

PRÁCTICA V.5
BENZODIAZEPINAS – PARTE I
AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN EN FÁRMACOS COMERCIALES
BENZODIAZEPINES – PART I. ISOLATION AND IDENTIFICATION IN
COMMERCIAL DRUGS

Miriam A. Martins Alho, Mirta L. Fascio y Norma B. D'Accorso

Centro de Investigaciones de Hidratos de Carbono (CIHIDECAR). Departamento de Química Orgánica. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. Ciudad Universitaria. Pabellón II. 3º Piso. C.P. 1428. Buenos Aires. Argentina.

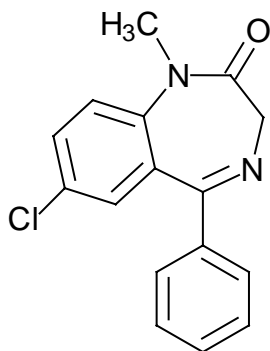
norma@qo.fcen.uba.ar

Introducción

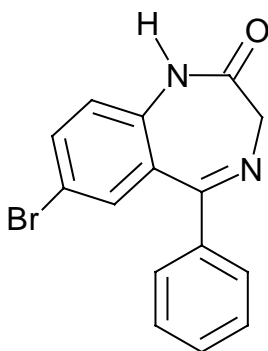
Las benzodiazepinas se incluyen en el grupo de drogas denominadas “agentes psicotrópicos”. Estas drogas, como el diazepam, clordiazepóxido, oxazepam, bromazepam se utilizan como ansiolíticos, inductores de sueño, relajante muscular y anticonvulsivantes en mayor o menor grado. Otras como nitrazepam o fluorazepam son más específicas.

El principio activo se sintetiza por condensación entre o-aminobenzofenona sustituida y un derivado del aminoácido glicina; por hidrólisis de las benzodiazepinas, ocurre el camino inverso, se obtienen los precursores nombrados, lo cual constituye un indicio claro de una posible degradación en el fármaco.

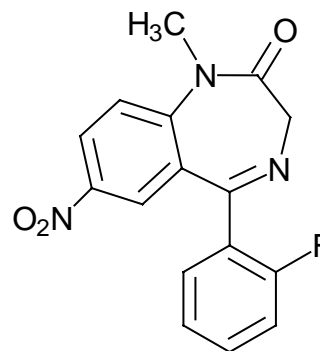
La benzodiazepinas corrientemente utilizadas en fármacos de aplicación terapéutica son las siguientes:



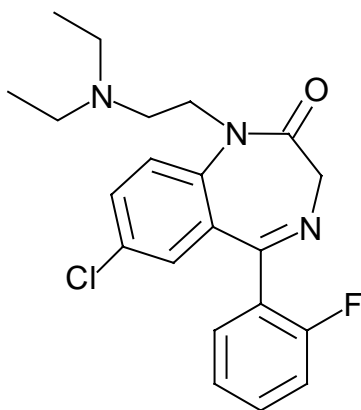
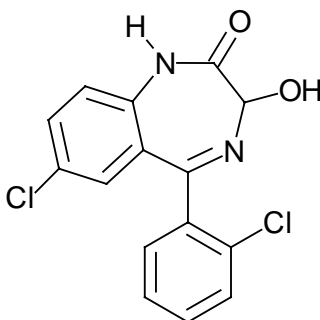
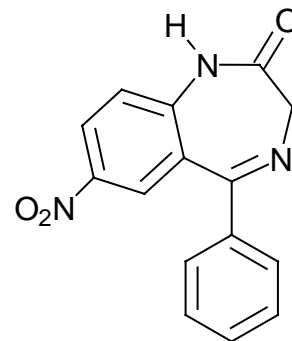
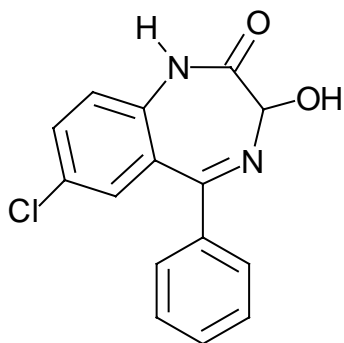
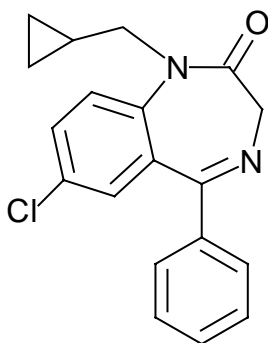
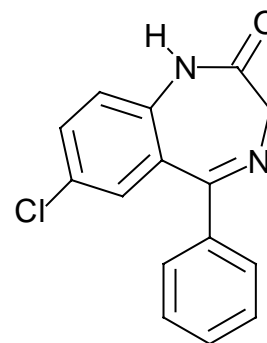
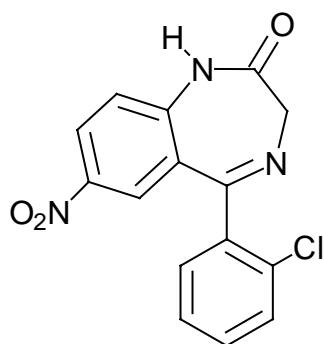
1.-Diazepam



2.-Bromazepam



3.-Flunitrazepam

**4.-Flurazepam****5.-Lorazepam****6.-Nitrazepam****7.-Oxazepam****8.-Prazepam****9.-Nordazepam****10.-Clonazepam**

El objetivo de la práctica consiste en ejemplificar técnicas de aislamiento de un principio activo a partir de un producto comercial, la identificación de dicho principio activo y su posterior cuantización utilizando espectroscopía ultravioleta. Hemos planteado diversas opciones de resolución de esta práctica con el objeto de que la implementación de la misma se pueda adecuar a las distintas disponibilidades de equipamiento. La práctica se ha subdividido en tres etapas, que son las siguientes:

Procedimiento experimental

1. Aislamiento

Una muestra comercial, consistente en cuatro o cinco comprimidos de un medicamento incógnita, se trituran con ayuda de un mortero, obteniéndose un polvo. Dicho polvo se trata con cloruro de metileno (2 x 15 mL), para llevar a cabo una extracción sólido-líquido que permita solubilizar la/s diazepam/s presente/s. Se filtra a través de lecho de celite (u otro lecho filtrante adecuado), para separar de los componentes insolubles, principalmente excipientes. Como resultado, debe obtenerse una solución clara y generalmente incolora, la cual será utilizada para los ensayos posteriores

2. Cromatografía en capa delgada y cromatografía preparativa

Si bien el Rf cromatográfico tiene un valor de identificación negativo (es decir que coincidencia de Rf no implica igualdad de sustancias) en sistemas acotados tales como los pesticidas, alcaloides, etc., se han estandarizado algunos solventes cromatográficos que permitan realizar comparaciones de Rf con resultados suficientemente confiables. Para el caso particular de las benzodiazepinas los sistemas desarrollados son los siguientes:

Acetato de Etilo [TF]

Cloroformo:Acetona (4:1) [TD]

Acetato de Etilo:Metanol:Amoníaco (85:10:5) [TE]

Con la solución orgánica obtenida se realizarán diferentes cromatografías en capa delgada utilizando los sistemas cromatográficos indicados y se compararán los Rf obtenidos con los que se listan a continuación tomados de datos bibliográficos.

Tabla 1

BENZODIAZEPINA	[TF]	[TD]	[TE]
1.- Diazepam	0.22	0.15	0.44
2.- Bromazepam	0.20	0.13	0.62
3.- Flunitrazepam	0.48	0.58	0.77
4.- Flurazepam	0.03	0.03	0.74
5.- Lorazepam	0.39	0.23	0.45
6.- Nitrazepam	0.45	0.35	0.59
7.- Oxazepam	0.37	0.22	0.44
8.- Prazepam	0.55	0.64	0.81
9.- Nordazepam	0.45	0.34	0.67
10.- Clonazepam	0.45	0.35	0.60

Siendo el Rf un dato más que nada orientativo, se hace necesario aislar el principio activo, sobre todo en el caso en que los datos cromatográficos sean muy parecidos. Si el medicamento utilizado como muestra incógnita contiene un único principio activo y no se verifican reacciones importantes de degradación de la benzodiazepina (determinado por cromatografía analítica), el producto sólido podrá aislarse por simple evaporación del solvente. En caso contrario deberá recurrirse a una cromatografía preparativa, usando como solvente de desarrollo la mezcla de acetato de etilo:acetona (4:1), la cual permite una correcta separación de las benzodiazepinas presentes en la muestra. Luego de desarrollar la placa se revelan los costados con yodo para ubicar la benzodiazepina. Se raspa la sílica en la zona de interés y se extrae con cloruro de metileno, se filtra con lecho de celite (o lecho filtrante equivalente) y se evapora a presión reducida. El producto se seca y se le determina su punto de fusión, confirmándose la identidad del mismo por realización de un punto de fusión mezcla.

Tabla 2

Benzodiazepina	Punto de fusión (oC)
1.- Diazepam	125-126
2.- Bromazepam	237-238,5
3.- Flunitrazepam	166-167
4.- Flurazepam	77-82
5.- Lorazepam	166-168
6.- Nitrazepam	224-226
7.- Oxazepam	205-206
8.- Prazepam	145-146
9.- Nordazepam	216-217
10.- Clonazepam	236,5-238,5

3. Caracterización de grupos funcionales presentes

Puede darse el caso de que con los datos cromatográficos no sea posible establecer la identidad de la benzodiazepina en forma inequívoca y que no se cuente con los patrones necesarios para la identificación por punto de fusión mezcla. En este caso se deben realizar ensayos complementarios para determinar la identidad de la muestra.

La complejidad de los ensayos realizados se puede adaptar de acuerdo a las facilidades con que se cuente, por lo cual se sugieren dos alternativas:

a.- Utilización de EI-MS

b.- Análisis de grupos funcionales

a.-Esta opción permitiría una identificación de cualquier benzodiazepina, dado que los pesos moleculares se mantienen por debajo de 400 uma, un espectrómetro de masa estándar, con ionización por impacto electrónico e inyección directa de muestra, permitiría determinar la identidad del compuesto a partir del ion molecular. Por otra parte, en el caso de benzodiazepinas cloradas o bromadas podría observarse el cluster isotópico en aquellos picos correspondientes a fragmentos que conservaran dicho halógeno.

b.-Esta opción, podría implementarse en cualquier laboratorio básico de química orgánica y dejaría tan sólo dos posibles indeterminaciones: entre Lorazepam y Oxazepam y entre Parazepam y Nordazepam. En caso de que surjan estas indeterminaciones se sugiere:

*i.-*Entre Lorazepam y Oxazepam, los cuales tienen R_f muy similares en los tres sistemas de solventes ensayados, podría implementarse una determinación gravimétrica cuantitativa de ión cloruro, precipitado como cloruro de plata, o bien un aislamiento de una porción mayor de muestra para poder determinar su punto de fusión.

*ii.-*Entre Parazepam y Nordazepam, dado que presentan diferencias apreciables de R_f en los sistemas **TD** y **TE**, es raro que se llegue a esta disyuntiva, en caso contrario puede optarse por la determinación del punto de fusión como en el caso anterior o bien a la aplicación de técnicas espectroscópicas (FT-IR para detectar la absorción N-H del grupo amida en el Nordazepam o RMN-¹H para determinar la presencia del grupo ciclopropilmetilo en el Parazepam).

Los ensayos de grupos hidroxilo y grupo nitro se realizan directamente sobre la muestra, mientras que para el ensayo de halógenos deberá realizarse primero una fusión con Na metálico. La determinación de grupo alcohol puede realizarse también por métodos espectroscópicos como la utilización de un FT-IR, siendo ésta la forma más segura de confirmar la presencia del mismo.

Fusión con Sodio:

Se coloca en un tubo de ensayos un trozo pequeño (de no más de 1 mm de lado) de sodio metálico, secado previamente con abundante papel de filtro. Se calienta el tubo cuidadosamente hasta que los vapores de sodio lleguen a una altura de 1 cm aproximadamente. Se coloca el tubo en posición vertical y se adicionan aproximadamente 5 mg de sustancia tratando de que la misma caiga sobre el sodio y no sobre las paredes y se calienta el tubo durante un minuto más. Se deja enfriar el tubo y se le adiciona 1 mL de alcohol para destruir el exceso de sodio, disgregando cuidadosamente con una varilla de vidrio (NOTA: conviene que esta operación se realice manteniendo el tubo de ensayos dentro de un vaso de precipitados, ya que en algunas ocasiones el tubo se rompe. De esta manera se podrá recuperar la solución etanólica proveniente de la fusión).

Se agregan luego 2 mL de agua destilada y se calienta la mezcla a ebullición. Se filtra en caliente y se diluye con 2 mL de agua destilada. La solución así obtenida debe ser transparente y prácticamente incolora, en caso contrario puede ocurrir que se haya agregado cantidad excesiva de muestra y haya que repetir la fusión.

ADVERTENCIA:

El sodio metálico se debe manejar con mucho cuidado. Nunca se debe utilizar grandes cantidades de producto. Manejar el sodio siempre con pinzas o tenazas. No tirar residuos de sodio al agua, ni en contenedores de basura. Estos residuos deberán destruirse en una cantidad apropiada de alcohol. Llevar a cabo la fusión de sodio con sumo cuidado y tener precaución al descomponer la masa fusionada con alcohol. Si se usa una cantidad de sodio demasiado grande, el tratamiento con alcohol puede resultar demasiado vigoroso. Se deben llevar gafas de protección durante el experimento y siempre que se esté trabajando en el laboratorio.

Determinación de Cloro, Bromo y Flúor:

Se toma 1 mL de la solución anterior, se acidifica con ácido nítrico y se hierve en campana durante 5 minutos para eliminar los cianuros formados como cianhídrico. Se toman 0,5 mL de la solución anterior y se tratan con 2 o 3 gotas de solución de nitrato de plata. La aparición de un precipitado indica la presencia de halógenos. Se deja precipitar el sólido y se decanta la solución sobrenadante. El precipitado se trata con 0,5 mL de hidróxido de amonio diluido (1 volumen de

hidróxido de amonio concentrado + 1 volumen de agua destilada). Si el sólido se disuelve, el halógeno presente es **cloro**, si no se disuelve es **bromo**.

Para la determinación de flúor se tomará 1 mL de la solución proveniente de la fusión y se acidifica con ácido acético, hirviéndose luego tal como se describió en el párrafo anterior. Una vez a temperatura ambiente, se coloca una gota de la solución sobre un papel de filtro embebido en solución de zirconio-alizarina (3 mL de solución 1 % de alizarina en etanol + 2 mL de solución 0,4 % de cloruro o nitrato de zirconio. Se sumerge el papel de filtro y se deja secar. Antes de usar se humedece con una gota de acético 50 %). La aparición de una coloración amarilla indica la presencia de **flúor**.

Determinación de Grupos NO₂ aromáticos:

Si bien las benzodiazepinas resultan inestables en medio ácido, provocándose la hidrólisis de las mismas, dado que la determinación de la presencia de grupos nitro en la molécula implica el reconocimiento de la anilina resultante de la reducción, la hidrólisis no resulta un obstáculo para detectar la presencia de grupos nitro en la molécula original. Se disuelven 10 mg de la sustancia en aproximadamente 0,5 mL de ácido acético (calentar si es necesario), se agregan 0,25 mL de ácido clorhídrico concentrado y 0,6 mL de agua. Se adiciona, con mucho cuidado, aproximadamente 0,2 g de Zn en polvo y se calienta a reflujo durante 5 minutos, se filtra y se enfría a 10 – 12 °C y se agregan con agitación, 3 gotas de solución 1 % de nitrito de sodio en agua. Se coloca una gota de la solución resultante sobre un papel de filtro, se deja evaporar el solvente y se coloca una gota de solución de β-naftol 2 % en etanol. La aparición de una coloración roja o naranja indica la presencia de grupos nitro.

Determinación de Grupos hidroxilos:

A una punta de espátula del compuesto a ensayar se le adicionan 5 a 10 gotas de una solución saturada de KMnO₄ en H₂SO₄ 4N, agitándose por espacio de 2 a 3 minutos. Si la benzodiazepina ensayada posee un grupo alcohol se observará la aparición de un precipitado de MnO₂ o bien una coloración marrón. El resultado se considera positivo si esta coloración o precipitado aparecen antes de los 5 ó 7 minutos, ya a tiempos más prolongados todas las benzodiazepinas den falsos positivos por interferencia de los productos de hidrólisis.

Ensayo	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Zr/aliz.	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-
Cl ⁻	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+
Br ⁻	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
NO ₂ ⁻	-	-	+	-	-	+	-	-	-	+
HO ⁻	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-

Bibliografía

1. Analytical Techniques (Cap. Colour Test, H. M. Stevens; Cap. Thin-Layer Chromatography, A. C. Moffat).
2. Analytical Profiles of drug Substances, Ed. Klaus Florey. Academic Press, San Diego, CA USA, 1984
3. The Merck Index, An Encyclopedia of Chemicals, Drugs and Biologicals (1989)

Miriam A. Martins Alho, Mirta L. Fascio y Norma B. D'Accorso

norma@qo.fcen.uba.ar

El trabajo en los laboratorios de Medicinal Chemistry debe mantener altos estándares de precaución y buen uso.

El manejo de instrumental eléctrico, la utilización de calor, el material de cristal y los disolventes no presentan un especial problema, si se siguen las instrucciones del supervisor.

Este documento ha sido supervisado por la Profesora Norma B. D'Accorso (norma@qo.fcen.uba.ar) quien informa que no existen problemas específicos de seguridad en la realización de este ejercicio, incluyendo toxicidad, inflamabilidad y explosión, ni cualquier otro destacable, dentro de lo usual en un laboratorio de Medicinal Chemistry.

Se agradecerá comunicar al Editor cualquier posible incidencia.

EXERCISE V.5
BENZODIAZEPINES – PART I
ISOLATION AND IDENTIFICATION IN COMMERCIAL DRUGS

Miriam A. Martins Alho, Mirta L. Fascio, and Norma B. D'Accorso

Centro de Investigaciones de Hidratos de Carbono (CIHIDECAR), Departamento de Química Orgánica, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires, Ciudad Universitaria, Pabellón II, 3° Piso, C.P. 1428, Buenos Aires, Argentina

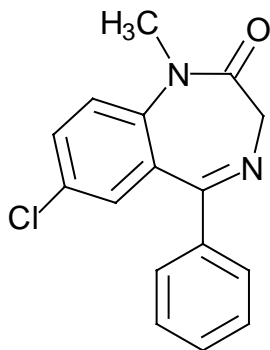
E-mail: norma@qo.fcen.uba.ar

Introduction

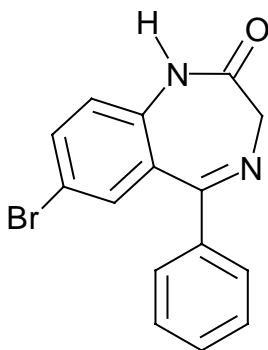
The benzodiazepines are included in the “psychotropic agents” class. Some of these drugs (diazepam, clonazepam, oxazepam, bromazepam) are used for treatment of anxiety or insomnia disorders, muscle or other chronic pain (such as arthritis) in more or less proportion, as well as muscle relaxant and in epilepsy treatment. Other benzodiazepines such as nitrazepam or flurazepam are more selective drugs.

The basic structure is obtained by a condensation reaction between an *o*-aminobenzophenone derivative and an amino acid moiety; these compounds can be hydrolyzed to obtain the precursor drugs, from which we can infer the possible degradation mechanism of these kinds of medicines.

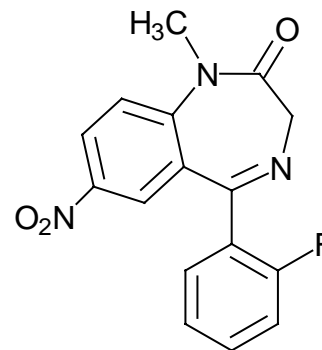
The most commonly used benzodiazepines in the medicinal field are:



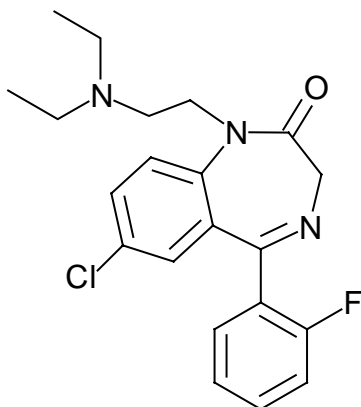
1. Diazepam



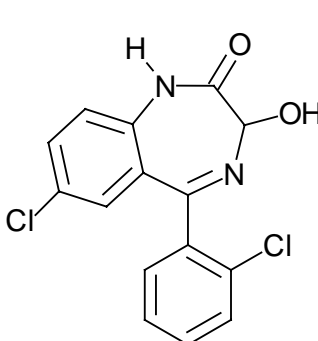
2. Bromazepam



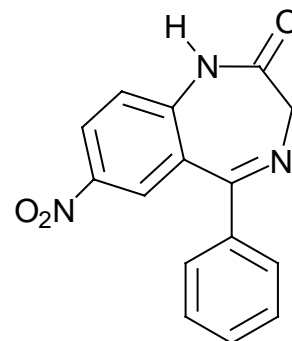
3. Flunitrazepam



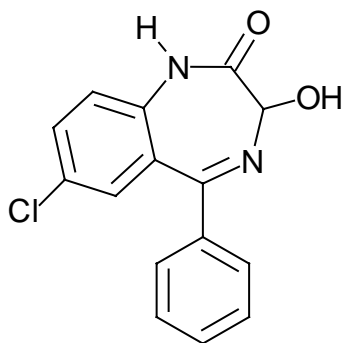
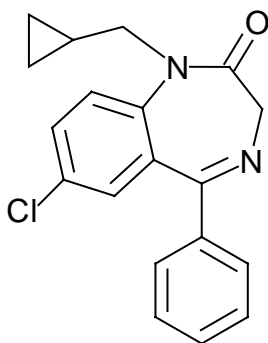
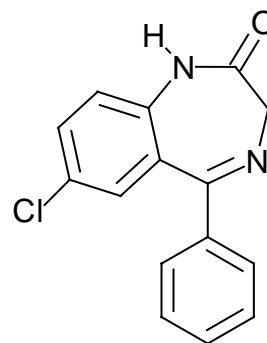
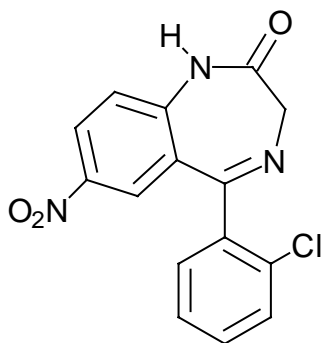
4. Flurazepam



5. Lorazepam



6. Nitrazepam

**7. Oxazepam****8. Prazepam****9. Nordazepam****10. Clonazepam**

The objective of this experiment is the isolation and identification of the active compound from a commercial medication. The different methodologies we propose depend on the equipment facilities in each laboratory. The experiment is divided into three parts.

Experimental Procedure

1. Extraction

Crush four or five tablets of the unknown commercial medication in a mortar and extract the resulting powder with methylene chloride (2 x 15 mL). Filter the mixture through a celite bed to remove the insoluble compounds (mainly excipients). The obtained colorless solution will be used for the assays.

2. Thin-layer and preparative chromatography

As it is known (of course), the R_f chromatography value cannot be used as an identification criterion, but in a series or families of compounds, such as pesticides and alkaloids, among others, the use of standard chromatographic solvents allows us to compare with standard data. Particularly, for benzodiazepines, the solvent systems are:

Ethyl acetate [TF]

Chloroform:acetone (4:1) [TD]

Ethyl acetate:methanol:ammonia (85:10:5) [TE]

Perform thin-layer chromatography of the previously obtained extract (item 1) using three chromatographic systems mentioned above and compare the R_f values with the bibliographic data listed below.

Table 1

BENZODIAZEPINE	[TF]	[TD]	[TE]
1. Diazepam	0.22	0.15	0.44
2. Bromazepam	0.20	0.13	0.62
3. Flunitrazepam	0.48	0.58	0.77
4. Flurazepam	0.03	0.03	0.74
5. Lorazepam	0.39	0.23	0.45
6. Nitrazepam	0.45	0.35	0.59
7. Oxazepam	0.37	0.22	0.44
8. Prazepam	0.55	0.64	0.81
9. Nordazepam	0.45	0.34	0.67
10. Clonazepam	0.45	0.35	0.60

Because the R_f is not an identification criterion, it is necessary to isolate the active drug for confirmation, particularly when the R_f values are similar. If there is only one stable drug, the active compound can be isolated directly from the item 1 extract. Otherwise, the mixture of components must be separated by preparative thin-layer chromatography, using ethyl acetate:acetone (4:1). After the chromatographic plate is developed, the spots are located by exposing the border of the slide to iodine vapor. The portion of silica identified is removed, and the benzodiazepines are extracted with dichloromethane, avoiding the strip that was in contact with the iodine. The extract is filtered through a celite bed, and the solvent is evaporated under diminished pressure. The resulting solid is dried, and its melting point is measured. The benzodiazepine identity is assured by means of a mixed melting point using appropriated standards.

Table 2

BENZODIAZEPINE	Fusion point (°C)
1. Diazepam	125–126
2. Bromazepam	237–238.5
3. Flunitrazepam	166–167
4. Flurazepam	77–82
5. Lorazepam	166–168
6. Nitrazepam	224–226
7. Oxazepam	205–206
8. Prazepam	145–146
9. Nordazepam	216–217
10. Clonazepam	236.5–238.5

3. Functional group characterization

When the correct identity of the benzodiazepine cannot be established or does not have the standard to make the mixed melting point, a complementary test must be performed.

According to the equipment facilities, two alternative techniques can be used:

- a. EI-MS
- b. Functional group analysis

a. All commercial benzodiazepines can be identified by this method because their

molecular weights are smaller than 400 amu. A simple mass spectrometer can be used to detect the molecular ion. When bromine or chlorine are present, the isotopic clusters can be observed for all halogenated fragments.

b. This option is suitable to distinguish between most of the commercial drugs. Exception must be made for lorazepam vs. oxazepam (*i*) or prazepam vs. nordazepam (*ii*), but the components of both couples have great differences between their melting points. Despite that, these assays can be made for confirmation:

i. A quantitative chlorine gravimetry to distinguish lorazepam from oxazepam, which have similar R_f .

ii. If any doubts remain in distinguishing prazepam from nordazepam by R_f values in different solvent systems (**TD** or **TE**), FTIR can be performed. Differentiation can be made by looking for a band corresponding to N-H stretching. Another option is to perform a ^1H NMR spectrum and identify the signal corresponding to the cyclopropylmethyl group of prazepam.

Assays for hydroxyl and nitro groups can be made directly over the sample, but also by using FTIR, which is the safest way to see these functional groups. To analyze the presence of halogens in the molecule without a mass spectrometer, a sample mineralization must be made, using sodium fusion.

Sodium fusion 1

With a pair of tweezers, remove a sodium metal piece and dry it carefully with dry filter paper. Cut a little cube of sodium (not more than 1–2 mm by side) and place it in a clean and dry 10 × 75 mm Pyrex test tube. Heat the tube with a Bunsen burner. When about 1 cm of the tube is filled with sodium vapors, put it on vertical and add one drop of liquid or 5 mg of unknown solid. This addition can produce flame and smoke. Heat the tube for another 60 seconds and allow it to cool to room temperature. Place the tube in a 50 mL beaker and add 1 mL of alcohol to destroy the sodium excess, aided with a glass rod. If the tube breaks, the ethanolic solution can be recovered from the beaker. Add 2 mL of water and boil the mixture for a few seconds, and filter the colorless mixture. Cool this clear filtrate and use it in the following tests.

Note: if the filtrate is not colorless, the quantity of sample was too much, and the fusion must be repeated.

CAUTION: Metallic sodium must be manipulated with great care. Never use large quantities of metallic sodium, and do not touch the sodium with your fingers, use tongs or pincers. Do not throw small residual pieces of sodium into water, or into a sink or waste crock; destroy sodium residues in an appropriate quantity of alcohol.

Carry out the sodium fusion with care, and be especially cautious in decomposing the fused mass with alcohol. If too large an amount of sodium is used, the resulting treatment with alcohol may be too vigorous. Safety glasses must be worn for the experiment and should be worn at all times in the laboratory.

General halogen test

Use 6 M nitric acid to acidify 1 mL of the stock solution. Boil the acidified aliquot gently for 5 min in the hood to remove the hydrogen cyanide formed during the mineralization. One or two drops of silver nitrate solution are added to 0.5 mL of solution. Precipitate formation indicates the presence of halogens, except fluoride. The solid is allowed to precipitate and separate from the solution. 0.5 mL of diluted ammonium hydroxide (50 % in volume) is added to the solid; if dissolution is observed, the halide is chloride, if there is no dissolution, it is bromide.

To determine fluoride: acidify 1 mL of the fusion solution with acetic acid, boil, and then when the solution arrives at room temperature, a filter paper moistened with zirconium-alizarin solution [3 mL of alizarin solution in ethanol (1 %) to 2 mL of zirconium chloride or zirconium nitrate (0.4 %) test the evolved gases] is introduced. The paper is submerged and then dried. A drop of acetic acid (50 %) is added to humidify, before use. Put a drop of acidified solution on the treated paper, a yellow coloration indicates the presence of fluoride.

Aromatic nitro group's characterization

The benzodiazepines are unstable in acid medium, due to a hydrolysis reaction. The identification of the nitro groups is based on the transformation of this group in the corresponding aniline, so the hydrolysis does not interfere with this determination. 10 mg of the substance is dissolved in 0.5 mL of acetic acid (heat if necessary). 0.25 mL of concentrate chloride acid and 0.6 mL of water are added, and then 0.2 g of Zn in powder is added carefully. The mixture is heated at reflux during 5 min, filtered, and the solvent is evaporated. Then a drop of β -naphthol solution (2 % in ethanol) is added. The red or orange indicates that nitro groups are present.

Hydroxyl group's determination

Five to ten drops of saturated solution of KMnO_4 in 4 N H_2SO_4 are added to a little portion of substance in the study, and are shaken for 2–3 min. If the MnO_2 precipitation appears in 5–7 min, this indicates that the benzodiazepines have hydroxyl groups (if the coloration takes a longer time to appear, this can be due to interferences present in the substances).

Test	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Zr/aliz.	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-
Cl^-	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+
Br^-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
NO_2^-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	+
HO^-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-

References

1. Analytical Techniques (Cap. Colour Test, H. M. Stevens; Cap. Thin-Layer Chromatography, A. C. Moffat).
2. Analytical Profiles of Drug Substances, Ed. Klaus Florey. Academic Press, San Diego, CA USA, 1984
3. The Merck Index, An Encyclopedia of Chemicals, Drugs and Biological (1989).

Miriam A. Martins Alho, Mirta L. Fascio, and Norma B. D'Accorso

norma@go.fcen.uba.ar

High standards in safety measures should be maintained in all work carried out in Medicinal Chemistry Laboratories.

The handling of electrical instruments, heating elements, glass materials, dissolvents and other inflammable materials does not present a problem if the supervisor's instructions are carefully followed.

This document has been supervised by Prof. Dra. Norma B. D'Accorso (norma@go.fcen.uba.ar) who has informed that no special risk (regarding toxicity, inflammability, explosions), outside of the standard risks pertaining to a Medicinal Chemistry laboratory exist when performing this exercise.

If your exercise involves any "special" risks, please inform the editor.