

chromatograph. A 3 meter x 0.32-cm stainless steel column packed with 3% Carbowax 20M on 80/100 Chromasorb G was used for the gas chromatographic analysis. All mass spectra were taken at 70 eV. The GC/MS system employed a Dupont 21-094B data acquisition system.

ACKNOWLEDGEMENTS

We wish to thank Dr. Walter Renold and Dr. Bruno Willhalm and their staffs at Firmenich, S.A., Geneva, Switzerland, for their assistance in interpreting many of the mass spectra. Also the assistance of Dr. Richard Caprioli, Analytical Center, The University of Texas Health Center, Houston, is gratefully acknowledged. Drs. Juan Hunziker, John Bacon and Dan DiFeo assisted in collecting plant material. The senior author expresses his gratitude to Mr. S.J. Martin and GEOCHEM RESEARCH, INC., for their moral support and encouragement during completion of this work. Finally, we thank the Robert A. Welch Foundation (Grant F-130), the National Science Foundation

(Grant DEB 76-09320) and the Potts-Sibley Foundation for financial support.

REFERENCES

1. Mabry, T.J., J.H. Hunziker and D.R. DiFeo, Jr., (eds.). *Creosote Bush: Biology and Chemistry of Larrea in New World Deserts*. US/IBP Series, Vol. 6, Dowden, Hutchinson and Ross, Stroudsburg, Pa. (1977).
2. Waller, C.W. and O. Gisvold. *J. Am. Pharm. Assoc.* 34, 78 (1945).
3. Bohnstedt, Jr., C.F. Phytochemical investigations of the genus *Larrea* (Zygophyllaceae) emphasizing volatile constituents and saponins, Ph. D. dissertation, Univ. of Texas at Austin, 1977.
4. von Rudloff, E. Scope and limitations of gas chromatography of terpenes in chemosystematics studies. In *Recent Advances in Phytochemistry*, Vol. 2, M.K. Seikel, V.C. Runeckles, Eds. New York. Appleton-Century-Crofts, pp. 127-162 (1969).

METABOLITOS SECUNDARIOS DE *BERBERIS BUXIFOLIA*

V. Fajardo

Departamento de Química, Petróleo y Petroquímica,
Universidad Técnica del Estado, Punta Arenas

y

A. Urzúa, R. Torres y B.K. Cassels

Departamento de Química, Facultad de Ciencia,
Universidad Técnica del Estado, Santiago de Chile.

Recibido, 10 Enero, 1979

ABSTRACT. *Berberis buxifolia* Lam. (common name "calafate") is known as a source of berberine. Upon restudying the stem bark and roots of this plant, the presence of berberine was confirmed, and the pavin alkaloids (—)-argemonine and (—)-norargemonine, an incompletely characterized bisbenzyl-isoquinoline, and the lignan syringaresinol were isolated. This is the first report on the isolation of pavin alkaloids and a lignan from a *Berberis* species.

El género *Berberis* consta de unas quinientas especies¹, de las cuales aproximadamente cuarenta han sido estudiadas en cuanto a su contenido de alcaloides^{2,3} y muy excepcionalmente otros metabolitos⁴. Estos trabajos, a veces muy superficiales, han conducido habitualmente al aislamiento de berberina (I). En aquellos casos en los cuales se ha profundizado el estudio de una especie, se ha descrito el aislamiento de otros alcaloides pertenecientes a diversos grupos derivados biogenéticamente de las benciltetrahydro-isoquinolinas.

Una especie común en el sur de Chile y Ar-

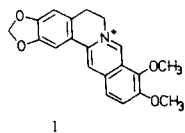
gentina, muy conocida por sus frutos comestibles, es *Berberis buxifolia* Lam. (nombres vulgares: "calafate", "michay", "palo amarillo"), cuyas raíces y tallos se han utilizado para teñir lana, y cuyas hojas y frutos se emplean en la medicina popular como febrífugos y tónicos⁵. Estudios antiguos indicaron la presencia de berberina en las raíces⁶ y en las cortezas de raíz y tallo⁵, así como de alcaloides no identificados en las hojas⁷.

En el presente trabajo se informa sobre algunos resultados obtenidos al reexaminar la corteza de tallo y las raíces de *Berberis buxifolia* recolectada en Punta Arenas, sobre el Estrecho

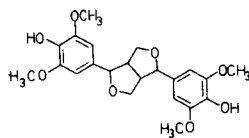
de Magallanes. Fue posible confirmar por aislamiento y estudios espectrométricos la presencia de berberina, cuya identificación en los trabajos anteriores^{5, 6, 7} merecía algunas dudas. De la corteza del tallo se aisló, además, el lignano siringarresinol (II), el alcaloide pavínico (-)-norargemonina (III), y un alcaloide bisbencilisoquinolínico nuevo, sólo parcialmente caracterizado, designado con la sigla C-04. De las raíces se pudo aislar (-)-norargemonina, (-)-argemonina (IV), y C-04.

Los extractos metanólicos de los diferentes órganos fueron separados en fracciones de acuerdo con su distribución entre cloroformo y HCl 5% acuoso, NH₄OH, ó NaOH 2% acuoso, destacándose el hecho que este fraccionamiento no permitió una separación neta de sustancias básicas y no básicas, fenólicas y no fenólicas. Parece claro que todos los alcaloides encontrados se extraen eficazmente como pares iónicos con Cl⁻, mientras que la solubilidad del siringarresinol en agua ácida es también apreciable. Por otra parte, el hallazgo de la norargemonina en fracciones que deberían corresponder a compuestos fenólicos y no fenólicos indica que esta base sólo se encuentra parcialmente ionizada en solución acuosa a pH 13, o bien que su anión se extrae como par, probablemente con berberina.

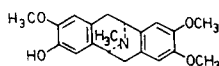
Esta es la primera vez que se informa sobre la presencia de un lignano y de alcaloides pavínicos en el género *Berberis*. En la familia de las berberidáceas es característica la presencia de lignanos de un tipo estructural diferente en los géneros *Podophyllum* y *Diphylleia*⁴, y más recientemente se ha encontrado (—)-episiringarresinol en *Nandina domestica*.⁸ La única referencia a un alcaloide pavínico en una berberidácea es un tra-



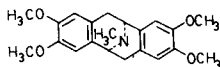
I



II



III



IV

bajo que informa sobre el aislamiento de argemonina de *Leontice smirnowii*.⁹

PARTE EXPERIMENTAL

Material vegetal y métodos

La corteza de tallos de *Berberis buxifolia* fue recolectada en la ciudad de Punta Arenas en otoño y primavera de 1975, y las raíces en los otoños de 1976 y 1977. La identificación fue realizada por el Sr. Edmundo Pisano (Instituto de la Patagonia).

Los puntos de fusión fueron determinados en un aparato de Kofler y no están corregidos. Los espectros de RMN fueron registrados a 60 MHz usando TMS como referencia interna. Los espectros de UV se registraron para soluciones en MeOH. Los espectros de IR se registraron usando suspensiones en vaselina medicinal y pastillas de KBr.

Los espectros de masas fueron registrados con fragmentación inducida por impacto electrónico a 70 eV.

Para la cromatografía en capa fina se utilizaron los siguientes sistemas: CHCl₃-MeOH (9:1) (sistema A), CHCl₃-AcOEt-MeOH (4:4:2) (sistema B), C₆H₆-AcMe-NH₄OH (10:16:1) (sistema C), en capas de gel de sílice PF₂₅₄, HF₂₅₄, ó G₂₅₄. Para la cromatografía en papel se utilizó el sistema AcOEt-piridina-agua (10:4:3) en papel Whatman No. 1. Para la cromatografía en columna se utilizó gel de sílice y alúmina, eluyendo con CHCl₃ y mezclas de CHCl₃-MeOH.

Extracción y fraccionamiento de componentes de corteza.

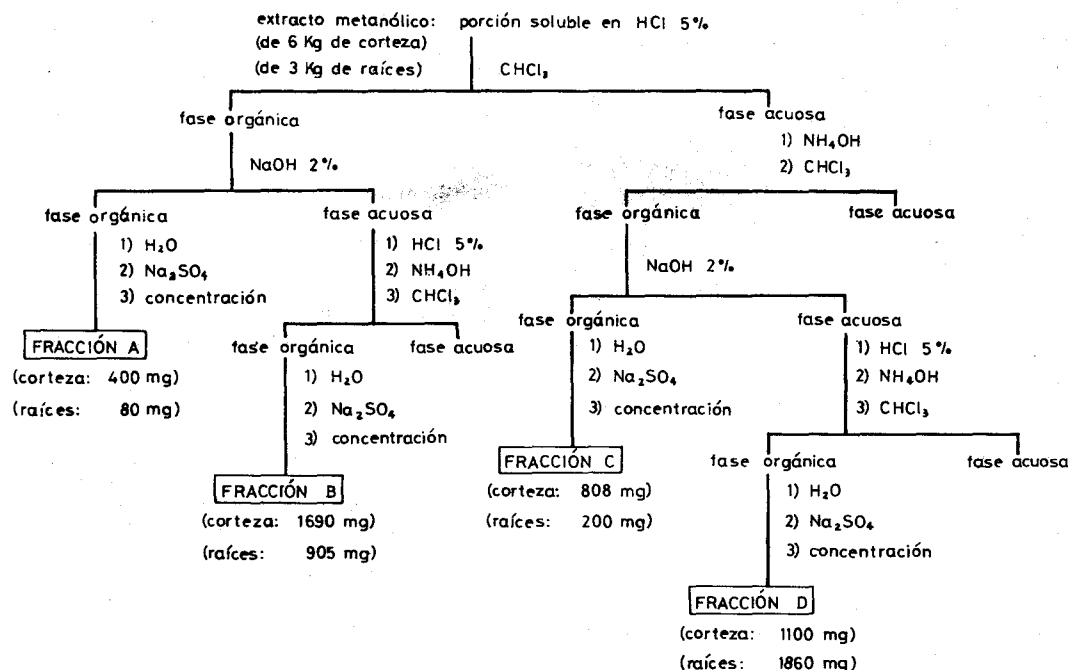
Una muestra de 6.0 Kg de corteza de tallos de calafate (secada al aire y molida) se extrajo en un extractor sólido-líquido con petróleo liviano (60-70°) hasta reacción de Dragendorff negativa. Se evaporó el solvente, y el residuo se distribuyó entre CHCl₃ y HCl 5%. La solución acuosa ácida se alcalinizó con NH₄OH y se extrajo con CHCl₃. El extracto cloroformico se lavó con agua, se secó con Na₂SO₄, y se evaporó el solvente obteniéndose un residuo de alcaloides crudos que pesó 403 mg del cual se pudo separar por CCP (sistemas A y C) 104 mg del alcaloide C-04, observando la presencia de otras tres bases no aisladas.

El polvo agotado, una vez seco, se reextrajo con MeOH hasta reacción de Mayer negativa. La solución metanólica se concentró hasta sequedad y el residuo se trató con HCl 5%, y la solución ácida se filtró y se extrajo con CHCl₃. El extracto se trató con HCl 5%, y la solución ácida se extrajo nuevamente con CHCl₃ hasta reacción de Dragendorff negativa en el último extracto, se lavó el extracto cloroformico con NaOH 2% varias veces, y después con agua, se secó y se eliminó el solvente, obteniéndose un residuo que pesó 400 mg (fracción A). Por CCP de este material usando el sistema A se aislaron 40 mg de (—)-norargemonina.

El extracto alcalino se neutralizó con HCl 5% y luego se basificó con NH₄OH y se extrajo con CHCl₃. La solución cloroformica se lavó con agua, se secó y se evaporó el solvente, obteniéndose 1.69 g de residuo (fracción B). Este material se sometió a una cromatografía en columna húmeda de alúmina eluyendo con CHCl₃ y con mezclas de polaridad creciente de CHCl₃ y con mezclas de polaridad creciente de CHCl₃-MeOH. Las primeras fracciones obtenidas fueron recromatografiadas en gel de sílice con los mismos eluyentes, obteniéndose siringarresinol y (—)-norargemonina que fueron purificados por CCP usando el sistema A, pesando 253 mg y 51 mg, respectivamente.

La solución ácida agotada con CHCl₃ se alcalinizó con NH₄OH y se extrajo nuevamente con CHCl₃. La fase orgánica se extrajo con NaOH 2%, se lavó con agua, se secó y se concentró a sequedad,

ESQUEMA 1



obteniéndose un residuo que pesó 808 mg (fracción C). Este material se cromatógrafió en columna húmeda de alúmina usando los eluyentes ya citados, separándose (—)-norargemonina, C-04, y restos de berberina.

El extracto acuoso alcalino se neutralizó con HCl 5%, se basificó con NH₄OH, y se extrajo con CHCl₃. Este extracto orgánico se lavó con agua, se secó y se concentró a sequedad, obteniéndose un residuo que pesó 1.1 g (fracción D). Esta última fracción fue cromatógrafiada en columna seca de gel de sílice, eluyendo con CHCl₃ y CHCl₃-MeOH, separándose nuevamente siringarresinol y (—)-norargemonina.

Extracción y fraccionamiento de alcaloides de raíz.

3.0 Kg de material vegetal (secado al aire y molido) se extrajo con petróleo liviano (60-70°). El polvo agotado, una vez seco, se reextrajo con MeOH, y el extracto metanólico intensamente amarillo fue concentrado hasta un volumen de aproximadamente 200 ml al que se agregó NaI 50% para precipitar la berberina como yoduro, que pesó 20 g. Las aguas madres fueron concentradas casi a sequedad, para luego continuar con el fraccionamiento de la misma manera que con los componentes de la corteza. Los resultados se resumen en los esquemas 1 y 2.

Siringarresinol. Recristalizado de C₂H₆ en forma de agujas, fundió a 168-170° (lit. 170-172°)¹⁰, Rf 0.74 en sistema A. No fue posible medir valores significativos de rotación óptica siquiera en el UV cercano. $\lambda_{\text{máx}}^{\text{MeOH}}$ (log ϵ) 238 nm (4.37), 272 (4.43), 282 inflexión (4.35), δ_{CDCl_3} 3.03 ppm m (2H, unión de anillos furánicos), 3.85 s (12H, OCH₃), 3.75-4.20 m (4H, OCH₂), 4.65 d J = 4.8 Hz (2H, Ar-CH-O), 5.50 s ancho, desaparece por intercambio con D₂O (2H, OH), 6.56 s (4H, Ar-H), M⁺ 418.1654 (100%), calculado para C₂₂H₂₄O₈ 418.1609, 182.0560 (48%), calculado para C₉H₁₀O₄ 182.0579, 181.0490 (86%), calculado para C₉H₈O₄ 181.0501, 167.0787 (71%), calculado para C₉H₁₁O₃ 167.0708.

ESQUEMA 2

Compuestos obtenidos de distintas partes de *Berberis buxifolia*

FRACCIÓN	ORGANO	COMPUESTOS	CANTIDAD
A	corteza	(—)-norargemonina	40 mg
	raíces	(—)-argemonina (—)-norargemonina C-04	29 mg 61 mg 125 mg
B	corteza	(—)-norargemonina siringarresinol	51 mg 253 mg
	raíces	(—)-norargemonina	19 mg
C	corteza	(—)-norargemonina C-04 berberina	30 mg 19 mg 10 mg
	raíces	(—)-norargemonina C-04	15 mg 161 mg
D	corteza	(—)-norargemonina siringarresinol	69 mg 21 mg
	raíces	(—)-norargemonina	20 mg

Diacetato de siringarresinol. 27 mg de siringarresinol se disolvieron en 0.5 ml de piridina, se añadió 0.5 ml de anhídrido acético, y se dejó en reposo a temperatura ambiente durante 24 hr. Se agregaron 3 ml. de EtOH y se concentró a sequedad, repitiendo estas operaciones hasta eliminación del olor a piridina. Se obtuvieron 25 mg de producto, cristalizado de MeOH, pf 175° (lit. 179-180°)¹⁰, δ CDCl₃ 2.16 ppm s (6H COCH₃), 3.03 m (2H, unión de anillos furánicos), 3.82 s (12H, OCH₃), 3.75-4.24 m (4H, OCH₂), 4.65 d J = 4.8 Hz (2H, Ar-CH-O), 6.58 s (4H, Ar-H).

(-)-*Norargemonina.* Recristalizada de C₆H₆-CHCl₃ (1:1) en forma de agujas, fundió a 242-244° (lit. 239-242°)¹¹, Rf 0.56 en sistema

A, $[\alpha]_D^{20}$ -154 ± 4° (CHCl₃) (lit. -154°)¹¹, $\lambda_{\text{máx}}^{\text{MeOH}}$ (log ϵ) 288 nm (4.45), δ CDCl₃ 2.52 ppm s (3H, NCH₃), 2.4-4.5 m (6H, anillos saturados), 3.80 s (6H, OCH₃), 3.82 s (3H, OCH₃), 6.60 s (1H, Ar-H), 6.61 s (1H, Ar-H), 6.42 s (2H, Ar-H), M⁺ 341.1633 (33%), calculado para C₂₀H₂₂NO₂, 341.1595, 204.1032 (100%), calculado para C₁₂H₁₄NO₂, 204.0923, 190.0877 (78%), calculado para C₁₁H₁₂NO₂, 190.0837. Su espectro de IR resultó idéntico al de una muestra patrón de (-)-norargemonina.

(-)-*Argemonina.* Cristalizada de MeOH, fundió a 152-154° (lit. 152.5-153°), 12 Rf 0.64 en sistema A, $[\alpha]_D$ -202° (CHCl₃) (lit. -

188°)¹², δ CDCl₃ 2.53 ppm s (3H, NCH₃), 2.62 d J = 17 Hz (2H, Ar-CH₂a), 3.42 dd J = 17 Hz, J' = 6 Hz (2H, Ar-CH₂e), 3.80 s (6H, OCH₃), 3.88 s (6H, OCH₃), 4.08 d J' = 6 Hz (Ar-CH-N), 6.42 s (2H, Ar-H), 6.60 s (2H, Ar-H). Su espectro de IR resultó idéntico al de una muestra preparada por metilación de (-)-norargemonina con CH₃N₂.

C-04. Cristalizado de C₆H₆-ciclohexano, fundió a 135-137°, Rf

0.85 en papel, 0.37 en sistema A, $[\alpha]_D$ +280° (CHCl₃), $\lambda_{\text{máx}}^{\text{MeOH}}$ (log ϵ) 281 nm (3.82), $\lambda_{\text{mín}}^{\text{MeOH}}$ (log ϵ) 258 (3.32), sin cambio al agregar NaOH 5%, δ CDCl₃ 2.331 ppm s (3H, NCH₃), 2.55 s (3H, NCH₃), 3.27 s (3H, OCH₃), 3.65 s (3H, OCH₃), 3.71 s (3H, OCH₃), 3.72 s (3H, OCH₃), 3.82 s (3H, OCH₃), 5.38 s (1H, Ar-H), sistema complejo de señales entre 5.86-7.10 (8H, Ar-H), M⁺ 652 correspondiente a C₂₀H₂₂N₂O₂, otros picos intensos a m/e 396 y 198.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo se efectuó con el apoyo de la DICyT (UTE) y del FEMCIECC (OEA). Los autores le agradecen al Dr. Gert Eckhardt el registro de los espectros de masas, al Sr. Sergio Alegría el de los de RMP, y al Prof. F.R. Stermitz el envío de una muestra de (-)-norargemonina. Uno de los autores (V.F.) agradece una beca interna de la UTE.

BIBLIOGRAFIA

1. G. Buchheim, en H. Melchior (ed.), A. Engler's Syllabus der Pflanzenfamilien, 12^a ed., vol. 2, 131-147, Borntraeger, Berlin, 1964.
2. J.J. Willaman y H.-L. Li, Llyodia, 33, Suppl. 3A, 58-60 (1970); H.-G. Boit, Ergebnisse der Alkaloid-Chemie bis 1960, Akademie-Verlag, Berlin, 1961.
3. M. Shamma, J.L. Moniot, S.Y. Yao, G.A. Miana y M. Ikram, J. Am. Chem. Soc., 94, 1381-1382 (1972); M. Shamma, J.E. Foy y G.A. Miana, J. Am. Chem. Soc., 96, 7809-7810 (1974); B. Bráz-dovičová, D. Košťálová, J. Slavík y J. Tomko, Chem. Zvesti, 29, 265-268 (1975); M. Ikram y F. Khan, Planta Med., 32, 212-213 (1977); A. Karimov, M.V. Telezhenetskaya, K.L. Lutfullin y S. Yu. Yunusov, Khim. Prir. Soedin., 1977, 80-83; A. Karimov, M.V. Telezhenetskaya, K.L. Lutfullin y S. Yu. Yunusov, Khim. Period. Soedin., 1978, 419.
4. R. Hegnauer, Chemotaxonomie der Pflanzen, vol. 3, 240-255, Birkhäuser, Basel, 1964.
5. L. Iturra, Tesis de Químico-Farmacéutico, Universidad de Concepción (Chile), 1924.
6. P.N. Arata, Anales Soc. Científica Argentina, 7, 97-99 (1979).
7. G. Sepúlveda, Tesis de Químico-Farmacéutico, Universidad de Concepción (Chile), 1947.
8. Kunitomo, M. Ju-Ichi, Y. Ando, Y. Yoshikawa, S. Nakamura y T. Shingu, Yakugaku Zasshi, 95, 445-447 (1975).
9. E.G. Tkeshalashvili y K.S. Mudzhiri, Khim. Prirod. Soedin., 1975, 807-808 (citado en Chem. Abstr., 84, 102357).
10. E.E. Dickey, J. Org. Chem., 23, 179-184 (1958).
11. F.R. Stermitz y J.N. Seiber, Tetrahedron Lett., 1966, 1177-1180.
12. F.R. Stermitz y K.D. McMurtrey, J. Org. Chem. 34, 555-559 (1969).

DIVERSIFOLINA, UN NUEVO HELIANGOLIDO HEMICETALICO DE *TITHONIA DIVERSIFOLIA* (HEMSL.) GRAY.

José F. Ciccio, Victor H. Castro y José G. Calzada.

Escuela de Química, Universidad de Costa Rica,
San José, Costa Rica

Recibido, Mayo 15, de 1979

Key Word Index. *Tithonia diversifolia*, Compositae, new sesquiterpene lactone, diversifoline.

En un trabajo anterior se informó del aislamiento de tirotundina a partir de las hojas de *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) Gray¹. En esa oca-

sión, se extrajeron las hojas según el método empleado por Herz y Högenauer². Del extracto, una vez purificado, cristalizó tirotundina (1) de una mezcla de hexano y acetato de etilo. Un estudio exhaustivo del líquido madre mostró la presencia de otro componente minoritario. El líquido se llevó a sequedad y se purificó por cromatografía