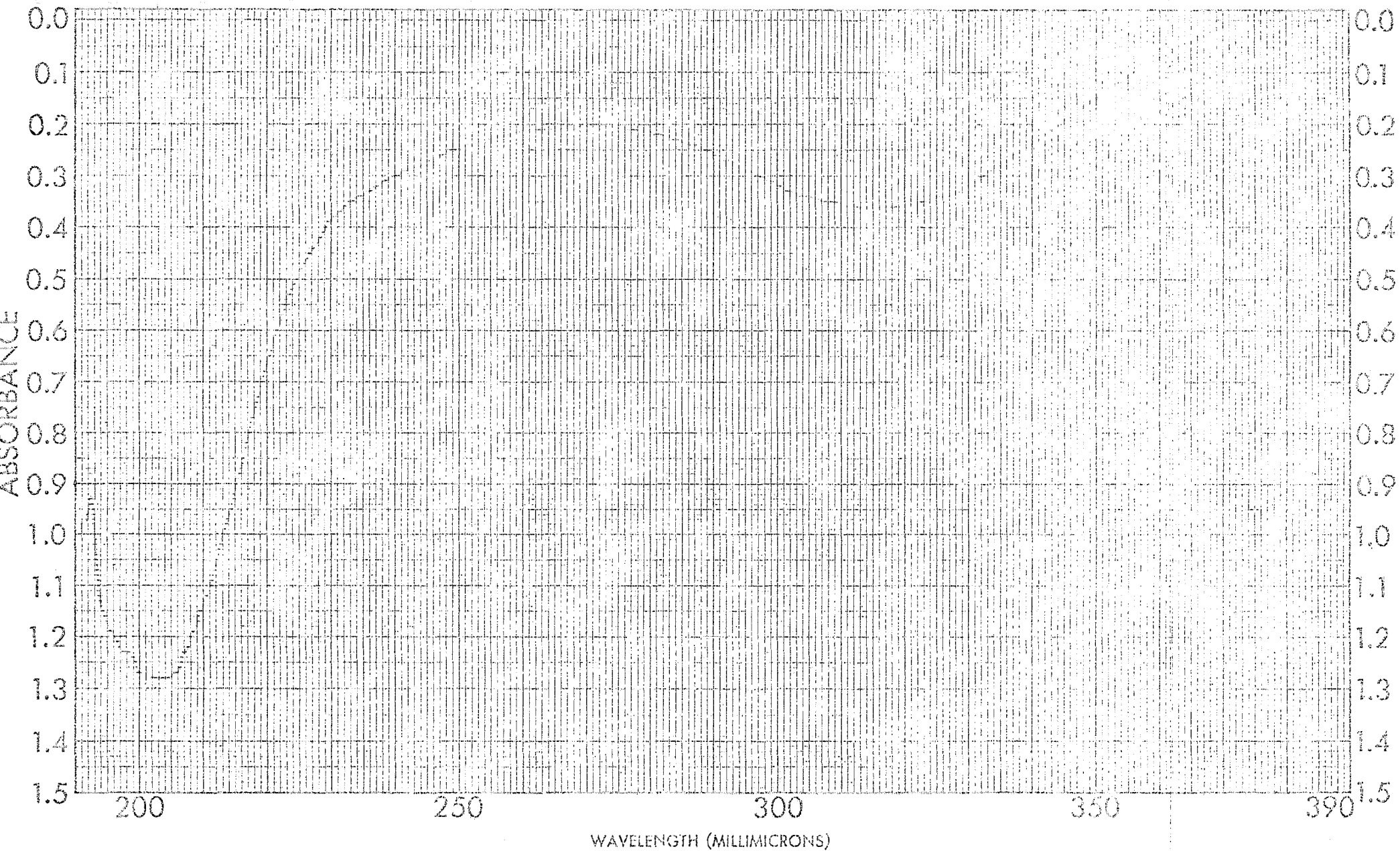
U.V. No. 46



a t° 60°C a adquirir color a los 3' calentamiento 1/2 h. hasta 80°C.

SAMPLE <u>9</u> <u>Fe^{III} exc.</u>	CURVE NO. <u>59130</u> <u>8-8</u>	SCAN SPEED	OPERATOR <u>Reidy, J. C.</u>
<u>dilución 1:1</u>	CONC.	SLIT	DATE <u>2/10/</u>
ORIGIN <u>[Fe³⁺] = 3 × 10⁻⁴ M</u> <u>[L] = 2 × 10⁻⁴ M</u>	CELL PATH	REMARKS	
SOLVENT	REFERENCE <u>H₂O</u>		

U.V. No. 422



SAMPLE <u>COMPUESTO. A</u>	CURVE NO. _____	SCAN SPEED _____	OPERATOR <u>Bisbupovic</u>
ORIGIN _____	CONC. _____	SLIT _____	DATE _____
SOLVENT _____	CELL PATH _____	REMARKS _____	
	REFERENCE _____		

U. N. 4.8

varian associates palo alto, california

Adjusted sweep from High-Resolution NMR, by E. D. Swett, Academic Press New York, 1956. This chart indicates 100% accuracy, but is not intended to be an absolute standard. In a few cases, probable assignments may be indicated by a check mark.

START OF SWEEP

→ H

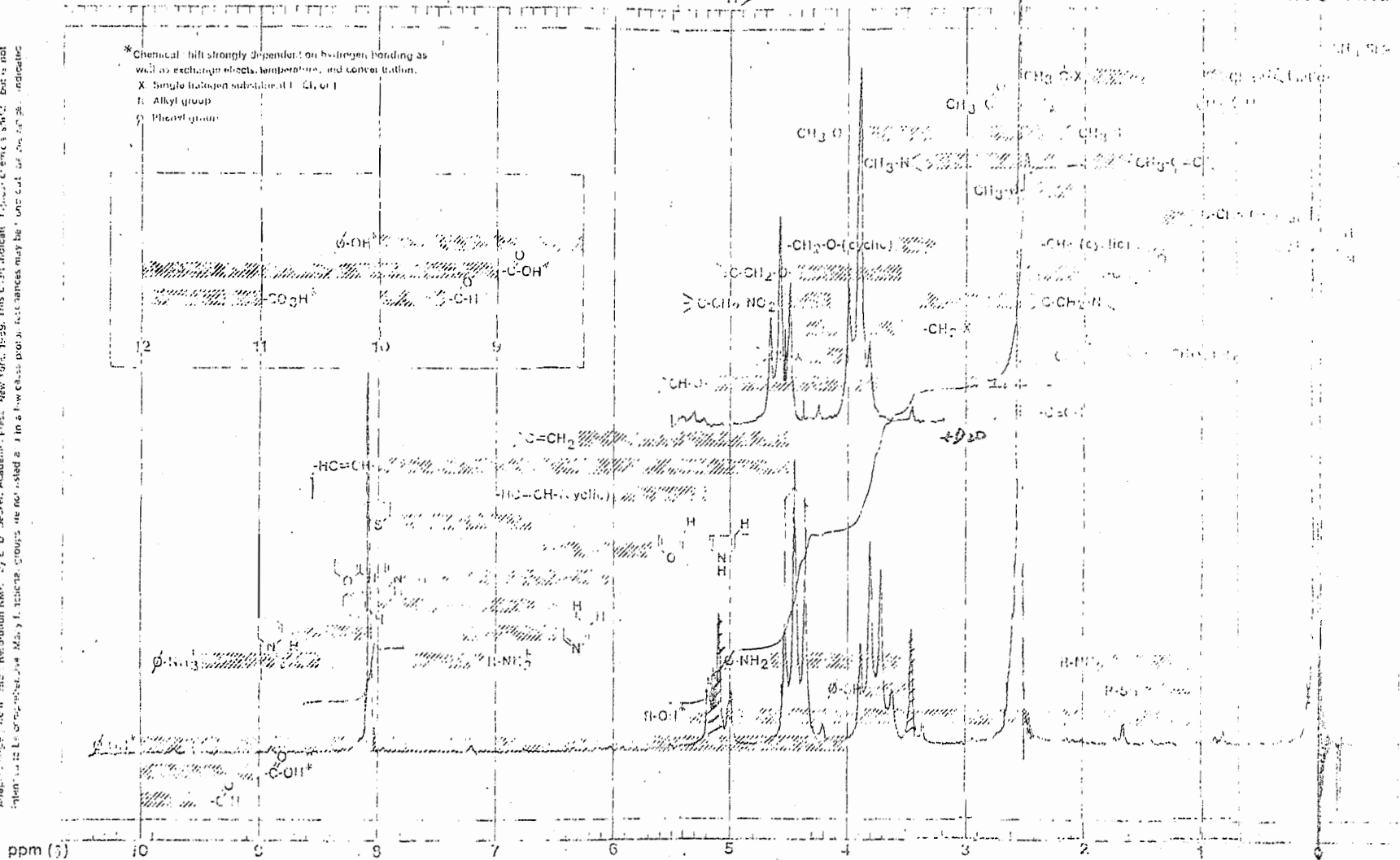
END OF SWEEP

* Chemical shift strongly dependent on hydrogen bonding as well as exchange effects, temperature, and concentration.

X Single halogen substituent (F, Cl, or I)

h Alkyl group

o Phenyl group



SPECTRUM AMPL. 140

SWEEP TIME 5 min

SAMPLE: CCOC CCO REMARKS:

OPERATOR *Tina*

FILTER 0.1 sec

SWEEP WIDTH 10 ppm or Hz



DATE 30-10-70

RF POWER 0.65 mG

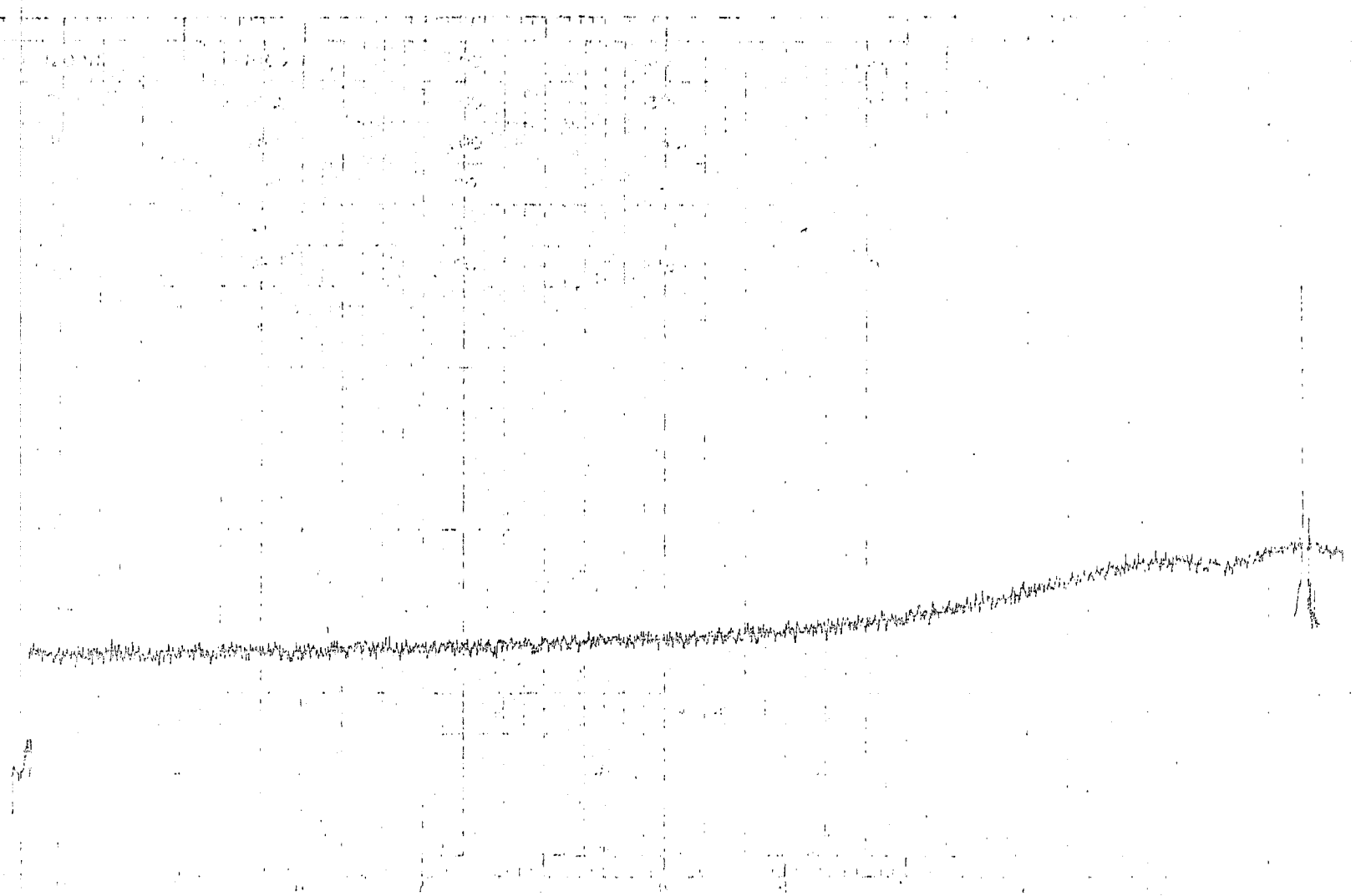
END OF SWEEP — ppm or Hz

SOLVENT: CD3SO

SPECTRUM NO. 2246

EM-360 Functional Group Correlation Chart
Printed by MR. Chemt. Co. 1/68

R.M.N. 1971



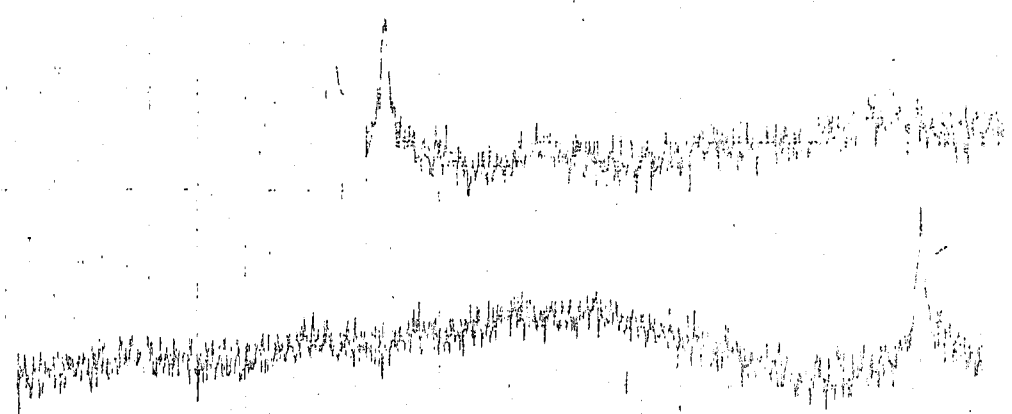
1100
0-1
0-1

CONCENTRACION 5
CONCENTRACION 10
CONCENTRACION 1

MITOTINA: *Abt.*
COMPUESTO A
DISOLVENTE *CDCl₃*

TAN
2-12-76
2250
Abt.

RMN. M₄ 1

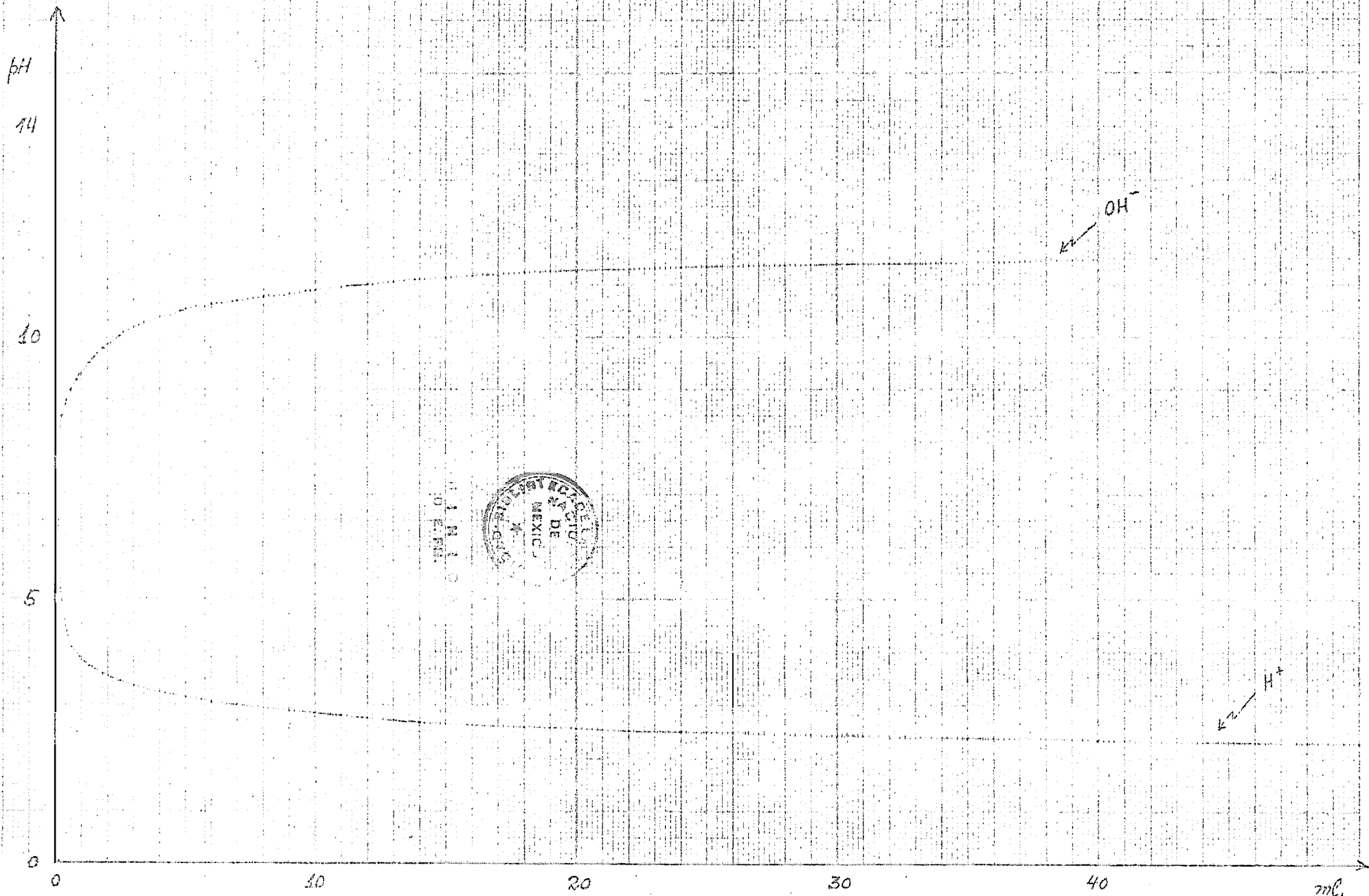


1500
 0.1
 0.1

RESOLUCION
 COMPUESTO A
 DMSO

Tiempo
 3. v. 74
 2373
 644.

RMN. 4342



J. N. A. O.
O. L. M. S.

