

DEPARTAMENTO DE FARMACOGNOSIA Y FARMACODINAMIA

DIRECTOR: PROF. DR. JESUS CABO TORRES

Posibilidades de una relativa unificación de las técnicas de determinación de Alcaloides, prescritas por F. E. IX ed.

por

J. CABO TORRES y A. VILLAR DEL FRESNO

Ars Pharm. VIII, 11-12 (1967)

OBJETO Y JUSTIFICACION

Las técnicas descritas por nuestra vigente Farmacopea, para la valoración de las drogas alcaloídicas, adolecen, en conjunto de inconvenientes no pequeños.

Al partir de cantidades de muestra muy considerables, —del orden de 10 gramos— requieren despues volúmenes de líquidos extractivos muy elevados y siendo estos generalmente caros (éter y cloroformo los mas usuales) hacen que dichas técnicas resulten costosas. Por otra parte el disolvente o mezcla de ellos que han de emplearse, varían de una droga a otra, aunque no siempre esté justificada dicha variación; algo parecido podríamos decir del álcali empleado. En cuanto a la valoración final, tampoco existen siempre razones, que aconsejen su falta de uniformidad de unas drogas a otras.

En una palabra, se observa claramente una anarquía, que desemboca en desorientación para el analista, y añadamos que, en general las técnicas preconizadas son largas y engorrosas. Tambien hemos podido comprobar claros errores, que no se pueden considerar solo de errata, sino de método.

Por lo expuesto y partiendo de experiencias aisladas, que anteriormente habían realizado en las Cátedras de Farmacognosia de Madrid y Granada, Cabo Torres y Pardo García (6); nos proponemos intentar la relativa unificación de las técnicas de valoración volumétrica de drogas alcaloídicas. Asi aportaríamos mejoras notables para el análisis y datos que ofrecer a la Comisión que redacte la nueva edición de la Farmacopea Española.

* ARS PHARMACEUTICA publicará "in extenso", en notas sucesivas, el presente trabajo enriquecido con datos posteriores.

PARTE TEORICA

Hemos realizado un estudio bibliográfico minucioso de las múltiples técnicas descritas para la determinación del contenido alcaloídico en drogas. De dicho estudio por su sencillez en la técnica, economía, tanto en droga como en reactivos y suficiente exactitud, hemos escogido para nuestro intento la técnica descrita para determinación de alcaloides totales en hoja Belladona por Hegnauer y Flück (23), convenientemente modificada y puesta a punto por Cabo Torres y Pardo García (6).

Describimos a continuación dicha técnica:

Se pesa un gramo (\mp 0'01) de la droga pulverizada (tamiz de unas 20 mallas por cm.) y se introduce en un frasquito de paredes gruesas, añadiendo 15 ml de agua ácida (pipeta). Se agita ligeramente para empapar la droga y se tapa herméticamente con tapón de goma que se asegura al frasco con una cuerdecita. Se introduce el frasco durante media hora en agua a ebullición y, transcurrido dicho tiempo, se agita durante otra media hora el frasco, mejor en agitador mecánico. A continuación se filtra por filtro de pliegues el extracto, colándolo previamente a través de un lienzo y presando ligeramente éste, pero evitando que pasen por el tejido pequeñas partículas de droga; si la filtración es lenta, ha de tener lugar en cámara húmeda. Del filtrado se toman con pipeta o probeta estrecha 7'5 ml (equivalente a 0'5 g de droga) se pasan a un frasquito de unos 30 ml de capacidad, se alcaliniza con 0'3 ml de amoníaco concentrado y se añaden 15 ml de éter. Se agita enérgicamente el frasquito bien tapado, durante uno o dos minutos. Se añade entonces 0'3 g de goma tragacanto, se agita de nuevo muy enérgicamente breves instantes para que la goma forme con el agua una masa gelatinosa que queda adherida al fondo y paredes del frasco pudiéndose separar así cómodamente el éter, que se pasa a un erlenmeyer, previa filtración por un poco de algodón, poniendo sumo cuidado en no perder nada de líquido. Se agita tres veces mas el residuo del frasco con 5 ml de éter cada vez, reuniendo en el erlenmeyer los líquidos etéreos, que serán filtrados por el mismo algodón. Se destila el éter sobre baño maría y se mantiene después el erlenmeyer que contiene el residuo alcaloídico durante media hora por lo menos en la estufa a 100-105°.

Se añade al erlenmeyer 1 ml de alcohol de 96°, exactamente medido y se mantiene 1-2 minutos sobre baño de agua, agitando para la total disolución del residuo. Se adicionan, después 25 ml de agua recientemente destilada o, de no ser así, agua destilada recientemente hervida y enfriada. Tras adición de dos gotas de cada una de las soluciones del indicador de Shiro—Tashiro se titula con ácido 0'01 N (micro-bureta) hasta aparición de un tono agrisado que indica el punto de viraje.

Se realizará previamente una prueba en blanco con las mismas cantidades de alcohol, agua destilada e indicador, restando el volumen de ácido empleado del que se gasta con la solución alcaloídica.

No se nos oculta sin embargo las enormes dificultades con que hemos de tropezar al intentar adaptar esta técnica a otras drogas que no solamente difieren en las características de sus alcaloides, sino en lo que es también de suma importancia como es la procedencia de los diversos órganos del vegetal. Sin embargo, tenemos la esperanza que con modificaciones no muy profundas en dichas técnicas lleguemos a conseguir nuestro intento de unificación.

PARTE EXPERIMENTAL

Hemos realizado nuestro intento sobre las drogas que la Farmacopea Española prescribe determinación cuantitativa y que a continuación mencionamos: Hoja de coca, Hoja de Jaborandi, Sumidad de Lobelia, Corteza de Quina, Corteza de Granado, Raíz de Acónito y Nuez Vómica.

De ellas, se hace previamente un estudio teórico de las propiedades de sus alcaloides principales, —este estudio se dirige especialmente a solubilidad en los diferentes disolventes orgánicos, así como a la labilidad de la estructura de los mencionados principios activos— pasando a continuación a realizar una serie de determinaciones siguiendo técnica de F. E. IX que nos orientan sobre la riqueza de la droga en estudio y de las ventajas e inconvenientes de la técnica oficial.

Seguidamente se pasa a estudiar la droga por el método a adoptar realizándose series de determinaciones empleando dicha técnica sin modificación alguna. A la vista de los estudios teóricos previamente realizados sobre los diversos alcaloides, se introducen en la mencionada técnica modificaciones mas o menos profundas siguiendo siempre de una manera sistemática la influencia de los diversos reactivos que a nuestro juicio condicionan la variabilidad de los resultados.

El orden seguido en todas las drogas para el estudio de la influencia de los diversos reactivos ha sido el siguiente:

I.—Influencia del agua ácida (clorhídrica o sulfúrica) y concentración de la misma, dado que por lo general el volúmen permanece constante.

II.—Influencia del álcali utilizado (generalmente amoníaco) cambiándose el volúmen. Excepcionalmente en algunas drogas se ha estudiado la influencia del uso de diversos volúmenes de sosa.

III.—Influencia del disolvente orgánico utilizado. Nos hemos circunscrito únicamente a los mas usuales en este tipo de determinaciones: éter, cloroformo y mezclas en diversas proporciones de ambos.

IV.—Influencia de la goma tragacanto. En este apartado se ha estudiado para cada caso, el peso idóneo, teniendo en cuenta la calidad de la misma.

V.—Otras influencias. Especie “de cajón de sastre” donde se estudian todas las variaciones que se han efectuado a lo largo de nuestro trabajo no clasificables en los apartados anteriores.

Mediante un detenido análisis de los datos obtenidos llegamos a concluir para cada droga las modificaciones a nuestro juicio idóneas para adoptar la técnica de Hegnauer y Flück; pasamos por tanto a exponer dichas conclusiones en cada droga.

Hoja de Belladona

Ratificamos tras haber realizado cincuenta experiencias con los correspondientes estudios estadísticos de las mismas, que el método

rápido propuesto por Hegnauer y Flück, precisamente para esta droga es particularmente adecuado en especial cuando se aplica con la modificación introducida por J. Cabo Torres (4).

Hoja de Coca

La técnica sin modificar, da un valor medio de alrededor del 20% mas elevado que el de la técnica oficial (F. E. IX ed) siendo parecida la precisión de ambos métodos según demuestra su estudio estadístico.

Vistas las influencias, sobre la técnica en estudio de las extracciones con ácidos distintos a concentraciones variables; de diferentes volúmenes del alcali empleado para desplazar los alcaloides y de distintas cantidades de tragacanto adicionadas para la aglutinación, llegamos al establecimiento de las condiciones idóneas, para obtener una considerable mejora en la precisión de la técnica a todas luces superior a la oficial.

El valor medio obtenido se eleva muy por encima del que da el método de F. E. IX ed (0'76% a 1'09%) aproximadamente un 50% mas elevado, estando sin embargo dentro de los márgenes establecidos para drogas de buena calidad (hasta un 2'4%).

Hoja de Jaborandi

El método de Hegnauer y Flück en su versión original da resultados bajísimos e inaceptables. Hemos podido establecer que es la influencia del disolvente orgánico empleado, quien protagoniza aquí, la posible validez del método en estudio, concluyéndose que es el cloriformo el que ha de emplearse.

El estudio sistemático de las influencias respectivas de otros diversos factores, realizado como antes, nos ha permitido concluir que, las directrices que fundamentan la técnica estudiada, son valederas para determinar los alcaloides totales de la hoja de jaborandi, a condición de introducir pequeñas modificaciones en el "modus operandi", aparte de la señalada modificación del disolvente orgánico.

En esta droga los resultados obtenidos, son ligeramente inferiores —aproximadamente en un 10%— de los de la técnica oficial, sin que disminuya la precisión.

Sumidad de Lobelia

La técnica oficial de F. E. IX ed da resultados elevados, del orden de unas tres veces lo normal (0,9%), al tiempo que los resultados obtenidos, se resienten respecto a la precisión (el valor de la desviación típica sobrepasa el 33% del de la media). Creemos haber podido demostrar que esos resultados erróneos dados por el método oficial, se debe a la insuficiente e incontrolada eliminación final del amoníaco, que al ser determinado en alcalimetría como alcaloide, eleva los resultados y hace estos inconstantes.

Al intentar aplicar a esta droga, la técnica de Hegnauer y Flück, comprobamos que la extracción acuosa en medio ácido en caliente, destruye los alcaloides de la Lobelia, por lo que la técnica general en estudio ha de ser modificada en tal sentido. Por parecidas razones a las aducidas, ha de sustituirse en la técnica que estudiamos, la eliminación final del alcali en el residuo a valorar por otro procedimiento eficiente, que utilice calor mas moderado.

Hemos establecido las condiciones adecuadas para obviar los mencionados inconvenientes de nuestra técnica, pudiendo concluir del estudio estadístico de los resultados obtenidos que, con las modificaciones convenientes la técnica estudiada es también aplicable a la valoración de los alcaloides totales de la Lobelia, con las ventajas que de ello se desprende.

Corteza de Quina

El método oficial (F. E. IX ed) aplicado a la corteza de Quina, es en líneas generales eceptable, debiendo hacerse notar, que tanto en la cantidad de droga que emplea (1'25g) como en la técnica operatoria, se acerca considerablemente al método que nosotros intentamos generalizar, en la misma medida que se distancia de los restantes métodos preconizados por el citado código oficial para las restantes drogas alcalóidicas. No obstante, el aludido método de F. E. IX ed, da resultados por exceso, según hemos podido establecer operando con quinina pura.

El método que estudiamos en su versión inicial no es adecuado para valoración de alcaloides totales en la Quina por dar resultados muy inferiores a la realidad y de inaceptable reproductibilidad, en buena ortodoxia.

Tras numerosas y sistemáticas tentativas, en las que se han ido variando toda una serie de circunstancias que podían influenciar los resultados, establecemos las modificaciones idóneas a introducir en el método en estudio —algo mas profundas que para las restantes drogas— para obtener buenos resultados.

Establecimos la calidad de los datos obtenidos contrastada mediante el adecuado estudio estadístico de los mismos y el empleo de muestras separadas con quinina pura. Dichos resultados poseen un ligero error por defecto, menor que el exceso de los del método oficial.

Corteza de granado

Como era previsible —dada la volatilidad de las peletierinas— el método originario de Hegnauer y Flück, no es en principio aplicable a la valoración de alcaloides de la Corteza de Granado. En cambio el método oficial, que como el de la Quina, presenta en su fase extractiva, mayor coincidencia con el que estudiamos, da resultados muy acep-

tables, pues toma en consideración en su fase inicial la aludida propiedad (volatilidad de estos alcaloides).

El estudio sistemático y paciente de toda una amplia gama de circunstancias, nos ha conducido a establecer la posibilidad de extensión de la técnica estudiada, también a la corteza de Granada. En resumen las modificaciones consisten:

a) en cuanto a la fase extractiva: tomar —como hicimos en la quina— la parte alicuota del extracto de disolvente orgánico, en vez de hacerlo de la fase acuosa ácida; y,

b) en la fase previa a la volumetría: eliminar el amoníaco residual a temperatura considerablemente inferior, a los demás casos.

Las medias de los resultados obtenidos, son algo más del 10% inferiores a las del método de F. E. IX ed. Hecho nada extraño, porque en la volumetría final del método oficial suele formarse emulsión, que dificulta la apreciación del viraje antes de que éste se haya pasado ligeramente (rojo). La precisión es en el peor de los casos equiparable y en conjunto, la técnica propuesta es más cómoda y rápida en su realización, requiriendo cantidades de droga y reactivos seis veces menores que las del método oficial.

Raíz de acónito

El método de valoración prescrito para los alcaloides totales de la raíz de Acónito por F. E. IX ed. —como en otras drogas transcrito de la Ph. Helv. V— es rápido, pero hemos comprobado con otros autores, que el líquido a valorar finalmente, se emulsiona cuando se añade el agua necesaria a la solución alcaloídica del residuo de la destilación del éter. En consecuencia, la volumetría posterior se hace difícil, incómoda y confusa al apreciar el punto de viraje.

Con esta droga sirve, como oportunamente demostramos, el método en estudio, con pocas y ligeras modificaciones:

a) colado por lienzo en vez de filtración por papel del extracto acuoso inicial;

b) ligera elevación de la cantidad de amoníaco añadido.

Las pequeñas diferencias entre la media de los resultados obtenidos por uno y otro método, no son significativas y mediante el propuesto, aumenta considerablemente la precisión.

Nuez vómica

En la nuez vómica se acentúa la necesidad de sustitución del método oficial, puesto que siendo considerablemente largo, con la incomodidad de diversos trasvases y, al igual que en otros casos, produciendo una molesta emulsión del líquido a valorar, su precisión deja mucho que desear, como lo prueban los datos estadísticos.

El método en estudio, convenientemente modificado, da resultados del orden de 25-30 veces más precisos, siendo más bajos que los del método oficial, pero con una diferencia apenas significativa. Las modificaciones a introducir, son exactamente las mismas que para la raíz de Acónito, con la única diferencia de emplear como disolvente orgánico éter-cloroformo (4/1 v/v).

CONCLUSION GENERAL Y PRINCIPAL

Hemos establecido con base experimental suficientemente sólida (más de 1.600 datos válidos y sus correspondientes estudios estadísticos) que puede conseguirse una relativa unificación en las técnicas de valoración en la casi totalidad de las drogas admitidas por la F. E. Se sigue una uniforme marcha general; se parte uniformemente de solo 1 g. de muestra (hasta 12 veces menos que en F. E.), con la consiguiente repercusión en reactivos extractivos. También la uniformidad casi total preside en las sucesivas operaciones a realizar; se requiere muy poco material; se consigue, además de mucha mayor comodidad, un notabilísimo incremento de la rapidez; y todo ello asentado en una precisión, por lo general considerablemente superior.

Apoyados en esta conclusión general de nuestro trabajo podemos hoy ofrecer a la Comisión para la nueva edición de la F. E., la posibilidad de romper con la anarquía de sus técnicas actuales haciendo innecesario además recurrir a farmacopeas de otros países en algunos casos sumamente anticuadas ya, cuando apareció la nuestra.