

CAPITULO 9

ANÁLISIS FUNCIONAL

Patricia Retaco

Introducción

Se llama Grupo Funcional al átomo o conjunto de átomos que presentan una estructura y propiedades físico-químicas determinadas que caracterizan a los compuestos orgánicos que los contienen.

Un alto porcentaje de principios activos presentes en medicamentos son moléculas orgánicas formadas por una estructura C e H y de la sustitución de estos átomos se obtienen los grupos funcionales o funciones químicas, y son estos grupos funcionales quienes determinan las propiedades químicas y farmacológicas en los fármacos.

Una vez reconocidos los grupos funcionales presentes en una molécula orgánica y conociendo las reacciones químicas que ellos experimentan posteriormente se podrá seleccionar el grupo funcional presente más adecuado para realizar un análisis cuantitativo. Los Métodos de Análisis son prácticos para comprobar la identidad de un medicamento. Ciertos compuestos orgánicos son suficientemente ácidos o básicos por lo cual y bajo ciertas condiciones, se pueden determinar por valoración directa con un titulante, valorante o solución estandarizada.

A continuación se describirán algunos métodos de análisis para grupos funcionales presentes en ingredientes activos farmacológicamente.

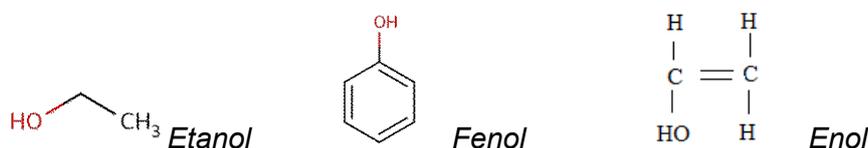
➤ Compuestos hidroxílicos

El comportamiento químico del grupo hidroxilo está marcadamente afectado por la estructura del resto de la molécula.

Considerando su reactividad pueden dividirse en cuatro grandes grupos: alcoholes, glicoles, enoles y fenoles.

Los alcoholes contienen un grupo OH enlazado a un átomo de C, y se pueden clasificar en Alcoholes primarios, secundarios y terciarios. Los glicoles poseen más de un grupo OH adyacentes. Los enoles son compuestos en lo que uno de los átomos de hidrógeno unido a un carbono de un doble enlace es remplazado por un grupo hidroxilo.

Los Fenoles contienen un grupo OH enlazado a un átomo de C en un anillo aromático. Si bien los fenoles pueden parecerse a un alcohol, el anillo bencénico altera las propiedades del grupo Hidroxilo.



Algunos fármacos en donde el grupo hidroxilo es esencial para la actividad: haloperidol, morfina y esteroides (17 α -Ethinilestradiol) entre otros.

Métodos de Análisis

1. Acilación con anhídrido acético

Fundamento

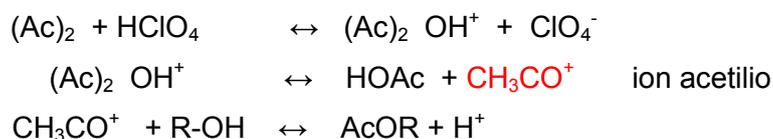
Los métodos de acilación se utilizan para *alcoholes primarios y secundarios*, en presencia del reactivo acilante y bajo ciertas condiciones forman ésteres. La reacción implica la sustitución del hidrógeno del hidroxilo por un grupo acilo.



Para incrementar la velocidad de la reacción, se adicionan catalizadores a la mezcla de reacción. Se pueden utilizar:

- Catalizadores nucleofílicos como la piridina que acelera la velocidad de reacción con respecto a otros solventes. Se produce la formación de un intermediario, el ion acil- piridinio (agente acilante).
- Catálisis ácida: con ácido perclórico y como solvente piridina.
- Adicionando ácido perclórico y con acetato de etilo. Este sistema está sujeto a numerosas interferencias a causa de la alta reactividad del acetato de etilo.

El mecanismo supone la formación del ion acetilico:



Técnica

Se trasvasa la muestra pesada con exactitud a un erlenmeyer seco con tapón de vidrio esmerilado, se adiciona un exceso de reactivo anhídrido acético. Se agita la mezcla para disolver la muestra. Se deja en reposo un cierto tiempo y a una determinada temperatura para que se lleve a cabo la acilación. Completada la reacción se hidroliza el exceso de anhídrido y se valora el ácido formado con un álcali estándar (hidróxido de sodio 0.5N, libre de carbonato), usando como indicador fenolftaleína 1% en piridina. Deberá hacerse un ensayo en blanco.

Nota: Para que la reacción sea completa el consumo de la muestra debe representar aproximadamente el 60% del consumo del blanco.

Interferencias

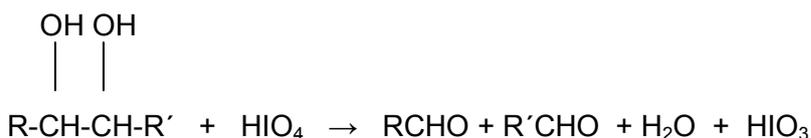
- Los compuestos hidroxílicos requieren elevadas temperaturas para que la reacción sea cuantitativa y si existe impedimento estérico, la reacción es muy lenta.
- Los compuestos hidroxílicos aromáticos que reaccionan incompletamente, (en estos casos es posible la determinación utilizando como catalizador ácido perclórico en acetato de etilo).

- Muchas aminas primarias y secundarias reaccionan cuantitativamente con el reactivo por un mecanismo idéntico al ya descrito y más rápidamente que los compuestos hidroxílicos originando la formación de una amida. Las aminas terciarias al no poseer un hidrogeno reemplazable no experimentan esta reacción.
- Los aldehídos de bajo peso molecular que por condensación aldólica formen una función hidroxilo acilable.

2. Para 1,2 glicoles con ácido periódico

Fundamento

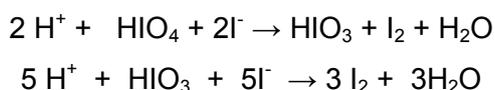
Se produce la oxidación del compuesto 1,2 dihidroxílico por el ácido periódico obteniéndose dos aldehídos.



Posteriormente se añade un volumen de una solución de ioduro de potasio y se valora con solución de tiosulfato de sodio.

Valoración del blanco

El ácido periódico oxida el ioduro a iodo. El ácido iódico producido es capaz de oxidar al ioduro.



Cada mol de ácido periódico produce 4 moles de iodo (8 equivalentes)

Considérese ahora la valoración de la muestra. Completada la oxidación del glicol, la solución contiene exceso de ácido periódico más un mol de ácido iódico por cada unidad 1,2 dihidroxílica que se oxidó. Así cada periódico produce 4 ioduros y cada iódico, 3 ioduros, con el resultado total de que por cada unidad 1,2 dihidroxílica en la muestra resulta la producción de 1 mol (2 equivalentes) menos de iodo relativo a la valoración del blanco. Es decir 1 mol de unidad 1,2 dihidroxílica corresponde a una disminución de 2 equivalentes en el consumo de tiosulfato; por tanto, el peso equivalente de una unidad 1,2

dihidroxílica sencilla es igual a la mitad de su peso molecular, según la reacción final de valoración.

Se ha observado que si un compuesto posee n grupos hidroxílicos adyacentes se consumirán en la oxidación $(n-1)$ moles de ácido periódico. Así, de hecho, se oxidan $(n-1)$ unidades dihidroxílicas y el Peso Equivalente (PE) de la muestra es igual a $\frac{1}{2}(n-1)$ veces su peso molecular.

Para el etilenglicol, por ejemplo, $n=2$ y peso equivalente (PE) = PM/2.

De acuerdo con el razonamiento anterior, si la muestra, el glicol, consume todo su ácido periódico, el volumen empleado en la valoración de la muestra será un 75% que el invertido en la valoración del blanco. Si el volumen empleado en la valoración de la muestra es menor que, aproximadamente el 80% del volumen del blanco, es aconsejable repetir el análisis con una muestra más pequeña de glicol, para asegurarse de que hay exceso de ácido periódico.

Técnica

Se adiciona a la muestra, previamente disuelta, un exceso de ácido periódico (este reactivo debe protegerse de la luz). Completada la oxidación, se añade ioduro de potasio y se valora el iodo liberado con tiosulfato. La diferencia entre el tiosulfato consumido por el blanco y la muestra guarda relación con la cantidad de ácido periódico utilizado en la oxidación del glicol. Se debe hacer un ensayo en blanco.

Interferencias

Los aminoalcoholes e hidroxicetonas son posibles interferencias.

3. Bromación de Fenoles

Fundamento

Compuestos hidroxílicos aromáticos reaccionan con bromo vía sustitución en posición *orto* y *para* respecto del grupo hidroxilo.

Técnica

Se adiciona a la muestra, previamente disuelta, un exceso de reactivo de bromo (en ácido acético). Completada la reacción, se añade ioduro de potasio y se valora el iodo liberado con tiosulfato. Se debe hacer un ensayo en blanco. La diferencia entre el tiosulfato consumido por el blanco y la muestra guarda relación con la cantidad de bromo utilizado para sustituir el compuesto hidroxílico.

Interferencias

- Aminas aromáticas capaces de dar reacciones de sustitución.
- Aldehídos y olefinas que pueden consumir reactivo y sufrir oxidaciones y adiciones respectivamente.

Métodos de Análisis Alternativos

A. Método colorimétrico con ion férrico

Fundamento

Los fenoles reaccionan con una solución de nitrato de hierro (III) en ácido nítrico, se produce un color característico cuya intensidad se mide en la región del visible a una determinada longitud de onda.

B. Método colorimétrico con las sales de diazonio

Fundamento

Los fenoles se acoplan en posición *para* respecto al grupo fenólico (si esta posición está ocupada el acoplamiento se desarrollará en la posición *orto*) con una sal de diazonio, para dar un compuesto coloreado característico cuya intensidad se mide en la región del visible a una determinada longitud de onda.

C. Método colorimétrico con ácido cromotrópico para 1,2 glicoles

Fundamento

Los compuestos que poseen 1,2 glicoles y que por oxidación con ácido periódico generan como producto de reacción *formaldehído*, éste reacciona con ácido cromotrópico (1,8 dihidroxinaftaleno-3,5-disulfónico) desarrollando una coloración característica cuya intensidad se mide en la región del visible a una determinada longitud de onda.

D. Volumetría ácido-base

Fundamento

Los fenoles se comportan como ácidos débiles ya que ocurre la estabilización resonante del anión por deslocalización de la carga negativa. Es posible valorarlos con exactitud en sistemas no acuosos. Los disolventes recomendados para valorar ácidos débiles tienen carácter básico, pueden ser neutros también para la valoración diferenciadora de mezclas (ver tabla 1). Valorantes adecuados son por ejemplo:

- Metóxidos de sodio, potasio y litio en soluciones de metanol-benceno
- Hidróxido de tetrabutilamonio.

Todos los valorantes básicos han de almacenarse en recipientes pyrex o de polietileno y con mínima exposición al CO₂ atmosférico.

Para estandarizar la solución de valorante se suele usar ácido benzoico, las valoraciones se efectúan en corriente de nitrógeno o en el punto de ebullición para minimizar la absorción de CO₂.

Aplicaciones

Los ácidos cuyos valores de pKa ≤ 7 (entre 3-6) se valoran con detección visual del punto final mediante azul de timol, en dimetilformamida. Los ácidos con pKa entre 7-11 requieren detección potenciométrica del punto final.

Los alcoholes son ácidos muy débiles y muy pocos se pueden valorar como ácidos. Con los fenoles la situación es diferente, a pesar de ser ácidos débiles

se pueden valorar en medios no acuosos. Los tioles son ácidos mucho más fuertes que sus análogos oxigenados.

➔ Aminas

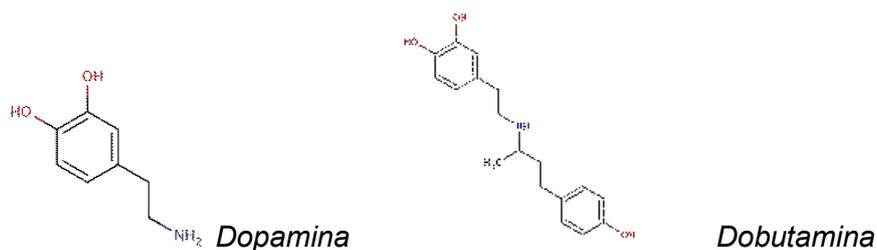
Las aminas se clasifican en:

Aminas Primarias	$R-NH_2$
Aminas Secundarias	$R-N-HR_1$
Aminas Terciarias	$R-N-R_1R_2(R_3N)$

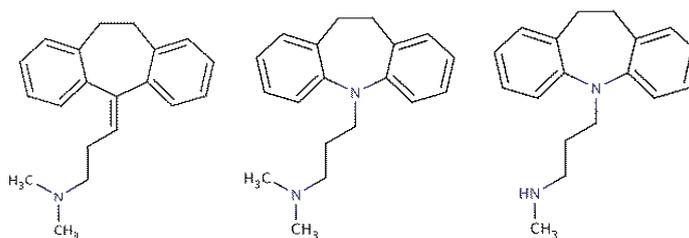
R: Radicales alifáticos y/o aromáticos.

Las alquilaminas son más básicas que el NH_3 ya que los grupos alquilo son donantes de electrones al N en cambio los grupos que atraen electrones disminuyen la basicidad, por lo cual las aminas aromáticas son bases más débiles que las alifáticas.

Ejemplos de aminas presentes en principios activos:



Los antidepresivos tricíclicos a menudo se clasifican como aminas terciarias (amitriptilina, imipramina) y secundarias (desipramina)

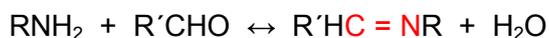


Métodos de Análisis

1. Formación de iminas (Bases de Schiff) usando como reactivo 2,4 pentanodiona

Fundamento

Las aminas primarias alifáticas experimentan condensación con carbonilos para producir iminas.

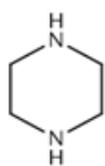


Técnica

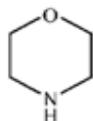
Se adiciona a la muestra, previamente disuelta en piridina, un exceso de reactivo 2,4-pentandiona, completada la formación de iminas, se adiciona un indicador (timolftaleína) y el exceso del compuesto carbonílico, se valora por retroceso con solución estándar de álcali como por ejemplo metóxido de sodio. Se debe hacer un ensayo en blanco.

Interferencias

- Los ácidos libres reaccionan lentamente con el reactivo valorante.
- Puede ser aplicado a aminoácidos, pero previamente deben ser transformados en su sal sódica.
- También se puede aplicar para determinar amino-alcoholes, etilenaminas y compuestos amino primario que tengan un nitrógeno heterocíclico. Dicha clase de compuestos, es dificultoso determinarlos por otros métodos.
- Las aminas aromáticas primarias no pueden ser determinadas por este método.
- Alcoholaminas secundarias, como dietanolamina y tioles reaccionan bajo las condiciones del método.
- Aminas secundarias heterocíclicas, como piperazina y morfolina, reaccionan lentamente con 2,4-pentandiona. Dicha interferencia puede ser corregida conduciendo la reacción a 0°C.



Piperazina



Morfolina

2. Volumetría ácido-base para aminas

Fundamento

Esta técnica tiene amplio uso en análisis farmacéutico, muchas de estas valoraciones figuran en la Farmacopea Argentina, en la USP y en otras farmacopeas. La posibilidad de utilizar la volumetría ácido-base depende de la concentración de la base y de su fuerza.

Las aminas alifáticas son suficientemente básicas para poder ser valoradas en soluciones acuosas con un ácido fuerte, mientras que las aminas aromáticas son demasiado débiles para valorarlas en medio acuoso.

Aplicaciones

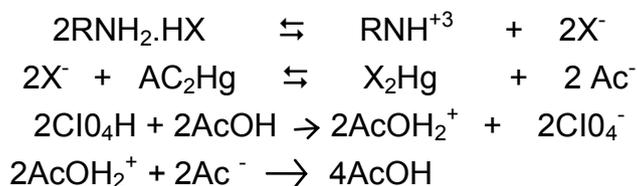
Las bases cuyos valores de K_b sean iguales o mayores que 10^{-6} podrán ser valoradas en medios acuosos ($pK_b \leq 6$ y $pK_a \geq 8$), en cambio las bases con valores de K_b menor que 10^{-6} ($pK_b > 6$ y $pK_a < 8$) no podrán ser valoradas en medios acuosos y requerirán de medios no acuosos. Además las bases cuyos valores de $pK_{a(\text{en agua})} > 4$ ($pK_b < 10$) están niveladas en ácido acético glacial y se pueden valorar por detección visual del punto final, en cambio las bases cuyos valores de $pK_{a(\text{en agua})}$ se hallan en el margen 1-4 ($pK_b > 10$) cabe analizarlas mediante detección potenciométrica del punto final. Muchas aminas heterocíclicas y aminas aromáticas sustituidas pertenecen a esta clase.

El ácido acético glacial es el disolvente más usado en la valoración de bases, el anhídrido acético se utiliza para el análisis de bases muy débiles, tales como las amidas.

Algunas veces se analizan mezclas de bases de distintas fuerzas seleccionando un disolvente diferenciador para las bases, como pueden ser acetonitrilo o nitrometano y se detecta el punto final por potencimetría.

Las sales halogenadas de aminas no pueden determinarse directamente ya que no son sustancias intrínsecamente básicas por la relativamente alta acidez del hidrógeno del haluro, éste puede ser reemplazado por acetato por adición de un exceso de solución de acetato de mercurio, por conversión a un derivado básico, el acetato de la amina.

El acetato de mercurio que no reaccionó no interfiere ya que en medio de ácido acético glacial tiene una basicidad despreciable, debido a que los haluros de mercurio en solventes orgánicos con baja polaridad están prácticamente no disociados y no forman parte en el equilibrio.



Donde X= Cl, Br, I, F.

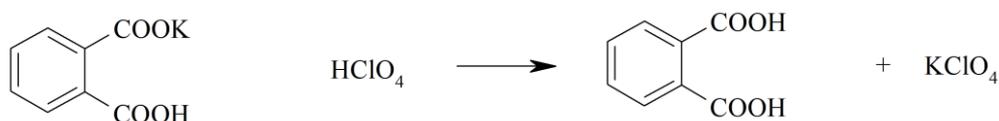
Los acetatos de aminas son valorados en forma usual. Con el agregado del acetato de mercurio a la solución del haluro se produce el reemplazo de las bases por una cantidad equivalente de ion acetato que se comporta como la base más fuerte que puede existir en medio acético.

Los disolventes que se usan como medios en la valoración de bases débiles son neutros o ácidos (ver Tabla 1).

Como valorante se utiliza un ácido fuerte. Por ejemplo:

➤ Ácido perclórico: como el disolvente, ácido acético, es diferenciador para los ácidos minerales, el perclórico es el más fuerte y aconsejable. Este ácido disuelto en ácido acético es el valorante más usado para determinar bases débiles. Se disponen comercialmente de ácido perclórico en solución acuosa concentrada, por lo que conviene separar el agua, con este propósito se suele adicionar cierta cantidad (estimada de antemano) de anhídrido acético, se evita adicionar exceso de anhídrido por que las muestras acilables, tales como las aminas primarias y secundarias, podrían convertirse en su presencia en compuestos mucho menos básicos (amidas).

La estandarización de valorantes ácidos es factible con cualquier sustancia que sea una base fuerte y de gran pureza, por ejemplo: biftalato de potasio:



El análisis volumétrico en soluciones no acuosas presenta el inconveniente del alto valor del coeficiente de expansión cúbica de la mayoría de los líquidos orgánicos, es decir que con los cambios de temperatura la normalidad de las soluciones puede variar.

La detección del punto final se efectúa por lo general con indicadores o de modo potenciométrico. Los indicadores que se utilizan para las valoraciones de bases son bases muy débiles (ver tabla 1). Para la valoración de bases se utiliza el cristal violeta (violeta de genciana), también el violeta de metilo se comporta de manera similar. El cambio de color es complejo pasa del violeta (color básico) al azul-verdoso, verde esmeralda, amarillo (color ácido).

El colorante α -naftolbenceína es adecuado para valoraciones en ácido acético glacial, el cambio de color es de amarillo (color básico) al verde (color ácido). Otro buen indicador es el rojo de quinaldina siendo el cambio de color de rosa (color básico) a incoloro (color ácido).

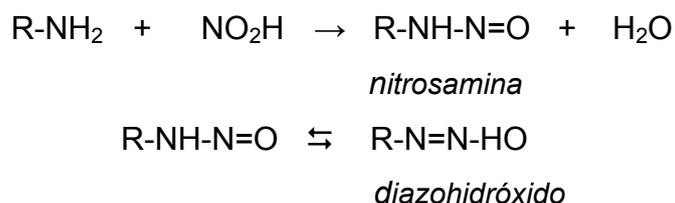
3. Nitrito volumetría para aminas primarias aromáticas

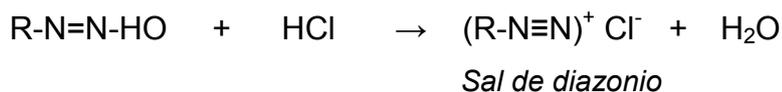
Fundamento

Este método es llamado también de Diazotación, pues el fundamento del mismo consiste en la reacción entre el ácido nitroso y el grupo amino primario aromático, para dar una sal de diazonio. La reacción global entre el ácido nitroso y las aminas aromáticas es:



Es probable que la reacción se desarrolle por medio de una nitrosación inicial de la amina seguida de la tautomerización de la nitrosamina y de la descomposición del diazohidróxido:





Debido a la inestabilidad del ácido nitroso se lo reemplaza por nitrito de sodio en medio ácido.

Este método se puede aplicar a anestésicos locales con función amina libre y para sulfas.

Técnica

La muestra de la amina a valorar se disuelve en agua destilada y se le agrega una determinada cantidad de HCl concentrado (puede usarse como catalizador de la reacción de nitrosación BrK al 25% si la amina no reacciona rápidamente). Se sumerge el recipiente conteniendo la solución en un baño de hielo-agua ($\approx 5^\circ\text{C}$) para minimizar la pérdida del ácido nitroso. Luego se sumerge la punta de la bureta conteniendo el valorante (Solución de nitrito de sodio) en la solución a valorar, se adiciona el valorante desde bureta lentamente y con agitación continua, tratando de evitar una alta concentración de NO_2H .

Se determina el punto final empleando electrodos apropiados (platino-calomel o platino-platino) o mediante un indicador externo, como puede ser un papel de filtro impregnado con engrudo de almidón y solución de ioduro de potasio o una piedra de toque con dicha solución. Luego del punto final una gota de la solución de valoración produce inmediatamente un color azul, estable durante un minuto (*no confundir un lento y progresivo color azul que es causa de la oxidación en el aire del ioduro en medio ácido*). El valorante se estandariza con ácido sulfanílico como patrón primario.

Interferencias

- Interfieren las aminas secundarias que consumen NO_2H , por formación de los derivados *N-nitrosados*, y las aminas alifáticas que también consumen NO_2H con liberación de nitrógeno y producción de un alcohol.
- Las aminas terciarias alifáticas en su reacción con NO_2H producen nitrógeno.

- Las aminas terciarias aromáticas forman compuestos *C-nitroso aromáticos*.

Métodos de Análisis Alternativos

A. Método colorimétrico de diazotación y copulación para aminas primarias aromáticas

Fundamento

En primera instancia se produce diazotación de la amina aromática primaria seguido del acoplamiento de la sal de diazonio, altamente reactiva, con un segundo compuesto orgánico para dar un compuesto azo coloreado. El fenol es el reactivo copulante característico.

El producto de reacción es altamente conjugado y absorbe radiación de longitudes de onda en la zona del visible, del cual se puede medir espectrofotométricamente su concentración.

Otro reactivo de acoplamiento es la N-(1-naftil) etilendiamina (Reactivo de Bratton-Marshall).

B. Método colorimétrico para aminas primarias alifáticas con salicilaldehído

Fundamento

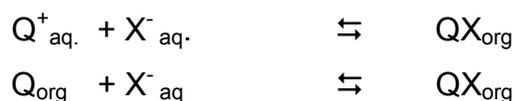
Las aminas alifáticas primarias reaccionan con salicilaldehído como reactivo para generar una salicilimina que forma un complejo imino-cúprico, con una sal de cobre que se extrae en n-hexanol. Se determina colorimétricamente el cobre por reacción con ácido N,N-di (hidroxietil) ditiocarbámico, dando un complejo de cobre ditiocarbamato determinándose su absorbancia a 420 nm.

Volumetría en Fase Heterogénea

Fundamento

La valoración en dos fases de aminas terciarias y sales de amonio cuaternarias con tensioactivos aniónicos, tales como laurilsulfato de sodio o dioctilsulfosuccinato de sodio es un método analítico de interés farmacéutico.

El proceso esencial en esta valoración de un ion amonio orgánico (Q^+) o de una amina (Q) con laurilsulfato de sodio (X^-) es una extracción de par iónico:



La magnitud de la extracción depende de la estructura del par iónico y sus componentes así como las propiedades de la fase orgánica. Todos los pares iónicos tienen más o menos carácter polar y solventes no polares tales como cloroformo y diclorometano son agentes extractivos muy usados pero compuestos hidrofílicos pueden requerir solventes más protofílicos, por ejemplo alcoholes lipofílicos.

El punto final puede ser indicado por el uso de un colorante que forme par iónico con el valorante en la fase orgánica:



También puede usarse un indicador que forme par iónico con la sal de amonio o la amina valorada:



El primer caso sería el de un *colorante básico*; el laurilsulfato de sodio se combina con la base orgánica dando un compuesto soluble en fase orgánica; ante el primer exceso del tensioactivo éste se compleja con el colorante dando un compuesto insoluble en agua, que se visualiza en el punto final por un cambio de color del indicador que queda complejado en la fase orgánica.

Es conveniente usar en lo posible este tipo de indicadores, ya que la constante de extracción de su par iónico será independiente de las propiedades de la muestra.

En el segundo caso se trata de un *colorante ácido*; al iniciarse la valoración se encuentra complejoado con la base en la fase orgánica. Cuando se agrega el tensioactivo; éste desplaza al colorante, que pasa en su forma disociada a la fase acuosa, que se va coloreando paulatinamente, en el punto final se decolora la fase orgánica.

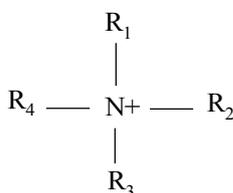
En este tipo de valoraciones es importante la elección de la base orgánica a valorar:

- Su peso molecular debe ser elevado, superior a los 200 g/mol.
- La presencia de grupos hidrofílicos, por ejemplo -OH, disminuye el rendimiento.
- Los grupos metoxi, etoxi y carbonilo pueden ejercer una influencia perturbadora, pero esto debe comprobarse para cada caso en especial, ya que dicho efecto puede anularse ajustando ciertas variables como por ejemplo pH de la reacción, valorante, solvente orgánico, etc. Deberá ponerse a punto el método.

La puesta a punto del método también es necesaria en el caso de sustancias con más de una función nitrogenada.

En general las bases orgánicas que podrían ser valoradas por esta técnica se agrupan de la siguiente manera:

- Amonios cuaternarios alifáticos, del tipo:



R₁, R₂, R₃ y R₄: cadenas alifáticas de número de carbonos elevado

Como por ejemplo: Cetrimonio, Cetavlon, Biocetab.

- Amonios cuaternarios carbocíclicos o heterocíclicos. Como por ejemplo: Cloruro de Benzalconio.

- Aminas terciarias. Como por ejemplo: derivados de la Fenotiazina, Levomepromazina, Clorpromazina.
- Alcaloides del grupo de la morfina y otras bases orgánicas. Como por ejemplo: Narcotina, Reserpina.

Ventajas del método

- Es un método simple y rápido, fácil de realizar.
- Se puede aplicar directamente sobre el producto terminado ya que la mayor parte de los excipientes no interfiere y no hay que eliminarlos.
- Tiene buen límite de detección ya que permite valorar cantidades del orden de los 10 mg de sustancia, a diferencia de otros métodos volumétricos que requieren por lo menos 1mEq de principio activo, por ello es llamado también método semi-microvolumétrico.
- Requiere reactivos e instrumental muy sencillo.
- Permite valorar la base orgánica libre o salificada, con solo disolverla en la fase adecuada.
- El punto final es fácil de detectar, incluso a veces ofrece una doble indicación, coloración de una fase y decoloración de la otra.

Reactivos empleados

- Solventes: agua, cloroformo o benceno.
- Colorantes: pueden ser ácidos: azul de timol, azul de bromofenol, púrpura de bromocresol o básicos: azul de metileno, amarillo de dimetilo.
- Agente tensioactivo: laurilsulfato de sodio, que es una mezcla de alquilsulfatos de sodio constituida principalmente por dodecilsulfato de sodio. La solución de laurilsulfato de sodio se debe estandarizar con papaverina como patrón primario.

Técnica

Disolver la muestra (se disolverá en una u otra fase según esté libre o salificada) en una mezcla de volúmenes iguales de los solventes seleccionados, (por ejemplo, 20:20 cloroformo:agua), se añade 5 ml del

colorante indicador y se titula con el agente tensioactivo, agitando constantemente luego de cada agregado, hasta viraje del indicador.

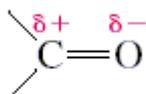
Interferencias

Pueden llegar a interferir los ácidos orgánicos y los fenoles pues suelen formar, sobre todo con los colorantes básicos, una sal entre el anión y el catión colorante.

Muchas aminas y compuestos de amonio cuaternario forman pares iónicos con colorantes ácidos, determinándose la concentración de las mismas por extracción con un solvente determinado y leyendo su absorbancia al visible.

➤ Compuestos carbonílicos

Los aldehídos y cetonas tienen un grupo carbonilo, es decir un átomo de carbono unido a un átomo de oxígeno por medio de un doble enlace, ese enlace se encuentra altamente polarizado debido a la alta electronegatividad del oxígeno, siendo éste nucleofílico, mientras que el carbono porta una carga positiva parcial, siendo un sitio electrofílico y reacciona con los nucleófilos.



Las reacciones generales de los compuestos carbonílicos son:

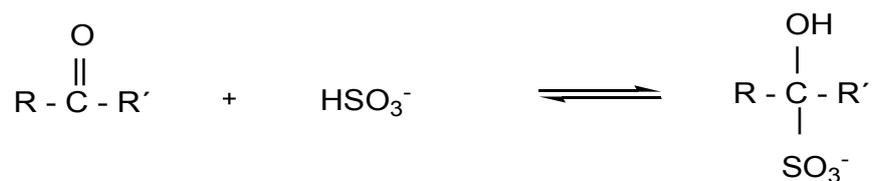
- Adición nucleofílica
- Sustitución nucleofílica
- Condensación del grupo carbonilo
- Sustitución en α

Métodos de Análisis de Aldehídos

1. Adición de bisulfito

Fundamento

El bisulfito se adiciona al doble enlace carbonílico -C=O por un ataque nucleofílico sobre el carbono. Se forma un enlace C – S



Técnica

En este método el bisulfito no se usa directamente como reactivo dada su inestabilidad. Se trabaja con un exceso de sulfito de sodio al que se añade antes de incorporar la muestra, un volumen conocido de ácido sulfúrico que genera el bisulfito “in situ”, completada la reacción de adición se valora con álcali, el exceso de bisulfito. Se debe hacer un ensayo en blanco.

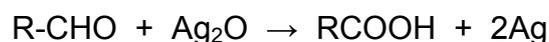
Interferencias

- Las metilcetonas y las cetonas alicíclicas y las cetonas voluminosas que adicionan bisulfito con bastante lentitud.
- Ácidos o bases que impurifiquen la muestra.

2. Método de oxidación

Fundamento

Se pueden oxidar los grupos aldehídos a los correspondientes ácidos carboxílicos con agentes oxidantes tales como óxidos de plata (Ag_2O) Reactivo de Tollens.



Técnica

Se determina por adición de un exceso de Reactivo de Tollens. Se produce la aparición de un espejo de plata o una turbidez. Completada la oxidación, se determina el exceso de plata por valoración con ioduro de potasio.

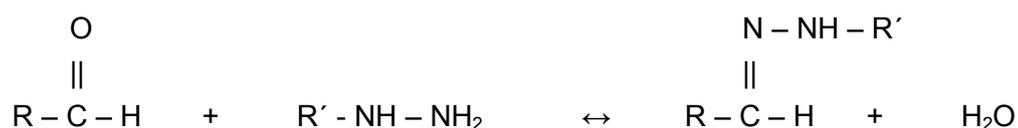
También puede valorarse el ácido producido con álcali estándar.

Se debe hacer un ensayo en blanco.

3. Formación de hidrazonas con dimetilhidracina

Fundamento

La formación de hidrazona se lleva a cabo por condensación entre el grupo carbonilo y una hidracina.



Técnica

Se adiciona a la muestra un exceso de reactivo, culminada la reacción el exceso de dimetilhidracina se valora por retroceso con un ácido estandarizado, con detección potenciométrica del punto final. Se debe hacer un ensayo en blanco.

Interferencias

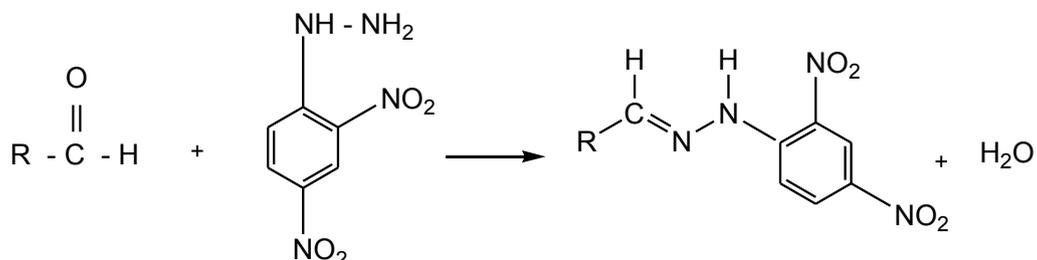
- Los ácidos fuertes.
- Las *cetonas* son bastante básicas y no podrían diferenciarse del exceso de hidracina (básica) y no es posible distinguir las potenciométricamente del reactivo.

Métodos de Análisis de Aldehídos y Cetonas

1. Formación de hidrazona con 2,4-dinitrofenilhidracina

Fundamento

La formación de hidrazona se lleva a cabo por condensación entre el grupo carbonilo y una hidracina.



Las 2,4-dinitrofenilhidrazonas son derivados insolubles, cristalinos y coloreados. Se aíslan y pesan fácilmente, y el alto peso molecular de la hidrazona permite el análisis de muestras relativamente pequeñas por gravimetría.

Técnica

Se adiciona el reactivo 2,4-dinitrofenilhidracina a la muestra a analizar disuelta en una solución ácida. Transcurrida la condensación se filtra el sólido obtenido a través de un crisol tarado, que posteriormente se seca y pesa.

Interferencia

Acetales y cetales ya que la reacción se lleva a cabo en medio ácido.

2. Método colorimétrico con 2,4-dinitrofenilhidracina

Fundamento

La formación de hidrazona se lleva a cabo por condensación entre el grupo carbonilo y una hidracina (2,4-dinitrofenilhidracina).

Cuando se adiciona un álcali a la 2,4-dinitrofenilhidrazona, se produce un color rojo vino, debido a la formación de un compuesto quinoidal. Este color proporciona un ensayo colorimétrico muy sensible leyéndose la absorbancia a 480 nm.

3. Formación de oximas con hidroxilamina

Fundamento

El producto de Condensación de un aldehído o cetona con clorhidrato de hidroxilamina $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$, se conoce con el nombre de oxima.

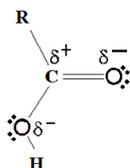
Técnica

Se añade un exceso de clorhidrato de hidroxilamina a la muestra, culminada la reacción, se valora el ácido formado con un álcali estandarizado utilizando detección potenciométrica del punto final (*la detección potenciométrica es necesaria para diferenciar el consumo de álcali debido al HCl formado del consumo por parte del exceso de $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$*)

Interferencias

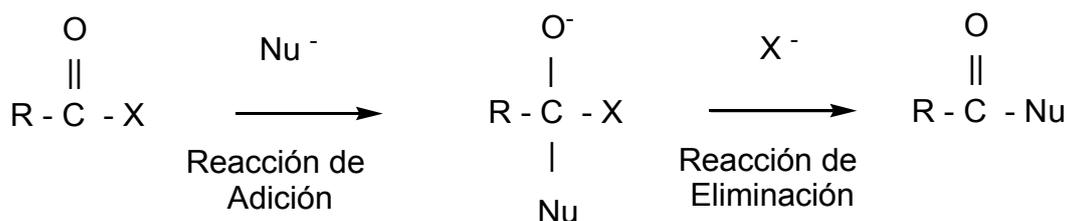
Acetales, cetales y éteres vinílicos se hidrolizan fácilmente ya que la reacción se lleva a cabo en medio ácido.

➤ Ésteres

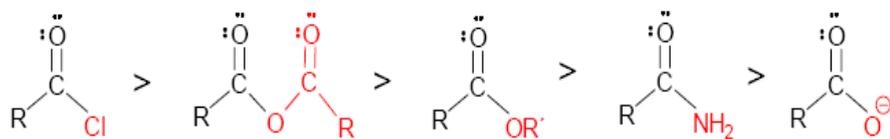


Los derivados de ácidos carboxílicos pueden ser haluros de ácido (RCOCl), anhídridos de ácido (RCOOCOR), ésteres (RCOOR') y amidas (RCONH_2).

Las reacciones de ácidos carboxílicos y derivados tienen lugar mediante un proceso de sustitución por adición-eliminación.



El orden de reactividad de los derivados de ácido para los procesos de adición nucleofílica-eliminación es:



Cloruro de Ácido

Anhidrido

Éster

Amida

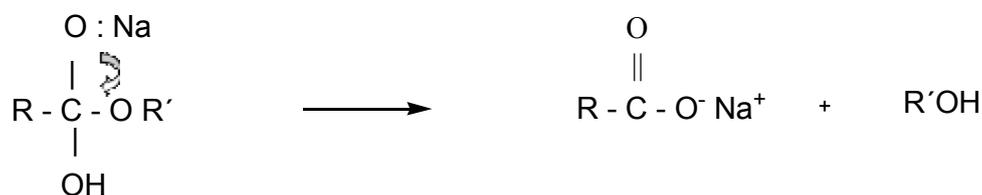
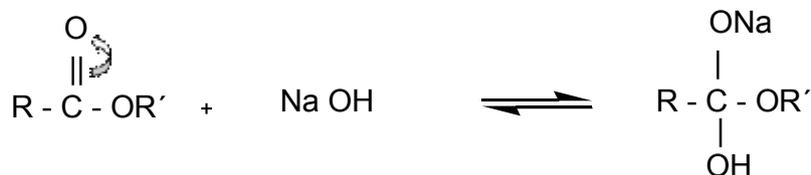
Carboxilato

Métodos de Análisis

1. Saponificación

Fundamento

Una base promueve la hidrólisis de los ésteres porque proporciona el reactivo fuertemente nucleofílico oxidrilo que ataca al átomo de carbono electrofílico y desplaza al ion alcóxido. La velocidad de la reacción está controlada por los dos primeros pasos.



Técnica

Se disuelve la muestra en el disolvente seleccionado (agua, alcohol). Se adiciona un exceso conocido de álcali estándar, se calienta a reflujo. Culminada la reacción se deja enfriar la solución, se agrega solución indicadora

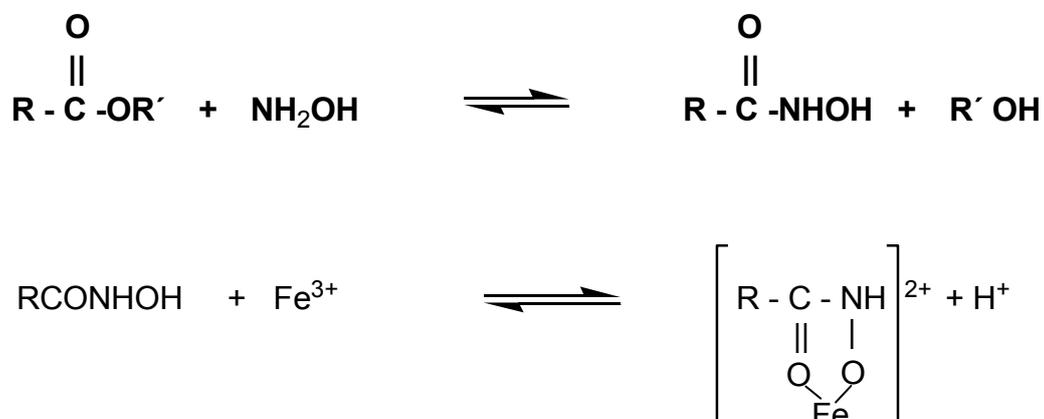
de fenolftaleína, y se valora el exceso de álcali con un ácido estándar. Se debe realizar un ensayo en blanco.

Interferencias

- Cetonas y aldehídos.
- Los ésteres vinílicos no pueden ser determinados debido a que éstos consumen hidróxido.

2. Método colorimétrico con hidroxamato de hierro (III)

Los ésteres (y otros derivados de ácidos carboxílicos) reaccionan con hidroxilamina en presencia de bases fuertes produciendo ácidos hidroxámicos, los cuales forman complejos (1:1) de color púrpura intenso con el ion férrico, cuya absorbancia se lee en la región del visible.



➡ Amidas

Las amidas se forman por reacción de ácidos carboxílicos con amoníaco, aminas primarias y secundarias. La reacción se realiza bajo calefacción, predominando en estas condiciones el ataque nucleofílico que formará la amida.



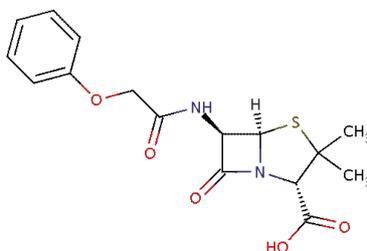
Δ : Calentamiento > 100°C

Como ejemplo podemos mencionar las siguientes estructuras:



Las lactamas son amidas cíclicas obtenidas por condensación, con pérdida de agua, de una molécula que contiene grupos ácido y amino.

La Penicilina V es un agente antibiótico que contiene un anillo β -lactámico en su estructura molecular:



Métodos de Análisis

1. Valoración ácido base

Técnica

Las amidas son bases muy débiles. Para valorarlas se usa como medio anhídrido acético, como titulante solución estándar de ácido perclórico en ácido acético glacial o dioxano. El punto final se debe determinar por potenciometría usando un electrodo de vidrio modificado. Se recomienda determinar el punto final usando el método de la derivada primera o segunda

(En el electrodo de vidrio modificado, se ha reemplazado la solución acuosa saturada de ClK por una solución de ClO₄Li 0.1M preparada en anhídrido acético. El electrodo se estabiliza dejándolo sumergido 12 hs. en anhídrido acético antes de usarlo).

2. Saponificación

Las amidas son más difíciles de saponificar que otros derivados de ácidos, las condiciones deben ser más drásticas. Se debe usar elevada temperatura y calentamiento a reflujo en presencia de un exceso de álcali (ver Esteres).

➤ Alquenos

Se considerará a los compuestos que contienen el doble enlace carbono-carbono. El tipo y grado de reactividad química conferido a una molécula por una insaturación carbono-carbono depende de la estructura molecular local.

Un dieno es un compuesto orgánico que tiene dos enlaces dobles.

Un polieno tiene más de dos.

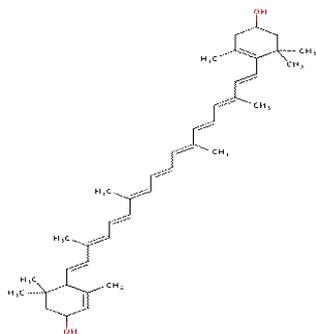
Dependiendo de su posición relativa se distinguen tres tipos de compuestos:

Doble enlace aislado	$\text{CH}_2=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$
Dieno conjugado	$\text{CH}_2=\text{CHCH}=\text{CH}_2$
Acumulados	$\text{CH}_2=\text{C}=\text{CH}_2$
Insaturaciones vinílicas	$\text{R}-\text{CH}=\text{CH}_2$
α,β Insaturados	$\text{R}-\text{CH}=\text{CH}-\text{X}$

(X es un grupo sustractor de electrones)

El doble enlace $\text{C}=\text{C}$ tiene una nube electrónica p desde la que se pueden ceder electrones a un atacante electrófilo. Por tanto, la reacción más importante de los alquenos es la adición electrófila.

Los dienos aislados no tienen propiedades especiales y se comportan como alquenos normales. Los acumulados o alenos tienen propiedades estructurales especiales. Pero los más interesantes son los conjugados, que tienen una reactividad muy característica, como por ejemplo los β -Carotenos



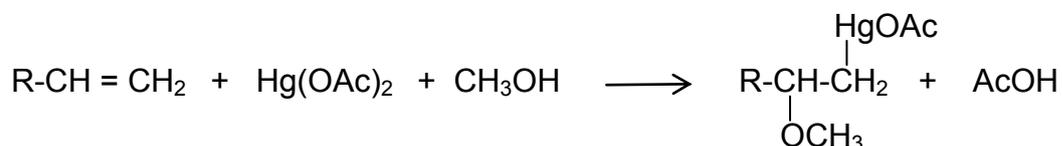
β-Carotenos

Métodos de Análisis

1. Método del acetato de mercurio (II)

Fundamento

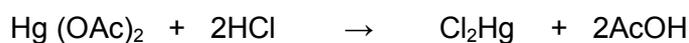
Se adiciona acetato de mercurio (II) en medio de metanol a los alquenos con dobles enlaces aislados y vinílicos, produciendo un compuesto de adición y ácido acético.

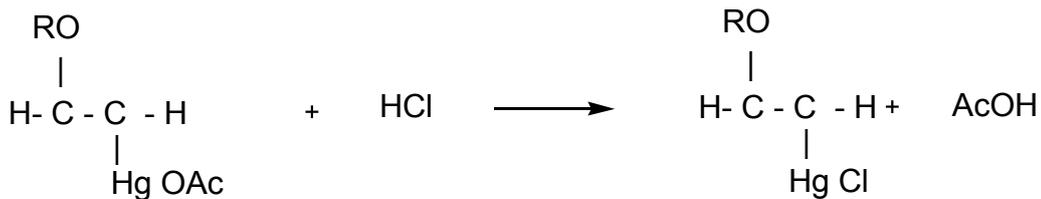


Técnica

Este método se puede resolver de dos formas distintas:

- Titulando el AcOH formado con HOK/CH₃OH y fenolftaleína. Se debe hacer un blanco y determinar previamente tiempo y temperatura de reacción (generalmente se trabaja a bajas temperaturas o a temperatura ambiente).
- Agregando un exceso conocido de Ac₂Hg y valorando el exceso con solución de HCl estándar y azul de timol como indicador. Tanto el exceso de Ac₂Hg como el producto de adición formado consumen ácido, pero en distintas proporciones:





Es decir que el exceso de Ac_2Hg consume 2 moles de HCl por mol y el compuesto formado consume 1 mol de HCl. Se hace un blanco y luego la diferencia entre los equivalentes de HCl consumidos por este blanco y la muestra nos dará el número de equivalentes del alqueno en la muestra.

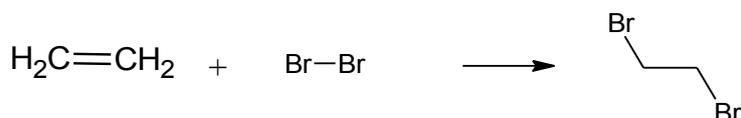
Interferencias

Los dienos conjugados y los α,β insaturados reaccionan pero no cuantitativamente.

2. Método de adición de halógenos

Fundamento

Se produce la adición del reactivo electrofílico al doble enlace $\text{C}=\text{C}$ presente en alquenos, se pueden valorar compuestos insaturados aislados, conjugados y vinílicos. No todos los dobles enlaces reaccionan de la misma forma, por ejemplo en los compuestos aromáticos los enlaces participan de un sistema conjugado siendo entonces su reactividad menor que la de un sistema aislado.



Técnica

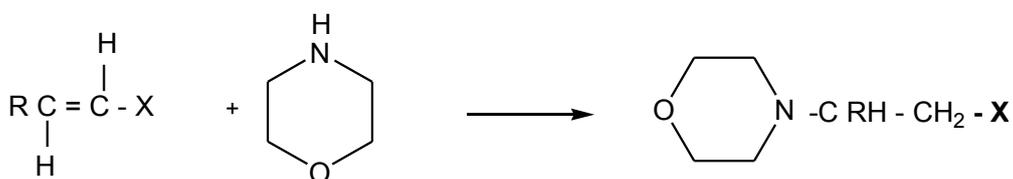
Se añade un exceso de bromo a la muestra, culminada la reacción se adiciona yoduro de potasio inmediatamente se titula con tiosulfato de sodio estandarizado hasta desaparición de color amarillento en el punto final.

Se debe hacer un ensayo en blanco

3. Método de la morfolina para α, β insaturados

Fundamento

Cuando el doble enlace está situado en α, β respecto a un grupo aceptor de electrones (X) la fuerte atracción de electrones de este grupo induce una densidad positiva en el $C\beta$ que es susceptible de ser atacado por reactivos nucleofílicos, como la morfolina, una amina secundaria cíclica, produciéndose la adición al doble enlace de la misma y obteniéndose una amina terciaria.



Técnica

Se añade un exceso de morfolina a la muestra, culminada la reacción, que se debe realizar a temperatura ambiente y a un tiempo entre 5-60 minutos, se acila el exceso de morfolina con anhídrido acético en medio de acetonitrilo e inmediatamente se titula con ácido clorhídrico estandarizado la amina terciaria formada. Se debe realizar un ensayo en blanco.

Interferencias

- Ácidos y bases presentes en la muestra.

Tipo de solvente	De carácter ácido para titulación de bases y sus sales	Relativamente neutro para titulación diferencial de bases	De carácter básico para titulación de ácidos	Relativamente neutro para titulación diferencial de ácidos
Solvente	<p>Ácido acético glacial</p> <p>Anhídrido acético</p> <p>Ácido formica</p> <p>Ácido propiónico</p> <p>Cloruro de sulfurilo</p>	<p>Acetonitrilo</p> <p>Alcoholes</p> <p>Cloroformo</p> <p>Benceno</p> <p>Tolueno</p> <p>Clorobenceno</p> <p>Acetato de etilo</p> <p>Dioxano</p>	<p>Dimetilformamida</p> <p><i>n</i>-butilamina</p> <p>piridina</p> <p>etilendiamina</p> <p>morfolina</p>	<p>Acetona</p> <p>Acetonitrilo</p> <p>Metil etil cetona</p> <p>Metil isobutyl cetona</p> <p>Alcohol <i>ter</i>-butílico</p>
Indicador	<p>Cristal violeta</p> <p>Rojo de quinaldina</p> <p><i>p</i>-naftolbenceina</p> <p>alfazurina 2-G</p> <p>verde de malaquita</p>	<p>Rojo de metilo</p> <p>Naranja de metilo</p> <p><i>p</i>-naftolbenceina</p>	<p>Azul de timol</p> <p>Timolftaleina</p> <p>Azo violeta</p> <p><i>o</i>-nitroanilina</p> <p><i>p</i>-hidroxiazobenceno</p>	<p>Azo violeta</p> <p>Azul de bromotimol</p> <p><i>p</i>-hidroxiazobenceno</p> <p>azul de timol</p>
Electrodos	<p>Vidrio/calomel</p> <p>Vidrio/plata/cloruro de plata</p> <p>Mercurio/acetato de mercurio</p>	<p>Vidrio/calomel</p> <p>Calomel/plata/cloruro de plata</p>	<p>Antimonio/calomel</p> <p>Antimonio/vidrio</p> <p>Antimonio/antimonio</p> <p>Platino/calomel</p> <p>Vidrio/calomel</p>	<p>Antimonio/calomel</p> <p>Vidrio/calomel</p> <p>Vidrio/platino</p>

Tabla 1. *Sistemas para titulaciones en medio no acuoso*

Preguntas Orientadoras

1. Cuál es el fundamento de la reacción de acilación para valorar un compuesto con una función alcohólica primaria.
2. Qué métodos colorimétricos conoce para valorar fenoles.
3. Para qué tipo de aminas es aplicable el método de formación de iminas.
4. En qué consiste la volumetría en fase heterogénea.
5. Cómo valoraría una muestra de ácido acetilsalicílico?

Test de Autoevaluación

Las opciones son Verdadero (V) o Falso (F)

1. En la acilación de una muestra, que contiene un grupo hidroxilo, con anhídrido acético el volumen consumido por la muestra es igual a $V_B/2$.
V / F
2. La siguiente reacción describe la formación de imina:
$$\text{RNH}_2 + \text{R}'\text{CHO} \leftrightarrow \text{R}'\text{CH} = \text{NR} + \text{H}_2\text{O}$$

V / F
3. Las cetonas reaccionan con Ag_2O .
V / F
4. Derivados de ácidos carboxílicos y su orden de reactividad en una reacción de adición.
Éster > Amida > Carboxilato
V / F
5. Para valorar una amina aromática primaria presente en una materia prima se utiliza la volumetría en fase heterogénea
V / F
6. Para valorar la función amida presente en un principio activo se utiliza una volumetría ácido base en medio acuoso.
V / F

7. Muchos principios activos de uso farmacéutico son ácidos o bases débiles y pueden ser valorados utilizando medios no acuosos

V / F

Bibliografía

1. Ministerio de Salud – ANMAT. *Farmacopea Argentina*. VII ed. (2003) Buenos Aires.
2. Critchfield; F. R. (1963) *Organic Functional Group Analysis*. New York, Macimillan.
3. Seyhan Ege.(1997). *Química orgánica: estructura y reactividad, Volumen 2*. Edición Española.
4. Daniel C. Harris (2007). *Análisis Químico cuantitativo*. Barcelona: Reverté, S.A.