

## Tesis de Posgrado

# Separación toxicológica de algunos barbitúricos por electrodiálisis

De Agostini, Heberto Ruben

1950

Tesis presentada para obtener el grado de Doctor en Química de la Universidad de Buenos Aires

Este documento forma parte de la colección de tesis doctorales y de maestría de la Biblioteca Central Dr. Luis Federico Leloir, disponible en [digital.bl.fcen.uba.ar](http://digital.bl.fcen.uba.ar). Su utilización debe ser acompañada por la cita bibliográfica con reconocimiento de la fuente.

This document is part of the doctoral theses collection of the Central Library Dr. Luis Federico Leloir, available in [digital.bl.fcen.uba.ar](http://digital.bl.fcen.uba.ar). It should be used accompanied by the corresponding citation acknowledging the source.

**Cita tipo APA:**

De Agostini, Heberto Ruben. (1950). Separación toxicológica de algunos barbitúricos por electrodiálisis. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. [http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis\\_0634\\_DeAgostini.pdf](http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_0634_DeAgostini.pdf)

**Cita tipo Chicago:**

De Agostini, Heberto Ruben. "Separación toxicológica de algunos barbitúricos por electrodiálisis". Tesis de Doctor. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. 1950. [http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis\\_0634\\_DeAgostini.pdf](http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_0634_DeAgostini.pdf)

UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES

FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS, FISICAS Y NATURALES

SEPARACION TOXICOLOGICA DE ALGUNOS BARBITURICOS

POR ELECTRODIALISIS

FOA

*Tesis* 634

HERBERTO RUBEN DE AGOSTINI

Tesis presentada para optar al título de Doctor en Química

AÑO DEL LIBERTADOR Gral. SAN MARTIN

1950

Es mi deber destacar mi reconocimiento al Dr. P. Gaudy que generosamente ha respaldado esta Tesis y al Dr. M. Pompei quien espontánea y desinteresadamente colaboró en diversos aspectos.

Agradezco también al Jefe de Talleres de la Escuela Politécnica N 4 bajo cuya dirección, alumnos de ese establecimiento construyeron el rectificador de corriente que usé para casi todas las experiencias.

A todos los que en alguna manera contribuyeron a facilitar la terminación del presente trabajo llegue mi más sincero agradecimiento.

Heberto R. De Agostini

## SUMARIO GENERAL

### INTRODUCCION

#### CAPITULO I

- 1 ) Historia
- 2 ) Aplicaciones de la electrodiálisis en la:
  - I) Purificación de los medios orgánicos complejos
  - II) En el análisis químico

#### CAPITULO II

- 1 ) Los barbitúricos
  - a) Constitución química
  - b) Propiedades generales
  - c) Caracterización
  - d) Acción fisiológica
  - e) Métodos de extracción

#### CAPITULO III

- 1 ) Fundamentos teóricos de la electrodiálisis
  - a) Movimiento de los iones
  - b) Viscosidad e hipótesis de la hidratación
  - c) Fórmula de Kohlrausch
  - d) Ley de dilución
  - e) Disociación completa de los electrolitos fuertes. Actividad.
  - f) Hidrólisis de:
    - 1) Sal de ácido y base fuerte
    - 2) Sal de base fuerte y ácido débil
    - 3) Sal de base débil y ácido fuerte
    - 4) Sal de ácido y base débil

g) Cantidad de sustancia transportada por electrofóresis

h) Aplicación de estas nociones a la electrodiálisis

## CAPITULO IV

Aparatos de electrodiálisis

## CAPITULO V

### PARTI EXPERIMENTAL

1 ) Métodos de análisis ensayado para valorar el barbitúrico

a) Método del xantidrol

b) Método colorimétrico

c) Método volumétrico

2 ) La diálisis en la electrodiálisis

3 ) Potencial mínimo de electrodiálisis

4 ) Electrodiálisis de soluciones de Veronal y Luminal

a) en soluciones puras: influencia de la diferencia de potencial aplicada y del medio de alcalinización

b) en diversos medios biológicos. Efecto retardador de los electrolitos dializables y de las proteínas

## CAPITULO VI

RESUMEN Y CONCLUSIONES

BIBLIOGRAFIA

## INTRODUCCION

El problema fundamental del análisis toxicológico consiste en aislar cuantitativamente de las vísceras o de los líquidos del organismo el tóxico investigado. Por eso es necesario asegurar técnicas para hacer una extracción de una manera tan completa como sea posible, evitando toda causa de error o de pérdidas en las manipulaciones que se suceden en el curso de la misma.

Si es posible efectuar separaciones cuantitativas cuando se trata con medios poco complejos, el problema no es el mismo cuando se trata de condiciones verdaderamente toxicológicas, en donde los fenómenos de absorción, volatilización etc. pueden ocasionar pérdidas apreciables.

La electrodiálisis es un método que ha sido aplicado a la biología con el fin de purificar los medios orgánicos complejos y más raramente ha sido utilizada como medio de extracción y valoración de compuestos electrodiálizables. Esta técnica permite simplificar considerablemente la marcha del análisis, debido a que con la diálisis eléctrica se sustituye el medio biológico complejo por una solución de naturaleza mucho más simple; pues ella separa por una parte los tóxicos ionizables de aquéllos que no lo son y por otra parte los tóxicos electronegativos de los electropositivos.

La electrodiálisis y la electroósmosis, según palabras del Dr. R. Fernicke, (Chemia Julio-Octubre de 1922) son dos frutos del frondoso árbol de la Físico-química, crecida en una de sus ramas más jóvenes pero no por eso menos vigorosa: la Coloidoquímica.

Este fenómeno está fundado en la incapacidad que tienen los coloides de atravesar las membranas, en oposición a los iones que la atravie

san fácilmente, excepción hecha de los iones coloidales. Entonces la diálisis realizada en un campo eléctrico, consiste fundamentalmente en que se reemplaza la fuerza aceleradora que actúa sobre las partículas desplazables a través de la membrana, usando la fuerza eléctrica sobre los iones en vez de las fuerzas de difusión.

Entre las ventajas de la electrodiálisis sobre la diálisis común estan:

- 1 ) Gran aumento de velocidad en el proceso.
- 2 ) No se observa la dilución del dializado, probablemente por fenómenos del electroósmosis que se producen simultáneamente.

Con respecto a la duración de la operación, esta es función de la diferencia de potencial aplicada, de la naturaleza del tóxico sometido a estudio y de la naturaleza del medio (soluciones puras, o medios biológicos).

## CAPITULO I

### ANTECEDENTES BIBLIOGRAFICOS Y APLICACIONES DE LA ELECTRODIALISIS

1 )Historia.- La electrodiálisis tuvo origen en las experiencias realizadas en 1903 por Morce y Pierce (1) con el fin de purificar los coloides por medio de la corriente eléctrica. Estas primeras experiencias fueron seguidas por las de Tribot y Chrétien (2). Estos autores colocaban en un dializador una membrana de papel pergamino y gelatina que contenía 2% de cenizas, y a ambos lados de la membrana un electrodo; luego el líquido era sometido a una electrodiálisis, aplicando una tensión de 500 Voltios. La muestra de gelatina así tratada no dejaba más que unas trazas de cenizas después de la calcinación.

Pero los trabajos de estos autores quedaron casi completamente ignorados, pues aunque se obtenía una desmineralización bastante rápida y completa por este procedimiento, ella resultaba ser peligrosa por la elevada tensión aplicada, y además el papel pergamino es permeable solo a un cierto número de iones, unido esto también a que la hidrólisis de la gelatina se producía en grado apreciable.

Pero el verdadero creador de esta nueva técnica fué Dhéré (3) y son precisamente sus trabajos los que ponen en evidencia la importancia de la diálisis eléctrica en bioquímica.

2 )Aplicaciones de la electrodiálisis.- La diálisis eléctrica tiene por objeto el transporte de iones a través de membranas semipermeables, es decir, separar de la mezcla coloidal las impurezas iónicas, obteniéndose de esta manera la purificación del medio coloidal. En este caso las soluciones anódicas y catódicas recogidas no tienen importancia; pero a veces, como en nuestro caso, estas fracciones son las que es necesario estudiar. Dividimos entonces en dos grupos las aplicacioo



nes de la electrodiálisis;

I) Purificación de los medios orgánicos complejos:

a) Purificación de los coloides en general

Entre las principales aplicaciones basadas en este principio se encuentra la purificación del  $(OH)_3Al$ . Ella consiste en la separación del aluminato de sodio preparado con la bauxita, de la lejía de soda que contiene, colocando la papilla en el compartimiento central de un electrodiálizador de tres compartimientos.

Por este mismo procedimiento se obtiene la purificación de soluciones de  $SiO_2$  preparado por neutralización de una solución de  $SiO_3Na_2$  con  $HCl$ ,  $SO_4H_2$ ,  $NO_3H$ ,  $AcOH$ , ó  $CO_3H_2$ .(4).

b) Purificación de azúcares

Para la purificación en particular de la melaza por electrodiálisis, el inconveniente principal es la elección de una membrana que debe ser permeable a los ácidos, pues si los cationes de las sales contenidas en la melaza se eliminan más rápidamente que los aniones debido a sus diferentes velocidades de transporte, se producirá la inversión del azúcar.

La galactosa y arabo-galactosa también se purifican por electrodiálisis de tal manera que el contenido de cenizas se reduce a 0,01-0,02%. Para la purificación de estos azúcares se usan en general membranas de celofán.(5).

c) Purificación de la celulosa

El mismo procedimiento ha sido aplicado a la celulosa y a sus diversos sucedáneos: acetato de celulosa, viscosa, nitrocelulosa etc. De esta manera se consigue desembarazar a estos productos de diversas

impurezas que según trabajos recientes son la causa de su gran inestabilidad.

d) Purificación de la insulina

Por electrodiálisis de preparados de insulina a pH 3,6 se consigue una separación de la misma en:

1 ) un sedimento con doble actividad, que da las reacciones de proteínas y que contiene S pero no P.

2 ) una solución casi inactiva que da las reacciones de las proteínas y que no contiene S ni P.

Cuando la primera fracción se trata con iguales cantidades de  $\text{SO}_4\text{H}_2$  al 25% y EtOH al 95% da un producto microcristalino (6).

e) Purificación de la saponina

Por electrodiálisis la saponina es purificada eliminándose así diversas impurezas inorgánicas, pero sin dejar por ello de que el producto pierda su poder hemolítico (7).

f) Purificación del suero sanguíneo

Aquí se procede por etapas pues se eliminan sucesivamente los electrolitos y las albúminas, usando para ello membranas de porosidad conveniente. Este procedimiento se usa con éxito para la fabricación de sueros antidiftéricos, antitetánicos, antiestreptococos...

g) Purificación de la gelatina

La desmineralización de la gelatina es llevada a cabo en un aparato de tres compartimientos. Se usa una solución de gelatina de 3 a 10% y se aplica una diferencia de potencial que puede ser de 50-100-200 Volts durante 7 a 15 horas. El contenido de cenizas disminuye del 3,5% al 0,05-0,23%. (8).

## h) Purificación de las aguas

El aparato que se usa, el cual puede ser instalado en cualquier laboratorio, consta de un sistema de diez células triples acopladas análogamente a los filtros prensa. El procedimiento es usado principalmente para la purificación de aguas destinadas a la alimentación de calderas.

El aparato es usado también especialmente en la industria cervecera para disminuir el contenido de Mg en las aguas (9).

## II) Aplicación al análisis químico:

### a) Separación y valoración de los electrolitos del suero sanguíneo

En 1923 Wernicke (10) utiliza la electrodiálisis para separar cuantitativamente los electrolitos de los coloides y también los aniones de los cationes. El aparato cuya descripción detallada se hace más adelante, estaba provisto de dos electrodos de  $4,9 \text{ cm}^2$ , colocados a tres cm. de distancia y membranas de papel pergamino, teniendo capacidad para electrodiálisis 3,5 ml. de líquido. Por las células anódicas y catódicas se puede hacer circular agua, la cual es recogida. La diferencia de potencial aplicado era variable, con el fin de poder mantener una densidad de corriente de  $0,04 \text{ Amp/cm}^2$ . Al final de la operación la intensidad cae bruscamente. Recogía en cada electrodo de 30 a 100 ml de líquido. La operación duraba de 25' a 3 horas.

Comenzaba electrodiálizando soluciones puras de ClNa al 1%, valorando luego el álcali formado en el cátodo con  $\text{SO}_4\text{H}_2$  0,02 N usando sulfizarinato de sodio como indicador. Obtenía un rendimiento de 99% de ClNa después de 40' de electrodiálisis.

Hizo también experiencias, para probar la capacidad de electrodiá

lisis, con  $\text{OHNH}_4$ , y soluciones conteniendo iones Ca.

Aplicó también el método para valorar los álcalis totales del suero sanguíneo, usando cantidades variables de suero diluido hasta 5 ml. con agua. La alcalinidad del líquido catódico era titulada con  $\text{SO}_4\text{H}_2$  0,1 N y fenofitaleína como indicador.

Bernhard y J.J. Beaver (11) sometían a electrodiálisis el suero sanguíneo, comprobando que el Na y el K son completamente dializables, indicando que estos elementos no están formando combinaciones complejas al pH en que se encuentra la sangre. El Ca, Mg y P se encuentran en los respectivos compartimientos, mostrando que en parte están complejados y en parte al estado iónico. El Cl se pierde casi totalmente en el ánodo, pero es muy probable que difunda completamente ya que se observa su ausencia en el suero remanente.

En 1932 Di Benedetto (12) retomó las experiencias de Kernicke, llegando a precisar la naturaleza de los aniones y cationes que difunden a través de membranas.

Comenzó con soluciones puras de  $\text{ClNa}$ ,  $\text{ClK}$ , y  $(\text{NO}_3)_2\text{Ca}$ , comprobando que todos los cationes y aniones en estudio pasan en su totalidad.

Otros ensayos realizó que consistían en separar y valorar las bases del suero. Usaba membrana de ergamino en el cátodo y de vejiga natatoria de pescado en el ánodo, cambiando luego la membrana anódica por una de colodión y terminando con las dos de colodión.

Los líquidos resultantes que por lo general eran de 200-300 ml., lo evaporaba hasta reducirlo al menor volumen posible, y luego hacía la valoración por métodos químicos habituales.

Así llegó a la conclusión de que el Na es completamente recupera

do (97%); el K casi en su totalidad (80-85%); el Ca incompletamente (55-63%); el Cl en su totalidad.

b) Separación y valoración de algunas bases orgánicas

En 1934 Severin (13) sometió a la electrodiálisis en soluciones acuosas, o en condiciones corrientes de acidez o alcalinidad, la carnosina, la creatina y la creatinina. Las tres sustancias estudiadas en solución acética o nítrica (pH 2 a 4), se desplazan hacia el cátodo, haciéndolo según velocidades de emigración decrecientes en el siguiente orden: carnosina, creatinina, creatina. En solución alcalina, sódica o amoniacal (pH 10 a 12) el desplazamiento de la creatina y creatinina es más lento y el de la carnosina es detenido. En medioneutro la carnosina solamente sigue el transporte.

Interesante es también el trabajo de Maggregor y Thorpe que extraían la histamina de los tejidos (14). Estos autores mostraron que el producto obtenido por electrodiálisis era de una pureza muy superior que la obtenida por los métodos clásicos.

La electrodiálisis ha sido aplicada también por S. Bazille (15) como medio de separación de fluoruros a partir de órganos frescos y en estado de descomposición y luego por J. Tabone (16) quién estudió tres tóxicos: el sulfato de estricnina, el ácido dietilbarbitúrico y el arseniato sódico.

R. Fabre y P. Oficjalski (17-18) aplicaron la electrodiálisis a la extracción de alcaloides, estudiando también algunas drogas y preparaciones farmacéuticas como ser: nuez vómica y diversos preparados de estricnina; el sulfato de quinina, la morfina, cocaína y atropina.

Los resultados fueron cuantitativos para los tres primeros y menos

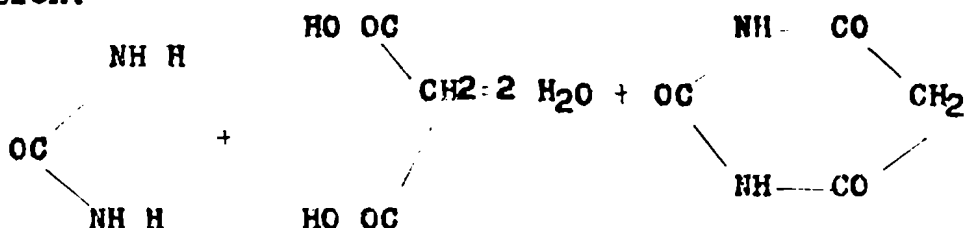
satisfactorio para la morfina, cocaína y atropina.

CAPITULO II

LOS BARBITURICOS

a) Constitución química

Bajo la denominación general de barbitúricos, se reúnen ciertos derivados disustituídos de la malonil-urea o ácido barbitúrico. Este ácido puede considerarse como el producto resultante de la condensación de una molécula de urea con otra de ácido malónico, según la siguiente reacción:



Es decir que el ácido barbitúrico tiene el núcleo heterocíclico:

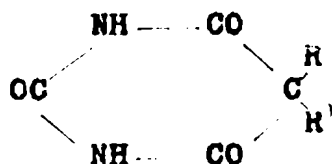


(exahidro-pirimidina)

de tal manera que aquel compuesto puede designarse también como 2-4-6-trioxo-exahidro-pirimidina.

El grupo metileno situado entre los dos carbonilos de la malonil-urea, reacciona fácilmente, pudiendo reemplazarse los átomos de hidrógeno por otros átomos o radicales (sea por grupos acílicos, R-COO-, formándose los ácidos acil-barbitúricos; por halógenos, dando origen a los correspondientes derivados halogenados; por radicales hidrocarbónicos, etc.)

De especial importancia por su aplicación terapéutica, son los derivados:



donde R y R son radicales hidrocarbonados (iguales o no), incluidos bajo la denominación genérica de BARBITURICOS; la importancia de estos compuestos, radica en que muchos de ellos poseen propiedades hipnóticas, en tanto que los derivados monosustituídos y el mismo ácido barbitúrico están desprovistos de dicha acción fisiológica.

Por otra parte, se ha intentado reunir las experiencias adquiridas en la sustitución del C(5), enunciando la siguiente regla (Dox): para que un derivado barbitúrico tenga propiedades hipnóticas, los dos átomos de hidrógeno del C(5) HAN de ser sustituídos por otros tantos radicales hidrocarbonados y estos dos juntos han de tener por lo menos cuatro y como mínimo ocho átomos de carbono; además es indispensable que uno de los radicales sea de cadena abierta.

Se han preparado un gran número de compuestos de este tipo y estudiado sus propiedades, pero los más comunes son:

Veronal o ácido 5-5- dietil-barbitúrico.

Luminal o ácido 5-5- fenil-etil-barbitúrico.

Dial o ácido 5-5- dialil-barbitúrico.

b) Propiedades generales:

El veronal, descubierto por Fischer y Merhing en 1904, se presenta en forma de un polvo cristalino de color blanco, inodoro y de sabor ligeramente amargo; poco soluble en agua fría (6,9 g.l a 20°C) y mucho más en agua caliente (83 g.l a 100°C); es fácilmente soluble en éter etílico, acetona, alcohol etílico y en las soluciones alcalinas. Es más difícilmente soluble en cloroformo y en ácido acético glacial.

Funde a 191°C y sublima a 330°C, condensándose entonces sobre las paredes frías del tubo de sublimación, en forma de agujas, sin descomposición, además por recristalización de sus soluciones etéreas, se



obtienen cristales brillantes.

De las soluciones alcalinas de veronal se ha podido aislar un compuesto designado como veronal sódico o Medinal; es un compuesto cristalino de color blanco, de sabor amargo y muy soluble en agua (aproximadamente en la relación de 1:6); el análisis cuantitativo del mismo, indica la presencia de 89,3% como veronal, o sea muy aproximadamente igual al valor teórico correspondiente a la sal monosódica.

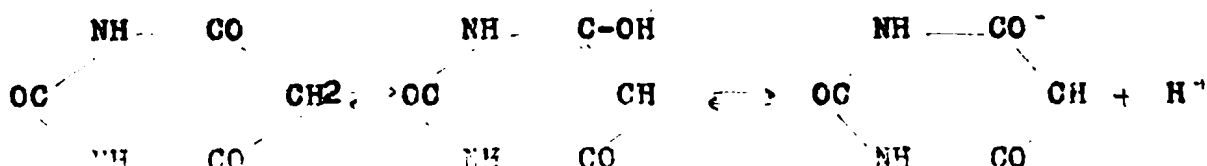
El luminal cristaliza en laminitas de color blanco, que funden a 172-174°C y que subliman sin descomposición, por encima de 330 C; tiene sabor ligeramente amargo y poco soluble en agua fría, pero es soluble en alcohol, en éter y en soluciones acuosas alcalinas; de estas últimas se ha aislado también el correspondiente derivado salino. (19)

Constantes de disociación electrolítica:

Según Wood (20), la sustitución en el carbono metilénico, por radicales hidrocarbonados, tiene una marcada influencia en la disociación electrolítica de los derivados barbitúricos, según se podrá apreciar observando los valores de las constantes de disociación dadas por el mencionado autor:

	$2,10^{-2}$
Acido barbitúrico	1.051
Acido 5-etil-barbitúrico	383
Acido 5-5-dietil-barbitúrico	0,37

Los dos primeros son más fuertes que el ácido acético ( $K: 1,8 \cdot 10^{-5}$ ), y en general se admite que en medio acuoso, tiene lugar el siguiente equilibrio:



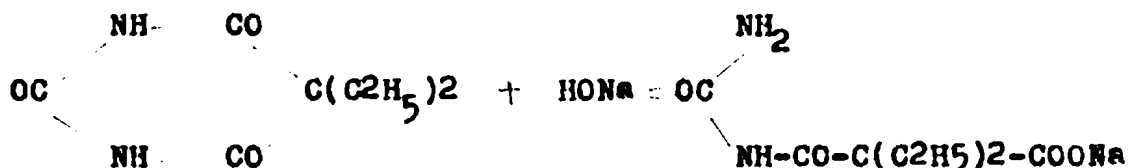
Es dable observar entonces, que la sustitución por radicales hidrocarbonados, determina la disminución del valor de la constante de ionización; ello es bien apreciable en el ácido 5-5- dietil-barbitúrico, donde la constante de ionización es unas mil veces menor que la del ácido 5-etil-barbitúrico.

Estas consideraciones son importantes para explicar ciertos fenómenos relacionados con la velocidad de electrodiálisis.

Solubilidad en soluciones alcalinas:

Todos los barbitúricos son solubles en soluciones acuosas de  $\text{OHNa}$ ,  $\text{OHK}$ ,  $\text{NH}_3$ , y carbonatos alcalinos; de estas soluciones se separan las correspondientes sales monobásicas del catión alcalino.

Solubilidad en soluciones de álcalis fuertes.- A pesar de que los barbitúricos son bastantes solubles en soluciones acuosas de álcalis fuertes, estas soluciones no son estables, porque en tal caso se abre el núcleo exahidro-pirimídico, con formación de la sal correspondiente de ácido ureincarbónico o dietil-malonilúrico, desprovisto de propiedades hipnóticas:

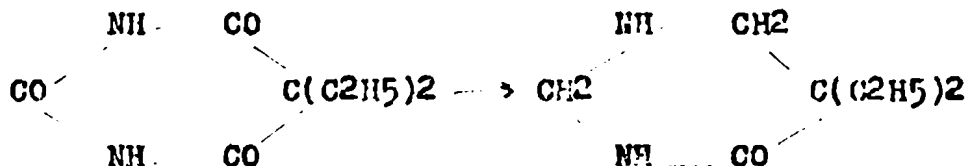


La misma descomposición tiene lugar en las soluciones acuosas de veronal sódico por la hidrólisis previa de esta sal.

Solubilidad en soluciones acuosas de bases débiles.- La combinación del veronal o del luminal con una base débil, como ser la dietilamina, da un producto cristalino, soluble en agua y de reacción débilmente alcalina y que además se hidroliza muy poco.

Reducción electrolítica del veronal:

J. Tafel y B. Thomson (21) han obtenido por reducción electrolítica del veronal, el 2-desoxi-veronal:



Esta reducción es difícil de realizar en los medios comunes, pero en medio sulfúrico, con cátodo de plomo y a 50°C; la reducción tiene lugar más fácilmente. El 2-desoxi-veronal es soluble en 8 partes de agua caliente y en 20 partes de agua fría; además es poco soluble en éter.

c) Caracterización de los barbitúricos:

1) Por el punto de fusión:

El método consiste en colocar una pequeña cantidad del compuesto a investigar en el fondo de un tubo capilar. Se ajusta éste al bulbo de un termómetro, de modo que su extremo inferior coincida con el del termómetro. Se introduce en un tubo de ensayo ajustándolo con un corcho, y el conjunto se introduce en otro tubo de mayor diámetro. Se sumerge todo en parafina fundida y se calienta lentamente con llama pequeña de manera que hasta los 120-140°C la temperatura se eleve unos 2 a 3° por minuto. Cuando la sustancia comienza a fundir se lee el termómetro, se corrige la lectura termométrica por "columna emergente" con la siguiente fórmula:

$$\frac{n (T - T_a)}{6000}$$

n = grados termométricos entre el corcho y el fin de la escala del term.

Ta = temperatura ambiente

T = temperatura leída

La corrección hallada se suma a la lectura primitiva.

Punto de fusión de algunos barbitúricos:

Veronal .....190-191° C.

Luminal .....172-173° C.

Dial .....170-171° C.

2) Reacciones microcristalinas:

Estas microreacciones han sido especialmente estudiadas por M. M. Van Itallie y Van der Veen (22) sobre el veronal, luminal, y ruto-  
nal y por M. Isnard (23) sobre el dial.

Mediante élla se puede lograr la identificación de ciertos compues-  
tos, por la observación microscópica de sus cristales o microcristalos-  
copia. El método aprovecha la propiedad común de los derivados barbitú-  
ricos de ser poco solubles en agua, pero muy solubles en soluciones al-  
calinas, de donde se pueden reprecipitar por acidificación. De esta  
manera se forman cristales o agregados cristalinos característicos pa-  
ra cada compuesto, lo que permite su identificación.

Técnica de Denigés: Se colocan algunas fracciones de mg. del producto  
a investigar, en el centro de una lámina de vidrio y se pulveriza fi-  
namente. Sobre el montículo formado, se agrega una gota de amoníaco,  
con lo que el sólido se disuelve rápidamente mientras se mezcla bien  
con la ayuda de una varilla de vidrio. Se vierte luego sobre el prepa-  
rado una gota de  $\text{SO}_4\text{H}_2$  N.10; el barbitúrico se separa bajo forma de  
pequeños cristales que se observarán al microscópio.

La característica del veronal es presentarse en láminas rectangu-  
lares, aisladas o agrupadas. El luminal se presenta bajo forma de fi-  
nas granulaciones esferoides de duración efímera; después como grupos  
cristalinos redondeados que van creciendo y llegan a tomar el aspecto

de erizos. El soneril se muestra en forma de largas agujas divergentes de un centro. El dial forma en la periferia láminas exágonales.

Reacciones coloreadas:

Entre ellas merece citarse la de Parri, la cual requiere solo algunas partículas de residuo, las cuales son colocadas en un tubo de ensayo con 1-2 ml de alcohol a 90°C., una gota de solución de nitrato de cobalto y una gota de amoníaco. La coloración que se obtiene en presencia de barbitúrico es violácea.

Varias modificaciones se han propuesto para estabilizar la coloración de dicha reacción. Desodt (24) propone la siguiente: 2-3 ml de solución alcohólica de barbitúrico se agrega una gota de nitrato de cobalto al 10% y una gota de cianuro de potasio N/10. Se agita y luego se agrega una gota de amoníaco diluído al 1/10. Se obtiene una coloración variando del rosa al rojo grosella, según la cantidad de barbitúrico en la solución ensayada.

Tratando de estabilizar aún más la coloración y de aumentar la sensibilidad de la reacción, Kozelka y Tatura (25) la efectúan en alcohol absoluto, utilizando como reactivo alcalino el etilato sódico. Griffon y Le Breton (26) lograron sensibilizar al máximo la reacción practicándola en alcohol absoluto y utilizando como reactivo alcalino la dietilamina. Peses (27) utiliza el reactivo cobáltico-cálcico, con el cual y mediante soda al 20% en un medio acuoso, obtiene un precipitado azul oscuro de un complejo cobáltico-cálcico-barbitúrico. Charonnat y Lachaux (28) proponen efectuarla en medio glicerinado.

Lagarce (29) utiliza para el dial, el reactivo sulfovanílico (solución reciente al 1% de vainillina en ácido sulfúrico puro), que da en caliente con la dialilmalonilurea un color rojo cereza estable y

que no se produce con ningún otro de los derivados alcohólicos de la malonilúrea.

Zwicker ha propuesto una reacción coloreada, que ha sido modificada por Bodendorf que consiste en disolver 5 mg del supuesto derivado barbitúrico en 1-2 ml de alcohol absoluto (metílico o etílico), después se agrega 0,5 ml de solución al 1% de nitrato de cobalto en alcohol absoluto y luego se agrega 0,5 ml de una solución al 1% de potasa cáustica en alcohol absoluto. En presencia de barbitúrico aparece una coloración rojo violácea estable durante varias horas.

Lindberger emplea para caracterizar el ácido barbitúrico y sus derivados una solución alcalina de carbonato de cobre. La coloración es violeta rojiza.

F. Ranwez ha propuesto una reacción característica del luminal; consiste en mezclar en un tubo de ensayo 0,1 g. de luminal, 0,5 g. de  $\text{NO}_3\text{K}$  y 2 ml de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  concentrado; se calienta a baño-maría a ebullición durante 10'. La solución incolora al principio toma color amarillo; se saca del baño-maría y se la vierte en 10 ml de agua fría. Se obtiene así una solución límpida y amarillenta que luego se enturbia y termina por dar un abundante precipitado cristalino, que se redisuelve agregando suficiente cantidad de solución concentrada de  $\text{NH}_3$  tomando la solución un intenso color amarillo.

Entre otras reacciones para la identificación de barbitúricos, se debe mencionar la de Mandelin, en donde el sulfovanadato de amonio en presencia de barbitúricos da lugar a la aparición de una coloración verdosa que luego vira al azul claro; la de Millón en la que se emplea como reactivo una solución de Hg en ácido nítrico fumante dando en pre-

sencia de barbitúricos un precipitado blanco gelatinoso, soluble en exceso de reactivo.

d) Acción fisiológica

La acción de los medicamentos que abarcan tanto, el grupo de los hipnóticos, como el de los sedantes y narcóticos, está basada en el mismo mecanismo. Según la teoría de Overton y Meyer (1899) aún hoy aceptada, esos compuestos ejercen su acción gracias a dos propiedades físicas que se expresan por su coeficiente de distribución:

$$K = \frac{\text{liposolubilidad}}{\text{hidrosolubilidad}}$$

que indica la relación entre la solubilidad de los mismos en los lipoides y en agua, es decir, que determina la distribución del medicamento entre la sangre (medio acuoso) y las células nerviosas ricas en lipoides; cuando en cualquier célula nerviosa se ha acumulado un hipnótico según su coeficiente K, este se fija en la superficie de la célula, quedando de este modo su permeabilidad modificada (disminuida), de tal manera que se reduce el metabolismo celular y por consiguiente la actividad específica de las células, produciéndose el estado de sueño o narcosis.

Si bien la acción cualitativa del hipnótico depende de su coeficiente K el efecto cuantitativo está subordinado a la dosis suministrada y a la velocidad de desintegración y eliminación del hipnótico.

El veronal es un hipnótico que produce sueño prolongado y como es poco soluble se reabsorbe lentamente en el aparato digestivo y por ello la dosis usual de 0,5 g. dada por vía oral no ejerce su acción hipnótica antes de las dos horas, el sueño es prolongado porque la reabsorción del veronal en el intestino dura muchas horas y porque la molécula

la es resistente a la degradación metabólica; prueba de éllo es que el 70-90% de la dosis suministrada se elimina sin alterar por la orina.

Aunqye el veronal ( como todos los barbitúricos ) pertenece al grupo de los hipnóticos que tienen su punto de ataque en el caudex, su influencia sobre el centro respiratorio y vaso-motor es escasa y por este motivo las acciones secundarias graves ciertas veces observadas son raras. Como la acción del veronal es prolongada y se repite diariamente su administración puede dar lugar a la aparición de fenómenos de acumulación.

El luminal produce un sueño prolongado y su acción hipnótica en el individuo sano es cualitativamente poco distinta del veronal y además tiene acción antiepiléptica.

El organismo desintegra un porcentaje mayor de luminal que de veronal ya que en general solo, se encuentra en la orina un 11-25% de luminal no modificado. Tanto en el caso del luminal como en el del veronal no se conocen los productos intermedios de degradación (30-).

#### e) Métodos de extracción

La extracción de los barbitúricos de los medios biológicos está basada en la propiedad de dichos compuestos de ser solubles en ciertos disolventes orgánicos ( alcohol,éter etc.).

#### 1) Extracción de los barbitúricos en orina. (Método de Khon Abrest).-

Consiste en concentrar la orina por evaporación y adicionar luego un ligero exceso de alcohol etílico acidulado con ácido tartárico. Después se filtra y se pasa el filtrado a un aparato de destilación a presión reducida, donde se elimina el alcohol agregado. El residuo a-



cuoso del balón se trata primero con éter de petróleo y luego con éter etílico. Se reúnen los extractos etéreos y se elimina después el disolvente por evaporación, el residuo sólido se purifica por extracción con agua a ebullición, se filtra y del filtrado se elimina el agua por evaporación, quedando un residuo sólido que en el caso del veronal es de color blanco y de estructura cristalina.

## 2) Método de Fabre.-

Se toman 500 ml de orina que se defecan con 50 ml de solución de subacetato de plomo. Se filtra y del filtrado es eliminado el exceso de plomo por el agregado de unos ml de solución saturada de  $SO_4Na_2$ . Se filtra nuevamente, el filtrado que generalmente es coloreado se agita con 50675 ml de éter etílico. Se decanta la fase etérea y se elimina por evaporación el disolvente. El residuo se purifica con negro animal para éllo se le añade agua y el negro animal y se calienta al baño-maría, se filtra y el filtrado se evapora a sequedad. El residuo puede ser pesado como barbitúrico.

## 2) Extracción de vísceras. (Método de Ogier-Khon-Abrest).-

La masa de vísceras destinadas a la investigación de barbitúricos, se tritura con la ayuda de un picador y se introduce luego en un balón. Se agrega a la masa así tratada, una vez y media su volumen de alcohol de 90° y se acidifica con ácido tartárico. Se deja gigerir durante algunas horas (unas 12) a 50-60°C. Terminada la digestión se enfría y se procede a filtrar el contenido del balón comprimiendo fuertemente con la ayuda de una tela, el residuo pastoso que queda en el filtro. El filtrado así obtenido es un líquido, intensamente coloreado, hay que tener en cuenta que de esta manera, juntamente con los barbitúricos se

extraen de las vísceras otras sustancias solubles en alcohol, por ejemplo ciertos líquidos. El tenor de alcohol del líquido a consecuencia del agua contenida en el mismo es ahora de alrededor de 70: El producto de la maceración de los órganos se debe purificar,, lo cual se hace por destilación al vacío.

Realizada la purificación y una vez eliminado el alcohol, queda un residuo acuoso y de reacción ácida que se trata con éter de petróleo, se agita adecuadamente y se decanta la capa de éter. Después se agota la fase acuosa con éter etílico, se elimina el disolvente y el residuo que queda se extrae con agua a ebullición. Este extracto acuoso se filtra y el filtrado se evapora a sequedad; si había barbitúricos debe quedar un residuo blanco y cristalino.

#### Técnica de Fabre-Pradet.-

Esta técnica se basa en la proteólisis de los órganos y vísceras por acción de la pancreatina, teniendo el método la ventaja sobre los ya descritos, de que es más simple y por lo tanto requiere menos tiempo para su ejecución (31).

Se comienza por machacar las vísceras mezcladas con un poco de agua destilada, hasta obtener una papilla, se agrega más agua y se calienta a ebullición algunos minutos. Se deja enfriar a 50-55° C. y se transvasa la masa a un recipiente de boca ancha, donde se somete a la acción de la pancreatina, agregada en la proporción de 1 g a 50 g de pulpa. Se lleva a una estufa mantenida a 50-55° C. La proteólisis puede darse por terminada después de un período de 10-12 horas y entonces se lleva todo a ebullición y se separa el residuo por centrifugación o filtración; el líquido centrifugado o filtrado debe ser perfectamente

te límpido, tratándoselo luego con éter etílico, previa acidificación del medio. Se decanta la fase etérea y luego se elimina este disolvente por evaporación, quedando en general un residuo blanco y cristalino.

#### Extracción por electrodiálisis.-

Al usar para la extracción de los derivados barbitúricos mezclados a distintos líquidos biológicos el campo eléctrico se tiene la ventaja de un poder de penetración superior a los solventes utilizados en los métodos clásicos, Además la cantidad extraída es mucho mayor pues según dice Fabre en un artículo aparecido en 1938 en el Journal de Pharmacie et de Chimie (32): La experiencia demuestra el bajo rendimiento obtenido en la extracción del luminal mezclado en soluciones lipóidicas de p pillas viscerales, pues él no pasa nunca de 20-25%, mientras que siempre es superior al 80% en la electrodiálisis.

### CAPITULO III

#### FUNDAMENTOS TEORICOS DE LA ELECTRODIALISIS

##### 1) Movilidad de los iones

La fuerza eléctrica que actúa sobre cada ión sometido a un campo eléctrico de intensidad  $H$  es  $F = Hq$ , donde  $q$  es la carga iónica.

Esta fuerza determina el movimiento del ión hacia el electrodo correspondiente, movimiento que es retardado por efecto de los choques del ión con las moléculas del solvente por un lado y por otro por acciones interiónicas.

La experiencia enseña que para pequeñas velocidades la resistencia del medio es proporcional a la velocidad, sea cual fuere el medio en que se mueve un cuerpo y la naturaleza de la fuerza exterior que actúa sobre éste, es decir que la fuerza exterior no aumenta la velocidad infinitamente sino que aquélla aumenta hasta una velocidad máxima que se mantiene, haciéndose su movimiento uniforme, es decir que:

$$V = \frac{1}{K} \cdot F$$

La velocidad que los iones alcanzan para el caso especial de  $H = 1$  (volts/cm) suelen denominarse velocidades de emigración y se representan por  $V$  y  $U$ .

Además la experiencia muestra que en general los iones de una sal tienen en el mismo campo velocidades diferentes:

$$V^+ = U^+ \cdot H$$

$$V^- = U^- \cdot H$$

##### 2) Viscosidad e hipótesis de la hidratación.- Fórmula de Stokes.

G.G. Stokes (1850) encontró que para pequeñas esferas de radio  $r$  que se mueven a través de un fluido (gas o líquido) cuyo coeficiente de viscosidad es  $\eta$ , la resistencia encontrada por la esfera en su movimiento es:

$$F = 6 \cdot \pi \cdot \eta \cdot v \cdot r$$

La aplicación de la fórmula anterior está sometida a ciertas reservas, ya que solo ha sido comprobada para partículas macroscópicas, pues en su deducción Stokes hizo las siguientes consideraciones previas:

- a) que la esfera es rígida y su superficie lisa,
- b) que las inhomogeneidades del medio sean pequeñas en relación al tamaño de la esfera,
- c) que no hay deslizamientos del medio sobre la superficie de la esfera,
- d) que la resistencia al movimiento se debe sólo a la viscosidad del medio.

#### Aplicación a los iones:

Para soluciones muy diluidas pueden considerarse despreciables las acciones interiónicas, de tal manera que al movimiento de los iones en el campo eléctrico se opone solamente una fuerza de naturaleza hidrodinámica.

Puede en primera aproximación aplicarse la fórmula de Stokes, sobre todo si el ión es suficientemente grande, y esperar un frotamiento proporcional de la velocidad:

$$F = q \cdot E = 6 \cdot \pi \cdot \eta \cdot v \cdot r.$$

Esta fórmula permite calcular  $r$  y los valores así encontrados son del mismo orden que los obtenidos por el estudio de los cristales por los rayos X, pero mientras que los radios en los cristales crecen con el número atómico, decrecen en las soluciones. La explicación más inmediata de este comportamiento, es ver en él una consecuencia de la hidratación de los iones. No es preciso buscar en las fuerzas químicas

la causa de la hidratación, sino que hay que interpretarla como una simple acción electrostática, ya que las moléculas de agua en el aspecto eléctrico se comportan como dipolos y son atraídas por los iones del electrolito disuelto. Cuanto mejor es el radio del ión, a igualdad de carga, tanto más se aprietan las líneas de fuerzas que de él parten y por lo tanto más intensa es su acción sobre las moléculas del disolvente, es decir, con mayor fuerza son retenidas las moléculas de agua. (36).

### 3) Fórmula de Kohlrauch

Ella permite calcular la conductibilidad equivalente ( $\Lambda$ ) en un electrolito, es decir, la conductibilidad medida entre dos superficies planas distantes un centímetro. de una solución encerrando en un volumen y el equivalente de la sal.

La conductibilidad equivalente depende fundamentalmente del tipo de electrolito (valencia de sus iones).

En lo que respecta a la variación de  $\Lambda$  con la concentración pueden señalarse dos clases de electrolitos: a) aquéllos cuya  $\Lambda$  modifica escasamente al disminuir la concentración; b) los que modifican apreciablemente  $\Lambda$  al diluirse la solución, aún en soluciones más diluídas.

Consideremos una solución electrolítica donde la concentración estequiométrica del soluto es de  $c$  equivalentes por litro, e indiquemos con  $\alpha$  la fracción de soluto que se encuentra en forma de iones libres, capaces de transportar la corriente y calculemos la cantidad de electricidad,  $q^-$  y  $q^+$  que los iones de cada clase que da el electrolito considerado, transportan en la unidad de tiempo (1 seg.).

Sea un plano virtual P normal a la dirección de la corriente de área S cm<sup>2</sup>; todos los aniones que en un cierto instante se encuentran en P, estarán después de t seg. a la distancia V, siendo V la velocidad de esos aniones y por lo tanto todos aquellos que se encuentran en el volumen S.V, habrán atravesado en dicho tiempo el plano P, transportando la carga eléctrica

$$\frac{F \cdot c \cdot S \cdot V}{1000}$$

$\frac{c \cdot S}{1000}$ , es el número de equivalentes de iones libres por mililitros de solución

F = constante de Faraday (F=96.500 Coulombs)

Resulta así que:

$$q = \frac{F \cdot c \cdot S}{1000} \cdot V^-$$

$$q^+ = \frac{F \cdot c \cdot S}{1000} \cdot V^+$$

Como la cantidad de electricidad q transportada por la corriente en tseg. es la suma de las cantidades de electricidad transportadas por los aniones y los cationes, resulta:

$$I = q + q^+ = \frac{F \cdot c \cdot S}{1000} (V^- + V^+) \quad (1)$$

De acuerdo a las leyes de Ohm:

$$I = \frac{V}{R} \quad ; \quad R = \frac{l}{S \sigma}$$

$$I = S \cdot \frac{\Delta V}{l} \quad (2)$$

igualando (1) y (2)

$$\frac{F \cdot c \cdot S}{1000} (V^- + V^+) = \frac{\Delta V}{l}$$

Pero  $\frac{\Delta V}{l}$  es en valor absoluto la intensidad H del campo eléctrico en el interior de la células (caída de potencial por unidad de longitud en la

dirección normal a P), luego:

$$F \cdot d c (V^- + V^+) = \% H$$

y también

$$\frac{F \cdot d (V^- + V^+)}{H} = \frac{1000 \%}{c} = \lambda$$

donde  $\lambda$  es la conductancia equivalente del electrolito en la solución de concentración  $c$ .

Teniendo en cuenta que:

$$V^- = U^- H \quad \text{y} \quad V^+ = U^+ H$$

Se obtiene

$$\lambda = d F (U^- + U^+)$$

Si se hace además

$$u^- = F U^-$$

$$u^+ = F U^+$$

Se tendrá en general

$$\lambda = d (u^- + u^+) \quad (34)$$

#### 4 ) Ley de dilución

De acuerdo a la teoría de la disociación iónica de Arrhenius, a una apreciable concentración solo una fracción  $\alpha$  del ~~soluto~~ electrolito está disociado en iones, y si las velocidades de los iones son constantes, tenemos para la conductividad equivalente la fórmula anteriormente deducida, pero si suponemos que todos los iones toman parte en la conducción de corriente, lo cual se consigue a dilución infinita, donde es igual a 1, tenemos:

$$\frac{\lambda}{\lambda_0} = \alpha \frac{u^- + u^+}{F(U^- + U^+)} \quad (3)$$

así el grado de disociación de un electrolito puede ser calculado por



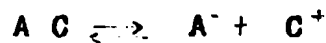
medidas de conductividad.

Pero el fundamental error de esta deducción es de que las velocidades iónicas no son constantes, debido a la interacción de los iones a apreciable concentración.

Teniendo en cuenta esta circunstancia en lugar de  $\lambda$  se pone  $\lambda_0 f$ , en la cual  $f$ , indica el llamado coeficiente de conductividad, que es una función de la concentración y que a dilución infinita tiende al valor 1. Teniendo en cuenta esto se puede poner:

$$\alpha = \frac{\lambda}{\lambda_0 f}$$

Si se considera un electrolito ordinario que en solución se disocia en dos iones se establece un equilibrio representado por la reacción:



Aplicando la ley de acción de masas:

$$K = \frac{(A^-)^+ (C^+)^+}{(A C)}$$

Siendo  $c$  la concentración inicial y  $\alpha$  el grado de disociación, las concentraciones ( A ) y ( C ) se representan cada una por  $c \cdot \alpha$  y la concentración ( AC ) será:  $c \cdot (1-\alpha)$ .

Reemplazando:

$$\frac{c \cdot \alpha \cdot c \cdot \alpha}{c(1-\alpha)} = \frac{c \cdot \alpha^2}{(1-\alpha)} \quad \alpha = \frac{1}{v}$$

$$\frac{\alpha^2}{v(1-\alpha)}$$

Ley de dilución (4)

puede ser calculado para diferentes concentraciones por (3).

Si se llevan a (4) los valores experimentales y  $v$  respectivos se constata que la ley de dilución es exacta solo para las soluciones

diluidas de los electrolitos débiles, pero inexacta para los electrolitos fuertes. (33).

5 ) Disociación completa de los electrolitos fuertes. Actividad.-

Por esta razón entre otras, es necesario considerar a los electrolitos fuertes como enteramente disociados en solución acuosa y reemplazar la noción de concentración por la de actividad, porque como hemos visto anteriormente en la mayoría de los casos no se cumple rigurosamente la ley de acción de masas y la constante de equilibrio  $K$  varía con la composición del sistema.

Para corregir los resultados de la ley de acción de masas, pueden emplearse dos métodos: uno fundado en el desarrollo teórico de un supuesto mecanismo para cada tipo de proceso físico-químico; otro puramente empírico que consiste en mantener la forma de las ecuaciones derivadas de la ley de acción de masas, pero sustituyendo en ellas las concentraciones por valores llamados Actividad que la hacen rigurosamente válida en todos los casos.

La actividad aparece como una concentración ficticia que se coloca en lugar de la concentración real en la expresión de la ley de acción de masas, dando por definición un valor constante para la expresión (4).

Teóricamente y experimentalmente puede demostrarse que el comportamiento de las soluciones se aproxima al comportamiento previsto por la fórmula clásica de la ley de acción de masas, a medida que la dilución crece; a dilución infinita a  $c$ .

A cualquier concentración  $c$  el cociente  $\frac{a}{c}$  expresa cuantitativamente la discrepancia de ese estado respecto al estado ideal (dilución infinita) y es una medida de la imperfección de la solución. Este co-

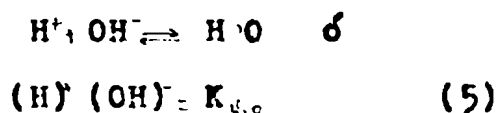
ciente se llama "coeficiente de actividad" y de acuerdo a las diferentes maneras de expresar la concentración (concentración molar  $c$ ; molaridad  $m$ ; y fracción molar  $N$ ) se definen diferentes valores:

$$f = f_c = \frac{a}{c} \quad ; \quad f_m = \frac{a}{m} \quad ; \quad f_N = \frac{a}{N}$$

Los coeficientes de actividad  $f_c$  y  $f_m$  son los empleados habitualmente y se los llama: coeficientes de actividad prácticos; mientras que  $f_N$  es el coeficiente de actividad racional. (34)

## 6 ) Hidrólisis

En el fenómeno denominado hidrólisis se trata de la reacción entre los iones producidos por el equilibrio de disociación del agua:

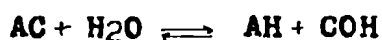


y los productos de la disociación electrolítica de la sustancia disuelta.

Cuando una sal se disuelve en el agua, se obtiene una solución cuya reacción puede ser neutra, alcalina o ácida, según la naturaleza de la sal. Se pueden considerar cuatro casos:

- Una sal de ácido y base fuerte; p.ej.  $ClNa$ ,  $NO_3K$ .
- Una sal de una base fuerte y un ácido débil; p.ej.  $AcONa$ ,  $CNK$ .
- Una sal de base débil y ácido fuerte, tal como  $SO_4Cu$ ,  $ClNH_4$ .
- Una sal de ácido y base débil, tal como  $AcONH_4$ .

Para todas las sales salvo las del tipo a), el fenómeno se explica clásicamente por la acción química del solvente, que se conoce con el nombre de hidrólisis. El esquema clásico general del proceso de hidrólisis es el siguiente:



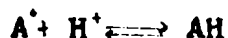
donde A y C indican respectivamente el anión y el catión de la sal.

a) Hidrólisis de las sales de ácidos débiles y de base fuerte.-

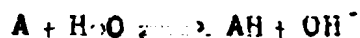
La sal se disocia según el esquema:



pero los iones H producidos por la disociación del agua pueden también unirse parcialmente con los iones A, esto es, producirse la reacción:



hasta que se alcance el equilibrio. Mientras que a causa de esta reacción se consumen iones H, debe según (5) quedar en libertad la cantidad correspondiente de iones OH, esto es, la solución adquiere reacción alcalina. Tenemos para el proceso total de hidrólisis la ecuación característica:

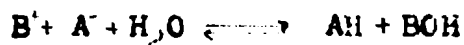


b) Hidrólisis de sales de ácidos fuertes y de bases débiles.-

Todas las sales que pertenecen a esta categoría tienen una reacción ácida en solución acuosa a causa del predominio de iones H.

c) Hidrólisis de ácidos débiles y de bases débiles.-

La reacción de las soluciones acuosas de sales de este tipo, depende de la fuerza y de la solubilidad del ácido y de la base. La ecuación general de hidrólisis es:



7) Cantidad de sustancia transportada por electroforesis

Se puede calcular esta cantidad si se conocen los valores del campo eléctrico, movilidad de los iones y el coeficiente de disociación de la sustancia.

Habiéndose ya demostrado que la participación del anión a la co-

corriente total, está representada por:

$$I = \alpha \cdot H \cdot F \cdot U$$

se puede establecer ahora otra relación basándose en que la cantidad de electricidad transportada por un equivalente químico de cualquier ión es igual a 1 Faraday; se puede escribir:

$$I = \frac{q}{M} \cdot a \cdot F \quad (6)$$

q = cantidad de sustancia transportada en 1".

M = peso molecular de la sustancia.

a = valencia del ión.

Igualando se obtiene:

$$\alpha H \cdot F \cdot U = \frac{q}{M} \cdot a \cdot F$$

de donde

$$q = \frac{M \cdot \alpha \cdot H \cdot U}{a}$$

### 8) Aplicación de estas nociones a la electrodiálisis

Las nociones expuestas anteriormente nos van a servir para explicar los resultados de la experiencia, y a modificar convenientemente el pH o el dispositivo de electrodiálisis con el fin de obtener una mayor cantidad de sustancia electrodiálizada en el mismo tiempo o en un tiempo menor.

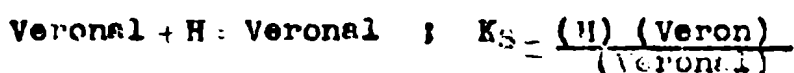
En las experiencias realizadas se observa un bajo rendimiento con potencial y luminal por unidad de tiempo, debido a la pequeña movilidad iónica, en cambio este bajo rendimiento es normal si se tiene en cuenta su bajo coeficiente de disociación, pues ya se demostró anteriormente que la cantidad de sustancia transportada por el campo eléctrico es directamente proporcional al coeficiente de disociación de la sustancia.

Suponiendo que la sal resultante de la combinación de un barbitúrico con una base débil se la puede comparar a un electrolito para el cual el coeficiente de disociación es igual a la unidad, se deduce de la fórmula (6) que la cantidad de barbitúrico extraído por electrodiálisis de su sal es igual a:

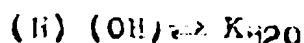
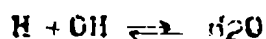
$$q(\text{Sal}) = q(\text{Acido}) \frac{\lambda_{\text{Sal}}}{\lambda_{\text{Acido}}}$$

Siendo  $\lambda$  del acido muy pequeño para el caso del veronal  $q(\text{Sal})$  deberá luego ser muy grande; pero los resultados de la experiencia no concuerdan con la hipótesis anterior.

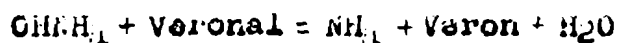
Se debe admitir entonces que no es correcto considerar las combinaciones de los barbitúricos con las bases débiles como electrolitos enteramente disociados, sino que hay que tener en cuenta el fenómeno de hidrólisis, es decir que tanto los iones H como OH del agua contribuyen a formar ácido y base indisociados:



La combinación de estas relaciones con la ecuación



da las siguientes ecuaciones de hidrólisis:



$$K_{\text{hidr.}} = \frac{(\text{OHNH}_4) (\text{Veronal})}{(\text{NH}_4) (\text{Veron})}$$

Las cuatro constantes de equilibrio  $K_{\text{H}_2\text{O}}$ ,  $K_{\text{hidr.}}$ ,  $K_S$  y  $K_R$  están relacionadas entre sí por la siguiente ecuación

$$K_{\text{hidr}} = \frac{K_{\text{H}_2\text{O}}}{K_{\text{S}} K_{\text{B}}}$$

El grado de hidrólisis, es decir,  $K_{\text{hidr}}$ , será tanto mayor cuanto más elevado sea  $K_{\text{H}_2\text{O}}$  y cuanto menor sean  $K_{\text{S}}$  y  $K_{\text{B}}$ .

También se puede invocar para explicar los resultados de la experiencia, las variaciones de pH que se producen en el compartimiento central, debido a la desigualdad de movilidad de los dos iones de la sal, pues el catión se elimina más rápidamente que el anión, obteniéndose así una acidificación del medio. En consecuencia al cabo de un cierto tiempo de electrodiálisis se estará en las mismas condiciones que si se operara sobre el barbitúrico tal cual.

## CAPITULO IV

### APARATOS DE ELECTRODIALISIS

Numerosos son los dispositivos usados hasta el presente para el trabajo de electrodiálisis. Mencionaremos aquí solamente algunos de ellos, que por su sencillez, facilidad de construcción y efectividad puede ser hecho en cualquier laboratorio.

Es de Dhéré (3) el primer aparato, pero éste tenía el inconveniente de llevar colocado dentro del líquido uno de los electrodos, de esta manera los electrolitos desprendidos del líquido por acción de la corriente eléctrica podían entrar en acción con el líquido con el líquido a dializar, inconveniente que fué subsanado por otros autores y por el mismo Dhéré, consiguiendo separar el líquido anódico, el catódico y el líquido en exámen. (Fig.1 y 1').

El aparato usado por Bernhard y J.J. Beaver (11) en sus experiencias consistía en tres tubos de vidrio Pyrex uno dentro del otro; en el exterior colocaban 50 ml. de agua destilada y un electrodo de platino, siendo este el polo negativo, el segundo tubo termina en una membrana y en él se coloca el líquido a electrodiálizar; en el tercer tubo que es el interior, termina también en una membrana, colocándose además 15 ml. de agua destilada y el otro electrodo de platino. Trabajaban colocando el aparato en un baño a 25 C, siendo las membranas de papel pergamino. (Fig.2).

El aparato de Vernicke (36), similar al de Pauli, estaba constituido por dos cámaras laterales formadas por dos anillos de vidrio y la central donde se coloca el líquido a electrodiálizar, siendo esta de ebonita; las cámaras laterales son lavadas con agua bidestilada que se recoge en recipientes separados. (Fig.3).

El de Di Benedetto (37) que es análogo al de Vernicke consta de



trés cámaras de vidrio, la central es en forma de anillo con una sola perforación en la parte superior para introducir el líquido en experiencia, las laterales tienen forma de cápsula con dos perforaciones, una en la parte inferior y otra en la superior para entrada y salida del agua que lava estas cámaras arrastrando y disolviendo los iones que han dializado y que son llevados a dos recipientes separados, en estas cámaras se colocan dos electrodos de platino, de forma circular, estando estas cámaras separadas entre sí por membranas a través de las cuales dializan los iones; dos tornillos laterales permiten ajustar las piezas y hacer en esta forma un cierre hermético. En el circuito se intercala un voltímetro y un miliamperímetro. (Fig.4).

Otro aparato de muy fácil construcción debido a F.E. Bartell (38), consiste en un tubo de vidrio A de 6 cm. de diámetro y 20 cm. de longitud en el cual hay una abertura en donde se inserta un corto tubo B de alrededor 5 cm. de diámetro y 4 a 5 cm. de longitud. Los extremos de este tubo largo son cerrados con sendos tapones de caucho a través del cual han sido hechas tres perforaciones; una en el centro que sirve de soporte a un electrodo P, y los otros dos G y H para entrada y salida del agua respectivamente. El compartimiento dializador consiste en un saco de colodio D de forma alargada, en donde se coloca el líquido que debe ser dializado. Para evitar que este saco se ponga en contacto con los electrodos se fijan dos discos perforados de celuloide K que actúan además soportándolo. Un tubo de salida f es colocado en el cuello del saco para evitar la formación de una alta presión osmótica. (Fig.5).

Otro aparato muy usado también, especialmente para la purifica-

ción de proteínas de la sangre, es debido a D.B. Roxburgh y H. Marschelle (39). Es este muy parecido al descrito anteriormente, pero parece ofrecer algunas ventajas más, tanto en su construcción como en su uso.

Consiste en un cilindro central de vidrio de 46 mm. de diámetro y 60 mm. de longitud. Estos cilindros son cerrados con tapones de goma llevando cada uno un tubo de vidrio f, en los cuales se adhiere una espiral de alambre de platino, y los pequeños tubos de vidrio g y h para entrada y salida del agua destilada. (Fig. 6).

Se conoce otro dispositivo de electrodiálisis que consigue la separación del ión a investigar cuando este pasa por el compartimiento intermedio y es debido a I.L. Marieq y F. Rochat (40). En el compartimiento catódico C está sumergido un refrigerante, un electrodo y eventualmente un agitador. El otro compartimiento que contiene el éter y el agua acidulada por el ácido clorhídrico, está constituido por una pequeña bola hueca en forma de oliva (c) abierta en su parte inferior mediante cuatro pequeños orificios. Esta oliva está soldada a un tubo de vidrio y colocada a una altura conveniente en la zona de separación de los líquidos no miscibles, animada además de un movimiento rápido de rotación. Ella aspira por fuerza centrípeta el líquido que se encuentra en su parte inferior y lo proyecta hacia el líquido menos denso (éter).

En el caso de que haya que separar por ejemplo un alcaloide, la capa superior está constituida por éter y la inferior por agua alcalinizada con amoníaco. La base alcaloídica es de esta manera captada al pasaje por el éter. Los electrodos son hilos de platino arrollados al refrigerante. (Fig. 7).

Pero el aparato más simple y eficaz para el trabajo de electrodiálisis es el usado por Dhéré. En nuestro trabajo se ha utilizado el de Sabre que es una modificación de aquel primero.

Este reúne una serie de cualidades:

- 1 ) Aparato muy simple y empleo fácil.
- 2 ) Obtiene un volumen catódico y anódico pequeño, de tal manera que el tóxico puede caracterizarse inmediatamente, o en su defecto extraerse rápidamente.
- 3 ) Crea una refrigeración intensa de manera de evitar elevación de temperatura por acción de la corriente eléctrica, lo cual pasa en medios ricos en electrolitos, como son los biológicos.

Además la elevación de temperatura provocaría una hidrólisis de las sustancias proteicas, impurificando de esta manera los líquidos catódicos y anódicos.

También algunos tóxicos como el veronal son muy sensibles a esta hidrólisis sobre todo si ellos se encuentran en medio ácido o alcalino.

Descripción del aparato.- Consta de un cristallizador de 12 cm. de diámetro y dos tubos de vidrio cilíndricos de 6 y 9 cm. Los electrodos son circulares, de alambre de platino, de aproximadamente 4 cm de diámetro.

Los tubos cilíndricos reposan sobre los soportes R, constituidos por tubos de vidrio sobre los cuales se hace circular agua para evitar aumentos de temperatura.

Refrigerante: está constituido por dos tubos cilíndricos de vidrio, uno de los cuales doblado repetidas veces descansa sobre el cristallizador ocupando toda su superficie; el otro que adopta la misma forma que

éste se encuentra en el interior del tubo de 9 cm. de diámetro apoyado en su borde. Las partes horizontales de los refrigerantes sirven de soporte a los cilindros.

Membranas: su variedad es considerable; papel ordinario, pergamino, animales, colodión etc. Por comodidad en nuestro trabajo se usó membranas de papel celofán de un peso aproximado de 35 g. por m<sup>2</sup> que se encuentran comunmente en el comercio, las cuales han dado un resultado satisfactorio. (Fig.8).

CAPITULO V

PARTE EXPERIMENTAL

Método usado para la valoración del derivado barbitúrico.-

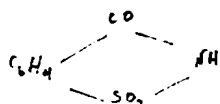
Varias técnicas se ensayaron para efectuar la valoración del barbitúrico, pero ninguna de ellas resultó lo suficientemente práctica como para poder ser aplicada a nuestro trabajo, excepto la dada por H.A. Mangouri y L. Milad.

El método de extracción por el éter ácido y pesada posterior se desechó, pues no es un método lo suficientemente exacto ya que las múltiples operaciones a que hay que someter al residuo para desembarazarlo de impurezas, microsublimación, decoloración con carbón activado etc. , lo hace poco recomendable además de muy poco práctico.

1 ) Método del xanthidrol.-

En los primeros ensayos que se realizaron se trató de dosar al compuesto por precipitación con xanthidrol, pues por los trabajos de H. Fosse (41) y R. Fabre (42) se sabía que el grupo oxhidrilo del xanthidrol se une fácilmente a los átomos de hidrógeno ácidos de numerosos compuestos orgánicos para dar productos de condensación con eliminación de una molécula de agua.

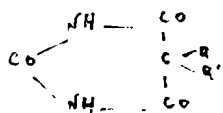
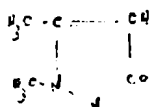
Entre estos compuestos figuran por un lado aquellos donde los átomos de H sustituibles están fijados al nitrógeno como la sacarina



a la fórmula general

y el veronal , y demás barbitúricos que responden

antipirina



y por otra parte la

Técnica.- Una solución de 0,1 g. de veronal en 10 ml. de ácido acético se le agrega 2g. de xanthidrol, llevando la mezcla a ebullición durante algunos instantes.

Durante el enfriamiento se va formando un precipitado cristalino cada vez más abundante. Se deja en reposo algunas horas y luego se lava con alcohol hirviendo con el fin de eliminar el exceso de xanthidrol que podría impurificarlo.

No resultó como método cuantitativo ya que el dixantilveronal es algo soluble en el acético que sirve como agente de condensación y también en el alcohol que se usa como líquido de lavado. Se ensayó lavar el precipitado con otros líquidos orgánicos, entre ellos cloroformo y acetona, pero no dieron resultados satisfactorios, por lo tanto este método podría ser aplicable para determinaciones cualitativas pero no cuantitativas, al menos hasta que no se hagan estudios más profundos al respecto.

## 2 ) Método colorimétrico.-

Se ensayó también para la valoración del barbitúrico un método colorimétrico basado en la reacción de Parri, efectuada en medio glicerinado, pero con una solución de  $\text{NH}_3$  en alcohol etílico de 96% como reactivo alcalino. Se obtiene una solución coloreada, límpida, que obedece a la ley de Lambert-Bear. (43).

### a) Reactivos:

- 1 ) Alcohol etílico de 96%.
- 2 ) Solución al 1,5% de nitrato de cobalto cristalizado, en alcohol etílico a 96%.
- 3 ) Solución al 2% de  $\text{NH}_3$  en alcohol etílico a 96%.
- 4 ) Glicerina.
- 5 ) Solución patrón de ácido dietilbarbitúrico al 1%, en alcohol a 96%.

b) Aparato:

Colorímetro Dubosq.

Técnica: En un tubo colorimétrico se mezclan: 1 ml. de la solución alcohólica del barbitúrico a dosar con tres gotas de glicerina y se llevan a un baño-maría calentado a 70-80°C donde se mantiene durante 10-20" para solubilizar la glicerina. Después se agregan 0,3 ml. de la solución de nitrato de cobalto y se añade la cantidad de alcohol etílico 96% necesario para obtener un volumen de 9 ml.

En otro tubo colorimétrico se mezclan 1 ml. de la solución patrón de veronal (corresponde a 0,01 g. de veronal) y los demás reactivos procediendo de la misma manera como con el desconocido.

A cada tubo agregar 1 ml. de la solución de  $\text{NH}_3$  y se agita para homogeneizar. Se desarrolla entonces una coloración violeta, dependiendo su intensidad de la cantidad de barbitúrico presente. La lectura debe ser hecha exactamente 5' después de la aparición del color.

El ensayo en blanco se prepara con tres gotas de glicerina, 0,3 ml. de la solución de nitrato de cobalto y diluyendo a 10 ml. con alcohol etílico de 96%.

c) Cálculo:

$$\frac{e_2}{e_1} = \frac{x_1}{x_2}$$

Estando la concentración de una sustancia dada por la relación entre el peso de sustancia  $x_1$  y  $x_2$  y el volumen de solución  $v_1$  y  $v_2$  se tiene:

$$e_1 = \frac{x_1}{v_1} \quad \text{y} \quad e_2 = \frac{x_2}{v_2}$$

de donde se deduce el valor de  $x_2$ .

x1 cantidad de sustancia en la solución testigo.

x2 cantidad de sustancia en la muestra.

l1 y l2 espesores que corresponden a la igualdad de coloración en las soluciones.

v1 y v2 volúmenes respectivos de las dos soluciones de la sustancia.

d) Resultado:

Cuando la concentración de barbitúrico es igual o menor que 1 mg/ml se desarrolla un color violeta en el momento en que se añade el reactivo alcalino, para después casi desaparecer y dar lugar a una tenue coloración, la cual debe ser leída a los 5' de ejecutada la reacción.

En todos los casos se usó como solución patrón la solución de ácido dietilbarbitúrico, aunque para mayor precisión se puede usar un patrón específico para cada barbitúrico.

Se hicieron con este método una serie de determinaciones, usando veronal y luminal, tomando en todos los casos cantidades conocidas del derivado barbitúrico, pero a pesar de ser un método bastante exacto y sensible como indican los autores, no dió resultados del todo satisfactorios, según parece por carecer de un colorímetro adecuado, ya que los autores mencionados aconsejan el uso de un fotocolorímetro.

### 3 ) Método de H. A. Mangouri y L. Milad.-

Para todas las determinaciones cuantitativas del derivado barbitúrico en las operaciones de electrodiálisis, se adoptó un método volumétrico original de H.A. Mangouri y L. Milad (44) dada su sencillez, exactitud y practicabilidad.

Se comenzó primeramente por ensayar el método usando cantidades conocidas de barbitúrico, cantidades que variaban entre 10 y 100 mg.,



siendo los resultados obtenidos bastante satisfactorios.

Técnica.- A una cantidad conocida del derivado barbitúrico suspendido en 20 ml. de agua, añadir 10 ml. de solución de acetato de sodio (10% p/v) y con la ayuda de un calor suave disolverlo en un ligero exceso de solución diluida de  $\text{NH}_3$ . Añadir un volumen conocido y en exceso de  $\text{NO}_3\text{Ag}$  N/10 y alrededor de 0,1 g. de  $\text{CO}_3\text{Ca}$  puro y hervir el líquido por 2 o 3', enfriar, filtrar a través de un crisol de placa filtrante y lavar el precipitado con 5 ml. de agua fría cada vez, hasta reacción negativa del ión  $\text{Ag}$ ; acidificar el filtrado con  $\text{NO}_3\text{H}$  y titular el exceso de  $\text{NO}_3\text{Ag}$  con tiocianato de potasio N/10, usando alumbre férrico como indicador. Teniendo en cuenta que se forma una sal diargéntica según la siguiente ecuación:



se deduce: 1 ml. de solución N/10 de  $\text{NO}_3\text{Ag}$  es equivalente a 9,20 mg. de veronal o 11,6 mg. de luminal.

Resultado:

Compuesto	Cantid. pesada Mg	Volum. soluc. NO <sub>3</sub> Ag N/10 Ml	Volum. soluc. SCNK N/10 Ml	
	100	30,89	20,08	99,45
	100	30,42	19,57	99,82
	100	30,25	19,43	99,59
	50	15,26	9,87	99,32
	50	15,85	10,45	99,38
Ac. Dietil	50	15,4	10	99,44
barbitur.	25	10,25	7,55	99,4
	25	10,80	8,11	99,35
	25	11,25	8,56	99,28
	10	8,25	7,18	99,28
	10	7,55	6,8	99,22
	10	7,90	6,83	99,20
	100	28,95	20,39	99,32
	100	27,66	19,09	99,4
	100	30,04	21,46	99,56
	50	15,22	10,95	99,22
Ac. Fenil-	50	16,25	11,97	99,28
	50	15,9	11,63	99,25
etil-barb.	25	10,20	8,07	99,23
	25	11,50	9,36	99,22
	25	10,36	8,23	99,18
	10	8,44	7,59	99,18
	10	8,41	7,56	99,15
	10	8,43	7,58	99,16

En todos los casos el barbitúrico contenido en el líquido anódico del electrodiálizador, era separado por extracción con un disolvente adecuado, se purificaba y luego se efectuaba la valoración.

El método que se ha seguido está basado en el de Stas-Otto en el cual el éter ácido abandona el barbitúrico durante la evaporación; la técnica ha sido modificada por Griffon y Le Breton.(26).

Técnica: 80 ml. De la solución anódica son acidificados con 6 ml. de ácido acético al 10% y se extrae tres veces con 20 ml. de éter sulfúrico cada vez. Las fracciones etéreas se reúnen en un embudo de decantación y previa agitación se elimina la parte acuosa.

La filtración del éter es una etapa importante y tiene por objeto el de separar por adsorción impurezas coloreadas que han sido extraídas.

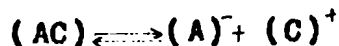
Se lleva a cabo en un tubo de ensayo preparado de la siguiente manera: en la parte inferior se le practica un orificio ablandando el tubo en el mechero y soplando por el extremo abierto. El orificio se obtura con un pequeño tapón de algodón embebido en éter, sobre el cual se colocan sucesivamente una capa de carbón activo o, una de magnesio calcinado y una última superior de sulfato de sodio anhidro. Cada capa tiene aproximadamente 1 cm. de espesor.

El filtrado se recoge en un vaso de precipitado y se lo evapora lentamente a baño-maría tibio.

Luego se sigue con el método descrito anteriormente.

La diálisis en la electrodiálisis.-

En un electrolito débil en solución acuosa existe el siguiente equilibrio:



es decir que al lado de los iones positivos o negativos se encuentran moléculas eléctricamente neutras. Es necesario saber que papel desempeñan estas moléculas durante la electrodiálisis, ya que ellas obedecen únicamente a las fuerzas de difusión.(45).

Una experiencia simple permite dar cuenta de esta diálisis.

En el compartimiento central de un electrodiálizador se colocó 0,1 g. de ácido crómico en 60 ml. de agua, y un electrodo en cada uno de los otros dos compartimientos. Desde el comienzo se observa una ligera coloración amarilla en el cátodo, prueba de la diálisis de la sustancia del compartimiento central hacia el compartimiento de signo opuesto a aquel del ión coloreado.

Es decir, que existe un transporte de la sustancia en un sentido contrario al del transporte eléctrico. Además la diálisis juega un rol tanto más importante cuanto más disociado sea el electrolito; exactamente el caso contrario que en la verdadera electrodiálisis.

Se puede demostrar fácilmente la importancia de esta diálisis mostrando el aumento del rendimiento que resulta cuando aquella no tiene lugar.

Para suprimirla se dispone de dos procedimientos: uno consiste en añadir éter etílico sobre la capa de agua anódica, de esta manera las moléculas de veronal o luminal a medida que se forman en el ánodo pasan al solvente, escapando así a la acción de la diálisis pues ellos

no existirán más en la fase acuosa.

En realidad el fenómeno no se suprime totalmente, pues él depende del coeficiente de partición del barbitúrico en el sistema agua éter.

El otro procedimiento, que fué precisamente el que se ha usado en estas experiencias para disminuir los efectos retardadores de la diálisis, consiste en renovar continuamente el líquido anódico.

El aparato estaba dispuesto de tal manera que en el compartimiento superior que no encerraba más de 25 ml. de agua destilada estaba el electrodo positivo, y en el más inferior el electrodo negativo.

En el compartimiento anular se colocó 0,500 g. del barbitúrico disuelto en 150 ml. de agua.

Se hicieron dos series de experiencias: en la primera de ellas, la electrodiálisis se realizó de la manera común, determinando la cantidad de barbitúrico remanente en el compartimiento central.

En la segunda serie se renovó continuamente el líquido anódico mediante un dispositivo en forma de sifón, siendo renovado aquel de una manera continua mediante el empleo de otro sistema de tubos conectados a una fuente de agua destilada.

Se determinó aquí también el barbitúrico remanente después de haber electrodiálizado el mismo número de horas que en la experiencia anterior.

Se dan los resultados promedios de cinco determinaciones:

---

	Veronal G	Tiempo Horas	Dif.de Pot. Volt	Rendimiento G
Sin renovación	0,500	15	120	0,068
Con renovación	0,500	15	120	0,132

---

— • —

---

	Luminal G	Tiempo Horas	Dif.de Pot. Volt	Rendimiento G
Sin renovación	0,500	15	120	0,059
Con renovación	0,500	15	120	0,110

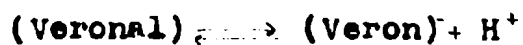
---

— • • —



Potencial mínimo de electrodiálisis.-

Si en el fenómeno de electroforesis tuviera lugar únicamente la electrodiálisis, todo el barbitúrico contenido en la célula central pasará al compartimiento anódico por desplazamiento del equilibrio:



hacia la izquierda cualquiera sea la diferencia de potencial aplicada.

Pero habiéndose demostrado la existencia de un transporte de sustancia en sentido inverso del de la electrodiálisis propiamente dicha, y teniendo en cuenta que la velocidad de electrodiálisis es proporcional a la diferencia de potencial aplicado, debemos suponer que para pequeñas diferencias de potencial llegará el instante en que la velocidad de electrodiálisis y la velocidad de diálisis sean iguales en valor absoluto, y de esta manera aún prolongando indefinidamente la operación la cantidad de barbitúrico permanecerá constante.

A la diferencia de potencial debajo del cual es imposible extraer cuantitativamente esa sustancia a una concentración y temperatura determinada, se lo llama "potencial mínimo de electrodiálisis".

Determinación experimental de este potencial.-

Por cálculo es casi imposible determinar exactamente este valor pero mediante rápidas experiencias y usando concentraciones elevadas podremos saber si la diferencia de potencial que nosotro disponemos es superior al potencial mínimo de electrodiálisis.

Para ello se hace la siguiente experiencia: en el compartimiento catódico de un aparato de electrodiálisis simplificado se coloca una solución de 1 g. de veronal en 200 ml. de agua; en el anódico se colocan 20 ml. de agua.

Al cabo de algunas horas se podrá constatar la presencia de numerosos cristales en suspensión en el líquido anódico. La presencia del primer cristal indica que de ese momento la velocidad de diálisis del veronal del cátodo ánodo hacia el cátodo ha alcanzado su valor más grande, pues el líquido anódico está saturado.

En estas experiencias se operó con cantidades relativamente grandes de veronal, por lo tanto, si aquella diferencia de potencial se revela conveniente para electrodiálisis de soluciones acuosas, puede ser con mayor razón empleado para los medios biológicos que no encierran sino pequeñas cantidades.

Así se ha comprobado que para el trabajo de electrodiálisis se puede aplicar cualquier diferencia de potencial, siendo de alrededor de 20 voltios el potencial mínimo para el caso del veronal y luminal.



Electrodiálisis de soluciones acuosas de Veronal y Luminal.-

Se hicieron una serie de experiencias de una duración de cuatro horas, para poner en evidencia la influencia que el medio y la diferencia de potencial aplicado tienen en la electrodiálisis.

En todas estas operaciones se trabajó en las mismas condiciones, es decir, en un aparato de tres compartimientos, con electrodos de platino colocados siempre a la misma distancia y con el mismo volumen de líquido en cada una de las cámaras, o sea:

Compartimiento anódico: 130 ml. de agua destilada.

Compartimiento catódico: 50 ml. de agua destilada.

Compartimiento central: 125 ml. de agua destilada.

1 ) Electrodiálisis de soluciones puras de Veronal y Luminal.-

Compuesto	Cantid.pesad. Mg	Dif.de Pot. Volt	Int.Máxim. Ma	Rendim. en 4 Horas Mg
Veronal	100	40	5	15
	100	120	12	31
Luminal	100	40	5	12
	100	120	10	27

2 ) Electrodiálisis de soluciones de veronal y luminal alcalinizado con 4 ml. de NH<sub>3</sub> (2N).-

Compuesto	Cantid.pesad. Mg	Dif.de Pot. Volt	Int.máxim. uA	Rendim.en 4 Horas Mg
Veronal	100	40	15	48,7
	100	80	50	68,2
	100	120	60	73
	100	160	85	77
Luminal	100	40	14	45
	100	80	45	60,3
	100	120	58	62
	100	160	80	65

3 ) Electrodialisis de soluciones de Veronal y Luminal alcalinizado con 2 ml. de dietilamina (33%).-

Compuesto	Cantid. pesad. Mg	Dif. de Pot. Volt	Int. máxim. Ma	Rendim. en 4 Horas Mg
Veronal	100	40	50	48,2
	100	80	90	65
	100	120	140	70,8
	100	160	190	73,3
Luminal	100	40	45	42
	100	80	87	59
	100	120	135	64,2
	100	160	198	68,5

4 ) Electrodíélsis de soluciones de Veronal y Luminal alcalinizado con OHNa.-

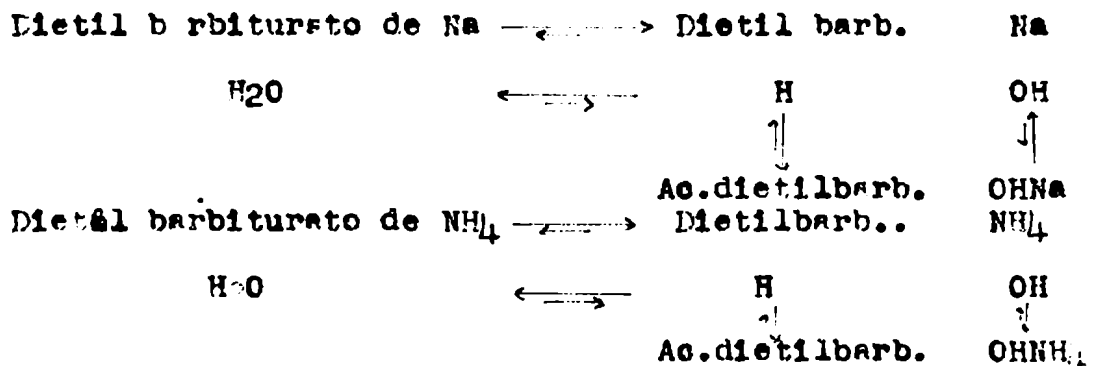
Compuesto	Cantid. pesad. Mg	Dif. de Pot. Volt	Int. máxim. Ma	Rendim. en 4 Horas Mg
Veronal	100	40	240	16
	100	60	410	18
Luminal	100	40	400	15,1
	100	60	400	17,2

En cada caso los datos de los cuadros de valores anteriores son promedios de tres determinaciones.

De su exámen se deduce que la electrodiálisis de soluciones puras no es conveniente, pues siendo los ácidos dietil y fenil-etil barbitúrico muy poco disociados, es necesario salificarlos para tener una ionización suficiente y de esta manera un mayor rendimiento en la operación.

La alcalinización con OHNa no es recomendable en razón de la hidrólisis considerable de la sal formada, que trae como consecuencia una desaparición demasiado rápida de la base y el retorno del barbitúrico al estado de ácido poco ionizado. Además los valores demasiado altos de la intensidad de la corriente que circula por el aparato es un inconveniente, pues en este caso se pone muy de manifiesto el fenómeno de electrolisis.

La adición de NH<sub>3</sub>, base débil, presenta la ventaja de formar una sal suficientemente disociada, además los grados de ionización del ácido barbitúrico y del NH<sub>3</sub> son muy vecinos:



Es posible también realizar estas experiencias en un aparato de dos compartimientos, siempre que el tóxico no sufra reacciones secundarias en el cátodo, como pasa con el veronal y luminal. (21).

Esta manera de operar ofrece por un lado algunas ventajas, como

ser, evita los inconvenientes derivados de las diferencias de velocidades de migración del anión y del catión, pero por otra parte y por la misma disposición del aparato se observa la existencia de una elevada presión osmótica que hace disminuir mucho el nivel de líquido en el compartimiento anódico con peligro de hasta producir la ruptura del circuito eléctrico y la detención de la operación.

Con el fin de eliminar esta diferencia de presión osmótica se agrega en unas gotas de ácido acético al agua del compartimiento anódico; se consigue de esta manera una nivelación de presiones, pero como de ésta manera también disminuye la resistencia del medio que se traduce en el pasaje de una mayor cantidad de electricidad por el aparato, con las consecuencias citadas anteriormente.

Resultado de experiencias realizadas con un aparato de dos compartimientos sin y con el agregado de gotas de ácido acético al agua del compartimiento anódico.

Promedio de tres determinaciones:

Compuesto	Cantid.pesad. Mg	Dif.de Pot. Volt	Int.máxim. MA	Rendim.en 4 Horas Mg
Veronal alc. con NH <sub>3</sub>	100	120	160	82
Idem con ag. de ác.acét.	100	120	350	73,4

Como se ve por el cuadro anterior, podría ser factible la reali-

zación de experiencias en un aparato así simplificado; pero sobre todo en operaciones de larga duración y en especial cuando se electrodiálizan líquidos biológicos no es recomendable sobre todo por la elevada temperatura que se produce, lo que hace necesario una refrigeración demasiado intensa, a veces sin conseguir que esta baje al valor normal.

En el caso común del aparato de tres compartimientos se observa a lo sumo un aumento de 3 a 4 C.

Las experiencias siguientes tuvieron por objeto determinar el número de horas que durar la electrodiálisis.

La práctica ha demostrado que es innecesario prolongar excesivamente la operación ya que llega el instante en que el aumento del rendimiento del barbitúrico es muy pequeño con relación al tiempo empleado.

Estas experiencias se realizaron en un aparato común de tres compartimientos y con fuerte refrigeración para evitar aumentos de temperatura.

Se dan los promedios de tres determinaciones:

Compuesto	Cantid. pesad. Mg	Dif. de Pot. Volt	Tiempo Hs	Rendimiento Mg
Veronal NH <sub>3</sub>	100	120	8	82,7
	100	120	16	89,2
	100	120	24	95,6
	100	120	32	97
Luminal NH <sub>3</sub>	100	120	8	72
	100	120	16	80,1
	100	120	24	88,3
	100	120	32	91,2

Electrodíalisis de soluciones de Veronal y Luminal mezcladas con distintos líquidos biológicos.-

Muy distinta es la cantidad de tóxico extraída, a igualdad de tiempo, cuando se electrodilizan soluciones acuosas de veronal e luminal que cuando se mezclan estos con distintos líquidos biológicos, porque en un tejido cualquiera debemos considerar la existencia de los electrolitos dializables por un lado y los coloides por otro, y ambos actúan dificultando la marcha de la operación como se ha comprobado en las experiencias siguientes:

1 ) Efecto retardador de los electrolitos dializables.-

Se hicieron experiencias electrodilizando soluciones acuosas de veronal y soluciones a las que se agregaron pequeñas cantidades de ClNa.

Los resultados promedios de tres determinaciones fueron los siguientes:

Compuesto	Cantid.pesad. Mg	Dif.de Pot. Volt	Tiempo Hs	Rendimiento Mg
Veronal	100	120	24	61,2
Ver. ClNa	100	120	24	35,4

Podría ser que los electrolitos presentes contribuyeran a aumentar la variación de pH en la célula central durante el curso de la operación, y como según algunos autores el pH tiene una influencia apreciable en la permeabilidad de la membrana, esta sería la causa de la



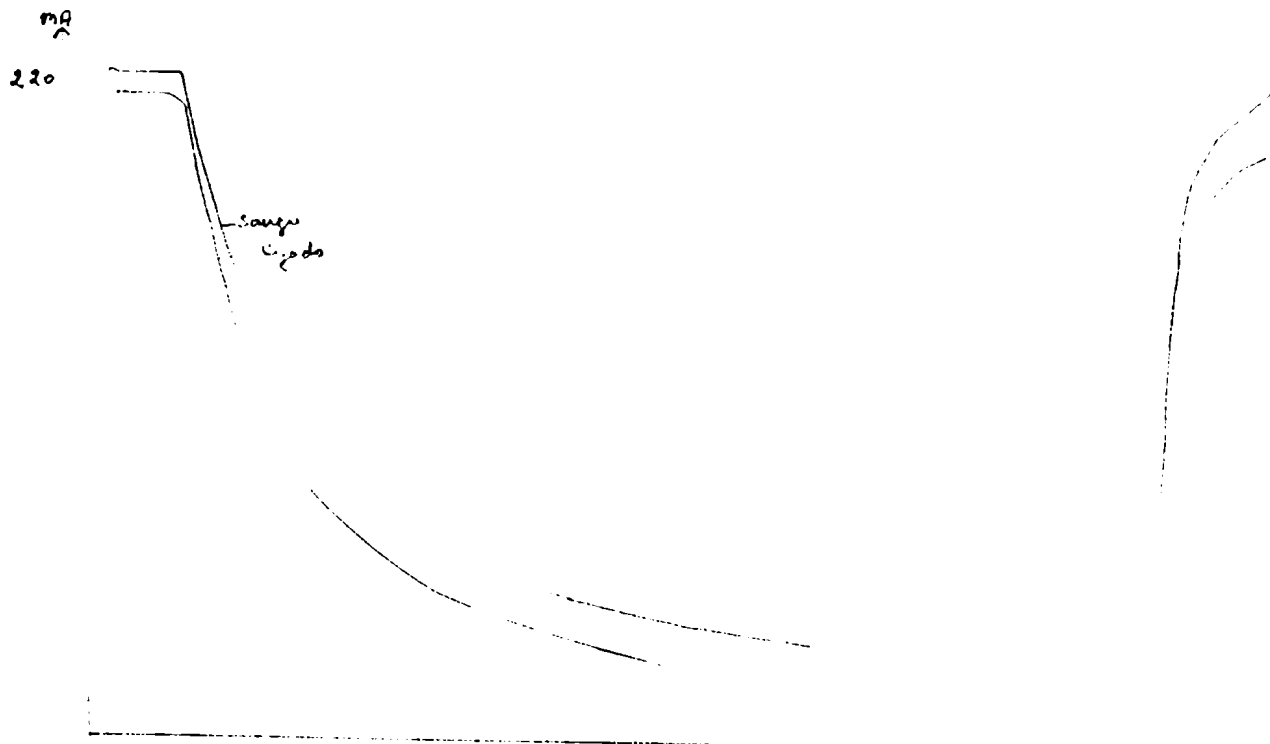
menor cantidad de tóxico extraída. (46).

Lógicamente se puede concebir también que esa variación de pH actúa modificando el equilibrio existente entre las moléculas no disociadas y los iones, es decir, que un aumento de la acidez del medio actuaría haciendo disminuir la disociación del veronal y por lo tanto retardando su eliminación por electrodiálisis.

2 ) Efecto retardador de las proteínas.-

Las experiencias consistieron en mezclar con un tejido cualquiera una cierta cantidad de veronal y electrodiálisis durante un intervalo de tiempo determinado, anotando además las variaciones de la intensidad de la corriente en función del tiempo.

Las curvas que se obtuvieron presentan en general la siguiente forma:



18/7/50

a) Curva de  $i$   $f(t)$  en sangre.-

Así se ha podido observar que la intensidad varía gradualmente hasta llegar a un máximo, lo que ocurre generalmente a los 15-20' de iniciada la experiencia. Esta primera parte no se representó en el gráfico. A partir de entonces la intensidad queda sensiblemente constante durante un intervalo de 20-25' aproximadamente.

La segunda parte de la curva muestra una caída brusca de la intensidad que se mantiene durante las cinco horas siguientes, luego la pendiente va disminuyendo paulatinamente durante las horas que siguen, llegando a ser casi horizontal.

Si al llegar a este punto se invierte el campo se observa un aumento brusco de la intensidad.

Siendo la intensidad de la corriente función del número de iones que atraviesan en un segundo una sección cualquiera del electrodializador, se ve al observar la curva que en un tiempo de alrededor de 40' existe un fenómeno retardador del pasaje de iones, llegando un momento en que su efecto inhibitor prácticamente se estabiliza 6 horas después de su aparición.

La explicación se puede dar teniendo en cuenta que en el medio biológico ensayado hay electrolitos y proteínas solubles. Estas proteínas consideradas como grandes iones modifican su carga según el pH del medio, es decir, se comportan como aniones o cationes, por eso bajo la acción de la corriente eléctrica las partículas coloidales también se mueven hacia el electrodo correspondiente, y por lo tanto ellas obturan los poros de la membrana, disminuyendo de esta manera la permeabilidad del celofán.

Entonces esa caída brusca de intensidad a los 40' de haber comenzado la electrodiálisis, puede ser debido a la débil movilidad de esos grandes iones, y la parte final de la curva correspondería al depósito total de las partículas coloidales sobre la membrana.

Además la curva que se obtiene cuando se invierte la corriente confirma esta hipótesis.

b) Curva de  $i = f(t)$  en papilla de hígado.-

Las curvas son semejantes a las descritas anteriormente.

c) Curva de  $i = f(t)$  en orina.-

Como en el medio en este caso hay una gran concentración de electrolitos dializables, no se observa durante la operación, ninguna variación notable de la intensidad de la corriente.

La observación de estas curvas nos permite dar una solución práctica al problema de la electrodiálisis, pues estas nos muestran que al cabo de 10 horas aproximadamente, todas las proteínas son depositadas sobre la membrana, quedando esta impermeabilizada al máximo.

La solución práctica sería la de someter al líquido biológico considerado a una primera electrodiálisis de 10 horas, luego recoger las soluciones anódicas y catódicas sustituyéndolas por nueva cantidad de agua destilada y cambiar la membrana, continuándose luego la electrodiálisis.

De esta manera se eliminan dos causas retardadoras: las sales minerales y las proteínas por un lado, y el efecto de la diálisis inversa por otro.

Las experiencias realizadas con este artificio, permitieron recoger una cantidad de barbitúrico mucho mayor, a igualdad de tiempo, co-

no puede observarse en el cuadro comparativo siguiente.

Los resultados son promedios de tres determinaciones:

Compuesto	Cantid. pesad. Mg	Dif. de Pot. Volt	Tiempo Hs	Rendimiento Mg
Veron. Sang. dil. al 1/20	100	120	40	70
Veron. Sang. comb. membr.	100	120	40	90,2
Veron. 25g. p. pil. Hígad.	100	120	40	60,2
Veron. Hígad. comb. membr.	100	120	40	82,4
Lumin. Sang. dil. al 1/20	100	120	40	65
Lumin. Sang. comb. membr.	100	120	40	84
Lumin. 25g. p. pil. Hígad.	100	120	40	55,8
Lumin. Hígad. comb. membr.	100	120	40	76,2

Las soluciones anódicas y catódicas recogidas son limpias, con una coloración ligeramente amarillenta las del compartimiento anódico.

Cuando el líquido sometido a estudio contiene gran cantidad de electrolitos, como sucede con las orinas, se observa el pasaje de una

cantidad de corriente muy grande, y la diferencia de potencial que se puede aplicar es de apenas 15-20 voltios, por lo tanto el rendimiento obtenido es escaso.

Para subsanar esta dificultad se dispuso el aparato de tal manera que el líquido del compartimiento catódico podía ser renovado de una manera continua, manteniéndose su volumen constante, y además se separó los electrodos al máximo.

Operando en esta forma se consigue un rendimiento bastante mayor pero se observa en cambio que los fenómenos osmóticos tienen lugar con mayor intensidad, trayendo como consecuencia una dilución muy grande del líquido del compartimiento anódico, con los consiguientes inconvenientes en su análisis, dada la pequeña cantidad de barbitúrico que se investiga.

Resultado promedio de tres determinaciones:

Compuesto	Cantid.pesad. Mg	Dif.de Pot. Volt	Tiempo Hs	Rendimiento Mg
Veronal Orin.	100	20	40	50
Id.con renov.	100	120	40	85
Lumin. Orin.	100	20	40	44,3
Id.con renov.	100	120	40	80,2

## CAPITULO VI

### RESUMEN Y CONCLUSIONES

Los tóxicos se dividen desde el punto de vista de la electrodiálisis en: tóxicos rápidos, como son el arseniato de sodio, sulfato de estriquina y en general los electrolitos fuertes, y en tóxicos lentos, como el Veronal, Luminal y en general los electrolitos débiles.

La velocidad de electrodiálisis del veronal y luminal, puede ser aumentada considerablemente, si se los alcaliniza con una base débil, pues de esta manera aumenta su grado de disociación. Cuando se emplea un aparato de tres compartimientos es necesario alcalinizar con gran cantidad de base débil, para de esta manera evitar la eliminación demasiado rápida del catión y el retorno del veronal a ácido poco disociado; además esta variación de pH que se produce en el compartimiento central hace variar por acción de masa el equilibrio del tóxico y actúa además sobre la permeabilidad de la membrana.

Se llegó además al resultado experimental de que la electrodiálisis es el resultado de dos fenómenos opuestos, la electroforesis y la diálisis; pero mientras que la cantidad de sustancia transportada por electroforesis es mayor cuanto mayor es el grado de disociación de la sustancia, la cantidad de sustancia transportada por diálisis es menor, pues esta es proporcional al número de moléculas.

La diálisis cuando ella provoca un transporte de sustancia en un sentido opuesto al del transporte eléctrico, alarga el fin de la electrodiálisis y puede hacerla detener, manifestándose este efecto inhibitor a un potencial llamado "potencial mínimo de electrodiálisis", para una sustancia, para una temperatura y una concentración determinada.

Cuando se pasa de la electrodiálisis de soluciones acuosas a la de medios biológicos, aparecen dos fenómenos retardadores; el primero debido a los electrolitos dializables presentes en el tejido o extracto de órganos y segundo las proteínas.

Estudiando las curvas de  $i f(t)$  que se obtiene en estos casos, nos ha permitido aumentar la velocidad de electrodiálisis, efectuando primeramente una experiencia de una duración aproximada de 10 horas, al llegar a este punto se cambia la membrana por una nueva y se renuevan los líquidos anódicos y catódicos, siguiéndose con la operación.

De esta manera se eliminan dos causas retardadoras; los electrolitos dializables y las proteínas por un lado y la diálisis inversa por otro.

Los líquidos obtenidos en esta operación son límpidos, ligeramente amarillentos los del compartimiento anódico, y de una pureza tal que al tóxico se le puede extraer fácilmente.

Las reacciones secundarias que pueden tener lugar en los electrodos que traería como consecuencia una destrucción del tóxico, son en general nulos para los derivados estudiados.

Las condiciones más importantes que es necesario observar para llegar a resultados satisfactorios en el trabajo de electrodiálisis de tóxicos como el Veronal y Luminal son:

- 1 ) Alcalinizar el compartimiento central con grán cantidad de una base débil.
- 2 ) Evitar aumentos de temperatura que se producen en el curso de la operación.
- 3 ) Renovar por lo menos una vez la solución anódica, para elimi-

nar en lo posible el fenómeno de la diálisis inversa.

Como últimas palabras diremos, que la electrodiálisis es un método bastante conveniente para ser aplicado al análisis químico, teniendo como principal dificultad, en los casos en que se electrodializan iones muy lentos, como son los de Veronal y Luminal, su duración, que es quizá demasiado prolongada.



## BIBLIOGRAFIA

- (1) Morse y Pierce. Zeit. Chem., 1903, 45, 589
- (2) Tribot y Chrétien. C. R. CXL, p. 144, 1905
- (3) C. Dhéré. Bull. Soc. Biol. 6, 144-59 (1926)
- (4) A. Lottermoser y Haus Joachim Kohn. Kolloid-Beihfte. 35, 123-64  
1932
- (5) Albert Kider, Russell P. Easton, Harold E. Pletcher y Floyd C. Peterson. Ind. Eng. Chem., Anal. Ed. 6, 65-6 (1934)
- (6) T. C. Taylor, C. E. Braun y H. L. Scott. Am. J. Physiol. 74, 539-65 (1925)
- (7) L. Kofler y A. Folkenberg. Biochem. Z. 160, 398-406 (1925)
- (8) Shumpei Oka. J. Soc. Chem. Ind. (Japan). 30, 396-402 (1927)
- (9) Ullman. tomo XIV, pág. 190
- (10) R. Fernicke. C. R. Soc. de Biol. 89, 748 (1923)
- (11) Bernhard y Beaver. J. Biol. Chem., 69, 113-124 (1926)
- (12) Elena Di Benedetto. Rev. Soc. Argentina Biol., 8, 497-504 (1932)
- (13) Séverin. Ann. Chim. Analytique, 17, 186, 1935
- (14) Maggregor y Thorpe. Biochem. J., 1933, 27, p. 1394-1399
- (15) S. Bazille. Thèse Doct. Pharm. 1935. Paris
- (16) J. Fabone. Thèse dipl. super. Pharm. 1936. Paris
- (17) R. Fabre y Oficjalski. Journ. Pharm. Chim., 1938 (8), t. XXVIII, p. 335
- (18) R. Fabre y Oficjalski. Journ. Pharm. Chim., 1938 (8), t. XXVIII, p. 369
- (19) R. Carratalá. Los barbitúricos. (estudio toxicológico)
- 20) Wood. Chem. Soc. t. 89, p. 1831-1839, 12, 1906
- (21) J. Tafel y B. Thomson. Bulletin de la Société chimique de France.  
36, p. 194, 1909
- (22) M. M. Van Itallie y Van der Veen. Journ. Pharm. Chim., (7) XX, 1919
- (23) M. Isard. Journ. Pharm. Chim., XXIX, p. 272, 1924

- (24) Desout. Les barbituriques. Leur toxicologie. Thèse doctoral. 1933
- (25) Kozelka y Tatum. J.Pharm.and Therap., 1937, 59, 54
- (26) Griffon y Le Breton. J.Pharm.Chim., 1938, 28, 49
- (27) M.Pesez. J.Pharm.Chim., 1938, 28, 69
- (28) Charonnat y Lachaux. J.Pharm.Chim., 1938, 28, 49
- (29) Lagarde. Contribution a la toxicologie de derives barbitur.  
Thèse doct.
- (30) H. Weese. Medicina y química. pág. 145-152, 1936
- (31) Fabre y Predet. Bull.Soc de Chim. biologique. t.VII n 9, 1925
- (32) R.Fabre. Journ.Pharm.Chim., 1938 (8), t.XXVII, p.467
- (33) A.Eucken. Química Física
- (34) H.Puente. Guía de trabajos prácticos de físico-química.
- (35)
- (36) Vernicke. Revista del Instituto bacteriológico. t.IV, p.3, 1925
- (37) Di Benedetto. Tesis. Electrodialisis. 1931
- (38) F.E.Bartell. Ind.Eng.Chem., Anal.Ed., 1936, t. VIII, p.247
- (39) D.B.Roxburgh y M.H.Power. Ind.Eng.Chem., Anal.Ed. 1937, t.IX,  
p.578
- (40) I.L.Marioq y P.Rochat. Bull.Soc.Chim.Belg. 49, 245-56 (1940)
- (41) R.Fosse. Compt.Rend., 1913, 157, 948
- (42) R.Fabre. Bull.Soc.Chim., 1913, 33, 791
- (43) M.Bacila y J. Alceide. Rev.Col.Farm.Mac. (Rosario, Argentina)
- (44) H.A.Mangoum y L.Vilad. Quart.J.Pharm.Pharmacol., 20, 109-13, (1947)
- (45) I.D.Gots y G.P.Pamfil. Bull.Soc.Chim.France., 36, p.1634, 1924
- (46) Y.Terada. Bull.Soc.Chim.France., 36, p.1635, 1924

