

Algunas observaciones analíticas en drogas y medicamentos orgánicos

POR EL

Dr. Víctor Arreguine

Profesor titular de Química Analítica Especial

NUEVA REACCION MICROQUIMICA PARA EL RECONOCIMIENTO DE LA SACARINA

La forma más común de reconocer la **Sacarina** es su fusión potásica transformándola en ácido salicílico e individualizar este cuerpo por medio del cloruro férrico. La coloración violeta que se obtiene, es la base de la técnica aconsejada por **Genth** (1) (2) (3) y **Blarez** (4) y el fundamento del método oficial para su investigación en los vinos, licores u otras bebidas o productos en que su presencia pueda ser sospechada. (5) (6).

Su empleo como edulcorante ha sido desde este punto de vista detenidamente estudiado por **Touchón** (7), **Brevans** (8), **Villiers** (9), **Chase** (10), etc. Si en el líquido o bebida existiera previamente ácido salicílico se lo eliminaría, dicen los autores como **Hairs** (11) por medio de la acción del bromo, desplazando el exceso del halógeno utilizado, por medio de una corriente de aire.

Bornstein (12), **Wanters** (13), y también **Remsen** (14) reconocen la sufimida benzoica basándose en el hecho de que calentada con resorcina en presencia de ác. sulfúrico conc., engendra una materia rojo-violácea que diluida en agua y alcalinizada convenientemente, presenta una intensa fluorescencia ver-

de, similar a la de la fluorescencia; reacción que por cierto no es específica y que también la dan la glicerina, la acetanilida y muchos otros compuestos, que aunque es difícil que puedan ser incorporados a esos materiales, demuestran sin embargo, que no es exclusiva como parecería admitirse.

El nitrato mercurioso, así como el nitrato mercuríco han sido utilizados también con este objeto por **Vitali** (15) y **Parmeggiani** (16), pues ambos precipitan con la sacarina.

Lindo (17) la individualiza nitrándola y ulteriormente trata el residuo con potasa alcohólica.

Otros autores como **Malher** (18) hacen actuar sobre el residuo de la extracción etérea el sodio o el potasio metálicos y transformando el azufre en sulfuro, reconocen indirectamente la sulfímida con nitroprusiato.

Klastle (19) y **Klostemann** (20) condensan la sacarina con el fenol en medio sulfúrico, en caliente a 160°-170°, transformándola, previa desaminación posiblemente, en el ac. ortotolueno-sulfónico el que se combinaría entonces para engendrar sulfofenoltaleína, reconocible en medio alcalino fácilmente. Este es, sin duda, una de las reacciones más originales del compuesto por su sensibilidad y caracteres específicos.

Dada la naturaleza ácida de la sulfímida benzoíca, **Riegler** (21) la reconoce con facilidad valiéndose de su copulación con los diazoicos, utilizando para ello la paranitroanilina, obteniéndose así un colorante verde que se diferencia con el que engendra el ácido salicílico, porque el diazoico proveniente de este último es rojo.

Microquímicamente las únicas reacciones que hemos encontrado son las de **Visser** (22), basada en la acción del "nitrón" previa transformación de la sacarina en ácido ortosulfímido-benzoico y la de los cristales que se forman cuando se hace actuar en forma conjunta la droga alcalina con sulfato de cobre y piridina (23).

Otros autores, **Ekkert** (24), **Schmitt** (25) etc., han utilizado técnicas más o menos vinculadas a los métodos expuestos, usan-

do bien oxidantes más enérgicos (perhidrol), o procedimientos similares con diversas variantes.

Stanek y Pavlas (26) han publicado asimismo en el año 1935, en la importante revista de la especialidad **Mikrochemie** de Viena, un valioso artículo sobre el particular en que se ocupan de Sacarina y Dulcina. Investigan la primera extrayéndola de las bebidas con éter y papel especial preparado con **OMg** y efectúan posteriormente su dosaje bien con la técnica de **Fahlberg** (27) o por el método de **Schmidt** (28), previa hidrólisis alcalina. De él nos ocuparemos nuevamente más adelante.

Ensayando nosotros la reacción de **Parri** (29) del veronal, con las sales de cobalto y amoníaco, se nos ocurrió hacerla extensiva a este cuerpo, también de naturaleza ácida como los barbitúricos, pudiendo constatar que si bien no se producía coloración alguna que llamara la atención, aparecía, en cambio, a los pocos segundos de mezclados los reactivos un abundante precipitado marrón verdoso de franco aspecto cristalino. Dado el hecho de que la aparición de los cristales demora cierto tiempo y que éstos se forman primero en la parte del líquido que está en contacto con el aire, hemos supuesto que es necesario un proceso previo de oxidación. Se formaría así un complejo del tipo de las cobaltaminas, en que la sacarina intervendría como radical electro negativo.

Los complejos luteocobálticos $[\text{Co}(\text{NH}_3)_6]\text{X}_3$, purpureocobálticos $[\text{Co}(\text{NH}_3)_5]\text{X}_3$, etc. se sabe que precipitan con diversas sustancias. Así los complejos del primer grupo lo hacen con el ác. nítrico, con el pirofosfato de sodio, con el cloro mercuriato del mismo metal, con la mezcla de ác. sulfúrico y cloruro de platino, etc. (30) y los segundos en forma similar con el ferrocianuro de potasio, pirofosfato de sodio antes empleado, etc.

Algunas de las combinaciones de las cobaltaminas han tenido aplicaciones analíticas por la insolubilidad de algunos de sus términos y así **Carnot** (31) aconsejó reconocer el mismo cobalto por medio del molibdato purpúreo cobáltico o bien como

lo hizo **Jöergensen** (32) con la sílice que logró valorar hasta 1 mg. por medio del derivado fluosilíceico. Se citan asimismo los trabajos de **Gibbs** y **Genth** y más recientes (1937) los de **Janowsky** y **Hynes** (33).

Desgraciadamente nosotros no hemos podido establecer cuál de las cobaltaminas que se forma al oxidarse el reactivo empleado es la que determina la reacción que proponemos, y no hemos obtenido tampoco éxito al pretender efectuarla con el compuesto purpúreo-cobáltico $[\text{Co}(\text{NH}_3)_5\text{Cl}]\text{Cl}_2$ directamente. Hemos pues tenido que volver de nuevo a usar nomás la mezcla de sal de cobalto-amoniaco como única forma de reproducir el fenómeno.

Seguimos, sin embargo, suponiendo que el compuesto que se forma primero sería el $[\text{Co}(\text{NH}_3)_6]\text{OH}_3$ el que con la sulfimida

benzoica pasaría posteriormente a $[\text{Co}(\text{NH}_3)_6](\text{C}_6\text{H}_4 \begin{matrix} \text{CO} \\ \text{SO}_2 \end{matrix} \text{N})_3$

pero la inestabilidad del mismo nos ha impedido efectuar su recristalización y aislamiento al estado de especie definida y poder así, por consiguiente, establecer el grado de exactitud de nuestra hipótesis. Por otra parte, bien la alteración, o la parcial solubilidad en amoniaco concentrado de la substancia cristalina que se forma, tampoco han permitido establecer una relación entre la cantidad de sacarina presente y el peso del producto cristalino obtenido.

En cuanto a la modificación de la reacción de **Parri** propuesta por **Paget** y **Desodt** (34) con cianuro de potasio, practicado con sacarina no nos permitió sacar ninguna conclusión de utilidad desde nuestro punto de vista.

Por otra parte el holandés **Wagenaar** ha identificado también la sacarina con nitrato de plata, con sales de Cd, con el reactivo de **Zwicker**, con cloruro mercúrico, con sol. iodo iodurada, obteniendo límites de sensibilidad de mgs. 0,01. (*).

(*) Cita de nuestro distinguido colega el Prof. Dr. Ardoino Martini, de Rosario.

TECNICA ACONSEJADA. —

La reacción deberá ser practicada según la naturaleza del material con que se opere de acuerdo con las siguientes indicaciones. Se utilizará como reactivo una mezcla de 1 parte de sol. de cloruro o nitrato de cobalto al 50 % y 2 partes de amoníaco concentrado. Como el reactivo se altera, aconsejamos preparar una pequeña cantidad en el momento en que se lo utilice, pudiéndose para ello tener preparada de antemano la sol. madre de sal de cobalto que es de conservación indefinida.

RECONOCIMIENTO DE LA DROGA. —

Cuando con fines analíticos se quiera reconocer la Sacarina diferenciándola de otros cuerpos de aspecto parecido en claves o

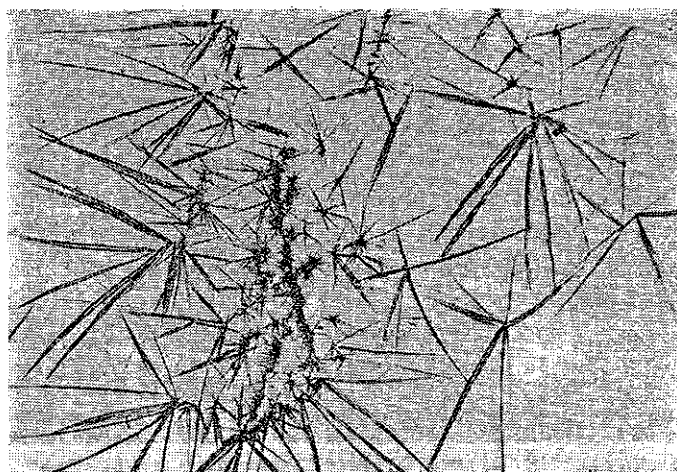


FIGURA N° 1. — Microfotografía del complejo cobalto-amónico con la Sacarina (ocular 8 - obj. I) - Zona de difusión de las gotas

simplemente señalando sus reacciones, se puede proceder así: en un porta objetos se coloca una pequeña gota de amoníaco, dejando caer en su seno una partícula del producto que se inves-

tiga hasta completa disolución. Al lado, sin que se toquen, se coloca otra gota del reactivo amónico-cobáltico. Superponiendo sobre ambas gotas ahora un cubre, en la forma en que se hace la reacción de Florence, se obtendrá la difusión lenta del líquido amoniacal y del reactivo no tardando en observarse al microscopio como empiezan a aparecer de inmediato en la zona de contacto numerosos cristales que crecen rápidamente. Su as-

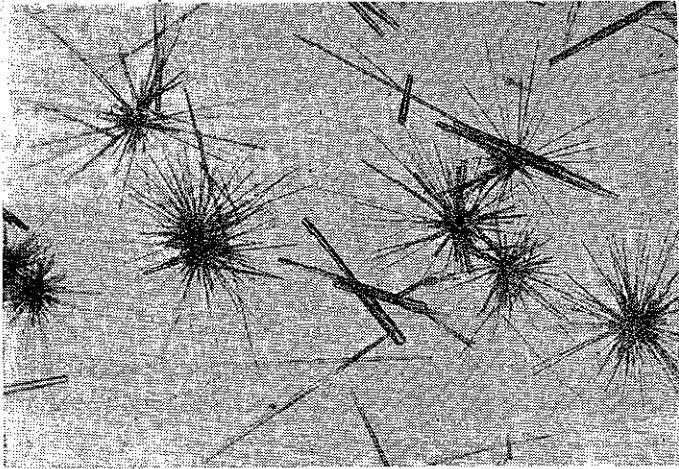


FIGURA N° 2. — Microfotografía mostrando el aspecto estrellado característico que presentan algunos de los campos

pecto, como podrá observarse en las dos microfotografías adjuntas, es el de agujas irregulares, a veces agrupadas en núcleos de aspecto estrellado y de un color marrón tirando al verdoso. Las dimensiones de las agujas llegan a veces a ser tales, que pueden ser observadas directamente o salen simplemente del campo microscópico. Una idea de su extraordinaria dimensión puede tenerse teniendo presente que las adjuntas fotografías fueron sacadas con objetivo 1 y ocular 8. La reacción parece ser específica y no la ha dado una larga serie de sustancias que se han ensayado.

Los cristales, por otra parte, persisten largo tiempo en las

preparaciones mientras éstas no se destruyen por desecación, pero son solubles en agua con descomposición, lo que no nos ha permitido aislarlos por recristalización en estado de pureza para su estudio, como era nuestro propósito. Tampoco se ha podido lograr este objeto con amoníaco o con soluciones amoniacaes. El mismo reactivo, como decíamos, es inestable y pierde lentamente la facultad de formar las agujas en cuestión.

Respecto a las substancias que inhiben o impiden la reacción mezcladas a la sacarina, hemos constatado que algunas no tienen acción, permitiendo formarse con facilidad los cristales señalados, como por ejemplo el ác tártrico, la eriogenina, la exalgina, la glucosa, etc, pero otras, en cambio, la perturban en tal forma que impiden totalmente la reacción, entre ellas el formol, la urea, la antipirina, etc. Es este fenómeno el que nos ha impedido, como veremos más adelante, aplicarla con eficacia en el terreno bromatológico.

LIMITE DE SENSIBILIDAD. —

Se ha operado con una solución amoniacal de la droga pura de concentración conocida, obteniéndose los siguientes valores:

Gammas	100	75	50	25	10	5	2.5	1.25
Resultadō	+	+	+	+	+	±	±	—

La sensibilidad sería pues, según la anotación convencional de Feigl (27) de $5 [M]^{0.01}$ o sea de 1/2.000.

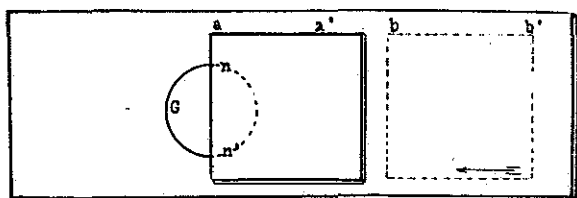


FIGURA N.º 3. — Forma de disponer la gota de reactivo sobre el residuo evaporado G. n-n' indica la posición en que deben aparecer los cristales

Cuando los extractos sean muy exíguos o muy pequeñas las cantidades de sacarina, como el precipitado cristalino que se forma es soluble en exceso de reactivo, deberá tratarse de que en el borde de la preparación haya siempre un exceso de sulfimida. Aconsejamos para ello efectuar la reacción en dos tiempos y en la forma que a continuación se expresa :

- 1°. Se evapora una gota del líquido a ensayar, colocándola en un porta algo excéntrica, aproximadamente en el primer tercio, como indica la figura (3) y hacia la izquierda, y del otro lado, una pequeña gota del reactivo sobre el que se superpone un cubre. (Posición a - a') de manera que forme una delgada capa del líquido.
- 2°. Se desplaza entonces, mediante una ligera presión el cubre con la capa líquida en el sentido de la flecha hasta b - b', de manera que su borde anterior sea secante al círculo G de la gota evaporada.

De haber sacarina dentro de los límites de sensibilidad antes mencionados, no tardan en formarse sobre el borde n - n' los cristales del complejo cobáltico descritos anteriormente.

INVESTIGACION BROMATOLOGICA. —

La técnica para la investigación de la sacarina desde este punto de vista, depende de la naturaleza del material en que se investiga su presencia.

En vinos, cervezas, líquidos azucarados, etc. varían los procedimientos, según tengan o no substancias amargas del tipo del lúpulo o bien taninos. Las primeras se eliminan con sales de cobre y las segundas con sales férricas, etc. Luego se los evapora a sequedad mezclados con substancias inertes, arena, etc. y en medio ácido se los extrae con éter de petróleo. Si las bebidas fueran alcohólicas se las priva por calentamiento del alcohol, previa acidulación fuerte, procediéndose después en la forma antes mencionada. Otros autores oxidan después de eliminado el alcohol con permanganato de potasio y ácido sulfúrico, extrayendo

con éter y benzol y efectuando luego la investigación en el residuo del disolvente evaporado. (36) (37) (38). La bibliografía sobre el particular es muy numerosa y muy variados los procedimientos aconsejados.

Cuando se trate de productos alimenticios ricos en prótidos o materias grasas, el material mezclado con arena e hidrato de calcio se evapora a sequedad y se extrae con alcohol y cloruro de sodio. Luego se separa la materia grasa con éter de petróleo, y acidulando finalmente se extrae con un disolvente apropiado la sacarina. (**Tortelli y Piazza**) (39).

Señálanse, igualmente, otras técnicas especiales como la de **Driessen** (40) para los polvos de coca, en que se valora con **Kjeldahl**, o bien la de **Vitali** (41) que la precipita como compuesto mercurio, o la de **Wakermann** (42) para su reconocimiento en orina o en materias fecales, etc.

La extracción de la sacarina, como es lógico suponer, no es siempre fácil, pues conjuntamente los disolventes arrastran muchos otros cuerpos que no pueden ser eliminados y que perturban su reconocimiento, lo que ha dado origen a técnicas ingeniosísimas entre las que merece citarse especialmente el procedimiento microquímico de **Staneck-Pavlas** (43) en que los autores se valen de la absorción de ésta, con papel preparado al óxido de magnesio, separándola posteriormente de él, en medio ácido con éter. Esta técnica la aplicó **Votava** (44) con éxito, con ligeras modificaciones, a cervezas, limonadas, jugos de frutas, etc.

Nosotros hemos tratado de aplicar nuestra reacción a los extractos de vinos, o líquidos azucarados obtenidos según los procedimientos antes mencionados, usando como líquidos extractivos éter, benzol, acetato de etilo, etc., en el caso de evaporaciones parciales, o bien los mismos, o acetona, o alcohol, en el caso de productos evaporados a sequedad con materiales inertes (talco, arena, etc.), pero siempre hemos observado que los residuos están constituídos por sustancias grasosas, que no hemos podido nunca purificar. La reacción en esas condiciones fracasa, pues, sólo en forma excepcional es positiva y en proporciones de sacarina excesivas dentro de la práctica. Cual o cuales son las sustancias

que inhiben la reacción, no hemos podido establecerlo. Como anteriormente señalábamos en este mismo trabajo, hay muchos cuerpos que la perturban y que desgraciadamente ni siquiera tienen, desde el punto de vista químico, una relación entre sí. Por eso hemos abandonado la idea de su aplicación en el aspecto bromatológico, la que dada su simplicidad de realización y su especificidad hubiera sido de indiscutible interés.

CONCLUSIONES. —

La sacarina da con el complejo cobáltico-amónico que se forma cuando se mezclan, una sal de cobalto con amoníaco, un precipitado microcristalino que permite revelar hasta 100 [M]^{0.01} de la droga.

La reacción es específica y sencilla. El reactivo se altera y debe ser de preparación reciente.

No ha sido posible aplicar la reacción antedicha desde el punto de vista bromatológico porque sustancias extrañas, que no han podido ser eliminadas de los residuos extractivos, inhiben la reacción.

CONCLUTIONS. —

La Sacarine donne avec le complexe cobaltique-ammonique qui se forme quand on mélange un sél de cobalte avec l'ammoniaque, un précipité microcristalin, qui nous permet d'établir jusqu'a 100 [M]^{0.01} de drogue.

La reaction est spécifique et très simple. Le réactif se décompose facilement et doit être de préparation recente.

L'application de cette reaction, du point de v bromatologique n'a pas été possible a cause de substances étrangères qui n'ont pas pu être eliminées des residus extractifs, et qui empêchent la reaction.

ZUSAMMENFASSUNG. —

Das Saccharin gibt mit dem Kobalt-Ammoniakkomplex, ge-

bildet durch Mischung eines Kobaltsalzes und Ammoniak, eine mikrokristallisches Präparat, das erlaubt bis zu 100 [M]^{0.01} des Saccharins nachzuweisen.

Die Reaktion ist spezifisch und leicht ausführbar. Das Reagens zerfällt sehr rasch und muss daher vor Benützung jedes mal frisch hergestellt werden. Es ist nicht möglich gewesen die genannte Reaktion, von bromatologischen Standpunkt aus, anzuwenden, da Fremdstoffen, die von den extrahierten Residuen nicht ausgeschieden werden konnten, diese Reaktion verhindern.

SUMMARY. —

Saccharine gives us, when mixed with the cobalt-ammonium complex, which is formed by mixing a salt of cobalt with ammonia, a microcrystalline precipitate which allows revealing up 100 [M]^{0.01} of the drug. This reaction is specific and simple. The reactive suffers and should be of recent preparation.

It has not been possible to apply the aforementioned reaction from a bromatological point of view, because foreign substances, which it has been impossible to eliminate from the extractive residues, prevent the reaction.

BIBLIOGRAFIA

- (1) **Genth** — American Journ of Pharm. 1909 — 537.
- (2) **Genth** — Pharm. Journ. 1910 - I - 7.
- (3) **Genth** — Repert. de Pharm. 1910 - 29 - 173.
- (4) **Blarez** — Vins et spiritueux.
- (5) Conferencia Bromatológica Nacional. — Mendoza. 1939, pág. 134.
- (6) Ministerio de Hacienda. Leyes, decretos y resoluciones, serie 1ª, pág. 51.
- (7) **Trouchón** — Chem. Zentralb. 1900 - I - 691.
- (8) **Brevans** — Chem. Zentralb. 1900 - I - 1105.
- (9) **Villiers** — Chem. Zentralb. 1904 - I - 1457.

- (10) Chase — Journ. American Society. 1904 - 26 - 1627.
- (11) Hairs — Chem. Zentralb. 1893 - II - 987.
- (12) Borstein — Zeitch. fur analitsch. Chemie. 28 - 713.
- (13) Wauters — Journ. Soc. Chem. Industr. 1909 - 733.
- (14) Remsen — Amer. Chem. Journ. 1887 - 372.
- (15) Vitali — Chem. Zentralb. 1907 - II - 1456.
- (16) Parmeggiani — Bull. Chim. Pharm. 1908 - 47 - 37.
- (17) Lindo — Chem. News. 1888 - 58 - 51 - 155.
- (18) Malher — Chem. Zeit. 1905 - 29 - 32.
- (19) Kastle — Chem. Zeitg. 1906 - I - 1575.
- (20) Klostemann — Zeitsch. Unters. Nahr. Gen. 1916 - 31 - 67.
- (21) Riegler — Chem. Zentralb. 1901 - I - 66.
- (22) Visser — Chem. Zentralb. 1907 - I - 302.
- (23) Sin referencias.
- (24) Ekkert — Pharm. Zentrh. 67 (1927) 821.
- (25) Schmitt. — Zeitschr. f. analytich. chem. 27. 396.
- (26) Stanek y Pavlas — Mikrochemie. 1935 - 211.
- (27) Fahlberg — Chem. Zeitg. 43 - 537 - 1919.
- (28) Schmidt — Pharmaz. Zentralhalle. 28 - 466 - 1887.
- (29) Parri — Citado por M. Malmy. — Diagnose Médicaments — pág. 61.
- (30) Moissan — Chimie minerale. IV - 217.
- (31) Carnot — Bull. Soc. Chim. (3) 2 - 594 - 1890.
- (32) Joergensen — Journ. prak. chem. (2) 30 - I - 1884.
- (33) Janowsky y Hyness.
- (34) Paget et Desodt — Journ. Pharm. et Chimie XVIII - 210.
- (35) Feigl — Tables of reagents.
- (36) Bianchi y Nola — J. Soc. Chim. Ind. 1909 - 1267.
- (37) Joergensen — Ibid 732.
- (38) Pawlosky — Ibid 732.
- (39) Tortelli y Piazza — Zeitch. Nahr. Genusssm. 1910 - 20 - 489.
- (40) Driessen — Pharm. Weeklab. 1907 - 44 - 245.
- (41) Vitali — Chem. Zentralb. 1899 - I - 1297.
- (42) Wakermann — Journ. Biol. Chem. 1910 - 233.
- (43) Stanek - Pavlas — Chem. Abstracts. 28 - 6931.
- (44) Votava — Chem. Abstracts. 31 - 8736.