

---

---

DATOS QUÍMICOS

SOBRE LA

**RAPANEA LAETEVIRENS MEZ**

POR

E. HERRERO DUCLOUX Y MAX AWSCHALOM

---

Inducidos por el sabio profesor doctor Carlos Spegazini emprendimos el estudio químico de la corteza de la *Rapanea laetevirens* Mez, cuyos resultados presentamos en estas páginas. La presencia de un cuerpo de naturaleza glucosídica era probable, a juzgar por el empleo que de esta corteza había visto hacer el citado profesor, en sus viajes a través del Paraguay y Misiones, por parte de los indígenas, para la pesca en los riachos y arroyos.

La búsqueda preliminar de datos sobre composición y aplicaciones de la corteza de rapanea fué negativa, pues no había mención alguna de la planta en obras como la de Joseph P. Remington, Horacio C. Wood y sus colaboradores <sup>(1)</sup>, de carácter americano, pero abierta a la información extranjera en sus capítulos especiales; ni tampoco en la nomenclatura metódica de los medicamentos de las diversas naciones del mundo que, con arreglo a todas las ediciones de los códex oficiales, debemos a L. Bruntz y M. Jaloux <sup>(2)</sup>. No figuraba en el índice del último libro del profesor Albert Goris <sup>(3)</sup> a pesar de tratarse de una obra riquísima en bibliografía dedicada a los alcaloides y glucósidos de los vegetales, y en fuentes más cercanas,

como los trabajos de Hieronymus (<sup>4</sup>), Arechavaleta (<sup>5</sup>), Domínguez (<sup>6</sup>) y Matta (<sup>7</sup>) no se hablaba nada del género *Rapanea*, figurando tan solo en un estudio de carácter fitoquímico del profesor Domínguez y sus colaboradores (<sup>8</sup>), una pequeña nota dedicada a los tallos foliáceos de la *Rapanea laetevirens* Mez, cultivada en Buenos Aires, donde se establece la presencia de peroxidasas y la ausencia de alcaloides, glucósidos, cianogenéticos, oxidasas y saponinas.

Alentados por esta ausencia de datos que auguraba una posible cosecha en campo desconocido, iniciamos la tarea, utilizando como muestra la corteza de ramas fuertes de un ejemplar que vive en el bosque de La Plata, traído de las selvas del norte por el doctor Spegazzini.

#### DATOS BOTÁNICOS.

La *Rapanea laetevirens* Mez pertenece a la familia de las mirsináceas y en su género no son escasas las especies y variedades americanas que en estudios de carácter botánico, dedicados a una determinada región, figuran con mayor o menor detalle.

Así, Gustavo Edwall (<sup>9</sup>), al referirse a la familia *Myrsinaceae* dice:

***Rapanea ovalifolia* (Miq.) Mez**  
(Azeitona do Matto, Jó-mirim)

Arbusto arborescente con hojas alternas, enteras, ovales u oval-resp. oblongo elípticas, coriáceas, redondeadas en el ápice y subagudas en la base.

Inflorescencia axilar en fascículos umbeliformes con pedicelos muy cortos. Flores pequeñas, de color blanco verde.

Fruto drupa globosa, pequeña, oscura, bermeja.

Habita en lugares húmedos del litoral y florece en los meses de primavera.

Según Caminhoá el fruto es comestible, principalmente conservado en vinagre.

Por su parte Emilio Hassler <sup>(10)</sup>, la incluye en la flora chaqueña, en estos términos:

**Rapanea laetevirens Mez**

PFLZREICH, IV, 236. p. 395. — PL. HASSLER, II, p. 198.

Arbol de 4-8 m., flores verdes, montes en la boca del Pilcomayo, flor. Agosto, *Rojas* n. 694.

Y Moisés S. Bertoni <sup>(11)</sup> habla de dos especies, así:

**Rapanea laetevirens**

„ **coriacea.**

Plantas de adorno indígenas cultivadas en la Estación Agronómica de Puerto Bertoni.

En el mismo año, Cristóbal M. Hicken <sup>(12)</sup> define claramente con gran acopio de datos bibliográficos la situación de las dos especies más importantes en la forma siguiente:

*Myrsinaceae.* — **Rapanea laetevirens Mez**

LILLO, *Contribución Arb. Argent.* (1910) 74: B. A.

Es posible que se haya querido referir a la siguiente:  
Urug., SF. Ch. ER. T. J. Mis.

**827. Rapanea Lorentziana Mez**

HOLMB., *Repert. Fl. Argenti.* (1904) 93.

MEZ, *Engler. Pflanzenr. Myrsinac.* (1902) 395.

SPEG., *Fl. Prov. B. As.* (1905) XIII.

La hallé en cierta abundancia en las islas del Tigre y Martín García, desde fines de X. Muy frecuente en Isla Santiago.

Brasil, Austr., Uruguay. — Islas del Paraná, E. R.

El ejemplar cuya corteza estudiamos, ha sido también citado en el trabajo que el doctor Emilio E. Piaggio (<sup>13</sup>) hiciera sobre el *Ceroplastes Bergi* que como parásito recogió sobre aquél, creyendo por nuestra parte oportuno reproducir la fotografía de una fuerte rama atacada, tal como en aquel estudio se publicó, para dar una idea del follaje de la planta en cuestión.

La corteza ha sido estudiada por el ingeniero Juan B. Marchionatto, a pedido nuestro y según sus observaciones — que gentilmente nos ha comunicado — se caracteriza por tener el periderma separado del parénquima cortical por una cinta esclerenquimática, constituida por varias capas de células isodiamétricas que se tiñen fuertemente de amarillo con la solución de cloruro de zinc iodada; distribuidos en toda la corteza se observan gruesos cristales prismáticos de oxalato de calcio, aislados y abundantes.

#### ANÁLISIS SUMARIO.

Nuestra primera tarea, que bien puede llamarse de orientación, fué el análisis sumario de la corteza; después de preparar una buena cantidad de la muestra, pulverizada y perfectamente homogénea.

La corteza en polvo, pasada por el tamiz N° 50 y desecada entre 60-70° C, presenta un color que corresponde al *naranja 133* del código de Klinsieck y Valette (<sup>14</sup>), poseyendo un poder estornutatorio exagerado.

Los métodos empleados que definen el valor de las cifras obtenidas bajo las distintas denominaciones que figuran en el cuadro de resultados, no exigen una explicación detallada, pues corresponden a los ya adoptados y explicados por uno de nosotros en estudios análogos — de los cuales solo citaremos el último (<sup>15</sup>) — donde puede encontrarse toda la bibliografía correspondiente.



Fig. 1. — Rama de *Rapauea laevirens* Mez (Fot. del Dr. G. Brubst.)

UNIVERSITY OF CALIFORNIA

TO THE  
ADMINISTRATIVE

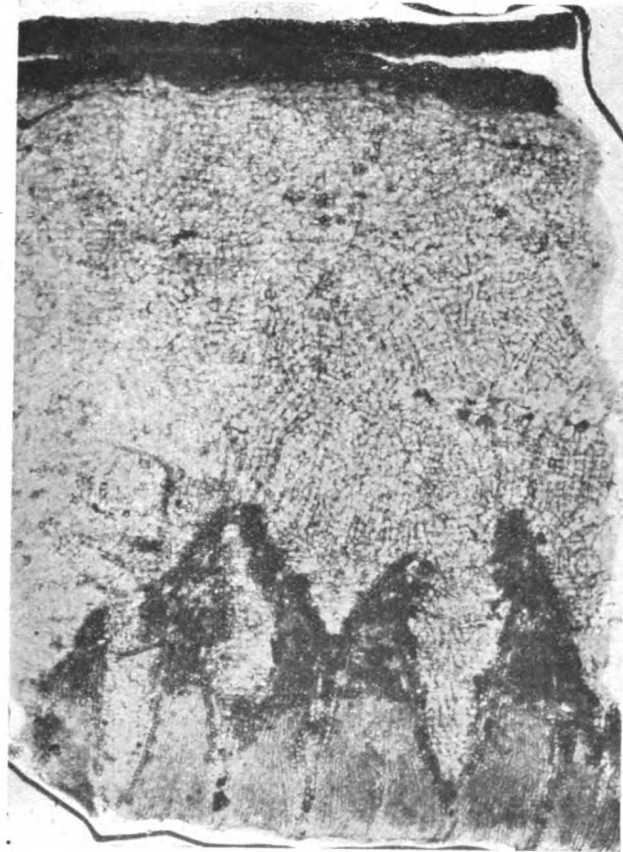


Fig. 2. Corte de la corteza (Fot. del Dr. G. Bruch).

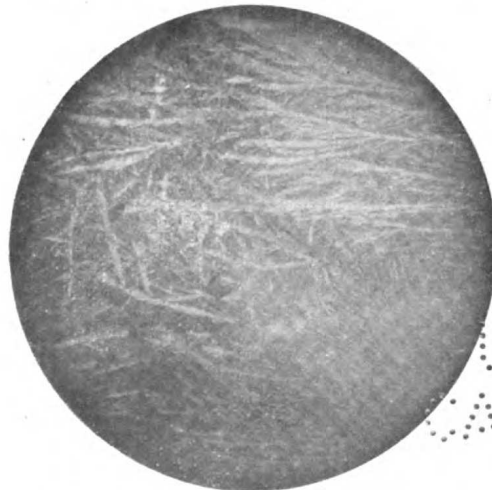


Fig. 3. — Compuesto sódico de la saponina ácida.

UNIV. OF  
CALIFORNIA

100  
100



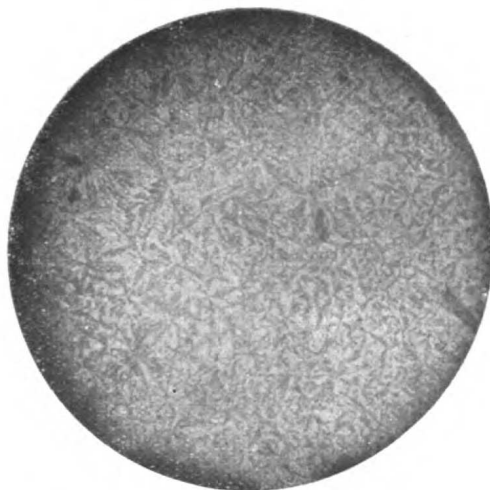


Fig. 4. — Compuesto sódico de la saponina neutra

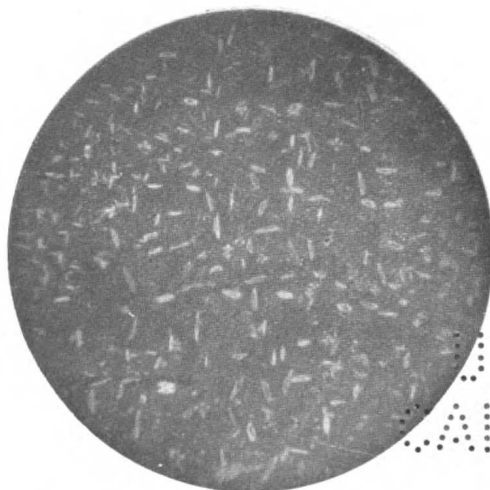


Fig. 5. — Cristales aislados del compuesto sódico de la saponina neutra.

UNIV. OF  
CALIFORNIA

TO THE  
UNIVERSITY

*Datos del análisis sumario.*

	Corteza fresca	Substancia seca
Agua entre 60-70° C. . . . .	53.245	—
" " 100-105° C. . . . .	6.307	—
Cenizas totales: . . . . .	4.183	10.355
a) solubles . . . . .	1.487	3.682
b) insolubles . . . . .	2.696	6.673
Nitrógeno total. . . . .	0.539	1.335
Materias protéicas. . . . .	3.372	8.347
Materia grasa bruta. . . . .	1.249	3.093
Celulosa . . . . .	8.626	21.352
Hidratos de carbono. . . . .	23.018	56.853

Y creímos también conveniente completar estos resultados con el estudio analítico de las cenizas, tarea tan fácil como de valor indudable, pues era contribuir al conocimiento de la composición mineral de vegetales indígenas que debía hacerse en forma sistemática y completa entre nosotros, aunque parezca no poseer utilidad inmediata.

*Composición de las cenizas.*

	Cenizas totales	Cenizas puras
Carbón. . . . .	0.600	—
Arena y sílice . . . . .	15.200	21.280
Acido clorhídrico en Cl. . . . .	1.645	2.296
" sulfúrico en SO <sub>3</sub> . . . . .	0.892	1.246
" carbónico en CO <sub>2</sub> . . . . .	33.174	—
" fosfórico en P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> . . . . .	0.183	0.252
Oxido férrico en Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub> . . . . .	0.240	0.336
" de aluminio en Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> . . . . .		
" manganoso en MnO . . . . .	0.121	0.168
" cálcico en CaO . . . . .	20.499	41.286
" magnésico en MgO . . . . .	1.574	2.198
" potásico en K <sub>2</sub> O . . . . .	14.838	20.762
" sódico en Na <sub>2</sub> O . . . . .	6.148	8.596

**ANÁLISIS INMEDIATO.**

Guiados por los datos del análisis sumario, procedimos en muestra doble al análisis inmediato, tomando como guía

a A. H. Allen <sup>(17)</sup> y Dragendorff y Schlagdenhaufen <sup>(17)</sup> con sus tratados clásicos, así como a Rosenthaler <sup>(18)</sup> para determinados capítulos.

*Resultado del análisis inmediato.*

	Corteza fresca	Subst. seca
A. — Materias solubles en C <sub>6</sub> H <sub>6</sub> . . . . .	1.222	3.026
B. — " " " CH <sub>3</sub> OH (d = 0.792) . . . . .	14.595	36.128
C. — " " " H <sub>2</sub> O fría . . . . .	1.454	3.600
D. — " " " H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> al 1 % . . . . .	7.813	19.340
E. — " " " Na (OH) á 2 % . . . . .	8.167	20.216
F. — " " " H <sub>2</sub> O + Br + NH <sub>3</sub> . . . . .	0.256	0.636
G. — Celulosa pura . . . . .	6.562	16.244
H. — Cenizas residuales. . . . .	0.657	1.628

Las cifras anotadas corresponden al término medio de los resultados obtenidos en las dos muestras de 50 gramos que se analizaron paralelamente.

Procedióse después al estudio de las fracciones obtenidas, con los resultados que a continuación detallamos.

*A. — Resultados del fraccionamiento del extracto bencénico.*

	Corteza fresca	Substancia seca
Materias solubles en C <sub>6</sub> H <sub>6</sub> . . . . .	1.222	3.026
Esencias y sustancias volátiles . . . . .	0.043	0.108
Materias solubles en agua . . . . .	0.073	0.182
Cenizas del extracto acuoso . . . . .	0.013	0.032
Materias solubles en HCl á 4 % . . . . .	0.065	0.162
Resinas y materias colorantes . . . . .	0.034	0.086
Aceites fijos, cera y materia grasa . . . . .	0.994	2.462

Como complemento de este fraccionamiento, se ensayaron los métodos que D. H. Wester <sup>(19)</sup> aconseja para investigar alcaloides con resultados negativos, pues no podían considerarse como tales los productos de descomposición de los glucósidos que más tarde debían aislarse del grupo de las saponinas.

No se hicieron investigaciones especiales sobre las materias grasas, aceites fijos, ceras, etc.) porque sus escasas proporciones no permitían suponer posibles aplicaciones.

*B. — Resultados del fraccionamiento del extracto alcohólico.*

	Corteza fresca	Subst. seca
Materias solubles en CH <sub>3</sub> .OH (d = 0.792) . . . . .	14.595	36.128
Resinas insolubles en alcohol frío . . . . .	1.869	4.628
Materias solubles en alcohol frío . . . . .	12.726	31.500
Cenizas de este extracto . . . . .	0.298	0.740
Resinas y materias colorantes ins. en H <sub>2</sub> O . . . . .	1.111	2.750
Extracto acuoso . . . . .	11.615	28.750
Cenizas del extracto acuoso . . . . .	0.767	1.900
Tanino. . . . .	1.330	3.290
Acidos orgánicos y materias extractivas . . . . .	4.506	11.151
Azúcar reductor . . . . .	1.016	2.516
„ no reductor . . . . .	3.996	9.893

Es en esta fracción, donde se puso de manifiesto la presencia de saponinas, pues el extracto acuoso obtenido sobre el residuo del extracto alcohólico, daba los caracteres más vulgares de estos cuerpos, como ser la formación de espuma persistente aún en diluciones extremas y la aptitud de *matar el mercurio*.

En el capítulo siguiente explicaremos los métodos ensayados para su extracción y caracterización.

El tanino se clasificó como catéquico y sus escasas proporciones no nos invitaron a hacer su estudio completo.

*C. — Resultados del fraccionamiento del extracto acuoso.*

	Corteza fresca	Substancia seca
Materias solubles en agua fría. . . . .	1.454	3.600
Cenizas del extracto acuoso . . . . .	0.349	0.864
Arabinato cálcico en Ca O. . . . .	0.039	0.099
Compuestos pécticos . . . . .	0.116	0.288
Arabina y dextrina. . . . .	0.130	0.324
Albuminoides solubles (N × 6.33) . . . . .	0.395	0.978
Eritrodextrina . . . . .	vestigios	vestigios

Quando la extracción acuosa se realizaba sobre la corteza pulverizada, sin el empleo previo de otro disolvente, las saponinas se obtenían sin dificultad, pero muy impu-

ras. Los caracteres generales podían comprobarse y sus reacciones de precipitación también y en tal forma que se sospecharon proporciones que el análisis cuantitativo no justificó después.

*D. — Resultado del fraccionamiento del extracto ácido.*

	Corteza fresca	Substancia seca
Materias solubles en H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> al 1 %.	7.813	19.340
Cenizas del extracto. . . . .	2.966	7.344
Albuminoides (N × 6.33) . . . . .	0.730	1.807
Almidón . . . . .	0.895	2.217
Substancias no determinadas. . . . .	3.230	7.972

*E. — Resultado del fraccionamiento del extracto alcalino.*

	Corteza fresca	Substancia seca
Materias solubles en Na (OH) al 2 %.	8.166	20.216
Substancias precipitables por HCl . . . . .	3.175	7.860
„ no determinadas . . . . .	4.991	12.356

Descartada la existencia de alcaloides y señalada la presencia de sustancias glucosídicas del grupo de las saponinas, nuestro trabajo se orientó hacia la extracción y aislamiento de estos cuerpos, dejando de lado las demás especies químicas que aisladas o en grupos se habían caracterizado y separado.

EXTRACCIÓN DE LAS SAPONINAS

Ensayos preliminares practicados con pequeñas cantidades de la substancia, nos mostraron que el C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH de 80° disolvía en caliente la totalidad de las saponinas, abandonando por enfriamiento entre 5-10° C un ppdo. coposo abundante que no daba reacciones de saponina como veremos después, en tanto que el extracto seco de la solución alcohólica las poseía en grado extremo. Esta circunstancia nos indujo a abandonar los métodos de extracción que utilizan como disolvente el C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH hirviendo y operan sobre el ppdo. formado por enfriamiento como los de Rochleder, Bussy y Stutz.

La solubilidad muy escasa o nula de las saponinas de la rapanea en  $(C_2H_5)_2O$ ,  $CCl_3H$  y  $C_2H_3O_2.C_2H_5$  que ensayamos cuidadosamente no nos permitió tampoco utilizar los clásicos procedimientos que se fundan en el empleo de estos líquidos, decidiéndonos por una marcha sistemática que ponía a contribución la propiedad de los acetatos de plomo, neutro y básico, de precipitar cuantitativamente y de separar en dos grupos los glucósidos juscados, combinando el método que Süß aplicara al *Lychnis Flosculi* L. con los principios establecidos por Kobert <sup>(20)</sup>.

Al efecto, la substancia pulverizada fué tratada por  $C_2H_5OH$  de 96° en balón provisto de refrigerante de reflujo, en baño-maria, durante media hora, separando el líquido por decantación y repitiendo tres veces el ataque, con expresión enérgica del residuo.

Los líquidos alcohólicos se filtraron en embudo baño-maria y se abandonaron a la temperatura ordinaria y luego se enfriaron entre 5-10° C. El ppdo. coposo que se formó por enfriamiento se separó por filtración y los líquidos alcohólicos lípidos se adicionaron con la mitad de su volumen de  $(C_2H_5)_2O$ , con lo que se formó un ppdo. abundante, gelatinoso, amarillento, apareciendo después de 24 horas adherido a las paredes de los recipientes y mezclado con un depósito cristalino identificado luego como  $C_{12}H_{22}O_{11}$  por sus caracteres ópticos y sus propiedades químicas.

El ppdo. antecitado, separado del líquido fácilmente por decantación, se disolvió en agua y la solución se precipitó con  $(C_2H_3O_2)_2Pb$  al 10 %, agregado poco a poco para evitar un exceso y el ppdo. abundante blanco amarillento que resultó (A) correspondiente a las saponinas ácidas, fué recogido sobre filtro, después de lavarlo repetidas veces por decantación. En el líquido residual se hizo una segunda precipitación con  $(C_2H_3O_2)_2Pb$ ,  $(HO)_2Pb$  de igual concentración, evitando también un exceso de sal plúmbica, y el ppdo. (B) correspondiente a las saponinas se separó por filtración.

Los ppdos. plúmbicos A y B se pusieron en suspensión en agua y se saturó la mezcla en cada caso con  $H_2S$ ; enseguida se agregó  $H_2O_2$ , agitando y calentando suavemente, para favorecer la oxidación del  $S Pb$ , y se filtró obteniéndose líquidos (A' y B') ligeramente turbios y rebeldes a la clarificación por reposo y filtración ulterior.

Neutralizados los líquidos (A' y B') con  $CO_2 Na_2$  se evaporaron lentamente, a suave temperatura y los residuos (A'' y B'') se disolvieron en  $CH_3.OH$ , eliminando así las sales extrañas y consiguiendo soluciones casi incoloras de las saponinas que por evaporación suave abandonaron, residuos de color amarillo claro, de apariencia resinosa, fraccionables en escamas, y de una higroscopicidad notable, exagerada en las saponinas ácidas.

Estos residuos cuidadosamente desecados y después de determinar sus impurezas minerales, muy escasas, sirvieron para caracterizar las saponinas y estudiar los productos de su descomposición.

El ppdo. coposo obtenido al principio de la extracción, por enfriamiento del extracto alcohólico como indicamos, adquiría por desecación al aire una coloración parda obscura y una apariencia resinosa. Ensayada su solubilidad, resultó ser insoluble en agua fría y caliente, muy poco soluble en acetona, alcoholes metílico, propílico y butílico y bencina, poco soluble en alcohol amílico y muy soluble en éter sulfúrico, cloroformo y éter acético. Cuando conocimos las reacciones de las saponinas y los productos de desdoblamiento, ensayamos los mismos reactivos sobre esta substancia, llegando a la conclusión de que se trataba de una parte de la cera de la corteza (la fracción soluble en  $C_2H_5OH$  hirviendo) con muy pequeñas cantidades de productos de desdoblamiento de las saponinas, bajo la acción combinada del calor y de la ligera acidez de la substancia misma.

#### ESTUDIO DE LAS SAPONINAS.

Aisladas y purificadas las saponinas ácidas y neutras contenidas en la corteza, procedimos a caracterizarlas, po-



niendo a contribución los numerosos reactivos que se han señalado como particulares para distinguirlas y convencionalmente supondremos una de cada grupo en la rapanea, mientras investigaciones ulteriores no permitan separar más de cada clase.

Tanto la saponina ácida como la neutra, contenidas en la corteza de rapanea, son sustancias amorfas, de un color amarillo claro, higroscópicas, de sabor amargo y acre muy desagradable y provocan en estado pulverulento el estornudo, aún en cantidades despreciables.

Procediendo sistemáticamente y aprovechando los trabajos de Goris (<sup>21</sup>), de Masson (<sup>22</sup>) y de autores más modernos que citaremos en su lugar, pudimos reunir los datos que exponemos a continuación.

*Caracteres de solubilidad.* — Utilizando volúmenes iguales de los diferentes disolventes y cantidades dadas de las dos saponinas actuando durante 24 horas, se obtuvieron resultados que permiten definir la solubilidad de dichos cuerpos, a la temperatura ordinaria.

La saponina ácida es soluble en agua, alcohol metílico, etílico, propílico, butílico y amílico y bencina; es poco soluble en acetona y muy poco en cloroformo; debe considerarse insoluble en éter acético, éter ordinario y tetracloruro de carbono.

La saponina neutra es muy soluble en agua y alcohol metílico, soluble en alcohol etílico y bencina, poco soluble en alcohol propílico, muy poco soluble en alcohol butílico y amílico, tetracloruro de carbono, acetona y cloroformo, comportándose como insoluble en éter acético y éter ordinario.

*Reacciones generales.* — En este grupo encerramos la propiedad espumígena exagerada, con formación de espuma persistente en forma de panal de abejas, la aptitud para emulsionar aceites comunes y para dividir el mercurio por agitación hasta dar la ilusión de una pulverización del metal, sin que pueda decirse que en estos caracteres haya diferencia entre la saponina ácida y la neutra.

Agregamos en seguida los resultados alcanzados con los reactivos que se elijieron, observando el efecto inmediato y la reacción después de 24 horas. (Véase cuadro adjunto).

*Reacciones especiales.*— A las reacciones que Kobert (<sup>23</sup>) estudia en sus trabajos clásicos y que König (<sup>24</sup>) aplica y modifica en su obra bromatológica, agregamos algunas otras de no escaso valor.

Así, J. Vamvakas (<sup>25</sup>) propone disolver la saponina en agua, calentar a temperatura de ebullición y después de enfriar agregar reactivo de Nessler, obteniendo un ppdo. amarillo naranjado que vira al gris verdoso y luego al gris. En nuestro caso se observó:

Saponina ácida . . . . coloración gris verdosa → ppdo. gris  
„ neutra . . . . color naranjado → ppdo. gris.

El reactivo de Fröhde ha sido utilizado por Rühle (<sup>26</sup>) para producir color azul violeta que pasa al verde y vira al gris. Para la rapanea resultó:

Saponina ácida . . . . rojo violáceo → verdoso → gris  
„ neutra . . . . rojo violáceo → pardo verdoso → verde sucio.

Ed. Schaer superpone una solución de saponina en hidrato de cloral sobre ácido sulfúrico, obteniendo una zona amarilla que pasa al rojo púrpura y luego al violeta. Nosotros observamos para

Saponina ácida . . . . Anillo superior amarillo, inferior rojo violeta  
„ neutra . . . . Anillo superior amarillo, medio rojo, inferior verde.

#### LOCALIZACIÓN MICROQUÍMICA.

Sobre numerosos cortes de la corteza y utilizando la técnica de Combes (<sup>27</sup>) y la feliz modificación ideada por Conrard (<sup>28</sup>), el ingeniero Juan B. Marchionatto pudo caracterizar y localizar las saponinas, obteniendo con la última técnica cristales característicos de cromato argéntico en forma de tablas rómbicas y esqueletos cristalinos

SAPONINA NEUTRA

RESULTADO INMEDIATO	DESPUES DE 24 HORAS
ppdo. blanco, líq. pardo violado como el anterior líq. límpido violáceo	líq. total rojo vinoso pardo ppo. se disuelve en líq. violado grisáceo líq. pardo violado
ppdo. blanco, líq. pardo violado como saponina ácida » » » » » »	ppdo. abundante, líq. rojo violáceo ppdo. tenue, líq. amarillo ppdo. abundante blanco ppdo. blanco, líq. amarillo
ppdo. escaso blanco como saponina ácida ppdo. blanco rosáceo	ppdo. blanco abundante ppdo. blanco amarillento aumenta el ppdo.
ppdo. blanco reducción visible ppdo. blanco ppdo. débil « » nada »	ppdo. blanco sucio fuerte reducción no hay variación ppdo. abundante reducción ppdo. blanco abundante no hay reducción no hay variación
líq. rojo vinoso profundo residuo cristalino en tablas enturbiamiento rojo pardo ppdo. ligero ppdo. amarillento ppdo. blanco amarillento	no hay variación no hay variación aumenta el ppdo. no hay variación aumenta el ppdo.

UNIV OF CALIFORNIA

70 VIBU  
VIBU 70

aislados y agrupados de color rojo obscuro, diseminados por todo el parénquima cortical.

Las reacciones cromáticas macroscópicas antecitadas pueden también realizarse bajo el microscopio, en cortes frescos de la corteza de rapanea.

*Acción tóxica.*— Las experiencias se hicieron sobre peces (pejerreyes), utilizando soluciones de las saponinas en agua destilada de concentración variable entre 1:15000 y 1:1500 y observando el momento en que comenzaba la acción a manifestarse por la exageración de los movimientos perfectamente visible, hasta la muerte.

Los resultados pueden expresarse así:

Diluciones:	<i>Saponina ácida</i>	<i>Saponina neutra</i>
de 1:15.000	Efecto nulo después de 10'	Efecto completo en 5'
de 1: 7.000	„ mortal en 16'	„ „ en 2' 1/2
de 1: 1.500	Se inicia a los 9' y concluye a los 11'	Se inicia en 1' y concluye en 2'

Sin dar un carácter de precisión a esta experiencia, por la dificultad de tener en cuenta la resistencia diferente según los individuos, cualitativamente puede afirmarse la superioridad de la neutra sobre la ácida en su acción sobre las branquias de los peces, pues todos los accidentes que se observan hasta la muerte, hacen suponer un proceso de asfixia.

*Poder hemolítico.*— Esta propiedad, común a muchas saponinas, estudiada cuidadosamente por Rühle, Sormani y Meyer, entre otros, pues en ella se funda el criterio de toxicidad de estas substancias, sobre todo si se quiere darles aplicación en terapéutica o bromatología, se determinó para las dos saponinas de la rapanea.

Utilizamos en este ensayo las soluciones siguientes:

I. Solución fisiológica (Cl Na á 9 ‰) que sirvió para diluir las demás;

II. Solución de sangre de carnero desfibrinada al 1 ‰ en solución I;

III. Solución de concentración igual a la anterior, pero sometida previamente a la centrifugación para qui-

tarle el suero con colessterina y regenerando el volumen primitivo con la solución I;

IV. Solución de saponina ácida y neutra en cada caso, en solución I, eligiendo dos concentraciones extremas, después de algunos ensayos preliminares una de 1:10.000 y otra de 1:100.000.

El procedimiento fué el siguiente: se dispusieron tubos de ensayos de 10 cm<sup>3</sup> de capacidad, numerados en batería con 1 cm<sup>3</sup> de solución III cada uno y se les agregó cantidades de solución IV, en proporción creciente desde 0,1 hasta 1 cm<sup>3</sup>, agitando y dejando reposar: la clarificación del líquido se interpretó como manifestación del poder hemolítico que se trataba de comprobar.

En esta forma pudo comprobarse que la saponina ácida posee un poder hemolítico nulo inmediato en dilución de 1:10.000, en tanto que la saponina neutra manifiesta su acción antes de 5' con la misma concentración; en dilución de 1:100.000 la saponina ácida no actúa ni después de 24 horas, en tanto que la saponina neutra acusa un poder hemolítico completo después de 3 horas.

La acción inhibitoria de la colessterina se comprobó sin dificultad alguna en ensayos semejantes a los enunciados.

*Desdoblamiento de saponinas.*— El carácter glucosídico de las dos saponinas aisladas en la rapanea se puso de manifiesto sometiénolas a la acción del ácido clorhídrico en concentraciones diferentes y a temperaturas variables.

El procedimiento que nos dió resultados más constantes y de fácil interpretación, fué el propuesto por Rosenthaler y Schellhaas (<sup>29</sup>) y que consiste en someter una solución de saponina, de concentración conocida, a la acción del HCl, de modo que se halle en el líquido total un 2,5 % de aquél, en baño-maría, con agitación frecuente y prolongando el tratamiento hasta desaparición de la espuma. Obtenido este resultado, indicador de la transformación total de la saponina en prosapogenina, se deja enfriar el líquido y sin filtrar, se agita con C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>O . C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>, empleando un volumen de éste igual a la mitad del otro y utilizando el C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>.OH para destruir la emulsión que

frecuentemente se engendra. La solución etérea se lava varias veces por agitación con agua, hasta que no reaccione con  $\text{NO}_3\text{Ag}$  y después de decolorar con negro animal purificado, se evapora a sequedad.

El residuo sirve para reacciones de caracterización y puede someterse a la acción ulterior de  $\text{HCl}$  de mayor concentración, a temperatura de ebullición, si se quiere extremar el desdoblamiento hasta llegar a la sapogenina verdadera correspondiente.

En nuestro caso, el proceso de desdoblamiento fué muy largo, en las condiciones enunciadas, pues solo después de cinco días cesó de producirse la espuma en el líquido de ensayo. La prosapogenina ácida y neutra que en cada caso se obtuvo y el azúcar resultante en los dos ensayos, sirvieron para comprobar el estrecho parentesco de los dos productos primeros, cuyas reacciones se confundían, en tanto que la identidad es perfecta en el hidrato de carbono engendrado.

Creemos ocioso enumerar las reacciones cromáticas y de precipitación de las dos prosapogeninas, compatibles con su diferente solubilidad en agua, porque sería repetir las que se determinaron en las saponinas de origen, aunque más debilitadas; pero sí haremos constar que no reaccionan con los reactivos de Mayer, Bouchardat Buckingham, Kuhlefeld, Millon y Erdmann, dando con el de Fröhde una coloración azul que vira al verdoso y llega al gris como final.

El azúcar engendrado se caracterizó plenamente como glucosa por su derivado cristalino, con  $\text{C}_6\text{H}_5\cdot\text{NH}\cdot\text{NH}_2$  en solución acética y siguiendo el modo operatorio clásico.

Estos productos primeros de desdoblamiento o prosapogeninas se sometieron a la acción del  $\text{HCl}$  á 5 % en baño maría, durante 24 horas, comprobándose por desecación de los residuos que habían sufrido despreciables pérdidas de peso y que los líquidos ácidos de ataque neutralizados no acusaban presencia de azúcar. Este resultado negativo nos autorizó a aceptar como sapogeninas verdaderas las pretendidas prosapogeninas, determinando su solubilidad

e insistiendo en algunas reacciones para mejor caracterizarlas.

La sapogenina ácida es muy soluble en alcohol ordinario, soluble en alcohol metílico, propílico, butílico y amílico, en cloroformo, y éter acético, muy poco en éter sulfúrico e insoluble en tetracloruro de carbono. La sapogenina neutra es muy soluble en todos los disolventes enumerados, excepto en el éter y tetracloruro de carbono, respecto de los cuales se comporta como la ácida.

Las reacciones complementarias se hicieron sobre soluciones alcohólicas, dando el reactivo de Hager un ppdo. cristalino en arborescencias para las dos sapogeninas; el de Schlagdenhaufen un color rojo salmón débil en la ácida y rojo violado fuerte en la neutra; y el ácido hidrocloplatínico un ppdo. amorfo al principio y cristalino después para una y otra.

Cuantitativamente y operando sobre saponina ácida y neutra, secas y sin cenizas, los resultados del desdoblamiento pusieron de manifiesto la heterogeneidad de los dos cuerpos. En efecto, calculados los productos para 100 gramos de saponina, obtuvimos:

	Acida	Neutra
Sapogenina insoluble . . . . .	53.72	45.96
Azúcar reductor . . . . .	2.41	46.70

lo que no puede explicarse sino por una diferencia fundamental de constitución y por una solubilidad en agua más acentuada en la sapogenina ácida.

#### DETERMINACIÓN CUANTITATIVA.

Nos interesaba conocer las proporciones de las dos saponinas aisladas y caracterizadas en la corteza y, aprovechando la experiencia recogida en las extracciones y purificaciones con fines cualitativos, procedimos en la forma siguiente:

100 gramos de la corteza pulverizada y seca se trataron en un balón, sobre baño maría, con refrigerante de



reflujo, por 1200 cm<sup>3</sup> de C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>.OH de 80°, durante media hora, filtrando en filtro baño maría y repitiendo sobre el residuo dos veces más el tratamiento anterior.

El líquido alcohólico se dejó enfriar y sin tener en cuenta el ppdo. que se formara, se agregó su volumen de (C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>)<sub>2</sub>O, se enfrió en hielo machacado y después de largo reposo se filtró, lavando el ppdo. sobre el filtro con (C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>)<sub>2</sub>O.

Después de secar el ppdo. al aire, se trató por agua a 70°, obteniéndose un líquido amarillento y límpido que enfriado se precipitó con su volumen de una mezcla de C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>.OH y (C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>)<sub>2</sub>O en partes iguales. Recogido el ppdo. sobre filtro y lavado como antes, fué disuelto, una vez seco, en agua.

La solución acuosa se precipitó poco a poco con (C<sub>2</sub>H<sub>3</sub>O<sub>2</sub>)<sub>2</sub>Pb obteniéndose el compuesto plúmbico de la saponina ácida. El líquido residual separado por filtración y lavado se precipitó con precaución por el (C<sub>2</sub>H<sub>3</sub>O<sub>2</sub>)<sub>2</sub>Pb, Pb(OH)<sub>2</sub> consiguiendo así el compuesto plúmbico de la saponina neutra.

Los ppdos. plúmbicos en suspensión en agua destilada se descompusieron por una corriente de H<sub>2</sub>S a saturación; se calentó suavemente el líquido, bajo una corriente de CO<sub>2</sub>, se agregó H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> y se filtró para separar el SO<sub>4</sub>Pb, obteniendo una solución algo turbia que evaporada lentamente, a suave calor después de neutralizar con CO<sub>3</sub>Na<sub>2</sub> abandonó un residuo, el cual agotado con C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>.OH de 96° y filtrando, nos dió por evaporación de la solución alcohólica, residuos de saponina ácida o neutra en cada caso, que desecadas entre 100-105° C se pesaron, dando como riqueza de la corteza las cifras siguientes:

	Corteza fresca	Substancia seca
	%	%
Saponina ácida . . . . .	0.327	0.809
„ neutra . . . . .	0.086	0.213

(<sup>1</sup>) JOSEPH P. REMINGTON y HORATIO C. WOOD, *The Dispensatory of the United States of America* (20ª edición). Filadelfia, 1918.

(<sup>2</sup>) L. BRUNTZ y M. JALOUX, *Plantes officinales et plantes á drogues medicamenteuses*. París, 1918.

(<sup>3</sup>) ALBERT GORIS, *Localisation et rôle des alcaloides et des glucosides chez les végétaux*. París, 1914.

(<sup>4</sup>) J. HIERONYMUS, *Plantae diaphoricae florum argentinae*, en *Boletín Academia Nacional de Ciencias*, IV. Buenos Aires, 1882.

(<sup>5</sup>) AREOHA VALETA, Trabajos varios sobre flora del Uruguay.

(<sup>6</sup>) JUAN A. DOMÍNGUEZ, *Datos para la materia médica argentina*. Buenos Aires, 1903 y 1910.

(<sup>7</sup>) ALFREDO AUGUSTO DA MATTA, *Flora médica braziliensis*. Manaos, 1913.

(<sup>8</sup>) JUAN A. DOMÍNGUEZ, JOSÉ F. MOLFINO y EMILIA L. DE GALELLI, *Investigaciones fitoquímicas en plantas indígenas o naturalizadas* (2ª serie), en *Anales de la Asociación Química Argentina*, VII, 80-81. Buenos Aires, 1919.

(<sup>9</sup>) GUSTAVO EDWALL, *Ensayo para una sinonimia dos nomes populares das plantas indígenas do estado de S. Paulo*, 17. San Pablo, 1906.

(<sup>10</sup>) EMILIO HASSLER, *Contribuciones a la flora del Chaco argentino-paraguayo*. Florula pilcomayensis, 92. Buenos Aires, 1909.

(<sup>11</sup>) MOISÉS S. BERTONI, *Catálogo de plantas en Revista de Agronomía*, IV, 31. Asunción, 1910.

(<sup>12</sup>) CRISTÓBAL M. HICKEN, *Chloris platensis argentina*, 181. Buenos Aires, 1910.

(<sup>13</sup>) EMILIO E. PIAGGIO, *Contribución al estudio químico del Ceroplastes Bergi* en *Anales de la Asociación química Argentina*, X, 178-188. Buenos Aires, 1922.

(<sup>14</sup>) PAUL KLINCKSIK y TH. VALETTE, *Code des couleurs*. París, 1908.

(<sup>15</sup>) E. HERRERO DUCLOUX, *Los estudios químicos en la República Argentina*, (1810-1910). Buenos Aires, 1912.

E. y L. HERRERO DUCLOUX, *Datos analíticos de la yerba mate y sus falsificaciones*, en *Revista del Museo de La Plata*, XXIII, 121 y siguientes. Buenos Aires, 1915.

(<sup>16</sup>) A. H. ALLEN, *Commercial organic analysis*, I, 429 y siguientes. Londres, 1898.

(<sup>17</sup>) DRAGENDORFF y SCHLAGDENHAUFFEN, *Analyse des végétaux*. (Encyclopedie Frémy).

(<sup>18</sup>) L. ROSENTHALER, *Grundzüge der chemischen Pflanzenuntersuchung*. Berlín, 1904.

(<sup>19</sup>) D. H. WESTER, *Anleitung zur Darstellung phytochemischer Übungspräparate*. Berlín, 1913.

(<sup>20</sup>) *Südd Apoth. Zeitung*. 397. 1910.

(<sup>21</sup>) ALBERT GORIS, *loc. cit.*

(<sup>22</sup>) G. MASSON, *Recherches sus quelques plantes á saponine*, en *Travaux du Laboratoire de Matière Médicale de l'Ecole Supérieure de Pharmacie*, VII, 1-114. París, 1911.

(<sup>23</sup>) S. KOBERT, *loc. cit.*

(<sup>24</sup>) J. KÖNIG, *Chemie der menschlichen Nahrungs-und Genussmittel*, III (2ª parte), 741. Berlín, 1914.

(<sup>25</sup>) *Ann. Chim. Analyt. appl.*, 161.1906.

(<sup>26</sup>) *Pharm. Zentr.*, 1199. 1910.

(<sup>27</sup>) Citado por G. MASSON, *loc. cit.*

(<sup>28</sup>) L. CONBARD, *Recherches botaniques et chimiques sur deux graines de la famille des Sapindacées* (Tesis). París, 1913.

(<sup>29</sup>) *Zeitschr. f. Untersuchung d. Nahrungs-und Genussmittel*, XXV, 154. 1913.

La Plata, 25 de Mayo de 1923.

LABORATORIO DE QUÍMICA AGRÍCOLA  
(Facultad de Agronomía)