

Tesis de Posgrado

Estudio de los alcaloides presentes en la *Bocconia Pearcei* Hutchinson (Papaveraceae)

Labriola, Rafael A.

1965

Tesis presentada para obtener el grado de Doctor en Ciencias Químicas de la Universidad de Buenos Aires

Este documento forma parte de la colección de tesis doctorales y de maestría de la Biblioteca Central Dr. Luis Federico Leloir, disponible en digital.bl.fcen.uba.ar. Su utilización debe ser acompañada por la cita bibliográfica con reconocimiento de la fuente.

This document is part of the doctoral theses collection of the Central Library Dr. Luis Federico Leloir, available in digital.bl.fcen.uba.ar. It should be used accompanied by the corresponding citation acknowledging the source.

Cita tipo APA:

Labriola, Rafael A. (1965). Estudio de los alcaloides presentes en la *Bocconia Pearcei* Hutchinson (Papaveraceae). Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_1267_Labriola.pdf

Cita tipo Chicago:

Labriola, Rafael A. "Estudio de los alcaloides presentes en la *Bocconia Pearcei* Hutchinson (Papaveraceae)". Tesis de Doctor. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. 1965. http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_1267_Labriola.pdf

EXACTAS UBA

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales



UBA

Universidad de Buenos Aires

UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES

ESTUDIO DE LOS ALCALOIDES PRESENTES EN LA BOCCONIA PEARCEI
HUTCHINSON (PAPAVÉRACEAE)

Rafael A. Labriola

Tesis presentada para optar al título de Doctor de la
Universidad de Buenos Aires

1965

A MI MADRE

A LA MEMORIA DE MI PADRE

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha podido ser realizado merced a la ayuda recibida de varias instituciones y personas que se mencionan a continuación, a quienes expreso mi agradecimiento.

Al Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas por haberme concedido una beca.

Al Dr. Venancio Deulofeu, padrino de esta Tesis, por los consejos que me brindara en forma permanente durante la realización de la misma.

Al Dr. D. Giacobello por su desinteresada y constante colaboración, al Dr. J. Comin por la realización de los espectros de resonancia magnética nuclear y el planteo del determinante que fue resuelto por el Instituto del Cálculo y al Dr. A. Kuck por facilitarme el espectro de R.M.N. del cloruro de nitidina.

Al Dr. J. Slavík (Universidad de Purkyně, Brno, Checoslovaquia) por el envío de muestras de alcaloides benzofenantridínicos, la confirmación de la identificación de coptisina y de la presencia del alcaloide con Rf 0.41 y al Dr. R.F. Manske (Canadá) por el envío de una muestra de protopina.

A la Dra. B. Berinzaghi de Deferrari por los microanálisis y al Dr. B. Dennler por los espectros ultravioleta.

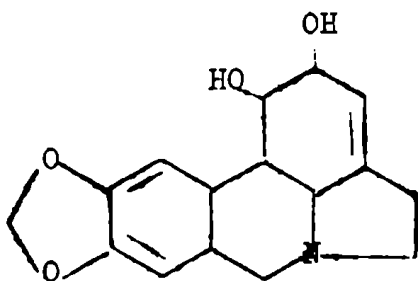
Al Dr. F. Meyer (Tucumán) por el envío de material vegetal y al Ing. A. Burkart y a la Dra. N. Troncoso de Burkart por el asesoramiento de diversos aspectos botánicos referentes al género Bocconia y relacionados.

CAPITULO I
INTRODUCCION

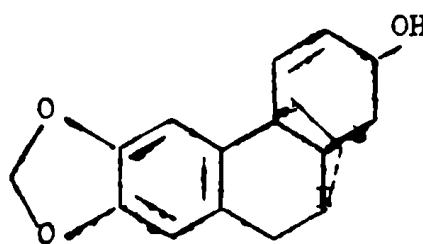
En la naturaleza se ha encontrado un grupo no muy numeroso, aunque tampoco reducido, de alcaloides que tienen una estructura fundamental derivada de la fenantridina.

Un sub-grupo de los mismos está representado por los que contienen el núcleo fenantridínico parcialmente hidrogenado y que poseen además, una cadena de dos átomos de carbono, que partiendo del átomo de nitrógeno se une a otro carbono, para formar un nuevo heterociclo reducido.

Ejemplos representativos de estos alcaloides, lo constituyen la licorina (I), en la cual, además del núcleo fenantridínico se encuentra un ciclo pirrolidínico formado precisamente por la cadena adicional de dos carbonos mencionada anteriormente, y la crinina (II), en la cual el núcleo pirrolidínico se forma por unión a un carbono de tipo "cabeza de puente".

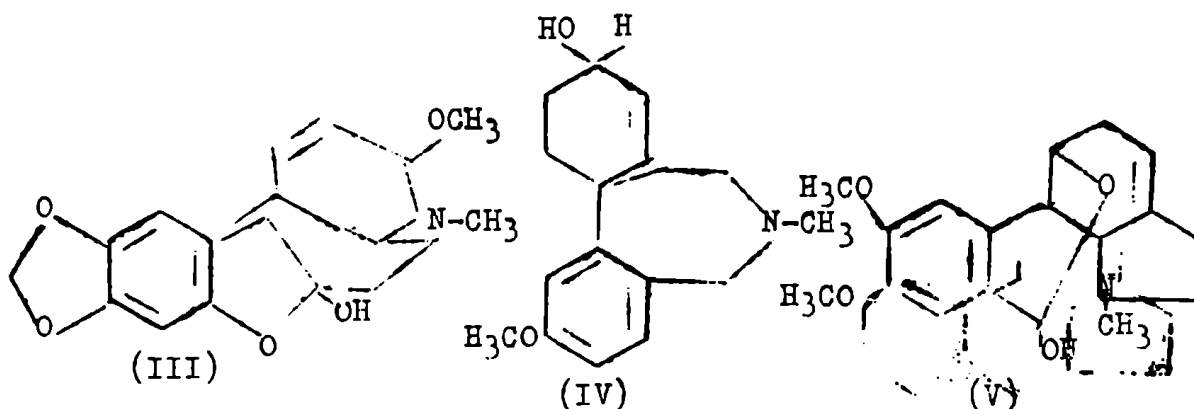


(I)



(II)

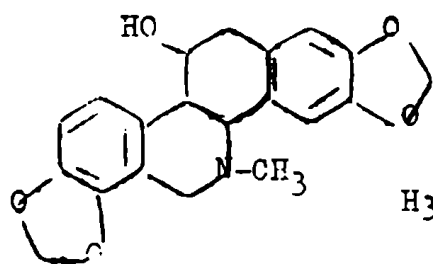
Los alcaloides con estas estructuras fundamentales se han encontrado en la familia Anaryllidaceae. Estas plantas contienen también bases del tipo de la tazetina (III), la galantamina (IV) y la licoronina (V), que si bien biogenéticamente tienen vinculación con los tipos anteriores, no poseen formalmente en su molécula el esqueleto fenantridínico reducido.



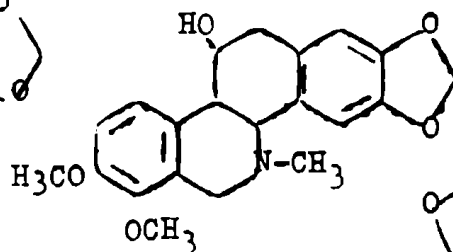
La otra clase de alcaloides en cuya estructura se encuentra el esqueleto de la fenantridina incluye un conjunto de bases que contienen un núcleo benzénico condensado en esta última, formando la 1,2-benzofenantridina.

En la naturaleza hay dos tipos diferenciados de estas bases. Uno de ellos está representado por alcaloides en los cuales los núcleos B y C de la benzofenantridina están totalmente reducidos. Son la quelidonina (VI) y su racémico conocido como difilina, α -homo-quelidonina (VII), norquelidonina (VIII), metoxiquelidonina, oxiquelidonina (K) y corinolina (X) (Boit, 1961); (Takao, 1962 a, b); (Slavík, 1961).

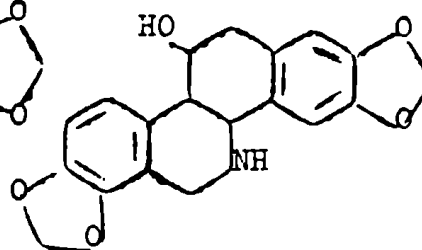
El segundo tipo posee como estructura fundamental un núcleo benzofenanthridínico (XI) totalmente aromático con su nitrógeno cuaternizado por un grupo metilo. Todos ellos contienen sustituyentes oxigenados en los ciclos A. y D.



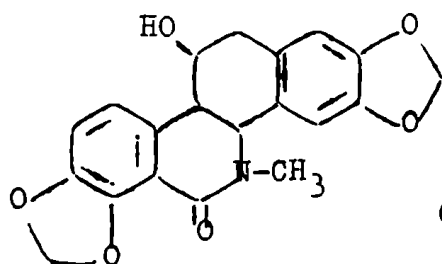
(VI)



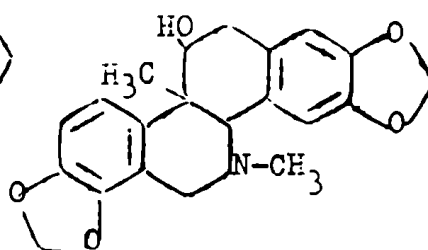
(VII)



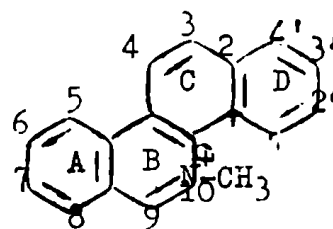
(VIII)



(IX)



(X)



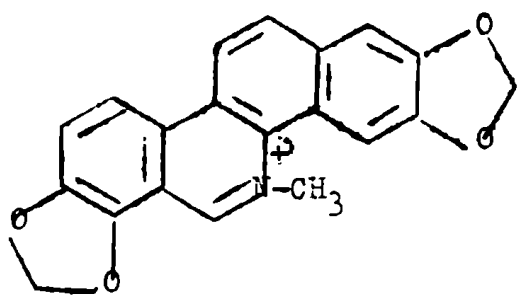
(XI)

Nosotros nos ocupamos solamente de los alcaloides del tipo cuaternario y sus derivados simples, aunque en el transcurso de la demostración de sus estructuras será necesario utilizar también estudios efectuados con los de tipo terciario con los núcleos B y C reducidos.

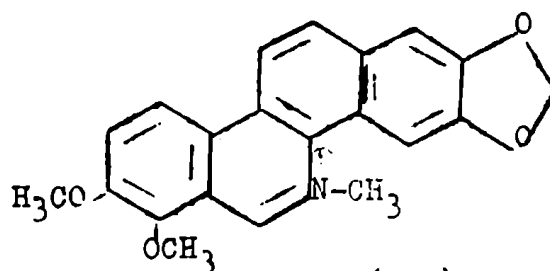
Los alcaloides benzofenanthridínicos de este tipo conocidos son: sanguinarina (XV), queleritrina (XVI), avicina (XVII), nitidina (XVIII), sanguirrubina, sanguilutina, quelirrubina, quelilutina y mecarpina.

Entre estos la sanguinarina (XV) y la queleritrina (XVI)

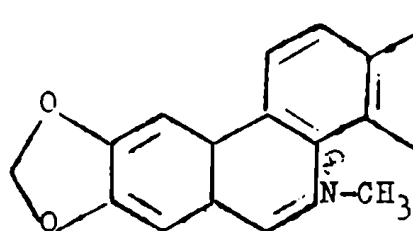
por su difusión en la naturaleza son los más importantes.



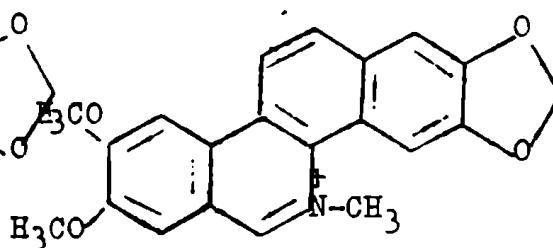
(XV)



(XVI)

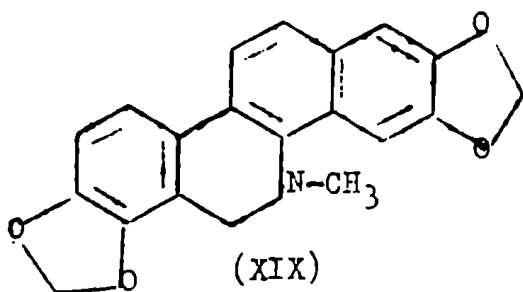


(XVII)

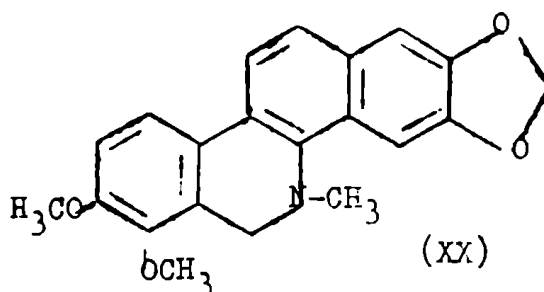


(XVIII)

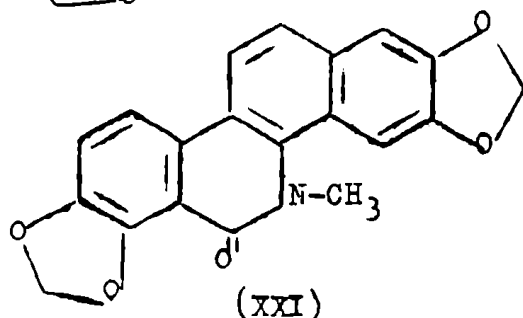
Se han encontrado también sus dihidro derivados (XIX) y (XX) y los oxo-derivados de la sanguinarina (XXI) y de la mitidina (XXII).



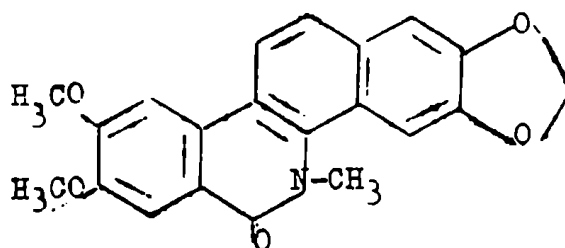
(XIX)



(XX)



(XXI)



(XXII)

Un grupo de las bases anteriores no tienen aún una estructura bien establecida. Son la sanguirrubina (Slavík y Slavíková, 1960), sanguilutina (Slavík y Slavíková, 1960), quelirrubina (Slavík y Slavíková, 1955 a), quelilutina (Slavík y Slavíková, 1955 a) y macarpina (Slavík y Slavíková, 1955 b) cuyas propiedades físicas son muy similares a las de este tipo de alcaloides.

CAPITULO II

LOS ALCALOIDES BENZOFENANTRIDINICOS

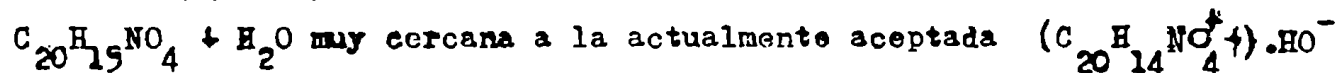
ESTRUCTURA DE LOS ALCALOIDES BENZOFENANTRIDINICOS CUATERNARIOS Y SUS DERIVADOS SIMPLES

Queleritrina y Sanguinarina

Los primeros alcaloides benzofenantridínicos cuaternarios encontrados en la naturaleza fueron la sanguinarina y la quele-
ritrina, su estudio estructural sirvió de base para los hallades pos-
teriormente.

El primer aislamiento de sanguinarina fue efectuado por
Dana (1828) de Sanguinaria canadensis L.; catorce años después Schiel
(1842) estudió la base y supuso erróneamente que debía ser idéntica
a la queleritrina, ya conocida entonces. Posteriormente Eijkman (1884)
la aisló de frutos, raíz y hojas de Macleaya cordata (Willd.) R. Br.

Schmidt, Koenig y Tietz (1893) aislaron sanguinarina de
Chelidonium majus L. y propusieron para esta base la fórmula



En los años siguientes se la aisló de diversas especies
de la familia Papaveraceae (Battandier, 1895; de Eschscholtzia cali-
fornica Cham.); (Schmidt y Fischer, 1901; de Glaucium luteum Scop.)
(Schlotterbeck y Watkins, 1902; de Stylophorum diphyllum Nutt.).

Actualmente se conoce su existencia en por lo menos 50
especies de Papaveraceas, siendo el alcaloide de este grupo que se

encuentra en mayor número de ellas, principalmente las que pertenecen a las tribus Chelidoneae y Papaveraceae.

La queleritrina fue aislada por primera vez por Probst (1839 a) de raíz de Chelidonium majus L.; debido al color de sus sales le dió el nombre de queleritrina. En ese mismo año (1839b) este autor la aisló de la raíz de Glaucium luteum Scop., como en otras especies de esta familia se había encontrado sanguinarina; supuso que ambos alcaloides podían ser idénticos.

Recién en 1892 Battandier aisló nuevamente queleritrina de la raíz de otra especie de Papaveraceae, la Eschscholtzia californica Cham. Al año siguiente Schmidt, Koenig y Tietz (1893) la aislaron de raíz de Sanguinaria canadensis L. y la volvieron a reconocer en Chelidonium majus L.

Estos autores propusieron la fórmula $C_{21}H_{17}NO_4 \cdot ClH$ para el clorhidrato de esta base, la cual posteriormente se confirmó; el análisis que realizaron indicó la presencia de dos grupos metoxilo.

En los años siguientes se aisló queleritrina de otras especies de la familia Papaveraceae (Battandier, 1895; de Eschscholtzia californica Cham.); (Murrill y Schlotterbeck, 1900; de Macleaya cordata (Willd.) R. Br. (Bocconia cordata Willd.); (Schlotterbeck y Watkins, 1902; de Stylophorum diphyllum Nutt.).

La queleritrina se ha encontrado en no menos de 28 especies de Papaveraceae, al igual que la sanguinarina se encuentra difundida en casi todas sus tribus, principalmente en las Chelidoneae y Papaveraceae. También se encuentra como base cuaternaria o como dihidro queleritrina en varias especies de la familia Rutaceae.

En la primera época el alcaloide benzofenantridínico más estudiado para dilucidar su estructura fue la queleritrina, al parecer por haberse dispuesto del mismo con más facilidad. Karrer (1917, 1921, 1923) estableció que dicha base se condensaba con fenil-hidrazina y reaccionaba con el cianuro de potasio dando un pseudo cianuro. Erróneamente atribuyó la primera reacción a la presencia de un grupo carbonilo, pero en cambio tuvo razón en la interpretación de la segunda, al considerar que en el medio alcalino en que se forman los pseudo cianuros, existía en la molécula de queleritrina un sistema carbinol-amina semejante al descrito para la cotarquina y la berberina.

También señaló que esta base era muy reactiva frente a sustancias que contienen metilenos activos. Daba además productos de adición con los reactivos de Grignard. Estas reacciones no tuvieron, sin embargo mayor significación para establecer su estructura.

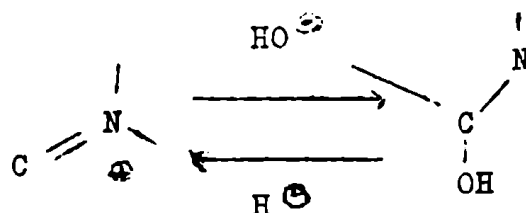
Encontró que por reducción se producía un dihidro derivado de p.f. 143-144°, el cual más adelante resultó una sustancia clave en las determinaciones estructurales; Gadamer y Winterfeld (1920) obtuvieron un producto más puro, de p.f. 160-162° que ha sido obtenido en todos los trabajos posteriores. Esta sustancia se oxida fácilmente con acetato mercurico y aún al aire, transformándose nuevamente, por pérdida de los dos átomos de hidrógeno adicionales, en la queleritrina inicial.

Gadamer y Winterfeld (1920), en esa misma publicación describieron que el derivado O-acetilado de la α -homoquelidonina (una base aislada por Schmidt y Selle, 1890, del Cholidonium majus L.)

condujo, por oxidación con acetato mercurico, a una sustancia idéntica con la dihidroquelitrina antes mencionada y que por lo tanto la estructura fundamental, así como el número y disposición de los sustituyentes, debe ser igual en ambas bases.

Como anteriormente Gadamer (1919) había demostrado que la α -homoquelidonina tenía dos metoxilos y un grupo metilendioxi, corresponden a la quelitrina los mismos sustituyentes, confirmando así los resultados obtenidos por Schmidt, Koenig y Tietz (1893).

Gadamer y Winterfeld (1920) coincidieron con Karrer en que la quelitrina era una base cuaternaria y que varias de sus reacciones podían interpretarse, como se hizo con la cotarnina y la berberina, por formación de una carbinol-amina en medio alcalino que pasa a base cuaternaria en medio ácido.



Gadamer (1919) propuso una estructura de tipo aporfínico para estas bases, que no tiene hoy otro valor que el histórico, y posteriormente en colaboración con Dieterle, Stichel, Theyssen y Winterfeld (1924), la modificó conservando siempre una relación estructural cercana a los alcaloides de dicho grupo, que aunque explicaba la mayor parte de la química de los mismos, estaba alejada de la realidad como se indicará posteriormente.

En los años siguientes, reacciones similares permitieron demostrar la vinculación entre la quelidonina y la sanguinarina.

Gadamer, Dieterle, Stichel, Theyssen y Winterfeld (1924 b) a partir de la O-acetil quelidonina obtuvieron por oxidación, deshidratación y ulterior oxidación una base idéntica a la sanguinarina natural, con lo cual se estableció una relación estructural entre ambos alcaloides.

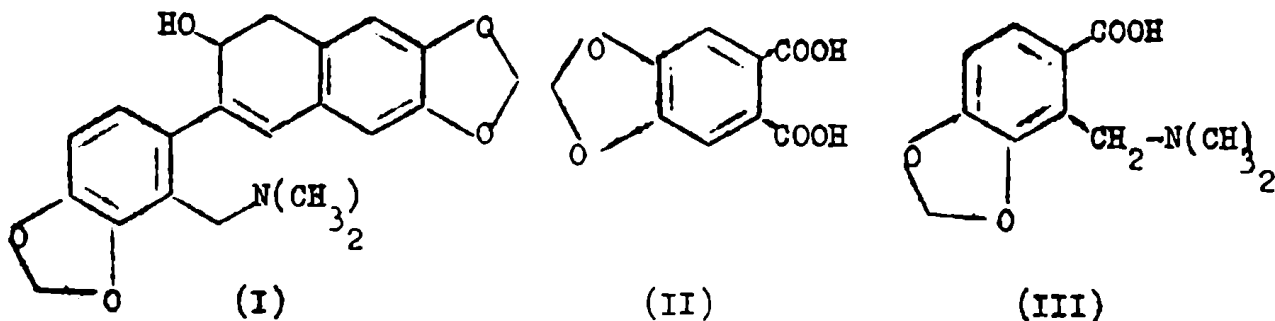
Con respecto a los sustituyentes oxigenados de la sanguinarina, como Gadamer y Winterfeld (1920) habían determinado que en la quelidonina existían dos grupos metilendioxi, los mismos debían encontrarse también presentes en la primera base.

Recientemente Slavík (1961) demostró nuevamente la vinculación entre quelidonina y sanguinarina al transformar la difilina (⁺ quelidonina), una base aislada de Stylophorum diphyllum Nutt. (amapola amarilla) por Schlotterbeck y Watkins (1902), en sanguinarina.

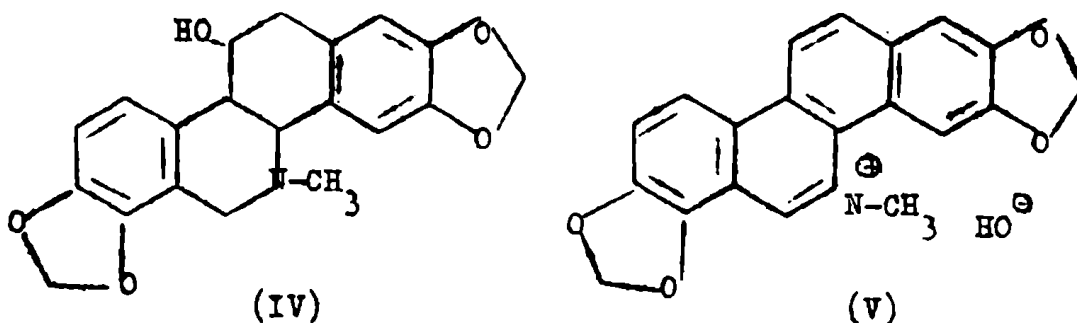
Como la quelidonina fue siempre considerada estructuralmente muy semejante a la α -homoquelidonina por dar reacciones químicas similares (Gadamer, 1919), resultaba también que la sanguinarina y la queleritrina debían tener una relación estructural estrecha.

Unos años después comenzó a aclararse en forma definitiva la fórmula estructural de la quelidonina por la demostración realizada en el laboratorio de Bruchhausen por Kling (1927) y Schwarz (1928) quienes encontraron que el metazo que se obtiene cuando se somete la misma a la reacción de Hoffman (cuya fórmula aceptada actualmente es la (I), da por oxidación ácido hidrástico (4,5 metilendioxi-ftálico) (II) y ácido 2-(dimetil-amino-metil)-3,4-metilendioxi-benzoico (III) (Bruchhausen y Bersch, 1930) cuya producción no

podía explicarse con las estructuras propuestas por Gadamer.



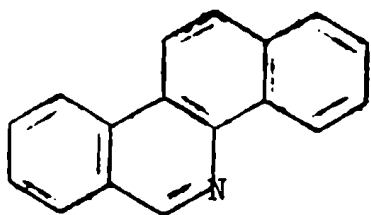
Bruchhausen y Bersch (1930), 1931) en esa época estudiaron varios aspectos de la química de la protopina, cuya estructura vincularon, con cierto fundamento, a la quelidonina, y a raíz de sus propias experiencias y de la información disponible de otros autores, propusieron para la quelidonina la fórmula (IV) y, en base a los resultados de Gadamer, Dieterle, Stichel, Theyssen y Winterfeld (1924 b) que acabamos de ver, propusieron la fórmula (V) para la sanguinarina (que por error llamaron queleritrina).



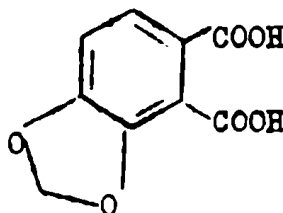
La posición del hidroxilo en la quelidonina, así como su conformación, fueron establecidas muy posteriormente por Bersch (1958).

Recientemente Seoane (1965) propuso una modificación de la conformación de esta base.

Späth y Kuffner (1931 a) confirmaron, muy poco después, el esqueleto heterocíclico propuesto por Bruchhausen y Bersch (1930) para la quelidonina y la sanguinarina. Demostraron que la base nitrogenada que Gadamer, Dioterle, Theyssen y Winterfeld (1924 b) obtuvieron al destilar sanguinarina en presencia de polvo de cinc, tiene la fórmula bruta $C_{17}H_{11}N$ y corresponde a la 1,2-benzofenantridina (VI) (Naftofenantridina) preparada por Graebe (1904) lo cual confirmaba definitivamente la estructura fundamental de dicho alcaloide, (con excepción de los sustituyentes), propuesta por Bruchhausen y Bersch (1930, 1931).



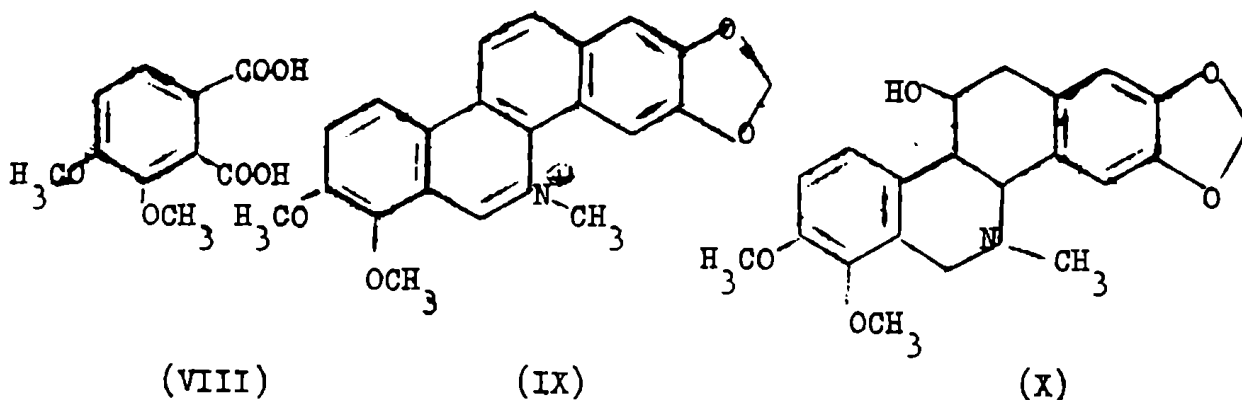
(VI)



(VII)

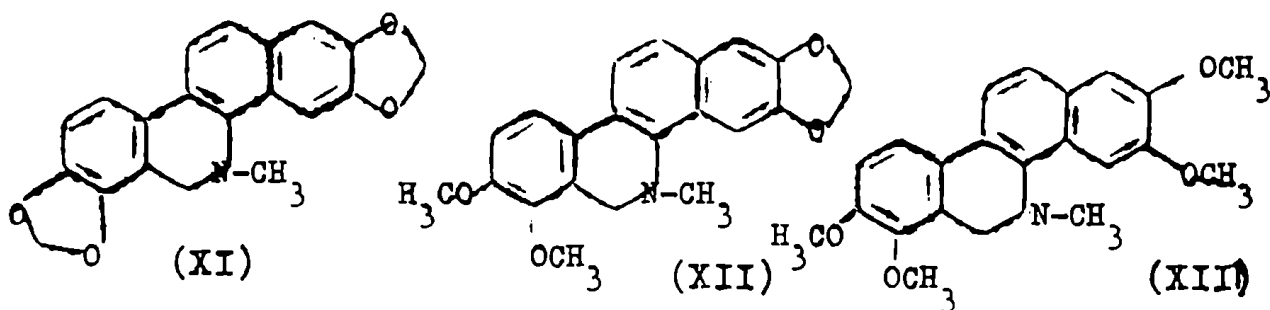
Los mismos autores (1931 a) volvieron a encontrar que la oxidación de la quelidonina daba ácido hidrástico (I) y además ácido 3,4-metilendioxiftálico (VII), lo cual dió un nuevo apoyo experimental a la distribución de los sustituyentes en dicha base y en la sanguinarina, indicando que cada uno de los grupos metilendioxi está en distintos núcleos bencénicos y confirmando las fórmulas anteriores (IV) y (V) para la quelidonina y la sanguinarina.

Späth y Kuffner en un trabajo posterior (1931 b), establecieron definitivamente la posición de los sustituyentes en la queleritrina, pues al oxidarla con permanganato de potasio comprobaron la formación del ácido hemipínico (3,4-dimetoxiftálico) (VIII) en lugar del ácido 3,4-metilendioxitálico (VII), mientras que al oxidarla en condiciones más enérgicas aislaron ácido hidrástico (II), lo cual indica claramente que la posición de ambos pares de átomos de oxígeno en el alcaloide corresponden a la estructura (IX) y por lo tanto confirma que es la misma que en la molécula de sanguinarina.



De acuerdo con estos resultados le corresponde a la ~~3,4~~-homoquelidonina la estructura (X).

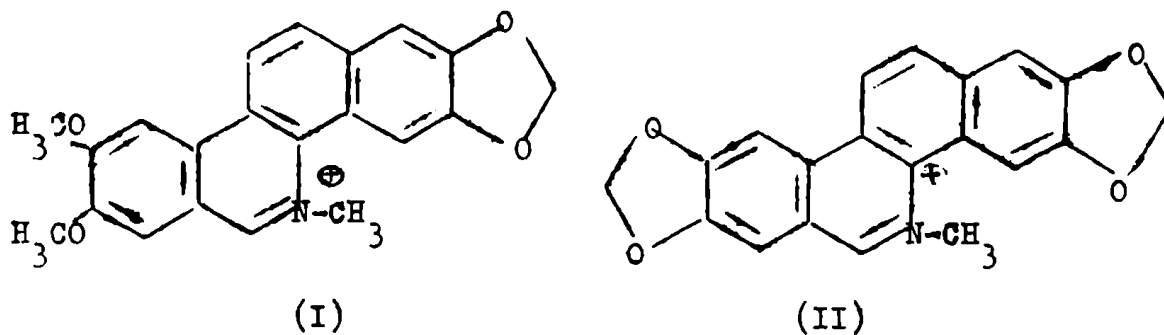
Finalmente, en un tercer trabajo de esta serie, Späth y Kuffner (1931 d) confirmaron por otro camino dicha relación. Para ello hidrolizaron los grupos metilendioxi presentes en los dihidro derivados de la sanguinarina (XI) y de la queleritrina (XII) por tratamiento con ácido sulfúrico y metilaron los grupos fenólicos liberados con diazometano, obteniendo a partir de ambas sustancias,

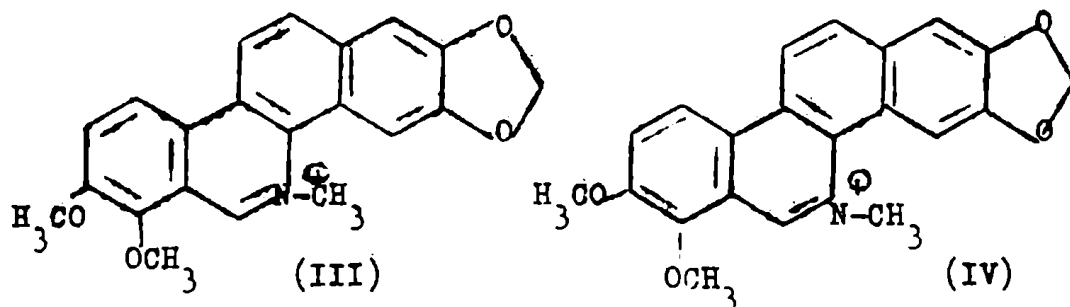


un mismo tetrametoxi derivado de p.f. 181-182^a (2', 3', 7,8-tetrametoxi-9,10-dihidro-1,2-benzofenantridina (XIII)).

Nitidina y Avicina

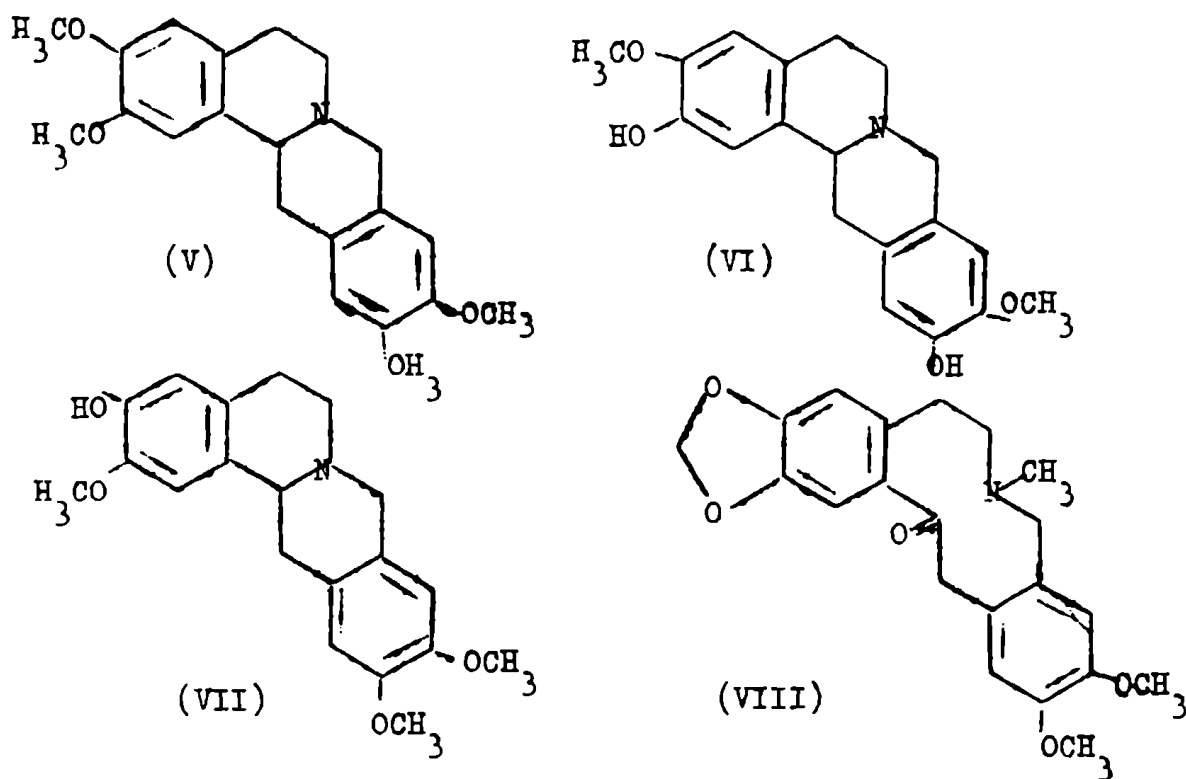
Estos dos alcaloides cuaternarios ($C_{21}H_{16}NO_4^+$) y ($C_{21}H_{14}NO_4^+$) benzofenantridínicos, encontrados y estudiados por Arthur, Hui y Ng (1958, 1959 a,b) en plantas de la familia Rutaceae, tienen los mismos sustituyentes que la queleritrina y la sanguinarina; la nitidina (I) posee dos grupos metoxilo y un grupo metilendioxi, y la avicina (II) los grupos metilendioxi. Presentan la característica interesante de tener una distribución de los sustituyentes oxigenados del ciclo A desplazados a las posiciones 6,7 a diferencia de la queleritrina (III) y la sanguinarina (IV) que los poseen en 7,8.



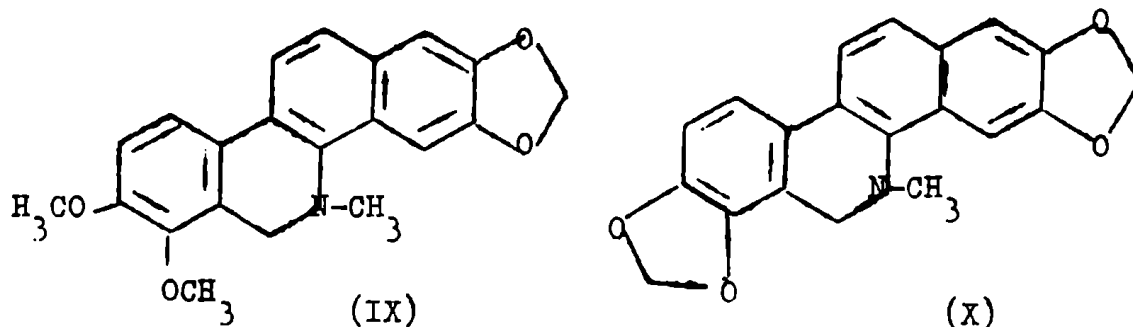


Esto se ha considerado siempre como relativamente excepcional, ya que hasta el momento los ejemplos conocidos se reducen a la xilopinina (V) (Schmutz, 1959), coreximina (VI) (Manske y Ashford, 1951; Corrodi y Hardegger, 1956) y discretina (VII) Bernoulli, Linde y Meyer, 1963) en el grupo de las berbinas y a la fagarina II (VIII) (Comín y Deulofeu, 1959 en el grupo protopínico.

Los autores demostraron (Arthur, Hui y Ng, 1958, 1959 a,b



que la nitidina y la avicina eran alcaloides benzofenantridínicos por presentar algunas propiedades comunes a los de este grupo, lo que confirmaron por ulteriores estudios químicos. Ambos dan con facilidad dihidro derivados, cuyo espectro ultravioleta es muy semejante al de la dihidroqueleritrina (IX) y la dihidrosanguinarina (X).

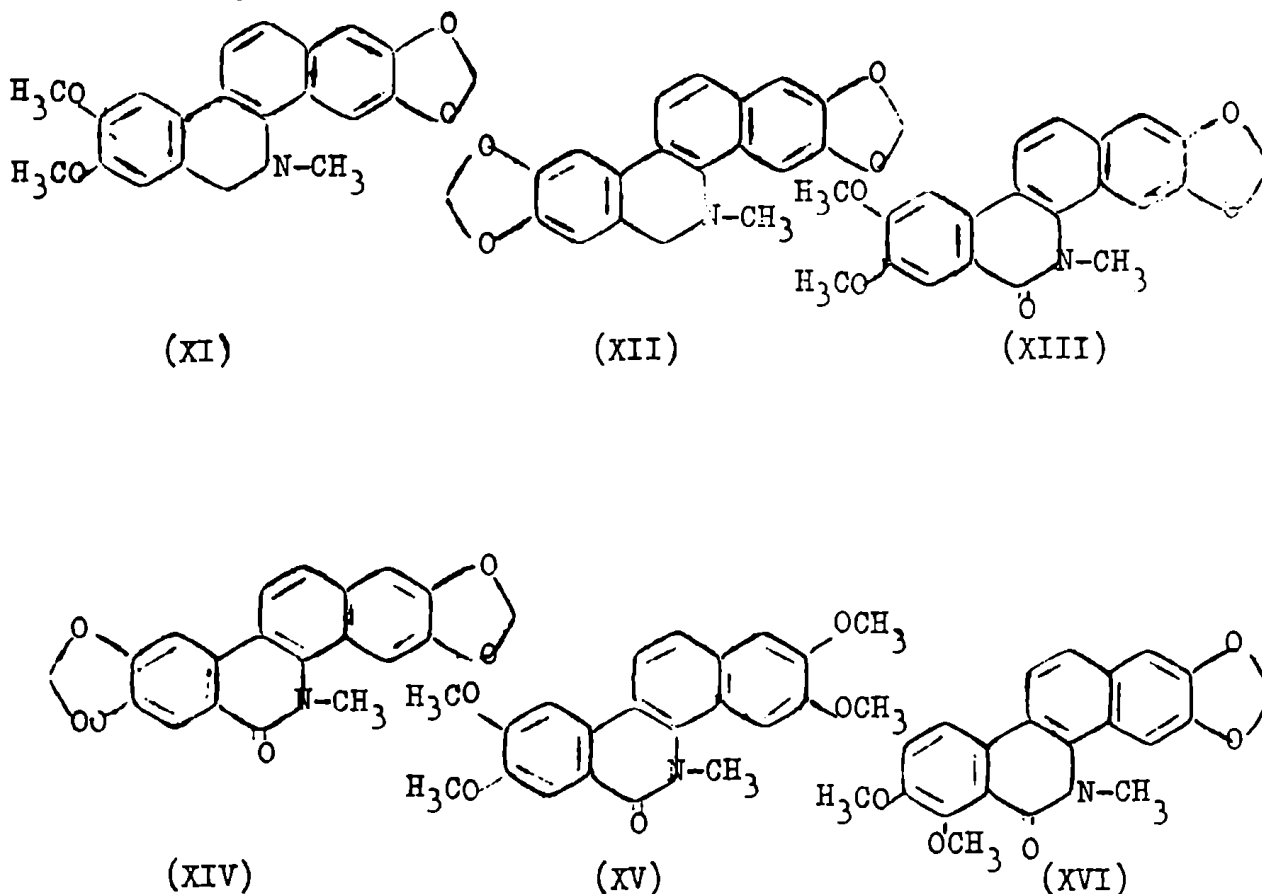


En medio alcalino se transforman en bases terciarias a las cuales corresponde una estructura de tipo carbinol-amina, que retorna en medio ácido, a la forma de sal cuaternaria coloreada.

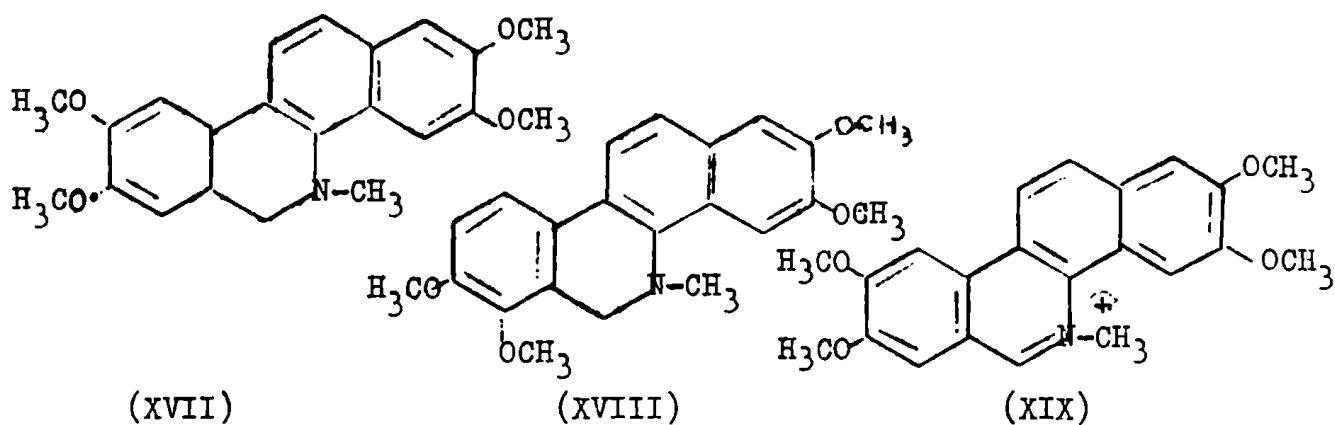
En el caso de la nitidina y la avicina, estas bases carbinol-aminas son más inestables que las obtenidas de queleritrina o sanguinarina y se produce fácilmente un proceso de óxido reducción intermolecular donde una molécula se reduce, dando un dihidro derivado (XI, XII) y otra se oxida, para dar un grupo carbonilo con formación de una amida (XIII, XIV), lo que se demostró en principio porque esta sustancia no presenta propiedades básicas. Amidas similares se producen por tratamiento con oxidantes suaves de la sanguinarina (Späth, Schlemmer, Schenck y Gempp, 1937) y la queleritrina (Govindanchari y Thyagarajan, 1956).

La posición deficiente de los sustituyentes fue establecida porque el grupo metilendioxi de la oxinitidina se transformó en un :

difenol que luego se metiló, obteniéndose un producto (XV) que resultó diferente de la N-metil-2',3',7,8-tetrametoxi-1,2-benzofenantridina (XVI) preparada a partir de queleritrina en la cual los sustituyentes se encuentran en 7 y 8.



Esta diferencia de sustitución entre nitidina y queleritrina fue confirmada porque el producto tetrametoxilado (XV) pudo transformarse en la sustancia (XVII) por tratamiento sucesivo primero con oxiclورو de fósforo y luego con cinc y ácido clorhídrico. Esta sustancia resultó también diferente del dihidro derivado tetrametoxilado (XVIII) obtenido tanto de la queleritrina como de la sanguinarina (Säth y Kuffner, 1931 d) a través de una serie de reacciones.



Una confirmación final de dicha estructura (XVII) fue realizada por vía sintética (Arthur, Hui y Ng, 1959 a), mediante reducción del metosulfato de N-metil-2',3'6,7-tetrametoxi-1,2-benzofenantridina (XIX) cuya distribución de sustituyentes era bien conocida (Bailey, Robinson y Staunton, 1950 a).

La posición del grupo metilendioxi en la nitidina (I) y sus derivados dihidronitidina (XI) y oxinitidina (XIII) solo pudo ser establecida utilizando métodos que se discutirán en la parte dedicada a la síntesis de estos alcaloides (Arthur y Ng, 1959; Gopinath, Govidanchari, Parthasarathy y Viswanathan, 1959).

Sobre la base de esta estructura (I) para la nitidina, fue relativamente sencillo establecer que en la avicina el segundo grupo metilendioxi ocupaba la misma posición que los dos grupos metoxilo de la nitidina, puesto que, por una serie de reacciones similares, fue posible transformarla en la misma tetrametoxi-benzofenantridona (XV) que se obtuvo de la oxinitidina (Arthur, Hui y Ng, 1959 b).

La síntesis de la oxiavicina realizada recientemente (Gopinath, Govidanchari y Viswanathan, 1961) confirmó la distribución anterior de los sustituyentes oxigenados.

Quelirrubina

La quelirrubina ($C_{21}H_{16}NO_5$)⁺ (Tani y Takao, 1962 b) es un alcaloide cuaternario aislado recientemente por Slavík y Slavíková (1955 a) del Chelidonium majus L. Posteriormente se lo aisló de varias especies de la familia Papaveraceae.

Su estructura es aun desconocida. Se lo ubica como perteneciente al grupo benzofenantridínico por la semejanza de sus propiedades químicas y físicas con las de la sanguinarina y la queleritrina.

Su fórmula correcta fue establecida por Tani y Takao (1962 b) por análisis del cloruro y del dihidro derivado, difiere en un carbono y dos hidrógenos de la anteriormente propuesto por Slavík y Slavíková (1960).

En su molécula se encuentra presente un grupo metoxilo (Tani y Takao, 1962 b) y por lo menos un grupo metilendioxi (Slavík y Slavíková, 1960); no existen grupos fenólicos en la misma.

Análogamente con lo que ocurre con otros alcaloides de este grupo da un pseudo cianuro incoloro en medio alcalino y por tratamiento con ácidos fuertes regenera la sal cuaternaria coloreada. Por reducción se obtiene un dihidro derivado incoloro.

El espectro ultravioleta del cloruro de quelirrubina es muy semejante al de los cloruros de queleritrina y de sanguinarina (Tani y Takao, 1962 b; Slavík, Slavíková y Appelt, 1965).

Quelilutina, Sanguilutina y Sanguirrubina

Todos estos alcaloides cuaternarios fueron encontrados recientemente por Slavík y Slavíková (1955 a, 1960) en plantas de la familia Papaveraceae.

Sus estructuras son aún desconocidas, pero por el estudio de sus propiedades físicas y químicas se los considera como pertenecientes al grupo de alcaloides benzofenantridínicos. Todos ellos son ópticamente inactivos y los espectros ultravioleta de sus sales (Slavík y Slavíková, 1960) son muy similares a los que presentan la queleritrina y la sanguinarina.

Todas estas bases tienen la propiedad de dar pseudo cianuros incoloros en medio alcalino, que por tratamiento con ácidos fuertes regeneran las sales coloreadas, reacción que se considera típica de los alcaloides de este grupo. Ninguno de ellos tiene carácter fenólico y todos dan reacción positiva de grupos metilendioxi.

La comparación de las fórmulas moleculares de los mismos (quelilutina: $C_{23}H_{24}NO_5^+$; sanguilutina: $C_{23}H_{24}NO_5^+$; sanguirrubina: $C_{23}H_{20}NO_5^+$) con los hasta ahora conocidos muestra claramente en primer lugar la presencia en todos ellos de un oxígeno más que la queleritrina y sanguinarina, el cual por sus propiedades no puede corresponder a un oxígeno de un grupo amida, ni tampoco fenólico, quedando hasta el momento sin determinar la función que le corresponde.

Debido a las mínimas cantidades obtenidas, los autores no han podido efectuar una determinación de grupos metoxilo, por lo cual se hace sumamente difícil cualquier tentativa, aun hipotética, de vinculación con los alcaloides de estructura conocida.

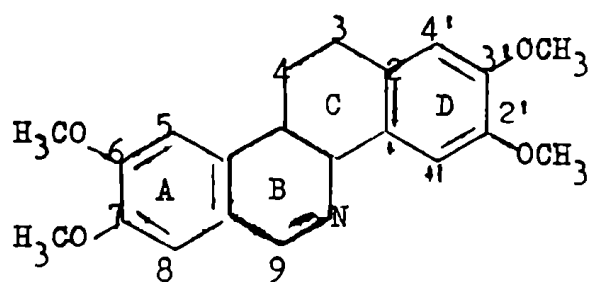
De estos alcaloides, que poseen tres carbonos más que la sanguinarina y dos más que la queleritrina, resulta imposible sin conocer el número de metoxilos y metilendioxi en cada uno de ellos, efectuar ninguna hipótesis estructural con algún fundamento. El problema inicial consistiría en establecer que función tienen los carbonos en exceso.

Maxarpina

Es un alcaloide cuaternario encontrado por Slavík y Slavíková (1955 b) por primera vez en la Macleaya microcarpa (Maxim.) Fedde. A causa de las cantidades tan pequeñas que se han aislado, no ha sido posible efectuar su análisis, y la única razón por la que se lo coloca en este grupo es la de dar una base incolora en medio alcalino que pasa a sal coloreada en medio ácido. Con cianuro de potasio en medio alcalino precipita un pseudo cianuro incoloro.

SINTESIS DE LOS ALCALOIDES BENZOFENANTRIDINICOS

Las tentativas para sintetizar estos alcaloides se iniciaron en 1937 cuando Richardson, Robinson y Seijo (1937) obtuvieron la tetrametoxi-tetrahidro-fenantridina (I) que contiene el esqueleto fundamental buscado.



(I)

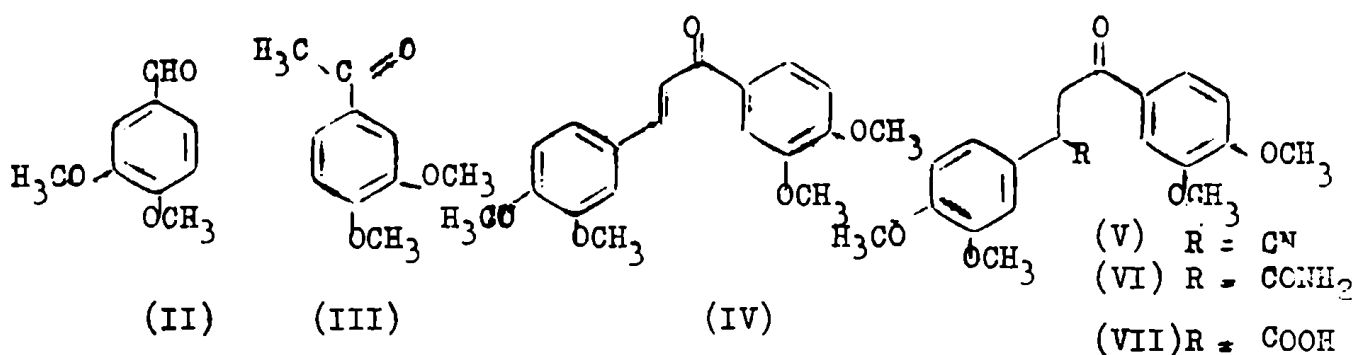
Existen dos métodos principales para la síntesis de este grupo de alcaloides, según se trate de benzofenantridinas con sustituyentes oxigenados en las posiciones 6 y 7 o en las posiciones 7 y 8.

Para la sustitución en 6 y 7 se forma primero el ciclo C y luego el B; en cambio para la sustitución en 7 y 8 se sigue el camino inverso.

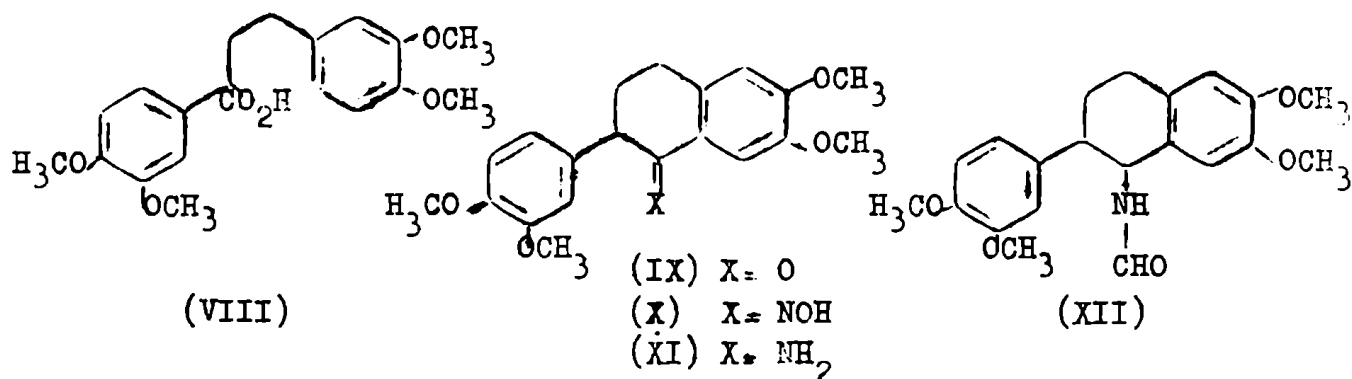
El esquema general consiste en partir de sustancias que tienen sustituyentes ubicados en anillos bencénicos que pasarán a ser los núcleos A y B de la benzofenantridina sustituida.

Para la síntesis de los alcaloides sustituidos en 6, 7 los autores nombrados partieron del veratraldehído (II) que

condensaron con acetoveratrina (III) obteniendo la calcona sustituida (IV) según el método general de Weygand y Schächer (1935). La adición de ácido cianhídrico a la doble ligadura produjo el nitrilo (V).

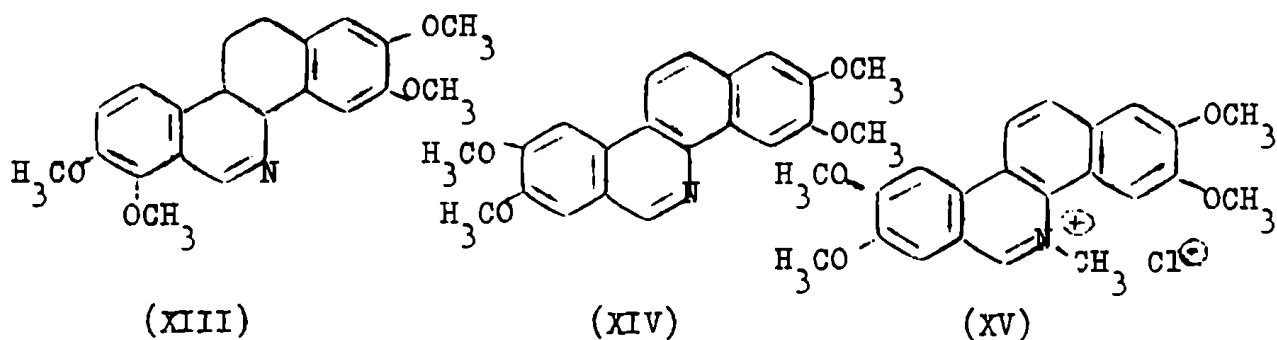


Por hidrólisis del nitrilo (V) se obtuvo la amida (VI) y luego el ácido (VII). La reducción del carbonilo presente en este último, por el método de Clemmensen, condujo al ácido butírico sustituido en los carbonos 2 y 4 con un resto veratrilo en cada uno (VIII). Este ácido por acción del oxicloriguro de fósforo se cicló dando la tetralona (IX), obteniéndose así el anillo C del esqueleto hidrocarbonado buscado.



A partir de la tetralona (IX) se obtuvo la amida (XII) por formación de la oxima (X), reducción (XI) y formilación. El mismo producto pudo obtenerse por condensación directa con metilformamida.

Por acción del oxicloruro de fósforo sobre esta amida (XII) se obtuvo la benzofenantridina (I) esperada (6, 7, 2', 3'-tetrametoxi-3, 4, 11, 12-tetrahidro-1,2-benzofenantridina).



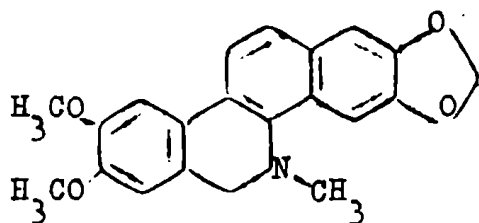
Los autores consideraron que se ha producido el isómero (I) y no el (XIII) porque sobre la base de estudios similares anteriores realizados por ellos mismos y por otros investigadores (Malan y Robinson, 1927) conocían que las condensaciones de este tipo se realizan, de preferencia, con el carbono activado por sustituyentes en para y no por sustituyentes en orto.

La deshidrogenación del compuesto (I) para dar la benzofenantridina (XIV) se realizó varios años después (Bailey, Robinson y Staunton, 1950 a, b) por el método habitual con paladio sobre carbón.

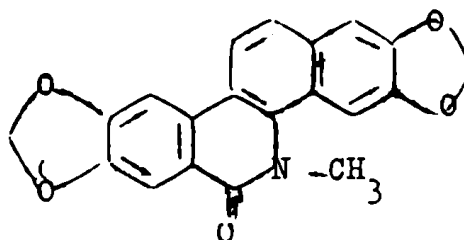
Por tratamiento sucesivo con sulfato de metilo y ácido

clorhídrico se obtuvo el cloruro (XV) de la sal cuaternaria correspondiente.

Esta investigación no permitió obtener las benzofenantridinas conocidas entonces, con sustituyentes en 7 y 8, pero abrió el camino para la síntesis por Arthur y Ng (1959) e independientemente por Gopinath, Govindachari, Parthasarathy y Viswanathan (1959) de la dihidronitidina (XVI), un alcaloide natural de este tipo sustituido en las posiciones 6 y 7, y de la oxaviacina (XVII) un derivado proveniente de la oxidación de la avicina.



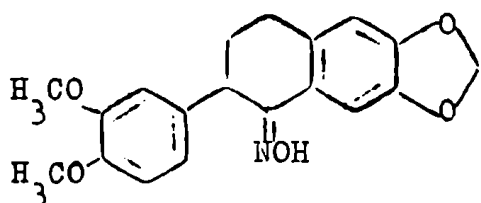
(XVI)



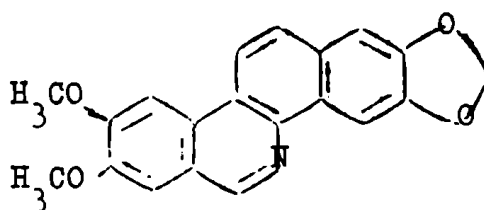
(XVII)

Arthur y Ng (1959) utilizaron, para la síntesis de la dihidronitidina, el veratraldehído (II) y 3,4-metildioxiacetofenona como materia prima. La secuencia de reacciones utilizada es enteramente similar a la empleada por Richardson, Robinson y Seijo (1937) y por Bailey y Robinson (1950) y Bailey, Robinson y Staunton (1950 a, b) según se comentará más adelante. Lo mismo ocurre con la síntesis realizada por Gopinath, Govindachari, Parthasarathy y Viswanathan (1959) aunque estos autores hicieron uso de una modificación, desarrollada por ellos para transformar la oxima (XVIII) en la benzofenantridina (XIX).

La oxiavicina (XVII) fue sintetizada (Gopinath, Govindanchari y Viswanathan, 1961) por el mismo camino y con la misma materia prima que la dihidronitidina; el oxígeno en la posición 9 se introdujo por acción del ferricianuro de potasio sobre el metosulfato de la benzofenantridina correspondiente.



(XVIII)

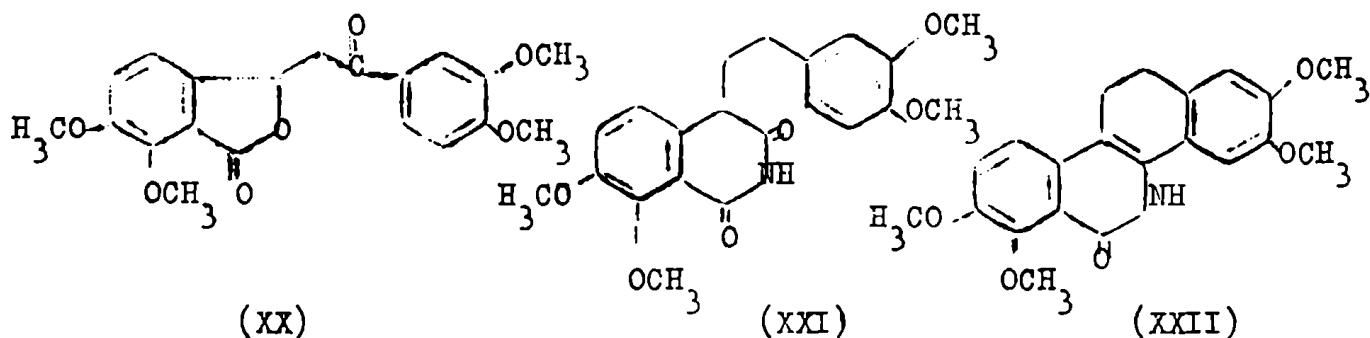


(XIX)

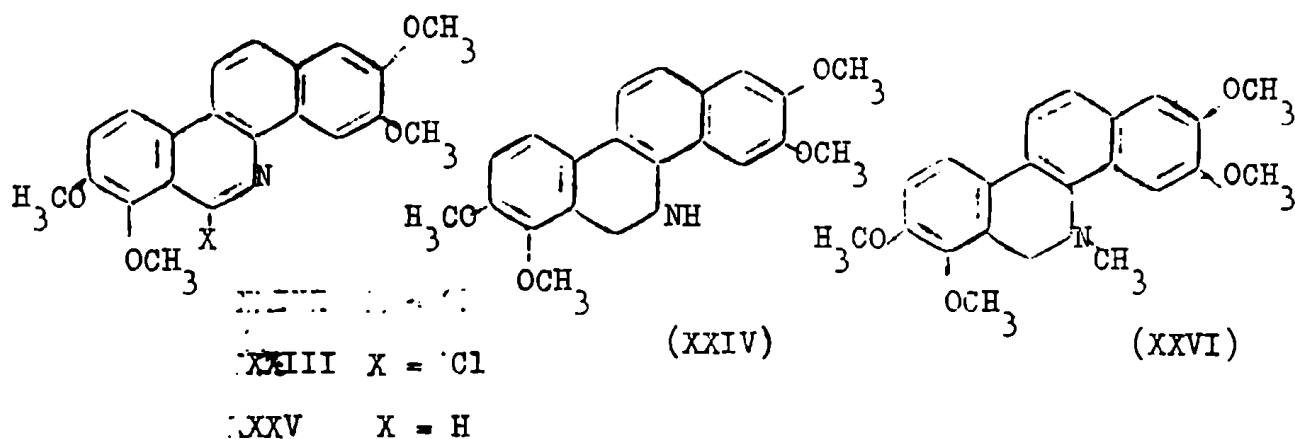
Para lograr la síntesis de benzofenantridinas con sustituyentes en 7 y 8 se debió partir de una materia prima que asegurara el cierre del ciclo B en la forma adecuada de sustitución. Se utilizó para tal fin la ftalida (XX) ya preparada por Haworth (1937). (Bailey y Robinson, 1949, 1950).

El tratamiento de la misma con cianuro de potasio determinó la apertura del ciclo oxigenado con fijación del anión cianuro sobre el carbono electrofílico con respecto al fenilo, creando, de esa manera, las condiciones estructurales para la formación de la benzofenantridina con los sustituyentes en 7 y 8. Se formó primero la imida (XXI), que por tratamiento con pentóxido de fósforo dió el esqueleto buscado (XXII). La acción del oxidruro de fósforo dió el derivado halogenado (XXIII) que por hidrogenólisis dió el compuesto (XXIV) que fue dehidrogenado para obtener la benzofenantridina (XXV)

(Bailey, Robinson y Staunton, 1950 a, b).

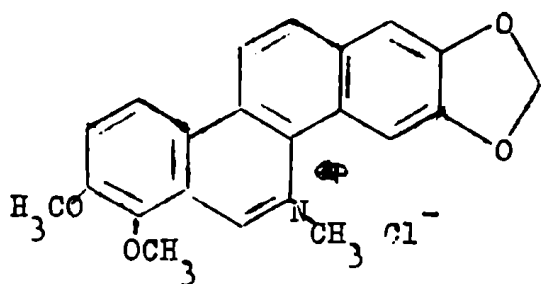


Esta sustancia N-metilada y reducida, dió la N-metil-7, 8, 2', 3'-tetrametoxi-9, 10-dihidro-1, 2-benzofenantridina (XXVI) idéntica a la obtenida por Späth y Kuffner (1931 d) de la sanguinarina y queleritrina, demostrando la correcta posición de los sustituyentes en el producto sintético.

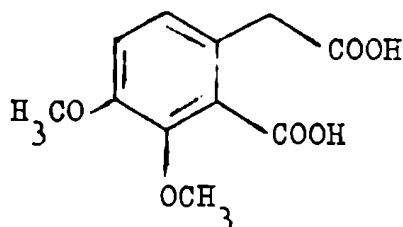


La síntesis del cloruro de queleritrina (XXVII) (Bailey y Worthing, 1956) es en líneas generales, muy semejante a la descrita para el cloruro de la tetrametoxi-benzofenantridina (XV) (Bailey, Robinson y Staunton, 1950 a, b).

Se partió de ácido opiánico (XXVIII) y 3,4-metilendioxiacetofenona para obtener la ftalida sustituida (XXIX), según el método de Haworth (1937) ya utilizado por estos autores (Bailey y Swallow, 1956). Esta sustancia, por adición de ácido cianhídrico y ciclación según el procedimiento general de la pirrolisocumarina (XXX).

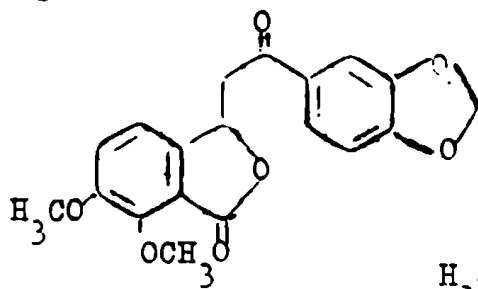


(XXVII)

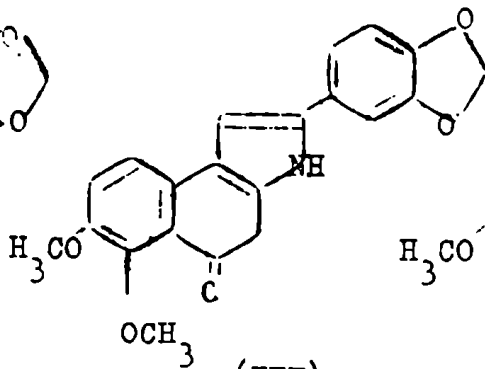


(XXVIII)

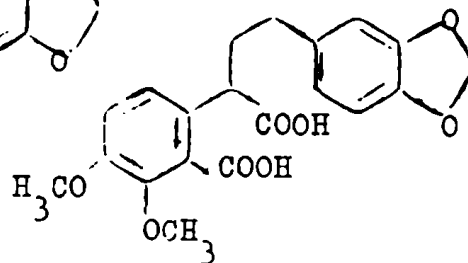
La hidrólisis y ulterior reducción de esta sustancia produjo el ácido (XXXI) que se transformó en la homoftalimida (XXXII). No fue posible ciclar esta última sustancia para dar la benzofenantridona (XXXIII), lo cual obligó a los autores a buscar otro camino para obtener la benzofenantridona.



(XXIX)



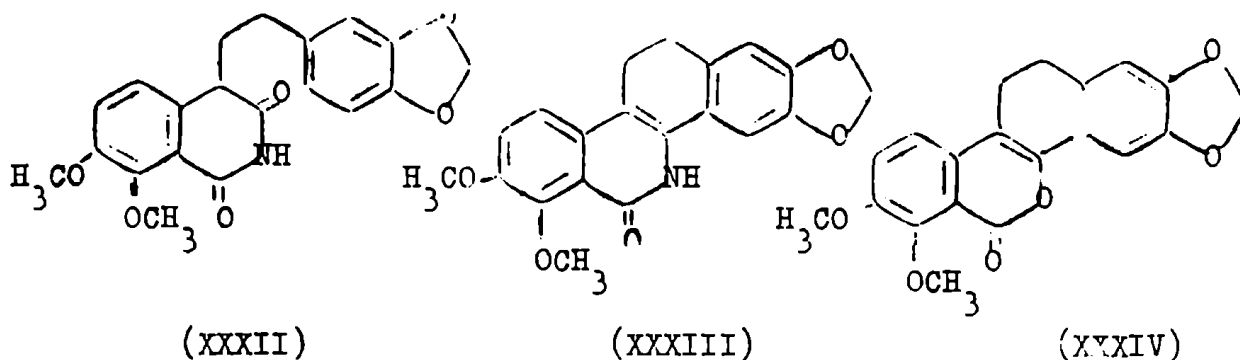
(XXX)



(XXXI)

Partieron entonces del cloruro del ácido (XXXI) que se cicló para dar la dihidro-nafto-isocumarina según el procedimiento general de Graebe y Trümpy (1898).

De esta sustancia se obtuvo, por calentamiento con amoníaco en etilen-glicol, la benzofenantridona (XXXIII) (7,8-dimetoxi-2', 3'-metilendioxi-3,4-dihidro-1,2-benzofenantridona).



A partir de esta última benzofenantridona (XXXIII) se obtuvo el cloruro de queleritrina (XXVII) por transformaciones análogas a las realizadas con el compuesto similar (XXII).

Este cloruro de queleritrina (XXVII) resultó idéntico con el natural (punto de fusión, punto de fusión mezcla y valor de Rf para cromatografía en papel).

ESPECTROS DE RESONANCIA MAGNETICA NUCLEAR DE LOS
ALCALOIDES BENZOFENANTRIDINICOS

El sistema tetracíclico (sin los átomos de oxígeno), existente en las sales de estos alcaloides cumple con los requisitos necesarios para ser considerado un sistema aromático en la definición de Hückel, pues todos sus átomos son coplanares y el número de electrones participantes satisfacen la condición $4n + 2$, siendo $n = 4$.

Fue posible efectuar una correlación entre los picos observados en los espectros de resonancia magnética nuclear y los protones aromáticos del sistema, mediante el cálculo del índice de carga (Wheland y Pauling, 1935) de los átomos de carbono y nitrógeno de dicho sistema. Este cálculo fue una necesidad para efectuar dichas asignaciones, porque debido al número de protones aromáticos de la molécula no era posible efectuarlas sin el auxilio de otros parámetros.

Este cálculo se llevó a cabo solamente para la molécula del cloruro de sanguinarina y empleando las correlaciones encontradas, fue fácil establecer las mismas para los protones del cloruro de queleritina y del cloruro de nitidina, sin que se presentara contradicción alguna con las efectuadas en el caso de la primera base.

La existencia de una relación entre el índice de carga q_r y los valores de δ había sido señalada por una serie de autores en el caso de distintos sistemas aromáticos (Corio y Dailcy, 1956; Schneider, Bernstein y Pople, 1958; Fraenkel, Carter, McLachlan y Richards, 1960; Lauterbur, 1961; Spiesscke y Schneider,

1961 a); como la constante σ de Hammett (posición para) está relacionada con la densidad de carga, se encontró también una relación similar entre esta constante y los valores de ρ (Fraser, 1960; Spiesscke y Schneider, 1961 b).

Según Hall, Hardisson y Jackman (1963) el valor del desplazamiento está sometido a las siguientes influencias:

- 1.- Hibridación del átomo de carbono al cual está unido el protón.
A mayor carácter s corresponde mayor electronegatividad.
- 2.- Anisotropía diamagnética del sistema de electrones pi (corriente generada en el anillo). Depende del sistema aromático particular.
- 3.- Anisotropía diamagnética del sistema de uniones sigma. Este factor no tiene mayor importancia en el sistema aromático y puede despreciarse.
- 4.- Densidades de carga electrónica pi (índices de carga). Este factor es fundamental en sistemas aromáticos no alternantes y en heterociclos.

Fraenkel, Carter, Mc Lachlan y Richards (1960) habían señalado que de todos estos factores, es la densidad electrónica pi (índice de carga) el más importante para determinar desplazamientos químicos. Cuando se considera como referencia el benceno, ese desplazamiento está regido por la ecuación (1) donde no están incluidas las demás influencias (puntos 1, 2 y 3); Δ es el desplazamiento con respecto al pico benceno; a: la constante de proporcionalidad y c: el exceso de densidad electrónica en cada átomo con respecto a

la existente en el benceno. La relación existente entre Δ (benceno como referencia) y el desplazamiento δ (tetrametilsilano como referencia) utilizada según la convención habitual está expresada en la ecuación (2); donde δ_B es el desplazamiento para los protones del benceno con respecto al tetrametilsilano utilizado habitualmente como referencia. La relación que existe entre el exceso de densidad electrónica y el índice de carga está expresado en la ecuación (3) puesto que el índice de carga para los carbonos del benceno es igual a 1. Reemplazando (2) y (3) en (1) se tiene la ecuación (4)

$$\begin{aligned} \Delta &= a \cdot c & (1) & \quad \Delta &= \delta_B - \delta & (2) \\ c &= q_r - 1 & (3) & \quad \delta &= (a + \delta_B) - a \cdot q_r & (4) \end{aligned}$$

que relaciona directamente los valores del desplazamiento δ con respecto al tetrametilsilano, con los índices de carga.

Como un mayor índice de carga implica una mayor densidad electrónica en el átomo de carbono que se considera, el protón unido a este último estará bajo un mayor efecto de pantalla, por lo cual será necesario aplicar un campo magnético mayor para que exista resonancia; en consecuencia el valor de δ , como lo indica la ecuación (4), será menor.

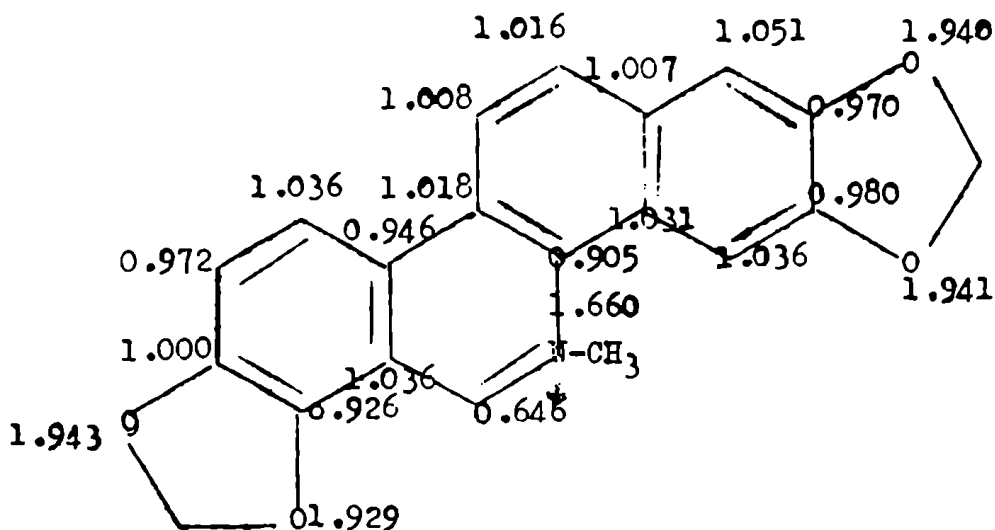
El índice de carga q_r ha sido definido según Wheland y Pauling (1935) como $q_r = \sum_i N_i C_{ri}^2$; donde N_i es el número de electrones en el orbital molecular i , C_{ri} es el coeficiente del átomo r en el orbital molecular i .

El cálculo del mismo para el cloruro de sanguinarina fue realizado empleando el método de combinación lineal de orbitales

atómicos (LCAO) con las aproximaciones de Hückel (Stroiwieser, 1961). El determinante fue planteado por el Dr. Comin y su resolución fue efectuada por el Instituto del Cálculo de la Facultad.

Esquema I

Indices de carga para el cloruro de sanguinarina



Utilizando los índices de carga q_r obtenidos de esta manera, y el conocimiento que se tiene sobre la influencia del nitrógeno cuaternario sobre el efecto de pantalla que sufren los protones unidos a átomos de carbono vecinos (Hall, Hardisson y Jackman, 1963), se pudieron asignar a los distintos protones del sistema los

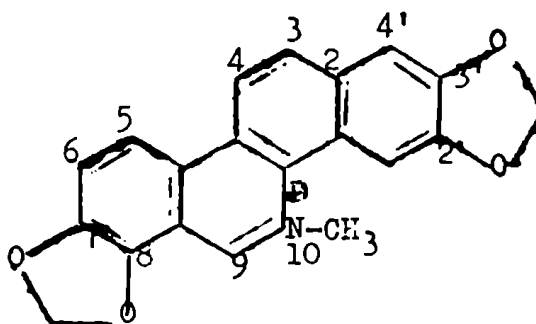
picos del espectro de resonancia magnética nuclear tal como se indica en la tabla II (ver también esquema I), donde r indica la posición del átomo de carbono y δ y J tienen los significados habituales.

Los espectros se realizaron en ácido trifluoracético por la buena solubilidad de estas sustancias en el mismo y porque en el laboratorio se disponía de antecedentes sobre el empleo de dicho solvente para la determinación de espectros de bases cuaternarias.

Tabla II

Valores de δ para los protones aromáticos del cloruro de sanguinarina

δ	H _r	δ	J(cps)
1.051	4'	7.52(s)	
1.036	5	7.94(d)	9
1.036	1'	8.05(s)	
1.016	3	8.20(d)	9
1.008	4	8.47(d)	9
0.972	6	8.57(d)	9
0.646	9	9.62(s)	



Cloruro de sanguinarina

El protón unido al carbono 9 sufre, por estar unido al carbono vecino al nitrógeno, una gran disminución del efecto de pantalla, por lo que se asignó al mismo el singlete con valor δ

más alto (9.62), lo cual, por otra parte, está de acuerdo con el valor del índice de carga para este carbono. Utilizando la relación expresada en la ecuación (4) se asignó al hidrógeno en la posición 4' el singlete en δ 7.52 y al hidrógeno en 1' el singlete en δ 8.05.

Los hidrógenos aromáticos restantes presentan dobletes por pertenecer todos ellos a un sistema AB (Bernstein, Pople y Schneider, 1957). Los valores de las constantes de acoplamiento J encontrados están dentro de los obtenidos para los hidrógenos aromáticos en posición orto en sistemas similares, como las 1,10-fenantrolinas (Carman y Hall, 1964).

No hubo dificultades para asignar los picos correspondientes a los protones alifáticos, todos ellos pertenecientes a sustituyentes, en la forma que se indica en la tabla III. Esta asignación se confirmó por el estudio de los espectros de los otros alcaloides y en especial del cloruro de queleritina.

Tabla III

Valores de δ para los protones alifáticos del cloruro de sanguinarina

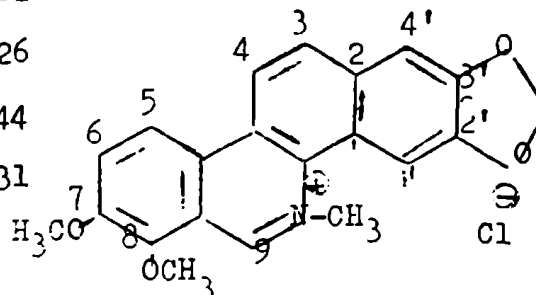
<u>Grupo</u>	<u>δ</u>
(+) N-CH ₃	5.05
CH ₂ O ₂ (2',3')	6.28
CH ₂ O ₂ (7,8)	6.52

Teniendo en cuenta la identidad del esqueleto aromático del cloruro de queleritrina con el cloruro de sanguinarina resulta lícito considerar que ambos tendrán la misma distribución de valores para los índices de carga, por lo cual se asignaron directamente los picos a los distintos protones tal como se indica en la tabla (ver también esquema I).

Tabla IV

Valores de δ para los protones del cloruro de queleritrina

<u>r</u>	<u>δ</u>	<u>τ (cps)</u>	<u>Grupo</u>	<u>δ</u>
4'	7.57(s)		(\ddagger) N-CH ₃	5.12
1'	8.14(s)		CH ₃ O (7)	4.26
5	8.22(d)	9.6	CH ₃ O (8)	4.44
3	8.25(d)	9.6	CH ₂ O ₂	6.31
4	8.64(d)	9.6		
6	8.71(d)	9.6		
9	9.87(s)			



Cloruro de queleritrina

La circunstancia que los protones del grupo metilendioxi 2', 3' de la queleritrina dieran en el espectro un pico con valor de δ 6.31, justifica admitir que el pico en δ 6.28, en el caso del cloruro de sanguinarina, corresponde a los protones del mismo grupo en idéntica posición (2', 3') y por lo tanto el pico en δ 6.52 de este último alcaloide debe asignarse al otro grupo metilendioxi, que se

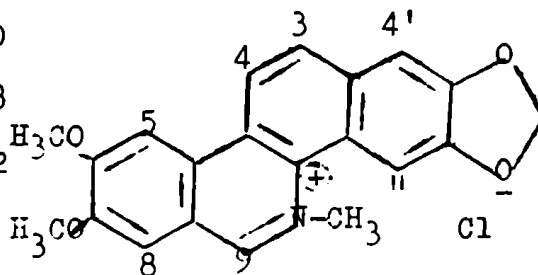
encuentra sustituyendo los carbonos 7 y 8.

Empleando un razonamiento similar, se pudo efectuar la correlación entre los picos correspondientes a protones aromáticos encontrados en el espectro del cloruro de nitidina y su distribución en los carbonos de dicha base. Los resultados se indican en la tabla V.

Tabla V

Valores de δ para los protones del cloruro de nitidina

<u>Núcleo</u>		<u>Sustituyentes</u>		
<u>r</u>	<u>δ</u>	<u>J (cps)</u>	<u>Grupo</u>	<u>δ</u>
4'	7.55(s)		$(\text{N}^+)-\text{CH}_3$	5.05
8	7.80(s)		CH_2O_2	6.30
1'	8.14(s)		CH_3O (7)	4.28
5	8.26(s)		CH_3O (6)	4.32
3	8.21(d)	8.5		
4	8.57(d)	9		
9	9.42(s)			



Cloruro de nitidina.

La asignación de picos a los protones correspondientes a las posiciones 1', 4', 3, 4 y 9 es obvia, cuando se los correlaciona con los similares del espectro del cloruro de queleritrina.

Al protón ubicado en el carbono 5, se asignó el singlete en δ 8.26, porque tiene un valor similar al del doblete asignado al protón en esa misma posición en el caso del cloruro de queleritrina, en esa base aparece en forma de doblete por existir un hidrógeno en

el carbono vecino. Hemos asignado el pico en δ 7.80 al protón en la posición 8 por exclusión, al ser el único pico nuevo que se encuentra en el espectro.

El espectro del cloruro de nitidina presenta dos picos en δ 4.28 y 4.32 correspondientes a tres protones cada uno que, evidentemente, corresponden a los grupos metoxilo. La comparación de estos valores con los obtenidos para los dos metoxilos del cloruro de queleritrina (ver tabla VI) permite razonablemente suponer que al metoxilo en posición 7 corresponde en la nitidina el pico en δ 4.28 y por lo tanto, el pico en δ 4.32 corresponde a la posición 6, justificándose que a los protones del grupo metoxilo en la posición 8 del cloruro de queleritrina les corresponda el pico en δ 4.44.

Tabla VI

Asignación de los picos a los grupos metoxilo

<u>Cloruro de queleritrina</u>		<u>Cloruro de nitidina</u>	
<u>δ</u>	<u>Posic.</u>	<u>δ</u>	<u>Posic.</u>
4.26	7	4.28	7
4.44	8	4.32	6

Como un complemento se efectuó el espectro de resonancia magnética nuclear del pseudo cianuro de queleritrina en las mismas condiciones que los anteriores.

Se observaron una serie de desplazamientos que se deben, fundamentalmente a la circunstancia que el átomo de nitrógeno, que

en el cloruro de queleritina forma parte del sistema aromático, pertenece en el pseudo cianuro a un sistema alifático, quedando un sistema naftalénico y uno bencénico conjugados. Si bien se fija un protón sobre el nitrógeno del pseudo cianuro disuelto en ácido trifluoroacético la falta de conjugación del nitrógeno no permite que se transmita la influencia de esta carga.

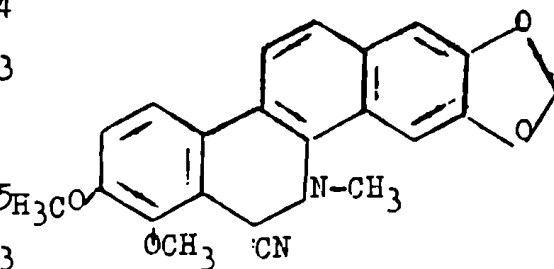
Los protones aromáticos que en los cloruros de las bases cuaternarias se encontraban entre δ 7.5 y 8.8 se han desplazado, en el pseudo cianuro, hacia un campo magnético mayor y se encuentran en la zona entre δ 7.4 y 8.1.

La integración indicó la presencia de seis protones aromáticos pero no fue posible efectuar asignaciones particulares debido a que los picos no aparecen resueltos.

También están desplazados los protones pertenecientes a los sustituyentes, pero en este caso fue posible efectuar las asignaciones indicadas en la tabla VII.

Tabla VII

<u>Grupo</u>	<u>Cloruro</u>	<u>Pseudo cianuro</u>
H_3O (7)	4.26	4.24
CH_3O (8)	4.44	4.13
(+)	.	.
N-CH_3	5.12	3.45
CH_2O_2	6.31	6.23
H (9)	9.87	6.51

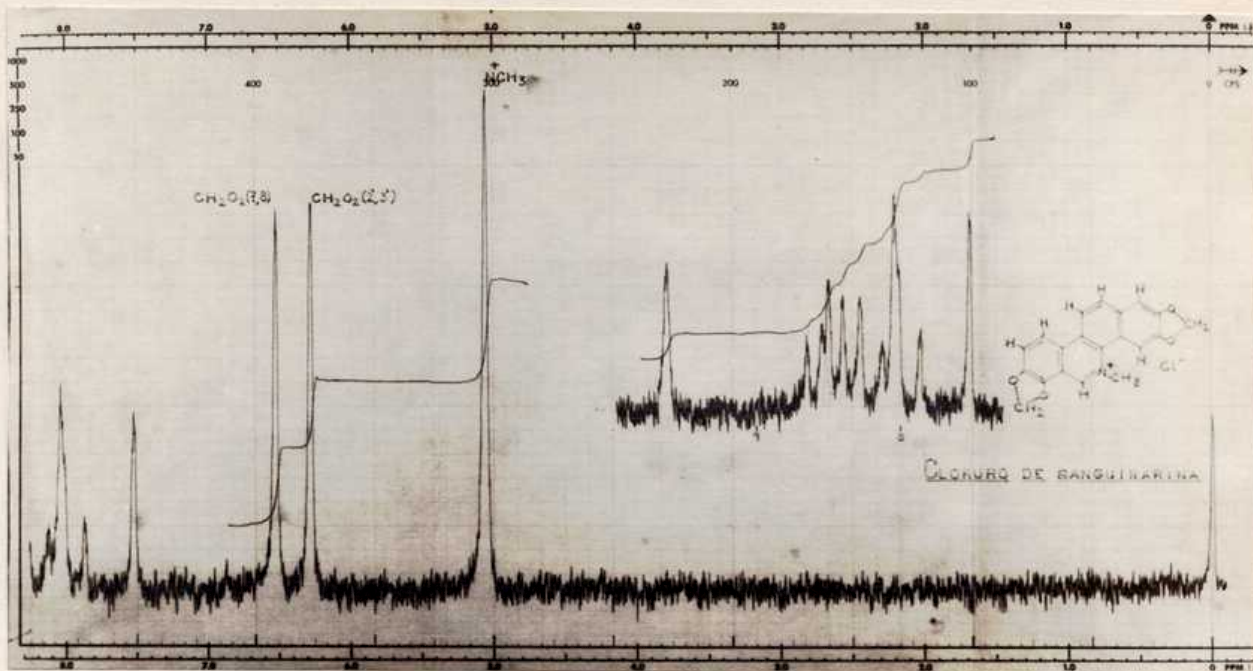


Pseudo cianuro de queleritina

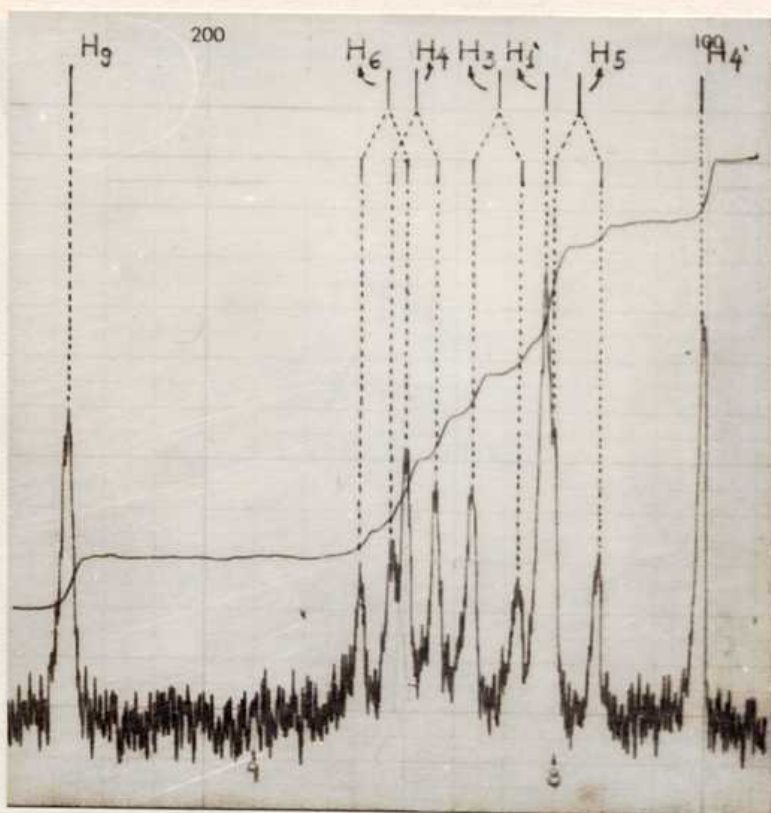
Los protones más desplazados son los pertenecientes al grupo metoxilo en la posición 8; aparentemente la vecindad del grupo nitrilo modifica en forma más profunda el efecto de pantalla sobre los protones de este metoxilo que sobre los ubicados en el metoxilo de la posición 7.

El gran desplazamiento observado para los protones del $N-CH_3$ es un resultado de haber dejado de pertenecer el nitrógeno al sistema aromático.

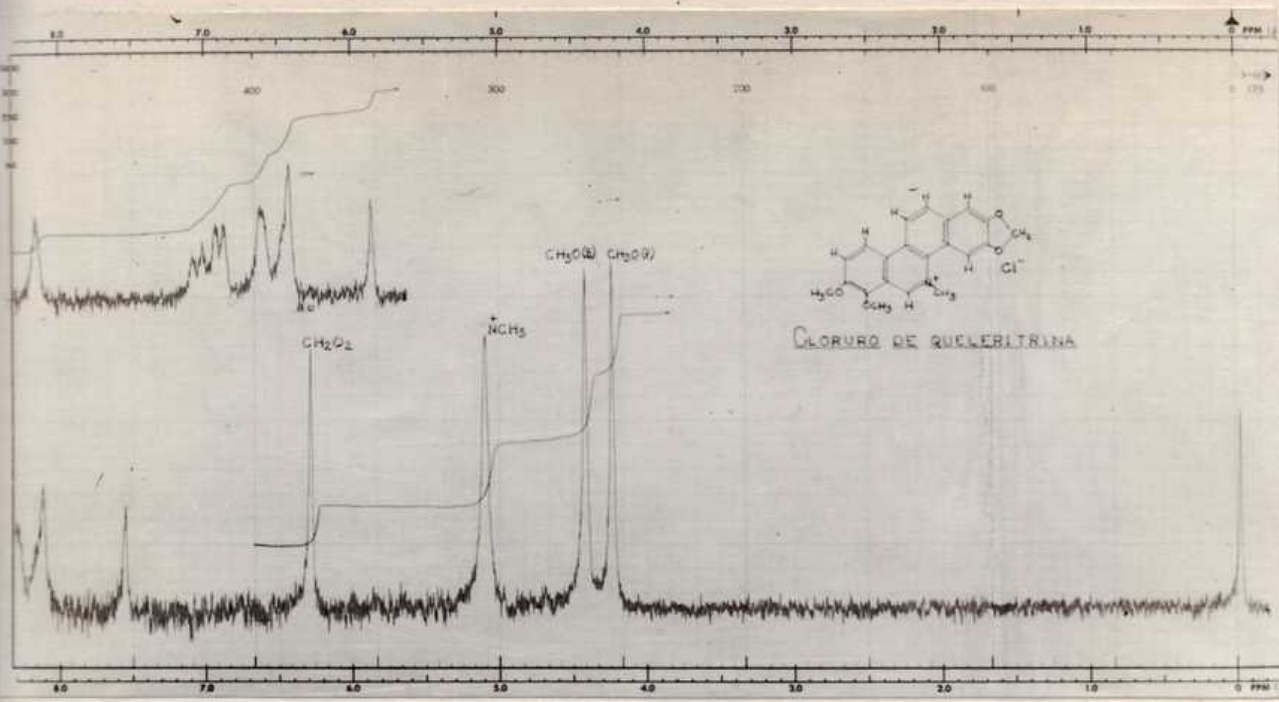
También ha perdido su carácter aromático el carbono 9 para transformarse en alifático, por lo tanto se encuentra para el protón unido a ese carbono, un valor de δ igual a 6.51.



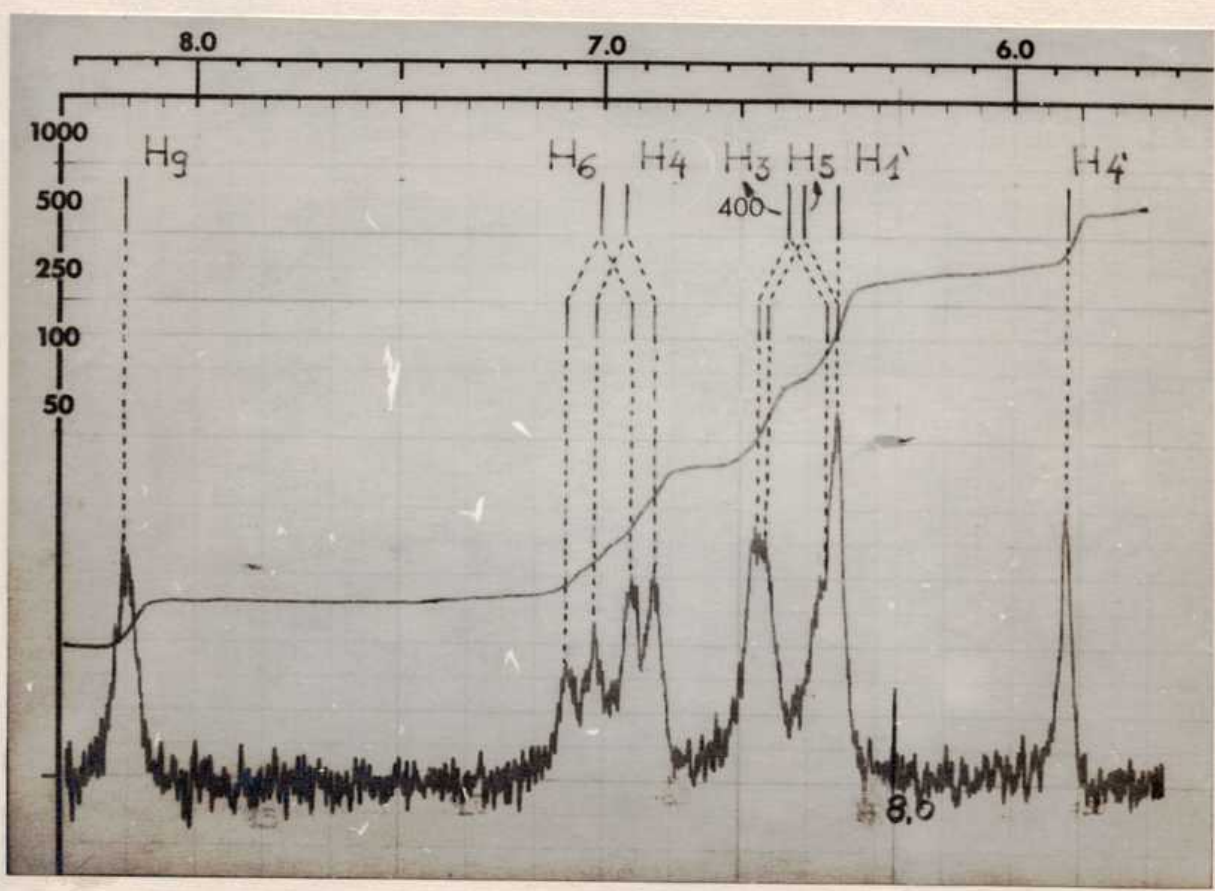
Espectro de R.M.N. del cloruro de sanguinarina



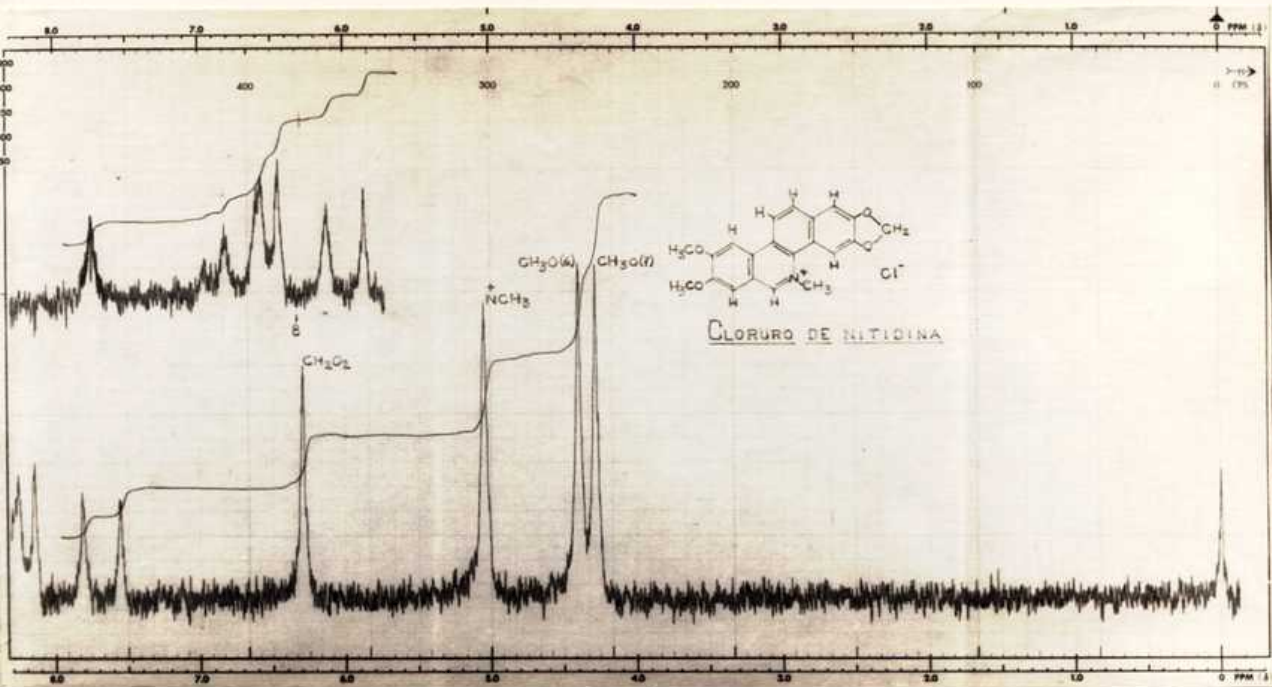
Señales correspondientes a los protones aromáticos



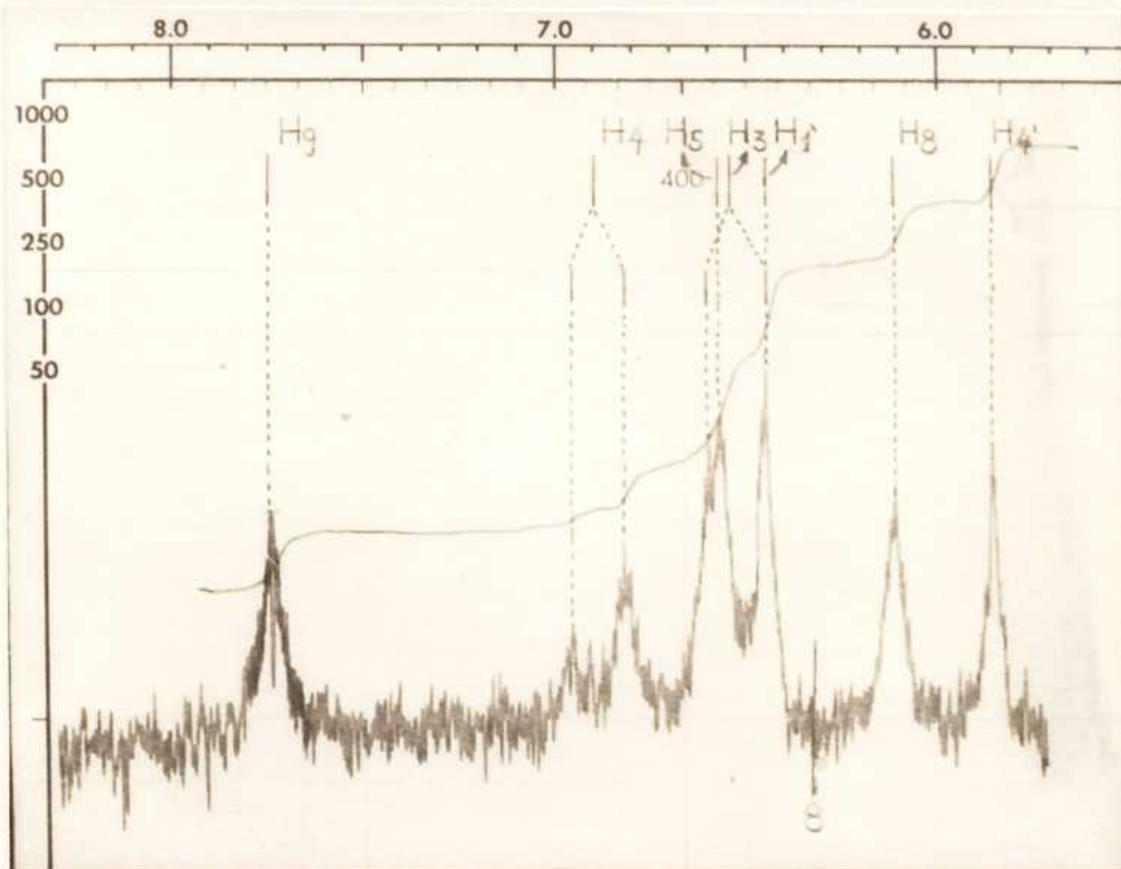
Espectro de R.M.N. del cloruro de quelertina.



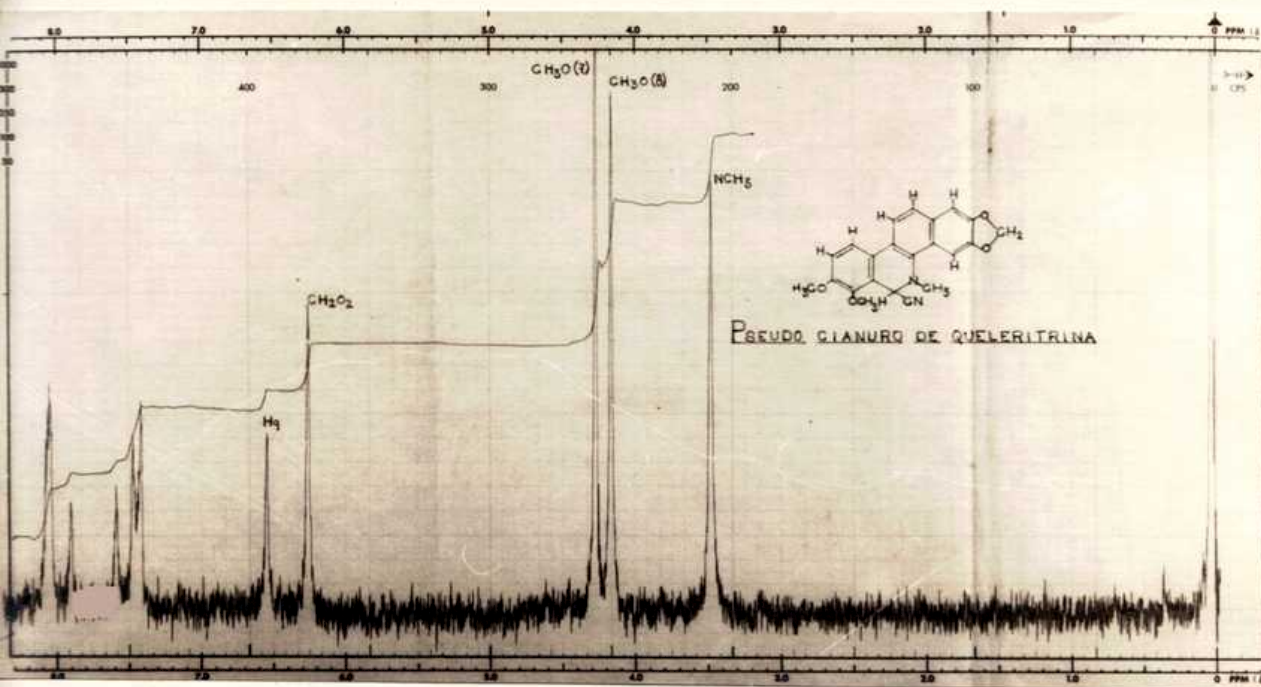
Señales correspondientes a los protones aromáticos.



Espectro de R.M.N. del cloruro de nitidina



Señales correspondientes a los protones aromáticos.



Espectro de R.M.N. del pseudo cianuro de queleritina.

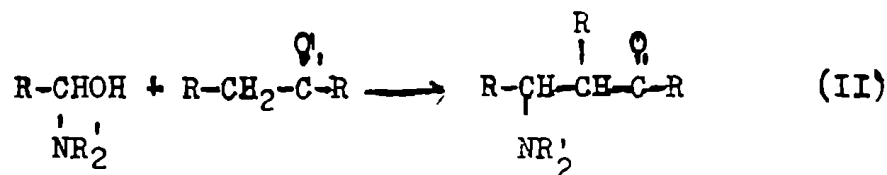
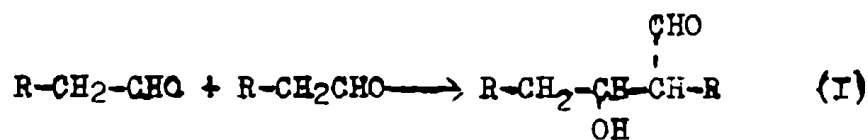
BIOGENESIS DE LOS ALCALOIDES BENZOFENANTRIDINICOS

Desde que comenzaron a aislarse de los vegetales las bases alcaloídicas, hubo inquietud por conocer cuales eran los antecesores que daban lugar a su formación en las plantas, así como las transformaciones que sufrían posteriormente. Inicialmente se pensó que podría haber cierta relación entre las reacciones que se utilizaban en el laboratorio para su síntesis y el camino biogénico de formación de las mismas. Ya en 1906 Pictet sugirió esa semejanza, en particular para los alcaloides del tabaco. Cuatro años después Winterstein y Trier (1910) formularon un esquema biogénico para estas sustancias con la participación de los amino ácidos como unidades iniciales. En base al mismo, Robinson (1917) elaboró posteriormente su teoría sobre biogénesis de alcaloides.

La teoría de Robinson (1917) consiste en considerar que en los vegetales se utilizan caminos biogénicos con cierta similitud a los empleados en la síntesis orgánica. Robinson juzgó que la existencia de la gran variedad y complejidad de las síntesis realizadas en las plantas, puede explicarse por la reactividad que poseen los productos intermediarios que participan en las mismas. A su juicio los procesos fundamentales que permiten la unión de estructuras carbonadas entre sí serían dos: la condensación aldólica (I) y la condensación de carbinol amins con hidrógenos ubicados en posición α a un carbonilo (II); además pueden participar procesos secundarios de oxidación, reducción, metilación, nitrilación, deshidratación, etc.

Mediante el empleo de estos procesos propuso caminos

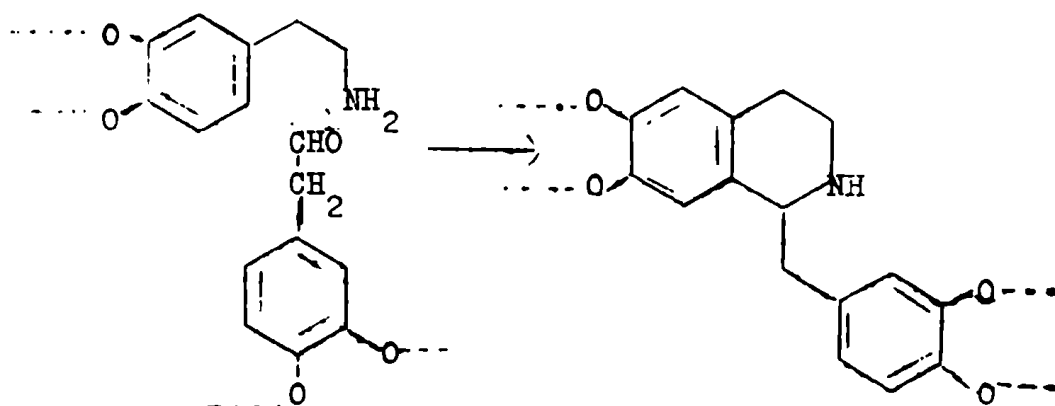
para la formación de varios grupos de alcaloides, a partir de hidratos de carbono y amino ácidos.



Estas ideas fundamentales fueron modificadas con el tiempo, tomando en cuenta las pruebas aportadas experimentalmente por muchos investigadores, y condensadas en su libro "The structural relations of natural products" (1955). Posteriormente Barton y Cohen (1957) propusieron, además de los mencionados, otro mecanismo de unión carbono a carbono originado en la oxidación de fenoles.

Al considerar la biogénesis de alcaloides nos vamos a restringir exclusivamente a la formación de las bases benzofenantridínicas y a la de aquellas cuya biogénesis esté directamente relacionada con la de las mismas.

La formación de la estructura básica de los alcaloides bencil-isoquinolínicos fue interpretada en términos esquemáticos como un resultado de la condensación de una fenil-etil-amina con un fenil-acetaldehído= Ambas sustancias tendrían su origen en los amino ácidos aromáticos fenil alanina y tirosina.



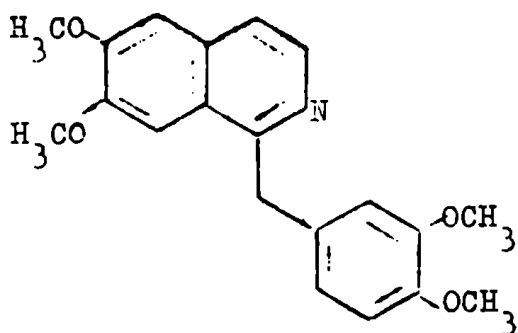
Pictet y colaboradores habían empleado una reacción similar a la indicada, para la síntesis de la laudanosina y la papaverina (Pictet y Finkelstein, 1909 a,b; Pictet y Gams, 1909;). Posteriormente diversos autores realizaron síntesis similares en condiciones más suaves, cercanas a las existentes en los vegetales Hahn y Schales, 1935; Späth, Kuffner y Keszler, 1936; Hahn y Stichl, 1936; Schöpf, 1937; Hahn y Rumpf, 1938; Schöpf y Salzer, 1940.

La primera comprobación experimental de la utilización de los amino ácidos, en la biogénesis de los alcaloides bencil-isoquinolínicos propiamente dichos, se realizó utilizando tirosina radiactiva y comprobando su incorporación a la papaverina (III) formada en el Papaver somniferum L. (Battersby y Harper, 1959, 1962; Kleinschmidt y Mothes, 1959).

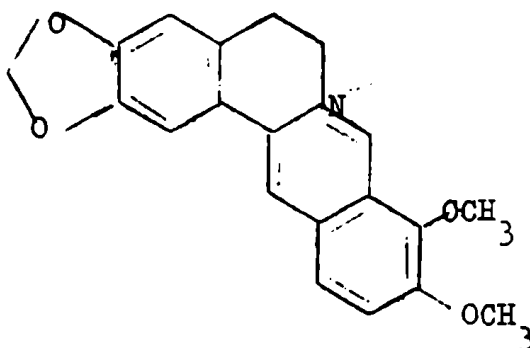
En esa misma época Gear y Spenser (1961, 1963) demostraron por administración de los mismos amino ácidos (fenil alanina y tirosina) a Hydrastis canadensis L., que ambos son precursores de la berberina (IV), un alcaloide bencil-isoquinolínico más evolucionado. Señalaron que por cada molécula de alcaloide formado, intervienen dos unidades de uno de los amino ácidos anteriores. Cuando se emplea tirosina-2-¹⁴C como precursor, la misma se incorpora a la berberina en mayor proporción que la fenil-etil-amina, lo cual indica que la

formación del alcaloide a partir de este amino ácido, es más rápida que la transformación de la fenil-etil-amina en tirosina.

Los carbonos radioactivos de los amino ácidos se encuentran en las posiciones 6 y 14 de la berberina (IV) de acuerdo con lo sugerido por las hipótesis anteriores.

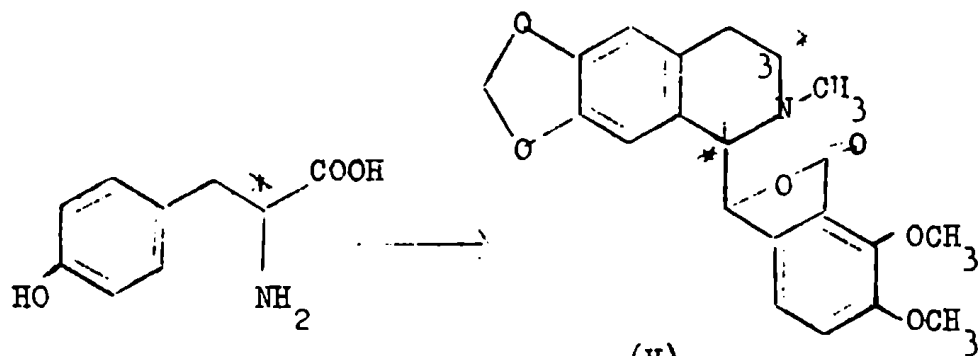


(III)



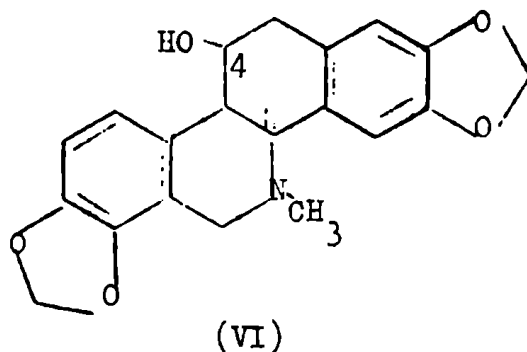
(IV)

Los mismos autores (1961) demostraron también, que en algunos casos, existe una diferencia de utilización entre las dos unidades de un mismo amino ácido que se incorporan para la formación de la estructura bencil-isoquinolinica. En Hydrastis canadensis L. la magnitud de incorporación del carbono radiactivo de la tirosina-2- ^{14}C en las posiciones 1 y 3 de la hidrastina (V) es de 39 y 61% respectivamente. Esto es una prueba en apoyo de la hipótesis lógica, que la etapa de condensación de las dos moléculas de tirosina está precedida por modificaciones estructurales de las mismas.



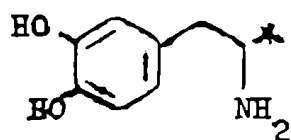
(V)

Sin embargo, un aspecto no muy claro de esta hipótesis es que si bien la magnitud de incorporación del carbono radiactivo de la tirosina 2- C^{14} en las posiciones 11 y 4 de la quelidonina (VI) (Leete, 1963), que corresponde, según se fundamentará posteriormente a las posiciones 1 y 3 de la hidrastina, es idéntica a la señalada para esta última (39.61); en la berberina la relación de actividades de los carbonos 14 y 6 (que corresponden según la teoría de Robinson (1965) a las mismas posiciones de la hidrastina), es aproximadamente 1:1, variando algo en función del tiempo transcurrido entre la administración del precursor a la planta y el aislamiento del alcaloide (Spenser y Gear, 1962 b; Gear y Spenser, 1963).

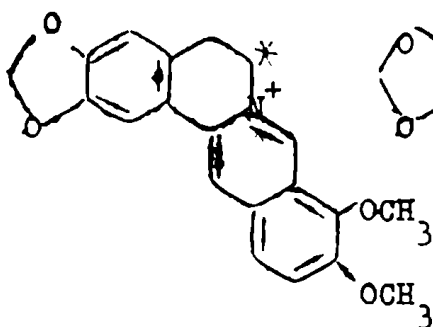


La suposición que las dos moléculas de tirosina sufren modificaciones distintas encontró apoyo, para el caso de la berberina (IV) y la hidrastina (V), en las experiencias realizadas por Spenser y Gear (1962 a) y Monkovic y Spenser (1964, 1965 a,b), puesto que solamente una molécula de dopamina-1- C^{14} (VII) fue utilizada por la Hydrastis canadensis L. para la formación de estas bases. Toda la radioactividad de los alcaloides formados se encontró que estaba contenida por el carbono 6 de la berberina y por el carbono 3 de la hidrastina. Es evidente que los carbonos que según las

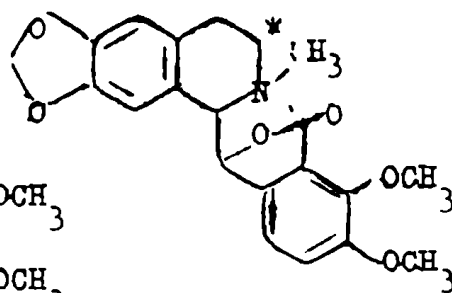
experiencias descritas anteriormente, provienen de la otra molécula de tirosina, siguen un camino metabólico diferente.



(VII)

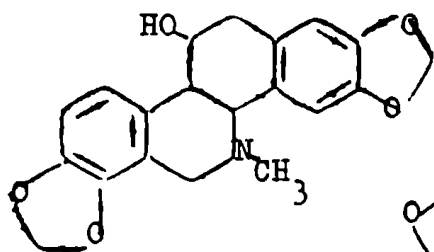


(IV)

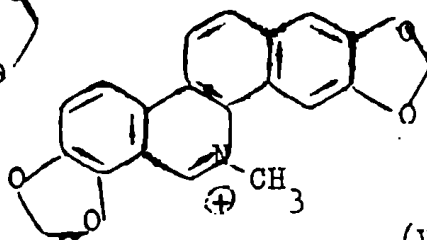


(V)

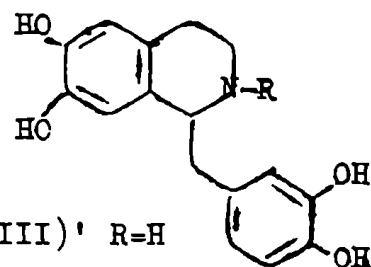
La formación de otros alcaloides más complejos de este grupo a partir también de tirosina como precursor fue demostrada por Leete (1963) para el caso de la quelidonina (VI) y la sanguinarina (VII'), problema sobre el cual se volverá posteriormente.



(VI)



(VIII)

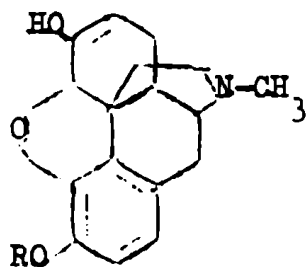


(VIII)' R=H

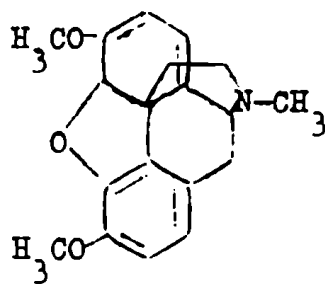
(VIII)'' R=CH₃

En la misma época varios investigadores demostraron la incorporación de ^{met}laudanosolina (VIII)' o sus derivados O y N sustituidos, que según la teoría de Robinson serían intermediarios entre

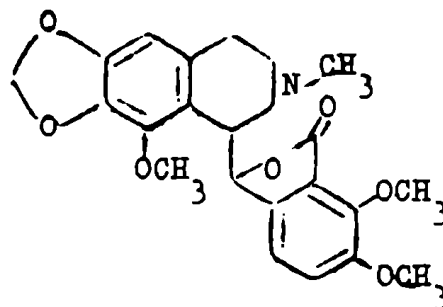
los amino ácidos y los alcaloides finales, entre otras bases bencil-isoquinolónicas como la morfina (IX) (Battersby y Binks, 1960; Barton Kirby, Steglich y Thomas, 1963), la codeína (X), la tebaína (XI) (Battersby, Binks, Foulkes, Francis, Mc Caldin y Ramuz, 1963) y la narcotina (XII) (Battersby y Mc Caldin, 1962), ésta última vinculada a la hidrastina (V) que mencionáramos anteriormente.



(IX) R=H

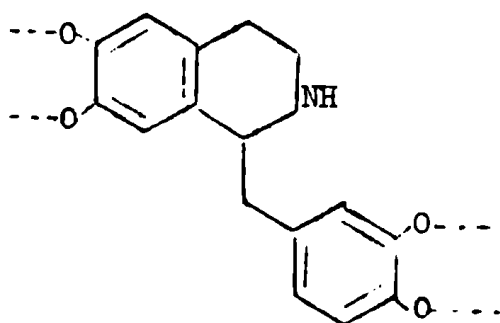
(X) R=CH₃

(XI)

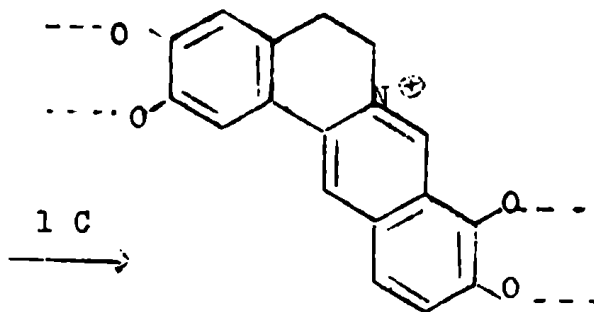


(XII)

La inspección de la estructura del esqueleto de los alcaloides bencil-isoquinolónicos (XIII) y berberínicos (XIV) tetrasustituídos muestra que, en sus aspectos formales, los segundos derivan de los primeros por simple adición de un átomo de carbono entre el nitrógeno y el carbono 2' de los primeros. Este carbono suele denominarse "carbono puente" o "carbono berberínico".



(XIII)

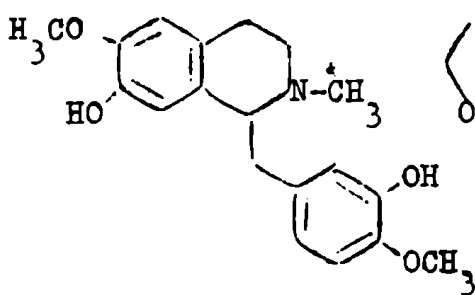


(XIV)

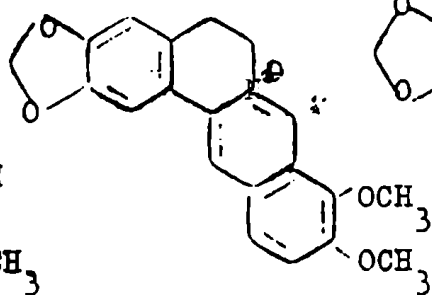
El origen del mismo fue aclarado por experiencias realizadas simultáneamente por Barton, Hesse y Kirby (1963) y por Battersby, Francis, Hirst y Staunton (1963). Ambos grupos demostraron que dicho carbono tiene su origen inmediato en el grupo N-metilo presente en las bases bencil-isoquinolínicas precursoras de los alcaloides berberínicos. En el trabajo nombrado en primer término se utilizó reticulina como precursor, la cual estaba marcada en la posición señalada en (XV) mientras que, en la segunda publicación se administró laudanosolina radiactiva (XVI).

Cuando se administró reticulina (XV) marcada a Hydrastis canadensis L. y se aisló de la misma berberina (IV), su degradación sistemática mostró que el "carbono puente" se originaba en el grupo N-metilo de la primera base. A su vez la laudanosolina radiactiva (XVI) conducía, en Berberis japonica R. Br. a una berberina (IV) que tenía la misma radioactividad en ese carbono con respecto a la del carbono 6, que el precursor original con respecto a la del carbono 3.

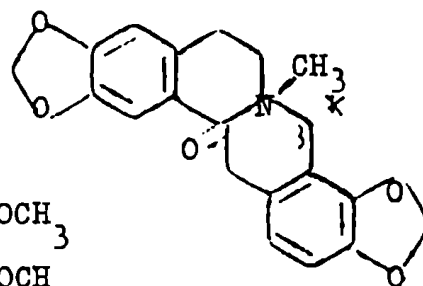
Esta reticulina fue administrada también a Dicentra spectabilis Lem (Barton, Hesse y Kirby, 1963) de donde se aisló protopina (XVII) marcada en el carbono 8, lo cual demostró un origen común con el carbono 8 de la berberina y dió apoyo experimental a la hipótesis, formulada en varias oportunidades, que los alcaloides berberínicos y protopínicos están estrechamente relacionados desde el punto de vista biogénico. El carbono N-metilo de la berberina carecía de radioactividad mostrando un origen diferente.



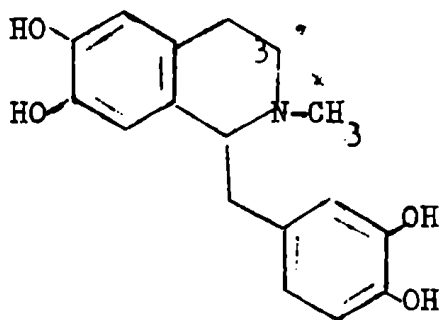
(XV)



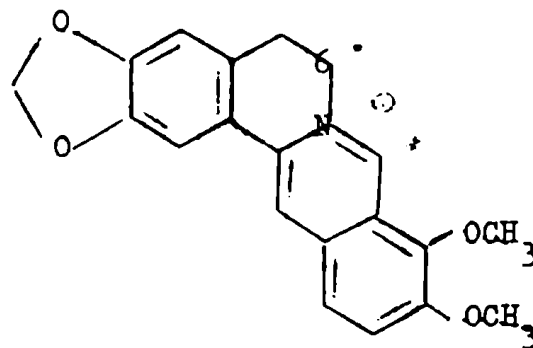
(IV)



(XVII)



(XVI)



(IV)

Para hacer congruentes los resultados anteriores con las experiencias de Gupta y Spenser (1963, 1965), quienes encontraron que el carbono 8 de la berberina provenía de la metionina, debe admitirse, lo que no ha sido demostrado experimentalmente, que el grupo N-metilo de los precursores de la berberina (IV) y la protopina (XVII), tanto en el caso de la reticulina (XV), como de la laudanosolina (VIII)'' o de un compuesto N-metilado similar, debe originarse en dicho amino ácido.

La capacidad de este amino ácido para metilar el nitrógeno de otros alcaloides bencil-isoquinolínicos que tienen un origen biogénico común con los anteriores, ha sido demostrado para el caso de la morfina (IX) (Battersby y Harper, 1958), lo cual hace

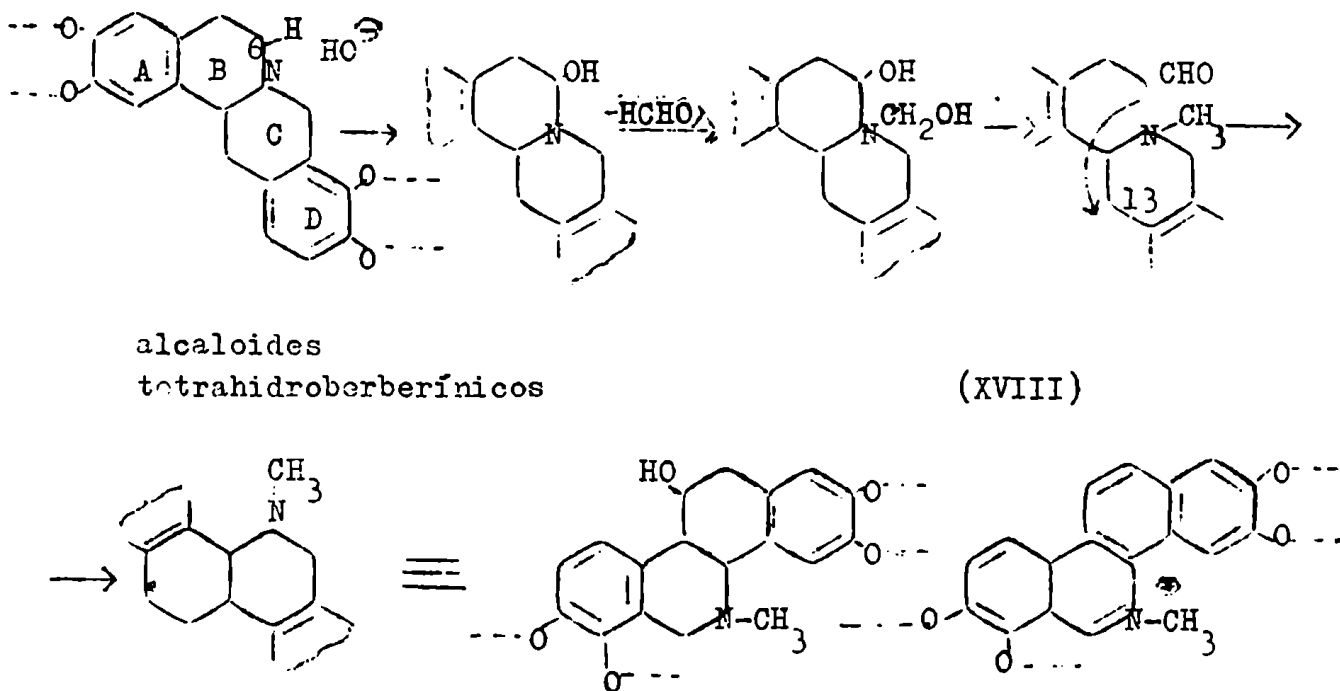
razonable extender el mecanismo a los casos anteriores.

Cuando se aclaró la estructura de los alcaloides benzofenantridínicos, algunos de los cuales se han aislado de la Bocconia pearcei Hutch. estudiada por nosotros, varios investigadores percibieron con claridad que, a pesar de su aparente diferencia con las bases del tipo de las berbinas, existía una relación bastante estrecha entre ambos grupos, los cuales incluso podrían transformarse uno en otro por reacciones no muy complejas.

Los primeros en formular un esquema fueron Bruchhausen y Bersch (1930) (cuadro I)

CUADRO I

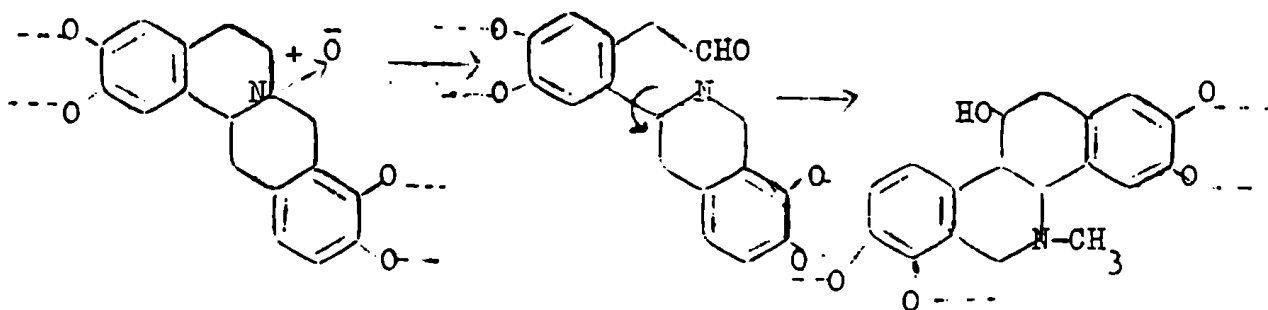
Teoría biogénica de Bruchhausen y Bersch



Alcaloides benzofenantridínicos (XIX)

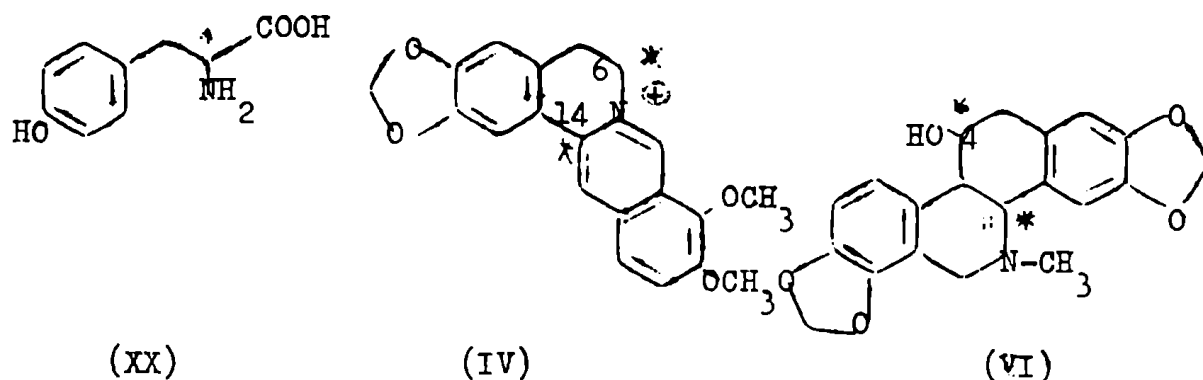
La base fundamental de la teoría consiste en aceptar que la unión entre el carbono 6 del esqueleto de la tetrahydroberberina con el nitrógeno, pueda romperse para dar un aldehído (XVIII) el carbono con la función aldehído se uniría al carbono 13 formándose así el esqueleto carbonado de los alcaloides benzofenantridínicos (XIX). La única exigencia para esta unión es la rotación de 180° sobre la unión entre los dos ciclos A y C, hecho común en reacciones químicas similares. Procesos anteriores o posteriores de oxidación y reducción darían lugar a los diferentes grupos conocidos de alcaloides y a las distintas formas de sustitución oxigenada.

Este mecanismo de formación de las bases benzofenantridínicas ha sido adoptado por todos los autores posteriores, quienes han tratado más bien de explicar la reacción desencadenante de esas transposiciones. Una de las propuestas interesantes, que no tiene por el momento apoyo experimental, es la de Wienkert (1954) quien considera como intermediario a un N-óxido y formula el esquema de reacciones que se han resumido a continuación.



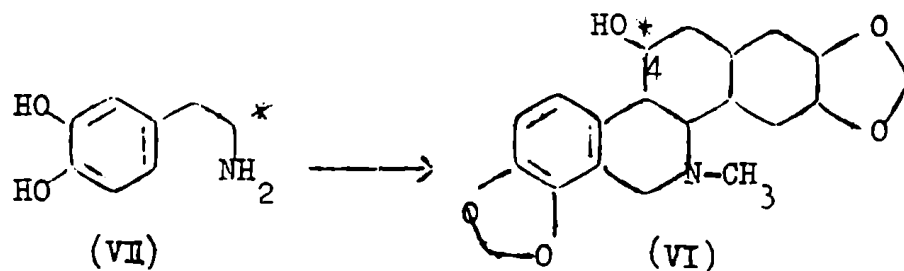
Las líneas generales de la teoría de Bruchhausen y Borsch tuvieron apoyo experimental en las experiencias realizadas por

Spenser y Gear (1962 b) y por Leete (1963). Ya hemos mencionado que los primeros autores demostraron que el átomo de carbono 2 de la tirosina (XX) aparece en los carbonos 6 y 14 de la berberina (IV); a su vez Leete administró el mismo precursor al Chelidonium majus L.



hallando que en la quelidonina (VI) aislada, la radioactividad se encontraba en los carbonos 4 y 11, lo cual puede explicarse mediante el reordenamiento propuesto por Bruchhausen y Bersch, puesto que el carbono 4 corresponde, si éste se produce, el carbono 6 de la berberina y la posición carbono 11, al carbono 14 de la última base.

Otra prueba en favor de este postulado fue aportada por el trabajo realizado por Leete y Murrill (1964) donde se observó la incorporación de una sola molécula de quelidonina (VI) en forma similar a lo ya indicado para la hidrastina (V) y la berberina (IV); la radioactividad provenía del carbono 4 en completo acuerdo con la teoría de Bruchhausen y Bersch.



Estos resultados han sido confirmados y ampliados por Battersby, Francis, Rúveda y Staunton (1965) empleando reticulina marcada en varios lugares y en algunos casos en forma diferencial, tal como se indica en la fórmula (XXI) y en la tabla II.

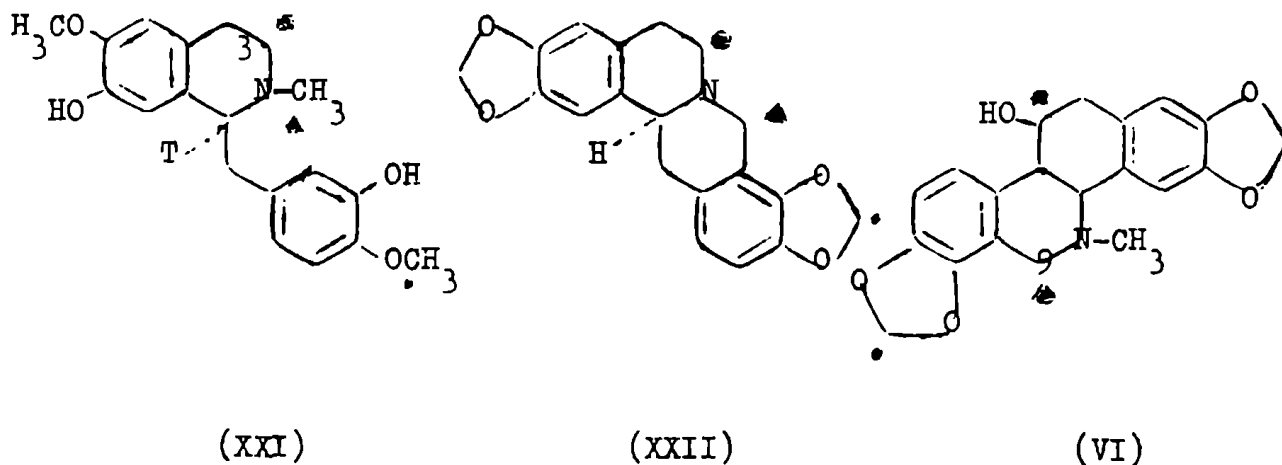


Tabla III

	<u>Actividades relativas (^{14}C)</u>		
	●	▲	◆
Reticulina (XXI)	0.76	0.11	0.13
Estilopina (XXII)	0.73	0.10	0.13
Quelidonina (VII)	0.77	0.10	0.13

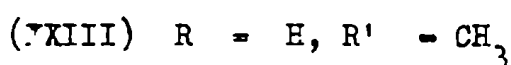
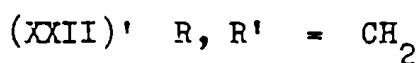
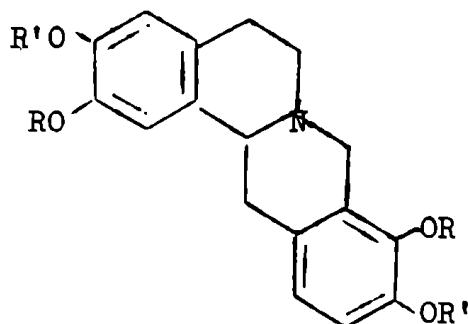
La estilopina (XXII) aislada contenía los átomos marcados en las posiciones esperadas, el N-metilo de la reticulina había formado el carbono 8 ("carbono puente") y el carbono 3 había pasado a ser el carbono 6 de la primera base.

En la quelidonina (VI) las posiciones 4 y 9 eran radioactivas y conservaban la misma relación de actividades que los carbonos de las posiciones 2 y 3 de la reticulina original y 6 y 8 de la

estilopina.

Estos resultados quedaron además confirmados por la posición ocupada por el grupo metilendioxi radioactivo en la quelidonina el cual solamente podía originarse en el metoxilo marcado del carbono 4' de la reticulina.

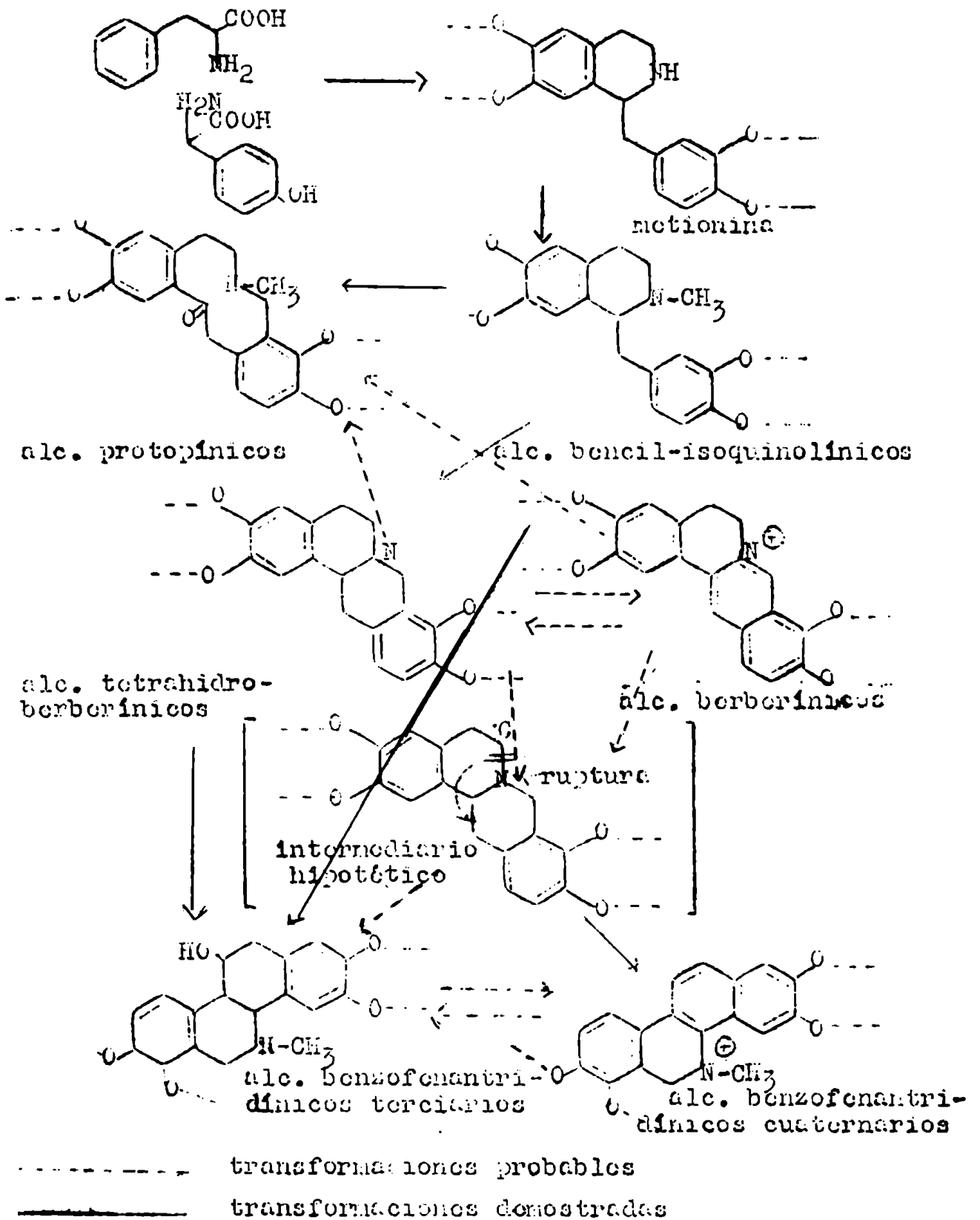
Los mismos autores demostraron, mediante el empleo de estilopina (XXII)' y escoulerina (XXIII) marcadas, que ambas son precursoras de la quelidonina y por lo tanto estarían situadas, en el camino biogénético, entre ésta y la reticulina.



La coexistencia de alcaloides benzofenanthridínicos y berberínicos en muchas especies, así como las experiencias descritas son evidencias en favor de que ambas sustancias tienen un precursor común.

Sobre la base de las experiencias discutidas anteriormente se puede formular a grandes rasgos un esquema biogénético de varios grupos de alcaloides, el cual se indica a continuación.

Esquema biogénético de los alcaloides benzofenantridínicos y relacionados



CAPITULO IIILOS ALCALOIDES DE LOS GNEROS BOCCONIA Y MACLEAYA

La distribución de ciertas sustancias orgánicas de peso molecular bajo, a veces denominadas sin total acuerdo, productos metabólicos secundarios, está interesando cada vez más no solamente a los químicos, sino también a los botánicos, por la correlación que puede efectuarse entre la clasificación botánica, basada en determinado número de elementos estructurales del vegetal, y la presencia o ausencia de sustancias específicas del tipo mencionado.

Las sustancias que pueden utilizarse para intentar estas correlaciones deben tener una distribución relativamente limitada en los vegetales, puesto que de ser común a un número grande de especies, perdería su valor taxonómico. Por esta razón, y lo mencionamos a título de ejemplos, algunos estudiosos de estos temas han tomado en cuenta sustancias como los hidrocarburos componentes de las ceras vegetales; ciertos ácidos grasos con grupos químicos muy característicos (por ejemplo la triple ligadura); determinados terpenos y sus glicósidos; sustancias heterocíclicas como cumarinas, flavonoides y alcaloides; productos de estructura muy particular y de distribución muy restringida (por ejemplo hipericina).

Los alcaloides, cuya distribución está limitada a ciertas familias botánicas, constituyen uno de los grupos de sustancias que se están utilizando en las tentativas que se efectúan para

correlacionar ciertos aspectos de la taxonomía vegetal, con la presencia de tipos particulares de estas sustancias en las plantas.

La familia Papaveraceae (orden Rhocadales), a la cual pertenece la Bocconia pearcei Hutch. que es motivo de esta tesis, es rica en alcaloides y sobre sus especies se han efectuado algunos trabajos quimiotaxonómicos. Está compuesta por unos 28 géneros (Engler y Prantl, 1891) que comprenden 675 especies (Williamson y Schubert, 1955). Las especies de esta familia, originaria de las regiones tropicales, se encuentran ampliamente distribuidas en todo el mundo.

Según la documentación existente en el Instituto de Botánica Darwinion, el número de especies de Papaveraceas existentes en el país es de trece, de las cuales la mayoría son adventicias, y se las encuentra ampliamente distribuidas en la zona norte y centro del mismo.

Los alcaloides presentes en las Papaveraceas pertenecen prácticamente todos ellos al grupo bencil-isocuínolínic cuando se lo define en su sentido más amplio. Son excepciones la efedrina y pseudo efedrina hallados en Rocmeria refracta D. C (Konowalowa, Yunusoff y Orekhoff, 1939) y la esparteína descrita por Späth y Kuffner (1931 c) como existente en Chelidonium majus L., aunque estudios posteriores sobre esta última planta no mencionan la presencia de esta base en la misma (Slavík y Slavíková, 1955 a; Säävík 1955; Seoane, 1965).

Dentro de esta familia algunos grupos han sido estudiados desde hace mucho tiempo por razones varias, en especial el

género Papaver de una de cuyas especies, el Papaver somniferum L. se han extraído los alcaloides del grupo de la morfina y papaverina, usados en terapéutica, y el género Corydalis donde se encontraron una gran cantidad de bases naturales, que si bien no tuvieron la aplicación de las anteriores presentaron un gran interés desde el punto de vista químico lo que estimuló su investigación.

El género Bocconia (sub-familia Papaveroidae, tribu Chelidoneae), originario de América Central y la parte de América del Sur, tiene una zona de crecimiento autóctono que llega hasta el norte de nuestro país. Dicho género comprende nueve especies: B. arborea Wats., B. pearcei Hutch., B. frutescens L., B. pubibractea Hutch., B. latisepala Wats., B. integrifolia Humbl., y Bonpl., B. gracilis Hutch., B. glaucifolia Hutch., B. vulcanica J. D. Smith (Hutchinson, 1920).

Taxonómicamente está estrechamente relacionado con el género Macleaya que posee solo dos especies, la M. cordata (Wild) R. Br. y la M. microcarpa (Maxim.) Fedde, originarias de Japón y China respectivamente.

Ambas especies se incluían en un principio en el género Bocconia. En 1826 Robert Brown estimó que la B. cordata Wild., tenía diferencias suficientes con las demás especies como para colocarla en un género aparte que denominó Macleaya. Muy posteriormente Fedde (1905) consideró que la Bocconia microcarpa Maxim., estaba más cerca del género Macleaya que del género Bocconia y la incorporó al primero de ellos (M. microcarpa (Maxim.) Fedde).

A pesar de esta diferencia botánica aparentemente clara, en la bibliografía química se continuaron utilizando ambos nombres, aún en épocas recientes.

En la Argentina crece una sola de las especies de Bocconia, la B. pearcei Hutch. (suncho amargo, pimenton, árbol Lillo). Es un arbusto de dos a cuatro metros de altura, con flores apétalas; que se utiliza como planta ornamental por su aspecto vistoso (Dimitri, 1959).

Está descripta para las provincias de Tucumán, Salta y Jujuy (Latzina, 1937; Devoto y Rothkugel, 1942; Biloni, 1944). Crece además en Bolivia y Perú (Hutchinson, 1920).

Algunos autores han descripto la presencia en la Argentina de otra especie, la B. frutescens L. (Grisebach, 1879), pero se estableció posteriormente que se trataba de la B. pearcei Hutch. (comunicación personal de los Ing. Parodi y Burckart).

Las dos especies de Macleaya y cuatro de las nueve especies de Bocconia han sido estudiadas en su contenido en alcaloides. Los resultados obtenidos se analizan a continuación.

Bocconia frutescens L.- Esta planta, que crece en América continental desde México al Perú y en las islas del Caribe, aparentemente atrajo desde hace tiempo la atención de estudiosos locales, pues Miller (1929) señaló que ya en 1881 Ochoa y Tapia habían publicado un estudio sobre la corteza de la B. frutescens L., señalando la presencia de alcaloides, sin haberlos llegado a identificar. Este trabajo es por lo tanto anterior al que fuera publicado por Battandier (1892) que habitualmente se señala en la

literatura como el primer trabajo sobre esta planta. Battandier señaló que en la B. frutescens L. había alcaloides que daban con el ácido sulfúrico una reacción similar a la fumarina, base caracterizada por Peschier (1832) y que posteriormente resultó ser idéntica a la protopina (Murrill y Schlotterbeck, 1900).

En el mencionado trabajo de Miller (1929) se cita también que Lasso de la Vega publicó en el mismo año que Battandier (1892) un trabajo en el cual daba información más detallada sobre los alcaloides presentes en dicha planta. Señaló la presencia de un glucósido y de dos alcaloides, uno que daba sales rojas y otro sales blancas. Este autor denominó al primero de ellos bocconina.

Battandier realizó su segunda publicación en 1895 en la cual dedicó la mayor parte al estudio químico de B. frutescens L. procedente de Argelia.

Confirmó la presencia de fumarina (protopina) por el aislamiento de su clorhidrato. Señaló que estaba acompañada de un alcaloide incoloro de propiedades similares, que llamó bocconina empleando el mismo nombre que usara Lasso de la Vega para una base coloreada. Consideró a ésta una base nueva, de la cual no pudo hacer el análisis elemental. La bocconina de Battandier fue posteriormente identificada por Murrill y Schlatterbeck (1900) como alocriptopina. Finalmente consiguió aislar cloruro de queleritri-
na en una proporción elevada (0.5%).

No hemos podido revisar los trabajos originales de Ochoa y Tapia (1881) y de Lasso de la Vega (1892) por lo cual no nos ha sido posible determinar exactamente hasta donde habían

llegado estos dos últimos autores en el conocimiento químico de las sustancias aisladas de esta planta.

Aparentemente Greshoff (1898) (Boit, 1960) parecería haber también investigado las bases de la B. frutescens L. La muestra botánica, sin embargo parece haber sido de dudosa identificación. No hemos podido tampoco leer el original de este trabajo.

Años más tarde esta especie fue investigada por Miller (1929) quien hizo un examen de la corteza, que encontró rica en alcaloides, pero cuya separación no profundizó. También estudió las hojas de la misma planta y en estas llevó a cabo la caracterización de los alcaloides aislados estableciendo que las dos bases incoloras correspondían a protopina y alocriptopina, sospechó que una base que daba sales de color amarillo, pero que no purificó, pudiera ser queleritrina.

En resumen, la B. frutescens L. contiene con seguridad queleritrina, protopina y alocriptopina. Miller (1929) encontró estos dos últimos en las hojas. Los demás autores no indican desgraciadamente la parte de la planta investigada. Puede señalarse también la posible, aunque no demostrada presencia de sanguinari-na.

Bocconia arborea Wats.- Esta planta fue estudiada por Manske (1943) quién trabajó con hojas y troncos en forma separada.

Con respecto a las hojas solo menciona que el contenido en alcaloides es muy pequeño.

En la mezcla de leño y corteza Manske caracterizó químicamente el alcaloide benzofenantridínico queleritrina y los

alcaloides protopínicos, protopina y alocriptopina. Describió además la presencia en esta planta de tres compuestos nitrogenados que no tienen naturaleza básica, que denominó A, B y C sobre cuyas estructuras no se ha podido encontrar ulterior información en la literatura.

Posteriormente el mismo autor detectó, por cromatografía, la presencia de sanguinarina, en una muestra de queleritrina aislada de esta planta (Manske, 1960).

Bocconia pearcei Hutch.- La Bocconia pearcei Hutch. fue estudiada, en cuanto a su contenido en alcaloides, por Maccio (1946) quien encontró que las hojas y tallos descortezados tenían un contenido muy bajo en bases; investigó la corteza, de donde obtuvo, en su caso particular, un rendimiento de 1.1% de clorhidratos.

El rendimiento que menciona se refiere a cristales de color anaranjado intenso cuyo punto de fusión no indica, los cuales, disueltos en agua y tratados con amoníaco, daban una solución que extraída con cloroformo permitió obtener por evaporación un residuo blando el cual, después de purificado, dió un p.f. 198-205°.

Como posteriormente Manske (1954) encontró queleritrina en esta planta es muy probable que los cristales anaranjados fueran, por lo tanto, el cloruro de esa base, que según la literatura funde a 213-214° (desc.) (Slavík y Slavíková, 1960) y que los incoloros fueran de la correspondiente base carbonólica, cuyo punto de fusión es de 207-208° (Slavík y Slavíková, 1960).

Manske (1954) estudió una mezcla de alcaloides totales

de la B. pearcei Hutch. preparada por Maccio y confirmó la presencia de queleritrina por preparación de su pseudo cianuro y señaló la casi segura presencia de sanguinarina, aunque no aportó pruebas de su aislamiento. En la porción básica, que no produjo pseudo cianuros por el tratamiento habitual, caracterizó protopina como base y como nitrato, y alocriptopina por aislamiento directo.

Los resultados obtenidos en nuestros estudios sobre las bases presentes en la B. pearcei Hutch., que se indican en la parte final de este capítulo con el subtítulo "Separación e identificación de los alcaloides de las Bocconia pearcei Hutch." lo cual permite agregar a los alcaloides antes mencionados, los siguientes: al grupo de las bases benzofenantridínicas puede añadirse la presencia segura de sanguinarina, hasta ahora solo mencionada como probable (Manske, 1954), el hallazgo de quelirrubina y la presencia de un alcaloide posiblemente idéntico a otro encontrado en Platystemon californicus Benth., las bases berberínicas berberina y coptisina que se han encontrado por vez primera en este género.

Bocconia litisepala Wats. Esta planta fue estudiada recientemente por Dominguez, García Delgado, Monroy Armendariz, Aloala, Quevedo y Rojas, (1965) quienes trabajaron por separado la corteza, raíz, hojas y semillas.

En la corteza y leño, en la raíz y en las hojas, caracterizaron químicamente los alcaloides benzofenantridínicos queleritrina, sanguinarina y oxisanguinarina y los alcaloides protopínicos, protopina y alocriptopina. En las semillas identificaron la presencia de queleritrina y sanguinarina.

Macleaya cordata (Willd.) R.Br.- Esta especie ha sido estudiada por un buen número de autores, comenzando por Sijkman, quien ya en 1884, estudiando material procedente del Japón pudo caracterizar la presencia de sanguinarina y de otro alcaloide al que llamó macleoyina y que encontró muy semejante a la protopina obtenida por Hesse (1871). Posteriormente Hopfgartner (1898) reconoció la identidad de estos alcaloides.

La sanguinarina se encuentra en mayor proporción en los frutos, mucho menos en la raíz y en proporción aún más pequeña en las hojas. Por el contrario la protopina se encuentra distribuída en la misma proporción en hojas y raíz, sobrepasando un poco en ambos casos la encontrada en los frutos.

Catorce años después Hopfgartner (1898) investigó las bases presentes en un material cultivado en Europa (principalmente hojas y tallos). Simultáneamente con la protopina aisló una segunda base que resultó ser idéntica con la alocriptopina. Este autor no se interesó por los alcaloides coloreados del grupo de la benzofenantridina.

Posteriormente esta planta atrajo la atención de Schlotterbeck quien en colaboración con Murrill (1900) estudió un material recogido en Estados Unidos. Señalaron que los alcaloides se encuentran prácticamente en todas las partes de la planta, pero los mejores rendimientos se obtuvieron de los rizomas, confirmaron una vez más la existencia de protopina y alocriptopina y caracterizaron claramente la queletrina. No pudieron aislar sanguinarina al estado puro y señalaron que la cantidad presente debía ser muy pequeña, aunque aceptaron que puede encontrarse en la planta puesto que sus extractos tienen coloración rojiza característica de las soluciones de este alcaloide.

Posteriormente Schlotterbeck y Blome (1905) hicieron una extracción en gran escala de raíces de Macleaya cordata (Willd.) R.Br. confirmando, por aislamiento, la presencia de alcaloides protopínicos señalados anteriormente.

De los alcaloides benzofenantridínicos obtuvieron una mezcla de queleritrina y sanguinarina sin describir puntos de fusión ni preparación de derivados.

En años recientes esta planta ha sido objeto de otros estudios. Kaczmarec (1959) (con la designación B. cordata Willd.) volvió a estudiar los alcaloides presentes, con material recogido en Polonia, por métodos cromatográficos y confirmó, una vez más la presencia de protopina y alocriptopina; señaló además la presencia de otras dos bases que fueron detectadas solamente por cromatografía en papel y designadas como B₃ y B₄. No pudieron ser estudiadas debido a su pequeña cantidad. El resumen que hemos podido leer de este trabajo indica que ninguna de esas dos bases es sanguinarina o queleritrina, cuya presencia para esa especie había sido ya establecida por los otros autores. El autor señala que ninguna de las dos bases puede ser berberina.

Recientemente Tani y Takao (1962,b) volvieron a estudiar esta especie, encontraron nuevamente los dos alcaloides protopínicos mencionados e identificaron por preparación de derivados queleritrina, sanguinarina y oxisanguinarina, un producto de oxidación de la última base. Los autores japoneses indicaron la presencia de otras tres bases nitrogenadas cuaternarias que llamaron A, B, (esta base fue posteriormente identificada como quelirrubina) y C.

En 1965 Slavík, Sláviková y Appelt realizaron el estudio completo sobre los alcaloides presentes en la raíz y en las partes

ácneas de esta planta y además de confirmar la presencia de los cuatro alcaloides antes mencionados (protopina, alocriptopina, sanguinarina y queleritrina) identificaron en la raíz quelirrubina, quelilutina, marcapina, berberina, coptisina y trazas de corisamina. En el tallo identificaron berberina, coptisina y trazas de corisamina pero no observaron la presencia de los otros tres alcaloides benzofenantridínicos. Señalaron que el alcaloide B de Tani y Takao era cloruro de quelirrubina.

Macleaya microcarpa (Maxm.) Fedde.- Esta especie fue estudiada por vez primera por Slavík y Slavíková (1955 b,) con material cultivado en Checoslovaquia, quienes aplicaron a raíces y hojas los métodos cromatográficos utilizados habitualmente por dichos autores en sus estudios sobre plantas de la familia Papaveraceae.

De la raíz, que contiene 1,23% de alcaloides crudos, pudieron caracterizar los alcaloides benzofenantridínicos queleritrina sanguinarina, quelirrubina y quelilutina, los alcaloides berberínicos berberina y coptisina y las protopínicas protopina y alocriptopina. Además señalaron la presencia de un nuevo alcaloide al cual dieron el nombre de macarpina. Posteriormente, estos mismos autores lo han hallado en otros géneros de esta familia.

Las hojas, que contenían una proporción menor (0,6%) de alcaloides dieron las mismas bases protopínicas que fueron encontradas en la raíz y además criptopina. En cambio solamente se pudo caracterizar en ellas queleritrina y sanguinarina estando ausentes todas las demás bases del grupo benzofenantridínico y berberínico que se habían indicado en raíz. Además contienen una pequeña fracción de

alcaloides fenólicos que no fueron identificados.

Un resumen sobre 1.^a bases caracterizadas en las especies de los géneros Bocconia y Macleaya investigados, se encuentra indicado en el cuadro I.

CUADRO I

Bases caracterizadas en las especies de los géneros Bocconia y Macleaya; investigados

B. frutescens	B. arborea	B. pearcei A	B. latinepala	M. Cordata	M. macrocarpa
Cucleritrina	Cucleritrina (t)	Cucleritrina (t, r)	Cucleritrina (t, r, h, s)	Cucleritrina (t, r)	Cucleritrina (r, h)
Sanguinarina	Sanguinarina (t)	Sanguinarina (t, r)	Sanguinarina (t, r, h, s)	Sanguinarina (t, r)	Sanguinarina (r, h)
		Cuclirrubina (t, r)		Cuclirrubina (r)	Cuclirrubina (r)
				Cuclilutina (r)	Cuclilutina (r)
				Macarpina (r)	Macarpina (r)
			Ozisinguinarina (t, r, h, s)		
Protopina	Protopina (t)	Protopina (t, r)	Protopina (t, r, h, s)	Protopina (t, r)	Protopina (r, h)
Alcricriptopina	Alcricriptopina (t)	Alcricriptopina (t, r)	Alcricriptopina (t, r, h, s)	Alcricriptopina (t, r)	Alcricriptopina (r, h)
					Graptopina (r, h)
		Berberina (t, r)		Berberina (t, r)	Berberina (r)
		Coptisina (t, r)		Coptisina (t, r)	Coptisina (r)
				Corisamina (t, r)	

Se ha indicado el órgano que contiene las bases en la siguiente forma: t-tallo; r-corteza, h-hojas, raíz, s-semillas. La falta de indicación se debe a no haberse encontrado la información en la literatura consultada.

Las bases u órganos subrayados indican que se han encontrado durante este estudio.

* Se aisló además un alcaloide no identificado con Rf 0.41 (sistema I) (ver Parte experimental)

Benzocentrínicos.
Protónicos.
Berberínicos.

SEPARACION E IDENTIFICACION DE LOS ALCALOIDES DE LA BOCCONIA PEARCEI HUTCH

Para la extracción del material de Bocconia se utilizó metanol y metanol ácido acético, solventes indicados por sus características como los más convenientes para la extracción del tipo de alcaloides presentes en plantas de dicho género.

En particular sobre la B. pearcei Hutch. existía cierta información en la literatura (Maccio, 1946; Manske, 1954). Los procesos de extracción y fraccionamiento de las bases fueron seguidos por cromatografía en papel y/o cromatografía en placa delgada.

Se trató de obtener al comienzo una información lo más completa posible sobre el número y tipo de bases presentes en los extractos crudos, para utilizarla como guía en la separación y posible caracterización de las mismas.

Como era presumible, de acuerdo con la información ya existente, los extractos metanólicos al ser concentrados dieron precipitados sólidos que contenían la mayor parte de los alcaloides benzofenantridínicos y berberínicos, mientras los protopínicos quedaron en solución, acompañados de cantidades menores de bases benzofenantridínicas.

En el caso de las fracciones obtenidas de los extractos de tallo, se utilizó, para la separación de la mezcla de bases benzofenantridínicas, la cromatografía en columna de celulosa.

Si bien esta cromatografía permitió directamente la separación individual de las bases benzofenantridínicas presentes que se encuentran en gran cantidad, las mismas contenían siempre pequeñas cantidades de alcaloides berberínicos, a pesar que se encuentran

presentes en proporción mucho menor.

Para separar completamente estos últimos de los benzofenantridínicos debió adaptarse el método descrito para tal fin por Slavík y Slavíková (1955 a), en el cual se aprovecha la distinta basicidad de ambos grupos de sustancias. La extracción de la fase acuosa que las contiene, a distinto pH, permitió su separación; los benzofenantridínicos pasaron a la fase orgánica a pH 9.0-9.5 y los berberínicos a pH mayor de 10.0 La separación fue buena; el único inconveniente resultó ser, en este caso, la presencia de restos de bases benzofenantridínicas en la fracción berberínica, pero la eliminación de las mismas no presentó mayor dificultad y se produjo fácilmente durante los procesos ulteriores de separación individual de los alcaloides berberínicos.

Los alcaloides berberínicos se fraccionaron por cromatografía en columna de alúmina en las condiciones señaladas en la parte experimental, lo cual permitió su separación, aislamiento y caracterización por los métodos habituales.

Los alcaloides protopínicos, que habían quedado en la fase acuosa al precipitar los cloruros de las bases cuaternarias, se extrajeron de la misma con éter, una vez alcalinizada, empleándose dicho solvente por su mayor selectividad. La separación de las bases individuales se efectuó por cromatografía de adsorción en columna de alúmina, único método que en nuestras manos resultó satisfactorio.

Con la experiencia adquirida para la extracción de las bases presentes en el tallo, se introdujeron algunas modificaciones en los métodos empleados que permitieron, en el caso de la raíz, llegar a realizar en forma más rápida los procesos anteriores.

La separación de los alcaloides benzofenantridínicos y berberínicos se efectuó en este caso partiendo de los precipitados obtenidos durante la concentración de las soluciones alcohólicas sin ulterior purificación, empleando el método de partición a distinto pH indicado para el tallo.

La separación individual de las bases de cada grupo se llevó a cabo entonces por cromatografía en columna de celulosa (benzofenantridínicos) o de alúmina (berberínicos).

En cuanto a los alcaloides protopínicos, se utilizó para su separación e identificación el mismo método que el empleado en el caso del tallo.

Mediante la aplicación de estos métodos, con los detalles que se describen en la parte experimental, se caracterizaron en el tallo y raíz de B.pearcei Hutch. los siguientes alcaloides: a) protopínicos: protopina y alocriptopina; b) benzofenantridínicos: queleritri-
na, sanguinarina, quelirrubina y otro alcaloide no identificado (aislado del tallo únicamente) que podría tratarse de la misma base de tipo benzofenantridínico aislada por Slavík (1963) (comunicación personal) de Platystemon californicus Benth. c) berberínicos: berberina y coptisina.

El contenido aproximado de estos alcaloides en la B.pearcei Hutch. está señalado en el cuadro II.

CUADRO II

Contenido de alcaloides en la Bocconia pearcei Hutch.

ALCALOIDE	TALLO		RAIZ	
	% sobre tot. de bases	% sobre vegetal	% sobre tot. de bases	% sobre vegetal
Quelcritrina(1)	51.0	0.90	49.0	0.60
Sanguinarina(2)	39.0	0.70	38.0	0.40
Quelirrubina(2)	2.0 92.0	0.04	3.5 90.5	0.04
Berberina y Coptisina (2)	6.7 6.7	0.15	2.0 2.0	0.03
Protopina (1)	0.6	0.01	4.0	0.05
Alocryptopina(1)	1.1 1.7	0.02	3.5 7.5	0.04
	100.4%	1.8%	100.0%	1.2%

(1)- Estas bases ya habían sido aisladas y caracterizadas en esta planta (Manske, 1954).

(2)- Estas bases fueron aisladas y caracterizadas por vez primera en este trabajo.

CAPITULO IVCONSIDERACIONES SOBRE LOS ALCALOIDES DE LOS GENEROS BOCCONIA Y
MACLEAYA

Si se observan los resultados obtenidos hasta el presente en las cuatro especies de Bocconia estudiadas, se puede ver que todas ellas contienen alcaloides benzofenantridínicos y protopínicos, y que solo en el caso de la B. pearcei Hutch. se han encontrado los alcaloides berberínicos berberina y coptisina.

Debido a la pequeña cantidad que se ha encontrado de estas dos bases es posible que hubieran pasado desapercibidas en la B. frutescens L. y en la B. arborea Wats. En cambio existe mayor seguridad sobre su ausencia en la B. latisepala Wats. recientemente estudiada con detalle (Dominguez, García Delgado, Monroy, Armendariz, Alcalá, Quevedo y Rojas, 1965; Dominguez, 1965 comunicación personal).

El hallazgo de estas dos bases berberínicas tiene interés porque establece una relación más estrecha, por lo menos en el aspecto cualitativo, entre la B. pearcei Hutch. y las dos únicas especies del género Macleaya existentes, el cual como hemos mencionado, fue originado a partir del género Bocconia.

Estas dos últimas especies se caracterizan por tener una mayor diversificación de las bases benzofenantridínicas que las especies de Bocconia. Sin embargo la proporción de alcaloides de este tipo es menor, con respecto al total de bases, que en el caso de las especies de Bocconia.

Esta mayor diversidad se ha revelado también en las hojas de M. microcarpa (Maxim.) Fedde que además de tener protopina y alocriptopina, presentes siempre en ambos géneros, contienen una pequeña

proporción de criptopina.

Tal vez más interesante que la mayor diversificación de las bases es la verdadera inversión en cuanto al contenido de alcaloides; mientras en la B. pearcei Hutch. encontramos un contenido de alcaloides benzofenantridínicos del 90%, en las especies del género Macleaya hay un 7-15% (Slavík y Slavíková, 1955 b; Slavík, Slavíková y Appelt, 1965) de los mismos; los alcaloides protopínicos que representan solo 7% del total en la B. pearcei Hutch. (raíz), constituyen el 80-90% en las dos especies de Macleaya (Slavík y Slavíková, 1955 b; Slavík, Slavíková y Appelt, 1965).

Hasta ese momento la diferencia más clara basada en el contenido cualitativo de bases en los dos géneros, era que las dos especies de Macleaya contienen alcaloides berberínicos (berberina, coptisina y corisamina), pero esta diferencia ha perdido su significado quimiotaxonómico al haberse podido identificar berberina y coptisina en la B. pearcei Hutch.

Aparentemente la diferencia principal entre ambos géneros consiste, no tanto en la falta de capacidad de síntesis de grupos determinados de alcaloides, como en la relación entre las distintas velocidades de formación.

La enumeración de alcaloides realizada en el cuadro I sirve de base a lo dicho anteriormente.

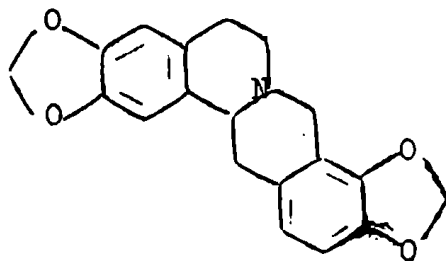
Es interesante señalar que de estos tres grupos de alcaloides los berberínicos se encuentran difundidos en un número relativamente grande de familias botánicas; los protopínicos se hallan principalmente en la familia Papaveraceae aunque también se ha descrito su presencia en las familias Rutaceae, Berberidaceae y

Ranaceae, los benzofenantridínicos son de difusión más restringida pues fuera de la familia Papaveraceae se han encontrado solo en algunas especies de la familia Rutaceae en una publicación del U.S. Department of Agriculture; 1961, se cita la presencia de sanguinari-
na en Scabiosa succisa L. (Dipsaceae) y en Sapindus emarginata Vahl. (Sapindaceae), no hemos podido revisar la bibliografía para confirmar estas afirmaciones; aún dentro de las Papaveraceas se los encuentra de preferencia en la tribu Chelidoneae donde se hallan presentes en todas las especies estudiadas, hecho que no se repite con esta magnitud en las demás tribus.

CAPITULO VRELACION EXISTENTE ENTRE LOS ALCALOIDES DE LA B. PEARCEI

El conocimiento de las bases presentes en la Bocconia pearcei Hutch. y los estudios efectuados en otras especies sobre su formación a partir de diversos precursores, permiten formular algunas consideraciones razonables sobre su biogénesis.

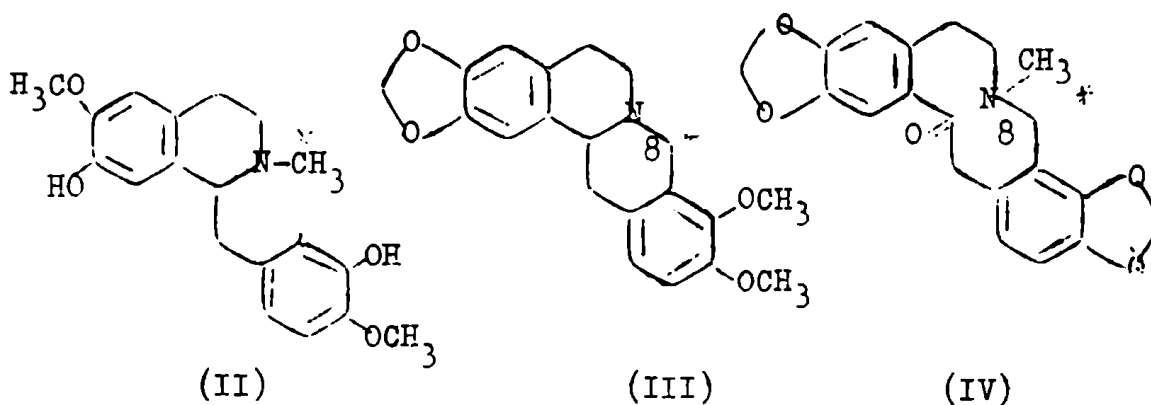
Si se acepta que la Bocconia pearcei Hutch., lo mismo que en las demás especies de este género, y en las del género Macleaya, los alcaloides encontrados tienen como antecesores a los bencilisoquinolínicos, debe señalarse, en primer lugar, que estos últimos han de tener un metabolismo muy rápido, pues hasta ahora no han sido encontrados en ninguno de ambos géneros, ni siquiera mediante aplicación de los modernos métodos cromatográficos. Tampoco se han encontrado tetrahidroberberinas, del tipo de la estilopina (I), que podrían razonablemente considerarse precursores de las bases berberínicas y benzofenantridínicas.



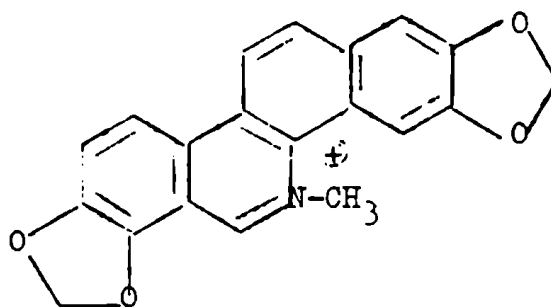
(I)

En cambio se encuentra la coexistencia de alcaloides de grupos muy similares como son los protopínicos, berberínicos y benzofenantridínicos.

Una interrelación entre los dos primeros ha sido demostrada experimentalmente por la producción de berberina (III) marcada en el carbono 8 y de protopina (IV) marcada también en el carbono 8 a partir de reticulina (II) marcada en el carbono del grupo N-metilo (Barton, Hesse y Kirby, 1963).



Todo hace suponer que también los alcaloides benzofenantridínicos cuaternarios están relacionados con los del grupo berberínico, pero la única experiencia positiva en este sentido fue el aislamiento de sanguinarina (V) radiactiva por administración de tirosina marcada al Chelidonium majus L. (Leete, 1963).

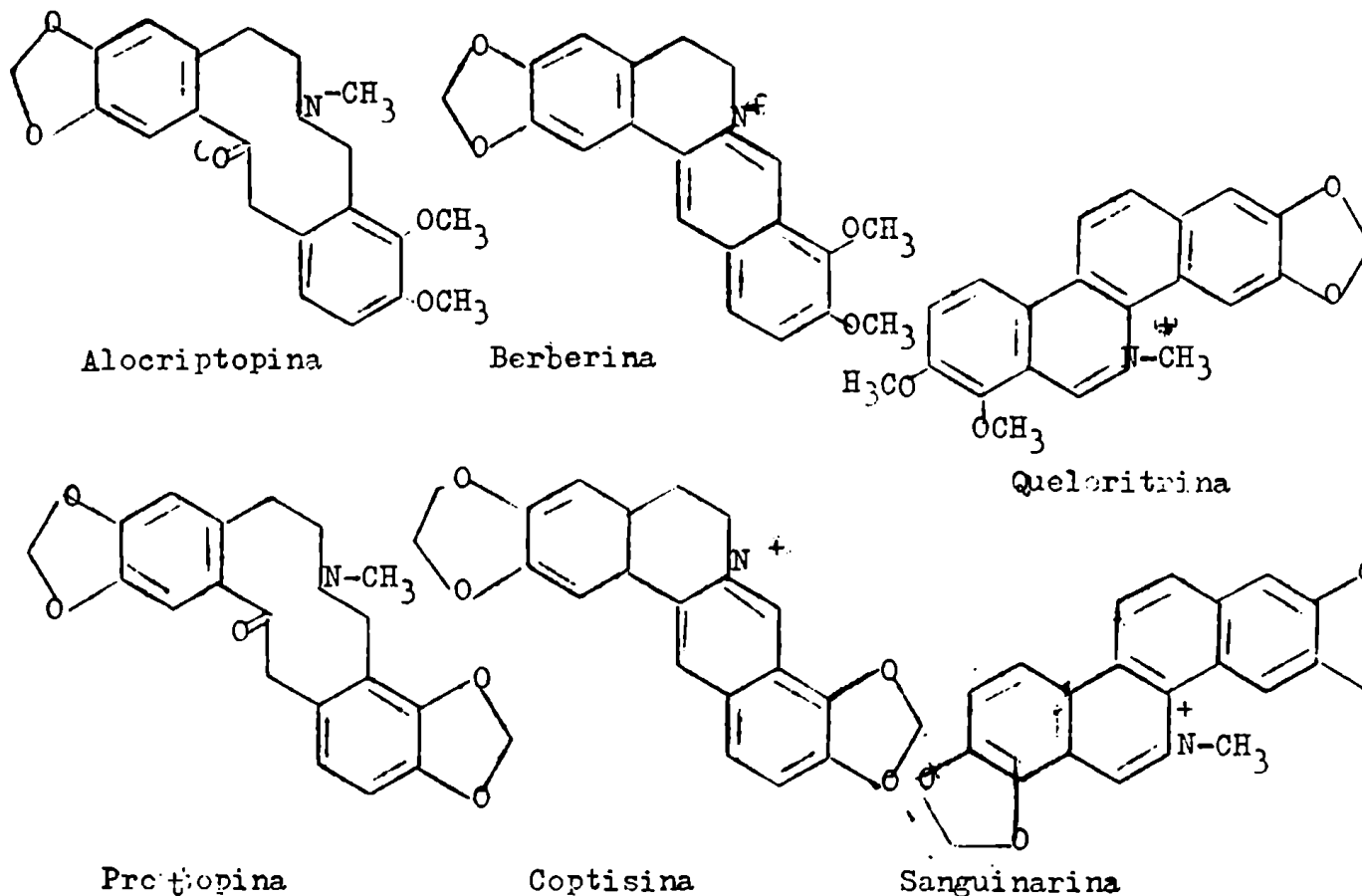


(V)

Si admitimos que los alcaloides benzofenantridínicos se originan en los berberínicos o en sus precursores inmediatos, debe aceptarse que el camino metabólico de formación de los primeros, es más rápido que el de los alcaloides protopínicos que se encuentran en menor proporción, o que su estabilidad es mayor.

En cambio en las dos especies del género Macleaya mientras los berberínicos continúan estando en pequeña proporción, los protopínicos aumentan en forma acentuada y los benzofenantridínicos disminuyen como si se hubiera invertido el sentido de la actividad metabólica.

Vinculación biogénica estructural entre los alcaloides de la B.pearcei



Un hecho que favorece la hipótesis de la relación biogénica entre los tres grupos de alcaloides de la Bocconia pearcei Hutch., es la circunstancia que los tres grupos de bases aisladas (protopínicas, berberínicas y benzofenantridínicas) no solamente poseen la misma distribución de los sustituyentes oxigenados, sino que los grupos metilo y metileno ubicados en la misma posición en el esqueleto carbonado están siempre unidos a oxígenos ^{equivalentes} dando lugar de esta forma a dos grupos de bases como se ve fácilmente en el cuadro (I). (Debe tenerse presente el reordenamiento producido en el caso de los alcaloides benzofenantridínicos).

CAPITULO VIPARTI EXPERIMENTAL

Los puntos de fusión no están corregidos:

Espectros ultravioleta. Se realizaron en un aparato Zeiss modelo RPQ 20 C.

Espectros infrarrojo. Se realizaron en un aparato Perkin Elmer Inracord.

Espectros de resonancia magnética nuclear. Se realizaron en un aparato Varian A 60.

Cromatografías en papel. Se empleó sin excepción papel Whatman n° 1, utilizando el método descendente con el solvente desplazándose en sentido perpendicular a la fibra del papel.

Los sistemas utilizados fueron:

Sistema I: Butanol: ácido acético: agua (10:1:3).

Sistema II: Butanol saturado de agua, adicionado de 0.5% de ácido acético.

Sistema III: Butanol: piridina: agua (1:1:1).

La velocidad de desarrollo en los distintos sistemas varía bastante con la temperatura. En verano son necesarias solamente unas doce horas para que el frente del solvente alcance unos 30 cm, mientras que en invierno se requieren dieciséis horas para llegar a la misma distancia.

Cromatografías en placa delgada. Se utilizó Kieselgel G Merck para cromatografía en placa delgada según Stahl, sobre placas de vidrio plano, utilizando una capa de 250 μ de espesor y dejando desarrollar la fase móvil 12 cm.

Los sistemas utilizados fueron los siguientes:

Sistema IV. Ciclohexano: dietilamina (9:1). Desarrolla en cuarenta minutos.

Sistema V: Alcohol isoamílico. Desarrolla en cuatro horas.

Sistema VI: Metanol: ácido clorhídrico 2 N; acetona; ácido acético (14:6:3:3). Desarrolla en cuarenta minutos.

En ambos casos se utilizó la luz ultravioleta para observar la fluorescencia de los alcaloides cuaternarios y el reactivo de Dragendorff, modificado según Munier y Machdœuf (1951) que permite, además, revelar las bases que no presentan fluorescencia. El empleo simultáneo sobre una misma muestra de ambos métodos de revelado, permite tener una idea bastante clara del número y tipo de bases presentes en la misma.

EXTRACCION DE LOS ALCALOIDES DE LA BOCCONIA PEARCEI HUTCH.I.-ALCALOIDES DEL TALLO

650 g de tallo de Bocconia pearcei Hutch. recogidos en la provincia de Tucumán, que tenían un máximo de cinco centímetros de diámetro, se molieron groseramente en fracciones de unos milímetros y se extrajeron con 3500 ml de metanol, agitándolos a temperatura ambiente durante aproximadamente doce horas. El metanol fue decantado, la extracción se repitió dos veces más, empleando 2200 ml de metanol en cada una y finalmente se hicieron otras tres extracciones con el mismo volumen de metanol, conteniendo dos por ciento de ácido acético y prolongando la operación veinticuatro horas.

Los extractos metanólicos se juntaron (12-13 litros), se filtraron por papel plegado y se evaporaron al vacío hasta aproximadamente 1300 ml. Durante la concentración apareció un pequeño residuo gomoso que se apartó por filtración y que dió reacción de Mayer débilmente positiva. El mismo se deshechó por su pequeña cantidad y porque, por cromatografía en papel revelaba la presencia de una serie de alcaloides con valores de RF idénticos a los que se encontraban en la solución de la cual provenía.

Al filtrado se agregaron 560 ml de agua, lo cual determinó la aparición de un precipitado que se adhirió a las paredes. Sin eliminarlo se **continúo** con la evaporación de la suspensión hasta aproximadamente la mitad de su volumen (900 ml). Se dejó enfriar a temperatura ambiente y se filtró el residuo gomoso oscuro.

Al filtrado anterior se añadieron 50 ml de ácido clorhídrico concentrado y se evaporó nuevamente al vacío hasta unos 300 ml.

Durante esta concentración se volvió a producir un nuevo precipitado gomoso que contenía alcaloides. La suspensión se calentó a ebullición, observándose que la mayor parte de la misma se disolvió, mientras que una pequeña porción gomosa quedó sin disolver y se adhirió a las paredes; se filtró entonces rápidamente a través de un Buchner. Los precipitados gomosos obtenidos en las operaciones anteriores fueron desechados por representar una pequeña porción del total de bases sólidas posteriormente obtenidas y demostrar, la cromatografía en papel, que contenían las mismas bases que aparecían en los precipitados posteriores en donde tenían mayor pureza.

El nuevo filtrado, al enfriarse, depositó un sólido de color rojo que aumentó con el tiempo. Después de veinticuatro horas a temperatura ambiente se filtró el mismo, se lavó con agua ligeramente acidulada con ácido clorhídrico y se secó en el vacío, obteniéndose trece gramos de cloruros de bases bajo forma de un sólido rojo ladrillo, friable, que se utilizará posteriormente para la separación de los alcaloides (precipitado A).

La cromatografía en papel (sistema I) indicó la presencia de queleritrina, sanguinarina y otra base con fluorescencia rosada y R_f más bajo que la sanguinarina que fue luego identificada como quelirrubina; con el sistema III pudo observarse además, la presencia de otras dos bases con R_f menor que los alcaloides benzofenantridínicos presentes y que presentaban fluorescencia verde y amarilla. Posteriormente se identificaron como berberina y coptisina respectivamente.

El filtrado resultante de recoger el precipitado A se alcalinizó bien con hidróxido de sodio 2 N hasta aproximadamente

pH 8, lo cual se observó fácilmente pues el color de la solución viró, al volverse alcalino, de naranja rojizo a violáceo. Se extrajo entonces con cloroformo y las soluciones cloroformicas reunidas se lavaron una vez con 120 ml de agua y luego con fracciones de 50 ml hasta que las aguas de lavado tuvieran reacción neutra. El cloroformo se secó con sulfato de sodio, se filtró, se evaporó a sequedad y el residuo pardo rojizo se secó en desecador al vacío. Pesaba 1.4 g y se utilizó posteriormente para la obtención de los alcaloides protopínicos (precipitado B).

La cromatografía en placa (sistema IV) reveló la presencia de dos bases que luego se identificaron como protopina y alocriptopina.

Identificación de los alcaloides benzofemantridínicos

Para la separación de los alcaloides presentes en el precipitado A se efectuó una cromatografía preparativa empleando columna de celulosa. Se utilizaron 370 g de polvo de celulosa Whatman, Standard Grade y fue preparada mediante el agregado sucesivo de pequeñas porciones secas, apisonando bien después de cada agregado, obteniéndose una columna útil de absorbente de 41 mm de diámetro y 660 mm de altura. Se percoló con el solvente a utilizar (butanol: ácido acético: agua(10:1:3)) durante veinticuatro horas, controlándose la homogeneidad utilizando rojo de metilo. Se cromatografiaron 550 mg del precipitado A en cada operación, los cuales se colocaron en la parte superior de la columna disueltos en el solvente de desarrollo al que se agregó una pequeña porción de polvo de celulosa. Se recogieron fracciones de 15 ml. El control de

las fracciones se realizó por cromatografía.

Las fracciones iniciales (105 ml) eran color amarillo pardo. Por cromatografía de las mismas se observaron una serie de manchas con fluorescencia azul, lo cual es característico de los productos de descomposición de las bases benzofenantridínicas.

Las fracciones eluidas a continuación (105 ml) contenían queleritrina (sistema I). Cromatografiadas empleando el sistema III se observó una segunda mancha con Rf más bajo que la queleritrina, que tenía fluorescencia verde a la luz ultravioleta, y que posteriormente se identificó como berberina. Las fracciones siguientes (35 ml) contenían queleritrina y sanguinarina (sistema I), la cromatografía en placa delgada (sistema V) permitió observar además la presencia de otra base de tipo benzofenantridínico con fluorescencia roja Rf 0.75 que posteriormente se identificó como quelirrubina. Cuando la cromatografía se efectuó empleando el sistema III aparecieron, en proporción muy pequeña, dos bases de Rf inferior al de los alcaloides benzofenantridínicos que fueron posteriormente identificadas como berberina y coptisina. Las fracciones siguientes (75 ml) contenían solamente sanguinarina (sistema I). Luego se eluyeron fracciones (45 ml) que contenían sanguinarina acompañada de otro alcaloide con Rf 0.41 (sistema I) y fluorescencia anaranjada. Este alcaloide, que era la base presente en las últimas fracciones eluidas (180 ml), solo ha podido relacionarse por su valor de Rf en cromatografía en papel (sistema I) y por su fluorescencia a la luz ultravioleta, con un alcaloide no identificado obtenido por Slavík (1963) de Platystemon californicus Benth.

Las fracciones que contenían las mismas bases se reunieron, se añadió un volumen igual de agua y se evaporaron al vacío

hasta casi sequedad sin pasar la temperatura de 50°. Los restos de solvente se eliminaron agregando unos mililitros de etanol y evaporando a sequedad, se repitió esta operación cuando se consideró necesario.

Las fracciones conteniendo cloruro de queleritrina y trazas de cloruro de berberina rindieron 175 mg (32%) de sólido, las fracciones siguientes que contenían una mezcla de cloruros de las bases benzofenantridínicas y berberínicas dieron un residuo de 150 mg (27%), las fracciones de cloruro de sanguinarina dieron 96 mg (18%), las fracciones posteriores dieron 24 mg (4.5%) de cloruro de sanguinarina impurificado con el alcaloide no identificado y las finales 20 mg (3.6%) de este último. La recuperación total fue del 84%.

La identificación de las bases benzofenantridínicas se realizó mediante la preparación de derivados del material obtenido en la separación cromatográfica anterior.

Identificación de la queleritrina - Cloruro. Se recrystalizaron varias veces de etanol, 52 mg del residuo obtenido por evaporación de la fracción que contenía queleritrina y trazas de berberina, proveniente de la cromatografía anterior. Se obtuvieron 12 mg de agujas amarillas de p.f. 209° (desc.); Slavík y Slavíková (1960) dan para esta sustancia p.f. 213-214° (desc.).

Análisis: Calculado para $C_{21}H_{18}O_4NCl$: Cl, 9.24. Encontrado: Cl, 9.77.

Por cromatografía en papel (sistema I) da Rf 0.55, (sistema II) Rf 0.38 y en placa delgada (sistema V) Rf 0.29; Slavík y Slavíková (1960) dan Rf 0.54 (sistema I) y Rf 0.35 (sistema II).

Su espectro ultravioleta tiene $\lambda_{\text{max.}}^{\text{EtOH } 95\%}$ 227, 273, 281, 320, 339 (inflexión) y banda ancha de 390 a 45) m μ ; log ϵ 4.31 4.49, 4.48, 4.25, 4.01 y 3.41; concuerda con el publicado por Tani y Takao (1962 b) y por Slavík, Slavíková y Appelt (1965).

Su espectro infrarrojo (BrK) presenta bandas en 1630 (d), 1600 (m), 1540 (m) cm⁻¹ (sistema aromático); 1280 (mf), 1250 (mf) cm⁻¹ (tensión C-O de las uniones etéreas con el sistema aromático); 930 (f) cm⁻¹ (grupo metilendioxi) 875 (m) cm⁻¹ (flexión C-H de los hidrógenos aromáticos aislados, anillos B y D); 835 (m), 825 (m) cm⁻¹ (flexión C-H de los hidrógenos aromáticos vecinos; anillos A y C).

El desdoblamiento de la banda de tensión C-O es debido según Briggs, Colebrook, Fales y Wildman (1957), a la presencia en la molécula de dos tipos de uniones etéreas diferentes, correspondientes a los grupos metoxilo y metilendioxi.

Nitrato. Se siguió la técnica descrita por Scheuer, Chang y Swanholm (1962). Se disolvieron 66 mg de cloruro de queletrina crudo, obtenido por evaporación de las fracciones de elución que contenían también trazas de berberina, en un mililitro de agua caliente y se agregó, lentamente y con agitación, ácido nítrico 6 N lo cual produjo la aparición de un abundante precipitado amarillo-naranja que se filtró. Se obtuvieron 63 mg (89%) de agujas con p.f. 238-239° (desc.). Después de dos recristalizaciones de etanol se obtuvieron 35 mg de prismas alargados amarillos de p.f. 243-244° (desc.); Scheuer, Chang y Swanholm (1962) dan para esta sustancia p.f. 238-240°.

Su comportamiento cromatográfico en papel y en placa delgada es idéntico al del cloruro de queletrina.

Su espectro ultravioleta tiene $\lambda_{\text{máx. EtOH 95\%}}$ 221, 273, 281, 320, 339 (inflexión) y banda ancha de 385 a 440 m μ ; $\log \epsilon$ 4.38, 4.54, 4.54, 4.30, 4.05 y 3.45.

Su espectro infrarrojo es casi idéntico al del cloruro. La banda en 1360 (mf) cm⁻¹ correspondiente al ion nitrato aparece claramente.

Pseudo cianuro. Se siguió la técnica de Slavík y Slavíková (1960).

Se suspendieron en dos mililitros de agua 50 mg del cloruro crudo y se disolvieron por calentamiento a 70°. Se añadieron entonces, gota a gota y con agitación, dos ml de una solución de cianuro de potasio al 1%. La solución se decoloró y apareció de inmediato un precipitado blanco, amorfo. La suspensión se enfrió bien en baño de hielo, se filtró y se secó el producto recogido. Se obtuvieron 37 mg (78%) de un sólido blanco grisáceo, que se disolvió en un pequeño volumen de cloroformo caliente, se añadió carbón, se filtró y se añadió entonces dos a tres veces su volumen de metanol; aparecieron cristales blancos que se filtraron, p.f. 257° (desc.).

Después de dos recristalizaciones de cloroformo: etanol se obtuvieron 13 mg de prismas incoloros de p.f. 260° (desc.); Slavík y Slavíková (1960) dan para esta sustancia p.f. 260-261°.

Análisis: Calculado para C₂₂H₁₈O₄N₂ C, 70.55, H, 4.85. Encontrado: C, 70.21; H, 4.97.

Su espectro ultravioleta tiene $\lambda_{\text{máx. EtOH 95\%}}$ 227, 280, 317, y 347 (inflexión) m μ ; $\log \epsilon$ 4.18, 4.30, 3.88 y 3.32.

Su espectro infrarrojo (Nujol) presenta bandas en 1615 (d), 1590 (d), 1500 (f) cm (sistema aromático); 1275 (mf),

1230 (mf) cm^{-1} (tensión C-O de las uniones etéreas aromáticas), 950 (f) cm^{-1} (grupo metilendioxi); 870 (m), 860 (f), cm^{-1} (flexión C-H de los hidrógenos aromáticos aislados, anillo D); 835 (m), 825 (m), 820 (m), 805 (f) cm^{-1} (flexión C-H de los hidrógenos aromáticos vecinos, anillos A y C).

De acuerdo con lo ya señalado por Bailey y Worthing (1956) no hemos podido observar la banda debida a la vibración de tensión de la unión C=N que debía encontrarse en 2100-2400 cm^{-1} .

Identificación de la sanguinarina - Cloruro. Se recrystalizaron de etanol 35 mg del cloruro de sanguinarina crudo, obtenido como se ha indicado, y que era homogéneo por cromatografía. Se obtuvieron 13 mg de prismas largos de p.f. 272-273° (desc.), Slavík y Slavíková (1960) dan para esta sustancia p.f. 272-273°.

Los valores de Rf de esta sustancia para la cromatografía en papel son: sistema I, 0.42; sistema II, 0.41; Slavík y Slavíková (1960) dan Rf 0.43 (sistema I) y 0.37 (sistema II).

Nitrato. Se adaptó la técnica descrita por Scheuer, Chang y Swanholm (1962) para el nitrato de queleritrina.

Se disolvieron 30 mg de cloruro de sanguinarina crudo, obtenido de la columna de celulosa, en un ml de agua a 70° y se agregó un ml de ácido nítrico 6 N. Inmediatamente apareció un precipitado naranja, cristalino. Se enfrió en baño de hielo y se filtró; p.f. 224-225° (desc). Después de dos recrystalizaciones de etanol y una recrystalización final de agua, se obtuvieron 10 mg de prismas largos de p.f. 236-237° (desc.).

Análisis: Calculado para $\text{C}_{20}\text{H}_{14}\text{O}_7\text{N}_2$: C, 60.89; H, 3.58, N, 7.11
Encontrado: C, 60.69; H, 3.69; N, 6.89.

Su comportamiento cromatográfico en papel y en placa delgada es idéntico al del cloruro de sanguinarina.

Su espectro ultravioleta tiene $\lambda_{\text{máx. EtOH 95\%}}$ 235, 284, 328, 350 (inflexión) y banda ancha de 375 a 480 m μ ; $\log \epsilon$ 4.23, 4.28, 4.03, 3.68 y 3.00.

Pseudo cianuro. Se disolvieron 15 mg del cloruro de sanguinarina crudo, obtenido por elución de la columna de celulosa, en 0.8 ml de agua y se agregó, gota a gota, solución de cianuro de potasio al 1%, lo cual determinó la aparición de un precipitado blanco grisáceo; se suspendió el agregado de cianuro cuando un agregado posterior no produjo más precipitación. La suspensión se enfrió en baño de hielo, se filtró y secó. El sólido amorfo resultante se disolvió en aproximadamente 0.4 ml de cloroformo, se trató con carbón, se filtró y se agregaron entonces 0.7 ml de metanol; precipita un sólido blanco cristalino que se filtró y secó. Prismas incoloros de p.f. 236-239°; Slavík y Slavíková (1960) dan para esta sustancia p.f. 242-243.

Su espectro ultravioleta tiene $\lambda_{\text{máx. EtOH 95\%}}$ 232, 280, 324, 333 y 348 (inflexión) m μ ; $\log \epsilon$ 4.36, 4.42, 4.12, 4.11 y 3.72.

Identificación de la quelirrubina - Cloruro. La identificación de la base con Rf 0.75 (sistema V) y fluorescencia roja, obtenida de la cromatografía por columna de celulosa que acompaña las fracciones que contienen también queleritrina, sanguinarina, berberina y coptisina, solo pudo efectuarse por cromatografía debido a la pequeña cantidad disponible.

Para facilitar esta identificación se sometió esta fracción a una nueva separación cromatográfica por columna de

celulosa que acompaña las fracciones que contienen también queritrina, sanguinarina, berberina y coptisina, solo pudo efectuarse por cromatografía debido a la pequeña cantidad disponible.

Para facilitar esta identificación se sometió esta fracción a una nueva separación cromatográfica por columna de celulosa (370 g), empleando como solvente, n-butanol saturado de agua, adicionado de 0.5% de ácido acético, operando como se ha descrito anteriormente. Se recogieron fracciones de 15 ml las cuales se controlaron mediante cromatografía en papel (sistema II) y en placa delgada (sistema V).

Las primeras fracciones (90 ml) contenían solamente quelirrubina. A continuación comenzó a salirse una mezcla de quelirrubina y de los demás alcaloides, que no fue posteriormente trabajada.

Las fracciones iniciales conteniendo quelirrubina se reunieron y se evaporaron a sequedad en la forma que se ha descrito para la mezcla de bases. El residuo amorfo, de color rosado, se cromatografió en papel (sistema I y II) y en placa delgada (sistema V), comparando su comportamiento con el de un testigo auténtico. Los resultados se indican a continuación.

		<u>Rf (Bocconia)</u>	<u>Rf (Testigo)</u>
Papel	Sistema I	0.62	0.62
	Sistema II	0.68	0.68
Placa	Sistema V	0.75	0.75

Ambas muestras presentan fluorescencia roja a la luz ultravioleta.

Base de Rf 0.41 (sistema). La base de Rf 0.41 y fluorescencia anaranjada que se encontró en las últimas fracciones de la cromatografía

de celulosa, acompañada de trazas de sanguinarina, fue purificada en la siguiente forma. 20 mg del residuo de esa fracción se disolvieron en tres ml de agua hirviendo, se eliminó un pequeño insoluble por filtración; se agregaron 0.7 ml de ácido clorhídrico concentrado y se enfrió en baño de hielo. Se produjo un precipitado rojo ladrillo que se filtró y se recristalizó de etanol. Se obtuvieron 2.5 mg de agujitas agrupadas, rojo ladrillo, que no funden a 320° (Kofler).

Esta sustancia dió reacción de Millon negativa (fenoles).

En papel tiene Rf 0.41 (sistema I) y 0.25 (sistema II), en los dos casos con fluorescencia anaranjada a la luz ultravioleta.

Su espectro cualitativo a la luz ultravioleta tiene
 $\lambda_{\text{máx. EtOH 95\%}}$ 249, 274, 319, 360, 390 (inflexión) y una banda ancha de 430 a 520 m μ .

Sus Rf no coincidieron con ninguno de los alcaloides benzofenantridínicos de los cuales podíamos disponer. A nuestro pedido el Dr. Slavík lo comparó con los de su colección, que es notablemente completa, y llegó a la conclusión que podría tratarse de una base aislada por él (1963) del Platystemon californicus Benth., para el cual el autor mencionado describe un Rf 0.38 (sistema I) y fluorescencia anaranjada.

Identificación de los alcaloides berberínicos

Para completar la identificación de los alcaloides berberínicos revelados por cromatografía, se efectuó una separación especial de los mismos utilizando directamente el precipitado A.

Doce gramos de dicho precipitado se suspendieron en 1500 ml de agua y la suspensión se calentó a 80° por lo cual se disolvió la mayor parte, dejando un pequeño residuo insoluble, que se

separó por filtración. Se dejó enfriar a unos 50° y se fue agregando carbonato de sodio hasta pH 9.6 (8.2 g). Al llegar al pH 7 se observó la formación de un abundante precipitado flocculento. La suspensión resultante se extrajo con éter (13 x 500 ml) hasta que los extractos dieran reacción negativa de Dragendorff. Los extractos etéreos reunidos se secaron y se evaporaron, dejando un residuo castaño que se disolvió en 50 ml de cloroformo. Por acidificación con 5 ml de ácido clorhídrico 6 N en etanol, la solución tomó un color naranja intenso. Se eliminó el solvente por evaporación al vacío, los restos de ácido clorhídrico se eliminaron agregando una pequeña cantidad de metanol, evaporando nuevamente a sequedad y repitiendo esta operación una vez más. Se obtuvieron 7.5 g de un polvo de color naranja que, de acuerdo con las cromatografías en papel (sistema I) y en placa delgada (sistema IV) contenía quelcitrina y sanguinarina mientras que los alcaloides berberínicos quedaron en la solución acuosa.

Esta fase acuosa se alcalinizó a un pH mayor de 10 empleando 40 ml de hidróxido de sodio 2 N y se extrajo con cloroformo (11 x 500 ml). Los extractos reunidos se secaron sobre sulfato de sodio, la solución se evaporó a unos 200 ml, se agregaron 1.5 ml de ácido clorhídrico 6 N en etanol (viraje de color pardo a rojo naranja), y se continuó la operación hasta eliminar el solvente y los restos de ácido clorhídrico en la forma habitual. Se obtuvieron 920 mg de un sólido pulverulento, rojo oscuro, cuya cromatografía en Papel (sistema I y III) y en placa delgada (sistema IV) indicó la presencia de berberina, coptisina y solamente restos de alcaloides benzofenantridínicos.

Una ulterior purificación de los alcaloides berberínicos se obtuvo por cromatografía de dicho residuo, en porciones de 300 mg, por una columna conteniendo 15 g de alúmina (Woelm, neutra, actividad III) (13 x 150 mm). Se recogieron fracciones de cinco mililitros.

La elución se comenzó con cloroformo (330 ml) que eliminó los restos de alcaloides benzofenantridínicos y luego con cloroformo conteniendo 3% de metanol. Después de recoger 20 ml de eluido libre de bases, las porciones siguientes (160 ml) contenían alcaloides berberínicos mezclados. Esta fracción, evaporada a sequedad, rindió 20 mg (7%) de un residuo amarillo naranja que, de acuerdo con los resultados de una cromatografía en placa delgada contenía berberina y coptisina.

Repetiendo la cromatografía en columna de alúmina se obtuvieron un total de 53 mg de la mezcla de cloruros de las dos bases anteriores.

Para obtener la separación de estos dos alcaloides, se cromatografiaron los 53 mg de cloruros empleando 25 g de alúmina (relación adsorbente/sustancia cromatografiada 500; 15 x 180 mm). La elución se realizó empleando cloroformo con cantidades crecientes de metanol. Se recogieron fracciones de cinco mililitros cada una, que se controlaron individualmente por microplacas (sistema IX). La elución de bases comenzó con cloroformo conteniendo 2% de metanol y se obtuvieron los resultados indicados en el cuadro I.

Las fracciones que tenían las mismas bases se reunieron y se evaporaron a sequedad al vacío, después de agregar unas gotas de ácido clorhídrico 6 N en etanol; los restos de ácido clorhídrico se eliminaron en forma habitual con metanol.

CUADRO ISeparación cromatográfica de los alcaloides berberínicos

Fracc. n°	Eluyente	Volumen (ml)	Eluido (mg)	Sustancia (micropl.)
1	Cl ₃ CH:MeOH (98: 2)	165	11	Coptisina
2	Cl ₃ CH:MeOH (98:2)	5		
3	Cl ₃ CH:MeOH (97:3)	30	3	Berberina trazas de coptisina
4	Cl ₃ CH:MeOH (97:3)	230	14	Berberina
Total			28 mg	(5%)

Identificación de la Berberina.- Cloruro. El residuo de 14 mg resultante de la fracción cuatro (cuadro I), se disolvió en 1.2 ml de agua caliente; se filtró para eliminar un pequeño residuo insoluble, se enfrió a temperatura ambiente y luego en baño de hielo. Se formó un precipitado amarillo cristalino que se filtró. Se obtuvieron 2 mg de agujas de p.f. 208-211° (desc.) (Kofler).

Su comportamiento cromatográfico en papel y en placa delgada es idéntico al de la muestra como puede observarse a continuación.

		<u>Rf (Bocconia)</u>	<u>Rf (Testigo)</u>
Papel	Sistema I	0.45	0.45
	Sistema III	0.64	0.64
Placa	Sistema IV	0.52	0.52
	Sistema VI	0.78	0.78

Ambas sustancias presentan fluorescencia verde a la luz ultravioleta.

Su espectro ultravioleta tiene λ EtOH 95% máx. 230, 265, 347 y 425 m μ ; $\log \epsilon$ 4.35, 4.34, 4.30 y 3.67.

Su espectro infrarrojo (BrK) presenta bandas en 1630(m), 1600(mf), 1560(d) cm^{-1} (sistema aromático); 1270(mf), 1230(mf) cm^{-1} (tensión C-O de las uniones etéreas con el sistema aromático); 925(m) cm^{-1} (grupo metilendioxi); 895(f) cm^{-1} (flexión C-H de los hidrógenos aromáticos aislados, anillos A y C); 825(m) cm^{-1} (flexión C-H de los hidrógenos aromáticos vecinos, anillo D).

Ambos espectros son idénticos al de una muestra de cloruro de berberina.

Identificación de la Coptisina.- Cloruro. El residuo de 11 mg de la fracción uno (cuadro I) se disolvió en 0.7 ml de agua caliente, se filtró para eliminar un pequeño residuo insoluble, se enfrió a temperatura ambiente y luego en baño de hielo. Se formó un precipitado anaranjado cristalino que se filtró. Se obtuvieron 2 mg de prismas anaranjados que no fundieron a 330° (Kofler) de acuerdo con los datos de la literatura.

Por cromatografía en papel (sistema I) da Rf 0.39, (sistema III) Rf 0.51, en placa delgada (sistema IV) Rf 0.64; presenta fluorescencia amarilla a la luz ultravioleta.

Su espectro ultravioleta tiene $\lambda_{\text{máx.}}^{\text{EtOH } 95^\circ}$ 228, 238, 264, 355 y 455 m μ ; es muy semejante al del cloruro de berberina.

El valor de Rf de esta sustancia por cromatografía en papel (sistema I), así como el color de su fluorescencia a la luz ultravioleta hicieron pensar que la misma pudiera ser cloruro de coptisina, un alcaloide encontrado en varios géneros de la familia Papaveraceae y que generalmente acompaña a la berberina.

A nuestro pedido, el Dr. Slavík efectuó su reconocimiento comparando su comportamiento cromatográfico con el de una muestra auténtica.

Identificación de los alcaloides protopínicos

Para la separación de los alcaloides protopínicos se empleó el precipitado B obtenido como se ha descrito anteriormente.

680 mg de dicho residuo se cromatografiaron por una columna conteniendo 30 g de alúmina (Woelm, neutra, actividad III) (17 x 170 mm). La columna se llenó con benceno y se añadió la alúmina lentamente, de manera que fuera sedimentando en forma continuada hasta terminar la operación, conservándola siempre con una capa de benceno sobrenadante en su parte superior. La sustancia a cromatografiar se suspendió en benceno, se agregaron 500 mg de alúmina y esta suspensión se añadió a la parte superior de la columna. Se recogieron fracciones de 20 ml cada una que se controlaron por cromatografía en placa delgada (sistema IV).

Se hicieron pasar primero 350 ml de benceno para eluir los restos de alcaloides benzofenotridínicos presentes y una vez terminada esta elución se empleó el mismo solvente, contenido canti-

dades crecientes de éter. Recién cuando contenía 10% de éter comenzaron a eluirse los alcaloides protopínicos en la forma indicada en el cuadro II.

Las fracciones que dieron cromatogramas idénticos se reunieron y se eliminó el solvente por destilación al vacío.

CUADRO II

Separación cromatográfica de los alcaloides protopínicos

Frac. nº	Eluyente	Volumen	Eluido (mg)	Sustancia (microplaca)
1	C ₆ H ₆ :éter(9:1)	100	41(6%)	Protopina
2	C ₆ H ₆ :éter(4:1)	120		
3	C ₆ H ₆ :éter(1:1)	60		
4	C ₆ H ₆ :éter(1:1)	100	59(6%)	Alcriptopina

Identificación de la Protopina.— El residuo aceitoso, bien seco, proveniente de evaporar a sequedad la fracción 1 de la columna de alúmina (cuadro II), se transformó por raspado con etanol en un sólido cristalino, que recrystalizado de etanol dió 10 mg de prismas de p.f. 204-205°. El punto de fusión mezcla con una muestra auténtica de protopina de p.f. 209^a dió p.f. 205-207°. Los valores de R_f de las cromatografías en papel (sistema I) y en placa delgada (sistema IV) son 0.69 y 0.38 respectivamente, que coinciden con los valores obtenidos para el testigo.

Su espectro ultravioleta tiene $\lambda_{\text{EtOH } 95\%}^{\text{máx}} 288 \text{ m}\mu$; $\log \epsilon$ 3.89 y coincide con el valor $\lambda_{\text{EtOH } 95\%}^{\text{máx}} 288 \text{ m}\mu$; $\log \epsilon$ 3.92 obtenido empleando protopina bien identificada.

Identificación de la Alocriptopina (Δ -fagerina).— El residuo acitoso bien seco, proveniente de la fracción cuatro de la columna de alúmina (cuadro II), se transformó, por añadido de etanol y raspado, en un sólido cristalino que recristalizado dos veces de etanol dió 14 mg de prismas de p.f. 168-171°; el punto de fusión mezcla con alocriptopina de p.f. 170° no dió depresión.

Ambas muestras dan los mismos Rf de 0.69 (sistema I) y 0.22 (sistema IV).

Su espectro ultravioleta tiene $\lambda_{\text{EtOH } 95\%}^{\text{máx}} 282 \text{ m}\mu$; $\log \epsilon$ 3.72; coincide con el valor $\lambda_{\text{EtOH } 95\%}^{\text{máx}} 282 \text{ m}\mu$; $\log \epsilon$ 3.79 obtenido con la alocriptopina utilizada como testigo.

II.- ALCALOIDES DE LA RAÍZ

La experiencia adquirida en la separación de los distintos grupos de alcaloides presentes en el tallo de la B. paracsi Hutch. se aplicó al estudio de las bases presentes en la raíz, utilizando el mismo esquema general de fraccionamiento y realizando algunas modificaciones que permitieron llegar más rápidamente a la separación de los distintos grupos.

650 g de raíz recogidos en la Provincia de Tucumán, se cortaron en trozos pequeños de unos cuatro a cinco centímetros de diámetro y se molieron a un polvo grueso no mayor de dos milímetros. Este polvo se extrajo con 3500 ml de etanol por agitación, a

temperatura ambiente, durante 17 horas.

El metanol se decantó, (el color rojo de la solución es menos intenso que el de la extracción análoga realizada con el tallo), se repitió la operación dos veces más con 2200 ml de metanol cada vez durante 20 horas, y luego otras tres veces con el mismo volumen de dicho solvente conteniendo 2% de ácido acético cada vez, durante períodos de 23 horas.

Las cromatografías en papel de los tres primeros extractos (sistemas I, II y III) y en placa delgada (sistema V), dieron cromatogramas similares indicando la presencia de varios alcaloides, distinguibles por su coloración y su fluorescencia a la luz ultravioleta. Por comparación con cromatogramas de tallo, ya estudiada, se sospechó la presencia de las siguientes bases: a) grupo de la benzofenantridina: quelcritrina, sanguinarina y quelirrubina; b) grupo de la berberina: berberina y coptisina; c) grupo de la proto-pina: protopina y alocriptopina. Todos ellos fueron posteriormente identificados en la forma que se describe para cada caso particular.

Los extractos reunidos (12-13 litros) se filtraron para eliminar algunas partículas de material vegetal y se concentró al vacío (30 mm) a 40-50° hasta un volumen de unos 1300 ml. Durante la concentración se observó la aparición de un precipitado blanco formado por cristales, impurificados por una sustancia aceitosa. Se dejó reposar toda la noche, se centrifugó, se lavó tres veces con 15 ml de metanol frío cada vez y el residuo se dejó secar al aire y luego en desecador. Se obtuvieron 2.4 g (0.38%) de un sólido amarillento que dió reacción negativa de alcaloides.

El líquido centrifugado y las aguas de lavado se concentraron al vacío hasta un volumen de aproximadamente 600 ml. En el transcurso de la operación se formó un nuevo precipitado pulverulento de color marrón que mostró también formas cristalinas; se dejó reposar durante toda la noche en heladera (temperatura aproximada 4°). Se centrifugó y se lavó cuatro veces con diez ml de metanol helado cada vez. Se obtuvieron 3.0 g (0.47% del material extraído) de un polvo castaño con reacción negativa de alcaloides.

Los precipitados obtenidos en las operaciones anteriores, que no fueron posteriormente trabajados, parecen estar en buena parte formados por sales, pues no fundieron a 290° y por calcinación dejaron un residuo inorgánico abundante.

Al sobrenadante se agregó, con agitación, un volumen igual de ácido clorhídrico 7%, lo que determinó la aparición de un precipitado oscuro. Se dejó toda la noche a temperatura ambiente, se centrifugó, se lavó el residuo con diez ml de metanol: agua (1:1) y se secó en desecador. Se obtuvieron 5.0 g (0.77 %) de sustancia gomosa de color rojo oscuro (precipitado A) que dió reacción de alcaloides. Las cromatografías en papel (sistema I, II y III) indicaron la presencia de eucleritrina, sanguinarina, berberina, coptisina y una pequeña cantidad de otra base no fluorescente con Rf mayor en todos los sistemas, que no pudo ser posteriormente reconocida. Este precipitado fue utilizado posteriormente para separar, con otras fracciones, los alcaloides berberínicos.

Al líquido rojo sobrenadante anterior se le añadieron 80 ml de ácido clorhídrico (d: 1.19) y se concentró por evaporación al vacío a una temperatura no mayor de 50°, hasta un volumen de aproxima-

damente 680 ml. La suspensión se calentó a 80° con lo cual se disolvió la mayor parte de la misma, y se filtró entonces para eliminar un pequeño residuo gomoso que, analizado por cromatografía mostró tener las mismas bases que el precipitado A mucho más abundante, por lo cual fue descartado.

La separación previa de los precipitados gomosos anteriores facilita la obtención en forma sólida friable de los productos insolubles que se obtuvieron al continuar la operación.

El líquido filtrado se dejó reposar toda la noche, separándose en forma continuada un precipitado rojo ladrillo pulverulento que se centrifugó cada veinticuatro horas, obteniéndose de esta forma cuatro fracciones.

El análisis cromatográfico de estas fracciones, efectuado en los sistemas mencionados para los precipitados anteriores indicó la presencia de queleritrina, sanguinarina, cuclirrubina, berberina y coptisina en todas ellas, por lo cual se reunieron las mismas y se obtuvieron 4,5 g (0,7%) de un polvo por lo cual se reunieron las mismas y se obtuvieron 4,5 g (0,7%) de un polvo rojo ladrillo (precipitado B).

La cromatografía del líquido sobrenadante reveló la presencia de los alcaloides protopínicos originalmente presentes, los dos alcaloides del grupo de la berberina y trazas de las bases benzofenantridínicas originales.

A dicho sobrenadante final se le añadió, lentamente y con agitación, solución de hidróxido de sodio 40%. Al llegar al pH alcalino apareció un precipitado blancuzco, flaculento; la adición se continuó hasta terminar la producción del mismo.

Se enfrió entonces la suspensión a 4° durante cuatro horas, al cabo de las cuales se filtró y el precipitado se lavó con agua hasta que las aguas de lavado tuvieran reacción neutra. Se obtuvieron 2.4 g (0.37%) de un sólido amorfo, blanco amarillento (precipitado C).

Este precipitado indicó por cromatografía, la presencia de alcaloides protopínicos, berberínicos y benzofenantridínicos. El en. y o del sobrenadante indicó que los benzofenantridínicos han precipitado totalmente, mientras que quedan en solución parte de los alcaloides protopínicos y berberínicos.

A esta solución se añadieron 30 ml de ácido clorhídrico concentrado y luego se llevó a pH 8.7 con carbonato de sodio sólido.

Se extrajo entonces con éter (5 x 150 ml) hasta reacción negativa de alcaloides en los extractos.

Estos últimos fueron reunidos, se lavaron con agua hasta reacción neutra (3 x 100ml), se secaron sobre sulfato de sodio y se evaporaron obteniéndose 647 mg de un residuo amorfo (precipitado D). La cromatografía en papel y en placa delgada no dió fluorescencia en las zonas correspondientes a los alcaloides benzofenantridínicos y berberínicos indicando la ausencia de estos grupos. El reactivo de Drange-droff permitió distinguir, en placa (sistema IV), dos manchas con Rf 0.32 y 0.20 que corresponden a protopina y alocriptopina respectivamente.

La fase ~~acuosa~~ proveniente del extracto etéreo se alcalinizó después hasta pH 11 por añadido de hidróxido de sodio 40% y se extrajo con cloroformo (4 x 300 ml) separando las fases por centrifugación. Los extractos clorofórmicos se lavaron con agua hasta reacción

neutra (2 x 150 ml); la fase acuosa sobrenadante de la extracción anterior, dió reacción positiva débil de Mayer por lo cual se deshechó. Los extractos clorofórmicos se secaron sobre sulfato de sodio y se evaporaron a sequedad dando 75 mg de un residuo vidrioso de color castaño (precipitado E).

La cromatografía en papel (sistema I y III) y en placa delgada (sistema IV), del precipitado E indicaron la presencia de berberina, coptisina y una pequeña proporción de otra base con Rf 0.08 en placa delgada y fluorescencia amarilla.

El contenido de bases de los distintos precipitados mencionados puede observarse en el cuadro III.

CUADRO III

Fraciones obtenidas del extracto original de la raíz de B. pearcei

Precipitado	Peso (g)	Alcaloides presentes	Alcaloides aislados	Observaciones
A	5.0	Quelcitrina Sanguinarina Quelirrubina Berberina Coptisina	Berberina Coptisina	Gomoso Obtenido en medio ácido.
B	4.5	Quelcitrina Sanguinarina Quelirrubina Berberina Coptisina	Quelcitrina Sanguinarina Quelirrubina Berberina Coptisina	Obtenido en medio ácido.
C	2.4	Protopina Alocriptopina Quelcitrina Sanguinarina Berberina Coptisina	Berberina Coptisina	Precipitado con hidróxido de sodio.
D	0.65	Protopina Alocriptopina	Protopina Alocriptopina	Extracto etéreo (Carbonato de sodio).
E	0.17	Berberina Coptisina		Extracto cloroformico. (Hidróxido de sodio).

De acuerdo con lo indicado en el cuadro III, del precipitado B se fraccionaron los alcaloides benzofenantridínicos mientras que

los precipitados A y C se utilizaron para obtener los alcaloides berberínicos solamente.

Fraccionamiento de los alcaloides benzofenantridínicos y berberínicos

Precipitado B: Se suspendieron 3.4 g del precipitado B en 500 ml de agua, se acidificó con ácido clorhídrico hasta pH 4 y se calentó a 80° agitando continuamente. La mayor parte se disolvió con relativa rapidez quedando un pequeño residuo insoluble que se filtró en caliente. La solución se dejó enfriar a temperatura ambiente y se alcalinizó con carbonato de sodio sólido.

Al llegar a pH 7 se produjo un abundante precipitado flocculento, a pH 8 el color de la suspensión pasó de pardo naranja a marrón. La adición se suspendió al llegar a pH 10, habiéndose empleado un total 3.5 g de carbonato.

La suspensión se extrajo con éter (10 x 300 ml), formándose una interfase que fue disminuyendo en el transcurso de la misma. Los extractos etéreos reunidos se secaron sobre sulfato de sodio y se eliminó el éter; el residuo así obtenido, se disolvió en 50 ml de cloroformo:etanol (1:1) y se acidificó con 1 ml de ácido clorhídrico 6 N en etanol. La solución adquirió inmediatamente color rojo rubí.

Se evaporó entonces el solvente, se evaporaron los restos de ácido clorhídrico en la forma habitual con etanol y se secó el residuo. Se obtuvieron 2.7 g de sólido amorfo de color naranja, que por cromatografía en papel (sistema I) y en placa (sistema IV) indicó la presencia de quelicitrina, sanguinarina y trazas de alcaloides berberínicos que se separaron y purificaron según se describe más adelante.

A la fase acuosa resultante de la extracción etérea se agregaron 30 ml de una solución de hidróxido de sodio 2 N (pH mayor de 10) y se extrajo con cloroformo (6 x 300 ml) hasta reacción negativa de alcaloides (Mayer).

Los extractos clorofórmicos reunidos se lavaron con 200 ml de agua, se secaron sobre sulfato de sodio, se eliminó el solvente y el residuo, de color pardo naranja, se disolvió en 30 ml de cloroformo; etanol (1:1) caliente dando una solución de color pardo que se acidificó añadiendo 0.5 ml de ácido clorhídrico 6 N en etanol. El color viró al rojo. Se eliminó entonces el solvente y los restos de ácido clorhídrico en la forma habitual. Se obtuvieron 138 mg de un sólido de color anaranjado que por cromatografía en papel (sistema III) y en placa delgada (sistema IV) reveló contener berberina, coptisina y alcaloides benzofenantridínicos en proporción igual a los anteriores pero muy disminuida con respecto al producto original.

Para eliminar aún más estos últimos se sometió este sólido a una nueva separación disolviéndolo en agua y extrayéndolo primero con éter (pH 9-10) y luego con cloroformo (pH mayor de 10).

De esta distribución se obtuvieron 30 mg de un sólido, cuya cromatografía demostró que contenía solamente berberina y coptisina y que se reservó para trabajarlo junto con las fracciones provenientes de los precipitados A y C.

Precipitado A: 4.5 g de este precipitado se disolvieron en 40 ml de ácido acético, obteniéndose una solución color rojo oscuro, a la cual se agregaron 40 ml de agua lo que determinó la aparición de un abundante precipitado pardo aceitoso que se eliminó por centrifugación y decantación. En el líquido sobrenadante se efectuó la separación de

los alcaloides benzofenantridínicos y berberínicos por el método empleado para el precipitado B. La fracción que contenía las bases benzofenantridínicas no fue purificada.

Del extracto clorofórmico, que contenía los alcaloides berberínicos se obtuvieron 65 mg de un residuo color castaño cuya cromatografía en papel (sistema III) indicó solamente la presencia de berberina y coptisina.

Precipitado C: 860 mg del mismo se fraccionaron tal como se ha indicado para los precipitados A y B. La mezcla de alcaloides benzofenantridínicos y protopínicos que pasan al éter no fue trabajada ulteriormente por disponerse del material del precipitado D de donde resulta más fácil aislar y caracterizar los alcaloides protopínicos.

Dieron 35 mg de cloruros que por cromatografía en papel (sistemas I y III) y en placa delgada (sistema IV) indicaron la presencia de berberina, coptisina y una base con Rf 0.08 en placa con fluorescencia amarilla.

Otros 30 mg se obtuvieron de una fracción similar.

Identificación de los alcaloides benzofenantridínicos

La mezcla de cloruros de alcaloides benzofenantridínicos obtenida del precipitado B (540 mg) fue separada por cromatografía empleando una columna conteniendo 365 g de celulosa (Whatmann, Standard Grade) 41 x 660 mm) que se preparó en la forma habitual.

Como solvente de elución se utilizó butanol:ácido acético: agua (10:1:1); se recogieron fracciones de 15 ml que se controlaron por cromatografía.

Primeramente se eluyó una mezcla de sustancias que colorean de amarillo pardo la solución y que por cromatografía presenta varias manchas con fluorescencia azul, lo cual es característico de los productos de descomposición de las bases benzofenantridínicas.

Después de esta elución, las fracciones siguientes (225 ml) contenían solamente queleritrina, los 105 ml siguientes queleritrina sanguinarina y una tercer base que no había sido detectada originalmente, que luego fue identificada como quelirrubina; las últimas fracciones útiles (160 ml) contenían solamente sanguinarina.

Las fracciones que mostraron tener los mismos componentes se reunieron, se añadió un volumen igual de agua y se evaporaron al vacío hasta casi sequedad sin pasar la temperatura de 50°. Los restos de solvente se eliminaron agregando unos mililitros de etanol y evaporando nuevamente a sequedad, repitiendo la operación si es necesario.

Se obtuvieron 200 mg (37%) de las fracciones que contenían cloruro de queleritrina, 140 mg (25%) de la mezcla de cloruros de queleritrina, sanguinarina y quelirrubina y 140 mg (25%) de cloruro de sanguinarina, con una recuperación del 88% del sólido original.

La repetición de este procedimiento, con otros 550 mg de cloruros de la misma mezcla anterior dió 211 mg (38%) de cloruro de queleritrina, 170 mg (31%) de la fracción mezcla y 136 (25%) de cloruro de sanguinarina (recuperación del 94%).

Identificación del Queleritrina.- Cloruro. Se recrystalizaron 210 mg del cloruro de queleritrina crudo, de cinco mililitros de etanol; obteniéndose por enfriamiento cristales amarillo de p.f. 206-208° que fueron luego recrystalizados de la mínima cantidad del mismo solvente hasta obtener un punto de fusión constante de 210-211° (desc.).

Por cromatografía en papel (sistema I) da Rf 0.57; en placa de Avicel, (sistema I) (Giacopello, 1965) Rf 0.54 y en placa (sistema V) Rf 0.41.

Su espectro ultravioleta tiene $\lambda_{\text{EtOH } 95\% \text{ máx}}$ 227, 273, 281, 320, 339 (inflexión) y banda ancha de 390 a 450 m μ ; log ϵ 4.22, 4.50, 4.47, 4.29, 4.09 y 3.60.

Su espectro infrarrojo (BrK) presenta bandas en 1630 (m), 1600 (f), 1540 (m) cm $^{-1}$ (sistema aromático); 1280 (mf), 1250 cm $^{-1}$ (tensión C-O de las uniones etéreas con el sistema aromático); 930 (mf) cm $^{-1}$ (grupo metilendioxi); 875 (f) cm $^{-1}$ (flexión C-H de los hidrógenos aromáticos vecinos, anillos A y C).

Ambos espectros son idénticos con los obtenidos a partir del cloruro de cucleritrina del tallo.

Pseudo cianuro. (Slavík y Slavíková, 1960). Se suspendieron 50 mg del cloruro ro purificado en tres mililitros de agua y se disolvieron calentando a 50°. Se añadieron entonces, gota a gota con agitación, 0.3 ml de una solución acuosa de cianuro de potasio al 5%. La solución se decoloró y apareció inmediatamente un precipitado amorfo blanco grisáceo. Después de estacionar la suspensión en baño de hielo durante quince minutos, se filtró, se lavó con agua helada y se secó bien. Se obtuvieron 40 mg (84%) de un sólido blanco rosado que después de dos recristalizaciones de cloroformo:etano (1:1) rindió 25 mg de prismas incoloros de p.f. 258-260° (desc.). El punto de fusión mezcla con el pseudo cianuro obtenido del tallo no dió depresión.

Su espectro ultravioleta tiene $\lambda_{\text{EtOH } 95\% \text{ máx}}$ 227, 317 y 347 (inflexión) m μ ; log ϵ 4.32, 4.44, 3.95 y 3.34.

Su espectro infrarrojo (Nujol) presenta bandas en 1615 (d) 1590 (d), 1500 (f) cm $^{-1}$ (sistema aromático); 1275 (mf), 1230 (mf) cm $^{-1}$ (tensión C-O de las uniones etéreas aromáticas); 950 (f) cm $^{-1}$ (grupo

matilendioxi); 870 (m), 860 (f) cm^{-1} (flexión C-H de los hidrógenos aromáticos aislados, anillo D); 835 (m), 825 (m), 820 (m), 805 (f) cm^{-1} (flexión C-H de los hidrógenos aromáticos vecinos, anillos A y C). Ambos espectros coinciden con los obtenidos a partir del pseudo cianuro de queleritrina obtenido del tallo.

Dihidroqueleritrina. Se utilizó la técnica descrita por Chatterjee, Bose y Gosh (1959). Se disolvieron 30 mg de cloruro de queleritrina (p.f. 209) en 15 ml de etanol y se agregaron 300 mg de borohidruro de sodio sólido. La solución se decoloró de inmediato, se dejó toda la noche a temperatura ambiente, se evaporó entonces el metanol al vacío y el residuo blanco resultante se suspendió en 10 ml de agua y se extrajo con cloroformo (4 x 10 ml), el extracto clorofórmico se lavó con agua, se secó y se eliminó el solvente. El residuo se recristalizó dos veces de etanol obteniéndose 13 mg de prismas incoloros con p.f. 164-165°. Los autores mencionados y Tani y Takao (1962) dan para esta sustancia p.f. 165-166°.

Su espectro ultravioleta tiene λ ^{EtOH 95%} máx. 282, 316 y 347 (inflexión) $m\mu$; $\log \epsilon$ 4.41, 4.47, 4.12, 3.55; coincide con el publicado por Tani y Takao (1962).

Identificación de la Sanguinarina.- Cloruro.- Se recristalizaron de etanol 88 mg de cloruro de sanguinarina crudo obtenido de la columna de celulosa, se obtuvieron 67 mg de prismas largos anaranjados de p.f. 278° (desc.)

Por cromatografía en papel (sistema I) da R_f 0.45; en placa de Avicel (sistema I) (Giacopello, 1965) R_f 0.45 y en placa (sistema V) R_f 0.53.

Su espectro ultravioleta tiene λ ^{EtOH 95%} máx. 235, 282, 326 y 348 (inflexión) $m\mu$; $\log \epsilon$ 4.43, 4.48, 4.21 y 3.85.

Su espectro infrarrojo (BrK) presenta bandas en 1635 (d) 1600 (m), 1550 (d) cm^{-1} (sistema aromático); 1270 (mf) cm^{-1} (grupo metilendioxi); 895 (d), 860 (m) cm^{-1} (flexión C-H de los hidrógenos aromáticos aislados, anillos B y D); 830 (m), 815 (m) cm^{-1} (flexión C-H de los hidrógenos aromáticos vecinos, anillos A y C).

Pseudo cianuro. (Slavík y Slavíková, 1960). Se suspendieron en tres ml de agua, 50 mg de cloruro de sanguinarina crudo, se disolvieron calentando a 50° y se añadieron lentamente y agitando 0.4 ml de una solución de cianuro de potasio al 5%. Se produjo de inmediato un abundante precipitado floculento rosado, se enfrió en baño de hielo durante quince minutos, se filtró y secó. Se obtuvieron 38 mg (80%) de sólido amorfo rosado que fue recristalizado dos veces de etanol. Prismas de p.f. $246-248^\circ$ (desc.). El punto de fusión mezcla con el pseudo cianuro de sanguinarina obtenido del tallo no dió depresión.

Su espectro ultravioleta tiene $\lambda_{\text{máx.}}^{\text{EtOH } 95\%}$ 232, 280, 324, 333, y 348 (inflexión) $\text{m}\mu$; $\log \epsilon$ 4.14, 4.22, 3.95, 3.93 y 3.59.

Su espectro infrarrojo (Nujol) presenta bandas en 1625 (d), 1510 (m) cm^{-1} (sistema aromático); 1250 (mf) cm^{-1} (tensión C-O de las uniones éteres aromáticas); 945 (mf) cm^{-1} (grupo metilendioxi); 870 (mf), 860 (m) cm^{-1} (flexión C-H de los hidrógenos aromáticos aislados, anillo D); 860 (m), 825 (m), 815 (mf) cm^{-1} (flexión C-H de los hidrógenos aromáticos vecinos, anillos A y C). Tal como ocurre en el pseudo cianuro de queleritrina no se observó la banda en 2100-2400 cm^{-1} característica de la unión $\text{C} \equiv \text{N}$.

Dihidrosanguinarina. Se adaptó la técnica utilizada por Chatterjee, Bose y Gosh (1959) para la dihidroqueleritrina.

Se disolvieron 30 mg de cloruro de sanguinarina (p.f. 277-278°) en quince ml de metanol a temperatura ambiente. Se agregaron 300 mg de borohidruro de sodio, lo cual determinó la decoloración inmediata de la solución, y se dejó toda la noche a temperatura ambiente. Se evaporó entonces el metanol y suspendió el residuo en 10 ml de agua. Se extrajo con cloroformo (4 x 10 ml). Se lavó éste una vez con 10 ml de agua, se secó sobre sulfato de sodio y evaporó a sequedad.

El residuo se cristalizó de 10 ml de etanol, filtrando en caliente, obteniéndose 13 mg de cristales de p.f. 189-191° que por una ulterior recristalización de cloroformo:etanol dieron 10 mg de prismas incoloros con el mismo punto de fusión; Tani y Takao (1962) dan para esta sustancia p.f. 188-189°.

Su espectro ultravioleta tiene $\lambda_{\text{máx. EtOH 95\%}}$ 237, 284 y 321 m μ ; $\log \epsilon$ 4.53, 4.54 y 4.21; coincide con el publicado por Tani y Takao (1962).

Identificación de la Quelirrubina.- Cloruro. Para el aislamiento de la quelirrubina se cromatografiaron fracciones de 30 mg cada una de la mezcla que la contiene junto con queleritrina y sanguinarina.

Se utilizó una columna conteniendo 15 g de sílice (Mallinckrodt, malla 100) (13 x 180 mm).

Se preparó suspendiendo la sílice cloroformo y se añadió la suspensión a la columna, conservando siempre una capa de solvente sobre la sílice.

Los 30 g de material cromatografiados se colocaron en la columna por el método habitual y se lavó primero con cloroformo y luego con cloroformo conteniendo 0.5% de piridina. Esta solución debe

efectuarse con rapidez (dos horas), pues de otra manera las bandas difunden, lo cual se logra por aplicación de vacío.

La quelirrubina se movió como una banda roja inicial detrás de la cual se desplazó una banda naranja de sanguinarina mientras que la quelonitrina quedaba cerca del origen.

Se recogieron fracciones de cuatro ml que se controlaron por cromatografía en placa utilizando benceno:acetona (4:1) para el desarrollo.

Las fracciones que contenían solo quelirrubina se reunieron, se llevaron a sequedad por evaporación al vacío y se eliminaron los restos de piridina por sucesivas evaporaciones con metanol. Eliminada la piridina, el residuo se transformó totalmente en cloruro disolviéndolo en metanol, añadiendo unas gotas de ácido clorhídrico 6 N en etanol y evaporando nuevamente a sequedad. Se obtuvieron 5 mg.

De un total de 120 mg de mezcla se pudieron obtener por este procedimiento 16 mg de cloruro de quelirrubina, que por cromatografía en papel mostró tener solamente trazas de sanguinarina.

Recristalizados de ácido clorhídrico diluido se obtuvo un precipitado cristalino rosado (agujas) de p.f. 292-293° (desc.) (Kofler); una muestra de cloruro de quelirrubina auténtica dió p.f. 296-297° (desc.) (Kofler).

En la cromatografía en papel y en placa delgada su comportamiento es idéntico al del cloruro de quelirrubina enviado por el Dr. Slavík utilizado como testigo.

Ambas muestras presentan fluorescencia roja a la luz ultravioleta.

		<u>Rf Bocconia</u>	<u>Rf (Testigo)</u>
Papel	{ Sistema I	0.64	0.64
	{ Sistema II	0.63	0.63
Placa	{ Sistema V	0.75	0.75

Su espectro ultravioleta tiene $\lambda_{\text{máx.}}^{\text{EtOH } 95\%}$ 233, 282, 342, 352 y una banda ancha en la zona de 500 m μ y es idéntico al descrito en la literatura (Tani y Takao, 1962) (Slavík, Slavíková y Appelt, 1965).

Identificación de los alcaloides berberínicos

Para la separación de los alcaloides berberínicos se utilizó el residuo de los extractos clorofórmicos provenientes de los precipitados A, B y C.

El fraccionamiento y purificación se llevó a cabo mediante una columna de alúmina (Woelm, neutra, actividad III) utilizando 40 g de alúmina para 160 mg de residuo clorofórmico (16 x 260 mm).

La elución se efectuó empleando primero cloroformo con cantidades crecientes de metanol, recogiénose fracciones de cinco ml que se controlaron por cromatografía en placa delgada (sistema IV).

El cloroformo puro eluyó inicialmente los alcaloides benzofenantridínicos, cuando se utilizó cloroformo conteniendo 2% de metanol se produjo la separación de las bases en la forma indicada en el cuadro IV.

CUADRO IVSeparación cromatográfica de los alcaloides berberínicos

Frac. n°		Volumen (ml)	Fluido (mg)	Sustancia (microplaca)
1	Cl ₃ CH:MeOH (98:2)	40	3	Trazas de coptisina.
2	Cl ₃ CH:MeOH (98:2)	280	36	Coptisina
3	Cl ₃ CH:MeOH (98:2)	80	3	Coptisina y Berberina
4	Cl ₃ CH:MeOH (98:2)	160	17	Berberina

La elución con cloroformo:metanol (1:1) dió una sustancia con fluorescencia amarilla a la luz ultravioleta que daba reacción de Dragendorff positiva, que no pudo caracterizarse. Por cromatografía en papel (sistema I) da Rf 0.41 y en placa (sistema IV) Rf 0.12.

Identificación de la Berberina.-Cloruro. Se cristalizaron de etanol 17 mg del cloruro de berberina (fracción cuatro) obteniéndose 2 mg de aguijones amarillos de p.f. 204° (desc.) (Kofler); un testigo de cloruro de berberina fundió a 208° (desc.) (Kofler).

Su comportamiento cromatográfico en papel y en placa delgada resultó idéntico al del testigo auténtico como puede observarse a continuación.

		<u>Rf (Bocconia)</u>	<u>Rf (Testigo)</u>
Papel	{ Sistema I	0.53	0.53
	{ Sistema III	0.61	0.61
Placa	{ Sistema IV	0.51	0.51
	{ Sistema VI	0.70	0.70

Ambas sustancias presentan fluorescencia verde a la luz ultravioleta. Su espectro ultravioleta tiene $\lambda_{\text{máx.}}^{\text{EtOH 95\%}}$ 265, 347 y 425 m μ ; $\log \epsilon$ 3.98, 3.77, 4.11 y 3.45.

Su espectro infrarrojo (BrK) presenta bandas en 1630 (m) 1600 (m) y 1560 (d) cm^{-1} (sistema aromático); 1270 (mf) 1230 (f) cm^{-1} (tensión C-O de las uniones etéreas con el sistema aromático); 925 (m) cm^{-1} (grupo metilendioxi); 895 (m) cm^{-1} (flexión C-H de los hidrógenos aromáticos vecinos, anillo D). Ambos espectros son idénticos a los de un testigo de cloruro de berberina.

Identificación de la Coptisina.- Cloruro. Los 35 mg de cloruro de coptisina obtenidos de la fracción 2 (cuadro IV), se recrystalizaron de etanol, filtrando en caliente para eliminar un pequeño residuo insoluble. Se obtuvieron 6 mg de agujas amarillo-naranja que no fundieron a 330° de acuerdo con los datos de la literatura.

Su comportamiento cromatográfico es idéntico al del cloruro de coptisina obtenido del tallo y que fuera reconocido como auténtico por el Dr. Slavík.

		<u>Rf (Bocconia)</u>	<u>Rf (Testigo)</u>
Papel	{ Sistema I	0.41	0.41
	{ Sistema III	0.54	0.54
Placa	{ Sistema IV	0.62	0.62

Ambas sustancias presentan fluorescencia amarilla a la luz ultravioleta.

Identificación de los alcaloides protopínicos

Para la separación y aislamiento de los alcaloides protopínicos, protopina y alocriptopina, se utilizó el precipitado D mencionado al describir la extracción de la raíz.

Se cromatografiaron 310 mg de dicho precipitado por una columna conteniendo 30 g de alúmina (Woelm, neutra, actividad III) (16 x 170 mm).

El desarrollo se efectuó empleando benceno con cantidades crecientes de cloroformo, controlando los eluidos cada 25 ml mediante el empleo de microplacas. Los resultados obtenidos pueden observarse en el cuadro V.

CUADRO V

Separación cromatográfica de los alcaloides protopínicos

Frac. n°	Fluyente	Volumen (ml)	Eluido (mg)	Eluido total	Sustancia (microplaca)
1	$C_6H_6:Cl_3CH$ (95:5)	300	143(46%)		Protopina
2.	$C_6H_6:Cl_3CH$ (9:1)	700		143	Protopina
3	Cl_3CH	200			
4	$Cl_3CH:MeOH$ (99:1)	350	129(42%)	272	Alocriptopina

Las fracciones que dieron cromatogramas idénticos se reunieron y se eliminó el solvente por destilación al vacío.

Una nueva cromatografía con 250 mg del mismo material dió resultados idénticos, obteniéndose 115 mg (46%) de protopina y 91 mg (36%) de alocriptopina.

Identificación de la Protopina.— Los residuos de las fracciones 2 y 3 de ambas cromatografías (protopina) se comportaron como homogéneas cuando se estudiaron en placa delgada. Se los reunió y los 258 mg resultantes se disolvieron en 10 ml de cloroformo a ebullición y se añadió carbón, se calentó unos pocos minutos y se filtró en caliente (Filtercel), lo cual eliminó algunas impurezas coloreadas.

El filtrado se concentró hasta un volumen de cinco ml y se mantuvo a ebullición suave mientras se agregaron seis ml de etanol. Después de algunos minutos aparecieron lentamente cristales prismáticos. Se enfrió a temperatura ambiente y luego en baño de hielo, se filtró, se lavó el residuo con etanol helado y se secó. Se obtuvieron 386 mg de cristales de p.f. 205–208° (capilar). Por recristalización de cloroformo:etanol se obtuvieron prismas de punto de fusión 207°. El punto de fusión con una muestra de protopina de p.f. 209° dió 207–208°.

Por cromatografía en papel (sistema I) da Rf 0.69 y en placa delgada (sistema IV) 0.32 que coinciden con los del testigo de protopina utilizado.

Su espectro ultravioleta tiene $\lambda_{\text{máx.}}^{\text{EtOH 95\%}}$ 288 m μ ; log ϵ 3.95 y coincide con el valor $\lambda_{\text{máx.}}^{\text{EtOH 95\%}}$ 288 m; log 3.92 obtenido con la muestra auténtica.

Su espectro infrarrojo (Nujol) presenta bandas en 1660 (mf) cm^{-1} (carbonilo); 1620 (d), 1490 (f) cm^{-1} (sistema aromático); 1240 (mf) (tensión C-O de las uniones etéreas con el sistema aromático); 940 (f) cm^{-1} (grupo metilendioxi); 900 (m), 890 (f), 880 (d) cm^{-1} (flexión C-H de los hidrógenos aromáticos aislados, anillo A); 855 (d), 825 (m), 810 (m) cm^{-1} (flexión C-H de los hidrógenos aromáticos vecinos, anillo B). Es idéntico al de una muestra de protopina utilizada como testigo.

La banda en 1660 cm^{-1} (C=O) está desplazada 30 cm^{-1} hacia menores frecuencias con respecto a la acetofenona, lo cual es característico de estas bases, a causa de la interacción entre el grupo carbonilo y el grupo =N-CH₃ (Mottus, Schwarz y Marion, 1953) (Anet y Marion, 1954) (Marion, Ramsay y Jones, 1951).

Picrato. Para la preparación del picrato de protopina se adaptó la técnica empleada para la alocriptopina por Deulofeu, Labriola y Berinzaghi (1947). Se utilizó protopina sublimada a 182° y 0.2 g, la cual se disolvió en la menor cantidad de etanol absoluto a ebullición. Se agregó la misma cantidad de ácido pícrico disuelto en etanol absoluto también a ebullición.

Inmediatamente apareció un precipitado amarillo cristalino que se dejó enfriar a temperatura ambiente y luego en baño de hielo. Se filtró y secó. Se obtuvieron cristales de p.f. 271-274° (Kofler). Después de tres recristalizaciones de etanol 70% se obtuvieron pequeñas agujitas de p.f. 274-276° (Kofler).

En capilar dió p.f. 272-273° utilizando un baño precalentado a 200° y calentando rápidamente hasta el punto de fusión; el valor del punto de fusión en capilar es muy sensible a la velocidad

de calentamiento por lo que resulta más útil el punto de fusión tomado en el Kofler.

Análisis: Calculado para $C_{26}H_{22}O_{12}N_4$: C, 53.61; H, 3.81. Encontrado: C, 53.70; H, 3.95.

Se preparó un picrato de protopina en la forma descrita, utilizando protopina auténtica de otro origen. El picrato obtenido dió p.f. 272-273° (Kofler); 269-271° (capilar) que coincide con el de la literatura (Seoane, 1965).

Los espectros infrarrojo (Nujol) y ultravioleta (etanol 70%) de ambos picratos son idénticos.

Agarwal (1937) da para su picrato de protopina p.f. 249°, no pudo aclararse si se trata de una forma dimorfa.

Identificación de la alocriptopina. (α -fagarina).- 220 mg de los residuos de las fracciones de alocriptopina obtenidos de las dos cromatografías anteriores, se recrystalizaron de 3ml de etanol filtrando en caliente para eliminar un pequeño residuo insoluble. Se obtuvieron 130 mg de cristales prismáticos algo amarillentos de p.f. 157° que recrystalizados de etanol dieron 110 mg de prismas de p.f. 168-169°. El punto de fusión mezcla con alocriptopina auténtica de p.f. 170° no dió depresión.

Por cromatografía en papel (sistema I) da Rf 0.70 y en placa delgada (sistema IV) Rf 0.22, que coinciden con los del testigo de alocriptopina utilizado.

Su espectro ultravioleta tiene λ EtOH 95% 282 m μ ; log ϵ 3.76 coincidente con el valor λ EtOH 95% 282 m μ ^{máx.}; log ϵ 3.79 obtenido para la alocriptopina auténtica.^{máx.}

1 2.6

Su espectro infrarrojo (Nujol) presenta bandas en 1660 (m) cm^{-1} (carbonilo); 1620 (m), 1600 (d), 1500 (mf) cm^{-1} (sistema aromático); 1240 (mf) cm^{-1} (tensión C-O de las uniones etéreas con el sistema aromático); 920 (f) cm^{-1} (grupo metilendioxi); 880 (m), 865 (f) cm^{-1} (flexión C-H de los hidrógenos aromáticos aislados, anillo A); 845 (m), 815 (f) cm^{-1} (flexión C-H de los hidrógenos aromáticos vecinos, anillo D).

Picrato. Para preparar el picrato de alocriptopina se utilizó la técnica descrita por Deulofeu, Labriola y Bérinzaghi (1947).

Se obtuvieron cristales amarillos con forma de prismas largos, p.f. 208-209° que recrystalizados de etanol absoluto dieron p.f. 209-210° coincidente con el señalado por los autores mencionados (208-209°). El punto de fusión mezcla con picrato de alocriptopina, preparado a partir de alocriptopina auténtica, no dió depresión.

CAPITULO VIIRESUMEN Y CONCLUSIONES

1- Se ha hecho una revisión de los alcaloides aislados de las especies de Bocconia y Macleaya que han sido investigadas, así como de la química y la biogénesis de los alcaloides benzafenantridínicos.

2- Se investigaron las bases presentes en la raíz y el tallo de la Bocconia pearcei Hutch., única especie de este género existente en nuestro país. De raíz y tallo de la misma se aislaron y caracterizaron siete alcaloides, los cuales pertenecen a tres grupos químicos diferentes: benzofenantridínicos (quelitrina, sanguinarina y quelirrubina), protopínicos (protopina y alocriptopina) y berberínicos (berberina y coptisina).

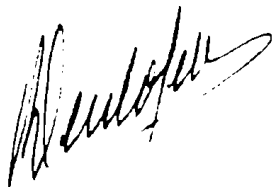
Cuatro de estos alcaloides (sanguinarina, quelirrubina, berberina y coptisina) no habían sido descritos anteriormente para esta planta.

Es este el primer caso de aislamiento de quelirrubina en especies de este género, así como de alcaloides del grupo de la berberina, los cuales se han aislado en cambio, de las especies del género Macleaya el cual está estrechamente relacionado con el género Bocconia.

Del tallo de B. pearcei Hutch. pudo aislarse además, en cantidad muy pequeña otra base que da sales coloreadas, cuyo comportamiento es muy semejante al de un alcaloide aislado por Slavík (1963) de Platystemon californicus Benth.

3- Todos los alcaloides aislados (con excepción de la quelirrubina cuya estructura es desconocida), poseen la misma distribución de los sustituyentes oxigenados y los grupos metilo y metileno se encuentran siempre unidos a oxígenos colocados en la misma posición del esqueleto carbonado, dando lugar, de esta manera, a dos grupos de bases cuyo tipo de sustitución es idéntico: queleritrina, alocriptopina y berberina por un lado, y sanguinarina, protopina y coptisina por otro. (Al agruparlas en esta forma se ha tenido presente el reordenamiento sufrido por los alcaloides benzofenantridínicos).

4- Se han determinado los espectros de resonancia magnética nuclear de los cloruros de queleritrina y sanguinarina así como el del pseudo cianuro de queleritrina. Mediante el cálculo de los índices de carga para la molécula del cloruro de sanguinarina se realizó una asignación de señales para todos los protones aromáticos de los cloruros cuaternarios y para los protones pertenecientes a los sustituyentes.



BIBLIOGRAFIA

- Agarwal R.R. (1937).- Proc.Natl. Inst. Sci. India 3, 319 C.A. 32,
2685 (1938).
- Anet F.A. L. y Marion L. (1954).- Can. J. Chem. 32, 452.
- Arthur H.R., Hui W.H. y Ng Y.L. (1958).- Chem. Ind. 1514.
- Arthur H.R., Hui W.H. y Ng Y.L. (1959 a).- J. Chem. Soc. 1840.
- Arthur H.R., Hui W.H. y Ng Y.L. (1959 b).- J. Chem. Soc. 4007.
- Arthur H.R. y Ng Y.L. (1959).- J. Chem. Soc. 4010.
- Bailey A.S. y Robinson R. (1949).- Nature 164,402.
- Bailey A.S. y Robinson R. (1950).- J. Chem. Soc. 1375.
- Bailey A.S., Robinson R. y Staunton R.S. (1950 a).- J. Chem. Soc. 2277.
- Bailey A.S., Robinson R. y Staunton R.S. (1950 b).- Nature 165,235.
- Bailey A.S. y Staunton R.S. (1952).- J. Chem. Soc. 2153.
- Bailey A.S. y Swallow D.L. (1956).- J. Chem. Soc. 2477.
- Bailey A.S. y Worthing C.R. (1956).- J. Chem. Soc. 4535.
- Barton D.H.R. y Cohen T. (1957).- Festschrift Prof. Dr. Arthur Stoll-
Birkhäuser - Basel - pg 117.
- Barton D.H.R., Hesse R.E. y Kirby G.W. (1963).- Proc. Chem. Soc. 267.
- Barton D.H.R., Kirby G.W., Steglich W. y Thomas G.M. (1963).-
Proc. Chem. Soc. 203.
- Battandier M. (1892).- Compt. Rend. 114,1122.
- Battandier M. (1895).- Compt. Rend. 120,1276; Bull. Soc. Chim. France
15,(3)542.
- Battersby A.R. y Binks R. (1960).- Proc. Chem. Soc. 360.
- Battersby A.R., Binks R., Foulkes D.M., Francis R.J., Mc Caldin D.J. y
Ramuz H. (1963).- Proc. Chem. Soc. 203.

- Battersby A.R., Francis J.R., Hirst M. y Staunton J. (1963).
Proc. Chem. Soc. 268.
- Battersby A.R., Francis J.R., Ruveda E. A. y Staunton J. (1965).
Chem. Commun. 89.
- Battersby A. R. y Harper B.J. (1958). Chem. Ind. 365.
- Battersby A.R. y Harper B.J. (1959). Proc. Chem. Soc. 152.
- Battersby A.R. y Harper B.J. (1962). J. Chem. Soc. 3526.
- Battersby A.R. y Mc Caldin D.J. (1962) Proc. Chem. Soc. 365.
- Bernoulli F., Linde H. y Meyer K. (1963) Helv. Chim. Acta 46,323.
- Bernstein H.J., Pople J.A. y Schneider W.G. (1957). Can. J. Chem.
35,65.
- Bersch H.W. (1958) Arch. Pharm. 291,491.
- Bilani V.S. (1944). Rev. Geogr. Am. 22(134) VI (según información
existente en el Instituto de Botánica Darwinion).
- Boit H.G. (1961). Ergebnisse der Alkaloid-Chemie bis 1960- Akademie-
Verlag - Berlín - pág. 362.
- Briggs L.H., Colebrook L.D., Fales H.M. y Wildman W.C. (1957)
Anal. Chem. 29,904.
- Brown R. (1826). Narrative of Denham and Clapperton - Appendix -
pág. 218 - (según Hutchinson, 1920).
- Bruchhausen F. y Bersch H.W. (1930). Chem. Ber. 63,2520.
- Bruchhausen F. y Bersch H.W. (1931). Chem. Ber. 64,947.
- Carman R.M. y Hall J.R. (1964). Australian J. Chem. 17,1354.
- Chatterjee A., Bose S. y Gosh G. (1959). Tetrahedron Letters 7,257.
- Comín J. y Doulofeu V. (1959). Tetrahedron 6,63.
- Corio P.L. y Dailey B.P. (1956). J. Am. Chem. Soc. 78,3043.
- Corrodi H. y Hardegger E. (1956). Helv. Chim. Acta 39,889.
- () () ()

- Dana (1828). J. Chim. medicale - Aout - pág. 384. (ver Schmidt, Koenig y Tietz, 1893).
- Deulofeu V., Labriola R. y Berinzaghi B. (1947). J. Org. Chem. 12, 217.
- Devoto F.E. y Rothkugel M. (1942). Indice flora leñ. Arg. - Publi. Misc. M.A. 140, 29. (según información Existente en el Instituto de Botánica Darwinien).
- Dimitri J. (1959). en Parodi L.R. - Enciclopedia Argentina de Agricultura y Jardinería - ACME S.A. - Bs.As. - pág. 382.
- Dominguez X.A., García Delgado J., Monroy A., Armendariz L.G., Alcala A.,
- Quevedo J. y Rojas P. (1965). Can. J. Chem. 43, 679.
- Mijkman J.F. (1884). Rec. Trav. Chim. 3, 172.
- Engler A. (1964). Syllabus der Pflanzen Familien - Berlin - pág. 180.
- Engler A. y Prantl K. (1891). Die Naturlichen Pflanzenfamilien - Leipzig pág. 137.
- Fedde (1905). Engl. Bot. Jahrb. - XXXVI - 82, 45.
- Fraenkel G., Carter R.E., Mc Lachlan A. y Richards J.H. (1960). J. Am. Chem. Soc. 82, 5846.
- Fraser. R.R. (1960). Can. J. Chem. 38, 2226.
- Gadamer J. (1919). Arch. Pharm. 257, 298 - C.A. 14, 1407 (1920). Chem. Zentr. 1920, I, 126.
- Gadamer J., Dieterle H., Stichel A., Theyssen M. y Winterfeld K. (1924 a). Arch. Pharm. 262, 249 - C.A. 18, 3679 (1924) - Chem. Zentr. 1924, II, 2586.
- Gadamer J., Dieterle H., Stichel A., Theyssen M. y Winterfeld K. (1924 b). Arch. Pharm. 262, 452 - C.A. 19, 831 (1925) - Chem. Zentr. 1925, I, 664.

- Gadamer J. y Winterfeld K. (1920).- Arch. Pharm. 258, 148 -
C.A. 15, 1902 (1921)-
Chem. Zentr. 1921, I, 409.
- Gear J. R. Spenser I.D. (1961).- Nature 191, 1393.
- Gear J. R. y Spenser I. D. (1963).- Can. J. Chem. 41, 783.
- Giacomello D. (1965) .- J. Chromatog. 19, 172.
- Gopinath K. W. Govindanchari T. R., Parthasarathy P. C. y Viswanathan N. (1959).- J. Chem. Soc. 4612.
- Gopinath K. W., Govindanchari T. R. y Viswanathan N. (1961).-
Tetrahedron 14, 322.
- Govindanchari T. R. y Thygarajan B. S. (1956).- J. Chem. Soc. 769.
- Graebe C. (1904).- Ann. Chem. 335, 127.
- Graebe C. y Trümpy F. (1898).- Chem. Ber. 31, 375.
- Greshoff M. (1898).- Mededeel. Lands Plantent 1898, gr. 8, cent. M 6-
Chem. Zentr. 1899, II, 596.(ver Boit, 1961,pg.362)
- Grisebach A. (1879).- Symb. Fl. Arg.:14 (según información existente
en el Instituto de Botánica Darwinion).
- Gupta R. N. y Spenser I. D. (1963).- Biochem Biophys. Res. Commun.13,115.
- Gupta R. N. y Spenser I.D. (1965).- Can. J. Chem. 43, 133.
- Hahr G. y Rumpf F. (1938).- Chem. Ber. 71,2141.
- Hahn G. y Schales C. (1935).- Chem. Ber. 68,24.
- Hahn G. y Stichl K. (1936).- Chem. Ber. 69,2627.
- Hall G.G., Hardisson A. y Jackman L.M. (1963).- Tetrahedron 19,
Suppl.2, 101.
- Haworth R.D. (1937).- J. Chem. Soc. 1312.
- Henry T.A. (1949).- The Plant Alkaloids- J. Churchill Ltd.- London-
4th ed.- pg. 277.

- Hesse O. (1871).- Chem. Ber. 4,693.
- Hopfgartner K. (1898).- Monatsh. Chem. 19,179.
- Hutchinson J. (1920).- Bull. of Miscellaneous Information Kew, pg. 275.
- Kaczmarek F. (1959).- Biul. Inst. Roslin. Lecznicznych 5,151.-
Chem. Zentr. 1961,2365.
- Karrer P. (1917).- Chem. Ber. 50,212.
- Karrer P. (1921).- Helv. Chim. Acta 4,703.
- Karrer P. (1923).- Helv. Chim. Acta 6,32.
- Kleinschmidt G. y Mothes K. (1959).- Z. Naturforsch. 146,52.
- Kling (1927).- Dissertation, Marburg -(ver Henry, 1949, pg. 279).
- Konowalowa R. Yunussoff S. y Orckhoff A. (1939).- Bull. Soc. Chim.
France 6,147.
- Lasso de la Vega J.F. (1892).- Gaceta Médica de México- Tomo 28-
pgs. 367-373-(ver Miller, 1929).
- Latzina S. (1937).- Lilloa 1,145 (según información existente en el
Instituto de Botánica Darwinion).
- Lauterbur P.C. (1961).- Tetrahedron Letters 274.
- Leota S. (1963).- J. Am. Chem. Soc. 85,473.
- Leota S. y Lurrill S.B. (1964).- Tetrahedron Letters 147.
- Maccio I. (1946).- Archivos de Farmacia y Bioquímica de Tucumán,
Tomo III, N° 1, pg. 27.
- Malan J. y Robinson R. (1927).- J. Chem. Soc. 2653.
- Manske R.H.F. (1943).- Can. J. Research 21B, 140.
- Manske R.H.F. (1954).- Can. J. Chem. 32,83.
- Manske R.H.F, (1960).- The Alkaloids-Academic Press Inc. Publishers-
N.Y. - Vol. VII - pg. 431.

- Manske W.H.F. y Ashford W.R. (1951).- J. Am. Chem. Soc. 73,5144.
- Marion L., Ramsay D.A. y Jones R.N. (1951).- J. Am. Chem. Soc. 73,305.
- Miller W.R. (1929).- J. Am. Pharm. Assoc. 18,12.
- Monkovic I. y Spenser I.D. (1964).- Proc. Chem. Soc. 223.
- Monkovic I. y Spenser I.D. (1965 a).- Can. J. Chem. 43,2017.
- Monkovic I. y Spenser I.D. (1965 b).- J. Am. Chem. Soc. 87,1137.
- Mothes K. y Schütte H.R.- Angew. Chem. 2,341.
- Mottus J.H., Schwarz H. y Marion L. (1953).- Can. J. Chem. 31,1144.
- Munier R. y Machaboouf H. (1951).- Bull. Soc. Chim. Biol. 33,846.
- Murrill P. v Schlotterbeck J.C. (1900).- Chem. Ber. 23,2804.
- Ochoa y Tapia J. (1881).- estudio sobre la corteza del Bocconia frutescens (ver Miller, 1929).
- Peschier (1832).- Jahresber. Fortschr. physik. Wiss. 245
(ver Schlotterbeck, 1900).
- Pictet A. (1906).- Arch. Pharm. 244,389.
- Pictet A. y Finkelstein M. (1909 a).- Compt. Rend. 148,925.
- Pictet A. y Finkelstein M. (1909 b).- Chem. Ber. 42,1979.
- Pictet A. y Gams A. (1909).- Compt. Rend. 149,210.
- Probst J.M. (1839 a).- Ann. Chem. 29,113.
- Probst J.M. (1839 b).- Ann. Chem. 31, 41.
- Richardson T., Robinson R. y Seiyo . (1937).- J. Chem. Soc. 835.
- Robinson R. (1917).- J. Chem. Soc. 876.
- Robinson R. (1955).- The Structural Relations of Natural Products- Clarendon Press- London- pg.78.
- Scheuer P.J., Chang M.Y. y Swanholm C.G. (1962).- J. Org. Chem. 27,1472.

- Schiel J. (1842).- Ann. Chem. 43,233.
- Schlotterbeck J.O. (1900).- Chem. Ber. 33,2799.
- Schlotterbeck J.O. y Blome W. H. (1905).- Pharm. Rev. 23,310.
 J. Chem. Soc. 1906,I,36.-
 Chem. Zentr. 1905,II,1682.
- Schlotterbeck J.O. y Watkins H.C. (1902).- Chem. Ber. 35,7.
- Schmidt W. y Fischer R. (1901).- Arch. Pharm. 239,409.
- Schmidt W., Koenig G. y Tietz W. (1893).- Arch. Pharm. 231,136.
- Schmidt W., Koenig G., Tietz W. y Fischer R. (1893).- Arch. Pharm.
231,150.
- Schmidt W. y Selle F. (1890).- Arch. Pharm. 228,441.
- Schneider W.G., Bernstein H.J. y Pople J.A. (1958).- J. Am. Chem.
 Soc. 80,3497.
- Schmutz J. (1959).- Helv. Chim. Acta 42,335.
- Schöpf G. (1937).- Angew. Chem. 50,797.
- Schöpf G. y Salzer W. (1940).- Ann. Chem. 544,1 - C.A. 35,124 (1941).
- Schwarz (1928).- Dissertation, Marburg - (ver Henry, 1949, pg. 279).
- Seoane J. (1965).- Anales Real Soc. Españ. Fís. y Quím. Madrid
61B,747.
- Slavík J. (1955).- Collection Czechoslov. Chem. Commun. 20,198.
- Slavík J. (1961).- Collection Czechoslov. Chem. Commun. 26,2933.
- Slavík J. (1963).- Collection Czechoslov. Chem. Commun. 28,1917.
- Slavík J. y Slavíková L. (1955 a).- Collection Czechoslov. Chem.
 Commun. 20,21.
- Slavík J. y Slavíková L. (1955 b).- Collection Czechoslov. Chem.
 Commun. 20,356.

- Slavík J. y Slavíková L. (1960).- Collection Czechoslov. Chem. Commun.
25,1667.
- Slavík J., Slavíková L. y Appelt J. (1965).- Collection Czechoslov.
Chem. Commun. 30,887.
- Späth E. y Kuffner F. (1931 a).- Chem. Ber. 64,370.
- Späth E. y Kuffner F. (1931 b).- Chem. Ber. 64,1123.
- Späth E. y Kuffner F. (1931 c).- Chem. Ber. 64,1127.
- Späth E. y Kuffner F. (1931 d).- Chem. Ber. 64,2034.
- Späth E., Kuffner F. y Keszler F. (1936).- Chem. Ber. 69,378.
- Späth E., Schlemmer F., Schenck G. y Gempp A. (1937).- Chem. Ber.
70,1677.
- Spenser I.D. y Gear J.R. (1926 a).- J. Am. Chem. Soc. 84,1059.
- Spenser I.D. y Gear J.R. (1926 b).- Proc. Chem. Soc. 228.
- Spiesecke H. y Schneider W.G. (1961 a).- Tetrahedron Letters 468.
- Spiesecke H. y Schneider W.G. (1961 b).- J. Chem. Phys. 35,731.
- Streitwieser A. (1961).- Molecular Orbital Theory for Organic
Chemists- J. Wiley & Sons.- Inc. New York-
London.
- Takao N. (1962 a).- Chem. Pharm. Bull (Tokyo) 11,1306.
- Takao N. (1962 b).- Chem. Pharm. Bull. (Tokyo) 11,1312.
- Tani Ch. y Takao N. (1962 a).- Yakugaku Zasshi 82,594- C.A. 57,4758
(1962).
- Tani Ch. y Takao N. (1962 b).- Yakugaku Zasshi 82,755.
- U.S. Department of Agriculture (1961).- Alkaloid-bearing plants and
their contained alkaloids-
Technical Bulletin N° 1234-
pgs. 81 y 213.

- Wenkert E. (1954).- *Experientia* 10,346.
- Weygand C. y Schächer F. (1935).- *Chem. Ber.* 68B,227.
- Wheland G.W. y Pauling L. (1935).- *J. Am. Chem. Soc.* 57,2086.
- Willaman J.J. y Schubert B.G. (1955).- *Econ. Botany* 9,141.

INDICE

	Pag.
CAPITULO I - INTRODUCCION	1
CAPITULO II - LOS ALCALOIDES BENZOFENANTRIDINICOS	
Estructura de los alcaloides benzofenantridínicos cuaternarios y sus derivados simples	6
Síntesis de los alcaloides benzofenantridínicos	22
Espectros de resonancia magnética nuclear de los alcaloides benzofenantridínicos	30
Biogénesis de los alcaloides benzofenantridínicos ...	45
CAPITULO III - LOS ALCALOIDES DE LOS GENEROS BOCCONIA Y MACLEAYA	60
Separación e identificación de los alcaloides de la <u>Bocconia pearcei</u> Hutch.	73
CAPITULO IV - CONSIDERACIONES SOBRE LOS ALCALOIDES DE LOS GENEROS BOCCONIA Y MACLEAYA	77
CAPITULO V - RELACION EXISTENTE ENTRE LOS ALCALOIDES DE L. B. <u>PEARCEI</u>	80
CAPITULO VI - PARTE EXPERIMENTAL	84
Extracción de los alcaloides de la <u>Bocconia pearcei</u> Hutch.	
I - Alcaloides del tallo	86
II - Alcaloides de la raíz ...	103
CAPITULO VII - RESUMEN Y CONCLUSIONES	127
BIBLIOGRAFIA	129