

## SECCION DE BARCELONA

# Determinación fotocolorimétrica de la morfina en preparados galénicos<sup>(1)</sup>

Dr. Ramón SAN MARTIN CASAMADA  
y Dr. Arturo MOSQUEIRA TORIBIO

La determinación colorimétrica de la morfina ha sido profusamente estudiada. Nosotros, en el presente trabajo, tratamos de estudiar cuáles de las reacciones propuestas pueden ser aplicables a la determinación fotocolorimétrica y las condiciones óptimas en que dicha determinación puede realizarse, iniciando así un estudio que nos proponemos generalizar a otras determinaciones análogas para conseguir métodos exactos y rápidos para la cuantitativa de alcaloides en preparados galénicos.

Se han descrito numerosísimas reacciones coloreadas de la morfina; nosotros hemos centrado nuestro trabajo en la propuesta por RADELESCU y aplicada por ADAMSON y HANDISYDE (*Quart. Jour.*, 1946, XIX, número 3) y por FABIMJI (*Verch. Ges. Dtsch. Natur. Forsch.*, 1912, 288); la de GUARINO (*Boll. Soc. Ital.*, 1946, 22, núm. 37, págs. 253-55); la indicada por SÁNCHEZ (*J. Phar. et Chim.*, 1935, tomo I, pág. 366); y vistos los resultados obtenidos con cada una de ellas, hemos estudiado la acción del fosfomolibdato amónico obtenido por precipitación de una disolución de fosfato disódico, por molibdato amónico en presencia de sales amónicas y en medio nítrico; así como la acción del ácido fosfomolibdico y la del reactivo Folin sobre disoluciones diluídas de clorhidrato de morfina, en condiciones que precisamos.

La reacción de Radelescu (*Bull. Soc. Scie. Bucarest*, 1905, 14, 602) está basada en la determinación del color rojo que se produce tratando una disolución ácida de cloruro mórfico por nitrito sódico, alcalinizando a continuación. La Farmacopea británica de 1932 la practica utilizando una relación de 0,8-1,2 entre el nitrito sódico al 1 por 100 y el amoniaco al 10 por 100, que usa para alcalinizar. El suplemento de 1934 emplea 10 c. c. de una disolución de morfina en clorhídrico N/10, que contiene un miligramo de morfina; 10 c. c. de disolución de nitrito sódico al 1 por 100, y 15 c. c. de amoniaco al 10 por 100; la relación empleada es

\* (1) Trabajo presentado y discutido en el Congreso Luso español de Farmacia.

pues I-I-1,5. ARKEL (*Phar. Weekbl.*, 1935, 72, 366) utiliza un fotómetro Zeiss, y JONES (*Quart. Jour. Pharm. and Pharmc.*, 1942, 15, 239), un tintómetro de Lovibond. Esta reacción ha sido minuciosamente estudiada por ADAMSON y HANDISYDE (*op. cit.*), determinando la influencia de la concentración de la disolución de nitrito sódico, así como la estabilidad del color; establece como proporciones más adecuadas: 20 c. c. de ClH N/10 que contiene alrededor de un miligramo de morfina; 12 c. c. de amoníaco al 10 por 100; 8 c. c. de nitrito sódico al 1 por 100 y agua hasta completar 50 c. c. La intensidad del color la mide con un absorciómetro Specker con filtro de 503 mu.

Nosotros hemos utilizado la relación propuesta por ADAMSON y HANDISYDE, obteniendo los siguientes resultados:

Control de las lámparas: 54 con seis voltios y 74 con nueve voltios.

Calibrado: Entre 0 a 70 con seis voltios y 0 a 100 con nueve voltios.

Filtro azul:

LECTURAS	Tensión 6 voltios	Tensión 9 voltios
0,000125 gramos de clorhidrato de morfina	64	84
0,000250 —	62	82
0,000500 —	60	78
0,00075 —	59	74
0,00100 —	58	69
0,00125 —	56	66
0,00150 —	55	63

Se ha empleado una disolución 1/2.000 de cloruro mórfico.

Operando con una mayor concentración de morfina, hemos obtenido los siguientes resultados:

	Tensión 6 voltios
0,005	20
0,010	15
0,015	13
0,020	10

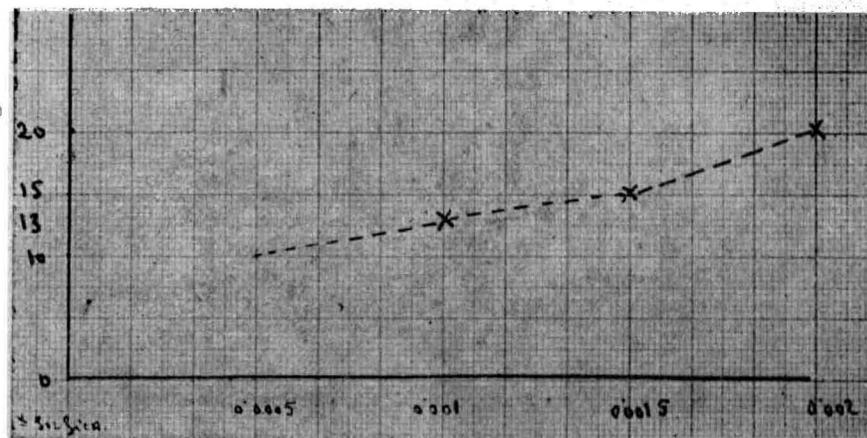
Se utilizó un fotocolorímetro Cedac, alimentado con cuatro baterías de 1,5 voltios (seis voltios en total) o cinco baterías del mismo voltaje (nueve voltios en total). Observamos que los valores obtenidos no permiten una determinación rigurosa, dado el pequeño intervalo existente entre distintas concentraciones de morfina.

Los valores obtenidos, con concentraciones entre 0,005 gramos de cloruro mórfico y 0,020 van expresados en la gráfica que se adjunta:

La reacción de Guarino (*op. cit.*) la hemos verificado con disolución de cloruro mórfico 1/200, 2 c. c. de disolución saturada de yodato potásico acidulada con un 10 por 100 de ClH al 6 por 100; alcalinizar con carbonato amónico en disolución saturada y adición de dos gotas de disolución de  $Cl_2Fe$  al 1/5000. Al añadir el yodato potásico se obtiene un débil color amarillo que pasa a naranja al poner el carbonato amónico y

finalmente con el cloruro férrico se obtiene un tinte violáceo que si se vuelve a acidular con acético se cambia a verde. Los colores observados no son limpios y no son adecuados para una observación fotocolorimétrica, por lo que no damos valores observados con esta reacción.

Al ensayar el reactivo de Wavelet, indicado por SÁNCHEZ (*op. cit.*), preparado con arreglo a las instrucciones dadas en el trabajo de referencia, no obtuvimos ningún color. El reactivo se preparó pesando 140 gramos de carbonato sódico, 20 gramos de fosfato bisódico, y disolviéndolos en 500 c. c. de agua, añadiendo 70 gramos de ácido molibdico recientemente calcinado, y, finalmente, 200 gramos de ácido tartárico; filtrar el pequeño residuo obtenido después de la disolución del ácido molibdico y completar a 1.000 c. c.



Partiendo de diluciones de cloruro mórfico que contenían entre 1 a 10 miligramos de morfina añadiendo un centímetro cúbico de reactivo y una gota de ácido nítrico no hemos obtenido coloración alguna al añadir  $NH_3$ ; hemos operado exactamente con arreglo a las indicaciones del trabajo citado.

Siendo, pues, la reacción de Radelescu de poca utilización para nuestro fin, seguramente por la poca selectividad del fotocolorímetro para los tonos rojos, y no habiendo dado resultado la reacción propuesta por SÁNCHEZ; y teniendo en cuenta, por otra parte, que esta reacción se basa en la producción de tonos azules, que pueden también obtenerse por disolución del producto de la acción del ácido fosfomolibdico con el cloruro mórfico, en carbonato sódico o amónico, hemos tratado de estudiar las condiciones en que esta reacción se producía para aplicarla a su determinación fotocolorimétrica.

Comenzamos por operar con ácido fosfomolibdico Merck, partiendo de una dilución 1/1000 de cloruro mórfico, añadiendo 0,200 gramos de ácido fosfomolibdico, 20 c. c. de agua, dejando estar en contacto quince

minutos y disolviendo en amoníaco. Los resultados obtenidos fueron los siguientes (siempre se completó a 50 c. c. con H<sub>2</sub>O):

a) Con 2 c. c. de NH<sub>3</sub> al 10 por 100:

0,001 gramos de clorhidrato mórfico	...	...	...	18
0,002	—	—	—	29
0,003	—	—	—	39,5
0,004	—	—	—	39
0,005	—	—	—	41

La estabilidad es muy pequeña, pues a los cinco minutos bajan los valores leídos, con 0,004 de producto, a 38; y a los doce minutos, a 30,5.

b) Con 0,5 c. c. de amoníaco al 10 por 100:

0,0005 gramos de clorhidrato mórfico	...	...	...	14
0,001	—	—	—	18
0,002	—	—	—	29
0,003	—	—	—	37
0,004	—	—	—	40

La estabilidad es mayor, variando más los valores observados en las concentraciones mayores que en las menores; así, a los quince minutos se leen, con 0,0005 gramos, 14 divisiones, y con 0,004 gramos, 38 divisiones del fotocolorímetro.

Suponiendo que la poca estabilidad de las coloraciones se debía a la elevada alcalinidad producida por el amoníaco, probamos a disolver en carbonato sódico.

Los resultados obtenidos, utilizando 5 c. c. de CO<sub>3</sub>Na<sub>2</sub> al 10 por 100, fueron:

0,0005 gramos de clorhidrato mórfico	...	...	...	15
0,001	—	—	—	20,8
0,002	—	—	—	31
0,003	—	—	—	39,1
0,004	—	—	—	40

Lecturas inmediatas en todos los casos.

La estabilidad es mayor, observándose que la coloración se intensifica a los pocos minutos de añadir el carbonato sódico; así, obtenemos los valores:

0,0005 gramos de clorhidrato mórfico	...	...	...	15	a los 3 minutos
0,001	—	—	—	22,5	a los 5
0,002	—	—	—	33	a los 10
0,003	—	—	—	39,8	a los 23
0,004	—	—	—	40	a los 15

Estas variaciones son distintas para cada concentración, siendo proporcionalmente menores en concentraciones mayores, manteniéndose inva-

riable el valor leído con 0,004 gramos y variando muy poco con 0,003 gramos.

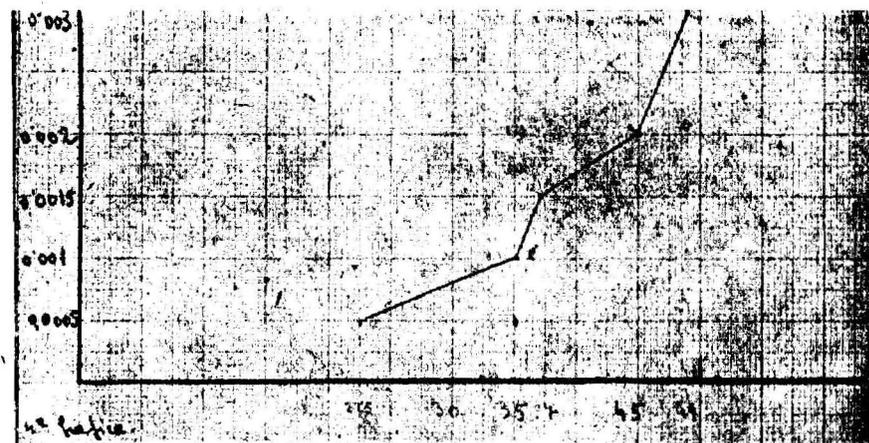
Haciendo las lecturas al cabo de diez minutos de añadir el carbonato sódico y empleando 10 c. c. de su disolución al 10 por 100, obtenemos los valores:

0,0005 gramos de clorhidrato mórfico	...	...	...	15
0,001	—	—	—	23
0,002	—	—	—	31,5
0,003	—	—	—	37,3
0,004	—	—	—	39,5

En todas las determinaciones se comprobó que el ácido fosfomolibdico utilizado no producía color azul al ser disuelto en amoníaco o carbonato sódico. Se utilizó como solución testigo para fijar el cero del aparato de la disolución incolora de 0,2 gramos de ácido fosfomolibdico en el volumen determinado de álcali empleado en cada reacción.

En estas determinaciones se utilizó el fotocolorímetro calibrado entre 0 y 50, alimentado con 12 voltios.

Los valores indicados en el cuadro anterior se expresan en la gráfica siguiente:



En lugar del ácido fosfomolibdico, hemos utilizado en otra serie de experiencias el fosfomolibdato amónico obtenido por precipitación de una disolución de fosfato sódico por el molibdato amónico en medio nítrico y en presencia de iones amonio. El motivo de emplear el fosfomolibdato amónico, en lugar del ácido fosfomolibdico, ha sido la mayor facilidad de preparación de aquél y la inseguridad de que el ácido fosfomolibdico del mercado no produzca color azul al ser disuelto en carbonato sódico, debido a estar reducido a sal molibdica. Con el empleo de fosfomolibdato

se evita este inconveniente, pues puede ser preparado con facilidad poco antes de la operación.

Preparamos para la obtención rápida del fosfomolibdato amónico dos disoluciones: primera, cinco gramos de fosfato sódico, 4 c. c. de  $\text{NO}_3\text{H}$  y 15 gramos de nitrato amónico,  $\text{H}_2\text{O}$  100 c. c., y segunda, 20 gramos de molibdato amónico en 100 c. c. de agua.

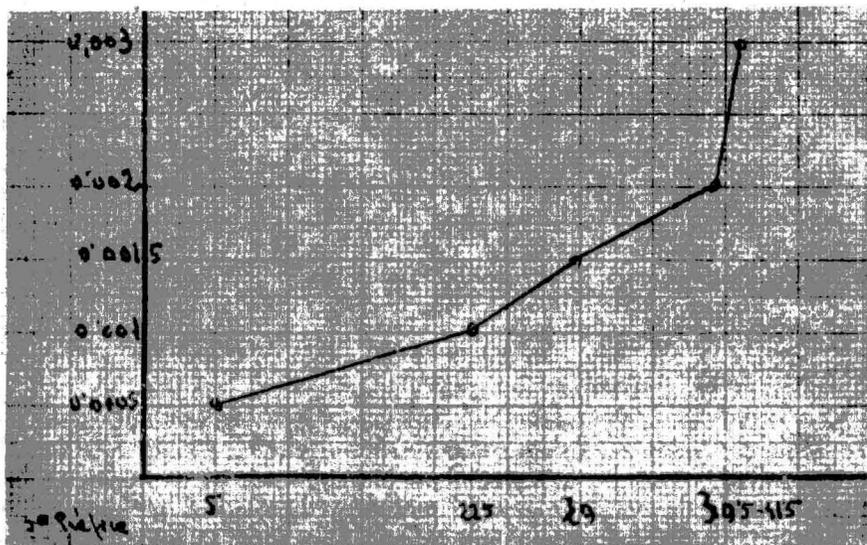
Hemos operado de dos formas distintas: en un caso, poniendo dos centímetros cúbicos de la solución primera y cuatro de la segunda junto con la dilución de morfina utilizada en cada caso, añadiendo 20 c. c. de agua y 10 gotas de  $\text{NO}_3\text{H}$  concentrado, poniendo al baño maría diez minutos y, una vez frío, disolviendo en 10 c. c. de  $\text{CO}_3\text{Na}$  y completando hasta 50 c. c. con  $\text{H}_2\text{O}$ .

Los valores obtenidos con este método fueron:

0,0005 gramos de clorhidrato mórfico en disolución 1/1000	...	...	...	...	5
0,0010	—	—	—	—	22,5
0,0015	—	—	—	—	29
0,0020	—	—	—	—	39,5
0,0030	—	—	—	—	41,5

Se empleó, como en las determinaciones anteriores y todas las que siguen, el fotocolorímetro calibrado entre 50 (máxima absorción) y 0, alimentado con 12 voltios.

Los valores indicados en el cuadro anterior se reflejan en la gráfica siguiente:



Observamos en la gráfica adjunta los valores tan próximos obtenidos con 0,003 y 0,004 gramos de  $\text{Cl}$  mórfico y, sobre todo, la pequeña ab-

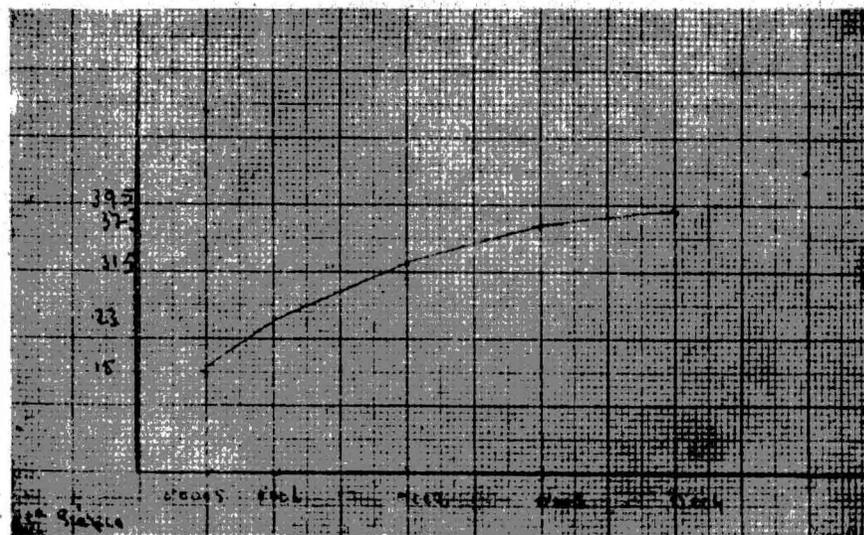
sorción lograda con 0,0005 gramos; pensando si el ácido nítrico tuviese algún efecto, sobre todo habiendo sido utilizado en cantidades apreciables (alrededor de 0,5 c. c.) y comprobando que si se añadía una mayor cantidad de  $\text{NO}_3\text{H}$  el color azul desaparecía y se obtenía un tinte rojizo, decidimos utilizar el fosfomolibdato precipitado previamente y lavado, para eliminar así de la reacción el  $\text{NO}_3\text{H}$ .

De esta forma, trabajamos con arreglo a las normas siguientes: precipitamos 10 c. c. de la primera solución con 50 de la segunda y 10 centímetros cúbicos de ácido nítrico concentrado; calentamos, y el precipitado obtenido fué lavado por decantación hasta desaparición de la reacción ácida; aún húmedo, se deslió con 20 c. c. de agua. De esta suspensión pusimos en cada matracito de 50 c. c., de los utilizados en la construcción de la curva, 4 c. c. junto con cantidades crecientes de la disolución de cloruro mórfico; pusimos el conjunto, adicionado de 20 c. c. de agua, tres minutos al baño de vapor y, una vez frío, añadimos 10 c. c. de carbonato sódico al 10 por 100, completando con agua hasta 50 c. c.

Los valores obtenidos (lecturas inmediatas), utilizando el mismo fotocolorímetro que anteriormente, fueron los siguientes:

0,0005 gramos de clorhidrato mórfico	...	...	...	22,5
0,0010	—	—	—	35
0,0015	—	—	—	37
0,0020	—	—	—	45
0,0030	—	—	—	49

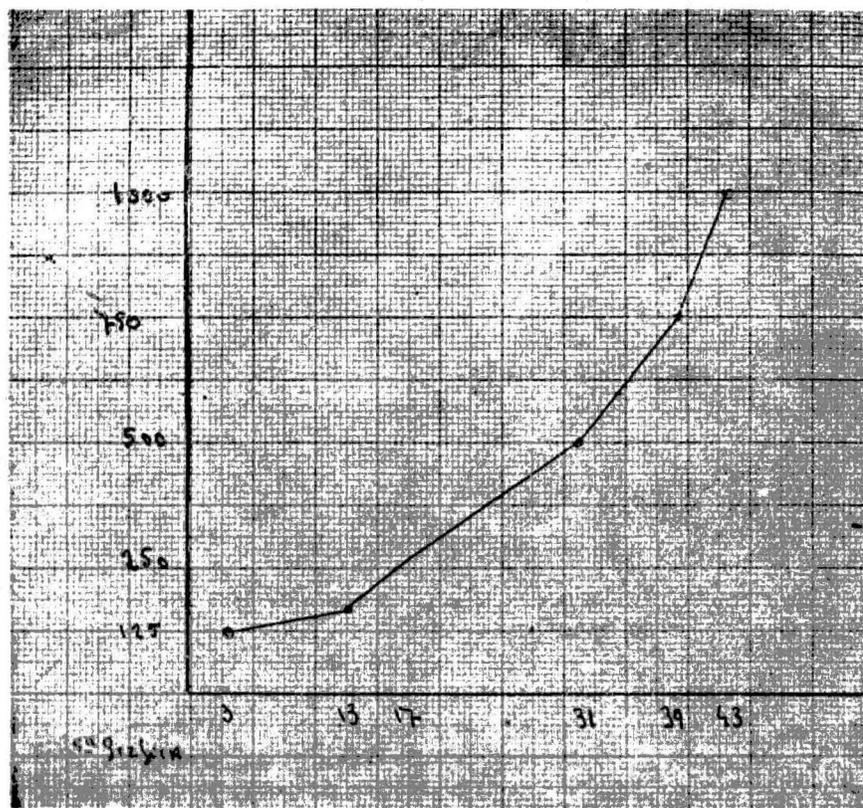
Los valores obtenidos se encuentran todos ellos desplazados hacia la región de máxima absorción, obteniéndose cifras más altas para diluciones débiles que con los métodos anteriormente empleados. Las lecturas van reflejadas en la gráfica siguiente:





color débilmente verdoso que al cabo de unos minutos palidecía, quedando casi incoloro.

Los valores obtenidos se expresan en la gráfica siguiente:



Por premuras de tiempo, no nos ha sido posible comprobar el resultado de nuestras medidas fotocolorimétricas más que en el polvo de opio y en ampollas de cloruro mórfico. Expondremos a continuación los resultados obtenidos, esperando poder generalizarlos más adelante a otros preparados galénicos de opio.

La extracción de la morfina en el opio la realizamos a partir de 0,250 gramos de un polvo de opio que, analizando conforme a las prescripciones de nuestra Farmacopea, contenía un 10,4 de morfina.

El polvo de opio se trituró con 0,175 gramos de cal viva y se puso poco a poco 5 c. c. de agua, se llevó al baño maría por cinco minutos y se filtró por un filtro pequeño, lavando cuatro veces con 4 c. c. de agua cada vez; los líquidos filtrados fueron recogidos en una ampolla de separación y acidulados con 0,8 c. c. de *ClH* al 10 por 100, y a continuación, alcali-

linizados por amoníaco gota a gota hasta viraje franco del tornasol. Fueron entonces añadidos a la ampolla de separación 25 c. c. de una mezcla de cloroformo-alcohol metílico, en la proporción de 3/1 y separadas las capas después de agitación, se repitió dos veces más con 10 c. c. de la mezcla y los líquidos cloroformícos reunidos fueron evaporados al baño maría, el residuo obtenido se disolvió en 50 c. c. de *ClH* N/10 y la disolución fué diluida hasta 100 c. c. con agua destilada; de esta dilución se tomaron 20 c. c. que se colocaron en un matracito de 50 c. c., se les añadieron 2 c. c. de reactivo de Folin y, después de treinta minutos, tres centímetros cúbicos de carbonato sódico al 10 por 100. El color azul fué leído en el mismo fotocolorímetro utilizado en las experiencias anteriores, después de diez minutos de añadir el carbonato sódico.

La media de tres lecturas sucesivas fué de 33 divisiones, que, según la curva anterior, corresponde a 0,575 miligramos de cloruro mórfico, que, multiplicados por el factor de conversión a morfina (0,808), nos da un valor de 0,464 miligramos de morfina contenida en 20 c. c. de la dilución; en los 0,25 gramos de opio existirán, pues, 0,0023 gramos de morfina, que corresponden a 9,5 por 100 de morfina en el opio ensayado, lo que nos da un valor algo más bajo que el método de la Farmacopea, posiblemente porque en éste se pesa morfina no totalmente pura.

Los inyectables de cloruro mórfico estaban dosificados al 1 por 100; se midieron 10 c. c. y se diluyeron a 1.000 c. c.; se tomaron 5 c. c., que fueron tratados de forma idéntica a como expusimos anteriormente. La lectura obtenida fué de 29,5 divisiones, que, según la curva, corresponde a 0,475 miligramos, y, por tanto, en los 10 c. c. tomados de la disolución inyectable a 0,095 gramos.

## CONCLUSIONES

Se ha hecho un estudio de las reacciones aplicables a la determinación fotocolorimétrica de la morfina.

La reacción de RADELESCU y la indicada por SÁNCHEZ no nos han dado buen resultado.

La utilización del ácido fosfomolibdico es conveniente si el ácido empleado no se encuentra reducido a sal molibdica; los valores obtenidos por nosotros son bastante aceptables.

Se estudia la acción del fosfomolibdato empleando como disolvente el amoníaco; las lecturas adolecen de una gran inestabilidad; con carbonato sódico hemos obtenido mejores resultados.

El reactivo Folin es utilizable para la determinación fotocolorimétrica de la morfina; se estudian las condiciones óptimas y se adopta un método en el que se especifican las cantidades y tiempos de contacto de los reactivos y de las lecturas.

Se aplican los resultados obtenidos a la determinación de la morfina en un polvo de opio y en inyectables de cloruro mórfico.

*El presente trabajo se ha realizado en la Farmacia del Hospital Militar del Generalísimo, de Barcelona, y en la Sección de Farmacognosia del Instituto José Celestino Mutis, del Consejo Superior de Investigaciones Científicas, de Barcelona.*

## SECCION DE BARCELONA

# Obtención de aceites yodados a partir del aceite de nueces<sup>(1)</sup>

Dr. Arturo MOSQUEIRA TORIBIO

En la absorción de los rayos X intervienen tres factores: primero, espesor del absorbente; segundo, longitud de onda del haz incidente, y tercero, número atómico del elemento químico que produce la absorción.

En cuanto a la variación con el número atómico, indicaremos que el coeficiente de absorción para una raya de longitud de onda varía con arreglo a la tercera potencia de número atómico del elemento absorbente, no teniendo en cuenta las discontinuidades; la ley que expresa este hecho es  $H = KZ^{3/2}$ . Las discontinuidades, por otra parte, se desplazan hacia pequeñas longitudes de ondas cuando  $Z$  aumenta; los valores correspondientes son proporcionales a  $Z^2$  (ley de Moseley).

Las variaciones son independientes del estado físico del elemento absorbente, considerando constante, claro es, la cantidad de sustancia. Así, un gramo de yodo absorbe la misma porción de rayos X esté en estado sólido, líquido o gaseoso; asimismo, es indiferente que esté aislado o unido a una molécula compleja; el fosfato de calcio absorbe lo que corresponde  $Ca$  que contiene (la absorción del  $P$  y  $C$  es despreciable).

Los medios de contraste de más interés son los derivados de yodados de adición (Lipiodol) o de sustitución (Abrodil, Perabrodil, Uroselectán A y B y Yodohipurán, etc.); los primeros son insolubles en el agua y están constituidos por productos de adición de yodo a los dobles de ciertas grasas.

La principal dificultad en la obtención de aceites yodados resulta ser el conseguir productos estables de viscosidad no muy alta, dado el gran contenido de yodo que presenta. Se utilizan aceites yodados con contenido de yodo entre el 10 y el 40 por 100; la cantidad de yodo que puede fijarse depende del número de dobles enlaces que contiene la grasa de que se parte; la primera que se utilizó fué la de sésamo, con un índice de yodo de 108, lo que limita al 36 por 100 el contenido máximo de yodo a saturación.

Para obtener derivados con el 40 por 100 de yodo se utiliza el aceite de adormideras con un índice de yodo de 135.

(1) Trabajo presentado en el Congreso Lusoespañol de Farmacia.