

ESTUDIO QUIMICO-FARMACEUTICO DEL TEUCRIUM
ERIOCEPHALUM. II. ESENCIA, MUCILAGO, DERIVADOS
QUINONICOS, RESINAS, SAPONINAS Y TANINOS

por

C. MIRANDA y J. M.^a SUÑÉ (*)

Ars Pharm. X, 35 (1969)

3.—ESENCIA

Hemos indicado anteriormente la existencia de una esencia en el *Teucrium eriocephalum* demostrada tanto organolépticamente ("olor fuerte, característico, sobre todo al triturar la planta entre los dedos") como microscópicamente (difusión de Sudán III y de tintura de An-cusa sin que aparezcan corpúsculos, grasa, al montar en alcohol o en hidrato de cloral).

Las referencias a la existencia de esencia en diferentes especies del género *Teucrium* son abundantes. A continuación procuramos hacer una revisión concreta de ellas.

El *Teucrium Botrys* es de olor fuerte y desagradable según EONNIER (33) y poco aromático según GUIBOURT (36).

El *T. Chamaedrys* es uno de los que mayormente se ha estudiado. De él se dice que posee olor especial a "petitchène" (62) afirmándose que, entre otros componentes, posee esencia (38) (39) (40). El primer dato analítico que poseemos procede de la determinación llevada a cabo por los rusos RUTOWSKY y KONDRASKY (63) con planta espontánea de Crimea recolectada en el mes de Junio: Encuentran el 0,06 por 100. Más recientemente ROVESTI (41) hizo un estudio muy completo destilando en corriente de vapor, planta recolectada en la Liguria en estado de floración, encontrando un 0,074 por 100 de esencia que describe como líquido amarillo, bastante denso, de olor muy persistente y particular que recuerda el del tabaco. Sus características analíticas son:

(*) Extracto de la Tesis doctoral de doña Candelaria Miranda Soria, dirigida por el Prof. Dr. José M.^a Suñé.

Ver C. Miranda, Ars Pharm. IX, 289 (1968).

C. Miranda y J. M.^a Suñé, Ars Pharm. IX, 381 (1968).

d (15°)	0,9114
a ^D	50°14'
ND ₂₀	1,5032
I. acidez	1,87
I. saponificación... .. .	22,40
I. saponif. después de acetilar	29,87
Acetato de bornilo	7,84 %
Aldehidos (sulfito Bungess)	0,8 %
Solub. a 20° en Alcohol 95°	1/16, con turbidez.

El mismo investigador lleva acabo una destilación fraccionada con los siguientes resultados:

Hasta 170° destila un 11 %:

1-pineno (nitrosocloruro P.F. 102-103°)

canfeno (conversión en isoborneol P.F. 208-210°)

Alcohol isoamílico, P.E. 130-132° (naftiluretano P.F. 51-52°)

Aldehido isovaleriánico

170-210° destila un 2 %.

210-230° destila un 14 %:

1-borneol (a 20: 36° 41, feniluretano P.E. 138-139° y oxidación a alcanfor).

Acetato de bornilo.

230-250° destila un 5 %.

250-230° destila un 61 %:

1-beta cariofileno, P.E. 254° (ND²⁰: 1,5011; a^DD; 58° 6; conversión en alcohol cariofilénico P.F.94-96°; derivado feniluretano P.F. 136-137°).

Residuos y pérdidas: 7 %.

Lo resume ROVESTI diciendo que la esencia es fuertemente sesquiterpénica, formada principalmente por cariofileno, de donde su solubilidad muy limitada y de más constantes influenciadas por este

producto. Señala que durante toda la destilación se desprende olor particular de herrumbre o humedad.

En el *T. creticum* se menciona esencia (40).

Otro *Teucrium* que fue muy utilizado, el *T. marum*, ha sido asimismo algo estudiado. De él se dice que posee olor que recuerda al de éter y el del alcanfor de mar o esencia de mar, olor que atrae a los gatos que buscan en sus tallos florales alegría de embriaguez (33). Coincide GUIBOURT (36) en el olor canforáceo afirmando que por destilación se obtiene esencia con gran proporción de alcanfor. En la gran Enciclopedia de MOELLER y THOMS (64) se incluye el *alcanfor de maro* obtenido por destilación con intermedio de vapor de agua y que se presenta en escamitas cristalinas, incoloras, más densas que el agua puesto que no flotan en ella, de olor aromático y sabor a especias; dice que no se conocen sus caracteres químicos. Coincide con la descripción que PEREZ DE MINGUEZ atribuye a BLEY para la esencia (65) de sustancia folicular, friable, diáfana, de sabor y olor aromáticos, más densa que el agua, soluble en alcohol y éter; sin duda se refiere

al "alcanfor de maro". Más recientemente PETRICIC (43) ha obtenido esencia destilando en corriente de vapor, recogiendo sobre bencina de petróleo ligera que luego evapora para pesar el residuo esencial; obtiene un rendimiento del 0,45 por 100.

Del *T. Massiliense* tan sólo se dice que su olor recuerda el de las manzanas de Reinetti (33).

El *T. Montanum* es otra especie interesante, estudiada por MARKOVIC y PETRICIC (8) que han obtenido un rendimiento de esencia del 0,1 por 100 con el aparato de Ungar. Lo confirma PETRICIC de nuevo unos años más tarde (43). Últimamente LUKIC, SABIN y GERNOVIC (65) en Yugoslavia alcanzan un rendimiento de 0,30 a 0,33 por 100 de esencia.

El *T. Polium* ha sido siempre, mencionado como de olor fuerte y agradable (67) (68), que recuerda el del incienso (69). Según MIROZYAN y TATESVOSYAN (30) contiene 0,16-0,3 por 100 de esencia.

Otro *Teucrium* muy empleado y bastante estudiado es el *T. scordium*, de fuerte olor que recuerda el del ajo (46) (70), principalmente perceptible al restregar entre los dedos (35) debido a una esencia (39) (40) (71) (72). Ha figurado hasta la edición de 1949 en el Codex francés, mencionándose en él su olor de ajos al frotar (73). No poseemos ningún dato analítico.

Del *T. scorodonia* se cita su olor bastante fuerte, ligeramente aliáceo (74) (75), mucho más débil que el del escordio (36) (48), calificado de repugnante. Según HAGER (40)

contiene un 0,08 por 100 de esencia.

Obtención de la esencia del Teucrium eriocephalum.

Para obtener la esencia del *T. eriocephalum* se ha montado un dispositivo de laboratorio en la forma que describe Suñé (pág. 107), sustituyendo el matraz en el que se produce vapor de agua por un elemento metálico de mucho mayor rendimiento, y el vapor producido se ha llevado al fondo de otro matraz de fondo redondo colocado en posición inclinada conteniendo la droga (planta total), troceada.

Por el correspondiente tubo de desprendimiento se conduce la mezcla azeotrópica al refrigerante para su condensación.

El condensado se recoge en un tradicional recipiente florentino en el que va acumulándose la esencia que flota en el agua (menor densidad que ella), mientras que el agua destilada aromática sale por el tubo de desagüe y se recoge en recipiente adecuado. Inmediatamente se observa que el rendimiento en esencia es muy pequeño porque se recoge una cantidad insignificante frente a la de agua aromática destilada.

La separación de la esencia se hace mediante extracción con éter (agitación, reposo y decantación) debido a que por simple decantación no es fácil por su densidad muy próxima a la del agua.

Con el fin de poder estudiar comparativamente la esencia del *T. eriocephalum* con la del *T. Polium*, hemos procedido a la destilación de ambas drogas.

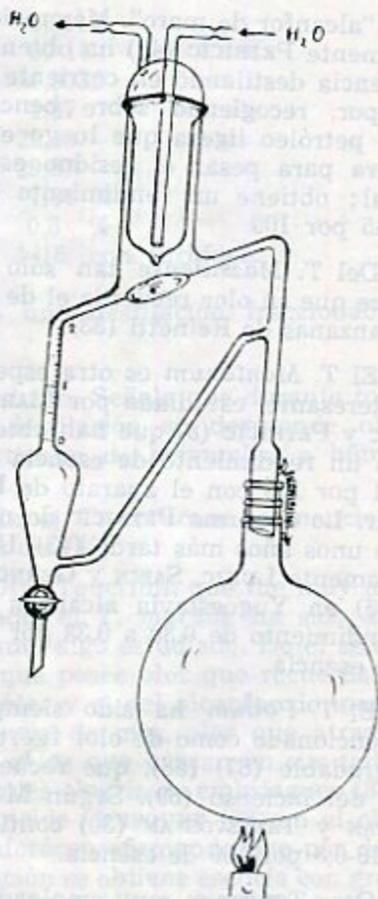
Cuantitativa de la esencia.

Se determina el rendimiento en esencia de la droga, o contenido esencial de la misma, utilizando el aparato de CLEVINGER modificado por CABO TORRES y colaboradores (19). El método consiste "en destilar agua que está en contacto directo con la planta a analizar, recogiendo la esencia así obtenida en un tubo especial graduado y deducir el tanto por ciento de la lectura directa del volumen de esencia recogido. Multiplicando por la densidad se obtiene el tanto por ciento en peso".

"Aparato: Consiste en una especie de bureta, bien calibrada y graduada en centésimas de centímetro cúbico, provista de dos tubuladuras laterales que se prolongan después en una común a ambas. En la figura se da idea clara de la forma y dimensiones del dispositivo.

En el tubo graduado es recogida la esencia juntamente con el agua que destila, pero ésta vuelve nuevamente al matraz de destilación por el tubo lateral, lo que hace que el aparato sea de destilación discontinua. Es interesante que el refrigerante esté dispuesto de forma que el pico del mismo toque en la pared interna del colector para que el líquido condensado resbale a lo largo de dicha pared".

Técnica: Pesar 10-20 g de droga cuando su contenido esencial es de 1 a 2 por 100; si es más rica se pesa menor cantidad (de 1 a 10 g), y, por el contrario, si es pobre, se aumenta hasta 20-30 g. La introducimos en el matraz de fondo redondo, se añaden 200 c.c. de agua saturada de sal y



(R-6-69)

se calienta directamente. De media en media hora se lee el volumen de esencia y se da por terminada la operación cuando coincidan dos lecturas. Antes de terminar la destilación se para el agua de refrigeración y se continua destilando todavía algún tiempo, hasta recoger las gotas de esencia que quedan en el refrigerante. El volumen de esencia no debe leerse hasta pasados cinco minutos de terminada la destilación".

El método, con descripción del aparato y técnica, figura en el tercer suplemento a la Farmacopea Suiza (76) con ligeras modificaciones, entendiéndose dicho código como contenido en esencia de las drogas el número de mililitros de sustancias lipófilas arrastrables por el vapor de agua en 100 gramos de droga, determinado por el método que describe.

El método de CABO TORRES y colaboradores se ha aplicado al T. eriocephalum y al T. Polium, haciendo diferentes determinaciones con pies distintos de cada especie, obteniendo los valores siguientes:

T. eriocephalum ...	0,64	1,10	%
T. Polium ...	0,10	0,23	%

Señalemos que el contenido en esencia hallado por nosotros en el T. Polium es algo inferior al que encontraron MIROZYAN y TATESVO-SYAN (30) que fue de 0,16 - 0,3 por 100.

ENZAYOS DE LA ESENCIA DE T. ERIOCEPHALUM

1) *Caractéres organolépticos.*

Líquido amarillo, fluido, de olor fuerte característico y sabor muy amargo.

2) *Densidad.*

La Farmacopea Española indica (77) que "Corresponde al peso en gramos de 1 cm³ de la sustancia, sea ésta sólida o líquida" y señala que "dicha determinación se hará por cualquiera de los métodos físicos más conocidos y apropiados a

cada caso, siempre que asegure, por lo menos, la exactitud de la tercera cifra decimal".

De acuerdo con la libertad e indicaciones que da el texto oficial, hemos elegido el procedimiento del picnómetro y técnica descrita por CLAVERA y THOMAS (78) operando a 15°. Las pesadas y cálculos efectuados han sido los siguientes:

$$\begin{aligned} \text{Peso del picnómetro} &= P \\ \text{Peso del picnómetro} + \text{esencia} &= P' \\ \text{Peso del picnómetro} + \text{agua destilada} &= P'' \\ \text{Peso de la esencia (Pe)} &= P' - P \\ \text{Peso del agua (Pa)} &= P'' - P \\ \text{Densidad (D}_{15}^{\circ}) &= \frac{Pe}{Pa} = \frac{P' - P}{P'' - P} \end{aligned}$$

Valor obtenido (media de 5 determinaciones) = 0,987.

La densidad obtenida es muy próxima a la del agua y bastante mayor que la obtenida por ROVESTI (41) para la esencia del T. *Chamaedrys* (D₁₅^o = 0,9114) único dato comparativo que poseemos.

3) *Índice de refracción.*

La Farmacopea Española indica valor de índice de refracción (ND_D) en las monografías de las esencias que incluye, pero no da técnica para determinarlo.

Hemos acudido de nuevo a CLAVERA y THOMAS (79) utilizando un refractómetro de Abbe de la casa Zeiss y luz blanca.

Técnica: Se dispone el aparato frente a un foco luminoso de luz blanca artificial, inclinando el espejo convenientemente para que la luz

reflejada ilumine la cara inferior del prisma correspondiente. Se introduce una gota de la esencia sobre el prisma inferior, se cubre con el superior y se aprieta el resorte de presión. Se gira la alidada y con ella el sistema de prisma y antejo mirando por el ocular hasta que la sombra avance hasta la mitad del campo. Simultáneamente se mueve con la otra mano y de manera suave, a uno y otro lado el tornillo para actuar el compensador que elimina las irisaciones y por movimientos combinados de ambos sistemas se ha de conseguir que la línea de separación de luz y sombra sea bien definida y coincida con el cruce del retículo en aspa que posee el ocular. Con la lupa de la alidada se lee en este momento el valor del índice de refracción en el limbo graduado.

Se ha operado a 25° C y repetido numerosas veces con muestras diferentes de la esencia a lo largo de una semana y siempre a la misma hora. El valor medio leído ha sido:

$$N_{25}^{\circ} = 1,4965$$

El valor obtenido es similar al que ROVESTI obtuvo para la esencia del *T. Chamaedrys* (41) operando con luz amarilla y a 20° (ND₂₀ = 1,5032).

4) Índice de acidez.

El índice de acidez es un concepto de carácter universal que indica el número de miligramos de hidróxido potásico que son necesarios para neutralizar los ácidos libres de un gramo de muestra.

Para su determinación utilizamos la técnica de la *Farmacopea*

Española (80) modificada por OLIVER (81) y que es como sigue:

Técnica: En un matraz de Erlenmeyer de 250 ml de capacidad se dispone alrededor de 1 g de esencia aproximando el peso hasta la cuarta decimal. Se añaden 40 ml de mezcla aa de alcohol y éter y se agita. Se vierte X gotas de solución de fenolftaleína y se valora con solución 0,1 N de hidróxido potásico de factor conocido. Sean a los ml de solución gastados. Se hace un ensayo en blanco y llamando b a los ml de solución alcalina consumidos, a-b son los n mililitros de solución alcalina que hemos necesitado para neutralizar los ácidos libres de p gramos de muestra. El índice de acidez vendrá dado por la fórmula.

$$I. a = \frac{n \times 5,61}{P} = \frac{(a-b) 5,61}{P}$$

Valor obtenido (media de 5 determinaciones) = 6,17.

A señalar que el índice de acidez obtenido es bastante superior al que ROVESTI (41) da para la esencia del *T. Chamaedrys* (I.a. = 1,87).

5) Índice de saponificación.

El índice de saponificación según la *Farmacopea Española* (80) viene definido por el "número de miligramos de hidróxido potásico que son necesarios para neutralizar los ácidos grasos libres y para saponificar los ésteres de 1 gramo", en nuestro caso de esencia.

Para su determinación utilizamos en lo fundamental la técnica del código medicamentoso español modificada por OLIVER (82) y que

es la siguiente, adaptada a nuestras necesidades:

Técnica: En un matraz de Erlenmeyer de 250 ml. de capacidad se dispone alrededor de 1 gramo de esencia, aproximando el peso hasta la cuarta decimal (p). Se añaden 25 ml de solución alcohólica 0,5 N de hidróxido potásico y unos trocitos de tubo capilar de vidrio cerrado por uno de sus extremos, para regular la ebullición. Se calienta el matraz sobre baño maría y a reflujo durante media hora exacta, contando el tiempo a partir del momento en que comienza la ebullición, procurando que el líquido hierva moderadamente y agitando por rotación del matraz, muy frecuentemente. Se separa del baño, se añaden VI gotas de solución de fenolftaleína y se valora el exceso de solución de potasa con solución de ácido clorhídrico 0,5 N. Sea *b* el número de ml de ácido gastado. Se repite inmediatamente el ensayo en blanco, es decir, sin sustancia problema, operando en las mismas condiciones y sea *a* el número de ml de solución 0,5 N de ácido clorhídrico gastados. El índice de saponificación viene dado por la fórmula:

$$I. s. = \frac{(a-b) 28,052}{p}$$

Valor obtenido (media de 5 determinaciones) = 63,22.

Es de señalar que el índice de saponificación obtenido es superior al que ROVESTI (41) da para la esencia del *T. Chamaedrys* (I.s = 22,40).

6) Índice de Yodo.

La Farmacopea Española (83) entiende por índice de yodo "el

tanto por ciento de yodo absorbido por los componentes no saturados" del producto que se ensaye. La técnica que utiliza es la bromatométrica.

Para la determinación del índice de yodo en la esencia de *Teucrium eriocephalum* hemos preferido la técnica de la Farmacopea Suiza (84) que utiliza el monobromuro de yodo y que a continuación transcribimos:

Técnica: Se coloca en un matraz de Erlenmeyer de 250 ml de capacidad provisto de tapón esmerilado, exactamente tarado y seco, alrededor de 1 g de muestra, aproximando la pesada hasta la cuarta decimal. Se disuelve en 15 ml. de cloroformo y se dejan caer lentamente desde una bureta 25 ml de solución de monobromuro de yodo 0,2 N. Se tapa el matraz, se deja en oscuridad durante 15 minutos agitándolo con frecuencia. Se añaden seguidamente 1,5 g de yoduro potásico sólido y 100 ml de agua destilada. Se agita y se valora inmediatamente sin adición solución de almidón, con solución de tiosulfato sódico 0,1 N agitando frecuentemente hasta completar decoloración de la capa acuosa. Previamente se valora en blanco el monobromuro de yodo.

a = ml sol. $S_2O_3Na_2$ 0,1N gastados en valorar 25 ml de sol. Br I 0,2 N.

b = ml sol. $S_2O_3Na_2$ 0,1N gastados en valorar el exceso de sol. Br I 0,2N.

p = gramos de muestra.

a-b = Sol. $S_2O_3Na_2$ 0,1N que reaccionaron con *p* g de esencia.

$1.000 \text{ ml } S_2O_3Na_2 \text{ 0,1 N} - 126,92 \times 0,1 \text{ g I}$
 $a-b \text{ ————— } x$

$$x = \frac{(a-b) 12,692}{1.000} = (a-b) 0,012692 \text{ g. de I en p g de esencia}$$

$$p \text{ g de esencia} - (a-b) 0,012692 \text{ g de I}$$

$$100 \frac{\quad}{\quad} = y$$

$$y = \frac{(a-b) 1,2692}{p} = \text{Indice de yodo}$$

Valor obtenido (media de 5 determinaciones) = 73,9.

4.—Flavonas.

La reacción clásica para la investigación cuantitativa de estos polifenoles es la de la cianidina de SHIBATA (85) (86) basada en la transformación de los compuestos flavónicos en derivados antociánicos gracias a la acción del magnesio en medio clorhídrico.

Esta reacción se ha practicado sobre concentrados acetónico, alcohólico y etéreo, obtenidos a partir del polvo de la planta previamente desengrasado, y sobre infusión al 5 por 100.

a) Sobre concentrados.

Los concentrados se diluyen previamente para disminuir la coloración amarillo verdosa natural; en ellos se observa:

- Gotas de reactivo de cianidina dan coloración anaranjada que desaparece al añadir gotas de alcohol amílico (flavonas).
- Gotas de ácido sulfúrico concentrado dan un anillo fluorescente azulado (flavonas).
- Gotas de solución de cloruro

férrico al 10 por 100 dan coloración pardo oscura (polifenoles).

- Gotas de solución alcalina dan color anaranjado intenso (flavonas).

b) Sobre infusión.

La infusión se prepara al 5 por 100 siguiendo la técnica de F. E. IX (87); en ella se observa:

- Gotas de reactivo de cianidina dan coloración anaranjada que desaparece al añadir unas gotas de alcohol amílico (flavona).
- Gotas de ácido sulfúrico concentrado dan un amarillo fluorescente azulado (flavonas).
- Gotas de solución de cloruro férrico al 10 por 100 dan coloración verde oscura (polifenoles).
- Gotas de solución alcalina dan coloración anaranjada intensa (flavonas).
- En ausencia total de magnesio sólo por acidulación con gotas de ácido clorhídrico y calentando a ebullición se produce la misma coloración anaranjada que la apreciada con la cianidina, lo que hace pensar en presencia de catecoles o bien que la planta contiene magnesio extraíble en medio acuoso y no con los disolventes orgánicos.

La presencia de flavonas en *Teucrium eriocephalum* parece suficientemente demostrada y, posiblemente, también la de catecoles.

5.—Mucilago.

La técnica de investigación aplicada es la utilizada por THÉALLET en su tesis doctoral (88).

Se ha practicado sobre infusión obtenida al 5 % de planta previamente pulverizada. En el líquido extractivo acuoso han de encontrarse los mucilagos que se separan por precipitación con alcohol de 95°. Para ello se mezcla un volumen de infusión con otro igual de alcohol etílico. En caso de no observarse enturbiamiento se diluye la infusión con cantidad suficiente de alcohol etílico para conseguir una mezcla en proporción 1:3 V/V. Si en estas condiciones se produce un enturbiamiento, seguido de un precipitado de color blanco y abundante es indudable la presencia de mucilagos.

Este reconocimiento fue aplicado al *Teucrium eriocephalum* con resultado francamente positivo, por lo que permite afirmar que contiene mucilagos.

6.—Derivados quinónicos.

La técnica aplicada fue también la utilizada por THÉALLET en su tesis doctoral (89).

A 2 gramos de polvo de planta humedecidos con 1 ml de ácido clorhídrico diluido se añaden 20 ml de cloroformo. Transcurridas unas horas se filtra y al filtrado se añaden 5 ml de amoníaco diluido al 50 %. En caso de existir derivados quinónicos se produce al agitar una coloración rosada.

El ensayo fue aplicado al *Teucrium eriocephalum* con resultado negativo. No parece existir, pues, derivados quinónicos en la planta objeto de estudio.

7.—Resinas.

ROVESTI (41) menciona en *T. chamaedrys* la presencia de una teucriorresina, probablemente la misma a la que "Medicamenta" italiana (42) atribuye carácter amargo.

MARKOVIC y PETRICIC (8) hallan en las células epidérmicas de las partes aéreas del *T. montanum* una sustancia que extraen con metanol y caracterizan como de punto de fusión 294° C identificándola como diosmina. La diosmina, borosmina o resina de buchú, procede, según "Index Merck" (93) de las hojas de *Barosma servatifolia* y otras rutáceas, siendo muy similar a la hesperidina; se describe como polvo cristalino, blanco, insípido, de punto de fusión 243° C, o como cristales esféricos, amarillentos, de punto de fusión 278-280° C, casi insoluble en agua y alcohol.

La extracción de las resinas presentes en el *T. eriocephalum* la efectuamos basándonos en su solubilidad en alcohol e insolubilidad en agua.

Se parte de droga troceada que se somete a destilación en corriente de vapor de agua recogiendo la esencia y agua destilada aromática. El marco resultante una vez desecado se somete a una maceración con alcohol de 95° durante 48 horas. Se filtra y el líquido extractivo se ensaya según se indica a continuación:

I.—Una muestra del líquido extractivo alcohólico se agita con mezcla aa de éter y agua, se decanta y recoge la capa etérea con la que se efectúan los siguientes ensayos:

a) *Ensayos de resinas:*

Por evaporación se obtiene una masa parda amarillenta soluble en éter y cloroformo pero insoluble en agua, sobre la que se practican las siguientes reacciones:

- Con gotas de ácido sulfúrico concentrado se separa un líquido rojizo.
- Con gotas de ácido nítrico concentrado se descompone la masa tomando aspecto grueso sin disolverse.
- Por acción de la luz y aire se descompone, apreciándose olor muy desagradable.

b) *Ensayos de taninos:*

- Con solución de dicromato potásico, precipitado de color pardo.
- Con solución de acetato de plomo, precipitado de color pardo.
- Con solución de percloruro de hierro, coloración verde oscura.

Estas reacciones señalan que existen taninos en la capa etérea, lo que dada la escasa solubilidad de los taninos en aquel disolvente hace pensar en que se encuentren unidos a las resinas formando resinotanoles.

II.—En otra muestra del líquido extractivo alcohólico se ensayan directamente las reacciones mencionadas de taninos con resultado positivo en todos los casos.

III.—Una última muestra del líquido extractivo alcohólico se trata con mezcla aa de cloroformo y

agua fundamentándose en que las resinas son solubles en el primer disolvente y los taninos en el segundo. Se recoge la capa clorofórmica en la que se comprueba analíticamente la presencia de taninos que lógicamente no deberían haberse disuelto, lo que confirma que la planta contiene resinotanoles, puesto que esta fracción da también las reacciones propias de las resinas.

Los resinotanoles son productos procedentes de la oxidación de los resinoles cuya constitución no está perfectamente definida (90).

De los ensayos efectuados se desprende la existencia de resinas y taninos en líquidos extractivos alcohólicos, etéreos y clorofórmicos, lo que, habida cuenta de la insolubilidad de los taninos en los dos últimos disolventes, permite aceptar que deben encontrarse bajo la forma de resinotanoles.

8.—*Saponinas.*

ZINCHENKO, en un estudio del *T. Chamaedrys* (91) menciona la presencia de saponinas.

En *T. marum*, el yugoeslavo PETRICIC (43) consigue separar saponinas por adsorción con óxido magnésico y determina su índice de espuma para el que obtiene un valor de 135 frente a 222 que obtiene aplicando la decocción que prescribe el método de la Farmacopea Suiza (92). Comprueba que las soluciones del extracto "tamponadas" no dan hemolisis.

El mismo autor junto con MARKOVIC (8) encuentran saponinas en el *T. montanum*, principalmente en

hojas y tallos y muy escasas en flores. Indican estos autores que en el aislamiento de las saponinas y sobre todo en la determinación del poder hemolítico de la droga, hay que tener en cuenta que junto a la saponina se encuentran otras sustancias como los taninos que interfieren el resultado, ya que su acción sobre los glóbulos rojos es justamente la inversa, aglutinación de los mismos, que estorba la detección de la presencia de la saponina en la droga. Para conseguir el aislamiento de la saponina recurren a la percolación de la droga en Soxhlet, empleando el éter como líquido extractor, con lo que se disuelven las sustancias que acompañan a la saponina pero no ella por no ser soluble en éter y luego mediante una segunda extracción, utilizando alcohol metílico, extraen la saponina. El método, que en principio parece lógico, en la práctica no dió resultado positivo. Por ello MARKOVIC y PETRICIC intentaron nuevamente la separación, agitando el extracto de la droga en solución regulada a pH 7,4, junto con un poco de polvo de piel para fijar los taninos, pero tampoco consiguieron resultado ya que el extracto obtenido no provocaba la hemólisis de los glóbulos rojos. El método de precipitación de saponinas con colesterol, seguido de adición de xilol que disuelve el colesterol y la saponina, tampoco da mejores resultados.

El método que finalmente adoptan MARKOVIC y PETRICIC consiste en la extracción en Soxhlet con alcohol metílico, concentración del

líquido extractivo, filtrado y precipitación por adición de éter. El precipitado de color pardo amarillento se disuelve en poca agua, a la que se añade óxido magnésico que retiene los taninos. Se obtiene un polvo gris verdoso que se extrae con metanol en Soxhlet. El residuo de la evaporación del líquido extractivo metanólico puede ya valorarse frente a hematies. Aplicando esta técnica encuentran un poder hemolítico de 666 para el *Teucrium montanum*, un índice de espuma que oscila entre 416 y 1.428 y un índice de capilaridad comprendido entre 100:112 y 100:131,4.

1) Ensayos cualitativos.

Ya en la extracción de la esencia por arrastre con vapor de agua se observó la formación de gran cantidad de espuma que orientaba acerca de la presencia de una sustancia tensioactiva, probablemente saponina. Para comprobarlo hemos procedido según la metódica de CABO TORRES y PARDO (94) que operan como a continuación se indica:

"Alrededor de 0,5 g de droga se extraen durante varios minutos con unos 25 ml de agua en un matraz de 50 ml, calentando a baño maría y agitando. Se filtra y se hacen dos partes (A y B). A una de ellas (B) se adicionan unas gotas de ácido mineral (ClH o SO_3H_2 al 10 %) y se hierve durante unos quince minutos suavemente en un matracito erlenmeyer. Se dividen ambas partes en varias fracciones ($A_1, A_2, \dots; B_1, B_2, \dots$) de unos 2 ml cada una, sobre las que se practican los correspondientes (*) ensayos".

(*) "siguientes" en el texto original.

La ebullición en presencia de un ácido fuerte ha de provocar, de existir, la hidrólisis de la molécula saponínica. Basado en ello se hacen observaciones y ensayos en el líquido extractivo acuoso directo y en el tratado por ebullición con ácido mineral para comprobar la presencia del saponósido intacto en el primero y la de los productos de su hidrólisis en el segundo. Los resultados obtenidos fueron los siguientes:

- El líquido tratado con ácido da lugar a la formación de un ligero precipitado (las geninas son insolubles en agua).
- Agitando vigorosamente con su volumen de agua se forma mayor cantidad de espuma en el líquido no tratado con ácido.
- Al añadir éter y agitar se forma un anillo blanco, en la zona de separación, más intenso en el tubo con ácido.
- Por adición de ácido sulfúrico concentrado haciéndolo resbalar por las paredes del tubo de ensayo se forma un anillo pardo en la zona de separación que va oscureciendo sensiblemente en su proximidad en el que contiene el líquido hervido con ácido.
- Adicionando solución de acetato básico de plomo se forma abundante precipitado blanco sucio en el tubo hervido con ácido y un ligero precipitado amarillo en el que contiene el líquido extractivo modificado.
- Ambas muestras isotonizadas con cloruro sódico y adiciona-

das a suspensión isotónica de glóbulos rojos al 3 % dan lugar a las 12 horas a hemolisis la no hervida con ácido y a un sedimento de glóbulos sin variación en el color inicial del líquido la hervida con ácido.

El conjunto de ensayos y principalmente el último, nos permiten afirmar que queda perfectamente demostrada la presencia de compuestos saponínicos en el *Teucrium ericephalum*.

2) Ensayos cuantitativos.

Una vez demostrada la presencia de saponinas nos ha parecido interesante proceder a la determinación de la cantidad existente de las mismas y para ello hemos procedido a la valoración de la actividad espumante mediante el índice de espuma y del poder hemolítico frente a glóbulos rojos comparando en este segundo caso con drogas oficiales para las que existen exigencias concretas.

a) Índice de espuma.

La Farmacopea suiza incluye un ensayo límite de poder espumante mínimo en la monografía de la zarzaparrilla (92) consiste en lo siguiente:

Se hacen hervir 100 ml de agua con 1 g de zarzaparrilla en trocitos o groseramente pulverizada. Se deja enfriar y filtra por algodón completando el filtrado hasta 100 ml con agua. Se vierten 5 ml de esta dilución en una probeta graduada de unos 150 ml y de aproximadamente 3 cm de diámetro. Se completa a

100 ml con agua y se agita vigorosamente. Debe formarse espuma abundante y a la hora debe subsistir por lo menos un anillo de la misma.

Ensayado por este procedimiento el *Teucrium eriocephalum* mantiene anillo de espuma de 6 ml a la hora lo que señala un buen poder espumante.

PARIS y MOYSE en su "Precis de Matière Medicale" (95) incluyen técnica para determinar el índice de espuma, como propuesta para la octava edición de la Farmacopea Francesa, y que en efecto en ella aparece (96), consistente en lo siguiente:

En un matraz de Erlenmeyer de 500 ml se hierven 100 ml de agua a los que se añade 1 g de polvo grueso de droga (manteniendo la ebullición moderada durante 30 minutos si se trata de determinar el índice de espuma en cocimiento y sin proseguir el calentamiento si se trata de hacerlo en infusión). Se filtra, se completa a 100 ml y se deja enfriar.

En una serie de 10 tubos de ensayo de 16 cm de alto por 16 mm de diámetro se introducen cantidades crecientes de ml en ml desde 1 a 10 del líquido completando el volumen hasta los 10 ml con agua destilada. Se agitan los tubos durante 15 segundos por simple inversión de posición de los mismos a razón de dos veces por segundo (total 30 veces) obturados con el pulgar. Se da como índice la dilución del tubo en que la espuma alcanza una altura de 1 cm y persiste por lo menos 15 minutos.

Se aplicó la técnica a *Teucrium eriocephalum* en los dos casos, infusión y cocimiento, repitiendo los ensayos un mínimo de cinco veces. Los resultados obtenidos fueron sensiblemente concordantes teniendo lugar la formación del cm de espuma persistente durante el tiempo exigido en el tubo n.º 4 con la infusión y en el n.º 3 con el cocimiento.

Teniendo en cuenta que el líquido extractivo se obtuvo al 1 % de droga, los cálculos son los siguientes:

Para infusión.

Tubo n.º 4 contiene 4 ml de líquido extractivo al 1 % en un volumen total de 10 ml:

100 L.E. contienen las saponinas de 1 g droga

$$4 \text{ ————— } x$$

$$x = 0,04 \text{ g de droga}$$

0,04 g droga están en 10 ml

$$1 \text{ ————— } y$$

$$y = \frac{10}{0,04} = 250$$

$$\text{Índice de espuma} = 250$$

Para cocimiento.

Tubo n.º 3 contiene 3 ml de líquido extractivo al 1 % en un volumen total de 10 ml.

100 L.E. contienen las saponinas de 1 g droga

$$3 \text{ ————— } x$$

$$\begin{array}{l} x = 0,03 \text{ g de droga} \\ 0,03 \text{ g droga están en } 10 \text{ ml} \\ 1 \text{ ————— } y \end{array}$$

$$y = \frac{10}{0,03} = 333$$

Índice de espuma = 333

El Índice de espuma en el *Teucrium eriocephalum* es superior en el cocimiento que en la infusión.

b) Poder hemolítico.

BASTIEN utiliza para la determinación del poder hemolítico de saponinas la técnica de MAZUREK (97) con ligeras modificaciones (98). La transcribimos a continuación.

Tubo n.º	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI
Inf. 1 % (ml)	0	0,25	0,50	0,75	1,0	1,25	1,50	1,75	2,0	2,25	2,5
Sol. isotónica	—————						c.s.p. 2,5 ml		—————		
Dil. sangre 2 %	—————						2,5 ml		—————		

Se mezcla el contenido de cada tubo y se dejan en reposo 18 horas, al cabo de las cuales se anota el primer tubo en que tiene lugar la hemólisis total.

Todos los tubos contienen en 5 ml de volumen líquido total, la mitad (2,5 ml) de dilución sanguínea al 2 % o, lo que es lo mismo, 5 ml de dilución sanguínea al 1 %.

El índice hemático gramo se define como el número de ml de dilución sanguínea al 1 % que es hemolizado por 1 g de droga. Luego operando de acuerdo con la técnica

Se coloca 1 g de droga en un matraz Erlenmeyer con 100 ml de una solución isotónica y de pH regulado preparada a base de fosfatos (PO₄HK 1,52 g; PO₄HN₃ 7,94 g; ClNa 7,2 g; H₂O c.s.p. 1.000 ml) y se calienta hasta alcanzar una temperatura próxima a los 100, manteniendo sobre baño maría durante 30 minutos a unos 80°. Después se filtra y se completa a 100 ml con c.s. de la solución regulada.

Se preparan 11 tubos de hemólisis con cantidades crecientes en 0,25 ml del líquido extractivo de la droga desde 0 a 2,5 ml que se completan hasta 2,5 ml en todos los tubos con solución regulada isotónica. También a todos los tubos se añade 2,5 ml de una dilución al 2 % de sangre de carnero desfibrinada preparada en la misma solución isotónica regulada. El contenido de los tubos es el siguiente:

ca descrita vendrá dado por la fórmula:

$$I. h. g = \frac{5}{A}$$

en la que A es la cantidad de droga contenida en el primer tubo que presenta hemólisis total.

El ensayo se ha efectuado con el *Teucrium eriocephalum* comparativamente con una saponina depurada del mercado, repitiéndolo en cada caso cinco veces. Los resultados obtenidos han sido los siguientes:

	Tubo elegido	Peso de droga (g)	I.h.g.
T. eriocephalum	IV	0,0075	666
Saponina depurada	II	0,0025	2.000

A continuación se ha repetido el ensayo del *T. eriocephalum* siguiendo la técnica de la Farmacopea Española (99) comparativamente con la saponina depurada y con polígala y zarzaparrilla, dro-

gas para las que el código exige valores mínimos de I.h. g de 1.000 y 1.400 respectivamente.

El cuadro de trabajo de F. E. IX es el siguiente:

	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII
Liq. extractivo	7,8	6,3	5	4	3,2	2,5	2,1	1,7	1,4	1,1	0,9	0,7
Sol. isotónica									c.s.p. 8 ml			
Dil. sangre 5 %									2 ml			

Todos los tubos contienen 2 ml de dilución de sangre reciente y desfibrinada de bóvido preparada al 5 % lo que equivale a 10 ml de dilución preparada al 1 %.

Se anota el último de los tubos sin precipitado rojo en el fondo (hemólisis total), después de un tiempo de reposo de 12 a 15 horas, que es el que contiene la mínima cantidad de solución extractiva necesaria y suficiente para producir la hemólisis total.

El índice hemático gramo de la droga se obtiene por la fórmula:

$$\text{I.h. g} = \frac{10}{A}$$

Siendo *A*, como antes, la cantidad de droga, contenida aquí en el último tubo que presenta hemólisis total.

El ensayo se efectuó cinco veces con cada droga y los resultados obtenidos fueron los siguientes:

	Tubo elegido	Peso de droga (g)	I. h. g.
T. eriocephalum	IX	0,014	714
Polígala	XI	0,009	1.111
Zarzaparrilla	XII	0,007	1.428
Saponina depurada	XII	0,007	1.428

Para la zarzaparrilla y para la saponina depurada se da hemólisis total incluso en el tubo XII por lo que se preparan otra serie complementaria más diluida con 0.6 ml de líquido extractivo (tubo XIII), 0.5 ml (tubo XIV) y 0.4 ml (tubo XV).

Para la zarzaparrilla ya existe sedimento en el tubo XIII por lo que se confirma el I.h.g obtenido antes de valor 1.428.

Para la saponina depurada se obtiene todavía hemólisis total en el

tubo XIV pero no en el XV, luego:

$$\frac{\text{I.h.g (saponina depurada)} = 10}{0,005} = 2.000$$

Los resultados obtenidos confirman los hallados con el método primero, siendo idéntico el valor del I.h.g para la saponina depurada por ambos métodos y algo más elevado para el *Teucrium eriocephalum* con el método de F.E. IX porque permite una mayor aproximación.

Los valores obtenidos para polígala y zarzaparrilla de 1.111 y 1.423 respectivamente responden a la exigencia mínima de F.E. IX que es de 1.000 para la polígala y de 1.400 para la zarzaparrilla.

El valor de I.h.g del *Teucrium eriocephalum*, 714, es inferior al de las drogas oficiales típicamente saponínicas para las que se exige un valor mínimo de 1.000, pero con todo es apreciable.

9.—Taninos.

MASCHERPA en su conocido tratado de Farmacología y Farmacognosia (100) atribuye al *Teucrium chamaedrys* propiedades astringentes debido al Tanino de sus hojas y a varios ácidos de constitución no establecida que posee; por ello lo considera eficaz en diarreas infantiles. Ya Pic y Bonnamour (34) lo mencionaban como astringente y la Farmacopea Francesa en su séptima edición (101) lo utilizaba con igual fin. HAGER (102) le atribuye un contenido del 15 % de taninos mientras "Medicamenta" española (39) señala simplemente la presen-

cia de ácido tánico sin fijar cantidad.

ROVESTI en su interesante trabajo (41) menciona el carácter astringente y por ello resulta indicada su administración en diarreas y su uso externo en llagas o úlceras y da como presente un tanino sin más detalles. Los mismos usos señala "Medicamenta" italiana (42) que amplía a la hipersecreción de la mucosa nasal. RASHBA, SELLEPUJA, MANDRIK y KAGANSKAYA (103) atribuyen una posible acción antibacteriana a un tanino de peso molecular bajo, ácido, con grupo pirocatequina. Posteriormente ZINCHENKO (91) ha hecho un estudio cromatográfico en el que cita saponinas y taninos.

El *T. marum* contiene según HAGER (102) un 11 % de taninos. PETRICIC en un interesante trabajo (8) halla un 6.87 % de taninos por el método del acetato cúprico y hasta un 8.57 % por el del polvo de piel. En el estudio cualitativo señala la precipitación en verde con el cloruro férrico y el sulfato férrico-amónico y fino precipitado blanco con gelatina. Concluye que los taninos del marum tienen los caracteres de los pirogálicos y probablemente de flavotánicos.

Un estudio similar hicieron MARKOVIC y PETRICIC en el *T. montanum* (8) con idénticos resultados cualitativos por lo que asignan al tanino carácter pirogálico y flavotánico y menor contenido ya que por el método del acetato cúprico, único que mencionan, sólo consiguen determinar un 2.25 %.

El *T. scordium* se cita como astringente (74) debido a contener áci-

do tánico (39) o taninos (42) (72) (102).

En el *T. scorodonia* cita HAGER (102) la presencia de un 8,7 % de taninos.

1) Ensayos cualitativos.

La presencia de compuestos tánicos ha sido comprobada en el apartado correspondiente a resinas por su íntima relación con las mismas en el *Teucrium eriocephalum*. No obstante, para reafinar todavía su presencia así como para orientar acerca de su composición, aplicamos la metódica de CABO TORRES y PARDO (104) que operan de la manera siguiente:

“Un gramo, aproximadamente, del polvo de la droga se suspende en unas diez veces su peso de agua en un tubo de ensayo ancho. Se calienta en baño de agua hirviendo varios minutos, agitando con frecuencia. Se filtra por papel y diluye hasta que el líquido quede débilmente coloreado. Se hacen varias fracciones, sobre las que se realizan los siguientes ensayos”.

En efecto, en el líquido extractivo acuoso que debe contener los taninos existentes en la droga por su solubilidad en agua, se hacen los ensayos característicos de tales componentes, cuyos resultados son los que siguen:

- Sabor astringente y muy amargo.
- Por adición gota a gota de solución muy diluida de cloruro férrico, color verde oscuro.
- Por adición de solución de cianuro potásico se obtiene color

naranja que tarda en aparecer y no se mantiene.

— Añadiendo al líquido extractivo acuoso unas gotas de ácido acético y agua de bromo gota a gota hasta desprendimiento de vapores de bromo se observa la formación inmediata de un precipitado (taninos catéquicos).

— A otra muestra del líquido extractivo acuoso se añaden unas gotas de ácido clorhídrico concentrado y alrededor de un mililitro de solución de formaldehído, hirviendo a continuación varios minutos. Se forma precipitado en caliente que después de filtrado da coloración verde con solución de cloruro férrico.

Orientados ya en la existencia de taninos catéquicos intentamos su confirmación perfeccionando la metódica seguida en los ensayos efectuados. Para ello seguimos las indicaciones de BASTIEN (105) que utiliza la reacción con formol clorhídrico (reactivo de STIASNG) de la manera siguiente:

- A 5 ml de una infusión al 5 % de la droga objeto de ensayo, se adicionan 5 ml de formol clorhídrico (2:1 en volumen) y se calienta 30 minutos a una temperatura próxima pero inferior a la de ebullición. Se forma un precipitado pardo, cuajado (ello indica ya taninos catéquicos).
- El líquido filtrado no da la coloración característica con solución de percloruro de hierro (ausencia de taninos gálicos).

- Con gelatina salada al 1 % no se obtiene precipitado (sólo precipitarían las formas más condensadas).
- La ebullición de la infusión con un peso igual de ácido clorhídrico concentrado provoca la formación de un precipitado pardo abundante. Añadiendo alcohol isoamílico se disuelve el precipitado y el líquido se colorea de rojo.

Todo ello permite afirmar no sólo la presencia de sustancias tánicas en *Teucrium eriocephalum* sino, además, que el tipo de ellas corresponde al catéquico.

2) Ensayos cuantitativos:

Demostrada la presencia de sustancias tánicas ha parecido interesante proceder a su cuantitativa y de entre los numerosos métodos propuestos hemos aplicado el del polvo de piel tan clásico y el de la precipitación con una sal de cobre, técnicas que a continuación consideramos sucesivamente junto a los resultados obtenidos.

a) Método del polvo de piel.

La Farmacopea suiza lo incluye en su tercer suplemento (106) de acuerdo con la siguiente transcripción libre:

En un matraz Erlenmeyer de 750 ml se vierten 250 g de agua sobre la cantidad de droga (p) con el grado de tenuidad prescrita mencionado en el correspondiente artículo, se calienta con refrigerante a reflujo de tal manera que la ebullición se produzca a los 10 minutos, luego se sigue

hirviendo durante 30 minutos agitando de vez en cuando. Se separa de la fuente de calor y se deja todavía el refrigerante a reflujo durante 10 minutos. Se separa el refrigerante y se coloca un embudo en el cuello del matraz enfriando rápidamente mediante chorro de agua hasta la temperatura ordinaria. Siguiendo las indicaciones que figuran en el artículo monográfico de la droga que se ensaya, se efectúa con la mezcla, antes de la filtración, una centrifugación durante 25 minutos a 2.500 r.p.m. como mínimo. Se filtra sobre papel la mezcla enfriada con filtro de pliegues de 15 cm de diámetro. Se desprecian los primeros 10 ml y se utiliza el resto para la determinación.

Se evaporan 50 ml de filtrado en recipiente tarado que se preste a una incineración, desecando el residuo hasta peso constante a 103-105° y se pesa (T₁). Se incinera y se pesan las cenizas (A₁).

Se agita constantemente durante 30 minutos una nueva porción de 80 ml de filtrado con 6 g de polvo de piel. Se pasa por tela de hilo o algodón y se exprime el residuo ligeramente con la mano. Se filtra el líquido obtenido sobre filtro de 10 cm de diámetro. Se separan 50 ml del filtrado limpio y se evapora a sequedad como antes. Se deseca el residuo a 103-105° y se pesa (T₂). Se incinera enseguida y se pesan las cenizas obtenidas (A₂).

Contenido en taninos =

$$500 (T_1 - A_1 - T_2 - A_2 + H)$$

P

H es la cantidad de sustancias hidrosolubles menos las cenizas de 6 g

de polvo de piel, determinado en las condiciones expuestas antes y que se menciona en el recipiente que contiene el polvo de piel.

La deducción de la fórmula de Ph. Helv. no es fácil por lo que lo hacemos a continuación.

$T_1 = \text{Taninos} + \text{Residuo orgánico no tánico} + \text{Residuo inorgánico.}$

$A_1 = \text{Residuo inorgánico (cenizas).}$

$T_1 - A_1 = \text{Taninos} + \text{Residuo orgánico no tánico.}$

$T_2 = \text{Residuo orgánico no tánico} + \text{Residuo inorgánico} + \text{Sust. hidrosolubles orgánicas e inorgánicas del polvo de piel.}$

$A_2 = \text{Residuo inorgánico} + \text{Sust. hidrosolubles inorgánicas del polvo de piel.}$

$H = \text{Sust. hidrosolubles orgánicas del polvo de piel.}$

$T_2 - A_2 = \text{Residuo orgánico no tánico} + \text{Sust. hidrosolubles orgánicas del polvo de piel.}$

$T_2 - A_2 - H = \text{Residuo orgánico no tánico.}$

$(T_1 - A_1) - (T_2 - A_2 - H) = T_1 - A_1 - T_2 + A_2 + H = \text{Taninos en 50 ml.}$

Si en 50 ml existen $T_1 - T_1 - T_2 + A_2 + H$ g de taninos en los 250 ml

$x = 5 (T_1 - A_1 - T_2 + A_2 + H)$ g de taninos en 250 ml, o sea, en p g de droga.

Si en p g de droga existen $5 (T_1 - A_1 - T_2 + A_2 + H)$ en 100 g

$y \% = \frac{500 (T_1 - A_1 - T_2 + H)}{p}$

Para la práctica de la determinación se utiliza polvo de piel débilmente cromado, pro-análisis, de la firma Merk A. G. (Darmstadt).

Se empieza por determinar su H , o cantidad de sustancias hidrosolubles incinerables del polvo de piel, que resulta del 0,84 %.

A continuación se procede al ensayo de *Teucrium eriocephalum*. Se efectúan seis determinaciones cuyos resultados y media de los mismos se exponen a continuación:

I ensayo	— 6,85 %	de taninos.
II "	— 6,86 %	" "
III "	— 8,05 %	" "
IV "	— 6,97 %	" "
V "	— 6,48 %	" "
VI "	— 7,93 %	" "
Media	7,19 %	de taninos.

b) Método del acetato cúprico.

Se basa en la precipitación del tanino con acetato de cobre como tanato de cobre y posterior calcinación y oxidación de este precipitado para pasar como óxido de cobre.

La técnica utilizada ha sido la que describe Casares en su conocido "Tratado de Análisis Químico" (107) y que puede concretarse en lo siguiente:

"Se hierven tres veces con 100 ml de agua, 2 g de droga en polvo, prolongando la ebullición cada vez de media a una hora. Los líquidos filtrados se calientan hasta la ebullición y se les añade 20 a 30 ml de una disolución de acetato cúprico al 4 por 100. Se forma un precipitado de tanato cúprico que se filtra y se lava con agua caliente (los primeros

líquidos filtrados deben tener color verdoso, prueba del exceso de sal cúprica). El precipitado de tanato cúprico se seca, se pasa a un crisol de platino (porcelana en el original) tarado, se pesa, P_1 (detalle que olvida el original que transcribimos) y se calcina al rojo. Se deja enfriar, se añade ácido nítrico para oxidar el cobre, se calcina y se pesa (P_2)".

Las pesadas a efectuar y cálculos son los siguientes:

P = Droga empleada en el ensayo (2 a 4 gramos).

C = Crisol.

F = Filtro.

Cf = Cenizas del filtro.

P_1 = Crisol + Filtro + Tanato cúprico.

P_2 = Crisol + Cenizas filtro + OCu .

$Pt = P_1 - C - F = \text{Tanato cúprico}$.

$POCu = P_2 - C - Cf = \text{Óxido de cobre}$.

$7,954 \text{ g } OCu \text{ ————— } 63,54 \text{ g } Cu$
 $POCu \text{ ————— } PCu$

$PCu = \frac{63,54}{79,54} \times POCu = 0,8 \times POCu$

g de Cobre

$\text{Tanino} = \text{Tanato cúprico} - \text{Cobre} = Pt - 0,8 POCu$

$P \text{ g droga contienen } Pt - 0,8 \times POCu \text{ g tanino } 100 \text{ ————— } x$

$$x = \frac{Pt - 0,8 \times POCu}{P} \times 100$$

Las determinaciones efectuadas con *Teucrium eriocephalum* han proporcionado los siguientes resultados:

I ensayo	— 7,19 %	de taninos.
II "	— 6,60 %	" "
III "	— 6,70 %	" "
IV "	— 5,88 %	" "
V "	— 6,68 %	" "

Media = 6,61 % de taninos.

El valor obtenido es algo inferior al hallado utilizando el procedimiento del polvo de piel lo que coincide con lo que PETRICIC (8) encuentra en el *T. marum* (8,57 % por el método del polvo de piel y 6,87 % por el del acetato cúprico).

CONCLUSIONES

1.—Se demuestra la presencia de una esencia en *Teucrium eriocephalum* cuya cuantitativa da valores comprendidos entre el 0,64 y el 1,10 %, bastante superiores a lo hallado en *T. Polium* por igual técnica, que es sólo de 0,10 a 0,23 %.

2.—Se extrae la esencia como líquido amarillo, fluido, de olor fuerte característico, sabor muy amargo y con las siguientes constantes físicas y químicas:

Densidad a 15° (picnómetro)	0,987
Índice de refracción a 25° (Abbe-Zeiss)	1,4965
Índice de acidez (F. E. IX modificado)	6,17
Índice de saponificación (F. E. IX)	63,22
Índice de yodo (Ph. Helv. V)	73,9

3.—Se demuestra la existencia de *flavonas* en *T. eriocephalum*.

4.—Se demuestra asimismo la presencia de *sustancias mucilaginosas*.

5.—No se confirma la existencia de derivados *quinónicos*.

6.—Se demuestra la existencia de *resinas* y *taninos* en los líquidos extractivos alcohólicos, etéreos y clorofórmicos y dada la insolubilidad de los taninos en los dos últimos disolventes permite aceptar que deben encontrarse combinados en forma de *resinotanoles*.

7.—Se confirma la presencia de *saponinas* procediéndose a su cuantitativa con los siguientes resultados:

a) El valor del índice de espuma por el método de la Farmacopea Francesa VIII es de 250 para la infusión y de 333 para el cocimiento.

b) El Índice hemático gramo, expresión del poder hemolítico en Farmacopea Española IX alcanza un valor de 714 para el *Teucrium eriocephalum* inferior pero próximo al de las drogas oficiales típicamente saponínicas, Polígala y Zarzaparrilla, para las que se exige un mínimo de 1.000 a 1.400 respectivamente y para las que se obtuvo un valor de 1.111 y 1.428.

8.—Se demuestra la existencia de *taninos catéquicos* en *Teucrium eriocephalum* en una proporción del 7,19 % por el método de polvo de piel y 6,61 % por el del acetato cúprico, valores ligeramente inferiores a los hallados por otros autores en *T. marum*. El índice de aglutinación obtenido por la téc-

nica descrita por la Farmacopea Española IX para el I.h.g de saponinas alcanza un valor de 200.

BIBLIOGRAFIA (*)

- 62.—BONNIER, G.: Loc. Cit. en (3), pág. 37.
- 63.—RUTOWSKY y KONDRATSKY: *Tras. Sc. Chom. Pharm. (Moscow)*, 11, 59 (1.925), de Rovesti P., loc. cit. en (41).
- 64.—MOELLER, J. y THOMAS, H.: Loc. cit. en (48), T. II, pág. 58.
- 65.—PEREZ DE MINGUEZ, M.: "Formulario enciclopédico", E. G. Seix, Barcelona 1891, T. II, pág. 102.
- 66.—LUKIC, P., SABIN, K. y GARNOVIC, M.: *Archiv Farm.* 12 (2) 69 (1962).
- 67.—BONNIER, G.: Loc. cit. en (3), pág. 35.
- 68.—LEMERY-MORELOT: Loc. cit. en (45), pág. 278.
- 69.—HARDY, E.: *Perf. Ess. Oil Record* 31, 170 (1946).
- 70.—BONNIER, G.: Loc. cit. en (3), pág. 36.
- 71.—ROSENBERG, H.: Loc. cit. en (38), pág. 359.
- 72.—"The Merck Index of Chemicals and Drug", 7.ª ed., Merck Co., Rahway 1960, pág. 477.
- 73.—Loc. cit. en (35), pág. 263.
- 74.—LEMERY-MORELOT: Loc. cit. en (45), T. II, pág. 397.
- 75.—BONNIER, G.: Loc. cit. en (3), pág. 32.
- 76.—Loc. cit. en (51), pág. 57-58.

(*) Para las referencias 1 a 29 véase en ARS PHARM. IX, 289 (1968) y para las referencias 30 a 61 véase ARS PHARM. IX, 381 (1968).

- 77.—Loc. cit. en (15), pág. 79.
- 78.—CLAVERA, J. M.^a y THOMAS, J.: "Técnica de las medidas Físicas y Fisiológicas", Ed. Libr. Prieto, Granada T. I pág. 391-392.
- 79.—CLAVERA, J. M.^a y THOMAS, J.: Loc. cit. en (78), pág. 492-500.
- 80.—Loc. cit. en (15), pág. 85.
- 81.—OLIVER, J.: "Estudio experimental de la alterabilidad de los ceratos y de la influencia de antioxidantes en su conservabilidad", tesis doctoral, Granada, 1964, pág. 125-126.
- 82.—OLIVER, J.: Loc. cit. en (81), pág. 128-129.
- 83.—Loc. cit. (15), pág. 86.
- 84.—Pharmacopea Helvetica V, Supl. I, Berne 1949, pág. 34.
- 85.—SHIBATA, K., NAGAI, I. y KISHIDA, M.: J. Biol. Chem. 28, 93 (1916) de Theállet J. P., loc. cit. en (31), pág. 58.
- 86.—GOLSE, J.: Loc. cit. en (47), página 96-97.
- 87.—Loc. cit. en (15), pág. 580.
- 88.—THEALLET, J. P.: Loc. cit. en (31), pág. 55.
- 89.—THEALLET, J. P.: Loc. cit. en (31), pág. 56.
- 90.—GOLSE, J.: Loc. cit. en (47), página 514.
- 91.—ZINCHENKO, T. V.: Inst. Farmatser't Zh. (Kiev) 14 (6) 47-51 (1959) de C. A. 60, 2042 c (1964).
- 92.—Loc. cit. en (84), pág. 294-859.
- 93.—Loc. cit. en (72), pág. 378.
- 94.—CABO TORRES y PARDO, P.: Loc. cit. en (14), pág. 88.
- 95.—PARIS, R. R. y MOYSE, H.: Loc. cit. en (12), pág. 133.
- 96.—Loc. cit. en (26), pág. 1491/2.
- 97.—MAZUREK, I. von: Die Pharmazie 4, 310 (1954).
- 98.—BASTIEN, M.: "Recherches sur les Copalchis, drogues hypoglucémiantes", Thèse doct., Paris 1961, pág. 50 en "Travaux des Laboratoires de Matière Médicale et de Pharmacie Galénique de la Faculté de Pharmacie", Vigot Frères Ed., Paris 1962.
- 99.—Loc. cit. en (15), pág. 1.201/2.
- 100.—MASCHERPA, P.: "Trattato di Farmacologia e Farmacognosia", Ed. U. Hoepli, Milano 1949, pág. 648.
- 101.—Loc. cit. en (35), pág. 263.
- 102.—Loc. cit. en (40), T. V. pág. 1.196.
- 103.—RASHBA, O. R., SELLEPUJA, S. I. y MANDRIK, T. P. y KAGANSKAYA, M. B.: Mikrobiol. Zhur Akad. Nauk Ukr. R.S.R. 6 (2) 62 (1954).
- 104.—CABO TORRES, J. y PARDO, P.: Loc. cit. en (14), pág. 81-84.
- 105.—M. BASTIEN: Loc. cit. en (98), pág. 48.
- 106.—Loc. cit. en (51), pág. 561.
- 107.—CASARES GIL, J. y CASARES LOPEZ, R.: "Tratado de Análisis Químico", Ed. Casares, Madrid 1958 T. III, pág. 326.
- 108.—PARIS, R. R. y MOYSE, H.: Loc. cit. en (12), pág. 193.