

## 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 *Nicotiana tabacum* (Solanaceae), cuya parte usada son las hojas, la cual presenta alcaloides derivados de la pirrolidina. Dicha droga posee entre 0,06 y 10 % de alcaloides totales, siendo el principal la *l*-nicotina, además de nornicotina, anabasina y nicotirina.

## Actividades

1- Se realizará una extracción de una muestra de tabaco molido para pipa (**1-P**) y de un cigarrillo (**2-C**).

**Extracción en medio básico para drogas que contienen > o = al 1% de alcaloides totales.** Pesar 1 g de polvo de la droga vegetal y mezclarla con 1 ml de una solución de amonio al 10 % o con 1 ml de una solución de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  al 10 %. Extraer durante 10 min con 5 ml de metanol para obtener los extractos **E1-P** y **E2-C**.

### 1.1- Reacciones de Identificación

Se trabajará con tinturas comerciales de quina (**T-Q**), cornezuelo de centeno (**T-C**), beleño (**T-B**), **E1-P**, **E2-C** y con las Fracciones **C** y **D** de la planta en estudio. Las reacciones se probarán en el siguiente orden:

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

**Resultado (+)**: precipitado naranja o pardo anaranjado.

1.1.2- Reactivo de Bouchardat:  $\text{I}_2$ -KI.

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

1.1.3- Reactivo de Mayer:  $\text{HgCl}_2$  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- Para las drogas en polvo** (planta en estudio que diera positivo), se procederá a realizar una extracción en medio ácido, seguida de la aplicación de las reacciones de identificación y posterior análisis cromatográfico.

**Extracción en medio ácido.** 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.

### 2.2- Cromatografía planar (TLC)

Utilizar el siguiente sistema cromatográfico:

**Cromatofolio** con las medidas adecuadas.

**Fase estacionaria**: sílicagel 60 HF<sub>254+366</sub> (las placas serán preparadas en el laboratorio en las clases anteriores).

**Fase Móvil**: tolueno-acetato de etilo-dietilamina (70:20:10)

**Muestras**: **E1-T**, **E2-C**, comprimidos de nicotina (Niquitin 2 mg®)

**Desarrollo**: ascendente, 10 cm aproximadamente.

**Siembra** en bandas de 2-3 mm.

**Revelado:** 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.

### **3- Caracterización de quinidina**

**Caracteres generales:** agujas finas, brillantes o polvo amorfo. Prácticamente insoluble en agua fría y en benceno. Fácilmente soluble en alcohol, éter y cloroformo.

#### **3.1- Identificación**

- Soluciones aciduladas con  $H_2SO_4$ : dan fluorescencia azul.
- Soluciones aciduladas con HCl: no dan fluorescencia azul, pero precipitan con el agregado de  $AgNO_3$ .

#### **3.2- Reacción de la taleoquinina**

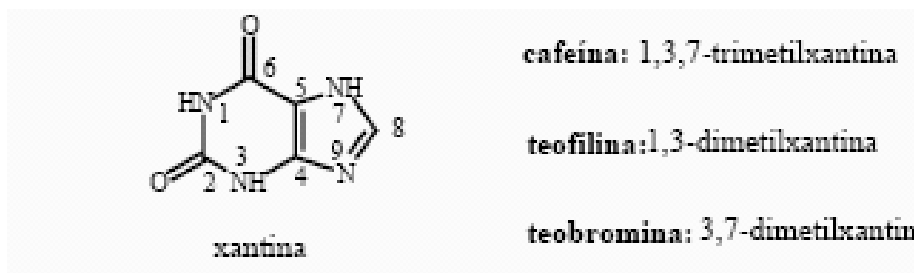
A una solución de la muestra acidulada con  $H_2SO_4$ , agregar hipoclorito de sodio hasta que desaparezca la fluorescencia, quedando un líquido casi incoloro. Al agregar  $NH_3$  a este último, deberá dar color verde esmeralda.

### **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 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 redissuelve 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.

<b>NOTA. La cafeína no precipita sal de plata.</b>
--

## **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.

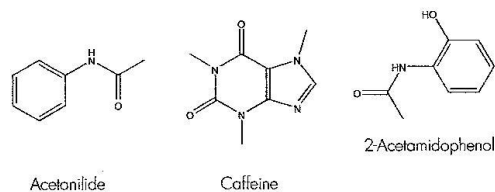
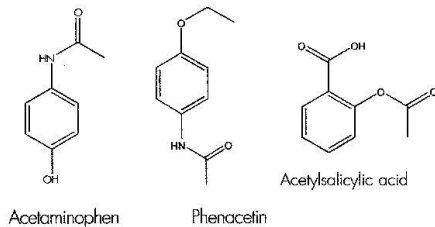
## Analgesics

### LC Conditions:

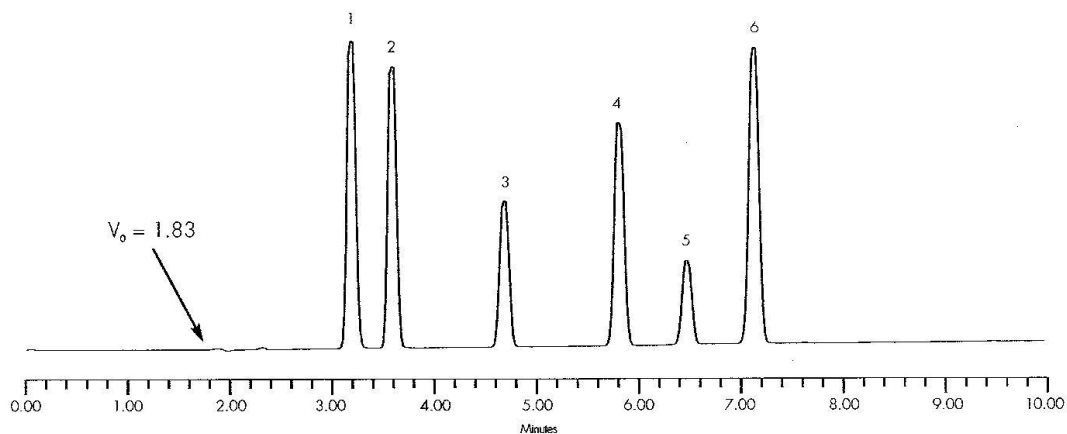
Column: Atlantis™ dC<sub>18</sub> 4.6 x 150 mm, 5 μm  
 Part Number: 186001344  
 Mobile Phase A: H<sub>2</sub>O  
 Mobile Phase B: ACN  
 Mobile Phase C: 1% HCOOH, pH 2.3  
 Flow Rate: 1.0 ml/min  
 Gradient:

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



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**

Concurre 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”*, 1991. Ed. Acribia. España.
- Dominguez, J. A., *“Métodos de Investigación Fitoquímica”*, 1985. México, Limusa.
- FNA VI Ed., 1978.
- FA VII Ed., 2003.
- Wagner, H., Bladt, S., Zgainski, E.M., *“Plant drug analysis”*, 1984. Springer-Verlag, Alemania.

