

Tesis de Posgrado

Alcaloides de *Helietta Longifoliata* Britt.; alcaloides de *Lupinus* *Paniculatus* Desr.

Mammarella, Carlos Alberto G.

1970

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:

Mammarella, Carlos Alberto G.. (1970). Alcaloides de *Helietta Longifoliata* Britt.; alcaloides de *Lupinus Paniculatus* Desr.. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_1369_Mammarella.pdf

Cita tipo Chicago:

Mammarella, Carlos Alberto G.. "Alcaloides de *Helietta Longifoliata* Britt.; alcaloides de *Lupinus Paniculatus* Desr.". Tesis de Doctor. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. 1970. http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_1369_Mammarella.pdf

EXACTAS UBA

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales



UBA

Universidad de Buenos Aires

UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES

BIBLIOTECA CENTRAL
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS
Y NATURALES / UBA

ALCALOIDES DE HELIETTA LONGIFOLIATA Britt.

ALCALOIDES DE LUPINUS PANICULATUS Desr.

CARLOS ALBERTO G. MAMMARELLA

Tesis presentada para optar al título de
Doctor en Química
(Orientación Química Orgánica)

67299

1970

1369

A mis padres

A mi novia

Mi sincero agradecimiento al Dr.
Jorge Comin, Consejero de Estu-
dios y Director de esta Tesis,
por su contribución a mi formación
científica.

Agradezco también:

- . Al Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas, por la Beca de Iniciación que me otorgara.
 - . Al Dr. Orfeo O. Orazi, de la Universidad Nacional de La Plata, por las muestras de dictamnina y kokusaginina.
 - . Al Dr. Paul J. Scheuer, de la Universidad de Hawaii, por la muestra de picrato de 6-metoxidictamnina.
 - . Al Lic. Agustín O. Colonna, por la muestra de skimmianina.
 - . Al Lic. Juan C. Vitagliano Rochaix, por el espectro infrarrojo de flindersiamina.
 - . Al Sr. Juan J. Ferrer, por los espectros de resonancia magnética nuclear realizados.
 - . Al Dr. Armando Hunziker, de la Universidad Nacional de Córdoba y al Dr. Diego F. Theumann, por la recolección de parte del material botánico utilizado.
 - . A los Lic. Héctor López Irabedra y Sigfrid Nitz, por su constante aliento.
 - . A mis compañeros, profesores y personal del Departamento de Química Orgánica, por su cordialidad y estímulo permanente.
 - . Al personal de Biblioteca y Publicaciones, por su colaboración desinteresada.
-

INDICE

PRIMERA PARTE. ALCALOIDES DE HELIETTA LONGIFOLIATA Britt.

ALCALOIDES DE RUTACEAS -----	1
ALCALOIDES FUROQUINOLINICOS	
Introducción -----	4
Revisión de alcaloides furoquinolínicos -----	5
Biosíntesis de alcaloides furoquinolínicos -----	15

AISLAMIENTO Y ESTRUCTURA DE LAS BASES DE HELIETTA LONGIFOLIATA Britt.

Dictamnina -----	28
6-Metoxidictamnina -----	29
Maculina -----	30
Kokusaginina -----	30
Flindersiamina -----	31
Skimmianina -----	31
Isodictamnina -----	32
Espectros -----	40
Parte experimental -----	50

SEGUNDA PARTE . ALCALOIDES DE LUPINUS PANICULATUS Desr.

ALCALOIDES QUINOLICIDINICOS

Introducción -----	58
Propiedades generales: Configuración absoluta -----	60
Propiedades espectroscópicas -----	61
Biosíntesis de alcaloides quinolicidínicos -----	71
Revisión de alcaloides quinolicidínicos -----	75

AISLAMIENTO Y ESTRUCTURA DE LAS BASES DE LUPINUS PANICULATUS Desr.

Discusión de resultados -----	79
Espectros -----	82

Parte experimental	86
RESUMEN	92
BIBLIOGRAFIA	96

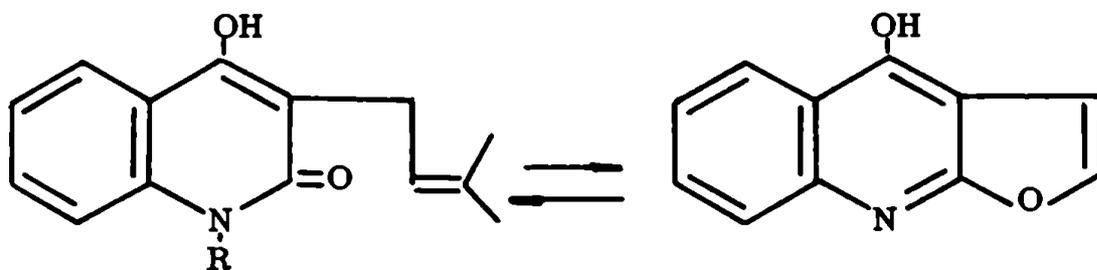
PRIMERA PARTE

ALCALOIDES DE HELIETTA LONGIFOLIATA Britt.

ALCALOIDES DE RUTACEAS

La familia de las Rutáceas está formada por unos 100 géneros que a su vez comprenden unas 800 especies, en su mayoría árboles o arbustos que crecen en las zonas tropicales y subtropicales. Es particularmente rica en alcaloides y desde el punto de vista químico, en especial por las estructuras de los alcaloides que produce, puede ser considerada como la más versátil dentro de las plantas superiores.

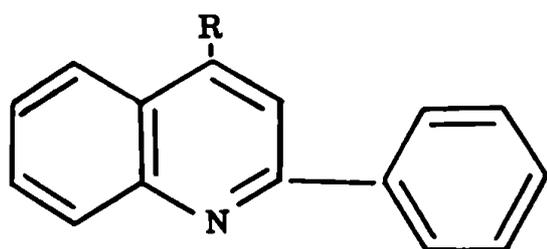
Los alcaloides mencionados, pertenecen a varios grupos químicos. Entre los más frecuentes, se encuentran un gran número de bases pertenecientes a la llamada familia del ácido antranílico¹ que comprende los siguientes grupos: a) grupo de la furoquinolina (también llamado de la dictamnina) y 2-quinolonas (I); b) grupo de las 4-quinolonas (II); c) grupo de las 2-aryl-quinolinas y quinolinas sencillas (III); d) grupo de las acridinas y acridonas (IV); e) grupo de la flindersina (V); f) grupo de la arborina (VI).



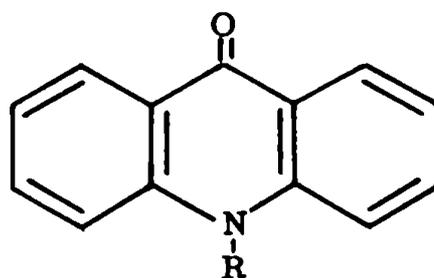
I



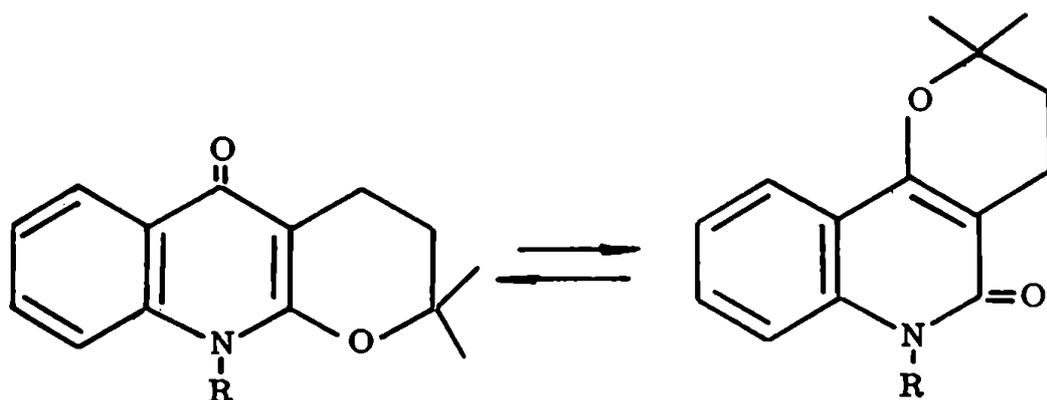
II



III

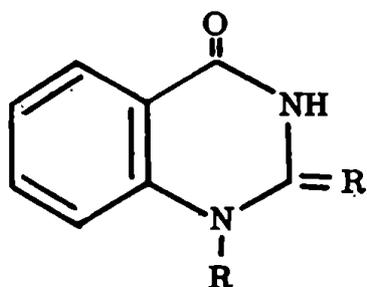


IV

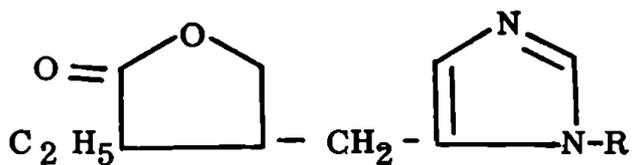


V

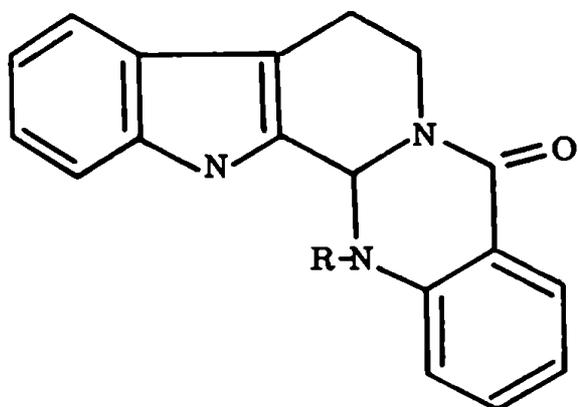
Otros grupos presentes en la familia de las Rutáceas son: el de alcaloides imidazólicos (derivados de la histidina) (VII); los de la evodiamina (VIII) y de la 6-cantirona (IX), derivados del triptofano; algunos representantes del grupo de las benciltetrahydroisoquinolinas (X) y relacionados y finalmente el grupo de las aminas y amidas sencillas (XI).



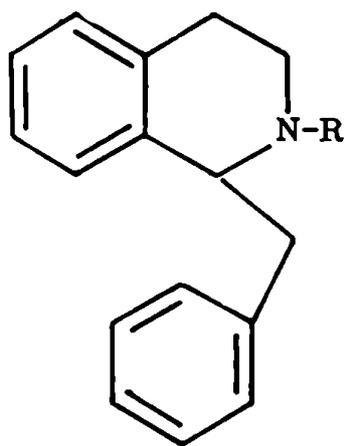
VI



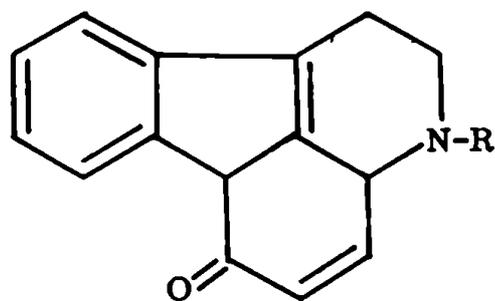
VII



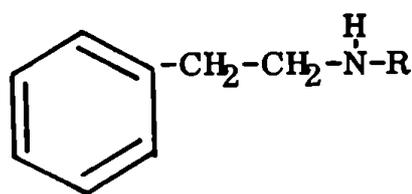
VIII



X



IX



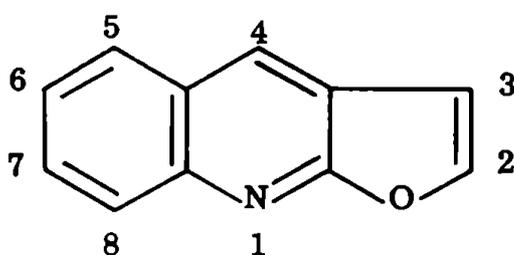
XI

Muchos alcaloides del grupo X han sido aislados en otras familias como las Magnoliaceae y las Papaveraceae. Es común que un dado producto natural se encuentre en más de una familia de plantas y los caminos biogénéticos que conducen a él pueden ser iguales o distintos para familias diferentes.

ALCALOIDES FUROQUINOLINICOS

INTRODUCCION

Los alcaloides furoquinolínicos son bases cuyo esqueleto fundamental es la (2-3b) furoquinolina (XII).



XII

Su distribución en la naturaleza se halla limitada a la familia de las Rutáceas. El más sencillo de los alcaloides de este grupo, llamado dictamnina, posee un grupo metoxilo en la posición 4 y fue aislado por primera vez del Dictamnus albus^{2a, 2b}. Con excepción de la maculosina, todos los alcaloides de este grupo encontrados hasta el presente, poseen un grupo metoxilo o un grupo carbonilo en la posición 4. Es frecuente encontrar en el anillo bencénico sustituyentes como metoxilo o metilendioxi, así como también una cadena isopropílica en la posición 2.

REVISION DE ALCALOIDES FUROQUINOLINICOS

A partir del año 1966 se han aislado algunas bases nuevas que poseen este esqueleto o el mismo parcialmente reducido y se han confirmado estructuras de bases aisladas con anterioridad. Los alcaloides de este grupo aislados y/o identificados desde la segunda mitad del año 1966, fecha de la última revisión, hasta el presente (agosto de 1970) son:

ACETATO DE PLATYDESMINA (XIII): $C_{17}H_{19}NO_4$.

p.f. 126-127⁰

$[\alpha]_D^{25} +23$ (CHCl₃)³

Espectros I.R. , R. M. N.

Aislado por Johns y Lamberton de las hojas de la Geigeria salicifolia³ junto con otros alcaloides de estructura conocida: skimmianina, fagarina y platydesmina.

Su estructura fue establecida por métodos espectroscópicos y confirmada

por hidrólisis a platydesmina y por síntesis por acetilación con anhídrido acético y piridina de platidesmina.

CHOISYINA (XIV): $C_{18}H_{19}NO_5$.

p.f. 189-190⁰

$[\alpha]_D^{25} \pm 0^0$ (CHCl₃)

Isochoisyina: p.f. 259-260⁰

Anhidrochoisyina: p.f. 125-126⁰

Isoanhidrochoisyina: p.f. 229-230⁰

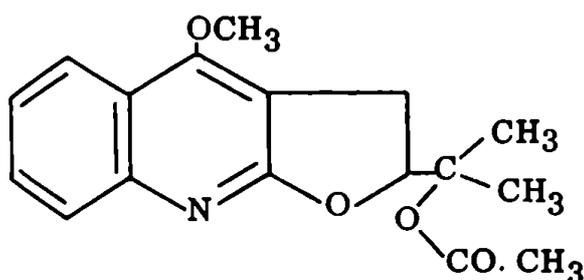
O-Acetilchoisyina: p.f. 231-232⁰

Dihidrochoisyina: p.f. 190-192⁰

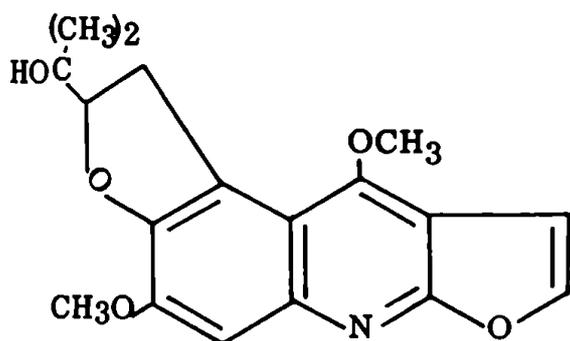
Tetrahydrochoisyina: p.f. 220-221⁰

Espectros: R. M. N.⁶ , Masa⁶

Fue aislada por primera vez de la



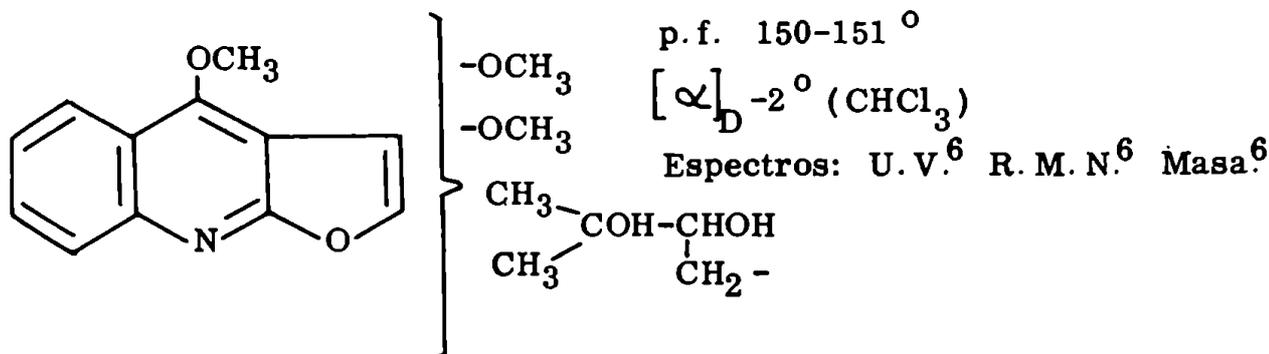
XIII



XIV

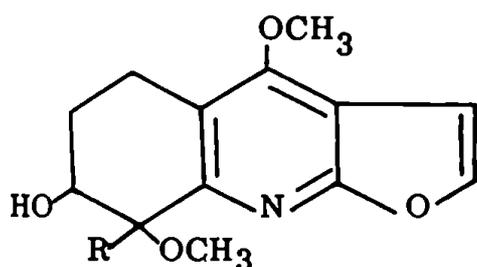
Choisyia ternata en 1958.⁴ En 1963 Frolova y Kusovkov⁵ propusieron una estructura que fue corregida por Johns y Lamberton en 1967,⁶ a la estructura XIV.

Además de Choisyina, fueron aislados de Choisyia ternata, skimmiana, evoxina y un cuarto alcaloide en pequeña proporción. Johns y Lamberton⁶ han postulado para este último la estructura parcial XV.



XV

HAPLOPHYLLIDINA (XVI): C₁₈H₂₃NO₄.



p. f. 110-111 °
 $[\alpha]_D -16,2^\circ$ (acetona).

Fue aislada por Sidyakin y Yunusov de las semillas del Haplophyllum perforatum.^{7a,7b} En base a resultados obtenidos por métodos químicos los mismos autores postularon una estructura que luego se modificó a la actualmente admitida.^{8a,8b}

XVI: R = CH₂-CH=C(CH₃)₂

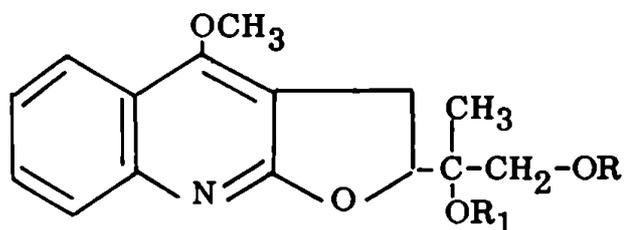
XVII: R = (CH₂)₂-COH(CH₃)₂

PERFORINA (XVII): C₁₈H₂₅NO₅.

Fue aislada también de las semillas del Haplophyllum perforatum^{8a,9} y se postuló para ella la estructura XVII.

DUBINIDINA (XVIII): C₁₅H₁₇NO₄.

p.f. 132-133 °
 $[\alpha]_D -63^\circ$ (EtOH).



Fue aislada de las hojas del Haplophyllum dubium¹⁰ y del H. foliosum¹⁰.

Se postuló inicialmente una estructura que posteriormente fue corregida por Bessonova y Yunusov.¹¹

XVIII: R = R₁ = H

XIX: R = CO-CH₃; R₁ = H

DUBININA (XIX): C₁₇H₁₉NO₅.

p. f. 185-186°

[α]_D -59° (EtOH)

Fue aislada como la anterior de las hojas del Haplophyllum dubium.¹⁰
Su estructura fue postulada por Bessonova y Yunusov.¹¹

ALCALOIDES DE EVODIA XANTHOXYLOIDES:

XX: C₁₈H₁₉NO₅; XXI: C₁₇H₁₇NO₄.

XX: p. f. 141-144°

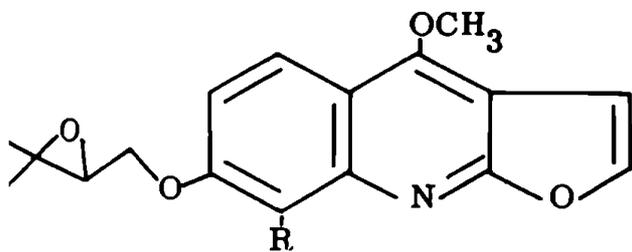
Espectros: U. V.¹², R. M. N.¹²

XXI:

Espectros: U. V.¹², R. M. N.¹²

Fueron aislados por Dreyer¹² en 1969.

Sus estructuras fueron demostradas por métodos espectroscópicos y químicos.



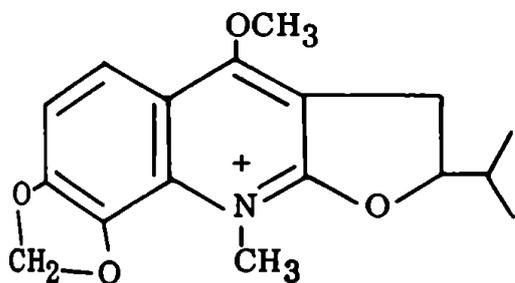
XX: R = OCH₃

XXI: R = H

Las bases cuaternarias que poseen el esqueleto ya mencionado, identificadas desde la segunda mitad del año 1966 son:

(-) O-METIL LUNINA (XXII):

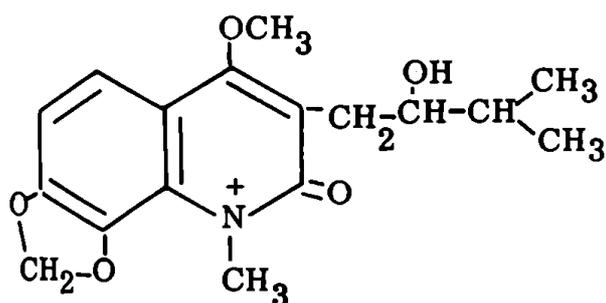
Ioduro: p. f. 176-179°



XXII

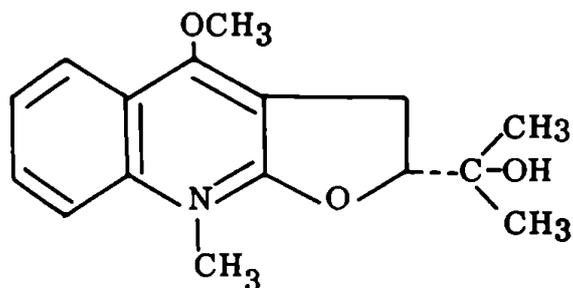
junto con otra base cuaternaria, la (-)-lunasina. Aunque es la primera vez que XXII se aísla como producto natural, su perclorato se había obtenido como producto de reacción del alcaloide (+)-lunidina con solución metanólica de ácido perclórico.¹⁴

Las sales de (-)-O-metil lunina se convierten fácilmente en medio alcali-



XXIII

N-METIL-(+)-PLATIDESMINA (XXIV):



XXIV

$[\alpha]_D^{24} -27,4^\circ$ (CH₃OH)
Perclorato: p.f. 208-209^o

$[\alpha]_D^{24} -23,8^\circ$

Picrato: C₁₇H₂₀O₄N⁺ C₆H₂O₇N₃⁻

p.f. 159-161^o. Resolidifica en forma cristalina y funde a 170-172^o.

$[\alpha]_D^{24} -18,5^\circ$ (CH₃OH).

Espectros: R M N.¹³

Fue aislada de las hojas de la Luna-
sia quercifolia por Hart y Price,¹³

no en (+)-lunidina. Esta facilidad de conversión hace pensar que posiblemente este último alcaloide, (XXIII), aislado por Rügger y Stauffacher, sea un artefacto.¹⁴

Ioduro: p.f. 155-156^o

Perclorato: p.f. 200-202^o

$[\alpha]_D + 33^\circ$ (CH₃OH)

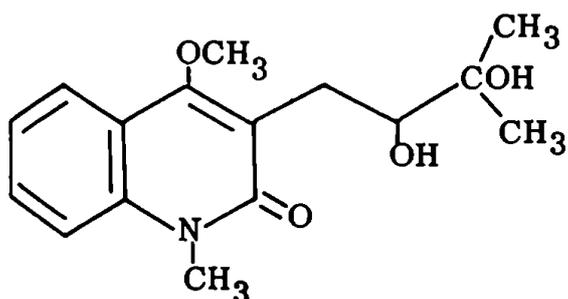
Espectros: R M N.¹⁵

Fue aislada por Boyd y Grundon de la Skimmia japónica¹⁵ como reineckato. La principal base presente en la

planta es dictamnina y se encontró también skimmianina y edulina. Su estructura se confirmó por comparación del espectro infrarrojo del ioduro con el de una muestra auténtica del mismo, sintetizada anteriormente por Bowman y Grundon.¹⁶

En los últimos años se han encontrado varios alcaloides 2- y 4-quinolónicos. Desde la segunda mitad del año 1966 hasta la fecha se han aislado e identificado los siguientes:

EDULININA (XXV): $C_{16}H_{21}NO_4$.



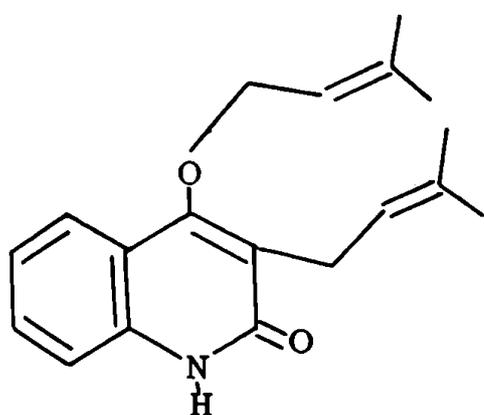
XXV

p.f. 140-142°

Espectros: U.V.¹⁷, R.M.N.¹⁸, Masa.¹⁸

Fue aislada de la corteza del tronco de la Casimiroa edulis.¹⁷ Su estructura fue demostrada por métodos espectroscópicos.

3-DIMETILALIL-4-DIMETILALILOXI-2-QUINOLONA (XXVI): $C_{19}H_{23}NO_4$.



XXVI

p.f. 114-115°

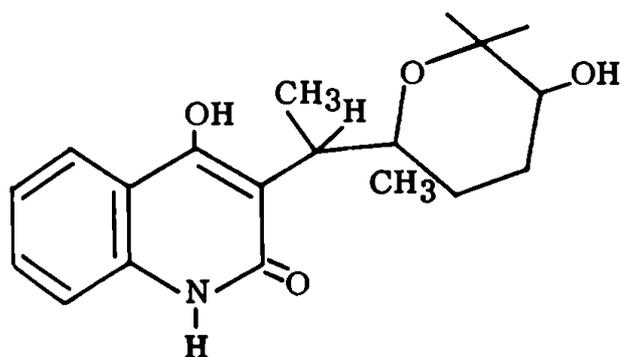
Espectros: U.V.¹⁹, I.R.¹⁹, R.M.N.¹⁹ Masa.¹⁹

Fue aislada por Lavié y col. de las hojas y tallos del Haplophyllum tuberculatum¹⁹ junto con flindersina. Su estructura se demostró por métodos espectroscópicos y químicos.

BUCHARIDINA (XXVII): $C_{19}H_{25}NO_4$.

p.f. 251-252°

Espectros: U.V.²⁰, I.R.²⁰, R.M.N.²⁰, Masa.²⁰



XXVII

Fue aislada del Haplophyllum bucharicum²⁰. Su estructura se demostró por métodos espectroscópicos y químicos.

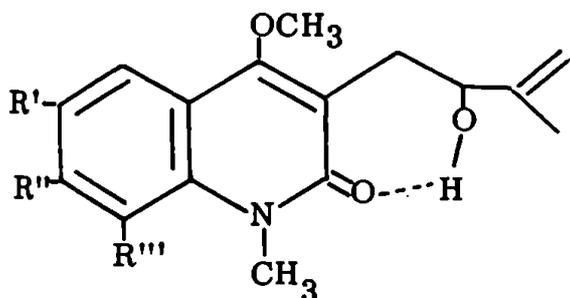
ALCALOIDES DE PTELEA TRIFOLIATA

a) PTELEFOLINA (XXVIII): $C_{18}H_{23}NO_5$.

p.f. 91-93°

Espectros: U.V.²¹, I.R.²¹, Masa²¹

Este alcaloide es ópticamente inactivo. Su estructura fue demostrada exclusivamente por métodos espectroscópicos.²¹



XXVIII: R' y $R''' = -OCH_3$; $R'' = H$

XXIX: $R' + R'' = -O-CH_2-O-$; $R''' = -OCH_3$

XXX: $R' = H$; R'' y $R''' = -OCH_3$

XXXI: $R' = H$; R'' y $R''' = -OCH_2-O-$

b) PTELEFRUCTINA (XXIX): $C_{19}H_{25}NO_5$.

p.f. 146-149°

Espectros: U.V.²², I.R.²², R.M.N.²², Masa.²²

Fue aislado, como todos los siguientes, de las flores y frutos de la planta.

c) ISOPTLEFOLINA (XXX): $C_{18}H_{23}NO_5$.

p.f. 145-146°

Espectros: U.V.²², I.R.²², R.M.N.²², Masa.²²

d) PTELEFOLIDINA (XXXI): $C_{17}H_{19}NO_5$.

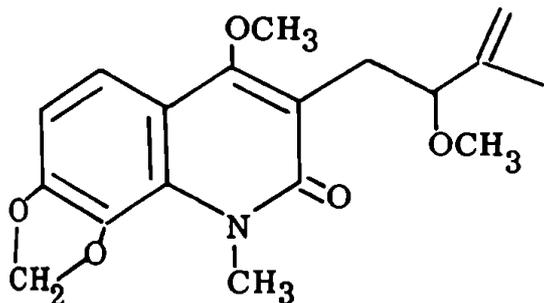
p. f. 118-119°

Espectros: U. V.²² I. R.²² R. M. N.²² Masa²²

e) ETER METILICO DE PTELEFOLIDINA (XXXII): $C_{18}H_{21}NO_5$.

p. f. 133-135°

Espectros: U. V.²² I. R.²² R. M. N.²² Masa²²



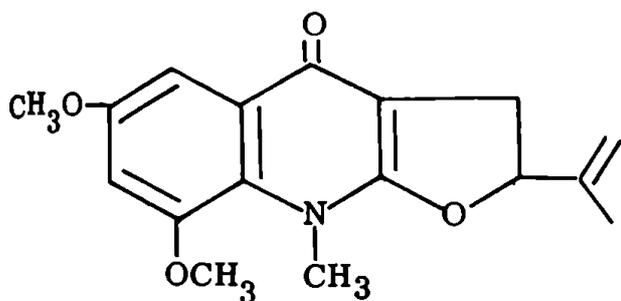
XXXII

f) Pt/22 (XXXIII): $C_{17}H_{19}NO_4$.

p. f. 70-71°

$[\alpha]_D^{28} + 1,9^\circ$ ($CHCl_3$)

Espectros: U. V.²³ I. R.²³ R. M. N.²³ Masa²³



XXXIII

EVOCARPINA (XXXIV): $C_{23}H_{33}NO$

p. f. 34-38°

Picrato : p. f. 96-96,5°

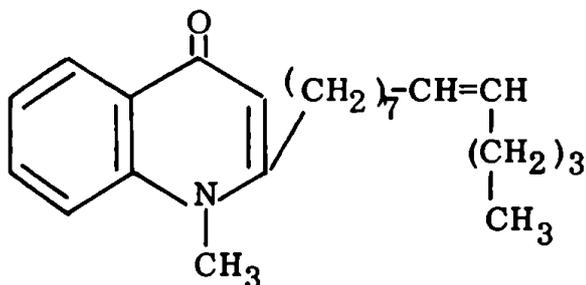
Picronolato: p. f. 128-129°

Dihidroevocarpina: p. f. 57°

Hexahidroevocarpina: p. f. 77,5-78°

Espectros : U. V.²⁴ I. R.²⁴ R. M. N.²⁴ Masa²⁴

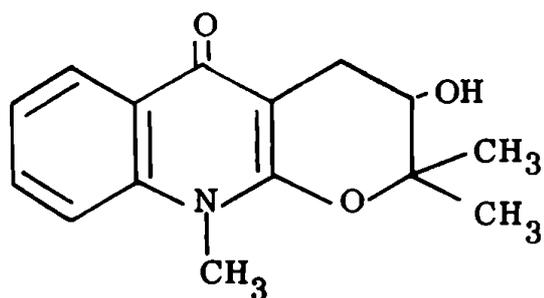
Fue aislada por Tschesche y Werner de los frutos de la Evodia rutaecarpa,²⁴ junto con otros alcaloides: evodiamina,



XXXIV

hidroxievodiamina y rutaecarpina. Su estructura fue demostrada por métodos espectroscópicos y químicos. La evocarpina resultó ser una mezcla de isómeros cuyos componentes se diferencian en la posición de la doble ligadura en la cadena lateral. El isómero principal es el 1-metil-2 (Δ 8'-tridecenil)-4-quinolona, y se comprobó por análisis de los espectros de masa de las 2-4,dinitrofenilhidrazonas de los aldehídos obtenidos por ozonólisis del alcaloide. Por cromatografía de esos derivados se vió que el componente con la doble unión carbono-carbono en la posición 8' se encontraba en un 90 %. El 10 % restante era Δ 7' y Δ 9'.

(⁴) RIBALININA (XXXV): $C_{15}H_{17}NO_3$.



XXXV

FOLIFINA: $C_{15}H_{17}NO_3$.

p. f. 225-226°

$[\alpha]_D + 14,4$ (CH₃OH).

Clorhidrato: p. f. 230-231°

Picrato: p. f. 189-190°

Nitrato: p. f. 148-149°

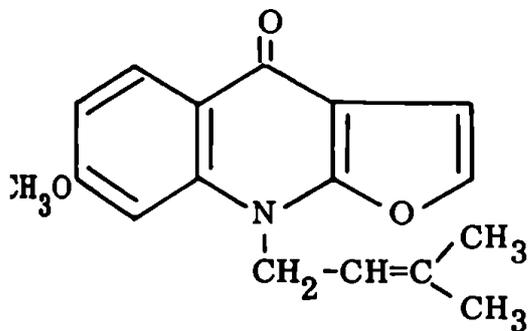
O-Acetilfolifina: p. f. 154-155°

Fue aislada de la parte aérea del Haplophyllum foliosum.²⁶ Difiere en el poder rotatorio de la Ribalinina (XXXV).

ACROPHYLLINA (XXXVI): $C_{17}H_{17}NO_3$.

p. f. 120°

Espectros: U. V.²⁷ I. R.²⁷ R. M. N.²⁷

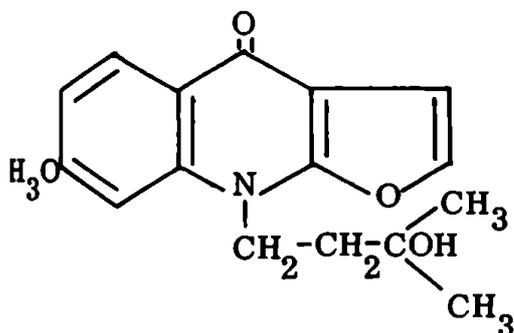


XXXVI

ACROPHYLLIDINA (XXXVII): $C_{17}H_{19}NO_4$.

p.f. 177-178°

Espectros: U.V.²⁷ R. M. N.²⁷



XXXVII

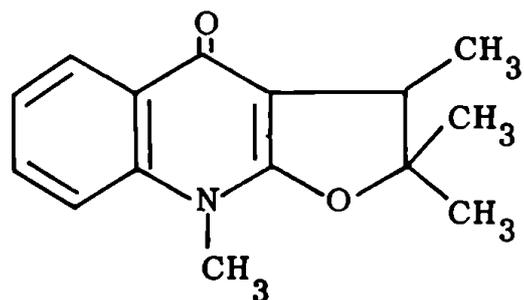
SPECTABILINA (XXXVIII): $C_{15}H_{17}NO_2$.

p.f. 88-89°

$[\alpha]_D - 5,9^\circ$ ($CHCl_3$)

Picrato: p.f. 198° d.

Espectros: U.V.²⁸ I.R.²⁸ R. M. N.²⁸ Masa²⁸



XXXVIII

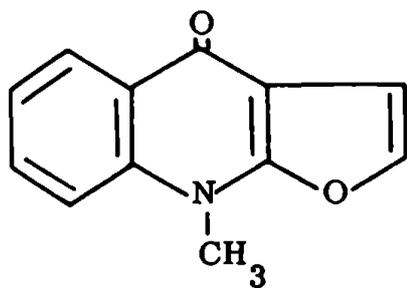
Fue aislada de la corteza de la Acronychia haplophylla. Su estructura fue demostrada por Lahey y Mc Camish²⁷ por métodos espectroscópicos y confirmada por síntesis de hexahidroacrophyllina, obtenida previamente por reducción de acrophyllina con platino Adams.

Fue aislada junto con acrophyllina de la corteza de la Acronychia haplophylla.

Se estudió por métodos espectroscópicos y su síntesis, hecha por hidratación de acrophyllina, confirmó su estructura.

Fue aislada de las hojas de la Lemonia spectabilis (sin. Ravenia spectabilis) junto con fagarina, atanina y ravenina y su estructura se demostró por métodos espectroscópicos

ISODICTAMNINA (XXXIX): $C_{12}H_9NO_2$.



XXXIX

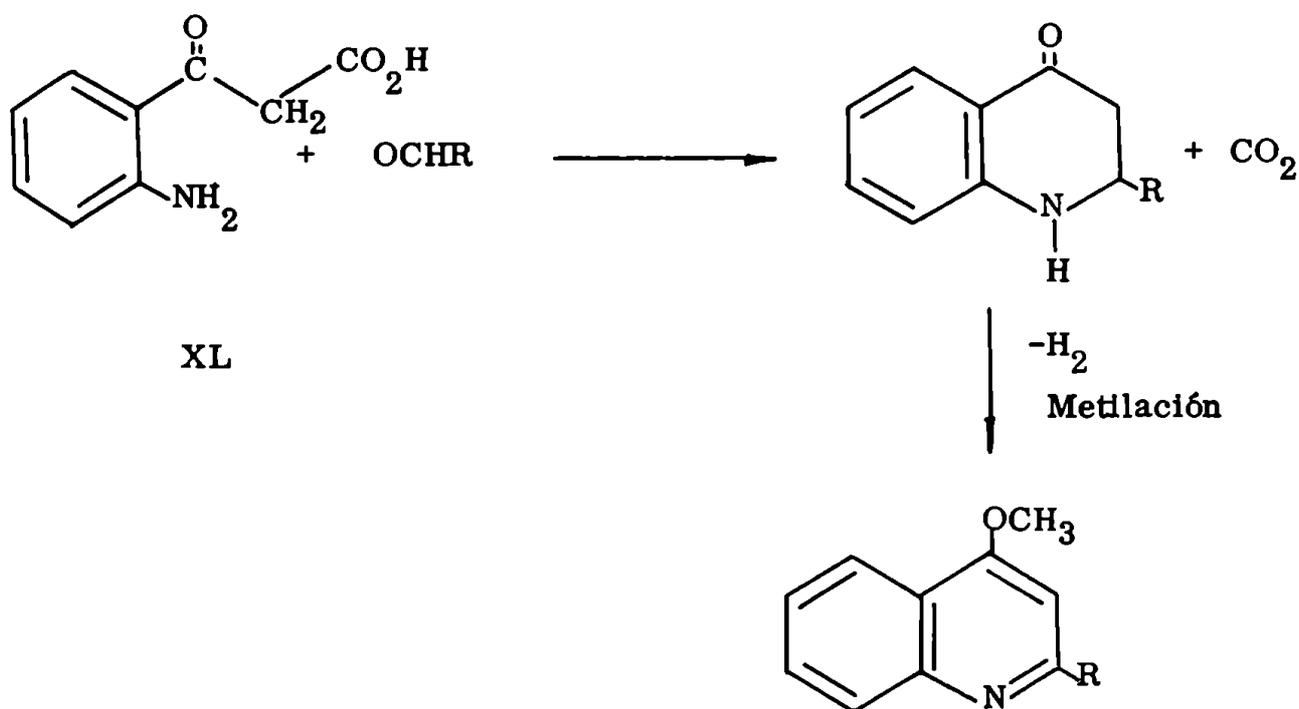
p.f. 186-187°

Fue aislada de la corteza del tronco de la Helietta longifoliata junto con otros alcaloides que se detallan en el presente trabajo. Es la primera vez que se la aísla como producto natural.

BIOSINTESIS DE ALCALOIDES FUROQUINOLINICOS

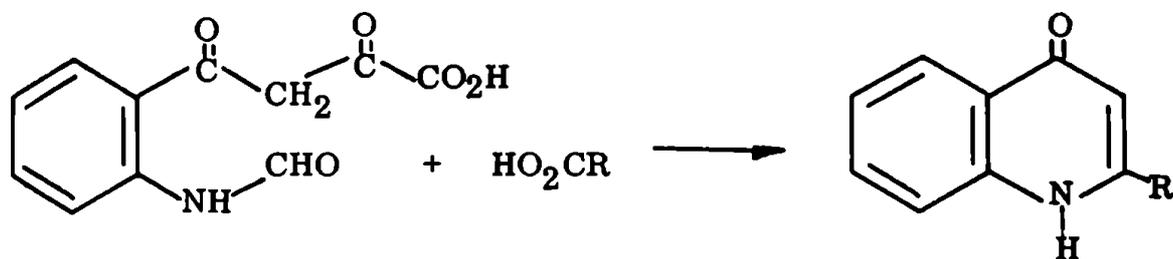
Se han enunciado varias teorías que en su momento intentaron explicar el origen biogénico de las furoquinolíinas. Actualmente se puede afirmar, a base de resultados de experiencias recientes, que el núcleo furoquinolíico no proviene de un solo sustrato biogénico, sino que se origina en una serie de procesos en el que participa más de un precursor.

Una de las primeras hipótesis sobre la formación del anillo quinolíico fue enunciada por Schöpf y Thierfelder²⁹ en 1935, y proponía que dicho anillo sería producto de la condensación primaria del ácido 2-aminobenzoilacético (XL) con un aldehído. Por deshidratación y metilación posterior se obtendría 4-metoxiquinolína: (esquema 1)



Esquema 1

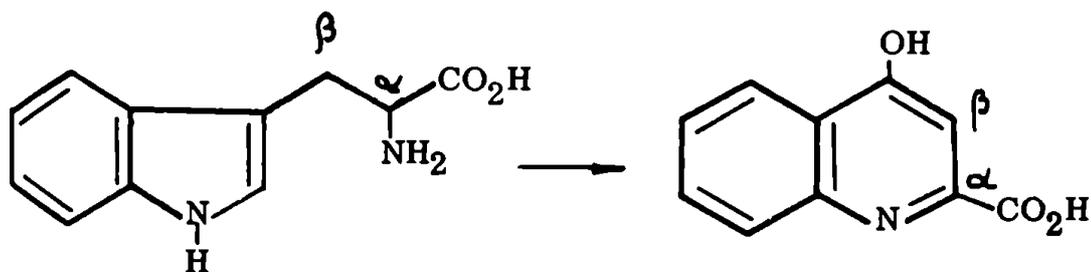
Robinson³⁰ sugirió que podía llegarse al mismo anillo por condensación de un producto conocido de oxidación biológica del triptofano (XLI), con un ácido carboxílico. A la condensación primaria seguiría una transformación del grupo carbonilo en metoxilo. El producto intermedio sería una 4-quinolina (esquema 2).



XLI

Esquema 2

Otra hipótesis en la que participa el triptofano como precursor, incluye el ácido quinurénico, (XLII) un producto del catabolismo de dicho aminoácido³¹ (esquema 3).

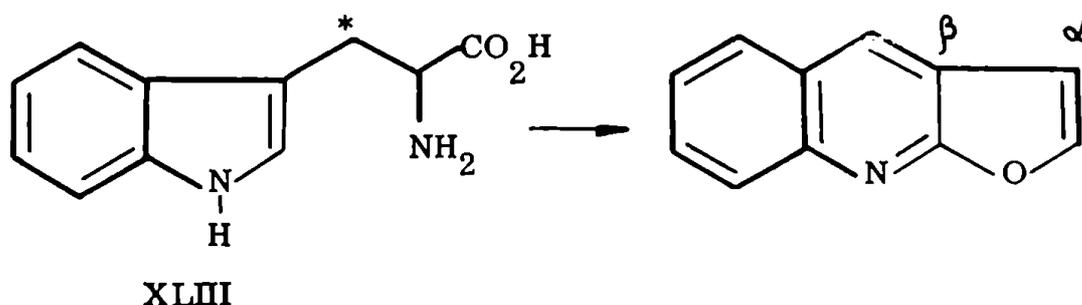


XLII

Esquema 3

Monković y col.³² y Matsuo y col.³³ utilizaron el triptofano β -C¹⁴ (XLIII) en sus experiencias sobre biosíntesis de dictamnina (LI) en el Dictamnus albus el primero, y de skimmianina (XLVIII) en la Skimmia japonica el segundo. Matsuo y col.³³ encontraron que el triptofano marcado producía skimmianina (XLVIII) radiactiva con un rendimiento específico de incorporación relativamente bajo, pero no despreciable. Por métodos degradativos encontraron que la radiactividad estaba localizada en el C-11 de la skimmianina (XLVIII). Monković y col.³² observaron que la incorporación de la actividad del triptofano β -C¹⁴ en la dictamnina (LI), era prácticamente nula.

De los resultados obtenidos por Monković y col.³² se desprende que el triptofano no puede ser intermediario en la biosíntesis de dictamnina, ni según el esquema 3, ni según lo propuesto por Robinson³⁰ (esquemas 2 y 4).



Esquema 4

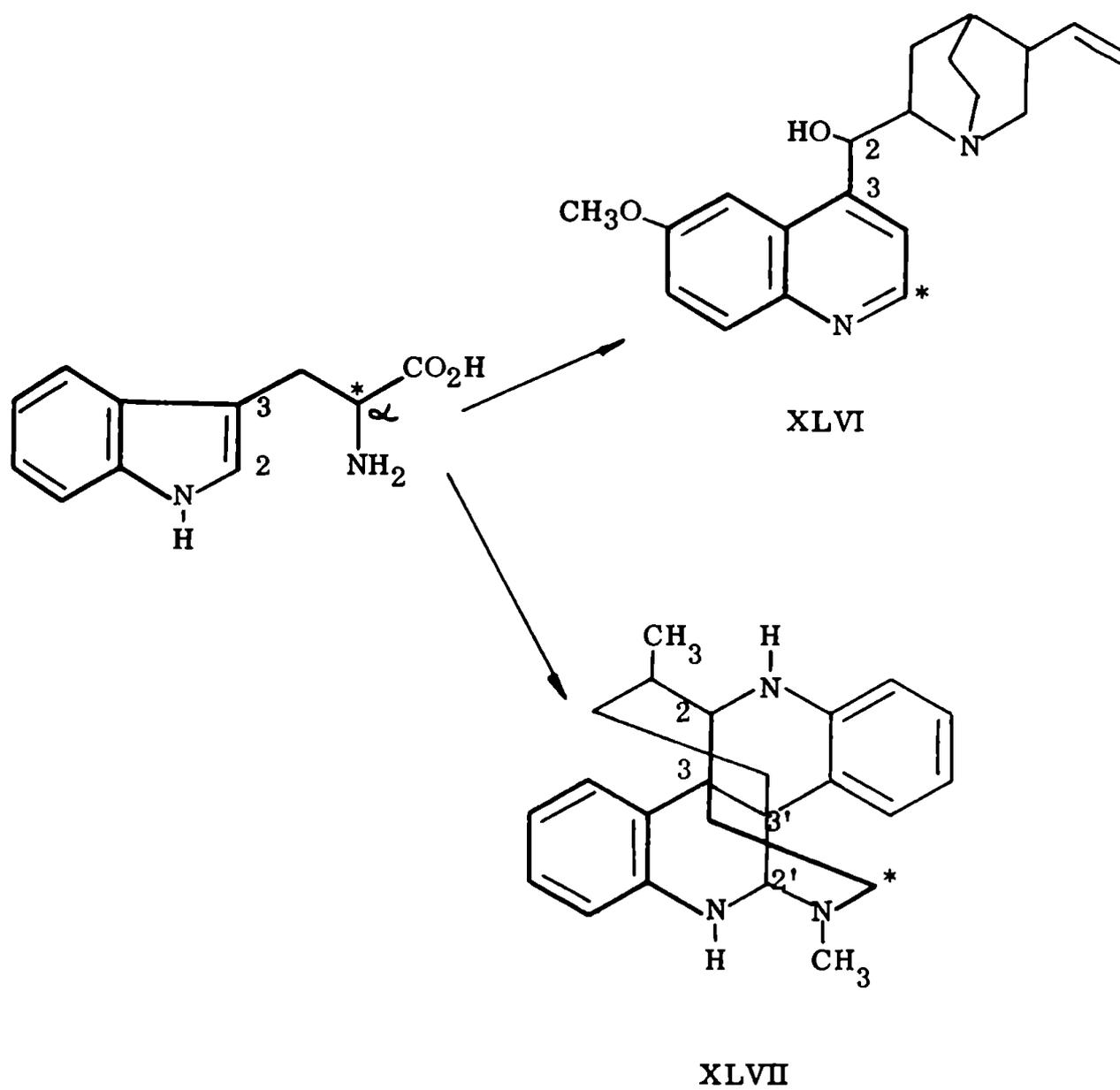
El triptofano es sí precursor del anillo quinolfínico de la quinina (XLVI) y de la calycanthina (XLVII).

La actividad del triptofano α C^{1,4} fue localizada en el C-2' del núcleo quinolfínico de la quinina.³⁴ Este esquema biogénico en el cual el C-2 del núcleo indólico se conserva en el producto, difiere del camino a través del ácido quinurénico (XLII), en el cual el C-2 del núcleo indólico es eliminado como ácido fórmico (esquemas 3 y 5).

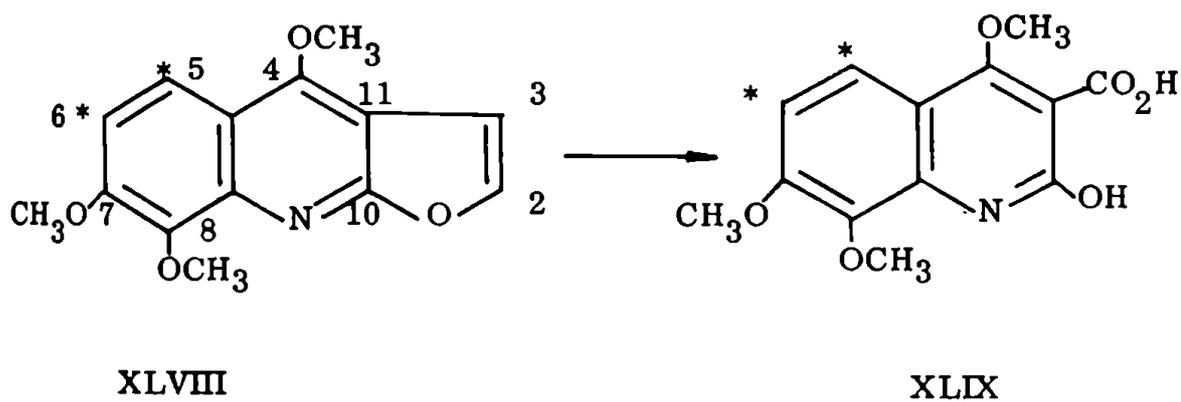
Las experiencias de Monković y col.³², Cobet y Luckner³⁵ y Matsuo y col.³³ han demostrado que el núcleo bencénico, el C-4 y el átomo de nitrógeno de los alcaloides furoquinolfinicos provienen de ácido antranílico.

El primero que mencionó la posibilidad de que los alcaloides furoquinolfinicos provinieran de ácido antranílico fue Späth en 1929.^{36,37} En 1959 Wenkert postuló que el núcleo quinolfínico de las 4-metoxi-2-fenil quinolinas también provenía de ácido antranílico.³⁸

En el estudio de la biosíntesis de skimmianina (XLVIII) en la *Skimmia japonica*, Matsuo y col.³³ observaron que el ácido antranílico (3,4,5,6)-H³ se incorpora a dicho alcaloide con un rendimiento específico alto. Por oxidación de la skimmianina obtenida con MnO₄ K, se obtuvo ácido skimmiánico (XLIX) radiactivo, (esquema 6) el cual retenía el 96 % de la radiactividad de la skimmianina original. Además por demetilación de skimmianina radiactiva con



Esquema 5



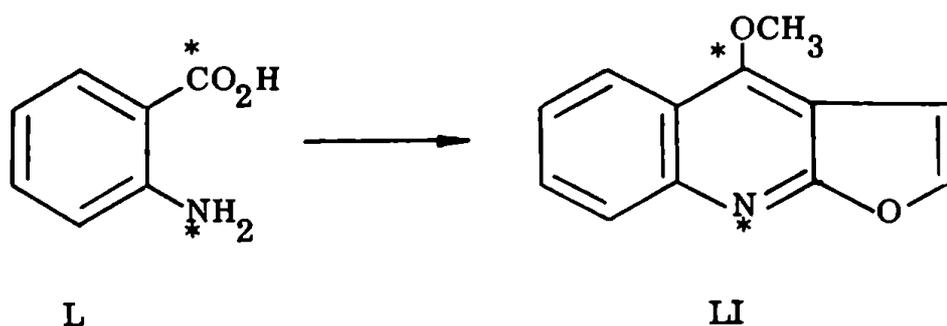
Esquema 6

ácido iodhídrico, se obtuvo ICH_3 inactivo. Esto prueba, sin lugar a dudas, que la radiactividad del ácido antranílico (3,4,5,6)- H^3 , se incorporó totalmente al anillo bencénico de la skimmianina (XLVIII).

Monković y col.³² administraron ácido antranílico carboxilo- C^{14} (L) al Dictamnus albus. La actividad de la dictamnina obtenida estaba localizada en el C-4 con alto rendimiento radioquímico.

Anteriormente, en el estudio biogénico de 2-n-alquil-4-hidroxiquinolinas producidas por ciertas cepas de pseudomonas,^{32,39} se había observado que administrando ácido antranílico [C^{14}OOH], se encontraba que éste se incorporaba a alquilhidroxiquinolinas, y por degradación parcial de las mismas se observaba que la actividad se encontraba localizada en el C-4.

Los resultados obtenidos por Monković concuerdan con los anteriores. Se observó que por administración al D. albus, de ácido antranílico doblemente marcado, [C^{14}OOH , N^{15}H_2] este se incorporaba a la dictamnina sin cambio en la relación $\text{C}^{14}/\text{N}^{15}$ (esquema 7).



Esquema 7

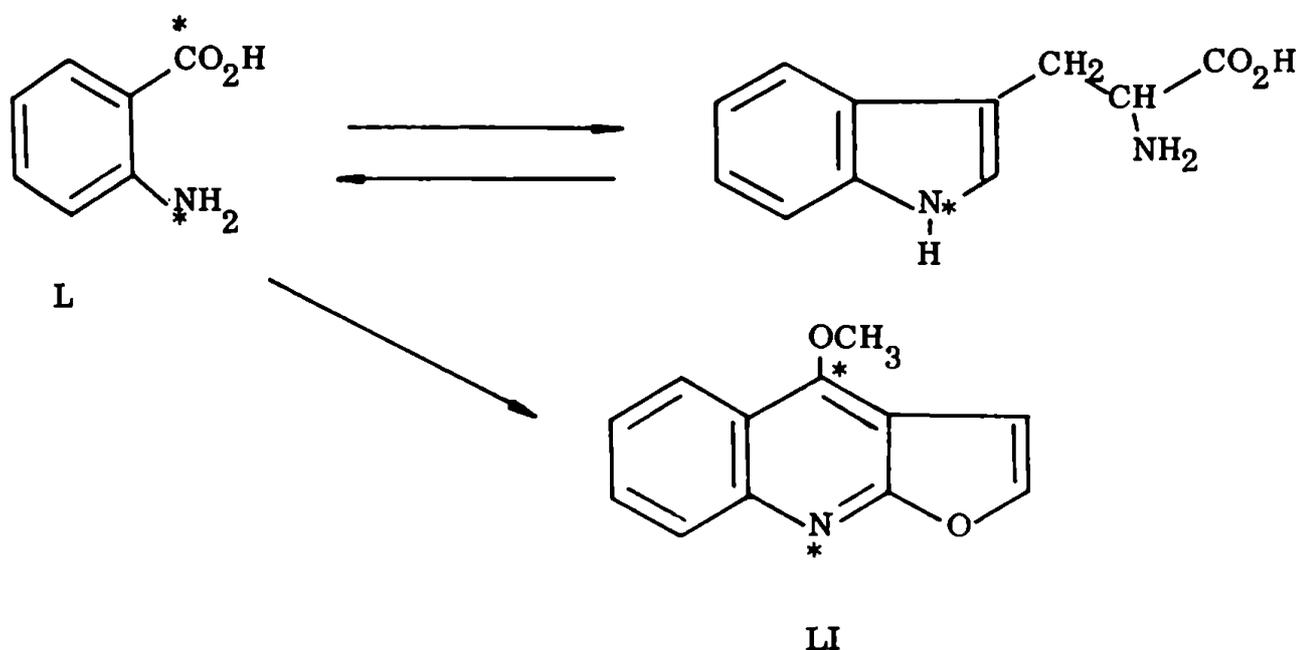
El ácido antranílico es precursor del triptofano.³¹ Durante el proceso de biosíntesis se pierde el grupo $-\text{COOH}$ del ácido antranílico y solo la porción aminada del mismo se incorpora al aminoácido. Como por otra parte, la actividad del [C^{14}OOH] del ácido antranílico fue localizada en el C-4 de la dictamnina, el triptofano no puede ser un intermediario obligado en esta biosíntesis (esquema 8).

Que el ácido antranílico es totalmente incorporado a la dictamnina, se

desprende del hecho de que cuando se administra al Dictamnus albus el ácido antranílico [$C^{14}OOH$, $N^{15}H_2$], no se modifica la relación isotópica en el alcaloide.

Por otra parte, por su metabolismo, el ácido antranílico con doble marca- ción debería dar triptofano N^{15} en el núcleo indólico, el cual volvería a dar ácido antranílico N^{15} . Si todo el ácido antranílico, tanto el producido por esta última vía como el administrado a la planta con marca- ción doble se incorporara a la dictamnina, la relación isotópica C^{14}/N^{15} del alcaloide aislado debería ser menor a la del administrado y no idéntica como se ob- servó.³²

La única forma de interpretar coherentemente los distintos resultados ob- tenidos por Matsuo y col.³³, en los que se concluye que el triptofano es un intermediario en la biosíntesis de skimmianina, con los de Monković y col.³², de los que se desprende que no participa en la biosíntesis de dictamnina, es suponer que el proceso limitante de la velocidad de biosíntesis de skim- mianina, es la introducción de grupos metoxilo en la molécula del ácido an- tranílico. Si esta es lenta comparada con la degradación del triptofano a á- cido antranílico, los distintos resultados obtenidos sobre la incorporación de triptofano a ambos alcaloides serían conciliables. Lamentablemente todavía no

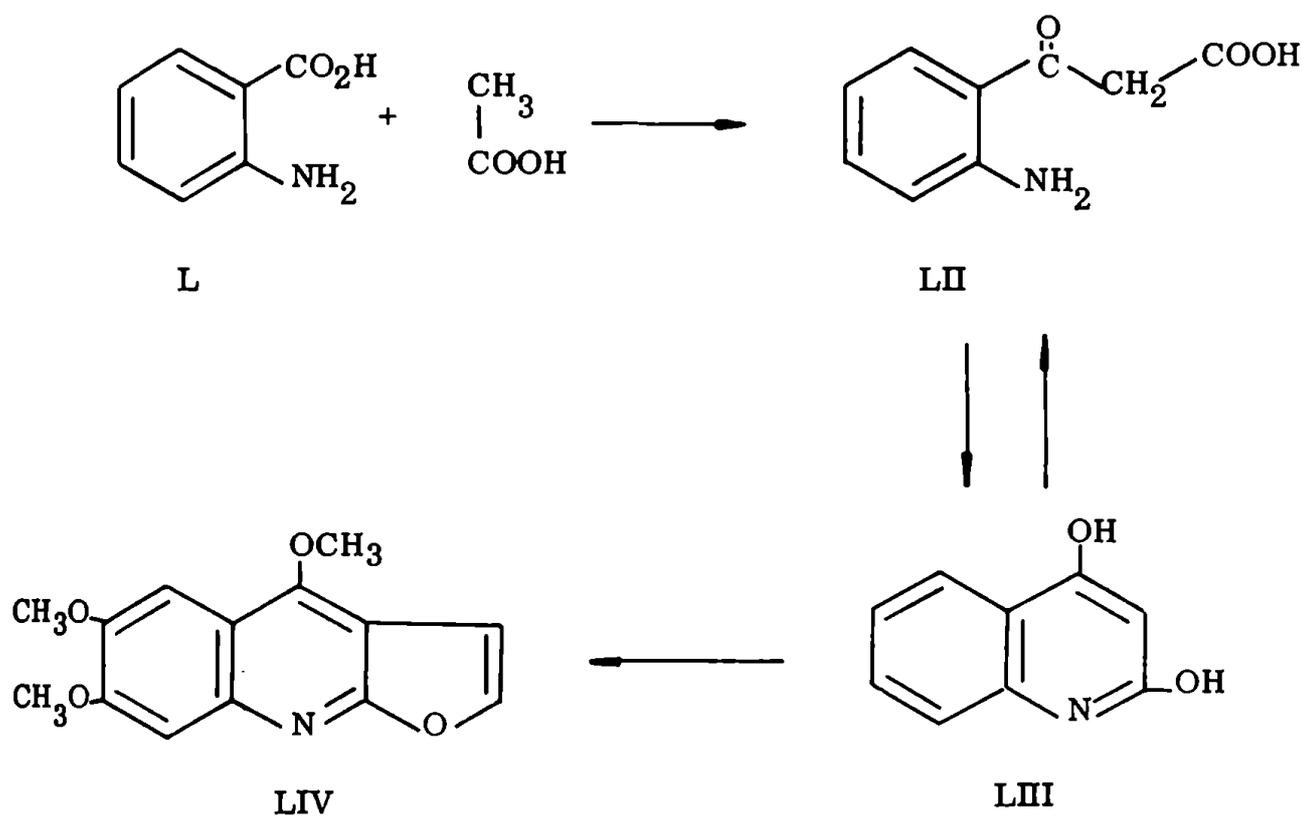


Esquema 8

se poseen los datos sobre la relación C^{14}/N^{15} en la skimmianina obtenida de plantas de D. albus a las cuales se había administrado ácido antranílico con doble marcación.³²

Cobet y Luckner³⁵ demostraron que el ácido 2-aminobenzoilacético (LII), se incorporaba a la kokusaginina (LIV) cuando se lo administraba a la Ruta graveolens. Este compuesto se encuentra en equilibrio con la 2,4-dihidroxiquinolina (LIII) en función del pH del medio. Cuando se administró a la Ruta graveolens 2,4-dihidroxi [3- C^{14}]quinolina, se observó que se incorporaba específicamente a la kokusaginina (LIV) con alto rendimiento. De esto se concluye que la 2,4-dihidroxiquinolina es un precursor directo en la formación de kokusaginina.

En base a los resultados obtenidos por Cobet y Luckner se puede postular el siguiente esquema:



Esquema 9

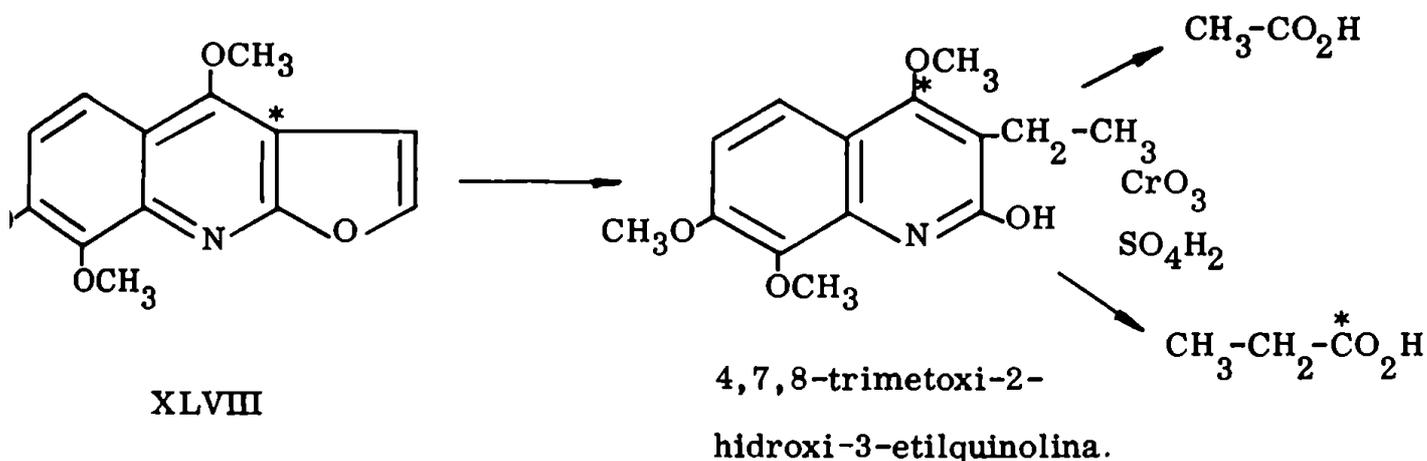
Posteriormente, Collins y Grundon⁴⁰ administraron 2,4-dihidroxiquinolina [3-C¹⁴] a la Skimmia japónica y observaron incorporación en dictamnina, en platidesmina y en skimmianina.

Sobre el origen de los grupos metoxilo de estos alcaloides, se ha establecido que provienen de metionina. La dictamnina obtenida por Monković y col.³² después de administrar metionina [-C¹⁴H₃] contenía toda su radiactividad en el grupo -OCH₃.

Los C-10 y C-11 provienen de acetato. Esto se pudo establecer mediante las siguientes experiencias:

1^o) - El resultado obtenido por Matsuo y col.³³ en el estudio de la biosíntesis de skimmianina que permite establecer el origen del C-11. La administración a la S. japónica de acetato [2-C¹⁴] y la degradación de la skimmianina obtenida, según se muestra en el esquema 10, permitió obtener una mezcla de ácidos acético y propiónico, que se separaron por columna de gel de sílice. Al preparar 1-naftil amidas de estos ácidos y medir su actividad, comprobaron que solo el ácido propiónico era activo.

Esto demostraba que la actividad de la skimmianina estaba localizada en el C-11.

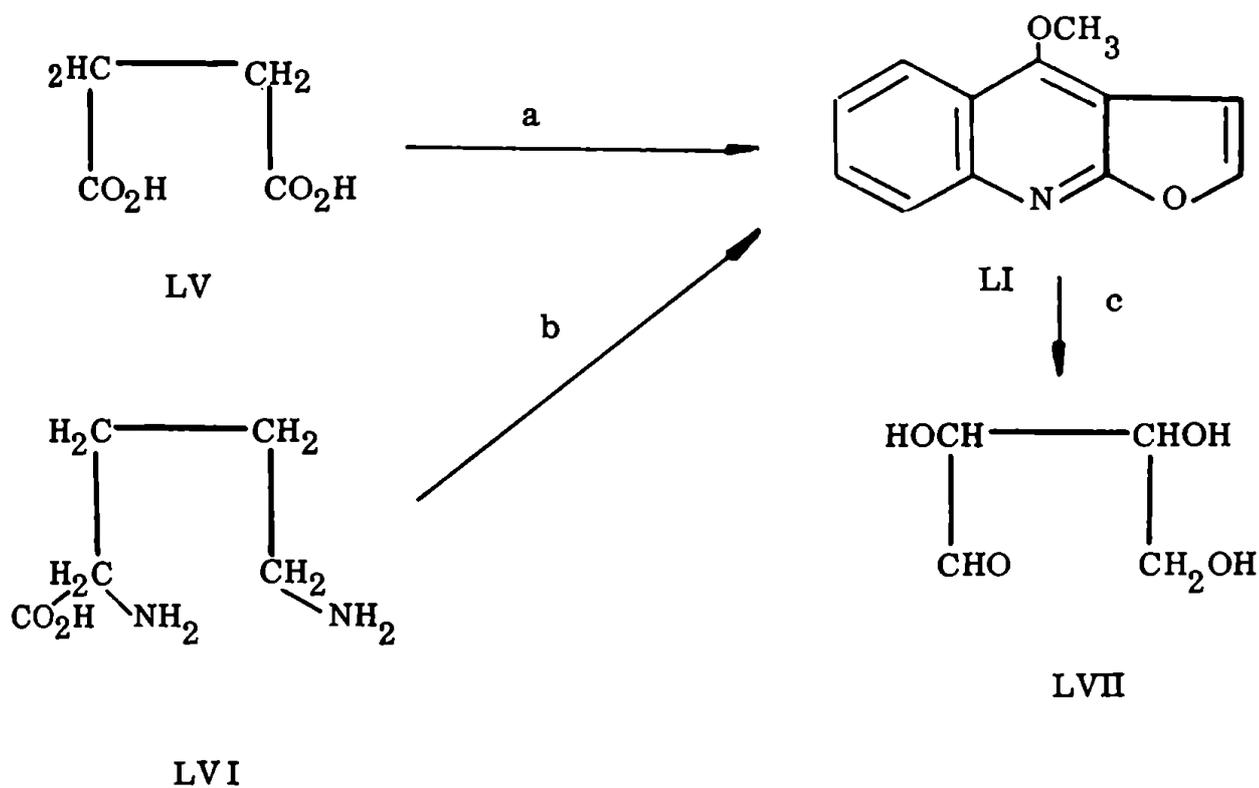


Esquema 10

2^o) - Los resultados obtenidos en el estudio de la biosíntesis de dictamnina

por Monković y col.³² que determinaron el origen de los C-10 y C-11, los dos carbonos no antranflicos del anillo piridínico. Utilizando acetato $1-C^{14}$ la actividad estaba localizada en el C-10 de la dictamnina; cuando se administró acetato $[2-C^{14}]$, se obtuvo casi específicamente incorporación en el C-11.

El hecho de observar incorporación prácticamente nula en los C-2 y C-3 al administrar acetato marcado, así como también el no observar incorporación de α cetoglutarato $[5-C^{14}]$, eliminan los esquemas 11a y 11b, donde participan succinato (LV) y ornitina (LVI) como proveedores de una unidad de cuatro carbonos en la dictamnina (LI).



Esquema 11

Si el acetato se hubiera incorporado vía α cetoglutarato, o succinil CoA, u ornitina (LVI), el α cetoglutarato $[5-C^{14}]$ hubiera debido dar dictamnina con un modelo de marcación igual al obtenido con acetato $[1-C^{14}]$. Como la ac-

tividad del α cetoglutarato [$5-C^{14}$] no se incorpora, no entra a la dictamnina por esta vía.

Wenkert³⁸ postuló que otro precursor del anillo furánico sería la eritrosa (LVII), (esquema 11 c). Si se administra ribosa $1-C^{14}$, ésta, por la vía del ciclo fotosintético de reducción del carbono, proporcionaría eritrosa 4-fosfato [$4-C^{14}$] y si esta última se incorpora intacta a la dictamnina, debería obtenerse marcación en el C-2.^{32,38}

Siguiendo la ruta del ciclo de las pentosas, la ribosa [$1-C^{14}$] debería dar eritrosa [$1-C^{14}$]^{32,38} y si esta se incorpora intacta, debería dar marcación en el C-10 de la dictamnina.

Los resultados obtenidos por Monković y col.³² demuestran que no ocurre así. La actividad en la dictamnina después de inocular ribosa $1-C^{14}$ al Dictamnus albus, está distribuída en todos los carbonos y muy poco en el C-2 y en el C-3.

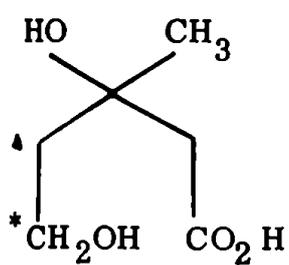
Resulta evidente que los C-10, C-11, C-2 y C-3, no derivan de un precursor de cuatro carbonos, pero los C-10 y C-11, provienen sin lugar a dudas, de acetato.

Los C-2 y C-3 de las furoquinolinas, provienen de ácido mevalónico (LVIII). Las primeras experiencias con ácido mevalónico $1-C^{14}$ hechas por Monković y col.³² no dieron resultado.

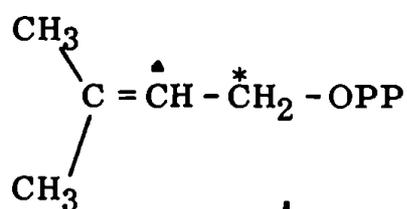
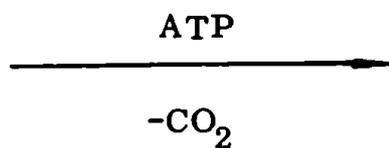
En 1970, Colonna y Gros⁴¹ utilizaron ácido mevalónico [$4-C^{14}$], [$5-C^{14}$] y alcohol dimetilalílico [$1-C^{14}$] en el estudio de la biosíntesis de skimmianina en el Fagara coco. En los tres casos se obtuvo marcación de la skimmianina.

Observaron que cuando se inyectaba al Fagara coco ácido mevalónico [$4-C^{14}$] se obtenía skimmianina marcada en el C-2, y cuando se administraba ácido mevalónico [$5-C^{14}$] la actividad estaba localizada en el C-3 de la misma. Cuando se utilizaba alcohol dimetilalílico [$1-C^{14}$] también se obtenía marcación en el C-3 de la skimmianina.

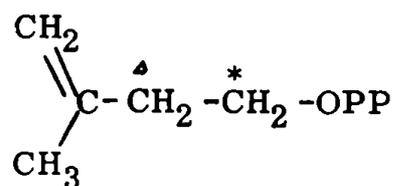
En base a estos resultados se puede postular el siguiente esquema de biogénesis (esquema 12):



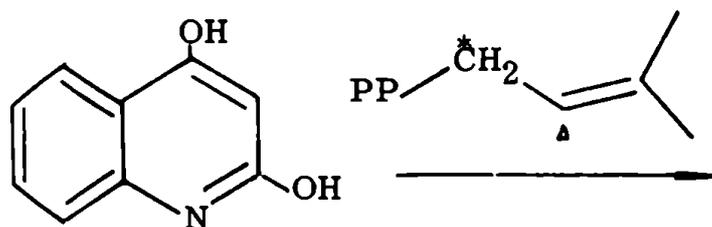
LVIII



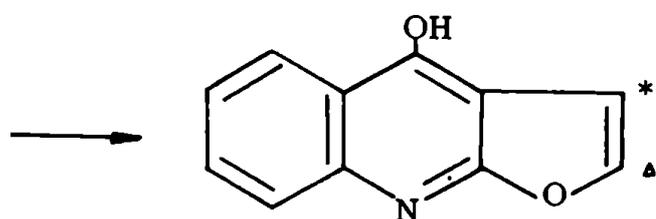
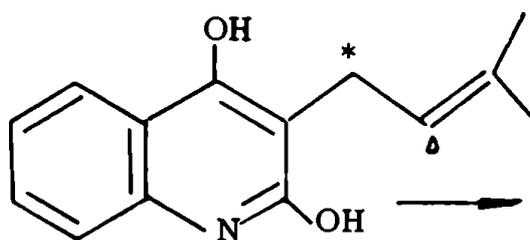
Pirofosfato de di-
metilalilo.



Pirofosfato de
isopentenilo⁴²



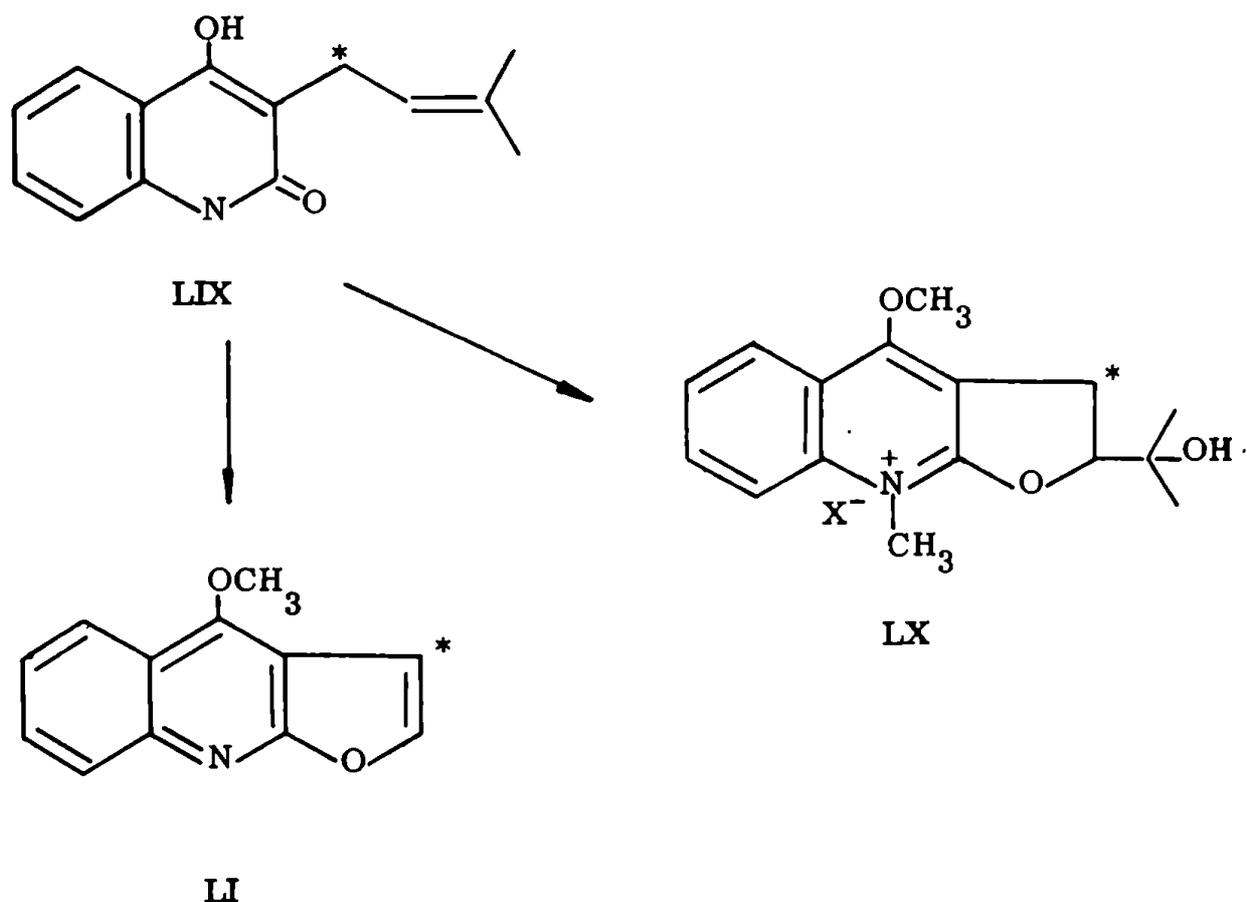
LIII



Esquema 12

Este esquema apoya los resultados obtenidos por Collins y Grundon,⁴⁰ quienes inocularon la dimetilalilquinolina LIX, marcada como se indica en el esquema 13, a la *Skimmia japónica*, observando actividad en el C-3 de la hictamnina (LI) y en platidesmina (LX)

Todo hace pensar que la isopropil furoquinolina pierde el grupo isopropilo para dar el núcleo furoquinolínico.

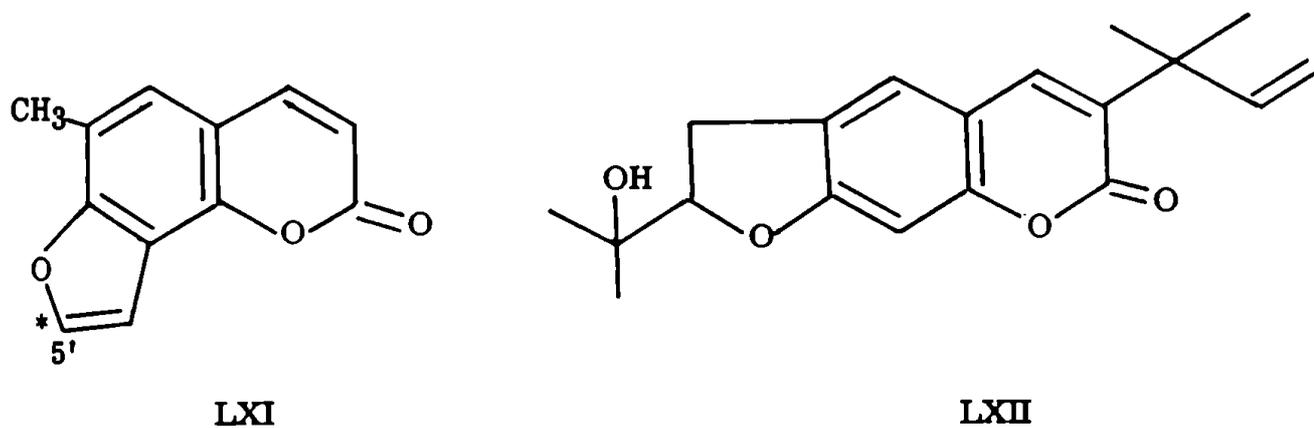


Esquema 13

En 1966, Floss y Mothes⁴³ utilizando ácido mevalónico 4-C¹⁴ (LVIII), demostraron que el anillo furánico de la furocumarina pimpinellina (LXI) provenía de los carbonos 4 y 5 del ácido mevalónico. La actividad estaba localizada en el C-5' de la pimpinellina (LXI).

Esto último provocó que el anillo furánico de las furocumarinas y de los

alcaloides furoquinolínicos tienen el mismo origen biogénico, como lo habían sugerido Aneja y col.⁴⁴ en 1958.



Del mismo modo y de acuerdo con los resultados de Collins y Grundon⁴⁰ y Cobet y Luckner³⁵ podemos suponer casi sin lugar a dudas, que las 2- y 4-quinolonas provienen de 2,4-dihidroxiquinolina (LIII).

El hecho de haber encontrado en la *Helietta longifoliata* la furocumarina heliettina (LXII), alcaloides furoquinolínicos del grupo de la dictamnina (LI) y la furoquinolona isodictamnina (XXXIX) constituye un argumento más en favor de ese origen biogénico común.

AISLAMIENTO Y ESTRUCTURA DE LAS BASES

DE HELIETTA LONGIFOLIATA Britt.

La Helietta longifoliata Britt. (sin. Helietta cuspidata (Engl.) Chod et
 (ssl), es un árbol de tamaño mediano que crece en la Argentina, en la
 provincia de Misiones, donde se lo conoce con el nombre de canela de ve-
 do. Su taxonomía es la siguiente:

CLASIFICACIÓN : Rutaceae

SUBFAMILIA : Toddalioideae

GENERO : Toddalieae

TRIBU : Pteleinae

GENEROS { Balfourodendron
 Helietta

El género Helietta comprende cuatro especies que se distribuyen desde
 Misiones y Paraguay hasta el sur de los Estados Unidos (Texas). La plan-
 ta utilizada para este estudio fue recolectada en la localidad de Candelaria
 (Misiones).

De Helietta longifoliata han sido ya aislados una base conocida, maculina⁴⁵
 y otros productos no básicos: una nueva furocumarina, heliettina⁴⁶ y un nue-
 vo alcohol triterpénico pentacíclico, el isobaueranol.⁴⁷

Del extracto éter de petróleo y del extracto metanólico de la planta se
 aislaron por los métodos usuales residuos alcaloidicos que en conjunto re-
 presentan un 0,037 % del peso de la planta seca. Estos residuos fueron frac-
 cionados por cromatografía sobre óxido de aluminio en columna y en capa
 preparativa, consiguiéndose de esta manera obtener, además de maculina,
 seis alcaloides al estado puro, que denominaremos B₁, B₂, B₃, B₄, B₅
 B₆ y B₇. Todas ellas pertenecen al grupo de las furoquinolinas.

DICTAMNINA

La base B₁, de p.f. 129-131°, fue identificada como dictamnina (LI).

Su espectro U.V. (figura 1), presenta, como todos los derivados quinolf-
 ínicos un sistema muy semejante al del naftaleno^{48a} (λ_{\max} 220, 275, 286, 312

320 nm). En este caso, los valores de λ_{\max} son: 237, 242 (h), 309, 316 (h), y 330 nm, valores que concuerdan con los de dictamnina.^{48b}

El espectro I.R. (figura 13), resultó superponible al de una muestra auténtica de dictamnina.

Su espectro de R.M.N. (figura 2), presenta un singulete a 4,45 ppm que integra para 3H, asignable a un grupo $-\text{OCH}_3$. Este $-\text{OCH}_3$ en C-4, es el que aparece a campos más bajos en todos los alcaloides de este grupo.⁴⁹ Los dupletes a 7,7 ppm ($J=2,5$ Hz) y 7,12 ppm ($J=2,5$ Hz), cada uno de los cuales integra para 1H fueron asignados al sistema AB de los protones α y β del anillo furánico, respectivamente. El cuadruplete poco resuelto a 8,38 ppm ($J_o=8,0$ Hz, $J_m=2,5$ Hz), se asignó al H-5 y el multiplete que aparece entre 7,38 y 8,16 ppm a los restantes H-6, H-7 y H-8.

La observación de R_f coincidentes con los de dictamnina auténtica en varios sistemas cromatográficos, así como la no depresión del p.f. mezcla, completó su identificación.

6-METOXIDICTAMNINA

La base B_2 , de p.f. 133-134^o, corresponde a 6-metoxidictamnina (LXIII), alcaloide aislado hasta ahora solo en otra oportunidad, de Platydesma campanulata Mann.⁵⁰

Su espectro U.V. (figura 3) presenta un efecto batocrómico no muy intenso en la zona de 230 a 240 nm y de 315 a 330 nm del correspondiente a dictamnina, debido a la presencia de un grupo $-\text{OCH}_3$ (auxocrómico) en el C-6. Se observan λ_{\max} a 244, 255, 295, 322,5 y 348,5 nm.

Su espectro de R.M.N. (figura 4), presenta dos singuletes, uno a 3,97 ppm y otro a 4,45 ppm. Ambos integran para 3H y se asignaron a dos grupos metoxilo, de los cuales, el que aparece a campos más bajos corresponde al ubicado en C-4, que por encontrarse en el anillo B, se encuentra más desprotegido. El sistema AB de los protones α y β del anillo C, aparecen a 7,72 y 7,20 ppm respectivamente ($J=2,6$ Hz). El duplete a 8,6 ppm ($J=9,0$ Hz) fue asignado al H-8. Este es el H más desprotegido en este

espectro y constituye una excepción con respecto al resto de los alcaloides furoquinolínicos en los que el protón del anillo A que aparece a campos más bajos es el H-5. En general la posición de este H respecto del punto medio del multiplete que corresponde a los protones aromáticos restantes depende del tipo de sustitución.⁴⁹

La explicación de la posición de la señal del H-8 sería que debido a la presencia del grupo $-OCH_3$ en el C-6 la señal del H-5, se desplaza entre 0,4 y 0,5 ppm hacia campos mayores.

El resto de los picos que aparecen entre 7,38 y 7,60 ppm corresponden a los H-5 e H-7.

La identificación se completó con un p.f. mezcla del picrato de 6-metoxidictamnina con una muestra auténtica del mismo y por métodos cromatográficos.

MACULINA

La base B₃ es maculina (LXIV). Su identificación se efectuó por comparación de su R_f en cromatografía en capa delgada, en varios sistemas con una muestra auténtica de la misma, aislada de la misma planta.⁴⁵

KOKUSAGININA

La base B₄ de p.f. 170-171° se identificó como kokusaginina (LIV).

Su espectro U.V. (figura 5) presenta los siguientes valores de λ_{\max} : 244,5, 252, 246,9, 308,3, 320 y 334,8. La presencia de otro grupo $-OCH_3$ no provoca mayores desplazamientos respecto de los observados en la 6-metoxidictamnina.

El espectro de R.M.N. (figura 6), presenta dos singuletes a 4,0 y 4,03 ppm que integran cada uno para 3H y corresponden a los metoxilo en C-6 y C-7, y otro singulete a 4,38 ppm que también integra para 3H, asignable al $-OCH_3$ de C-4. El sistema AB que indica la presencia de los H- α e H- β del anillo C aparece a 7,60 y 7,02 ppm ($J = 2,6$ Hz), respectivamente. Los H-5 e H-8 dan singuletes a 7,58 y 7,38 ppm. Como hay dos

grupos $-\text{OCH}_3$ en C-6 y C-7, evidentemente el singulete que aparece a campos menores es el correspondiente al H-5.

La identidad del espectro I.R. con el de kokusaginina auténtica, el no observar disminución en el p.f. mezcla y la coincidencia de los valores de R_f en diversos sistemas cromatográficos, confirman que se trata de dicho alcaloide.

FLINDERSIAMINA

La base B_5 , (p.f. 205-207°), es flindersiamina (LXV). Este alcaloide ha sido aislado también de otras dos rutáceas argentinas: el Balfourodendron riedelianum⁵¹ y la Esenbeckia febrífuga⁵².

Su estructura fue asignada por análisis de sus espectros U.V. y de R.M.N. (figuras 7 y 8). Su espectro U.V. presenta un desplazamiento batocrómico bastante pronunciado respecto de la dictamnina en la zona de 245-265 nm provocada por la presencia de los grupos auxocrómicos $-\text{O}-\text{CH}_2-\text{O}-$ (C-6 y C-7) y $-\text{OCH}_3$ (C-8). En la zona de 290 a 345 nm solo se observa un efecto hipercrómico no muy intenso. Los valores de λ_{max} son: 253, 310, 320, y 340 nm.

El espectro de R.M.N. presenta un sistema AX para los protones α y β del anillo C a 7,70 y 7,11 ppm ($J=2,6$ Hz). El $-\text{OCH}_3$ en C-4 aparece a campos más bajos (4,42 ppm) mientras que el $-\text{OCH}_3$ en C-8 se encuentra a 4,30 ppm. El grupo metilendioxi da un singulete a 6,14 ppm. El protón aromático también se presenta como un singulete a 7,35 ppm.

El espectro I.R. (figura 16) coincide con el de flindersiamina.

La identificación se completó preparando isoflindersiamina, p.f. 209-211°, cuyo espectro I.R. (figura 17), presenta bandas características de 4-quinonas.

SKIMMIANINA

La base B_6 , de p.f. 174-176°, es idéntica a skimmianina (XLVIII), alcaloide aislado por primera vez por Honda en 1904 en la Skimmia japónica⁵³.

Se encuentra también presente en otras dos rutáceas argentinas, el Fagara⁵⁴ coco y la Esenbeckia febrifuga.⁵² Es quizá el alcaloide más frecuente en esta familia.

Presenta las siguientes características espectroscópicas: el espectro U.V. (figura 9), muestra un marcado desplazamiento batocrómico respecto de la dictamnina en la zona de 230 a 275 nm, pero no se observan diferencias muy notables en la zona de 300 a 345 nm. Es importante destacar que a diferencia con los otros alcaloides de este grupo, la skimmianina presenta un mínimo muy pronunciado a 280 nm. Los valores de λ_{\max} son: 249, 320 y 330 nm.

El espectro de R.M.N. (figura 10) presenta dos singuletes a 4,06 ppm y 4,13 ppm cada uno de los cuales integra para 3H y son asignables a los grupos metoxilo en C-7 y C-8. El singulete a 4,43 ppm (3H), corresponde al $-\text{OCH}_3$ en C-4. Los $\text{H}\alpha$ e $\text{H}\beta$ del anillo C dan un cuadruplete característico del sistema AB a 7,59 y 7,30 ppm ($J = 2,6$ Hz). El H-5 se encuentra acoplado al H-6 y ambos presentan un doblete a 8,0 y 7,22 ppm ($J = 9,0$ Hz.), respectivamente.

Como en los casos anteriores la identificación se completó por comparación de su espectro I.R. (figura 18) con el de una muestra auténtica de skimmianina. No se observó depresión en el p.f. mezcla efectuado con skimmianina auténtica. Los valores de R_f en distintos sistemas cromatográficos resultaron coincidentes con los de dicho alcaloide.

SODICTAMNINA

La base B_7 , de p.f. 186-187°, presenta características espectroscópicas singulares, resultando ser una 4-quinolona de estructura (XXXIX), no aislada previamente de la naturaleza.

Un estudio de la zona de 1450 a 1700 cm^{-1} de su espectro I.R. (figura 19), permite notar la presencia de una banda intensa a 1630 cm^{-1} debida muy probablemente a una vibración de tensión de grupo carbonilo. Presenta además una banda intensa a 1590 cm^{-1} y dos bandas medias a 1540

y 1520 cm^{-1} .

La presencia de la banda a 1630 cm^{-1} y el hecho de observar en el espectro U.V. (figura 11), máximos a 211,5, 243, 251, 258, 333,9, y 346,8 nm en etanol, llevan a pensar que se trata de una quinolona. El mismo espectro U.V. hecho en ClH 0,2N en etanol, presenta los siguientes valores de λ_{max} : 240, 249 (h), 256 (h), 313,5 (h), 332,1 y 346,5 nm. Por otra parte, no se observan bandas en la zona de 260 a 300 nm en el espectro realizado en etanol. Esto último, el observar un desplazamiento en la banda a 243 nm y el hecho de que las bandas netas a 250,9 y 257,9 nm en medio neutro aparezcan como hombros en medio ácido, mostrarían que se trata de una 4-quinolona y no de una 2-quinolona, dado que estas últimas presentan una serie de máximos en la zona de 263 a 298 nm y por ser bases más débiles que las 4-quinolonas (que son amidas vinílicas y por lo tanto bases más fuertes) no modifican su absorción en la zona de 235 a 260 nm en medio ácido.^{55,56,57.}

La confirmación de que se trata de una N-alkil 2,3-b 4-furoquinolona se tiene de la observación detallada de su espectro I.R. (figura 19). En las 2-quinolonas la banda correspondiente a la vibración de tensión C=O aparece a frecuencias mayores que en las 4-quinolonas. Por otra parte, en espectros I.R. de estos últimos compuestos, la zona correspondiente a las vibraciones de tensión C=C y C=N es generalmente compleja, como se observa aquí y en contraste con lo informado para las 2-quinolonas.⁵⁸

En particular, y de acuerdo con lo informado por Rapoport y Holden⁵⁵ la absorción en la zona de 1540 cm^{-1} nos proporcionaría un criterio más seguro para afirmar que se trata de una 4-quinolona y no de una 2-quinolona.

Su espectro de R.M.N. (figura 12) presenta un singulete a 3,88 ppm (3H), asignable a un grupo N-CH_3 . El cuadruplete correspondiente a los H- α e H- β del anillo furánico aparecen a 7,41 y 7,15 ppm ($J = 2,5 \text{ Hz}$) respectivamente. Como se ve, la señal del H- α se encuentra desplazada

entre 0,20 y 0,30 ppm respecto de la misma señal en los alcaloides del grupo de la dictamnina. Esto puede explicarse de la siguiente forma: la menor aromaticidad del anillo B en este caso, respecto del mismo anillo en los alcaloides del grupo de la dictamnina, hace que los H- α e H- β del anillo C, estén desplazados hacia campos mayores. Por otra parte, la mayor proximidad del grupo carbonilo en C-4 desprotegería más el H- β que se encuentra más próximo a aquél que el H- α ⁴⁹. El H-5 es el más desprotegido de los protones del anillo A, y aparece a campos más bajos que el correspondiente en los alcaloides del grupo de la dictamnina ^{49,59,60} debió probablemente a la anisotropía diamagnética del grupo carbonilo en C-4. Este efecto está favorecido por el hecho de que el H-5 se encuentra rígido en el mismo plano que el grupo carbonilo. Se observa un cuarteto poco resuelto a 8,65 ppm ($J_o = 9,0$ Hz; $J_m = 1,2$ Hz).

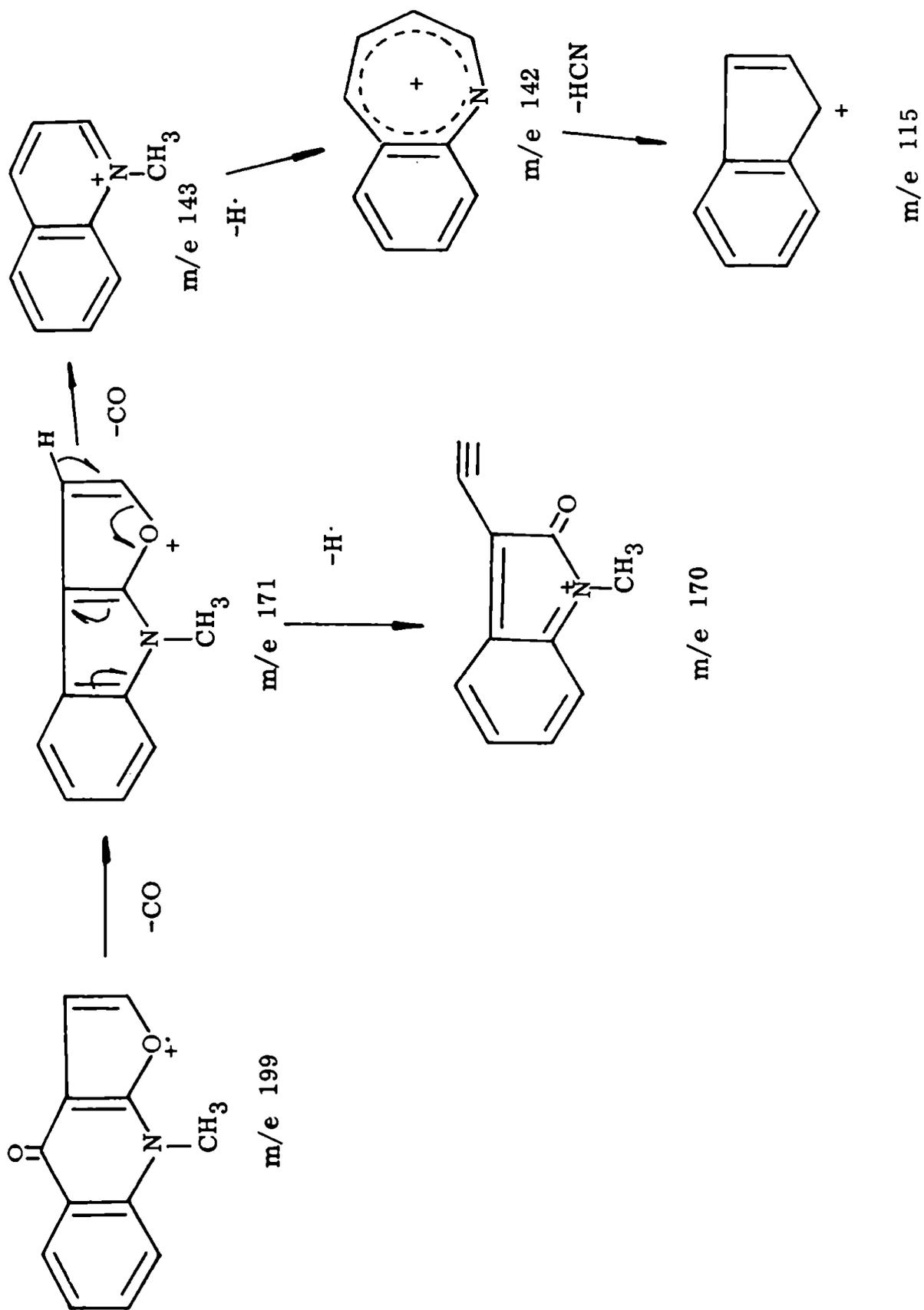
El espectro de masa (figura 20), presenta los picos importantes que se detallan en la tabla 2. Los mismos pueden racionalizarse en base a los esquemas de fragmentación 1 y 2, en muchos puntos análogos con lo propuesto para las furoquinolinas. ⁶¹

La estructura de la base B₇ se confirmó por síntesis a partir de dictamnina (LI). El p.f. mezcla de isodictamnina (XXXIX) sintética y natural o presenta disminución y los espectros I.R. son superponibles. Por otra parte, los R_f de isodictamnina sintética son idénticos a los de la base natural.

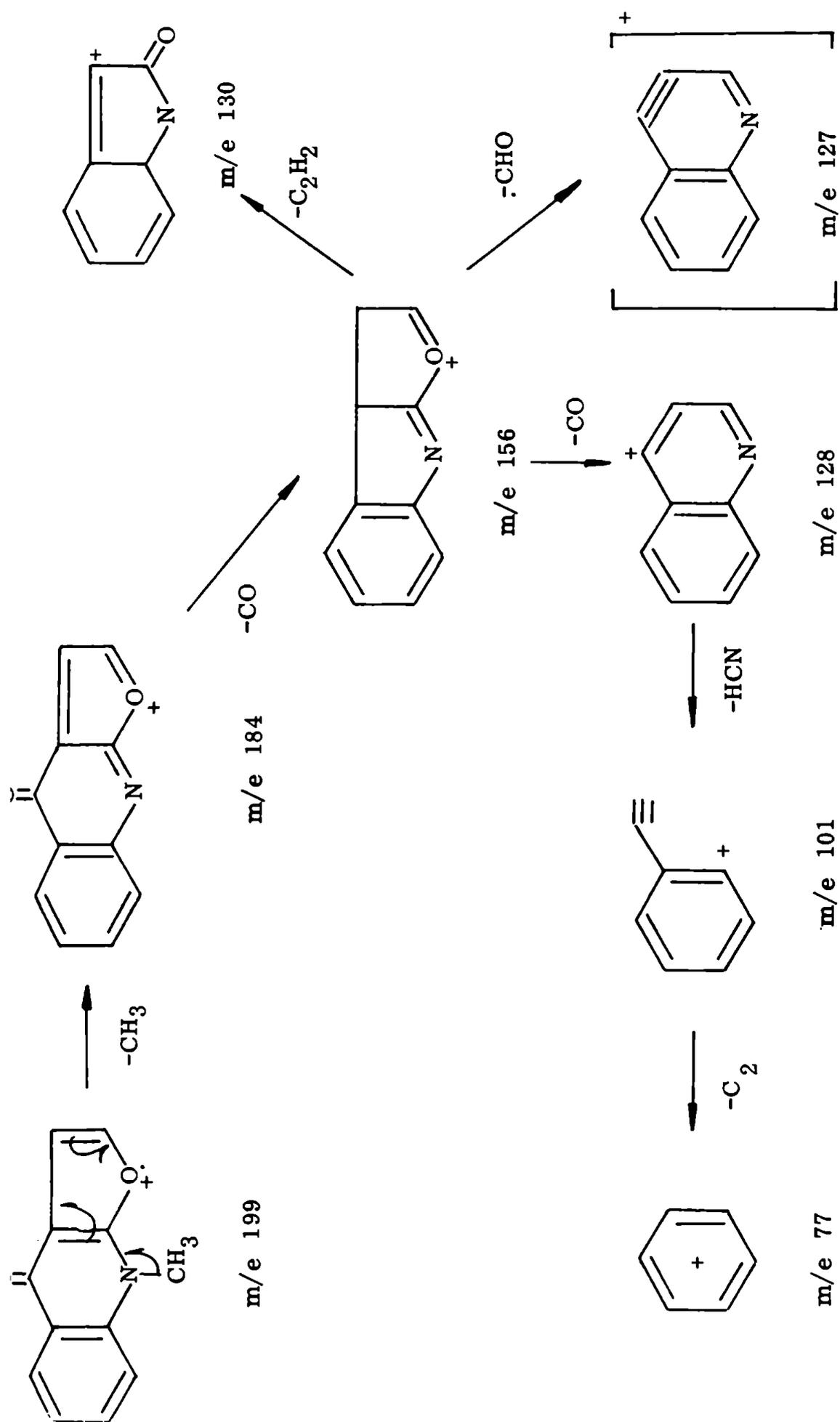
La probabilidad de que la isodictamnina aislada de Helietta longifoliata sea un "artefacto", es prácticamente nula, dados los métodos de extracción, aislamiento y purificación empleados.

TABLA 2ESPECTRO DE MASA DE ISODICTAMNINA

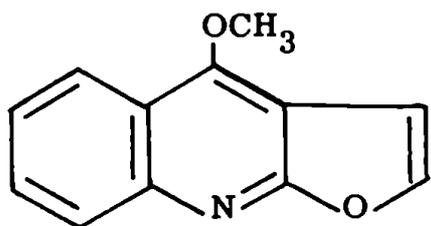
m/e	abundancia relativa al pico base (%)
201	2,0
200	15,1
199 (M ⁺)	100
184	15,0
171	2,8
170	11,0
156	16,8
143	29,8
142	10,3
130	9,05
128	21,5
127	5,8
115	21,4
104	16,2
101	14,2
77	19,5
76	14,2



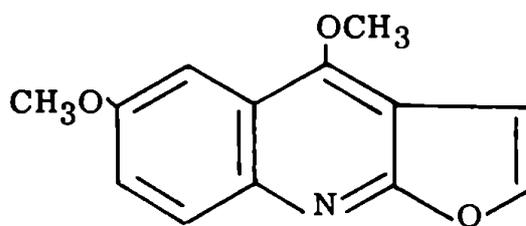
Esquema de fragmentación 1



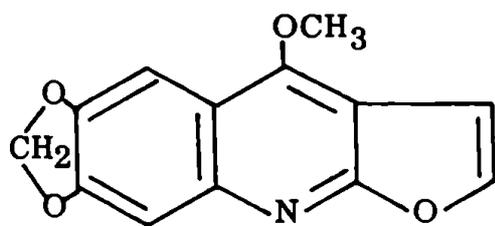
Esquema de fragmentación 2

ALCALOIDES PRESENTES EN HELIETTA LONGIFOLIATA Britt.

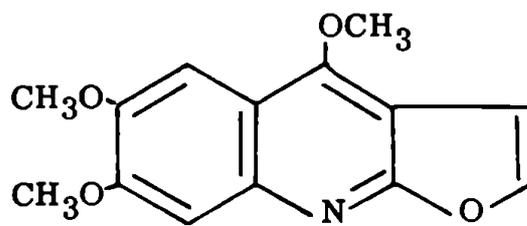
LI



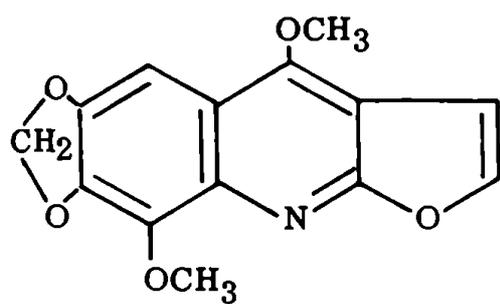
LXIII



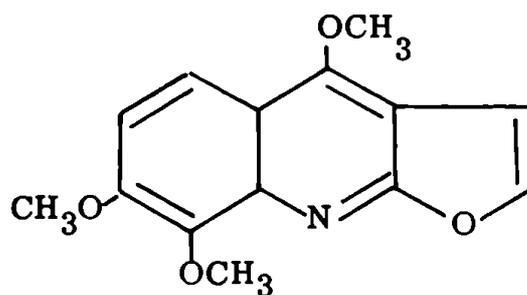
LXIV



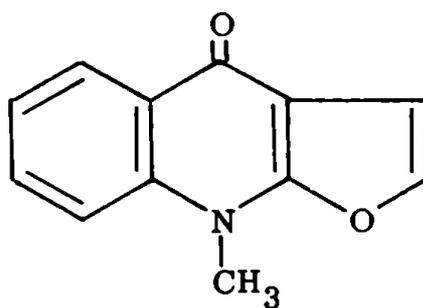
LXV



LXVI



LXVII



XXXIX

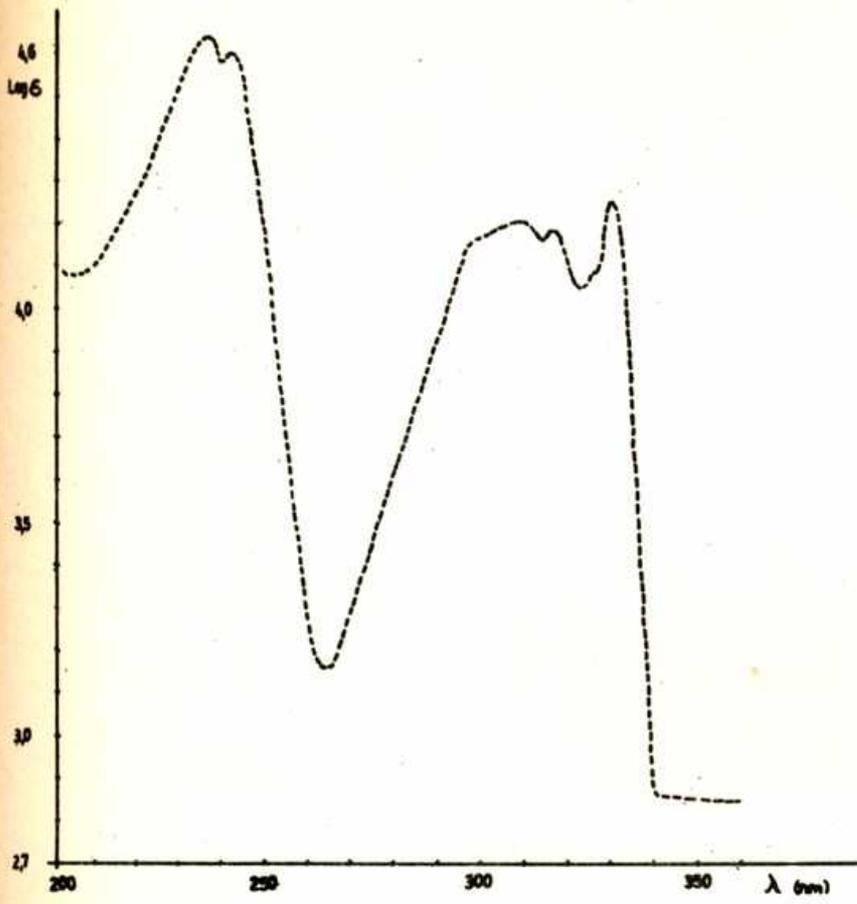


Figura 1. Espectro U.V. de dictamnina

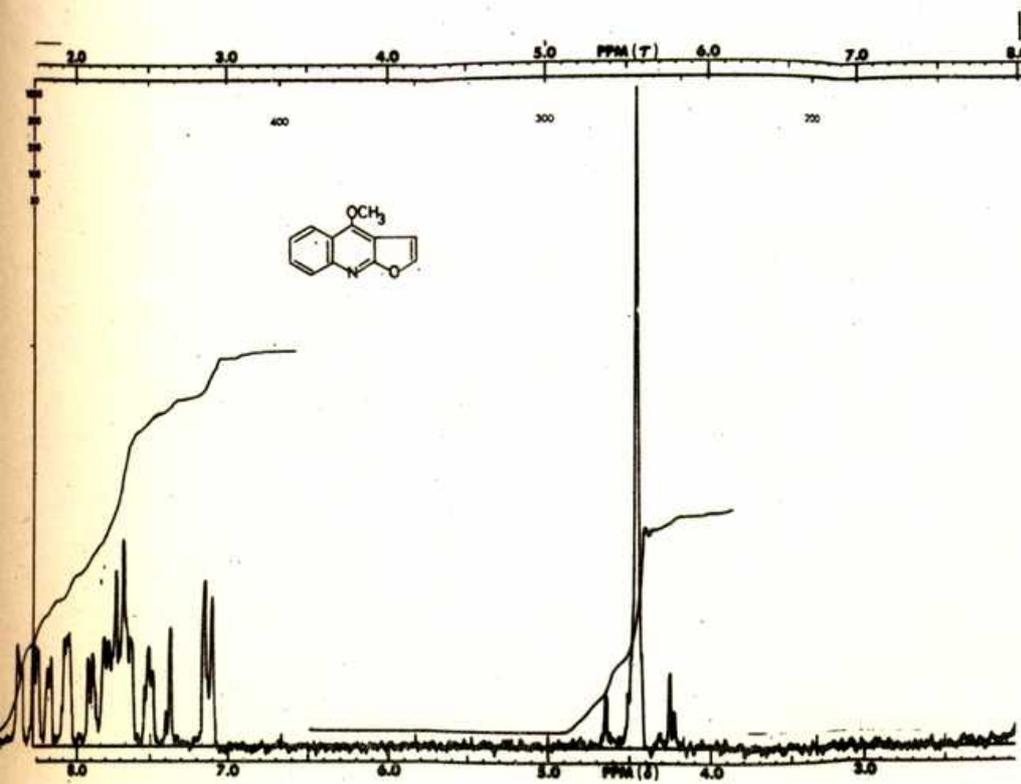


Figura 2. Espectro de R.M.N. de dictamnina

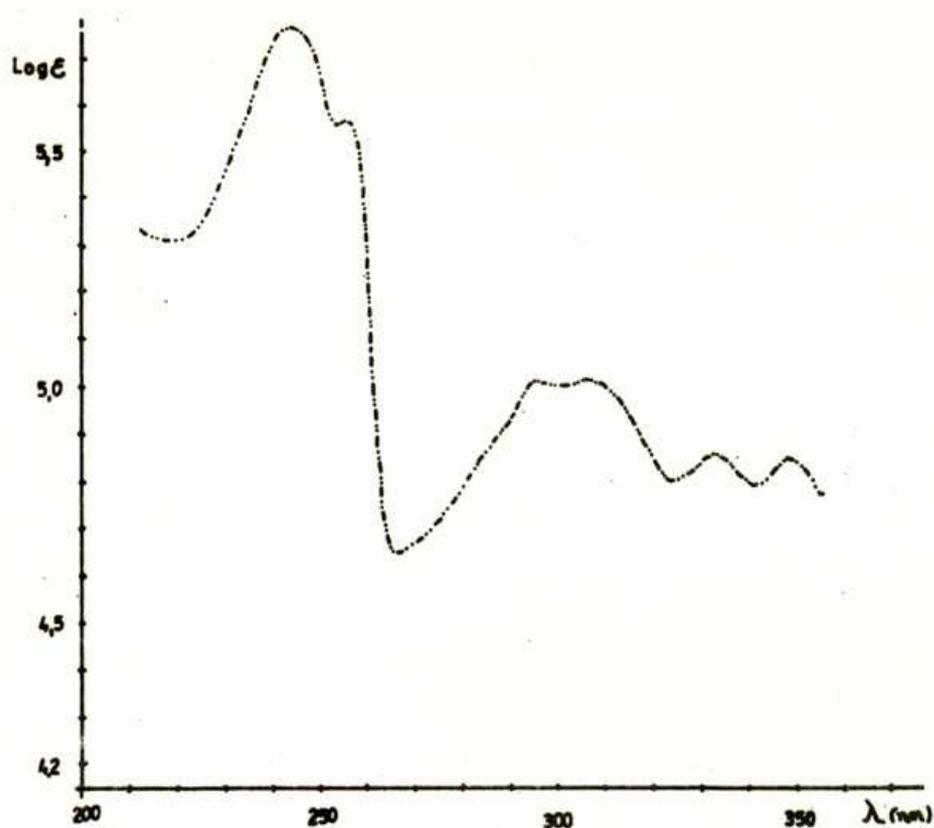


Figura 3. Espectro U.V. de 6-metoxidictamnina

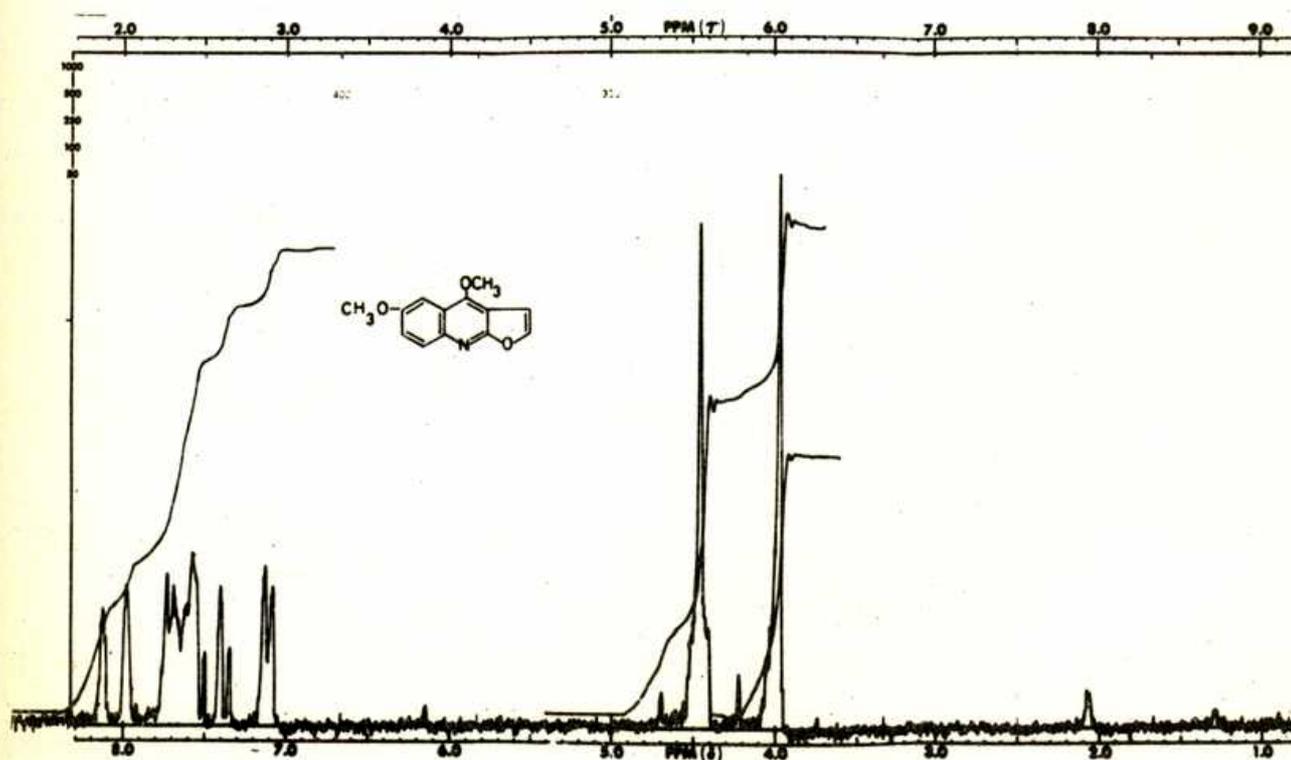


Figura 4. Espectro de R.M.N. de 6-metoxidictamnina

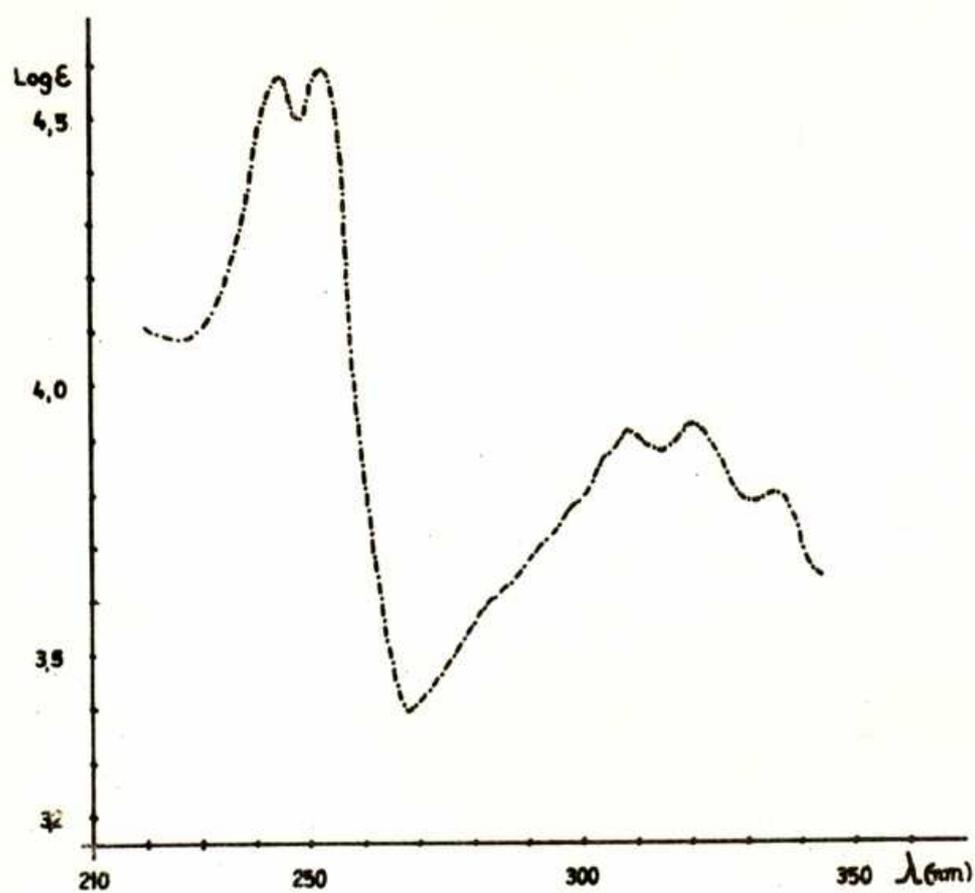


Figura 5. Espectro U.V. de kokusaginina

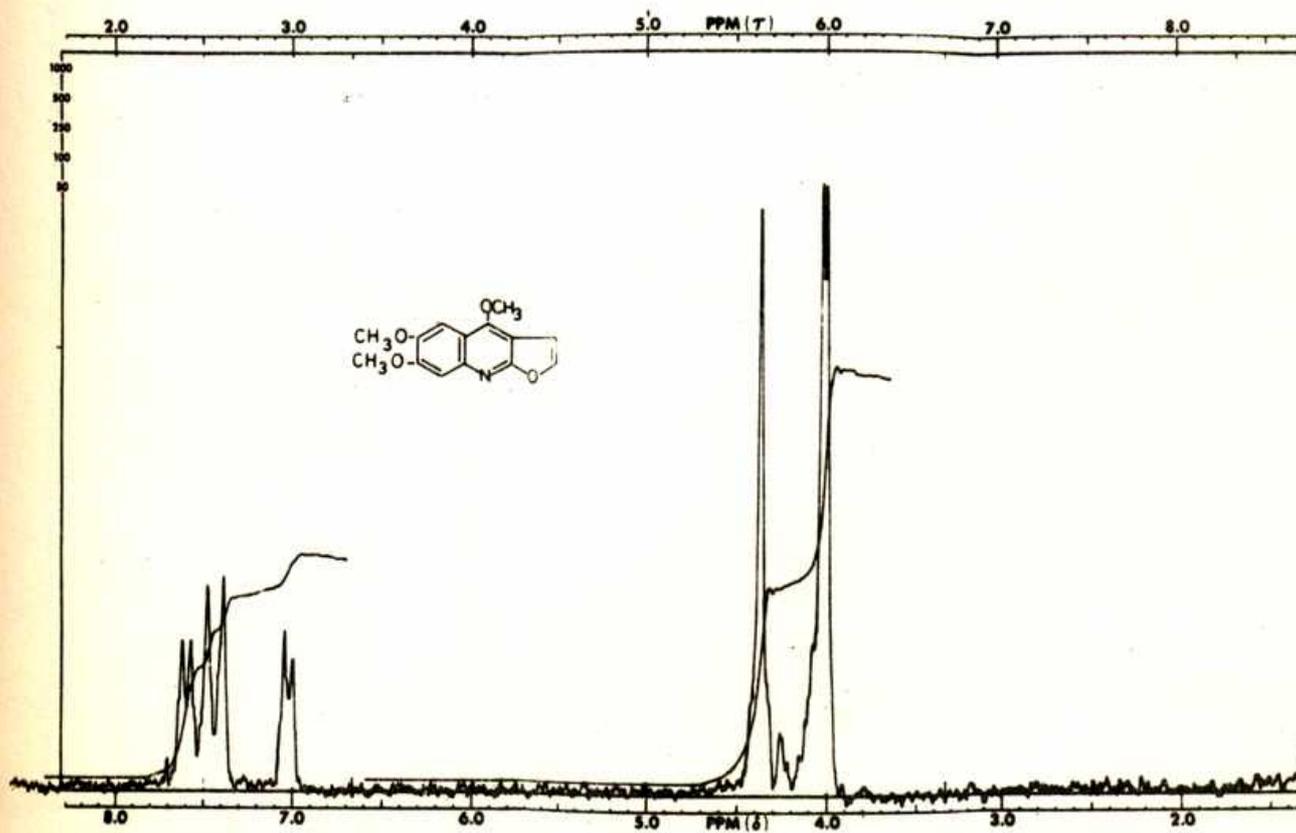


Figura 6. Espectro de R.M.N. de kokusaginina

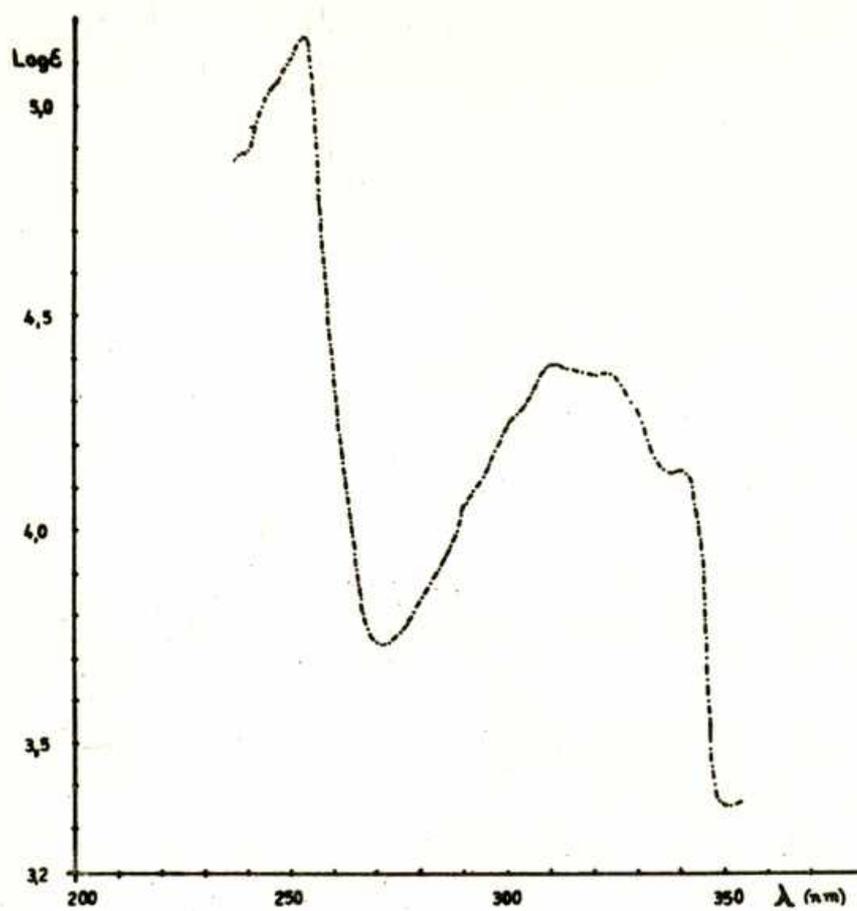


Figura 7. Espectro U.V. de flindersiamina

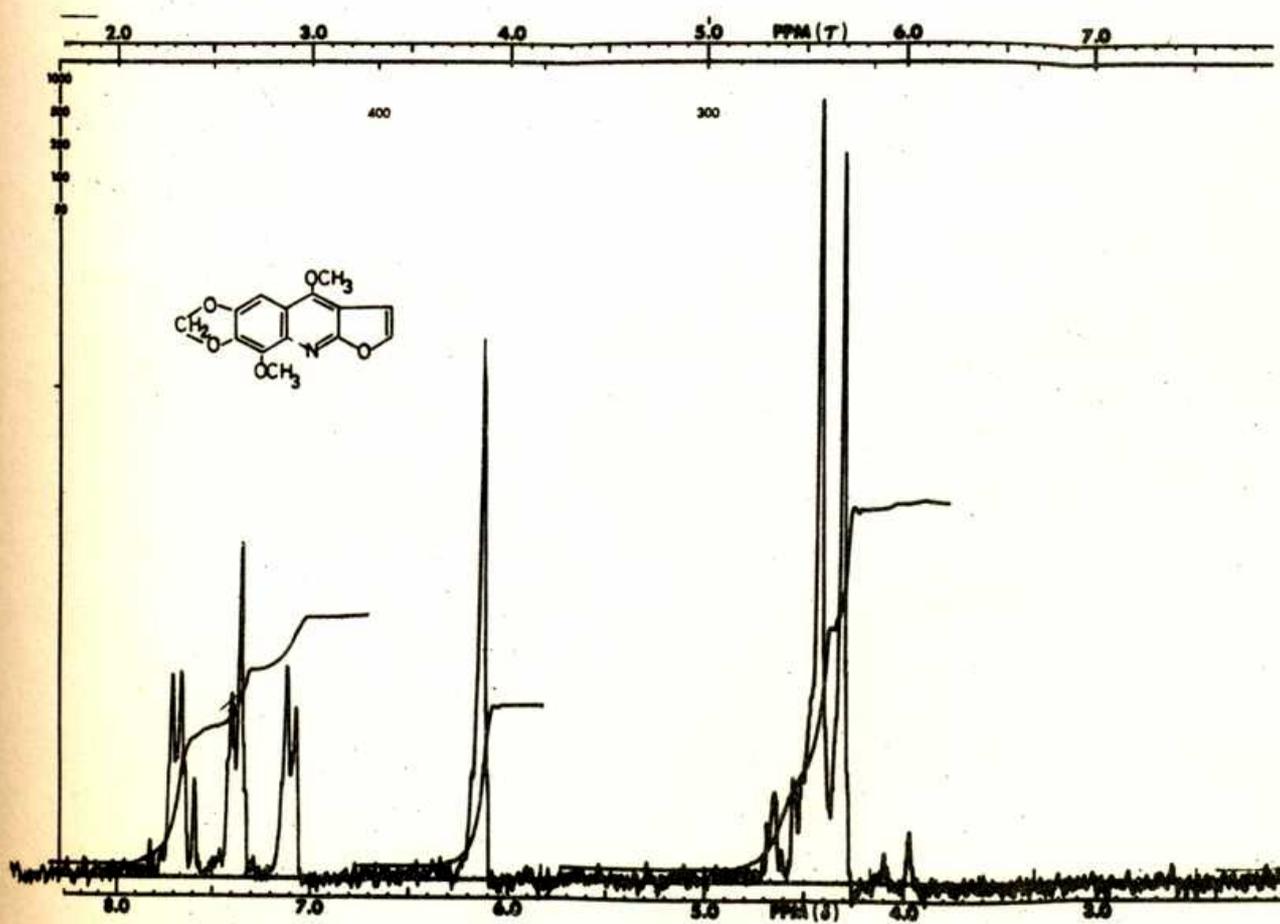


Figura 8. Espectro de R.M.N. de flindersiamina

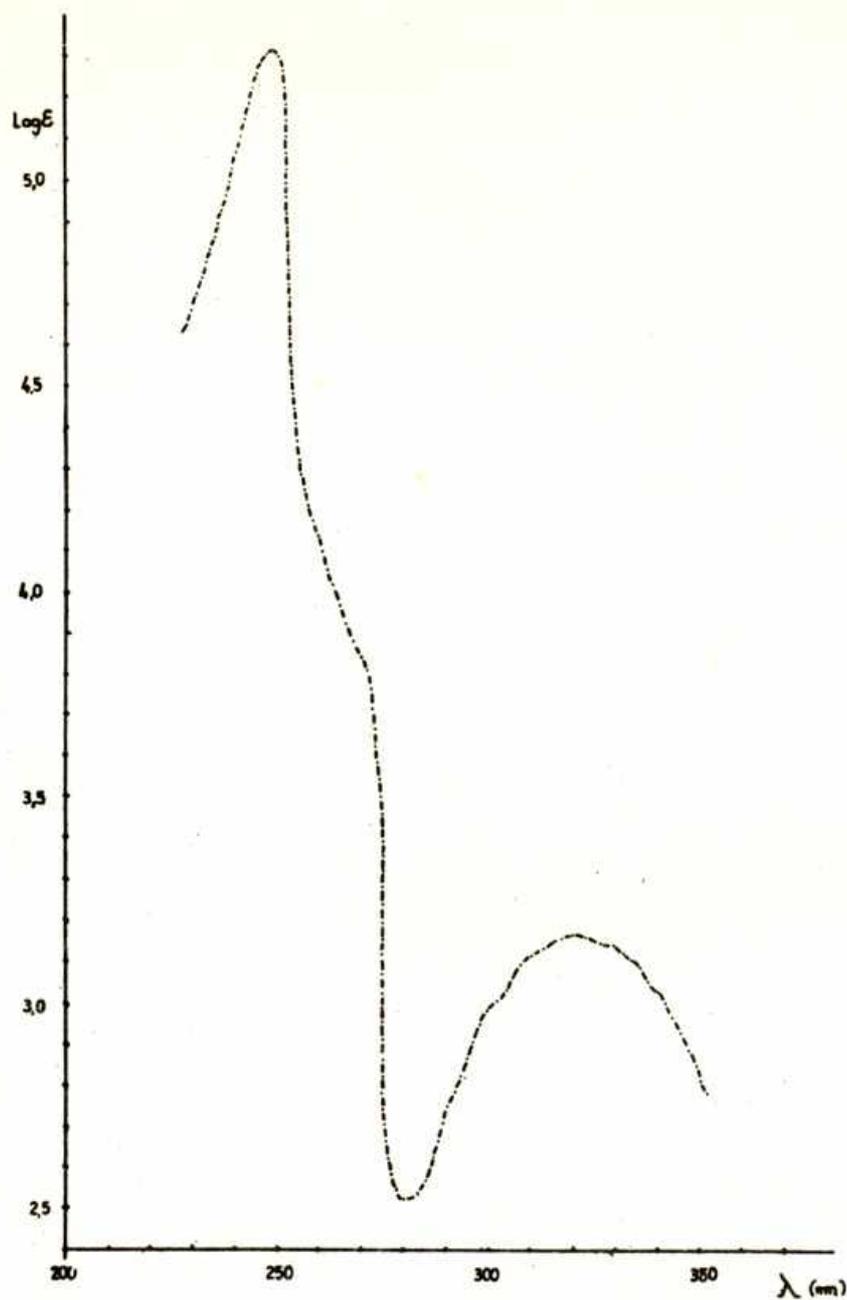


Figura 9. Espectro U.V. de skimmianina

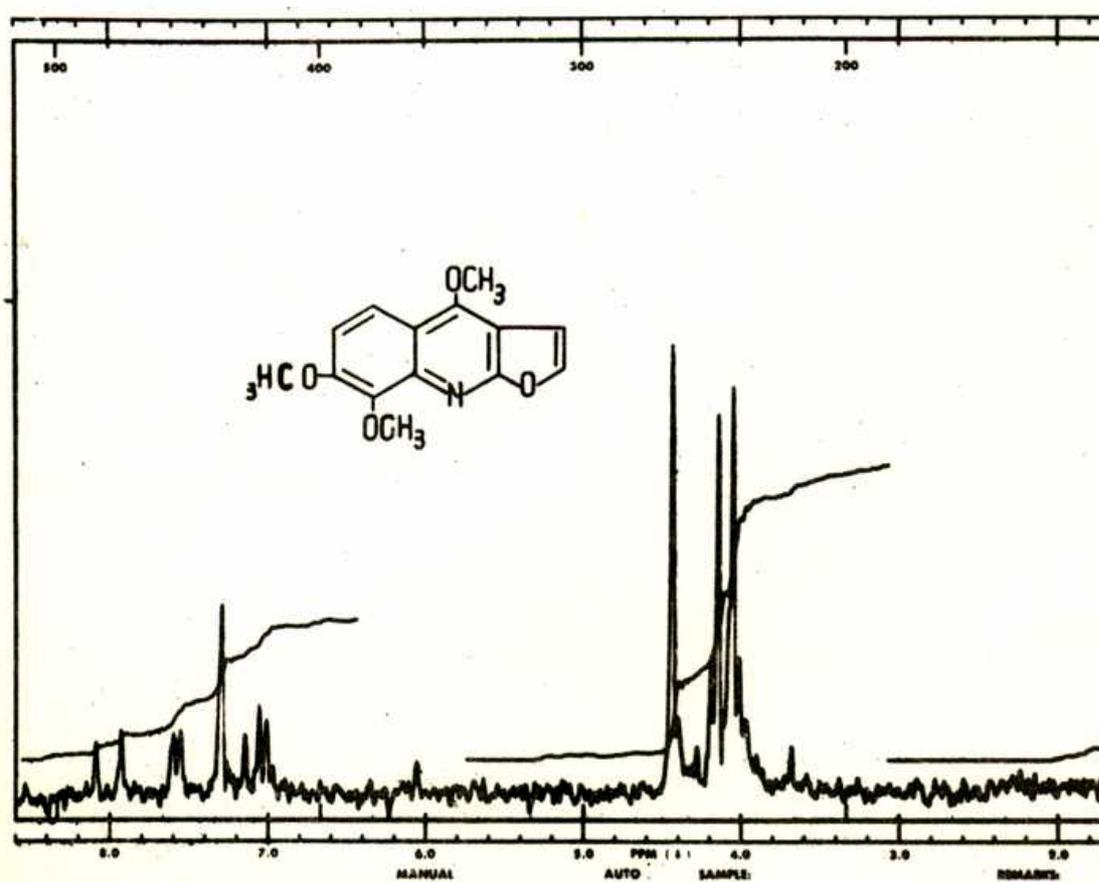


Figura 10. Espectro de R.M.N. de skimmianina

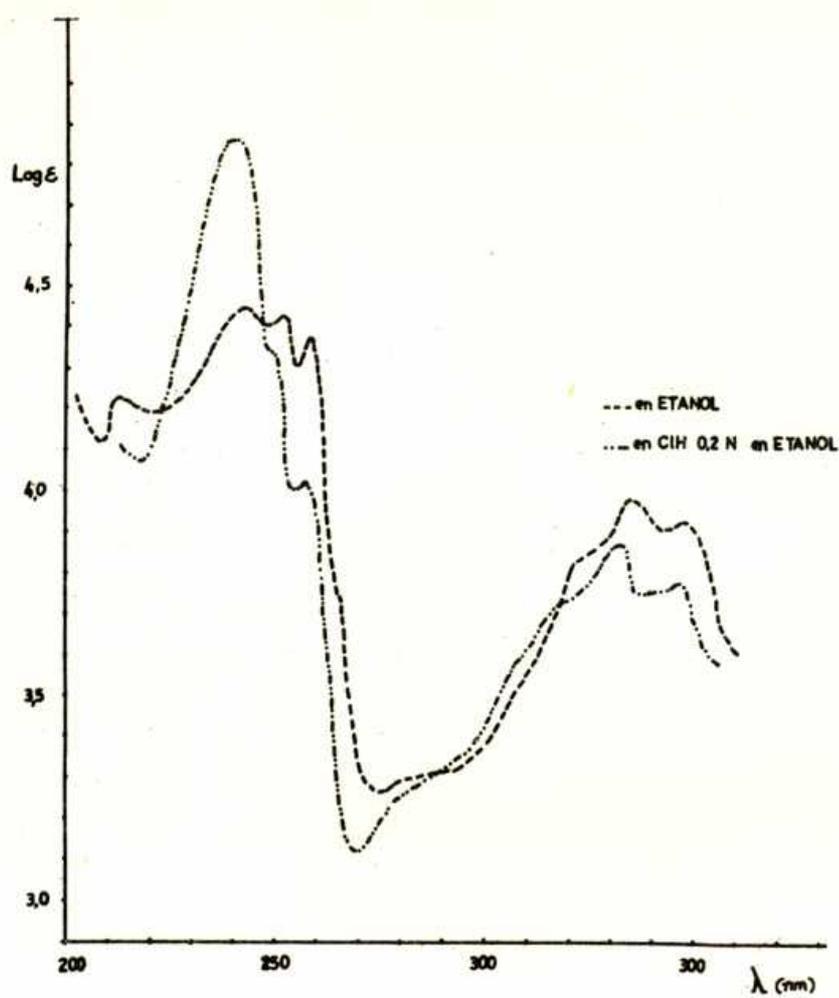


Figura 11. Espectro U.V. de isodictamnina

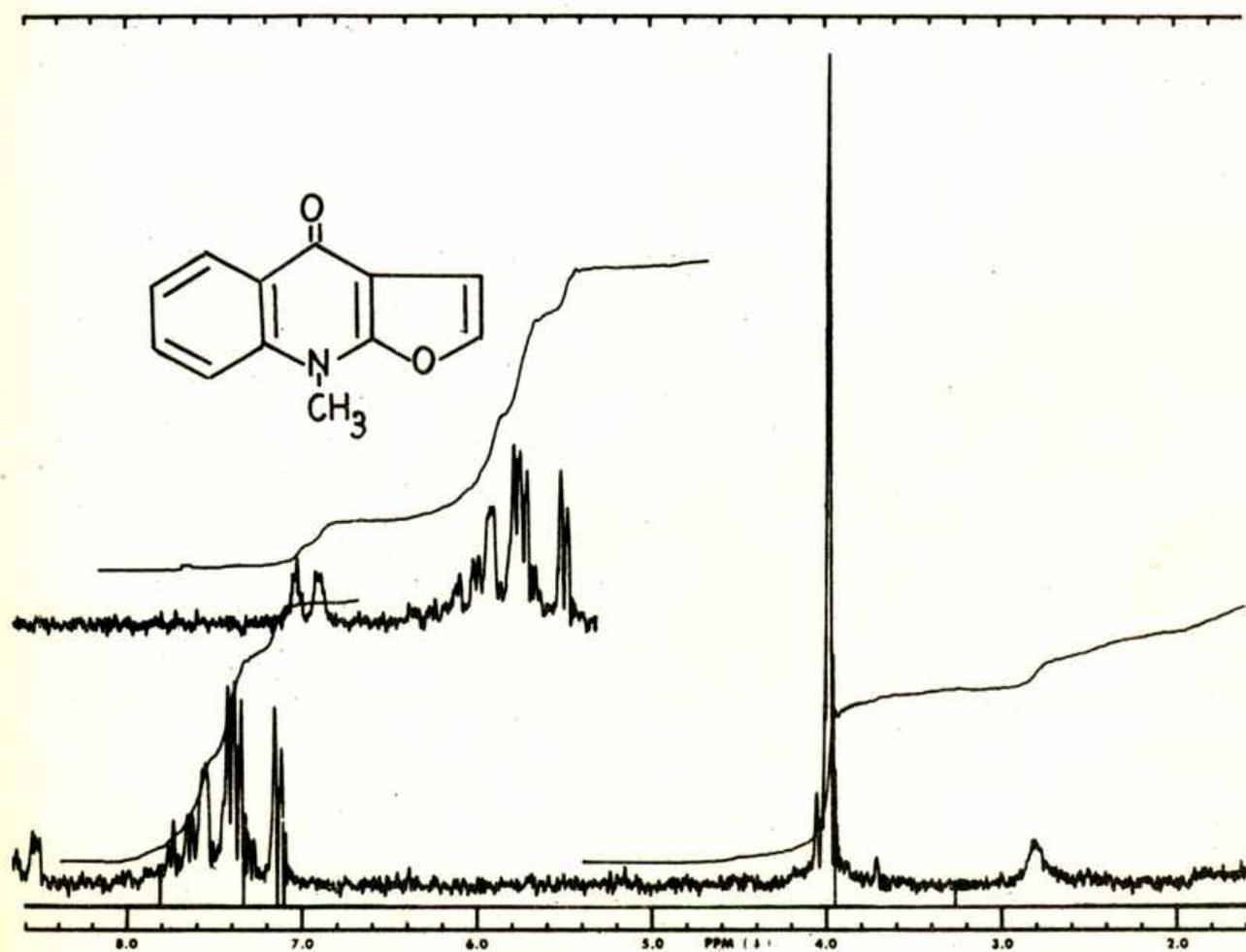


Figura 12. Espectro de R.M.N. de isodictamnina

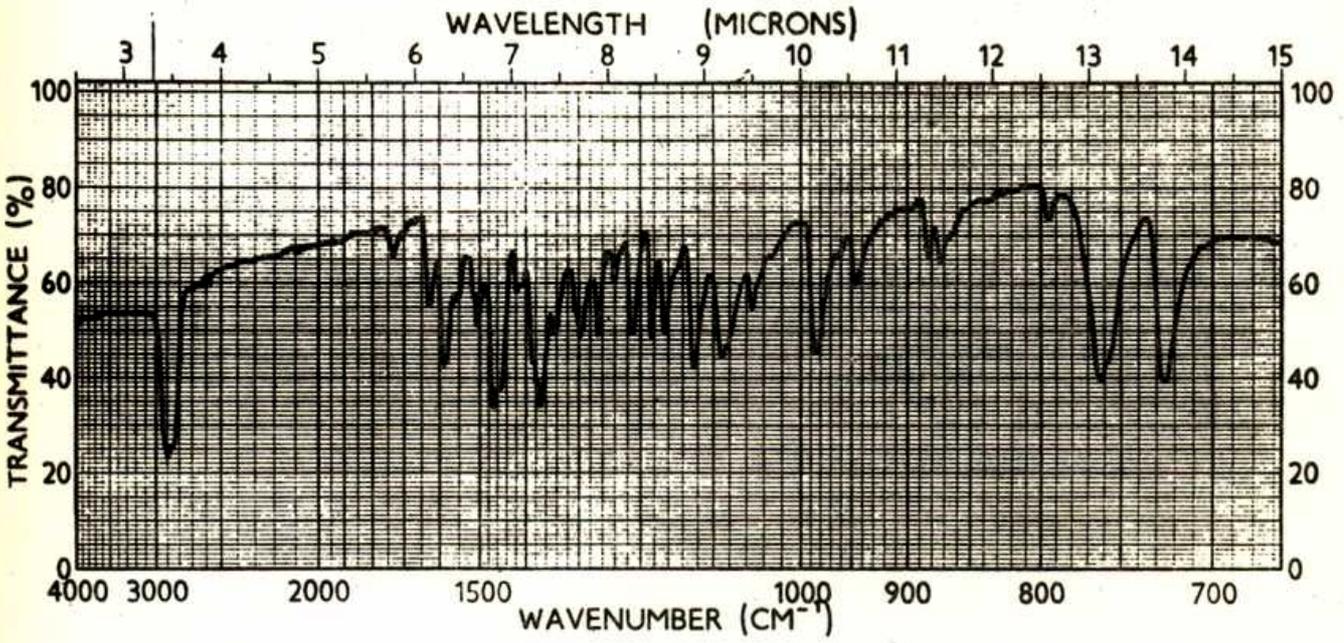


Figura 13. Espectro I.R. de dictamnina

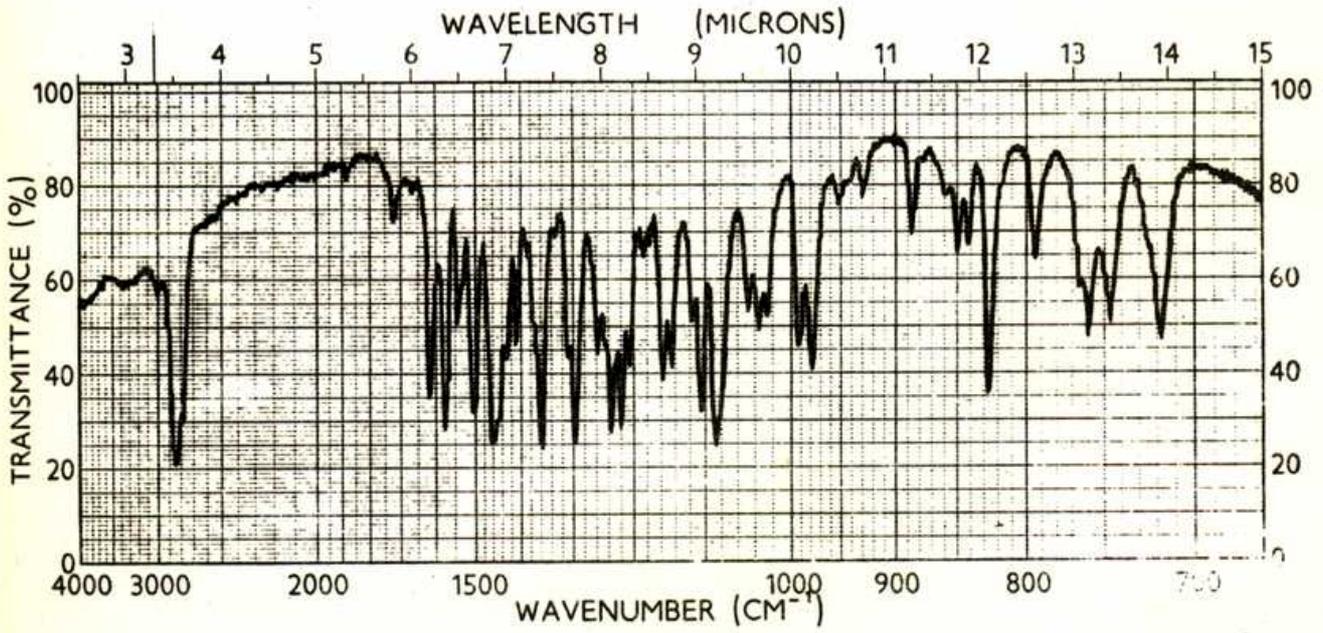


Figura 14. Espectro I.R. de 6-metoxidictamnina

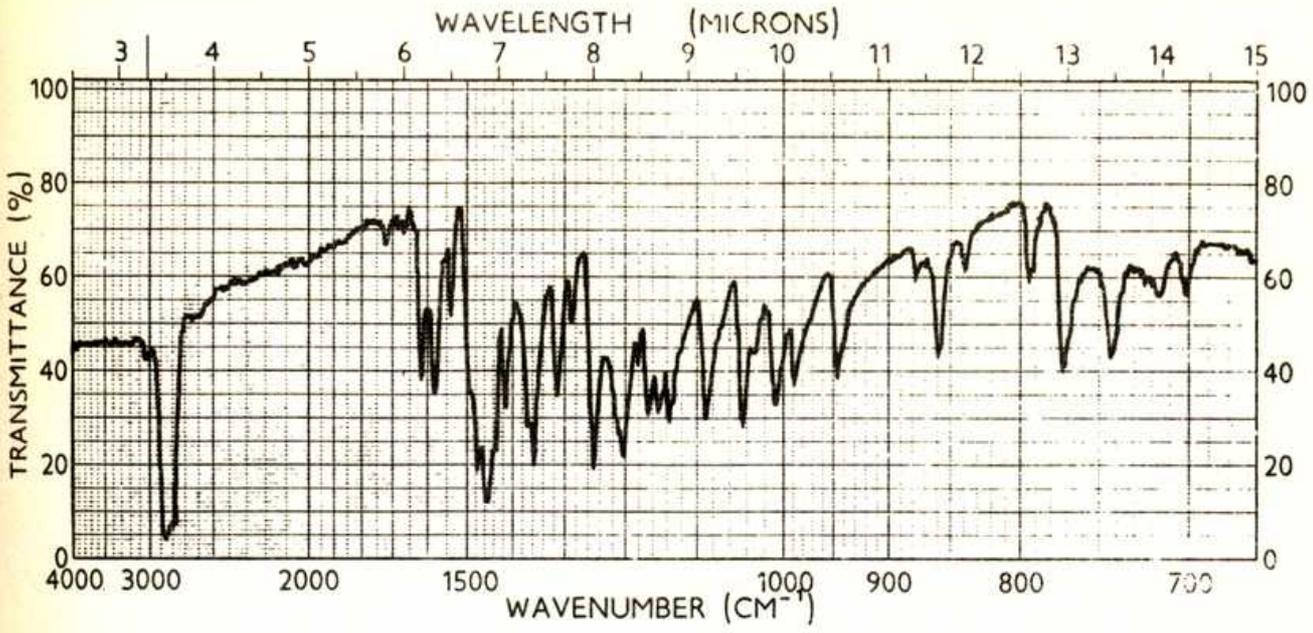


Figura 15. Espectro I.R. de kokusaginina

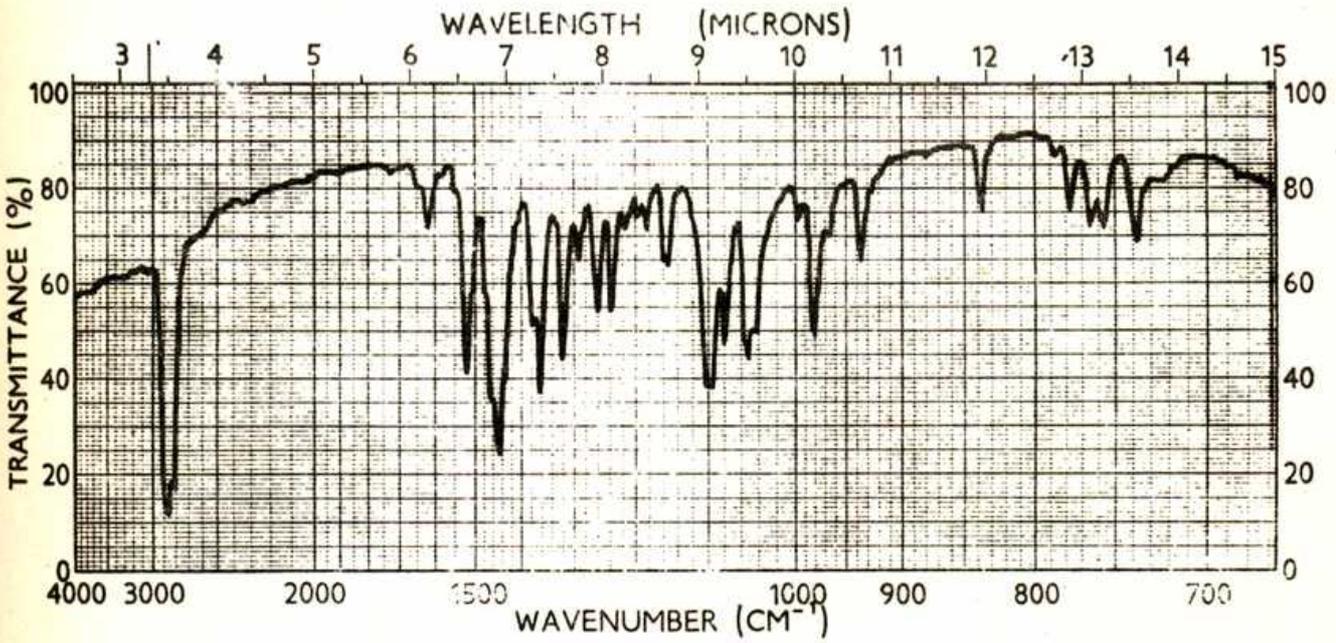


Figura 16. Espectro I.R. de flindersiamina

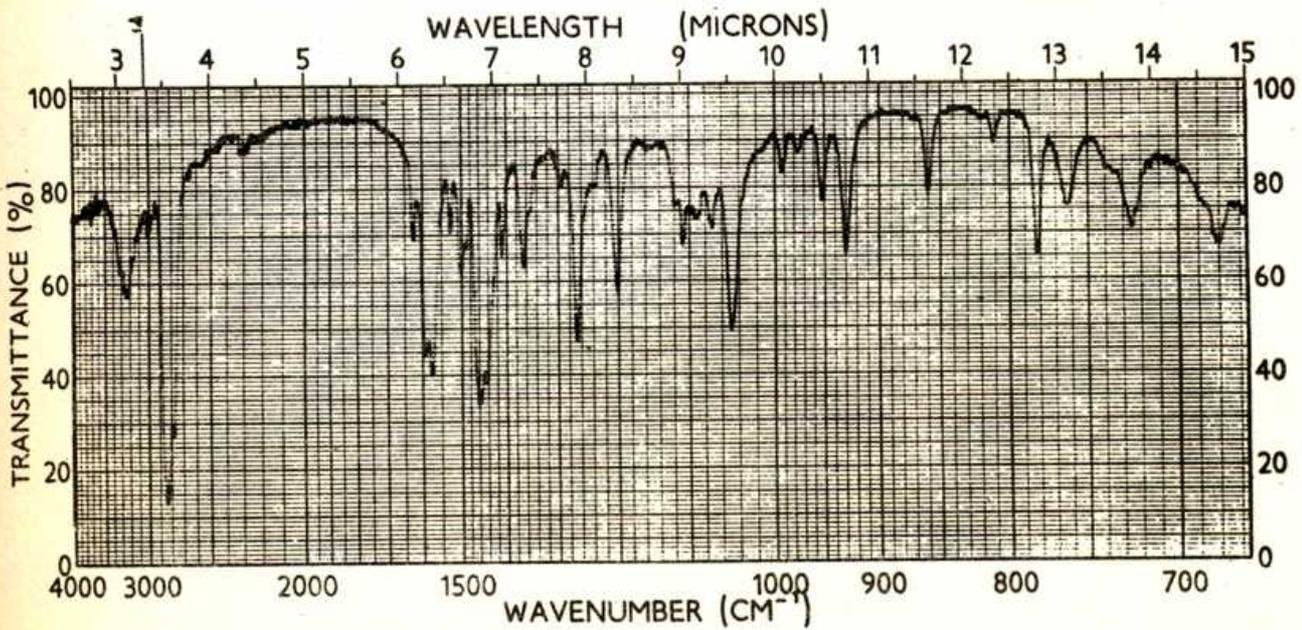


Figura 17. Espectro I.R. de isoflindersiamina

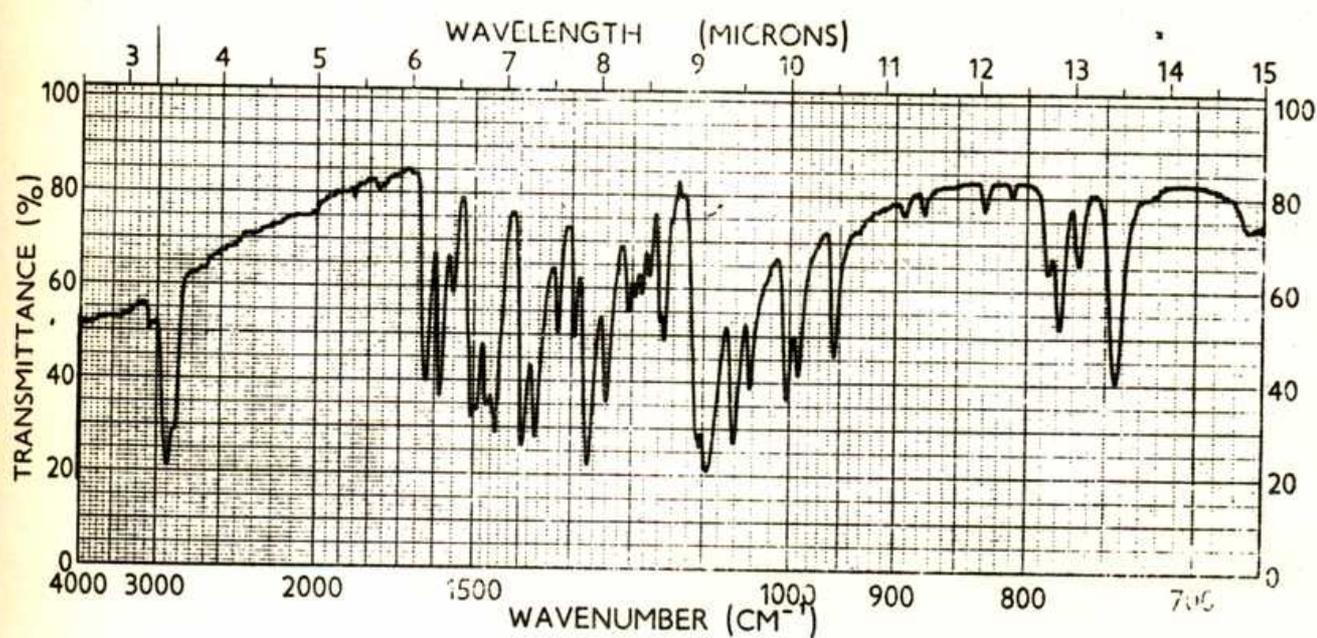


Figura 18. Espectro I.R. de skimmianina

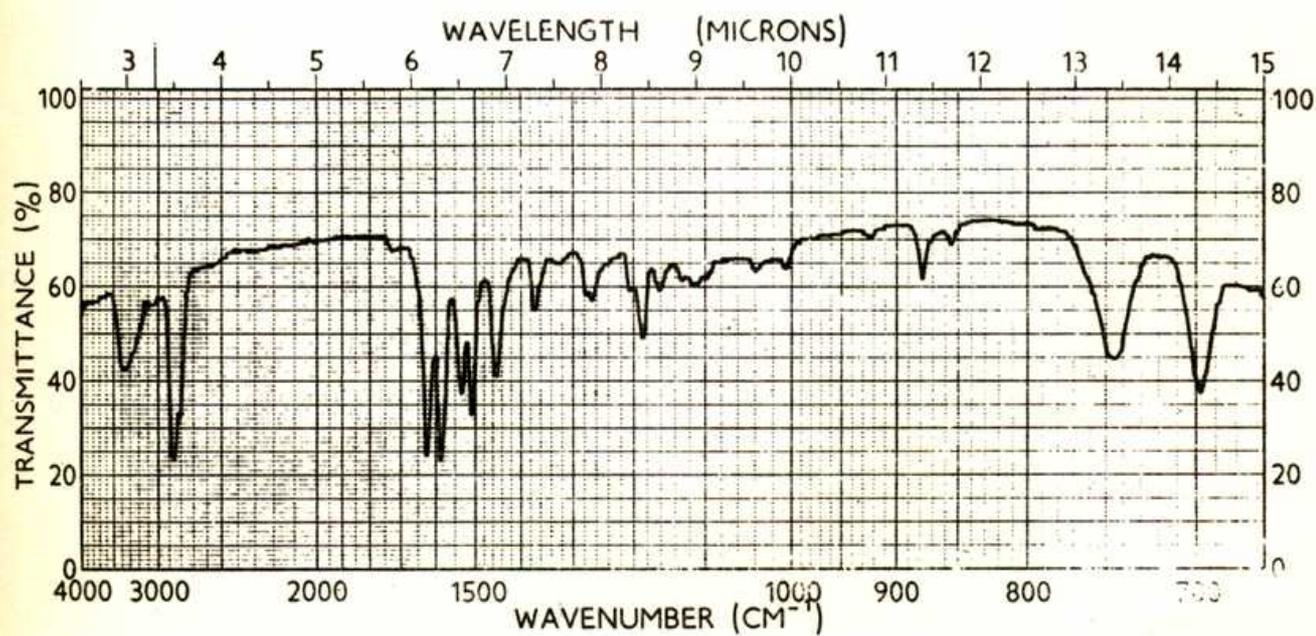


Figura 19. Espectro I.R. de isodictamnina



Figura 20. Espectro de masa de isodictamnina

PARTE EXPERIMENTAL

Los puntos de fusión informados en este trabajo están sin corregir y salvo indicación, fueron determinados por el método del tubo capilar en un aparato según Tottoli.

Los espectros de absorción en el infrarrojo se midieron en nujol en un espectrofotómetro Perkin Elmer 137 B (Infracord).

Los espectros de absorción en el ultravioleta fueron determinados por medio de un espectrofotómetro registrador Beckman DK-2A, y salvo indicación se realizaron en etanol.

Los espectros de resonancia magnética nuclear se determinaron en un espectrómetro Varian A-60 en soluciones de deuterocloroformo usando tetrametilsilano como referencia interna. Los desplazamientos químicos fueron determinados utilizando la convención δ (ppm), relativos al tetrametilsilano (0 ppm).

Los espectros de masa fueron efectuados en un espectrómetro Hitachi Perkin Elmer RMU 6-D por Morgan Schaffer Co. en Montreal, Canadá.

Las cromatografías en capa delgada fueron efectuadas sobre óxido de aluminio G (Merck) como adsorbente, utilizando como sistema de desarrollo cloruro de metileno-benceno 7:3 (A), o cloroformo-benceno 7:3 (B) y sobre gel de sílice G (Merck) como adsorbente y cloroformo como solvente de desarrollo (C). En todos los casos fueron revelados por fluorescencia a la luz ultravioleta y con reactivo de Dragendorff anhidro según Thies y Reuther.⁶²

Las cromatografías en capa preparativa se efectuaron sobre óxido de aluminio P F 254 (Tipo E) Merck, utilizándose como solvente de desarrollo el sistema A.

EXTRACCION Y AISLAMIENTO DE LAS BASES

I.- EXTRACTO ÉTER DE PETROLEO

En un extractor continuo se extrajeron con éter de petróleo liviano durante 120 horas, 8,5 kg de corteza de tronco seca y molida de Helietta longifoliata Britt., recolectada en febrero de 1967 en la localidad de Candelaria (Provincia de Misiones).

El extracto se concentró en vacío hasta 2,5 l y se mantuvo en heladera durante una semana. Se filtró el precipitado cristalino de heliettina⁴⁶ (8,35 g) y el filtrado, que daba reacción de Dragendorff positiva, se concentró hasta 1,2 l a presión reducida. De esta solución se extrajeron las bases con ClH 1N, hasta reacción de Dragendorff negativa. La solución ácida se extrajo con éter etílico, descartándose el extracto. La fase acuosa se llevó a pH 8 con amoníaco concentrado y se extrajo nuevamente con éter etílico hasta reacción de Mayer negativa.

El extracto etéreo se secó sobre SO_4Na_2 anhidro y se evaporó a sequedad a presión reducida, obteniéndose 0,550 g de un residuo cristalino, de color blanco amarillento (EPA).

Una cromatografía en capa delgada (A), permitió apreciar cinco manchas al revelar con reactivo de Dragendorff.

El residuo EPA se trató con metanol quedando un insoluble blanco cristalino (IC)⁴⁵. La solución se llevó a sequedad a presión reducida y el residuo fue cromatografiado por una columna de 95 g de óxido de aluminio (Woelm neutro, grado 1), usando como eluyente benceno-cloroformo 85:15. La columna se controló por medio de cromatografías analíticas (A). Se obtuvieron 8 fracciones:

F₁: 25 mg (Dragendorff negativa). F₂: 35 mg. Esta fracción y las siguientes dan reacción positiva de Dragendorff. F₃: 60 mg; F₄: 45 mg; F₅: 180 mg; F₆: 75 mg; F₇: 15 mg; F₈: 14 mg.

II.- EXTRACTO METANOLICO

La planta extraída con éter de petróleo fue extraída con metanol hasta

reacción de Dragendorff negativa (70 horas). El extracto metanólico se concentró en vacío hasta 2,5 l y se dejó en heladera durante 36 horas. Se filtró el precipitado de limonina⁶³ obtenido (8,0 g), y las aguas madres se llevaron a sequedad sobre filtercell a presión reducida.

El residuo se tomó con 1,5 l de ClH 1N y se separó el insoluble por filtración. El filtrado se extrajo 5 veces con 200 ml de éter etílico cada vez, desechándose los extractos.

La fase acuosa se alcalinizó hasta pH 8 con NH₃ concentrado y se extrajo nuevamente con éter etílico hasta reacción de Dragendorff negativa. El extracto etéreo se secó sobre SO₄Na₂ anhidro y se llevó a sequedad en vacío obteniéndose un residuo de 2,38 g (MA1). La fase acuosa alcalina se extrajo con cloruro de metileno hasta reacción de Mayer negativa.

La fase orgánica se secó sobre SO₄Na₂ anhidro y se llevó a sequedad a presión reducida, quedando un residuo de 0,830 g (MA2).

Por cromatografía en capa delgada (A), el residuo MA1 presentaba cinco manchas coincidentes con las del residuo EPA, y otras dos de R_f 0,45 y 0,25 respectivamente.

El residuo MA2 presentaba las mismas manchas y otra de R_f 0,23. Por cromatografía en capa preparativa se pudieron separar dos fracciones puras: F₁' y F₂' .

DICTAMNINA

La fracción F₂ (pagina 51), cristalina y de color amarillo, daba una sola mancha en cromatografía en capa delgada, de fluorescencia celeste a la luz U.V. y de color púrpura al reactivo de Dragendorff. Se recristalizó de acetona y se obtuvieron 23 mg de cristales en forma de agujas blancas de p.f. 129-131°; p.f. mezcla con una muestra auténtica de dictamnina de p.f. 131-132°: 130-131°.

Espectro U.V.: λ_{max} 237 nm (log ϵ 4,68); 309 (4,10); 330 (4,20);

valores coincidentes con lo informado para dictamnina^{48b} (figura 1).

Espectro I.R.: (figura 13). es superponible con el de una muestra auténtica de dictamnina.

Espectro de R.M.N.: (figura 2) ppm 4,45 (3H, s, CH₃O); 7,12 (1H, d, J=2,5 Hz, H-3); 7,7 (1H, d, J=2,5 Hz, H-2); entre 7,38 y 8,15 (3H, m, H-6, 7 y 8); 8,4 (1H, c, J_O = 8,0 Hz, J_m = 1,5 Hz, H-5).

R_f : 0,79 (A); 0,5 (C).

6-METOXIDICTAMNINA

Las fracciones F₃ y F₄ (página 51), presentaban dos manchas principales al reactivo de Dragendorff, en cromatografía en capa delgada.

Se aislaron por medio de una cromatografía preparativa, según se describió en la página 50. Las dos fracciones principales fueron eluidas con cloruro de metileno y llevadas a sequedad en vacío. La fracción de R_f mayor, de fluorescencia celeste a la luz U.V. y color naranja al reactivo de Dragendorff, se sublimó a 100-105° / 0,001 mm. Recristalizada de acetona funde a 133-134°; (lit.⁵⁰: 134-135°).

Espectro U.V. (figura 3): λ_{max} 244 nm (log ε 5,78); 255 (5,58); 283,5 hombro (4,85); 295 (5,01); 307,2 (5,08); 333 (4,86); 348,5 (4,85); valores coincidentes con lo informado para 6-metoxidictamnina.^{48b}

Espectro de R.M.N. (figura 4): ppm 3,98 (3H, s, 6-CH₃O); 4,48 (3H, s, 4-CH₃O); 7,14 (1H, d, J = 2,6 Hz, H-3); 7,71 (1H, d, J = 2,6 Hz, H-2); entre 7,38 y 7,68 (2H, m, H-5 e H-7); 8,6 (1H, d, J = 9,0 Hz, H-8).

Espectro I.R. (figura 14).

R_{dictamnina} (R_d): 0,94 (A); 0,96 (C).

Picrato:⁵⁰ A 10 mg de alcaloide disueltos en 1,5 ml de alcohol absoluto, se agregaron 0,5 ml de solución saturada de ácido pícrico en metanol. El picrato, que precipita inmediatamente, se filtró y recristalizó de metanol; p.f. 194-196°. El p.f. mezcla con una muestra auténtica de picrato de

6-metoxidictamnina de p.f. 196-197° es 195-196°. Por cromatografía en capa delgada del picrato de 6-metoxidictamnina obtenido y de una muestra auténtica del mismo en los sistemas B y C, se pudieron comparar, dado que el ácido pícrico permanece en el origen, los R_f de las bases respectivas, resultando coincidentes.

MACULINA

El residuo cristalino IC (17 mg, página 51), presentaba dos manchas por cromatografía en capa delgada. Se pudieron separar por cromatografía en capa preparativa. Una de ellas, de R_f 0,72 (B), que se revela de color rojo violáceo al reactivo de Dragendorff, resultó ser idéntica con un testigo de maculina, por cromatografía en capa delgada (B), (C). La otra fracción (6,5 mg), de R_f 0,6 (B), se unió a F₇ (página 51).

KOKUSAGININA

La fracción de R_f menor obtenida por la cromatografía preparativa citada en la página 53, (23 mg), de fluorescencia azul violácea a la luz U.V. y color violeta al reactivo de Dragendorff, fue sublimada a 0,001 mm. A 90° se obtuvo un aceite amarillo y 100-110° sublimó un sólido blanco de p.f. 170-171°; p.f. mezcla con una muestra auténtica de kokusaginina de p.f. 170-171°: 170-171°.

Espectro U.V.: (figura 5) λ_{max} 244,5 nm (log ϵ 4,57); 252 (4,58); 283,2 h (3,60); 247 (3,77); 308,3 (3,91); 320 (3,92); 334,8 (3,80), valores coincidentes con los de kokusaginina.^{48b}

Espectro I.R. (figura 15): es superponible con el de una muestra auténtica de kokusaginina.

Espectro de R.M.N. (figura 6): ppm 4,0 (3H, s, CH₃O); 4,02 (3H, s, CH₃O); 4,38 (3H, s, 4-CH₃O); 7,02 (1H, d, J=2,6 Hz, H-3); 7,38 (1H, s, H-8); 7,49 (1H, s, H-5); 7,60 (1H, d, J = 2,6 Hz, H-2).

R_d : 0,90 (A), 0,63 (C)

FLINDERSIAMINA

La fracción F_7 (página 51), presentaba una sola mancha por cromatografía en capa delgada, de fluorescencia azul violácea a la luz U.V. y color rojo naranja al reactivo de Dragendorff.

La fracción F_6 presentaba esta misma mancha principal y una mancha pequeña de R_f mayor. La mancha principal se separó por cromatografía preparativa (página 50), y se eluyó con cloroformo. Se unió a F_7 y se recrystalizó de metanol, obteniéndose 30 mg de un precipitado cristalino (agujas blancas) de p.f. 205-207° (lit.⁶⁴ 206-207°).

Espectro U.V.: (figura 7) λ_{\max} 245 nm (log ϵ 5,04); 253 (5,15); 260 h (4,29); 290 h (4,06); 300 h (4,25); 310 (4,39); 320 (4,36); 330 h (4,25); 340 (4,13); valores coincidentes con lo informado para flindersiamina.^{48b}

Espectro de R.M.N. (figura 8): ppm 4,3 (3H, s, 8-CH₃O); 4,42 (3H, s, 4-CH₃O); 6,13 (2H, s, -OCH₂O-); 7,11 (1H, d, J=2,5 Hz, H-3), 7,35 (1H, s, H-5); 7,7 (1H, d, J=2,5 Hz, H-2).

Espectro I.R. (figura 16): es superponible con el de flindersiamina.

R_d : 0,76 (B), 0,77 (C).

Isoflindersiamina: A 19 mg de flindersiamina se agregaron 0,65 ml de yoduro de metilo. Se calentó la mezcla en tubo cerrado a 85° durante 5 horas. Se tomó el producto de reacción con 5,5 ml de cloroformo y se llevó a sequedad en vacío. El residuo se recrystalizó de cloroformo; p.f. 209-211° (lit.⁶⁴ 209-211°).

SKIMMIANINA

De la fracción F_1 (página 52), de fluorescencia celeste a la luz U.V. y color amarillo naranja al reactivo de Dragendorff, se obtuvo un residuo cristalino que recrystalizado de acetona dió 20 mg de un producto de p.f. 174-176°; p.f. mezcla con una muestra auténtica de skimmianina c.p. p.f. 175-176°: 174-175°.

Espectro U.V. (figura 9): λ_{\max} 249 nm (log ϵ 5,308); 260 h (4,13);

270 h (3,83); 300 h (2,97); 320 (3,16); 330 (3,13); 340 h (3,03), valores coincidentes con lo informado para skimmianina.^{48b}

Espectro de R.M.N. (figura 10); ppm 4,05 (3H, s, CH₃O); 4,13 (3H, s, CH₃O); 4,40 (3H, s, 4-CH₃O); 7,40 (1H, d, J = 2,5 Hz, H-3); 7,22 (1H, d, J = 9,0 Hz, H-6); 7,58 (1H, d, J = 2,5 Hz, H-2); 8,0 (1H, d, J = 9,0 Hz, H-5).

Espectro I.R. (figura 18): es superponible con el de una muestra auténtica de skimmianina.

R_d: 0,57 (B), 0,43 (C); coincidentes con los de un testigo de skimmianina.

ISODICTAMNINA

La fracción F'₂ (página 52), dió un residuo que presenta fluorescencia celeste a la luz U.V. y color naranja al reactivo de Dragendorff. Se sublimó a 0,001 mm a 100 °, dando cristales de color blanco, que se tornan rosados con el tiempo, de p.f. 169-175 °. Después de dos recristalizaciones de agua el p.f. subió a 186-187 °; p.f. mezcla con una muestra de isodictamnina sintética de p.f. 187-188 °: 186-187 °.

Espectro U.V. (figura 11): λ_{\max} 243 nm (log \mathcal{E} 4,45); 250,9 (4,43); 257,9 (4,37); 320,5 h (3,81); 333,9 (3,98); 346 (3,93), en etanol. En ClH 0,2N en etanol λ_{\max} 240 nm (log \mathcal{E} 4,86); 249 h (4,355); 256,5 (4,01); 313,5 h (3,66); 332,1 (3,87); 346,5 (3,78).

Espectro de R.M.N. (figura 12): ppm 3,86 (3H, s, -NCH₃); 7,15 (1H, d, J = 2,5 Hz, H-3); entre 7,26 y 7,78 (3H, m, H-6, 7 y 8); 7,24 (1H, d, J = 2,5 Hz, H-2); 8,65 (1H, cuadruplete no resuelto, J_o = 8,0 Hz, J_m = 1,5 Hz, H-5).

Espectro I.R. (figura 19): presenta una banda a 1625 cm⁻¹, típica de una 4-quinolona; es superponible con el de isodictamnina sintética.

Espectro de masa (figura 20): m/e = 199 (M), 184, 170, 156, 143, 142, 128, 115, 104.

R_d : 0,28 (A), 0,25 (C); coincidentes con el de isodictamnina sintética.

Preparación de isodictamnina

Una solución de 30 mg de dictamnina en 0,5 ml de ioduro de metilo se calentó en tubo cerrado a 80° durante 6 horas. Luego de enfriar se tomó con cloruro de metileno, se llevó a sequedad en vacío y se recristalizó el residuo de agua: p.f. 187-188° (lit.⁶⁵: 187-188°).-

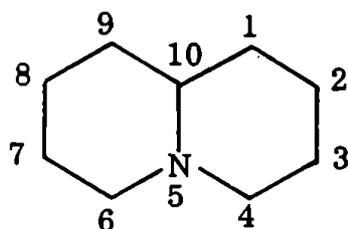
SEGUNDA PARTE

ALCALOIDES DE LUPINUS PANICULATUS Desr.

ALCALOIDES QUINOLICIDINICOS

INTRODUCCION

Con el nombre de alcaloides quinolicidínicos de lupinus se conoce a un grupo químico que posee la estructura del anillo de la quinolicidina (1-azabicyclo [4.4.0] decano), LXVI.



LXVI

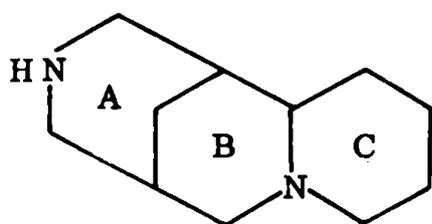
Estos alcaloides son muy frecuentes en la familia Leguminosa, subfamilia Faboideae y están restringidos a las tribus Sophorae, Podalyrieae y Genisteae. Algunos alcaloides de este grupo se han encontrado en otras familias de plantas como las Chenopodiaceae, Berberidaceae y Papavera-
66 a, 66 b
ceae.

Las leguminosas, en general, son muy utilizadas como alimento para ganado. Dentro del género Lupinus son particularmente utilizadas las especies denominadas "lupinus dulces". Se ha comprobado que estas especies poseen un contenido bajo de alcaloides. En su gran mayoría, las distintas especies de Lupinus, y las de nuestro país no escapan a esta generalización, son muy tóxicas. No se ha demostrado fehacientemente si la toxicidad de los mismos se debe a la presencia de alcaloides quinolicidínicos, pero lo cierto es que las plantas más tóxicas poseen un contenido notablemente alto de estos alcaloides.

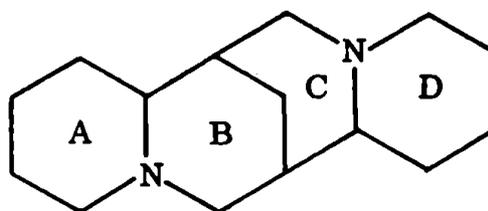
Un gran número de alcaloides quinolicidínicos poseen más de dos ciclos.

Se conocen, dentro de un ordenamiento lineal de los mismos, bases con tres (LXVII) y cuatro ciclos (LXVIII), que tienen dos átomos de nitrógeno.

La existencia de varios átomos de carbono asimétricos en el esqueleto y en muchos casos, la presencia de sustituyentes, determina la posibilidad de numerosos estereoisómeros, gran parte de los cuales se han encontrado en la naturaleza.^{66a,66b,66c.}



LXVII



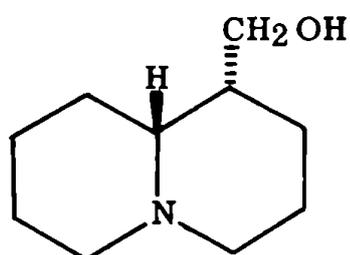
LXVIII

Es frecuente encontrar bases en las que algunos átomos de H están sustituidos por grupos carbonilo o hidroxilo. Con frecuencia menor se han encontrado sustituyentes alifáticos o heterociclos nitrogenados, así como también una o más doble ligadura en alguno de los ciclos.

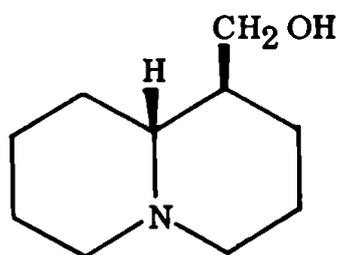
PROPIEDADES GENERALES

Configuración absoluta

En el año 1953, Cookson⁶⁷ dejó establecida la configuración absoluta de la lupinina (LXIX) y epilupinina (LXX) que fue confirmada por Okuda y col.⁶⁸

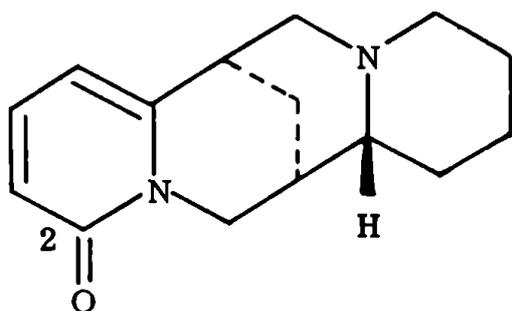


LXIX

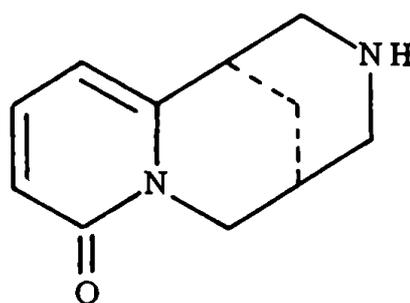


LXX

Más tarde, en 1961, Okuda y Tsuda^{68,69} establecieron la correlación entre la configuración absoluta de anagirina (LXXI) y otros alcaloides quinolizidínicos de C-15 con la de lupinina y epilupinina, así como también de cistina (LXXII) y alcaloides relacionados de C-11.



LXXI



LXXII

Configuraciones absolutas de alcaloides quinolidínicos

Alcaloides del tipo de la lupinina

- (-) Lupinina: 1R:5R:10R
 (+) Epilupinina: 1S:5R:10R
 (+) Lamprolobina:^{70,71} 1R:5R:10R

Alcaloides del tipo de la citisina

- (-) Citisina: 7R:9S
 (-) Metilcitisina: 7R:9S
 (-) Rhombifolina: 7R:9S

Alcaloides del tipo de la espartefina

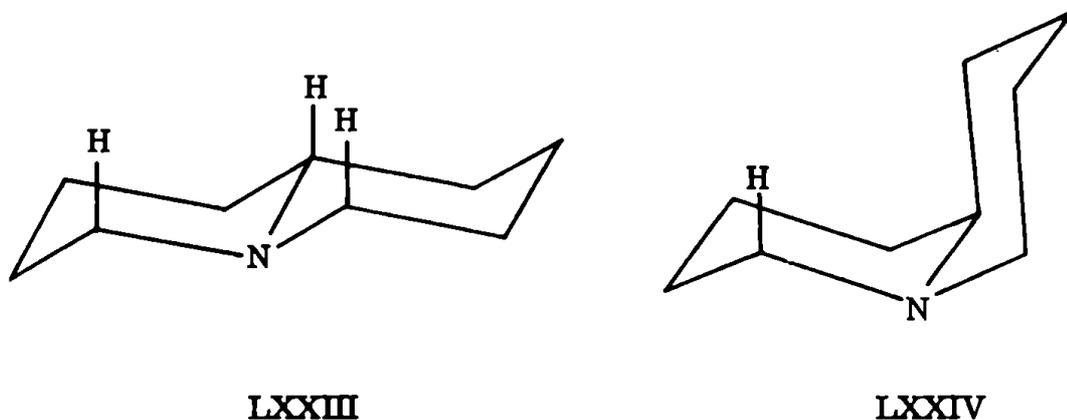
- (-) Anagirina: 7R:9R:11R
 (+) Espartefina: 6S:7R:9R:11R
 (-) Lupanina: 6S:7R:9R:11R
 (-) Thermopsina: 7R:9R:11S
 (-) α Isolupanina: 6S:7R:9R:11S
 (+) α Isoespartefina: 6S:7R:9R:11S
 (-) β Isoespartefina: 6R:7R:9R:11S
 (-) Epibaptifolina:⁷² 1S:7R:9R:11R:13R:16S
 (+) Retamina:⁷³ 1S:6S:7R:9R:11R:12R:16R.

Propiedades espectroscópicas

⁷⁴ Bohlmann, analizando espectros I.R. de quinolidinas, estableció que en las trans quinolidinas (LXXIII), en las que el par electrónico no compartido del N es trans a por lo menos dos átomos de H axiales ubicados en átomos de C adyacentes a él, se observan bandas importantes en la zona de 2800 a 2700 cm^{-1} y son debidas a vibraciones de ν C-H. Esas bandas, de acuerdo con Bohlmann, no aparecen en aquellos compuestos en que ese par electrónico del N forma parte de uniones covalentes como en un óxido de amina, o de un grupo lactama de una α quinolidina o bien cuando existen deformaciones en la zona de unión de los dos anillos causadas por la presencia de dobles uniones en ese sitio.

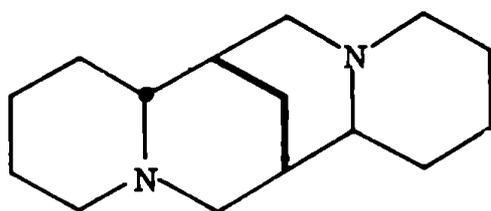
Las dos formas en que puede existir un sistema quinolidínico (trans, LXXIII y cis, LXXIV), pueden interconvertirse por una inversión de la

configuración del átomo de N. Si bien ambas formas existen en equili-

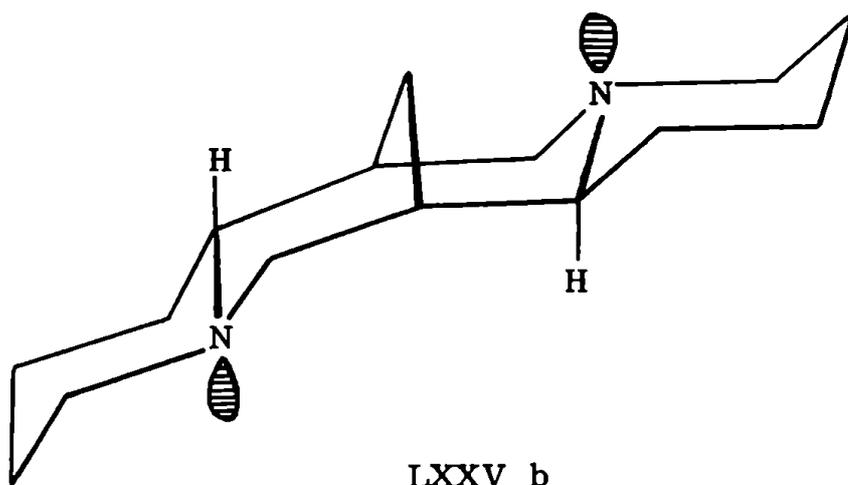


brio a temperatura ambiente, no son aislables y el equilibrio se encuentra desplazado hacia la forma trans (LXXIII).

Cuando el sistema quinolidínico se encuentra fusionado en un sistema mayor, es muy probable que existan deformaciones de la forma silla ideal que lleven a resultados no previstos en el espectro I.R. Esas deformaciones pueden deberse a fuerzas de repulsión (como existen en α isoespartefina y derivados), o bien a que la unión 1:3 en los anillos quinolidínicos asegura la existencia de una cis quinolidina en la cual son imposibles cambios conformacionales del tipo silla-silla, sin excluir la posibilidad de una inversión del átomo de N para conducir a una forma bote al anillo C, como ocurre en la espartefina (LXXV a) y derivados.



LXXV a



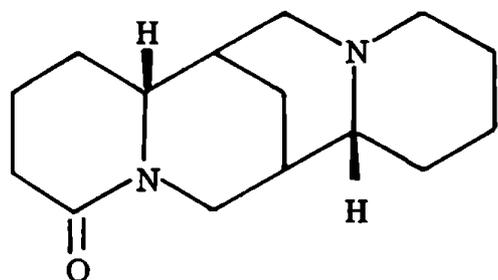
La correlación entre la estereoquímica y los espectros I.R. hecha por Bohlmann para las quinolicidinas, no tiene en cuenta que en una cis quinolicidina con el anillo C en forma bote (LXXV b) hay 3 H α anti y en relación diaxial al par electrónico no compartido del N, como en una trans quinolicidina.

Skolik, Krueger y Wiewiorowski⁷⁵ establecieron que en un estudio estereoquímico de derivados quinolicidínicos por espectroscopía I.R., no solo debe tenerse en cuenta la presencia de bandas de absorción en la zona de 2800-2700 cm⁻¹, sino que esas bandas deben ser interpretadas en términos de intensidad y forma como un todo. Los mismos autores⁷⁵ observaron también que una unión C α -H (a) trans planar al par electrónico no compartido del N como existe en una cis quinolicidina silla-silla, es suficiente para presentar absorción en la zona mencionada.

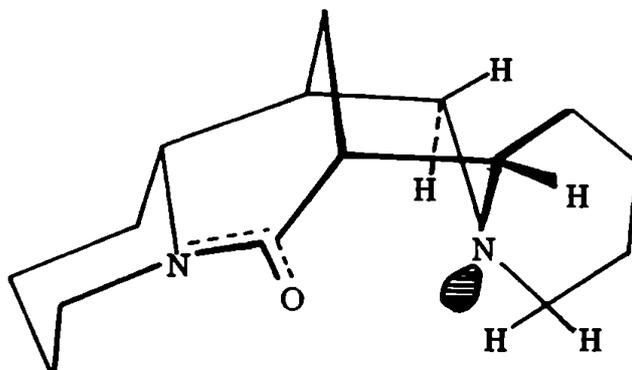
Mediante una serie de determinaciones se asignaron componentes individuales del complejo de bandas a vibraciones de determinadas uniones. Así por ejemplo, compuestos del tipo de la 15-y 17-oxoesparteína, que poseen una configuración trans para los anillos A y B y cis para los anillos C y D, y donde el efecto del par electrónico no compartido del N-16 se encuentra invalidado por la presencia de un grupo carbonilo en el C- α , se vió que a 2800 y a 2761 cm⁻¹ aparecen bandas importantes. Por reemplazo de los H-6 e H-11 por D, esas bandas se asignaron a vibraciones de ν de uniones C α -H (a) de los grupos metilenos en C-2 y

C-10. Esas bandas están cubiertas por una absorción ancha de baja intensidad, que contribuye menos a la absorción compleja en esa zona asignable a una vibración de ν C-6-H (a).

Analogamente, en α isolupanina (LXXVI) (A/B trans, C/D trans), se determinó que las bandas a 2795 y 2760 cm^{-1} se deben a vibraciones de ν C α -H (a) en los grupos metílenos en C-15 y C-17.



LXXVI



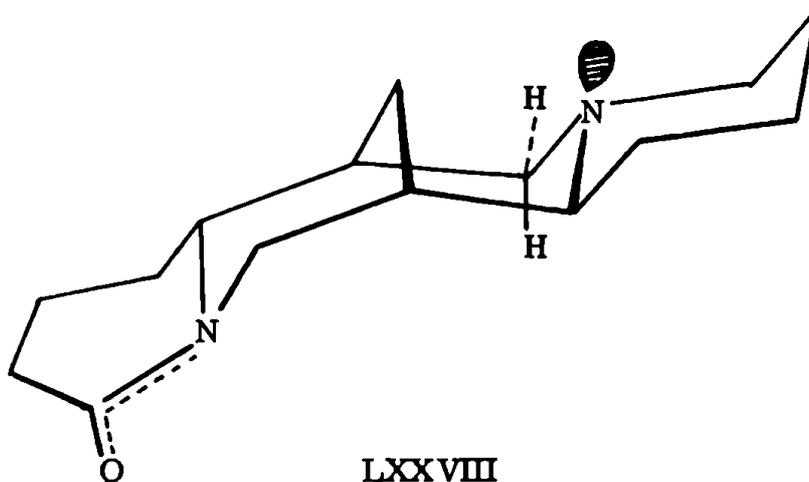
LXXVII

En los sistemas que poseen los anillos C y D unidos en configuración cis se observan dos conformaciones posibles de los mismos: totalmente silla o silla-bote. El primer tipo corresponde a aphyllina (LXXVII). En este caso solo se observa una banda de absorción débil a 2800 cm^{-1} y corresponde a una vibración de ν C α -H (a) en C-17.

El segundo tipo es el correspondiente a lupanina (LXXVIII). En este alcaloide, que posee el esqueleto de espartefna (LXXV), la inversión del N-16 origina cambios en la conformación del anillo C de silla a bote. Se ha comprobado que en este tipo de alcaloides de esqueleto tipo espartefna, la forma bote del anillo C es predominante y presenta tres uniones C α -H (a) (C-11, C-15 y C-17) trans planares y diaxiales en relación al par electrónico no compartido del N, mientras que la forma silla solo presenta la unión C α -H (a) en C-17 en tal condición.

El complejo de bandas en la zona de 2840-2600 cm^{-1} para la lupanina presenta dos bandas principales a 2808 y 2761 cm^{-1} que se asignan a vi-

braciones de $C\alpha-H$ (a) de los grupos metilenos de C-15 y C-17.



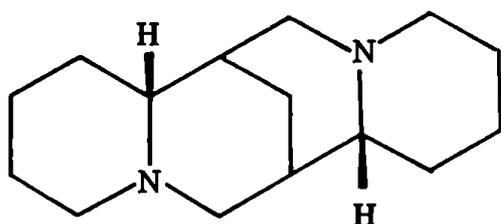
La espartefna (LXXVb), que posee un sistema trans-quinolídico en los anillos A y B unido a la cis-quinolídina de los anillos C y D con una conformación bote para el anillo C, presenta en la zona de 2840-2600 cm^{-1} características que pueden ser consideradas como la suma de las bandas correspondientes a 15-oxo ó 17 oxoespartefna y a lupanina. Se observan bandas de absorción fuertes a 2795 y 2761 cm^{-1} , hombros a 2823 y 2726 cm^{-1} y una banda débil a 2769 cm^{-1} . Se puede suponer que la banda a 2795 cm^{-1} junto con el hombro a 2823 cm^{-1} se deben a la superposición de dos bandas que aparecen en el espectro de 17-oxoespartefna a 2800 y en el de lupanina a 2808 cm^{-1} . La banda a 2761 cm^{-1} se debe probablemente a la suma de bandas de absorción no resueltas. Tanto la 17-oxoespartefna como la lupanina presentan bandas prominentes a esta frecuencia.

El que en la espartefna las bandas de la zona de 2840-2600 cm^{-1} se originen de una simple suma del complejo de bandas de una trans-quinolídina con el de una cis-quinolídina de conformación silla-bote está apoyado por el hecho de que en ella las intensidades de las bandas son aproximadamente iguales a la suma de 17-oxoespartefna y lupanina.

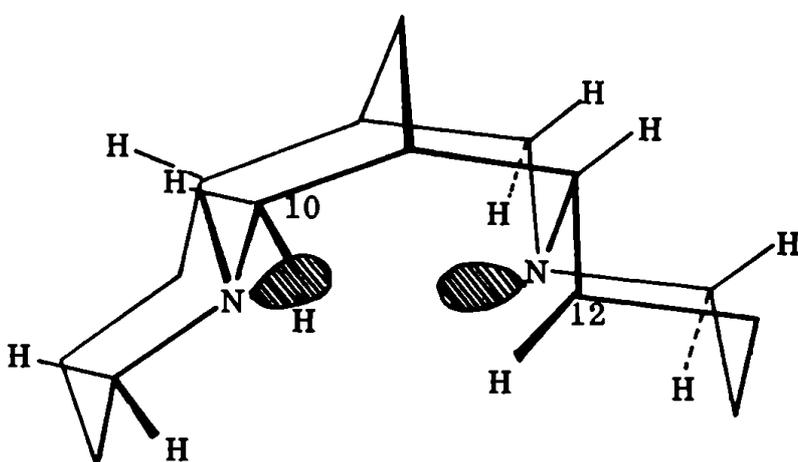
La α iso-espartefna (LXXIX a y LXXIX b), tiene dos sistemas trans-qui-

nolicidínicos unidos en posición 1:3 y presenta deformaciones en la conformación silla de su esqueleto motivadas en parte por la repulsión entre los pares de electrones no compartidos de los N-1 y N-16 y en parte por la interacción entre los átomos de H en C-10 y C-12 por un lado y en C-5 y C-17 por el otro. De acuerdo con esto no es de esperar a priori y en realidad así ocurre, que el complejo de bandas en la zona de $2840-2600\text{ cm}^{-1}$ pueda resultar de una simple suma de dos complejos de bandas de trans-quinolicidina.

Algo similar se observa en el espectro de α isolupanina. Las bandas principales aparecen en este caso a 2795 , 2760 y 2736 cm^{-1} .



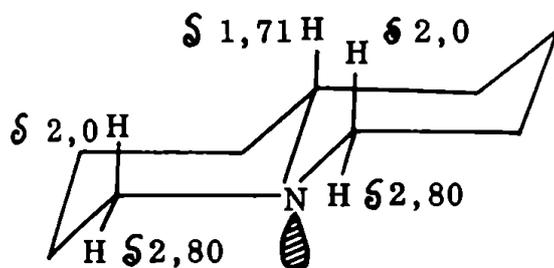
LXXIX a



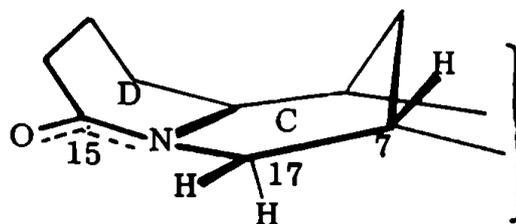
LXXIX b

Los espectros de R.M.N. de estos alcaloides no aportan mucha información estructural debido a que las señales de la mayor parte de los protones aparecen superpuestas.

Bohlmann, Schumann y col.^{76, 77, 78, 79} han estudiado en particular las señales de los protones ecuatoriales adyacentes al N terciario en sistemas cíclicos rígidos mediante marcación con deuterio. Aquellos protones que se encuentran orientados cis al par electrónico no compartido del N están desprotegidos por el efecto anisotrópico del mismo, mientras que aquellos orientados trans se encuentran protegidos, como se puede apreciar en LXXX. Del mismo modo, se encuentran protegidos los H en C-8 en aquellos alcaloides que poseen una conformación bote para el anillo C, dado que los mismos están trans con respecto al par electrónico no compartido de los N-1 y N-16.



LXXX



LXXXI

Cuando el H se encuentra en posición α a un átomo de nitrógeno de una lactama terciaria aparece aún más desprotegido como consecuencia de la anisotropía diamagnética del grupo carbonilo. Particularmente en la lupanina (LXXVIII) la señal del H ecuatorial en C-10 aparece como un par de tripletes centrados a 4,59 y 4,81 ppm.⁸⁰ Esta partición se puede atribuir a un acoplamiento geminal ($J = 13$ Hz) y un acoplamiento con el H en C-9 ($J = 2,2$ Hz). El tercer acoplamiento ($J = 2,2$ Hz) es probablemente a través de cuatro uniones σ con el H anti en C-8 o bien con el

H en C-3 a través de la unión C-N que posee un carácter parcialmente doble.

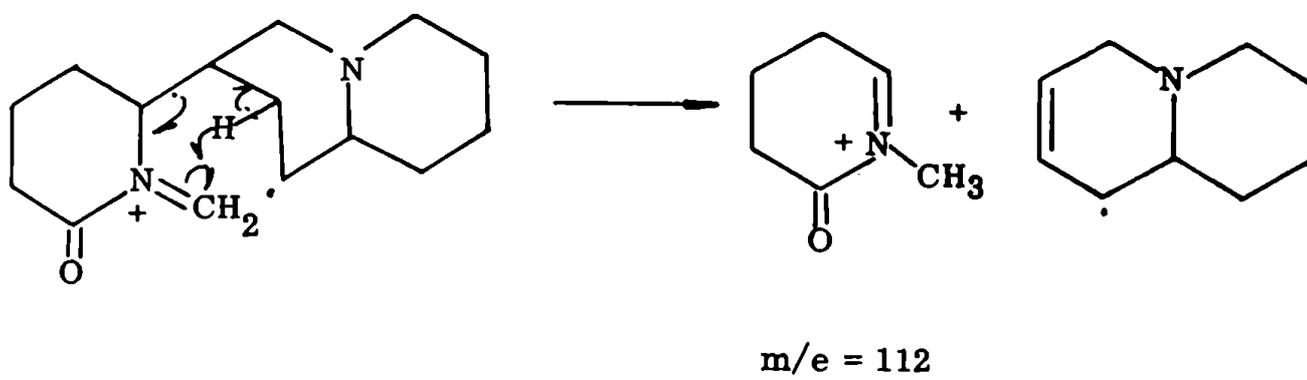
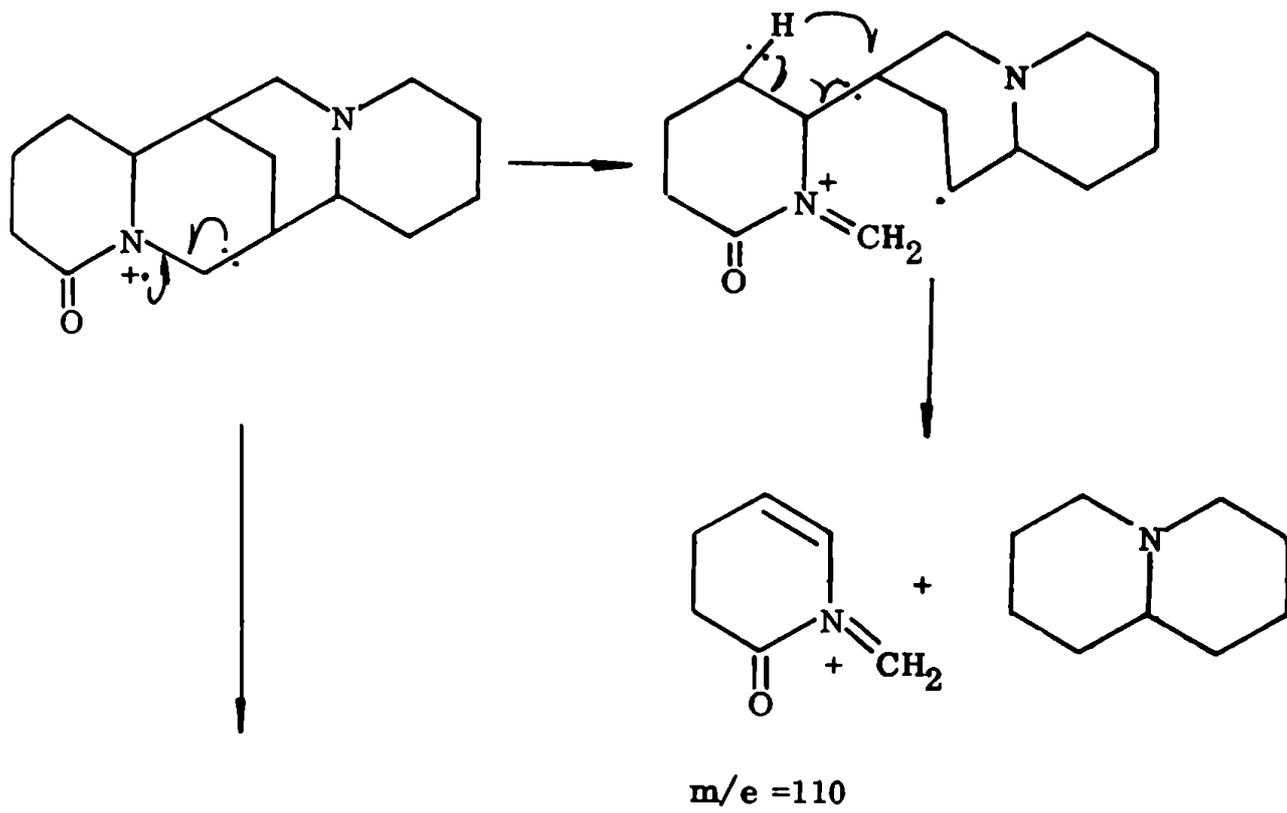
En α isolupanina esos tripletes son reemplazados por un doblete ancho a 5,06 y 5,27 ppm, debido probablemente a que con la geometría totalmente silla trans de los anillos C y D se hace significativo un acoplamiento extra a larga distancia

La 15-oxoesparteína (LXXXI), presenta un cuarteto a 4,59; 4,75; 4,80 y 4,97 ppm ($J_1 = 13$ Hz; $J_2 = 10,5$ Hz). El valor de $J = 13$ Hz es atribuible a un acoplamiento geminal. El segundo acoplamiento ($J = 10,5$ Hz) está de acuerdo con el ángulo pequeño entre el H-17 β y el H en C-7 (aproximadamente 5°).

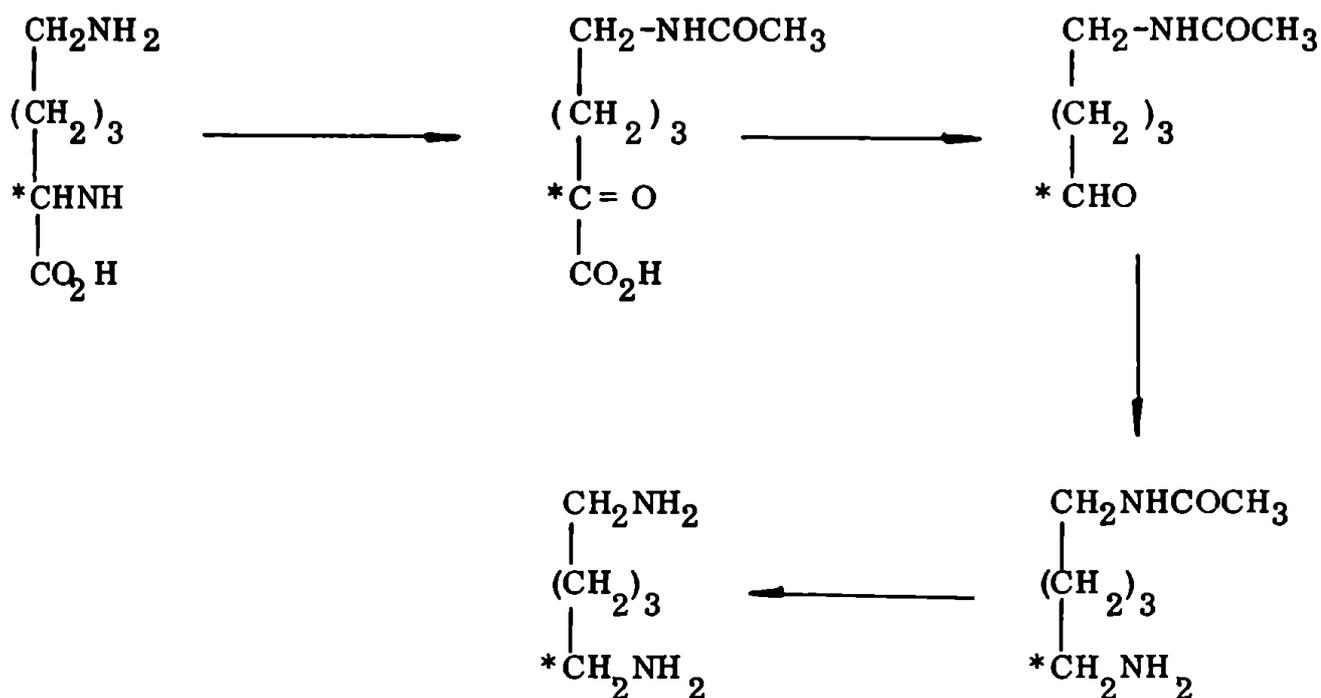
En la 17-oxoesparteína se observa un doblete a 4,48 y 4,09 ppm ($J=13$ Hz), debido a un acoplamiento geminal. Cada pico del doblete es complejo y ancho, debido a otros acoplamientos menores.

Es de destacar además, que en algunos casos, el espectro de R.M.N. puede proporcionar información acerca de la conformación silla o bote de los anillos. Esta información está contenida en la zona de 1,0 a 1,5 ppm. No obstante, la observación de señales a campos altos, no da una información segura de la conformación del anillo C.⁸⁰

Se han estudiado además, un gran número de espectros de masa de los alcaloides quinolidínicos,^{81,82} que muestran, en general, modelos de fragmentación con características semejantes. Por ejemplo, en el espectro de masa de lupanina (LXXVIII), se observan los siguientes picos importantes: $m/e = 248$ (M^+), 219, 150, 149, 136 (pico base), 134, 112, 110, 98, 97 y 84. Algunos de ellos son explicables mediante los esquemas de fragmentación que se detallan a continuación:



10 y 11. Este resultado es explicable si se admite un mecanismo donde se forma cadaverina [1,5-C¹⁴] como intermediario (esquema 14). Este mecanismo supone un intermediario simétrico.⁸⁴



Esquema 14 ⁸⁴

Del mismo modo, inyectando al *L. luteus* y al *Sarothamnus scoparius* lisina [2-C¹⁴] y cadaverina [1,5-C¹⁴] se obtuvo espartefna radiactiva. De acuerdo al mecanismo propuesto para una incorporación vía intermediario simétrico, deberían ser radiactivos los átomos 2, 6, 10, 11, 15 y 17. Por métodos degradativos, se pudo comprobar que de estos, los 2, 15, y 17 eran activos, mientras que los 3, 4, 5, 12 y 13 eran inactivos.^{84,85}

El hecho de que la incorporación de lisina doblemente marcada en N¹⁵ y [2-C¹⁴] en la espartefna haya mostrado que la radiactividad del N¹⁵ en esta última era casi tres veces mayor que la correspondiente a 1 mol de aminoácido, llevaría a suponer que tres moles de lisina entran en la molécula.

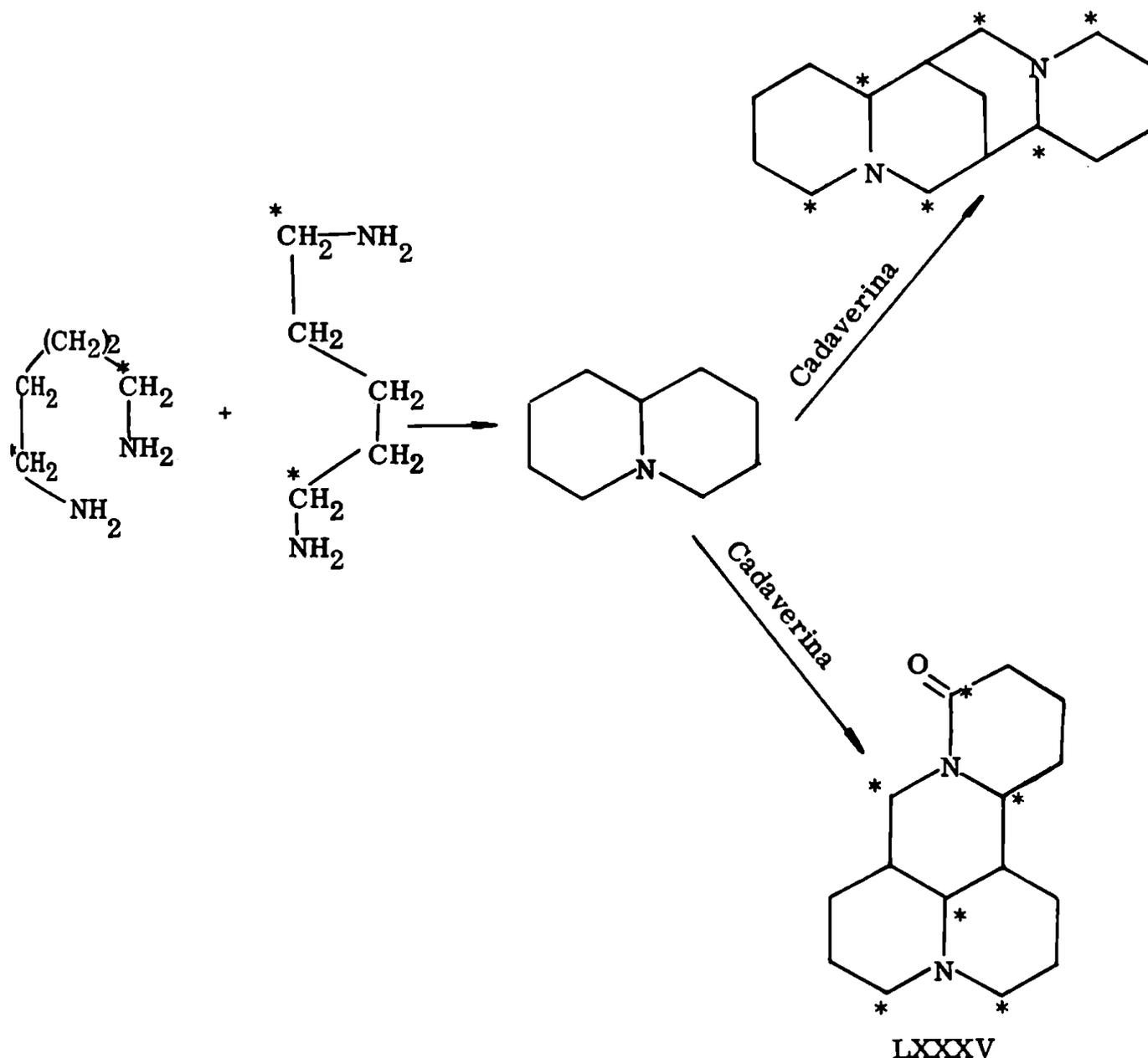
Se han obtenido además, lupanina e hidroxilupanina radiactivas al admi-

nistrar al Lupinus angustifolius⁸⁶ cadaverina [1,5-C¹⁴]

También se obtuvo matrina (LXXXV) radiactiva, cuando el mismo sustrato se inyectó a la Sophora tetraptera.⁸⁷ En todos estos casos se ha aislado el carbono del grupo carbonilo como ácido benzoico y se observó además que este ácido poseía un sexto de la actividad del alcaloide.

De esta manera es posible postular que la biosíntesis de estos tres alcaloides procede a través de una ruta común.

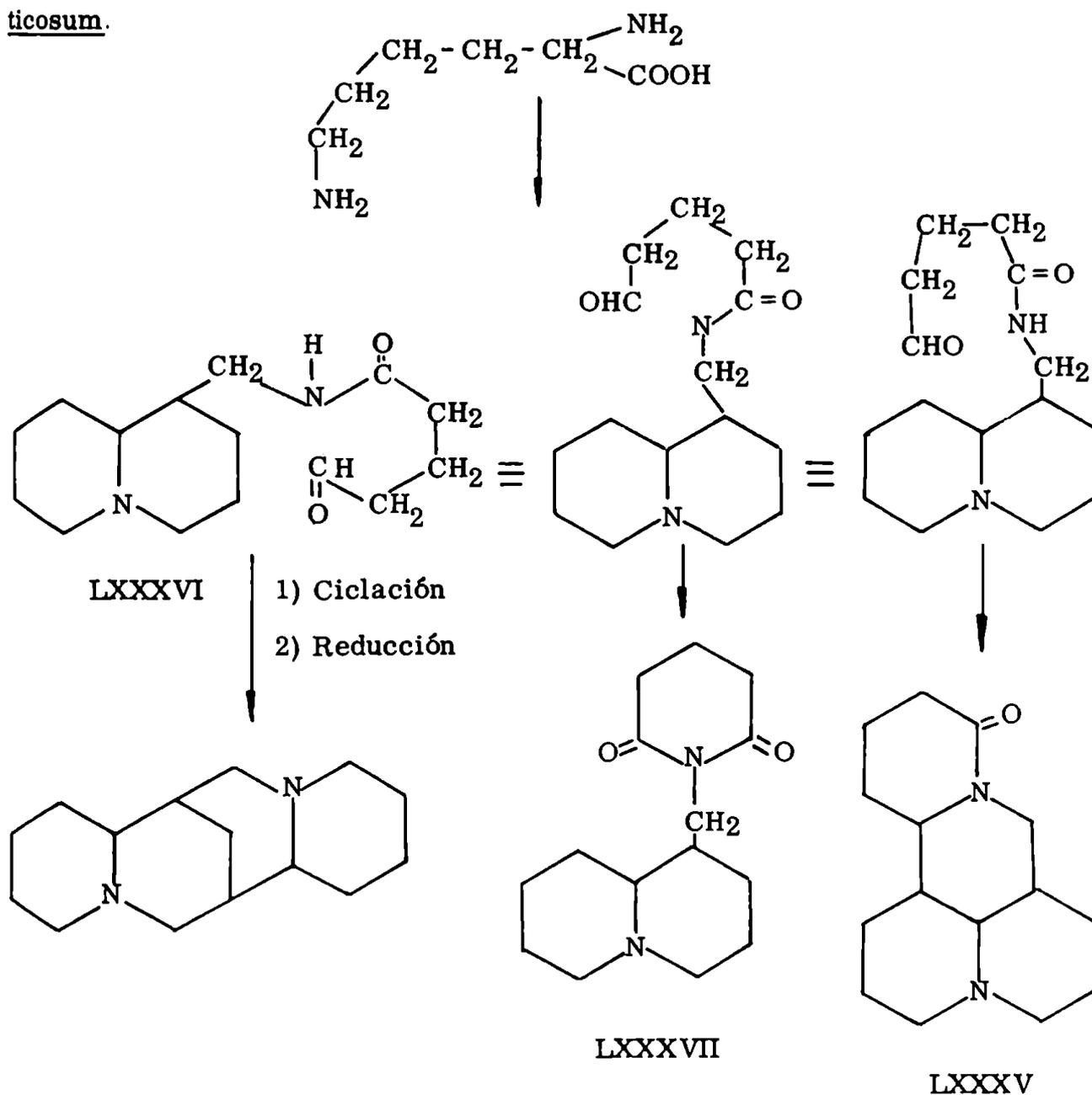
De acuerdo con los resultados experimentales se ha postulado el siguiente esquema general de biosíntesis para alcaloides de dos y más ciclos.^{88,89}



La obtención de citisina y N-metilcitisina radiactivas que poseen un quinto de la actividad total en el átomo de carbono del grupo carbonilo, al

inyectar lisina y cadaverina marcadas, constituye un nuevo argumento a favor de esta hipótesis.⁹⁰

Recientemente, Hart, Johns, y Lamberton,⁷¹ han propuesto un esquema de biogénesis a partir de un precursor hipotético (LXXXVI), el cual podría producir alternativamente dos sistemas tetracíclicos distintos, correspondientes a esparteína y matrina (LXXXV), o bien por una ciclación que involucre condensación entre el ω aldehído y el grupo amino y una posterior oxidación en la posición α , llevar a lamprolobina (LXXXVII), (esquema 15). Estos autores fundamentan esta hipótesis, en el hecho de haber aislado lamprolobina, citisina y esparteína, en el Lamprolobium fruticosum.

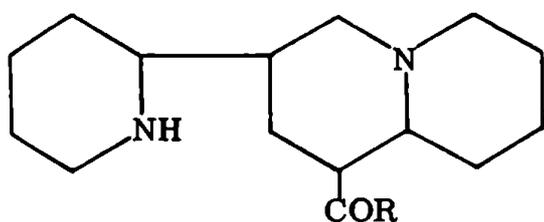


Esquema 15

REVISION DE ALCALOIDES QUINOLICIDINICOS

Esta revisión contiene los alcaloides quinolicidínicos aislados desde la segunda mitad del año 1966 hasta la fecha (agosto de 1970). Estos alcaloides son:

APHYLLATO DE METILO (LXXXVIII): $C_{16}H_{28}N_2O_2$.



p. f. 80-81 °

$[\alpha]_D = 20,4^\circ$ (EtOH)

Iodhidrato: p. f. 240-241 °

Bromhidrato: p. f. 256-258 °

Clorhidrato: p. f. 249-250 °

Picrato: p. f. 219-220 °

LXXXVIII R = OCH_3

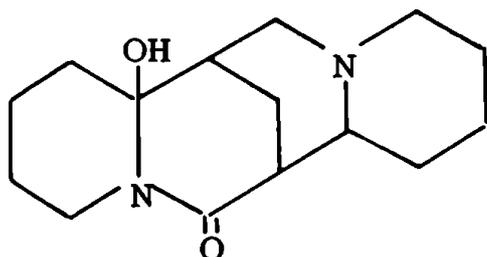
LXXXIX R = OC_2H_5

Fue aislado de las semillas de la Anabasis aphylla⁹¹ y su estructura fue demostrada por métodos químicos.

APHYLLATO DE ETILO (LXXXIX): $C_{17}H_{30}N_2O_2$.

Fue aislado de la Anabasis aphylla⁹² en 1966.

OXAPHYLLINA (XC): $C_{15}H_{25}N_2O_2$.

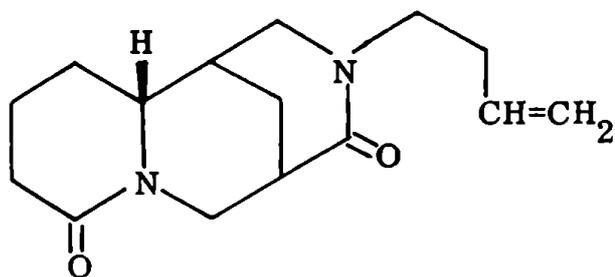


Fue aislada también de la Anabasis aphylla⁹² junto con oxaphyllidina y aphyllato de etilo.

XC

11-OXOTETRAHIDRORHOMBIFOLINA (XCI): $C_{15}H_{22}N_2O_2$.

p. f. 118-120 °



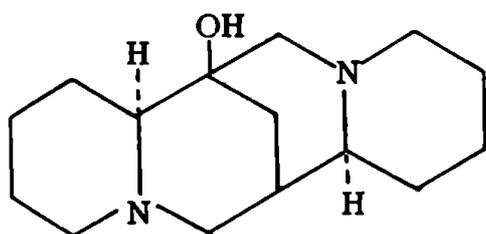
XCI

$$[\alpha]_D = +18^\circ \text{ (CH}_3\text{OH)}$$

Espectros: I. R.⁹⁴ R. M. N.⁹⁴, masa⁹³

De carácter neutro, fue aislada de la corteza de la Ormosia coutinhoi.⁹³ Su estructura se determinó por análisis de su espectro de masa y se confirmó por comparación con una muestra auténtica de la misma obtenida previamente por Bohlmann.⁹⁴

(-)-7-HIDROXI β ISOESPARTEINA (XCII): $C_{15}H_{26}N_2O$.



XCII

$$\text{p. f. } 103,5-104,5^\circ$$

$$[\alpha]_D^{25} - 8,0 \pm 0,2 \text{ (EtOH)}$$

Monoiodhidrato: p. f. 258,5-260^o

Monoperclorato: p. f. 207,5-208,5^o

Espectros: I. R.⁹⁵

Fue aislada del Lupinus sericeus⁹⁵ junto con (-)- β -isoespartefina. Su estructura se determinó por métodos espectroscópicos y químicos. Se confirmó

mediante determinaciones cristalográficas por rayos X del monoperclorato. De esta manera se pudo determinar además la configuración relativa del núcleo y las conformaciones de los cuatro anillos, los que resultaron todos silla.

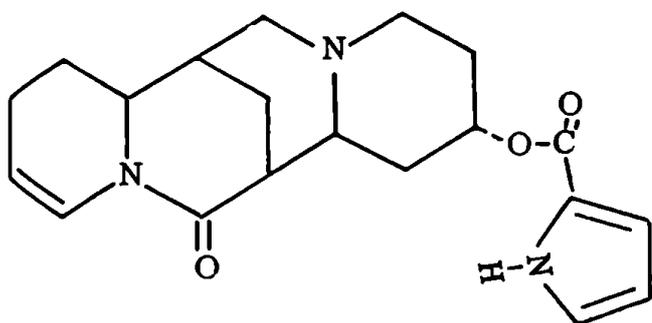
2,3-DEHIDRO-O-(2-PIRROLILCARBONIL)-VIRGILINA (XCIII): $C_{20}H_{25}N_3O_3$.

$$\text{p. f. } 186-193^\circ$$

$$[\alpha]_D - 81,3^\circ \text{ (Cl}_3\text{CH)}$$

Espectros: U. V.⁹⁶ I. R.⁹⁶ R. M. N.⁹⁶ masa⁹⁶

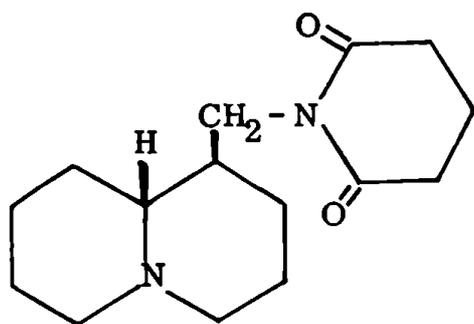
Fue aislada de la Reada membranaceae Gillespie (Rubiaceae),⁹⁶ junto con O-(2-



XCI

pirrolilcarbònil)-virgilina, que habfa sido aislada anteriormente por White en 1964,⁹⁷ en una leguminosa. Su estructura fue demostrada por métodos espectroscòpicos.

LAMPROLOBINA (LXXXVII): $C_{15}H_{24}N_2O_2$.



LXXXVII

$[\alpha]_D + 29^\circ$ (EtOH)

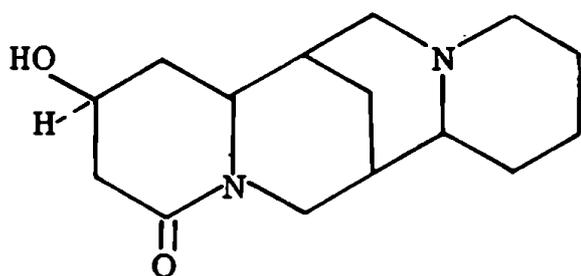
Picrato: p f. 153-154^o

Espectros: I.R.⁷¹ masa⁷¹

Es un aceite incoloro, y constituye el alcaloide principal del Lamprolobium fruticosum⁷¹ (leguminosa). Su estructura se determinó por métodos químicos y espectroscòpicos y su estereoquímica

se elucidó por comparación con un derivado acetilado sintético de epilupina.⁷¹

NUTTALLINA (XCIV): $C_{15}H_{24}N_2O_2$.



XCIV

p f. 108-109^o

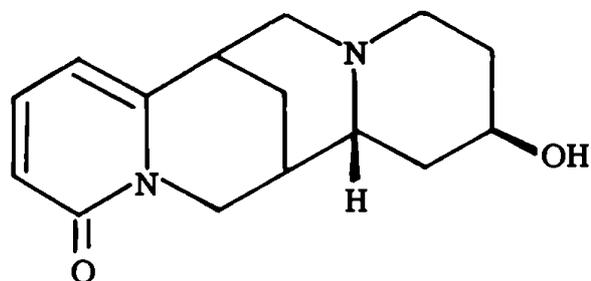
$[\alpha]_D^{26} 25,3^\circ \pm 0,9$ (EtOH)

Monoperclorato: p f. 170-172^o

Espectros: I.R.⁹⁸ U.V.⁹⁸

Fue aislada del Lupinus nuttalli; es la (+)-4-hidroxi-2-oxoespartefina. Su estructura se determinó por métodos químicos y espectroscòpicos. Es el primer ejemplo de una espartefina 2,4-

dioxigenada.⁹⁸

ARGENTAMINA (XCV): $C_{15}H_{18}N_2O_2$.

XCV

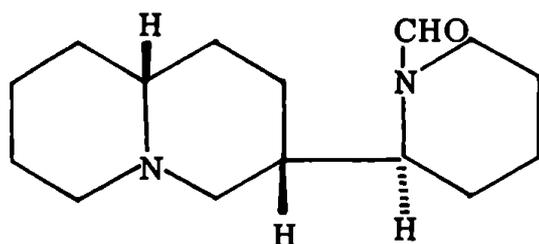
p.f. 203°

Clorhidrato: p.f. 298°

Picrato: p.f. 230°

Espectros: I.R.⁹⁹ masa.⁹⁹

Su estructura corresponde a la (-)-13-hidroxitermopsina.⁹⁹ Argentamina y baptifolina son epímeros en C-11.

LEONTIFORMINA (XCVI) : $C_{15}H_{26}N_2O$ 

XCVI

p.f. 61-63°

 $[\alpha]_D^{22} + 51,9^\circ$ Bromhidrato: p.f. 275-276°, $[\alpha]_D^{22} + 57,7$ Espectros: I.R.¹⁰⁰ R. M. N.¹⁰⁰

Fue aislada de Leontice leontopetalum¹⁰⁰
L. (Berberidaceae). De la misma

planta se han aislado alcaloides bifénlicos, bencilisoquinolínicos, tetrahidroprotoberberínicos y el quinolídínico d-

lupanina. Su estructura se demostró por métodos espectroscópicos y se confirmó por comparación de su espectro I.R. con el de una muestra de 3-[N-formilpiperidil-(2)]quinolídina, preparada por Bohlmann et. al.¹⁰¹ en 1960.

AISLAMIENTO Y ESTRUCTURA DE LAS BASES

DE LUPINUS PANICULATUS Desr.

El género Lupinus, se encuentra ampliamente difundido en la zona oriental de América del norte y del sur. Es característico del mediterráneo y de África tropical. Pertenece a la familia Leguminosa, subfamilia Faboideae, tribu Genisteae, subtribu Crotalarinae.

Una especie común en la Argentina es el Lupinus paniculatus Desr. (sin. Lupinus lilloanus Ch. P. Smith). Es una herbácea erguida que crece en las sierras altas de Catamarca, en las sierras de Achala (provincia de Córdoba), y en gran parte de la zona noroeste del país. Se lo conoce vulgarmente como flor de la patria, campanilla, pajarillo, etc. Burkart¹⁰² menciona que esta planta "mata a los animales que la comen, en pocas horas" y que sus semillas tienen propiedades medicinales. Domínguez,¹⁰³ en 1928, menciona que sus tallos foliáceos contienen alcaloide muy tóxico.

La toxicidad para el ganado es común en el género Lupinus, muchas de cuyas especies contienen alcaloides.

El extracto de éter de petróleo de esta planta da reacción de Dragendorff positiva. Del mismo, y por los métodos usuales, se aisló una fracción básica (0,77 % de la planta seca), que se purificó por destilación fraccionada al vacío. Se vio que esta fracción estaba compuesta fundamentalmente por una sola base y que contenía otra en muy pequeña proporción. La base presente en mayor cantidad resultó ser (-)-esparteína, alcaloide conocido desde muy antiguo. Fue aislado por primera vez por Stenhouse en 1851¹⁰⁴ y su estructura correcta fue propuesta por Clemo y Raper¹⁰⁵ en 1933.

La identificación de esta base se realizó por medio de derivados. Se prepararon iodometilato, perclorato y picrato, cuyos p.f. coincidían con los registrados en la literatura y no daban depresión por mezcla con muestras auténticas. Se completó por comparación con esparteína auténtica de sus espectros I. R. (figura 21) y de R. M. N. (figura 22), y de su R_f en cromatografía en papel y en capa delgada.

El extracto metanólico contiene la mayor parte de los alcaloides de la planta, aislándose del mismo una fracción básica (7,3 ‰ sobre planta seca), que no presenta variación en su composición porcentual respecto de la del extracto de éter de petróleo. Una evaluación cuantitativa de las bases muestra que el 99,88 % de las mismas es (-)-esparteína y el 0,12 % es un alcaloide secundario.

Por arrastre con vapor se separa la mayor parte de esparteína presente, y del residuo puede obtenerse el alcaloide secundario por cromatografía sobre óxido de aluminio.

El alcaloide secundario funde a $98-102^{\circ}$, solidifica y vuelve a fundir a $245-250^{\circ}$. Su espectro I R. (figura 23), presenta una banda de grupo hidroxilo y otra de carbonilo a 1630 cm^{-1} correspondiente a un grupo lactama.^{106a} Esto, y el hecho de que su peso molecular sea 248, llevó a pensar que se trataba de una lactama quinolicídica tetracíclica.

Su p.f no coincide con el de ninguna de las bases registradas en la literatura. Por otra parte, los picos de m/e 112 y 110 (pag.70) del espectro de masa (figura 25), llevan a pensar que el grupo carbonilo puede encontrarse en los anillos A o D del esqueleto.

El espectro I.R. del alcaloide secundario (figura 23) se comparó con el de lupanina (figura 24), resultando diferentes.

Con el objeto de tener modelos de comparación se prepararon muestras de α -isolupanina, 17-oxoesparteína, 15-oxoesparteína y α -isoesparteína. Ninguno de los espectros I.R. de las lactamas preparadas coincidía con el del alcaloide secundario.

Por reducción con H_2 y PtO_2 Adams, el alcaloide secundario se transformó en esparteína, con lo que quedó determinado su esqueleto. La identidad del producto se probó por comparación del espectro I R. del mismo y de su picrato con los de muestras auténticas de esparteína y picrato de esparteína (figura 26), no observándose depresión en el p.f. mezcla de ambos picratos.

La presencia en el espectro I.R. del alcaloide secundario (figura 23) de una banda de mediana intensidad a 2630 cm^{-1} , que puede corresponder a una vibración de NH^+ , mostró que el átomo de nitrógeno no lactámico podría encontrarse protonado.^{106b}

Esta característica y su p.f., condujeron a pensar que podría tratarse de un producto aislado por Couch en 1936 en el Lupinus barbiger, al que llamó trilupina¹⁰⁷ y al que atribuyó la fórmula molecular $\text{C}_{15}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_3 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ indicando que se trataba de un dihidrato de un aminoóxido de lupanina.

Galinovsky, en 1950, lo aisló del Lupinus albus¹⁰⁸ y demostró que se trataba del dihidrato del monoclóhidrato de lupanina, atribuyendo la diferencia con la fórmula molecular de Couch a que un átomo de cloro en la molécula corresponde analíticamente a aproximadamente dos átomos de oxígeno.

Para comprobar la identidad del alcaloide secundario del Lupinus paniculatus con el monoclóhidrato de lupanina, se sintetizó este último producto según la técnica de Galinovsky.¹⁰⁸ El espectro I.R. del producto sintético se comparó con el del alcaloide secundario, resultando idénticos.

Por comparación del valor encontrado para el poder rotatorio del alcaloide secundario ($[\alpha]_{\text{D}} + 29^{\circ}$) con el de Couch¹⁰⁷ ($[\alpha]_{\text{D}} + 63,6^{\circ}$) y teniendo en cuenta que del L. albus se aisló el monoclóhidrato de una mezcla de (+) y (-) lupanina ($[\alpha]_{\text{D}} + 38^{\circ}$), se deduce que en el L. paniculatus existe también una mezcla de (+) y (-) lupanina, en proporción no necesariamente igual a la que existe en el L. albus.

Que se haya aislado solamente como clóhidrato se explica por la pequeña cantidad del alcaloide presente en la planta y por el hecho de que el mismo permaneció en solución clorofórmica en presencia de luz.¹⁰⁸

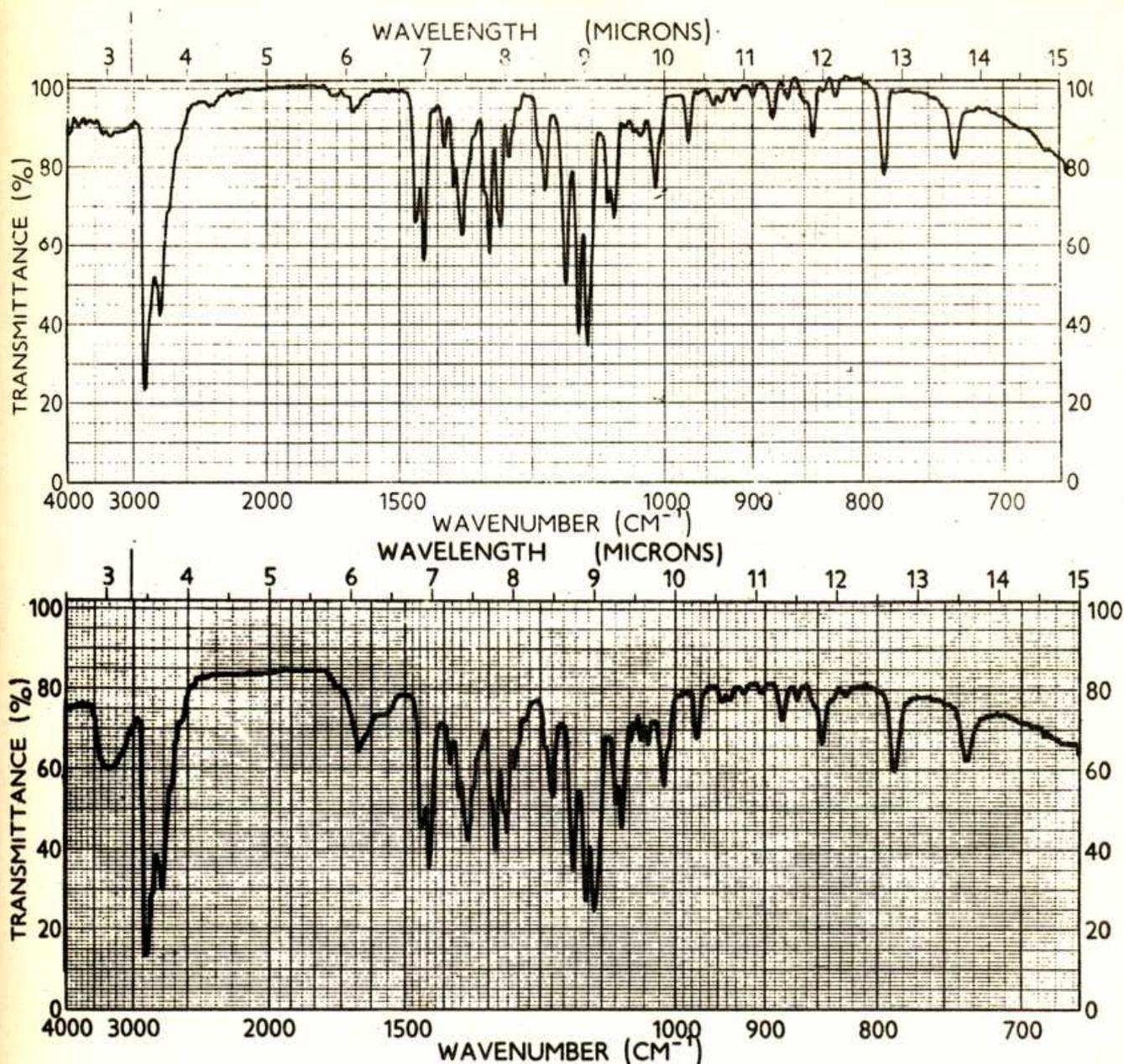


Figura 21; superior: Espectro I.R. de esparteña
inferior: Espectro I.R. del producto de reducción del
alcaloide secundario.

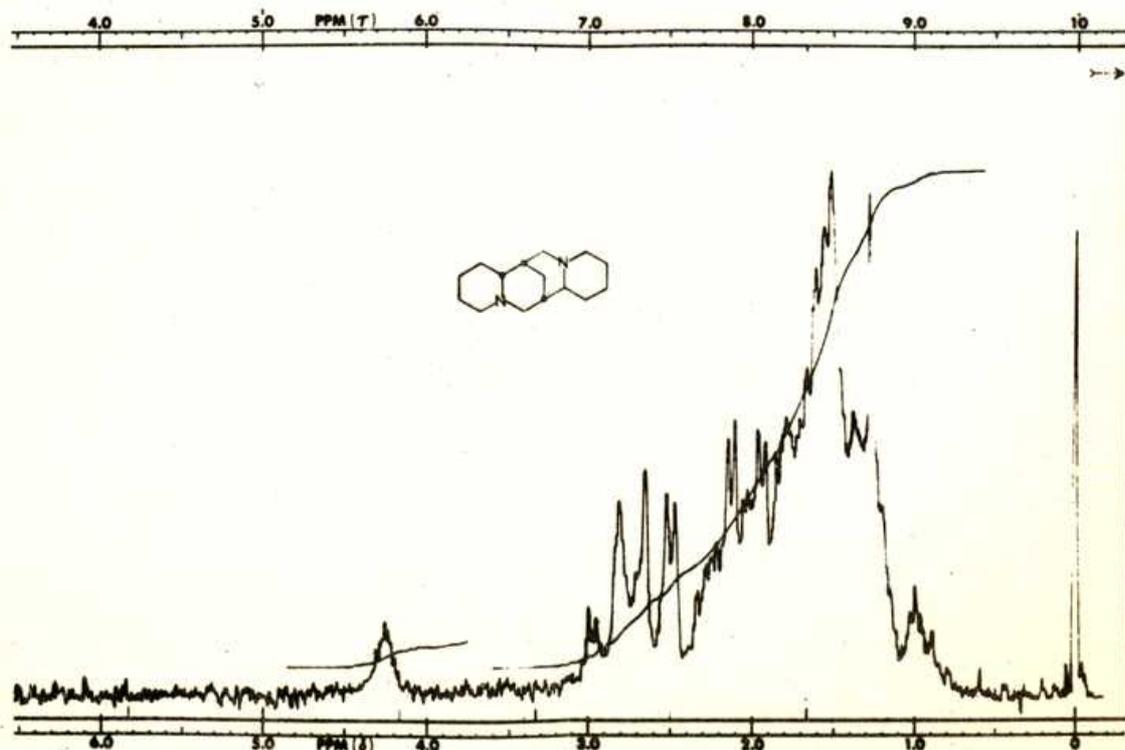


Figura 22: Espectro de R.M.N. de esparteña.

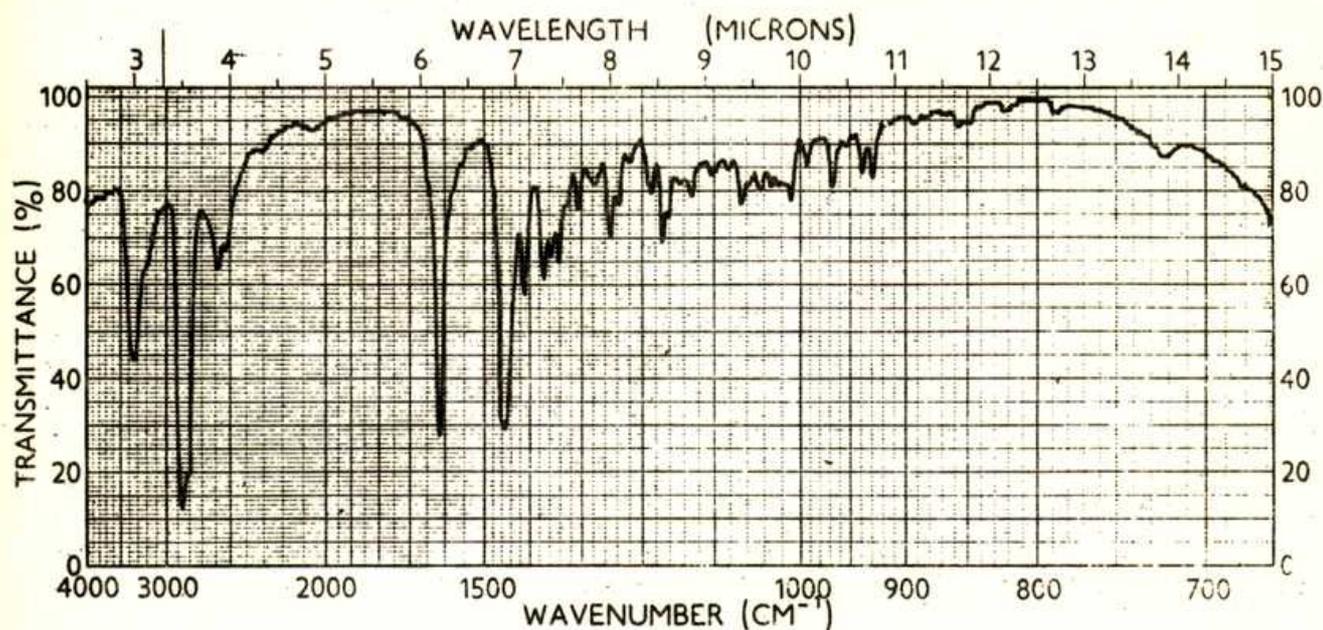


Figura 23: Espectro I.R. del alcaloide secundario.

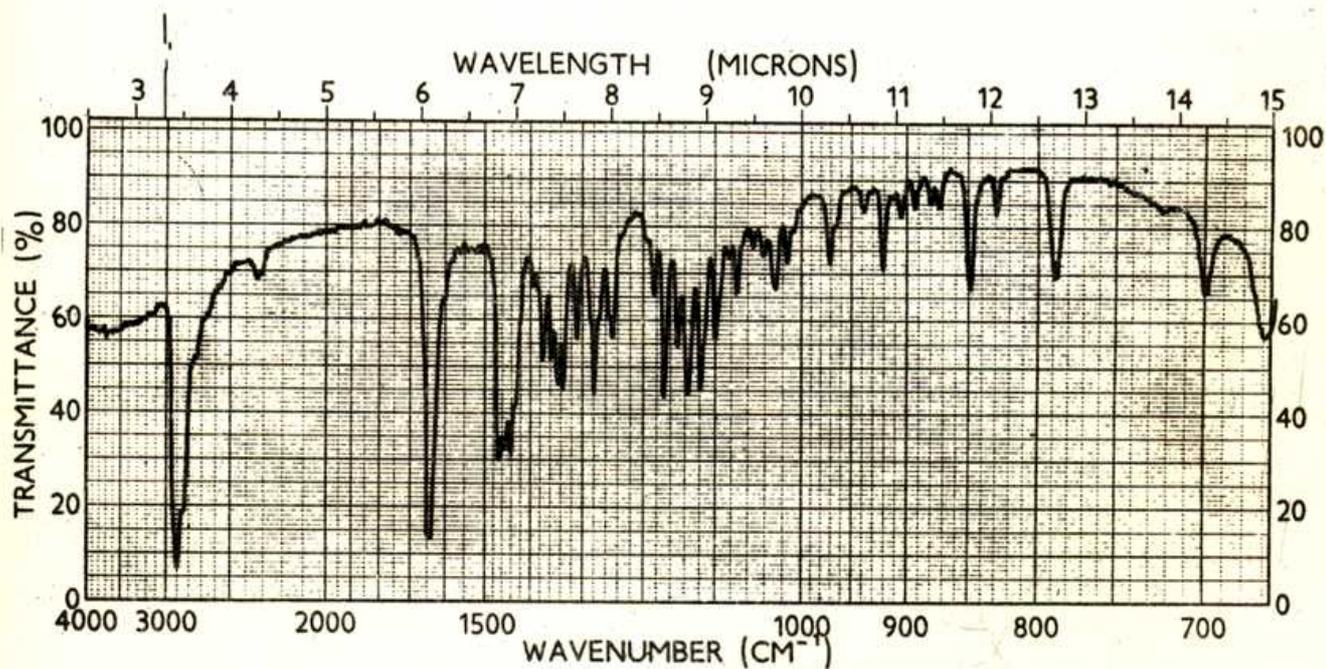


Figura 24: Espectro I.R. de lupanina



Figura 25: Espectro de masa del alcaloide secundario.

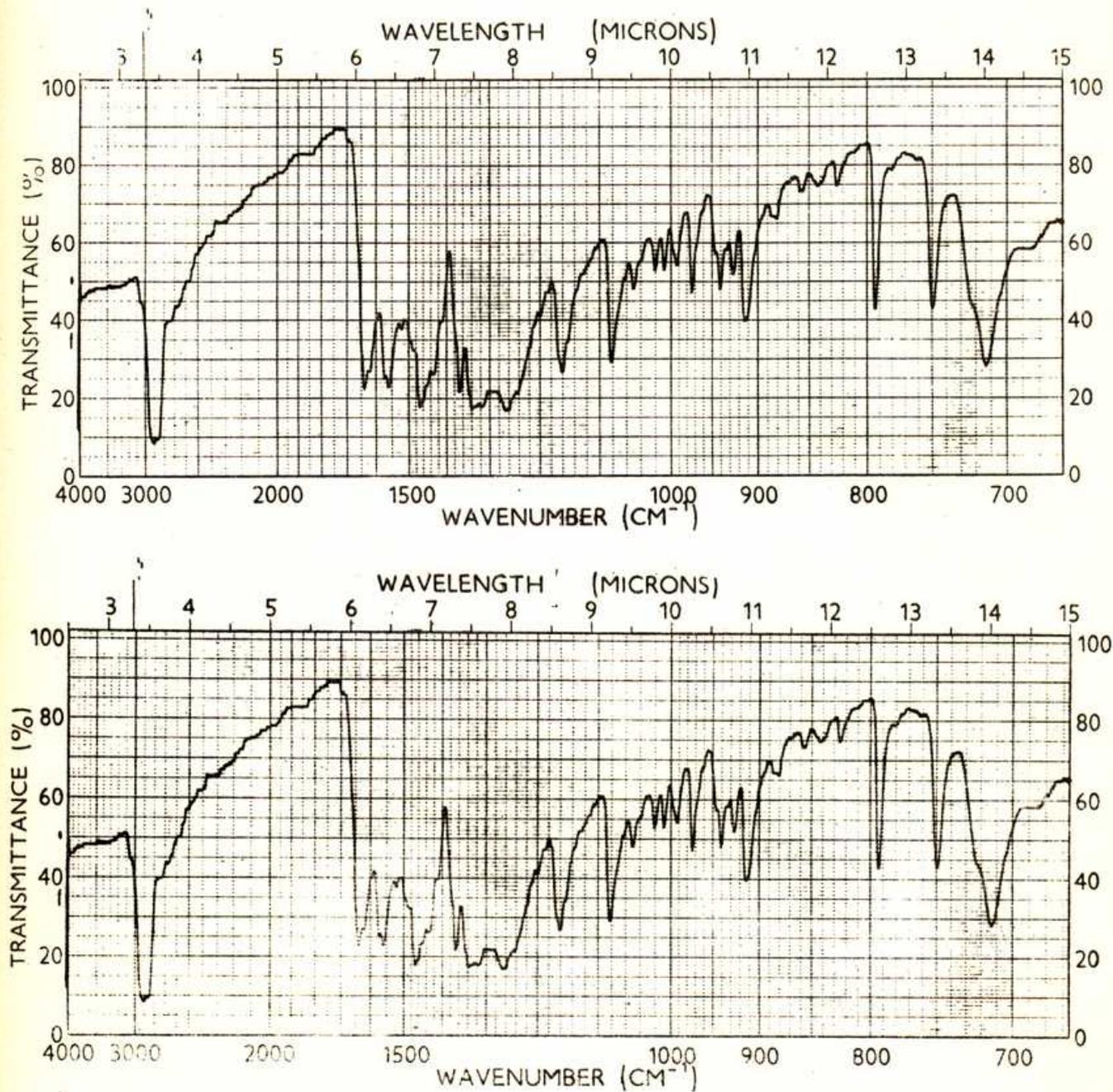
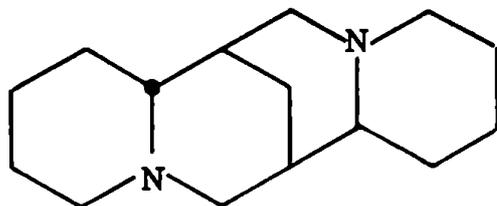
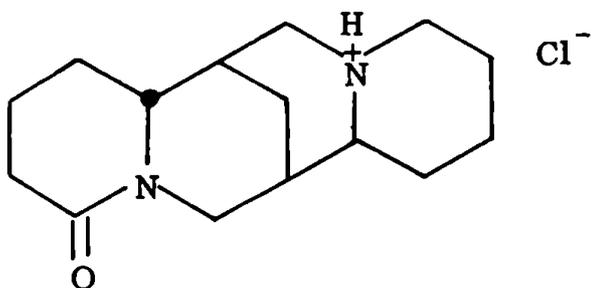


Figura 26; superior: Espectro I.R. de picrato de esparteína
inferior: Espectro I.R. del picrato del producto de
reducción del alcaloide secundario.

ALCALOIDES PRESENTES EN LUPINUS PANICULATUS Desr.



Esparteína



Monoclorhidrato de Lupanina

PARTE EXPERIMENTAL

Los puntos de fusión están sin corregir y fueron determinados por el método del tubo capilar en un aparato según Tottoli.

Los poderes rotatorios se midieron en un polarímetro O. C. Rudolph & Sons, modelo 70, en etanol, y la concentración se expresó en gramos de soluto por 100 ml de solución.

Los espectros de absorción en el infrarrojo se midieron en nujol en un espectrofotómetro Perkin Elmer 137 B (Infracord).

Los espectros de resonancia magnética nuclear han sido determinados en un espectrómetro Varian A-60, en soluciones en deuterocloroformo, usando tetrametilsilano como referencia interna. Los desplazamientos químicos se midieron utilizando la convención δ (ppm), relativos al tetrametilsilano (0 ppm).

Los espectros de masa se determinaron en un espectrómetro Hitachi Perkin Elmer RMU6-D, por Morgan Schaffer Co., en Montreal, Canadá.

Las cromatografías en capa delgada se efectuaron sobre óxido de aluminio G (Merck), y cloruro de metileno:metanol (99:1) como solvente de desarrollo (A'), revelando con reactivo de Dragendorff anhidro según Thies y Reuther.⁶² Las cromatografías sobre papel se realizaron utilizando el método descendente sobre papel Whatman N° 1 y como fase móvil butanol:ácido acético:agua 80:3:17 (B') y butanol:ácido acético:agua 4:1:5 (C'). El revelado se efectuó con reactivo de Dragendorff según Palmer.¹⁰⁹

La planta utilizada en este estudio se recolectó en marzo de 1968 en la sierra de Ambato (3.500 m), provincia de Catamarca.

EXTRACCION Y AISLAMIENTO DE LAS BASES

I. - EXTRACTO ÉTER DE PETROLEO

En un extractor continuo se extrajeron 2,6 kg de parte aérea con frutos de Lupinus paniculatus Desr., que había sido secado a 60° y molido, con éter de petróleo liviano, durante 120 horas. El extracto se evaporó a sequedad en vacío, quedando un residuo que pesó 35 g. Este residuo se tomó con éter etílico, quedando un insoluble de 4,3 g de peso (ceras) que no se trabajó y una solución que daba reacción de Dragendorff positiva. La misma se extrajo con ClH 2N y el extracto ácido se extrajo con éter etílico, desechándose los extractos. La fase acuosa se alcalinizó con NaOH hasta pH 12 y se extrajo con éter etílico. El extracto etéreo se secó sobre SO₄Na₂ anhidro y se llevó a sequedad en vacío, obteniéndose 2,02 g de un aceite incoloro que se torna rápidamente amarillo.

La solución etérea resultante de extraer las bases con ClH 2N se extrajo luego con NaOH. La fase orgánica se llevó a sequedad en vacío quedando 16 g de un residuo oscuro que contiene los compuestos neutros, que no se trabajó. A la fase acuosa alcalina se agregó CO₂ hasta pH 8,5 y se extrajo con éter etílico. El extracto etéreo se secó sobre SO₄Na₂ anhidro y se llevó a sequedad en vacío obteniéndose un residuo oscuro de compuestos fenólicos, que pesó 14 g. La fase acuosa anterior se acidificó con SO₄H₂ hasta pH 3 y se extrajeron los compuestos acídicos con éter etílico; por evaporación de este extracto se obtuvieron 210 mg de un residuo oscuro que no se trabajó.

(-)- ESPARTEINA

El residuo alcaloídico se sometió a una destilación fraccionada en vacío recogiendo una primera fracción entre 65 y 70° (0,01 mm) de la cual se obtiene un aceite incoloro (1,4 g) que da una sola mancha de R_f 0,6 en cromatografía en papel (B'). En las fracciones siguientes, junto con la mancha principal, de R_f 0,6, aparece una secundaria de R_f 0,4 (B').

$[\alpha]_D^{19} -17,5^\circ$ (c 1,23, etanol)

Espectro I.R. (figura 21); superponible con el de una muestra auténtica de esparteña.

Espectro de R.M.N. (figura 22); superponible con el de esparteña auténtica.

R_f : 0,6 (B'); 0,15 (A'); coincidentes con los de esparteña auténtica.

Iodometilato.¹¹⁰ A 0,100 g de alcaloide se agregó 1 ml de yoduro de metilo, se dejó 48 horas a temperatura ambiente y se evaporó a sequedad.

El residuo cristalino se recrystalizó de acetona-etanol 5:1; p.f. 240-242;^o p.f. mezcla con una muestra auténtica de iodometilato de esparteña:

240-242.^o

Perclorato.¹¹⁰ Se suspendieron 0,100 g de base en 1 ml de H₂O y se agregaron 0,2 ml de ácido perclórico 65 %. Después de calentar a ebullición se enfrió y se agregó 1 ml de solución saturada de acetato de sodio. El precipitado cristalino se recrystalizó de agua: p.f. 172-173^o ; p.f. mezcla con una muestra auténtica de perclorato de esparteña de p.f. 172-173^o

172-173^o.

Picrato.¹¹¹ Se disolvieron 0,100 g de base en 1 ml de metanol y se agregaron en caliente 0,9 ml de solución saturada de ácido pícrico en metanol. Se recrystalizó de metanol-acetona; p.f. 208-210;^o p.f. mezcla con una muestra auténtica de picrato de esparteña de p.f. 208-210^o : 208-210^o.

II. - EXTRACTO METANOLICO

La planta extraída con éter de petróleo se extrajo con metanol hasta reacción de Dragendorff negativa (160 horas). El extracto metanólico se llevó a sequedad en vacío sobre filtercell y el residuo se tomó con 800 ml de ClH 1N y se filtró. La solución ácida se extrajo con éter etílico y se desecharon los extractos. La fase acuosa se alcalinizó con NaOH 1N hasta pH 12 y se extrajo con cloroformo. El extracto clorofórmico se secó sobre SO₄Na₂ y se evaporó a sequedad en vacío.

Se obtuvo un aceite amarillo que pesó 19,30 g. Se tomaron 11,0 g de

este aceite y se separó de él la mayor parte de espartefna por arrastre con vapor. Quedaron 430 mg de un residuo oscuro que se purificó disolviéndolo en ClH 1N, filtrándolo, alcalinizando a pH 12 con NaOH y extrayendo con cloroformo. El extracto clorofórmico se secó sobre SO_4Na_2 y se evaporó a sequedad quedando un residuo de 365 mg. Presenta dos manchas por cromatografía en capa delgada (A'), de las cuales la de R_f menor coincide con un testigo de espartefna.

DIHIDRATO DE MONOCLORHIDRATO DE LUPANINA

Del residuo anterior se tomaron 250 mg que se disolvieron en cloroformo y se cromatografiaron por una columna de 15 g de óxido de aluminio (Woelm neutro, grado 1), eluyendo con cloroformo. Se recogieron tres fracciones que daban reacción de Dragendorff positiva.

La primer fracción (F_1), pesó 40 mg y presenta una sola mancha en cromatografía en capa delgada, de R_f 0,43 (A').

La segunda fracción (F_2 , 35 mg) presenta una mancha pequeña del mismo R_f y otra importante correspondiente a espartefna.

La tercer fracción, (F_3), estaba constituida por 145 mg de espartefna.

La fracción F_1 , que contiene el alcaloide secundario, se purificó por sublimación a $125-130^\circ$ (0,001 mm). Se obtuvo un aceite incoloro (16 mg), que cristalizó en forma de agujas cortas al ser tratado con ciclohexano.

Se recristalizó de acetona. Presenta un p.f. indefinido a $96-102^\circ$, solidifica a $215-220^\circ$ y vuelve a fundir a $245-250^\circ$.

$$[\alpha]_D^{20} + 29^\circ \text{ (c 0,315, etanol)}$$

Espectro I.R. (figura 23): presenta una banda a 3400 cm^{-1} (m), y una banda a 1630 cm^{-1} (f); coincidente con el de una muestra sintética de dihidrato de monoclorhidrato de lupanina.

Espectro de masa (figura 25): m/e 248 (M^+), 48 %; 247, 28 %; 150, 42 %; 149, 57 %; 136 (pico base); 112, 18 %; 110, 30 %; 98, 39 %, 84, 20 %; 55, 50 %.

R_f : 0,45 (A'); $R_{\text{espartefna}}$: 0,66 (B'); 0,74 (C'); estos dos últimos

valores son coincidentes con un testigo de lupanina.

Hidrogenación catalítica

Se efectuó en un aparato de microhidrogenación según Clauson-Kaas y Limborg.¹¹² Se suspendieron 8 mg de PtO₂ Adams en 2 ml de ClH 3 % y una vez reducidos, se agregaron a esta solución, en atmósfera de H₂, 5 mg de alcaloide secundario. La reducción se completó luego de 24 horas. Se consumieron 0,81 ml de H₂ a PTN (calculado para dos moles de H₂: 0,90 ml). La solución ácida se alcalinizó con NaOH 2N hasta pH 11 y se extrajo con éter etílico. Se secó la solución etérea con SO₄Na₂ anhidro y se evaporó a sequedad en vacío. El residuo pesó 4,2 mg.

Espectro I.R. (figura 21): superponible con el de espartefina.

Picrato. p.f. 207-209°; p.f. mezcla con una muestra auténtica de picrato de espartefina: 207-208°. Espectro I.R. (figura 26) coincidente con el de picrato de espartefina.

SINTESIS DE MONOCLORHIDRATO DE LUPANINA¹⁰⁸

Se disolvieron 60 mg de lupanina en 1,2 ml de acetona y 0,007 ml de etanol. Se agregaron 0,07 ml de ClH concentrado. Apareció un precipitado gomoso que cristalizó al enfriar. Se secó en desecador y se sublimó a 140-145° a 0,001 mm. Se recrystalizó de acetona; p f. 100-104°, solidifica a 135-150°, ablanda a 235° y funde otra vez a 245-250°.

15-OXOESPARTEINA Y α-ISOESPARTEINA¹¹³

Se partió de 460 mg de espartefina que se trataron con acetato de mercurio complejoado con la sal disódica del ácido etilendiamino tetraacético. La mezcla de reacción se redujo "in situ" con BH₄Na, según técnica de Wiewiórowski.¹¹³ Se obtuvieron 120 mg de 15-oxoespartefina, cuyo espectro I.R. es distinto al del alcaloide secundario, y 60 mg de α isoespartefina.

17-OXOESPARTEINA¹¹⁴

Se utilizó la técnica de Schöpf,¹¹⁴ a partir de sulfato de espartefina y ferricianuro de potasio como oxidante. Se obtuvieron cristales de p.f.

86-87° (éter de petróleo). Su espectro I.R. es distinto al del alcaloide secundario.

α-ISOLUPANINA¹¹⁵

Se utilizó el método de Baranowski y col.¹¹⁵ Se trataron 150 mg de dl lupanina con 0,8 ml de H₂O₂ 30 %. El aminoóxido obtenido se hizo reaccionar con 0,4 ml de anhídrido acético en ácido acético glacial. La dehidrobasa se redujo "in situ" con BH₄Na. Se obtuvieron 83 mg de dl α isolupanina de p.f. 91-92°. Su espectro I.R. no coincide con el del alcaloide secundario.

RESUMEN

El presente trabajo está dividido en dos partes:

1. - Alcaloides de Helietta longifoliata Britt.

2. - Alcaloides de Lupinus paniculatus Desr.

1. - Alcaloides de Helietta longifoliata Britt.

Esta primera parte del presente trabajo está dividida en cuatro capítulos. En el primero, se mencionan los grupos químicos a los que pertenecen los alcaloides encontrados en la familia de las Rutáceas, indicándose el nombre y la fórmula del esqueleto.

El segundo capítulo contiene una breve introducción en la que se mencionan algunas características importantes de los alcaloides furoquinolínicos. Se hace además una revisión de los nuevos alcaloides furoquinolínicos aislados desde la aparición del último trabajo de Resumen sobre el tema, en 1966 (Manske, tomo IX), hasta agosto de 1970, indicándose para cada uno el nombre, fórmula bruta, punto de fusión, poder rotatorio y especies de las cuales se los ha aislado.

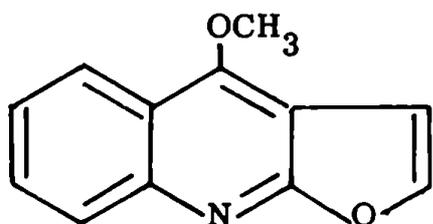
El tercer capítulo contiene un resumen de las teorías biogénicas de los alcaloides furoquinolínicos y de las principales experiencias que llevaron a postularlas.

En el cuarto capítulo se describe el aislamiento e identificación de los siete alcaloides furoquinolínicos de la corteza del tronco de Helietta longifoliata, en especial de la isodictamnina, aislada de la naturaleza por primera vez en esta oportunidad.

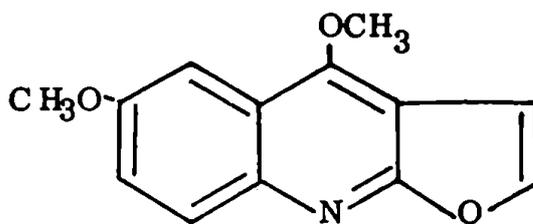
La corteza del tronco de la planta, seca y molida, se extrajo sucesivamente con éter de petróleo y con metanol. Del extracto de éter de petróleo se aislaron cinco bases al estado puro, B₁ (p.f. 129-130°), B₂ (p.f. 133-134°), B₃, B₄ (p.f. 170-171°), B₅ (p.f. 205-207°). Por cromatografía en capa delgada, se vió que la base B₃ era idéntica a maculina (III), base aislada anteriormente de la misma planta. El espectro U.V. de las

bases restantes indicó que se trataba de furoquinolinas, y el espectro de resonancia magnética nuclear llevó a postular como estructuras más probables, las de dictamnina (I), 6-metoxidictamnina (II), kokusaginina (IV) y flindersiamina (V), respectivamente, para los alcaloides B₁, B₂, B₄ y B₅.

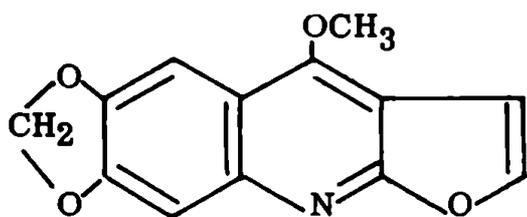
Del extracto metanólico se aisló otra base, B₆, (p.f. 174-176°). Los datos de los espectros U.V. y de resonancia magnética nuclear, llevaron a postular para el mismo la estructura más probable de skimmiánina (VI)



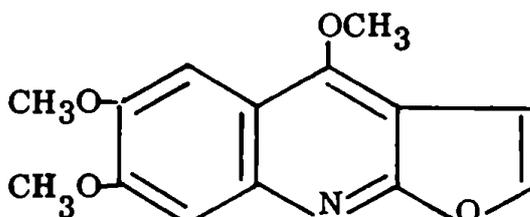
I



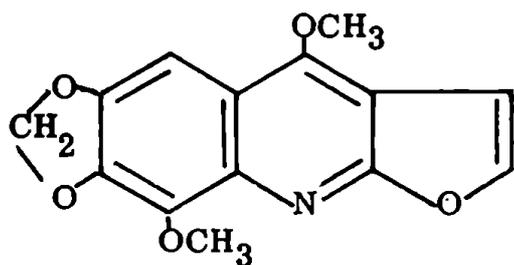
II



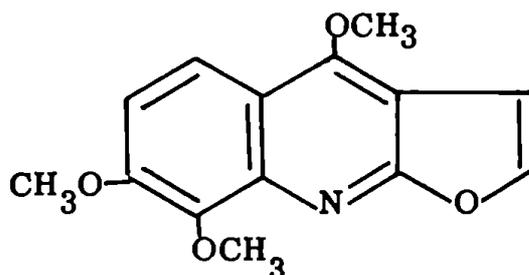
III



IV



V



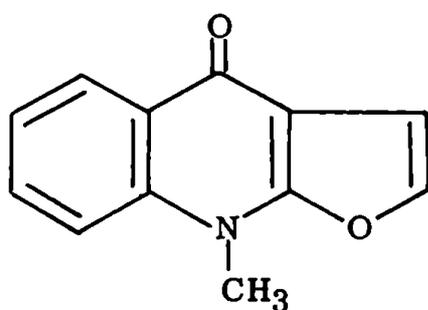
VI

Del mismo extracto, se aisló otra base, B₇, de p.f. 186-187. El espectro I.R. de esta base, presenta una banda intensa a 1630 cm⁻¹, asignable a un grupo C=O. Presenta además una banda intensa a 1590 cm⁻¹

y dos bandas medias a 1540 y 1520 cm^{-1}

Estas características, el observar en su espectro U.V. máximos a 243, 251, 258, 333,9, y 346 nm en etanol y el hecho de que el máximo a 243 nm se desplace a 240 nm en el espectro U.V. efectuado en ClH 0,2N en etanol, y que los máximos a 251 y 258 aparezcan en el espectro U.V. en medio ácido como hombros, llevó a pensar que se trataba de una 4-quinolona.

El espectro de masa de este alcaloide indicó que el ión molecular (M^+) correspondía al pico de m/e 199. La fragmentación que el mismo indicaba pudo racionalizarse en base a la estructura VII, confirmada por análisis del espectro de resonancia magnética nuclear y por comparación con una muestra de isodictamnina preparada a partir de dictamnina.



VII

2).- Alcaloides de Lupinus paniculatus Desr.

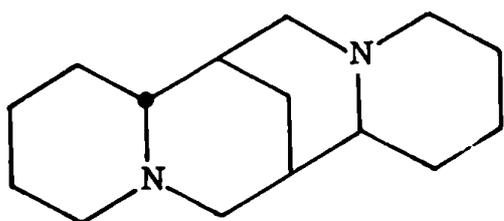
La segunda parte de este trabajo está dividida en dos capítulos. En el primero se exponen someramente las características configuracionales y conformacionales de los alcaloides quinolicídnicos y su relación con las bandas del espectro I.R. Este capítulo contiene también un resumen de sus propiedades espectroscópicas de resonancia magnética nuclear y de masa. Se presenta también una revisión de las nuevas bases quinolicídnicas aisladas entre la segunda mitad del año 1966 y agosto de 1970.

El segundo capítulo trata del aislamiento e identificación de dos alcaloides quinolicídnicos de la parte aérea del Lupinus paniculatus.

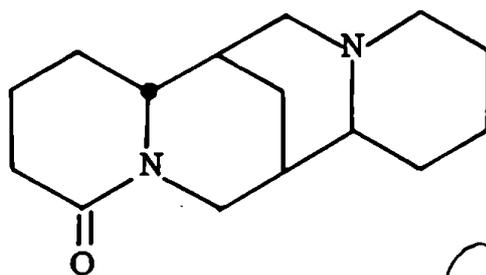
La planta seca y molida se extrajo sucesivamente con éter de petróleo y con metanol. De cada uno de estos extractos se aislaron fracciones básicas, que en conjunto constituyen un 0,8 % en peso sobre planta seca. Estos extractos no presentan variación respecto de la proporción de los alcaloides que contienen. Por cromatografía analítica en capa delgada se han detectado dos, uno de ellos se encuentra en un 99,88 % del total de las bases. La mayor parte de esta base se separó por arrastre con vapor, y por medio de sus espectros infrarrojo y de resonancia magnética nuclear, así como por preparación de derivados se lo identificó como esparteína (VIII).

El alcaloide secundario (0,12 % del total de bases), presenta en su espectro I.R. bandas a 2630 y 1630 cm^{-1} . Estas características, el análisis del espectro de masa del mismo, así como su p.f. (96-102, $^{\circ}$ solidifica y vuelve a fundir a 245-250 $^{\circ}$), llevaron a concluir que se trataba del dihidrato del monohidrato de lupanina. Esto se confirmó por síntesis del mismo a partir de lupanina.

El valor del poder rotatorio del mismo ($[\alpha]_{\text{D}} = +29^{\circ}$ en etanol), permitió establecer que en el Lupinus paniculatus existe una mezcla de (+) y (-) lupanina (IX), con preponderancia de la primera.



VIII



IX

BIBLIOGRAFIA

1. - R. Hegnauer, en Chemical Plant Taxonomy, pag 389 a 427, Ed. T. Swain, Academic Press Publ. Londres (1963)
2. - a) H. T. Openshaw, The Alkaloids, Ed. R. H. F. Manske, pag 69, tomo III, Academic Press Publ. New York, (1953).
b) H. Thoms, Ber. Deut. Pharm. Ges. 33, 68, (1923).
3. - S. R. Johns y J. A. Lamberton, Austr. J. Chem. 19, 1991, (1966).
4. - V. I. Frolova, A. I. Ban'kovskiy y M. B. Volynskaya, Med. Prom. SSSR N^o 7, 35, (1958). Chem. Abstr. 53, 11761 i (1959).
5. - V. I. Frolova y A. D. Kuzovkov, Zh. Obshch. Khim. 33, 121, (1963).
Chem. Abstr. 59, 683 a, (1963)
6. - S. R. Johns, J. A. Lamberton y A. A. Sioumis, Austr. J. Chem. 20, 1975 (1967).
7. - H. T. Openshaw, The Alkaloids, Ed. R. H. F. Manske, pag 252 y 253 tomo IX, Academic Press Publ. New York (1967).
8. - a) Z. Sh. Faizutdinova, I. A. Bessonova y S. Yu. Yunusov, Khim. Prir. Soedin. 3, 356 (1967) (Chem. Nat. Comp. 3, 302, (1967)).
b) Chem. Abstr. 68, 69160 y (1968), Chem. Abstr. 71, 3517 a (1969)
9. - G. P. Sidyakin, I. A. Bessonova y S. Yu. Yunusov, DAN UzSSR N^o 10 33, (1959), (8a).
10. - H. T. Openshaw, The Alkaloids, Ed. R. H. F. Manske, pag 255, tomo IX, Academic Press Publ. New York (1967).
11. - I. A. Bessonova y S. Yu. Yunusov, Khim. Prir. Soedin. 5, 29 (1969)
Chem. Abstr. 71, 3523 z, (1969).
12. - D. L. Dreyer, J. Org. Chem. 35, 2420 (1970)
13. - N. K. Hart y J. R. Price, Austr. J. Chem. 19, 2185 (1966)
14. - A. Rüegger y D. Stauffacher, Helv. Chim. Acta, 46, 2329 (1963).
15. - D. R. Boyd y M. F. Grundon, Tetrahedron Lett. 2637 (1967).
16. - R. M. Bowman y M. F. Grundon J. Chem. Soc. (C) 1504 (1966).
17. - J. Iriarte, F. A. Klinc, G. Rosenkranz y F. Sondheimer, J. Chem. Soc. 4163 (1956).

18. - T. P. Toubé, J. W. Murphy y A. D. Cross, Tetrahedron, 23, 2061 (1967).
19. - D. Lavié, N. Danieli, R. Weitman y E. Glotter, Tetrahedron, 24, 3011 (1968).
20. - Z. Sh. Faizutdinova, I. A. Bessonova y S. Yu. Yunusov, Khim. Prir. Soedin, 5, 455 (1969). Chem. Abstr. 72, 79267 k (1970).
21. - J. Reisch, K. Szendrei, I. Novák, E. Minker y V. Pápay, Tetrahedron Lett. (43), 3803 (1969).
22. - J. Reisch, K. Szendrei, V. Pápay, E. Minker y I. Novák, Tetrahedron Lett., 1945 (1970).
23. - J. Reisch, K. Szendrei, V. Pápay, I. Novák y E. Minker, Tetrahedron Lett. 3365 (1970).
24. - R. Tschesche y W. Werner, Tetrahedron, 23, 1873 (1967).
25. - R. Corral y O. O. Orazi, Tetrahedron Lett., 583 (1967).
26. - Z. Sh. Faizutdinova, I. A. Bessonova y S. Yu. Yunusov, Khim. Prir. Soedin, 3, 257 (1967). Chem. Nat. Comp. 3, 215 (1967).
27. - F. N. Lahey y M. Mc. Camish, Tetrahedron Lett. 1525 (1968).
28. - S. K. Talapatra, B. C. Maiti, B. Talapatra y B. C. Das, Tetrahedron Lett., 4789 (1969).
29. - C. Schöpf y K. Thierfelder, Ann. 518, 127 (1935).
30. - R. Robinson, The Structural Relations of Natural Products, pag 93 Clarendon Press, Oxford, (1955).
31. - A. Meister, Biochemistry of the amino acids, Vol II, Academic Press New York, (1965), pag 849.
32. - I. Monković, I. D. Spenser y A. O. Plunkett, Canad. J. Chem., 45, 1935 (1967).
33. - M. Matsuo, M. Yamazaki y Y. Kasida, Biochem. Biophys. Res. Commun. 23, 679 (1966).
34. - N. Nowanko y E. Leete, J. Amer. Chem. Soc., 84, 4919 (1962).
35. - M. Cobet y M. Luckner, European J. Biochem. 4, 76, (1968).
36. - E. Späth y J. Píkl, Ber. Deut. Chem. Ges., 62, 2244 (1929)
37. - D. Gröger, Lloydia, 32, 221 (1969).

38. - E. Wenkwert, Experientia, 15, 165 (1959).
39. - M. Luckner y C. Ritter, Tetrahedron Lett., 741 (1965).
40. - J.F. Collins y M.F. Grundon, Chem. Commun., 621, (1969).
41. - A.O. Colonna y E. G. Gros, Chem. Commun., 674, (1970).
42. - E. Staple, The Biosynthesis of Steroids, en Biogenesis of Natural Compounds, Ed. P. Bernfeld, Pergamon Press, New York, (1967), pag. 207.
43. - H.-G. Floss y U. Mothes, Phytochemistry, 5, 161 (1966).
44. - R. Aneja, S.K. Mukerjee y T.R. Seshadri, Tetrahedron, 4, 256, (1958).
45. - D.F. Theumann y J. Comin, An. Asoc. Quím. Argent., 55, 253 (1967)
46. - H. Pozzi, E. Sánchez y J. Comin, Tetrahedron, 23, 1129 (1967).
47. - D. Theumann y J. Comin, Phytochemistry, 8, 781 (1969).
48. - a) A.I. Scott, Interpretation of the Ultraviolet Spectra of Natural Products, pag 126, Pergamon Press Co. New York, (1964).
b) A. W. Sangster y K.L. Stuart, Chem. Rev., 65, 69 (1965).
49. - A.V. Robertson, Austr. J. Chem, 16, 451, (1963).
50. - F. Werny y P.J. Scheuer, Tetrahedron, 19, 1293 (1963).
51. - O.O. Orazi y R.A. Corral, An. Asoc. Quím. Argent. 51, 174 (1963)
52. - J.C. Vitagliano y J. Comin, An. Asoc. Quím. Argent. 58, 59 (1970).
53. - H. Honda, Arch. exptl. Path. Pharmacol., 52, 83 (1904). H.T. Openshaw en The Alkaloids, pag 69, vol III, Ed. R.H.F. Manse y H.L. Holmes, Academic Press Inc., New York, (1953).
54. - V. Deulofeu, R. Labriola y J. de Langhe, J. Amer. Chem. Soc., 64, 2326 (1942).
55. - H. Rapoport y K.G. Holden, J. Amer. Chem. Soc., 82, 4395 (1960).
56. - F.N. Lahey y M. McCamish, Tetrahedron Lett., 1525 (1968).
57. - R.A. Corral y O.O. Orazi, Tetrahedron Lett., 583 (1967).
58. - J.R. Price y J.B. Willis, Austr. J. Chem. 12, 589 (1959)
59. - T.J. Batterham y J.A. Lamberton, Austr. J. Chem. 18, 859 (1965).
60. - S. Goodwin, J.N. Shoolery y L.F. Johnson, J. Amer. Chem. Soc. 81, 3065 (1959).

- 61.- D.M. Clugston y D.B. MacLean, Canad. J. Chem., 43, 2516 (1965)
- 62.- H. Thies y F.W. Reuther, Naturwiss., 41, 230 (1954).
- 63.- J.C. Vitagliano y J. Comin, en prensa.
- 64.- F.A.L. Anet, P.T. Gilham, P. Gow, G.K. Hughes y E. Ritchie, Austr. J. Sci. Res., A5, 412 (1952).
- 65.- R. G. Cooke y F.F. Haynes, Austr. J. Chem., 7, 275 (1954).
- 66.-a) N. J. Leonard, Lupin Alkaloids, en The Alkaloids, Ed. R.H.F. Manske y H.L. Holmes, pag 119, vol.III, Academic Press, New York, (1953).
b) ibid. pag 253, vol.VII, (1960).
c) F. Bohlmann y D. Schumann, ibid. pag. 175, vol. IX (1967).
- 67.- R. C. Cookson, Chem.&Ind. (London), 337, (1953).
- 68.- S. Okuda, H. Kataoka y K. Tsuda, Chem. Pharm. Bull. (Tokio), 13, 491, (1965).
- 69.- S. Okuda, K. Tsuda y H. Kataoka, Chem. & Ind. (London), p.1115 y 1751 (1961).
- 70.- S. Goldberg y A.H. Lipkin, J. Org. Chem., 35, 242 (1970).
- 71.- N.K. Hart, S.R. Johns y J.A. Lamberton, Chem. Commun. 302, (1968).
- 72.- M.D. Vázquez, G. González, J. Calvino y I. Ribas, An. Real Soc. Espan. Fis. Quím. Ser.B. 62, 837 (1966).
- 73.- J.L. Castedo Espósito, Acta Cient. Compostelana 4, 65 (1967). Chem. Abstr. 72, 55723 e (1970)
- 74.- F. Bohlmann, Chem. Ber. 91, 2157 (1958).
- 75.- J. Skolik, P.J. Krueger y M. Wiewiórowski, Tetrahedron, 24, 5439, (1968).
- 76.- F. Bohlmann, D. Schumann y H. Schulz, Tetrahedron Lett., 173 (1965).
- 77.- F. Bohlmann y D. Schumann, Tetrahedron Lett., 2435 (1965).
- 78.- F. Bohlmann, D. Schumann y C. Arndt, Tetrahedron Lett., 2705 (1965).
- 79.- F. Bohlmann y D. Schumann, ibid. 66 c).
- 80.- M. Wiewiorowski, O.E. Edwards y M.D. Bratek-Wiewiorowska, Canad. J. Chem., 45, 1447 (1967).
- 81.- N. Neuer-Jehle, H. Nesvadba y G. Spitteller, Monatsh. Chem. 95, 687 (1964).

82. - D. Schumann, N. Neuer-Jehle y G. Spittler, Monatsh. Chem., 99, 390 (1968).
83. - H. R. Schütte, Arch. Pharm., 293, 1006 (1960).
84. - H. R. Schütte, H. Hindorf, K. Mothes y G. Hübner, Ann. Chem. 680, 93 (1964).
85. - H. R. Schütte, F. Bohlmann y W. Reusche, Arch. Pharm. 294, 610 (1961).
86. - H. R. Schütte y H. Hindorf, Ann. Chem. 685, 187 (1965).
87. - H. R. Schütte, J. Lehfeldt y H. Hindorf, Ann. Chem. 685, 194 (1965).
88. - H. R. Schütte, E. Nowacki, y Ch. Schäfer, Arch. Pharm. 295, 20 (1962).
89. - H. R. Schütte, H. Aslanow y Ch. Schäfer, Arch. Pharm. 295, 34 (1962).
90. - H. R. Schütte y J. Lehfeldt, Arch. Pharm., 298, 461 (1965).
91. - Kh. A. Aslanov, S. Z. Mukhamedzhanov, y A. S. Sadykov, Nauch. Tr. Tashkent Gos. Univ. 286, 71 (1966). Chem. Abstr. 67, 73730 f (1967).
92. - A. S. Sadykov, C. A. Aslanov, y Y. K. Kusmuradov, Abh. Deut. Akad. Wiss., Berlin, Kl. Chem. Geol. Biol. 3, 279 (1966).
93. - S. McLean, A. C. Harrison y D. G. Murray, Canad. J. Chem., 45, 751 (1967).
94. - F. Bohlmann y D. Schumann, Chem. Ber. 98, 3133 (1965).
95. - M. Carmack, S. Goldberg y E. W. Martin, J. Org. Chem. 32, 3045, (1967).
96. - A. H. Manchanda, J. Nabney y D. W. Young, J. Chem. Soc. 615, (1968).
97. - E. P. White, J. Chem. Soc. 5243, (1964).
98. - S. I. Goldberg y V. M. Baltes, J. Chem. Soc. 660 (1969).
99. - P. H. Ngok, N. Yu. Kusmuradov, A. Kh. Aslanov, A. S. Sadykov, S. Z. Ziyavitdinova, V. G. Zaikin y N. S. Vul'bson, Khim. Prir. Soedin. 6, 111 (1970). Chem. Abstr. 73, 35593 e (1970).
100. - N. M. Mollov y I. C. Ivanov, Tetrahedron, 26, 3805 (1970).
101. - F. Bohlmann, E. Winterfeldt y G. Boroschewski, Chem. Ber. 93, 1953 (1960).
102. - A. Burkart "Las leguminosas argentinas silvestres y cultivadas", pag. 316 Ed. Acme Agency, Buenos Aires 1952.

103. - J. A. Domínguez, "Contribuciones a la materia médica argentina"; pag. 199, Ed. Peuser, Buenos Aires, 1928.
104. - J. Stenhouse, Ann., 78, 1, (1851). (66 a).
105. - G. R. Clemo y R. Raper, J. Chem. Soc., 644 (1933).
- 106.a) - L. J. Bellamy, "The Infrared Spectra of Complex Molecules", pag. 214, Ed. John Wiley & Sons, Inc. New York, 1958.
- b) - ibid, pag 260.
107. - J. F. Couch, J. Amer. Chem. Soc., 58, 1296 (1936); 59, 1469 (1937).
108. - F. Galinovsky y G. Kainz, Monatsh. Chem., 82, 926 (1951).
109. - K. H. Palmer, Tesis, París (1956).
110. - J. F. Couch, J. Amer. Chem. Soc., 54, 1691 (1932).
111. - E. Späth y F. Kuffner, Ber. 64, 1127 (1931).
112. - N. Clauson-Kaas y F. Limborg, Acta Chem. Scand., 1, 884 (1947).
113. - M. Wiewiorowski, A. B. Legocki y M. D. Bratek-Wiewiorowska, Bull. Acad. Pol. Sci. ser. Chim., vol. XV, 385 (1967).
114. - C. Schöpf y W. Braun, Ann., 465, 138 (1928).
115. - P. Baranowski, M. Wiewiorowski y L. Lompa-Krzymien, Roczniki Chim. 40, 81 (1966). Chem. Abstr. 65, 2320 g (1966).