

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

24.25.26
1975

COMPARACION DE METODOS DE
VALORACION DE VINCAMINE

353

MARIA DEL ROSARIO TORRES PEREZ
QUIMICO FARMACEUTICO BILOGO

1975



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.

CLAS. Tesis
ADQ. 1975
FECHA _____
PROC. PL 337 **7** 33-5



QUIMICA

Jurado asignado originalmente según el tema	PRESIDENTE	Q.F.B. RAMON ULACIA ESTEVE
	VOCAL	Q.F.B. ETHELVINA MEDRANO DE JAIMES
	SECRETARIO	Q.F.B. MARIO A. MIRANDA CASTRO
	1er. SUPLENTE	Q.F.B. CRISTINA VARGAS NAVA
	2do. SUPLENTE	Q.F.B. LUZ DEL CARMEN CAMACHO S.

SITIO DONDE SE DESARROLLO EL TEMA: Laboratorios GRUPO ROUSSEL, S.A.

SUSTENTANTE: María del Rosario Torres Pérez.

ASESOR DEL TEMA: Q.F.B. Mario Alfonso Miranda Castro.

Con agradecimiento a los laboratorios

"GRUPO ROUSSEL, S.A."

Al Sr. Q.F.B. Antonio Macías Fernández,

Al maestro Mario Alfonso Miranda Castro.

A MIS PADRES:

Carlos Torres Salazar.
Ma. Guadalupe de Torres.

A MIS HERMANOS

A MIS TIOS

I N D I C E

	Pág.
I.- INTRODUCCION.	1
II.- GENERALIDADES	2
III.- METODOS DE VALORACION	8
IV.- PARTE EXPERIMENTAL	15
V.- ANALISIS ESTADISTICO DE RESULTADOS.	24
VI.- CONCLUSIONES.	39
VII.- BIBLIOGRAFIA.	40

I. INTRODUCCION

Los alcaloides son sustancias orgánicas nitrogenadas comple--
jas de origen vegetal, conteniendo la mayor parte en su molécula uno o -
varios anillos cíclicos nitrogenados de carácter básico, dotados corrien--
temente de una fuerte actividad fisiológica y farmacodinámica, que pre--
sentan un conjunto de reacciones químicas comunes.

Se han aislado hasta el momento algunos centenares de alcaloi--
des, pero no todos tienen interés práctico en farmacología. Un mismo ve--
getal contiene siempre o casi siempre un conjunto de alcaloides vecinos--
constituído por un complejo de productos que derivan de un núcleo común.

La vincamine es un alcaloide aislado de Vinca minor L. pertene--
ce a los alcaloides que tienen núcleo del indol, es usado en la insufi--
ciencia circulatoria cerebral. Como ya hemos visto los alcaloides tie--
nen una gran importancia por su actividad fisiológica, así también es --
muy importante la valoración de los mismos. Esta tesis tiene por objeto
comparar varios métodos de valoración basados en diferentes propiedades--
de la molécula de vincamine, efectuando posteriormente una evaluación es--
tadística para verificar. La reproducibilidad, exactitud, versatilidad--
y aplicación.

II. GENERALIDADES

La vincamine es el alcaloide mayor de vinca minor L. (familia- de apocyanaceae) constituyente también de Vinca erecta Rgl y Schamalh y Vinca difformis Pourr.

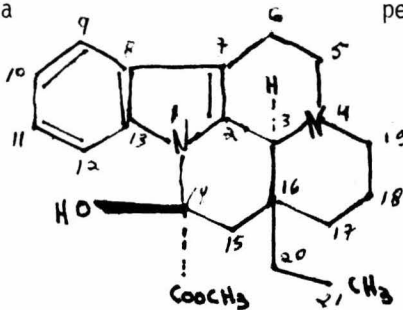
El alcaloide fue aislado primeramente en 1953 por E. Schittler y A. Furhenmeier, el valor terapéutico del alcaloide fue nombrado prime- ramente por A. Orechov y A. Quevauviller(18), posteriormente por K. Szás cuyos colaboradores desarrollaron un método para producir vincamine a es cala industrial.

Los primeros datos concernientes a la estructura del alcaloide fueron proporcionados por J. Trojánek, O. Štrouf, J. Holubek y Z. Čěkan.

Posteriormente aportaron datos concernientes a la estructura - del alcaloide J. Mokry (15) y en 1962 Mme M Plat, Mme Duc Dohkacemanh, - Jeán Le Men y Maurice- Marie Janot (17) confirmaron la estructura de la- vincamine por estudios de espectroscopía de masas y resonancia magnética nuclear del alcaloide.

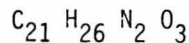
Fórmula desarrollada

peso molecular 354.4



Nombre

Vincamine.



Descripción

Es un polvo blanco, cristalino, prácticamente inodoro.

Solubilidad

Soluble en piridina, cloroformo, acetona, éter y metanol.

Punto de fusión

232 - 233 oC.

Rotación óptica

$$[\alpha]_D^{23} = + 41 \pm 4^\circ \text{ (en piridina)}$$

Espectro ultravioleta

máximo a 227 nm, log ϵ = 4.56

máximo a 280 nm, log ϵ = 3.99

máximo a 291 nm, log ϵ = 3.84

Espectro infrarrojo

En nujol presenta las siguientes bandas.

747,727 cm^{-1} (del anillo disustituído de benceno 1,2)

1756 cm^{-1} (éster saturado)

1074 cm^{-1} (C-OH)

La banda característica para grupo NH a 3,320 cm^{-1} no aparece.

En solución de cloroformo muestra una banda adicional de media intensidad a 3,520 cm^{-1} característica del grupo OH.

Hidrólisis

Hirviendo en metanol con hidróxido de potasio se produce el ácido vincamínico.

La hidrólisis ácida da productos anfotéricos junto con una base.

Usos

Utilizado en insuficiencia cerebral progresiva desde sus primeras manifestaciones, Cerebroesclerosis crónica.

Accidentes agudos de la insuficiencia cerebral y los traumatismos craneanos y sus secuelas.

Dosis

Vía parenteral 30 mg. diarios.

Vía oral. 40 mg. diarios repartidos en dos tomas.

Contraindicaciones.

Neoformación cerebral con hipertensión intracraneana, embarazo.
(4, 7, 19, 22)

Síntesis.

La vincamine se ha sintetizado de la siguiente manera: Partiendo de la triptamina (II) la cual fue condensada con dimetil 3 etil 3 formilpimelato (III) p.e. 108-109 o C (0.03 mm).

El principal intermediario IVa ester lactama y el epímero IVb fue aislada como una mezcla cristalina (53%) p.f. 160-182oC.

La hidrólisis de los esteres lactama IVa y IVb (se produce -- cuantitativamente) los cuales pueden ser convertidos (en retroceso) a -- los metil esteres con diazometano (producido cuantitativamente). La -- reacción de la mezcla de epímeros esteres lactama IVa y IVb con penta -- sulfido de fósforo dará esteres epímeros tiolactamas VIa (produce 29%) -- p.e. 163-164 °C y VIb (produce 29%) p.e. 144-145oC los cuales fueron rápidamente separados por cromatografía en columna sobre alúmina neutra.

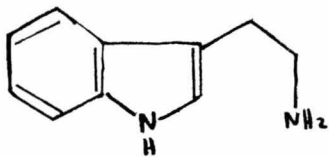
La desulfurización de las tiolactamas con nickel Raney proporcionando los amino esteres VIIa (produce 54%) p.e. 149-150oC y VIIb (produce 54%) p.e. 144-145oC.

Alternativamente la mezcla de tiolactamas epímeras puede ser convertida a mezcla de amino esteres y éstos luego separados por cromato

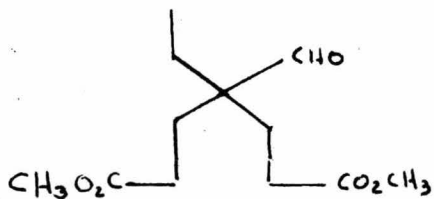
grafía en columna sobre alúmina neutra. Por cada ruta se obtienen uno - de los compuestos epímeros en igual cantidad. Por oxidación con acetato mercúrico de cada amino ester VIIa o VIIb a una sal de inmonio con boro-hídrido de sodio, produce, una mezcla de amino ester VIIa y VIIb. Así es proporcionada una trayectoria por conversión completa de intermedia-- rios a cada una de las series epímeras.

La oxidación del amino ester VIIa con P- nitrosodimetilanilina y trifenil-metilsodio, seguido por tratamiento ácido cuidadosamente controlado proporciona dl-vincamine (produce 1.3%).

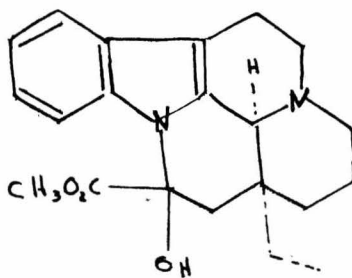
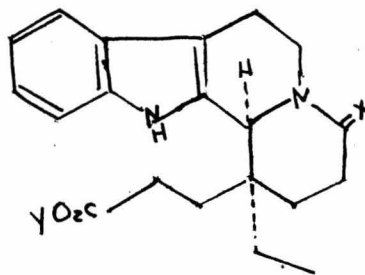
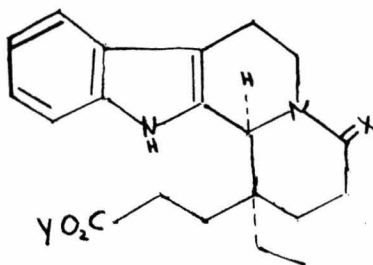
(13-14)



II



III



IVa, X=O Y=CH₃
 Va, X=O Y=H
 VIa, X=S Y=CH₃
 VIIa, X=H₂ Y=CH₃

IVb, X=O Y=CH₃
 Vb, X=O Y=H
 VIb, X=S Y=CH₃
 VIIb, X=H₂ Y=CH₃

III. METODOS DE VALORACION

Higuchi (10) clasifica los métodos de valoración para alcaloides en:

- A.- Gravimétricos.
- B.- Volumétricos.
- C.- Ópticos.
- D.- Polarográfico.
- E.- Procedimientos para nitrógeno total.

A.- METODOS GRAVIMETRICOS.

I.- Precipitación del Silicotungstato.

En 1899 Bertrand propuso el uso de ácido silicotungstico para una precipitación cuantitativa de soluciones ácidas de alcaloides. En general el método consiste, en producir el precipitado de la amina o sal de amina en solución acuosa con la adición de ácido silicotungstico.

Procedimiento.

50 mg. de muestra se disuelven en 50 ml. de agua y la mezcla -

es calentada a ebullición. Se adiciona rápidamente goteando 4 ml. de una solución al 10% de ácido silicotungstico y la mezcla es calentada por 2 minutos, filtrando a través de un crisol de gooch, el residuo es sucesivamente lavado con HCl 1:20, ml de agua y dos porciones de 5 ml. de acetona, secando a peso constante a 105oC. (10).

2.- Precipitación del picrato.

Es usado ampliamente para determinaciones de bases nitrogenadas, particularmente para compuestos terciarios de nitrógeno. Consiste en la precipitación con ácido pícrico de la amina en solución acuosa con adición de ácido sulfúrico diluído.

Procedimiento.

Pesar 100 mg. de muestra seca y disolver en 50 ml. de agua con teniendo 0.2 ml. de solución saturada de ácido pícrico. La mezcla se deja reposar durante dos horas y el precipitado es filtrado al vacío a través de un crisol de gooch tarado, el precipitado es secado a 105 oC por una hora, enfriado, lavado con pequeñas porciones de éter y luego secado a 105oC por dos horas; enfriado y pesado. (10).

B.- METODOS VOLUMETRICOS.

1.- Titulación en solventes no acuosos (tratada posteriormente)

Procedimiento.

Pesar de 2 a 4 milequivalentes de muestra, se disuelven en 50 o en 60 ml. de ácido acético glacial adicionando de 3 a 5 gotas del indi

cador y la muestra es titulada con solución estandar de ácido perclórico (10).

2.- Titulación residual.

Método aplicado particularmente para aminas insolubles en agua y aminas volátiles. Consiste en la disolución de la amina en un solvente neutro, adicionando ácido estandar en exceso y titulando el exceso de ácido con álcali estandar.

Procedimiento.

Disolver el alcaloide en una pequeña cantidad de solvente (cloroformo, éter o alcohol neutralizado). Adicionar la cantidad requerida de ácido estandar y remover el solvente por evaporación, después adicionar agua suficiente para hacer un volumen de 25 ml. La cantidad de ácido en exceso que no se combinó con el alcaloide se determina por titulación con un álcali estandar. (1).

C.- METODOS OPTICOS

1.- Espectrofotometría ultravioleta. (tratado posteriormente).

Procedimiento.

Calibrar el aparato, para checar la escala fotométrica se dispone de estandares de filtros de vidrio inorgánico como también de soluciones estandar de transmitancias conocidas tales como cromato de potasio o dicromato de potasio.

Medidas cuantitativas de la absorbancia generalmente son hechas sobre soluciones de substancias. Conteniendo el líquido en celdas. Así ambos el solvente y la ventana de la celda absorben luz, la compensación debe ser hecha para su contribución a la absorbancia medida. Celdas igualadas están disponibles en el mercado para espectroscopía ultravioleta y visible.

Comparaciones de una muestra con una referencia estandar son hechas a un pico de absorción espectral para el compuesto en cuestión.

Preparación de la muestra.- Para determinaciones utilizando espectrofotometría ultravioleta o visible, la muestra es generalmente disuelta en un solvente. Muchos solventes son apropiados para estos rangos como agua, alcoholes, cloroformo, éteres, soluciones diluídas de ácidos fuertes y álcalis. La lectura de la muestra se efectúa contra un blanco. (25).

2.- Polarimetría (tratado posteriormente).

Procedimiento.

Cuando la substancia es un líquido, ajuste la temperatura a 25°C y transfírala al tubo del polarímetro (posteriormente proceda como se indica).

Cuando la substancia es un sólido pese cuidadosamente una cantidad adecuada y transfírala a un matraz volumétrico con agua u otro solvente reservando una porción del solvente para la determinación del

blanco. Ajuste a 25 oC suspendiendo el matraz en un baño a temperatura constante. Afore y transfiera la solución dentro del tubo del polarímetro, transcurridos 30 minutos del tiempo que la substancia fue disuelta, teniendo cuidado de estandarizar el tiempo transcurrido en el caso de -- substancias que sufren recemización o mutorrotación. Durante el intervalo de tiempo transcurrido mantenga la solución a temperatura de 25oC.

Haga al menos 5 lecturas a 25°C de la rotación observada, substituya el solvente reservado por la solución y haga igual número de lecturas.

La corrección del cero es el promedio de las lecturas observadas del blanco y es restado del promedio de rotación observada de la -- substancia si las dos figuras son del mismo signo, o sumado si son de - signo opuesto, para dar la rotación observada correcta (25).

D.- METODO POLAROGRAFICO.

Es un método electroquímico basado en la medición de la intensidad de corriente, resultado de la electrólisis de una solución a un microelectrodo, como una función de un voltaje aplicado. El polarograma - obtenido para la medición proporciona información cualitativa y cuantitativa sobre la substancia electro-reducible y electro-oxidable.

El rango de concentración de substancias a analizar es de 10^{-2} a 10^{-5} M.(25)

Procedimiento.

Disolver suficiente cantidad de muestra en ácido sulfúrico -- 0.5N para obtener una solución final que contenga de 40 a 800Y de vincamine por ml. A 3 ml de esta solución adicione 4 ml de propilénglicol, mezcle y adicione 3 ml de solución al 10% de bicarbonato de sodio, agite hasta que la mayoría del dióxido de carbono haya escapado. Registre el polarograma sin sacar el aire, comenzando a (-1.5 volts) con electrodo de mercurio. Compare el pico alto del polarograma con la curva obtenida con concentraciones de vincamine conocidas y grafique los picos altos contra las concentraciones del alcaloide (7).

E.- DETERMINACION DE NITROGENO TOTAL.

1.- Método de Dumas.

Este método está basado en la conversión cuantitativa del nitrógeno gas cuando es calentado en presencia de cobre y óxido cúprico como catalizadores. El óxido cúprico cataliza el rompimiento de la muestra orgánica a nitrógeno y óxidos de nitrógeno. En la presencia del cobre los óxidos de nitrógeno son reducidos a nitrógeno.

La reacción es efectuada a cerca de 700 °C en un tubo conteniendo el catalizador y la muestra pesada. Se mantiene una atmósfera de dióxido de carbono durante la reacción y cuando la combustión es completa el nitrógeno gaseoso es arrastrado del tubo con una corriente de CO₂. El volumen del nitrógeno gaseoso puro es medido en una microbureta de gases (llamada nitrómetro o azómetro).

Conociendo el volumen, la presión, y la temperatura del nitrógeno. Se calcula el peso y el % de nitrógeno en la muestra (6).

2.- Método semi-micro Kjeldahl.

Este método está basado en la digestión del compuesto en ácido sulfúrico, cada átomo de nitrógeno en la molécula original produce una molécula de amoníaco.

La digestión seguida por la neutralización del ácido con hidróxido de sodio, así el amoníaco libre es removido de la mezcla por destilación. El destilado es recibido en una solución de ácido bórico de concentración conocida, el amoníaco es fijado en la solución como borato de amonio, el cual puede ser titulado directamente como una base con ácido sulfúrico estandar. Usando como indicador rojo de metilo-azul de metileno(6).

IV. PARTE EXPERIMENTAL

Plan de trabajo.

Se eligieron tres métodos para valorar la vincamine, los métodos utilizados son:

- a) Espectrofotométrico.
- b) Titulación en medio no acuoso.
- c) Polarimétrico.

Se ajustaron los métodos de valoración, efectuando posteriormente 25 determinaciones de cada método.

Utilizando muestras del mismo lote para todas las determinaciones.

Para la valoración espectrofotométrica y para la polarimétrica se utilizó un estandar.

Tanto el estandar como la muestra fueron secadas previamente a cada determinación a 50°C y vacío durante 24 horas.

Material utilizado.

- 1) estandar de vincamine
- 2) estufas con vacío
- 3) espectrofotómetro Beckman DB-GT
- 4) matraces aforados de 100 ml.
- 5) pipetas volumétricas de 10 ml.
- 6) balanza analítica Metler.
- 7) metanol
- 8) polarímetro Lippich.
- 9) tubo de 1 dm.
- 10) matraces aforados de 10 ml.
- 11) Baño de agua a 25°C.
- 12) Piridina.
- 13) potenciómetro Beckman Zeromatic II.
- 14) matraces erlenmeyer de 250 ml.
- 15) microbureta.
- 16) ácido acético glacial.
- 17) ácido perclórico 0.09544 N.
- 18) solución indicadora de cristal violeta en ácido acético glacial 1%.

a) TITULACION ESPECTROFOTOMETRICA.

Fundamento del método.

Basado en la propiedad de algunas sustancias de absorber luz-

de una longitud de onda determinada y que de acuerdo con la ley de Beer, la absorción es directamente proporcional a la concentración de la sustancia dada.

Ajuste del método.

Se eligió como solvente el metanol y una longitud de onda de 280 nm.

Selección de la longitud de onda.

Se hizo una curva estandar en metanol a las siguientes concentraciones:

0.2 mg/100 ml

0.4 mg/100 ml

0.6 mg/100 ml

0.8 mg/100 ml

1.0 mg/100 ml

esta curva fue leída de λ 340 nm a λ 220 nm.

Corroboración de la ley de Lambert y Beer.

Se hizo otra curva estandar en metanol leída a una longitud de onda de 280 nm utilizando las siguientes concentraciones:

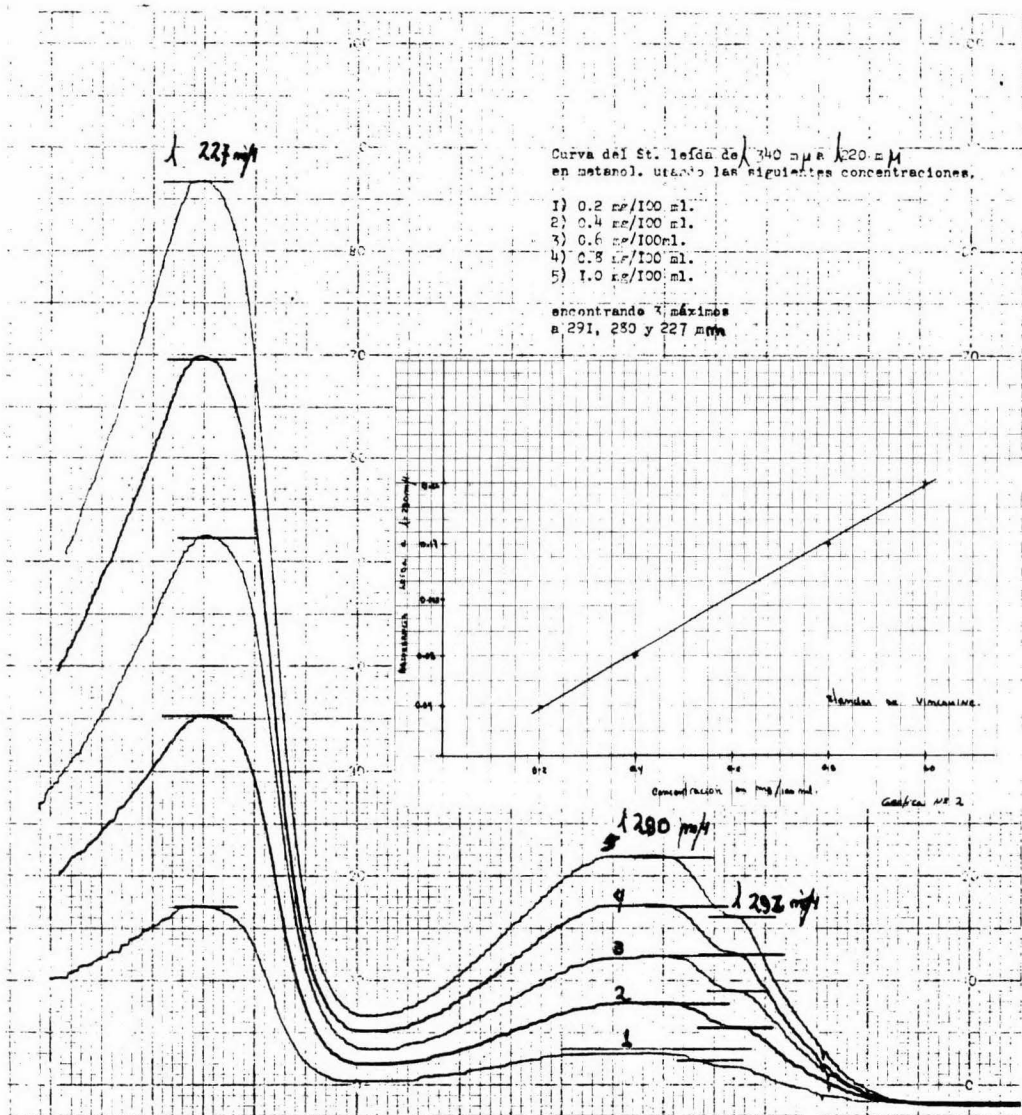
0.5 mg/100 ml

1.0 mg/100 ml

1.5 mg/100 ml

2.0 mg/100 ml

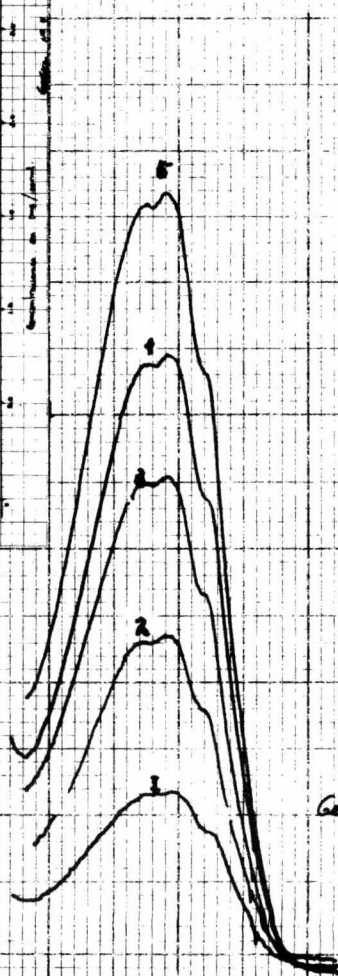
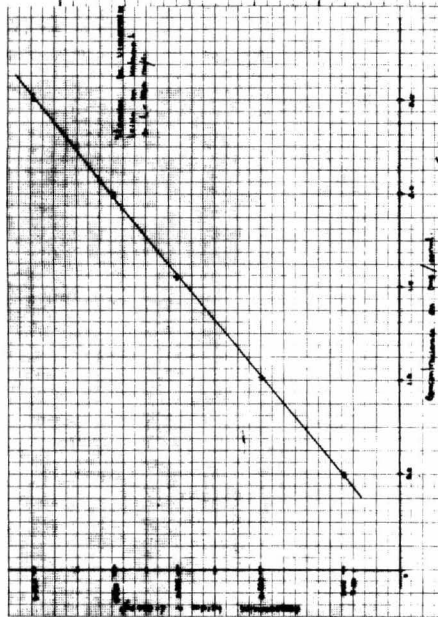
2.5 mg/100 ml



Gráfica No. 1

Curva del St. lefía a λ 280 m μ en metanol
con las siguientes concentraciones.

- 1) 0.5 mg/ 100 ml.
- 2) 1.0 mg/ 100 ml.
- 3) 1.5 mg/ 100 ml.
- 4) 2.0 mg/ 100 ml.
- 5) 2.5 mg/ 100 ml.



Gráfica N° 3

Graficándose ambas curvas colocándose en las abscisas las concentraciones expresadas en mg/100 ml. y en las ordenadas las absorbancias - leídas a una longitud de onda de 280 nm, obteniéndose una línea recta lo cual nos indica que la sustancia sigue la ley de Beer.

Las valoraciones se llevaron a cabo de la siguiente manera:

Se pesaron cerca de 20 mg de vincamine seca, aforando a 100 ml con metanol, tomando una alícuota de 10 ml. Se afora a 100 ml. con metanol, leyendo a una longitud de onda de 280 nm. Usando metanol como blanco en una celda de cuarzo de 1 cm. de longitud en un espectrofotómetro - Beckman DB-GT.

Cada una de las determinaciones se realizó simultáneamente con un estandar preparado en las mismas condiciones.

Tanto el estandar como el problema tienen el mismo factor de dilución.

Cálculos:

$$A_s = a b c_s \quad \text{absorbancia del estandar}$$

$$A_m = a b c_m \quad \text{absorbancia de la muestra}$$

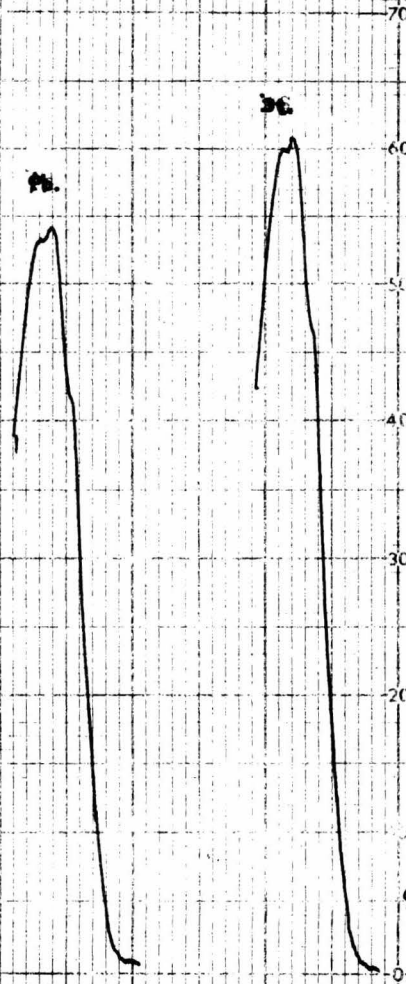
$$c_m = \frac{A_m c_s}{A_s}$$

para obtener la concentración en % de vincamine.

$$\% = \frac{A_m}{A_s} \times \frac{\text{peso del estandar expresado en g.}}{\text{peso de la muestra expresado en g.}} \times 100$$

Absorbancias leídas a λ 280 m μ
en metanol con factor de dilución 1000

Muestra	Estandar	Problema
Dilución	1 000	1 000
Concentración	0.0259 ng/ml	0.02312ng/ml
Absorción	0.61	0.54



Gráfica N° 5

B.- TITULACION EN MEDIO NO ACUOSO.

Fundamento del método.

Tanto las bases como los ácidos débiles, no es posible titularlos en medio acuoso debido al carácter anfotérico del agua.

El equilibrio ácido - base es una competencia entre dos bases por un proton, una de las bases es el agua, si la otra base es relativamente débil no habrá efectiva competencia con el solvente por el protón por lo tanto no será titulable.

Así sustancias debilmente ácidas ni débilmente básicas pueden ser facilmente tituladas en solución acuosa por el efecto del solvente - actuando como competidor ácido débil o base.

Reemplazando el solvente, si el soluto es un compuesto débil - mente básico usar un solvente relativamente no básico. Así el efecto indeseable de competencia es eliminado efectivamente o al menos reducido y puede ser titulada la substancia.

Los solutos débilmente ácidos en este caso se usará un solvente que no tenga propiedades ácidas.

La vincamine es una base débil por lo tanto es aplicable este método.

Ajuste del método.

Se hizo una determinación potenciométrica para determinar el pH del punto de equivalencia y poder elegir el indicador. Utilizando un potenciómetro Beckman Zeromatic II, a 25°C de temperatura con un electrodo de calomel saturado reemplazando la solución de cloruro de potasio -- con una solución 0.1 M de perclorato de litio en ácido acético glacial.

Obteniéndose el punto de equivalencia en un rango de pH de uno a cero por lo tanto se decidió usar cristal violeta en ácido acético como indicador.

Las valoraciones se efectuaron como sigue:

Pesando aproximadamente 300 mg. de vincamine seca, pasándolos cuantitativamente a un matraz erlenmeyer de 250 ml, disolviendo con 50 ml. de ácido acético glacial, adicionando 5 gotas de cristal violeta, titulando con ácido perclórico en ácido acético glacial 0.09544 N usando una microbureta. Hacer un blanco y titularlo, titular hasta el vire de violeta a verde esmeralda.

Preparación de reactivos.

Acido perclórico 0.1.N. en ácido acético glacial.

Mezclar 8.5 ml. de ácido perclórico (HClO_4) con 500 ml de ácido acético glacial y 21 ml de anhídrido acético. Enfriar y adicionar ácido acético aforando a 1000 ml.

Estandarizar la solución.

Pesar cerca de 700 mg. de biftalato de potasio previamente se-
cado a 120 °C por 2 horas y disolver en 50 ml de ácido acético glacial -
en un matraz de 250 ml. adicionar 2 gotas de cristal violeta S.R. y títu-
lar con la solución de perclórico hasta el cambio de color de violeta a
verde esmeralda.

Hacer un blanco y restarlo al volumen consumido por el biftala-
to.

Solución reactivo de cristal violeta (solución indicadora)

Disolver 1 g. de cristal violeta en 100 ml. de ácido acético -
glacial.

Cálculos:

$$\% = \frac{(V - V_0) \times N \times \text{meq.} \times 100}{P.M.}$$

V = Volumen en ml. gastados por la muestra.

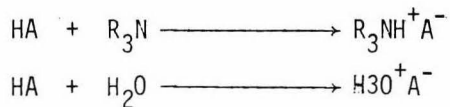
V₀ = Volumen en ml. gastados por el blanco.

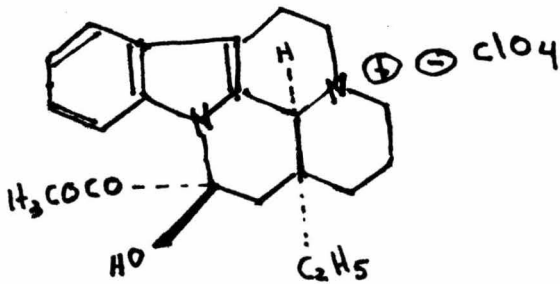
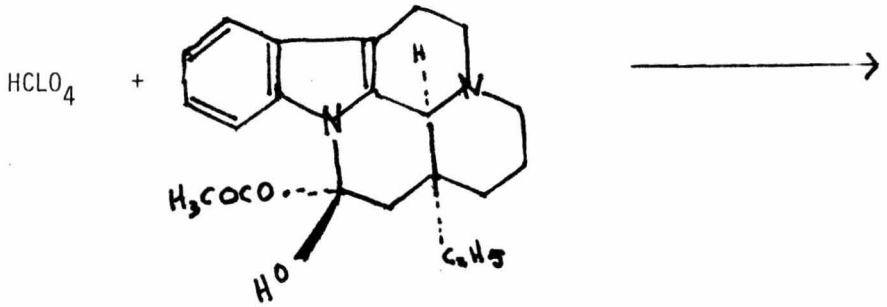
N = Normalidad del ácido perclórico (0.09544 N.)

meq = miliequivalente (0.3544)

P.M. = peso de la muestra expresado en g.

Reacción:





C). METODO DE VALORACION POLARIMETRICO.

Fundamento.

Basado en la medida de rotación del plano de luz polarizada -- por una solución de una sustancia ópticamente activa.

Ajuste del método.

Se hizo una curva de calibración con el estandar secado a - -

50 °C y vacío durante 24 horas, usando las siguientes concentraciones:

450 mg/10 ml.

475 mg/10 ml.

500 mg/10 ml.

525 mg/10 ml.

550 mg/10 ml.

La elaboración de la curva estandar y la muestra se desarrollan de la misma manera:

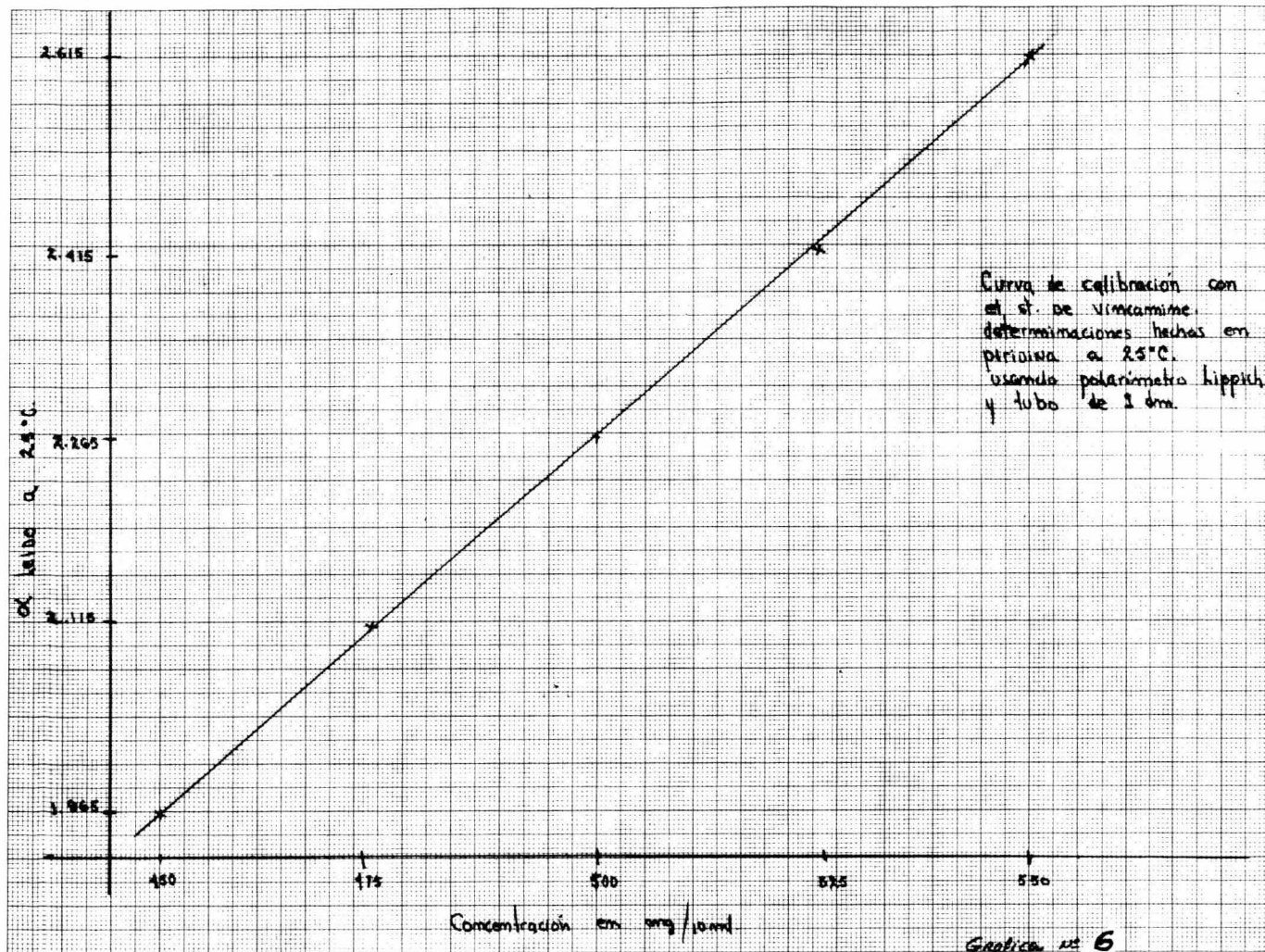
Pesar cerca de 500 mg. de vincamine seca, llevar cuantitativamente a un matraz aforado de 10 ml. disolver con piridina, poner el matraz en un baño a 25°C por media hora, transcurrido este tiempo se afora y se transfiere en un tubo de 1 dm. leer y vaciar la solución usando ahora el solvente utilizado y leer. (el solvente no dió lectura).

Las lecturas obtenidas en las determinaciones de la muestra se interpolan en la curva de calibración hecha con el estandar de vincamine.

Calculando el % de cada determinación.

gramos de muestra pesado ————— 100 %

gramos obtenidos interpolando en la curva de calibración ————— X %



V. ANALISIS ESTADISTICO DE RESULTADOS

RESULTADOS DE LA VALORACION ESPECTROFOTOMETRICA

Tanto las muestras como el standar tienen un factor de dilución igual a 1000, ambas fueron leídas a λ 280 n.m.

Peso de la muestra	Absorbancia	Peso del St.	Absorbancia	%
22.79 mg.	0.395	20.38 mg.	0.350	100.90
24.80 mg.	0.555	21.05 mg.	0.472	99.80
23.04 mg.	0.515	20.44 mg.	0.455	100.40
21.14 mg.	0.480	20.55 mg.	0.465	100.30
25.42 mg.	0.585	24.89 mg.	0.570	100.40
21.14 mg.	0.480	25.79 mg.	0.585	100.00
27.60 mg.	0.645	24.66 mg.	0.575	100.20
23.48 mg.	0.540	25.34 mg.	0.590	98.70
24.49 mg.	0.565	21.75 mg.	0.500	100.30
21.61 mg.	0.500	21.75 mg.	0.500	100.60
23.89 mg.	0.545	21.16 mg.	0.535	98.70
32.95 mg.	0.755	20.54 mg.	0.475	99.10
20.96 mg.	0.465	21.60 mg.	0.480	99.80
24.03 mg.	0.535	29.83 mg.	0.665	99.90
19.85 mg.	0.465	20.55 mg.	0.475	101.30
23.33 mg.	0.532	29.86 mg.	0.675	100.90
21.25 mg.	0.488	26.22 mg.	0.610	99.30

Peso de la muestra	Absorbancia	Peso del St.	Absorbancia	%
23.12 mg.	0.540	25.90 mg.	0.610	99.20
23.00 mg.	0.528	20.03 mg.	0.460	100.00
20.45 mg.	0.475	20.57 mg.	0.475	100.00
21.19 mg.	0.475	20.75 mg.	0.468	99.40
23.38 mg.	0.532	20.75 mg.	0.475	99.40
21.75 mg.	0.500	20.69 mg.	0.475	100.30
24.29 mg.	0.530	22.26 mg.	0.490	99.10
24.47 mg.	0.570	26.33 mg.	0.620	98.90

Fórmula utilizada:

$$\% = \frac{A \text{ muestra}}{A \text{ estandar}} \times \frac{\text{Peso del estandar expresado en g.}}{\text{Peso de la muestra expresado en g.}} \times 100$$

CALCULOS:

X_i	F	FX_i	$X_i - \bar{X}$	$(X_i - \bar{X})^2$	$F(X_i - \bar{X})^2$
98.7	1	98.7	-1.256	1.577536	1.57756
98.8	1	98.8	-1.156	1.336330	1.33633
98.9	1	98.9	-1.056	1.115130	1.11513
99.1	2	198.2	-0.856	0.732730	1.46547
99.2	1	99.2	-0.756	0.571530	0.57153
99.3	1	99.3	-0.656	0.430330	0.43033
99.4	2	198.8	-0.556	0.309130	0.61827
99.8	2	199.6	-0.156	0.024330	0.04867
99.9	1	99.9	-0.056	0.003100	0.05600
100.0	3	300.0	0.044	0.001930	0.00580
100.2	1	100.2	0.244	0.059530	0.05953
100.3	3	300.9	0.344	0.118330	0.35500
100.4	2	200.8	0.444	0.195360	0.39072
100.6	1	100.6	0.644	0.414730	0.41473
100.9	2	201.8	0.944	0.891130	1.78227
101.3	1	101.3	1.344	1.806330	1.80633
		<u>2 498.9</u>			<u>12.03364</u>

$$\bar{X} = \frac{\sum FX_i}{N} = \frac{2\,498.9}{25} = 99.956$$

$$\bar{X} = 99.956$$

$$S = \sqrt{\frac{\sum F (X_i - \bar{X})^2}{n - 1}} = \sqrt{\frac{12.03364}{24}} = \sqrt{0.50140} = 0.708$$

$$S = 0.708$$

$$\text{Varianza} = s^2 = 0.5014$$

$$\text{error} = \frac{S}{\sqrt{n}} = \sqrt{\frac{\sum F (X_i - \bar{X})^2}{n(n-1)}} = \sqrt{\frac{12.03364}{25 \times 24}} = \sqrt{\frac{12.03364}{600}}$$

$$\text{error} = 0.020056 \quad e = 0.141619$$

Valor real:

$$V_r = \bar{X} \pm e \cdot t \quad n-1 = 24$$

$$V_r = 99.956 \pm 0.14169 \times 2.797 \quad t = 2.797$$

$$V_r = 99.956 \pm 0.39631$$

$$V_r = 99.55969 \text{ --- } 100.35231$$

Resultados de la valoración volumétrica:

Peso de la muestra	%
319.14 mg.	96.736
329.41 mg.	96.776
305.40 mg.	99.870
363.56 mg.	97.293
301.49 mg.	97.724
317.10 mg.	97.780
307.62 mg.	99.260
318.91 mg.	100.170
300.18 mg.	98.370
310.23 mg.	100.460
301.57 mg.	101.037
303.52 mg.	99.500
319.00 mg.	98.670
311.23 mg.	100.700
263.71 mg.	99.500
328.65 mg.	99.419
310.78 mg.	99.690
310.73 mg.	99.639
311.47 mg.	101.000
305.04 mg.	99.574
305.48 mg.	100.000
323.47 mg.	99.650
317.71 mg.	99.094
299.06 mg.	101.300
311.83 mg.	99.350

Fórmula:

$$\% = \frac{(V - V_0) \times N \times \text{meq} \times 100}{\text{P.M.}}$$

V = Volumen en ml. gastados por la muestra.

V₀ = Volumen en ml. gastados por el blanco.

N = Normalidad del ácido perclórico (0.09544)

meq. = Miliequivalente (0.3544)

P.M. = Peso de la muestra expresado en g.

Cálculos:

X_i	F	FX_i	$X_i - \bar{X}$	$(X_i - \bar{X})^2$	$F(X_i - \bar{X})^2$
96.7	I	96.7	-2.6080	6.80166	6.80166
96.8	I	96.8	-2.5080	6.29006	6.29006
97.3	I	97.3	-2.0080	4.03206	4.03206
97.7	I	97.7	-1.6080	2.58566	2.58566
97.8	I	97.8	-1.5080	2.27406	2.27406
98.4	I	98.4	-0.9080	0.82446	0.82446
98.7	I	98.7	-0.6080	0.36966	0.36966
99.1	I	99.1	-0.2080	0.04326	0.04326
99.3	I	99.3	-0.0087	0.00006	0.00006
99.4	2	198.8	0.0920	0.00846	0.01692
99.5	2	199.0	0.1920	0.03686	0.07372
99.6	I	99.6	0.2920	0.08526	0.08526
99.7	3	99.7	0.3920	0.15366	0.46099
99.9	I	299.1	0.5920	0.35046	0.35046
100.0	I	100.0	0.6920	0.47886	0.47886
100.2	I	100.2	0.8920	0.79566	0.79566
100.5	I	100.5	1.1920	1.42086	1.42086
100.7	I	100.7	1.3920	1.93766	1.93766
101.0	2	202.0	1.6920	2.86286	5.72572
101.3	I	<u>101.3</u>	1.9920	3.96806	<u>3.96806</u>
		2 482.7			38.53512

$$\bar{X} = \frac{\sum FX_i}{N} = \frac{2482.7}{25} = 99.308$$

$$\bar{X} = 99.308$$

$$S = \sqrt{\frac{\sum F (X_i - \bar{X})^2}{n-1}} = \sqrt{\frac{38.53512}{24}} = \sqrt{1.60563}$$

$$S = 1.26713$$

$$\text{Varianza} = S^2 = 1.60563$$

$$\text{error} = \frac{S}{\sqrt{N}} = \sqrt{\frac{\sum F (X_i - \bar{X})^2}{n(n-1)}} = \sqrt{\frac{38.53512}{25 \times 24}} = \sqrt{\frac{38.53512}{600}}$$

$$\text{error} = 0.06422$$

$$e = 0.25342$$

Valor real:

$$V_r = \bar{X} \pm et \quad t = 2.797$$

$$V_r = 99.308 \pm 0.25342 \times 2.797$$

$$V_r = 99.308 \pm 0.70883$$

$$V_r = 98.59917 \text{ --- } 100.01683$$

Resultados de la valoración polarimétrica

Una vez construída la curva de calibración con el St. se interpolaron los ángulos leídos del problema a 25 oC en dicha curva.

Peso de la muestra	Peso obtenido interpolando en la curva de calibración	%
572.12 mg.	2.200	488.500 mg. 85.38
514.72 mg.	2.300	505.290 mg. 98.16
495.53 mg.	2.250	497.060 mg. 100.30
513.28 mg.	2.330	510.000 mg. 99.36
521.91 mg.	2.320	508.230 mg. 97.37
513.60 mg.	2.265	498.820 mg. 97.12
500.52 mg.	2.230	494.117 mg. 98.70
481.30	2.220	491.764 mg. 102.17
515.12 mg.	2.280	501.176 mg. 97.29
511.62 mg.	2.260	498.823 mg. 97.49
504.71 mg.	2.335	510.588 mg. 101.16
506.00 mg.	2.340	511.764 mg. 101.13
459.86 mg.	2.120	463.230 mg. 100.73
483.00 mg.	2.125	463.820 mg. 96.02
486.77 mg.	2.180	485.000 mg. 99.63
534.52 mg.	2.245	496.470 mg. 92.88
510.15 mg.	2.315	507.640 mg. 99.50
504.38 mg.	2.250	497.650 mg. 98.66
517.50 mg.	2.330	510.470 mg. 98.64
540.88 mg.	2.530	541.470 mg. 100.10
552.58 mg.	2.450	529.117 mg. 95.75
548.87 mg.	2.375	517.647 mg. 94.00
551.19 mg.	2.315	507.058 mg. 91.99
576.19 mg.	2.420	524.117 mg. 90.96
571.14 mg.	2.380	518.235 90.73

Fórmula:

Peso de la muestra _____ 100 %

Peso obtenido inter
polando en la curva _____ X %

Curva de calibración para polarimetría:

Realizada con el estandar seco, medida a 25 .C, constituida de 5 puntos de concentraciones:

4.50 %

4.75 %

5.00 %

5.25 %

5.50 %

Peso en mg.	α leído
450 mg.	1.965
475 mg.	2.115
500 mg.	2.265
525 mg.	2.415
550 mg.	2.615

(Gráfica # 6)

Cálculos:

X_i	F	FX_i	$(X_i - \bar{X})$	$(X_i - \bar{X})^2$	$F(X_i - \bar{X})^2$
85.4	I	85.4	-11.624	135.1173	135.1173
90.7	I	90.7	-06.324	39.9929	39.9929
91.0	I	91.0	-06.024	36.2885	36.2885
92.0	I	92.0	-05.024	25.2405	25.2405
92.9	I	92.9	-04.124	17.0073	17.0073
94.0	I	94.0	-03.024	9.1445	9.1445
95.8	I	95.8	-01.224	1.4981	1.4981
96.0	I	96.0	-01.024	1.0485	1.0485
97.1	I	97.1	00.076	0.0057	0.0057
97.3	I	97.3	00.276	0.0761	0.0761
97.4	I	97.4	00.376	0.1413	0.1413
97.5	I	97.5	00.476	0.2265	0.2265
98.2	I	98.2	01.176	1.3829	1.3829
98.2	2	197.2	01.576	2.4837	4.9675
98.7	I	98.7	01.676	2.8089	2.8089
99.4	I	99.4	02.376	5.6453	5.6453
99.5	I	99.5	02.476	6.1305	6.1305
99.6	I	99.6	02.576	6.6357	6.6357
100.1	I	100.1	03.076	9.4617	9.4617
100.3	I	100.3	03.276	10.7321	10.7321
100.7	I	100.7	03.676	13.5129	13.5129
101.2	I	101.2	04.176	17.4389	17.4389
101.4	I	101.4	04.376	19.1493	19.1493
102.2	I	<u>102.2</u>	05.176	26.7909	<u>26.7909</u>
		2 425.6			<u>393.2818</u>

$$\bar{x} = \frac{\sum Fx_i}{N} = \frac{2\,425.6}{25} = 97.024$$

$$\bar{x} = 97.024$$

$$S = \sqrt{\frac{\sum F(x_i - \bar{x})^2}{n-1}} = \sqrt{\frac{393.28186}{24}} = \sqrt{16.38674} = 4.0480$$

$$S = 4.04905$$

$$\text{Varianza} = S^2 = 16.38674$$

$$\text{Error} = \frac{S}{\sqrt{n}} = \sqrt{\frac{\sum F(x_i - \bar{x})^2}{n(n-1)}} = \sqrt{\frac{393.28186}{25 \times 24}} = \sqrt{\frac{393.28186}{600}}$$

$$\text{error} = 0.65546 = 0.8096108$$

Valor real:

$$V_r = \bar{x} \pm \text{ et } t = 2.797$$

$$V_r = 97.024 \pm 0.8096108 \times 2.797$$

$$V_r = 97.024 \pm 2.26448$$

$$V_r = 94.75952 \text{ } \underline{\hspace{2cm}} \text{ } 99.288481$$

Comparación de los métodos espectrofotométrico y volumétrico.

Datos:

Espectrofotometría

Volumetría

$$\bar{X} = 99.956$$

$$\bar{X}_1 = 99.308$$

$$E = 0.141619$$

$$E_1 = 0.25342$$

$$t = \frac{\bar{X} - \bar{X}_1}{\sqrt{\frac{E^2}{n} + \frac{E_1^2}{n_1}}} = \frac{99.956 - 99.308}{\sqrt{(0.141619)^2 + (0.25342)^2}}$$

$$= \frac{0.648}{\sqrt{(0.02005) + (0.06422)}} = \frac{0.648}{\sqrt{0.08427}} = \frac{0.648}{0.29029}$$

$$t = 2.23223$$

2 n-2 = 50-2 = 48 grados de libertad.

$$t_{\text{teórica}} = 2.686$$

$$t_{\text{experimental}} = 2.23225$$

$$t_{\text{teórica}} >$$

$$t_{\text{experimental}}.$$

por lo tanto la diferencia es no significativa.

Análisis de varianzas:

$$F = \frac{V_1}{V} = \frac{1.60563}{0.50140} = 3.2022$$

$$V_1 \text{ grados de libertad } n-1 = 24$$

$$V \text{ grados de libertad } n-1 = 24$$

$$F_{\text{teórica}} = 1.98$$

$$F_{\text{experimental}} = 3.2022$$

$$F_{\text{teórica}} < F_{\text{experimental}}$$

por lo tanto la diferencia es significativa.

Este nos indica que no hay diferencia significativa en los valores promedio de los 2 métodos pero sin embargo hay diferencia en la medida de dispersión de los métodos.

Comparación de los métodos espectrofotométrico y polarimétrico.

Datos:

Espectrofotometría

Polarimetría

$$\bar{X} = 99.956$$

$$\bar{X}_1 = 97.024$$

$$E = 0.141619$$

$$E_1 = 0.8096108$$

$$t = \frac{\bar{X} - \bar{X}_1}{\sqrt{\frac{E^2}{n} + \frac{E_1^2}{n_1}}} = \frac{99.956 - 97.024}{\sqrt{(0.141619)^2 + (0.8096108)^2}}$$

$$t = \frac{2.932}{\sqrt{0.0200559 + 0.65546}} = \frac{2.932}{\sqrt{0.67552}} = \frac{2.932}{0.82190}$$

$$t = 3.59174$$

2 n-2 = 50-2 = 48 grados de libertad.

$$t_{\text{teórica}} = 2.6864$$

$$t_{\text{experimental}} = 3.59174$$

$$t_{\text{teórica}} < t_{\text{experimental}}$$

Por lo tanto la diferencia es significativa.

Análisis de varianzas.

$$F = \frac{V_1}{V} = \frac{16.3867}{0.5014} = 32.68189$$

$$V_1 \text{ grados de libertad} = n-1 = 24$$

$$V \text{ grados de libertad} = n-1 = 24$$

$$F_{\text{teórico}} = 1.98$$

$$F_{\text{experimental}} = 32.68189$$

$$F_{\text{teórico}} < F_{\text{experimental}}$$

Por lo tanto la diferencia es significativa.

En este caso hay diferencia significativa tanto en los valores promedio como en la medida de dispersión de los 2 métodos.

Comparación de los métodos volumétricos y polarimétricos.

Datos:

Volumetría

$$\bar{X} = 99.308$$

$$E = 0.25342$$

Polarimetría

$$\bar{X}_1 = 97.024$$

$$E_1 = 0.8096108$$

$$t = \frac{\bar{X} - \bar{X}_1}{\sqrt{E^2 + E_1^2}} = \frac{99.308 - 97.024}{\sqrt{(0.25342)^2 + (0.8096108)^2}}$$

$$t = \frac{2.284}{\sqrt{0.06422 + 0.65546}} = \frac{2.284}{\sqrt{0.7196896}} = \frac{2.284}{0.84834}$$

$$t = 2.692$$

$$t_{\text{teórico}} < t_{\text{experimental}}$$

Por lo tanto la diferencia es significativa.

Análisis de varianzas.

$$F = \frac{V}{V} = \frac{16.3867}{1.60563}$$

$$F = 10.205775$$

$$V_1 \text{ grados de libertad} = n-1 = 24$$

$$V \text{ grados de libertad} = n-1 = 24$$

$$F_{\text{teórica}} = 1.98$$

$$F_{\text{experimental}} = 10.205775$$

$$F_{\text{teórica}} < F_{\text{experimental}}$$

Por lo tanto la diferencia es significativa.

En este caso como en el anterior hay diferencia significativa tanto en los valores promedio como en la medida de dispersión de los dos métodos.

VI C O N C L U S I O N E S

Por lo tanto de acuerdo a lo obtenido en el análisis estadístico de resultados.

Se considera el mejor método el espectrofotométrico ya que es el que tiene la medida de dispersión más pequeña con respecto a los - - otros métodos, esto indica que es reproducible. Además se recomienda -- porque se usan cantidades pequeñas de muestra así como por la facilidad y rapidez con la que se efectúa.

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

- 1.- Beckett and Stenlake. Practical Pharmaceutical Chemistry. Second - edition, parts one and two. The Athlone Press (1970).
- 2.- Bláha, K. Kavkova K, Kobicová Z and TrojaneK J. Collection Czechoslov Chem Commun. 33 , 3 833- 3 846 (1968).
- 3.- Chatten Leslie G. Pharmaceutical Chemistry. Vol. 1 y 2. First edition Marcel Dekker, Inc. New York (1966).
- 4.- Clauder O. Gesztes, K. and Szász K. Tetrahedron Letters. 24, 1 147- - 1 154 (1962).
- 5.- Claus Edward P. and Tyler Varro E. Farmacognosio. 5a. Edición editorial El Ateneo. Buenos aires (1965).
- 6.- Connors Kenneth A. A textbook of Pharmaceutical Analysis. First edition. John Wilwy and Sons, Inc. New York, London, Sydney (1967).
- 7.- Damokos T. Acta Chim. Hung. 27, 105-112 (1960).
- 8.- Enrich. Quality Control and Reliability. Fifth Edición. The Indus- -- trial Press. New York, N.Y. (1966).

- 9.- Fischer R. and Peters D. Quantitative Chemical Analysis. Third edition. W.B., Saunders Company (1968).
- 10.- Higuchi Takeru and Brochmann - Hanssen E. Pharmaceutical Analysis.- Interscience Publishers. New York, London (1961).
- 11.- Jannot Mm, Le Men J. Gosset J. et Lévy J. Bulletin de la Societe - Chimique de France. 22 No. 5, 1079-1081 (1962).
- 12.- Jenkins Knevel Digangi. Quantitative Pharmaceutical Chemistry 6 th. edition. Mc. Graw - Hill (1967).
- 13.- Kuehne Martin E. J.Am Chem. Sec. 86, No 14, 2 946 - (1964).
- 14.- Kuehne Martin E. Lloydia. 27, No 4, 435 - 438 (1964)
- 15.- Mokry, J. Kompis and Šefčovič. Tetrahedron Letters. 10, 433-437, - (1962).
- 16.- Pailer M. and Belohlav, L. Monatshefte Fur Chemie. 85, 1 005-1059 - (1954).
- 17.- Plat. M. Mme. Le Men J. Jannot M.M. et Buazkiewicz, H. Wilson J.M., Durham et Djerassi C. Bulletin de la Societe Chimique de France. - 22, No 5 , 1 082 - 1 088 (1962).
- 18.- Quevauviller, A. Le Men J. Jannot M.M. Memoria presentada a la academia de farmacia, el 20 de abril de 1965.
- 19.- Ravina A. La Presse Medicale. 74, No II, 525-527. Paris (1966).
- 20.- Remington's Pharmaceutical Sciences. Fourteenth edition. Mack Publishing Company, Easton, Pennsylvania 18042 (1970).

- 21.- San Martín Casamada R. Farmacognosia con Farmacodinamia. Iera edición. Editorial Científico - Médica. Barcelona (1968).
- 22.- Schlittler E. and Furhenmeier, A. Helvetica Chimica Acta. 26, 2017, (1953).
- 23.- Siggia Sidney. Quantitative Organic Analysis. Vía Funtional Groups. Third Edition. John Wiley and Sons, Inc. (1963).
- 24.- The Merck Index. Eighth Editi3n, Merck, and Co. Inc. Rehaway (1968).
- 25.- The United States Pharmacopeia XIX. Nineteenth revision official - from July I, 1975. United States Pharmacopeial Convention, Inc.
- 26.- Troj3nek, J. Kavkev3 K. Štrouf O. Č3kan Z. Collection Czechoslov, - Chem. Commun 26, 867 - 873 (1961).
- 27.- TrojaneK, J, Štrouf, O. Holubek J. and Č3kan Z Tetrahedron letters- 20, 702 - 706 (1961).
- 28.- Ulacia, E.R. Control de Medicamentos. Apuntes no publicados (1966).
- 29.- Willard H. Merritt L. Dean, J. Métodos Instrumentales de An3lisis - Tercera Edici3n (traducci3n). Editorial Continental, S.A. M3xico, - D.F. (1965).