

Alfredo Paredes C. _____

APLICACION DE LOS METODOS
DE EXTRACCION Y DOSIFICACION
DE LOS GLUCOSIDOS DIGITALI-
COS, A LA ESPECIE OFICINAL
QUE SE DESARROLLA EN LA
PROVINCIA DEL TUNGURAHUA.

ÁREA HISTÓRICA
DEL CENTRO DE INFORMACIÓN INTEGRAL

Tesis previa a la obtención del Grado de
Farmacéutico _____

INFORME DE LA COMISION CALIFICADORA

Señor Decano de la Facultad de Ciencias:

Hemos estudiado detenidamente la Tesis presentada por el Sr. Alfredo Paredes para optar el grado de Doctor en Farmacia.

El trabajo del Sr. Paredes consiste en un estudio botánico, farmacognóstico y químico de una variedad de Digital que se desarrolla en la Provincia del Tungurahua.

En dicho trabajo, el autor, ha consignado los caracteres Botánicos de la Digitalis purpúrea y establecido la diferencia con la variedad que le ha servido de tema; luego consagra una parte de su Tesis al estudio de las propiedades, origen y acción fisiológica de los glucósidos en general y de la Digitalis purpúrea en especial. Enseguida trata de la complejidad de los glucósidos contenidos en la Digital, y presenta importantes y personales consideraciones acerca de la constitución química de la digitoxina, construyendo un esquema de su fórmula, concebida por el autor, con muy buen criterio y magnífico conocimiento del asunto. Por último indica los procedimientos y métodos seguidos en la extracción y dosificación de la digitoxina, de la gitoxina y del digitalum verum, los que ha separado y purificado. Con estos productos ha preparado el Sr. Paredes la solución de digitalina Nativelle; y con las plantas ensayadas, el polvo y la tintura, medicamentos que han sido empleados y controlados fisiológicamente con buen resultado.

Al fin nos da a conocer las conclusiones a que ha llegado, comprobando que la variedad de Digitalis purpúrea de "La Liria" en la provincia del Tungurahua, es una variedad nueva, rica en glucósidos y apta para ser utilizada como oficial en la Farmacopea Nacional.

Es muy halagador, señor Decano, para los miembros de esta Comisión, el encontrar estudios tan precisos y concienzudos como el que nos ocupa, que están manifestando claramente un espíritu preparado para el trabajo científico y un conocimiento suficiente para deducir conclusiones bien meditadas.

Por lo dicho creemos que se debe aprobar la Tesis en referencia, y como un acto de justicia, premiar a su autor publicándola en los Anales de la Universidad.

Del señor Decano, atentamente,

(f) **César Aníbal Espinosa.**

(f) **Julio Aráuz.**

(f) **Arquídamo Larenas.**



ÁREA HISTÓRICA
DEL CENTRO DE INFORMACIÓN INTEGRAL

INTRODUCCION

La coordinación de múltiples actividades especulativas, ejercitadas bajo condición de converger a la resolución de un problema propuesto, creemos puede expresar el verdadero y estricto sentido de la investigación científica.

Los procesos de investigación se diferencian por sus finalidades, cada una de las cuales posee atributos característicos. La finalidad alcanzada en cada caso genera siempre nuevos conocimientos, por cuyo motivo, el invento de sistemas y el descubrimiento de fenómenos, constituyen los resultados inmediatos más corrientes de toda investigación científica. Sin embargo, la amplitud del término investigación aplicado a la ciencia, permite aceptar, que las actividades investigadoras no sólo se ejercitan descubriendo fenómenos y sustancias o inventando sistemas filosóficos y mecánicos, sino repitiendo los métodos empleados por otros, previa condición de utilizar distintos medios de aplicación. De este modo, resta siempre un margen de originalidad, que puede ser llenado plenamente, con las modificaciones que el operador se vea requerido a introducir en el método, en orden a responder a las características del MEDIO PROBLEMA.

Nuestra falta de laboratorios bien dotados y la consiguiente reducción de posibilidades de trabajo, han limitado el campo de investigación científica a su segundo aspecto. En éste se encuadra nuestro trabajo de Tesis Doctoral, encaminado a aplicar los métodos de extracción y dosificación de los glucósidos digitálicos, a la especie oficial (*Digitalis purpurea*) que se desarrolla en la Provincia del Tungurahua.

La investigación del rendimiento en principios activos de la *Digitalis purpúrea* ecuatoriana, no se ha verificado hasta antes de ahora; por lo cual creemos que nuestra Tesis puede responder en principio al primordial requisito de esta clase de trabajos, cual es, la originalidad. Por otra parte, se trata de una de las especies medicinales más importantes, importancia esta, que la vamos a concretar a continuación.

En épocas pasadas y en la contemporánea, la digitalina no ha dejado de ocupar su lugar de preeminencia indiscutible, entre los medicamentos de acción heroica sobre determinadas enfermedades cardíacas. Su aplicación tan frecuente como imprescindible y su efecto terapéutico inmediato, hacen de esta sustancia uno de los medicamentos de más valor.

Autoridades médicas de prestigio han enunciado más de una vez que "la Digital, junto con la Adormidera y el árbol de Quina, son las plantas medicinales más importantes, entre todas las conocidas".

Todos los ensayos tendientes a fabricar digitalina por síntesis, no han tenido hasta la fecha resultados favorables, ni tampoco se ha encontrado un verdadero sucedáneo de su acción terapéutica, genuina en lo que se refiere a la intensidad de su efecto.

Las razones anteriormente enumeradas serían suficientes para valorar el asunto de la Tesis, pero vamos a añadir motivos de otro orden. Es obvio que el estudio químico-farmacológico de la flora medicinal de un país, merece todas las atenciones de parte de los profesionales y estudiantes que actúan en ese campo científico; no sólo por el aporte que a la cultura nacional están obligados a retribuir, sino por el importante servicio social que puede derivarse de esta clase de actividades.

Entre nosotros, hay que confesarlo, no ha existido ninguna organización que realice el impulso necesario, para hacer un estudio sistemático de nuestra flora medicinal. Las actividades a este respecto han sido siempre aisladas e inconexas.

Grandes sabios como Sodiro y otros, han legado a la cultura científica mundial importantes monografías de nuestras especies vegetales, pero estos trabajos han sido efectuados en su mayor parte, con miras puramente espe-

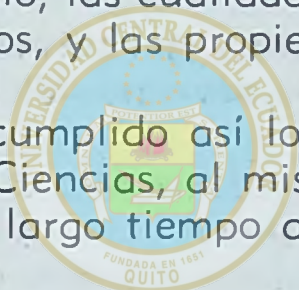
culativas. Nos ha hecho siempre falta una orientación práctica de estos estudios.

Es preciso reconocer lo que significa para la cultura y el progreso nacionales, la creación del Instituto Botánico. Esta dependencia nos proporcionará datos, metódica y técnicamente obtenidos, sobre el primordial recurso económico que dispone nuestro país: su FLORA.

Sólo de esta manera podremos sentar las bases de la industria farmacéutica nacional del porvenir, y sacudirnos siquiera en parte, de la pesada sujeción al mercado extranjero.

Hemos querido contribuir con este pequeño trabajo, al conocimiento de las posibilidades de industrialización de una de nuestras principales plantas medicinales, la *Digitalis purpurea*; al efecto, hemos investigado sus condiciones ecológicas de desarrollo, las cualidades farmacognósicas de sus órganos elaborados, y las propiedades químicas de los glucósidos extraídos.

Creemos haber cumplido así los reglamentos que impone la Facultad de Ciencias, al mismo tiempo que hemos satisfecho un anhelo largo tiempo acariciado.



ÁREA HISTÓRICA
DEL CENTRO DE INFORMACIÓN INTEGRAL

DESARROLLO

CAPITULO I

Caracteres ecológicos y geobotánicos de la *Digitalis* purpúrea en la provincia del Tungurahua

Las condiciones de desarrollo de la *Digitalis* Purpúrea en esta provincia, no tienen la estabilidad o fijeza necesarias para ser establecidas en forma categórica.

La especie se desarrolla con relativa espontaneidad en lugares de caracteres edafológicos completamente distintos. Y así, se le encuentra en terrenos silicoso-humíferos (en la finca "La Liria" situada a un kilómetro de la ciudad de Ambato, en las vegas del río del mismo nombre); en terrenos arcillosos (en la parroquia de Tisaleo situada a siete kilómetros de la misma ciudad); y en terrenos silicosocalizos (hacienda Lligua, ubicada en las márgenes del río Ambato a cuatro kilómetros de la ciudad).

En "La Liria" crece con gran exuberancia bajo la sombra de grandes árboles y entre plantas herbáceas; en Tisaleo crece con escaso vigor en los llanos, a toda luz, y en Lligua se desarrolla en las mismas condiciones que en "La Liria".

La observación de la intensidad vegetativa en los tres lugares enumerados, nos ha hecho concluir que el terreno óptimo de esta especie, es el silicoso-humífero de "La Liria". Allí se han recogido ejemplares de 0,80 a 1,20 metros de altura, con hojas radicales de 0,32 metros de largo por 0,14 de ancho. En Lligua las muestras observadas han

sido más o menos del mismo tamaño que en "La Liria"; en cambio, en Tisaleo la planta más grande que se encontró medía solamente 0,38 metros de alto.

La vigorosa vegetación observada en las plantas de "La Liria", nos indujo a investigar la composición de ese terreno. El resultado obtenido fué el siguiente:

arena	43%
arcilla	39%
caliza	7%
humus	11%

Un agente que parece tener gran influencia en el desarrollo de la especie que nos ocupa, es la humedad que influye de un modo favorable.

En los lugares ya conocidos donde la planta se desarrolla con vegetación intensa, el terreno permanece húmedo la mayor parte del año.

La temperatura de los lugares anotados, (tomada en la época de recolección de las hojas) fué la siguiente: "La Liria" 17 grados, Lligua 19. En Tisaleo, donde la temperatura oscilaba alrededor de 13 grados, la vegetación es raquítica. Según esto, el calor es un agente que influye en relación directa del desarrollo.

La altitud parece ser un factor desfavorable, si nos referimos a las alturas correspondientes de los lugares citados, las cuales son las siguientes: (1)

Tisaleo	3.318 metros
"La Liria"	2.560 "
Lligua	2.420 "

La luz es otro factor determinante en el crecimiento de esta especie. Las plantas conservan los movimientos fototrópicos normales, pero siempre que la insidencia de los rayos solares no sea directa. En caso contrario la planta se marchita, doblándose sus hojas en la base del pecíolo en di-

(1) Estas alturas fueron medidas con un altímetro aneroide y por lo tanto no pueden ser estrictamente precisas.

rección del envés. A este movimiento no podemos asignarle un carácter fototrópico negativo, por cuanto no existe una orientación contraria en la dirección del movimiento de los órganos. Puede ser más bien una fototaxia fóbica, determinada por desequilibrio de los procesos nutritivos anabólicos. Es de advertir, que este fenómeno se verifica solamente en las plantas que crecen bajo la sombra de los bosques; pues las que crecen en campo abierto, no experimentan tal modificación, con la luz directa que reciben constantemente. Una planta traída a esta ciudad de los bosques de "La Liria", y conservada en una maceta a toda luz, permanece marchita durante el día y vuelve a su estado normal en la noche.

No hemos podido establecer el área de dispersión de esta especie, pues como se comprenderá, éste es un trabajo bastante árduo, si tenemos en cuenta la variabilidad de medios en que vegeta. A lo más hemos definido su área de desarrollo óptimo, que se encuentra entre los 2.600 y 2.400 metros de altitud, en las márgenes del río Ambato.

Si comparamos los caracteres ecológicos de la especie descrita con los mismos de las especies europeas, veremos que coinciden en algunos aspectos y difieren en otros.

J. Chevalier, dice que el terreno donde mejor prospera la *Digitalis purpurea*, es el "ácido, silicoso, ligero rico en humus y conteniendo una fuerte proporción de ácido fosfórico, de magnesio y hierro". Luego añade "debe estar a media sombra y necesita calor". En cambio otros autores indican que el "pleno sol es preferible".

Planchon y Bretin, en su tratado de materia médica, aseguran que el manganeso es indispensable para el desarrollo de esta planta. Nosotros hemos buscado este metal en el terreno de "La Liria", sin obtener reacciones positivas.

CAPITULO II

a) Estudio botánico descriptivo.

La *Digitalis purpurea* pertenece a la familia de las Escrofulariáceas, y como tal se halla incluida en el tipo de las espermoditas, clase angiospermas, subclase dicotiledóneas, serie simpétalas tetracíclicas, y orden personadas.

De acuerdo con los caracteres de su familia, posee flores dorsiventrales, y su fruto capsular no posee tabique medio, carácter éste que le distingue del fruto de las Solanáceas.

Conforme a sus caracteres genéricos posee un cáliz persistente, con cinco divisiones desiguales; corola acampañada ventruda, cuatro estambres didínamos, un estilo, cápsula bilocular ovoidea, formada por dos hojas carpelares.

Los caracteres específicos de la variedad que se desarrolla en "La Liria" son los siguientes: hojuelas del cáliz ovaladas con el ápice agudo, corola obtusa conservando el labio superior entero; en el interior de la campánula y en su parte ventruda existen manchitas oscuras de forma redondeada; tallo floral sencillo anguloso y pubescente; hojas radicales de 0,28 a 0,32 cms. de largo por 0,12 a 0,15 de ancho, rugosas, oblongas, de color verde claro; pubescentes especialmente en el envés, dando una tenue sensación de aspereza al tacto; pecíolo alado por efecto de la decurrencia del limbo; este pecíolo puede ser considerado más bien como falso pecíolo constituido por la nervadura media bordeada a cada lado por una parte atenuada del limbo. Flores de color rosado en forma de dedo de guante, con la base de la corola de color blanquecino, y el limbo oblicuo dividido en cuatro lóbulos desiguales; insertas siempre

sólo a un lado del tallo floral y colgantes por medio de un pedicelo corto y pubescente; las hojas del tallo floral son alternas y sentadas. RAIZ FASCICULADA DE FILAMENTOS LARGOS Y DELGADOS; TALLO SUBTERRANEO RIZOMÁTICO HORIZONTAL, CON YEMAS RIZOGENAS EN EL LADO INFERIOR Y YEMAS FOLIOGENAS EN LA SUPERIOR.

Comparando los caracteres específicos de la variedad estudiada, con los mismos de las variedades europeas, saltan a la vista dos caracteres diferenciales importantísimos. En efecto, ninguna variedad europea posee (según las descripciones consultadas) raíz fasciculada sino napiforme, y además ninguna descripción hace siquiera remota referencia al tallo rizomático. La existencia de este tallo subterráneo, constituye pues un carácter genuino de nuestra variedad. Aún más, como el rizoma va originando en el transcurso del crecimiento nuevas raíces y nuevos tallos, la planta por nosotros descrita no es bienal sino VIVAZ.

Cuando comenzamos nuestras primeras observaciones, nos había llamado la atención un dato por demás importante. Averiguando la edad de una planta robusta que crece en un huerto cercano a la ciudad de Ambato, nos habían dicho que tiene cerca de cuatro años, y que había dado flor por dos ocasiones. Eso nos indujo a estudiar con detención la estructura morfológica de la especie y su término de duración, encontrando los resultados que se ha indicado.

Observaciones posteriores nos han hecho concluir, que la variedad por nosotros estudiada es propiamente rizocárpica; es decir, que su tallo aéreo es anual y su tallo subterráneo perenne. La duración del tallo aéreo la hemos comprobado personalmente; primero se seca el tallo floral (inmediatamente después de la maduración del fruto) y luego las hojas de la roseta de la base.

Planchon y Bretin, hacen referencia a una variedad vivaz de *Digitalis purpurea*, pero sin mencionar la existencia del tallo rizomático.

Por tratarse de un carácter muy raro, y con el objeto de tener seguridad plena de la estructura morfológica del tallo rizomático encontrado, hemos solicitado la respetable opinión del reputado Profesor Sr. Dn. Misael Acosta Solís, quien después de prolijo estudio confirmó nuestro aserto.

b) **Farmacognosia.**

Según veremos más adelante, todas las partes de la planta constituídas por parenquimas cromados poseen glucósidos activos en cantidades variables, pero la parte medicinal empleada corresponde sólo a las hojas, por razón de encontrarse en ellas los glucósidos activos, en proporción mayor que en cualquier otro órgano de la planta. Además, según la Convención Internacional el polvo de digital se elabora sólo con las hojas.

La especificación farmacognósica de la *Folia Digitalis* (hoja de Digital) se determina por sus caracteres morfológicos y anatómicos.

Caracteres Morfológicos.—Pecíolo generalmente corto y de sección triangular; ausencia de este órgano cuando la planta es joven. Limbo obovalado-alargado, festoneado en forma irregular en casi toda la extensión de sus bordes, liso en su parte decurrente a los lados del pecíolo. Los nervios laterales de primer orden, forman un ángulo agudo con la nervadura media, los de segundo y tercer orden forman entre sí también ángulos agudos pero de mayor abertura. El conjunto de nervios de primero, segundo y tercer orden, forman una malla sobresaliente, entre cuyos intersticios se encuentran los nervios de último orden formando retículo fino que no sobresale. En la punta de cada diente del borde festoneado, se encuentra en la cara inferior de la hoja, un pequeño estoma acuífero.

Caracteres Anatómicos.—El mesófilo está casi siempre formado por una sola capa de células y algunas veces por dos. Este último carácter histológico sólo hemos observado dos ocasiones, en hojas radicales de una planta en floración. Cuando el mesófilo está constituido por dos capas de células, la doble capa no es continua en toda la extensión de una sección transversal de la hoja, sino, solamente en la región cercana a la nervadura media. En este mismo caso, la capa superior de células está dispuesta en empalizada y la inferior es lagunosa (lagunas pequeñas). En los casos en que el mesófilo tiene una sola capa de células, éstas conservan siempre la disposición en empalizada. Todas las células que constituyen el mesófilo están

completamente exentas de cristales. Los haces leñosos están constituidos por vasos anillados y espirales de diámetro diferente. Las células epidérmicas de la cara superior son poligonales y los de la cara inferior son sinuosas y ondeadas. Como modificaciones epidérmicas existen en ambas caras de la hoja tres clases de pelos. Unos alargados y formados por tres o cinco células cilíndricas, de las cuales la extrema es aguda pero con su punta roma; otros glandulares con pedicelo corto unicelular en cuyo extremo terminal se encuentra una célula redondeada en forma de cabezuela; otros pelos glandulosos cuya cabezuela está constituida por dos células unidas. En el pecíolo también existen pelos largos pluricelulares cuya célula terminal no es tan aguda como la correspondiente de los pelos largos de la epidermis del limbo. Los estomas existen en abundancia en la cara inferior y están limitados por tres a cinco células sinuosas (los que se acercan al borde de la hoja están limitados por mayor número de células).

Caracteres del polvo de *Folia Digitalis*.—Utilizando un tamiz número VI, hemos obtenido previa trituración de las hojas disecadas, en un lugar seco y obscuro, un polvo fino de los siguientes caracteres: color verde claro mate, sabor amargo y olor agradable (a panela). Poniendo una pequeña porción de polvo en una gota de agua glicerizada y observando al microscopio hemos encontrado lo siguiente: grupos de células verdes del mesófilo, y también células aisladas verdes; pedazos de parenquima incoloro y secciones de vasos conductores; células acromadas de paredes gruesas, células epidérmicas de borde sinuoso y de borde rectilíneo; fragmentos de pelos con sus paredes celulares estriadas, y gran cantidad de cloroplastos incluidos en grumos de substancia protoplasmática. En los girones de mesófilo se nota claramente la diferencia entre las células en empalizada y las de tejido lagunoso, las primeras vistas de frente presenta forma redondeada y las segundas forma estrellada. El parenquima clorofílico constituye la mayor parte del polvo, en tanto de los tejidos acromados se observan en muy poca cantidad. Los pelos glandulosos aparecen generalmente enteros y adheridos a pedazos de epidermis, en tanto que los pelos largos se encuentran fraccionados.

Como caracteres específicos del polvo de *Folia Digitalis* podemos indicar los siguientes: mesófilo constituido por parenquima completamente exento de cristales; pelos glandulosos formados por dos células, una cilíndrica que constituye el pedicelo y otra redondeada que forma la cabezuela; pelos glandulosos con su cabezuela formada por dos células redondeadas y unidas; células sinuoso-ondeadas y numerosos estomas en las partes correspondientes a los girones de epidermis de la cara inferior de la hoja. Las cenizas residuales no deben pasar del 10% (nosotros hemos encontrado 8,8%).

Comparando los caracteres farmacognósticos del polvo por nosotros estudiado, con los del similar descrito en algunos tratados, encontramos pequeñas diferencias entre las cuales podemos enumerar las siguientes: el número de células que constituyen los pelos largos ha sido el de cinco como máximo y no el de seis; las células epidérmicas que bordean a los estomas son más numerosas, pues mientras los tratadistas indican de tres a cuatro, nosotros hemos encontrado hasta seis independientes tocando a un solo estoma; el color de las hojas no es verde oscuro y peor pardusco, sino verde claro; la proporción de tejidos acromados existentes en el polvo es mínima, debiéndose esto seguramente al procedimiento que hemos empleado para prepararlo, el cual se conocerá cuando tratemos de los procedimientos extractivos.

Respecto a las substituciones del polvo de Digital, séanos permitido indicar, que se verifican con alguna frecuencia en los países en donde se industrializa la planta. Las substituciones más frecuentes se hacen con *Digitalis ambigua*, *Digitalis lutea* y con diferentes especies del género *Verbascum* de la familia de las Escrofulariáceas (la misma a que pertenece la Digital oficial). Además se acostumbra substituir con *Borrago officinalis* (borraja), con *Solanum tuberosum* (patata), con *Malva neglecta* y *Malva silvestris* (Malva común) y con *Piper angustifolium* (Mático).

El polvo utilizado entre nosotros es en casi su totalidad importado, de modo que las substituciones posibles, pueden encontrarse alguna vez. Hemos investigado la constitución de tres polvos extranjeros, encontrando otros tantos tipos de calidad. Dos con las características propias del polvo oficial pero con diferente riqueza en glucósidos ac-

tivos, y un tercero con signos de mala calidad, tales como: inodoro, color pardo-verdoso y con una cantidad de tejidos acromados exagerada, abundando sobre todo restos de tejido conductor leñoso.

No hemos tenido conocimiento que se utilice para el expendio al público polvos de Digital nacionales, excepción hecha de una botica de la ciudad de Ambato, en la cual hemos sabido se vende el producto nacional con alguna frecuencia.

Entre nosotros cabrían las substituciones con las plantas usadas para el efecto, que abundan en nuestros campos, tales como: *Verbascum tapersiforme* (esta especie vegeta con exuberancia en las praderas de la provincia de Cotopaxi, sobre todo cerca de la estación de Lasso); *Borrago officinalis* que existe en gran número de jardines; *Solanum ruberosum*, cultivada en grande escala en los campos de la altiplanicie interandina, y *Piper angustifolium* que crece espontáneamente en muchos terrenos incultos. Sin embargo, la identificación farmacognósica sería fácil, por cuanto *Verbascum tapersiforme* tiene un tejido parenquimatoso formado por células bastante diminutas; la borraja tiene pelos epidérmicos cerdoso unicelulares, ensanchados en la base y ganchudos en su extremo; la patata además de poseer las glándulas de las Solanáceas tiene un tejido de empalizada con células muy largas; y las hojas de Mático poseen células secretoras de esencia, teniendo además la epidermis superior del mesófilo dos capas de células y pelos hinchados y nudosos.

CAPITULO III

GLUCOSIDOS

a) **Consideraciones sobre su origen y papel fisiológico que desempeñan en los vegetales.**

Entre el sinnúmero de sustancias orgánicas producidas por la actividad fotosintética de los vegetales, se encuentran ciertos compuestos cuyo carácter distintivo es, producir por desdoblamiento, un mono o disacárido y un compuesto de naturaleza alcohólica, fenólica, nitrogenada o sulfurada. Este desdoblamiento es producido generalmente por agentes hidrolizantes, y los compuestos que así se comportan se llaman **GLUCOSIDOS**. Los primeros glucósidos conocidos dieron como producto de desdoblamiento la **GLUCOSA**, lo cual determinó su nombre. Posteriores experiencias demostraron la presencia de diferentes productos azucarados tales como la galactosa, arabinosa, maltosa, ramnosa, etc.

Los glucósidos se encuentran siempre en los parenquimas cromados de las plantas que los contienen, es decir en partes asimiladoras; rara vez se encuentran en órganos de reserva tales como bulbos, tubérculos, etc.

Verificando reacciones microquímicas en los órganos vegetales que contienen glucósidos, se observa que sólo determinadas células poseen la cualidad de sintetizarlos; en cambio, en otras células no muy lejanas se sintetizan enzimas hidrolizantes (oxidasas), que provocan espontáneamente el desdoblamiento. Esta circunstancia ha hecho suponer a algunos autores (entre ellos Pfeffer) que los glucósidos "serían sustancias difícilmente dializables que constituyen materiales de reserva, utilizables a medida que son descompuestos por las enzimas existentes en otras células".

Experimentando las propiedades de los glucósidos sobre la SALICINA, Th. Weevers ha demostrado que este glucósido se descompone mediante la EMULSINA (fermento hidrolizante) en glucosa y saligenina. Si la acción hidrolizante persiste, la saligenina se transforma en un producto final llamado CATECOL, el cual es un fenol que se halla en toda la planta (*Salix purpurea*). En este caso los azúcares producidos serían utilizados en la nutrición de la planta, en tanto que el catecol serviría para una nueva regeneración del glucósido.

Otros investigadores han asignado a los glucósidos idstinto papel fisiológico. Así por ejemplo, Ciamiani y Ravenna dicen que los productos no hidrocarbonados (geninas) son excesivamente tóxicos, y que los hidrocarbonados son agentes neutralizantes, pues el glucósido en sí, no es tóxico. Para demostrar este concepto han introducido en las plantas que normalmente no tienen glucósidos, los productos de su desdoblamiento (glucosa, aldehído benzoico, alcohol ortoxibenzoico) aislados, observando enseguida alteraciones fisiológicas apreciables; en cambio introduciendo la salicina, han continuado las plantas su vida fisiológica normal. Estos autores han probado además que, introduciendo en un vegetal pequeñas cantidades de saligenina, se regenera en parte la salicina.

En fin, otros investigadores como el Dr. E. Calvet, se expresan respecto a los glucósidos en la forma que sigue: "parece como si las plantas los formasen como productos de defensa, pues son muy activos y venenosos, y los compuestos resultantes de su desdoblamiento, tienen olor fuerte y sabor intensamente amargo".

Con las reservas del caso, y respetando siempre la opinión de los autores nombrados, nos vamos a permitir hacer un comentario de los conceptos indicados, sin pretender desde luego, autorizar y peor desautorizar las ideas de sabios tan respetables.

En nuestro concepto, la opinión que mejor concuerda con la realidad es la de Pfeffer, pues si tomamos en cuenta que en la época de la floración los glucósidos disminuyen notablemente en los tejidos en donde se sintetizan; y que en esta misma época la actividad respiratoria y el desgaste consiguiente de hidrocarbonados termogenéticos son tan intensos, es lógico suponer que los azúcares constitutivos

de los glucósidos, sean consumidos por la planta en la época que más necesita de ellos. Además, el desdoblamiento y regeneración espontánea de los glucósidos en los vegetales, puede deducirse de su aparición y desaparición en determinadas épocas de desarrollo, y sobre todo de la circunstancia ya anotada, de DISMINUIR CUANDO LA PLANTA NECESITA AZUCARES.

Respecto al concepto de Ciamician y Ravenna, creemos que la formación de los glucósidos, no se deba tanto a la NEUTRALIZACION DE UN COMPUESTO TOXICO, sino a la simple afinidad de los grupos químicos que integran los productos de desdoblamiento. Se podría argüir que no tiene explicación la experiencia de ser tóxica la saligenina e inofensiva la salicina, pero a ello se podría argumentar diciendo, que la saligenina es un compuesto incompatible con la actividad fisiológica temporal e inmediata de la planta en que se ha verificado la experiencia, en tanto que la salicina no lo es. Según lo indicado por los referidos autores, podría darse el caso de que habiendo un consumo excesivo de hidrocarbonados, el tóxico quede sin neutralizarse y por lo tanto la planta sufra sus efectos dañinos, lo cual no se ha observado.

El concepto de Calvet, parece basarse en una exagerada preconcepción de un plan orgánico conservador de las especies vegetales; pues la formación de sustancias de olor fuerte y sabor desagradable o de efectos tóxicos, no guarda relación concreta con circunstancias finales de la vida, como aquella de que las plantas pueden ser destruídas por otros organismos, sino con circunstancias actuales, inherentes a mantener el sistema de relaciones químico-biológicas del organismo con su medio. Si aceptamos que las plantas fabrican glucósidos con el objeto de intoxicar o ahuyentar a los animales que pretendan destruírlos, también podríamos aceptar que las plantas de trigo sintetizan el gluten con el objeto de que la panificación sea correcta; pero realmente estas circunstancias no tienen nada que ver con el metabolismo celular que mantiene la vida de las plantas.

En términos generales, podríamos concluir que los glucósidos son productos metaplásticos, cuya utilidad inmediata en el mecanismo fisiológico de las plantas no está todavía bien definida.

b) Química de los glucósidos.

"Los glucósidos son considerados como éteres-óxidos internos de los mono o disacaridos, resultantes de la reacción entre estos compuestos con fenoles, alcoholes u otros análogos correspondientes a la serie cíclica o acíclica, desprendiéndose en la reacción una molécula de agua".

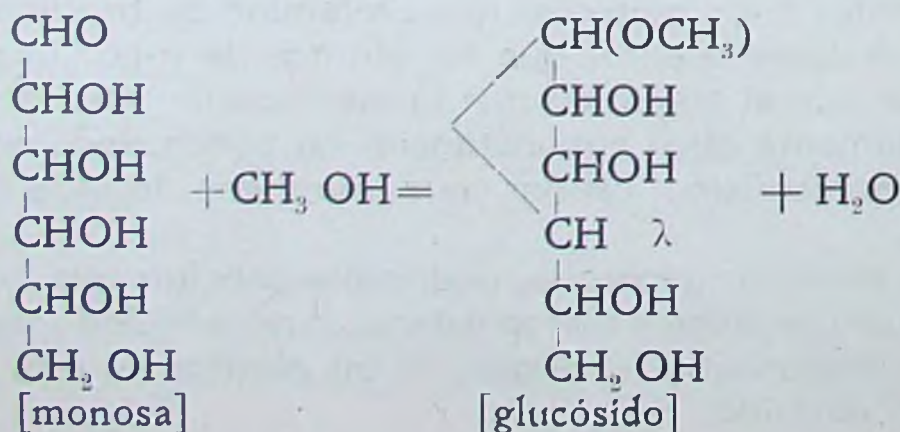
Esta definición dada por Calvet, parece ser la que mejor responde a la estructura molecular de esta clase de compuestos. En efecto, la función éter-óxido es característica de los glucósidos, y la existencia de los mono o disacáridos y de los fenoles y alcoholes, se deduce de su inmediata aparición cuando se descomponen los glucósidos.

Para comprender mejor la estructura molecular de estos compuestos, vamos a tomar como ejemplo el metil-glucósido preparado sintéticamente por Fisher.

Recordemos que haciendo reaccionar un aldehído con un alcohol se forman los compuestos llamados acetales, en los cuales los dos hidrógenos de dos oxidrilos alcohólicos forman agua con el oxígeno del grupo aldehídico, según la siguiente ecuación:



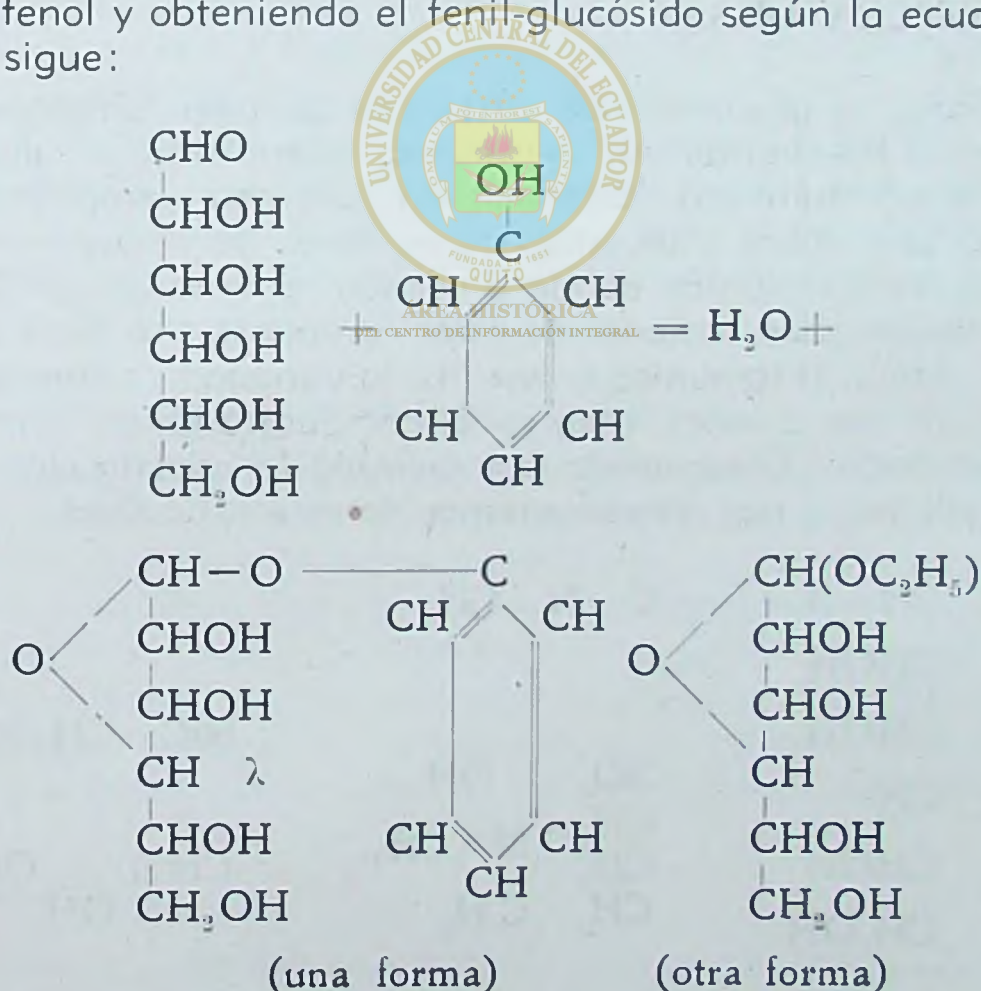
Fisher hace reaccionar una monosa con alcohol metílico para que se verifique una combinación molecular análoga a la anterior; pero ahora reacciona una sola molécula de alcohol, dando como resultado el eter-óxido característico de los glucósidos, conforme a la siguiente ecuación:



En este caso, un H del grupo alcoholico y el H del oxidrilo del alcohol han formado agua con el oxígeno del grupo aldéhido.

Por razón de que los glucósidos se desdoblan con relativa facilidad en sus componentes, no es de suponer que la unión de la monosa con el alcohol se haga directamente por átomos de carbono; además la unión del carbono tera a un oxidrilo, se verifica también en las lactonas, que co- ciario λ con el oxígeno, que antes de la reacción pertenecía mo veremos más adelante son grupos químicos constituti- vos de muchos glucósidos de gran volumen molecular, co- mo sucede en la digitoxina, dafnina, etc., cada uno de los cuales posee un anillo lactónico.

En el ejemplo propuesto hemos visto que la monosa se ha combinado con un alcohol, pero Fisher ha logrado también sintetizar glucósidos combinando monosacáridos con fenol y obteniendo el fenil-glucósido según la ecuación que sigue:



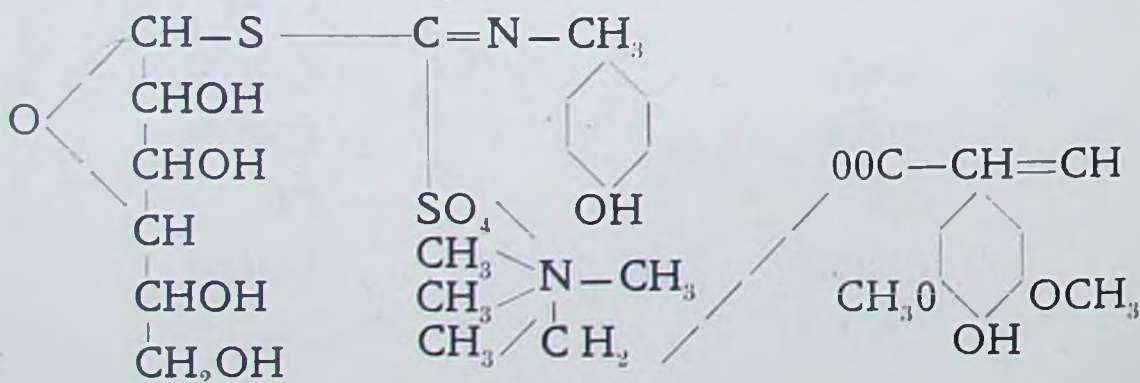
Del mismo modo que en caso anterior, han reaccionado el hidrógeno del fenol y del hidrógeno del grupo alcoholico λ con el oxígeno del grupo aldéhido, formando agua

y el respectivo glucósido, el cual puede ser expresado en las dos formas indicadas. En adelante usaremos la forma en que el radical alcohólico o fenólico no está encerrado en paréntesis. Como se verá, en ambos casos se ha formado el óxido interno característico de los glucósidos.

Algunos autores consideran a los glucósidos como ésteres de los mono o disacáridos, por cuanto estos últimos compuestos, son los elementos integrantes fijos del glucósido, en tanto que los otros son muy variables, pudiendo ser alcoholes, fenoles, lactonas, etc., cuyas funciones químicas pueden estar inscritas en núcleos bencénicos, naftalénicos o antracénicos. Además, la formación de un glucósido es correlativa a la emisión de una molécula de agua. Desde luego, no se trata sino de una remota semejanza, por cuanto los mono y disacáridos no funcionan como ácidos.

NOMENCLATURA.

Para los glucósidos de estructura química compleja tales como las digitalinas, naranjina, quercitrina, sinalbina, etc., se acostumbra designaciones puramente empíricas, y así se les nombra indicando los nombres genéricos o específicos de las plantas donde proceden terminados en INA. Una designación racional de estos compuestos se hace bastante difícil, si tomamos en cuenta la variedad de funciones químicas que a veces integran el compuesto unido al mono o disacárido. Observemos por ejemplo la constitución de la sinalbina, y nos convenceremos de esta dificultad.



No pasa lo mismo con los glucósidos de estructura sencilla, los cuales se designan nombrando primero al compuesto unido al hidrato de carbono según su función quí-

mica respectiva, y a continuación la palabra glucósido. Ejemplo, metil-glucósido, fenil-glucósido, etc.

Procedimientos de obtención.

Los glucósidos que tienen aplicaciones medicinales no se han logrado obtener por síntesis, al menos en una cantidad que permita industrializarlos. Se han efectuado alguna vez ensayos en laboratorio, pero sólo con fines de experimentación. Así, Emerling sintetizó la amigdalina, desdoblandola primero en sus componentes y volviendo a regenerarla por medio de un fermento (maltasa). Pero como se verá, partió del compuesto natural, circunstancia ésta que impide asignar al trabajo de Emerling el carácter de una verdadera síntesis orgánica. Este procedimiento llamado de síntesis biológica, se ha aplicado también a la salicina obteniéndose idénticos resultados.

Según hemos indicado, Fisher ha logrado sintetizar algunos glucósidos de estructura sencilla.

Casi todos los glucósidos utilizados en la industria farmacéutica, se extraen de vegetales, y alguno que otro de animales, tales como el carmín y la quitina; el primero se encuentra en las cochinillas y el segundo en el dermato-esqueleto de los artrópodos.

ÁREA HISTÓRICA
DEL CENTRO DE INFORMACIÓN INTEGRAL

Propiedades generales de los glucósidos.

Estos compuestos cristalizan casi siempre en diferentes sistemas, siendo muy pocos los que presentan un estado amorfo. El punto de fusión es definido para cada clase, pero algunas veces coincide con el de descomposición. Tienen poder rotatorio (dextrogiro o levógiro) sin embargo existen algunos en que el poder rotatorio es nulo (gitoxina disuelta en piridina). Su sabor es generalmente amargo y muchos obran como venenos activos; además carecen de olor.

Clasificación.

Por las razones enunciadas al tratarse de la nomenclatura no es posible hacer una clasificación metódica de estos compuestos. En general podemos dividirlos en nitrogenados y no nitrogenados. Estos últimos son compuestos ternarios formados por carbono, hidrógeno y oxígeno en las proporciones que exige su naturaleza química. Los ni-

trogenados son cuaternarios, y algunos a más del nitrógeno poseen azufre (sinalbina).

Teniendo en cuenta la naturaleza del hidrato de carbono resultante de su descomposición, pueden dividirse en pentósidos, tetrósidos y mixtos. Los primeros dan como productos de desdoblamiento una pentosa (ramnosa o isodulcita), los segundos dan una tetrosa (digitoxosa), y los últimos dan una pentosa, una exosa y varios monosacáridos de distinta naturaleza. Como ejemplo del primer grupo podemos poner a la frangulina que produce ramnosa; del segundo a la digitoxina que produce un hexan-triol-al llamado digitoxosa; y del tercero a la digitonina que produce galactosa y pentosa, y a la hesperidina que produce glucosa y ramnosa.

Reconocimiento.

El carácter común de los glucósidos es originar mono o disacáridos por hidrólisis. Para investigar en ellos la presencia de la glucosa, pentosa o tetrosa, se hidrolisa el líquido con un ácido diluido y luego se aplican los reactivos generales de los carbohidratos (licor de Fehling, poder rotatorio, etc.). Todos los glucósidos son cuerpos sólidos, generalmente se disuelven en el agua y el alcohol y son insolubles en el éter. Algunos son directamente reductores y no necesitan de previa hidrólisis. Si una solución diluida de glucósidos se mezcla con otra solución acuosa de bilis, y luego se añade con cuidado ácido sulfúrico concentrado, se produce en la zona de separación un anillo rojo, después de calentar la mezcla a 70°. (reacción de Brunner). Colocando en un tubo de ensayo una pequeña cantidad de glucósido con veinte gotas de agua y cuatro gotas de solución clorofórmica de naftol α al 10%; agitando la mezcla y añadiendo con una pipeta 1 c.c. de ácido sulfúrico, aparece un anillo rojo, y si se agita el líquido se colorea de púrpura. (reacción de Molisch). Muchos de los reactivos de los alcaloides son también de los glucósidos. Para diferenciarlos se utiliza la reacción de Schlagdenhauffen, la cual consiste en tratar al cuerpo problema con una mezcla a partes iguales de tintura de guayaco al 3% y una solución saturada de cloruro mercuríco; si aparece coloración azul es alcaloide y si no glucósido.

CAPITULO IV

Glucósidos de la Digitalis purpúrea

Conocidas las propiedades medicinales de la Digitalis purpúrea desde tiempos muy remotos, gran número de investigadores trataron de definir las propiedades químicas y farmacológicas de sus principios activos; pero la ardua labor de más de cien años de estudio casi ininterrumpido, no ha sido suficiente para esclarecer completa y definitivamente su verdadero significado químico farmacológico.

En el año de 1721, la Digitalis purpúrea fué introducida por primera vez en la Farmacopea Inglesa como planta medicinal; pero los casos repetidos de intoxicación determinaron el abandono de la planta hasta el año de 1788, en que fué nueva y definitivamente introducida en la misma Farmacopea.

Desde el año de 1575 hasta 1770 la Digital fué usada como emeto-catártica, y en 1775 Withering descubrió sus propiedades hidragogas. El primer sabio que descubrió sus cualidades sedantes sobre el corazón fué Cullen, contemporáneo de Withering.

Uno de los primeros análisis químicos de las hojas de Digital fué hecho por los químicos Destouches y Bidault de Villiers, quienes encontraron que la planta contenía "un aceite verde acre, irritante, y un extracto alcohólico que contenía seguramente todos los principios activos de este vegetal".

Cuando Derosne descubrió en 1803 la morfina, se inició una nueva era de investigación de los principios activos de muchas plantas, entre ellas, la Digital. Entre el sinnúmero de sabios que dedicaron todas sus energías y su saber

a la resolución del problema, se distinguieron Leroyer, Watson, Welding, Rollier y Lancelot. Este último presentó a la Academia de Medicina de París un producto que supuso ser la Digitalina, pero la falta de caracteres físico-químicos constantes del compuesto presentado, dejaron mucho que desear, y no fué aceptado como tal.

Todas las investigaciones verificadas hasta el año de 1822, sirvieron de base para que veinte años más tarde, los reputados químicos Homolle y Quevenne extrajeran un producto de caracteres físico-químicos más definidos, el cual fué presentado a la Sociedad de Farmacia de París, como la verdadera Digitalina. El producto junto con su procedimiento de extracción, fueron aceptados por la Farmacopea Francesa en el año de 1844.

Bouchardat y Sandras experimentaron las propiedades farmacodinámicas del compuesto que se creyó ser la Digitalina pura, y encontraron efectos extraordinariamente tóxicos, aparte de una acción terapéutica intensa análoga a la de la planta. Desde esta época se comenzó a substituir las hojas de la planta con la Digitalina de Homolle y Quevenne, teniendo en cuenta la intensidad de acción de esta última. Pero pronto se descubrieron variaciones de solubilidad y falta de identidad química entre las digitalinas preparadas según el procedimiento de Homolle y Quevenne. Roussin atribuyó este fenómeno "a una propiedad especial de la Digitalina, la cual con las reacciones más leves, sufriría cambios que modificarían sus propiedades físicas y químicas". Poco tiempo duró la era de aplicación medicinal de la Digitalina de Homolle y Quevenne, pues pronto se llegó a comprobar que no era un producto químicamente definido.

En el año de 1864 anunció la Academia de Medicina de París un tema para adjudicar el premio "Orfila"; el cual se reducía a un EXAMEN QUIMICO Y TOXICOLOGICO DE LA DIGITALINA. En esta época Homolle y Quevenne substituyeron su procedimiento que lo consideraban muy complicado por otro más sencillo, y obtuvieron una Digitalina amorfa de color blanco, poco soluble en el agua fría y algo soluble en el agua caliente, muy soluble en el alcohol. El nuevo compuesto tenía sabor amargo intenso y por la acción del ácido clorhídrico adquiría poco a poco colora-

ción verde (reacción de la Digitoxina). Nuevamente se volvió a usar este producto hasta el año de 1871.

Cuatro años después de enunciado el tema por la Academia de Medicina de París, el químico belga Nativelle, obtuvo por primera vez la Digitalina cristalizada, blanca, soluble en toda proporción en alcohol pero apenas soluble en el agua. Además obtuvo un compuesto muy soluble en el agua, al cual lo llamó Digitaleina amorfa, y otro cuerpo soluble en el agua y cristizable que lo designó con el nombre de Digitaleina cristalizada.

En 1872 Nativelle presentó su trabajo a la Academia de Medicina de París y obtuvo el premio "Orfila". La Digitalina de Nativelle, fué sometida a todos los ensayos químicos que permitían los medios disponibles en esa época, llegando a concluirse definitivamente, que se trataba de una especie química definida. Posteriormente se investigó sus propiedades físico-químicas y se precisó su fórmula química, la cual se decía corresponder a $C_{51}H_{76}O_{11}$. Por este mismo tiempo, el Dr. Legroux hizo su Tesis Doctoral sobre los principios activos de la Digital, en la cual describió detalladamente las características de todos los principios hasta esa época encontrados. A más de la Digitalina de Homolle y Quevenne y la Nativelle, el Dr. Legroux describió los siguientes: Digitalosa, substancia blanca cristalina fusible a 200° , insoluble en el agua y soluble en el éter y en el alcohol; Digitalino, materia neutra farinácea blanca, insoluble en el éter y soluble en el alcohol y que precipita de las disoluciones alcohólicas por la potasa (saponinas?); Digitalida, substancia gomosa de color dorado, soluble en el agua y en el alcohol flojo e insoluble en el éter; ácido digitálico, cuerpo blanco cristizable de sabor ácido y olor sofocante, soluble en alcohol y algo en el éter; ácido antirrínico que es un producto de destilación de las hojas de Digital, de apariencia oleosa y olor desagradable que recuerda al de la Digital fresca, y muy volátil.

Con Nativelle comienza la era del conocimiento científico de los glucósidos digitálicos. Al principio se creyó que la Digitalina era el principio activo único de la Digitalis purpurea, y se le clasificó entre los alcaloides. Esta idea primó en la mayor parte de los químicos de ese tiempo, los cuales naturalmente, no lograron aislar los glucósidos puros sino mezclas de ellos junto con impurezas (taninos, grasas, re-

sinas, gomas, etc.). La falta de identidad química de la Digitalina de Homolle y Quevenne, debe atribuirse a esta circunstancia; pues unas veces podía estar más despojada de impurezas que otras, fuera de que la cantidad de los glucósidos mezclados podía variar. Además, los diferentes aspectos que presentaban otras tantas digitalinas extraídas, determinaron la creencia (conforme a la realidad, desde luego), de que en la Digital debían existir muchos principios activos; pero como hasta esa fecha no se había logrado aislar ningún glucósido en estado de pureza, las nuevas **especies químicas** encontradas, no pasaban de ser mezclas de glucósidos e impurezas. Así, el Digitalino y la Digitalida descubiertos por Kosman y citados en la Tesis del Dr. Legroux, parecen ser saponinas, si tomamos en cuenta sus caracteres físico-químicos (solubilidad en alcohol, sabor acre, precipitación por las bases, etc.) habida además la circunstancia, de conocerse en la actualidad algunas saponinas extraídas de la *Digitalis purpurea*.

Roussin había indicado que las más leves reacciones producen cambios en las propiedades físicas y químicas de la Digitalina, concepto este que hasta ahora persiste. Ahora bien, en el procedimiento de Homolle y Quevenne se sometía a la Digitalina, a una larga ebullición con éter, lo cual determinaba seguramente una descomposición de los glucósidos. Esta circunstancia dió lugar a que Legroux atribuyera la preexistencia en la planta, de productos de descomposición, como son la digitalosa y el ácido digitálico; bien que las propiedades por él asignadas a estos compuestos, no concuerdan con las que se conocen actualmente.

El sabio que sentó las bases más estables respecto a la constitución de los glucósidos de la digital, fué sin duda Schmiedeberg (1875). El fué el primero que asignó el carácter de GLUCOSIDOS a los principios activos de esa planta, comenzando por observar que no producían coloración con la tintura de guayaco.

El método usado por Schmiedeberg para la investigación de los compuestos que nos ocupan, se basaba en diferenciar los glucósidos según sus productos de descomposición, previa separación por diferencia de solubilidad en el agua y el cloroformo (con algunas modificaciones, este procedimiento se usa actualmente).

Schmiedeberg fué también el primero que operó sobre las semillas, de las cuales extrajo tres glucósidos. Conforme al método por él creado, Schmiedeberg aisló cinco glucósidos: DIGITALINA (amorfa), DIGITOXINA (cristalizada), DIGITALEINA (amorfa), DIGITONINA (que corresponde a la serie de las saponinas), y DIGITALINA CRISTALIZADA (Nativelle). La Digitoxina y la Digitalina cristalizada separó de las hojas, y los demás glucósidos de las semillas. Por descomposición de la DIGITALINA obtuvo un compuesto que lo llamó DIGITALIRESINA; por descomposición de la DIGITOXINA obtuvo la DIGITOXIRESINA; de la DIGITALEINA aisló DIGITALIRESINA y un azúcar, y de la DIGITONINA separó los siguientes compuestos: DIGITORESINA, DIGITONEINA, DIGITOGENINA y PARADIGITOGENINA.

Tomando en cuenta los caracteres de solubilidad, Schmiedeberg estableció las siguientes diferencias: la DIGITALINA es poco soluble en el cloroformo e insoluble en el agua; la DIGITOXINA es muy soluble en el cloroformo e insoluble en el agua; la DIGITONINA es soluble en el agua; la DIGITALEINA forma espuma con el agua y se disuelve algo en ella, y la DIGITALINA CRISTALIZADA se comporta como la DIGITOXINA.

Kaliani y al mismo tiempo Houdas (1891) demostraron luego que la DIGITONINA y la DIGITALEINA completamente purificadas son dos sustancias químicamente idénticas. Kaliani conservó el nombre de DIGITONINA y Houdas el de DIGITALEINA. En nombre de Digitaleina fué dado por primera vez por Nativelle, pero la Digitaleina de Nativelle era muy poco soluble en el agua, mientras que la de Houdas y Kaliani era soluble en apreciable proporción. Kaliani descubrió luego un nuevo glucósido, la DIGITALUM VERUM; y Cloetta indicó la existencia de una Digitoxina soluble en el agua, y que tendría la mitad del peso molecular de la Digitoxina de Schmiedeberg, con efectos fisiológicos idénticos a los de esta última (Sic).

Como podrá observarse, la obra de Schmiedeberg comienza a precisar la verdadera composición de las Digitalinas. Sin embargo no fué completa, sobre todo en la parte referente a los productos de descomposición, que como se verá más adelante no corresponden a la realidad.

Kraff en 1912 inició una serie de experiencias sobre la extracción de los glucósidos en las mejores condiciones de pureza. Para esto preparó con las hojas de Digital dos extractos, uno acuoso y otro alcohólico. Del primero separó tres saponinas α , β , γ , y un nuevo glucósido activo, la GITALINA; del extracto alcohólico extrajo la DIGITOXINA, la GITALINA y otro nuevo glucósido, la GITINA. Deshidratando la GITALINA obtuvo la ANHIDROGITALINA, la cual hidrolisada se descompone en ANHIDROGITALIGENINA y DIGITOXOSA. Hidrolisando la DIGITOXINA obtuvo DIGITOXOSA y DIGITOXIGENINA, (como se verá los compuestos hidrocarbonados de la GITALINA y de la DIGITOXINA son idénticos). Hidrolisando la GITINA obtuvo por desdoblamiento la GITIGENINA y galactosa; esta GITIGENINA es análoga en sus propiedades a la Digitonina de Kalliani y a la Digitaleina de Houdas.

Como ninguno de los investigadores anteriormente indicados, Kraff perfeccionó los métodos de hidrólisis para descomponer los glucósidos, consiguiendo así separar fácilmente el compuesto hidrocarbonado de la **genina**. El nombre de **genina** dado por Kraff a la parte no hidrocarbonada de un glucósido, se conserva hasta hoy.

Como se verá, Schmiedeberg al indicar los productos de descomposición de sus **digitalinas** (a los glucósidos activos de la Digital se acostumbra nombrar genéricamente así), hace referencia sólo a UN AZUCAR procedente de la DIGITALEINA, y a una GENINA originada en la descomposición de la DIGITONINA. Kraff, en cambio, aisló la ANHIDROGITALIGENINA, la DIGITOXIGENINA y la GITIGENINA entre las GENINAS; y DIGITOXOSA y GALACTOSA entre los azúcares.

En el año de 1912, Hartung descubrió la digitofilina, cuerpo muy complejo soluble en el agua, del cual dijo haber extraído Digitalina cristalizada (Nativelle) y Gitalina de Kraff.

Windaus y Schneckenburger descubrieron en 1913 un nuevo glucósido, la GITONINA, el cual lo separaron de la DIGITONINA que prepara la casa MERK. Hidrolisando este compuesto obtuvieron tres moléculas de hexosa y una de pentosa.

Por fin, Cloetta en 1920, logró aislar por primera vez un glucósido en condiciones de práctica pureza. Este fué

la DIGITOXINA aislada ya por Schmiedeberg, pero bastante impura.

Aquí damos por terminada nuestra reseña histórica del conocimiento de los glucósidos de la *Digitalis purpúrea*, para concretarnos a exponer los conocimientos más recientes; vale decir más bien, los que se refieren a los estudios de 1933 a 1935, pues los de los últimos años no nos ha sido dable conocer, por no encontrar datos bibliográficos a este respecto.

Hasta el año de 1935, se han extraído de la *Digitalis purpúrea* tres glucósidos que ejercen acción terapéutica sobre el corazón y los vasos sanguíneos: la DIGITOXINA, la GITOXINA y la DIGITALUM VERUM. Los dos primeros existen en las hojas de Digital, y el último en las semillas. Además se ha conseguido extraer de las semillas dos glucósidos análogos a la Saponina, que son inactivos: la DIGITONINA y la GITONINA. Se ha separado además de las hojas de Digital una materia colorante amarilla, la DIGITOFILAVONA, una resina irritante y una oxidasa muy enérgica.

DIGITOXINA.



Propiedades físicas y organolépticas.

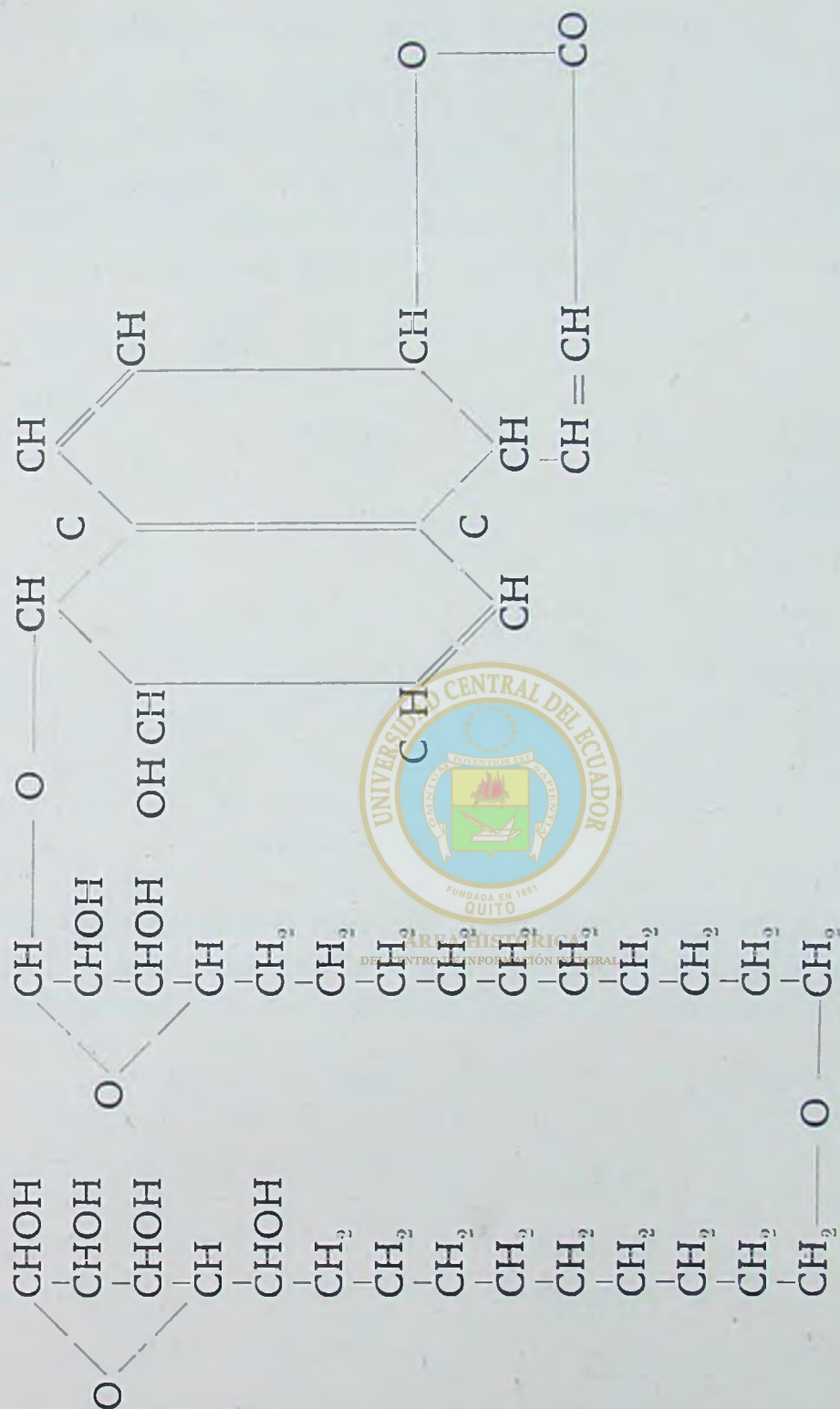
La DIGITOXINA es un polvo blanco, inodoro, de sabor amargo; formado por láminas cristalinas pequeñas, o por láminas rectangulares grandes, según que el polvo esté hidratado o anhidro. En el primer caso la cristalización se hace con cinco moléculas de agua. Los cristales anhidros se forman fácilmente cuando se disuelve la sustancia en una mezcla de alcohol metílico y cloroformo, y luego se abandona a cristalización espontánea; y los cristales hidratados se consiguen disolviendo la sustancia en cloroformo, precipitando con éter de petróleo y dejando cristalizar espontáneamente. El punto de fusión varía en las dos formas cristalinas, siendo de 254° en la forma hidratada y de 243° en la anhidra. Es prácticamente insoluble en el agua cuando está pura, poco soluble en el éter y muy soluble en cloroformo, alcohol y acetona. Es además dextrógira.

Propiedades químicas.

Para explicar con claridad el comportamiento de un cuerpo frente a los diferentes reactivos, se hace necesario ante todo, conocer su fórmula de constitución. Pero, como expresamos anteriormente, el tiempo de un siglo de estudio sistemático y perseverante, no ha sido suficiente para explicar la estructura química definitiva de los glucósidos de la Digital. No se conoce hasta la presente la fórmula de constitución de la DIGITOXINA; a lo más se ha logrado conocer su fórmula bruta y los productos iniciales y finales de descomposición, cuando se le ha sometido a hidrólisis continuada en ácidos o bases diluídas, o cuando se le ha sujetado a influencias oxidantes y reductoras. Conociendo, como se conoce, la constitución química de sus productos de descomposición, se ha deducido la preexistencia de algunas funciones químicas. Así, se sabe que posee un anillo lactónico, grupos alcohólicos secundarios y los éteres-óxidos internos característicos de todo glucósido. Pero la verdadera disposición estructural de los grupos químicos que la integran, es todavía desconocida. Aún la fórmula bruta es muy discutida; los autores franceses conservan la siguiente: $C_{31} H_{50} O_{10}$; los alemanes esta otra: $C_{41} H_{64} O_{13}$, y los españoles $C_{34} H_{53} O_{11}$.

Sería realmente un atrevimiento y una vana pretensión de nuestra parte, proponernos a resolver un problema incompatible con nuestra escasísima suficiencia científica; pero para poder explicar las propiedades químicas del más importante glucósido de la Digitalis purpúrea, hemos elaborado un esquema convencional de la fórmula de constitución, sujetándonos desde luego, a la fórmula bruta y tomando en cuenta las funciones químicas conocidas y las reglas de la notación y nomenclatura generales.

Para esto, hemos creído conveniente referirnos a la fórmula bruta de Westfal, por ser la última entre todas las que hemos conocido, y que es la siguiente: $C_{41} H_{64} O_{13}$. El esquema elaborado es el siguiente:

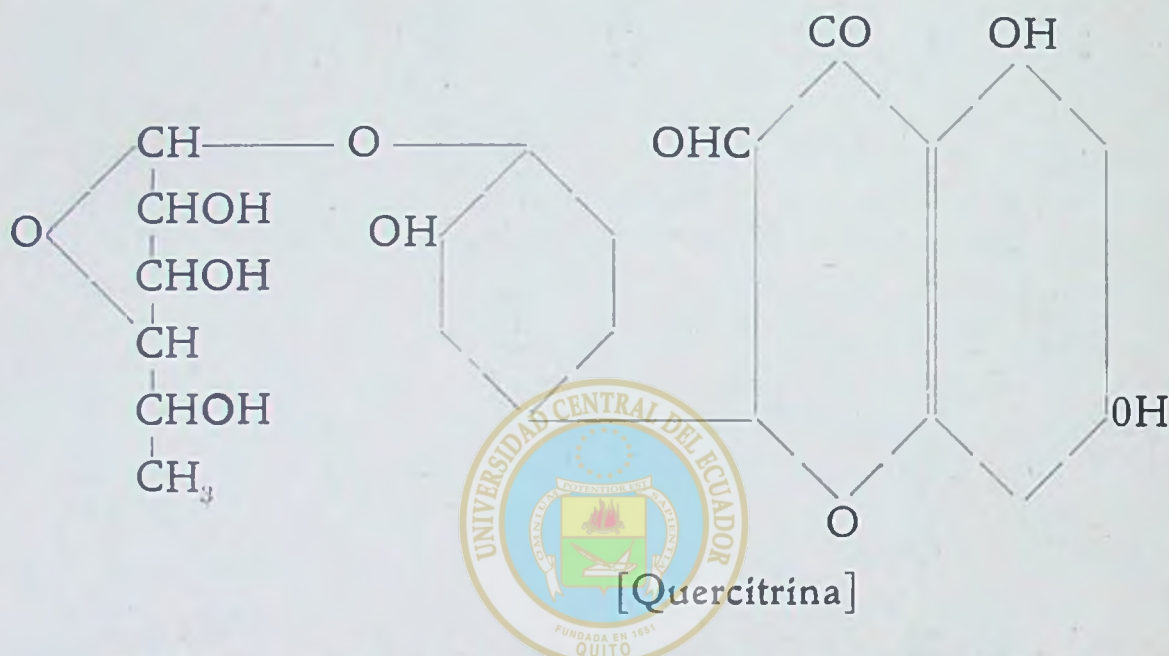


Discusión de la fórmula.

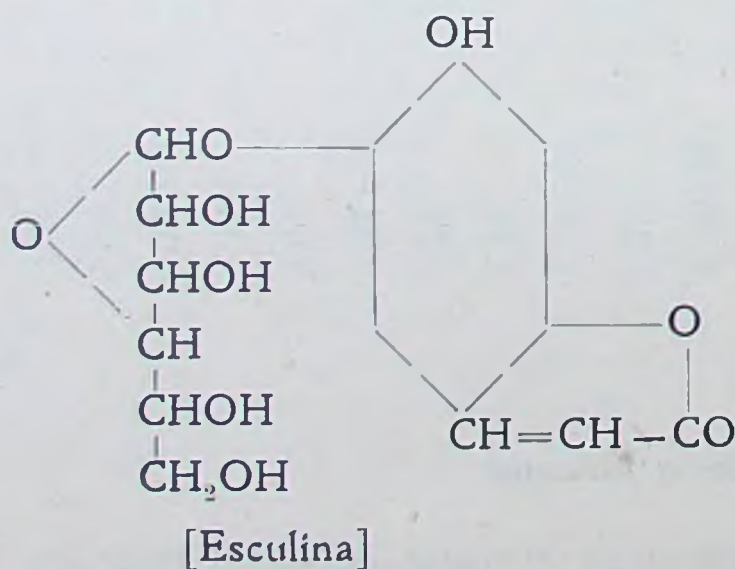
Para construir el esqueleto de la fórmula (si vale la expresión) nos hemos fijado en modelos de fórmulas de glucósidos muy conocidos que guarden siquiera lejana semejanza química con la DIGITOXINA, y así hemos esco-

gido los no nitrogenados de gran volumen molecular que pertenecen a la serie cíclica (1).

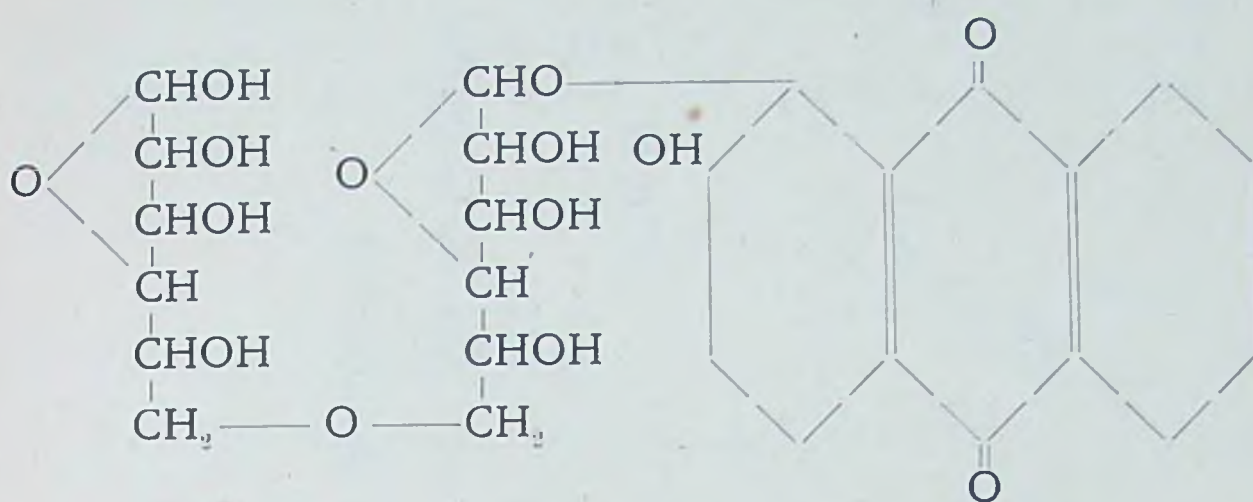
La presencia del núcleo NAFTALENICO hemos deducido de la existencia del mismo en la QUERCITRINA, que es un glucósido que al desdoblarse no produce glucosa (igual que la DIGITOXINA) sino ramnosa, la cual es un hexan-tetrol-al (la Digitoxina produce un hexan-triol-al).



Como se verá, la QUERCITRINA posee un núcleo bencénico y un naftalénico; pero si existen glucósidos con núcleo bencénico como la ESCULINA y de núcleo antracéni-



(1) Por ser una costumbre aceptada, suprimimos en las fórmulas modelos, los grupos CH de los núcleos aromáticos.



[ácido ruberítrico]

co como la RUBERITRINA o ACIDO RUBERITRICO, no creemos sea un absurdo químico representar a la DIGITOXINA con un núcleo NAFTALENICO. Además, ésta es la única forma posible, de satisfacer las exigencias de la fórmula bruta, de los grupos químicos conocidos y de las valencias.

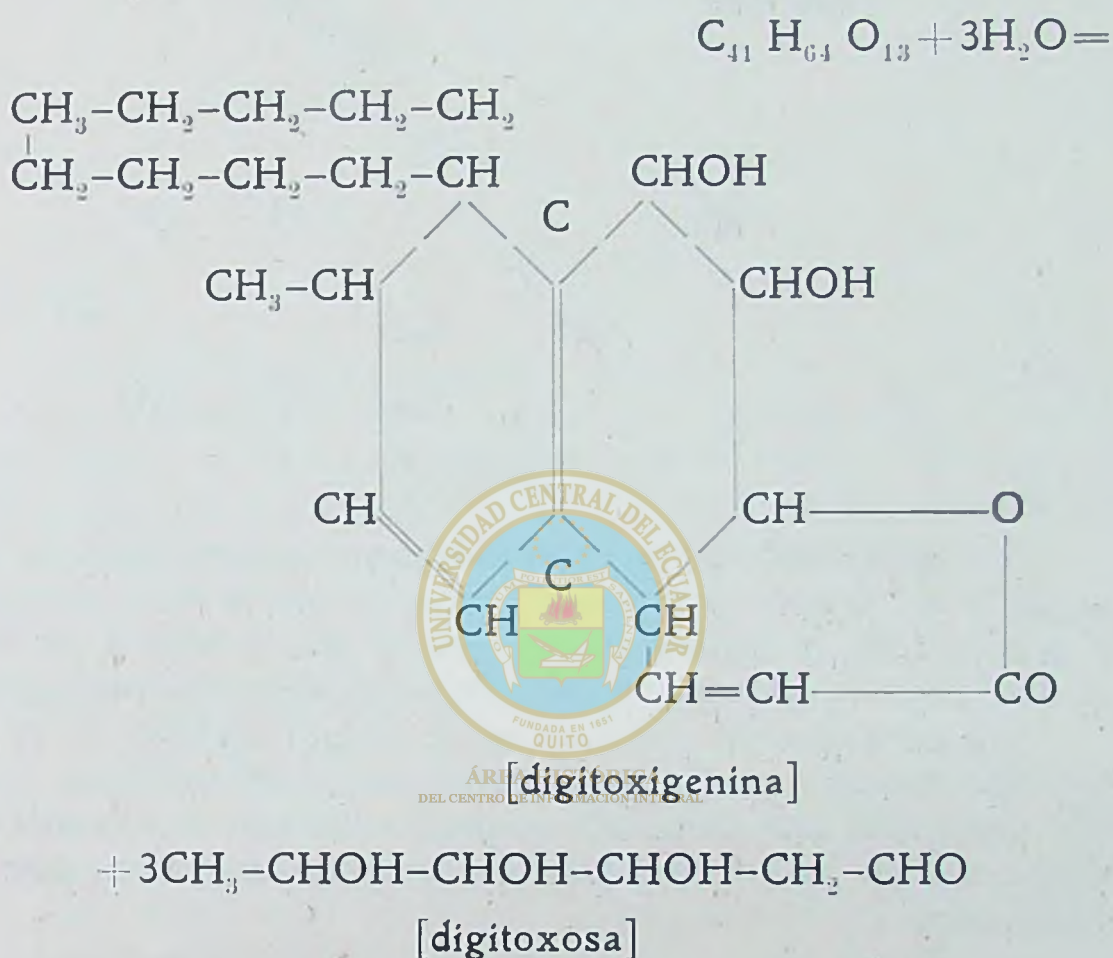
La disposición de los óxidos internos la hemos imitado del ácido Ruberítrico, excepto en el oxígeno que une la cadena lateral con el núcleo naftalénico, pues hemos preferido la disposición de la Quercitrina porque satisface más claramente las valencias.

La colocación del anillo lactónico en las posiciones 3 y 4 hemos deducido de las relativas de la ESCULINA. Los grupos alcohólicos secundarios conservan la disposición del ácido Ruberítrico, lo mismo que el oxidrilo de la posición 7, correspondiente a la 8 del referido ácido.

Conforme a esta fórmula esquemática vamos a indicar las propiedades químicas siguientes:

Tratando la DIGITOXINA con lejía alcohólica de potasa se rompe el anillo lactónico y se forma el ACIDO DIGITOXINICO, según la siguiente ecuación:

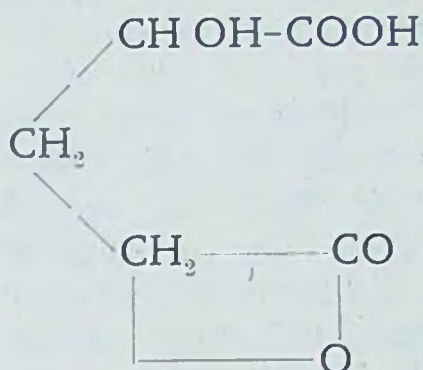
Desdoblando la DIGITOXINA con ácidos diluïdos, se obtiene tres moléculas de DIGITOXOSA ($C_6 H_{12} O_4$) y una de DIGITOXIGENINA ($C_{23} H_{36} O_4$), conforme a la siguiente ecuación:



Windaus dice que la DIGITOXIGENINA tiene un doble enlace, dos grupos alcohólicos secundarios y un anillo lactónico, y como se observará en nuestro esquema, se expresan todas estas funciones.

Deshidratando y reduciendo la DIGITOXIGENINA, se forma una lactona saturada isómera de las obtenidas en iguales condiciones, de todos los glucósidos activos de la Digital, y que responde a la fórmula $C_{23} H_{36} O_2$, según la reacción siguiente:

oxidando este ácido intensamente, se desprende anhídrido carbónico y agua, y se forma la lactona del ácido DIOXI-GLUTARICO, cuya fórmula racional sería la siguiente:



La DIGITOXOSA es propiamente una hexosa por cuanto tiene seis átomos de carbono; sin embargo algunos autores (Bretin) le asignan el nombre de tetrosa, y tetrósido al glucósido donde procede (DIGITOXINA), seguramente por tener tres carbonos alcohólicos y un aldehídico.

Reconocimiento de la Digitoxina.

La DIGITOXINA da las reacciones generales de los glucósidos las cuales hemos indicado anteriormente. No reduce el Licor de Fehling sin previa hidrólisis por ácidos diluídos. Una reacción propia de este cuerpo es la de Lafon, la cual se verifica en la siguiente forma: se disuelve el glucósido en una mezcla formada por partes iguales de ácido sulfúrico y alcohol de 90°, se calienta suavemente y luego se añade una solución bastante diluída de cloruro férrico, obteniendo una coloración verde persistente. Otra reacción característica de este glucósido es la de Keller; para efectuarla se disuelve aproximadamente un miligramo de Digitoxina en cinco centímetros cúbicos de ácido acético cristalizante, luego se añade una disolución de percloruro de hierro al uno por veinte, y después se añade cuidadosamente ácido sulfúrico concentrado de manera que se formen dos zonas distintas; entonces se observa que la capa superior del ácido sulfúrico toma una coloración parda, en tanto que la zona del ácido acético se torna verde azulada, cambiándose después de un tiempo en azul índigo. Esta

reacción ha sido modificada por Kaliani, por cuanto no siempre presenta sus coloraciones características con claridad, sobre todo la coloración azul indigo. Para observar esta coloración con claridad, Kaliani aconseja operar de la manera siguiente: se prepara una mezcla de 100 c.c. de ácido sulfúrico concentrado con 1 c.c. de solución de sulfato férrico al 5%; luego se disuelve el glucósido en una mezcla formada por esta solución férrica, y ácido acético cristalizante (en la proporción de 1 c.c. de solución férrica por 100 c.c. de ácido acético), en un volumen de 5 c.c.; entonces se añade la solución ferrosulfúrica con cuidado de modo que se formen las dos zonas que se ha indicado anteriormente. Con el ácido clorhídrico concentrado, la Digitoxina produce coloración verdosa, y al calentarle suavemente aparece una coloración verde esmeralda. Con el ácido clorhídrico gaseoso produce coloración verde oscura.

Por cuanto la Digitoxina es el glucósido de acción más enérgica sobre el corazón, y al que se atribuye directamente las propiedades terapéuticas de las hojas de Digital; y además, por razón de que la solución oficial del Codex es de Digitoxina, le hemos dado preferencia en nuestro estudio. Al tratar de los demás glucósidos nos contentaremos con expresar las propiedades físicas y químicas que indican los diferentes tratados.

ÁREA HISTÓRICA
DEL CENTRO DE INFORMACIÓN INTEGRAL

GITOXINA ($C_{41} H_{64} O_{14}$)

La Gitoxina es un polvo blanco formado por cristales prismáticos isométricos, inodoros y de sabor amargo. En este glucósido coinciden el punto de fusión con el de descomposición, y éste se encuentra entre los 270 y 290°. La Gitoxina es muy soluble en piridina, insoluble en el agua y poco soluble en los disolventes usuales, tales como alcohol, cloroformo, éter, etc. Tratándole con ácidos diluïdos se desdobla en tres moléculas de DIGITOXOSA (lo mismo que la Digitoxina) y una de GITOXIGENINA. La Gitoxigenina es una trioxi-lactona simple no saturada que corresponde a la fórmula $C_{23} H_{34} O_5$. Tratada con ácido clorhídrico pierde dos moléculas de agua y se transforma en DIANHIDROGITOXIGENINA ($C_{23} H_{30} O_3$) isómera de la DIGITALIGENINA. Si continúa la acción del ácido clorhídrico, la DIANHIDROGITOXIGENINA se transforma en la lactona satu-

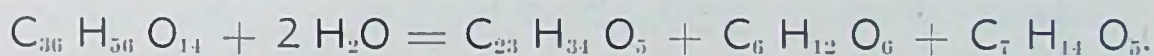
rada $C_{23}H_{36}O_2$, que como sabemos, es el producto final de la hidrólisis de la DIGITOXINA y de todos los glucósidos que tienen acción terapéutica sobre el corazón.

Reconocimiento.

La reacción de Keller da con la Gitoxina una coloración verde azulada en la zona del ácido acético y un anillo de color rojo en el plano de separación de las dos zonas. La solución sulfúrica ferruginosa de Kaliani produce con la Gitoxina una coloración pardo violada. La Gitoxina disuelta en piridina es neutra o inactiva al rayo polarizado.

DIGITALUM VERUM. $C_{36}H_{56}O_{14}$)

Este glucósido se presenta en forma de una masa amorfa blanca, inodora, de sabor ligeramente amargo (casi imperceptible). Se disuelve fácilmente en el alcohol absoluto y es muy poco soluble en el alcohol, el éter y el agua. Si se le agita con este último líquido produce espuma. Su punto de fusión es de 229° . Tratándole con ácido sulfúrico concentrado se disuelve lentamente con coloración amarilla, y adicionándole agua de bromo, aparece una coloración rojo azulada. Con ácido clorhídrico alcohólico se desdobla en DIGITALIGENINA, digitalosa y glucosa conforme a la ecuación que sigue:



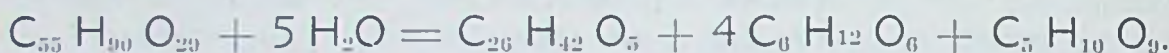
La genina $C_{23}H_{34}O_5$ es solamente teórica por cuanto no es perceptible en la reacción. Se supone que pierde dos moléculas de agua y se transforma en una genina secundaria de fórmula $C_{23}H_{30}O_3$, la cual si es claramente perceptible y tiene una estructura análoga a la DIANHIDROGITOXIGENINA.

Reconocimiento.

Tratando la Digitalina verdadera o Digitalum verum con ácido sulfúrico concentrado se disuelve lentamente con coloración amarilla, y si se adiciona una solución muy diluída de percloruro de hierro o agua de bromo, se produce una coloración rojo azulada después de algunos minutos.

DIGITONINA ($C_{55}H_{90}O_{29}$)

Es un glucósido inactivo sobre el corazón que se encuentra en las semillas de Digital, y se presenta en forma de agujas blancas que funden a 235° . La Digitonina es soluble en el agua y en el alcohol, muy poco en el cloroformo y nada en el éter, benzol y éter de petróleo. Este glucósido pertenece al grupo de las saponinas y como tal produce abundante espuma cuando se le agita con agua. Con los ácidos diluídos se desdobla en DIGITONIGENINA, galactosa y pentosa, según la ecuación siguiente:



Según Windaus la Digitogenina es un alcohol trivalente cuya molécula contiene cuatro anillos hidrogenados, y dos oxígenos combinados a la manera de óxidos. La Digitogenina forma compuestos de adición con las esterinas, especialmente con la Colesterina (esta propiedad también poseen otras saponinas)

Reconocimiento.

La DIGITONINA no produce ninguna coloración con los reactivos de Keller y Kaliani. Calentando 0,01 gramos de substancia con 5 c.c. de ácido clorhídrico concentrado al baño maría durante cinco minutos, se producen coloraciones sucesivas, amarilla, roja y azulada. A la luz polarizada se comporta como cuerpo levógiro.

GITONINA ($C_{49}H_{80}O_{23}$)

La Gitonina pertenece también al grupo de las saponinas, y en sus propiedades se parece mucho a la DIGITONINA. Tiene el aspecto de un polvo blanco amorfo, que funde a los 272° . Es poco soluble en el agua y en el alcohol e insoluble en la acetona y en el éter. Tratada con ácidos diluídos se desdobla en GITONIGENINA, galactosa y pentosa según la siguiente reacción:



Reconocimiento.

Calentando una pequeña porción de GITONINA con ácido clorhídrico concentrado, toma una coloración rosada;

si se persiste en el calentamiento hasta la ebullición, se torna el color rosado en rojo vinoso, y si se agita se forma una espuma amarillo verdosa.

Hemos indicado hasta aquí los conceptos más recientes que nos ha sido posible recoger de las obras de consulta. Si comparamos éstos con los aceptados antes de Cloetta (época anterior a 1920), veremos que hay enorme diferencia. Antes de Cloetta y Kaliani existía a este respecto una verdadera confusión de ideas; pues cada investigador daba nombres específicos a los glucósidos por él extraídos, cometiendo muchas veces lamentables errores, por dar al mismo glucósido distintos nombres específicos.

Vamos a tratar de aclarar en lo que nos sea posible este verdadero laberinto de conceptos, para lo cual haremos una comparación entre los diferentes trabajos que han influido en el conocimiento preciso de los glucósidos de la Digital comenzando desde Schmiedeberg.

Este sabio aisló cinco glucósidos: la DIGITOXINA y la DIGITALINA CRISTALIZADA de Nativelle, de las hojas, y la DIGITALINA, DIGITALEINA y DIGITONINA de las semillas. Si comparamos estos glucósidos con los que se conocen actualmente, vemos que de la mayor parte ha sido corroborada su existencia mediante posteriores experiencias. De este modo, la DIGITOXINA, la DIGITALINA (Digitalum verum), y la DIGITONINA, se extraen actualmente en mayor o menor grado de pureza, siendo perfectamente conocidos sus productos de desdoblamiento. Respecto a la Digitalina cristalizada de Nativelle que Schmiedeberg la aisló como un compuesto distinto, se ha probado en la actualidad que es la misma DIGITOXINA impurificada con GITOXINA. Tal vez hubo razón de asignarle carácter específico a la Digitalina cristalizada de Nativelle, porque extraída según el procedimiento de su descubridor, presenta una forma cristalina característica; pero su comportamiento químico frente a los diferentes reactivos, en nada difiere de la DIGITOXINA. Además hemos comprobado personalmente que la forma cristalizada de la Digitalina Nativelle, es fácil transformarle en la forma pulverulenta de la Digi-toxina o viceversa, según que la cristalización se haga en una mezcla de alcohol metílico y cloroformo (forma cristalizada de Nativelle) o precipitándole de sus disoluciones clorofórmicas con éter de petróleo (forma pulverulenta).

Como se recordará, Houdas y Kaliani probaron que la DIGITALEINA y la DIGITONINA de Schmiedeberg, correspondían a la misma especie química, es decir a DIGITONINA. Según esto podemos concluir que Schmiedeberg aisló en realidad tres glucósidos: DIGITOXINA, DIGITALUM VERUM y DIGITONINA. (el nombre de Digitalum verum lo dió propiamente Kaliani que también la extrajo más tarde). En cuanto a los productos de descomposición podemos decir que ninguno de los que aisló Schmiedeberg, corresponden a la realidad según los experimentos actuales.

Kraff en 1912 descubrió la GITALINA y la GITINA; por las consideraciones que hacemos a continuación, suponemos que la GITALINA no es otra que la GITOXINA de Windaus. En efecto, ambos compuestos se extraen de las hojas, ambos producen por hidrólisis el mismo hidrocarbónado, (digitoxosa), y ambos producen por deshidratación anhidro-compuestos análogos. La GITOXIGENINA de Windaus pierde dos moléculas de agua y da la DIANHIDROGITOXIGENINA, y la GITALINA de Kraff perdiendo agua (una molécula?) ANHIDROGITALINA (la cual si se continúa la hidrólisis (otra molécula de agua?) se transforma en ANHIDROGITALIGENINA y DIGITOXOSA. Creemos que la diferencia de los anhidro-compuestos de la GITOXINA y la GITALINA se debe sólo a una intensidad diferente de acción hidrolítica.

La GITINA de Kraff se desdobla en una genina muy parecida a la DIGITONINA y en galactosa; pero de los trabajos de Windaus se deduce que la galactosa es un producto de descomposición de los glucósidos existentes en las semillas, y además la GITINA no ha sido otra vez aislada por ningún investigador, por lo cual su existencia es dudosa.

En resumen podemos decir que Kraff descubrió un glucósido cuyos caracteres concuerdan en gran parte con la GITOXINA de Windaus. En 1913 descubrió Windaus la GITONINA que posteriormente ha sido aislada por otros investigadores.

Para terminar indicaremos que, según los últimos estudios se ha probado la existencia de cinco glucósidos perfectamente definidos: DIGITOXINA, GOTOXINA, DIGITALUM VERUM (activos sobre el sistema circulatorio), y DIGITONINA y GITONINA (inactivos).

CAPITULO V

Extracción de los glucósidos de la Digital

Antes de comenzar nuestras experiencias de extracción de los principios activos de la Digitalis purpúrea, hemos hecho ensayos preliminares, tendientes a escoger el material de mejor calidad para nuestros trabajos. La decisión de operar exclusivamente sobre material recogido en los terrenos de "La Liria", obedeció no sólo a la exuberancia de vegetación allí observada, sino a la cantidad de glucósidos que esas plantas indicaban tener, después de ensayos previos que en ellas verificamos. Para esto utilizamos dos métodos: el microquímico de Baylat y el de precipitación de Shneider. Siguiendo el primer método hicimos un corte transversal del limbo de la hoja y le impregnamos con una solución formada por una mezcla de solución de ácido pícrico al 1% y una gota de solución de sosa cáustica al 10%. Después de tres minutos aparecieron en el fondo amarillo de la preparación micrográfica unas manchitas pardo rojizas, correspondientes a los grupos celulares y a las células aisladas sintetizadoras de glucósidos. Este ensayo nos proporcionó el importante dato de que en las plantas desarrolladas en "La Liria" se encuentran en abundancia las células formadoras de glucósidos.

Siguiendo el método de precipitación de Shneider, hicimos una infusión de tres gramos de polvo de hojas en 200 c.c. de agua destilada, y le mezclamos con una solución al 5% de ferrocianuro de potasio, obteniendo un enturbiamiento pronunciado. Tanto el método de Baylat como el de Shneider aplicamos a las plantas recogidas en tres puntos correspondientes a otros tantos climas de la provincia del

Tungurahua, encontrando que las plantas de mejor calidad eran las de "La Liria".

En cuanto a las normas de la recolección de las hojas, nos hemos sujetado en parte a las que prescribe el Codex desde el año de 1909, y en parte a las que han demandado las circunstancias del medio.

El Codex y la Convención Internacional prescriben que la recolección de las hojas se haga de una planta "que aún no esté en florecencia o que ésta empiece, lo que sucede cuando tiene dos años". Entre nosotros la planta originada por germinación de semillas florece también a los dos años; pero las nuevas rosetas originadas por desarrollo del tallo rizomático, florecen cada año; es decir, se desarrolla una roseta, florece y se seca, al siguiente año hay un nuevo florecimiento de otra roseta de la misma planta, y así sucesivamente, en los demás años.

Se recomienda además que la recolección se haga en el mes de abril, por cuanto las plantas florecen en el mes de junio; pero en "La Liria" hemos recogido flores muy desarrolladas en los meses de agosto y febrero, por lo cual la recolección la hemos hecho en el mes de junio o en el mes de diciembre. Para no sufrir equivocaciones hemos recogido las hojas de las plantas cuyo TALLO FLORAL está en vías de desarrollo pero que no haya florecido todavía, pues por experiencia personal hemos comprobado que las plantas floridas son muy pobres en glucósidos, (la comprobación hemos hecho mediante la reacción de Shneider). El Codex también prescribe "que se utilicen plantas salvajes, por ser el doble más ricas que las cultivadas, y de preferencia, las que crecen en lugares secos". Pero las experiencias actuales sobre este punto nos enseñan algo muy diferente; así en la Revista de Química e Industria (1935), recomiendan el cultivo metódico de la *Digitalis purpúrea* por cuanto el porcentaje en principios activos sube considerablemente; y en cuanto a las condiciones de humedad, Chevalier, uno de los más notables experimentadores, indica el terreno húmedo como uno de los mejores para el buen desarrollo de la *Digitalis purpúrea*. Nuestra planta crece en lugares húmedos y no es cultivada, de manera que la prescripción del Codex se ha cumplido sólo en parte.

Las hojas las hemos dejado secar espontáneamente en un lugar oscuro y seco. En un clima de tan poca humedad

como el de Ambato, la operación ha sido fácil y rápida, demorándose de cinco a seis días. Para la conservación hemos usado frascos oscuros de tapa esmerilada; pero como el polvo ha sido sometido a la extracción en breve tiempo no hemos creído necesario estabilizarle con vapores de alcohol.

La pulverización no la hemos efectuado en ningún aparato mecánico, sino que hemos estrujado insistentemente las hojas en las manos y hemos cernido en tamiz N° VI; volviendo a estrujar y cernir y repitiendo esta operación algunas veces, hemos obtenido un polvo fino, constituido en su mayor parte por parenquima clorofílico, quedando como residuo en el tamiz restos de nervaduras.

EXTRACCION DE LA DIGITOXINA.

Los métodos para la extracción de los principios medicamentosos de la Digital son varios, y corresponden a igual número de investigadores, que en el afán de obtener el producto cada vez más puro, han introducido las modificaciones necesarias para cumplir su objeto. Sin embargo, el plan fundamental es el mismo en todos los casos y sólo hay diferencias de detalle. Respecto a la DIGITOXINA todos los métodos se reducen a seis operaciones fundamentales que son las siguientes:

Primera.—Lavado del polvo de las hojas por dos veces con agua fría, con el objeto de despojarle de las sustancias solubles en ella, tales como sales y ácidos orgánicos, secreciones de los pelos glandulosos, materias colorantes, etc. Además sin ser disueltas son arrastradas muchas sustancias en estado coloidal, tales como saponinas, clorofila, resinas grasas, etc. Si el agotamiento se hace con un exceso de agua y más de dos veces, sale también gran parte de la GITOXINA contenida en el polvo, conforme hemos de ver cuando tratemos de la extracción de este glucósido.

Segunda.—Agotamiento con alcohol de 50 a 60%, en el cual se disuelve íntegramente toda la DIGITOXINA y demás sustancias solubles en alcohol, como son la clorofila, resinas, grasas, etc.

Tercera.—Defecación de las soluciones alcohólicas con acetato o subacetato de plomo, con el objeto de despojarlas de las impurezas que todavía restan; así, las grasas se saponifican formando jabones insolubles, igualmente los taninos y los ácidos orgánicos forman tanatos, malatos, antirrinatos, etc., de plomo, y las gomas, albúminas y saponinas, precipitan en forma de compuestos insolubles.

Cuarta.—Desalojamiento de la sal de plomo usada en la operación anterior por medio de ácido sulfhídrico, sulfato, fosfato o bicarbonato sódicos, con la consiguiente formación de las sales insolubles, sulfuro, sulfato, fosfato y carbonato de plomo.

Quinta.—Extracción de las soluciones alcohólicas con otro disolvente de distinta densidad, de modo que se formen dos zonas y el glucósido vaya disolviéndose lentamente y pasando al nuevo disolvente puro.

Sexta.—Purificación por cristalizaciones sucesivas en diversos disolventes, y precipitaciones en líquidos no disolventes. En algunos métodos se usa el carbón animal como decolorante.

Para verificar nuestro trabajo de extracción hemos estudiado con la detención requerida, los métodos de Keller y Frome de Kaliani y de Cloetta, decidiéndonos a usar este último por estar más de acuerdo con nuestros medios de trabajo. En resumen el método de Cloetta es el siguiente:

Se lava dos veces con agua fría el polvo desecado y después de prensarlo cuidadosamente, se agota con alcohol de 50 a 60%. Las soluciones alcohólicas se purifican con acetato de plomo, y despoja del exceso de plomo con ácido sulfhídrico. Luego se agita con éter las soluciones de color amarillo claro, y los líquidos etéreos se evaporan a sequedad. El residuo se disuelve en cloroformo y luego se precipita con éter de petróleo. Después se disuelve este precipitado en alcohol y se precipita con acetato de plomo y amoníaco. Luego se extrae el líquido con cloroformo y la solución clorofórmica se evapora a sequedad. El residuo se disuelve en alcohol de 40% y se deja cristalizar. Los cristales obtenidos se disuelven luego en cloroformo, se precipita con éter y se vuelve a recrystalizar en alcohol.

Como se ve, en este método no se especifican las cantidades precisas de alcohol, cloroformo, acetato de plomo, etc., que deben usarse, por lo cual nosotros hemos tomado como punto de referencia las cantidades usadas en el procedimiento de dosificación de Keller y Frome, que desde luego que se usan para una dosificación son muy precisas.

De este modo la aplicación del método de Cloetta la hemos efectuado en la forma que sigue:

Hemos tomado 50 gramos de polvo y hemos desecado en la estufa, teniendo cuidado de que la temperatura no pase de 60° , por cuanto a 65° ya comienza la descomposición de los glucósidos de la Digital.

El lavado del polvo hemos efectuado del siguiente modo: colocados los 50 gramos de polvo en un percolador de 1 litro de capacidad hemos añadido el doble de su volumen de agua y después de agitar durante unos cinco minutos hemos dejado en reposo durante media hora hasta clarificación del líquido. Esta clarificación no se efectúa definitivamente, pues el líquido queda algo turbio, pero el polvo se sedimenta completamente. El líquido que sobrenada es de color verde aceituna oscuro, de sabor amargo, de olor aromático característico (a panela), y de reacción neutra. ((En una ocasión que trabajamos con un polvo importado, al parecer muy guardado, obtuvimos una reacción francamente ácida)).

La cantidad de agua usada en la operación fué de 200 gramos, pues el volumen de los 50 gramos de polvo es prácticamente de 100 c.c. El polvo absorbe más o menos 100 c.c. de agua, de manera que la cantidad de líquido que queda sobre el polvo después de la sedimentación es de 100 c.c. (Hay que advertir que el percolador estaba ya dispuesto como para efectuar la lixiviación, es decir, con su criba de porcelana, un poco de algodón y munición de vidrio, y que la agitación del polvo durante los cinco minutos indicados, se hizo cuidadosamente con una varilla de vidrio). La separación del agua la hemos hecho mediante una pipeta; el polvo humedecido restante le hemos exprimido con una varilla de porcelana, después de abrir la llave del percolador, con el objeto de despojarle en lo posible del agua.

Las gotas que caen del percolador al exprimir el líquido son de color pardo oscuro y muy amargas. No será por demás advertir que la operación que hemos efectuado no

tiene nada que ver con una verdadera lixiviación, pues no se trata sino de un lavado del polvo; hemos utilizado el lixivador por cuanto la operación subsiguiente se reduce a una lixiviación propiamente dicha, y hemos evitado así el traslado molesto del polvo, desde otro recipiente al percolador.

Terminada así la primera operación, pasamos a efectuar el agotamiento con alcohol de 60°. Como se trata de una verdadera lixiviación, nos sujetamos a todas las reglas indicadas para estos casos. Cerrando la llave del lixivador comenzamos a añadir lentamente el alcohol, esperando que cada porción sea absorbida primeramente por el polvo. Esta absorción se hace rápidamente, por cuanto el polvo ya estaba humedecido. El método indica que se use alcohol de 50 a 60%, y nosotros hemos escogido el de 60 teniendo en cuenta que la humedad contenida en el polvo haría bajar el grado alcohólico en regular proporción. Cuando el polvo ya estaba saturado de la solución alcohólica, hemos agregado un exceso de alcohol de modo que quede sobre el polvo una cantidad de líquido de unos tres centímetros de altura.

Según las reglas generales de la lixiviación se debe dejar en maceración cuatro días más o menos según los casos; pero como no hemos dispuesto de normas específicas para este caso, hemos tomado en cuenta, que en el procedimiento de **dosificación** de Digitoxina de Keller y Frome, se macera el polvo sólo durante tres horas, por lo cual hemos mantenido macerándose el polvo en el lixivador durante 24 horas; tiempo éste, que nos ha parecido suficiente para que se disuelva toda la Digitoxina. Abierta la llave del lixivador hemos dejado caer 20 gotas por minuto, teniendo cuidado de mantener la altura del líquido correspondiente, sobre el polvo, y gastando 500 c.c. de alcohol. El agotamiento se ha concluido en 72 horas, tiempo que concuerda con el aconsejado en las reglas generales de la lixiviación, las cuales indican que la cantidad escurrida en las 24 horas debe ser una vez y media el peso del polvo usado. Las primeras porciones del líquido alcohólico son de color pardo oscuro y muy densas, después las gotas van aclarándose poco a poco hasta quedar casi incoloras al terminarse la extracción.

Los líquidos alcohólicos tienen sabor amargo intenso y olor aromático a jugo de caña en vías de fermentación (guarapo); la reacción de estos líquidos es neutra.

Para la tercera operación hemos usado una solución de acetato de plomo, compuesta por 12,50 gramos de acetato disuelto en 50 centímetros cúbicos de agua destilada (esta solución se usa en el procedimiento de Nativelle). Inmediatamente después de agregada la solución plúmbica, se forma un precipitado amarillo canario, denso y excesivamente fino. Dejando en reposo el sistema hasta sedimentación, el precipitado va obscureciéndose lentamente y el líquido que sobrenada tiene un color anaranjado oscuro, sabor dulzaino amargo y reacción ácida al papel de tornasol, siendo completamente transparente. Luego hemos verificado la filtración usando doble filtro por cuanto el precipitado es tan fino que pasa por un solo filtro. El precipitado que queda sobre el filtro se obscurece rápidamente tornándose pardo verdoso con manchas negruzcas.

Trasladando el líquido filtrado a una medida de 1 litro de capacidad damos principio a la cuarta operación, para lo cual hacemos burbujear el ácido sulfhídrico durante media hora. El precipitado obtenido es al principio de color café rojizo, y conforme pasa el tiempo se cambia en negro, cubriéndose luego de una capa plateada brillante, en las partes que se desecan a los bordes de la medida. Pasada la media hora filtramos, y con el objeto de cerciorarnos de la completa precipitación hacemos burbujear nuevamente el ácido sulfhídrico obteniendo nuevamente abundante precipitado. Por este motivo mantenemos la acción del ácido sulfhídrico durante otra media hora; filtramos, y hacemos nuevamente la prueba de precipitación en el líquido filtrado, sin obtener en esta ocasión ningún precipitado. El líquido filtrado tiene una coloración amarillo clara y es completamente transparente, olor aromático, débilmente a ácido acético, reacción ácida, sabor amargo.

Para verificar la quinta operación, trasladamos el líquido claro a un embudo de separación de 500 c.c. de capacidad, y añadimos la primera porción de éter (50 c.c.), girando luego suavemente el embudo inclinado, para que se verifique la extracción sin emulsionarse el éter en el líquido pobremente alcohólico. Después de un cuarto de hora hemos dejado en reposo colocando el embudo en posi-

ción completamente vertical, hasta observar completa transparencia de los dos líquidos superpuestos.

La separación de los líquidos etéreos, ha sido quizá la parte más difícil de nuestro trabajo. Al principio intentamos hacerlo con una pipeta, pero la lentitud de absorción requerida para separar sólo el éter, fué impedida por la acción del éter sobre la boca, que provoca salivación y obliga a suspender la operación. Además el éter se enturbiaba después de pocos momentos. Ensayamos luego un sifón valiéndonos de una manguera muy delgada de caucho; pero en la superficie de la manguera se quedaba impregnada buena cantidad de residuo de evaporación del éter, aparte de que después de pocos momentos comenzaba a pasar el líquido hidro-alcohólico. Al fin decidimos abrir la llave del embudo para que salga el líquido hidro-alcohólico el cual fué recibido en un recipiente separado, después de lo cual recibimos el éter en un balón. Nuevamente pusimos el líquido hidro-alcohólico en el embudo, luego añadimos otros 50 c.c. de éter, y repetimos la operación gastando 250 c.c. de éter, 50 en cada vez.

Los líquidos etéreos eran completamente transparentes y coloreados tenuemente de amarillo verdoso; al mismo tiempo el líquido hidro-alcohólico iba perdiendo color después de cada extracción.

La destilación de los líquidos etéreos la verificamos con todas las precauciones para evitar la inflamación. Utilizamos un baño maría calentado con lámpara de alcohol, recibiendo el éter en frasco cerrado, más bien dicho en un balón dotado de un tubo lateral, en el cual conectamos una manguera que desemboca en el sifón del lavabo. Conforme iba disminuyendo el volumen del éter, éste se coloreaba de amarillo, luego anaranjado, y por último, cuando ya se redujo a unos 5 c.c., presentaba un color pardo rojizo.

El residuo etéreo presenta un aspecto oleoso, espeso, de color pardo oscuro; olor a ácido acético y a manteca rancia. Debido seguramente a nuestra defectuosa manera (si cabe decir) de separar los líquidos etéreos del hidro-alcohólico, había pasado a estos últimos apreciable cantidad de agua acidulada con ácido acético, la cual apareció en los últimos estados de la destilación del éter. Con el objeto de desalojar toda el agua evaporamos a sequedad en un baño maría; pero el olor del ácido acético era excesivamente in-

tenso, por lo cual ya adivinamos el resultado, o más bien el fracaso que íbamos a obtener. Lógicamente, la pequeña cantidad de digitoxina extraída, en contacto prolongado y a la ebullición tenía que desdoblarse y destruirse en presencia de una solución acética. En efecto, siguiendo las indicaciones del método disolvimos el residuo etéreo en cloroformo (se disolvió sólo una parte) y al precipitarle con éter de petróleo obtuvimos una masa amorfa, parda, que sometida a los posteriores tratamientos no cambió de estado y no presentó en ningún momento las características de la DIGITOXINA.

Como era natural, tuvimos que repetir el trabajo, siguiendo exactamente el mismo procedimiento indicado, hasta la cuarta operación.

Tomando en cuenta que la Digitoxina es más soluble en el cloroformo que en el éter, y que el cambio de disolvente (cloroformo en vez de alcohol) no podía influir mayormente en el método seguido (esto no aseguramos categóricamente, pues bien podemos estar equivocados) verificamos el agotamiento del líquido hidro-alcohólico con cloroformo en vez de éter. De esta suerte la separación de los líquidos se hizo fácilmente, pues el cloroformo por su densidad ocupó la parte inferior del embudo, con lo cual sólo abriendo la llave se conseguía la separación.

El residuo de destilación del cloroformo era de color pardo rojizo, homogéneo, sin olor a ácido acético (como era en el caso anterior), sino aromático intenso a panela.

Para comenzar la sexta operación, disolvimos el residuo clorofórmico en tres c.c. de cloroformo, y luego añadimos 50 c.c. de éter de petróleo, obteniendo un precipitado blanco cristalino, abundante. Después de sedimentación y clarificación completa del líquido, filtramos y dejamos secar por evaporación espontánea del éter de petróleo, después de lo cual, el precipitado pulverulento, tomó ligera coloración amarillenta. Luego añadimos 10 c.c. de alcohol absoluto, y a la solución obtenida le tratamos con tres c.c. de solución de acetato de plomo al 25% y dos c.c. de amoníaco al diez por ciento, (estas cantidades se especifican en el procedimiento de Nativelle), trasladando la mezcla a un embudo de separación de 100 c.c., por no disponer de

otro más pequeño. Aquí hemos añadido 20 c.c. de cloroformo, y después de agitar pausadamente y dejar media hora en reposo, hemos separado el cloroformo gota a gota recibéndolo en un vasito de tapa esmerilada de 50 c.c. de capacidad. Evaporada en baño maría la solución clorofórmica, hemos obtenido un residuo formado por cristales impregnados de una sustancia oleosa ligeramente amarillenta. Luego hemos disuelto este residuo en 5 c.c. de alcohol de 40%, trasladando la solución a un vasito de precipitación pequeño dejando cristalizar espontáneamente. El aspecto del polvo cristalizado (por ser los cristales muy pequeños no se notan a simple vista, de modo que su conjunto presenta la forma pulverulenta), es blanco cremoso, mucho más claro que en los primeros estados de purificación. Hemos trasladado la solución de 5 c.c. a otro recipiente, por cuanto en las paredes del vaso utilizado anteriormente se depositó una resina oleosa en forma de una fina película.

Prosiguiendo la purificación hemos vuelto a disolver el polvo cristalino en tres c.c. de cloroformo y hemos precipitado con éter; filtrando este precipitado y disolviéndolo en el mismo filtro con 10 c.c. de alcohol de 90%, hemos hecho cristalizar por última vez obteniendo el polvo que presentamos a la H. Comisión informadora de la Tesis.

Por no tratarse de una dosificación no hemos tomado las precauciones del caso. Sin embargo, para darnos cuenta de la cantidad de Digitoxina extraída la hemos pesado obteniendo como resultado, la cantidad de 0,0942 gramos, equivalentes a 0,1884%.

La Digitoxina que hemos obtenido, naturalmente no es pura, como podrá observarse; pues conserva todavía un ligero olor aromático y no es completamente blanca. Hemos puesto todo interés y decisión en orden a cumplir en lo que nos ha sido posible, las indicaciones del método de purificación y el no haber conseguido un resultado plenamente satisfactorio, atribuimos, en primer lugar a nuestra falta de preparación para esta clase de trabajos, y en segundo lugar a la naturaleza misma de la planta estudiada.

Con el objeto de salvar en parte nuestra responsabilidad en este punto, vamos a trasladar literalmente un concepto de un notable investigador de estos últimos tiempos (1933) sobre la pureza de los glucósidos extraídos de las hojas de *Digitalis purpúrea*.

El profesor Dohrn, se expresa así:

"Las hojas de Digital, como muchas otras drogas, fueron objeto, desde hace mucho tiempo, de ensayos orientados a substituir las drogas de composición variable por sustancias activas, a ser posible cristalizadas, y susceptibles de dosificación exacta. Estos estudios dieron principio con la digitalina cristalizada Nativelle, pero a pesar de los numerosos trabajos de Kaliani, Schmiedeberg, Kraff, Cloetta y otros, no han tenido hasta la fecha completo éxito, YA QUE BIEN EXAMINADAS TODAS LAS SUBSTANCIAS DE ESTA NATURALEZA PREPARADAS HASTA AHORA, HAN RESULTADO SER MEZCLAS MAS O MENOS IMPURAS de cuerpos que ejercen acción sobre el corazón". (Enciclopedia Ullmann, letra D, pág. 643).

Además, en un número de la Revista de Química e Industria (1935), se habla de la tendencia a abandonar la digitalis purpúrea como materia prima de la extracción de Digitoxina, substituyéndola por la Digitalis lanatta de Armenia, por ser esta última más rica en glucósidos, y sobre todo porque tiene menos cantidad de impurezas, las cuales abundan en la Digitalis purpúrea dificultando enormemente la extracción de los glucósidos.

La Digitoxina extraída por nosotros, responde a todas las reacciones anotadas en otro lugar.

El glucósido que impurifica a la Digitoxina comercial, es la Gitoxina que también se extrae de las hojas. A esta circunstancia atribuimos el hecho de que al efectuar la reacción de Keller en nuestro producto aparezcan también las coloraciones propias de la Gitoxina en los primeros momentos de la reacción.

Hemos ensayado también la hidrolisis con ácido clorhídrico, para obtener el desdoblamiento; pero no hemos logrado aislar la genina, porque para esto se necesita disponer por lo menos de un gramo de sustancia. El desdoblamiento ha sido comprobado mediante la adición de Licor de Fehling el cual se ha reducido dando la coloración rojiza característica. La reducción del Licor de Fehling se debe, pues, a la presencia de la digitoxosa, que como todo monosacárido es reductor. Como no hemos logrado conocer los caracteres de la osazona de la digitoxosa, no hemos podido caracterizarle mediante la reacción de la fenilhidrazina de Fisher. Sin embargo, verificamos la reacción de la

fenilhidrazina, previa neutralización del líquido con unas gotas de solución diluída de sosa cáustica (por cuanto la presencia de ácidos minerales libres impide la reacción); obteniendo una coloración amarillenta y un ligero enturbiamiento. Este enturbiamiento no podíamos atribuirlo, si a la formación de fenihidrazona o a la formación de la osazona. Para cerciorarnos de qué se trataba, añadimos al sistema de experiencia unas gotas de ácido sulfúrico y percloruro de hierro, obteniendo una coloración rojiza, lo cual indicaba que seguramente se había formado una hidrazona. Además, si nos fijamos en la estructura de la digitoxosa, vemos que es difícil que se forme la osazona, por cuanto para formarse estos compuestos, reacciona la segunda molécula de fenilhidrazina con el grupo alcohólico contiguo al aldehídico; pero como en la digitoxosa el grupo inmediato al aldehído es CH_2 , nos parece difícil que se forme la osazona.

Extracción de la Digitoxina según el procedimiento Nativelle.

Para este trabajo hemos tomado 50 gramos de polvo y le hemos desecado en la estufa en las condiciones ya conocidas. Advertiremos que en todos los trabajos de extracción tomamos 50 gramos (cantidad pequeña relativamente), por cuanto las hojas frescas rinden sólo un 15% de polvo, y dada la cantidad de plantas que hemos dispuesto para nuestras experiencias (treinta más o menos), no nos ha sido posible obtener mayor cantidad de polvo.

Siguiendo el procedimiento de Nativelle, hemos colocado el polvo en el lixiviador y le hemos humedecido con un volumen igual de una solución de acetato de plomo al 25%. La masa resultante la hemos dejado en reposo durante 24 horas hasta completa imbibición del polvo. Luego verificamos el agotamiento con 500 c.c. de alcohol de 50%. Las primeras gotas del líquido tienen un color café oscuro y sabor intensamente amargo. La reacción del líquido es francamente ácida (seguramente esta acidez no alcanza a descomponer los glucósidos, cuando el método indica proceder así); y el olor es aromático a panela.

El agotamiento ha demorado tres días haciendo pasar más o menos 20 gotas por minuto. Luego hemos mezclado

el líquido alcohólico con una solución saturada de 8 gramos de bicarbonato de sodio, obteniendo abundante precipitado amarillo anaranjado.

El líquido después de sedimentación del precipitado, tiene una coloración verde aceituna claro, sabor amargo y reacción neutra. Después de completa clarificación hemos filtrado y le hemos privado de alcohol por destilación a fuego lento, concentrando luego a 100 c.c. Estos 100 c.c. diluimos luego con un volumen igual de agua destilada obteniendo nuevamente un precipitado verdoso fino. La precipitación se debe, naturalmente, a que todas las sustancias que se disolvieron en el alcohol de extracción (entre ellas la Digitoxina) vuelven a precipitar en el agua (en donde no se disuelven) por haberse separado todo el alcohol en la destilación. Después de la clarificación separamos el líquido acuoso por decantación, el cual tiene un color café oscuro y sabor amargo; en tanto que la masa verdosa precipitada le exprimimos cuidadosamente en el mismo recipiente en que se encontraba, separando las últimas porciones de líquido acuoso. Esta masa verdosa le suspendimos, o más bien dispersamos cuidadosamente en 50 gramos de alcohol de 80%, con el objeto de que se vuelvan a disolver los glucósidos. (Esta última operación del procedimiento Nativelle nos parece defectuosa, por cuanto, a pesar de que la Digitoxina es prácticamente insoluble en el agua, no lo es absolutamente; prueba de ello es que cuando se agota con agua las hojas se encuentra en ella gran cantidad de Digitoxina, conforme hemos de ver cuando se trate de la extracción de la Gitoxina. Por consiguiente, en el líquido acuoso separado de la masa verdosa que contiene la Digitoxina, tiene que irse gran parte de la Digitoxina. Para corroborar esto, basta fijarse en la diferencia de porcentajes de principio activo, obtenidos por los procedimientos de Nativelle y Keller y Fromme; en este último (que es de dosificación desde luego) el porcentaje es de 0,26 a 0,30%, y en el de Nativelle apenas avanza 0,10%.

Siguiendo el método, calentamos la suspensión alcohólica en baño maría hasta ebullición y le añadimos luego una solución saturada de 0.50 gramos de acetato de plomo, obteniendo un precipitado amarillo canario; filtrado el líquido alcohólico después de haberlo hecho enfriar, le hemos sometido a la ebullición con 2,50 gramos de carbón

animal pulverizado; luego privamos de alcohol por calentamiento al baño maría, y por fin evaporamos a sequedad, obteniendo una masa negra opaca. Triturando esta masa hemos agotado con cloroformo en un embudo de separación, gastando 100 c.c. de cloroformo. Los líquidos clorofórmicos tienen una coloración amarillenta clara. Estos líquidos trasladamos a un balón de Soghlet y efectuamos la destilación y no por sus cualidades especiales de renovar los líquidos condensados). El residuo clorofórmico tiene apariencia oleosa y color café rojizo y olor a panela y manteca rancia. Colocado en un desecador durante media hora comienzan a asomar en medio de la masa opaca unos cristales en forma de agujas, que corresponden a la Digitoxina extraída.

La purificación hemos comenzado disolviendo el residuo en 10 c.c. de alcohol de 90%, añadiendo luego a esta solución 0,10 de acetato de plomo disuelto en la menor cantidad posible de agua. Luego hemos añadido 0,50 gramos de carbón animal granulado, haciendo hervir durante diez minutos. La solución alcohólica al principio coloreada en amarillo se descolora casi completamente. Luego filtramos y lavamos el filtro con alcohol de 90%, y dejando cristalizar espontáneamente, obtenemos la Digitoxina en relativo estado de pureza.

Los sucesivos tratamientos de purificación, con sus respectivas filtraciones, precipitaciones y disoluciones, van restando poco a poco la cantidad de Digitoxina (impura desde luego) obtenida al principio. Con el objeto de obtener la digitoxina lo más pura posible, proseguimos el tratamiento indicado en el método que estamos siguiendo. Para esto, disolvimos la sustancia nuevamente en 10 c.c. de alcohol de 90%, añadiendo después 5 c.c. de éter y 15 c.c. de agua. Después de agitar fuertemente en un embudo de separación y dejar en reposo durante un cuarto de hora, se forman dos capas, la superior coloreada de amarillo claro y la inferior incolora. Como en esta última se encuentra disuelta la Digitoxina, abrimos la llave del embudo y separamos la solución alcohólica, la cual evaporamos a sequedad obteniendo los cristales más blancos. Luego hemos disuelto la sustancia en 10 c.c. de cloroformo y después de filtrarle le hemos evaporado a sequedad. El residuo hemos vuelto a disolver en 10 c.c. de alcohol de 90% y le hemos

añadido 0,25 gramos de carbón animal granulado hirviéndole durante diez minutos. Filtrada la solución hemos dejado evaporar espontáneamente. El último tratamiento de purificación le hemos hecho disolviendo la substancia en cuatro c.c. de alcohol de 90% y trasladándole a un vasito tarado; hemos añadido 2 c.c. de éter y cuatro de agua destilada y hemos abandonado a evaporación espontánea, obteniendo los cristales que presentamos. Estos cristales pesan 0,0484, o sea 0,0968%.

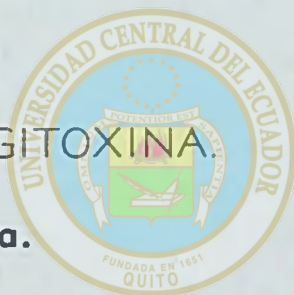
Como se observará en la muestra presentada, los cristales no están todavía completamente puros; pero si proseguíamos el tratamiento de purificación corríamos el riesgo de quedarnos sin substancia, por lo cual suspendimos el trabajo, completando, desde luego el método indicado por Nativelle.

Esta substancia dió todas las reacciones correspondientes a la Digitoxina.

EXTRACCION DE LA GITOXINA

Procedimiento de Cloetta.

Tomando 50 gramos de polvo hemos agotado en un aparato de lixiviación, con el triple de su volumen (150 c.c.) de agua destilada, dos veces consecutivas. El color de las aguas extractivas es pardo oscuro, de sabor amargo y el olor característico que ya conocemos. La reacción del líquido es tenuemente alcalina. Los líquidos acuosos reunidos hemos tratado luego con una solución acuosa de acetato de plomo al 25%, gastando 50 c.c. de esta solución. Se ha obtenido inmediatamente un precipitado abundante de color caoba, que poco a poco va transformándose en café oscuro. Dejando sedimentar, el líquido que sobrenada es de color café rojizo, olor aromático y reacción ácida. Filtrado el líquido hemos añadido 40 c.c. de una solución de fosfato de sodio al 25%, consiguiendo la precipitación completa del plomo, en forma de un polvo blanco, fino, abundante. El líquido después de algún tiempo, y conforme va sedimentándose el precipitado, va aclarándose lentamente, y pasando de café rojizo a amarillo rojizo, y luego a amarillo claro. Después de filtrar, trasladamos el líquido a un em-



ÁREA HISTÓRICA
DEL CENTRO DE INFORMACIÓN INTEGRAL

budo de separación de 500 c.c. de capacidad, y le agotamos con cloroformo, añadiendo porciones de 50 c.c. por cuatro veces. Los primeros líquidos clorofórmicos separados tienen coloración amarillenta clara y los últimos son incoloros; la coloración del líquido acuoso disminuye lentamente. Destilando los líquidos clorofórmicos, se obtiene un residuo oleoso amarillo rojizo. Este residuo le disolvimos en tres c.c. de cloroformo y le precipitamos con 50 c.c. de éter de petróleo, obteniendo abundante precipitado blanco cristalino. Este precipitado debe estar constituido por Digitoxina y Gitoxina en cantidades variables. Siguiendo el método de Cloetta, hemos filtrado después de clarificación completa, y luego hemos tratado en el mismo filtro, con porciones de 5 c.c. de acetato de etilo, por cinco veces. Casi todo el precipitado se disolvió inmediatamente en el acetato de etilo, quedando un insignificante residuo de color amarillento, y de aspecto resinoso. Disuelta esta pequeña cantidad de sustancia en alcohol de 90% y abandonada a cristalización, se transformó en una masa blanquisca, de sabor amargo; conforme se puede observar en la muestra presentada. Disuelta luego en piridina y evaporada espontáneamente, no cambió de aspecto, y lo mismo sucedió disolviéndole en cloroformo.

Cuando recién verificamos la precipitación con éter de petróleo, sobre la disolución clorofórmica del residuo total, y observando la abundancia de precipitado, supusimos que habíamos de obtener buena cantidad de este glucósido; pero después del tratamiento con acetato de etilo, sufrimos realmente una desilusión, por cuanto el residuo insoluble obtenido (que debe ser de Gitoxina) era pequeñísimo; luego los sucesivos tratamientos dieron resultados poco halagadores, que ya hemos indicado. Repetimos la extracción con más prolijidad, pero obtuvimos el mismo resultado; por lo cual creemos que nuestra Digitalis purpúrea tiene escásimo rendimiento en Gitoxina; no así en Digitoxina, conforme hemos de ver al tratar de la dosificación de este glucósido.

En la pequeña cantidad de sustancia obtenida verificamos las reacciones propias de este glucósido, obteniendo resultados positivos. Así, en la reacción de Keller y en la de Kaliani (que se operan en la misma forma que para la Digitoxina) obtuvimos un anillo rojo en la zona de separación

de la solución acética y el ácido sulfúrico, y coloración verde azulada en la zona de la disolución acética. Es natural que las reacciones deben dar resultados positivos por ser sensibles a pequeñas cantidades de glucósido, pero la cantidad obtenida es, como ya dijimos, escasísima.

El hecho de tener nuestro polvo de Digital escaso rendimiento en Gitoxina, no tiene, desde luego, repercusión apreciable en sus cualidades terapéuticas, por cuanto según la autorizada opinión del Profesor Poulsson, "de los glucósidos de la Digital, es la DIGITOXINA el de acción más enérgica, y al que se atribuye la acumulación, propiedad que sería favorable, puesto que sostendría durante varios días la acción del medicamento". La sustancia obtenida pesa 0,0064, o sea 0,0128%.

EXTRACCION DE DIGITALUM VERUM.

Procedimiento de Windaus.

Después de desecar en la estufa 50 gramos de semillas de Digitalis purpúrea trituradas, hemos agotado con 500 c.c. de alcohol de 90% en un aparato de lixiviación. El líquido alcohólico que se encuentra sobre las semillas en una altura de tres centímetros, permanece turbio en las primeras horas, y luego va aclarándose poco a poco. Las primeras gotas son opacas y tienen ligerísima coloración amarillenta. El líquido alcohólico extraído es blanco, opaco, de sabor amargo, y en la parte inferior del recipiente, se sedimenta una sustancia gelatinosa amarillenta; la reacción de este líquido es neutra.

Tratando al líquido alcohólico con una solución de acetato de plomo al 25%, se forma un precipitado abundantísimo de color blanco sucio, y después de sedimentación queda el líquido completamente claro, transparente e incoloro. Después de filtrar añadimos 50 c.c. de solución de fosfato sódico al 25%, obteniendo un precipitado blanco de fosfato de plomo. Dejando en reposo hasta clarificación completa y sedimentación, filtramos, y al líquido filtrado le añadimos 50 c.c. de una solución de ácido tánico al 5%. Obtenemos así un precipitado blanco cremoso, que tarda un día entero en sedimentarse. El precipitado obteni-

do corresponde seguramente a los tanatos de los glucósidos de las semillas. Después de filtrar hemos lavado en el mismo filtro al precipitado con sucesivas cantidades de agua destilada, luego hemos puesto a desecar en la estufa a 50°. El polvo desecado le hemos mezclado con 2 gramos de litargirio, y disponiendo un pequeño embudo de separación a manera de lixiviador, hemos agotado con 50 c.c. de alcohol de 90%. Evaporado el alcohol al baño maría hasta sequedad, hemos obtenido un polvo blanco de sabor ligeramente amargo, que corresponde seguramente a la llamada digitalina alemana, la cual es una mezcla de Digitalum verum, Digitonina y Gitonina. Este polvo hemos disuelto en 5 c.c. de alcohol de 95%, y hemos añadido doble cantidad de alcohol amílico, obteniendo enturbiamiento pronunciado (aquí precipitan la Digitonina, la Gitonina y otras saponinas). Filtrando el precipitado hemos recibido el líquido en un pequeño embudo de separación, y hemos agitado alternativamente con éter y cloroformo, tres veces, usando 10 c.c. en cada vez. Evaporados los líquidos etéreo-clorofórmicos hemos disuelto el residuo en 5 c.c. de alcohol metílico, trasladando la solución a un vasito tarado y dejando evaporar espontáneamente, la sustancia pesó 0,0973 o sea (1) 0,1946%. Como se observará en la muestra presentada, talvez este es el único glucósido que hemos logrado obtener en apreciable grado de pureza. Esto se debe seguramente a la circunstancia de que en las semillas existe mínima cantidad de las grasas, resinas, gomas, taninos, clorofila y otras materias colorantes que impurifican al polvo de las hojas.

DOSIFICACION DE LA DIGITOXINA.

Procedimiento de Keller y Fromme.

Un procedimiento de dosificación varía con respecto a otro de simple extracción, en las precauciones con que hay que operar, en orden a no desperdiciar la mínima cantidad

(1.) El rendimiento media en las variedades europeas es de 15%.

de sustancia problema. En los procedimientos de extracción de Digitoxina que ya conocemos, se ha efectuado un lavado del polvo antes de agotarlo con alcohol; pero en este lavado, necesariamente tenía que irse buena cantidad de Digitoxina, pues a pesar de ser insoluble en el agua en cantidades apreciables, debe disolverse un tanto; y además en el lavado, debe pasar incorporada a restos coloidales del protoplasma de las células que constituyen el polvo. Por esta razón se suprime el lavado de las hojas en el procedimiento de dosificación, yendo directamente al agotamiento con alcohol.

De esta suerte, hemos tomado 28 gramos de polvo de Digital, y después de desecarle en la estufa, le hemos macerado durante tres horas en 280 c.c. de una solución alcohólica al 69%, agitando de tiempo en tiempo. Esta suspensión filtramos en un filtro de 18 centímetros de diámetro, obteniendo el líquido alcohólico con los caracteres que ya conocemos. El líquido filtrado tiene más o menos 230 c.c. de volumen, y de éste tomamos 207 gramos (equivalentes a 20 gramos de polvo), y evaporamos en baño maría hasta que se reduzca a 25 c.c. Esta operación la hemos verificado en una cápsula de porcelana, en la cual señalamos previamente por medio de una raya, el volumen correspondiente a 25 c.c. El extracto concentrado es de color verde oscuro y posee el aroma característico de la Digital en este estado. No hemos ensayado la reacción por no separar ninguna cantidad de sustancia impregnada en el papel. Este extracto hemos trasladado a un matraz de 250 c.c. de capacidad, diluyendo luego hasta 222 c.c.; pero antes de añadir toda la cantidad de agua necesaria, hemos lavado la cápsula con parte de ella, valiéndonos de una pipeta. Completados los 222 c.c. de volumen, hemos añadido 25 c.c. de subacetato de plomo, obteniendo un precipitado amarillo canario. (Suponemos que la razón de usar subacetato en vez de acetato de plomo, obedezca a evitar la acicidad que desdoblaría en parte el glucósido). Después de sedimentación hemos filtrado 132 c.c. por un doble filtro, y hemos añadido al líquido filtrado una solución formada por 5 gramos de sulfato de sodio en 7 c.c. de agua, obteniendo un precipitado blanco pulverulento que se sedimenta rápidamente. Luego filtramos 130 c.c. de líquido, el cual tiene un color amarillo limón y es completamente transparente; (los

130 c.c. de líquido equivalen a 10 gramos de polvo). El filtrado le recibimos en un embudo de separación, y después de añadir 2 c.c. de amoníaco al 10%, agotamos el líquido con cloroformo por cinco veces, usando 30 c.c. en cada vez. Los líquidos clorofórmicos recibimos en un balón de Soghet, procediendo luego a la destilación. El residuo lo disolvimos en 3 c.c. de cloroformo y luego le tratamos con una mezcla de 7 c.c. de éter y 50 de éter de petróleo, obteniendo el precipitado blanco característico. Después de sedimentación filtramos en un pequeño filtro humedecido con éter de petróleo. Como en el balón quedara impregnada una pequeña cantidad de substancia, repetimos la operación en las mismas condiciones, y añadimos el precipitado obtenido al filtro. (En este punto nos hemos separado en un pequeño detalle, de las normas del método; por cuanto allí se indica que los líquidos clorofórmicos del agotamiento deben ser recibidos en un matraz tarado. Pero un matraz de 150 c.c. de capacidad es muy difícil pesarlo con precisión; por lo cual hemos preferido tarar un vasito de precipitación de 15 c.c. de capacidad en el cual vamos a recibir la Digitoxina). El precipitado que reposa sobre el filtro, le disolvimos allí mismo con 10 c.c. de alcohol absoluto caliente, recibiendo la disolución en el vasito tarado que ya hemos indicado. Evaporada espontáneamente la solución la hemos tratado con 5 c.c. de éter. Evaporado este último, hemos puesto el vasito en un desecador durante una hora, y luego hemos pesado.

Cálculo:

VASO CON SUBSTANCIA	9,9316	gramos
VASO VACIO	9,8195	"
	<hr/>	
PESO DE LA SUBSTANCIA	0,1121	"

Esta cantidad se ha extraído de 50 gramos de polvo, luego en 100 gramos habrá 0,2242 "

Este rendimiento del 0,2242%, lo obtuvimos en el primer ensayo. Repitiendo el método en otros 28 gramos de polvo, obtuvimos el 0,2913%; y en un tercer ensayo, el

0,2857%. El poco rendimiento del primer ensayo lo atribuimos, más que a la riqueza intrínseca del polvo, a nuestra falta de práctica en los primeros trabajos; por lo cual para deducir el porcentaje definitivo, hemos tomado la media proporcional de los dos últimos ensayos, la que corresponde al 0,2885%.

La riqueza media que señala el procedimiento de Keller y Fromme es de 0,26%, de modo que el polvo ensayado por nosotros es de buen rendimiento.

Damos aquí por terminado nuestro trabajo de dosificación, que lo hemos efectuado con la más grande prolijidad e interés.



ÁREA HISTÓRICA
DEL CENTRO DE INFORMACIÓN INTEGRAL

CAPITULO VI

CONCLUSIONES

Primera.—La Digitalis purpúrea por nosotros estudiada, probablemente corresponde a una variedad no descrita hasta ahora, y por lo tanto nueva.

Segunda.—Esta variedad posee todos los glucósidos de acción terapéutica.

Tercera.—Su rendimiento en Digitoxina sobrepasa un tanto al de las variedades europeas, lo mismo que en Digitalum Verum.

Cuarta.—Su rendimiento en Gitoxina es mínimo.

Quinta.—Por las razones anotadas en el apéndice, su acción terapéutica es muy eficiente.

Sexta.—Dadas sus cualidades químicas y terapéuticas, y la exuberancia con que desarrolla en la Provincia del Tungurahua, puede ser industrializada en el país.

APENDICE

Nuestro propósito final al efectuar el presente trabajo, ha sido investigar las posibilidades de industrializar en nuestro país los productos medicinales de la Digitalis purpúrea; para lo cual hemos averiguado su riqueza en principios activos medicamentosos. Pero no podíamos concluir categóricamente, si sus cualidades terapéuticas eran o no eficientes. Este trabajo que por ningún concepto nos tocaba hacer a nosotros, pero que necesitábamos conocerlo de alguna manera, lo efectuó el Dr. Guillermo Hammerle, quien hizo su Tesis sobre la ACCION TERAPEUTICA de la Digitalis purpúrea nacional.

El Dr. Hammerle nos solicitó parte de nuestro material de experimentación, y juntos preparamos los compuestos oficinales más usados, según las prescripciones del Codex. Con nuestro material de trabajo se preparó los siguientes compuestos oficinales:

- Polvo de Digital,
- Tintura de Digital,
- Solución alcohólico - glicerizada de Digitalina Nativelle.

Los resultados eficientes que obtuvo el Dr. Hammerle con nuestro material, constan en su Tesis, así como la referencia que más de una vez hace a nuestro trabajo.

Omitimos el estudio de los innumerables preparados comerciales de Digital, por cuanto no creemos corresponda a la finalidad de nuestra Tesis.

Damos aquí por terminado nuestro trabajo, esperando de la benevolencia de la H. Comisión informadora, el dispensar sus deficiencias.

Séanos permitido consignar nuestro imperecedero agradecimiento al Sr. Dr. Arquídamo Larenas, Director de la Tesis, quien con interés y entusiasmo, nos ha proporcionado valiosísimas normas de trabajo. En la misma forma agradecemos a todo el personal del Laboratorio de Química, por el apoyo decidido que se ha dignado prestarnos; e igualmente al Dr. Hammerle por haber hecho el estudio complementario terapéutico de nuestros productos.



ÁREA HISTÓRICA
DEL CENTRO DE INFORMACIÓN INTEGRAL

BIBLIOGRAFIA

QUIMICA GENERAL	E. Calvet.
QUIMICA AGRICOLA	Poch Noguer.
CITOLOGIA	J. Pujiula.
ESTUDIOS DE QUIMICA CONTEMPORANEOS .	E. Vitoria.
MATERIA MEDICA	J. B. Fonssagrives.
QUIMICA TOXICOLOGICA	J. Ogier & E. Kohn - Abrest.
TRATADO DE BOTANICA	M. Colmeiro.
ENCICLOPEDIA DE QUIMICA INDUSTRIAL . .	Fritz Ullmann.
QUIMICA FARMACEUTICA	E. Schmidt.
MATERIA MEDICA	L. Planchon & Ph. Bretin.
ANALISIS ORGANICO FUNCIONAL	J. Giral y Pereira.