

JUAN SANCHEZ PARAREDA

“SOBRE RUTA MONTANA”

(Resumen de la Tesis Doctoral)

Esta Tesis Doctoral fue leída en Valencia el día 29 de noviembre de 1960, obteniendo la calificación de Sobresaliente *cum laude*.

El Tribunal de examen estuvo constituido por:

- D. Manuel Lora Tamayo, *Presidente*.
- D. Francisco García González.
- D. José M.^a Viguera Lobo. (Director de la Tesis.)
- D. José Beltrán Martínez.
- D. Antonio González González.

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

Siguiendo una serie de investigaciones realizadas en este laboratorio sobre estudio fitoquímico de algunas plantas, temas todos de gran interés por la gran variedad y aplicación de los productos aislados, se nos ha señalado el de la "Ruta montana", planta ésta a la que se le atribuye en ciertas regiones de Andalucía occidental propiedades curativas para determinadas afecciones de las aves.

Tratando de aislar el principio activo responsable de este carácter curativo, y con vistas a determinar también los constituyentes de las hojas, se extrajeron éstas, una vez secas a 100° C, sucesivamente con éter de petróleo, éter etílico, cloroformo, acetato de etilo y alcohol etílico.

Al concentrar parcialmente el extracto de éter etílico aparecieron unos cristales blancos en forma de agujas sedosas, cuyo aislamiento y estudio, así como el de una cera separada del extracto alcohólico y la caracterización del rutósido "rutina", constituyen el motivo de esta tesis.

El hecho de aparecer estas sustancias tan fácilmente, la dificultad de poner en práctica la técnica correspondiente para perseguir el principio curativo que interesaba investigar y la falta casi absoluta de bibliografía referente al estudio fitoquímico de esta planta, motivó el que nos desviáramos de nuestro primitivo pensamiento, es decir, el aislamiento e identificación del producto activo responsable del carácter curativo de ciertas enfermedades de las aves, y que centráramos nuestra atención en el aislamiento y caracterización de algunos componentes de la "Ruta montana".

El presente trabajo nos fue propuesto y ha sido continuamente alentado por el Prof. Dr. D. José M.^a Viguera Lobo, habiendo sido desarrollado en la Sección de Química Orgánica del Instituto de Química "Alonso Barba", del Patronato "Juan de la Cierva", C. S. I. C., en los Laboratorios de Química Orgánica de la Facultad de Ciencias de Valencia, durante los años 1956 a 1960.

RECONOCIMIENTOS

Antes de iniciar la exposición del tema, hemos de hacer constar nuestro profundo agradecimiento al Director de la tesis, a cuyas enseñanzas y continuos consejos debemos el feliz término de este trabajo.

Agradecemos al Instituto de Química "Alonso Barba" la beca concedida, así como a la Excm. Diputación Provincial de Valencia por la ayuda económica prestada, a través de la Institución "Alfonso el Magnánimo", permitiéndonos así dedicar el tiempo necesario para la investigación.

CARACTERES BOTÁNICOS

La ruda (1) (2) (3) (4) (5), se ha mencionado desde muy antiguo por su empleo medicinal, citándose en la Biblia y en los diversos libros clásicos por sus propiedades irritantes, vesicantes, emenagogas y abortivas.

La "Ruta montana 'Clus'" ("Ruta graveolens L. B. Montana") se diferencia de otras especies por multitud de caracteres de fácil apreciación. Aunque planta perenne y de rizoma algo leñoso como todas las rudas, tiene sus hojas muy glaucas y con lacinias lineales, explicando ello que Cavani- lles la incluyese en su herbario con el nombre de "Ruta foeniculifolia", por recordar las hojas laciniadas de los foeniculum y que Desfontaines la denominase "Ruta tenuifolia". Sus racimos fructíferos son densos y con pedicelos florales más cortos que la cápsula. Sus brácteas están divididas en dos o tres segmentos alesnados y no ovalados, o a lo sumo lanceolados, como en sus congéneres. Sus cápsulas son pequeñas, subglobulares y deprimidas con cuatro lóbulos redondeados.

Su área geográfica en España es muy extensa y salvo en el Norte, que es planta rara, en el resto del solar patrio es frecuente, sin ser abundante, excepto en tierras andaluzas, en donde en diversas localidades está muy extendida.

Como es sabido, las rudas tienen nódulos secretores constituidos por células encargadas de segregar la esencia que les da carácter.

ANTECEDENTES BIBLIOGRÁFICOS

Los pocos antecedentes bibliográficos que conocemos sobre estudio fitoquímico de "Ruta montana" se refieren, fundamentalmente, a la composición de su aceite esencial.

Cuantitativamente los principales componentes de la esencia de ruda son dos cetonas alifáticas, que se hallan en elevado porcentaje: la metil-nonil y la metil-heptil cetonas, aisladas la primera por Giesecke (9), Gorup-Besanez y Grimm (9), y la segunda por Thomps (9). El conjunto de las dos puede llegar a constituir hasta un 98 % de la esencia, según tuvo ocasión de comprobar Pellini (9) en algunas muestras de aceite esencial de ruda siciliana, procedente de la "R. bracteosa". No obstante, la proporción varía enormemente de unas muestras de esencia a otras, pudiendo predominar, casi por completo, cualquiera de ambas cetonas. Este predominio depende de la especie de ruta, e incluso dentro de una de ellas, según algunos autores, Morgan y Holmes (10), de la estación del año y del tratamiento anterior de la planta.

En la esencia procedente de la "R. montana" y "R. graveolens" se cita como predominante la cetona metil-nonílica, mientras que en la "R. bracteosa" parece haber una mayor cantidad de la cetona metil-heptílica.

Según Dorronsoro (11), la composición del aceite de ruda obtenido de diferentes especies, principalmente de "R. graveolens L.", "R. montana L." y "R. bracteosa L.", es relativamente sencilla:

La mayor parte está formada por n-metil-heptil-cetona y n-metil-nonil-cetona, acompañadas de los alcoholes correspondientes a ellas, metil-n-heptil-carbinol y metil-n-nonil-carbinol, libres o en forma de acetatos, a las que hay que añadir pequeñas cantidades de l- α -pinemo, cineol y d-limoneno, que según Power y Lees (10) sumados no llegan al 1 % de la esencia, junto con éter etil valeriánico, ácido caprílico, indicios de salicilato de metilo y en algunas esencias fluorescentes el metil antranilato de metilo.

Guenther (8) clasifica el aceite de ruda, según su origen, en los tres tipos:

- 1.º Aceite español.
- 2.º Aceite norteafricano, principalmente de Argelia.
- 3.º Aceite francés, de Provenza.

El mismo autor identifica, en los aceites de ruda de diversas procedencias, metil-nonil-cetona, metil-heptil-cetona, los correspondientes alcoholes

“SOBRE RUTA MONTANA”

secundarios de las cetonas citadas, libres o al estado de acetatos, l-pineno, ésteres de los ácidos valerianico, caprílico y salicílico, éster metílico del ácido metil-antranílico, una base de olor análogo a la quinoleína y un azuleno.

Investigaciones más recientes de Pfau (13) sobre una esencia de ruda de Argelia, que él cree procedente de “Ruta montana”, llevan a dicho autor a la conclusión de que en ella se encuentran, además de los componentes antes citados, una serie de sustancias entre las que se encuentran xantoxina, si bien en pequeñas cantidades, del orden de 0,1 %.

La xantoxina fue encontrada también por Brandt (14) en la “Ruta chalepensis”, por Pries y Thoms (15) (16) en la “Fagara xanthoxyloides Lam.”, por Bose y Moorkerjee (19) en la “Luvanga scandens”, y finalmente, por Fahmy y Abyshady (20) en el “Ammi majus”.

No hemos encontrado, en la bibliografía de que disponemos, datos que hagan referencia a ceras procedentes de la “Ruta montana”, si bien, como es natural, existen numerosas citas referentes a ceras extraídas de otras plantas.

Por lo que se refiere a la rutina, desde que en 1842 Weiss (44) aisló el rutósido por primera vez, de las hojas de la “R. graveolens L.” se ha comprobado su presencia en una gran cantidad de especies vegetales.

PARTE TEÓRICA

Como ya se ha dicho anteriormente, al concentrar parcialmente el extracto de éter etílico de la planta, seca a 100° C, aparecieron unos cristales, en forma de agujas sedosas, de color blanco, que después de recrystalizarse de alcohol etílico dieron un p. f. de 145-146°. Los mejores resultados se consiguieron con alcohol etílico de 80, cristalizándose así repetidas veces hasta un p. f. constante, 145-146°.

Del análisis elemental de este producto, que desde este momento llamaremos A, y de la determinación de la masa molecular, se deduce la fórmula empírica $C_{12}H_8O_4$.

De los cuatro oxígenos calculados para la fórmula antes apuntada, dos de ellos se identifican como formando parte de una lactona, llevándose a cabo el ensayo potenciométrico de determinar cuantitativamente los grupos ácidos presentes en la molécula, demostrando dicha titulación la existencia, en la sal sódica (lactona abierta), de dos grupos ácidos titulables de dife-

rente fuerza, y como quiera que los restantes oxígenos de la molécula no forman parte de agrupación ácida alguna, hemos de inferir de ella que el segundo grupo ácido titulable que aparece debe ser un enol o un fenol, que al esterificarse con el primero conduce a la lactona.

Se llevó a cabo también un intento de apertura de la presunta lactona por tratamiento de potasa y yoduro de metilo, lográndose este propósito al aislar, de entre los productos de la reacción, un compuesto de p. f. 117 distinto, por tanto, de A.

En unos ensayos preliminares se puso de manifiesto la naturaleza ácida de este compuesto y se estableció su fórmula empírica.

El tercer oxígeno de A se evidencia fácilmente como formando parte de un grupo metoxilo (Zeisel), no así el cuarto, ya que A no da reacción de alcohol, carbonilo, etc., ni de ninguna otra función oxigenada, por lo que se concluye que debe formar parte de una unión tipo éter.

La comprobación de lo hasta aquí expuesto lo da el espectro I R. que interpretamos a continuación:

- a) Existencia de un grupo δ -lactona, conjugado con un anillo bencénico.
- b) Presencia de un doble enlace $C = C$, conjugado con un $C = O$.
- c) La molécula contiene un grupo $—CH_3$, probablemente en forma de $O—CH_3$.
- d) En la molécula se encuentra presente un anillo furánico.

Los datos suministrados por el estudio del espectro I R. sumados a los conseguidos en el laboratorio, a los que se aludió con anterioridad, inducen a considerar al compuesto A, de fórmula empírica $C_{12}H_8O_4$, como una furocumarina metoxilada.

Consultada la literatura se ha podido encontrar una total coincidencia entre las propiedades físicas y químicas de A y las descritas para la xantotoxina (15).

Ya se ha dicho anteriormente que Pfau (13) encontró xantotoxina con rendimiento de 0,1 % en una muestra de aceite esencial de ruda de Argelia, que supone procedente de "R. montana", y como quiera que en los extractos de hojas siempre se encuentra la xantotoxina con rendimiento superior al 1 %, hace ello pensar que dicho producto debe ser característico más bien de las hojas que de la esencia.

No obstante, la gran coincidencia entre las propiedades físicas y químicas del compuesto A y la xantotoxina, se han preparado algunos derivados

“SOBRE RUTA MONTANA”

de A, con el fin de poder establecer una comparación más completa con los correspondientes de xantotoxina.

A tal fin se prepararon los derivados nitrado, dibromado, monobromado y el ácido metil xantotoxínico, observándose una perfecta concordancia entre los puntos de fusión de los derivados de A y los correspondientes de la xantotoxina.

También se llevaron a cabo estudios comparativos con xantotoxina de otra procedencia (47), tales como punto de fusión mixto, espectro U. V y cromatografía comparativa (48), creyendo con todo esto haber demostrado de una manera completa la identidad del compuesto A con xantotoxina.

C E R A

De los concentrados del extracto alcohólico de las hojas de “Ruta montana”, obtenidos de planta sin tratar anteriormente con otros disolventes, se separa al enfriar, un precipitado de color pardo oscuro, que después de disolver en alcohol hirviendo y filtrar en caliente repetidas veces, se logra fraccionar en dos.

El compuesto insoluble que queda sobre el filtro se identifica, más tarde, como oxalato cálcico, mientras que del líquido filtrado, una vez frío, se separa un cuerpo de aspecto céreo, que después de filtrado y escurrido a la trompa, queda en forma de un polvo blanco. Se disuelve éste en éter etílico caliente, añadiendo un gran volumen de disolvente, filtra, deja en reposo y, una vez frío, se vuelve a filtrar. De esta forma queda una disolución etérea transparente, que en el tratamiento con NaOH al 5 % separa, en la fase acuosa, un componente de naturaleza salina del que más tarde, en el tratamiento con ácido clorhídrico, se recupera y aísla una masa de carácter ácido que se recrystaliza repetidas veces con éter de petróleo, fracción 60-80, para dar un compuesto B, y el residuo de las aguas madres, después de eliminar el disolvente, en fracción 40-60, conduciendo a otro C.

Por otro lado, la solución etérea y una vez que se han extraído los ácidos con la disolución alcalina al 5 %, suministra, por eliminación total del disolvente, un sólido blanco de aspecto céreo y carácter neutro. El producto se intenta cristalizar en acetato de etilo, separándose al enfriar una masa no cristalina que funde a 71-71, 5°.

B es de naturaleza ácida, no tratándose de un fenol, ya que con tricloruro de hierro la reacción es negativa, y como aducta con urea, se deduce

de todo ello que debe tratarse de un ácido de cadena lineal y monocarboxílico, pues además los valores para el peso molecular (Rast) y el equivalente de neutralización son prácticamente iguales. Por otra parte, el p. f. 78-79°, no se adapta bien a los datos de peso molecular y C e H, y asimismo a su carácter saturado, ya que para una molécula lineal saturada, el p. f. debiera ser aproximadamente 10° superior (49). Por tanto, y puesto que no existe ramificación (aducta con urea), ni insaturación, creemos que el p. f. bajo que encontramos sea debido a una impureza, probablemente de algún homólogo cercano.

Visto que la cristalización fraccionada no era buen camino para la purificación de este ácido, se intentó ésta a través del éster metílico, p. f. 60°, y cristalización fraccionada de éste en éter-alcohol. De esta manera se obtiene por hidrólisis de dicho éster metílico purificado, un ácido cuyo p. f. ascendió a 85°. De la determinación de su peso molecular y de los valores procedentes de la determinación de carbono e hidrógeno, se ha deducido una fórmula en $C_{26}H_{52}O_2$.

Se prepararon algunos derivados de este ácido con objeto de identificarlo de una manera completa, comparando los compuestos obtenidos con los que describe la literatura. A este fin se obtuvieron, además del éster metílico ya mencionado, el alcohol, por reducción del anterior compuesto, acetato de alcohol, éter y amida.

Finalmente, se ha querido poner de manifiesto a través de su espectro I. R., todas las conclusiones a las que se ha llegado por procedimientos químicos y, efectivamente, se confirmó que realmente se trata de un ácido de cadena muy larga que no presenta ramificaciones ni enlaces múltiples.

C se obtiene en la recristalización de éter de petróleo, fracción 40-60, de los residuos de las aguas madres, previamente evaporado el disolvente, procedentes de la recristalización de B, llegándose así a pequeñas cantidades de un compuesto de p. f. 88-89° que fue identificado de la misma manera que el anterior y a través del éster metílico como un ácido de cadena lineal saturado y monocarboxílico de 30 átomos de carbono.

D es insoluble en ácido sulfúrico concentrado y la falta de reactividad, así como el hecho de formar aducto con urea, hace sospechar que se trate de un hidrocarburo saturado de cadena lineal, aunque impurificado por indicios de otro u otros compuestos, ya que no se ha podido cristalizar.

Con objeto de averiguar qué productos lo impurifican y así poder eliminarlos, se ha estudiado su I. R., que pone de manifiesto, además de las

bandas características correspondientes a un hidrocarburo de larga cadena saturado, un grupo carbonilo tipo éster, a 1.742 cm^{-1} , y un oxhidrilo alcohólico, a 3.405 cm^{-1} , lo que hace suponer que dichos grupos forman parte de impurezas del hidrocarburo que no se separan al intentar cristalizar. Para comprobar esta suposición se sometió D a un tratamiento alcalino (sosa alcohólica), con lo que la banda característica del grupo éster debe eliminarse, y continuar, sin embargo, la característica del oxhidrilo alcohólico correspondiente, tanto al alcohol libre como a la que resulta de la hidrólisis del éster. Y en efecto, así ocurre, ya que el I. R. de D, después de esta purificación presenta ahora solamente la banda característica del oxhidrilo alcohólico.

Para eliminar totalmente las impurezas de alcoholes y obtener la curva espectral del hidrocarburo limpia, se sometió al hidrocarburo —impurezas de alcohol, que resulta del tratamiento hidrolítico de D—, a otro tratamiento posterior con sodio en medio xilol. El I. R. del producto así obtenido después de los dos tratamientos mencionados, corresponde al de un hidrocarburo puro saturado y de cadena lineal, pudiéndose ya en este momento cristalizar en acetato de etilo hasta punto de fusión constante $71-2^{\circ}$.

Del análisis elemental y de las determinaciones del peso molecular conducen a una fórmula en $\text{C}_{33}\text{H}_{68}$, de cadena lineal, por formar, además, aducto con urea.

Precisamente la impureza correspondiente a la banda 1.742 cm^{-1} (grupo éster), puesta de manifiesto en el espectro I. R., hizo sospechar la existencia de un éster con probabilidad de ser aislado, y, en efecto, una vez separado todo el hidrocarburo por sucesivas concentraciones del disolvente, en donde es menos soluble, y separación del producto amorfo precipitado, se llega a una concentración tal que no se separa más hidrocarburo. En este momento se concentra a sequedad y el sólido céreo residual se cristaliza en una mezcla éter-alcohol, obteniéndose unos cristales de p. f. 68° que resultan ser solubles en ácido sulfúrico concentrado y se hidrolizan en medio alcalino al cabo de unas horas. Los productos de la hidrólisis son un ácido y un alcohol, lo que demuestra su naturaleza de éster, y además de cadena lineal (aducta con urea), confirmados todos estos extremos, más tarde, por el espectro I. R.

De los datos del peso molecular y carbono e hidrógeno se deduce para este producto una fórmula en $\text{C}_{54}\text{H}_{108}\text{O}_2$, del que no hemos encontrado referencia bibliográfica.

Se estudiaron también el ácido y el alcohol procedentes de la hidrólisis alcalina para obtener referencias bibliográficas en que apoyarnos.

El ácido procedente de la hidrólisis funde, después de su cristalización en benceno, a 95°. De los datos de su peso molecular, análisis y equivalente, se deduce una fórmula en $C_{32}H_{64}O_2$, lineal (aducta con urea), que coincide con el ácido de 32 átomos de carbono descrito en la literatura (51) y del que hemos preparado su éster metílico.

Por otra parte, los números de C e H, así como el peso molecular del alcohol que procede de la hidrólisis del éster, llevan a la fórmula $C_{22}H_{46}O$, identificado por su p. f. y el de su acetato, con el alcohol de 22 átomos de carbono en cadena lineal (52).

A continuación interpretamos los espectros I. R. del ácido libre B, hidrocarburo impurificado con éster y alcohol, hidrocarburo con impurezas de alcohol, hidrocarburo puro y éster.

Interpretación del espectro I. R. del ácido libre

La banda a 1.697 cm^{-1} corresponde a la vibración de tensión de un grupo $C=O$ de ácido.

La banda del grupo $O-H$, que corresponde al ácido, aparece normalmente en la zona de 2.500 a 3.000 cm^{-1} , pero en este caso debido al pequeño espesor de la muestra utilizada, debió resultar enmascarada por las bandas debidas a las tensiones de los enlaces $C-H$, en este caso a 2.940 y 2.870 cm^{-1} .

Las bandas a 720 y 729 cm^{-1} indican la presencia de una larga cadena de grupo $-CH_2-$, probablemente de más de 8 eslabones.

Las bandas a 2.940 y 2.870 cm^{-1} se deben a las vibraciones de tensión de los enlaces $C-H$ de estos grupos, y la banda a 1.467 cm^{-1} es la debida a la vibración de deformación de los mismos.

La serie de pequeñas bandas hacia 1.200 cm^{-1} es también característica de compuestos con largas cadenas de grupos $-CH_2-$.

Interpretación del espectro I. R. del hidrocarburo impurificado con éster y alcohol

Bandas entre 750 y 1.300 cm^{-1} , típica de un hidrocarburo de larga cadena carbonada.

"SOBRE RUTA MONTANA"

Bandas a 720 y 730 cm^{-1} , característica de una larga cadena de grupos $\text{—CH}_2\text{—}$ (vibraciones de balanceo).

Banda a 1.377 cm^{-1} , se debe a la vibración de deformación de grupos metilo.

Banda a 1.464 cm^{-1} , debida a las vibraciones de deformación de los grupos $\text{—CH}_2\text{—}$.

Banda a 1.742 cm^{-1} , debida a la vibración de tensión del enlace $\text{C}=\text{O}$, probablemente de un grupo éster (probablemente impureza).

Bandas a 2.870 y 2.950 cm^{-1} , debidas a las vibraciones de tensión del enlace C—H .

Y por último, banda a 3.405 cm^{-1} , debida probablemente a la vibración de tensión del enlace O—H de un grupo alcohólico (probablemente impureza).

Interpretación del espectro I. R. del hidrocarburo con impurezas de alcohol.

El espectro de esta sustancia es típico de un compuesto de larga cadena carbonada (hidrocarburo).

Banda a 3.430 cm^{-1} , debida a la probable existencia de un grupo O—H alcohólico (impureza).

Bandas a 2.922 y 2.870 cm^{-1} , debidas a las vibraciones de tensión asimétrica y simétrica, respectivamente, de los grupos $\text{—CH}_2\text{—}$.

Bandas a 1.472 y 1.462 cm^{-1} , debidas a las vibraciones de deformación de dicho grupo $\text{—CH}_2\text{—}$, y las bandas a 729 y 720 cm^{-1} debidas a las vibraciones de balanceo.

Interpretación del espectro I. R. del éster

Bandas a 1.710 cm^{-1} debida a la vibración de tensión de un enlace $\text{C}=\text{O}$ tipo éster.

Bandas a 2.930 y 2.860 cm^{-1} , debidas respectivamente a las vibraciones de tensión asimétrica y simétrica de los grupos $\text{—CH}_2\text{—}$.

Bandas a 1.475 y 1.463 cm^{-1} , debidas a las vibraciones de deformación de los grupos $\text{—CH}_2\text{—}$.

Banda a 1.377 cm^{-1} , se debe, probablemente, a la vibración de deformación simétrica del grupo —CH_3 . La débil intensidad de esta banda indica que no debe haber ramificaciones.

Banda a 720 cm^{-1} , debida a la vibración de balanceo de los grupos $-\text{CH}_2-$ de una cadena carbonada de más de 8 eslabones.

Banda a 730 cm^{-1} , podría indicar la presencia de un radical butilo, cuya vibración rocking de los grupos $-\text{CH}_2-$ suele aparecer entre 726 y 729, pero por su gran intensidad es más probable que esta banda no sea del radical butilo, sino que sea de un desdoblamiento de la banda de vibración rocking del metileno, que suele presentarse en algunos espectros de películas cristalinas de n-parafina, ácidos grasos y otros compuestos de largas cadenas carbonadas.

RUTINA

Puesto que tanto de la "Ruta graveolens" (54) como de la "Ruta chalepensis" (55) se ha podido aislar rutina, con facilidad, se intentó comprobar si de la "Ruta montana" se podía separar el rutósido en las mismas condiciones. Todos los intentos llevados a cabo fueron totalmente infructuosos, lo que indujo a pensar que faltase en esta planta o que se encontrase en tan pequeña cantidad que no fuera posible su separación.

En el caso de la "R. montana", si bien es cierto que no se pudo aislar la rutina, sí que pudo ponerse en evidencia por cromatografía sobre papel.

Posteriormente, se hicieron cromatografías comparativas con rutina de otra procedencia (57), encontrando siempre R_f idénticos a los ya obtenidos para la sustancia aislada de la "Ruta montana".

PARTE EXPERIMENTAL

Extracción del producto A

Tres Kg de planta recolectada en el mes de mayo, en la provincia de Sevilla, se pulverizan y secan a 100° , y se extraen en Soxhlet, primero con éter de petróleo y más tarde con éter etílico, hasta que los disolventes no presentan color. Por concentración de los extractos de éter etílico cristaliza el producto A en forma de agujas sedosas de color blanco, que fue cristalizado en alcohol de 80 hasta p. f. constante $145-146^\circ$.

El rendimiento en sustancia completamente pura fue del orden del 1 %, pero como en los procesos de purificación existen pérdidas inevitables, el contenido de A en planta debe sobrepasar la cifra anteriormente señalada.

“SOBRE RUTA MONTANA”

Estudio de A — p. f. 145-146°

ANÁLISIS:

Calculado para $C_{12}H_8O_4$: C 66,65 % ; H 3,74 %
Hallado : C 66,09 % ; H 3,81 %

PESO MOLECULAR

Método de Rast modificado por Münster (58):

Constante de alcanfor ...	40
Peso de sustancia	0,0096 gr
Peso alcanfor	0,1014 gr
Descenso	17,6°
Peso molecular	215

Método de Beckman (59):

Disolvente empleado	benceno
Peso de sustancia	0,1276
Peso disolvente	19,3506
Constante del disolvente ...	5,12
Descenso	0,155
Peso molecular	218
Peso molecular medio ...	216
Calculado para $C_{12}H_8O_4$...	216

Espectro U. V.

Se determinó en solución alcohólica. Presenta tres máximos de absorción correspondientes a 218 $m\mu$, 248 $m\mu$ y 300 $m\mu$.

Determinación de metoxilo por Zeisel

Peso sustancia	0,1541 gr
Peso IAg	0,1675 ”
Calculado para $C_{12}H_8O_4$	1,00 ”
Hallado	0,99 ”

Dobles enlaces activos

Peso sustancia	0,00507 gr
Volumen de hidrógeno a 0° y 760 mm ...	0,553 c. c.
Calculado para $C_{12}H_8O_4$	1,00
Hallado	1,05

Titulación

Para caracterizar los grupos ácidos presentes y demostrar que existe una unión lactónica, establecida entre un carboxilo y un fenol, se hizo una apertura con NaOH en caliente, en ausencia de CO_2 , con lo que debe formarse un grupo ácido y otro fenólico, en forma de sales sódicas, cuya presencia podrá ponerse de manifiesto por cualquier método que permita su valoración por separado, aprovechando la considerable diferencia entre las constantes de disociación de cada uno de los grupos.

Se escogió la titulación potenciométrica con electrodo de vidrio y para llevarla a cabo, se calentó un determinado peso de la sustancia problema con un exceso de NaOH N/10, en ausencia de CO_2 , y se valoró el exceso de álcali con ácido clorhídrico normal, después de enfriar a la temperatura ambiente.

Si es cierto que se trata de unión lactónica (de grupo fenol) se necesitarán, para la apertura, dos moles de hidróxido sódico por mol de sustancia problema, debiendo quedar un exceso de álcali. La valoración con clorhídrico deberá conducir a una curva potenciométrica con tres inflexiones, al tomar incrementos de pH en ordenadas y c. c. consumidos de clorhídrico en abscisas. La primera debe coincidir con la neutralización del exceso de álcali; la segunda, debe corresponder a la formación del grupo fenólico, y la tercera al del grupo carbóxilo.

Derivados de A

Acido metilxantotóxico (16)

Cinco gr de A se calentaron a reflujo con 3 gr de KOH y 150 c. c. de metanol. Se adicionaron posteriormente 9,5 gr de yoduro de metilo y continuó calentando hasta reacción neutra.

“SOBRE RUTA MONTANA”

Más tarde se eliminó el alcohol etílico totalmente, filtrándose la solución acuosa.

La parte soluble en agua (solución alcalina) se extrajo con éter etílico dos veces, acidificó después con ácido clorhídrico, precipitando entonces una resina que después de recrystalizar varias veces en alcohol etílico, suministra el ácido metilxantotoxínico en forma de unos cristales compactos de p. f. 117°.

ANÁLISIS:

Calculado para $C_{13}H_{12}O_5$: C 62,89 % ; H 4,83 %
Hallado : C 62,90 % ; H 4,81 %

Derivado nitrato (61)

A 5 gr de A de añaden 50 c. c. de ácido nítrico 45 % y se calienta la muestra suavemente; más tarde se enfría con hielo. Por adición de mucha agua se separó una masa amarilla que cristaliza en nitrobenzeno en forma de bellas agujas amarillas, p. f. constante 230°.

ANÁLISIS:

Calculado para $C_{12}H_7O_4NO_2$: N 5,38 %
Hallado : N 5,35 %

Derivado dibromado (62)

Cinco gr de sustancia seca se disolvieron en 80 gr de cloroformo anhidro y se calentaron suavemente a baño maría y a luz directa de sol con 7,5 gr de una disolución de bromo en cloroformo, también seco, en relación 1:2.

Después de eliminar el cloroformo se cristaliza el residuo en xilol anhidro, separándose cristales de p. f. 164°.

ANÁLISIS:

Calculado para $C_{12}H_8O_4Br_2$: Br 42,54 %
Hallado : Br 42,20 %

Derivado monobromado

Este derivado, no encontrado en la literatura, se origina al tratar el derivado dibromado con alcohol etílico. P. f. 187°.

ANÁLISIS:

Calculado para $C_{12}H_7O_4Br$: Br 27,11 %
Hallado : Br 27,23 %

Extracción de la cera

Dos Kg de planta, recogida en el mes de mayo en la provincia de Sevilla, se secan y pulverizan a la temperatura ambiente, y sin haber tratado anteriormente con otros disolventes, se extraen con alcohol de 96°.

Por concentración del extracto alcohólico y enfriamiento posterior, se separó un precipitado pardo oscuro, que después de disolver en alcohol hirviendo y filtrar en caliente, repetidas veces, se fracciona en dos. El compuesto insoluble que queda sobre el filtro se identifica más tarde como oxalato cálcico, mientras que del líquido filtrado, una vez frío, se separa una masa de aspecto céreo, que después de filtrar y escurrir a la trompa, queda en forma de un polvo blanco, obteniéndose en total 2 gr, lo que representa un rendimiento de 0,1 % de la cera calculada sobre planta seca a temperatura ambiente.

La cera, constituida por el polvo blanco recogido sobre el filtro, se disuelve en exceso de éter etílico caliente y se deja en reposo, hasta enfriamiento, en cuyo momento se vuelve a filtrar, quedando de esta forma una disolución etérea transparente que en el tratamiento con NaOH al 5 % separa, en la fase acuosa, productos de naturaleza salina. Se acidifica la disolución alcalina con ácido clorhídrico y se extrae por éter, lava, seca y concentra a sequedad la solución etérea, cristalizando el residuo de éter de petróleo, fracción 60/80, obteniendo así un producto B. La evaporación de las aguas madres deja un sólido amorfo, de aspecto céreo, que cristalizado en éter de petróleo, fracción 40/60, suministra el compuesto C.

La disolución etérea residual, después de extraída con NaOH al 6 %, se lavó con agua hasta reacción neutra, secó con sulfato sódico, filtró y eliminó el disolvente. El producto residual se intenta cristalizar en acetato de etilo, obteniéndose siempre una masa amorfa, de p. f. 71-71, 5°: D.

"SOBRE RUTA MONTANA"

Purificación y derivados de B

Separados los cristales de B por filtración, dan p. f. 78-79°, recogién- dose 0,35 gr, lo que representa un rendimiento de 17,5 % en la cera y de 0,0175 % sobre planta empleada.

Como ya señalamos en las consideraciones teóricas, este producto se intentó purificar a través de la formación de su éster metílico y cristaliza- ción fraccionada de éste en éter-alcohol.

ANÁLISIS DEL ÉSTER METÍLICO:

Calculado para $C_{27}H_{54}O_2$: C 79,21 % ; H 13,17 %
Hallado : C 79,63 % ; H 13,24 %

Según la bibliografía (64) este compuesto corresponde al éster metílico del ácido de cadena lineal, monocarboxílico y saturado, de 26 átomos de carbono.

Hidrolisis de B metilado

Se llevó a cabo, y con objeto de recuperar el ácido de su éster metílico, una hidrólisis alcalina. El producto resultante de la reacción se cristaliza en éter de petróleo, fracción 60/80, separándose cristales de p. f. 84-85°.

ANÁLISIS:

Calculado para $C_{26}H_{52}O_2$: C 78,78 % ; H 13,21 %
Hallado : C 78,63 % ; H 13,20 %

EQUIVALENTE DE NEUTRALIZACIÓN:

Peso sustancia	0,0702 y 0,0642 gr
C. c. de NaOH N/100 consumidos ...	17,6 y 16,4
Equivalente	399
Valor medio	395
Calculado para $C_{26}H_{52}O_2$	396

PESO MOLECULAR (rast modificado por Münster):

Peso sustancia	0,0092 gr.
Peso alcanfor	0,536 gr.
Descenso	17,5
Peso molecular	392

Además del éster metílico ya mencionado se llevaron a cabo obtenciones de alcohol, por reducción del éster metílico de B; derivado acetilado del alcohol, por tratamineto de éste con anhídrido acético y piridina; éter del alcohol, por tratamiento del alcoholato correspondiente con yoduro de metilo, y, finalmente, amida.

Separación e identificación del compuesto ácido C

C se obtuvo al recrystalizar de éter de petróleo, fracción 40/60, los residuos de las aguas madres procedentes de la cristalización de B, llegándose así a una pequeña cantidad de cristales que funden 88,4°. El rendimiento fue de 0,005 % sobre planta y 5 % sobre cera.

El producto se identifica como un ácido monocarboxílico, de cadena lineal y saturado.

ANÁLISIS:

Calculado para $C_{30}H_{60}O_2$:	C	79,74 %	H	13,28 %
Hallado:	C	79,52 %	H	13,47 %

Este producto se identificó a través de su éster metílico.

ANÁLISIS DEL ÉSTER METÍLICO:

Calculado para $C_{31}H_{62}O_2$:	C	79,82 %	H	13,30 %
Hallado:	C	79,80 %	H	13,42 %

Estudio de D

Químicamente se comporta como un compuesto saturado, lo que se confirmó por el espectro I. R., el cual muestra a su vez que es un hidrocarburo con impurezas de una sustancia tipo ester y de otra u otras de naturaleza

"SOBRE RUTA MONTANA"

alcohólica, que posiblemente deben ser las que impiden la cristalización. Por ello se impone una purificación con vistas a eliminar cada una de estas impurezas, de las cuales la primera, constituida por el éster, se separa fácilmente por un tratamiento hidrolítico, y la segunda, a través de un tratamiento con sodio en medio xilol.

El producto que se recupera después de este último tratamiento, se presenta como una masa ligera de color blanco brillante, de aspecto cristalino y de p. f. constante 71,5-72°.

El rendimiento obtenido fue de 15 % sobre la cera y 0,015 % sobre planta seca.

ANÁLISIS:

Calculado para $C_{33}H_{68}$: C 85,34 %; H 14,66 %
Hallado: C 85,37 %; H 14,67 %

Separación de un éster

En la disolución de acetato de etilo, de la que precipitó la masa amorfa, p. f. 71-71, 5°, queda disuelto un producto que una vez eliminado el disolvente resultó ser de aspecto céreo y perfectamente cristalizable en una mezcla éter-alcohol, p. f. 65-68°, constante.

El rendimiento fue de 7 % sobre cera bruta y de 0,007 % sobre planta.

ANÁLISIS:

Calculado para $C_{54}H_{108}O_2$: C 82,23 %; H 13,70 %
Hallado: C 82,29 %; H 14,24 %

Este producto fue identificado a través de sus productos de hidrolisis que resultaron ser un alcohol de 22 átomos de C y un ácido de 32 átomos de C, ambos de cadena lineal y saturados.

RUTINA

Intentos de extracción de rutina de la "R. montana"

Se siguió el procedimiento de J. C. Torres (54).

En vista de que no se separaba el rutósido, ni aún concentrando excesivamente, se pensó bien que el glucósido pudiera faltar en la "Ruta montana" o que se encontrara en tan pequeña cantidad que no hubiera posibilidad de separación. Por lo que respecta al primer extremo se confirmó, por cromatografía sobre papel, la presencia de rutina en la planta estudiada. En cuanto al segundo, también pudo ponerse de manifiesto la bondad del método de extracción al utilizar las mismas técnicas de separación, utilizando "R. bracteosa". Los resultados fueron positivos, obteniéndose el rutósido con rendimiento de 0,5 % sobre planta seca a 100° C.

Cromatografía comparativa con rutina de otra procedencia

Se repitieron, utilizando disolventes que sirvieron para comprobar la presencia de rutina en la "Ruta montana", cromatografías comparativas con rutina de otras procedencias. En todos los casos aparecieron las manchas a la misma altura, confirmando así la identidad de ambos productos.

CONCLUSIONES

1.ª Se ha hecho un estudio del extracto de éter etílico de las hojas de "Ruta montana" aislándose, con rendimiento superior al 1 %, un sólido que, una vez purificado, se presenta en forma de unas agujas sedosas de color blanco y p. f. 145-146°.

2.ª Estudiado el sólido citado, se han preparado de él los derivados nitrado y dibromado.

3.ª Se ha identificado el compuesto como xantotoxina $C_{12}H_8O_4$, preparándose de la misma el ácido metilxantotoxínico, que resulta coincidente en sus propiedades, al igual que la de los derivados anteriores, con las que la bibliografía señala para ellos.

4.ª Se ha preparado por primera vez el derivado monobromado de la xantotoxina.

5.ª Se da por primera vez el espectro I. R. y ultravioleta de la xantotoxina.

6.ª Se ha estudiado el producto céreo que se separa, al enfriar, del extracto alcohólico de las hojas de "R. montana".

7.ª En dicho producto céreo se han aislado dos ácidos carboxílicos de cadena muy larga y saturada, un hidrocarburo y un éster; estos dos últimos,

“SOBRE RUTA MONTANA”

también de cadena lineal larga y saturados. Parece ser que juntamente con estos productos existen también indicios de alcoholes libres.

8.^a Los ácidos aislados se han identificado como de 26 y 30 átomos de carbono, lineal y saturados, y se obtienen con rendimientos de 0,0175 y 0,005 %, respectivamente, sobre planta.

9.^a Se ha identificado el hidrocarburo y se ha seguido el proceso de purificación por medio de espectros I. R., como de 33 átomos de carbono de cadena lineal y saturada, y se obtiene con un rendimiento de 0,015 % sobre planta.

10.^a Se ha demostrado que el éster, separado de la cera, corresponde a un compuesto de 54 átomos de carbono, formado por un ácido de 32 y un alcohol de 22 átomos de carbono, de cadenas lineales y saturadas, obtenido con rendimiento de 0,07 % sobre planta y que se cita por vez primera como componente vegetal.

11.^a Se cita por primera vez el éster metílico del ácido de 32 átomos de carbono que resulta de la hidrólisis alcalina del éster mencionado.

12.^a Se cita por primera vez el éter metílico correspondiente al alcohol de 26 átomos de carbono.

13.^a Se ha detectado por el procedimiento cromatográfico y por primera vez rutina en la “Ruta montana”, intentándose, aunque sin éxito, aislarla de dicha planta.

14.^a Se ha aislado el rutósido, con objeto de poner a prueba la bondad de los métodos de extracción de rutina empleados, de una variedad de la “Ruta chalepensis” o “Ruta bracteosa”.

15.^a Los rendimientos obtenidos por los procedimientos de Schmidt, modificado por Torres y por el de C. Torres, son del orden de 0,20 y 0,50 % respectivamente, utilizando “Ruta bracteosa”.

BIBLIOGRAFÍA

- (1) M. LOSAS, S. RIBAS y J. M. MUÑOZ MEDINA: *Tratado de botánica descriptiva aplicada*. Fanerogamia.
- (2) M. COLMEIRO: *Enumeración y revisión de las plantas de la Península Hispano-Lusitana e Islas Baleares*.
- (3) M. WILKOM y J. LANGE-PRODROMUS: *Florce Hispanice*.
- (4) F. LOSCOS y PARDO: *Serie imperfecta de las plantas aragonesas*.
- (5) LÁZARO E IBIZA: *Botánica descriptiva*.
- (8) E. GUENTHER: *The Amer. Perf.*, mayo, 45 (1946); ION, VII-66 (1947).
- (9) J. CABO TORRES: *Farmacognosia*, X-18, 316 (1950).
- (10) *Ibid. Ibid.*: X-18, 317 (1950).
- (11) DORRONSORO: *Estudio químico de esencias naturales españolas*. Madrid, 1919, p. 92.
- (13) PFAU: *Helv. Chim. Acta*, 22, 382 (1939).
- (14) J. CABO TORRES: *Farmacognosia*, X-18, 284 (1950).
- (15) H. PRIES: *Ber. Pharm. Ges.*, 21, 227 (1911).
- (16) H. THOMS: *Ber.*, 44, 3325 (1911).
- (20) FAHMY y ABUSHADY: *Quart. J. Pharmacy and Pharmacol.*, 20, 281 (1957); *C. A.* 42, 1707 (1948).
- (44) J. CABO TORRES: *Farmacognosia*. X-18, 288 (1950).
- (47) *Xantotoxina cedida por gentileza del Dr. Schonberg y aislada de "Ammi majus"*.
- (48) G. RODIGHUIERO, G. CAPORALE y E. RAGAZZI: *C. A.*, 48, 1.416 h. (1954).
- (49) A. KIESEL: *Ber.*, 58, 1386 (1925).
- (51) *Beilstein Handbuch der Organischen Chemie*, 2.ª serie, vol. II, p. 383.
- (52) *Ibid.*: 2.ª serie, vol. I, p. 470.
- (54) J. CABO TORRES: *Farmacognosia*, X-18, 229-371 (1950).
- (55) *Ibid. Ibid.*, XI, 305 (1951).
- (57) *Rutina extraída de la "Ruta bracteosa"*.
- (58) GATTERMANN: *Prácticas de Química Orgánica*, 2.ª ed. española, p. 100 (1944).
- (59) F. DANIELS, H. MATHEW y J. W. WILLIAMS: *Prácticas de Química Física*, p. 82.
- (61) H. PRIES: *Ber. Dtsch. Pharm. Ges.*, 21, 243 (1911).
- (62) *Ibid. Ibid.*, 21, 244 (1911).
- (64) *Beilstein Handbuch der Organischen Chemie*, 1.ª serie, vol. II, p. 183.

Valencia, abril 1960.