



TRABAJO PRÁCTICO N° 8.

ALCALOIDES.

Objetivos

- Integrar los conocimientos químicos a la interpretación de secuencias de obtención e identificación de alcaloides en drogas de origen natural.

Caracteres generales

Los alcaloides son compuestos básicos nitrogenados, de estructura compleja y marcada acción farmacológica, presentándose en muy diversas familias de plantas, tales como Solanaceae, Papaveraceae, Apocinaceae, Rubiaceae, Ephedraceae.

Los alcaloides pueden encontrarse como bases libres o formando sales, en distintos órganos de la planta (semillas, frutos, hojas, tallos, raíces o rizomas). Las sales son en general solubles en agua, en tanto que las bases libres lo son en solventes orgánicos tales como éter sulfúrico, acetato de etilo, cloroformo.

Métodos de reconocimiento de alcaloides

Los alcaloides forman sales dobles con compuestos de mercurio, oro, platino, bismuto, iodo. Estas sales dobles suelen obtenerse como precipitados y muchas son características desde el punto de vista cristalográfico. Estos metales forman parte de los llamados reactivos de alcaloides, aunque los precipitados pueden ser causados también por proteínas, betaínas, cumarinas y algunos polifenoles, generando interferencias en la detección de alcaloides. Dado que la ausencia de precipitado es indicativa de que no hay alcaloides, estos reactivos se utilizan como prueba presuntiva de su presencia. El resultado positivo en cambio, debe ser corroborado mediante la realización de una extracción en medio básico y la repetición de los ensayos en las fracciones purificadas.

Es preciso tener en cuenta que los reactivos de alcaloides se deben ensayar sobre una fase acuosa ligeramente acidificada. Estas reacciones no se pueden realizar directamente sobre extractos orgánicos, incluyendo extractos alcohólicos, debido a que se redisuelven los precipitados. Por ello se procederá a evaporar el solvente y se retomará el extracto con una solución acuosa acidulada, procediendo luego a efectuar las reacciones.

PARTE PRÁCTICA I

En el presente trabajo práctico se trabajará con la droga vegetal *Peumus boldus* Mol. (Monimeaceae), boldo, cuya parte usada son las hojas, la cual presenta alcaloides derivados de la aporfina. Dicha droga posee no menos de 0,20 % de alcaloides totales calculados como boldina (según FA VII Ed.).

Actividades

1- Reacciones de Identificación

Se trabajará con tinturas comerciales de quina (**T-Q**), cornezuelo de centeno (**T-C**), beleño (**T-B**) y con las Fracciones **C** y **D** de la planta en estudio. Las reacciones se probarán en el siguiente orden:

1.1.- Reactivo de Dragendorff: $\text{Bi}(\text{NO}_3)_3$ en HNO_3 -KI en agua destilada.

Resultado (+): precipitado naranja o pardo anaranjado.

1.2- Reactivo de Bouchardat: I_2 -KI.

Resultado (+): precipitado en flóculos de color marrón, naranja que cambia con el tiempo.

1.3- Reactivo de Mayer: HgCl_2 en agua destilada + KI en agua destilada.

Resultado (+): precipitado blanco amarillento.

NOTA. Los reactivos deben añadirse gota a gota, pues de lo contrario, puede ocurrir que no sea visible el resultado.

2- Extracción para una droga patrón: un muestra de hoja de boldo reducida a polvo (**HB**) se extraerá de acuerdo a lo descrito por Wagner y Bladt, pág. 4 (método C, extracción con ácido sulfúrico):

- Agitar 0,4 a 2 g de droga reducida a polvo con 15 ml de una solución 0,1 N de ácido sulfúrico, durante 15 min; filtrar y lavar el marco sobre el papel de filtro con la solución sulfúrica hasta un volumen total de sobrenadante de 20 ml. A continuación agregar 1 ml de amoníaco concentrado al filtrado y disponerlo en una ampolla de decantación; Particionar con éter etílico (2 x 10 ml). Tomar la fase etérea, deshidratarla con sulfato de sodio anhidro, filtrar y evaporar la fase etérea a sequedad. Disolver el extracto etéreo seco en 0,5 ml de etanol (**EHB**) y se desarrolla en el sistema cromatográfico planar indicado más abajo.

Extracción en medio ácido de la droga en estudio que diera positivo para alcaloides:

Se procederá a realizar una extracción en medio ácido, seguida de la aplicación de las reacciones de identificación y posterior análisis cromatográfico.

- Pesar aproximadamente 1 g de droga reducida a polvo y agregar 20 ml de HCl al 1 %. Calentar en baño de agua a temperatura no mayor a 70 °C entre 5 y 10 min, filtrar.

2.1- Reacciones de identificación

Ensayar las reacciones generales de alcaloides en el orden indicado más arriba, sobre distintas fracciones del filtrado de la droga en estudio.

2.2- Cromatografía planar (TLC)

Cromatoplaça con las medidas adecuadas.

Fase estacionaria: sílica gel 60 $\text{HF}_{254+366}$ (las placas serán preparadas en el laboratorio en las clases anteriores, teniendo en cuenta el agregado de yeso como aglutinante).

Fases móviles: tolueno-acetato de etilo-dietilamina (70:20:10)

Sustancia patrón o marcador: quinina, quinidina, tintura de quina, rutina.

Muestras: EHB y las drogas en estudio que dieran positivo.

Procedimiento: siembra en banda (2-3 mm); desarrollo ascendente.

Revelado: observar al visible, seguido de UV-365 nm; a continuación rociar el cromatograma con unos ml del reactivo de Dragendorff y observar al visible. Trabajar con mucha precaución, bajo campana, utilizando guantes, barbijo y antiparras.

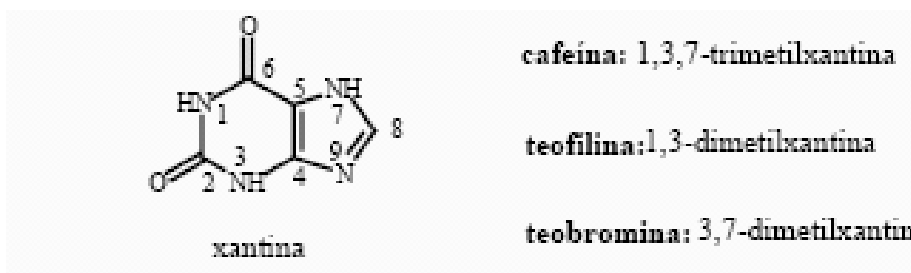
Informe de los resultados: calcular los correspondientes Rf, compararlos con la bibliografía y establecer una conclusión; tener en cuenta también lo establecido en Wagner y Bladt (1996), Págs. 44-45.

INFORME ALCALOIDES PARTE I

Informar los resultados obtenidos de cada experiencia y las conclusiones a las que se arribó.

PARTE PRÁCTICA II

BASES XANTICAS



1- CAFEINA

Generalidades

La cafeína es un pseudoalcaloide que pertenece al grupo de las bases xánticas junto con la teobromina y la teofilina. Se encuentra al estado natural en algunas plantas como el café, té, kola, guaraná y yerba mate. Actúa principalmente como estimulante del SNC y como diurético.

La cafeína no contiene menos de 98,5 % de $C_8H_{10}N_4O_2$, calculado para la sustancia desecada.

Caracteres generales

Agujas incoloras, brillantes, sedosas, agrupadas en masas voluminosas o polvo blanco, inodoro y con sabor amargo.

Soluble en 60 partes de agua destilada, en 2 partes de agua destilada hervida, en 110 partes de alcohol y 9 partes de cloroformo. Muy poco soluble en éter.

Actividades prácticas

- Ensayos de identificación colorimétricos

1- Reacción de la MUREXIDA

En una cápsula o crisol pequeño, colocar 0,5 g de cafeína, agregar 1 ó 2 ml de HNO_3 fumante, evaporar la mezcla calentándola en la campana a Baño María.

Al residuo amarillo añadir 1 gota de NH_3 tornándose inmediatamente de color púrpura.

2- Reacción con Iodo

A 5 ml de solución acuosa, saturada y fría de cafeína se agregan unas gotas de Iodo. No se observará precipitado. Luego añadir 3 gotas de HCl al 10 %, se formará un precipitado pardo rojizo que se redisuelve con la adición de un ligero exceso de una solución de NaOH.

2- TEOBROMINA

Generalidades

La teobromina es la 3,7-dimetilxantina. Contiene no menos de 99 % de $C_7H_8O_2N_4$, calculado para la sustancia desecada.

Caracteres generales

Polvo cristalino, blanco o agujas rómbicas; inodoro y con sabor amargo débil al principio, intensificándose gradualmente.

Prácticamente insoluble en agua destilada; soluble en 150 partes de agua destilada hirviendo; prácticamente insoluble en alcohol, en éter y en glicerina.

Actividades prácticas

- Ensayo de Identificación

1- Reacción de la MUREXIDA

Proceder como se indicó para cafeína.

2- Disolver 0,1 g de teobromina en 1 ml de HNO_3 y 2 ml de H_2O . Calentar en Baño María y agregar $AgNO_3$ al 10 %. Al enfriar, se depositan agujas de teobromina argéntica.

NOTA. La cafeína no precipita sal de plata.

3- DETERMINACIÓN DE CAFEINA Y TEOBROMINA EN YERBA MATE Y CASCARILLA

Se realizará una cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) de acuerdo a la técnica que se adjunta.

Sustancias patrones - pesar 10 mg de cafeína y 10 mg de teobromina, disolver en 1 ml del solvente A, colocarlos en tubos Ependorff y centrifugar a 10000 rpm.

Muestras - Preparar infusiones de yerba mate y cascarilla, según FA VII Ed.

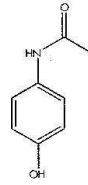
Analgesics

LC Conditions:

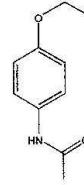
Column: Atlantis™ dC₁₈ 4.6 x 150 mm, 5 μm
 Part Number: 186001344
 Mobile Phase A: H₂O
 Mobile Phase B: ACN
 Mobile Phase C: 1% HCOOH, pH 2.3
 Flow Rate: 1.0 mL/min
 Gradient:

Time (min)	Profile		
	%A	%B	%C
0.0	75	15	10
10.0	30	60	10

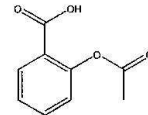
Injection Volume: 10 μL
 Temperature: 30° C
 Detection: UV @ 260 nm
 Instrument: Alliance® 2695 with 2996 PDA



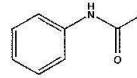
Acetaminophen



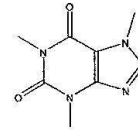
Phenacetin



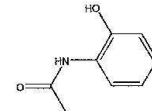
Acetylsalicylic acid



Acetanilide

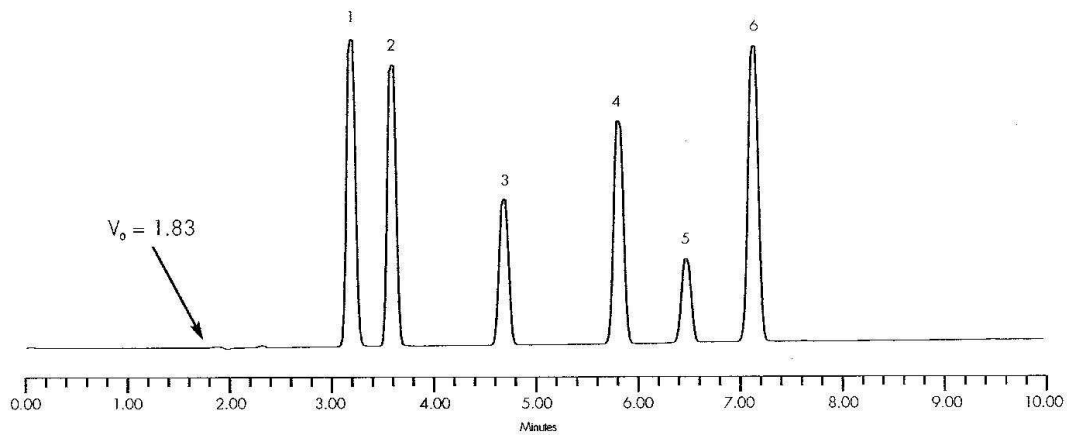


Caffeine



2-Acetamidophenol

Compounds:	USP Tailing	Sample
		Concentrations (μg/mL)
1. Acetaminophen	1.00	16
2. Caffeine	0.99	18
3. 2-Acetamidophenol	0.98	55
4. Acetanilide	1.00	22
5. Acetylsalicylic acid	0.96	55
6. Phenacetin	0.96	18



PARTE PRÁCTICA EN LA OFICINA DE FARMACIA

Concorre a su farmacia un paciente hipertenso de 48 años. Le comenta que no puede estabilizar su tensión arterial y que no sabe por qué, ya que hace dieta estricta y toma la medicación como le indicaron. Ante sus preguntas sobre la alimentación, averigua que el señor toma de 3 a 4 tazas de café diarias. ¿Cuál sería su consejo ante este caso?

INFORME ALCALOIDES PARTE II

Informar los resultados obtenidos de cada actividad y las conclusiones a las que se arribó.

BIBLIOGRAFIA

- Bruneton, J. *Elementos de Fitoquímica y Farmacognosia*, Acribia: España; 1991.
- Dominguez, J. A. *Métodos de Investigación Fitoquímica*, Limusa: México; 1985.
- Wagner, H.; Bladt, S. *Plant Drug Analysis. A Thin Layer Chromatography Atlas*, 2°ed.; Springer-Verlag: Alemania, 1996.
- *Farmacopea Nacional Argentina*, VI Ed.; 1978.
- *Farmacopea Argentina*, VII Ed.; 2003.