

EXTRACCION Y DETERMINACION DE BASES ORGANICAS BAJO FORMA DE PARES IONICOS CON COLORANTES ACIDOS. II. Codeína, Cocaína.

Jaime H. Rojas*
Noralba Sierra M.*

RESUMEN

La técnica de colorantes ácidos para la determinación cuantitativa de bases orgánicas se empleó para establecer métodos de análisis conducentes a la valoración de dos alcaloides, fosfato de codeína y clorhidrato de cocaína. Luego del estudio de algunos parámetros que influyen en la formación y extracción del par iónico con un solvente orgánico, se establecieron varios métodos con interés analítico para su aplicación en productos farmacéuticos y afines. Como colorantes se ensayaron azul de bromotimol, púrpura de bromocresol y naranja de metilo. En todos los casos la extracción se realizó con cloroformo y con benceno.

SUMMARY

The acid dye technique was studied for the assay of codeine and cocaine by formation of an ion pair between the alkaloid and the acid dye. The role of some parameters on the extraction was investigated. The dyes used were bromothymol blue, bromocresol purple and methyl orange. Chloroform and benzene were used as solvents for the ion pair extraction.

INTRODUCCION

La técnica de extracción como pares iónicos de sustancias de naturaleza básica con interés farmacéutico ha sido ampliamente empleada para su determinación cuantitativa en productos farmacéuticos (1-10), de naturaleza vegetal (11,12), alimentos (13) y fluidos biológicos (14-15).

Gupta y Cadwallader (2,3) estudiaron el efecto en el grado de extracción de algunas sustancias con actividad terapéutica y de algunos excipientes comúnmente empleados en formulaciones farmacéuticas.

Los conceptos teóricos básicos así como los factores que deben considerarse en la formación y extracción subsecuente de pares iónicos del tipo sus-

tancia básica-colorante ácido fueron discutidos ampliamente en publicación anterior (10). En esta misma publicación se presentaron además los resultados obtenidos en el estudio con atropina y escopolamina.

La presente publicación describe los resultados obtenidos en el estudio de dos alcaloides, fosfato de codeína y clorhidrato de cocaína.

PARTE EXPERIMENTAL

Los diferentes reactivos empleados así como las soluciones buffer, colorantes y solventes orgánicos empleados fueron descritos anteriormente (10).

Los alcaloides empleados fueron previamente analizados por titulación en medio no acuoso con ácido perclórico 0.02M y cromatografía en capa delgada. La codeína fue obtenida de Laboratorios Bayer y la cocaína del Instituto de Medicina Legal del Ministerio de Salud Pública.

Se empleó un Potenciómetro Fisher Modelo 320 de escala expandida para la calibración de las soluciones buffer y un Espectrofotómetro Perkin Elmer Modelo 552 para las lecturas y registros espectrofotométricos.

El estudio de la técnica se realizó empleando combinaciones de cada uno de los alcaloides con los colorantes azul de bromotimol (BTB), púrpura de bromocresol (PBC) y naranja de metilo (NM), empleando para la extracción tanto cloroformo como benceno.

Los principales parámetros en estudio para cada sistema fueron la influencia del pH de la fase acuosa en la extracción del par iónico, variación de la concentración de colorante y de la concentración del alcaloide en estudio. En algún caso se estudió el efecto del tiempo en la lectura espectrofotométrica. Las fases orgánicas empleadas fueron saturadas

* Químicos Farmacéuticos, Departamento de Farmacia, Universidad Nacional, Apartado Aéreo 14-490. Bogotá, Colombia.

con agua y las fases acuosas saturadas con el solvente orgánico en cuestión.

El procedimiento general empleado en todos los casos consistió en la mezcla de 5 ml de fase acuosa y 10ml de fase orgánica en erlenmeyer de 125 ml y de tapa esmerilada. La mezcla se agitó mecánicamente durante 10 minutos y decantó en ampollas de 60 ml.

Todas las fases orgánicas que contenían el complejo extraído presentaron una coloración amarilla, razón por la cual su máximo de absorción se sucedió a una longitud de onda entre 400 y 425 nm.

En los estudios de cambio de concentración del alcaloide y con el fin de aumentar la sensibilidad del método, se agregó a las fases clorofórmicas que contenían BTB o PBC, tres gotas de hidróxido de tetrabutilamonio (HBTA) y posterior lectura del colorante liberado a 635 y 605 nm respectivamente. En el caso de extractos bencénicos, el colorante se liberó por adición de la cantidad equivalente de NaOH 0.05M y se leyó a 615 y 595nm. Las fases que contenían NM se trataron con ácido sulfúrico 0.1M.

Los colorantes BTB y PBC se disolvieron en la fase orgánica y el NM en la fase acuosa. Los alcaloides se disolvieron en la fase acuosa.

En todos los casos las lecturas de absorbancia se tomaron contra los respectivos blancos, trabajados simultáneamente.

RESULTADOS Y DISCUSION

En los ensayos con NM y benceno, ninguno de los alcaloides formó pares iónicos solubles debido a su baja solubilidad en ese solvente a lo que contribuye su bajo peso molecular.

Dada la similitud de resultados, los autores se limitan a exponer algunos resultados bajo forma de gráficas y a discutir gran parte de los mismos.

De acuerdo a las pautas seguidas en (10), para cada alcaloide se adjuntan tablas que resumen la totalidad de resultados obtenidos y las condiciones que se deben seguir para su determinación. En ellas (Tablas II y III) se reporta el pH óptimo para la extracción, concentraciones de alcaloide que satisfacen la ley de Lambert-Beer, la absorbancia de la

última concentración de alcaloide empleada y la longitud de onda de la determinación según lo antes descrito. Las tablas contienen además los porcentajes de extracción obtenidos y los sistemas para los cuales no se encontró extracción, aún a concentraciones elevadas de alcaloide.

1. Codeína Fosfato

A. Azul de Bromotimol-Cloroformo

El porcentaje de extracción del par iónico en función del pH se investigó a partir de una solución de codeína fosfato que contenía 15 mcg/ml en cada uno de los buffer empleados. Para la reacción se mezclaron 5 ml de cada uno de los buffer con 10 ml de BTB 1.25×10^{-4} M en cloroformo. Las lecturas de absorbancia se efectuaron a 635 nm luego de la adición de tres gotas de HTBA 0.1M a cada fase orgánica aislada y antes de cinco minutos debido a la inestabilidad del BTB aislado en ese medio, como se demostró en otra experiencia (Tabla I).

Tabla I
ESTABILIDAD DEL SISTEMA CODEINA - BTB
EN CLOROFORMO PREVIA ADICION DE HTBA
0.1M (635nm)

Tiempo (min)	A pbma. vs blanco	A pbma. vs blanco	A blanco vs CHCl ₃
2	0.144	0.312	0.167
5	0.143	0.308	0.165
10	0.142	0.307	0.163
20	0.140	0.297	0.160
30	0.137	0.290	0.156
50	0.128	0.278	0.148
70	0.127	0.273	0.144
	11.81%	12.50%	13.77%

La Tabla I indica un ligero descenso en el valor de la absorbancia, el cual no es muy marcado dentro de los 10 primeros minutos. El mayor porcentaje relativo en el descenso al cabo de 70 minutos lo presenta la solución del blanco (13.77%) y el menor la solución del problema contra el blanco (11.81%). El descenso en la absorbancia puede ser debido a la parcial destrucción del complejo formado entre el ión tetrabutilamonio y el BTB. El descenso parcial no es completamente reversible ya que la adición posterior de más HBTA causa tan sólo un ligero aumento de la absorbancia sin alcanzar el valor inicial.

La curva de extracción en función del pH es similar

Tabla II
RESUMEN DE RESULTADOS PARA LA EXTRACCION DE CODEINA COMO PAR IONICO
CON DIFERENTES COLORANTES ACIDOS

Sistema	Conc.Molar I_nH	pH	mcg/ml	A	% extr.	λ nm
BTB-CHCl ₃	1.25×10^{-4}	7.0	3-15	0.712	100.00	635
BTB-C ₆ H ₆	1.25×10^{-4}	5.6	7-35	0.725	99.62	405
PBC-CHCl ₃	1.25×10^{-4}	4.4	2-10	0.907	99.87	605
PBC-C ₆ H ₆	1.25×10^{-4}	—	—	—	—	—
NM-CHCl ₃	2.5×10^{-4} *	4.6	6-30	0.694	57	525
					83.45	
					94.54	
					96.71	
NM-CHCl ₃	15×10^{-4} *	4.6	3.4-17	0.814	100.00	525
NM-CHCl ₃	15×10^{-4} *	4.6	6-30	0.823	93.33	425
NM-C ₆ H ₆	2.5×10^{-4} *	—	—	—	—	—

* preparado en el buffer

Tabla III
RESUMEN DE RESULTADOS PARA LA EXTRACCION DE COCAINA COMO PAR IONICO
CON DIFERENTES COLORANTES ACIDOS

Sistema	Conc.Molar I_nH	pH	mcg/ml	A	% extr.	λ nm
BTB-CHCl ₃	2.0×10^{-4}	6.4	15-75	0.754	85.79	615
BTB-C ₆ H ₆	2.5×10^{-4}	5.8	15-75	0.800	87.71	615
PBC-CHCl ₃	2.0×10^{-4}	4.2	10-50	0.944	78.85	590
PBC-C ₆ H ₆	—	—	—	—	—	—
NM-CHCl ₃	4.0×10^{-4} *	3.6	20-120	0.832	64.03	507
NM-C ₆ H ₆	—	—	—	—	—	—

* En NM se preparó en la fase acuosa y las concentraciones de alcaloide se reportan por 10ml de fase orgánica.

a la obtenida con el mismo sistema para la atropina (10). Sin embargo en el caso de la codeína el pH óptimo para la extracción es de 7.0 (Figura 1). Este valor de pH indica que la generalización que hacen algunos autores sobre un valor único para el sistema BTB-Cloroformo no es válida y el mismo depende de muchos factores, entre ellos el tipo de base orgánica empleada.

Los resultados sobre la influencia de la concentración de BTB en la extracción a pH 7.0 se muestran en la Figura 2. La concentración de codeína empleada fue de 75 mcg/5ml de buffer y las lecturas se hicieron sobre el par iónico intacto (415nm). Se observa que a partir de una concentración de BTB 0.6×10^{-4} M, equivalente a 3.4 veces la del alcaloide, la extracción es completa con un promedio de 100.57% para las seis últimas concentraciones de BTB.

En la Figura 3 se reportan los resultados obtenidos por variación de la concentración de codeína en

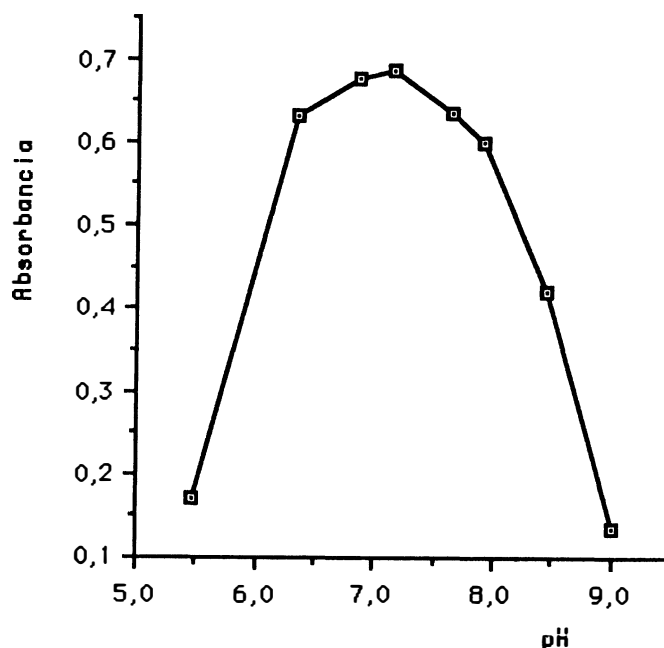


Figura 1. Influencia del pH sobre la extracción del complejo codeína-azul de bromotimol por el cloroformo.

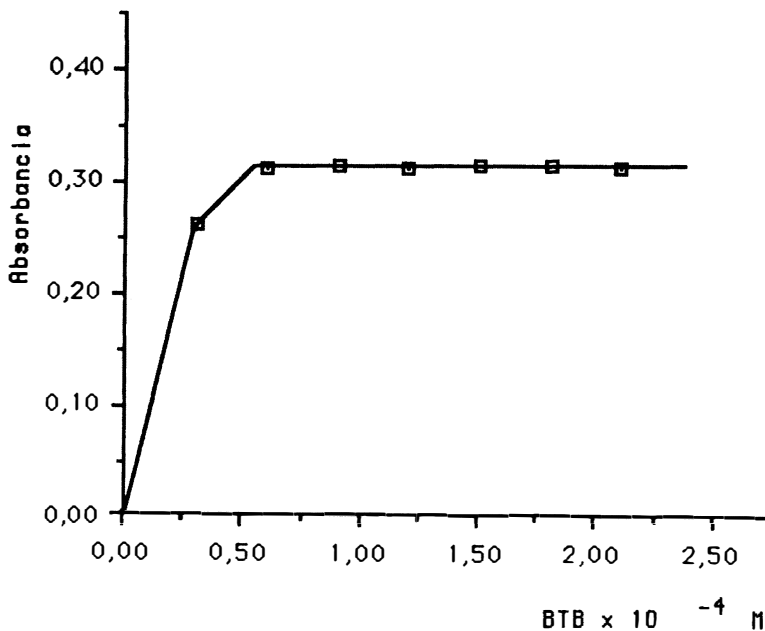


Figura 2. Extracción del par-iónico codeína-azul de bromotimol en función de la concentración de colorante.

cia de 0.605, valor prácticamente igual al proporcionado por una solución de BTB de la misma concentración molar (0.600). La absorbancia se muestra proporcional con concentraciones entre 3 y 15 mcg/ml ($r = 0.9989$).

El método suministra una mayor sensibilidad que la obtenida al UV y tetrafenilborato (16) y mucho más sensible que el de la USP (17) para inyectables y tabletas y BP (18) para tabletas en presencia de aspirina.

B. Azul de Bromotimol-Benceno

El comportamiento del complejo codeína-BTB y su extracción con benceno se estudió con valores de pH entre 2.8 y 8.3 y una concentración de codeína de 125mcg por cada 5ml de buffer. La cantidad de complejo extraído se determinó a 405nm y el valor de pH obtenido que proporciona la máxima extracción es de 5.7.

La curva de calibración a pH 5.7 se estableció con concentraciones de codeína entre 35 y 175 mcg/5 ml de buffer y 1.25×10^{-4} M de BTB. Cálculos apropiados demuestran que el par iónico se forma en relación 1:1 y que mediante una sola extracción se recupera el 99.62% de codeína.

C. Púrpura de Bromocresol-Cloroformo

La extracción con cloroformo del par iónico codeína-PBC se estudió a valores de pH entre 3 y 8 unidades. Las lecturas se tomaron a 605 nm luego de la adición de HTBA a la fase clorofórmica que contenía el complejo. La curva obtenida presenta un valor óptimo de pH de 4.4 e indica que tan sólo 1.4 unidades por debajo del mismo, la extracción se reduce a cero.

Los estudios con concentraciones variables de codeína entre 10 y 50 mcg/5 ml de fase acuosa permiten detectar la formación de un par iónico monómero y una extracción de 99.87%.

En razón de la mayor absorptividad molar del PBC, el método se muestra más sensible que cuando se utiliza el mismo solvente y BTB como componente aniónico del complejo.

D. Naranja de Metilo-Cloroformo

La Figura 4 indica un valor de pH óptimo de 4.6

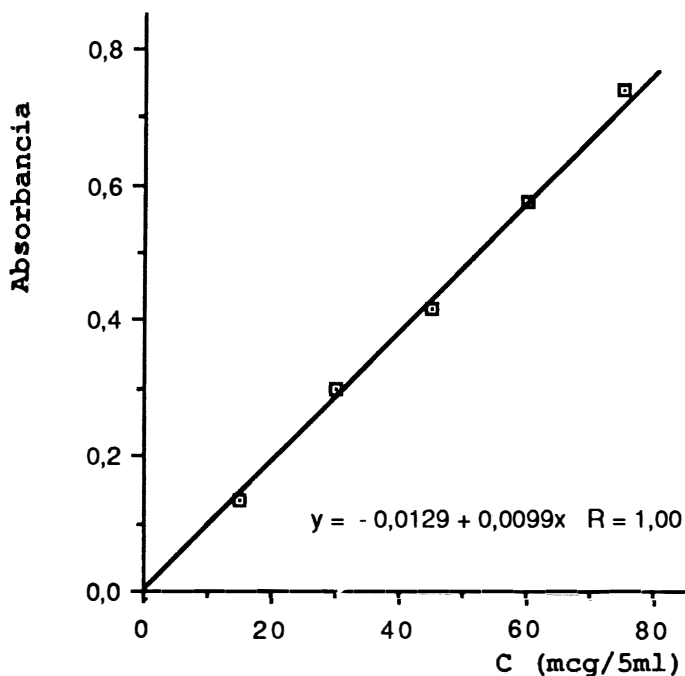


Figura 3. Curva de calibración para la extracción del par-iónico codeína-azul de bromotimol por cloroformo a pH 7.0.

la fase acuosa y demuestra que el complejo se forma estequiométricamente en relación 1:1. Una solución de 63.7 mcg/5ml de tampón, es decir, 63.7 mcg/10ml de fase orgánica, correspondiente a una concentración 1.5×10^{-4} M presenta una absorban-

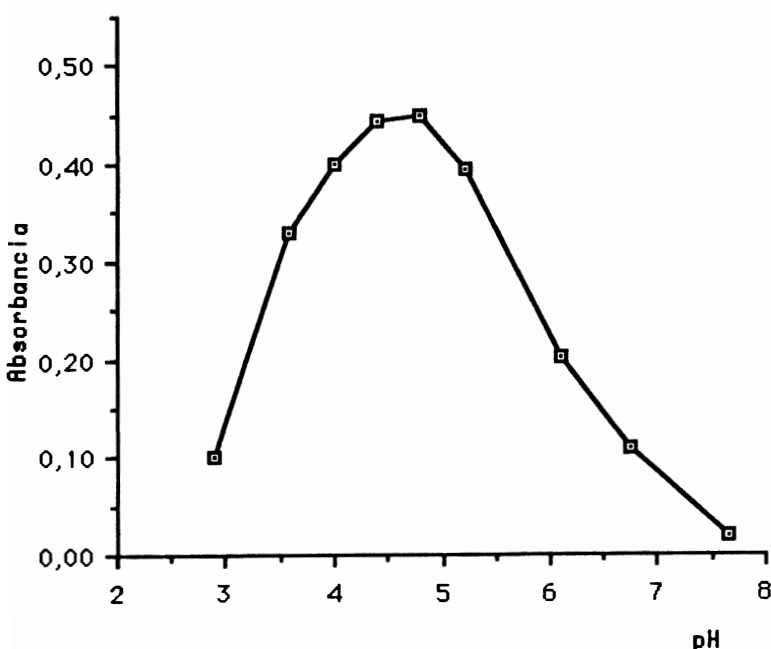


Figura 4. Extracción del complejo codeína-naranja de metilo por el cloroformo en función del pH de la fase acuosa.

para la extracción de la codeína con este sistema. El estudio se realizó mezclando 5 ml de cada buffer que contenía NM en concentración 2.5×10^{-4} M con 10 ml de una solución clorofórmica que contenían 10 mcg/ml de codeína base expresados como fosfato. El NM se determinó a 525 nm luego de la adición de 1 ml de ácido sulfúrico al 2% en alcohol absoluto por cada 5 ml de extracto clorofórmico.

La curva de calibración respectiva se elaboró a pH 4.6, mezclando 5 ml de buffer que contenían el colorante y concentraciones de codeína entre 5 y 25 mcg/ml con 10 ml de cloroformo y lecturas a 525 nm luego del tratamiento con el alcohol ácido.

Para calcular el porcentaje de extracción se debe suponer la formación de un par iónico monómero. Este grado de extracción sería tan sólo de 57.0% e indica bien una baja solubilidad del complejo en cloroformo o bien la formación de un par iónico de orden diferente.

Para confirmar cualquiera de las dos hipótesis se efectuaron extracciones adicionales sobre la fase acuosa proveniente de la primera extracción y para la concentración de 25 mcg/ml. Esta fase acuosa se trató por tres veces consecutivas con 10 ml de cloroformo cada vez. Estas extracciones aumentaron la recuperación a 83.45, 94.54 y 96.71% respecti-

vamente. Estos resultados sustentan la hipótesis de la formación de un par iónico monómero con una baja solubilidad en cloroformo.

2. Cocaína Clorhidrato

A. Azul de Bromotimol-Cloroformo

Para el estudio de pH se emplearon soluciones buffer entre un intervalo de pH de 2.6 a 8.3. Cada 5 ml de buffer que contenían 50 mcg de cocaína clorhidrato se mezclaron y agitaron mecánicamente durante 10 minutos con una solución clorofórmica de BTB 1.25×10^{-4} M. Las fases orgánicas se determinaron espectrofotométricamente a 415 nm, presentando un máximo a pH 5.2.

De cada una de las soluciones obtenidas que contenían el complejo, así como de los respectivos blancos, se tomaron 5 ml para la extracción del colorante luego de la destrucción del complejo con 5 ml de NaOH 0.05M. Los primeros valores de pH presentan en este caso lecturas bajas de absorbancia para incrementarse hasta un máximo a 6.4, pH óptimo para la extracción del par iónico. Las lecturas se realizaron a 615 nm sobre la fase alcalina.

El estudio para establecer la concentración óptima de BTB, se realizó a pH 6.4 con concentraciones de BTB entre 0.3 y 2.4×10^{-4} M y 52 mcg de alcaloide por 5 ml de buffer. Los resultados indican que para una máxima sensibilidad se requiere una concentración 10 veces superior a la del alcaloide.

La ley de Lambert-Beer para este sistema se satisface con concentraciones de cocaína entre 3 y 15 mcg/ml de solución buffer de pH 6.4. El complejo extraído se trató en todos los casos con NaOH 0.05M, obteniéndose un porcentaje de extracción promedio de 85.97%. Este porcentaje no aumentó por extracciones adicionales, indicando tal vez que el alcaloide no recuperado pasó a la fase orgánica sin arrastrar la cantidad equivalente de colorante.

B. Azul de Bromotimol-Benceno

La extracción del par iónico cocaína-BTB con benceno como solvente se estudió frente a soluciones buffer de valores de pH comprendidos entre 2.6 y 7.1. Las lecturas espectrofotométricas se realizaron sobre las fases orgánicas amarillas a 405 nm así como a 615 nm luego de la extracción del colorante presente en el complejo. El pH que proporciona

la máxima extracción es de 5,8, valor diferente y menor para cuando el mismo complejo se extrae con cloroformo.

Por variación de la concentración de BTB, el aumento progresivo en la extracción es menos pronunciado que con el sistema anterior, necesitando-se por otra parte mayores concentraciones de colorante para lograr la máxima extracción. Esta se obtiene con concentraciones de BTB equivalentes a $3.0 \times 10^{-4} M$.

Los resultados obtenidos con concentraciones de cocaína entre 3 y 15 mcg/ml demuestran linealidad en la respuesta y un porcentaje de extracción promedio de 87.71. El grado de extracción es similar al obtenido con cloroformo y el método se muestra igualmente sensible. Tratamientos adicionales no aumentaron la extracción.

C. Púrpura de Bromocresol-Cloroformo

La Figura 5 ilustra los resultados obtenidos en la extracción de la cocaína por variación del pH, indicando su máxima recuperación a pH 4.2. Se observa además un rendimiento máximo del método cuando el complejo es determinado indirectamente mediante cuantificación del colorante liberado del mismo.

La curva de calibración obtenida entre concentraciones 2 y 10 mcg/ml ($r=0.9985$) indica un porcentaje de extracción de 78.85, porcentaje que no aumentó por extracciones adicionales. La determinación se realizó a 590 nm luego del tratamiento de los extractos con NaOH (Figura 6).

El método oficial de determinación del alcaloide presenta una menor sensibilidad que el propuesto, pero éste se muestra menos sensible que algunos métodos por cromatografía de gases (19,20).

CONCLUSIONES

Los métodos para la determinación de la codeína y de la cocaína se estandarizaron luego de estudiar los principales parámetros que influyen la formación del par iónico y su extracción mediante un solvente orgánico.

Cuando los porcentajes de recuperación no sean los óptimos, se recomienda elevar la concentración de colorante ácido respecto de las normalmente

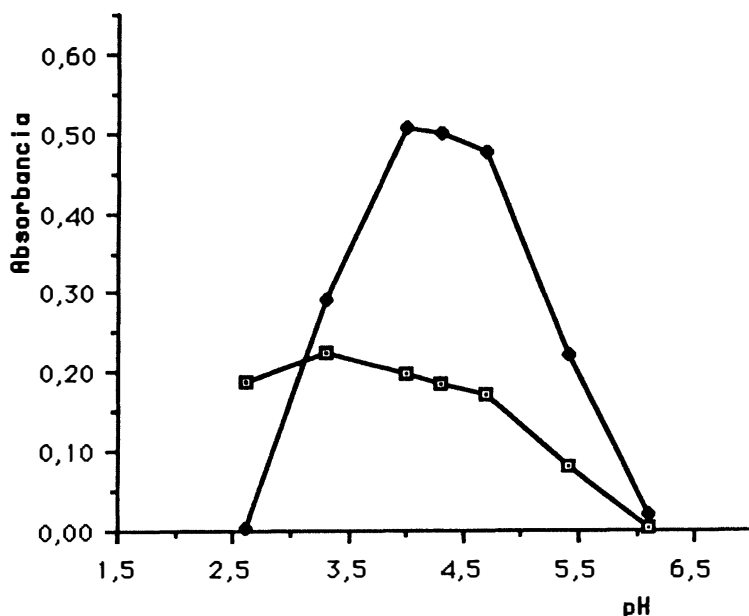


Figura 5. Influencia del pH en la extracción con cloroformo del par iónico cocaína-púrpura de bromocresol. □—□ 410nm, par iónico; ●—● 590nm, colorante libre.

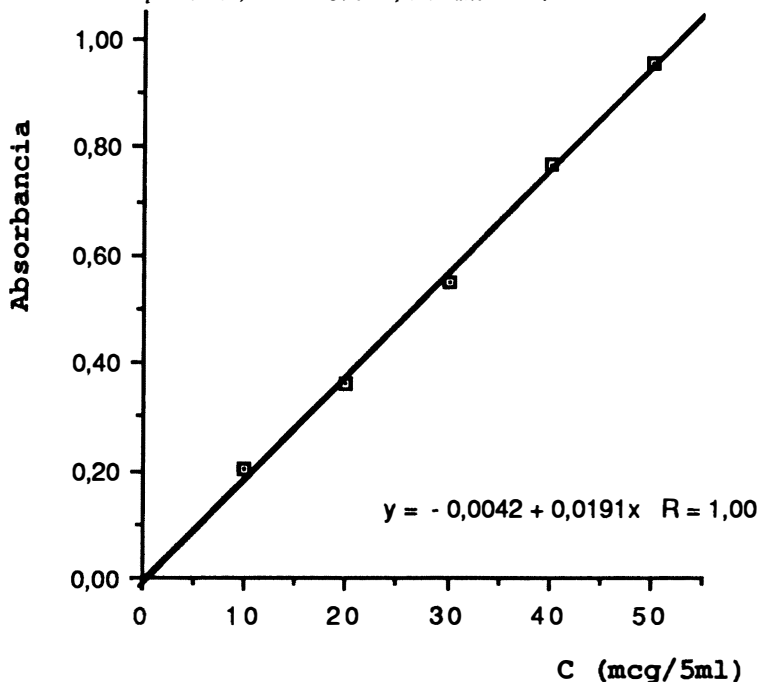


Figura 6. Curva de calibración para la extracción a pH 4.2 del par iónico cocaína-púrpura de bromocresol en cloroformo.

empleadas o bien aumentar el número de extracciones, procedimientos que generalmente aumentan la extracción, mejorando la sensibilidad del método.

La sensibilidad de los métodos desarrollados para

ambos alcaloides es adecuada y superior a la de otros métodos desarrollados, aún cuando los porcentajes de extracción sean inferiores al 100%. En estos casos es absolutamente indispensable someter los patrones de referencia a las mismas operaciones de las muestras a valorar.

La realización de las técnicas desarrolladas es sencilla y las mismas no requieren de equipo sofisticado, cualidades que junto a su alta sensibilidad las hacen de elección para la determinación cuantitativa y aislamiento más selectivo de bases orgánicas nitrogenadas.

BIBLIOGRAFIA

1. SANTORO, R., J. Am. Pharm. Assoc., Sci. Ed., **49**, 666 (1960).
2. GUPTA, V.D., CADWALLADER, D.E., J. Pharm. Sci., **57**, 112 (1968).
3. GUPTA, V.D., CADWALLADER, D.E., HERMAN, H.A., HONIGBERG, I.L., J. Pharm. Sci., **57**, 1199 (1968).
4. GUPTA, V.D., FERGUSON, N.W., Am. J. of Hospital Pharmacy, **56**, 408 (1969).
5. CARDUCCI, C.N., BARCIC, G., MASCARO, A., Safibi, **19**, 1358 (1979).
6. SHINGBAL, D.M., The Indian Journal of Pharmacy, **36**, 144 (1974).
7. MARSHALL, G.S., J. Ass. Off. Anal. Chem., **56**, 681 (1973).
8. GIRGIS, E.H., MAHMOUD, S., Can. J. of Pharm. Sci., **14**, 24 (1979).
9. SCHILL, G., MARSH, M., Acta Pharm. Suecica, **67**, 385 (1963).
10. ROJAS, J.H., Revista Colombiana de Ciencias Químico Farmacéuticas, No. 16, 23 (1987).
11. MAGHSSOUDI, R.H., FAWZI, A.B., J. Pharm. Sci., **67**, 32 (1978).
12. EI-MASRY, S., KHALIL, S.A.H., J. Pharm. Sci., **62**, 1332 (1973).
13. GARBER, J.B., FINK, D.W., SZALKOWSKY, CH. R., J. Ass. Off. Anal. Chemists, **56**, 1161 (1973).
14. GETTLER, A.O., SUNSHINE, I., Anal. Chem., **23**, 779 (1951).
15. GARRETT, E.R., TSAU, J., J. Pharm. Sci., **61**, 1404 (1972).
16. GAUTIER, J.A., RENAULT, J., RABIAN, J., Ann. Pharm. Fr., **17**, 401 (1959).
17. The United States Pharmacopoeia, XXI rev., Mack Publishing Co., p. 243-244, 1985.
18. The British Pharmacopoeia, The Pharmaceutical Press, London, p. 735, 1988.
19. JINDAL, S.P., VESTERGAARD, P., J. Pharm. Sci., **67**, 811 (1978).
20. WALLACE, J.E., Anal. Chem, **48**, 35 (1976).