

## NUEVAS FUENTES DE SAPOGENINAS ESTEROIDICAS

### IV. *Asparagus plumosus* Baker, *Asparagus tenuissimus* (Hort) Kudo, *Campylanthus salsoloides* Roth y *Bryonia verrucosa* Ait

P O R

R. FERNÁNDEZ DÍAZ, R. FREIRE BARREIRA, OSCAR S. GIORDANO (\*)  
y A. G. GONZÁLEZ

Universidad de La Laguna.

Instituto de Investigaciones Químicas de Tenerife del C. S. I. C.

(\*) Universidad Nacional de Cuyo. Facultad de Ciencias. San Luis. Argentina

Recibido el 27 de octubre de 1966

#### S U M M A R Y

From the rizomes of *Asparagus plumosus* Baker were isolated *hecogenin* and *diosgenin*; those of *Asparagus tenuissimus* (Hort) Kudo, did not contain any steroidal saponin. The leaves of *Campylanthus salsoloides* Roth yielded *sarsasapogenin* but the stems exclusively  $\beta$ -sitosterol. From the fruits of *Bryonia verrucosa*, Ait we obtained *sarsasapogenin*.

En publicaciones anteriores de esta serie (1) dimos cuenta del aislamiento, por primera vez, de las sapogeninas esteroidicas *tigogenina*, *hecogenina*, *diosgenina* y *pennogenina*, a partir de los *Asparagus*; *A. umbellatus* Link, *A. scoparius* L., especies endémicas del Archipiélago canario y *A. asparagoides* Druce, especie introducida en nuestro Archipiélago. También comunicamos la obtención, a partir del *A. albus* L y *A. facatus* Link, especies introducidas, de la *sarsasapogenina*, única sapogenina aislada de las especies de *Asparagus* estudiadas por varios investigadores (2).

Siguiendo nuestro plan general de trabajo sobre la búsqueda de nuevas fuentes de sapogeninas esteroidicas, hemos ampliado nuestras investigaciones estudiando especies de otras familias botánicas. En esta publicación damos cuenta de los resultados obtenidos al buscar estas sustancias en el *Asparagus plumosus* Baker y *Asparagus tenuissimus* (Hort) Kudo (Liliáceas), especies exóticas cultivadas en las Islas Canarias como plantas ornamentales, en la *Bryonia verrucosa* Ait (Cucurbitaceae) y el *Campylanthus salsoloides* Roth (Scrophulariaceae), dos especies del Archipiélago canario. Los resultados obtenidos se describen a continuación:

(1) Partes I, II y III de esta serie. Estos ANALES.

(2) MARKER, R. E. y colab.; *J. Am. Chem. Soc.*, **62**, 2620 (1940); FONTÁN CANDELA, J. L. y VILLAR PALASÍ, V.; Estos ANALES, **47-B**, 309 (1951). DÁVILA, C. y MARTÍN PANIZO, F.; Estos ANALES, **54-B**, 697 (1958), y MARTÍN PANIZO, F. y SCHNELL, J.; Estos ANALES, **57-B**, 229 (1961).

*Asparagus plumosus* Baker.

Hemos aislado el insaponificable de rizomas de ejemplares viejos, recogidos durante el invierno en jardines de La Laguna, siguiendo la marcha descrita por Keniche Takeda y colaboradores (3), el producto obtenido se comporta, en cromatografías en capa fina, como una mezcla de dos sustancias fundamentales, que se asemejan mucho a muestras auténticas de *hecogenina* y *diosgenina*. Las dos sapogeninas fundamentales se separaron por cromatografía en capa gruesa.

La genina de menor desplazamiento, cristalizada en metanol, da punto fusión 251-254° C,  $[\alpha]_D +6,2$ , en  $\text{CHCl}_3$ . Por cromatografía en capa fina da una sola mancha de color amarillo a la luz visible y fluorescencia azul a la luz U. V. Se comporta de igual forma que una muestra de *hecogenina*, tanto en cromatografía en capa fina como en su absorción en el I. R. Da un acetato de p. f. 243-246° C;  $[\alpha]_D -51^\circ$ , en  $\text{CHCl}_3$  ( $c=2,5$  %). Su espectro I. R., en  $\text{S}_2\text{C}$ , es superponible con el dado por una muestra auténtica de *hecogenina* (4), en las mismas condiciones experimentales. Por sus constantes y las de su acetato, análisis, así como por sus cromatografías en capa fina y espectrografía en el infrarrojo, queda plenamente identificada con la *hecogenina*.

La segunda genina, de mayor desplazamiento, da p. f. 198-199° C,  $[\alpha]_D -126,2^\circ$ , en  $\text{CHCl}_3$  ( $c=1,45$  %). Forma un acetato que en cromatografía de capa fina se comporta de forma idéntica a una muestra auténtica de *acetato de diosgenina*, siendo superponible el espectro infrarrojo de una muestra de nuestro acetato con el que da la literatura para el *acetato de diosgenina* (4). Esta segunda sapogenina se identifica con la *diosgenina*.

*Asparagus tenuissimus* (Hort) Kudo.

Se emplearon rizoma de ejemplares viejos de *Asparagus tenuissimus* (Hort) Kudo, cultivados en el Jardín de aclimatación del Puerto de la Cruz como planta ornamental. Estos rizomas triturados y agitados con agua no produjeron espuma. Varios ensayos realizados para obtener sapogeninas de los rizomas de este *Asparagus*, siguiendo la marcha descrita por Keniche Takeda (loc. cit.), no dieron resultado, en ninguno de estos ensayos obtuvimos la menor cantidad de sarsapogeninas esteroidicas.

*Campylanthus salsoloides* Roth.

Se trata de una Scrophulariaceae. En nuestros Laboratorios, hace varios años que se estudian los insaponificables de diversas especies pertenecien-

(3) KENICHI TAKEDA, TAMETO OKANISHI, HITOSHI MINATO and ARIYSHI SHIMAOKA; *Chem. Pharm. Bull.*, **12** (7), 779 (1964).

(4) EDDY, C. R., WALL, M. E. and SCOLT, M. K.; *Catalog of Infrared Absorption Spectra of Steroidal Sapogenin Acetates, Analytical Chemistry*, **25** (2), 266 (1953).

tes a esta familia botánica. Por los resultados obtenidos, destacan las investigaciones realizadas con las tres especies del género *Isoplexis*, habiéndose aislado de la *Isoplexis canariensis* Lindl. un nuevo cardenolido, que denominamos *canariengenina*, así como dos nuevos monoglucósidos del mismo (5) y un diglucósido (6). De la *Isoplexis isabelliana* L., también estudiada por K. Meyer y colaboradores (7), aislamos varios cardenólidos ya conocidos (8) y de la *Isoplexis sceptrum* (Linn) Steudel, especie exclusiva de la isla de Madeira, no obtuvimos cardenólidos sino sapogeninas espirostánicas de las cuales identificamos *gitogenina* y posiblemente *neogitogenina*, obteniéndose también una nueva *trihidroxisapogenina* espirostánica (9).

Investigando el insaponificable de algunas especies del género *Scrophularia* hemos hallado solamente geninas de tipo triterpénico, así de la *Scrophularia Smithii* Wydler obtuvimos dos nuevos triterpenos que fueron denominados *smithiandienol*A y B, correspondiendo sus estructuras al *olean-11,13(18)-dieno-3,23,28-triol* y *23-nor olean-12,17-dieno 3,28 diol* respectivamente (10).

Siguiendo estos estudios sobre las Scrophulariáceas hemos investigado el insaponificable procedente de las hojas y ramas del *Campylanthus salsooides* Roth, esperando obtener triterpenos relacionados con los descritos, planta que se halla exclusivamente en nuestro Archipiélago (11). Sorprendentemente de las hojas no se obtuvieron triterpenos, sino una sapogenina esteróidica que fue identificada con la *sarsapogenina*. Los tallos no contienen sapogeninas espirostánicas, aislándose exclusivamente  $\beta$ -sitosterol.

### *Bryonia verrucosa* Ait.

Esta especie de la familia de las *Curbitáceas* es exclusiva de las islas Canarias. Las raíces de la *Bryonia alba* Linn y de la *Bryonia dioica* Jacq. han sido usadas medicinalmente, desde hace mucho tiempo, debido a sus propiedades purgativas. Estas raíces han sido sometida a diversos estudios con el fin de determinar la naturaleza de sus principios activos (12),

(5) GONZÁLEZ, A. G., BRETÓN, J. L. y DELGADO, J.; Estos ANALES, **56-B**, 85 (1960) y DELGADO, J., GONZÁLEZ, A. G., SNATZKE, G. y TSCHESCHE, R.; Estos ANALES, **58-B**, 651 (1962).

(6) DELGADO BENÍTEZ, J., GONZÁLEZ GONZÁLEZ, A. y GUTIÉRREZ JEREZ, F.; Estos ANALES, **61-B**, 551 (1965).

(7) *Über pflanzliche Herzgifte, XLI. Die Glykoside und Aglykone der Blätter von Digitalis canariensis L.*, por R. TSCHESCHE, G. SNATZKE, J. DELGADO y A. G. GONZÁLEZ. Liebigs Ann. Chems., **663**, 157 (1963).

(8) BRETÓN, J. L. and GONZÁLEZ, A. G.; *Chem. & Ind.* (London) (1960), 205.

(9) BRETÓN FUNES, J. L., GONZÁLEZ GONZÁLEZ, A., RODRÍGUEZ DE LEÓN, A. y RUI VIERA; Estos ANALES, **62-B**, 627 (1966).

(10) BRETÓN, J. L., and GONZÁLEZ, A. G.; *J. Chem. Soc.* (London), 1401 (1963).

(11) Comunicación privada de S. Sventenius.

(12) HUSEMAN; *Die Pflanzenstoffe*, 2 Ed. 1349 y VAN RYN, *Die Glycoside*, 463. *J. Chem. Soc.*, **99** (1911).

se fija la presencia de almidón, goma, azúcar, materias grasas y una serie de sustancias tóxicas, utilizadas ocasionalmente en veterinaria como purgantes, las cuales han sido denominadas *broinicina* (13), *brionidina* (14), *brionina* (15), *brionol* (16).

Nosotros estudiando el insaponificable de los frutos de la *Bryonia verrucosa* Ait. hemos obtenido una sapogenina espirostánica de la serie *neo* que se identificó con la *sarsasapogenina*, junto con una mezcla de esteroides, cuya publicación ha quedado pendiente, y una mezcla de alcanos que van desde  $C_{22}$ - $C_{30}$  predominando los  $C_{29}$  y  $C_{30}$ .

## PARTE EXPERIMENTAL

### *Obtención de las sapogeninas del Asparagus plumosus*. Baker.

En este ensayo utilizamos rizomas de ejemplares viejos de *A. plumosus* Baker recolectados en La Laguna (Tenerife), en invierno (noviembre), cultivados en jardín como planta ornamental.

En la extracción de las sapogeninas hemos seguido, en líneas generales, la marcha utilizada por Keniche Takeda y colaboradores (loc. cit.), se partió de 1.250 g de raíces, con un 20 % de humedad, después de triturarlas, se extrajeron, hasta agotamiento, con etanol al 95%. Los extractos se concentraron en rotavapor, y el concentrado se desengrasó, hasta agotamiento, con éter etílico en extractor líquido-líquido. Quedaron 735 cc de concentrado hidroalcohólico, al que se agregaron 180 cc de etanol de 95 %, quedó la solución, aproximadamente, con un 25 % de etanol, se le añade  $SO_4H_2$  conc., hasta dejar la solución, aproximadamente, 3 N y se calienta a reflujo durante seis horas, a continuación se vertió sobre agua abundante, neutralizándose el exceso de  $SO_4H_2$  con  $COHNa$ .

Después de reposar una noche, se separó un abundante precipitado que se separó por filtración. Se obtuvo un producto marrón, que se calentó a reflujo con un litro de solución de  $KOH$  al 5 % en metanol. A la solución metanólica fría se le añade un litro de agua y se extrae con un litro de benceno por agitación, esta operación se repitió tres veces, presentó dificultades por la facilidad con que se formaron emulsiones.

Después de secar sobre  $SO_4Na_2$  anh., la solución bencénica fue destilada, quedó un residuo siruposo, oscuro, que secado pesó 4,8 g. Su espectro I. R. presentó las bandas de absorción del agrupamiento espirostánico ( $v_{max}$  980, 930, 905 y 870  $cm^{-1}$ , siendo  $v_{max}$  905  $cm^{-1}$  de mayor intensidad que  $v_{max}$  930  $cm^{-1}$ , probablemente de la serie *iso* (25 D).

Por cromatografías en capa fina, sobre placas de Kieselgel G. Merck según Stähl de 0,25 mm de espesor, utilizándose como eluyente la mezcla  $CHCl_3$ -acetona (9 : 1) y como revelador ácido acético glacial :  $SO_4H_2$  fumante (20 : 1 : 4), calentándose la placa, después de ser impregnada con el revelador, a 125° durante cinco minutos, se observan

(13) DE KONINEK, MARQUART; *Ber.*, **3**, 281 (1870); *ibid.*, **4**, 921 (1821); POWER More; *J. Chem. Soc.*, **99**, 937 (1911). ZELLNER, *Arch. Pharm.*, **265**, 40 (1927).

(14) MANKOSK; Diss. Popart, 1889.

(15) WALG; *Arch. Pharm.*, **146**, 150 (1958). MASSON; *Bull. Soc. Chim.*, (3), **9**, 1054 (1893); ANGELETTI, PONTE; *Gazz. Chim. Ital.*, **64**, 569 (1934).

(16) POWER, MOORE; *J. Chem. Soc.*, **99**, 943 (1911); *ibid.*, POWER, SALWAY; *J. Chem. Soc.*, **103**, 399 (1913).

sobre el cromatograma dos manchas; una, de menor desplazamiento, de color amarillo a la luz visible, con fluorescencia azul a la luz U. V., la cual se alineó perfectamente con la mancha dada por una muestra de *hecogenina auténtica*, dando ésta la misma coloración y fluorescencia a la luz visible y U. V.; la segunda mancha, de menor desplazamiento, cuyo color a la luz visible depende del tiempo de calefacción, por su alineación en capa fina, se asemeja indistintamente a *tigogenina* o *diosgenina*, pero por su coloración a la luz visible y por su fluorescencia a la luz U. V. se asemeja más a la *diosgenina*.

*Separación de las sapogeninas por capa gruesa.*—Se utilizaron placas de 1 mm de espesor de Kieselgel G. Merck según Stähl y Kieselgel H F<sub>254</sub> Merck según Stähl. Obtuvimos mejor resultado con las primeras por la influencia de la fluorescencia propia de las segundas. A continuación describimos uno de los ensayos; se colocan sobre la placa, preparada con el equipo Dosaga Heidelberg TN° Delt, 0,154 g del residuo de sapogeninas en bruto y se eluye con CHCl<sub>3</sub>: acetona (9:1). Se delimitan, a la luz U. V., cuatro zonas, se separan y extraen con etanol, se obtuvieron los resultados siguientes:

*Zona 1.*—Corresponde a la de menor desplazamiento, se obtienen 0,012 g de un producto que no se pudo cristalizar y que por cromatografía con capa fina, en las condiciones descritas más arriba, se desdobra en una serie de manchas mal definidas, se comporta como una mezcla de productos resinosos, colorante, etc.

*Zona 2.*—Corresponde a la de desplazamiento siguiente, su extracto dejó un residuo de 0,028 g, que cristaliza en metanol-acetona o en metanol, dando P. F. 251-154° C (*producto II*). Por cromatografía en capa fina da una sola mancha, de coloración amarilla, a la luz visible, con fluorescencia azul a la luz U. V. En las cromatografías en capa fina comparativa, estas manchas se alinean con la mancha dada por una muestra auténtica de *hecogenina*, presentan la misma coloración y fluorescencia.

*Zona 3.*—Se obtienen 0,036 g de un producto que cristaliza bien en la mezcla metanol-acetona o en metanol solo, da P. F. 196-199° C (*producto III*). Por cromatografía en capa fina, según las condiciones ya descritas, da una sola mancha, verde oscuro a la luz visible, con fluorescencia verde a la luz U. V., se alinea, en cromatografías comparativas en capa fina, con la mancha dada por una muestra auténtica de *diosgenina*, sus coloraciones a la luz visible y la fluorescencia a la luz U. V. son iguales.

*Zona 4.*—La de mayor desplazamiento no se logró cristalizar, y en cromatografía en capa fina se desdoble en una serie de manchos, mal definidas, de las cuales una se alinea con la dada por una muestra de *diosgenina* y de las otras, unas se desplazan con el frente, y otras quedan próximas a él, parece responder a colorante, resinas, etc.

A la vista de los resultados se procede a estudiar los productos obtenidos de las 2 y 3 de las cromatografías preparativas, se desechan los productos de las zonas 1 y 4. Se obtuvieron los resultados siguientes:

*Producto II.*—P. f. 251-254° C, cristalizado en metanol,  $[\alpha]_D^{+6,2}$  en cloroformo ( $c=1,2\%$ ). Su espectro I. R., en solución clorofórmica,  $c=12,9$  mg/litro, con celda de 0,5 mm de espesor, presenta bandas de absorción para  $\nu_{\max}$  3622 y 1050  $\text{cm}^{-1}$  (C-OH),  $\nu_{\max}$  1710  $\text{cm}^{-1}$  (C=O sobre anillo hexagonal) y  $\nu_{\max}$  988, 925, 903 y 870  $\text{cm}^{-1}$  siendo la banda a  $\nu_{\max}$  903  $\text{cm}^{-1}$  de mayor intensidad que la banda a  $\nu_{\max}$  925  $\text{cm}^{-1}$ .

*Análisis.*—Calculado para C<sub>27</sub>H<sub>42</sub>O<sub>4</sub>: C, 75,31; H, 9,83 %. Hallado: C, 75,02; H, 10,03 %.

Acetilado este *producto II*, con anhídrido acético y piridina a la temperatura ambiente durante veinticuatro horas, da un derivado de p. f. 243-246° C,  $[\alpha]_D^{+5,1}$  en CHCl<sub>3</sub> ( $c=2,5\%$ ). Su espectro I. R. en celda de 1 mm de espesor, disuelto en S<sub>2</sub>C a concentración de 10 mg/cc, es superponible con el dato por C. R. Eddy y colab. (loc. cit.) para el acetato de *hecogenina*. Presenta, entre otras, bandas de absorción para

1740  $v_{\max} + \text{cm}^{-1}$  ( $C=O$  del acetato)  $v_{\max}$  1715  $\text{cm}^{-1}$  ( $C=O$  acetónico sobre ciclo hexagonal), una banda intensa y simple para  $v_{\max}$  1242  $\text{cm}^{-1}$ , corresponde al grupo acetoxi con orientación ecuatorial, y bandas de 983, 922, 901 y 870  $\text{cm}^{-1}$  correspondientes al agrupamiento espiroestánico, la absorción a  $v_{\max}$  901 es superior a la que presenta para  $v_{\max}$  922  $\text{cm}^{-1}$ , corresponde a sapogeninas esteoidicas de la serie *iso* o 25-D.

*Análisis.*—Calculado para  $C_{29}H_{44}O_5$ : C, 73,69; H, 9,38 %. Hallado: C, 73,76; H, 9,58 %.

Por cromatografías en capa fina comparativas de este derivado acetilado del producto II sobre capa de gel de sílice, con la mezcla  $C_6H_6 : CHCl_3$  (1:1) como eluyente, se muestra idéntica a una muestra auténtica de acetato de hecogenina; los mismos desplazamientos, calor a la luz visible y fluorescencia a la luz U. V. Una mezcla de nuestro acetato y acetato de hecogenina no se separan en cromatografías en capa fina.

*Producto III.*—P. f. 198-199° C, cristalizado en metanol  $[\alpha]_D^{26}$ , en solución clorofórmica ( $c=1,45$  %). Su espectro I. R. en solución clorofórmica, en celda de 0,5 mm de espesor y 14,5 mg/cc de concentración, presenta, entre otras, las bandas de absorción del grupo alcoholico  $v_{\max}$  3620 y 1050  $\text{cm}^{-1}$  y de un agrupamiento espiroestánico de la serie *iso* 25-D.

*Análisis.*—Calculado para  $C_{27}H_{42}O_3$ : C, 78,31; H, 10,21 %. Hallado: C, 78,56; H, 10,43 %.

Acetilada esta sapogenina, en las mismas condiciones descritas para el producto II, obtuvimos un derivado que, cristalizado en metanol, da p. f. 195-198° C, siendo  $[\alpha]_D^{21}$ , en solución clorofórmica ( $c=1,26$ ). Su espectro I. R., realizado en las condiciones descritas para obtener el espectro I. R. del acetato del producto II, coincide con el dado por la literatura para el acetato de diosgenina.

El derivado acetilado del producto III se comporta en cromatografía en capa fina de forma idéntica a una muestra de acetato de diosgenina auténtica.

*Análisis.*—Calculado para  $C_{29}H_{44}O_4$ : C, 76,27; H, 9,71 %. Hallado: C, 76,46; H, 9,94 %.

*Campylanthus salsoloides* Roth.—8 Kg de hojas frescas de *Campylanthus salsoides*, recogidas en noviembre en la zona de Güimar (Isla de Tenerife) fueron extraídas con etanol en un soxhlet, hasta agotamiento. Al enfriarse el extracto se forma un abundante precipitado, se le agregó al extracto sosa hasta reacción ligeramente alcalina y luego se diluyó con 4,5 litros de solución alcohólica de NaOH, quedó una solución aproximadamente de 3 N; se calentó a reflujo tres horas y se diluyó con agua hasta doble de su volumen, al dejarla en reposo se formó un precipitado que fue separado por filtración. Tanto el producto separado como el líquido filtrado fueron extraídos con éter de petróleo y los extractos etéreos reunidos, lavados, primero con solución acuosa de sosa y luego con agua, secados y concentrados a vacío. Después de agregarle al mismo volumen de solución alcohólica de potasa, se vertió sobre igual volumen de agua y se separa por filtración el precipitado formado, después de seco es extraído varias veces con éter de petróleo.

El extracto en éter de petróleo fue secado sobre  $SO_4Na_2$  anhidrido y destilado, quedaron 2,8 g de producto sólido que extraídos en un soxhlet con n-heptano, durante dieciséis horas, se separa 0,85 g, quedando un residuo sólido, que, después de nueva saponificación con solución de NaOH en benceno-metanol, queda en la capa bencénica indicios de un producto que da con la reacción coloreada de Liebermann-Burchard color verde en la capa acética.

La parte insaponificables extraída con heptano (0,85) cristaliza de metanol en forma de plumones p. f. 195-198° C da positiva las reacciones coloreadas de las sapogeninas esteroidicas y en cromatografías en capa fina, eluyendo con  $CHCl_3$ ,  $CHCl_3 + 5$  % de acetona o  $CHCl_3-C_6H_6$  (1:1), da una mancha principal y otras como ligeras impurezas. La mancha principal se ordena con una muestra de *sarsapogenina*.

El espectro I. R., en  $\text{CHCl}_3$ , muestra las bandas de absorción características de una sapogenina esteróidica de la serie *neo*.

Por acetilación se obtuvo un producto que, en solución de  $\text{S}_2\text{C}$  ( $c=16$  mg/cc), da un espectro I. R. perfectamente superponible con el dado por una muestra auténtica de *acetato de sarsasapogenina*, hecho en las mismas condiciones. En cromatografías en capa fina, eluyéndose con  $\text{CHCl}_3\text{-C}_4\text{H}_6$  (1:1), da una sola mancha que se alinea con la dada por una muestra de *acetato de sarsasapogenina*.

*Sapogeninas de los tallos Campylanthus salsoloides*.—11,5 Kg de tallos frescos de esta planta, recogidos en la zona Güimar (Tenerife) en el mes de diciembre, fueron triturados y extraídos de igual forma que las hojas. Llegamos a un extracto en éter de petróleo que al destilarlo dejó 3,5 g de un residuo, ligeramente coloreado, que da positiva la reacción coloreada de Liebermann-Burchard. Disueltos en *n*-heptano se cromatografía a través de 500 g de alúmina de actividad I, el cromatograma fue eluido con 10 fracciones de *n*-heptano, 15 fracciones de *n*-heptano-benceno (10:1), 9 de benceno y 6 de benceno- $\text{CHCl}_3$  (5:1). Todas las fracciones fueron de 400 cc. Los resultados obtenidos fueron los siguientes:

*Fracciones 1-6*.—Sus espectros I. R. indican que se trata de una mezcla de alcanos.

*Fracciones 23-27*.—Todas estas fracciones acusan, por cromatografía gas-líquido, la presencia de un solo producto que es el mismo en todas ellas.

En la reacción coloreada de Liebermann-Burchard cambia la coloración de la capa de anhídrido acético en el sentido violeta  $\rightarrow$  azul  $\rightarrow$  verde esmeralda, y en la reacción de Salkosky se colorea de rosa la capa acética y de amarillo canario la capa sulfúrica.

Cristalizando en metanol da p. f. 135-137° C;  $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$  en  $\text{CHCl}_3$  ( $c=2,12$  %).

Un p. f. mixto con una muestra de  $\beta$ -sitosterol no experimentó depresión.

Forma un derivado acetilado que, cristalizado en metanol, da p. f. 127-128° C,  $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$  en  $\text{CHCl}_3$  ( $c=1,35$  %). Un p. f. mixto con acetato de  $\beta$ -sitosterol no experimenta depresión.

Forma un derivado benzoiado que cristalizado en acetona da p. f. 149-150° C,  $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$  en cloroformo ( $c=2,18$  %).

*Bryonia verrucosa Ait.*—Se utilizaron frutos y raíces de ejemplares silvestres de *Bryonia verrucosa Ait*, endemismo canario, recogidos en la zona de Punta del Hidalgo (Isla de Tenerife) durante el mes de mayo.

En ensayos previos se pone de manifiesto la presencia de sapogeninas esteróidicas en raíces, frutos y semillas.

*Obtención de las sapogeninas de los frutos*.—6 Kg de frutos de *B. verrucosa Ait*, que habían estado en maceración durante un mes con unos 10 litros de etanol, para evitar que fermentaran, fueron secados bajo lámpara de infra-rojo y molidos y luego se extrajeron, calentado a ebullición durante ocho horas, con 10 litros de etanol de 80 %. Esta extracción se repitió, en las mismas condiciones, tres veces.

Los extractos, junto con la solución hidroalcohólica obtenido en la maceración, fueron concentrados a vacío hasta aproximadamente un litro, se le agregó el mismo volumen de solución alcohólica de potasa al 4 % y se calentó a reflujo durante varias horas. Se vertió la solución sobre igual volumen de agua y el precipitado fue filtrado y seco. Después de extraerlo varias veces, primero con éter de petróleo, luego con benceno y por último con cloroformo, fueron destilados estos extractos.

*Insaponificable extraído con éter de petróleo*.—De los extractos con éter de petróleo quedaron, al ser destilados, 3,8 g de producto en bruto, da positiva la reacción de Liebermann-Burchard con cambios de coloración. Con metanol caliente son extraídos 3,5 g de producto que se recuperan y disuelven en 300 cc de éter de petróleo (punto

ebullición 70-90°), son cromatografiados a través de 80 g de alúmina Merck, estandarizada para cromatografías según Brookman, de actividad I. Se preparó la columna sobre éter de petróleo de p. e. 70-90°, alcanzando 45 cm de altura. Fue eluida con una fracción de éter de petróleo (p. e. 70-90°), 3 de heptano, 1 de heptano-benceno (10:1), 5 de benceno y 2 de benceno-metanol (10:1). Todas las fracciones fueron de 250 cc. Los resultados obtenidos fueron:

*Fraciones 1, 2 y 3.*—Prácticamente dan negativa la reacción de Liebermann-Burchard, en film da un espectro I. R. típico de alcanos de largas cadenas ligeramente impurificados con ésteres. Saponificadas de nuevo con potasa alcohólica al 4 % y percolado el insaponificable a través de alúmina activa se comprueba, por su espectro I. R., que el producto obtenido está formado exclusivamente por alcanos.

Cromatografiado este producto en fase gaseosa, con un aparato PYE argón gas Chromatograph (detector Sr<sup>90</sup>), en columna de 125×0,5 cm de celita/APL al 5 %, temperatura 224°, se comporta como una mezcla de alcanos lineales en la relación siguiente: C<sub>22</sub> 1,21; C<sub>23</sub> 4,45; C<sub>24</sub> 4,05; C<sub>25</sub> 7,69; C<sub>46</sub> 4,05; C<sub>27</sub> 4,45; C<sub>28</sub> 0,40; C<sub>29</sub> 12,95; C<sub>30</sub> 60,72 %.

*Fraciones 4 y 5.*—El producto obtenido por cromatografías en capa fina, eluyendo con CHCl<sub>3</sub>:C<sub>6</sub>H<sub>6</sub> (1:1) o con CHCl<sub>3</sub> y revelado con oleum, da una mancha principal y otras como impurezas. Da un acetato que en el I. R. presenta las absorciones características de los agrupamientos espirostánicos, siendo la banda a  $\nu_{\max}$  920 cm<sup>-1</sup> de mayor intensidad que la  $\nu_{\max}$  900 cm<sup>-1</sup>.

Cromatografías en capa fina del acetato obtenido, en las condiciones indicadas para la genina, da una mancha principal de desplazamiento, color y fluorescencia, idéntico a los dados, en las mismas condiciones, por una muestra auténtica de *sarsasapogenina*. Una mezcla de ambos productos dan, en cromatografías en capa fina, una sola mancha.

Por cromatografía en capa fina preparativa de nuestro acetato, en placas preparadas con la mezcla gel de sílice/agua (1:1,7) secados a la temperatura del laboratorio y activadas durante veinticuatro horas a 120°, se separa el acetato principal de una serie de impurezas. El eluyente fue CHCl<sub>3</sub>:C<sub>6</sub>H<sub>6</sub> (1:1). Separada la capa de gel de sílice que contiene el acetato principal, extraída en un soxhlet con cloroformo-metanol, se obtiene un producto que cristalizado en metanol da p. f. 144-144,5° C, siendo  $[\alpha]_D^{68}$  en solución clorofórmica ( $c=1,32$  %). Un p. f. mixto de este acetato con acetato de *sarsasapogenina* no muestra depresión. Su espectro I. R., en solución S<sub>2</sub>C ( $c=10,4$  g/litro) y con célula de 1 mm de espesor, presenta las intensidades de las bandas de absorción a  $\nu_{\max}$  920 y 900 cm<sup>-1</sup> en la misma relación que el acetato de una *sapogenina* esteroideal de la serie *neo* (25 L).

*Análisis.*—Calculado para C<sub>29</sub>H<sub>46</sub>O<sub>4</sub>: C, 75,94; H, 10,11 %. Hallado: C, 75,80; H, 9,78 %.

Saponificado este acetato, calentando a reflujo con solución alcohólica de sosa al 8 %, se obtuvo la genina que, cristalizada en metanol, da p. f. 198-200° C;  $[\alpha]_D^{74}$ , en cloroformo ( $c=1,23$  %).

*Análisis.*—Calculado para C<sub>27</sub>H<sub>44</sub>O<sub>3</sub>: C, 77,84; H, 10,87 %. Hallado: C, 77,84; H, 10,77 %.

Un p. f. mixto de este producto con una muestra auténtica de *sarsasapogenina* no mostró depresión.

Por cromatografía en capa fina, en las mismas condiciones ya descritas, esta genina mostró el mismo desplazamiento que una muestra de *sarsasapogenina* auténtica.

*Fraciones 6 y 8.*—Se obtienen una serie de esteroides que serán objeto de otra publicación.