



BOLETIM TÉCNICO
DO
INSTITUTO AGRONÔMICO DO NORTE

N.º 31

Junho de 1956

ESGOTADO

SUMÁRIO

Estudo químico de plantas amazônicas, por R.F.A. Altman.
Introdução geral.

- I — Identificação microquímica dos alcaloides do grupo Cinchona.
- II — Plantas contendo Sapogeninas esteroidais.
- III — Análise do leite de "maçaranduba" (*Manilkara Huberi* (Ducke) A. Chev.).
- IV — Breve estudo tecnológico da Balata de "maçaranduba" (por Hilkias B. de Souza).
- V — O "algodão de formigas" (*Parinarium rudolphii* Hb.).
- VI — O caroço de "açai" (*Euterpe oleracea* Mart.).

Latex de *Landolphia parsonsii*, por Hilkias Bernardo de Souza.

A ação de diversos cations sobre a borracha, por Hilkias Bernardo de Souza.

O cipó babão (*Cissus gongylodes* Baker) Um agente coagulante do latex de Hevea, por Hilkias Bernardo de Souza.

O óleo de ucuí (Seu estudo químico), por Gerson Pereira Pinto.

Contribuição ao estudo químico do óleo de andiropa, por Gerson Pereira Pinto.

Contribuição ao estudo tecnológico e econômico da neutralização do óleo de Babaçú, por Gerson Pereira Pinto.

A defumação do latex de seringueira, por Alfonso Wisniewski.

Observações sobre a borracha do gênero *Sapium*, por Alfonso Wisniewski.

Borrachas amazônicas pouco conhecidas, por Alfonso Wisniewski.

BELEM — PARÁ — BRASIL

1956

ESGOTADO



MINISTÉRIO DA AGRICULTURA

Ministro — BENTO MUNHOZ DA ROCHA

CENTRO NACIONAL DE PESQUISAS AGRONÔMICAS

Diretor Geral — JOÃO QUINTILIANO DE AVELLAR MARQUES

SERVIÇO NACIONAL DE PESQUISAS AGRONÔMICAS

Diretor — FELISBERTO CARDOSO DE CAMARGO — Agrônomo

INSTITUTO AGRONÔMICO DO NORTE

Diretor — RUBENS RODRIGUES LIMA — Agrônomo

Diretor Interino — ARCHIMAR BITTENCOURT BALEEIRO — Agrônomo

SEÇÕES TÉCNICAS

ESPECIALIZAÇÃO

Melhoramento de Plantas e Experimentação

Abnor Gondim, Agr. — Chefe	Experimentação
Rubens R. Lima, Agr.	Experimentação
Milton Albuquerque, Agr.	Experimentação
José Maria Conduru Jr., Agr.	Experimentação
José S. Rodrigues, Agr.	Experimentação
Sebastião Andrade, Agr.	Experimentação
Virgílio Libonatti, Agr.	Experimentação

Botânica

João Murça Pires, Agr. — Chefe	Botânica
Paul Ledoux, Prof. Dr. em Ciências	Botânica
George A. Black, B. A.	Botânica
Ricardo de Lemos Fróes	Botânica
Humberto Koury, Agr.	Botânica

Limnologia

Vago.

Fitopatologia

August M. Gorenz, Ph. D (U. S. D. A., colaborador) Resp. pela Chefia	Fitopatologia
José R. Gonçalves, Agr.	Fitopatologia

Química

R. F. A. Altman, Ph. — Chefe	Química orgânica
Hilkias Bernardo de Souza, Q. I.	Química orgânica
Elias Zagury, Agr.	Química orgânica

Solos

João Pedro S. O. Filho, Q. I. — Chefe	Química dos solos
Humberto Dantas, Q. I.	Química dos solos
Lucio Vieira, Agr.	Química dos solos

Tecnologia da Borracha

Alfonso Wisniewski, Q. I. — Chefe	Quím. da borracha
---	-------------------

Biblioteca

Paulo Plínio Abreu, Bch. D. — Chefe	Biblioteconomia
Zuila de O. Motta	Biblioteconomia
Consuelo B. Alves	Biblioteconomia
Stelio Lima Girão	Biblioteconomia

Secretaria

Luiz Lopes de Assis, Of. adm. — Chefe	Administração
Alcenor Moura, Escrit.	Administração
Newton Sampaio — Enc. Material	Administração

Estações Experimentais

Belém (Pará) — Batista Benito G. Calzavara — Chefe.	
Maiguru (Pará) — Casimiro Junqueira Villela — Chefe.	
Tefé (Amazonas) — Manoel Milton da Silva — Chefe.	
Porto Velho (Guaporé) — Jorge Coelho de Andrade — Chefe.	
Amapá — Em instalação.	
Pedreiras (Maranhão) — Em instalação.	
Manáus (Amazonas) — Em instalação.	

Plantações de Belterra e Fordlândia

Casimiro Junqueira Villela, Adm. substituto.	
Charles Townsend — Setor Agrícola.	

Colaboradores

Adolfo Ducke — Naturalista (Serv. Florestal)	Botânica
Michael H. Langford, Ph. D. (U. S. Dept. Agr.)	Fitopatologia
Richard Evans Schultes, Ph. D. (U. S. Dept. Agr.)	Botânica
Lawrence Beery (U. S. Dept. Agr.)	Heveacultura
Locke Craig (U. S. Dept. Agr.)	Heveacultura

BOLETIM TÉCNICO
— DO —
INSTITUTO AGRONÔMICO DO NORTE

N.º 31

Junho de 1956

SUMÁRIO

Estudo químico de plantas amazônicas, por R.F.A. Altman.
Introdução geral.

I — Identificação microquímica dos alcaloides do grupo Cinchona.

II — Plantas contendo Sapogeninas esteroidais.

III — Análise do leite de “maçaranduba” (*Manilkara Huberi* (Ducke) A. Chev.).

IV — Breve estudo tecnológico da Balata de “maçaranduba” (por Hilkias B. de Souza).

V — O “algodão de formigas” (*Parinarium rudolphii* Hb.).

VI — O carço de “açai” (*Euterpe oleracea* Mart.).

Latex de *Landolphia paraensis*, por Hilkias Bernardo de Souza.

A ação de diversos cations sôbre a borracha, por Hilkias Bernardo de Souza.

O cipó babão (*Cissus gongyloides* Baker) Um agente coagulante do latex de Hevea, por Hilkias Bernardo de Souza.

O óleo de uchi (Seu estudo químico), por Gerson Pereira Pinto.

Contribuição ao estudo químico do óleo de andiroba, por Gerson Pereira Pinto.

Contribuição ao estudo tecnológico e econômico da neutralização do óleo de Babaçú, por Gerson Pereira Pinto.

A defumação do latex de seringueira, por Alfonso Wisniewski.

Observações sôbre a borracha do gênero *Sapium*, por Alfonso Wisniewski.

Borrachas amazônicas pouco conhecidas, por Alfonso Wisniewski.

BELÉM — PARÁ — BRASIL

1 9 5 6



ESTUDOS QUÍMICOS DE PLANTAS AMAZÔNICAS

POR

R. F. A. ALTMAN, Ph. D.

INTRODUÇÃO GERAL

- I. IDENTIFICAÇÃO MICROQUÍMICA DOS ALCALOIDES DO GRUPO CINCHONA
- II. PLANTAS CONTENDO SAPOGENINAS ESTEROIDAIS
- III. ANÁLISE DO LEITE DE "MAÇARANDUBA" (*Manilkara Huberi* (Ducke) Stand.)
- III A. BREVE ESTUDO TECNOLÓGICO DA BALATA DE "MAÇARANDUBA" por HILKÍAS BERNARDO DE SOUZA
- IV. O "ALGODÃO DE FORMIGAS" (*Parinarium rudolphii*, Hub.)
- V. O CAROÇO DE "AÇAI" (*Euterpe oleracea*, Mart.).

balata; os látices, matéria prima da fabricação do chiclete, o óleo de copaíba, que perdeu o seu valor depois da descoberta dos antibióticos (sulfa, penicilina, etc.), a castanha do Pará, que uma parte considerável está se estragando dum ano para o outro, devido ao mau armazenamento, etc., etc.

Por outro lado, vários outros produtos ainda não comerciais, merecem ser estudados. São as plantas aplicadas com sucesso na medicina popular, sem entretanto se conheceram quais os seus componentes ativos; as que contêm os famosos venenos de flecha dos índios e os outros alcaloides, igualmente valiosos; os refugos de vários produtos amazônicos como as grandes quantidades de casca de castanha, de caroço de açaí, de polpa de cumarú, de casca de bacurí e outros frutos cheirosos, enfim, todos os refugos que poderiam ser aproveitados.

Na Amazônia, encontram-se ainda muitas plantas comestíveis que — quimicamente falando — ainda não são perfeitamente conhecidas. Seria interessante investigar a constituição química das verduras, dos frutos, das batatas, dos capins, das várias outras forrageiras, etc.

Do acima exposto, vê-se que o programa desenvolvido, embora limitado é ainda bastante extenso. Será necessário porém, um grande número de químicos para, numa pesquisa constante, conseguir a realização do programa apresentado.

Queremos, nesta oportunidade, animar os colegas do sul do país a nos ajudar a resolver esta parte do grande problema amazônico. O assunto é interessantíssimo para qualquer fitoquímico e seria impossível que os trabalhos executados não obtivessem sucesso. Nem sempre, é claro, conseguiremos um sucesso de valor prático, mas os resultados negativos ou positivos, tem um valor científico garantido.

Tentaremos, por enquanto, numa escala modesta, realizar o nosso programa de trabalho. Neste programa, não há escala de urgência dos assuntos, sendo os últimos, escolhidos arbitrariamente por nós mesmos, com a colaboração valiosa das outras Secções dêste Instituto, particularmente da Secção de Botânica.

Além disso, consultamos vários médicos, nos quais encontramos sempre a maior boa vontade em nos ajudar. Como

guia valiosíssimo dos nossos trabalhos, consultamos o livro de PAUL LE COINTE — “Amazônia Brasileira — III — Árvores e Plantas Úteis”.

De início, apresentamos neste número do Boletim, os artigos seguintes:

- I. *Identificação microquímica dos alcaloides do grupo Cinchona*
- II. *Plantas contendo sapogeninas esteroidais*
- III. *Análise do leite de “Maçaranduba” (Manilkara Huberi) (Ducke) Stand.)*
- III A. *Breve estudo tecnológico da balata de “Maçaranduba” por HILKÍAS BERNARDO DE SOUZA*
- IV. *O “Algodão de Formigas” (Parinarium rudolphii, Hb.)*
- V. *“O Caroco de Açaí” (Euterpe oleracea, Mart.)*

AGRADECIMENTOS

Agradecemos ao Sr. PAULO PLÍNIO ABREU, pela cooperação prestada na correção dos manuscritos, bem como aos funcionários da Secção de Química, que colaboraram na execução dos nossos trabalhos.

I. IDENTIFICAÇÃO MICROQUÍMICA DOS ALCALÓIDES DO GRUPO CINCHONA

POR

DR. R. F. A. ALTMAN

SUMÁRIO:

PARTE A: *INTRODUÇÃO*

1. Objetivo do método
2. Técnica do método
3. Identificação dos alcaloides
4. Programa de trabalho

PARTE B: *OS MICROCRISTAIS OBTIDOS*

1. Ocorrência e química dos alcaloides de Cinchona
2. Reagentes aplicados
3. Microcristais obtidos com PtCl_4
4. Microcristais obtidos com AuCl_3
5. Microcristais obtidos com $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$
6. Microcristais obtidos com $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$
7. Outros microcristais.

PARTE C: *APLICAÇÕES*

1. Os alcaloides do "Caferana" (*Picrolemma pseudo coffea*, Ducke)
 - a. Introdução
 - b. Teste qualitativo
 - c. Separação quantitativa dos alcaloides
 - d. Identificação microquímica dos alcaloides separados
 - e. Discussão.

2. Os alcaloïdes de "Strychnos Quina" (*Strychnos pseudo-quina*, St. Hill.)

- a. Introdução
- b. Separação quantitativa dos alcaloïdes
- c. Identificação dos alcaloïdes obtidos
- d. Descrição dos microcristais obtidos
- e. Separação dos alcaloïdes segundo STAS-OTTO:

- (i) Extrato etéreo "ácido"
- (ii) Extrato etéreo "alcalino"
- (iii) Extrato etéreo "amoniacal"
- (iv) Extrato clorofórmico "amoniacal"
- (v) Extrato clorofórmico "Soxhlet"

f. Discussão

PARTE D: ANEXOS

1. Bibliografia
2. Resumo
3. Summary
4. Tabelas de microfotografias



PARTE A. INTRODUÇÃO.

1. OBJETIVO DO MÉTODO

Aqui na Amazônia existem muitas plantas contendo alcaloides. São, por exemplo, conhecidos no mundo inteiro, os venenos de flecha amazônicos, coletados, pelos índios, de vários cipós pertencentes botânicamente a espécies de *Strychnos*.

Acontece que as ditas plantas contêm os alcaloides em pouca quantidade e não raramente recebemos, da Secção de Botânica dêste Instituto, amostras de plantas em quantidades muito limitadas, seja devido à dificuldade de encontrar as mesmas, seja por outros fatores. Separar e identificar os alcaloides destas amostras segundo os métodos habituais, é difícil e mesmo impossível. Este problema só poder-se-á resolver por micro-métodos, dentre os quais, o cromatográfico que, em nossa opinião, julgamos ser muito interessante. Por enquanto, porém, a aplicação das análises cromatográficas é impossível neste Instituto, devido à falta de material. Existe ainda o "método microquímico" para a identificação de vários alcaloides. Este método, que foi desenvolvido principalmente por BEHRENS 1), STEPHENSON 2) e AMELINK 3) (ver também os trabalhos de ROSENTHALER 4) e AUTENRIETH-BAUER 5), é baseado na formação de precipitados que os alcaloides produzem com vários reagentes. Estes precipitados, na maioria dos casos, são cristalizados e os cristais, mesmo freqüentemente, são tão específicos que podem servir como excelentes meios de identificação. Será então necessário "sòmente" fazer todos os precipitados microscópicos e depois fotografar (o que é mais preferível que desenhar), os cristais específicos, a fim de poder identificar qualquer alcaloide.

Reconhece-se fãcilmente que uma coleçãõ de tais fotografias serã de inestimãvel valor. Infelizmente, porã, existem tantos alcaloides e reagentes, que uma coleçãõ completa sã poder-se-ia obter com sacrifício de tempo e dinheiro. Sãmente com a colaboraçãõ de muitos cientistas, serã possível alcançãr o alvo desejado.

Atã agora, vãrios químicõs espalhados pelo mundo inteiro jã trabalharam neste sentido e cada vez maior nũmero de colegas apoia o mãtodo microquímico, havendo porã razãõs para isto, porque entre as vantagens do teste microscãpico podem-se mencionar a grande sensibilidade, rapidez e sobretudo a discriminaçãõ completa dos compostos químicamente semelhantes ou mesmo de isãmeros óticos. È verdade que nem todos os reagentes produzem precipitados cristalizãveis de forma bem diferente com ditõs isãmeros, mas quase sempre pode-se achar um ou mais reagentes que dãõ, com os alcaloides, cristais nitidamente distinguíveis.

2. TãCNICA DO MãTODõ

Existem vãrias tãcnicas para a execuçãõ do mãtodo, prescritas por vãrios pesquisadores. Aplicando as prescriçãõs dadas na literatura (1-8) e comparando os resultados obtidos, julgamos que a tãcnica seguinte ã a mais eficiente 3):

Numa micro-cãpsula coloca-se uma pequena quantidade do material vegetal pulverizado e trata-se a mesma com amõnia a fim de se obter um bolinho. Extrai-se ãste bolinho com 0,5 cc de clorofãrmio, agitando bem a mistura com um bastãõzinho de vidro. Adiciona-se um pouco mais de clorofãrmio quando se perder o solvente por evaporaçãõ, (ã sempre necessãrio na nossa regiãõ tropical). A soluçãõ clorofãrmica contendo os alcaloides ainda misturados com graxas, resinas e outros componentes solũveis neste solvente ã absorvida por meio dum pedacinho de papel de filtro de 5x1/2 cm segurado com um pincel num ponto do papel. Dissolve-se o material assim coletado no papel com nova quantidade de clorofãrmio, gõta por gõta, extraindo assim os componentes absorvidos que por fim, serãõ coletados numa

escavação de lâmina microscópica. Após evaporação completa do cloroformio (aconselhamos o uso de uma lâmpada infra-vermelha para uma evaporação efetiva) o resíduo é dissolvido em algumas gotas de ácido clorídrico a 0,5 %. As graxas, resinas, etc., ficam insolúveis, enquanto que os alcaloides se dissolvem. A solução é absorvida para outro pedacinho de papel de filtro que depois é extraído com água destilada, deixando assim as impurezas no papel. O extrato aquoso ácido é coletado numa outra lâmina com escavação e é concentrado até volume mínimo. Esta solução é usada para a preparação dos microcristais.

Frações da solução concentrada são colocadas sobre várias lâminas microscópicas e tratadas com uma pequena gota dum reagente adequado. Como já dissemos, existem muitos reagentes. Por razões práticas, temos que fazer uma rigorosa restrição relativa ao número de reagentes a aplicar. Julgamos como reagentes os mais indicados: o PtCl_4 a 5 %, o AuCl_3 a 5 %, o $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$ a 1 % e o $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ a 1 %, além dum reagente especial que chamaremos “reagente de confirmação” é o que varia com o alcaloide esperado. A escolha do “reagente de confirmação” depende dos resultados obtidos com os 4 reagentes referidos que, sem dúvida, darão uma boa indicação do caráter do(s) alcaloide(s).

3. IDENTIFICAÇÃO DOS ALCALOIDES

A própria identificação dum alcaloide segundo o método descrito, claramente só se pode realizar quando já tivermos as fotografias dos microcristais formados por reação dos vários alcaloides em estado quimicamente puro com os reagentes mencionados (PtCl_4 , AuCl_3 , $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$, $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$, além dum ou mais “reagentes de confirmação”). Estamos então sempre obrigados a preparar os alcaloides quimicamente puros, trabalho, que, muitas vezes, não é simples. Portanto, no comércio, vendem-se vários alcaloides ora quimicamente puros, ora em estado quasi puro. Além disso, acham-se na literatura vários dados valiosos e neste trabalho referimos especialmente ao trabalho excelente de AMELINK 3).

A técnica para se obterem os microcristais que servem como material básico, quer dizer, material de comparação, não se distingue da técnica já descrita acima. Muito pouco (alguns cristais ou uma fração duma gota) do alcaloide puro é dissolvido em HCl a 0,5 % e a solução ácida é dividida sobre 5 a 6 lâminas microscópicas e misturada com um dos referidos reagentes. Para êsse fim, aconselhamos colocar a gotinha do reagente ao lado do alcaloide com uma distância, de, no máximo 1 mm. Depois, com bastãozinho de vidro, com ponta fina, misturam-se as duas gotinhas com cuidado.

Os cristais desejados podem se formar imediatamente, ou depois de algum tempo. São preferíveis os últimos porque, em geral, estão melhor formados e maiores. Porém acontece às vezes que os cristais não querem formar-se. Nêste caso, aconselhamos friccionar com um bastãozinho de vidro num canto da preparação, para provocar a formação de cristais. Depois, a solução é evaporada com cuidado por meio duma lâmpada infra-vermelha até os limites da preparação secar. Nêste momento a lâmina é retirada da lâmpada e estudada com o microscópio que será de preferência, um microscópio polarizador. Estude-se principalmente os limites da preparação, onde se observam os cristais lentamente crescendo. Não se use uma lamínula.

Assim trabalhando tivemos muitas vezes oportunidade de seguir a formação dos cristais específicos como num filme interessantíssimo. A luz polarizada, a nosso vêr, indispensável, ajuda muito a achar os cristais desejados, que, às vezes são difíceis de distinguir dos cristais formados pelos reagentes próprios. A microfotografia deve ser tirada, de preferência, imediatamente após a formação dos cristais, isto para evitar perda de ocasião. Aconteceu, pelo menos no nosso clima, várias vêzes se estragarem os cristais já depois de pouco tempo.

Quando os cristais desejados não quizerem se formar segundo o método descrito, não se perca a paciência, pois êles podem se formar ainda, depois de algumas horas, ou mesmo depois de um dia. Ainda se pode provocar a formação dos microcristais por variação das condições: concentração das soluções, temperatura da reação, etc. As vêzes, porém, a presença de algumas impurezas impedem a formação dos cristais

e nêsse caso, aplique-se uma purificação simples do extrato vegetal com carvão em pó, tendo grande capacidade de adsorção (por exemplo, com o "Norite") ou bem pela micro-recristalização do alcaloide separado, seja no estado livre ou em forma de cloridrato ou mesmo de sulfato. Um outro método excelente para purificar o alcaloide é a micro-sublimação do extrato, processo que se realiza fãcilmente entre duas lâminas microscópicas separados por um anel de vidro com alguns milímetros de altura. A substância a purificar acha-se sôbre a lâmina inferior (dentro do anel) que deve ser aquecida cuidadosamente com uma micro-chama.

4. PROGRAMA DE TRABALHO

É nossa intenção fazer um estudo sistemático dos alcaloides que se encontram frequentemente nas plantas amazônicas. Não será difícil responder à pergunta com quais alcaloides iniciaremos. São, é claro, os alcaloides do grupo Strychnos, incluindo o grupo do curare.

Começamos agora, portanto, com o estudo dos alcaloides do grupo *Cinchona*, porque não dispomos dos alcaloides do grupo Strychnos em estado puro, nem estamos — por enquanto — em condições de preparar os mesmos, devido à falta de aparelhagem de cromatografia para purificá-los. De outro lado já possuímos uma série completa dos 8 alcaloides mais importantes do grupo cinchona ao passo que encontramos no arquivo da Secção de Química, algumas amostras velhas (entradas muito antes de nossa chegada a Belém, de plantas contendo alcaloides do dito grupo. (Ver parte C. Aplicações).

É compreensível que o trabalho a ser iniciado será demorado e dispendioso. Porém, vale a pena executar a pesquisa, não sômente tendo em vista a importância puramente científica do assunto, mas também porque do ponto de vista prática, dum modo certo e rápido. Além disso, o método é adequado para uma execução em sentido de rotina porque cada um pode — depois de alguns exercícios — fãcilmente aprender a técnica do método.

PARTE B. OS MICROCRISTAIS OBTIDOS.

1. OCORRÊNCIA E QUÍMICA DOS ALCALOIDES DE CINCHONA

Em várias árvores do gênero *Cinchona* (família de Rubiácea), principalmente nas cascas, se encontra grande número de alcaloides, contendo os grupos quinolina e quinoclidina. São êstes alcaloides geralmente ligadas aos diversos ácidos como o ácido quínico, ácido tânico, etc. São originárias as ditas árvores, da América do Sul e daí foram para o Oriente, especialmente as ilhas de Ceilão e Java, onde, por seleção, conseguiram-se obter árvores de cultura contendo muito mais que 10 % (até 13 %) de alcaloides totais, enquanto que a casca da árvore original contém, no máximo, 1,5 % da substância valiosa. As cascas mais ricas em alcaloides são as de *Cinchona Ledgeriana*, *C. officinalis*, *C. succirubra* e *C. Calisaya* 9).

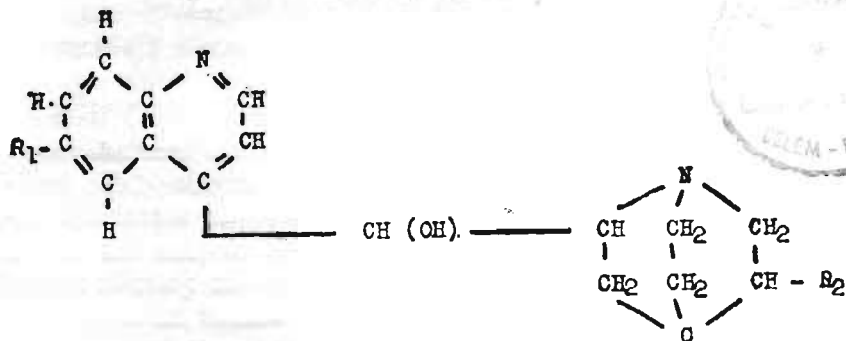
Existem ainda plantas de outros gêneros (*Remigia*, *Ladenbergia*, etc.) que contém os mesmos alcaloides, embora em menores quantidades. Os oito alcaloides mais importantes, são:

- | | |
|---------------------|-----------------------|
| (1) Cinchonina | (2) cinchonidina |
| (3) hidrocinchonina | (4) hidrocinchonidina |
| (5) quinina | (6) quinidina |
| (7) hidroquinina | (8) hidroquinidina |

Ainda existem cupreina ou oxi-cinchonina, $C_{19}H_{20}N_2(OH)_2$; paricina, $C_{46}H_{18}ON_2 \cdot 1/2 H_2O$ e outros com pouca importância prática.

Foi principalmente PAUL RABE 10) que esclareceu a constituição química destes alcaloides e devemos a êle as fórmulas estruturais seguintes: (cf. também ALTMAN 11).

Em cinchonina e cinchonidina R_1 é H e R_2 é $-\text{CH}=\text{CH}_2$;
 hidrocinchonina e hidrocinchonidina R_1 é H e R_2 é $-\text{C}_2\text{H}_5$;
 quinina e quinidina R_1 é OCH_3 e R_2 é $-\text{CH}=\text{CH}_2$;
 hidroquinina e hidroquinidina R_1 é OCH_3 e R_2 é C_2H_5 .



Como se vê, as diferenças químicas entre os alcaloides são relativamente pequenas até sem nenhuma diferença em relação aos isômeros óticos. É compreensível então, que a identificação dos alcaloides não será simples.

Conseguiu-se porém, desenvolver métodos não somente para distinguir os alcaloides separados, mas também para separar os mesmos, partindo duma mistura complicada que se acha na natureza, em forma de casca.

São interessantes os antigos trabalhos analíticos de PAUL 12), HOWARD 12), GROTHOFF 14), ROSENTHALER 15) e outros, que conseguiram com meios relativamente primitivos, obter uma ótima idéia da constituição química das cascas

de várias cinchonas. Na tabela seguinte, estão resumidos os resultados obtidos por PAUL (1883):

CASCA DE:		ALCALOIDE EM 1 %			
		QUININA	QUINIDINA	CINCHONINA	CINCHONIDINA
C. officinalis	{ Tronco ..	3.74	0,04	0,23	1.77
	{ Galho ...	1.08	traços	0,60	0.37
	{ Raiz	2.90	1,01	4,60	0.67
C. succirubra	{ Tronco ..	2.04	0,13	2,45	2,58
	{ Galho ...	0.78	—	0,23	0,47
	{ Raiz	1.76	0,34	4,40	1,39

É compreensível que somente com uma incrível tenacidade, obtiveram os colegas do século passado, tais resultados, e pode-se facilmente desculpar que os alcaloides separados por meio de inumeráveis recristalizações em vários solventes, ainda não foram obtidos em estado quimicamente puro e sempre contiveram vestígios de outros alcaloides.

O interesse geral pelos alcaloides do grupo *Cinchona* diminuiu consideravelmente durante e depois da última guerra mundial, devido ao descobrimento de vários remédios sintéticos muito mais ativos contra a malária, que a quinina. Porém é interessante desenvolver os métodos de separação e identificação destes alcaloides que se encontram em várias plantas amazônicas.

Na execução do presente trabalho, tivemos à nossa disposição uma série de 8 alcaloides acima referidos (*). Este material é bastante puro e nos serviu nas tentativas de obter microcristais com vários reagentes, tais como: $PtCl_4$, $AuCl_3$, $K_4Fe(CN)_6$, $K_3Fe(CN)_6$, além dum "reagente de confirmação".

Quanto à técnica para preparar os microcristais, nos referimos na parte A, § 2.

(*) As amostras destes alcalóides foram preparadas pelo autor, numa outra ocasião, onde trabalhou com os alcalóides do grupo cinchona a fim de obter vulcanizantes e antioxidantes para a borracha ¹⁵⁾.

Abaixo apresentamos um resumo dos resultados obtidos em forma de fotografias das preparações microscópicas escolhidas que, salientamos, foram obtidos com os alcaloides puros. Aplicando, então o método microquímico a um extrato vegetal qualquer, não se pode esperar as mesmas formas cristalinas perfeitas, embora que — segundo nossa própria experiência (ver parte C), o mesmo satisfaça perfeitamente. Em caso porém de ocorrer uma mistura de vários alcaloides, o problema torna-se mais complicado, e, não raramente, somente o alcaloide principal, dará os cristais procurados.

2. REAGENTES APLICADOS

São designados os microcristais obtidos com os reagentes puros, no meio de ácido clorídrico diluído, como A-O, B-O, C-O, D-O, usando respectivamente PtCl_4 a 5 %, AuCl_3 a 5 %, $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$ a 1 % e $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ a 1 %.

Os alcaloides, por outro lado, são designados com as cifras 1 até 8, sendo:

- 1: cinchonina
- 2: cinchonidina
- 3: hidrocinchonina
- 4: hidrocinchonidina
- 5: quinina
- 6: quinidina
- 7: hidroquinina
- 8: hidroquinidina.

Uma fotografia designada com C-6, por exemplo, representa os microcristais obtidos de quinidina com o reagente $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$.

Seria ideal se pudessemos apresentar fotografias coloridas, representando tôdas as formas possíveis, os microcristais, resultantes da reação dum alcaloide com um reagente determinado. Por razões práticas, não pode realizar-se êsse objetivo, porém, conseguimos obter uma bôa série de microfotografias nítidas.

Nêste lugar, quêremos expressar os nossos sinceros agradecimentos ao Sr. Otto Penner, fotógrafo dêste Instituto, que sempre com a máxima bôa vontade, preparou as fotografias tôdas as vêzes que se tornou necessário.

3. MICROCRISTAIS OBTIDOS COM $PtCl_4$

A-0 *Reagente puro*

Agulhas finas, incolores, às vêzes agrupadas em forma de estrelas, sem ou com uma fraca birefringência.

A-1 *Cinchonina — ESPECÍFICO*

Agulhas ou prismas douradas com forte birefringência e sempre combinadas em rosetas. As duas fotografias representam os mesmos cristais tirados com luz normal e com nicois cruzados, respectivamente.

A-2 *Cinchonidina*

Agulhas finas douradas, crescendo até prismas quadrangulares, com forte birefringência, não raramente agrupadas em formas de V ou T. Os cristais formam-se difficilmente e uma fricção com um bastãozinho de vidro, é aconselhável.

A-3 *Hidrocinchonina*

Agulhas, chapas e prismas quadrangulares ou hexagonais, amarelados, com forte birefringência, agrupadas em figuras irregulares.

A-4 *Hidrocinchocinidina — ESPECÍFICO*

Formam-se no início agulhas amareladas, com forte birefringência em figuras centralizadas, transformando-as depois em chapas hexagonais amareladas, que observadas com nicois cruzados, apresentam belas côres de interferência.

A-5 *Quinina — ESPECÍFICO*

Chapas levemente amareladas agrupadas em forma de "asas" com fraca birefringência. Às vêzes em agulhas agrupadas e alargadas nas pontas.

A-6 *Quinidina*

Prismas amarelados, com birefringência, combinadas em "correntes".

A-7 *Hidroquinina*

A preparação foi obtida com ácido sulfúrico diluído: cristais de forma especial agrupados em rosetas, não raramente, só nos limites da preparação.

A-8 *Hidroquinidina*

Não conseguimos obter cristais com este alcaloide.

4. MICROCRISTAIS OBTIDOS COM AuCl_3

B-0 *Reagente puro*

Agulhas amareladas com birefringência.

B-1 *Cinchonina*

Não se formaram cristais com este alcaloide.

B-2 *Cinchonidina* — *ESPECÍFICO*

Agulhas amareladas com forte birefringência, agrupadas em rosetas complicadas. A fotografia representa uma destas rosetas, tiradas com nicois cruzados.

B-3 *Hidrocinchonina*

Agulhas compridas amareladas, com forte birefringência, reunidas em rosetas ou espigas.

B-4 *Hidrocinchonidina*

Obtem-se sempre, primeiramente um precipitado amorfo amarelo que só após friccionamento com um bastãozinho de vidro, se transforma em prismas quadrangulares, com pouca birefringência. Muito raramente se obtém cristais da fotografia, que, portanto são bem específicos.

B-5 *Quinina*

Raramente prismas quadrangulares, com birefringência muito forte, mostrando tôdas as côres de interferência. São às vêzes agrupadas em forma de T ou V. Mais comuns são os cristais da fotografia, i. é., rosetas de cristais irregulares.

B-6 *Quinidina* — *ESPECÍFICO*

O precipitado amarelo que se forma no princípio é facilmente transformado em abundância de agulhas finas agrupadas em rosetas, por fricção com um bastãozinho de vidro. A segunda fotografia representa as mesmas agulhas, com maior ampliação.

B-7 *Hidroquinina*

Agulhas ou prismas com birefringência muito forte, não raramente agrupados em rosetas.

B-8 *Hidroquinidina* — *ESPECÍFICO*

Prismas amarelas quadrangulares bem formados e irregularmente agrupados com birefringência.

5. MICROCRISTAIS OBTIDOS COM $K_4Fe(CN)_6$

C-0 Reagente *puro*

Agulhas amarelas agrupadas em penas de ave ou com outras formas, sem ou com pouca birefringência.

C-1 *Cinchonina*

Prismas bem formados, incolores, com birefringência.

C-2 *Cinchonidina*

Folhas finas, incolores, agrupadas em rosetas (cf. os agrupamentos da fotografia, indicados por uma flecha; os outros cristais provêm do reagente puro).

C-3 *Hidrocinchonina* — *ESPECÍFICO*

Agulhas e prismas amarelados, com forte birefringência e sempre agrupados em rosetas, que, observadas com nicóis cruzados, parecem medalhas.

C-4 *Hidrocinchonidina*
Agulhas em folhas amareladas, agrupadas em círculos, fracamente birefringentes.

C-5 *Quinina* — *ESPECÍFICO*
Agulhas finas amareladas com birefringência e agrupadas nos limites da preparação em figuras muito específicas (vêr a fotografia). Precisa observar êstes cristais, logo após a sua obtenção, porque êles se transformam em outras figuras.

C-6 *Quinidina* — *ESPECÍFICO*
Forma-se primeiramente um precipitado amorfo amarelo que após friccionamento transforma-se em agulhas ou prismas muito birefringentes em formas T, V ou Y.

C-7 *Hiâroquinina*
Agulhas finas com forte birefringência, dificilmente formadas.

C-8 *Hidroquinidina*
Não obtivemos cristais com êste alcaloide.

6. MICROCRISTAIS OBTIDOS COM $K_3Fe(CN)_6$

D-0 *Ragente puro*
O ferricianeto de potássio no meio ácido cristaliza-se em várias formas. São as mais comuns, as rosetas apresentadas pelas duas primeiras fotografias. Não raramente portanto, o $K_3Fe(CN)_6$ cristaliza-se em forma de prismas dourados, às vêzes grupadas em serras com forte birefringência (terceira fotografia) ou em forma de penas de ave (sétima fotografia), pouco birefringente.

D-1 *Cinchonina*
Não formaram-se cristais especiais com êste alcaloide.



D-2 *Cinchonidina* — *ESPECÍFICO*

São bonitas as agulhas, prismas ou outras formas de cristais amarelos agrupados em estrelas. As agulhas podem crescer até um comprimento de alguns milímetros, bem visíveis à olho nú.

D-3 *Hidrocinchonina*

Agulhas finas amarelas, agrupadas em estrelas e crescendo até grande comprimento. Na primeira fotografia D-3 pode-se distinguir também os cristais agrupados em penas de ave, os quais representam o reagente.

D-4 *Hidrocinchonidina*

Prismas amarelos quadrangulares bem formados ou outros cristais fortemente birefringentes. É difícil a obtenção destes cristais.

D-5 *Quinina*

Obtem-se com este alcaloide, cristais duma forma pouco específica. Na maioria das vezes formam-se agulhas amarelas birefringentes, às vezes agrupadas nas formas representadas pela fotografia.

D-6 *Quinidina*

Obtivemos somente um precipitado amorfo amarelado que mesmo após fricção prolongada, não se cristalisou.

D-7 *Hidroquinina* — *ESPECÍFICO*

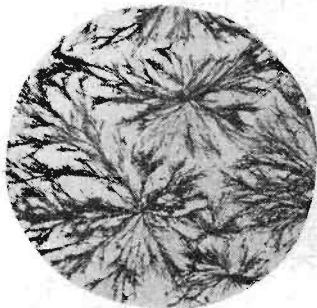
Agulhas finas e amareladas, fortemente birefringentes, agrupadas em formas caprichosas como mostra a figura.

D-8 *Hidroquinidina*

Agulhas ou prismas birefringentes pouco específicos. Estes cristais formam-se melhor em meio de ácido sulfúrico diluído.

7. OUTROS MICROCRISTAIS 17)

“Fulton C₁” — 2

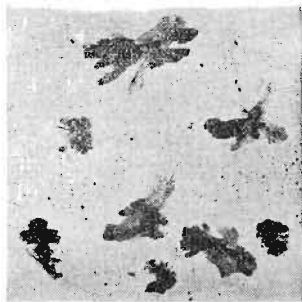


Cinchonidina — ESPECÍFICO

Agulhas finas de côr marron leve, agrupadas em rosetas. Representadas na luz polarizada em bonitas côres, principalmente violeta e amarela

N. B. — O reagente de Fulton “C₁” constitue-se de: 3,3 cc. da solução de Wagner n.º 1; 3,1 cc. duma solução de iodo em ácido acético (2 + 1); 2,1 cc. de ácido acético glacial; 1,8 cc. de água e 0,6 cc. de ácido sulfúrico (1 + 3).

“Fulton C₂” — 2

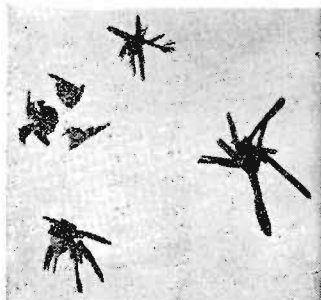


Cinchonidina — ESPECÍFICO

Chapas pretas ou pardas, agrupadas em rosetas birefringentes.

N. B. — O reagente de Fulton “C₂” é constituído de: 3,3 cc. da solução de Wagner n.º 1; 4,4 cc. duma solução de iodo em ácido acético (2 + 1); 0,5 cc. de água e 3,8 cc. de ácido sulfúrico (1 + 3).

“Fulton Q” — 5

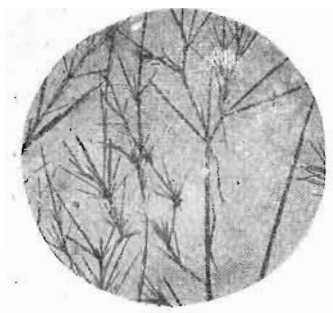


Quinina — ESPECÍFICO

Chapas ou prismas de côr verde oliva ou vermelha, quando os cristais se cobrem. Com luz polarizada várias côres bonitas aparecem: amarela, verde, vermelha, violeta até preta.

N. B. — O reagente “Q” de Fulton contém: 0,3 cc. da solução de Wagner n.º 2; 1,5 cc. de ácido acético glacial; 1,5 cc. de ácido sulfúrico (1 + 3).

“Fulton Q” - 6



Quinidina — *ESPECÍFICO*

Agulhas de côr amarela, combinadas em figuras da fotografia. Fulton obteve outras formas irregulares (vêr a publicação original).

PARTE C. APLICAÇÕES.

1. OS ALCALOIDES DO "CAFERANA" (*Picrolemma Pseudo coffea*, Ducke)

a. Introdução

Segundo A. DUCKE (18), que deu uma descrição botânica de *Picrolemma Pseudo coffea*, DUCKE, n. sp., o nome "caferana" é aplicado no Estado do Pará, especialmente às espécies de Simarubaceas, muito amargas e conhecidas como febrifugas na medicina popular. O mesmo autor supôs que as raízes do caferana do comércio do Rio de Janeiro, importadas do Pará, devem ser derivadas das Simarubaceas e da gentiana-cea *Tachet buianemnsis*.

Tinhamos à nossa disposição 5,6 grs de folhas e 11,7 grs de galhos finos de *Picrolema pseudo coffea*, colhidos por R. L. Fróes em Itaituba, na região de montanha do rio Tapajós (Pará), em Agosto de 1944.

Da mesma amostra, as folhas parecem somente um pouco amargas, enquanto que os galhos tinham um sabôr amargo, quasi insuportável e bem resistente. Por esta razão e devido à pequena quantidade das folhas, somente os galhos foram usadas para a nossa pesquisa química.

b. Têste qualitativo

O sabôr amargo já deu uma indicação para a presença de um alcaloide. Este fato foi confirmado pelo têste qualitativo segundo AMELINK 3).

Na escavação de uma lâmina microscópica coloca-se um pouco da substância original em pó, tratando a mesma com amônia. O bolinho obtido é bem misturado com algumas gôtas de cloroformio por meio dum bastãozinho de vidro. A solução clorofórmica a seguir é coletada (absorvida) num pelacinho de papel de filtro, o qual depois é extraído com nova quantidade de cloroformio. O extrato assim obtido é dividido sobre várias lâminas microscópicas com escavação e tratam-se os resíduos dissolvidos em 0,5 % de HCl com os vários reagentes de alcaloide, como os reagentes de DRAGENDORFF, MAYER, SONNENSCHNEIN e outros 19).

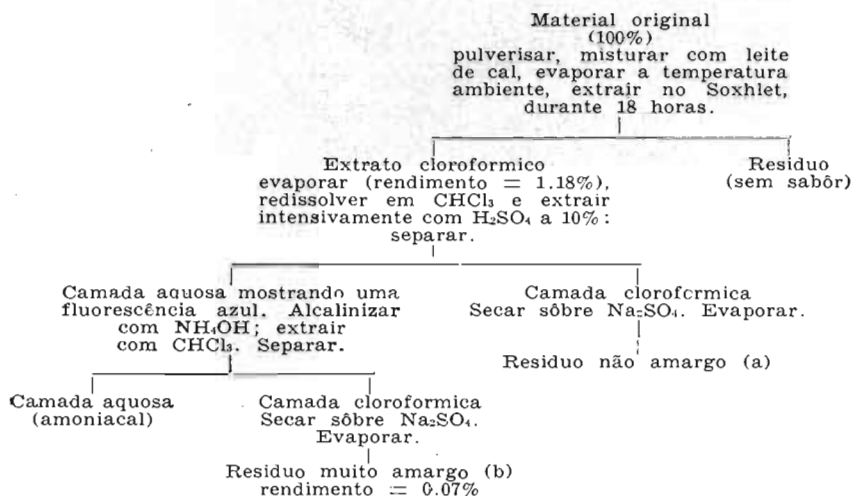
Este teste qualitativo aplicado à nossa amostra de Caferana deu resultados positivos provando a presença de um alcaloide no material estudado.

c. *Separação quantitativa dos alcaloides*

5 grs (em duplo) dos galhos finamente pulverizados no moinho, foram bem misturados segundo um dos métodos clássicos, com leite de cal em excesso, a temperatura ambiente. Após evaporação d'água no dessecador a temperatura ambiente, a mistura sêca obtida foi extraída em Soxhlet durante 18 horas com cloroformio. O extrato foi evaporado até secagem completa (rendimento 1,18 % da material original), redissolvido em cloroformio e extraído várias vezes com pouco ácido sulfúrico a 10 % num funil de decantação. O extrato cloroformico após secagem com Na_2SO_4 anidro, foi evaporado dando um xarope espesso de côr amarelo esverdeada (rendimento da parte não soluvel em ácido sulfúrico: 0,99 %). A solução ácida que mostra uma fluorescência azul, foi depois de alcalinização com excesso de amônia, extraída com cloroformio. O extrato assim obtido deu após secagem e evaporação completa do solvente, uma substância amorfa amarela-esverdeada (ren-

dimento: 0,07 %). N. B. — Todos os rendimentos são calculados sobre a substância sêca: a unidade do material original foi de 14,5 %.

As manipulações acima descrita estão resumidas no esquema seguinte:



d. Identificação microquímica dos alcaloides separados

O residuo cloroformico (b) acima descrito deu os testes positivos com os reagentes de alcaloides. A quantidade separada (não mais que 7 mg da determinação duplicada) foi pequena demais para uma identificação normal, segundo STAS-OTTO, DRAGENDORFF, FLORENCE, ou outros pesquisadores. Fomos obrigados a aplicar um método microquímico e preferivelmente o descrito por AMELINK 3). Como já explicamos na parte B d'êste artigo, uma solução do residuo cloroformico em 0,5 % de ácido clorídrico é tratado sobre uma lâmina de microscópio com: (a) PtCl_4 , (b) AuCl_3 , (c) $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$ e (d) $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$.

As fotografias 1-5 demonstram os resultados d'êste teste e como pode-se verificar comparando com as fotografias anteriormente obtidas, o nosso extrato aparentemente, contém QUININA.

As quantidades d'êste valioso alcaloide, pelo menos nos galhos estudados, é tão pequena que não podemos esperar uma exploração econômica de Caferana. Porém, segundo DUCKE, são as raízes do Caferana que formam o produto comercial por isso, valeria a pena determinar a quantidade de quinina, também nas raízes.

O resíduo do extrato clorofórmico (b) deu em solução de HCl a 0,5 % os microcristais seguintes:

- a) Com $PtCl_4$: Cristais amarelados, fortemente birringentes, principalmente formados nos limites da preparação microscópica.



Fig. 1 ($PtCl_4$)

A fig. 1 representa uma fotografia tirada com nicóis cruzados, mostrando os cristais em forma de agulhas, não raramente agrupados em toixas pequenas ou estrêlas.

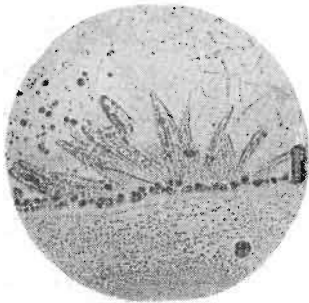


Fig. 2 ($PtCl_4$)

A fig. 2 representa uma outra forma dos mesmos cristais à luz normal.

- b) Com AuCl_3 : Formam-se os cristais amarelados, levemente birefringentes da fig. 3, representando uma fotografia tirada à luz polarizada.

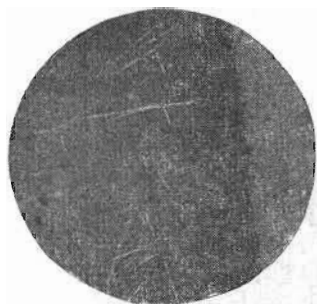


Fig. 3 (AuCl_3)

- c) Com $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$: Agulhas finas, birefringentes, especialmente formadas no limite da preparação microscópica. Estão agrupadas em toixas (Fig. 4).

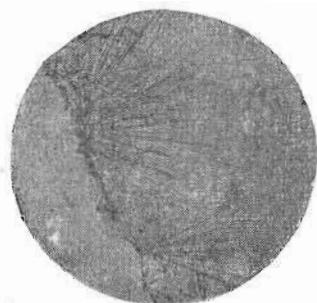


Fig. 4 ($\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$)

- d) Com $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$: Agulhas longas amareladas (fig. 5). Por fricção, formaram-se chapas reunidas em forma de serras em vez das ditas agulhas.

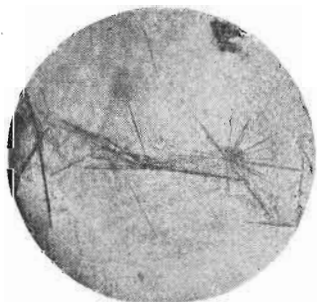


Fig. 5 ($\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$)

Não podíamos obter os cristais característicos com o "reagente Q" descrito por FULTON 17). Como afirmou FUL-

TON, o “reagente Q” só dará resultados nas soluções bem concentradas de quinina.

e. *Discussão*

Foi separado e identificado o alcaloide quinina nos galhos de “Caferana” numa quantidade muito pequena (não mais que 0.07 %). Seria interessante determinar o teor da quinina nas raízes, que formam o produto comercial. Temos que comunicar nesta ocasião que as raízes de Caferana já foram analisadas por OTHON MACHADO que separou um alcaloide das mesmas, chamado por êle, “Duckeina”. 19a, 19b)

2. OS ALCALOIDES DE “*Strychnos Quina*” (*Strychnos pseudoquina*, St. Hill)

a. *Introdução*

Por gentileza do Dr. JOÃO MURÇA PIRES, Chefe da Secção de Botânica dêste Instituto, obtivemos as seguintes particularidades da planta em estudo:

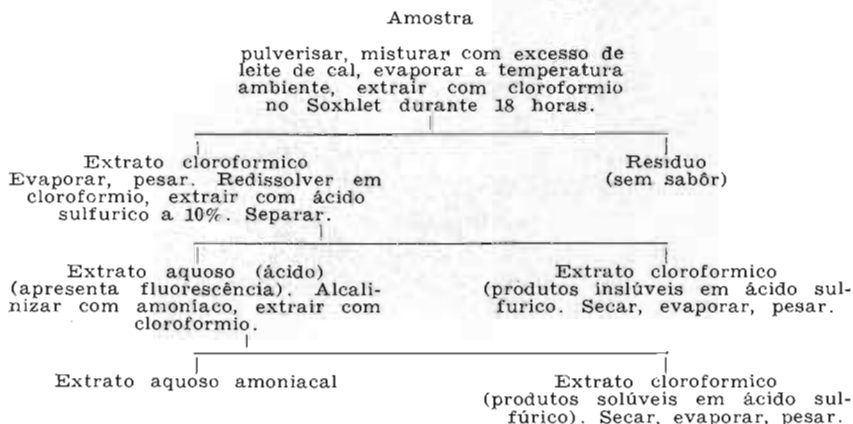
“*Strychnos pseudo-quina*, St. Hill, é uma árvore pequena que vive nos campos do Brasil Central, do Maranhão, Goiás, até Minas Gerais. Tem a casca grossa e suberosa por fora. A casca é usada em forma de chá para curar febres. Nome vulgar: Quina. Família: Loganiaceae. Tôdas as espécies de *Strychnos* do Brasil são cipós, com exceção de *Strychnos hirsuta* Spruce que é arbusto e *Strychnos pseudo-quina*, St. Hill, que é árvore”.

O material em nosso poder, foi colhido por J. M. PIRES e G. A. BLACK, em Carolina (Maranhão) em Maio de 1950, e está constituído de duas partes: a casca viva e a casca suberosa morta. Estas duas amostras que têm um sabor amargo, foram estudadas separadamente.

b. *Separação quantitativa dos alcaloides*

Uma vez provada a presença de alcaloides nas amostras originais (casca viva e casca suberosa morta), foi realizada a separação quantitativa segundo o método já descrito an-

teriommetne (vêr parte C₁). Pode-se resumir êste método no esquema seguinte:



Foram obtidos, segundo êste método, os seguintes resultados:

a. *Casca viva* — (umidade 10,63 %. N.B. — Todos os rendimentos referidos abaixo, foram calculados sôbre a substância sêca):

Extrato cloroformico total	1.29 %
Idem não solúvel em H ₂ SO ₄	0.90 %
Idem solúvel em H ₂ SO ₄	0.21 %
Idem perdido (resinas) calculado	0.18 %

b. *Casca suberosa* — (umidade 11.45 %)

Extrato CHCl ₃ total	5.66 %
Idem não solúvel em H ₂ SO ₄	3.34 %
Idem solúvel em H ₂ SO ₄	1.33 %
Idem perdido (resinas) calculado	0.99 %

Pode-se concluir dêstes dados que a casca suberosa contém muito mais alcaloides (extrato solúvel em ácido), que a casca viva, fato interessante devido se poder colher a casca morta sem derrubar a árvore.



c. *Identificação dos alcaloides obtidos*

Os extratos clorofórmicos solúveis em ácido, de ambas as cascas deram reações positivas com os reagentes de alcaloide, prova que êles contém estas bases orgânicas.

Com o fim de obter uma orientação bruta do caráter dos alcaloides separados, foram executadas as reações de côr bem conhecidas (20), com os seguintes reagentes: (a) ácido sulfúrico concentrado, (b) ácido sulfúrico + ácido nítrico (reagente de ERDMANN), (c) ácido sulfúrico + ácido molibdênico (reagente de FROHDE), (d) ácido sulfúrico + ácido vanádico (reagente de MANDELIN), (e) ácido sulfúrico + formaldeído (reagente de MARQUIS) e (f) ácido sulfúrico + vanilina (reagente de VAN ITALLIE).

Obtivemos os resultados negativos com todos êstes reagentes, sòmente o ácido sulfúrico concentrado deu uma coloração não específica, isto é: rosa sujo, muito fraca. Conseqüentemente, já podíamos excluir a presença de muitos alcaloides. Aplicamos em seguida o micro-método de AMELINK (3) que nos deu uma boa indicação da presença de cinchonidina. As preparações obtidas são descritas no parágrafo seguinte.

d. *Descrição dos microcristais obtidos*

Segundo o método já descrito anteriormente, os extratos clorofórmicos solúveis em ácido sulfúrico, deram os seguintes resultados:

- a) Com $PtCl_4$: Forma-se primeiramente um precipitado amorfo amarelo, do qual, depois de algum tempo, se formam agulhas finas, amareladas, com birefringência, não raramente agrupadas em estrêlas. As agulhas terminam às vêzes em manchas mais largas (fig. 6).

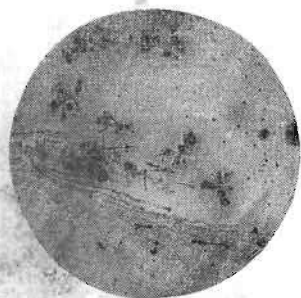


Fig. 6 ($PtCl_4$)

- b) Com AuCl_3 : Formam-se agulhas finas, fortemente birefringentes, côr de ouro, crescendo até fôlhas ou prismas quadrangulares (fig. 7).

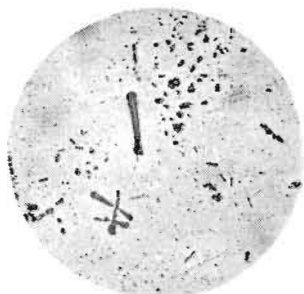


Fig. 7 (AuCl_3)

- c) Com $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$: Agulhas amareladas, fortemente birefringentes, as vêzese agrupadas em penas ou outras formas (fig 8).

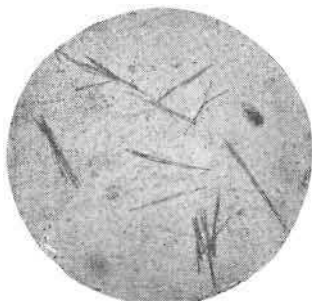


Fig. 8 ($\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$)

- d) Com $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$: Primeiramente forma-se um precipitado amorfo branco-amarelado. Com uma solução muito diluída do reagente e com fricção formam-se chapas ou prismas hexagonais ou quadrados fortemente birefringentes.

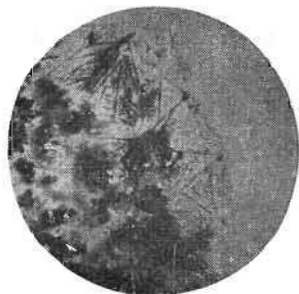


Fig. 9 (AuCl_3)

Conforme os resultados obtidos pode-se concluir (por comparação com as fotografias anteriormente obtidas (vêr

parte B)) que tanto a casca viva como a casca suberosa morta, contêm CINCHONIDINA. É bem possível que as cascas além disso, contenham ainda outros alcaloides do grupo cinchona (*). O método aplicado falhou na indicação da presença dos mesmos, exceto que formaram-se com $AuCl_3$ cristais, indicando a presença de quinidina (fig. 9). Visto a boa quantidade do material original ainda disponível, aplicamos o método de STAS-OTTO, para conseguir uma separação mais definida.

e. *Separação dos alcaloides segundo Stas-Otto 20)*

O esquema da página 41 esclarecerá a análise executada. Obtivemos os seguintes rendimentos das várias frações que descreveremos separadamente.

	CASCA VIVA	CASCA SUBEROSA
Extrato etéreo "ácido" %	0.34	0.38
Extrato etéreo "alcalino" %	0.14	0.27
Extrato etéreo "amoniacoal" %	0.04	0.25
Extrato cloroformico "amoniacoal" % ...	0.02	não determinado
Extrato cloroformico "Soxhlet" %	0.083	não determinado

(i) *Extrato etéreo "ácido"*

Após evaporação do éter, obtivemos deste extrato um xarope marron escuro, contendo poucos cristais. O sabor é ácido, adstringente. Com os reagentes de alcaloides não se obteve reação alguma, prova que esta fração não contém alcaloides.

(ii) *Extrato etéreo "alcalino"*

O resíduo obtido é uma substância amorfa de côr marron escura, completamente solúvel em álcool. A maior parte

(*) De fato, a solução em ácido sulfúrico (vêr o esquema) apresentou uma fluorescência azul, indicação de que a mesma deve conter ainda outros alcalóides, além de cinchonidina que não dá fluorescência na solução ácida.

($\pm 90\%$) é também solúvel no acetato de etila, solução que após purificação com carbono vegetal (“norite”) resultou num resíduo amorfo branco-amarelado, distintamente amargo.

Segundo uma investigação microquímica (vêr Parte B), este resíduo contém Cinchonidina, a qual chegamos anteriormente, além de quinina (figs. 10 e 11).

A parte insolúvel em acetato de etila é também amarga, dando em solução de ácido sulfúrico diluída uma fluorescência azulada (lâmpada ultra-violeta) ao passo que a reação de “Thailleioquina” 21), mostrou-se fracamente positiva. Microquimicamente, obtivemos com PtCl_4 (figs. 12 e 13), AuCl_3 e $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$ cristais específicos para quinidina. Não podíamos porém reproduzir os cristais específicos que a quinidina dá com o reagente “Q” de FULTON 17) o que — como sabemos — precisa concentrações relativamente fortes do alcaloide.

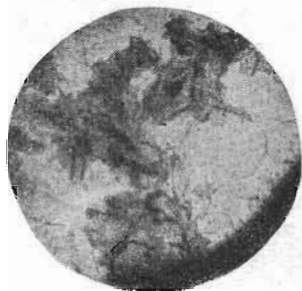


Fig. 10 (PtCl_4)

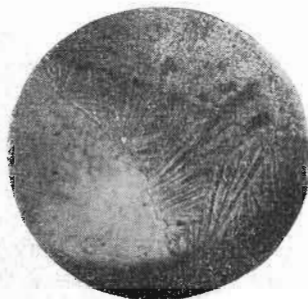


Fig. 11 ($\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$)

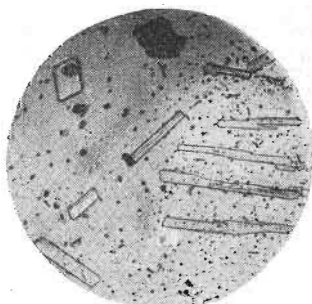


Fig. 12 (PtCl_4)

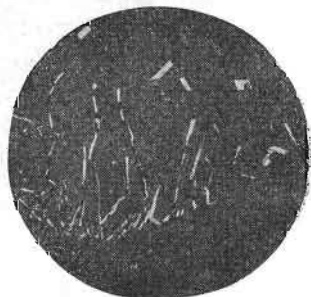


Fig. 13 (PtCl_4)

Temos que observar aqui, que o resíduo insolúvel no acetato de etila, deu algumas indicações, embora vagas, da presença de estriquinina. Pelo menos observamos uma coloração violeta, produzida por ácido sulfúrico concentrado, em presença dum cristal de $K_2Cr_2O_7$ (N.B. — Curarina dá também esta coloração). Além disso notamos ao lado dos cristais específicos para quinidina na preparação microquímica com $K_4Fe(CN)_6$, também vários cristais idênticos aos mesmos descritos por AMELINK 3) para *Nux vomica*. Precisamos salientar porém que não conseguimos confirmar a presença de estriquinina no extrato clorofórmico amoniacal. Como sabe-se, o dito alcaloide é muito mais solúvel no clorofórmio que no éter, e deveria se encontrar principalmente no extrato clorofórmico.

(iii) *Extrato etéreo "amoniacal"*

O resíduo deste extrato é amorfo, duma cor marron escura, solúvel no ácido e no álcali diluído, não solúvel porém, no amoníaco. Segundo a sua preparação, esta fração pode conter alcaloides com grupos fenólicos, como: apomorfina, morfina, narceína, cupreína, etc. Com os reagentes gerais de alcaloides obteve-se resultados positivos.

Uma indicação da presença da cupreína, $C_{19}H_{22}O_2N_2$, obtivemos da observação que uma solução no ácido sulfúrico diluído mostrou uma fluorescência azul muito forte sob a lâmpada ultra-violeta. Com a reação "Tralleioquina" 21), porém não conseguimos a cor verde intensa, mas a solução ficou apenas fracamente esverdeada (*). De outro lado, a solução alcoólica, deu uma coloração violeta-esverdeada intensa com $FeCl_3$ em álcool.

Os seguintes resultados foram obtidos com os reagentes microquímicos:

$PtCl_4$: formação imediata dum precipitado amorfo amarelado; por fricção com um bastãozinho de vidro, obtém-se pêlos (cristalizados?), sem birefringência.

(*) Adicionando água de bromo, formou-se imediatamente um precipitado pesado amarelo, indicando a presença dum fenol.

- AuCl_3 : formação imediata dum precipitado amorfo e pesado duma côr violeta avermelhada, se transformando após fricção com um bastãozinho de vidro, em conglomerados cristalinos escuros, sem birefringência.
- $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$: formação dum precipitado amorfo amarelado, que não se transforma em estado cristalino.
- $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$: coloração marron-avermelhada, sem formação dum precipitado.

Não dispomos duma amostrá de cupreína pura, que poderia servir como teste de confirmação. Podíamos confirmar, portanto, a *ausência* dos outros alcaloides contendo grupos fenólicos acima referidos (apomorfina, narceína, etc.).

(iv) *Extrato clorofórmico "amoniacal"*

O resíduo dêste extrato mostrou as mesmas propriedades como a fração anterior, indicando a presença de cupreína.

(v) *Extrato clorofórmico "Soxhlet"*

Esta fração devia ser investigada segundo a análise de cromatografia (cf. KARRER e colaboradores 22) porém não foi executada, devido à falta de material. Por isto fizemos somente algumas experiências orientadoras.

O resíduo obtido após evaporação do clorofórmio dissolveu quase completamente em água. Esta solução aquosa apresentou as reações de alcaloide (ácido pícrico, ácido tânico, reagentes de BOUCHARDAT, DENIGÈS, etc.). O resíduo mesmo, deu as seguintes colorações:

Com ácido sulfúrico concentrado: vermelho até violeta;

idem, idem + formaldeido (reagente de MARQUIS): violeta turva;

idem, idem + ácido tungstico (reagente de FROEHDE): negativa;

idem, idem + ácido nítrico (reagente de ERDMANN): laranja avermelhada.

Estas colorações não nos permitem chegar a nenhuma conclusão. Possivelmente, porém, no resíduo estudado, encontra-se um alcaloide do grupo curare, do qual as colorações com os referidos reagentes, ainda não foram descritos na literatura.

De fato, segundo STAS-OTTO, esta fração deve conter os alcaloides do grupo curare. Além disso, confirmamos que somente 0,2 cc da solução aquosa (correspondente a uma dose de 0,4 mg por grama do peso do animal) matou um camundongo imediatamente. Microquimicamente obteve-se desta fração com o reagente "Q" de FULTON 17) cristais fortemente birefringentes (vêr figuras 14 e 15).

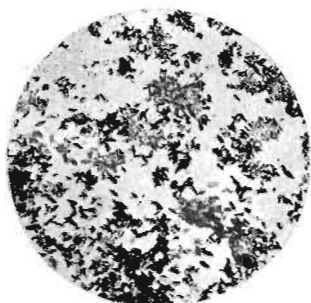


Fig. 14 (Fulton "Q")



Fig. 15 (Fulton "Q")

(vi) *Discussão*

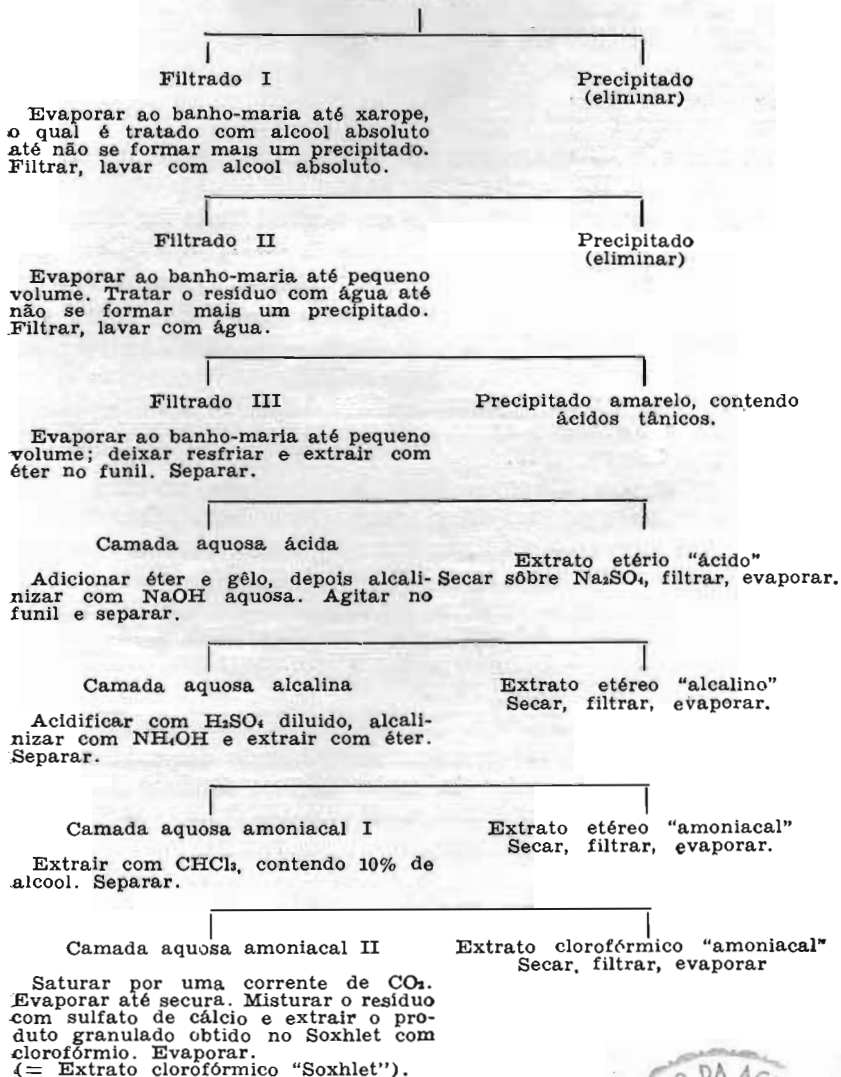
Encontramos na casca viva de *Strychnos pseudo-quina* St. Hill, além da cinchonidina já determinada na investigação anterior, quinidina, e muito provavelmente também cupreina e alguns alcaloides do grupo curare. Embora obtivéssemos algumas indicações que a estriquinina esteja também presente, não conseguimos confirmar esta observação duma maneira mais convicta.

Como já observamos, a casca do *Strychnos quina* é usada como remédio contra malária. A presença de vários alcaloides do grupo cinchona esclarece o sucesso d'êste remédio popular. De outro lado, a presença de um ou mais alcaloides do grupo curare, provados como muito tóxicos ao chegarem no sangue, nos força a avisar contra o consumo da referida casca. Um pequeno ferimento na bôca ou uma úlcera no

aparelho digestivo, já pode ocasionar perigo ou mesmo uma fatalidade para o consumidor.

ESQUEMA DA ANÁLISE SEGUNDO STAS-OTTO

Digerir cada 50g do material com uma solução contendo 5g de ácido tartárico, 320 cc de álcool a 96 % e 192 cc. de água, durante 12 horas a 50-60°C. Deixar esfriar, filtrar, lavar com álcool a 96 %



PARTE D. ANEXOS.

1. *Bibliografia.*

- 1 — H. BEHRENS — “Anleitung zur Mikrochemischen Analyse”, 1.^a Ed., vol. III, Leipzig Voss, 1896.
- 2 — C. H. STEPHENSON — “Some microchemical Tests for Alkaloids”, J. B. Lippincott, Co., Philadelphia, 1921.
- 3 — F. AMELINK — “Schema zur Mikrochemischen Identifikation von Alkaloiden”, D. B. Centen’s U.M., Amsterdam, 1934.
- 4 — L. ROSENTHALER — “Toxicologische Mikroanalyse”, Borntraeger, Berlin, 1935.
- 5 — W. AUTENRIETH, K. V. BAUER — “Die Auffindung der Gifte und stark wirkenden Arzneistoffe”, Theodor Steinkopff, Dresden und Leipzig, 1943.
- 6 — H. C. FULLER — “Chemistry and Analysis of drugs and medicines”, John Wiley & Sons, New York, 1920.
- 7 — A. GRUTTERINK — “Beitrage zur mikrochemischen Analyse einiger Alkaloiden und Drogen”, tese, Bern, 1910.
- 8 — S. P. MULLIKEN — “Method for Identification of pure Organic Compounds”, John Wiley & Sons, New York, 1916.
- 9 — Cf. G. KLEIN — Handbuch der Pflanzenanalyse, vol. IV (1) pg. 558-561, Viena, 1933.
- 10 — P. RABE — Ber. d. Dtsch. Chem. Ges. 40, 3280 (1907).
- 11 — R. F. A. ALTMAN — Contribution à l’étude des médicaments de synthèse contre la malaria, Tese Leiden (Holanda), 1935; Cf. Rec. trav. Chim. 57, 941 (1938).
- 12 — B. E. PAUL — Pharm. Journ. (3), 13, 897 (1883).
- 13 — D. HOWARD — Pharm. Journ. (2), 8, 1 (1877).
- 14 — A. GROOTHOFF — Chim. et Ind. 7, 792 (1922).
- 15 — L. ROSENTHALER — Apoth. Ztg. 28, 33 (1913).
- 16 — R. F. A. ALTMAN — Ind. Eng. Chem. 40, 897 (1948).
- 17 — CHARLES C. FULTON — Ind. Eng. Chem. Anal. Ed. 13, 848 (1941).
- 18 — A. DUCKE — Plantes nouvelles ou peu connues de la région amazonienne, III e Partie, Arch. Jard. Bot. Rio de Janeiro, 4, 196 (1925).

- 19 — Vêr p. ex. G. KLEIN — Handbuch der Pflanzenanalyse, IV, 1, pg. 485, Julius Springer, Viena, 1933.
- 19a — OTHON MACHADO — Rev. Flora Medicinal, 2, 121 (1935).
- 19b — LEVI MENEZES, OTHON MACHADO — Rev. Flora Medicinal, 2, 456 (1936).
- 20 — Vêr p. ex. G. KLEIN — Handbuch der Pflanzenanalyse, IV, pg. 492, Julius Springer, Viena, 1933; L. van Itallie, U. G. Bylsma, Toxicologie en Gerechtelyke Scheikunde I — pg. 99-103, D. B. Centen's U. M., Amsterdam, 1928.
- 21 — Cf. p. ex. G. KLEIN — Handbuch der Pflanzenanalyse, IV, 1, pg. 572, Julius Springer, Viena, 1933.
- 22 — E. SCHLITTER — J. Hohl. Helv. Chim. Acta, 35, 29 (1952); H. Schmid, J. Kebrl, P. Karrer, Idem, 35, 1864 (1952); J. Kebrl, H. Schmid, P. Waser, P. Karrer, Idem, 36, 102, 345 (1953).

2. RESUMO

Êste artigo divide-se em 4 partes: A, B, C, e D.

Na parte A (Introdução) o presente artigo esclarece que os micrométodos em nossa pesquisa foram preferidos porque, frequentemente, só obtemos algumas gramas de material botânico para ser analisado. Embora os métodos cromotográficos pareçam mais eficientes, escolhemos, por muitas razões, o método microquímico primitivamente desenvolvido por BEHRENS 1) STEPHENSON 2) e sobretudo AMELINK 3). Êste método é baseado na formação de precipitados cristalinos produzidos pelos alcaloides com vários reagentes. Em muitos casos, a forma cristalina é altamente específica, de modo que podem servir para identificação de grande número de alcaloides.

Na aplicação dêste método, porém, é necessário — com o objetivo de comparação — dispôr de desenhos ou fotografias dos mesmos cristais obtidos com os respectivos alcaloides puros. Como é óbvio, a preparação de uma série completa de tais fotografias é um trabalho árduo, por causa do extraordinário número de alcaloides e reagentes. AMELINK em seu excelente livro 3) ofereceu ao mundo científico uma grande série de desenhos dos ditos cristais e nossa intenção é completar esta série, tendo em vista, por enquanto, apenas os alcaloides de Cinchona, embora os alcaloides do grupo Stry-

chnos — inclusive os alcaloides de Curare — sejam de maior interesse para o Vale Amazônico.

Apresenta-se uma descrição da técnica do método para obter melhores cristais de apenas algumas grammas (uma folha, por exemplo), do material botânico em estudo. Por outro lado, reconhece-se que o método tem possibilidades limitadas, porquanto as impurezas podem impedir a formação ideal dos cristais desejados. Algumas indicações são dadas no sentido de eliminar, tanto quanto possível, as impurezas (ver AMELINK 3).

Na parte B dêste artigo, depois de uma breve introdução química, encontra-se uma descrição dos microcristais obtidos dos 8 alcaloides mais importantes de Cinchoma, com 4 ou 5 reagentes.

As fotografias que se encontram nas páginas dobradas estão marcados de maneira que os reagentes $PtCl_4$, $AuCl_4$, $K_4Fe(CN)_6$ e $K_3Fe(CN)_6$ se acham indicadas com as maiúsculas A, B, C e D respectivamente, ao passo que os alcaloides estão numerados de 1-8, da seguinte forma: (1) cinchonina, (2) cinchonidina, (3) hidrocinchonina, (4) hidrocinchonidina, (5) quinina, (6) quinidina, (7) hidroquinina e (8) hidroquinidina.

Uma fotografia numerada com B7 representa assim os cristais pela reação de hidroquinina e cloreto de ouro, etc.

Em alguns casos foi usado o que se poderia chamar “um reagente de confirmação” (ver FULTON 17).

A parte C trata de algumas aplicações práticas do micro-método descrito.

Em primeiro lugar foram investigadas ramos de Caferana (*Picrolemma pseudo coffea*, ДУКЕ), um remédio contra malária, usado pelo povo.

Por um dos métodos clássicos de separação quantitativa de alcaloides de plantas, pode-se obter uma produção de 0,07 % de alcaloides, calculada sobre o material seco. De acordo com os microcristais obtidos com os 4 reagentes de A-D (ver figuras de 1-5 à página 30-31), os alcaloides separados, evidentemente, contém quinina, explicando assim o êxito com que o povo usa o caferana na cura da malária.

Outro remédio comum contra a malária é o cosimento da parte corticosa externa da casca ou da parte interna da casca de *Strychnos pseudo quina*, St. Hilil.

Na extração quantitativa de alcaloides das partes externa e interna da casca, rendimentos de 1,35 % e 0,21 % respectivamente foram obtidos.

Nêsses extratos, a Cinchonidina pode ser facilmente identificada (ver figuras 6-8 à página 34-35), enquanto que indicações foram obtidas da presença também de quinidina (ver fig. 9 obtida com Cloreto de ouro). A fim de verificar a exatidão destas observações, considera-se útil submeter o material em estudo ao bem conhecido método de análise de STAS-OTTO 20).

Esta análise acusou os seguintes resultados:

No extrato éter-alcalínico, a presença de cinchonidina bem como a de quinina (figs. 10 e 11) e de quinidina está positivamente confirmada. As figuras 12 e 13 à página 37 representam cristais obtidos pela reação com $PtCl_4$, em luz comum e polarizada respectivamente, indicando a presença de quinidina. Além disso, a solução do extrato éter-alcalínico em ácido sulfúrico diluído apresenta uma fluorescência azul distinta (a cinchonidina não apresenta tal fluorescência) sob lâmpada ultra-violeta, enquanto uma reação fracamente positiva de "thaleioquina" foi obtida.

O extrato éter-amoniaco aparentemente contém um alcaloide com caráter fenólico. Várias indicações foram obtidas de que este alcaloide é provavelmente cupreína, apresentando precipitados ou cristalinos ou amorfos com nossos reagentes A-D. Como não dispuséssemos de cupreína pura, não podemos tirar conclusões confirmativas das observações feitas.

O extrato clorofórmico Soxhlet que devia ser analisado por métodos cromatográficos (ver KARRER et al. 22) apresentou distintamente reações alcaloidais gerais. A fração é quasi completamente solúvel na água e apresenta colorações com ácidos sulfúrico, e com os reagentes de MARQUIS e ERDMANN. Entretanto, as côres produzidas não deram nenhuma indicação positiva de quaisquer alcaloides curarisantes descritos na literatura. O extrato é todavia, comprovadamente, tóxico. Um camundongo, injetado com uma solução aquosa do mes-

mo, numa dose de 0,4 mg por grama do animal, morreu imediatamente.

Do que foi dito acima pode-se concluir que a ação anti-malárica de *Strychnos pseudo-quina* deve ser atribuída à presença de alguns alcaloides de Cinchona, isto é, cinchonidina, quinina, quinidina e provavelmente também cupreina. Por outro lado, certos alcaloides tóxicos de Curare também foram encontrados. Embora os últimos sejam praticamente inócuos quando tomados por via oral, não se deve esquecer que havendo pequenos ferimentos ou inflamações no tubo digestivo podem atingir a corrente sanguínea, tornando-se perigosamente tóxicos.

Na parte D dêste artigo, se encontram referências de literatura além de um sumário de Português, Inglês e Francês.

3. *Summary*

MICROCHEMICAL IDENTIFICATION OF CINCHONA-ALCALOIDS

This article consists of four parts: A, B, C and D.

In Part A ("Introduction") it is outlined that micro-methods in our research are preferred because of the fact that, not seldom, we only receive a few grams of the plant material to be analyzed. Although chromatographic methods seem most attractive, we chose for several reasons the microchemical method earlier developed by BEHRENS 1), STEPHENSON 2) and above all, AMELINK 3). This method is based on the formation of crystalline precipitates produced by the alkaloids with various reagents. In many cases the crystalline form is most specific so that they can serve for the identification of a number of alkaloids.

In applying this method, however, it is necessary — for comparative purposes — to dispose of designs or photographs of the same crystals obtained with the respective pure alkaloids. Obviously, the preparation of a complete series of such photographs is an arduous task because of the extraordinarily high number of alkaloids and reagents. AMELINK in his excellent book 3) already offered the

scientific world an extensive series of beautiful designs of said crystals, and it is our intention to complete this series, for the time being only with regard to the cinchona-alkaloids, although the alkaloids of the strychnos-group — including the curare-alkaloids — are of much more interest for Amazonia.

A description is given of the technique of the method to obtain well-formed crystals from only a few grams (one leaf for example) of the plant material under investigation. On the other hand it is acknowledged that the method has reduced possibilities in that impurities might prevent the ideal formation of the desired crystals. Some indications are given in order to eliminate, as far as possible, impurities (see AMELINK 3)).

In Part B of this article, after a brief chemical introduction, the microcrystals obtained from the 8 more important cinchona-alkaloids with 4 or 5 reagents, are described.

The photographs on the unfolded pages are marked in that manner that the reagents $PtCl_4$, $AuCl_3$, $K_4Fe(CN)_6$, and $K_3Fe(CN)_6$ are indicated with the capitals, A, B, C and D respectively, whereas the alkaloids are numbered 1-8 in the following sequence: (1) cinchonine, (2) cinchonidine, (3) hydrocinchonine, (4) hydrocinchonidine, (5) quinine, (6) quinidine, (7) hydroquinine and (8) hydroquinidine.

A photograph numbered "B-7" thus represents the crystals obtained by the reaction of hydroquinine and gold chloride, etc.

In some cases a so-called "confirmation-reagent" is used (see FULTON 17)).

The following description of the photographed crystals might be useful.

Microcrystals obtained with $PtCl_4$

A-0 Pure reagent

Fine colourless needles, sometimes grouped in stars, showing only faintly or not at all birefringence.

A-1 *Cinchonine* — *specific*

Golden needles or prisms with strong birefringence, always grouped in rosettes. The two photographs show the same crystals in normal and polarized light respectively.

A-2 *Cinchonidine*

Fine golden needles which might grow, forming rectangular prisms with strong birefringence, which are not seldom grouped in V and T forms. The crystals are not easily obtainable and a friction with a small glass rod is advisable.

A-3 *Hydrocinchonine*

Yellowish needles, plates or rectangular or hexagonal prisms with strong birefringence, grouped in irregular figures.

A-4 *Hydrocinchonidine* — *specific*

In the beginning yellowish needles with strong birefringence are formed which grouped themselves in centralised figures. After some time, the needles change in hexagonal plates which show, in polarised light, the most beautiful interference colours.

A-5 *Quinine* — *specific*

Yellowish plates often grouped in wings with faint birefringence. Sometimes groups of needles are formed broadened at the ends.

A-6 *Quinidine*

Yellow prisms with faint birefringence combined in "chains".

A-7 *Hydroquinine*

Crystals of a special form grouped in rosettes and not seldom only observable at the limits of the micro-preparation. N.B. — Instead of diluted hydrochloric acid, diluted sulfuric acid is used in the preparation of these microcrystals.

A-8 *Hydroquinidine*

No crystals could be obtained with this alkaloid.

Microcrystals obtained with AuCl₃

B-0 *Pure reagent*

Yellowish needles showing very faint birefringence.

B-1 *Cinchonine*

No crystals could be obtained with this alkaloid.

B-2 *Cinchonidine — specific*

Yellowish needles with strong birefringence, grouped in complicated rosettes. The photograph shows one of these rosettes in polarised light.

B-3 *Hydrocinchonine*

Long yellowish needles with strong birefringence, grouped in rosettes or bushes.

B-4 *Hydrocinchonidine*

The yellow amorphous precipitate which is initially formed can be transformed in faintly birefringent rectangular prisms by friction with a small glass rod. The crystals showed by the photograph are not easily formed but are specific.



B-5 *Quinine*

Rectangular prisms with very strong birefringence, showing all interference colours, sometimes grouped in T or V forms. These crystals are seldom formed. Commonly the crystals of the other photograph, i.e., irregular forms grouped in rosettes are produced.

B-6 *Quinidine — specific*

The amorphous yellow precipitate which is initially formed can be easily transformed in abundance fine needles grouped in rosettes. The second photograph shows the same crystals, more enlarged.

B-7 *Hydroquinine*

Needles or prisms very strong birefringent, not seldom grouped in rosettes.

B-8 *Hydroquinidine — specific*

Yellow rectangular, well formed prisms, irregularly grouped, showing birefringence.

Microcrystals obtained with $K_4Fe(CN)_6$

C-0 *Pure reagent*

Yellow needles grouped in feathers or various other forms, without or with only faint birefringence.

C-1 *Cinchonine*

Well-formed, colourless prisms with birefringence.

C-2 *Cinchonidine*

Fine colourless leaves, grouped in rosettes (see the crystals indicated in the photograph by arrows; the other figures represent crystals of the pure reagent).

C-3 *Hydrocinchonine* — *specific*

Yellowish needles and prisms with strong birefringence, always grouped in rosettes which, observed under polarised light, look like medals.

C-4 *Hydrocinchonidine*

Yellowish needles or leaves, grouped in circles, with faint birefringence.

C-5 *Quinine* — *specific*

Fine yellowish needles with birefringence formed principally at the limits of the preparation in most specific groups (see the photograph). It is necessary to make the observation immediately after the preparation of the crystals because these transform easily in other forms.

C-6 *Quindine* — *specific*

A yellow amorphous precipitate is initially formed but by friction with a glass rod one might obtain needles or prisms with strong birefringence in T-, V^o-or Y forms.

C-7 *Hydroquinine*

Fine needles with strong birefringence, not easily formed.

C-8 *Hydroquinidine*

No crystals could be obtained with this alkaloid.
Microcrystals obtained with $K_3Fe(CN)_6$

D-0 *Pure reagent*

Potassium ferric cyanate crystallizes, in acid medium, in the most various forms. Commonly, crystals shown in the first two photographs are produced. Not seldom however, one can obtain golden prisms with strong birefringence frequently combined in saw-form or even feathers as shown in D-3.

D-1 *Cinchonine*

No specific crystals are formed with this alkaloid.

D-2 *Cinchonidine — specific*

Beautiful yellow needles, prisms or other crystal-forms grouped in stars. The needles might grow to a length of some millimeters, observable with the naked eye.

D-3 *Hydrocinchonine*

Fine yellow needles, grouped in stars and growing to a considerable length. In the first photograph D-3, the feather-formed crystals of the pure reagent, are also distinguishable.

D-4 *Hydrocinchonidine*

Well-formed, yellow rectangular prisms with strong birefringence. Other forms of crystals are also produced. Not easily obtainable.

D-5 *Quinine*

Less specific crystals. In most cases yellow birefringence needles are formed, sometimes grouped in forms shown by the photograph.

D-6 *Quinidine*

A yellowish amorphous precipitate with this alkaloid was obtained which, even after friction for a long time, did not crystallize.

D-7 *Hydroquinine — specific*

Fine yellowish needles with strong birefringence, grouped in capricious forms as shown by the photograph.

D-8 *Hydroquinidine*

Birefringent needles or prisms which are better formed in diluted sulfuric acid medium.

Part C treats some practical applications of the micro-method described.

In the first place twigs of "Caferana" (*Picrolemma pseudo coffea*, Ducke), a popular remedy against malaria — have been investigated.

By one of the classic methods for the quantitative separation of alkaloids from plants, a yield of 0,07 % alkaloids is obtainable calculated on the dry material. According to the microcrystals obtained with the four reagents A-D (see figures 1-5 on page 30-31) the separated alkaloids obviously contain *quinine*, thus explaining the success with which "caferana" is used in malaria-therapy.

Another popular remedy against malaria is the decoct of the outer corky bark as well as of the bast of *Strychnos pseudo-quina*, St. Hill.

In extracting the alkaloids quantitatively from the corky bark and from the bast, yields of 1,33 % and 0,21 % respectively are obtained.

In these extracts *cinchonidine* could be detected easily (see figures 6-8 on page 34-35) whereas indications have been obtained that *quinidine* is also present (see figures 9, obtained with gold chloride). In order to verify the correct-

ness of this observation it is considered useful to subject the material under investigation to the well-known method of analysis of STAS-OTTO 20)).

This analysis resulted in the following findings.

In the "alcalin extract" the presence of cinchonidine as well as of quinine (figs. 10 and 11) and quinidine could be confirmed. Figures 12 and 13 on page 37 represent crystals obtained by the reaction with $PtCl_4$, in common and polarised light respectively, indicating the presence of quinidine. Moreover, the solution of the "alcaline ether extract" in diluted, sulfuric acid shows a distinct blue fluorescence (cinchonidine does not show this fluorescence) under the ultra-violet lamp, whereas a faintly positive "Thalleioquine" reaction 21) is obtained.

The "amoniacal ether extract" apparently contains an alkaloid with phenol character. Various indications are obtained that this alkaloid probably be: cupreine, showing either crystalline or amorphous precipitates with our reagents A-D. As pure cupreine was not available to us, no confirmative conclusions could be drawn from the observations made.

The "amoniacal chloroform extract" has the same properties as the preceding fraction, indicating the presence of cupreine.

The "chloroform extract-Soxhlet" which should be analyzed by chromatography methods (see KARRER, et al 22)), showed distinctly the general alkaloid-reactions. The fraction is almost completely soluble in water and give colorations with sulfuric acid, and the reagents of MARQUIS and ERDMANN. However the colors produced did not give any positive indication of whatever curare-alkaloid described in the literature. The extract, though is proved to be toxic: a mouse injected with an aqueous solution of the same, in a dose of 0,4 mg per gram of the animal, died immediately.

From the above it can be concluded, that the anti-malarial action of *Strychnos pseudo-quina*, must be ascribed to the presence of some cinchona-alkaloids, i.e., chinchonidine, quinine, quinidina and, probably, also cupreine. On the other hand certain toxic curare-alkaloids, are also found pre-

sent. Although the latter are practically harmless when taken by mouth, it must not be overlooked that — in case of a small, innocent injury or inflammation in the digesting system — they can be easily taken up by the blood and become dangerously toxic.

In part D of this article reference of literature are given, besides a summary in Portuguese, English, and French.

RESUMÉ

Cet article comprend 4 parties: A, B, C et D.

Dans la partie A (introduction) l'auteur explique pourquoi, dans le cas des recherches en question, il donna la préférence aux microméthodes. Il arrive fréquemment, en effet, qu'on ne dispose que de quelques grammes de matériel végétal pour les opérations d'analyse. Bien que les méthodes chromatographiques semblent donner de meilleurs résultats, l'auteur a choisi, pour de multiples raisons, la méthode microchimique établie d'abord par BEHRENS (1), STEPHENSON (2) et spécialement mise au point par AMELINK (3). Cette méthode est basée sur la formation de précipités cristallins dus à la présence d'alcaloïdes réagissant sous l'action de nombreux réactifs. Dans de nombreux cas, la forme cristalline est nettement spécifique, de telle façon qu'elle peut servir à l'identification d'un grand nombre d'alcaloïdes.

Pour pouvoir appliquer cette méthode, il est, cependant, nécessaire — afin de pouvoir effectuer des comparaisons — de disposer de dessins et de photographies des mêmes cristaux obtenus avec les alcaloïdes respectifs à l'état pur. Il apparaît immédiatement que la préparation d'une série complète de pareilles photographies exige un travail ardu par suite du nombre extraordinairement élevé d'alcaloïdes et de réactifs. AMELINK, dans son excellent ouvrage (3), a offert au monde scientifique une grande série de dessins des cristaux en question et nous nous proposons de compléter cette série. Nous ne considérerons toutefois, pour le moment, que les alcaloïdes de CINCHONA, bien que

les alcaloïdes du groupe des STRYCHNOS — les alcaloïdes du Curare inclus — soient d'un plus grand intérêt pour l'Amazonie.

L'auteur présente une description technique de la méthode utilisée pour obtenir de meilleurs cristaux à partir d'un poids minime, quelques grammes (une feuille, par exemple), du matériel botanique étudié.

D'autre part, l'auteur reconnaît que la méthode préconisée n'a que des possibilités limitées, car les impuretés peuvent empêcher la formation idéale des cristaux que l'on désire obtenir. Quelques indications visant à l'élimination, autant que possible, des impuretés (cf. AMELINK) (3) complètent cette partie de l'exposé.

Dans la partie B de cet article, l'auteur, après une courte introduction sur la chimie des composés considérés, présente une description des microcristaux obtenus à partir des huit alcaloïdes les plus importants de CINCHONA sous l'action de 4 ou 5 réactifs.

Sur les photographies illustrant ce travail, les réactifs $PtCl_4$, $AuCl_3$, $K_4Fe(CN)_6$ et $K_3Fe(CN)_6$ sont indiqués respectivement par les lettres A, B, C et D.

Les alcaloïdes sont numérotés de 1 à 8 comme suit: (1) cinchonine, (2) cinchonidine, (3) hydrocinchonine, (4) hydrocinchonidine, (5) quinine, (6) quinidine, (7) hydroquinine, (8) hydroquinidine.

Ainsi, une photographie numérotée B7 représente les cristaux obtenus de la réaction de l'hydroquinine traitée par le chlorure d'or, etc.

Dans certains cas peu nombreux, l'auteur a eu recours à ce que l'on peut appeler "un réactif de confirmation" (voir FULTON) (17).

La partie "C" traite de quelques applications pratiques de la microméthode décrite ci-dessus.

L'auteur étudie en premier lieu PICROLEMMA PSEUDOCOFFEA Ducke ("Caferana"), notamment des rameaux, en vue d'une meilleure connaissance de cette plante qui fournit un remède contre la malaria, dans la médecine populaire.

En utilisant une des méthodes classiques de séparation quantitative d'alcaloïdes de végétaux, on peut obtenir une production de 0,07 % d'alcaloïdes, calculée sur le matériel sec.

L'examen des microcristaux obtenus sous l'action des 4 réactifs A-D (cf. fig. 1-5) démontre à l'évidence la présence de la quinine dans les alcaloïdes séparés; ceci explique l'effet de "cafe-rana" utilisé en médecine populaire contre la malaria.

On obtient un autre remède, communément utilisé contre la malaria, par la cuisson de l'écorce épaisse externe ou de la partie interne de l'écorce de STRYCHNOS PSEUDOQUINA St. Hil.

L'extraction quantitative des alcaloïdes de la partie épaisse externe et de la partie interne de l'écorce donne un rendement respectivement de 1,33 % et 0,21 %.

On peut, dans ces extraits, facilement identifier la Cinchonidine (voir fig. 6-8), et, d'autre part, on put déceler également la présence de la quinidine (voir fig. 9, obtenue par l'action du chlorure d'or). Afin de vérifier l'exactitude de ces observations, on jugea utile de soumettre le matériel étudié à l'épreuve de la méthode d'analyse bien connue de STAS-OTTO (20).

Les résultats de cette dernière épreuve sont les suivants:

La présence de la cinchonidine ainsi que de la quinine (fig. 10 et 11) et de la quinidine est positivement confirmée dans l'extrait éther-alcalin. Les figures 12 et 13 représentent des cristaux, obtenus sous l'effet de $PtCl_4$, respectivement en lumière ordinaire et en lumière polarisée, indiquant la présence de quinidine. En outre, la solution de l'extrait éther-alcalin dans l'acide sulfurique dilué présente une fluorescence bleue nette (la cinchonidine ne présente pas pareille fluorescence) en lumière ultra-violette. D'autre part, on obtint également une réaction faiblement positive de "thaleioquine".

L'extrait éther-ammoniacal contient apparemment un alcaloïde à caractéristiques phénoliques.

Divers indices conduisent à la conclusion que cet alcaloïde est probablement la cupréine; on obtient, en effet, des précipités soit cristallins soit amorphes sous l'action de nos réactifs A-D. Comme nous ne disposons pas de cupréine pure, nous ne pouvons tirer de conclusion confirmative pour ces observations.

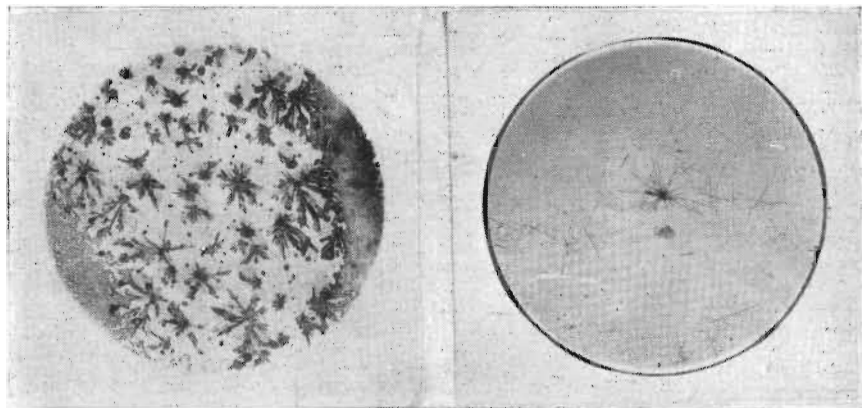
L'extrait chloroformique Soxhlet qui devait être analysé au moyen de méthodes chromatographiques (voir KARRER et al.) (22) présent nettement des réactions générales des alcaloïdes. La fraction est quasi complètement soluble dans l'eau et présente des colorations sous l'action de l'acide sulfurique, ainsi que des réactifs de MARQUIS et ERDMANN. Cependant, les couleurs obtenues ne donnèrent aucune indication positive de la présence d'un quelconque alcaloïde curarisant décrit dans la littérature. L'extrait, toutefois, est toxique, comme l'ont prouvé des expériences. Une souris, soumise à l'injection d'une solution aqueuse de l'extrait considéré, à la dose de 0,4 mg. par gramme du poids de l'animal, mourut immédiatement.

Des données susdites, on peut conclure que l'action antimalarique de STRYCHNOS PSEUDOQUINA doit être attribuée à la présence de certains alcaloïdes de CINCHONA, c'est-à-dire la cinchonidine, la quinine, la quinidine et probablement aussi la cupréine.

D'autre part, on observe également la présence de certains alcaloïdes toxiques du curare. Bien que ces derniers soient pratiquement inoffensifs quand ils sont absorbés par voie buccale, il ne faut pas oublier que, si le tube digestif présentait de petites blessures ou des inflammations, ces alcaloïdes peuvent être entraînés dans le système circulatoire sanguin, où leur dangereuse toxicité se manifesterait.

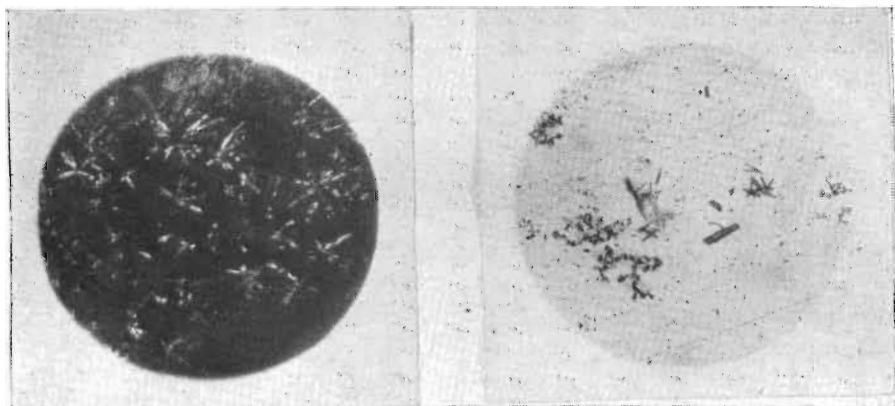
La partie D du présent travail comprend une bibliographie et les résumés en portugais, anglais et français.

4. TABELAS DE MICROFOTOGRAFIAS



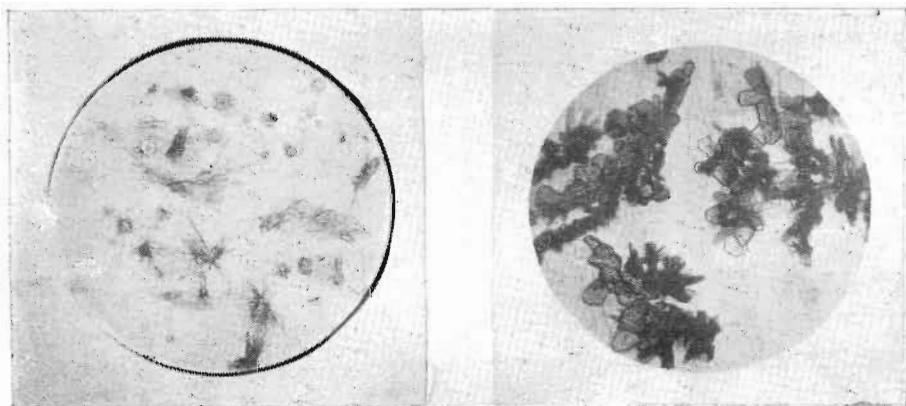
A-0

A-1



A-1

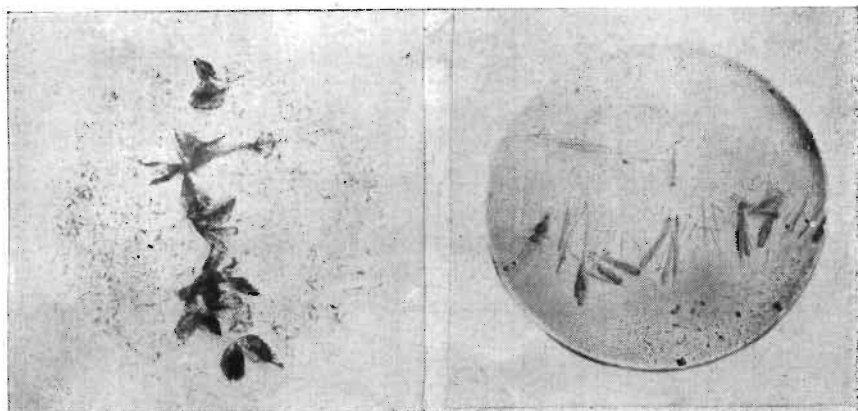
A-2



A-3

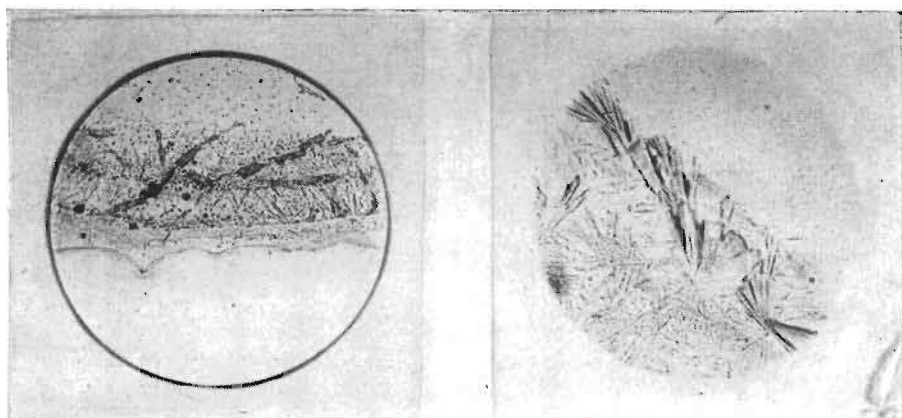
A-4





A-5

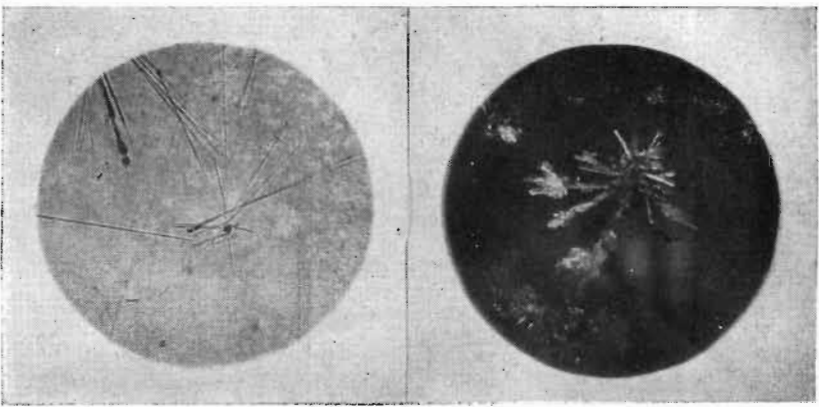
A-5



A-6

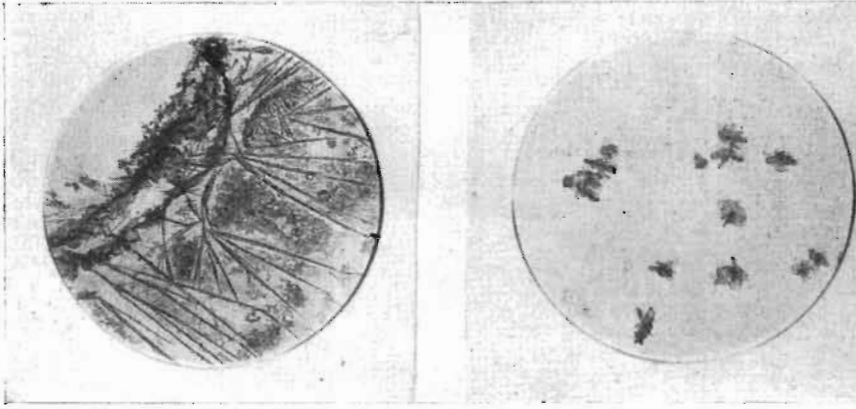
A-7

GRUPO B: MICRO-CRISTAIS COM AuCl₃



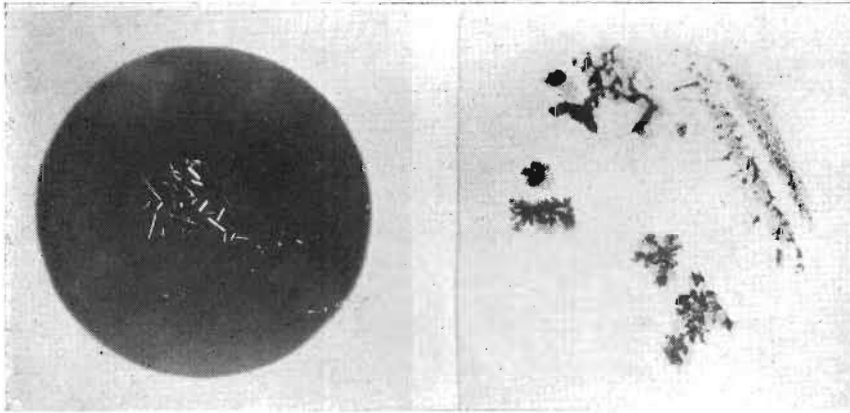
B-0

B-2



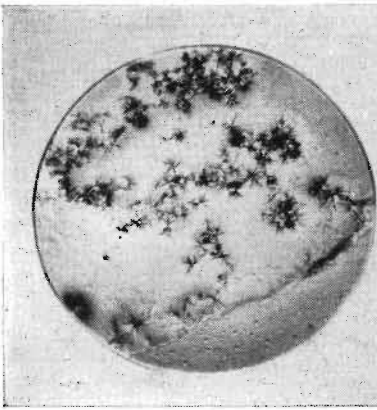
B-3

B-4

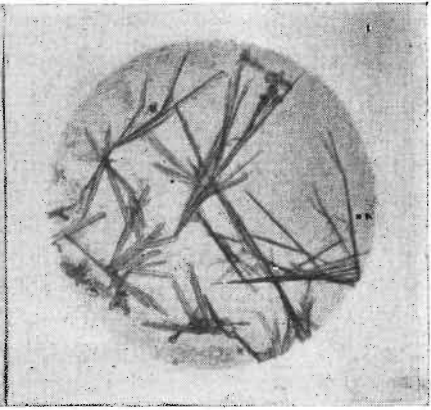


B-5

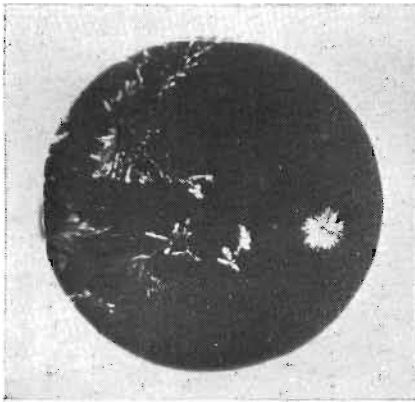
B-5



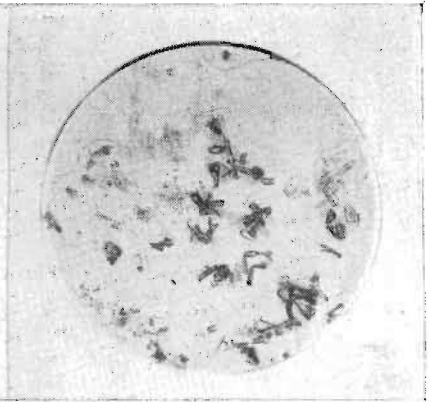
B-6



B-6

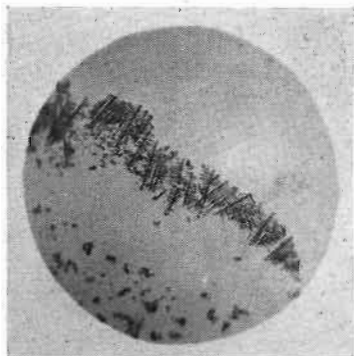


B-7

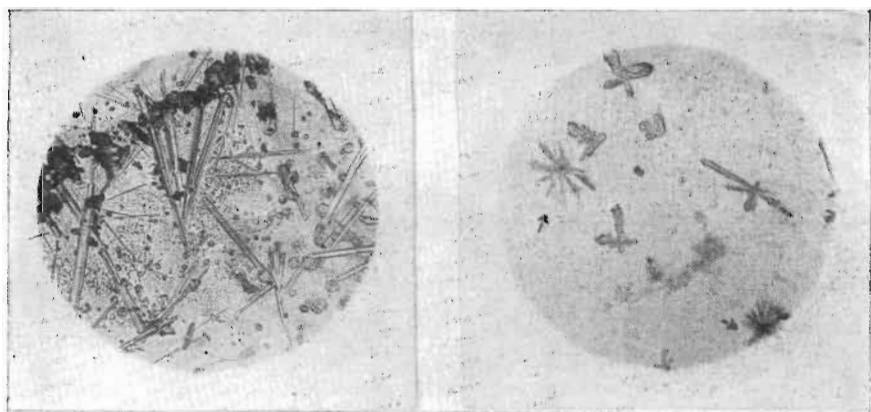


B-8

GRUPO C: MICROCRISTAIS COM $K_4Fe(CN)_6$

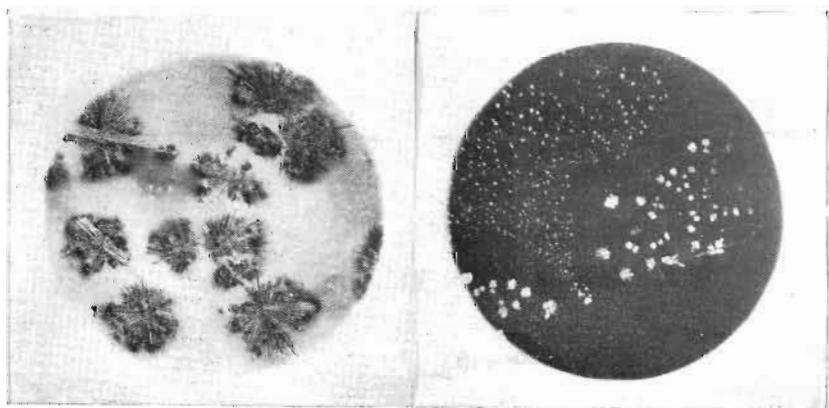


C-0



C-1

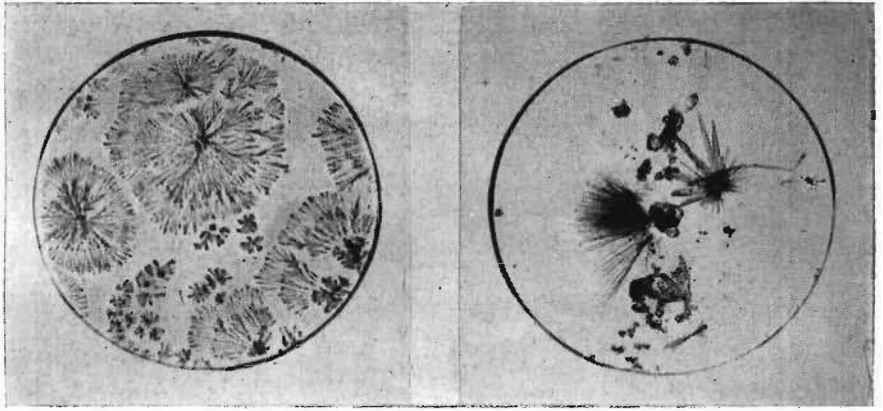
C-2



C-3

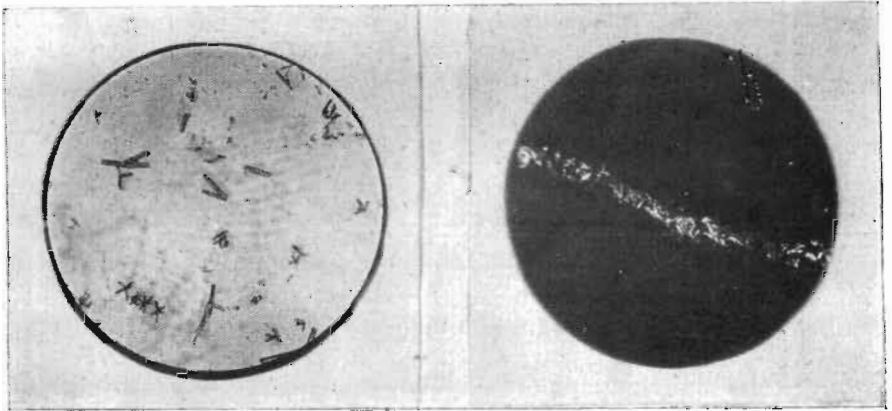
C-3





C-4

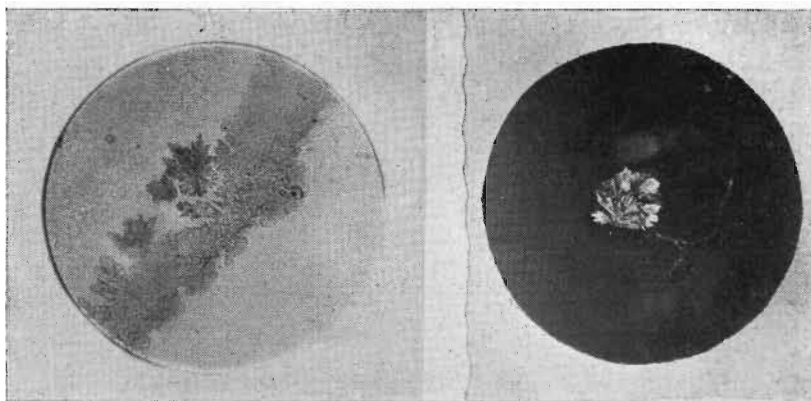
C-5



C-6

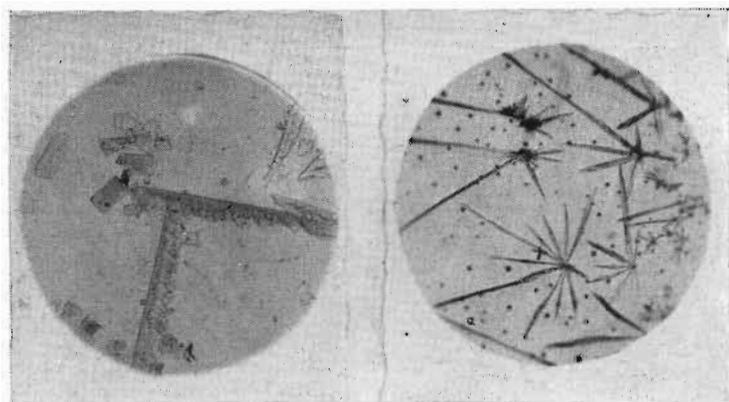
C-7

GRUPO D: MICRO-CRISTAIS COM $K_3Fe(CN)_6$



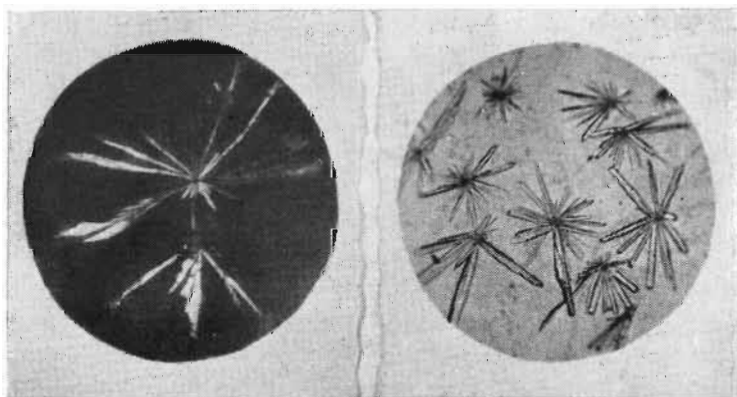
D-0

D-0



D-0

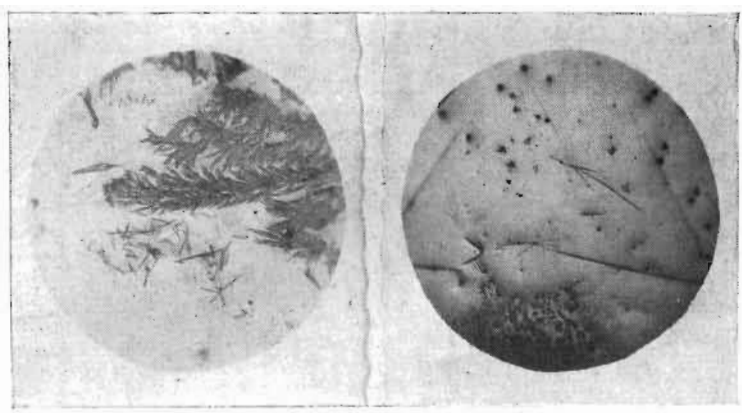
D-2



D-2

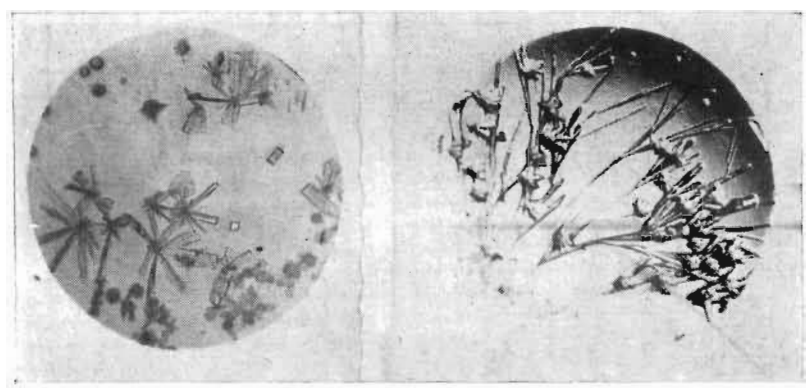
D-2





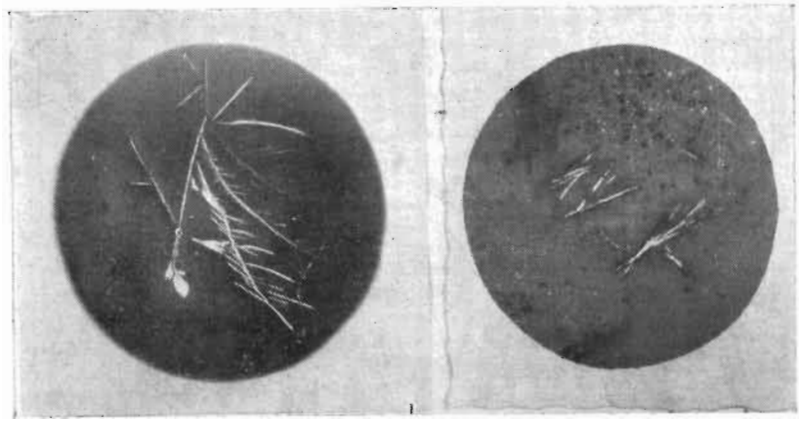
D-0 + D-3

D-3



D-4

D-5



D-7

D-8