

UNIV
fac.
Biotecnia

alcaloides de *laurelia sempervirens* y *l. philippiana**

A. Urzúa, B.K. Cassels,** J. Comin y E. Sánchez***

RESUMEN: De las cortezas de tronco de *Laurelia sempervirens* (R. et Pav.) Tul. y de *Laurelia philippiana* Looser fueron aislados e identificados los siguientes alcaloides: liriodenina (I), oxonantenina (II), N-nornantenina (III), aterolina (IV), y laurotanina (V). De la especie mencionada en primer lugar también fue aislado e identificado el E-3-(3,4-metilendioxfenil)-2-propen-1-ol (VI). Ambas especies contienen bases menores que se encuentran en estudio.

SUMMARY: From the stem barks of *Laurelia sempervirens* (R. et Pav.) Tul. and *Laurelia philippiana* Looser the following alkaloids were isolated and identified: liriodenine (I), oxonantenine (II), N-nornantenine (III), atheroline (IV), and laurotanine (V). The first-named species also yielded E-3-(3,4-methylenedioxyphenyl)-2-propen-1-ol (VI), which was isolated and identified. Both species contain minor bases which are currently being studied.

* Trabajo publicado en forma resumida en Anales Asoc. Quím. Argent., **63**, 259-264 (1975).

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

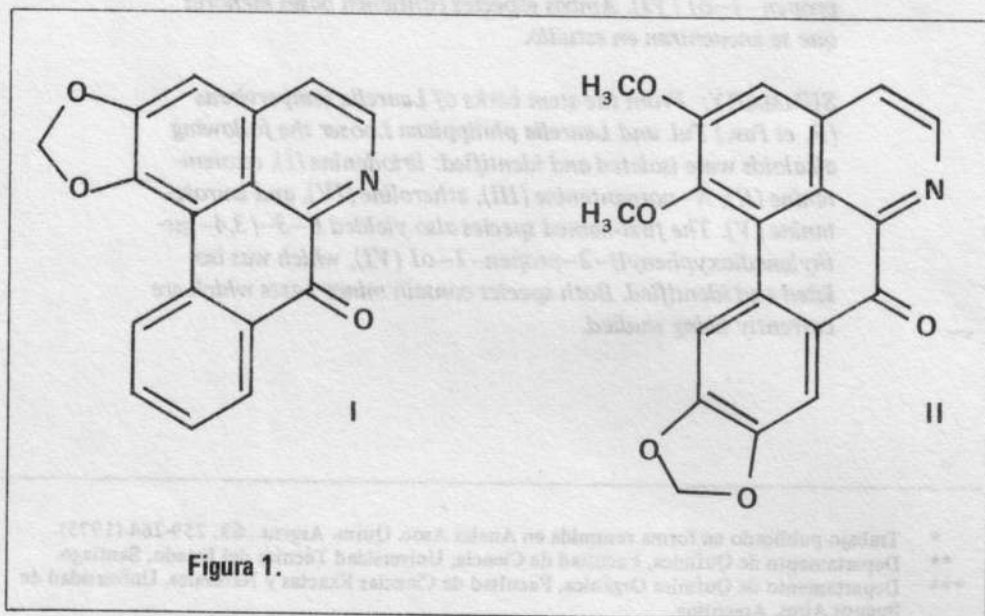
*** Departamento de Química Orgánica, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires, Argentina.

La *Laurelia sempervirens* (R. et Pav.) Tul. ("laurel") y la *L. philippiana* Looser ("tepa", "huahuán") son árboles pertenecientes a la familia de las monimiáceas, que crecen únicamente en la zona sur de Chile y Argentina ¹⁻³. Estas dos especies sudamericanas junto con *L. novae-zelandiae* A. Cunn., que crece en Nueva Zelandia, constituyen el género *Laurelia*, que, con los géneros *Daphnandra* y *Nemuaron* forman la tribu Laureliae, subfamilia Atherospermoideae⁴.

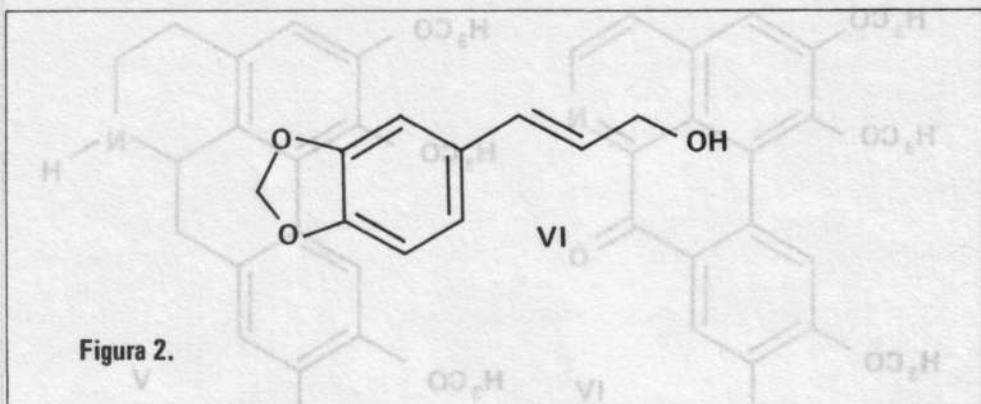
Se han llevado a cabo estudios químicos sobre varias especies de esta tribu, habiéndose aislado alcaloides de diversos tipos. De algunas especies de *Daphnandra* se obtuvieron alcaloides biscoclaurínicos de los tipos de la oxiacantina, ^{5, 6, 8, 9} berbamina, ^{8, 10, 11} y trilobina ^{7-9, 11}. De *Nemuaron vieillardii* Baill fueron aislados alcaloides aporfínicos, oxoaporfínicos y proaporfínicos ¹², y un nuevo tipo de alcaloide biscoclaurínico con una unión éter entre las posiciones 5 y 6' ^{12, 13}. De hojas de *Laurelia sempervirens* se aisló el alcaloide biscoclaurínico isotetrandrina ¹⁴, y de *L. novae-zelandiae* varios alcaloides aporfínicos, ^{15, 16} y uno proaporfínico ¹⁵. El presente trabajo describe el estudio químico de las cortezas de tronco de ambas especies sudamericanas de *Laurelia*.

El extracto metanólico de corteza de *L. sempervirens* previamente tratada con éter de petróleo, fue fraccionado en componentes no básicos (CN), componentes básicos no fenólicos (CBNF) y componentes básicos fenólicos (CBF). Para ello, el residuo del extracto metanólico se extrajo con una solución acuosa diluida de ácido tartárico, la cual se extrajo luego con cloroformo. Por evaporación del solvente orgánico se obtuvo la fracción CN. La solución acuosa ácida resultante se alcalinizó con hidróxido de amonio concentrado, y se extrajo con cloroformo. La fase orgánica se extrajo con solución acuosa diluida de hidróxido de sodio, y se evaporó el solvente dando lugar a la fracción CBNF. Por último, la solución acuosa básica se acidificó con ácido clorhídrico diluido, se alcalinizó con hidróxido de amonio concentrado, y se extrajo con cloroformo. De esta última fase orgánica se obtuvo, por evaporación del solvente, la fracción CBF.

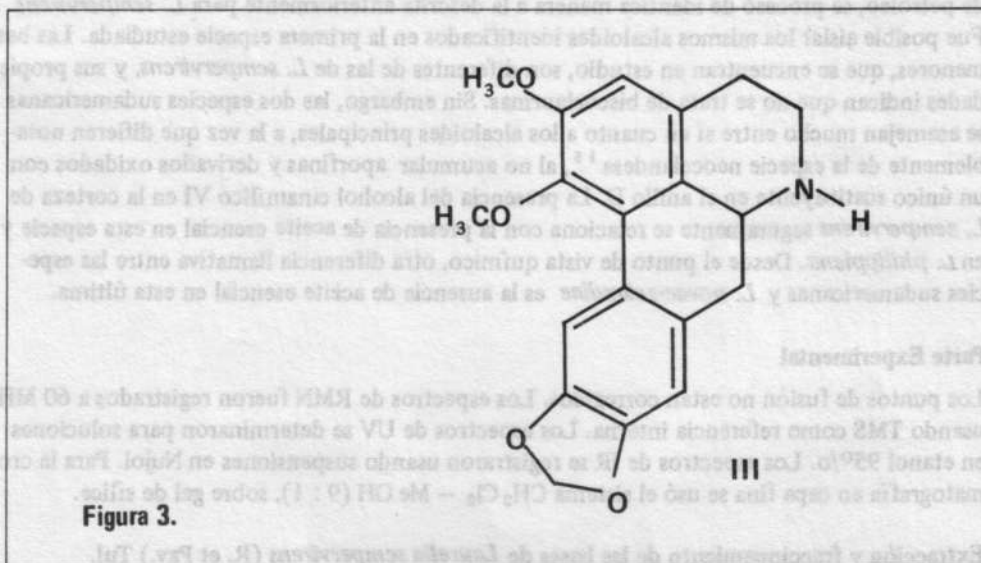
La fracción CN, tratada con cloroformo, dio un sólido amarillo de pf 278–281° (d), que se identificó como liriodenina (I) de acuerdo con sus propiedades espectroscópicas ¹⁷. Su identidad fue confirmada por comparación con una muestra auténtica. De las aguas madres se obtuvo otro producto cristalino amarillo que, recristalizado de cloroformo, fundió a 215–220° (d) y fue identificado como oxonantenina (II) de acuerdo con sus propiedades espectroscópicas, coincidentes con los valores publicados para este compuesto ¹⁸.



El residuo resultante de la cristalización de liriodenina y de oxonantenina se cromatografió sobre gel de sílice, aislándose un sólido blanco no alcaloídico de pf 78–79°. Este compuesto fue identificado como E-3-(3,4-metilendioxfenil)-2-propen-1-ol (VI) sobre la base de sus propiedades espectroscópicas. Dicha estructura, encontrada por primera vez en un producto natural, fue confirmada por comparación directa con una muestra preparada por reducción con LiAlH_4 de E-3-(3,4-metilendioxfenil)-propenoato de etilo ²¹.



La fracción CBNF se cromatografió sobre gel de sílice, aislándose un sólido amorfo que por tratamiento con anhídrido acético en piridina dio un derivado cristalino. Las propiedades espectroscópicas de ambos compuestos indicaron que se trataba de N-nornantenina (III) y su N-acetilderivado. Esta última estructura fue confirmada por comparación directa con una muestra de N-acetilnornantenina.



De la misma fracción CBNF se separaron otros dos cortes cromatográficos aparentemente homogéneos por cromatografía en capa fina. Los espectros de RMN y de masas de estos materiales indican que son mezclas de alcaloides biscoclaurínicos relacionados con la isotetrandrina, aislada con anterioridad de las hojas de *L. sempervirens* ¹⁴. Actualmente se continúa con el estudio de estas mezclas.

La fracción CBF se sometió a cromatografía sobre gel de sílice, aislándose de la misma dos alcaloides más. Uno de ellos fue identificado como aterolina (IV), sobre la base de las propiedades espectroscópicas de su O-acetilderivado, y se completó la identificación comparando el espectro de IR de este último compuesto con el de una muestra auténtica. El alcaloide

restante, amorfo, fue transformado en un *N*-acetilderivado de pf 138–140°. Los espectros de la base y de su derivado acetilado indicaron que se trataría de laurotetanina (V), suposición que fue confirmada por comparación directa con una muestra de referencia de *N*-acetil-laurotetanina.

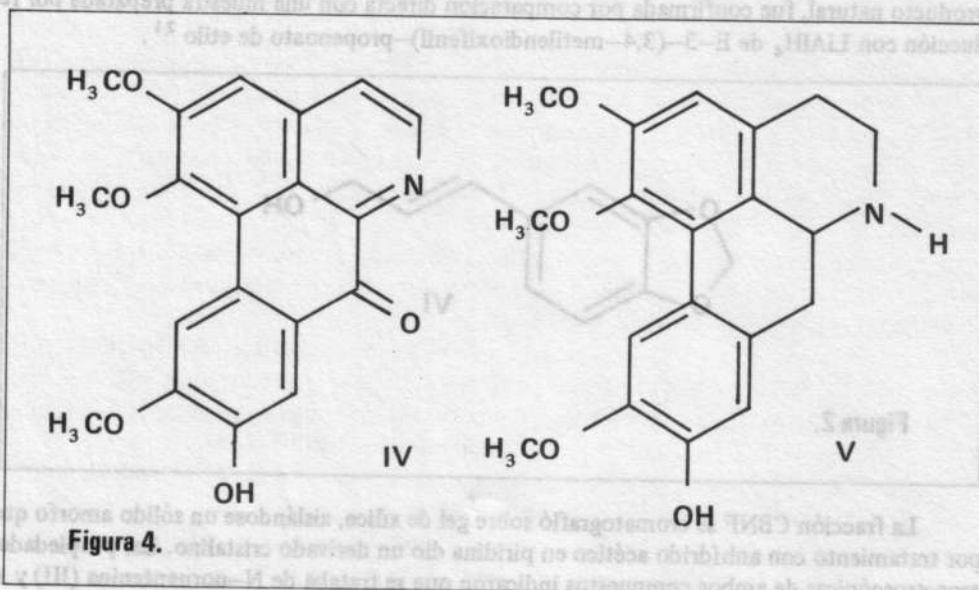


Figura 4.

El extracto metanólico de corteza de *Laurelia philippiana* previamente agotada con éter de petróleo, se procesó de idéntica manera a la descrita anteriormente para *L. sempervirens*. Fue posible aislar los mismos alcaloides identificados en la primera especie estudiada. Las bases menores, que se encuentran en estudio, son diferentes de las de *L. sempervirens*, y sus propiedades indican que no se trata de biscoclaurinas. Sin embargo, las dos especies sudamericanas se asemejan mucho entre sí en cuanto a los alcaloides principales, a la vez que difieren notablemente de la especie neocelandesa¹⁵, al no acumular aporfina y derivados oxidados con un único sustituyente en el anillo D. La presencia del alcohol cinámico VI en la corteza de *L. sempervirens* seguramente se relaciona con la presencia de aceite esencial en esta especie y en *L. philippiana*. Desde el punto de vista químico, otra diferencia llamativa entre las especies sudamericanas y *L. novae-zelandiae* es la ausencia de aceite esencial en esta última.

Parte Experimental

Los puntos de fusión no están corregidos. Los espectros de RMN fueron registrados a 60 MHz usando TMS como referencia interna. Los espectros de UV se determinaron para soluciones en etanol 95%. Los espectros de IR se registraron usando suspensiones en Nujol. Para la cromatografía en capa fina se usó el sistema CH₂Cl₂ – Me OH (9 : 1), sobre gel de sílice.

Extracción y fraccionamiento de las bases de *Laurelia sempervirens* (R. et Pav.) Tul.

Una muestra de 2,6 Kg de corteza de *L. sempervirens*, recolectada en 1972 en la provincia de Valdivia, secada y molida, se extrajo en un soxhlet con éter de petróleo liviano (60–70°) hasta residuo negativo. El polvo así agotado se extrajo a continuación con metanol hasta reacción de Dragendorff negativa. La solución metanólica se concentró a sequedad y el residuo se trató con ácido tartárico 3%, y la solución ácida se extrajo con CHCl₃. El extracto clorofórmico se lavó con una solución de NaOH 1% y con agua, se secó con Na₂SO₄ anhidro, y se evaporó el solvente, obteniéndose 3,9 g de un aceite viscoso (fracción CN) que, por adición de una pequeña cantidad de CHCl₃, cristalizó. Por filtración se separaron 440 mg de un sólido amarillo identificado como lirioidenina (I). El filtrado se trató con HCl 1 N, separándose la fa-

se orgánica. En la fase acuosa se formó un precipitado granate que se filtró, se disolvió en agua, se alcalinizó con NH_4OH concentrado, y se extrajo con CHCl_3 . La evaporación del solvente dio 190 mg de un sólido que fue identificado como oxonantenina (II). La fase clorofórmica se concentró a sequedad y se cromatógrafió en columna de gel de sílice, eluyendo con CH_2Cl_2 y recogiendo fracciones de 20 ml. Al concentrar la tercera fracción, se obtuvo un residuo parcialmente cristalino que por tratamiento con ciclohexano dio 55 mg de un sólido no alcaloidal que fue identificado como E-3-(3,4-metilendiofenil)-2-propen-1-ol (VI).

La solución ácida agotada con CHCl_3 se alcalinizó con NH_4OH concentrado y se extrajo nuevamente con CHCl_3 . La fase orgánica se extrajo con NaOH 10%, se lavó con agua, se secó con Na_2SO_4 , y se concentró a sequedad, obteniéndose 9 g de una espuma (fracción CBNF). Un gramo de esta mezcla se cromatógrafió sobre gel de sílice (en columna) eluyendo con CH_2Cl_2 y mezclas de polaridad creciente de CH_2Cl_2 - MeOH. El eluido se analizó por CCF, separándose tres fracciones: 110 mg de un sólido amorfo identificado como N-nornantenina (III), y 330 mg y 55 mg respectivamente de otras dos que corresponden a mezclas de alcaloides supuestamente biscolaurínicos.

El extracto acuoso básico se neutralizó con HCl 1 N, se alcalinizó con NH_4OH concentrado, y se extrajo con CHCl_3 . La fase orgánica lavada y secada se concentró, obteniéndose 3,5 g de una espuma (fracción CBF). 2 g de esta mezcla se cromatografiaron sobre columna seca de gel de sílice, eluyendo con CH_2Cl_2 y mezclas de polaridad creciente de CH_2Cl_2 - MeOH. El eluido se analizó por CCF, separándose dos fracciones: una de 155 mg identificada como aterolina (IV), y otra de 960 mg identificada como laurotetanina (V).

Extracción y fraccionamiento de las bases de *Laurelia philippiana* Looser.

Una muestra de 1,80 Kg de corteza de *L. philippiana*, recolectada en 1974 en la provincia de Valdivia, se procesó de la misma manera que la otra especie, obteniéndose 2,5 g de CN, 0,97 g de CBNF, y 1,43 g de CBF. Después de acetilar la fracción CBNF se aislaron de ella 60 mg de N-acetilmornantenina. De la fracción CN se aislaron directamente 71 mg de lirioidenina y 27 mg de oxonantenina. La fracción de CBF fue estudiada partiendo de una muestra de 5 Kg, de material recolectado en Valdivia en 1972, procesada análogamente con la diferencia de que se usó HCl 1 N en lugar de ácido tartárico diluido. De esta fracción se aislaron 140 mg de aterolina y 1,1 g de laurotetanina.

Lirioidenina (I): recristalizada de CHCl_3 , dio un sólido de pf 279–281° (d) (lit.¹⁷ 282° (d)). $\lambda_{\text{máx}}$ 395 nm (log ϵ 3,80); 309 (3,64); 268 (4,14); 247 (4,23). δ (TFA) 6,73 s (2 H, OCH_2O en C-1 y C-2); 7,66 s (1 H, C-3 H); 7,8 – 8,9 m (6 H). El punto de fusión de una mezcla con una muestra auténtica no mostró depresión. El espectro de IR coincidió con el de la muestra de referencia.

Oxonantenina (II): recristalizada de CHCl_3 dio un sólido de pf 215–220° (d) (lit.¹⁸ 215–218° (d)). $\lambda_{\text{máx}}$ 358 nm (log ϵ 3,95); 319 (3,75); 272 (4,41); 244 (4,40). δ (TFA) 4,35 s (6 H, OCH_3 en C-1 y C-2); 6,28 s (2 H, OCH_2O en C-9 y C-10); 7,65 s (1 H, C-3 H); 7,95 s (1 H, C-8 H); 8,83 s (1 H, C-11 H); 8,51 d J 6 (1 H, C-4 H); 8,78 d J 6 (1 H, C-5 H). m/e 335 (M^+), 320, 292, 290, 277, 262, 247, 234.

N-nornantenina (III): sólido amorfo, δ (CDCl_3), 3,68 s (3 H, OCH_3 en C-1); 3,90 s (3 H, OCH_3 en C-2); 6,00 s (2 H, OCH_2O en C-9 y C-10); 6,68 s (1 H, C-3 H); 6,78 s (1 H, C-8 H); 8,00 s (1 H, C-11 H).

N-acetilmornantenina: la acetilación de la base con Ac_2O -piridina produjo un derivado acetilado que recristalizado de EtOH fundió a 285° (d) (lit.¹⁸ 294° (d)). δ (CDCl_3) 2,20 s (3 H, N-acetilo); 3,68 s (3 H, OCH_3 en C-1); 3,89 s (3 H, OCH_3 en C-2); 5,98 s (2 H, OCH_2O en C-9 y C-10); 6,65 s (1 H, C-3 H); 6,77 s (1 H, C-8 H); 7,99 s (1 H, C-11 H). m/e 367 (M^+). El punto de fusión de una mezcla con una muestra auténtica no mostró depresión. El espectro de IR coincidió con el de la muestra de referencia.

Biscoclaurinas: el análisis del espectro de RMN y del espectro de masas de la fracción mayor mostró que se trataba de una biscoclaurina tetrametoxilada de peso molecular 622, impurificada con otra trimetoxilada de peso molecular 608. Un análisis análogo de la segunda fracción indicó que se trataba de una biscoclaurina trimetoxilada de peso molecular 608, con una impureza de peso molecular 622. De los espectros de RMN se puede concluir que las biscoclaurinas de peso molecular 608 son diferentes.

Aterolina (IV): se acetiló siguiendo una técnica descrita¹⁹, purificándose el producto por cromatografía en columna de gel de sílice, eluyendo con CH_2Cl_2 puro y con 10% de MeOH. La evaporación de las fracciones homogéneas dio un derivado acetilado que, recristalizado de Et_2O , dio un sólido de pf 214–215° (d) (lit.¹⁹ 216–218° (d)). δ (CDCl_3) 2,36 s (3 H, O-acetilo); 4,03 s (6 H, 2 OCH_3); 4,10 s (3 H, OCH_3); 7,21 s (1 H, C-3 H); 8,18 s (1 H, C-8 H); 8,83 s (1 H, C-11 H); 7,75 d J 6 (1 H, C-4 H); 8,83 d J 6 (1 H, C-5 H). El espectro de IR coincidió con el de una muestra auténtica.

Laurotetanina (V): sólido amorfo, δ (CDCl_3) 3,68 s (3 H, OCH_3 en C-1); 3,91 s (6 H, 2 OCH_3 en C-2 y C-10); 6,68 s (1 H, C-3 H); 6,90 s (1 H, C-8 H); 8,12 s (1 H, C-11).

N-acetil-laurotetanina: la acetilación de 200 mg de la base con Ac_2O -piridina produjo 200 mg de N,O-diacetilderivado (IR, RMN) que se hidrolizó con Na_2CO_3 2 N; el producto de hidrólisis (140 mg), recristalizado de MeOH dio un sólido de pf 138–140° (lit.¹⁸ 142°). δ (CDCl_3) 2,23 s (3 H, N acetilo); 3,70 s (3 H, OCH_3 en C-1); 3,93 s (6 H, 2 OCH_3 en C-2 y C-10); 6,70 s (1 H, C-3 H); 6,90 s (1 H, C-8 H); 8,20 s (1 H, C-11 H). El punto de fusión de una mezcla con una muestra auténtica no mostró depresión. El espectro de IR coincidió con el de la muestra de referencia.

E-3 (3,4-metilendioxfenil)-2-propen-1-ol (VI): recristalizado de ciclohexano dio un sólido de pf 78–79° (lit.^{20, 21} 78–78, 8°; 75°). δ (CDCl_3) 1,60 s (1 H, OH); 4,31 dd J 6, J' 2 (2 H, C-1 H); 5,95 s (2 H, OCH_2O); 6,19 dt J 6, J'' 16 (1 H, C-2 H); 6,65 dt J' 2, J'' 16 (1 H, C-3 H); 6,7–6,94 m (3 H, C-Ar H). El punto de fusión de una mezcla con una muestra sintética²¹ no mostró depresión. El espectro de IR coincidió con el de la muestra de síntesis.

AGRADECIMIENTOS: Los autores agradecen a INFODEMA la provisión del material vegetal, y a los Dres. I.R.C. Bick y S.R. Johns el envío de muestras de referencia.

Una parte de este trabajo fue realizado durante una estadía de A.U. en la Universidad de Buenos Aires, haciendo uso de una beca de la OEA. La Dirección de Investigaciones de la UTE financió la parte efectuada en Santiago.

BIBLIOGRAFIA

- 1 C. MUÑOZ PIZARRO, "Sinopsis de la flora chilena", p. 117, Editorial Universitaria, Santiago, 1966.
- 2 G. LOOSER, Las especies chilenas del género *Laurelia* (Monimiáceas), *Bol. Soc. Argent. Bot.* (1949) 11, 273-277.
- 3 M.J. DIMITRI, "La región de los bosques andino-patagónicos. Sinopsis general", p. 211 INTA, Buenos Aires, 1973.

- 4 F. PAX, en A. ENGLER y K. PRANTL, "Die natürlichen Pflanzenfamilien", III, p. 94, W. Engelmann, Leipzig, 1894.
- 5 I.R.C. BICK y A.R. TODD, Alkaloids of *Daphnandra* species. I. Repandine, J. Chem. Soc. (1948), 2170-2173.
- 6 I.R.C. BICK, E.S. EWEN y A.R. TODD, Alkaloids of *Daphnandra* species. II. Daphnandrine, daphnoline, and aromoline, J. Chem. Soc. (1949), 2767-2774.
- 7 I.R.C. BICK y A.R. TODD, Alkaloids of *Daphnandra* species. III. Micranthine, J. Chem. Soc. (1950), 1606-1612).
- 8 I.R.C. BICK, W.I. TAYLOR y A.R. TODD, Alkaloids of *Daphnandra* species. V. An examination of the alkaloid content of *Daphnandra micrantha* and of *D. tenuipes*. Isolation of some minor *Daphnandra* alkaloids, J. Chem. Soc. (1953), 695-700.
- 9 I.R.C. BICK, P.S. CLEZY y M.J. VERNENGO, Alkaloids of *Daphnandra* species. VI. The structures of daphnandrine, daphnoline, and aromoline, J. Chem. Soc. (1960), 4928-4931.
- 10 I.R.C. BICK y W.I. TAYLOR, Alkaloids of *Daphnandra* species. X. Structure of isote-nuipine, J. Chem. Soc. C (1971), 3779-3780.
- 11 I.R.C. BICK, J.B. BREMNER, H.M. LEOW y P. WIRIYACHITRA, Alkaloids of *Daphnandra* species. XI. Some dibenzo-p-dioxin-type biscoclaurine alkaloids from an unnamed species. The structure of micranthine, J. Chem. Soc. Perkin I (1972), 2884-2889.
- 12 I.R.C. BICK, H.M. LEOW, N.W. PRESTON y J.J. WRIGHT, Alkaloids of *Nemuaron vieillardii* (Monimiaceae), Austr. J. Chem. (1973) 26, 455-459.
- 13 I.R.C. BICK, H.N. LEOW y N.W. PRESTON, Nemuarine, a bisisococlaurine alkaloid, J. Chem. Soc. Chem. Comm. (1972), 980-981.
- 14 E. BIANCHI, J.A. GARBARINO y F. GIORA, Gli Alcaloidi della *Laurelia sempervirens* R. et Pav., Gazz. chim. ital. (1962) 92, 818-822.
- 15 K. BERNAUER, Über Alkaloide aus *Laurelia novae-zelandiae* A. Cunn., Helv. Chim. Acta (1967) 50, 1583-1588.
- 16 E. WEISS, K. BERNAUER y A. GIRARDET, Notiz zur Konstitution des Laurepukins, Helv. Chim. Acta (1971) 54, 1342-1345.
- 17 M.A. BUCHANAN y E.E. DICKEY, Liriodenine, a nitrogen-containing pigment of yellow poplar heartwood (*Liriodendron tulipifera*), J. Org. Chem. (1960) 25, 1389-1391.
- 18 S.R. JOHNS, J.A. LAMBERTON y A.A. SIOUMIS, *Cassytha* alkaloids. The alkaloids of *Cassytha racemosa* Nees (family Lauraceae), Austr. J. Chem. (1967) 20, 1457-1462.
- 19 M.P. CAVA e I. NOGUCHI, The synthesis of atheroline. A route to phenolic oxoaporphines, J. Org. Chem. (1972) 37, 2936-2939.
- 20 M.T. BOGERT y G. POWELL, Synthesis of simple and substituted 2-alkycinnamic alcohols, including a monomolecular cubebin, J. Am. Chem. Soc. (1931) 53, 1605-1609.
- 21 K. FREUDENBERG y W. HEEL, Di- und Trihydroxycinnamyl-Alkohole, Chem. Ber. (1953), 86, 190-196.