

Alcaloides de núcleo indólico: Algunos experimentos para la determinación de las estructuras de Akuammína y Akuammidina^(*)

Por el DR. GINES GUZMAN^(**)

Muy interesantes avances se han logrado durante los últimos años en el conocimiento de alcaloides que poseen en su estructura el núcleo del indol, más o menos modificado. El estudio estructural clásico, basado en experimentos de degradación y síntesis parciales (1) se ve facilitado por la continua ayuda de los métodos físicos y químicos de control (análisis espectral en el ultravioleta e infrarrojo, estudio polarográfico, microanálisis cuantitativo, análisis cromatográfico, análisis ionoforético, etc.) (2). El resultado de estudios farmacológicos justifica el interés de muchos alcaloides del grupo indol. La biogénesis de los alcaloides indólicos ha encontrado una adecuada interpretación (3). Pero los estudios en este campo empiezan a culminar en la síntesis completa de alcaloides de estructura tan compleja como la estriçnina (4).

Muchos alcaloides son conocidos como derivados del indol, desde bastante tiempo, pero estructuras seguras o casi seguras sólo se han dado últimamente, aun para alcaloides tan conocidos como yohimbina, estri-

(*) Trabajo experimental realizado en *The Dyson Perrins Laboratory*, Universidad de Oxford. Un resumen del mismo fué presentado en la VII Reunión Bienal de la Real Sociedad Española de Física y Química, Valencia, 2-7 noviembre 1955.

(**) Colaborador Científico del C. S. I. C.

(1) K. N. MENON y R. ROBINSON, *J. Chem. Soc.*, 773 (1931); P. HILL, y R. ROBINSON, *J. Chem. Soc.*, 486 (1933), etc., etc.

(2) RAYMOND-HAMET, *Compt. rend.*, 220, 1183 (1950); P. ZUMAN, C. A., 48, 5672 h; GUIDO TAPPY, *Ann. Chim. (Roma)*, 40, 345 (1950), etc., etc.

(3) R. B. WOODWARD, *Nature*, 162, 155 (1948).

(4) R. B. WOODWARD, *J. Amer. Chem. Soc.*, 76, 4749 (1954); A. SOLER, Información sobre «la síntesis total de la estriçnina», *Anales de la Universidad de Murcia*, 15, (C), 307, (1956-57).



nina, brucina, tebaína, ... Continuamente nuevos alcaloides van incorporándose al vasto grupo del indol: ajmalina, serpentina, corinanteína, sempervirina, etc.

Tomando como modelos las estructuras de yohimbina y estricnina, es frecuente hablar de alcaloides tipo yohimbina o estricnina, si bien es mucho más correcto denominarles, respectivamente alcaloides tipo α o β , puesto que la diferencia se debe a que en la biogénesis se han originado por copulación α o β de la triptamina con el segundo aminoácido componente.

Un interesante grupo de alcaloides con núcleo indólico es el de los alcaloides de la «akuamma», nombre asignado por confusión a las semillas de *Picalima nitida*, STAPF (el nombre *akuamma* corresponde realmente a los frutos de *Pentaclethra macrophylla*) (5). Después de los estudios iniciales de HENRY y SHARP, en 1927 (6), y del aislamiento de varios alcaloides por HENRY, en 1932 (7), a los que llamó: *Akuammína*, *akuammidina*, *akuammigina*, *pseudoakuammidina*, *akuammicina*, *pseudoakuammicina*, *akuammínina* y *akuammilina* y después de haber dado cuenta de la formación de algunos derivados y de algunas reacciones de color, no se prosiguió el estudio al no confirmarse las propiedades terapéuticas que se esperaban de los mismos (los nativos del Africa Occidental utilizan estas semillas por su actividad antipirética y antipalúdica así como para otros usos no menos interesantes: Venenos para flechas, para peces, etc.). Posteriormente RAYMOND-HAMET (8) ha estudiado estos alcaloides desde el punto de vista farmacológico y, parcialmente, en el terreno estructural, recabando para los mismos otras propiedades de interés; así, por ejemplo, la *akuammína* es anestésico local y simpáticomimético y la *akuammidina* es una de las sustancias simpatolíticas más potentes entre las conocidas, por lo tanto de acción inversa a la *akuammína*.

En los últimos años, ha entrado en el estudio de los alcaloides de la *Picalima nitida* la escuela de ROBINSON, con ánimo de hacer un estudio exhaustivo de los mismos. Varias publicaciones hay ya de dicho origen (9), y el presente trabajo, que se inició bajo su tutela es una modesta contribución en este campo. Estudios sobre los alcaloides solubles en éter de petróleo han sido realizados por A. F. THOMAS (10) y, parcialmente, hemos colaborado en ellos. Nuestro objeto era estudiar los alca-

(5) DALZIEL, *The Useful Plants of West Tropical Africa*, Ed. H. M. S. O., London, 1937, pág. 220.

(6) T. A. HENRY y SHARP, *J. Chem. Soc.*, 1950 (1927).

(7) T. A. HENRY, *J. Chem. Soc.*, 2759 (1932).

(8) RAYMOND-HAMET, *Rev. Int. Bot. appl. Agric. trop.*, 31, 465 (1951).

(9) R. ROBINSON y A. F. THOMAS, *J. Chem. Soc.*, 3479 (1954); 3522 (1954); M. F. MILLSON, R. ROBINSON y A. F. THOMAS, *Experientia*, 89 (1953).

(10) A. F. THOMAS, tesis (Ph. D.) (no publicado).

loides arrastrados en el extracto alcohólico, y que no lo eran en éter de petróleo especialmente akuammina y akuammidina, los más importantes por su proporción y propiedades; asimismo se llevó a cabo el estudio de algunos puntos generales.

Era de interés común la búsqueda de nuevos métodos de extracción y de fraccionamiento. Con el primer objeto se ensayaron: acético de distintas concentraciones, disoluciones clorhídricas diluídas, disolución metanólica de hidróxido potásico, con diversos inconvenientes. Una mejora del rendimiento en akuammina se conseguía haciendo la extracción según HENRY y SHARP (loc. cit.), pero en atmósfera de nitrógeno, y haciendo pasar corriente de dicho gas a través del capilar, durante la concentración de los extractos a presión reducida.

El fraccionamiento se hizo aprovechando diferencias de solubilidades, en la que respecta a akuammina y akuammidina, y por la liberación progresiva de los alcaloides, a partir de los respectivos clorhidratos, en lo que se refiere a los alcaloides que se encuentran en menor proporción. Por último, algunas parejas permanecían difícilmente separables aun por uso de columnas cromatográficas de alúmina.

Tanto para disponer de un método de control, en las operaciones de aislamiento y fraccionamiento, como para ver las posibilidades en las separaciones difíciles, se estudiaron las técnicas cromatográficas de partición en papel y columnas de celulosa, con variedad de disolventes neutros y ácidos, sobre soportes salados, tamponados o sin tratar. Se seleccionó como disolvente la mezcla propanol: agua (3:1) sobre papeles tamponados con fosfato ácido de potasio M/2, así como sobre papeles normales, usando para el revelado el reactivo de MUNIER-MACHEBOEUF (11), que es una modificación del clásico de DRAGENDORFF. Para la prueba cualitativa de la presencia de alcaloides hemos usado siempre el ensayo sobre tiritas de papel Whatman N.º 1, para el que basta una gota puesta con un capilar e inmersión de la tira en el reactivo. También resulta interesante el tener previamente impregnados los papeles en el reactivo y secos, con lo que se convierten en papeles «indicadores de alcaloides». La sensibilidad de la reacción exaltada por fenómenos de absorción sobre el papel, es incomparablemente más grande que la de MEYER, aparte de la comodidad, ahorro de material y de sustancia, ya que la pérdida en pruebas, sólo es del orden de las gammas.

En la parte experimental se describen los resultados obtenidos con los diversos disolventes, detallando los R_f cuando éstos son de interés. La cromatografía de alcaloides, en general, no es un caso simple, y menos aún al tratarse de un grupo de alcaloides tan afines. Los R_f suelen ser

(11) R. MUNIER, *Bull. Chim. Biol.*, 10, 1225 (1953).

muy próximos a 1,00 y entre sí, lo que dificulta la separación incluso con desarrollos prolongados. La lentificación de las velocidades de desplazamiento y consecuente disminución de los R_f suele producir una mejora en la relación entre centros de manchas, pero una marcada elongación puede hacer inservibles los cromatogramas. Las causas de las elongaciones son: emigración independiente de iones y moléculas no disociadas (para alcaloides con constantes de disociación entre 10^{-3} y 10^{-9}) o fenómenos de saturación de fase en los intentos de lentificación. Utilizando papeles tamponados se mejoran los R_f y las manchas pudieron hacerse más nítidas. La dificultad mayor de separación es la de *akuammigina* y *akuammidina* que en todas las condiciones muestran R_f prácticamente análogos, si bien ello no llama la atención por la marcada semejanza entre ambos alcaloides. La gran diferencia de R_f entre *akuammidina* y *yohimbina* contrasta con la escasa diferencia que se suponía en sus estructuras (antes se suponía que la *akuammidina* era una *didehidroyohimbina*, pero en la que se conservaba el -OH en el carbono 17 y por el contrario está más a favor de la estructura que ahora proponemos, para la *akuammidina*. El intervalo más grande está entre *akuammidina* (el más lento) y *akuammidina* (el más rápido). *Akuammidina* y *pseudo-akuammigina*, los únicos dos alcaloides de la serie β , que se aislan de la *Picralima*, se distinguen suficientemente en los cromatogramas. Los derivados presentaban las modificaciones de comportamiento previsibles. El producto fundamental de oxidación de la *akuammidina* tenía en casi todos los disolventes un R_f próximo a la mitad del propio de la *akuammidina*, pero usando P 3/1 sobre papel con fosfato monopotásico, era posible distinguir hasta tres manchas perfectas de $R_f = 0,29$; $0,48$ y $0,66$ (correspondiendo este último a *akuammidina*) aun en muestras del alcaloide que ante los criterios clásicos eran puras; la intensidad de las manchas parásitas (correspondientes a productos de oxidación) crecía al estar preparada la disolución alcohólica de *akuammidina* largo tiempo. Un disolvente básico, butanol-lutidina-agua (10:3:3), sobre papel normal se mostró especialmente útil para comprobar la pureza de los derivados de alcaloides obtenidos por iodometilación y acetilación, ya que en este disolvente existe una gran diferencia entre los derivados y sus bases, en cambio es menos útil para separar alcaloides entre sí.

De la ligera descripción que hemos hecho se deduce que, si bien la dificultad no ha sido obviada de manera absoluta, sí se han logrado algunas conquistas, especialmente en lo que respecta a disponer del método cromatográfico para el control de alcaloides y derivados individuales, a lo largo de los procesos de aislamiento, degradación y síntesis.

Aunque los experimentos cromatográficos han sido descritos en primer lugar, su realización lo ha sido simultáneamente con los de conse-

cución de materia prima para el trabajo y con los experimentos estructurales propiamente dichos. Pese a la dificultad del aislamiento, incrementada por no disponer de suficiente suministro de semillas, pudieron reunirse unos gramos de akuamina y de akuamidina, y pequeñísimas cantidades de los restantes alcaloides de la fracción soluble en el alcohol. Se dispuso de pequeñas muestras de los alcaloides separados por el éter de petróleo, en la extracción previa, disponiéndose de una cantidad ligeramente superior, de pseudo-akuammigina.

Experimentos sobre akuamina

En primer lugar, sobre akuamina se revisaron una serie de datos que ya habían sido publicado por HENRY y SHARP (loc. cit.) y por MILLSON, ROBINSON y THOMAS (12). Nuevos análisis se pronuncian por la fórmula empírica $C_{22}H_{26}O_4N_2$, en vez de las $C_{22}H_{23}O_4N_2$ de HENRY y SHARP.

Se confirma la presencia de un $-OCH_3$, que está en forma de éster, como ha podido demostrarse al transformarlo en alcohol primario y comparar los espectros en el infrarrojo de *akuamina* y *akuaminol*, descartando así, de nuevo, una primera opinión de MILLSON (13) que suponía un grupo metoxilo directamente ligado a un núcleo aromático. La presencia del carboxilo esterificado descarta otra primera idea de que el mismo estaba en forma de lactona fácilmente hidrolizable, y hace perfectamente explicable la naturaleza de base fuerte mostrada por la akuamina en la valoración potenciométrica.

La presencia de un grupo fenólico y de un $N-CH_3$ son ya indudables, y ambos deben estar entre sí en posición *para*, sobre un núcleo aromático, constituyendo el agrupamiento del *N*-metil-*p*-amino-fenol (independientemente de que el conjunto esté adosado al núcleo hidroindólico), responsable de muchas de las reacciones mostradas por la akuamina, entre las que puede citarse, por ejemplo, la reacción con la 2-4 dicloroquinon-cloroimida en acético caliente para producir un colorante rojo violáceo, que pasa a azul al alcalinizar (reacción típica del «metol») e incluso es responsable, dicho agrupamiento, de la oxidación que sufre la akuamina en disolución alcohólica en contacto con el aire, o del enrojamiento de las disoluciones acuosas de sus sales. La akuamina, que es insoluble en agua (y muy poco en todos los disolventes orgánicos, salvo un poco en etanol caliente) se disuelve inmediatamente en potasa metanólica a causa de su naturaleza fenólica, pudiendo recuperarse la base

(12) M. F. MILLSON, R. ROBINSON y A. F. THOMAS, *Experientia*, 89 (1953).

(13) M. F. MILLSON, tesis (Ph. D.) (no publicado).

inalterable (p. f. 255° C, sola y en mezcla con akuammína antes del tratamiento, idéntico espectro I. R., idéntico R_f en todos los disolventes).

También a causa de su estructura fenólica, la akuammína se copula con las sales de diazonio dando sustancias coloreadas, por adición en *orto*, ya que la posición *para* está ocupada. Se prepararon así los productos de copulación con *p*-nitroanilina, α -naftilamina y *p*-anisidina diazotadas, solubles en álcali metanólico, dando disoluciones más coloreadas.

Según BURAWOY (14), muchos *o*-hidroxiazoderivados responden, a una estructura de hidrazona derivada de quinona, bien diferenciable de una estructura de azoico verdadero por simples medidas espectroscópicas. Aceptando este criterio, estimamos que si el grupo $-\text{OCH}_3$ estuviese sobre el núcleo bencénico, tal como se suponía por MILLSON, el producto de copulación sería un azoico verdadero, confirmable por medidas espectroscópicas. En realidad, no existe un verdadero límite entre cuándo se presentará una u otra estructura, pues incluso algunas quinonhidrazonas bien caracterizadas reaccionan en ocasiones como compuestos azoicos.

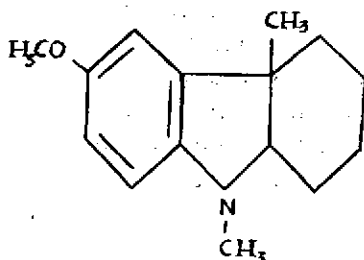
Igualmente, en el caso de los *para*-hidroxiazoderivados, como ha podido demostrar R. KUHN (15), existen mezclas tautómeras, en las que la posición del equilibrio depende grandemente del disolvente. La intensificación del color observada en nuestro caso al agregar álcali (potasa) en metanol, debe interpretarse como un desplazamiento del equilibrio tautómero hacia la forma *azo*. Los colorantes producidos en las diversas copulaciones realizadas veían sus colores muy intensificados por desarrollo cromatográfico sobre papel, moviéndose a una velocidad próxima a la del producto normal de oxidación de la akuammína, y dando manchas bien claras y redondeadas.

Una reacción muy típica de la akuammína es el color rojo anaranjado que se produce con cloruro férrico, en disolución clorhídrica diluída y fría. Por acetilación, la akuammína deja de dar esta reacción. Como pudieron demostrar MILLSON, ROBINSON y THOMAS (loc. cit.), una sustancia modelo preparada por ellos (I) que contenía un grupo $-\text{OCH}_3$ en el núcleo bencénico de un carbazol modificado en dos metilos, daba las reacciones típicas de la akuammína, si bien la del cloruro férrico era algo más lenta que con el alcaloide, lo que es fácil de comprender ahora que se sabe que la akuammína tiene el grupo fenol sin eterificar. En el caso de la sustancia modelo de MILLSON, el retraso en la reacción depende de la velocidad de hidrólisis del metoxilo.

En el presente trabajo se ha preparado el éter metílico de la akuammína, que corresponde más fielmente a la sustancia modelo (I) antes referida. Este derivado tenía mucha más inercia para la reacción con el

(14) W. S. SCHLEN, *Tratado de Química Orgánica*, Ed. Morata, 1943, pág. 227.

(15) W. SCHLENK, *op. cit.*, pág. 228.



(I)

cloruro férrico que la base sin metilar, necesitándose varias horas para que se iniciara un tenue enrojecimiento. Aunque el compuesto era soluble en disolventes anhidros, como etanol y acetona, se necesitaban grandes volúmenes de disolventes y resultaba difícil lograr cristales totalmente desprovistos de material inorgánico. Dicho éter metílico de la akuamina daba disoluciones amarillas que no se enrojecían aun después de mucho tiempo en contacto con el aire. Resultó ineficaz la extracción continua con éter y con otros disolventes inmiscibles con el agua. Los cristales logrados, que fundían a 196-198° C eran muy higroscópicos. El comportamiento cromatográfico era muy parecido al de la akuamina, pero suficiente para comprobar su diferencia. Desgraciadamente por la marcada higroscopicidad, resultaba imposible demostrar la ausencia del OH libre, con el sólo uso del infrarrojo, y un microanálisis era irrealizable por la dificultad surgida en la preparación del compuesto al estado de pureza.

En la sustancia modelo (I), que hemos citado, el metoxilo está en la única posición que se mostró activa en la imitación de la akuamina; en efecto, en cualquier otra posición del núcleo bencénico, el compuesto no daría las reacciones del agrupamiento de la akuamina ya que en realidad es el OH potencial de la sustancia (I) resultante en la fácil eliminación del $-CH_3$ por procesos de oxidación, el verdadero responsable de tal comportamiento al estar situado en *para* al nitrógeno y permitir la formación de una estructura quinónica.

La naturaleza de dihidroindol fué ya advertida por RAYMOND-HAMMET (16) y ahora nuevamente comprobada en el ultravioleta, cuyo espectro se da más adelante (véase fig. 13 al final de parte experimental).

En el infrarrojo presenta bandas (ver espectro) en las longitudes de onda: 3,07 μ (OH o NH) 5,76 μ (éster o lactona no conjugada con doble.

(16) RAYMOND-HAMMET, *Compt. rend.*, 230, 1183 (1950).

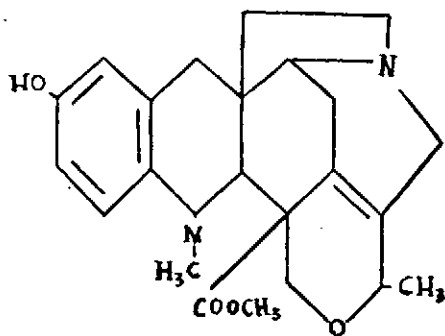
enlace) $6,25\mu$ (doble enlace aromático) y $12,33\mu$ (típico de la akuammina y que corresponde a benceno trisustituído en 1-2-4). Faltan las bandas en $13,3\mu$ (que aparecerían si contuviese algún núcleo bisustituído en 1-2) y en $12,8\mu$ (benceno 1-2-3 trisustituído).

Por deducciones del análisis cuantitativo se admite la presencia de un doble enlace, e incluso en un trabajo anterior, se da cuenta de la probable obtención de un dihidroderivado de la akuammina, aunque con algunos reparos. Nosotros hemos sido incapaces de reproducir aquella eficiente hidrogenación que nos llevara a tal derivado, pese a haber realizado el intento de hidrogenación en variadas condiciones con uso de catalizador de ADAMS, de actividad comprobada. En el primer experimento habíamos tenido una aparente toma de hidrógeno pero el producto recuperado era indistinguible de la akuammina auténtica, en lo que respecta a punto de fusión, espectro infrarrojo y R_f en varios disolventes cromatográficos.

Por último, cuando la akuammina se destila en presencia de cinc en polvo (técnica de WITKOP) se liberaba 3-etil piridina y quizá escatol.

De la consideración del conjunto de experimentos y también teniendo en cuenta su actividad fisiológica, se dió en el ya referido trabajo de MILLSON (12) una fórmula provisional para la akuammina, en la que quedaba la duda sobre la verdadera situación del doble enlace. De ser cierta la situación que se propuso provisionalmente para el doble enlace, debía aparecer en el I. R. una fuerte absorción en la región próxima a $6,05\mu$ propia según BADER (17) del agrupamiento éter vinílico sustituido que no hemos podido comprobar, descartando por tanto tal posición.

La fórmula más probable que ahora proponemos a la vista de los resultados y consideraciones llevados a cabo es la (II).



(II)

(17) BADER, *Helv. Chim. Acta*, 36, 215 (1953).

En ella queda salvado el anterior inconveniente (en el I. R. no aparece el máximo de absorción correspondiente a $6,05\mu$) y la posición asignada al doble enlace no está en desacuerdo con el máximo que presenta en las $5,76\mu$ que es característico de un éster no conjugado con doble enlace (véase fig. 5, al final de parte experimental).

Experimentos sobre akuammidina

La akuammidina, separada de la masa total de alcaloides de las semillas de *Picralima nitida*, y recristalizada de alcohol y otras veces a partir de benceno, presenta el aspecto de agujas translúcidas y con brillo sedoso. En una de las recristalizaciones a partir de la disolución bencénica en caliente, se obtuvo en forma de escamitas nacaradas. Por exposición al aire tales escamas se volvían blancas opacas. P. de fusión: 248,5 (el mismo que ya señaló HENRY (loc. cit.). La akuammidina en su forma opaca, calentada varias horas a vacío en la pistola de ABDERHALDEN con tolueno circulante, perdía 4,4 % de su peso, que corresponde a la presencia de una molécula de agua por una de akuammidina, atribuyéndose al conjunto cristalino la fórmula $C_{21}H_{23}O_3H_2 \cdot H_2O$, de acuerdo con repetidos análisis, es decir, se confirma la fórmula empírica hasta ahora admitida. Se comprueba la presencia de $-OCH_3$, ausencia de $N-CH_3$ y se ha encontrado un 5,3 % de metilo (directamente ligado a carbono) valor superior al que corresponde a un grupo, pero bastante inferior al que exigiría la presencia de 2 $-CCH_3$ (8,2 %). Lo que no ha podido comprobarse es la existencia de los 2 H activos que encontró RAYMOND-HAMET, el cual atribuyó a la akuammidina una estructura de yohimbina deshidrogenada (18). Ciertamente, la akuammidina es de la serie α (serie de la yohimbina), pero la diferencia con la yohimbina creemos que está en algo más que en un doble enlace. En primer lugar, el grupo $-CCH_3$ no podría acomodarse en dicha estructura; tampoco la gran diferencia de movilidades en los cromatogramas entre yohimbina y akuammidina. De los espectros en el ultravioleta (fig. 14) y en el I. R. (fig. 8) y de los demás hechos se deduce se trata de un isómero de posición de la δ -yohimbina, en cuyo caso sería el segundo hallado en la *Picralima*, ya que según han podido demostrar últimamente ROBINSON y THOMAS (19) la akuammigina es un estereoisómero de aquella. La estructura de la δ -yohimbina fué demostrada por GOUTAREL y LE HIR (20) y otros dos estereoisómeros *tetrahydroalstonina* y *mayumbina* son conocidos, cuya estructuras fueron dadas por

(18) RAYMOND-HAMET, *Rev. Int. Bot. app. Agric. trop.*, 31, 465 (1951); *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux*, 90, 178 (1952).

(19) R. ROBINSON y A. T. THOMAS, *J. Chem. Soc.*, 3479 (1954).

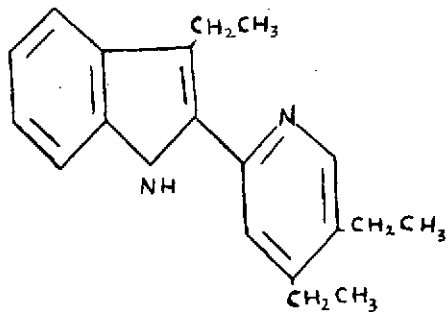
(20) R. GOUTAREL y A. LE HIR, *Bull. Soc. Chim.*, 909 (1951).



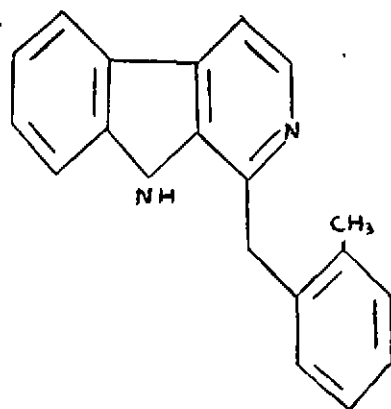
ELDERFIELD y GRAY (21) y JANOT, GOUTAREL y MASSONEAU (22) respectivamente.

A favor de las relaciones entre akuammidina y akuammigina, está el análisis cuantitativo y funcional, la presencia de máximos de absorción fundamentales en el infrarrojo, la casi igualdad de R_f en todos los experimentos cromatográficos, las reacciones de color, el comportamiento paralelo en la mayoría de experimentos (reducción con hidruro de aluminio y litio, deshidrogenación con selenio, formación de derivados,...). Sin embargo existen diferencias con aquella que exigen una distinta posición del doble enlace conjugado con el grupo éster.

Con ácido nítrico la akuammidina da un color amarillo brillante e igualmente sucede con sus derivados. No da reacción con el cloruro férrico solo, ni con él acidificado. Da reacción positiva con acético (impurificado por glioxálico), pero ésta se observa mejor realizando la reacción en las condiciones recomendadas por BRUSTLIER, BOURBON y VIGNES (23) con lo que se demuestra la presencia de un núcleo indólico verdadero, puesto también en evidencia por el espectro en el ultravioleta, y por los propios productos de degradación (por ejemplo formación de *alstyrina* (III) en la deshidrogenación con selenio, y no de *yobirina*) (IV).



(III)



(IV)

Por su espectro infrarrojo son evidentes: NH y OH (los OH debidos a agua de cristalización), con su máximo de absorción en $2,83\mu$ y otros que recuerdan a los de la akuammigina; una banda en $5,84\mu$ que representa a un grupo éster conjugado con un doble enlace ($\text{CH}_3\text{OOC}-\text{C}=\text{C}$).

(21) R. G. ELDERFIELD y A. P. GRAY, *J. Organc. Chem.*, 16, 506 (1951).

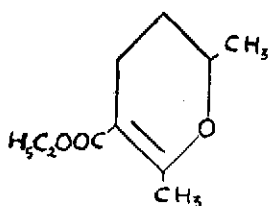
(22) M. M. JANOT, R. GOUTAREL y J. MASSONEAU, *Compt. rend.*, 234, 850 (1952).

(23) BRUSTLIER, BOURBON y VIGNES, *Bull. Soc. chim.*, 113 (1950).

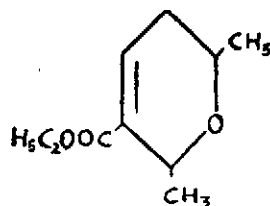
=C-) (24), otra débil en $6,05\mu$ que podría corresponder en principio a un éter vinílico y la que presenta en $6,15\mu$ que puede atribuirse al doble enlace (conjugado) asimétrico; la substitución sobre las posiciones 1-2 del anillo bencénico se reflejan en la banda mostrada en $13,4\mu$. Una banda que debe estar muy ligada a la presencia del grupo éster de la akuamidina, es la mostrada en $8,22\mu$, con la misma intensidad que la característica de las $5,84\mu$, ya citada, pues ambas desaparecen completamente en la reducción a akuamidol.

La existencia del agrupamiento $\text{CH}_3\text{OOC}-\text{C}=\text{C}-$ es indiscutible, ahora bien, la posición del doble enlace, respecto al oxígeno del anillo dihidropiránico sí que requiere comentario. En efecto, la akuamidina muestra una banda de absorción en $6,05\mu$ que podría corresponder a un éter vinílico sustituido, pero esta banda es debilísima respecto a la correspondiente en la akuammigina y en la tetrahydroalstonina, que llega a ser de la misma intensidad que la fundamental de éster conjugado, que aparece en el intervalo $5,84-5,88\mu$.

Si se compara el espectro I. R. de la akuamidina (ver final de parte experimental, fig. 8) con los de las sustancias tipo (V) y (VI) preparadas por BADER (17) (figuras 1 y 2) se pone claramente de manifiesto la mayor semejanza con el espectro de (VI), en el que se distinguen también las ban-



(V)



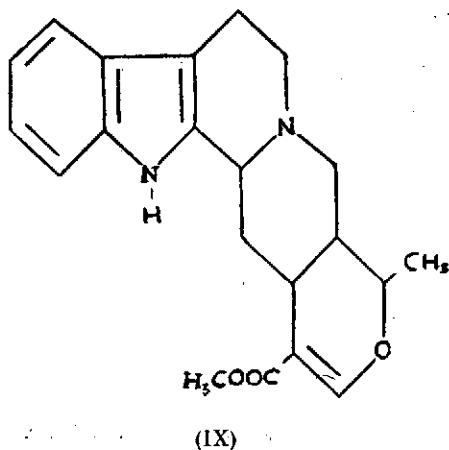
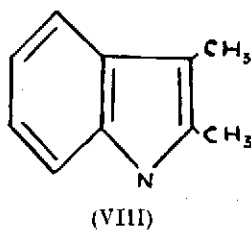
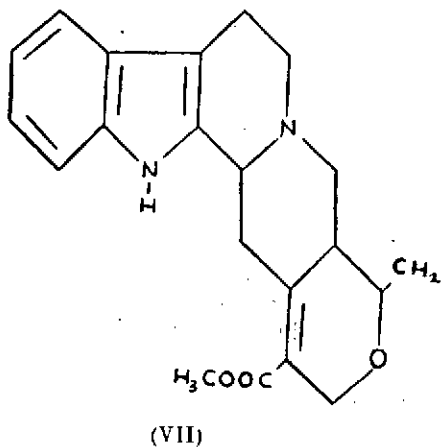
(VI)

das desiguales en $5,84$ y en $6,05\mu$, mientras que en el espectro de (V) las dos bandas correspondientes a éstas (algo desviadas a la derecha, $5,88$ y $6,17\mu$) son prácticamente de la misma intensidad. En su día estos experimentos sirvieron para demostrar el error cometido por ELDERFIELD y GRAY (21) al atribuir a la tetrahydroalstonina la fórmula (VII), que es precisamente la que nosotros recabamos ahora para la akuamidina.

En el U. V. no hay duda que los dos cromóforos fundamentales para la akuamidina y demás alcaloides relacionados, serán, por un lado, el grupo éster conjugado, localizado en el núcleo dihidropiránico y en el que juega naturalmente un interesante papel su posición relativa respec-

(24) R. S. RAMUSSEN, D. D. TUNNICLIFF y R. R. BRATIN, *J. Amer. Chem. Soc.*, 71, 1068 (1949).

to al heteroátomo, y por otro el núcleo indólico sustituido en α , β por ser rico en dobles enlaces. BADER (17) determinó el espectro U. V., claramente distinto, de sus dos sustancias modelo (V) y (VI), así como también el de otra sustancia tipo (VIII), con naturaleza de indol α , β sustituido. Pero el espectro más demostrativo era el determinado sobre mezclas de (V) y (VIII) y de (VI) y (VIII), obteniéndose espectros muy distintos, ya que la primera mezcla daba un máximo en la región de los 250 m μ (2500 Å), mientras en la mezcla (VI) + (VIII) faltaba totalmente (véanse figuras 3 y 4). Comparando tales espectros con el de la tetrahydroalstonina (sensiblemente idéntico al de la akuammigina), incluido bajo las mismas coordenadas, y con el de la akuamidina (fig. 14), se nos confirma la estructura (VII) para esta última, admitiendo en cambio para la akuammigina y para la tetrahydroalstonina la fórmula (IX) que sólo difiere en la posición



del doble enlace, que queda dispuesto análogamente al de la sustancia modelo (V).

Así como la reducción con hidruro de aluminio y litio, en las condiciones utilizadas por ELDERFIELD y GRAY (21) para la preparación del tetrahidroalstonol, se conseguía muy fácilmente, como se deduce del examen cromatográfico y en infrarrojo del producto, que no mostraba resto de akuammidina, en cambio no pudo lograrse la hidrogenación catalítica de akuammidina ni de akuamidol, en las condiciones usadas por dichos autores para la tetrahidroalstonina. Esto mismo observaron ROBINSON y THOMAS, con la akuammigina. Realmente, esta resistencia a la hidrogenación de un agrupamiento dihidropiránico, por ejemplo de éster a alcohol sobre el núcleo hidropirano, está explicada por su propia naturaleza (17). A la misma estructura hidropiránica se debe la resistencia a la hidrólisis con álcali, mostrada por el grupo éster de la akuammidina y akuammigina.

Estimamos que la fórmula (VII) explica, en principio, todas las propiedades observadas en la akuammidina, incluso las fisiológicas. No es tampoco extraño el que se trate de un nuevo isómero de la δ -yohimbina, desde que en estos últimos años se han caracterizado varios de estos en diversas plantas, y menos aún después de haberse aislado de la propia *Picralima* nítida otro isómero de este alcaloide, la akuammigina, por ROBINSON y THOMAS, al trabajar con la fracción soluble en éter de petróleo, paralelamente a nuestro trabajo. La fórmula propuesta justifica igualmente el que aparezca alstirina, y no yobirina, en la deshidrogenación con selenio: sólo los alcaloides indólicos alicíclicos, tipo α , producen yobirina (25).



(25) LE MEN, *Compt. rend.*, 234, 1550 (1952).



PARTE EXPERIMENTAL

Extracción de alcaloides.—Las semillas pulverizadas se someten a extracción, en aparato de Soxhlet, en cada ensayo con un disolvente de los indicados: a) agua con HCl al 1 %; b) agua con HCl al 3 %; c) agua con acético al 1 %; d) agua con acético al 3 %; e) metanol; f) potasa en metanol (esta extracción en aparato de reflujo); g) etanol; h) con etanol + ácido tartárico (también a reflujo). Los disolventes ácidos acuosos daban disoluciones muy espesas, de aspecto coloidal, debido a la alta proporción de sustancias poliurónicas extraídas simultáneamente de las semillas, las cuales dificultaban la precipitación de los alcaloides, que era esperada por simple alcalinización. El uso de potasa metanólica era útil para la akuammína, pero a los restantes alcaloides no les favorecía. El método con tartárico no mostraba en el presente caso grandes ventajas. En consecuencia se adoptó el uso de etanol a la manera descrita por HENRY y SHARP (6) (7). Las semillas pulverizadas, habían sido previamente desengrasadas por extracción con éter de petróleo, de p. de eb. 60-80° C, que arrastra a su vez parte de los alcaloides (akuammigina, pseudokuammigina, akuammicina y pseudokuammicina) y el nuevo alcaloide *Picralima* encontrado por R. F. THOMAS (10).

El rendimiento en grasa, ceras y alcaloides, solubles en éter de petróleo, resultó ser en nuestros numerosos ensayos, del 3,43 %, como valor medio, dato expresado respecto a semillas que contenían un 6,7 % de humedad. El aspecto del extracto era amarillo ambarino.

La extracción con alcohol etílico se empezó a realizar en Soxhlet, pero pronto se observó el escaso rendimiento. Así por ejemplo, una extracción realizada en un Soxhlet de gran capacidad (su cuerpo admite 3 kgs. de semillas) daba sólo un 1,339% de alcaloides, y la extracción parecía acabada, después de cuatro días de operación continua. Pero esas

mismas semillas, refluadas sucesivas veces con etanol durante períodos cortos, permitieron aun recuperar un 2,11 % de alcaloides. En un experimento en que las extracciones se continuaron hasta práctico agotamiento, se logró hasta un 2,5 %. De aquí se deduce la necesidad de utilizar extractores tipo Kumagawa o bien recurrir a la operación discontinua del reflujo. Tanto en un caso como en otro se hacía llegar hasta aquí la superficie del extracto una continua corriente de nitrógeno, liberado de trazas de oxígeno por paso a través de lavadores conteniendo: pirogalol + potasa, sulfúrico concentrado y otro vacío como frasco de seguridad. Por lo demás, se siguió la marcha propuesta por HENRY (7): a) Concentración de extracto (que hacemos a presión reducida a 20 mm pasando a la vez por el capilar corriente de nitrógeno); b) Tratamientos sucesivos con porciones de HCl 2 % (había quedado una porción alquitranosa, de olor bien característico, de sabor muy amargo que incluso impregnaba todo el aire); c) Extracción continua con éter para liberar así, a la disolución de clorhidrato, de substancias resinosas; d) Expulsión de éter retenido; e) Purificación con carbón activo; f) El filtrado se trata con disolución saturada de carbonato sódico que produce un abundante precipitado grisáceo. El precipitado es algo gelatinoso, consiguiéndose una buena evolución del mismo al permitir un largo reposo, mejor durante toda la noche. Conviene lavar sobre el mismo embudo en que se filtra, primero con agua caliente hasta que las aguas de lavado no dan efervescencia con los ácidos. La masa de alcaloides se deseca cuidadosamente. El carbón activo, debe estar lavado a los ácidos, pues de otra manera daría abundante precipitado de carbonato cálcico la disolución clorhídrica decolorada, falseando los datos sobre alcaloides.

La masa anterior de alcaloides se somete a extracción continua con éter + 3 % de alcohol etílico que arrastra a la akuammína (que se va acumulando en el matracito, dada su poca solubilidad), y a la akuammidina que aunque más soluble precipita al concentrar acompañando a la akuammína como impureza. De la concentración a sequedad de la disolución alcohólico-etérea, y tratamiento del residuo con benceno a reflujo, es posible separar mayor proporción de akuammidina; del resto soluble en benceno, es posible fraccionar los restantes alcaloides (*akuammína*, *akuammilina* y parte de *pseudoakuammigina*, por extracción incompleta con éter de petróleo) siguiendo las condiciones dadas por HENRY.

La akuammína se purificó pasándola a sulfato, decolorando y alcalinizando. La recristalización, muy difícil, se hacía de alcohol en ausencia de aire. En cambio la akuammidina cristalizaba muy bien, tanto de alcohol como de benceno. De una y otra se determinaron: punto de fusión y espectros ultravioleta e infrarrojo, practicándose además el análi-

sis cuantitativo elemental y funcional, que no se detallan de nuevo, porque ya se hizo parcialmente en la parte teórica, y porque estos datos coinciden con los de la bibliografía, así como los métodos seguidos.

Preparación de derivados de la akuammina.—Sobre este alcaloide y especialmente con fines analíticos, se prepararon el *clorhidrato*, el *perclorato* y el *picrato*, según los métodos generales, deduciéndose valores analíticos que recomiendan para la akuammina la fórmula en H_{26} en vez de en H_{28} ; realmente, de los propios valores presentados por HENRY podía ya llegarse a la misma consecuencia. La fórmula más probable es por lo tanto $C_{22}H_{26}O_4N_2$.

Se preparó también un *metil ioduro*, por simple reflujo de las cantidades estequiométricas, en metanol anhidro. Más fácil resultó la preparación en etanol, en atmósfera de nitrógeno, con ligero exceso de ioduro de metilo (para 0,380 grs de akuammina se utilizaron 0,3 grs de ioduro) que terminada la reacción, se elimina por destilación a vacío. Se obtienen buenos prismas, por recristalización lenta de la disolución etanólica de la masa resultante ya cristalina, producida por evaporación completa del disolvente en que se hizo la reacción. Por cromatografía en la mezcla butanol : lutidina : agua (10:3:3), podía observarse que aunque el derivado obtenido era algo impuro, a causa de los propios productos de oxidación de la akuammina, la base en sí había reaccionado completamente, puesto que no aparecía la mancha correspondiente a akuammina. La iodometilación debe haber ocurrido en el N básico, y corresponder a una sal de amonio (26).

La acetilación realizada en caliente por reflujo con anhídrido acético recién destilado, en benceno, daba por dilución, una masa de color blanco sucio, que se recristalizó de etanol. Las primeras muestras daban en los cromatogramas realizados sobre Whatman n.º 1 tamponado con $PO_4H_2K M/2$, y propanol : agua (3:1), como disolvente, hasta tres manchas, una a la altura de la akuammina, otra a la del producto normal de oxidación de aquella, y otra más lenta que podría corresponder a un ácido akuamminico. Las características fisicoquímicas de acetil derivado son análogas a las dadas en publicaciones anteriores sobre el tema por HENRY.

Intentos de preparación del metil derivado de la akuammina, sobre su grupo fenólico.—Se había intentado anteriormente la metilación con diazometano, en variadas condiciones, sin resultado satisfactorio, pues no pudo aislarse ningún producto definitivo, si bien era posible la formación de una fenol-betaína (10).

Se realizó ahora la metilación con sulfato de metilo, en las condicio-

(26) R. ROBINSON. Capítulo de alcaloides de COOK: *Progress in Organic Chemistry*, Ed. Butterworths Scientific Publications, London, 1952.

nes utilizadas para fenoles. Se usa un matracito de tres bocas y tubuladura lateral, dotado de agitador con cierre de mercurio, un embudo de gotas y de refrigerante, los dos últimos protegidos de la humedad con tubos de cloruro cálcico. Se colocó la akuamina liberada de 0,4185 grs de clorhidrato (aprox. corresponde a 1 milimol), introduciéndola por una de las bocas, añadiendo 5 cc de metanol y una lentejita de hidróxido potásico, y del embudo de gotas se deja caer sulfato de metilo en exceso, a la vez que por la tubuladura lateral del matraz se empieza a introducir corriente de nitrógeno libre de oxígeno.

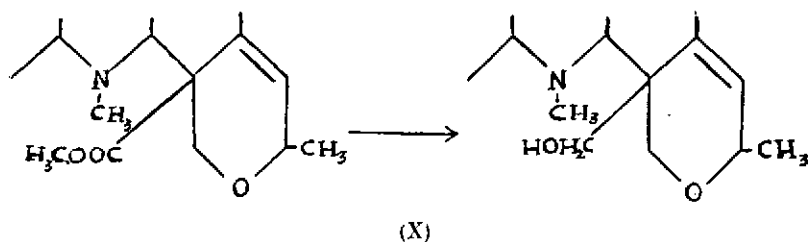
La reacción se inicia con producción de enfriamiento, debido a la evaporación de disolvente, luego conviene calentar suavemente mientras transcurre aquella. Destruído el exceso de sulfato de metilo, se intenta la recuperación del metil derivado por extracción continua con éter. Dicha extracción se intentó tanto en medio neutro como en medios ácido y básico, con resultado negativo. Más eficientes fueron las extracciones con alcohol o con acetona y también con metanol, pero por su poca solubilidad necesitaba grandes volúmenes de disolvente, lo que llevaba como consecuencia el arrastre de materia inorgánica.

El supuesto metil derivado obtenido, presentaba después de varias purificaciones una temperatura de fusión de 198° C, pero mostraba marcada higroscopicidad. El hecho de que el compuesto formado no sea arrastrable por éter en medio básico ni ácido, podría interpretarse como consecuencia de haberse formado quizá un aminoácido, por hidrólisis del metilsulfato, que por estar cuaternizado, es más fácilmente hidrolizable.

El producto obtenido daba las reacciones generales de alcaloides, y se movía en los cromatogramas a velocidad próxima a la akuamina, pero con nítrico concentrado daba color amarillo brillante en vez del rojo de aquella. Daba reacción negativa con el cloruro férrico.

Preparación del alcohol akuaminol.—Con el mismo dispositivo experimental que el descrito en el apartado anterior realizamos la reducción con hidruro de aluminio y litio de 0,1 gr de akuamina disueltos (parcialmente en suspensión) en tetrahidrofurano recientemente destilado. La destilación de éste se hizo en presencia de alumbre de sodio y recogiénolo sobre un matracito perfectamente seco que contenía también sodio hilado; la destilación se realizó dos veces consecutivas. La disolución de akuamina se coloca en el embudo de gotas y se deja caer poco a poco sobre 0,050 grs de hidruro de aluminio y litio, disuelto en éter anhidro, y contenido en el matracito. Por la tubuladura lateral se mantiene una corriente de nitrógeno purificado. Después de la adición se mantiene un suave calentamiento para asegurar la ebullición de la masa. Terminada la operación se enfría con hielo el matracito y se agrega agua gota a gota hasta la destrucción total del exceso de hidruro metálico. Se

añaden entonces 23 cc de hidróxido sódico al 10 %. A vacío se expulsan el éter y el tetrahidrofurano. Al destruir el hidruro la disolución enrojece, y al expulsar los disolventes el residuo se hace verdoso. El residuo fué extraído con alcohol, que apenas si arrastró algo. Como quiera que las aguas daban reacción positiva de alcaloides, se extrajeron continuamente con éter, pudiendo lograrse una muestra pequeñísima, que se utilizó para espectros y cromatografía. El I. R. (fig. 7) muestra una manifiesta reducción del máximo que correspondía al grupo éster, pero no debió ser completo el paso de akuammina a akuamminol. En el U. V. (fig. 13) se observa un retroceso del segundo máximo, pues mientras en la akuammina corresponden ambos a las longitudes de onda de 2450 y 3100 Å, el akuamminol los presenta en 2450 y 2900 Å. La reducción que debe haber tenido lugar se esquematiza en (X). En el caso de la reducción de pseudoakuammigina (26) parece ser que sucede un avance del primer máximo. Por cromatografía no se observa gran diferencia de comportamiento, entre akuammina y akuamminol; en contraposición, en la pareja akuamidina-akuamidol, todas las diferencias son más claras.



Intentos de hidrogenación catalítica de akuammina.—En presencia de catalizador de Adams no pudo lograrse ningún nuevo producto, cuando la akuammina se disolvía en etanol, ni cuando se utilizó ácido acético como disolvente. Se recuperaba siempre el producto sin cambio alguno en sus constantes, aunque en una de las operaciones había una ligera toma de hidrógeno. Tampoco ROBINSON y THOMAS (27) consiguieron hidrogenar la pseudoakuammigina, que parece diferir de la akuammina sólo en el grupo $-OH$, del cual carece aquella.

Experimentos sobre akuamidina.—La akuamidina recristalizada de alcohol produce agujas translúcidas. Agujas más delgadas se producen al recristalizar de benceno. Una de las recristalizaciones produjo escamas nacaradas. Se confirman las características descritas por otros. Los puntos de fusión se determinan siempre en bloque de Maquenne, calentando por resistencia eléctrica, regulable por un potenciómetro, que facilita la ascensión suave o rápida de temperatura, así, como el rango de

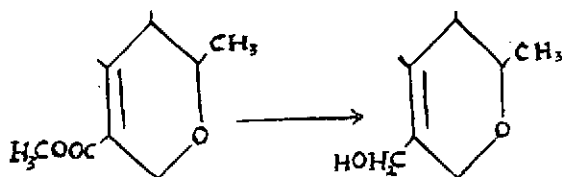
(27) R. ROBINSON y A. F. THOMAS, *J. Chem. Soc.*, 3522 (1954).

aquella; la observación de la fusión se facilita por un anteojito adosado. La preparación del clorhidrato, picrato y perclorato se hizo por el método descrito por HENRY (6). Los resultados de análisis confirman de nuevo la fórmula propuesta: $C_{21}H_{24}O_3N_2 \cdot H_2O$, para la akuammidina de color blanco yesoso (no lustrosa) que se considera como la forma estable. Como se trata de repetición de experimentos ya conocidos no se describen.

Como derivados algo más especiales se prepararon el metilioduro y el acetilderivado. Para el primero se tomaron 0,035 grs de akuammidina purificada (p. f. = $248,5^{\circ}C$), reflujiendo con 1 cc de CH_3I + 3 cc de etanol anhidro, durante 10 minutos; se recuperan 0,051 grs de un material blanco amarillento cristalino (p. f. = $194^{\circ}C$; se carboniza a $230^{\circ}C$). La pérdida de agua en la pistola de Abderhalden (a $120^{\circ}C$) corresponde a 1 mol de ésta por cada $C_{21}H_{24}O_3N_2 \cdot CH_3I$, fórmula ésta que fué confirmada por análisis. Se han determinado los espectros en el U. V. e I. R. correspondientes a este derivado (figs. 4 y 9 respectivamente).

Para preparar el acetilderivado (que por análisis mostró tener un solo grupo acetilo) se partió de 0,04 grs de akuammidina y reflujió con anhídrido acético (2 cc) en cloroformo (3 cc). Acabada la operación se agrega agua para destruir el exceso de anhídrido y se separa la capa clorofórmica. A ésta se añade etanol y se destila el cloroformo suavemente con lo que se obtiene disolución alcohólica que se evaporó a vacío hasta casi sequedad, cristalizando la monoacetilakuammidina, de p. f. = $272^{\circ}C$.

Preparación del alcohol akuammidol.—Se preparó por primera vez como producto interesante, el akuammidol. Se siguió el mismo método que para la akuamina, y que en esencia es el usado por ELDERFIELD y GRAY para la tetrahidroalstonina (20). La reducción es ahora más perfecta en todos los órdenes. El akuammidol se recrystalizó varias veces de alcohol y de benceno caliente. Por enfriamiento daba agujas blancas, p. de fusión $273^{\circ}C$. Después de muchas más cristalizaciones el p. de f. se estabilizó en $275^{\circ}C$. El producto anhidro respondía a la fórmula $C_{20}H_{24}O_2N_2$. Para eliminar el disolvente, que retenía con tenacidad, se calentó en baño de aceite, haciendo simultáneamente vacío (0,005 mm). La transformación akuammidina-akuammidol se esquematiza en (XI) y



(XI)

recuerda en todo el paso tetrahydroalstonina-tetrahydroalstonol; el espectro infrarrojo (fig. 10) muestra la perfecta eliminación del grupo éster. En el ultravioleta (fig. 14) se observa que mientras los máximos están en 2300 y 2750 Å para la akuammidina, en cambio el akuammidol los muestra en 2300 y 2800 Å (ver figs. 8 y 10).

En los cromatogramas el akuammidol, al igual que la akuammidina, da manchas perfectamente redondeadas, y se mueve a menor velocidad que aquella. Es fácil distinguir ambos alcaloides en todos los disolventes.

Por los métodos descritos para tetrahydroalstonol por ELDERFIELD y GRAY (loc. cit.) se han preparado el metil yoduro de akuammidol, acetyl akuammidol, el picrato de akuammidol, y el éter akuammidol-etílico, para confirmar análisis obtenidos sobre akuammidol, directamente.

Los puntos de fusión respectivos para estos derivados fueron: 170° C (metil yoduro), 234° C (acetil derivado) y 205° C (picrato), mientras el éter etílico no pudo obtenerse bien cristalizado, por lo que no se sometió a análisis. Se dan los espectros en el U. V. (fig. 14) y en el I. R. (fig. 11) del metil yoduro del akuammidol.

Relación de bandas características observadas en infrarrojo sobre akuammidina: 2,83 (OH y NH); 3,10; 3,27, 3,45; 5,84 (éster conjugado con doble enlace); 6,05 (éter vinílico); 6,15 (doble enlace asimétrico)... 8,22 (que debe estar ligado a la presencia del grupo éster, pues de ser la más intensa en akuammidina, llega a desaparecer en akuammidol)... 13,4 (substitución sobre las posiciones 1-2 de un anillo bencénico) micras.

Intentos de hidrogenación de akuammidina y akuammidol.—Fueron insatisfactorios los ensayos de hidrogenación en presencia de catalizador de Adams. En los últimos intentos se utilizó hidrógeno electrolítico producido por nosotros en voltámetro de laboratorio, y tomadas las precauciones de purificación usuales, con resultado igualmente negativo. Se usaron como disolventes etanol en unos experimentos y acético glacial en otros.

Deshidrogenación de akuammidina con selenio.—Por calentamiento de una masa íntima de 0,4 grs de akuammidina y 0,9 de selenio, a unos 300 grados, durante un cuarto de hora y extracción de la masa fría y pulverizada (con arena) mediante metanol en aparato de Soxhlet, se separa un aceite rojizo. Este disuelto en benceno se pasa por una columna de alúmina y se eluye con benceno. La fracción de cabeza que era un aceite de color naranja al evaporar el disolvente, se disolvió en éter de petróleo (p. eb. 40-60°) obteniéndose unos cristallitos impuros de p. de fusión 115° C que tras nueva recristalización se elevó a 116° C. A juzgar por su espectro debe ser alstirina aunque su confirmación por análisis químico quedó pendiente.

Breve reseña de técnicas experimentales que se usaron en cromatografía de alcaloides de Picralima nitida.—Se describen los resultados sobre papel, pues la columna de celulosa sólo las ensayamos para la purificación de akuamina aunque con muy buenos auspicios. De los resultados sobre papel son perfectamente deducibles los que se obtendrían en columnas.

Se usaron técnicas de ascenso y de descenso, especialmente las últimas. Papel Whatman núm. 1. El revelado se hacía con reactivo de Muiier-Macheboeuf (11). Se prepara así: *Solución A*: 850 grs de subnitrito de bismuto, 40 ml de agua destilada y 10 ml de acético glacial. *Solución B*: 8 grs de ioduro potásico + 2 ml de agua destilada. Se mezclan las disoluciones A y B, y se obtiene así la disolución madre, que para su uso se diluye en la siguiente proporción:

Disolución madre	10 ml
Acido acético	20 ml
Agua destilada	100 ml

y esta disolución puede conservarse durante varias semanas.

Más sensible es aún el reactivo preparado según esta otra receta:

Solución A: 17 grs de subnitrito de bismuto, 800 ml de agua. Mezclar ambas disoluciones v/v, y antes de su uso diluir cada 50 ml con 100 grs de tartárico + 500 ml de agua.

Basta sumergir los papeles a revelar en el reactivo para que se produzcan manchas rojas sobre un fondo amarillo.

Los disolventes utilizados para el desarrollo de cromatogramas fueron: Alcohol amílico, isoamílico, butílico y propílico, entre los neutros. Cada uno de ellos fué preparado con agua en la proporción 3/1 en los miscibles con ella (propanol solamente), o por la técnica del mínimo de agua, la preparación por adición de aquella, gota a gota, hasta el primer enturbiamiento perenne). De ellos sólo daban manchas redondas el P 3/1. Los demás aunque daban mayores diferencias de R_f , eran inservibles por las extremadas elongaciones producidas. Se hicieron otros ensayos utilizando los mismos disolventes pero con papeles previamente modificados.

Las modificaciones más importantes fueron las logradas sumergiendo los papeles en disoluciones de KH_2PO_4 de concentraciones M/1, M/2 y M/5. En todos los casos los R_f aparecen disminuídos. Sobre dichos papeles se ensayaron todos los disolventes neutros antes citados.

Otra modificación fué el tamponado con bitartrato potásico y citrato monosódico, pero no mejoraban los resultados anteriores.

Con papeles salados con ClK y con acetato sódico, utilizando disolventes acidificados con clorhídrico o acético respectivamente (por ejemplo butanol con 3, 5, 7 y 9 % del ácido correspondiente) se lograban resultados sólo parcialmente buenos. De especial interés ha sido el uso de un disolvente básico, ya detallado, a base de butanol:lutidina:agua (10:3:3).

Recogemos, a título comparativo, en la Tabla I, los valores de R_f para

TABLA I

VALORES OBTENIDOS PARA EL R_f DE VARIOS ALCALOIDES

Alcaloide	Normal	Whatman n.º 1		
		Tamponado con KH_2PO_4		
		M/1	M/2	M/5
Akuammína	0,72	0,50	0,57	0,56
Yohimbina	0,73	0,52	0,60	0,58
Akuammigina	0,81	0,66	0,71	0,71
Akuammicina	0,75	0,56	0,64	0,61
Pseudoakuammigina	0,76	0,59	0,66	0,65
Akuammidina	0,81	0,67	0,72	0,71

algunos de los alcaloides de la *Picralima*, usando propanol:agua, como disolvente y utilizando papeles normales o fosfatados. Como quiera que la yohimbina está muy relacionada con ellos, y se mueven a una velocidad próxima a la de la akuammína, se incluye también como sustancia de ensayo.

Las manchas con P 3/1 sobre papel normal son redondas pero muy próximas. Las obtenidas sobre papel fosfatado con disolución M/1 tienen los R_f mejorados, pero los papeles quedan irregulares en la impregnación. Con fosfato M/5 las manchas quedan algo alargadas, y el papel con disolución M/2 era indudablemente el mejor de todos los ensayados. Para el fosfatado de papeles se impregnan éstos en las correspondientes disoluciones y se dejan secar al aire, no usándose hasta que hayan transcurrido al menos 48 horas desde su preparación.

Un papel fosfatado con fosfato monosódico daba manchas muy redondas, pero de R_f demasiado grandes, así por ejemplo, la pseudoakuammigina tiene un $R_f = 0,95$, cuando se usa propanol:agua (3/1).

Sobre papeles con fosfato potásico, se usaron otros disolventes distintos del propanol, con resultados alternativos en los R_f pero generalmente producían elongaciones.

En todos los cromatogramas la akuammína es el más lento y la

akuammidina el más rápido, coincidiendo con la última generalmente la akuammigina. No obstante, en los ensayos sobre papel fosfatado con la sal potásica M/2 y con alcohol amílico como disolvente (preparado por la técnica del mínimo de agua) se observan para akuammidina y akuammigina los $R_f = 0,46$ y $0,32$, respectivamente, pero las manchas son elongadas.

También se obtuvieron R_f diferentes para ambos alcaloides, al usar papel bitartratado (con bitartrato potásico en disolución saturada) y P 3/1 como disolvente. (Akuammidina 0,91; Akuammigina 0,86; Yohimbina 0,79).

Aparte del interés que la cromatografía muestra para la identificación de algunos alcaloides en los procesos de aislamiento o purificación, creemos de máximo interés el que para cada alcaloide pueda distinguirse fácilmente entre sus diferentes derivados, así como el que constituya criterio para conocer si una reacción ha sido completa o no, como se ha manifestado en varias de las etapas aquí estudiadas.

Determinación de espectros.—Se realizó empastando los alcaloides y derivados en nujol, para el I. R. y disolviendo en metanol para la determinación en el ultravioleta.

Agradecemos a Mr. HASTING y al Dr. STRAUSS, ambos del Departamento de Microanálisis del *Dyson Perrins Laboratory*, la obtención de los espectros en I. R. y U. V. e interpretación de los mismos, respectivamente.

En las figs. 1 y 2 se recogen los espectros en I. R. de las sustancias modelo (V) y (VI), respectivamente, preparadas por BADER (17). En las figuras 3 y 4 se comparan los espectros en el U. V. de esas mismas sustancias modelo (V) y (VI) con los de la tetrahidro-alstonina y el α , β -dimetilindol (VIII), así como mezclas binarias de (V) y de (VI) con (VIII).

Se recogen también a continuación (figuras 5 a 12) reproducciones pantográficas de los espectrogramas obtenidos con I. R. (en ordenadas son Transmisiones en %) para akuamina, akuaminol, akuammidina, akuammidol y respectivos metilioduros, así como el correspondiente al metilioduro de la yohimbina. Se acompañan igualmente los espectrogramas (figuras 13 y 14) contruídos (en ordenadas $\log \epsilon$) con los datos obtenidos en el U. V. para esos mismos compuestos (reunidos en las Tablas II y III).

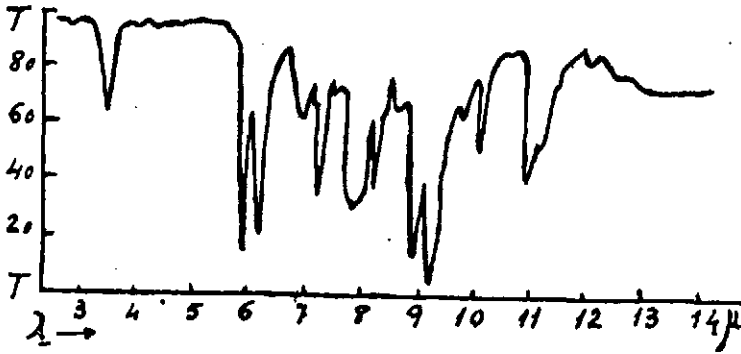


Fig. 1.—Espectro de (v)

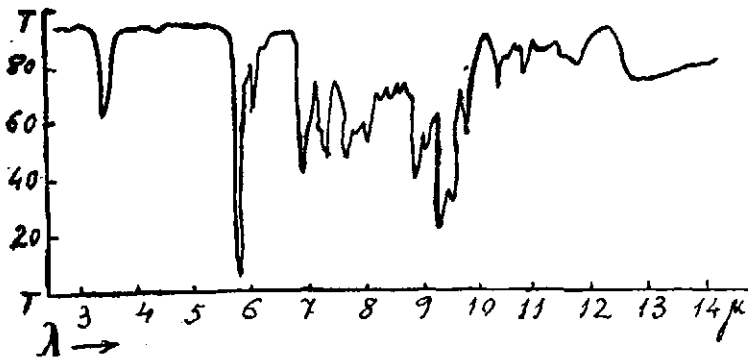


Fig. 2.—Espectro de (vi)

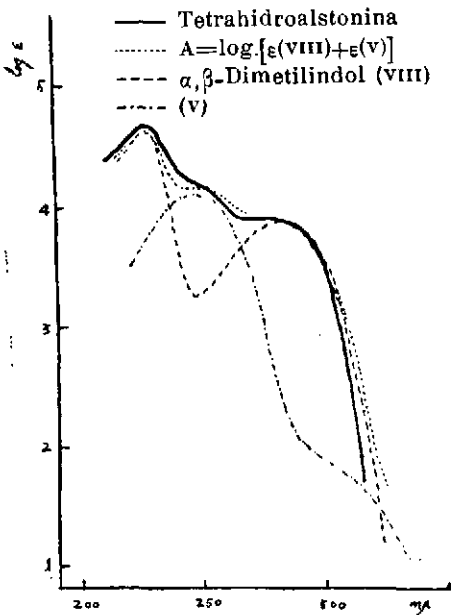


Fig. 3.—Espectros en el U.V.

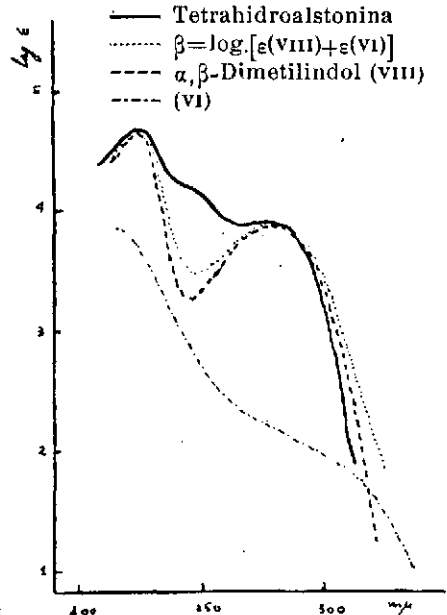


Fig. 4.—Espectros en el U.V.



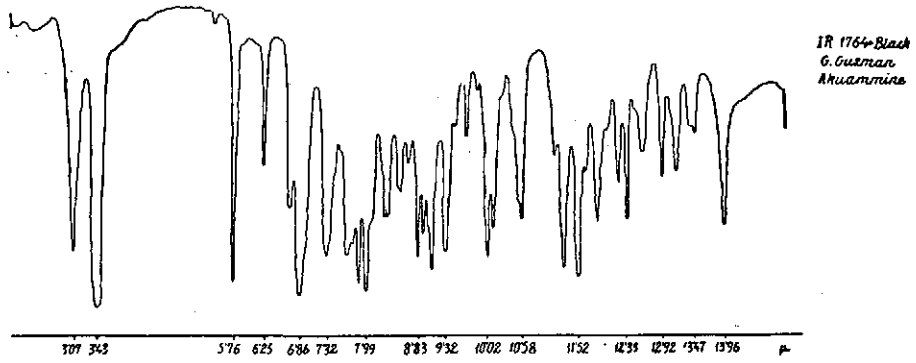


Fig. 5

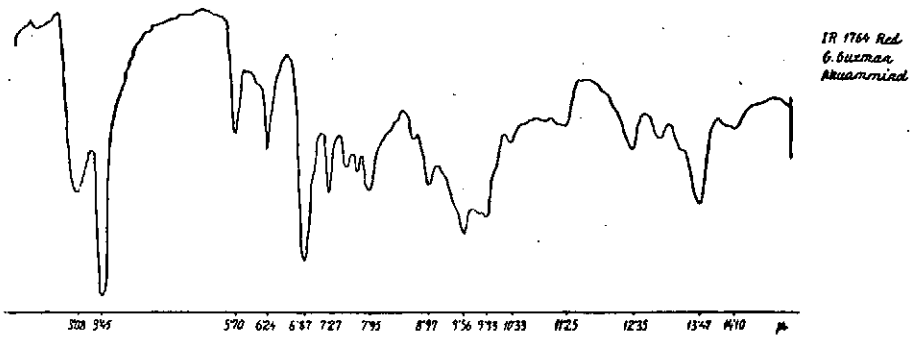


Fig. 6

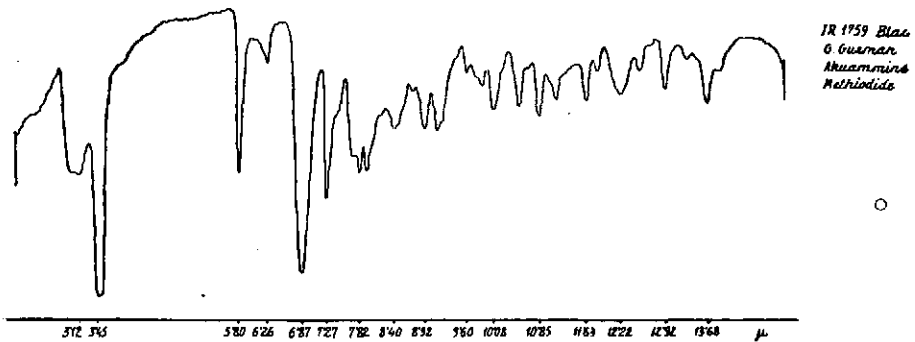


Fig. 7

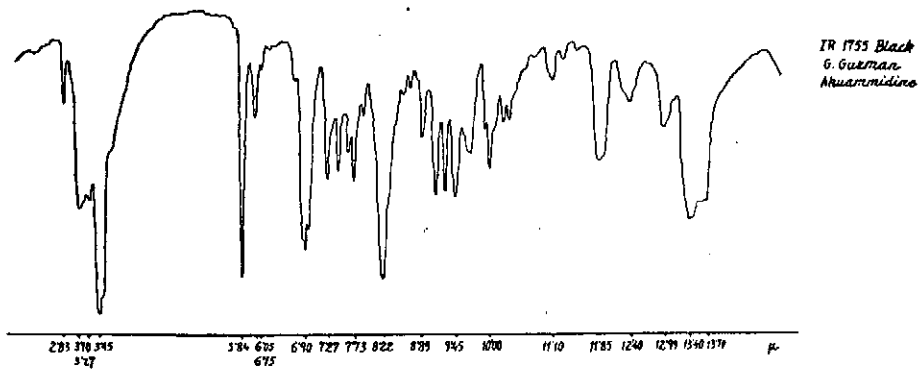


Fig. 8

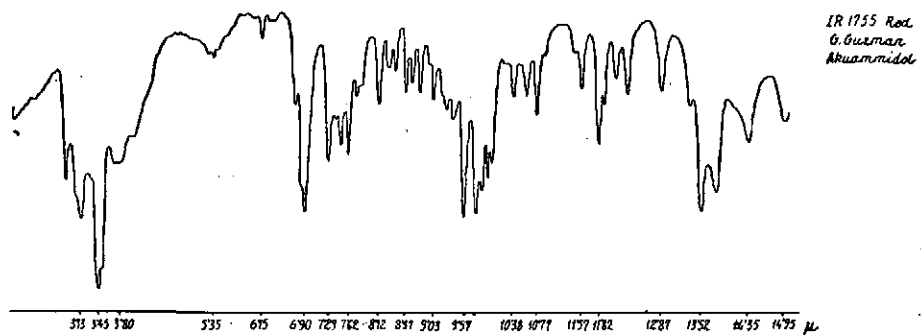


Fig. 9

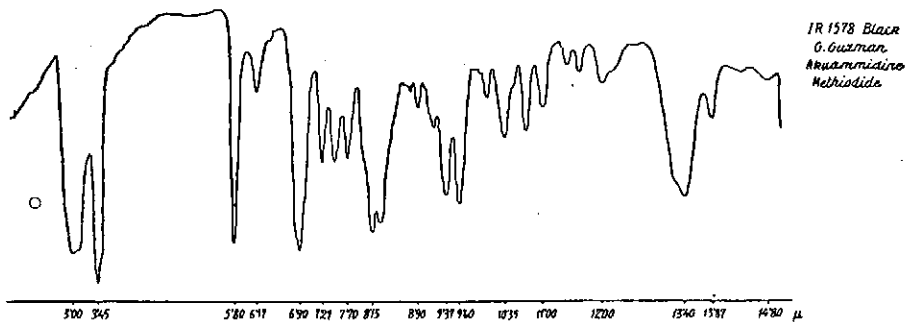


Fig. 10

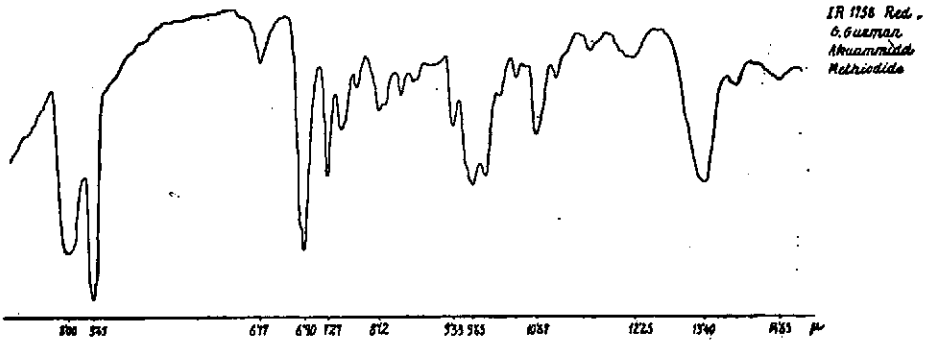


Fig. 11

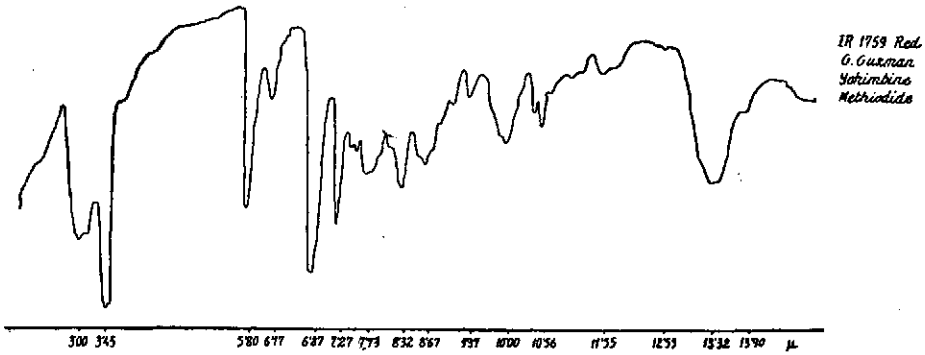


Fig. 12



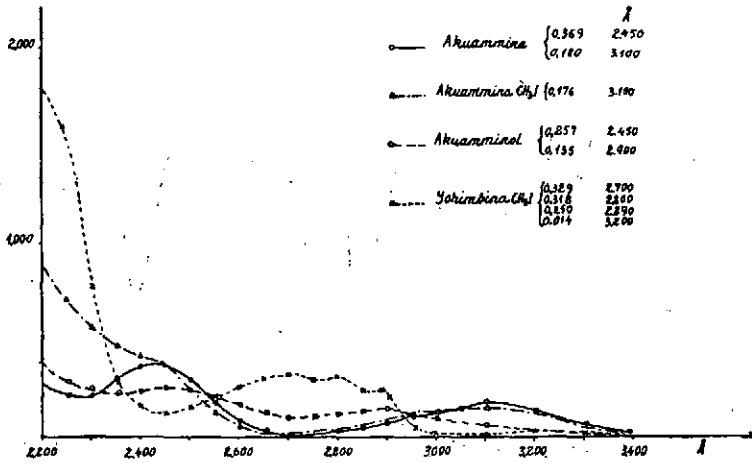


Fig. 13

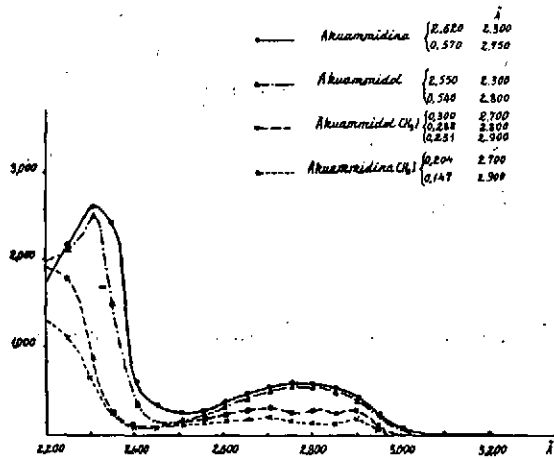


Fig. 14



TABLA II

Longitud de onda λ en Angstroms	Akuammína CH_2I 0,230 mg; 10 ml MeOH	Yohimbína CH_2I 0,200 mg; 10 ml MeOH	Akuammína 0,200 mg; 10 ml MeOH	Akuammínol 0,180 mg; 10 ml MeOH
2.200	0,855	1,800	0,262	0,385
2.250	0,715	1,600	0,201	0,292
2.300	0,575	0,770	0,232	0,262
2.350	0,480	0,298	0,305	0,234
2.400	0,440	0,154	0,352	0,234
2.450	0,400	0,140	0,369 (m)	0,257 (m)
2.500	0,294	0,162	0,300	0,242
2.550	0,141	0,208	0,185	0,208
2.600	0,054	0,260	0,082	0,160
2.650	0,030	0,303	0,039	0,121
2.700	0,024	0,329 (m)	0,025	0,100
2.750	0,036	0,310	0,034	0,109
2.800	0,047	0,318 (m)	0,044	0,124
2.850	0,064	0,232	0,059	0,128
2.890	—	0,250 (m)	—	—
2.900	0,087	0,228	0,083	0,135 (m)
2.950	0,115	0,042	0,105	0,122
3.000	0,140	0,009	0,131	0,107
3.100	0,176 (m)	0,002	0,180 (m)	0,062
3.200	0,128	0,014 (m)	0,142	0,031
3.300	0,040	0,003	0,059	0,022
3.400	0,010	—	0,014	0,017
3.500	0,002	—	0,003	0,014
3.600	—	—	—	0,010
3.700	—	—	—	—
3.800	—	—	—	0,002
3.900	—	—	—	—
4.000	—	—	—	—

TABLA III

Longitud de onda λ en Angstrons	Akuammidina 0,200 mg; 10 ml MeOH	Akuammidol 0,230 mg; 10 ml MeOH	Akuammidina CH ₃ I 0,200 mg; 10 ml MeOH	Akuammidol CH ₃ I 0,200 mg; 10 ml MeOH
2.200	1,720	2,000	1,300	1,910
2.250	2,160	2,075	1,130	1,800
2.300	2,620 (m)	2,550 (m)	0,650	0,875
2.350	1,440	1,260	0,285	0,272
2.400	0,610	0,320	0,160	0,133
2.450	0,336	0,165	0,115	0,106
2.500	0,263	0,175	0,121	0,135
2.550	0,280	0,216	0,141	0,181
2.600	0,345	0,298	0,169	0,226
2.650	0,428	0,383	0,196	0,279
2.700	0,530	0,468	0,204 (m)	0,300 (m)
2.750	0,570 (m)	0,510	0,186	0,280
2.800	0,565	0,540 (m)	0,178	0,288 (m)
2.850	0,520	0,486	0,127	0,216
2.900	0,435	0,430	0,147 (m)	0,231 (m)
2.950	0,248	0,253	0,020	0,028
3.000	0,097	0,117	0,004	0,000
3.100	0,002	0,012	0,000	
3.200	0,000	0,002		
3.300		0,000		
3.400				
3.500				
3.600				
3.700				
3.800				
3.900				
4.000				

RESUMEN

1.º) Se realizan ensayos para la busca del mejor método para la extracción de alcaloides de la *Picralima ntiida*, adoptándose el de SHARP y HENRY, modificado en el sentido de protegerse de la oxidación, tanto en el proceso de extracción como en el de purificación. El estudio abarca especialmente a los alcaloides no solubles en éter de petróleo, sobre todo a akuammina y akuammidina.

2.º) Se confirman las evidencias que permitían admitir las fórmulas $C_{22}H_{26}O_4N_2$ y $C_{21}H_{24}O_3N_2 \cdot H_2O$ para akuammina y akuammidina, respectivamente. Sobre akuammina se demuestra la ausencia de un mínimo en el infrarrojo, que obliga a desistir de la posición en que se admitía el doble enlace existente en la misma (dicho mínimo estaría en $6,05\mu$ caso de ser cierta la naturaleza de éter vinílico antes supuesta). Se da la posición más probable del doble enlace de acuerdo con los restantes datos espectrales, y que estarían entre los C 16 y 17. Se prepara un metil derivado el akuamminol, el metil ioduro, y varias sales ya conocidas, con fines analíticos. El metil o metoxi-compuesto no daba las reacciones de color, de la akuammina. No se consigue la hidrogenación de la akuammina con catalizador de ADAMS.

3.º) Se prepara a partir de akuammidina el alcohol correspondiente (akuammidol) por reducción con hidruro de aluminio y litio; se comparan espectros con akuammigina y tetrahydroalstonina, pudiendo casi afirmar que se trata de un isómero de posición, de la δ -yohimbina y de la akuammigina, de los que difiere por la situación del doble enlace que queda en posición no vinílica con el O del núcleo dihidropiránico. Se discuten los espectros en el I. R. y U. V. y se propone una fórmula estructural definitiva. Por deshidrogenación con selenio se produce alstirina, confirmandose la naturaleza del indol verdadero.

4.º) Se hace un resumen ligero de los resultados conseguidos en los numerosos ensayos practicados, en la puesta a punto de las técnicas cromatográficas, para el presente caso, concluyéndose que los mejores resultados pueden lograrse con propanol : agua (3/1) sobre papel fosfatado a una concentración M/2.

5.º) Se presentan los espectros de infrarrojo y ultravioleta de los alcaloides y de algunos de sus derivados, todos ellos muy demostrativos. En ellos se aprecia la simplificación que ocasiona en el I. R. la iodometilación, y la modificación tan manifiesta del U. V. que se produce en estos derivados.

La mayor parte de este trabajo se hizo en el Dyson Perrins Laboratory, de la Universidad de Oxford, bajo la supervisión de SIR ROBERT ROBINSON, a quien mostramos nuestro más sincero agradecimiento. Debe hacerse constar igualmente nuestra gratitud al Consejo Superior de Investigaciones Científicas, por habernos concedido una beca a través del Ramsay Memorial Fellowships Trust. Se continuó en el Laboratorio de Química Orgánica de la Universidad y del Instituto de Química del C. S. I. C., en Murcia, que dirige el Prof. SOLER, a quien nos debemos igualmente.

