

FACULTAD DE CIENCIAS
UNIVERSIDAD DE CHILE

ALCALOIDES DE LYCOPODIUM MAGELLANICUM

0-21199

TESIS

LUIS A. LOYOLA MORALES

1978

UCH-FC
DOC-Q
L 923
C.1

ALCALOIDES DE LYCOPODIUM MAGELLANICUM

TESIS
ENTREGADA A LA
UNIVERSIDAD DE CHILE
EN CUMPLIMIENTO PARCIAL DE LOS REQUISITOS
PARA OPTAR AL GRADO DE
DOCTOR EN CIENCIAS CON MENCIÓN EN QUÍMICA

FACULTAD DE CIENCIAS

POR

LUIS ALBERTO LOYOLA MORALES

JULIO, 1978

PATROCINANTE : DR. MARIANO CASTILLO VALENZUELA

UNIVERSIDAD DE CHILE

FACULTAD DE CIENCIAS

INFORME DE APROBACION
TESIS DE DOCTORADO

Se informa a la Comisión de Doctorado de la Facultad de Ciencias que la Tesis de Doctorado presentada por el Candidato


LUIS ALBERTO LOYOLA MORALES

ha sido aprobada por el Comité Informante de Tesis como requisito de Tesis para el Grado de Doctor en Ciencias con Mención en QUIMICA en el Examen de Defensa de Tesis rendido el día 6 de Julio de 1978.

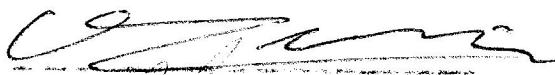
Dr. Mariano Castillo
Patrocinante de Tesis



Dr. Bruce Cassels
Presidente Comisión
Informante de Tesis



Dr. Osvaldo Cori
Comisión Informante de Tesis



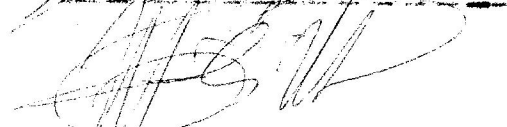
Dr. Fernando Castañeda
Comisión Informante de Tesis



Dr. Jorge Naranjo
Comisión Informante de Tesis



Dr. Manuel Cortés
Comisión Informante de Tesis



arp/

A ANGELICA
Mauricio
Rodrigo
Gonzalo

AGRADECIMIENTOS

Deseo expresar mis sinceros agradecimientos y reconocimiento al Dr. Mariano Castillo V., director de esta tesis, por su constante apoyo e incondicional amistad, y a las siguientes personas e instituciones :

- Al Dr. D.B.MacLean de la Universidad de Mc Master, Canadá y al Sr. J. Muñoz de la Universidad de Concepción, por la realización de los espectros de masas.
- Al Dr. J. Bartulin de la Universidad de Concepción por la realización de los espectros de R.M.N de Carbono-13.
- Al Sr. R. Clavijo por la realización de los espectros I.R.
- Al Sr. S. Alegría por la realización de los espectros de R.M.P.
- Al Prof. M. Mahú por la identificación taxonómica del material botánico.
- Al Sr. P.Mardonez por la colaboración prestada en los trabajos experimentales preliminares.
- A los Departamentos de Química de la Facultad de Ciencia y a la Sede Antofagasta de la Universidad de Chile por las facilidades otorgadas para llevar a cabo este trabajo.

INTRODUCCION

1.1. El género Lycopodium¹ de la familia Licopodiácea, orden Licopodiales y sub-división Pteridofitas, ha mostrado ser de bastante interés para el químico de productos naturales por su contenido en alcaloides y triterpenos del tipo del serratenos.

El estudio químico de estos alcaloides²⁻⁵ iniciado en el año 1882 con el aislamiento de una base de L. complanatum, que hoy se conoce con el nombre de licopodina^{6,7} (1), ha tenido en los últimos veinte años un desarrollo acelerado y efectivo que ha significado el aislamiento y caracterización estructural de más de 100 alcaloides de estructuras muy particulares. Estos se pueden agrupar en catorce esqueletos estructurales (o sistemas de anillos) (fig.1) algunos de los cuales se limitan a un sólo alcaloide, como son los casos de liconnotina (2), annotina (3), licoflexina (4), selagina (5) etc. y otros como licopodina (1), serratinina (6), licodina (7), cernuina (8), etc. que presentan una distribución más amplia.

Se destacan los alcaloides del tipo de licopodina (1) (fig 2) por su gran distribución en este género y por el número de alcaloides que pertenecen a este tipo.

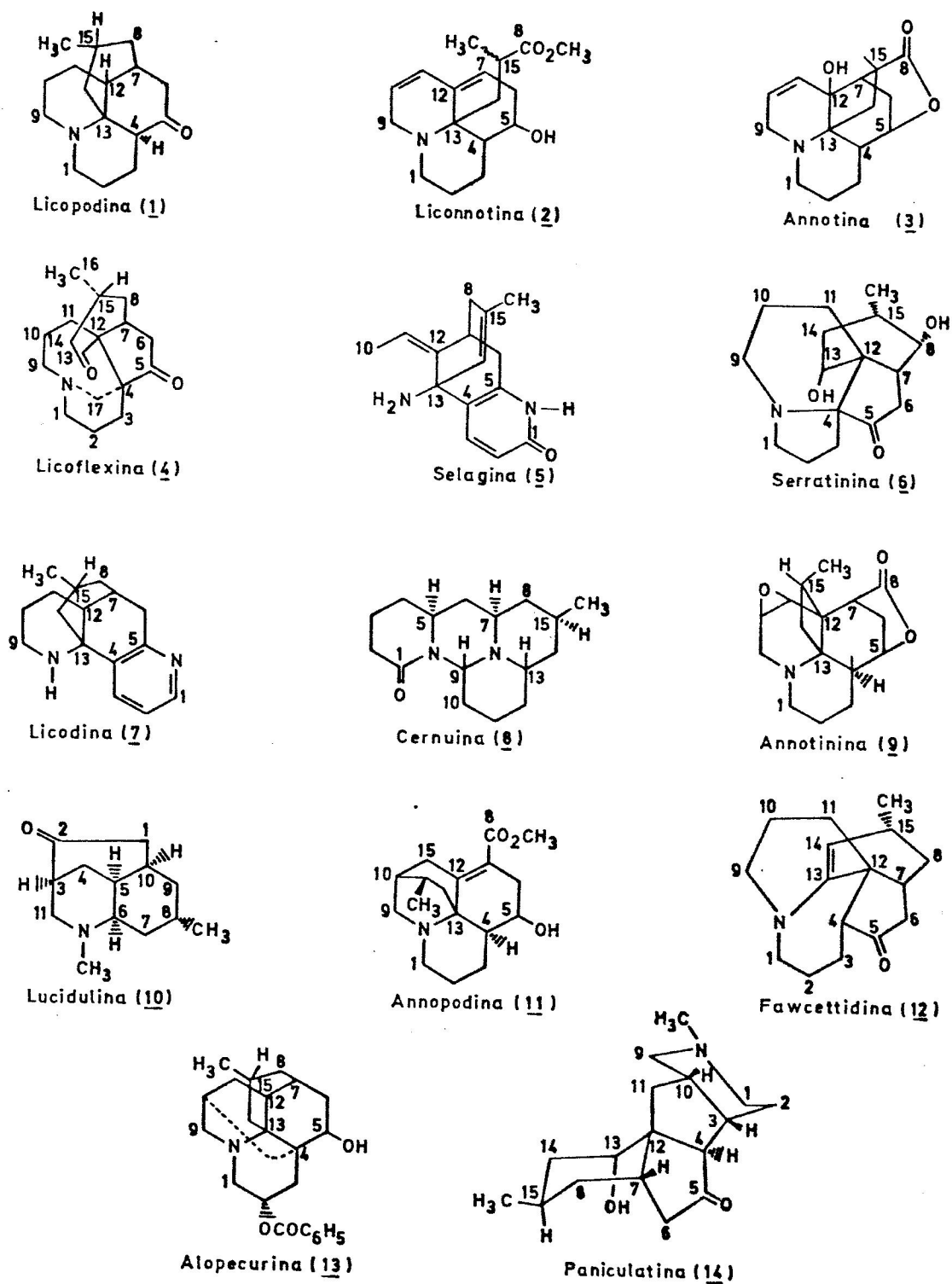


Fig.1 Tipos de esqueletos estructurales.

Licopodina (1)	$R_1+R_2=0; R_3=R_4=R_5=R_6=H$
Clavolonina (15)	$R_1+R_2=0; R_5=OH; R_3=R_4=R_6=H$
Acetil-lofolina (16)	$R_1=OAc; R_4=OAc; R_2=R_3=R_5=R_6=H$
Licodolina (17)	$R_1+R_2=0; R_3=OH; R_4=R_5=R_6=H$
Flabelliformina (18)	$R_1+R_2=0; R_6=OH; R_3=R_4=R_5=H$
Desacetil-fawcettina (19)	$R_1=OH; R_5=OH; R_2=R_3=R_4=R_6=H$
Licofawcina (20)	$R_1=OAc; R_3=OH; R_5=OH; R_2=R_4=R_6=H$

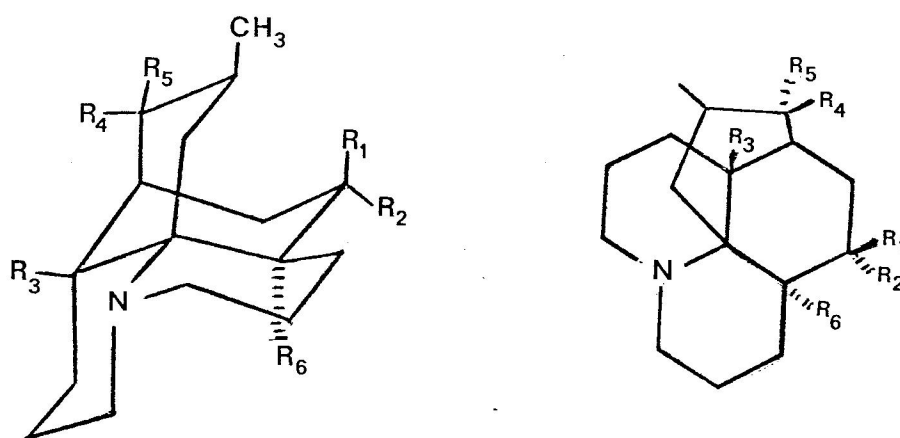


Fig.2. Alcaloides tipo Licopodina.

Los alcaloides de Licopodium se caracterizan fundamentalmente por tratarse de estructuras tri, tetra o pentacíclicas de carácter alifático, con uno o dos heterociclos nitrogenados. Entre los grupos funcionales más comúnmente encontrados están : cetonas, alcoholes secundarios y terciarios, acetatos, lactonas, enlaces dobles y epóxidos. En muy pocos casos se han detectado grupos N-Me (N-metil-licodina, α y β

obscurina, sauroxina, lucidulina y paniculatina). En un solo caso se ha detectado grupo benzoato (alopecurina), un anillo piridínico (licodinas) y un anillo de 2-piridona (α y β obscurina y sauroxina).

Los alcaloides de Lycopodium han sido estudiados fundamentalmente desde el punto de vista químico, biosintético y sintético. En estos estudios juega un papel preponderante la elucidación estructural.

Cabe mencionar además el desarrollo de algunos estudios bioquímicos comparativos en especies del género Lycopodium, con respecto al contenido de azúcares⁸, ácidos grasos e hidrocarburos⁹ y alcaloides¹⁰.

Braekman¹⁰ ha señalado en un estudio comparativo de alcaloides del género Lycopodium, que este género es homogéneo en su contenido alcaloides, puesto que son bases que se originan biogenéticamente de la lisina y en las especies de las Selaginelas e Isoveráceas no estaban presentes o los pesos de la fracción básica eran inferiores al 0.11%. Por consiguiente el contenido de alcaloides, es un rasgo que distingue las Lycopodiáceas de las Selaginelas e Isoveráceas.

La determinación de las estructuras de estos alcaloides ha implicado llevar a cabo estudios químicos de degradación y comparación, apoyados por el gran desarrollo de los métodos físico-químicos de análisis a través de las relaciones empíricas que se deducen entre ciertas propiedades físicas y la forma estructural.

-A la Oficina Técnica de Desarrollo Científico y Creación
Artística de la Universidad de Chile por el financiamiento
otorgado para la realización de esta tesis.

Indice de Materia

1.	Introducción	1
1.1.	Generalidades	1
1.2.	Espectroscopía infrarroja	6
1.3.	Espectroscopía ultravioleta	9
1.4.	Resonancia magnética nuclear de H ¹	12
1.5.	Resonancia magnética nuclear de C ¹³	13
1.6.	Espectrometría de masas	17
1.7.	Estereoquímica	31
1.7.1.	Poder rotatorio	32
1.7.2.	Dispersión óptica rotatoria y dicroísmo circular	42
1.7.3	Análisis de difracción de Rayos X	48
1.8	Objetivos	48
2.	Parte experimental	50
2.1.	Aparatos, métodos y materiales	50
2.2.	Recolección del material botánico	53
2.3.	Extracción y aislación de los alcaloides. Recolección 1973	53
2.3.1	Obtención del crudo	53
2.3.2	Aislamiento de los alcaloides	54

2.4.	Extracción y aislación de los alcaloides, Recolección 1974	61
2.4.1.	Obtención del crudo	61
2.4.2.	Aislamiento de los alcaloides	62
2.5.	Preparación de derivados y otras reaccio- nes	75
3.	Resultados y discusión	85
3.1.	Generalidades	85
3.2.	Estudios estructurales	98
3.2.1.	Fawcettina	98
3.2.2.	Magellanina	105
3.2.3.	Magellaninona	142
3.2.4.	N-metil-licodina	151
3.2.5.	Acetil-fawcettina	157
3.2.6.	Licodina	162
3.2.7.	Acetildihidrolicopodina	167
3.2.8.	Espectros de masas de magellanina y deriva- dos	173

Lista de figuras

1.	Tipos de esqueletos estructurales	2
2.	Estructuras de alcaloides tipo licopodina	3
3.	Espectros I.R de licodolina, licopodina y 12-epilicopodina	7
4.	Estructuras de alcaloides tipo licopodina	10
5.	Espectros de masas de alcaloides tipo licopodina	19
6.	Espectros de masas de clavolonina y licodolina	21
7.	Espectro de masas de licofawcina	23
8.	Espectro de masas de lucidiolina	25
9.	Espectro de masas de annotina	27
10.	Espectros de masas de cernuina, serratinina y lucidulina	29
11.	Diagramas de regla de Octante	43
12.	Diagramas de octantes de licopodina y 6- α -bromo licopodina	45
13.	Espectro I.R de fawcettina	100
14.	Espectro de R.M.P de fawcettina	100
15.	Espectro de R.M.P de Acetil-fawcettina	100
16.	Espectro de masas de fawcettina	102
17.	Espectro I.R de magellanina	106
18.	Espectro de R.M.P de magellanina (220 MHz)	108

19.	Espectro de R.M.P (60 MHz) de magellanina en CDCl_3 .	109
20.	Espectro de R.M.P (60 MHz) de magellanina en $\text{CDCl}_3 + \text{CD}_3\text{COOD}$	109
21.	Espectro I.R de acetil-magellanina	111
22.	Espectro de R.M.P de acetil-magellanina	111
23.	Espectro I.R de benzoil-magellanina	112
24.	Espectro de R.M.P de benzoil-magellanina	112
25.	Espectros de masas de magellanina y paniculatina	116
26.	Espectro I.R de dihidro-magellanina	118
27.	Espectro de R.M.P de dihidro-magellanina	118
28.	Estructura de metobromuro de magellanina	121
29.	Espectro de R.M.C ¹³ de magellanina	125
30.	Espectros I.R de paniculatinona y 5-des-hidro-14,15-dihidro-magellanina	139
31.	a) diagrama de octantes b) curva de D.O.R de 14,15-dihidro-magellanina	140
32.	a) diagrama de octantes b) curva de D.O.R de epoxi-magellanina	141
33.	Espectro I.R de magellaninona	144
34.	Espectro de R.M.P de magellaninona	144
35.	Espectro I.R de dihidro-magellaninona	146
36.	Espectro de R.M.P de dihidro-magellaninona	146
37.	Espectros de masas de magellanina y magellaninona	147
38.	Espectro I.R de N-metil-licodina	152

39.	Espectro de R.M.P de N-metil-licodina	152
40.	Espectro de masas de N-metil-licodina	154
41.	Espectro I.R de acetil-fawcettina	158
42.	Espectro de R.M.P de acetil-fawcettina	158
43.	Espectro de masas de acetil-fawcettina	159
44.	Espectro I.R de licodina	163
45.	Espectro de R.M.P de licodina	163
46.	Espectro de masas de licodina	165
47.	Espectro I.R de acetildihidrolicopodina	168
48.	Espectro de R.M.P de acetildihidrolicopodina	168
49.	Espectro de masas de acetildihidrolicopodina	170
50.	Espectros de masas de 14,15-dihidro-magellanina, 5-deshidro-14,15-dihidro-magellanina, paniculatinona y 5-deoxo-13-deshidro-paniculatina	180
51.	Espectros de masas de magellanina, magellanina, 5-acetil y 5-benzoil-magellanina	183
52.	Espectros de masas de magellanina y epoxi-magellanina	188

Lista de tablas

1.	Espectros U.V de alcaloides tipo licopodina	10
2.	Desplazamientos químicos de C^{13} de alcaloides tipo licopodina	15
3.	Fraccionamiento de bases fuertes (1973)	55
4.	Análisis de fracción III	56
5.	Fraccionamiento de bases débiles (1973)	60
6.	Fraccionamiento de bases fuertes (1974)	63
7.	Análisis de fracción I	64
8.	Análisis de fracción Ia	65
9.	Análisis de fracción III	68
10.	Análisis de fracción IIIa	68
11.	Fraccionamiento de bases débiles-eter	70
12.	Análisis de fracción I	70
13.	Análisis de fracción III	72
14.	Rendimiento de extracción de alcaloides en especies de <u>Lycopodium</u>	86
15.	Espectros de masas de magellanina y paniculatina	115
16.	Resonancias de C^{13} de 1,3,4-trimetilpiperidina	126
17.	Resonancias de C^{13} de 2,3,3,4-tetrametil_ciclo_pentanol	127-8
18.	Resonancias de C^{13} de 3,5,6,6-tetrametil_2_ciclohexenona	129

19.	Resonancias de C ¹³ de magellanina	131
20.	Aplicación de Método de Horeau a magellanina	133
21.	Espectro de masas de magellanina	145
22.	Espectro de masas de N-metil-licodina	155
23.	Espectro de masas de acetildihidrolicopodina	167
24.	Composición de iones con nitrógeno en la zona de masas bajas de magellanina y paniculatina	175
25.	Composición de iones con nitrógeno en la zona de masas altas de magellanina y paniculatina	176
26.	Iones comunes en espectro de masas de 14, 15-dihidromagellanina, 5-deshidro 14,15 dihidromagellanina, paniculatinona y 13 deshidro-5-deoxo-paniculatina	179
27.	Iones comunes en espectro de masas de magellanina, magellaninona, 5-acetil y 5-benzoil-magellanina	182
28.	Iones comunes en espectros de masas de 5-acetil y 5-benzoil-magellanina	184

Lista de Esquemas

1.	Fragmentación de espectros de masas de alcaloides tipo lycopodina	20
2.	Fragmentación de espectro de masas de licofawcina	24
3.	Fragmentación de espectro de masas de lucidiolina	26
4.	Fragmentación de espectro de masas de liconnotina	27
5.	Fragmentación de espectro de masas de annotina	28
6.	Método de extracción (1973)	87
7.	Fraccionamiento de crudo básico	89
8.	Separación de bases fuertes	90
9.	Método de extracción (1974)	92
10.	Fraccionamiento de crudos básicos	93
11.	Separación de bases fuertes	95
12.	Purificación de bases débiles-eter	96
13.	Separación de bases débiles-eter	97
14.	Fragmentación de espectro de masas de fawcettina	104
15.	Reacciones comparativas entre magellanina y paniculatina	137
16.	Reacciones comparativas entre magellanina y magellaninona	150
17.	Fragmentación de espectro de masas de N-metil-licodina	156

18.	Fragmentación de espectro de masas de acetil-fawcettina	161
19.	Fragmentación de espectro de masas de acetildihidrolipodina	171
20.	Racionalización de iones con nitrógeno en la zona de masas bajas de magellanina y paniculatina	177
21.	Racionalización de iones con nitrógeno en la zona de masas altas de paniculatina	178
22.	Racionalización de iones con nitrógeno en la zona de masas altas de derivados de magellanina con C=O en C-13	181
23.	Racionalización de iones con nitrógeno en derivados de magellanina con C=O en C-13 y doble enlace en C-14 - C-15	184
24.	Racionalización de iones con nitrógeno en la zona de masas altas de 5-acetil y 5-benzoil-magellanina	186
25-26.	Racionalización de espectro de masas de epoxi-magellanina	189-90

Resumen

El estudio químico de Lycopodium magellanicum dió como resultado el aislamiento y caracterización de nueve alcaloides. Siete de los cuales correspondieron a las bases conocidas como, fawcettina, desacetilfawcettina, acetilfawcettina, licopodina, acetildihidrolicopodina, licodina y N-metil-licodina; su caracterización estructural fué llevada a cabo a través de sus propiedades físicas, análisis espectroscópicos, comparación directa con muestras auténticas y transformaciones químicas.

Las otras dos bases aisladas fueron denominadas magellanina y magellaninona; ambas pertenecen a un mismo esqueleto carbonado y a un nuevo tipo de alcaloides de Lycopodium.

La estructura de magellanina se determinó en base al análisis de los antecedentes espectroscópicos del alcaloide, sus derivados y comparación con los de paniculatina. Paniculatina corresponde a un alcaloide del mismo tipo que magellanina y fué aislado y caracterizado paralelamente con este trabajo.

El análisis de difracción de Rayos X del metobromuro de magellanina confirmó la estructura propuesta y determinó

su estereoquímica relativa. La configuración absoluta de magellanina se determinó en base a la aplicación del método de desdoblamiento parcial de Horeau y la Regla del Benzato. Paniculatina y magellanina pertenecen a la misma serie enantiomérica.

El intento de correlacionar químicamente ambos alcaloides por su transformación en un derivado común, demostró que las dicetonas obtenidas eran epiméricas en C-15. Esta relación estructural se deduce a partir del análisis de los espectros de dispersión óptica rotatoria de los productos obtenidos.

La estructura y estereoquímica de magellaninona se determinó en base al análisis de los datos espectroscópicos, comparación de estos con los de magellanina y por transformaciones químicas.

Los espectros de masas de magellanina, paniculatina y derivados muestran características que los hacen diferentes de los espectros de masas de otros tipos estructurales de alcaloides de Lycopodium, permitiendo la caracterización de este tipo de alcaloides en cuanto a su esqueleto carbonado. Se destaca la presencia de iones con nitrógeno en la zona de masas bajas de cierta intensidad a m/e 57,58, 70, 71, 96, 110 y 111 y la ausencia de señales características en alcaloides de Lycopodium con otros esqueletos carbonados.

Históricamente, los estudios estructurales de alcaloides de Lycopodium fueron iniciados a través de análisis de - gradativos se comparaba los productos obtenidos de menor complejidad, que permitieron reconstruir, en alguna medida, la molécula desconocida. Estos estudios degradativos fueron ayudados por la información suministrada por los métodos espectroscópicos de análisis, Infrarrojo (I.R.), Ultravioleta (U.V) y Resonancia Magnética Nuclear de H^1 (R.M.P) dando como resultado, las primeras elucidaciones estructurales. Annotinina^{11,12} (9), Licopodina^{6,7} (1), α y β obscurina^{13,14} (21,22) y selagina^{15,16} (5) representan los primeros alcaloides de Lycopodium cuyas estructuras fueron elucidadas.

Posteriormente, la utilidad de la aplicación de los métodos físico-químicos de análisis se ha visto fortalecida y ampliada : espectrometría de masas (E.M), análisis de difracción de rayos X (RX), dispersión óptica rotatoria (D.O.R) y dicroísmo circular (D.C), en la elucidación estructural de numerosos alcaloides serratinina^{17,18} (6), cernuina^{19,21} (8), licoflexina²² (4), paniculatina²³ (14) etc, y en la revisión de nuevas especies de Lycopodium .

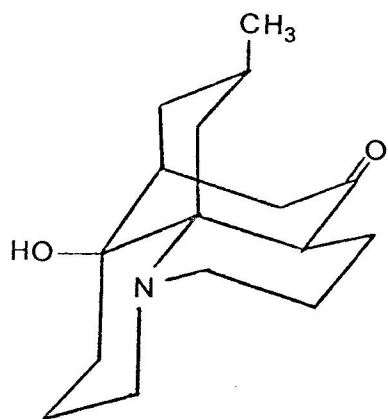
De acuerdo con la importancia que han tenido y siguen teniendo los métodos físicos-químicos de análisis en la química de productos naturales y específicamente por la relevancia que tienen en este trabajo, se tratará en alguna medida, de ilustrar el aporte que ha representado el uso de estas

técnicas en los estudios estructurales de alcaloides de Ly-
copodium.

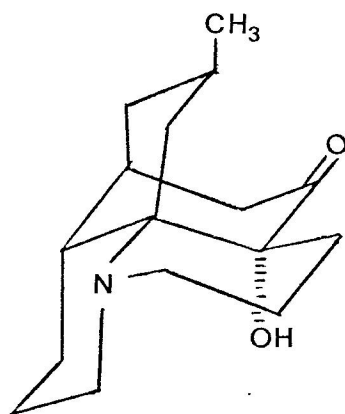
1.2. Espectroscopía Infrarroja(I.R.)

La espectroscopía I.R. ha significado en los estudios estructurales de estos alcaloides un método de valor no sólo para determinar la presencia de ciertos grupos funcionales y su entorno, en especial de grupos hidróxilo y carbonilo, sino que también ha contribuido en cierta medida en los estudios conformacionales y configuracionales.

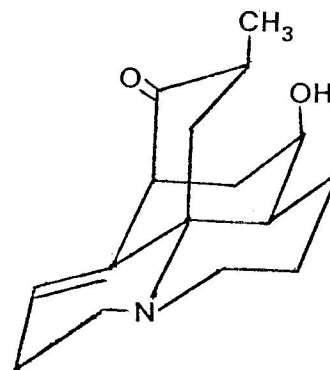
La determinación de las estructuras de algunos alcaloides del tipo de licopodina, tales como licodolina^{24,25} (17), acrifolina^{26,27} (23) y flabelliformina²⁸ (18) muestran claramente la utilidad de este método.



(17)



(18)



(23)

El estudio de los espectros I.R. (CCl_4) de licodolina^{24,25} y derivados dihidro - anhidro , dihidro y dihidrodeoxi - permitieron señalar que el grupo hidróxilo en C-12, está internamente enlazado al átomo de nitrógeno²⁵, dado que sus espectros I.R. presentan bandas a 3.545 cm^{-1} asignables a vibraciones de tensión de grupo hidróxilo, cuyas absorciones son independientes de la concentración²⁹. Por otra parte la estereoquímica del C-12 se infirió a partir de la revisión de los espectros I.R. de licopodina (1) y 12-epilicopodina (24) y de su comparación con licodolina (17) (fig.3.), en la región de las vibraciones de tensión C-H.

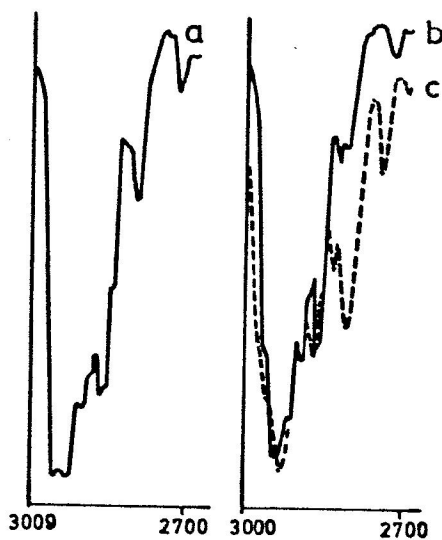
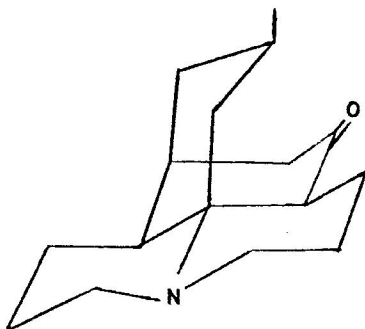


fig. 3.

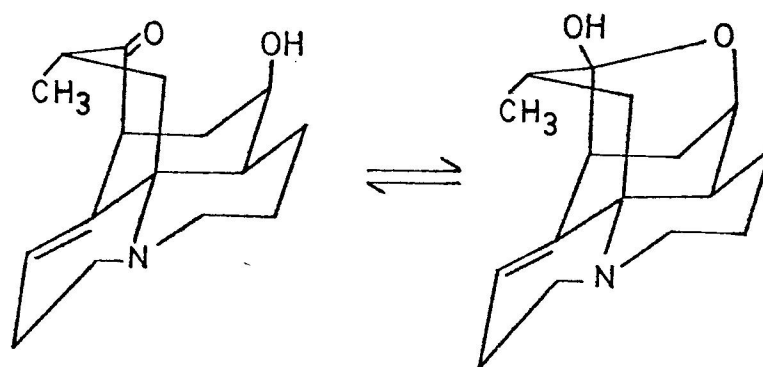
- a) Espectro I.R. de licodolina (17)
- b) Espectro I.R. de licopodina (1)
- c) Espectro I.R. de 12-epilicopodina (24)

La 12-epilicopodina (24) muestra bandas de absorción en la región espectral de 2700 a 2850 cm^{-1} , denominadas "bandas de Bohlman", que están ausentes en licopodina (1) y licodolina (17). Estas bandas son observadas en sistemas trans-quinolizidinas que tienen a lo menos 2 ats. de H_α al nitrógeno, en orientación transdiaxial al par electrónico no apareado del nitrógeno, (24). Esto implica que el grupo hidróxilo de licodolina (17) tiene la misma configuración del H de C-12 de licopodina (1)



(24)

En acrifolina²⁷ (23) el análisis de los espectros infrarrojos del alcaloide y sus derivados, permitió deducir la conformación y la relación espacial de los grupos hidróxilo en C-5 y carbonilo en C-8, sugiriendo además, la presencia del siguiente equilibrio:



(23)

1.3. Espectroscopia Ultravioleta (U.V)

La espectroscopia U.V ha contribuido en los estudios de estos alcaloides, no sólo en la detección de ciertos cromóforos, sino que ha proporcionado otros antecedentes en la investigación del sistema β -aminocetona encontrado en alcaloides del tipo de licopodina y por consiguiente en la asignación de la configuración del nitrógeno en estos alcaloides.

Licopodina y alcaloides del mismo tipo³⁰ (fig.4) que tienen un grupo carbonilo en C-5 y en que el par electrónico no compartido del nitrógeno está en posición ecuatorial con respecto al anillo A (fig.4) muestran una banda de absorción en la región de 220-260 nm de su espectro U.V. (tabla 1). Este tipo de banda de absorción, se ha observado en β - amino-cetonas, en las cuales el par electrónico no compartido del nitrógeno, el enlace $\sigma_{C_{\alpha}-C_{\beta}}$ y el orbital π

Tabla 1. Espectros U.V. de alcaloides tipo licopodina

Alcaloide	fórmula	λ MeOH máx. n.m (valor ϵ)
Licopodina (<u>1A</u>)	$R_1+R_2=O, R_3, R_4, R_5=H$	217 (2.400)
Licodolina (<u>17A</u>)	$R_1+R_2=O, R_4=OH, R_3, R_5=H$	221 (1.500)
Flabelliformina (<u>18A</u>)	$R_1+R_2=O, R_5=OH, R_3, R_4=H$	228 (500)
Clavolonina (<u>15A</u>)	$R_1+R_2=O, R_3=OH, R_4, R_5=H$	218 (1.670)
Dihidro-licopodina (<u>25A</u>)	$R_1=OH, R_2, R_3, R_4, R_5 = H$	No presenta
12-Epilicopodina (<u>24 B</u>)	$R_1+R_2=O, R_3, R_4, R_5 = H$	No presenta

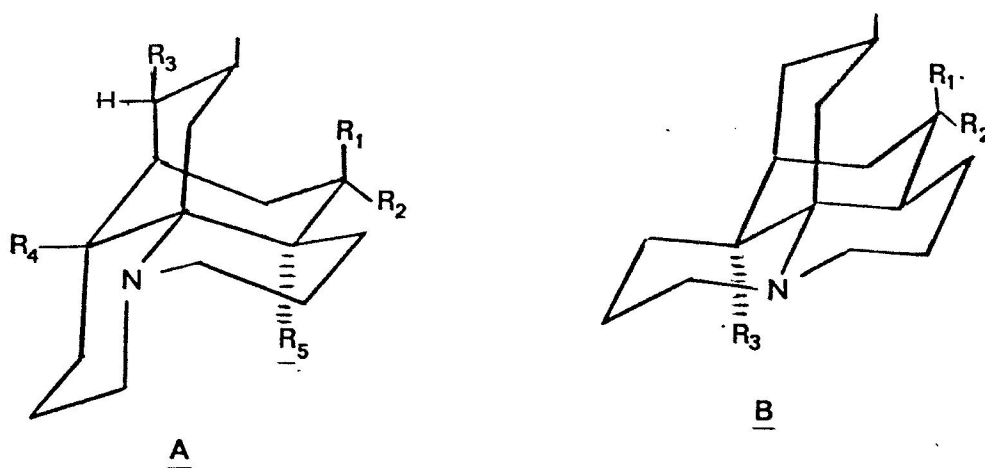
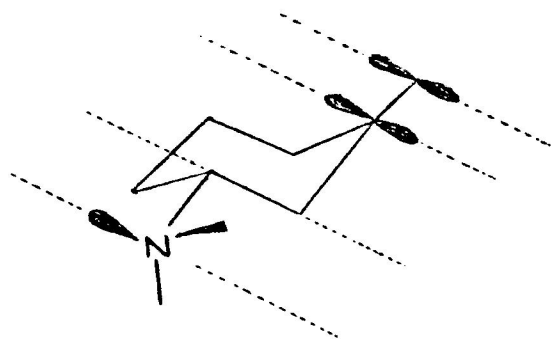
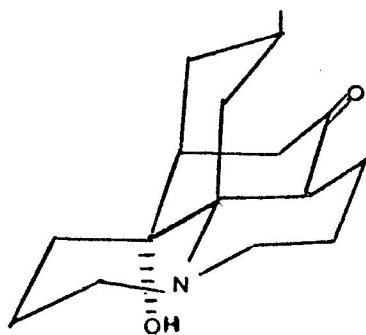


fig.4. Estructuras alcaloides tipo Licopodina

del grupo carbonilo estan paralelamente dispuestos³¹, según la figura siguiente :



Estas y otras consideraciones permitieron asignar la estructura del alcaloide³⁰ L-23 (27) que difiere de licodina sólo en la estereoquímica del C-12 y del nitrógeno, dado que su espectro U.V. no presenta bandas de absorción en la región de 220 y 260 n.m.



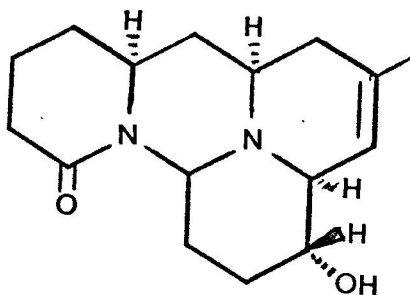
(27)

1.4. Resonancia Magnética Nuclear de ^1H (R.M.P.)

Los espectros de R.M.P de estos alcaloides se presentan bastante complejos para que permitan un análisis profundo, dado que se trata de estructuras cíclicas de carácter alifático con pocos grupos funcionales. Por consiguiente los espectros presentan pequeños desplazamientos químicos y extensos acoplamientos spin-spin; la mayoría de las señales aparecen como multipletes sobrepuestos en la región de 1.0 a 2.5 ppm. Sin embargo, su análisis ha permitido asignar ciertas unidades estructurales, como asimismo, el entorno de aquellos centros alejados de la absorción de los protones alifáticos.

Es característico la presencia del grupo metilo de C-16 por su señal alrededor de 0.9 ppm de área para 3H y generalmente como un doblete de $J = 6$ Hz propio de un grupo Me-CH. Por otra parte hidrógenos aromáticos y vinílicos, y grupos funcionales como acetato e hidróxilo son detectados con cierta facilidad e igualmente la naturaleza de ellos.

La elucidación estructural de liconnotina³², (2), ceruina^{19,20} (9), alopecurina³³ (13) y cariolianina³⁴ (26) representan algunos de los casos en que R.M.P y la técnica de doble irradiación han jugado un papel preponderante en la asignación de ciertos tipos, número, entorno y secuencia de protones.



(25)



1.5. Resonancia Magnética Nuclear de Carbono-13 (R.M.C¹³)

La resonancia magnética nuclear de ¹H (R.M.P) ha demostrado ser útil en la determinación y confirmación de asignaciones estructurales. Sin embargo, los espectros de R.M.P. de un alcaloide son a menudo bastante complejos, dado los extensos acoplamientos spin-spin entre los protones y la sobreposición de numerosas señales de resonancia.

Los esfuerzos de numerosos investigadores^{35,36} en el área de la resonancia magnética nuclear de carbono -13 de abundancia natural (R.M.C¹³), han ampliado grandemente el alcance y utilidad de la espectroscopia de resonancia magnética nuclear en la determinación de estructuras de productos naturales.

En R.M.C¹³, la posición de una señal en el espectro está determinada por el entorno electrónico local de un átomo de carbono en la molécula. En R.M.P, el espectro describe el entorno electrónico local de los diferentes protones en la

molécula, expresando sólo indirectamente el esqueleto carbonado.

Para moléculas con pocos grupos funcionales polares, el espectro proton-desacoplado de R.M.C¹³, es mejor resuelto que el espectro de R.M.P. La interpretación de un espectro de R.M.C¹³ es tan o más directo que la interpretación de un espectro de R.M.P, ya que los desplazamientos químicos inducidos sobre un átomo de carbono por substitución son aproximadamente aditivos.

La utilidad de esta técnica complementaria de análisis estructural requiere de una suficiente acumulación de datos de desplazamientos químicos de diferentes tipos de productos naturales. Esto ha implicado, en lo que respecta a estudios estructurales de alcaloides, la aplicación de la teoría del desplazamiento químico y técnicas estándar de desacoplamiento a compuestos de un mismo tipo de esqueleto carbonado con variaciones estructurales en diferentes posiciones³⁷.

Ayer³⁸ ha asignado los desplazamientos químicos de C¹³ de algunos alcaloides de Lycopodium del tipo de licopodina y licodina, a través del uso de técnicas estándar de desacoplamiento, espectros de compuestos deuterados y en medio de CD₃COOD. La tabla 2 señala los desplazamientos químicos de C¹³ de algunos alcaloides del tipo de licopodina.

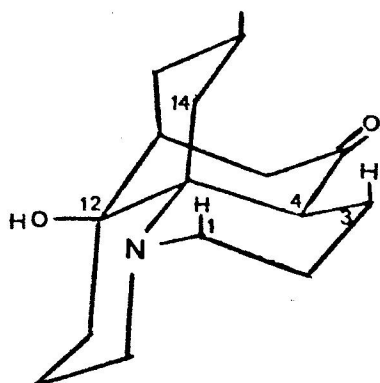
TABLA 2. DESPLAZAMIENTOS QUIMICOS DE C¹³ DE ALCALOIDES TIPO LICOPODINA. (ppm).

Carbono	Licopodina (<u>1</u>)	Flabelliformina (<u>18</u>)	Clavolonina (<u>15</u>)	Licodolina (<u>17</u>)	L-23 (<u>27</u>)
1	47.2	46.2	47.2	46.2	48.0
2	19.3	16.9	18.7	17.8	25.2
3	20.1	25.8	19.4	19.8	18.7
4	43.4	79.8	43.1	43.3	52.3
5	213.4	211.0	213.2	212.1	210.5
6	43.3	39.6	36.5	44.4	44.0
7	37.3	36.8	43.1	40.8	40.9
8	43.1	43.0	78.9	35.8	37.5
9	47.8	49.4	47.2	46.2	48.7
10	26.6	25.8	26.2	20.8	21.0
11	25.7	27.3	25.1	30.3	30.3
12	45.5	46.2	43.9	69.5	70.1
13	59.9	59.0	59.7	61.6	62.5
14	43.7	44.8	42.0	36.1	25.6
15	25.8	25.5	33.0	24.3	24.6
16	23.3	23.2	19.4	22.6	22.6

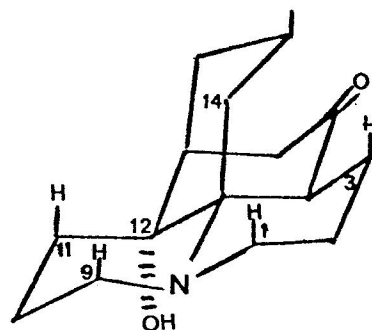
El espectro de R.M.C¹³ de licopodina (1) se caracteriza, excluyendo las resonancias de los C-5 y C-13, por presentar dos grupos de señales en las regiones comprendidas entre 16-27 ppm y 36-48 ppm, relativos al T.M.S. Estas resonancias de C¹³ pueden asignarse, de acuerdo con los principios de aproximación aditiva^{35,39}, a los carbonos 2,3,10, 11,15 y 16 en la primera región y en la segunda a los carbonos 1,4,6,7,8,9,12, y 14.

Esta serie de compuestos permite examinar los efectos de sustitución y de geometría en los parámetros de desplazamientos químicos de C¹³ en sistemas rígidos.

En este sentido es relevante el cambio en la protección de los carbonos 4 y 14, entre licodolina (17) y alcaloide L-23 (27) donde existe un cambio configuracional en el C-12 y el átomo de Nitrógeno. Así por ejemplo al comparar las resonancias del C-14, en licodolina (36,4 ppm) y en el alcaloide L-23 (25.6 ppm), se observa un efecto de mayor protección de dicho carbono en este último. Este efecto ha sido atribuido a que el C-14, en alcaloide L-23, interacciona con un mayor número de enlaces gama C-H axiales (27).



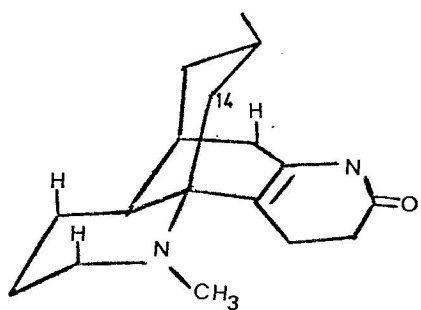
(17)



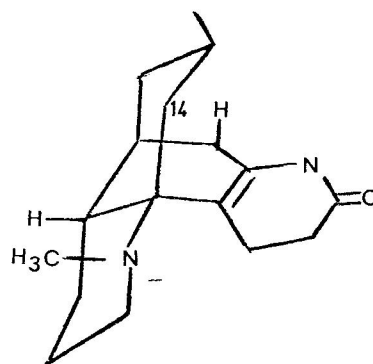
(27)

Este cambio en la protección para el C-14, ha probado ser de utilidad diagnóstico en la determinación de la configuración entorno al nitrógeno para compuestos estructuralmente relacionados, así por ejemplo, los resultados de C^{13} confirman la estereoquímica de sauroxina (28) cuya configuración se había asignado en base a la comparación de los espectros de masas y de R.M.P con los de α - obscurina⁴⁰ (21).

Los espectros de R.M. C^{13} muestran que el C-14 de sauroxina (32.2 ppm) esta más protegido que el C-14 de α - obscurina (43.0 ppm), indicando que sauroxina (28) es epimérica con α - obscurina (21) en el C-12 y, consecuentemente, en el nitrógeno.



(28)



(21)

1.6. Espectrometría de Masas (E.M)

La importancia de este método en los estudios estructurales de estos alcaloides, se ha visto reflejada de diferentes maneras tanto en lo que concierne a la determinación de los distintos tipos de esqueletos carbonados como la

localización de grupos funcionales en dicho esqueleto.

En este sentido se han destacado los estudios comparativos de alcaloides estructuralmente relacionados, que han permitido encontrar ciertas analogías en sus espectros y deducir generalidades que se han aplicado con bastante éxito en la resolución de algunos problemas estructurales de alcaloides de esta familia.

Los primeros estudios de correlación y racionalización de los espectros de masas de estos alcaloides fueron realizados por D.B. Maclean⁴¹ en el año 1963, quien agrupó los alcaloides estudiados, en cuatro tipos : Licopodina (1), Licodina (7), Selagina (5), y Annotinina (9). La mayor parte de los espectros analizados, correspondieron a alcaloides del tipo de licopodina (fig.5) incluyendo a licopodina y simples derivados de ella, alcaloides que llevan sustituyentes en el puente (anillo D) y otros que llevan sustituyentes en el anillo C. Del análisis de estos espectros fue posible formular un mecanismo de fragmentación, que puede ser aplicado a alcaloides del tipo de licopodina y con pocas modificaciones a los otros grupos antes señalados.

El esquema 1 representa el mecanismo de fragmentación general para los E.M (fig.5) de alcaloides del grupo de licopodina, tales como Dihidroliscopodina (25), Acetildihidroliscopodina (29), Annofolina (30) y Lofolina (31)

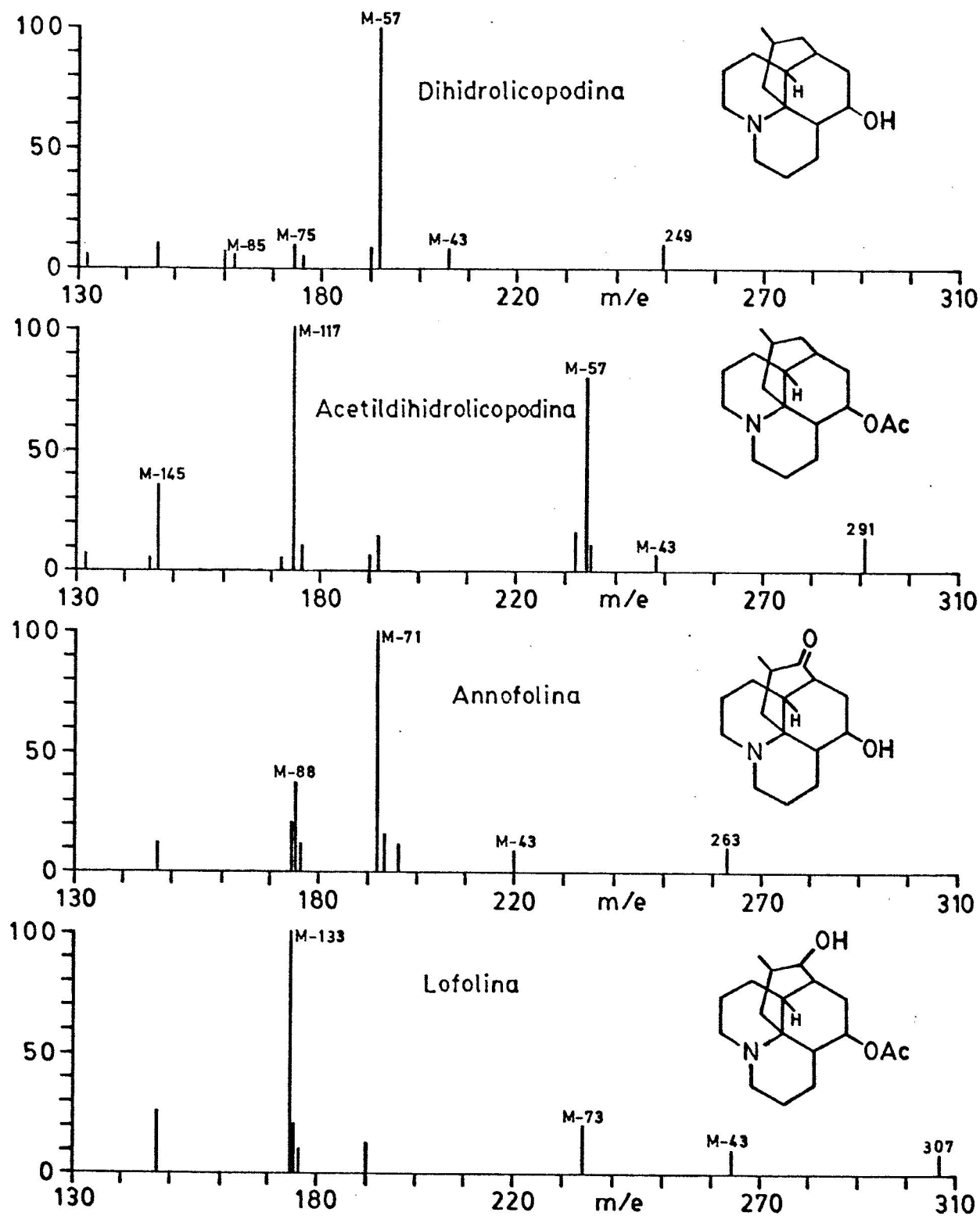
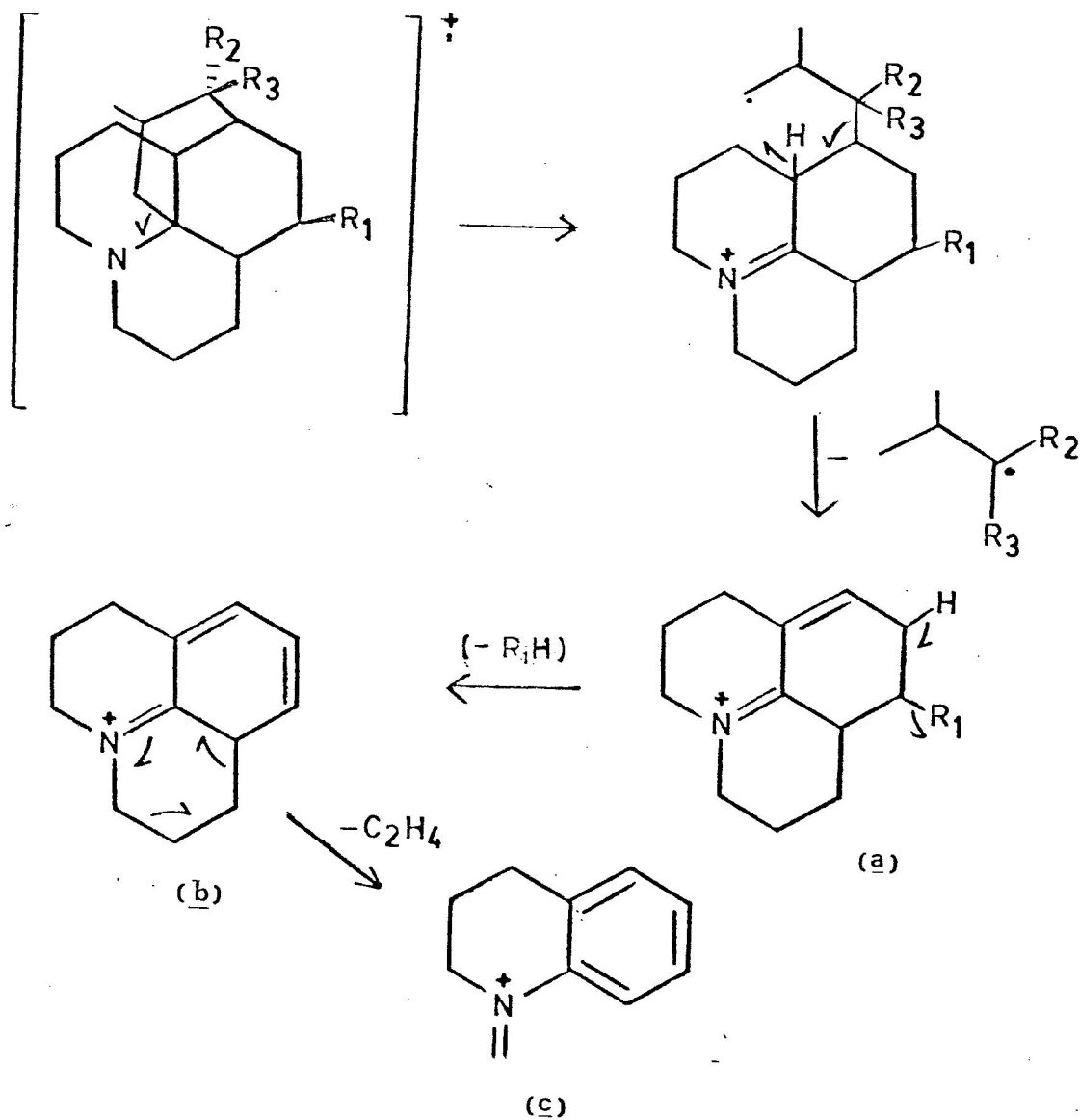


Fig.5 Espectros de masas de alcaloides tipo licopodina.



Alcaloide	R ₁	R ₂	R ₃	m/e		
				ion a	ion b	ion c
Dihidroliscopodina	OH	H	H	192	174	146
Acetildihidroliscopodina	OAc	H	H	234	174	146
Annofolina	OH	O		192	174	146
Lofolina	OAc	H	OH	234	174	146

Esquema 1 : Fragmentación de E.M. de alcaloides tipo Licopodina.

De acuerdo con este estudio de los E.M. de alcaloides del grupo de licopodina, la fragmentación dominante corresponde a la pérdida de los elementos del puente (anillo D) y se observó que los sustituyentes sobre el esqueleto de licopodina tienen muy poco efecto sobre el proceso de fragmentación, a excepción cuando ellos están ubicados en C-12. Esto puede observarse claramente al comparar los espectros de masas de clavolonina (15) y licodolina (17) fig.6

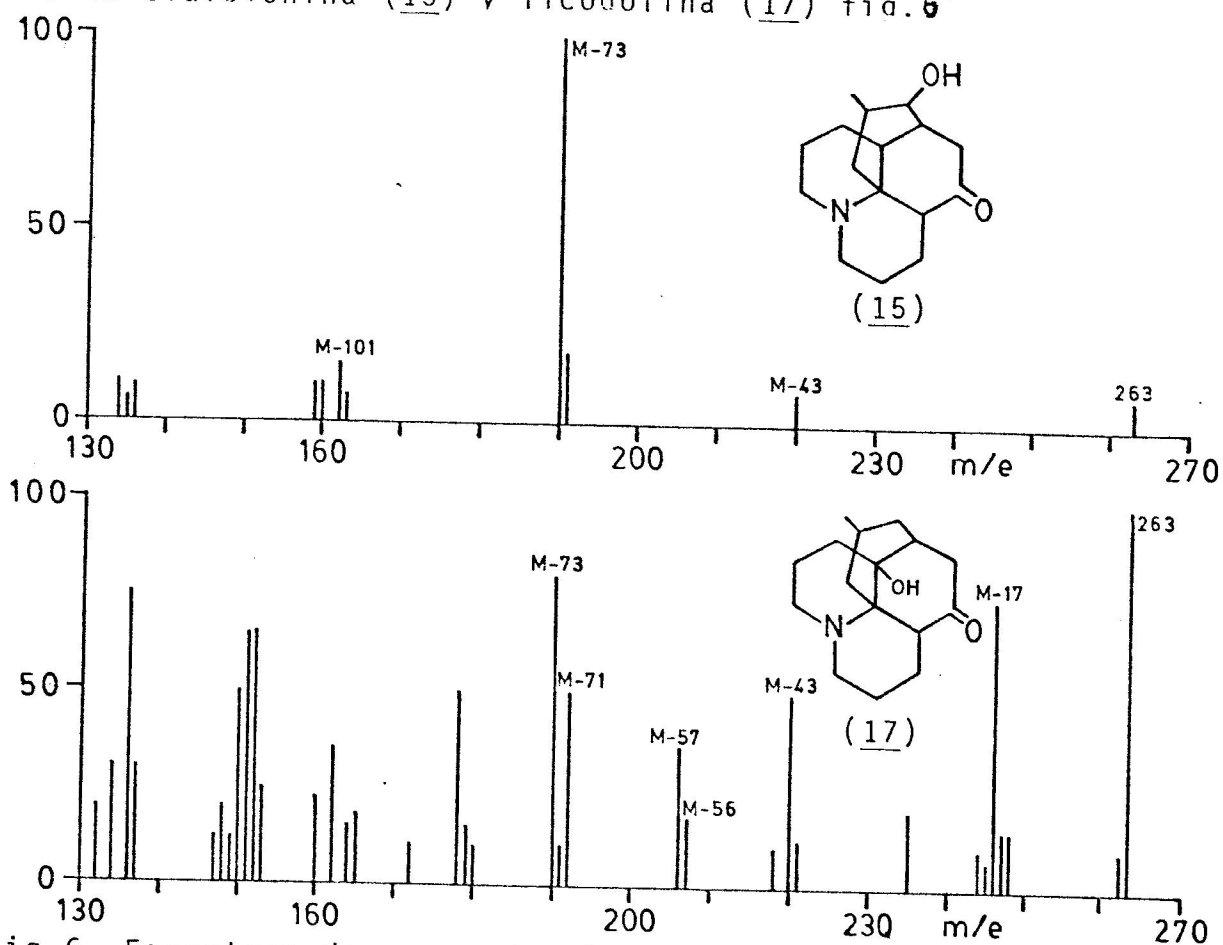


Fig.6. Espectros de masas de clavolonina (15) y Licodolina (17)

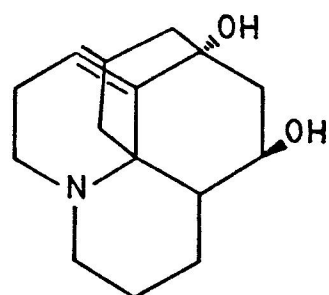
En clavolonina (15) la señal más intensa corresponde a un ión de m/e 190 (M-73) que corresponde a la pérdida de elementos del anillo puente más un átomo de hidrógeno.

A continuación se pierden 28 unidades de masa para producir un ión a m/e 162 (M-101) y una posterior pérdida de 28 unidades de masa para producir un ión a m/e 134. Licodolina, que difiere de clavolonina en la posición del grupo hidróxilo (C-12), presenta un espectro más complejo. El ión molecular es ahora el ión más intenso, mientras que el ión a M-57 es menos intenso que varios otros. La señal a M-56 tiene aproximadamente un 50% de la señal a M-57. La señal a M-43 es más intensa que el ión a M-57. El ión a M-71 puede atribuirse a la pérdida de 28 unidades de masa a partir del ión a M-43. El ión a M-17 puede atribuirse a pérdida del grupo hidróxido.

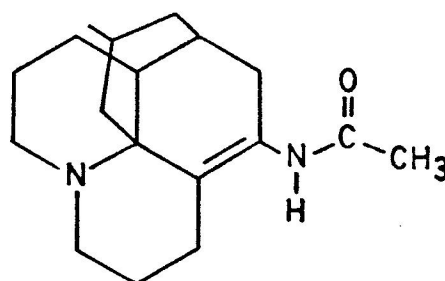
Las analogías encontradas han permitido y facilitado enormemente la elucidación estructural de estos alcaloides, a través de la información que se puede obtener a partir de las señales diagnóstico en cuanto al tipo de esqueleto carbonado, grupos funcionales y su localización en el esqueleto correspondiente.

Las aplicaciones más importantes de este método se han llevado a cabo en la elucidación estructural de alcaloides del tipo de licopodina y de licodina, tales como. lico-fawcina⁴² (20), o-acetilofolina⁴³ (31), flabellina⁴⁴ (32), serratidina⁴⁵ (33), sauroxina⁴⁰ (28) e hidróxi-des-N-metil α obscurina⁴⁴ (34).

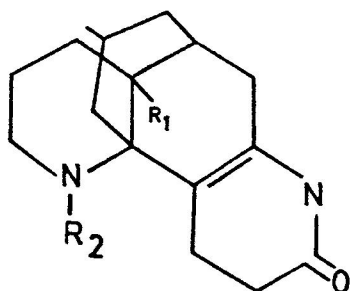
El examen de los espectros de masas de licofawcina⁴² (20), de varios de sus derivados y comparación de estos con



(33)



(32)

 $R_1 = \text{OH}; R_2 = \text{H}$ (34) $R_1 = \text{H}; R_2 = \text{CH}_3$ (21) $R_1 = \text{H}; R_2 = \text{H}$ (35)

los espectros de alcaloides tipo licopodina conocidos, sugirió que este alcaloide, era del tipo de licopodina sustituido en C-5 por un grupo acetato y por hidróxilos en C-12 y C-8 o C-14. La estructura propuesta para licofawcina (20), fue corroborada posteriormente, por correlaciones químicas con alcaloides de estructura conocida. Su espectro de masas (fig.7) puede racionalizarse según el esquema de fragmentación 2.

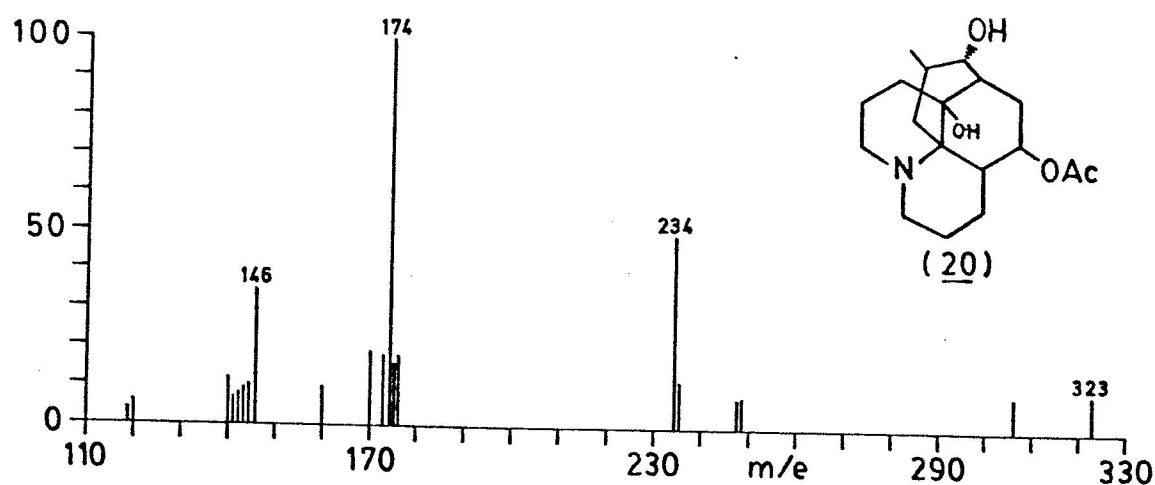
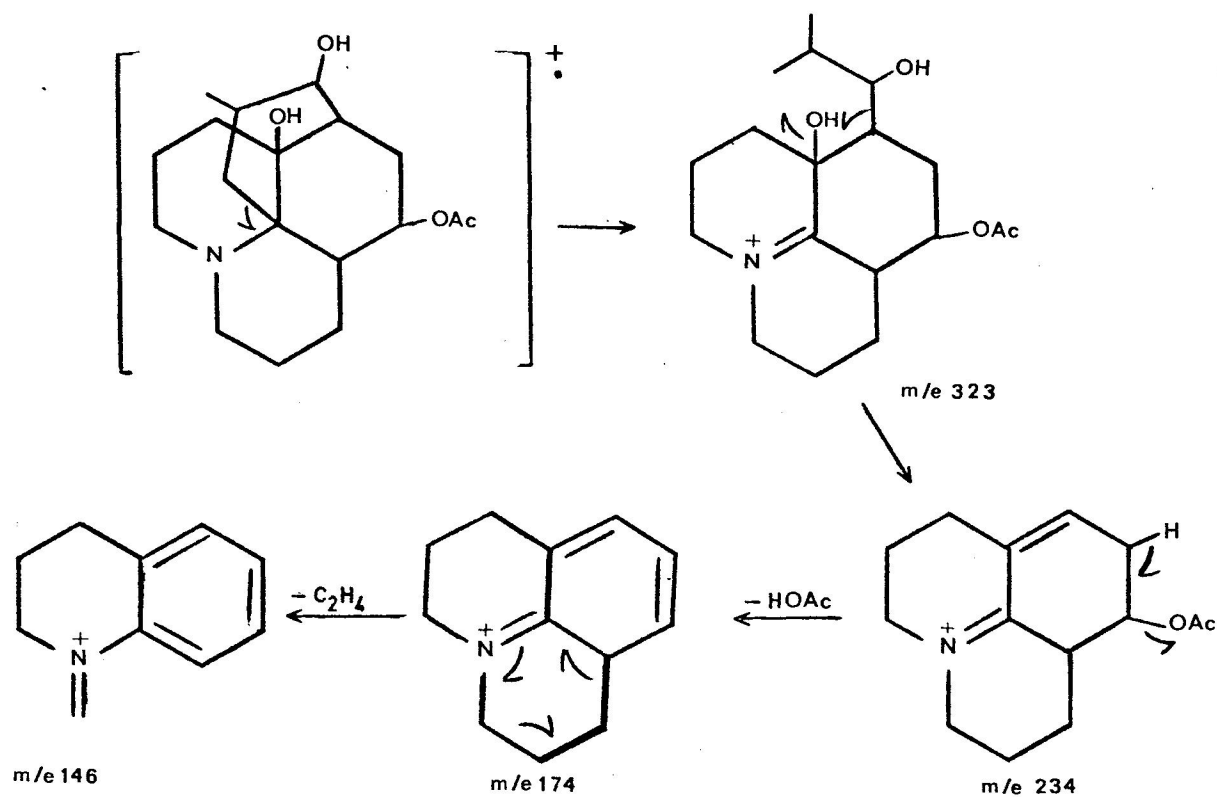


Fig.7 Espectro de masas de licofawcina. (20).



Esquema 2. Racionalización de espectro de masas de licofawcina.

La comparación de los E.M de hidroxides-N-metil- α -obscurina (34) y des-N-metil- α -obscurina (35), permitió verificar que ambos espectros difieren de la misma forma que licodolina (17) difiere de licopodina (1). Se concluyó que el grupo hidróxilo, en hidroxides-N-metil- α -obscurina, tiene la misma posición relativa que en licodolina, vale decir en C-12.

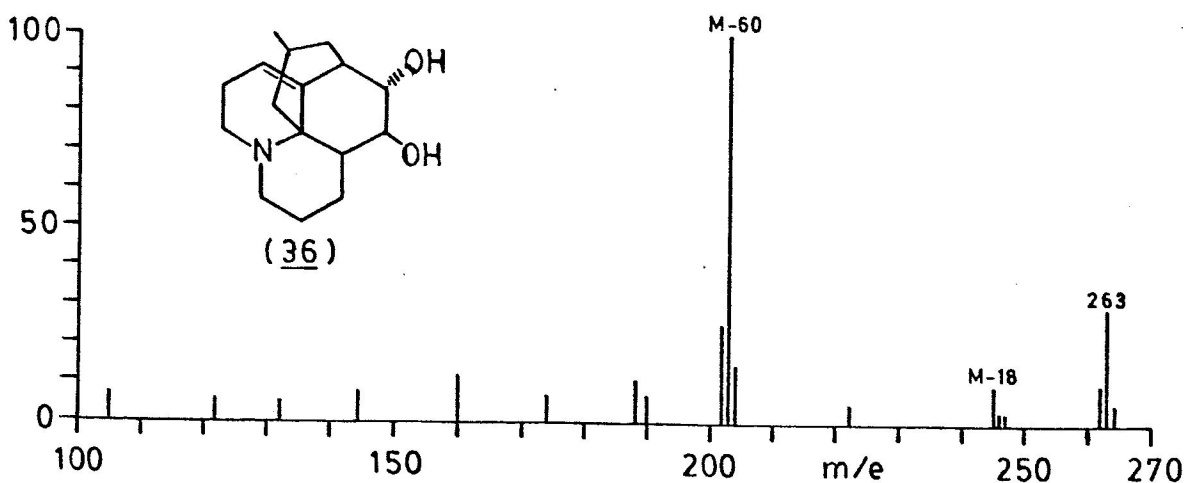
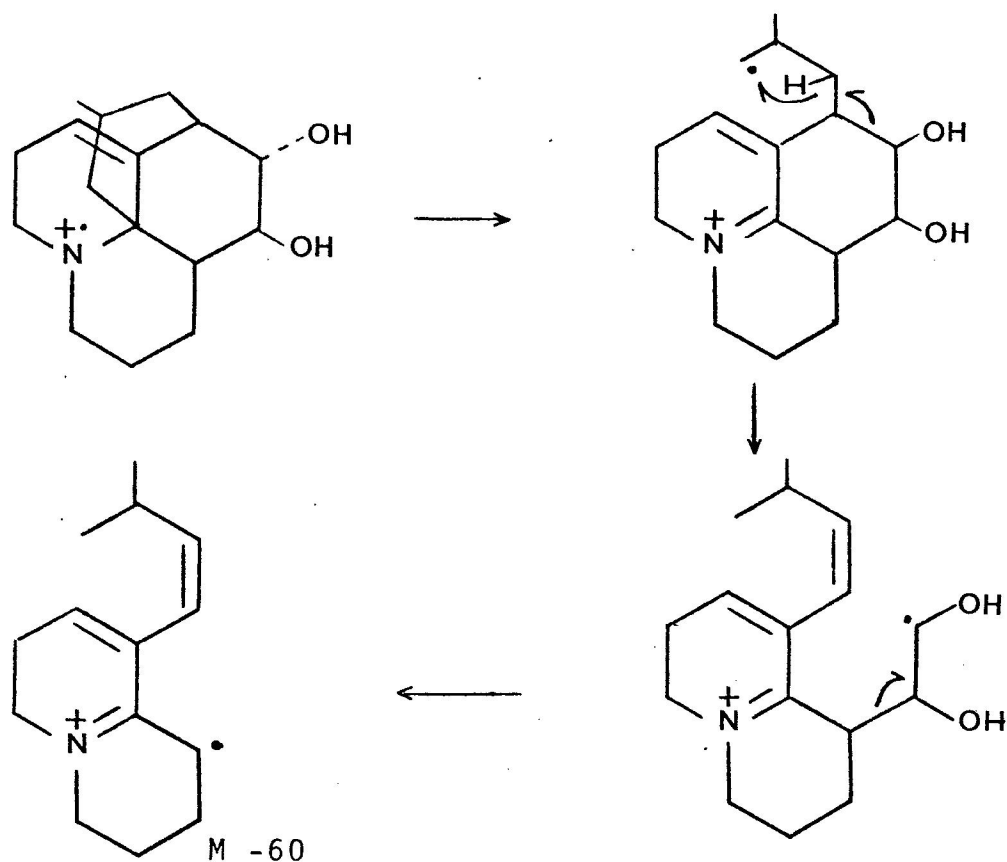


Fig.8 Espectro de masas de lucidiolina (36),

El análisis del E.M de lucidiolina⁴⁶ (36) (fig.8.) permitió inferir que los dos grupos hidróxilos presentes en este alcaloide, están en átomos de C adyacentes, por la presencia de un intenso ión a m/e 203 (M-60) y del hecho que aparentemente su formación ocurre en una sola etapa (señal meta estable a m/e 156.8 . La ausencia de un intenso ión m/e 206 (M-57) (característico de alcaloides tipo licopodina que tienen un H en C-12) implica que el doble enlace puede estar en C-11 y C-12 del esqueleto de licopodina. Estas asignaciones se corroboran por comparación química con desacetil-licoclavina⁴⁶ (37). El esquema 3 racionaliza el E.M de lucidiolina (36).



Esquema 3 Fragmentación de espectro de masas de lucidiolina.

Posteriormente, los estudios de racionalización de los E.M de los alcaloides antes mencionados, se vieron fortalecidos e influyeron en gran medida en la elucidación estructural de dos nuevos tipos de esqueletos carbonados de alcaloides de *Lycopodium*, liconnotina³² (2) y annotina⁴⁷ (3).

El examen del espectro de masas de liconnotina³² (2) permitió confirmar su peso molecular y el análisis de su esquema de fragmentación (esquema 4.) mostró su relación con los otros alcaloides anteriormente estudiados. Proporcionó

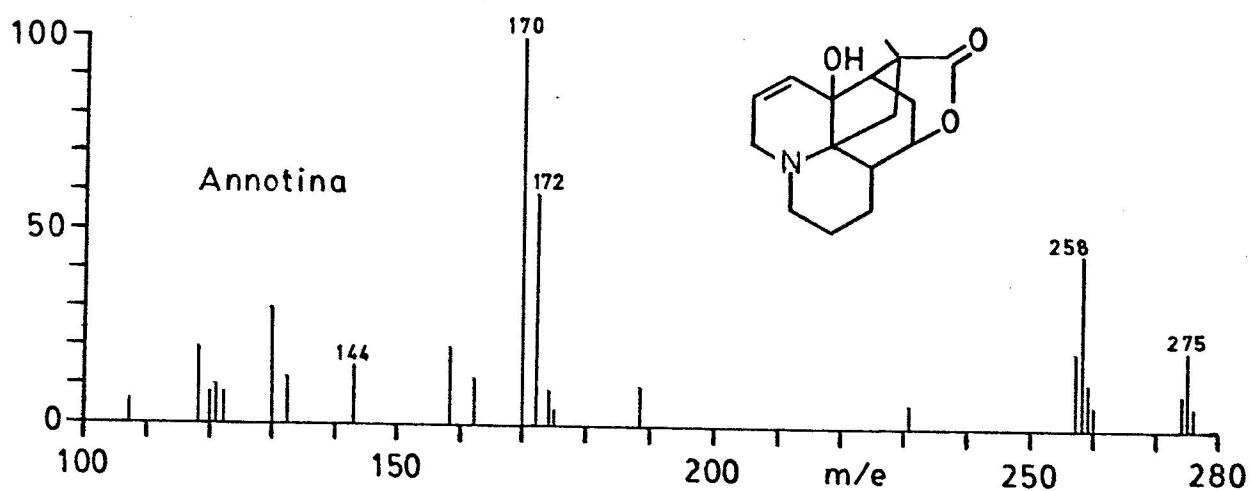
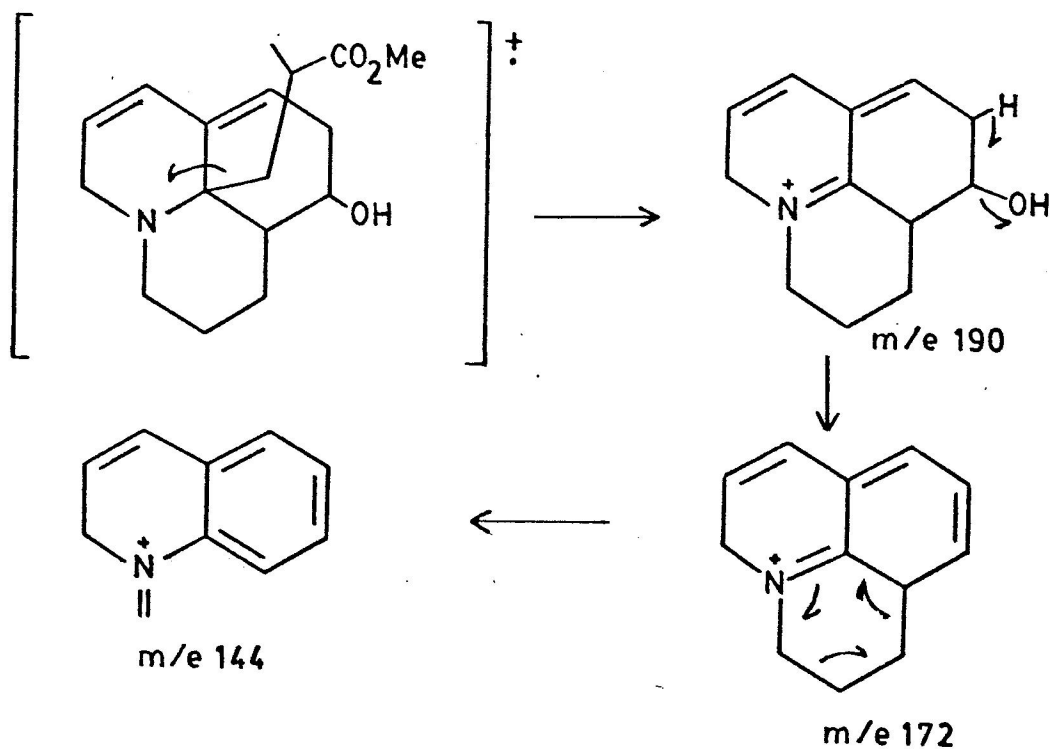


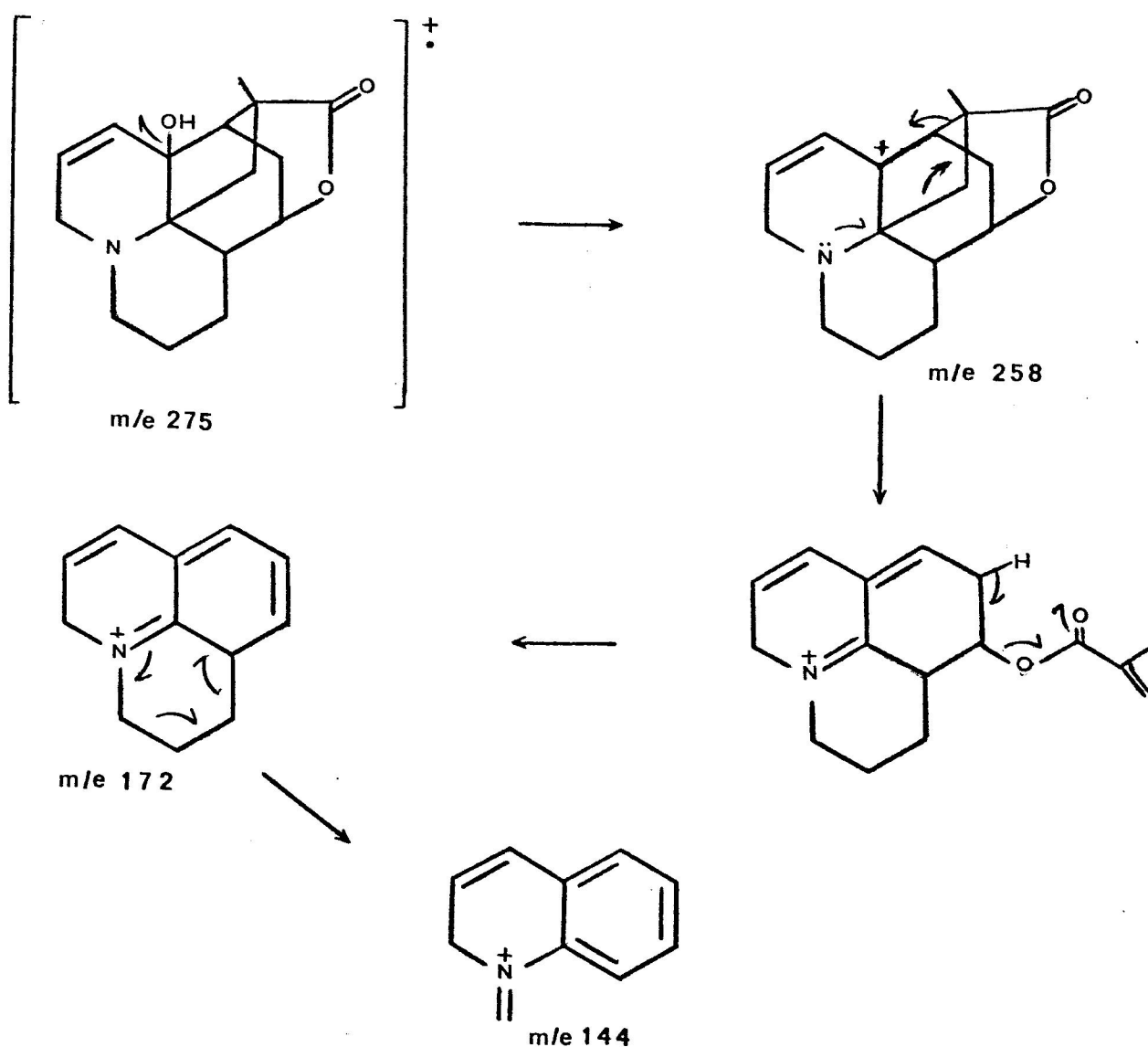
Fig.9 Espectro de masas de annotina (3)

una buena evidencia para la presencia del sistema hidrojulolidina y el grupo ester de la cadena lateral, a través de iones fragmentos de mayor intensidad a m/e 190 (señal base), 172 y 144.



Esquema 4 Fragmentación de espectro de masas de liconnotina.

En annotina¹⁷ (3) E.M proporcionó una buena evidencia para la presencia del sistema hidrojulolidina, anillo puente entre los C-7 y C-13 y sustitución del grupo hidróxilo en C-12, dado que annotina y sus derivados pierden el anillo puente en uno de sus mecanismos de fragmentación más importantes (esq.5), y posteriores fragmentaciones producen iones a m/e 172,170,144.



Esquema 5 Fragmentación de espectro de masas de annotina.

Con la investigación de nuevas especies de Lycopodium se conocieron nuevos alcaloides que presentaron E.M. marcadamente diferente de los tipos antes mencionados (fig.10), lo que permitió suponer que se trataba de alcaloides con un esqueleto estructural distinto. Tal es el caso de los estudios estructurales de Cernuina¹⁹ (8), serratinina⁴⁸ (6), lucidulina⁴⁹ (10) y sus derivados.

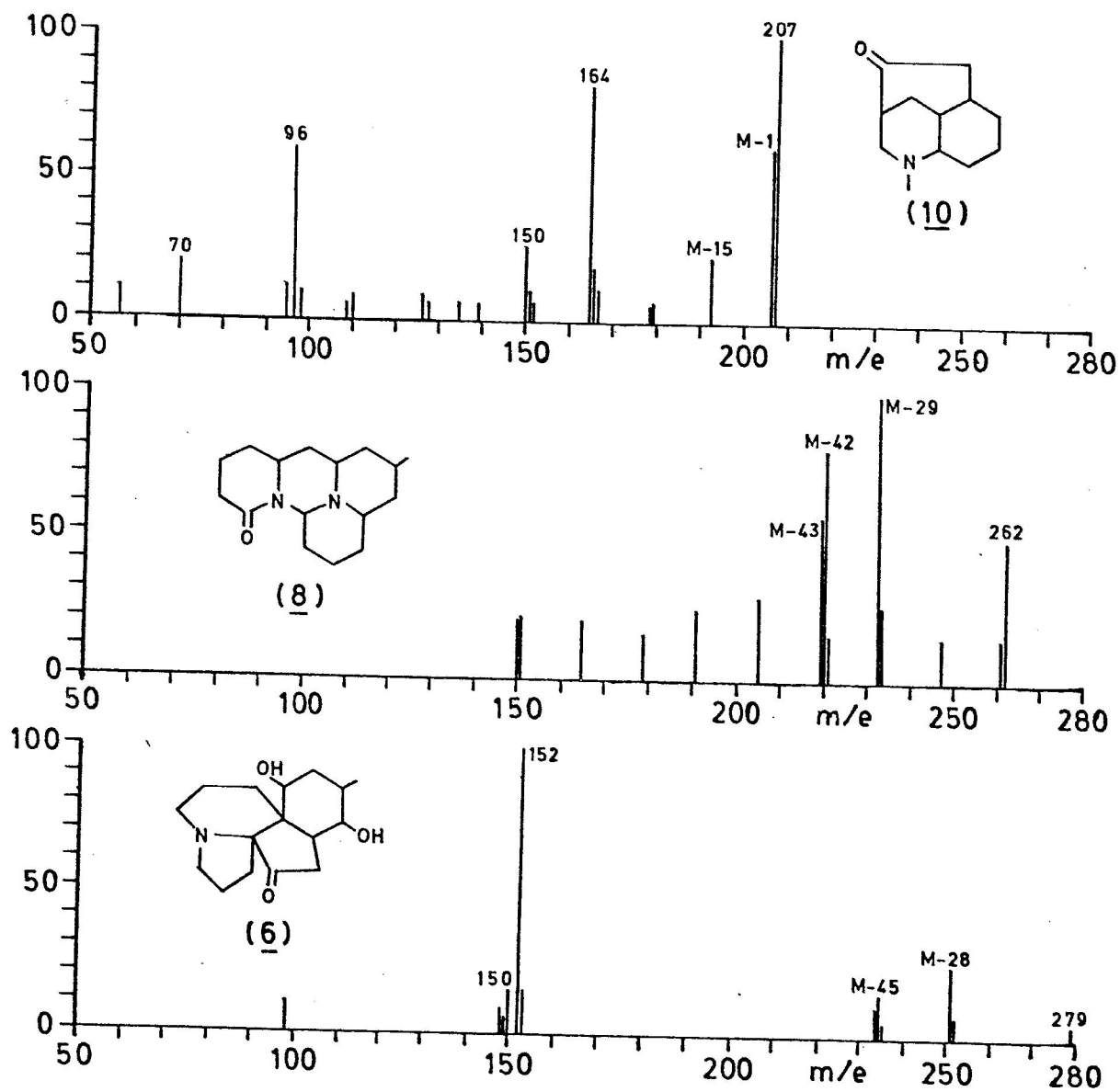


Fig.10 Espectros de masas de cernuina (8), serratinina (6) y lucidulina (10).

En ninguno de estos casos se observan las señales diagnósticas características de los alcaloides relacionados con el esqueleto de licopodina o que poseen el sistema hidrojulolidina mencionados anteriormente, cuya fragmentación más importante corresponde a la pérdida de los elementos del anillo puente sobre el sistema de hidrojulolidina.

1.7. Estereoquímica.

Una vez asignados el esqueleto carbonado, los grupos funcionales y su posición en dicho esqueleto permanece latente el problema de la delineación estereoquímica de la molécula, vale decir la determinación de la configuración relativa y absoluta.

Los procedimientos clásicos para la determinación de la estereoquímica absoluta de una molécula, envuelven la conversión a otra molécula, cuya estereoquímica absoluta es conocida. Este procedimiento emplea una secuencia de etapas químicas en la cual el centro asimétrico no es perturbado, o la estereoquímica de cada etapa es realmente conocida.

La configuración relativa de los diferentes centros es generalmente asignada a través del análisis conformacional del epímero más estable termodinámicamente y por transformaciones de estereoquímica conocida y análisis espectroscópicos.

La gran mayoría de productos naturales pertenecen a grupos relacionados estructuralmente, y por consiguiente es posible determinar el esqueleto y estereoquímica de un compuesto desconocido, por conversión en un compuesto cuya estructura y estereoquímica haya sido determinada previamente. Por otra parte el uso e interpretación de parámetros físicos, como son los estudios de análisis de difracción de Rayos X y de actividad óptica, constituyen actualmente los métodos más

utilizados en la determinación de la estereoquímica de una molécula. La actividad óptica es referida a los métodos que utilizan mediciones de poder rotatorio, dispersión óptica rotatoria y dicroísmo circular.

1.7.1. Poder Rotatorio.

Las mediciones de rotación óptica a una sola longitud de onda, generalmente referidas a la línea D del sodio (a 589 nm), han sido utilizadas en la determinación de la configuración absoluta, fundamentalmente a través de métodos o reglas empíricas basadas en argumentos que relacionan los desplazamientos en la rotación que tiene lugar cuando un compuesto es modificado estructuralmente de cierta manera. Dado la aplicación en el campo de los estudios estructurales de alcaloides de Lycopodium, nos referiremos al método de Horeau y a la regla del benzoato.

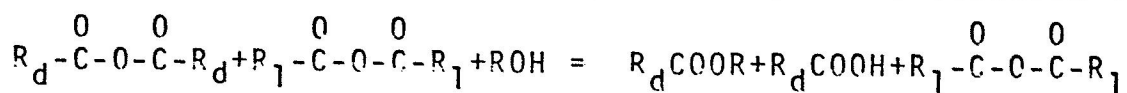
Método de desdoblamiento parcial de Horeau

El método de desdoblamiento parcial⁵⁰⁻⁵² es una regla empírica que relaciona la configuración absoluta de un alcohol secundario ópticamente activo y su esterificación preferencial por una de las antípodas del ácido α fenil-butírico. Este método se basa en las diferencias de reactividad debidas a interacciones estéricas.

Es decir, un enantiómero A puede reaccionar con velocidades diferentes sobre cada una de las antípodas ópticas d y l de otro componente B; por consiguiente, si se hace reaccionar en un medio homogéneo una molécula A con una mezcla de una molécula d y de una molécula l de B, se puede esperar que al término de la reacción, encontremos en la porción no combinada un exceso de una de las antípodas con respecto a la otra, lo que constituye un desdoblamiento parcial.

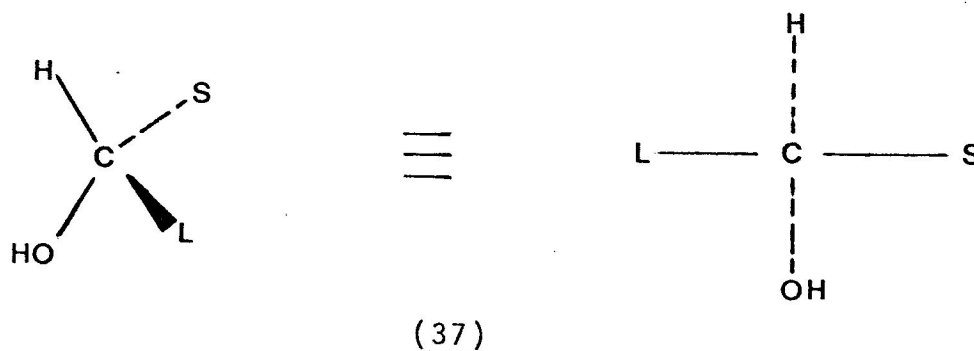
Se puede ilustrar este método en el caso de la esterificación en piridina de una molécula de l-mentol y dos moléculas de cloruro de ácido α fenil-butírico racémico; después de la reacción, hidrólisis, eliminación de solvente, recuperación con éter y tratamiento con solución de hidróxido de sodio, la fase alcalina presenta un poder rotatorio positivo, lo que solamente puede atribuirse a la presencia de ácido ópticamente activo.

Por consiguiente, si se conoce la configuración absoluta de la antípoda que aparece y por ende la que reaccionó preferentemente, este método permite deducir la configuración absoluta del alcohol reactante. Suponiendo que la reacción es totalmente estereoespecífica para producir el ester del ácido dextro, a partir del anhídrido α - fenil-butírico racémico, podremos representar el método por la siguiente ecuación :



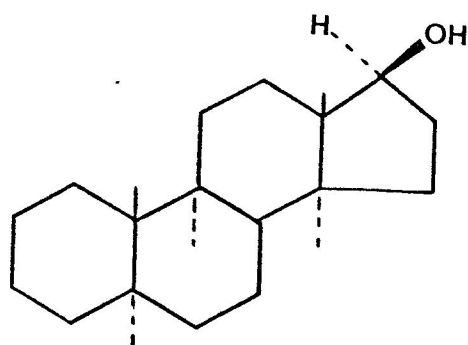
La estereoespecificidad de la reacción está en el hecho determinada por la actividad óptica del ácido α -fenil-butírico recuperado de la reacción. Si el ácido α - fenil - butírico

recuperado es dextrorrotatorio (+), entonces la configuración absoluta del alcohol, está representada por la fórmula (37), en que L se refiere al grupo estéricamente mayor y S se refiere al sustituyente estéricamente menor.

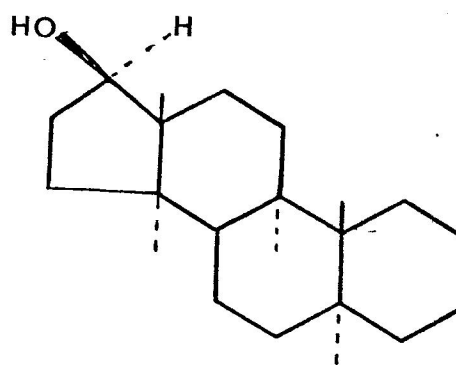


El valor absoluto del rendimiento óptico, es por otra parte, una indicación de la diferencia de volumen entre el grupo L y S.

Aplicaciones de esta regla empírica han sido efectuadas en el campo de la química de alcoholes esteroideos⁵² muy variados y han permitido determinar con gran seguridad la configuración α o β del grupo hidróxilo en diferentes posiciones. Así por ejemplo la aplicación de este método a un 17 β hidróxi-esteroide, donde se conoce la configuración relativa de todos los centros de asimetría y que produce un exceso de ácido levo, permitió asignar la configuración absoluta del esqueleto esteroideal que aparece representada por (38a), excluyendo su antípoda (38b).



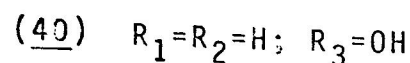
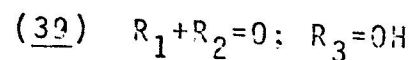
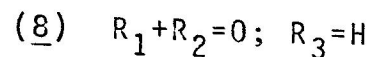
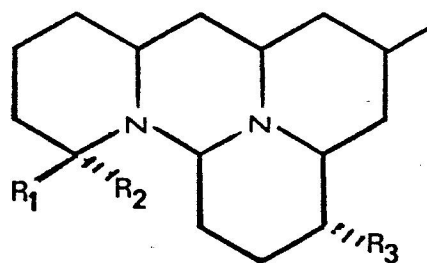
(38a)



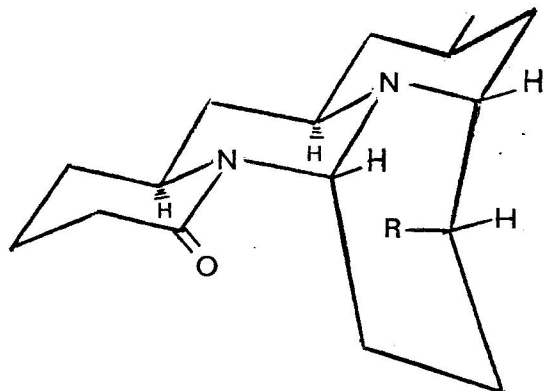
(38b)

Es conveniente señalar que este método implica la utilización de cantidades, del orden de 100 micromoles del alcohol cuya configuración absoluta se desea determinar. Modificaciones de este método, utilizando cromatografía de gases, emplea cantidades de 10 micromoles de alcohol⁵³.

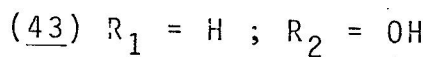
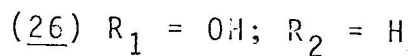
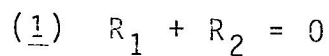
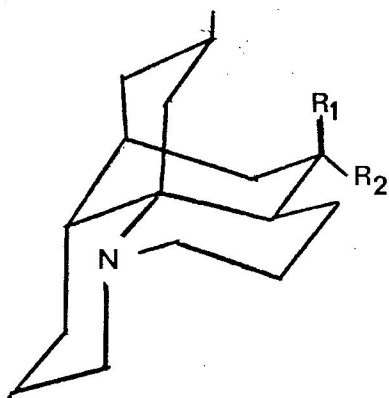
En el campo de la estereoquímica de alcaloides de Lycopodium, este método se ha utilizado en la determinación de la configuración absoluta de cernuina (8) y licocernuina²¹ (39). La reacción con anhídrido α - fenil- butírico racémico se llevó a cabo con licocernuina y dehidrodeoxilicocernuina (40).



obteniéndose en ambos casos un exceso de ácido dextro (+).
 Esto indicó que el C-12, unido al grupo hidróxilo, tiene una configuración R y por consiguiente la configuración absoluta de cernuina y licocernuina son las que aparecen representadas en (41) (42) respectivamente.

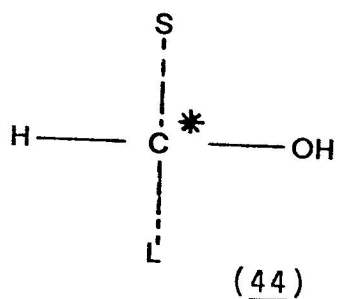


La configuración absoluta de licopodina (1) fué corroborada por la aplicación de este método a dihidrolicopodina (26) y α - dihidrolicopodina³⁰ (43).



Regla del benzoato

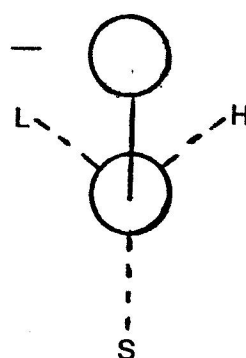
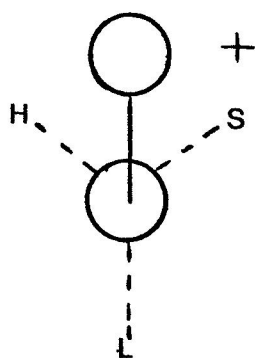
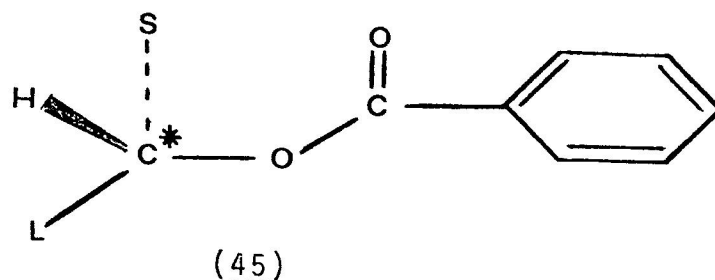
Esta regla empírica⁵⁴ sugiere que el benzoato de un alcohol secundario, cuya configuración es la representada por (44), es más dextrorrotatoria que el alcohol base.



S = Grupo pequeño

L = Grupo grande

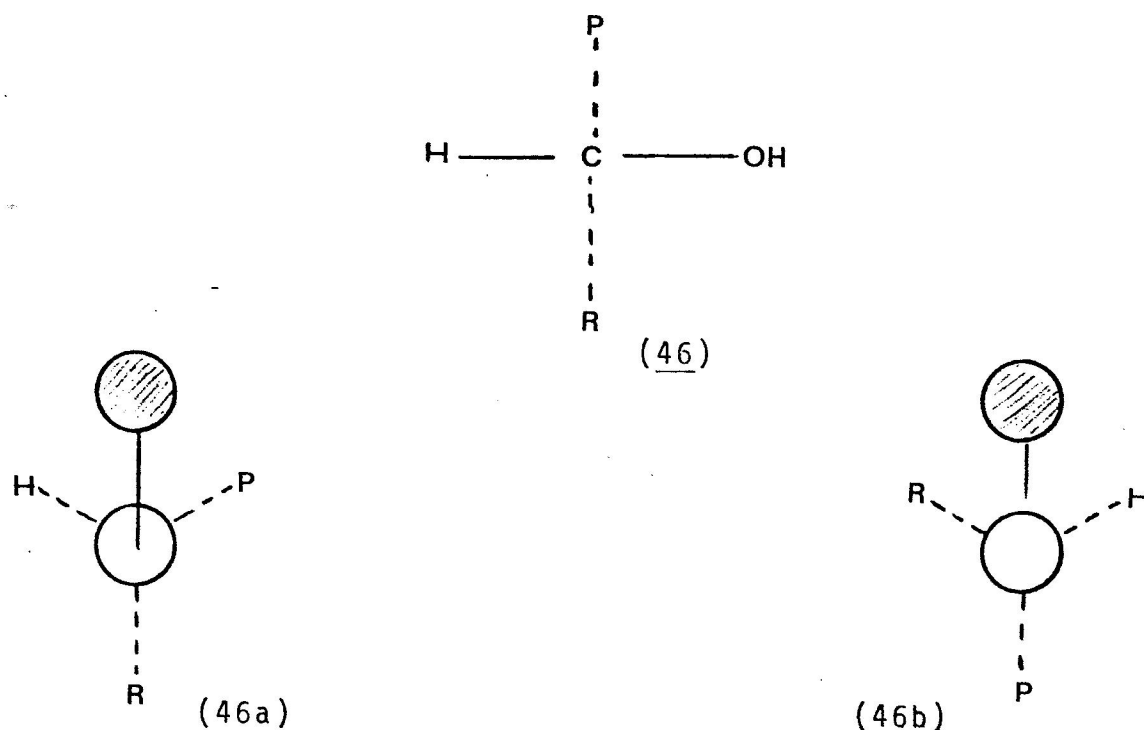
Esta regla puede ser racionalizada por el uso de las reglas de disimetría conformacional de Brewster.⁵⁵ El ester benzoato tenderá a adoptar la conformación planar (45), en la cual los efectos de resonancia son máximos y las interacciones estéricas entre el grupo fenilo y el grupo alquilo son mínimas. El átomo de oxígeno del grupo carbonilo tiene apreciables requerimientos estéricos y tenderá a alinearse de tal forma que esté flanqueado por los dos grupos sustituyentes más pequeños del átomo de carbono del carbinol. Así, el benzoato de (45) tenderá a asumir la conformación (45a) alrededor del enlace C*-O (El círculo sombreado representa el grupo carbonilo y el eje 1-4 del anillo bencénico). Esta conformación (45a) será fuertemente dextrorrotatoria, ya que el grupo alquilo S será más polarizable que el átomo de Hidrógeno.



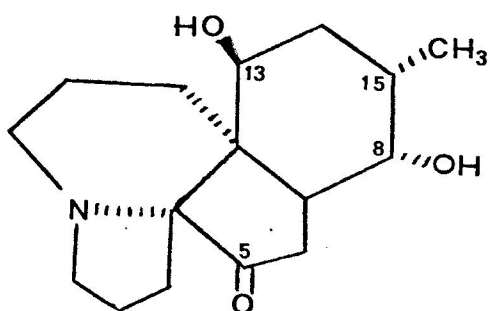
Si los requerimientos estéricos de L y S son muy diferentes, predominará la conformación (45a); por otra parte si los requerimientos estéricos de los grupos L y S fuesen similares, aumentará la contribución de la conformación levorotatoria (45b). De acuerdo con esto, si L y S son similares en polarizabilidad, la magnitud de la diferencia de rotación entre el benzoato y el alcohol ($\Delta = [M]_D \text{ benzoato} - [M]_D \text{ alcohol}$) será relativa a la diferencia de los requerimientos estéricos de los dos grupos.

Un análisis paralelo indica que cuando los dos sustituyentes del centro carbinólico tienen similares requerimientos estéricos, pero difieren en polarizabilidad, entonces el

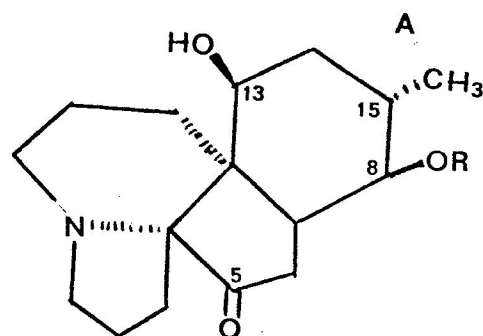
alcohol tiene la configuración (46) que mostrará un desplazamiento dextrorrotatorio al comparar las conformaciones (46a) y (46b). Estos desplazamientos se han observado en los alcoholes alílicos de las series terpénicas y esteroidales.



Uno de los métodos utilizados para determinar la configuración absoluta de serratinina (6), cuya configuración relativa estaba determinada, consistió en la aplicación de la regla del benzoato a 8-episerratinina^{18,56} (47a).



(6)



47a R = H

47b R = CO \emptyset

El tratamiento de (47a) con cloruro de benzoilo en piridina dió 8-benzoil-8epi-serratinina (47b). La aplicación de esta regla a 8-episerratinina (47a) y su benzoato (47b) dió los siguientes resultados :

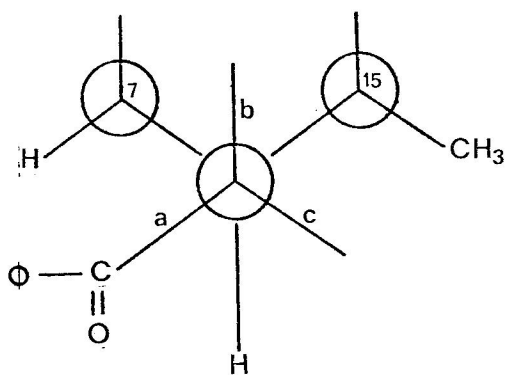
$$\Delta = [M]_D \text{ benzoato} - [M]_D \text{ alcohol} =$$

$$212.06^0 - 77.06^0 = + 134.40$$

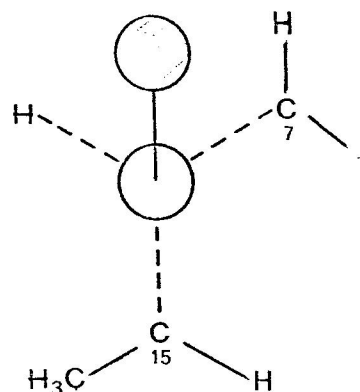
De acuerdo con las reglas de disimetría conformacional de Brewster⁵⁵, los resultados experimentales pueden racionalizarse de la siguiente manera : las proyecciones de Newman del entorno del enlace entre el oxígeno y el C-8 en 8-benzoil-8 epi- serratinina (47b) nos muestra tres posibles confórmeros con relación al enlace O-C=O (I).

Sin embargo, dos de ellos (b y c) pueden ser excluidos

en razón de que ambos presentan interacción 1-3 diaxial, y por consiguiente son las formas menos favorecidas. El enlace $O-C=O$, en la forma más favorable (Ia) está localizado entre los enlaces C_8-C_7 y C_8-H .

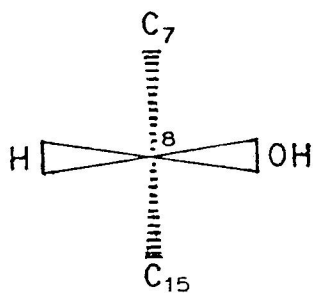


(I)

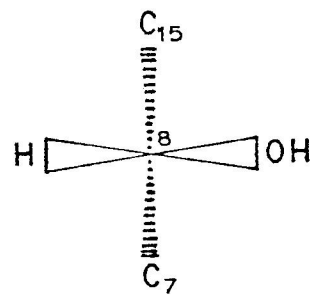


(Ia)

Ya que el valor observado de Δ muestra el valor positivo esperado de acuerdo a la proyección de Newman (Ia) para 8-benzoil-8-episerratinina (47b), puede concluirse que la configuración absoluta del centro asimétrico en C-8 en 8-episerratinina (47 a), es R y en serratinina es S.



(47a)



(6)

Por lo tanto, la configuración absoluta de serratinina es la señalada en (6) y no su enantiómero.

1.7.2. Dispersión óptica rotatoria (D.O.R) y λ dicroismo circular (D.C.)

D.O.R y D.C. representan las dos únicas técnicas físicas que permiten determinar la quiralidad de las moléculas; en este sentido, el grupo carbonilo saturado es la función que ha sido más ampliamente estudiada a través del efecto Cotton aproximadamente a 290 nm. debido a la transición $n \rightarrow \pi^*$ del grupo carbonilo^{57,58}.

Numerosos estudios en el campo de los esteroides dieron como resultado, sobre una base netamente empírica inicialmente, que el signo del efecto Cotton de un compuesto carbonilo es determinado por la estereoquímica de los alrededores inmediatos del cromóforo. De esta manera surgió la "Regla de Octantes", que proporcionó una base racional para la consideración de los efectos Cotton del grupo carbonilo y por consiguiente una guía muy útil para el estudio del entorno de esta función⁵⁹.

En la regla⁶⁰ "se mira la asimetría del compuesto a través de los ojos de la función absorbente", lo que implica que se usan los planos de simetría de los orbitales involucrados en la transición $n \rightarrow \pi^*$ del grupo carbonilo como línea de referencia para considerar la asimetría del compuesto. Así, el orbital $-n$ tiene un plano nodal coincidente con el plano (x,z) y el orbital π^* tiene dos superficies nodales coincidentes

con los planos (x,y) y (z,y) ; de tal manera que las tres superficies dividen el espacio alrededor de la cetona, por ej. la ciclohexanona, en ocho octantes.

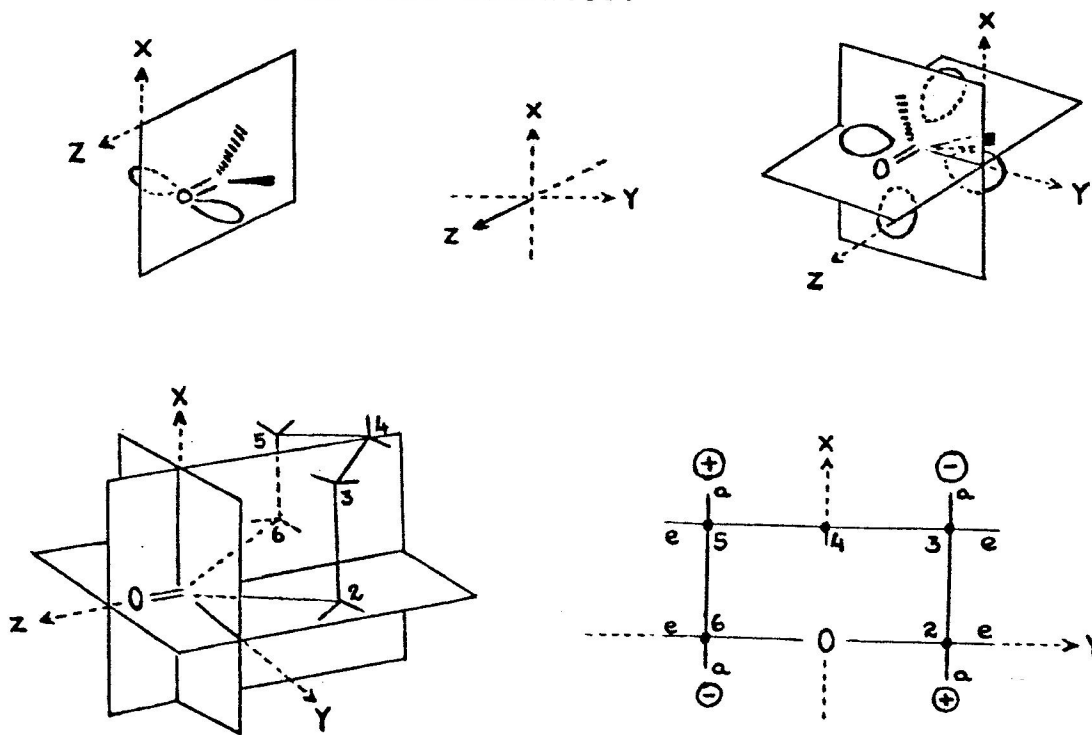


Fig.11 Regla de octantes

La regla de octantes(fig.11) establece que los sustituyentes que están en los octantes superior derecho posterior e inferior izquierdo posterior aportan contribuciones negativas y, los sustituyentes de los octantes superior izquierdo e inferior derecho aportan contribuciones positivas. Los sustituyentes que están en cualesquiera de los tres planos, no tienen ninguna contribución, además, los sustituyentes que están en los octantes delanteros aportan contribuciones opuestas a la de los octantes traseros. De esta manera la regla

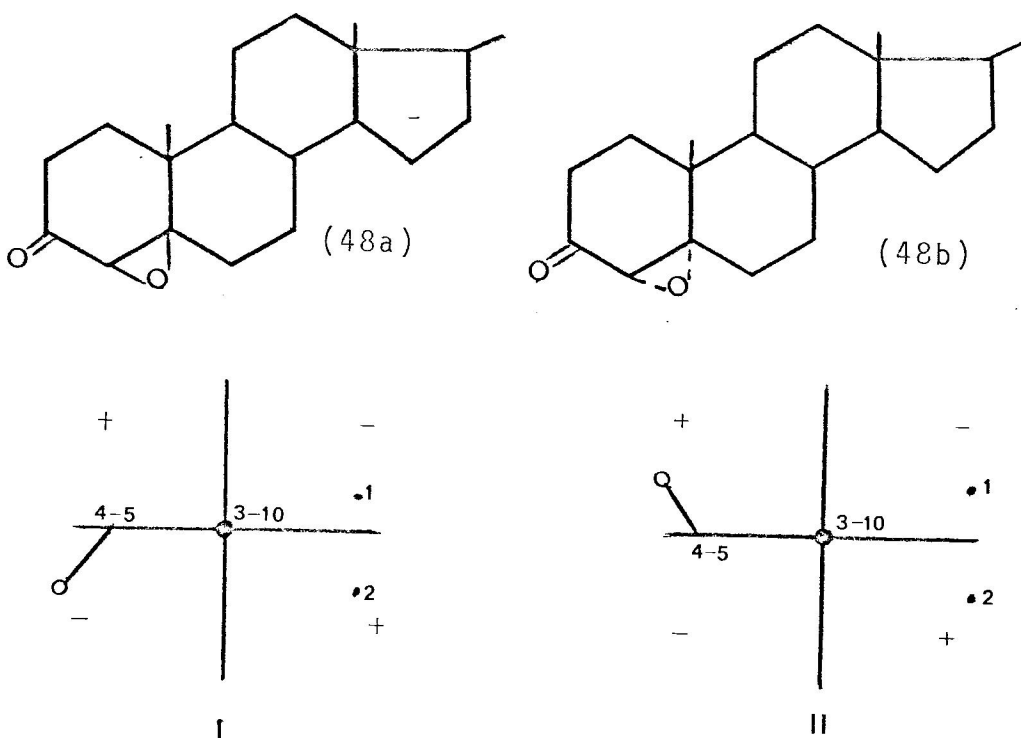
del octante relaciona la actividad óptica de los compuestos carbonílicos con las interacciones entre la función absorbente y los átomos o grupos enlazados.

La regla del octante permite determinar la configuración absoluta de una cetona si su conformación está establecida. Contrariamente, si la configuración absoluta es conocida, se puede determinar su conformación.

Esta regla que surgió inicialmente como una aplicación a numerosas ciclohexanonas de carácter esteroideal^{61,62}, ha sido ampliada y modificada a otros cromóforos⁶³, tales como cetonas α - β no saturadas, cetonas β - γ no saturadas, α - β epoxi-cetonas, etc.

La regla del octante para una α - β epoxi-cetona⁶⁴ nos indica que el signo del efecto Cotton está determinado por la orientación de la función epóxido y es contrario a la regla del octante antes señalada. Así por ejemplo las epoxi-cetonas esteroideas (48a) y (48b) presentan efectos Cotton positivo y negativo respectivamente, que son contrarios a los predichos por la regla del octante para cetonas saturadas. Los diagramas (I) y (II) representan la proyección del ciclo de los epóxidos (48a) y (48b) respectivamente.

La aplicación de estas técnicas, en la elucidación estructural de alcaloides de Lycopodium, ha permitido resolver fundamentalmente los problemas de configuración absoluta de algunos alcaloides y la determinación de la posición del grupo carbonilo en alcaloides del tipo licopodina.



La configuración absoluta de licopodina^{65,66} (1) fue asignada por D.O.R a través de la aplicación de la regla de octantes y de la regla de la halo-cetona- α -axial.

El signo positivo del efecto Cotton, para licopodina (1) y 6- α -bromolicopodina (49) se deduce a partir del diagrama representado en la fig. 12.

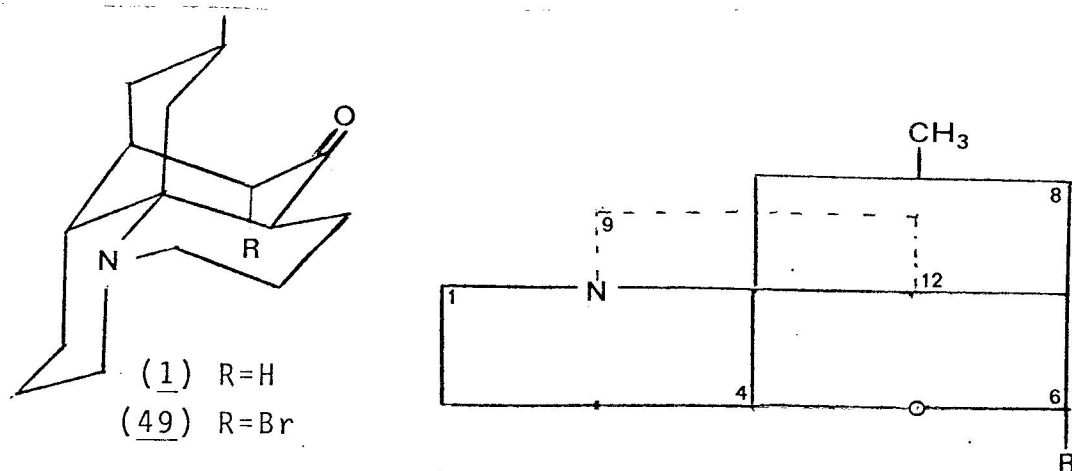
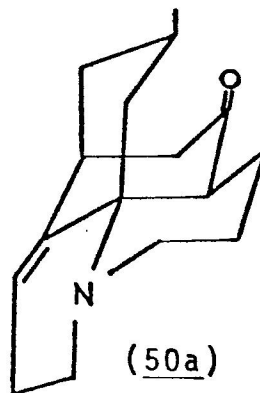
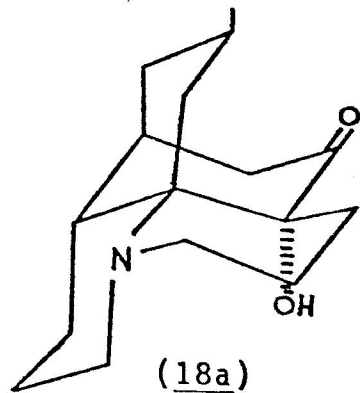
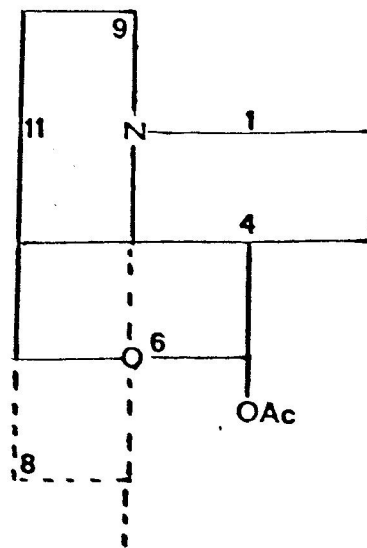
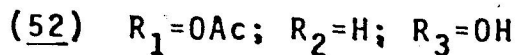
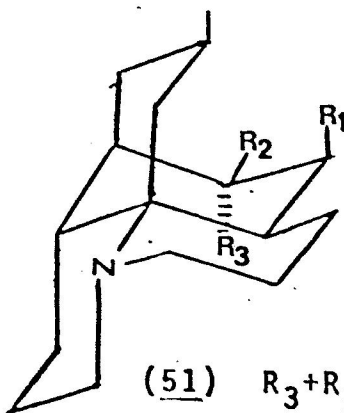


Fig.12 Diagrama de octantes de licopodina (1) y 6- α -bromolicopodina (49).

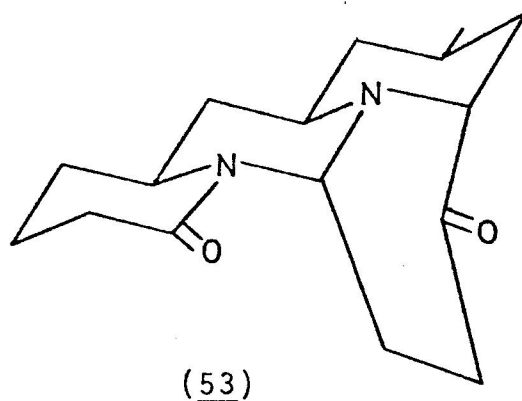
La similitud de los espectros de D.O.R entre licopodina (1) y flabelliformina (18) y anhidrolicodolina³⁰, permitió asignar las conformaciones (18a) y (50a) para estos alcaloides en solventes próticos.



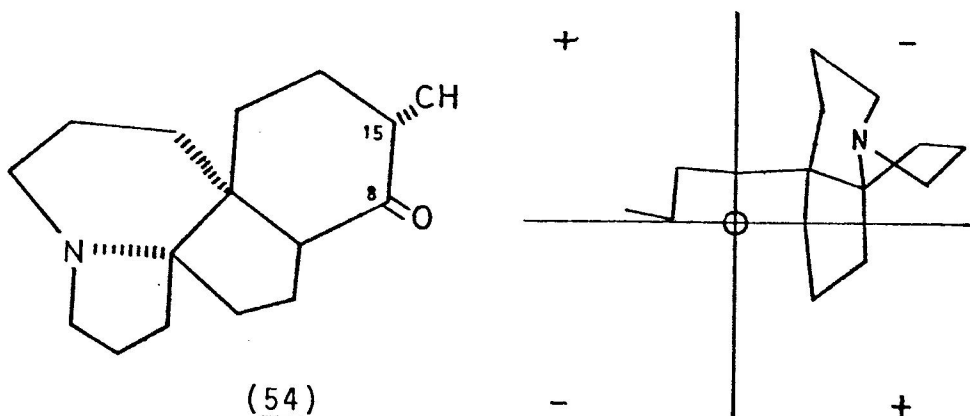
En licoclavinona⁶⁷ (51), producto de oxidación de licoclavina (52), D.O.R permitió asignar la posición del grupo carbonilo en C-5 del esqueleto de licopodina. La regla del octante predice un efecto Cotton positivo para un grupo carbonilo en C-5 y negativo para un carbonilo en C-6, según el diagrama siguiente.



La configuración absoluta de cernuina (8) fué asignada a partir del espectro de D.O.R de dehidrolicocernuina (53), que muestra un efecto Cotton positivo, de acuerdo con la aplicación de la regla de octantes a un sistema 3-piperidona²¹.



La configuración absoluta de serratinina (6) se determinó por aplicación de la regla del benzoato y por D.O.R a 8-dehidro-5-deoxo-13-deoxiserratinina¹⁸ (54).



1.7.3. Análisis de difracción de Rayos X

El método de difracción de Rayos X se diferencia de la mayor parte de las técnicas físicas antes mencionadas, en que ofrece la posibilidad de describir en forma completa la posición y naturaleza de los átomos en una molécula.

En los estudios estructurales de productos naturales el análisis de difracción de Rayos X ha sido utilizado, especialmente el método del átomo pesado, en la determinación de estructuras complejas y de aquellos productos naturales que son aislados en pequeñísimas cantidades. En lo que se refiere a alcaloides de Lycopodium, el análisis de difracción de Rayos X, ha permitido determinar las estructuras y configuraciones relativa y absoluta de algunos alcaloides, para los cuales no fué posible llevar a cabo la determinación completa de sus estructuras por los métodos físicos expuestos en párrafos anteriores. Annotinina⁶⁹ (9), Lucidulina⁴⁹ (10) Alopecurina⁷⁰ (13), Annopodina⁶⁸ (11), Licoflexina²² (4), Paniculatina²³ (14), etc. representan algunos casos de aplicación del análisis de Rayos X, en derivados halogenados (especialmente Bromados) de estos alcaloides.

1.8. Objetivos

En Chile existen seis especies del género Lycopodium, según Gualterio Looser⁷⁴ L. fuegianum, L. magellanicum, L. paniculatum, L. chonoticum, L. confertum y L. gayanum.

A partir del año 1972 se iniciaron en el laboratorio de Productos Naturales de la Facultad de Ciencias, los estudios químicos de especies chilenas de este género⁷¹⁻⁷³. Estudios preliminares de L. magellanicum⁷¹ determinaron el aislamiento y caracterización estructural de cuatro bases conocidas como Licopodina, α -obscurina, Desacetil-fawcettina y clavolonina. Sin embargo, los análisis cromatográficos (c.c.f y c.g) de las fracciones remanentes, mostraron la presencia de otros componentes minoritarios. El presente trabajo se refiere al estudio químico de los alcaloides menores de Lycopodium magellanicum en dos nuevas recolecciones de material botánico.

Parte Experimental

2.1. Aparatos, Métodos y Materiales

Los espectros infrarojos (I.R) fueron determinados en un espectrofotómetro Perkin - Elmer 700 y/o 621, en pastillas de Bromuro de Potasio, Cloroformo o en Nujol.

Los espectros de Resonancia Magnética protónica (R.M. P.) fueron determinados en solución de Cloroformo deuterado a 60 MHz en un instrumento Varian T-60 y/o a 220 MHz en un instrumento Varian HR-200. Los desplazamientos químicos se indican en p.p.m. (δ), desde Tetrametil-Silano (T.M.S) para denotar la multiplicidad de las señales se usan los símbolos s (singlete), d (doblete), t. (triplete) y m (multiplete); $a_{1/2}$ denota el ancho (en Hz) de una banda a la mitad de su altura.

El espectro de Resonancia Magnética Nuclear de Carbono -13 de Magellanina fué determinado en solución de cloroformo deuterado, usando T.M.S como referencia interna, en un aparato Varian CFT-20.

Los espectros ultravioleta (U.V), fueron tomados en un espectrofotómetro Cary-17 utilizando etanol como solvente.

Los espectros de masas fueron registrados con un espectrómetro de masas CEC21-110B a un voltaje de ionización de 80 ev. y a una temperatura de 150 - 200°C, o bien, en un aparato Varian CH-7 de vaporización directa en la cámara de ionización a una temperatura de 50 - 180°C. Los espectros se

han graficado en términos de la abundancia relativa a la señal más intensa (100%) y sólo se han mostrado las señales de intensidad relativa superiores a 5%.

Los espectros de Dispersión Óptica Rotatoria (D.O.R), fueron determinados en etanol o cloroformo, en un polarímetro Perkin - Elmer modelo 24IMC o 141.

Los puntos de fusión se tomaron en un microscopio con placa calefactora E. Leitz Wetzlar y no fueron corregidos.

En cromatografía de gases (C.G), se usó un aparato Perkin - Elmer 900 con detector de ionización de llama, con H_2 a una presión de 20 libras por pulgada cuadrada. Como gas transportador se usó N_2 con un flujo de 40 ml/min medido a la salida de la columna.

Se utilizaron columnas OV-17 y OV-1 al 3% empacadas con Chromosob - W y anakrom - Q, respectivamente, de 1,50 mts. de largo y 0,31 cm. de diámetro. Los cromatogramas se obtuvieron a temperatura isotérmica (210°C).

Las separaciones por cromatografía de adsorción en columna fueron desarrolladas utilizando alumina básica tipo E-60 (E.Merck), de actividad I y ajustada a actividad II o III agregando la cantidad de agua correspondiente⁷⁵.

Las placas cromatográficas de capa fina (c.c.f), fueron preparadas con silicagel GF₂₅₄ y óxido de aluminio GF₂₅₄ (tipo E) (E.Merck), de un espesor de 0.2 y 0.5 mm, secadas durante una hora a 110°C. Se revelaron con reactivo de Dragendorff y/o con vapor de Yodo.

Los sistemas de solvente utilizados fueron :

Sistema a : CHCl_3

Sistema b : CHCl_3 - MeOH 99 : 1

Sistema c : CHCl_3 - MeOH 95 : 1

Sistema d : Et_2O

Las distribuciones en contracorriente se realizaron fundamentalmente en un aparato de Craig de cien tubos con una capacidad de 25 ml de fase orgánica y 25 ml de fase acuosa. En todos los casos la fase móvil correspondió a la fase acuosa.

Las distribuciones en contracorriente se hicieron a diferentes pH ; los sistemas Buffer utilizados fueron :

1.- Sistema fosfato-cítrico⁷⁶.

2.- Sistema Borax-ácido clorhídrico⁷⁷.

Los microanálisis fueron determinados por el Departamento de Química, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad de Chile, Santiago y por Gygli Microanalytical Laboratory, Toronto, Ontario.

Los hidrobromuros y percloratos fueron preparados por acidificación de una solución del alcaloide en etanol o acetona (- 20 mgs del alcaloide en 2 ml de solvente), con el ácido correspondiente y posterior adición de gotas de éter etílico hasta opalescencia, para permitir la cristalización de la sal.

2.2 Recolección del material botánico.

El material botánico fué recolectado en las cercanías del Volcán Osorno durante el mes de Octubre, en dos recolecciones :

I .- 1973. Volcán Osorno

II.- 1974. Antillanca

Fué identificado por el profesor Manuel Mahú (Facultad de Ciencias U. de Chile) y por el profesor Roberto Rodríguez (U. de Concepción), como Lycopodium magellanicum en sus tres variedades existentes⁷⁴ y se dispone de muestras representativas en el herbario de la Facultad de Ciencias, Universidad de Chile, Santiago.

2.3 Extracción y aislación de los alcaloides. Recolección 1973.

2.3.2 Obtención del crudo de alcaloides

La planta seca y molida (11 Kgs) se extrajo exhaustivamente con metanol en un aparato extractor Soxhlet durante 72 horas. La solución metanólica fué concentrada a presión reducida en un evaporador rotatorio y el residuo obtenido fué tratado varias veces con una solución acuosa de ácido clorhídrico al 5% v/v. El volumen total de ácido utilizado fué de 6 lts.

El extracto ácido fué dejado durante 24 hr. a baja

temperatura, posteriormente fué filtrado sobre celita y lavado con eter etílico (5 x 500 ml) para eliminar el material lípidico y neutro.

El material insoluble en ácido y el extracto etéreo no fueron analizados en esta oportunidad.

La solución acídica se basificó con solución acuosa de NaOH al 20% hasta llegar a pH = 11.

La solución alcalina se extrajo en un extractor líquido-líquido con cloroformo durante 96 hr . La solución clorofórmica obtenida, se concentró en un evaporador rotatorio y éste concentrado se secó con sulfato de sodio anhidro, se filtró sobre celita y se llevó a sequedad obteniéndose 26 gr de una laca de color café-rojizo que denominaremos "crudo de alcaloides".

2.3.2 Aislamiento de los alcaloides

El crudo de alcaloides (26 gr) se disolvió en 500 ml de cloroformo y se extrajo en un embudo de decantación con un volumen igual de solución Buffer fosfato-cítrico de pH = 7 (6 x 500 ml). La solución clorofórmica se secó con sulfato de sodio anhidro y previa filtración, se concentró a sequedad, obteniéndose 5.5 gr de un crudo de "bases débiles".

La solución acuosa de Buffer de pH = 7 se alcalinizó hasta pH = 11 con solución de NaOH al 20%. Extracción con cloroformo y evaporación del solvente dió 17.5 gr de un crudo de "bases fuertes".

Bases Fuertes :

El crudo de bases fuertes (17,5 gr) se sometió a una separación cromatográfica en una columna de alúmina básica (600 gr, act.I) y se eluyó en siete fracciones con solvente de menor a mayor polaridad (Tabla 3)

Tabla 3.

Fracción	Solvente	Peso (gr)
I	Eter	0,70
II	Eter	0,80
III	Eter-Cloroformo 50:50	4,36
IV	Cloroformo	1,68
V	Cloroformo-metanol 99:1	2,70
VI	Cloroformo-metanol 99:1	0,60
VII	Cloroformo-metanol 98:2	4,50

Fracción I :

Se disolvió en eter-etílico caliente y se enfrió, obteniéndose la cristalización de 0,50 gr de licopodina, idéntica en su comportamiento cromatográfico (c.c.f y c.g) punto de fusión y propiedades espectroscópicas con una muestra auténtica.

Fracción II :

Presentó de acuerdo con su comportamiento cromatográfico (c.c.f, c.g.), licopodina y otros componentes, pero no se pudo obtener resultados positivos en el proceso de

separación de estos componentes.

Fracción III :

Se adsorbió en una columna cromatográfica de alúmina básica (200 gr, act III) y eluida con los siguientes solventes, se obtuvo las fracciones que se indican en la Tabla 4.

Tabla 4.

Fracción	Solvente	Peso (gr)
IIIa	Cloroformo	1.20
IIIb	Cloroformo-metanol 98 : 2	0.85
IIIc	Cloroformo-metanol 98 : 2	0.30
IIId	Cloroformo-metanol 95 : 5	1.40

La fracción IIIa se disolvió en acetona caliente y sometida durante varios días a baja temperatura, produjo la cristalización de 550 mg. de una base, que corresponde a fawcettina.

Fawcettina :

Cristaliza en acetona. Punto de fusión 170-171°C.

Peso Molecular 307 (E.M)

Características espectroscópicas :

I.R (KBr) : (fig.13, pág.100) 3.350, 3000-2.800, 1730, 1440, 1380 y 1.250 cm^{-1} .

R.M.P : (fig.14, pág.100) (60 MHz, ppm) :

d.1.0 (3 H, J = 6.0 Hz) $\underline{\text{CH}_3}$ - CH
 s.2.0 (3 H) $\underline{\text{CH}_3}$ - COOR
 m.5.1 (1 H, a 1/2 = 12 Hz) $\underline{\text{CH}}$ - OOC - CH₃

E.M : (fig 16. pág.102) m/e (%), 307 (8), 264 (6), 248 (7),
 235 (16), 234 (100), 176 (6), 175 (8), 174 (25), 172 (5),
 146 (8), 137 (5) y 136 (5).

Hidrobromuro de fawcettina : cristaliza en acetona-eter etílico, punto de fusión 284-285°C.

Perclorato de fawcettina : cristaliza en acetona - eter etílico, punto de fusión 268-270°C.

La fracción IIIb se disolvió en acetato de etilo caliente y se obtuvo por cristalización en frío, 160 mg de una base con un punto de fusión 165-166°C, que denominaremos Magellanina.

Magellanina :

Cristaliza en acetato de etilo, punto de fusión 165-166°C. Peso molecular 275 (E.M) y fórmula molecular C₁₇ H₂₅ NO₂ (E.M.A.R)

Características espectroscópicas :

I.R (KBr) (fig.17 pág106) : 3.300, 3.150-2.400, y 1.650 cm⁻¹.

U.V : $\lambda_{\text{máx}}^{\text{EtOH}} = 237 \text{ n.m} (\log \epsilon = 3.8).$

R.M.P (fig. 18, pág108) (220 MHz, ppm) :

1.94 (s. ancho, 1H) $\text{CH}_3 - \text{C} = \text{C}$

2.23 (s, 3H) $\text{CH}_3 - \text{N}$

4.21 (t. 1H, $J=3.7$ Hz) CHOH

5.88 δ (s. ancho, 1H, $a^{1/2} = 5\text{Hz}$) $\text{CH} = \text{C}$

E.M (fig. 25, pág116) : m/e (%) : 275 (100), 260 (34), 258 (30), 204 (5), 202 (3), 192 (5), 110 (30), 108 (15), 96 (31) 94 (17), 84 (17), 94 (19), 82 (22), 71 (38), 70 (50) , 58 (50) . y 57 (15).

Análisis elemental : calculado para $\text{C}_{17}\text{H}_{25}\text{NO}_2$:

C.74,14%, H.9,15% y N.5.09%. Encontrado : C.74,24%; H.8.99% y N.5.01%.

Metobromuro de magellanina : Se obtuvo por adición de Bromuro de metilo frío (2ml) a una solución de 26 mg de magellanina en 2ml de acetona. Sucesivas recristalizaciones de etanol-eter produjo 22 mg de metobromuro de punto de fusión 274°C .

Análisis elemental : Calculado para $\text{C}_{18}\text{H}_{28}\text{NO}_2\text{Br}$; C.58,38; H.7,62; N.3,78 y Br. 21,58%. Encontrado C.58,61; H.7,42; N.3,76 y Br. 21,88%.

Las fracciones IIIc y IIId, de acuerdo con el análisis cromatográfico (c.c.f y c.g), estaban constituidas por fawcettina, magellanina y otras dos bases no identificadas.

Fracción IV :

Esta fracción (1.68 gr) se adsorbió en una columna de alumina básica (70 gr, act. III) y por elución con cloroformo se obtuvo 600 mg de fawcettina.

Fracción V y VI :

Por su comportamiento cromatográfico (c.c.f y c.g) se pudo inferir que estas fracciones contenían fawcettina y magellanina, además de otras bases no caracterizadas. No fué posible lograr ninguna separación.

Fracción VII :

La disolución en acetona de esta fracción (4.50 gr) produjo la cristalización de 3.8 gr de desacetil-fawcettina, identificada por comparación directa, con una muestra auténtica de este alcaloide (p.f, c.c.f, I.R, R.M.P).

Bases débiles :

Esta fracción (5.5 gr) se sometió a una distribución en contracorriente de Buffer fosfato-cítrico de pH = 7. Se realizaron catorce transferencias. La tabla siguiente muestra los resultados de este fraccionamiento (Tabla 5) y gráfico siguiente :

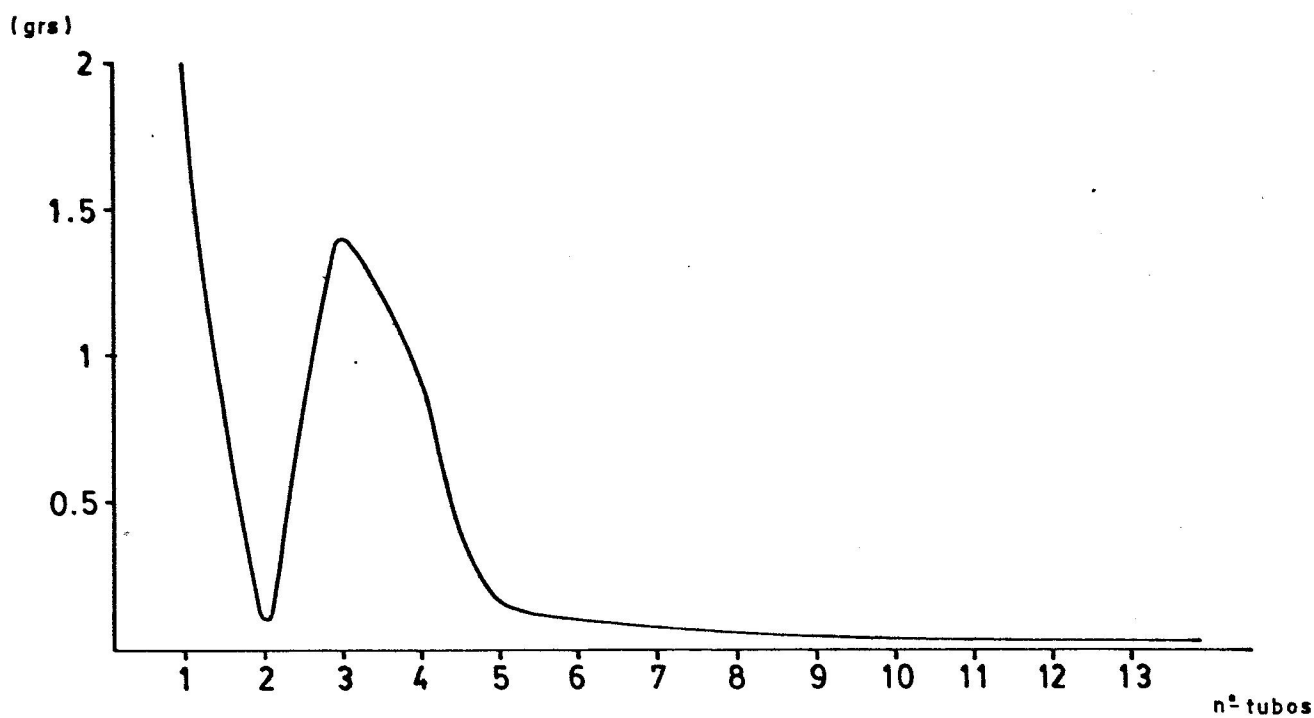


Tabla 5.

Fracción	Peso (gr)
1	2.0
2	0.103
3	1.407
4	0.850
5	0.130
6	0.129
7	0.067
8	0.060
9	0.072
10	0.032
11	0.078
12	0.067
13	0.028
14	0.032

Las fracciones 3 al 6 se mezclaron de acuerdo con el análisis cromatográfico (c.g y c.c.f) y fueron adsorbidas en

una columna de alúmina básica (100 gr, act I), eluída con eter etílico, permitió la separación y purificación de 1.5 gr de licopodina.

La fracción 1 dió una reacción muy débil al reactivo de Dragendorff, por lo que no se realizó ningún proceso de separación.

El resto de las fracciones no fué sometida a separación por su compleja composición y bajo peso.

2.4 Extracción y aislación de los alcaloides. Recolección 1974.

2.4.1 Obtención del Crudo de alcaloides :

La planta seca y molida (35 Kg.) fué extraída durante diez días con metanol a temperatura ambiente en recipientes de percolación con una capacidad de 3.5 Kg de planta y un volumen de 20 lts de solvente. Los extractos metanólicos fueron retirados de cada percolador periódicamente cada 24 o 48 hrs, hasta completar siete extracciones.

Los extractos alcohólicos se concentraron en un evaporador de ciclón y fueron procesados de la misma manera que la recolección anterior, hasta obtener una solución acuosa alcalina.

El residuo insoluble en ácido y el extracto etéreo de lavado de la solución acídica, no han sido analizados.

La solución alcalina se extrajo con éter etílico en embudos de separación de tres litros, hasta reacción negativa al reactivo de Dragendorff de la solución etérea.

Posteriormente, la solución alcalina se extrajo con cloroformo en un extractor líquido-líquido, durante cinco días.

Los extractos etéreos y clorofórmicos fueron concentrados a presión reducida, en forma separada, obteniéndose dos crudos básicos :

A.- Soluble en éter : 50 gr

B.- Soluble en cloroformo : 52 gr

2.4.2 Aislamiento de los alcaloides :

Ambos crudos fueron sometidos separadamente a una partición en Buffer fosfato-cítrico de pH = 7, de la siguiente manera :

Cada crudo de alcaloides se disolvió en cloroformo (800 ml) y se extrajo repetidas veces (5 x 800 ml) con solución acuosa de Buffer. La fase orgánica se concentró a un volumen de 300 ml, se secó con sulfato de sodio anhidro, se filtró y se llevó a sequedad obteniéndose dos fracciones de bases débiles a pH = 7.

A₁ : Bases débiles-éter : 30.5 gr

B₁ : Bases débiles-cloroformo : 32,9 gr

Las soluciones acuosas se basificaron a pH = 11, con solución de NaOH al 20%, y se extrajeron con cloroformo. Se obtuvo dos fracciones de bases fuertes a pH = 7 :

A₂ = Bases fuertes-eter : 15 gr

B₂ = Bases fuertes-cloroformo : 12 gr

De acuerdo con el análisis cromatográfico las fracciones de bases fuertes (A₂ y B₂) se mezclaron, obteniéndose, un crudo de bases fuertes de 27 gr.

Bases Fuertes :

El crudo de bases (27 gr), que correspondió al 0,08 % de la planta seca, se sometió a una distribución en contracorriente a pH = 8 en 60 transferencias. Como solución Buffer se utilizó el sistema 2. El crudo se dispuso en los seis primeros tubos de aparato de Craig.

Los resultados de este fraccionamiento aparecen representados en la Tabla 6.

Tabla 6.

Fracción	Nº de tubos	Peso (gr)
I	1 - 8	9.9
II	9 - 22	10.1
III	23 - 30	1.1
IV	31 - 39	0.8

V	40 - 50	1.0
VI	50 - 60	2.5

Fracción I

Se sometió a una nueva separación, en una distribución en contracorriente a pH = 7, en 50 transferencias. Se utilizó el sistema 1 como solución Buffer. Esta fracción se dispuso en los tres primeros tubos del aparato de Craig.

La Tabla 7 resume los resultados de esta distribución.

Tabla 7.

Fracción	N°de tubos	Peso (gr)
Ia	1 - 8	5.7
Ib	9 - 15	0.8
Ic	16 - 25	1.2
Id	26 - 39	0.7
Ie	40 - 50	0.9

La fracción Ia (5.7 gr) se adsorbió en una columna de alumina básica (300 grs, act I) y eluída con solventes de menor a mayor polaridad según la Tabla 8.

La fracción Ia₁ y Ia₂ se disolvieron separadamente en éter-etílico, obteniéndose, un total de 1.3 gr de licopodina cristalizada.

Tabla 8.

Fracción	Solvente	Peso (gr)
Ia ₁	Benceno-Eter etílico (1:1)	1.9
Ia ₂	Benceno-Eter etílico (1:1)	0.5
Ia ₃	Eter etílico	0.6
Ia ₄	Eter etílico	1.1
Ia ₅	Eter etílico	0.3
Ia ₆	Eter etílico-Metanol (98:2)	1.0

La fracción Ia₃ (0.6 gr) fué disuelta en acetona y se le agregó gotas de ácido perclórico hasta acidéz y luego gotas de éter etílico hasta opalescencia. Se obtuvo, después de sucesivas recristalizaciones, 350 mg de un perclorato de punto de fusión 244-45°C, que denominaremos perclorato de magellaninona. Posterior regeneración de la base, se obtuvo 200 mg de un aceite incoloro, purificado por destilación a vacío. Lo denominaremos Magellaninona.

Magellaninona :

Es un líquido incoloro, que se oscurece rápidamente en contacto con el aire. Se caracterizó como perclorato de punto de fusión 244-45°C. El espectro I.R (KBr) del perclorato presenta bandas de absorción a 2950 - 2800, 2700, 1730, 1650 y 1.100 cm⁻¹. La base libre presenta un peso molecular

de 273 (E.M)

Características espectroscópicas de la base libre :

I.R (CHCl₃) (fig.33, pág144) ; 2950-2800, 1730 y 1650 cm⁻¹.

U.V : $\lambda_{\text{máx}}^{\text{EtOH}} = 239 \text{ nm}$ (Log $\epsilon = 3.9$)

R.M.P (fig. 34a, pág 144) (60 MHz, ppm) :

a) CDCl₃.

2.0 (s, 3H) CH₃ - C = C

2.3 (s, 3H) CH₃ - N

5.95 (s ancho, 1H, a 1/2 = 5Hz) CH = C

b) CDCl₃ + CD₃ COOD (fig. 34b, pág.) :

2.7 (s, 3H) DN⁺ - CH₃

E.M (fig. 37, pág147): m/e (%) 273(100), 272 (72), 271 (21), 258 (47), 245 (16), 244 (13), 230 (9), 204 (11), 202 (13), 192 (7), 190 (20), 174 (33), 160 (11), 139 (36), 138 (37), 134 (20), 111 (61), 109 (57), 108 (53), 98 (47), 96 (57), 94 (51), 91 (37), 84 (47), 82 (40), 79 (24), 77 (29), 72 (24), 71 (50), 70 (65), 58 (76) y 57 (46).

Fracción II :

Esta fracción (10.1 gr) fué disuelta en acetona, se le

agregaron gotas de ácido perclórico hasta acidez y posteriormente gotas de éter etílico. Sucesivas recristalizaciones produjo 1.5 gr. de un perclorato de punto de fusión 271-272°C. Disolución del perclorato en agua, basificación y extracción con diclorometano, produjo 1.3 gr. de una base idéntica (p.f, I.R, R.M.P) a fawcettina.

El líquido madre de cristalización del perclorato de fawcettina fué llevado a sequedad y disolución en agua, basificación y extracción con diclorometano se obtuvo un residuo de 8.2 gr. de una fracción básica, cuya disolución en acetato de etilo produjo la cristalización de 0.8 gr. de magellanina.

Fracción III :

Esta fracción de 1.1 gr. fué tratada en forma similar a la fracción II, obteniéndose 0.40 gr. de fawcettina y 0.30 gr. de magellanina.

El resto de las fracciones II y III (7.8 gr.) fué sometida a una nueva distribución en contracorriente en 60 transferencias, de las cuales, las 30 primeras se hicieron a pH = 7.6 y las restantes a pH = 6.8. Se utilizó el sistema 1 como Buffer.

Los resultados de esta separación aparecen representados en la Tabla 9

Tabla 9.

Fracción	Nº de Tubos	Peso (gr)
IIIa	1 - 9	1.7
IIIb	10 - 16	0.2
IIIc	17 - 24	0.5
IIId	25 - 38	3.9
IIIe	39 - 50	0.6
IIIf	51 - 60	0.2

La fracción IIId' (3.9 gr.) fué tratada en forma similar a las fracciones II y III, obteniéndose 0.45 gr. de Perclorato de fawcettina y 0.4 gr. de magellanina.

Las fracciones IIIa, IIIb y IIIc (2.4 gr.) se adsorbieron en una columna de alumina básica (100 gr. act I) y eluída con los siguientes solventes, produjo los resultados de la Tabla 10.

Tabla 10.

Fracción	Solvente	Peso (gr.)
IIIa ₁	Eter etílico	0.15
IIIa ₂	Eter etílico	0.8
IIIa ₃	Eter etílico-Metanol (98:2)	0.2
IIIa ₄	Eter etílico-Metanol (98:2)	0.3
IIIa ₅	Eter etílico-Metanol (95:5)	0.7

De la fracción IIIa₂ se obtuvo 300 mg. de Perclorato de magellanina.

Fracción VI :

Se obtuvo 2.2 gr. de Desatil-fawcettina por cristalización en acetona.

El resto del fraccionamiento de las mezclas de bases fuertes, resumido en el esquema 11 (Pág.95), no condujo a la separación de nuevas bases.

Bases débiles-éter :

La mezcla de bases débiles solubles en éter (30.5 gr.) se disolvió en un volumen de 500 ml de cloroformo y se extrajo con solución acuosa de HCl al 5% v/v (6 x 500 ml).

El resultado de este tratamiento se tradujo en tres fracciones :

- A₁ Soluble en ácido : 11.9 gr.
- A₂ Sólido interfacial : 8.2 gr.
- A₃ Soluble en cloroformo : 9.3 gr.

Las fracciones A₂ y A₃ no fueron analizadas por presentar una débil reacción positiva al reactivo de Dragendorff.

La fracción A₁ fué sometida a una distribución en contracorriente a pH = 5.1 en 60 transferencias. La mezcla de bases se repartió en los cuatro primeros tubos. Se utilizó el sistema 1 como Buffer. Los resultados de este fraccionamiento están representados en la Tabla 11.

Tabla 11.

Fracción	N° Tubos	Peso (gr.)
I	1 - 5	4.8
II	6 - 11	0.9
III	12 - 22	1.4
IV	23 - 37	2.0
V	38 - 60	1.2

Fracción I :

Se adsorbió en una columna de alúmina básica (150 gr. act. I) y se eluyó de la siguiente manera (Tabla 12).

Tabla 12.

Fracción	Solvente	Peso (gr.)
Ia	Benceno-éter etílico (1:1)	0.40
Ib	Eter	1.22
Ic	Eter	0.41
Id	Eter-Metanol (98:2)	1.90

La fracción Ia se disolvió en éter etílico y cristalizó por evaporación de solvente, 220 mgr. de una base, que corresponde por N-metil-licodina.

N-metil-licodina :

Compuesto de peso molecular 256 (E.M), fórmula molecular $C_{17}H_{24}N_2$ y punto de fusión 87 - 88°C.

Características espectroscópicas :

I.R (KBr) (fig.38, pág.152) : 3000-2800, 1585 cm^{-1} .

U.V : $\lambda_{\text{Máx}}^{\text{EtOH}} = 268 \text{ nm}$ ($\log \epsilon = 3.7$) y 276 ($\log \epsilon = 3.6$).

R.M.P (fig. 39, pág.152) (60 MHz, ppm) :

0.7 (s ancho, 3H) $\text{CH}_3 - \text{CH}$

2.6 (s, 3H) $\text{CH}_3 - \text{N}$

7.1 (d-d, 1H, J = 6 y 4 Hz)

8.1 (d-d, 1H, J = 2 y 6 Hz)

8.4 (d-d, 1H, J = 2 y 4 Hz)

E.M (fig.40, pág.154): m/e (%), 256 (48), 241 (8), 213 (39), 200 (46), 199 (100), 185 (39) y 171 (45).

Análisis elemental : calculado para $\text{C}_{17} \text{H}_{24} \text{N}_2$: C, 79.68 ; H, 9.37; N, 10.97. Encontrado C, 79.62; H, 9.57; N, 11.29.

La fracción Ib se sometió a separación en una columna de alumina básica (50 gr, act II), se eluyó con Benceno-eter (1:1) y posteriormente con eter etílico.

De la fracción eluída con Benceno eter se obtuvo una fracción de 350 mg, que purificada por sublimación, produjo 270 mg de N-metil-licodina. La fracción eluída con eter etílico (0.70 gr) no fué sometida a separación en esta oportunidad.

La fracción Ic se sometió a proceso de separación, sin resultados positivos. La fracción Id no se analizó, por su débil reacción positiva al reactivo de Dragendorff.

Fracción III :

Esta fracción de 1.4 gr se adsorbió en una columna de óxido de aluminio básico (60 gr, Act I) y eluída con diferentes solventes según tabla 13.

Tabla 13.

Fracción	Solvente	Peso gr
IIIa	Benceno-eter (1:1)	0.4
IIIb	Eter	0.35
IIIc	Eter-metanol (1:1)	0.60

Las fracciones IIIa y IIIb constituyeron una mezcla de dos bases que corresponden a Acetil-fawcettina y Licodina. Estos alcaloides se separaron por cromatografía de capa preparativa de un espesor de 0.5 mm. Como soporte se utilizó alumina básica y fué eluída con Benceno-eter (1:1), se obtuvo 350 mg de Acetil-fawcettina y 120 mg de Licodina.

Acetil-fawcettina :

Sólido purificado por sublimación; punto de fusión 111 - 113°C.

Características espectroscópicas :

I.R (Nujol) (fig.41, pág.158) : 3000-2800, 1730, 1440, 1380 y 1250 cm^{-1} .

R.M.P (fig.42, pág.158) (60 MHz, ppm) :

0.9 (d, 3H, J = 6 Hz) CH₃ - CH

- 2.0 (s, 3H) $\text{CH}_3 - \text{COOR}$
 2.1 (s, 3H) $\overline{\text{CH}}_3 - \text{COOR}$
 4.6 (d-d, 1H, J = 4 y 10 Hz) $\underline{\text{CH}} - \text{OAc}$
 5.0 (m, 1H a $^{1/2} = 12$ Hz) $\underline{\text{CH}} - \text{OAc}$

E.M (fig. 43 pág.159) : m/e (%), 349 (6), 290 (5), 289 (12), 288 (6), 234 (24), 230 (5), 227 (7), 175 (28), 174 (100), 172 (28), 147 (7), 146 (50).

Licodina.

Cristaliza en Hexano, punto de fusión 112°C. Peso molecular de 242 (E.M)

Características espectroscópicas :

I.R (CHCl_3) (fig. 44, pág.163) : 3.350 , 3.000-2800 y 1585 cm^{-1} .

U.V $\lambda_{\text{máx}}^{\text{EtOH}} = 268$ nm (log $\epsilon = 3.7$) y 276 nm (log $\epsilon = 3.6$)

R.M.P (fig.45, pág.163) (60 MHz, ppm) :

- 0.9 (s ancho, 3H) $\underline{\text{CH}}_3 - \text{CH}$
 7.2 (d-d, 1H, J = 6 y 4 Hz)
 7.8 (d-d, 1H, J = 2 y 6 Hz)
 8.4 (d-d, 1H, J = 2 y 4 Hz)

E.M (fig. 46, pág.165) : m/e (%), 242 (63), 213 (10), 199 (42), 186 (74), 185 (100), 174 (22), 168 (18), 158 (34), 157 (81), y 142 (22).

La fracción IIIc no se sometió a separación.

Fracción IV :

Se disolvió en acetona (2.0 gr) y se le agregó gotas

de ácido perclórico hasta acidéz, posteriormente se le agregó gotas de eter-etílico hasta una débil opalescencia, para permitir la cristalización de 1.2 gr de un perclorato de punto de fusión 238-240°C. Regeneración de la base libre produjo 0.90 gr de un alcaloide que correspondió a Acetildihidrolicopodina.

Acetildihidrolicopodina :

Cristaliza en acetona, punto de fusión 84-86°C y peso molecular de 291 (E.M)

Propiedades espectroscópicas :

I.R (KBr) (fig. 47, pág.168) : 1,740, 1380 y 1,225 cm^{-1} .

R.M.P (fig. 48, pág.168) (60 MHz, ppm) :

0.9 (d, 3H, J = 6Hz) $\text{CH}_3 - \text{CH}$

1.9 (s, 3H,) $\text{CH}_3 - \text{COOR}$

5.1 (t, 1H, J = 6Hz) $\text{CH} - \text{OAc}$

E.M (fig. 49, pág.170): m/e (%). 291 (12), 248 (6), 235 (10), 234 (78), 174 (100) y 146 (34).

El líquido madre de cristalización del perclorato de acetildihidrolicopodina se llevó a sequedad, disolución en agua, alcalinización con hidróxido de sodio y extracción con cloroformo, produjo un residuo de 0.8 gr de una mezcla de dos alcaloides caracterizados como licopodina y acetildihidrolicopodina.

Fracción V :

Disolución de esta fracción (1.2 gr) en Hexano produjo la cristalización de 0.9 gr de licopodina.

Bases débiles - cloroformo :

Este crudo de bases débiles no se estudió en ésta oportunidad dado su débil reacción positiva al reactivo de Dragendorff.

2.5 Preparación de derivados y otras reacciones :

2.5.1 Acetilmagellanina :

Se disolvieron 100 mg de este alcaloide en 6 ml de piridina y 6 ml de anhídrido acético. La mezcla de reacción se mantuvo a temperatura ambiente durante 18 hrs. Se diluyó con 60 ml de cloroformo y se extrajo repetidas veces con solución acuosa de amoníaco diluida y posteriormente con agua. La solución clorofórmica se secó con sulfato de sodio anhidro, se filtró y se llevó a sequedad. Se obtuvo 75 mg de un aceite amarillento, purificado por destilación a vacío.

Características espectroscópicas :

I.R (liquida) (fig. 21, pág.111) : 2900-2600, 1730, 1650, 1440, 1380 y 1250 cm^{-1} .

R.M.P (fig.22, pág.111) (60 MHz) :

- 1.95 (s, 3H) $\underline{\text{CH}}_3 - \text{C} = \text{C}$
 2.1 (s, 3H) $\underline{\text{CH}}_3 - \text{COOR}$
 2.2 (s, 3H) $\underline{\text{CH}}_3 - \text{N}$
 5.2 (m, 1H, a $1/2 = 14$ Hz) $\underline{\text{CH}} - \text{OAc}$
 5.9 (s ancho, 1H, a $1/2 = 5$ Hz) - $\underline{\text{CH}} = \text{C}$

E.M (fig.51, pág.183):m/e (%), 317 (18), 316 (8), 259 (20), 258 (100), 230 (5), 199 (18), 192 (5), 190 (12), 185 (7), 176 (8), 174 (8), 162 (6), 111 (6), 110 (18), 108 (17), 96 (22), 94 (18), 91 (19), 84 (8), 82 (15), 71 (26), 70 (59), 58 (39) y 57 (30).

2.5.2 Benzoil-Magellanina :

Se disolvieron 80 mg de magellanina en 5 ml de piridina y 2 ml de cloruro de benzoilo. La mezcla de reacción se dejó a temperatura ambiente durante 24 hrs. La mezcla de reacción se diluyó con 60 ml. de agua destilada y se extrajo con eter. La fase etérea se extrajo con solución acuosa de ácido clorhídrico al 5% (v/v). La fase acuosa se basificó con amoníaco diluído y se extrajo con cloroformo. Evaporación del cloroformo dió como resultado, la obtención de 70 mg de un aceite amarillento, que fué purificado por destilación a vacío.

Características espectroscópicas :

I.R (CHCl_3)(fig.23, pág.112): 2900-2600,1710,1650,1595,1580-

1280 y 1110 cm^{-1} .

R.MP (fig.24, pág.112) (60 MHz, ppm) :

- 1.95 (s, 3H) $\text{CH}_3 - \text{C} = \text{C}$
 2.15 (s, 3H) $\text{CH}_3 - \text{N}$
 5.5 (m, 1H, a $^1/2 = 14$ Hz) $\text{CH} - \text{OOC-R}$
 5.8 (s ancho, 1H, a $^1/2 = 4$ Hz) $\text{CH} = \text{C}$
 7.4 (m, 3H, a $^1/2 = 12$ Hz)
 7.9 (m, 2H, a $^1/2 = 12$ Hz)

E.M (fig. 51, pág.183); m/e (%), 379 (28), 364 (6), 296 (6), 274 (10), 259 (32), 258 (100), 234 (16), 192 (6), 190 (12), 176 (11), 174 (28), 149 (11) 146 (13), 110 (), 105 (52), 93 (30), 94 (24), 77 (48), 70 (80), 71 (36), 58 (52) y 57 (44).

2.5.3 Epoxi-Magellanina :

Esta reacción de epoxidación⁷⁸ de magellanina se realizó disolviendo 80 mg del alcaloide en 10 ml de una solución metanólica de perhidrol al 5% v/v y posterior adición de 1ml de solución acuosa de NaOH 0.1.N. La mezcla de reacción se mantuvo en agitación durante 16 hrs a temperatura ambiente.

Se diluyó con 100 ml de agua destilada, se basificó con NaOH hasta pH = 11 y se extrajo con cloroformo. El extracto clorofórmico se secó con sulfato de sodio anhidro

se filtró y se concentró a sequedad, obteniéndose 55 mg de un aceite incoloro.

Características espectroscópicas :

I.R (CHCl₃) : 3250, 3000, 2700-1690 cm⁻¹

R.M.P (60 MHz, ppm) :

1.4 (s, 3H) $\text{CH}_3 - \text{C} \begin{array}{l} \diagup \text{O} \\ \diagdown \end{array} - \text{C}$

2.2 (s, 3H) $\text{CH}_3 - \text{N}$

3.3 (s, 1H) $\text{CH} \begin{array}{l} \diagup \text{O} \\ \diagdown \end{array} - \text{C}$

4.2 (m, 1H, A ¹/₂ = 24Hz) CH - OH

E.M (fig.52, pág.188) : m/e (%), 291 (14), 290 (10), 276 (61), 274 (6), 250 (10), 248 (16), 220 (28), 206 (17), 204 (10), 192 (10), 190 (11), 182 (10), 180 (10), 149 (16), 111 (10), 110 (39), 109 (36), 108 (28), 97 (16), 96 (100), 94 (27), 91 (22), 84 (19), 82 (17), 71 (39), 70 (75), 58 (88) y 57 (64).

D.O.R (EtOH) (fig.32, pág.141) : λ (φ), 579 (-31), 546 (-25), 435 (-10), 404 (0), 366 (140), 334 (462), 312 (4.097), 315 (4.618) máx, 296 (770), 280 (-4.755), 270 (-3.777), 266 (-3.215).

2.5.4 Hidrogenación catalítica de magellanina :

Se disolvieron 220 mg de magellanina en 25 ml de metanol contenidos en un matraz Erlenmeyer de 125 ml. Se le

agregó a esta solución 200 mg de Pd/C al 5% y se dispuso este matraz de reacción en un ambiente de Hidrógeno a presión de 1 atmósfera durante 12 horas. La mezcla fué agitada permanentemente con un agitador magnético durante el período antes señalado. Posteriormente, se filtró y el metanol se evaporó en un evaporador rotatorio, obteniéndose 192 mg de un aceite incoloro, que mostraba la presencia un solo componente por cromatografía de capa fina de óxido de aluminio básico.

Este aceite se disolvió en acetato de etilo cristalizando 170 mg de una base que denominaremos dihidro-magellana, de punto de fusión 142-143°C y peso molecular 277 (E. M).

Características espectroscópicas:

I.R (KBr) (fig.26, pág.18): 3150, 3000-2600 y 1690 cm^{-1}

R.M.P (fig.27, pág.118)(60 MHz, ppm) :

0.9 (d, 3H, J = 6Hz) $\underline{\text{CH}}_3 - \text{CH}$

2.2 (s, 3H) $\underline{\text{CH}}_3 - \text{N}$

4.2 (m, 1H, a $1/2 = 14\text{Hz}$) $\underline{\text{CHOH}}$

E.M (fig.50, pág.180) : m/e (%), 277 (100), 276 (61), 262 (42), 260 (33), 249 (37), 248 (52), 234 (21), 232 (19), 206 (31), 204 (16), 191 (9), 190 (9), 111 (25), 110 (52), 97 (44), 96 (44), 94 (41), 91 (28), 70 (48), 71 (37), 58 (44),

y 57 (37).

D.O.R (EtOH) (fig.31, pág) : λ (ϕ), 579 (-75), 546 (-81), 435 (-160), 407 (-20), 365 (-392), 330 (-1.089) mín, 312 (-791), 296 (-643), 289 (-741.8), 280 (-840) y 253 (-1.438).

Esta reacción se repitió de la misma manera, pero en medio ácido (HClO_4), obteniéndose el mismo resultado que en la reacción anterior.

2.5.5 Oxidación de Magellanina :

Se disolvió 100 mg de este alcaloide en 10 ml de acetona y se le agregó posteriormente 0.6 ml de una solución acuosa de trióxido de Cromo en medio ácido sulfúrico. La solución de trióxido de Cromo se preparó disolviendo 7 gr del óxido en 100 ml de una solución de ácido sulfúrico, que contenía 6.1 ml de ácido concentrado en 100 ml de agua.

La mezcla de reacción se dejó reposar a temperatura ambiente durante una hora, al cabo del cual se le agregó gotas de etanol con el fin de destruir el exceso de oxidante. Se diluyó con 80 ml de agua destilada y se alcalinizó con hidróxido de sodio hasta $\text{pH} = 12$. Se extrajo con diclorometano hasta reacción negativa al reactivo de Dragendorff, se evaporó el solvente y se obtuvo 80 mg de un aceite. Producto que es idéntico, de acuerdo con sus propiedades espectroscópicas, a magellaninona.

2.5.6 Oxidación de Dihidro Magellanina.

Se disolvieron 75 mg del alcaloide en 10 ml de acetona y 0.4 ml de solución de trióxido de Cromo en medio ácido sulfúrico. La mezcla se dejó reposar durante tres horas. El producto de oxidación se recuperó, de la misma forma que en el caso de la oxidación de magellanina. Se obtuvo un aceite, el que disuelto en eter etílico produjo la cristalización de 46 mg de una base, que denominaremos deshidro-dihidro-magellanina, de punto de fusión 125-126°C y peso molecular 275 (E.M).

Características espectroscópicas :

I.R (KBr) (fig.35, pág.146): 2900-2700, 1730 y 1690 cm^{-1}

R.M.P (fig.36, pág.146) (60 MHz)

1.0 (d, 3H, J = 6Hz) : $\text{CH}_3 - \text{CH}$

2.2 (s, 3H) : $\text{CH}_3 - \text{N}$

E.M (fig. 50, pág.180) : m/e (%), 275 (100), 274 (41), 260 (22), 248 (9), 247 (9), 246 (10), 232 (14), 219 (38), 204 (52), 202 (9), 191 (20), 190 (16), 110 (23), 98 (14), 96 (21), 94 (20), 70 (16), 71 (13), 58 (14), y 57 (14).

2.5.7 Reacción de Magellanina con anhídrido α -fenil-butírico.

Se disolvieron 32.9 mg de magellanina en una solución de anhídrido α -fenil-butírico racémico (59 mg) en 0.5 ml de

piridina. La mezcla se mantuvo a temperatura ambiente durante 16 hrs. Transcurrido este tiempo se le agregó agua (1 gota) y se dejó la mezcla a baño maría durante media hora.

Se le agregó 2 ml de agua destilada y 3ml de benceno llevándose la mezcla de reacción a un embudo de separación para su valoración con solución acuosa de NaOH 0.1N, gastándose 3.3 ml de base (0.33 m.moles) y por consiguiente una esterificación de un 42%.

La fase orgánica fué separada y la fase acuosa extraída con cloroformo, benceno y acidificada con ácido clorhídrico. Extracción de la solución acídica con cloroformo dió, previa eliminación del solvente, ácido α -fenil-butírico que disuelto en 1.5ml de benceno mostró una rotación óptica de -0.15° (celda de 1 dm). El rendimiento óptico fué de 30%.

2.5.8 Hidrogenación catalítica de Magellaninona:

Se disolvieron 120 mg de magellaninona en 20 ml de metanol contenidos en un matraz Erlenmeyer de 125 ml. Se le agregó 100 mg de Pd/C al 5% y se agitó a una atmósfera de Hidrógeno a presión de 1 atmósfera y temperatura ambiente durante 15 horas.

Se recuperó el producto de hidrogenación de acuerdo a las indicaciones señaladas para la hidrogenación de magellanina. Se obtuvo 80 mg de un producto cristalizado en eter

etílico de punto de fusión 124-126°C.

Este producto fué idéntico al alcaloide denominado Deshidro-dihidro Magellanina (I.R, c.g.E.M.).

2.5.9 Licodina :

Se disolvieron 150 mg de N-metil-licodina en 10 ml de solución acuosa de ácido acético al 25 %, posteriormente se le agregó 2.5 gr de nitrito de potasio disuelto en 3 ml de agua. Una vez transcurridas 24 horas, la mezcla de reacción se diluyó con 150 ml de solución acuosa de ácido clorhídrico al 5% v/v y se extrajo con cloroformo. Los extractos clorofórmicos se lavaron con solución acuosa diluída de carbonato de sodio y posteriormente con agua ; la evaporación del cloroformo produjo un residuo aceitoso (65 mg). Su espectro de R.M.P no mostró la señal a 2.6 δ para tres hidrógenos, asignada a N-Me en el producto de partida. Se recuperaron 70 mg de N-metil-licodina que no reaccionó, basificando la solución acuosa y extrayendo con cloroformo.

El residuo aceitoso se disolvió en 30 ml de ácido clorhídrico al 5% v/v y se refujó durante 4 hrs. Una vez enfriada la solución ácida se alcalinizó con amoníaco concentrado hasta pH = 10 y se extrajo con cloroformo. Evaporación del solvente produjo 44 mg de un sólido que por sus espectros I.R, R.M.P y características cromatográficas (c.c.f y c.g) resultó ser idéntico a licodina.

2.5.10 Acetil-Fawcettina:

Se disolvieron 100 mg del fawcettina en 10 ml de piridina - anhídrido acético (1:1). Después de 24 horas a temperatura de ambiente, la solución fué evaporada a sequedad y el aceite obtenido (90 mg), fué purificado en una columna de alumina básica eluída con benceno. Se obtuvo 70 mg de un sólido de p.f 110°C. Sus espectros I.R de R.M.P fueron idénticos a los de Acetil-fawcettina.

2.5.11 Desacetil-Fawcettina :

60 mg de fawcettina se disolvieron en 3 ml de metanol y 3 grs de KOH en 6 ml de H₂O. Después de 6 horas a temperatura ambiente, la mezcla se diluyó con agua destilada y se extrajo con diclorometano. El residuo obtenido se disolvió en acetona, cristalizando 40 mg de un compuesto de p.f 210°C, cuyos espectros I.R y R.M.P resultaron ser idénticos con los de una muestra auténtica de Desacetil-fawcettina.

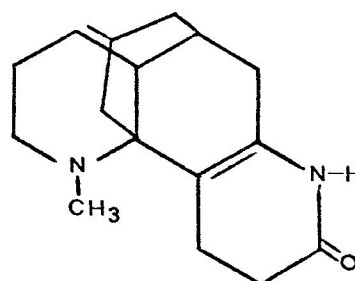
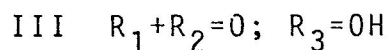
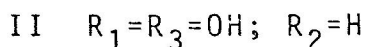
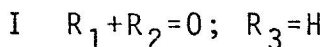
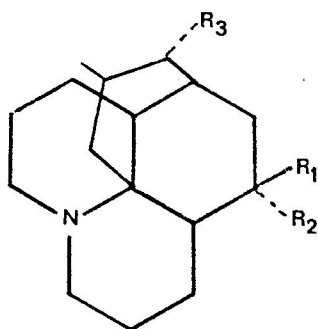
2.5.12 Análisis de difracción de rayos X de Metobromuro de Magellanina :

Se utilizó un cristal de metobromuro de magellanina de 0.02 x 0.02 x 0.03 cm y un difractómetro P1 Sintex automático con una radiación monocromatizada con grafito de MoK_α ($\lambda = 0.71069 \text{ \AA}$).

Resultados y Discusión

3.1. Generalidades .

El primer estudio químico de Lycopodium magellanicum,⁷¹ realizado en un material botánico recolectado en el mes de Enero de 1972, dió como resultado la extracción, separación y caracterización de cuatro alcaloides identificados como licopodina (I), desacetil-fawcettina (II), clavolonina (III) y α -obscurina (IV).



IV

El análisis cromatográfico (c.c.f y c.g) de las fracciones remanentes, mostró la presencia de otras bases, que no pudieron ser aisladas ni caracterizadas dado el bajo peso y complejidad de las fracciones. Por otra parte, se obtuvo un rendimiento de 0,07% de bases con respecto a la cantidad de planta seca extraída, rendimiento que puede

considerarse bajo si se compara con aquellos obtenidos en otras especies de Lycopodium¹⁰. (Tabla 14).

Tabla 14.

Espece	Planta Ex-traída (kg)	Crudo gr	Rend. %
<u>L. paniculatum</u> ²³	28	122	0.44
<u>L. fawcetti</u> ⁷⁹	16	28.5	0.2
<u>L. alopecuroides</u> ³³	6.8	12.9	0.2
<u>L. lucidum mix</u> ⁴⁹	5.1	55.6	1.1
<u>L. clavatum</u> Linn ⁸¹	42	73.6	0.2
<u>L. cernuum</u> ²⁰	11	12	0.11
<u>L. annotinum</u> ⁸⁰	67	60	0.1
<u>L. magellanicum</u> ⁷¹	6.1	4.2	0.07

Los antecedentes anteriormente expuestos nos indujeron a realizar un nuevo estudio químico de los componentes de carácter básico de este Lycopodium chileno, pero en esta oportunidad, la recolección se realizó en el mes de Octubre de 1973 y significó el procesamiento de una cantidad mayor de planta (11 Kg).

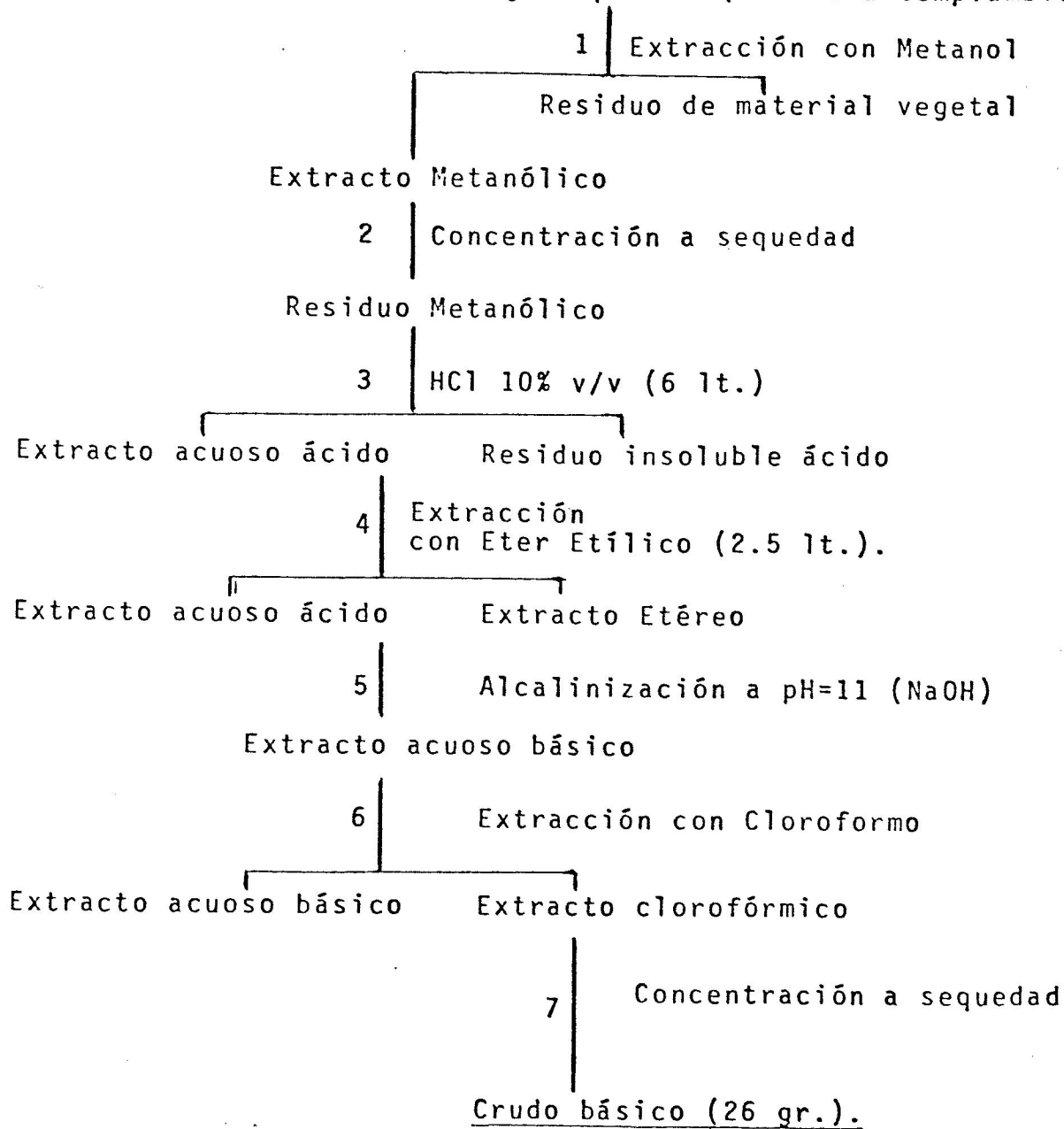
Recolección año 1973 :

Se obtuvo un "crudo de alcaloides" de 26 gr (Esquema 6), que correspondió al 0.24% de la planta seca extraída, y que fué fraccionado en "bases fuertes" (17.5 gr) y "bases

Método de Extracción

(Recolección año 1973)

11 Kg. de planta (secada a temp. ambiente)



Esquema 6.

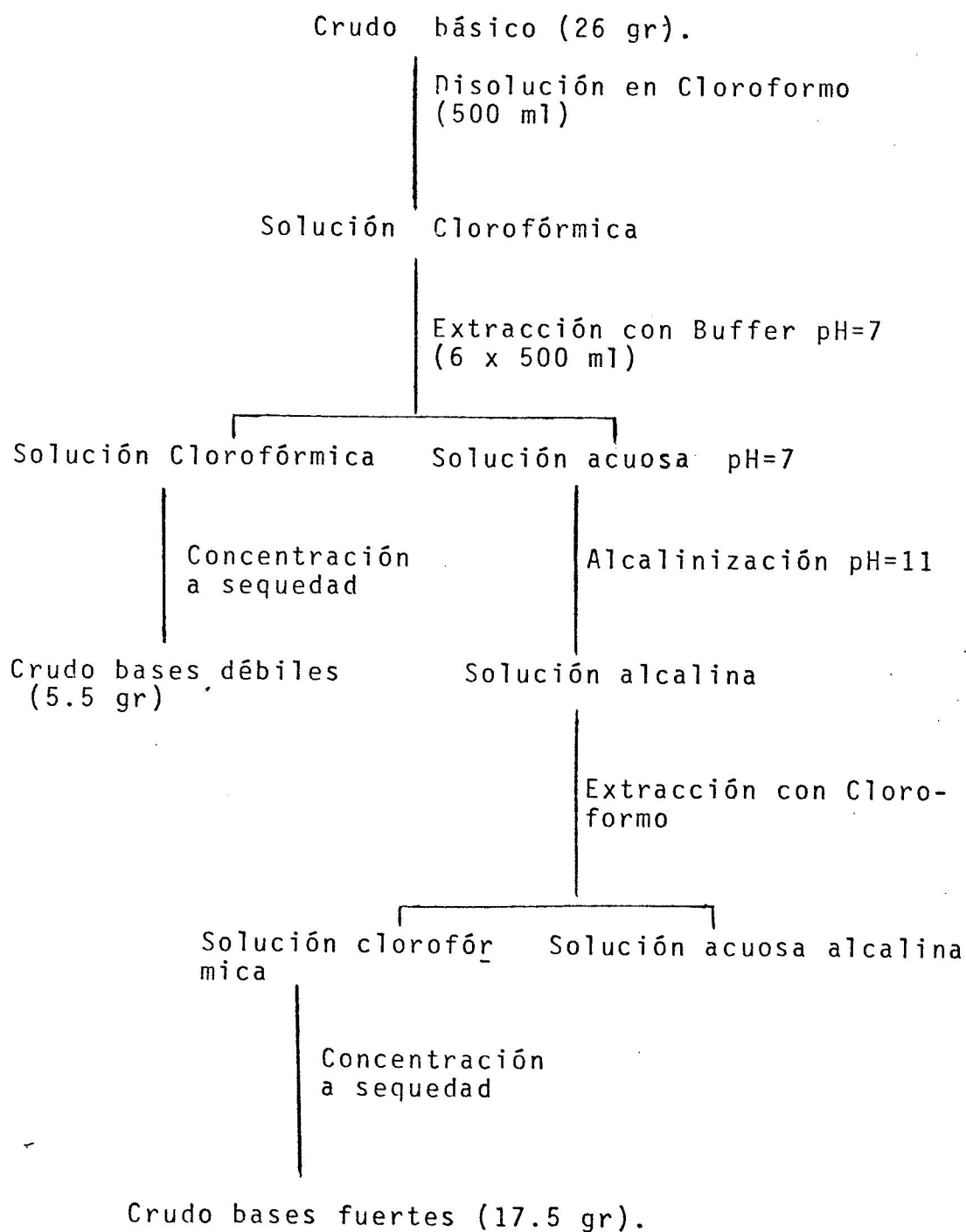
débiles" (5.5 gr) por medio de una partición en solución Buffer a pH = 7 (Esquema 7).

La fracción de "bases fuertes" (Esquema 8) fué sometida a separación por medio de cromatografía de adsorción en columna de óxido de aluminio básico y eluida con solventes de menor a mayor polaridad se obtuvo la separación de cuatro alcaloides. Dos de los cuales correspondieron a las bases aisladas anteriormente⁷¹, licopodina, y desacetil-fawcettina y las otras dos bases a fawcettina y magellanina. Cromatográficamente (c.c.f y c.g) se detectó la presencia de otro componente que no fué posible aislar.

La fracción de "bases débiles" se sometió a una distribución en contracorriente a pH = 7, obteniéndose solamente la separación de licopodina. Sin embargo las diferentes fracciones de bases débiles mostraron, por cromatografía en capa fina y cromatografía de gases, la presencia de cuatro nuevos componentes que no pudieron ser separados dado el poco peso y complejidad de las fracciones.

En el análisis de esta nueva recolección no fueron detectados los alcaloides clavolonina y α -obscurina que habían sido aislados en la primera recolección (Enero 1972). Sin embargo es necesario indicar que en el procesamiento de la primera recolección se detectó, por espectrometría de masas, la presencia de un componente de peso molecular 275 como impureza de clavolonina. El alcaloide de peso molecular 275 correspondió al alcaloide que se ha denominado magellanina.

Fraccionamiento de Crudo Básico (1973).



Esquema 7.

Separación de Bases Fuertes (1973)

Crudo B.F (17.5 gr.)

Columna Cromatográfica (C.C)
Alúmina (600 gr. Act.I)

- I. Et₂O . 0.70 gr $\xrightarrow{\text{hexano}}$ Licopodina (500 mg).
- II. Et₂O . 0.80 gr
- III. Et₂O - CHCl₃ (1:1). 4.36 gr. $\xrightarrow{\text{C.C. Alúmina}}$
(200 gr. Act. III)
- IIIa: CHCl₃ . 1.20gr. $\xrightarrow{\text{acetona}}$ fawcettina (550mg)
- IIIb: CHCl₃ - MeOH (98:2) 0.85 gr.
 $\xrightarrow{\text{Acetato de Etilo}}$ magellanina (160mg)
- IIIc: CHCl₃ - MeOH (98:2) 0.30gr.
- IIId: CHCl₃ - MeOH (95:5) 1.40 gr.
- IV. CHCl₃ . 1.68 gr. $\xrightarrow{\text{C.C Alúmina . CHCl}_3}$ 600mg.
(70 gr. Act. III) fawcettina
- V. CHCl₃ - MeOH (99:1) 2.70 gr.
- VI. CHCl₃ - MeOH (99:1) 0.60 gr.
- VII. CHCl₃ - MeOH (98:2) 4.50 gr. $\xrightarrow{\text{Acetona}}$ Desacetil-fawcettina. (3.80 gr.)

Esquema 8.

Magellanina presenta características espectroscópicas (E.M y R.M.P) poco usuales en este tipo de alcaloides, lo que nos llevó a postular que se trataba de un alcaloide nuevo y con un esqueleto carbonado diferente a los ya existentes en este tipo de alcaloides^{2,4}. Por otra parte, el espectro de masas de este alcaloide presenta una serie de iones de m/e 57, 70, 71, 96, 110 y 111 de igual composición a los que presenta el alcaloide denominado paniculatina aislado de otro *Lycopodium* chileno el *L. paniculatum* Desveaux^{23,72}.

La cantidad de magellanina (160 mg) fué insuficiente para llevar a cabo un estudio químico de este alcaloide y determinar la posible relación estructural con paniculatina.

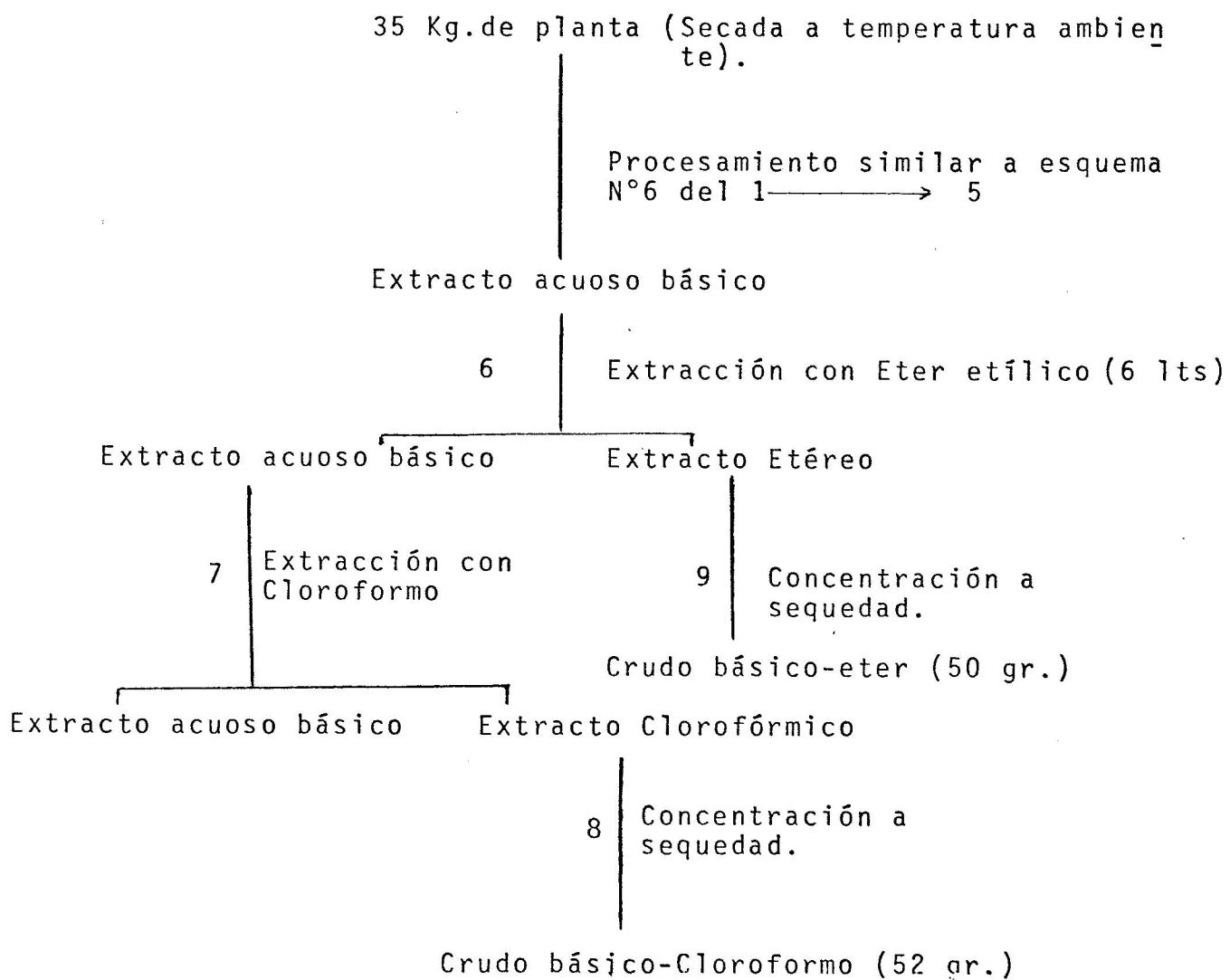
La problemática planteada y la posibilidad de aislar otros alcaloides menores presentes en la fracción denominada "crudo de bases débiles", nos indujo a realizar un estudio químico de una nueva recolección, con una cantidad mayor de material botánico, realizada en el mes de Octubre de 1974.

Recolección año 1974 :

La extracción de 35 Kg de planta se realizó a través de una percolación en frío con metanol y un tratamiento posterior similar a las extracciones anteriores hasta obtener una solución acuosa alcalina. En este caso se introdujo una variante, para tratar de fraccionar el crudo de alcaloides en función de la solubilidad de las bases en eter etílico y cloroformo (Esquema 9).

Métodos de Extracción.

(Recolección año 1974)



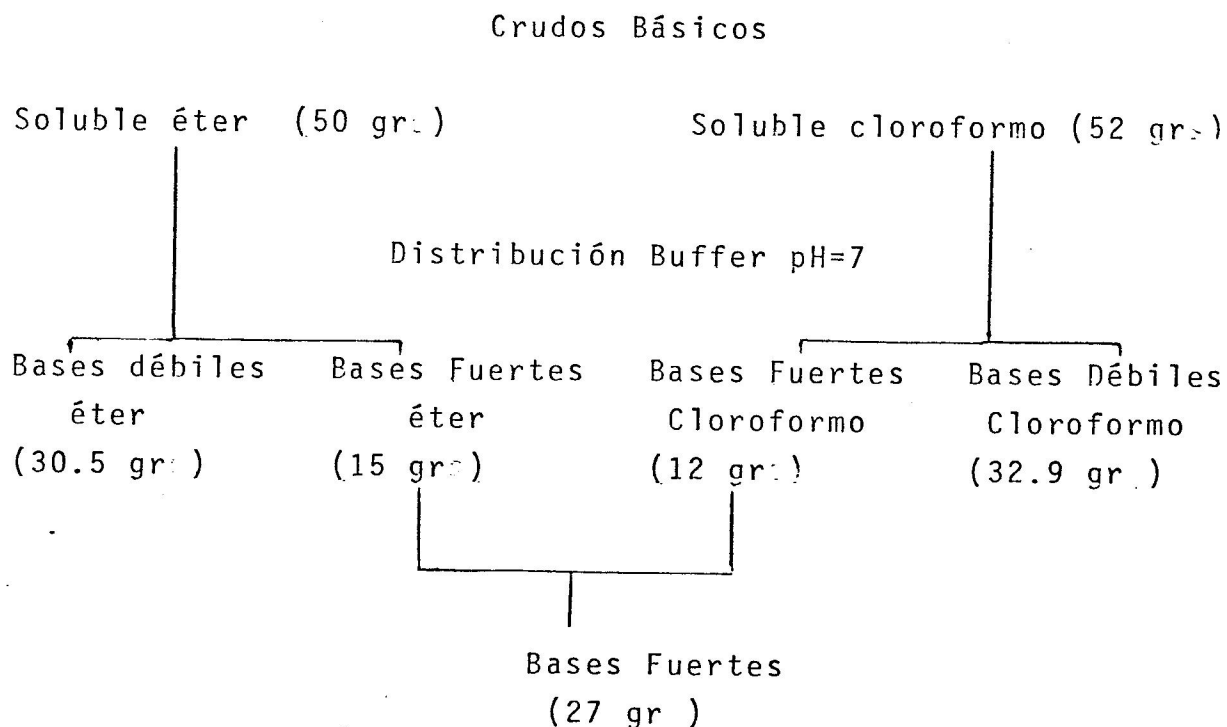
Esquema 9.

Se obtuvo un crudo de alcaloides "soluble en eter" (50 gr) y un crudo de alcaloides "solubles en cloroformo" (52 gr) que correspondieron a un rendimiento del 0.14 % y 0.15 % respectivamente. La composición de ambos crudos fué diferente, de acuerdo con el análisis por cromatografía de gases.

Cada uno de estos crudos se separó usando Buffer de pH = 7 y cloroformo en bases débiles y bases fuertes (esquema 10).

Los crudos de bases fuertes solubles en eter y solubles en cloroformo mostraron una composición similar de acuerdo con el análisis cromatográfico.

FRACCIONAMIENTO DE CRUDOS BASICOS (1974)



Esquema 10.

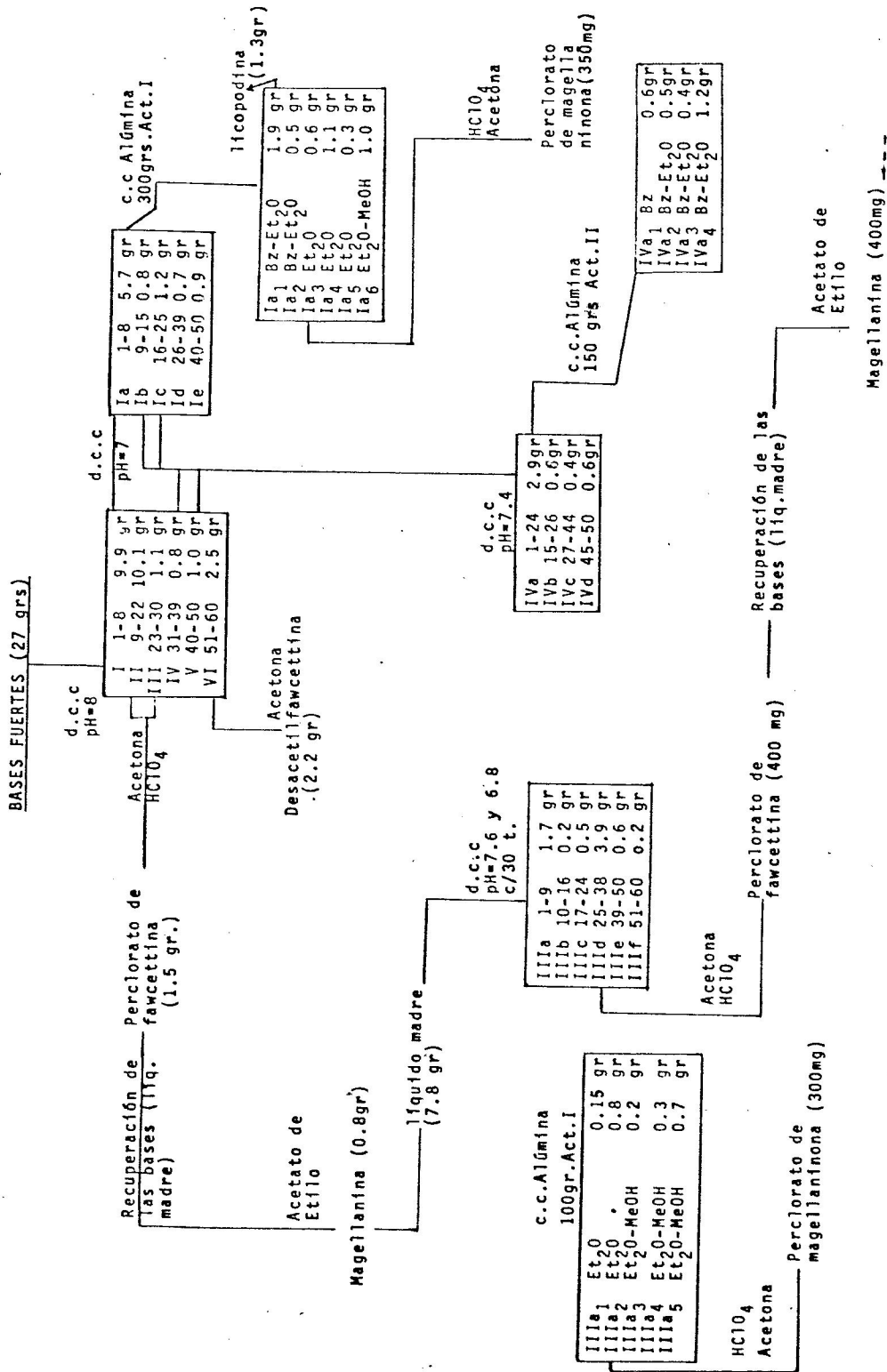
Ambas fracciones se juntaron, obteniéndose un crudo de "bases fuertes" de 27 gr.

La fracción de bases fuertes se sometió a procesos de separación en columnas cromatográficas y distribución en contracorriente a diferentes pH, de acuerdo con el esquema 11. Se logró reaislar las bases de la recolección anterior, licopodina, desacetil-fawcettina, fawcettina, magellanina y un nuevo alcaloide que denominaremos magellaninona. Sin embargo, se hicieron varios intentos de separación (esquema 11) de otros componentes minoritarios, sin llegar a ningún resultado positivo.

La fracción de bases débiles solubles en eter (30.5 gr) (esquema 12-13) se sometió a procesos de separación similares a los de la fracción de bases fuertes, lográndose la separación y caracterización de cinco bases, una de las cuales correspondió a licopodina y otras cuatro bases no aisladas anteriormente que corresponden a N-metil-licodina, acetil-fawcettina., licodina y acetildihidrolicopodina.

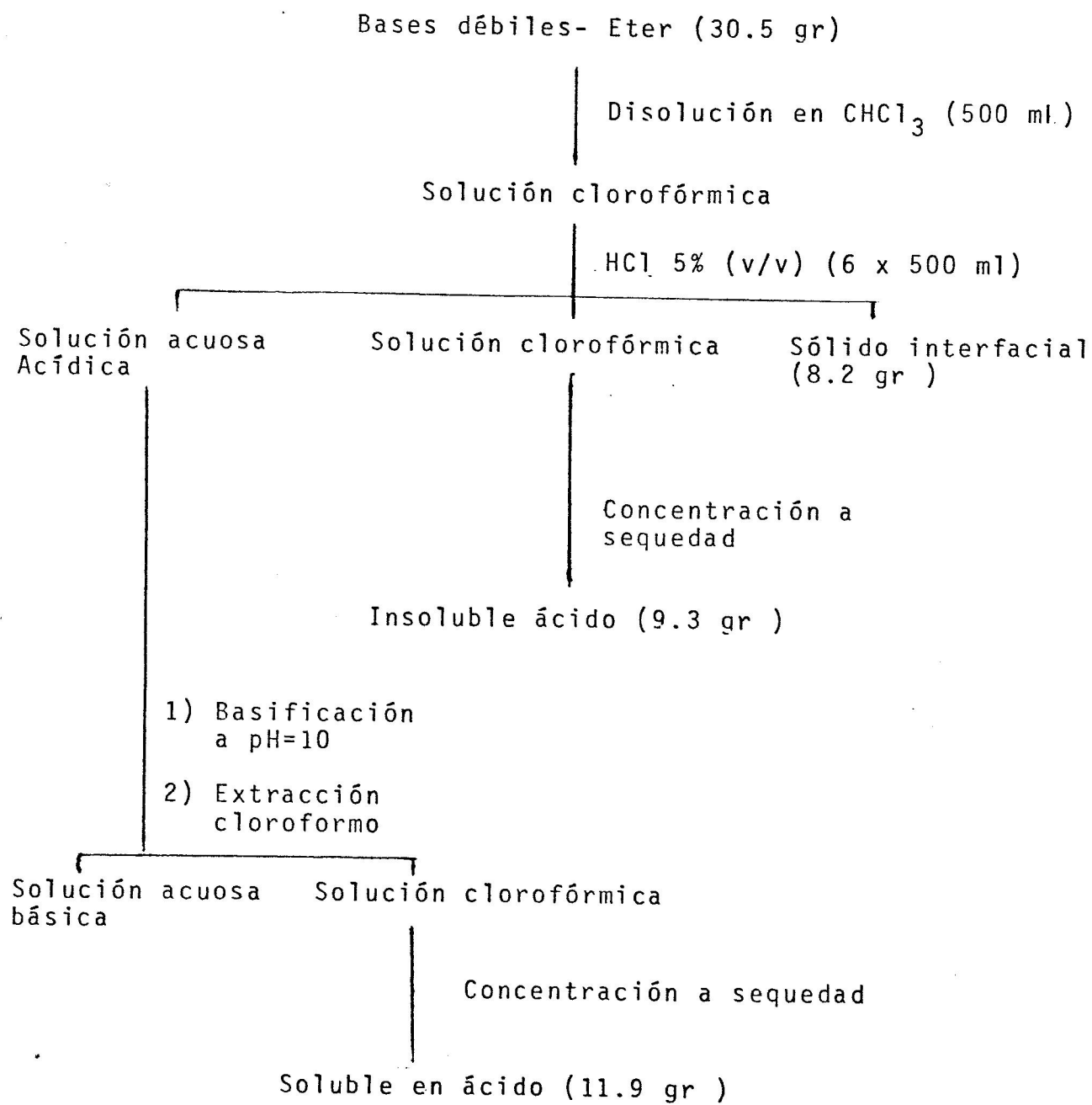
La fracción de bases débiles solubles en cloroformo (32.9 gr) no fue estudiada en esta oportunidad, por su pequeño contenido de alcaloides, determinado por su débil reacción al reactivo de Dragendorff y análisis cromatográfico (c.c.f y c.g).

El residuo insoluble en ácido que denominaremos "fracción neutra", no ha sido analizada, siendo de interés



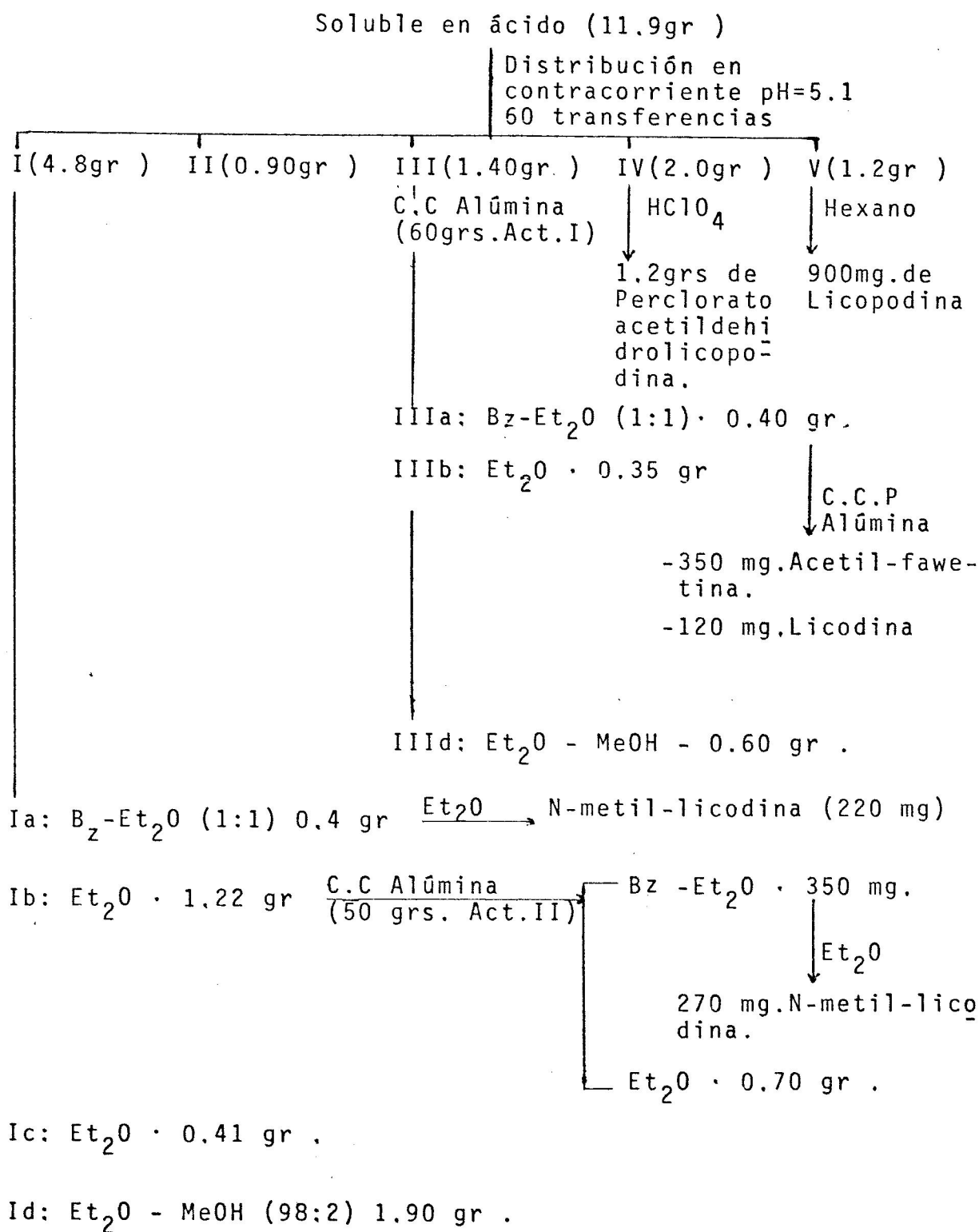
Esquema 11. Separación de bases fuertes.

Purificación de Bases débiles-eter (1974).

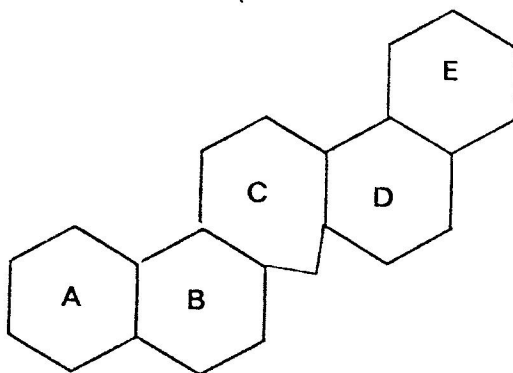


Esquema 12.

Separación de bases débiles-eter (1974).



hacerlo por cuanto puede contener triterpenos según los estudios de otras especies de Lycopodium^{82,83,84}. Estos triterpenos presentan un esqueleto estructural pentacíclico (58) en que se destaca la presencia del anillo C de siete miembros.



(58)

3.2 Estudios Estructurales.

3.2.1 Fawcettina (59):

Presenta un peso molecular de 307 determinado por E.M y fórmula molecular $C_{18}H_{29}NO_3$ determinada por E.M. A.R. Punto de fusión de 170-171°C.

El perclorato presenta un punto de fusión de 268-270°C y su hidrobromuro un punto de fusión de 284-285°C.

El espectro I.R de la base libre (KBr) (fig.13) presenta bandas de absorción asignables a :

- Vibraciones de estiramiento de grupo hidróxilo a 3.350cm^{-1}
- Vibraciones de estiramiento de grupo carbonilo de grupo

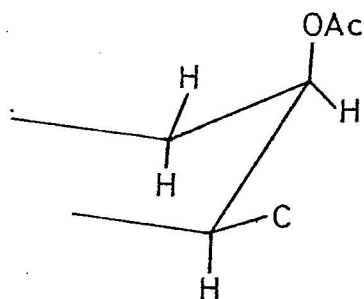
acetato a 1.725 cm^{-1} .

- Vibraciones de deformación de enlace C-O de grupo acetato a 1.250 cm^{-1} .

Su espectro de R.M.P (fig.14) presenta señales que pueden asignarse de la siguiente manera :

- doblete a 1.0 ppm de área equivalente a 3H y $J = 6 \text{ Hz}$ de grupo metilo ($\text{CH}_3\text{-CH}$)
- singlete a 2.1 ppm de área equivalente a 3H de grupo metilo de acetato ($\text{CH}_3 - \text{COOR}$)
- multiplete a 5.1 ppm de área equivalente a 1H de $a^{1/2} = 14\text{Hz}$ de H geminal al grupo acetato : $\text{CH} - \text{OAc}$.

De lo anterior se puede deducir que se trata de una base tetracíclica o tricíclica con un doble enlace $\text{C} = \text{C}$ tetrasustituído, que lleva un grupo acetato secundario y un grupo hidróxilo. El multiplete, a 5.1 ppm de $a^{1/2} = 14 \text{ Hz}$, parece indicar, que el H geminal al grupo acetato es de tipo ecuatorial acoplado a 2 o 3H con constantes de acoplamiento pequeños ($J = 7 \text{ Hz}$), una estructura parcial que satisface estas evidencias podría ser la siguiente :



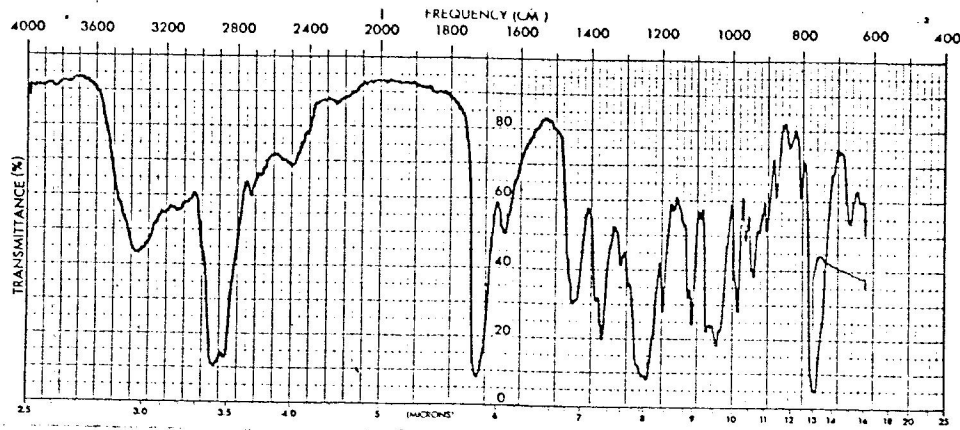


Fig.13 Espectro I.R de fawcettina. (59)

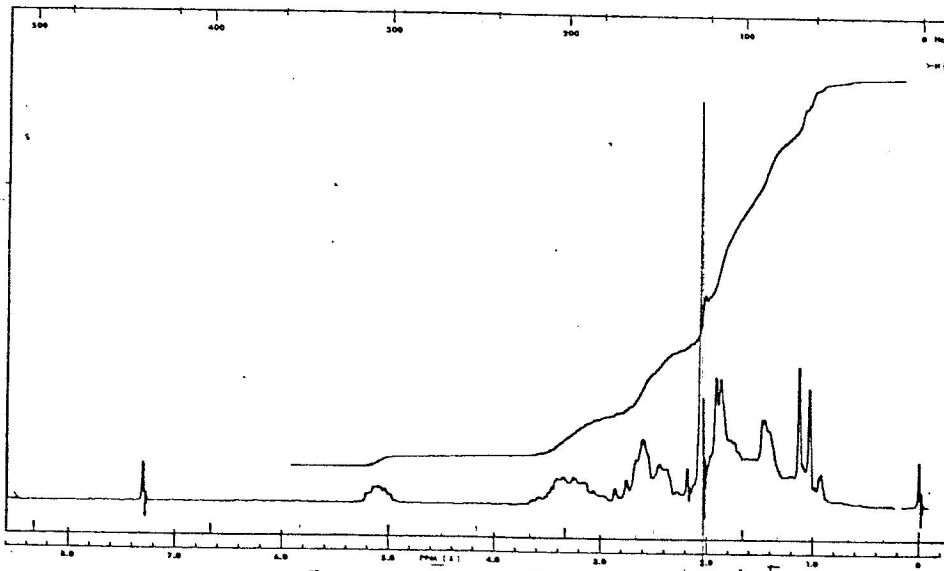


Fig. 14 Espectro de R.M.P de fawcettina(59)

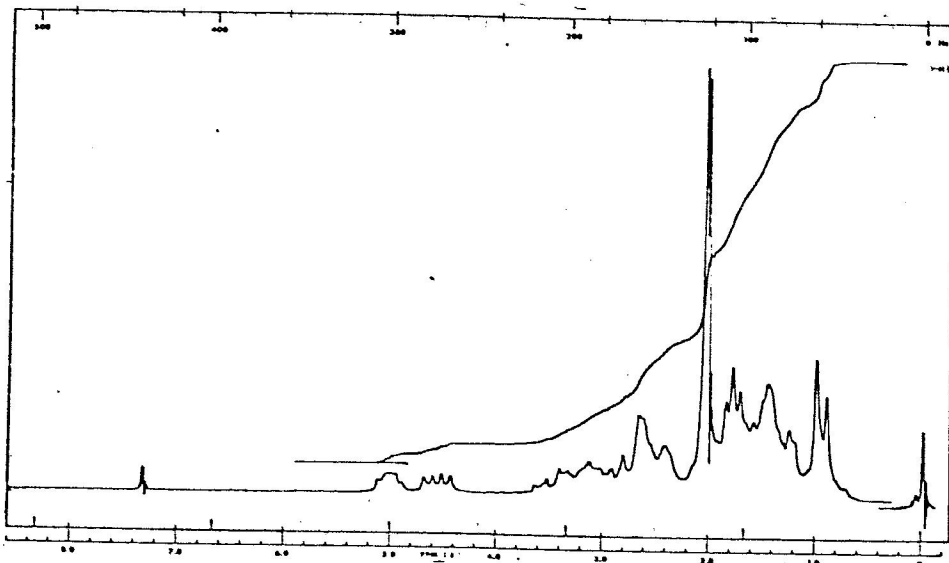
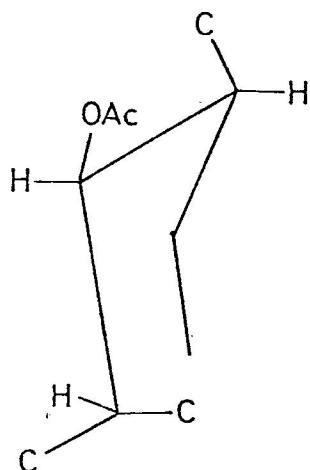


Fig. 15 Espectro de R.M.P de acetil-fawcettina. (84)

La naturaleza secundaria del grupo hidróxilo, se puede asignar a través del estudio espectroscópico del producto de acetilación. Su espectro de R.M.P. (fig.15) muestra además de la señal a 5.1ppm la aparición de dos dobletes centrados a 4.6ppm (1H) de $J = 4$ y 10 Hz., respectivamente y dos singletes a 2.0 y 2.1 ppm de area equivalente a 3H cada uno de grupo metilo de acetato. La multiplicidad de la señal asignable al H geminal al grupo acetato (4,6) sugiere, que el H es de tipo axial acoplado a un H ecuatorial ($J = 4$ Hz.) y a un H axial ($J = 10$ Hz.), cuya estructura parcial podría ser la siguiente :



Por otra parte, el espectro I.R del derivado acetilado, no muestra banda de absorción a 3.350 cm^{-1} asignable a grupo hidróxilo.

El espectro de masas de esta base (fig 16) presenta señales a m/e 307 (M^+), 264 ($M-43$), 234 ($M-73$), 174 ($M-133$), y 146 ($M-161$). El ión a m/e 234 corresponde a la señal base.

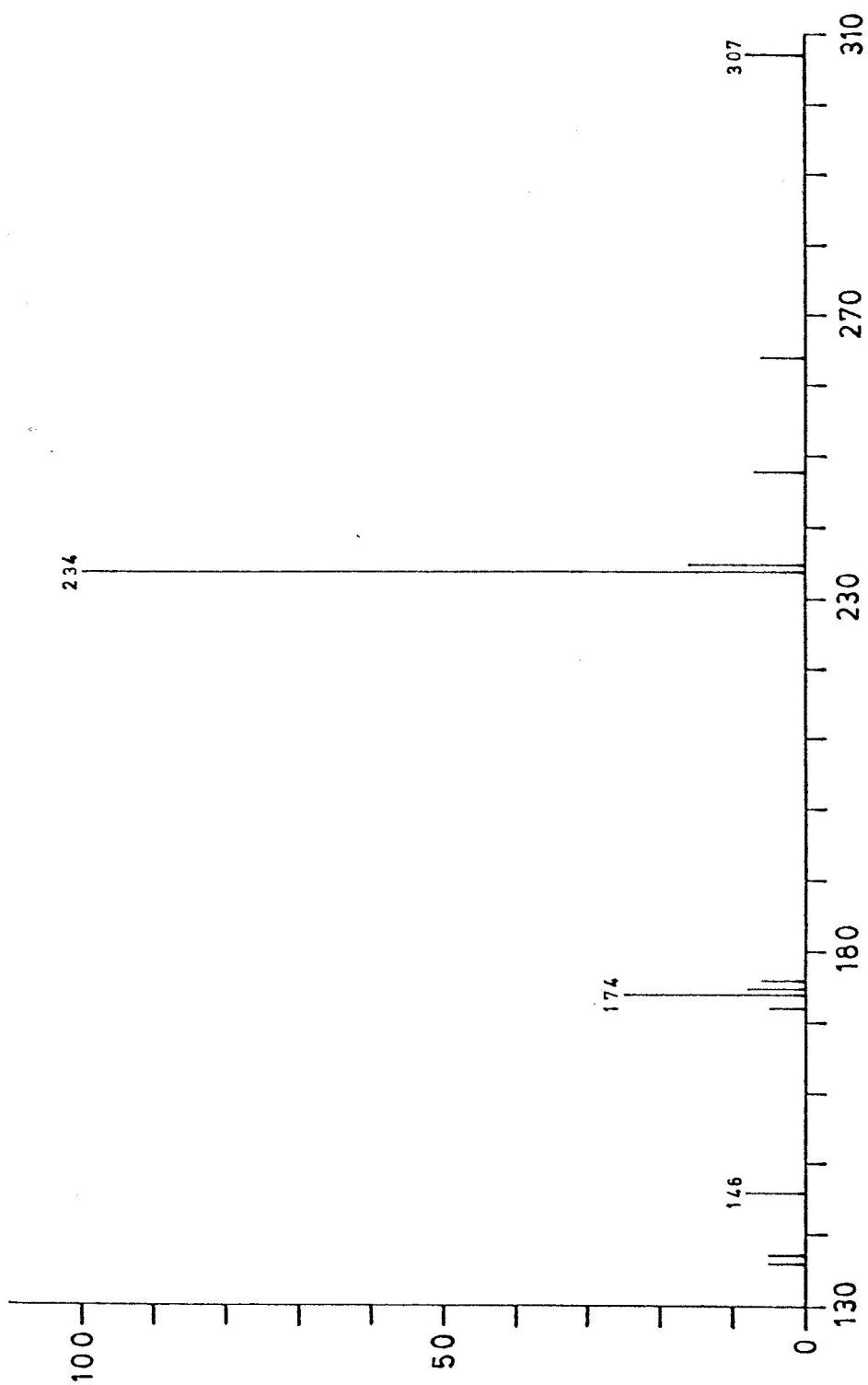
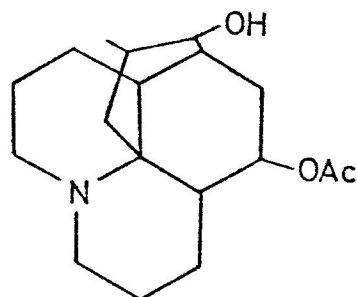


Fig. 16 Espectro de masas de fawcettina (59)

Esta fragmentación es típica de un alcaloide del tipo de licopodina con un átomo de H en C-12 y un grupo hidróxilo en el anillo puente (Anillo D) por la presencia de señales a m/e M-43 y M-73. Por otra parte la pérdida de 60 unidades a partir del ión a m/e 234 (M-73) para dar el ión a m/e 174 (M-133), se interpreta, como pérdida de ácido acético y sugiere la posición del grupo acetato en el anillo C del esqueleto de licopodina.

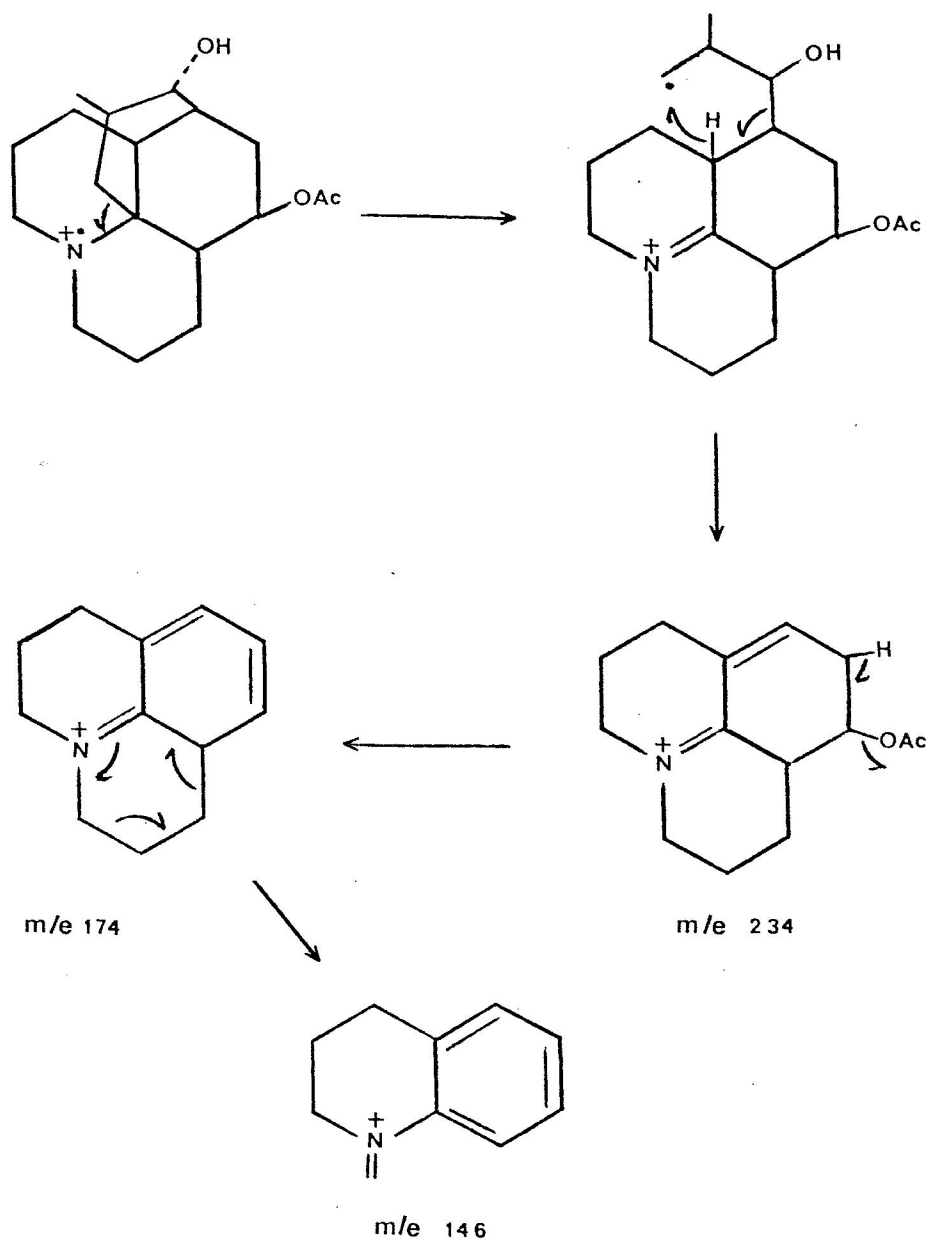
Dado que los alcaloides aislados anteriormente en esta planta (clavolonina, desacetil-fawcettina) llevan sustituyentes en las posiciones de C-5 y C-8, nos permitimos proponer la estructura siguiente (59) para este alcaloide.



(59)

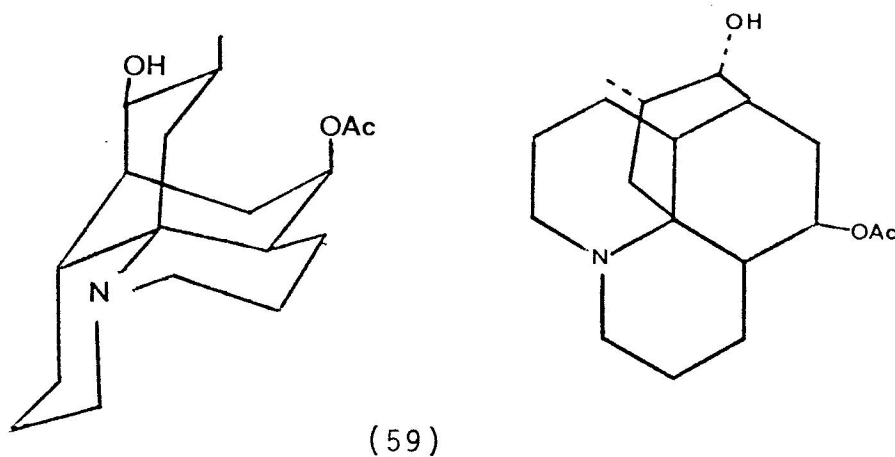
Se confirmó esta asignación estructural, al compararlo directamente con una muestra auténtica de fawcettina (59), a través de su punto de fusión y sus espectros I.R., R.M.P y E.M. Además el producto de hidrólisis fué idéntico con desacetil-fawcettina aislada en recolección anterior de esta planta.

Su espectro de masas puede racionalizarse de la siguiente manera (esquema 14).



Esquema 14. Fragmentación de espectro de masas de fawcettina.

La estructura y estereoquímica de fawcettina (59) fué determinada por Burnell y Taylor⁸⁵, quienes aislaron este alcaloide de *L.fawcetti*⁷⁹. Se ha encontrado también en numerosas especies de *Lycopodium*, tales como, *L.clavatum*^{81,87} *L. annotinum*⁸⁶ y ultimamente en *L.thyoides* y *L.contiguum*⁸⁸.



3.2.2 Magellanina (63)

Compuesto cristalino de peso molecular 275 determinado por E.M y fórmula molecular $C_{17}H_{25}NO_2$ determinada por E.M.A. R de la base libre y análisis elemental de su metobromuro. El punto de fusión de la base libre es de 165 - 166°C.

Su espectro I.R (fig.17) presenta bandas de absorción que pueden ser asignadas de la siguiente manera :

- 3.330 cm^{-1} banda ancha de mediana intensidad de vibraciones de tensión de grupo hidróxilo.
- 1.650 cm^{-1} banda intensa de vibraciones de tensión de grupo carbonilo α - β no saturado.

Su espectro U.V presenta banda de máxima absorción a 237 nm ($\log \epsilon = 3.8$) que puede atribuirse a la presencia del cromóforo cetona α - β no saturada, en anillo de seis miembros, de acuerdo con la aplicación de la regla de

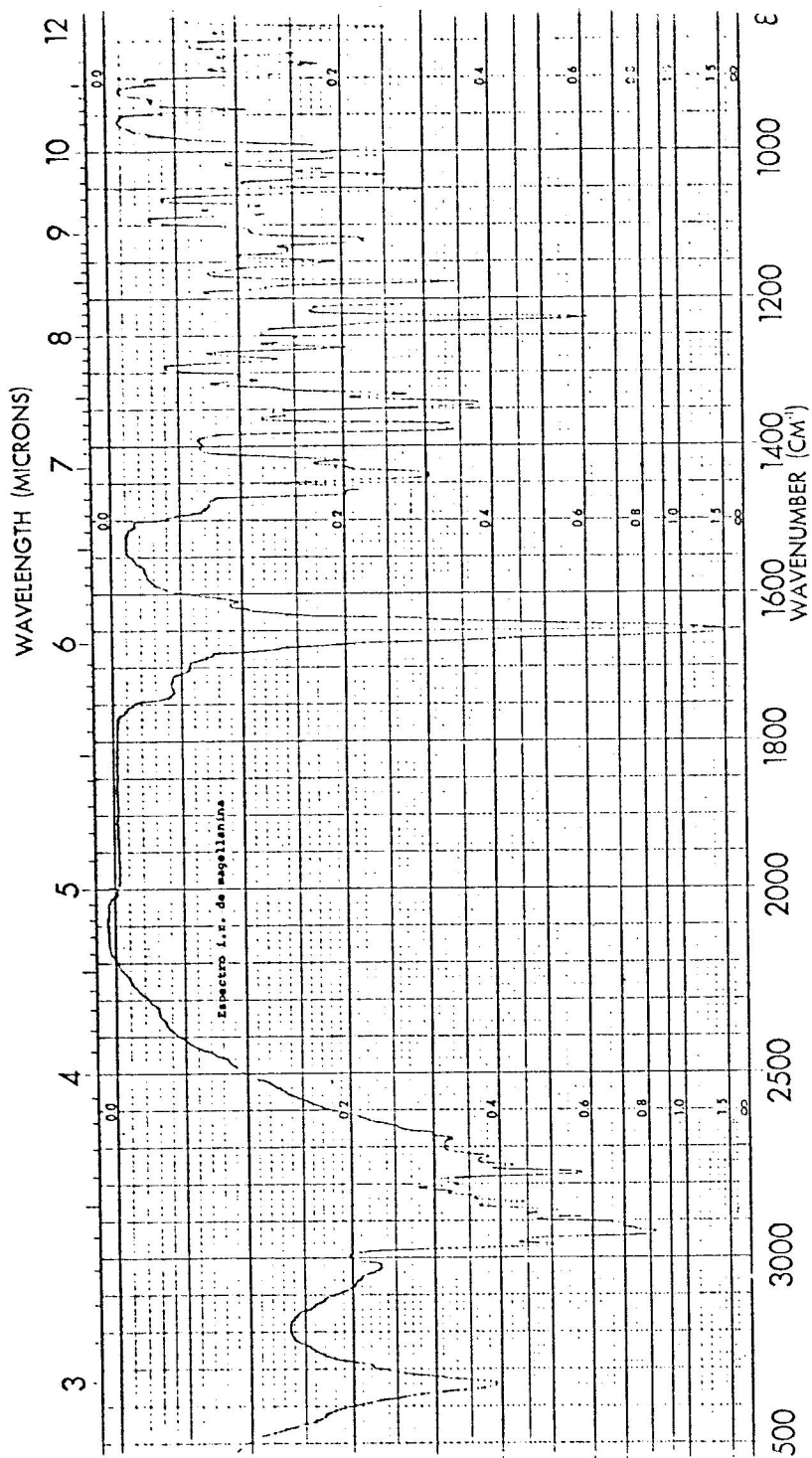
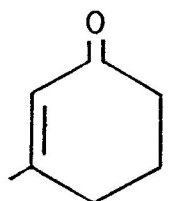
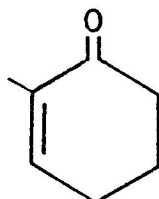


Fig.17 Espectro I.R de magellanina (63)

Woodward y Fieser⁸⁹ para la absorción de cetonas α - β no saturadas. El cálculo de la banda de máxima absorción de la transición $\pi \rightarrow \pi^*$ del grupo carbonilo α - β no saturado, aparece señalado en la figura siguiente :



239 nm



237 nm

La presencia de un grupo hidróxilo y de cetona α - β no saturada, deducida de los espectros U.V e I.R, hace suponer que esta base de acuerdo con su fórmula molecular ($C_{17}H_{25}NO_2$) es tetracíclica.

Su espectro de R.M.P ($CDCl_3$ -220MHz) (fig.18), presenta las siguientes señales asignables :

- Singlete a 1.94 ppm (3H) de grupo metilo vinílico $CH_3-C=C$
- Singlete a 2.23 ppm (3H) de grupo Me - N
- Triplete aparente a 4.21 ppm (1H) de $J=6$ y 4 Hz de hidrógeno geminal al grupo hidróxilo $CH - OH$
- Singlete ancho a 5.88 ppm (1H) de $a^{1/2} = 5$ Hz de hidrógeno olefínico.

Esta información nos permite distinguir por consiguiente la presencia de los siguientes rasgos estructurales.

- Un grupo metilo vinílico ($CH_3-C=C$)
- Un grupo N-metilo ($N-CH_3$)
- Un grupo hidróxilo secundario ($-CHOH$)
- Un hidrógeno olefínico ($-CH = C$)

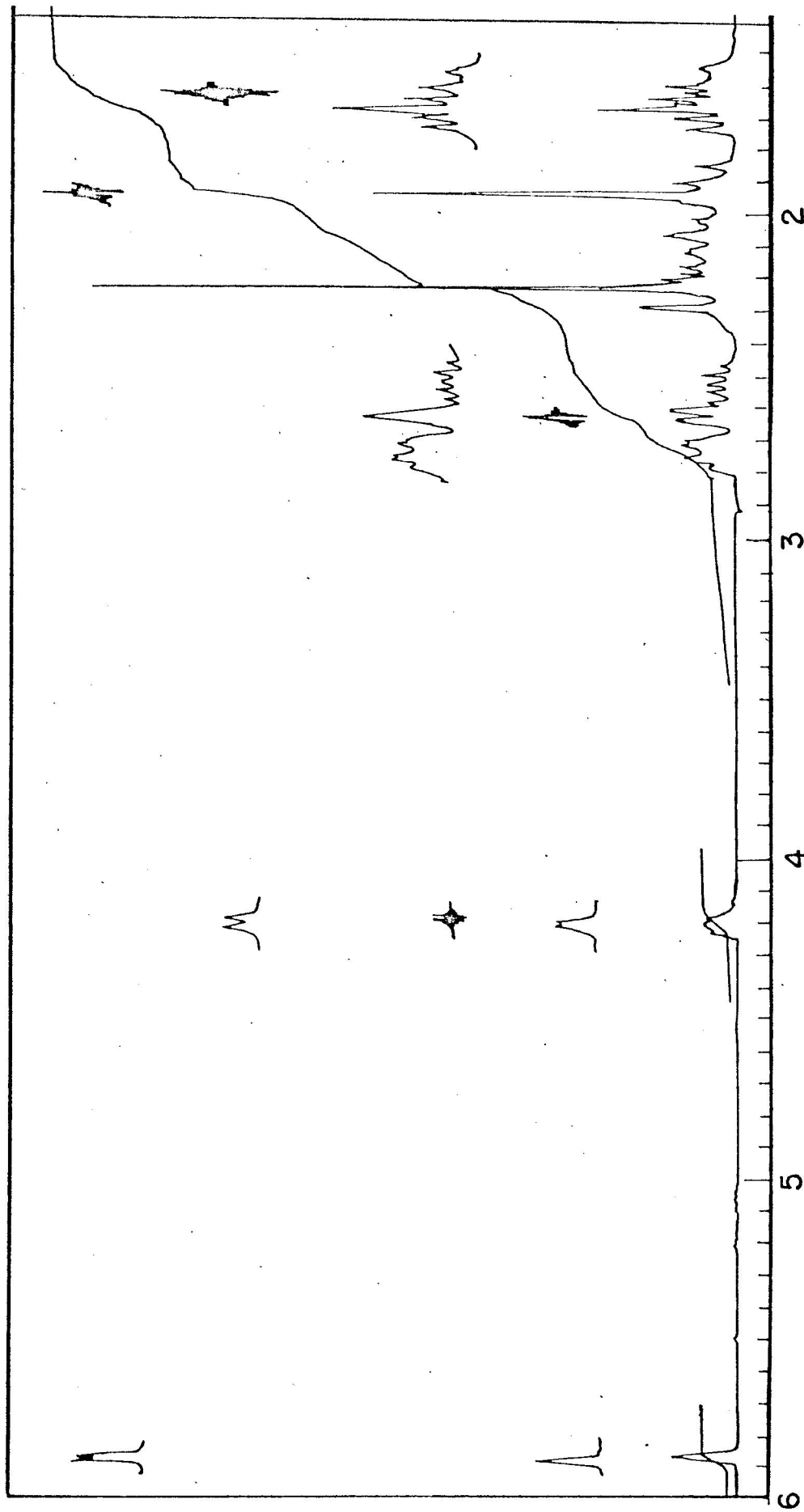


Fig.18 Espectro de R.M.P (220 MHz) de magellanina (63)

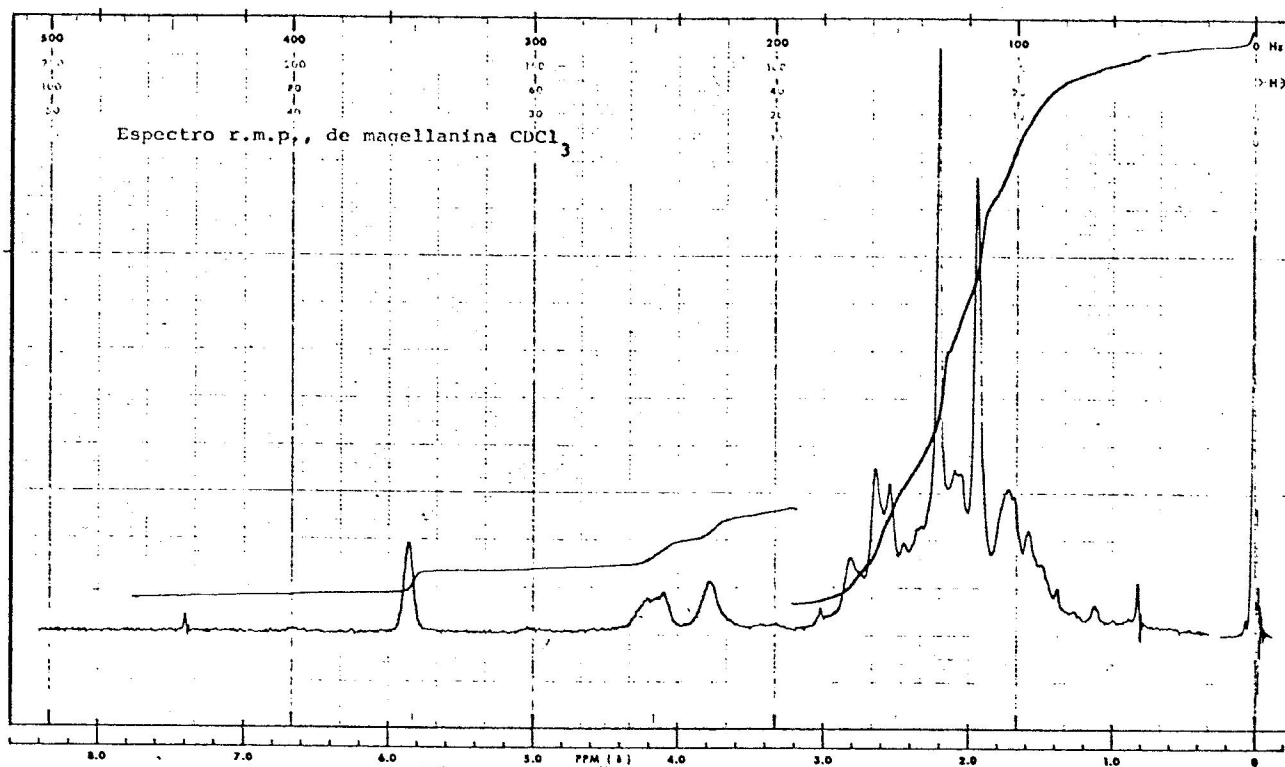


Fig.19 Espectro de R.M.P (60 MHz)de magellanina en CDCl_3 .

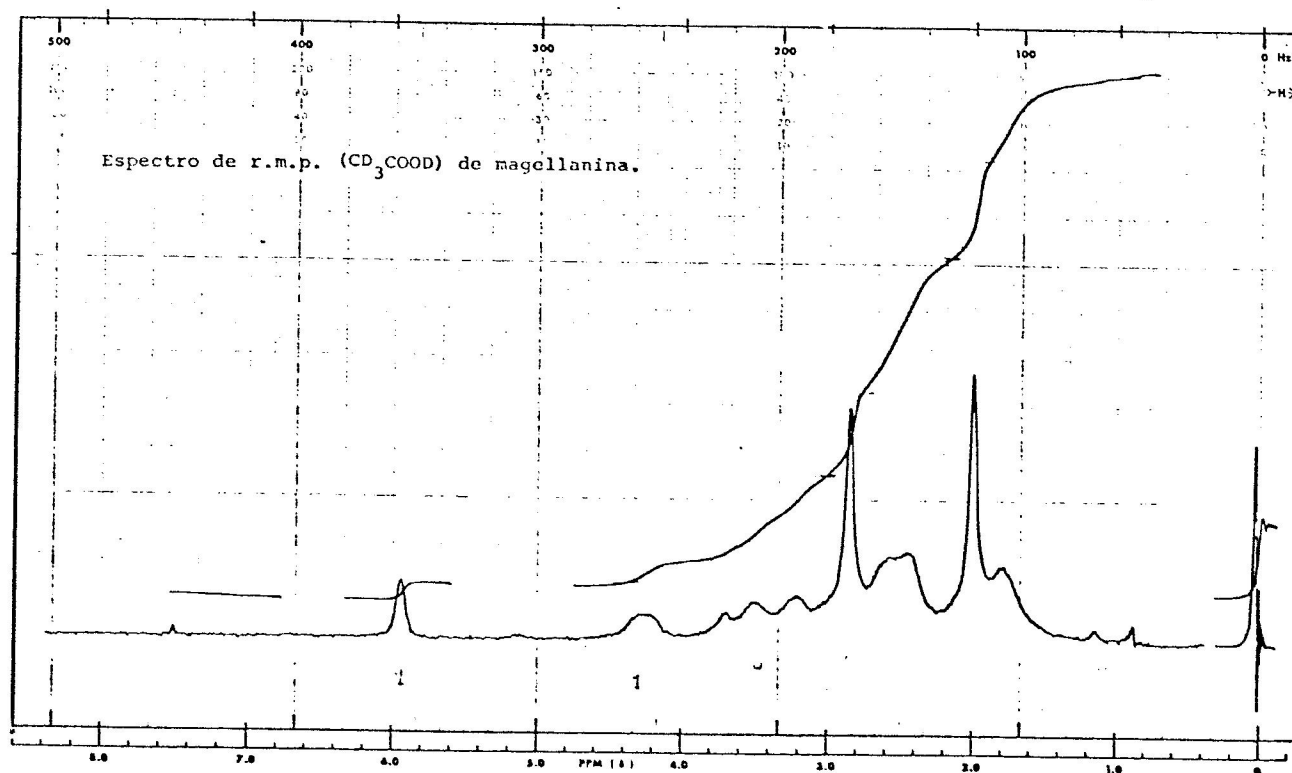


Fig.20 Espectro de R.M.P (60 MHz)de magellanina en $\text{CDCl}_3 + \text{CD}_3\text{-COOD}$

La presencia de un grupo N-CH₃ puede corroborarse si se comparan los espectros de R.M.P (60 MHz) de magellanina en CDCl₃ (fig.19) y en CDCl₃ + CD₃ COOD (fig.20). Se observa el desplazamiento de la señal a 2.2 ppm asignada a grupo N-Metilo a 2.8 ppm por deuteración del átomo de nitrógeno en presencia de ácido acético deuterado⁹⁰.

Por otra parte el carácter secundario del grupo hidróxilo se ve reafirmado por el producto de acetilación y de benzoilación de magellanina.

El espectro infrarrojo de acetil-magellanina (fig.21) muestra bandas de absorción características de grupo acetato a 1.730, 1440, 1.380 y 1.250 cm⁻¹. Su espectro de R.M.P (CDCl₃ - 60 MHz)(fig.22) presenta señales asignables a grupo metilo de acetato a 2.1 ppm (3H) y al protón geminal a grupo acetato, que es un multiplete a 5.2 ppm (1H) de a $\frac{1}{2} = 14\text{Hz}$.

El espectro I.R (fig.23) del benzoato de magellanina, presenta bandas de absorción de grupo benzoato⁹¹ a 1.710cm⁻¹ 1.595, 1580, 1.280 y 1.110 cm⁻¹

Su espectro de R.M.P (CDCl₃ - 60 MHz) (fig.24) presenta señales asignables, al proton geminal a grupo benzoato a 5.5 ppm (1H) de a $\frac{1}{2} = 14\text{Hz}$ y dos multipletes a 7.4 y 7.9 ppm para tres y dos hidrógenos respectivamente a $\frac{1}{2} = 12\text{Hz}$ correspondientes a 5 hidrógenos aromáticos.

Los experimentos de desacoplamiento (fig.18) permiten

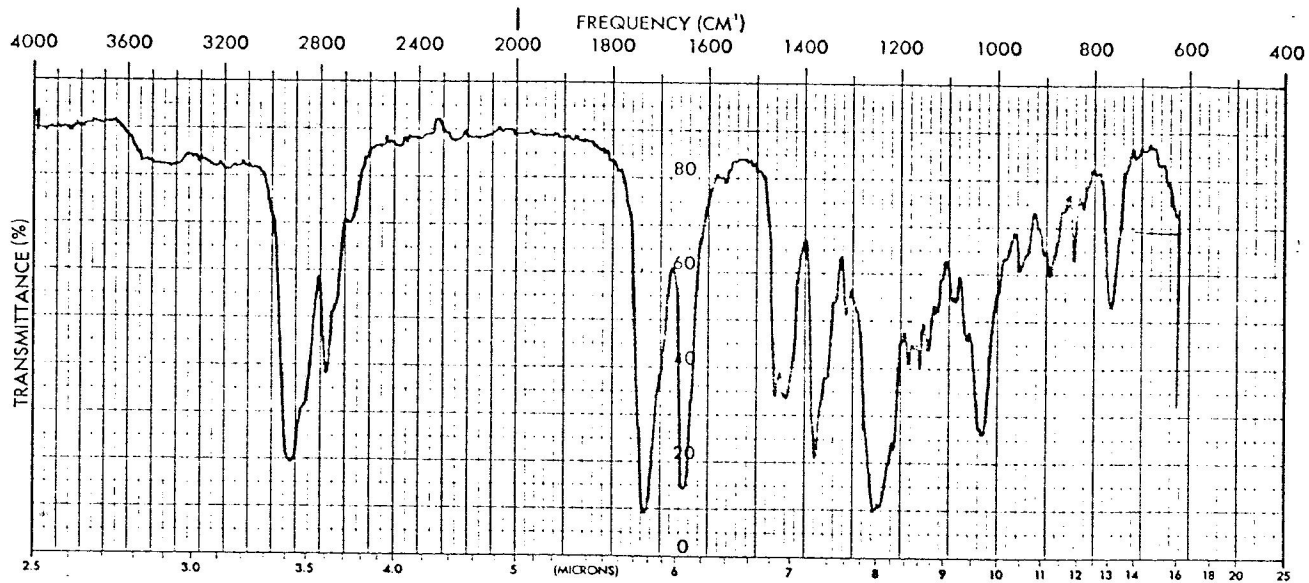


Fig.21 Espectro I.R de acetil-magellanina

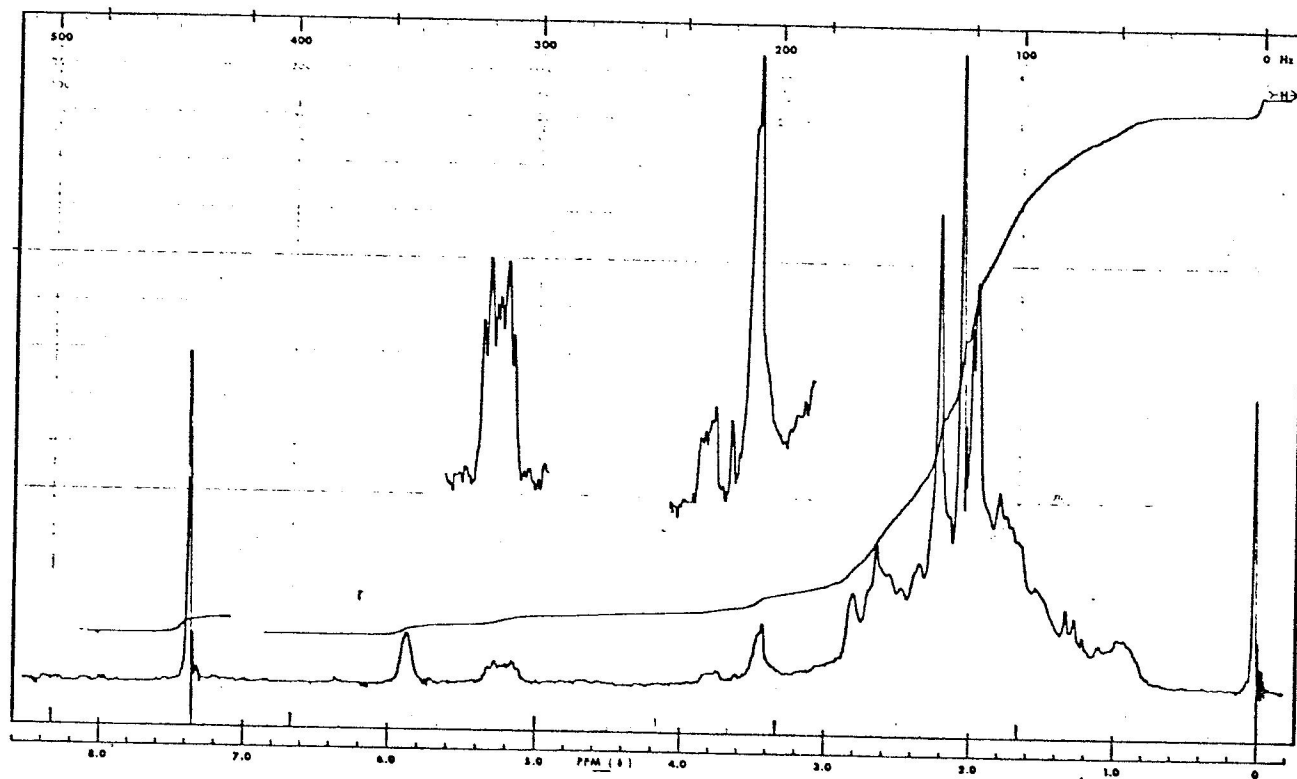


Fig.22 Espectro de R.M.P de acetil-magellanina

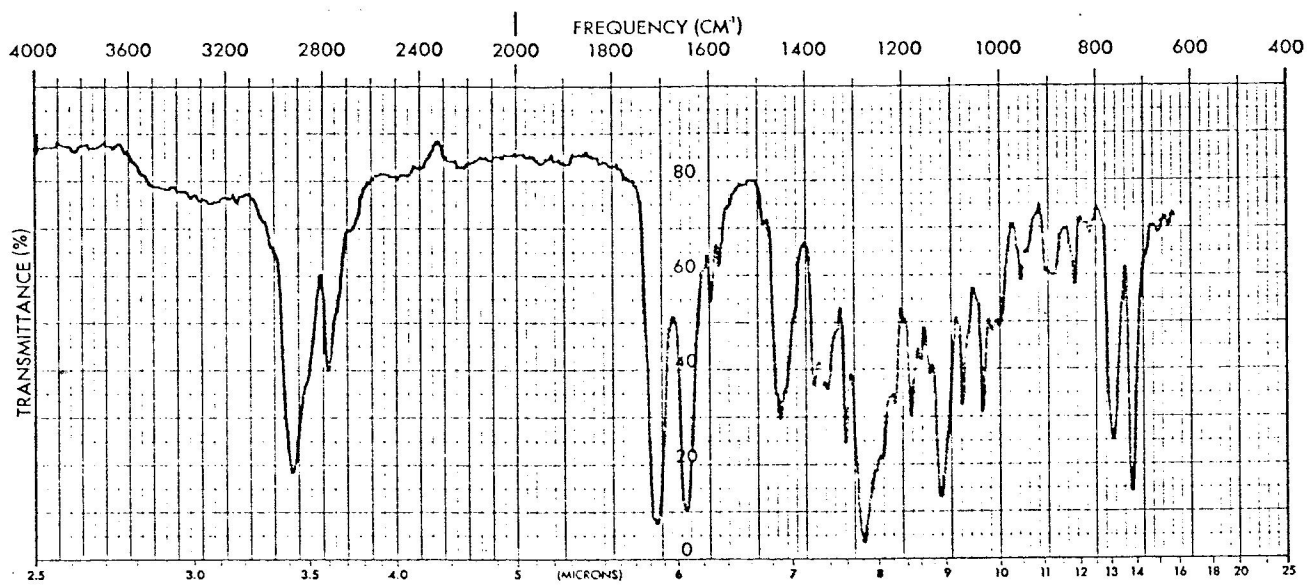


Fig.23 Espectro I.R de benzoil-magellanina

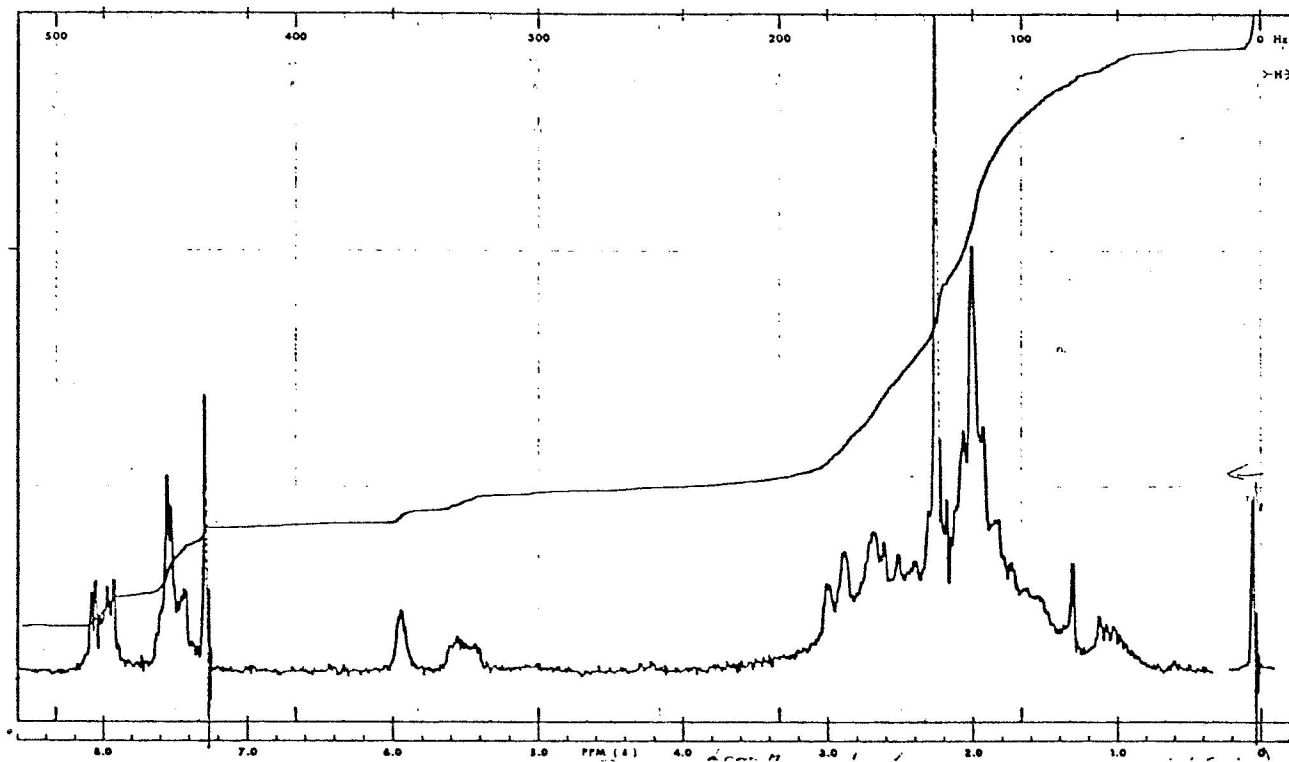
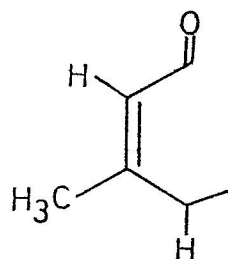


Fig.24 Espectro de R.M.P de benzoil-magellanina

establecer la unidad estructural (60) en magellanina, de acuerdo con los siguientes antecedentes :



(60)

- 1.- Irradiación a 1.94 ppm (C-Me) provoca un desacoplamiento de la señal a 5.88 ppm (CH=C) transformándose en un doblete claramente resuelto de $J=2$. Hz.
- 2.- Irradiación a 5.88 ppm (CH=C) causa :
 - a) Un adelgazamiento de la señal a 1.94 ppm (C - Me).
 - b) La transformación de la señal a 2.6 ppm en una línea delgada, que puede atribuirse a la remoción de un acoplamiento de largo alcance con el H alílico.
- 3.- Se confirmó lo anterior al irradiar la señal a 2.6 ppm, provocando un adelgazamiento del singlete ancho ($a_{1/2} = 6$ Hz) a 5.88 ppm del H vinílico ($a_{1/2} = 3.8$ Hz).

Por otra parte los estudios de doble irradiación permiten postular que el entorno del grupo hidróxilo puede ser :

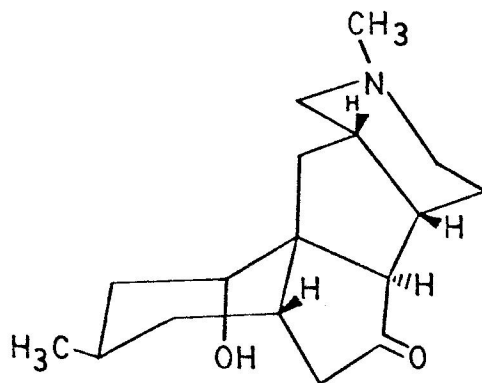
de tipo a, b o c; dado que el protón geminal al grupo hidróxilo puede encontrarse acoplado a dos protones (a o b) que resuenan a 2.6 y 1.66 ppm con constantes de acoplamiento de 6 y 4 Hz respectivamente; o bien que, está rodeado de tres hidrógenos (sistema C), vale decir flanqueado por un grupo metileno y un grupo metino, en el que uno de los hidrógenos debe estar dispuesto de tal forma que no se puede acoplar ($J = 0$) con el hidrógeno geminal al grupo hidróxilo.

El espectro de masas de magellanina (fig.25 Tabla 15) se caracteriza por la presencia de iones con nitrógeno de cierta intensidad en la zona de masas bajas a m/e 57,58,70, 71,96,97,110 y 111. Estos iones se han encontrado en derivados de la piperidina⁹² y en alcaloides con un simple anillo saturado que contiene nitrógeno⁹³.

Además su espectro es bastante diferente de otros alcaloides de esta familia^{2,4}, lo que sugirió que el esqueleto carbonado de este alcaloide era diferente de los alcaloides de Lycopodium de estructura conocida hasta entonces,

Paralelamente con este estudio se determinó la estructura de un alcaloide denominado paniculatina (61), aislado de otro Lycopodium chileno, el L. paniculatum Desveaux^{23,94}.

La comparación de los e.m.de ambos alcaloides (fig. 25 ,Tabla 15) permitió detectar la presencia de iones comunes en ambos espectros, sugiriendo que ambos alcaloides pertenecen a un mismo tipo estructural.



(61)

Tabla 15.

Magellanina			Paniculatina		
m/e	%	Composición	m/e	%	Composición
275	100	$C_{17}H_{25}NO_2$	277	90	$C_{17}H_{27}NO_2$
260	34	$C_{16}H_{22}NO_2$	262	10	$C_{16}H_{24}NO_2$
258	30	$C_{17}H_{24}NO$	248	5	$C_{16}H_{26}NO$
204	5	$C_{13}H_{18}NO$	206	5	$C_{13}H_{20}NO$
202	3	$C_{13}H_{16}NO$	204	29	$C_{13}H_{18}NO$
192	5	$C_{12}H_{18}NO$	192	17	$C_{12}H_{18}NO$
111	13	$C_7H_{13}N$	190	3	$C_{12}H_{16}NO$
110	30	$C_7H_{12}N$	111	4	$C_7H_{13}N$
96	31	$C_6H_{10}N$	110	11	$C_7H_{12}N$
71	38	C_4H_9N	96	21	$C_6H_{10}N$
70	50	C_4H_8N	71	25	C_4H_9N
58	70	C_3H_8N	70	27	C_4H_8N
57	15	C_3H_7N	58	100	C_3H_8N
			57	30	C_3H_7N

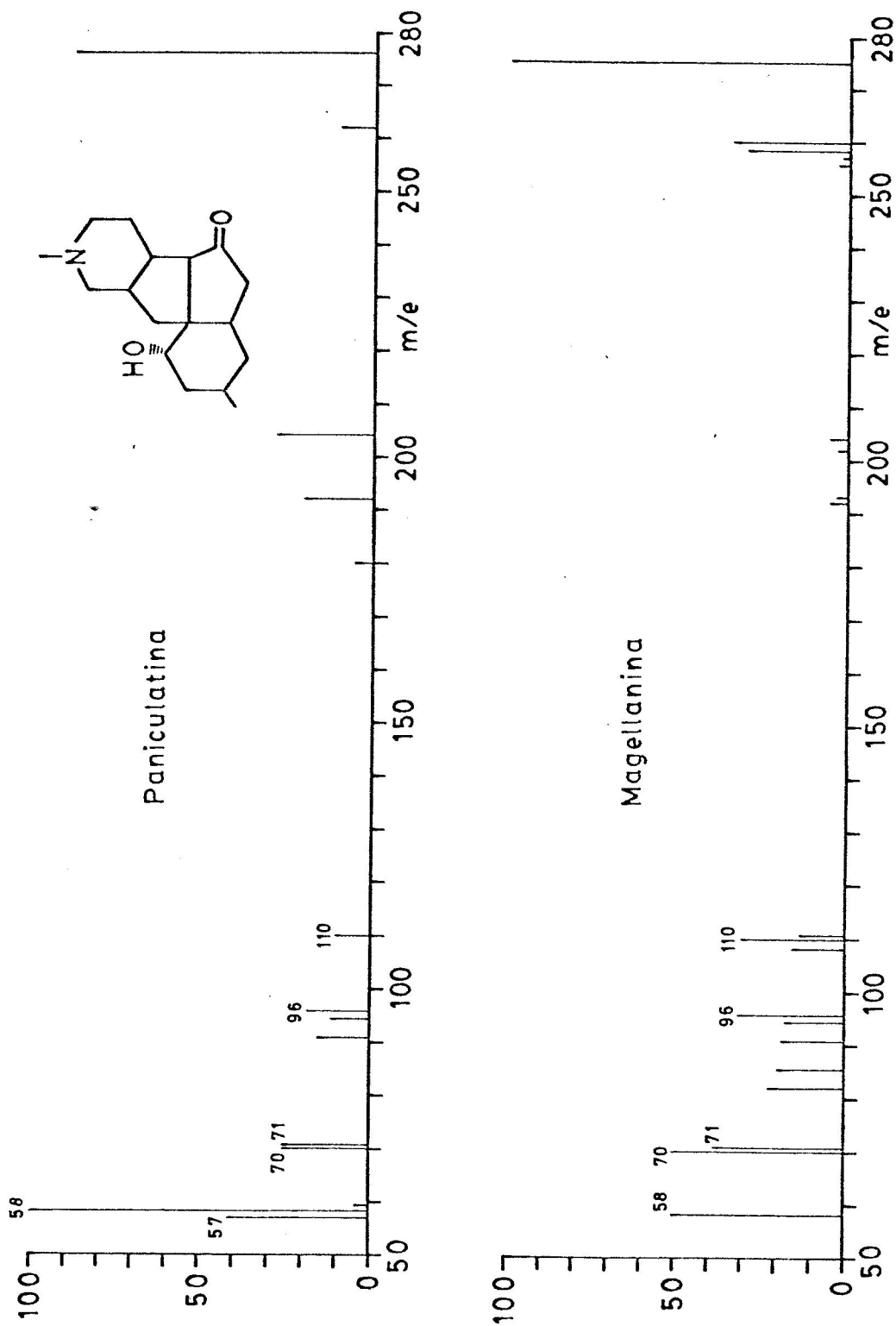


Fig.25 Espectros de masas de magellanina y paniculatina.

Suponiendo que magellanina pertenece al tipo estructural de paniculatina (61), podemos ubicar la unidad estructural (60) cetona α - β no saturada, en el anillo D del esqueleto de paniculatina, avalada por los antecedentes proporcionados por el espectro de R.M.P y los estudios de doble irradiación de magellanina. Por otra parte, la ubicación del cromóforo cetona α - β no saturada en un anillo de seis miembros se ve confirmada al analizar los antecedentes proporcionados por los espectros I.R (fig.26) y R.M.P (fig.27) del producto de hidrogenación de magellanina.:

a) Su espectro I.R muestra bandas de absorción asignables a:

- 1.690 cm^{-1} fuerte intensidad de vibraciones de tensión de grupo carbonilo de cetona en anillo de seis miembros.
- 1.405 cm^{-1} intensidad de vibraciones de deformación de grupo metileno activado - CH_2 - CO -

b) Su espectro de R.M.P muestra las siguientes señales:

- doblete a 0.9 ppm (3H) de $J = 6 \text{ Hz}$ de grupo CH_3 - CH
- singlete a 2.2 ppm (3H) de grupo N-Metilo
- multiplete a 4.2 ppm (1H) de $a \frac{1}{2} = 12 \text{ Hz}$ de H geminal al grupo hidróxilo CH-OH .

La posición del sistema cetona α - β no-saturada, en el anillo D de paniculatina, quedaría representado por las estructuras parciales (62a) o (62b). Los antecedentes proporcionados por los espectros I.R de magellanina (fig.17) y su

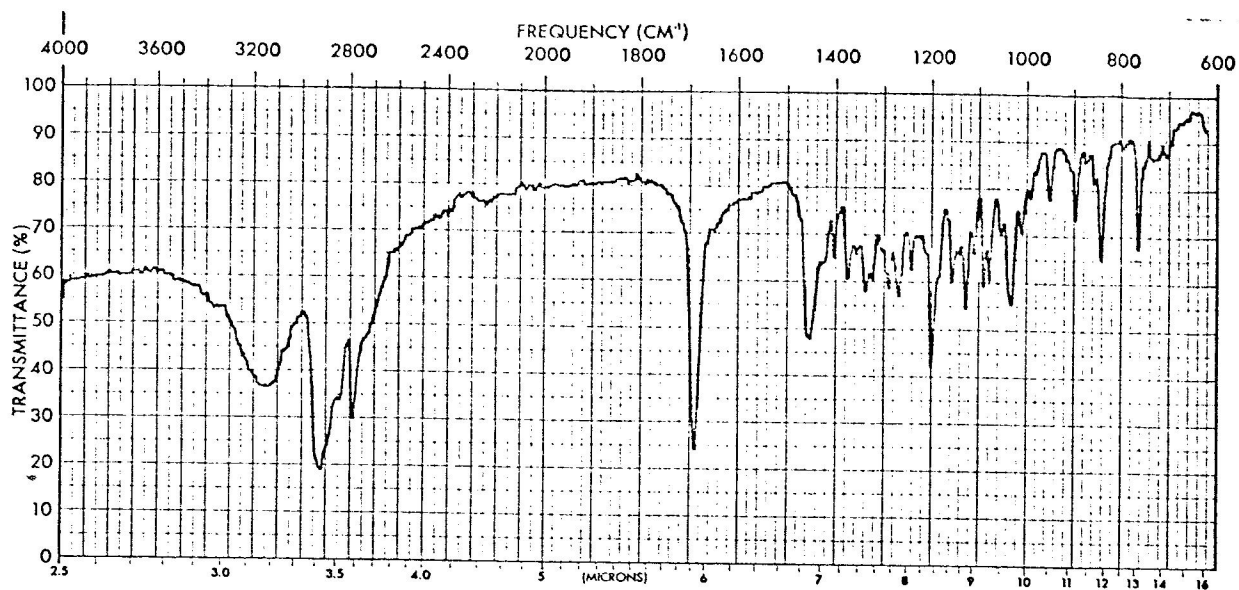


Fig.26 Espectro I,R de dihidro-magellanina

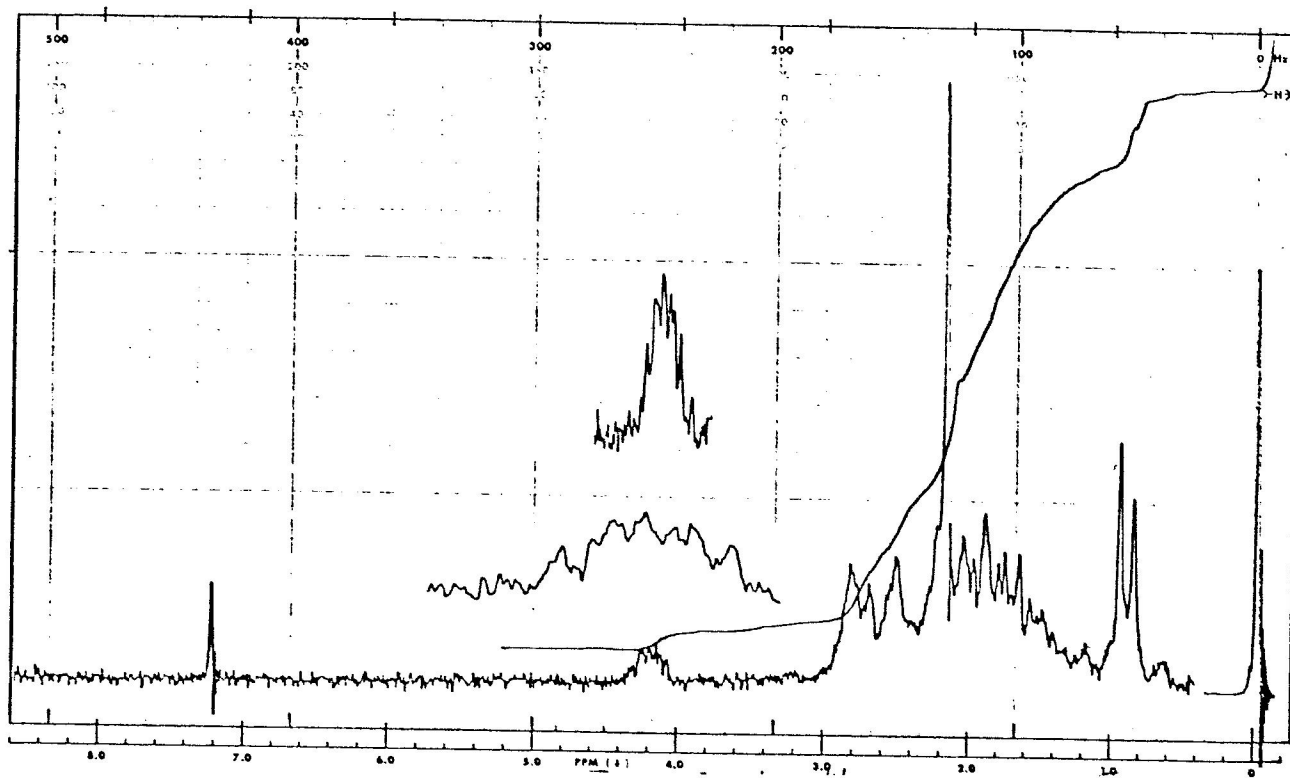
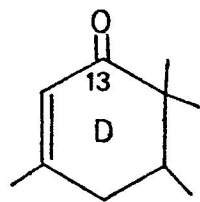
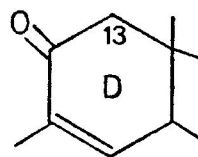


Fig.27 Espectro de R.M.P de dihidro-magellanina



(62a)



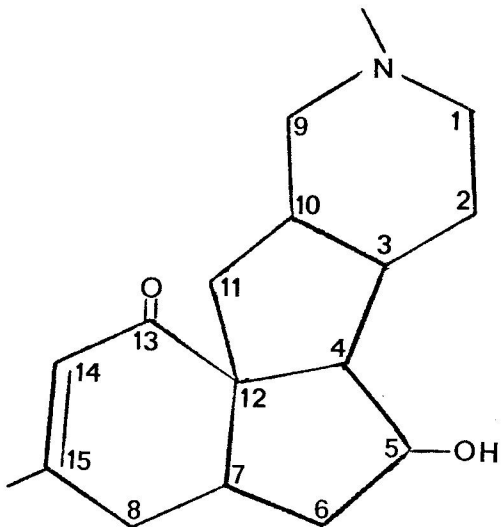
(62b)

producto de hidrogenación (fig.26) avalan la estructura parcial (62a), dado que magellanina no presenta banda de mediana intensidad en la zona de $1400 - 1420 \text{ cm}^{-1}$ de grupo metileno activado por grupo carbonilo ($-\text{CH}_2 - \text{CO}$) y su producto de hidrogenación presenta una banda de mediana intensidad a 1405 cm^{-1} asignable a grupo metileno activado por grupo carbonilo. Por otra parte paniculatina lleva un grupo hidróxilo en la posición de C-13.

La posición del grupo hidróxilo secundario queda circunscrita a los anillos B y C de magellanina C-5, C-6 o C-11, de acuerdo con el espectro I.R del producto de oxidación de Magellanina, que presenta una banda de absorción a 1.730 cm^{-1} asignable a grupo carbonilo de cetona en anillo de 5 miembros.

Podemos descartar la posición de C-11 para el grupo hidróxilo en el esqueleto magellanina, de acuerdo con su espectro de R.M.P dado que la señal a 4.21δ asignada al proton geminal a este grupo, presenta una multiplicidad que está indicando que a lo menos está acoplado con dos hidrógenos en carbonos vecinales.

Dado que paniculatina lleva sustituyente en C-5, podemos sugerir, que la posición del grupo OH de magellanina puede corresponder a este carbono. En consecuencia postulamos que magellanina tiene la estructura siguiente.



La estructura propuesta fué confirmada por el análisis de difracción de rayos X del metobromuro de magellanina (fig.28) y además definió la estereoquímica relativa (63). Descripción de la estructura :

Los resultados del análisis de difracción de rayos X del metobromuro de magellanina, indican que el esqueleto de la molécula (fig.28), está formado de dos anillos de cinco miembros fusionados entre sí y cada uno a su vez está fusionado con un anillo de seis miembros.

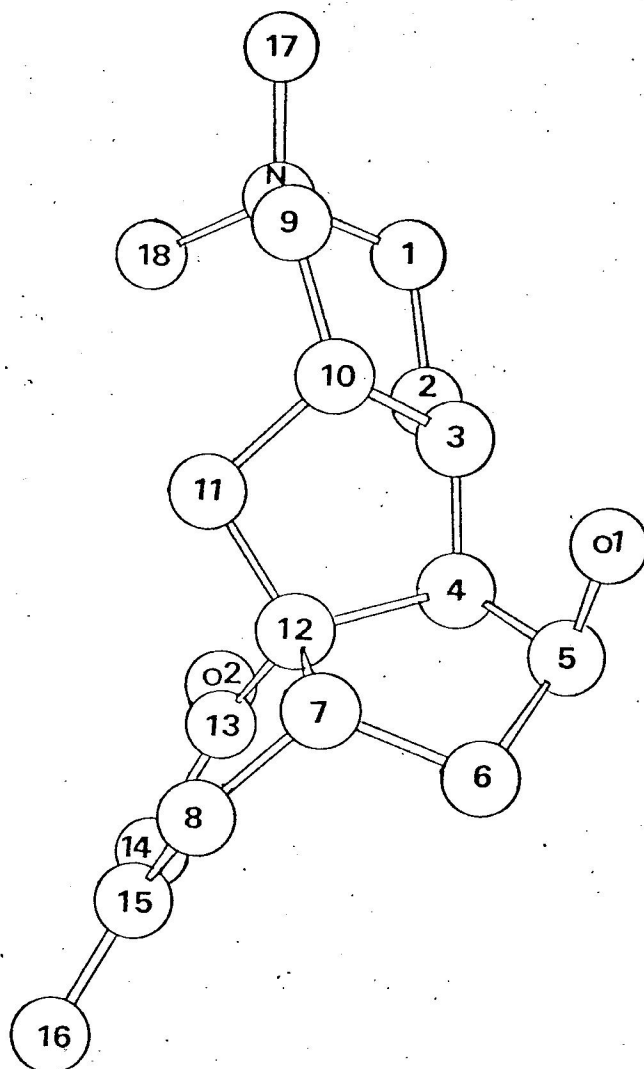
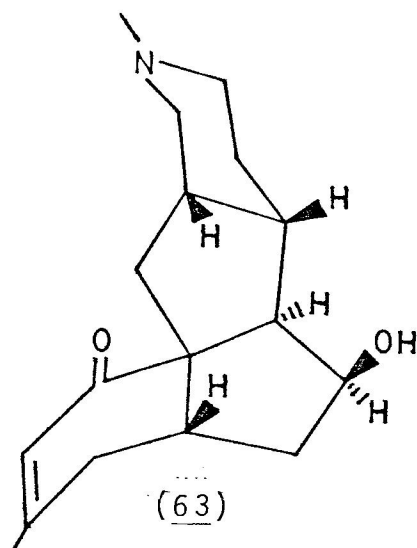


Fig. 28. Estructura del metobromuro de magellanina

El anillo de seis miembros que contiene el nitrógeno cuaternario, tiene una conformación similar a la forma de silla de la piperidina, con los C-17 y C-18 enlazados ecuatorial y axialmente al nitrógeno respectivamente. La evidencia para esta afirmación proviene del hecho que el C-17 está a 0.48°A y el C-18 a 1.75°A lejos del plano definido por el N, C-1, C-2, C-3, C-9 y C-10. El C-4 es ecuatorial al C-3 y el C-11 es axial al C-10.

El plano definido por C-3, C-4, C-10, C-11 y C-12 forma un ángulo agudo de $56,4^\circ$ con el plano del anillo de seis miembros y la fusión del sistema 5-6 es cis en los C-3 y C-10. Este último anillo de cinco miembros está flexionado y tiene una conformación similar a la conformación de media silla de la molécula de ciclopentano.

El segundo anillo de cinco miembros definido por los C-4, C-5, C-6, C-7 y C-12 tiene una conformación similar.

El ángulo agudo entre los dos anillos de cinco miembros fusionados es de 55° y la unión de los C-4 y C-12 es cis, de acuerdo con las distancias fuera del plano de 1.02 y 0.90 A° para los C-3 y C-11 respectivamente.

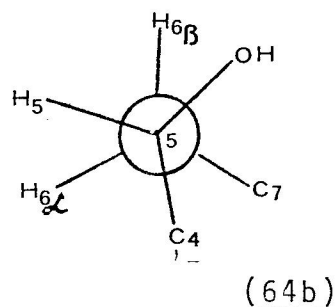
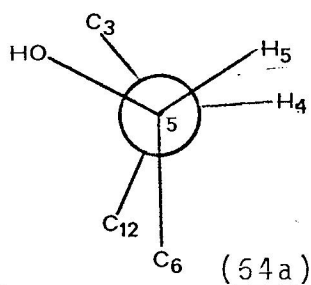
El oxígeno (O-1) está alejado a 1.67°A de este plano y está en el mismo lado de los C-3 y C-11, pero al lado opuesto de los C-8, C-13 y el oxígeno (O-2). La fusión entre los anillos de cinco y de seis miembros en los C-7 y C-12 es también cis. La conformación del anillo de seis miembros

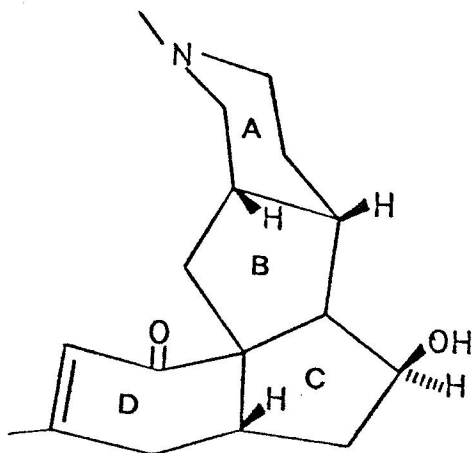
definido por los C-7, C-8, C-12, C-13, C-14 y C-15 puede describirse mejor como un semibote, con el C-7 a 0.40 \AA fuera del plano definido por el O-2, C-13, C-14, C-15 y C-16. El plano definido por los C-7, C-8 y C-12 forma un ángulo de $146,5^\circ$ con este plano.

La estructura de magellanina (63) permite reinterpretar su espectro de R.M.P asignando los desplazamientos químicos de los protones del C_α a grupo hidróxilo y sus respectivas constantes de acoplamiento con el H geminal al grupo hidróxilo.

El proton geminal al grupo hidróxilo H-C₅ está acoplado a dos protones que resuenan a 2.6 y 1.66 ppm, con constantes de acoplamiento de 6 y 4 Hz respectivamente.

La magnitud de la constante de acoplamiento⁹⁶ ($J=6 \text{ Hz}$) indica que los planos formados por H-C₄-C₅ y C₄-C₅-H forman un ángulo de 30° (Proyección de Newman 64a). Por otra parte la constante de acoplamiento de 4 Hz indica que la intersección de los planos formados por H _{α} -C₆-C₅ y C₆-C₅-H es del orden de los 45° y que el ángulo diédrico formado por H _{β} -C₆-C₅-H (Proyección de Newman 64b) es del orden de los 75° .





(63)

El espectro de Resonancia Magnética Nuclear de Carbono-13 (R.M.C¹³) (fig.29) nos muestra claramente la presencia de señales asignables al carbono de grupo CHOH, C_α y C_β de cetona α - β no saturada a 71.68, 125.78 y 158.09 ppm. respectivamente. Por otra parte, si consideramos la estructura (63) para magellanina, es posible asignar tentativamente el resto de las señales de su espectro, eligiendo los compuestos modelos adecuados que permiten calcular teóricamente las señales de los carbonos de los anillos A, C y D.

Los compuestos modelos utilizados en el cálculo de las resonancias, corresponden a 1,3,4-trimetil-piperidina (65) para el anillo A, 2,3,3,4-tetrametil-ciclopentanol (66) para el anillo C y 3,5,6,6-tetrametil-2-ciclo-hexenona (67) para los carbonos 8, 13, 14 y 15 del anillo D de magellanina.

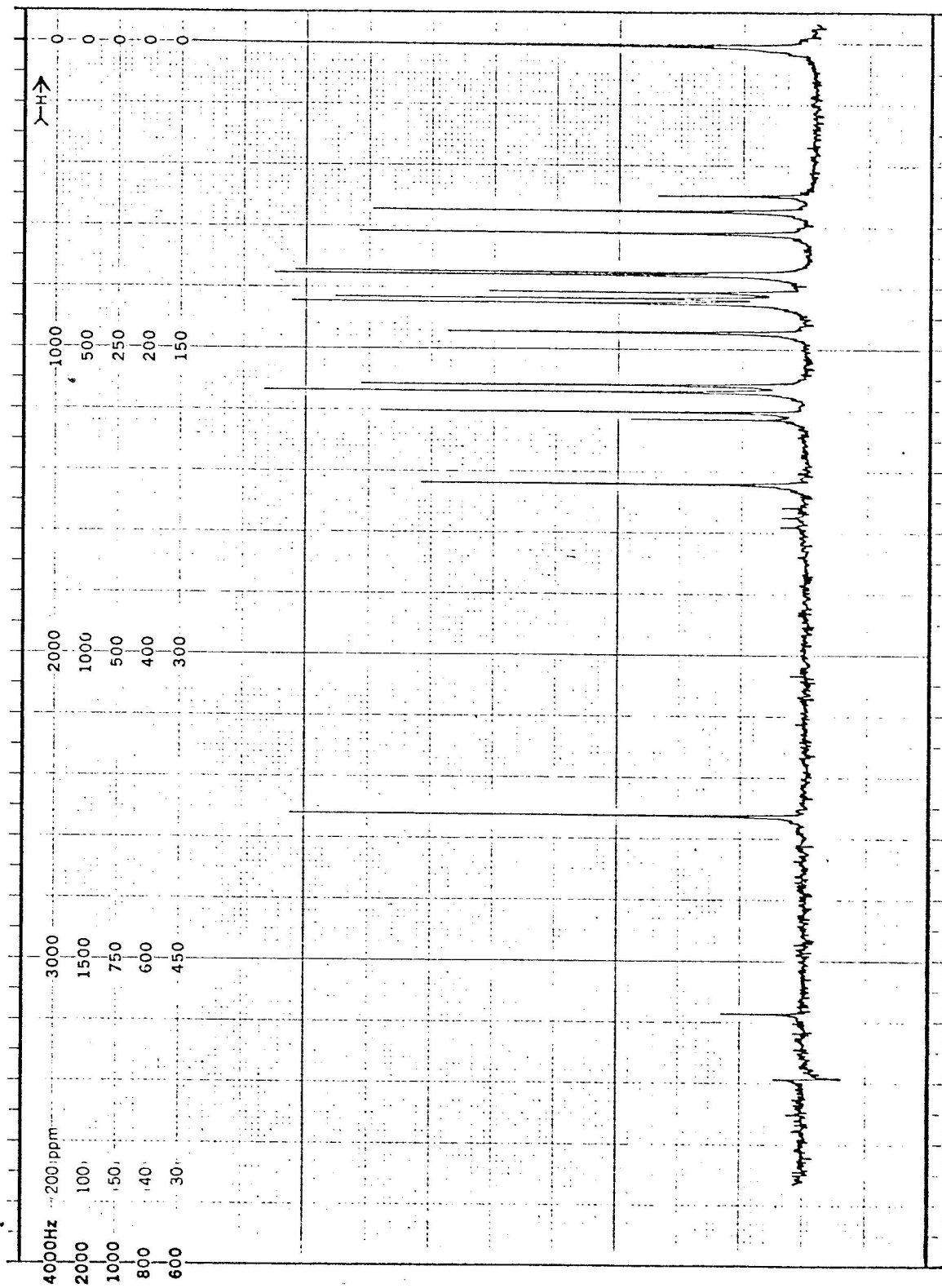


Fig.29 Espectro de resonancia magnética nuclear de C¹³ de magellanina.

Los desplazamientos químicos de C^{13} para los carbonos de la 1,3,4 trimetil piperidina (65) se calcularon, a partir de las resonancias asignadas para la 1-metil-piperidina⁹⁷ y los efectos provocados por los grupos metilos axial y ecuatorial en C-3 y C-4 respectivamente. Los parámetros corresponden a los señalados por Stothers⁹⁸ y la tabla 16 señala el cálculo para las resonancias de los C-1, C-2, C-3, C-9 y C-10 de magellanina, utilizando la 1,3,4-trimetil-piperidina como compuesto modelo, en sus carbonos C-6, C-5, C-4, C-3 y C-2 respectivamente.

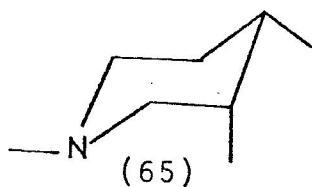


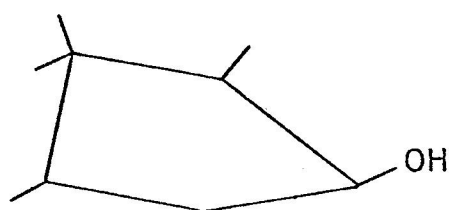
Tabla 16.

δC^{13} de 1 metil piperidina.ppm.	ΔCH_3 (ax) en C-3	ΔCH_3 (ec) en C-4	δC^{13} calculado de 1,3,4-trimetil-piperidina.	
C-2	57.4	5.2	0	62.6
C-3	26.7	1.1	8.9	36.7
C-4	22.7	5.2	5.6	33.1
C-5	26.7	-5.4	8.9	30.2
C-6	57.4	0	0	57.4

Para el cálculo de los desplazamientos químicos de los C-4, C-5, C-6, C-7 y C-12 de magellanina, se eligió como compuesto modelo, el 2,3,3,4-tetrametil-pentanol (66);

cuyas resonancias, para sus diferentes carbonos, fueron obtenidas desde el Cis 2-metil-ciclopentanol y sus correspondientes efectos α y β de los sustituyentes ubicados en los C-3 y C-4. Los parámetros de sustitución α y β para grupos metilos en derivados del ciclopentano, corresponden a los señalados por Roberts⁹⁹.

La tabla 17a señala las resonancias calculadas para los carbonos C-1, C-2, C-4, C-5, del 2,3,3,4-tetrametil-ciclopentanol (66) y en consecuencia C-5, C-4, C-12, C-7 y C-6 de magellanina respectivamente.



(66)

Tabla 17a.

δC^{13} del Cis-2-metil-Ciclopentanol.	$\Delta CH_3(ax)$ en C-3	$\Delta CH_3(ec)$ en C-3	$\Delta CH_3(ec)$ en C-4	δC^{13} calculado del 2,3,3,4-tetrametil-ciclopentanol
C-1	75.5	0	0	75.5
C-2	40.1	7.5	9.2	56.8
C-3	34.8	9.1	9.1	62.2
C-4	22.4	7.5	9.2	48.2
C-5	31.3	0	9.2	40.5

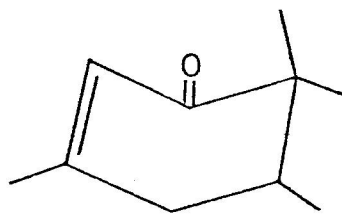
Una forma alternativa de cálculo para las resonancias de C^{13} del 2,3,3,4-tetrametil-ciclopentanol, se señala en

la tabla 17b. En este caso las resonancias son calculadas a partir del trans-1,3-dimetil-ciclopentano y la adición correspondiente de los efectos α y β de grupos metilos (ax y ec) y del grupo hidróxilo. Los parámetros de sustitución utilizados corresponden, a los señalados por Roberts⁹⁹, para los efectos de grupos metilos en ciclopentanos y para el grupo hidróxilo calculado a partir de la diferencia entre el cis 2 metil ciclopentanol y el metil-ciclopentano.

Tabla 17b

δC^{13} del trans-1,3-dimetil-ciclopentano	$\Delta CH_3(ax)$ en C-3	$\Delta CH_3(ec)$ en C-3	ΔOH en C-1	δC^{13} calculado del 2,3,3,4-tetrametil-ciclopentanol
C-1	35.3	0	40.1	75.6
C-2	33.6	7.5	5.2	55.5
C-3	43.2	9.1	- 0.1	61.3
C-4	33.6	7.5	-3.1	50.2
C-5	35.3	0	5.8	41.1

Las resonancias para los C-8, C-13, C-14 y C-15 de magellanina, fueron calculadas de los desplazamientos químicos de los carbonos C-6, C-1, C-2 y C-3 de la 3,5,6,6-tetrametil-2-ciclohexenona (67). Los desplazamientos químicos de este compuesto se calcularon a partir de las resonancias de la 2-ciclohexenona¹⁰⁰ y los efectos de la sustitución alquílica en las posiciones antes señaladas (Tabla 18).



(67)

Tabla 18.

	δ C ¹³ de 2 ci- clohexenona.	Δ CH ₃ en C-3	Δ CH ₃ (ax) en C-5	Δ 2CH ₃ en C-6	δ C ¹³ calculado de 3,5,6,6,-te- trametil-ciclo- hexenona.
C-1	199.1	-1.5	0	0	197.6
C-2	129.6	-4.9	-0.2	0	124.6
C-3	150.2	7.1	-2.4	0	154.9
C-4	25.5	6	5.2 ^a	-5.4 ^a	31.3
C-5	22.6	0	1.1 ^a	8.9, 5.2, -1.2 ^a	36.6
C-6	38.0	0	5.2 ^a	5.2, 1.1, -3.4 ^a	46.5

a) Valores extrapolados por aplicación de efecto α y β en ciclohexanos.

La introducción de un grupo metilo en C-3 de la 2-ciclohexenona produce desplazamientos en las resonancias del carbono carbonílico, en los carbonos alifáticos saturados y no saturados de la 2 ciclohexenona.

Según Stothers¹⁰¹, el carbono carbonílico se desplaza en 1-2 ppm. a más bajo campo por efecto de sustitución de

un grupo metilo en el C_{β} olefínico. El efecto del sustituyente metilo en C-3 de la 2-ciclohexenona, provoca un desplazamiento de -4.9 y 7.1 ppm. para los C_{α} y C_{β} olefínicos respectivamente y de 6 ppm a más bajo campo para el C-4, de la 2 ciclohexenona.

La introducción de un grupo metilo en C-5, produce efectos de desplazamientos en las resonancias de los C_{α} y C_{β} olefínicos¹⁰² y en los carbonos saturados (efectos α y β) señalados por Dalling y Grant¹⁰³ para alquil-ciclohexanos.

La doble sustitución en C-6 supone efectos α , β y geminal (α) en los carbonos saturados¹⁰³.

De acuerdo con los valores calculados, podemos asignar tentativamente los desplazamientos de carbono 13 para magellanina (63) en la estructura (68) (tabla 19).

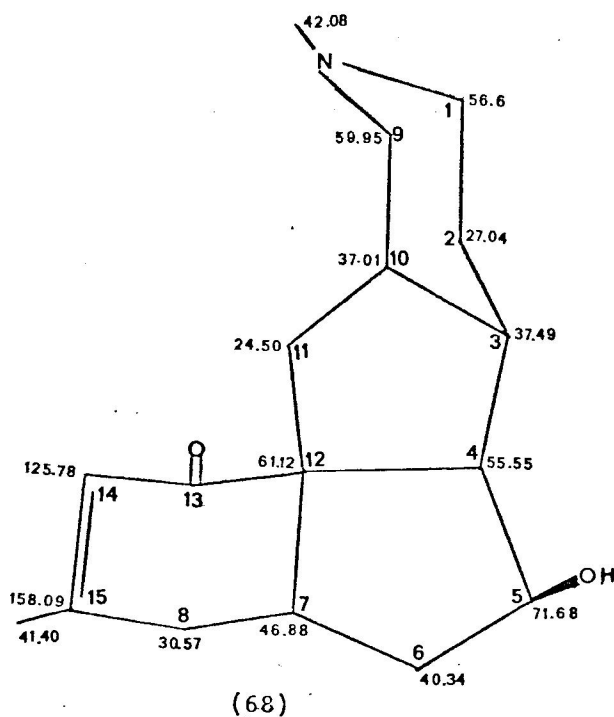


Tabla 19.

	$\delta \text{ C}^{13}$ observado	$\delta \text{ C}^{13}$ calculado	$\delta_{\text{calc.}} - \delta_{\text{obs.}}$
C-1	56.6	57.4	0.80
C-2	27.04	30.2	3.16
C-3	37.49	33.1	4.39
C-4	55.55	56.8 ^c	1.25
C-5	71.68	75.5 ^c	3.82
C-6	40.34	40.50 ^c	0.16
C-7	46.88	48.2 ^c	1.32
C-8	30.57	31.3	0.73
C-9	59.95	62.6	2.65
C-10	37.01	36.7	-0.31
C-11	24.50 ^b		
C-12	61.12	62.2 ^c	1.08
C-13	a	197.6	
C-14	125.78	124.6	-1.18
C-15	158.09	154.9	-3.19
C-16	41.40 ^d		
C-17	42.08 ^b		

a) Espectro corrido entre 0 - 200 ppm (TMS).

b) Valor determinado para paniculatina.

c) Valores tabla 17a.

d) Valor remanente.

Los desplazamientos químicos de C^{13} calculados en los compuestos modelos son del mismo orden que los correspondientes carbonos de magellanina. Sin embargo el C-3 no puede diferenciarse del C-10 e igualmente el C-9 del C-12. La asignación tentativa para el C-16 es incierta ya que se asignó por ser el valor remanente.

Las asignaciones de las resonancias de C^{13} para magellanina concuerdan con las asignadas para el espectro de paniculatina ⁹⁴.

Configuración absoluta de magellanina :

La determinación de la configuración absoluta de magellanina se llevó a cabo a través de la aplicación de dos métodos que permiten determinar la configuración de centros asimétricos que portan grupos hidróxilos secundarios.

Se utilizó el método de desdoblamiento parcial de Horeau^{50-52,104,105} y la aplicación de la regla del benzoato⁵⁴ para determinar la estereoquímica del C-5 de magellanina.

Método de Horeau :

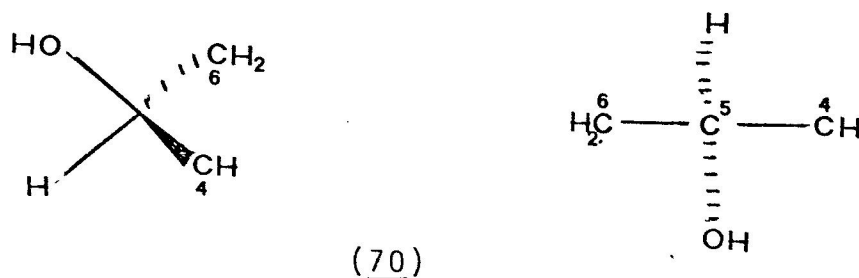
Cuando magellanina se trató con un exceso de anhídrido α - fenil-butírico racémico, se obtuvo un ácido levoratorio que fué recuperado de la solución reactante con una solución de bicarbonato de sodio. Los datos experimentales aparecen señalados en la Tabla 20.

Tabla 20.

mg.de Magellanina :	32.9
mg.de Anhídrido :	59.0
ml.de NaOH, 0.1N :	3.3
Poder Rotatorio :	- 0.150
Rend.de esterificación :	41.5 %
Rend. óptico :	30 %

Por consiguiente si se aplica el método de Horeau a la estructura de magellanina (63) y se designa el C-4 como el grupo estéricamente mayor unido al C-5, la configuración de este carbono que posee un grupo hidróxilo secundario, es la representada por la fórmula siguiente (70).

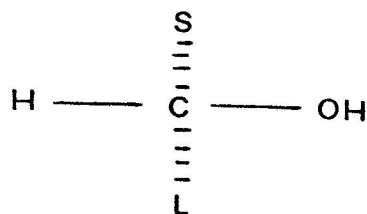
Vale decir, el C-5 tiene una configuración de tipo S.



Regla del benzoato :

Este método de determinación de la configuración absoluta de un alcohol secundario, implica la comparación del poder rotatorio del benzoato y del alcohol cuya configuración se desea determinar.

Según esta regla, si el benzoato de un alcohol secundario es más dextrorrotatorio que el alcohol de origen, el alcohol tiene la configuración absoluta representada en la fórmula (71).



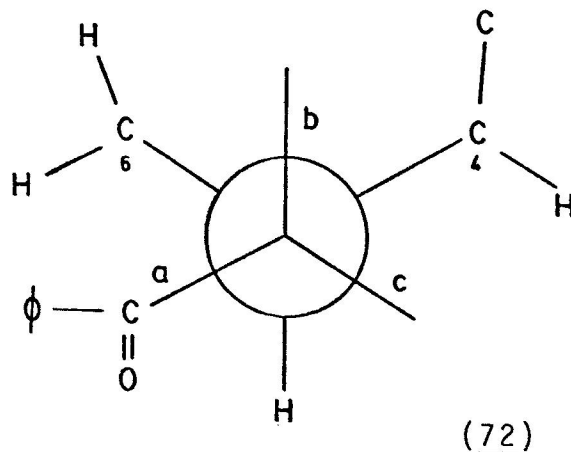
(71)

En que S representa el grupo alquilo pequeño y L el grupo alquilo mayor (más grande).

Aplicación de esta regla, a magellanina (63) y al benzoato correspondiente nos indica, que el benzoato es más dextrorrotatorio que el alcohol base.

$$M_D(\text{benzoato}) 7.5^\circ - M_D(\text{magellanina}) - 64.8 = \Delta M_D = 72.3$$

La regla del benzoato puede ser racionalizada en base a las reglas de disimetría conformacional de Brewster. De acuerdo con esta interpretación, el resultado obtenido, puede racionalizarse de la siguiente manera :

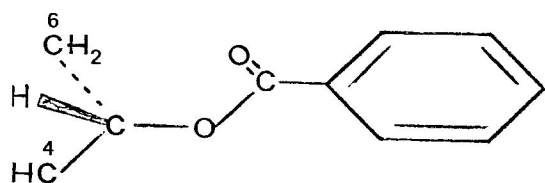


La proyección de Newman del entorno del enlace O y C-5 de benzoil-magellanina nos muestra tres posibles conformeros con relación al enlace O-C=O. (72).

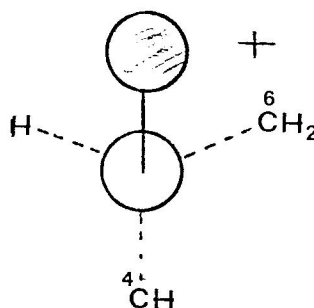
Los conformeros (72b) y (72c) pueden excluirse por razones de mayor interacciones estéricas y parecen ser formas menos estables. El conformero a puede considerarse como el más favorecido, en que el enlace O-C=O está localizado entre los enlaces C₅ - C₆ y C₅ - H.

Esta conformación (72a) se puede representar de otra manera (73a) y (73b), en que el enlace O-C=O está alineado entre los dos grupos más pequeños (H y C-6). Esta conformación (73b) es más dextrorrotatoria que el alcohol base, dado que el

grupo CH_2 es más polarizable que el átomo de H.

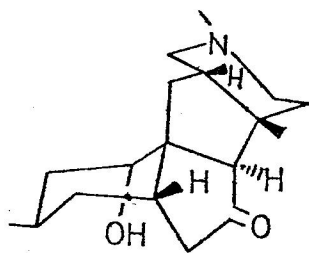


(73a)

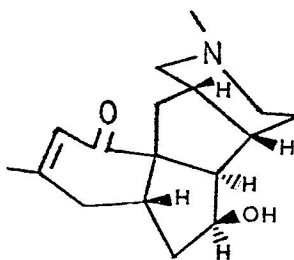


(73b)

Por consiguiente la configuración absoluta del C-5 (grupo alcohólico secundario) es de tipo S (74); la configu

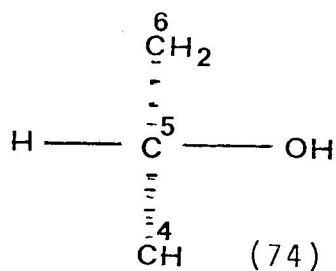


(61)



(63)

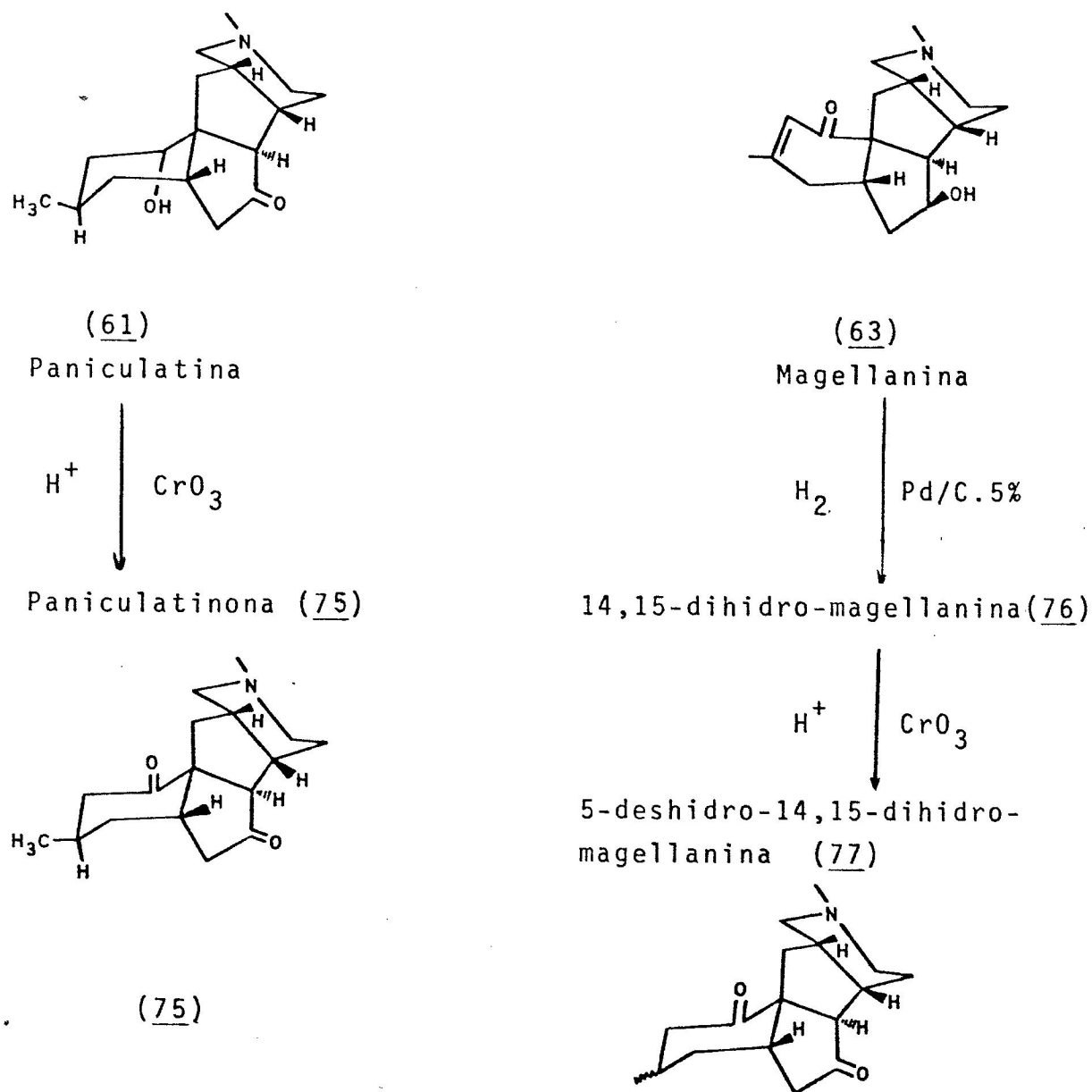
ración de magellanina corresponde al enantiómero señalado en (63) y pertenece a la misma serie enantiomérica de paniculatina (61),



(74)

- Correlación entre magellanina y paniculatina

Para correlacionar químicamente paniculatina (61) y magellanina (63) intentamos comparar directamente las dicitonas obtenidas a partir de ambos alcaloides, según el esquema de reacción 15.



Esquema 15. Esquema de reacciones comparativas entre magellanina y paniculatina.

Las dicetonas obtenidas, paniculatinona (75) y 5-des-hidro 14,15-dihidromagellanina (77), mostraron características diferentes en cuanto a su comportamiento cromatográfico en capa fina y de gases. Paniculatinona es un líquido y 5-des-hidro-14,15-dihidromagellanina es un sólido cristalino de punto de fusión 125-126°C.

Los espectros I.R de estas dicetonas (fig.30) se muestran diferentes en la zona de huella digital, señalando que se trata de compuestos diferentes.

Dado que se trata de compuestos diferentes, pensamos que la diferencia estriba en la estereoquímica del grupo metatilo en C-15, por tratarse de uno de los centros afectados en la hidrogenación de magellanina. Esto implica que la posición del grupo Metilo en C-15 de 5-des-hidro-14,15-dihidro magellanina es α , ya que en paniculatinona es β .

En base a modelos Dreiding es posible explicarse la hidrogenación preferencial por el lado β de la molécula de magaellanina. Por otra parte, la aplicación de la regla de octantes, a 14-15-dihidromagellanina (76) con el grupo Me en C-15 en posición α , predice un efecto Cottón negativo (fig. 31a).

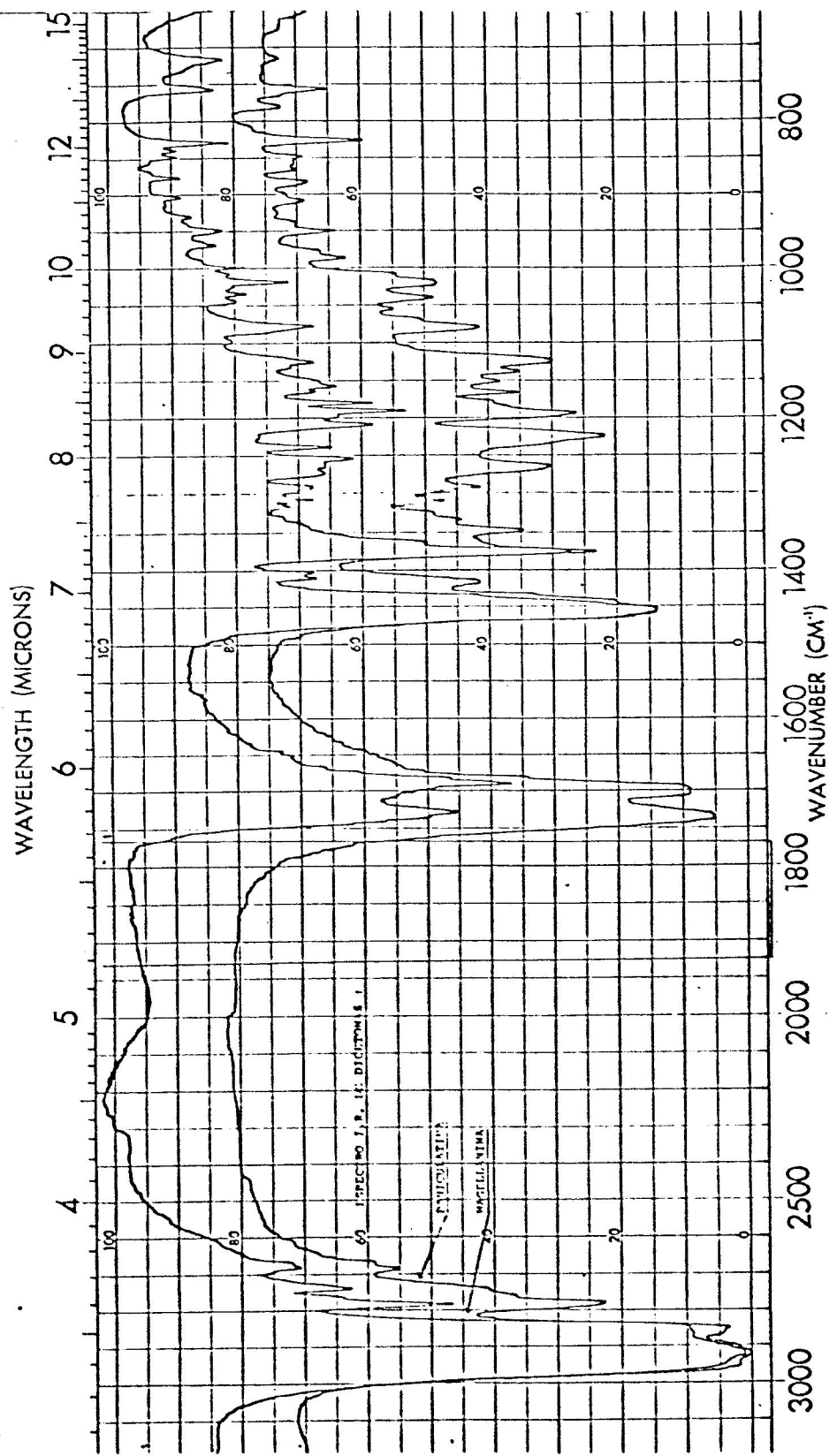


Fig. 30. Espectros I.R de paniculatinona (75) y 5-deshidro-14,15-dihidro-magellanina (77).

El resultado experimental (fig.31b) confirma la predicción anterior, ya que la curva de D.O.R de 14,15-dihidromagellanina muestra un efecto Cotton negativo ($a = -4.46$).

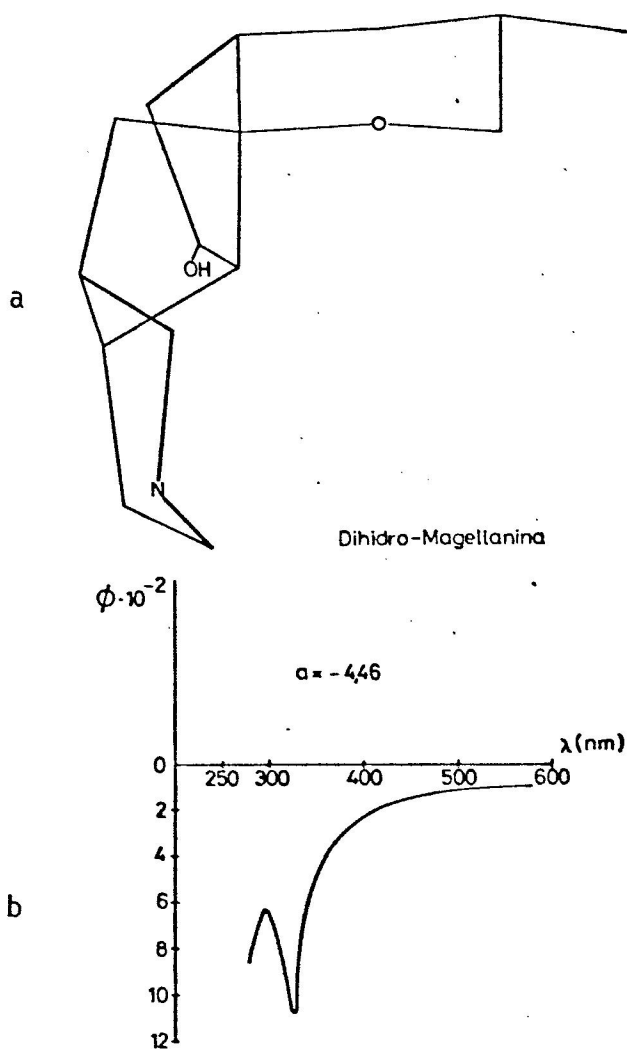


Fig.31. a) Diagrama de Octantes y b) Curva de D.O.R de 14,15-dihidromagellanina (76).

Se intentó obtener el otro epímero en la reacción de hidrogenación de magellanina al utilizar condiciones diferentes, según lo señalado en la literatura^{46,106}, pero los resultados obtenidos fueron los mismos.

Otro resultado que corrobora la estereoquímica del producto de hidrogenación y por consiguiente la posición α del grupo metilo en C-15 de 14,15-dihidromagellanina y 5-deshidro-14,15-dihidromagellanina, se obtuvo de las características quirópticas de epoximagellanina.

Si la epoxidación se produjera por el mismo lado de la hidrogenación, se debería obtener un producto (epoxicetona), cuyo efecto Cotton debería ser contrario al del producto de hidrogenación, ya que en este caso la epoxi-cetona sigue la regla de octantes inversa y el anillo de epóxido es el que determina por sí sólo el signo del efecto Cotton^{64,107}.

Se obtuvo un producto de epoxidación, epoxi-magellanina, cuyo efecto Cottón fué positivo (+) (fig.32a) de acuerdo con lo predicho (fig.32b) para un producto de epoxidación con el grupo metilo en posición α .

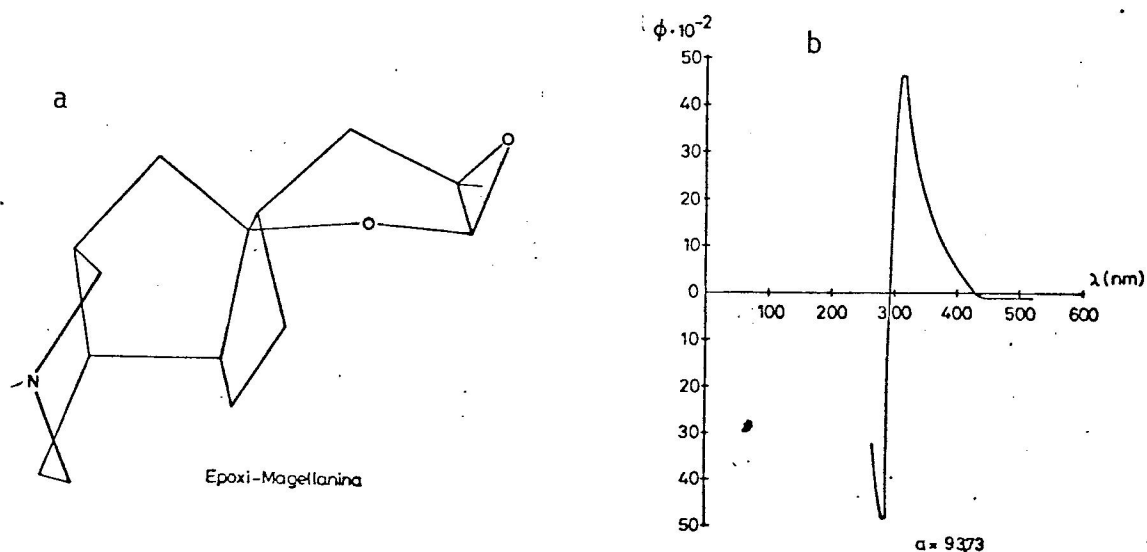
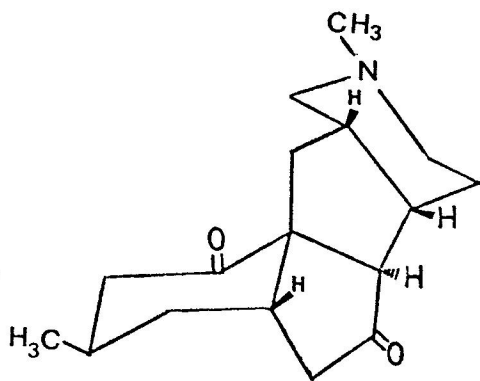
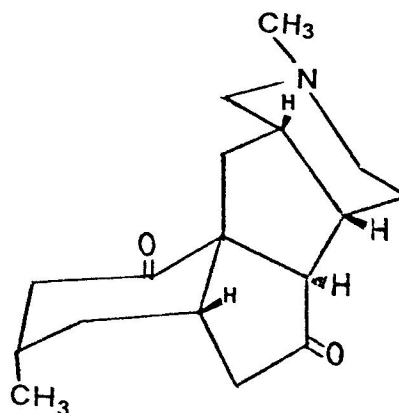


Fig.32 a)Diagrama de Octantes y b) Curva de D.O.R de epoxi-magellanina.

Por consiguiente, las dicetonas obtenidas a partir de magellanina (77) y paniculatina (75) son epiméricas en C-15.



(75)



(77)

3.2.3 Magellaninona (80):

Es un líquido de peso molecular 273 determinado por E.M y fórmula molecular $C_{17}H_{23}NO_2$ determinada por análisis elemental de su perclorato. El perclorato tiene un punto de fusión 244-245°C.

Las características espectroscópicas de la base libre permiten hacer las siguientes asignaciones :

1.- Su espectro I.R tomado en cloroformo (fig.33), presenta bandas de absorción significativas a :

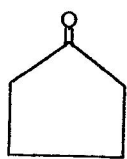
-1.730 cm^{-1} de fuerte intensidad de vibraciones de tensión de grupo carbonilo de cetona en anillo de cinco miembros.

-1.650 cm^{-1} de fuerte intensidad debida a vibraciones de

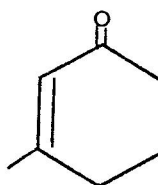
tensión de grupo carbonilo de cetona $\alpha - \beta$ no saturada.

2.- Su espectro U.V (Et.OH) presenta banda de máxima absorción a 237 n.m ($\log \epsilon = 3.9$), debido al cromóforo de una cetona $\alpha - \beta$ no saturada en anillo de seis miembros con dos sustituyentes o restos de anillo en posición β (b).

Estos antecedentes sugieren que este alcaloide es una base tetracíclica con los rasgos estructurales de una ciclo pentanona (a) y ciclohexanona $\alpha - \beta$ no saturada (b)



(a)



(b)

El espectro I.R de su perclorato presenta las bandas señaladas para la base libre y las bandas características de N-H^+ a 2.700 cm^{-1} y de ClO_4^- a 1.100 cm^{-1} (ancha e intensa).

3.- Su espectro de R.M.P (fig.34) presenta señales que permiten distinguir los siguientes rasgos estructurales.

-singlete a 2.0 ppm(3H) de metilo-vinílico $\text{CH}_3\text{-C}=\text{C}$

-singlete a 2.3 ppm(3H) de grupo Me-N. Se corrobora esta asignación por el desplazamiento de esta señal (2.3) a 2.8ppm al tomar el espectro de R.M.P con CDCl_3 y gotas de CD_3COOD .

-singlete ancho a 5.9 ppm (1H) a $1/2 = 5\text{Hz}$. de hidrógeno olefínico- $\text{CH}=\text{C}$.

Mayores antecedentes sobre el rasgo estructural b son

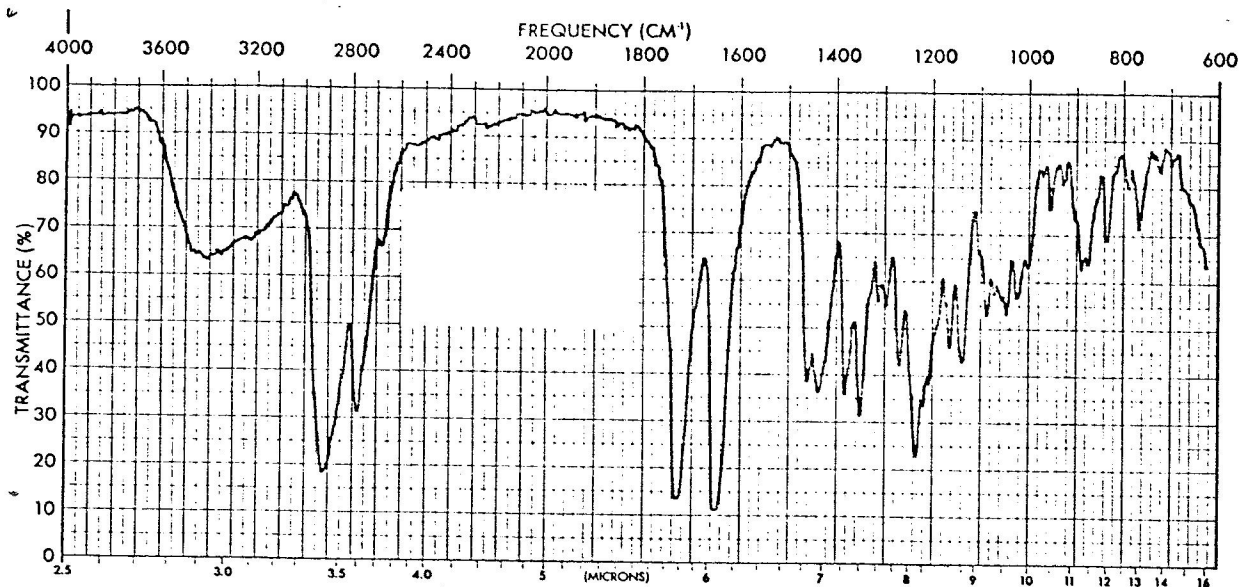


Fig.33 Espectro I.R de magellaninona

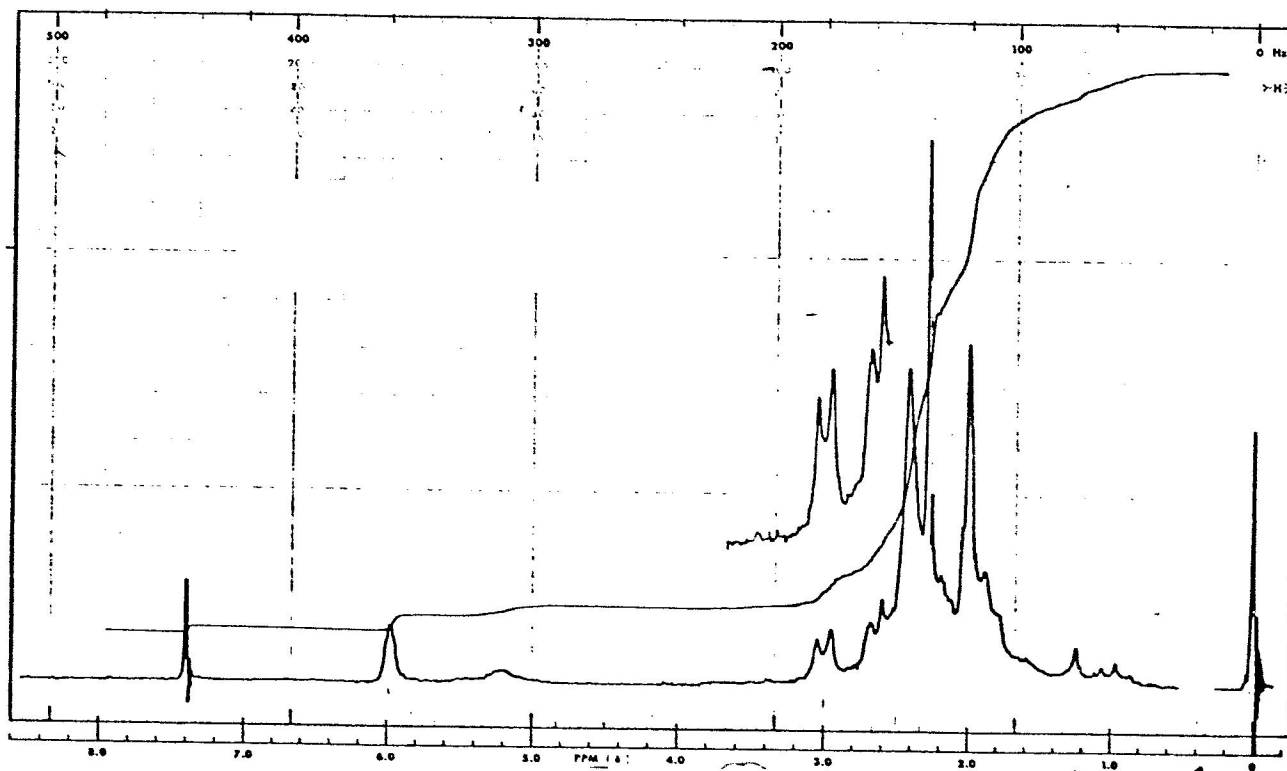


Fig.34 Espectro de R.M.P de magellaninona

proporcionados por la información espectroscópica, obtenida del producto de hidrogenación catalítica de este alcaloide.

Su espectro I.R (fig.35) muestra bandas de absorción a:

- 1.730 cm^{-1} de fuerte intensidad de vibraciones de tensión de grupo carbonilo de cetona en anillo de 5 miembros.
- 1.690 cm^{-1} de fuerte intensidad de grupo carbonilo de cetona en anillo de seis miembros.

Por otra parte su espectro de R.M.P (fig. 36) muestra :

- doblete a 1.0 ppm (3H) de $J=6\text{ Hz}$ de grupo metilo ($\text{CH}_3 - \text{CH}$)
- singlete a 2.2 ppm (3H) de grupo metilo ($\text{CH}_3 - \text{N}$). No se presenta la señal a 5.8 ppm asignada a un hidrógeno olefínico en magellaninona.

El espectro de masas de magellaninona (tabla 21) (fig. 37a) presenta una gran similitud, si se compara con el de magellanina (fig.37b), dada la presencia de iones en la zona de masas bajas a m/e 57, 58, 70, 71, 96, 110 y 111.

Tabla 21.

m/e	%	
273	100	M^+
258	47	M-15
202	13	M-71
190	20	M-83
111	61	
110	30	

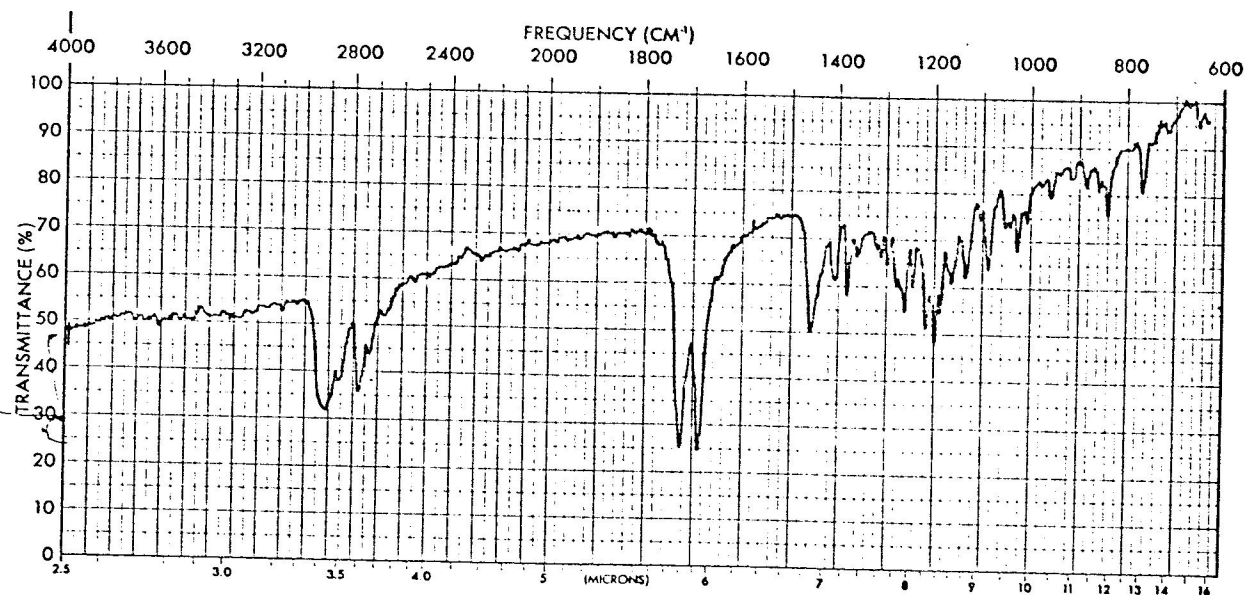


Fig.35 Espectro I.R de dihidro-magellaninona (77)

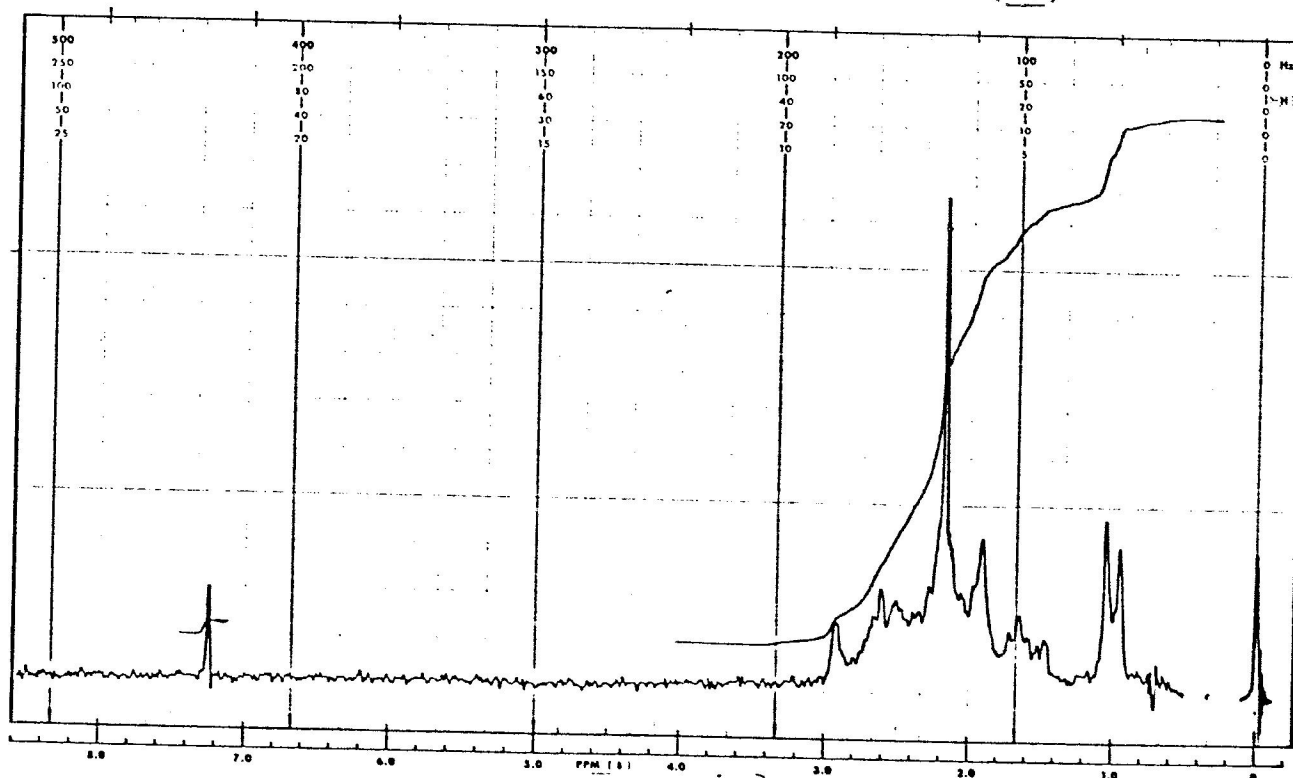


Fig.36 Espectro de R.M.P de dihidro-magellaninona (77)

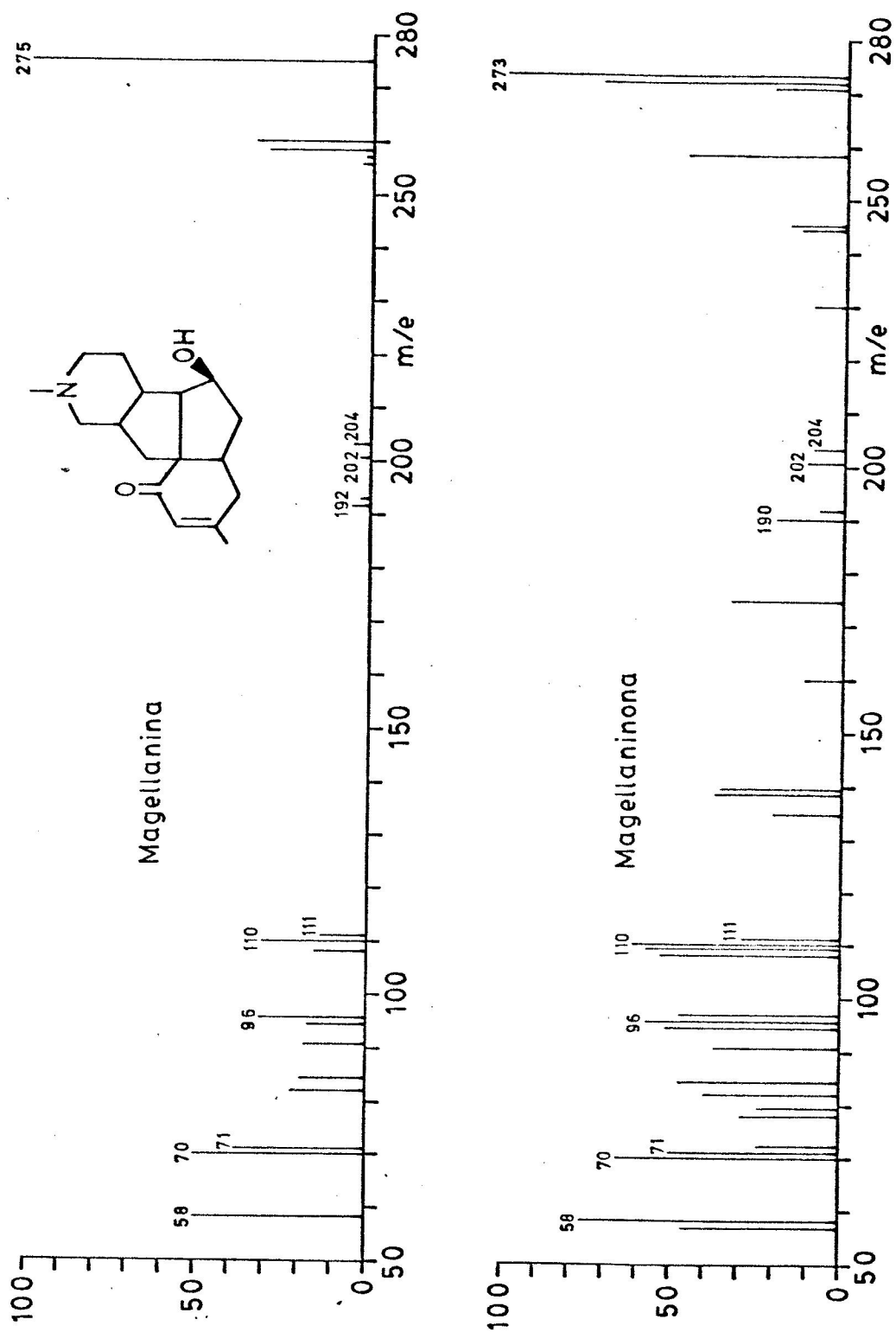
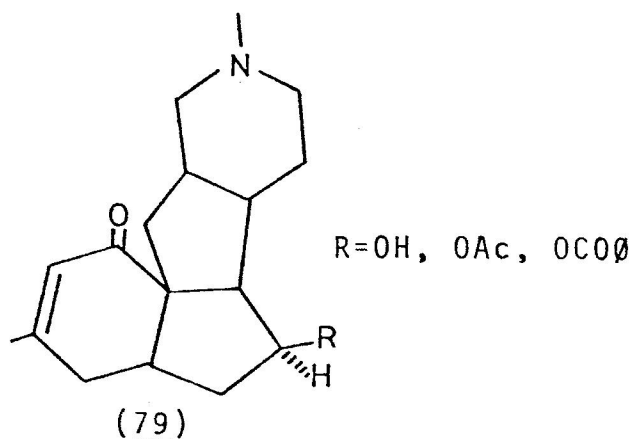


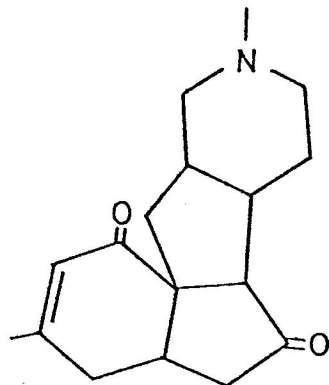
Fig.37 Espectros de masas de magellanina y magellaninona.

96	57
71	50
70	65
58	76
57	46

Por otra parte, el espectro de masas de magellaninona muestra señales a m/e M-71 (202) y M-83 (190) que han sido detectadas en magellanina y derivados (Secc.3.2.8, pág.173), que poseen el rasgo estructural de cetona α - β no saturada en la posición señalada en (79); estos antecedentes permiten



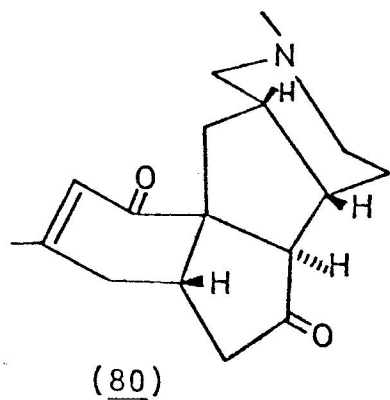
postular que magellaninona pertenece al tipo estructural de magellanina con un grupo carbonilo en C-13 y un doble enlace en C-14, C-15. La posición del grupo carbonilo en un anillo de cinco miembros puede asignarse al C-5, en razón de que, magellanina está sustituida por un grupo OH en este carbono. Por consiguiente proponemos que magellaninona corresponde a 5-deshidro-magellanina, cuya estructura debe ser la señalada en (79a).

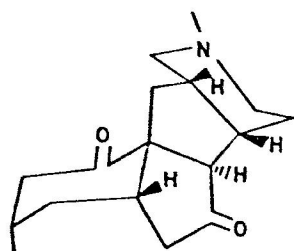
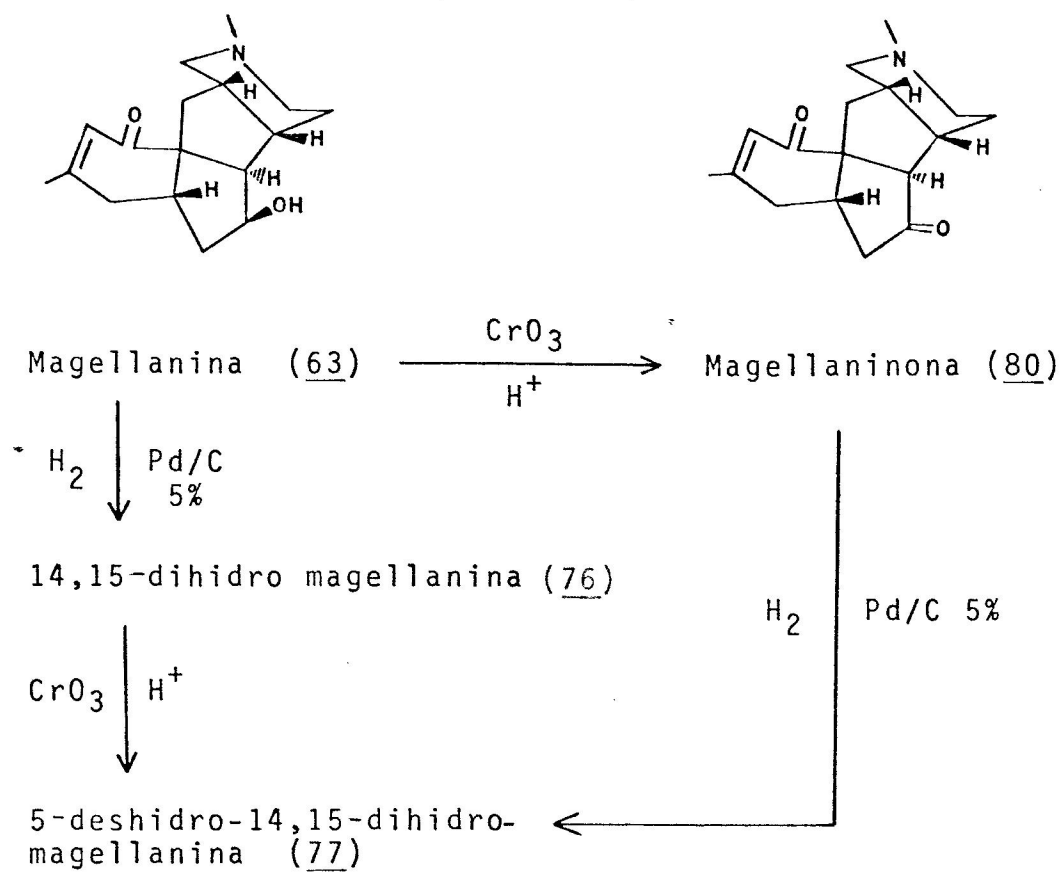


79a

Para confirmar la estructura propuesta y determinar su estereoquímica se oxidó magellanina con CrO_3 en medio ácido y el producto obtenido fué idéntico (I.R., R.M.P y E.M) a magellaninona. Por otra parte, la mezcla de ambos percloratos no demostró depresión en su punto de fusión. Además se hidrogenó magellaninona y el producto fué idéntico al obtenido a partir de magellanina por hidrogenación y oxidación posterior con CrO_3 en medio ácido, según el esquema 16.

La estructura y estereoquímica de magellaninona aparece representada en (80).





(77)

Esquema 16 Reacciones comparativas entre magellanina y magellaninona.

3.2.4 N-metil-licodina (82) :

Peso molecular de 256 determinado por E.M y fórmula molecular $C_{17}H_{24}N_2$ determinada por análisis elemental. Punto de fusión 87-88°C.

Su espectro I.R (fig.38) presenta bandas de absorción asignables a vibraciones de tensión C-H (3.000-2.800 cm^{-1} de fuerte intensidad) y a 3.040, 1.570, 820 y 750 cm^{-1} de anillo piridínico¹⁰⁸.

Su espectro de R.M.P (fig.39) presenta las siguientes señales asignables :

- singlete ancho a 0.8 ppm de grupo metilo de $a \frac{1}{2} = 6$ Hz (CH_3-CH).
- singlete a 2.6 ppm (3H) de CH_3-N
- doblete de doblete a 7.1 ppm (1H) de $J = 6$ y 4 Hz
- doblete de doblete a 8.1 ppm (1H) de $J = 2$ y 6 Hz
- doblete de doblete a 8,4 ppm (1H) de $J = 2$ y 4 Hz

El espectro de R.M.P tomado en $CDCl_3 + CD_3COOD$, permite confirmar la asignación de la señal a 2.6 ppm al grupo N-metilo, dado su desplazamiento a 2.8 ppm en medio ácido acético deuterado.

Su espectro U.V (Et OH), presenta bandas de máxima absorción a 268 nm ($\log \epsilon : 3.7$) y 276 nm ($\log \epsilon = 3.6$).

Esta información espectroscópica permite suponer que se está en presencia de un alcaloide que posee un $CH_3 - CH$, $CH_3 - N$, y el siguiente rasgo estructural (a) por su espectro

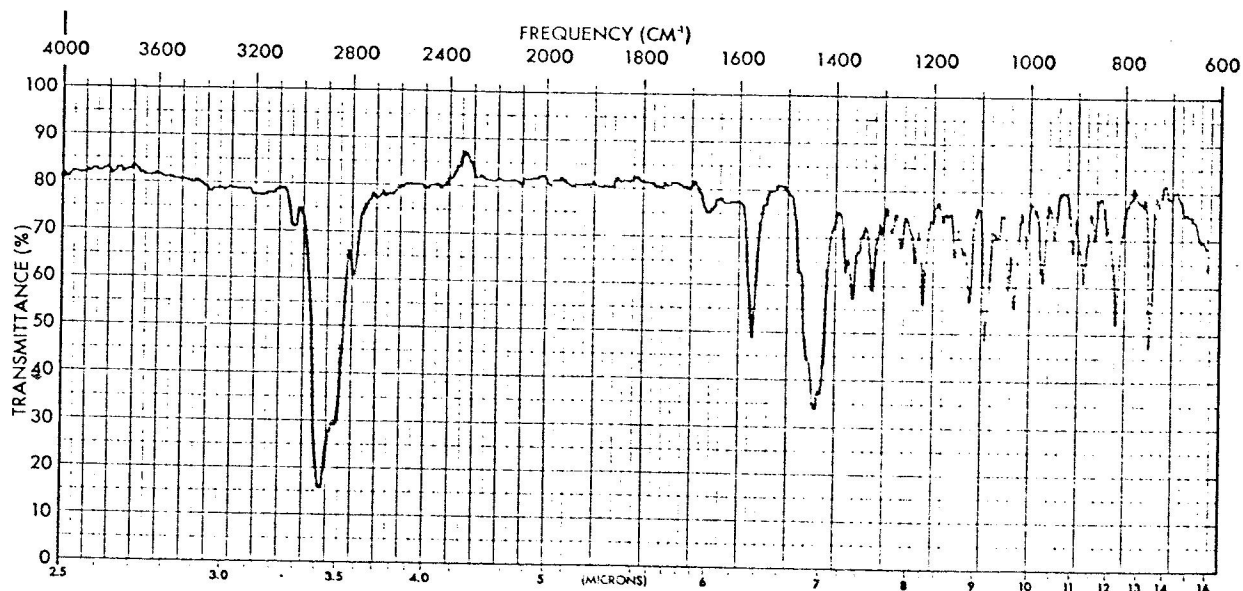


Fig.38 Espectro I.R de N-metil-licodina. (82)

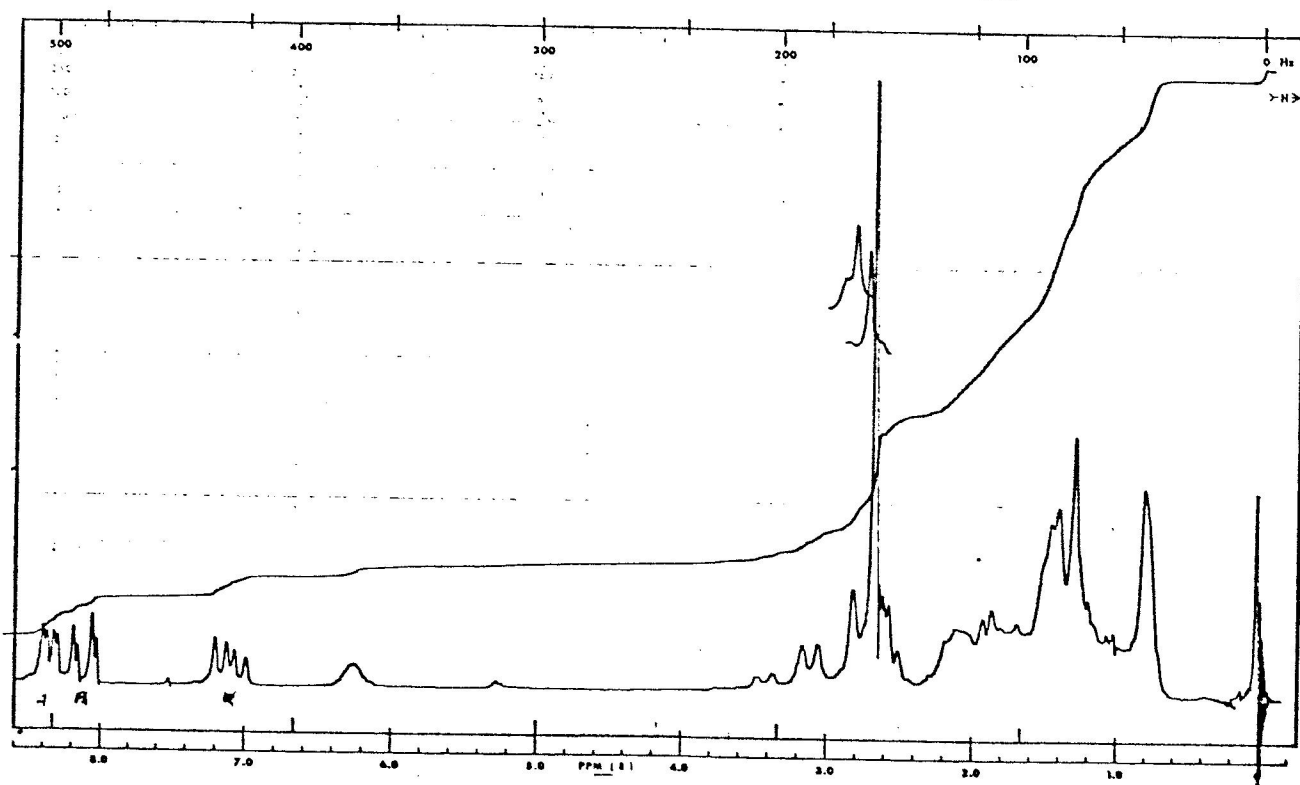
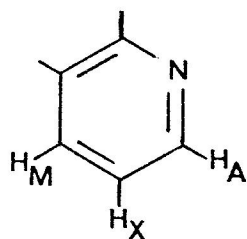
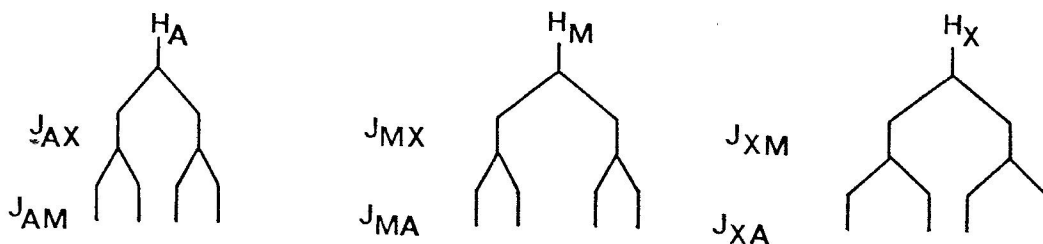


Fig.39 Espectro de R.M.P de N-metil-licodina. (82)

U.V y de R.M.P. Podemos considerar los tres hidrogenos acoplados a bajo campo como un sistema AMX¹⁰⁹, en que los desplazamientos químicos y las constantes de acoplamiento pueden asignarse de la manera siguiente :



a

$$J_{AM} = 2$$

$$J_{AX} = 4$$

$$J_{MX} = 6$$

Por consiguiente esta base es tetracíclica. Su espectro de masas (fig.40) presenta señales de interés diagnóstico (tabla 22) a m/e M-43, M-57 y M-85 sugiriendo que se trata de un alcaloide del tipo de licodina⁴¹.

Por consiguiente podemos proponer la estructura (81) para N-metil-licodina.

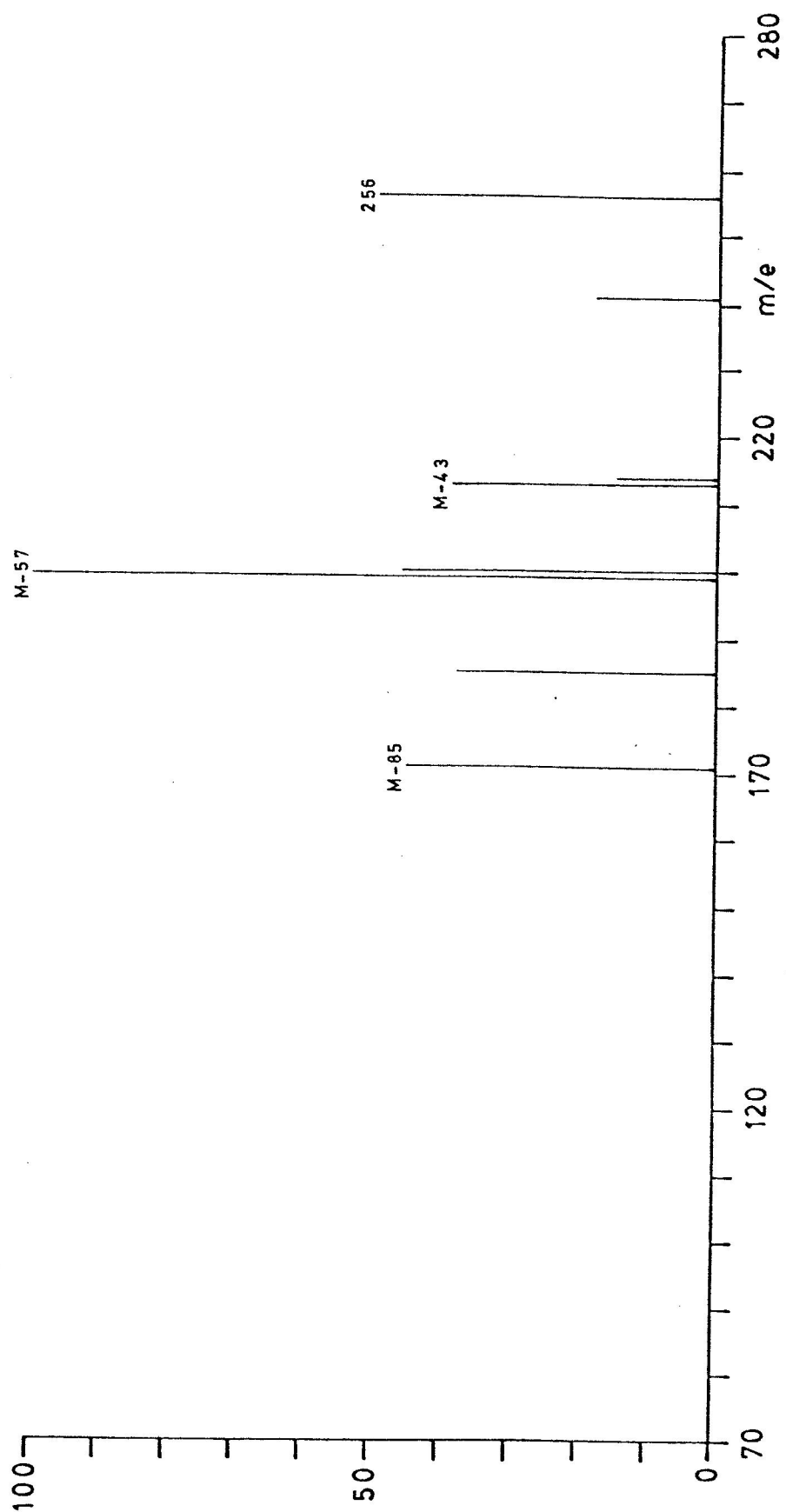
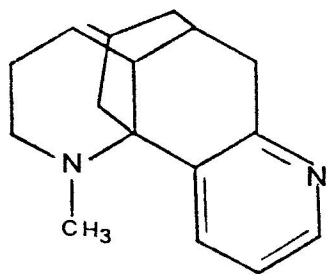


Fig. 40 Espectro de masas de N-metil-licodina. (82)



(81)

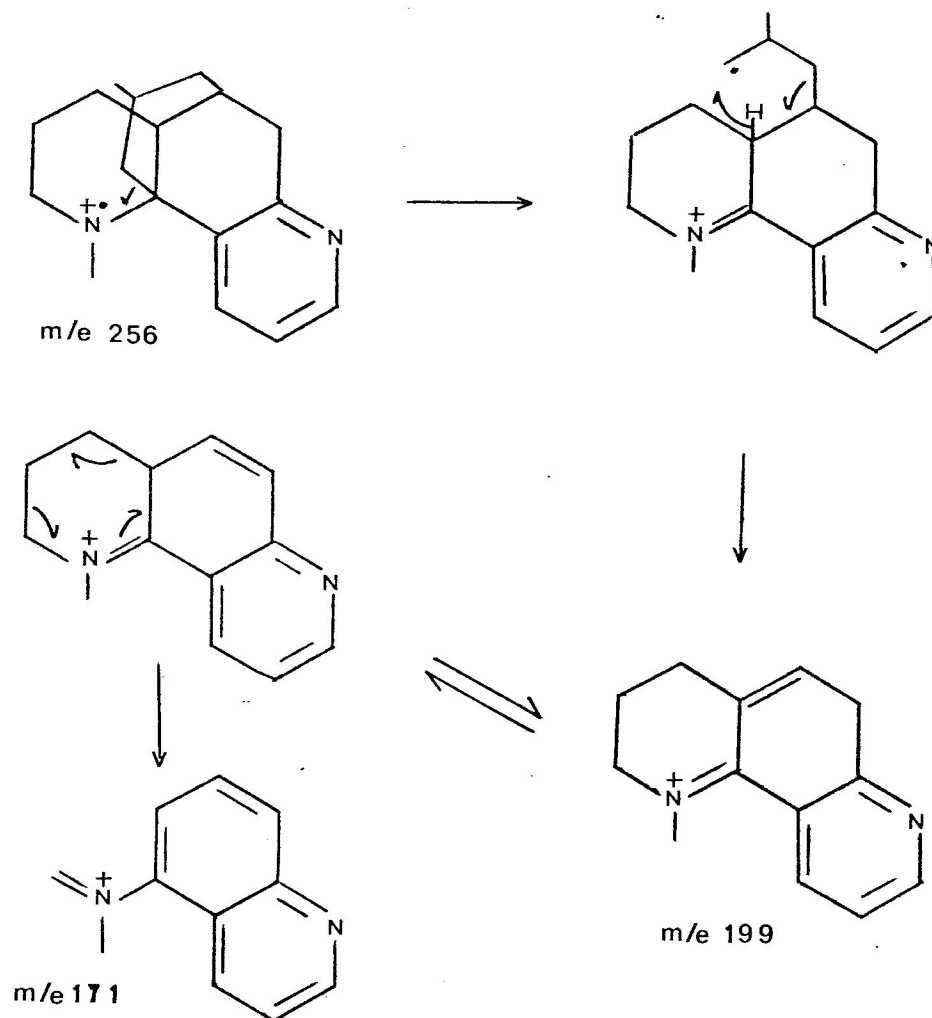
Tabla 22.

m/e	%	
256	48	M ⁺
241	8	M-15
213	39	M-43
199	100	M-57
171	45	M-85

Su espectro de masas puede racionalizarse de la manera señalada en el esquema 17.

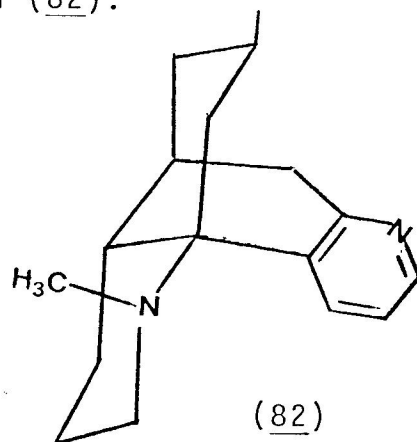
La estructura asignada a este alcaloide no ha sido confirmada por comparación directa, con una muestra auténtica de N-metil-licodina.

Este alcaloide ha sido sintetizado a partir de β -obscurina¹¹⁰ (22) y aislado de *L. complanatum*, según lo informado por Ayer¹⁴.



Esquema 17 Fragmentación de espectro de masas de N-metil licodina.

La estructura y estereoquímica de N-metil-licodina a- parece señalada en (82).



3.2.5 Acetil-fawcettina (84) :

Presenta un peso molecular de 349 determinado por E.M y punto de fusión 111-113°C.

Su espectro I.R (fig.41) nos muestra bandas de absorción asignables a vibraciones de tensión de grupo carbonilo de grupo acetato a 1.730 cm^{-1} y a vibraciones de deformación de enlace C-O-C del mismo a 1.250 cm^{-1} .

Su espectro de R.M.P (fig.42) nos muestra señales asignables a :

- doblete a 0.9 ppm (3H) $J=6$ Hz de grupo metilo ($\text{CH}_3\text{-CH}$).
- singlete a 2.0 ppm (3H) de grupo metilo de acetato ($\text{CH}_3\text{-COOR}$).
- singlete 2.1 ppm (3H) de grupo metilo de acetato ($\text{CH}_3\text{-COOR}$).
- doblete-doblete 4.6 ppm $J=10$ y 4 Hz de H geminal al grupo acetato (CH-OAC).
- multiplete a 5.1 ppm de $J/2=14$ Hz de H geminal al grupo acetato (CH-OAC).

Esta información nos indica que este alcaloide es una base tetracíclica que posee dos grupos acetatos secundarios.

Su espectro de masas (fig.43) nos presenta señales a m/e 349 (M^+), 289 ($M-60$), 234 ($M-115$), 174 ($M-175$), y a m/e 146, que indican que se trata de un alcaloide del tipo lycopodina, con un grupo acetato en el anillo puente D ya sea en C-14 o C-8; lo que daría cuenta de la pérdida de 115 unidades de m/e a partir del ión molecular.

Por otra parte la pérdida de 60 unidades a partir

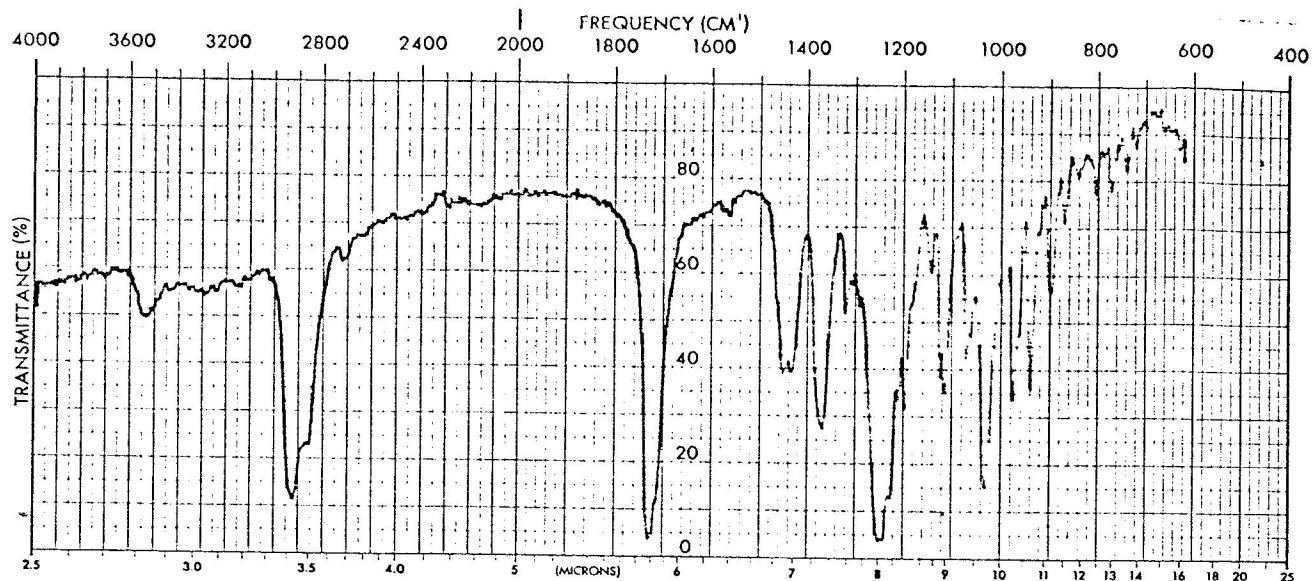


Fig.41 Espectro I.R de acetil-fawcettina (84)

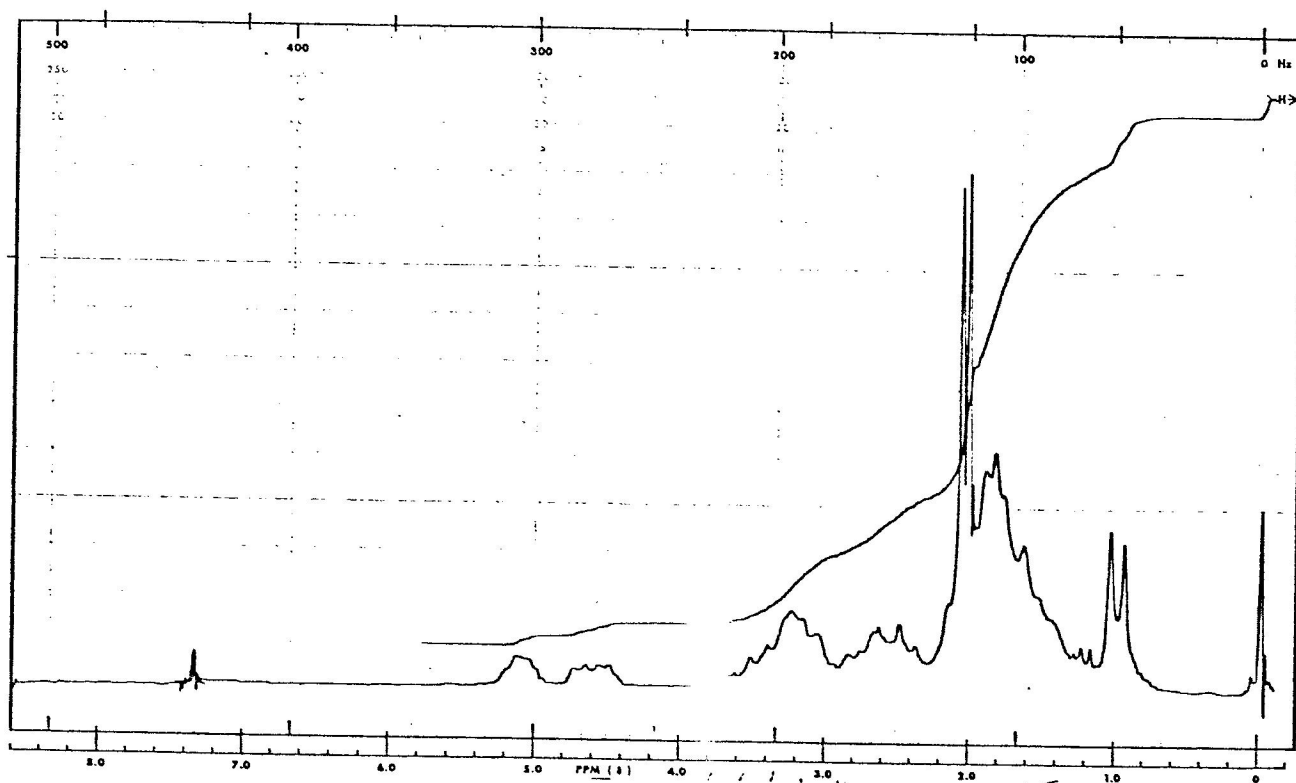


Fig.42 Espectro de R.M.P de acetil-fawcettina (84)

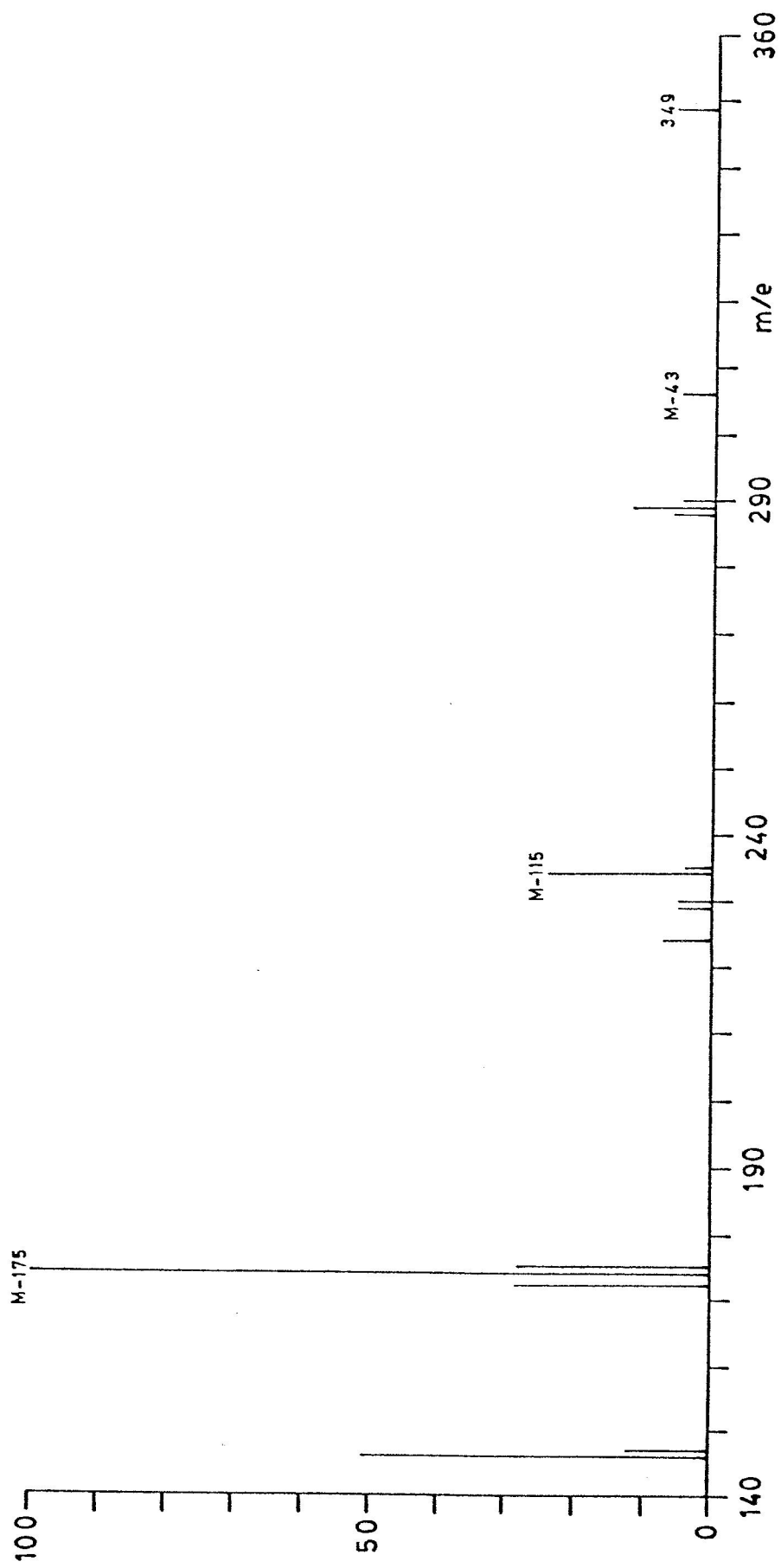
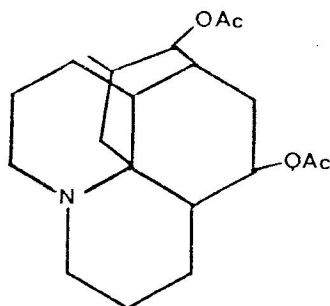


Fig. 1.3 Espectro de masas de acetil-fawcettina (84)

del ión a m/e 234 para dar origen al ión a m/e 174, sugieren la pérdida de HOAc y por consiguiente la ubicación de un grupo acetato en el anillo C del esqueleto de licopodina en los C-5 o C-6.

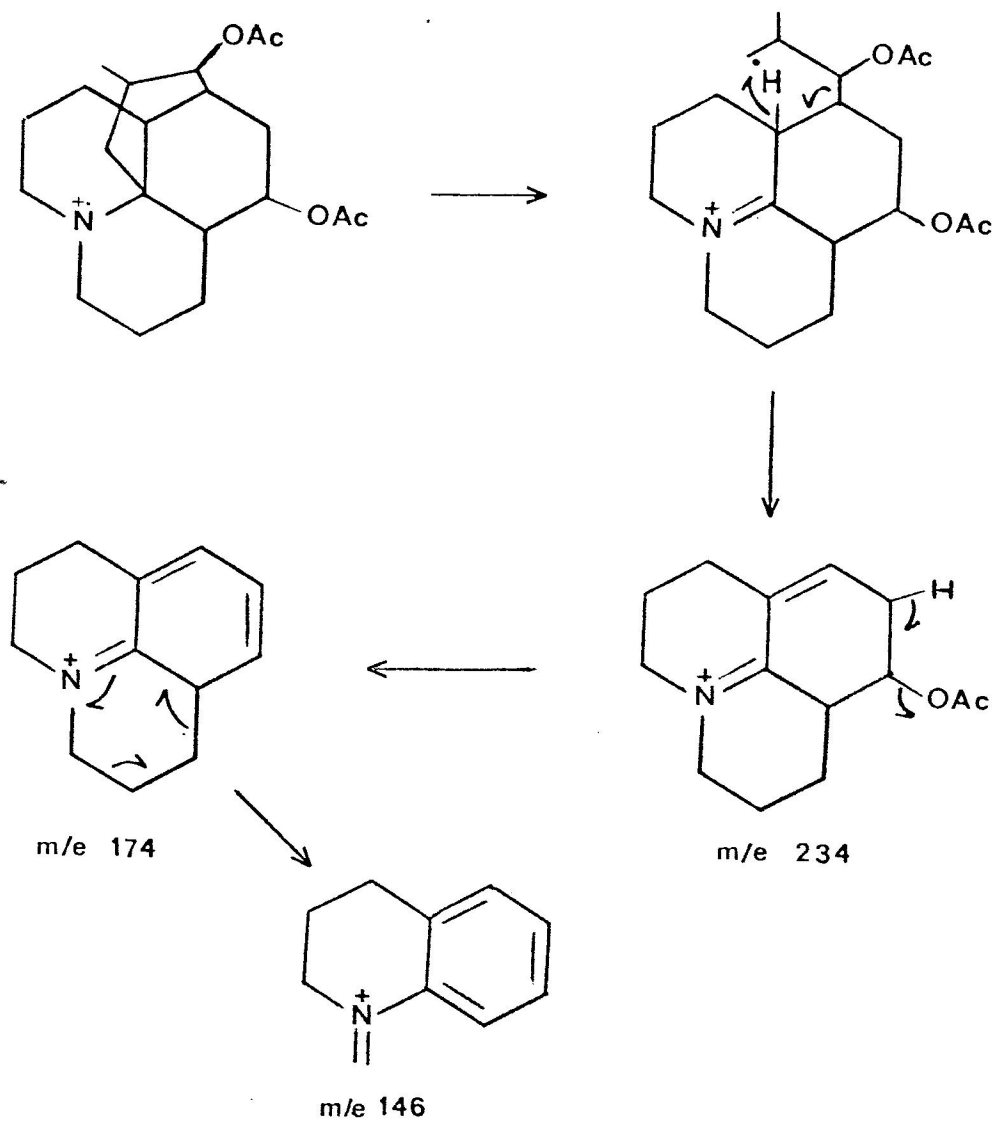
Considerando los antecedentes biogénéticos, es factible que los grupos acetato estén ubicados en las posiciones de C-8 y C-5; por otra parte, si asignamos la estructura (83) a este alcaloide es posible racionalizar su espectro de masas (fig. 43) a través del esquema 18.



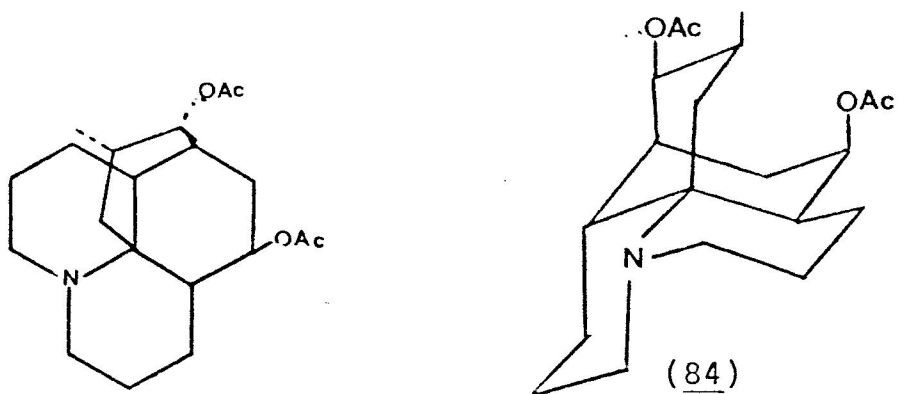
(83)

La estructura propuesta, y su estereoquímica, se determinó al comparar directamente este alcaloide con el derivado acetilado de fawcettina en lo que respecta a su comportamiento cromatográfico y espectros I.R, R.M.P y E.M.

La estructura y estereoquímica de acetil-fawcettina (84) fué determinada por Burnell, quien aisló esta base de *L. clavatum*⁸⁷. Esta base también ha sido aislada de *L. con-*
tiguum y *L. thyoides*⁸⁸.



Esquema 18 Fragmentación de espectro de masas de acetyl-fawcettina.



3.2.6 Licodina (85) :

Compuesto de peso molecular 242 y punto de fusión 112°C.

Su espectro I.R (fig. 44) presenta bandas de absorción que pueden ser atribuidas a los siguientes rasgos estructurales :

- 3.250 cm^{-1} banda cm^{-1} banda ancha de vibraciones de tensión de grupo N-H.
- 3.000-1.800 cm^{-1} banda intensa de vibraciones de tensión de enlace C-H.
- 3.020, 1.570, 820 y 750 cm^{-1} de anillo piridínico¹⁰⁸.

Su espectro de R.M.P (fig.45) presenta señales que se pueden asignar a :

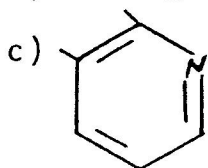
- doblete a 0.9 ppm (3H) de grupo metilo (CH_3 -CH)
- doblete de doblete a 7.2 ppm (1H) de J=6 y 4 Hz
- doblete de doblete 7.8 ppm (1H) de J=2 y 6 Hz
- doblete de doblete a 8.4 ppm (1H) de J=2 y 4 Hz

Su espectro de U.V (etanol) presenta máximas de absorciones a 268 n.m ($\log \epsilon = 3.7$) y a 276 n.m ($\log \epsilon = 3.6$).

Estas características permiten distinguir los siguientes rasgos estructurales:

a) CH_3 - CH

b) N - N



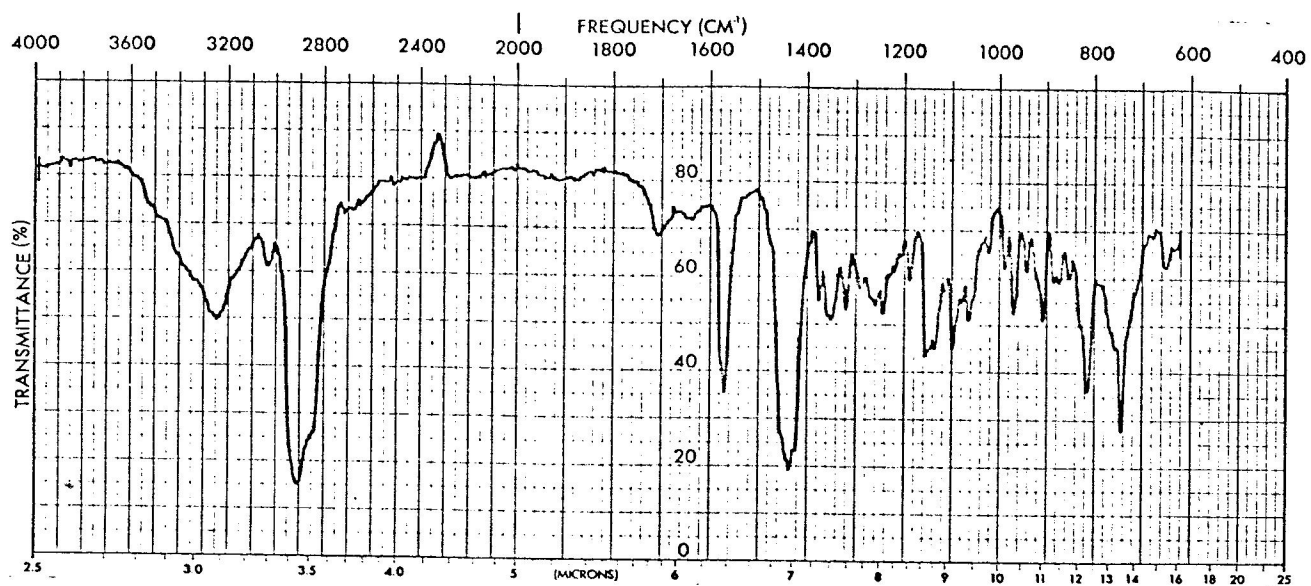


Fig.44 Espectro I.R de licodina (85)

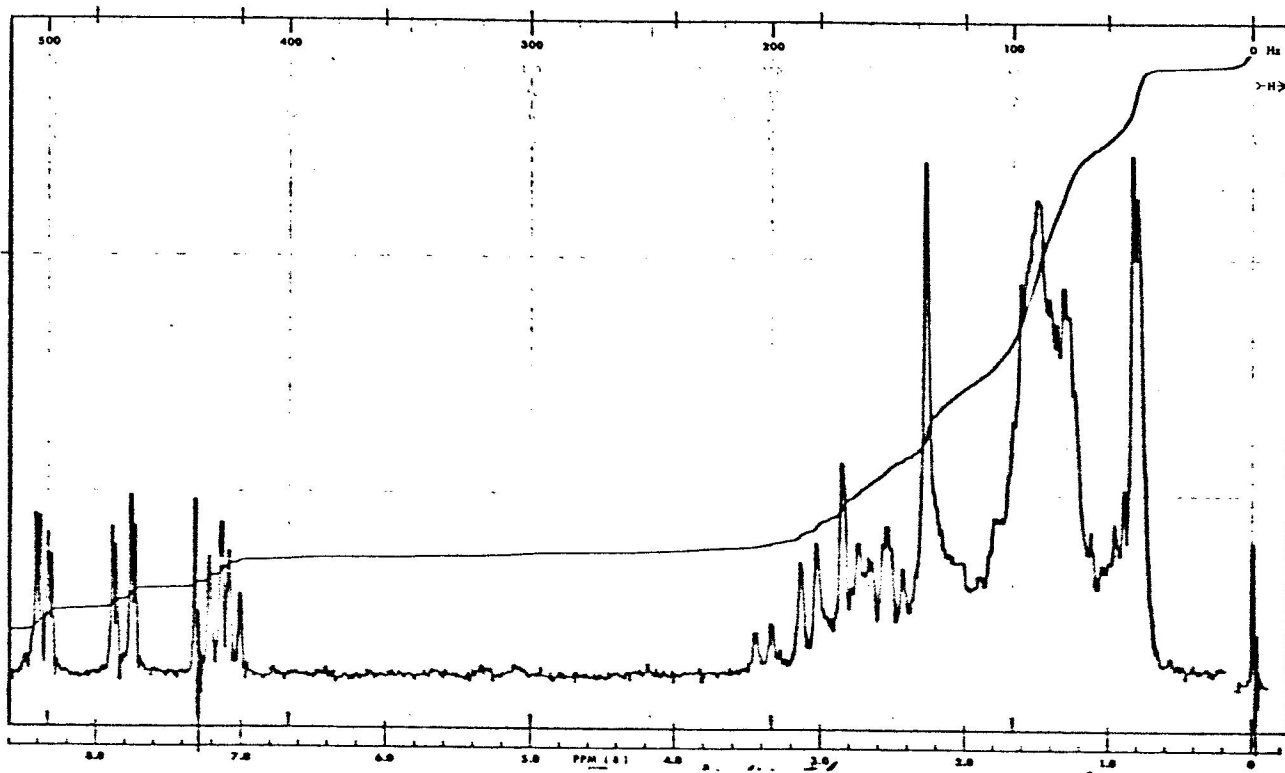
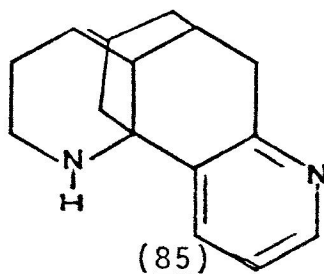


Fig.45 Espectro de R.M.P de licodina (85)

Su espectro de masas (fig.46) presenta las siguientes señales de diagnóstico :

m/e	%	
242	63	M ⁺
199	42	M-43
185	100	M-57
157	81	M-85

Señales que nos hacen proponer la estructura siguiente para este alcaloide (85).



No fué posible llevar a cabo una comparación directa, pero sus características espectroscópicas y punto de fusión están de acuerdo con las reportadas para este alcaloide^{110,111}.

La relación entre N-metil-licodina y licodina, fué llevado a cabo, a través de la des-N-metilación de N-metil-licodina según las reacciones esquematizadas a continuación :

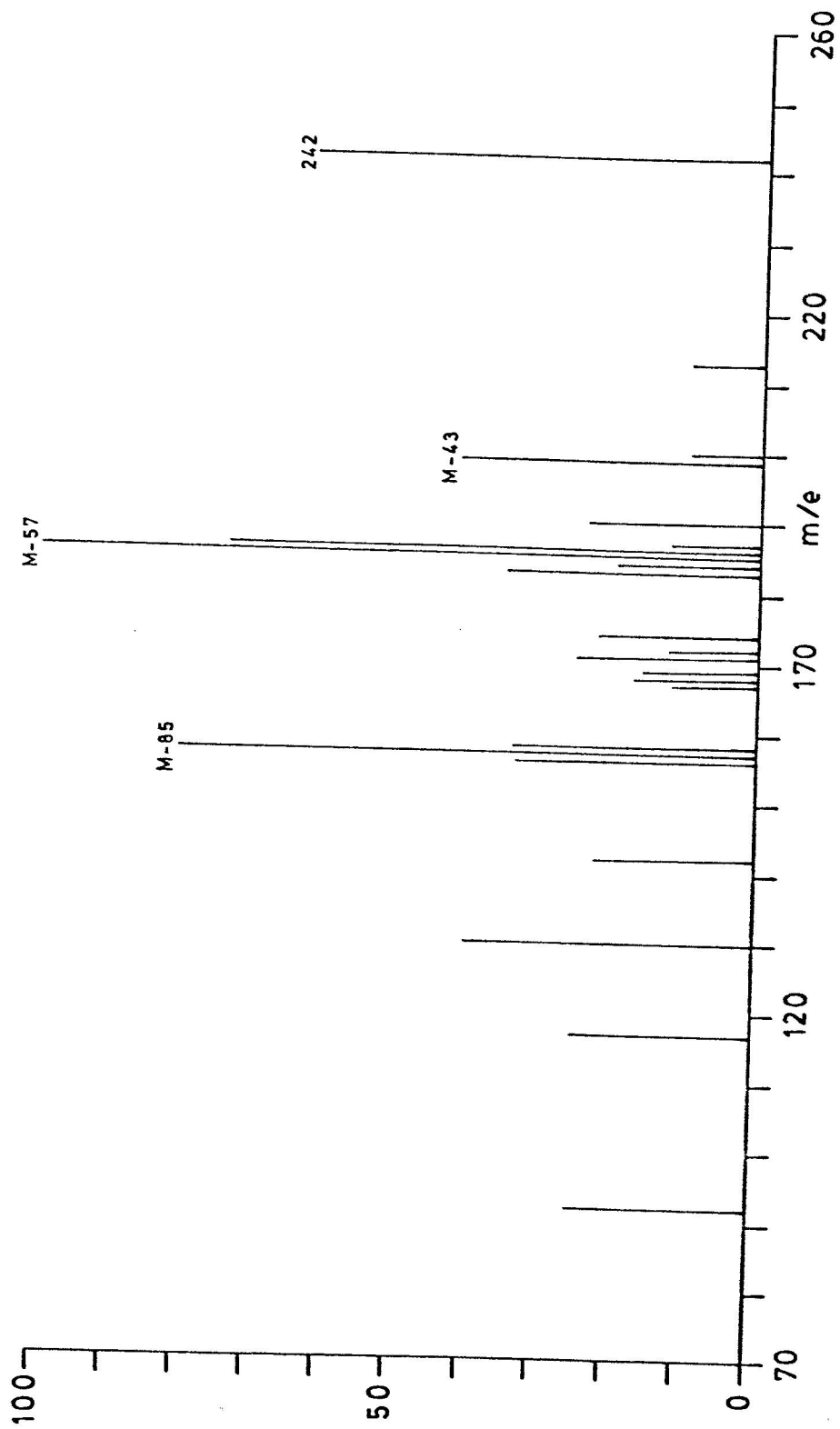
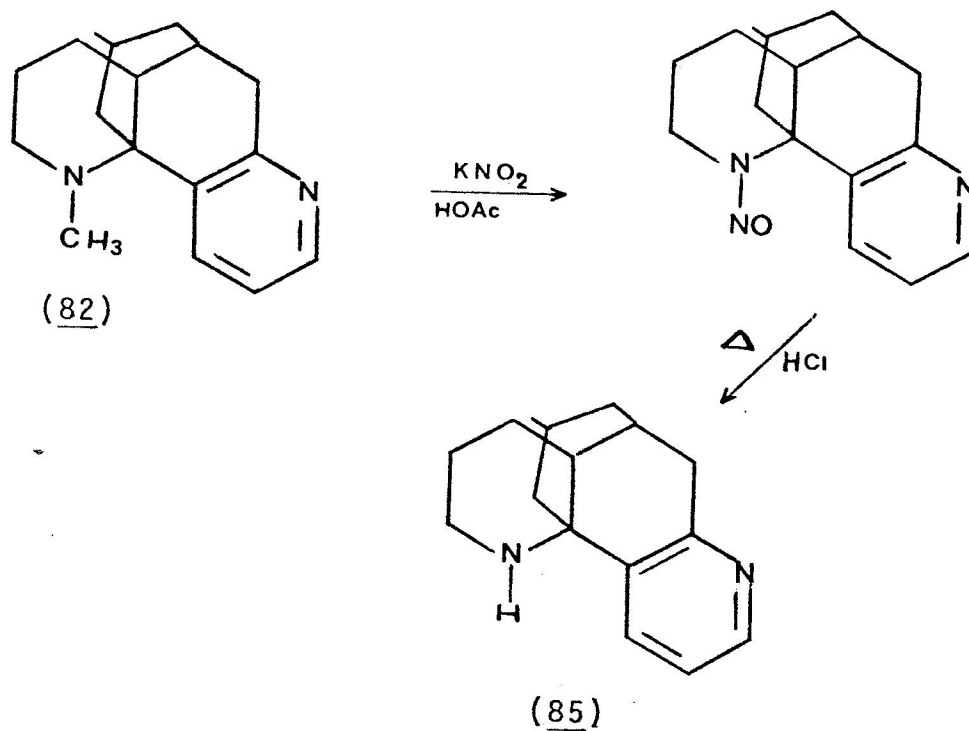
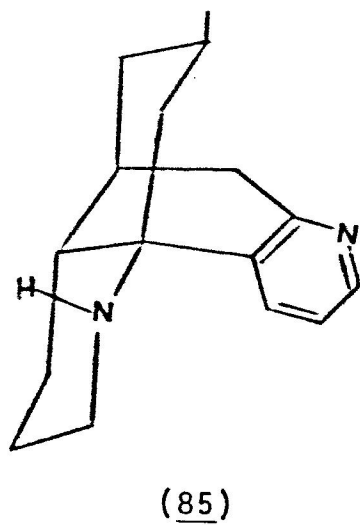


Fig.46 Espectro de masas de licoquina (85)



Licodina (85) ha sido aislada en numerosas especies de *Lycopodium*, tales como, *L. annotinum*¹¹⁰, *L. fawcetti*¹⁴, *L. flabelliforme*⁴⁴ y *L. lucidum*³⁰.



3.2.7 Acetildihidroliscopodina (87):

Presenta un peso molecular de 291 y punto de fusión 84-86°C.

Su espectro de I.R (fig.47) tomado en pastilla de K Br muestra las siguientes bandas de absorción a :

-1.735 cm^{-1} banda intensa asignada a vibraciones de tensión de grupo carbonilo de ester acíclico saturado.

-1.225 cm^{-1} banda intensa asignada a vibraciones de deformación de enlace C-O-C de grupo acetato.

Su espectro de R.M.P (fig.48) presenta las siguientes señales :

- doblete a 0.9 ppm (3H) de $J=6$ Hz de grupo metilo ($\text{CH}_3\text{-CH}$)
- singlete a 2.0 ppm (3H) de metilo de grupo acetato ($\text{CH}_3\text{-COOR}$)
- triplete a 5.1 ppm (1H) de $J=6$ Hz asignable a proton geminal al grupo acetato (CH - OAC).

Su espectro de masas presenta las siguientes señales (tabla 23) (fig.49).

Tabla 23.

m/e	%	
291	12	M^+
248	6	$\text{M} - 43$
235	10	$\text{M} - 56$
234	78	$\text{M} - 57$
174	100	$\text{M} - 117$

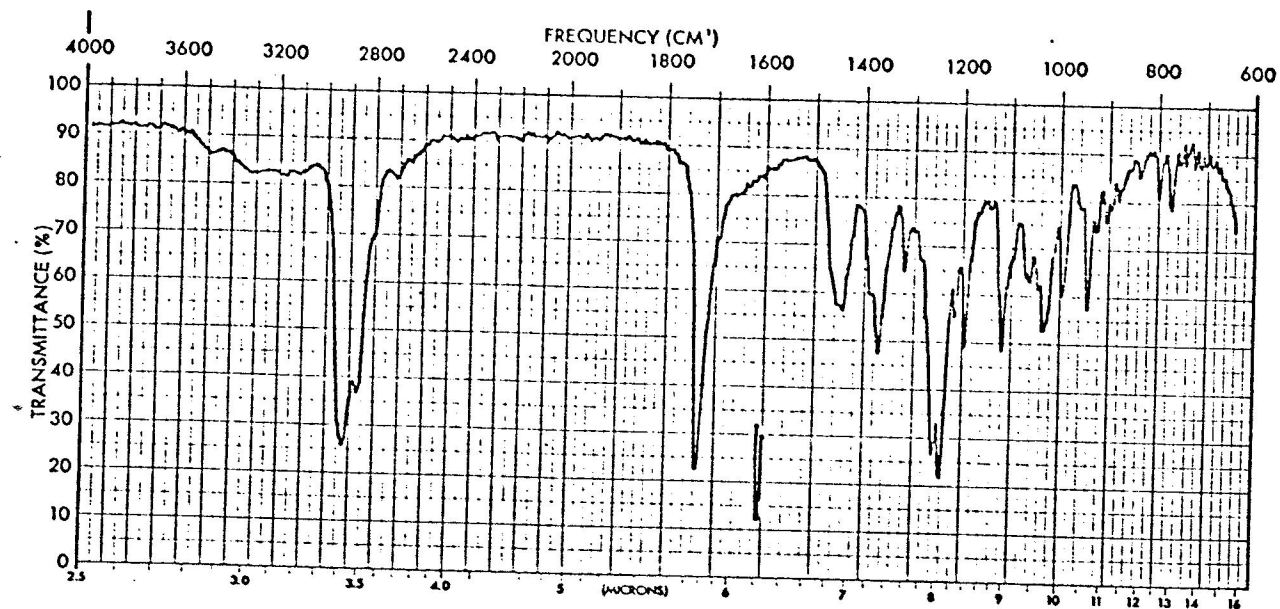


Fig.47 Espectro I.R. de acetildihidrolicopodina (87)

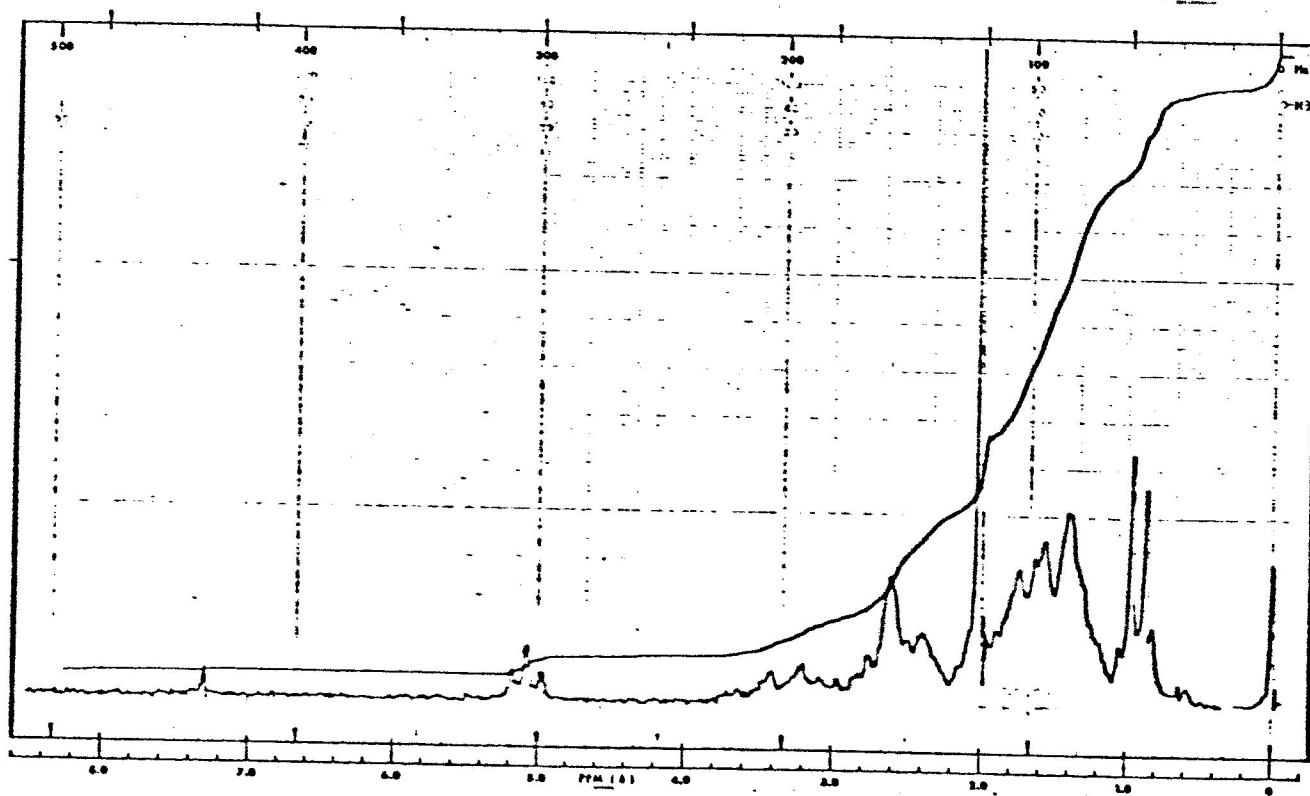


Fig.48 Espectro de R.M.P de acetildihidrolicopodina (87)

146

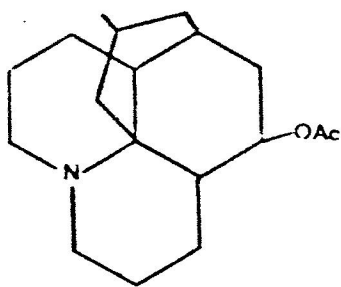
34 M - 145

La presencia de señales a m/e M-43 y a m/e M-57 nos permiten suponer que corresponde a un alcaloide del tipo de licopodina sin sustituyente en el anillo puente y con H en C-12.

Por otra parte la pérdida de 60 unidades del ión a m/e 234 para generar el ión a m/e 174, nos permiten suponer que el grupo acetato se encuentra en las posiciones de C-5 o C-6. La posición de C-5 para el grupo acetato secundario se ve más favorecida por razones biogénéticas.

Lo anteriormente expuesto nos permite proponer la estructura siguiente (86) para el acetildihidrolicopodina.

Su identidad fué comprobada al comparar directamente este alcaloide con una muestra auténtica de Acetil-dihidro licopodina.



(86)

Su espectro de masas se puede racionalizar de la siguiente manera :

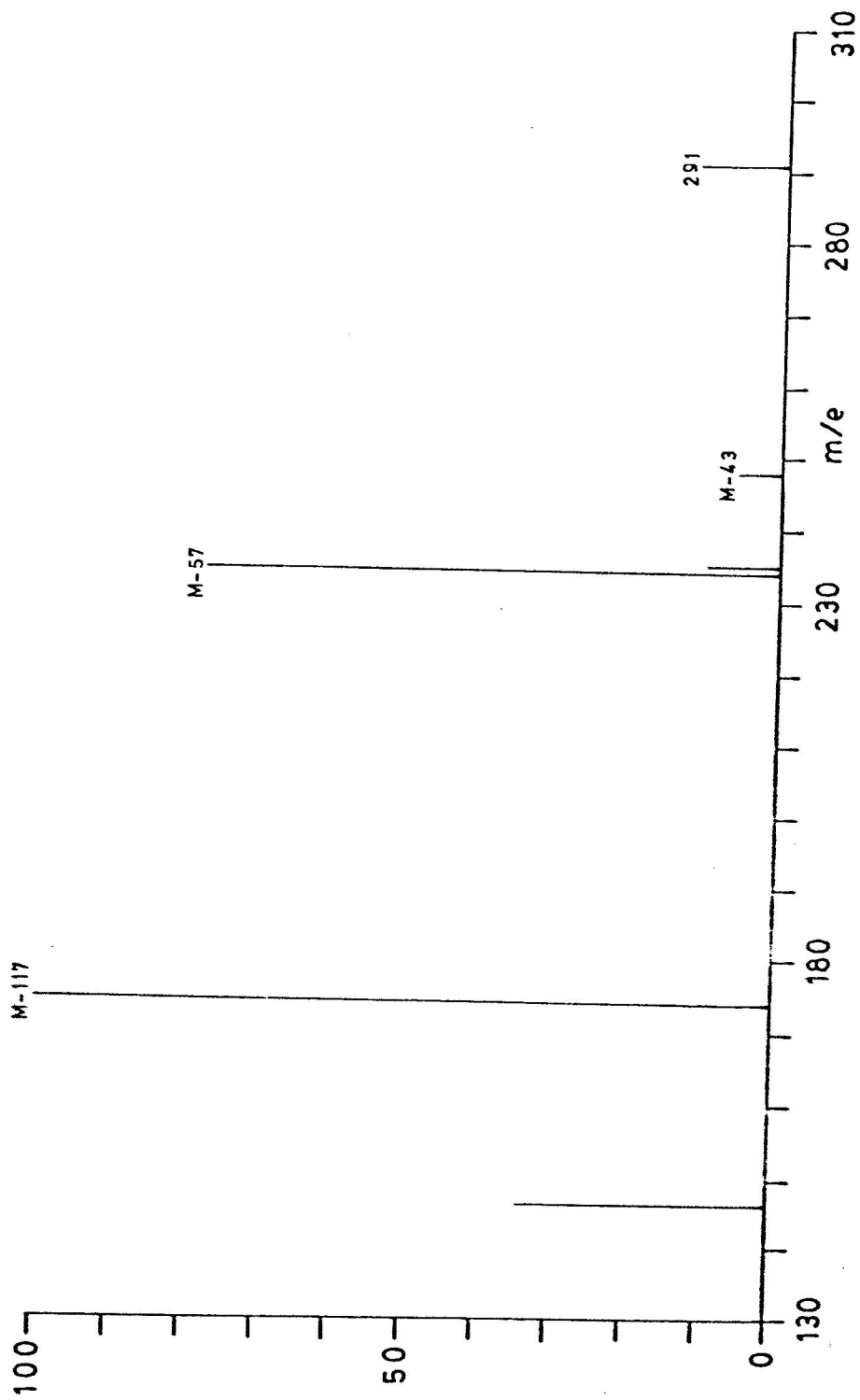
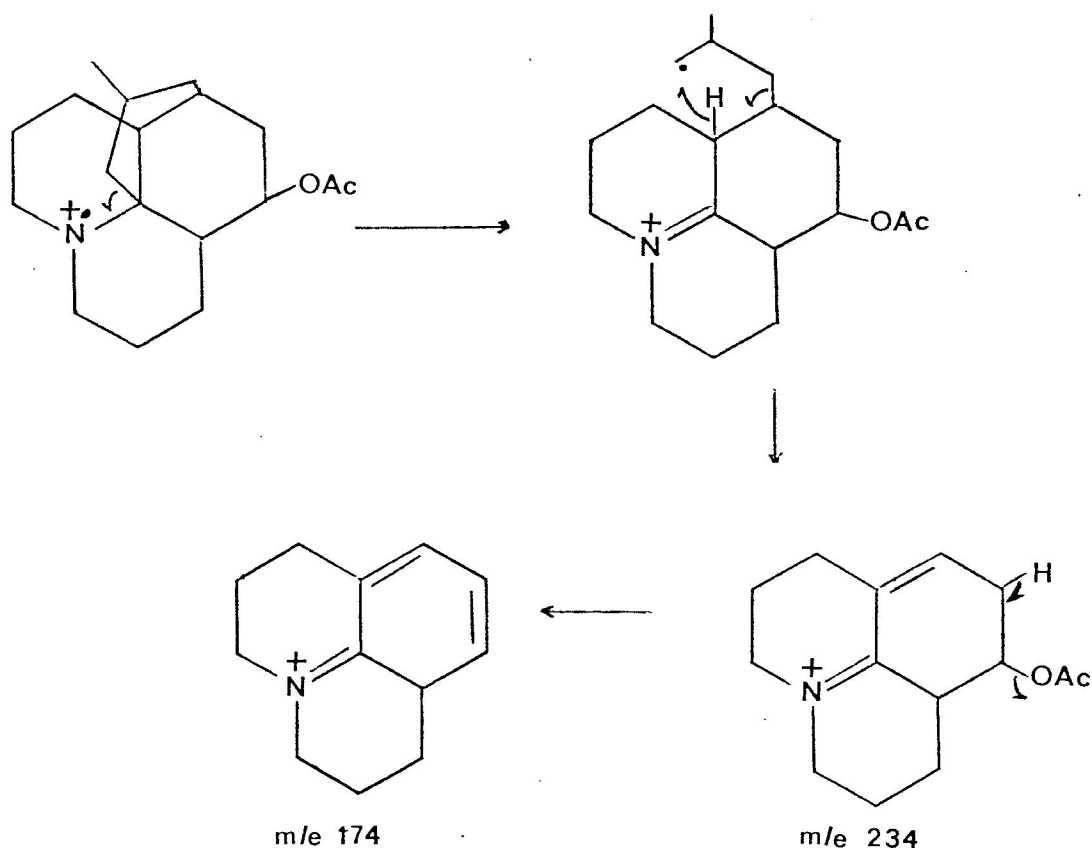
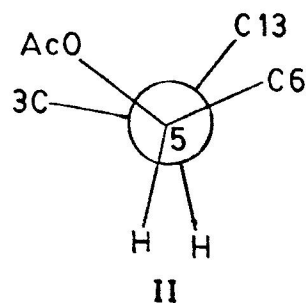
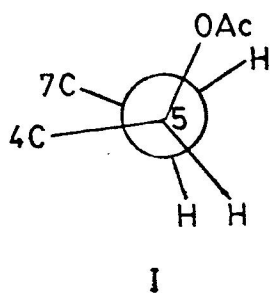


Fig.49 Espectro de masas de acetildihidrolipopodina. (87)

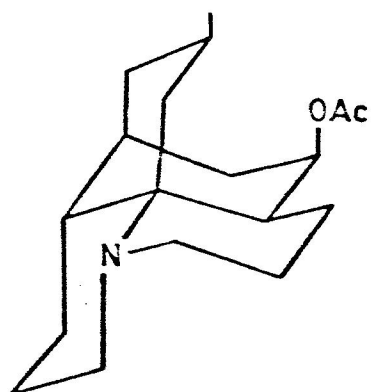


Esquema 19 Fragmentación de espectro de masas de acetildihidrolipodina.

La multiplicidad de las señales y las constantes de acoplamiento para el hidrógeno ecuatorial, geminal al grupo acetato, en el espectro de R.M.P de acetildihidrolipodina pueden analizarse considerando, de acuerdo con su estructura y estereoquímica, que el anillo C está dispuesto de tal forma que HC-5 está acoplado con dos H_{ax} con constante de acoplamiento de 6 Hz de acuerdo con un ángulo diédrico HC-5—C-4 H_{ax} y HC-5—C-6 H_{ax} del orden de los 30° (fig. I y II). El protón ecuatorial (H_{β} -C-6) no está acoplado al H geminal a grupo acetato dado que el ángulo diédrico es del orden de los 90°.



Acetildihidrolipodina¹¹³ (87) ha sido aislada en numerosas especies de Lycopodium: L.clavatum¹¹⁴, L.flabelliforme⁸¹ y L.paniculatum⁷², representan algunas de ellas.



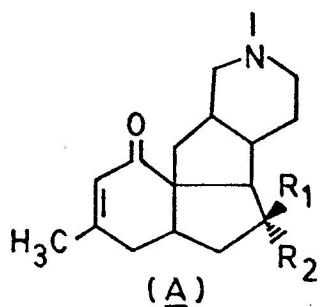
(87)

3.2.8 Espectros de masas de magellanina y derivados :

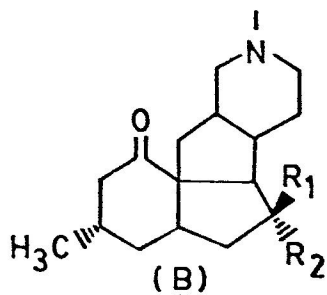
El análisis de los espectros de masas de alcaloides de Lycopodium ha mostrado claramente la utilidad de esta técnica en la elucidación estructural de estos alcaloides; la postulación de los mecanismos de fragmentación de los diferentes tipos estructurales permite ubicar el esqueleto carbonado al cual pertenece un determinado alcaloide y señala a su vez las posibles posiciones del o los grupos funcionales presentes en dicho producto natural.

En esta forma E.M aportó los primeros antecedentes que paniculatina y magellanina correspondían a alcaloides de Lycopodium con un esqueleto estructural diferente a los conocidos hasta entonces; por otra parte, de la comparación de ambos espectros de masas surgió la relación estructural entre estos alcaloides.

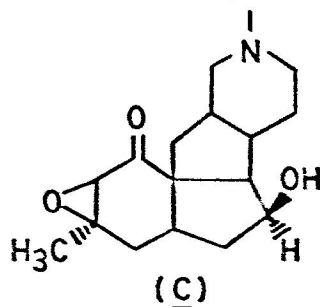
Considerando los antecedentes expuestos, hemos intentado llevar a cabo, un estudio de los espectros de masas de alcaloides del tipo de magellanina, paniculatina y derivados con ciertas variaciones estructurales en los C-5, C-13, C-15 y C-14 con el objeto de fundamentar las correlaciones que puedan existir y que servirían para el estudio de otros alcaloides de este tipo.



- A₁ Magellanina $R_1=OH, R_2 = H$
 A₂ Magellaninona $R_1+R_2 = 0$
 A₃ Benzoil-Magellanina $R_1=OCOO:$
 $R_2 = H$
 A₄ 5-Acetil-Magellanina $R_1=OAc,$
 $R_2 = H$



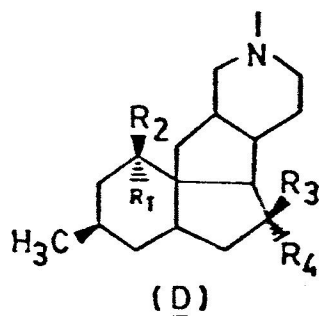
- B₁ 14-15dihidro-Magellanina
 $R_1=OH, R_2 = H$
 B₂ 5-deshidro-14-15 dihidro Magellanina.
 $R_1+R_2 = 0$



C Epoxi-Magellanina

- D₁ Paniculatina $R_1=OH, R_2 = H$
 $R_3 + R_4 = 0$

- D₂ 13-deshidro-Paniculatina
 $R_1 + R_2 = 0$
 $R_3 + R_4 = 0$



- D₃ 5-deoxo-13-deshidro paniculatina.
 $R_3 = H, R_4 = H$
 $R_1 + R_2 = 0$

Los espectros de masas de alcaloides de este tipo de esqueleto carbonado, caracterizado por un sistema de anillos que involucra las uniones de C-10 - C-3, C-4 - C12 y C-7 - C-12, se distinguen claramente de los presentados por el resto de los tipos de alcaloides de Lycopodium.

Sus E.M. muestran un ión molecular de alta intensidad y en algunos casos (A1, A2, B1, B2) corresponde a la señal base de sus espectros, por otra parte, se destacan nítidamente en sus espectros iones a m/e M-15 e iones fragmentos con nitrógeno en la zona de masas bajas de cierta intensidad. Estos iones corresponden a fragmentos de m/e 57, 58, 70, 71, 97, 96, 110 y 111, que están presentes en los espectros de todos estos alcaloides y cuya composición determinada por E.M.A.R., aparece señalada para magellanina (A1) y paniculatina (D1) en la tabla 24

Estos iones pueden racionalizarse a través de la ruptura del anillo A y B de magellanina, paniculatina y derivados (Esquema 20).

Este tipo de iones han sido encontrados en derivados de la piperidina⁹² y en alcaloides que contienen un simple anillo saturado que contiene nitrógeno⁹³.

Tabla 24.

m/e	Composición	Magellanina %	Paniculatina
57	C ₃ H ₇ N	15	30
58	C ₃ H ₈ N	70	100

70	C_4H_8N	27	27
71	C_4H_9N	31	25
96	$C_6H_{10}N$	38	21
110	$C_7H_{12}N$	50	11
111	$C_7H_{13}N$	35	4

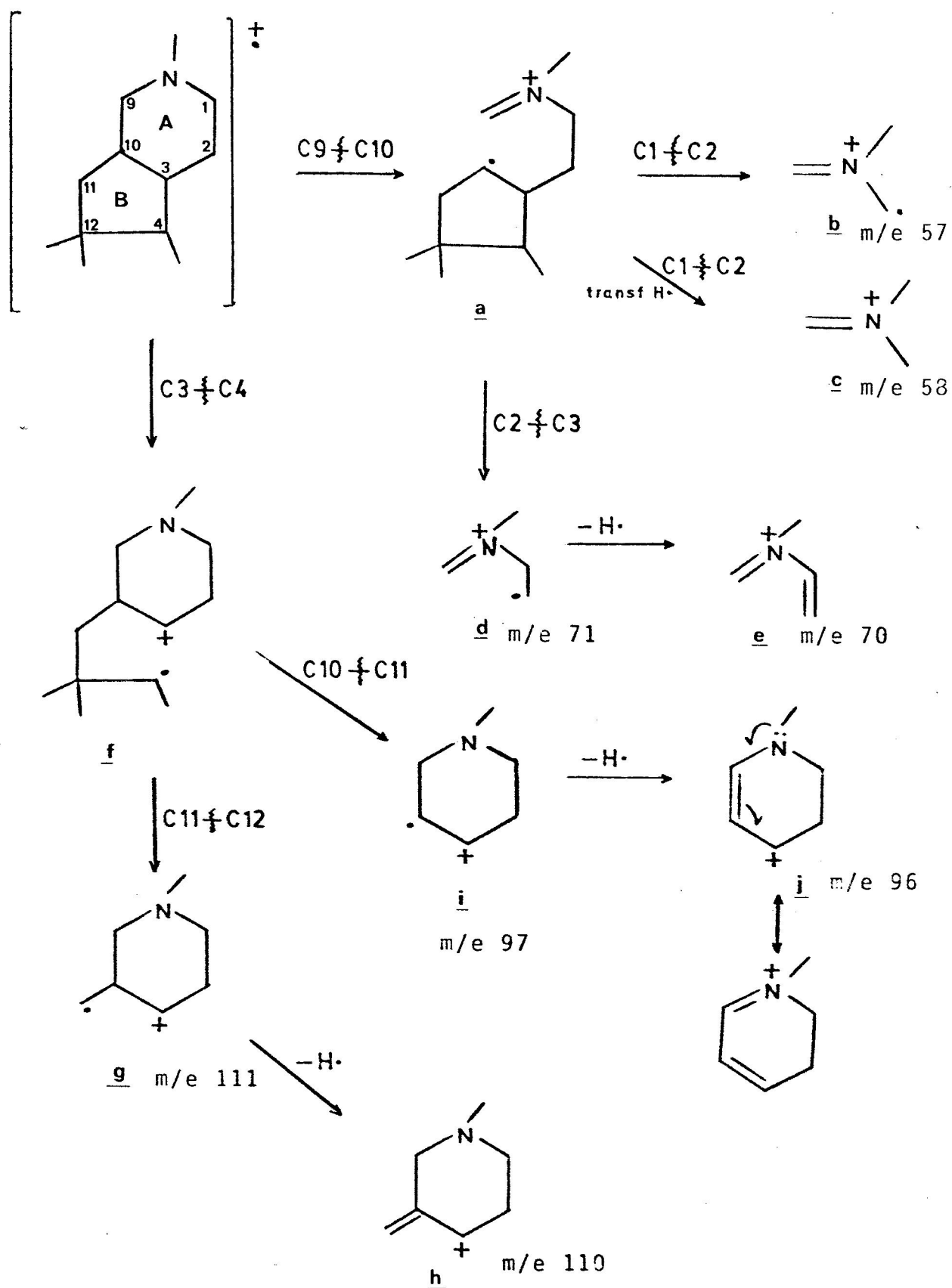
En la zona de masas altas, los espectros de masas de estos alcaloides, presentan iones con nitrógeno de 12 y 13 átomos de carbono (Tabla 25) que pueden racionalizarse a través de la ruptura del anillo D de paniculatina, magellanina y derivados. El esquema 21 propone un esquema de racionalización para este tipo de iones a través de la estructura de paniculatina⁹⁴. Sin embargo este tipo de señales en la zona de masas altas, nos plantea la posibilidad de

Tabla 25.

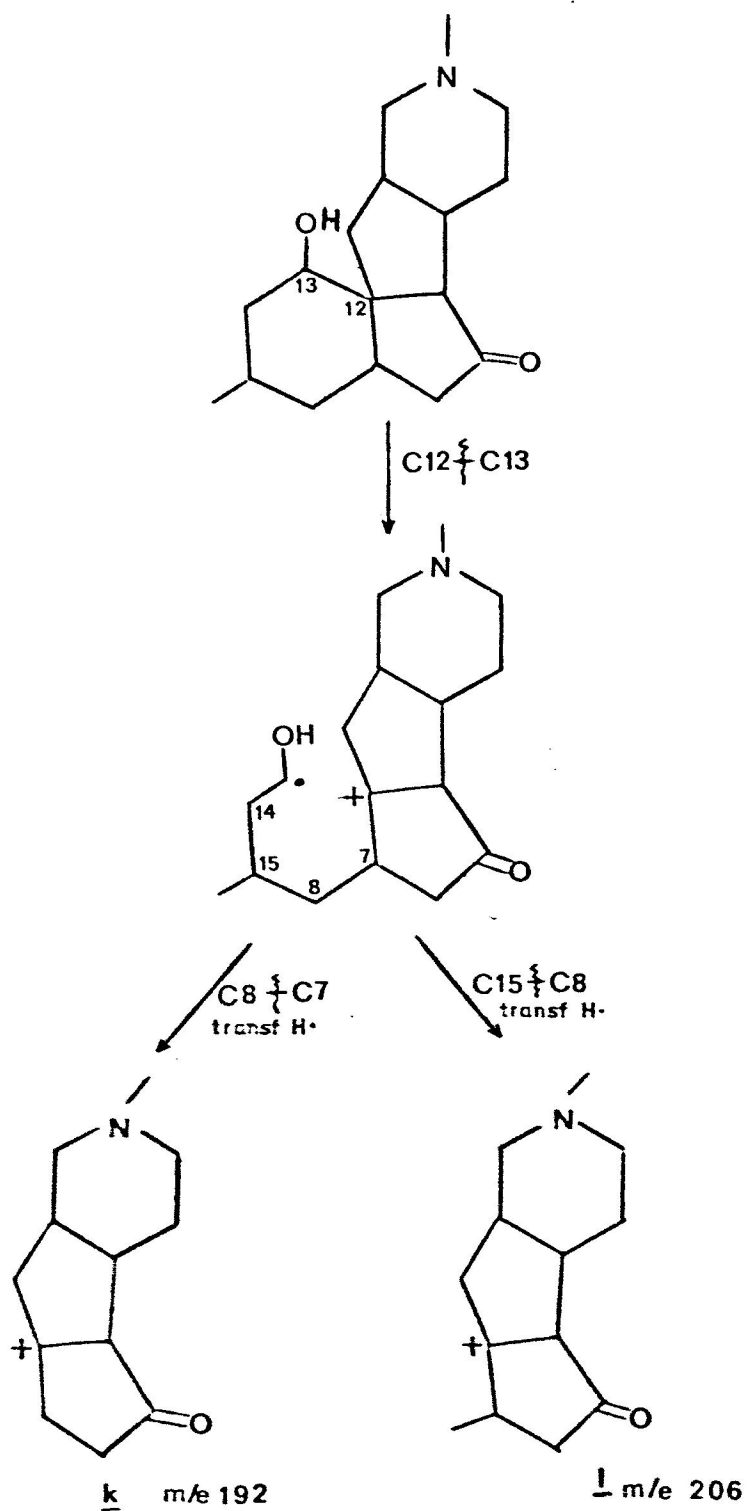
Composición	m/e	Paniculatina	Magellanina
$C_{12}H_{18}NO$	192	17	6
$C_{12}H_{16}NO$	190	3	-
$C_{13}H_{20}NO$	206	5	-
$C_{13}H_{18}NO$	204	29	5
$C_{13}H_{16}NO$	202	-	4

deducir algunas consideraciones de carácter diagnóstico de acuerdo con el tipo de sustitución presente en los C-5, C-13, C-14 y C-15.

Si consideramos los alcaloides, representados por las



Esquema 20 Racionalización de iones con nitrógeno en la zona de masas bajas de magellanina y derivados.



Esquema 21 Racionalización de iones con nitrógeno en la zona de masas altas de paniculatina.

estructuras B y D, que llevan un grupo carbonilo en C-13 independiente de cual sea el tipo de sustitución en C-5 encontraremos, que los E.M de estos alcaloides (fig.50) y (Tabla 26) presentan iones a m/e M-43, M-71, M-73, M-85 y M-87. La formación de estos iones puede racionalizarse a partir de una ruptura del anillo D en los C-12 - C-13, generando el ión I, de acuerdo con el esquema 22. Un mecanismo alternativo de la formación de estos iones puede ser el sugerido para 1-cetoesteroides¹¹⁵

Tabla 26.

Alcaloide	R1	R2	M ⁺	M-43	M-71	M-73	M-85	M-87
14,15-dihidro magellanina.	OH	H	277	234	206	204	192	190
5-deshidro-14,15-dihidro magellanina.	0		275	232	204	202	190	188
13-deshidro paniculatina.	0		275	232	204	202	190	188
5-deoxo-13-deshidro paniculatina.	H	H	261	218	190	188	176	174

Consideremos los alcaloides con una estructura (A) caracterizada por la presencia de un grupo carbonilo α - β no saturado, en las posiciones de C-13 y C-14 - C-15, respectivamente y con variaciones en la funcionalidad del C-5, tales

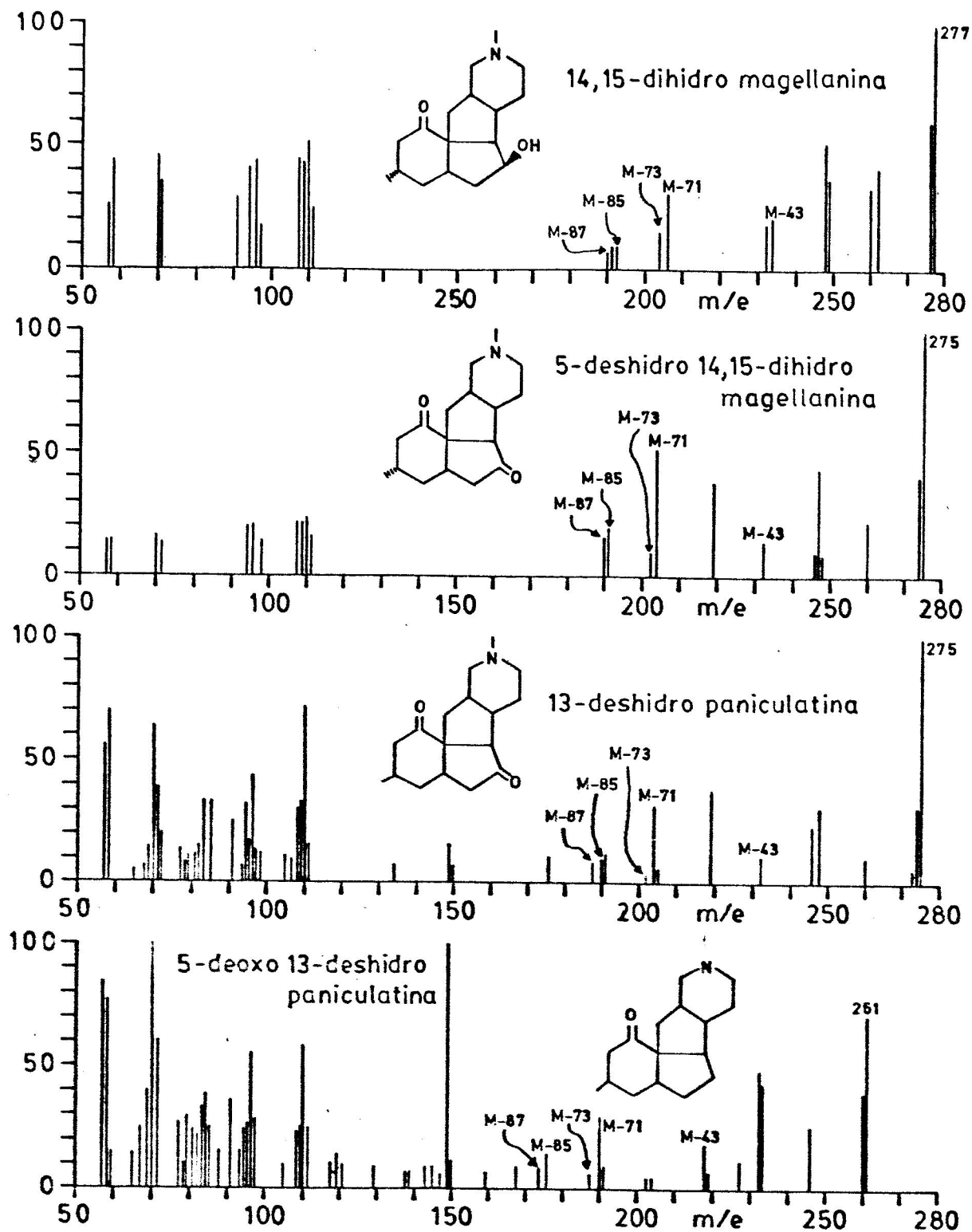
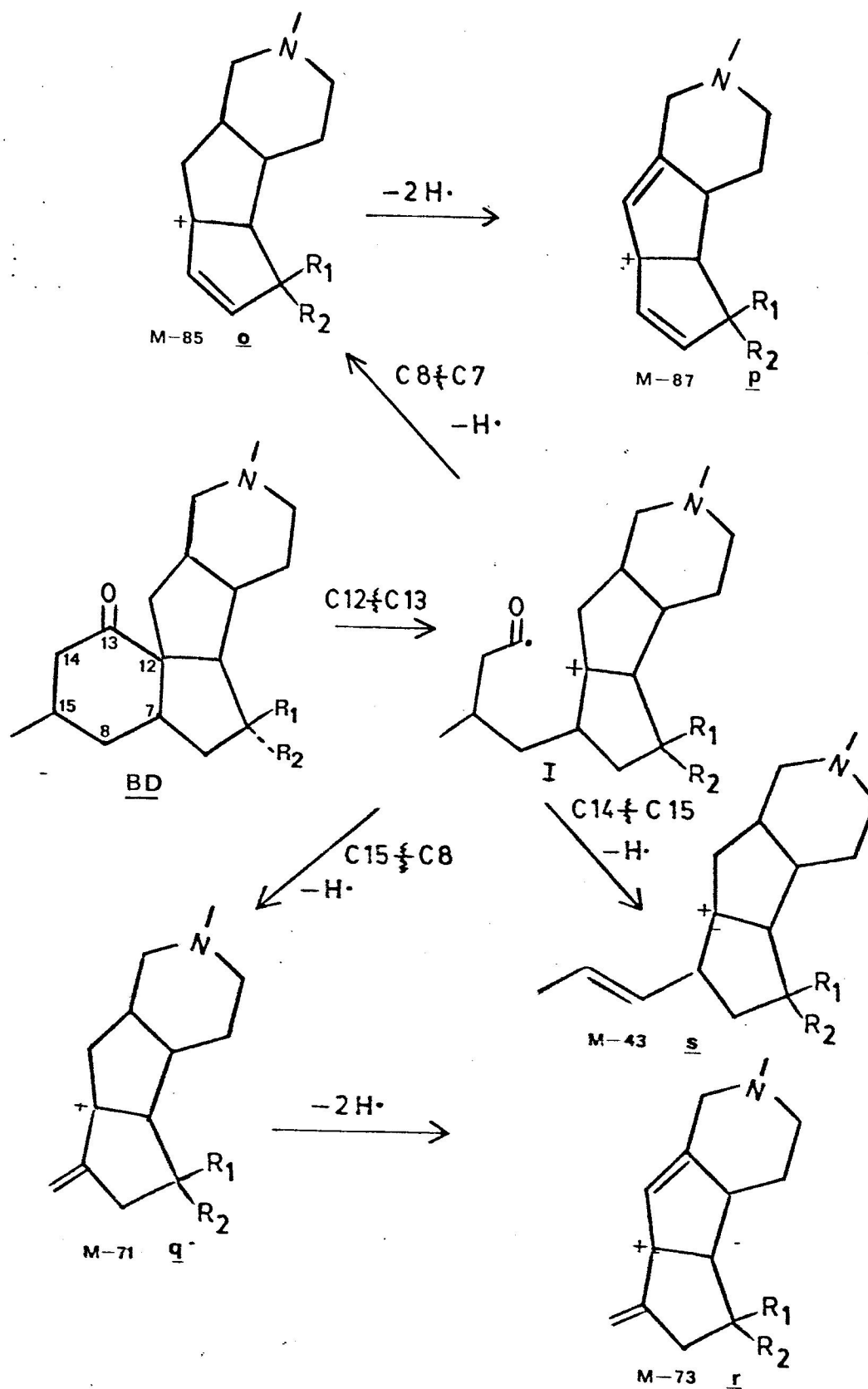


Fig.50 Espectros de masas de 14,15-dihidro-magellanina, 5-deshidro 14,15-dihidro-magellanina, paniculatina y 5-deoxo 13-deshidro paniculatina.



Esquema 22 Racionalización de iones con nitrógeno en la zona de masas altas de derivados de magallanina con CO en C-13

como, Magellanina (A1), Magellaninona (A2), Acetil Magellanina (A3) y Benzoil Magellanina (A4); sus espectros de masas (fig.51) presentan además de los iones nitrogenados en la zona de masas bajas, racionalizados a través de la ruptura del anillo A y B, iones que pueden considerarse formados a partir de la ruptura del anillo D con una m/e de M-71 y M-83 en los cuatro alcaloides (Tabla 27) (esquema 23).

Sólo en Magellaninona, que lleva un grupo carbonilo en C-5, se observa el ión de m/e a M-69 y a M-81 (ión t y u) respectivamente.

Tabla 27.

Alcaloide	R1	R2	M ⁺	M-69	M-71	M-73	M-81	M-83
Magellanina (A1).	OH	H	275		204	202		192
Magellaninona (A2).	O		273	204	202		192	190
5-Acetil-Magellanina (A3).	OAC	H	317		246			234
5-Benzoil-Magellanina (A4)	OC ₆ H ₅	H	379		308			296

Los espectros de masas de 5-acetil-magellanina (A3) y 5-benzoil-magellanina (A4), muestran además señales adicionales, que pueden atribuirse a la presencia del grupo ester en C-5 para cada caso. Los espectros de ambos alcaloides presentan la señal base a m/e M-59 y M-121 para acetil y

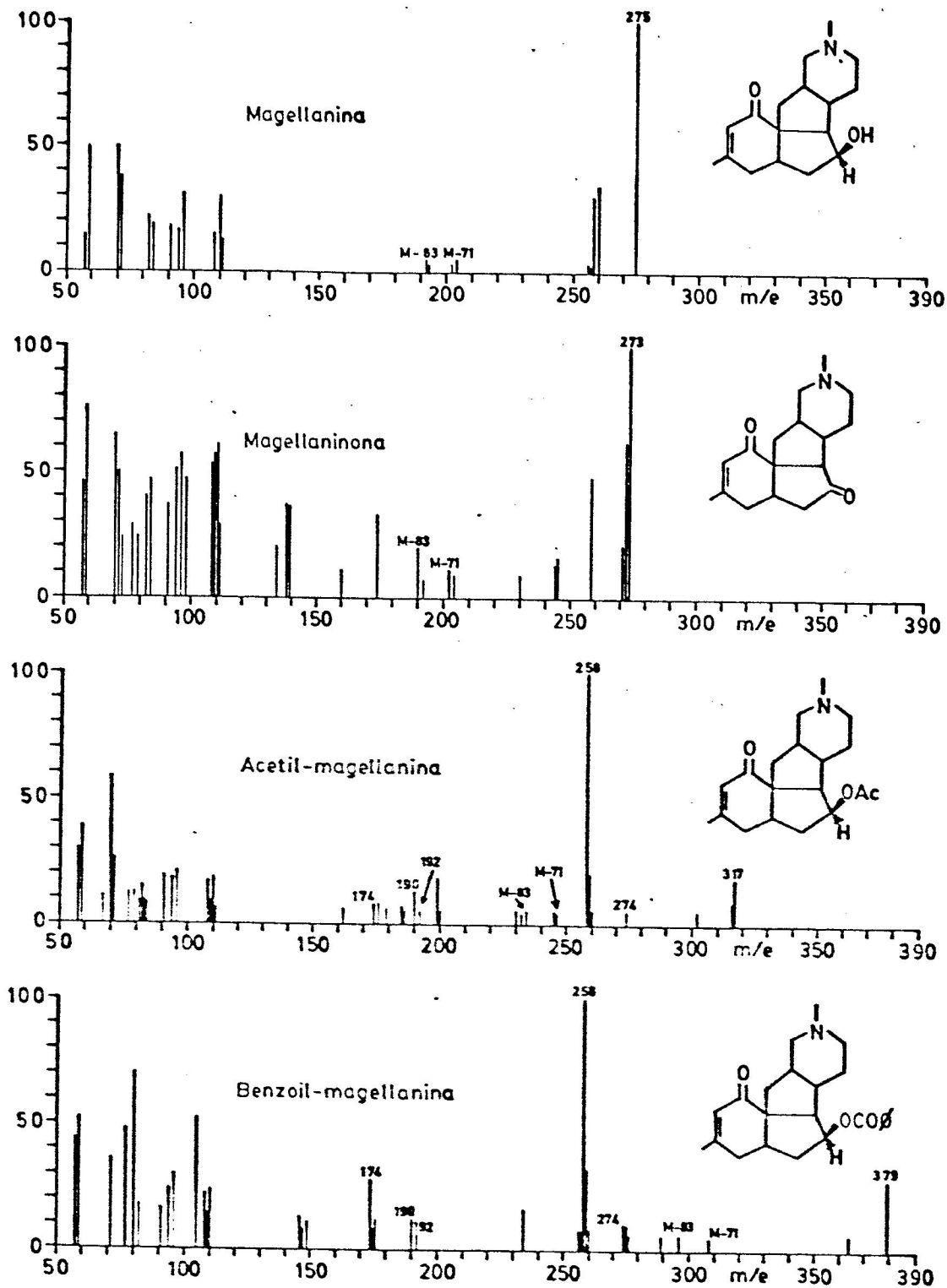
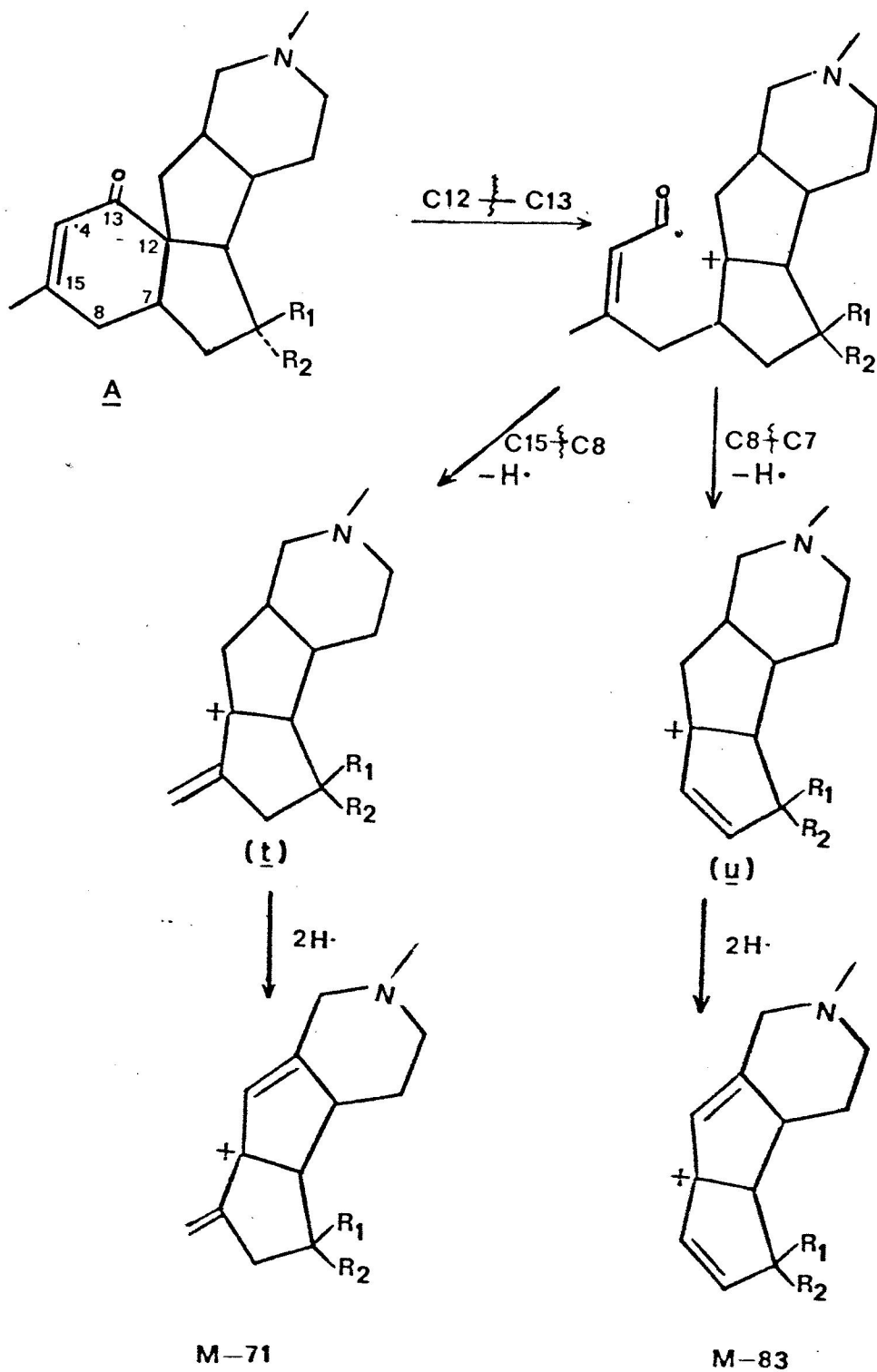


Fig. 51 Espectros de masas de magellanina, magellaninona, acetil-magellanina y benzoil-magellanina.



Esquema 23 Racionalización de iones con nitrógeno en derivados de magellanina con C=O en C-13 y C=C en C-14 y C-15.

Benzoil-magellanina respectivamente, pudiendo atribuirse estas señales, a la pérdida del grupo ester a partir del ión molecular (M-R COO).

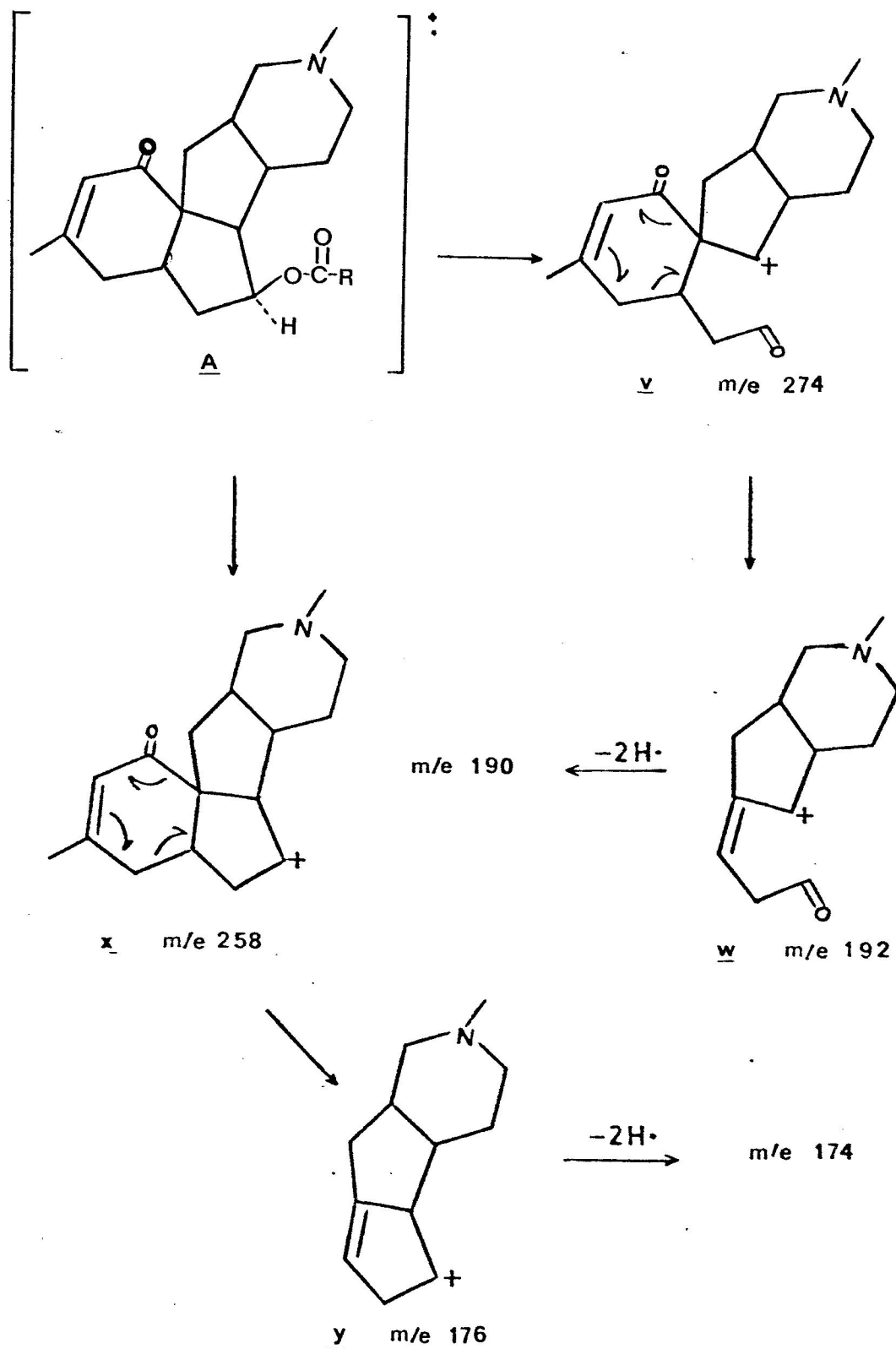
La presencia de iones fragmento de m/e 274, 192, 190, 176 y 174 (Tabla 28) (Esquema 24) podemos considerarlos que son formados a partir de la ruptura de los anillos C y D de acuerdo con el posible esquema de fragmentación 24.

Tabla 28.

Alcaloide	R ₁	R ₂	M ⁺	M-RCO					
5 Acetil-Magellanina	OAc	H	317	274	192	190	176	174	
5 Benzoil-Magellani- na.	OCOO	H	379	274	192	190	176	174	

Finalmente con los antecedentes expuestos podemos analizar el espectro de masas de 14,15 epoxi-magellanina (C) (fig.52). distinguiéndose :

- 1.- iones fragmentos en la zona de masas bajas a m/e 57,58, 70,71,96,110 y 111, racionalizados a través de la ruptura de los anillos A y B.
- 2.- iones fragmentos en la zona de masas altas a m/e 206, 204, 192 y 190 racionalizados a través de la ruptura del anillo D cuya fragmentación es dirigida por la función cetona en C-13.
- 3.- iones fragmentos particulares al espectro que se pueden atribuir a la función, epoxi en C-14, C-15, cuya posible

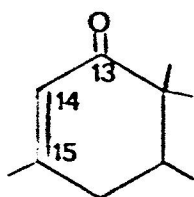
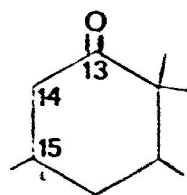


Esquema 24 Racionalización de iones con nitrógeno en la zona de masas altas de 5-acetil y 5-benzoil magellanina.

racionalización aparece señalada en los esquemas 25 y 26.

De acuerdo con los antecedentes señalados, espectrometría de masas puede permitirnos determinar, si un alcaloide pertenece o no al esqueleto estructural de paniculatina y magellanina; por la presencia o ausencia de señales a m/e 57,58,70,71,96,110 y 111 que han sido racionalizadas en base a la ruptura de los anillos A y B.

Por otra parte, la sustitución en el anillo D del esqueleto carbonado de magellanina se puede sugerir a partir de las señales de iones con nitrógeno en la zona de masas altas. De esta manera el rasgo estructural A implica la presencia de señales a m/e M-71 y M-83 cuya masa depende de los sustituyentes en C-5. Si existe el rasgo estructural B, aparecen señales a M-43, M-71, M-73, M-85 y M-87, cuya masa depende del tipo de sustitución en C-5.

AB

Obviamente estos esquemas de fragmentación son tentativos; estudios con derivados apropiadamente sustituidos con deuterio unido a la determinación de la composición elemental de los iones podrían confirmar estas proposiciones.

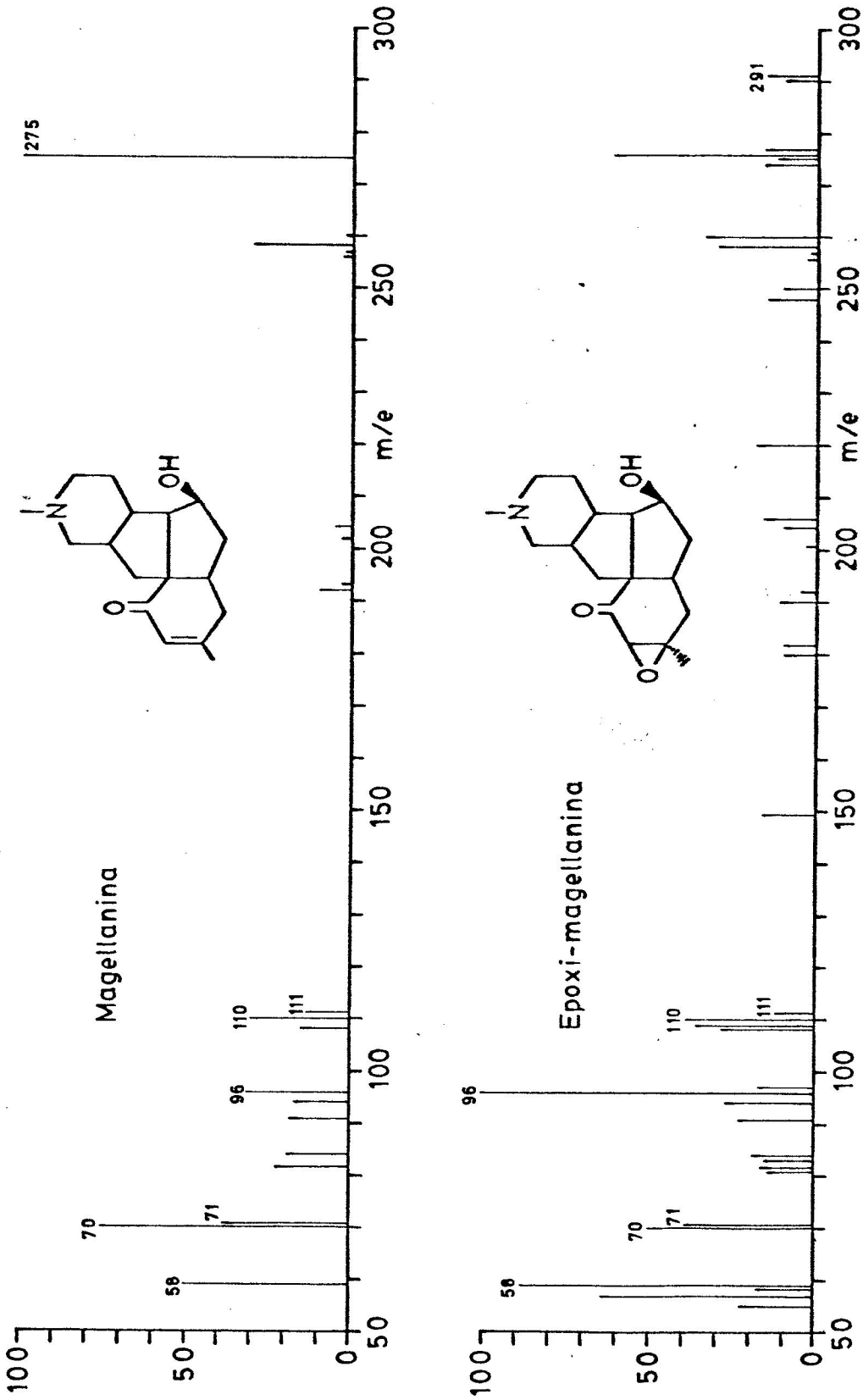
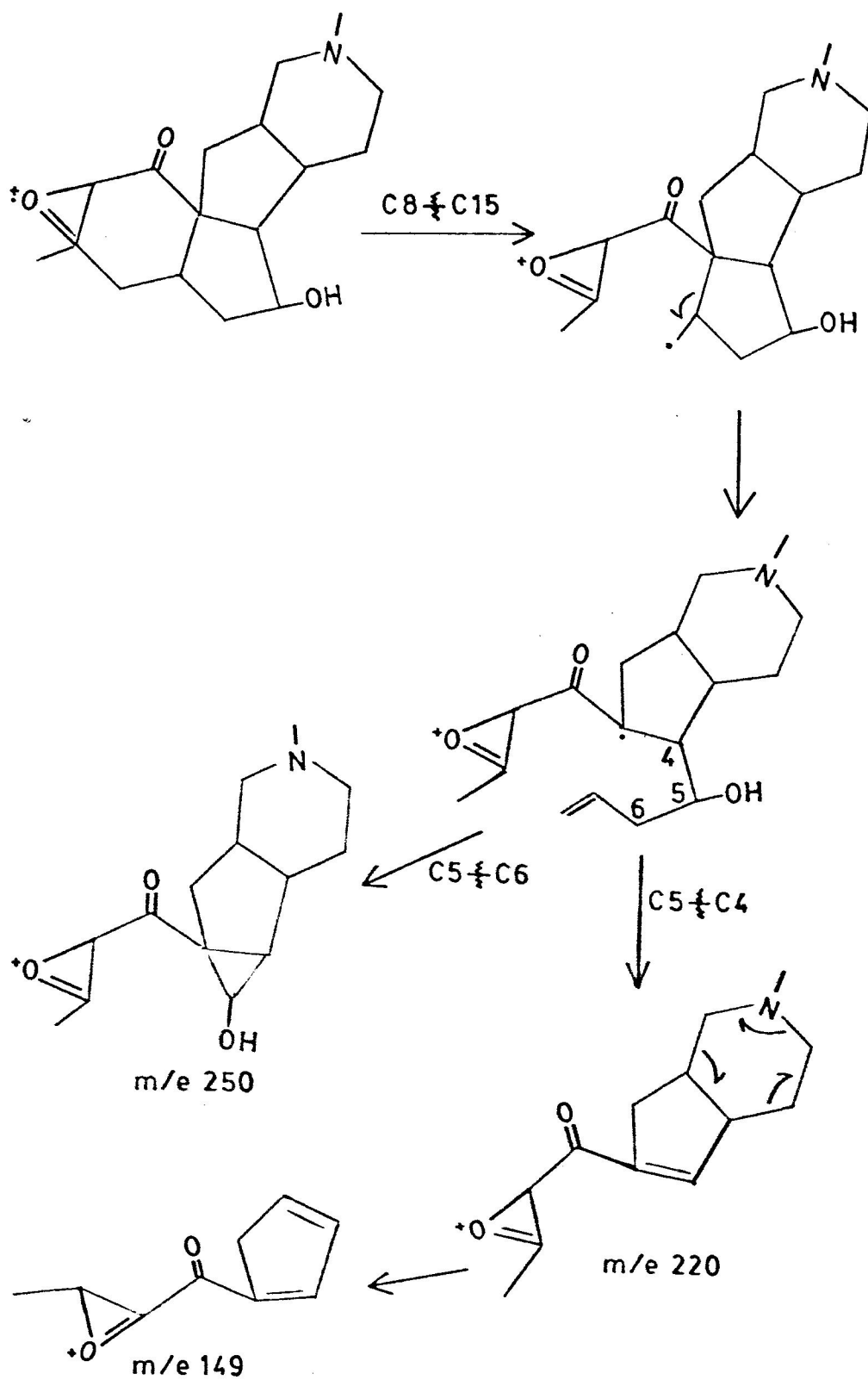
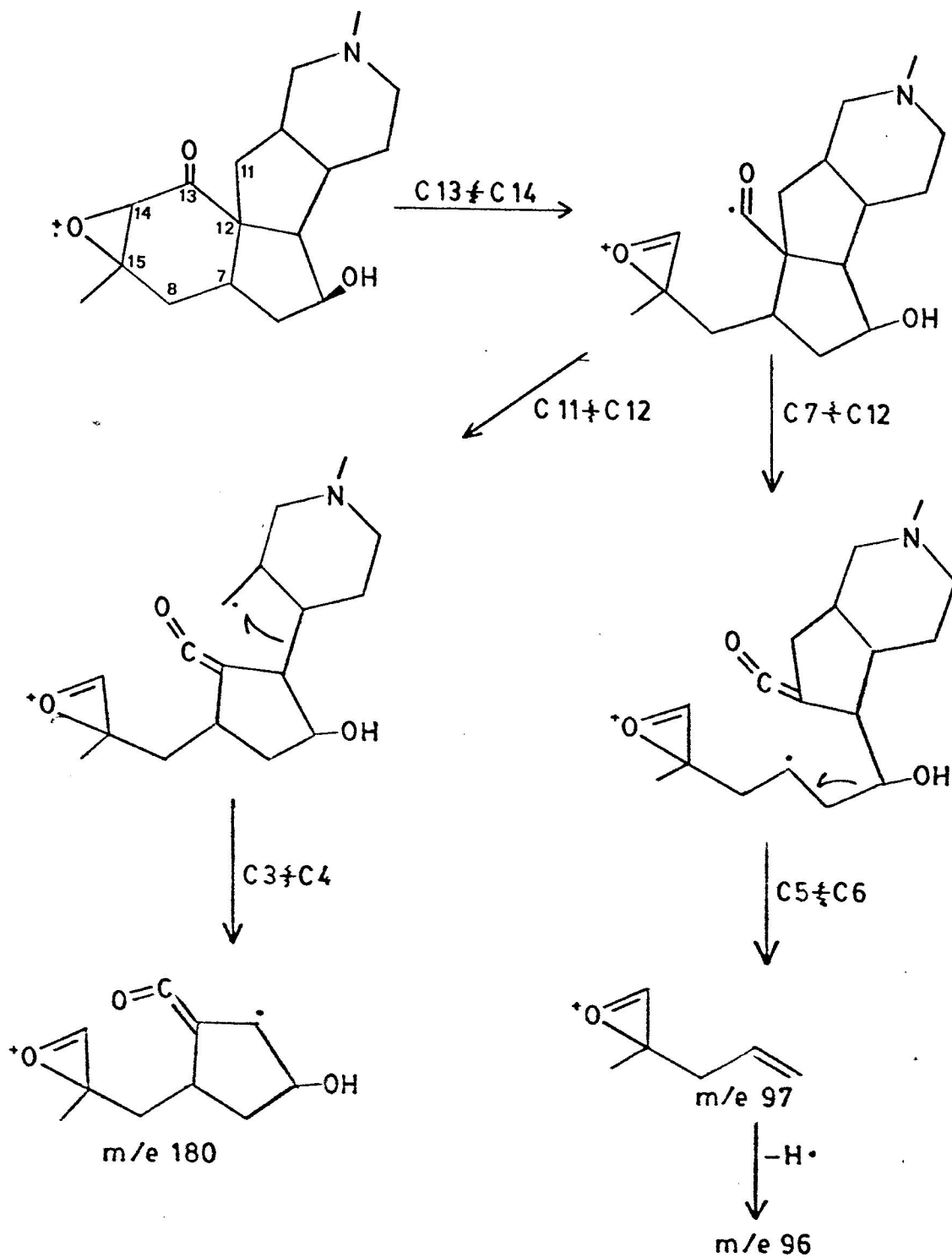


Fig.52 Espectros de masas de magellanina y epoxi-magellanina.



Esquema 25 Fragmentación de espectro de masas de epoxy-magellana.



Esquema 26 Fragmentación de espectro de masas de epoxy-magellana.

LISTA DE REFERENCIAS

- 1.- Muñoz, .C. (1966) "Sinopsis de la Flora Chilena", 2a Ed, Ediciones de la Universidad de Chile, Santiago, p.24.
- 2.- MacLean, D.B. (1968) en "The Alkaloids", Ed. por Manske, R.H.F, V.10, Academic Press, New York, p.305.
- 3.- MacLean, D.B. (1970) en "Chemistry of the Alkaloids", Ed. por Pelletier, S.W., Van Nostrand Reinhold Company, New York, p. 469.
- 4.- MacLean, D.B. (1973) en "The Alkaloids", Ed. por Manske, R.H.F, V.14, Academic Press, New York, p. 347.
- 5.- Ayer, W.A. (1976), comunicación personal.
- 6.- Manske, R.H.F. y Marion, L. (1942), Can. J. Res., B20, 87.
- 7.- Harrison, W.A. y MacLean, D.B. (1960), Chem and Ind (London), 261.
- 8.- White, E. y Towers, G.H.N. (1967), Phytochemistry, 6, 663.
- 9.- Lytle, T.F. y Sever, J.R. (1973), Phytochemistry, 12, 623.
- 10.- Braekman, J.C., Nyembo, L., Bourdoux, P., Kahindo, N. y Hootele, C. (1974), Phytochemistry, 13, 2519.

- 11.- Wiesner, K., Ayer, W.A., Fowler, L.R. y Valenta, Z. (1957), Chem. and Ind. (London), 564.
- 12.- Ho Tse-Lok (1969), Tetrahedron Letters, 1307.
- 13.- Ayer, W.A. e Iverach, G.G. (1960), Tetrahedron Letters, 19.
- 14.- Ayer, W.A., Berezowsky, J.A. e Iverach, G.G. (1962), Tetrahedron, 18, 567.
- 15.- Valenta, Z., Yoshimura, H., Rogers, E.F., Ternbah, M. y Wiesner, K. (1960), Tetrahedron Letters, 26.
- 16.- Sharma, M., Jones, C.D. y Weiss, J.A. (1969), Tetrahedron, 25, 4347.
- 17.- Inubushi, Y., Ishii, H., Yasui, B., Hashimoto, M. y Harayama, T. (1966), Tetrahedron Letters, 1537.
- 18.- Inubushi, Y., Ishii, H., Yasui, B. y Harayama, T. (1968), Chem. Pharm. Bull, 16 (1), 101.
- 19.- Ayer, W.A., Jenkins, J.K. y Valverde-López, S. (1964), Tetrahedron Letters, 2201.
- 20.- Ayer, W.A., Jenkins, J.K., Valverde-López, S. y Burnell, R.H. (1967), Can. J. Chem., 45, 433.
- 21.- Ayer, W.A., Jenkins, J.K., Piers, K. y Valverde-López, S. (1967), Can. J. Chem., 45, 445.
- 22.- Ayer, W.A., Fukasawa, Y. y Singer, P.P. (1973), Tetrahedron Letters, 5045.

- 23.- Castillo, M., Morales, G., Loyola, L.A. Singh, I., Calvo, C., Holland, H.L. y MacLean, D.B. (1976), Can. J. Chem., 54, 2900.
- 24.- Ayer, W.A. e Iverach, G.G. (1962), Tetrahedron Letters, 87.
- 25.- Ayer, W.A. e Iverach, G.G. (1964), Can. J. Chem., 42, 2514.
- 26.- French, W.N. y MacLean, D.B. (1960), Chem. and Ind., (London), 658.
- 27.- French, W.N. y MacLean, D.B. (1961), Can. J. Chem., 39, 2100.
- 28.- Curcumelli-Rodostamo, M. y MacLean, D.B., (1962), Can. J. Chem., 40, 1068.
- 29.- Conley, R.T. (1966), "Infrared Spectroscopy ", Allyn y Bacon, Inc , Boston, p. 118-119.
- 30.- Ayer, W.A., Altenkirk, B., Burnell, R.H. y Moinas, M. (1969). Can. J. Chem., 47, 449.
- 31.- Cookson, R.C., Henstock, J. y Hudec, C., (1966), J. Am. Chem. Soc., 88, 1060.
- 32.- Anet, F.A.L., Haq, M.Z., Khan, N.H., Ayer, W.A., Hayatsu, R. y Valverde-López, S. (1964), Tetrahedron Letters, 751.
- 33.- Ayer, W.A., Altenkirk, B., Valverde-López, S., Douglas, B., Raffauf, R.F. y Weisbach, J.A. (1968), Can. J. Chem.,

46,15.

- 34.- Miller, N., Hootele, C., Braekman-Kanheux, C. y Braekman, J. (1971), Bull. Soc. Chem. Belg., 80,629.
- 35.- Stothers, J.B. (1972), "Carbon-13 N.M.R Spectroscopy, Academic Press, New York.
- 36.- Levy, G.C. y Nelson, G.L. (1972), "Carbon-13 Nuclear Magnetic Resonance for Organic Chemists", Wiley Interscience, New York, N.Y.
- 37.- Wenkert, E., Bindra, J.S., Chang, C., Cochran, D.W. y Schell. (1974). Acc. of Chem. Res., 7, 46.
- 38.- Nakashima, T.T., Singer, P.P., Browne, L.M. y Ayer, W.A. (1975). Can. J. Chem. 53, 1936.
- 39.- Lindeman, L.P. y Adams, J.Q. (1971), Anal. Chem., 43, 1245.
- 40.- Ayer, W.A., Habgood, T.E., Deulofeu, V. y Juliani, H.R. (1965), Tetrahedron, 21, 2169.
- 41.- MacLean, D.B. (1963), Can. J. Chem., 41, 2654.
- 42.- Ayer, W.A., Bowman, W.R., Kebarle, P. y Burnell, R.H. (1965), Can. J. Chem., 43, 328.
- 43.- Ayer, W.A., Hogg, A.N. y Soper, A.C. (1964), Can. J. Chem., 42, 949.
- 44.- Alam, S.N., Adams, K.A.H., y MacLean, D.B. (1964), Can. J. Chem., 42, 2456.

- 45.- Inubushi, Y., Harayama, H., Akatsu, M. e Ishii, H. (1968), Chem. Commun., 1138.
- 46.- Ayer, W.A. y Altenkirk, B. (1969), Can. J. Chem., 47, 499.
- 47.- MacLean, D.B. Curcumelli-Rodostamo, M. (1966), Can. J. Chem., 44, 611.
- 48.- Inubushi, Y., Ibuka, T., Harayama, T. e Ishii, H. (1968), Tetrahedron, 24, 3541.
- 49.- Ayer, W.A., Masaki, N. y Nkunika, D.S., (1968), Can. J. Chem., 46, 3631.
- 50.- Horeau, A. (1961), Tetrahedron Letters, 506.
- 51.- Horeau, A. (1962), Tetrahedron Letters, 965.
- 52.- Horeau, A. y Kagan, H.B. (1964), Tetrahedron, 20, 2431.
- 53.- Brooks, C.J.W. y Gilbert, J.D., (1973), J.C.S. Chem., Comm, 194.
- 54.- Brewster, J.H., (1961), Tetrahedron, 13, 106.
- 55.- Brewster, J.H., (1959), J. Am. Chem. Soc., 81, 5.475, 5483.
- 56.- Inubushi, Y., Ishii, H., Yasui, B. y Harayama, T, (1966), Tetrahedron Letters, 1551.
- 57.- Djerassi, C. (1960). "Optical Rotatory Dispersion". Mc Graw-Hill, New York.

- 58.- Crabbé, P. (1965). "Optical Rotatory Dispersion and Circular Dichroism in Organic Chemistry", Holden-Day.
- 59.- Moffit, W., Woodward, R.B., Moscovitz, A., Klyne, W. y Djerassi, C., (1961), J. Am. Chem. Soc., 83, 4013.
- 60.- Murphy, W.S., (1975), J. Chem. Educ., 52, 774.
- 61.- Djerassi, C., (1961), Tetrahedron, 13, 13.
- 62.- Klyne, W. (1961), Tetrahedron, 13, 29.
- 63.- Snatzke, G. (1967) "Optical Rotatory Dispersion and Circular Dichroism in Organic Chemistry", Heyden of Son Ltd. Spectrum House, Aldertori Crescent, London, p. 208-210.
- 64.- Legrand, M., Vicent, R. y Coumartin, J., (1961), Compt. Rend., 253, 2378.
- 65.- Burnell, R.H. y Taylor, D.R. (1961), Tetrahedron, 15, 173.
- 66.- Ayer, W.A., Berezowsky, J.A. y Law, D.A. (1962), Can. J. Chem., 41, 2088.
- 67.- Ayer, W.A. y Law, D.A., (1962), Can. J. Chem., 40, 2088.
- 68.- Ayer, W.A., Iverach, G.G., Jenkins, J.K. y Masaki, N., (1968), Tetrahedron Letters, 4597.

- 69.- Przybylska, M. y Marion, L., (1957), Can. J. Chem., 35, 1075.
- 70.- Ayer, W.A., Altenkirk, B., Masaki, N. y Valverde-López, S., (1969), Can. J. Chem., 47, 2449.
- 71.- Loyola, L.A. (1974). Tesis de Licenciatura, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.
- 72.- Morales, G. (1974). Tesis de Licenciatura, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.
- 73.- Valdes, P.E. (1976). Tesis de Licenciatura, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.
- 74.- Looser, G., (1961), "Los Pteridofitos o helechos de Chile", Revista Universitaria (U.Católica de Chile), p. 213-262.
- 75.- Loev, B. y Goodman, M.M, (1967), Chem. and Ind., (London), 2026.
- 76.- Weast, R.C. y Selby, S.M. (1959), "Handbook of Chemistry and Physics", Ed. for Chemical Rubber Publishing Co, Cleveland Ohio. p. 1715.
- 77.- Ibid, (1966), Ed. 47, p. D. 79.
- 78.- Zimmerman, H.E., Singer, y Thyagarajan B.S. (1959), J. Am. Chem. Soc., 81, 108.
- 79.- Burnell, R.H. (1959), J. Chem. Soc., 81, 3091.
- 80.- Manske, R.H.F y Marion, L. (1947), J. Am. Chem. Soc., 69, 2126.

- 81.- Burnell, R.H., Mootoo, B.S. (1961), Can. J. Chem., 39, 1090.
- 82.- Connolly, J.D. (1971) en Terpenoids and Steroids. V. 1. The Chemical Society, Burlington House, Londres, p. 196-197.
- 83.- Ibid, (1972), V. 2, p. 179.
- 84.- Ibid, (1973), V.3, p. 228-229.
- 85.- Burnell, R.H. y Taylor, D.R. (1960), Chem. and Ind., (London), 1239.
- 86.- Anet, F.A.L y Khan, N.H. (1959), Can. J. Chem., 37, 1589.
- 87.- Burnell, R.H. Mootoo, B.S. y Taylor, D.R. (1960), Can. J. Chem., 38, 1927.
- 88.- Ayer, W.A. y Dikko, S. (1974), Phytochemistry, 13, 653.
- 89.- Scott, A.I. (1964), Interpretation of the Ultraviolet Spectra of Natural Products. Pergamon Press Ltd . London. p. 58.
- 90.- Ma, J.C.N. y Warnhoff, E.W. (1965), Can. J. Chem., 43, 1849.
- 91.- Bellamy, L.J. (1958) The infrared spectra of complex molecules. John Wiley and Sons, Inc., New York. p.71, 179.

- 92.- Budzikiewicz, H., Djerassi, C. y Williams, D.H. (1967). "Mass Spectrometry of Organic Compounds. Holden-Day, Inc., San Francisco. p. 313-315.
- 93.- Veith, H.J, Hesse, M. y Schmid, H. (1970). Helv. Chim. Acta. 53, 1355.
- 94.- Castillo, M., Morales, G., Loyola, L.A., Singh, I., Calvo, C., Holland, H.L. MacLean, D.B. (1975). Can. J. Chem. 53, 2513.
- 95.- Dyer, T.R. (1965), "Applications of Absorption Spectroscopy of Organic Compounds", Prentice-Hall Inc, New York, p. 114-118.
- 96.- Castillo, M., Loyola, L.A., Morales, G., Singh, I., Calvo, C., Holland, H.L. y MacLean, D.B. (1976) Can. J. Chem., 54, 2893.
- 97.- Ref. N°36, p. 54.
- 98.- Ref. N°35, p. 65.
- 99.- Christl, M., Reich, H.J. y Roberts, J.D. (1971), J. Am. Chem. Soc., 93, 3463.
- 100.- Levine, S.G., Hicks, R.E., Gotlieb, H.E. y Wenkert, E. (1975). J. Org. Chem., 40, 2540.
- 101.- Marr, D.H., Stothers, J.B. (1965). J. Org. Chem., 43, 596.
- 102.- Ref. 35. p. 79.

- 103.- Dalling, D.K. y Grant, D.M. (1967), J. Amer. Chem. Soc., 89, 6612.
- 104.- Horeau, A, (1964), Bull. Soc. Chim., 2678.
- 105.- Massey, E.H., Smith, H.E. y Gordon, A.W. (1966), J. Org. Chem, 31, 681.
- 106.- House, H.O. (1972). "Modern Synthetic Reactions".
W.A. Benjamin, Inc. Menlo Park, California p. 27-28.
- 107.- Djerassi, C., Klyne, W., Norin, T., Ohloff, G. y Klein, (1965), Tetrahedron, 21, 1631.
- 108.- Ref. 91. p. 278-280.
- 109.- Becker, E.D. (1969), "High Resolution NMR" Academic Press, INC, New York, p. 194.
- 110.- Ayer, W.A. e Iverach, G.G. (1960), Can. J. Chem., 38, 1823.
- 111.- Anet, F.A.L. y Rao, M.V. (1960), Tetrahedron Letters, 9.
- 112.- Anet, F.A.L. y Enes, C.R. (1958), Can. J. Chem., 36, 902.
- 113.- Ref. 2, p. 334.
- 114.- Ref. 2, p. 311.
-

- 115.- Budzikiewicz, H., Djerassi, C. y Williams, D.H.
(1964), "Structure Elucidation of Natural Products
by Mass Spectrometry". V. II. Holden-Day, Inc, San
Francisco. p. 71-73.
- 116.- Ref. 92, p. 141-143.