ESCUELA NACIONAL DE CIENCIAS QUIMICAS
U. N A. M.

DETERMINACION ESPECTROFOTOMETRICA DE FENIL PROPIONATO DE NOR ANDROSTENOLONA, COMO 2,4 DI NITRO FENIL HIDRAZONA

T E S I S
Que para obtener el Título de:
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO
presenta:
ORALIA PÉREZ MARTÍNEZ

MEXICO, D. F.
1 9 6 2

Universidad Nacional Autónoma de México
UNAM
Biblioteca Central
Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

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.

A mis padres y abuelitos con cariño.

A mis queridas tías.

A mis hermanas.

A mi estimada Maestra Q. F. B.

María del Consuelo Hidalgo,
a la que agradezco su ayuda
y la dirección de éste trabajo.

Al Honorable Jurado.

DETERMINACION ESPECTROFOTOMETRICA DE FENIL PROPIONATO DE NOR ANDROSTENOLONA COMO 2,4 DI NITRO FENIL HIDRAZONA

SUMARIO

1.—INTRODUCCION

2.—ANTECEDENTES

3.—GENERALIDADES SOBRE ESPECTROFOTOMETRIA

4.—PARTE EXPERIMENTAL

5.—RESULTADOS

6.—CONCLUSIONES

7.—BIBLIOGRAFIA

INTRODUCCION

La finalidad de este estudio consistió en realizar la valoración del Fenil Propionato de Nor Androstenolona usando el método espectrofotométrico que en la actualidad se ha generalizado pues permite al analista resolver los problemas que no se ven en campo visible Se puede entender ms fácilmente las posibilidades que esto ofrece al análisis si se considera que las moléculas y átomos que constituyen una substancia según su naturaleza, absorben y dispersan rariaciones cuya longitud de onda está dentro o fuera del espectro visible.

Los métodos de ensaye, fundados en la espectrofotometría, se están aplicando con éxito en la valorización de nuevos productos medicinales. Las radiaciones en las porciones visibles y ultravioleta del espectro son de gran valor analítico para el químico farmacéutico.

Entre los nuevos agentes terapéuticos se hayan aquellos cuya potencia se expresa en unidades muy pequenas ya que son muy activos; entonces los métodos antiguos no tienen ninguna utilidad, determinándose la potencia de éstos por medio del análisis colorimétrico.

Este método se funda en la mediación de compuestos de color que se forman por reacciones con ciertas substancias químicas

El grado de color suele estar en razón directa de la cantidad de ingredientes activos que contiene el preparado que se analiza

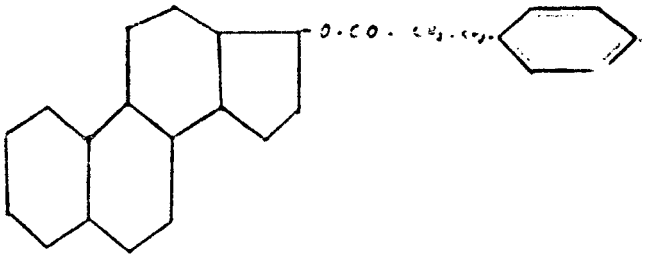
Al principio se hacían estas determinaciones clorimétricas comparando, en un colorímetro visual, los colores formados por el producto que se examinaba y un reactivo, con los producidos por patrones preparados con la substancia pura y el mismo reactivo.

ANTECEDENTES

El Fenil propionato de Nor Androstenolona es un polvo blanco, cristalino, insoluble en agua, éter de petróleo y éter anhidro, soluble en acetona, cloroformo y xileno.

Punto de fusión de 94.6 C

Fórmula



FARMACOLOGIA Y QUIMICA

El Fenil Propionato de Nor Androstenolona es químicamente uno de los llamados Nor Esteroides El Prefijo tiene su origen en investigaciones realizadas por Mathiessen y Foster en 1868 sobre el ácido Opiánico que no contiene nitrógeno pero sí dos grupos metílicos y derivados del mismo Dichas investigaciones dieron el nombre de acido Opiánico normal al compuesto sin grupos metílicos, mientras que el derivado monometílico recibió el nombre de Acido Metil-Nor-opiánico

Desde entonces, en la terminología química el prefijo Nor se utiliza para substancias en las cuales el grupo metílico ha sido substituído por hidrógeno.

En la Androstenolona o Nor testostenona falta el grupo metílico que en la Testosterona constituye el Carbono 19 entre los anillos A y B, entonces la fórmula del Fenil Propionato de Androstenolona recuerda la del Fenil Propionato de Testosterona de la que difiere por la ausencia de Carbono 19.

Por lo tanto, el Fenil propionato de androstenolona recibe el nombre de eFnil propionato de Nor testoterona o nor androstenolona; en la bibliografía Anglo Sajona el término Nor Androstenolona a menudo se abrevia Nandrolona.

El Fenil propionato de nor androstenolona se obtiene químicamente a partir del estradiol, por eso se ha considerado esta substancia intermedia entre la hormona masculina y la femenina.

Según Nowakowski H. y J. Parada, su conversión en estrógenos en el organismo es mínima o nula desconociéndose por el momento las reacciones enzimáticas para su desdoblamiento y degradación.

Acciones del Fenil propionato de nor androstenolona:

Ejerce una acción variable sobre el balance del nitrógeno, calcio y fósforo y sobre el metabolismo hidromineral.

Propiedades biológicas:

El Fenil propionato de nor androstenolona disminuye la hiperexcresión de nitrógeno y calcio. Según Gjorup S. y J. Hess Thaysen, hace disminuir la concentración de nitrógeno no proteínico en sangre.

Inhibe la acción catabólica de la prednizona según la demostración de Broachner Mortesen por medio del estudio del balance nitrogenado y fosfórico en pacientes con artritis reumatoides tratados con corticosteroides las cuales provocan pérdida de Potasio, Calcio y Fósforo y estimulan la excreción de Nitrógeno.

Además, por su actividad formadora de hidratos de Carbono a partir de las proteínas (gluconogénesis) destruyen éstas, entonces esta acción catabólica de los corticosteroides se contraresta suministrando simultáneamente esteroides anabólicos.

Efecto Anabólico:

R. Blasius, K. Kalfer y W. Seits. realizaron un estudio mediante electroforesis. El efecto anabólico de las hormonas esteroides sobre las proteínas musculares contráctiles del miocardo comprueban que el Fenil propionato de androstenolona aumenta de modo considerable el contenido relativo en contractina.

El Fenil propionato de ror androstenolona además de ser empleado en el tratamiento de las delgadeces puede ser usado en estados distróficos en cirugía, asociado con ACTH o corticosteroides, para prevenir complicaciones post operatorias; osteoporosis; carcinoma mamario, uremia, estados de debilidad y agotamiento.

GENERALIDADES SOBRE ESPECTROFOTOMETRIA

El espectrofotómetro es un instrumento que sirve para medir el grado de absorción o transmisión que tiene una substancia cuando es sometida a la energía radiante aproximadamente monocromática, comprendida entre las regiones de 200 y 2,000 milimicras.

En estos ensayos por lo general se expresan las intensidades de los colores en tanto por ciento de transmitancia o absorbancia.

Puesto que la absorbancia de una substancia determinada varías con las longitudes de onda de la luz, el punto en que se efectúa la absorbancia máxima es el que se suele tomar como posición de longitud de onda característica de cada substancia. Esto corresponde a la posición en que la mínima cantidad de luz o radiación es transmitida a través de la solución de color para que choque con la célula fotoeléctrica. El resultado se calcula tomando como base el porcentaje de radiación que es transmitido, según lo registra el instrumento, y que se compara con un resultado obtenido de manera semejante con un patrón de comparación.

Para hacer una determinación espectro fotométrica se verifican las siguientes manipulaciones:

Se hace un ajuste inicial con la fotocelda, completamente en la obscuridad, por medio del control corriente obscura que sirve para compensar cualquier filtración de luz a través o alrededor de la fotocelda. El primer ajuste que se realiza con el solvente en la celdilla puede hacerse tanto por abertura del diafragma como por

variación del control de sensibilidad, esto se hace para comprobar la posición del interruptor selector

El efecto de estos controles es ajustar la tendencia del potencial a suministrar electrones a la rejilla del primer tubo, así como para determinar el consumo de electrones a través de la celda fotoeléctrica bajo diferentes condiciones de iluminación y para mantener el medidor de lectura constante, las conexiones pueden modificarse ajustando el interruptor selector a otra posición marcada 0.1, y esto tiene el efecto de exponer la escala de transmisión a un factor de 10; esto se usa siempre que la transmisión de una muestra sea menor de 10%.

Dos tipos de interpretación se le pueden dar a la espectrofotometría.

Interpretación cualitativa.—Los problemas que implican la identitificación de componentes orgánicos pueden ser resueltos por técnicas espectrofotométricas mediante el uso de curvas de absorbancia para compuestos conocidos.

Interpretación cuantitativa.—Usualmente en trabajos cuantitativos, los constituyentes de la muestra son conocidos y el deseo es determinar la concentración de uno o más de ellos. La espectrofotometría cuantitativa está basada sobre el hecho de que la absorbancia de un material, a una determinada longitud de onda, depende de su concentración; si la absorbancia es directamente proporcional a la concentración, el reaccionante, sigue la ley de Beer, es decir es proporcional a la longitud de onda de la luz; en muchos trabajos espectrofotométricos prácticos, la longitud de la celdilla es una constante, y por lo tanto se cancelan en los cálculos de la ley de Beer; es decir, la relación de las intensidades de luz transmitida e incidente, para un tipo determinado de longitud de onda, y a través de una substancia determinada es independiente de la intensidad de la luz incidente. Esta ley física, empírica, ha sido establecida experimensalmente y se cumple para casi todas las substancias dentro de límites muy extensos.

Con fines explicativos la materia de cierto espesor puede con-

siderarse como formada por porciones delgadas paralelas de igual grosor. Todas esas porciones absorben la misma fracción de luz al pasar a través de ellas. Por otra parte, si se considera desde el punto de vista hipotético a la materia como compuesta, la variación en espesor corresponderá a una variación en el número de porciones delgadas iguales. La ley de la relación en la absorción, para longitudes de onda determinadas puede derivarse como sigue:

$$I/I_0 = E^{-Kl}$$

En donde I es igual a la intensidad de luz transmitida.

I_0 corresponde a la luz incidente.

I, es igual a longitud de onda y K, a una constante característica de la substancia.

Para la mayoría de las substancias en solución, la constante K es proporcional a la masa del soluto en unidad de volumen de solución; este es conocido como la ley de Beer. De esta ley se deriva la fórmula de absorción, que permite la determinación de concentraciones fotométricamente.

La proporcionalidad de la fórmula es como sigue:

$$K = h\,c$$

Generalizado queda:

$$I/I_0 = e^{-hcl}$$

Que convertida a la forma logarítmica a la base 10 da una ecuación final de la forma siguiente:

$$\log I/I_0 = h/2.303\ c\ l$$

Si c se expresa en gramos por litro, y l en centímetros h/2.303 = K siendo esta K el coeficiente específico de extinción.

En la práctica existe confusión e irregularidad en los términos empleados en espectrofotometría, por tanto para fines de uniformidad se definen términos como sigue:

Poder de transmisión.—I I es la relación entre la intensidad de la luz incidente y se representa por T

Poder de absorción.—(— log de T). Es el logaritmo negativo del poder de transmisión y se representa por e.

Poder específico de absorción.— Es el poder de absorción de una solución que contiene un gramo por 100 centímetros cúbicos en una celdilla con espesor de absorción de un centímetro, y se representa por E: ..%

Coeficiente de extinción.—Se representa por h.

Coeficiente específico de extinción.—Es el poder de absorción de una solución que contiene un gramo por litro en una celdilla de un centímetro de espesor, y se representa por K.

Dado que la ley de Beer es seguida estrictamente, es fácil obtener la concentración de un problema por simple comparación de la absorbancia del problema con la absorbancia de una muestra conocida.

La concentración del problema puede ser obtenida rápidamente por una simple proporción aritmética, sin embargo, en la práctica pueden presentarse ligeras desviaciones de la ley de Beer. En estos casos al hacer las mediciones cuantitativas es necesario trazar una gráfica con la absorbancia de una serie de soluciones tipo de concentraciones conocidas, en las gráficas la concentración es dada linealmente en un eje y la absorbancia en el otro, usualmente se obtiene una línea ligeramente curva, cuando se ha determinado la absorbancia de un problema, puede calcularse fácilmente su concentración por medio de la gráfica.

PARTE EXPERIMENTAL:

a.—Se buscó un disolvente del Fenil propionato de nor androstenolona, que al agregarle el reactivo, (2,4 dinitro fenil hidrazina) no redisolviera el precipitado formado, se encontró que el alcohol absoluto reunía estas condiciones

b.—Se formó la fenil hidrazona por reacción con el clorhidrato de fenil hidrazina con el grupo cetónico del compuesto de la manera siguiente:

Preparación del reactivo.—En 5 ml. de ácido clorhídrico concentrado, se disuelven 0.500 g. de 2,4 dinitro fenil hidrazina agitando hasta que el color cambia del rojo naranja al amarillo canario. Se agregan 100 ml. de alcohol absoluto y se calienta a baño maría hasta la completa disolución. Se agrega 1 ml. de ácido clorhídrico concentrado y se lleva la solución al refrigerador por toda una noche. Después se filtra en caso de haber aparición de cristales blancos.

Técnica:

Se disuelve el fenil propionato de nor androstenolona en alcohol absoluto y se adiciona el reactivo, 2,4 fenil hidrazina en una proporción de 3 mg. por 1 ml. de fenil propionato de nor androstenolona.

Se pone un minuto en baño maría y se lleva al refrigerador durante una hora.

Se filtra en un filtro de vidrio poroso, previamente tarado a peso constante. El precipitado se lava 3 veces con alcohol absoluto que lleva un 6% de ácido clorhídrico concentrado, para eliminar el exceso de reactivo.

Se seca el precipitado en la estufa a 110 grados centígrados y se pesa.

Se hacen los cálculos mediante la fórmula general:

c = p f

c = Cantidad de fenil propionato de nor androstenolona.

p = Peso de precipitado.

f = Factor gravimétrico.

TECNICA ESPECTROFOTOMETRICA

Se investigó la solubilidad de la fenil hidrazona en diferentes vehículos y se encontró que es fácilmente soluble en cloroformo y un poco menos en acetona.

El estudio se hizo usando ambos disolventes, para poder tener un criterio respecto a cual es el más conveniente.

Después de haber disuelto la fenil hidrazona en el disolvente seleccionado, cloroformo, se estudió su comportamiento al espectrofotómetro.

Se tomó primero como un tiempo conveniente, para hacer la lectura no menor de 15 minutos y no mayor de 30 minutos.

Se tomó como concentración la de 0.01 mg. por ml. y en estas condiciones se hicieron lecturas a diferentes longitudes de onda, y se seleccionó aquella a la cual la absorción es mayor. En este caso 390 milimicras.

A esta longitud de onda se hicieron las pruebas siguientes:

En las mismas condiciones pero modificando las concentraciones entre valores de 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, centésimos de miligramo por mililitro.

Se seleccionó la concentración óptima para hacer la lectura.

En este caso 10 gamas por centímetro cúbico.

A esta concentración y a la misma longitud de onda se hizo la prueba siguiente

Se hizo la lectura a los 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 25, 30, 45, minutos, encontrándose una estandarización del color de los 14 a los 18 minutos.

La acetona presenta como ventaja que es menos volátil que el cloroformo; pero el fenil propionato de nor androstenolona se disuelve muy lentamente, por lo tanto era muy largo el tiempo requerido para la estandarización del color.

TABLA No. 1

DETERMINACIONES GAVIMETRICAS

Androstenolona Fenil propionato de Nor en gramos	en gramos Hidrazona obtenida	tenolona recuperada en gramos Fenil Propionato de Nor Andros-	DIFERENCIA Absoluta	%
.1247	.1652	.1143	.0104	8.3
.1048	.1408	.0945	.0103	8.2
.1128	.1488	.1024	.0104	8.3
.1085	.1420	.0982	.0103	8.2
.1233	.1632	.1129	.0104	8.3
.0849	.1212	.0838	.0104	8.3
.1284	.1711	.1180	.0104	8.3
.1505	.2025	.1401	.0104	8.3

PROMEDIO — 8.27

FACTOR 0.692

TABLA No. 2

ABSORBANCIA OBTENIDA DE DIFERENTES LONGITUDES DE ONDA

Longitud de onda (en milimicras)	Absorbancia.
370	440
375	475
376	480
377	482
378	489
379	497
380	502
381	503
382	505
383	509
384	512
385	516
386	518
387	518
388	520
389	521
390	522
391	521
392	518
395	510
396	508
400	490
420	365

Absorbencia máxima — 522 a 390 milimicras

Concentración — 10 gamas por ml.

Disolvente — Cloroformo

Tiempo — 14 a 18 minutos.

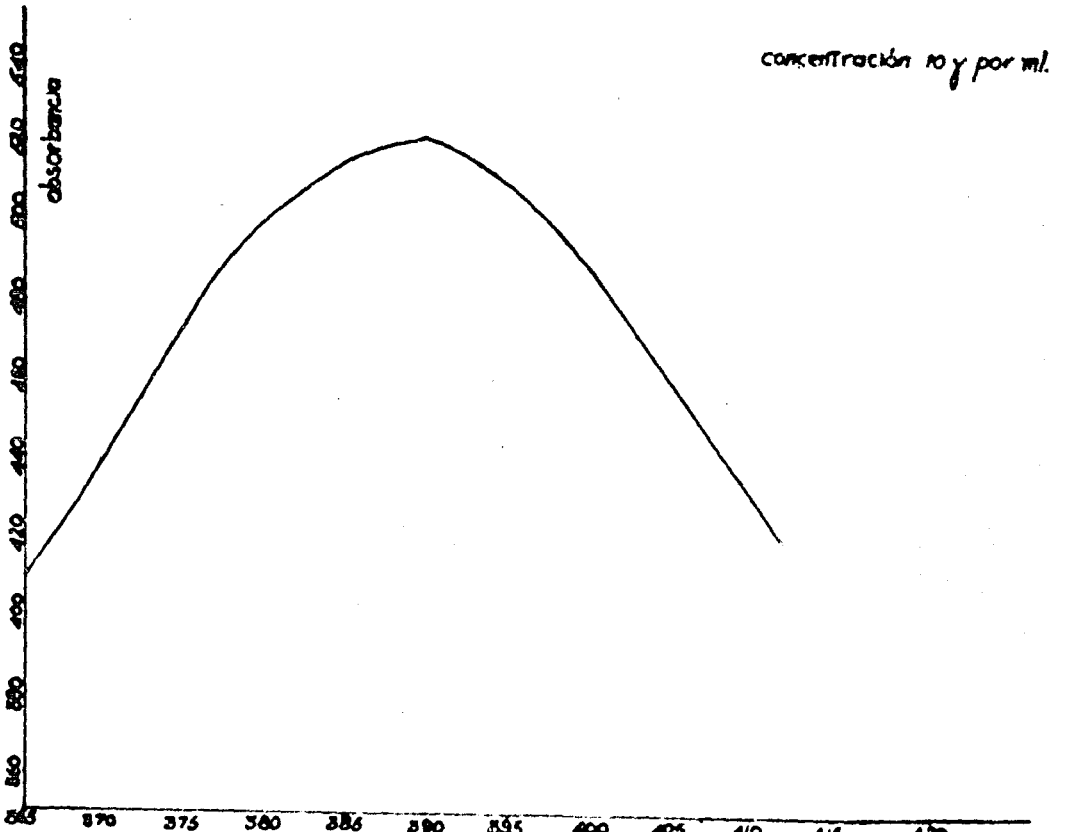

concentración 10 γ por ml.
absorbancia
860
880
900
920
940
960
980
1000
1020
1040
365
370
375
380
385
390
395
400
405
410
415
420

TABLA No. 3

INFLUENCIA DEL TIEMPO

Tiempo en minutos	Absorbancia	Diferencia
7	.506	17
6	.505	17
8	.508	14
9	.511	11
10	.512	10
11	.514	8
12	.518	4
13	.520	2
14	.522	0
15	.522	0
16	.522	0
17	.522	0
18	.522	0
19	.520	2
20	.518	4
25	.510	12
28	.510	12
30	.510	12

Concentración = 10 gamas por ml.

Disolvente = Cloroformo

Longitud de onda = 390 milimicras

TABLA No. 4

GRAFICA TIPO

Concentración teórica en gamas por ml.	Promedio de Absorbancia
2	224.4
3	323.45
4	422.5
5	426.7
6	442.73
7	458.76
8	474.8
9	498.45
10	422.1

Longitud de onda — 390 milimicras

Tiempo — 14 a 18 minutos

Disolvente — Cloroformo.

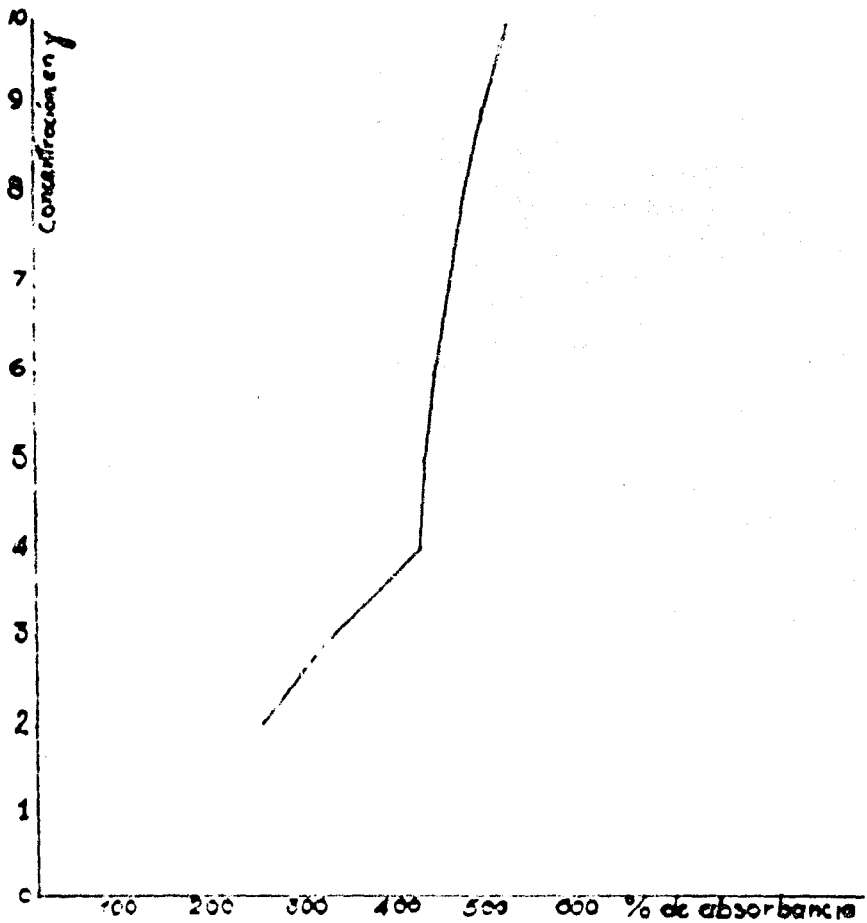

Concentración en γ
10
9
8
7
6
5
4
3
2
1
0
100
200
300
400
500
600
% de absorbancia

TABLA No. 5

DETERMINACIONES ESPECTROFOTOMETRICAS

Fenil Propionato de Nor Androstenolona en gamas por ml.	Lectura	Fenil Propionato de Nor Androstenolona en gamas por ml. encontrado	DIFERENCIA Absoluta	DIFERENCIA %
2	225	2.005	+.005	.25
2	227	2.02	+.02	1
2	227	2.02	+.02	1
2	217	1.93	—.07	3.5
2	225	2.005	+.005	.25
2	225	2.005	+.005	.25

PROMEDIO — 224.4

Longitud de onda — 390 milimicras

Absorción — 224.4

Concentración — 2 gamas por ml.

Tiempo — 14 a 18 minutos.

TABLA No. 6

DETERMINACIONES ESPECTROFOTOMETRICAS

Fenil Propionato de Nor Androstenolona en gamas	Lectura	Encontrado	DIFERENCIA Absoluta	DIFERENCIA %
4	425	4.02	+.02	0.5
4	420	3.97	—.03	0.75
4	419	3.966	—.034	0.85
4	419	3.966	—.034	0.85
4	425	4.02	+.02	0.5
4	425	4.02	+.02	0.5
4	425	4.02	+.02	0.5

PROMEDIO — 422.5

Longitud de onda — 390 milimicras

Absorción — 422.5

Concentración — 4 gamas por ml.

Tiempo — 14 a 18 minutos.

TABLA No. 7

DETERMINACIONES ESPECTROFOTOMETRICAS

Fanil Propionato de Nor Androstenolona en gamas por ml.	Lectura	Encontrado	DIFERENCIA	
			Absoluta	%
5	428	5.01	+.01	0.2
5	428	5.01	+.01	0.2
5	428	5.01	+.01	0.2
5	412	4.82	— 18	3.6
5	432	5.06	+.06	1.2
5	430	5.03	+.03	0.6
5	428	5.01	+.01	0.2
5	428	5.01	+.01	0.2

PROMEDIO — 426.5

Longitud de onda — 390 milimicras

Absorción — 426.5

Concentración — 5 gamas por ml.

Tiempo — 14 a 18 minutos.

TABLA No. 8

DETERMINACIONES ESPECTROFOTOMETRICAS

Fenil Propionato de Nor Androstenolona en gamas por ml.	Lectura	Encontrado	DIFERENCIA	
			Absoluta	%
8	475	8.003	+ .003	0.037
8	475	8.003	+ .003	0.037
8	473	7.969	—.03	0.37
8	475	8.003	+ .003	0.037
8	475	8.003	+ .003	0.037
8	475	8.003	+ .003	0.037
8	475	8.003	+ .003	0.037
8	475	8.003	+ .003	0.037

PROMEDIO — 474.8

Longitud de onda — 390 milimicras

Absorción — 474.8

Concentración — 8 gamas por ml.

Tiempo — 14 a 18 minutos.

TABLA No. 9

DETERMINACIONES ESPECTROFOTOMETRICAS

Fenil Propionato de Nor Androstenolona en gamas por ml.	Lectura	Encontrado	DIFERENCIA Absoluta	DIFERENCIA %
10	.522	9.998	—.002	.02
10	.522	9.998	—.002	.02
10	.523	10.017	+.017	.17
10	.524	10.03	+.03	.3
10	.522	9.998	—.002	.02
10	.522	9.998	—.002	.02
10	.522	9.998	—.002	.02
10	.520	9.959	—.041	.41
10	.522	9.959	—.002	0.2
10	.522	9.959	—.002	.02

PROMEDIO — 522.01

Longitud de onda — 390 milimicras

Absorción — 522.1

Tiempo — 14 a 18 minutos.

Concentración — 10 gamas por ml.

CONCLUSIONES

a.—La concentración óptima encontrada es de 10 gamas por ml. como se expresa en la tabla número 1.

b.—La gráfica No. 1 nos indica que a partir de 4 gamas a 10 gamas por ml. sigue la ley de Beer.

c.—La longitud de onda a la que se encontró una absorbancia máxima es de 390 milimicras, como se comprueba en la tabla No. 2 y en la gráfica No 1.

d.—El tiempo al cual se debe hacer la lectura es de 14 a 18 minutos como lo comprueba la tabla No. 3 ya que antes de los 14 minutos no se ha estandarizado el color, y después de los 18 se nota evaporación en el solvente.

BIBLIOGRAFÍA

BELMONTE, C. R., c. s., J. Philip. med. ass. 35, 354 (1959).

BLASIUS, R., c. s., Klin. Wschr. 35, 308 (1959).

Borstlap, A. C., Ned. T. Geneesk. 103, 1412 (1959).

BROCHNER-MORTENSEN, K., c. s., Pgeskt. Loeg. 120, (1958).

BUTTENBERG, D., & H. Lau, Geburtsh. u. Frauenheilk. 19 308 (1959).

CAMPANA C., Policlínico, Sex. Prat. 64, 1794 (1959).

CAÑADELL, J. M., Anales de Medicina y Cirugía, 35, 75 (1959).

DOMMELEN, C. K. V. van, Ned. T. Geneesk. 100, 2332 (1959).

ERNOULD, H. J., & A. Reginster, Rev. Méd. de liege 13, 245 (1958).

FIEGEL, G., & H. W. Kelling, Med. Klin 34, 1245 (1959).

GERBRANDY, J. c. s., Ned. T. Geneesk. 100, 2784 (1958).

GJORUP, S., & J. Hess Thaysen, Lancet 1958 II, p. 886.

GRASSI, B., & M. A. Cagianelli, Ann. Ravasini 41, 22 (1958).

GROSS, D., & J. Colombo, Conferencia.

HARTENBACH, W., Münch. Med. Wschr. 98, 1657 (1958).

HERNBERG, C. A., c. s. Acta endocr. 31, 241 (1959).

HORTLING, H., c. s., Suom. Lääk. L. 14, 39 (1959).

HUGON, J., Brux. méd. 39, 627 (1959).

JEANNERET, P., c. s., Schweiz. med. Wschr. 87, 846 (1957).

NOWAKOWSKI, H., & J. Parada, Dtsch., med. Waschr. 83, 1421 (1959).

MONTUSCHI, E., Brit. Med. J. 1959 1, p. 647.

Ed torial Brit. med. J. 1958 p. 785.