

Acerca de la existencia de rotenona en el «*Verbascum thapsus*» L.

Por

Obdulio Fernández y María Pérez Lobete

Existen en Méjico plantas diversas que se utilizan para pescar en los ríos, denominadas *barbascos*. En España se conoce otra, el *verbasco*, empleada para la pesca furtiva. El uso idéntico que de estos vegetales se hace, nos impulsó a buscar el principio ictiotóxico de las hojas de *Verbascum Thapsus* L. (gordolobo), muy usado en la medicina popular europea por sus sumidades floridas.

No conocemos ningún estudio particular de los barbascos; tan sólo hemos encontrado una cita de M. Grahan (1), y a lo que parece los asimila a los cubés brasileños y bolivianos y a los timbos de diferentes pueblos hispanoamericanos. Quizá los colonizadores españoles, al conocer su aplicación allí, los denominaron barbascos, como corrupción de verbasco, cuyo uso es igual. La mayor parte de estos timbos y cubés son especies de los géneros *Derris* y *Lonchocarpus* y sus raíces principalmente son aplicadas como insecticidas agrícolas, para combatir plagas de muchas especies botánicas útiles al hombre.

Las cualidades insecticida e ictiotóxica de tales plantas se deben a la *rotenona*, a los derivados hidrogenados de esta cetona y a la *dequelina*.

De los trabajos que hemos realizado hasta el presente con el gordolobo, de modo comparativo con *Derris*, que puso a nuestra dispo-

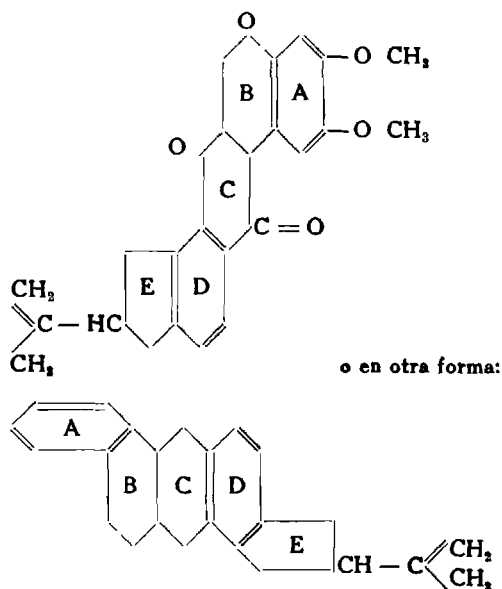
(1) "J. Assoc. of Agri. Chemistry", 1940, 23, 551.

sición la fábrica Productos Agro-Industriales Pagra, de Bilbao (a la que nos complacemos en expresar, así como al ingeniero A. Lifchuz, nuestra gratitud por su delicadeza), sólo puede deducirse una consecuencia, y es la próxima composición química del verbasco respecto de los *Derris*, aunque su riqueza en principio extractivo general, en rotenona y en compuestos solubles en álcalis que deben responder a la fórmula $C_{21} H_{22} O_4$ aislado con el $C_{23} H_{22} O_7$ es mucho más pequeña.

La cifra más elevada del extracto estéreoacético ha sido una de primavera con 12,5 por 100; lo corriente está al lado del 8 por 100, en tanto que los *Derris* producen 28-30 por 100. El número de rotenona es 25 veces menor.

No hemos aislado ni isómeros, cual la deguelina, ni los derivados hidrogenados, que por su pequeña cantidad exigen grandes masas de reactivos de que no hemos podido disponer.

Según La Forge y Butenand, constituyen la rotenona dos grupos unidos por un anillo pirónico, el del ácido tubaico, de estructura hidrofuránica, y el del ácido netórico o del dérico, de arquitectura piránica, en cuyo anillo bencénico se hallan insertos dos (OCH_3) metoxilos. Resulta, pues, integrada por cinco anillos: dos bencénicos, A y D; uno piránico, B; uno pirónico, el C, y otro hidrofuránico, el E, que lleva una cadena lateral isopropilénica.



En otros términos, la composición queda reducida a una cumarona (la parte tubaica) enlazada a una cumarina; de aquí la denominación de cumarano-cumarinas, que se lee en los libros y revistas, composición a la que responden varios productos existentes en diversas plantas, como el bergapteno y la xantotoxina, estudiadas por Spaeth y por Toms, y además dotadas de iguales propiedades farmacológicas que la rotenona, es decir, ser tóxicas para los animales inferiores, especialmente para los peces, y no para los superiores.

La rotenona no fija más que dos hidrógenos, demostrándose con este hecho que sólo posee un doble enlace tilénico, el cual da lugar a dos isómeros *cis* y *trans*, considerados como rotenona e isorotenona, respectivamente. Se pasa del isómero *cis* al *trans* fácilmente, por ebullición, con mezcla de ácido acético glacial y ácido sulfúrico.

La rotenona es una sustancia biforma: la forma estable se funde a 163° y la inestable a 180°, según Gooden y Smith (2).

Es de alguna inestabilidad a la luz, causa a la que obedecen las distintas cifras obtenidas por diversos investigadores en los análisis de Derris, y también la disminución de toxicidad de estas plantas para los peces. La relativa pérdida de toxicidad de la rotenona por la luz ha sido confirmada recientemente por Luig-Sheng-Ts' Ai-T'ing Lui-Ke (3).

Posee tres carbonos asimétricos en 7-8 y 20; es ópticamente activa y levógira $[\alpha]_D = -233^\circ$ en benceno, circunstancia que se utiliza para las determinaciones cuantitativas en las drogas de origen.

Tanto ella como sus derivados ofrecen el fenómeno de la mutarrotación. Tales coincidencias merecen ser anotadas, porque el $[\alpha]_D$ se emplea como medida cuantitativa de la rotenona, a pesar de los inconvenientes privativos a este caso particular. El interés es aún mayor cuando se considera el punto de vista de R. S. Cahn (4) relativo al modo de averiguar en el orden teórico en qué componente de los Derris radica la toxicidad, atribuida hasta ahora a la rotenona y a la deguelina. Trátase aquí, como en otras sustancias, de alcaloides, por ejemplo, que contienen varios centros de asimetría, de pares ópticos, y como hay muchedumbre de derivados y de factores resultantes de apertura de anillos, el problema es de gran complicación.

(2) "Amer. Chem. Society", 1935, 57, 2.616.

(3) "Amer. Chem. Society", 1941, 63, 1.717.

(4) "J. India Chem. Soc.", 1936, 55, 259; "C. Zentral", 1936, I.

REACCIONES QUÍMICAS DE LA ROTENONA

Tiene la rotenona una cualidad que se utiliza para determinaciones gravimétricas; pero se ignora de qué grupo molecular de la sustancia depende. Es el hecho, que la rotenona se combina con compuestos de dos, tres y cuatro átomos de halógeno, cloro principalmente, unidos a un átomo de carbono. Entre ellos se encuentran el ácido bicloroacético, el cloroformo y el tetracloruro de carbono. De modo especial la combinación se efectúa con el tetracloruro de carbono y con el ácido bicloroacético, es decir, que se nota preferencia para los derivados de átomo de halógeno par, en tanto que en otras series de la Química Orgánica, en la del ácido salicílico, v. gr., la tendencia es a combinarse con derivados trihalogenados, es decir, que tienen número impar de halógeno.

Sería el caso importante para la gravimetría de la rotenona si en los Derris y plantas análogas no coexistieran con aquélla, deguelinas y otras sustancias, capacitadas por su constitución molecular para contraer análogas combinaciones con los halogenuros orgánicos. La deguelina forma compuestos estables medio moleculares, con cloro y bromobenceno, y con bromuro de etileno, y con cloroformo, bromoformo y tetracloruro de carbono, equimoleculares (5).

Ofrece la rotenona una reacción de color que ha servido para caracterizarla en las plantas que la contienen. Consiste en producir un derivado nitrosado rojo-violeta, por la acción del nitrito sódico disuelto en ácido sulfúrico. Adicionando más nitrito sódico, el color desaparece, pero vuelve a aparecer si se agrega mayor cantidad de rotenona. El matiz de color es el mismo que engendra la veratrina, de la que se diferencia en que observada a la lámpara de mercurio no produce fluorescencia.

No es específica la reacción de la rotenona, sino que la ofrecen igualmente la deshidrorrotenona y la deshidrodeguelina, así como la isobihidrodeshidrorrotenona. En cambio, el toxicarol produce sólo color rojo-pardo, en iguales condiciones.

Los extractos combinados con tetracloruro de carbono, obtenidos de las hojas de verbasco, ofrecen esta reacción; pero previamente descolorados con carbón animal. La coloración obtenida es la base del

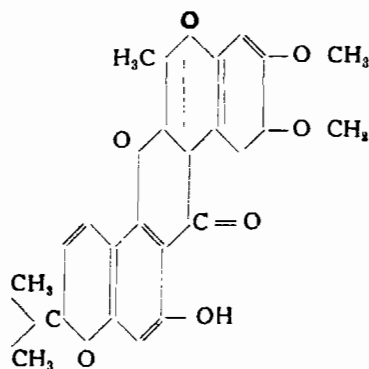
(5) Goodhue y Hefled: "Amer. Chem. Society", 1939, 61, 496.

llamado *índice de Goodhue*, que en el análisis comercial de los *Derris* puede alcanzar gran importancia. Este índice es la intensidad de color resultante de mezclar una disolución acetónica del extracto de *Derris* con potasa alcohólica al 10 por 100, agregar nitrito sódico y después ácido sulfúrico.

Puede utilizarse este índice como medida colorimétrica cuando se logra obtener el máximum de color.

Más segura y más brillante que esta reacción es otra debida a Roger y Calamari. Mezclando a una disolución clorofórmica de timol al 10 por 100 un poco de rotenona y ClH que contenga 0,2 por 100 de NO_3H , se engendra un color azul a los dos minutos, color que se aviva más si el ácido nítrico contiene vapores nitrosos.

De las raíces de *Derris* (en especial del *Malacensis*) se ha aislado otro componente con poco rendimiento, de débil toxicidad, el *toxicarol*, que nos ha sido posible separar de las hojas del *Verbasco* en la fracción alcalina. Este compuesto, que se dice atóxico y que es inactivo a la luz polarizada, posiblemente procede de la ampliación del anillo furánico de la rotenona. Tattersfield y Martín afirman haber logrado el aislamiento de *toxicarol levógiro*. El *toxicarol* se conceptúa como isómero de la *tephrosina*, que a su vez es una *hidroxideguelina*. La *deguelina* no posee constitución furánica, sino que el anillo hidrofuránico se ha agrandado, convirtiéndose en piránico a expensas de uno de los carbonos de la cadena propilidénica, la cual queda convertida en dos metilos unidos al mismo átomo de carbono.



En el *toxicarol* (fusible a 219°) subsisten los metoxilos de la parte netórica de la molécula; pero además contiene un oxhidrilo al que debe su solubilidad en los álcalis y la cual permite su separación del resto de los componentes rotenónicos no fenólicos.

Resulta en definitiva que según la tesis anglosajona contiene el toxicarol un núcleo de cromano y otro de cromanona, el primero demostrable en la degradación en ácidos deshídroxético y dérrico y por la transformación del ácido bihidrotoxicarólico en bihidroxi-5-6-bimetil-2-2-cromano, producto idéntico al que resulta en la síntesis de Bridge, Heyes y Robersson (6) con la floroglucina y el ácido bimetil β . β . acrílico.

Los toxicaroles, en todas sus formas ópticas, son escasamente activos: su dosis tóxica por gramo de animal es 1,5 miligramos, en tanto que la de rotenona es 0,003 miligramos. Sin embargo, parece ser una sustancia que en el conjunto biológico de las plantas es más activa, y en cambio la rotenona aislada se muestra menos tóxica que en la planta. Es un hecho general que recuerda Perrot a propósito de la conveniencia de emplear polvos y preparados extraídos, en vez de sustancias puras. Atribúyese, aunque no se haya probado de modo irrefutable, que el toxicarol es un estimulante de la actividad insecticida e ictiotóxica, en grado menor que la tephrosina.

ELECCION DE METODO ANALITICO

Antes de proceder a la extracción de compuestos tóxicos y atóxicos del verbasco y de estudiarlos aislada y conjuntamente, hemos hecho un estudio comparativo de los métodos analíticos, para elegir el más constante, y, a ser posible, el más rápido.

La bibliografía es en este aspecto cuantiosa, y los datos analíticos, sorprendentes por su variedad.

I.—Método óptico.

Es el más cómodo; pero en el cuadro que publica Danckwortt (7) se nota que los números que con él se obtienen son bajos en relación con los del método al tetracloruro de carbono. ¿Razón de esta pequeñez de resultados? La rotenona posee tres carbonos asimétricos en 7, 8 y 20 y crea por lo menos tres pares de isómeros, aparte de los tres inactivos enantiomorfos. En la droga existen isómeros dextrógiros que compensan parcialmente la actividad óptica levógira. Además existen

(6) "J. Chem. Society", 1937, 219.

(7) "Archiv. d. Pharmacie", 1934, 272, 561.

derivados hidrogenados con isomerías ópticas, aunque en menor número, de deguelina, hidrodeguelina, etc., y derivados deshidrogenados a los que algunos autores conceden gran importancia en la conducta ictiotóxica de los *Derris* y similares.

Con anterioridad a Danckwortt había ensayado la polarimetría de la rotenona en disolución bencénica H. A. Jones (8), y como obtuvo valores, a su juicio inconexos, que atribuyó a la variabilidad de componentes no conocidos en aquella fecha en los extractos déricos, lanzó la afirmación de que "la actividad óptica del extracto no puede utilizarse como medida de la rotenona existente en la raíz".

Ante el anuncio de la bondad y sencillez del método polarimétrico, Rowaan P. A. (9) se propuso contrastarlo con los de cristalización de la rotenona, mejorando a su modo las condiciones de extracción, y obtuvo numerosos concordantes, unos y otros verdaderamente dispares. En la muestra 2.709 de raíz de *Derris* (se trata del laboratorio del Instituto Colonial de Amsterdam), que según el método de Roark da 7,3 por 100, produce 11,4 por 100 con el método óptico, y en cambio la muestra 2.815, que al primer procedimiento acusa 13,8 por 100 de rotenona, sólo da 7 por 100 al polarímetro.

Sin embargo, Danckwortt sostiene que para mezclas y extractos donde haya pequeñas cantidades de rotenona el procedimiento tiene gran valor, y además, agrega, es "el único de entre los químicos que puede ponerse en relación con los métodos biológicos", aunque la actividad farmacológica no dependa exclusivamente, como se sabe ya, de la rotenona. Además el autor, de acuerdo con los trabajos de Takei (10), opina que sólo hay un componente que puede modificar el ángulo de desviación: la deguelina, cuyo poder rotatorio es justamente el décimo del de la rotenona.

Como algunos resultados obtenidos por Danckwortt y Budde son curiosos, se exponen aquí los atinentes a dos muestras de *Derris*, no sólo por su valor comparativo con otros métodos de trabajo, sino como prueba de la poca seguridad que ofrecen las técnicas analíticas en estos productos insecticidas.

MUESTRAS	Cloroformo. Eter	Mét. Zeissel	Polarimetría	Método Jones
Castring	7,4	12,8	9,4	7,86
2.881	5,6	9,4	7,1	

(8) "Indus. Eng. Chem.", 1931, 9, 301.

(9) "Archiv. d. Pharmacie", 1934, 273, 237.

(10) "Berichte", 1938, 66, 1.826.

Las razones expuestas podrían ser un motivo para rechazar el camino físico en cuanto a los Derris se refiere; es que además en las hojas de Verbasco la cantidad de rotenona es muy pequeña, y aunque se extrae de cantidades mucho mayores de producto natural que del Derris, la desviación observada es también minúscula y deja en el ánimo impresión de duda. Claro es que tratándose de evaluar sólo rotenona, por ser un compuesto dotado de gran actividad óptica, el método polarimétrico es preferible por su rapidez.

El procedimiento, tal como Danckwortt y Budde lo practican, se reduce a digerir 3 gr. de la muestra durante veinticuatro horas con benceno y polarizar la disolución filtrada en un tubo de 100 mm. De suerte que no hay descoloración previa, que en nuestro caso del Verbasco es absolutamente necesaria, por actuar sobre una hoja verde y que se presta a una retención del principio activo, por absorción con el carbón que se emplea para descolorar la disolución bencénica. En efecto, si el carbón se somete al alcohol hirviente, se obtiene un líquido que desvía algunos minutos, y evaporado a sequedad, deja un residuo que acusa francamente la reacción de rotenona de Roger y Calamari.

Empleamos 27 gr. de polvo de hoja de Verbasco de primavera (Tineo, Asturias) y extraemos con 50 c. c. de benceno en caliente, descoloramos con carbón animal, y con todo, el ángulo de desviación observado en tubo de 2 decímetros, apenas pasa de 0,30', cifra que para una observación dependiente de factores subjetivos es demasiado pequeña. A los minutos observados hemos añadido los correspondientes a la disolución alcohólica procedente del lavado del carbón, con alcohol caliente, en la hipótesis de que los poderes rotatorios en medio bencénico y alcohólico sean iguales, obteniendo los siguientes resultados:

a)	En disolución bencénica:	} rotenona = 0,24 %
desviac. = - 0° 30' → rotenona = 0,19 %	La disolución alcohólica:	
desviac. = - 0° 4' → rotenona = 0,05 %		
b)	En disolución bencénica:	} rotenona = 0,225 %
desviac. = - 0° 33' → rotenona = 0,2 %	La disolución alcohólica:	
desviac. = - 0° 2' → rotenona = 0,025 %		
c)	Determinación con polvo de raíz de Derris:	

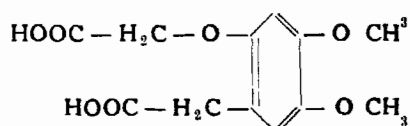
A partir de 0,94 gr. de polvo con 50 c. c. de benceno, en tubo de dos decímetros, el ángulo de desviación = - 0° 28' → rotenona = 5,2 %.

cifra que concuerda con la del análisis que traía la planta.

II.—Aplicación del método de Zeissel y Fanto.

La rotenona contiene en su núcleo de ácido tubaico dos metoxilos 2 (OCH₃) que pierde por ebullición con ácido yodhídrico de 1,7 de densidad, convirtiéndola en yoduro de metilo. Ya se conocía la aplicación como procedimiento cuantitativo (11).

Ocurre lo que con los otros procedimientos: el toxicarol también posee los dos metoxilos, porque está integrado por ácido dérrico y aun es probable que este ácido, si existiera libre, daría 3 OCH₃, porque el radical oxiacetilo y su análogo, que coexisten con los metoxilos, seguramente al hervir con ácido yodhídrico ceden CH₃.



Acido dérrico.

El procedimiento, pues, no dará exclusivamente rotenona, y sin duda por este motivo los analizadores se limitan, como en las trasacciones comerciales con esencias, a señalar para los *Derris* y *Tephrosias* un contenido determinado en metoxilo, que oscila entre cifras variables y que representa el valor total rotenónico de las sustancias tóxicas y de las inocuas, desde el punto de vista insecticida. No obstante el escaso rigor científico de esta práctica, estimamos que es un criterio muy acertado, al tratar de emitir juicio acerca de la capacidad insecticida de los preparados comerciales.

El análisis se ha practicado como es norma corriente y con el primitivo aparato de Zeissel-Fanto (12), recogiendo el yoduro de plata para pesarlo después de seco.

Hemos operado con 27 gr. de polvo de Verbasco de verano recogido en el Balneario de Montejo de Cebas (Burgos), que dieron como resultado 2,72 gr. de extracto, sobre el cual se hizo el análisis con el ácido yodhídrico de 1,7. Las cifras halladas para metoxilo son 0,43 por 100 para el extracto de Verbasco, equivalentes a 2,73 por 100 de rotenona, en el supuesto teórico, no confirmado, de no existir en el Ver-

(11) J. Rongier: "Tesis doctoral". Lyon, 1938.

(12) H. Meyer: "Analyse", etc., pág. 487, 5.ª edición, 1931.

basco otras sustancias de carácter oximetílico, descomponibles en yoduro de metilo por el ácido yodhídrico.

Una molécula de yoduro de plata = $\frac{1}{2}$ rotenona. 2,72 gr. de extracto dan 0,09 gr. de yoduro de plata = 0,01188 de metoxilo = 0,43 por 100. O sea: 2,73 por 100 rotenona en el extracto factor 0,7956). El polvo de la hoja produce 0,09 gr. IAg = 0,075432 de rotenona = 0,27 por 100 de rotenona.

Como antes se advirtió, todos los análisis se han llevado comparativamente con rotenona pura, la cual, sometida al Zeissel-Fanto, no ha producido más de 80 por 100 de lo calculado ya en rotenona. 0,2 gr. de rotenona dan 0,19 gr. de IAg = 0,025 de metoxilo,

79,68 por 100 de rotenona.

Las cifras obtenidas en las hojas representan ya una baja de 20 por 100 respecto de la realidad.

Por si el lector encuentra alguna disconformidad en los datos existentes en la bibliografía, ha de advertirse que aquí están expresados en metoxilo sobre el extracto de Verbasco, como acostumbra a hacerlo en Norteamérica y para mayor facilidad en la comparación con los números obtenidos en los extractos de Derris comerciales. Estos contienen de ordinario de 13-14 por 100 de metoxilo, cifra verdaderamente enorme en cotejo con la producida por los extractos de Verbascos que estudiamos.

Los resultados hallados por este procedimiento son concordantes con los que se obtienen en el método polarimétrico.

III.—Formación de oximas.

Los derivados cromanónicos no están capacitados para formar oximas, a consecuencia del influjo que sobre el grupo CO ejercen las uniones eténicas próximas; pero si éstas se deshacen, convirtiéndolas en saturadas, los productos hidrocrománicos resultantes pueden, según la regla admitida para las flavonas por Kostanecki-Levi-Tambor (13), combinarse con la hidroxilamina (la rotenona es derivado hidrogenado, por lo tanto puede reaccionar con la hidroxilamina, formando oxima).

Algunos autores, J. Rongier (14) entre otros, sostienen que la rote-

(13) H. Meyer: "Analyse", etc., pág. 438, 5.ª edición, 1931.

(14) Loc. cit.

nona forma oxima y también fenil-hidrazona, sustancias ambas que no hemos podido aislar, pese a los reiterados ensayos de técnicas conocidas y de otras que hemos puesto en práctica.

En la obtención de oxima pusimos especial empeño, porque de ésta se puede pasar con cierta facilidad a las 2-4 binitrofenil-hidrazonas (15).

Se procedió con clorhidrato de hidroxilamina y acetato sódico, con aquella sal y sosa en cantidades crecientes, para tener base libre y con la sal de Crismer (cloruro de cinc y clorhidrato de hidroxilamina—sobre la rotenona—), siempre con resultados negativos.

Finalmente acudimos a otro medio más violento: calentar en baño de aceite en tubo cerrado, cantidades equimoleculares de las sustancias. El fracaso fué absoluto. No obstante, hirviendo clorhidrato de hidroxilamina, potasa alcohólica (SN/2) y rotenona, siguiendo la técnica corrientemente usada para volumetrías de carbonilo (16), se obtienen números equivalentes a 80 por 100 de la rotenona puesta, lo cual prueba que aun cuando la oxima no sea cristalizable (quizá por muy soluble), se forma. La cifra obtenida se elevó a 85 por 100 sustituyendo en la reacción la potasa alcohólica por el bicarbonato sódico en polvo.

IV.—Formación de 2-4-binitrofenil-hidrazonas.

Como las previsiones teóricas y los hechos aducidos por Roncier (17) son favorables a la producción de 2-4-binitrofenil-hidrazonas, y siendo estas sustancias insolubles y muy adecuadas para la gravimetría de carbonilos (18), decidimos una serie de ensayos en medio ácido, en medio alcohólico, sin ácido en frío y en caliente, sin lograr el objetivo propuesto.

Se intentó obtener la 2-4-binitrofenil-hidrazona disolviendo la rotenona en una mezcla hidroalcohólica en caliente; añadiendo después el reactivo O. Fernández-L. Socias se produce un precipitado cristalino f.-149°-151°; pero al hacer la cuantitativa del nitrógeno se obtuvieron números muy bajos.

(15) O. Fernández: "Revista de la Academia de Ciencias", 1941, 35, 75-96.

(16) Dorronsoro: "Estudio químico de las esencias españolas", pág. 53.

(17) Loc. cit.

(18) O. Fernández: "Revista de la Academia de Ciencias", 1941, 35, 75-96.

Análisis:

- a) Peso de sustancia = 0,0244 gr.
Volumen de ácido clorhídrico N/20 gastado = 0,02 c. c.
Nitrógeno = 0,057 por 100. Calculado, 9,75 por 100.

Ensayo en tubo cerrado.— Como algunos investigadores no han conseguido lograr en ciertos casos la hidrazona, idearon un procedimiento que dió mejores resultados, y fué la calefacción directa del producto carbonílico con la 2-4-binitrofenil-hidracina (19).

En nuestro problema no ha sido útil esta técnica ni intensificando el tiempo de calefacción ni aumentando la proporción de reactivo.

El procedimiento no es adecuado, aun contradiciendo las deducciones teóricas y la síntesis de hidrazona fenilica realizada por otros investigadores.

V.—Métodos al tetracloruro de carbono.

Quedó consignado en páginas precedentes que la rotenona y sus análogos contraen combinaciones, disociables por el alcohol caliente, cuando se hierven con derivados halogenados que contengan dos o cuatro átomos de halógeno en un átomo de carbono. Por consecuencia, en la mayor parte de los casos hay que referirse al tetracloruro de carbono.

Método de Roark (20).—La primera fase del análisis es la extracción de los compuestos rotenónicos. Los disolventes a emplear para la extracción se discuten mucho. La acetona, el alcohol, el benceno, el tolueno, el éster acético en frío y en caliente, son de uso general.

En vista de que la mayoría de los laboratorios norteamericanos utilizan el acetato de etilo, a él hemos acudido, aunque nos ha sido forzosa su preparación por las dificultades actuales para hallarlo en el comercio.

La segunda fase es la cristalización o el aislamiento y la disociación de los compuestos rotenónicos con el tetracloruro de carbono, para lo cual el líquido procedente de disolver en éster acético se evapora a sequedad, y el extracto que queda se disuelve en tetracloruro, para concentrar en el vacío la disolución, hasta que se inicia la formación

(19) H. Meyer: "Analyse", etc., 5.ª edición, pág. 452, 1931.

(20) "Soap", 1931, 7, 90.

de precipitado. Se enfria luego tres horas, agitando insistentemente, se evapora a sequedad y se pesa esta mezcla de complejos con tetracloruro de carbono. La proporción de extracto, segun Jones y Sullivan (21), es un número muy aproximado para juzgar del valor de Derris y Cubés. A esto llamamos extracto sin corregir, puesto que no se descuenta el peso del tetracloruro de carbono.

Este extracto contiene todas las combinaciones naturales semejantes a la rotenona, y otras del tipo del toxicarol, desprovistas de actividad farmacológica.

El extracto se vuelve a disolver en tetracloruro de carbono, se descolora con carbón animal, se filtra y se concentra a poco volumen, para agregarle después alcohol; hervir en reflujo, para disociar la combinación con el disolvente, y por enfriamiento se sedimenta rotenona bien cristalizada, que se recoge en una placa, se aspira fuertemente, se lava con unas gotas de alcohol y se pesa. *El punto de fusión de los cristales es 121°, que se eleva por sucesivas cristalizaciones.*

Es evidente que no toda la rotenona cristaliza, por lo cual el procedimiento da números inferiores a la realidad, pero el cuerpo aislado es siempre puro

El Verbasco de verano, Tineo (Asturias).....	1941	produce.....	0,03 %
El Verbasco de primavera, Tineo (Asturias).....	1942	"	0,027 %
El Verbasco de primavera, de Madrid.....	1942	"	0,085 %
El Verbasco de verano, de Madrid.....	1941	"	0,092 %
El Verbasco de verano, de Burgos.....	1940	"	0,075 %
El Verbasco de invierno, de Burgos.....	1940	"	0,05 %
La raíz de Derris produce			0,644 % y 0,71 %

Debemos hacer observar que en el caso de Verbasco no es absolutamente igual que en los Derris. El extracto obtenido con acetato de etilo no es soluble por completo en tetracloruro de carbono, por lo cual se impone la filtración antes de concentrar al vacío.

Cotejando los números obtenidos con Derris y Verbasco se percibe claramente la gran diferencia en el contenido rotenónico de ambas plantas.

Método de Howard (22).—Como se ha visto al principio, la rotenona y compuestos similares se combinan con una molécula de ácido bicloroacético, $\text{Cl}_2 \text{CH-COOH}$, formando una sustancia disociable por

(21) "Chimie Industrie", 1932, 44, 576.

(22) "Industry. Enge. Chemistry. Ana.", 1938, 10, 684; "C. Zentralblat". 1939, II, 4.321.

el agua hirviendo, que separa el ácido en condiciones de ser evaluado por una volumetría con sosa N/10 y fenol-ftaleína.

1 c. c. de SN/10 de NaOH = 39,4 mgr. de rotenona.

En este procedimiento se extrae como en los demás; el extracto se cristaliza con tetracloruro de carbono a 0°.

El complejo cristalizado se disuelve en 25 c. c. de acetona, se hierve al baño de agua para eliminar el disolvente y el tetracloruro de carbono. Al residuo se agregan 10 c. c. de disolución al 80 por 100 en volumen, de ácido *bicloroacético*, calentando después hasta que se disuelva todo, y finalmente se sumerge en un baño de agua helada y se agregan unos pedacitos de hielo, agitando con frecuencia y poniendo como germen cristalino unos cristales de rotenona-ácido dicloroacético. A los tres minutos se añaden 15 c. c. de agua helada, y después, 50 c. c. más.

La papilla cristalina se recoge sobre una placa, se lava con 250 c. c. de agua y se disuelve en 25 c. c. de cloroformo.

Esta disolución se mezcla con 50 c. c. de agua hirviendo y se titula con solución N/10 de sosa, utilizando como indicador la fenol-ftaleína.

Las cifras obtenidas son:

a) Operando con el extracto final de 17 gr. de Verbasco de primavera, de Madrid:

Solución N/10 de NaOH empleada	0,8 c. c.
Rotenona	0,2233 %

b) Operando con el extracto final de 18,52 gr. de Verbasco de primavera, de Asturias:

Solución N/10 de NaOH empleada	1,1 c. c.
Rotenona	0,238 %

c) Operando con el extracto final de 7 gr. de polvo de raíz de Derris:

Solución N/10 de NaOH empleada	0,9 c. c.
Rotenona	5,573 %

Estas cifras se aproximan bastante a las obtenidas por el método de evaluación con el Zeissel y a las que resultan en el polarimétrico.

VI.—Procedimientos fundados en la fijación de halógeno.

La rotenona posee en el anillo furánico una cadena isopropilénica, y por ende está capacitada para retener halógeno sobre ella, formando un derivado halogenado. Se aconsejó el bromo, pero éste actúa no sólo sobre la cadena eténica, sino sustituyendo y provocando diferentes sustancias en los varios anillos de los componentes rotenónicos. La consecuencia es una variabilidad de resultados en distintas condiciones, tan grande, que se ha abandonado la idea de ensayar la mejora del procedimiento.

VII.—Formación de picratos.

La rotenona, como se ha indicado, posee en su anillo furánico una cadena propilénica que muy bien podría prestarse a la formación de un picrato, como muchos compuestos propilidénicos.

Hemos ensayado esta particularidad con el propósito de hacer una gravimetría, sin éxito que valga la pena de consignarse; en disolución bencénica, en frío y calentando hasta hervir, cantidades equimoleculares de los factores.

VIII.—Formación de complejos mercurícos.

Es característica general de combinaciones eténicas formar complejos con el acetato mercuríco, estables unas veces, en forma de precipitado blanco, o inestables, que producen mercurio metálico por sufrir una reducción; es, en suma, la reacción Balbiano típica de los terpenos. Practicada con la rotenona, no se produce nada interesante. En cambio, cuando se utiliza el reactivo Denigés (sulfato mercuríco básico) en medio débilmente alcohólico para disolver, se obtiene precipitado que poco a poco se vuelve rojo, como si fuera de óxido mercuríco. Si a este precipitado se le agrega ácido sulfúrico, se obtiene primero una coloración roja, que va cambiando, pasando por el azul hasta el verde, y vertido sobre agua se forma un precipitado coposo de este color que no contiene apenas mercurio.

Como el color producido no es constante, hemos desistido de practicar una colorimetría, como era nuestro deseo.

En vista de las divergencias de los números obtenidos por varios caminos, y de las recomendaciones procedentes de los laboratorios de tipo comercial, hemos adoptado como más exacto, porque la práctica en otros países lo hacen más adaptable a las necesidades de las transacciones comerciales, el método de Roark. No seguimos el consejo de W. M. Seaber (23), que estriba en aceptar como más próximo a la verdad el número más alto, cuando la extracción se haga con distintos disolventes.

De los resultados obtenidos por los diversos procedimientos expuestos se llega a deducir que sigue la cuestión en los términos en que Rowan la dejó al escribir: "No parece haya llegado el momento de elegir un método patrón para determinar rotenona."

Métodos	Con rotenona	ROTENONA, % Con hoja de Verbasco		Con raíz de Derris
		Muestras	%	
Polarimétrico	—	Primavera de Asturias....	0,24	5,2
Zeissel	79,68	Verano de Montejo	0,225	—
Hidroxilamina	81,95-78,71	—	—	—
Hidroxilamina y bicarbonato	84,1-85,8	—	—	—
Howard	—	Primavera de Madrid	0,2233	5,573
		Primavera de Asturias....	0,238	
		Verano de Asturias	0,03	0,644-0,71
		Primavera de Asturias....	0,027	
Roark	—	Primavera de Madrid	0,085	
		Verano de Madrid	0,092	
		Verano de Montejo	0,075	
		—	0,05	

Laboratorio de Análisis de Medicamentos Orgánicos (Madrid).

(23) "J. Indian Chem. Soc.", 1938, 57, 372.