

**SEPARACION Y DETERMINACION DE LOS ALCALOIDES DE
ERYTHROXYLUM COCA VARIEDAD NOVOGRANATENSIS
POR METODOS CROMATOGRAFICOS**

Trabajo de tesis presentado por GLORIA ESPINEL
OVALLE e ISABEL GUZMÁN PARRA para optar al título
de Químico-Farmacéutico.

Presidente de Tesis: Dr. E. CALDERÓN G.

INTRODUCCION

Como una contribución a la investigación en el campo fitoquímico y habiendo sido informadas de la existencia de otros alcaloides no descritos aún en la planta *Erythroxylum Coca* variedad *novogranatensis*, decidimos hacer un estudio de los alcaloides mencionados, ya que la cocaína como otros alcaloides encontrados en las hojas son de gran importancia en el campo de la medicina, pues se han empleado como anestésicos locales.

A continuación mencionaremos los pasos seguidos en este estudio.

Una vez extraídos los alcaloides del polvo de la hoja, se efectuó su determinación cualitativa por diferentes métodos cromatográficos.

Determinado el número de alcaloides y separados por cromatografía sobre capa delgada, se hace una valoración de cada uno y de los alcaloides totales.

Por último, se lleva a cabo un estudio químico de cada alcaloide, determinando sus propiedades organolépticas, sus constantes físicas, su solubilidad y su espectro al infrarrojo. En base a los anteriores resultados se hacen las pruebas específicas para lograr la identificación de los alcaloides.

GENERALIDADES

A) *Recolección del material.*

Este material fue cultivado en El Tambo (Departamento del Cauca), a una altura de 1.700 metros sobre el nivel del mar y recolectado por el Dr. J. Idrobo, quien gentilmente lo cedió para este estudio.

B) *Desecación del material.*

El material recolectado fue subdividido en pequeños trozos y secado al sol por el método tradicional en callana de barro; sometido durante el tiempo siguiente a su recolección a una temperatura de 25°C.

Iniciamos nuestro trabajo moliendo las hojas secas, hasta la obtención de un polvo, ya que los alcaloides a estudiar son extraídos de las hojas.

C) *Características del polvo de la hoja.*

El polvo presenta un color verde pardusco, olor característico y sabor amargo.

D) *Examen microscópico del polvo.*

Se hizo una preparación del polvo de la hoja en agua para observar sus componentes al microscopio.

Se encontraron los siguientes elementos: restos de haces liberianos, de células en empalizada, estomas, cristales. (Figura número 1).

E) *Reacciones microquímicas (1, 2, 3).*

Alcaloides.

Se hizo uso de los siguientes reactivos para evidenciar su presencia.

a) Reacciones de precipitación (Cuadro I) y reacciones de coloración (Cuadro II).

Se trabajó sobre polvo seco, agitando con una solución diluida de ácido tartárico por tres o cuatro veces, se filtró y sobre el líquido filtrado, reducido a pequeño volumen se investigó con los siguientes reactivos:

C U A D R O I

<i>Reactivo</i>	<i>Solución acidulada</i>
Hager	Precipitado amarillo.
Bouchardat	Precipitado pardo negruzco.
Dragendorff	Precipitado naranja rojizo.
Marme	Precipitado blanco amarillento.
Valser	Precipitado blanco.
Bertrand	Precipitado amarillo rojizo.
Wagner	Precipitado rojo oscuro.
Mayer	Precipitado pardo.

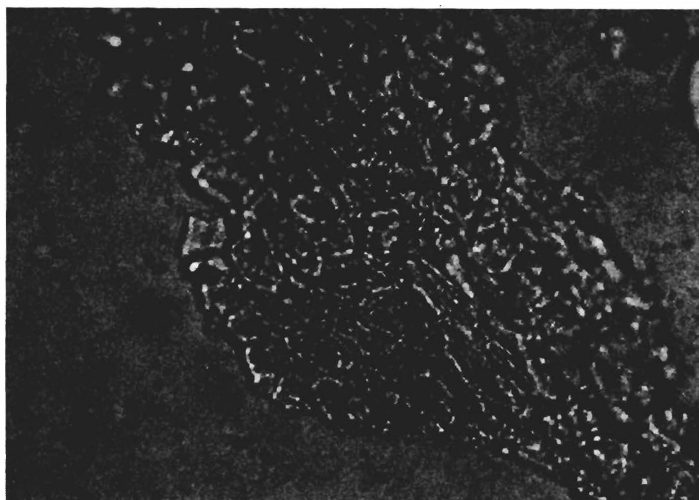


FIGURA 1. — Preparación de polvo de hoja en agua.

C U A D R O II

<i>Reactivo</i>	<i>Solución acidulada</i>
Erdmann	Incoloro.
Frohde	Incoloro.
Mandelin	Incoloro.
Márquez	Incoloro.
Acido nítrico	Incoloro.
Acido sulfúrico	Incoloro.

DIFERENTES METODOS DE EXTRACCION DE LOS ALCALOIDES (4, 5, 6)

Existen diferentes métodos para extraer los alcaloides presentes en el polvo de la hoja; los más aconsejables (según datos bibliográficos) por obtenerse un mayor rendimiento, fueron el de Van Itallie y la modificación efectuada por Jong al método anterior.

DETERMINACION CUALITATIVA DE LOS ALCALOIDES

(7, 8)

METODOS CROMATOGRAFICOS

Con el fin de determinar el número de alcaloides presentes en el polvo de la hoja, se corrieron cromatografías sobre papel y sobre capa delgada.

1. *Cromatografía ascendente sobre papel.*

Partiendo del extracto etéreo obtenido por el método ya enunciado, se corrieron cromatografías ascendentes sobre papel.

Como adsorbentes se usaron tiras de papel S & S 2043-a, equivalente a papel Whatman número 1.

En nuestro caso se usó como revelador el reactivo de Dragendorff modificado por Munier, cuya fórmula es:

Solución A

Subnitrato de bismuto	17 Gms.
Acido tartárico	200 Gms.
Agua, c. s. p.	800 ml.

Solución B

Yoduro de potasio	160 Gms.
Agua, c. s. p.	400 ml.

Se preparan y se mezclan. En el momento del uso se toman 50 ml. de la solución anterior (A + B) y se agregan 100 gms. de ácido tartárico, se completa a 500 ml. con agua destilada.

Solventes usados:

Solvente Nº 1 (9)	
n-Butanol	6
Acido clorhídrico	1
Agua	5
Solvente Nº 2 (10)	
Cloroformo	1
Acido clorhídrico 0.1N	1
Solvente Nº 3 (11)	
n-Butanol	5
Alcohol isoamílico	5
Acido clorhídrico	1
Agua	2

Para esta cromatografía el papel utilizado se trató con una solución de citrato monosódico al 5%.

Técnica:

Se sumergen las tiras de papel en la solución de citrato monosódico y se secan rápidamente entre dos hojas de papel de filtro; luego se dejan secar durante 10 horas a temperatura ordinaria.

Solvente Nº 4 (12)	
n-Butanol saturado de agua	49
Acido clorhídrico	1

En esta cromatografía se utilizó papel tratado con cloruro de potasio M/2 siguiendo la técnica anterior.

Solvente N° 5 (13)	
n-Butanol	4
Acido acético	1
Agua	5
Solvente N° 6 (14)	
n-Butanol saturado de agua	49
Acido acético	1
Papel tratado con cloruro de potasio M/2.	
Solvente N° 7 (15)	
Acido clorhídrico	15
Agua	34
n-Butanol	150
Solvente N° 8 (16)	
n-Butanol	150
Acido clorhídrico	15
Agua	9
Solución al 10% de ferricianuro de potasio	25
Solvente N° 9 (17)	
Metil etil cetona	30
Piridina	0.5
Étileno glicol	1.5
Ligroina	3.5
Agua	5
Solvente N° 10 (18)	
Isobutanol saturado de agua.	
Papel tratado con fosfato monosódico M/2.	
Solvente N° 11 (19)	
n-Butanol saturado de agua	5
Acido acético	1

En todos los casos la cantidad de solvente utilizado fue de 50 ml., dejando saturar las cámaras durante 12 horas.

En cada cámara se colocaron dos tiras de papel, una de ellas con muestra de extracto etéreo obtenido del polvo de las hojas (solución problema) y la otra tira con una solución de clorhidrato de cocaína al 0.1% que sirvió como solución patrón.

NOTA: El clorhidrato de cocaína utilizado fue estandarizado según la farmacopea helvética.

La siguiente tabla indica los valores de R_f dados con cada uno de los solventes anteriores.

NOTA: El número que se da a cada mancha tanto en la solución problema como en la solución patrón, corresponde a un orden descendente.

T A B L A N^o I

R_f CORRESPONDIENTES A LA SOLUCION PROBLEMA

<i>Solvente</i>	<i>Mancha N^o 1</i>	<i>Mancha N^o 2</i>	<i>Mancha N^o 3</i>
1	0.616	0.466	—
2	0.808	—	—
3	0.360	0.305	—
4	0.786	0.425	0.358
5	0.635	0.400	—
6	0.697	0.431	—
7	0.750	—	—
8	0.524	—	—
9	0.150	0.05	—
10	0.88	—	—
11	0.650	0.34	—

T A B L A N^o II

R_f CORRESPONDIENTES A LA SOLUCION PATRON

<i>Solvente</i>	<i>Mancha N^o 1</i>	<i>Mancha N^o 2</i>
1	0.619	0.223
2	0.805	—
3	0.360	0.210
4	0.762	0.363
5	0.621	0.230
6	0.692	0.335
7	0.732	—
8	0.508	—
9	0.170	0.09
10	0.902	—
11	0.638	0.220

DISCUSION DE LOS RESULTADOS

1. Las manchas observadas en los cromatogramas presentan casi todas formas alargadas y ovoides nunca redondas.
2. En el solvente N^o 4 se observa la mejor separación ya que fue el único que presentó tres manchas, apareciendo una estrangulación en una de las manchas, lo cual parece deberse a la presencia de otro alcaloide.
3. Parece ser que en los sistemas en los cuales se forma un buffer entre la sal que impregna el papel y el ácido del solvente se obtiene una mejor separación de los alcaloides, lo cual puede observarse en los

R_f dados por los solventes números 4 y 7 que son similares, pero en uno de ellos el papel fue tratado con una sal que permitió la formación del buffer.

4. Parece que los solventes ácidos favorecen la separación de los alcaloides.
5. En la mayoría de los solventes se evidenció en la solución patrón la presencia de dos manchas perfectamente definidas lo cual nos indica o la existencia de otro alcaloide o la racemización de la cocaína dando sus dos isómeros los cuales tienen R_f diferente. Para averiguar a qué se debía esto, se tomó la rotación específica.

I. — ROTACION ESPECIFICA DEL CLORHIDRATO DE COCAINA (20)

Se siguió la técnica dada por la farmacopea de los Estados Unidos, Edición XVII.

Al seguir esta técnica los resultados obtenidos fueron los siguientes:

$$\begin{aligned}a &= -0.8 \\c &= 2\% \\l &= 1\end{aligned}$$

Aplicando la fórmula tenemos:

$$[\alpha] = \frac{100 \times -0.8}{1 \times 2}$$

$$[\alpha] = -40$$

Según la U. S. P. XVI el ángulo de rotación específico del clorhidrato de cocaína es de -71 a -73 ; el resultado obtenido al efectuar esta determinación fue de -40 , lo cual nos indica una posible racemización del clorhidrato.

Hallamos el porcentaje posiblemente racemizado, con base a los datos dados por la U. S. P. XVI.

Hay un 55.6% de clorhidrato de cocaína en su forma *levo*.

II. — CROMATOGRAFIA SOBRE CAPA DELGADA (21)

Para esta cromatografía se utilizó también, el extracto etéreo alcaloidal obtenido por el método de Van Itallie con la modificación de Jong.

Se usaron placas de vidrio de 10×20 cms. perfectamente lavadas y neutralizadas.

Como adsorbente se empleó sílica gel G Merck recomendada según datos bibliográficos.

Como revelador se usó solución de yodo al 1% en cloroformo.

Solventes utilizados:

Solvente N° 1 (22)	
Benceno	4
Eter	1
Solución de amoníaco al 25%	0.3
Acetona	6
Solvente N° 2 (23)	
Alcohol etílico	1
Eter	1
Solvente N° 3 (24)	
n-Butanol	4
Acido acético	1
Agua	5
<i>Solvente N° 4 (25)</i>	
n-Butanol	250
Acido clorhídrico	4
Agua	21
Solvente N° 5 (26)	
Metanol.	
Solvente N° 6 (27)	
Acetona.	
Se usó sílica gel G tratada con hidróxido de potasio 0.1 M.	
Solvente N° 7 (28)	
Metanol.	
Se usó sílica gel G tratada con bisulfato de sodio 0.1 M.	
Solvente N° 8 (29)	
Alcohol etílico.	
Se utilizó sílica gel G tratada con bisulfato de sodio 0.1 M.	
Solvente N° 9 (30)	
Acetona	9
Metanol	1
Solvente N° 10 (31)	
Acetona.	
Solvente N° 11 (32)	
Metanol	9
Trietilamina	1
Solvente N° 12 (33)	
Metil etil cetona.	
Se usó sílica gel G tratada con hidróxido de potasio 0.1 M.	
Solvente N° 13 (34)	
n-Butanol.	
Sílica gel G tratada con hidróxido de potasio 0.1 M.	
Solvente N° 14 (35)	
Cloroformo	8
Etanol	2

Solvente N° 15 (36)	
Metil etil cetona	9
Metanol	1
Sílica gel G tratada con hidróxido de potasio 0.1 M.	
Solvente N° 16 (37)	
n-Butanol	4
Acido fórmico	1
Agua	5
Solvente N° 17 (38)	
n-Butanol saturado de agua	49
Sílica gel G tratada con cloruro de potasio 0.1 M.	
Solvente N° 18 (39)	
n-Butanol.	
Sílica gel G tratada con cloruro de potasio M/2.	

T A B L A N° I I I

R_f CORRESPONDIENTES A LA SOLUCION PROBLEMA

<i>Solvente</i>	<i>Mancha N° 1</i>	<i>Mancha N° 2</i>	<i>Mancha N° 3</i>	<i>Mancha N° 4</i>
1	0.78	0.43	—	—
2	0.67	0.62	—	—
3	0.316	0.105	0.014	—
4	0.19	—	—	—
5	0.474	0.240	0.07	—
Desarrollada 2 veces ..	0.621	0.412	0.218	—
6	0.703	0.451	0.123	0.07
7	0.23	0.18	0.08	—
Desarrollada 2 veces ..	0.413	0.353	0.17	—
8	0.153	—	—	—
9	0.592	0.289	0.085	—
Desarrollada 2 veces ..	0.696	0.371	0.151	—
10	0.52	0.36	—	—
11	0.305	—	—	—
12	0.73	0.455	0.240	0.051
13	0.205	0.063	0.031	0.006
14	0.878	0.527	—	—
15	0.5	0.32	0.256	0.167
16	0.545	0.486	0.214	0.05
17	0.227	0.15	0.051	0.01
18	0.25	—	—	—

T A B L A N^o I V
R_f CORRESPONDIENTES A LA SOLUCION PATRON

<i>Solvente</i>	<i>Mancha N^o 1</i>	<i>Mancha N^o 2</i>
1	0.79	0.52
2	0.73	0.68
3	0.31	0.11
4	0.21	—
5	0.49	0.26
Desarrollada 2 veces	0.633	0.31
6	0.73	0.69
7	0.25	0.11
Desarrollada 2 veces	0.413	0.21
8	0.161	0.1
9	0.547	0.325
Desarrollada 2 veces	0.69	0.401
10	0.54	—
11	0.31	—
13	0.200	0.075
14	0.884	—
15	0.52	0.273
16	0.551	0.480
17	0.23	0.17
18	0.286	—

DISCUSION DE LOS RESULTADOS

1. En la cromatografía sobre capa delgada se observaron manchas redondeadas, elípticas y alargadas, pero en la mayoría de los casos dichas manchas se prolongan, dando lugar a la formación de colas.
2. Los solventes básicos no favorecen la separación de estos alcaloides.
3. Según los R_f obtenidos al correr las placas en los solventes números 6, 12, 13, 15, 16 y 17, es evidente la presencia de cuatro alcaloides en la solución problema.

De la misma forma que en la cromatografía sobre papel, se observó en la cromatografía sobre capa delgada la presencia de dos manchas, verificándose así la existencia de dos alcaloides en la solución patrón.

4. En los solventes números 6, 12 y 15 se observaron manchas alargadas, lo cual impide la separación neta de las mismas al hacer una valoración.
5. Al correr la cromatografía en el solvente N^o 16, se ve que al dejar evaporar el solvente, una vez corrida la placa, se produce un levantamiento de la capa de sílica gel ocasionado tal vez por la acción del ácido fórmico del solvente.

Este mismo fenómeno, pero en menor proporción, se observó en el solvente N° 17, obviando este problema al cambiar la proporción del ácido clorhídrico del solvente. Se obtuvieron mejores resultados con la siguiente proporción de ácido clorhídrico:

Solvente N° 17	
n-Butanol saturado de agua	49
Acido clorhídrico	0.2
Papel tratado con cloruro de potasio M/2.	

DETERMINACION CUANTITATIVA DE LOS ALCALOIDES

1. Determinación cuantitativa de alcaloides totales (40, 41, 42).

Método volumétrico:

Para determinar el contenido total de alcaloides, se procedió a efectuar una nueva extracción, a partir de 20 Gms. de polvo de hojas, siguiendo la técnica de Van Itallie ya descrita.

Una vez recristalizados los alcaloides con diferentes solventes, se disolvieron en 5 ml. de alcohol etílico, se agregó rojo de metilo como indicador y se titularon con ácido clorhídrico 0.1N.

Se encontraron 530 mgrs. de alcaloides en 100 grms. de polvo.

Por el método modificado por Jong el resultado obtenido fue de 556 mgrs. de alcaloides en 100 Gms. de polvo.

Los siguientes son los porcentajes aproximados de alcaloides, hallados en las diferentes variedades de hojas de coca.

Java	1 a 2.5%
Perú	0.9 a 1.6%
Bolivia	0.5 a 0.8%
Ceylán	0.5 a 1.2%

Como puede observarse, los resultados obtenidos al efectuar la valoración están dentro de los valores dados por la bibliografía para las diferentes variedades de coca.

2. Determinación cuantitativa de cada uno de los alcaloides (42, 43).

Método volumétrico:

Extraídos los alcaloides de 20 Gms. de polvo de hojas por el método de Van Itallie modificado por Jong, se recristalizaron para alcanzar mayor pureza; se disolvieron luego en 100 ml. de una mezcla de éter etílico y éter de petróleo en proporción de 2:1. Se procedió a su separación, haciendo uso de las cromatografías de preparación para la separación de compuestos puros.

La cantidad de solución aplicada por cada 10 placas de 10 x 20 cms. fue de 2 ml. haciendo uso para ello de una micropipeta. Luego de

dejar secar se hicieron correr, en el solvente N^o 17, por tres veces sucesivas a fin de asegurar una buena separación.

La distancia recorrida por el solvente, fue de 14 cms. Una vez efectuada la separación, se usó como revelador yodo al 1% en cloroformo. En cada cámara, se corrieron 5 placas, una de las cuales se reveló y en esta forma se averiguó el lugar preciso de las manchas en las otras cuatro placas.

Determinando el lugar exacto de cada mancha, se raspó la sílica gel y se trató por separado con una mezcla de éter etílico y éter de petróleo. Se procedió a la extracción de cada alcaloide centrifugando primero y luego filtrando la suspensión de la sílica en el éter; una vez filtrado se removió el solvente por evaporación, quedando así cada alcaloide completamente puro.

Técnica de valoración:

Se siguió la técnica empleada para la determinación de alcaloides totales.

Separados los alcaloides se efectuó su valoración como sigue: se disolvieron los alcaloides en 5 ml. de alcohol y se titularon con ácido clorhídrico 0.0004 N, usando como indicador rojo de metilo hasta obtener una coloración naranja, se agregó en este punto 10 ml. de agua destilada recientemente hervida, se prosiguió la titulación hasta el punto final del rojo.

RESULTADOS

<i>Alcaloide</i>	<i>mgrs. en 2 ml. de solución</i>	<i>mgrs. en 100 ml. de sol. (20 Gms. de polvo)</i>	<i>mgrs. en 100 Gms. de polvo</i>
1 ^o	0.276	13.8	69
2 ^o	1.35	67.6	338
3 ^o	0.34	17	85
4 ^o	0.152	7.6	38
Total de alcaloides = 69+338+85+38 = 530 mgrs. %.			

Al hacer la valoración total de alcaloides el resultado obtenido fue de 556 mgrs. %.

En vista de los resultados poco exactos procedimos a repetir la valoración de cada alcaloide en presencia de la sílica gel para evitar pérdidas y obtener en esta forma resultados más exactos.

Los resultados fueron:

<i>Alcaloide</i>	<i>mgrs. en 2 ml. de solución</i>	<i>mgrs. en 100 ml. de sol. (20 Gms. de polvo)</i>	<i>mgrs. en 100 Gms. de polvo</i>	<i>% de C/u.</i>
1 ^o	0.3	15	75	13.61
2 ^o	1.37	68.5	343	62.25
3 ^o	0.36	18	90	16.33
4 ^o	0.17	8.6	43	7.8

DISCUSION DE LOS RESULTADOS

Al observar las tablas anteriores vemos que los resultados más exactos se obtuvieron al efectuar la valoración de cada alcaloide en presencia de sílica gel.

Valoración de los alcaloides presentes en el patrón:

Se partió de una solución que contenía 200 mgrs. de clorhidrato de cocaína, se alcalinizó con una solución de amoníaco y se extrajo la base con una mezcla de éter etílico y éter de petróleo en proporción de 2:1, completando luego a un volumen de 100 ml.

Se procedió a valorar los alcaloides totales en una alícuota de 25 ml.; luego de dejar evaporar el éter se disolvieron los alcaloides en 5 ml. de alcohol y se titularon con HCl 0.095 N, en presencia de rojo de metilo.

Los resultados fueron: 151 miligramos de alcaloides %.

A continuación se procedió a la valoración de cada alcaloide siguiendo la técnica de cromatografía de preparación para la separación de los alcaloides presentes en la solución etérea.

En este caso el solvente utilizado en la cromatografía sobre capa delgada fue el N^o 12 por el menor tiempo de desarrollo de las placas.

Para la valoración se emplearon 10 placas en las cuales se colocaron 2 ml. de la solución etérea anterior. La separación de los alcaloides se comprobó por una nueva cromatografía sobre capa delgada.

En este caso como en el anterior, se hicieron valoraciones extra-riendo el alcaloide de la sílica gel y en presencia de ella.

1^o Resultados:

<i>Alcaloide</i>	<i>mgrs. en 2 ml. de solución</i>	<i>mgrs. en 100 ml. de solución</i>
1 ^o	1.61	80.5
2 ^o	1.26	63.0

2^o Valoración en presencia de sílica gel:

<i>Alcaloide</i>	<i>mgrs. en 2 ml. de solución</i>	<i>mgrs. en 100 ml. de solución</i>	<i>% de C/u.</i>
1 ^o	1.662	83.10	55.42
2 ^o	1.32	66.6	44.56

ESTUDIO DE LOS ALCALOIDES (43, 44)

Por métodos cromatográficos determinamos la presencia de 4 alcaloides en el polvo de las hojas del *Erythroxylum Coca*, y 2 en el clorhidrato de cocaína utilizado como patrón, los cuales trataremos de estudiar por métodos químicos.

Los alcaloides de la familia de las Eritroxylaceae corresponden al grupo del tropano y son derivados de la base ecgonina, que es un ácido carboxílico de la tropina, uno de los productos de hidrólisis de la atropina.

El único alcaloide natural de la coca que no es derivado de la ecgonina es la tropacocaína o benzoil pseudotropeína.

El siguiente cuadro indica una clasificación de los alcaloides encontrados en las hojas de la coca. (Según datos bibliográficos).

- I. GRUPO DE LA COCAINA (METIL ACIL ECGONINA) (45, 46).
 1. Cocaína (Metil benzoil ecgonina).
C17 H 21 N 04. Punto de fusión 98°C.
 2. Cinamilcocaína (metil cinamil ecgonina)
C19 H 23 N 04. Punto de fusión 121°C.
 3. α Truxillina (Metil α truxiloil ecgonina)
C38 H 46 N 2 08. Punto de fusión 80°C.
 4. β Truxillina (Metil β truxiloil ecgonina)
C19 H 23 N 04. Punto de fusión 45°C.
 - II. GRUPO DE LA TROPEINA
 1. Tropacocaína (Benzoil pseudotropeína)
C15 H 19 N 08. Punto de fusión 49°C.
 - III. GRUPO DE LA ACIL ECGONINA
 1. Benzoil ecgonina
C16 H 19 04. 4H₂O. Punto de fusión 86°C.
 - IV. GRUPO DE LAS HIGRINAS
 1. α Higrina.
C8 H 15 N 02. Punto de ebullición 92°C.
 2. β Higrina
C14 H 24 N 02. Punto de ebullición 215°C.
 3. Cuscohigrina
C13 H 24 N 02. Punto de ebullición 169°C.
1. *Propiedades físicas de la mezcla de alcaloides obtenidos del polvo de la hoja:*
- a) Caracteres organolépticos.
Olor: Característico.
Sabor: Amargo.
Color: Blanco amarillento, de consistencia untuosa al tacto; muy higroscópica.
 - b) Solubilidad.
Agua: Insoluble.
Eter etílico: Soluble.
Eter de petróleo: Soluble.
Cloroformo: Poco soluble.
Benceno: Soluble.
Etanol: Soluble.
Bisulfuro de carbono: Soluble.
Acetona: Insoluble.
 - c) Punto de fusión: 102°C.

2. *Propiedades físicas del alcaloide N° 1:*
- a) Caracteres organolépticos.
Olor: Característico.
Sabor: Amargo.
Color: Cristales de color blanco.
 - b) Solubilidad.
Agua: Insoluble.
Eter etílico: Poco soluble.
Eter de petróleo: Poco soluble.
Alcohol etílico: Soluble.
Bisulfuro de carbono: Soluble.
Benceno: Soluble.
Acetona: Insoluble.
 - c) Punto de fusión: 85°C.
3. *Propiedades físicas del alcaloide N° 2: Cocaína.*
- a) Caracteres organolépticos.
Olor: Característico.
Sabor: Amargo.
Color: Cristales blancos en forma de agujas.
 - b) Solubilidad.
Agua: Muy poco soluble.
Eter etílico: Soluble.
Eter de petróleo: Soluble.
Benceno: Soluble.
Alcohol etílico: Soluble.
Bisulfuro de carbono: Soluble.
Acetona: Muy poco soluble.
 - c) Punto de fusión 95°C.
4. *Propiedades físicas del alcaloide N° 3:*
- a) Caracteres organolépticos.
Color: Cristales blancos en forma de aguja.
Olor: Característico.
Sabor: Amargo.
 - b) Solubilidad.
Agua: Insoluble.
Eter etílico: Soluble.
Eter de petróleo: Poco soluble.
Alcohol etílico: Poco soluble.
Benceno: Soluble.
Bisulfuro de carbono: Poco soluble.
Acetona: Insoluble.
 - c) Punto de fusión 117°C.
5. *Propiedades físicas del alcaloide N° 4:*
- a) Caracteres organolépticos.
Olor: Característico.
Sabor: Amargo.
Color: Cristales blancos.

- b) Solubilidad.
 - Agua: Insoluble.
 - Eter etílico: Soluble.
 - Eter de petróleo: Soluble.
 - Benceno: Soluble.
 - Alcohol etílico: Poco soluble.
 - Bisulfuro de carbono: Poco soluble.
 - Cloroformo: Insoluble.
 - Acetona: Insoluble.
 - c) Punto de fusión 47°C.
6. *Propiedades físicas de la mezcla de alcaloides patrón:*
- a) Caracteres organolépticos.
 - Olor: Inodoro.
 - Color: Cristales blancos en forma de agujas.
 - Sabor: Amargo.
 - b) Solubilidad.
 - Agua: Muy poco soluble.
 - Eter etílico: Soluble.
 - Eter de petróleo: Soluble.
 - Benceno: Soluble.
 - Alcohol etílico: Soluble.
 - Acetona: Muy poco soluble.
 - Cloroformo: Poco soluble.
 - c) Punto de fusión 95°C.
7. *Propiedades físicas del alcaloide patrón N° 1:*
- a) Caracteres organolépticos.
 - Olor: Inodoro.
 - Sabor: Amargo.
 - Color: Cristales blancos en forma de agujas.
 - b) Solubilidad.
 - Agua: Muy poco soluble.
 - Eter etílico: Soluble.
 - Eter de petróleo: Soluble.
 - Alcohol etílico: Soluble.
 - Cloroformo: Poco soluble.
 - Benceno: Soluble.
 - Acetona: Muy poco soluble.
 - c) Punto de fusión 95°C.
8. *Propiedades físicas del alcaloide patrón N° 2:*
- a) Caracteres organolépticos.
 - Olor: Inodoro.
 - Sabor: Amargo.
 - Color: Cristales blancos en forma de agujas.
 - b) Solubilidad.
 - Agua: Muy poco soluble.
 - Eter etílico: Soluble.

Eter de petróleo: Soluble.
Alcohol etílico: Soluble.
Cloroformo: Poco soluble.
Benceno: Soluble.
Acetona: Muy poco soluble.

c) Punto de fusión 95°C.

ANALISIS ESPECTROFOTOMETRICO (47, 48)

Con el fin de complementar el estudio de los alcaloides separados por métodos cromatográficos, se determinaron sus espectros al infrarrojo en el espectrofotómetro Perkin Elmer Modelo 521.

a) *Espectros en fase líquida:*

Separados cada uno de los alcaloides y recristalizados con diferentes solventes para eliminar impurezas, se disolvieron en bisulfuro de carbono con el fin de determinar su espectro al infrarrojo.

Se utilizó una celda de yoduro de cesio de espesor variable número 481 XX 69, que se colocó en el haz luminoso de referencia. Se obtuvieron para la mezcla problema el espectro N° 1; para el alcaloide N° 1, el espectro N° 2; para el alcaloide N° 2 Cocaína, el espectro N° 3; para el alcaloide N° 3, el espectro N° 4.

b) *Espectros en fase sólida:*

Para la mezcla patrón y para cada uno de los alcaloides correspondientes a esta mezcla se tomaron los espectros en fase sólida, usando el método de la pastilla de bromuro de potasio.

La pastilla preparada por compresión a 20.000 libras de presión durante 15 minutos, se colocó en una celda desmontable dejando actuar libremente el haz luminoso de compensación. Se obtuvieron los espectros números 5, 6, 7 para la mezcla patrón y cada uno de los alcaloides correspondientes a ella.

Debido a que el alcaloide N° 4 obtenido de las hojas de coca, no se solubilizó en bisulfuro de carbono, solvente en el cual se tomaron los espectros en fase líquida, decidimos tomar su espectro en fase sólida, correspondiéndole el espectro N° 8.

PRUEBAS ESPECIFICAS

De acuerdo con los resultados obtenidos anteriormente suponemos que se trata de:

Alcaloide N° 1 (punto de fusión 85°C) benzoil eegonina cuyo punto de fusión es 86°C.

Alcaloide N° 2 (con punto de fusión 95°C, coincide con el punto de fusión de la cocaína [95°C a 98°C]).

Alcaloide N° 3 (punto de fusión 117°C), cinamilcocaína con punto de fusión 121°C.

Alcaloide N° 4 (punto de fusión 47°C), tropacocaína con punto de fusión 49°C.

Para la cocaína se encontraron las siguientes pruebas específicas: pruebas específicas de los alcaloides que suponemos corresponden a la clasificación anterior.

Así, el alcaloide N° 1 parece ser benzoil eegonina por sus constantes físicas, ya que no se encontraron pruebas específicas para la benzoil eegonina en la bibliografía consultada.

Para la cocaína se encontraron las siguientes pruebas específicas:

1. Calentar unos miligramos de cocaína con 0.5 ml. de ácido sulfúrico y 1 ml. de agua: esta mezcla da un olor aromático a aceite de Wintergreen y aparecen cristales de ácido benzoico al enfriarse.

2. A una solución diluida de cocaína agregar 5 gotas de solución de dicromato de potasio 1 en 15: aparece un precipitado que se redisuelve rápidamente cuando se agita la muestra. Al añadir 0.5 ml. de HCl, aparece un precipitado cristalino color naranja.

3. A una solución de 5 mgrs. de cocaína agregar 1 ml. de permanganato de potasio 0.1 N: se forma un precipitado color violeta.

Al efectuar estas pruebas con el alcaloide N° 2, todas fueron positivas, lo cual nos indica que el alcaloide N° 2 corresponde a la cocaína.

Para la cinamilcocaína se hallaron las siguientes pruebas específicas:

Unos miligramos de cinamilcocaína se disuelven en 3 ml. de solución 0.1 N de HCl, se agregan 2 ml. de agua y 0.3 ml. de solución 1 N de ácido sulfúrico, agregando luego 0.5 ml. de solución 0.1 N de permanganato de potasio, se mantiene a 20°C, al abrigo de la luz durante media hora: la coloración violeta desaparece completamente en presencia de cinamilcocaína.

Prueba positiva: luego el alcaloide N° 3 corresponde a la cinamilcocaína.

Para la tropacocaína encontramos las siguientes pruebas específicas:

<i>Reactivo</i>	<i>Resultado</i>
Cloruro mercurio	Precipitado blanco voluminoso.
Nitroprusiato de sodio	Precipitado cristalino.
Yoduro de potasio	Cristales blancos brillantes.
Dicromato de potasio	Precipitado cristalino.

Estas pruebas fueron efectuadas con el alcaloide N° 4, siendo positivas; luego el alcaloide N° 4 corresponde a la tropacocaína.

CONCLUSIONES

1. Queremos informar sobre la presencia de tres alcaloides además de la cocaína en el polvo de las hojas del *Erythroxylum Coca*, variedad novogranatensis.

Por el análisis químico efectuado a cada uno de los alcaloides, creemos que se trata de los siguientes:

Alcaloide N^o 1: Benzoilecgonina

Alcaloide N^o 2: Cocaína.

Alcaloide N^o 3: Cinamilcocaína.

Alcaloide N^o 4: Tropacocaína.

2. Vimos que el clorhidrato de cocaína utilizado como patrón presentó dos manchas; se trata de los isómeros de la cocaína ya que al tomar la rotación específica se encontró un valor de -40 lo cual nos indica una racemización. Evidencia nuestra afirmación las constantes físicas y los espectros al infrarrojo dados por los alcaloides una vez separados por cromatografía sobre capa delgada.
3. Para posteriores investigaciones sobre temas similares, recomendamos la extracción de los alcaloides por el método de Van Itallie modificado por Jong, ya que haciendo la determinación cuantitativa por este método se obtuvo un mayor rendimiento.
4. Al observar los resultados obtenidos por métodos cromatográficos vemos que el que dio mejores resultados fue el de cromatografía sobre capa delgada.
5. El porcentaje hallado para cada alcaloide, una vez separados por cromatografía sobre capa delgada y valorados cuantitativamente, fue el siguiente:

Para el alcaloide N ^o 1: o benzoil ecgonina	13.61%
Para el alcaloide N ^o 2: o cocaína	62.25%
Para el alcaloide N ^o 3: o cinamilcocaína	16.33%
Para el alcaloide N ^o 4: o tropacocaína	7.8 %

Al observar la bibliografía consultada vemos que el porcentaje de cocaína hallado en el material estudiado coincide con el de otras especies de coca anteriormente investigadas.

RESUMEN

La presente investigación tiene por objeto el estudio de alcaloides aún no descritos en la planta *Erythroxylum coca*, variedad novogra-

natensis. Una vez extraídos los alcaloides del polvo de la hoja, se identificaron cromatográficamente y posteriormente fueron valorados. El trabajo se complementó con un estudio químico de cada alcaloide, determinando sus propiedades organolépticas, constantes físicas, solubilidad y espectro al I R. En esta forma se identificaron y valoraron cuatro alcaloides.

SUMMARY

The efforts were aimed to the chromatographic investigation, quantitative determination and determination of the chemical structure of some unknown alkaloids found in *Erythroxylum coca*, Var. *Novogranatensis*. Four new alkaloids were identified.

RÉSUMÉ

L'objet du travail est l'étude des alcaloïdes non décrites jusqu'à le moment dans la plante *Erythroxylum coca*, variété *novogranatensis*. Une fois extraites les alcaloïdes de la feuille, ils ont été identifiés par chromatographie et faite postérieurement sa valoration. Il est faite aussi l'étude chimique de chaque alcaloïde, en déterminant ses caractères organoléptiques, ses constantes phisiques, sa solubilité et son expectre à l'infra-rouge. Grace à cette forme de travail ils ont été identifiés et quantifiés quatre alcaloïdes.

BIBLIOGRAFIA

1. MUÑOZ, J. E.: "Guías para el Análisis de Vegetales", 136, Quito, Editorial Talleres Gráficos Nacionales, 1950.
2. STEWART, C. and STOLMAN, T.: "Toxicology Mechanisms and Analytical Methods", Tomos I, II, 131, 548, 570, New York, London, Editorial Academic Press, 1961.
3. FLORIANI, L.: "Análisis Químicos de los Vegetales", 56, 62, Buenos Aires, Editorial Vásquez, 1938.
4. HENRY, T. A.: "The Plant Alkaloids", 3ª Edición, 97. Editorial A. Churchill Ltda., 1940.
5. PAECK, K. and TRACEY, M.: "Moderne Methoden der Pflanzennalyse", Tomo IV, 236, Berlín, Verlag, Editorial Springer, 1955.
6. HAMERSLAG, F. E.: "The Technology and Chemistry of Alkaloids", 60, New York, Editorial Van Nostrand Company, 1950.
7. CALDERÓN, E.: "Guía para Análisis de Plantas y notas prácticas sobre Fitoquímica", Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, 1963.
8. VILLAR PALASÍ, V.: "Cromatografía sobre Papel", 135, 157, Instituto Español de Fisiología y Bioquímica, Madrid, 1952.

9. LACHARME, M y BUCHERLE, A.: "Separación cromatográfica de los Alcaloides del Grupo de la Egonina", *Annales Pharmaceutiques Françaises*, Vol. 16, 382, 1959.
10. A. OZAROWSKI: "Separación de Alcaloides por Cromatografía sobre Papel", *Chemical Abstracts*, Vol. 59, 13092a, 1963.
11. I. ZAREBSKA: "Cromatografía sobre Papel de algunos Venenos", *Chemical Abstracts*, Vol. 55, 27773a, 1961.
12. HEFTMANN, E.: "Chromatography", 534, New York, Editorial Reinhold Publishing Corporation, 1961.
13. Z. POLSKA: "Separación de Alcaloides por Cromatografía sobre Papel", *Chemical Abstracts*, Vol. 55, 18016, 1961.
14. I. EAREBSKA: "Cromatografía sobre papel para la separación de Alcaloides", *Chemical Abstracts*, Vol. 55, 17773c, 1961.
15. H. HAHN: "Análisis sistemático de Alcaloides", *Chemical Abstracts*, Vol. 59, 381f, 1963.
16. STEWARDT, C. and STOLMAN, T.: op. cit., 563, 1960.
17. RANDERATH, K.: "Thin layer Chromatography", 1ª Edición, New York, London, 4-77-143, Editorial Academic Press, 1963.
18. STEWART, C. and STOLMAN, T.: op. cit., 549, 1960.
19. STEWART, C. and STOLMAN, T.: op. cit., 550, 1960.
20. STEWART, C. and STOLMAN, T.: op. cit., 551, 1960.
21. W. ACKLIN: "Cromatografía sobre capa delgada para la cocaína", *Journal of Chromatography*, Vol. 18, d 19, 1965.
22. J. BRUCE: "Cromatografía sobre capa delgada para el análisis de medicamentos", *Chemical Abstracts*, Vol. 61, 2906f, 1964.
23. S. COLLINGS and R. SINAR: "Separación de Alcaloides por Cromatografía sobre Capa Delgada", *Chemical Abstracts*, Vol. 55, 18016d, 1961.
24. J. MCGILVERAY: "Cromatografía sobre Capa Delgada aplicada a Alcaloides", *Annales Pharmaceutiques Françaises*, Vol. 23, 273, 1965.
25. STEWART, C. and STOLMAN, T.: op. cit., Vol. II, 545, 1960.
26. D. STRICKLAND: "Identificación de algunas bases de uso terapéutico por medio de cromatografía sobre Capa Delgada", *Chemical Abstracts*, Vol. 66, 16971s, 1967.
27. M. BREITHAUPT: "Correlación entre la estructura y el R_f encontrado para algunas drogas por medio de la cromatografía sobre Capa Delgada", *Chemical Abstracts*, Vol. 66, 22233t, 1967.
28. M. BREITHAUPT: op. cit., *Chemical Abstracts*, Vol. 66, 22233t, 1967.
29. J. S. PITTON: "Identificación de drogas por medio de cromatografía sobre Capa Delgada", *Chemical Abstracts*, Vol. 61, 15932a, 1964.
30. R. NEIDLEIN: "Cromatografía sobre Capa Delgada", *Journal of Chromatography*, Vol. 32, D 15, 1968.
31. N. KRUELL: "Cromatografía sobre Capa Delgada para la identificación de alcaloides contenidos en extractos y tinturas", *Chemical Abstracts*, Vol. 62, 1518b, 1965.
32. D. STRICKLAND: op. cit., *Chemical Abstracts*, Vol. 66, 16971s, 1967.
33. D. STRICKLAND: op. cit., *Chemical Abstracts*, Vol. 16971t, 1967.

34. J. MCGILVERAY: op. cit., Annales Pharmaceutiques Françaises, Vol. 23, 274 1965.
35. J. DICKES: "Algunas aplicaciones de la cromatografía sobre capa delgada para análisis en el laboratorio", Chemical Abstracts, Vol. 66, 40740k, 1967.
36. SELTENE NATURTOFFE, FLUKA, A. G., CH: - 9470, 127, Buchs Schweiz Karlsruhe, Ed. C. F. Muller, 1966.
37. HEFTMANN, E.: op. cit., 534, 1961.
38. K. MACECK: "Cromatografía sobre capa delgada para separación de Alcaloides", Journal of Chromatography, Vol. 21, D26, 1966.
39. "The Pharmacopeia of the United States of America", Ed. XVI, 260, Editorial Easton Mack Printing Co., 1960.
40. PAECH, K., TRACEY, M. V.: op. cit., 239, 1965.
41. MANSKE, R., HOLMES, H. L.: "The Alkaloids, Chemistry and Physiology", Vol. III, 278, New York, Academic Press Publishers, 1953.
42. RANDEATH, K.: op. cit., 72, 1963.
43. Departamento de Farmacia: "Prácticas de Fitoquímica e Identificación de los Principios Químicos", Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, 1966.
44. BAMFOR, F.: "Poison, their Isolation and Identification", 3ª Edición, 221, London, J. and A., Churchill Ltda., 1951.
45. KOHN - ABREST, E.: "Précis de Toxicologie", 2ª Edición, 266, París, Editorial Doin Cie. 1948.
46. Allen's Commercial Organic Analysis: "Vegetable Alkaloids", 5ª Edición, Vol. VII, 509, Philadelphia, The Blackiston Co., 1948.
47. Spectrophotometer model 521: Perkin Elmer Instrument Division, Norwalk Connecticut, USA, 1967.
48. The Sadler Standard Spectra: Sadler Research Lab., 3316, Spring Garden Street, Philadelphia, P. A. 1968.