

BIBLIOTECA  C. QUIMICAS
UNIVERSIDAD LABASTIDA

INCORPORADA A LA
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS

EXAMEN DE BARBITURICOS EN ORINA
A DISTINTOS PH

T E S I S

QUE PARA SU EXAMEN PROFESIONAL DE
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

PRESENTA

Martha B. Garcia Casas

MONTERREY, N. L.

1965

11810



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 LABASTIDA

INCORPORADA A LA
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS

EXAMEN DE BARBITURICOS EN ORINA
A DISTINTOS PH

T E S I S

QUE PARA SU EXAMEN PROFESIONAL DE
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

PRESENTA

Martha B. García Casas

MONTERREY, N. L.

1 9 6 5

*A la memoria de
mi Madre*

*Con amor y respeto
a Mi Padre*

*Con todo cariño
a Mi Hermano*

11810

*A la Universidad Labastida
con mi eterna gratitud*

*A Mis Maestros
con Respeto*

A Mis Compañeras

*Con afecto y Gratiitud
al Doctor
Gilberto Molina B.
Director de esta Tesis*

Mi agradecimiento para:

Doctor Roberto Moreira.

Doctor Alfredo Delgado.

Doctor Gustavo Reynoso.

***Personal del Departamento
de Farmacología.***

*Desco expresar mi agradecimiento
al Dr. Marco Antonio Ugartechea,
Director de la Facultad de Medi-
cina y del Hospital Universitario,
por el permiso otorgado para la
realización de esta Tesis.*

*Este trabajo se realizó en el De-
partamento de Farmacología de la
Facultad de Medicina de la Uni-
versidad de Nuevo León, bajo la
Dirección del Dr. Gilberto Molina
Ballesteros, M. Sc.*

C O N T E N I D O

	Pág.
Introducción	8
Origen y Química	10
Clasificación	13
Técnica de Laboratorio	14
Material y Métodos	14
Técnica	15
Curva de Calibración	16
Pruebas de Recuperación.....	16
Técnica de Experimentación.....	19
Material y Métodos.....	19
Resultados	21
Discusión y Conclusiones	27
Sumario de Conclusiones.....	28
Bibliografía.....	29

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

Entre los depresores del sistema nervioso central los barbitúricos forman un grupo valioso y de gran importancia. Su empleo se ha extendido para producir sedación, hipnosis o anestesia y su hiperdosificación ha dado como resultado innumerables casos de envenenamiento y muerte.

Desde la introducción del barbital numerosos derivados del ácido barbitúrico han sido sintetizados y se han introducido en el mercado como agentes terapéuticos. (1)

Los barbitúricos como depresores del sistema nervioso central poseen ciertas ventajas, algunas de las cuales son específicas de estas substancias. La debida elección y uso de los barbitúricos requiere un amplio conocimiento de su Farmacología y Toxicología.

Si el medicamento se usa a la dosis y por la vía de administración adecuada se puede obtener cualquier grado de efecto depresor, desde una ligera hipnosis, hasta la anestesia quirúrgica. (2)

Sin embargo la facilidad con que los barbitúricos pueden ser recetados e ingeridos es su mayor desventaja, ya que se utilizan cuando sería preferible otro tratamiento u otro tipo de droga. Además la habituación es fácil de adquirir ya que se puede ingerir fácilmente y sin ningún problema.

La intoxicación aguda puede presentarse en el curso del tratamiento por accidente o por intento de suicidio.

La proporción de suicidios con barbitúricos es de 5% de todos los venenos. En las grandes ciudades tal cifra puede ser 4 veces mayor. Aproximadamente 20% de las admisiones en los hospitales por intoxicación aguda son casos de envene-

namiento con barbitúricos y sólo el monóxido de carbono sobrepasa esta cifra. En los casos de intoxicación aguda con barbitúrico la cifra de muertes es de alrededor de 8% y puede elevarse hasta un 25% en caso de intoxicación aguda (2).

Recientemente se ha utilizado como tratamiento en la intoxicación con fenobarbital la alcalinización de la orina, después de haberse demostrado que aumenta la velocidad de excreción de este barbitúrico (3) (4).

Basados en ese hecho y viendo la importancia y el interés general que este problema tiene en nuestro medio, nos pareció interesante estudiar si persiste el mismo efecto en el caso del pentobarbital sódico.

ORIGEN Y QUIMICA

Los barbitúricos son sustancias sintéticas que provienen de la condensación de la urea y del ácido malónico. (Ver Figura No. Uno).

El ácido barbitúrico o malonilurea fué descubierto por Baeyer en 1863 y su derivado dietílico (barbital o veronal) fué preparado por primera vez en 1862 por Conrad y Guthzeit a partir del etil yoduro y la sal de plata del ácido barbitúrico (1). Sin embargo, no fué hasta 1903 cuando Fisher y Von Mering descubrieron los efectos hipnóticos del barbital y lo introdujeron en la Medicina (5).

El ácido barbitúrico es inactivo y adquiere propiedades hipnóticas al reemplazar los dos átomos de hidrógeno del carbono en posición 5, por diferentes grupos, en especial los alquilo y los arilo. En esta forma es como se ha logrado sintetizar más de 2,500 compuestos (6).

Los barbitúricos en estado ácido son poco solubles en agua y se prefieren en general las sales de estos ácidos por ser más fácilmente absorbibles en el tracto digestivo. Las soluciones de estas sales son inestables, ya que fácilmente se precipita el ácido libre, el cual produce derivados de la acetyl urea perdiendo por este mecanismo su acción farmacológica (7).

Se ha explicado que el ácido barbitúrico y sus derivados no poseen el grupo carboxilo (-COOH) y su carácter ácido se debe a la forma lactámica o cetónica (-CO-NH) que está en equilibrio con la fase enólica (-COH N), la cual resulta del cambio del hidrógeno desde el nitrógeno en la posición 1 o 3 al oxígeno 2. Este hidrógeno se ioniza fácilmente y es reemplazado por un metal para la formación de sales. Generalmente el metal que se substituye es el sodio. La forma cetó-

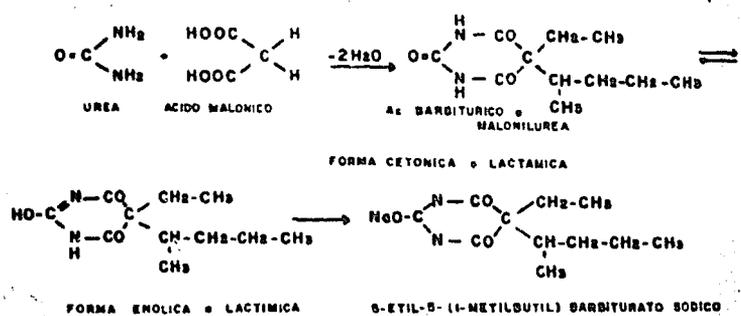
nica está en equilibrio con la lactímica o enólica ($-\text{COH}=\text{N}-$). (7).

Es de suma importancia la longitud de la cadena, pues aumenta la potencia hipnótica hasta un límite de seis carbonos y va disminuyendo dicha potencia al aumentar la cadena. El doble enlace hace que el compuesto se oxide fácilmente y esto produce una acción más corta. Los compuestos con cadenas laterales ramificadas o alicíclicas son inestables y fácilmente destruidas en el hígado. (5).

Al substituir el oxígeno unido al carbono de la urea por un azufre se obtienen los tiobarbitúricos, los cuales son captados por depósitos grasos del organismo y destruidos rápidamente en el hígado por lo que su acción es muy corta. La presencia del grupo fenilo hace adquirir al compuesto propiedades anti-convulsivantes. Al substituir los hidrógenos de las posiciones 1 y 3 por grupos alquilo pierde el compuesto sus propiedades hipnóticas. (8).

Figura No. Uno.

SINTESIS QUIMICA DEL PENTOBARBITAL SODICO.



CLASIFICACION

Los barbitúricos de acuerdo con la duración de su acción se han clasificado en: (7)

DE ACCION PROLONGADA

(DE 6 A 8 HORAS)

Barbital	—	(Veronal)
Barbital Sódico	—	(Veronal Sódico)
Fenobarbital	—	(Luminal)
Fenobarbital Sódico	—	(Luminal Sódico)
Mefobarbital	—	(Prominal)

DE ACCION INTERMEDIA

(DE 5 A 6 HORAS)

Amobarbital	—	(Amytal)
Amobarbital Sódico	—	(Amytal Sódico)
Butabarbital Sódico	—	(Butisol Sódico)
Butetal	—	(Neonal)
Ac. Dialilbarbitúrico	—	(Dial)
Aprobarbital	—	(Numal)

DE ACCION CORTA

(DE 4 A 6 HORAS)

Pentobarbital Sódico	—	(Nembutal)
Pentobarbital Cálcico	—	(Nembutal Cálcico)
Secobarbital Sódico	—	(Seconal)
Hexobarbital	—	(Evipan)

DE ACCION ULTRACORTA

(MENOS DE 3 HORAS)

Hexobarbital Sódico	—	(Evipan Sódico)
Kemithal	—	(Kemithal)
Pentotal Sódico	—	(Tiopental Sódico)

TECNICA DE LABORATORIO

Las técnicas actuales para la determinación de barbitúricos se llevan a cabo por espectrofotometría ultravioleta, las cuales permiten mayor rapidez y eficacia.

Todos estos métodos se basan en el hecho de que la absorción en el ultravioleta de los derivados disubstituidos 5-5 del ácido barbitúrico tienen las siguientes características:

- A) Una forma ácida no ionizada, la cual no tiene una absorción en el ultravioleta selectiva entre 230 y 270 μ .
- B) Una forma ionizada a un pH de 9.8-10.5, la cual tiene una máxima absorción en el ultravioleta a 240 μ .
- C) Una segunda forma ionizada a un pH de 13-14, la cual tiene una máxima absorción en el ultravioleta entre 252 y 255 μ .

Después de probar varias técnicas para la determinación de barbitúricos, (9), (10), (11), (12), encontramos que el método de Goldbaum (13) permite obtener mejores resultados cualitativos y cuantitativos. Hecho que demostramos en nuestra curva de calibración y en nuestras pruebas de recuperación.

MATERIAL Y METODOS

A.—APARATOS:

Espectrofotómetro Beckman Modelo DU.

B.—REACTIVOS:

1.—Solución acuosa de cloruro de amonio al 16%.

2.—Solución acuosa de hidróxido de sodio (0.45 N).

3.—Solución buffer alcalina (pH = 10.3).

Se toman 3 cc de una solución de NaOH (0.45 N) con 0.5 cc de cloruro de amonio al 16%. El pH de esta mezcla debe ser de 10.3 ± 0.2. En estos límites el pH es crítico por lo que la mezcla debe chequearse una vez por semana. Si la mezcla no registra este pH se ajusta con una solución de NaOH (0.45 N), hasta que la mezcla vuelva a los límites prescritos.

4.—Solución buffer de fosfatos (pH = 7.0).

A 50 cc de una solución de fosfato de potasio (0.1 M) se añaden 30 cc de NaOH (0.1 N) se diluye a 100 cc con agua destilada.

5.—Cloroformo libre de cromógenos.

Para esto el cloroformo se lava con pequeñas porciones de HCl (0.1 N) y después con NaOH (0.1 N) y carbón activado.

TECNICA

En un embudo de separación de 250 cc se colocan 3 cc de solución standar, sangre, suero o plasma. Se añaden 50 cc de cloroformo libre de cromógenos y se agita por 5 minutos. Se descarta la fase acuosa y se toma una alícuota de 40 cc de la fase clorofórmica. Esta alícuota se transfiere a otro embudo de separación y se le añaden 5 cc de NaOH (0.45 N) y se agita por cinco minutos. Se descarta la fase clorofórmica y la solución alcalina, que contiene el barbitúrico, se pasa a un tubo de ensaye y se centrifuga por espacio de 5 minutos, con el objeto de descartar cualquier residuo de cloroformo. De esta solución alcalina se toman 3 cc, se colocan en una cubeta de cuarzo Beckman y se obtienen las lecturas de densidad óptica a una longitud de onda de 260 mμ, contra un blanco de agua previamente lavada con cloroformo.

De cada muestra deberán obtenerse dos lecturas. La primera (A) se obtiene directamente a un pH = 13-14. La segun-

da (B) se obtiene después de añadir 0.5 cc de cloruro de amonio al 16', el cual comunica a la solución un pH 10.3.

La densidad óptica de la muestra (B) se multiplica por 7.6 para corregir la dilución de la muestra original. Este valor se resta de la lectura (A). El resultado obtenido se llama Delta y es proporcional a la cantidad de barbitúricos que contiene la muestra.

La determinación de barbitúricos en orina o lavados gástricos muestra una ligera variación del procedimiento anteriormente descrito. Tres centímetros de la muestra se acidifican con HCl (0.1 N), antes de la extracción inicial del cloroformo. Después de la extracción, el cloroformo residual se lava con 5 cc de la solución buffer de fosfatos de pH 7. La capa acuosa se descarta y se toma una alícuota de 40 cc del filtrado de cloroformo. Se continúa en la misma forma que se describe anteriormente.

CURVA DE CALIBRACION.

Se preparó una solución stock que contenía 1 miligramo por centímetro cúbico de pentobarbital sódico (Nembutal de Lilly). Con lo cual se hizo una dilución seriada que iba desde 1 hasta 10 miligramos por ciento. Se siguió la técnica anteriormente descrita y los resultados aparecen en la gráfica No. Uno.

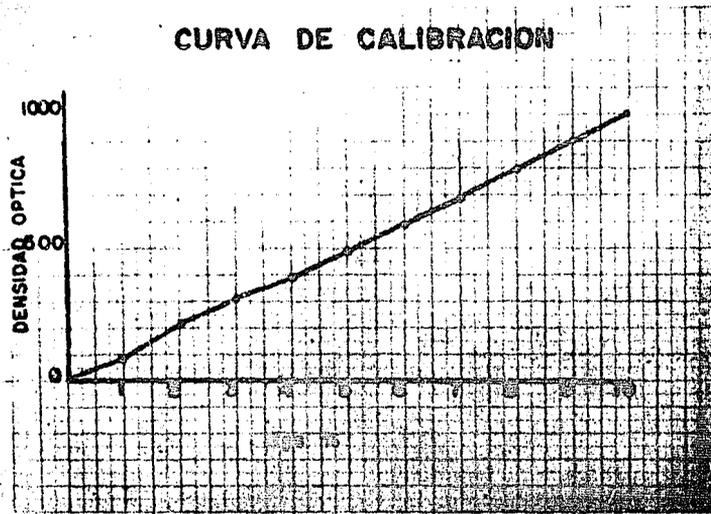
PRUEBAS DE RECUPERACION

Para valorar la eficacia de nuestro método, realizamos pruebas de recuperación en 10 muestras de orina y de sangre. Nuestros resultados se sumarizan en la Tabla No. Uno.

TABLA No. UNO
PRUEBAS DE RECUPERACION

No. de Pruebas	Conc. de Barbitúrico (Mg %)	% de Recuperación
2	2	98%
2	4	101%
2	6	98%
2	8	98%
2	10	96%

Gráfica No. Uno
CURVA DE CALIBRACION



TECNICA DE EXPERIMENTACION

MATERIAL Y METODOS.

A.—APARATOS.

Bomba de Respiración Palmer.

B.—ANIMALES DE EXPERIMENTACION.

Se utilizaron 20 perros de raza indeterminada, de ambos sexos y de peso entre 10 y 20 kilos. Los perros se dividieron en dos grupos de 10 perros cada uno, uno como control y el otro con tratamiento.

Grupo Número Uno. (Control).

Después de pesar al perro se prepara una solución acuosa de pentobarbital sódico a razón de 55 mgrs. por kilogramo de peso. Se administra el barbitúrico por vía oral por medio de una sonda gástrica de Levin. Cuando la droga ha surtido su efecto se coloca el animal en posición decúbito dorsal y se sujeta en una mesa de cirugía experimental. Se practica veno-disección de los vasos femorales de ambos lados. La arteria femoral se canaliza con un tubo de polietileno heparinizado, el cual está conectado a un manómetro de mercurio para registrar la presión arterial. Por una de las venas femorales se transfunde suero fisiológico a razón de 20 a 30 gotas por minuto. En seguida se practica laparotomía transrectal infraumbilical para exponer y vaciar la vejiga. Se cateterizan los ureteres con tubos de polietileno, previa ligadura y sección de los mismos. Se restituye la vejiga a su sitio y se procede a suturar por planos.

Grupo Número Dos. (Con Tratamiento).

El procedimiento quirúrgico experimental se practica en igual forma que el anterior. Únicamente que a este lote de perros se les practica una traqueostomía, entubando la tráquea con una cánula de vidrio en T, la que a su vez está conectada a una bomba de respiración artificial Palmer. Se calibra la bomba a razón de 25 cc de aire por kilogramo de peso y 16 respiraciones por minuto. Por una de las venas femorales se transfunde suero fisiológico y lactato de sodio a razón de 20 a 30 gotas por minuto.

C.—RECOLECCION DE MUESTRAS.

La sangre se obtiene con una jeringa heparinizada. Las muestras de orina se recolectan en probetas graduadas, se anota el volumen, se toma el pH y se hace una dilución 1:10.

Ambas muestras de sangre y orina se colectaban a los 20, 40, 60, 90, 120, 180, 300 y 360 minutos.

Se dá por finalizado el experimento cuando el animal presenta signos de movimientos voluntarios o muere.

R E S U L T A D O S

Nuestras experiencias preliminares demostraron que los animales de experimentación presentaban signos de movimientos voluntarios a las seis horas. Por tal motivo, se decidió tomar este tiempo como período máximo para la valoración de nuestros resultados.

El material y el método de nuestro trabajo nos permitió estudiar:

- 1o.—Presión arterial.
- 2o.—Niveles sanguíneos.
- 3o.—Excreción de pentobarbital en orina.
- 4o.—pH urinario.
- 5o.—Volumen minutos urinario.
- 6o.—Recuperación de reflejos.

1o.—PRESION ARTERIAL.

La presión arterial no tuvo variaciones significativas entre los animales controles y los tratados.

2o.—NIVELES SANGUINEOS.

En los animales controles el nivel sanguíneo bajó en un 12.8%.

En los animales con tratamiento el descenso fue de 38.8%.
(Ver Gráfica No. Dos).

30.—EXCRECION DE PENTOBARBITAL EN ORINA.

En los animales controles la excreción de pentobarbital fue de 3.4%.

En los animales con tratamiento la excreción fue de 3.6%.
(Ver Gráfica No. Tres).

40.—pH URINARIO.

El pH urinario en los animales controles fue de 7.6.

En los animales con tratamiento el pH se mantuvo en 8.0.
(Ver Gráfica No. Cuatro).

50.—VOLUMEN MINUTO URINARIO.

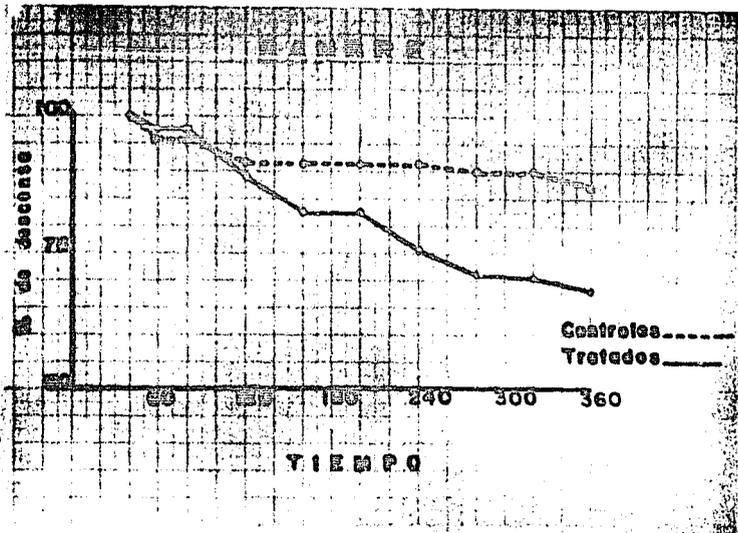
La diuresis se mantuvo muy uniforme en los animales controles y en los tratados. (Ver Gráfica No. Cinco).

60.—RECUPERACION DE LOS REFLEJOS.

Los animales controles presentaron recuperación de sus reflejos a las siete horas treinta y dos minutos.

Los animales con tratamiento se recuperaron a las cuatro horas cincuenta y cinco minutos.

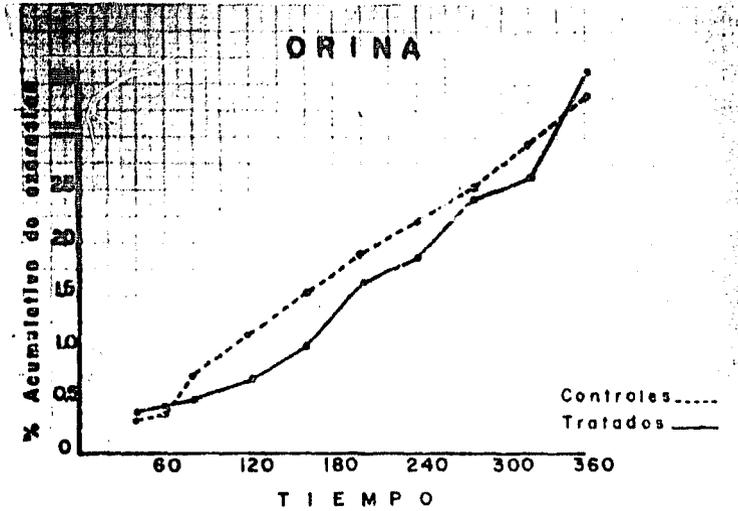
Gráfica No. Dos
NIVELES SANGUINEOS



En los animales tratados el barbitúrico desciende un 26% más que en los animales controles.

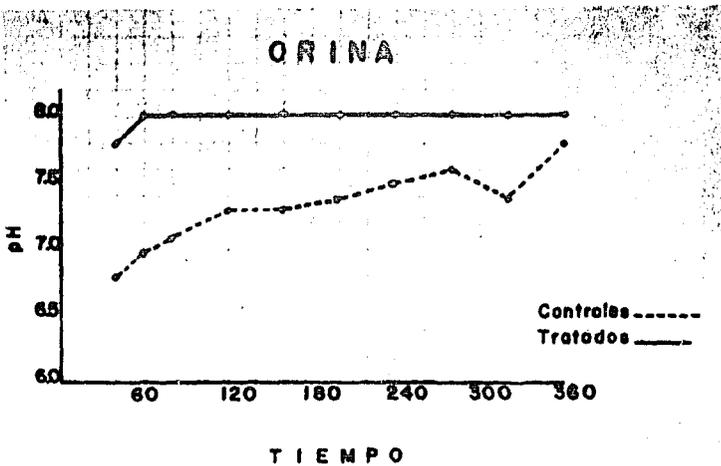
Gráfica No. Tres

EXCRECION DE PENTOBARBITAL EN ORINA



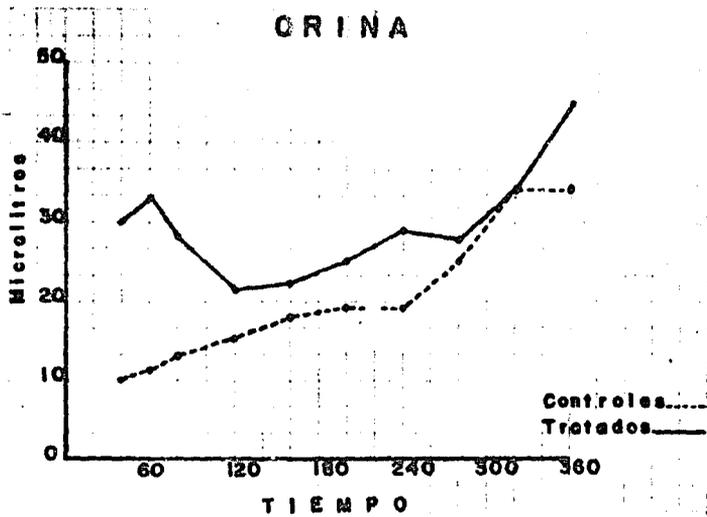
El por ciento de excreción de barbitúricos es sensiblemente igual en los animales tratados y en los controles.

Gráfica No. Cuatro
pH URINARIO



Los animales tratados se mantienen en un pH 8.0 durante todo el experimento; mientras que el pH de los animales controles va aumentando en el curso del experimento, pero se mantiene ligeramente por debajo del anterior.

Gráfica No. Cinco
VOLUMEN MINUTO URINARIO



Los animales controles y los tratados tuvieron una diuresis muy semejante entre sí.

DISCUSION Y CONCLUSIONES

Al analizar nuestros datos encontramos como hecho importante, un descenso de los niveles sanguíneos de los animales tratados, que fue superior en un 26% en relación con los animales controles. (Ver Gráfica No. Dos). Este hecho, aunado a una recuperación más rápida de reflejos y movimientos voluntarios, nos hace pensar que el tratamiento por nosotros probado ayuda a la desintoxicación del organismo.

En este mismo trabajo podemos concluir que no existe un aumento de excreción urinaria significativo entre ambos grupos de animales, lo cual nos induce a pensar que los descensos de los niveles sanguíneos no son debidos a la excreción de barbitúricos, sino a un aumento del metabolismo de éstos a nivel tisular. (Ver Gráfica No. Tres).

Otra observación que nos parece importante discutir es el que el pH urinario de los animales controles fue siempre superior a lo que normalmente se hubiera esperado. Promedio 7.6. (Ver Gráfica No. Cuatro).

Como nuestra idea original era ver las modificaciones de la excreción urinaria de barbitúricos a diferentes pH, el que las orinas de nuestros animales controles estuvieran alcalinas desde un principio, lógicamente limitó los cambios posibles de pH hacia el lado alcalino. (Ver Gráfica No. Cuatro).

Si bien, de acuerdo con Wadell (3), la excreción del fenobarbital si se aumenta significativamente cuando se alcaliniza el medio, nuestro trabajo experimental no provee evidencia de que un incremento en la excreción de pentobarbital en orina sea la causa de la más rápida recuperación de los animales de experimentación.

SUMARIO DE CONCLUSIONES

- 1o.—El nivel sanguíneo baja en un 26% en los animales tratados con respecto a los animales controles. (Ver Gráfica No. Dos).
- 2o.—Los animales tratados se recuperan con mayor rapidez que los animales controles.
- 3o.—No existe una diferencia significativa en la excreción urinaria en ambos grupos de animales. (Ver Gráfica No. Tres).
- 4o.—El pH urinario de los animales controles fue notablemente alcalino. (Ver Gráfica No. Cuatro).
- 5o.—La excreción de pentobarbital en orina no parece ser la causa de la más rápida recuperación en los animales de experimentación.

B I B L I O G R A F I A

- 10.—Victor A. Drill, Ph.D., "Pharmacology in Medicine". Pág. 159, 1958.
- 20.—Louis S. Goodman y Alfred Gilman, "Bases Farmacológicas de la Terapéutica". Pág. 150, 1957.
- 30.—Wadell, W.J. and Butter, T.C., "Distribution and Excretion of Phentobarbital". J. of Clin. Invest. 36: 1217-1220, (Aug). 1957.
- 40.—A. Myschetzky, M.D., and N.A. Lassen, M.D., Copenhagen, "Urea-Induced, Osmotic Diuresis and Alkalinization of Urine in Acute Barbiturate Intoxication". Danish Medical Bulletin, Vol. 8, 1962.
- 50.—Torald Sollman, "A Manual of Pharmacology". Pág. 933-954, 1957.
- 60.—Cook, E.F. y Martín, E.N., "Farmacia Práctica de Remington". Pág. 720, 1953.
- 70.—Manuel Litter, "Farmacología". Pág. 163-176, 1961.
- 80.—Carl Clemmensen, "New Line of Treatment in Barbiturate Poisoning", Acta Escandinávica, Vol. CXLVIII, 1954.
- 90.—J. T. Wright and R. G. S. Johns, "A Study of Barbiturate Intoxication by an Ultraviolet Spectrophotometric Technique". J. of Clin. Path., 6, 78, 1953.
- 100.—L. M. Hellman, L. C. Shettles and Herbert Stran, "A Quantitative Method for the Determination of Sodium Pentothal in Blood", J. Biol. Chem., 448, 293, 1943.

- 11o.—J. T. Walker, Ph. D., R. S. Fisher, M. D., and J. J. McHugh, B. S., "Quantitative Estimation of Barbiturates in Blood by Ultra-Violet Spectrophotometry", *Am. J. Clin. Path.*, 18, 451, 1948.
- 12o.—Per Lous, "Quantitative Determination of Barbiturates", *Acta Pharmacol.*, 227 6, 1950.
- 13o.—Golbaum, L. R., *Anal. Chem.*, 24, 1604, 1952.
- 14o.—C. P. Stewart, y A. Stolman, "Toxicology, Mechanisms and Analytical Methods". Pág. 86, 1960.
- 15o.—Antonio Salazar Vela, "Intoxicación Barbitúrica y su Tratamiento". Tesis Profesional, 1963.