

ARS PHARMACEUTICA

REVISTA DE LA FACULTAD DE FARMACIA

UNIVERSIDAD DE GRANADA

TOMO II Núm. 6

Noviembre - Diciembre, 1961

Director: PROF. DR. JESUS CABO TORRES
Redacción y Administración: FACULTAD DE
FARMACIA. - GRANADA (ESPAÑA)

UNIVERSIDAD DE GRANADA

RECTOR DE LA UNIVERSIDAD

PROF. DR. EMILIO MUÑOZ FERNANDEZ

VICE-RECTOR

PROF. DR. J. M.^a CLAVERA ARMENTEROS

FACULTAD DE FARMACIA

TITULARES

PROF. DR. J. DORRONSORO VELILLA, *Decano*, Química inorgánica, analítica y aplicada.

- » » J. CABO TORRES. Farmacognosia I y II.
- » » V. CALLAO FABREGAT. Microbiología I y II.
- » » J. M.^a CLAVERA ARMENTEROS. Técnica Física y Fisicoquímica.
(Encargado de Bromatología e Historia).
- » » D. GUEVARA POZO. Parasitología.
- » » J. M. MUÑOZ MEDINA. Botánica I y II.
- » » L. FICALDE MARTINEZ. Fisiología Vegetal.
- » » J. SAINZ DE BURUAGA Y SANCHEZ. Química Orgánica I y II.
- » » J. M. SUÑÉ ARBUSSÁ. Farmacia Galénica y Técnica Profesional
v Legislación.
- » » G. VARELA MOSQUERA. Fisiología Animal.

ENCARGADOS

- DR. M. MONTEOLIVA HERNANDEZ. Bioquímica I y II.
- » R. GARCIA VILLANOVA. Análisis Químico.
 - » L. J. ALIAS PEREZ. Mineralogía y Geología.

PROFESORES ADJUNTOS

DR. M. AHUMADA, DR. L. J. ALIAS, DR. E. ESTEBAN, DR. R. GARCIA VILLANOVA,
DR. J. L. GUARDIOLA, DR. F. MASCARÓ, DR. M. MONTEOLIVA, DR. A. SERRANO,
DR. J. THOMAS, DR. J. VICARAY.

Trabajos originales de la Facultad

CATEDRA DE TECNICA FISICA Y FISICOQUIMICA

Prof. Dr. J. M. CLAVERA

Ars. Pharm., (n.º 6), 1961

Ensayos acerca del comportamiento electroforético de los alcoholóides de las quininas (1)

por

JESUS THOMAS GOMEZ Y RAFAEL GARCIA VILLANOVA

PROFESORES ADJUNTOS

Son muy variados los métodos fisicoquímicos que se han seguido para la separación de los alcaloides de las quininas entre sí, o de ellos y otros alcaloides. Predominan los procedimientos cromatográficos en columna o papel adsorbentes. De los primeros podemos citar, entre otros muchos, los trabajos de N. Vithal, Solanki y N.K. Basu (1), E. Graf (2), H. Böhme y H. Lampe (3), H. Thies y S. Zauner (4) (5) y (6), y los de H. Thies y H. Schäffer (7) que emplean columnas de Al_2O_3 , los de Z. V. Zhidkova (8) y H. Gänshirt y A. Malzacher (9) que utilizan SiO_2 como adsorbente, los de G. Verhaar (10) con columna de Norit adsorbente, los de J. Büchi y F. Funer (11) con Duolita -C- 10, los de J. Méndez Calderón (12) con Florinel 60 adsorbente, los de Eveim y Martín Barr (13) que recurren a arcillas, halosita, caolinita, caolín, etc... y los de C. O. Björling y A. Berggren (14) que utilizan otras permutitas.

La cromatografía sobre papel la emplean entre otros C. Romano (15), Donald J. Lussmann, Ernest R. Kirsch y George L. Webster (16), P. H. Naim Kent y B. Mateu Amengual (17), P. de Moerlosse y Nededel (18), D. N. Gore y J. M. Adshead (19), P. Castille (20), P. de Moerlosse (21), A. Resplanday y Charles Sannie (22), y Otto Erich Schultz y Dieter-Strauss (23).

También son abundantes, con el mismo fin, los métodos electroforéticos, y así encontramos en la bibliografía los trabajos de E. Scholz y P. Hagedorn (24), los de D. Burna (25), los de F. Lupant-André (26) de electroforesis sobre papel, y los de Louis A. Williams, Yvonne M. Brussock y Bennie Zak (27) sobre geles de agar.

(1) Este trabajo se ha realizado en conexión con la Cátedra de farmacognosia de la Facultad de Farmacia de Granada, y el tema sugerido por su titular el Prof. Dr. J. Cabo Torres.

Los métodos analíticos espectrofotométricos y polarográficos se han prodigado también para la identificación y separación de los alcaloides de que nos ocupamos.

Utilizando el tampón de Britton y Robinson reseñábamos anteriormente (28) los desplazamientos electroforéticos correspondientes a la quinina, cinconina, cinconidina y quinoidina.

Con objeto de evidenciar con mayores diferencias las emigraciones, que posiblemente pudieran conseguirse de unas y otras sustancias, hemos empleado, en el presente trabajo, otros tampones conocidos, para los que hemos calculado sus fuerzas iónicas, así como las diluciones o concentraciones precisas para obtener disoluciones tampón con valores de pH constantes y fuerzas iónicas prefijadas.

Parte experimental

Hemos escogido entre otros el tampón de Theorell y Stenhagen (29) de pH 2-12, y el Soerensen (30) de valores de pH comprendidos entre 1,08 y 3,40.

El de Theorell y Stenhagen se ha preparado a expensas de las dos disoluciones A y B siguientes:

Disolución A.—100 cm³ de disolución de ácido cítrico 1 N, 100 cm³ de disolución de PO₄H₃ 1 N, 354 g. de BO₃H₃, 343 cm³ de NaOH 1 N, completando con agua destilada hasta 1.000 cm³.

Disolución B.—ClH 0,1 N.

En la tabla I se indica el número de cm³ de la disolución B que, previamente diluïdos hasta 500 cm³ con agua destilada, han de añadirse a 100 cm³ de la disolución A para obtener un tampón del valor de pH indicado.

TABLA I

pH	n.º de cm ³ de la disolución B	pH	n.º de cm ³ de la disolución B
2	366,5	8	140,1
3	282,5	9	118,8
4	252,5	10	89,6
5	225,9	11	72,6
6	197,1	12	2,0
7	163,3		

Las fuerzas iónicas calculadas para el tampón de Theorell y Stenhagen, y las diluciones o concentraciones necesarias para la obtención de tampones de fuerzas iónicas 0,005, 0,02, 0,1, 0,5 y 1,0, las hemos resumido, después de su cálculo, en la tabla II.

TABLA II

pH	Tampón original	N.º de cm ³ de agua que han de añadirse a 100 cm ³ del tampón original para obtener una fuerza iónica igual a:			Peso en g de ClR que han de añadirse a 500 cm ³ del tampón original para conseguir una fuerza iónica igual a:	
	μ	$\mu=0,005$	$\mu=0,02$	$\mu=0,1$	$\mu=0,5$	$\mu=1,0$
2	0,2411	4.722	1.105	141,1	11,6	33,9
3	0,2271	4.442	1.035	127,1	12,2	34,6
4	0,2221	4.342	1.010	122,1	12,5	34,8
5	0,2171	4.243	985	117,1	12,6	35,1
6	0,2129	4.158	964	112,9	12,8	35,2
7	0,2073	4.046	936	107,3	13,1	35,4
8	0,2035	3.970	917	103,5	13,3	35,6
9	0,1999	3.898	899	99,9	13,4	35,8
10	0,1950	3.800	875	95,0	13,6	36,0
11	0,1922	3.744	861	92,2	13,8	36,1
12	0,1805	3.509	802	80,4	14,3	36,6

El tampón de Soerensen se ha preparado de acuerdo con los datos de la tabla III y a partir de las disoluciones A y B siguientes:

Disolución A.—7,507 g de glicocola y 5,850 g de ClNa, diluídos a 1 litro con agua destilada (glicocola 0,1 mol; ClNa 0,1 mol.).

Disolución B.—ClH 0,1 N

TABLA III

A + B = 100 cm ³					
pH	cm ³ de B	μ	pH	cm ³ de B	μ
1,08	100	0,05	2,40	36	0,05
1,20	85	0,05	2,60	30	0,05
1,40	71	0,05	2,80	24	0,05
1,60	62	0,05	3,00	18	0,05
1,80	54	0,05	3,20	13	0,05
2,00	48	0,05	8,50	8,5	0,05
2,20	42	0,05			

De este tampón se han preparado otros de fuerzas iónicas 0,025 y 0,01. Las sustancias y técnicas seguidas han sido las mismas que se utilizaron en nuestra anterior comunicación empleando un rectificador-estabilizador construido por nosotros con modificaciones sobre el modelo de Grifé, y cuyo esquema hemos representado en la figura 1.

En este rectificador se ha prescindido de voltímetro y amperímetro realizándose las medidas de potencia y amperaje con un aparato de medida.

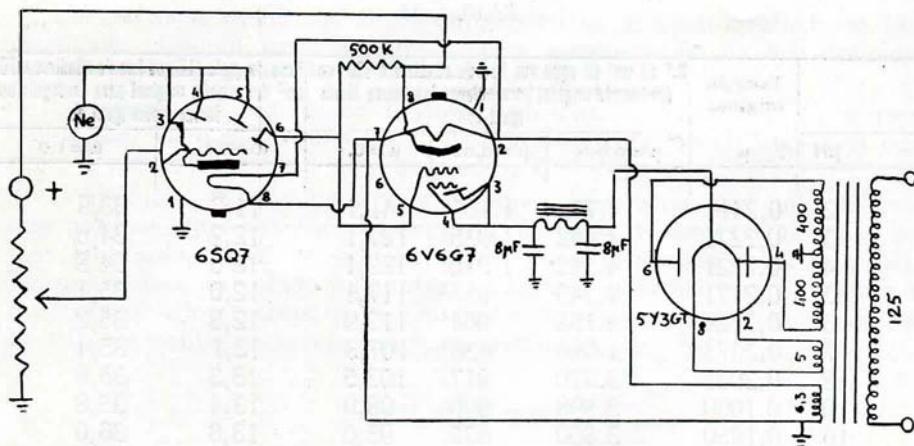


FIGURA I

Los desplazamientos medios medidos y las condiciones de experimentación se consignan en la tabla IV.

TABLA IV

10 mm ³ de disolución clorofórmica del alcaloide al 0,5%					
Tiempo = 3 horas					
Voltaje 300 voltios					
Dimensiones de las tiras = 3,5 x 22 cm (Whatman n.º 1)					
N.º de la tira	sustancia	pH del tampón	μ	mA	desplazamiento (en mm)
1	quinina	1,76	0,2411	14	120
2	cinconina	1,76	0,2411	14	114
3	cinconidina	1,76	0,2411	14	122
4	quinoidina	1,76	0,2411	14	120
5	quinina	3,16	0,2271	8	115
6	cinconina	3,16	0,2271	8	117
7	cinconidina	3,16	0,2271	8	118
8	quinoidina	3,16	0,2271	8	116
9	quinina	6,20	0,2129	5,5	78
10	cinconina	6,20	0,2129	5,5	85
11	cinconidina	6,20	0,2129	5,5	89
12	quinoidina	6,20	0,2129	5,5	86
13	quinina	10,68	0,1950	5,5	80
14	cinconina	10,68	0,1950	5,5	92
15	cinconidina	10,68	0,1950	5,5	93
16	quinoidina	10,68	0,1950	5,5	90
17	quinina	1,76	0,02	1,5	56
18	cinconina	1,76	0,02	1,5	62

N.º de la tira	sustancia	pH del tampón	μ	mA	desplazamiento
19	cinconidina	1,76	0,02	1,5	67
20	quoidina	1,76	0,02	1,5	58
21	quinina	3,00	0,02	1,5	42
22	cinconina	3,00	0,02	1,5	56
23	cinconidina	3,00	0,02	1,5	57
24	quinoidina	3,00	0,02	1,5	47
25	quinina	6,2	0,02	1,5	43
26	cinconina	6,2	0,02	1,5	50
27	cinconidina	6,2	0,02	1,5	51
28	quinoidina	6,2	0,02	1,5	47
29	quinina	10,68	0,02	1,5	41
30	cinconina	10,68	0,02	1,5	42
31	cinconidina	10,68	0,02	1,5	43
32	quinoidina	10,68	0,02	1,5	38
33	quinina	1,76	0,005	0,2	32
34	cinconina	1,76	0,005	0,2	33
35	cinconidina	1,76	0,005	0,2	34
36	quinoidina	1,76	0,005	0,2	33
37	quinina	3,16	0,005	0,2	37
38	cinconina	3,16	0,005	0,2	42
39	cinconidina	3,16	0,005	0,2	48
40	quinoidina	3,16	0,005	0,2	35
41	quinina	6,20	0,005	0,2	23
42	cinconina	6,20	0,005	0,2	32
43	cinconidina	6,20	0,005	0,2	39
44	quinoidina	6,20	0,005	0,2	29
45	quinina	10,68	0,005	0,2	27
46	cinconina	10,68	0,005	0,2	27
47	cinconidina	10,68	0,005	0,2	37
48	quinoidina	10,68	0,005	0,2	27
49	quinina	2,00	0,1	5	135
50	cinconina	2,00	0,1	5	130
51	cinconidina	2,00	0,1	5	168
52	quinoidina	2,00	0,1	5	127
53	quinina	3,16	0,1	3	80
54	cinconina	3,16	0,1	3	100
55	cinconidina	3,16	0,1	3	122
56	quinoidina	3,16	0,1	3	95
57	quinina	6,00	0,1	2	72
58	cinconina	6,00	0,1	2	88
59	cinconidina	6,00	0,1	2	92
60	quinoidina	6,00	0,1	2	85
61	quinina	10,68	0,1	2,5	76
62	cinconina	10,68	0,1	2,5	92
63	cinconidina	16,68	0,1	2,5	95
64	quinoidina	10,68	0,1	2,5	85

Al tratar de utilizar los tampones de fuerzas iónicas 0,5 y 1,0 resulta que la cantidad de corriente transportada es superior a la carga máxima admisible por el rectificador.

El tampón original de Soerensen de fuerza iónica 0,05, tampoco permite realizar medidas con un transporte inferior a 25 mA, por lo que se ha diluído para trabajar con valores de 0,025 y 0,01. Los desplazamientos observados los hemos resumido en la tabla V.

TABLA V

N.º de la tira	sustancia	pH	fuerza iónica	mA	desplazamientos
65	quinina	2,02	0,025	17	112
66	cinconina	2,02	0,025	17	120
67	cinconidina	2,02	0,025	17	140
68	quinoidina	2,02	0,025	17	125

Para una fuerza iónica 0,01 la sustancia emigra una distancia superior a la longitud de la tira, y por ello no ha sido posible medir los desplazamientos correspondientes en las condiciones de las otras experiencias.

Discusión y conclusiones

En nuestra anterior comunicación comprobábamos que de los cuatro alcaloides estudiados es la cinconidina la que posee mayor movilidad, seguida de la cinconina, quinoidina y quinina. Ello nos hacía suponer que el grupo CH_3O . de esta última es el responsable de ese retraso en su movimiento. También observábamos que las movilidades absolutas de mayor cuantía se consiguen a pH próximos a la neutralidad, si bien tan sólo de modo relativo, pues para valores muy ácidos los desplazamientos entonces encontrados son algo menores, pero teniendo en cuenta que para poder medirlos fué preciso reducir a una hora el tiempo de desplazamiento, con lo que se evitaban en lo posible las consecuencias del efecto Joule, que en un tiempo de tres horas, duración de las demás experiencias, interfería los resultados correctos.

Con el tampón de Theorell y Stenhagen es ya posible trabajar durante un tiempo máximo de tres horas con tampones muy ácidos y de la misma fuerza iónica.

La atmósfera iónica de la partícula desplazada varía con el tipo de tampón, suministrando una carga variable, que al mismo tiempo depende de la fuerza iónica y pH del tampón. Estos hechos, sumamente conocidos, pueden explicar la mayor viabilidad del tampón de Theorell y Stenhagen para la separación de los alcaloides de las quinas.

Los resultados hallados en el presente trabajo ponen también de manifiesto que la mayor movilidad corresponde a la cinconidina, seguida de

la cinchonina, quinoidina y quinina, y que ese orden se mantiene para todos los valores de pH y fuerzas iónicas. Las diferencias en esos desplazamientos se acentúan con la acidez del medio, y tienen su valor óptimo para una fuerza iónica igual a 0,1. Al considerar estadísticamente esos desplazamientos se puede establecer un coeficiente de orden de movilidad, que para cada una de las sustancias vale: cinconidina, 1,0; cinchonina, 2,4; quinoidina, 3,0; y quinina, 3,6. Estos coeficientes demuestran que todos los resultados correspondientes a cada uno de los alcaloides vienen a tener una marcha paralela, y que las ligeras discrepancias provienen fundamentalmente de la mancha difusa suministrada por la quinoidina, del efecto Joule, de la evaporación del disolvente, y de la pequeña difusión de las manchas de las demás sustancias.

El estudio del desplazamiento electroforético utilizando tampones con margen muy amplio de valores de pH permite obtener separaciones muy selectivas que pueden ser aplicables al análisis farmacéutico de productos oficinales, así como a la investigación de la estructura de alcaloides semejantes.

En este aspecto ha trabajado Albert Resplanday (31) y (32) utilizando soluciones acuosas de electrolitos. Sin embargo la variabilidad de resultados es muy grande, y así, M. Sarsunova y J. Menkynova (33) afirman que el pH óptimo para la separación de los alcaloides de las quinas en sus tinturas es de 8,6—9,0. Por el contrario, S. Ghosh Majumder y N. C. Gauguli (34) trabajando con corriente de 220 voltios, 8 mA y pH 3 separan óptimamente la cinchonina, estriocina y quinina.

Las separaciones mediante electroforesis sobre papel son a veces preferidas a las obtenidas cromatográficamente. Es el caso de los trabajos realizados por Charles Buff, Joseph Orantes y Paúl L. Kirk (35) quienes optan por la electroforesis sobre papel en las microseparaciones comparativas de alcaloides, encontrando mediante esta técnica resultados más reproducibles que los conseguidos con la cromatografía sobre el mismo sustratum.

R E S U M E N

Mediante el tampón de Theorell Stenhagen y el de Soerensen se consiguen separaciones muy acusadoras de los alcaloides de las quinas. Las movilidades óptimas se obtienen a pH muy bajos, y para fuerzas iónicas próximas a 0,1 en el primer tampón. La mayor movilidad la posee la cinconidina.

R É S U M É

Avec le tampon de Theorell et Stenhagen et celui de Soesensen on obtien des séparations tres remarquables des alcaloides des quinquinas. Les mouvements excellentes sont obtenues a pH très bas, et pour les y forces ioniques proches a 0,1 dans le premier tampon. Le plus grand mouvement est dans la cinconidine.

S U M M A R Y

With the Theorell-Stenhagen and Soerensen buffer it obtain veri intensive separations of cinchona alkaloids. We attain the best mobilities at very little pH, and for ionic strengths next to 0,1 for the first buffer. The cinchonidina has the greatst mobility.

BIBLIOGRAFIA

- (1) N. VITHAL, SOLANKI y N. K. BASU.—*J. Sci. Research Benares Hindu Univ.*, *1*, 149-52 (1950-51).
- (2) E. GRAFF.—*Arzneimittel Forsch.*, *1*, 257-66 (1951).
- (3) H. BÖHME y H. LAMPE.—*Arch. Pharm.*, *284*, 227-39 (1951).
- (4) H. THIES y S. ZAUNER.—*Arch. Pharm.*, *285*, 191-201 (1952).
- (5) H. THIES y S. ZAUNER.—*Arch. Pharm.*, *285*, 360-4 (1952).
- (6) H. THIES.—*Arch. Pharm.*, *285*, 224-30 (1952).
- (7) H. THIES y H. SHAFFER.—*Arch. Pharm.*, *289*, 370-78 (1956).
- (8) Z. V. ZHIDKOVA.—*Uspekhi Fiz. Nauk.*, *44*, 369-92 (1951).
- (9) H. GANSCHIRT y A. MALZACHER.—*Arch. Pharm.*, *293*, 925-32 (1960).
- (10) G. VERHAAR.—*Arch. Kinacultur*, *1*, 150 (1951).
- (11) J. BÜCHI y F. FUNER.—*Arzneimittel Forsch.*, *3*, 1-10 (1953).
- (12) J. MENDEZ CALDERON.—*Escuela farm.*, *14*, 27-33 (1953).
- (13) EVEIN y M. BARR.—*J. Am. Pharm. Assoc.*, *44*, 570-3 (1955).
- (14) C. O. BJÖRLING y A. BERGCTEN.—*Acta Chem. Scand.*, *9*, 567-71 (1955).
- (15) CARLO ROMANO.—*Minerva Medicolegale*, *70*, 172-4 (1950).
- (16) DONALD J. LUSMANN, ERNST R. KIRCH y GEORGES L. WEBSTER.—*J. Am. Pharm. Assoc.*, *40*, 368-70 (1951).
- (17) P. H. NAIM KENT y B. MATEU AMIENGUAL.—*Arch. farm. bioquim. Tucumán*, *4*, 333-43 (1950).
- (18) P. DE MOERLOSSE y NEDEDEL.—*Vlaam. Chem. Ver.*, *15*, 13-18 (1953).
- (19) D. N. GORE y J. M. ADSHEAD.—*J. Pharm. und Pharmacol.*, *4*, 803-10 (1952).
- (20) P. CASTILLE.—*Pharm. Weekblad*, *89*, 1-11 (1954).
- (21) P. DE MOERLOSSE.—*Pharm. Tijdschr. Belg.*, *29*, 1117-21 (1952).
- (22) ALBERT RESPLANDAY y CHARLES SANNIE.—*Compt. rend.*, *241*, 65-7 (1955).
- (23) O. ERICH SCHULTZ y DIETER-STAUSS.—*Arzneimittel Forsch.*, *5*, 342-8 (1955).
- (24) E. SCHOLZ y P. HAGEDORN.—*Deustch. Apoth. Z.*, *3*, 81 (1953).
- (25) D. BURNA.—*Naturwiss*, *41*, 19 (1954).
- (26) F. LUPANT-ANDRÉ.—*Ann. soc. roy. sci. med. et nat.*, Bruxelles, *7*, 129-38 (1954).
- (27) L. A. WILLIAMS, Y. M. BRUSOCK y B. ZAK.—*Anal. Chem.*, *32*, 1883-5 (1960).
- (28) J. THOMAS y R. GARCIA VILLANOVA.—*Ars Pharm.*, *2*, 1 (1961).
- (29) THEORELL y STONACHEN.—*Biochem. Z.*, *299*, 417. (1939).
- (30) KOLTHOKK.—*Säuren-Basen Indikatoren*, Berlin (1932).
- (31) A. RESPLANDAY.—*Comp. Rend.*, *238*, 2.527-9 (1954).
- (32) A. RESPLANDAY.—*Comp. Rend.*, *239*, 496-8 (1954).
- (33) M. SARSUNOVA y J. MENKYNova.—*Pharmazie*, *15*, 161-163 (1960).
- (34) S. GHOSH MAJUMDER y N. C. GAUGULI.—*Chemistry and Industry*, 1 237-8 (1956).
- (35) C. BUFF, J. ORANTES y P. L. KIRK.—*Microch. J.*, *3*, 13-18 (1959).