CARACTERIZACION DE CAFEINA Y TEOBROMINA EN LA YERBA MATE

HECTOR DIAZ

(Instituto Bacteriológico del Departamento Nacional de Higiene)

En 1836 Trommdorf estableció la presencia de un alcaloide en el mate, y mas tarde Stenhouse (1843) aceptó que se trataba de teina, la que luego resultó similar a la cafeína. Estos trabajos han sido citados por otros autores que se han ocupado del problema, no hallándose los originales en el país.

En base a experiencias de sublimación de los extractos brutos conteniendo cafeína, Oehrli sugirió en 1927, la casi seguridad de que aquella se hallaba acompañada de teobromina, hecho que según Hauschild, fué sugerido también por Schlodtmann (1928). Mas tarde Hauschild pudo establecer la presencia de teobromina en la yerba mate.

Hemos pensado conveniente repetir el aislamiento y la caracterización de dicha substancia para comprobar una vez mas la existencia de la misma y confirmar así el trabajo de Hauschild. Aprovechamos al mismo tiempo la oportunidad para realizar una caracterización de la cafeína en los extractos obtenidos.

En primer lugar decidimos repetir exactamente tal cual lo realizara dicho investigador, el método de aislamiento de la teobromina. Pero no pudimos llegar a ninguna separación neta de cafeína y teobromina, a pesar de haber aislado una cantidad relativamente grande de la primera.

Partimos entonces de un extracto etéreo-clorofórmico que contenía las purinas. Lo sometimos a un proceso de purificación que se describe en la parte experimental y que es similar al empleado en el método de dosaje. Las purinas totales obtenidas fueron separadas por benzol y en la fracción insoluble pudo caracterizarse la teobromina.

Parte experimental: Se repitió el procedimiento llevado a cabo por Hauschild, en la siguiente forma:

Se preparó una infusión con 1.5 kg. de yerba finamente molida con 5 l. de agua ligeramente acidulada (2ml. de ácido clorhídrico concentrado por 100 de agua) en baño de vapor durante una hora. Filtrado el extracto a través de una tela y prnsado en la misma el residuo, volvió a repetirse la operación dos veces más en las mismas condiciones con la misma yerba, juntando los extractos.

Luego de precipitar con una solución al 20% de acetato neutro de plomo, se separó el precipitado por centrifugación y se pasó ácido sulfhídrico sobre el líquido sobrenadante hasta total eliminación del plomo. Filtrado sobre papel el sulfuro de plomo formado, se hizo pasar por el filtrado una corriente de anhidrido carbónico durante cuatro horas para eliminar el exceso de ácido sulfhídrico.

El líquido fué evaporado a vacío en baño de vapor hasta 2 l. que, después de llevar a pH 6 con amoníaco, se siguió evaporando a baño maría agregando previamente arena y magnesia calcinada, hasta obtener un polvo muy higroscópico. Se extrajo

éste durante tres dias con cloroformo en un aparato de Soxhlet, y luego de evaporar el disolvente se obtuvo un residuo de 2.5 g. que fué disuelto en 114 ml. de agua a ebullición. Después de dejar enfriar la solución acuosa, se pudo separar por centrifugación un residuo 1 de un líquido 2.

La solución acuosa 2 se llevó a sequedad a vacío y el polvo blanco obtenido fué recristalizado dos veces de agua dando las agujas características de la cafeína. Se tomó el punto de fusión, dando 235o.C. Hecha una mezcla con cafeína pura, fundía a 235o C. Todo ello demuestra su identidad con la cafeína.

El residuo 1, en el cual Hauschild estableció la existencia de teobromina, se trató de cristalizar de agua pero no se pudo obtener substancia alguna que indicara la presencia de dicho alcaloide.

Atribuyendo el fracaso de dicha experiencia a la extracción hecha con un aparato que extrae en frío y a la insolubilidad dela teobromina en cloroformo frío, se buscó otro camino para su aislamiento. Se aprovecho así un extracto etéreo-clorofórmico de yerba obtenido para otros fines y se siguió una marcha similar a la empleada en el dosaje de las purinas totales según el método de Leudrich y Nottbohm, descripto en la parte que trata del dosaje de los citados alcaloides.

Este procedimiento tiene la ventaja de que se obtiene una substancia mas pura y de que hay seguridad de obtener el alcaloide en su totalidad pues la extracción se realiza con un aparato que extrae con cloroformo en caliente.

Se tomó 80 ml.de un extracto etéreo-clorofórmico (correspondiente a una fracción de 250 g.de yerba extraída). Llevado a sequedad, se trató el residuo con agua a ebullición, destruyendo la materia orgánica por agregado de permanganato de potasio a la solución acuosa filtrada. Eliminado el exceso de permanganato, se evaporó el líquido acuoso hasta 100 ml., extrayendo luego con cloroformo en un aparato de extracción en caliente durante 20 horas. Evaporado el disolvente, se obtuvo un residuo cuyo punto de fusión fué de 209o.C.

Se aprovechó aquí el hecho de que la cafeína es completamente soluble en benceno, en el cual es insoluble la teobromina. Así, se extrajo tres veces el residuo obtenido con benceno en frío, disponiéndolo en un agitador por varias horas. Se obtuvo de esta forma 169 mg. de una substancia que, recristalizada de agua, dió un punto de fusión de 335o.

Dicha substancia se adicionó a 9 ml. de agua, haciendo hervir durante varios minutos y luego se filtró. El residuo que quedó sobre el papel se adicionó nuevamente de agua (alrededor de 6 ml), filtrando mas tarde otra vez. La fracción soluble precipitó una substancia algo amarillenta que se separó por filtración y se tomó su punto de fusión resultando ser 338o. con ennegrecimiento a 310o. (A). El segundo extracto acuoso dió un precipitado blanco cuyo punto de fusión fué de 338o. con ennegrecimiento a 325o.(B).

Las fracciones A y B se recristalizaron de una cantidad mínima de agua a ebullición. Después de ello fundieron ambas fracciones a 338o.con ennegrecimiento a 322-325o. La teobromina pura funde a 341o. con ennegrecimiento muy ligero. Ambas fracciones juntas (A y B) se volvieron a recristalizar de agua con carbón activo.Se obtuvo esta vez cristales cuadrangulares que fundían a 340o.sin ennegrecimiento.

Sublimada dicha substancia al vacío, se obtuvo finalmente un producto muy puro de punto de fusión 340-342o. en la misma temperatura que una muestra de teobromina pura.- La mezcla con teobromina pura no dió depresión en el punto de fusión.La reacción de Scoup realizada con una solución de dicromato de potasio al 5% en ácido sulfúrico concentrado, dió el mismo viraje de tonos que la teobromina pura, completamente distinto de la coloración que en las mismas condiciones suele dar la cafeína. El análisis del producto aislado dió los siguientes resultados:

Pesada: 3.150 mg.

Volúmen de nitrógeno: 0.850 a 20 y 760 mm.

N % ..... : 31.41

Calculado..... : 31.11

CONCLUSIONES: Se ha comprobado que en el mate, junto con la cafeína, desde hace mucho tiempo encontrada en dicho vegetal, se halla una pequeña porción de teobromina.

ES COPIA