

UCH-FC
DOC-A
483
c-1

ALCALOIDES DEL GENERO LAURELIA

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 BASICAS Y
FARMACEUTICAS

por

ALEJANDRO URZUA MOLL

Enero, 1983

PATROCINANTE: Dr. Bruce K. Cassels N.

FACULTAD DE CIENCIAS
BASICAS Y FARMACEUTICAS
UNIVERSIDAD DE CHILE

INFORME DE APROBACION
TESIS DE DOCTORADO

Se informa a la Comisión de Postgrado de la Facultad de Ciencias Básicas y Farmacéuticas que la Tesis de Doctorado presentada por el Candidato

ALEJANDRO URZUA MOLL

ha sido aprobada por la Comisión Informante de Tesis como requisito de Tesis para optar al Grado de Doctor en Ciencias con mención en Química.

Patrocinante de Tesis:

Dr. Bruce Cassels

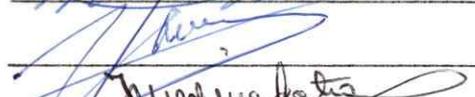


Comisión Informante de Tesis:

Dr. Mariano Castillo



Dr. Manuel Cortés



Dr. Juan Garbarino



Dr. Jorge Medina

INDICE DE MATERIAS

LISTA DE TABLAS	viii
LISTA DE FIGURAS	x
LISTA DE ESQUEMAS	xx
RESUMEN	xxi
INTRODUCCION	1
1.1.- Las monimiáceas. Descripción general. Relaciones sistemáticas.	1
1.2.- División taxonómica de la familia de las monimiáceas.	2
1.3.- Alcaloides en las monimiáceas, <u>sensu lato</u> .	6
1.4.- El género <u>Laurelia</u> , descripción general, ubicación sistemática.	8
1.5.- Objetivos del trabajo.	9
PARTE EXPERIMENTAL	12
2.1.- Generalidades	12
2.2.- Extracción y fraccionamiento de las bases de madera de <u>Laurelia sempervirens</u> .	15
2.2.1.- Procesamiento de la fracción BD de madera de <u>Laurelia sempervirens</u> .	18

2.2.2.- Separación de la fracción de alcaloides no fenólicos de madera de <u>Laurelia sempervirens</u> (BNFMLs).	21
2.3.- Extracción y Fraccionamiento de las bases de corteza de <u>Laurelia philippiana</u> .	35
2.3.1.- Procesamiento de la fracción de bases débiles de corteza de <u>Laurelia philippiana</u> (BDCLp)	35
2.3.2.- Separación de la fracción de alcaloides no fenólicos de corteza de <u>Laurelia philippiana</u> (BNFCLp)	37
2.4.- Obtención y separación de la fracción de bases débiles de corteza <u>Laurelia novae-zeladae</u> (BNDCLn)	48
2.5.- Extracción y fraccionamiento de las bases de corteza de <u>Laurelia sempervirens</u> .	53
2.5.1.- Procesamiento de la fracción de bases débiles de corteza de <u>Laurelia sempervirens</u> (BDCLs)	53
2.5.2.- Separación de la fracción de alcaloides no fenólicos de corteza de <u>Laurelia sempervirens</u> (BNFCLs)	56

2.5.3.- Separación de la fracción de alcaloides fenólicos de corteza de <u>Laurelia</u> <u>semper-</u> <u>virens</u> (BFCLs).	57
2.6.- Identificación	60
2.6.1.- <u>BDCLs-1</u> . Liriodenina	60
2.6.2.- <u>BDMLs-2</u> . Oxonantenina.	60
2.6.3.- <u>Acetil-BNFMLs-3</u> . (<u>S</u>) (+)-Acetilnornantenina	61
2.6.4.- <u>Acetil-BNFCLp-4</u> . (<u>R</u>) (-)-Acetilanonaína	62
2.6.5.- <u>Acetil-BNMLs-5</u> . (<u>R</u>) (-)-Acetilnornuciferina	63
2.6.6.- <u>BNFMLs-6</u> . (<u>R</u>) (-)-Michelalbina	64
2.6.7.- <u>Acetil-BNFMLs-7</u> . (<u>R</u>) (-)-Acetilestefarina	65
2.6.8.- <u>Acetil-BNFCLp-8</u> . (<u>S</u>) (+)- <u>O</u> , <u>N</u> -Diacetilnor- coridina	66
2.6.9.- <u>BNFCLp-9</u> = . (4 <u>R</u> , 6a <u>S</u>)-4-hidroxinornantenina	67
2.6.10.- <u>BNFCLp-10</u> . (4 <u>R</u> , 6a <u>R</u>)-4-hidroxianonaína con- taminada con <u>BNFCLp-9</u> .	68
2.6.11.- <u>BFCLp-11</u> . (<u>R</u>) (-)-Asimilobina	69
2.6.12.-Perclorato de <u>BFCLp-12</u> . Perclorato de (<u>S</u>) (+)-reticulina	70
2.6.13.- <u>BFCLs-13</u> (<u>S</u>) (+)-Laurotetanina	70
2.6.14.- <u>BFCLs-14</u> . Aterolina	71
2.6.15.- <u>BDCLn-15</u> . Oxolaurelina	73
2.6.16.- <u>BDCLn-16</u> . Oxoputerina	74
2.6.17.- <u>BNFCLs-17</u> . Mezcla de bisbencilisoquinolinas	74

2.6.18.- <u>BNFCLs-18</u> . Mezcla de bisbencilisoquinolinas.	75
2.6.19.- <u>BDCLs-19</u> . (<u>E</u>)-3-(3,4-metilendioxfenil)-2-propen-1-ol.	75
2.6.20.- <u>BDCLn-20</u> . (<u>R</u>) (-)-Pukateína	76
2.6.21.- <u>BDCLn-21</u> . (<u>R</u>) (-)-Laurelina	76
2.6.22.- <u>BDCLn-22</u> . (<u>R</u>) (-)-Romneína	77
DISCUSION Y CONCLUSIONES	78
3.1.- Determinación de estructuras de Alcaloides Oxoaporfínicos	78
3.1.1.- Generalidades espectroscópicas	78
3.1.2.- Liriodenina	81
3.1.3.- Oxonantenina	83
3.1.4.- Aterolina	87
3.1.5.- Oxolaurelina	91
3.1.6.- Oxoputerina	100
3.2.- Determinación de estructuras de Alcaloides Aporfínicos	103
3.2.1.- Generalidades espectroscópicas	103
3.2.2.- (<u>S</u>) (+)- <u>N</u> -Acetilmornantenina	109
3.2.3.- (<u>R</u>) (-)- <u>N</u> - Acetilanonaína	113
3.2.4.- (<u>R</u>) (-)- <u>N</u> -Acetilmornuciferina	115
3.2.5.- (<u>S</u>) (+)- <u>N</u> -Acetillaurotetanina	120
3.2.6.- (<u>R</u>) (-)- <u>O</u> , <u>N</u> -Diacetilasimilobina	121

3.2.7.- (S) (+)- <u>O</u> , <u>N</u> -Diacetilnorcoridina	125
3.2.8.- (R) (-)-Pukateína	131
3.2.9.- (R) (-)-Laurelina	133
3.2.10.- (6a <u>S</u>) (7 <u>R</u>)-Michelalbina	136
3.2.11.- (4 <u>R</u> , 6a <u>S</u>)-4-Hidroxinornantenina	139
3.2.12.- (4 <u>R</u> , 6a <u>R</u>)-4-Hidroxianonaína	147
3.3.- Alcaloides bencilisoquinolínicos	150
3.3.1.- (S) (+)-Reticulina	150
3.3.2.- (R) (-)-Romneína	151
3.4.- Alcaloides proaporfínicos	156
3.4.1.- (R) (-)- <u>N</u> -Acetilestefarina	156
3.5.- Fenilpropano	160
3.5.1.- (E)-3-(3,4-Metilendioxifenil)-2-propen- -1-ol.	160
3.6.- Bisbencilisoquinolinas	162
3.7.- Resumen de los compuestos aislados en este tra- bajo del género <u>Laurelia</u>	168
3.8.- Relaciones biogenéticas entre los alcaloides de <u>L. philippiana</u> , <u>L. sempervirens</u> y <u>L. novae</u> <u>zelandiae</u> .	169
3.9.- Conclusión sobre la afinidad química entre las especies del género <u>Laurelia</u> y relación quími- ca de las aterospermatáceas con las monimiáce- as y otras familias.	184

BIBLIOGRAFIA

189

APENDICE

205

LISTA DE TABLAS

tabla 1-1.	Especies de la familia de las monimiáceas estudiadas al margen de este trabajo, indicando los tipos de alcaloides encontrados.	7
tabla 2-1.	Fracciones obtenidas de la separación del residuo de aguas madres de <u>BDMLs-1</u> .	21
tabla 2-2.	Fracciones obtenidas de la separación de <u>aguas madres de BNFMLs extraídas a pH 6,0 acetiladas.</u>	26
tabla 2-3.	Fracciones obtenidas de la separación de <u>aguas madres de BNFMLs extraídas con ácido cítrico 0,1 M, acetiladas.</u>	30
tabla 2-4.	Fracciones obtenidas de la separación del residuo de las aguas madres de <u>BDCLp-1.</u>	36
tabla 2-5.	Fracciones obtenidas de la separación del <u>residuo de las aguas madres de Ac-BNFCLp-3.</u>	39
tabla 2-6.	Fracciones obtenidas de la separación de <u>BFCLp-ext pH 4,0.</u>	42
tabla 2-7.	Fracciones obtenidas de la separación de <u>BFCLp-ext pH 6,6.</u>	46

tabla 2-8.	Fracciones obtenidas de la separación de 16-21.	47
tabla 2-9.	Fracciones obtenidas de la separación del residuo de aguas madres reextraídas de <u>BDCLn.</u>	52
tabla 2-10.	Fracciones obtenidas de la separación del residuo de aguas madres de <u>BDCLn-2.</u>	55
tabla 2-11.	Fracciones obtenidas de la separación de <u>BFCLs.</u>	56
tabla 2-12.	Fracciones obtenidas de la separación de <u>BFCLs.</u>	58
tabla 3-1.	Especies de la familia de las monimiáceas estudiadas incluyendo los resultados de este trabajo. Se indican los tipos de alcaloides aislados y los alcaloides aporfínicos se dividen según su ruta biogénica.	188

LISTA DE FIGURAS

1-1.-	Resumen de la División de la Familia de las Monimiáceas según Pax ⁹ .	3
1-2.-	Resumen de la División de la Familia de las Monimiáceas según Money et al. ²	4
1-3.-	Resumen de la división de la familia de las Aterospermatáceas según Schodde ¹² .	5
2-1.-	Control cromatográfico de <u>PP1-6</u> , <u>PP2-6</u> y <u>aguas madres de la mezcla de BNFMLS-extraídas a pH 6.0 acetiladas.</u>	25
2-2.-	Control cromatográfico de <u>B5-6</u> y <u>B6-6</u> .	27
2-3.-	Control cromatográfico de <u>Acetil-BNFMLS-3 PP2-cítrico 0,1 M</u> y aguas madres de acetilación de <u>BNFMLS-extraídas ác.-cítrico 0.1 M.</u>	31
2-4.-	Control cromatográfico del residuo de aguas madres de obtención de <u>PP1-4</u> .	34
2-5.-	Cromatograma de <u>BNFCLp-ext. pH 6.0</u> , <u>BNFCLp-ext. pH 4.0</u> y <u>BNFCLp-no ext.</u>	41
2-6.-	Cromatograma de <u>BFCLp-ext pH 6.6</u> y <u>BFCLp-no ext. pH 6.6.</u>	45

2-7.-	Cromatograma del residuo de aguas madres de obtención de <u>BDCLn-20</u> .	52
3-1.-	Valores de resonancia de los hidrógenos del grupo metilendioxi ubicado en C-1 y C-2; espectros de RMN de ^1H registrados en CDCl_3 .	80
3-2.-	Espectro de IR de <u>BDCLs-1</u> . Liriodenina.	82
3-3.-	Espectro de UV de <u>BDCLs-1</u> . Liriodenina.	82
3-4.-	Espectro de RMN de ^1H (60 MHz) de <u>BDCLs-1</u> . Liriodenina.	82
3-5.-	Espectro de IR de Liriodenina patrón.	82
3-6.-	Espectro de IR de <u>BDMLs-2</u> . Oxonantenina.	85
3-7.-	Espectro de RMN de ^1H (90 MHz) de <u>BDMLs-2</u> . Oxonantenina.	85
3-8.-	Espectro de masas de <u>BDMLs-2</u> . Oxonantenina.	85
3-9.-	Esquema de fragmentación de <u>BDMLs-2</u> . Oxonantenina.	86
3-10.-	Espectro de IR de <u>BFCLs-14</u> . Aterolina	89
3-11.-	Espectro de RMN de ^1H (60 MHz) de <u>BFCLs-14</u> . Aterolina.	89
3-12.-	Espectro de masas de <u>BFCLs-14</u> . Aterolina.	89
3-13.-	Esquema de fragmentación de <u>BFCLs-14</u> . Aterolina.	90

3-14.-	Espectro de IR de <u>Ac-BFCLs-14</u> . Acetil- aterolina.	89
3-15.-	Espectro de IR de Acetilaterolina patrón.	89
3-16.-	Espectro de IR de <u>BDCLn-15</u> . Oxolaurelina.	94
3-17.-	Espectro de RMN de ^1H (90 MHz) de <u>BDCLn-15</u> . Oxolaurelina.	94
3-18.-	Espectro de IR de Lanuginosina patrón.	94
3-19.-	Espectro de masas de <u>BDCLn-15</u> . Oxolaurelina	94
3-20.-	Esquema de fragmentación de <u>BDCLn-15</u> . Oxolau- relina.	97
3-21.-	Espectro de RMN de ^1H (90 MHz) registrado en CDCl_3 , de <u>BDCLn-15</u> . Oxolaurelina.	95
3-22.-	Esquema de fragmentación de lanuginosina (3-5)	98
3-23.-	Esquema de fragmentación de oxoestefanina.	99
3-24.-	Esquema de fragmentación de oxoputerina.	100
3-25.-	Espectro de IR de <u>BDCLn-16</u> . Oxoputerina.	102
3-26.-	Espectros de RMN de ^1H (60 y 400 MHz) de <u>BDCLn-16</u> . Oxoputerina.	102
3-27.-	Espectro de masas de <u>BDCLn-16</u> . Oxoputerina.	102
3-28.-	Espectro de IR de Oxoputerina patrón.	102
3-29.-	Esquema de fragmentación de alcaloides apor- fínicos.	107

3-30.-	Esquema de fragmentación de noraporfinas <u>N</u> -acetiladas.	108
3-31.-	Espectro de IR de <u>Acetil-BNFMLs-3</u> . (S)(+) -N-Acetil nornantenina.	111
3-32.-	Espectro de RMN de ^1H (90 MHz) de <u>Ac-</u> <u>BNFMLs-3</u> . (S)(+)-N-Acetilnornantenina.	111
3-33.-	Espectro de masas de <u>Ac-BNFMLs-3</u> . (S)(+)- N-Acetil nornantenina.	111
3-34.-	Esquema de fraccionamiento de <u>Ac-BNFMLs-3</u> . Acetilnornantenina.	112
3-35.-	Espectro de IR de Acetilnornantenina patrón.	111
3-36.-	Espectro de IR de <u>Ac-BNFCLp-4</u> . Acetilanona- ína.	114
3-37.-	Espectro de RMN de ^1H (90 MHz) de <u>Ac-BNFCLp-4</u> Acetilanonaína.	114
3-38.-	Espectro de masas de <u>Ac-BNFCLp-4</u> . Acetilano- naína.	114
3-39.-	Esquema de fraccionamiento de <u>Ac-BNFCLp-4</u> . Acetilanonaína.	116
3-40.-	Espectro de IR de Acetilanonaína patrón.	114
3-41.-	Espectro de IR de <u>Ac-BNFMLs-5</u> . Acetilnornu- ciferina.	118
3-42.-	Espectro de RMN de ^1H (80 MHz) de <u>Ac-BNFMLs-</u> 5. Acetilnornuciferina.	118

3-43.-	Espectro de masas de <u>Ac-BNFMLs-5</u> . Acetilnornuciferina.	118
3-44.-	Esquema de fraccionamiento de <u>Ac-BNFMLs-5</u> . Acetilnornuciferina.	119
3-45.-	Espectro de IR de Acetilnornuciferina pa- trón.	118
3-46.-	Espectro de RMN de ^1H (60 MHz) de <u>BFCLs-13</u> . Laurotetanina.	122
3-47.-	Espectro de IR de <u>Ac-BFCLs-13</u> . Acetillauro- tetanina.	122
3-48.-	Espectro de RMN de ^1H (60 MHz) de Ac- <u>BFCLs-13</u> . Acetillaurotetanina.	122
3-49.-	Espectro de masas de <u>Ac-BFCLs-13</u> . Acetil- laurotetanina.	122
3-50.-	Esquema de fraccionamiento de <u>Ac-BFCLs-13</u> . Acetillaurotetanina.	123
3-51.-	Espectro de IR de Acetillaurotetanina pa- trón.	122
3-52.-	Espectro de RMN de ^1H (60 MHz) de <u>BFCLp-11</u> . Asimilobina.	126
3-53.-	Espectro de IR de <u>Ac-BFCLp-11</u> . Acetilasimi- lobina.	126
3-54.-	Espectro de RMN de ^1H (60 MHz) de <u>Ac-BFCLp-</u> <u>11</u> . Acetilasimilobina.	126

3-55.-	Espectro de masas de <u>Ac-BFCLp-11</u> . Acetil- asimilobina.	126
3-56.-	Esquema de fraccionamiento de <u>Ac-BFCLp-11</u> . Diacetilasimilobina.	127
3-57.-	Espectro de IR de Acetilasimilobina patrón.	126
3-58.-	Espectro de IR de <u>Ac-BNFCLp-8</u> . <u>O</u> , <u>N</u> -diacetil- norcoridina.	129
3-59.-	Espectro de RMN de ^1H de <u>Ac-BNFCLp-8</u> <u>O</u> , <u>N</u> - diacetilnorcoridina.	129
3-60.-	Espectro de masas de <u>Ac-BNFCLp-8</u> . <u>O</u> , <u>N</u> -Diace- tilnorcoridina.	129
3-61.-	Esquema de fraccionamiento de <u>Ac-BNFCLp-8</u> . Diacetilnorcoridina.	130
3-62.-	Espectro de RMN de ^1H de <u>BDCLn-20</u> . Pukateína.	132
3-63.-	Espectro de IR de <u>BDCLn-20</u> . Pukateína.	132
3-64.-	Espectro de IR de pukateína patrón.	132
3-65.-	Espectro de RMN de ^1H (60 MHz) de <u>BDCLn-21</u> . Laurelina.	135
3-66.-	Espectro de RMN de ^1H de <u>BNFMLS-6</u> . Michelal- bina.	138
3-67.-	Espectro de IR de <u>Ac-BNFMLS-6</u> . <u>O</u> , <u>N</u> -diace- tilmichelalbina.	138
3-68.-	Espectro de RMN de ^1H de <u>Ac-BNFMLS-6</u> . <u>O</u> , <u>N</u> - diacetilmichelalbina.	138

3-69.-	Espectro de masas de <u>Ac-BNFMLs-6</u> . <u>O,N</u> - diacetilmichelalbina.	138
3-70.-	Espectro de IR de <u>O,N</u> -diacetilmichelal- bina patrón.	138
3-71.-	Espectro de RMN de ^1H (60 MHz) de <u>BNFCLp-9</u> . (<u>4R</u> , <u>6a S</u>)-4-hidroxinornantenina.	142
3-72.-	Espectro de IR de <u>Ac-BNFCLp-9</u> . Acetil-(<u>4R</u> <u>6aS</u>)-4-hidroxinornantenina.	142
3-73.-	Espectro de RMN de ^1H de <u>Ac-BNFCLp-9</u> . Acetil (<u>4R</u> , <u>6aS</u>)-4-hidroxinornantenina.	142
3-74.-	Espectro de RMN de ^1H de <u>Ac-BNFCLp-9</u> . Ace- til-(<u>4R</u> , <u>6aS</u>)-4-hidroxinornantenina.	142
3-75.-	Esquema de fraccionamiento de <u>Ac-BNFCLp-9</u> .	141
3-76.-	Datos de RMN de ^1H de 4-hidroxiaporfinas con relación <u>cis</u> entre H-4 y H-6a.	145
3-77.-	Datos de RMN de ^1H de 4-hidroxiaporfinas con relación <u>trans</u> entre H-4 y H-6a.	146
3-78.-	Espectro de RMN de ^1H (60 MHz) de <u>BNFCLp-10</u> . (<u>4R</u> , <u>6a R</u>)-4-Hidroxianonaína.	148
3-79.-	Espectro de RMN de ^1H (60 MHz) de 16-21.	152
3-80.-	Espectro de RMN de ^1H (60 MHz) de 27'-50'	152
3-81.-	Conformaciones de la (+)-reticulina.	151
3-82.-	Espectro de IR de Perclorato de <u>BFLp-12</u> . Perclorato de reticulina.	152

3-83.-	Espectro de IR de Perclorato de reticulina patrón.	152
3-84.-	Espectro de RMN de ^1H (60 MHz) de <u>BDCLn-20</u> (<u>R</u>) (-)-romneína.	154
3-85.-	Espectro de RMN de ^1H de (S) (+)-romneína patrón.	154
3-86.-	Espectro de IR de bromhidrato de <u>BDCLn-20</u> . Bromhidrato de (<u>R</u>) (-)-romneína.	154
3-87.-	Espectro de IR de <u>Ac-BNFMLS-7</u> . (<u>R</u>) (-)-Acetilestefarina.	159
3-88.-	Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) de <u>Ac-BNFMLS-7</u> . Acetilestefarina.	159
3-89.-	Espectro de masas de <u>Ac-BNFMLS-7</u> . Acetilestefarina.	159
3-90.-	Esquema de fraccionamiento de <u>Ac-BNFMLS-7</u> . Acetilestefarina.	158
3-91.-	Espectro de RMN de ^1H (100 MHz) de <u>BDCLs-19</u> .	161
3-92.-	Espectro de IR de <u>BDCLs-19</u> . (<u>E</u>)-3-(3,4-Metilendioxi-fenil)-2-propen-1-ol.	161
3-93.-	Espectro de IR de (<u>E</u>)-3-(3,4-Metilendioxi-fenil)-2-propen-1-ol.	161
3-94.-	Espectro de RMN de ^1H (60 MHz) de <u>BDCLs-17</u> .	163
3-95.-	Espectro de masas de <u>BDCLs-17</u> .	163

3-96.-	Esquema de fraccionamiento de alcaloides bisbencilisoquinolínicos con unión cabeza-cabeza/cola-cola.	166
3-97.-	Espectro de RMN de ^1H (60 MHz) de <u>BDCLs-18</u> .	165
3-98.-	Espectro de masas de <u>BDCLs-18</u> .	165
3-99.-	Ruta biogenética vía (R)-desmetilcolaurina de alcaloides de <u>L. philippiana</u> .	170
3-100.-	Ruta biogenética vía (S)-norlaudanosolina de alcaloides de <u>L. philippiana</u> .	171
3-101.-	Ruta biogenética vía (R)-desmetilcocclaurina de alcaloides de <u>L. sempervirens</u> .	173
3-102.-	Ruta biogenética vía (S)-norlaudanosolina de alcaloides de <u>L. sempervirens</u> .	174
3-103.-	Ruta biogenética de alcaloides bisbencilisoquinolínicos en <u>L. sempervirens</u> .	176
3-104.-	Ruta biogenética vía (R)-desmetilcocclaurina de alcaloides de <u>L. novae-zelandiae</u> .	177
3-105.-	Ruta biogenética vía (S)-norlaudanosolina de alcaloides de <u>L. novae-zelandiae</u> .	178
3-106.-	Ruta biogenética de (R)-aporfina sin sustitución y con sustitución en C-10 en el anillo D.	179
3-107.-	Rutas biogenéticas de (S)-aporfina.	180

- 3-108.- Ruta biogenética vía (R)-norlaudanosolina 181
de alcaloides de L. novae-zelandiae.
- 3-109.- Interconversión de (R) y (S)-norreticulina. 182

LISTA DE ESQUEMAS

- esquema 2-1.- Extracción y Fraccionamiento de las bases de madera de Laurelia sempervirens. 16
- esquema 2-2.- Fraccionamiento de bases débiles de madera de Laurelia sempervirens. 19
- esquema 2-3.- Fraccionamiento de bases no fenólicas de madera de Laurelia sempervirens. 23
- esquema 2-4.- Procesamiento de la fracción de bases débiles de corteza de Laurelia novaezelandiae. 50

RESUMEN

En este trabajo se demostró que la corteza de tronco de Laurelia sempervirens contiene el fenil propano (E)-3-(3,4-metilen dioxifenil)-2-propen-1-ol (aislado por primera vez como producto natural) una elevada proporción de bisbencilisoquinolinas que no fueron identificadas y los aporfinoides: liriodenina, oxonantenina, aterolina, nornantenina y laurotetanina.

La corteza de tronco de Laurelia philippiana contiene los aporfinoides liriodenina, oxonantenina, aterolina, nornantenina, laurotetanina, anonaína, asimilobina, norcorridina, 4-hidroxinornantenina (compuesto nuevo para la ciencia), 4-hidroxianonaína (compuesto nuevo para la ciencia) y la 1-bencilisoquinolina reticulina.

Ya que la presencia de oxoporfinas en las dos especies chilenas parecía constituir una diferencia con Laurelia novae-zelandiae, fue reexaminada la corteza de ésta encontrando además de pukateína y laurelina, alcaloides ya conocidos en esa especie, los aporfinoides liriodenina, oxolaurelina (aislado por primera vez como producto natural), oxoputerina y la 1-benciltetrahidroisoquinolina

(-)-romneína (aislado por primera vez como producto natural). Ni Laurelia philippiana ni L. novae-zelandiae contienen bisbencilisoquinolinas en proporciones reconocibles con los métodos utilizados.

También se efectuó un análisis de madera de Laurelia sempervirens demostrándose en ésta la presencia de los aporfinoides liriodenina, oxonantenina, nornantenina, anonaína, nornuciferina, michelalbina y de la proaporfina estefarina.

Del análisis de los caminos biogénéticos que conducen a los alcaloides presentes en el género Laurelia, se concluye que las tres especies se diferencian desde el punto de vista de los alcaloides.

Un análisis por otro lado de todos los datos conocidos en este momento del contenido de alcaloides de la familia aterospermatáceas, ésta puede dividirse en dos grupos: uno donde se encuentran las aporfinas y metabolitos más elaborados de estas bases y otro coincidente con el género Daphnandra donde estos alcaloides no se encuentran y parecen haber sido totalmente reemplazados por bisbencilisoquinolinas. En este contexto la química de estas especies no avala la clasificación planteada para las aterospermatáceas.

ALKALOIDS FROM THE LAURELIA GENUS. . . .

AN ABSTRACT

of a dissertation submitted to the Faculty of
Basic and Pharmaceutical Sciences
of the University of Chile
in partial fulfillment of the requirements for
the degree of Doctor en Ciencias con Mención
en Química.

by

ALEJANDRO URZUA MOLL

Dissertation Supervisor: Professor Bruce K. Cassels

ABSTRACT

It is shown that the bark of the trunk of Laurelia sempervirens contains the phenylpropane, (E)-3-(3,4-metilendioxyphenyl)-2-propen-1-ol (isolated for the first time as natural product), a high ratio of non-identified bisbenzylisoquinolines and the aporphinoids: liriodenine, oxonantenine, atheroline, nornantenine and laurotetanine.

From the bark of the trunk of Laurelia philippiana the aporphinoids, liriodenine, oxonantenine, atheroline, nornantenine, laurotetanine, anonaine, asimilobine, norcorydine, 4-hydroxynornantenine (new compound), 4-hydroxyanonaine (new compound), and the 1-benzylisoquinoline reticuline, were isolated.

A study of the bark of Laurelia novae-zelandiae was conducted in order to search for oxoaporphines. Besides pukateine and laureline, already isolated in this species, liriodenine, oxolaureline (isolated as the first time as natural product), oxoputerine and the 1-benzyl-tetrahydroisoquinoline, (-)-romneine (isolated for the first time as natural product) were obtained.

Bisbenzylisoquinolines were not found in L. philippiana and L. novae-zelandiae.

The aporphinoids liriodenine, oxonantenine, nornantenine, anonaine, nornuciferine, michelalbine and the proapophine stepharine were found in the extract of the wood of L. sem-pervirens.

The three species of the genera Laurelia differ in their alkaloid contents.

According to the alkaloid presence the family atherospermataceae is divided into two groups, the first one with the species that contain aporphines and more elaborated bases from them, and the genera Daphnandra in which the aporphinoids seem to be replaced by bisbenzylisoquinolines.

The results obtained in this work dissent with the division of the atherospermataceae.

INTRODUCCION

1.1.- Las Monimiáceas. Descripción General. Relaciones Sistemáticas

Las monimiáceas, sensu lato (en sentido amplio), constituyen una familia de plantas casi exclusivamente tropicales y subtropicales, de árboles, arbustos y lianas que tiene su mayor desarrollo en el hemisferio Sur¹. La familia está formada por unos 35 géneros con aproximadamente 460 especies^{1,2}.

Cronquist³ ubica las monimiáceas en el orden Magnoliales, formando un grupo con las amboreláceas, trimeniáceas, lauráceas, gomortegáceas y hernandiáceas. Otros autores, reconociendo afinidades similares, las ubican en los órdenes Annonales⁴ o Laurales^{5,6}, que comparten muchas familias entre si y con las Magnoliales de Cronquist.

En general es posible considerar que las monimiáceas, sensu lato, constituyen una familia de plantas heterogéneas ya que se combinan en ella géneros con caracteres primitivos y avanzados.

Es así que estudios de anatomía de madera han sugerido que las subfamilias Hortonioideae y Monimioideae Money

et al.², forman un grupo con las hernandiáceas, mientras que las subfamilias Siparunoideae y Atherospermoideae Mooney et al.², forman un grupo con las girocarpáceas, lauráceas y gomortegáceas⁷.

Estudios del número de cromosomas, sin embargo, parecen contradecir esto⁸, puesto que indican mayor homogeneidad en la familia.

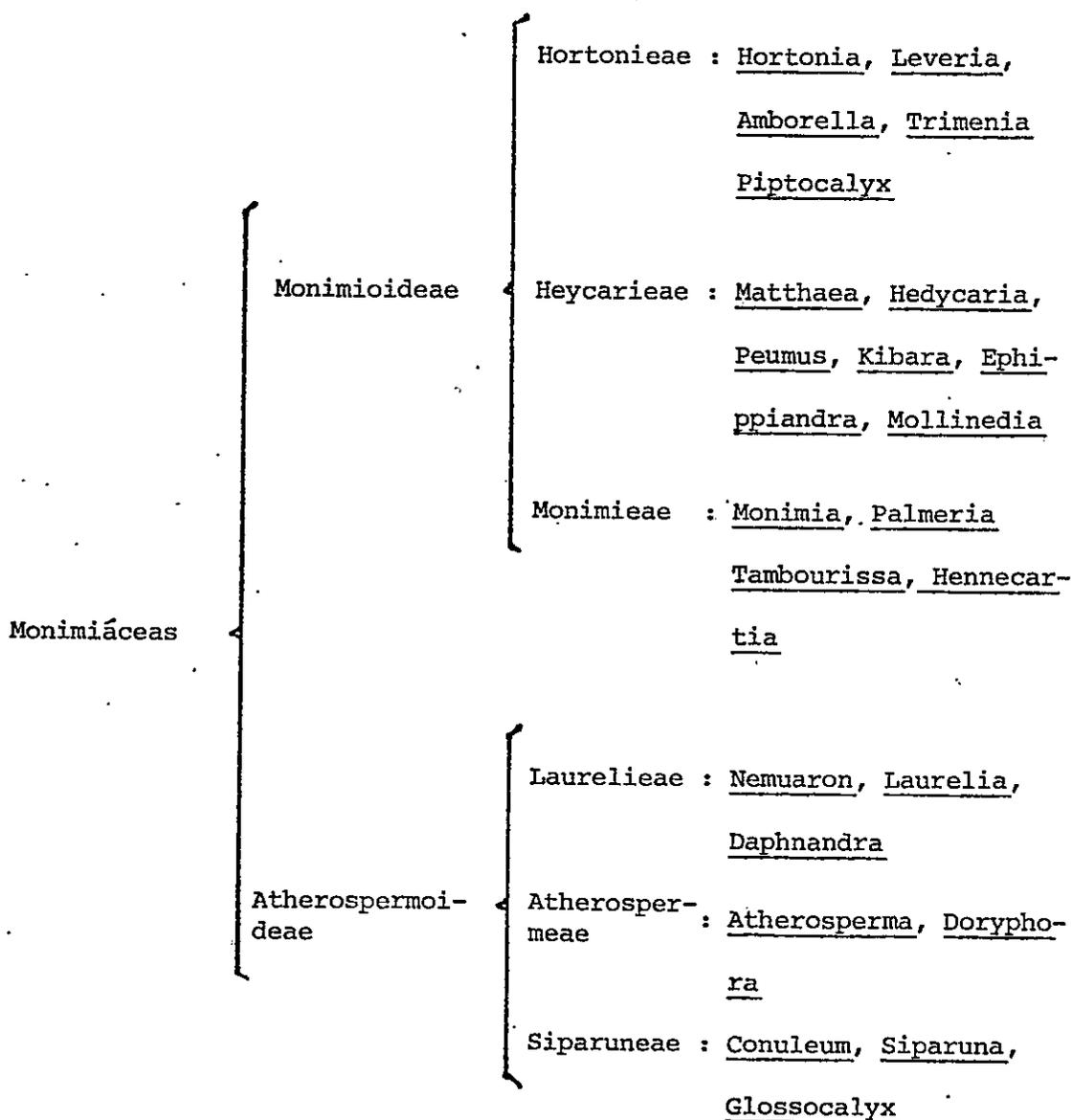
Es claro, sin embargo, que las relaciones de las monimiáceas con otras familias no pueden ser establecidas solamente por la evidencia de la estructura de la madera y por estudios citológicos, que deben ser considerados con juntamente con los caracteres que determinaron las ubicaciones sistemáticas propuestas para la familia en las monografías clásicas⁹.

A estos caracteres principalmente morfológicos deben sumarse además los conocimientos acerca de la química de estas familias, que deberían contribuir a la "naturalidad" de los sistemas de clasificación a los cuales se pueda llegar.

1.2.- División taxonómica de la familia de las monimiáceas

La familia de las monimiáceas, sensu lato, fue originalmente dividida por Pax⁹ en dos subfamilias: Monimioideae y Atherospermoideae. La subfamilia Monimioideae se

subdividió en tres tribus: *Hortonieae*, *Hedycarieae* y *Monimieae*. La subfamilia *Atherospermoideae* se subdividió en tres tribus: *Laurelieae*, *Atherospermeae* y *Siparuneae* (fig. 1-1).



Resumen de la División de la Familia de las Monimiáceas según Pax⁹.

figura 1-1

La familia ha sido dividida más recientemente por Money et al.² en cuatro subfamilias: Hortonioideae, Atherospermoideae, Monimioideae y Siparunoideae (fig. 1-2).

Monimiáceas

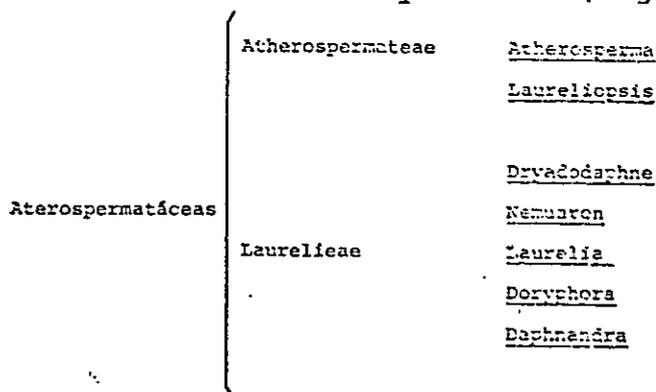
- Hortonioideae : Hortonia
- Atherospermoideae : Nemuaron, Daphnandra,
Dryadodaphne, Doryphora,
Laurelia, Atherosperma.
- Monimioideae : Hedycarya, Leveria, Decarydendron, Kibaropsis,
Xymalos, Macropeplus, Mollinedia, Macrotorus,
Matthaea, Ehippiandra,
Stegantthera, Anthobenbix
Tetrasynandra, Wilkia,
Kibara, Carnegieodoxa,
Lauterbachia, Hedycarip-
sis, Palmeria, Canaea,
Tambourissa, Monimia, Peu-
mua, Hennecartia, Schra-
meckia.
- Siparunoideae : Siparuna, Bracteanthus,
Glossocalyx

Resumen de la División de la Familia de las Monimiáceas
según Money et al.²

figura 1-2

Si bien en esta última división aparecen separados de las monimiáceas los géneros Trimenia y Piptocalyx en la nueva familia trimeniáceas, y también se elevan por separado al nivel de familia los géneros Amborella y Austrobaileya, es aceptado que la familia es todavía heterogénea y otros autores han indicado que las subfamilias Atherospermoideae y Siparunoideae pueden elevarse al rango de familia¹⁰. En este contexto Schodde¹¹, ha sostenido que las diferencias entre las familias propuestas por él (aterospermatáceas y siparunáceas) y el resto de la familia de las monimiáceas son equivalentes en importancia a las diferencias que tienen otras familias del orden Laurales.

La familia de las atherospermatáceas creada por Schodde¹² (fig. 1-3) coincide con la suma de las tribus Laurelieae y Atherospermeae en el sistema de clasificación de Pax⁹ (fig. 1-1) y con la subfamilia Atherospermoideae del sistema de clasificación de Money et al.² (fig. 1-2).



Resumen de la División de la Familia de las Atherospermatáceas según Schodde¹².

1.3.- Alcaloides en las monimiáceas, sensu lato

A pesar del número elevado de especies que forman la familia de las monimiáceas, sensu lato, sólo muy pocas han sido estudiadas químicamente, centrándose estos estudios en los alcaloides.

Sin excepción los alcaloides encontrados corresponden al grupo de las isoquinolinas. Se han aislado bases de los siguientes tipos estructurales: 1-bencil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolinas, aporfinas, proaporfinas, oxoaporfinas, 1-(dimetilaminoetil)-fenantrenos, morfinandienonas, bisbencilisoquinolinas, isoquinolonas, isoquinolinas simples y aristolactamas.

En la tabla 1-1 se resumen las plantas estudiadas, al margen de este trabajo, indicando los tipos de alcaloide encontrados.

PLANTA ESTUDIADA	TIPO DE ALCALOIDE AISLADO										REFERENCIAS
	Isoquinolinas simples	Isoquinolonas	1-bencil-1,2,3,4-tetra- hidroisoquinolinas	proaporfinas	aporfinas	oxoaporfinas	fenantrenos	morfinandienonas	bisbencilisoquinolinas	aristolactamas	
<u>Atherosperma moschatum</u>					*	*	*		*		13-19
<u>Laurelia sempervirens</u>									*		20
<u>Laurelia novae-zelandiae</u>				*	*						29-24
<u>Doryphora sassafras</u>	*	*	*		*	*				*	25-26
<u>Doryphora aromática</u>					*				*		27-29
<u>Dryadodaphne novoguineen- siis</u>					*	*			*		30
<u>Nemuaron vieillardii</u>					*	*		*	*	*	31-32
<u>Daphnandra repandula</u>									*		33-36
<u>Daphnandra micrantha</u>									*		37-39
<u>Daphnandra tenuipes</u>									*		38
<u>Daphnandra dielsii</u>									*		38
<u>Daphnandra sp</u>									*		40
<u>Daphnandra sp</u>									*		41
<u>Daphnandra johnsonii</u>									*		42
<u>Siparuna guianensis</u>						*					43
<u>Peumus boldus</u>			*	*	*			*			44-47
<u>Palmeria spp</u>					*						48
<u>Monimia rotundifolia</u>					*						49

Especies de la Familia de las Monimiáceas estudiadas al margen de este trabajo, indicando los tipos de alcaloides encontrados

tabla 1-1

De la observación de la tabla 1-1 resulta claro que casi todas las especies estudiadas químicamente pertenecen a la subfamilia Atherospermoideae Money et al.² (familia atherospermatáceas Schodde¹²), siendo las únicas excepciones Siparuna guianensis, Peumus boldus, tres especies del género Palmeria y Monimia rotundifolia

1.4.- El género Laurelia, Descripción general, ubicación sistemática

El género Laurelia está constituido por 3 especies: Laurelia sempervirens (R. et P) Tul., Laurelia philippiana Looser y Laurelia novae-zelandiae A.Cunn. Las dos primeras especies son endémicas de la zona Sur de Chile y Argentina⁵⁰ y la Laurelia novae-zelandiae A. Cunn. crece en los bosques de Nueva Zelandia.

Los dos sistemas de clasificación de las monimiáceas ampliamente aceptados^{2,9} son coincidentes en lo relativo a las relaciones entre el género Laurelia y los otros géneros cercanos, señalando el sistema de Pax⁹ una mayor afinidad entre éste y Nemuaron y Daphnandra.

Recientemente Schodde¹², junto con elevar al rango de familia las Atherospermoideae sensu Money et al.², propuso la segregación del género Laureliopsis, con la única especie Laureliopsis philippiana, del género Laurelia en.

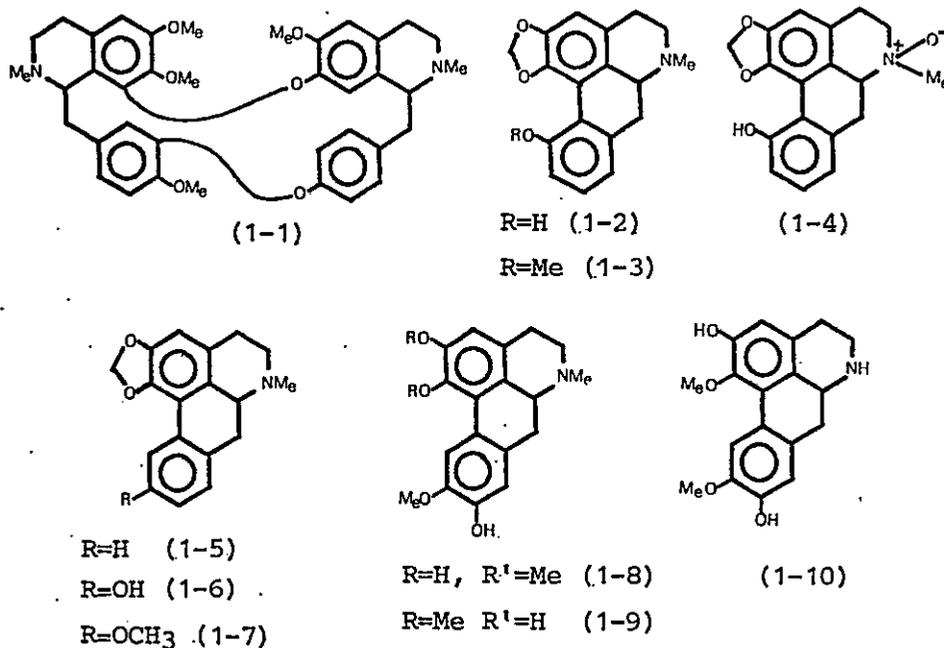
el cual permanecen las especies Laurelia sempervirens y Laurelia novae-zelandiae.

Además el nuevo género Laureliopsis, quedó en este sistema junto al género monotípico Atherosperma en la tribu Atherospermatae, indicando una mayor afinidad con esta planta que con Laurelia sempervirens y Laurelia novae-zelandiae.

1.5.- Objetivos del Trabajo

Antes de iniciarse este trabajo se había publicado datos sobre los alcaloides de dos de las especies del género Laurelia. De hojas de Laurelia sempervirens se aisló una mezcla de a lo menos tres alcaloides y se identificó solamente uno de ellos como la bisbencilisoquinolina isotetrandrina (1-1)²⁰.

De extractos comerciales de Laurelia novae-zelandiae se han aislado e identificado los aporfinoides: pukateína (1-2), metil éter de pukateína (1-3), laurepuquina (1-4), roemerina (1-5), mecambrolina (1-6), laurelina (1-7), boldina (1-8), isoboldina (1-9) y laurolitsina (1-10)²¹⁻²⁴.



Un examen fitoquímico de Laurelia philippiana y un análisis más completo de Laurelia sempervirens, orientado principalmente al estudio de los alcaloides, fue el objetivo inicial de este trabajo, que se esperaba que condujera al hallazgo de nuevos compuestos.

Por otro lado debido a que la clasificación de la familia de las monimiáceas sensu lato se encontraba en revisión, se consideró que la química de estas plantas podía

ser considerada como un dato adicional útil para aclarar las relaciones entre las especies del género Laurelia y a una mejor comprensión de las relaciones intrafamiliares.

En el transcurso del trabajo debido a que en las dos especies chilenas se encontraron alcaloides oxoaporfínicos y que esto parecía constituir una diferencia con Laurelia novae-zelandiae, se consideró necesario también, examinar químicamente corteza de esta especie.

PARTE EXPERIMENTAL

2.1.- Generalidades

Los puntos de fusión no están corregidos y fueron determinados en una platina de Kofler. Los espectros de RMP fueron registrados a 60, 80, 90, 100, 200 y 400 MHz en aparatos Varian A-60, T-60, A-360, Bruker HW-80, HW-90, Varian XL-100, Bruker HW-200 y HW-400; como referencia interna se usó T.M.S. Los espectros de IR se registraron en aparatos Perkin-Elmer 621 y 735-B en pastilla de KBr. Los espectros de masas se registraron en aparatos AEI MS-50 y KRATOS. Los espectros de UV se registraron en un aparato Zeiss DMR-22. Los poderes rotatorios se midieron en un espectropolarímetro Perkin-Elmer 241.

El material vegetal, limpio de materias extrañas, se secó a 40° en una estufa con corriente de aire forzada y se molió en un molino de cuchillas APEX.

La corteza de Laurelia philippiana fue donada por INFODEMA y corresponde a recolecciones efectuadas en Diciembre de 1972 y 1974 en la provincia de Valdivia.

La corteza de Laurelia sempervirens fue recolectada en Valdivia en Noviembre de 1972.



La corteza de Laurelia novae-zelandiae fue enviada por el New Zealand Forest Service y corresponde a una recolección efectuada en Noviembre de 1975.

La madera de Laurelia sempervirens fue obtenida en Julio de 1979 en el aserradero "La Sudamericana" y corresponde a una tala efectuada en Valdivia en 1975.

En todos los casos el extracto metanólico o etanólico del polvo de planta previamente desgrasado con éter de petróleo (60-70°), fue procesado para obtener las fracciones de bases no fenólicas (BNF), bases fenólicas (BF) y bases débiles (BD). Este proceso sólo se describirá con detalles en 2.2.

Para la cromatografía en capa fina analítica se utilizaron cromatofolios de gel de sílice F₂₅₄ de 0.25 mm de espesor.

Para la cromatografía en capa fina preparativa se utilizaron cromatoplacas de gel de sílice F₂₅₄ de 2 mm de espesor.

Para la cromatografía en capa fina preparativa y analítica se utilizaron los siguientes sistemas de desarrollo:

CHCl₃-EtOH (96:4), sistema A; azeótropo de CHCl₃-EtOH (87.5-12.5), Sistema B; CHCl₃, Sistema C; CHCl₃-Eter de petróleo (1:1), sistema D; CHCl₃-EtOH (98:2), Sistema E;

CH_2Cl_2 -MeOH (100:1), Sistema F; CH_2Cl_2 - C_6H_6 (2:1), Sistema G; CH_2Cl_2 -MeOH (96:4), Sistema H; CH_2Cl_2 -MeOH (92:8), Sistema I; CHCl_3 -EtOH (94:6), Sistema J; CHCl_3 -EtOH (40:1), Sistema K; CHCl_3 -EtOH (25:1), Sistema L; Eter etílico-Eter de petróleo (1:1), Sistema M y CH_2Cl_2 -MeOH (9:1), Sistema N.

Los cromatogramas se examinaron siempre bajo radiación de UV a 254 y 366 nm, con el objeto de controlar la separación obtenida. Para el revelado de los alcaloides se utilizó reactivo de Dragendorff modificado⁵¹. Para los derivados N-acetilados se utilizó H_2SO_4 25% y los cromatogramas se secaron sobre una placa caliente; los derivados N-acetilados aparecen como manchas de distintos colores, facilitando de esta manera el control de pureza y la comparación entre diferentes fracciones.

Todas las evaporaciones se realizaron a menos de 50° a presión reducida en un evaporador rotatorio. Las fracciones obtenidas y los compuestos cristalinos se guardaron en un desecador evacuado, durante 24 horas como mínimo antes de controlar su peso.

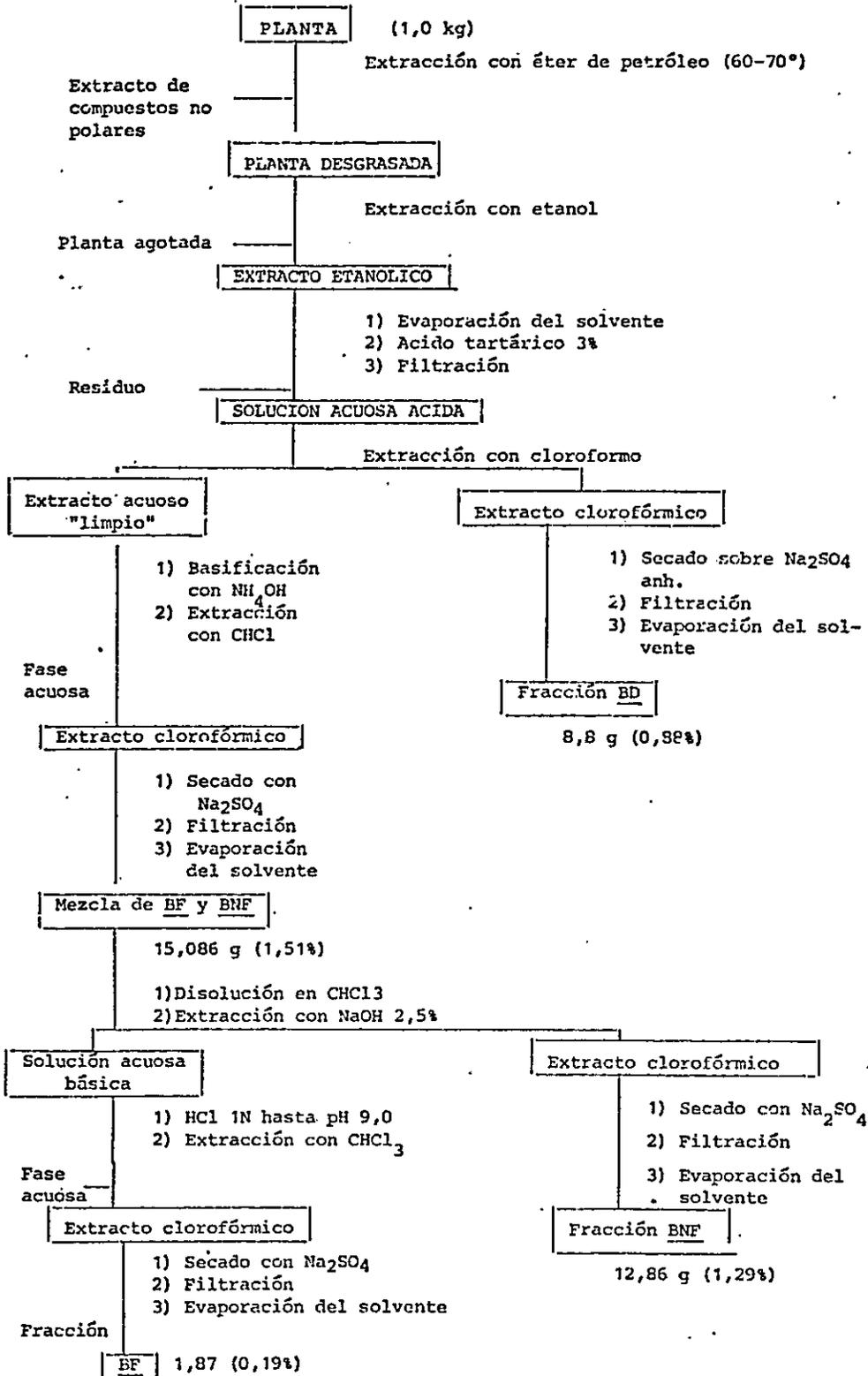
Las soluciones acuosas de pH controlado se obtuvieron mezclando adecuadamente ácido cítrico 0.1 M y fosfato dibásico de sodio 0.2 M⁵².

En todos los casos las acetilaciones de las bases secundarias se realizaron disolviendo los alcaloides o las mezclas de alcaloides en piridina anhidra, agregando sobre la solución un volumen igual de anhídrido acético. La mezcla se dejó durante 24 horas a temperatura ambiente y luego se procesó.

2.2.- Extracción y fraccionamiento de las bases de madera de *Laurelia sempervirens* (esquema 2-1)

Una muestra de 1.0 kg de material vegetal se extrajo en un extractor sólido-líquido tipo Soxhlet con éter de petróleo liviano (60-70°) hasta residuo negativo en el líquido efluyente. El polvo así agotado, después de evaporar el solvente, se extrajo en un Soxhlet con etanol de 95° hasta reacción de Dragendorff negativa en el líquido efluyente. El extracto etanólico se concentró a sequedad, el residuo se trató con ácido tartárico 3% (2L), y la suspensión obtenida se dejó a 5° durante 24 horas; se filtró y el sólido separado se trató nuevamente con ácido tartárico 3% (1L) y se filtró.

El extracto ácido total (3L) se extrajo en ampolla de decantación con porciones de CHCl_3 (300 mL c/u) hasta que la fase clorofórmica resultó incolora. El extracto clorofórmico de la solución ácida se lavó con H_2O ; se



Extracción y Fraccionamiento de las Bases de Madera de Laurelia sempervirens

esquema 2-1

secó sobre Na_2SO_4 anhidro, se filtró y se evaporó el solvente, obteniéndose 8,8 g de un residuo aceitoso (fracción BD).

La solución ácida agotada con cloroformo se alcalinizó con NH_4OH concentrado hasta pH 9.0 y se extrajo nuevamente con porciones de CHCl_3 (300 mL c/u) hasta que la fase clorofórmica resultó Dragendorff-negativa, (la fase acuosa básica, Mayer-negativa, se desechó).

El extracto clorofórmico de la solución básica se secó sobre Na_2SO_4 anhidro, se filtró y se evaporó el solvente, obteniéndose 15,086 g de un sólido (fracción de alcaloides fenólicos y no fenólicos). Este material se disolvió en 750 mL de CHCl_3 y la solución se extrajo con porciones de NaOH 2,5% (150 mL c/u) hasta que la fase acuosa, acidificada, resultó Mayer-negativa. La fase orgánica se lavó con agua, se secó sobre Na_2SO_4 anhidro y se concentró, obteniéndose 12,86 g de un sólido (Fracción BNF).

El extracto acuoso básico total se llevó a pH 9.0 por cuidadosa adición de HCl 1N y se extrajo con CHCl_3 hasta que la fase clorofórmica resultó Dragendorff-negativa. El extracto clorofórmico se lavó con H_2O , se secó sobre Na_2SO_4 anhidro y se concentró, obteniéndose 1,87 g de un sólido (fracción BF).

2.2.1.- Procesamiento de la fracción BD de madera de *Laurelia sempervirens* (BDMLs) (esquema 2-2).

La fracción BDMLs, (8,8 g) se disolvió en una pequeña cantidad de cloroformo caliente y se guardó a 5° durante 24 horas; por filtración se separó un sólido amarillo que, lavado con CHCl_3 frío y secado pesó 1,6 g (BDMLs-1). Fue identificado como liriodenina (3-2).

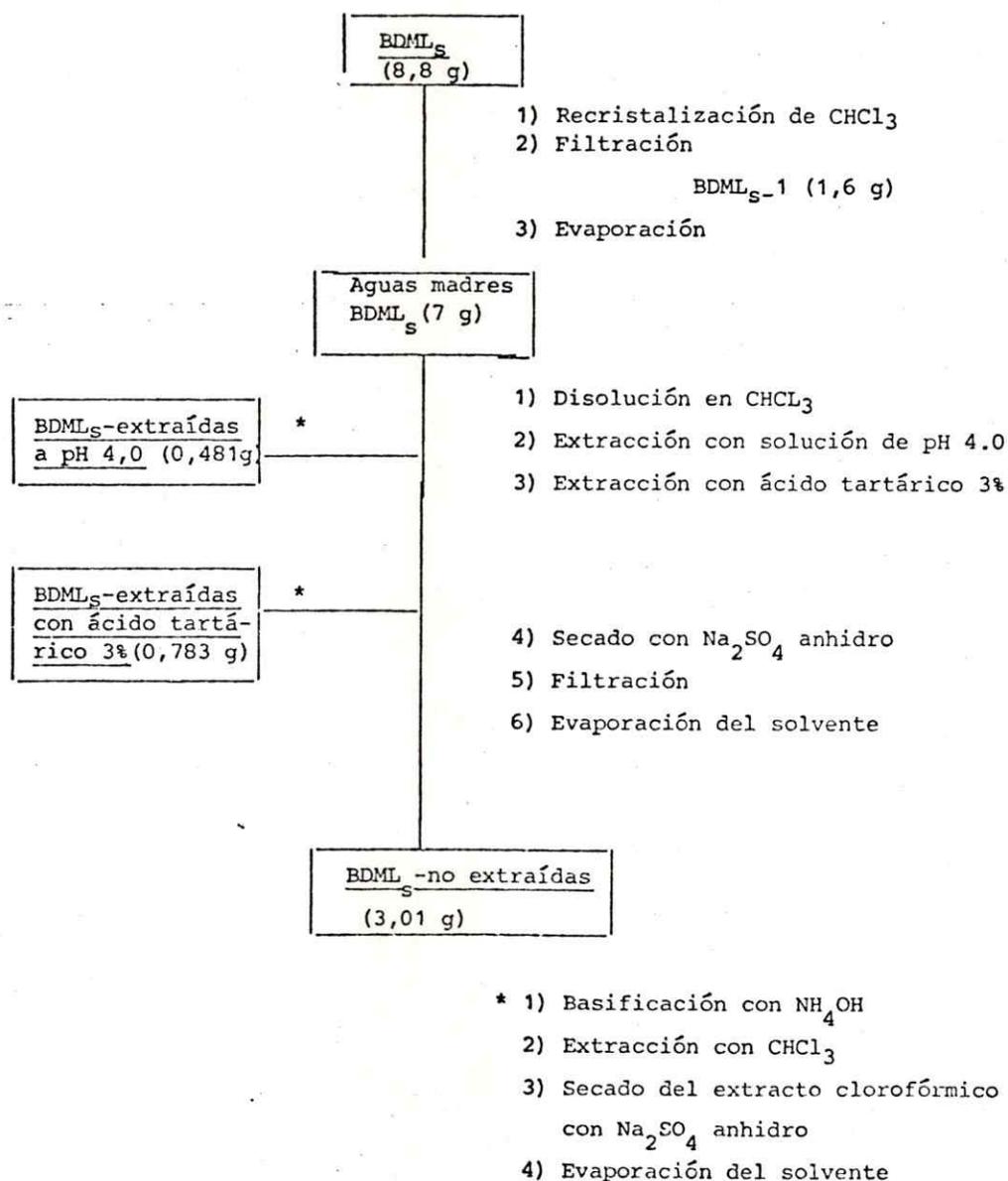
El residuo de la evaporación del solvente de las aguas madres (7 g) se disolvió en 350 mL de CHCl_3 y la solución se extrajo con porciones de 200 mL de solución acuosa de pH 4.0, hasta que la fase acuosa dio reacción de Mayer negativa.

A continuación se extrajo con porciones de 250 mL de ácido tartárico 3%, hasta que la fase acuosa dio reacción de Mayer negativa.

La solución clorofórmica así agotada, se secó sobre Na_2SO_4 anhidro, se filtró y concentró obteniéndose 3,01 g (BDMLg-no extraídas).

Las soluciones acuosas de compuestos extraídos a pH 4.0 y con ácido tartárico 3% se procesaron en forma independiente. Se llevaron a pH 9,0 con NH_4OH concentrado y luego se extrajeron con porciones de CHCl_3 hasta que la fase clorofórmica dio reacción de Dragendorff negativa. Los

extractos clorofórmicos se secaron sobre Na_2SO_4 anhidro, se filtraron y concentraron obteniéndose 0.481 g (BDML_S-extraídas a pH 4.0) y 0.783 g (BDML_S-extraídas con ácido tartárico 3 %).



Fraccionamiento de "Bases Débiles" de Madera de Laurelia sempervirens

2.2.1.1.- Separación de la fracción BDML_S-no extraídas

La fracción de BDML_S-no extraídas (3 g) se examinó por cromatografía en capa fina usando el sistema A para desarrollar. Los cromatogramas se eluyeron 2 veces para obtener mejor resolución. Se observaron solamente dos manchas Dragendorff-positivas; una de ellas se alineó con BDML_S-1.

La fracción, disuelta en CHCl₃, se resolvió por cromatografía en columna de gel de sílice 60 (125 g). Como eluente se usó CHCl₃, recogándose fracciones de 50 mL. Las fracciones se controlaron por cromatografía en capa fina usando el sistema A para desarrollar.

Las fracciones se reagruparon de la siguiente manera (tabla 2-1):

Fracción	Peso (mg)	Observación
1	432,0	Material no alcaloidal
2	373,7	Material no alcaloidal
3	229,1	Material no alcaloidal
4	79,5	Material no alcaloidal
5-6	317,3	<u>BDML_S-2</u>
7	110,0	<u>BDML_S-2</u> + <u>BDML_S-1</u>
8-10	387,3	<u>BDML_S-1</u>
11	20,8	Material no alcaloidal
12-20	79,8	Material no alcaloidal

Fracciones obtenidas de la separación del residuo de aguas
madres de BDML_S-1

tabla 2-1

Las fracciones 5-6, recristalizadas de cloroformo, dieron un sólido de color anaranjado que filtrado y seco pesó 262 mg (BDML_S-2). Fue identificado como oxonantenina (3-3).

2.2.2.- Separación de la fracción de alcaloides no fenólicos de madera de Laurelia sempervirens (BNFML_S)
(esquema 2-3)

La fracción de BNFML_S (12,66 g) se disolvió en 500 mL de CHCl₃ y la solución se extrajo con porciones

sucesivas de 250 mL de solución de pH 6,0; cada extracto se controló por cromatografía en capa fina, previa extracción de los alcaloides de una alícuota de 5 mL, usando el sistema B para desarrollar. El proceso se repitió ocho veces, hasta que se observó mediante el control que no se extraían los compuestos obtenidos en las primeras extracciones y que la composición de la fracción obtenida se complicaba.

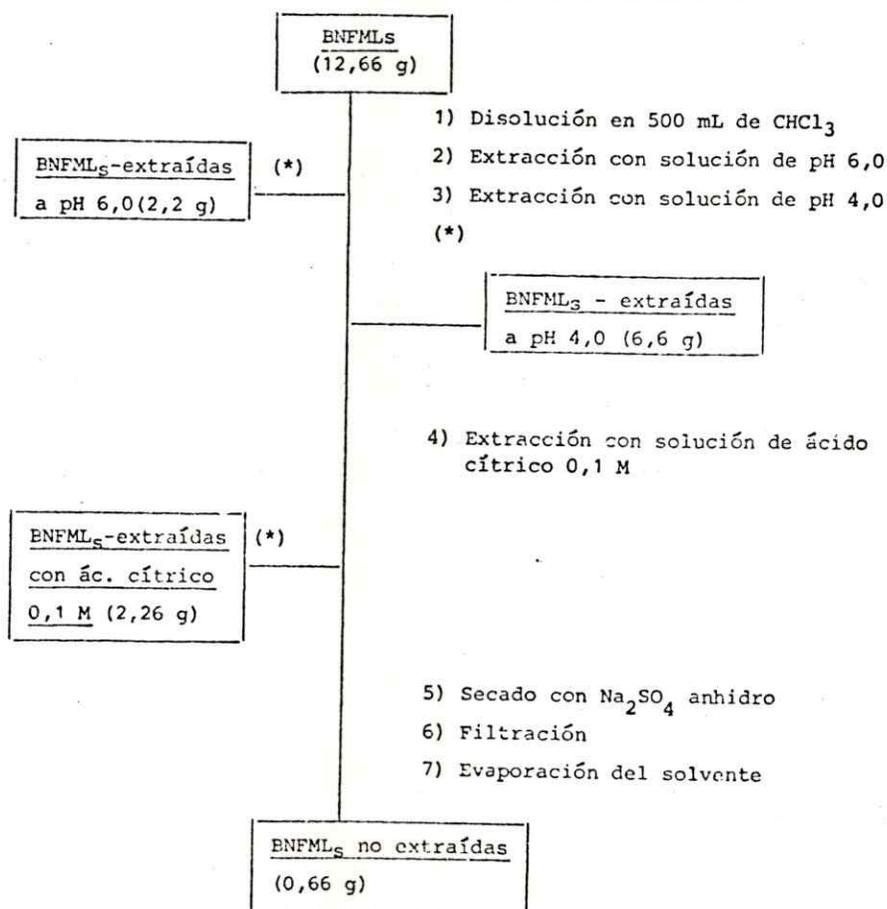
El extracto acuoso (2 L) se llevó a pH 9,0 con NH_4OH concentrado, y luego se extrajo con porciones de cloroformo hasta que la fase clorofórmica dio reacción de Dragendorff negativa. El extracto clorofórmico se secó sobre Na_2SO_4 anhidro, se filtró y concentró a sequedad obteniéndose 2,20 g de la fracción BNFL_s extraídas a pH 6,0.

El extracto clorofórmico agotado por extracción con solución de pH 6,0 se extrajo a continuación con porciones sucesivas de 250 mL de solución de pH 4,0; cada extracto obtenido se controló por cromatografía en capa fina de la manera ya descrita. El proceso se repitió cuatro veces. El extracto acuoso (1L), procesado de igual manera que el de pH 6,0, dio 6,60 g de la fracción BNFML_s extraídas a pH 4,0.

Finalmente el extracto clorofórmico agotado a pH 4,0 se extrajo siguiendo una metódica idéntica a la descrita

anteriormente con solución de ácido cítrico 0,1 M (2 x 250 mL). Por procesamiento del extracto se obtuvo 2,26 g de la fracción BNFML_S extraídas con ácido cítrico 0,1 M.

El extracto clorofórmico agotado se secó sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtró y concentró a sequedad, obteniéndose 0,658 g de la fracción BNFML_S no extraídas.



(*)

- 1) Basificación con NH₄OH
- 2) Extracción con CHCl₃
- 3) Secado del extracto clorofórmico con Na₂SO₄ anhidro
- 4) Evaporación del solvente

2.2.2.1.- Procesamiento de la fracción de bases no fenólicas de madera de Laurelia sempervirens extraída a pH 6,0 (BNFML_S extraídas a pH 6,0)

La fracción BNFML_S extraídas a pH 6,0 (2,19 g) se cristalizó de cloroformo; por filtración se separó un sólido blanco cristalino que pesó 1,24 g (BNFML_S-6). Fue identificado como michelalbina (3-20).

Por concentración de las aguas madres se obtuvo 0,850 g de la fracción denominada aguas madres de BNFML_S extraídas a pH 6,0.

La fracción de aguas madres de BNFML_S extraídas a pH 6,0 se sometió a acetilación, la mezcla de reacción se trató con etanol absoluto y se dejó estar una hora a 0°; por filtración y posterior secado se obtuvo 0,331 g de un sólido cristalino (PP₁-6). El filtrado se concentró parcialmente y se dejó estar 24 horas a 5°; por filtración y posterior secado se obtuvo 0,148 g de un sólido cristalino (PP₂-6). El filtrado se diluyó con etanol absoluto (150 mL) y se evaporó el solvente obteniéndose 0,467 g de una espuma.

Los sólidos PP₁-6 PP₂-6 y aguas madres de la mezcla de BNFML_S-extraídas a pH 6.0 acetiladas se controlaron por cromatografía en capa fina; las placas se desarrollaron

repetidas veces con el sistema C, y la separación obtenida se controló por examen bajo radiación de UV. Cuando la resolución se consideró óptima se revelaron con H_2SO_4 . Como patrones se utilizaron el producto de acetilación de BNFMLS-6 y Acetil -BNFMLS-3 (aislado de BNFMLS-extraídas con ácido cítrico 0,1 M, ver 2.2.2.2.). Los resultados se muestran en la figura 2-1.

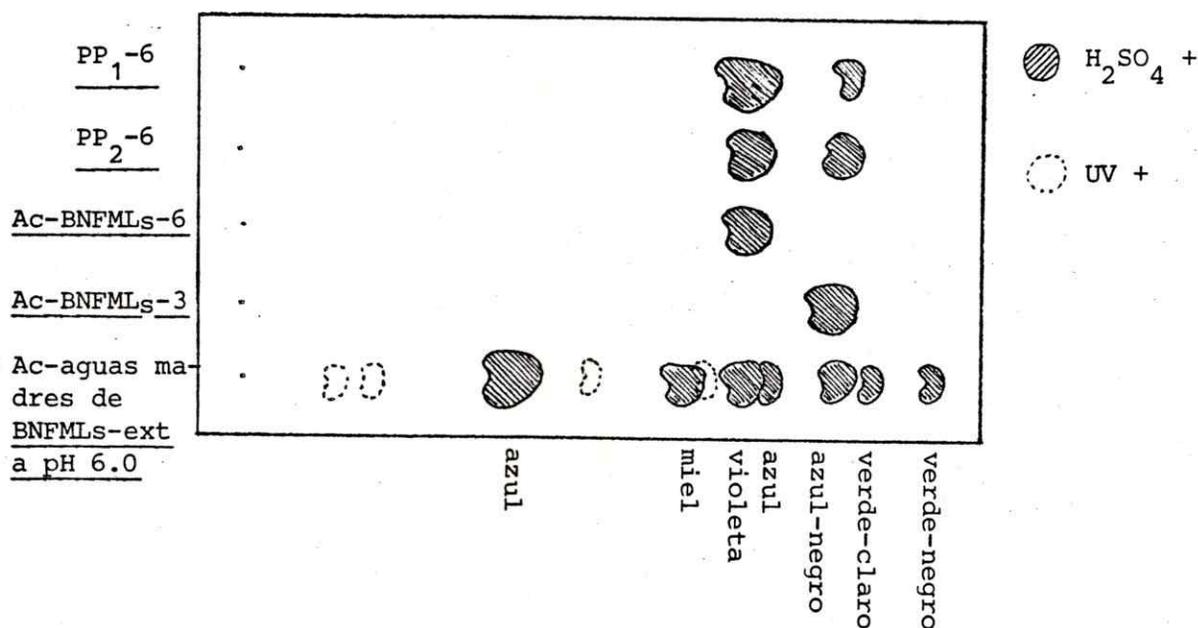


figura 2-1

La fracción de aguas madres de BNFMLS extraídas a pH 6,0 acetiladas (0,450 g), disuelta en $CHCl_3$, se resolvió por cromatografía en columna de gel de sílice 60 (8 g); como sistema eluyente se usó $CHCl_3$ -éter de petróleo (4:1). Se recogieron 50 fracciones de 10 mL c/u, las que se analizaron por cromatografía en capa fina; las placas se

desarrollaron repetidas veces con el sistema C, y la separación obtenida se controló por examen bajo radiación UV. Cuando la resolución se consideró óptima se revelaron con H_2SO_4 . Las fracciones se reagruparon de la siguiente manera (tabla 2-2):

Fracciones	Peso (mg)	Observación
1-5	103,7	Mezcla de <u>acetil-BNFML_S-3</u> y otros 2 compuestos de Rf mayor.
6-20	55,1	Mezcla de <u>acetil-BNFML_S-3</u> y otros 2 compuestos de Rf menor.
21-26	48,5	Mezcla de <u>acetil-BNFML_S-3</u> y otros 2 compuestos de Rf menor.
27-41	61,7	Principalmente <u>acetil-BNFML_S-7</u>
42-50	7,3	

Fracciones obtenidas de la separación de aguas madres de BNFML_S extraídas a pH 6.0 acetiladas.

tabla 2-2

La fracción 27-41 se purificó por cromatografía en capa fina preparativa; el cromatograma se desarrolló repetidas veces con el sistema D hasta que la separación se consideró óptima. La banda correspondiente al compuesto principal se sacó de la placa y se eluyó repetidas veces con CHCl_3 con 1% de etanol. Por evaporación del solvente se obtuvo 46 mg de un compuesto homogéneo cromatográficamente designado como Acetil-BNFMLs-7. Fue identificado como N-acetil estefarina (3-26).

Las fracciones 6-20 y 21-26 se juntaron y los 0,10 g. resultantes se separaron por cromatografía en capa fina preparativa, siguiendo una metódica igual que la aplicada a la fracción 27-41. Se obtuvo dos fracciones designadas como B₅-6 (46 mg) y B₆-6 (17 mg). La pureza de ambas fracciones fue controlada por cromatografía en capa fina; los resultados indicaron que no eran homogéneas (fig. 2-2)

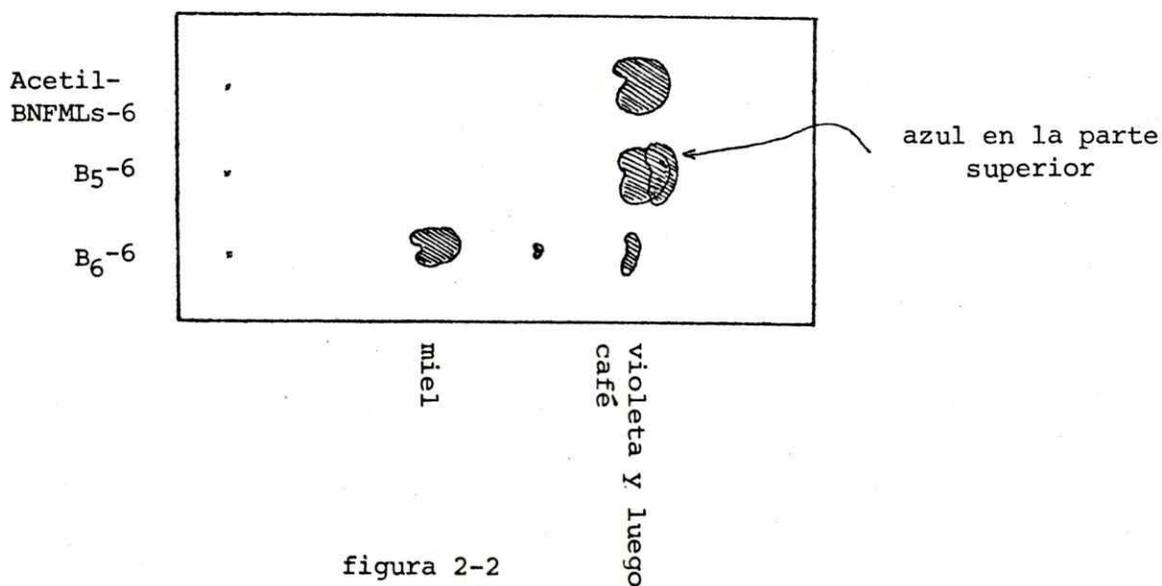


figura 2-2

2.2.2.2.- Procesamiento de la fracción de bases no fenólicas de madera de Laurelia sempervirens extraídas con ácido cítrico 0,1 M (BNFML_S extraídas con ácido cítrico 0,1 M).

La fracción BNFML_S-extraídas con ácido cítrico 0,1M se estudió por cromatografía en capa fina, usando el sistema B para desarrollar. Los cromatogramas desarrollados varias veces indicaron la aparente presencia de 1 solo componente. El espectro de RMP confirmó el resultado de la cromatografía indicando por otro lado la ausencia de señal debida a un N-CH₃.

Esta fracción (2,26 g) se sometió a acetilación y la mezcla de reacción se trató con etanol absoluto y se dejó estar 1 hora a 0°; por filtración y posterior secado se tuvo 1,34 g de un sólido blanco cristalino, designado como Acetil-BNFL_S-3. Fue identificado como N-acetilmornanteni-na (3-11).

Por evaporación parcial de las aguas madres y adición de etanol absoluto se obtuvo un sólido cristalino que filtrado y seco pesó 0,20 g (PP₂-cítrico 0,1 M). El filtrado se diluyó con etanol absoluto (200 mL) y se concentró a sequedad obteniéndose 0,705 g de una espuma.

Los sólidos Acetil-BNFML_S-3, PP₂-cítrico 0,1 M y el residuo de aguas madres se controlaron por cromatografía en capa fina usando la misma metódica descrita en 2.2.2.1 (fig. 2-6).

El residuo de las aguas madres de BNFML_S extraídas con ácido cítrico 0.1 M, acetiladas (0,70 g) disuelto en CHCl₃, se resolvió por cromatografía en columna de gel de sílice 60 (40 g); como sistema eluyente se usó cloroformo. Se recogieron fracciones de 20 mL c/u, las que se analizaron por cromatografía en capa fina usando el mismo método descrito en 2.2.2.1. Las fracciones se reagruparon de la siguiente manera. (tabla 2-3):

Fracciones	Peso (mg)	Observación
1	8,7	Compuestos que migran con el frente del solvente.
2	12,3	Compuestos que migran con el frente del solvente.
3	88,4	Ver fig. 2-3
4	187,6	Ver fig. 2-3
5	9,9	No se observan manchas definidas.
6	7,1	No se observan manchas definidas.
7	3,2	No se observan manchas definidas.
8	1,2	No se observan manchas definidas.

Fracciones obtenidas de la separación de aguas madres de BNFML₅ extraídas con ácido cítrico 0.1 M, acetiladas

tabla 2-3

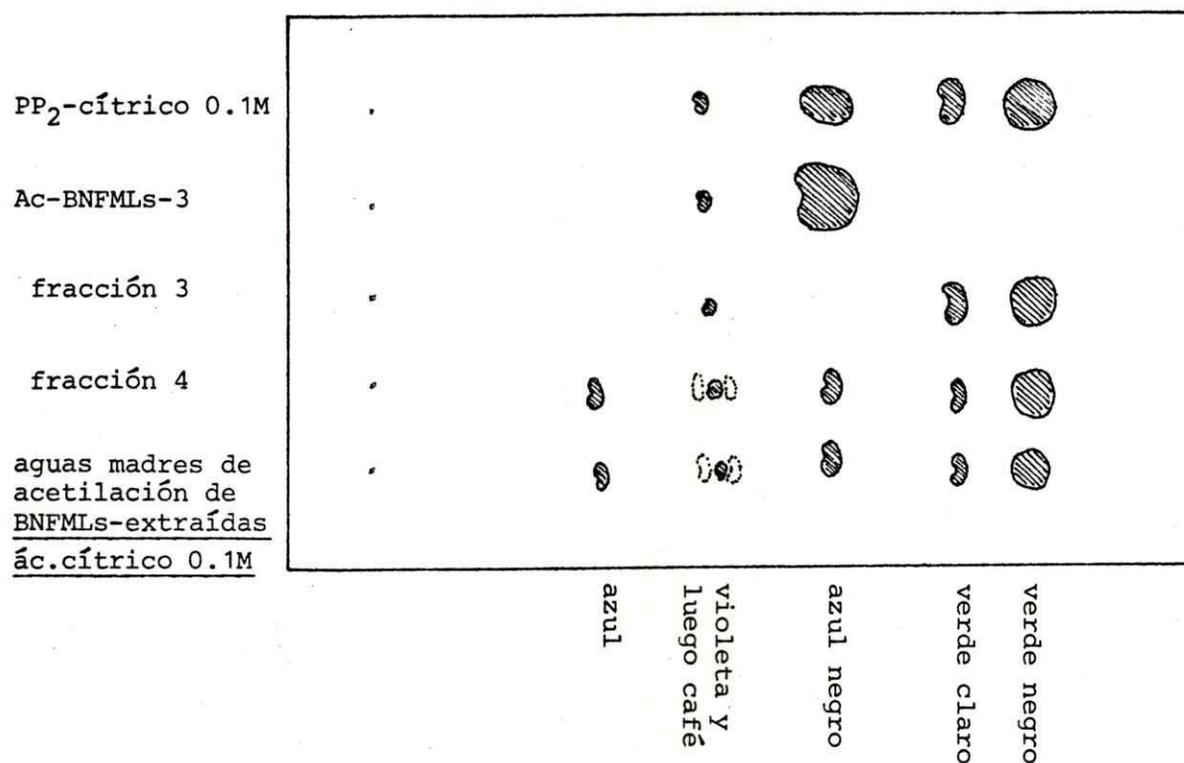


figura 2-3

Las fracciones PP₂-cítrico 0,1 M, 3 y 4 se sometieron a separación por cromatografía en capa fina preparativa. Los cromatogramas se desarrollaron repetidas veces con el Sistema C, hasta que la separación se consideró óptima. Las bandas de los compuestos que presentaban igual comportamiento cromatográfico (fig. 2-3) se sacaron de las placas, se juntaron, y los compuestos se eluyeron repetidas veces con CHCl₃ con 1% de EtOH.

Por concentración del eluido de la banda correspondiente al compuesto que reveló verde-negro con H_2SO_4 , se obtuvo 88,4 mg de un sólido cristalino, designado como Acetil-BNFML_S-4. Fue identificado como N-acetilanonaína (3-12).

Por concentración del eluido de la banda correspondiente al compuesto que reveló verde-claro con H_2SO_4 , se obtuvo 48,3 mg de un sólido cristalino, designado como Acetil-BNFML_S-5. Fue identificado como N-acetilnornuciferina (3-13).

Por concentración del eluido de la banda correspondiente al compuesto que reveló violeta-café con H_2SO_4 , se obtuvo 33,7 mg de una fracción que no cristalizó y que mostró comportamiento cromatográfico no homogéneo.

Finalmente, por concentración de la banda de menor R_f , correspondiente al compuesto que reveló azul con H_2SO_4 , se obtuvo 20,6 mg de una mezcla compleja cromatográficamente que se desechó.

2.2.2.3.- Procesamiento de la fracción de bases no fenólicas de madera de Laurelia sempervirens extraídas a pH 4.0 (BNFML_S extraídas a pH 4,0).

La fracción BNFML_S extraídas a pH 4,0 (6,58 g) se estudió por cromatografía en capa fina, usando el sistema B para desarrollar. Los cromatogramas desarrollados varias veces indicaron la aparente presencia de 1 solo componente. El espectro de RMP confirmó el resultado de la cromatografía indicando por otro lado la ausencia de señal debida a un N-CH₃.

Esta fracción (6,58 g) se sometió a acetilación y la mezcla de reacción se trató con etanol absoluto y se dejó estar 1 hora a 0°. Por filtración y posterior secado se obtuvo 4,7 g. de un sólido blanco cristalino PP₁-4 que mostró comportamiento cromatográfico idéntico a Acetil-BNFML_S-3 (fig. 2-4).

El residuo de las aguas madres de obtención de PP₁-4 (4,08 g) se analizó por cromatografía en capa fina usando una metódica idéntica a la descrita en 2.2.2.1. utilizando como testigos Acetil-BNFML_S-3, Acetil-BNFML_S-4, Acetil-BNFML_S-5 y Acetil-BNFML_S-6 (fig. 2-4)

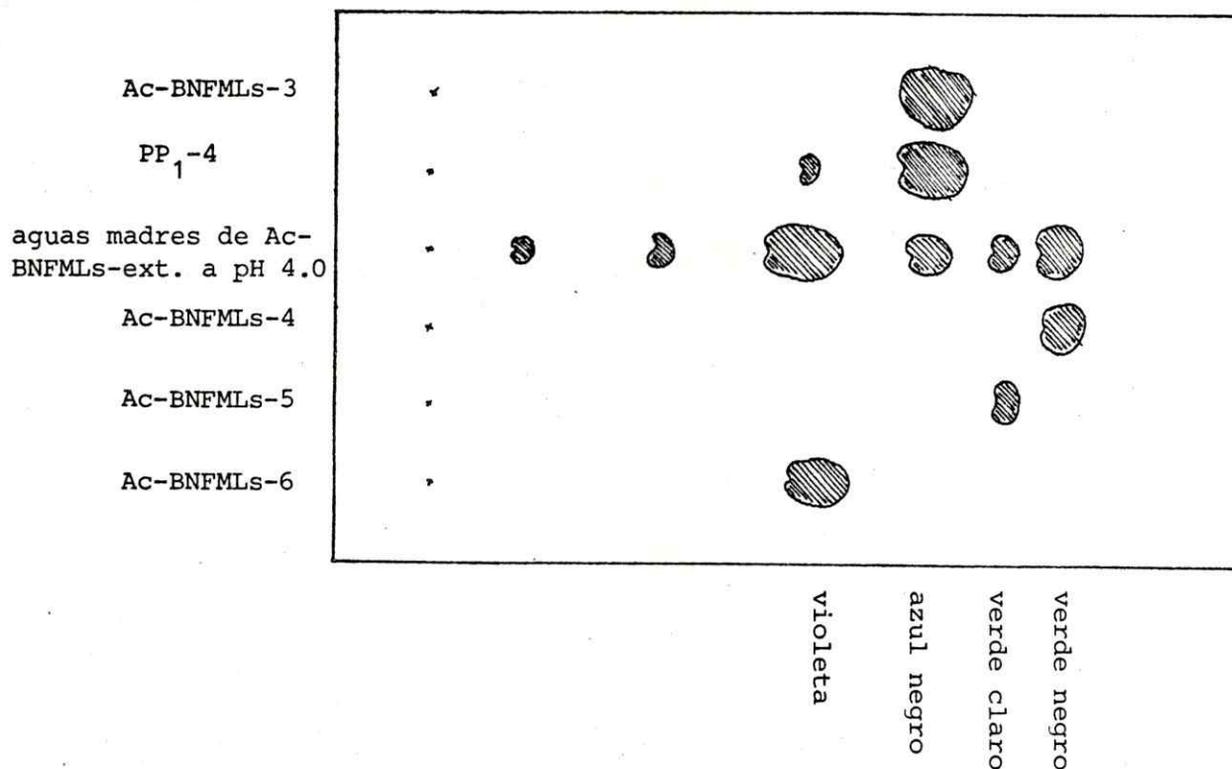


figura 2-4

La fracción de aguas madres de acetil-BNFML_s-extraídas a pH 4,0 (220 mg) se resolvió por cromatografía preparativa utilizando como sistema de desarrollo el C. La banda correspondiente al compuesto que reveló violeta, se eluyó con CHCl₃-EtOH (99:1) y por concentración se obtuvo 36 mg, de una mezcla de aporfinoídes acetilados en la que se encontraba presente Acetil-BNFML_s-6.

2.3.- Extracción y fraccionamiento de las bases de corteza de *Laurelia philippiana*

Una muestra de 1,8 kg de material vegetal se extrajo y el extracto etanólico se procesó de manera idéntica a la descrita en 2.2.

Se obtuvo de esta manera 0,97 g (0,054 %) de la fracción de bases no fenólicas (BNF), 1,47 g (0,082 %) de la fracción de bases fenólicas (BF) y 4,8 g (0,27 %) de la fracción de bases débiles (BD).

En otro procesamiento a partir de 3 kg de corteza se obtuvo 0,86 g (0,029 %) de (BNF), 2,76 g (0,092 %) de (BF) y 7,2 g (0,24 %) de (BD).

2.3.1.- Procesamiento de la fracción de bases débiles de corteza de *Laurelia philippiana* (BDCLp)

La fracción de BDCLp (4,8 g), se disolvió en 150 mL de CHCl_3 y se extrajo cuatro veces con 50 mL de NaOH 5% cada vez.

La fase orgánica se lavó con 50 mL de agua destilada, se filtró y concentró, obteniéndose 2,54 g de un residuo aceitoso. La fracción liberada de los compuestos ácidos y fenólicos se disolvió en una pequeña cantidad de CHCl_3 caliente y se guardó a 5° durante 72 horas; por filtración se separó un sólido amarillo que lavado con

cloroformo frío y secado pesó 120 mg (BDCLp-1). Fue identificado como liriodenina (3-2).

El residuo de concentración de las aguas madres (2,4 g) se disolvió en cloroformo y se resolvió por cromatografía en columna de gel de sílice 60 (75 g). Como eluyente se usó CHCl_3 recogiendo fracciones de 40 mL. Las fracciones se analizaron por cromatografía en capa fina usando como adsorbente gel de sílice HF_{254} y como sistema de desarrollo el B. Las fracciones se reagruparon de la siguiente manera (tabla 2-4).

Fracciones	Peso (mg)	Observación
1	360,6	Mezcla compleja de material no alcaloidal
2	408,4	Mezcla compleja de material no alcaloidal
3	123,6	Mezcla compleja de material no alcaloidal
4	336,4	<u>BDCLp-2</u> impuro
5	3,4	<u>BDCLp-2</u> + <u>BDCLp-1</u>
6	239	<u>BDCLp-1</u>
7	85	<u>BDCLp-1</u> impuro
8	27	Mezcla compleja de material no alcaloidal
9	12	Mezcla compleja de material no alcaloidal

Fracciones obtenidas de la separación del residuo de las aguas madres de BDCLp-1

tabla 2-4

La fracción 4 se disolvió en etanol caliente y la solución se dejó a 5° durante 24 horas; el sólido precipitado, de aspecto gelatinoso, se separó por centrifugación y todavía húmedo se recristalizó de CHCl_3 . Por filtración se separó un sólido que seco pesó 2,7 mg (BDCLp-2). Fue identificado como oxonantenina (3-3).

El residuo de las aguas madres de la obtención de BDCLp-2 disuelto en 20 mL de CHCl_3 , se extrajo con HCl 2N (2 x 20 mL); la solución acuosa ácida se basificó con NH_4OH concentrado y se extrajo con CHCl_3 , el extracto clorofórmico se filtró y concentró a sequedad, obteniéndose 13 mg de una mezcla de BDCLp-1 y BDCLp-2 (cromatografía en capa fina).

El material extraído con NaOH 5% de la fracción BDCLp se obtuvo por acidificación de una alícuota de la solución acuosa básica y posterior extracción de la solución ácida con CHCl_3 .

El estudio cromatográfico indicó que se trataba de una mezcla compleja de material no alcaloidal.

2.3.2. Separación de la fracción de alcaloides no fenólicos de corteza de *Laurelia philippiana* (BNFCLp)

Método A: Acetilación de la mezcla (BNFCLp) y separación de los N-acetilderivados.

La fracción BNFCLp (0,97 g) se sometió a acetilación y la mezcla de reacción se trató con etanol absoluto (200 mL), se dejó 1 hora a temperatura ambiente y se concentró a sequedad obteniéndose 1,27 g de un aceite café oscuro con olor a piridina. La mezcla cruda de BNFCLp acetiladas, se liberó de material no alcaloidal por pasaje a través de una columna de gel de sílice 60 (60 g); como eluyentes se usó CHCl_3 y CHCl_3 -EtOH (98:2). Por concentración del eluido que dio reacción de Dragendorff positiva se obtuvo una espuma amarillenta que pesó 0,77 g (Ac-BNFCLp). La mezcla Ac-BNFCLp se trató con una pequeña cantidad de EtOH y por filtración se separó un sólido blanco cristalino que pesó 0,1 g (Ac.-BNFCLp-3). Fue identificado como N-acetilnornantenina (3-11).

El residuo de las aguas madres de la obtención de Ac-BNFCLp-3 (643 mg), disuelto en CHCl_3 , se resolvió por cromatografía en columna de gel de sílice 60 (75 g). Como eluyentes se usó CHCl_3 y CHCl_3 con 0,2% de EtOH, recogién-dose fracciones de 15 mL.

Las fracciones se analizaron por cromatografía en capa fina usando como adsorbente gel de sílice GF₂₅₄ y como sistema de desarrollo el E. Las fracciones se reagruparon de la siguiente manera (tabla 2-5).

Fracción	Peso (mg)
1-3	245
4-6	119
7-14	280

Fracciones obtenidas de la separación del residuo de las aguas madres de Ac-BNFCLp-3

tabla 2-5

La fracción 1-3 se trató con una pequeña cantidad de etanol y por filtración se separó un sólido blanco cristalino que pesó 46 mg. El sólido así obtenido mostró comportamiento cromatográfico no homogéneo, tratándose al parecer de una mezcla en una relación de aproximadamente 1:1 de Ac-BNFCLp-3 y un compuesto de mayor Rf.

Esta mezcla se resolvió por cromatografía en capa fina preparativa; el cromatograma se desarrolló repetidas veces con el sistema F hasta que la separación entre Ac-BNFCLp-3 y el compuesto de mayor Rf se consideró óptima (examen del cromatograma bajo radiación UV). La banda correspondiente al compuesto de mayor Rf se sacó de la

placa y se eluyó repetidas veces con CHCl_3 con 1% de EtOH. Por concentración del eluido se obtuvo un sólido blanco cristalino que pesó 19 mg (Ac. BNFCLs-4). Fue identificado como N-acetilanonaína (3-12).

Las fracciones 4-6 y 7-14 se examinaron por cromatografía en capa fina, los resultados indicaron que se trataba de mezclas complejas y no se lograron resolver en forma adecuada.

Método B: Separación de la mezcla (BNFCLp) sin acetilar.

La fracción BNFCLp (0,86 g) se disolvió en 40 mL de CHCl_3 y se fraccionó por extracción con soluciones acuosas de distinto pH, utilizando una metodología idéntica a la descrita en 2.2. Se obtuvo las siguientes fracciones:

BNFCLp - extraídas a pH 6,6 (66 mg)

BNFCLp - extraídas a pH 4,0 (418 mg)

BNFCLp-no extraídas (236 mg)

Las fracciones obtenidas se analizaron por cromatografía en capa fina usando como adsorbente gel de sílice GF_{254} con el sistema B para desarrollar y cromatofolios de óxido de aluminio GF_{254} con el sistema G para desarrollar.

Los resultados se muestran en la figura 2-5.

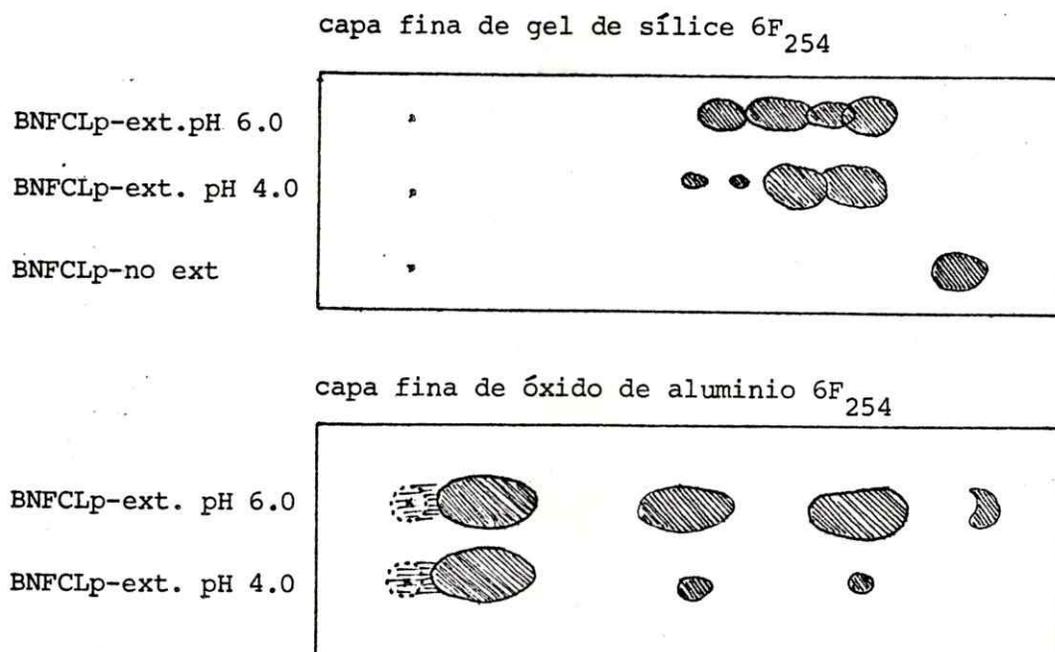


figura 2-5

La fracción BNFCLp-ext pH 4,0 se resolvió por cromatografía en columna de Al_2O_3 neutra (46 g); como sistema eluyente se usó $\text{CH}_2\text{Cl}_2\text{-C}_6\text{H}_6$ (2:1). Se recogieron fracciones de 10 mL c/u, las que se analizaron por cromatografía en cromatofoliós de Al_2O_3 GF₂₅₄ y el sistema G para desarrollar. Las fracciones se reagruparon de la siguiente manera (tabla 2-6).

Fracciones	Peso (mg)	Observación
1-6	30,5	Principalmente material no alcaloidal
7-11	66	Una sola mancha en CCF
12	31	Mezcla de (7-11) y (13-17)
13-17	88,7	Una sola mancha en CCF
18-30	11,1	Mezcla compleja
31-36	20,4	Mezcla compleja
37-137	68,5	Una sola mancha en CCF
138	23,8	Restos de 37-137 y material de Rf=0

Fracciones obtenidas de la separación de BNFCLp-ext pH 4,0

tabla 2-6

La fracción 7-11, si bien parecía homogénea cromatográficamente, dio un espectro de RMP que indicó que se trataba de un compuesto impuro. Una parte de esta fracción (50 mg) disuelta en EtOH absoluto se trató con una solución de HCl al 8% en etanol absoluto; por filtración se separó un sólido blanco cristalino que pesó 32 mg (clorhidrato de BNFC1p-4). Fue identificado como clorhidrato de anonaína (3-12).

La fracción 13-17 se sometió a acetilación y la mezcla de reacción se trató con etanol absoluto (100 mL), se dejó dos horas a temperatura ambiente y se concentró a sequedad obteniéndose 110 mg de una espuma. El sólido así obtenido mostró comportamiento cromatográfico no homogéneo, los resultados indicaron que se trataba de una mezcla de Ac-BNFC1p-3 y un compuesto mayoritario de Rf inferior.

La fracción 13-17 acetilada se resolvió por cromatografía en capa fina preparativa de gel de sílice, el cromatograma se desarrolló con el sistema C. La banda correspondiente al compuesto de Rf inferior se sacó de la placa y se eluyó repetidas veces con CHCl_3 con 1% de EtOH; por concentración del eluido se obtuvo un sólido que no cristalizó y que pesó 80 mg (Ac-BNFC1p-8). Fue identificado como 0, N-diacetilnorcoridina (3-17).

La fracción 37-137, si bien parecía homogénea cromatográficamente al ser analizada por cromatografía en capa fina, mostró un espectro de RMP que indicó que se trataba de un compuesto impuro. La mezcla (68 mg) se resolvió por cromatografía en capa fina preparativa: el cromatograma se desarrolló una vez con el sistema H y 2 veces con el sistema I. La separación se controló examinando el cromatograma bajo radiación de UV. Se separaron dos bandas las que se eluyeron repetidas veces con CHCl_3 ; por concentración de los respectivos eluidos se obtuvo 40 mg de BNFCLp-9, que fue identificado como 4-hidroxinornantenina (3-21) y 11 mg de BNFCLp-10, que fue identificado tentativamente, usando solo datos de RMP, como 4-hidroxianonaína (3-22) contaminada con 4-hidronornantenina.

2.3.3. Separación de la fracción de alcaloides fenólicos de *Laurelia philippiana* (BFLp)

La fracción BFCLp (4,23 g) se disolvió en 200 mL de CHCl_3 y se fraccionó por extracción con solución acuosa de pH 6,6, utilizando una metódica semejante a la descrita en 2.2. Se obtuvo las siguientes fracciones:

BFCLp-extraídas a pH 6,6 1,730 g

BFLp- no extraídas a pH 6,6 1,456 g

Las fracciones obtenidas se analizaron por cromatografía en capa fina, usando como adsorbente gel de sílice $\text{HF}_{254 + 366}$; las placas se desarrollaron 3 veces con el sistema B y la separación obtenida se controló por examen bajo radiación de UV. Los resultados se muestran en figura 2-6.

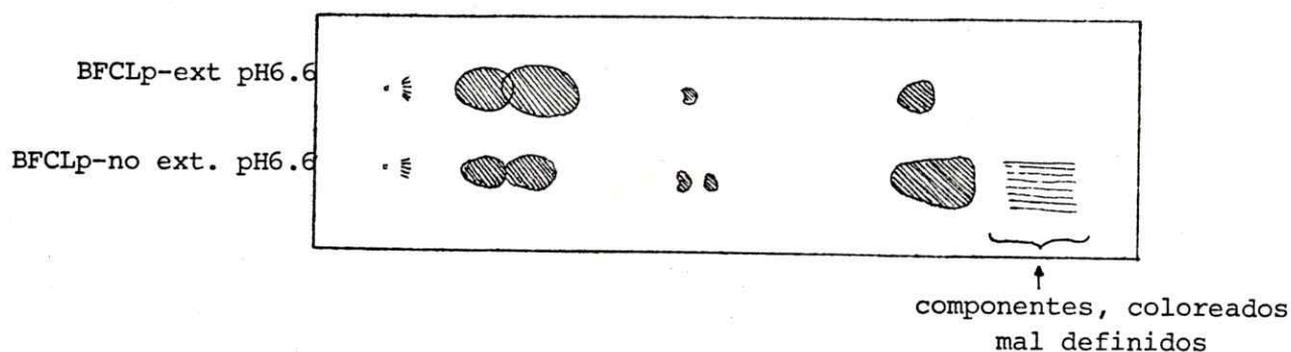


figura 2-6

La fracción BFCLp-ext. pH 6,6 (1,725 g) se resolvió por cromatografía en columna de gel de sílice 60 (100 g); como eluyentes se usó CHCl_3 y mezclas de CHCl_3 - EtOH de polaridad creciente. Se recogieron fracciones de 50 mL c/u, las que se analizaron por cromatografía en capa fina usando como adsorbente gel de sílice $\text{HF}_{254 + 366}$ y el sistema B para desarrollar. Las fracciones se reagruparon de la siguiente manera (tabla 2-7):

Fracciones	Peso (mg)	Observación
1-2	113	
3-15	209	Mezcla del compuesto de 1-2 con otros compuestos alcaloidales no alcaloidales
16-21	308	
22-32	496	
33-47	396	
48-70	100	

Fracciones obtenidas de la separación de BFCLp-ext pH 6,6

tabla 2-7

La fracción 1-2 disuelta en una pequeña cantidad de CHCl_3 caliente se dejó estar a 5° durante varios días; por filtración se separó un sólido anaranjado que pesó 35 mg (BFCLp-14). Fue identificado como aterolina (3-4)

La fracción 16-21, si bien parecía homogénea cromatográficamente, dio un espectro de RMP que indicó que se trataba de una mezcla. El análisis cromatográfico con cromatofolios de Al_2O_3 F₂₅₄ y el sistema C para desarrollar

indicó que se trataba de una mezcla de al menos dos compuestos. La fracción se resolvió por cromatografía en columna de Al_2O_3 neutro (30 g); como eluyente se usó CH_2Cl_2 , se recogieron fracciones de 10 mL, las que se analizaron por cromatografía en cromatofolios de Al_2O_3 F₂₅₄ y el sistema C para desarrollar. Las fracciones se reagruparon de la siguiente manera (tabla 2-8):

Fracciones	Peso (mg)
1' - 10'	14
11'- 26'	111
27'- 50'	121

Fracciones obtenidas de la separación de 16-21

tabla 2-8

La fracción 11'-26', homogénea cromatográficamente, pesó 111 mg. Denominada BFCLp-11, fue identificada como asimilobina (3-15).

La fracción 27' - 50' si bien parecía homogénea cromatográficamente, dio un espectro de RMP que indicó que se trataba de una mezcla de 2 compuestos. La fracción se disolvió en etanol absoluto y se agregó una solución de ácido perclórico en etanol absoluto; se obtuvo un sólido

cristalino que filtrado y seco pesó 125 mg. Denominado perclorato BFCLp-12, fue identificado como perclorato de reticulina (3-23).

Las fracciones 22-32, 33-47, 48-70, homogéneas cromatográficamente, dieron espectros de RMP que indicaron que se trataba del mismo compuesto con distintas impurezas en pequeña proporción, denominado BFCLp-13; fue identificado como laurotetanina (3-14).

2.4.- Obtención y separación de la fracción de bases débiles de corteza de Laurelia novae-zelandiae (BDCLn)

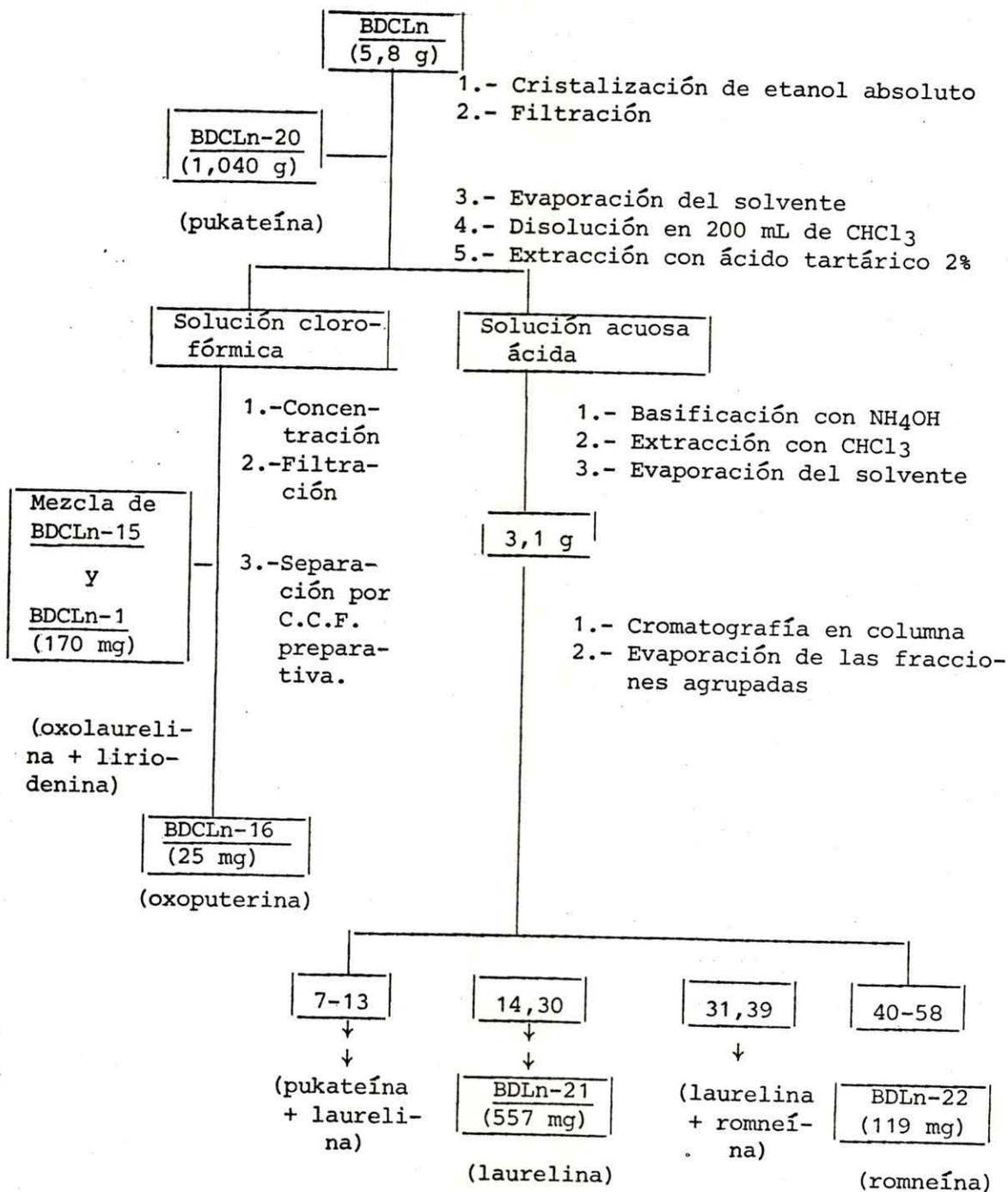
El extracto etanólico concentrado de 190 g de corteza desgrasada de L. novae-zelandiae se suspendió en 400 mL de ácido tartárico al 2%. La solución ácida se extrajo con porciones de CHCl_3 (4 x 50 mL) y el extracto clorofórmico obtenido se filtró y concentró para dar 81,3 mg de la fracción BDCLn.

La fracción BDCLn se recrystalizó de cloroformo; por filtración se separó un sólido amarillo claro que pesó 7,4 mg (BDCLn-15). Fue identificado como oxolaurelina (3-6).

Las aguas madres concentradas se resolvieron por cromatografía en capa fina preparativa; el cromatograma se desarrolló repetidas veces con el sistema I, hasta que

la separación se consideró óptima. Una banda de color amarillo intenso se sacó de la placa y se eluyó repetidas veces con CHCl_3 -EtOH (95:5). Por evaporación del solvente se obtuvo un sólido amarillo sucio que pesó 14 mg (BDCLn-1) Fue identificado como liriodenina (3-2).

La fracción BDCLn (5,8 g) obtenida mediante un procedimiento idéntico a partir de 1,830 g de corteza desgrasada de *L. novae-zelandiae*, se sometió al siguiente procesamiento (esquema 2-4). La mezcla se disolvió en etanol absoluto y se dejó a 0° durante 72 horas. Por filtración se separó un sólido que pesó 1,04 g (BDCLn-20). Fue identificado como pukateína (3-18). Las aguas madres de BDCLn-20 se concentraron a sequedad y el residuo obtenido se disolvió en 200 mL de CHCl_3 y se sometió a extracción con cuatro porciones de 50 mL de ácido tartárico al 2%. La fracción clorofórmica agotada se concentró a un pequeño volumen y se guardó a 0° durante 48 horas; por filtración se separó un sólido amarillo claro que pesó 170 mg, cuyo análisis mediante cromatografía en cromatofolios de gel de sílice 60 F_{254} usando como sistema de desarrollo el K, indicó que el sólido correspondía a una mezcla de BDCLn-15 y BDCLn-1. El residuo de las aguas madres de obtención de la mezcla de BDCLn-15 y BDCLn-1 se resolvió por cromatografía en capa fina preparativa; el cromatograma se



Procesamiento de la Fracción de Bases Débiles de Corteza de Laurelia novae-zelandiae

esquema 2-4

desarrolló repetidas veces con el sistema K hasta que la separación se consideró óptima. La banda correspondiente a un compuesto anaranjado se sacó del cromatograma y se eluyó repetidas veces con CHCl_3 . Por evaporación del solvente se obtuvo 25 mg de un compuesto amarillo (BDCLn-16). Fue identificado como oxoputerina (3-9).

La solución acuosa ácida obtenida por distribución entre ácido tartárico y cloroformo del residuo de las aguas madres de BDCLn-20, se basificó con NH_4OH concentrado hasta pH 9 y se extrajo con porciones de 50 mL de CHCl_3 hasta que la fase clorofórmica dio reacción de Dragendorff negativa. El extracto clorofórmico se secó sobre Na_2SO_4 anhidro, se filtró y se evaporó el solvente, obteniéndose 3,1 g de un residuo sólido de color verde oscuro. El sólido se analizó por cromatografía en capa fina utilizando cromatofolios de gel de sílice 60 F₂₅₄ y como sistema de desarrollo el K. Los cromatogramas indicaron que en la mezcla había dos compuestos de Rf alto y muy semejante; también se observó un componente Dragendorff-positivo minoritario de Rf más bajo y dentro de las manchas correspondientes a los componentes principales se observaron pequeñas manchas poco definidas de color amarillo (figura 2-7).

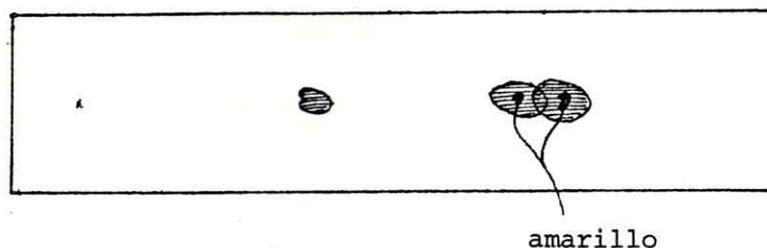


figura 2-7

La mezcla se resolvió por cromatografía en columna de gel de sílice 60; como eluyente se usó CHCl_3 , recogién- dose fracciones de 30 mL. Estas fueron analizadas por cromatografía en capa fina usando cromatofolios de gel de sílice 60 F₂₅₄ y como sistema de desarrollo el 2.

Las fracciones se reagruparon de la manera indicada en la tabla 2-9.

Fracciones	Peso (mg)	Observación
1-6	32	Compuestos que migran con el frente del solvente, Dragendorff- negativos
7-13	2.045	Mezcla de <u>BDCLn-20</u> y <u>BDCLn-21</u>
14-30	557	<u>BDCLn-21</u>
31-39	53	Mezcla de <u>BDCLn-21</u> y <u>BDCLn-22</u>
40-58	119	<u>BDCLn-22</u>

Fracciones obtenidas de la separación del residuo de aguas madres reextraído de BDCLn

tabla 2-9

La fracción 14-30, homogénea cromatográficamente, pesó 557 mg (BDCLn-21). Fue identificada como laurelina (3-19). La fracción 40-58, homogénea cromatográficamente pesó 119 mg (BDCLn-22). Fue identificada como romneína (3-24).

2.5.-Extracción y fraccionamiento de las bases de corteza Laurelia sempervirens

Una muestra de 2,6 kg de material vegetal se extrajo y el extracto etanólico se procesó de manera idéntica a la descrita en 2.2.

Se obtuvo de esta manera 9,0 g (0,35 %) de la fracción de bases no fenólicas (BNF), 3,5 g (0,95 %) de la fracción de bases fenólicas (BF) y 8,2 g (0,39 %) de la fracción de bases débiles (BD).

2.5.1.- Procesamiento de la fracción de bases débiles de corteza de Laurelia sempervirens (BDCLs)

La fracción de BDCLs (8,2 g), se disolvió en 300 mL de CH_2Cl_2 y se extrajo seis veces con 50 mL de NaOH 5% cada vez. La fase orgánica se lavó con 50 mL de agua destilada, se filtró y concentró, obteniéndose 3,9 g de un residuo aceitoso. La fracción liberada de los compuestos

ácidos y fenólicos se disolvió en una pequeña cantidad de CHCl_3 caliente y se guardó a 5° durante 24 horas; por filtración se separó un sólido amarillo que lavado con CHCl_3 frío y secado pesó 450 mg (BDCLs-1). Fue identificado como liriodenina (3-2).

El residuo de concentración de las aguas madres se disolvió en 100 mL de CHCl_3 y la solución resultante se extrajo dos veces con 100 mL de HCl 5% cada vez. En el extracto acuoso ácido apareció un precipitado granate que separado por filtración, pesó 230 mg. El sólido se suspendió en agua, a la suspensión se le agregó NH_4OH concentrado hasta pH 9,0 y se extrajo con CH_2Cl_2 ; por concentración de este extracto se obtuvo 190 mg de un polvo café-anaranjado (BDCLs-2). Fue identificado como oxonantenina (3-3).

El residuo de concentración de la solución clorofórmica liberada de los alcaloides (2,8 g) se resolvió por cromatografía en columna de gel de sílice 60 (150 g); como eluyente se usó CH_2Cl_2 , recogiéndose fracciones de 20 mL. Estas se analizaron por cromatografía en capa fina usando como adsorbente gel de sílice GF_{254} y como sistema de desarrollo el I. Las fracciones se reagruparon de la siguiente manera (tabla 2-10).

Fracciones	Peso (mg)
1	575
2-4	400
5	125
6	74
7	191
8	136
9	100
10-12	86
13	200
14	170
15	123
16-18	70
19-23	100

Fracciones obtenidas de la separación del residuo de aguas
madres de BDCLs-2

tabla 2-10

La fracción 2-4, cristalizada de $C_6H_6-C_6H_{12}$ (1:1),
dio 53 mg de un sólido blanco (BDCLs-19). Fue identifica-
do como (E)-(3,4-metilendioxifenil)-2-propen-1-01 (3-27).

2.5.2. Separación de la fracción de alcaloides no fenólicos de corteza de Laurelia sempervirens (BNFCLs)

La fracción BNFCLs (1,0 g) se resolvió por cromatografía en columna de gel de sílice 60 (100 g); como eluyentes se utilizó CH_2Cl_2 y mezclas de CH_2Cl_2 -MeOH de polaridad creciente, recogién dose fracciones de 10 mL. Estas se analizaron por cromatografía en capa fina usando como adsorbente gel de sílice G y como sistema de desarrollo el N. Las fracciones se reagruparon de la siguiente manera (tabla 2-11).

Fraciones	Peso (mg)	Observación
1-80	76	Mezcla compleja de compuestos Dragendorff-negativos
81-92	9	Mezcla compleja de compuestos Dragendorff-negativos
93-111	13	Mezcla compleja de compuestos Dragendorff-positivos
112-147	37	Mezcla compleja de compuestos Dragendorff-positivos
148-162	27	Mezcla compleja de compuestos Dragendorff-positivos
163-195	116	Homogénea cromatográficamente, <u>BNFCLs-3</u>
196-222	31	<u>BNFCLs-3</u> , impuro
223-253	9	Mezcla compleja de compuestos Dragendorff-negativos
254-269	12	Mezcla compleja de compuestos Dragendorff-negativos
270-300	17	<u>BNFCLs-17</u> , impuro
301-374	334	Homogénea cromatográficamente, <u>BNFCLs-17</u>
375-414	160	Mezcla compleja de compuestos Dragendorff-positivos
415-534	54	Mezcla compleja de compuestos Dragendorff-positivos
535-575	55	Homogénea cromatográficamente, <u>BNFCLs-18</u>

Fraciones obtenidas de la separación de BNFCLs

tabla 2-11

La fracción 163-195, homogénea cromatográficamente, pesó 116 mg (BNFCLs-3). Fue identificada como nornanteni-na (3-11).

La fracción 301-374, homogénea cromatográficamente, pesó 334 mg (BNFCLs-17). Fue identificada como una mezcla compleja de alcaloides bisbencilisoquinolínicos.

La fracción 535-575, homogénea cromatográficamente pesó 55 mg (BNFCLs-18). Fue identificada como una mezcla compleja de alcaloides bisbencilisoquinolínicos.

2.5.3.-Separación de la fracción de alcaloides fenólicos de corteza de Laurelia sempervirens (BFCLs)

La fracción BFCLs (2,0 g) se resolvió por cromatografía en columna de gel de sílice 60 (30 g); como eluyentes se utilizó CHCl_3 y mezclas de CHCl_3 -MeOH de polaridad creciente, recogiendo fracciones de 20 mL. Estas se analizaron por cromatografía en capa fina usando como adsorbente gel de sílice G y como sistema de desarrollo el N. Las fracciones se reagruparon de la siguiente manera (tabla 2-12):

Fracciones	Peso (mg)	Observación
1-3	223	Compuestos coloreados de Rf alto Dragendorff-negativos
4-6	154	<u>BFCLs-14</u>
7-13	153	
14-28	965	<u>BFCLs-13</u>
29-59	159	Compuestos de Rf muy bajo Dragendorff-positivos

Fracciones obtenidas de la separación de BFCLs

tabla 2-12

La fracción 4-6, homogénea cromatográficamente, pesó 154 mg (BFCLs-14). Fue identificada como aterolina (3-4).

La fracción 14-28, homogénea cromatográficamente, dio un espectro de RMP, que indicó ausencia de $\underline{\text{N}}\text{-CH}_3$ por lo cual una parte de la misma (220 mg) se sometió a acetilación. El producto de reacción se volcó en H_2O /hielo y la suspensión obtenida se extrajo con CHCl_3 ; el extracto clorofórmico se secó sobre Na_2SO_4 anhidro, se filtró y por evaporación del solvente se obtuvo 274 mg de un sólido café claro. El producto de acetilación se suspendió en 10 mL de Na_2CO_3

10%, se le agregó 10 mL de etanol absoluto y se calentó en baño de agua durante 1,5 horas. La mezcla de reacción se diluyó con 100 mL de H₂O, se llevó a pH 8 con HCl 1 N y se extrajo con CHCl₃ (5 x 25 mL). El extracto clorofórmico se secó sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtró y por evaporación del solvente se obtuvo un sólido que pesó 245 mg. El producto de hidrólisis se purificó por cromatografía en capa fina preparativa; el cromatograma se desarrolló repetidas veces con el sistema K hasta que la separación se consideró óptima. La banda correspondiente al compuesto principal se sacó de la placa y se eluyó repetidas veces con CHCl₃. Por evaporación del solvente se obtuvo 120 mg de un sólido blanco homogéneo cromatográficamente (Ac-BFCLs-13). Fue identificado como N-acetilaurotetanina.

(3-14)

2.6.- Identificación

2.6.1.- BDCLs-1. Liriodenina (3-2)

Recristalizada de CHCl_3 fundió a $279-281^\circ(\text{d})$ (lit. $282^\circ(\text{d})$)⁵³; $\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH}}$ 395 (log ϵ 3,80); 309 (3,64), 268 (4,14), 247 (4,23) nm (figura 3-3); $\bar{\nu}_{\text{max}}^{\text{-KBr}}$ 1645, 1050, 960 cm^{-1} (figura 3-2); δ^{TFA} 6,73 s(2H), 7,66 s(1H), 7,76-9,10 ppm sistema complejo (6H) (figura 3-4).

Se demostró su identidad con liriodenina por comparación con una muestra auténtica (pfm, IR (figura 3-5), Rf).

Los compuestos: BDMLs-1, BDCLn-1 y BDCLp-1, también resultaron idénticos a BDCLs-1 y a una muestra auténtica de liriodenina.

2.6.2.- BDMLs-2. Oxonantenina (3-3)

Recristalizada de CHCl_3 fundió a $211-212^\circ(\text{d})$ (lit. $215-218^\circ(\text{d})$ (EtOH); retiene solvente de cristalización)⁵⁴; $\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH}}$ 358 (log ϵ 3,95); 319 (3,75), 272 (4,41), 244 (4,40) nm. $\bar{\nu}_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ 1650 cm^{-1} (figura 3-6); $\delta^{\text{CDCl}_3 + \text{TFA}}$ 4,18s(3H), 4,24 s(3H), 6,24 s(2H), 7,47 s(1H), 7,80 s(1H), 8,37d, $\underline{J} = 6,0$ Hz (1H), 8,64 s(1H), 8,76 ppm, d, $\underline{J}=6,0$ Hz (1 H) (figura 3-7).

Espectro de masa: (figura 3-8)

Composición	masa m/z	%	Calculado
$C_{19}H_{13}NO_5$	335,0806	100	335,0794
$C_{18}H_{10}NO_5$	320,0542	81	320,0559
$C_{17}H_{10}NO_4$	292,0616	15	292,0469
$C_{17}H_8NO_4$	290,0469	16	290,0454
$C_{16}H_7NO_4$	277,0369	11	277,0375
$C_{16}H_8NO_3$	262,0508	16	262,0505

Identificado como oxonantenina por sus propiedades espectroscópicas (ver discusión). Los compuestos BDCLs-2 y BDCLp-2 , también resultaron idénticos a BDMLs-2 .

2.6.3.- Acetil-BNFMLs-3. (S) (+)-Acetilnornantenina (3-11)

Recristalizada de EtOH fundió a 281-284° (lit 283-284)⁵⁵; $[\alpha]_D^{24} + 357,6^\circ$ (c: 0,335 $CHCl_3$) (lit. $[\alpha]_D^{26} + 340^\circ$ (c: 0,50 $CHCl_3$))⁵⁴; $\bar{\nu}_{max}^{KBr} 1620\text{ cm}^{-1}$ (figura 3-31); δ^{CDCl_3} 2,18 s(3H), 3,66 s(3H), 3,88 s(3H), 6,00 s(2H), 6,64 s(1H), 6,77 s(1H), 8,00 s(1H) (figura 3-32); Espectro de masa: (figura 3-33)

Composición	masa m/z	%	Calculado
$C_{21}H_{21}NO_5$	367,1436 (M^+)	56	367,1019
$C_{19}H_{16}O_4$	308,1044	40	308,1048
$C_{18}H_{16}O_4$	296,1015	21	296,1048
$C_{18}H_{15}O_4$	295,0980	100	295,0971
$C_{17}H_{13}O_4$	281,0806	14	281,0814

Se demostró su identidad con N-acetilnornantenina por comparación con una muestra auténtica (pfm, IR (figura 3-35), Rf).

Los compuestos Acetil-BNFCLp-3 y Acetil-BDCLs-3 también resultaron idénticos a Acetil-BNFMLs-3 y a una muestra auténtica de N-acetilnornantenina.

2.6.4.- Acetil-BNFCLp-4. (R)(-)-Acetil anonaína (3-12)

Recristalizada de MeOH fundió a 236-238° (lit. 229-230°); $[\alpha]_D^{23} -354,0^\circ$ (c: 0,210 $CHCl_3$) (lit. $[\alpha]_D^{25} -356^\circ$ (c: 0,49 $CHCl_3$); $\nu_{max}^{KBr} 1630\text{ cm}^{-1}$ (figura 3-36); δ^{CDCl_3} 2,21 s(3H), 5,97 d, $J = 1,5\text{ Hz}$ (1H), 6,08 d, $J = 1,5\text{ Hz}$ (1H), 6,58 s(1H), 7,26 m(3H), 8,01 ppm m(1H) (figura 3-37).

Espectro de masa: (figura 3-38)

Composición	masa m/z	%	Calculado
$C_{19}H_{17}NO_3$	307,1193 (M^+)	71	307,1208
$C_{17}H_{14}NO_2$	264,1033	10	264,1025
$C_{17}H_{13}NO_2$	263,0960	14	263,0947
$C_{17}H_{12}O_2$	248,0829	33	248,0837
$C_{16}H_{13}O_2$	237,0868	12	237,0916
$C_{16}H_{12}O_2$	236,0822	62	236,0837
$C_{16}H_{11}O_2$	235,0713	100	235,0759

Se demostró su identidad con N-acetilanonaína por comparación con una muestra auténtica (pfm, IR (figura 3-40), Rf).

El compuesto Acetil-BNFMLs-4, también resultó idéntico a Acetil-BNFCLp-4 y a una muestra auténtica de N-acetilanonaína.

2.6.5.- Acetil-BNFMLs-5 (R) (-)-Acetilnornuciferina (3-13)

Recristalizada de MeOH fundió a 230-233° (lit. 229-230° (MeOH); $[\alpha]_D^{23}$ -417,0° (c=0,25, CHCl₃) (lit $[\alpha]_D$ -406° (c=0,65, CHCl₃); ν_{max}^{KBr} 1625 cm⁻¹ (figura 3-41); δ^{CDCl_3} 2,17 s(3H), 3,67 s(3H), 3,90 s(3H), 6,70 s(1H), 7,22 m(3H), 8,38 ppm m (1H) (figura 3-42) m/z.

Espectro de masa: (figura 3-43)

Composición	masa m/z	%	Calculado
$C_{20}H_{21}NO_3$	323,1513 M^+	74	323,1522
$C_{18}H_{16}O_2$	264,1175	34	264,1150
$C_{17}H_{16}O_2$	252,1184	33	252,1151
$C_{17}H_{15}O_2$	251,1089	100	251,1072
$C_{16}H_{13}O_2$	237,0951	12	237,0915

Se demostró su identidad con N-acetilnornuciferina por comparación con una muestra auténtica (pfm, Ir (figura 3-45), Rf).

2.6.6.- BNFMLs-6 (R) (-)-Michelalbina (3-20)

Recristalizada de EtOH fundió a 194-196° (lit. 206-207°)⁵⁷. $[\alpha]_D^{23} -97,6^\circ$ (c= 0,296, $CHCl_3$) (lit. $[\alpha]_D -103,7^\circ$)⁵⁶; δ^{CDCl_3} 4,0 m (1H), 4,53 d, $\underline{J} = 3$ Hz (1H), 5,90 d, $\underline{J} = 1,5$ Hz (1H), 6,05 d, $\underline{J} = 1,5$ Hz (1H), 6,56 s(1H), 7,31 m (3H), 8,16 ppm m(1H) (figura 3-66).

Acetil-BNFMLs-6 (R) (-)-O,N,-Diacetilmichelalbina

BNFMLs-6 (285 mg) se sometió a acetilación y la mezcla de reacción se trató con etanol absoluto y se dejó estar 1 hora a 0°. Por filtración y posterior secado se obtuvo 201 mg de un sólido blanco cristalino homogéneo cromatográfica-

mente, que fundió a (230°) 247-250°(d).

Recristalizado de MeOH fundió a (236°) 239-243°(d);
 $|\alpha|_D^{15^\circ} - 586^\circ$ (c=2,05, CHCl_3); $\bar{\nu}_{\text{max}}^{\text{KBr}} 1740, 1640 \text{ cm}^{-1}$ (figura 3-67); $\delta^{\text{CDCl}_3} 1,90 \text{ s}(3\text{H}), 2,23 \text{ s}(3\text{H}), 5,42 \text{ d}, \underline{J}= 3,0 \text{ Hz}$ (1H), 6,00 d, $\underline{J}= 1,5 \text{ Hz}$ (1H), 6.10 d, $\underline{J} = 1,5 \text{ Hz}$ (1H), 6,24 d, $\underline{J} = 3\text{Hz}$ (1H), 6,61 s(1H), 7,10-7,73 m(3H), 8,20 ppm m(1H), (figura 3-68); $M^+ 365,1214$ (0.05 %), calculado para $\text{C}_{21}\text{H}_{19}\text{NO}_5$ 365,1263; 305, 1041 (100%), calculado para $\text{C}_{19}\text{H}_{15}\text{NO}_3$ 305,1052 (figura 3-69).

Se demostró su identidad con 0, N-diacetilmichelalbina por comparación con una muestra obtenida por acetilación de un patrón de michelalbina (pfm, IR (figura 3-70), Rf).

2.6.7.- Acetil-BNFMLs-7 (R) (-)-Acetilestefarina (3-26)

Recristalizada de MeOH fundió a 210-213°(lit. 232-234°)⁵⁸ $|\alpha|_D^{23^\circ} - 86,73^\circ$ (c= 0,226, CHCl_3) (lit $|\alpha|_D^{-80^\circ}$)⁵⁸;
 $\bar{\nu}_{\text{max}}^{\text{KBr}} 1660, 1640 \text{ cm}^{-1}$ (figura 3-87); $\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH}} 280, 230 \text{ nm}$;
 $\delta^{\text{CDCl}_3} 2,20 \text{ s}(3\text{H}), 3,63 \text{ s}(3\text{H}), 3,86 \text{ s}(3\text{H}), 5.12$
 dd, $\underline{J} = 10 \text{ Hz}, \underline{J}'= 6 \text{ Hz}$ (1H), 6,32 dd, $\underline{J} = 10 \text{ Hz}, \underline{J}'=1,5 \text{ Hz}$ (1H), 6,39 dd, $\underline{J} =10 \text{ Hz}, \underline{J}'= 1,5 \text{ Hz}$ (1H), 6,73 s(1H), 6,84 dd, $\underline{J}= 10 \text{ Hz}, \underline{J}'= 3\text{Hz}$ (1H), 7,05 ppm dd, $\underline{J} = 10 \text{ Hz}, \underline{J}'=3\text{Hz}$ (1H) (figura 3-88).

Espectro de masa: (figura 3-90)

Composición	Masa m/z	%	Calculado
$C_{20}H_{21}NO_4$	339,1468 M^+	100	339,1470
$C_{20}H_{20}NO_4$	338,1381	12	338,1392
$C_{18}H_{20}NO_3$	298,1396	13	298,1443
$C_{18}H_{19}NO_3$	297,1363	62	297,1365
$C_{18}H_{18}NO_3$	296,1284	35	296,1287
$C_{17}H_{16}NO_3$	282,1138	14	282,1130
$C_{18}H_{16}O_3$	280,1104	13	280,1099
$C_{17}H_{16}O_3$	268,1059	12	268,1064
$C_{17}H_{15}O_3$	267,0981	29	267,1001

Identificado como N-acetilestefarina por sus propiedades físicas y espectroscópicas (ver discusión).

2.6.8.- Ac-BNFCLp-8 (S) (+)-O,N- Diacetilnorcoridina (3-17)

Sólido amorfo homogéneo cromatográficamente $[\alpha]_D^{16} +$
 $266^\circ (c = 0,76, CHCl_3)$; $\bar{\nu}_{max}^{KBr} 1720, 1640 \text{ cm}^{-1}$ (figura 3-58);
 $\delta^{CDCl_3} 2,16 \text{ s}(3H), 2,25 \text{ s}(3H), 3,45 \text{ s}(3H), 3,85 \text{ s}(3H),$
 $3,88 \text{ s}(3H), 6,70 \text{ s}(1H), 6,88 \text{ d}, \underline{J} = 8 \text{ Hz} (1H), 7,13 \text{ ppm d},$
 $\underline{J} = 8 \text{ Hz} (1H)$ (figura 3-59); Espectro de masa: (figura
 3-60).

Composición	masa m/z	%	calculado
$C_{23}H_{25}NO_6$	411,1684 M^+	78	411,1682
$C_{20}C^{13}H_{23}NO_5$	370,1594	18	370,1569
$C_{21}H_{23}NO_5$	369,1566	89	369,1576
$C_{21}H_{22}NO_5$	368,1485	11	368,1498
$C_{18}C^{13}H_{18}NO_4$	311,1238	22	311,1238
$C_{19}H_{18}O_4$	310,1209	99	310,1205
$C_{17}C^{13}H_{17}O_4$	298,1180	25	298,1161
$C_{18}H_{17}O_4$	297,1132	100	297,1127
$C_{18}H_{16}O_4$	296,1046	12	296,1048
$C_{17}C^{13}H_{15}O_4$			296,1003
$C_{18}H_{15}O_4$	295,0992	22	295,0970
$C_{17}H_{15}O_4$	283,0952	17	283,0970
$C_{16}C^{13}H_{14}O_4$			283,0925
$C_{17}H_{14}O_4$	282,0920	17	282,0892

2.6.9.- BNFCLp-9 Rel (4R,6a S)-Hidroxinornantenina (3-21)

Sólido amorfo cromatográficamente puro δ^{CDCl_3} 3,65 s (3H), 3,94 s(3H), 4,51 m ancho 0.5 4 Hz (1H), 5,97 s(2H), 6.68 s (1H), 6,90 s(1H), 7,89 ppm s(1H) (figura 3-71).

Ac-BNFCLp-9 O, N-diacetil-Rel(4R,6a S)-4-hidroxinornantenina
(3-21).

La acetilación de la base produjo un derivado que recristalizado de EtOH fundió a 179-181°; $\bar{\nu}_{\text{max}}^{\text{-KBr}}$ 1770, 1640 cm^{-1} (figura 3-72); δ^{CDCl_3} 2,30 s(6H), 3,71 s(3H), 3,93 s(3H), 5,77 dd, $\underline{J} = 10$ Hz, $\underline{J}' = 5$ Hz (1H), 5,98 s(2H), 6,74 s(1H), 6,80 s(1H), 7,95 ppm s(1H) (figura 3-73); M^+ m/z 425, 1475 (8 %), calculado para $\text{C}_{23}\text{H}_{23}\text{NO}_7$ 425, 1475; 365 (27%); 354 (2%); 353 (4%); 311 (100%); 252 (20%) (figura 3-74).

Identificado como O, N-diacetil-4-hidroxinornantenina por sus propiedades espectroscópicas (Ver discusión).

2.6.10 BNFCLp-10. Rel(4R, 6a R)-4-hidroxi-anonaína contaminada con BNFCLp-9 (3-22)

Sólido amorfo, muestra una impureza por cromatografía en capa fina y se descompone con rapidez. δ^{CDCl_3} 4,83 m, 5,95 d, $\underline{J} = 1,5$ Hz, 6,08 d, $\underline{J} = 1,5$ Hz, 7,00 s, 7,06-7,43 m, 8,05 ppm m (figura 3-78).

Identificado como Rel (4R, 6a R)-4-hidroxi-anonaína por sus propiedades espectroscópicas (ver discusión).

2.6.11. BFCLp-11. (R) (-)-Asimilobina (3-15)

Sólido amorfo cromatográficamente puro δ^{CDCl_3} 3,63 s(3H), 6,70 s(1H), 7,25 m(3H), 8,28 ppm m (1H) (figura 3-52)

Ac-BFCLp-11. (R) (-)-O, N-Diacetilasimilobina (3-16)

La acetilación de la base produjo un derivado que recristalizado de benceno-hexano fundió a 141-144° (lit. 143-144°)⁵⁶; $[\alpha]_{\text{D}}^{-344}$ (c=1,21, CHCl₃); $\bar{\nu}_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ 1750, 1625 cm⁻¹ (figura 3-53), δ^{CDCl_3} 2,20 s(3H), 2,36 s(3H), 3,60 s(3H), 6,86 s(1H), 7,26 m (3H), 8,31 ppm m(1H) (figura 3-54).

Espectro de masa: (figura 3-55)

Composición	masa m/z	%	Calculado
C ₂₁ H ₂₁ NO ₄	351,1461 M ⁺	59	351,1471
C ₁₉ H ₁₉ NO ₃	309,1370	30	309,1364
C ₁₇ H ₁₄ O ₂	250,0999	100	250,0993
C ₁₆ H ₁₄ O ₂	238,0994	58	238,0994
C ₁₆ H ₁₃ O ₂	237,0925	83	237,0951

Se demostró su identidad con O, N- diacetilasimilobina por comparación con una muestra auténtica (pfm, IR (figura 3-57), Rf).

2.6.12.- Perclorato de BFCLp-12. Perclorato de (S) (+)-reticulina (3-23)

Recristalizado de etanol absoluto fundió a 202-204° (lit. 203-205°)⁵⁷; $[\alpha]_D^{22} + 85^\circ$ (c=0,42, EtOH) (lit. $[\alpha]_D + 85,71^\circ$)⁵⁷.

Se demostró su identidad con perclorato de reticulina por comparación con una muestra auténtica (pfm, IR (figuras 3-82 y 3-83). Rf).

2.6.13.- BFCLs-13. (S) (+)-Laurotetanina (3-14.)

Sólido amorfo cromatográficamente homogéneo δ^{CDCl_3} 3,66 s(3H), 3,86 s(6H), 4,66 s ancho, señal que desaparece al agregar D₂O, 6,56 s(1H), 6,78 s(1H), 8,03 ppm s(1H), (figura 3-46).

Ac-BFCLs-13. (S) (+)-N-Acetil laurotetanina (3-14)

Recristalizada de MeOH fundió a 138-140° (lit. 142°)⁵⁴; $[\alpha]_D^{15} + 338^\circ$ (c= 0,22, CHCl₃) (lit. + 330° (c=0,14, CHCl₃)⁵³; $\bar{\nu}_{\max}^{KBr} 1.605 \text{ cm}^{-1}$ (figura 3-47); δ^{CDCl_3} 2,18 s(3H), 3,66 s(3H), 3,90 s(6H), 6,61 s(1H), 6,81 s(1H), 8,10 ppm s(1H) (figura 3-48).

Espectro de masa: (figura 3-49)

Composición	masa m/z	%	calculado
$C_{21}H_{23}NO_5$	369,1575	62	369,1576
$C_{19}H_{18}O_4$	310,1192	11	310,1205
$C_{18}H_{18}O_4$	298,1177	23	298,1205
$C_{18}H_{17}O_4$	297,1135	100	297,1127
$C_{18}H_{15}O_4$	295,0978	14	295,0970
$C_{17}H_{15}O_4$	283,0974	17	283,0970
$C_{17}H_{14}O_4$	282,0936	11	282,0898

Se demostró su identidad con N-acetillaurotetanina por comparación con una muestra auténtica (pfm, IR (figura 3- 51), Rf).

El compuesto Ac-BFCLp-13, también resultó idéntico a Ac-BFCLs-13 y a una muestra auténtica de N-acetillaurotetanina.

2.6.14.- BFCLs-14. Aterolina (3-4)

Recristalizada de $CHCl_3$ fundió a $235-260^\circ$ (lit $250-260^\circ$)¹⁵; $\bar{\nu}_{\max}^{KBr}$ 1625 cm^{-1} (figura 3-10); δ^{CF_3COOD} 4,26 s(3H), 4,35 s(3H), 4,38 s(3H), 7,66 s(1H), 8,10 s(1H), 8,51 d, $J=6\text{ Hz}$ (1H), 8,78 d, $J=6\text{ Hz}$ (1H), 9,36 ppm s(1H) (figura 3-11). m/z

Espectro de masas: (figura 3- 12)

Composición	masa m/z	%	calculado
$C_{19}H_{15}NO_5$	337,0960 M^+	100	337,0950
$C_{18}H_{12}NO_5$	322,0726	48	322,0716
$C_{17}H_9NO_5$	307,0493	18	307,0481
$C_{17}H_{12}NO_4$	294,0779	24	294,0767
$C_{17}H_8NO_4$	290,0466	11	290,0453
$C_{16}H_9NO_4$	279,0520	10	279,0531
$C_{16}H_8NO_3$	262,0508	15	262,0505

El compuesto BFCLp-14 también resultó idéntico a BFCLs-14.

Ac-BFCLs-14. Acetilaterolina

La acetilación de la base produjo un derivado que recristalizado de Et_2O fundió a $214-215^\circ$ (lit. $216-218^\circ$)⁵⁸; $\bar{\nu}_{max}^{KBr}$ $1725, 1630\text{ cm}^{-1}$ (figura 3-14). Se demostró su identidad con acetilaterolina por comparación de su espectro de IR (figura 3-14) con el de una muestra auténtica (figura 3-15).

2.6.15.- BDCLn-15. Oxolaurelina (3-6)

Recristalizada de CHCl_3 fundió a 297° (lit. 268°)⁵⁹;
 $\bar{\nu}_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ 1642 cm^{-1} (figura 3-16); $\delta^{\text{CF}_3\text{COOD}}$ 4,18 s(3H), 6,71
 s(2H), 7,40 dd, $\underline{J} = 9 \text{ Hz}$, $\underline{J}' = 2 \text{ Hz}$ (1H), 7,62 s(1H), 8,41
 d, $J=2 \text{ Hz}$ (1H), 8,49 d, $J=6 \text{ Hz}$ (1H), 8,64 d, $J=9 \text{ Hz}$ (1H),
 8,77 ppm d, $J = 6 \text{ Hz}$ (1H) (figura 3-17); δ^{CDCl_3} 3,99 s(3H),
 6,37 s(2H), 7,11 dd, $J=8 \text{ Hz}$, $J'=2 \text{ Hz}$ (1H), 7,23 s(3H),
 7,76 d, $J = 5 \text{ Hz}$ (1H), 8,14 d, $J=2 \text{ Hz}$ (1H), 8,58 d, $J=9\text{Hz}$
 (1H), 8,89 ppm d, $J=5 \text{ Hz}$ (1H) (figura 3-21).

Espectro de masa: (figura 3-19)

Composición	masa m/z	%	calculado
$\text{C}_{18}\text{H}_{11}\text{NO}_4$	305,0690 M^+	100	305,0688
$\text{C}_{17}\text{H}_{11}\text{NO}_3$	277,0731	14	277,0739
$\text{C}_{17}\text{H}_{10}\text{NO}_3$	276,0647	12	276,0661
$\text{C}_{16}\text{H}_8\text{NO}_3$	262,0500	12	262,0504

Identificado como oxolaurelina por sus propiedades es-
 pectroscópicas (ver discusión).

2.2.16.- BDCLn-16. Oxoputerina (3-9)

Recristalizada de CHCl_3 fundió a $242-244^\circ$ (lit. $241-243^\circ$)⁶⁰; $\bar{\nu}_{\text{max}}^{\text{-KBr}}$ 1650 cm^{-1} (figura 3-25); δ^{CDCl_3} 4,04 s(3H), 6,23 s(2H), 7,16 s(1H), 7,31 dd, $\underline{J} = 8 \text{ Hz}$, $\underline{J}' = 1,5 \text{ Hz}$ (1H), 7,56 t, $\underline{J} = 8 \text{ Hz}$ (1H), 7,74 d, $\underline{J} = 5 \text{ Hz}$ (1H), 8,18 dd, $\underline{J} = 8 \text{ Hz}$, $\underline{J}' = 1,5 \text{ Hz}$ (1H), 8,84 ppm, d, $\underline{J} = 5 \text{ Hz}$ (1H) (figura 3-26).

Espectro de masa: (figura 3-27)

Composición	masa m/z	%	calculado
$\text{C}_{18}\text{H}_{11}\text{NO}_4$	305,0689 M^+	100	305,0688
$\text{C}_{17}\text{H}_8\text{NO}_4$	290,0460	30	290,0453
$\text{C}_{16}\text{H}_8\text{NO}_3$	262,0508	19	262,0505

Se demostró su identidad con oxoputerina por comparación con una muestra auténtica (pfm, IR (figura 3-28), Rf).

2.2.17.- BNFCLs-17. Mezcla de bisbenciisoquinolinas

Sólido amorfo cromatográficamente homogéneo δ^{CDCl_3} 2,28 (s), 2,60 (s), 2,68 (s), 3,13 (s), 3,20 (s), 3,63 (s), 3,73 (s), 3,80 (s), 3,90 (s), 4,20 (m), 5,43 (m), 5,98 (m), 6,20-7,10 ppm (m) (figura 3-94). M^+ m/z 622 (100%), 608 (12%), 515 (2,8%), 431 (0,9%), 396 (5,5%), 395 (19%), 381 (13,5%), 198 (19%), 175 (6%) (figura 3-95).

Identificada como mezcla de bisbencilisoquinolinas por sus propiedades espectroscópicas (ver discusión).

2.2.18.- BNFCLs-18. Mezcla de bisbencilisoquinolinas

Sólido amorfo cromatográficamente homogéneo δ^{CDCl_3}
 2,57 (s), 2,63 (s), 3,10-3,16 (m), 3,33 (s), 3,57 (s), 3,60 (s), 3,79 (s), 4,65 (m), 5,45 (m), 6,20-7,15 ppm (m) (figura 3-97). M^+ m/z 622 (15%), 608 (100%), 515 (2,8%), 501 (2,8%), 417 (2,8%), 396 (25%), 395 (63%), 381 (42%), 198 (77%), 175 (28%) (figura 3-98).

Identificada como mezcla de bisbencilisoquinolinas por sus propiedades espectroscópicas (ver discusión).

2.2.19.- BDCLs-19 (E)-3-(3,4-metilendioxfenil)-2-propen-1-ol (3-27)

Recristalizado de ciclohexano dio un sólido blanco de p.f. 78-79° (lit. 77-78°)⁶¹; δ^{CDCl_3} 1,60 s(1H) señal que desaparece al agregar D₂O, 4,31 dd, $J' = 6\text{ Hz}$, $J'' = 2\text{ Hz}$ (2H), 5,95 s(2H), 6,19 dt, $J = 16\text{ Hz}$, $J' = 6\text{ Hz}$ (1H), 6,65 dt $J = 16\text{ Hz}$, $J'' = 2\text{ Hz}$ (1 H), 6,70-6,94 ppm m (3H) (figura 3-91).

Se demostró su identidad con (E)-3-(3,4-metilendioxfenil)-2-propen-1-ol por comparación con una muestra

sintetizada según técnica descripta⁶² (pfm, Rf, IR (figuras 3-92 y 3-93)).

2.6.20.- BDCLn-20.(R)(-)-Pukateína (3-18)

Recristalizada de etanol fundió a 211-212° (lit. 208-212°)²³ $[\alpha]_D^{18} - 252^\circ$ (c = 0,85, EtOH) (lit.-240,4 \pm 3°)²³; δ^{CDCl_3} 2,55 s(3H), 5,94 d, J = 1,25 Hz (1H), 6,08 d, J = 1,25 Hz (1H), 6,63 s(1H), 6,76-7,35 ppm m(3H) (figura 3-62).

Se demostró su identidad con pukateína por comparación con una muestra auténtica (pfm, IR (figuras 3-63 y 3-64), Rf).

2.6.21.- BDCLn-21.(R)(-)-Laurelina (3-19)

Sólido amorfo cromatográficamente puro; δ^{CDCl_3} 2,53 s(3H), 3,83 s(3H), 5,90 d, J = 2,0 Hz (1H), 6,05 d, J = 2,0 Hz, 6,53 s(1H), 6,76 dd, J = 8,0 Hz, J' = 2,5 Hz (1H), 7,16 d, J = 8,0 Hz (1H), 7,65 ppm d, J = 2,5 Hz (1H), (figura 3-65).

La base (550 mg) se disolvió en etanol absoluto y se trató con una solución de 250 mg de ácido (+)-tartárico en etanol absoluto; por filtración y posterior secado se obtuvo un sólido blanco cristalino que fundió a 204-209° (lit. 211°)⁶³ $[\alpha]_D^{20} = -50.0^\circ$ (c=0.10m EtOH) (lit - 25.1 \pm 3.1°)⁶³.

Identificado como laurelina por sus constantes físicas y propiedades espectroscópicas.

2.6.22.- BDCLn-22. (R) (-)-Romneína (3-24)

Sólido amorfo cromatográficamente puro δ^{CDCl_3} 2,50 s(3H), 3,81 s(3H), 3,85 s(3H), 5,85 s(2H), 6,26 s(1H), 6,61 d, J = 2,0 Hz (1H), 6,70 d, J = 2,0 Hz (1H), 6,71 ppm s(1H) (figura 3-84). El espectro resultó ser idéntico al del alcaloide de *Romneya coulterii* (figura 3-85).

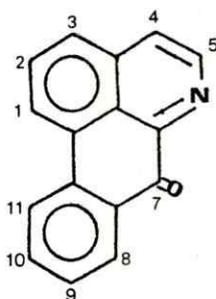
La base (98 mg) se disolvió en etanol absoluto y se trató con una solución de HBr en etanol absoluto; el solvente se eliminó y el producto amorfo obtenido se cristalizó de acetona; por filtración y posterior secado se obtuvo 75 mg de un sólido blanco cristalino que fundió a 223-225° (lit. 226-228°)⁶⁴, $|\alpha|_D^{15} -75^\circ$ (c = 0,20, EtOH) (lit. $|\alpha|_D -43^\circ$)⁶⁵.

Identificado como (R) (-)-romneína por sus constantes físicas y propiedades espectroscópicas.

DISCUSION Y CONCLUSIONES

3.1.- Determinación de Estructuras de Alcaloides Oxoaporfínicos3.1.1.- Generalidades Espectroscópicas

El rasgo característico de los espectros de IR de los alcaloides oxoaporfínicos (3-1), es la aparición de una banda aproximadamente a 1650 cm^{-1} que corresponde al estiramiento C=O del carbonilo conjugado del C-7.



3-1

Los espectros de UV muestran un patrón complejo, observándose en algunos casos hasta siete bandas. De los valores de absorción en el UV publicados para este tipo de compuestos⁶⁶⁻⁶⁸ es posible indicar los rangos en que se observan: 206-226, 235-256, 264-282, 292-324, 347-390, ~ 400 y ~ 450 nm.

La mayoría de los espectros de RMN de ^1H de compuestos de este tipo se han registrado en ácido trifluoracético. Mediante el examen de los espectros publicados en la literatura^{66,68} es posible concluir ciertas generalidades.

Cuando los espectros están bien resueltos se observa un sistema AB con J 5-7 Hz correspondiente a los hidrógenos de C-4 y C-5 y que aparecen respectivamente entre 7,83-8,67 y 8,76-9,00 ppm.

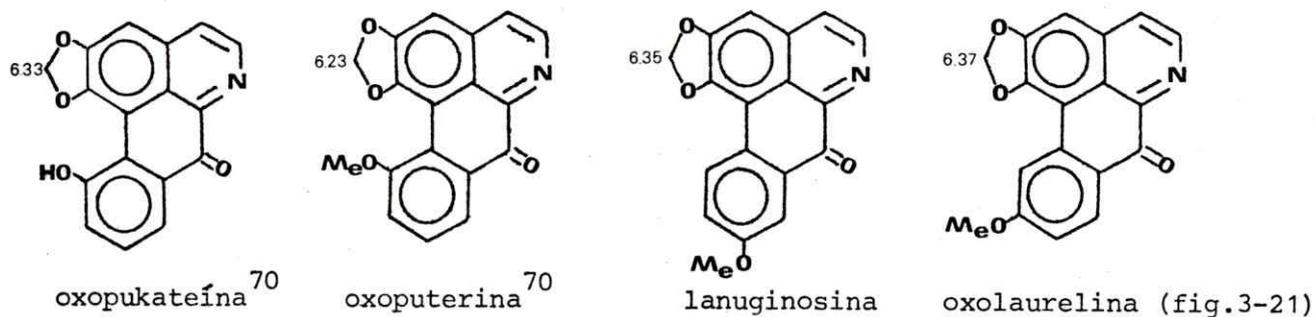
En todos los casos el H-3 resuena a campo más alto que los restantes hidrógenos aromáticos.

En el caso de las oxoaporfina con sustitución oxigenada en C-1, C-2, C-9 y C-10 se observan tres singuletes en la región de bajo campo del espectro. El singulete que aparece a campo más bajo, 8,30-9,36 ppm, corresponde generalmente al H-11, aunque en el caso de la oxolaurelina (1,2-metilendioxi-10-metoxi-7-oxoaporfina) el H-8 resuena a campo más bajo que el H-11⁶⁹.

La señal de los hidrógenos de un grupo metilendioxi ubicado en C-1 y C-2 aparece a 6,6-6,85 ppm; cuando el grupo está ubicado en C-9 y C-10 la señal aparece a \sim 6,20 ppm.

Si el espectro se registra en CDCl_3 se observa un corrimiento importante de la señal correspondiente a los

hidrógenos del grupo metilendioxi ubicado en C-1 y C-2, la que aparece a campo más alto 6.23-6.37 pp, como se desprende de los espectros publicados en la literatura⁷⁰ y de espectros registrados en este trabajo para lanuginosina y oxolaurelina (figura 3-1)



Valores de resonancia de los hidrógenos del grupo metilendioxi ubicado en C-1 y C-2; espectros de RMN de ¹H registrados en CDCl₃

figura 3-1

Otros corrimientos importantes observados cuando el espectro se registra en CDCl₃, afectan principalmente las señales correspondientes al H-4 y H-3, y en menor grado al H-11 todas las que aparecen a campo más alto⁶⁹.

Los espectros de masas de estos compuestos muestran un ión molecular abundante que siempre corresponde al pico base^{68,70,71}. Las fragmentaciones se explican por la pérdida

de los sustituyentes oxigenados de los anillos. Estas pérdidas se realizan por eliminaciones conjugadas en los que está involucrado el carbonilo del C-7⁷¹. Puede suceder, sin embargo que este grupo carbonilo sea expulsado como proceso primario, dependiendo de la sustitución en el anillo D⁶⁹.

3.1.2.- Liriodenina (3-2)

La fracción BDCLs, cristalizada de CHCl_3 , dio un sólido amarillo (agujas), designado como BDCLs-1, que fundió a 279-281° (d). El espectro de IR mostró una señal a 1645 cm^{-1} que se asignó al carbonilo de cetona conjugada, de un alcaloide oxoaporfínico (figura 3-2). El espectro de UV confirmó la presencia de un anillo de oxoaporfina (figura 3-3)

El espectro de RMN de ^1H en TFA (figura 3-4) mostró señales a δ : 7,66 ppm (s, 1H), correspondiente a un protón unido al C-3 de un alcaloide oxoaporfínico, 6,73 ppm (s, 2H) correspondiente a los hidrógenos de un grupo metilendioxi unido a C-1 y C-2 y un sistema complejo de señales entre 7,76-9,1 ppm cuya integral correspondió a 6H.

Con estos datos fue posible postular para el compuesto la estructura de la 1,2-metilendioxi oxoaporfina. Liriodenina (3-2).

fig. 3-3. Espectro de UV de BDCLs-1 Liriodenina

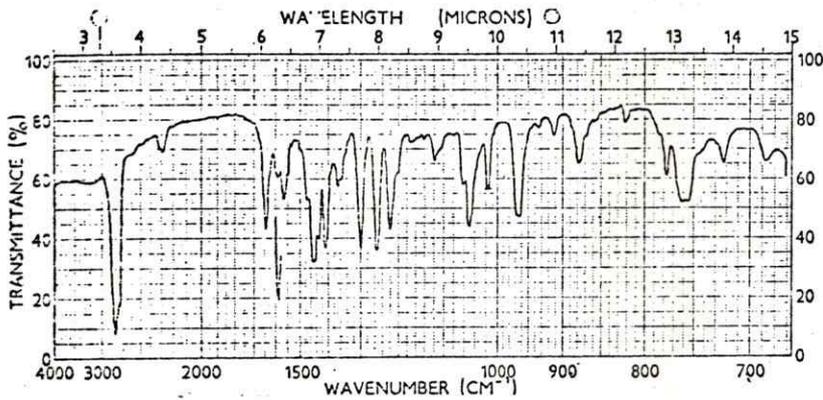
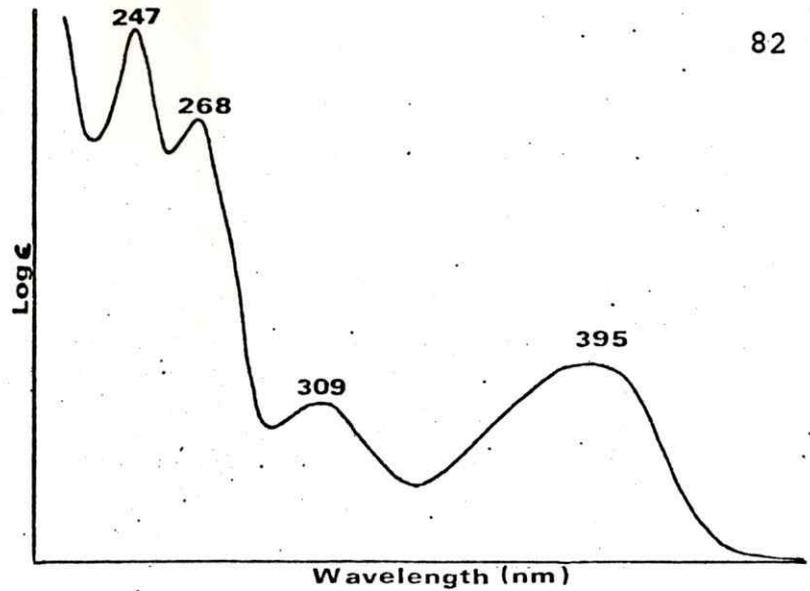


fig. 3-2. Espectro de IR de BDCLs-1. Liriodenina

fig 3-4. Espectro de RMN de ¹H (60 MHz) de BDCLs-1. Liriodenina

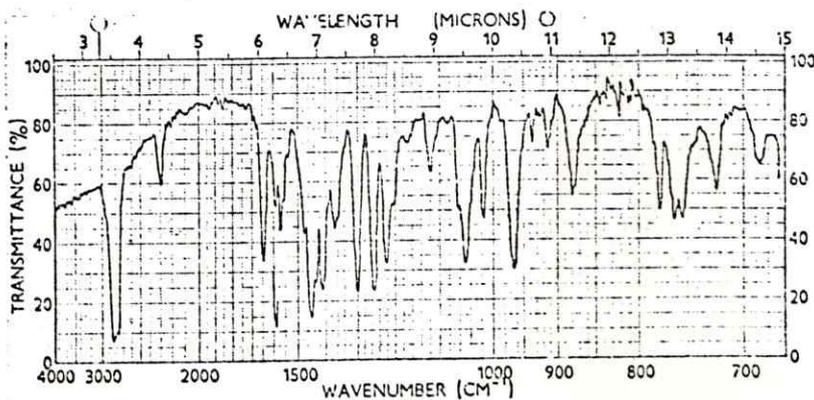
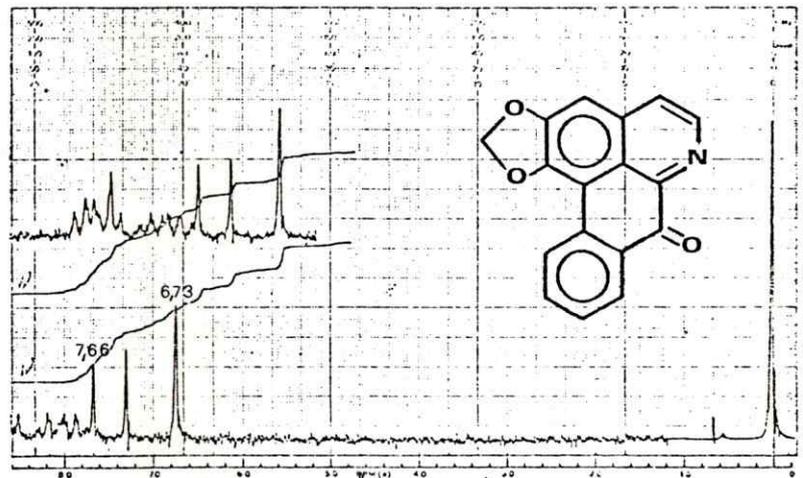
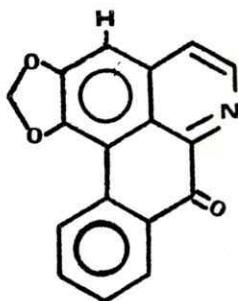


fig. 3-5. Espectro de IR de Liriodenina patrón.



(3-2)

La comprobación de la estructura asignada al compuesto se logró a través de su comparación con una muestra auténtica de liriodenina (espectros de IR idénticos (figura 3-5); no hubo depresión del p.f. al determinarlo para una mezcla; idénticos R_f en CCF).

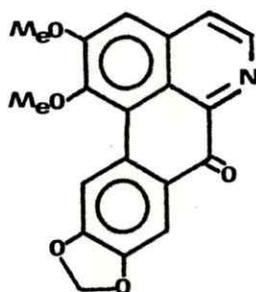
BDMLs-1, BDClp-1 y BDLn-1 también resultaron idénticos a liriodenina.

3.1.3.- Oxonantenina (3-3)

Por fraccionamiento de BDMLs (esquema 2-2) y posterior separación por cromatografía en columna se aisló un sólido anaranjado, designado como BDMLs-2, que recristalizado de CHCl_3 fundió a $211-212^\circ(\text{d})$. El espectro de IR mostró una señal a 1650 cm^{-1} que se asignó al carbonilo de cetona conjugada de un alcaloide oxoaporfínico (figura 3-6). El espectro de RMN de ^1H en $\text{CDCl}_3 + \text{TFA}$ (figura 3-7) mostró

señales a δ : 4,18 (s, 3H), 4,24 (s, 3H) y 6,24 ppm (s, 2H) correspondientes a los hidrógenos de dos grupos metoxilo y de un grupo metilendioxi. Tres singuletes a 7,47 (1H), 7,80 (1H) y 8,64 ppm (1H) y un sistema AB a 8,37 $J=6$ Hz (1H) y 8,76 ppm $J=6$ Hz (1H) concuerdan con la estructura de un alcaloide oxoaporfínico sustituido en las posiciones 1, 2, 9, 10. El desplazamiento químico de la resonancia de los hidrógenos del grupo metilendioxi indica que éste se encuentra en la posición 9, 10.

Con estos datos fue posible postular para el compuesto la estructura de la 1,2-dimetoxi-9,10-metilendioxi oxoaporfina. Oxonantenina (3-3).



(3-3)

Esta estructura recibe apoyo adicional del espectro de masas (figura 3-8); la medición de alta resolución de la señal del ión molecular confirmó la fórmula $C_{19}H_{13}NO_5$

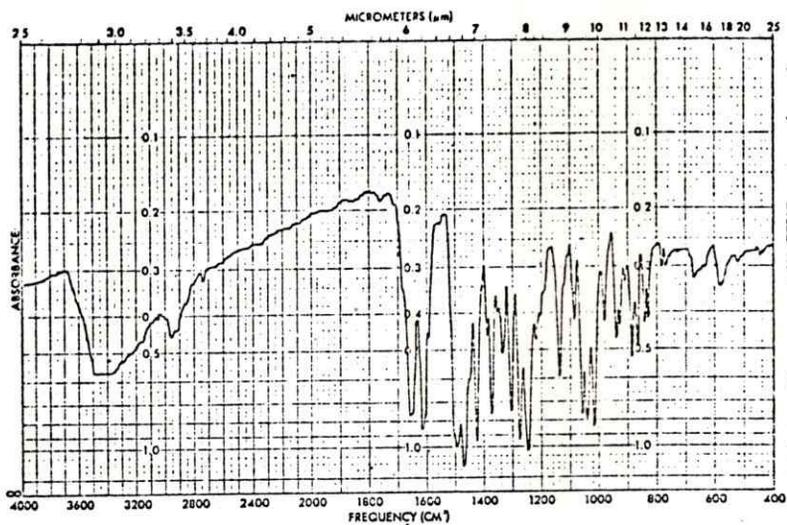


fig. 3-6. Espectro de IR de BDMLs-2. Oxonantenina.

fig.3-7. Espectro de RMN de ^1H (90 MHz) de BDMLs-2. Oxonantenina

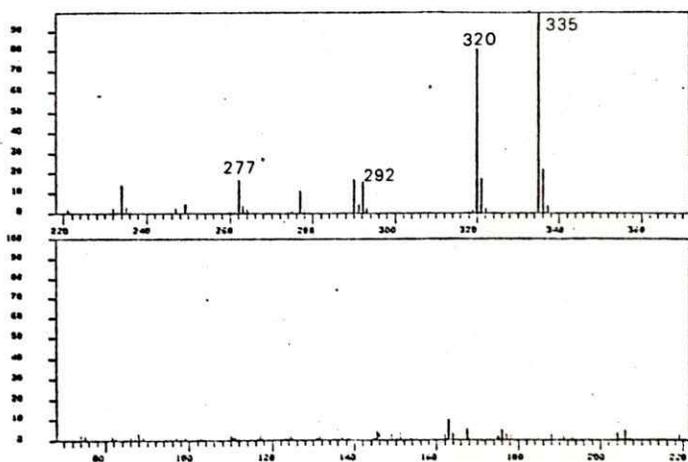
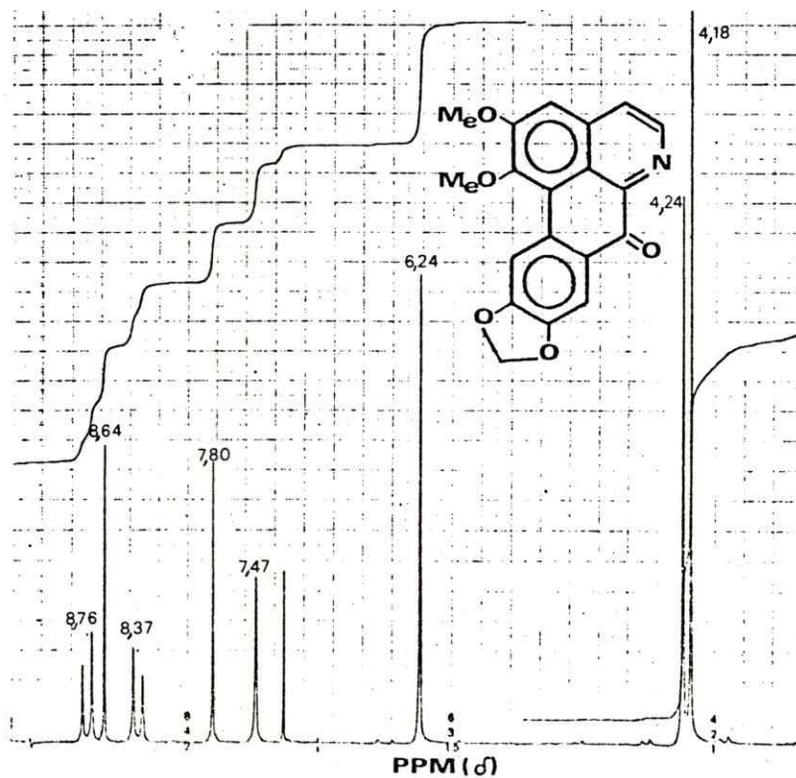
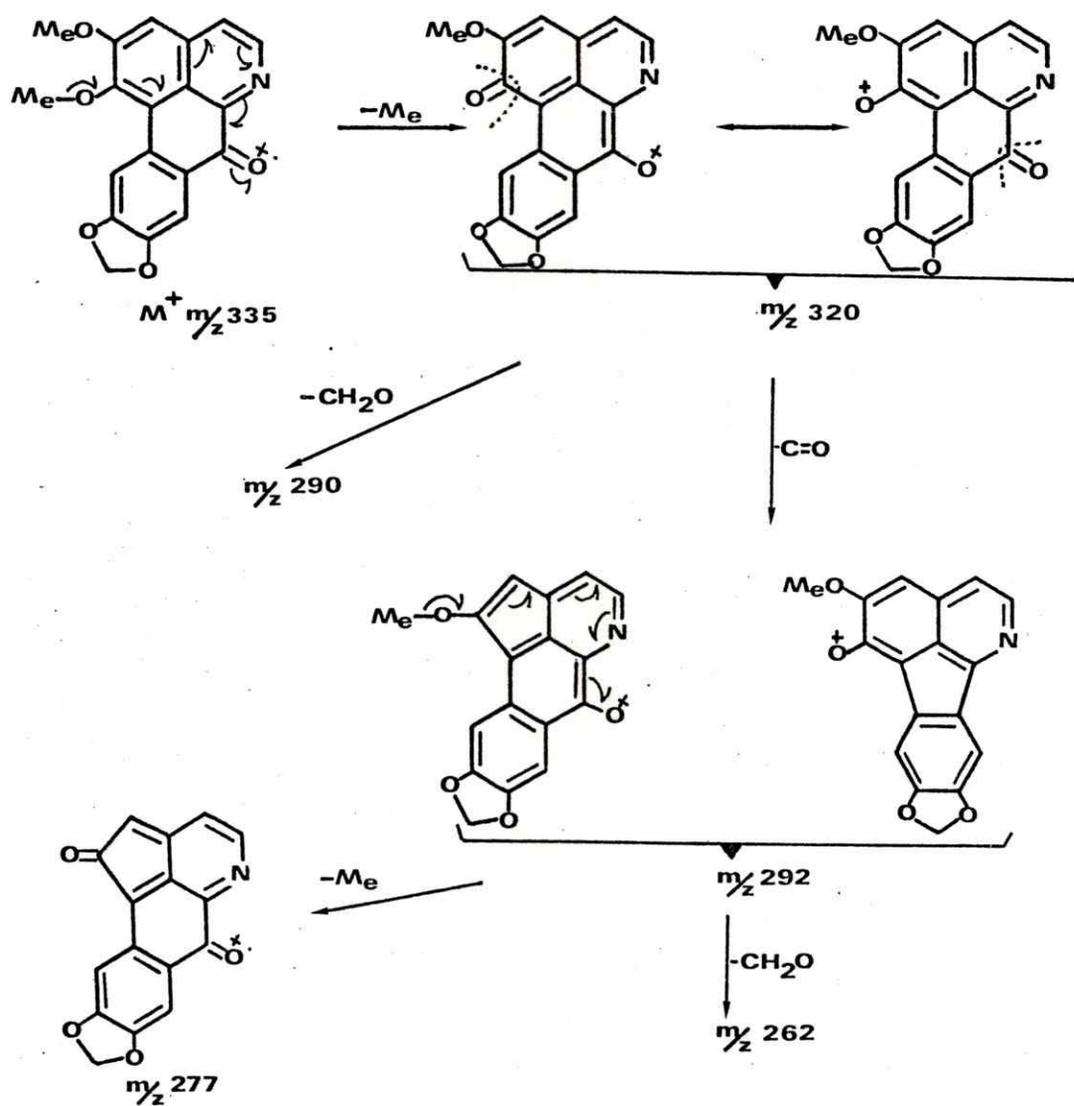


fig. 3-8. Espectro de masas de BDMLs-2. Oxonantenina



Esquema de fragmentación de BDMLs-2. Oxonantenina.

figura 3-9

(calculado 335,0794; experimental 335, 0806).

Por otro lado, la ausencia de un fragmento M^+-CH_2O y un pico importante correspondiente a M^+-Me (81%) confirmó que el grupo metilendioxi se encontraba en el anillo D. El probable esquema de fragmentación se muestra en la figura 3-9.

BDCLp-2 y BDCLs-2 también resultaron idénticos a oxonantenina.

Aunque este compuesto había sido descrito con anterioridad en una oportunidad en la literatura⁵⁴, no fue posible obtener una muestra para su comparación directa con los aislados en este trabajo.

3.1.4.- Aterolina (3-4)

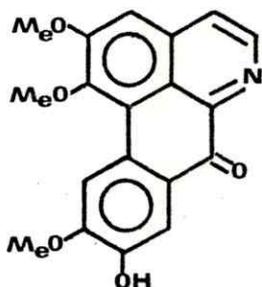
Por separación mediante cromatografía en columna de BFCLs, se obtuvo un sólido amorfo de color anaranjado designado como BFCLs-14, que cristalizado de $CHCl_3$ fundió a 235-260° (d). El espectro de IR mostró una señal a 1625 cm^{-1} que se asignó al carbonilo de cetona conjugado de un alcaloide oxoaporfínico (figura 3-10). El espectro de RMN de 1H en TFA (figura 3-11) mostró señales δ : 4,26 (s, 3H), 4,35 (s, 3H) y 4,38 ppm (s, 3H) correspondiente a los hidrógenos de tres grupos metoxilo. Tres singuletes a 7.66 (1H), 8,10 (1H), 9,36 ppm (1H) y un sistema AB a 8,51

$J=6,0$ Hz (1H) y $8,78$ ppm $J = 6$ Hz (1H) están de acuerdo con lo esperable para un alcaloide oxoaporfínico sustituido en las posiciones 1,2,9,10.

Con estos datos fue posible postular para el compuesto la estructura de un alcaloide oxoaporfínico con tres grupos metoxilo y un hidroxilo fenólico.

El espectro de masas del compuesto (figura 3-12), permitió afinar la estructura. La medición de alta resolución de la señal del ión molecular confirmó la fórmula $C_{19}H_{15}NO_5$ (calculado 337,0950; experimental 337,0960). Los otros fragmentos se pueden racionalizar con el siguiente esquema (figura 3-13).

Con estos datos fue posible postular para el compuesto la estructura de la 9-hidroxi-1,2,10-trimetoxioxoaporfina. Aterolina (3-4).



(3-4)

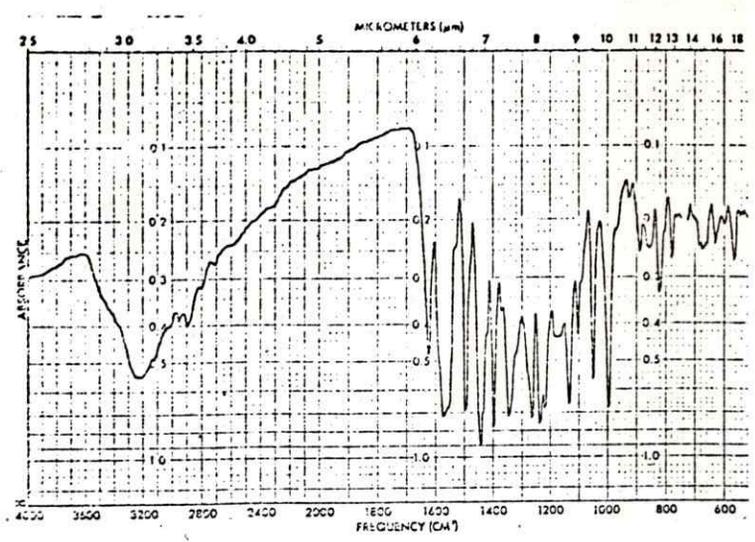


fig. 3-10. Espectro de IR de BFCLs-14. Aterolina

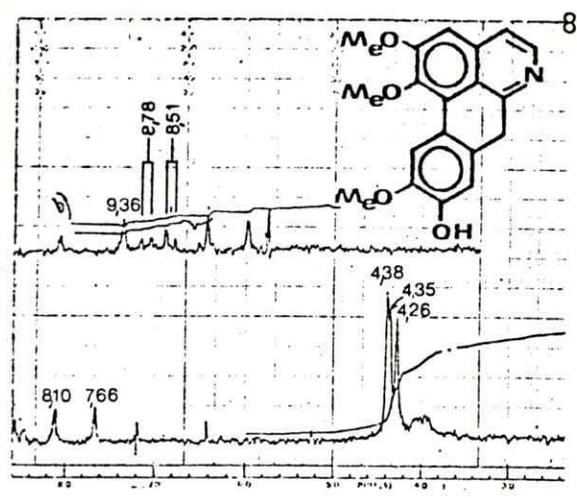


fig. 3-11. Espectro de RMN de ¹H (60 MHz) de BFCLs-14. Aterolina

fig. 3-12. Espectro de masas de BFCLs-14. Aterolina

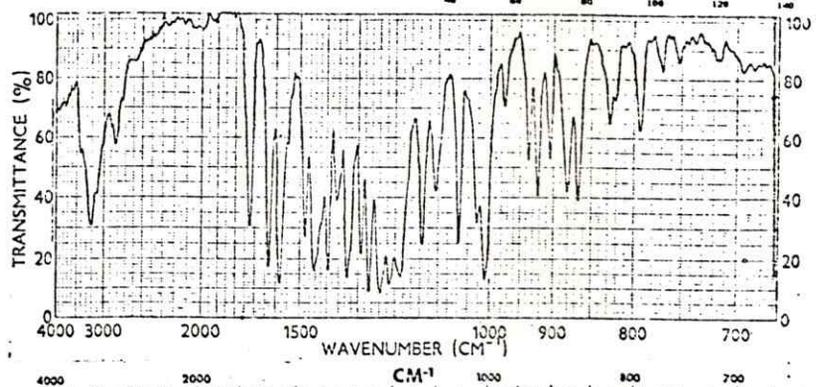
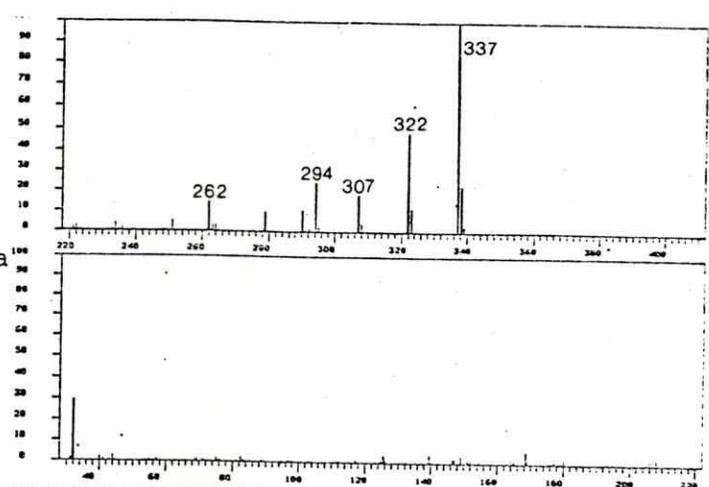


fig. 3.14. Espectro de IR de Ac-BFCLs-14. Acetilaterolina

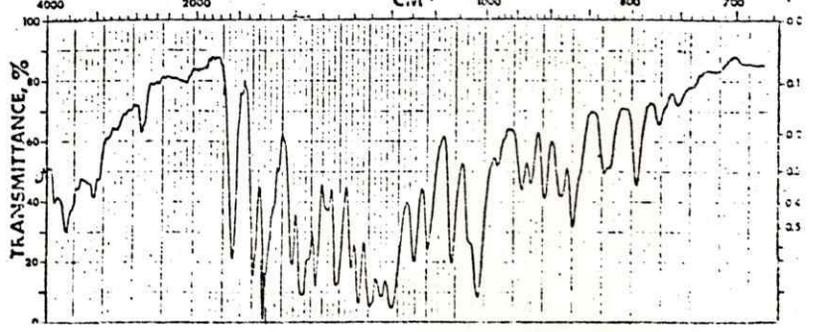
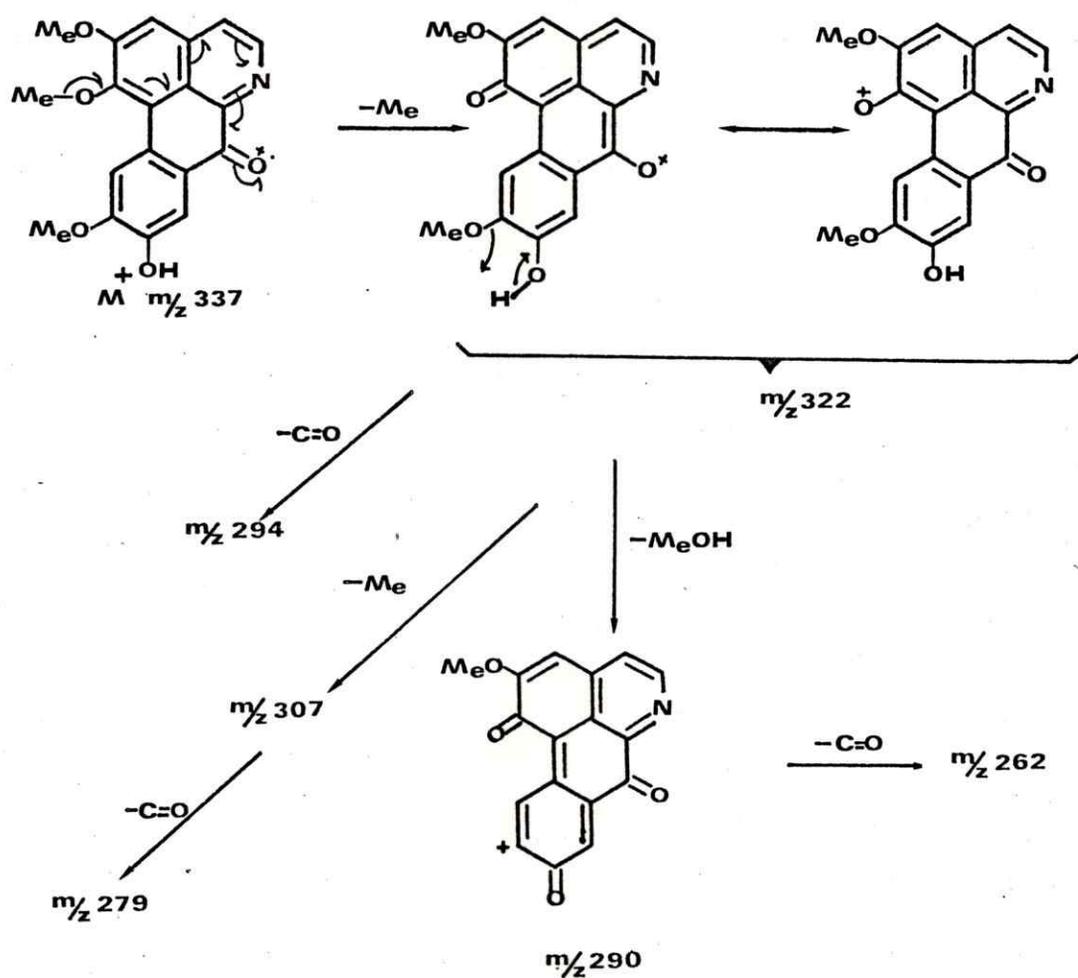


fig. 3-15. Espectro de IR de Acetilaterolina patrón.



Esquema de fragmentación de BDCLs-14. Aterolina

figura 3-13

La comprobación de la estructura asignada al compuesto se logró a través de la preparación del derivado acetilado y comparación con una muestra auténtica de acetilaterolina (espectros de IR idénticos figuras 3-14 y 3-15).

BFCLp-14 también resultó idéntica a aterolina.

3.1.5.- Oxolaurelina (3-6)

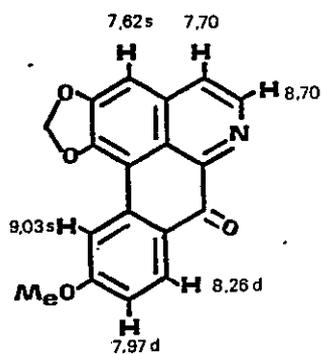
La fracción BDCLn recristalizada de CHCl_3 , dio un sólido amarillo claro (agujas), designado como BDCln-15, que fundió a 297° . El espectro de IR mostró una señal a 1642 cm^{-1} que se asignó al carbonilo de cetona conjugado de un alcaloide oxoaporfínico (figura 3-16). El espectro de RMN de ^1H en TFA (figura 3-17) definió los sustituyentes unidos al sistema tetracíclico de la oxoaporfina; la señal a 4,18 ppm (s, 3H) se asignó a los hidrógenos de un grupo metoxilo y la señal a 6,71 ppm (s, 2H) se asignó a los hidrógenos de un grupo metilendioxi unido a C-1 y C-2. El análisis de la zona de bajo campo del espectro permitió asignar la señal a 7,62 ppm (s, 1H) al H-3 y las señales a 8,49 (d, 1H, $J = 6\text{Hz}$) y 8,77 ppm (d, 1H, $J = 6\text{ Hz}$) a H-4 y H-5. Las restantes señales, a 7,40 (dd, 1H, $J = 9\text{ Hz}$, $\underline{J}' = 2\text{ Hz}$), 8,41 (d, 1H, $J = 2\text{ Hz}$) y 8,64 ppm (d, 1H, $\underline{J} = 9\text{Hz}$) permitieron concluir que el grupo metoxilo se encontraba

unido al C-9 o al C-10.

El compuesto con el metoxilo en C-9 se conocía con el nombre de lanuginosina (3-5) y se había descrito como un sólido anaranjado de p.f. 302-304°⁷² ó 317-319°⁷³. El compuesto con el metoxilo en C-10 había sido sintetizado y descrito como un sólido amarillo de p.f. 268°⁵⁹.

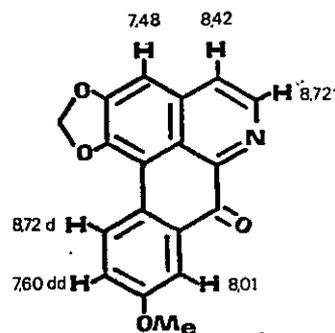
El espectro de RMN de ¹H de la lanuginosina (3-5) se había publicado⁷² y resultó ser superficialmente parecido al de BDCLn-15 (3-6); por otro lado los datos publicados⁶⁷ para la 1,2-metilendioxi-10-metoxioxoaporfina (3-7) eran totalmente diferentes a los obtenidos para BDCLn-15 (3-6).

La comparación directa del espectro de IR de BDCLn-15 (figura 3-16), con el de una muestra auténtica de lanuginosina (3-5) (figura 3-18) claramente demostró que los dos compuestos eran diferentes como la estructura de la lanuginosina había sido confirmada por síntesis, queda como única estructura posible para el compuesto la que tiene el grupo metoxilo en C-10, alcaloide aislado por primera vez como producto natural, y que debería recibir el nombre de oxolaurelina (3-6) siguiendo la costumbre de designar las oxoaporfinas como análogos de las aporfinas con los mismos sustituyentes oxigenados.



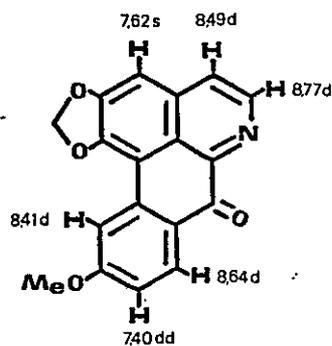
(3-7)

Valores de RMN de ^1H en TFA
para la 1,2-metilendioxi-10-
metoxiaporfina sintética.⁶⁷



(3-5)

Valores de RMN de ^1H en TFA
para la lanuginosina.⁷³



(3-6)

Valores de RMN de ^1H en TFA para
BDCLn-15.Oxolaurelina

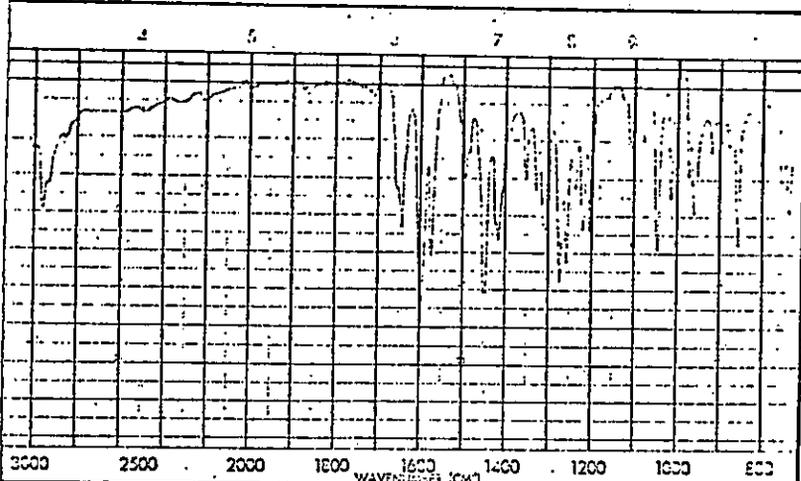


fig. 3.16. Espectro de IR de
BDCLn-15. Oxolaurelina

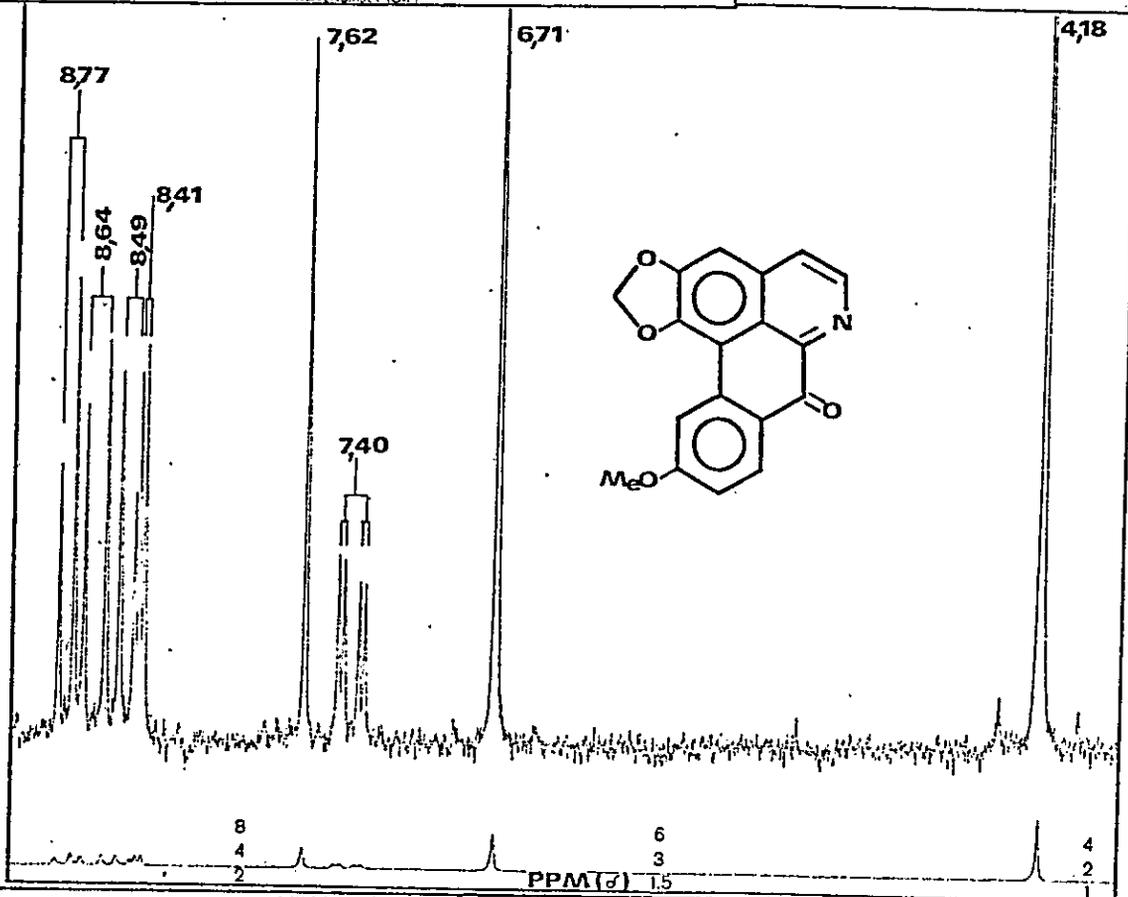


fig. 3-17.
Espectro de RMN
de ^1H (90 MHz)
de BDCLn-15.
Oxolaurelina

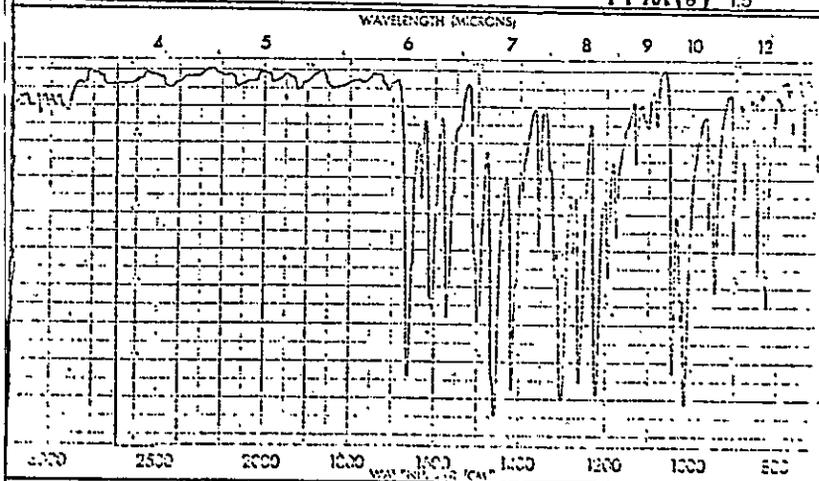


fig. 3-18. Espectro de IR de Lanuginosina patrón.

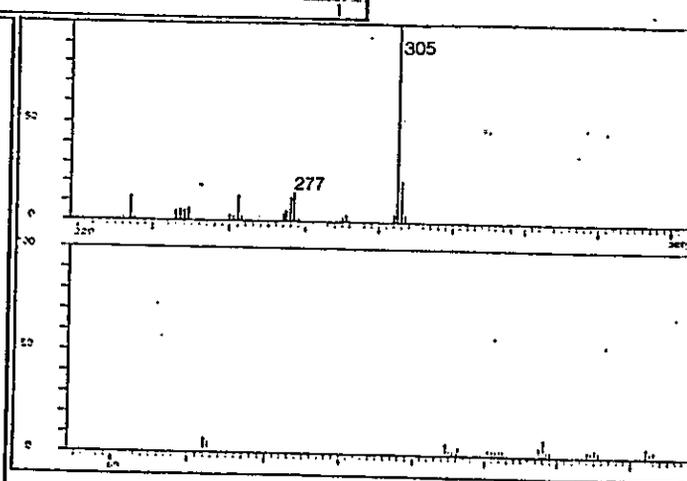


fig. 3-19. Espectro de masas de BDCLn-15
Oxolaurelina.

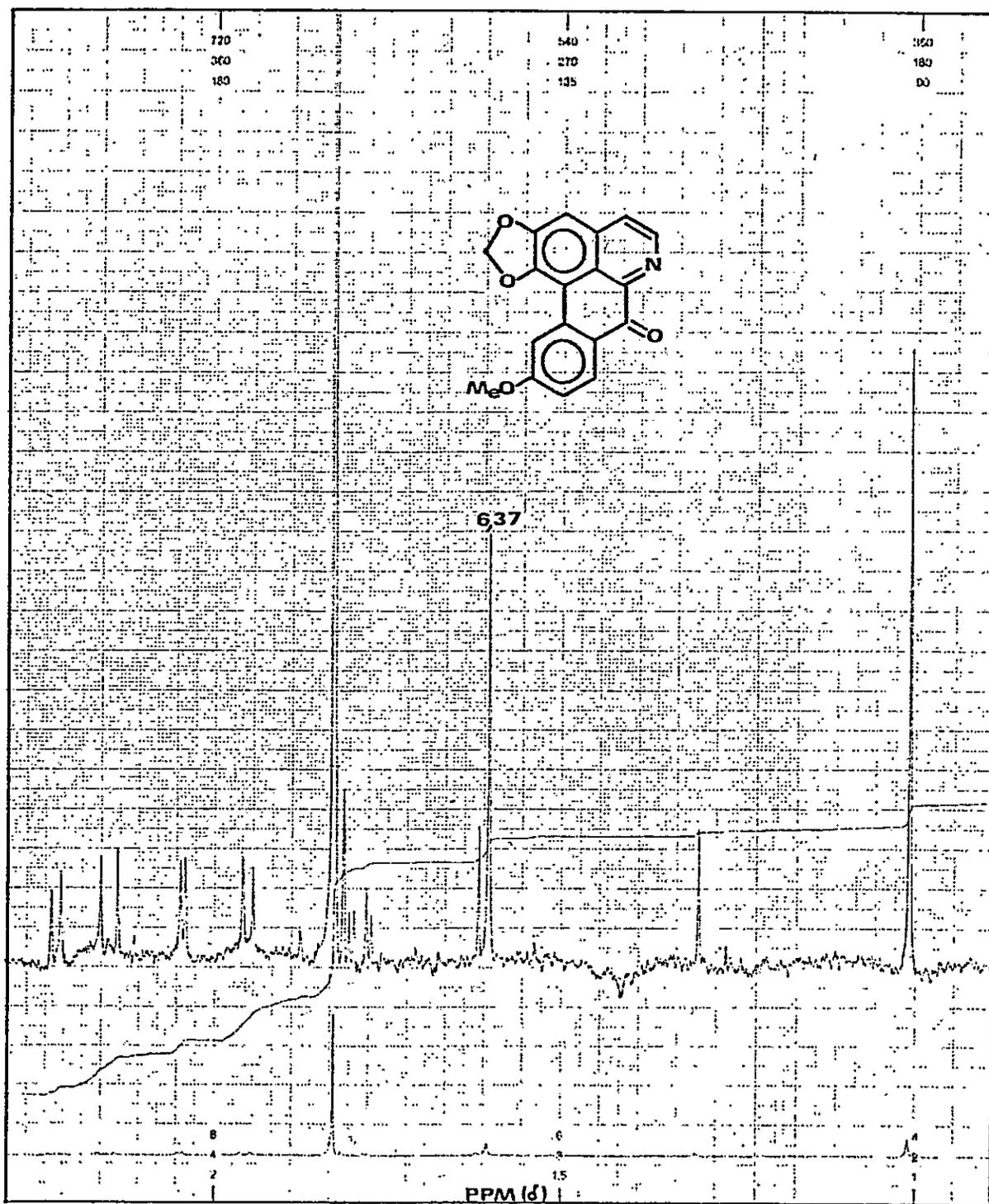
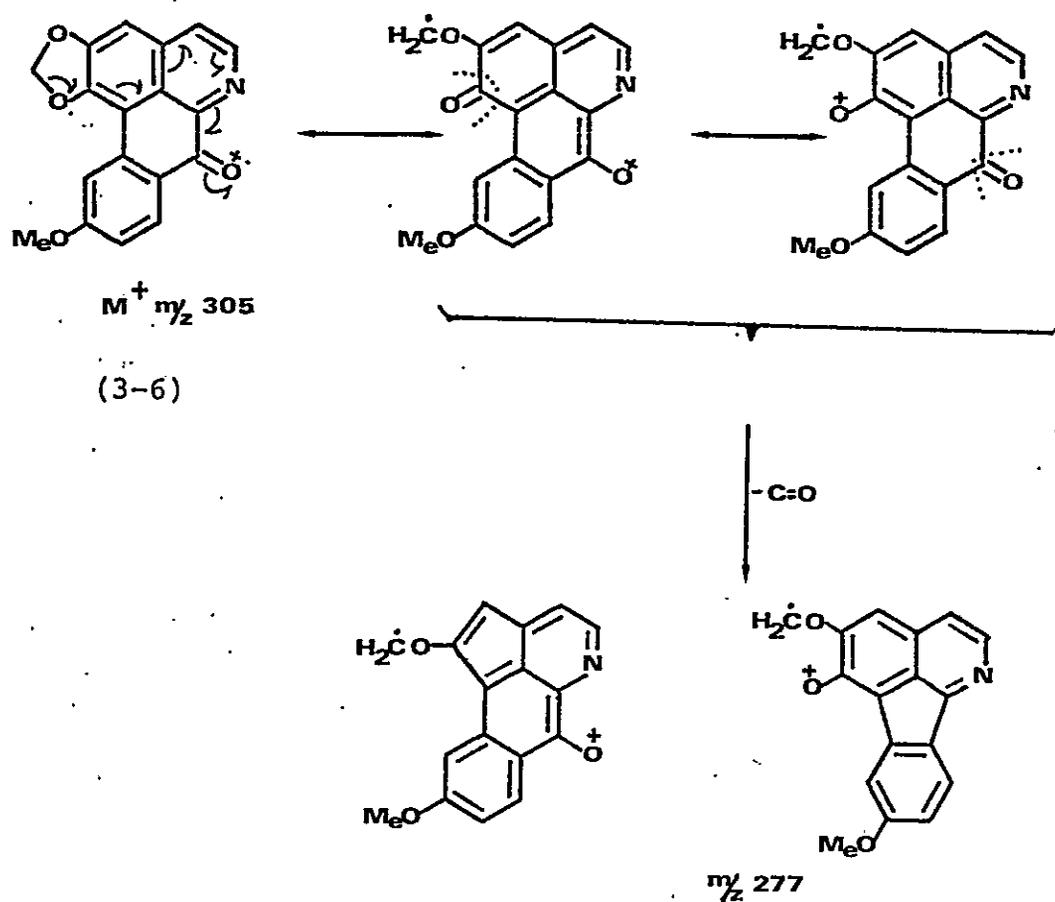


fig. 3-21. Espectro de RMN de ^1H (90 MHz) registrado en CDCl_3 , de BDCLn-15. Oxolaurelina

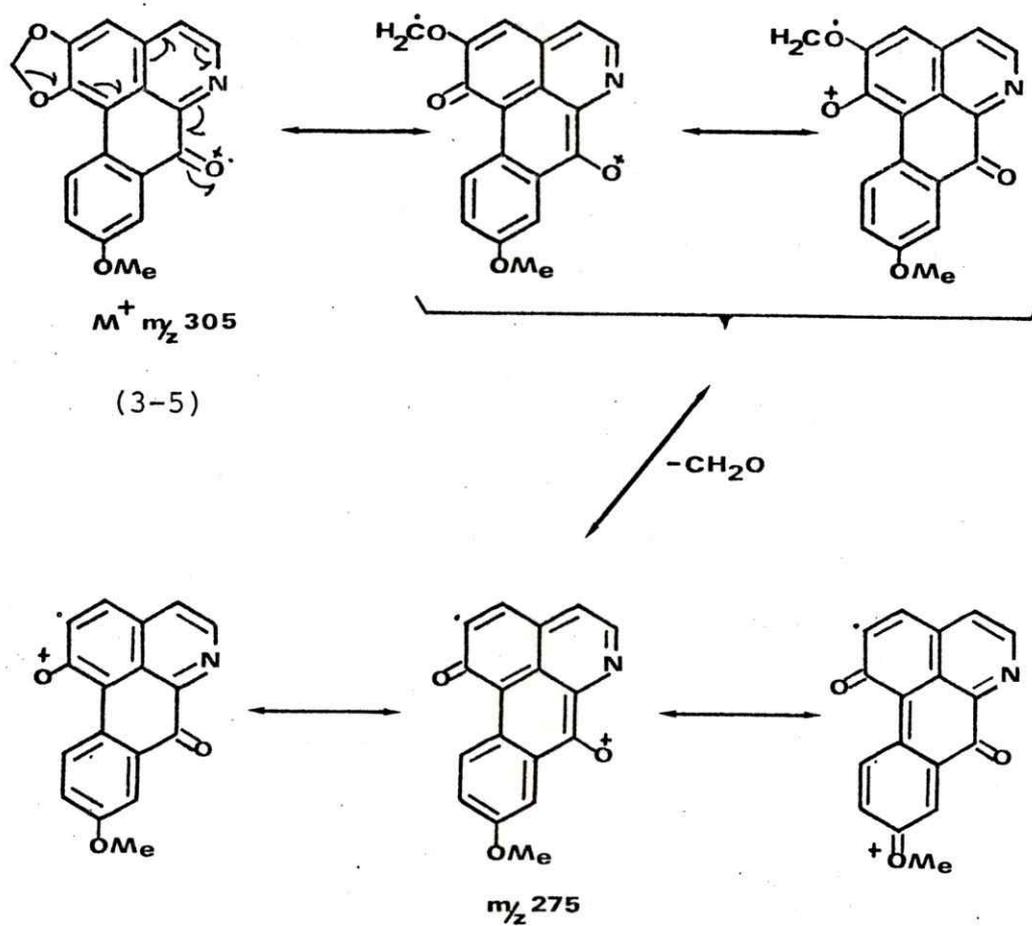
La estructura asignada recibe apoyo adicional del espectro de masas (figura 3-19). La fórmula molecular $C_{18}H_{11}NO_4$ fue confirmada por la medición de alta resolución de la intensa (100%) señal del ión molecular (calculado 305,0688; experimental 305,0690). El único otro pico importante en la zona de masas altas corresponde a m/z 277 ($M^+ - C=O$, 14%) cuya formación se puede racionalizar con el esquema de fragmentación de la figura 3-20 .

Los isómeros lanuginosina (3-5), oxoestefanina (3-8) y oxoputerina (3-9) dan fragmentos importantes a m/z 275 ($M^+ - CH_2O$, 20%)⁷³, m/z 276 ($M^+ - CHO$, 96%)⁷⁴, m/z 290 ($M^+ - CH_3$, 21%)⁶⁰ respectivamente. Esto ilustra cuan fuertemente afecta la posición del grupo metoxilo en el anillo D la fragmentación del ión molecular. Los procesos mencionados se pueden racionalizar de la siguiente manera: (figuras 3-22, 3-23 y 3-24).



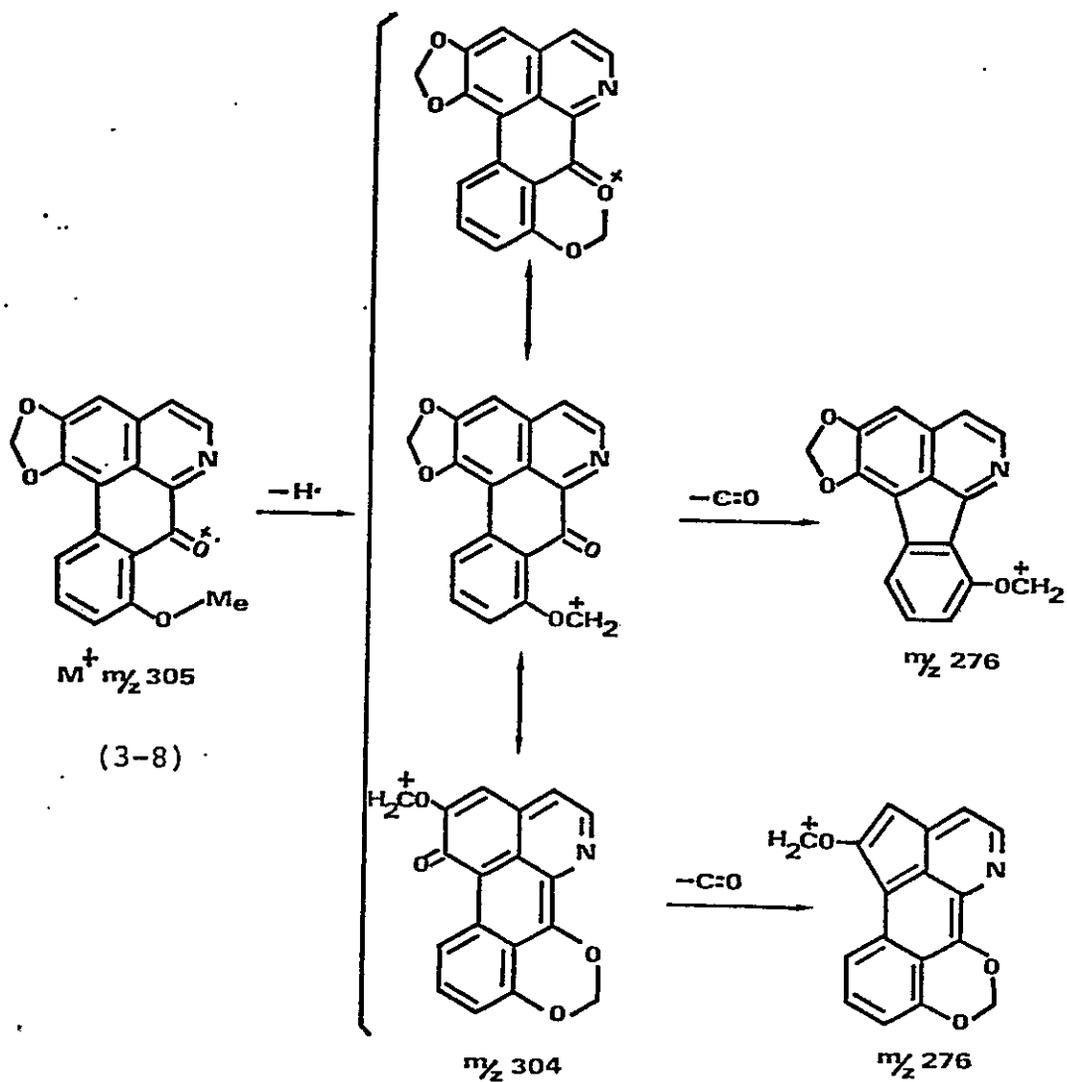
Esquema de fragmentación de BDCLn-15. Oxolaurelina

figura 3-20



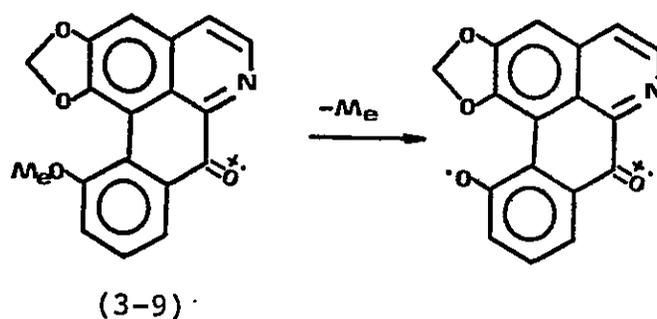
Esquema de fragmentación de lanuginosina (3-5)

figura 3-22



Esquema de fragmentación de oxoestefanina

figura 3-23



Esquema de fragmentación de oxoputerina

figura 3-24

3.1.6.- Oxoputerina (3-9)

De la fracción BDCLn, por cromatografía en capa fina preparativa de las aguas madres de obtención de oxolaurelina (3-6) se obtuvo un sólido amarillo designado como BDCLn-16, que recristalizado de CHCl_3 fundió a 242-244°.

El espectro de IR (figura 3-25) mostró una señal a 1650 cm^{-1} que se asignó al carbonilo de cetona conjugada de un alcaloide oxoaporfínico. El espectro de RMN de ^1H en CDCl_3 (figura 3-26) definió los sustituyentes unidos al sistema tetracíclico de la oxoaporfina: la señal a 4,04 ppm

(s, 3H) se asignó a los hidrógenos de un grupo metoxilo y la señal a 6,23 ppm (s, 2H) se asignó a los hidrógenos de un grupo metilendioxi que se ubicó en C-1 y C-2. La señal a 7,16 ppm (s, 1H), se asignó al H-3 y las señales a 7,74 (d, 1H \underline{J} = 5 Hz) y 8,84 ppm (d, 1H \underline{J} = 5 Hz) se asignaron respectivamente al H-4 y H-5. Las restantes señales a 7,31 (dd, \underline{J} = 8 Hz, \underline{J}' = 1,5 Hz), 7,56 (t, \underline{J} = 8 Hz) y 8,18 ppm (dd, \underline{J} = 8 Hz, \underline{J}' = 1,5 Hz) permitieron concluir que el grupo metoxilo se encontraba unido al C-8 ó C-11.;

La estructura se determinó por el espectro de masas (figura 3-27). La fórmula molecular $C_{18}H_{11}NO_4$ fue confirmada por la medición de alta resolución de la intensa (100%) señal del ión molecular (calculado 305,0688; experimental 305,0669). El único otro pico importante en la zona de masas altas corresponde a m/z 290 ($M^+ - CH_3$, 30%). Como vimos en 3.1.5., la estructura con el $-OCH_3$ en el C-8 corresponde a la oxoestefanina (3-8) que da un fragmento a m/z 276 ($M^+ - CHO$, 96%), mientras que la oxoputerina se caracteriza por la pérdida de un grupo metilo (figura 3-24).

Con estos datos fue posible postular para el compuesto la estructura de la 1,2-metilendioxi-11-metoxioxoaporfina. Oxoputerina (3-9).

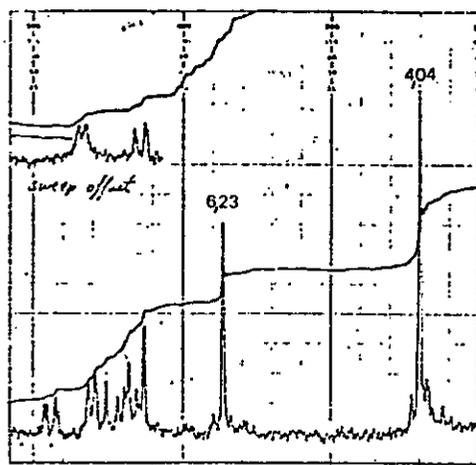
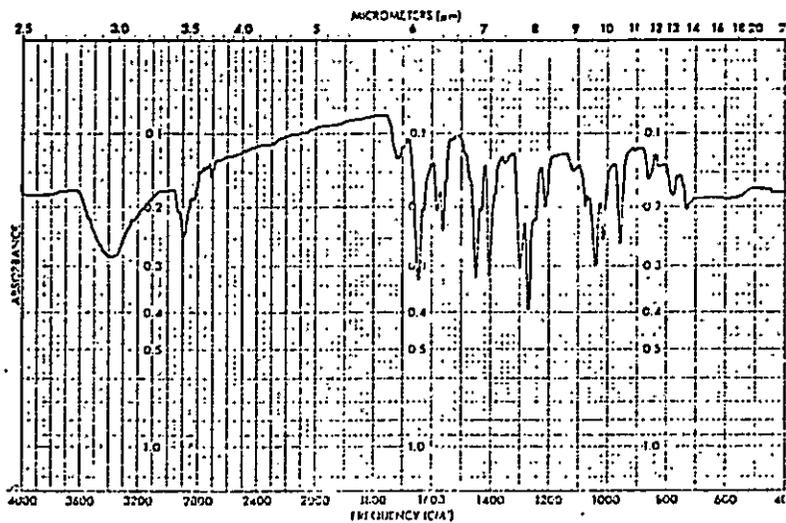


fig. 3-25. Espectro de IR de BDCLn-16.
Oxoputerina.

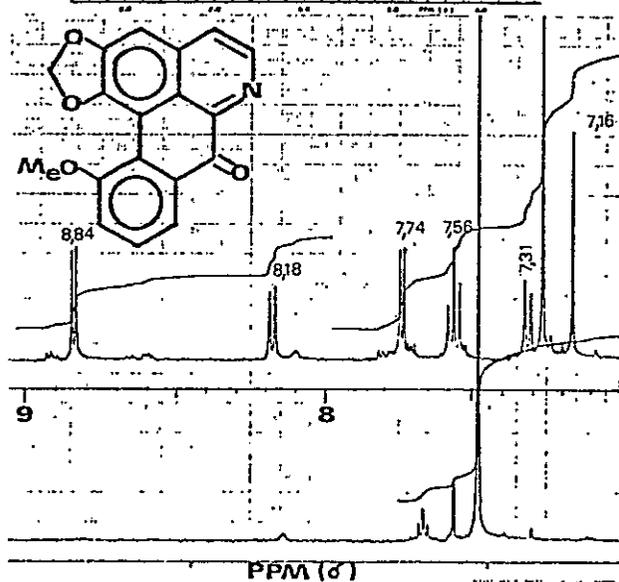
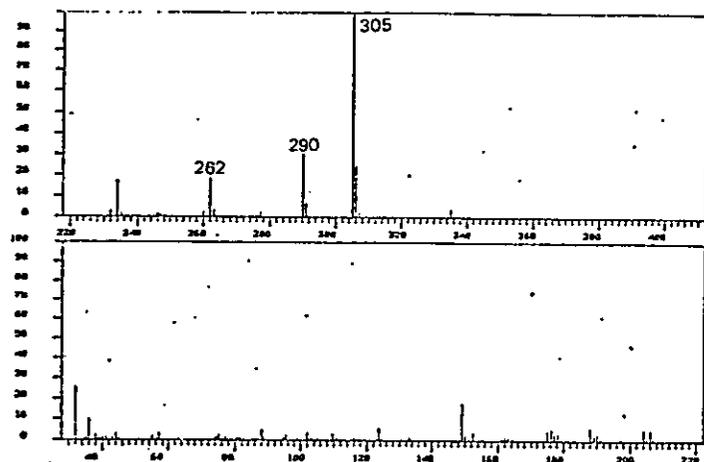


fig. 3-27. Espectro de masas de BDCLn-16.
Oxoputerina

fig. 3-26. Espectros de RMN de ¹H (60 y 400 MHz) de BDCLn-16. Oxoputerina

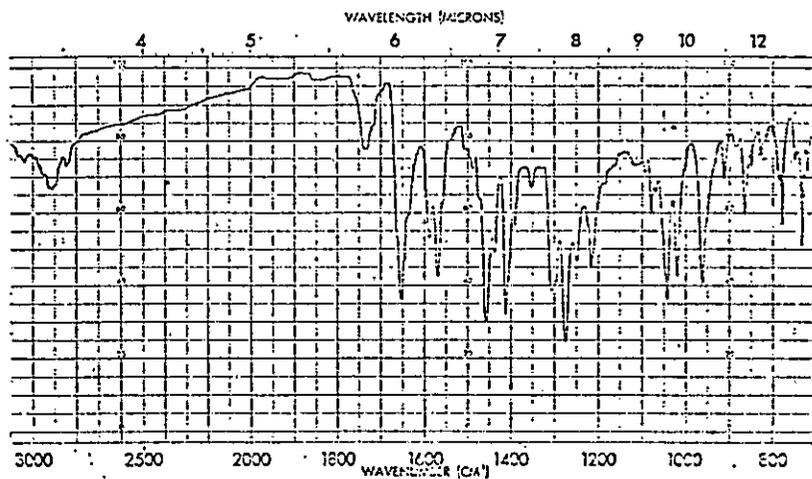
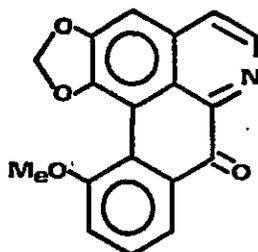


fig. 3-28. Espectro de IR de oxoputerina patrón.



(3-9)

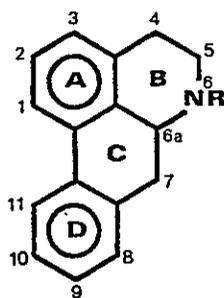
La comprobación de la estructura asignada al compuesto se logró a través de su comparación con una muestra auténtica de oxoputerina (3-9) (espectros de IR idénticos (figuras 3-25 y 3-28); no hubo depresión del p.f. al determinararlo para mezclas; idénticos Rf en CCF).

3.2.- Determinación de Estructuras de Alcaloides Aporfínicos

3.2.1.- Generalidades espectroscópicas

La herramienta principal en la determinación estructural de los alcaloides aporfínicos (3-10) es la RMN de ^1H . La mayoría de los espectros de compuestos de este tipo se han registrado en CDCl_3 y ciertas generalidades se han publicado en la literatura^{75,76}. Mediante el examen de datos espectroscópicos publicados más recientemente^{68,70} es

posible confirmar estas generalidades.



(3-10)

Los hidrógenos de un grupo $\underline{N}-\text{CH}_3$ resuenan entre 2,35-2,55 ppm.

Los hidrógenos de un grupo metoxilo ubicado en C-1 resuenan siempre a campo relativamente alto (3,4-3,7 ppm) debido a que la compresión entre el sustituyente del C-2 y el hidrógeno u otro grupo unido al C-11 lo obligan a salir del plano del anillo A. Los que resuenan a campo más bajo son los hidrógenos de los metoxilos ubicados en C-2, C-9 y C-10 (3,8-3,9 ppm) y los hidrógenos de un metoxilo ubicado en C-11 resuenan a un valor intermedio, 3,6-3,8 ppm.

Los hidrógenos de un grupo metilendioxi ubicado en C-1 y C-2 aparecen como dos dobletes de $\underline{J}=1,5$ Hz aproximadamente a 5,9 y 6,0 ppm. Esto se atribuye a la no equivalencia de los átomos de hidrógeno por la falta de planaridad del sistema bifenílico constituido por los anillos A y D. Una situación semejante es esperable si el grupo

metilendioxi se encuentra ubicado en C-10 y C-11. Los hidrógenos de un grupo metilendioxi ubicado en C-9 y C-10, donde el efecto de la anisotropía magnética del anillo A es despreciable, aparecen como un singulete a aproximadamente 6,0 ppm.

En el caso de aporfinas con sustitución oxigenada en C-1, C-2, C-9 y C-10 se observan 3 singuletes en la región de bajo campo del espectro. El singulete que aparece a campo más bajo, 7,6-8,2 ppm, corresponde al H-11 que se halla en la región de desapantallamiento del anillo A; el singulete que aparece a campo más alto, 6,5-6,7 ppm, corresponde al H-3. Esta situación es general para aporfinas con otro tipo de sustitución oxigenada en las que el H-11 también resuena a campo más bajo y el H-3 es el que resuena a campo más alto.

Un hecho útil para la determinación de estructuras se observa en aporfinas sustituidas en C-10 y C-11; un cuarteto AB aparece para H-8 y H-9 si en los otros dos carbonos del anillo D hay metoxilos. Cuando el metoxilo de C-11 se reemplaza por un hidroxilo los protones de H-8 y H-9 aparecen como un singulete.

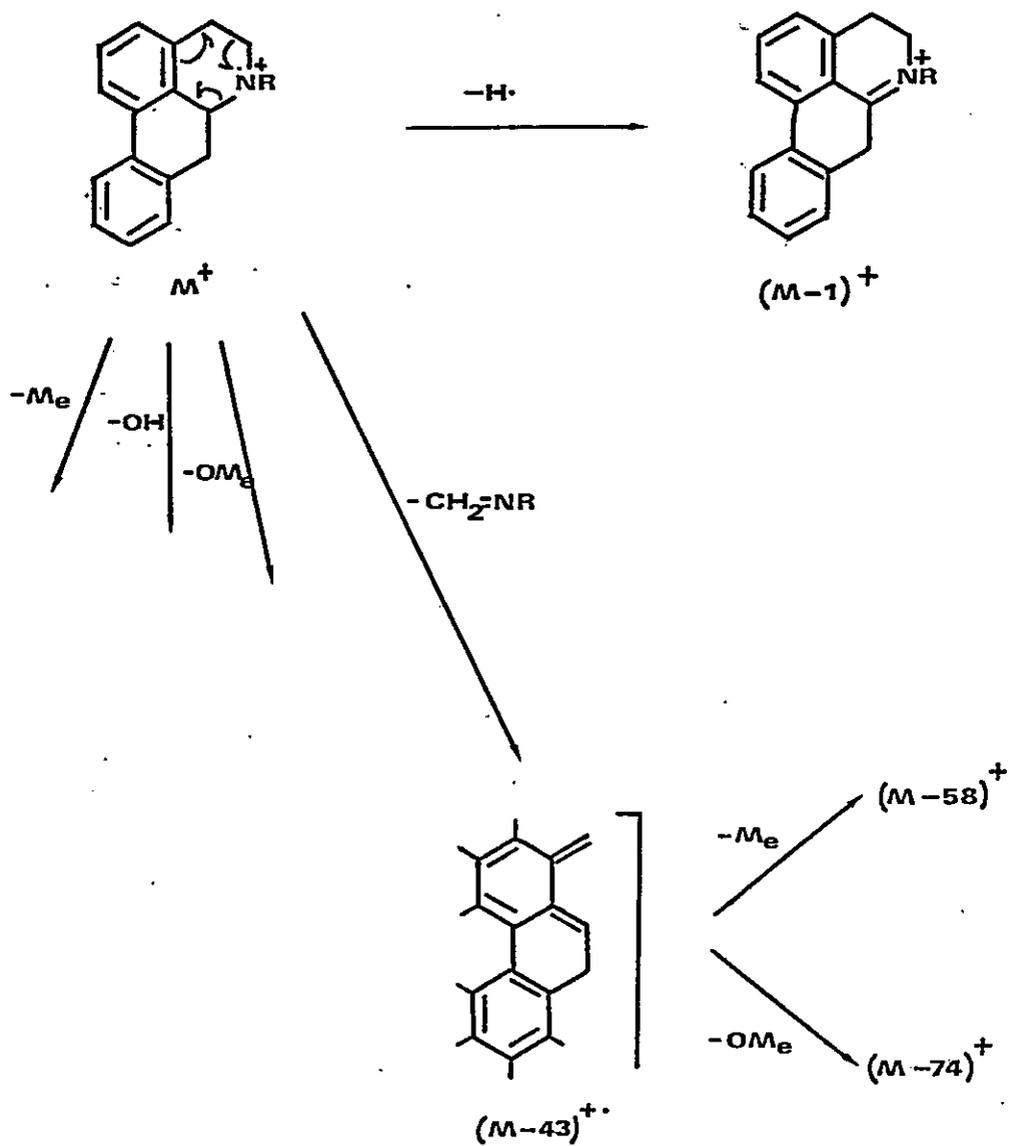
Debido a la inestabilidad de las noraporfinas y a las dificultades que presenta su separación por los métodos

habituales, estos compuestos se identificaron como N-acetil derivados.

Los espectros de RMN de ^1H de estos derivados muestran características similares a las de las aporfinas, si bien hay pequeños corrimientos de las resonancias de los H a campo más bajo y se observa una señal a aproximadamente 2,20 ppm correspondiente a la resonancia de los hidrógenos del grupo acetilo.

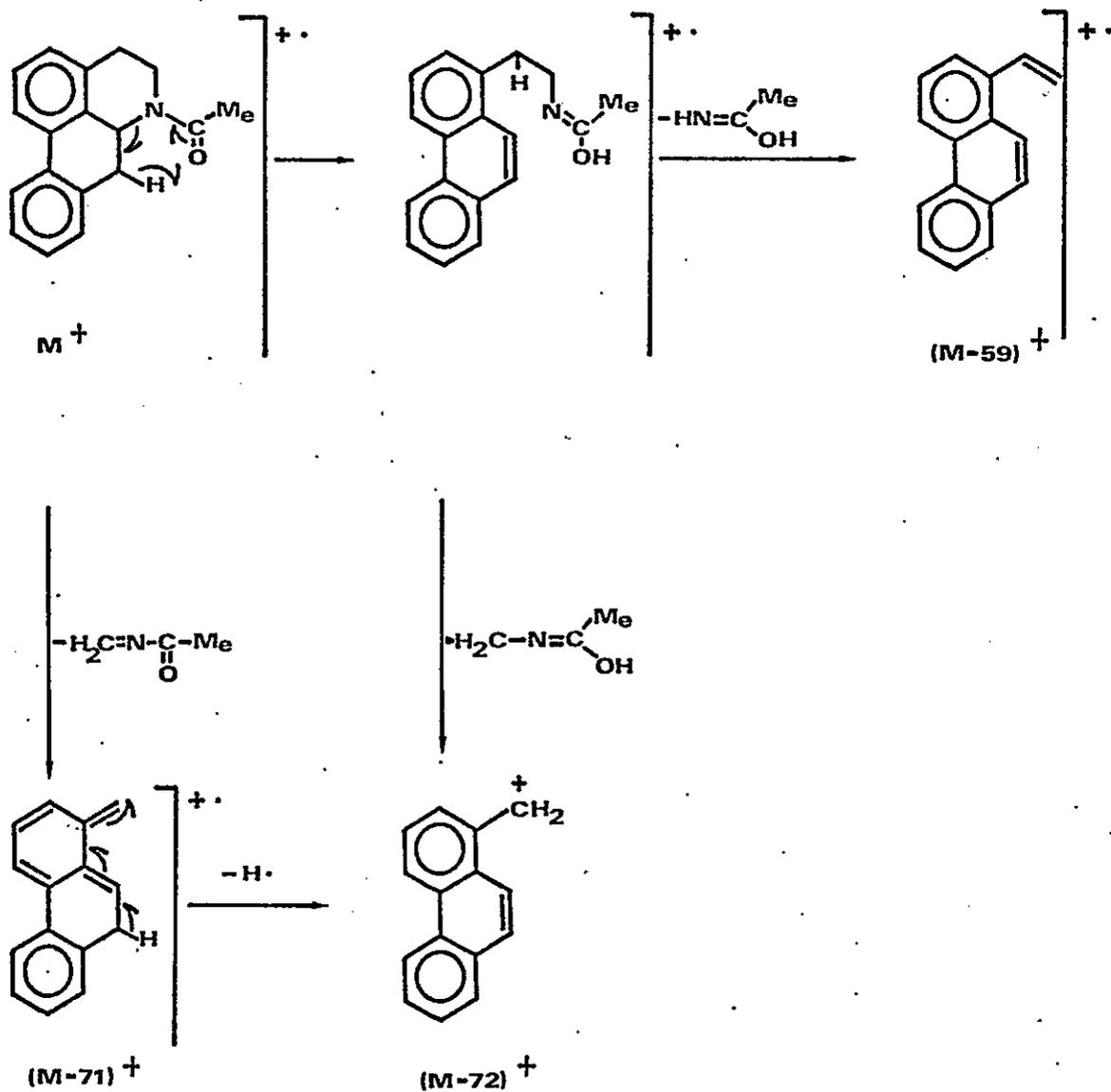
Los espectros de masas de los alcaloides aporfínicos muestran un ión molecular abundante que frecuentemente corresponde al pico base^{77,78}; otro fragmento abundante y que también algunas veces corresponde al pico base es el M^+-1 . Las principales fragmentaciones de los alcaloides aporfínicos se muestran en la figura (3-29).

Los espectros de masas de las noraporfinas N-acetiladas difieren apreciablemente de los de las aporfinas y la fragmentación está dirigida por la presencia del grupo N-acetilo⁷⁹ (figura 3-30). Un reordenamiento de McLafferty del ión molecular produce un ión intermediario que da origen a iones $(\text{M}-59)^+$ y $(\text{M}-72)^+$; complementariamente una reacción de retro Diels-Alder del ión molecular produce un ión a $(\text{M}-71)^+$ que también da origen a la especie $(\text{M}-72)^+$ por pérdida de H.



Esquema de fragmentación de alcaloides aporfínicos

figura 3-29

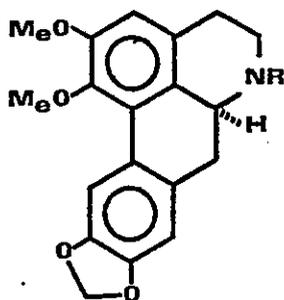


Esquema de fragmentación de noraporfina N-acetiladas

figura 3-30

3.2.2.- (S) (+)N-Acetilnornantenina (3-11)

La fracción BNFMLS-ext con ácido cítrico 0,1 M sometida a acetilación dio una mezcla de compuestos que cristalizada de EtOH absoluto, dio un sólido blanco, designado como Acetil-BNFMLS-3, que recristalizado de EtOH fundió a 281-284°; $[\alpha] + 357,6$. El espectro de IR mostró un pico a 1620 cm^{-1} que se asignó al carbonilo de amida (figura 3-31). El espectro de RMN de ^1H en CDCl_3 (fig. 3-32) mostró señales a: 2,18 s(3H), 3,66 s(3H), 3,88 s(3H) y 6,00 ppm s(2H) correspondientes a los hidrógenos de un grupo acetilo, de dos grupos metoxilo y de un grupo metilendioxi. Tres singuletes a 6,64 (1H), 6,77 (1H) y 8,00 ppm (1H) concuerdan con la estructura de una N-acetilnoraporfina sustituida en las posiciones 1,2,9,10. El hecho de que los hidrógenos del grupo metilendioxi tengan el mismo desplazamiento químico indica que éste se encuentra en la posición 9,10. Con estos datos fue posible postular para el compuesto la estructura de la N-acetil-1,2-dimetoxi-9,10-metilendioxinoraporfina (S) (+)N-acetilnornantenina (3-11)



(3-11) R=Ac
3-11a R=H

El espectro de masas del compuesto (figura 3-33) permitió afirmar la estructura. La medición de alta resolución de la señal del ión molecular confirmó la fórmula $C_{21}H_{21}NO_5$ (calculado 367,1419; experimental 367,1436). Los otros fragmentos se pueden racionalizar con el siguiente esquema: (figura 3-34).

La comprobación de la estructura asignada al compuesto se logró a través de su comparación con una muestra auténtica de N-acetilnornantenina (espectro de IR idénticos (figuras 3-31 y 3-35) ; no hubo depresión del p.f. al determinar para una mezcla; idénticos R_f en CCF).

Acetil-BNFCLp-3 y Acetil-BNFCLs-3 también resultaron idénticas a la N-acetilnornantenina.

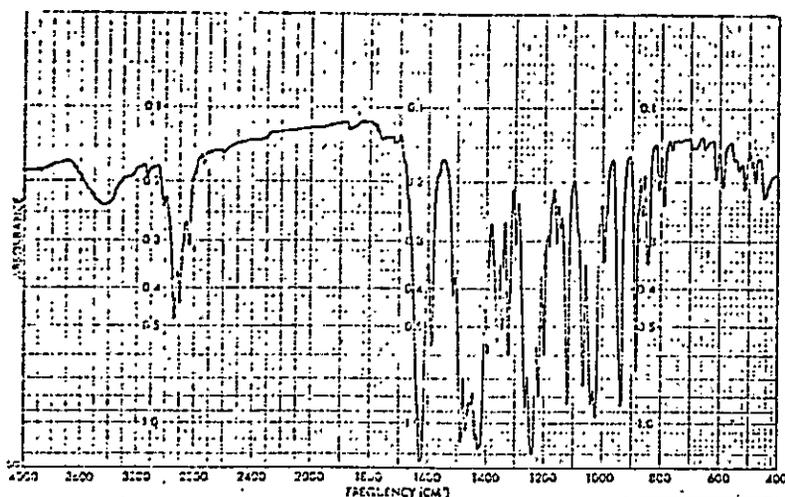


fig. 3-31. Espectro de IR de
Acetil-BNFMLs-3 (S) (+)-N-
Acetilnornantenina

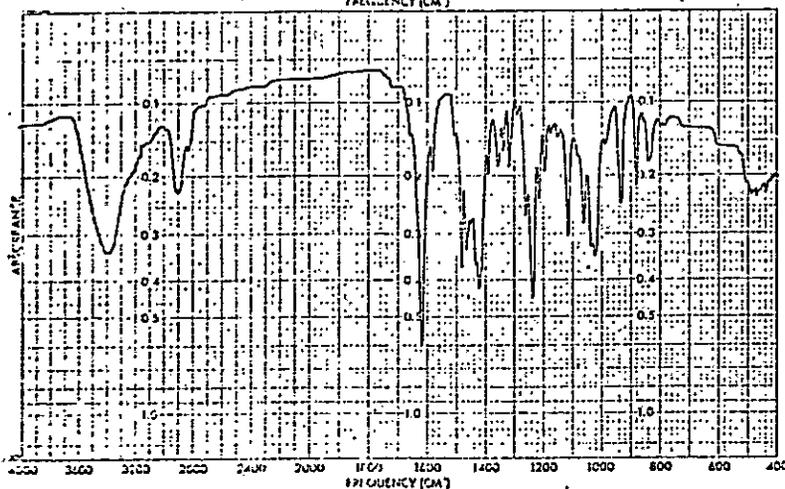


fig. 3-35. Espectro de IR de
Acetilnornantenina patrón.

fig. 3-32. Espectro de
RMN de ^1H (90 MHz)
Ac-BNFMLs-3. (S) (+)-
N -Acetilnornantenina.

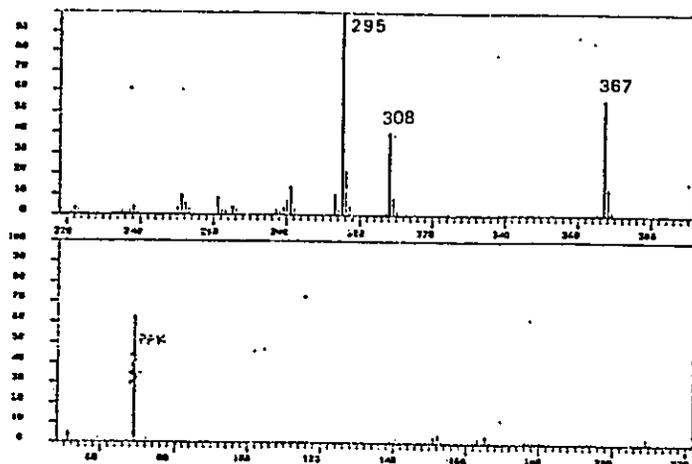
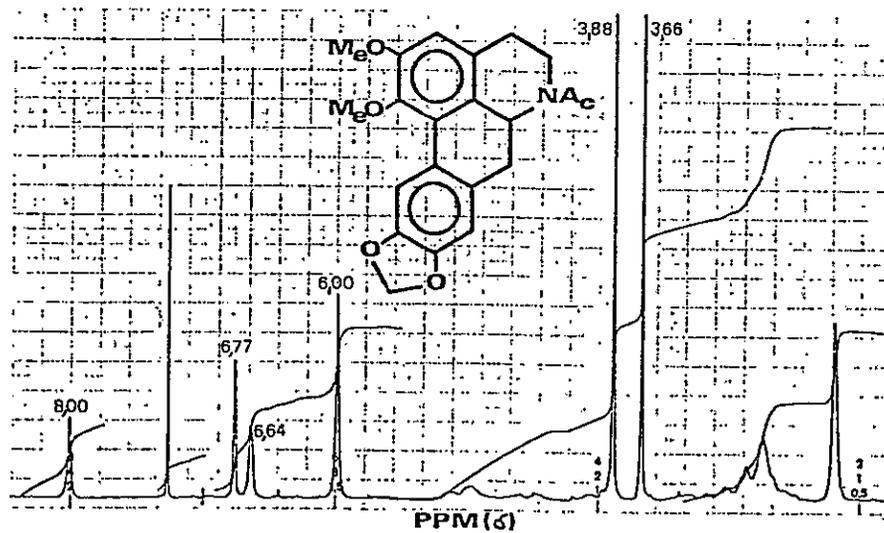
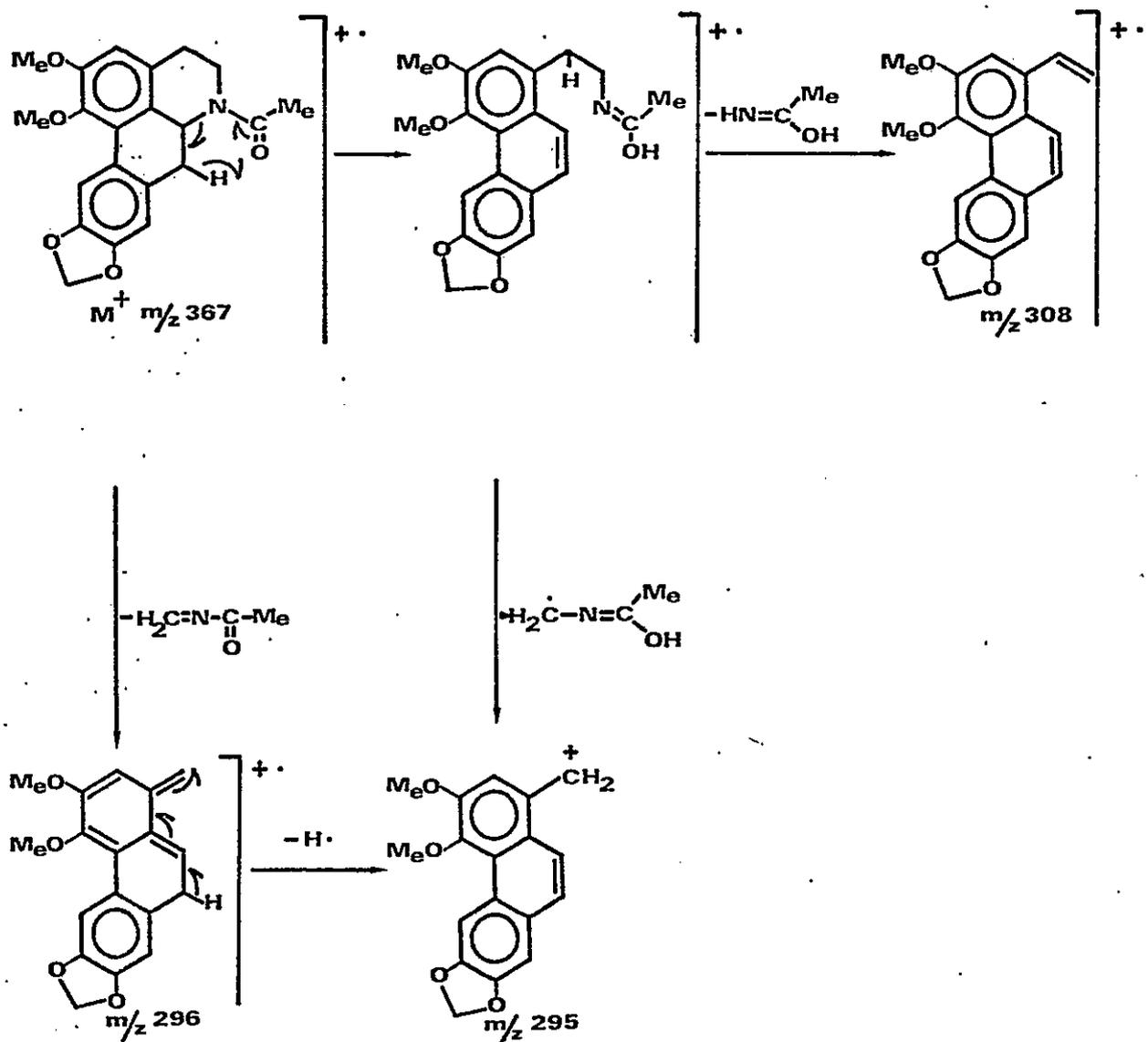


fig. 3-33. Espectro de masas de
Ac-BNFMLs-3 (S) (+)-N-Acetilnornan-
tenina.



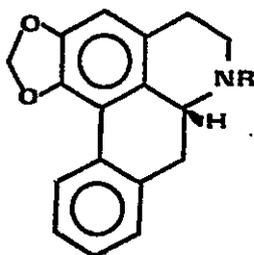
Esquema de fraccionamiento de Ac-BNFMLs-3. Acetilornantenina

figura 3-34

3.2.3.- (R) (-)N-Acetilanonafina (3-12)

La fracción BNFCLp sometida a acetilación dio una mezcla de compuestos que por cristalización de EtOH y por posterior separación por cromatografía dio un sólido designado como Ac-BNFCLp-4, que recristalizado de MeOH fundió a 236-238; $[\alpha]_D^{25} -354,0$. El espectro de IR mostró una señal a 1630 cm^{-1} que se asignó al carbonilo de amida (figura 3-36). El espectro de RMN de ^1H en CDCl_3 (figura 3-37) mostró señales a: 2,21 s (3H), 5,97 d, $J = 1,5 \text{ Hz}$ (1H) y 6,08 ppm d, $J = 1,5 \text{ Hz}$ (1H) correspondientes a los hidrógenos de un grupo acetilo y de un grupo metilendioxi.

Un singulete a 6,58 (1H) y dos multipletes a 7,26 (3H) y 8,01 ppm (1H) concuerdan con la estructura de una N-acetilnoraporfina con un grupo metilendioxi en posición 1,2. Con estos datos fue posible postular para el compuesto la estructura de la N-acetil-1,2-metilendioxinoraporfina. (R) (-)N-acetilanonafina (3-12).



(3-12) R=Ac

3-12_a R=H

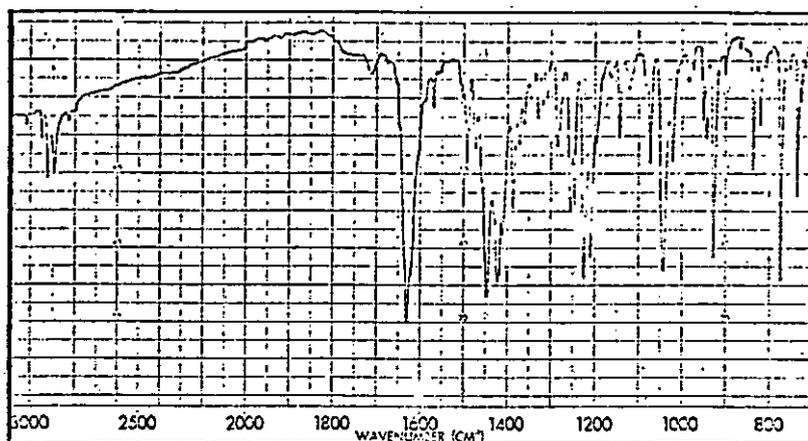


fig. 3-36. Espectro de IR de Ac-BNFCLp-4. Acetilanonaina.

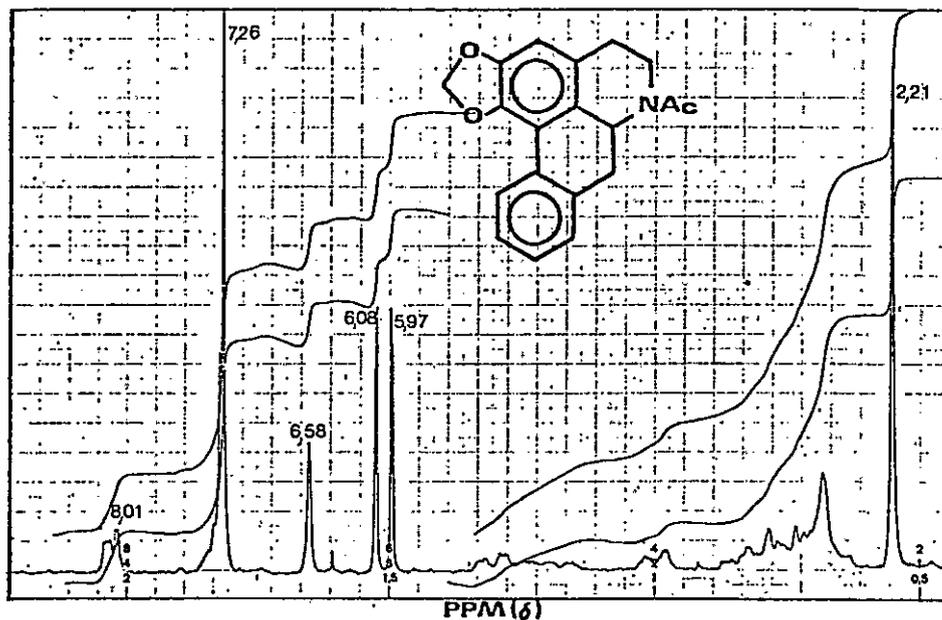


fig. 3-37. Espectro de RMN de ^1H (90 MHz) de Ac-BNFCLp-4. Acetilanonaina.

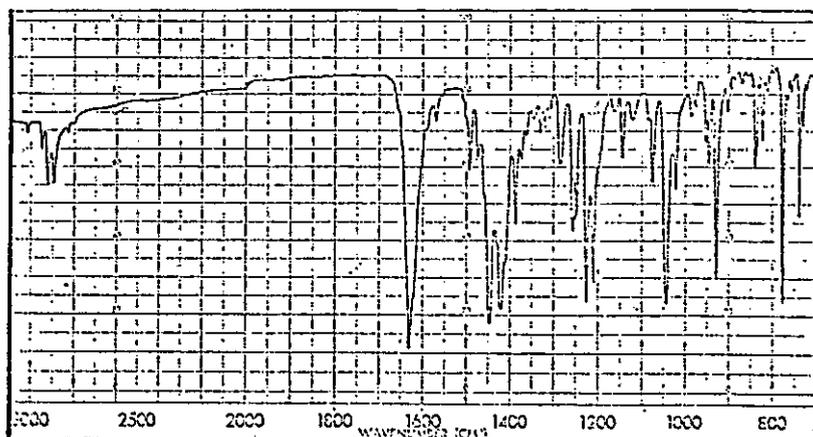
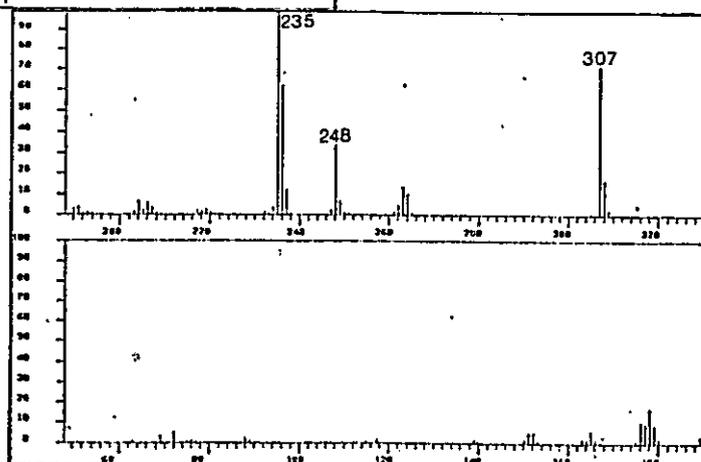


fig. 3-40. Espectro de IR de Acetilanonaina, patrón.

fig. 3-38. Espectro de masas de Ac-BNFCLp-4. Acetilanonaina.



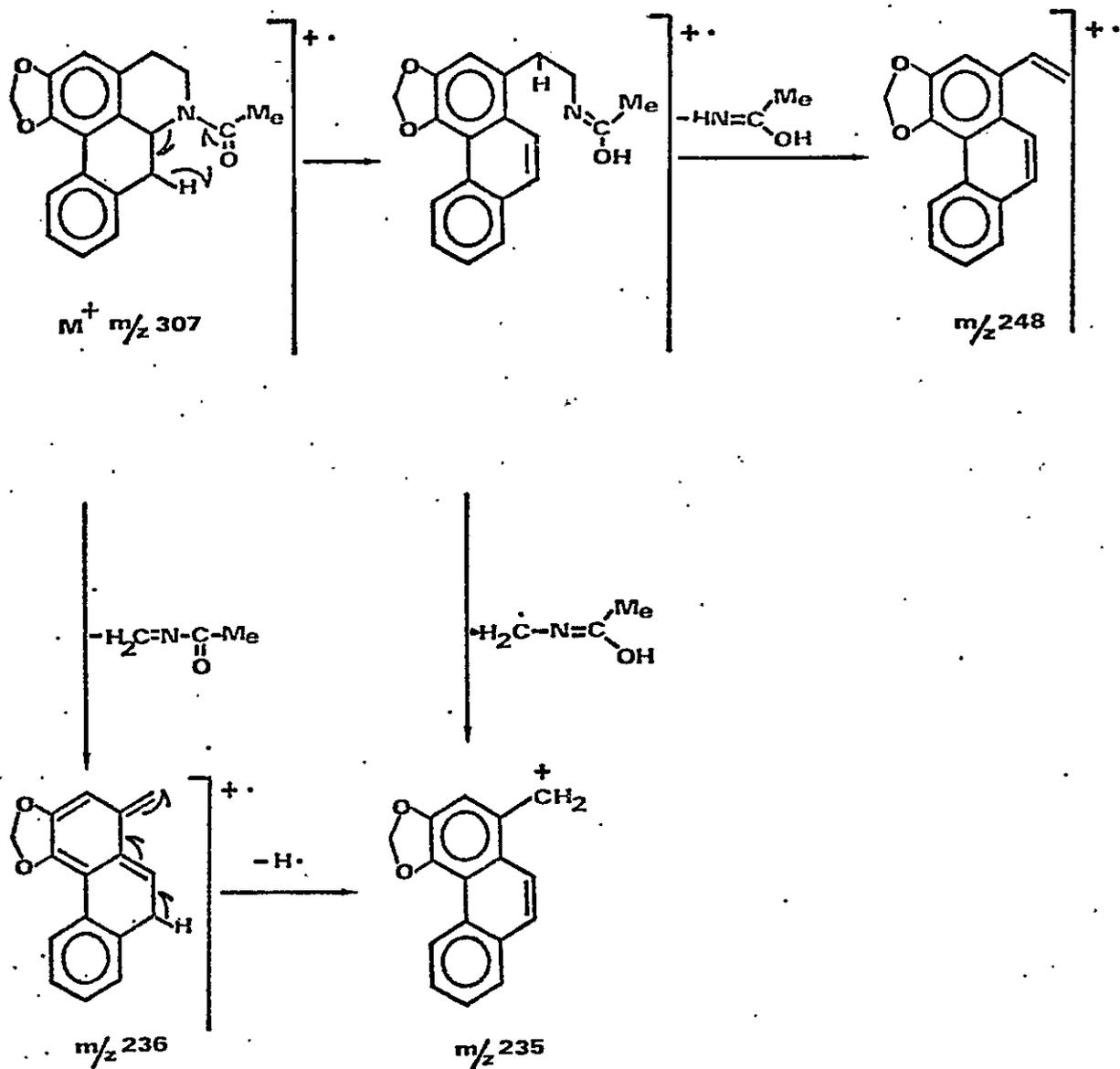
El espectro de masas del compuesto (figura 3-38) permitió afirmar la estructura. La medición de alta resolución de la señal del ión molecular confirmó la fórmula $C_{19}H_{17}NO_3$ (calculado 307,1208; experimental 307,1193). Los otros fragmentos se pueden racionalizar con el siguiente esquema (figura 3-39).

La comprobación de la estructura asignada al compuesto se logró a través de su comparación con una muestra auténtica de N-acetilanonafina (espectros de IR idénticos (figuras 3-36 y 3-40); no hubo depresión del pf al determinarlos para una mezcla; idénticos Rf en CCF).

Acetil-BNFMLs-4 también resultó idéntica a la N-acetilanonafina.

3.2.4.- (R) (-) N-Acetil nornuciferina (3-13)

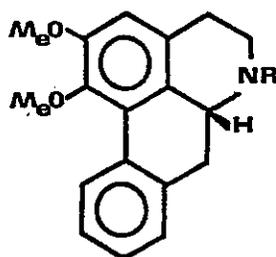
De la fracción de aguas madres de Acetil-BNFMLs-3, por separación por cromatografía se obtuvo un sólido designado como Ac-BNFMLs-5, que cristalizado de MeOH fundió a 230-233°; $[\alpha]_D^{25} -417,0$. El espectro de IR mostró una señal a 1625 cm^{-1} que se asignó al grupo carbonilo de una amida (figura 3-41). El espectro de RMN de ^1H en CDCl_3 (figura 3-42) mostró señales a: 2,17 s(3H), 3,67 s(3H) y 3,90 ppm s(3H) correspondientes a los hidrógenos de un grupo acetilo y dos grupos metoxilo.



Esquema de fraccionamiento de Ac-BNFCLp-4. Acetilanonaína

figura 3-39

Un singulete a 6,70 (1H) y dos multipletes a 7,22 (3H) y 8,38 ppm (1H) concuerdan con la estructura de una N-acetilnoraporfina con grupos metoxilos en C-1 y C-2. Con estos datos fue posible postular para el compuesto la estructura de la N-acetil-1,2-dimetoxiaporfina (R)(-)N-ace-tilnornuciferina (3-13).



(3-13) R=Ac
3-13a R=H

El espectro de masas del compuesto (figura 3-43) permitió afirmar la estructura. La medición de alta resolución de la señal del ión molecular confirmó la fórmula $C_{20}H_{21}NO_3$ (calculado 323, 1522; experimental 323,1513). Los otros fragmentos se pueden racionalizar con el siguiente esquema (figura 3-44).

La comprobación de la estructura asignada al compuesto se logró a través de su comparación con una muestra auténtica de N-acetil nornuciferina (espectros de IR idénticos (figuras 3-41 y 3-45); no hubo depresión del pf al determinarlo para una mezcla; idénticos Rf en CCF).

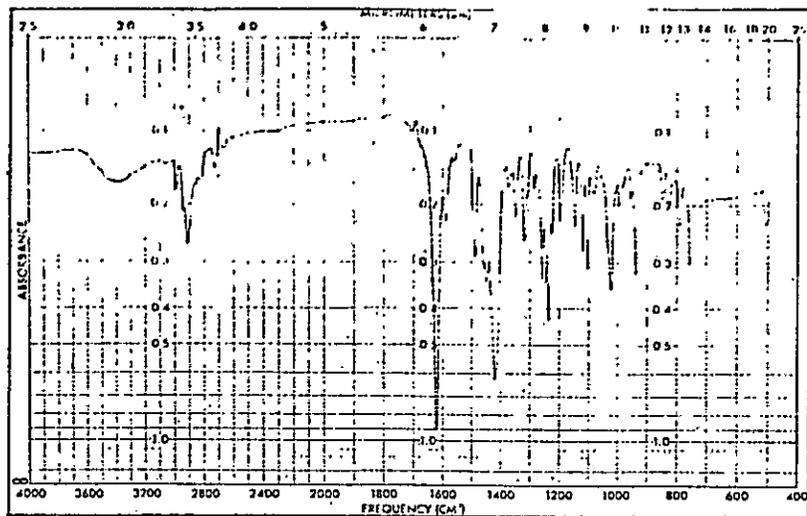


fig. 3-41. Espectro de IR de
Ac-BNFMLs-5. Acetilmorfinona

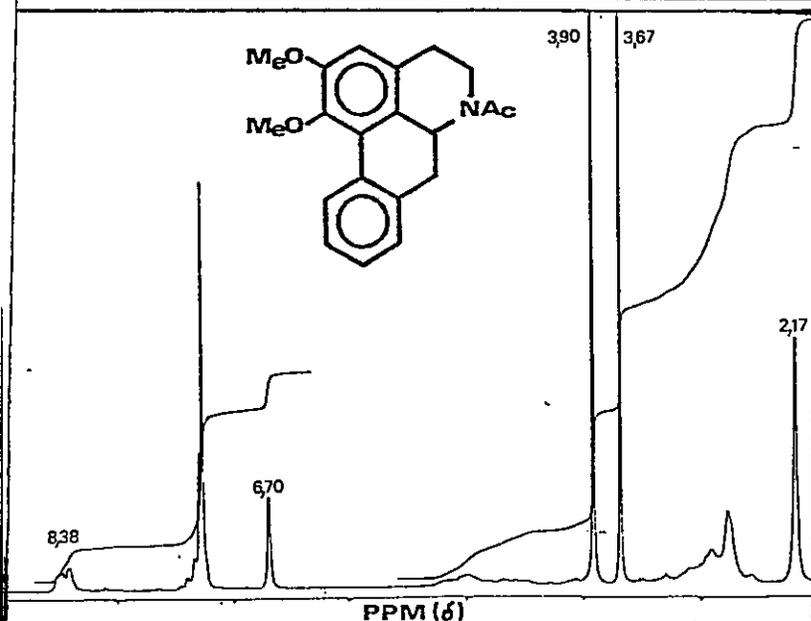


fig. 3-42. Espectro de RMN de ^1H (80 MHz) de
Ac-BNFMLs-5. Acetilmorfinona

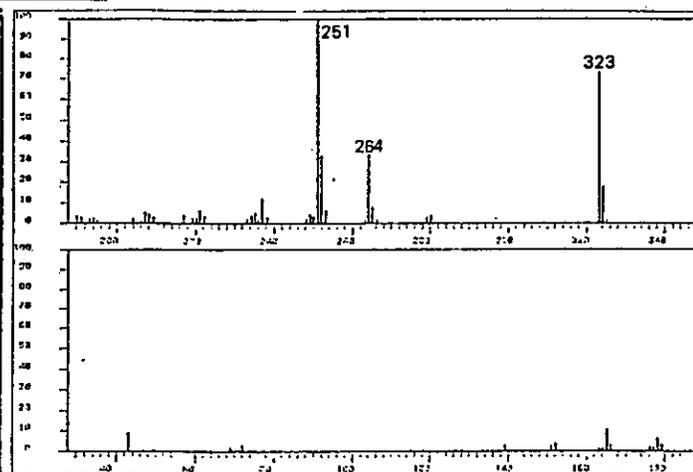


fig. 3-43. Espectro de masas de
Ac-BNFMLs-5. Acetilmorfinona

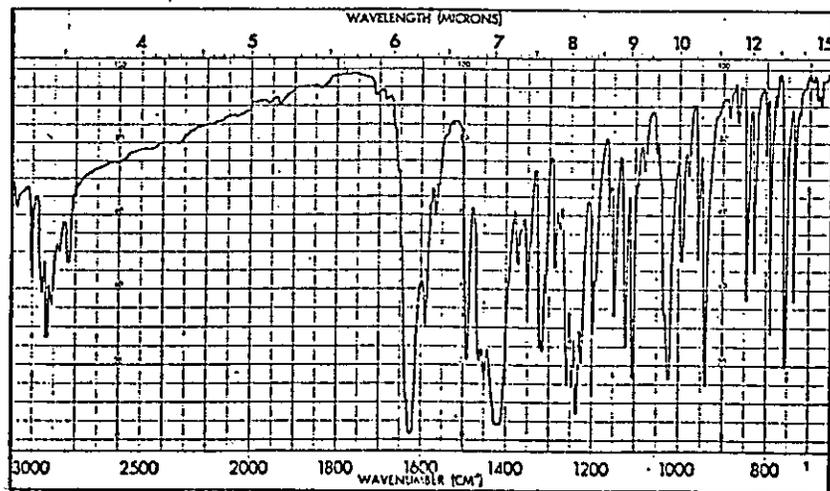
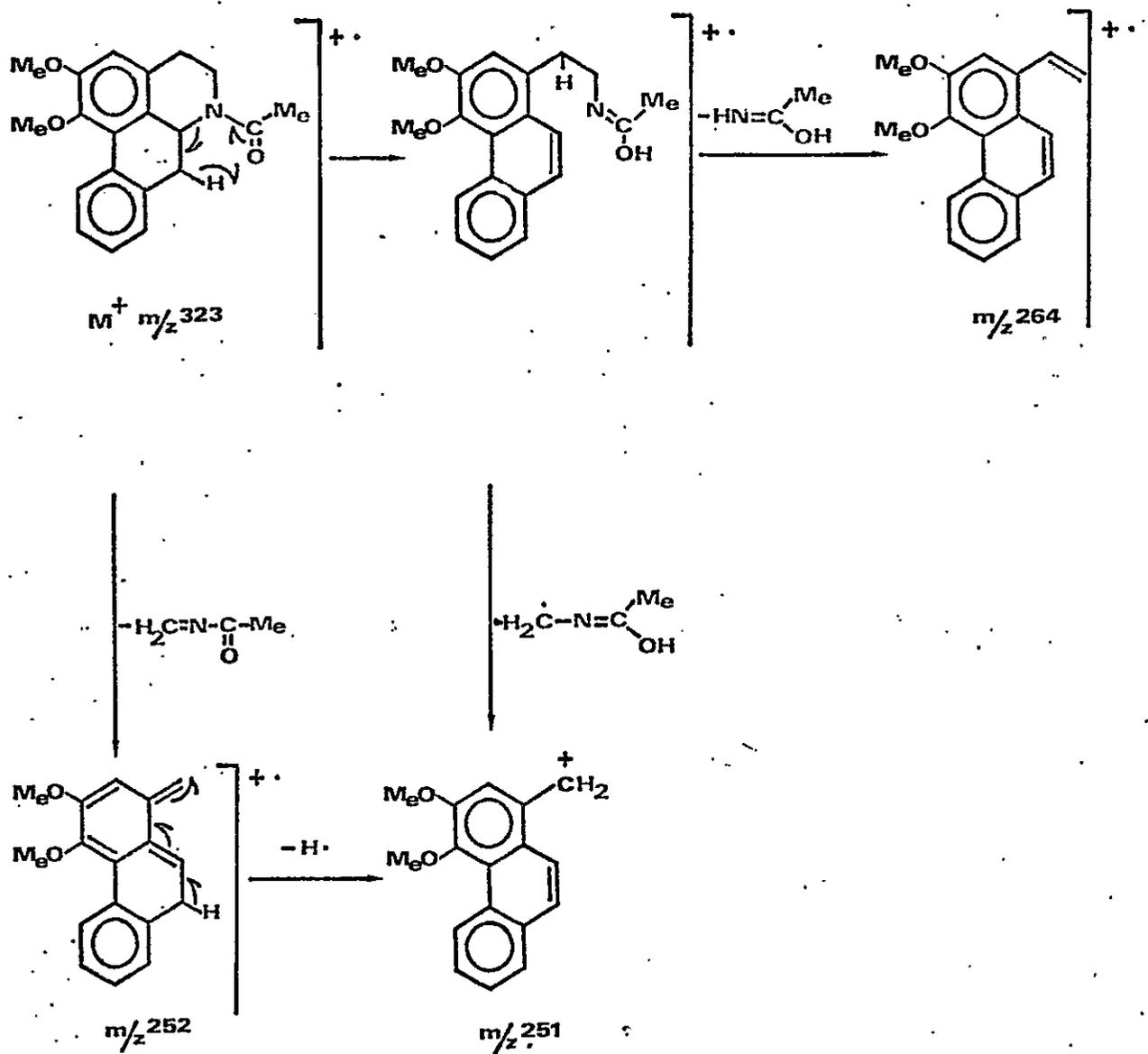


fig. 3-45. Espectro de IR de
Acetilmorfinona patrón.



Esquema de fraccionamiento de Ac-BNFMLs-5. Acetilnornuciferina

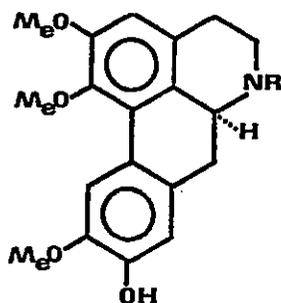
figura 3-44

3.2.5.- (S) (+)-N-Acetillaurotetanina (3-14)

De la fracción de BFCLs por separación mediante cromatografía en columna se aisló un sólido amorfo cromatográficamente homogéneo designado como BFCLs-13. El espectro de RMN de ^1H (figura 3-46) indicó que se trataba de una noraporfina, con señales a δ 3,66 s(3H) y 3,86 ppm s(6H) correspondientes a los hidrógenos de tres grupos metoxilo.

Tres singuletes a: 6,56 (1H), 6,78 (1H) y 8,03 ppm (1H) concuerdan con la estructura de una noraporfina fenólica sustituida en las posiciones 1,2,9,10, con un grupo metoxilo en C-1. El espectro resultó semejante al publicado para la laurotetanina⁶⁸.

El alcaloide se sometió a acetilación y se obtuvo de esta manera en N-acetilderivado que recristalizado de MeOH fundió a 138-140°; $[\alpha]_D + 338.0$. El espectro de IR mostró una señal a 1605 cm^{-1} que se asignó al grupo carbonilo de una amida (figura 3-47). El espectro de RMN de ^1H (figura 3-48) resultó prácticamente idéntico al de la base, con la excepción de una señal a δ 2,18 ppm correspondiente a los hidrógenos del grupo N-acetilo.



(3-14) R=Ac
3-14_a R=H

El espectro de masa del compuesto (figura 3-49) confirmó la fórmula $C_{21}H_{23}NO_5$ (calculado 369,1576; experimental 369,1575). Los otros fragmentos se pueden racionalizar con el siguiente esquema: (figura 3-50).

La comprobación de la estructura asignada al compuesto se logró a través de su comparación con una muestra auténtica al N-acetillaurotetanina (espectro de IR idénticos (figuras 3-47 y 3-51); no hubo depresión del pf al determinar para una mezcla, idénticos Rf en CCF).

Acetil-BFCLp-13 también resultó idéntico a la N-acetillaurotetanina.

3.2.6.- (R) (-)O,N-Diacetilasimilobina (3-16)

De la fracción BFCLp-extraídas a pH 6,6; por separación mediante cromatografía se aisló un sólido amorfo cromatográficamente homogéneo, designado como BFCLp-11. El

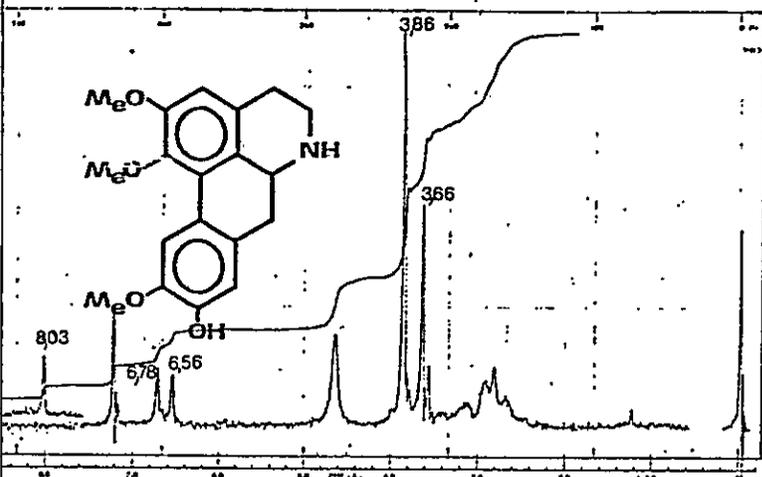


fig. 3-46. Espectro de RMN de ^1H (60 MHz) de BFCLs-13. Laurotetanina.

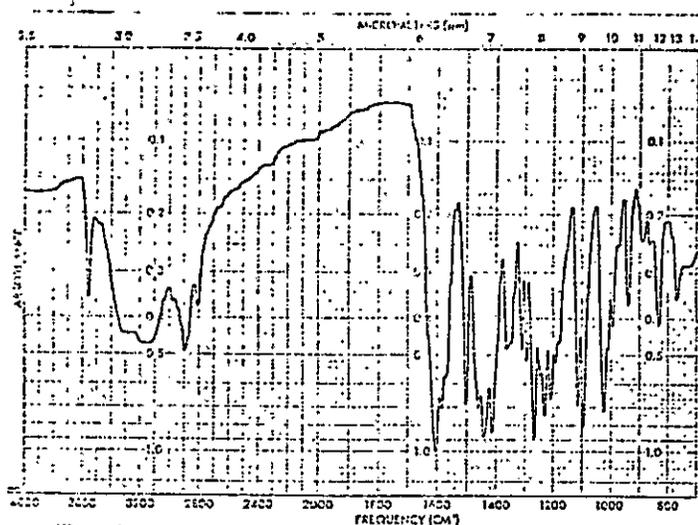


fig. 3-47. Espectro de IR de Ac-BFCLs-13 Acetillaurotetanina

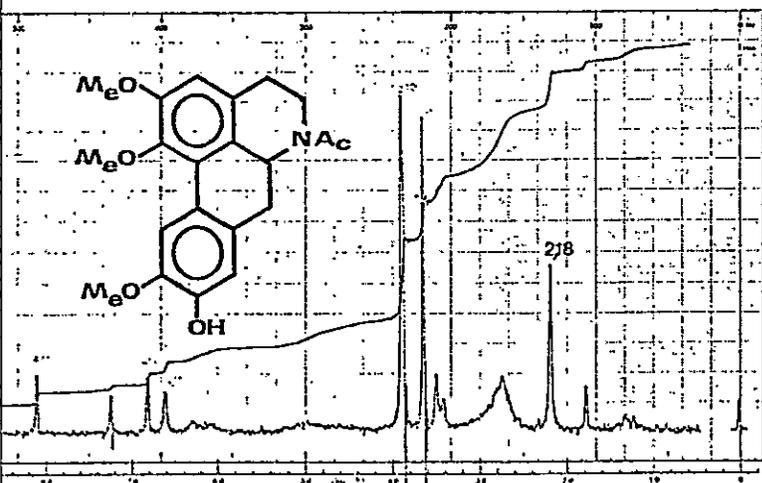


fig. 3-48. Espectro de RMN de ^1H (60 MHz) de Ac-BFCLs-13. Acetillaurotetanina.

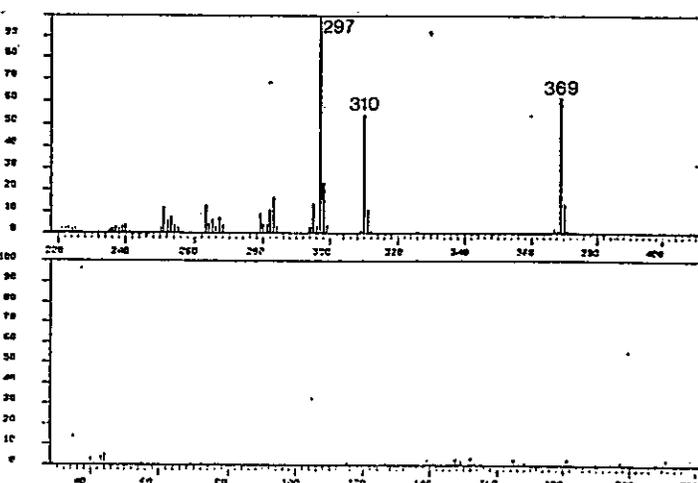


fig. 3-49. Espectro de masas de Ac-BFCLs-13 Acetillaurotetanina

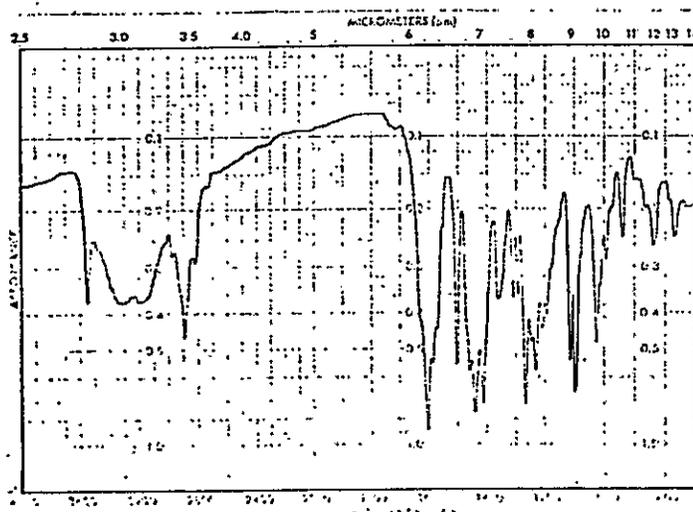
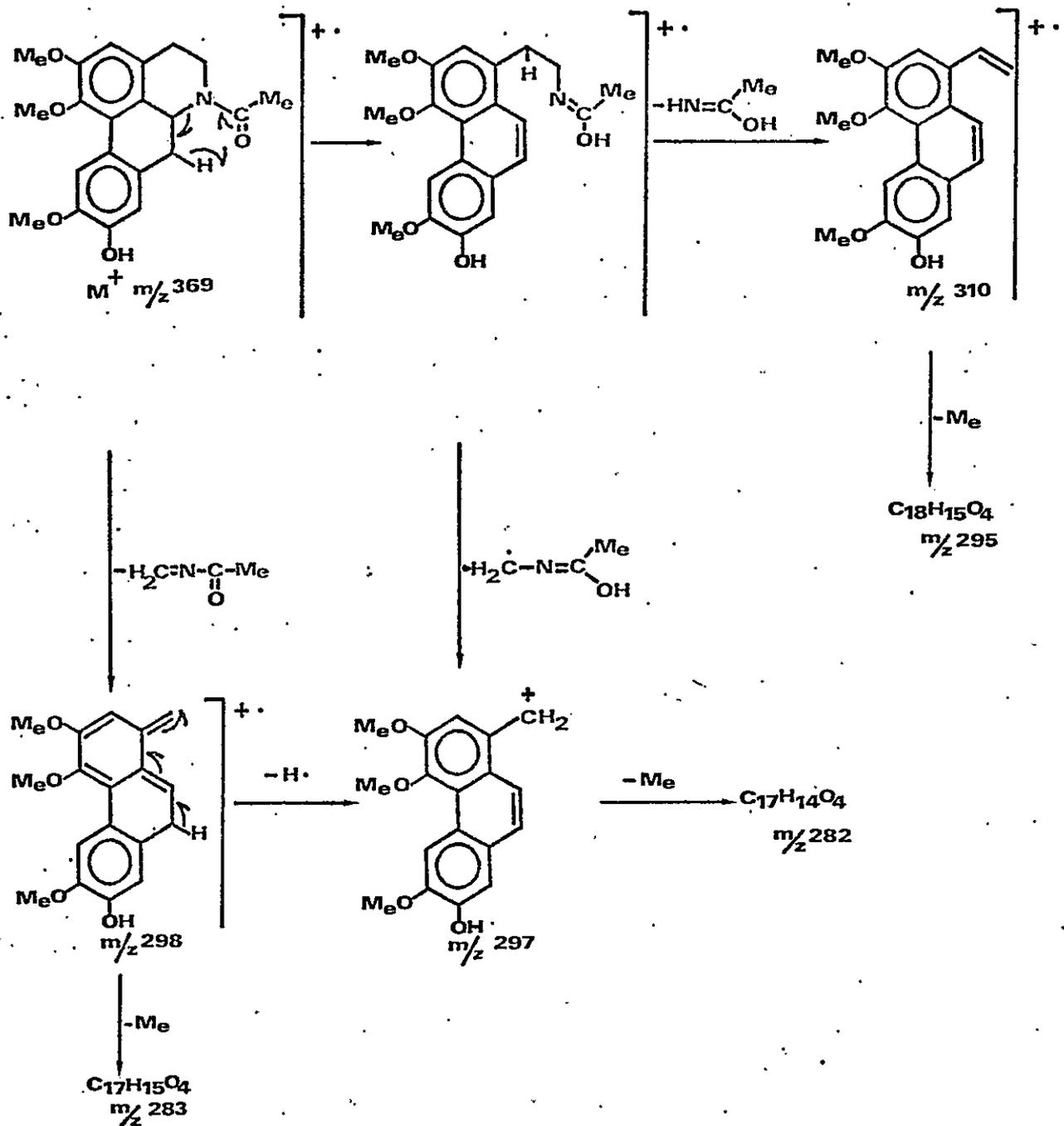
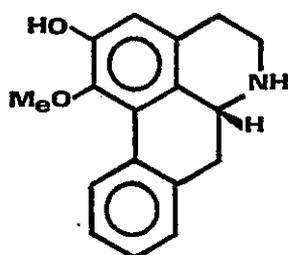


fig. 3-51. Espectro de IR de Acetillaurotetanina patron.

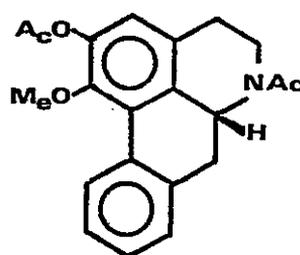


Esquema de fraccionamiento de Ac-BFCLs-13.Acetillaurotetanina

espectro de RMN de ^1H (figura 3-52) mostró una señal a 3,63 ppm s(3H) correspondiente a los hidrógenos de un grupo metoxilo. Un singulete a 6,70 (1H) y dos multipletes a 7,28 (3H) y 8,28 ppm (1H) concuerdan con la estructura de una noraporfina con un grupo metoxilo en C-1 y un hidroxilo en C-2, alcaloide conocido con el nombre de asimilobina (3-15).



(3-15)



(3-16)

El alcaloide se sometió a acetilación y se obtuvo de esta manera un O,N-diacetilderivado que recristalizado de benceno-hexano fundió a 141-144°; $[\alpha]_D -344,0$. El espectro de IR mostró señales a 1750 y 1625 cm^{-1} que se asignaron respectivamente a grupos carbonilo de éster y de amida (figura 3-53). El espectro de RMN de ^1H (figura 3-54) resultó parecido al de la base, con la excepción de la aparición de señales 2,20 s(3H) y 2,36 ppm s(3H) correspondientes a los hidrógenos de los grupos O-acetilo y N-acetilo y de un corrimiento de la resonancia del H-3 de 6,70 a 6,86 ppm,

debido al efecto desprotector del grupo O-acetilo, que corre la resonancia del H-3 a campo más bajo confirmando la presencia del grupo -OH en C-2.

El espectro de masas del O-N-diacetilderivado (figura 3-55) permitió afirmar la estructura. La medición de alta resolución de la señal del ión molecular confirmó la fórmula $C_{21}H_{21}NO_4$ (calculado 351,1471; experimental 351,1461). Los otros fragmentos se pueden racionalizar con el siguiente esquema: (figura 3-56).

La comprobación de la estructura asignada al compuesto se logró a través de su comparación con una muestra auténtica de (R) (-)O, N-diacetilasimilobina (espectros de IR idénticos (figuras 3-53 y 3-57)); no hubo depresión del p_f al determinarlo para una mezcla; idénticos R_f en CCF).

3.2.7.- (S) (+) O,N-Diacetilnorcoridina (3-17)

La fracción BNFCLp-extraídas a pH 4,0 se separó por cromatografía en columna. Por acetilación de la fracción 13-17 y posterior purificación mediante cromatografía en capa fina preparativa, (ver 2.3.2.) se aisló un sólido amorfo homogéneo cromatográficamente, designado como Ac-BNFCLp-8, $[\alpha]_D + 266$. El espectro de IR (figura 3-58) mostró señales a 1720 y 1640 cm^{-1} que se asignaron a grupos

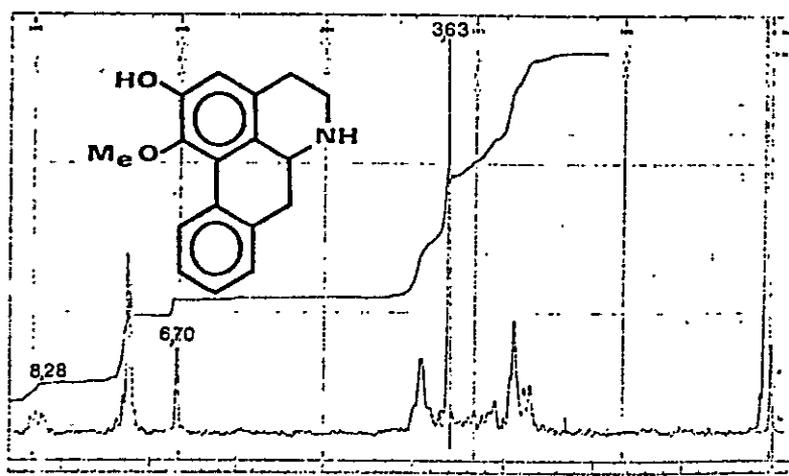


fig. 3-52. Espectro de RMN de ^1H (60 MHz) de BFCLp-11. Asimilobina

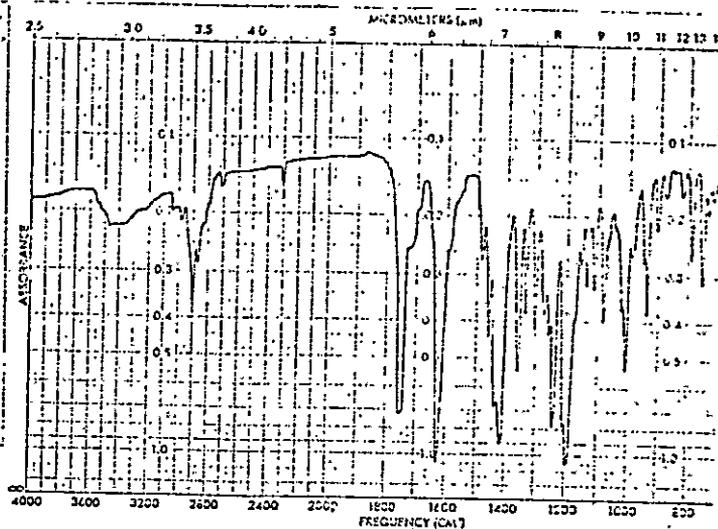


fig. 3-53. Espectro de IR de Ac-BFCLp-11 Acetilasimilobina

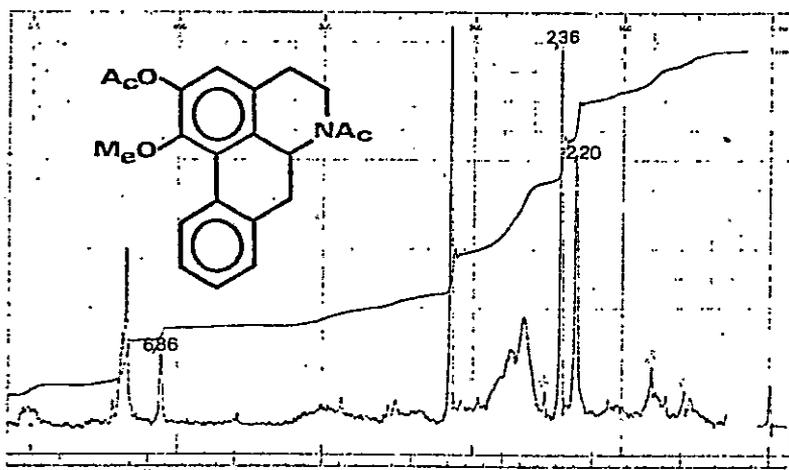


fig. 3-54. Espectro de RMN de ^1H (60 MHz) de Ac-BFCLp-11. Acetilasimilobina

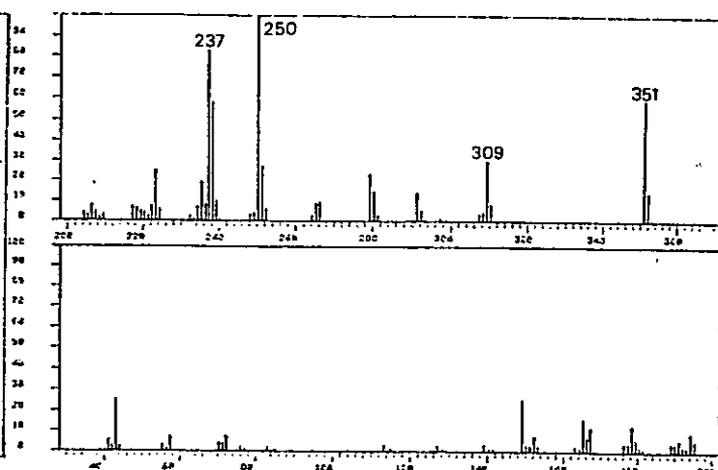


fig. 3-55. Espectro de masas de Ac-BFCLp-11 Acetilasimilobina

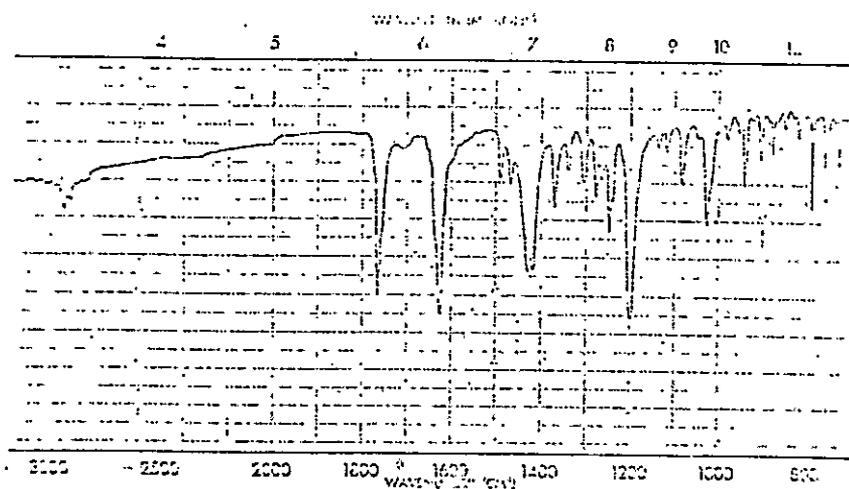
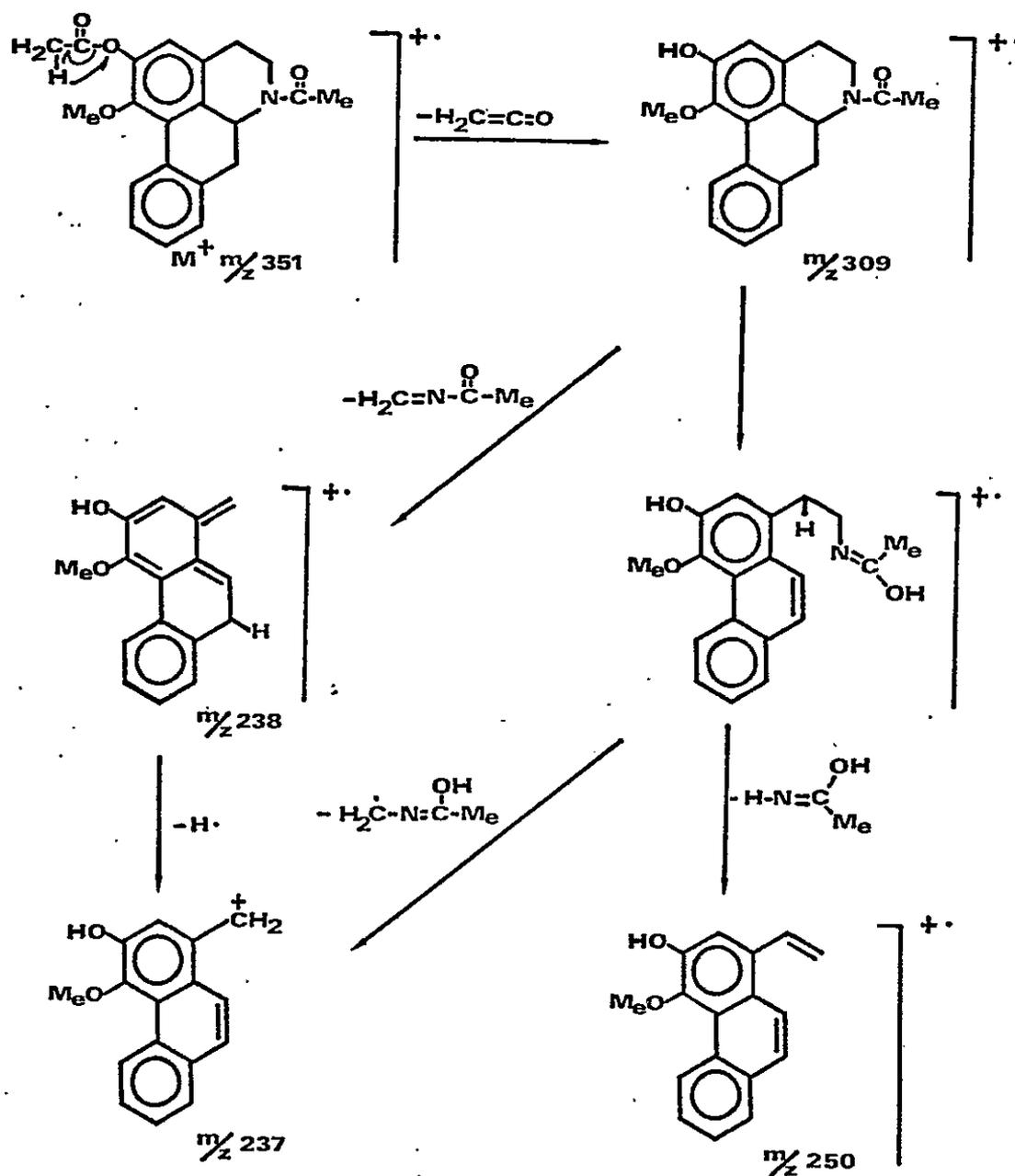


fig. 3-57. Espectro de IR de Acetilasimilobina patrón.



Esquema de fraccionamiento de Ac-BFCLp-11. Diacetilasimilobina

figura 3-56

carbonilos de éster y amida, respectivamente. El espectro de RMN de ^1H en CDCl_3 (figura 3-59) mostró señales a 2,16 s(3H) y 2,25 ppm s(3H) que se asignaron a los hidrógenos de dos grupos acetilo. Tres singuletes cuya integración correspondió a 3H cada uno a valores de 3,45, 3,85 y 3,88 ppm se asignaron a los hidrógenos de tres grupos metoxilo. Un singulete a 6,70 (1H) y un sistema AB a 6,88 $\underline{J}=8,0$ Hz (1H) y 7,13 ppm, $\underline{J}=8,0$ Hz (1H) en la zona de bajo campo del espectro se asignaron a H-3, H-8 ó H-9 y H-9 ó H-8. Con estos datos fue posible postular la estructura de una norporfina sustituida en las posiciones 1, 2, 10 y 11.

Debido a que el compuesto se aisló de la fracción de alcaloides no fenólicos y a que el espectro de RMN de ^1H demostró la imposibilidad de la existencia de un hidroxilo acetilado en C-3, C-4 ó C-7 el alcaloide debe tener un hidroxilo fenólico ubicado en C-1 o C-11 pues en esas posiciones el compuesto se comporta como un criptofenol y no es extraído con una solución acuosa básica desde una solución clorofórmica.

La separación de 0,25 ppm entre las resonancias de H-8 y H-9 determinó que se postulara la estructura de la (S)(+)-O,N-diacetilnorcoridina (3-17) pues en el derivado de la norisocoridina sería esperable que estas señales aparecieran

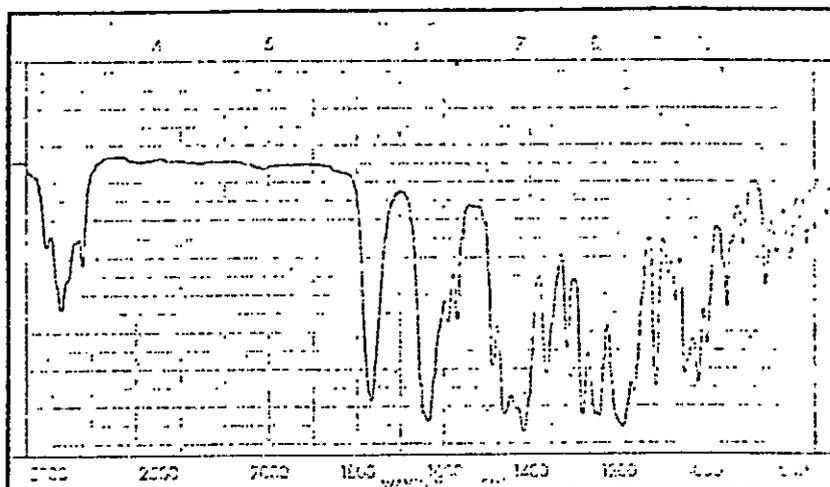


fig. 3-58. Espectro de IR de Ac-BNFCLp-8 . O, N-diacetilmorcoridina.

fig. 3-59. Espectro de RMN de ^1H de Ac-BNFCLp-8 O, N-diacetilmorcoridina

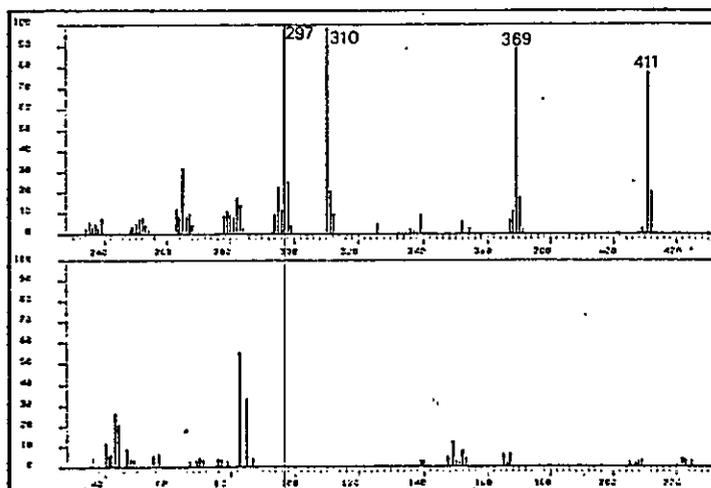
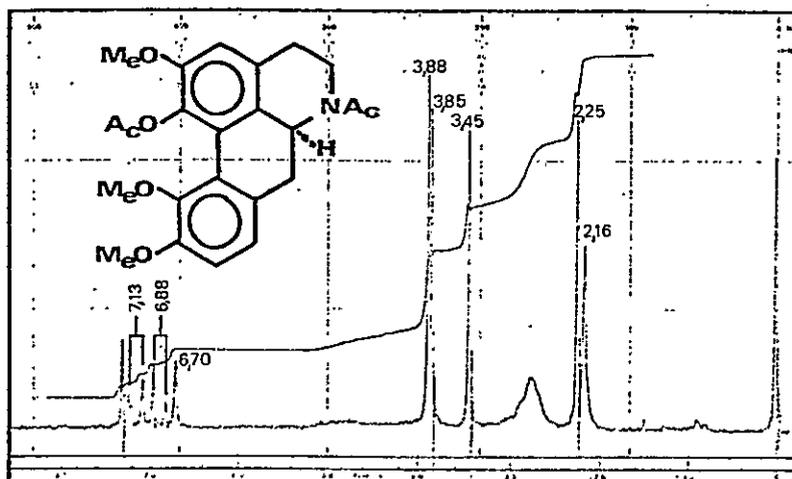
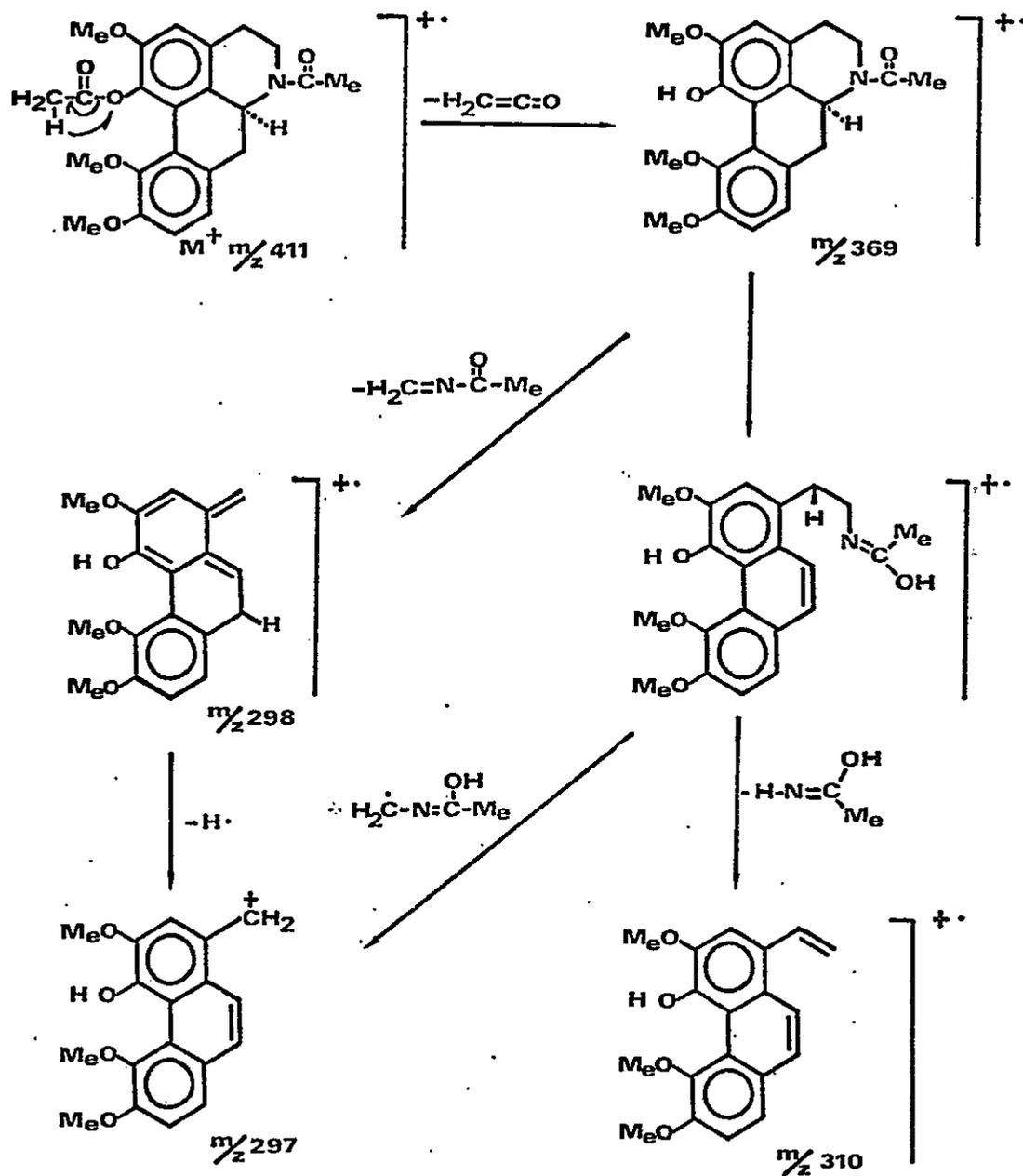


fig. 3-60. Espectro de masas de Ac-BNFCLp-8 . O, N-Diacetilmorcoridina.



Esquema de fraccionamiento de Ac-BNFCLp-8. Diacetilnorcoridina.

figura 3-61

como singulete⁶⁶. Este derivado no ha sido descrito en la literatura.

El espectro de masas del compuesto (figura 3-60) permitió afirmar la estructura. La medición de alta resolución de la señal del ión molecular confirmó la fórmula $C_{23}H_{25}NO_6$ (calculado 411, 1682; experimental 411, 1684). Los otros fragmentos pueden racionalizarse con el siguiente esquema (figura 3-61).

3.2.8.- (R) (-) Pukateína (3-18)

La fracción BDCLn, cristalizada de etanol absoluto, dio un sólido blanco, designado como BDCLn-20, que recristalizado de etanol absoluto fundió a 211-212°; $[\alpha]_D^{25} -252,0$. El espectro de RMN de 1H en $CDCl_3$ (figura 3-62) mostró señales a: 2,55 s(3H), 5,94 d, $J= 1,25$ Hz (1H) y 6,08 ppm d, $J= 1,25$ Hz (1H) correspondientes a los hidrógenos de un grupo N-Me y de un grupo metilendioxi.

Un singulete a 6,63 (1H) y un multiplete entre 6,76-7,35 ppm (3H) concuerdan con la estructura de una aporfina con un grupo metilendioxi en posición 1,2 y con un grupo hidroxilo en el anillo D. La ausencia de una señal cercana a 8,0 ppm se consideró como evidencia para plantear la estructura de la 11-hidroxi, 1,2-metilendioxiaporfina pukateína (3-18), aislada anteriormente de esta misma planta.²¹

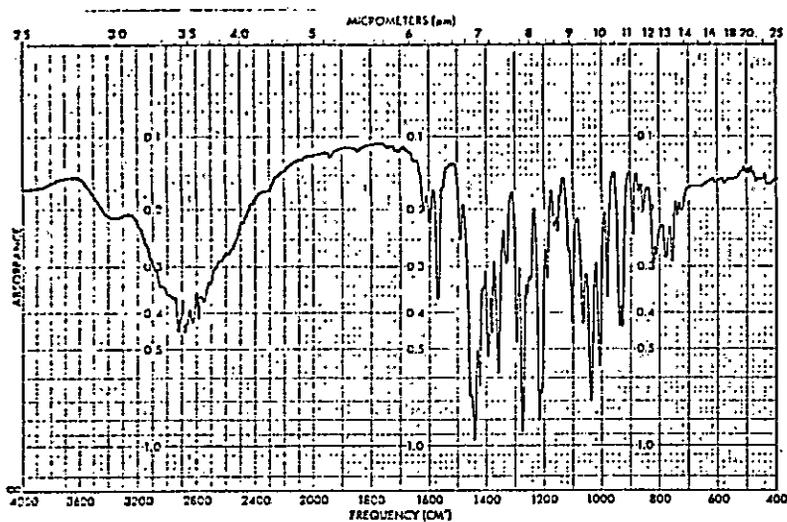


fig. 3-63. Espectro de IR.
de BDCLn-20. Pukateína

fig. 3-62. Espectro
de RMN de ^1H de
BDCLn-20. Pukateína

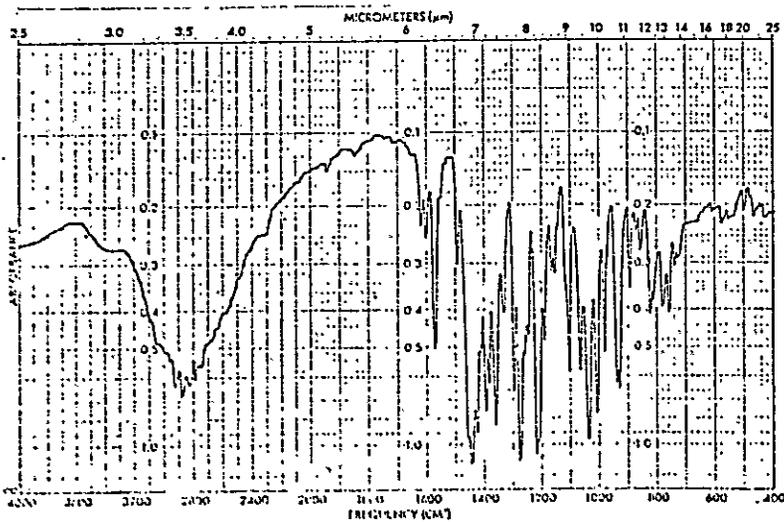
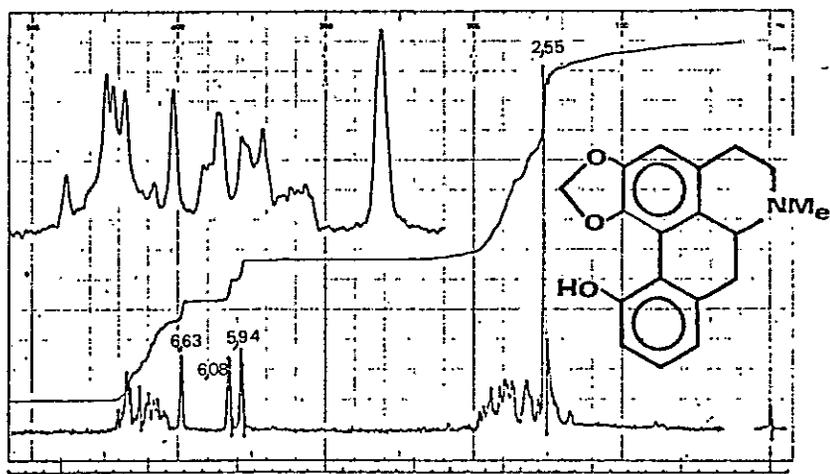
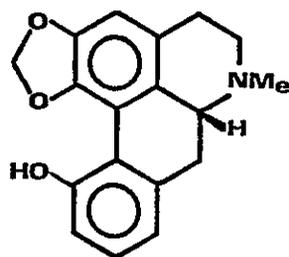


fig. 3-64. Espectro de
IR de pukateína patrón



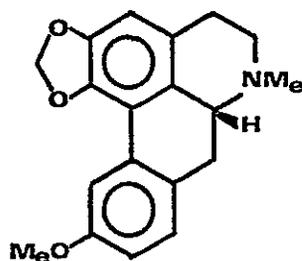
(3-18)

La comprobación de la estructura asignada al compuesto se logró a través de su comparación con una muestra auténtica de pukateína (espectros de IR idénticos (figuras 3-63 y 3-64); no hubo depresión del pf al determinarlo para una mezcla, idénticos Rf en CCF).

3.2.9.- (R) (-)-Laurelina (3-19)

Las aguas madres de obtención de BDCL-20 se separaron por cromatografía en columna de gel de sílice. Por evaporación de las fracciones 14-30 se obtuvo un sólido amorfo cromatográficamente puro designado como BDCLn-21. El espectro de RMN de ^1H en CDCl_3 (figura 3-65) mostró señales a: 2,53 s(3H), 3,83 s(3H), 5,90 d, $J = 2,0$ Hz (1H) y 6,05 ppm d; $J = 2,0$ Hz (1H) correspondientes a los hidrógenos de un grupo N-Me, de un grupo metoxilo y de un grupo metilendioxi en posición 1,2, de un anillo aporfínico.

El análisis de la zona de bajo campo del espectro permitió asignar la señal de 6,53 ppm (s, 1H) al H-3. Las restantes señales, a 6,76 (dd, 1H, $J = 8,0$ Hz, $\underline{J} = 2,5$ Hz), 7,16 (d, 1H, $\underline{J} = 8,0$ Hz) y 7,65 ppm (d, 1H, $\underline{J} = 2,5$ Hz) permitieron concluir que el grupo metoxilo se encontraba unido al C-9 o al C-10. La comparación de los datos de RMN de ^1H obtenidos, con los publicados en la literatura para este tipo de compuestos permitió asignar la estructura de la 1,2-metilendioxi-10-metoxiaporfina, (R) (-)Laurelina (3-19), aislada anteriormente de la misma planta.²¹ En el estudio realizado más recientemente, no se había logrado reaislar la laurelina.²³



(3-19)

La comprobación de la estructura asignada al compuesto se logró a través de la preparación del tartrato (p.f. 204-209°; $[\alpha]_{\text{D}} -50,0^\circ$) y la comparación de sus constantes físicas con las aparecidas en la literatura.⁶³

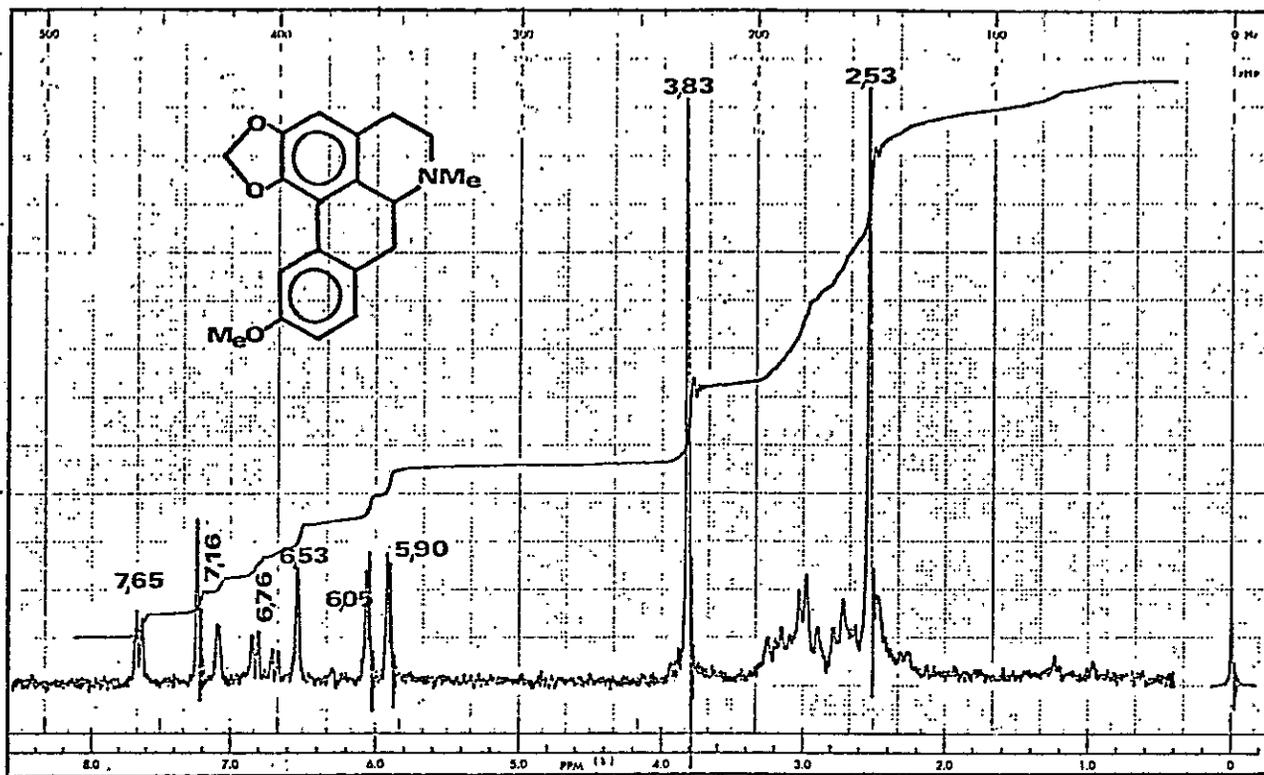


fig. 3-65. Espectro de RMN de ^1H (60 MHz) de BDCLn-21. Laurelina

3.2.10.- (6aS) (7R)-Michelalbina (3-20)

La fracción BNFMLS-ext a pH 6,0, cristalizada de CHCl_3 , dio un sólido blanco designado como BNFMLS-6, que recristalizado de etanol fundió a 194-196°; $[\alpha]_D -97,6$. El espectro de RMN de ^1H en CDCl_3 (figura 3-66) mostró señales a: 5,90 d, $J = 1,5$ Hz (1H) y 6,05 ppm d, $J = 1,5$ Hz que se asignaron a un grupo metilendioxi.

Un singulete a 6,56 (1H) y dos multipletes a 7,31 (3H) y 8,16 ppm (1H) concuerdan con la estructura de una noraporfina con un grupo metilendioxi en posición 1,2.

Dos señales adicionales, un doblete a 4,53 $J=3$ Hz (1H) y un multiplete a 4,0 ppm (1H) se asignaron respectivamente a un hidrógeno geminal a un grupo hidroxilo, que debido a su multiplicidad debe estar en C-7 y al hidrógeno de C-6a. La constante de acoplamiento indicó una relación cis entre los hidrógenos.

con estos datos fue posible postular para el compuesto la estructura de la 7-hidroxi-1,2-metilendioxinoraporfina. (6aS) (7R)-Michelalbina (3-20)



(3-20)

El alcaloide se sometió a acetilación y se obtuvo de esta manera un O, N-diacetil derivado que recristalizado de MeOH fundió a (236°) 239-243° (d). El espectro de IR mostró señales a 1740 y 1640 cm^{-1} (figura 3-67) que se asignaron respectivamente a grupos carbonilo de éster y de amida. El espectro de RMN de ^1H (figura 3-68) resultó parecido al de la base, con la excepción de la aparición de señales a δ 1,90 s(3H) y 2,23 s(3H) correspondientes a los hidrógenos de los grupos acetilo, y del corrimiento esperado a campo más bajo de las señales de H-7 y H-6a a 6,24 y 5,42 ppm respectivamente.

El espectro de masas del compuesto (figura 3-69) confirmó la fórmula molecular $\text{C}_{21}\text{H}_{19}\text{NO}_5$ (calculado 365, 1263; experimental 365, 1214). La fragmentación más importante en este caso corresponde a la pérdida de ácido acético para dar un ión radical a m/z 305.

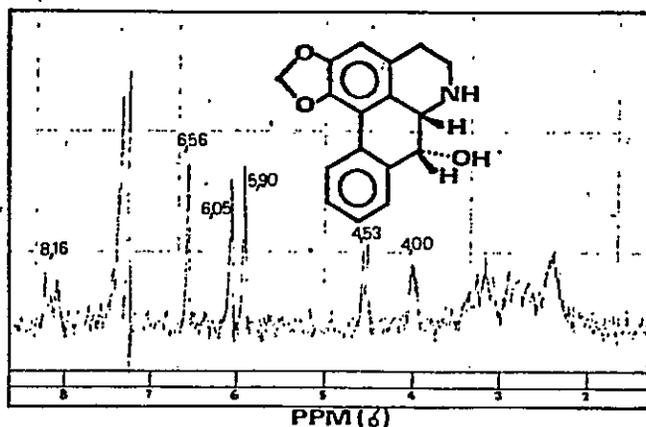


fig. 3-66. Espectro de RMN de ^1H de BNFMLS-6. Michelalbina

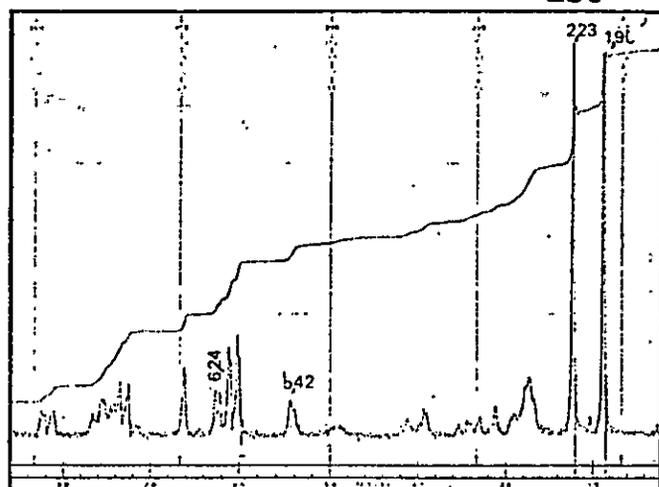


fig. 3-68. Espectro de RMN de ^1H de Ac-BFMLS-6. O, N-diacetilmichelalbina

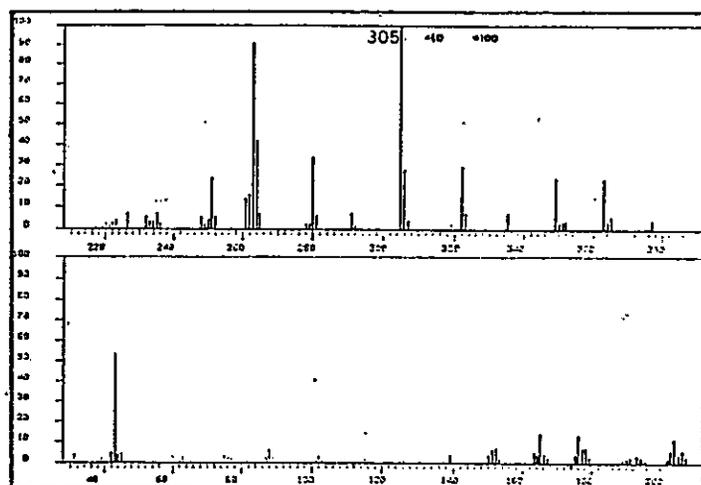


fig. 3-69. Espectro de masas de Ac-BFMLS-6. O, N-diacetilmichelalbina.

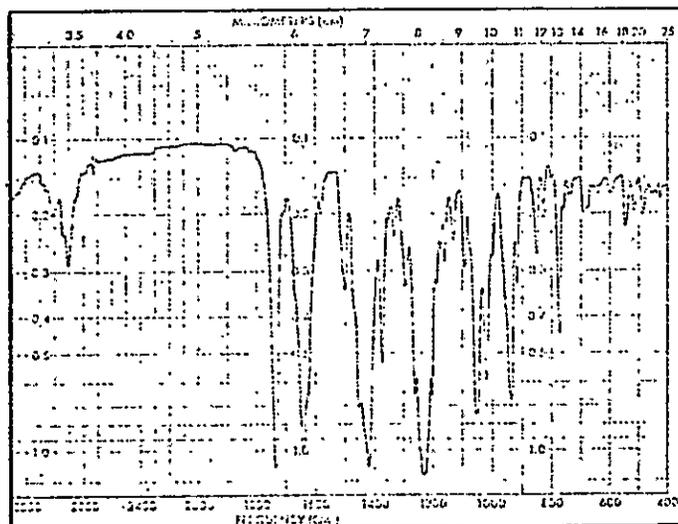


fig. 3-67. Espectro de IR de Ac-BNFMLS-6. O, N-diacetilmichelalbina

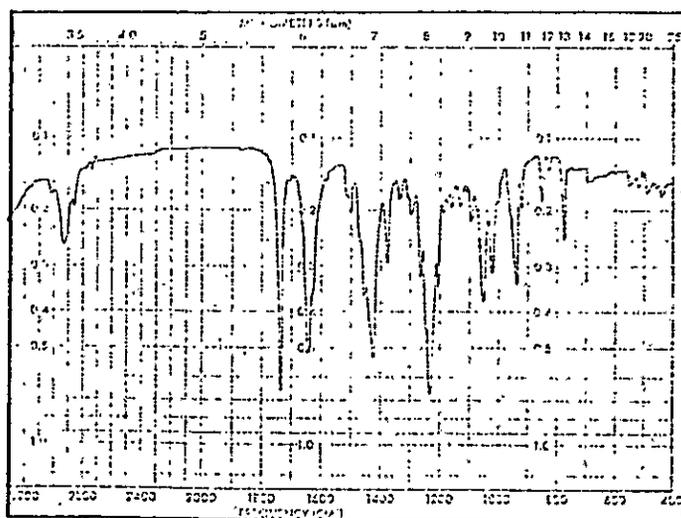


fig. 3-70. Espectro de IR de O, N-diacetilmichelalbina patrón.

La comprobación de la estructura asignada al compuesto se logró a través de su comparación con una muestra auténtica de O, N-diacetil michelalbina (espectros de IR idénticos (figuras 3-67 y 3-70); no hubo depresión del punto de fusión al determinarlo para una mezcla, idénticos R_f en CCF).

3.2.11.- rel (4R, 6aS)-4-Hidroxinornantenina (3-21)

La fracción BNFCLp-extraídas a pH 4,0 se separó por cromatografía en columna. Por purificación de la fracción 37-137 mediante cromatografía en capa fina preparativa se obtuvo un sólido amorfo cromatográficamente puro designado como BNFCLp-9. El espectro de RMN de ^1H en CDCl_3 (fig. 3-71) mostró señales a: 3,65 s(3H), 3,94 s(3H) y 5,97 ppm s(2H) correspondientes a los hidrógenos de dos grupos metoxilo y de un grupo metilendioxi. Tres singuletes a 6,68 (1H), 6,90 s(1H) y 7,89 ppm s(1H) concuerdan con la estructura de una noraporfina sustituida en las posiciones 1, 2, 9, 10. El hecho que la señal de los hidrógenos del grupo metilendioxi aparezca como un singulete indica que este se encuentra en la posición 9,10. La señal adicional, que no desapareció por agregado de D_2O , a δ 4,51 m, 4 Hz de ancho a la mitad de su altura (1H), se asignó a un hidrógeno geminal a un hidroxilo en C-4 o C-5

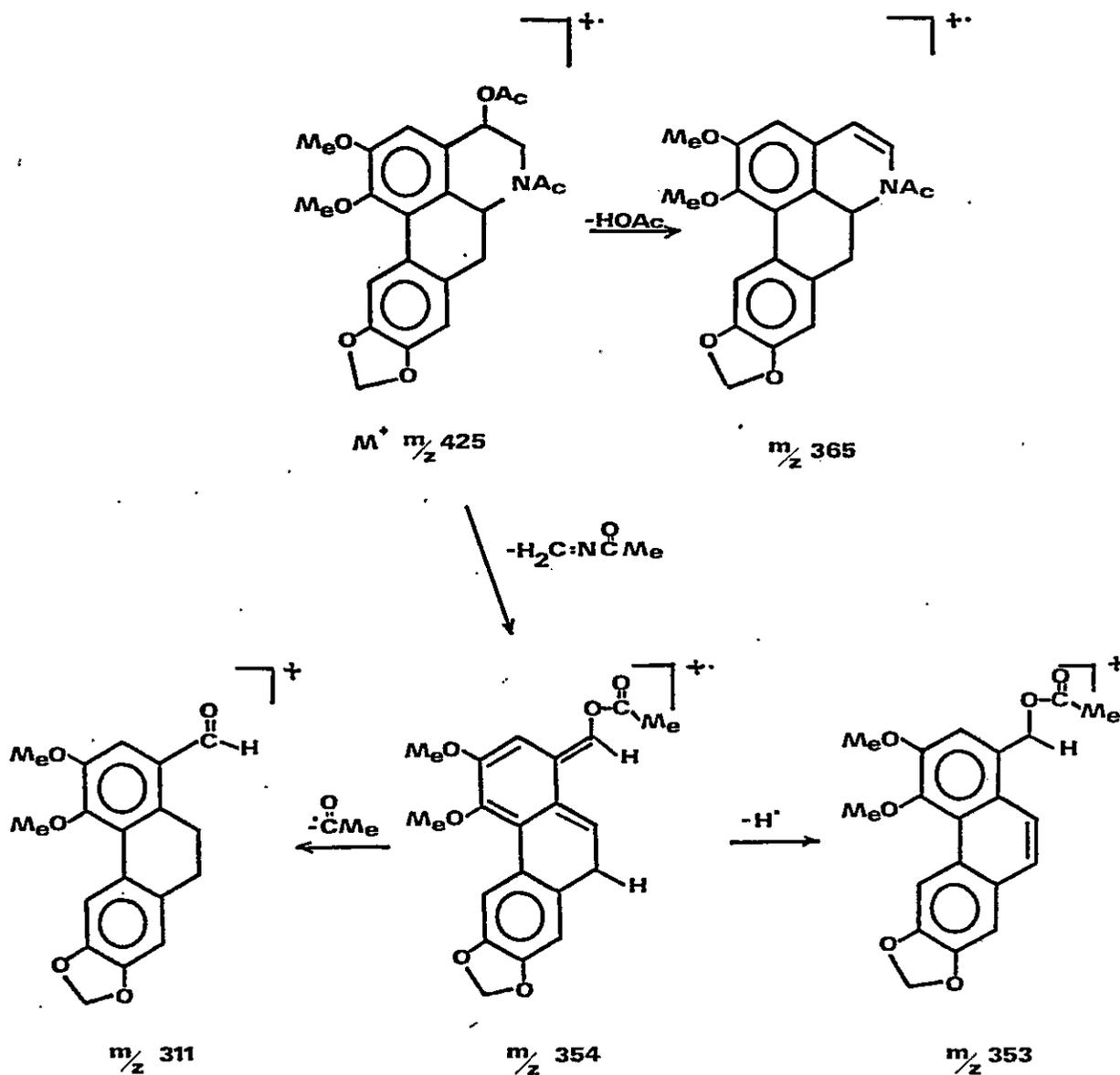
(en C-7, como en la michelalbina, el protón geminal daría un doblete).

Por acetilación de la base se obtuvo un derivado O,N-diacetilado que cristalizado de BtOH fundió a 179-181°

El espectro de IR mostró señales a 1770 y 1640 cm^{-1} (figura 3-72) que se asignaron a grupos carbonilos de éster y amida respectivamente. El espectro de RMN de ^1H en CDCl_3 (figura 3-73) mostró una señal adicional a δ 2,30 ppm (6H) correspondiente a los hidrógenos de los grupos acetilo y un cambio en la señal del H geminal al hidroxilo, que fuera de aparecer a campo más bajo como era de esperar por la acetilación (δ 5.77 ppm) se transformó en un doblete de dobletes con $\underline{J} = 10 \text{ Hz}$ $\underline{J}' = 5 \text{ Hz}$, sugiriendo un drástico cambio conformacional del anillo B.

El espectro de masas del derivado acetilado (figura 3-74) permitió deducir la estructura del compuesto. La medición de alta resolución de la señal del ión molecular confirmó la fórmula $\text{C}_{23}\text{H}_{23}\text{NO}_7$ (calculado 425,1475; experimental 425,1475).

Los otros fragmentos que se pueden racionalizar con el siguiente esquema (figura 3-75), indicarían que la función oxigenada se encontraría en el C-4 y que por consiguiente el alcaloide sería la 4-hidroxinornantenina,



Esquema de fraccionamiento de Ac-BNFCLp-9.

figura 3-75

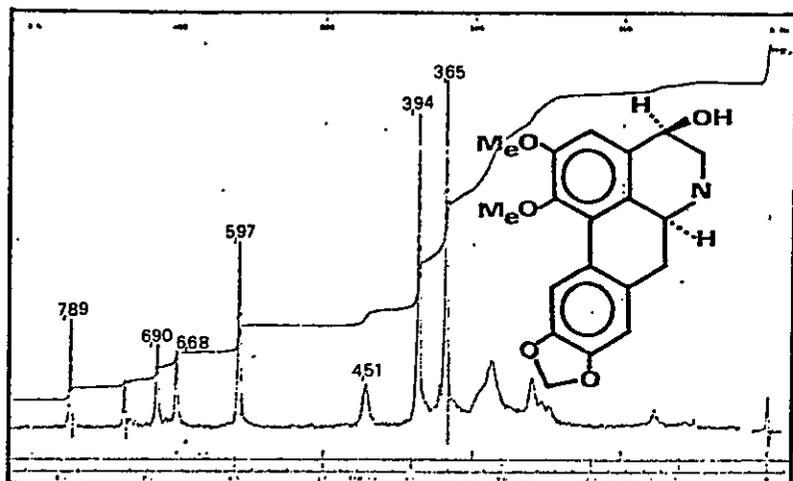


fig. 3-71. Espectro de RMN de ^1H (60 MHz) de BNFLp-9. (4R, 6aS)-4-Hidroxinornantenina

fig. 3-72. Espectro de IR de Ac-BNFLp-9 Acetil-(4R, 6aS)-4-hidroxinornantenina.

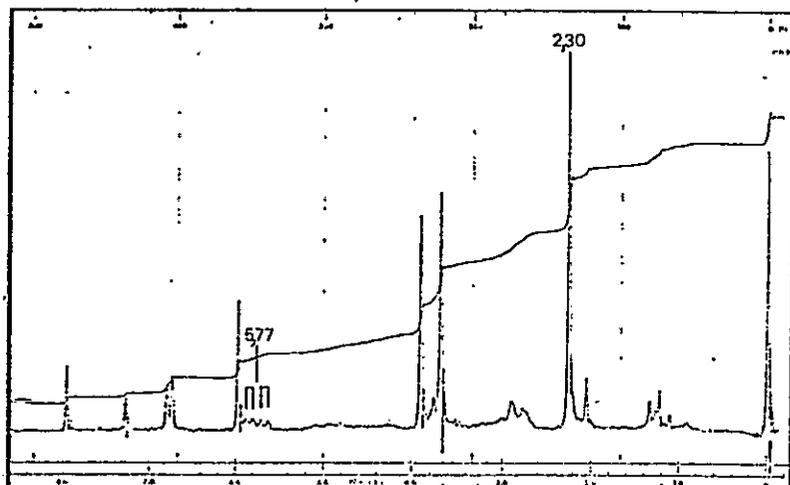
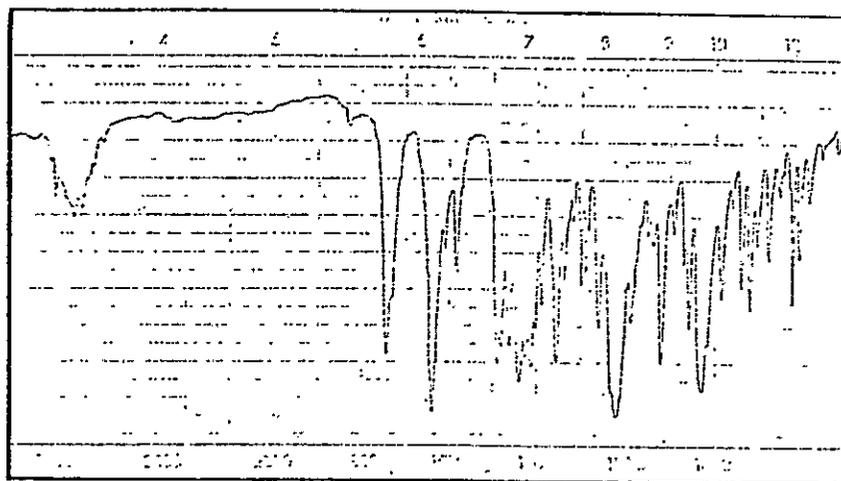
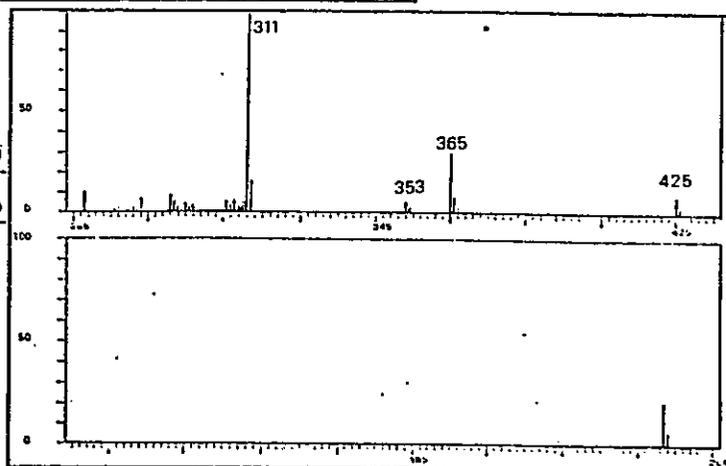


fig. 3-73. Espectro de RMN de ^1H de Ac-BNFLp-9. Acetil-(4R, 6aS)-4-hidroxinornantenina

fig. 3-74. Espectro de RMN de ^1H de Ac-BNFLp-9 Acetil-(4R, 6aS)-4-hidro xinornantenina.



compuesto nuevo para la ciencia.

En el espectro de RMN de ^1H de la 4-hidroxinornantenina, el protón unido al C-4 da origen a un multiplete de 4 Hz de ancho a la mitad de su altura, 4,51 ppm, lo que indica que sus acoplamientos de espines con los protones metilénicos del C-5 son pequeños y semejantes. Esta situación corresponde a una conformación semisilla del anillo nitrogenado B con el grupo OH pseudoaxial. En el espectro del derivado acetilado la señal del protón correspondiente aparece como un doblete de dobletes, $J = 10$ Hz, $J' = 5$ Hz, 5,77 ppm, de donde se deduce que aquí el grupo -OAc ocupa una posición pseudoecuatorial.

Analizando modelos Dreiding de 4(R) y 4(S)-hidroxi-6a(S)-nornantenina, no se aprecian diferencias claras en la compresión estérica de los conformeros que tienen el grupo OH pseudoaxial. Tampoco se puede decidir sin más entre los conformeros de 4(R) y 4(S)-acetoxi-6a (S)-N-acetilnornantenina con los grupos -OAc pseudoecuatoriales. Por lo tanto el análisis de la multiplicidad de señales no basta para establecer con seguridad las configuraciones relativas de C-4 y C-6a.

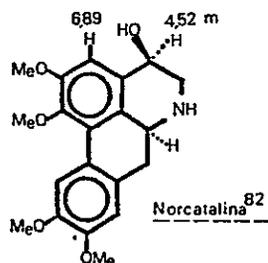
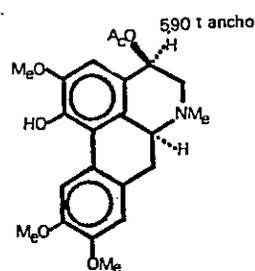
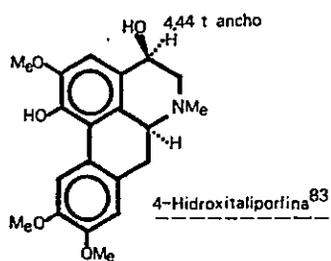
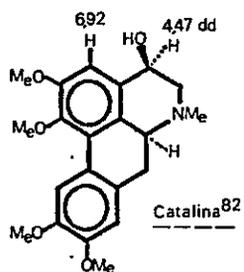
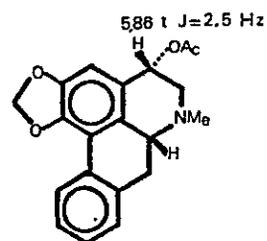
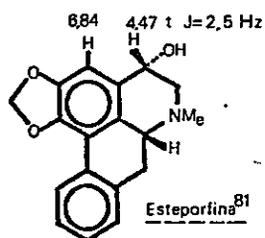
Del examen de los datos de RMN de ^1H , publicados para aporfinas 4-hidroxiladas, se deduce que cuando los átomos de hidrógeno de C-4 y C-6a están en relación cis, la

resonancia del protón unido al C-4 aparece en la región que va de 4,44 a 4,52 ppm (figura 3-76), mientras que cuando la relación de estos átomos de hidrógeno es trans la señal aparece entre 4,80 y 4,93 ppm (figura 3-77). Cuando se acetila el alcohol secundario, la señal del protón unido al C-4 se desplaza a campos más bajos, apareciendo a 5,77-5,92 ppm en los isómeros cis (figura 3-76) y a 6,20-6,32 ppm en los isómeros trans (figura 3-77).

Estas regularidades observadas permiten decidir si la relación de los átomos de en C-4 y C6a es cis o trans en cualquier 4-hidroxiaporfina o 4-hidroxinoraporfina.

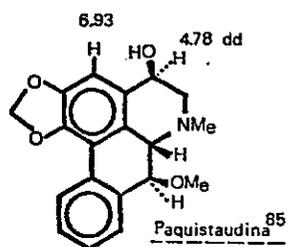
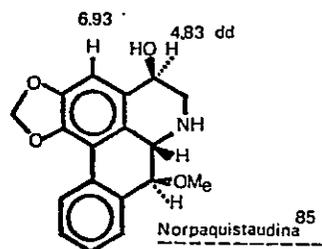
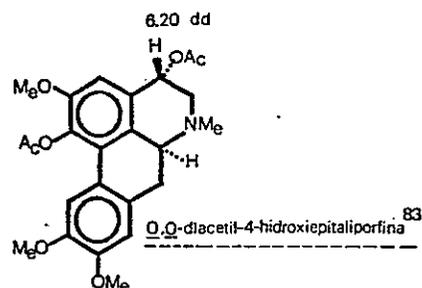
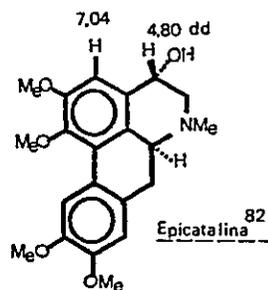
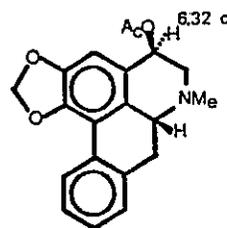
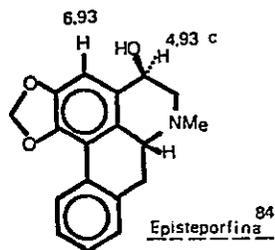
Debido a que es conocido que la mayoría de las aporfina con sustitución oxigenada en C-1, C-2, C-9 y C-10 tienen configuración S en C-6a se postuló como estructura definitiva para el compuesto la de (4 R, 6aS)-4-Hidroxinorantenina (3-21).

La estructura asignada al compuesto y la estereoquímica relativa se confirmó mediante el estudio cristalográfico de rayos X⁸⁶, con lo cual quedan demostradas también las configuraciones de los alcaloides que aparecen en las figuras 3-76 y 3-77.



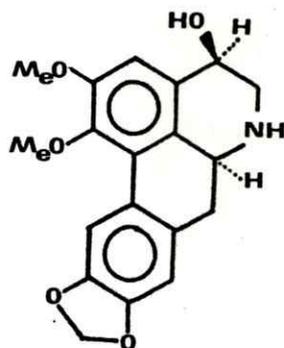
Datos de RMN de ^1H de 4-hidroxiaporfinas con relación cis entre H-4 y H-6a.

figura 3-76



Datos de RMN de ^1H de 4-hidroxiaporfinas con relación trans entre H-4 y H-6a.

figura 3-77



(3-21)

3.2.12.- rel (4 R, 6a R)-4-Hidroxianonafina (3-22)

Al efectuar la separación mediante cromatografía en capa fina preparativa de la fracción 37-137 con el objeto de obtener la BNFCLp-9, rel (4 R, 6a S)-4-hidroxinornantina (3-21), se obtuvo un sólido amorfo que se descomponía rápidamente en contacto con el aire y en solución. El espectro de RMN de ^1H en CDCl_3 (figura 3-78) mostró que se trataba de una mezcla de rel (4R, 6a S)-4-hidroxinornantina y de una cantidad mucho más grande de otra noraporfina con un grupo metilendioxi unido a C-1 y C-2 que daba señales a 5,95 d, $J = 1,5$ Hz y 6,08 ppm d, $J = 1,5$ Hz. En la zona de bajo campo del espectro se observó un singulete a 7,00 ppm, un multiplete superpuesto con la señal del CHCl_3 y otro multiplete centrado a 8,05 ppm. El espectro mostró también un multiplete centrado a 4,83 ppm, a campo mucho

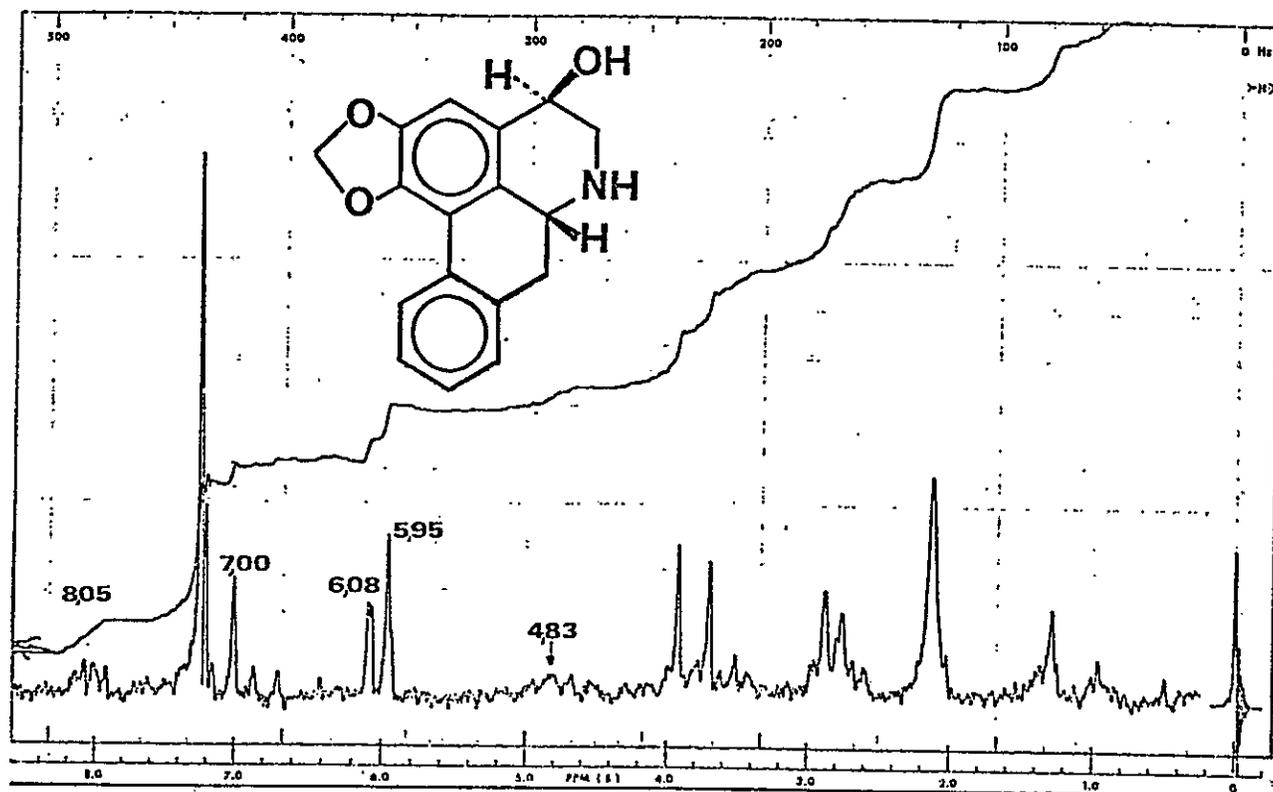
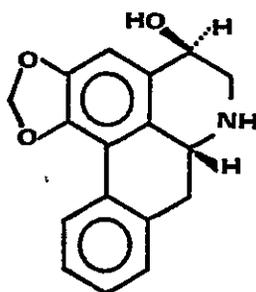


fig. 3-78. Espectro de RMN de ^1H (60 MHz) de BNFCLp-10. Rel (4 R, 6a R)-4-Hidroxianonaína

más bajo que lo habitual debido a la presencia del grupo hidroxilo en el C-4, como se puede concluir del examen de los datos espectroscópicos incluidos en las figuras 3-76 y 3-77 .

El valor de 4,83 ppm del desplazamiento químico de la resonancia del H-4 indicaría una relación trans entre H-6a y el H-4 tal como también se observa para la episte-porfina⁸⁴, la paquistandina⁸⁵, la norpaquistandina⁸⁵ (naturales) y la epicatalina⁸² (sintética) (figura 3-77).

Como la configuración absoluta de todas las aporfinas conocidas sin sustitución en el anillo D es (6a R) 66-68-70, esto implicaría que el compuesto es la rel (4 R 6a R)- 4-hidroxianonaína (3-22), compuesto nuevo para la ciencia.



(3-22)

Intentos de purificar el compuesto fracasaron y luego de tenerlo un par de horas en solución de CDCl_3 se

observó por CCF la aparición de manchas coloreadas atribuíbles a productos de descomposición. Los intentos de preparar un derivado acetilado con el residuo obtenido por concentración de la solución clorofórmica también fracasaron.

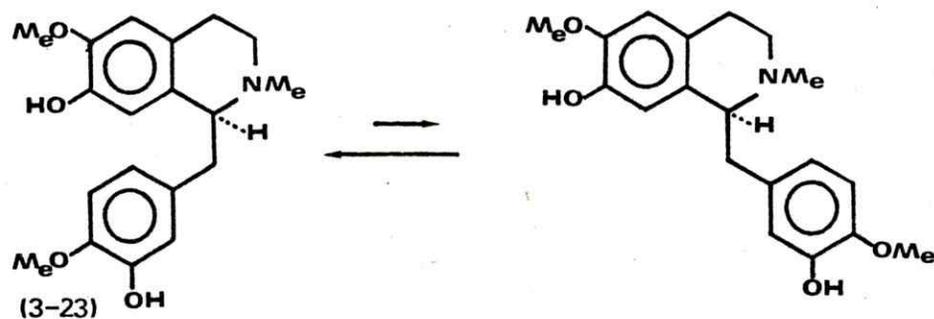
3.3.- Alcaloides bencilisoquinolínicos

3.3.1.- (S) (+)-Reticulina (3-23)

La fracción BFCLp-ext a pH 6,6 resuelta por cromatografía en columna de gel de sílice dio diferentes fracciones (2.3.3); la fracción 16-21 dio un espectro de RMN de ^1H (figura 3-79) que indicó que se trataba de una mezcla. Por resolución mediante cromatografía en capa fina de 16-21 se obtuvo entre otras la fracción 27'-50' que dio un espectro de RMN de ^1H (figura 3-80) correspondiente a un compuesto impuro. Una señal a 2,45 ppm se asignó a los hidrógenos de un grupo N-metilo y la señal a 3,85 ppm se asignó a los hidrógenos de dos grupos metoxilo.

El análisis de la zona de bajo campo del espectro mostró singuletes a δ 6,38 y 6,51 y un multiplete entre 6,56 y 6,8 ppm. La señal a δ 6,38 ppm, se asignó al H-8 de una bencilisoquinolina terciaria, debido a que en este tipo de compuestos esta resonancia aparece a campo inusualmente alto pues el H-8 cae en la zona de protección del

anillo C en la conformación "plegada" dominante (figura 3-81). El espectro resultó semejante al descrito para la (S) (+)-reticulina⁸⁷.



Conformaciones de la (+)-reticulina

figura 3-81

A partir de la base impura se obtuvo el perclorato cristalino que recristalizado de etanol absoluto fundió a 202-204°; $[\alpha]_D + 85,0$. Se demostró su identidad con perclorato de (S) (+) -reticulina por comparación con una muestra auténtica (pfm, IR (figuras 3-82 , 3-83) Rf).

3.3.2.- (R) (-)-Romneína (3-24)

Las aguas madres de obtención de BDCLn-20 se separaron por cromatografía en columna de gel de sílice. Por evaporación del solvente de las fracciones 40-58 se obtuvo un sólido amorfo cromatográficamente puro designado como BDCLn-20.

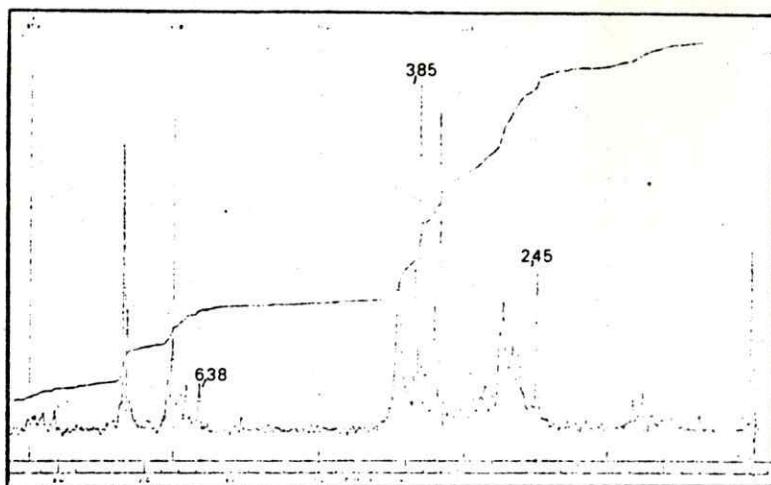


fig. 3-79. Espectro de RMN de ^1H (60 MHz) de 16-21.

fig. 3-80. Espectro de RMN de ^1H (60 MHz) de 27'-50'.

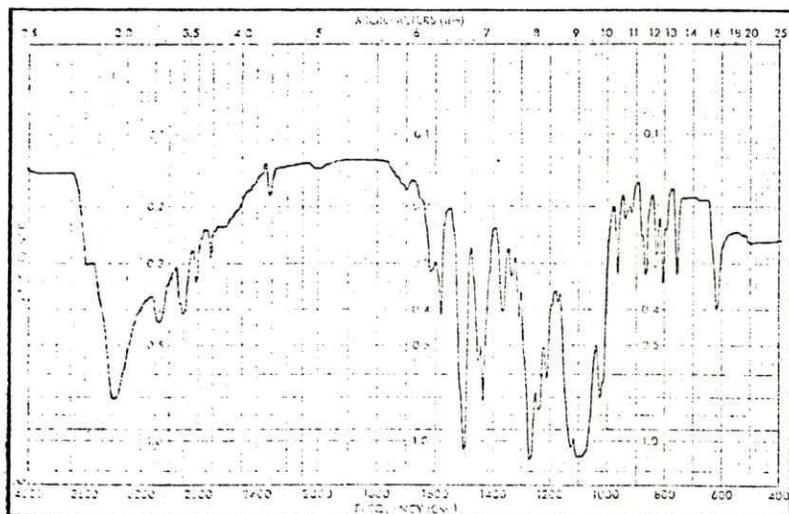
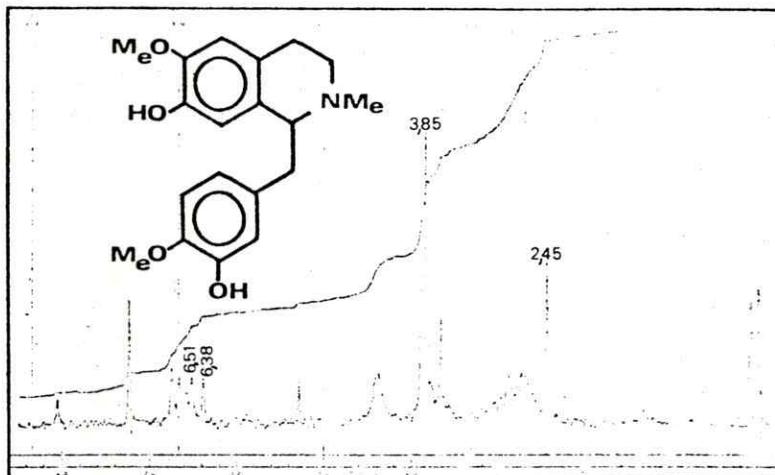


fig. 3-82. Espectro de IR de Perclorato de BFLp-12. Perclorato de reticulina.

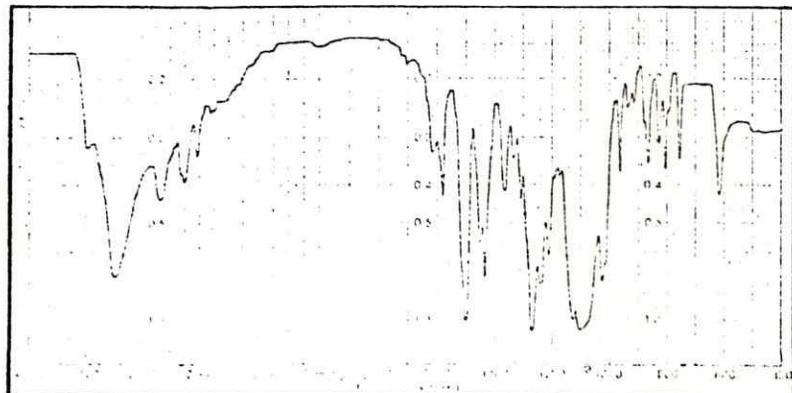
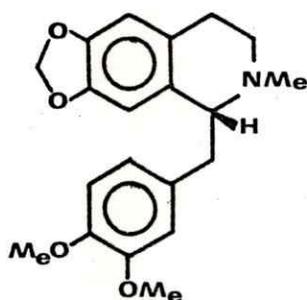


fig. 3-83. Espectro de IR de Perclorato de reticulina patrón

El espectro de RMN de ^1H en CDCl_3 (figura 3-84) mostró señales a: 2,50 s(3H), 3,81 s(3H) y 5,85 ppm s(2H) que se asignaron respectivamente a los hidrógenos de un grupo N-Me , de dos grupos metoxilo y de un grupo metilendioxi. El análisis de la zona de bajo campo del espectro permitió asignar las señales de 6,26 s(1H) y 6,51 ppm s(1H) al H-8 y H-5 de un alcaloide bencilisoquinolínico.

El espectro resultó igual al publicado para la romneína⁶⁴ (figura 3-85).



(3-24)

A partir de la base se obtuvo del bromhidrato cristalino, que cristalizado de acetona fundió a 223-225°; $[\alpha]_{\text{D}}^{15} -75^\circ$ (C = 0.20, EtOH), espectro de IR (figura 3-86). La (+)-romneína había sido aislada antes de Romneya coulteri (paverácea)⁶⁴ y esta es la primera vez que se aisla la (-)-romneína de una fuente natural. El valor absoluto de

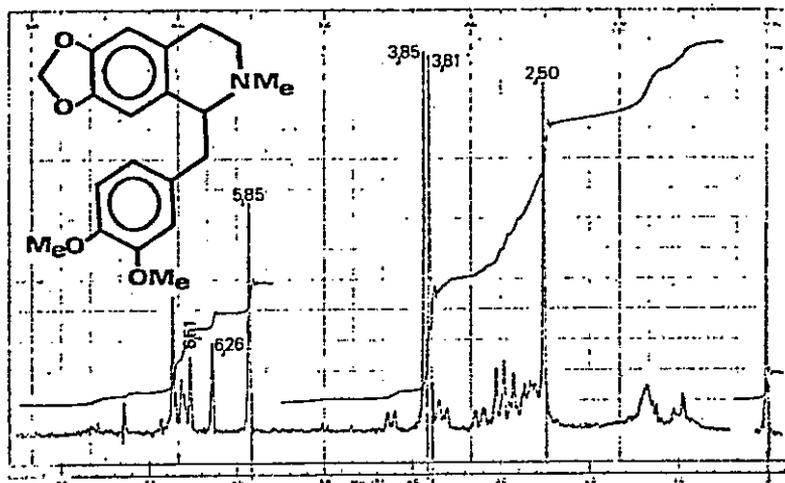


fig. 3-84. Espectro de RMN de ^1H (60 MHz) de BDCLn-20 (R) (-)-Romneína

fig. 3-85. Espectro de RMN de ^1H de (S) (+)-romneína patrón.

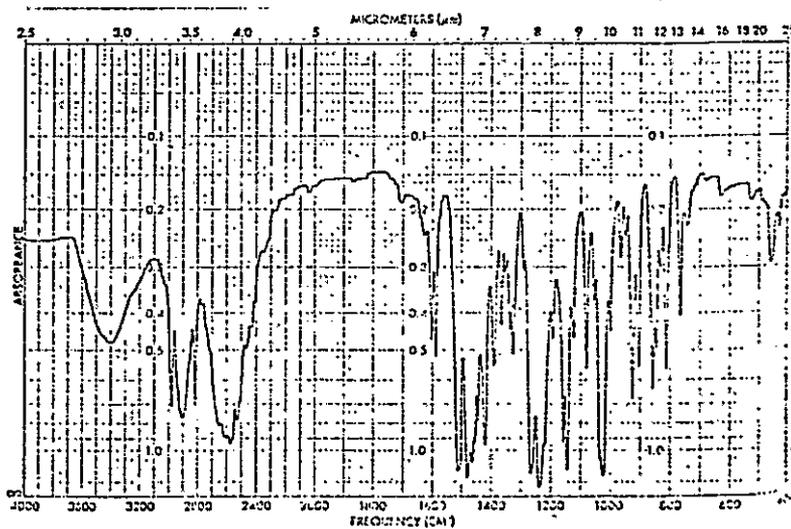
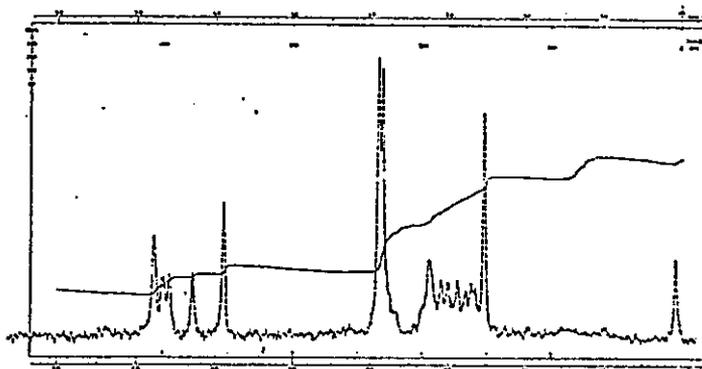
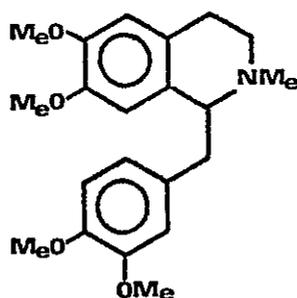


fig. 3-86. Espectro de IR de bromhidrato de BDCLn-20. Bromhidrato de (R) (-)-romneína

la rotación específica del bromhidrato de (-)-romneína aislado de L. novae-zelandiae (75°) es apreciablemente mayor que el informado para el material aislado de Romneya coulteri⁶⁴ (40°) para las bases preparadas de los enantiómeros de la nor-romneína obtenidos por cristalización de las sales diastereoméricas (43°)⁶⁵. Esta discrepancia sugiere la posibilidad que el valor de la literatura corresponda a muestras estereoquímicamente impuras. Esta hipótesis se ve apoyada por el hecho que la (+)-laudanosina (3-25) con la cual fue correlacionada químicamente la romneína de R. coulteri tiene un valor de rotación específica bajo⁶⁴.



(3-25)

3.4. Alcaloides proaporfínicos

3.4.1.- (R) (-)-N-Acetil estefarina (3-26)

Por acetilación de la fracción denominada aguas madres de BNFMLs- extraídas a pH 6,0, (2.2.2.1), se obtuvo la mezcla de N-acetilderivados, que sometida a cristalización y a separación por cromatografía en columna de gel de sílice dio un sólido blanco homogéneo cromatográficamente designado como Acetil-BNFMLs-7, que recristalizado de MeOH fundió a 210-213° $|\alpha|_D^{23} - 86,73$ (c=0,226, CHCl₃).

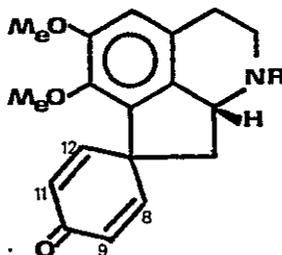
El espectro de IR (Figura 3-87) mostró señales a 1640 y 1660 cm⁻¹ que se asignaron respectivamente al grupo carbonilo de una amida y al de una cetona.

El espectro de UV mostró $\lambda_{\max}^{\text{EtOH}}$ a 230 y 280 nm sugiriendo la presencia de un anillo de dienona⁶⁷, suposición que se reafirmó por la presencia de la banda a 1660 cm⁻¹ en el espectro de IR.

El espectro de RMN de ¹H en CDCl₃ (figura 3-88) mostró señales a: 2,20 s(3H), 3,63 s(3H) y 3,86 ppm s(3H) que se asignaron respectivamente a los hidrógenos de un grupo N-acetilo y de dos grupos metoxilo.

En la zona de bajo campo del espectro el singulete a 6,73 ppm (1H) se asignó al H-3 y las otras señales a

los cuatro hidrógenos del anillo de la dienona.

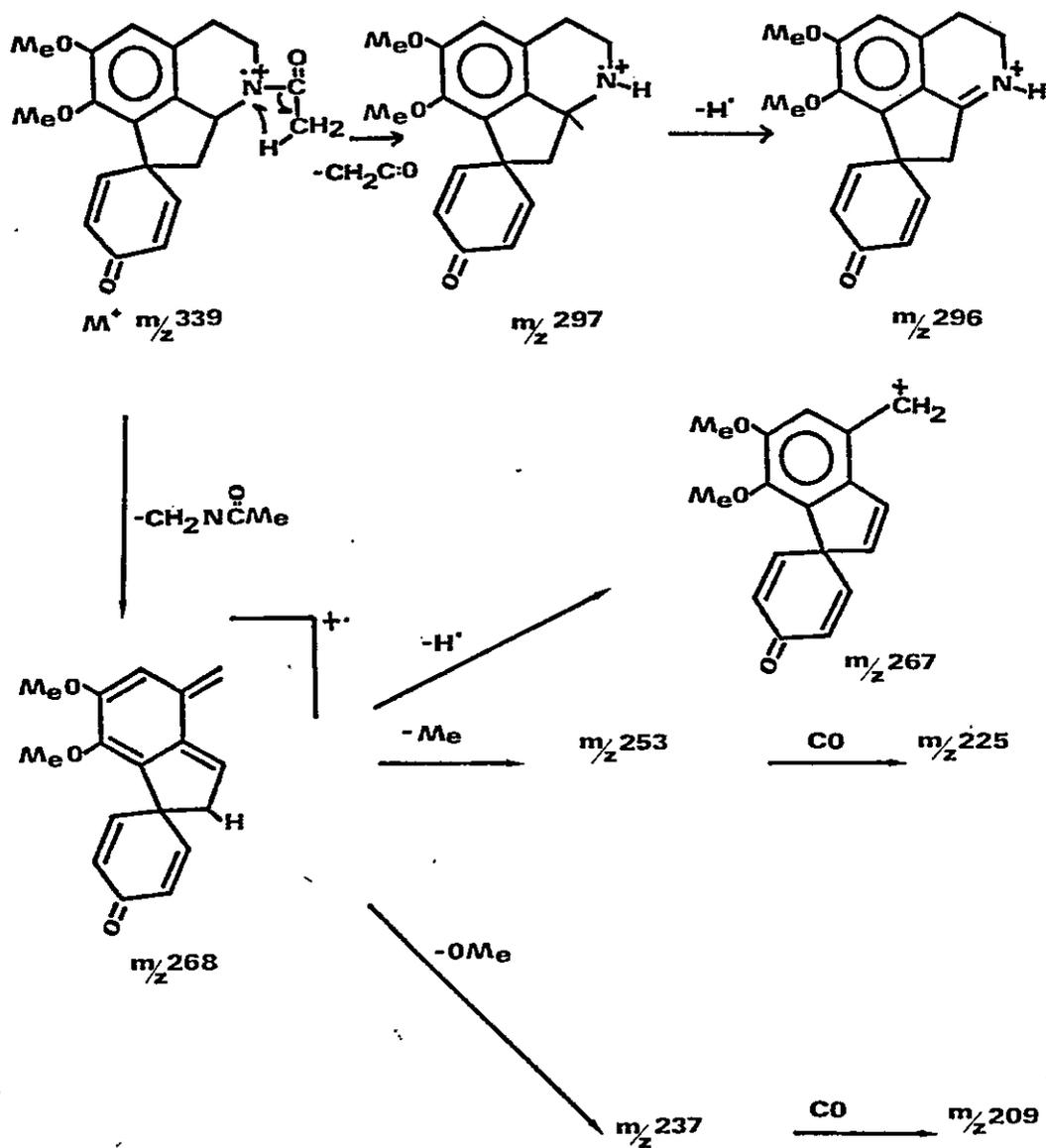


(3-26) R=Ac
3-26a R=H

6,32 dd, \underline{J} = 10 Hz, \underline{J}' = 1,5 Hz (H-9); 6,39 dd, \underline{J} = 10 Hz, \underline{J}' = 1,5 Hz (H-11); 6,84 dd, \underline{J} = 10 Hz, \underline{J}' = 3 Hz (H-8) y 7,05 dd, \underline{J} = 10 Hz, \underline{J}' = 3 Hz (H-12).

Con estos resultados fue posible postular para el compuesto la estructura de la (R)(-)-N-acetilestefarina (3-26).

El espectro de masas del compuesto (figura 3-89) confirmó la estructura planteada. La medición de alta resolución de la señal del ión molecular confirmó la fórmula $C_{20}H_{21}NO_4$ (calculado 339, 1470, experimental 339,1468). Los otros fragmentos pueden racionalizarse con el siguiente esquema (figura 3-90).



Esquema de fraccionamiento de Ac-BNFMLs-7.

Acetilestefarina

figura 3-90

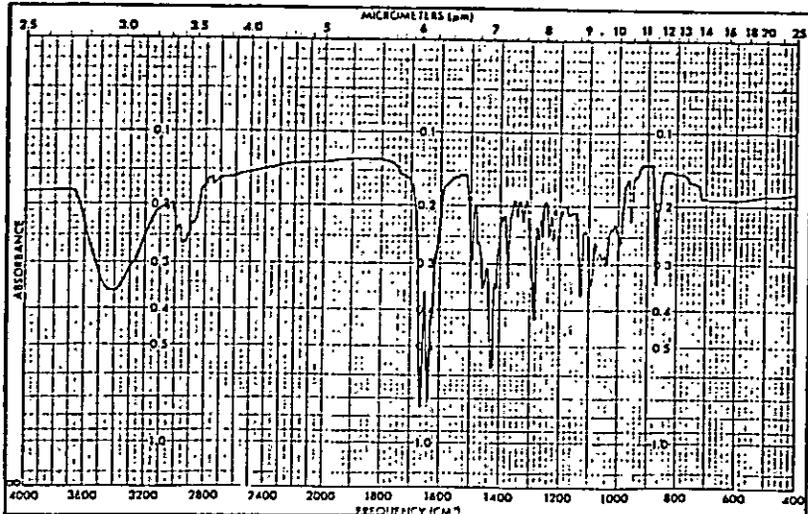


fig. 3-87. Espectro de IR de
Ac-BNFMLs-7. (R) (-)-Acetil
estefarina.

fig. 3-88. Espectro de
EMN de ^1H (400 MHz) de
Ac-BNFMLs-7. Acetiles-
tefarina.

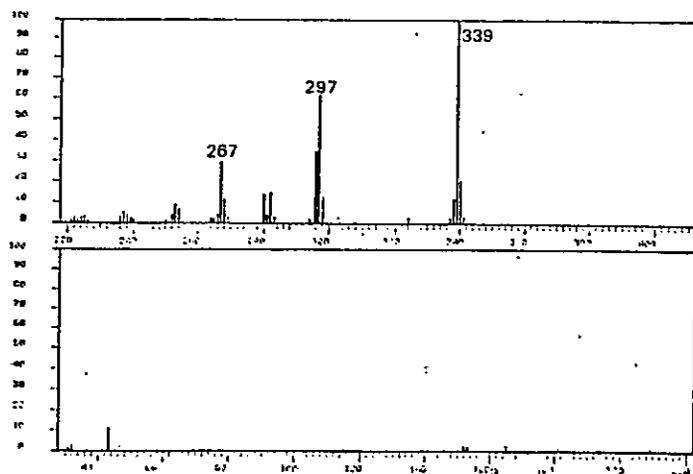
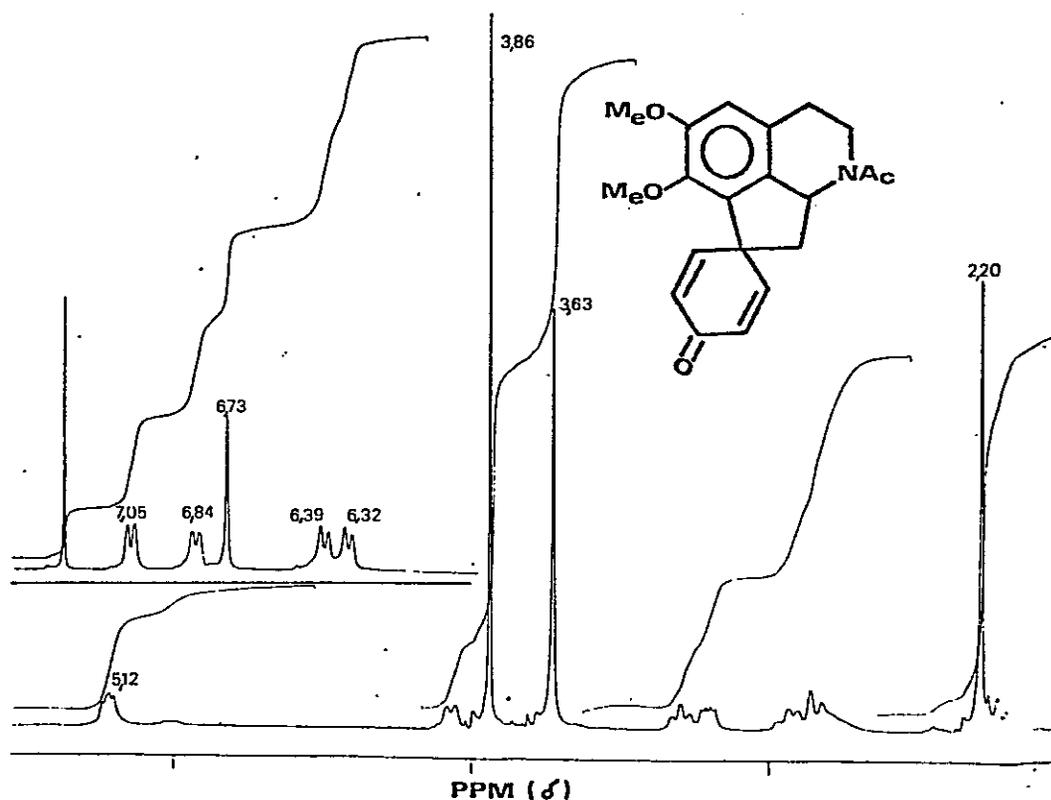


fig. 3-89. Espectro de masas de
Ac-BNFMLs-7. Acetilestefarina.

3.5.- Fenil propano

3.5.1.- (E)-3-(3,4-Metilendioxifenil)-2-propen-1-ol(3-27)

Por procesamiento de la fracción BDCLs (2.5.1) se obtuvo un sólido blanco designado como BDCLs-19, que recristalizado de ciclohexano fundió a 78-79°; $[\alpha]_D 0,0^\circ$.

El espectro de RMN de ^1H en CDCl_3 (figura 3-91) indicó la presencia de un grupo metilendioxi, 5,92 ppm s(2H), la señal centrada en 4,31 ppm dd (2H), $J'=6$ Hz, $J'' = 2$ Hz. Se asignó a los hidrógenos de un hidroximetileno acoplados con dos hidrógenos vinílicos, uno trans y otro cis. La señal centrada a 6.19 ppm dt (1H), $J = 16$ Hz, $J' = 6$ Hz se asignó a un hidrógeno vinílico acoplado con los hidrógenos del hidroximetileno ($J' = 6$ Hz) y con otro hidrógeno vinílico ubicado en relación trans ($J = 16$ Hz). La señal centrada en 6,65 ppm dt (1H), se asignó a un hidrógeno vinílico acoplado en cis con los hidrógenos del hidroximetileno ($J = 2$ Hz) y con acoplamiento trans ($J = 16$ Hz) con el otro hidrógeno vinílico. Finalmente un multiplete entre 6,70-6,94 ppm (3H) se asignó a tres hidrógenos de un anillo aromático.

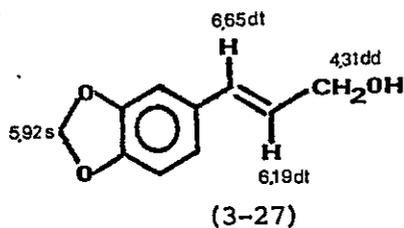


fig. 3-92. Espectro de IR de BDCLs-19. (E)-3-(3,4-Metilendioxifenil)-2-propen-1-ol.

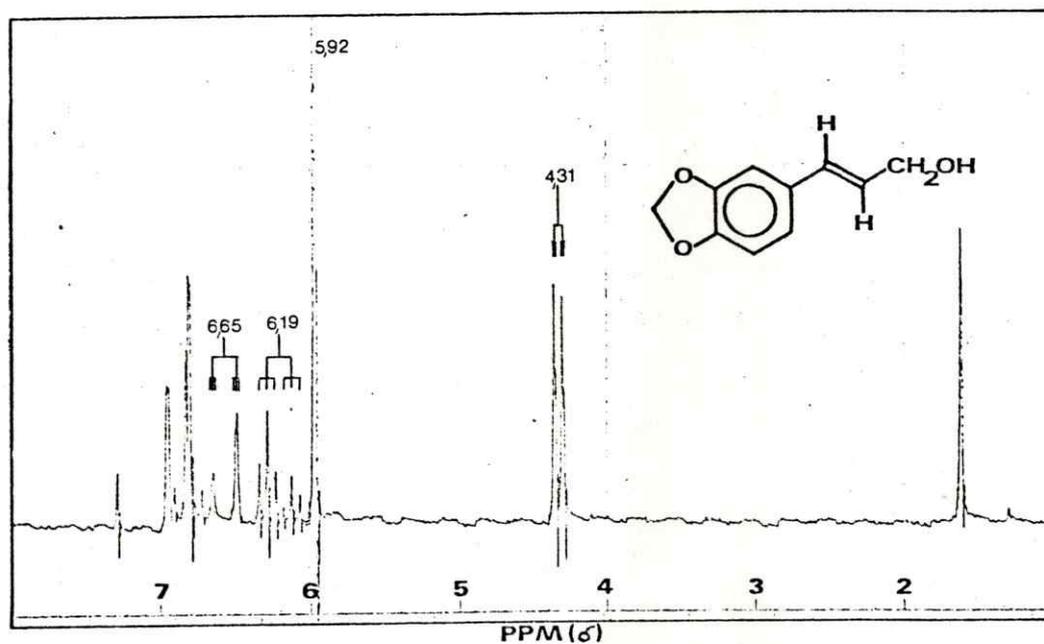
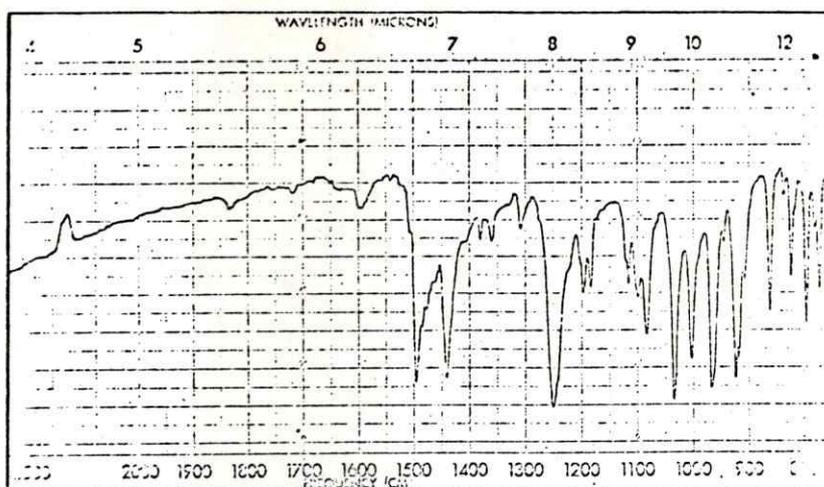
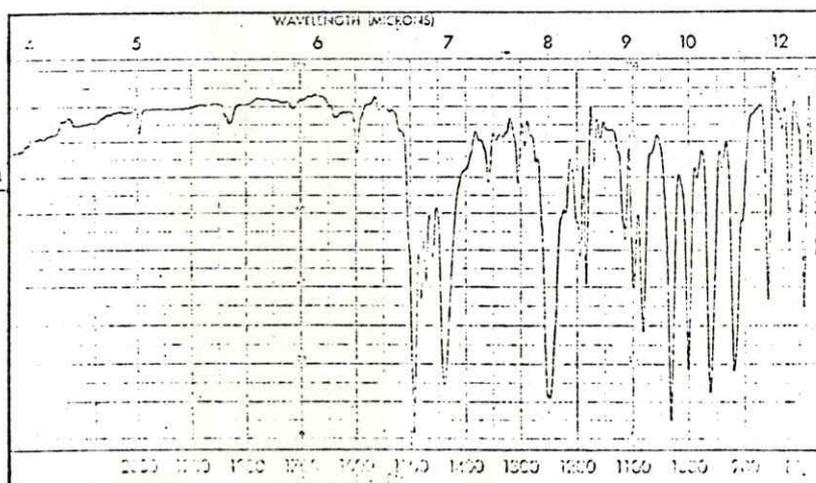


fig. 3-91. Espectro de RMN de ^1H (100 MHz de BDCLs-19).

fig. 3-93. Espectro de IR de (E)-3-(3,4-Metilendioxifenil)-2-propen-1-ol sintético.



Con estos datos fue posible postular para el compuesto la estructura del (E)-3-(3,4-metilendioxfenil)-2-propen-1-ol (3-27). Compuesto aislado por primera vez como producto natural.

La estructura asignada al compuesto se comprobó con una muestra sintetizada según la técnica descrita⁶² (espectros de IR idénticos (figuras 3-92 y 3-93); no hubo depresión del pf al determinarlo para una mezcla; idénticos Rf en CCF).

3.6.- Bisbencilisoquinolinas

Por resolución mediante cromatografía en columna de BNFCLs (2.5.2) se aislaron dos fracciones homogéneas cromatográficamente que se asignaron como BNFCLs-17 y BNFCLs-18. Ambas fracciones se sometieron a análisis espectroscópicos.

El espectro de RMN de ^1H en CDCl_3 de BNFCLs-17 (figura 3-94), mostró señales de distinta intensidad en la zona correspondiente a las resonancias de N-Me (2,28 (s), 2,60 (s), 2,90 (s)) y muchas señales de distinta intensidad en la zona correspondiente a los grupos metoxilo (3,13 (s), 3,20 (s), 3,63 (s), 3,73 (s), 3,80 (s), 3,86 (s) y 3,90 (s)). Estos datos indicaron que se trataba de una mezcla o bien de un compuesto más complejo que los

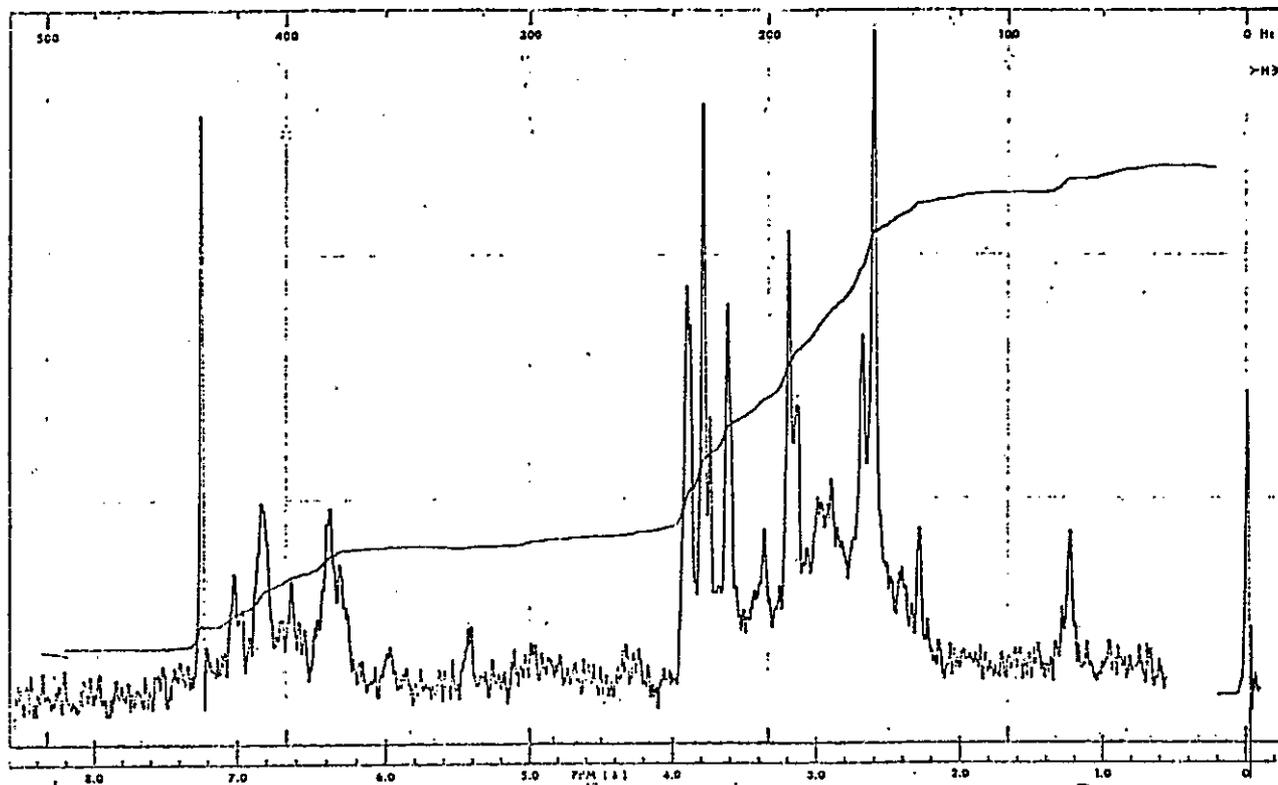


fig. 3-94. Espectro de RMN de ^1H (60 MHz) de BDCLs-17.

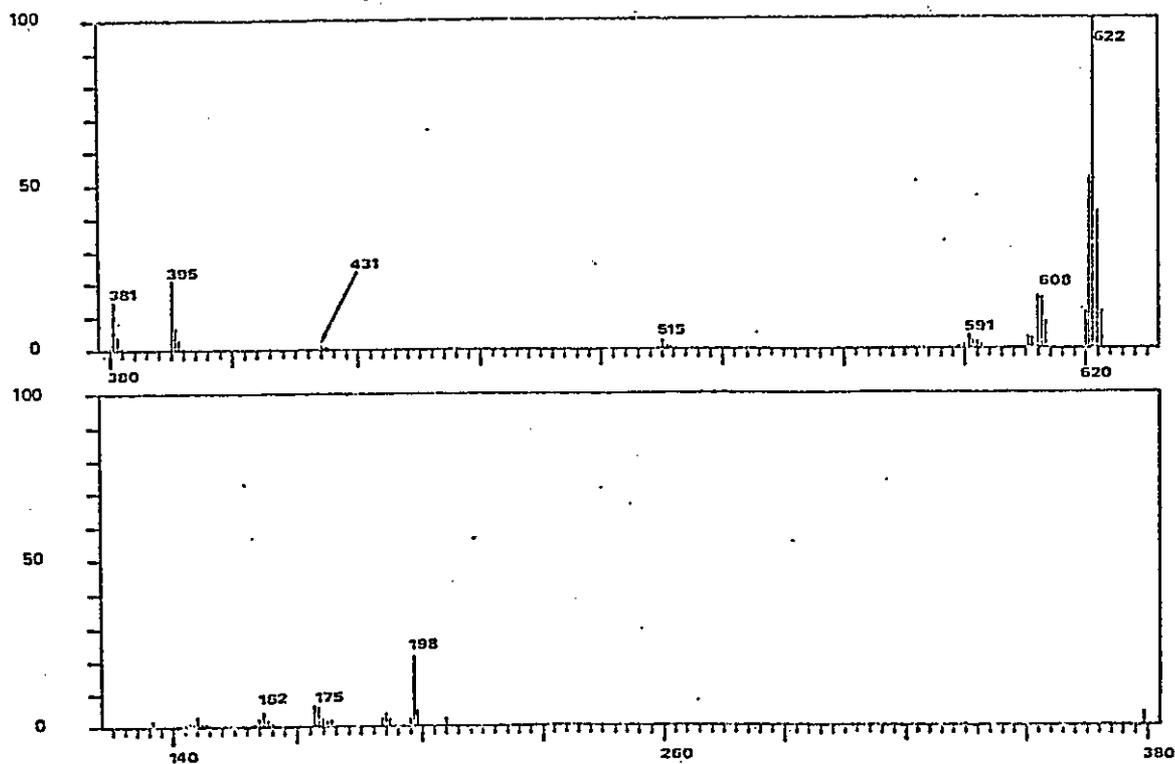


fig. 3-95. Espectro de masas de BDCLs-17.

conocidos hasta el momento.

En el espectro de masas de BNFCLs-17 (3-95) se observó señales a m/z 622 (100%) y m/z 608 (12%) que son indicativas de la existencia de una mezcla de bisbencilisoquinolinas con estos pesos moleculares. Existen también señales a 515 (2,8 %), 431 (0,9%), 396 (5,5%), 395 (19%), 381 (13,5 %), 198 (19%) y 175 (6%) que se pueden racionalizar como correspondientes a bisbencilisoquinolinas con uniones cabeza-cabeza/cola-cola⁸⁸ (figura 3-96).

El espectro de RMN de ^1H en CDCl_3 de BNFCLs-18 (figura 3-97), mostró señales de distinta intensidad en la zona correspondiente a las resonancias de los N-Me (2,57 (s), 2,63 (s)) y muchas señales a distinta intensidad en la zona correspondiente a los grupos metoxilo (3,10-3,16 (m), 3,33 (s), 3,57 (s), 3,60 (s), 3,79 (s)) estos datos condujeron a la misma disyuntiva que la del espectro de RMN de ^1H de BNFCLs-17.

El espectro de masas (figura 3-98) mostró picos a m/z 622 (15%) y m/z 608 (100%) indicativos de la existencia de una mezcla de bisbencilisoquinolinas. Otras señales a 5,15 (2,8%), 501 (2,8 %), 417 (2,8%), 396 (25%), 395 (63%), 381 (42%), 198 (77%), 175 (28%) se pueden racionalizar como correspondientes a bisbencilisoquinolinas con

400

300

360

200

fig. 3-97. Espectro de RMN de ^1H (60 MHz) de BDCLs-18

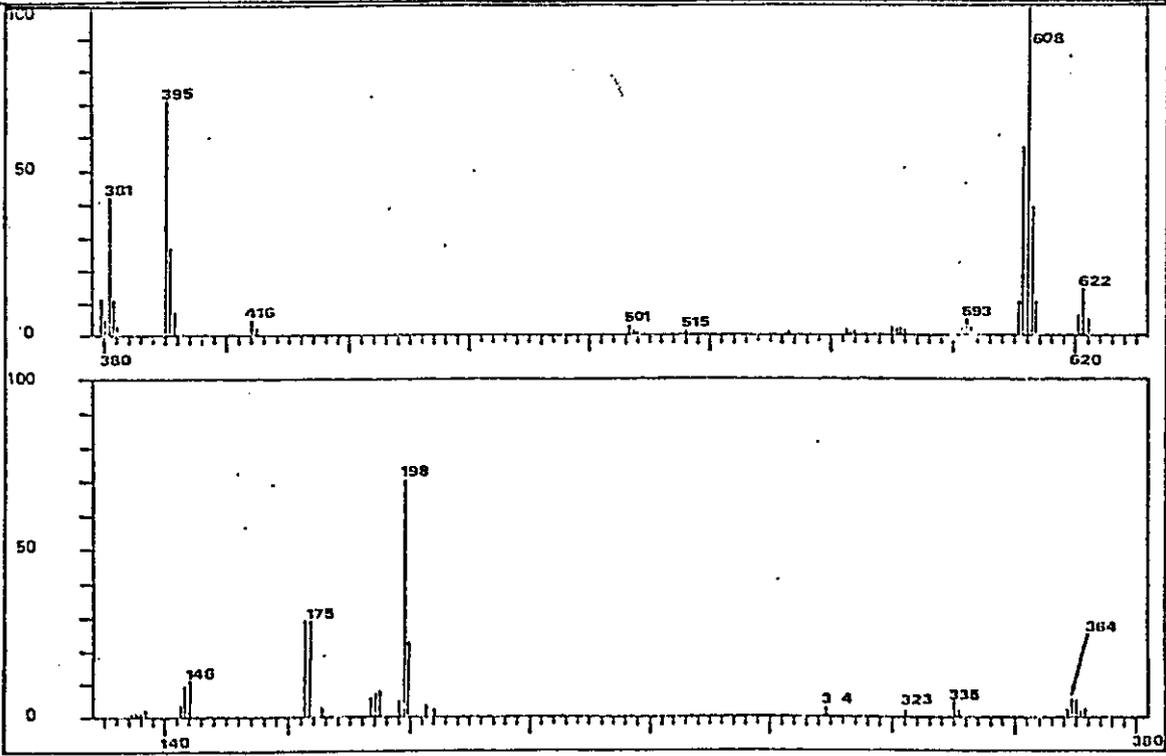
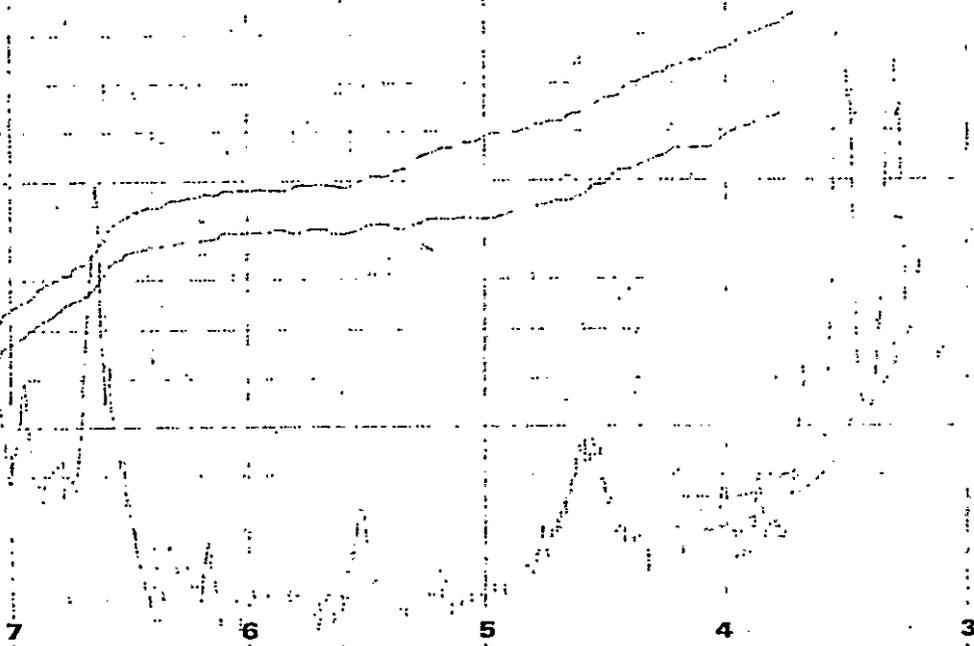
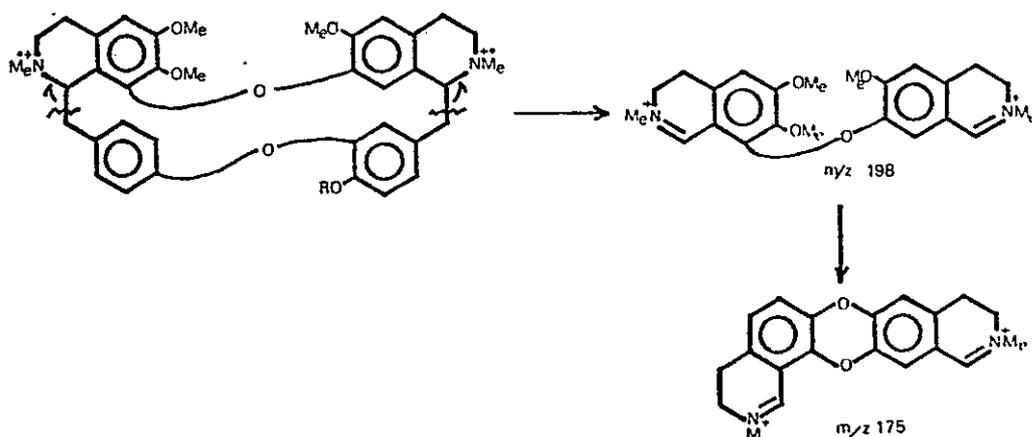


fig. 3-98
Espectro de masas
de BDCLs-18.

uniones cabeza-cabeza/cola-cola⁸⁸ (figura 3-96).

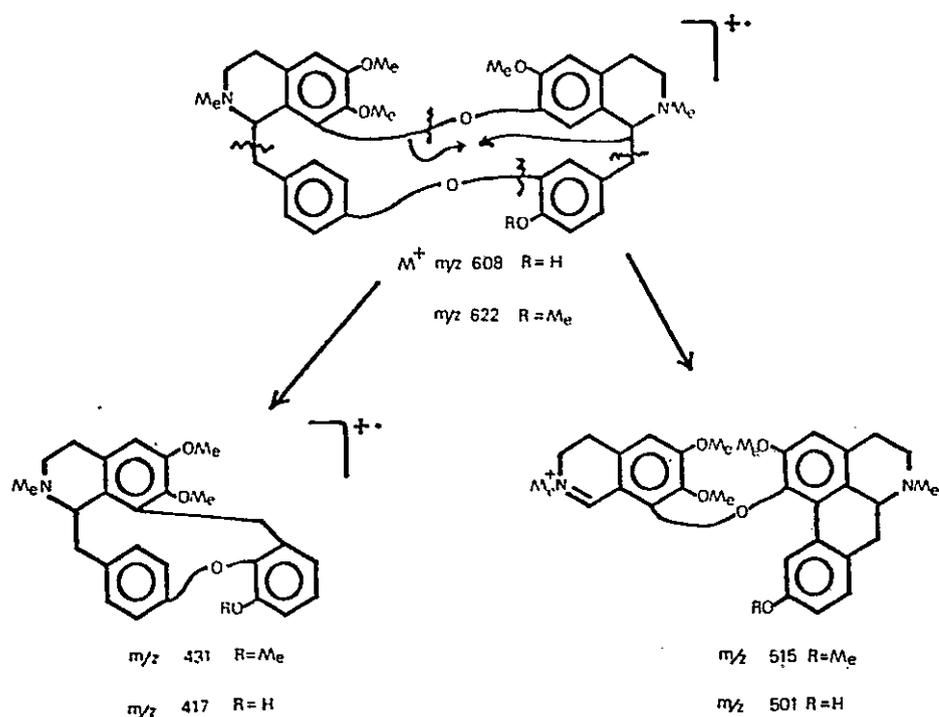
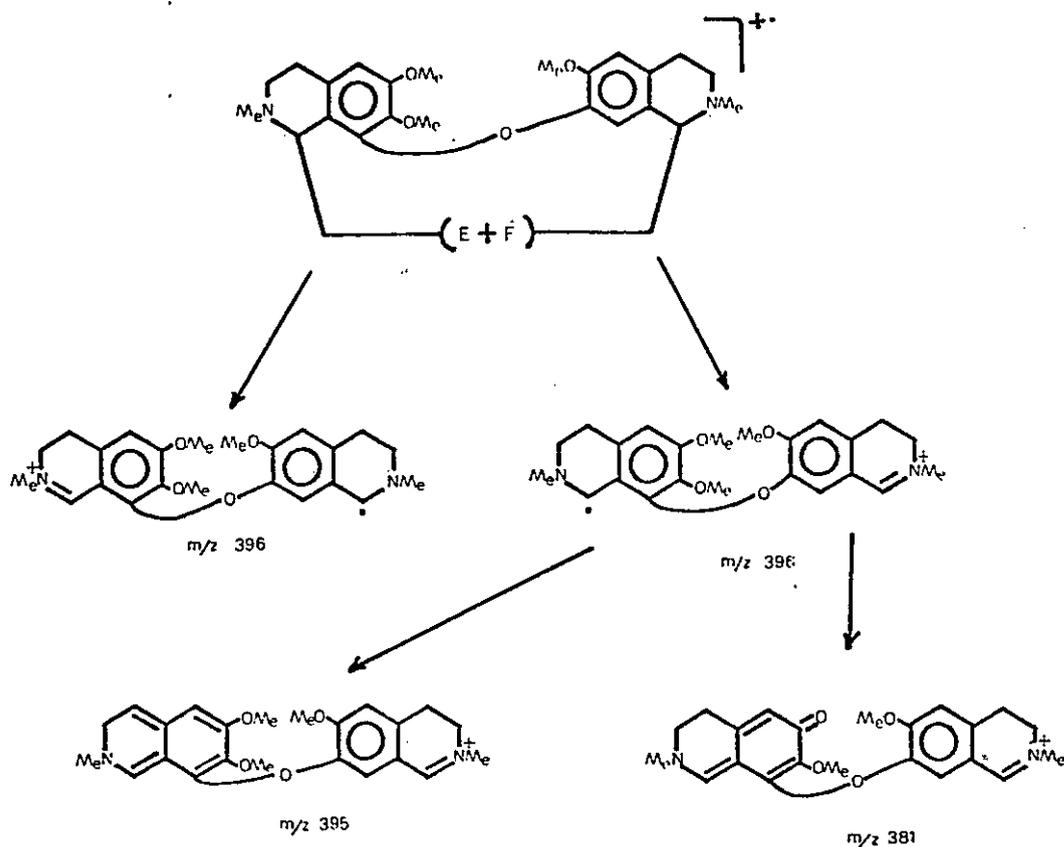
BNFCLs-17 y BNFCLs-18 tienen Rf claramente distinto en CCF y por consiguiente no es posible considerar que sean mezclas de dos componentes en distinta proporción. La corteza de Laurelia sempervirens, por lo tanto, contiene a lo menos cuatro bisbencilisoquinolinas cabeza-cabeza/cola-cola no identificadas.

Todos los intentos por resolver las mezclas usando métodos cromatográficos y de distribución en contracorriente dieron resultado negativo.



Esquema de fraccionamiento de alcaloides bisbencilisoquinolínicos con unión cabeza-cabeza / cola - cola.

figura 3-96



Continuación de la figura 3-96

3.7.- Resumen de los compuestos aislados en este trabajo del género Laurelia

En este trabajo se demostró que la corteza de tronco de Laurelia sempervirens contiene el fenil propano (E)-3-(3,4-metilen dioxifenil)-2-propen-1-ol (3-27), una elevada proporción de bisbencilisoquinolinas que no fueron identificadas y los aporfinoides: liriodenina (3-2), oxonantenina (3-3), aterolina (3-4), nornantenina (3-11_a) y laurotetanina (3-14_a).

La corteza de tronco de Laurelia philippiana contiene los aporfinoides liriodenina (3-2), oxonantenina (3-3), aterolina (3-4), nornantenina (3-11_a), laurotetanina (3-14_a), anonaína (3-12_a), asimilobina (3-15), norcoridina (3-17_a), 4-hidroxiornantenina (3-21), 4-hidroxianonaína (3-22) y la 1-bencilisoquinolina reticulina (3-23).

Ya que la presencia de oxoaporfinas en las dos especies chilenas parecía constituir una diferencia con Laurelia novae-zelandiae, fue reexaminada la corteza de ésta encontrando además de pukateína (3-18) y laurelina (3-19), alcaloides ya conocidos en esa especie, los aporfinoides liriodenina (3-2), oxolaurelina (3-5), oxoputerina (3-9) y la 1-benciltetrahydroisoquinolina (-)-romneína (3-24). Ni Laurelia philippiana ni L. novae-zelandiae contienen

bisbencilisoquinolinas en proporciones reconocibles con los métodos utilizados.

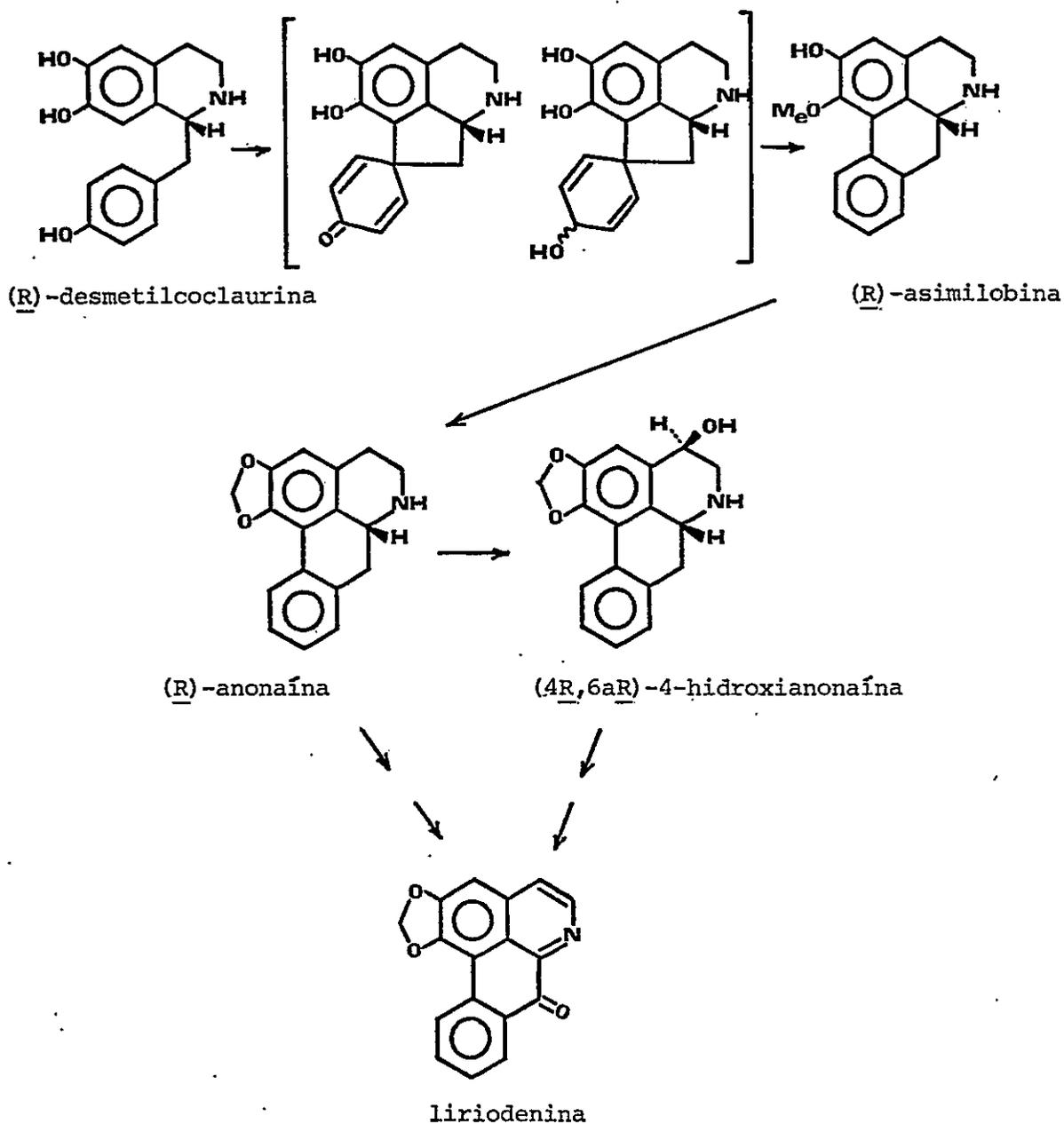
También se efectuó un análisis de madera de Laurelia sempervirens demostrándose en ésta la presencia de los aporfinoídes liriodenina (3-2), oxonantenina (3-3), nornantenina (3-11_a), anonaína (3-12_a), nornuciferina (3-13_a), michelalbina (3-20) y de la proaporfina estefarina (3-26_a).

3.8.- Relaciones biogénicas entre los alcaloides de L. philippiana, L. sempervirens y L. novae-zelandiae

Es posible visualizar dos caminos biogénicos que conducen a los alcaloides aislados de L. philippiana. En el primero de ellos la (R)-desmetilcocclaurina se transformaría en productos más ciclados: (R)-asimilobina, (R)-anonaína, rel (4R, 6a R)-4-hidroxianonaína y liriodenina (figura 3-99) (mecanismo de reordenamiento dienol-benceno^{90,91})

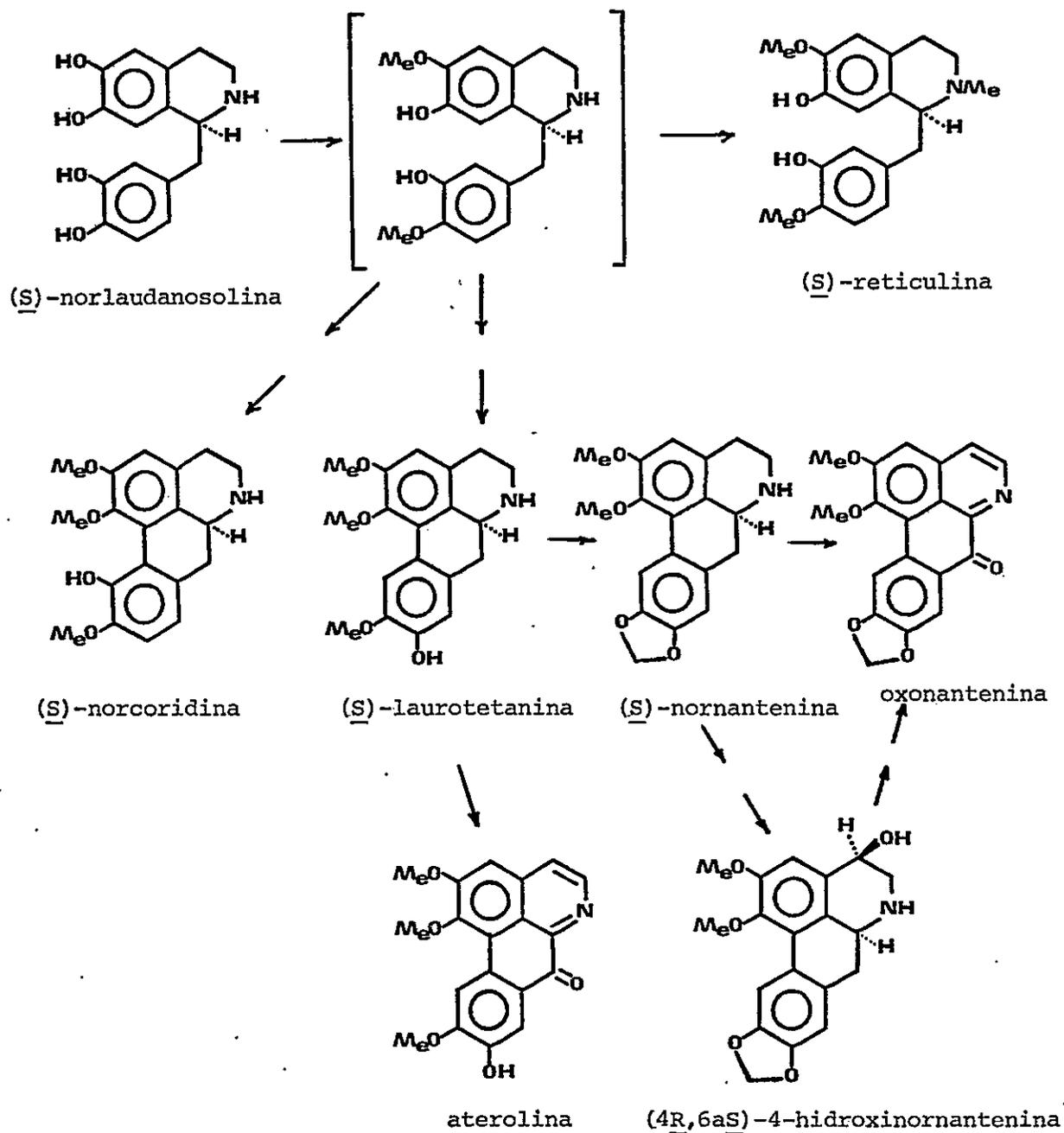
Tanto la liriodenina como la rel-(4 R, 6aR)-4-hidroxianonaína pueden ser considerados como productos de oxidación enzimática de la (R)-anonaína.

Por otro lado la rel-(4R, 6aR)-4-hidroxianonaína podría o no ser un intermediario en la transformación de (R)-anonaína en liriodenina.



Ruta biogenética vía (R)-desmetilcocclaurina de alcaloides de L. philippiana

figura 3-99



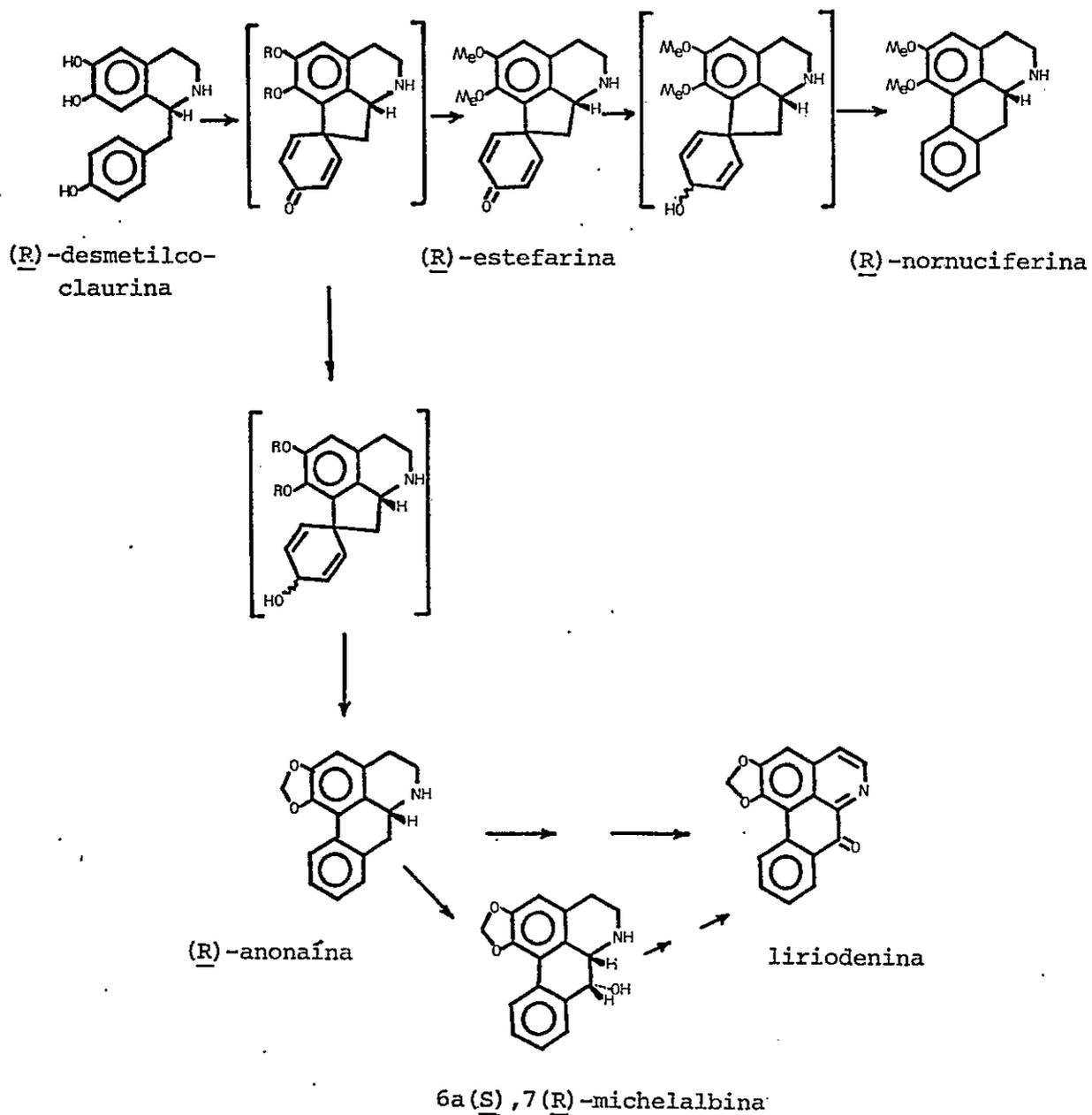
Ruta biogénica vía (S)-norlaudanosolina de alcaloides de L. philippiana

El otro camino biogénico para los alcaloides de L. philippiana implica la transformación de (S)-norlaudanosolina en (S)-reticulina y en productos más ciclados: (S)-norcoridina, (S)-laurotetanina, (S)-nornantenina, rel-(4R, 6a S)-4-hidroxi-nornantenina, aterolina y oxonantenina (figura 3-100) (mecanismo de acoplamiento oxidativo directo⁹²⁻⁹⁶ y/o reordenamiento dienona-fenol⁹⁷).

La aterolina puede ser considerada como un producto de oxidación enzimática de (S)-laurotetanina y la rel-(4R, 6aS)-4-hidroxi-nornantenina y oxonantenina pueden ser considerados como productos de oxidación enzimática de (S)-nornantenina. Por otro lado la rel-(4R, 6aS)-4-hidroxi-nornantenina podría o no ser un intermediario en la transformación de (S)-nornantenina en oxonantenina.

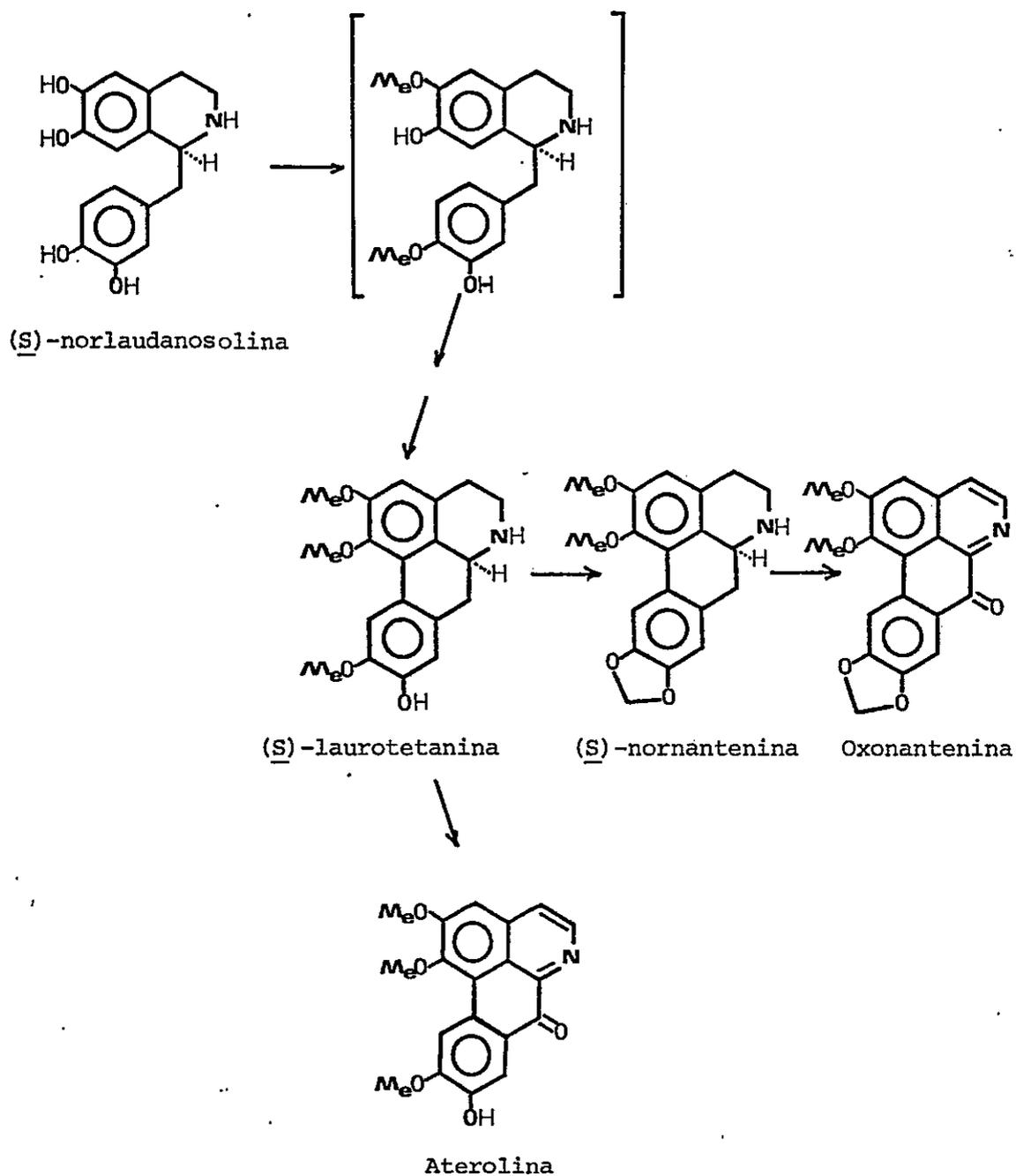
En Laurelia sempervirens también están presentes con leves variaciones estas dos rutas biogénicas. La (R)-desmetilcoclaurina se transformaría en productos más ciclados: (R)-estefarina, (R)-nornuciferina, (R)-anonafinas, 6a-(S), 7(R)-michelalbina y liriodenina (figura 3-101).

En este caso la 6a(S), 7(R)-michelalbina podría o no ser intermediario en la transformación de la (R)-anonafina en liriodenina.



Ruta biogénica vía (R)-desmetilco-claurina de alcaloides de L. sempervirens

figura 3-101



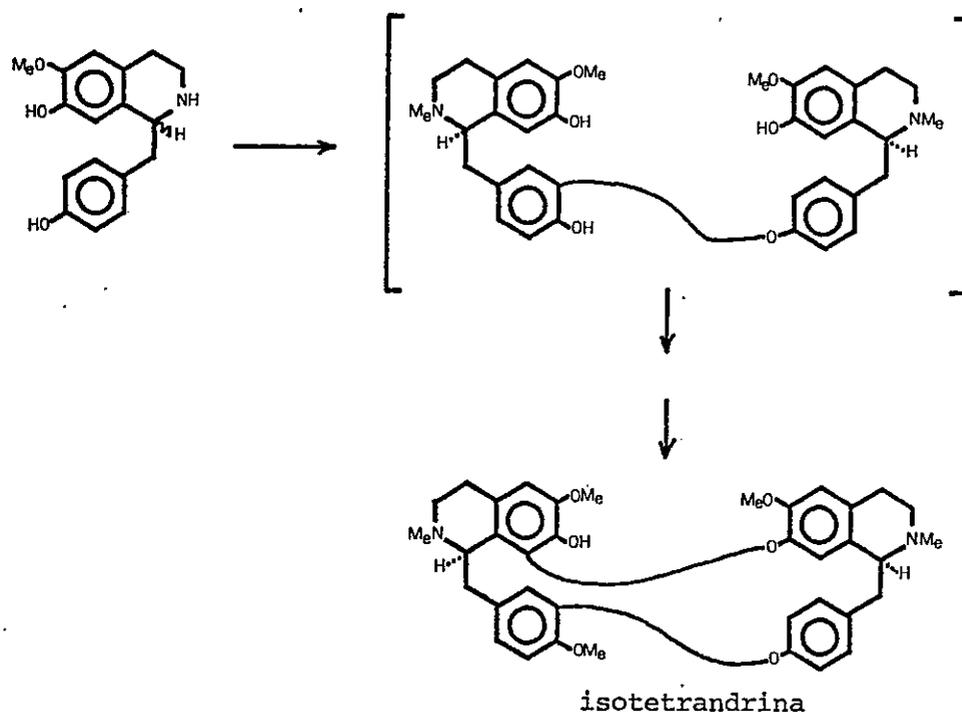
Ruta biogénica vía (S)-norlaudanosolina de alcaloides de Laurelia sempervirens

figura 3-102

El otro camino biogénético corresponde a la transformación de la (S)-norlaudanosolina en productos más ciclados: (S)-laurotetanina, (S)-nornantenina, oxonantenina y aterolina (figura 3-102).

Una tercera ruta biogénética que se encuentra en Laurelia sempervirens es la que la distingue desde el punto de vista químico de las otras dos especies del género.

El acoplamiento oxidativo fenólico de 2 unidades de 1-benciltetrahidroisoquinolina⁹⁸⁻¹⁰² daría origen a los alcaloides bisbencilisoquinolínicos presentes en la planta (figura 3-103). Debido a que estos compuestos aun no caracterizados (con la excepción de la isotetandrina) son los principales en hojas y corteza, es una ruta biogénética de gran importancia.

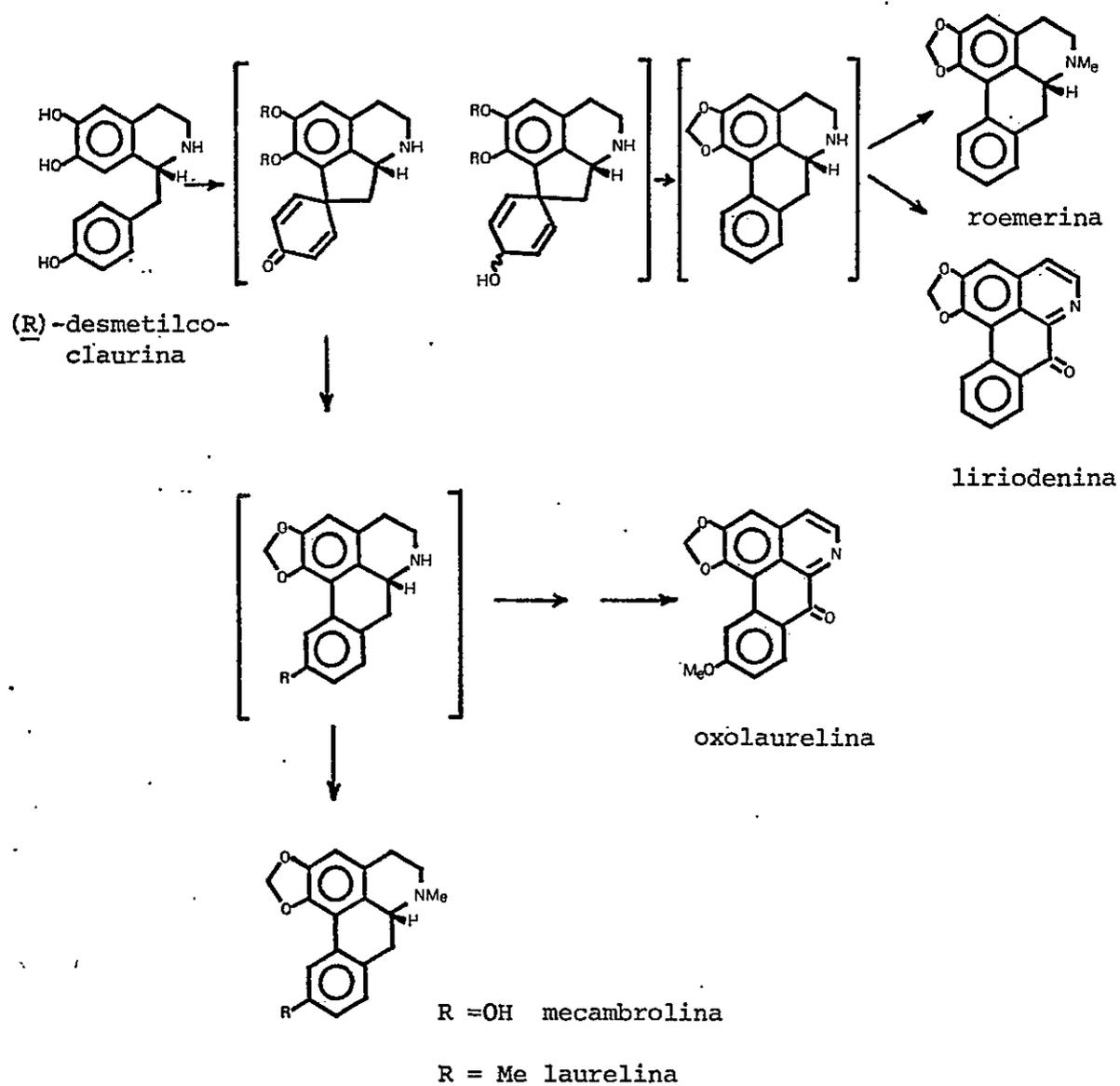


Ruta biogénica de alcaloides bisbenzylisoquinolínicos en Laurelia sempervirens

figura 3-103

En Laurelia novae-zelandiae también es posible visualizar el camino biogénico vía (R)-desmetilcocclaurina, que explica la presencia de (R)-roemerina, (R)-mecambrolina, (R)-laurelina, liriodenina y oxolaurelina (figura (3-104).

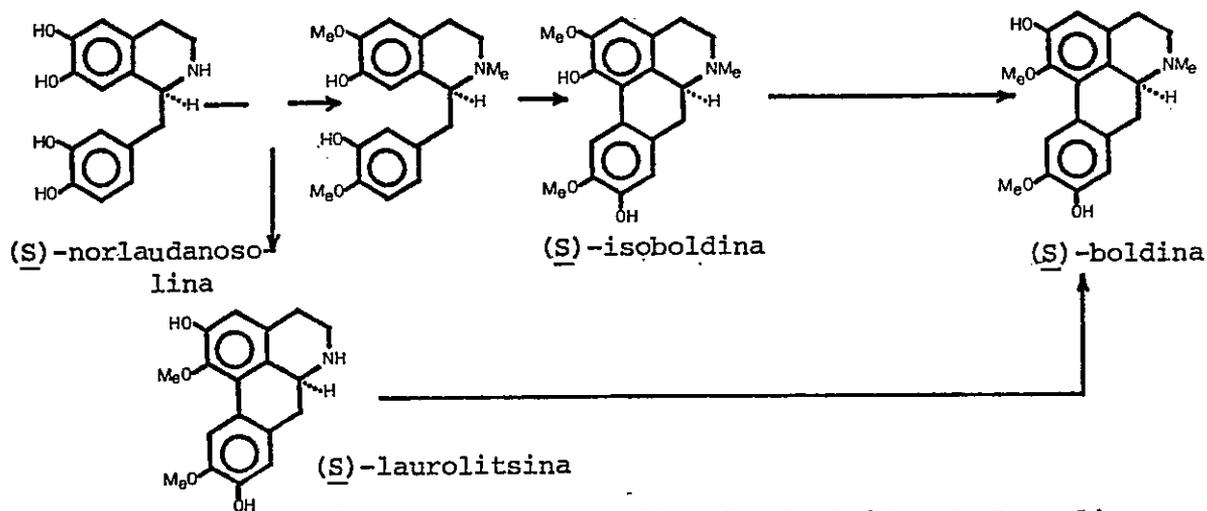
El otro camino biogénico, que partiría de (S)-norlandanosolina, explica la presencia de (S)-laurolitsina, (S)-boldina e (S)-isoboldina (figura 3-105).



Ruta biogenética vía (R)-desmetilcoclaurina de alcaloides de

Laurelia novae-zelandiae

figura 3-104



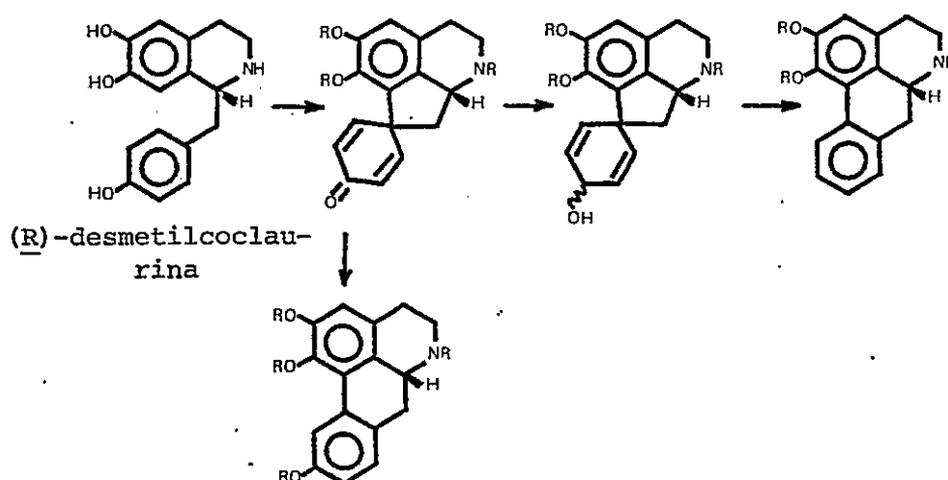
Ruta biogenética vía (S)-norlaudanosolina de alcaloides de Laurelia novae-zelandiae

figura 3-105

La tercera ruta biogenética que se encuentra en Laurelia novae-zelandiae es la que la distingue desde el punto de vista químico de las otras dos especies del género.

Es conocido el hecho que las aporfinas naturales son usualmente dextrorrotatorias y tienen configuración S. Pero las mono sustituidas o las que no tienen sustitución en el anillo D son generalmente levorrotatorias y tienen configuración R. Las aporfinas aisladas de la familia de las papaveráceas son la excepción y pueden tener cualquiera de las dos configuraciones independiente de la sustitución del anillo D.

Esta regla estereoquímica de Shamma⁶⁷ puede modificarse y extenderse, y se puede considerar que las aporfinas sin sustitución en el anillo D y aquellas que tienen un solo átomo de oxígeno en C-10 son derivados biogénicos de la (R)-desmetilcoclaurina y tienen configuración R (figura 3-106).

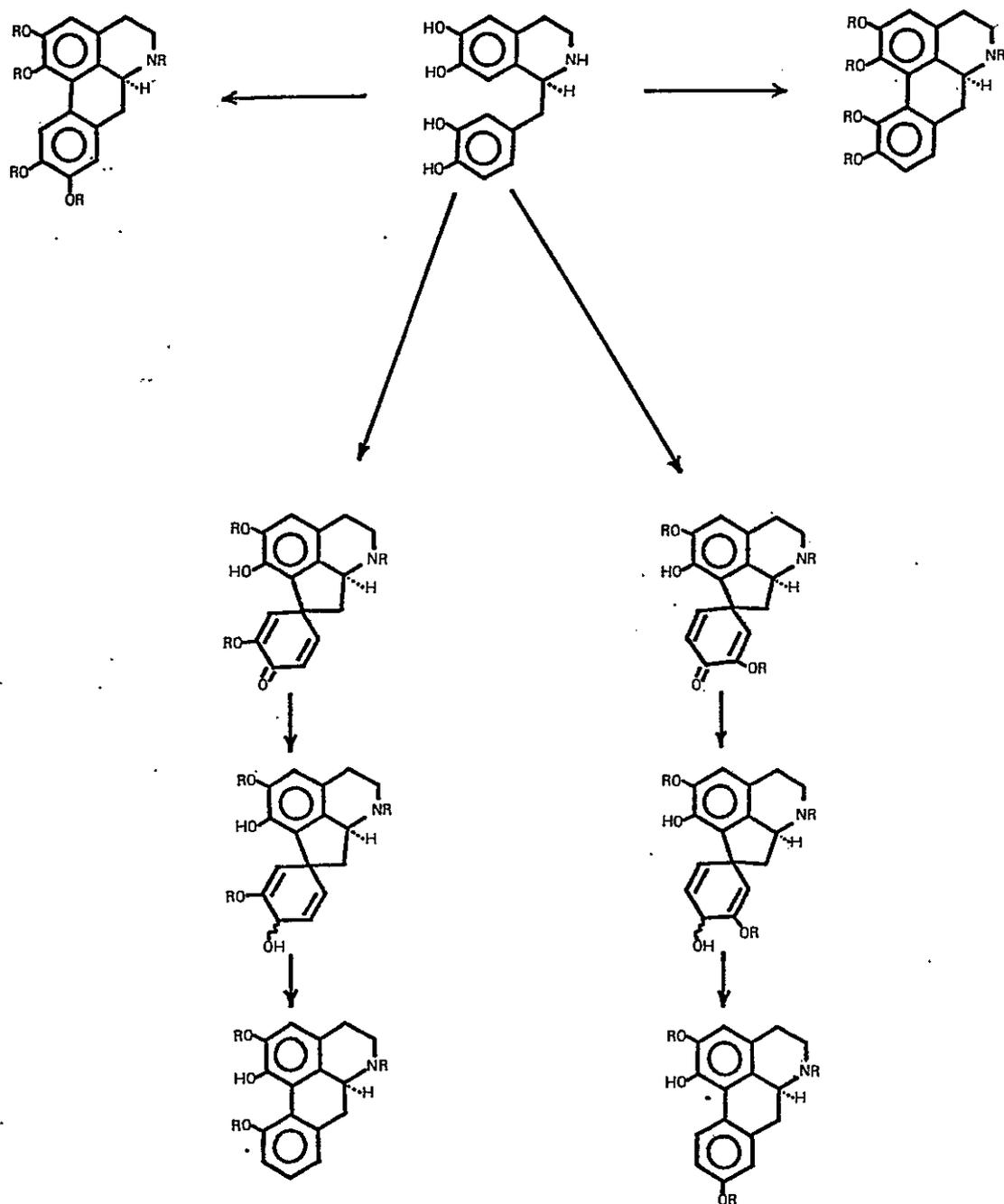


Ruta biogénica de (R)-aporfinas sin sustitución y con sustitución en C-10 en el anillo D.

figura 3-106

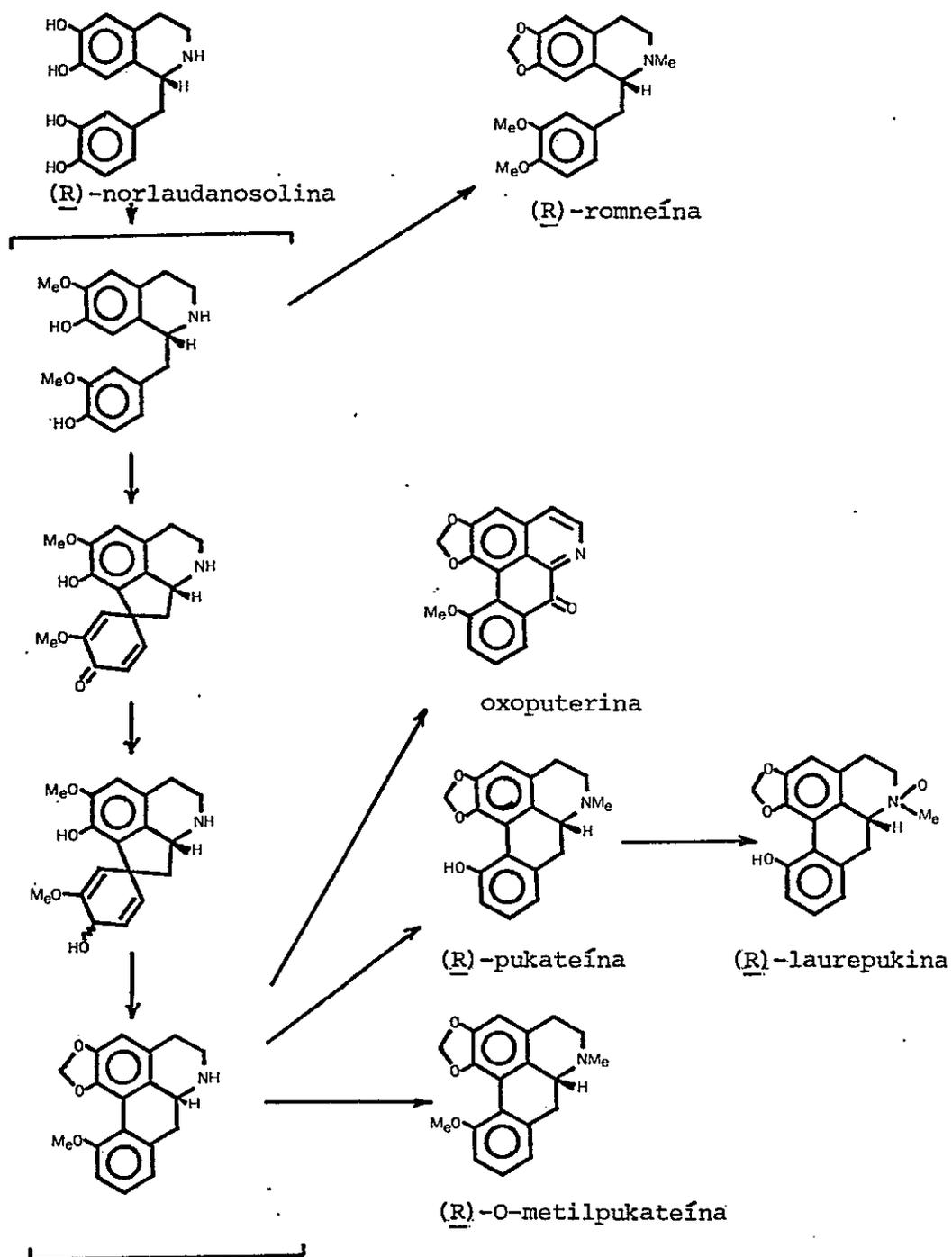
Sin embargo aporfinas con el anillo D monosustituido en otras posiciones y aquellas que tienen dos átomos de oxígeno en este anillo son derivados de la (S)-norlaudanosolina y tienen configuración S (figura 3-107).

Esta generalización estereoquímica no se cumple en el caso de Laurelia novae-zelandiae. La presencia de (R)-pukateína, de su éter metílico y de la (R)-laurepuquina



Rutas biogénicas de (S)-aporfina

figura 3-107



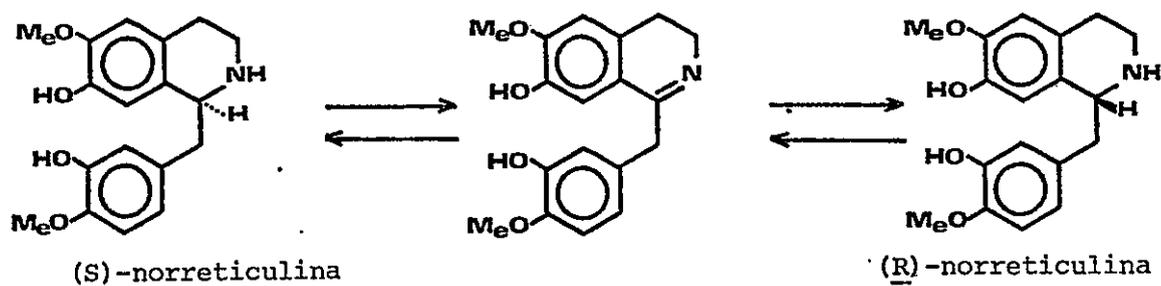
Ruta biogenética vía (R)-norlaudanosolina de alcaloides de Laurelia novae-zelandiae.

figura 3-108

se pueden explicar suponiendo que estos compuestos se derivan biogénicamente de (R)-norlaudanosolina; la existencia hipotética de este precursor se ha visto confirmada en parte con el aislamiento de la (R)-romneína que también se tendría que derivar de la (R)-norlaudanosolina (figura 3-108).

Si bien no se puede descartar absolutamente otras alternativas de biosíntesis, como por ejemplo etapas tardías de oxidación, parece muy probable que en Laurelia novae-zelandiae (R) y (S)-nor-1-benciltetrahidroisoquinolinas derivadas de la norlaudanosolina sean interconvertidas.

Es necesario recordar que en algunas papaveráceas este fenómeno también es conocido y se ha demostrado interconversión de (R) y (S)-norreticulinas¹⁰³⁻¹⁰⁴ (figura 3-109) que conducen a los alcaloides del grupo de la morfina por un lado y a todo el resto de la gama de alcaloides de esta familia por el otro.



Interconversión de (R) y (S)-norreticulina

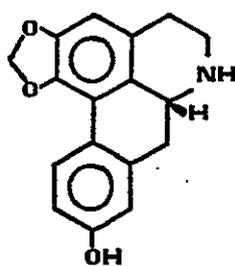
figura 3-109

La familia de las anonáceas presenta también varias excepciones a la generalización antes mencionada la (R)-N-metilacntinodafnina (3-28) acompañada de (S)-reticulina se ha aislado de Annona glabra¹⁰⁵. La ausencia en esta planta de aporfinas derivadas de (S)-norlaudanosolina lleva a plantear la posibilidad que (S) y (R) reticulina puedan ser interconvertidas y que los sistemas enzimáticos de la planta sólo utilicen el isómero (R) para la posterior transformación en aporfinas. También en esta familia se han aislado (R)-anolobina (3-29) de Annona squamosa¹⁰⁶, Asimina triloba¹⁰⁷ y Schefferomitra subaequalis¹⁰⁸; (R)-puterina (3-30) de Guatteria elata¹⁰⁹ y (R)-xylopina (3-31) de Xylopia spp¹¹⁰⁻¹¹².

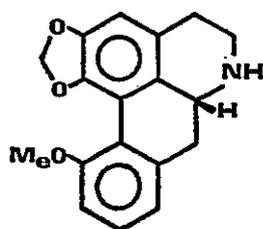
La biogénesis de (R)-anolobina (3-29), (R)-puterina (3-30) y (R)-xylopina (3-31) también puede ser explicada con un esquema como el de la figura 3-108 considerando como precursor la (R)-norlaudanosolina.



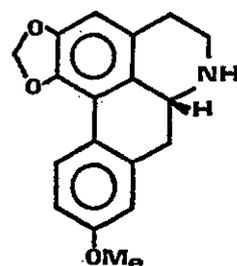
3-28



3-29



3-30



3-31

Estos datos hacen pensar que la aparente peculiaridad de las papaveráceas podría ser mucho más general de lo que se piensa. Un examen cuidadoso de las estereoquímicas de los derivados biogénéticos de norlaudanosolina en otras familias deberá acotar la validez de las generalidades planteadas.

3.9.- Conclusión sobre la afinidad química entre las especies del género *Laurelia* y relación química de las aterospermatáceas con las monimiáceas y otras familias afines.

Del análisis de las rutas biogénéticas es posible concluir que si bien las tres especies efectúan acoplamientos oxidativos intramoleculares de bencilisoquinolinas fenólicas, acumulan aporfinas y son capaces de sintetizar oxoaporfinas, la presencia de derivados biogénéticos de (R)-norlaudanosolina en *L. novae-zelandiae* establece una clara diferencia entre esta especie y las especies chilenas. Estas especies sólo utilizarían (R)-desmetilcocclaurina y (S)-norlaudanosolina al igual que la gran mayoría de las plantas estudiadas que sintetizan aporfinoides.

Por otro lado la presencia de una marcada tendencia a efectuar acoplamientos oxidativos intermoleculares conducentes a alcaloides bisbencilisoquinolínicos en *L.*

sempervirens establece la otra diferencia importante, ya que las mezclas de alcaloides de L. philippiana y L. novae-zelandiae fueron sometidas a exhaustivos análisis cromatográficos que no dieron indicios de la presencia de bases diméricas. Con estos antecedentes podemos concluir que las tres especies se diferencian claramente desde el punto de vista de los alcaloides.

Este hecho apoyaría la creación del género monotípico Laureliopsis con la especie Laureliopsis philippiana Shodde¹², basada en características anatómicas de la madera fundamentalmente.

Sin embargo la utilización de la (R)-norlaudanosolina por L. novae-zelandiae es un rasgo más llamativo que la ausencia de bisbencilisoquinolinas, y si se agrega a este hecho la presencia de abundante aceite esencial en las hojas y la corteza de las especies chilenas y su ausencia en la neocelandesa¹¹³ parece defendible desde el punto de vista químico la segregación de la especie de Nueva Zelanda.

Tomando por otro lado todos los datos conocidos en este momento del contenido de alcaloides de la familia aterospermatáceas (tabla 3-1), esta puede dividirse en dos grupos: uno donde se encuentran las aporfinas y

metabolitos más elaborados de estas bases y otro coincidente con el género Daphnandra donde estos alcaloides no se encuentran y parecen haber sido reemplazadas totalmente por bisbencilisoquinolinas. En este contexto la química de estas especies no avala la clasificación de las atherospermatáceas según Shodde¹².

Los alcaloides bisbencilisoquinolínicos se encuentran en Atherosperma, Laurelia, Dryadodaphne, Nemuaron y Doryphora, pero en estos géneros son un tipo más de alcaloides derivados de desmetilcocclaurina. En Daphnandra sin embargo, son el único tipo aislado. En este contexto merece un comentario el traspaso que hace Shodde de Daphnandra aromática al género Doryphora, este traspaso está avalado por la química de esta especie donde se han encontrado alcaloides aporfínicos y bisbencilisoquinolínicos²⁷.

Las aporfinas se encuentran frecuentemente en magnoliáceas y anonáceas consideradas muy primitivas, cercanas al tronco común de la radiación de las angiospermas y uno puede considerar entonces la ciclación fenólica que lleva a proaporfinas y aporfinas como un proceso ancestral que se ha mantenido en el curso de la evolución sobreviviendo en familias poco avanzadas y en algunos órdenes más especializados tales como Euphorbiales y Arales.

Por el contrario, las bisbencilisoquinolinas, pese a que se encuentran en familias más primitivas, son poco comunes en las magnoliáceas y anonáceas y también en familias más avanzadas que sintetizan aporfinas como las nelumbonáceas, hernandiáceas sensu lato y lauráceas. La capacidad de realizar el acoplamiento oxidativo fenólico entre 2 unidades de 1-benciltetrahydroisoquinolina es común en las menispermáceas, ranunculáceas y berberidáceas, que constituyen una línea evolutiva bastante poco especializada.

En este contexto en el orden Laurales las Atherospermatoideae (= aterospermatáceas) son el único grupo en el cual las bisbencilisoquinolinas son comunes y por consiguiente su segregación de las monimiáceas sensu lato como familia aterospermatáceas estaría avalada por este rasgo químico.

Es necesario recordar que las otras especies de la familia de las monimiáceas sensu lato estudiadas son muy pocas (tabla 3-1) y esto lógicamente puede restar validez a la utilización de la composición alcaloidal como un rasgo de apoyo en la clasificación a nivel de familia.

PLANTA ESTUDIADA	TIPO DE ALCALOIDE AISLADO											
	Isoquinolinas simples	Isoquinolonas	1-bencil-1,2,3,4-tetra- hidroisoquinolinas	Proaporfina	Aporfina vía (R)-des- metilcoclorina	Aporfina vía (S)-nor- laudanolina	Aporfina vía (R)-nor- laudanolina	Oxoaporfina	Fenantreno	Morfina	Bisbenzisoquinolinas	Aristolactamas
<u>Atherosperma moschatum</u>					*	*		*	*		*	
<u>Laurelia philippiana</u>			*		*	*		*				
<u>Laurelia sempervirens</u>				*	*	*		*			*	
<u>Laurelia novae-zelandiae</u>			*	*	*	*	*	*				
<u>Doryphora sassafras</u>	*	*	*		*	*		*				*
<u>Doryphora aromática</u>						*					*	
<u>Dryadodaphne novoguineensis</u>					*	*		*			*	
<u>Nemuaron vieillardii</u>						*		*		*	*	*
<u>Daphnandra repandula</u>											*	
<u>Daphnandra micrantha</u>											*	
<u>Daphnandra tenuipes</u>											*	
<u>Daphnandra dielsii</u>											*	
<u>Daphnandra sp</u>											*	
<u>Daphnandra sp</u>											*	
<u>Daphnandra johnsonii</u>											*	
<u>Siparuna guianensis</u>								*				
<u>Peumus boldus</u>			*	*		*					*	
<u>Palmeria spp</u>												
<u>Monimia rotundifolia</u>						*		*				

Especies de la familia de las monimiáceas estudiadas incluyendo los resultados de este trabajo. Se indican los tipos de alcaloides aislados y los alcaloides aporfínicos se dividen según su ruta biogénica.

tabla 3-1

BIBLIOGRAFIA

- 1.- Hegnauer, R. 1969. "Chemotaxonomie der Pflanzen", vol. 5. Birkhäuser Verlag, Basel y Stuttgart. 99-107.
- 2.- Money, L.L., I.W. Bailey y B.G.L. Swamy. 1950. The morphology and relationships of the Monimiaceae. J. Arn. Arbor., 31, 372.
- 3.- Cronquist, A. 1968. The Evolution and Classification of Flowering Plants. Houghton Mifflin, Boston.
- 4.- Thorne, R.F. 1974. A phylogenetic classification of the Annoniflorae. Aliso, 8, 147.
- 5.- Hutchinson, J. 1969. The Genera of Flowering Plants. University Press, London.
- 6.- Takhtajan, A. 1980. Outline of the Classification of Flowering Plants (Magnoliophyta). Bot. Review, 46 , 225.
- 7.- Sastri, R.L.N. 1969. Comparative morphology and phylogeny in the Ranales. Biol. Rev., 44, 291.
- 8.- Raven, P.H., D.W. Kyhos y M.S. Cave. 1971 Chromosome numbers and relationships in the Annoniflorae. Taxon 20, 479.

- 9.- Pax, F. 1889. Monimiaceae. En Engler, A. y K. Prantl "Die Natürlichen Pflanzenfamilien", III. 2. Engelman, Leipzig. 94-105.
- 10.- Pichon, M. 1949. Les Monimiacées, famille hétérogène. Bull. Mus. Hist. Nat. (Paris), Sér. 2, 20, 383.
- 11.- Schodde, R. 1970. Two new suprageneric taxa in the Monimiaceae alliance (Laurales). Taxon, 19. 324.
- 12.- Schodde, R. Comunicación personal.
- 13.- Bick, I.R.C., P.S. Clezy y W.D. Crow 1956. Alkaloids of Atherosperma moschatum. I. Isolation of the alkaloids and structure of berbamine. Australian J. Chem. 9, 111:
- 14.- Bick, I.R.C. y G.K. Douglas. 1964. Yellow alkaloids of Atherosperma moschatum Labill. Tetrahedron Lett., 1964 , 1629.
- 15.- Bick, I.R.C. y G.K. Douglas, 1965. Atheroline, a yellow phenolic alkaloid from Atherosperma moschatum Tetrahedron Lett., 1965 , 2399.
- 16.- Bick, I.R.C. y G.K. Douglas. 1965. Structure of atheroline and moschatoline. Tetrahedron Lett., 1965 , 4655.

- 17.- Bick, I.R.C. y G.K. Douglas. 1965. Atherospermoline, a new bisbenzylisoquinoline alkaloid. Chem. Ind. (London), 1965, 694.
- 18.- Bick, I.R.C. y G.K. Douglas. 1965. The alkaloids of Atherosperma moschatum.II. Non phenolic alkaloids Australian J. Chem., 18, 1997.
- 19.- Bick, I.R.C. y G.K. Douglas. 1966. Yellow constituents of Tasmanian sassafras heartwood. Phytochemistry, 5 197.
- 20.- Bianchi, E., J.A. Garbarino y F. Giora. 1962. Gli alcaloidi della Laurelia sempervirens R. et P. Gazz. Chim. Ital., 92, 818.
- 21.- Barger, G. y A. Girardet. 1931. Konstitution des Pukateins und des Laurelins. Helv. Chim. Acta, 14, 481.
- 22.- Girardet, A. 1931. Konstitution des Laurepukins. Helv. Chim. Acta, 14, 504.
- 23.- Bernauer, K. 1967. Alkaloide aus Laurelia novae-zealandiae A Conn. Helv. Chim. Acta, 50, 1584.
- 24.- Weiss, E., K. Bernauer y A. Girardet. 1971. Notiz zur Konstitution des Laurepukins. Helv. Chim. Acta, 54, 1342.

- 25.- Gharbo, S.A., J.L. Beal, R. H. Schlessinger, M.P. Cava y G.H. Svoboda. 1965. Phytochemical study of Doryphora sassafras. I. Isolation of eight crystalline alkaloids from the leaves. *Lloydia*, 28, 237.
- 26.- Chen, C.R., J.L. Beal., R.W. Doskotch, L.A. Mitscher y G.H. Svoboda. 1974. Phytochemical study of Doryphora sassafras. II. Isolation of eleven crystalline alkaloids from the bark. *Lloydia*, 37, 493.
- 27.- Bick, I.R.C., H.M. Leow y M.J. Richards. 1980. Alkaloids of Doryphora aromatica. *Aust. J. Chem.*, 33, 225.
- 28.- Bick, I.R.C., E.S. Ewen y A.R. Todd. 1949. Alkaloid of Daphnandra species. Part II. Daphnandrine, daphnoline and aromoline. *J. Chem. Soc.*, 1949, 2767.
- 29.- Bick, I.R.C., P.S. Clezy y M.J. Vernengo. 1960. Alkaloids of Daphnandra species. Part VI. The structures of daphnandrine, daphnoline and aromoline. *J. Chem. Soc.*, 1960, 4928.
- 30.- Bick, I.R.C., G.K. Douglas y W.I. Taylor. 1969. Alkaloids of Dryadodaphne novoguineensis (Monimiaceae). *J. Chem. Soc. (c)* 1969, 1627.

- 31.- Bick, I.R.C., H.M. Leow y N.W. Preston. 1972. Nemuarine, a bis-isococlaurine alkaloid. J. Chem. Soc., Chem. Commun., 1972, 980.
- 32.- Bick, I.R.C., H.M. Leow, N.W. Preston y J.L. Wright 1973. Alkaloids of Nemuaron vieillardii (Monimiaceae). Australian J. Chem., 26, 455.
- 33.- Bick, I.R.C., A.R. Todd. 1948. Alkaloids of Daphnandra species. Part I. Repandine. J. Chem. Soc., 1948 2170.
- 34.- Bick, I.R.C., K. Doebel, W.I. Taylor y A.R. Todd, 1953. Alkaloids of Daphnandra species. Part IV. Observations on repanduline. J. Chem. Soc., 1953, 692.
- 35.- Harley-Mason, J., A.S. Howard, W.I. Taylor, M.J. Vernengo, I.R.C. Bick y P.S. Clezy. 1967. Alkaloids of Daphnandra species. Part VII. Chemical evidence for the structure of repanduline. J. Chem. Soc.(c), 1967, 1948.
- 36.- Bick, I.R.C., J.H. Bowie, J. Harley-Mason y D.H. Williams. Part VIII. The structure of repanduline. The evidence based on mass spectrometry and N.M.R. J. Chem. Soc. (c), 1967, 1951.
- 37.- Bick, I.R.C. y A.R. Todd. 1950. Alkaloids of Daphnandra species. Part III. Micranthine. J. Chem. Soc.

1950, 1606.

- 38.- Bick, I.R.C., W.I. Taylor y A.R. Todd. 1953. Alkaloids of Daphnandra species. Part V. An examination of the alkaloidal content of D. micrantha and of D. Tenuipes. Isolation of some minor Daphnandra alkaloids. J. Chem. Soc., 1953, 695.
- 39.- Bick, I.R.C. y W.I. Taylor. 1971. Alkaloids of Daphnandra species Part X. The structure of isotenuipine. J. Chem. Soc. (c), 1971, 3779.
- 40.- Bick I.R.C., J.B. Bremner, H.M. Leow y P. Wiriyachitra. 1972. Alkaloids of Daphnandra species. Part XI. Some dibenzo-p-dioxin-type biscoclaurine alkaloids from an unnamed species. The structure of micranthine. J. Chem. Soc., Perkin. Trans. I, 1972, 2884.
- 41.- Bick, I.R.C., H.M. Leow y S. Sotheeswaran. 1975. Alkaloids from a new Daphnandra species. Isolation and structure of pseudorepanduline. Tetrahedron Lett. 1975, 2219.
- 42.- Bick, I.R.C. y H.M. Leow. Alkaloids of Daphnandra johnsonii. Aust. J. Chem., 31, 2539.
- 43.- Braz Fo. R., S.R. Gabriel, C.M.R. Gomes, O.R. Gottlieb, M.A. Bichara y J.G.S. Maia. 1976. Oxoaporphine alkaloids from Fusia longifolia and Siparuna

- guianensis . Phytochemistry, 15, 1187.
- 44.- Rügger, A. 1959. Neve Alkaloide aus Peumus boldus Molina. Helv. Chim. Acta., 42, 754.
- 45.- Hughes, D.W., K. Genest y W. Shakum. 1968. Alkaloids of Peumus boldus. Isolation of (+)-reticuline and isoboldine. J. Pharm. Sci., 57, 1023.
- 46.- Hughes, D.W., K. Genest y W. Skakum. 1968. Alkaloids of Peumus boldus. Isolation of laurotetanine and laurolitsine. J. Pharm. Sci., 57, 1619.
- 47.- Acuña P., A. Urzúa y B.K. Cassels. 1977. Alcaloides de la corteza de Peumus boldus . IX Jornadas Chilenas de Química, Jahuel. Resumen QO-27.
- 48.- Johns, S.R., J.A. Lamberton, J.W. Loder y A.A. Sio-mis. 1970. Alkaloids of three Palmeria species (Monimiaceae). Australian J. Chem., 23 , 1919.
- 49.- Leboeuf, M., A. Cavé, J. Provost, R. Tiberghien y P. Forgacs. 1980. Alcaloides du Monimia rotundifolia Pet.-Th.; Preparation de dérivés de la laurotetanine á propriétés antiarythmiques. Ann. Pharm. francaises, 38, 537.
- 50.- Looser, G. 1949. Las especies chilenas del género Laurelia (Monimiáceas) Bol.Soc. Argentina de Bot. 11, 273.

- 51.- Munier R. y M. Macheboeuf (1951). Partition microchromatography on paper of alkaloids and various biological nitrogeneosbases. III. Examples of separation of varios alkaloids by the acidified solvent technique. Bull. Soc. Chim. Biol., 33, 846.
- 52.- Cava, M.P., K.V. Rao, B. Douglas y J.A. Weisbach. 1968. The alkaloids of Cassythia americana (C. filiformis L.) J. Org. Chem., 33, 2443.
- 53.- Buchanan, M.A. y E.E. Dickey. 1960. Liriodenine. A nitrogen containing pigment of yellow poplar heartwood (Liriodendron tulipifera, L). J. Org. Chem., 25 1389.
- 54.- John, S.R., J.A. Lamberton, y A.A. Sioumis. 1967. Cassythia alkaloids IV. The alkaloids of Cassythia racemosa Nees (family Lauraceae). Australian J.Chem. 20, 1457.
- 55.- Hufford, CH. D. y M.J. Funderburk. 1974. Non basic aporphine alkaloids from Liriodendron tulipifera L. J. Pharm. Sci., 63, 1338.
- 56.- Hufford, CH. D. 1976. Four new N-acetilnoraporphine alkaloids from Liriodendron tulipifera. Phytochemistry, 15, 1169.

- 57.- Yang, T.H. y C.M. Chen. 1970. Studies of the constituents of Annona squamosa. J. Chinese Chem. Soc. 17, 243.
- 58.- Cava, M.P. y I. Noguchi. 1972. The synthesis of atheroline. A route to phenolic oxoaporphines. J. Org. Chem., 37, 2936.
- 59.- Govindachari, T.R., N. Viswanathan, S. Narayanaswami y B.R. Pai. 1970. Synthesis of 10-methoxy-1,2-methylenedioxy-7-oxodibenzo de, g and 9-methoxy-1,2-methylenedioxy-7-oxodibenzo de, g quinine (lanuginosine). Indian J. Chem., 8, 475.
- 60.- Hsu, C.C., R.H. Dobberstein, G.A. Cordell y N.R. Farmsworth. 1977. Isolation of lauterine and oxoputerine, two new oxoaporphine alkaloids from Gua
tteria elata. Lloydia, 40, 152.
- 61.- Bogert, M.T. y G. Powell, 1931. Synthesis of simple and of substituted 2-alkylcinnamic alcohols, including monomolecular cubebene. J. Am. Chem.Soc. 53, 1605.
- 62.- Freudenberg, K. y W. Heel. 1953. Di-and trihydroxycinnamyl alcohol. Chem. Ber., 86, 190.
- 63.- Schlittler, E. 1932. Synthesis of 1-laureline. Helv.Chim.Acta., 15, 394. CA. 26, 2984.

- 64.- Stermitz, F.R. y L. Chen. 1967. Alkaloids of the Papaveraceae VII. The absolute configuration of romneine. (-)-Reticuline from Romneya coulteri. Tetrahedron Lett., 1967, 1601.
- 65.- Kunitomo, J., E. Yuge., Y. Nagai y K. Fujitani. 1968. Optical resolution of dl-N- norromneine and absolute configuration of romneine. Chem. Pharm. Bull., 16, 364.
- 66.- Shamma, M. y R.L. Castenson. 1973. The oxoaporphine alkaloids en R.H.F. Manske "The alkaloids", vol.XIV Academic Press, N.Y. London.
- 67.- Shamma, M. 1972. "The isoquinoline alkaloids", Academic Press, N.Y., London.
- 68.- Guinandeau, H., M. Leboeuf y A. Cavé 1975. Aporphine alkaloids. Lloydia, 38, 275.
- 69.- Urzúa, A. y B.K. Cassels. 1976. Weak bases of Laurelia novae-zelandiae. a cautionary note on oxoaporphine NMR assignments. Heterocycles, 4, 1881.
- 70.- Guinandeau, H., M. Leboeuf y A. Cavé. 1979. Aporphine alkaloids II. J. Nat. Prod., 42, 325.
- 71.- Bick, I.R.C., J.H. Bowie y G.K. Douglas. 1966. Mass spectra of spermatheridine alkaloids. The structure of moschatoline. Aust.J.Chem., 20, 1403.

- 72.- Talapatra, S.K., A. Patra y B. Talapatra. 1969. Structure of lanuginosine, a new oxoaporphine alkaloid from Michelia lanuginosa, Chem. Ind. (London) 1969. 1056.
- 73.- Talapatra, S.K., A. Patra y B. Talapatra. 1975. Alkaloids of Michelia lanuginosa Wall. Tetrahedron, 31, 1105.
- 74.- Watanabe, Y., M. Matsui, M. Ibuchi y S. Horoe. 1975. Two oxoaporphine alkaloids of Stephania japonica. Phytochemistry, 14, 2522.
- 75.- Bick, I.R.C., J. Harley-Mason, N. Sheppard y M.J. Vernengo. 1961. Structural correlations in the nuclear magnetic resonance spectra of bisbenzylisoquinoline and aporphine alkaloids. J. Chem. Soc., 1961, 1896.
- 76.- Baarschers, W.H., R.R. Arndt, K. Pachler, J.A. Weisbach y B. Douglas. 1964. Nuclear magnetic resonance study of aporphine alkaloids. J. Chem. Soc., 1964 4778.
- 77.- Ohashi, M., J.M. Wilson, H. Budzikiewics, M. Shamma W.A. Slusarchyk y C. Djerassi. 1963. Mass spectrometry in structural and stereochemical problems. XXI Aporphines and related alkaloids. J. Am. Chem.Soc.

85, 2807.

- 78.- Jackson, A.H. y J.A. Martin. 1966. Steric effects in the mass spectra of aporphine alkaloids. J. Chem. Soc., (C), 1966, 2181.
- 79.- Chen, C-L., H-M Chang y E.B. Cowling 1976. Aporphine alkaloids and lignans in heartwood of Liriodendron tulipifera. Phytochemistry, 15, 547.
- 80.- Smolnycki, W.D., J.L. Moniot, D.M. Hindenlang, G.A. Miana y M. Shamma. 1978. Srilankine: A 4-hydroxylated aporphine. Tetrahedron Lett., 1978, 4617.
- 81.- Kunitomo, J., Y. Okamoto, E. Yuge y Y. Nagai. 1969. The characterization and structures of alkanadilactan and steporphine from Stephania sasakii Hayata. Tetrahedron Lett., 1969, 3287.
- 82.- Hartenstein, J. y G. Satzinger. 1977. Diastereoselective synthesis of the aporphine alkaloid (+)-Cataline. Hydroxylation with vanadium (v) trifluoride oxide. Angew. Chem. Int. Ed., 16, 730.
- 83.- Hoshino, O., H. Hara, M. Ogawa y B. Umezawa. 1975. A stereospecific Synthesis of (+)-cataline. Chem. Comm., 1975, 306.
- 84.- Guinandeau, H., M. Leboeuf, M. Debray, A. Cavé y R.R. Paris. 1975. Alkaloids of Colubrina faralaoetra

- subspecies faralaostra. *Planta Med.*, 27, 304.
- 85.- Bévalot, F., M. Leboeuf y A. Cavé. 1977. Alcaloides des Annonacées: alcaloides des écorces de tiges et des racines de Pachypodanthium confine Engl. et Diels. *Plant. Med. Phytothér.*, 11, 315.
- 86.- Zabel, V., W. Watson, A. Urzúa y B.K. Cassels. 1979. N, O- Diacetyl-4-hydroxynornantenine. *Acta Cryst. B35*, 3126.
- 87.- Johns, S.R., J.A. Lambertson y A.A. Sioumis. 1968. Alkaloids of Xylophia papuana (Annonaceae). *Aust. J. Chem.*, 21, 1383.
- 88.- Baldas, J., I.R.C. Bick, T. Ibuka, R.S. Kapil y Q. N. Porter. 1972. Mass spectrometry of bisbenzylisoquinoline alkaloids. Part I. Alkaloids derived from coclaurine units joined tail-to-tail. *J. Chem. Soc., Perkin I*, 1972, 592.
- 89.- Barton, D.H.R., D.S. Bhakuni, G.M. Chapman y G.W. Kirby. 1966. The biosynthesis of roemerine, anonaine and mecambrine. *Chem. Comm.*, 1966, 259.
- 90.- Barton, D.H.R., D.S. Bhakuni, G.M. Chapman y G.W. Kirby. 1967. Phenol oxidation and biosynthesis. Part XV. The biosynthesis of roemerine, anonaine and mecambrine. *J. Chem. Soc. (C)*, 1967, 2134.

- 91.- Brochmann-Hanssen, R., C.C. Fu y L.Y. Misconi. 1971. Opium alkaloids. X. Biosynthesis of 1-benzyl-isoquinolines. *J. Pharm. Sci.*, 60, 1672.
- 92.- Blaschke, G. 1968. Alkaloid biosynthesis. I. Biosynthesis of the aporphine alkaloid, bulbocapnine, from reticuline. *Arch. Pharm.*, 301, 432.
- 93.- Brochmann-Hanssen, E., C-H. Chen, H-C Chiang y K. Murtrey. 1972. Biosynthesis of magnoflorine from reticuline by oxidative coupling *Chem. Comm.* 1972, 1269.
- 94.- Tewari, S., D.S. Bhakuni y R.S. Kapil. 1974. Biosynthesis of the alkaloid boldine. *Chem. Comm.*, 1974 940.
- 95.- Bhakuni, D.S., S. Tewari y R.S. Kapil. 1977. Biosynthesis of boldine (1,10-dimethoxy-6a(S)-aporphine-2,9-diol). *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I*, 1977, 706.
- 96.- Mc Hugh, J.L., J. Staunton y M. Todd. 1971. Biosynthesis of the apparently directly coupled aporphine alkaloids. *Chem. Comm.*, 1971, 985.
- 97.- Barton, D.H., G.W. Kirby y A. Wiechers. 1966. Phenol oxidation and biosynthesis. Part XI. The structure of stebisimine and the biosynthesis of episte-

- phanine J. Chem. Soc. (C), 1966, 2313.
- 98.- Barton, D.H., G.W. Kirby y A. Wiechers. 1966. The biosynthesis of epistephanine and the structure of stebisimine. Chem. Comm., 1966, 266.
- 99.- Bhakuni, D.S., V.M. Labroo, A.N. Singh y R.S. Kapil 1978. Biosynthesis of the bisbenzylisoquinoline alkaloid cocsulin. J. Chem. Soc. Perkin Trans. I, 1978, 121.
- 100.- Bhakuni, D.S., V.M. Singh, S. Jain y R.S. Kapil. 1978. Absolute configuration and biosynthesis of tiliacorine A and tiliacorine B. Chem. Comm., 1978, 226.
- 101.- Battersby, A.R., D.M. Foulkes y R. Binks. 1965. Alkaloid biosynthesis. Part VIII. Use of optically active precursors for investigations on the biosynthesis of morphine alkaloids. J. Chem. Soc., (C), 1965, 3323.
- 102.- Battersby, A.R., D.M. Foulkes, M. Hirst, G.V. Parry and J. Staunton. 1968. Alkaloid biosynthesis. Part XI. Studies related to the formation and oxidation of reticuline in morphine biosynthesis. J. Chem. Soc. (C), 1968, 210.

- 103.- Yang, T.H., Ch. M. Chen y S.A. K. Kuan. 1971. Alkaloids of Annona glabra I. Isolation of (-)-N-methylactinodaphnine. J. Chin. Chem. Soc. (Taipei), 18, 133. C.A. 77, 16567r (1972).
- 104.- Tomita, M. y M. Kozuka. 1965. Alkaloids of Asimina triloba. J. Pharm. Soc. Jap., 85, 77.
- 105.- Gellert, E. y R. Rudzats. 1972. The alkaloids of Schefferomitra subaequalis (Anonaceae). Aust. J. Chem., 25, 2477.
- 106.- Hsu, C.C., R.H. Dobberstein, G.A. Cordell y N.R. Farnsworth. 1977. Structure elucidation of norlaureline and puterine new noraporphine alkaloids from Guatteria elata. Lloydia 40, 505.
- 107.- Casagrande, C. y G. Merotti. 1970. Studies in aporphine alkaloids. I. Alkaloids of a Brazilian Duguetia. Farmaco Ed. Sci., 25, 442.
- 108.- Johns, S.R., J.A. Lamberton y A.A. Sioumis. 1968. Alkaloids of Xylophia papuana (Annonaceae). Aust. J. Chem., 21, 1383.
- 109.- Schmutz, J. 1959. Die alkaloide von Xylophia discretata. Sprague y Hutchins. Helv. Chim. Acta., 42, 335.
- 110.- Muñoz, P. Comunicación personal.

APENDICE

Este trabajo ha dado origen hasta el momento de su presentación a las siguientes publicaciones:

- 1.- A. Urzúa, B.K. Cassels, J. Comin y E. Sánchez. Estudio de plantas argentinas XXXIV. Alcaloides de Laurelia sempervirens y Laurelia philippiana. Anales Asoc. Quim. Argentina., 63, 259 (1975).
- 2.- A. Urzúa y B.K. Cassels. Weak bases of Laurelia novae-zelandiae, a cautionary note on oxoaporphine N.M.R. assignments. Heterocycles. 4, 1881 (1976).
- 3.- A. Urzúa y B. Cassels. Alkaloids Chemosystematics, Chemotaxonomy and Biogenesis in the Atherospermataceae. Lloydia. 41, 98. (1978).
- 4.- A. Urzúa y B. Cassels. 4-Hydroxynornantenine, A 4-Hydroxylated Noraporphine. Tetrahedron Letters, 1978, 2649 (1978).
- 5.- V. Zabel, W.H. Watson, A. Urzúa y B.K. Cassels. N, O-Diacetyl-4-hydroxy-nornantenine. Acta Cryst., B, 35, 3126 (1979).

- 6.- A. Urzúa. Alcaloides de madera de Laurelia sempervirens. Contribuciones (USACH), 1981, 41 (1981).
- 7.- A. Urzúa y B.K. Cassels. Additional alkaloids from Laurelia philippiana and L. novae-zelandiae. Phytochemistry, 21, 773. (1982).