

# Aportación al estudio de los esteroides del látex de la «Chondrilla Juncea»

POR EL

DR. JULIO CAMBRONERO FERNANDEZ

Profesor Adjunto de la Facultad de Ciencias

## INTRODUCCION

*El estudio de especies botánicas ha centrado la atención de muchos investigadores a lo largo de los últimos años. Dos problemas han contribuido en gran proporción al conocimiento de la Química de multitud de vegetales: el caucho y las hormonas esteroides (sexuales y de la corteza suprarrenal).*

*La preocupación por el estudio de plantas cauchíferas data de 1874. Pero es en 1910 y en Rusia cuando J. Ivanoff (1) llega a determinar la proporción en caucho de unas ciento cincuenta especies. De entonces acá los estudios se continuaron e intensificaron en este país, y se han extendido por otros de Europa y América. En los EE. UU. de América se cultiva con fines industriales una especie de guayule, que ha sido aclimatada en España y se encuentra en fase de explotación experimental. También en España Obdulio Fernández (2) en un trabajo publicado en 1947 daba a conocer el contenido en caucho de numerosas plantas nacionales; y especialmente, en nuestra Patria, las de género taraxacum han sido objeto de numerosas investigaciones, tanto puramente químicas como agronómicas (3).*

*El conocimiento de la importancia fisiológica de las hormonas sexuales y en especial el descubrimiento de las corticales y el efecto sobre la artritis reumatoide de una de ellas: el compuesto E de Khendall (corti-*



sona), llevaron a Marker y colaboradores a estudiar más de doscientas especies botánicas que contenían sapogeninas y otros esteroides, los cuales podrían ser sustancias de partida en la síntesis de hormonas.

La idea inicial en este trabajo fué la de hacer una revisión sobre el contenido en caucho de la «Chondrilla juncea». De ella se habían ocupado J. Gómez (4) primero, tanto en lo que se refiere a su contenido en caucho como a la presencia de esteroides, y más tarde O. Fernández (2). Tanto uno como otro realizaron sus estudios sobre la raíz y tallo de la planta. Nuestro trabajo se refiere al látex que ésta segrega a lo largo de su vida y los datos obtenidos quizás sirvan para reivindicar la *Ch. juncea* como planta cauchífera. Después nuestra atención se polarizó de forma más intensa hacia las resinas que junto al caucho se encuentran en el látex, a las que de manera casi invariable les es asignada una naturaleza de esterol en todas estas cauchíferas, siendo, por otra parte, descritos e identificados, en otros trabajos, triterpenos en varias especies de lactíferas: G. Dupont (5) recoge la existencia de alfa-amirina, beta-amirina, lupéol, baseol y betulina en el látex de diferentes especies botánicas y en la *Encyclopedia Elsevier* (6) se cita la existencia de alfa y beta-lactucérol en un número considerable de compuestas, entre las que encontramos el *Taraxacum officinalis*; además de otras referencias sueltas. También en España A. González (7) estudia los triterpenos del látex de las *Euphorbias* canarias.

Reunimos así, en un solo trabajo, sobre una especie botánica los dos problemas a que se hizo referencia.

## I

## ESTUDIO TEORICO Y GENERAL

**Caracteres generales de la planta**

La *Chondrilla juncea* L. pertenece a la familia de las compuestas (taraxáceas). Recibe los nombres vulgares de *ajonjera juncal*, *almidón dulce* y *achicoria dulce*. Florece en primavera y verano, siendo sus flores amarillas.

El nombre científico procede del griego «chóndros» que significa cartílago o nudo, por la forma que sus raíces tienen a causa de las agallas en las que un insecto, posiblemente un coleóptero, realiza su metamorfosis completa. Estas agallas son producidas probablemente, como en el caso de la «*Adryalla ragusina* L.», por la picadura del insecto, la cual es una de las causas determinantes de la acumulación de latex coagulado en sus raíces. Las heridas producidas por otros animales son fuente del látex coagulado que se encuentra al pie del tallo. Este segregado del pie del tallo y raíces se encuentra en el comercio con el nombre de «*ajonje*»; y se emplea, mezclado con colofonia o con resina de pino, en la preparación de una liga para la caza de pájaros.

Crece la «*Chondrilla juncea*» principalmente en Aragón y Cuenca; en la provincia de Murcia se encuentra más dispersamente, pero en variedad de terrenos y condiciones climáticas paupérrimas, si bien la proporción de segregado es función tanto del terreno en que crece como de las lluvias habidas en el año.

**Análisis del látex (caucho y resinas)**

El *ajonje* es un material de aspecto un tanto desagradable, pero después de tratado como se describe en la parte experimental de este traba-

jo se llega a un material totalmente blanco, constituido por pequeñas bolitas y con el aspecto general de la goma. Sobre este material se determinó el contenido en resinas por los métodos corrientes de análisis de gomas (8), esto es: después de seco hasta peso constante, una cantidad conocida se somete a extracción con acetona en el aparato de Soxhlet, durante seis horas, pesándose los residuos solubles después de la extracción. Los dos análisis realizados dieron para el contenido en resinas un 52 y 53,2 por ciento.

Las resinas dan las reacciones de Salkowsky y Liebermann.

*Dosificación del hidrocarburo.*—Se analizó en el residuo no soluble en acetona el contenido en caucho por el método de Körner, fundado en la precipitación del poliisopreno como nitrósito por la adición del anhídrido nitroso (9). Los tantos por cien en los dos análisis realizados dan valores para el contenido en caucho de 40,73 y 42,0, con relación al producto inicial, y 88,15 y 87,33 respecto al producto disuelto en benceno.

### Estudio de la resina

*Aislamiento de un esteroi.*—Como se dijo en la introducción, llamó nuestra atención, cómo frecuentemente le es asignada una naturaleza esteroide a las resinas extraídas de las lactíferas, y, en especial, cuando, buscando bibliografía sobre la chondrilla juncea, encontramos que J. Gómez (10) llega a aislar un compuesto en esta planta al cual califica de esteroi pero sin llegar a identificarlo con ningún otro conocido.

Conseguimos también nosotros separar por cristalizaciones sucesivas de las resinas saponificadas, extraídas del látex previamente liberado de tierra, un compuesto, que, en principio, tenía las mismas características que el citado por J. Gómez.

La extracción fué realizada con alcohol que, dada la extraordinaria diferencia entre la solubilidad en frío y en caliente de la resina, permitía separar fácilmente ésta del resto de los productos del látex (caucho y materia mineral). Del producto de la extracción se separa una masa de claro aspecto resínico y un polvo, que, después de saponificado con potasa alcohólica, cristaliza en etanol en largas, brillantes y flexibles agujas, que, constituyendo agrupaciones radiales embeben el disolvente o nadan en él según sea su proporción. Con relativa facilidad, unas cuatro o cinco cristalizaciones de etanol, nos es posible llegar a un producto de temperatura de fusión 192-194° C, que no aumenta apreciablemente en nuevas cristalizaciones de etanol y que coincide con la dada por J. Gómez en su trabajo. El producto muestra una rotación específica en solución clorofórmica de  $[\alpha]_D^{20} = 65,7^\circ$ . Pero realizando simultáneamente la extracción

y saponificación con potasa alcohólica del 5 % encontramos que la proporción en polvo cristalizable es extraordinariamente superior y, a lo largo de diez o doce cristalizaciones en alcohol etílico se llega a un producto de temperatura de fusión marcadamente superior a aquella, t.<sup>a</sup> f. 215,5-216,5, la cual no aumenta por otras cristalizaciones de etanol, metanol, acetona, ni acetato de etilo. Permaneció también constante calentándolo en la estufa a 110° C durante media hora, calentándolo a vacío y a 100° C durante dos horas y media y cristalizado de etanol absoluto o éter anhidro. Muestra también un poder rotatorio específico notablemente superior al anterior  $[\alpha]_{D}^{25} = + 82,3^{\circ}$  en cloroformo. De ello deducimos que el compuesto que anteriormente se aisló no correspondía a una especie pura.

*Naturaleza alcohólica del compuesto de t.<sup>a</sup> f. 215,5-216,5° C.*—Tanto del compuesto de temperatura de fusión 192-194° como del de 215,5-216,5° se obtienen los mismos acetato (hervido con anhídrido acético), benzoato (calentado con cloruro de benzoilo) y ftalato ácido (con anhídrido ftálico en piridina). El primero y el segundo cristalizan bien de acetato de etilo. El primero lo hace en tablas brillantes de regular tamaño cuyas constantes son: t.<sup>a</sup> f. = 234-236° C,  $[\alpha]_{D}^{17} = + 85,5^{\circ}$  en cloroformo y  $[\alpha]_{D}^{25} = + 55^{\circ}$  en acetona.

Estas constantes no aumentaron por recrystalización de acetona. El benzoato cristaliza en agujas brillantes más cortas que las de la sustancia original, también de acetato de etilo, su t.<sup>a</sup> de f. es 270-271° C, descomponiendo al fundir y  $[\alpha]_{D}^{20} = 56^{\circ}$  en cloroformo. Estas constantes no aumentan cristalizando en acetona. El ftalato ácido cristaliza mal de metanol, y lo hace mejor en éter-alcohol etílico en agujas cortas y mates de t.<sup>a</sup> f. 212-214°.

Se obtiene el mismo acetato con cloruro de acetilo en piridina y pasando clorhídrico por una disolución del alcohol en ácido acético glacial. Con cloruro de benzoilo en piridina resulta el mismo benzoato de idénticas constantes que el anterior.

Tanto por saponificación del acetato como del benzoato se llega a la sustancia de t.<sup>a</sup> f. 215,5-216,5° C.

*Determinación del peso molecular.*—Al objeto de fijar la magnitud molecular del «chundristerol» (que así llamamos a la sustancia aislada de t.<sup>a</sup> de fusión 215,5-216,5° C) y derivados, se pensó hacerlo tanto por el método de crioscopia en líquidos como por la utilizadísima técnica de Rast. Como la sustancia en primera aproximación parecía poco soluble en los disolventes orgánicos, previamente determinamos su solubilidad en aquellos de que disponíamos y que por sus temperaturas de congela-

ción podían servirnos para el fin propuesto. Las solubilidades en benceno, bromoformo, acetofenona y dimetil-anilina, obtenidas por el método corriente y sencillo de agregar, poco a poco y agitando tras cada adición, el disolvente a un peso conocido de sustancia, resultó ser:

<i>disolvente</i>	<i>solubilidad en grs x 100</i>
benceno	2.16
acetofenona	1.1
bromoformo	3.89
dimetil-anilina	1.6

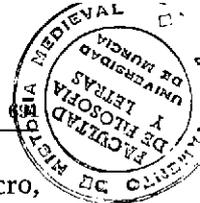
Dichas determinaciones de solubilidad se realizaron a la temperatura del laboratorio, 23-25°.

Se dan las solubilidades en gramos por ciento del disolvente, ya que esta es la forma en que la concentración interviene en las leyes de Raoult. Como puede apreciarse son todas bastante bajas, y habríamos por consiguiente de operar con disoluciones saturadas, para, aún así y teóricamente, obtener pequeños descensos en el punto de congelación. Se procedió, no obstante, y por simple curiosidad a realizar una determinación en benceno, resultando un valor totalmente dispar con los obtenidos en la técnica de Rast, y en desarmonía, también, con las restantes determinaciones realizadas de las que es posible deducir la magnitud molecular.

La técnica de Rast prestó, en esta ocasión, un magnífico servicio. Sin embargo, los valores menos dispersos y más acordes entre sí, se obtuvieron siguiendo una técnica que podemos calificar de semimicro.

La técnica para la determinación del peso molecular por el método de Rast, descrita por el profesor Gatterman (11) y que es la modificación de W. Münster, nos ha resultado siempre un tanto engorrosa en lo que al llenado del tubo de mezcla se refiere; Julius Grant (12) en su obra *Quantitative Organic Microanalysis*, basado en los métodos de Fritz Pregl, describe una técnica más cómoda de realizar, pero que tiene el inconveniente de que se hace necesaria la utilización de una microbalanza que nos permita apreciar la milésima de milígramo, ya que emplea pesos de 0,2 á 0,3 mgs de sustancia y 2 á 3 mgs de disolvente.

R. Belcher y A. L. Godbert en su *Semimicro Quantitative Organic Analysis* (13) hacen referencia a un semimicrométodo siguiendo las mismas técnicas de manipulación y llenado del tubo de mezcla que J. Grant, pero con el consiguiente aumento en el tamaño del material empleado, pesando 10 mgr de muestra y diez veces más de disolvente, con lo cual no se diferencia en absoluto del clásico método de Rast.



Creyendo, pues, llenar un bache en las determinaciones semimicro, hemos desarrollado un método que reúne, a nuestro juicio, bastantes ventajas sobre las técnicas anteriormente mencionadas.

Siendo necesario corrientemente para el trabajo en semimicroanálisis la pesada a la centésima de milígramo, podemos pesar una cantidad de sustancia de 2 á 3 miligramos, es decir, diez veces más que en el método micro, y en proporción adecuada el disolvente. Si consideramos en la fórmula:

$$P.M. = \frac{K \cdot w \cdot 1000}{W \cdot \Delta t}$$

(K = constante crioscópica; w = peso de sustancia; W = peso de disolvente)

los errores correspondientes para los pesos antes mencionados de sustancia y disolvente, obtenidos con una aproximación de  $\pm 0,02$  mgs son del 1 por ciento para la sustancia y del 0,1 por ciento para el disolvente, semejantes por tanto a aquellos que se obtienen por el método macro pesando diez miligramos de muestra exactamente hasta la décima de milígramo, y cien miligramos de disolvente en las mismas condiciones. Estos errores sumados al correspondiente de las lecturas termométricas hechas con la aproximación de  $\pm 0,3^\circ$ , por ejemplo en una depresión de diez grados alcanzan un valor total de + 4 % de error; dentro por tanto de los límites admitidos en esta determinación.

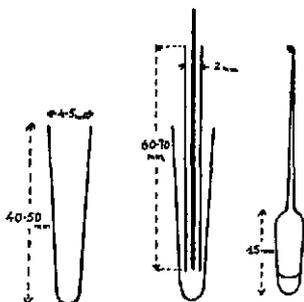
La técnica es en general totalmente semejante a la descrita por Grant y a la dada por Belcher y Goldbert como semimicro, con el consiguiente aumento o disminución del tamaño de los tubitos. Someramente se describe a continuación:

Son necesarios tubitos de paredes delgadas, de unos cinco centímetros de longitud y cuatro a cinco mm de diámetro, cerrados por un extremo, cuidando de no acumular vidrio en él. Tubitos de estas características se consiguen estirando tubos de ensayo corrientes.

Se taran colocados sobre un soporte, de vidrio o metálico, y la muestra se introduce en él con ayuda de un segundo tubito capilar de unos dos mm de luz. La sustancia, sobre un vidrio de reloj, se recoge presionando con este segundo tubito, el cual es introducido en el de mezcla, cuidando de no tocar las paredes, hasta cerca del fondo, y, con ayuda de una varillita maciza, es empujada la sustancia, de modo que se desprenda y pase al tubo de mezcla. Se vuelve a pesar y la misma operación se repite con el disolvente, pero usando para introducirlo un tubo algo mayor; se debe cuidar también de no tocar con el tubo ni las paredes ni la sustancia introducida con anterioridad.



Después de pesado por tercera vez se estira el tubo de mezcla con la microllama hasta conseguir un capilar que lo cierre y sirva para unirlo al termómetro.



Queremos, además, hacer notar un curioso artificio para dar consistencia y rigidez al capilar estirado. Este capilar resulta a veces demasiado delgado y frágil, corriendo, pues, el peligro de que por el empuje hidrostático del sulfúrico del baño se rompa, malográndose entonces la determinación. La manera de obviar este inconveniente es sencilla: el delgado capilar del tubito de mezcla se introduce en otro mayor y de paredes más gruesas, calentando a continuación con la microllama hasta fundir un pequeño trecho, de modo que ambos queden soldados, y estirando seguidamente con cuidado el nuevo vástago. Resulta esto mucho más sencillo y seguro de realizar que el intento de estirar un nuevo capilar por sitio distinto de la ampolla de mezcla.

La mezcla, después de fundida, alcanza una altura de tres o cuatro milímetros en el tubito, que es de tamaño análogo al bulbo del termómetro.

La técnica puede emplearse pesando unos cinco miligramos de muestra y la proporción correspondiente de alcanfor, si se dispone de una balanza corriente en la que por el método de las oscilaciones sea posible apreciar media décima de miligramo. En estas condiciones fué realizada por algunos alumnos de prácticas, llegando en el primer intento a valores bastante aceptables; mientras que por otros caminos no consiguieron resultados medianamente correctos.

Se ensayó con sustancias conocidas y puras que, a la vez que sirvieron para comprobar el método, lo fueron para comprobar la constante crioscópica del alcanfor, que fué el disolvente empleado. Se hicieron determinaciones con alfa-naftol, colessterina y acetato de colessterina. Los valores obtenidos para éstos, así como los encontrados para el chundris-terol, su acetato, benzoato y cetona son:

Sustancia	P.M. encontrado	P.M. calculado	Valor de K
alfa-naftol	140	144,16	40
colesterol anh.	378	386,64	40
acetato de colesterol	415 430	428,68	40
chundristerol	330 336		40
acetato de chundristerol	385 372		40
benzoato de chundristerol	440		40
chundristenona	338 344		40
cloruro de chundristerol	360		40

Todas las determinaciones se realizaron en alcanfor.

Peso molecular del chundristerol por crioscopía en becenó 390.

*Hidrógeno activo.*—A fin de tener una prueba más de la naturaleza del oxhidrilo alcohólico en la molécula de la sustancia que investigamos, y considerar o descartar la presencia en ella de algún otro agrupamiento portador de hidrógeno activo o capaz de adicionar magnesiano, se procedió a determinar el hidrógeno activo por el método de Tsugaeff-Zerewitinoff, siguiendo la técnica descrita por el profesor Gatterman, que nos pareció la más sencilla y adecuada, ya que la descrita por E. A. Braude y E. S. Stern resultó, según I. Ribas y F. Fraya (14) y (15), no tan precisa como afirman los primeros, y además más engorrosa, a nuestro parecer, en especial en una localidad como Murcia en la que las temperaturas en la mayor parte del año son lo suficientemente altas para que la tensión de vapor del éter influya más aún que en otros lugares.

Las determinaciones se hicieron empleando anisol, obtenido a tal fin. Se procedió, como en otras ocasiones, a un ensayo previo con una sustancia conocida, colesterol en este caso. Los valores obtenidos son:

Sustancia	% de hidrógeno activo	P.M. deducido
colesterol	0,263	380
chundristerol	0,294	340
chundristerol	0,298	335

Se dá el hidrógeno activo en tantos por ciento para calcular de él el peso equivalente para un hidrógeno activo y poder así comparar éstos con los pesos moleculares obtenidos en el método crioscópico de Rast.

De las disoluciones de anisol se recuperó el chundristerol sin alterar.

*Indice de acetilo.*—Se determinó la proporción de acetilo en la molécula del acetato de chundristerol siguiendo el método de Kuhn y Roth (16) adaptado a semimicrométodo (17). Para ello hubieron de introducirse ciertas modificaciones en lo que respecta al reactivo empleado en la saponificación, a fin de adaptarnos a las características de insolubilidad de la sustancia.

El valor obtenido en esta determinación está perfectamente de acuerdo con la presencia de un oxhidrilo alcohólico en la molécula.

$$\% \text{ de acetilo} = 11,24$$

A un peso molecular de 380 para el acetato (Rast), corresponden por tanto:

$$42,7 \text{ grs de acetilo} = \frac{42,7}{43,02} = 0,993 \text{ acetilos}$$

De estos últimos datos y de la existencia de los esteres citados resulta de manera clara la presencia de *un oxhidrilo alcohólico reactivo* en la molécula del chundristerol.

Los datos encontrados por nosotros para las constantes de la sustancia, así como los del acetato y peso molecular, difieren de los hallados por J. Gómez, estas diferencias pueden verse en la tabla siguiente:

	t <sup>a</sup> f.	t <sup>a</sup> f. acetato	Peso molecular	
			Rast	H activo
J. Gómez	192	215	360-352	—
Nosotros	215.5-216.5	234-236	330-336	335-340

Las diferencias en los puntos de fusión de la sustancia se deben a que, como antes dijimos, el compuesto de temperatura de fusión = 192° no es una sustancia pura y por la técnica seguida en la extracción resulta difícil superar esta temperatura, si no es pasando por intermedio de su acetato o benzoato.

La diferencia en las temperaturas de fusión de los acetatos, nos la explicamos porque el Dr. Gómez cristaliza de etanol, disolvente que determina una transesterificación.

Para comprobar esta explicación, realizamos varias cristalizaciones del acetato de temperatura de fusión 234-236, disolviéndolo en etanol, obteniendo así temperaturas de fusión variables, según el tiempo que se tenga en reflujo y la cantidad de alcohol empleada, semejantes a las dadas por J. Gómez.

### Naturaleza esteroide

*Reacciones de color.*—Tanto la sustancia que estudiamos, como su acetato, dieron las reacciones de color de los esteroides (las del ácido sul-

fúrico concentrado, de Salkowsky, Liebermann, Kägi-Miescher, Keller-Kiliani y Rosenheim). Por ser algunas de éstas comunes y parecidas a las de los triterpenos pentacíclicos, dependiendo además de las condiciones en que se hagan (18), se realizaron comparándolas experimentalmente con las del colesterol, su acetato y ergosterol. Comparadas con las que Villar Palasi (19) da para una serie de esteroides y triterpenos se aprecia una semejanza mayor con los primeros que con los últimos. Para poder realizar esta comparación con la suficiente garantía las reacciones se hicieron en idénticas condiciones a las dadas por este autor. A continuación, sin perjuicio de la total explicación del desarrollo de las reacciones en la parte experimental de este trabajo, resumimos los resultados obtenidos incluyendo, a título compartivo, varias de las reacciones dadas para algunos triterpenos, por el autor a que hemos hecho referencia.

Del análisis elemental y peso molecular se llega a una fórmula  $C_{24}H_{40}O$  para el alcohol,  $C_{26}H_{42}O_2$  para el acetato y  $C_{31}H_{44}O_2$  para el benzoato, como más probables.

Consultando en la bibliografía no se ha encontrado ninguna especie química que responda a las características halladas hasta ahora para esta sustancia; por ello nos hemos venido refiriendo a ella y la nombraremos de aquí en adelante con el nombre de chundristerol. A continuación damos una pequeña lista de aquellas sustancias próximas en su constitución y propiedades que hemos encontrado en la bibliografía. Las diferencias, como puede apreciarse, son lo suficientemente grandes para no pensar asimilar el chundristerol con cualquiera de ellas.

Sustancia	Fórmula	T <sup>a</sup> f	[ $\alpha$ ]	origen	Ob.
Alcornol	$C_{22}H_{34}O$	205°C	+33.8	corteza de Bowdichia Virgiloide	(20)
Kutkisterol	$C_{24}H_{40}O$	124°	-39	Picrorhiza Kurroca	(21)
Esterol	$C_{27}H_{48}O$	134°	-31.25	Corteza de Fagus Selvática	(22)
Desoxobufotalano	$C_{24}H_{40}O$	182-3			(23)

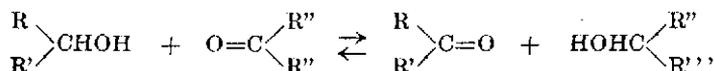
El primero es un compuesto clasificado entre los triterpenos pentacíclicos sin grandes pruebas, puesto que de él sólo se dan sus constantes y fórmula molecular, a la cual correspondería una estructura, supuesto triterpeno, de perhidropiceno con un doble enlace y sin ningún metilo. Por esto lo hemos incluido en la tabla, ya que podría igualmente tratarse de un esteroil.

### Naturaleza secundaria del -OH

*Oxidación por el método de Oppenauer.*—La oxidación de los alcoholes a los correspondientes compuestos carbonílicos se consigue en la

Sustancia	Sulfúrico	Salkowski	Lieberman	Keller-Kiliani	Kägi-Miescher	Rosenhein
Chundris-terol	amarillo + ↓ intensifica	amarillo→rojo + — incolora	amarillo + ↓ amar.-narj.	rojo + ↓ rojo pardo	—	—
Acetato de chundriste-rilo	amarillo + ↓ rojo-naranja	amarillo→narj. + — incolora	amarillo + ↓ amar.-narj.	+ id.	—	—
Colesterol	amarillo + ↓ rojo-naranja	flor-verde + — narj.-rojo	amarillo + ↓ rojo-narj.	+ id.	—	—
Acetato de colesterilo	amarillo + ↓ rojo-naranja	flor-verde + — rojo-verde	amarillo + ↓ rojo-narj.	+ id.	—	—
Ergosterol	amarillo + ↓ rojo-naranja	+ rojo — incolora	violeta + ↓ verde	+ violeta rojizo	+ verde amarillento	+ rojo-azul celeste
alfa-amirina	—	—	+ anaranjado	+ pardo verdoso	—	—
beta-amirina	—	—	+ rojo-violeta intenso	+ rojo amarillento	—	—
Euforbol	—	—	+ rosa azulado	—	—	—

serie de los esteroides por variados caminos, pero, para alcoholes secundarios, ninguno tan suave y unívoco como la oxidación de Oppenauer, basado en el equilibrio redox



en el que actúan de catalizadores alcohóxicos de aluminio (isopropilato, butilato terciario y fenato). Con este método se descartan cambios fundamentales en la estructura de la molécula y la reacción misma nos hablará de la naturaleza del oxhidrilo alcohólico.

Seguendo las indicaciones generales que C. Djerassi (24) da para la oxidación de alcohol secundario por el método de Oppenauer, se ensayó con acetona y butilato terciario de aluminio como catalizador; en el seno de benceno se obtuvo una cetona con escasísimo rendimiento de la que sólo fué posible obtener su temperatura de fusión y una pequeña cantidad de 2,4-dinitrofenilhidrazona. Utilizando isopropilato de aluminio destilado unos dos meses antes, ciclohexanona y como disolvente tolueno, después de hervir a reflujo durante dos horas, no se pudo aislar cetona, aunque el producto recogido mostraba una depresión en el punto de fusión respecto al alcohol original.

Según la indicación de C. Djerassi (25) resulta ventajoso almacenar el isopropilato de aluminio en disolución al 25-30 % en tolueno, por ello destilamos éste y lo recogimos sobre tolueno en cantidad suficiente para formar con el isopropóxido una disolución al 25 %. Se obtuvo, empleando esta disolución (después de calentar a reflujo durante dos horas y empleando ciclohexanona como oxidante y tolueno como disolvente), con un rendimiento del 20 % una cetona, idéntica a la obtenida con el isobutóxido (punto de fusión mixto) que cristaliza mal de metanol y de acetona lo hace en forma de agujitas mate que funden a 181-183°, en una segunda cristalización en el mismo disolvente se llega a una temperatura de fusión de 182-184°, que no aumenta en otras cristalizaciones, se formó la 2-4-dinitrofenil-hidrazona que funde a 247-248° a la segunda cristalización en una mezcla etanol-acetato de etilo.

Con un rendimiento del 55 % se obtuvo la cetona con los mismos disolvente, catalizador y oxidante que anteriormente, pero hirviendo a reflujo durante cuatro horas. En condiciones análogas y con parecidos rendimientos, Fermholz y Stavely (26) obtienen la estigmastanona, Serini, Késter y Strarberger (27), Wieland, Rath y Benend (28) la cimostona, etc.

El poder rotatorio específico resultó ser para esta cetona  $[\alpha]_D^{25} = +66,7$ . El peso molecular obtenido por la técnica de semimicro Rast descrita fué de 338-344. El análisis elemental coincide con el correspondiente a una fórmula  $\text{C}_{24}\text{H}_{38}\text{O}$ .

Se prepararon la 2-4-dinitrofenil-hidrazona, t.<sup>a</sup> de f. 247-248° C, semicarbazona, t.<sup>a</sup> f. 235-237°, y para nitrofenil-hidrazona, t.<sup>a</sup> f. 178° C.

El sólo hecho de oxidarse el oxhidrilo como se ha indicado, por el método de Oppenauer, nos lleva a atribuirle una característica de alcohol secundario, ya que alcoholes primarios sólo son oxidados por este método tomando especiales precauciones, puesto que los aldehidos que se producen se condensan fácilmente con la cetona utilizada en la oxidación (29).

Se preparó colestenona empleando casi la misma proporción de reactivos que Wieland, Rath y Benend (28) emplearon, pero se calentó durante cuatro horas en vez de dos, y se utilizó la disolución de isopropilato en tolueno, la cual resultó totalmente eficaz a pesar de ser la misma preparada unos dos meses antes. El rendimiento fué semejante al dado por estos autores, y semejante también al que obtuvieron Serini, Köster y Strassberger (227) empleando xileno como disolvente.

Tanto el isopropilato como el butóxido terciario de aluminio, los obtuvimos siguiendo, para el primero, el método dado por Wayne y Adkins (30), y para el segundo, el dado por A. L. Wilds (31), también se preparó el butanol terciario a partir de acetona y yoduro de metil-magnesio (32).

Hemos de hacer notar que, en la determinación de las temperaturas de fusión del chundristerol y derivados, se observa una opalescencia seguida de aglomeración de sus cristales poco antes de la fusión. Comportamiento similar lo tienen multitud de esteroides.

*Sustitución del oxhidrilo alcohólico por halógeno.*—Dos objetivos movieron a intentar la sustitución del —OH por halógenos. El primero, como índice de la capacidad reactiva del oxhidrilo, y el segundo, como paso intermedio en la deshidrogenación con selenio.

Del tratamiento con corriente de ácido bromhídrico seco el chundristerol en disolución saturada de acetona, se recupera al final de la operación (una hora), el alcohol sin alterar.

Hirviendo a reflujo la disolución de unos centigramos de chundristerol en alcohol con ClH c. durante dos horas y en presencia de una pequeña cantidad de cloruro de cinc, se recuperó igualmente el compuesto sin alterar.

Estas reacciones nos permiten descartar para el oxhidrilo ciertas posiciones del núcleo fundamental de los esteroides en las que se muestra especialmente afectado por los hidrácidos y que a la vez muestran una gran inercia a la acetilación: tales son las posiciones 11 y 17. Ello está perfectamente de acuerdo con la facilidad con que se consiguen los esteres orgánicos del chundristerol. El resultado negativo de los tratamientos

con hidrácido, a más de ser un índice de la falta de reactividad del enlace doble, que, como se verá, existe en la molécula del chundristerol, parece, además, descartar la existencia de un acoplamiento alílico entre oxhidrilo y enlace etilénico.

Como paso intermedio hacia la deshidrogenación, se intentó preparar el cloruro. Para tener una idea del desenvolvimiento de la reacción, preparamos antes el cloruro de colesterol, utilizándolo a tal fin después de seco a vacío y empleando como reactivo cloruro de tionilo. La reacción transcurrió de manera más suave que indican Diels y Bumber (33), pues no se observó ennegrecimiento alguno, siendo el rendimiento obtenido semejante al dado por estos autores. Mejor rendimiento se consiguió, empleando mucho menos tiempo, calentando suavemente, al baño de maría, hasta que cesó el desprendimiento de gases.

Tanto en el primero como en el segundo caso hubo de emplearse una mayor cantidad de reactivo que la que indican Diels y Bumber, para conseguir la disolución total.

El cloruro de tionilo se preparó a partir de anhídrido sulfuroso y pentacloruro de fósforo obtenido también en el Laboratorio.

El cloruro de chundristerol, sin embargo, no nos fué dado obtenerlo por los caminos antes indicados; se obtuvo operando en esas condiciones una resina negra bastante insoluble en la mayoría de los disolventes corrientes, el mejor de todos resultó ser una mezcla de alcohol-benceno, pero de ella no se separó cristal alguno.

Tampoco se consiguieron resultados positivos operando en disolución bencénica ni en clorofórmica.

De éter anhidro se separan unos cristales de temperatura de fusión 142,4-144° cuyo peso molecular por Rast fué de 360; dichos cristales parecen tratarse de un derivado monoclorado. La poca cantidad obtenida hasta ahora de este cloruro de chundristerol no nos ha permitido continuar hacia conseguir la deshidrogenación.

### **Otros agrupamientos en la molécula de chundristerol**

El chundristerol, así como su acetato, reaccionan con disolución de bromo, en tetracloruro de carbono, quedando neutra la disolución al final de la reacción, si bien no se consiguieron productos definidos y característicos.

Decoloran lentamente, tanto el chundristerol como su acetato disueltos en acetona, la disolución de permanganato potásico en el mismo disolvente. Simultáneamente se llevaron ensayos con colesterol, no diferenciándose grandemente con los anteriores en el tiempo de reacción. No

se separaron los productos pues se realizó como criterio cualitativo.

También el chundristerol y su acetato reaccionan con el ácido perbenzoico adicional 1,1 átomos de oxígeno en las condiciones que se (34) consideran como óptimas operando con disolución clorofórmica de perbenzoico. De las disoluciones de cloroformo del acetato se aísla un compuesto que presenta una temperatura de fusión de 250° C. Si la concentración en perbenzoico es mayor, el gasto de éste, operando a 5°, llega a ser equivalente a 1,2 átomos de oxígeno; valor que se alcanza al final de seis horas, como en el caso anterior.

La hidrogenación catalítica empleando óxido de platino, no se ha conseguido realizando la operación en los siguientes disolventes: éter, alcohol más acético, acetato de etilo, éter más acético y acetato de etilo más acético, y operando a la temperatura del laboratorio y con solo una ligera sobrepresión (treinta centímetros de altura de agua). En estas condiciones la hidrogenación del colesterol se consigue fácilmente al cabo de unas cuatro horas.

El catalizador se preparó según las indicaciones que R. Adams, V. Voorhees y R. L. Shriner (35) dan, pero empleando nitrato potásico en vez de nitrato sódico que, según Coock y Linstead, es más conveniente en orden a conseguir una mayor actividad del catalizador.

Por oxidación suave con anhídrido crómico en benceno y ácido acético, condiciones en las que hay que proteger el enlace doble de la colesteroína para obtener  $\Delta^4$  colestenoína (36) obtenemos nosotros la misma cetona preparada por los métodos antedichos (Oppenauer y óxido de cobre). La temperatura de fusión de la cetona obtenida aquí, no difiere en absoluto con las de los otros métodos, así como tampoco la de la 2,4-dinitrofenil-hidrazona.

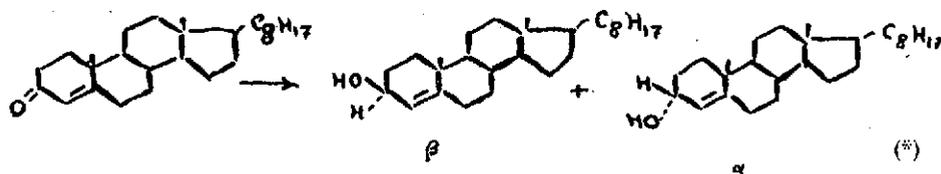
La oxidación en condiciones más enérgicas, empleando anhídrido crómico en acético y ácido sulfúrico concentrado, nos lleva a un producto insoluble, tanto en sosa como en éter, y que tiene un aspecto de resina, el cual no nos ha sido posible caracterizar.

*Reacción con la digitonina.*—Constituye la reacción con la digitonina un excelente medio de caracterización de todos aquellos esteroides portadores de un oxhidrilo alcohólico en la posición 3-beta. Realizada sobre el compuesto que se investiga, resultó ser negativa empleando dos técnicas operatorias distintas (en alcohol absoluto y en alcohol del 96 %).

Para descartar o considerar la posición 3 como localización del oxhidrilo, realizamos también la reacción de la digitonina con el producto de reducción de la chundristenoína por el método de Merwein-Ponndorff-Verley, resultando igualmente en este caso negativo el ensayo.

Lógicamente la reducción de Merwein-Ponndorff-Verley de la chun-

dristenona debe conducir a los dos alcoholes epímeros correspondientes, como ocurre en el caso de la  $\Delta^4$ -colestonona,



y en consecuencia el producto de reducción, caso de ser el carbono 3 el portador de la función carbonilo, debe darnos la reacción de precipitación del digitónido.

La reducción por el método de Merwein-Ponndorff-Verley la realizamos siguiendo las indicaciones generales que A. L. Wilds dá para el caso de cetonas difícilmente reducibles, empleando isopropilato de aluminio en tolueno y alcohol isopropílico. A pesar de que se destiló hasta reacción negativa en el destilado, con la 2-4-dinitrofenil-hidrazina, por cristalización en alcohol del producto sometido a la reducción, se recuperó parte de la cetona empleada, no siendo posible aislar los correspondientes alcoholes a causa de la pequeña cantidad utilizada. El producto cristalizado de las aguas madres mostró una temperatura de fusión menor que la de la cetona y poco definida (160-166° C); este fué el producto empleado en la reacción con la digitonina.

*Reacción de Kishner sobre la semicarbazona de la chundristenona.*— Tratando de encontrar un nexo entre el chundristerol con algún otro esteroide o derivado conocido, se intentó reducir la cetona por el método de Kishner empleando para ello la semicarbazona. La operación se efectuó siguiendo las indicaciones que D. Todd (37) da para esta reacción. La reacción no se consiguió calentando a 200-210° y a vacío. En estas condiciones fué recuperada parte de la cetona, único producto que destiló y la cual mostró tener la misma temperatura de fusión que la obtenida por cristalización.

Tampoco se consiguieron resultados positivos calentando a 350° a la presión atmosférica durante ocho horas; al hacer el vacío se separó, de igual forma que en el primer caso, una sustancia que resultó ser idéntica a la chundristenona.

Si bien nada nuevo nos dicen estos intentos infructuosos de reducción, sirven, al menos, como una prueba más de que estamos en presencia de una especie química pura.

(\*) La línea gruesa indica que el radical está situado por encima del plano del papel, la punteada que lo está por debajo.

### Probable fórmula estructural del chundristerol

*Determinaciones físico-químicas sobre el chundristerol y su cetona.*—

Buscando pruebas físico-químicas que faciliten el camino en la total dilucidación de la estructura del chundristerol, determinamos polarográficamente la onda de reducción de la chundristenona en comparación con la de la colestenoona (obtenida según en su lugar dejamos indicado). De ella se obtienen los P. O. M.  $-0,641$  para la chundristenona y  $-0,645$  para la colestenoona, en disolución del alcohol isopropílico y  $-0,630$  para la chundristenona y  $-0,675$  para la colestenoona en disolución de etanol. Los valores del potencial de onda media difieren aparentemente de los dados por Adkins y F. W. Cox (38) y por Adkins, R. M. Eloffson, A. G. Rossow y C. C. Robinson (39) para la colestenoona y en general de los recogidos por Kolthoff y Lingane (40) para las cetonas esteroideas alfa-beta no saturadas, tales como: testosterona, progesterona, corticosterona, desoxicorticosterona, estigmastenona, etc., por haber realizado las medidas de potencial, en nuestro caso, empleando como ánodo el «pozo» de mercurio y no el electrodo de calomelanos al que se refieren normalmente los P. O. M. en la literatura.

De cualquier forma el interés de estos datos estriba en la enorme semejanza, que, de forma clarísima, existe entre los potenciales de onda media de la chundristenona y la  $\Delta^4$ -colestenona, lo cual es una prueba más de la existencia del enlace doble en la molécula del chundristerol, y nos afirma en la idea de que éste es un esteroide en el que se hace necesario suponer, para la cetona correspondiente, un agrupamiento semejante a aquel de la  $\Delta^4$ -colestenona, esto es: una cetona alfa-beta no saturada cíclica.

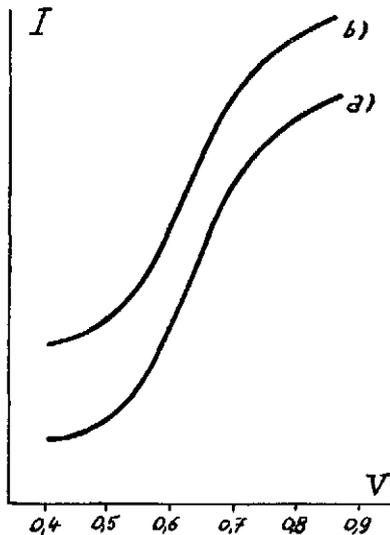


Empleando la técnica polarográfica con oscilógrafo de rayos catódicos propuesta por J. Sancho y R. Rodríguez (41), J. Sancho y A. Arévalo (42), que se sigue en los laboratorios de Química-Física de la Facultad de Ciencias de Murcia, hemos comprobado, con carácter complementario, que la reducción del grupo carbonilo en estas cetonas esteroideas, tanto en la chundristenona como en la  $\Delta^4$ -colestenona, ocurre a través de un proceso electrónico irreversible, lo que avala nuestra anterior suposición.

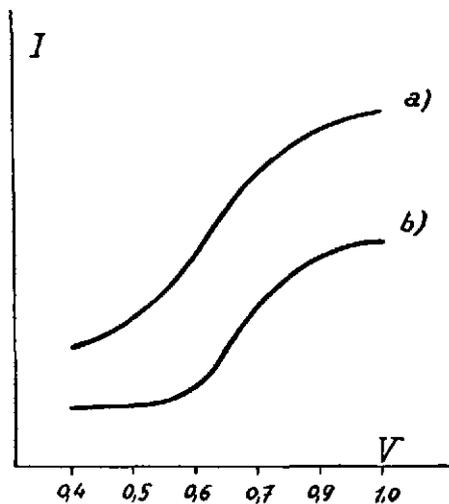
Por otra parte, el espectro de absorción en el U. V. nos confirma el



## POLAROGRAMAS

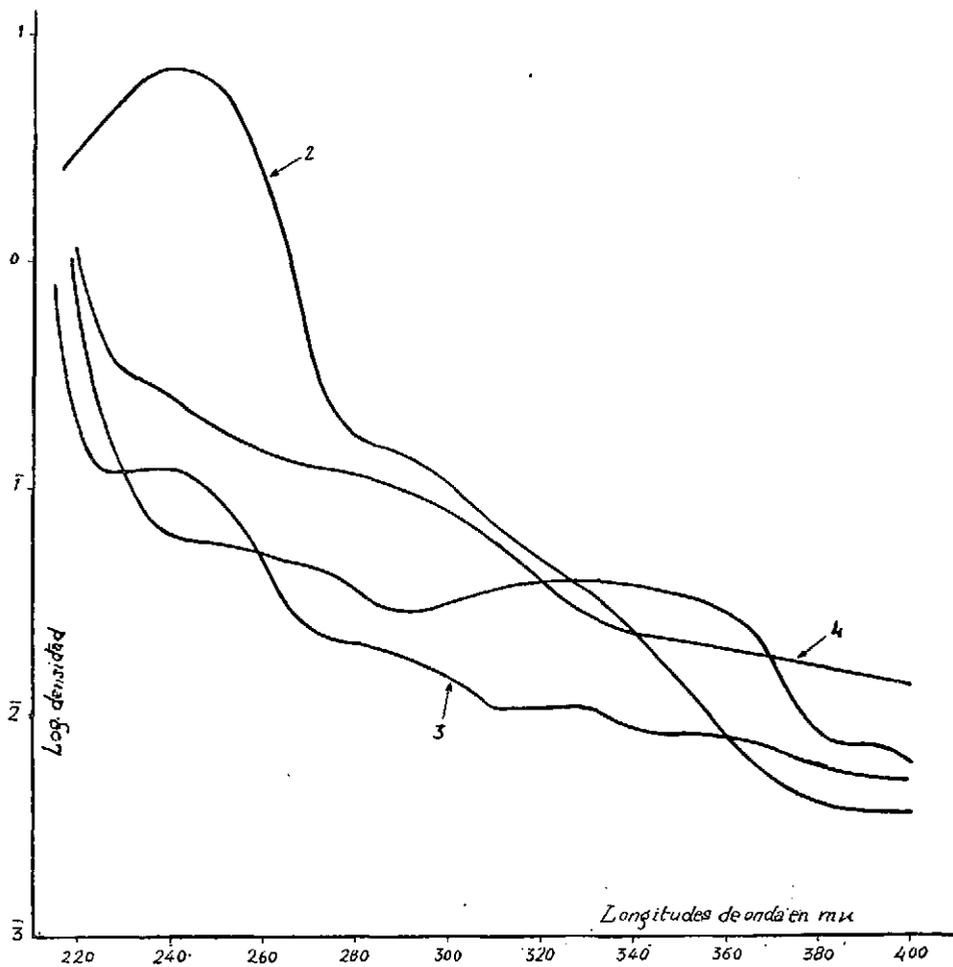


- a) Polarograma de la Chundristenona.  
 b) Polarograma de la Colestenona.  
 Disolución fondo:  $\text{CINH}_4$  0,1 N en alcohol isopropilico



- a) Polarograma de la Chundristenona.  
 b) Polarograma de la Colestenona.  
 Disolución fondo:  $\text{CINH}_4$  0,1 N. en alcohol etilico.





TRANSMITANCIA. EN EL ULTRAVIOLETA DE:

1) Chundristerol. 2) Colesstenona. 3) Chundristenona. 4) Colesterol.

carácter de cetona cíclica alfa-beta no saturada. Como puede apreciarse, en él, existe un máximo a 242 m $\mu$ . característico del agrupamiento ceto-alfa-beta-etilénico cualquiera que sea su posición en la molécula.

Del espectro de absorción en el U. V. del chundristerol se deduce la ausencia en él de cualquier otro agrupamiento que presente máximos característicos en esta región del espectro.

*Discusión de los resultados.*—A lo largo de la exposición que se lleva hecha, se han ido indicando algunas de las conclusiones que deducimos de las experiencias realizadas. A fin de darle una mayor unidad y detenernos en algunos puntos, se hace a continuación una discusión conjunta de los resultados obtenidos.

De las reacciones de color, peso molecular, hidrógeno activo, análisis elemental y obtención de ésteres, se infiere la naturaleza esteroide del compuesto que se estudia, el cual posee un grupo oxhidrilo reactivo y tiene una fórmula molecular más probable de C<sub>24</sub>H<sub>40</sub>O.

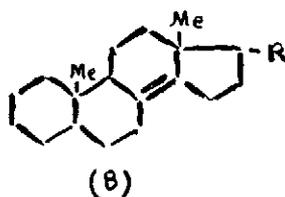
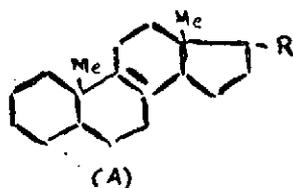
El carácter reactivo del oxhidrilo alcohólico, nos permite excluir para él, ciertas posiciones en el núcleo fundamental de perhidro-1-2-ciclopentano-fenantreno, tales como la posición 11 (43) y la 17 (44) y considerar como poco probable la 16 (45).

Las posiciones 11 y 17 quedan también descartadas por los resultados obtenidos en el tratamiento con hidrácidos, ya que en ellas se consigue con facilidad una deshidratación (46) en las condiciones del ensayo.

La oxidación por el método de Oppenauer claramente permite asignar al carbono portador del oxhidrilo alcohólico una naturaleza secundaria (47)

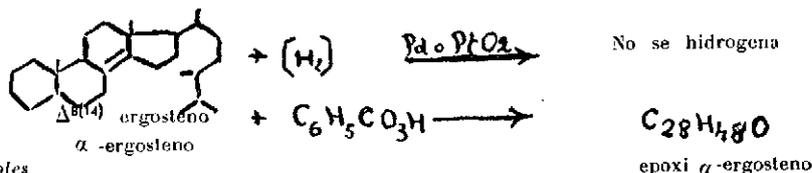
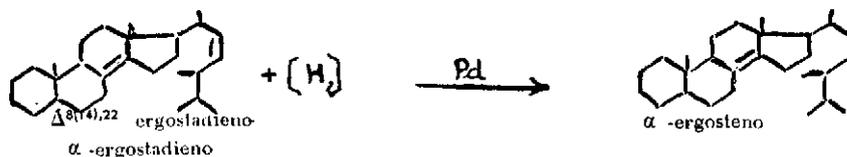
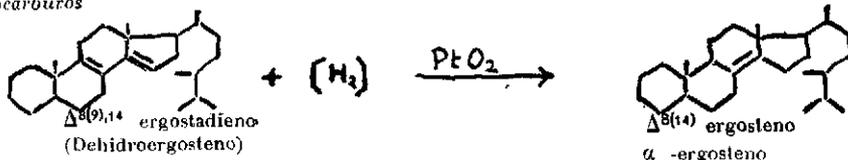
La onda polarográfica de reducción de la cetona, la semejanza en su proceso de reducción con el de la  $\Delta^4$  colesteno, así como el máximo de absorción a 242 m $\mu$  que presenta su curva en el ultravioleta, son características de una conjugación entre el enlace carbonílico y el enlace etilénico. Los ejemplos en la bibliografía son tan numerosos que se renuncia a hacer una referencia de ellos.

La resistencia a la hidrogenación, así como la dificultad de oxidación, nos parece indicar la existencia en la molécula de un enlace doble inactivo. Tales enlaces, se encuentran en el núcleo fundamental de los esteroides en las posiciones 8-9 y 8-14.

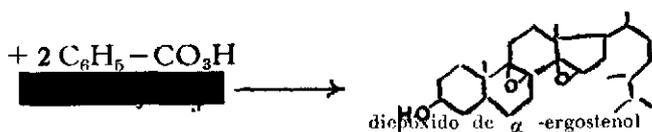
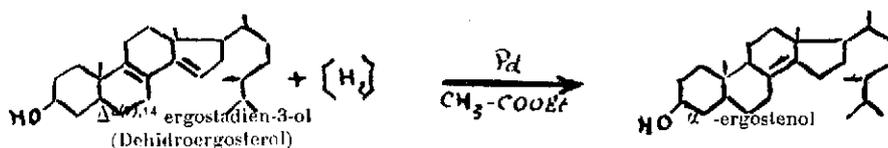
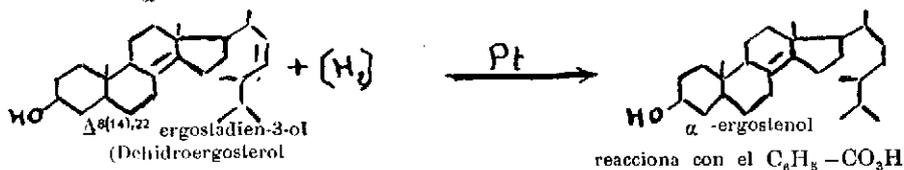
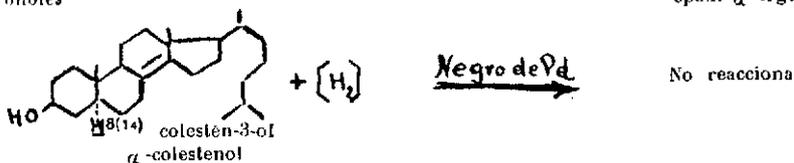


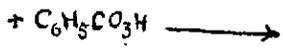
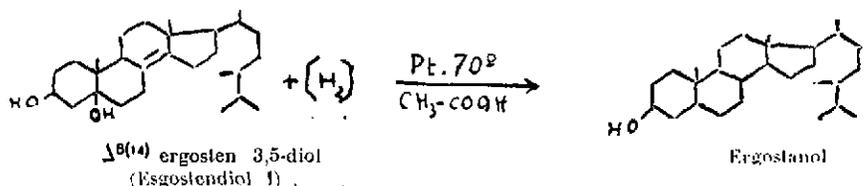
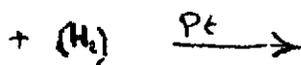
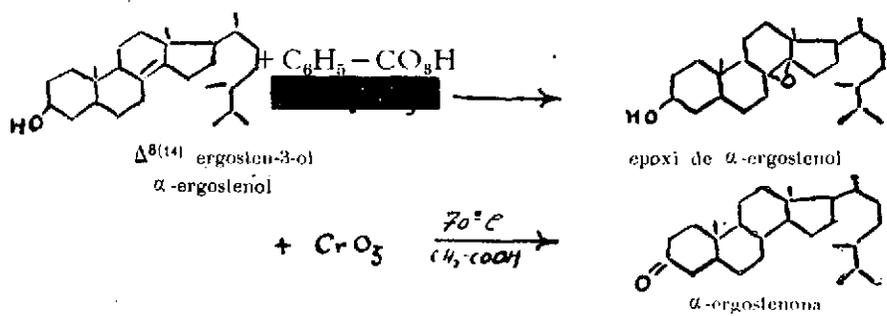
Invariablemente, en todos los esteroides con el doble enlace en una u otra posición, se observa una inercia para saturarse con hidrógeno en presencia de catalizadores de Pt, sus oxhidrilos son oxidados al correspondiente carbonilo por anhídrido crómico sin necesidad de una protección del enlace etilénico pero reaccionan bien con el ácido perbenzoico. A título de ejemplo citamos a continuación varios de ellos (48 y 49):

*Hidrocarburos*

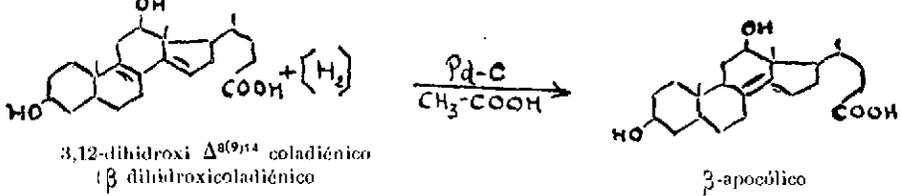
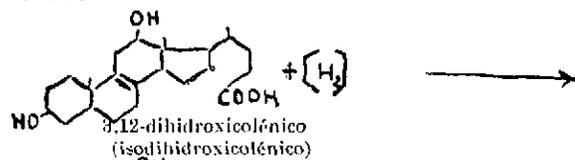


*Alcoholes*





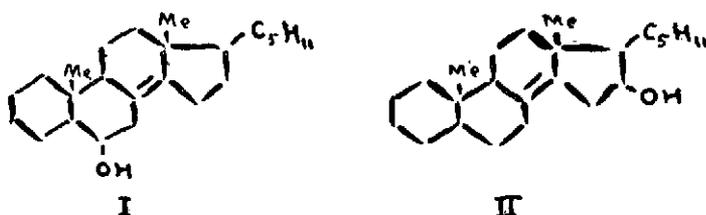
Acidos



Si admitimos como poco probable la conjugación alílica entre doble enlace y oxhidrilo alcohólico, para explicarnos el carácter de cetona conjugada de la chundristenona, hemos de admitir una emigración del enlace etilénico, semejante a la que de modo general se produce en los esteroides 3-hidroxi- $\Delta^{5(6)}$  no saturados; lo cual no sería insólito, pues aparte de los numerosos ejemplos en la serie esteroide, ha sido observada en múltiples compuestos con ciclos hexagonales condensados, no pertenecientes a la dicha serie, Sorm y Dykova (60) citan también un ejemplo en el que la emigración se produce entre ciclo pentagonal y hexagonal.

La posición 3 para el oxhidrilo, debe ser descartada, porque ni el chundristerol, ni el producto de reducción de su cetona dan la reacción de precipitación con la digitonina.

Estructuras moleculares correspondientes a las anteriores deducciones y supuestos poseerían una de las fórmulas:



De ellas la segunda sería menos probable, pues el oxhidrilo en la posición 16 muestra cierta inercia a la acetilación, por ejemplo en la tetrahidrosarsapogénina (50), mientras que la obtención del acetato de chundristerol se consigue con facilidad.

Si bien las fórmulas anteriores no pueden considerarse, en ningún momento, como definitivas, pueden, sin embargo, servir de hipótesis de trabajo en investigaciones posteriores.

## II

## PARTE EXPERIMENTAL

*Algunas características del producto de partida.*—El látex que la Chundrilla juncea segrega puede fácilmente recogerse coagulado en su base y raíces. En el comercio este producto es conocido con el nombre de «ajonje» y se emplea en la preparación de una liga para cazar pájaros. El ajonje presenta un aspecto desagradable y se encuentra mezclado con tierra y trozos del tallo y raíces de la planta.

El producto que empleamos en nuestro trabajo fué en una ocasión recolectado por nosotros en terrenos del campo de Blanca (Murcia) y en otras adquirido en el comercio.

El producto se libera de la tierra y raíces que lo acompañan, hirviéndolo, unas veces, con agua y otras con disolución de sosa comercial al 20-30 %. Se separan de esta forma en la superficie pequeñas bolitas que son retiradas fácilmente con un colador de cocina. El tratamiento se continuó hasta conseguir un material blanco de aspecto parecido a la goma y formado por una aglomeración de pequeñas bolitas.

*Determinación de las resinas solubles en acetona.*—Se realizó siguiendo la marcha general para los productos cauchíferos. Esta es:

- a) Secar el producto hasta peso constante.
- b) Pesar el producto.
- c) Extracción en Soxhlet durante ocho horas.
- d) Peso de residuos solubles después de la extracción.

El material laminado se colocó en una tela de batista, arrollando después ésta.

*Análisis 1.º*

Sustancia pesada . . . . .	5.7420 gr
Peso de residuos solubles después de la extracción . . . .	2.9858 »
Proporción de resinas . . . . .	52 %

*Análisis 2.º*

Sustancia pesada . . . . .	6.7024 gr
Peso de residuos solubles. . . .	3.5775 »
Proporción de resinas . . . . .	53.2 %

*Disolución del hidrocarburo.*—Utilizamos el método de Korner fundado en la precipitación del poliisopreno como nitrósito por adición de anhídrido nitroso. Para ello la disolución en benceno del residuo de extracción de resinas (es decir, la porción insoluble de acetona) con la concentración del 1 %, se satura con una corriente de anhídrido nitroso.

La corriente de anhídrido nitroso se logra calentando suavemente dos partes de anhídrido arsénico y una parte de almidón, y agregando por un tubo de bromo gota a gota ácido nítrico de 1,4 de densidad. Para desecar el gas desprendido se hace pasar por una torre de desecación que contiene anhídrido fosfórico; a continuación de la torre se coloca un kitasato, para evitar absorciones, cuyo tubo lateral se liga al de llegada al matraz con la disolución bencénica, de forma que la porción vertical de dicho tubo puede separarse del resto, para pesarlo antes y después de la operación, ya que a él queda siempre adherido nitrósito.

Se continúa pasando anhídrido nitroso hasta saturación, lo cual se conoce en que llevando el líquido a la nevera persiste a las 24 horas su color verde.

El caucho que contenía el extracto se ha precipitado al estado de nitrósito.

Al cabo de algún tiempo de enfriamiento, todo el nitrósito se reúne espontáneamente en el fondo del matraz. Luego de decantar el benceno sobre un filtro y de lavar varias veces con benceno, hasta que no pase coloreado, se dejan secar matraz, filtro y tubo aductor. Después de secos se lavan con éter, se colocan en desecador de vacío y se pesan. Se hacen varias pesadas hasta peso constante. Disolviendo el nitrósito con acetona varias veces y dejando secar en las mismas condiciones que antes, y pesando de nuevo, se tiene el peso de nitrósito por diferencia, que multiplicando por la constante 0,47 dá el hidrocarburo.

*Primer análisis:*

Producto inicial . . . . .	6.8426 gr
Residuo disuelto en benceno. . . . .	3.3212 »
Peso de nitrósito obtenido impuro. . . . .	6.3060 »

Impurezas no solubles en acetona. . . . .	0.0768 »
Nitrósito puro . . . . .	6.0768 »
Peso de hidrocarburo equivalente . . . . .	2.9277 »
% con relación al producto inicial . . . . .	42.00 %
% con relación al residuo soluble en benceno. . . . .	88.15 %

*Segundo análisis:*

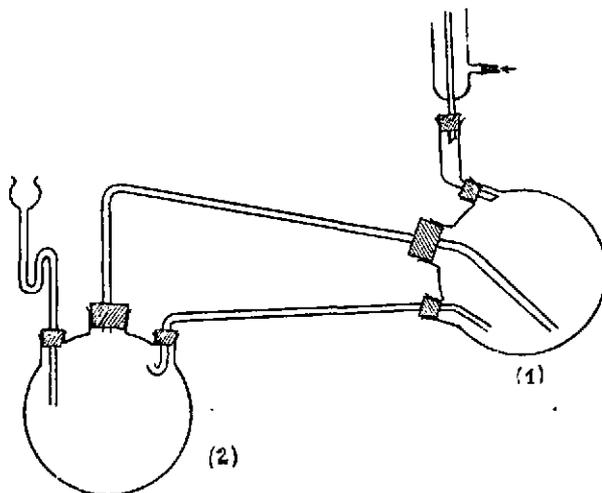
Producto inicial. . . . .	6.7024 gr
Peso de nitrósito impuro . . . . .	5.5960 »
Residuo disuelto en benceno . . . . .	3.1250 »
Impurezas no solubles en acetona-cloroformo. . . . .	0.0000 »
Peso de nitrósito puro . . . . .	5.5960 »
Peso de hidrocarburo equivalente . . . . .	22.7291 »
% con relación al producto inicial. . . . .	40.73 %
% con relación al producto disuelto en benceno. . . . .	87.33 %

**Chundristerol**

*Aislamiento.*—Se siguieron dos caminos:

a) Extracción de la resina y posterior saponificación del extracto.

Se extrajo el ajonje con alcohol de 95 %, en caliente durante doce horas, en un extractor constituido por dos matraces de tres bocas, con



conducciones para el vapor del disolvente y para éste con el producto extraído, así como un refrigerante y tubo de seguridad. De 300 grs del material purificado previamente, se obtuvieron al enfriar el alcohol unos 25 grs de un polvo que se separó por filtración y unos 30 grs de una resina. Continuando la extracción no se obtuvo más producto. El polvo se



saponificó con KOH al 5 % (200 cc) durante 2 horas, se vertió agua fría, filtró y disolvió en 500 cc de alcohol. Al enfriar precipitaron unas agujitas que, constituyendo agrupaciones radiales, embebían el disolvente y después de filtradas y secas fundían a 175° C. En cuatro cristalizaciones sucesivas en la misma cantidad de disolvente se consiguieron agujas perfectamente cristalinas que fundían a 192-194°. No se consiguió elevar esta temperatura de una manera apreciable en las siguientes cristalizaciones, quedando su peso reducido a unos 4 gramos.

b) Extracción y saponificación simultáneas. Un kilogramo de ajonje purificado se trató con cuatro litros de disolución alcohólica de KOH al 5% durante cuatro horas. Decantamos el alcohol aún caliente y al enfriar precipitó una masa blanca, constituida por un polvo impalpable, que filtrada reduce extraordinariamente su volumen. En tres extracciones sucesivas se logró agotar el producto, obteniéndose un total de unos 300 grs en polvo y unos 200 de resinas. Con el método anterior se cristalizó de alcohol, siendo la temperatura de fusión en la primera cristalización de 178°. En tres cristalizaciones sucesivas se llega a la temperatura de 192° que lentamente aumenta en otras cristalizaciones hasta alcanzar el valor de 215,5-216,5° después de doce o trece cristalizaciones. Por cada 50 grs se emplearon en las distintas cristalizaciones 1.500 cc de alcohol de 95%. El peso total del producto final fué de unos 10 grs. Acetilado el resto del producto obtuvimos unos 4 grs de acetato de t.<sup>a</sup> de f: 234-236°.

El producto de temperatura de fusión 215,5-216,5° se recrystalizó de 200 cc de acetona, obteniéndose la misma temperatura de fusión; igual ocurrió cristalizando de 500 cc de metanol y en otra de 100 cc de acetato de etilo.

1,459 grs se secaron a la estufa durante una hora a 110° observándose sólo una pérdida de peso de 0,0013 grs y ninguna variación en su temperatura de fusión y aspecto general. El mismo, en el desecador de Abderhalden a 5 mm de Hg de presión y 100° C no experimentó variación alguna en su peso ni en su punto de fusión. Este mismo se cristalizó de alcohol absoluto (450 cc) y de éter seco, no apreciándose tampoco variación en su temperatura de fusión.

*Poder rotatorio específico del producto de t.<sup>a</sup> f. 192°*

1,043 grs en 25 cc de cloroformo producen una desviación de 5,5° empleando un tubo de 2 dm.  $[\alpha]_{D}^{20} = + 65,7$ .

*Poder rotatorio del producto de t.<sup>a</sup> f. 215,5-216,5°*

1,142 grs en 25 cc de cloroformo producen una desviación de 7,525°, empleando tubo de 2 dm.  $[\alpha]_{D}^{22} = + 82,3$ .



*Solubilidad del Chundristerol*

Disolvente	grs.	ml.	grs. %
Benceno	0,168	9	2,16
Bromoforno	0,194	5	3,89
Acetofenona	0,144	13	1,1
Dimetil-anilina	0,207	13	1,6

*Crioscopia en benceno*

Peso de Ch-ol	Benceno	Depresión	Peso molecular
0,2610	15 grs.	0,22	390

*Peso molecular por el método de Rast*

Comprobación previa:

Sustancia	Peso sustancia grs.	Alcanfor grs.	Depresión	P. M.
Alfa-naftol	0,00232	0,02660	24,9	140
Colesterol seco	0,00184	0,02056	9,5	378
Acetato colesterol	0,00208	0,02114	9,5	415
»	0,00213	0,02026	9,8	430

*Peso molecular del Chundristerol:*

Peso de Ch-ol	Peso Alcanfor	Depresión	Peso molecular
0,00128	0.01638	9,4	330
0,00340	0,03542	11,3	336

*Análisis elemental del Chundristerol*

Peso muestra	H <sub>2</sub> O	CO <sub>2</sub>	H %	C %
(*) 3,798 mg	3,878	11,644	11,43	83,63
(*) 4,149 »	4,174	12,714	11,26	83,60
(*) 3,937 »	4,000	12,105	11,37	83,87
18,97 »	19,49	58,20	11,49	83,72
22,00 »	23,05	67,54	11,73	83,78
Calculado para una fórmula C <sub>27</sub> H <sub>46</sub> O			11,70	83,65

*Hidrógeno activo por el método de Tsugaef-Zerewitinoff*

Se realizó una comprobación previa del método, utilizando colesterol seco a vacío.

Peso colesterol	vol. CH <sub>4</sub> en C. N.	H act. %	P. M.
grs 0,2658	15,6 ml	0,263	380
			Peso molecular del colesterol . . 386,6

La determinación se realizó, utilizando yoduro de metil-magnesio en anisol. Determinaciones sobre el chundristerol. Se emplearon las mismas condiciones que en la anterior:

(\*) Corresponden estos datos, a determinaciones realizadas por el Laboratorio de Microanálisis del Instituto Alonso Barba.



Peso en Ch-ol	vol. de CH <sub>4</sub> C. N.	H act. %.	P. M.
0,1764 grs	12,4 ml	0,313	319
0,1690 »	11,3 »	0,298	335
0,1050 »	7,2 »	0,294	340

### Obtención de anisol

Se preparó el anisol necesario en las determinaciones de hidrógeno activo, a partir de fenol y sulfato neutro de metilo, según el procedimiento dado por C. S. Hiers y F. D. Hager (51). Se emplearon 235 grs (2,5 moles) de fenol en las dos adiciones y 156 grs (118 ml, 1,25 moles) de sulfato de dimetilo; ambos adquiridos en el comercio. La extracción se hizo con éter en vez de benceno, recogién dose 200 grs de la fracción que destiló a 154-156° (t.<sup>a</sup> eb. del anisol = 155° C.).

El anisol se secó manteniéndolo sobre sodio hilado durante un día y destilado a continuación sobre sodio. La comunicación con la atmósfera del aparato de destilación se protegió con un tubo lleno de cloruro cálcico.

### Preparación del magnesiano

El ioduro de metilo se preparó a partir de metanol, iodo y fósforo rojo.

En la obtención del ioduro de metilmagnesio se siguió el camino dado por Gatterman-Wieland (52). El nitrógeno, que se emplea para arrastrar el ioduro de metilo en exceso, se hubo de purificar, pasándolo por un frasco lavador que contenía pirogalol.

### Acetato

*Obtención.*—Se preparó el acetato siguiendo tres caminos diferentes:

a) Con anhídrido acético. Se siguieron en líneas generales el método de obtención del acetato de colesterilo (53): Un gramo de Chundristerol se disolvió en 6 ml de anhídrido acético y se hirvieron a refluj o durante una hora. Al enfriar se separó una masa blanca que se filtró a vacío exprimiéndola bien. Después de malaxada con alcohol se filtra y exprime de nuevo y se lava con más alcohol hasta librarla del anhídrido acético. Se cristalizó de acetato de etilo: en dos cristalizaciones se llegó a un punto de fusión de 234-236° C que no aumenta por otra cristalización en acetato de etilo y acetona. Cristaliza el acetato de ambos disolventes en láminas brillantes y de regular tamaño. Obteniéndose 0,8 g del producto puro.

b) Con cloruro de acetilo: 0,6 g de Chundristerol se disolvieron en 10 ml de piridina pura añadiendo a continuación lentamente y enfriando 10 ml de cloruro de acetilo. Después de frío totalmente se vertió en agua; el precipitado se filtró con succión y malaxó con agua caliente. El producto obtenido tiene un color rojo intenso que pierde después de decolorarlo con carbón activo disuelto en acetato de etilo. Separado por

filtración en caliente el carbón activo, precipita al enfriar una masa de cristales diminutos que funden a 225-226°. En dos cristalizaciones sucesivas en acetato de etilo se llega a un producto de idéntica temperatura de fusión al obtenido en el método anterior. El punto de fusión mixto no manifestó depresión alguna. Se obtuvieron de esta forma 0,1 g del acetato.

c) Con ácido acético: a 1 g de Chundristerol disuelto por calentamiento en acético glacial se le pasó corriente de clorhídrico seco durante dos horas, la disolución se ennegrece, vertida sobre agua aparece un precipitado blanco, que filtrado, lavado y cristalizado de acetato de etilo da cristales tabulares semejantes a los de los métodos anteriores y funde a 216-218° C. A la tercera cristalización de acetato de etilo el punto de fusión es idéntico al de los acetatos obtenidos por los otros métodos anteriores. El punto de fusión mixto no muestra depresión. Se obtuvieron 0,5 g del acetato puro.

#### *Obtención del acetato del producto de t. f. 192° C*

Siguiendo los mismos métodos y proporciones que para el de t. f. 215,5-216,5°, se llegó cristalizando de acetato de etilo al mismo producto de t. f. 234-236° que anteriormente. El p. f. mixto fué igualmente 234-236° C. Saponificando 1,2 g de éste con 25 ml de KOH alcohólica al 5 %, se obtuvo el compuesto de t. f. 215,5-216,5, el p. f. mixto no mostró depresión alguna.

La única diferencia observada en la obtención del acetato a partir del producto de t. f. 192°, con el de t. f. constante es la menor proporción de éster puro que se obtiene.

#### *Cristalización en alcohol del acetato*

0,2 g del acetato de t.<sup>a</sup> f. constante se disolvieron en 40 ml de alcohol etílico hirviéndose a continuación a reflujo durante una hora, cristaliza al enfriar la disolución en tablas cristalinas que funden a 220-222° C.

Calentado en el mismo disolvente durante dos horas, la temperatura de fusión baja a 213-215° C. Un p. f. mixto con el acetato de partida muestra un valor 225-227° C.

#### *Poder rotatorio específico del acetato en disolución clorofórmica*

0,333 g en 25 ml de cloroformo producen una rotación de + 2,28° en tubo de 2 dm  $[\alpha]_D^{20} = + 85,5$ .

*Poder rotatorio del acetato en disolución de acetona*

0,404 g en 25 ml de cloroformo,  $\alpha = + 0,65^\circ$  en tubo de 2 dm  $[\alpha]_D^{25} = + 55$ .

*Peso molecular del acetato por el método de Rast, en alcanfor*

Peso de Acetato	Alcanfor	Depresión	Peso molecular
0,00106 g	0,01147 g	9,8	385
0,00549 g	0,02650 g	21,9	377
0,00345 g	0,02346 g	15,8	372

*Saponificación del acetato*

Aproximadamente unos 0,2 g del acetato de temperatura de fusión 234-236° se saponificaron con 50 ml de KOH alcohólica al 2 % durante dos horas a reflujo. Se precipitó el producto de la saponificación en agua fría y después de separarlo por filtración a la trompa de agua, se disolvió y cristalizó de etanol; los cristales obtenidos, semejantes en su aspecto al chundristerol de punto de fusión constante fundieron a 215,5-216,5° C. El punto de fusión mixto con el chundristerol de punto de fusión constante no mostró depresión alguna.

*Indice de acetilo*

Se sigue aquí, como se dijo en la exposición general del trabajo, el método de Kuhn y Roth (16), modificado como semimicrométodo (17). Por las características de insolubilidad del compuesto que investigamos, hubieron de introducirse algunas variantes, en orden a conseguir, fácil y rápidamente, la saponificación.

La muestra pesada, con arreglo a las técnicas semimicroanalíticas, se pasa al matracito del aparato. Se le agregaron 2 ml de piridina purísima, en los cuales se disuelve casi totalmente, después 20 ml de KOH n/2 en metanol y con el refrigerante en la posición de reflujo, se saponificó durante media hora, calentando al baño maría. Después de lavar el refrigerante, se colocó éste en la posición de destilar y destiló hasta reducir el volumen a unos 5 ml, con lo cual se separó el metanol y parte de la piridina. Se le agregaron entonces 20 ml de agua destilada y con llama suave se destiló en corriente de oxígeno hasta reducir nuevamente el volumen a unos 5 ml.

Después de agregar 3 ml de sulfúrico de Wenzel y 20 ml de agua destilada se destiló hasta concentrarlo a 5-6 ml. Esta fracción se hirvió durante 8 segundos con unos cristalitos de cloruro bórico, y valoró con

NaOH exactamente 0,0264 n. Se repitió la operación hasta llegar a un gasto constante no superior a 0,05 ml para 10 ml de destilado. En las mismas condiciones se realizaron valoraciones en blanco con las mismas cantidades de agua destilada, deduciendo lo que se gasta para ella de las valoraciones anteriores. Se empleó fenoltaleína como indicador. El aparato fué construído en vidrio Pyrex.

	Peso de acetato de Chundristerol 0,06364 g		
	ml des-tilados	ml de NaOH 0,0264 n usados	ml de NaOH 0,0264 n usados para el mismo vol. de aq. dest.
1. <sup>a</sup> valoración	20	4,510	0,095
2. <sup>a</sup> »	20	1,790	0,095
3. <sup>a</sup> »	10	0,160	0,04
4. <sup>a</sup> »	10	0,085	0,04
5. <sup>a</sup> »	10	0,065	0,04
6. <sup>a</sup> »	10	0,040	0,04
7. <sup>a</sup> »	10	0,040	0,04
		6,690	0,390
		0,390	

NaOH 0,0265 n correspondiente al acético arrastrado

6,300 = 7,153 mg de acetilo

11,24 % de acetilo

Para el peso molecular más frecuente de 380 ;  $\frac{42,7}{43} = 0,994$  grupos acetilo en la molécula de acetato de chundristerol.

*Análisis elemental del acetato*

Peso	H <sub>2</sub> O	CO <sub>2</sub>	% H	% C
23,46 mg	23,17	69,37	11,05	81,27
29,80 mg	29,55	88,22	11,09	80,79
Calculado para una fórmula C <sub>36</sub> H <sub>42</sub> O <sub>2</sub>			10,95	80,77

**Benzoato**

*Obtención.*—Se preparó por dos métodos distintos:

a) Un método análogo al seguido en la preparación del acetato de ergosterol (24): 0,2 g calentados con 1 ml de cloruro de benzoilo, en tubo de ensayo seco, a 160° C durante cinco minutos; se deja enfriar, se hierve con 20 ml de alcohol etílico y enfría nuevamente. Filtrando se separa el precipitado y se lava con 10 ml de alcohol caliente. Se cristaliza de acetato de etilo, en el que es soluble en caliente (no es apenas soluble en alcohol a ebullición). De acetato de etilo cristaliza en agujas semejantes a las del esteroil sin esterificar. En la primera cristalización, su temperatu-



ra de fusión fué 263-264° C. En la segunda la temperatura de fusión alcanzó a 270-271° C que no aumentó por otras cristalizaciones en acetato de etilo ni acetona. Rendimiento: unos 0,15 g.

b) 0,6 g del chundristerol se disolvieron en piridina pura (10 ml) agregándosele 2 ml de cloruro de benzoilo, aparece entonces un precipitado que calentando en baño maría se disolvió, se mantuvo en éste durante una hora. Se vertió sobre agua-hielo y acidificó con clorhídrico hasta acidez al rojo Congo, en la superficie apareció una especie de papilla aceitosa, que separada por filtrado sin succión, se disuelve en acetato de etilo del cual cristalizan agujas que funden a 245-250° C. Cristalizados nuevamente de acetato de etilo funden a 260-263° C. En una tercera cristalización funden a 270-271° C que no aumenta cristalizado de acetona. El punto de fusión mixto con el obtenido en el método anterior resultó ser 270-271° C. Los cristales obtenidos en esta ocasión, son tablitas alargadas. Rendimiento 0,4 g.

El benzoato funde descomponiéndose inmediatamente.

#### *Poder rotatorio específico*

0,265 g en 25 ml de cloroformo, longitud del tubo 2 dm  $\alpha = + 1,4^\circ$ ;  
 $[\alpha]_D^{20} = + 56$ .

#### *Peso molecular (Rast)*

0,0021<sub>6</sub> g de benzoato en 0,0262<sub>8</sub> de alcanfor produjeron un descenso de 7,5. Peso molecular = 440.

#### *Saponificación del benzoato*

0,2 g de éste se saponificaron con KOH alcohólica al 2 % durante dos horas al reflujo, se precipitó vertiendo en agua fría. Se filtró y cristalizó de etanol, los cristales obtenidos fundieron a 215,5-216,5°. Punto de fusión mixto con el chundristerol 215,5-216,5°.

#### *Análisis elemental cuantitativo del benzoato*

Peso	H <sub>2</sub> O	CO <sub>2</sub>	% H	% C
16,08 mg	14,42 mg	48,77 mg	10,03	83,1
27,42 mg	24,66 mg	83,75 mg	9,99	83,3
Calculado para una fórmula C <sub>31</sub> H <sub>44</sub> O <sub>2</sub>			9,887	82,99

#### **Ftalato ácido**

*Preparación.*—Se calentó a ebullición 1 g de chundristerol con 2 g de anhídrido ftálico en 5 ml de piridina durante 2 horas. Esta mezcla fué

vertida en agua y el precipitado se lavó con ácido clorhídrico diluído. Se cristalizó de metanol, obteniéndose unos cristales diminutos y mates. Cristales algo mayores se consiguieron por cambio de disolventes éter/ alcohol etílico. Cristalizan agujas cortas y opacas que funden a 212-214° No se consiguió aumentar esta temperatura en otra cristalización.

### Reacciones de color

*Reacción con ácido sulfúrico concentrado.*—Sobre placa de porcelana. A un cristalito de la sustancia una gota de sulfúrico concentrado.

Chundristerol	+	cristales: amarillo, intensificándose poco a poco disolución: rojo violeta muy pálido.
Acetato »	+	cristales: amarillo + disolución: rojo-violeta pálido.
Colesterol	+	cristales: amarillo que pasa a rojo-naranja intenso disolución: rojo-violeta sucio.
Acetato »	+	cristales: amarillo que pasa a rojo-naranja disolución: rojo-violeta débil.
Ergosterol	+	cristales: rojo-naranja pasando primero por amarillo disolución: anaranjada.

*Reacción de Salkowski.*—Sobre 1 ml de disolución en cloroformo de la sustancia mas 1 ml de sulfúrico concentrado.

Chundristerol	+	capa del sulfúrico: amarillo → naranja → rojo débil capa clorofórmica: incolora pasa con el tiempo a débilmente amarilla.
Colesterol	+	capa del sulfúrico: fluorescencia verde capa clorofórmica: naranja intenso → rojo.
Acetato de Chundristerol	+	capa sulfúrica: amarillo → amarillo-naranja que se intensifica poco a poco y fluorescencia verde capa clorofórmica: incolora → débilmente amarilla
Acetato de Colesterol	+	capa sulfúrica: fluorescencia verde capa clorofórmica: rojo-verde.
Ergosterol	+	capa sulfúrica: rojo capa clorofórmica: incolora.

*Reacción de Liebermann.*—A 0,01 g de sustancia en 1 ml de cloroformo una gota de anhídrido acético y por la pared dos o tres de sulfúrico concentrado.

Chundristerol	+	amarillo → naranja amarillento (fluorescencia verde)
Acetato »	+	íd.                                    íd.                                    íd.
Colesterol	+	amarillo → naranja-rojo → violeta sucio
Acetato »	+	íd.                                    íd.                                    íd.

Ergosterol + violeta → verde  
 Colesterol + íd.

*Reacción de Kägi-Miescher.*—1-2 mg disueltos en acético glacial (1-2 ml), se añade una gota de sulfúrico concentrado, hirviendo luego durante unos segundos, tras enfriar, 3-4 gotas de disolución al 1% de bromo en acético glacial.

Chundristerol negativo.  
 Acetato » íd.  
 Colesterol íd.  
 Acetato » íd.

*Reacción de Keller-Kiliani.*—1 mg de sustancia en 5 ml de acetato de etilo, se adiciona una gota de solución acuosa al 20% de cloruro férrico y 5 ml de sulfúrico concentrado. Se emplea la modificación que sustituye el cloruro férrico por sulfato.

Chundristerol + rojo que pasa rápidamente a rojo-pardo.  
 Acetato » + íd.  
 Colesterol + íd.  
 Acetato » + íd.

*Reacción de Rosenheim.*—A la disolución de 2 mg de sustancia en 1 ml de cloroformo se añade 1 ml de ácido tricloroacético diluido (9:1).

Chundristerol negativo.  
 Acetato » íd.  
 Colesterol íd.  
 Acetato » íd.

## Chundristerona

### Obtención:

#### I.—Oxidación de Oppenauer

##### a) Con butóxido terciario.

Se siguió aquí el método de Oppenauer con butilato terciario de aluminio en las mismas condiciones que para la obtención de la colesteno, recogidas por Rojahn-Giral (25). Empleándose 0,2 g. se obtuvieron en una primera cristalización de metanol 0,05 g (aproximadamente) de un compuesto con temperatura de fusión 175-177° C.

##### b) Con isopropilato sólido.

Se realizó la oxidación con isopropilato de aluminio destilado unos dos meses antes. 0,348 g de chundristerol en 20 ml de tolueno seco,

0,5 g de isopropilato y 10 ml de ciclohexanona seca se calentaron a reflujo durante una hora. El producto de la reacción cristalizado de metanol fundió a 190-192° C.

c) Con disolución de isopropilato I.

La oxidación se llevó a cabo con disolución de isopropilato de aluminio en tolueno al 25 %. 0,4 g de chundristerol se calentaron a reflujo durante dos horas con 8 ml de la disolución de isopropilato y 8 ml de ciclohexanona. Después de enfriarse, se vertió en agua. La suspensión se extrajo con éter, se agitó con clorhídrico 2 N y se lavó con agua hasta reacción neutra. El residuo que queda después de la separación de éter por destilación se arrastra en corriente de vapor para separar la ciclohexanona y tolueno restantes; la suspensión acuosa se vuelve a extraer con éter, se seca con sulfato sódico anhidro y se libera del disolvente a vacío. El residuo cristalizado de metanol en frío funde a 179-180°. Se realizó una segunda cristalización en acetona, obteniéndose en este caso cristales más definidos que en la cristalización anterior, siendo su temperatura de fusión 182-184° C que no aumenta con otras cristalizaciones en el mismo disolvente. Rendimiento 0,1 g.

d) Con disolución de isopropilato II.

Igualmente que en el caso anterior la oxidación se realizó con disolución de isopropilato de aluminio en tolueno al 25 %, pero calentando durante 4 horas, 2 g del chundristerol en 150 ml de tolueno, 50 ml de la disolución de isopropilato y 50 ml de ciclohexanona. Se sigue el mismo procedimiento de purificación, aislamiento y cristalización que en el método anterior. De acetona los cristales funden a 181-183° en la primera cristalización y 182-184° en la segunda. Se obtuvieron 1,2 g de chundristerona pura.

### *Preparación del isopropóxido de aluminio*

Para la obtención del isopropilato de aluminio se siguió el procedimiento experimental dado por A. L. Wilds (31).

26 g de aluminio (1 mol.) en torneaduras, se limpió cuidadosamente raspando su superficie, y, después de cortarlas en trocitos de aproximadamente 1 cm, se lavaron éstos por dos veces agitándolos con éter de petróleo, en la cantidad necesaria para cubrirlos sobradamente, filtrando a continuación por un embudo seco sin filtro alguno. Después de lavarlos un par de veces en las mismas condiciones con alcohol absoluto, se secaron en la estufa a 110° C.

El aluminio después de seco se colocó en un matraz de 1.000 ml con 300 ml de alcohol isopropílico, que previamente había sido secado refluendo con cal viva y destilando a continuación. Después de añadir

0,5 g de cloruro mercúrico se unió un refrigerante al matraz, protegiendo de la humedad con un tubo en U lleno de cloruro cálcico unido al extremo del refrigerante. Se calentó, y al hervir el líquido se le añadieron unos 2 ml de tetracloruro de carbono por el refrigerante. No hubo necesidad de enfriar con hielo. La disolución total del aluminio se consiguió a las doce horas de calentar a reflujo. Se destiló a 7 mm de presión recogiendo la fracción que lo hizo a 130-140°. Se obtuvieron 160 g de isopropilato, el cual se almacenó en frascos cerrados y parafinados. El isopropilato solidificó después de una semana de reposo. Este isopropilato se empleó unos dos meses después en la preparación de la chundristenona, resultando ineficaz, como se ha indicado antes.

En esta obtención se utilizó material de vidrio con uniones esmeriladas perfectamente seco. El alcohol isopropílico utilizado fué de la casa Merck de Darmstadt.

Para la preparación de la disolución de isopropilato en tolueno, unos 100 g de éste se destilaron a vacío (7 mm) recogéndolos sobre 300 ml de tolueno previamente seco y destilado con sodio en hilos. Se obtiene así una disolución aproximadamente del 25 % del isopropóxido en tolueno. Esta se mantiene con el tiempo perfectamente límpida y transparente.

#### *Preparación del butanol terciario*

Como paso intermedio para la obtención del butilato terciario de aluminio, fué necesario obtener butanol terciario. Se emplearon para ello 29 g de acetona seca sobre cloruro cálcico, la cual se vertió, diluída en éter, sobre la disolución de ioduro de metil-magnesio, preparado a partir de ioduro de metilo (obtenido por el método anteriormente dicho) y magnesio en torneaduras. Hubo necesidad de enfriar con hielo y se obtuvieron al final unos 60 g de butanol terciario.

En la práctica experimental de la operación se siguieron paso a paso las indicaciones de Giral-Rojahn (38).

#### *Preparación del butóxido terciario de aluminio*

De 50 g (0,67 mol.) de alcohol butílico seco por reflujo y destilación con cal viva y 16 g (0,59 mol.) de aluminio, de las mismas características y sometido al mismo tratamiento que el empleado en la preparación del isopropilato, se preparó la disolución bencénica de butóxido terciario.

Se siguió el procedimiento experimental de W. Wayne y H. Adkins (30), pero sin llegar a aislar el butilato terciario. Este se obtuvo en disolución bencénica que quedó perfectamente clara después de centrifugar y decantar.

Se emplearon como catalizadores el isopropilato de aluminio obtenido anteriormente y cloruro mercúrico comercial.

## II. Oxidación con óxido de cobre

2 g de chundristerol se fundieron en un matraz de Erlenmeyer de 50 ml manteniendo la temperatura a 340° durante todo el proceso. En pequeñas porciones y agitando se añaden 0,5 g de óxido de cobre en polvo. Se mantiene la temperatura de 340° C durante 15 minutos más. Después de enfriar hasta 270° se añadieron sobre 100 ml de metanol hirviente, refluýéndose durante 2 horas. El residuo del matraz se extrajo con 25 ml de metanol calentando dos horas. Después de reunidas y filtradas ambas porciones, se dejan cristalizar. Los cristales obtenidos en la tercera cristalización de acetona funden a 182-184°. El rendimiento aquí fué sólo de 0,4 g.

## III. Oxidación con anhídrido crómico

0,4 g de chundristerol se disolvieron en unos 25 ml de benceno y mezclaron con una disolución de 1 g de anhídrido crómico en 10 ml de agua y 20 ml de acético glacial; agitando a continuación durante 12 horas en la pera de sacudir para hidrogenación. Se vertió en agua, extrajo con éter y se lavó en embudo de decantación con agua, hasta que ésta salía incolora y con reacción neutra. La disolución se secó con sulfato sódico anhidro y después de destilar el disolvente se cristalizó el residuo, primero de alcohol etílico, no obteniéndose así buenos cristales. En acetona cristalizaron bien 0,2 g de un producto de t.<sup>a</sup> de f. 182-184°.

### *Poder rotatorio específico de la chundristenona*

0.845 g de chundristenona en 25 ml de cloroformo producen una desviación de 4,51°, en tubo de 2 dm.  $[\alpha]_D^{21} = + 66,7$ .

### *Peso molecular de la chundristenona por el método de Rast*

<u>Chund-ona</u>	<u>Alcanfor</u>	<u>Descenso</u>	<u>Peso molecular</u>
3,28 mg	29,10 mg	13,1	344
2,00	28,40	8,3	338

### *Análisis elemental de la chundristenona*

<u>Chund-ona</u>	<u>H<sub>2</sub>O</u>	<u>CO<sub>2</sub></u>	<u>H %</u>	<u>C %</u>
24,56 mg	26,25 mg	78,90 mg	11,53	84,57
16,36	16,76	50,38	11,46	84,03
Calculado para una fórmula C <sub>34</sub> H <sub>38</sub> O			11,18	84,14

## *Preparación de derivados de la chundristenona*

### *I. Semicarbazona*

1,3 grs de chundristenona en 100 ml de etanol. Calentada a ebullición en baño de maría se le añade un poco de agua hasta aparición de turbidez, entonces un poco más de etanol. A ebullición se añaden 1 g de clorhidrato de semicarbazida y 1,5 g de acetato sódico. Se hierve aún durante 15 minutos y al enfriar precipitan cristales que, recristalizados de una mezcla constituida por 100 ml de alcohol y 50 ml de acetato de etilo, funden perfectamente a 235-237°, no consiguiéndose aumentar esta temperatura en otra recristalización en los mismos disolventes. Fueron obtenidos así 0,6 g de la semicarbazona.

### *II. 2,4-dinitro-fenil-hidrazona*

0,4 g de chundristenona se disuelven en 40 ml de etanol en caliente, se le añaden 0,4 g del reactivo preparado (2-4-dinitro-fenilhidrazina + 2 ml de sulfúrico concentrado + 3 ml de agua + 10 ml de etanol del 95 %), precipitando a los pocos instantes. Dejada enfriar se filtró y cristalizó cuatro veces en acetato de etilo, fundiendo a 247-248° C.

### *III. p-nitro-fenil-hidrazona*

0,2 g de chundristenona en 15 ml de etanol se mezclan con 0,2 g de para-nitro-fenil-hidrazina, adicionándosele 1 gota de acético glacial. Se calienta a reflujo durante 10 minutos. En frío precipita. Se filtra y cristaliza de alcohol, fundiendo los cristales así obtenidos a 178° C en la segunda cristalización.

### *IV. Fenil-hidrazona*

0,2 g de chundristenona se disuelven en 15 ml de etanol. En un vaso de ppdo. se mezclan 1 ml de fenil-hidrazina y 5 ml de agua destilada. Se añade luego gota a gota acético hasta que dé un líquido completamente clarificado. Se añadió entonces a la disolución caliente de la cetona y se dejó enfriar. El precipitado formado se filtró a la trompa de agua y lavó con etanol. Se recristalizó de etanol consiguiéndose agujas cortas y gruesas que fundían a 185° C en la primera cristalización. En una segunda cristalización en el mismo disolvente el punto de fusión fue 188° C, que no aumentó en una tercera.

### *Obtención de la $\Delta^4$ colesteno*

1 g de colesterol seco en 30 ml de tolueno, 15 ml de ciclohexanona y 15 ml de disolución de isopropilato de aluminio en tolueno al 25 %. (Esta disolución había sido preparada unos dos meses antes). Se empleó el mismo método de aislamiento que el seguido para la chundristeno. De metanol cristaliza mal y los cristales fundieron a 79-81° C. De una segunda cristalización en acetona se obtienen perfectas agujas cristalinas que fundieron a 81-82° C.

### **Substitución del oxhidrilo por halógeno**

#### *I. Tratamiento con hidrácidos*

a) Con corriente de ácido bromhídrico seco: A 0,4 g de chundristerol en 50 ml de acetona redestilada se les pasó corriente de ácido bromhídrico seco, durante una hora. La disolución se colorea poco a poco, hasta que al cabo de unos quince minutos es totalmente negra. Se diluyó con éter y precipitó a continuación con agua, separándose el precipitado por filtración a la trompa de agua. Se recristalizó de éter. El producto obtenido no dió ensayo positivo de Beilstein y fundió a 215-216° C, recuperándose casi la totalidad del producto empleado.

b) Con ácido clorhídrico en alcohol: 0,1 g de chundristerol disueltos en alcohol (50 ml) y 10 ml de ácido clorhídrico del 38 % se calentaron a reflujo, con un poquito de cloruro de cinc anhidro, durante dos horas; se precipitó y lavó con agua. Recristalizado de alcohol, mostró una temperatura de fusión de 215,5-216,5° C. El punto de fusión mixto con el chundristerol resultó igualmente 215,5-216,5° C.

c) Con corriente de ácido clorhídrico seco en ácido acético gíacial. Se describió como método de preparar el acetato. Ningún otro producto distinto del acetato de chundristerol se obtuvo.

#### *II. Tratamiento con cloruro de tionilo*

a) Sin disolvente y calentando: A 3 g de chundristerol colocados en un pequeño matracito de 25 ml se le agregaron 3 g (1,8 ml) de cloruro de tionilo, quedando éste embebido por el sólido. Se agregaron entonces otros 3 g de cloruro de tionilo, con lo que se consiguió una masa pastosa blanca que, al calentar en baño de maría, se licuó, reaccionando vivamente a continuación. La disolución tomó un color pardo-verdoso y después pardo oscuro. La operación duró unos quince minutos. Después de frío el producto tenía aspecto de resina. Se destruyó el exceso de cloruro

de tionilo vertiendo esta especie de resina en agua, calentando algunos minutos para eliminar el ácido clorhídrico y anhídrido sulfuroso. El producto sólido se separó por filtración a la trompa de agua y se intentó disolver en acetona, resultando casi insoluble en este disolvente. En éter se disolvió con dificultad pero no cristalizó ningún producto por reposo en la nevera durante tres días. Se intentó una cristalización en benceno sin resultado positivo. En benceno + alcohol etílico, mezcla en la que se consiguió la disolución con más facilidad, tampoco se obtuvieron cristales. Las disoluciones en todos los disolventes tenían un color marrón oscuro que no desaparecieron ni tratándolas con carbón activo, ni con óxido de aluminio activo.

b) Sin disolvente durante 24 horas sin calentar: 2 g de chundristerol y 2,5 ml de cloruro de tionilo se dejaron en reposo durante 24 horas. Resultó un producto de las mismas características que en el método anterior. Disuelto en una mezcla de alcohol-benceno se le hizo pasar por una columna de 30 cm de altura llena de alúmina activada, pasando la mayor parte del producto y con las mismas características de color. No fué posible la cristalización.

c) Sin disolvente, durante 15 minutos sin calentar: 1 g de chundristerol con 1,6 g (1 ml) de cloruro de tionilo se pusieron en contacto durante 15 minutos, descomponiendo inmediatamente el exceso de cloruro de tionilo con agua caliente. Precipitó un producto amarillento que no se consiguió cristalizar de alcohol. El producto precipitado con agua, después de seco, fundía en un amplio margen de temperatura, 125-135° C.

d) En éter anhidro: 0,35 g de chundristerol se disolvieron en 25 ml de éter anhidro al cual se le añadió 1 ml de una disolución que contenía 2 g de cloruro de tionilo en 10 ml de éter seco. Por reposo durante una noche se separaron en el fondo del recipiente pequeñas agujas cristalinas, que, separadas por filtración, lavadas y secas, dieron positivos los ensayos de Beilstein y Lassaigne para halógenos. Fundieron estos cristales a 142,5-144° C. Se determinó el peso molecular de la sustancia por la técnica de Rasta en alcanfor, con los siguientes resultados:

Cloruro Ch-ol	Alcanfor	Descenso	Peso molec.
2,30 mg	26,9, mg	9,5	360

### *Obtención del cloruro de colesterilo*

#### *I. Con cloruro de tionilo sin calentar*

Se siguió el procedimiento indicado por Diels y Blumberg (33). A 4,5 g de colesterina seca, a 100° C y al vacío (7 mm de Hg) durante una



hora, se le agregaron 4,5 gramos (2,7 ml) de cloruro de tionilo, cantidad correspondiente según la referencia citada; mas para conseguir la total disolución hubo necesidad de agregar hasta un total de 4,4 ml. Se dejó estar durante 24 horas, no observándose ennegrecimiento ni formación de sólido alguno en la superficie. Se vertió en agua, destruyéndose así el cloruro de tionilo en exceso, separándose un sólido de color naranja que, después de seco a la trompa, se disolvió en acetona, cristalizando al enfriar la disolución en tablas de regular tamaño coloreadas de amarillo y que presentaban una temperatura de fusión de 96° C. Se volvieron a disolver estos cristales en acetona destilada, y como aún presentaba la disolución un color amarillento se decoloró con un gramo de carbón activo, hirviendo durante dos horas a reflujo. Después de separar el carbón activo por filtración de la disolución caliente, se dejó estar en la nevera. Al día siguiente se separaron cristales tabulares blancos que tenían una temperatura de fusión de 97° C. El rendimiento fué de 3,5 g.

## II. Con cloruro de tionilo al baño de maría

3,3 g de colessterina seca, con 5 g (3 ml) de cloruro de tionilo, se calentaron al baño de maría hasta que cesó el desprendimiento de gases (una hora aproximadamente). Se formó así una solución pardo-verdosa que al romperla se mezcló con el resto de la disolución formando una pasta, la cual se trató por el mismo camino que en el método anterior, consiguiéndose 3 g del cloruro de colessterina con una temperatura de fusión de 97°.

Diels y Blumberg, partiendo de 20 g de colessterina seca obtienen 17 g de cloruro sin cristalizar.

## Doble enlace

### I. Reacción con bromo

En tetracloruro de carbono.--A unos centigramos de chundristerol, disueltos en tetracloruro de carbono (2 ml), se le fueron agregando gota a gota disolución al 5 % de bromo en tetracloruro de carbono hasta aparición de un color amarillo naranja. Simultáneamente se efectuó un ensayo con colessterol. A grandes rasgos la reacción transcurrió de idéntica manera en ambos casos. Se encayó la reacción de la disolución con Papel Indicador Universal de la casa Merck, correspondiendo el color obtenido en ambas disoluciones a un pH entre seis y siete, que es el mismo color que daba con el agua destilada. Otro ensayo sobre acetato transcurrió de idéntica forma que el anterior. Evaporando el disolvente se obtuvo en uno y otro caso una resina rojiza.



## II. Acción del ácido perbenzoico

a) En disolución n/10.—Se siguieron aquí las indicaciones generales dadas por W. R. Wragg y la recogida de Koltoff y Lee (34).

0,2374 g de acetato de chundristerol en 50 ml de cloroformo destilado, más 5 ml de disolución clorofórmica de ácido perbenzoico, aproximadamente normal. Simultáneamente se preparó una disolución testigo con 5 ml de ácido perbenzoico en las mismas condiciones. Ambas disoluciones se mantuvieron a 5° C.

Tiempo	Perbenzoico 0,1 n consumido	Consumo por mol $C_{26}H_{42}O_2$	Oxígeno por mol $C_{26}H_{42}O_2$
3 h	11,05 ml	124,26 g	0,9
6 h	13,5 ml	151,8 »	1,1
12 h	13,5 ml	151,8 »	1,1
24 h	13,15 ml	147,73 »	1,07
72 h	13,5 ml	151,8 »	1,1

Tratando 0,0954 g de acetato de chundristerol en 35 ml de cloroformo, 5 ml de ácido perbenzoico aproximadamente, 0,2 n, al cabo de las seis horas se consumieron 5,75 ml de ácido perbenzoico 0,1 n, que corresponden a 1,1 átomos de oxígeno por mol de la sustancia.

b) En disolución n.

0,3154 gramos de chundristerol en 25 ml de cloroformo, con 15 ml de perbenzoico aproximadamente normal, consumen 22,8 ml de ácido perbenzoico 0,1 n, que equivalen a 1,2 átomos de oxígeno por mol de sustancia.

Las valoraciones se hicieron vertiendo la disolución del ácido perbenzoico sobre 2 g de ioduro potásico en 50 ml de agua acidulada con 10 ml de acético glacial y lavando el recipiente del perbenzoico dos veces con 10 ml de cloroformo y agitando violentamente a continuación. El yodo liberado se valoró frente a tiosulfato 0,1 n de factor 1.043.

Del tratamiento del acetato con ácido perbenzoico se separó un producto después de eliminar el ácido por lavado con NaOH diluída que, cristalizado de acetato de etilo, fundía a 250° C.

### Obtención del ácido perbenzoico

El ácido perbenzoico fué obtenido, siguiendo las indicaciones dadas por Braun (56), a partir de peróxido de benzoilo de la casa Doesder, que hubo de ser recrystalizado, ya que el contenido inicial en peróxido resultó ser sólo de 60 %.

### III. *Reacción con disolución de permanganato potásico en acetona*

A 0,5 g de esteroles disueltos en 10 ml de acetona se le agregaron dos gotas de permanganato potásico al 2 % en solución de acetona. Simultáneamente se llevaron los ensayos con colesterol, chundristerol, acetato de chundristerol, y una muestra testigo. La decoloración del permanganato tiene lugar lentamente, tanto en la disolución del colesterol, como el chundristerol y su acetato. Al día siguiente, aparecían las disoluciones de las sustancias de un color débilmente pardo, mientras que el testigo permanecía con el color violeta característico del permanganato.

### IV. *Hidrogenación*

En los intentos de hidrogenación, tanto del chundristerol como de su acetato, se siguió la técnica descrita por el Prof. Gattermann y operando en condiciones en que otros esteroides se hidrogenan con facilidad (57).

Como fuente de hidrógeno sirvió la reacción del cinc con el clorhídrico llevada a cabo en un aparato de Kipp. Se empleó una bureta eudiométrica de 150 ml de cabida dividida en 0,5 ml. La pera de hidrogenación se unió a la bureta por intermedio de un tubo de polivinilo. Las restantes conexiones del aparato se hicieron también con este material. El sacudido se consiguió con un mecanismo de eje y manivela accionado por un motorcito eléctrico. Ninguno de los intentos efectuados, tanto con el chundristerol como con su acetato disueltos en alcohol, alcohol más acético, éter, éter más acético, acetato de etilo y acetato de etilo más acético consumieron cantidad apreciable de hidrógeno, mostrando los productos recuperados de las disoluciones sus temperaturas de fusión características.

En todos los casos se empleó aproximadamente 0,3 g de sustancia en un volumen de aproximadamente 50 ml y de 0,3 a 0,5 del catalizador.

En alguna de las experiencias reseñadas anteriormente se redujo previamente el óxido de platino agitándolo en suspensión con 2 ó 3 centímetros cúbicos de disolvente.

#### *Ensayo con colesterol*

Se efectuó una hidrogenación de colesterol en las condiciones dadas por Willstaeter y Mayer (58). 0,518 g de colesterol disueltos en unos 30 ml de alcohol etílico. Entonces 0,30 g de catalizador (óxido de platino) consumieron 28,83 ml en condiciones normales, del cual se deduce un peso molecular de 404. Peso molecular del colesterol



### *Preparación del catalizador*

Se sigue el procedimiento experimental dado por R. Adans, V. Voorhees y R. L. Shriner (35). Se parte de un gramo de platino, el cual fué tratado en orden a convertirlo en ácido cloroplatínico. La fusión se hizo con nitrato potásico, que según Cook y Linstead (59), resulta más conveniente para obtenerse un catalizador de mayor actividad.

#### *V. Oxidación con anhídrido crómico*

- a) En benceno: Se dió como método de preparación de la cetona.
- b) En ácido acético y sulfúrico: 0,1 g de chundristerol disuelto en benceno (20 ml), 0,2 g de anhídrido crómico en 10 ml de ácido acético y 5 ml de ácido sulfúrico del 60 %, se agitaron durante 6 horas en la pera de sacudido. La disolución se vertió en agua y lavó con este disolvente hasta desaparición del color verde del ión crómico, producido en la reducción del anhídrido. En un embudo de decantación, la disolución bencénica añadida de éter, se agitó con disolución al 10 % de sosa. Se separa así en la interfase un producto sólido que, después de filtrado y seco, mostró una temperatura de fusión de 150-160° C. Por la poca cantidad obtenida y el claro aspecto resinoso del producto no fué posible su estudio (\*).

### **Reacción con la digitonina**

#### *Reducción de la chundristenona por el método de Meerwein, Ponderoff-Verley*

Se siguen las direcciones generales que da A. L. Wilds (31).

Preparación de productos:

1) Tolueno seco.—A 200 ml de tolueno se le añade sodio en hilos y se deja reposar en un frasco tapado con un tubo de cloruro cálcico, durante dos semanas. Se destiló sobre nuevo sodio hilado, preservando el aparato de la humedad. Se ensaya con sulfato de cobre anhidro; se introduce en un frasco y se parafina.

2) Alcohol isopropílico seco.—50 ml de alcohol isopropílico comercial se añaden a 50 g de cal viva. Se hirvió a reflujo durante seis horas seguidas y luego se destiló a un matraz de Kitasato, cloruro cálcico unido al tubo lateral del matraz Kitasato.

(\*) Las temperaturas de fusión están todas dadas sin corregir.

Los análisis elementales se llevaron a cabo en un horno semimicro automática de combustión empleando como relleno del tubo «Vinosita B», que consiste en una mezcla de los óxidos de cobre, plomo, cromo, manganeso y plata. Como absorbentes del agua y carbónico se utilizaron perclorato magnésico anhidro y asbesto sódico respectivamente.

3) Reactivo de la acetona.—0,12 g de 2,4 dinitro-fenil-hidrazina se disuelven en 25 ml de agua destilada y 25 ml de clorhídrico concentrado. Se calienta al baño de maría y se diluye a 125 ml. Se obtiene una solución amarilla.

La presencia de acetona se ve por la formación de un enturbiamiento o neblina blanca.

Operación.—Se disuelven 0,2 gramos de chundristenona en tolueno (25 ml) y se añaden 3 ml de la disolución de isopropilato de aluminio (la misma preparada unos dos meses antes para la oxidación de Oppenauer del chundristerol). Se hirvió a reflujo durante seis horas seguidas, añadiendo a continuación 25 ml de alcohol isopropílico anhidro y se destila. Las primeras gotas de destilado aparecen a 73° C y contienen acetona. Conforme avanza la ebullición la temperatura sube poco a poco hasta llegar a 78° en donde la proporción de acetona es menor, pues el precipitado tarda más en aparecer.

Cuando se ha consumido la mitad, se le añadió más tolueno e isopropílico y se sigue destilando. Continúa el destilado dando reacción positiva de acetona. Cuando se redujo de nuevo a la mitad de volumen, no se obtuvo reacción positiva de acetona.

Para el aislamiento de los productos de reacción, se sigue una técnica análoga a la seguida en el aislamiento de la chundristenona, esto es:

1.º Lavado con sulfúrico 2 n para descomponer y disolver el aluminato.

2.º Extracción con éter y lavado con agua hasta reacción neutra al tornasol.

3.º Destilación del éter.

4.º Arrastre con vapor de agua durante una hora, hasta que se haya arrastrado todo el tolueno. En el matraz de arrastre queda un residuo blanco en suspensión en el agua condensada.

5.º Nueva extracción con éter y secado de la disolución con sulfato sódico anhidro durante una noche.

6.º Se filtra y destila todo el éter. Quedando en el matraz un sólido blanco que, cristalizado de etanol, muestra una t.<sup>a</sup> de fusión de 180-182°. De las aguas madres se separó un producto de temperatura de fusión 160-166°, sobre este producto se realizó la reacción de la digitonina:

Se disponen cuatro tubos perfectamente limpios y secos con soluciones en etanol absoluto de:

1) Solución alcohólica de colesterol.

2) Solución alcohólica de ergosterol.

3) Solución alcohólica de chundristerol.

(4) Solución alcohólica de producto de la reducción por Meerwein-Ponndorff-Verley.

Las reacciones que se produjeron fueron:

Precipitado blanco pulverulento en los tubos 1 y 2.

Ningún precipitado en los tubos 3 y 4. Por adición de más agua destilada a las disoluciones de estos últimos, aparece una débil neblina blanca.

La técnica empleada en estos ensayos fué la siguiente:

Sobre la disolución de los esteroides en alcohol absoluto, se les añade una disolución de digitonina, también en alcohol absoluto, agregando a continuación 2 ml de agua destilada.

Siguiendo una técnica de precipitación del digitonido en alcohol del 90 % se obtuvieron los mismos resultados que en el caso anterior. La técnica seguida es la siguiente:

Se mezclan dos soluciones hirvientes en alcohol de 90 % de digitonina y del esteroide correspondiente.

## Reacción de Kishner

### I. *Con KOH a vacío*

Se siguió el método clásico de Kishner de reducción de una semicarbazona en presencia de hidróxido potásico descrito en sus líneas generales por D. Todd y como ejemplo concreto el de reducción de la semicarbazona de la *cis-beta-biciclooctanona*.

0,5 de semicarbazona de la chundristenona (temperatura de fusión 235-237°C) se colocaron con la cantidad correspondiente de hidróxido potásico en un pequeño matraz de destilación de forma de chorizo operando a un vacío de unos 7 mm de altura de mercurio. Se calentó a 200-210° en baño de arena, separándose inmediatamente un producto sólido en el chorizo del matraz, el cual fundió a 182-184°C. El punto de fusión mixto con la chundristenona resultó ser igualmente 182-184°C.

### II. *Con KOH a la presión ordinaria*

Se emplearon las mismas cantidades que en el método anterior de semicarbazona y potasa, pero calentando en baño de arena hasta la temperatura de 310-320°C y a la presión atmosférica. Al cabo de seis horas se hizo el vacío, separándose inmediatamente en el chorizo del matraz un producto con las mismas características que el obtenido en el ensayo anterior y cuyo punto de fusión mixto con la chundristenona no mostró depresión alguna.

**Determinaciones físico-químicas**

I. *Obtención de la onda polarográfica*

Se ha realizado utilizando el polarógrafo de inscripción directa «Radiometer» y como electrodo de referencia el de Pozo de mercurio.

1) En etanol, 0,0210 g de colestenona en 30 ml de etanol enrasando a 50 ml con disolución de cloruro amónico aproximadamente  $n/10$  (1.012 g en 100 ml de agua). Se hace necesario calentar para conseguir una disolución total.

Se tomaron 10 ml para la determinación del polarograma. Condiciones: Dimping 5, sensibilidad 1/500. Compensación de la corriente 1, amplitud, empezando en  $-0,4$  v. Temperatura  $15^{\circ}$  C.

0,0150 en 30 ml de etanol enrasando a 50 ml con la disolución anterior. También es preciso calentar para conseguir una disolución clara. Condiciones idénticas a las anteriores.

Tanto la colestenona como la chundristenona cristalizan en parte al enfriar las disoluciones.

2) 0,0214 g de colestenona en 40 ml de alcohol isopropílico y 0,122 g de cloruro amónico se enrasa a 50 ml, disolviéndose así tanto la cetona como la sal. El resto de las condiciones fueron idénticas a las de las otras determinaciones.

0,0108 g en 40 ml de alcohol isopropílico y 0,218 g de cloruro amónico enrasando a 50 ml. La cetona y la sal quedaron perfectamente disueltas. Las condiciones iguales a las anteriores.

II. *Informe sobre las curvas de absorción en el U. V.*

a) Las determinaciones se hicieron sobre disoluciones de alcohol ópticamente puro a las siguientes concentraciones:

Colesterol . . . . .	0,7 g en 1.000 ml
Colestenona . . . . .	0,16 g en 1.000 ml
Chundristerol . . . . .	0,5 g en 1.000 ml
Chundristenona . . . . .	0,6 g en 1.000 ml

b) Método y medidas realizadas. Se ha empleado el espectrofotómetro Beckman, siguiendo la técnica habitual. De 218 a 300  $m\mu$  y se han realizado determinaciones cada 2  $m\mu$  y de 300 a 400  $m\mu$  cada 5  $m\mu$ .

Este informe fué dado por el Instituto de Optica «Daza de Valdés.



## CONCLUSIONES

I.—Se determina el contenido en caucho del látex segregado por la *Chondrilla juncea* (ajonje). Encontrándose un valor de 41 %, muy superior al dado en otros estudios sobre el tallo y raíces de la planta.

II.—Hemos iniciado el estudio de un supuesto esteroide, que se aísla del látex de la *Chondrilla juncea*, su temperatura de fusión es 215,5-216,5° C  $[\alpha]_D^{20} = + 82,3$  en cloroformo. Estas constantes no coinciden con las que J. Gómez encontró al aislarlo por primera vez.

III.—Se propone como fórmula más probable para esta sustancia la  $C_{24}H_{40}O$  y se la llama Chundristerol, por no encontrarse descrita en la bibliografía consultada.

IV.—El Chundristerol es un alcohol secundario, del cual se han preparado los siguientes derivados: Acetato ( $C_{26}H_{42}O_2$ ; t.<sup>a</sup> de f. 234-236° C  $[\alpha]_D^{17} = + 85,5$  en cloroformo); benzoato ( $C_{31}H_{44}O_2$ , t.<sup>a</sup> de f. 270-271° C  $[\alpha]_D^{20} = + 56$ ); ftalato ácido (t.<sup>a</sup> de f. 212-214° C) y cetona ( $C_{24}H_{38}O$ ; t.<sup>a</sup> de f. 182-184° C,  $[\alpha]_D^{20} = + 66,7$ ; 2-4-dinitro-fenil-hidrazona, t.<sup>a</sup> de f. 247-248° C, p-nitro-fenil-hidrazona, t.<sup>a</sup> de f. 178° C y semicarbazona, t.<sup>a</sup> de f. 235-237° C).

V.—El Chundristerol y su acetato da reacciones de color con ácido sulfúrico concentrado, de Salkowski, Liebermann y Keller-Kiliani y negativas las de Rosenhein y Káigi-Miescher. Por comparación con las que dan triterpenos y esteroides se supone para éste la naturaleza esteroide.

VI.—Posee el Chundristerol una ligadura etilénica. El y su acetato adicional 1,1 átomos de oxígeno del ácido perbenzoico al cabo de seis horas; decoloran la disolución de permanganato y la de bromo en tetracloruro de carbono.

VII.—Por su inercia a la hidrogenación, y a la ruptura oxidativa se admite para el doble enlace en el Chundristerol un carácter inerte.

VIII.—El potencial de onda media de la cetona es semejante al de la  $\Delta^4$  colesteno y su curva de absorción en el ultravioleta posee un máximo a 242 m $\mu$ , características ambas de una conjugación entre el grupo carbonilo y el enlace etilénico.

*El trabajo experimental se realizó en los laboratorios de Química Orgánica de la Facultad de Ciencias de Murcia y de la Sección de Química Orgánica, en Murcia, del Instituto «Alonso Barba» del C. S. de Investigaciones Científicas.*

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- (1) J. IWANOFF, *Zentralblatt*, **1**, 172 (1931).
- (1) J. L. RAMOS y A. CABRA, *ION*, **13**, 131 (1953).
- (2) O. FERNÁNDEZ, *ION*, **7**, 2 (1947).
- (3) R. NÚÑEZ, *ION*, **7**, 78 y 80 (1947); RODÍN, *ION*, **7**, *ibid.* 814 (1947); W. DE RAFFOLS, *ION*, **8**, 210 (1948).
- (4) J. GÓMEZ, *Algunos productos naturales que contienen esterinas*, Fac. de Farmacia, Univ. Madrid. Madrid, 1936.
- (5) G. DUPONT, *Traité de Chim. Org.*, dirigido por V. Grignard, **16**, 592, Ed. Mosson et Cie., París, 1949.
- (6) *Elsevier's Encyclopedia of Org. Chem.*, **14**, 606. Elsevier's P. C. Inc., N. Y.-Amst., 1940.
- (7) A. GONZÁLEZ y col., *An. R. Soc. E. F. Q.*, años 1948 a 1953.
- (8) BERI-LUNGE-D'ANS, *Métodos de Análisis Químico Industrial*, **5**, 440 y ss, 8.ª ed. alemana (trad.), por varios profesores, Edit. Labor, Barcelona, 1948.
- (9) *Z. f. Ang. Chem.*, **20**, 1535 (1907); *Ber.*, **35**, 442 (1902).
- (10) J. GÓMEZ, *loc. cit.*
- (11) GATTERMANN-WIELAND, *Prácticas de Química Orgánica* (trad. J. Cerezo), 2.ª ed., 100. Ed. M. Marín, Barcelona, 1944.
- (12) JULIUS GRANT, *Quantitative Org. Microanalysis*, 5.ª ed., 239, Churchill edit., London, 1951.
- (13) R. BRICHER y A. L. GOBBERT, *Semimicro Quantitative Org. Analysis*, 136, Longmanns Green and C.º, London, 1945.
- (14) E. A. BRANDE y E. S. STERN, *J. Chem. Soc.*, London, 404 (1906).
- (15) I. RIBAS y F. FRAYA, *Bol. de la Univ. Santiago Compostela*, 55-56, 283 (1950).
- (16) KUHN y ROTH, *Ber.*, **66**, 1274 (1933).
- (17) J. GRANT, *loc. cit.*, 199 y ss.
- (18) VILLAR PALASI, *Información de Química Analítica*, **3**, 97 y 98 (1949).
- (19) VILLAR PALASI *id.*, **3**, 99-101 y 123-128.
- (20) HARTWICH, DÜRENBERGER, *Arch. Pharm.*, **238**, 341 (1900); *Elsevier's E.*, **14**, 595.
- (21) RAMZ. PRAKASH RASTOGI, VISHWA NATH STARMA y SALINUZZAMAN SIDDIQUI, *J. Sci. Ind. Research*, *Ind.* **8** b. 173-187 (1949); (*C. A.* **44**, 3097 c. 1950).
- (22) E. CLOTOPSKI y W. HEER, *Ber.*, **75-B**, 237-43 (1942); (*C. A.* **44**, 4425, 1943).
- (23) *C. A.*, **1438** (1943).
- (24) C. DIERASSI, *Org. Reactions*, **6**, 208-272, John Wiley and Sons Inc., New York, 1951.
- (25) C. DIERASSI, *loc. cit.*, 227.
- (26) FERNIOL y STAVELY, *J. Am. Chem. Soc.*, **61**, 2956 (1939).
- (27) SERINI, KÜSTER y STRASSBERGER, U. S. Pat. 2.379.832 (*C. A.* **39**, 5053, 1945).
- (28) WIELAND, RATH y BENEND, *Ann.*, **19**, 548 (1941).
- (29) C. DIERASSI, *loc. cit.*, 222.
- (30) WAYNE y ADKINS, *Org. Synt.*, **21**, **8**, John Wiley & Sons, New York, 1941.



- (31) WILBS, *Org. Reactions*, 4.<sup>a</sup> ed., 2, 198-200, John Wiley & Sons Inc. Nueva York, 1947.
- (32) ROJAHN-GIRAL, *Prod. Químicos y Farmacéuticos*, 1, 293, Atlante, México, 1946.
- (33) DIELS BUMBERG, *Ber.*, 44, 2848 (1911).
- (34) W. R. WRAGG, *Bull. Soc. Chim. France*, 11-12, 213 (1952).
- (35) R. ADAMS, V. VOORHEER y R. SHRINER, *Org. Synth.*, coll. vol. 7, 463-65, 2.<sup>a</sup> ed. John Wiley & Sons, Nueva York, 1944.
- (36) RUZICKA, BRÜNGER, EICHENBERGER y MEYER, *Helv. Chim. Acta*, 17, 1407 (1934).
- (37) D. TODD, *Org. Reactions*, 4, 391, John Wiley & Sons, Nueva York, 1948.
- (38) ADKINS y F. W. COX, *J. Am. Chem. Soc.*, 60, 1151 (1938).
- (39) ADKINS, ELOFSON, ROSSOW y ROBINSON, *J. Am. Chem. Soc.*, 71, 3622 (1949).
- (40) KOLTHOFF y LINGANE, *Polarography*, 2, 669-71, 2.<sup>a</sup> ed., Interscience Publishers, New York, London, 1952.
- (41) J. SANCHO y A. RODRÍGUEZ, *Anal. R. Soc. E. F. Q.*, 49-B, 657 (1953).
- (42) J. SANCHO y A. ARÉVALO, *Anal. R. Soc. E. F. Q.*, 49-B, 663 (1953).
- (43) J. J. PFIFFNER, *Advances in Enzymology*, 2, 329, Inter. Publis. Inc. New York 1942; T. REICHSTEIN, *Hel. Chim. Act.*, 20, 953 (1937); KENDALL y otros, *Proc. Staff Meetings Mayo Clinic.*, 12, 136 (1937); STRIGER y REICHSTEIN, *Helv. Chim. Acta*, 20, 817 (1937).
- (44) FIESER y FIESER, *Quím. Org.*, Trad. F. Giral, 1, 956, Atlante, México, 1948.
- (45) J. SIVATJIAN, *Traité de Chim. Org. (Grignard)*, 16, 1081, loc. cit.
- (46) J. J. PFIFFNER, *Advances in Enzymology*, 2, 331 ss., Inters. Pub. Inc., New York, 1942
- (47) C. DJERASSI, loc. cit.
- (48) *Elsevier's Encyclopedia*, 22, 23, 57, 81, 83, 97, 181, 183 (1940).
- (49) M. SAVILLIER, *Traité Chim. Org. (Grignard)*, 16, 913, 935.
- (50) J. SIVATJIAN, loc. cit.
- (51) C. S. HERS y F. D. HAGER, *Org. Synth.* coll vol. 1, 58.
- (52) GATTERMANN y WIELAND, loc. cit., 98-100.
- (53) HUNTRESS-MULLIKEN, *Identifications of pure org. compds.*, 1, 421, John Wiley & Sons, New York, 1946.
- (54) BELCHER y GOBBER, loc. cit., 101.
- (55) J. GRAND, loc. cit., 112.
- (56) G. BRAUN, *Org. Synth.*, coll vol. 1, 431-34.
- (57) MAUTHNER, *Monatsh.*, 27, 305 (1906); RIEBEL y WALTER, *Liebigs Ann.* 460, 212 (1928).
- (58) WILSTÄTER y MAYER, *Ber.*, 41, 2199 (1908).
- (59) COOK y LINNSTEAD, *J. Ch. Soc.*, London, 952 (1934).
- (60) SORM y DYKOVA, *Coll. Czechoslov. Chem. Commun.*, 13, 418 (1948); (*C. A.*, 43, 1789, 1949).

