

ARS PHARMACEUTICA

REVISTA DE LA FACULTAD DE FARMACIA
UNIVERSIDAD DE GRANADA

Tomo XVIII - Núm. 4

1977

Consejo de Redacción

Director:

Prof. Dr. D. Jesús Cabo Torres

Director Ejecutivo:

Prof. Dr. D. José Luis Valverde

Vocales:

Prof. Dr. D. Alberto Ramos
Cormenzana

Prof. Dr. D. Fermín Sánchez
de Medina Contreras

Prof. Dra. María A. López

Prof. Dr. D. Diego Carlos
Guevara Benítez

Prof. Dr. D. José Jiménez
Martín

Secretario de Redacción:

Prof. Dr. D. Luis Bravo Díaz

Redacción y Administración:

Facultad de Farmacia.
Granada - España.

Dep. Legal. GR: núm. 17-1960

Imprime:

Gráficas del Sur, S. A.
Boquerón, 6
Granada 1978.
1.000 ejemplares

Sumario

PAG.

TRABAJOS ORIGINALES DE LA FACULTAD

- Comentario sobre la reacción del yodo con la metionina. Técnicas iodimétricas para su valoración en muestras conteniendo proteínas, por A. Díaz-Rocha, O. Ferrer Espino, G. Font Pérez y F. Bosch Serrat ... 407
- Disgregación/disolución de comprimidos como factores condicionantes de su actividad terapéutica. III.—Comprimidos de Prednisona, por J. Sánchez-Morcillo, A. Cerezo y J. M.^a Suñé ... 417
- Efecto de diferentes ácidos orgánicos sobre la descarboxilación del ácido glutámico en *Chlorella*, por M. J. Delgado, M. D. Suárez y E. García-Peregrín ... 433
- Estudio analítico de los aceites de oliva de consumo en Granada y selección de técnicas analíticas para la detección de fraudes. III.—Métodos convencionales y cromatografía en fase gaseosa para detección de mezclas, por F. Lázaro y R. García-Villanova ... 441
- Documento de base para un programa de actuación. Planes de estudio de Farmacia y salidas profesionales, por José-Luis Valverde ... 447

TRABAJOS DE COLABORACION

- Determinación espectrofotométrica de V(V) mediante 2-piradilaldehido-2-quinolilhidrazona, por F. Capitán, F. Salinas y J. Giménez Plaza ... 491
- Crítica de libros ... 505

TRABAJOS ORIGINALES DE LA FACULTAD

DEPARTAMENTO DE BROMATOLOGIA, TOXICOLOGIA Y
ANALISIS QUIMICO APLICADO

Prof. Dr. R. GARCIA-VILLANOVA

COMENTARIO SOBRE LA REACCION DEL IODO CON LA METIONINA. TECNICAS IODIMETRICAS PARA SU VALORACION EN MUESTRAS CONTENIENDO PROTEINAS

A. DIAZ-ROCHA, O. FERRER ESPINO, G. FONT PEREZ y F. BOSCH SERRAT

RESUMEN

En este trabajo se estudian algunas técnicas iodimétricas para la dosificación de metionina. En el estudio de las técnicas estudiadas las que suelen ir asociadas a la metionina, se establecen los procedimientos para la valoración de metionina en medicamentos y otras muestras en cuya composición entra metionina. La valoración se practica a un pH 4,5 - 5 en un medio regulado con ácido acético-acetato sódico.

RÉSUMÉ

Dans ce travail on étudie quelques techniques iodimétriques par la titration de metionine. Après d'avoir essayé de différents pH et d'avoir étudié les possibles interférences des substances associées plus fréquemment à la metionine, on établit les procédures pour la valoration de metionine en médicaments et d'autres échantillons avec quelque protéine dans leur composition.

On p
acide acétique-acétate sodique.

SUMMARY

Some iodimetric techniques are employed in this work for the purpose of evaluating of methionine. After having assayed various pH and studied the possible interference of some compounds that frequently accompany methionine the procedures are established for the titration of

methionine in medicines and other samples in whose composition is integrated some protein.

The determination is practised at pH 4,5 - 5 in a buffered solution with acetic acid and sodium acetate.

INTRODUCCION

La reacción del iodo con la metionina y con la homocisteina se desarrolla con una velocidad muy variable y con plural mecanismo, siendo el pH el factor que más influencia tiene sobre estos dos extremos.

A pH ligeramente alcalino ambos aminoácidos fijan una molécula de iodo por cada una del compuesto orgánico (1), originándose un compuesto incoloro y estable dentro de un limitado intervalo de pH, pero que se destruye fácilmente a pH fuertemente ácido, liberándose el iodo de forma cuantitativa (2). Dentro del amplio grupo de los aminoácidos la reacción es muy selectiva para estos dos aminoácidos azufrados. Es evidente que esta selectividad se debe a la presencia de un átomo de azufre en la molécula y una explicación de porqué otros átomos (N, O, C,) que entran a formar parte de la constitución de los aminoácidos no tienen apreciable capacidad para enlazar una molécula de iodo, podría ser el que estos átomos son muy electronegativos, sin tendencia a compartir electrones con la molécula de iodo, ni para adoptar una estructura electrónica con más de ocho electrones en su capa más externa. La molécula de iodo sin embargo tiene marcada posibilidad, al igual que el átomo de azufre a compartir los electrones de su última capa, y ambos elementos, en especial el iodo, pueden admitir diez o doce electrones en su capa externa por su radio atómico más elevado.

La técnica propuesta en el National Formulary XII para la valoración de metionina en cápsulas y comprimidos, es una iodimetría por retorno, utilizando un pH ligeramente superior a siete, logrado con una disolución reguladora de KH_2PO_4 - K_2HPO_4 . Se han propuesto otras técnicas utilizando acetato sódico para controlar el pH entre 6,4-7,2 (3), o tetraborato sódico con el que según los autores (4) se consigue una determinación directa más rápida que mediante el método del N. F. XII. Más recientemente ha sido estudiada la valoración de metionina en mezclas de vitaminas y sustancias minerales, utilizando otro

procedimiento directo en el que primero se hace reaccionar la metionina y la disolución de iodo a pH 6,5 y se titula el iodo no consumido, y después se acidifica a pH menor de uno y se valora el iodo liberado del aducto metionina-iodo (5).

Aunque todos los métodos anteriormente citados tienen la gran ventaja de ser más rápidos que el propuesto en este trabajo, creemos sin embargo que las técnicas iodimétricas que se proponen tienen un marcado interés práctico, por su selectividad y exactitud, en aquellos materiales complejos en los que existen proteínas como componentes de la muestra.

PARTE EXPERIMENTAL

1. DETERMINACION DE METIONINA EN MEDICAMENTOS EXENTOS DE PROTEINAS

1.1. *Reactivos*

Disolución 0,1 N de yodo.—Se pesa 12,7 g de iodo y se vierten en un vaso de precipitado en el que previamente se habían colocado 30 g de ioduro potásico disuelto en unos 40 ml de agua. Una vez disuelto el iodo se trasvasa a un matraz aforado de 1000 ml y se completa con agua destilada. Finalmente se valora frente a la disolución de tiosulfato sódico.

Disolución 0,1 N de tiosulfato sódico.—Se pesa unos 25 g de tiosulfato sódico pentahidratado y se disuelven en agua completando hasta un litro. Valorar frente a dicromato potásico.

Disolución de hidróxido sódico al 25 % p/v

Disolución de hidróxido sódico al 10 % p/v

Acido acético glacial

Disolución de almidón al 0,5 %

1.2. *Técnica*

Se mide un volumen (jarabe, elixir...) o se pesa una cantidad del producto sólido pulverizado (comprimidos, grageas, granulado...) que contenga de 0,5 a 1,25 g de metionina. Para productos sólidos se coloca el polvo en un vaso de precipitado de

250 ml y se añade 75 ml de hidróxido sódico al 10% (*). En el caso de líquidos se añade hidróxido sódico al 25 % en cantidad suficiente para alcanzar una concentración del hidróxido alcalino del 8 al 10%. Completar con agua a unos 75 ml si fuera necesaria.

Se agita durante 15 minutos y se filtra si fuese necesario, lavando y completando con agua destilada hasta 250 ml.

En sendos matraces previstos de tapón esmerilado o de 'plástico (**) se colocan 25 ml de la disolución de iodo y 5 ml de acético glacial. A continuación se añade gota a gota y agitando 25 ml de la disolución problema, se tapan los matraces y al día siguiente se valora el exceso de iodo con la disolución de tiosulfato, utilizando si se prefiere el almidón como indicador. Para mayor precisión es conveniente realizar una prueba en "blanco", colocando en otro matraz 25 ml de la disolución de iodo y 2 ml de ácido acético, valorando también al día siguiente esta disolución con tiosulfato.

1.3. Cálculos

Teniendo en cuenta que el equivalente gramo de la metionina, en esta valoración, es su $pM/2$, los mg de metitonina existentes en los 25 ml de la dilución tomada serán, $mg = (v' - v) \times 74,5 \times N$

v' = volumen de tiosulfato gastado en la valoración de la prueba en "blanco".

v = volumen de tiosulfato gastado en la valoración del problema.

N = Normalidad exacta del tiosulfato.

(*) Cuando el problema son comprimidos la filtración resulta, en algunos casos muy lenta y es mas conveniente modificar la técnica, extrayendo la metionina del polvo con 50 ml de agua caliente, filtrar al vacío y agregar después 75 ml de hidróxido sódico al 25%, prosiguiendo a partir de este momento como la técnica original.

(**) En el caso de no disponer de ellos es preferible el tapón de goma al corcho, pues el uso de este último implica un error del 0,5% aproximadamente.

1.4. Resultados

La técnica fue ensayada primero con metionina pura obteniéndose los siguientes resultados.

mg de metionina puestos	mg de metionina hallados	Diferencia	Error %
50	49,9	-0,1	0,2
50	50,2	0,2	0,4
50	49,8	-0,2	0,4
75	74,75	-0,25	0,33
75	74,90	-0,1	0,13
75	75,0	0	0
100	100,2	0,2	0,2
100	99,7	-0,3	0,3
100	99,6	-0,4	0,4
125	124,6	-0,4	0,32
125	124,8	-0,2	0,16
125	124,4	-0,6	0,48

Los resultados obtenidos son la media de tres valoraciones, observándose una excelente reproducibilidad y exactitud.

Posteriormente se hizo la valoración de la metionina en diversas especialidades farmacéuticas en las que su concentración había sido contrastada. De los resultados obtenidos con medicamentos y con muestras de composición similar preparadas con productos puros se deduce que la valoración es igualmente exacta en presencia de las sustancias a las concentraciones relativas que a continuación se relacionan:

		Peso de sustancia	Peso de metionina
<i>(Relación máxima ensayada)</i>			
Glicocola	No interfiere		2 : 1
Alanina	" "		2 : 1
A-Glutámico	" "		2 : 1
A-Aspártico	" "		2 : 1
Arginina	" "		2 : 1
Lisina	" "		2 : 1
Triptofano... ..	Interfiere		
Glucosa... ..	No interfiere		20: 1
Sacarosa	" "		20: 1
Colina (citrato)	" "		1 : 1
Inositol... ..	" "		1 : 1
Vitamina B ₁₂	" "		<1 : 100
Vitamina B ₁	" "		<1 : 100
Vitamina B ₂	" "		<1 : 100

2. DETERMINACION DE METIONINA EN MEDICAMENTOS QUE CONTIENEN SUSTANCIAS DE NATURALEZA PROTEICA

2.1. *Reactivos*

Los mismos del apartado 1.1. y
Acido tricloroacético al 20% p/v.

2.2. *Técnica*

Se pesa una cantidad de producto sólido pulverizado que contenga de 0,5 a 1,25 g de metionina, se colocan en vaso de precipitado con unos 50 ml de agua y se agita durante 10 minutos. A continuación se añaden 20 ml de ácido tricloroacético al 20%, se agita y se aguardan 15 minutos. Al cabo de este tiempo se filtra a través de papel, se lava con unos 50 ml de disolución al 0,4% de ácido tricloroacético (diluir al 2% la disolución concentrada).

Al filtrado se le añaden 75 ml de hidróxido sódico al 25%, se homogeneiza y se deja en reposo 15 minutos. Se completa con

agua destilada a 250 ml, y a partir de este momento se prosigue como se describió en el apartado 1.2.

2.3. Cálculo

Véase apartado 1.3.

2.4. Resultados

En primer lugar se ensayó la técnica con metionina pura obteniéndose los siguientes resultados:

mg de metionina puestos	mg de metionina hallados	Diferencia	Error %
50	49,6	-0,4	-0,8
50	49,6	-0,4	-0,8
50	49,5	-0,5	-1,0
75	74,3	-0,7	-0,93
75	74,4	-0,6	-0,8
75	74,6	-0,4	-0,53
100	99,5	-0,5	-0,5
100	99,3	-0,7	-0,7
100	99,3	-0,7	-0,7
125	124,0	-1,0	-0,8
125	124,0	-1,0	-0,8
125	124,2	-0,8	-0,64

Cada valor de esta tabla representa la media de tres valoraciones muy concordantes entre sí. La aplicación posterior a medicamentos con contenido conocido de metionina, en los que formaba parte alguna proteína dió igualmente resultados bastante exactos.

3. DETERMINACION DE METIONINA EN PIENSOS

3.1. Reactivos,

Los mismos que en el apartado 2.1.

3.2. *Técnica*

Se pesa una cantidad de muestra, que previamente ha sido pulverizada y homogeneizada, que contenga de 25 a 100 mg de metionina. Se coloca en un vaso de precipitado, se le añaden 50 ml de aguga destilada y se agita durante 10 minutos o 15 minutos, después se agrega lentamente y agitando 20 ml de tricloroacético al 20% y se sigue agitando durante algunos minutos. A continuación se filtra por papel y se lava con 70 ml de ácido tricloroacético al 0,4 %.

Al filtrado se agrega 80 ml de hidróxido sódico al 25%, se agita, se aguarda de 10 a 15 minutos y se completa a 250 ml con agua destilada. El resto de la técnica es como ya se ha descrito en el apartado 1.2.

3.3. *Cálculo.*

Véase apartado 1.3.

3.4. *Resultados*

La técnica anterior fue ensayada comparativamente frente a la técnica de Lavin, obteniéndose resultados más exactos con la propuesta en este trabajo.

DISCUSION

La valoración en medio ácido, regulado con ácido acético-acetato sódico, si bien transcurre más lentamente que a pH ligeramente alcalino, tiene la ventaja de ser un método sencillo y de amplia aplicación. Los resultados obtenidos con muestras complejas, diversos medicamentos y piensos, prueban la exactitud de las técnicas propuestas, consiguiéndose en todos los resultados un error inferior al ± 1 % para muestras conteniendo de 50 a 125 mg de metionina. La reproducibilidad es también buena pues para una misma muestra y determinaciones paralelas la diferencia máxima encontrada es de 0,50 mg de metionina.

En las muestras en que la sustancia problema está acompañada de proteínas, el empleo de ácido tricloroacético tiene un doble efecto, uno, eliminar la interferencia de las proteínas, pues estas reaccionan con el reactivo iodo-iodurado, y otro, hacer mucho más rápida y perfecta la filtración. Las técnicas propuestas en este caso poseen una selectividad, exactitud y reproducibilidad difícilmente superable por cualquier otro método.

BIBLIOGRAFIA

- 1.—LABORATOIRE CHIMIE PHISIQUE ET CHIMIE BIOLOGIQUE. Masson París (1954), p. 664.
- 2.—METHODS OF BIOCHEMICAL ANALYSIS. Interscience. New York (1964), p. 4.
- 3.—S. W. GOLDSTEIN y D. F. DODGEN. Drug Standards (5), 145-8 (1957).
- 4.—K. H. GENSCHE y T. HIGUCHI. J. Pharm. Sci. (2), 177-84 (1967).
- 5.—H. MOHRLE Dt. Apoth. Ztg (23), 787-3 (1967).