

00046

ORIGINAL  
TESIS  
DR. CAMILO ANASTASI.  
1933. 1925

Universidad Nacional de La Plata  
Facultad de Ciencias Exactas  
Biblioteca  
50 y 115 1° subsuelo  
biblioteca@exactas.unlp.edu.ar  
Tel 0221 422-6977/79 int. 129



DEX-58873



UNIVERSIDAD NACIONAL  
DE LAPLATA

ESTUDIO QUIMICO DEL PRINCIPIO ACTIVO  
DEL "JULOCROTON MONTEVIDENSIS"

Tesis presentada para optar el grado de Doctor en Química y  
Farmacia.

Por

Camilo Anastasi

Año 1927

P A D R I N O D E T E S I S

P R O F E S O R D r . L U I S G U G L I A L M E L L I

A L

P R O F E S O R Dr. E N R I Q U E H E R R E R O D U C L O U X

Sres. Profesores

El presente trabajo que someto a vuestra consideración es el resultado de mi inclinación a la investigación científica que sentí al iniciar los primeros cursos en esta Facultad. Dicha inclinación fué aumentada con los sanos consejos y el empeño que en todo momento habéis puesto de manifiesto en el transcurso de mi carrera Universitaria.

El tema elegido como tesis, tema complejo y difícil para quien se inicia en investigaciones de esta índole, hizo me pensar mas de una vez que mis solas fuerzas no serían suficientes para resolver la cuestión que me había planteado, al querer aislar el principio o principios activos de un vegetal que pertenece a una familia muy pobre en alcaloides.

Este trabajo ha sido efectuado en el Laboratorio de Química Orgánica Farmaceutica de la Universidad de Buenos Aires bajo la dirección del Profesor de esta Facultad Dr. Luis Guglielmelli.

Aprovecho esta oportunidad para agradecer profundamente todos los consejos y la orientación que a diario he recibido de dicho profesor que me acompaña como padrino de esta Tesis.

ESTUDIO QUIMICO DEL PRINCIPIO ACTIVO DEL

"JULOCROTON MONTEVIDENSIS"

por Camilo Anastasi

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

La raiz del "Julocroton Montevidensis" contiene una sustancia  $\pi$  nitrogenada, debilmente básica que reacciona con muchos de los reactivos generales de alcaloides y que por su comportamiento químico fué definido por nosotros como un alcaloide singular(1).-

Peckolt en sus interesantes trabajos sobre la flora del litoral argentino y Sud-Oeste del Brasil, incluye el estudio de algunas especies del Croton (Croton echinocarpus, Croton Compressus, Cròton campestris, Croton colatus y en especial el del Julocroton fuscescens Bail, que es el único citado en la clásica obra de Wehmer (Die Pflanzenstoffe) y descrito por Peckolt(2) (Ber. Pharm. Gessell. 1905 t. 15 pag. 183 y 225). En el estudio que hace este autor de las plantas brasileñas, menciona entre las sustancias que separa por el análisis

-----  
(1) Un resumen de la primera parte de este trabajo fué presentado al Primer Congreso Sud-Americano de Química, realizado en Buenos Aires el 1° de Septiembre de 1924, y publicado en las actas de dicho Congreso (Vol. III pág. 19 y sig.) y en los Anales de la Asociación Química Argentina "Sobre la presencia de un alcaloide en el Julocroton Montevidensis" t. 13 N° 68 pag. 348 y siguientes.

Este mismo trabajo enviado conjuntamente con otros trabajos (efectuados en el mismo Laboratorio de Química Orgánica del Profesor Dr. L. Guglielmelli) mereció el primer premio otorgado por la Asociación Mitre.

(2) Se conocen como sustancias básicas estudiadas hasta ahora: la acalifina, Ricinina, Johanesina, Dafnetidina, Stillingina y algunas bases simples como la metil y trimetilamina.

La ricinina, ha sido uno de los principios activos básicos de los Croton que mas se ha estudiado (Tuson. Journal Chemical Soc. año 1864 tomo 17 página 195.- Chemical News 1870 tomo 22 página 49; Evans, Journal of the Americ. Chemical Soc. año 1900 tomo 22 página 39; Maquenne y Phillipi, Comptes Rendues Acad. Sciences tomo 138 página 506

inmediato de este Julocroton, grasas, resinas, ácidos resínicos, gomas y productos amargos, sin hablar nada en absoluto de la presencia de alcaloides en esta especie de Julocroton. Ninguna otra noticia hemos podido recoger en toda la bibliografía que nos ha sido viable consultar respecto al "Julocroton Montevidensis".

Es de notar que en general las euforbiáceas, familia a la que pertenece este vegetal y formada por mas de cuatromil especies, son pobres en alcaloides y quizás por esta razón hayan sido poco estudiadas. En particular se caracterizan por no poseerlos los Croton, formando parte de esta familia los Julocroton. La presencia, pues, de un alcaloide en este vegetal, llamó desde el primer momento toda nuestra atención. Fué precisamente al pretender separar algunos de los principios inmediatos que pudimos aislar una sustancia nitrogenada que parece responder a las propiedades de alcaloides. Para evitar confusiones lamentables, hemos tratado de separar en la forma mas conveniente posible, este principio nitrogenado que presenta la ventaja para su investigación de poderse aislar al estado cristalino. En efecto, acidulando la solución alcalina de los productos resinosos (sales alcalinas de los ácidos resínicos) se precipita un compuesto blanco y cristalino, insoluble en los ácidos diluídos. El hecho que este curioso alcaloide, al encontrarse mezclado a otras sustancias se disuelva en álcali, nos hizo sospechar que contuviera una función lactónica. En este último caso el álcali atacaría en su forma lactónica al alcaloide y daría la sal correspondiente. Luego, por la acción ulterior del ácido al precipitarlo de su solución alcalina regeneraría el alcaloide en su forma primitiva o como un ácido nitrogenado libre. Esta es una propiedad muy interesante y que hemos tenido en cuenta en la separación y purificación del alcaloide.

Para el estudio de esta primera parte, se recurrió en el primer momento a aislar el alcaloide o alcaloides que pudieran formarse en este vegetal, por los medios comunes y veremos que por tal camino no se alcanzaron resultados satisfactorios. Esto podría atribuirse, como hemos supuesto, y con mayores detalles se verá despues, que el alcaloide que hemos aislado en condiciones determinadas y muy particulares,

presenta propiedades singulares que lo diferencia de casi todos los alcaloides hasta ahora estudiados.

La extracción de este alcaloide se hace de una manera dificultosa cuando se emplean los métodos basados en la alcalinización o acidificación del material que los contiene. Esto se debe, como hemos dicho, probablemente a la extrema sensibilidad de este alcaloide el cual parece que en los álcalis, forma sales solubles a las que por acidificación no regenera la sustancia primitiva, conduciendonos a un compuesto de función diferente. Por otra parte, demuestra sus propiedades básicas por salificación con ácidos minerales, y esto se logra solamente cuando se opera con soluciones ácidas muy concentradas pues de lo contrario experimentan una disociación inmediata regenerando por esta hidrólisis el alcaloide primitivo.

En vista de los inconvenientes antes señalados hemos recurrido a los disolventes neutros y de todos los ensayados el eter de petròleo es el que nos dió mejores resultados.



P L A N   D E   T E S I S

Consta la primera parte de este trabajo experimental de la extracción del principio activo.-Propiedades físicas y químicas.-Análisis elemental y funcional.-Principales reacciones que presenta el alcaloide así aislado.-Poder rotatorio.-Determinación del peso molecular,etc .

La segunda parte abarca el estudio de los derivados de la Julocrotina: Acido Julocrotónico;propiedades físicas y químicas.-Características.-Análisis.-

Productos de desdoblamiento de la Julocrotina: Acido crotínico y base volátil.

P A R T E   E X P E R I M E N T A L

EXTRACCION   DEL   ALCALOIDE

Ya habiamos indicado el camino que tuvimos que seguir en nuestras investigaciones para separar el principio activo existente en el vegetal en estudio. Por este método común no nos fué posible aislarlo; en efecto tratando las raices de Julocroton con eter y agitando luego con solución acuosa de ácido tartrico hasta que la capa inferior acuosa no se tiñe en amarillo, separando la solución acuosa no acusa reacción de alcaloide con los reactivos generales.

Para obtener cantidades apreciables de alcaloide hemos utilizado un extractor de Payen, colocando en la alargadera ,cada vez, 500grs de raiz del vegetal en estudio. Se hizo actuar el eter de petroleo en forma continua durante cuarenta y ocho horas. Por enfriamiento del eter de petroleo se obtuvo un residuo cristalino (tres a cuatro gramos y medio) cuya cantidad variaba en cada extracción .

El eter de petroleo filtrado contiene disuelto aun cantidades apreciables de esta sustancia cuya separación total solo se consigue evaporando el eter y agregando alcohol para precipitar en su mayor parte las sustancias grasas. La solución alcoholica se evapora y el residuo se disuelve en eter etílico y sobre este se echa un exceso de eter de petroleo (60° a 70°) que precipita así a un producto, que como veremos mas adelante se identifica con el extraído directamente con el eter de petroleo.

Lo mas curioso de este procedimiento que hemos seguido, sin orientación definida, es que nos proporciona el medio para separar en condiciones ventajosas la sustancia o principio activo único o principal contenido en esta droga y que por cristalizaciones sucesivas se obtuvo químicamente puro.

El que proviene de la primera operación que pasa directamente en solución en el eter de petroleo, y que lo abandona en frío , se purifica junto con las demas porciones, disolviendo todas estas en eter etílico y reprecipitándolo despues por agregado de eter de petroleo.

Repetiendo dos veces esta operación se llega a obtener una sustancia blanca y cristalina muy pura.

Un análisis elemental cualitativo reveló la presencia de nitrógeno. Este resultado viene a mostrarnos que el principio aislado de la droga en estudio, lo constituye una sustancia nitrogenada. Se trata pues de un principio activo nitrogenado no básico o de un verdadero alcaloide? Esta pregunta tiene su razón de ser, puesto que el empleo de otros disolventes, eter sulfúrico, cloroformo, etc., en un extractor Soxhlet, han dejado por evaporación un residuo parduzco, amorfo que en solución clorhídrica diluída nos dió reacciones de alcaloides.

Por otra parte, es digno de hacer notar que el eter de petroleo disuelve en buenas condiciones esta sustancia, pero una vez separada de este disolvente, ya deja de ser soluble en él.

Con el fin de investigar si junto a este principio así aislado pudieran existir otros y que precipiten simultaneamente, hemos creído conveniente efectuar algunos ensayos con la sustancia así separada. De paso, estos mismos ensayos servirán para comprobar la pureza del producto cristalino y cuya tenencia en nitrógeno hace pensar que se trata de un alcaloide.

Cinco gramos de este producto se disolvieron en 100c.c. de eter etílico. Sobre esta porción se echaron tres porciones iguales de 100 c.c. cada una de eter de petroleo (60°) con lo que se consigue cristalizar sucesivamente tres porciones. Se determinó el punto de fusión del producto obtenido en cada fraccionamiento como tambien el del proveniente del eter filtrado. No se observa ninguna diferencia en su punto de fusión, dando las tres fracciones el mismo punto de fusión 105° (sin corregir) Funde en un líquido aceitoso, de color amarillo oscuro, que no se solidifica por enfriamiento. Si se sigue calentando a una temperatura mas alta de su punto de fusión toma un color rojo claro, emitiendo vapores aromáticos.

La sustancia, a la que nos permitimos dar el nombre de "Julocrotina se presenta en forma cristalizada, blanca, insoluble en agua, poco soluble en ligroina, soluble en eter etílico, alcohol, cloroformo y benzol

Presenta reacción neutra al tornasol y fenolftaleína.

Es ópticamente activa, desviando el plano de luz polarizada a la izquierda  $\alpha - 75^\circ$ . Se comporta con los principales reactivos de alcaloides en solución sulfúrica al 1/5, del siguiente modo:

Reactivo de Bouchardat.....	precipitado rojo oscuro.
" " Meyer.....	" blanco.
" " Dragendorff .....	" rojo.
" " Lepage .....	" amarillo.

(estos precipitados de yoduros dobles se disuelven fácilmente en agua: las soluciones clorhídricas precipitan cuando el ácido está muy concentrado).

La mayor parte de los cloruros metálicos precipitan el alcaloide de su solución en HCl concentrado; sin embargo el cloruro de platino parece no reaccionar en soluciones acuosas ni alcohólicas, pero a la temperatura de 0° grados, deposita después de un cierto tiempo una sustancia amarilla, amorfa. El cloruro de oro en medio muy ácido da un precipitado aceitoso que no hemos conseguido cristalizar.

De todos los cloruros ensayados, el cloruro ferrico es el que da precipitado mas neto, de color amarillo, amorfo. Entre los reactivos de coloración hemos ensayado los de Fluckiger y Mandelín. El primero produce inmediatamente color verde esmeralda y el segundo verde azulado.

Practicando la reacción de Kunze-Krause, que se emplea para revelar la presencia de grupo metilimido hemos notado olor a piperonal en lugar del característico de las carbilaminas. El ensayo se efectuó evaporando en baño de maría una solución nítrica de alcaloide y tratando el residuo por una solución alcohólica de potasa.

La acción de los ácidos y álcalis es muy distinta según la temperatura y concentración en que actúen. El ácido sulfúrico concentrado y en frío disuelve al alcaloide con coloración amarilla; si calentamos lentamente la solución, en un tubo de ensayo, se carboniza con rapidez, al mismo tiempo que destila un líquido incoloro cuyo olor recuerda al del ácido acético; si la operación se efectúa en una cápsula y se calienta fuertemente, se originan vapores blancos de olor agradable y el producto que se desprende sublima fácilmente.

El ácido sulfúrico diluido a la ebullición provoca la formación de ácidos grasos entre los cuales parecen predominar el butírico y el valeriano. La operación se efectúa en un matraz usando un dispositivo que permita mantener constante el volumen del líquido y recogiendo el destilado; este se agita con éter el que por evaporación abandona los cuerpos citados, que aunque no han sido identificados, sus olores característicos y el bajo punto de fusión lo evidencian.

El ácido clorhídrico concentrado disuelve el alcaloide, pero por agregado de agua lo precipita nuevamente. Si la citada solución se agita con cloroformo y el residuo se purifica con éter y éter de petróleo se obtiene el alcaloide puro. El éter de petróleo no contiene ningún producto de combinación con el ácido clorhídrico.

Vista la dificultad que presenta la salificación hemos tratado la solución en alcohol absoluto por una corriente de HCl seco; por evaporación se obtiene un residuo que se altera lentamente.

Como algunas betainas se salifican a muy baja temperatura hemos tratado la solución etérea del alcaloide por una corriente de HCl a  $-17^{\circ}$  grados; el producto de la reacción se evapora y tampoco se obtiene salificación. En este caso la acción del ácido es distinta, pues se forma por evaporación y lentamente un producto coloreado violeta.

La citada reacción no es completa y solo alcanza las partes superficiales; si a esto agregamos que se forma lentamente, podríamos suponer que fuese debido a un fenómeno de oxidación y fotoquímico producido con los productos de desdoblamiento. La operación efectuada a la temperatura ambiente no da lugar a la formación de la citada coloración.

El producto obtenido es insoluble en agua, soluble en alcohol y los álcalis lo transforman en una sustancia azul verdosa, mientras que los ácidos lo colorean en rosado. Para separar la sustancia colorante del alcaloide no alterado se trata por agua clorhídrica que precipita a quella en forma aceítosa, mientras que el alcaloide se mantiene en suspensión en el líquido. Como al tratar por ácido clorhídrico se notara la formación de vapores blancos y densos, tratamos una parte de la sustancia coloreada, en solución alcalina, por sulfo-



oloruro de benceno y el producto de la reacción dió escaso precipitado al acidular con HCl. Debido a la pequeña cantidad del material no se efectuaron otras reacciones de bases primarias.

Los álcalis actuan en forma distinta según la temperatura a que se opera. Los carbonatos alcalinos no disuelven la sustancia mientras que los álcalis forman sales que no son descompuestas por el anhídrido carbónico; gran parte de ellas son solubles en agua y los ácidos en lugar de regenerar el alcaloide precipitan un nuevo compuesto ácido, que según veremos resulta ser el mismo alcaloide que parece haber fijado un grupo oxhidrilo por desdoblamiento de su función lactónica.

La cantidad de álcali combinada es siempre constante y esto permite dosarlo. La operación puede efectuarse en alcohol o agua, usando como indicador fenolftaleína.

En estas condiciones 0.100grs de alcaloide se combinan con 0.0174 grs de hidrato de potasio.

Los álcalis concentrados en frío forman sales que se separan en forma de aceite, constituyendo esta una de las propiedades mas características de la sustancia en examen, puesto que la casi totalidad de los alcaloides salificados separan la base libre. Decantando la base aceitosa y disolviendola en agua se obtiene por acidificación, el compuesto ácido arriba citado.

Los álcalis a la ebullición provocan una hidrólisis del alcaloide formándose una base volátil y un ácido nitrogenado. Si esta operación se efectúa con álcalis diluidos puede simplificarse la molécula del alcaloide y obtener productos definidos.

ANALISIS ELEMENTAL

La combustión se ha efectuado en una parilla de gas, empleando tubo abierto; la operación se efectuó manteniendo la llave de paso del oxígeno cerrada hasta que el desprendimiento de burbujas disminuyó y recién entonces quemamos con una corriente lenta de oxígeno.

Análisis N° 1

Sustancia.....gr.	0.2475	C%.....68.67
CO <sub>2</sub> ....."	0.6232	H%..... 7.20
H <sub>2</sub> O....."	0.1604	

Análisis N° 2

Sustancia.....	Grs.	0.1506	
CO <sub>2</sub> .....	"	0.3780	C % 68.45
H <sub>2</sub> O.....	"	0.1016	H % 7.49

Análisis N° 3

Sustancia.....	Grs.	0.3639	
CO <sub>2</sub> .....	"	0.9185	C % 68,84
H <sub>2</sub> O.....	"	0.2598	H % 7.93

El nitrógeno fué determinado por el método de Dumas; la lectura del nitrógeno se hizo sobre potasa al 30%.

Análisis N° 1

Sustancia.....	Grs.	0.1192
Nitrógeno.....	c.c.	8.40
Presión.....	mm	759
Temperatura.....		19°
Nitrógeno hallado.....		8.13%

Análisis N° 2

Sustancia.....	Grs.	0.1554
Nitrógeno.....	c.c.	10.80
Presión.....	mm	759
Temperatura.....		19°
Nitrógeno hallado.....		8.02%

Análisis N° 3

Sustancia.....	Grs.	0.239
Nitrógeno.....	c.c.	16.8
Presión.....	mm.	760
Temperatura.....		20°
Nitrógeno hallado.....		8.07%

Resumen del análisis elemental

N° 1	N° 2	N° 3
C.....68.67%	C.....68.45%	C.....68.84%
H..... 7.20%	H..... 7.49%	H..... 7.93%
N..... 8.13%	N..... 8.02%	N..... 8.07%

Calculado el término medio de los análisis arriba citados llegamos a los siguientes valores:

C.....	68.65%
H.....	7.54%
N.....	8.07%

porcentaje este que conduce a la fór-

mula C19 H28 O3 N2

cuyos valores son:

C.....	68.67%
H.....	8.43%
N.....	8.43%

PESO MOLECULAR

El peso molecular fué determinado por el método crioscópico, empleando como disolvente el benceno. Se calculó el peso del benceno empleado (D.O.874) y el valor 51 para la constante de dicho disolvente.

Se obtuvieron los siguientes resultados:

Ensayo N°1

Punto de cristalización del benzol.....5.59°  
Sustancia empleada.....0.930grs  
Disolvente(benceno).....25c.c.(21.85gr.)  
Punto de cristalización de la solución 4°887  
Diferencia de temperatura.....0°708

Peso molecular hallado.....306

Ensayo N° 2

Punto de cristalización del benzol.....5°60  
Sustancia empleada.....0.332grs  
Disolvente(benceno).....25c.c.(21.85gr.)  
Punto de cristalización de la solución 5°365  
Diferencia de temperatura.....0°235

Peso molecular hallado....330(329.8)

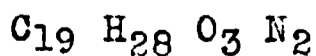
Peso molecular medio.....318

De estos resultados se deduce que el peso molecular hallado por el método crioscópico es inferior al de este cuerpo que corresponde a 332 según se deduce para la fórmula calculada con dos átomos de nitrógeno.

El peso molecular por vía química deducido de la titulación con potasa es

0.1 de sustancia neutraliza 0.0174 de KOH...P.M.332

Para estos datos puede admitirse como fórmula molecular para el,alcoide en estudio la misma deducida del análisis elemental



## CONSTITUCION DE LA JULOCROTINA

Con el objeto de estudiar la constitución de la Julocrotina efectuamos una serie de ensayos investigando las funciones principales.

Pasamos a referir los datos que se han obtenido en estos primeros ensayos de orientación, con la sustancia convenientemente purificada.

Investigación de los grupos amina primaria, amina secundaria, oxhidrilo alcohólico y oxhidrilo fenólico.

- a) Una pequeña cantidad de sustancia con potasa y alcohol y calentando la solución con una gota de cloroformo, desarrolla un olor penetrante que produce sensación de amargor. Este producto como veremos mas adelante se obtiene tambien cuando se trata la base, proveniente de la hidrólisis barítica del alcaloide con cloroformo y potasa.

Probablemente la función de amina primaria no preexiste en la molécula, sino que se forma por la acción del álcali sobre el alcaloide.

- b) La solución en medio alcalino y en frío agitada con unas gotas de sulfocloruro de benceno, no da precipitado alguno; ausencia de R-NH-R. Acidulada con HCl, del mismo modo, no precipita; ausencia de R-NH<sub>2</sub>.

- c) No da coloración con el nitroprusiato de sodio y acetona; el nitroprusiato y la aldehida acética tampoco producen color alguno. Con esto se comprueba una vez mas, la ausencia de funciones amínicas básicas.

- d) Acción del ácido nitroso : A la solución clorhídrica diluida de julocrotina y enfriada con hielo, se agregó unos trocitos de nitrito de potasio. Despues de dejar aposar en frío durante 36 horas, se agitó esta solución primero con eter y despues con cloroformo. El primer disolvente por evaporación espontanea dejó un residuo cristalino que no acusa la reacción de Liebermann, efectuada del siguiente modo: al residuo se le agregó un cristalito de fenol y ácido sulfúrico; no se obtuvo coloración alguna. Con el residuo obtenido por evaporación del cloroformo, tambien sometido a este mismo ensayo, no se obtuvo coloración. Una solución acética diluida de yulocrotina y unos cristales de nitrito de potasio, enfriada con hielo y agotada luego con eter y cloroformo; por evaporación de este disolvente dejó como residuo una sustancia de color amarillento que no acusa tampoco la reacción de compuestos nitrosados. De la solución eterea conteniendo el alcaloide que había sido tratado por el ácido nitroso, se separaron cristales blancos, los cuales por su aspecto y punto de fusión (105°) se identificaron con la yulocrotina.

Investigación de grupos -OH; (CO) y (COCH<sub>2</sub>)

La acción del ácido nitroso sobre la yulocrotina demuestra por lo pronto la ausencia de OH fenólico.

Por ciertas propiedades del alcaloide en estudio, habíamos supuesto que dos atomos de oxígeno se hallaban formando parte de una función lactona y el tercero como carbonilo o de amida sustituida.

En apoyo de esta suposición tendríamos la solubilidad de la base en los álcalis é insolubilidad en los carbonatos alcalinos. Además, la formación de sales con aumento de oxígeno (oxiácidos) y desdoblamiento por los álcalis a la ebullición con formación de un ácido bibásico hablan en favor de esta suposición. Sin embargo, las reacciones mas importantes como ser las de sustitución del oxhidrilo y la eterificación no han dado el resultado esperado, como se deduce de los ensayos siguientes:

Acetilación: 0.100grs de sustancia se disuelven en 0.5c.c. de anhídrido acético agregando un poco de acetato de sodio fundido, la mezcla se coloca en un tubo de ensayo y se calienta en baño de María. Al cabo de dos horas la mezcla adquiere una coloración violeta no muy intensa; se vierte en exceso de agua destilada, se filtra y lava el precipitado. El producto seco disuelto en eter común y tratado por eter de petroleo, abandona un compuesto que resulta ser el mismo alcaloide.

En vista de la alteración que experimenta la solución, procedimos a x efectuar una acetilación en solución acuosa según el método de Lumière y Barbier (Bull. t. 33 pag. 783).

Se disuelven 0.100grs de sustancia en 3.1c.c. de solución décimo normal de potasa y completa con agua destilada hasta 20c.c. Esta solución se trata con unas gotas de anhídrido acético agitando constantemente; el producto de la reacción se acidula con ácido clorhídrico, se filtra el precipitado y purifica precipitándolo con eter de petroleo. -Se obtiene la casi totalidad del alcaloide como yulocrotinato.

Benzoilación. -La solución alcalina acuosa del alcaloide se agita fuertemente con cloruro de benzoilo hasta que reaccione completamente; la solución alcalina se trata por ácido clorhídrico diluido, el que produce un abundante precipitado blanco; se filtra, lava y el producto seco se cristaliza repetidas veces de su solución eterea por agregado de eter de petroleo. -Se obtiene ácido yulocrotónico.

Para evitar la descomposición que parece experimentar el alcaloide en presencia del álcali que es preciso agregar en la acetilación o benzoilación, hemos operado en las condiciones siguientes: Se usó cloruro de acetilo puro directamente sobre el alcaloide y en presencia de anhídrido



acético sin resultado alguno. Con este hecho no solo se elimina la presencia de  $-\text{CH}_2-\text{CO}-$  que pudieran engendrar la función  $-\text{OH}-$  por tautomería enólica, sino también los oxhidrilos alcohólicos y fenólicos.

Acción del nitrito de amilo.-Se disolvieron grs 0.2 de sodio metálico en 4gr de alcohol absoluto, se agregó 1,8grs de nitrito de amilo recientemente destilado ( $96^\circ$ ) y sobre esta solución se vertió, en pequeñas proporciones, 1gr de yulocrotina bien pulverizada.

Se obtuvo en estas condiciones una solución límpida sin variaciones apreciables de color ni cambio de temperatura. El recipiente bien cerrado mantenido en frío durante una noche, no dejó precipitado alguno.

Con esto queda demostrado que en la molécula de yulocrotina no existen grupos  $-\text{CO}-\text{CH}_2$  o  $-\text{CO}-\text{CH.R}-$  de cadena abierta o ciclánicas, como los del núcleo indeno y ciclopentadieno, asimismo los hidropirroles, etc capaces de engendrar en las condiciones de la experiencia antes dicha derivados isonitrosados o sus correspondientes oximas(1)

Todas las reacciones efectuadas con esta objeto han sido negativas. La acción negativa de la hidroxilamina y otros reactivos de grupos  $-\text{CO}-$  (aldehidos y cetónicos) como se detalla a continuación vienen también en apoyo de que no existen en esta molécula tales grupos atómicos.

Acción de la hidroxilamina.-Hemos tratado de hacer reaccionar directamente la yulocrotina con la hidroxilamina sin obtener el fin buscado, aún variando las condiciones de experiencia. Se procedió del siguiente modo:

En baño maría hirviendo se calentó una mezcla de yulocrotina(1gr)

-----

(1) Podríamos haber seguido el procedimiento indicado por Oppenheimer (Ber. 1909 pag.1084-1101 t.42) con el nitrito de etilo, pero con los resultados negativos obtenidos es suficiente haber procedido así. La presencia de una agrupación  $-\text{CO}-\text{CH}_2-$  quedaría del mismo modo corroborada por el hecho de que no acusa dicho alcaloide al tratarlo directamente por el nitroprusiato en medio alcalino la sensible reacción de Legal, Bela von Vito. A no ser que se supusiese que el grupo  $-\text{CO}-\text{CH}_2-$  estuviera en forma estable  $-\text{CH}-\text{C}$  (enólica) pero esto es improbable por la razón de que la acción(OH)nula del permanganato de potasio a la temperatura ordinaria y por la propiedad de no engendrar derivados acetilados o benzoylados.

con la hidroxilamina(1gr.) (obtenida con la cantidad calculada de carbonato de potasio y clorhidrato de hidroxilamina) en solución acuosa concentrada. Se añadió a dicha mezcla un poco de alcohol con el fin de conseguir una mezcla homogénea. Se calentó luego a reflujo durante seis horas, se eliminó después el alcohol y se destiló a presión reducida a 30°. El residuo fué agotado por éter que lo disolvió en su totalidad.

Otro ensayo fué hecho siguiendo la técnica de Mulliken:

Se preparan dos soluciones:

- a) Gramos 7.25 de clorhidrato de hidroxilamina, disuelta en 9c.c. de agua y 35 c.c. de alcohol de 96°.
- b) Gramos 10 de soda caustica se disuelven en 20c.c. de agua caliente y se completa con alcohol de 96° hasta 140c.c.

En un tubo de ensayo se colocaron 0.5gr de alcaloide, 5c.c. de solución de hidroxilamina y 20c.c. de solución de soda. Se calentó en baño maría cinco minutos, se enfrió y agregó agua. No se obtuvo precipitado.

Acción de la fenilhidracina. - Como medida de ensayo se calentó largo tiempo la yulocrotina con acetato de fenilhidracina en baño maría sin obtener cambio alguno visible. No obstante hemos seguido la técnica indicada por Mulliken:

Se disolvieron 0.10gr de fenilhidracina (puesta primero en suspensión en dos veces su peso de agua) con la cantidad necesaria de ácido acético. A continuación se agregaron 0.34gr. de yulocrotina. No se nota cambio alguno. Después de 24 horas de reposo la solución permanece límpida sin formación de precipitado alguno.

Acción de la semicarbácida. - A pesar del resultado negativo obtenido en los ensayos anteriores con la hidroxilamina y fenilhidrazina respectivamente y en la sospecha que el alcaloide posea una función lactónica por la manera singular de comportarse con los álcalis, creímos conveniente ensayar la semicarbácida que se disolvió antes en una solución de acetato de sodio, agregando a continuación la cantidad suficiente de alcohol para obtener una solución homogénea.

Después de dejar aposar 24 horas no se obtuvo precipitado alguno, con lo cual se verifica que en la molécula del alcaloide estudiado no existen agrupaciones -CO- que pudieran corresponder a funciones aldehidas o cetonas o -CH<sub>2</sub>-CO- y también a una función lactónica.

S E G U N D A P A R T E

Derivados de la yulocrotina.-Productos de hidrólisis

La sensibilidad de esta sustancia frente a los álcalis nos proporciona un excelente método para su estudio. La hidrólisis que experimentan sus sales en medio alcalino nos conduce a compuestos mas simples, facilitando su investigación desde que desdobra la molécula en dos sustancias nitrogenadas.

El compuesto de composición mas próximo al alcaloide es el ácido yulocrotónico, que se obtiene tratando la solución alcalina acuosa del alcaloide con ácidos minerales. Si se emplean soluciones alcalinas concentradas se observa la separación de una capa aceitosa, soluble en agua y muy poco soluble en la mayoría de los disolventes orgánicos, consistente en la sal alcalina del ácido citado. Decantada y tratada por ácidos minerales se obtiene el ácido libre.

Acido yulocrotónico.

Con el objeto de preparar el ácido puro se disolvió una cantidad conocida del alcaloide en la cantidad calculada de soda acuosa. Después de dos o tres horas se obtiene una solución clara que se trata por la cantidad de ácido correspondiente al álcali. De este modo y lentamente se transforma toda la masa en una jalea opalescente que se precipita por agitación; se filtra, lava con agua destilada y seca. Para purificarlo se disuelve en eter etílico y se agrega un exceso de eter de petróleo que lo separa en forma de agujas finas.

Propiedades.- El ácido yulocrotónico es poco soluble en agua, eter y eter de petróleo; soluble en alcohol, cloroformo. Los carbonatos lo disuelven totalmente. Su solución acuosa enrojece la tintura de tornasol. Las sales de bario y calcio no dan precipitado con  $\text{CO}_2$ . Funde a  $128^\circ$ .-

Al estado de sal de bario precipita con los siguientes reactivos:

Cloruro de hierro.....	precipitado	café claro amorfo
Acetato de cobre.....	" "	celestino amorfo.
Nitrato de plata.....	" "	blanco amorfo.

Los cloruros de oro y platino no precipitan al ácido libre en solución acuosa, alcohólica o hidroalcohólica.

La solución sulfúrica 1/5 del ácido precipita con los reactivos yodurados.

En lo que se refiere a funciones, hemos dado los resultados de algunas de ellas cuando tratamos la solución alcalina del alcaloide con cloruro de benzoilo, anhídrido acético y sulfocloruro de benceno.

El ácido yulocrotónico calentado en baño maría con anhídrido acético adquiere lentamente color amarillo; el producto de la reacción tratado con agua deposita una sustancia resinosa que no ha sido estudiada por las dificultades que presenta su purificación.

La sal de bario destilada en seco produce un líquido amarillo que  $\times$  con nitroprusiato de sodio y unas gotas de hidrato de sodio da una coloración roja que el ácido acético transforma en verde esmeralda.

La función del nitrógeno en esta parte de la molécula no parece modificarse, desde que el producto no se altera con ácido nitroso ni reacciona como base primaria o secundaria.

Calentado con cloroformo o potasa se comporta como el alcaloide. La solución en alcohol absoluto calentada con ácido clorhídrico y tratada luego con agua, abandona gran parte del ácido inalterado.

La sal sódica en solución alcohólica calentada con yoduro de metilo en vaso de presión durante dos horas, abandona por evaporación del disolvente una resina roja que se puede fraccionar con eter etílico y eter de petróleo en un producto cristalino incoloro y una resina oscura.

#### Análisis elemental

El producto secado durante dos horas a 105-110° no acusó variación de peso. Para su análisis se procedió en la misma forma que con el alcaloide: Análisis N°1

Sustancia.....gr.	0.1408		
CO <sub>2</sub> ....."	0.3385	C %.....	65.56
H <sub>2</sub> O....."	0.1040	H %.....	8.24

#### Análisis N°2

Sustancia.....gr.	0.1544		
CO <sub>2</sub> ....."	0.3690	C %.....	65.17
H <sub>2</sub> O....."	0.1120	H %.....	8.05

La determinación del nitrógeno se efectuó según el método de Dumas:

Sustancia.....gr.	0.1134		
Nitrógeno.....c.c.	7,6		
Temperatura.....	19°		
Presión.....mm	764		
Calculado.....	Nitrógeno 7,7%		

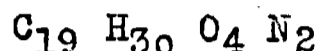
En resumen:

	1	11	
C%	65.56	65.17	
H%	8.20	8.05	
N%			7,7

lo que da los valores medios:

C%	65.34
H%	8.12
N%	7,70

que conducen a la fórmula:



a la que corresponden los valores:

C%	65.10
H%	8.50
N%	8.00

#### Hidrólisis barítica del alcaloide

Acido crotínico y base volátil.-Los álcalis en solución acuosa a la ebullición, desdoblan a la yulocrotina y al ácido yulocrotónico en una base volátil y ácido crotínico nitrogenado.

La operación se efectúa en un aparato destilatorio empleando solución acuosa de hidrato de bario y tratando en lo posible de mantener constante la concentración del álcali para evitar su acción sobre el ácido formado. Se disuelven cinco gramos de sustancia en 500c.c. de solución de hidrato de bario al 5 por mil y el líquido se destila hasta que el destilado no reaccione mas sobre la fenolftaleína. El líquido destilado contiene la base volátil mientras que en la solución de bario se halla disuelta la sal del ácido.

La sal de bario del ácido crotínico precipita con nitrato de plata en forma blanca amorfa y con cloruro de hierro da precipitado café claro amorfo.-El ácido libre es higroscópico y tiene olor aromático.

Base volátil.- El líquido destilado se neutraliza con HCl y concentra en baño maría hasta pequeño volumen; por enfriamiento se forman grandes cristales incoloros; por el aspecto de los cristales parece estar constituido en su casi totalidad por una sola sustancia, pero es necesario purificarla de otros productos que pudieran formarse por reacciones secundarias.-Con este objeto se separa la base libre con soda o potasa caustica



en solución concentrada y disuelve en gran cantidad de eter. Se agregan sobre este unas gotas de solución concentrada de ácido metafosfórico, agita fuertemente y el precipitado se filtra, lava con eter y destila en presencia de soda o potasa. El líquido destilado se recoge sobre solución de ácido clorhídrico diluido.

La base libre tiene olor penetrante característico, parecido al de la bencilamina; se carbonata lentamente transformándose en un producto cristalino. Tratada con cloroformo y potasa da la reacción de las bases primarias produciendo el mismo producto amargo que obtuvimos al tratar el alcaloide por los mismos reactivos. La solución acuosa da coloración rojo violeta con nitroprusiato y acetona (Simón), precipita con los reactivos de Nessler y Bouchardat.

Es un producto fácilmente oxidable con permanganato en medio alcalino o con mezcla crómica; calentando ligeramente el producto de oxidación desarrolla olor a aldehida benzoica.

El ácido metafosfórico produce con esta base un abundante precipitado cristalino, insoluble en eter.

La solución acuosa de la base, agitada con sulfocloruro de benceno, en presencia de potasa caustica produce una sulfamida soluble en los álcalis, insoluble en ácido clorhídrico. -Funde a 62°.

La solución alcohólica de ácido oxálico produce un oxalato que purificado del alcohol etílico funde a 218-219°.-

Mezclando directamente la base libre y oxalato de etilo se produce una reacción enérgica, con desarrollo de calor, transformándose toda la base en un producto blanco que funde a 175°.

Evaporando una mezcla de sulfuro de carbono y solución alcohólica de la base se obtiene un compuesto que funde a 125°; hervido este compuesto con solución alcohólica de bicloruro de mercurio se origina una sustancia cuyo olor recuerda a la esencia de berro. Debemos recordar que esta esencia se compone en gran parte del senevol de la feniletilamina.

Entre las sales poco solubles merecen citarse el cloroplatinato y el picrato. El cloroaurato cristaliza en hermosas agujas largas y finas en soluciones muy concentradas.

Para obtener el cloroplatinato cristalizado se precipita la solución acuosa diluida ácida en caliente con cloruro de platino, formándose instantaneamente pequeños cristales. El cloroplatinato no acusa variación de peso cuando se le seca a 105°-110° y funde con descomposición a 224°.

Cuando se trata la solución acuosa de la base con ácido pícrico se forma un líquido opalescente del que precipita luego el picrato en forma de agujas finas. Funde a 163°-165°.

No es diazotable por acción del ácido nitroso en frío; tampoco produce coloración con bióxido de plomo en medio acético. Estas dos reacciones nos revelan que la base estudiada no posee el grupo amino ligado al núcleo.

Si bien es cierto que algunos de los derivados obtenidos pueden considerarse como compuestos puros, creemos que la base es impura. En efecto, al determinar el punto de ebullición, puede notarse que desde los 90° se desprenden en forma continua burbujas del tubo capilar. El análisis del clorhidrato y del cloroplatinato difieren en forma que conducen a porcentajes que varían ligeramente. Por estas razones solo damos los datos del cloroplatinato. La investigación del compuesto puede facilitarse estudiando el producto de oxidación permangánica; se obtiene una sustancia cristalizada que funde a 115°, precipita con cloruro de hierro como los benzoatos y se sublima fácilmente. El ácido sulfúrico la disuelve produciendo color rojo cereza.

#### Análisis elemental del cloroplatinato

El cloroplatinato se seca a 105-110°. -Sobre una parte hemos determinado la cantidad de platino con los siguientes resultados:

##### Análisis N°1

Cloroplatinato.....	gr.	0.188
Platino.....	"	0.0548
Platino %.....	"	29.44
Peso molecular.....		130

##### Análisis N°2

Cloroplatinato.....	gr.	0.1263
Platino.....	"	0.0369
Platino %.....		29.22
Peso molecular.....		129.5

Para la combustión, agregamos a la parte terminal del tubo una espiral

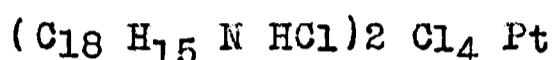
de plata de 10cent.

Cloroplatinato.....gr.	0.2250	
CO <sub>2</sub> ....."	0.2422	C% 29.35
H <sub>2</sub> O....."	0.0886	H% 4.37

El nitrógeno, determinado por el método de Dumas dió el siguiente resultado:

Sustancia.....gr.	0.2052
Nitrógeno.....c.c.	7,4
Presión.....mm	762
Temperatura.....	19°
Nitrógeno.....	4.18%

Estos porcentajes conducen a la fórmula:



a la que corresponden los siguientes va-

lores:

Calculado	Hallado
C%.....29.06	C%.....29.35
H%..... 4.84	H%..... 4.37
N%..... 4.26	N%..... 4.18
Pt%.....29.58	Pt%.....29.48
P.M. de la base...125	P.M.de la base....130

Acido proveniente de la hidrólisis

El líquido remanente en el matraz de destilación contiene en solución la sal de bario de un ácido orgánico nitrogenado y un exceso de hidrato de bario. Para la separación de este ácido se trata la solución con una corriente de CO<sub>2</sub> que precipita el hidrato de bario en exceso sin descomponer la sal; de esta manera se obtiene una solución acuosa de la citada sal cuyas reacciones son parecidas a las del ácido yulocrotónico:

Cloruro de hierro.....	precipitado café claro
Nitrato de plata.....	" " blanco caseoso
Acetato de cobre.....	" " celeste amorfo

El ácido libre puede obtenerse tratando la solución acuosa de la sal de bario por la cantidad correspondiente de ácido sulfúrico y evaporando al vacío; se forma una sustancia resinosa que se transforma lentamente en un producto cristalino de color amarillo oscuro; su punto de fusión no es constante. Es muy soluble en agua; descompone los carbonatos y da reee acción fuertemente ácida con el tornasol.

Análisis elemental

Dada la dificultad que presenta el análisis del ácido hemos efectuado las operaciones con la sal de bario previa desecación a 105°. La sal de

bario es una sustancia amarilla, higroscópica; se quemó en presencia de plomo para destruir el carbonato de bario.

Sustancia.....	gr.	0.2042		
CO <sub>2</sub> .....	"	0.2454	C%	32.77
H <sub>2</sub> O.....	"	0.0868	H%	4.72

El nitrógeno se determinó por el método de Dumas, empleando como en el análisis anterior la sal de bario.

Sustancia.....	grs.	0.2020		
Nitrógeno.....	c.c.	7.2		
Presión.....	mm	766		
Temperatura.....		18°		
Nitrógeno hallado.....				4.16%

Para determinar el porcentaje de bario se transformó la sal en sulfato de bario:

Análisis N° 1

Sustancia.....	gr.	0.3026		
Bario.....	"	0.1099		
			Bario hallado	36.31 %

Análisis N° 2

Sustancia.....	gr.	0.2010		
Bario.....	"	0.0723		
			Bario hallado	35.97 %

Porcentaje medio de bario.....36.14%

Los valores hallados:

C%	32.77
H%	4.72
N%	4.16
Ba%	36.14

conducen a la fórmula C<sub>10</sub> H<sub>18</sub> O<sub>5</sub> NBa cuyos

elementos dan los siguientes porcentajes:

C%	32.52
H%	4.87
N%	3.79
Ba%	37.22

## CONCLUSIONES

De los datos que anteceden se deducen las siguientes conclusiones:

- 1°.-La raíz de *Julocroton Montevidensis* contiene una sustancia nitrogenada, debilmente básica que precipita con la mayoría de los reactivos de alcaloides.
- 2°.-Esta sustancia ha sido extraída por un método especial y purificada. Se mencionan sus caracteres físicos y químicos generales, su composición centesimal, peso molecular y se establece su fórmula molecular.
- 3°.-El análisis funcional cualitativo realizado demuestra la existencia de una función lactona.
- 4°.-Los ácidos transforman al alcaloide en la sal de un ácido (yulocrotonico) que por hidrólisis alcalina se desdobla en
  - a) un ácido nitrogenado (crotonico)
  - b) una base volatil con función amina grasa, primaria; probablemente se trate de feniletilamina.

*[Handwritten signature]*

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA	ENTRADA
FACULTAD DE CIENCIAS Y FARMACIA	No 247. A. FECHA Octubre 14/1933-

*Octubre 31/1933.-*

*Por el anterior ejemplar de la tesis presentada por el recurrente (Exp. N: 121 Letra A/927), vuelva a la misma Comisión designada en aquella oportunidad y que citaba constancia por lo*

*[Handwritten flourish]*



Señores Profesores, Sr. Enrique de Zappi, Luis  
Lungialuelli, Alfredo S. Chioldin y Augusto  
Scala, bajo la presidencia del Sr. Profesor  
A. Angel Bianchi Bischetti, designándose  
en reemplazo del Sr. Augusto Scala que falle-  
ció, al Sr. Prof. Néstor de Botánica, A.  
Leopoldo Vattone, a la epíto establecida  
en el inc c) del art 67 del Reglamento en  
vigencia. —

  
DECANO

~~SECRET~~  
Año 19/34 —

En vista de haberse acordado, al Sr. Profesor  
Sr. Alfredo S. Chioldin, licencia por el término de  
cuatro meses que vencerá el 1.º de Agosto próximo,  
y debiendo expedirse a la brevedad la Comisión  
designada para estudiar y aprobar o no el presente  
trabajo de tesis cuyo plazo ha vencido con exceso, con-  
tribuir al Sr. Prof. A. Néstor de Botánica en su reemplazo. —

Comuníquese a quienes correspondan y envíese  
el presente despacho del presente trabajo a la Comisión  
de referencia. —

  
DECANO

Noviembre 29 de 1934

Los miembros de la comisión designa-  
da para dictaminar sobre el trabajo pre-  
sentado por el ex-alumno Señor Camilo,

Anastasi, han realizado el estudio de dicho trabajo y opinan que, habiendo el autor introducido las modificaciones que le fueron impuestas con fecha 25 de Abril de 1938, puede ser aprobado como Tesis.

Enrique V. Lappi

Juan Eugenio Novelli

Ed. C. Battione

Hércules Corti

Diciembre 7 / 1935. —

De acuerdo con lo dispuesto en el Reglamento en vigencia, designar a los Señores Profesores Drs. Enrique V. Lappi, Hércules Corti, Edelberto Battione y Juan Eugenio Novelli; para que bajo la Presidencia del Señor Consejo Sr. Angel Bianchi Lic. elletti, constituyan la Comisión que deberá recibir el examen del presente trabajo de tesis, el día martes 7 del corriente a las 9. —

Pomuniguere, etc. —

J. Novelli

H. Corti

La Plata. Abril 25 de 1936. —

En vista de no haberse rendido hasta la fecha el examen de la presente tesis, dirijase nota al señor Presidente de la Comisión Examinadora, encareciéndole quiera activar los trámites correspondientes con el objeto de dejar resuelto este asunto a la brevedad.



