Biblioteca Digital
F C E N - U B A

BIBLIOTECA CENTRAL LUIS F LELOIR
BIBLIOTECA CENTRAL LELOIR
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES UBA

Tesis de Posgrado

Estudio químico de la corteza del Fagara Coco (Gill) Engl.

Comin, Jorge H.

1953

Tesis presentada para obtener el grado de Doctor en Ciencias Químicas de la Universidad de Buenos Aires

Este documento forma parte de la colección de tesis doctorales y de maestría de la Biblioteca Central Dr. Luis Federico Leloir, disponible en digital.bl.fcen.uba.ar. Su utilización debe ser acompañada por la cita bibliográfica con reconocimiento de la fuente.

This document is part of the doctoral theses collection of the Central Library Dr. Luis Federico Leloir, available in digital.bl.fcen.uba.ar. It should be used accompanied by the corresponding citation acknowledging the source.

Cita tipo APA:
Comin, Jorge H.. (1953). Estudio químico de la corteza del Fagara Coco (Gill) Engl.. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires.
http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_0773_Comin.pdf

Cita tipo Chicago:
Comin, Jorge H.. "Estudio químico de la corteza del Fagara Coco (Gill) Engl.". Tesis de Doctor. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. 1953.
http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_0773_Comin.pdf

EXACTAS UBA
Facultad de Ciencias Exactas y Naturales

UBA
Universidad de Buenos Aires

Dirección: Biblioteca Central Dr. Luis F. Leloir, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires. Intendente Güiraldes 2160 - C1428EGA - Tel. (++54 +11) 4789-9293

Contacto: digital@bl.fcen.uba.ar

ESTUDIO QUIMICO DE LA CORTEZA DEL FAGARA COCO (Gill.) Engl.

El Fagara Coco (Gill.) Engl. es una planta perteneciente a la familia de las Rutáceas, que crece en nuestro país en las provincias centrales y del noroeste, donde se le conoce con los nombres de coco o sauce hediondo.

Del extracto alcohólico de su corteza se han aislado y caracterizado las siguientes sustancias:

De la fracción soluble en éter etílico se aisló, por cromatografía sobre alúmina, un esterol, que se identificó, por sus constantes y las de su acetato y dinitrobenzoato, con el β-sitosterol.

De la fracción soluble en agua se aisló una sustancia cuyas reacciones indicaron se trataba de un azúcar, y que fué posteriormente identificada con sacarosa por sus constantes antes y después de hidrólisis y las de su octaacetato.

De esta misma fracción se separó también, por precipitación con cloruro mercúrico, descomposición del complejo con ácido sulfhídrico y cristalización de etanol absoluto, una base amoniacal cuaternaria, en forma de cloruro, de la cual se prepararon varias sales y derivados, y a cuya fórmula estructural se llegó mediante estudios degradativos: oxidación con ácido nítrico concentrado a ácido melofánico, oxidación con permanganato de potasio en medio acuoso alcalino a

ácido 4-5-dimetoxi-1-2-3-bencenotricarboxílico y degradación hasta 3-4-5-6-tetrametoxifenantreno; mediante su metilación con diazometano e identificación del derivado metilado con el dimetil éter de la Corituberina, y mediante la aplicación de la reacción de Pellagri. Es un alcaloide perteneciente al grupo de los aporfínicos, cuya estructura corresponde a una 3-hidroxi-4-5-6-trimetoxi-N-metil aporfina, y al que hemos denominado, considerando su similitud con los alcaloides del grupo : corituberina, coridina, isocoridina: N-metil Pseudocoridina.

Jorge H. Comul

Al Dr. Alfredo Sordelli, con afecto y respeto

Jorge H. Comin

UNIVERSIDAD NACIONAL DE BUENOS AIRES

FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES

Tesis presentada para optar al título de

Doctor en Química

por

JORGE H. COMIN

Buenos Aires

1953

773
Ej. 5

I

FCEN BIBLIOTECA

E S T U D I O Q U I M I C O D E L A C O R T E Z A

D E L

FAGARA COCO (Gill.) Engl.

A mis padres

AGRADECIMIENTO

Al Dr. Venancio Deulofeu, por sus invaluables enseñanzas, por sus consejos y por su constante estímulo, presento aquí el testimonio de mi más profunda gratitud.

Agradezco asimismo al Dr. Jorge Deferrari su valiosa ayuda y el interés puesto en este trabajo.

Al Dr. Angel Stoppani expreso mi agradecimiento por la generosa hospitalidad brindada en los laboratorios de su Cátedra.

La realización del presente trabajo fué hecha posible, además, por la desinteresada colaboración de numerosas personas, a quienes hago llegar aquí la expresión de mi más sincero reconocimiento:

Al Dr. José Carlomagno, de la Universidad Nacional de Córdoba, por el suministro de la corteza del Fagara Coco.

A los Dres. Oscar Orías y Enrique Moisset de Espanés, del Instituto Mercedes y Martín Ferreyra, de Córdoba, por el envío de corteza de Fagara Coco y por los ensayos farmacológicos realizados con el alcaloide.

A las autoridades del Instituto Malbrán, y muy especialmente a los Dres. Jorge R. Mendive y Yamil Salum por facilitarme el uso de las instalaciones de la Sección Organoterapia del nombrado Instituto para la realización de las extracciones de la corteza

y la concentración de los extractos.

Al Dr. Joseph Alicino, del "Squibb Institute for Medical Research", de New Brunswick, N.Y., por los microanálisis y ~~los espectros de absorción infrarrojos~~ que figuran en estas páginas.

A los directores de "La Farmaco Argentina S.A.", y en especial al Dr. Hugo Puiggari (h), por la molienda de la corteza.

Al Dr. Jorge Villar Fabre por el estudio cristalográfico del octaacetato de sacarosa.

Al Dr. Daniel Bassi por las mediciones de los espectros de absorción ultravioleta.

A los Dres. Jorge Porto y Oscar C. Cromatto por la fotomicrografías de las sales del alcaloide.

A la Asociación Argentina para el Progreso de las Ciencias por las subvenciones acordadas durante la realización de este trabajo.

I N D I C E

INTRODUCCION 1

ALCALOIDE

PARTE TEORICA 6

Introducción 6

Aislamiento y purificación 7

Sales de la N-metil Pseudococridina 8

Grupos Funcionales 9

Estructura del Núcleo 11

Posición de los Sustituyentes 20

Ensayos Farmacológicos 26

Consideraciones Generales 26

PARTE EXPERIMENTAL 28

Extracción 28

Aislamiento y Purificación 28

Bromuro de N-metil Pseudococridina. 30

Ioduro de N-metil Pseudococridina 31

Picrato de N-metil Pseudococridina 33

Reacciones Coloreadas 33

Hidrogenación 35

Ioduro de O-acetil-N-metil-Pseudococridina 36

Cloruro de O-metil-N-metil Pseudococridina 37

Ioduro de O-metil-N-metil Pseudococridina 37

Iodometilato del dimetil éter de Cerituberina 38

Diacetil Pseudocoridina 39
Derivado Benzoilado Opticamente Inactivo 39
Acido Melofénico 40
Metilimida del Acido 4-5-dimetoxi-1-2-3-benceno-
tricarboxílico 40
Acido 4-5-dimetoxi-1-2-3-bencenotricarboxílico 42
Metino Opticamente Activo de la O-metil-N-metil
Pseudocoridina 43
Iodometilato del Metino Opticamente Inactivo de la
O-metil-N-metil Pseudocoridina 44
Acido 1-carboxil-3-4-5-6-tetrametoxifenantrénico 45
3-4-5-6-tetrametoxifenantreno 46
BIBLIOGRAFIA 48

ESTEROL

PARTE TEORICA 50
Introducción 50
Aislamiento y Purificación 51
Caracterización 52
Consideraciones Generales 54
PARTE EXPERIMENTAL 56
Aislamiento y Purificación 56
Acetato 58
3-5-dinitrobenzoato 58
BIBLIOGRAFIA 60

AZUCAR

PARTE TEORICA 61

Introducción 61

Aislamiento y Purificación 61

Caracterización 62

Consideraciones Generales 65

PARTE EXPERIMENTAL 66

Aislamiento y Purificación 66

Reacciones Coloreadas 68

Inversión 69

Acetato 69

Octaacetato de Sacarosa 69

BIBLIOGRAFIA 71

I N T R O D U C C I O N

El Fagara Coco (Gill.) Engl., conocido en nuestro país con los nombres de coco, sauce hediondo o cañuchu, es una planta que crece en la parte central y norte de la República, principalmente en las provincias de Córdoba, San Luis, Tucumán, Catamarca, Salta y Jujuy, entre los 500 y 1700 metros de altura.

Pertenece a la familia de las Rutáceas, en numerosas especies de la cual se han encontrado sustancias de interés químico: alcaloides, glucósidos, aceites esenciales, etc.

Los numerosos alcaloides encontrados hasta ahora en los representantes de esta familia se distribuyen en muy diversos grupos químicos (véase Tabla 1, pág.2), a los que se agrega, con el presente trabajo, el grupo de los fenantrapiridínicos (o de la aporfina), al cual pertenece el alcaloide que hemos aislado.

El primer estudio químico efectuado sobre el Fagara Coco, parece haber sido un análisis de cenizas de su corteza, citado por Napp (1), y que dió los siguientes resultados:

Contenido de cenizas: 4,78 % sobre corteza seca.

Análisis: CaO 75% ; CK_2 12,4% ; CMg 4,46% ; P_2O_5 2,4% ; SiO_2 2% ; SO_3 0,6% ; CNa_2 1,5%.

Por la misma época Harperath (2), hizo un estudio de la madera del coco, determinando la composición de sus cenizas y su contenido en tanino.

Tabla 1

Grupos	Sub-Grupos	Alcaloides
alifático		fagaramida
isoquinolina	α-naftantridina	hemocbelidonina
	berberina	berberina artarina canadina
	criptopina	α-alocriptopina (α-fagarina) fagarina II
quinolina	furequinolina	skimmianina γ-fagarina dictamnina acronicidina
	feniletilquinolina	cusparina cusparefna galipina
acridina		meliocpina meliocpidina meliocpicina acronicina evocantina evocantidina xantevodina
glicosalina		pilocarpina isopilocarpina pseudopilocarpina carpilina pseudojaborina
indol		evodiamina evodina rutaecarpina
pirrol		estaquidrina

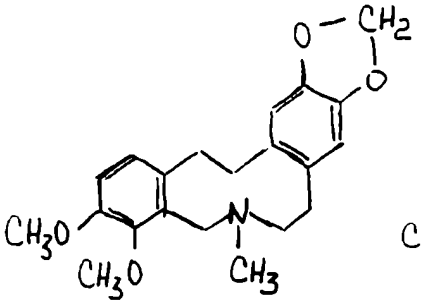
Alcaloides de estructura conocida aislados de especies pertenecientes a la familia de las Rutáceas.

Años más tarde, Stuckert y colaboradores (3), retomaron el estudio de esta planta, aislando de la corteza de la misma un alcaloide al que denominaron fagaridina, y de los tallos jóvenes y de las hojas tres alcaloides más, que llamaron α-, β- y γ- fagarinas. Poco después la casa Merck de Darmstadt, efectuó, por pedido del Dr. Stuckert, preparaciones de los alcaloides del Fagara Coco (4), obteniéndose dos bases, de las cuales, la llamada fagarina I resultó idéntica con la α-fagarina, siendo en cambio nueva la llamada fagarina II. Más recientemente, Redemann, Wisegarver y Alles (5), trabajando con una cantidad relativamente grande de hojas, aislaron un nuevo alcaloide que llamaron fagarina III.

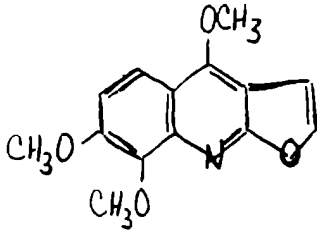
La α-fagarina, $C_{24}H_{25}O_5N$, p.f. 159-160°, fué identificada con la α-alocriptopina, I, por Redemann, Wisegarver y Alles (5). Algunas preparaciones de este alcaloide presentan características de la β-alocriptopina, p.f. 169-170°, que es al parecer una forma dimórfica de la anterior (6). Los mismos autores citados anteriormente (5), demostraron que la fagarina II posee también una estructura del tipo de la criptopina.

Las β- y γ-fagarinas, según fué demostrado por Deulofeu, Labriola y colaboradores, son alcaloides furoquinolínicos: la β-fagarina, $C_{14}H_{15}O_4N$, p.f. 176°, fué identificada con la skimianina, II, (7), y la γ-fagarina, $C_{13}H_{11}O_3N$, p.f. 139-140°, resultó ser la 8-metoxidictamnina, III (8).

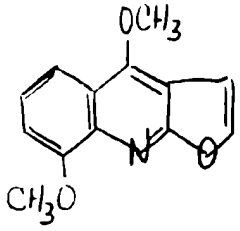
Las estructuras de la fagaridina y de la fagarina III no han sido estudiadas.



I



II

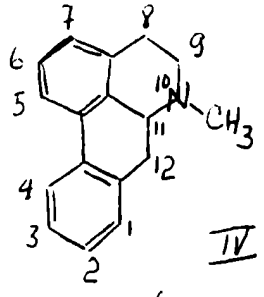


III

Stuckert y colaboradores (9), extrajeron además la esencia de la cáscara del fruto y el aceite de las semillas, sin estudiarlos ulteriormente.

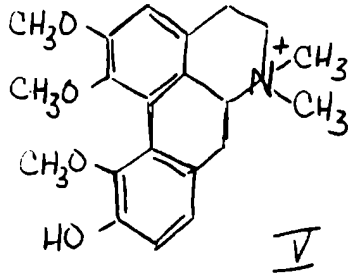
En el presente trabajo describimos el aislamiento e identificación de las siguientes sustancias de la corteza del Fagara Coco:

Una base cuaternaria, cuya fórmula estructural, a la que llegamos en el estudio experimental que se describe en la primera parte de este trabajo, corresponde a una 8-hidroxi-4-5-6-trimetoxi-N-metil aporfina, V :



IV

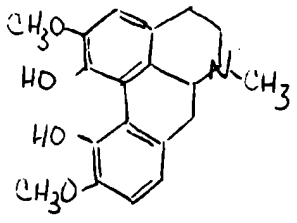
aporfina



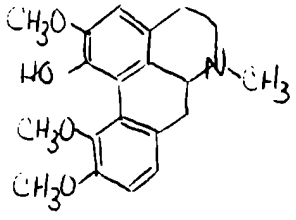
V

Existe un grupo de alcaloides aporfínicos, al cual pertenecen la corituberina (4-5-dihidroxi-3-6-dimetoxi aporfina), VI, la coridina (5-hidroxi-3-4-6-trimetoxi aporfina), VII, y la isoco-

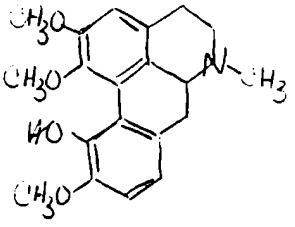
ridina (4-hidroxi-3-5-6-trimetoxi aporfina), VIII, que tienen la misma distribución de sustituyentes oxigenados en el núcleo aporfínico:



VI



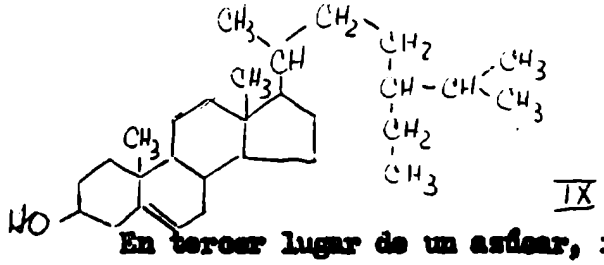
VII



VIII

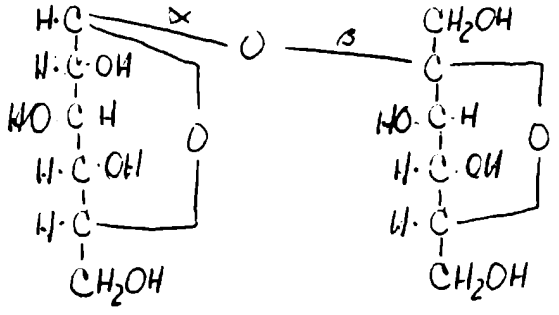
La similitud de la estructura de nuestro alcaloide con las de la coridina y de la isocoridina nos llevó a llamarlo N-metil Pseudocoridina.

En segundo lugar se describe el aislamiento e identificación de un esterol que resultó idéntico con el β-sitosterol :



IX

En tercer lugar de un azúcar, identificado como sacarosa:



X

A L C A L O I D E

PARTE TEORICA

Introducción.- En su primera publicación sobre los alcaloides del Fagara Coco, Stuckert (10) menciona haber aislado de su corteza un alcaloide al cual llamó cocoberberina. Señala también su creencia que en la corteza se encuentra otro alcaloide, al que llamó fagaridina, que supone podría ser una base cuaternaria y al que considera distinto de la cocoberberina.

El mismo nombre, fagaridina, fué dado por Fernández Bua (11) a una base que aisló, en esa misma época, de la corteza de esta planta, que funde a 208º y cuya solución alcohólica es levógira.

La fagaridina no aparece de nuevo en la literatura química hasta el año 1958 en que Stuckert (12) señala que el alcaloide al que llamara fagaridina ha sido preparado, a partir de corteza de Fagara Coco en la casa Merck de Darmstadt, obteniéndose un clorhidrato de p.f. 205-206º (desc), a cuyo análisis se hizo corresponder la fórmula $(C_{24}H_{28}O_4N)$ HCl, y que en solución clorofórmica es levógiro. Se dan además de este alcaloide, que Stuckert considera aquí idéntico a la cocoberberina, algunas reacciones coloreadas (véase Tabla III, pág.34) y se menciona su actividad farmacológica. En la misma publicación aparece un trabajo de Arreguine donde se reproducen microfotografías del picrato y del picrolonato de fagaridina, sin indicarse su punto de fusión (13).

En nuestro estudio de la corteza del Fagara Coco, hemos podido aislar, por los métodos más abajo descriptos, una base cuaternaria cuyo cloruro funde a 235-236° (desc), cuyo análisis coincide con la fórmula $C_{21}H_{28}O_4N.Cl$, y que es fuertemente dextrorrotatorio en solución acuosa, alcohólica y clorofórmica.

Aunque este alcaloide presenta ciertas similitudes con la fagaridina, las fundamentales diferencias observadas no permiten identificarlo con el obtenido por Stuckert y Fernández Bua.

Aislamiento y Purificación.- Los extractos ácidos de la corteza del Fagara Coco dan una muy fuerte reacción con los reactivos generales de alcaloides (Mayer, ácido pícrico), reacción que pasa sólo en muy pequeña proporción a los solventes orgánicos, indicando la presencia de una base amoniacal cuaternaria.*

En ensayos preliminares se empleó, para aislar la base, un método basado en el uso de una resina intercambiadora de aniones, que se describe en la sección correspondiente al azúcar (véase pág.66).

---

* Es de notar que los extractos ácidos de hojas y tallos jóvenes del Fagara Coco contienen una fracción Mayer positiva no extraíble por los solventes orgánicos (14). Sería interesante investigar si esta reacción es debida también a la N-metil Pseudocoridina.

Posteriormente, en las preparaciones principales, se utilizó el siguiente método, derivado del descripto por Manske (15): La corteza, seca y desmenuzada, se extrae con sucesivas porciones de etanol 96º, se evapora éste a presión reducida y el residuo se toma en ácido clorhídrico diluído. Se deja reposar la suspensión resultante por unos días y se filtra luego por una capa de filtercel y carbón activado. El filtrado se extrae con éter etílico, luego se alcaliniza y se extrae con tricloroetileno y cloroformo hasta eliminar las bases solubles en solventes orgánicos.* Se acidifica la fase acuosa y se precipita el alcaloide con cloruro mercúrico; el precipitado amarillo formado se suspende en etanol y se descompone con una corriente de hidrógeno sulfurado. Se filtra el sulfuro de mercurio y el filtrado se evapora a sequedad. El residuo se cristaliza de etanol absoluto, y se obtienen cristales blancos prismáticos de Cloruro de N-metil Pseudocoridina de p.f. 250º (desc), con un rendimiento de aproximadamente 0,8 % respecto al peso de corteza seca (varía según la corteza empleada).

Sales de la N-metil Pseudocoridina.- El Cloruro de N-metil Pseudocoridina p.f. 255-256º (desc), $[\alpha]_D^{30}$ +168,6º (agua), da un análisis cuyos datos coinciden con la fórmula $C_{21}H_{28}O_4N.Cl$. Microfotografía de cristales pág. 32. Espectro de absorción U.V. pág.17.

---

* Sería interesante investigar si estas bases son las mismas que se encuentran en las hojas y tallos jóvenes, y si contienen Pseudocoridina (terciaria).

A partir del él se obtuvieron las siguientes sales:

Bromuro de N-metil Pseudocoridina, $C_{21}H_{26}O_4N.Br$, cristales blancos prismáticos, p.f. 251-252º (desc.), $[\alpha]_D^{17}$ + 148,0º (agua).

Ioduro de N-metil Pseudocoridina, $C_{21}H_{26}O_4N.I$, cristales blancos prismáticos, p.f. 251-252º (desc.), $[\alpha]_D^{28}$ + 139,9º (agua). Fotomicrografía de los cristales en la pág.32.

Picrato de N-metil Pseudocoridina, $C_{21}H_{26}O_4N.C_6H_2O_7N_3$, cristales amarillos aciculares, p.f. 202-204º (desc), $[\alpha]_D^{31}$ +90,9º (acetona). Fotomicrografía de los cristales en la pág.32.

Grupos funcionales.- El análisis elemental nos ha revelado la presencia de cuatro átomos de oxígeno y de uno de nitrógeno en la molécula del alcaloide.

Ya hemos hecho notar que el nitrógeno es cuaternario, es decir, tetracovalente y con una carga positiva.

El análisis de grupos metoxilos en las cuatro sales de la N-metil Pseudocoridina preparadas y en el derivado acetilado (véase más abajo), arrojó la cifra de tres.

El análisis de grupos metilos unidos a nitrógeno, en esos mismos compuestos y en el derivado metilado (véase más abajo), indicó la presencia de dos grupos metilos en el nitrógeno. Este análisis, sin embargo, arroja generalmente valores bajos, probablemente debido a la labilidad de los grupos metilo cuando están unidos a un nitrógeno cuaternario, lo que podría provocar el desprendimiento demasiado rápido del primero de ellos, en su determinación por el método de Zeisel.

Tratando el cloruro de N-metil Pseudocoridina con anhidrido acético y piridina en frío, se obtiene una sustancia, que se analiza bajo forma de ioduro, $C_{25}H_{28}O_5N.I$, p.f. 260-265º (desc), $[\alpha]_D^{28}$ + 112,6º (agua), cuyo espectro de absorción U.V. (véase pág.18) es prácticamente idéntico al de la N.-metil Pseudocoridina, y cuyo análisis funcional indica la presencia de un grupo acetilo: $C_{21}H_{25}O_4N.CH_3CO.I$. Ello nos revela la presencia de un grupo hidroxilo en la molécula del alcaloide.

Haciendo reaccionar el Cloruro de N-metil Pseudocoridina en solución metanólica con diazometano en solución etérea, se obtiene una sustancia, $C_{22}H_{28}O_4N.Cl$, p.f. 258º (desc), $[\alpha]_D^{20}$ + 198,5º (agua), cuyo análisis funcional, y el del ioduro preparado a partir de ella: $C_{22}H_{28}O_4N.I$, p.f. 246-247º (desc.), $[\alpha]_D^{27}$ + 170,4º (agua), indica la presencia de cuatro grupos metoxilos. Este cuarto grupo metoxilo, formado evidentemente a partir del hidroxilo, revela el carácter fenólico del mismo.

Deducimos entonces de los datos obtenidos: de los cuatro átomos de oxígeno, uno está presente en un hidroxilo fenólico y los otros tres en tres metoxilos; el nitrógeno está unido a dos grupos metilos.

Llegamos así a la fórmula:

$$C_{16}H_{10} \begin{cases} -OH \text{ (fenólico)} \\ 3\ (-OCH_3) \\ =N(CH_3)_2 \quad Cl^- \end{cases}$$

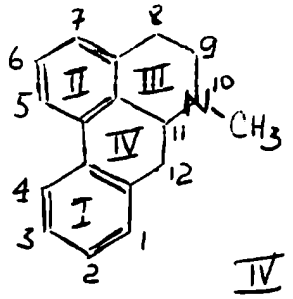
Estructura del Núcleo.- Aclarados los grupos funcionales, pasamos a estudiar, mediante reacciones de degradación, la estructura del núcleo $C_{16}H_{11}N$, al que llegamos por las experiencias anteriores.

Anotamos en primer lugar que el alcaloide no se reduce por hidrogenación a tres atmósferas sobre platino según Adams, lo que indica la ausencia de dobles ligaduras aisladas.

Hirviendo a reflujo el Cloruro de N-metil Pseudoxoridina con anhidrido acético durante tres horas, se obtiene una sustancia, $C_{24}H_{27}O_6N$, p.f. 165-166º, que no tiene carácter básico y que es ópticamente inactiva, $[\alpha]_D^{27} \pm 0,0º$ (etanol 96º). Su espectro de absorción U.V. (véase pág. 18), difiere fundamentalmente del de la sustancia original.

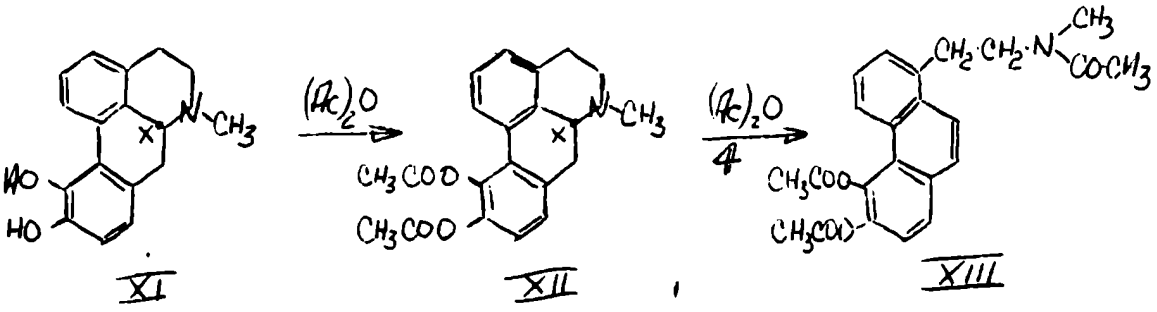
La desaparición del poder rotatorio se repite al tratar el alcaloide con cloruro de benzoílo a ebullición, reacción de la cual se aisla una sustancia, que no pudo purificarse bien, p.f. 135-140º, $[\alpha]_D^{20} \pm 0,0º$ (cloroformo), pero que muestra claramente la desaparición del carbono asimétrico.

Estos hechos nos indujeron a pensar que estábamos en presencia de un alcaloide del grupo de los fenantrapiridínicos, cuya estructura fundamental está representada por el grupo aporfínico:

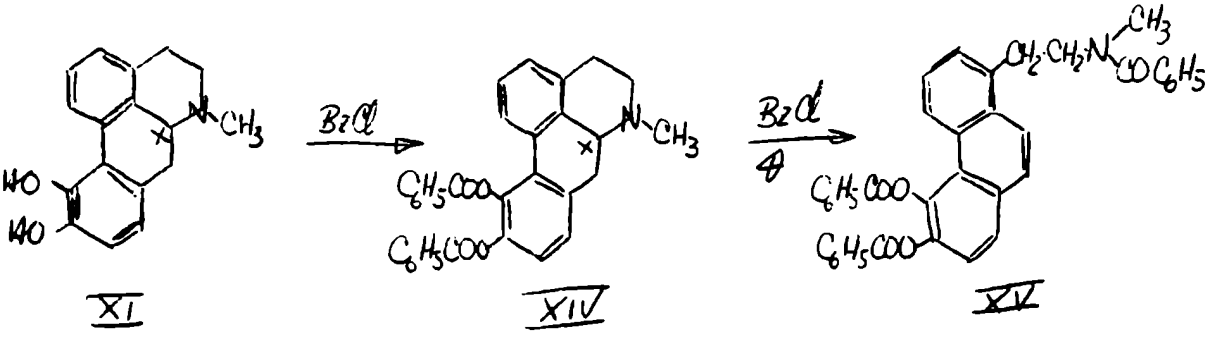


IV

En efecto, es conocido que la desaparición del poder rotatorio por este tipo de tratamiento es una característica de las bases de este grupo, que reaccionan de la manera que ilustramos a continuación para la apomorfina (16,17) :



XI XII XIII



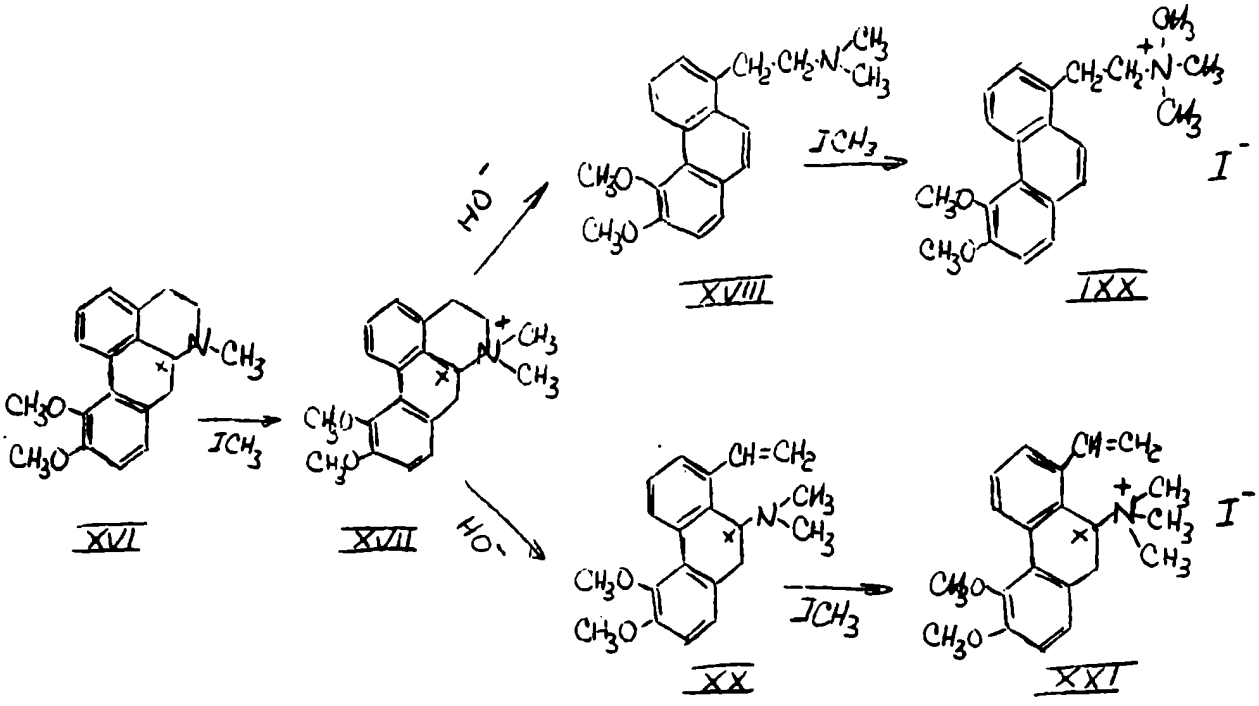
XI XIV XV

La triacetil y la tribenzoil-apomorfinas, XIII y XV, no tienen carácter básico, debido a la presencia del grupo electronegativo en el nitrógeno, son ópticamente inactivas debido a la desaparición del centro de asimetría en el carbono 11 (marcado con un asterisco) y su absorción en el ultravioleta es consecuencia de la presencia del núcleo fenantrénico.

Con el Cloruro de N-metil Pseudocoridina, cuyo nitrógeno es cuaternario y está unido a dos grupos metilos, la reacción determina, junto con la apertura del núcleo piridínico, la eliminación de uno de los grupos metilos.

A la misma conclusión nos condujo la degradación de la base según Hoffman:

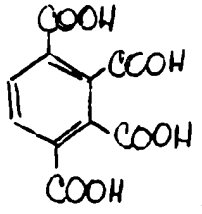
Los alcaloides del grupo de la aporfina se comportan en el primer paso de esta degradación tal como ilustramos para la dimetil-apomorfina (18) :



El iodometilato XVII al ser hervido con hidróxido de potasio en solución alcohólica o acuosa, reacciona según dos esquemas distintos, rompiéndose la unión del nitrógeno con el carbono 9 u 11, dando en el primer caso un metino ópticamente inactivo, XVIII, que adiciona ioduro de metilo para dar un iodometilato ópticamente inactivo, IXX, y en el segundo caso un metino ópticamente activo, XX, que da con ioduro de metilo el iodometilato XXI, ópticamente activo.

En el primer caso de la degradación según Hoffman de nuestro alcaloide, que se lleva a cabo hirviendo a reflujo una solución alcohólica de Ioduro de O-metil-N-metil Pseudocoridina con exceso de hidróxido de potasio, se obtuvo una mezcla de los dos metinos, que se separaron por cromatografía sobre alúmina, aislándose el metino ópticamente activo, $C_{22}H_{27}O_4N$, p.f. 76-77º, $[\alpha]_D^{16}$ -178,6º (etanol 96º) y su iodometilato, $C_{25}H_{30}O_4N.I$. p.f. 165º, $[\alpha]_D^{20}$ -210,4º (etanol 96º), y una fracción menor, ópticamente inactiva, de la que se obtuvo un iodometilato ópticamente inactivo, $C_{25}H_{30}O_4N.I$; p.f. 280º (desc.), $[\alpha]_D^{22}$ ±0,0º (etanol 96º).

Ulterior evidencia de que la N-metil Pseudocoridina pertenece al grupo de los alcaloides aporfínicos se obtuvo oxidando su Cloruro con ácido nítrico concentrado, según el método descripto por Warnat (19), reacción de la cual se obtuvo el ácido meloftínico, XXII, p.f. 237-238º (desc.), que se caracterizó como su éster tetrametílico, p.f. 150,5-151,5º.

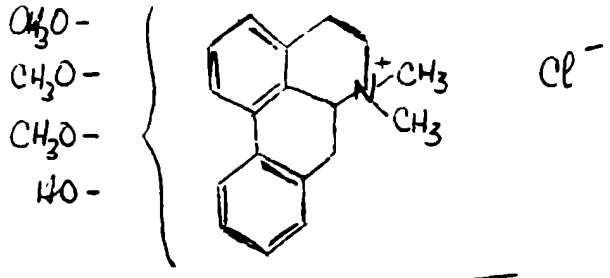


XXII

Esta reacción se considera característica de los alcaloides de núcleo aporfínico (véase, por ejemplo, Späth, Holter y Posega (20); Ghose, Krishna y Schlitter (21), y se produce por aromatización del anillo central y oxidación total de los restantes.

Finalmente, el espectro de absorción U.V. del Cloruro de N-metil Pseudocoridina presenta una gran similitud con el del clorhidrato de apomorfina (véase pág.17), y sus máximos y mínimos coinciden bastante bien con los de los demás alcaloides de esta serie (véase tabla 11, pág.18). Posteriormente se encontró, además, que el espectro de absorción U.V. del Ioduro de O-metil-N-metil Pseudocoridina, es idéntico al del iodometilato del dimetil éter de la corituberina (3-4-5-6-tetrametoxi aporfina) (véase pág. 19).

Consideramos con ello suficientemente probada la estructura aporfínica del núcleo $C_{16}H_{10}^{+}N$, que encontramos anteriormente, y llegamos a la siguiente fórmula estructural para el Cloruro de N-metil Pseudocoridina:



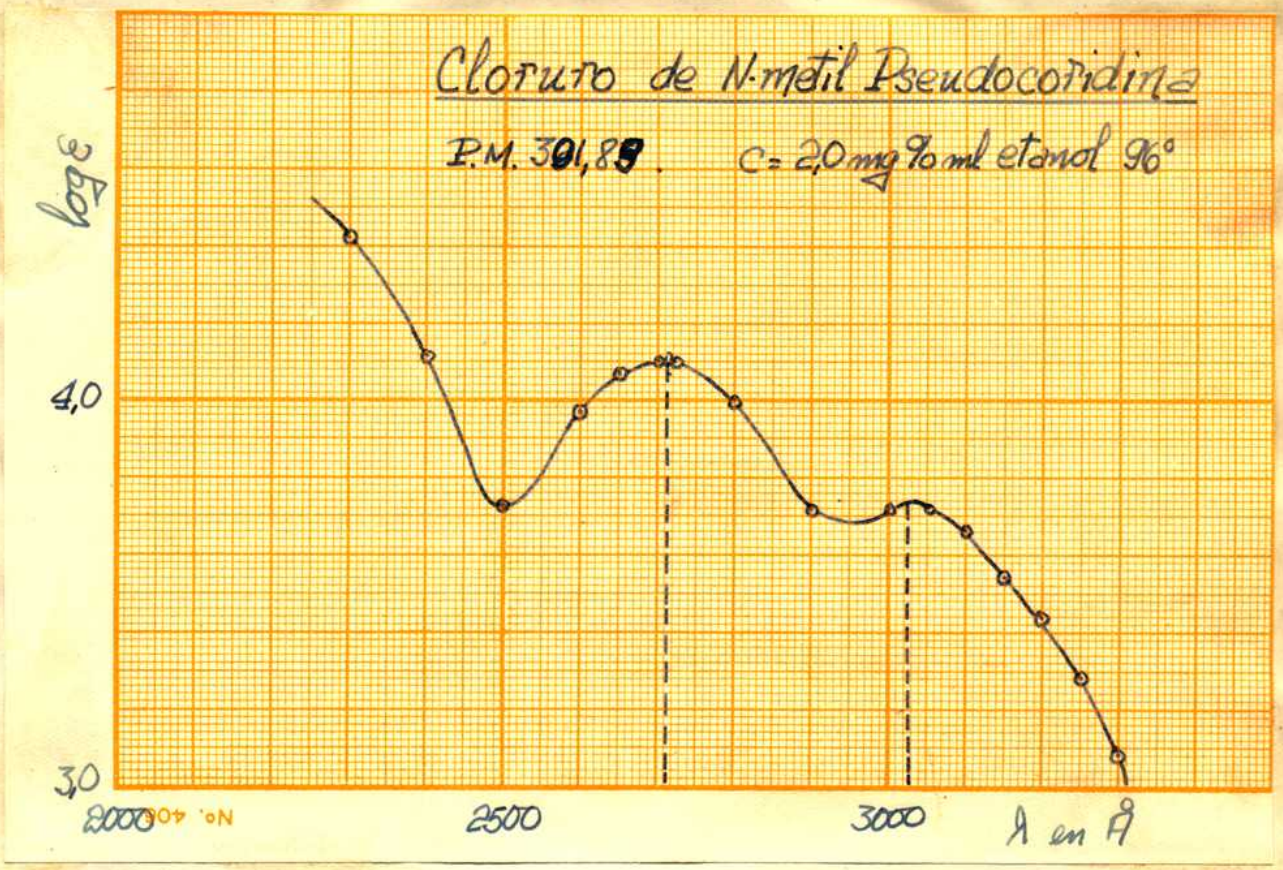
XXIII

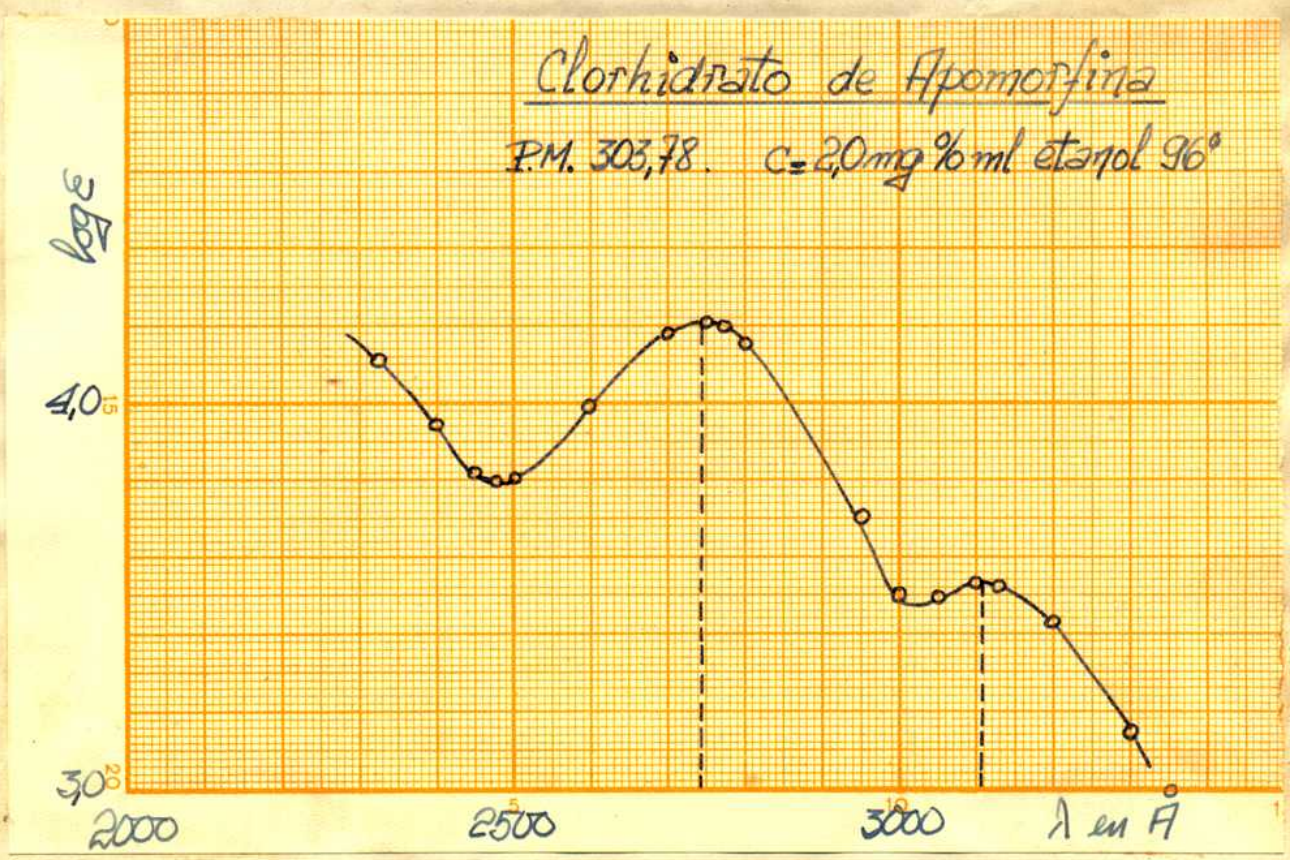
Tabla II

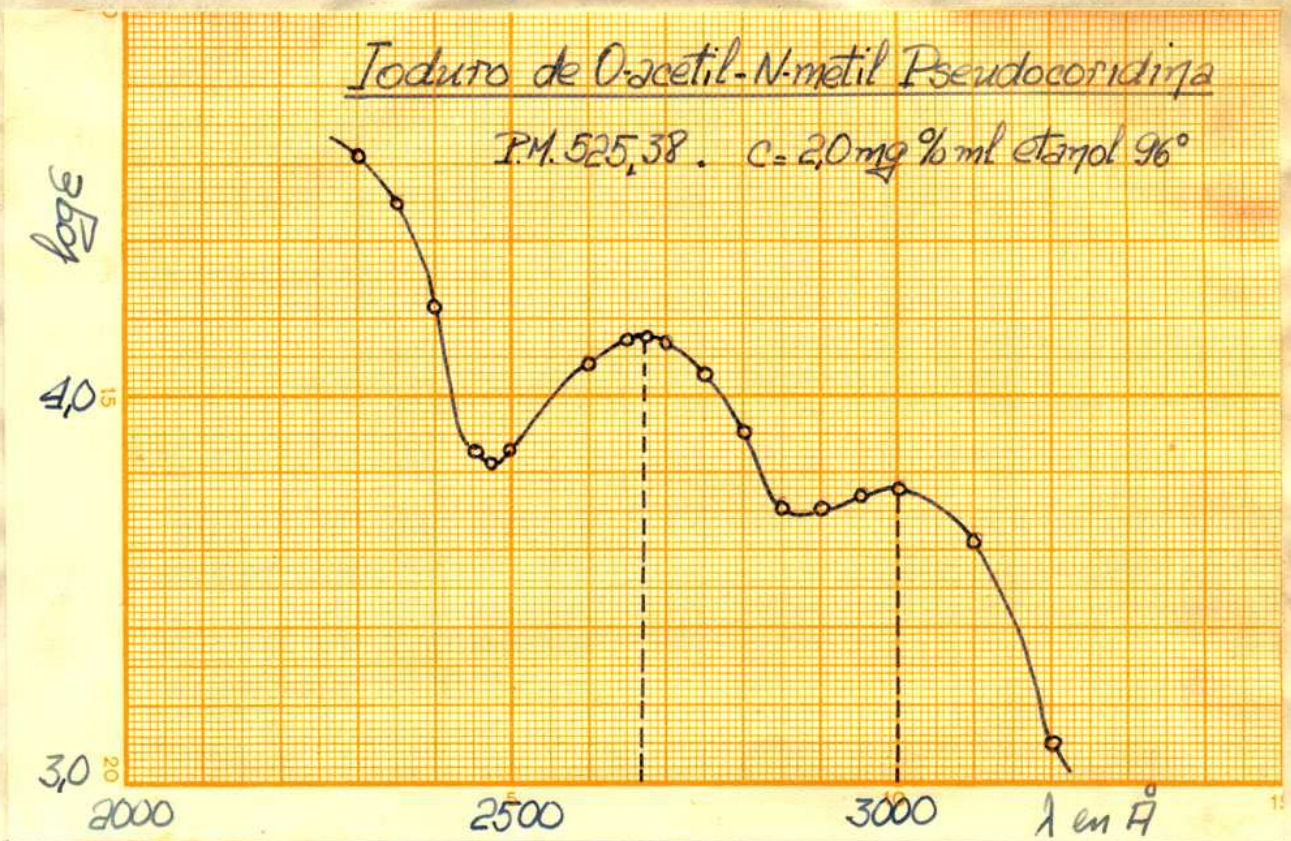
alcaloide	máximos (A)		mínimos (A)	
Cloruro de N-metil Pseudocoridina	2710	3030	2500	2920
Clorhidrato de Apomorfina	2770	3174	2490	2980
Ioduro de O-metil-N-metil Pseudocoridina	2715		2505	
Iodometilato de dimetil Corituberina	2715		2505	
Isocoridina*	2670	3120	2505	2870
Laurepukina*	2670	3105	2545	2855
Apomorfina*	2770	3174	2490	2980
Clorhidrato de Morfotebaína*	2690	3105	2510	2980
Isotebaína*	2690			
Laurelina*	2700	3105	2540	2860
Pukateína*	2670	3085	2520	2940
Glaucina*	2650	3080	2540	2960
Dicentrina*	2650	3125	2565	2960
Morfina*	2870		2650	
Tebaína*	2845	2520		

Longitudes de onda de máxima y mínima absorción U.V. de alcaloides del grupo de la aporfina.

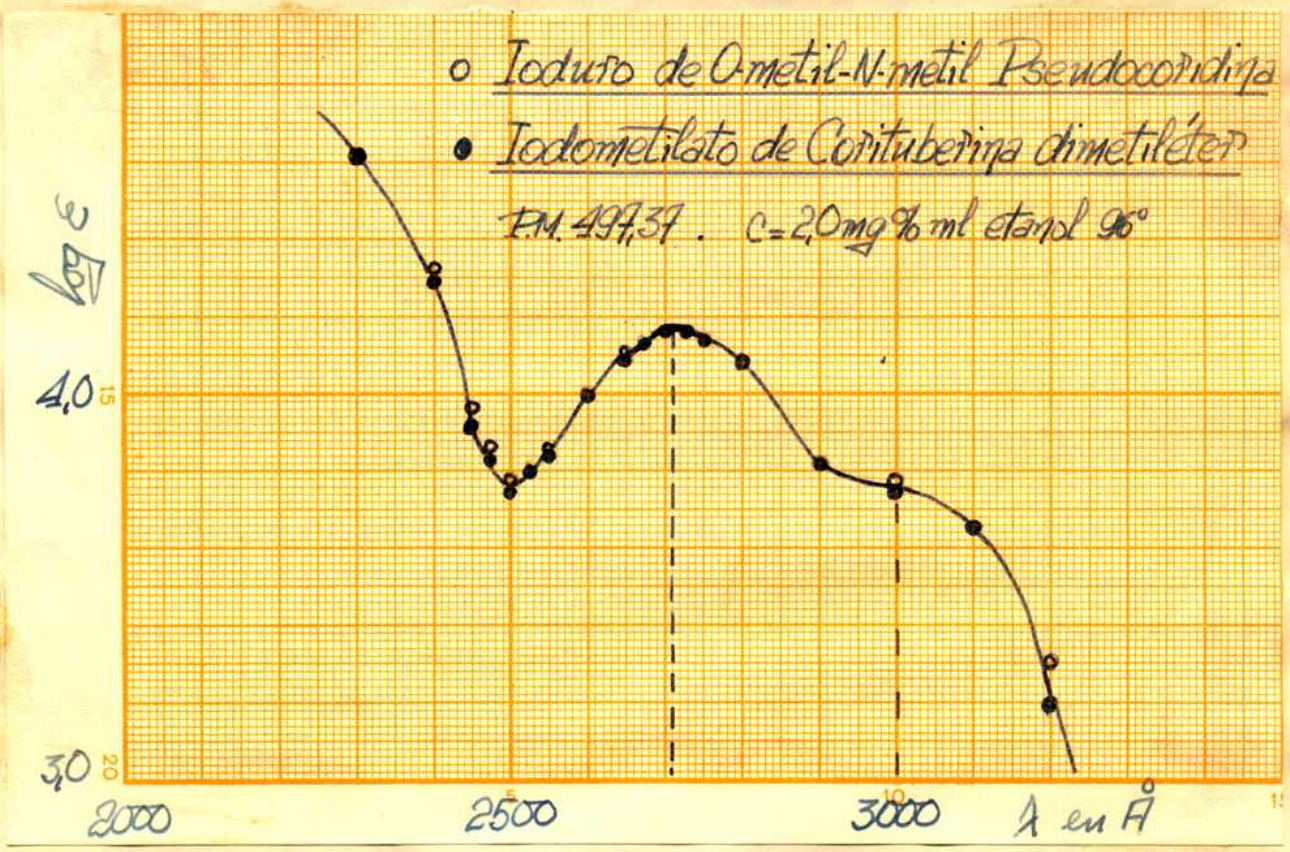
(*Recalculadas de Girardet (22)).


Cloruro de N-metil Pseudocoridina
P.M. 301,88. C= 2,0 mg % ml etanol 96°
log ε
4,0
3,0
2000
2500
3000
λ en Å


Clorhidrato de Apomorfina
P.M. 303,78. C= 2,0 mg % ml etanol 96°
log ε
4,0
3,0
2000
2500
3000
λ en Å

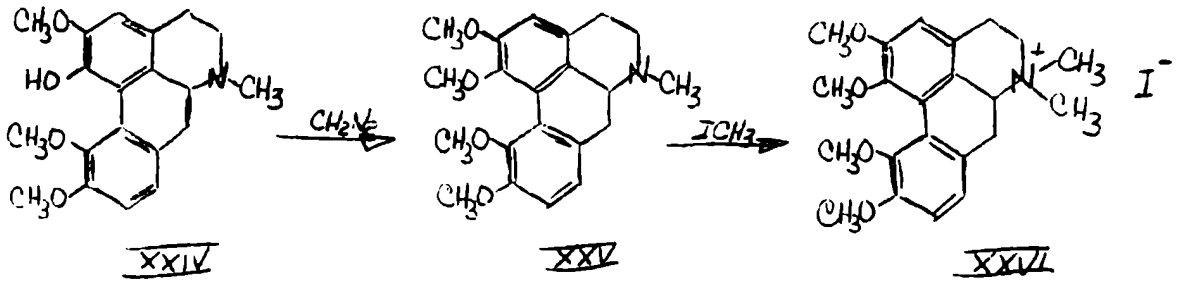

Ioduro de O-acetil-N-metil Pseudocoridina
P.M. 525,38 . C= 2,0 mg % ml etanol 96°
log ε
4,0
3,0
2000
2500
3000
λ em Å

Diacetil Pseudocoridina
P.M 404,45. C=0,5 mg % ml etanol 96°
log ε
4,0
3,0
2000
2500
3000
λ em Å


o Ioduro de O-metil-N-metil Pseudocoridina
• Iodometilato de Corituberina dimetiléter
P.M. 497,37 . C=2,0mg% ml etanol 96°
log ε
4,0
3,0
15
20
2000
2500
3000
λ en Å

Posición de los Sustituyentes.- Para determinar totalmente la estructura del alcaloide es necesario ubicar en el núcleo aporfínico los tres grupos metoxilos y el grupo hidroxilo.

Metilando con diazometano la coridina, XXIV, se obtiene (23), el dimetil éter de la corituberina, XXV, que tratado con ioduro de metilo da el correspondiente iodometilato, XXVI, p.f. 247º (des), $[\alpha]_D^{20}$ +167,5º (agua).



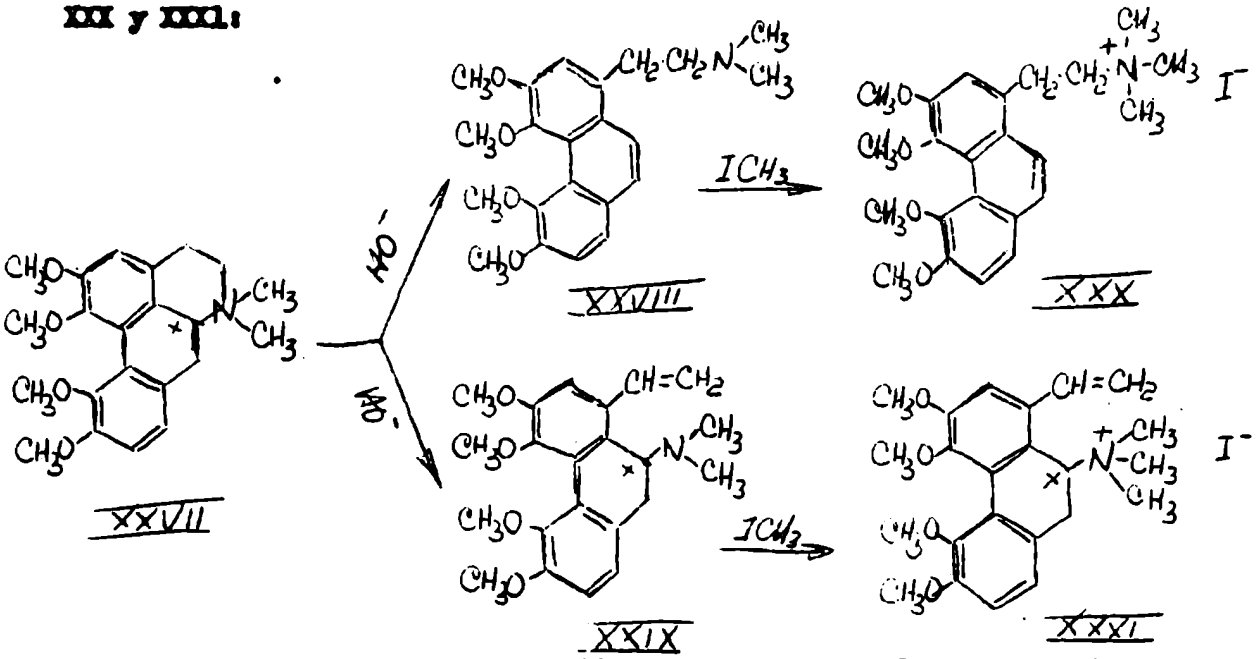
XXIV XXV XXVI

Por metilación del Cloruro de N-metil Pseudocoridina con diazometano en solución etérea, se obtiene, como ya vimos (pág.10), el derivado metilado en oxígeno del mismo, Cloruro de O-metil-N-metil Pseudocoridina, que reacciona con ioduro de sodio para dar el Ioduro, $C_{22}H_{28}O_4N.I$, que resulta idéntico con el iodometilato del dimetil éter de la corituberina: p.f. 246º (desc), $[\alpha]_D^{20}$ +168,9º (agua), p.f. mezcla 246º (desc.), espectros de absorción en el ultravioleta (pág.19), coincidentes.

En consecuencia, la posición de los sustituyentes oxigenados en la molécula de nuestro alcaloide es la misma que en los de la serie: corituberina, coridina, isocoridina (y bulbocapnina), es decir, 3-4-5-6.

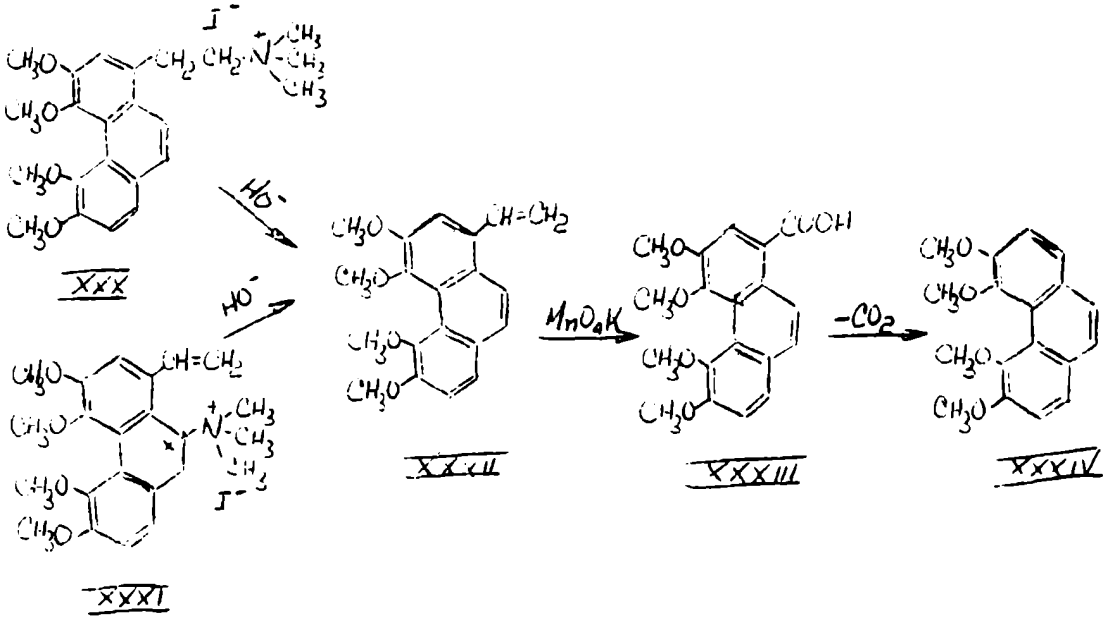
Por otra parte, con el objeto de obtener la confirmación definitiva del carácter aporfínico del alcaloide, habíamos ya llevado a cabo la degradación de éste hasta su tetrametoxifenantreno.

El ioduro de O-metil-N-metil Pseudocoridina, XXVII, hervido con hidróxido de potasio en solución alcohólica, como ya indicamos (pág.14), una mezcla de dos metinos, XXVIII y XXIX, que tratada con ioduro de metilo se transforma en los respectivos iodometilatos, XXX y XXXI:



Estos iodometilatos, sin separarlos, se hirvieron nuevamente a reflujo con hidróxido de potasio en solución alcohólica, obteniéndose el vinil-tetrametoxi-fenantreno, XXXII, en forma de un aceite fluorescente, que no se purificó, disolviéndolo en acetona y oxidándolo con permanganato de potasio en polvo, obteniéndose el ácido XXXIII, $C_{19}H_{18}O_6$, p.f. 165°, cristales amarillos.

Este ácido se descarboxila hirviéndolo a reflujo en quinolina, en presencia de cromito cúprico catalizador, obteniéndose un tetrametoxi fenantreno, XXXIV, $C_{18}H_{17}O_4$, p.f. 114-115,5º



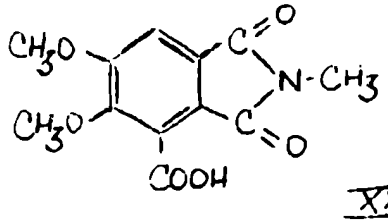
En la degradación del iodometilato del dimetil éter de la corituberina, Gadamer (24), llegó hasta el ácido 1-carboxil-3-4-5-6-tetrametoxifenantrénico, $C_{19}H_{18}O_6$, cuyo punto de fusión, 165-166º, coincide con el obtenido por nosotros para el ácido XXXIII, lo que aporta una confirmación más a la posición asignada a los sustituyentes oxigenados en la molécula de la N-metil Pseudocoridina.

Nos falta ahora ubicar la posición del grupo hidroxilo.

Oxidando el Cloruro de N-metil Pseudocoridina con permanganato de potasio en medio acuoso alcalino a ebullición, se aísla, con pequeño rendimiento, una sustancia nitrogenada, $C_{12}H_{11}O_6N$, p.f. 208-209º, cuyo análisis funcional indica la existencia de dos grupos

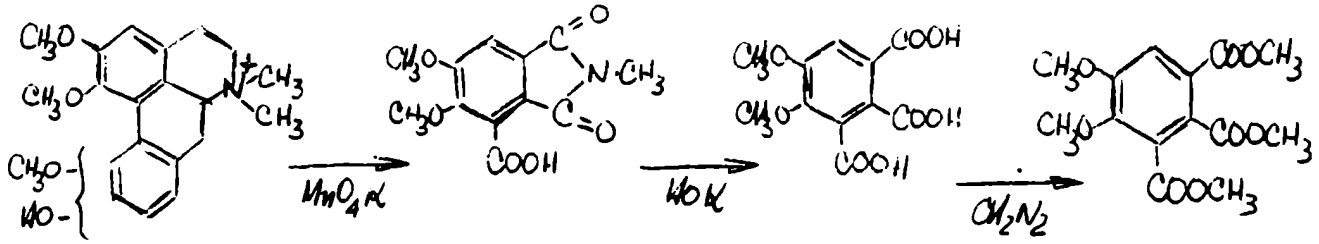
metoxiles y de un grupo metilimino, y de cuya titulación con hidróxido de sodio 0,005 N resultó un peso equivalente de 255, señalando la presencia de un grupo carboxile.

Estos datos experimentales nos llevaron a suponer que la sustancia aislada poseía la siguiente estructura, XXXV:



XXXV

Para confirmar esta fórmula, se hierve a reflujo el producto con hidróxido de potasio en solución alcohólica, para hidrolizar el grupo metilimino, obteniéndose el ácido 4-5-dimetoxi-1-2-3-benceno-tricarboxílico, XXXVII, p.f. 184º (desc.), y que solidificado refunde a 170º, que se caracteriza como su éster trimetílico, XXXVIII, (diazometano en solución etérea), $C_{14}H_{16}O_8$, p.f. 85-86,5º, idéntico con el obtenido por Späth y Straubal de la oxidación de la laurotetanina: ácido p.f. 182º(desc.); trimetiléster p.f. 86-87º(25).



XXXVI XXXV XXXVII XXXVIII

De la estructura del producto XXXV, se deduce la presencia, en el anillo D del núcleo aporfínico, de dos grupos metoxilos, en las posiciones 5 y 6.

Llegamos por consiguiente a la fórmula XXXVI para nuestro alcaloide, en la cual falta determinar la ubicación relativa del grupo hidroxilo y del metoxilo en las posiciones 5 y 4.

El alcaloide con el hidroxilo en la posición 4 (pero con un solo metilo en el nitrógeno), es la isocoridina. Su único derivado con nitrógeno tetracovalente conocido es el iodometilato: p.f. 224-225° (desc.)*; $[\alpha]_D$ + 145,5° (26,27). Ioduro de N-metil Pseudocoridina: p.f. 251-252° (desc.), $[\alpha]_D^{28}$ +139,9° (agua). Estas constantes no son mutuamente excluyentes, pues los puntos de fusión de estas bases de amonio cuaternarias varían muy apreciablemente con la velocidad de calentamiento, y están oscurecidos por fenómenos de descomposición, y la diferencia de los valores de los poderes rotatorios puede llegar a considerarse dentro del error experimental.

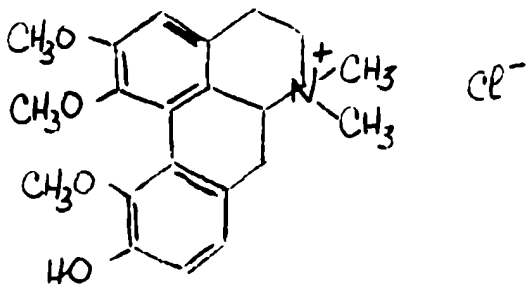
Sin embargo, la isocoridina, da una reacción positiva con el reactivo de Pellagri (28), debido a que el hidroxilo tiene su posición para libre de sustituyentes (véase, por ej. Gadamer (28,29), Barger y Sargent (30), Schlitter y Huber (26)), mientras que la N-metil-Pseudocoridina no da coloración con dicho reactivo.

Queda por lo tanto, como única posición posible para el grupo hidroxilo la 5, y la 4 para el metoxilo.

---

* Gadamer (27) da como p.f. 215-214°

Llegamos así a la siguiente fórmula estructural para el Cloruro de N-metil Pseudocoridina:



Esta estructura será confirmada finalmente por síntesis del alcaloide y del etoxi-trimetoxifenantreno a obtenerse por degradación del alcaloide etilado.

Ensayos Farmacológicos.- El Dr. Enrique Meisset d'Espanés nos comunicó los siguientes resultados: El Cloruro de N-metil Pseudocoridina ejerce sobre el sapo una manifiesta acción parasimpaticolítica, sin modificar la respuesta a la acetilcolina, indicando una probable acción de bloqueo ganglionar. Dosis mayores, próximas a las tóxicas, producen curarización, con disminución de la excitabilidad muscular directa y contracciones musculares clónicas espontáneas.

En el conejo produce una hipotensión marcada y pasajera. Con dosis superiores el animal no se recupera de la hipotensión, pués muere por parálisis respiratoria, debida a la toxicidad del alcaloide sobre el centro respiratorio.

En el ratón se producen convulsiones, debidas probablemente a una estimulación nerviosa central, seguidas por muerte causada por parálisis respiratoria. Es el animal más adecuado para determinación de toxicidad, pués a pequeñas variaciones de dosis se modifica mucho el porcentaje de mortalidad.

Consideraciones Generales.- La fórmula estructural a que hemos llegado en nuestros estudios degradativos sobre la base cuaternaria presente en la corteza del Fagara Coco que hemos llamado N-metil Pseudocoridina, presenta las siguientes características de interés:

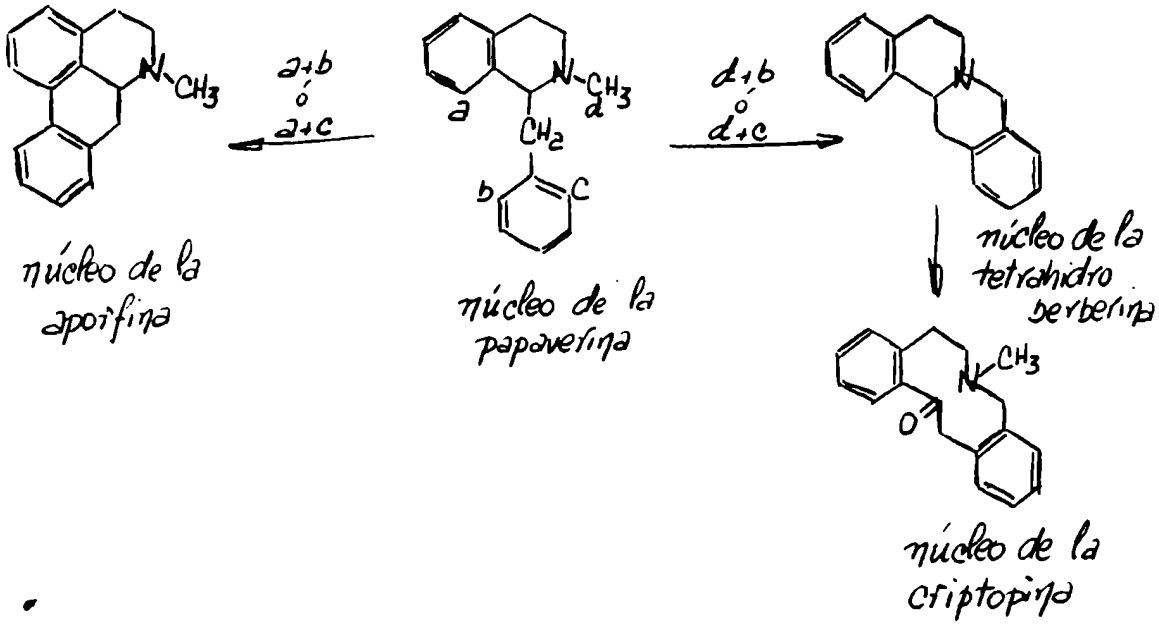
En primer lugar, la distribución de sus tres grupos metoxilos y de su hidroxilo, aunque normal, es nueva en la serie de los alcaloides aporfínicos.

En segundo lugar, es el primer alcaloide cuaterna-

rio perteneciente al grupo de la aporfina. Los alcaloides cuaternarios son muy raros en general.

Finalmente, es el primer caso registrado de encontrarse en una especie perteneciente a la familia de las Rutáceas, un alcaloide de este grupo. La presencia de una base aporfínica en esta familia, es explicable quizás, teniendo en cuenta la probable relación genética con los alcaloides del grupo de la berberina y de la criptopina, que se encuentran en numerosas especies de Rutáceas.

En efecto, los núcleos carbonados de estos tres grupos de alcaloides pueden derivarse, y en algunos casos se ha realizado experimentalmente, del núcleo bencilisoquinolínico de los alcaloides del grupo de la papaverina:



Un punto débil de esta hipótesis es, sin embargo, el hecho de no haberse encontrado hasta ahora en las Rutáceas, alcaloides del grupo de la papaverina.

PARTE EXPERIMENTAL

Extracción.- La corteza del Fagara Coco, que recibimos ya parcialmente seca, se termina de secar en un secador a vacío con calentamiento a vapor, durante seis horas, y se machaca en un mortero mecánico hasta que la mayor parte esté en forma de polvo.

Se extrae luego con alcohol etílico de 96º a temperatura ambiente, con aproximadamente dos litros de alcohol por kilogramo de corteza, durante una semana, agitándose de cuando en cuando. Al cabo de siete días se separa el extracto alcohólico mediante un filtro Sordelli (51).

Se repite la extracción cuatro veces.

Los extractos alcohólicos combinados se evaporan a presión reducida en un Pfaundler hasta la décima parte de su volumen primitivo, obteniéndose un líquido de color pardo rojizo oscuro que se conserva en cámara frigorífica.

Aislamiento y Purificación.- Se evapora a presión reducida hasta sequedad un volumen del concentrado anterior correspondiente a 10 kg. de corteza. Para eliminar el alcohol residual se agregan 700 ml. de agua y se vuelve a evaporar a presión reducida hasta sequedad.

Al residuo viscoso de color oscuro, se le agregan 4,5 litros de agua y ácido clorhídrico concentrado hasta viraje del rojo Congo (pH 5) (140 ml.). Se agita hasta formar una suspensión y luego

se deja reposar por un día a temperatura ambiente y cinco días más en la heladera, al cabo de los cuales se filtra la suspensión por una capa de carbón activado Darco G-60 (100 g) mezclado con filtercel (1). El filtrado se extrae con éter etílico (14 x 250 ml.) (2), hasta que el extracto por evaporación no deje residuo.

Se alcaliniza luego la solución con hidróxido de sodio al 10 % hasta pH 11 (800 ml.), produciéndose un precipitado grisáceo que se filtra (4,0 g). El filtrado se extrae con tricloroetileno hasta que éste dé una reacción de Mayer negativa (12 x 250 ml), para separar las bases terciarias. Se extrae luego con cloroformo (2 x 500 ml), que elimina una pequeña cantidad de alcaloides no extraídos por el tricloroetileno y mejora el color de la fase acuosa.

Se acidifica luego con ácido clorhídrico concentrado hasta pH 2 (160 ml).

De la solución ácida (6 litros), se precipita el alcaloide agregando poco a poco, con agitación, una solución al 5% de cloruro mercúrico (6 litros). Se produce un voluminoso precipitado amarillo que se filtra y escurre lo más posible en un Buchner, terminándose de secar en un desecador al vacío (485 g).

El precipitado seco se suspende en etanol 96º (4 litros) y se hace pasar una corriente de hidrógeno sulfurado, produciéndose un precipitado negro de sulfuro de mercurio. El pasaje de hidrógeno sulfurado se prolonga hasta que todo el complejo alcaloide-bicloruro de mercurio se haya descompuesto, lo que se revela por la transformación total del precipitado amarillo en negro.

La suspensión de sulfuro de mercurio se filtra a través de una capa de carbón activado Darco G-60 (100 g) mezclado con filtercel. El filtrado se concentra a presión reducida hasta 500 ml y se deja una noche en la heladera : se produce una pequeña cantidad de precipitado inorgánico (cloruro de sodio), que se filtra. El filtrado se evapora a sequedad a presión reducida, quedando un residuo pardo oscuro viscoso (200 g). Este residuo se cristaliza de etanol absoluto (400 ml), dando un producto cristalino ligeramente amarillo, que se recristaliza de etanol absoluto, obteniéndose cristales blancos prismáticos de Cloruro de N-metil Pseudocoridina, p.f. 253-255º (desc.) (56 g).

Las aguas madres rinden otros 30 g. del alcaloide, totalizando un rendimiento de 0,85% respecto a la corteza seca.

Una muestra de Cloruro de N-metil Pseudocoridina se recristaliza tres veces de etanol absoluto, obteniéndose un producto de p.f. 255-256º (desc.)*, $[\alpha]_D^{30}$ + 168,6º (c 0,22 agua), $[\alpha]_D^{15}$ + 146,5º (c 0,17 cloroformo). Microfotografía de los cristales pág. 52. Espectro de absorción U.V. pág. 17.

Análisis. Calculado para $C_{21}H_{28}O_4N.Cl$: C 64,54 ; H 6,68; Cl 9,04 ; 3 CH_3O 23,75 ; 2 $CH_3(N)$ 7,67. Encontrado : C 64,08 ; H 6,78 ; Cl 9,24 ; CH_3O 22,75 ; $CH_3(N)$ 7,24.

Bromuro de N-metil Pseudocoridina.- Se disuelven 500 mg. de Cloruro de N-metil Pseudocoridina en 15 ml de agua y se ha-

---

* El punto de fusión observado en esta y en las otras sales del alcaloide varía con la velocidad de calentamiento.

se pasar la solución por una columna que contiene 15 ml de resina intercambiadora de aniones Amberlite IRA-400 (básica fuerte) en su forma hidróxido. El efluente (pH 11) se neutraliza con ácido bromhídrico concentrado hasta pH 5. Se evapora luego la solución a presión reducida y el residuo se seca disolviéndolo en alcohol absoluto y volviendo a evaporar a sequedad. El residuo blanco friable se recristaliza cuatro veces de etanol absoluto, obteniéndose cristales prismáticos incoloros, p.f. 252-253º (desc.), $[\alpha]_D^{17}$ +148,0º (c 0,16 agua).

Análisis. Calculado para $C_{21}H_{28}O_4N.Br.$: C 57,80; H 6,01 ; Br 18,32 ; 3 CH_3O 21,33 ; 2 $CH_3(N)$ 6,88. Encontrado :C 57,82; H 6,35 ; Br 19,19 ; CH_3O 21,94 ; CH (N) 4,85.

Ioduro de N-metil Pseudocoridina.- Se disuelven 250 mg. del Cloruro en 2 ml de agua y se agrega ioduro de sodio en polvo (100 mg) ; se produce un abundante precipitado. Se calienta la suspensión unos minutos en baño maría, se enfría y filtra. Se decolora el producto con un poco de carbón activado Darco y se recristaliza cuatro veces de agua. Se obtienen cristales blancos prismáticos, p.f. 251-252º (desc.), $[\alpha]_D^{28}$ +139,9º (c 0,18 agua). Microfotografía de los cristales pág.52.

Análisis. Calculado para $C_{21}H_{28}O_4N.I$: C 52,18 ; H 5,42 ; N 2,90 ; I 26,25 ; 3CH_3O 19,28 ; 2 $CH_3(N)$ 6,22. Encontrado: C 52,96 ; H 5,54 ; N 3,29 ; I 27,7 ; CH_3O 19,75 ; $CH_3(N)$ 4,76.

Cloruro de N-metil Pseudocoridina
cristalizado de etanol absoluto
250 diámetros.

Ioduro de N-metil Pseudocoridina
cristalizado de agua
103,8 diámetros.

Picrato de N-metil Pseudocoridina
cristalizado de agua
103,8 diámetros.

Picrato de N-metil Pseudocoridina.- Se disuelven 500 mg. de Cloruro de N-metil Pseudocoridina en 15 ml de agua y se añade carbonato de sodio en polvo (200 mg) y luego ácido pícrico (400 mg): se produce un precipitado. Se calienta unos minutos, se enfría y filtra. El precipitado se suspende nuevamente en 10 ml de agua, se agrega carbonato de sodio en polvo (100 mg), calienta unos minutos, enfría y filtra, lavando bien el precipitado con agua. El producto se recristaliza cuatro veces de etanol 96°, obteniéndose cristales en forma de agujas prismáticas amarillas, p.f. 202-204° (desc.), $[\alpha]_D^{31}$ + 90,9° (c 0,78 acetona). Fotomicrografía de los cristales en pág.52.

Análisis. Calculado para $C_{21}H_{25}O_4N$. $C_6H_2O_7N_3$: C 55,47 ; H 4,83 ; N 9,58 ; 3 CH_3O 15,95 ; 2 $CH_3(N)$ 5,14 ; 1 $N_{bás}$ 2,57. Encontrado: C 55,93 ; H 4,85 ; N 9,54 ; CH_3O 14,85 ; $CH_3(N)$ 4,75 ; $N_{bás.}$ 2,51.

Reacciones coloreadas.- El Cloruro de N-metil Pseudocoridina da, con los reactivos que se describen a continuación, las siguientes reacciones coloreadas (véase también Tabla III, pág.34):

Acido sulfúrico concentrado. Reacción: no se colorea.

Acido nítrico concentrado. Reacción: color caoba.

Reactivo de Fröhde: 100 mg. de molibdato de sodio en 100 ml de ácido sulfúrico conc. Reacción: color azul, luego violeta.

Reactivo de Mandelin: Se disuelve 1 g. de ácido vanádico en 100 g. de ácido sulfúrico concentrado. Reacción: se produce una coloración violeta.

Tabla III

Reactivo	Cloruro de N-metil Pseudocoridina	Clorhidrato de apomorfina	Clorhidrato de fagaridina(12)
ácido sulfúrico (conc)	incoloro	incoloro	incoloro
ácido nítrico (conc)	rojo caoba, luego naranja	rojo caoba, luego amarillo	caoba
Frohde	azul, luego violeta	verde, luego azul violado	azul, después verdoso
Mandelin	violeta	violeta, luego verde oscuro	café, luego violeta
Marquis	amarillo, luego pardo	violeta oscuro	verde, verde aceituna
Erdmann	rojo	rojo	rojo
Pellagri	incoloro	as: verde et: rojo	———
cloruro férrico	rojizo	rojo	———
cloruro de oro	no reduce	reduce	reduce
permanganato de potasio	reduce en frío	reduce en frío	reduce en frío

Reacciones coloreadas

Reactivo de Mandelin: Se agregan dos gotas de formaldehido al 40% a 5 ml de ácido sulfúrico concentrado. Reacción: color violeta.

Reactivo de Erdmann: 10 gotas de ácido nítrico concentrado en 20 ml de ácido sulfúrico concentrado. Reacción: coloración roja.

Reactivo de Pellagri: Se disuelven unos mg. de alcaloide en agua, se alcaliniza con bicarbonato de sodio y se agrega una solución alcohólica de iodo. Se agita luego con éter etílico. Reacción: no aparece coloración.

Cloruro férrico al 10 %. Reacción: color rojizo.

Cloruro de oro, solución acuosa. Reacción: se produce un precipitado de color anaranjado.

Permanganato de potasio, solución acuosa 0,1N. Reacción: Se decolora y se produce un precipitado pardo.

Hidrogenación.- Se disuelven 100 mg de Cloruro de N-metil Pseudocoridina en 20 ml de etanol 96, y se hidrogena en presencia de platino según Adams (80 mg), a 70 libras de presión, durante dos horas, con agitación. Al cabo de ellas se filtra el óxido de platino y el filtrado se concentra hasta sequedad a presión reducida. El residuo seco se cristaliza de alcohol etílico-acetona dos veces y se divide en dos partes:

Una de ellas se recristaliza una vez más de etanol absoluto-acetona, obteniéndose un producto de p.f. 252-255º (desc.),que

da con Cloruro de N-metil Pseudocoridina de p.f. 229-230º (desc.), un punto de fusión mezcla de 229-230º (desc.).

Con la otra se prepara el picrato, según el método dado más arriba. Se obtiene un producto de p.f. 202-203º, que da con Picrato de N-metil Pseudocoridina de p.f. 202-204º, un punto de fusión mezcla de 202-205º.

Ioduro de O-acetil-N-metil Pseudocoridina.- A 250 mg. de Cloruro de N-metil Pseudocoridina se agregan 10 ml de anhidrido acético y cinco gotas de piridina seca. Se dispersa bien el precipitado y se deja una noche a temperatura ambiente; al día siguiente se ha disuelto totalmente. La solución se evapora lentamente en un desecador a presión reducida, obteniéndose un residuo blanco friable, p.f. 246º (desc). Este se disuelve en dos ml de agua, se clarifica la solución filtrando por una capa de filtercel y se agrega ioduro de sodio en polvo: se produce un precipitado blanco cristalino que se filtra y recristaliza cinco veces de agua. Se obtiene un producto en forma de cristales blancos prismáticos, p.f. 260-265º(desc.), $[\alpha]_D^{28}$ +112,6º (c 0,06 agua). Espectro de absorción U.V. en la pág.18.

Análisis. Calculado para $C_{21}H_{25}O_4N$. CH_3CO.1 : C 52,57 ; H 5,57 ; N 2,67 ; 1 24,14 ; 5 CH_3O 17,71 ; 2 $CH_3(N)$ 5,72 ; 1 CH_3CO 11,24 . Encontrado : C 52,85 ; H 5,59 ; N 2,95 ; I 24,97; CH_3O 15,27 ; $CH_3(N)$ 5,91 ; CH_3CO 10,11.

Cloruro de O-metil-N-metil Pseudocoridina.- Se disuelven 1,5 g de Cloruro de N-metil Pseudocoridina en 7,5 ml de metanol y se agrega solución etérea de diazometano hasta persistencia del color amarillo. Se deja en la cámara fría doce horas, al cabo de las cuales se agrega éter etílico hasta turbidez y se vuelve a colocar en la cámara fría. Se produce un precipitado blanco cristalino, p.f. 248º (desc.) (0,56 g). Este precipitado se disuelve en 1 ml de etanol absoluto a ebullición, se trata con carbón activado Darco y se filtra en caliente. Se recristaliza tres veces de etanol absoluto-éter absoluto, obteniéndose un producto de p.f. 258º (desc.), $[\alpha]_D^{20}$ +198,5º (c 0,06 agua).

Análisis. Calculado para $C_{22}H_{28}O_4N.Cl$: C 65,02 ; H 6,65 ; N 3,44 ; 4 CH_3O 30,54 ; 2 $CH_3(N)$ 7,38. Encontrado: C 65,15 ; H 6,77 ; N 3,48 ; CH_3O 30,00 ; $CH_3(N)$ 6,16.

Ioduro de O-metil-N-metil Pseudocoridina.- Las aguas madres de la precipitación del Cloruro de O-metil-N-metil Pseudocoridina (véase parágrafo anterior), se evaporan a sequedad a presión reducida. El residuo se disuelve en 7 ml de agua y se decolora con carbón activado Darco. A la solución se agregan luego 6 g de ioduro de sodio sólido: se produce un precipitado cristalino (0,48 g) p.f. 240º (desc.). Se recristaliza cinco veces de etanol 96, obteniéndose un producto de p.f. 246º (desc.), $[\alpha]_D^{20}$ +168,9º (c 0,14 agua). Espectro de absorción U.V. pág. 19.

Análisis. Calculado para $C_{22}H_{28}O_4N.I$: C 53,10 ;

H 5,67 ; 1 25,50 ; 4 CH_3O 24,95 ; 2 $CH_3(N)$ 6,04. Encontrado: C 55,11; H 5,84 ; 1 26,25 ; CH_3O 24,74 ; $CH_3(N)$ 4,81 .

Iodometilato del dimetil éter de Corituberina.- Se disuelve 1,0 g. de clorhidrato de coridina en 20 ml de agua, se agregan 6 ml. de solución N de carbonato de sodio y se extrae con cloroformo. El extracto se seca y evapora. El residuo se cristaliza de etanol 96º.

Se disuelven 400 mg. de base en 50 ml. de metanol, se agrega solución etérea de diazometano y se deja 24 horas en la cámara fría, al cabo de las cuales la solución se ha decolorado. Se agrega más diazometano y se deja en la cámara fría 72 horas. Se destruye el exceso de diazometano con unas gotas de ácido acético y se evaporan los solventes a presión reducida. El residuo se toma con éter etílico y la solución etérea se extrae con hidróxido de sodio 1N (5ml x 5), se evapora y se toma el residuo con ácido clorhídrico 2 % (15 ml), se filtra con supercel, se alcaliniza y se extrae con éter etílico. El extracto etéreo se seca y evapora. El residuo (0,23 g) se disuelve en 7 ml de metanol, se agregan 1,5 ml de ioduro de metilo y se calienta a reflujo 10 minutos, al cabo de los cuales comienza a cristalizar el iodometilato, en forma de agujas pequeñas. Se enfría y filtra. Se recristaliza tres veces de etanol 96º y dos veces de etanol-acetona: p.f. 247º (desc.). Punto de fusión mezcla con Ioduro de O-metil Pseudocoridina 245º (desc.), $[\alpha]_D^{20}$ +167,5º (c 0,10 agua) Espectro de absorción U.V.pág.19

Diacetil Pseudocoridina.- A un gramo de Cloruro de N-metil Pseudocoridina se agregan 20 ml de anhidrido acético y se hierve a reflujo durante cuatro horas: el alcaloide se disuelve totalmente en veinte minutos, formándose una solución amarilla que se va oscureciendo hasta pardo. Se concentra la solución en un desecador a vacío hasta un volumen de 6 ml y se vierte luego sobre 100 ml de agua helada, formándose un precipitado aceitoso que se transforma rápidamente en cristalino (agujas blancas). Se deja a temperatura ambiente durante doce horas y se filtra (220 mg). El producto obtenido se recristaliza una vez de benceno-éter de petróleo y seis veces de etanol 25 %, obteniéndose una sustancia de p.f. 185º, $[\alpha]_D^{15}$ $\pm$ 0,0º (c 0,10 etanol 96). Espectro de absorción U.V. ídg.18.

Análisis. Calculado para $C_{24}H_{27}O_6N$: C 67,75 ; H 6,40 ; N 3,29 ; 5 CH_3O 21,38 ; 1 $CH_3(N)$ 5,56 ; 2 CH_3CO 20,20. Encontrado: C 67,56 ; H 6,04 ; N 3,96 ; CH_3O 22,64 ; $CH_3(N)$ 2,49 ; CH_3CO 21,27.

Derivado Benzoilado Opticamente Inactivo.- Se hierve a reflujo una solución de Cloruro de N-metil Pseudocoridina (300 mg) en cloruro de benzoílo (2 ml) durante una hora. Se enfría y agregan 15 ml de éter etílico: se produce un precipitado oscuro que se filtra y lava con éter. Se suspende luego en unos cinco ml de etanol 96º y se hierve durante un minuto, para eliminar el cloruro de benzoílo, se enfría y filtra. Se cristaliza tres veces de etanol 96º y dos de cloroformo-éter de petróleo, obteniéndose un producto de p.f. 137-141º (no neto), $[\alpha]_D^{20}$ $\pm$ 0,0º (c 0,12 cloroformo).

Acido Melofánico.- A dos gramos de Cloruro de N-metil Pseudocoridina, se agregan, poco a poco, 10 ml de ácido nítrico concentrado: se produce inicialmente una reacción violenta, con desprendimiento de vapores, formándose una suspensión rojiza, que se concentra en baño maría hasta sequedad. Se repite el agregado de ácido nítrico y la evaporación otras cuatro veces.

Queda un residuo pastoso rojizo, que al enfriarse se vuelve duro y friable. Se recristaliza dos veces de ácido nítrico concentrado, obteniéndose una sustancia blanca de p.f. 237-239° (desc.); ácido melofánico p.f. 238° (desc.).

Se disuelve este producto (100 mg) en 2 ml de metanol y se agrega solución etérea de diazometano (fuerte burbujeo), hasta persistencia del color amarillo: precipita una sustancia en forma de prismas blancos alargados, que se recristaliza tres veces de metanol: p.f. 150,5-151,5°. Ester tetrametílico del ácido melofánico p.f. 128-130° (32).

Metil imida del ácido 4-5-dimetoxi-1-2-3-benceno-tricarboxílico.- Se disuelven dos gramos de Cloruro de N-metil Pseudocoridina en 50 ml de agua, y se agrega carbonato de potasio sólido hasta reacción alcalina. Se calienta a ebullición, y se va agregando lentamente una solución al 5% de permanganato de potasio en agua, hasta persistencia del color por quince minutos (320 ml).

El exceso de permanganato de potasio se destruye agregando unos ml de etanol y el precipitado de bióxido de manganeso formado se disuelve haciendo pasar una corriente de anhidrido sulfuroso por la suspensión. La solución amarilla resultante se concentra a presión reducida hasta unos 100 ml, produciéndose un precipitado cristalino, inorgánico, que se filtra y descarta. Al filtrarse se le agrega ácido clorhídrico concentrado (7 ml), y se extrae con éter etílico en un extractor contínuo durante 72 horas, al cabo de las cuales se separa el extracto etéreo, seca con sulfato de sodio anhidro y evapora.

Cristalizando el residuo (0,780 g) de etanol absoluto, se obtiene, con pequeño rendimiento, una sustancia en forma de agujas finas y diminutas, que recristalizada tres veces de etanol absoluto funde a 208-209°. Esta sustancia sublima en alto vacío sin descomposición; sus soluciones alchólicas tienen fuerte fluorescencia azul.

Se determina su peso equivalente titulando con hidróxido de sodio 0,005 N, usando fenolftaleína como indicador:

pesos sust. (mg)	solvente	HONa 0,005N f 1,00 (ml)	peso equival.
11,0	7 ml agua 5 ml etanol	8,60	255
10,9	10 ml agua 5 ml etanol	8,58	256

Errores: para $\Delta p \pm 0{,}2$ mg Δ P.e. ± 4
$\Delta v \pm 0{,}1$ ml Δ P.e. ± 5
$\Delta f \pm 0{,}02$ Δ P.e. ± 5

Resulta así un peso equivalente de 255± 12.

Análisis. Calculado para $C_{12}H_{11}O_6N$: C 54,54 ; H 4,18 ; N 5,28 ; 2 CH_3O 23,40 ; 1 $CH_3(N)$ 5,66. Encontrado: C 54,57 ; H 4,21 ; N 4,62 ; CH_3O 19,24 ; $CH_3(N)$ 4,48.

Acido 4-5-dimetoxi-1-2-3-bencenotricarboxílico.- A las aguas madres de cristalización del producto anterior se le agregan 25 ml de solución metanólica al 10 % de hidróxido de potasio y 10 ml de agua y se hierve a reflujo durante cinco horas. (Se desprenden vapores alcalinos). Se diluye luego con 40 ml de agua y se evapora el alcohol. Se acidifica con 5 ml de ácido clorhídrico concentrado y se extrae con éter etílico en un extractor continuo durante 24 horas. El extracto etéreo se seca y se evapora el éter: queda un residuo amarillo friable que se toma con 10 ml de éter anhidro, se enfría bien y filtra. El precipitado blanco (100 mg) funde, calentado rápidamente, a 184° con burbujeo; solidificado refunde a 170°.

Se disuelve esta sustancia en 3 ml de metanol y se agrega solución etérea de diazometano (fuerte burbujeo) hasta persistencia del color amarillo. Se deja una noche en la heladera, se agregan tres gotas de ácido acético para destruir el exceso de diazometano y se evaporan los solventes a presión reducida. El residuo se cristaliza de 40 ml de éter de petróleo de p.e. 40-60°, obteniéndose cristales amarillos, p.f. 84-85°. Se sublima el producto a 5 μ y 70° (temperatura del baño) y se recristaliza de éter etílico-éter de petróleo (1:1,5) : cris-

tales blancos de p.f. 85-86,5º.

Análisis. Calculado para $C_{14}H_{16}O_8$: C 53,84 ; H 5,16. Encontrado: C 53,90 ; H 5,10.

Esta sustancia se obtuvo también directamente de la metil imida descrita en el parágrafo anterior, por ebullición con álcali y siguiendo el mismo método aquí descrito, : p.f. 82-85º, p.f. mezcla con la arriba analizada 83-86º.

Metino Opticamente Activo de la O-metil Pseudocoridina.- Se disuelven 2,5 g de Ioduro de O-metil-N-metil Pseudocoridina en 180 ml de etanol 96º, se agregan 25 g. de hidróxido de potasio disueltos en 80 ml. de etanol 96º y se hierve a reflujo durante seis horas. Al cabo de ellas se evapora el alcohol, se agregan 200 ml de agua y se extrae la solución con éter etílico (5 x 50 ml). El extracto etéreo se seca y evapora.

El residuo aceitoso ligeramente amarillo (1,8 g), se disuelve en 15 ml. de benceno y se percola por una columna de alúmina Merck para cromatografía de 1,7 x 40 cm.

Se eluye primeramente con benceno (1,5 l) y benceno 10 % de cloroformo (500 ml), pasando una banda no fluorescente, que por evaporación de los solventes deja un residuo incoloro (1,5 g). En la mitad superior de la columna queda una banda con intensa fluorescencia violeta, que es eluída con cloroformo (600 ml), quedando por evaporación del mismo un residuo de 0,18 g.

El residuo no fluorescente, que se eluye primero, cristaliza por raspado. Se recristaliza cinco veces de etanol 50 % , conteniéndose cristales incoloros en forma de placas rectangulares, p. f. 75-76°, $[\alpha]_D^{16}$ -178,5° (c 0,18 etanol 96°).

Análisis. Calculado para $C_{22}H_{27}O_4N$; C 71,91 ; H 6,86; $4CH_3O$ 33,74; $2CH_3(II)$ 8,16. Encontrado : C 71,60 ; H 7,23; $6CH_3O$ 34,37; $CH_3(II)$ 7,65 .

Disolviendo 120 mg. de este metino en 1 ml. de etanol 96° y agregando ioduro de metilo, se produce un precipitado muy blanco cristalino, bastones, del correspondiente iodometilato, que se recristaliza cuatro veces de etanol 96° : p.f. 165° en adelante, descompone a 280°, $[\alpha]_D^{20}$ -210,4° (c 0,09 etanol 96°).

Análisis. Calculado para $C_{25}H_{30}O_4N.I$: C 54,01 ; H 5,91. Encontrado: C 54,62 ; H 5,65.

Iodometilato del Metino Ópticamente Inactivo de la O-metil-N-metil Pseudocoridina.- El residuo obtenido por evaporación del eluído clorofórmico fluorescente (véase parágrafo anterior), no pudo cristalizarse directamente. Se disuelve en 2 ml de etanol 96°, se decolora con carbón activado Darco y se agrega ioduro de metilo: inmediatamente precipita el iodometilato, en forma de pequeñas agujas. Se recristaliza cuatro veces de etanol 96°: p.f. 280° (desc.), $[\alpha]_D^{22} \pm 0,0°$ (c. 0,06 etanol 96°).

Análisis. Calculado para $C_{25}H_{30}O_4N.I$: C 54,01 ; H 5,86; $4CH_3O$ 25,04; $3CH_3(II)$ 8,79. Encontrado: C 54,18; H 5,67; CH_3O 23,96; $CH_3(II)$ 9,57.

~~3-5,24.~~

Acido 1-carboxil-3-4-5-6-tetrametoxifenantrénico.- Se disuelven 6,60 g. de Iodometilato de O-metil-N-metil Pseudocoridin-metino (mezcla, p.f. 170-230º), en 600 ml. de solución etanólica al 10 % de hidróxido de potasio, y se hierve a reflujo sobre baño maría durante siete horas, absorbiéndose la trimetilamina que se desprende sobre ácido clorhídrico 0,1 N. Se evapora luego el alcohol a presión reducida, se agrega agua (500ml), y se extrae con éter (5x100 ml). Los extractos etéreos se lavan con ácido clorhídrico 5% (3x100 ml) y con agua, se secan y evaporan, dejando un residuo aceitoso (3,90 g).

La trimetilamina recogida durante la degradación se caracteriza como su picrato, p.f. 216-217º. Picrato de trimetilamina p.f. 216º.

El residuo anterior (tetrametoxi-vinil-fenantreno), se disuelve en 200 ml de acetona; queda una fracción insoluble (0,5 g) que se filtra y descarta. Se agregan luego, en cuatro horas, 6,0 g de permanganato de potasio en polvo, y se deja hasta el día siguiente.

Se filtra el precipitado de bióxido de manganeso, y este precipitado se lava, en el mismo filtro, con sucesivas porciones de agua caliente, hasta que los lavados no den turbiedad por acidificación (300 ml). Se alcalinizan luego estas aguas de lavado y se extraen con éter (2 x 100 ml), para eliminar el derivado vinílico no oxidado. Finalmente se acidifican con ácido clorhídrico 10% hasta pH 5,

formándose un precipitado de color amarillo rojizo que cristaliza (1,450 g) p.f. 156-158º.

El filtrado del precipitado de bióxido de manganeso, se evapora a presión reducida, se toma el residuo con solución acuosa diluída de hidróxido de sodio y se extrae con éter etílico. Al acidificar la fase acuosa precipitan otros 500 mg del producto, p.f. 156-158º.

La sustancia se purifica como sigue: Se disuelven 400 mg. de la misma en 50 ml. de éter etílico anhidro y se pasa por una capa de carbón activado Darco G-60 (1 g) mezclado con filtercel, lavando luego ésta con otros 50 ml. de éter. Pasa un líquido prácticamente incoloro, de fuerte fluorescencia violeta, que por evaporación deja un residuo cristalino de color amarillo claro. Se recristaliza cuatro veces de metanol, obteniéndose un producto de p. f. 165-166º, de color amarillo pálido.

Análisis. Calculado para $C_{19}H_{18}O_6$: C 66,66 : H 5,30 ; Encontrado : C 66,68 ; H 5,55.

5-4-5-6-tetrametoxifenantreno.- Se mezcla un gramo de ácido 1-carboxil-5-4-5-6-tetrametoxifenantrénico con 5 gramos de cromito cúprico catalizador, preparado según Adkins (54), se añaden 10 ml de quinolina y se hierve a reflujo durante tres horas.

Se enfría, agregan 15 ml. de éter etílico y se filtra. El precipitado se lava con ácido clorhídrico 10 %, y los filtrados combinados se extraen con éter etílico (5 x 50 ml). El extracto

etéreo se extrae a su vez con ácido clorhídrico 10%, para eliminar la quinolina, y con hidróxido de sodio al 5 % para eliminar el ácido no descarboxilado. Se lava luego con agua, se seca y evapora. El residuo, cristalino, de color pardo (586 mg), se decolora con carbón activado Darco y se recristaliza cuatro veces de metanol, obteniéndose un producto cristalino blanco, p.f. 114-115,5°, cuyo punto de fusión no varía por ulterior purificación por cromatografía en benceno sobre alúmina y por sublimación a 5μ y 90° (temp. del baño).

Análisis. Calculado para $C_{18}H_{18}O_4$: C 72,49 ; H 6,05 ; 4 CH_3O 41,60. Encontrado : C 72,55 ; H 5,99 5,98 ; CH_3O 40,60.

BIBLIOGRAFIA

(1) Napp, "Die Argentinische Republik", pág.284, Buenos Aires, 1876; citado por Siewert, citado por Wehmer, "Die Pflanzenstoffe", vol. 1, pág. 605, Jena, 1929.

(2) Harperath, "Zanthoxilum Coco. Comp. química y aplic. industriales". Tesis doctoral. Córdoba, 1891.

(3) Stuckert, "Investigaciones del Laboratorio de Química Biológica". Universidad Nac. de Córdoba. Tomo 1, 1935; Tomo II, 1938.

(4) Stuckert, op. cit. tomo 1, pág. 109.

(5) Redemann, Wisegarver y Alles, J. Amer. Chem. Soc., 71, 1050 (1949).

(6) Deulofeu, Labriola y Berinzaghi, Anal. Asoc. Quím. Arg., 37, 268 (1949).

(7) Deulofeu, Labriola y De Langhe, J. Amer. Chem. Soc. 64, 2526 (1942).

(8) Berinzaghi, Deulofeu, Labriola y Muruzábal, J. Org. Chem., 10, 181 (1945).

(9) Stuckert, op. cit., tomo 1, pág. 46.

(10) Stuckert, op. cit., tomo 1, pág.41, 45 y 111.

(11) Fernández Bás, "El Alcaloide de la Corteza del Fagara Coco. La Fagaridina", Córdoba, 1935.

(12) Stuckert, op. cit., tomo II, pág. 12.

(13) Arreguine, ibid, pág. 56 y 57.

(14) Deulofeu, Comunicación personal.

(15) Manske, en Manske y Holmes (ed) "The Alkaloids", vol. 1, cap. 1, pág. 9. New York, 1950.

(16) Tiffeneau y Porcher, Bull. Soc. Chim. (4) 17, 114 (1915).

(17) Pschorr, Jaeckel y Fecht, Ber., 35, 4577 (1902).

(18) Gadamer, Arch. Pharm., 253, 266 (1915).

(19) Warnat, Ber., 58, 2775 (1925).

(20) Späth, Holter y Posega, Ber., 61, 522 (1928).

(21) Ghose, Krishna y Schlitter, Helv. Chim. Acta, 17, 919 (1934).

(22) Girardet, J. Chem. Soc., 2650 (1951).

(23) Späth y Hromatka, Ber., 61, 1698 (1928).

(24) Gadamer, Arch. Pharm., 249, 641 (1911).

(25) Späth y Strauhal, Ber., 61, 2395 (1928).

(26) Schlitter y Huber, Helv. Chim. Acta, 35, 111 (1952).

(27) Gadamer, Arch. Pharm., 249, 669 (1911).

(28) Gadamer, Arch. Pharm., 249, 508 (1911).

(29) Gadamer, Z. Angew. Chem., 28, 625 (1915).

(30) Barger y Sargent, J. Chem. Soc. 991 (1939).

(31) Sordelli, Folia Biolog., 61-65, 272 (1956).

(32) Wintersteiner, Moore y Hosansky, Jour. Am. Chem. Soc. 75, 2781 (1953).

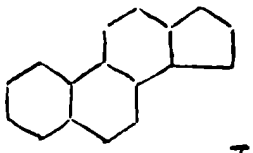
(33) Adkins, "Reactions of Hydrogen with Organic Compounds over Copper-Chromium Oxide and Nickel Catalysts", pág. 12, Madison, 1937.

E S T E R O L

PARTE TEORICA

Introducción.- Los esteroles son alcoholes cristalinos que se aíslan de los residuos insaponificables de las materias grasas vegetales y animales.

La dilucidación de su compleja estructura molecular, fué llevada a cabo principalmente por las clásicas investigaciones de Windaus, Wieland y Rosenheim, que se extienden por cerca de treinta años. El núcleo carbonado de estas sustancias es el hidrocarburo ciclopentanoperhidrofenantreno, I,



I

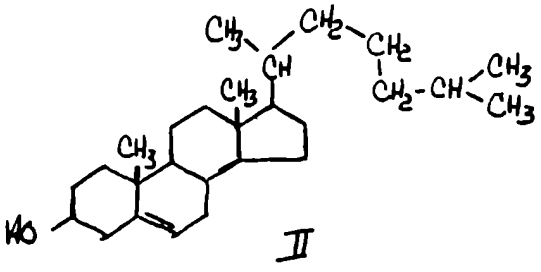
que es también el esqueleto fundamental de un gran número de sustancias naturales de gran importancia por sus funciones fisiológicas y sus actividades farmacológicas: ácidos biliares, glucósidos cardiactivos, saponinas esteroides, hormonas sexuales, sustancias adrenales, alcaloides, etc. Se las conoce a todas ellas con el nombre genérico de esteroides.

Los esteroles se encuentran, libres o en forma de ésteres de ácidos grasos superiores, en todas las estructuras de animales y vegetales y en la sangre y otros flúidos animales. Dan, al ser tratados con ácidos fuertes en condiciones deshidratantes,

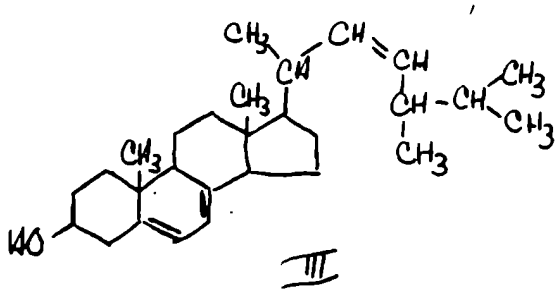
una serie de reacciones coloreadas que se utilizan para su investigación y valoración.

Su aislamiento se realiza por saponificación de los extractos grasos con hidróxido de potasio alcohólico y extracción del insaponificable con éter etílico y éter de petróleo. La separación de sustancias puras de este extracto es frecuentemente un problema muy difícil, debido a que muchas veces se encuentran juntos diversos esteroles de estructura y propiedades muy semejantes. Los métodos de absorción cromatográfica representan en este campo una ayuda invaluable.

El colesterol, II, de origen animal, y el ergosterol, III, de origen vegetal, son dos representantes típicos de este grupo de sustancias, conocidos de más antiguo y más estudiados.



II



III

Aislamiento y Purificación.- La fracción del extracto alcohólico de la corteza del Fagara Coco soluble en éter, se lava con ácido diluído, luego con álcali. Se seca el extracto etéreo y se evapora. El residuo se saponifica hirviendo a reflujo con hidróxido de potasio alcohólico. Se diluye luego la solución alcohólica con agua y se extrae con éter, y el extracto se seca y evapora.

El residuo se fracciona por cromatografía sobre alúmina, usando éter de petróleo como disolvente y como eluyentes benceno y etanol 96 . Se recogen tres grupos de fracciones.

Del primer grupo se aisla una sustancia de p.f. 183-186º, que no se estudió ulteriormente.

Del segundo grupo se obtiene una sustancia cristalina, escamas nacaradas de p.f. 138-138,5º, $[\alpha]_D^{27}$ -55,2º(Cloroformo).

Del tercer grupo se obtiene un residuo amorfo viscoso de color muy oscuro.

Caracterización.- La sustancia aislada del segundo grupo de fracciones, p.f. 138-138,5º, $[\alpha]_D^{27}$ -55,2º(cloroformo), da una reacción de Liebermann fuertemente positiva, lo cual, junto con el método de obtención, indicaba que podía tratarse un esterol.

Las constantes del β-sitosterol que se hallan en la literatura química, aunque no muy concordantes entre ellas, coinciden bastante bien con las de nuestra sustancia:

p.f.	135-135,5º(1)	136-137º(2)	139-140º(3)	137,5-138,5º(4)	135-135,5º(5)
$[\alpha]_D$	- 34,2º	- 36,6º	- 36º	- 34,0º	- 36,6º

Esto, considerando la gran difusión del β-sitosterol en el reino vegetal, nos llevó a pensar en una posible identidad entre ambas sustancias.

Para comprobarlo preparamos primeramente el acetato de nuestro compuesto, obteniéndose una sustancia de p.f. 129-130º,

$[\alpha]_D^{23}$ -38,9º (cloroformo).

Para el acetato del β-sitosterol, las constantes registradas en la literatura son:

p.f.	126-127º(1)	125-126º(2)	127-128º(3)	126,5-127,5º(4)	127-128º(5)
$[\alpha]_D$	—	-41,0º	-39,0º	—	—

Se preparó en segundo lugar el 3-5-dinitrobenzoato de la misma sustancia, obteniéndose un producto de p.f. 201,5-202º, $[\alpha]_D^{18}$ -10,0º (cloroformo).

En la literatura encontramos las siguientes constantes para el 3-5-dinitrobenzoato del β-sitosterol:

p.f.	207-209º(1)	202-205º(2)	208-209º(4)	208-209º(5)
$[\alpha]_D$	-21,7º	-10,4º	—	-15,2º

Por último, aunque este dato no tiene mucho valor en este grupo de sustancias (véase, p. ej. Fieser (6)), el punto de fusión mezcla de nuestro esterol con una muestra de β-sitosterol aislado de Formium Tenax, p.f. 135-135,5º*, no presenta depresión.

Con ello consideramos suficientemente probada la identidad de ambas sustancias, quedando por lo tanto establecida la presencia del β-sitosterol en el insaponificable extraído de la corteza del Fagara Coco.

---

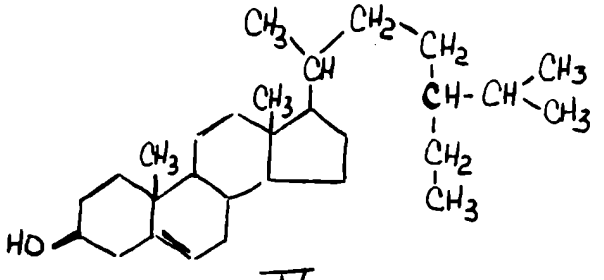
*Agradecemos al Dr. Horacio Pontis Videla el habernos facilitado este material.

Consideraciones Generales.- Con el nombre de sitosterol se designó un alcohol sólido extraído de muchas sustancias vegetales, que Anderson y colaboradores (7) parecen haber sido los primeros en señalar que se trataba de una mezcla, en la cual había por lo menos tres isómeros, que llamaron α-, β- y γ-sitosterol.

El γ-sitosterol pudo ser aislado en estado de relativa pureza por cristalización del acetato de su dibromuro. En esa época, previa a la cromatografía, el β-sitosterol resultó de difícil purificación, y las preparaciones contenían el isómero γ. Las dificultades eran mayores aún con el más soluble de los tres isómeros, el α-sitosterol, que actualmente se considera una mezcla de por lo menos tres esteroles.

En un trabajo de esa época, Bonstedt (8), considera a los llamados sitosteroles casi inseparables.

Simpson y Williams (1) y Wallis y Chakravorty (2) parecen haberside los primeros en haber aislado el β-sitosterol en estado puro. Es un alcohol no saturado de fórmula $C_{29}H_{50}O$, y que posee la siguiente estructura:



IV

Es el más difundido de los esteroles de origen vegetal, habiéndose extraído, por ejemplo, de los aceites de germen de trigo, de germen de centeno, de maíz, de semilla de algodón, de porotos, de soya, de colza; de las cortezas del avellano, de la Mitragyna inermes, del árbol de la quina; de la madera de pino, etc.

Su presencia en la corteza del Fagara Coco resulta así fácilmente comprensible.

PARTE EXPERIMENTAL

Aislamiento y Purificación.- El precipitado (1) obtenido en la preparación del alcaloide (véase pág. 28) se extrae con éter etílico por agitación y posterior filtración, y este extracto se junta con los extractos etéreos (2) obtenidos en la misma preparación.

Los líquidos etéreos reunidos se filtran y se lavan, primero con ácido sulfúrico al 1 % (6x100 ml), luego con hidróxido de sodio al 8 % (20 x 50 ml), y finalmente con agua destilada hasta reacción neutra de los lavados (10x100 ml). Luego se secan con cloruro de calcio y se evapora el éter, obteniéndose un residuo pastoso de color pardo rojizo (120 g).

Este residuo se toma en 100 ml de etanol 96, se filtra el insoluble, y al filtrado se le agregan 40 g de hidróxido de potasio disueltos en 500 ml de etanol 96. La solución hierve a reflujo durante tres horas, al cabo de las cuales se enfría y se le agrega dos veces su volumen de agua. La solución acuoso-alcohólica se extrae luego con éter etílico (15 x 150 ml). Los extractos etéreos se lavan con hidróxido de sodio al 12 %o, para eliminar jabones, luego con agua destilada hasta reacción neutra, y se secan con cloruro de calcio. Se evapora luego el éter a presión reducida, quedando un residuo pardo rojizo (60 g), que se disuelve en 60 ml de éter de petróleo.

Se prepara una columna de alúmina Alcoa para cromatografía, de 3 cm. de diámetro por 20 cm. de altura (150 g. de alúmina), y se percola a través de ella la tercera parte de la solución en éter de petróleo del residuo anterior (20 ml), formándose una banda marrón rojiza de unos 5 cm. de ancho en la parte superior. Se lava la columna con éter de petróleo y se eluye luego con benceno, a una velocidad de aproximadamente 5 ml por minuto, recogiéndose 24 fracciones de 50 ml cada una, luego dos de 250 ml cada una y finalmente se eluye la columna con 500 ml de etanol 96º.

Cada una de las fracciones benzénicas se evapora a presión reducida y el residuo se toma en éter etílico, se pasa a un tubo de ensayo y se vuelve a evaporar, para estimar el residuo. Una vez terminada la cromatografía las fracciones se redisuelven en éter etílico y se reagrupan de la siguiente manera:

P_1 : fracciones no. 1 a 7.

P_2 : fracciones no. 8 a 16.

Al eluído alcohólico lo llamaremos P_3.

Esta cromatografía se repite dos veces más, con las otras dos terceras partes de la solución en éter de petróleo, juntándose los grupos de fracciones equivalentes.

Las fracciones P_1 se evaporan a presión reducida, obteniéndose un líquido aceitoso de color rojizo, en el cual van apareciendo lentamente cristales amarillos. Al cabo de varios meses se filtra y se obtiene una sustancia amarilla algo pastosa que funde en-

tre 170 y 180º. Se recristaliza de etanol 96º, dando un producto en forma de agujas agrupadas radialmente, p.f. 185-186º.

Las fracciones P_3 se evaporan también al vacío: queda un residuo viscoso de color muy oscuro (10 g).

Las fracciones P_2 se evaporan a presión reducida, y el residuo, sólido blanco amarillento, se cristaliza de etanol 96º, obteniéndose cristales blancos en forma de escamas, de brillo nacarado (5,580 g), que recristalizados tres veces de etanol 96º, funden a 158-158,5º, $[\alpha]_D^{27}$ -35,2º (c 1,24 cloroformo). Reacción de Liebermann positiva.

Punto de fusión mezcla con β-sitosterol aislado de Formium Tenax, de p.f. 155-155,5º: p.f. mez. 155-156º.

Acetato de la sustancia p.f. 158-158,5º.- A 0,150 g. de la sustancia se agregan 7,5 ml de anhídrido acético y se hierve a reflujo durante noventa minutos. Al enfriar cristaliza. Se filtra y lava con etanol 96º y se recristaliza del mismo solvente. Se obtiene un producto de p.f. 129-130º, $[\alpha]_D^{23}$ -38,9º (c 0,32 clorof.).

3-5-dinitrobenzoato de la sustancia p.f. 158-158,5º.- Se disuelven 200 mg de sustancia en 15 ml de piridina seca, se agregan 1,250 g de cloruro de 3-5-dinitrobenzoilo y se calienta a baño maría durante treinta minutos. Se vierte luego la solución en 170 ml de agua

helada, se centrifuga la suspensión, se lava con agua y se filtra. Se disuelve el precipitado en benceno y se decolora la solución con carbón activado Darco G-60. Se filtra el carbón, y en el filtrado se precipita el 3-5-dinitrobenzoato por agregado de etanol absoluto. Se recristaliza de benceno-etanol absoluto, conteniéndose una sustancia que funde a 201,5-202°, $[\alpha]_D^{18}$ -10,0° (c 0,52 cloroformo).

BIBLIOGRAFIA

(1) Simpson y Williams, J. Chem. Soc., 733 (1937).

(2) Wallis y Chakraverty, J. Org. Chem., 2, 335 (1938).

(3) Heilbron, Jones, Roberts y Wilkinson, J. Chem. Soc., 344 (1941).

(4) Cook y Paige, J. Chem. Soc., 356 (1944).

(5) Pontis Videla, Tesis, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Univ. Nac. de B. Aires, 1953.

(6) Fieser, "Natural Products Related to Phenanthrene", pág. 286, New York, 1949.

(7) Anderson y col., Citados por Fieser, loc. cit. pág. 285.

(8) Bonstedt, Z. Physiolog. Chem. 176, 269 (1928).

A Z U C A R

PARTE TEORICA

Introducción.- Los hidratos de carbono son, junto con las grasas y las proteínas, las sustancias que sirven de base a todas las manifestaciones del fenómeno vital. Es entonces natural que se los encuentre distribuídos, ya sea bajo la forma de azúcares o la de polisacáridos, en toda la extensión de los reinos vegetal y animal.

De la corteza del Fagara Coco hemos aislado uno de los representantes más difundidos, y sin duda el más conocido, de los azúcares: la sacarosa.

Aislamiento y purificación.- En uno de los ensayos previos tendientes a aislar el alcaloide cuaternario presente en la corteza del Fagara Coco, empleamos un método distinto del descripto más arriba (pág.28), y que detallamos en la parte experimental de esta sección (véase pág.65).

En uno de los pasos deste procedimiento, aparece un precipitado insoluble en alcohol etílico absoluto, y que recristalizado en etanol-agua dió una sustancia en forma de cristales blancos rectangulares, p.f. 184,5-185,5º (desc.), $[\alpha]_D^{19}$ +67,7º (agua).

Caracterización.- La sustancia aislada se comporta como no iónica, pues no se fija en la resina intercambiadora de aniones básica fuerte (Amberlite IRA-400) que se emplea en el método de preparación, (véase pág.65), ni en una resina intercambiadora de cationes fenol-sulfónica (Ionac C-200). Este hecho, junto con su gran solubilidad en agua y su insolubilidad en los solventes orgánicos, nos hizo pensar en la posibilidad de que se tratara de un compuesto hidroxilado. Una reacción de Molisch fuertemente positiva nos indicó que estábamos en presencia de un azúcar.

Para tratar de identificarlo, practicamos primeramente algunas reacciones coloreadas clásicas:

Con el reactivo de Fehling reacciona negativamente, indicándonos su carácter no reductor.

Con el mismo reactivo, si previamente se hierve unos minutos con ácido clorhídrico diluído, reacciona positivamente, mostrando que se trata de un disacárido (u oligosacárido) no reductor, que por hidrólisis libera monosacáridos, reductores.

Con el reactivo de Seliwanoff, específico para ceto-hexosas, da una reacción positiva neta.

Ahora bien, la sacarosa es un disacárido no reductor, que por hidrólisis se vuelve reductor, liberando glucosa y una cetohexosa, la fructuosa. Comparando además sus constantes: p.f. 185º (desc.), $[\alpha]_D^{20}$ + 66,5º (agua), con las de nuestra sustancia: p.f. 184,5-185,5º (desc.), $[\alpha]_D^{19}$ + 67,7º (agua), consideramos muy posible la identidad de ambas.

Para comprobarlo, procedimos en primer lugar a comparar los poderes rotatorios de la misma antes y después de hidrólisis, proceso que en la sacarosa es acompañado por la inversión del signo del poder rotatorio, con los siguientes resultados:

	antes de hidr.	después de hidr.
sacarosa (1)	$[\alpha]_D^{20}$ + 66,5º	$[\alpha]_D^{20}$ -19,7º
sustancia	$[\alpha]_D^{19}$ + 67,7º	$[\alpha]_D^{19}$ -21,6º

En segundo lugar preparamos el acetato de nuestro azúcar, por calentamiento con anhídrido acético en presencia de acetato de sodio. Se obtuvo una sustancia cristalina en forma de prismas alargados, p.f. 86-88º, $[\alpha]_D^{18}$ +59,8º (cloroformo).

Para el punto de fusión del octaacetato de sacarosa se encuentran en la literatura datos divergentes, debido a la propiedad de esta sustancia de poseer por lo menos dos formas cristalinas: una de p.f. 69-70º (2,3,4,5) única conocida durante 50 años, y otra de p.f. 87-89º (6,7,8). Pictet (9) describe una tercera forma de p.f. 75º.

Preparamos entonces, por el mismo procedimiento anterior, una muestra de octaacetato de sacarosa, y obtuvimos un producto de p.f. 86-88º, $[\alpha]_D^{19}$ +59,9º (cloroformo). Punto de fusión mezcla con el acetato de nuestro azúcar: 86-88º. En una preparación de la misma sustancia llevada a cabo en otro laboratorio *, se obtuvo también

---

*Nos es grato agradecer al Dr. Rafael Labriola esta preparación.

el octaacetato de p.f. 86-88º.

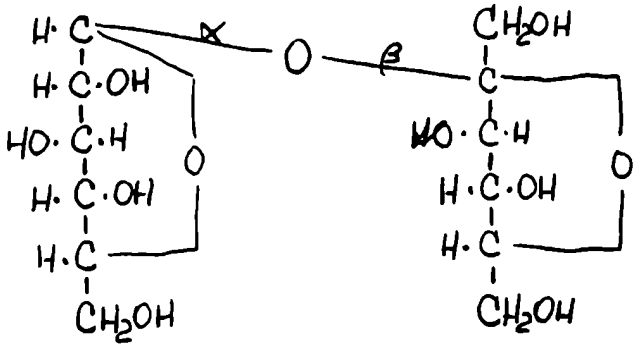
Esta forma cristalina es mencionada por primera vez por Frerejacque (5), y estudiada posteriormente por Linstead y col. (6), quienes obtuvieron un producto de p.f. 89º, $[\alpha]_D^{25,4}$ +58,5º (etanol absoluto). Los datos obtenidos del estudio cristalográfico de nuestro preparado, realizado por el Dr. Jorge Villar Fabre, coinciden bien con los dados por Linstead: extinción paralela, biáxico negativo, y sus índices de refracción son los siguientes:

	Linstead	Nos.
n_α	1,500 (± 0,002)	1,500
n_β	1,488 (± 0,002)	1,486
n_γ	1,470 (±0 ,002)	1,467

Esta forma es al parecer la más estable, pues la de punto de fusión 69-70º tiende a transformarse en ésta al ser recristalizada en presencia de gérmenes de ella, mientras que el proceso inverso no tiene lugar.

Con los resultados anteriores consideramos establecido que el azúcar presente en la corteza del Fagara Coco, que aislamos por el método abajo descripto, es sacarosa.

Consideraciones Generales.- La sacarosa, $C_{12}H_{22}O_{11}$, es un disacárido no reductor cuya estructura fué establecida, tras una larga serie de investigaciones, por Haworth y colaboradores, como un α-D-glucopiranosil-β-D-fructofuranóside:



Es el azúcar más conocida y el económicamente más importante, pués es uno de los alimentos más comunes del hombre moderno. Está también muy difundido en el reino vegetal, más de lo que generalmente se cree. Wehmer, por ejemplo, en el índice de su libro (10), indica expresamente que no reporta en él todas las especies de las cuales se ha aislado esta sustancia, dado el muy grande número de ellas.

PARTE EXPERIMENTAL

Aislamiento y Purificación.- El extracto alcohólico de 500 g de corteza de Fagara Coco se evapora a presión reducida, quedando un residuo viscoso de color pardo oscuro (45 g).

Este residuo se toma en agua destilada (150 ml), y se agrega ácido sulfúrico concentrado hasta viraje del indicador rojo Congo (pH 3), formándose una suspensión fina que se extrae con éter etílico (4 x 100 ml), con lo cual se eliminan las materias grasas, quedando una suspensión límpida de color rojo. Se alcalinisa hasta pH 10 con hidróxido de bario y se centrifuga el precipitado de sulfato de bario. La solución se extrae con tricloroetileno hasta reacción de Mayer negativa en el extracto (5 x 50 ml), luego se agrega ácido sulfúrico 6N hasta no más precipitación (pH 5), y se centrifuga el precipitado de sulfato de bario formado.

La solución se diluye hasta 500 ml con agua destilada y se decolora haciéndola pasar por un manto de carbón activado Darco G-60 (12 g) mezclado con filtercel: el líquido saliente tiene color amarillo claro.

Esta solución se hace pasar por una columna que contiene 40 ml de resina intercambiadora de aniones básica fuerte (Amberlite IRA-400) en su forma hidróxido, a una velocidad aproximada de dos ml por minuto, para reemplazar todos los aniones presentes por hidroxilos. El líquido efluente, pH 11, reacción de sulfatos negativa, se lleva a pH 5 con ácido clorhídrico al 10 %.

Esta solución se evapora a presión reducida, se agrega etanol absoluto al residuo y se vuelve a evaporar, para eliminar completamente el agua, y se termina el secado colocando el residuo en desecador al vacío (14 g).

Este residuo se trata con etanol absoluto (200 ml): se disuelve parcialmente, formándose una suspensión turbia que al calentar a ebullición precipita un sólido blanco friable, p.f. 180º (desc.). Se filtra, y por concentración y enfriamiento del filtrado, se obtiene una nueva cantidad de precipitado, p.f. 180º (desc.), que se junta con el anterior y se lavan con etanol absoluto.*

La solución alcohólica se percola por una columna de alúmina Alcoa para cromatografía de 1 cm. de diámetro por 15 cm. de altura (20 g. de alúmina), eluyéndose con etanol absoluto a una velocidad de aproximadamente 1 ml por minuto, y recogiéndose diez fracciones de 10 ml cada una. Las seis primeras fracciones dan residuos cristalizables, con un peso bruto total de 5,40 g. Se recristalizan de etanol absoluto, obteniéndose 2,70 g de Cloruro de Cocotidina de p.f. 228-230º. De las aguas madres se obtienen otros 0,60 g de alcaloide.

Las fracciones 7 a 10 dan como residuo una pasta no cristalizable de reacción Molisch positiva.

---

* Esta es la sustancia que estudiamos en esta sección. Para completar el método seguimos la descripción del mismo hasta la obtención del alcaloide.

El precipitado de p.f. 180º (desc), obtenido en la etapa anterior del método, se recristaliza de etanol-agua, obteniéndose una sustancia blanca, cristales rectangulares, p.f. 184,5-185,5º (desc), $[\alpha]_D^{19}$ + 67,7º (c 0,75 agua).

Reacciones Coloreadas.- Se observó el comportamiento de la sustancia frente a los siguientes reactivos:

Reactivo de Molisch: Se agregan, a una solución alcohólica de la sustancia, unas gotas de solución al 5 % p/v etanol de α- naftol, y luego ácido sulfúrico concentrado de modo que se formen dos capas. Reacción: Se produce un anillo de color violeta en la zona de contacto.

Reactivo de Fehling : Solución (a): se disuelven 34,6 g de sulfato de cobre cristalizado en agua, se agregan 5 ml de ácido sulfúrico concentrado y se diluye a 500 ml. Solución (b) : se disuelven 173 g de sal de Seignette y 125 g de hidróxido de potasio en 500 ml de agua. Se mezclan iguales volúmenes de ambas soluciones en el momento de ser usadas, se agregan unas gotas a una solución acuosa de la sustancia y se calienta a baño maría unos minutos. Reacción: no aparece coloración.

Si previamente se hierve la solución acuosa de la sustancia con unas gotas de ácido clorhídrico concentrado: Reacción: Se produce un precipitado de color rojo.

Reactivo de Soliwanoff: Se disuelven 20 g de resorcina en 100 ml de agua y se agrega en el momento de usarse igual

volumen de ácido clorhídrico concentrado. Se agregan unas gotas a una solución acuosa de la sustancia y se calienta unos minutos a baño maría. Reacción: Aparece u a coloración roja.

Inversión.(11).- Se pesan 0,200 g de sustancia, se disuelven en 15 ml de agua destilada en un matraz aforado de 20 ml, se agregan 2 ml de ácido clorhídrico concentrado y se calienta a baño maría a 60 C durante 9 minutos. Se enfría rápidamente, se enrasa a 20 ml y se mide el poder rotatorio. $[\alpha]_D^{19}$ -21,6º.

Acetato de la sustancia de p.f. 184,5-185,5.- 250 mg de la sustancia se agregan poco a poco a una suspensión de 130 mg de acetato de sodio fundido en 1,5 ml de anhídrido acético, y se calienta a baño maría durante 90 minutos. Al cabo de este tiempo se vierte todo en 50 ml de agua helada y se deja durante 24 horas a temperatura ambiente, con lo cual el precipitado aceitoso inicialmente formado se vuelve friable, p.f. 85-87º. Se filtra y recristaliza de etanol 96°, obteniéndose prismas alargados, p.f. 86-88º, $[\alpha]_D^{18}$ + 59,8º (c 0,57 cloroformo).

Octaacetato de Sacarosa.- 500 mg de sacarosa se agregan, poco a poco, a una suspensión de 250 mg de acetato de sodio fundido en 2,5 de anhídrido acético. Se calienta a baño maría durante dos horas, al cabo de las cuales se vierte con agitación sobre 50 ml

de agua helada. Se agita durante 30 minutos y se deja hasta el día siguiente. Se filtra el precipitado cristalino, p.f. 85-87 (4,5 g). Este producto se recristaliza de etanol 96°, obteniéndose agujas prismáticas de p.f. 86-88°, $[\alpha]_D^{19}$ +59,9° (c 1,16 cloroformo).

Punto de fusión mezcla de octaacetato de sacarosa, p.f. 86-88°, con acetato de nuestra sustancia, p.f. 86-88°: p.f. 86-88°.

BIBLIOGRAFIA

(1) Bates y col., "Polarimetry, Saccharimetry and the Sugars", National Bureau of Standards, Circular C 440, pág. 565, Washington, 1942.

(2) Herzfeld, Ber., 15, 267 (1880).

(3) Koenigs y Knorr, Ber., 34, 4547 (1901).

(4) Hudson y Johnson, J. Amer. Chem. Soc., 37, 2748 (1915).

(5) Pictet, Helv. Chim. Acta, 11, 901 (1928).

(6) Frerejacque, Compt. Rend., 205, 751 (1936).

(7) Linstead et al., J. Amer. Chem. Soc., 62, 3260 (1940).

(8) West, ibid. 63, 630 (1941).

(9) Pictet, Helv. Chim. Acta, 15, 698 (1930).

(10) Wehmer, "Die Pflanzenstoffe", vol. 1, pág. 605, Jena 1929.

(11) Bates y col., loc. cit. pág. 128.