

Tesis de Posgrado

Estructura de la cuspidatina

Pozzi, Hilda Alicia

1965

Tesis presentada para obtener el grado de Doctor en Ciencias Químicas de la Universidad de Buenos Aires

Este documento forma parte de la colección de tesis doctorales y de maestría de la Biblioteca Central Dr. Luis Federico Leloir, disponible en digital.bl.fcen.uba.ar. Su utilización debe ser acompañada por la cita bibliográfica con reconocimiento de la fuente.

This document is part of the doctoral theses collection of the Central Library Dr. Luis Federico Leloir, available in digital.bl.fcen.uba.ar. It should be used accompanied by the corresponding citation acknowledging the source.

Cita tipo APA:

Pozzi, Hilda Alicia. (1965). Estructura de la cuspidatina. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires.

http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_1242_Pozzi.pdf

Cita tipo Chicago:

Pozzi, Hilda Alicia. "Estructura de la cuspidatina". Tesis de Doctor. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. 1965.

http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_1242_Pozzi.pdf

EXACTAS UBA

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales



UBA

Universidad de Buenos Aires

UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES

ESTRUCTURA DE LA CUSPIDATINA

Hilda Alicia Pozzi

12-1

Resumen de la tesis presentada
para optar al título de Doctora
de la Universidad de Buenos Aires

1965

RESUMEN

A- Parte general

- 1)-Se ha efectuado una revisión de los métodos de síntesis, de las propiedades físicas y de la reactividad química del núcleo cumarínico.
- 2)-Se ha puesto al día una tabla con todas las cumarinas aisladas de la naturaleza hasta la fecha, con sus fórmulas, puntos de fusión y referencias bibliográficas.
- 3)-Se ha escrito un resumen de los conocimientos actuales sobre biosíntesis de cumarinas.

B- Parte especial

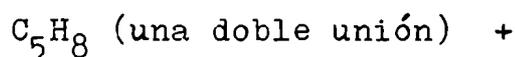
- 1)-Se ha determinado la estructura de una nueva cumarina (cuspidatina) aislada de la corteza de Helietta longifoliata Britt, una Rutácea que crece en la provincia de Misiones. Esta determinación se ha hecho en base a datos espectroscópicos, reacciones químicas y síntesis de productos de degradación parcial.

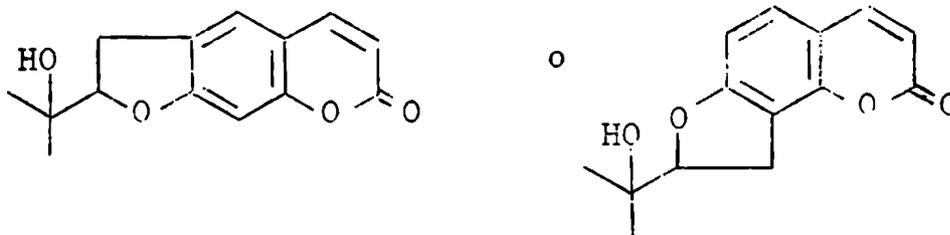
Los puntos más importantes en el estudio de la molécula de cumarina son los siguientes: fórmula molecular $C_{19}H_{22}O_4$, punto de fusión 165,5-166°C

$[\alpha]_D^{28} +14,5^\circ$ (CHCl_3). Presenta una fluorescencia violeta, se disuelve en álcali en caliente y precipita al acidificar, indicando la posibilidad de ser una cumarina. Su espectro de absorción en el ultravioleta, en etanol, es del tipo de los de cumarinas con sustituyentes oxigenados en posición 7. El espectro de absorción en el infrarrojo indicaba la presencia de un grupo hidroxilo y del sistema de dobles ligaduras y del carbonilo de la cumarina.

Por reducción con paladio sobre carbón como catalizador, a presión atmosférica y temperatura ambiente se absorbe un mol de hidrógeno obteniéndose dihidrocupidatina, pf $150,5-151^\circ$ cuyo análisis, espectros de absorción en el ultravioleta y en el infrarrojo y espectro de resonancia magnética nuclear indicaban la desaparición de una doble ligadura extranuclear, no conjugada con el núcleo cumarínico.

Ensayos de oxidación realizados sobre cupidatina y dihidrocupidatina indicaban que el grupo hidroxilo presente en ellas correspondía a un alcohol terciario. Teniendo en cuenta consideraciones biogénicas podían suponerse para esta sustancia dos estructuras parciales posibles

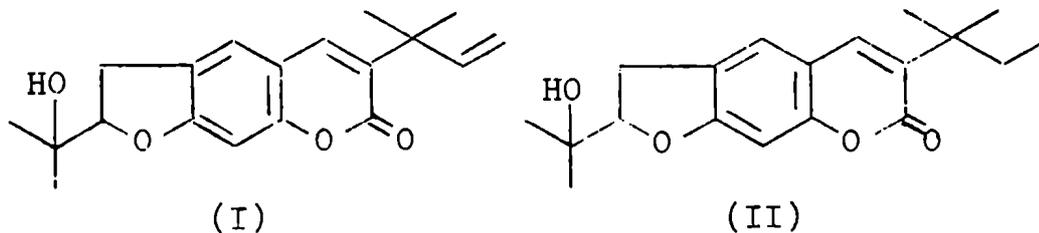




La disposición lineal de los anillos se confirmó mediante deshidratación con pentóxido de fósforo a dihidroanhidro cuspidatina de pf 94-95°C, cuyo espectro de absorción en el ultravioleta es similar al del psoraleno, de estructura lineal.

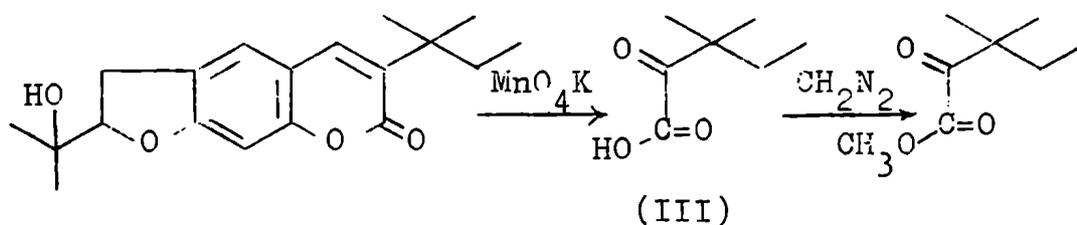
El estudio de los espectros de resonancia magnética nuclear de cuspidatina, dihidro cuspidatina y del acetato de dihidro cuspidatina confirmaba la disposición lineal de los anillos, así como la presencia del grupo 1- α -hidroxiisopropil-dihidrofuránico. Indicaba además la presencia de una cadena lateral ter-amilénica en la posición 3 de la cuspidatina (confirmado por oxidación de Lemieux y Rudloff) que se reduce a ter-amílica en la dihidro cuspidatina.

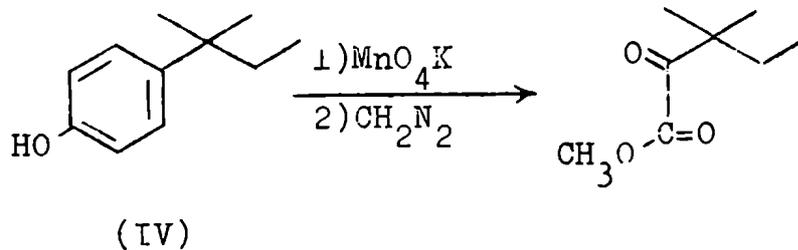
Los resultados anteriores permitieron formular las siguientes estructuras (I) y (II) para cuspidatina y dihidro cuspidatina respectivamente.



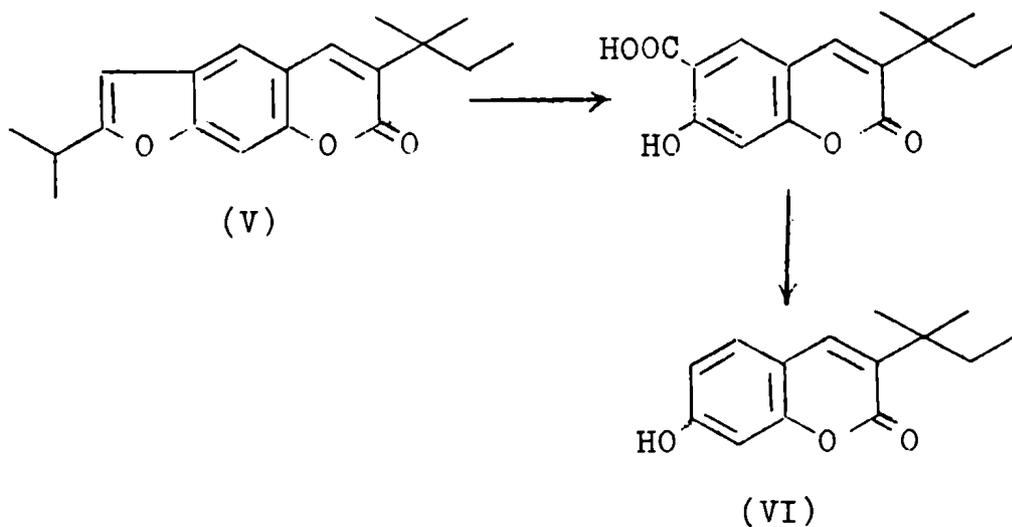
El espectro de masa de la cuspidatina confirma el peso molecular de 314 para la misma y los picos más importantes del mismo en el rango hasta $m/e = 200$ pueden racionalizarse fácilmente en base a esquemas de fragmentación aceptados.

La confirmación de la existencia de la cadena ter-amilénica en la posición 3 del núcleo de dihidrocuspdatina se obtuvo por dos líneas de evidencia. Por oxidación de esta sustancia con permanganato de potasio en medio alcalino, se obtuvo el ácido α -ceto- β,β -dimetilvalérico (III) como éster metílico, el cual se identificó por comparación directa con una muestra auténtica del mismo, obtenida por oxidación de p-ter-amilfenol (IV) con permanganato de potasio y subsiguiente esterificación del ácido.





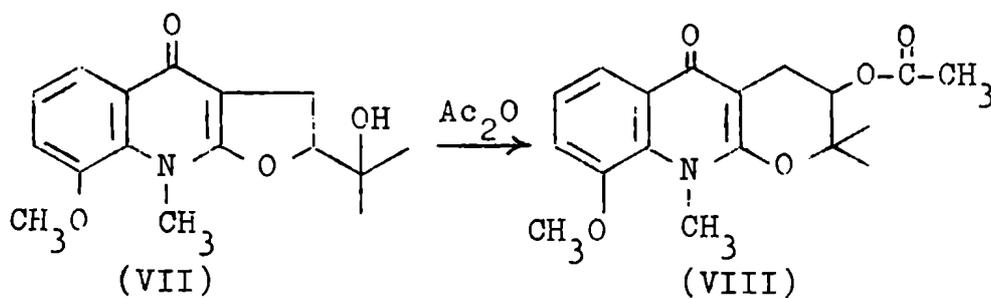
Por otra parte la dihidroanhidrocuspidatina (V) por oxidación con ácido crómico en ácido acético y descarboxilación del producto obtenido dió 3-ter-amil-7-hidroxicumarina (VI), cuyos Rf en cromatografía en placa delgada en gel de sílice, espectros de absorción en el infrarrojo y en el ultravioleta coincidían con los de una muestra de la misma sustancia obtenida por síntesis.



Hay dos aspectos singulares en la estruc-

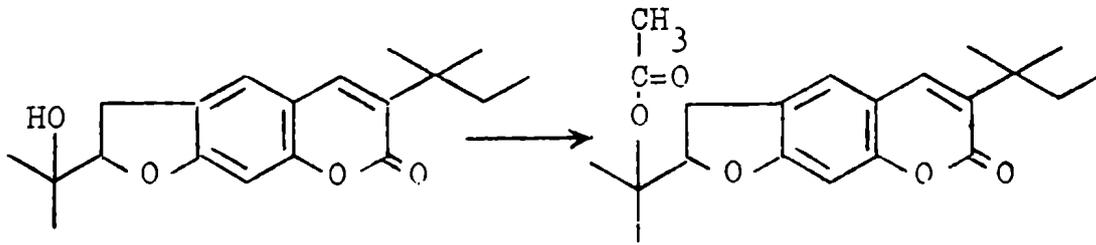
tura de la cuspidatina que merecen ser notados y son: a) la sustitución por un grupo alquilo en el carbono 3, pues hasta el presente solo hay otras dos cumarinas naturales con sustituyente alquílico en dicho carbono y ambas son 4-hidroxicumarinas cuyas propiedades son bastante diferentes de las otras cumarinas, y b) la presencia de un resto ter-amilénico en la molécula que se halló por primera vez en un producto fenólico vegetal en la cuspidatina y posteriormente por Wolfrom y col. en la molécula de macluroxantona.

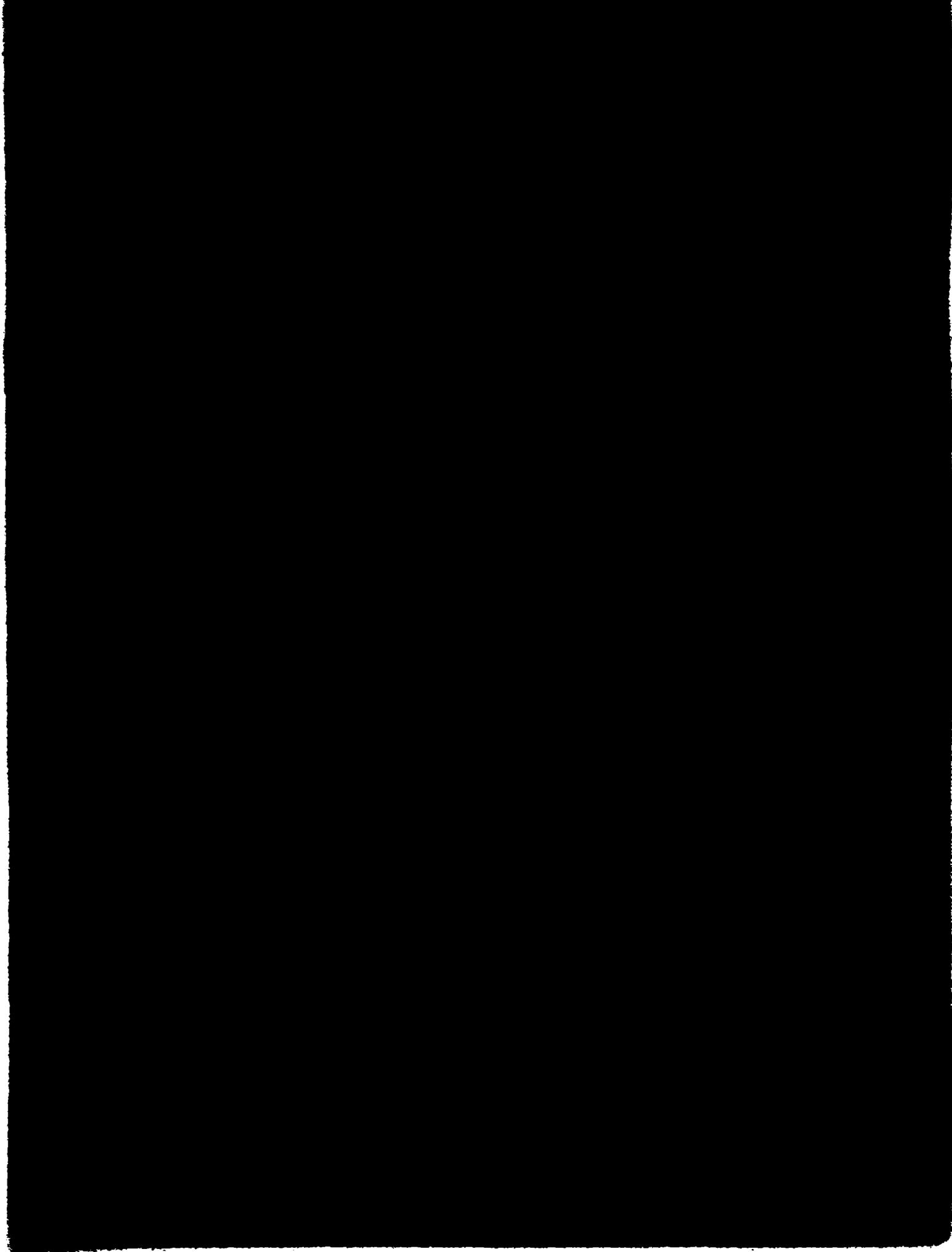
2)-En la preparación del acetato de dihidro cuspidatina se ha encontrado una discrepancia con los resultados obtenidos por Rapoport y Holden con el alcaloide balfourodina (VII), pues cuando tratan esta sustancia con anhídrido acético y piridina obtienen un acetato de estructura (VIII).



Cuando la dihidro cuspidatina se somete a la misma reacción se obtiene un acetato idéntico al obtenido por tratamiento de la misma sustancia con anhídrido trifluoroacético en ácido acético a tempe-

ratura ambiente. Cuando ambos acetatos son hidrolizados se recupera la dihidrocupidatina, de manera que en este caso no se produce reordenamiento del resto α -hidroxiisopropildihiofuránico a 2,2-dimetil-dihidropiránico.





Deseo expresar mi más sincero agradecimiento al Dr. Jorge H. Comin, por haberme sugerido el tema de este trabajo, proporcionarme el material necesario para él, así como por sus valiosos consejos y dedicación prestados durante el transcurso del mismo.

Agradezco además, profundamente, a la Universidad de Buenos Aires, el haberme otorgado una de sus becas para graduados, durante cuya vigencia se inició este trabajo, y al Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas, una beca de Iniciación durante la cual se desarrolló y completó el mismo.

Al Dr. Marcelo J. Vernengo, por la realización de varios espectros de absorción en el infrarrojo.

A los Drs. Benjamin Fridman y Orfeo O. Orazi, por algunos espectros de resonancia magnética nuclear.

Al Dr. B. Das, del Massachusetts Institute of Technology por el espectro de masa de la cuspidatina.

Al Dr. Aldo E. Mitta, de la Comisión Nacional de Energía atómica por las cromatografías en fase gaseosa.

A la Dra. Blanca B. de Deferrari por algunos microanálisis.

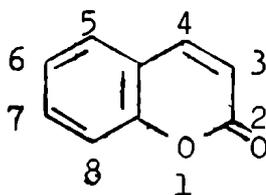
Al personal de la Cátedra de Fitoquímica de la Facultad de Bioquímica y Farmacia su colaboración durante la molienda del material vegetal.

A mis compañeros, y a todo el personal de la Cátedra de Química Orgánica por la cordialidad y apoyo prestados en todo momento.

A mis padres

EL NUCLEO CUMARINICO (1 a 5)

La cumarina o 5,6-benzo- α -pirona (I) es la lactona del ácido o-hidroxicinámico.

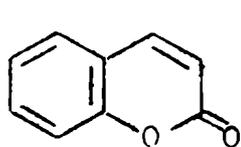


(I)

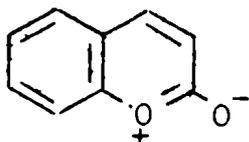
Este último no se conoce como ácido libre, pues se lactoniza inmediatamente cuando se lo libera de sus sales.

El comportamiento químico de la cumarina se explica solo parcialmente por la estructura lactónica, ya que el anillo de α -pirona es difícil de abrir. No posee ninguna actividad verdadera de grupo carbonilo.

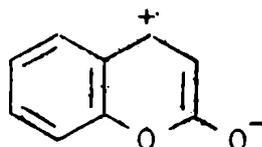
Tiene un momento dipolar de $4,51 \times 10^{-19}$ e.s.u. que es compatible con las siguientes fórmulas de resonancia (I a IV) que contribuyen al estado normal de la misma.



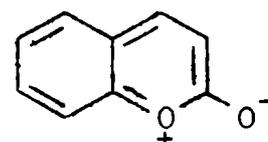
(I)



(II)



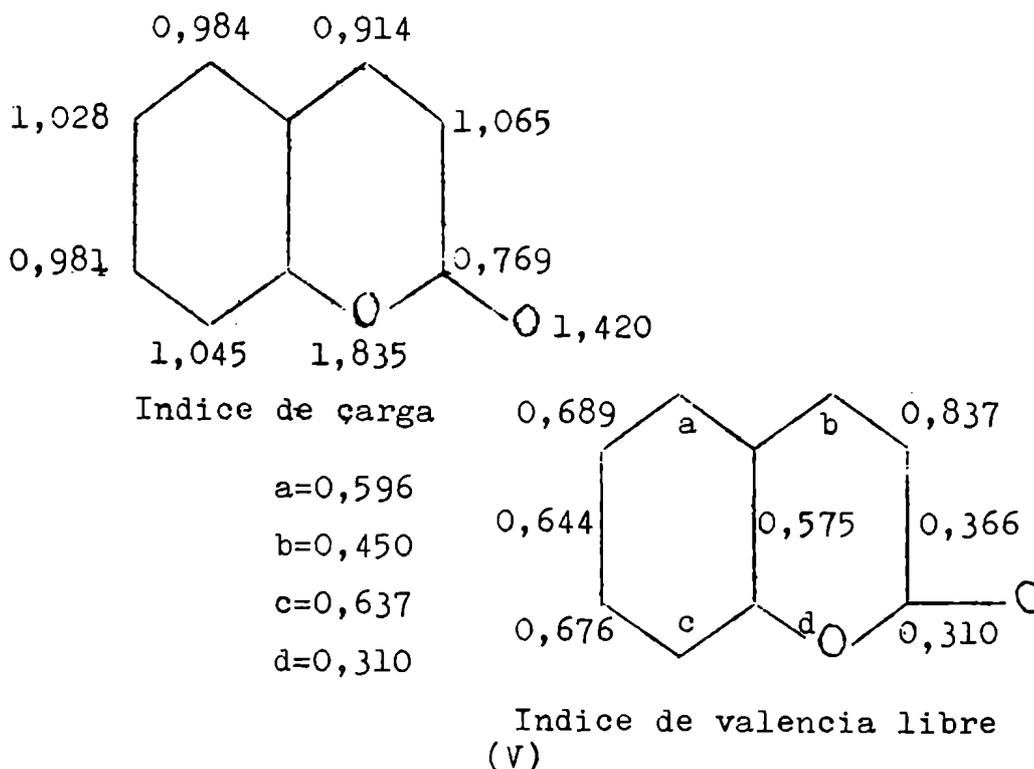
(III)



(IV)

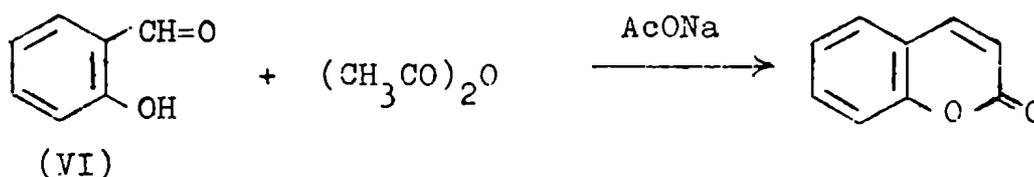
A. y B. Pullman (6) calcularon el diagrama molecular aproximado de la cumarina (V) por el método de los orbitales moleculares. El mismo justifica el carácter elec-

trofílico de las posiciones 3,6 y 8 y el nucleofílico de la posición 4 y algo menor de las 5 y 7, así como la deslocalización de la doble ligadura 3,4 y la participación del oxígeno pirónico en la conjugación (7).



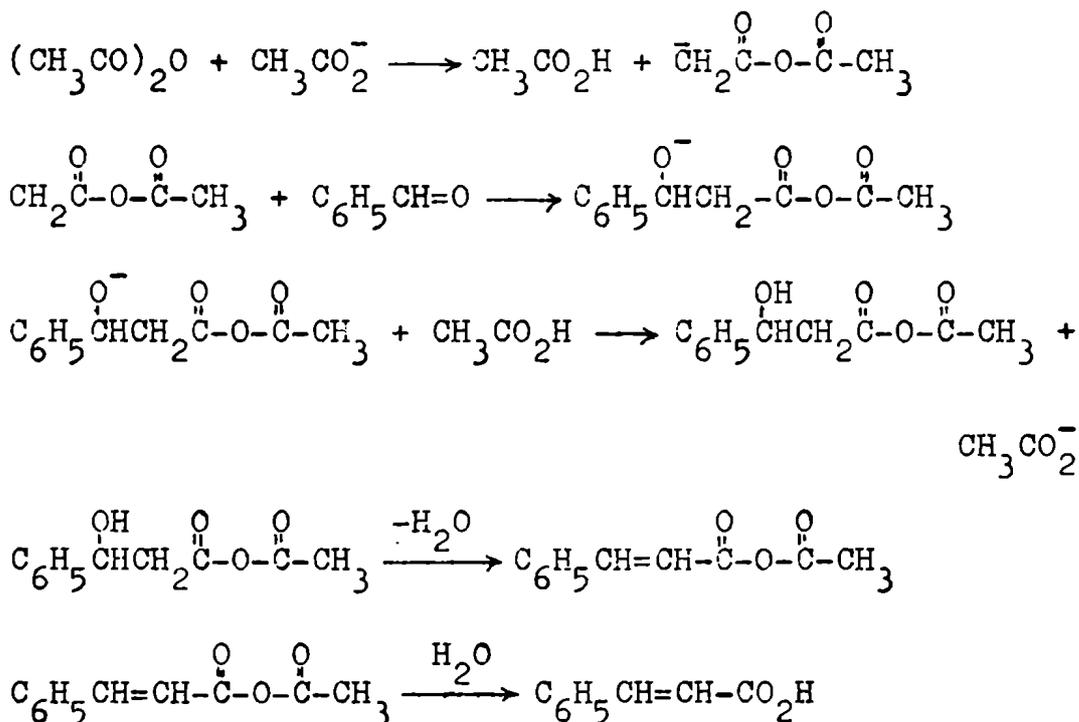
SINTESIS

Síntesis de Perkin: La primera síntesis de cumarinas fué descubierta por Perkin (8) en el año 1.868. Consiste en el calentamiento de aldehído salicílico (VI) con anhídrido acético y acetato de sodio.



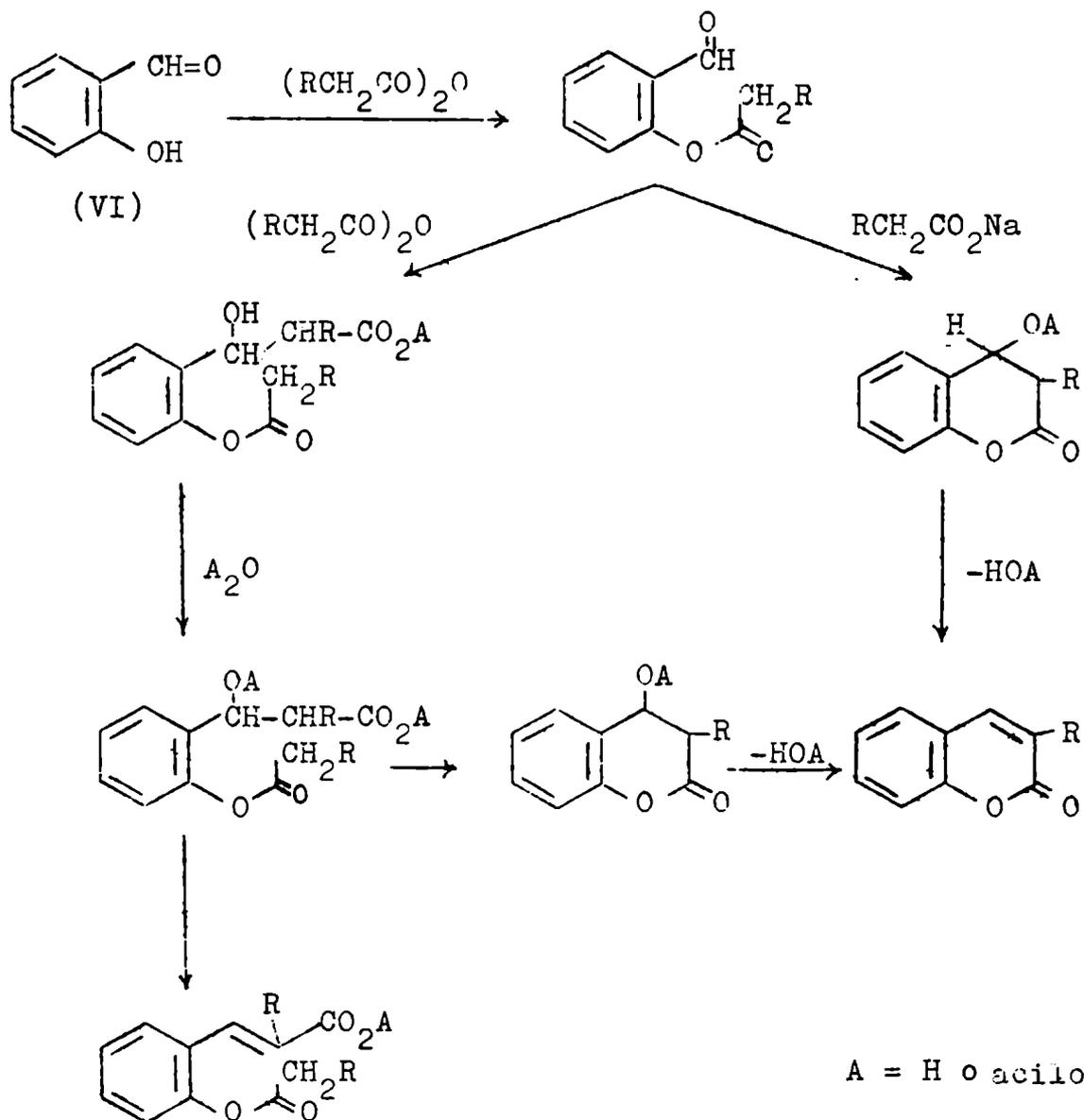
Usando un aldehído salicílico apropiadamente sustituido, puede obtenerse una cumarina sustituida en el núcleo bencénico, y variando el anhídrido se obtienen las cumarinas sustituidas en la posición 3.

Esta reacción es una condensación aldólica entre el grupo carbonilo del aldehído y el anhídrido, y la sal actúa como base que produce la enolización de este último (9)(10).



Sin embargo parece poco probable que el ácido o-hidroxicinámico sea intermediario en la síntesis de cumarinas, ya que en la reacción de Perkin se forma casi exclusivamente el isómero trans (11), y este no es capaz de lactonizarse. Crawford y Shaw (12), proponen un mecanismo, que consiste en dos series de reacciones, las cua-

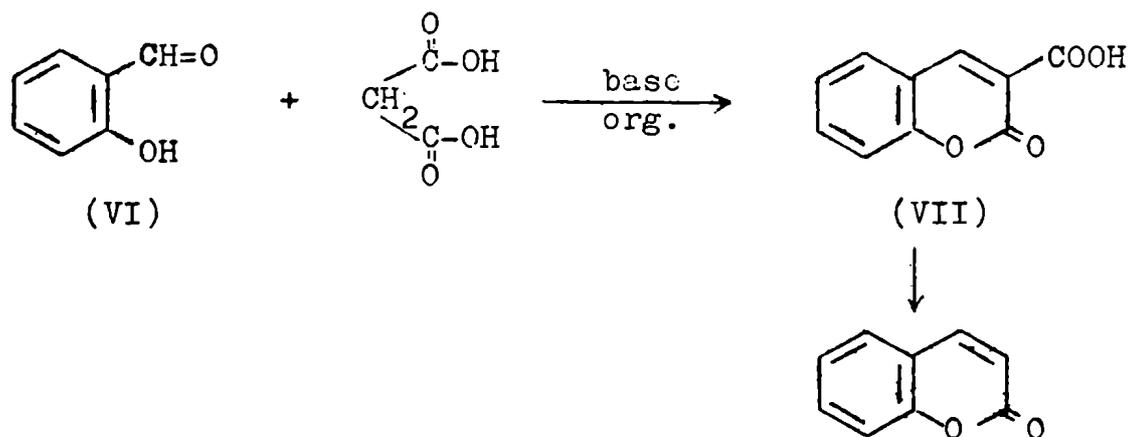
les han demostrado que ocurren y en las que la doble ligadura se forma al final de la reacción, de manera que no surgen dificultades estereoquímicas. Además explica la formación del ácido trans-cinámico, que siempre se produce en la reacción.



Como bases pueden usarse, además de las sales de ácidos orgánicos, como el acetato de sodio o potasio, sales inorgánicas como el carbonato, sulfito, cianuro de potasio, etc., aminas terciarias, cuya actividad aumenta con el aumento de basicidad de la misma, siendo la más usada la trietilamina.

Esta reacción, que ha sido extensivamente usada en la síntesis de cumarinas, presenta dos inconvenientes: la dificultad de obtención de los aldehídos salicílicos sustituidos y los rendimientos, que no siempre son altos, debido a la formación de resinas o de ácidos trans-hidroxicinámicos. Estos, sin embargo pueden ser convertidos en el ácido cis correspondiente por tratamiento con una serie de reactivos, en especial el iodo, que eleva el rendimiento a un 70 % (13).

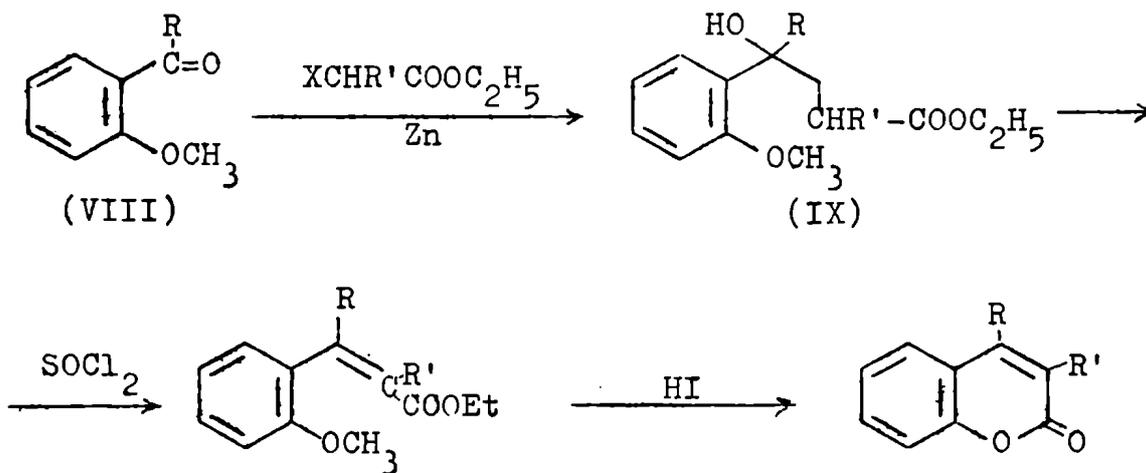
Síntesis de Knoevenagel (14): Tiene lugar cuando se condensa un aldehído salicílico (VI) con una sustancia que tenga un grupo metileno activo, en presencia de bases orgánicas.



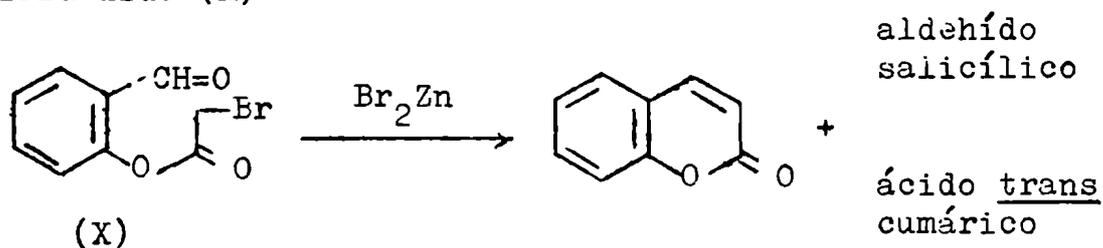
Con respecto a la síntesis de Perkin este método no ofrece ventajas cuando es necesario descarboxilar la cumarina sustituida en la posición 3 (VII), pues esta reacción da bajos rendimientos. Sin embargo es muy superior a aquél cuando se emplean ácidos malónicos sustituidos, pues en este caso no puede formarse el isómero trans, y se obtienen cumarinas que por el método anterior no pueden sintetizarse.

Síntesis de Reformatsky (15): Esta reacción consiste en la condensación entre un compuesto carbonílico (aldehído, cetona, éster, etc.) y un α -halo-éster en presencia de cinc.

Para obtener una cumarina es necesario partir de una o-metoxi-fenilcetona (VIII), y el producto de condensación (IX), por deshidratación y demetilación da la sustancia mono-sustituida en la posición 3 o di-sustituida en las posiciones 3 y 4.

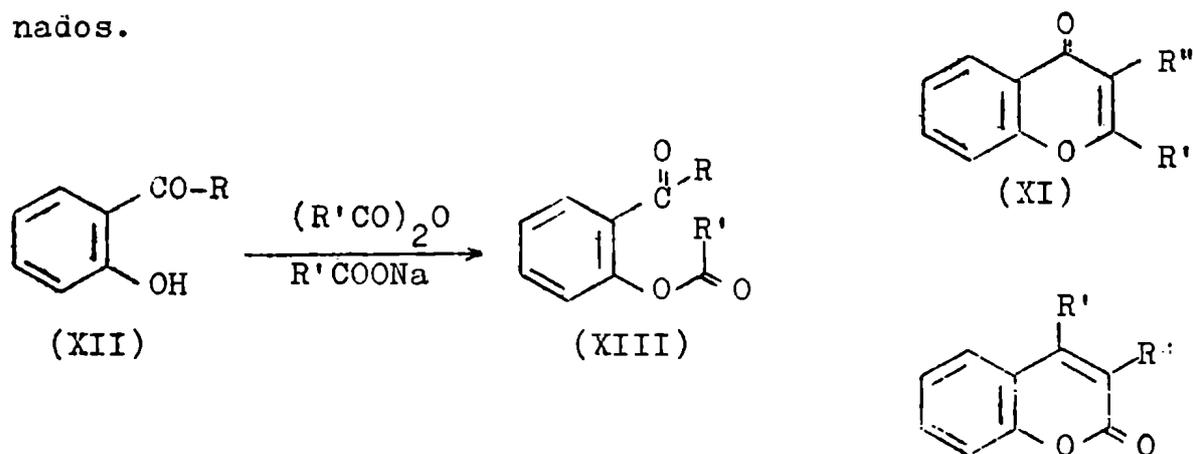


Fuson y Thomas (16), encontraron que es posible obtener cumarina por una reacción intramolecular, usando como agente de condensación bromuro de cinc en cantidades equimoleculares, cuando se parte del 2-bromo-acetoxi-benzaldehído (X)



Síntesis de Kostanecki-Robinson (17): Este método no es muy útil, pues se obtiene en general una mezcla de productos tales como: cumarinas, derivados acilados de una cetona, cromonas (XI), 3-acil-cromonas y 4-acil-metilcumarinas.

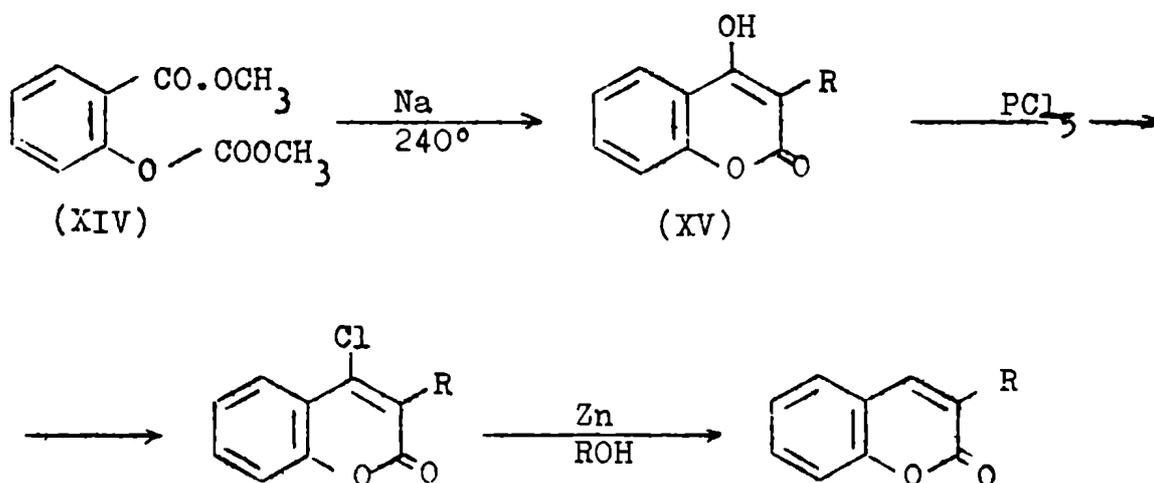
Cuando se condensa una o-hidroxi-aril-cetona (XII) con un anhídrido de ácido y una sal de sodio de un ácido, se forma un derivado acilado intermediario (XIII), cuya deshidratación puede dar los productos antes mencionados.



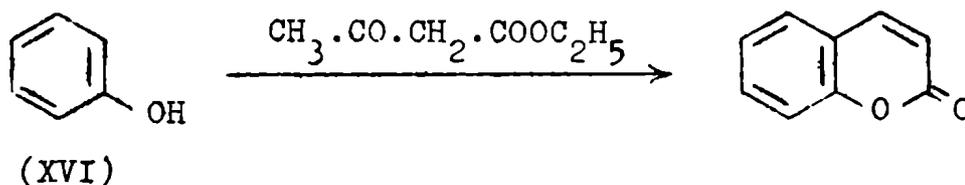
Los resultados dependen de las actividades relativas de los grupos metileno y de las cetonas utilizadas. En general cuando $R=H$ predomina la cumarina sustituida.

A partir de acil-salicilatos de metilo (18):

(XIV). Por condensación de Claisen dan lugar a 3-alkil-4-hidroxycumarinas (XV), de las cuales puede eliminarse el grupo hidroxilo por tratamiento sucesivo con pentacloruro de fósforo y cinc en alcohol.



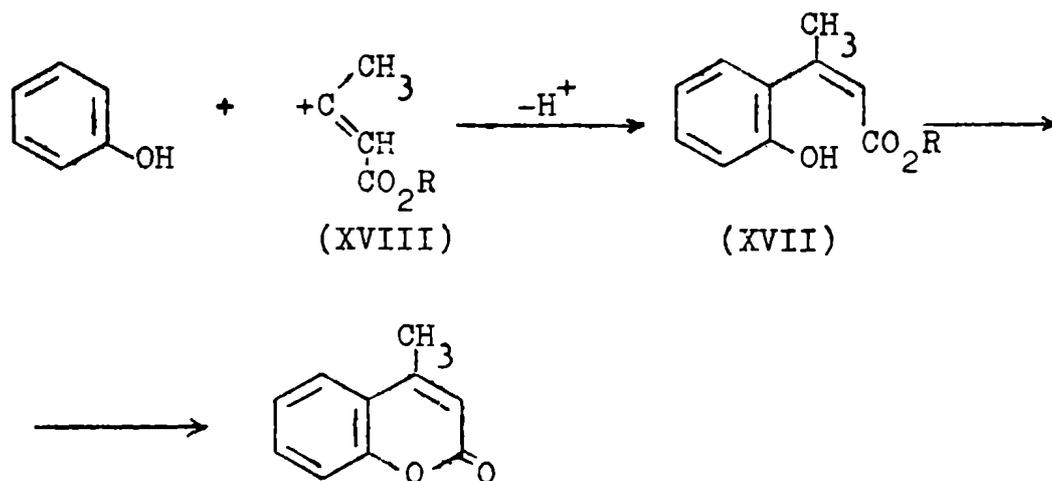
Síntesis de Pechman-Duisberg (19): Es una de las más empleadas para obtener cumarinas sustituidas. Consiste en la condensación de un fenol (XVI) con un β -ceto ester en presencia de ácido sulfúrico.



Utilizando los productos de partida apropiadamente sustituidos puede obtenerse cumarinas con la sustitución que se desee.

El rendimiento de la reacción depende de la naturaleza del fenol, del β -cetoester usado como así también del agente de condensación.

El mecanismo más aceptado es el propuesto por Robertson y col. (20) que postulan la formación de un ácido o ester o-hidroxicinámico (XVII) como intermediario, ya que este da muy rápidamente cumarina por tratamiento con ácido sulfúrico. El β -cetoester daría primero un ion carbonio (XVIII) que atacaría la posición orto al fenol.



La condensación se ve favorecida cuando en el fenol hay grupos donantes de electrones tales como: metilo, hidroxilo, metoxilo, amino, metil-amino, dimetil-amino y halógenos en la posición meta y por el contrario

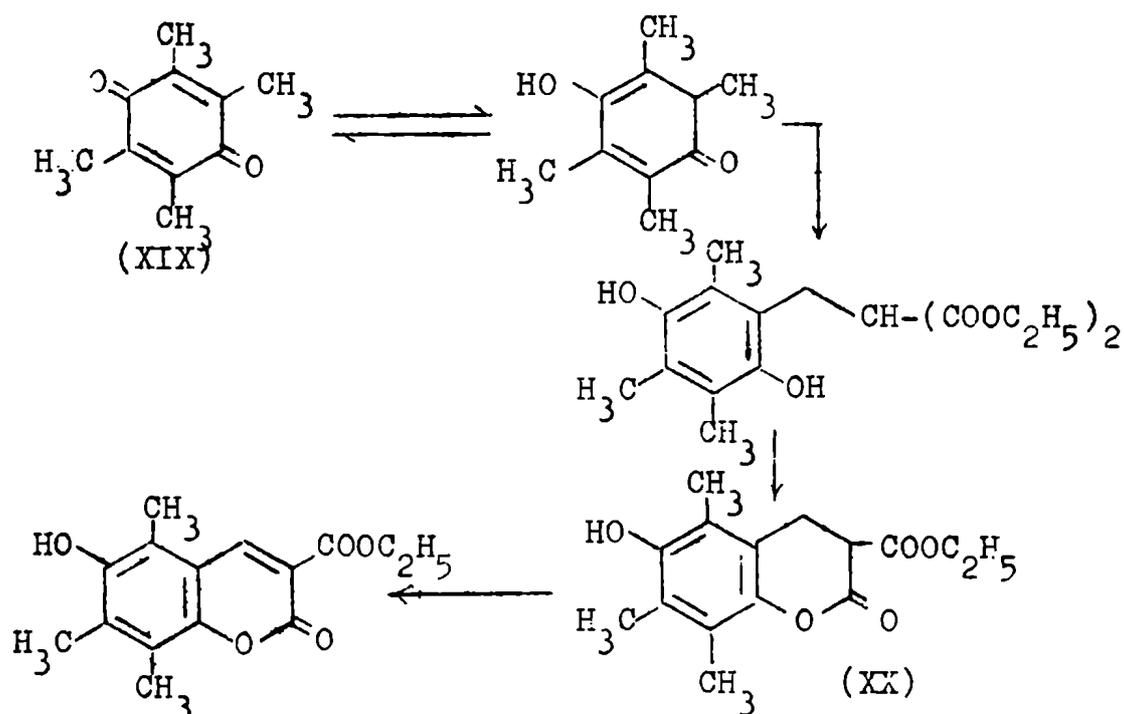
se ve impedida cuando en la misma posición hay grupos atractores de electrones, tales como nitro, carboxilo, carboximetilo, ciano y aldehído.

La introducción de un grupo α -alquílico en el ester acetoacético disminuye el rendimiento a medida que este se va haciendo más voluminoso. Si a su vez posee sustituyentes negativos en la posición α aumenta su reactividad.

Como agentes de condensación pueden emplearse: ácido sulfúrico concentrado, ácido sulfúrico 73 %, ácido clorhídrico en ácido acético o en alcohol, cloruro de cinc, ácido fosfórico, oxicloriguro de fósforo, cloruro de aluminio y ácido polifosfórico (21) que da rendimiento de hasta un 90 %. El ácido fluorhídrico suele ser también un buen agente de condensación. El pentóxido de fósforo puede usarse, pero la reacción suele tomar otro curso dando lugar a la formación de cromonas (Reacción de Simoninis). En general se prefiere el empleo de ácido sulfúrico al 73 % respecto del concentrado, pues este último da lugar a la obtención de productos sulfonados (los cuales pueden descomponerse muchas veces por calentamiento).

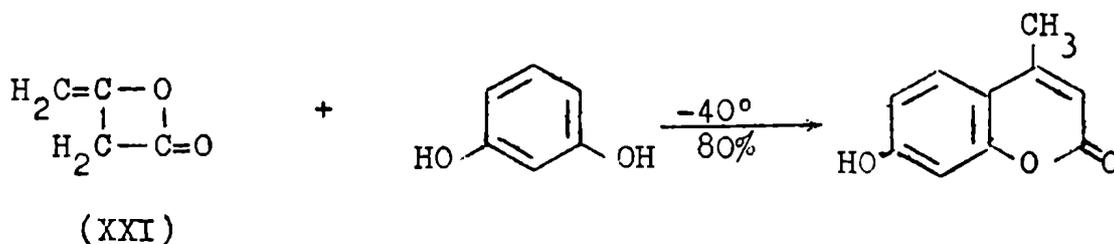
Síntesis a partir de quinonas (22): La reacción de Michael, de adición de un compuesto con un grupo metileno activo a la doble ligadura α, β de una cetona no saturada, conjugada, en presencia de un catalizador básico, es sufrida por las quinonas tetrasustituídas (XIX) cuando se tratan soluciones péncénicas de las mismas con

enolatos metálicos del malonato de etilo, dando dihidro-cumarinas (XX) las cuales generalmente se deshidrogenan en la misma reacción.



La facilidad de la reacción depende de la sustitución en la quinona, la cual puede no ser simétrica.

A partir de dicetenas (23): Cuando se trata este compuesto (XXI) con ácido sulfúrico y fenoles a temperaturas inferiores a -10°C se obtienen las cumarinas correspondientes con buenos rendimientos.



Oxidación directa de ácidos cis-cinámicos (24):

Pueden obtenerse cumarinas por este método, usando como agente de oxidación persulfato. Los rendimientos son muy bajos



Los autores sugieren que la ciclación se efectúa por ataque intramolecular por radicales carboxilo, o por radicales hidroxilo formados durante la descomposición del persulfato.

Si se utilizan ácidos cis-o-metoxi-cinámicos, se produce eliminación del metoxilo y hay aumento en el rendimiento de la reacción.



PROPIEDADES FISICO-QUIMICAS

Fluorescencia: Las cumarinas tienen la propiedad de fluorescer cuando se las coloca bajo luz ultravioleta. En la mayoría de los casos esta fluorescencia es de color

azul. Cuando poseen un sustituyente oxigenado en la posición 7 del núcleo, se presenta aún bajo la luz visible, especialmente si se encuentran disueltas en ácido sulfúrico (5). La cumarina misma no es fluorescente en medio neutro, pero sí lo es a pH mayor que 10, desarrollando color verde.

Esta propiedad tiene origen en el sistema formado por el núcleo bencénico y el grupo cetónico α, β no saturado de las mismas (25).

Han sido bastante estudiadas las curvas de fluorescencia en relación al pH para cumarinas con distintos tipos de sustitución (26) (27). La presencia y posición de los grupos hidroxilo es un factor decisivo en las propiedades fluorescentes. Es mayor en la 7-hidroxicumarina (umbeliferona). La 4-metil-7-hidroxicumarina presenta una fluorescencia azul fuerte mientras que en los 5-hidroxil y 6-hidroxil-derivados esta propiedad es mucho menor. La introducción de grupos alquilo en la posición 6 de la 4-metil-umbeliferona produce un corrimiento de la banda de fluorescencia hacia el rojo (28).

Aparentemente los grupos que repelen electrones en las posiciones 4, 6 ó 7 y los que los atraen en la posición 3 causan corrimiento de la banda de fluorescencia a longitudes de onda más grande (27).

El espectro de fluorescencia muestra una gran variación debido a la presencia y número de cadenas laterales en la cumarina, especialmente si llevan grupos

polares.

Espectro de absorción en el ultravioleta: Las cumarinas disueltas en metanol, etanol o agua presentan absorción en la región de los 250 a 350 $m\mu$. En general cuando el espectro se determina en soluciones alcalinas se produce un corrimiento batocrómico de las bandas de absorción y un incremento en su coeficiente de extinción (5).

Para la cumarina misma aparecen dos máximos. El primero de ellos a 274 $m\mu$ ($\log \epsilon$ 4,03) y el segundo a 311 $m\mu$ ($\log \epsilon$ 3,74) (29).

Cuando un hidrógeno es sustituido por un grupo metilo se produce un corrimiento en los dos máximos, muy pequeño pero significativo y característico para la posición de la sustitución. Lo mismo ocurre cuando se trata de dimetil-cumarinas (29).

La introducción de grupos hidroxilo causa corrimientos batocrómicos de las bandas de absorción principales, que en este caso son bastante pronunciados.

El estudio detallado de los espectros de absorción en el ultravioleta permite además diferenciar las cumarinas de las cromonas, que son sustancias con propiedades bastante semejantes (30) (31).

Espectro de absorción en el infrarrojo: La conjugación múltiple de las cumarinas hace muy difícil intentar una asignación específica del grupo carbonilo de la lactona y de la doble ligadura del sistema α -pirónico

Por lo general el grupo carbonilo aparece en la región de los 1.720 cm^{-1} . La sustitución de hidrógenos del núcleo por hidroxilos produce un corrimiento de la banda hacia los 1.665 cm^{-1} . Este efecto es máximo cuando el hidroxilo está en la posición 4 y decrece en la secuencia $4 > 5 > 7 > 6$. Esta influencia relativa es debida a la conjugación del grupo hidroxilo con el carbonilo. Cuando el hidroxilo está metilado o acetilado la banda aparece alrededor de los 1.720 cm^{-1} (32).

La conjugación adicional con anillos aromáticos lleva la banda a mayores longitudes de onda, alrededor de 1.715 cm^{-1} .

Bassignana y Grossi (33) hicieron un estudio completo de cumarinas 3-acil-sustituídas y asignaron para las mismas una serie de bandas en la región de los 4.000 a 600 cm^{-1} .

En este espectro aparecen además 2 bandas de absorción características en 1.650 - 1.600 cm^{-1} y 1.590 - 1.560 cm^{-1} debidas a la doble ligadura del sistema α -pirónico (34).

Las bandas de absorción aromáticas se encuentran en las regiones usuales (5).

Además los datos que pueden obtenerse de él son muy útiles en la demostración de estructuras porque pueden detectarse grupos que no estén relacionados directamente con el núcleo cumarínico.

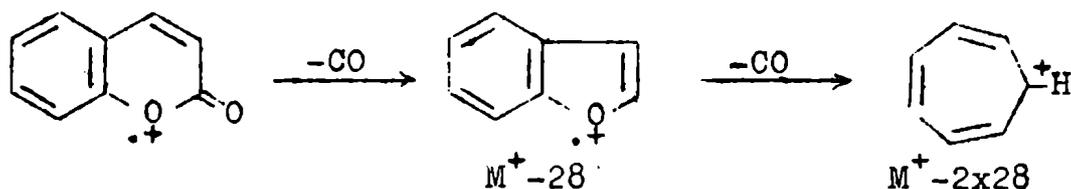
Espectro de resonancia magnética nuclear: Es sin duda el más útil de todos los espectros en el estudio de estructuras. Desde hace unos pocos años se ha utilizado extensivamente con este fin y hay una serie de cumarinas naturales, cuya demostración de estructura se apoya fuertemente en él. (Ej: discophoridina (35)).

Los protones en la posición 3 y 4 del núcleo para la cumarina misma aparecen como dos dobletes centrados a δ 5,93-6,46 y δ 7,65-8,03 (36)(37). La constante de acoplamiento ($J=9,8$) confirma que estos protones son cis entre sí. Sobre la base del corrimiento químico pueden distinguirse convenientemente entre las cumarinas 3 ó 4 sustituidas (37).

Espectro de masa: Hasta ahora ha sido bastante poco utilizado en el estudio de estructuras de cumarinas. En general solo se utilizó para confirmar el peso molecular de las sustancias en estudio.

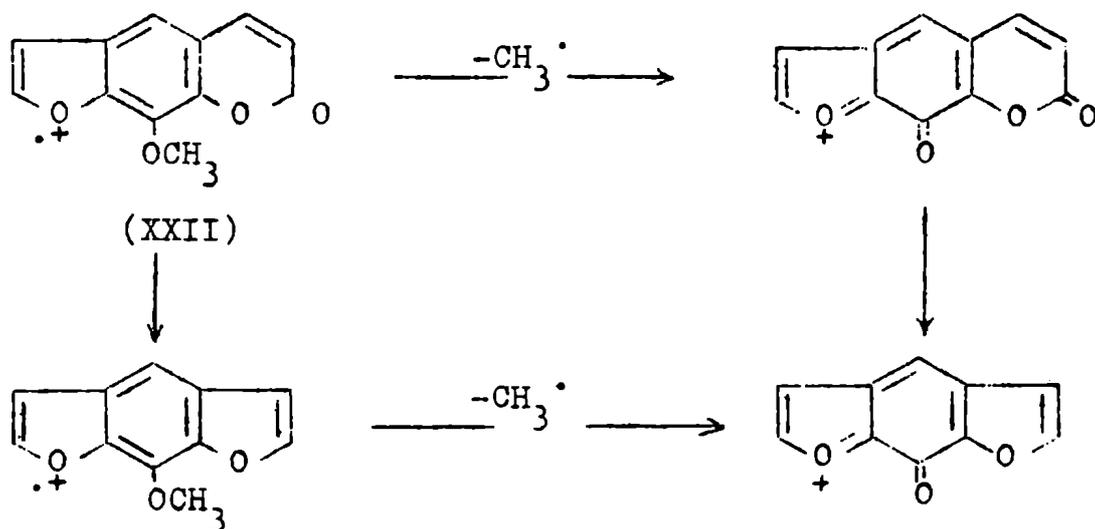
Wulfson y col. (38) fueron los primeros en estudiar el espectro de masa de la cumarina y encontraron que siempre aparece, aparte del pico molecular M^+ , un pico principal M^+-28 que se debe a la pérdida de una mo-

lécua de monóxido de carbono del ión original, con lo cual la cumarina se transforma en benzo-furano. También aparecen los picos $M^+ - 2 \times 28$ y $M^+ - 3 \times 28$.

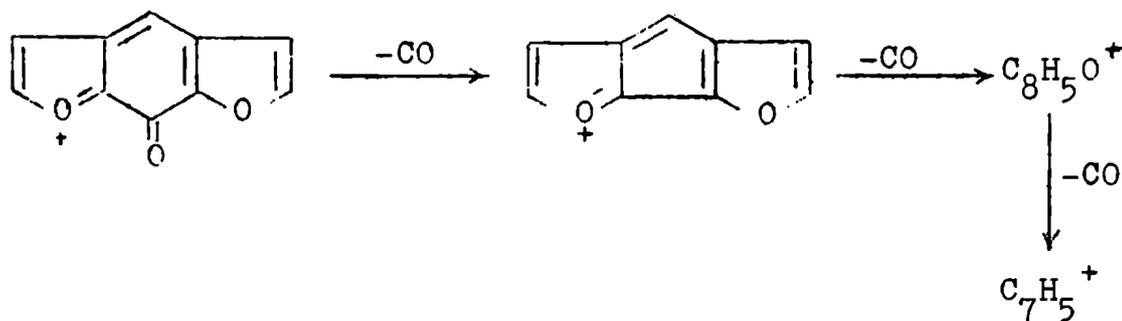


Estos resultados fueron confirmados por Djerasi y col. (39) quienes ampliaron el estudio a cumarinas sustituidas por grupos alquílicos y a furocumarinas*, para las cuales proponen el siguiente modelo de rupturas, que justifica los picos que aparecen en el espectro.

Ejemplo: xantotoxina (XXII)



*Estas últimas también fueron estudiadas por Wulfson y col. (40)

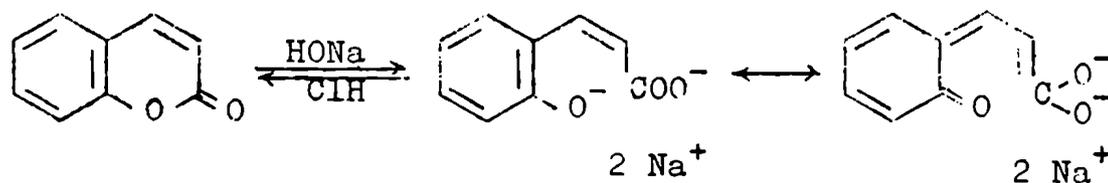


PROPIEDADES QUIMICAS

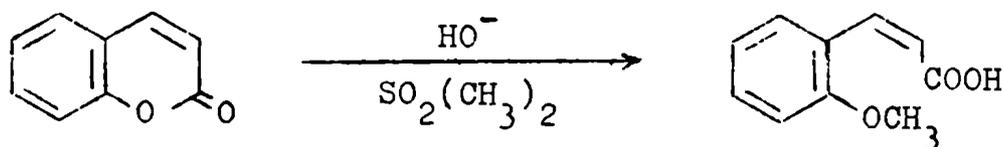
Tratamiento con ácidos: Las cumarinas tratadas con ácidos no reaccionan. Con ácido sulfúrico concentrado en general dan una fluorescencia azul visible.

Con amoníaco: No reaccionan aun cuando se las trata a presión y temperatura.

Con álcalis: Se disuelven en soluciones alcalinas (hidróxido de sodio o potasio) en caliente y reprecipitan cuando la misma se acidifica, aun con dióxido de carbono. Esta es una reacción característica que dan todas las cumarinas. Lo que ocurre es que en medio alcalino se produce la apertura del anillo pirónico y se forma la sal del ácido cumarínico correspondiente, que confiere a la solución un color amarillo claro, debido posiblemente a una deslocalización de electrones del tipo indicado más abajo. Al acidificar se libera el ácido cumarínico inestable, que se lactoniza inmediatamente, precipitando la cumarina.



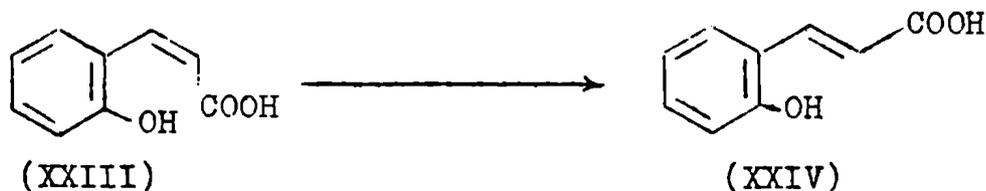
Un método práctico para obtener los éteres metálicos de los ácidos cumarínicos consiste en tratar una solución alcalina de la cumarina con sulfato de metilo o yoduro de metilo.^{*} En el ácido *o*-metoxi-cinámico así obtenido está impedida la lactonización.



Inversión geométrica de los ácidos derivados de cumarinas: Cuando el tratamiento alcalino de las cumarinas se prolonga el ácido cumarínico (*cis*) (XXIII) producido inicialmente se isomeriza al ácido cumárico (*trans*) (XXIV), que es estable y puede aislarse, ya que los grupos carboxilo e hidroxilo están muy separados para que se lactoni-

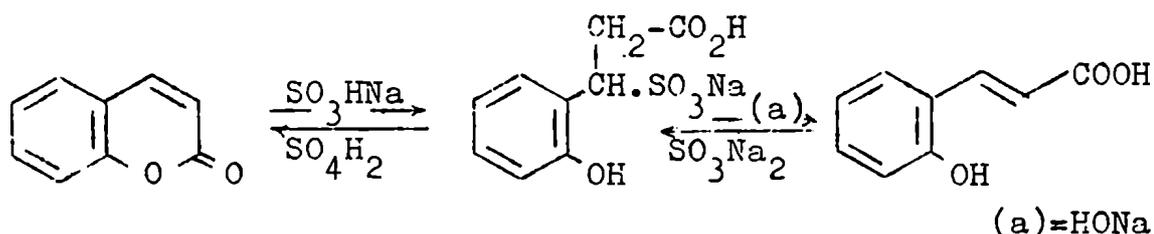
* Si el tratamiento con los agentes metilantes antes nombrados se hace en solución de carbonatos solo se consigue metilar los hidroxilos fenólicos que tenga la cumarina.

cen.



Hay una serie de agentes que actúan como catalizadores en esta reacción. Entre ellos están:

a)-Sulfito y bisulfito de sodio (41): Las cumarinas, excepto aquellas que tienen sustituyentes alquílicos en el núcleo pirónico reaccionan con estas sustancias para dar derivados bisulfíticos, los cuales dan ácidos cumáricos por tratamiento con álcali al 20 %.



b)-Compuestos mercurícos: Son buenos catalizadores de la inversión. Se han usado para ello el óxido amarillo de mercurio y el acetato mercuríco en medio alcalino. La reacción es particularmente eficaz cuando la cumarina tiene un sustituyente negativo (nitro grupo, halógeno, etc.) en la posición 6 (42).

El cloruro mercuríco en solución acuosa neutra o acuosa alcohólica es muy satisfactorio (43). Parece que el intermediario es el producto de adición de

la sal inorgánica a la cumarina.

Estos ácidos pueden ser luego degradados a benzoicos por oxidación, de manera que proveen un intermedio útil en la demostración de estructuras.

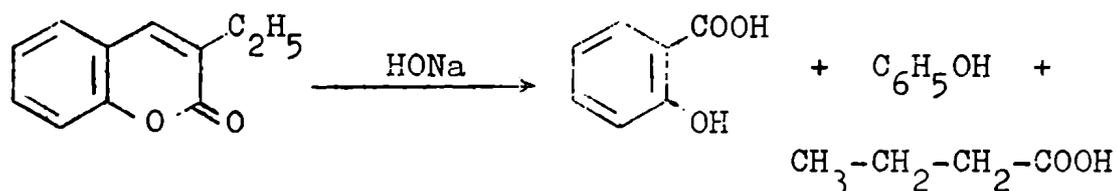
La transformación inversa de ácidos cumáricos en cumarínicos puede hacerse por irradiación con luz ultravioleta o por calentamiento, aunque en este caso puede producirse descarboxilación al estireno correspondiente.

En general los ácidos cumarínicos derivados de 4-alkil-cumarinas sufren fácilmente la inversión, lo cual se atribuyó a un mecanismo tautomérico. En cambio en el caso de las 3-alkil o fenil cumarinas este reordenamiento es mucho más difícil. A veces puede llevarse a cabo por tratamiento con metóxido o etóxido de sodio, pero en estas condiciones usualmente sufren cambios más complicados y forman productos de condensación cetónica.

En las estereo-mutaciones hay dos estados importantes: 1)-adición de un reactivo a la doble ligadura y 2)-subsiguiente reorientación de los grupos, facilitada por la distribución de cargas. La facilidad de la inversión geométrica depende además de los productos iniciales y finales. La razón para que la inversión sea tan pobre en las 3-fenil cumarinas puede ser debida a la pérdida de condiciones electrónicas favorables o a factores estéricos adversos (44).

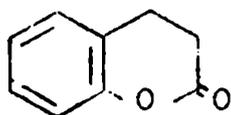
Fusión alcalina: Esta reacción fue muy usada

en el estudio de estructuras, pero tiene el inconveniente de que se obtienen los mismos ácidos benzoicos tanto si se parte de cumarinas como si se lo hace de cromonas.

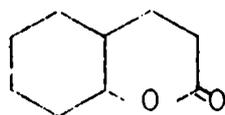


Reducción: Las cumarinas pueden ser reducidas en presencia de una gama bastante amplia de catalizadores y en diferentes condiciones. Los productos obtenidos dependen mucho de los factores antes mencionados.

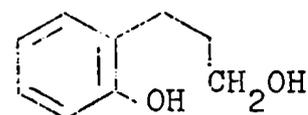
La hidrogenación catalítica se ha llevado a cabo con diversos catalizadores. Con Nickel Raney a temperaturas inferiores a 100°C se obtiene dihidrocumarina (XXV); en cambio si la temperatura se eleva hasta 200-250°C se obtiene una mezcla de octahidrocumarina (XXVI) y hexahidrocromano (XXVII). Con cromito cúprico a 150°C da dihidrocumarina (XXV) mientras que a 250°C da alcohol (o-hidroxifenil)-propílico (XXVIII). Con paladio sobre carbón a temperatura ambiente y a baja presión se obtiene dihidrocumarina (XXV), lo mismo que con platino de Adams.



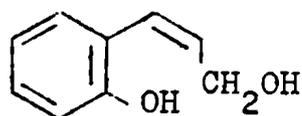
(XXV)



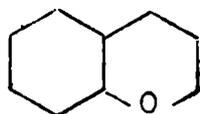
(XXVI)



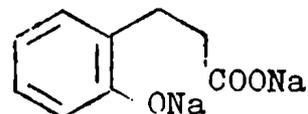
(XXVIII)



(XXX)



(XXVII)



(XXIX)

La reducción puede efectuarse también con combinaciones de metales. Así con sodio y alcohol se obtiene (XXVIII); con amalgama de sodio se obtiene melilotato de sodio (XXIX); con cinc e hidróxido de sodio se obtiene (XXIX) mientras que con cinc en ácido acético da (XXV); finalmente con hidruro de aluminio y litio los productos son (XXVIII) y alcohol o-hidroxicinámico (XXX)

Cuando los ácidos cumarínicos o cumáricos se reducen se obtienen los ácidos dihidrocinámicos. Estos son productos estables al estado libre, pero se lactonizan rápidamente cuando se destilan dando dihidrocumarinas.

Las dihidrocumarinas pueden ser deshidrogenadas a las cumarinas correspondientes con buen rendimiento, por calentamiento sobre negro de paladio a 220°, aunque se produce alguna descarboxilación a o-etil-fenoles. También puede usarse con el mismo fin, bromo, cloro, oxígeno o azufre a 300°C.

Oxidación: En general son bastante resistentes a ella.

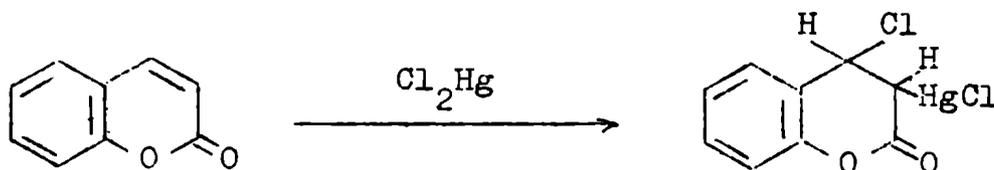
a)-Con ozono reaccionan preferentemente las dobles ligaduras de cadenas laterales, luego, si se trata de una

furocumarina, los ciclos furánicos y finalmente el sistema pirónico.

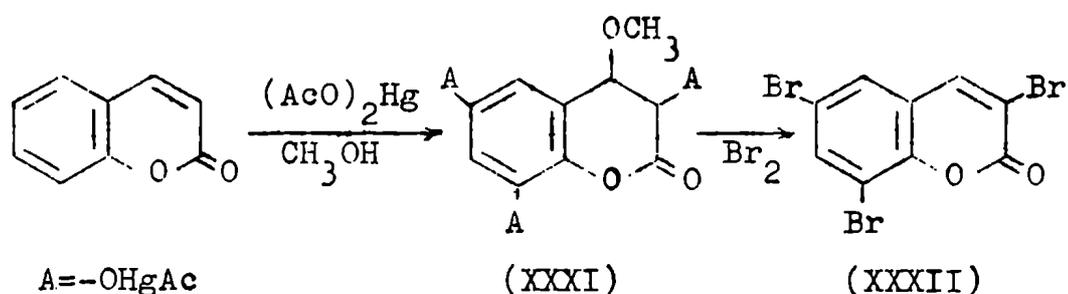
- b)-Acido crómico: ataca las cadenas laterales y deja intacto el anillo pirónico.
- c)-Permanganato de potasio: Es bastante poco selectivo. Se suele emplear para romper una molécula compleja y de esa manera obtener los derivados del fenol básico.
- d)-Perácidos: No afectan el sistema cumarínico, y se emplean para obtener epóxidos de cumarinas que tengan cadenas laterales alílicas.
- e)-Con agua oxigenada en medio alcalino, las furocumarinas dan ácido furano-2,3-dicarboxílicos.

Cuando una dihidrocumarina se trata con ácido nítrico o permanganato se obtiene un ácido succínico. Este producto no aparece cuando se trata la cumarina en las mismas condiciones. Esta reacción indica la presencia del núcleo cumarínico. (Hay que tener cuidado de que el ácido succínico no provenga de una cadena lateral).

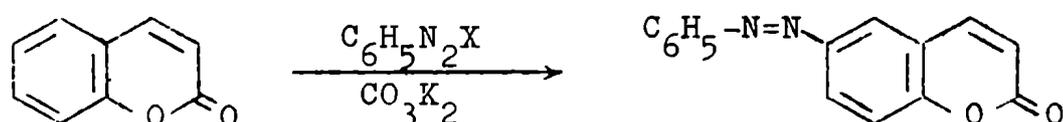
Mercuración: Puede hacerse con cloruro mercúrico o con acetato mercúrico. El primero de estos reactivos se adiciona a la doble ligadura 3,4.



Con acetato mercúrico, cuando la reacción se realiza en metanol, se obtiene un 3,6,8-triacetoxi-mercuri-dihidroderivado (XXXI). Si este producto se trata con bromo, se sustituyen los grupos acetoxi-mercuri por bromo, se pierde metanol y se regenera la doble ligadura, dando la 3,6,8-tribromo-cumarina (XXXII).



Sales de diazonio: Estas sales se copulan en la posición 6. Cuando hay presentes grupos hidroxilos en el núcleo bencénico este se activa muy poco.

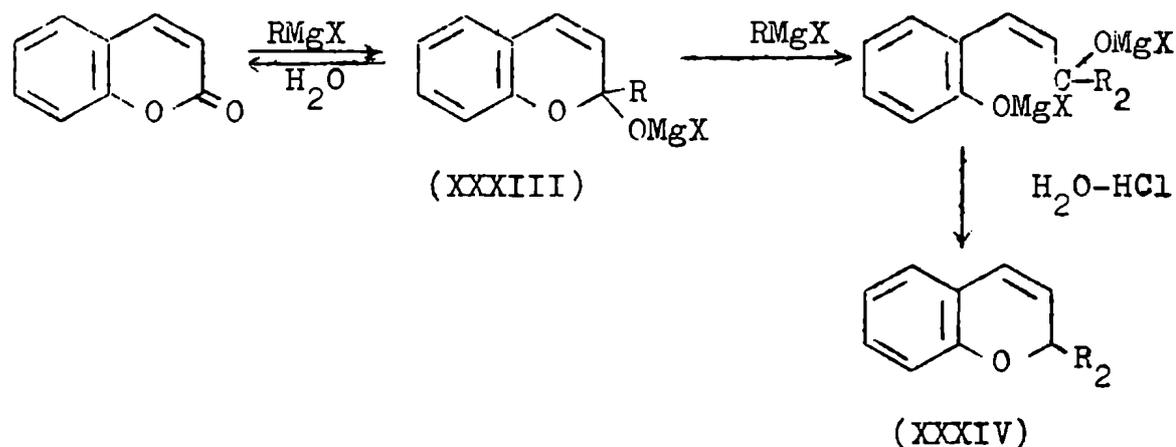


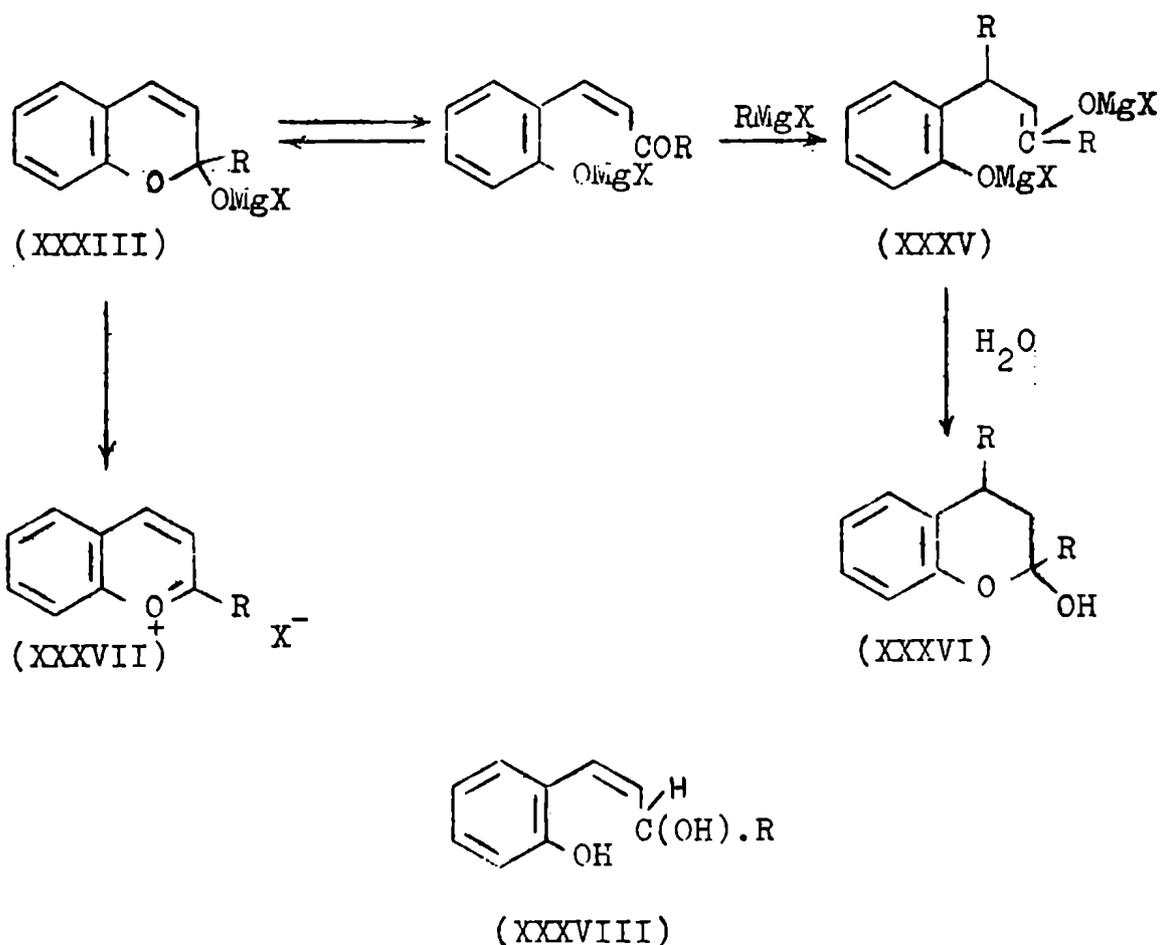
Reactivos de Grignard: Los productos que se obtienen con este reactivo dependen de la naturaleza y posición de los sustituyentes en la cumarina, y de las condiciones en que se realice la operación. Pueden ser sales de cromilio (Sales de benzopirilio)(XXXVII), dialquil o di-aril-cromenos (XXXIV), cromanoles (XXXVI) o carbinoles de cadena abierta (XXXVIII).

Primero se adiciona un mol de reactivo al grupo carbonilo de la cumarina para dar un intermediario (XXXIII) que puede sufrir una serie de transformaciones. Cuando la reacción se realiza en caliente y con exceso de reactivo se adiciona un segundo mol del mismo, obteniéndose un cromeno sustituido (XXXIV). Por otra parte (XXXIII) puede dar una cetona no saturada (XXXV) que, siempre en presencia de exceso de reactivo, da un crome-nol (XXXVI).

En soluciones diluídas a temperatura ambiente la cumarina y las cumarinas 3-sustituídas, con bromuro de fenil magnesio ($R = \psi$) dan sales de flavilio (XXXVII), pero las cumarinas sustituidas en cuatro no dan esta reacción. La formación de las sales de benzopirilio (XXXVIII) ($R \neq \psi$) es favorecida por el uso de exceso de cumarina, en soluciones diluídas, frías.

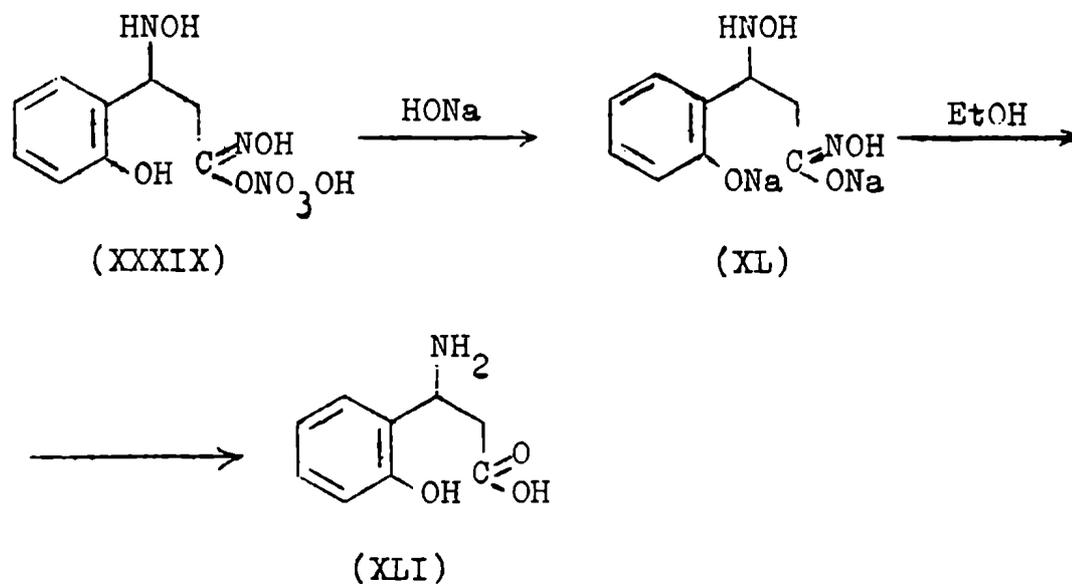
También se han aislado carbinoles no saturados del tipo (XXXVIII).





Hidroxilamina: Aunque las cumarinas no poseen ninguna reactividad de grupo carbonilo verdadero reaccionan con algunos reactivos del mismo tales como la hidroxilamina y el bisulfito de sodio.

Cuando el tratamiento se efectúa en ausencia de álcali, adiciona tres moles de hidroxilamina. Cuando este producto (XXXIX) es tratado con hidróxido de sodio se transforma en un ácido hidroxámico (XL), que cuando se calienta con alcohol se reduce a ácido β -aminomelilótico (XLI).

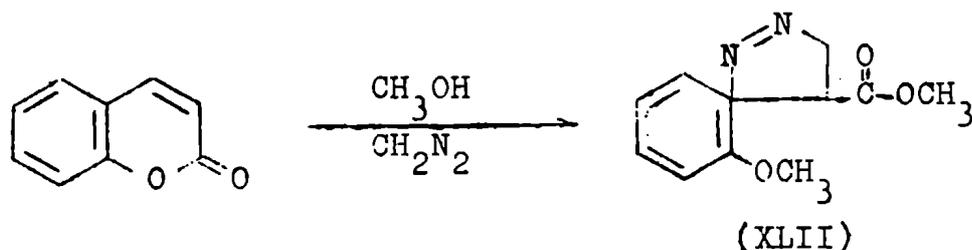


Cuando al ácido (XL) se le agrega solución de cloruro férrico se produce una fuerte coloración violeta. Esta reacción sirve para el reconocimiento de las cumarinas.

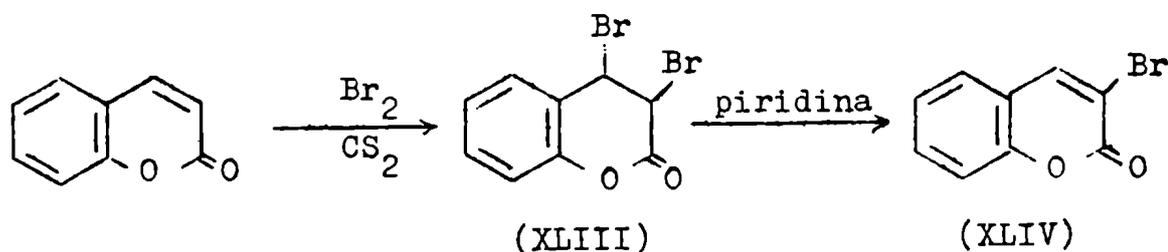
Bisulfito de sodio: Se adiciona a la doble ligadura 3,4. Ya se vió en el estudio de la obtención de ácidos cumáricos.

Cianuro de potasio: Se obtiene 4-ciano-dihidro-cumarina, que por hidrólisis da 4-carboxi-cumarina.

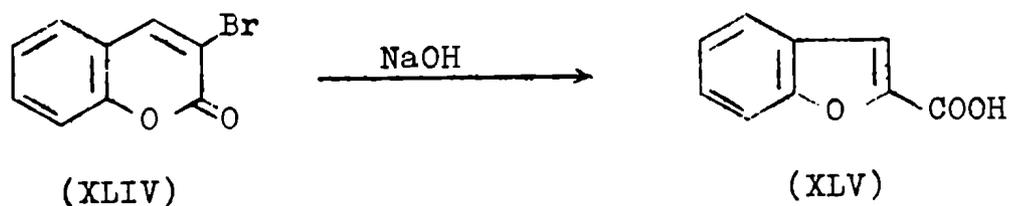
Diazometano: Este es un reactivo muy usado para metilar los hidroxilos fenólicos. Sin embargo puede atacar la doble ligadura 3,4 de las cumarinas formando un derivado de la pirazolina (XLII)(45).



Halogenación: La cumarina adiciona bromo y forma un dibromuro (XLIII), que pierde ácido bromhídrico fácilmente para dar 3-bromo-cumarina (XLIV)



En los primeros trabajos sobre cumarinas esta reacción sirvió como identificación de las mismas, ya que el 3-halo-derivado (XLIV) calentado en álcali alcohólico se convierte en el ácido cumarílico (XLV) correspondiente.



Cuando el 3-bromo-derivado (XLIV) se trata con bromo a 140°C da la 3,6-dibromo-cumarina y si el tratamiento se hace en presencia de iodo a 170°C se obtiene la 3,6,8-tri-bromo-cumarina.

Si se desea obtener cumarinas bromo-sustituídas solamente en el anillo bencénico se debe proceder sintéticamente o bromar cumarinas sustituídas en la posición 3. Así la 3-carboxietil-7-hidroxycumarina por tratamiento con un mol de bromo da el 8-bromo derivado correspondiente, con 2 moles da el 6,8-dibromo derivado y con exceso de bromo el 4,6,8-tri-bromo-derivado (46)

Aunque Elderfield (1) dice que la 4-metil-cumarina no se broma, la 4-metil-7,8-dihidroxi-cumarina da el 3 ó 3,6-dibromo-derivado, y la 4-metil-5,7-dihidroxi-cumarina da el 3 y el 3,8-dibromo-derivado (46).

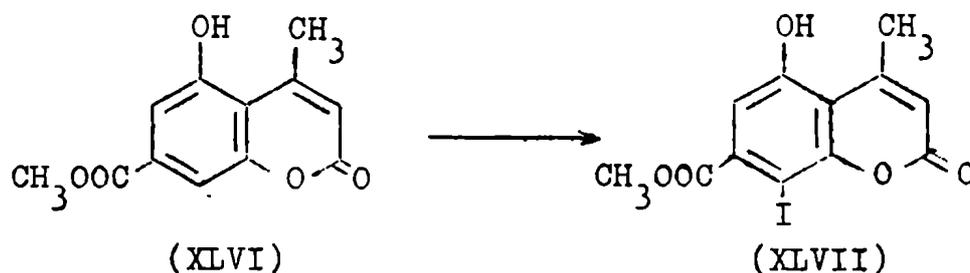
Un reactivo bastante usado para obtener bromo-cumarinas es la N-bromo-succinimida que da 3-bromo-cumarinas directamente. Si en la cumarina hay cadenas alquílicas en la posición 3, el carbono α de las mismas también resulta bromado.

Con respecto a la sustitución por cloro las reacciones son muy semejantes.

Para obtener iodo-cumarinas pueden usarse como agentes halogenantes el monocloruro de iodo, iodo y ácido iódico y iodo y amoníaco (47).

Así la 7-metoxi-cumarina con un mol de monocloruro de iodo da 3-iodo-7-metoxi-cumarina que en medio al-

calino sufre la degradación a ácido cumarílico. Cuando se utilizan cuatro moles del mismo reactivo se obtiene el 3,6-di-iodo-derivado. La 5-hidroxi-4-metil-6-carbometoxi-cumarina (XLVI) con cualquiera de los tres reac-

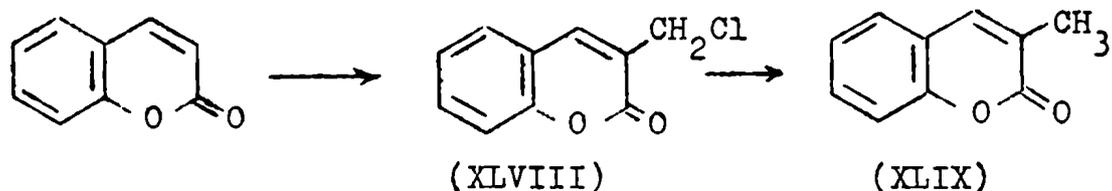


tivos da el 8-iodo-derivado(XLVII). Hay una serie muy amplia de ejemplos de esta reacción (47).

Todos los átomos de halógeno, con excepción de los de la posición 4 se comportan como halógenos aromáticos o vinílicos. Los de dicha posición en cambio, pueden ser eliminados con cinc y alcohol o reemplazados por grupos alcoxi o amino.

Nitración: El grupo nitro entra preferentemente en la posición 6 y en menor cantidad en la posición 8. Los productos son fácilmente reducidos a amino-cumarinas, sin afectar el anillo heterocíclico.

Clorometilación (48): La cumarina, la 4-metil-cumarina y la 7,8-dimetil-cumarina reaccionan con paraformaldehído y ácido clorhídrico para dar el 3-clorometil-derivado (XLVIII) el cual puede ser reducido a la 3-metil-cumarina (XLIX) correspondiente. La 7-metoxi-4-metil-cumarina da el 6-clorometil-derivado y cuando se la

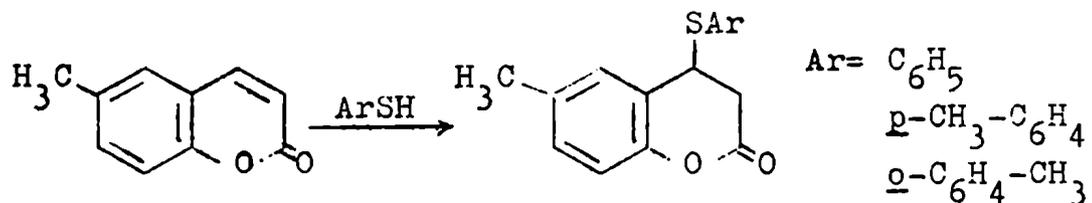


trata con exceso de reactivo se obtienen los 3,6 y 3,8-diclorometil-derivados respectivos, que pueden dar el 3,6,8-triclorometil-derivado.

Ni las dihidroxicumarinas, ni sus metil-éteres dan esta reacción.

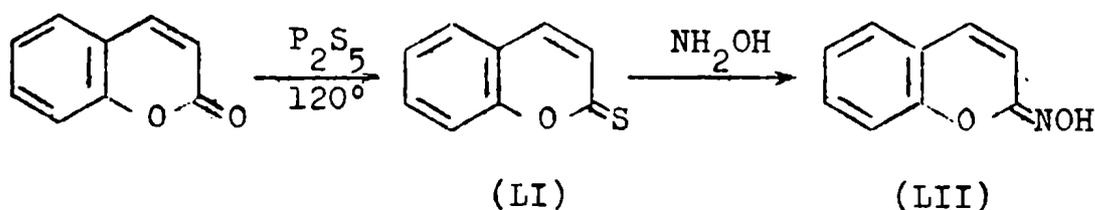
Con cloruro estánnico (49): Las soluciones diluidas de cumarinas en pentano forman un precipitado cuando se agregan soluciones de cloruro estánnico en el mismo solvente. El análisis del compuesto corresponde a la formación de un aducto entre dos moles de cumarina y uno de reactivo.

Tioles aromáticos (50): Estos reaccionan con las cumarinas en presencia o ausencia de piperidina para dar el correspondiente producto de adición (L) con 75-95 % de rendimiento.



Se descomponen por calentamiento en solución de hidróxido de potasio alcohólico al 4 %, en los productos originales. Las 4-metilcumarinas no dan el compuesto de adición.

Pentasulfuro de fósforo: Las cumarinas dan con este reactivo tio-cumarinas (LI).



Estos compuestos sirven para preparar las oximas (LII) y fenilhidrazonas de las cumarinas que no pueden ser obtenidas a partir de los productos originales directamente.

Pueden regenerarse las cumarinas, a partir de ellas, por tratamiento con ácido nítrico con cloruro de cinc o con bromo.

Sulfonación (51): Utilizando como agente de sulfonación ácido clorosulfónico se obtienen los ácidos sulfónicos y los cloruros de sulfonilo, que pueden transformarse en los anteriores por tratamiento con agua.

Por otra parte las sales de sodio de los ácidos sulfónicos por calentamiento con exceso de cloruro de sulfonilo dan los cloruros de sulfonilo, de manera que con estas transformaciones puede demostrarse que ambos grupos entran en la misma posición del núcleo cumar-

rínico.

En la sulfonación de la cumarina se obtiene el ácido 6-sulfónico (LIII). En las 7-hidroxicumarinas

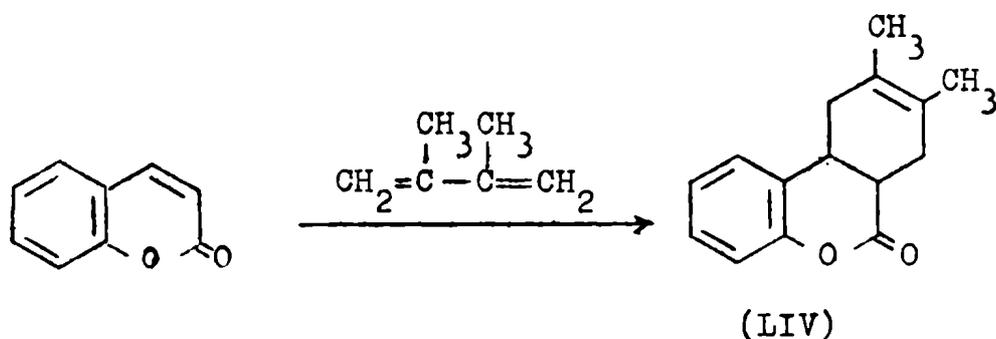


la posición más reactiva es la 6 y le siguen la 8 y la 3. En los 7-metoxi-derivados también es la posición 6 la más reactiva y le sigue la 3. En la 7-hidroxi o 7-metoxi-3,4-dimetil-6-etil-cumarina se obtiene el producto sustituido en 8 (52).

Reacción de Michael: Las cumarinas adicionan a la doble ligadura 3,4 cianacetamida, ester malónico y fenilacetato de etilo. Los grupos nitro, metilo y bromo en la posición 6 y los hidroxilos y metoxilos en la 7 disminuyen la velocidad de adición, mientras que los grupos alquilo en las posiciones 3 y 4 inhiben. Los grupos acilo o negativos en la posición 3 aumentan la reactividad de la doble ligadura y también la velocidad de reacción.

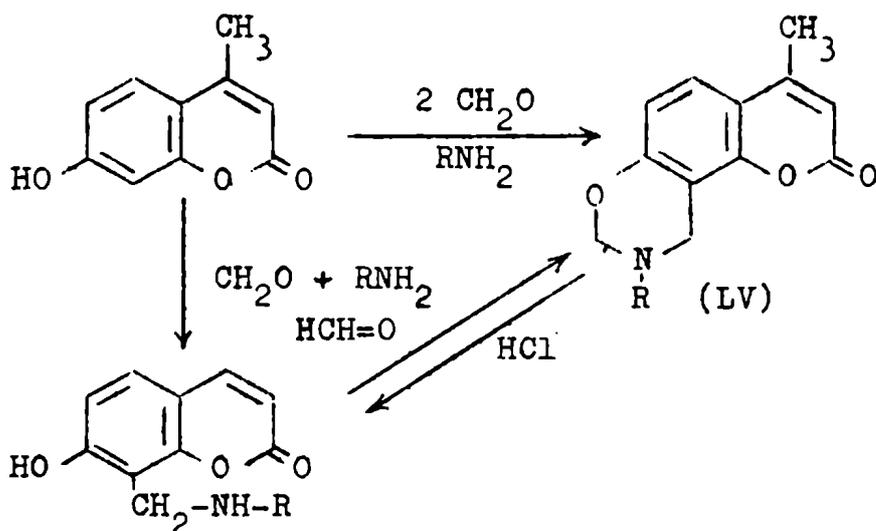
Reacción de Diels-Alder: La cumarina reacciona con 2,3-dimetil-butadieno a 260°C para dar el producto de adición a través de la doble ligadura 3,4 (LIV)

Los rendimientos son mejores a partir de los ácidos cis o trans-cinámicos.

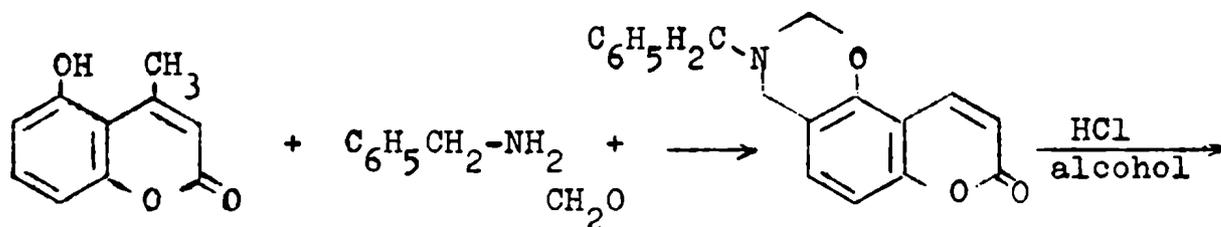


Reacción de Mannich (53): La 4-metil-7-hidroxicumarina con formaldehído y una amina primaria da el derivado oxazínico correspondiente (LV)

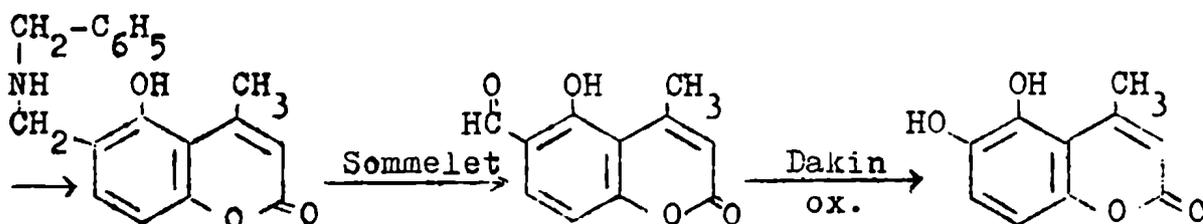
En todos los casos el nuevo sustituyente entra en la posición 8.



Lo mismo ocurre con las 4-metil-5-hidroxicumarinas (LVI)(54). El producto obtenido por una serie de reacciones puede transformarse en la 5,6-dihidroxi-4-metilcumarina.

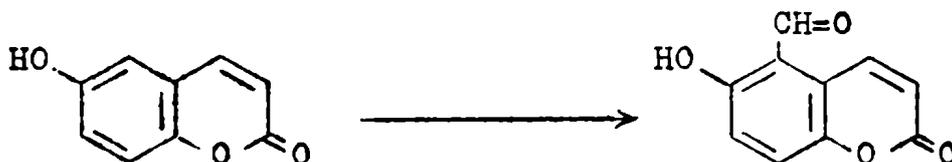


(LXI)

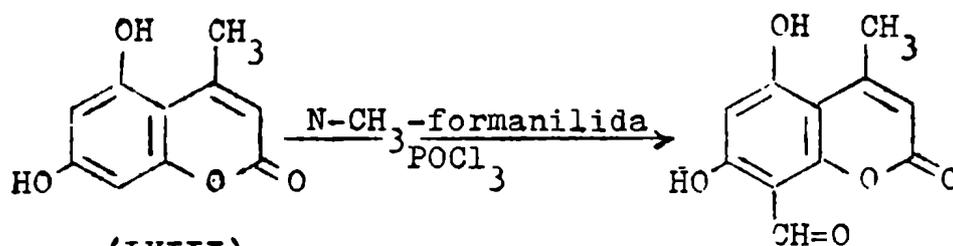


(LXII)

Formilación de hidroxycumarinas (55): Puede usarse como reactivo la hexametilentetramina. Ejemplos:



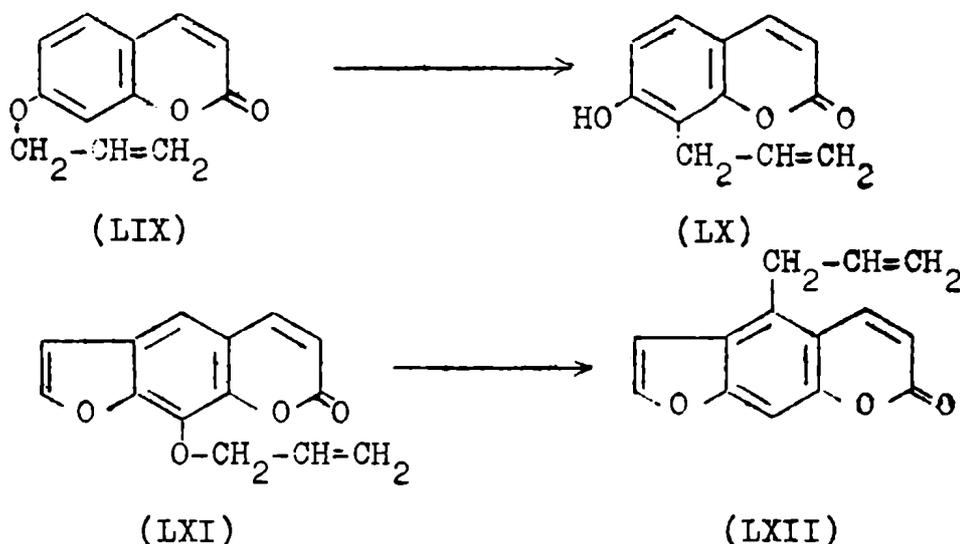
La 5,7-di-hidroxi (LVIII) y la 5,6,7-trihidroxi-4-metil-cumarina no se formilan en estas condiciones, en cambio sí lo hacen cuando se usa N-metil-formanilida (56)



(LVIII)

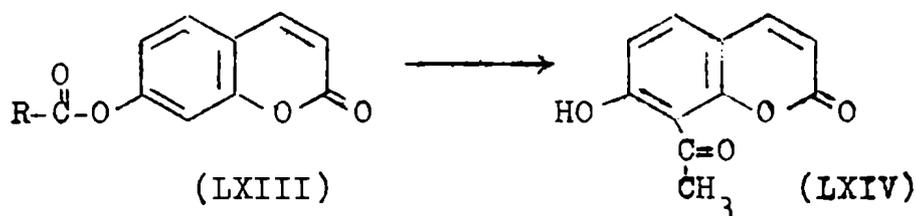
En este caso es mucho más difícil separar el producto de la cumarina que no reaccionó.

Reordenamiento de Claisen: La 7-alil-hidroxi-cumarina (LIX) da 8-alil-umbeliferona (LX) y la imperatorina (LXI) da alo-imperatorina (LXII)(57).



Sin embargo Chudhury y col. (58) trataron la 5, 6, 7, y 8- γ,γ -dimetil-alil-oxi-cumarinas en tubo cerrado, en benceno o xileno y en todos los casos se pierde el grupo dimetil-alilo o no se produce transposición.

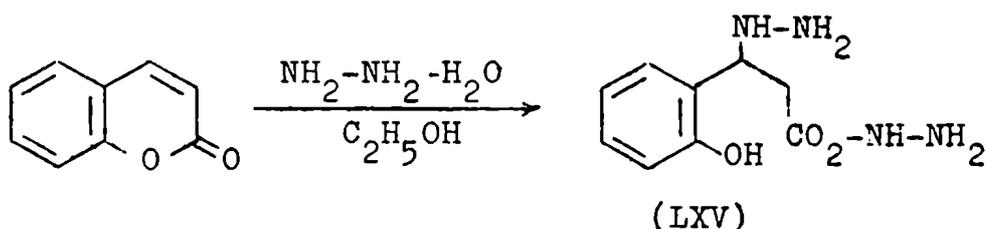
Reordenamiento de Fries: Los esteres de la umbeliferona (LXIII) dan 8-acil-7-hidroxicumarinas (LXIV)



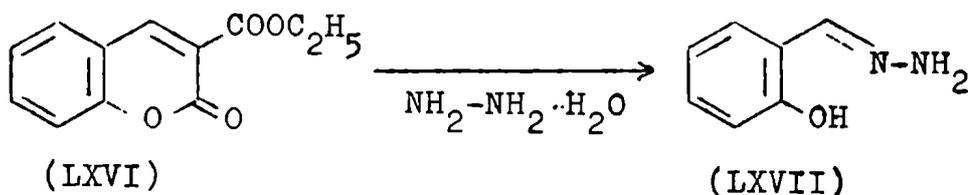
Si la posición 8 está ocupada reaccionan con la 6 pero con considerable dificultad.

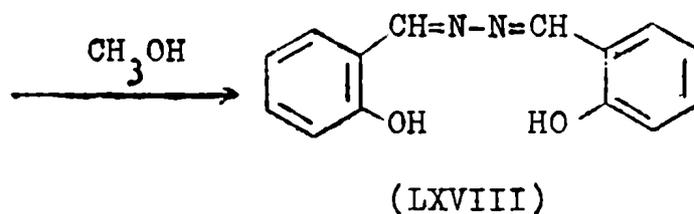
La 7-hidroxi-4-metil-cumarina reacciona con cloruro de acetilo y de benzoílo, en presencia de cloruro de aluminio para dar el derivado acilado correspondiente en la posición 8 (59) y la 5-hidroxi-4-metil-cumarina da con cloruro de benzoílo la 5-hidroxi-4-metil-6-benzoílo-cumarina.

Reacción con hidrato de hidracina: La reacción fue descubierta por Darapsky y col. (60). Cuando trataban cumarina, con hidrato de hidrazina en alcohol se obtenía la hidracino-hidrazida del ácido *o*-hidroxi-cinámico (LXV).

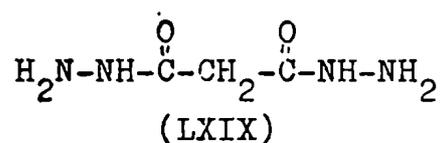


Más tarde Chiodoni (61) operó con gran exceso de reactivo y a temperatura ambiente sobre la 3-carbetoxi-cumarina (LXVI) y obtuvo la hidrazona del aldehído salicílico (LXVII) que por tratamiento con alcohol en caliente da salicilaldazina (LXVIII)

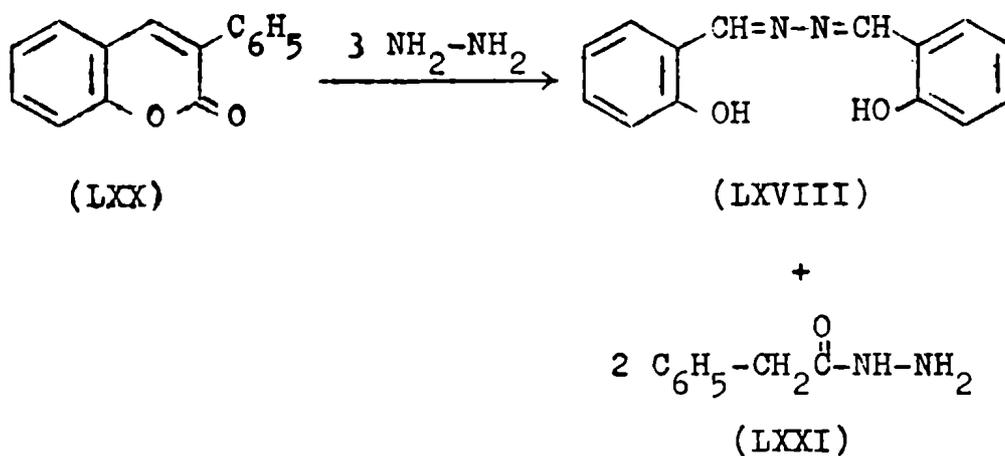




Esta reacción es prácticamente la inversa de la condensación de Knoevenagel. Cuando se efectuó en etanol obtuvieron además la malondihidracida (LXIX).



Marini-Bettolo y col. (62) estudiaron la misma reacción sobre la 3-fenilcumarina (LXX) y aislaron directamente la salicilaldazina (LXVIII) y además la hidrazida del ácido fenilacético (LXXI).

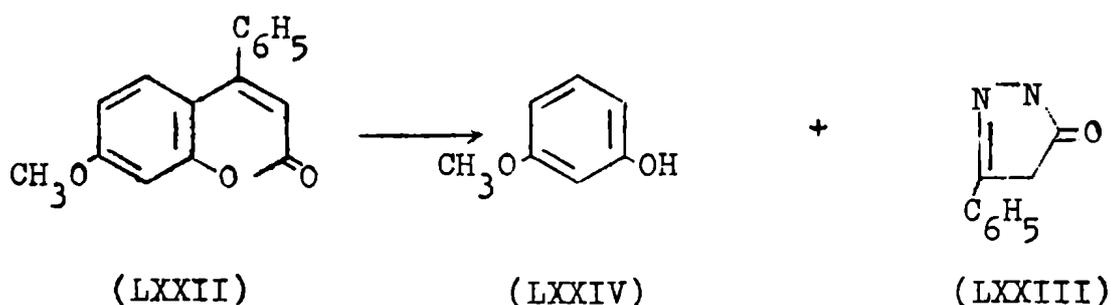


De manera que la hidracina es capaz de actuar sobre el anillo de la cumarina saponificando la unión

O-CO y rompiendo la doble ligadura entre los átomos de carbono 3 y 4. Esta reacción puede ser considerada como una retro Bertagnini-Perkin, por que se forman los dos productos de partida de ella.

Cuando realizaron la reacción sobre la cumarina misma obtuvieron también salicilaldazina.

Cuando se trata de cumarinas 4-sustituídas la ruptura se produce de distinto modo (63).



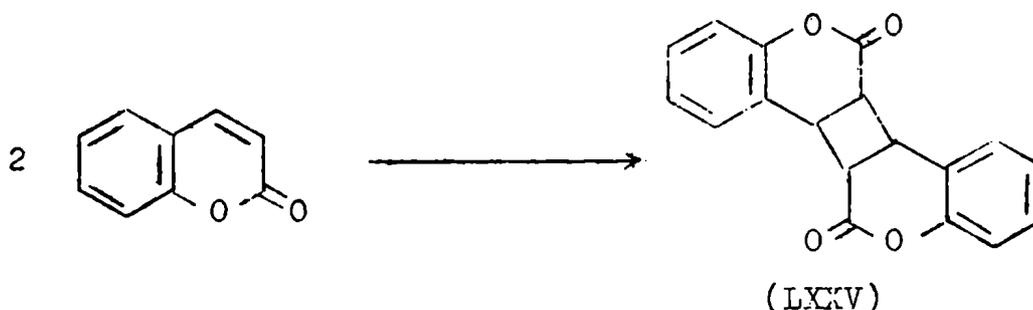
Se obtiene a partir de 7-metoxi-4-fenilcumarina (LXXII) la 3-fenil-5-pirazolona (LXXIII) y el mono-metil eter de la resorcina (LXXIV). Esta reacción también se produce con la 7-hidroxi-4-metil-cumarina de manera que no hace falta el sustituyente aromático. En este caso la reacción puede considerarse como la inversa de la síntesis de cumarinas de Pechmann.

Los rendimientos están alrededor del 65-75 %.

Este método es superior a la degradación alcalina en el estudio de estructuras pues da mejores rendimientos y además se obtienen en los productos todos los átomos de carbono de la sustancia original.

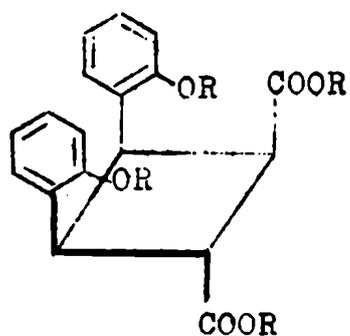
Dimerización: Cuando la cumarina se expone a

la luz solar da un dímero que tiene una estructura de ciclobutano, en el cual están involucradas las dobles ligaduras 3,4 de ambas moléculas (LXXV). Por calentamiento se descompone dando las dos moléculas que le dieron origen.

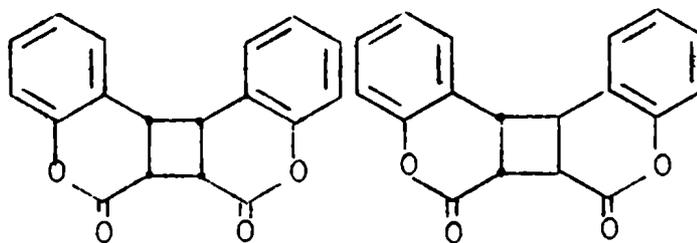


Anet (64) preparó el dímero irradiando soluciones alcohólicas de cumarina. Luego lo disolvió en álcali en caliente y acidificó el producto a temperatura inferior a los 0°C y finalmente metiló totalmente el producto. Obtuvo así la sustancia (LXXVI) y por estudios de resonancia magnética nuclear de la misma y espectroscopía infrarroja del anhídrido producido a partir de él llegó a la conclusión de que la estructura del dímero era del tipo del ácido truxínico (cabeza-cabeza, cis-ciclobutano)(LXXVII).

Hammond y col. (65) lo obtuvieron irradiando soluciones bencénicas de cumarina que contenían benzofenona. En este caso se formó el producto trans (LXXVIII).



(LXXVI)



(LXXVII)

(LXXVIII)

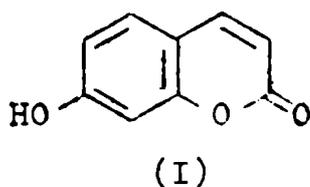
Estos autores probaron la irradiación de soluciones de los distintos dímeros en el solvente diferente de aquel en el cual habían sido obtenidos, para ver si se producía foto-isomerización, pero los resultados fueron negativos. Además demostraron que la benzofenona no es necesaria para que se produzca el compuesto (LXXVIII).

CUMARINAS EN LA NATURALEZA

Numerosas sustancias en cuya estructura se encuentra el núcleo cumarínico han sido aisladas de vegetales, especialmente en las familias Orchidaceae, Leguminosae, Rutaceae, Umbelliferae, Labiatae y otras de menor importancia.

Se han identificado hasta el presente 127 cumarinas.

Entre las cumarinas naturales, a excepción de la cumarina misma, el dicumarol y la dihidrocumarina, todas tienen una función oxigenada en la posición 7, cuyo ejemplo más sencillo es la umbeliferona (I), que



posee un grupo hidroxilo en dicha posición.

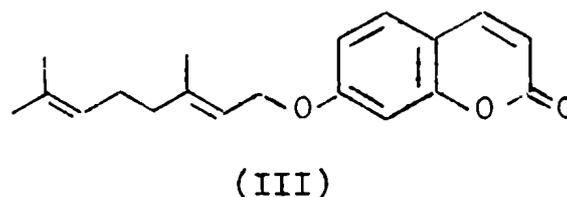
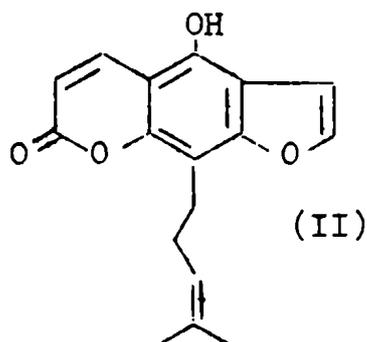
Esta función oxigenada puede estar involucrada en un tercer ciclo, que puede cerrarse en las posiciones 6 u 8 del ciclo cumarínico, dando lugar a las furocumarinas o piranocumarinas de estructura lineal o angular.

Las hidroxycumarinas pueden hallarse en las plantas al estado libre o en forma de glucósido.

No se han encontrado cumarinas que posean un

hidroxilo en la posición 3, y hay pocos casos con hidroxilo en la posición 4. Estos últimos compuestos se diferencian mucho de las otras oxicumarinas, debido a que poseen un sistema de β -cetoester, el cual les confiere solubilidad en soluciones de bicarbonatos alcalinos. Además este grupo ácido es fácilmente atacado por varios reactivos.

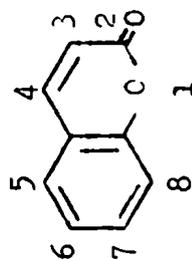
Muchas de ellas llevan unida directamente al ciclo, o a través de un oxígeno, en una función etérea, una cadena alquílica, formada por una, dos o tres unidades isoprénicas, p. ej. la psoralidina (II) y la colli-nina (III).



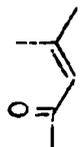
En las páginas siguientes damos una tabla con todas las cumarinas naturales de estructura conocida aisladas hasta el presente. La misma se ha confeccionado en base a la dada por T. O. Soine (5) y se ha completado hasta el 31 de diciembre de 1964 (Chemical Abstracts).

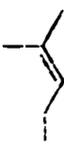
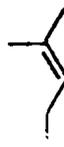
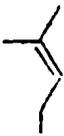
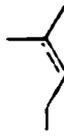
Figuran sin embargo algunas publicadas con posterioridad a esa fecha. Se dan referencias solamente de las sustancias que no figuran en la tabla de Soine.

CUMARINAS SIMPLES



Nº	NOMBRE	Pf °C	-----POSICION DE LOS SUSTITUYENTES-----						Ref.
			4	5	6	7	8		
1	Cumarina	67-68	H	H	H	H	H	H	
2	Umbeliferona	223-224	H	H	H	OH	H	H	
3	Eskimimira	219-221	H	H	H	O-glucósido	H	H	
4	Neohydrangina	204	H	H	H	O-diglucósido	H	H	
5	Herniarina	114	H	H	H	OCH ₃	H	H	
6	Umbeliprenina	61-63	H	H	H		H	H	
7	Aurapteno	68	H	H	H		H	H	
8	Marmina	125	H	H	H		H	H	
9	Esculetina	268-272 (desc.)	H	H	OH	OH	OH	H	
10	Esculina	205	H	H	O-glucósido	OH	OH	H	

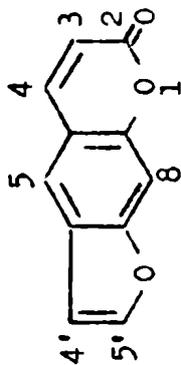
N°	NOMBRE	Pf °C	POSICION DE LOS SUSTITUYENTES					Ref.
			4	5	6	7	8	
11	Cicorina	213-215	H	H	OH	O-glucósido	H	
12	Escopoletina	205	H	H	OCH ₃	OH	H	
13	Escopolina	217-219	H	H	OCH ₃	O-glucósido	H	
14	Angelical	256-257	H	H	CHO	OCH ₃	H	
15	Glabralactona	129-130	H	OCH ₃	H	OCH ₃	H	
16	Fabiatrina	236-238	H	H	OCH ₃	O-primerósido	H	
17	Ayapina	231-232	H	H	O—CH ₂ —O		H	
18	Escoparona	144-146	H	H	OCH ₃	OCH ₃	H	
19	Dafnetina	255-256 (desc.)	H	H	H	OH	OH	
20	Dafnina	223-224	H	H	H	O-glucósido	OH	
21	Glucósido de la dafnetina	197-198	H	H	H	OH	O-glucósido	
22	Citropteno	146-147,5	H	OCH ₃	H	OCH ₃	H	
23	5-Geranoxi-7-me- toxi-cumarina	86-87	H		H	OCH ₃	H	H
24	Colinina	67-68	H	H	H		OCH ₃	

N°	NOMBRE	Pf °C	----- POSICION DE LOS SUSTITUYENTES -----						Ref.
			4	5	6	7	8		
25	Fraxinol	171-173	H	OCH ₃	OH	OCH ₃	H	H	
26	Fraxetina	227-228	H	H	OCH ₃	OH	OH	OH	
27	Fraxina	205	H	H	OCH ₃	OH	O-glucósido		
28	Fraxidina	196-197	H	H	OCH ₃	OCH ₃	OH	OH	
29	Isofraxidina	148-149	H	H	OCH ₃	OH	OCH ₃		
30	Calicantósido	219-220	H	H	OCH ₃	O-glucósido	OCH ₃		
31	6,7,8-trimetoxi- cumarina	104	H	H	OCH ₃	OCH ₃	OCH ₃		
32	Ostenol	124-125	H	H	H	OH			
33	Veleina	187,5-189	H	H	H	O-glucósido			
34	Ostol	83-85	H	H	H	OCH ₃			
35	Merangina	98	H	H	H	OCH ₃			
36	7-demetil-sube- rosina	133,5-134	H	H		OH	H		
37	Suberosina	87-88	H	H		OCH ₃	H		
38	Ostrutina	117-119	H	H		OH	H		

N°	NOMBRE	PF	POSICION DE LOS SUSTITUYENTES						Ref.
			4	5	6	7	8		
39	Geljerina	121	H	H		OCH ₃	H		
40	Todaculina	95	H	OCH ₃		OCH ₃	H		
41	Angelicona	130	H	OCH ₃		OCH ₃	H		
42	Todalolactona	131-132,5	H	H	OCH ₃	OCH ₃	H		
43	Hidrato de aculea- tina	131-132,5	H	OCH ₃		OCH ₃	H		
44	Aculeatina	113	H	OCH ₃		OCH ₃	H		
45	Brayleyanina	95	H	H	OCH ₃				
46	Dalbergina	209-210	C ₆ H ₅	H	OH	OCH ₃	H		
47	Mammeina	128,5-129	n-C ₃ H ₇	OH		OH			
48	4-fenil-5,7-di- hidroxi-6-isova- leril-8-isopen- tenil-cumarina	98-109	C ₆ H ₅	OH		OH			
49	Calcicolina	172	H	H	H	OH	-CH ₂ CH(OH)· -OPT.-iso	(66)	

FUROCUMARINAS

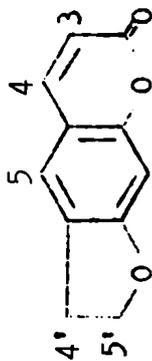
Tipo psoraleno



N°	NOMBRE	Pf °C	POSICION DE LOS SUSTITUYENTES				Ref.
			5	4'	5'	8	
50	Psoraleno	161-163	H	H	H	H	
51	Bergaptol	278-282	OH	H	H	H	
52	Bergapteno	188-191	OCH ₃	H	H	H	
53	Isoimperatorina	109		H	H	H	
54	Bergamottina	59-61		H	H	H	
55	Oxipeucedanina	141-143		H	H	H	
56	Ostruthol	136-137		H	H	H	
57	Xantotoxol	249-251	H	H	H	OH	
58	Xantotoxina	145-146	H	H	H	OCH ₃	

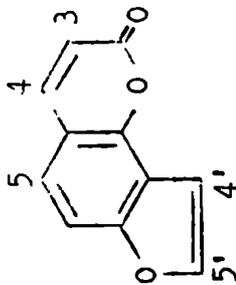
N°	NOMBRE	Pf	POSICION DE LOS SUSTITUYENTES				Ref.
			5	4'	5'	8	
59	Prangenina	97	H	H	H	OC ₄ H ₉ (n)	(67)
60	Imperatorina	102-105	H	H	H		
61	Heracleina	111	H	H	H		
62	5-metoxi-8-hidroxi-psoraleno	210-212	OCH ₃	H	H	OH	
63	Isopimpinina	148-151 (desc.)	OCH ₃	H	H	OCH ₃	
64	Felopterina	102	OCH ₃	H	H		
65	Byacangelicol	106	OCH ₃	H	H		
66	Ferulina	87	OCH ₃	H	H		
67	Byacangelicina	125-126	OCH ₃	H	H		
68	Psoralidina	315 (desc.)	OH	H	H		
69	Peucedanina	109	H	OCH ₃			

Tipo dihidropsoraleno



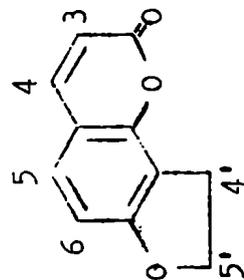
Nº	NOMBRE	Pf °C	POSICION DE LOS SUSTITUYENTES					Ref.
			3	4'	5'	5	8	
70	Nodakenetina	185-192	H	H	—<— OH	H	H	H
71	Marmesina	189,5	H	H	—<— OH	H	H	H
72	Nodakenina	215-219	H	H	—<— O-glucósido	H	H	H
73	Marmesinina	259-260	H	H	—<— O-glucósido	H	H	H
74	Cuspidatina	167-168		H	—<— OH	H	H	H (68)

Tipo ang icina



Nº	NOMBRE	Pf °C	POSICION DE LOS SUSTITUYENTES				Ref.
			5	6	5'	4'	
75	Angelicina	138-140	H	H	H	H	
76	Isobergapteno	218-222	OCH ₃	H	H	H	
77	Esfondina	192-193	H	OCH ₃	H	H	
78	Esfondilina	161-163	Mono-metoxi-furocumarina, de estructura no de-terminada, isómera de las Nº 76 y 77				
79	Pimpinellina	117-119	OCH ₃	OCH ₃	H	H	
80	Archangelina	132					(69)

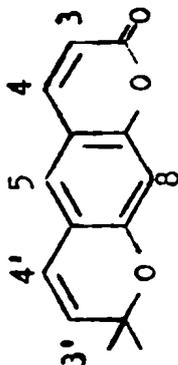
Tipo dihidroangelicina



Nº	NOMBRE	Pf °C	POSICION DE LOS SUSTITUYENTES			Ref.
			5	6	4'	
81	Columbianetina	164,5-165	H	H	H	
82	Columbianina	275-276 (con 2 de H ₂ O)	H	H	H	
83	Columbianadina	121-122	H	H	H	
84	Discoforidina	134-135	H	H	H	
85	Atamantina	58-60	H	H	H	
86	Eduiltina	138-140	H	H	H	
87	Archangelicina	100,5-102	H	H	H	(70)

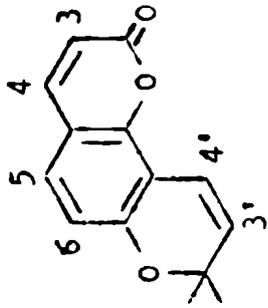
PIRANOCUMARINAS (CROMENO- α -PIRINAS)

Tipo xantiletina



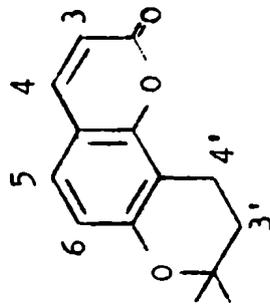
N°	NCJERE	Pf °C	POSICION DE LOS SUSTITUYENTES	Ref.
88	Xantiletina	128-131	4 H	8 H
89	Xantoxiletina	132	4 H	8 H
90	Luvangetina	108-109	4 H	8 OCH ₃

Tipo seselina



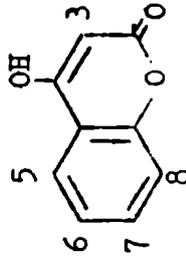
N°	NOMBRE	Pf °C	POSICION DE LOS SUSTITUYENTES				Ref.
			4	5	6	4'	
94	Seselina	119-120	H	H	H	H	
95	Braylina	150	H	H	OCH ₃	H	
96	Mammeigina	144-146	-C ₆ H ₅	OH		H	(71)

Tipo dihidrosesolina



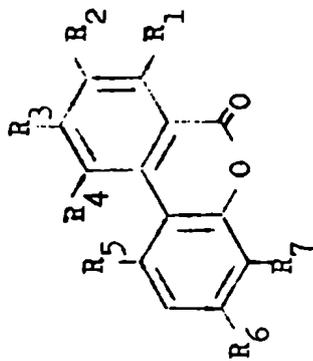
N°	NOMBRE	Pf °C	POSICION DE LOS SUSTITUYENTES				Ref.
			5	6	3'	4'	
97	Lomatina	187-188	H	H	OH	H	(72)
98	Jatamansina	97-98	H	H	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{-O-C-C=CH} \\ \alpha \quad \text{CH}_3 \end{array}$	H	(73)
99	Selinidina	97-98	H	H	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{-O-C-CH-CH}_3 \\ \parallel \\ \text{O} \end{array}$	H	(74)
100	Samidina	138-139	H	H	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{-O-C-C-CH}_3 \\ \parallel \\ \text{O} \end{array}$	OOC-CH ₃	
101	Dihidrosamidina	111-113	H	H	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{-O-C-CH-CH}_3 \\ \parallel \\ \text{O} \end{array}$	OOC-CH ₃	
102	Visnadina	85-88	H	H	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{-O-C-CH-CH}_3 \\ \parallel \\ \text{O} \end{array}$	OOC-CH ₃	
103	Suksdorfina	140, 5-141	H	H	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{-O-C-CH-CH}_3 \\ \parallel \\ \text{O} \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{-O-C-CH-CH}_3 \\ \parallel \\ \text{O} \end{array}$	
104	Pterixina	81, 5-82, 5	H	H	OOC-CH ₃	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{-O-C-CH-CH}_3 \\ \parallel \\ \text{O} \end{array}$	

4-HIDROXICUMARINAS



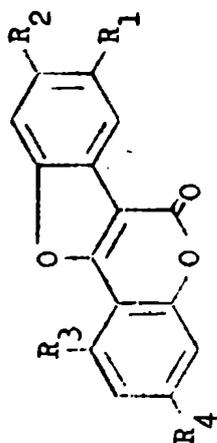
Nº	NOMBRE	Pf °C	POSICION DE LOS SUSTITUYENTES					Ref.
			3	5	7	8		
105	Ferulenol	64-65		H	H	H	H	(75)
106	Amoresinol	107-108		H	H	OH	H	
107	Dicumarol	288-289		H	H	H	H	
108	Novobiocina			H	H	OH	CH ₃	
109	Isoshekanigenina	228		H	OCH ₃	OH	H	
110	Isoshekanina	253		H	OCH ₃	O-glucósido	H	

3,4-BENZOCUMARINAS



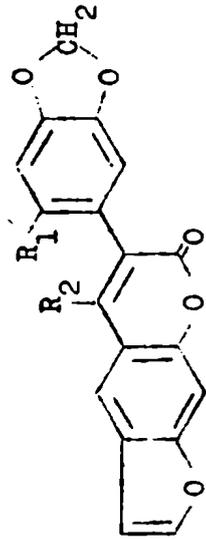
Nº	NOMBRE	Pf °C	POSICION DE LOS SUSTITUYENTES							Ref.
			R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆	R ₇	
111	2',3'-dihidroxi- dibenzo-(X)-pirona (desc.)	360	H	OH	H	H	H	OH	H	
112	Alternariol (desc.)	350	OH	H	OH	H	CH ₃	OH	H	
113	Eter metílico del Alternariol	267	OH	H	OH	H	CH ₃	OCH ₃ (o OH)	H	
114	Dilactona del ácido 3,5,3',5'-dihidro- xi-difénico	360	H	OH	H	O	OC	OH	H	
115	Dilactona del ácido 3,5,3',5'-dihidro- xi-4,4'-dimetoxi-di- fénico	337-338	H	OH	OCH ₃	O	OC	OH	OCH ₃	
116	Acido ellágico	360	H	OH	OH	O	OC	OH	OH	

3-FENILCUMARINAS (Y DERIVADOS) (A)



N°	NOMBRE	Pf	POSICION DE LOS SUSTITUYENTES				Ref.
			R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	
117	Coumestrol	385	H	OH	H	OH	
118	Wedelolactona	...	OH	OH	OH	OCH ₃	

(B)



Nº	NOMBRE	Pf	POSICION DE LOS SUSTITUYENTES		Ref.
119	Pachyrrhizina	°C	R ₁	R ₂	
120	Erosnina	•••	OCH ₃	H	

CUMARINAS MISCELANEAS

Ref.

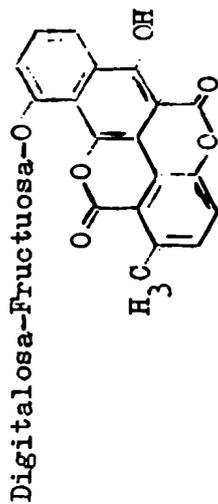
ESTRUCTURAS

Pf

NOMBRE

Nº

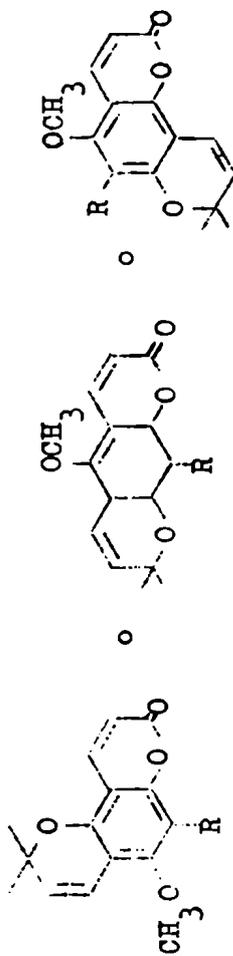
°C



184-186

Chartreusina

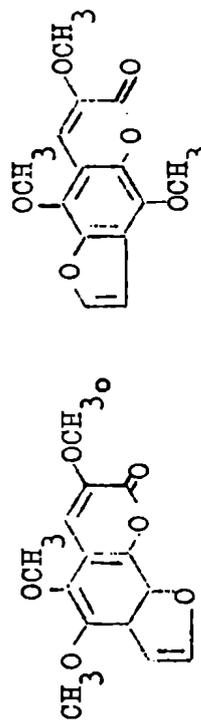
121



141-142

Avicennina

122



136-137

Halfordina

123

Ref.

ESTRUCTURAS

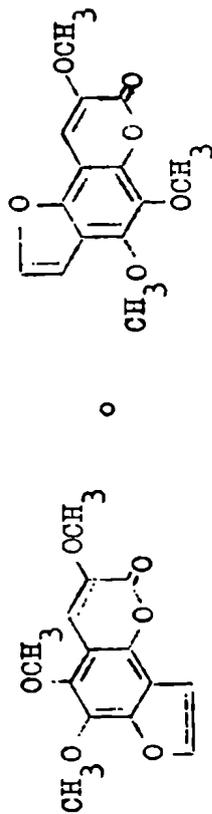
Pf

oC

Nº NOMBRE

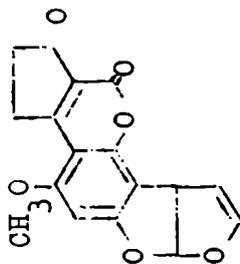
124 Isohalforidina

151-152



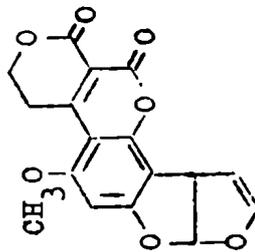
125 Aflatoxina B

268-269



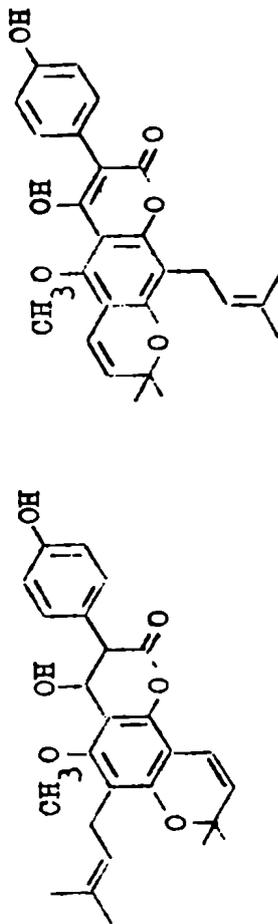
126 Aflatoxina G

244-246



127 Escandenina

...

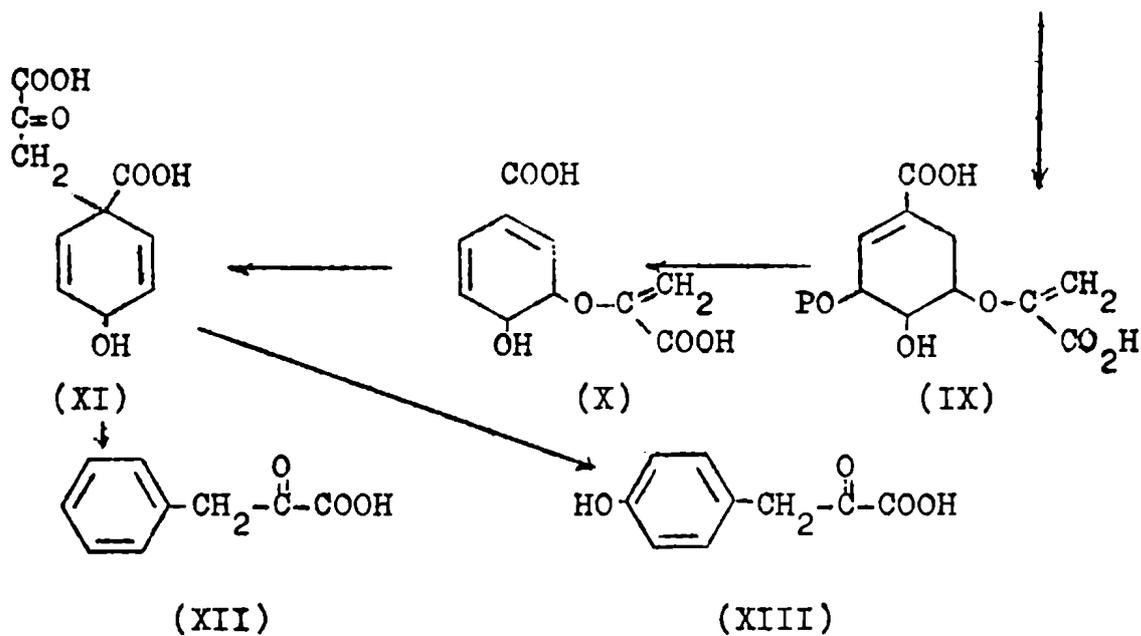
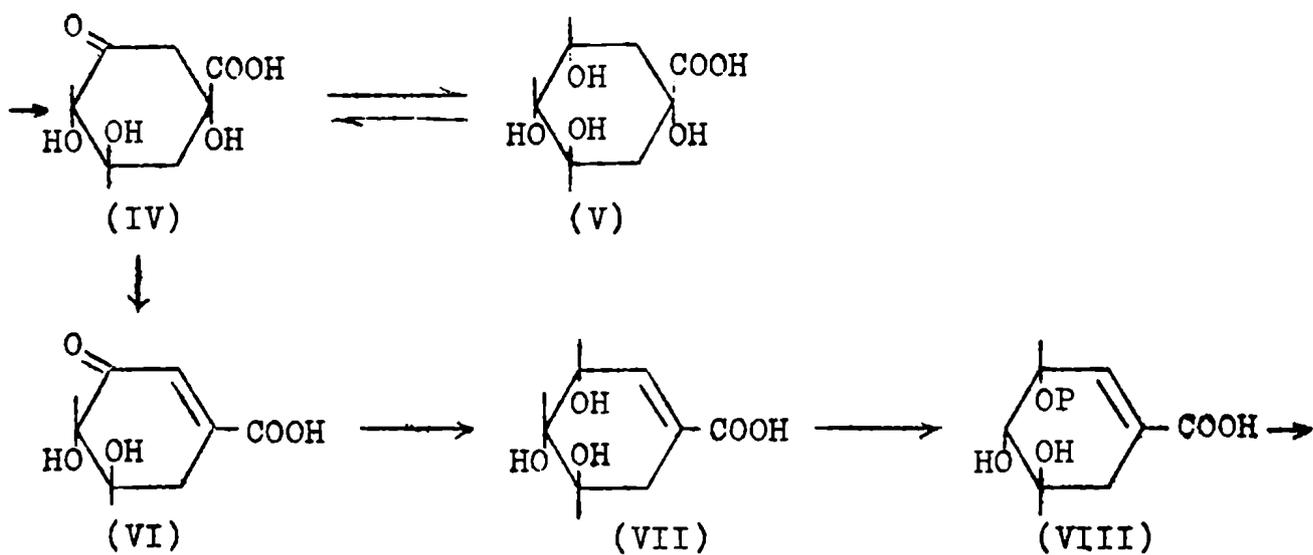
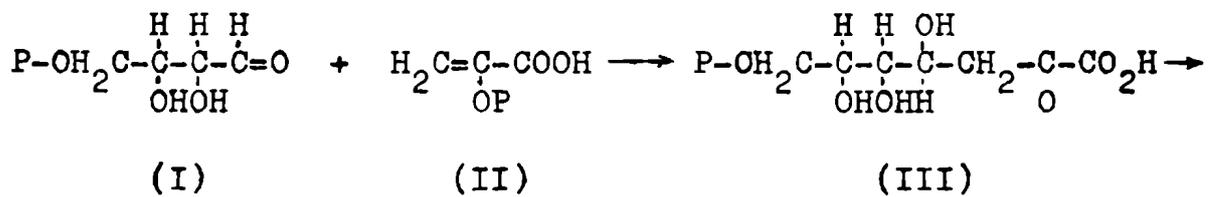


BIOSINTESIS (77)(78)(79)

El ciclo aromático puede formarse en la naturaleza por dos caminos diferentes. Uno de ellos involucra como intermediario un ácido poli- β -cetónico que se produce por unión cabeza cola de varias moléculas de acetato (80). En el otro el intermediario es el ácido shiquímico, que tiene su origen en los hidratos de carbono (81).

Todos los estudios realizados hasta el presente demuestran que indudablemente las cumarinas derivan del ácido shiquímico.

El mecanismo de formación de este último en el Escherichia coli, y posiblemente en otros microorganismos y plantas es el siguiente: Una molécula de eritrosa-4-P (I) y una de ácido P-enol-pirúvico (II) se unen para dar una de ácido 2-ceto-3-deoxi-D-arabo-heptónico-7-P (III). Esta se transforma en el ácido 5-dehidroquínico (IV). Este último está en equilibrio con el ácido quínico (V), que no es intermediario en la formación de ácido shiquímico. El ácido 5-dehidroquínico (IV), pasa por el ácido 5-dehidroshiquímico (VI), para dar el ácido shiquímico (VII). Posiblemente este último se fosforile, dando el ácido shiquímico-5-P (VIII) que con otra molécula de ácido P-enol-pirúvico (II) daría el ácido enolpirúvico-shiquímico-5-P (IX), luego el ácido corismico (X) y por reordenamiento de este el ácido prefénico (XI). Este último puede transformarse en el ácido fenil-pirúvico (XII) o en



el ácido *p*-hidroxi-fenil-pirúvico (XIII).

Se obtienen así dos ácidos del tipo del fenilpropano, que pueden ser luego transformados en los correspondientes cinámicos y *p*-cumárico.

Existen además en las plantas dos enzimas: la fenilalanina deaminasa y la tirasa que transforman los amino ácidos fenilalanina y tirosina respectivamente en los ácidos antes mencionados.

Varios autores probaron una serie de sustancias como precursores de cumarinas, administrando los compuestos marcados con ^{14}C a distintas plantas capaces de producirlas. En ninguno de los casos el acetato fue incorporado (82)(83)(84).

Con cultivos de raíz de Melilotus officinalis (82) la fenilalanina uniformemente marcada y la glucosa $1\text{-}^{14}\text{C}$ fueron utilizadas en la biosíntesis.

Los ácidos *o*-cumárico (XV), trans-cinámico (XIV) y el shiquímico (83), probaron ser precursores, cuando se trabajó sobre Melilotus Alba. Mientras que el primero de ellos se incorporó en la cumarina producida, los otros dos lo hicieron en la aglucona del glucósido del ácido *o*-cumárico (XV). De manera que es posible que el ácido trans-cinámico (XIV) sufra una *o*-hidroxilación para dar ácido *o*-cumárico (XV). Este último por isomerización pasaría de la forma trans a la cis y se lactonizaría dando cumarina.

Brown y col. (84) trabajando sobre Hierochloë

odorata confirmaron que la incorporación de precursores era mayor en la aglicona del glucósido o-cumárico (XVI), lo cual está en apoyo de que este último compuesto es un intermediario en la formación de cumarina. Cuando compararon la eficiencia del glucósido con la del ácido cinámico como precursores, ambos resultados fueron semejantes. En cambio la del ácido melilótico resultó ser mucho menor.

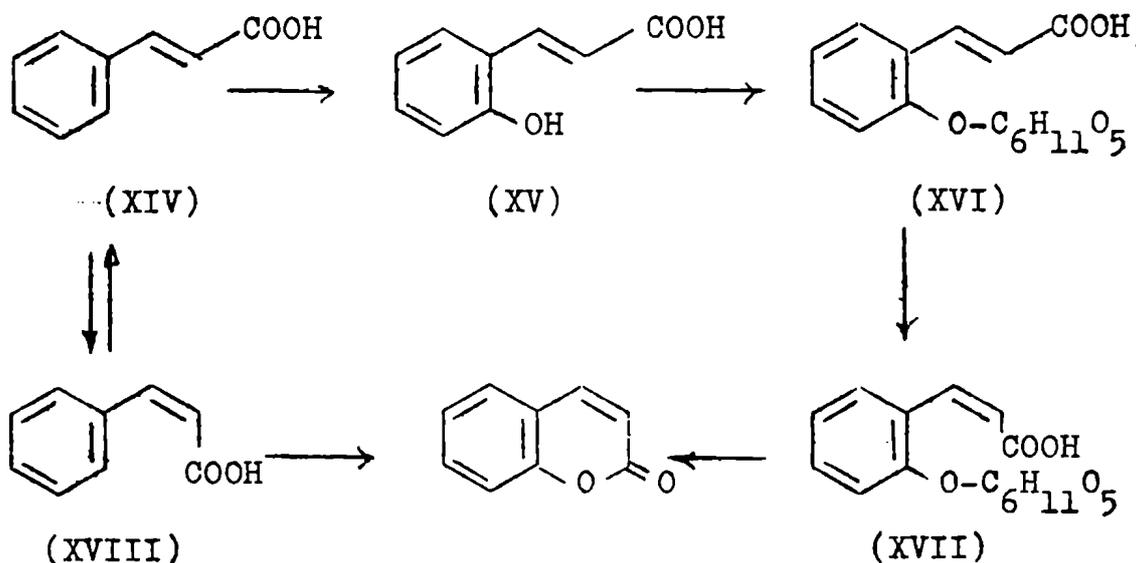
Schwarze (85) demostró la existencia en los extractos de M. alba de un glucósido, que tratado con β -glucosidasa (emulsina) daba cumarina. Las propiedades de este compuesto coincidían con las del glucósido del ácido cumárico (XVII) (isómero cis del ácido o-cumárico) y ha sido encontrado en todas las plantas que contienen cumarinas. Aun no se lo ha cristalizado, pero parece ser la "cumarina combinada".

Haskin y Gorz (86) presentaron evidencias de la presencia de los β -glucósidos de los ácidos o-cumárico (XVI) y cumárico (XVII) en la Dipteryx odorata, así como la de una glucosidasa específica para el glucósido cis. Parece entonces que en esta planta la cumarina se sintetiza a través de la conversión del glucósido del ácido o-cumárico (XVI) al del ácido cumárico (XVII), el cual bajo condiciones apropiadas es hidrolizado para dar el ácido libre que espontáneamente se lactoniza a la cumarina.

Stoker y Bellis (87) encontraron (sobre M. alba) que el ácido cis-cinámico (XVIII) era un eficiente precursor. Este podría sufrir rápidamente o-hidroxilación

a ácido cumarínico que se transformaría inmediatamente en cumarina.

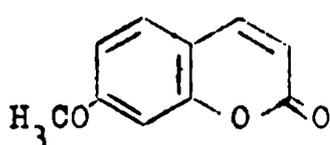
De esta manera operarían dos mecanismos de formación cuyas series de reacciones serían:



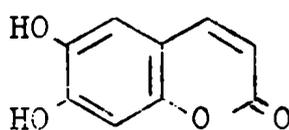
Haskin y Gorz (88) convirtieron el β -glucósido del ácido o-cumárico (XVI) en el isómero cis, (β -glucósido del ácido cumarínico) (XVII), por exposición de extractos de M. alba a la luz ultravioleta, de manera que sugirieron que la isomerización biosintética no era enzimática. Stoker (89) administró a la planta ácido trans-cinámico- 3^{14}C y encontró que había conversión apreciable en cumarina en la oscuridad. Además cuando un extracto de planta capaz de producir la conversión era previamente calentado a 100°C perdía esta propiedad. De manera que quedó demostrado que la conversión era enzimática.

Hay una serie de cumarinas cuya forma de susti-

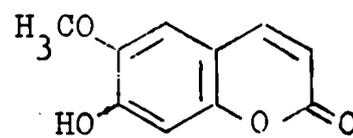
tución está íntimamente relacionada con la de ácidos cinámicos hidroxilados y metoxilados y se ha comprobado que esta relación metabólica existe. Por ejemplo: la herniarina (XIX) con el ácido *p*-metoxi-cinámico (XX), la aesculetina (XXI) con el ácido caféico (XXII) o la escopoletina (XXIII) con el ácido ferúlico (XXIV).



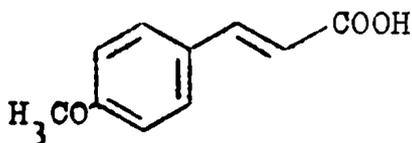
(XIX)



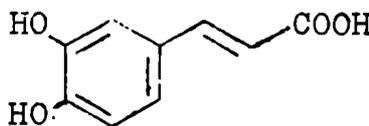
(XXI)



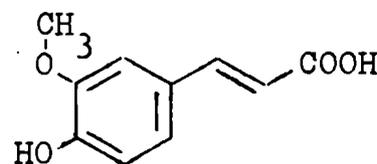
(XXIII)



(XX)



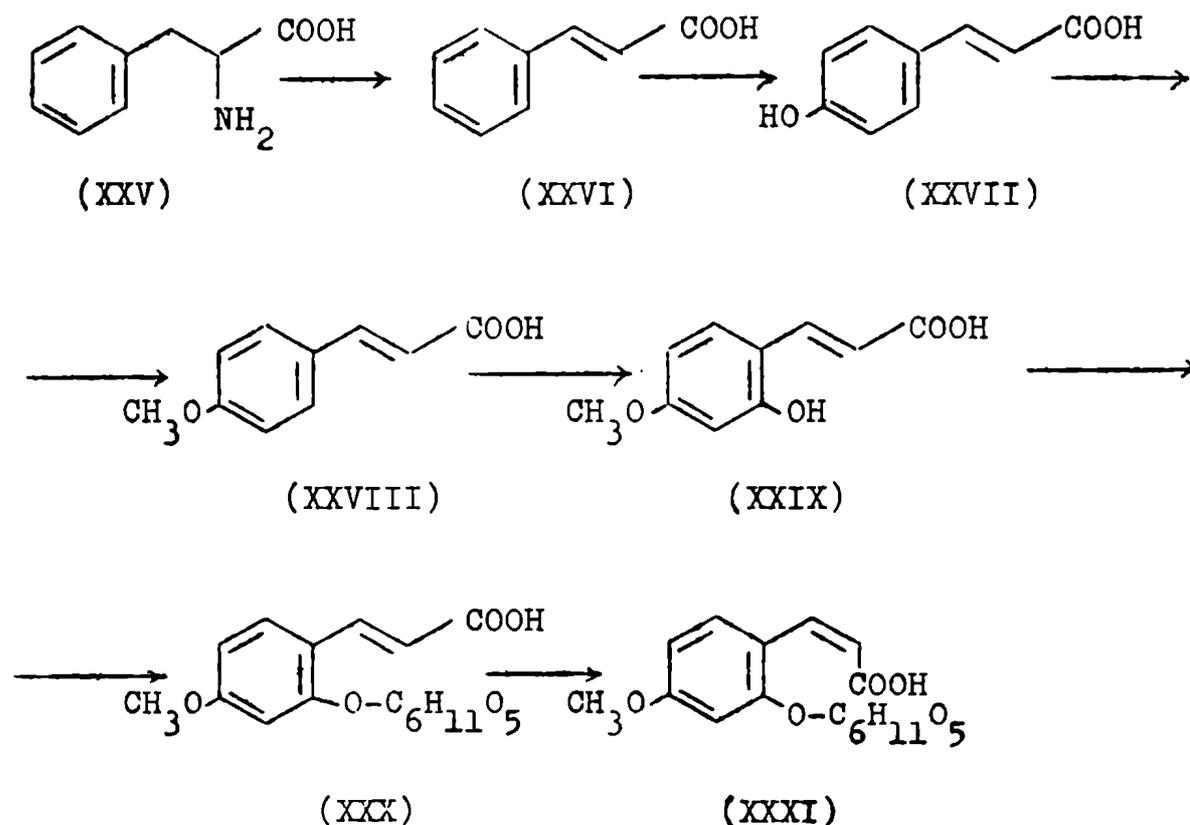
(XXII)



(XXIV)

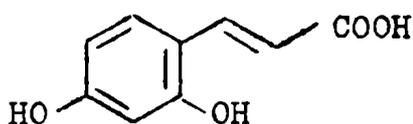
Brown notó que una misma especie pocas veces es capaz de producir cumarina y 7-oxi-cumarinas y por lo tanto supuso que los sistemas enzimáticos necesarios deberían ser diferentes. Estudió una serie de precursores en la *Lavandula officinalis* (90), de la cual se aísla cumarina y herniarina (XIX) (7-metoxi-cumarina). Encontró que la segunda no se produce por introducción de un metoxilo en la cumarina, sino que el ácido cinámico (XXVI) sufriría primero una *p*-hidroxilación para dar el ácido *p*-cumárico (XXVII), que se transformaría en el ácido *p*-me-

toxi-cinámico (XXVIII); este por o-hidroxilación daría el ácido 2-hidroxi-4-metoxi-cinámico (XXIX). Finalmente se formaría un glicósido (XXX) sobre el grupo o-hidroxilo, que luego se isomerizaría ya que se encontró que la herniarina (XIX) existía predominantemente como el ácido cis-2-glucosiloxi-4-metoxi-cinámico (XXXI), que sería una "herniarina combinada" análoga a la "cumarina combinada" (91).



En el caso de la formación de umbeliferona por Hydrangea Macrophylla (92) también se encuentra que los ácidos o y p-cumáricos, (XV) y (XXVII) respectivamente, son precursores, que se transforman en el ácido umbélico

(XXXII). Luego se debe formar un glucósido similar a los



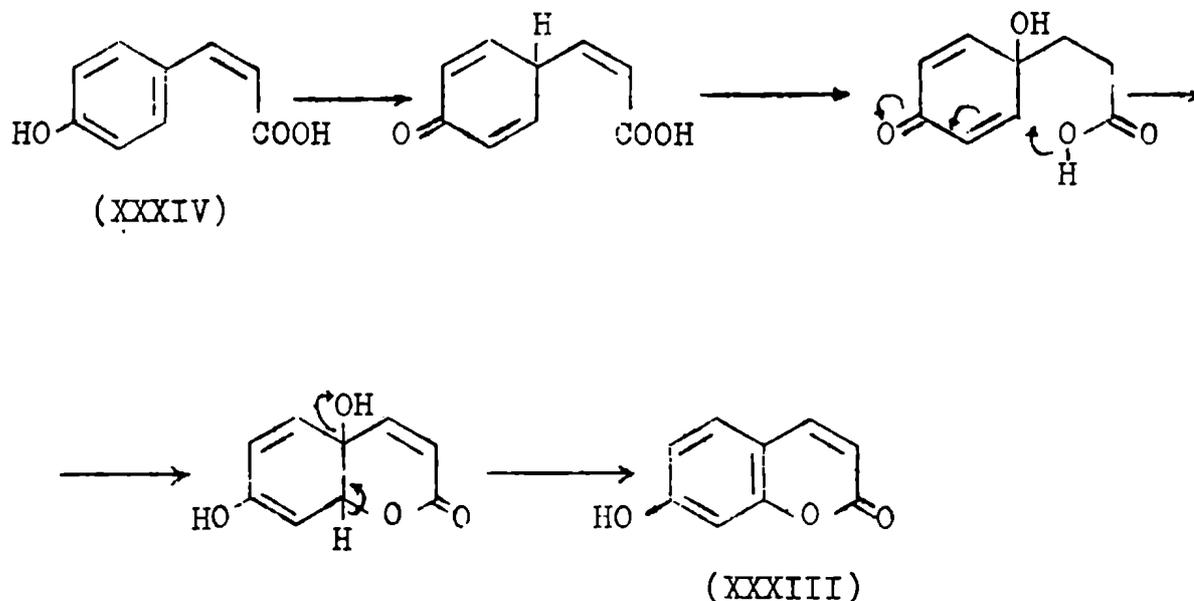
(XXXII)

que se producen en el caso de la cumarina y herniarina. En este caso no puede excluirse la posibilidad de un res-
to hidrato de carbono unido al hidroxilo en la posición para.

Brown (93), apoya fuertemente la teoría de que el mecanismo de o-hidroxilación, en el hecho de que cuando se administra a H. odorata el glucósido del ácido o-cumarínico (XVI) marcado se obtenga cumarina marcada. Si no se produjera la o-hidroxilación el glucósido sería un producto del metabolismo de la cumarina. Sin embargo, si se administra a la misma planta cumarina marcada no se aísla el glucósido marcado. Supone que la formación del glucósido es necesaria para que se produzca la isomerización de trans a cis.

La presencia en casi todas las cumarinas naturales de un átomo de oxígeno en la posición 7 del ciclo cumarínico permitió a Haworth (94) sugerir un mecanismo general de formación de cumarinas a partir de ácidos cinámicos que no involucra una o-hidroxilación del mismo, sino que se trata de una ciclación oxidativa*. Por ejemplo para el caso de la formación de umbeliferona (XXXIII)

a partir del ácido *p*-hidroxi-cinámico (*cis*)(XXXIV).

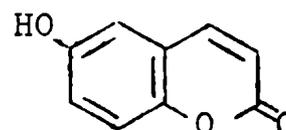
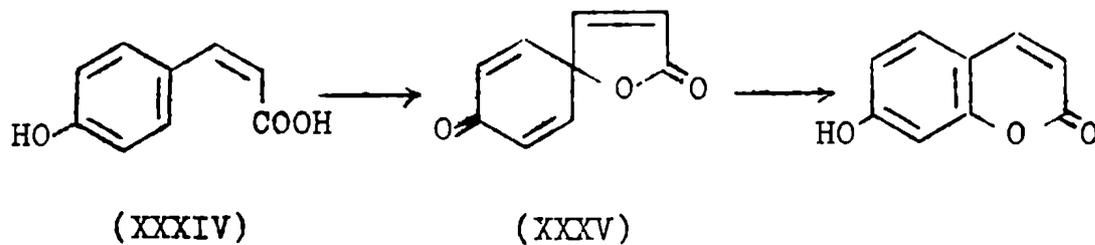


Se sugirió que el intermediario en esta reacción podría ser una espirohexadienona (XXXV) que por reordenamiento lleve a la 6 o 7-hidroxicumarina.

En apoyo de esta última teoría está el hecho de que Meyers y col. (95) encontraron que por electrooxidación en un ánodo de platino de ácido *p*-hidroxi-cinámico (XXXIV) se producía la espirohexadienona (XXXV) y que esta posteriormente por tratamiento con ácidos se reordena-

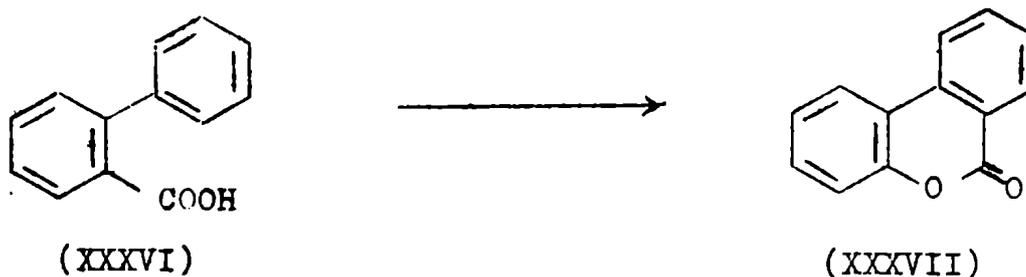
* No es probable que un mecanismo de este tipo intervenga en la biosíntesis de cumarina misma, pues involucra una pérdida de un hidroxilo en la posición 7 al final de la reacción, lo cual es muy difícil. Además la umbeliferona no es precursora de cumarina en las especies que la producen.

ba a una mezcla de 6 y 7-hidroxicumarina.



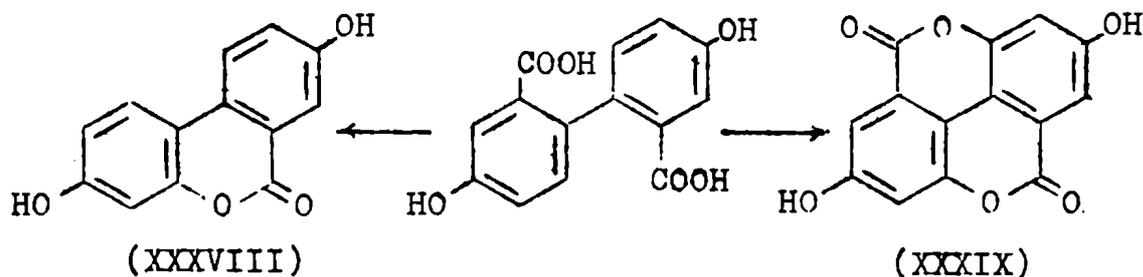
Sin embargo Austin y Meyers (96) encontraron una muy pobre incorporación de espirolactona en la Hydrangea Macrophylla.

Se ha comprobado que es posible efectuar la ciclación oxidativa del ácido 2-difenil-carboxílico (XXXVI) a la 3,4-benzocumarina (XXXVII)(97).

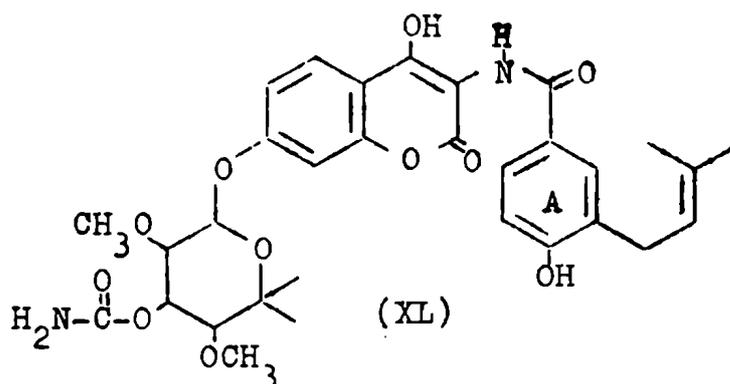


Por ello se propuso como hipótesis para la formación de las dos cumarinas aisladas del castoreum (XXXVIII) y (XXXIX), la siguiente (98): 1)-unión de dos moléculas

de ácido m-hidroxibenzoico (que también se encuentra en él) y 2)-ataque intramolecular de un radical carboxilo o de un catión carboxilo, potencial sobre el anillo aromático.



Esta teoría encuentra su apoyo en los estudios hechos sobre la novobiocina (XL), un antibiótico con estructura cumarínica.

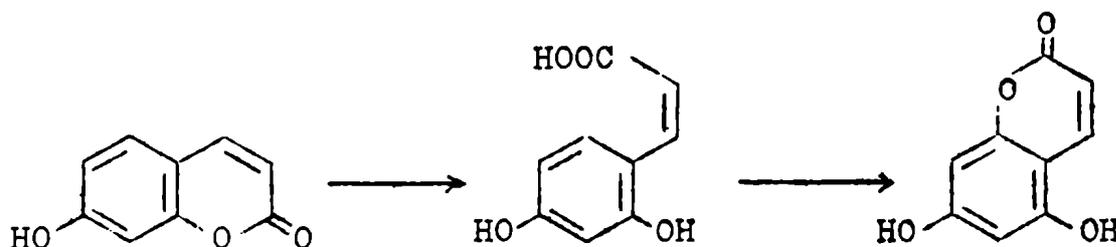


Cuando se cultivó el Streptomyces niveus, que la produce, en un medio que contenía tirosina uniformemente marcada (99) con ^{14}C y se aisló el compuesto se encontró que los nueve átomos de carbono que forman el núcleo cumarínico vienen íntegramente de la tirosina y lo mismo sucede con 7 átomos de carbono del anillo A. En cambio esta sustancia no interviene en la formación del

azúcar.

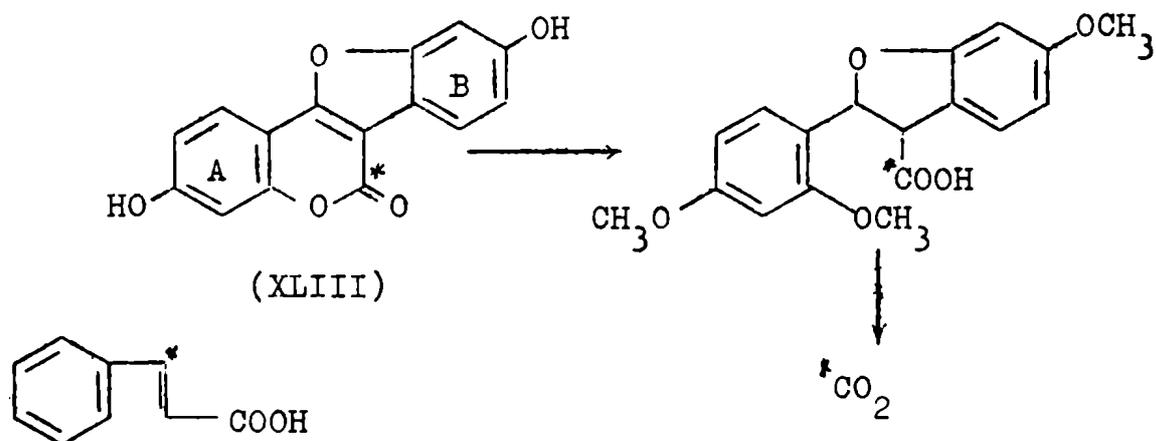
Cuando el medio contenía tirosina marcada con ^{14}C y ^{18}O (98) en el grupo carboxilo, encontraron que este último se incorporaba en el oxígeno del heterociclo de la cumarina, que como ya dijimos apoya el mecanismo de ciclación oxidativa.

Hay una serie de cumarinas que poseen una forma de sustitución del tipo del floroglucinol, que es característica de un origen acetato. Sin embargo pueden formarse por dos ciclaciones oxidativas sucesivas, de un ácido del tipo del fenil-propano.



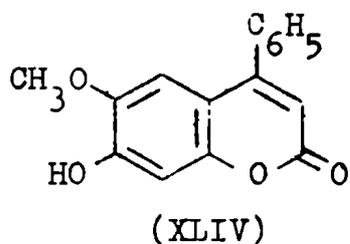
Las 3-fenilcumarinas se forman como un caso especial de la biosíntesis de las isoflavonas (100). El estudio se realizó sobre el cumestrol (XLIII). En este caso el anillo A procedería de la condensación de tres unidades acetato y el anillo B y los tres átomos de carbono de la lactona de una unidad fenil-propano, y durante el curso de la reacción tendría lugar un reordenamiento. Si en cambio el origen fuera similar al de las demás cumarinas el anillo A así como los carbonos del núcleo α -pirónico provendría del ácido shiquímico.

.. Cuando se administró ácido acético $1-^{14}\text{C}$ y fenilalanina (XXV) marcada a Medicago sativa ambos compuestos fueron incorporados. Con ácido cinámico $3-^{14}\text{C}$ este es incorporado en el carbono carbonílico de la lactona.



Se demostró por que por degradación de la cumarina toda la radioactividad aparece sobre ese carbono.

Las 4-fenil-cumarinas se formarían a partir de un flavonoide por un doble corrimiento 1-2 o más probablemente por condensación de un fenol y un β -ceto-ácido correspondiente, (como en la condensación de Pechmann). En cualquiera de las dos formas el anillo A derivaría del acetato y el resto C_6-C_3 del ácido shiquímico. Ejemplo: dalbergina (XLIV).



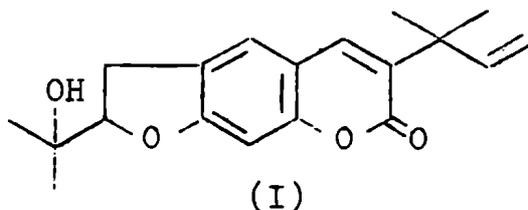
ESTRUCTURA DE LA CUSPIDATINA

La HELIETTA LONGIFOLIATA Britt (sin. *Helietta cuspidata* (Engl.) Chod et Hassl) es un árbol de mediano porte, que crece en la Argentina, en la selva misionera. El material utilizado fue recolectado en las cercanías de Puerto Iguazú. Se lo conoce localmente con el nombre de canela do viado o canela de venado. Pertenece a la familia de las Rutáceas, subfamilia Toddalioideae, tribu Toddalieae, subtribu Pteleinae. Resulta así, que el género *Helietta* está estrechamente emparentado con el género *Balfourodendron*, que pertenece a la misma sub-tribu, y de una de cuyas especies, el *Balfourodendron Riedelianum* (Engler) Engler, que crece también en Misiones, han sido estudiados los alcaloides presentes por Rapoport y Holden (101) y Orazi y Corral (102).

El género *Helietta* comprende cuatro especies, que se distribuyen desde Misiones y Paraguay hasta el sur de Estados Unidos (Texas). No hemos encontrado en la literatura ningún estudio químico sobre las plantas de este género.

Por extracción de la corteza molida de *Helietta longifoliata* con eter de petróleo y posterior concentración del extracto a presión reducida, precipita una sustancia cristalina, de intensa fluorescencia a la luz ultravioleta, a la cual los resultados del presente trabajo, que se describen a continuación, permiten identificar como una

nueva cumarina sustituida de estructura (I), y a la que hemos asignado el nombre de "cuspidatina".



La cuspidatina bruta recristaliza de eter isopropílico en forma de cristales blancos, finas agujas, que funden a 165,5-166 °C. Por cromatografía en papel y en capa delgada de alúmina y silica gel pudo confirmarse su homogeneidad. Los datos del análisis elemental coinciden con la fórmula molecular $C_{19}H_{22}O_4$ que corresponde a un peso molecular 314, confirmado por espectrometría de masa. Es ópticamente activa, $[\alpha]_D^{28} = +14,5^\circ$ (cloroformo).

El espectro ultravioleta muestra una banda de absorción (figura 1) con λ_{max} : 330 m μ (log ϵ 4,292); λ_{min} : 270 m μ (log ϵ 3,270)

En el espectro de absorción en el infrarrojo (figura 9) pueden verse, entre otras las siguientes bandas de absorción: 3.500 cm^{-1} (hidroxilo), 1.710 y 1.630 cm^{-1} (lactona conjugada), 1.580 cm^{-1} (aromático). El espectro de resonancia magnética nuclear, puede verse en la figura 17 y será analizado más adelante.

Por hidrogenación en ácido acético glacial con cloruro de paladio sobre carbón como catalizador, a presión atmosférica y temperatura ambiente, la cuspidatina

absorbe un mol de hidrógeno, y se obtiene dihidroscupidatina, que recristalizada de eter isopropílico-metanol (4:1), funde 150,5-151°C. Es también fluorescente a la luz ultravioleta y su análisis coincide con la fórmula $C_{19}H_{24}O_4$.

Su espectro de absorción en el ultravioleta es coincidente con el de la cuspidatina (figura 2) y su espectro de absorción en el infrarrojo también es muy semejante, (figura 10). El espectro de resonancia magnética nuclear puede verse en la figura 18 y será analizado más adelante.

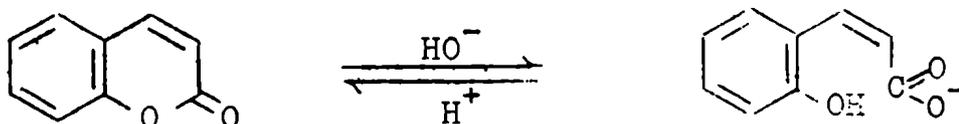
La fuerte fluorescencia de la cuspidatina nos hizo pensar en la posibilidad de que se tratara de una cumarina, lo que se confirmó por los espectros de absorción. En efecto, los espectros ultravioleta de cuspidatina y dihidroscupidatina indicaban sin duda alguna que estábamos en presencia de una 7-oxycumarina, como lo son prácticamente todas las cumarinas naturales salvo la cumarina misma, el dicumarol y unas pocas excepciones más (ver tabla N° 1). Los mismos son prácticamente idénticos a los de la 3-etil-7-metoxicumarina y del 2,3-dihidropsovaleno (105a)(figuras 3 y 4).

Las bandas a 1.710 y 1.630 cm^{-1} del espectro de absorción en el infrarrojo también señalaban la presencia de un núcleo cumarínico. Para comparación pueden verse en las figuras 11 y 12 los espectros infrarrojos de la cumarina y de la 3-etil-7-metoxicumarina.

Los espectros de absorción ultravioleta indican

de paso, que la doble ligadura que se reduce de la cuspidatina no es la doble unión 3,4 del núcleo cumarínico y además que la misma está aislada del sistema cromofórico, pues su desaparición no afecta al mismo.

La presencia de un núcleo cumarínico en la molécula se ve confirmada químicamente por calentamiento en hidróxido de sodio diluido. La sustancia que es insoluble en frío, se disuelve luego de un calentamiento bastante prolongado, dando a la solución un color amarillo. Por acidificación se recupera cuspidatina.



La presencia del núcleo cumarínico da cuenta de nueve átomos de carbono y dos de oxígeno de la molécula. Más exactamente, restando de la fórmula molecular de la cuspidatina, $C_{19}H_{22}O_4$, de número de no saturación* 9 la de la cumarina $C_9H_6O_2$, de número de no saturación 7, obtenemos un resto $C_{10}H_{16}O_2$ de número de no saturación 2. Por las experiencias de hidrogenación sabemos que este resto

* El número de no saturación N de una molécula $C_xH_yO_z$ se obtiene con la fórmula

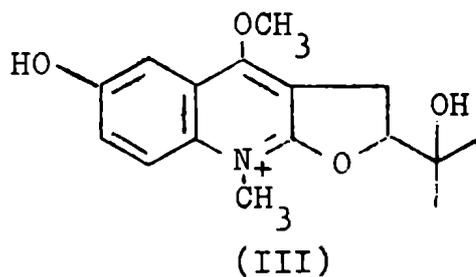
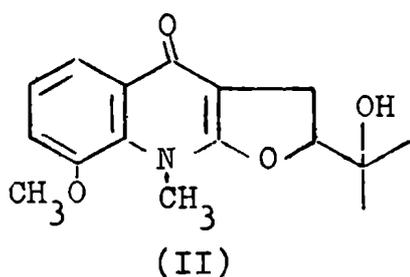
$$N = \frac{2x + 2 - y}{2}$$

y representa el número de ciclos más dobles ligaduras.

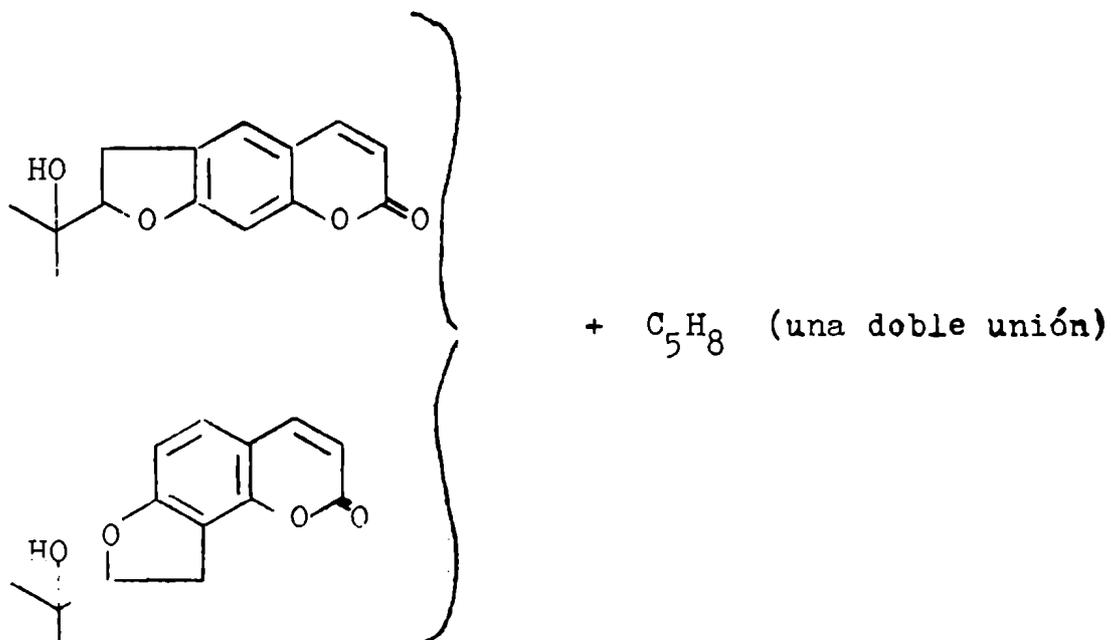
contiene, muy probablemente una doble unión y solo una. La otra unidad de no saturación debe provenir de un ciclo.

Los espectros de absorción en el infrarrojo de cuspidatina y dihidro cuspidatina (figuras 9 y 10) indican la presencia de un grupo hidroxilo, confirmada por la preparación del acetato de dihidro cuspidatina. La insolubilidad en álcali hacía improbable que este fuera fenólico y tests de oxidación (103) apuntaban a la existencia de un hidroxilo alcohólico terciario.

Estos datos, juntamente con el hecho que del *Balfourodendron Riedelianum* (Engler) se hubieran aislado diversos alcaloides con el grupo α -hidroxiisopropildihidrofurano, p. ej. balfourodina (101)(II) y ribalina (102a) (III) nos hizo pensar la posibilidad de la existencia de

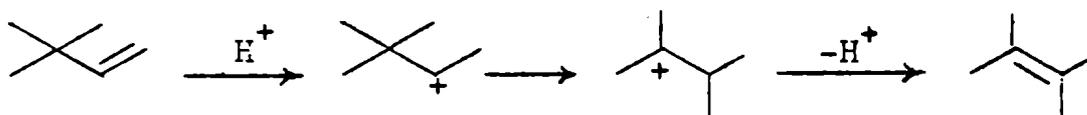


dicha agrupación en la cuspidatina. Teniendo en cuenta que el sustituyente oxigenado se encuentra siempre en la posición 7 del núcleo cumarínico, existían dos formas posibles de incorporar este resto a la estructura de la cuspidatina:

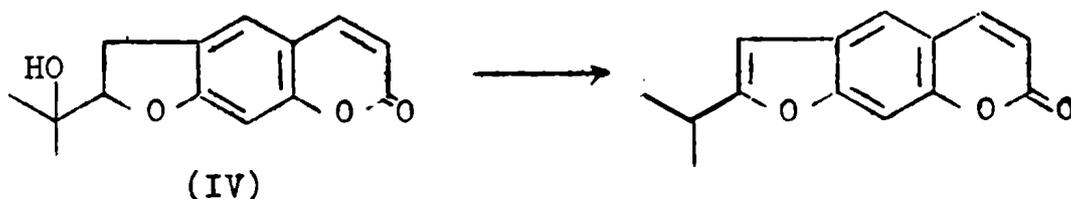


Para confirmar la existencia del resto α -hidroxiisopropildihidrofurano y decidir sobre su forma de unión al núcleo cumarínico se llevó a cabo una deshidratación de dihidro cuspidatina,* por calentamiento de su solución bencénica con pentóxido de fósforo, siguiendo la técnica empleada por Chatterjee y Mitra para marmesina (104) (IV). En esta reacción la doble ligadura inicialmente formada

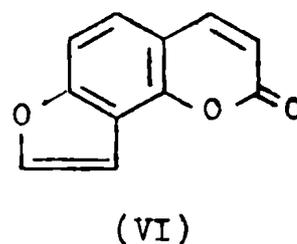
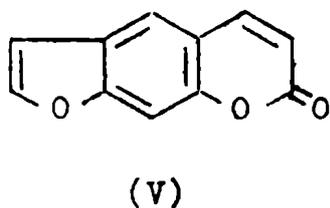
*Las experiencias realizadas con cuspidatina misma dieron una mezcla de productos difíciles de separar, posiblemente por transposición catalizada por ácidos de la cadena lateral ter-amilénica.



se corre hasta conjugarse con el núcleo cumarínico.

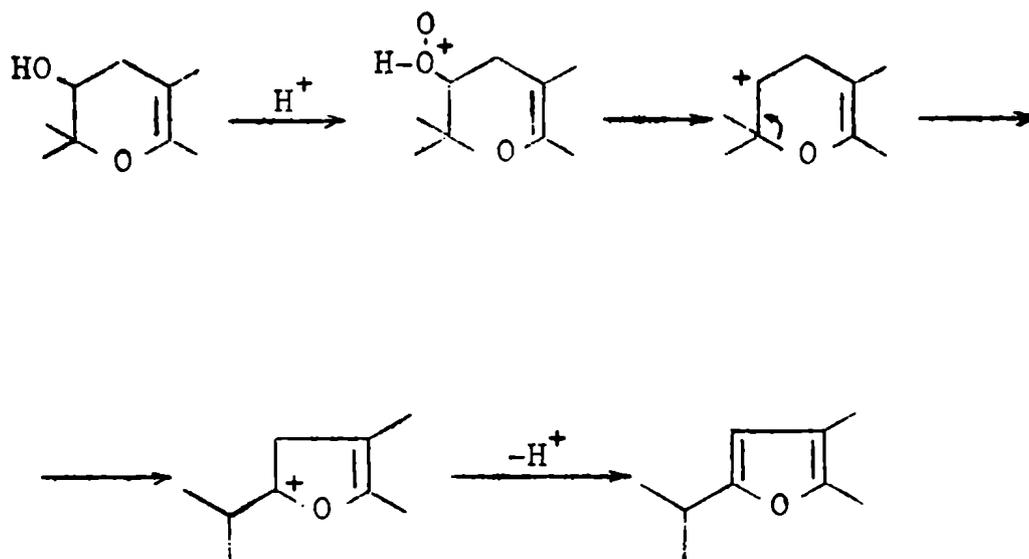


Se obtiene de esta manera dihidroanhidrocuspidatina que analiza para $C_{19}H_{22}O_3$, ópticamente inactiva, y cuyos espectros de absorción en el ultravioleta e infrarrojo pueden verse en las figuras 5 y 13 respectivamente. El espectro de resonancia magnética nuclear puede verse en la figura 19. En las figuras 6 y 7 se dan como términos de comparación los espectros de absorción en el ultravioleta de psoraleno (105a)(V) y de angelicina (105b)(VI). De los mismos resulta evidente que en la deshidratación



se produce un ciclo furánico, y que el mismo está unido al núcleo cumarínico por las posiciones 6 y 7, para dar una estructura lineal. Sin embargo estos resultados no descartan que, en lugar de un resto 1- α -hidroxiisopropil-dihidrofuránico, se encuentre en la molécula un ciclo 1,1-dimetil-2-hidroxi-dihidropiránico que puede también

dar por reordenamiento catalizado por ácidos un ciclo furánico en la deshidratación.

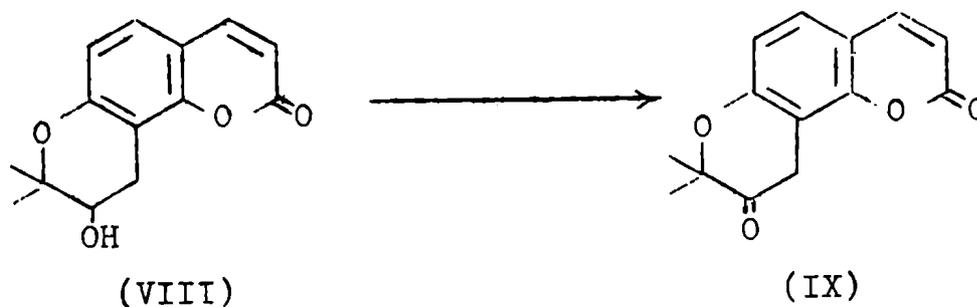


La confirmación de la existencia original del ciclo dihidrofuránico se consiguió por dos líneas de evidencia. La primera fue la oxidación de la dihidrocupidatina con el reactivo de Jones, en las mismas condiciones utilizadas para oxidar el hidroxilo secundario del dimetil eter del ácido munduloxico por Burrows et al. (106)



(VII)

(VII) empleado también por S. N. Shanbhag et al. (73) en la oxidación del jatamansinol (VIII) a jatamansinona (IX).



En nuestro caso se recuperó dihidro cuspidatina con 96 % de rendimiento, indicando la ausencia de una agrupación como la presente en sustancias anteriores.

Una segunda evidencia al respecto provino del estudio de los espectros de resonancia magnética nuclear de cuspidatina y dihidro cuspidatina y su acetato, como se verá más adelante.

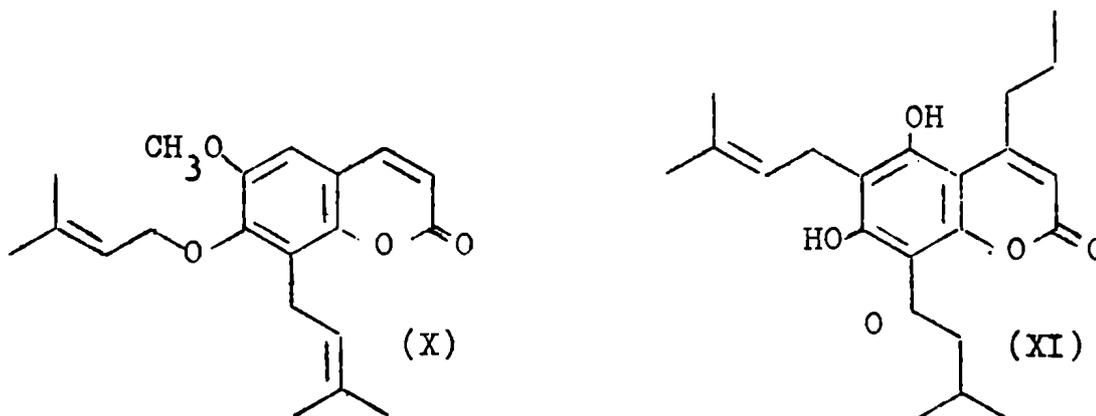
Llegamos por consiguiente a la siguiente fórmula parcial para la cuspidatina.



Quedan por aclarar dos puntos: 1) la estructura del fragmento no saturado y 2) como está unido el mismo al resto de la molécula.

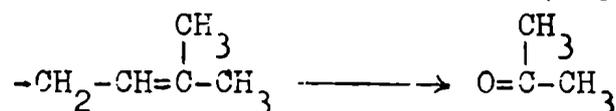
La cadena lateral $-C_5H_9$ (sumándole el hidrogeno correspondiente al punto de unión con el núcleo) es evidentemente un resto isoprénico no saturado. Por analogía con

lo que ocurre con otras cumarinas naturales, p. ej. brayleyanina (107)(X) y mammeina (108)(XI) se supuso inicialmente



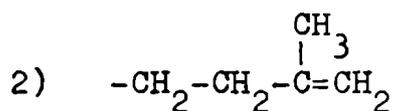
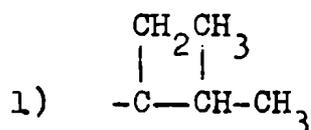
mente que se trataba de un resto α, γ -dimetilalilo.

Para confirmarlo se llevó a cabo sobre cuspidatina una reacción de Lemieux-Rudloff (109) modificada.*

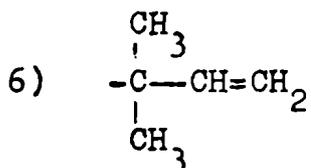
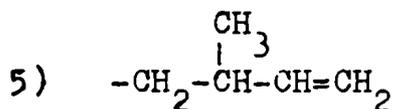
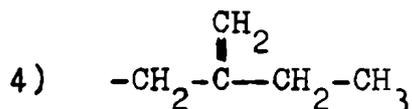
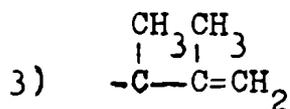


Sin embargo el resultado de la misma fue claramente negativo para acetona, pudiéndose detectar en cambio en forma inequívoca la producción de formaldehído.

Resultan entonces las siguientes posibilidades para la estructura de la cadena lateral:



* Para poder detectar la acetona formada.



La primera de ellas se descartó pues implicaba conjugación de la doble unión con el núcleo. La decisión entre las siguientes, así como la determinación de su punto de unión con el resto de la molécula fue posible mediante el estudio de los espectros de resonancia magnética nuclear, que haremos a continuación, y se confirmó ulteriormente por métodos químicos.

En el espectro de resonancia magnética nuclear de cumarinas, los protones de las posiciones 3 y 4 del núcleo, es decir sobre la doble ligadura adyacente al carbonilo dan dos dobletes ubicados respectivamente a δ 5,93-6,46 y δ 7,65-8,03 (36)(37)($J=10$ cps.). Pueden observarse por ejemplo con los espectros de la columbianetina (figura 20)(110)(XII): δ 6,22 y 7,66 y jatamansinol (figura 21) (73)(VIII) δ 6,24 y 7,66. En los espectros de resonancia

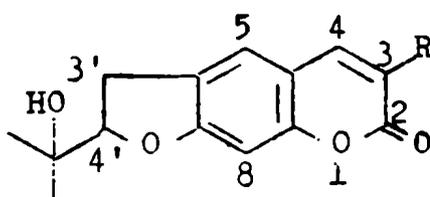
magnética nuclear de dihidrocupidatina la señal a δ 5,93-6,46 está ausente y solo aparece un singlete a δ 7,45 (1H). Es decir que la cadena lateral estaría unida al núcleo cumarínico por el carbono 3, quedando el protón en el carbono 4 aislado. Puede compararse el caso con los espectros de 7-etoxi-4-metil-cumarina (111) y de 7-metoxi-3-etil-cumarina (figuras 22 y 23 respectivamente). En el primero de ellos aparece la señal correspondiente al protón en 3 como un singlete δ 6,08 y en el segundo la señal del protón en el carbono 4 como un singlete a δ 7,50.

Estos datos, por otra parte vinieron a confirmar nuestra suposición de que el sustituyente se encontraba en el carbono 3, basada en ciertas peculiaridades de la reactividad química de la cuspidatina. En efecto, en primer lugar, una vez reducida la primera doble ligadura de la cuspidatina por hidrogenación en ácido acético glacial, con paladio sobre carbón, como catalizador, la absorción de hidrógeno se detiene totalmente, no atacándose para nada la doble ligadura 3,4 del núcleo cumarínico, en contra del comportamiento común de las cumarinas no sustituidas (112)(113)(114). Si se fuerzan las condiciones (presión y temperatura) se obtiene una mezcla de productos debida probablemente a la hidrogenólisis del ciclo dihidrofuránico. Este comportamiento anómalo de la cuspidatina es atribuible a la presencia de un voluminoso grupo alquilo en la posición 3 (o 4) que dificultaría el adosamiento de esa parte de la molécula sobre la superficie del

catalizador.

Una posterior confirmación de que el punto de unión de la cadena lateral era la posición 3 se obtuvo por síntesis de un producto de degradación oxidativa parcial de la dihidro cuspidatina, como describiremos más adelante.

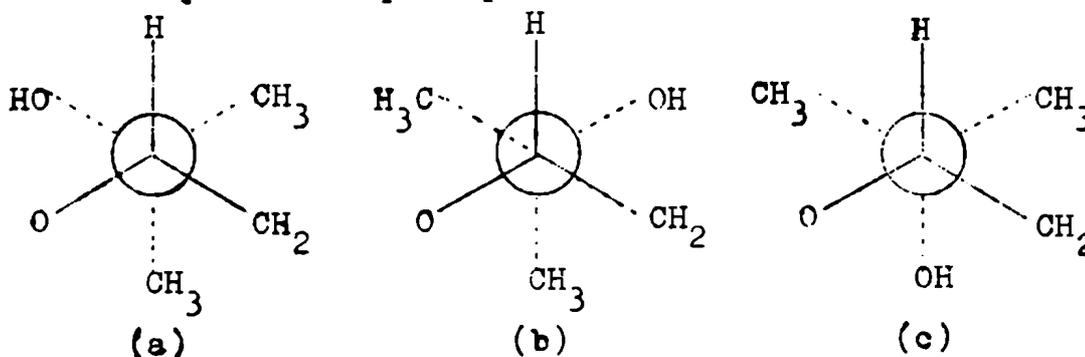
En la zona aromática del espectro de RMN de cuspidatina y dihidro cuspidatina, se observan, además de la ya mencionada señal a δ 7,45 dos singletes a δ 7,23 (1H) y 6,72 (1H), el primero de ellos con estructura fina, posiblemente por efecto de algún acoplamiento a larga distancia. En primer lugar el hecho de que se trate de singletes excluye la presencia de dos protones adyacentes, confirmando la estructura lineal de la molécula, tal como se había deducido en base al espectro de absorción en el ultravioleta de la dihidro-anhidro-cuspidatina.



Dado que los protones aromáticos que tienen un oxígeno en posición orto dan una señal en δ 6,7 a 6,8, mientras que los que no lo tienen la dan a δ 7,3-7,4 (1H), resulta en consecuencia que la señal a δ 7,23 corresponde al protón en la posición 5 y la señal a δ 6,72 al protón en la posición 8. La estructura fina de la señal del pro-

tón 5 es probablemente debida a un acoplamiento a larga distancia con los protones de la posición 3'.

Consideremos ahora el núcleo 1- α -hidroxiisopropildihidrofuranico, que debe también dar, contrariamente a lo que va a ocurrir con la cadena lateral, señales idénticas, o casi idénticas en el espectro de RMN de cuspidatina y dihidrocuspidatina. Observamos en primer lugar un triplete ($J=9$ cps.) centrado en δ 4,75 (1H), luego un doblete ($J=9$ cps.) centrado en 3,22 (2H) y finalmente dos singletes característicos de grupos metilo a δ 1,36 (3H) y 1,24 (3H). El triplete a δ 4,75 corresponde al protón en posición 2' sobre un carbono unido a un átomo de oxígeno partido por los dos protones de la posición 3'. Estos a su vez dan lugar al doblete en δ 3,22. Los dos singletes a δ 1,36 y 1,24 corresponden a los dos metilos del grupo α -hidroxiisopropilo. Ambos dan señales diferentes, pues dada la asimetría del carbono 2, las diversas conformaciones posibles del grupo α -hidroxiisopropilo no son estéricamente equivalentes, y dado el gran volumen de los grupos metilo, la (b) ó la (c) serán las favorecidas. La barrera de potencial para pasar de una forma a la otra



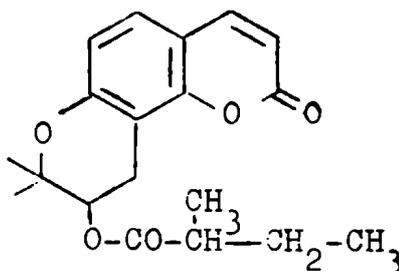
debe ser relativamente alta, aumentando el tiempo de permanencia en la posición favorecida hasta un punto en que ambos metilos dan señales diferentes.

Además en ambos espectros, en aproximadamente $\delta = 1,9$ (1H) aparece un singlete debido al protón del hidroxilo alcohólico terciario.

Vamos a hacer ahora algunas consideraciones sobre las asignaciones que acabamos de hacer. En primer lugar, en el espectro de la columbianetina (110) se observan, en esta parte del espectro exactamente las mismas señales: triplete a $\delta 4,82$ (1H), doblete a $\delta 3,33$ (2H), singletes a $1,37$ (3H) y $1,25$ (3H) y $1,96$ (1H). Por otra parte en el espectro de RMN del jatamansinol (VIII)(73), que posee un núcleo 2,2-dimetil-3-hidroxil- $\Delta^{5,6}$ -dihidropiránico se observan las siguientes diferencias: en primer lugar el triplete de un hidrógeno, correspondiente en este caso a la posición 3' se encuentra en $\delta 3,95$, como corresponde, por otra parte, a un protón unido a un carbono carbinólico, es decir casi 50 cps hacia campos más altos que la señal del metino en el ciclo dihidrofuránico. En segundo lugar, la señal del metileno en 4' que ocurre en $\delta 3,05$ (2H) es aquí un multiplete en lugar del doblete bastante bien definido alrededor de $\delta 3,20$ (2H) que se observa en las sustancias que poseen el ciclo dihidrofuránico.

Además si se acila el hidroxilo alcohólico se observa un bien diferente corrimiento de la señal del protón metínico en ambos casos. Al pasar de jatamansinol a

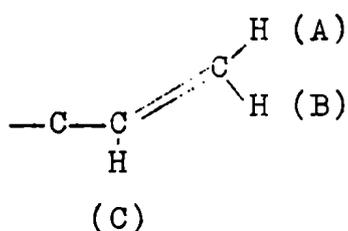
su derivado acilado la dihidrojatamansina (XII)(73) el



triplete correspondiente se corre a δ 5,06, es decir 66 cps hacia campos más bajos. Lo mismo ocurre en la acetilación de esta sustancia (116): la señal del metino se corre 69 cps, en un todo de acuerdo con lo que debe esperarse de un alcohol secundario (117). Por ejemplo la señal del protón metínico del alcohol isopropílico se encuentra a δ 4,04, la del acetato de isopropilo a δ 5,13: corrimiento 65 cps. En cambio en la acetil-dihidro-cuspidatina (figura 24) al igual que lo que ocurre en la acetilación de la columbianetina (116) la señal se corre solamente 22 cps hacia campos más bajos, como debe esperarse por estar el protón en el carbono adyacente al carbinólico. Otra diferencia interesante en el espectro de RMN de ambas estructuras, al pasar del alcohol al acil-derivado correspondiente ocurre en la posición de las señales de los metilos geminales, aunque en este caso su valor diagnóstico deberá confirmarse por el estudio de otros ejemplos. En la cuspidatina y dihidrocuspidatina las señales de los grupos metilo del resto α -hidroxiisopropilo ocurren a δ 1,36 y

1,24, con un valor medio δ 1,30. En el acetilderivado de la dihidro cuspidatina las señales se corren a un valor medio de δ 1,52, es decir hay un corrimiento hacia campos más bajos $\Delta\delta = +0,22$. En cambio al pasar de jatamansinol (VIII) a dihidrojatamansina, (XII) (donde el grupo alcohólico está esterificado por el ácido 2-metil-butírico) la señal de los grupos metilos geminales, en la posición 2' del ciclo dihidropiránico se corre de δ 1,42 a δ 1,32 es decir hay un corrimiento hacia campo más alto de $\Delta\delta = -0,10$.

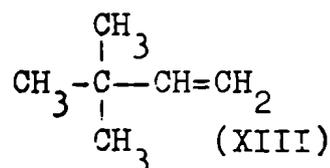
Pasemos ahora a considerar las señales provenientes de los protones de la cadena lateral C_5H_9 . En el espectro de RMN de la cuspidatina puede observarse un cuatriplete centrado en δ 6,22 (1H) y tres dobletes en δ 5,20; 5,00 y 4,92 (en conjunto 2 H). Esta distribución de líneas puede interpretarse bien como un espectro ABC de un grupo vinilo unido a un carbono cuaternario (118). En el mismo la señal debida al protón C está partida, con constantes de



acoplamiento diferentes por los dos protones A y B (pues uno está en posición cis y el otro en trans con respecto a él, siendo mayor la constante de acoplamiento trans), resultando un cuatriplete en el cual la distancia entre ambas señales extremas es igual a $J_{AC} + J_{BC} = 27,8$ cps.

Los protones A y B dan cada uno de ellos un doblete con J_{AC} y J_{BC} y cada señal del doblete está a su vez partida con J_{AB} . Resultan así cuatripletas para cada protón.

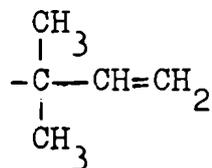
En este caso particular, uno de los dobletes (J_{AB}) debidos al protón A está superpuesto con uno de los debidos al protón B, obteniéndose de esta manera un conjunto de tres dobletes en lugar de cuatro como ocurre en los casos más claros. Puede verse como comparación el espectro de RMN de la 4-vinilpiridina (119) y el análisis hecho por Alexander (120) para el grupo vinilo del 3,3-dimetil-1-buteno (XIII), en el cual $J_{AC} = 17,5$ cps y $J_{BC} = 10,8$ cps, $J_{AC} + J_{BC} = 28,3$ cps. Cuando existen hidrógenos



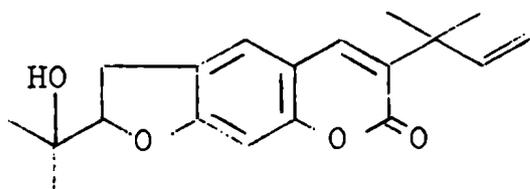
en el carbono adyacente al que lleva el protón C la señal de este se complica notablemente.

Hacia campos más altos encontramos en el espectro de la cuspidatina, a δ 1,48 (6H) una señal correspondiente a dos metilos idénticos y no partidos, es decir unidos a un carbono cuaternario.

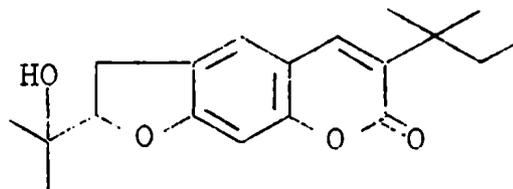
Este análisis nos permite determinar que de las fórmulas posibles para la cadena lateral C_5H_9 propuestas en las páginas 86 y 87 la última, es decir un grupo teramilénico (o α,α -dimetilalílico) es la correcta.



Esta asignación se confirma por el análisis del espectro de RMN de la dihidro cuspidatina. En el mismo puede notarse la desaparición de toda señal en la zona correspondiente a protones unidos a carbonos olefínicos (entre δ 6,5 y 5,0) y la aparición del grupo de bandas características de un grupo etilo unido a un carbono alifático cuaternario: un cuarteto centrado en δ 1,86 (2H) ($J=7$ cps)* y un triplete centrado en δ 0,72 (3H) ($J=7$ cps). La señal correspondiente a los dos grupos metilos idénticos unidos a carbono cuaternario se mantiene, la saturación de la doble ligadura corriéndola ligeramente hacia campos más altos: δ 1,32 (6H). Es decir el análisis coincide con estas estructuras.



Cuspidatina



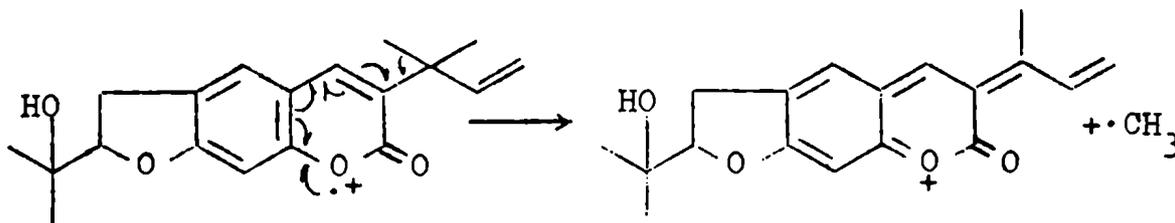
Dihidro cuspidatina

*Al mismo está superpuesta la señal correspondiente al protón del hidroxilo alcohólico.

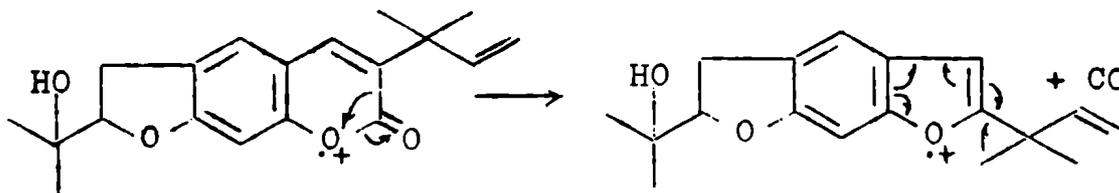
Un análisis somero del espectro de masa de la cuspidatina (figura 27) convalida las anteriores deducciones. En primer lugar, como ya se mencionó más arriba, el pico molecular (que es también pico base) en $m/e = 314$ confirma su peso y fórmula molecular.

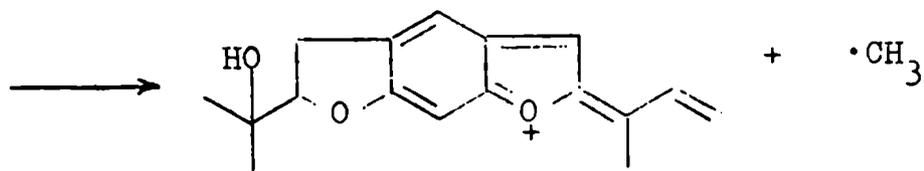
Los picos más importantes en el rango hasta $m/e = 200$ pueden racionalizarse fácilmente en base a esquemas aceptados de fragmentación (38, 39, 40)

Así el pico $m/e = 299$ ($M-15$) resulta de la pérdida de un radical metilo en posición alílica:

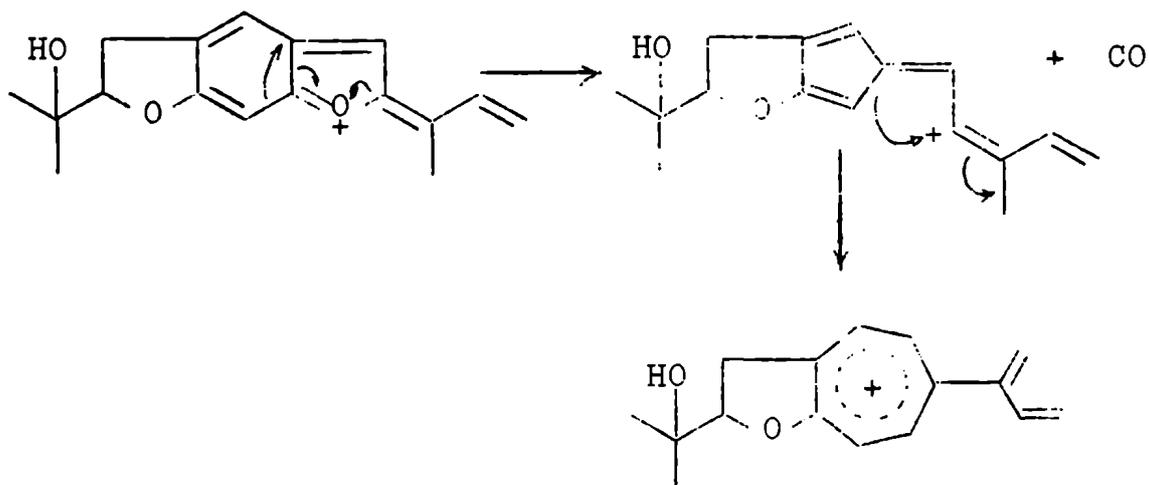


El pico $m/e = 271$ ($M-43$) resulta de la pérdida sucesiva de una molécula de CO y un radical metilo. El radical-ion resultante de la pérdida de CO debe ser sumamente inestable pues su pico es de muy baja intensidad

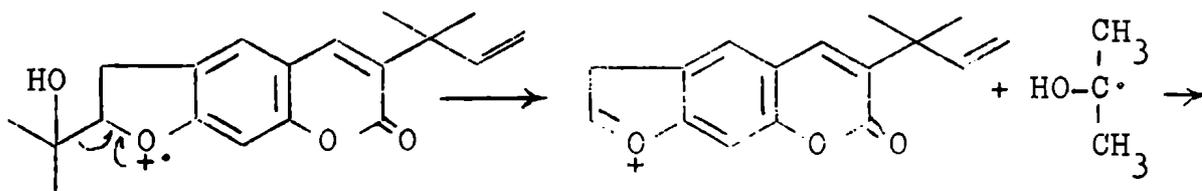


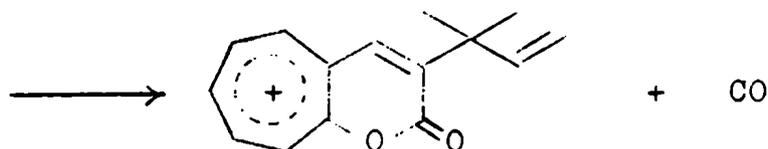


Este ión $m/e = M-43$ puede dar lugar, por pérdida de otra molécula de CO al fragmento de $m/e = 243$ (M-71)

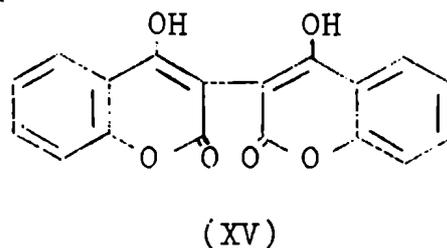
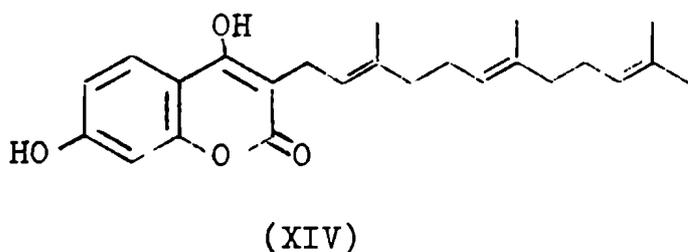


Por último otro fragmento importante $m/e = 227$ (M-87) puede explicarse por pérdida sucesiva de un radical isopropilo y una molécula de CO, iniciándose en este caso el proceso de fragmentación por extracción de un electrón del oxígeno dihidrofuránico.



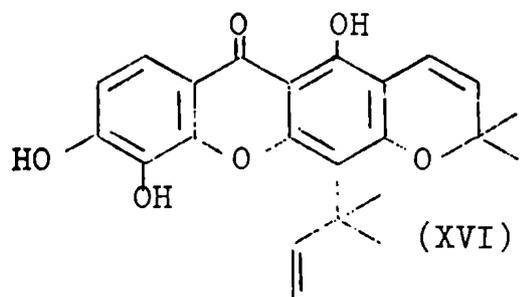


Hay dos aspectos bastantes singulares en la estructura de la cuspidatina. Uno de ellos es la sustitución por un grupo alquilo en el carbono 3. En efecto, hasta el presente, las únicas cumarinas con un sustituyente alquí-lico en dicho carbono son el amloresinol (XIV)(R) y el di-cumarol (XV)



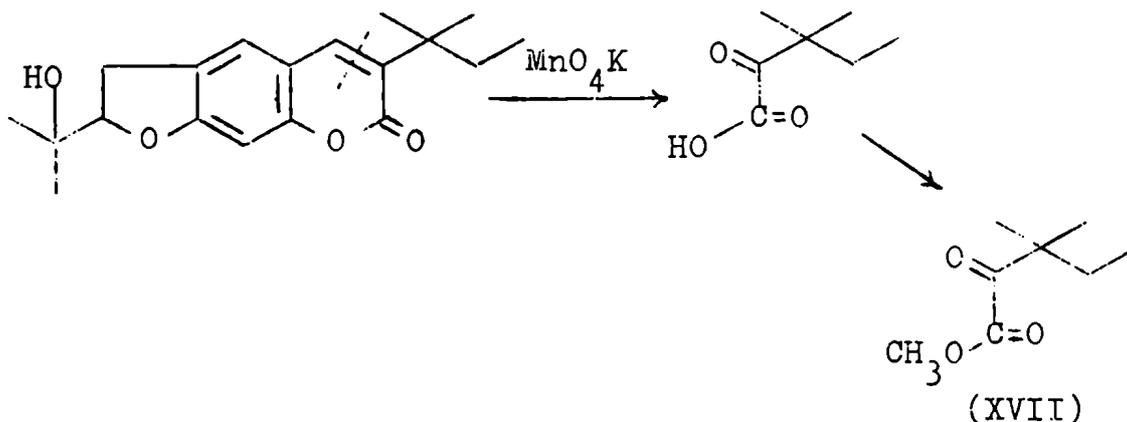
Se trata en ambos casos de 4-hidroxycumarinas, de propiedades bastante diferentes de las otras cumarinas.

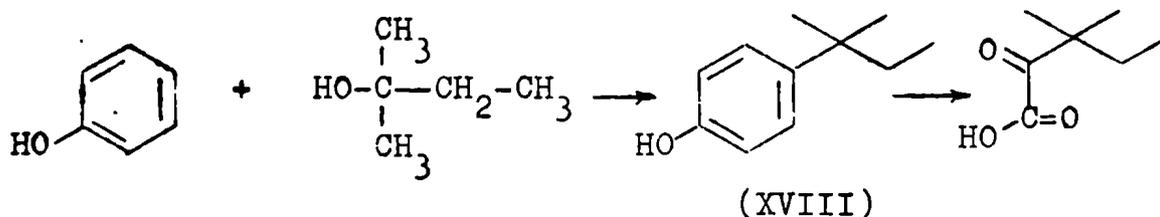
Otra característica muy peculiar es la presencia en la molécula de un resto ter-amilénico. Este tipo de cadena lateral en un producto fenólico vegetal se encontró por primera vez en la cuspidatina (68). Posteriormente Wolfrom y col. (121) la encontraron en la molécula de maciuroxantona (XVI) un pigmento aislado de la raíz de Maclura

pomifera

Con el objeto de confirmar estas características estructurales se llevaron a cabo dos experiencias degradativas, identificándose los productos obtenidos por comparación con los obtenidos por síntesis.

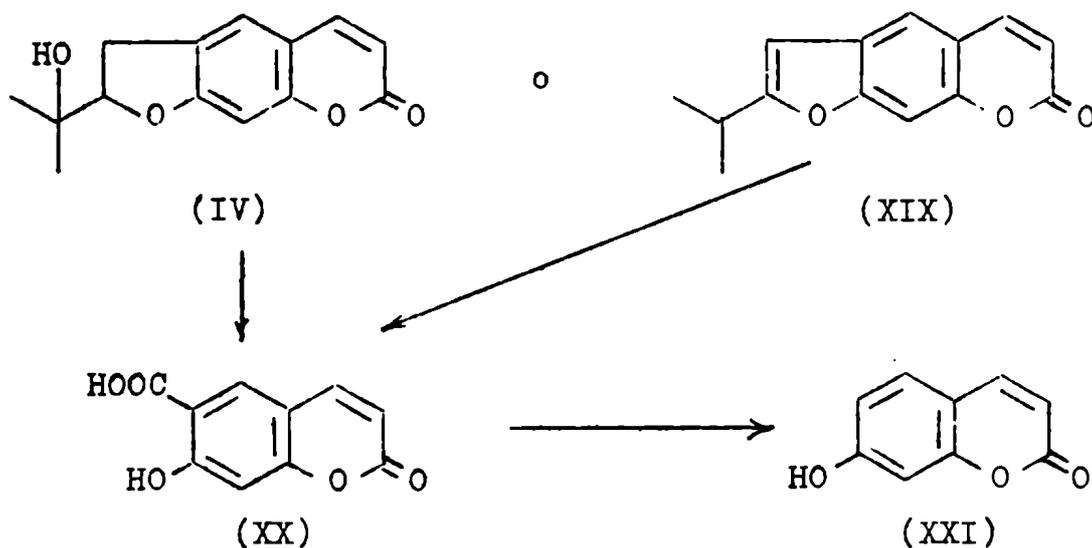
Por oxidación de la dihidroespídatina con permanganato de potasio alcalino en caliente, se obtiene una mezcla de ácidos que se esterifica con diazometano y se separan los esteres por cromatografía en fase vapor. La fracción principal pudo identificarse con el ester metílico del ácido 2-ceto-3,3-dimetilpentanoico (XVII) confirmando de esta manera la estructura de la cadena lateral.





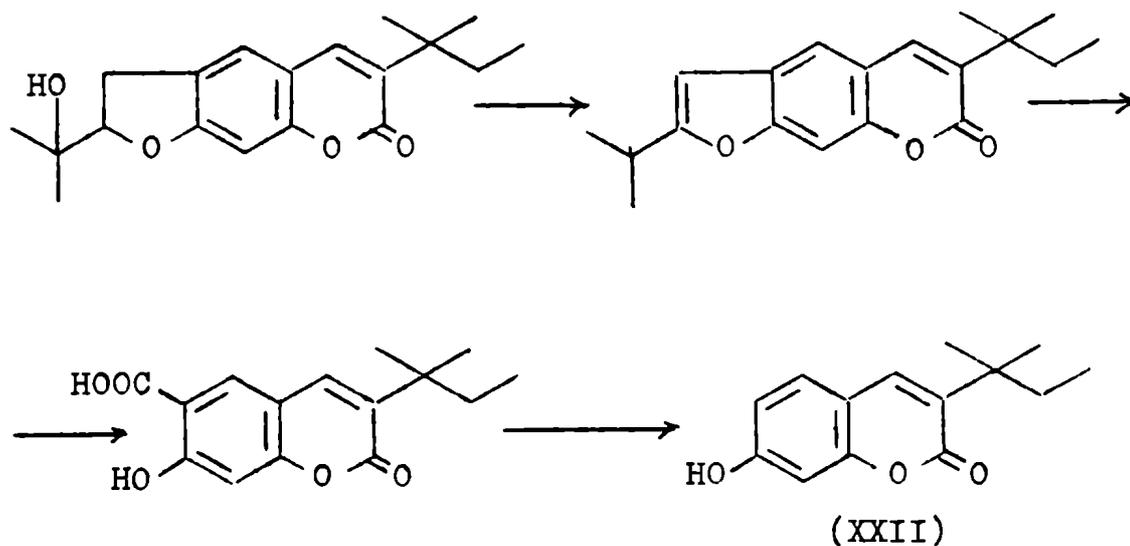
El ácido fue sintetizado a partir de *p*-ter-amil fenol (XVIII)(122) por oxidación con permanganato de potasio en medio alcalino (123).

Por oxidación de nodamenetina (124) y de la marmesina (IV)(104) o de su producto de deshidratación (XIX) (125) con ácido crómico se obtiene el ácido 7-hidroxicumarin-6-carboxílico (XX) y por descarboxilación del mismo (124) la 7-hidroxicumarina (XXI).



Se aplicó esta serie de reacciones a la dihidro-cuspidatina obteniéndose con bajo rendimiento la 3-ter-amil-

7-hidroxycumarina (XXII) que se aisló por cromatografía en placa delgada preparativa y sublimación.

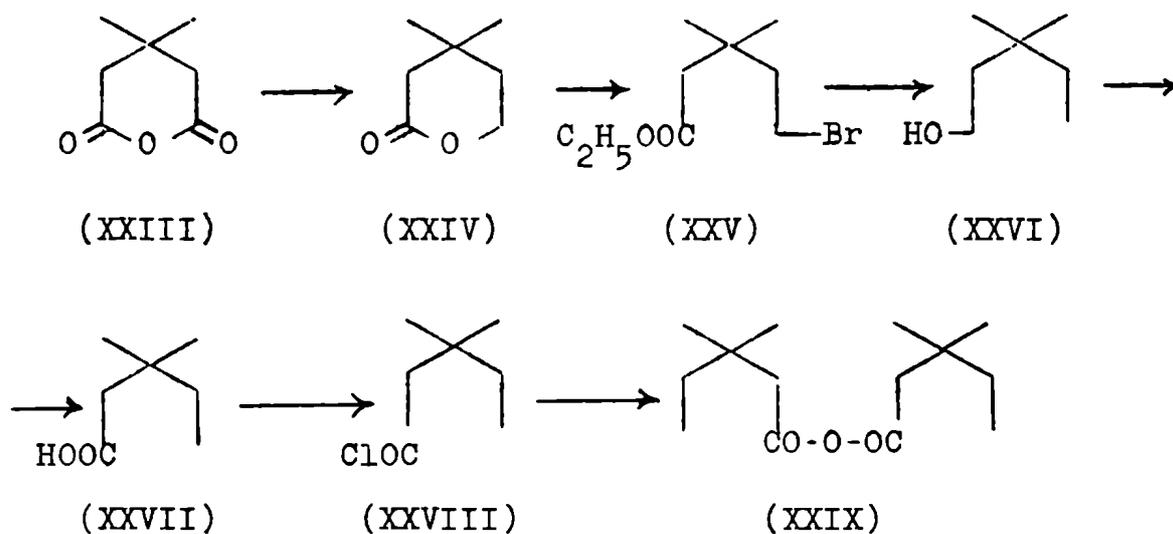


Este producto se preparó por vía sintética mediante la siguiente serie de reacciones: por reducción del anhídrido β,β -dimetilglutárico (XXIII) con sodio en etanol absoluto, a la β,β -dimetil- δ -valerolactona (XXIV)(126). Esta se trató con pentabromuro de fósforo, en frío y el compuesto obtenido se transformó en el ester etílico del ácido δ -bromo- β,β -dimetilvalérico (XXV) el cual se purificó por destilación a presión reducida (127).

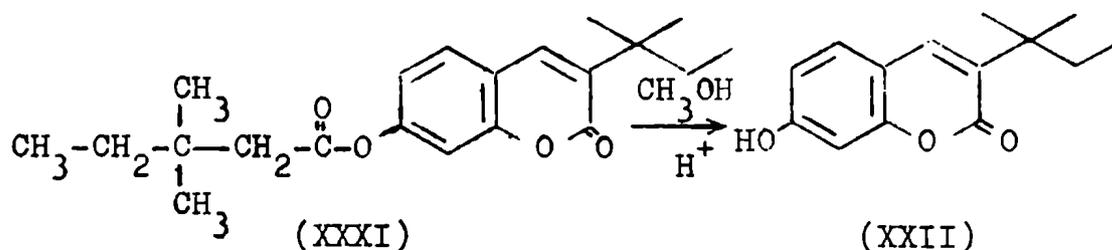
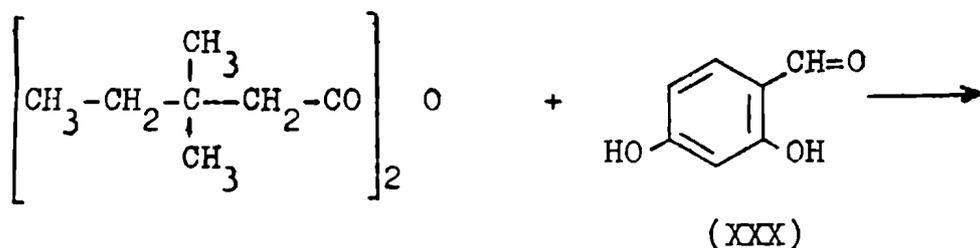
El ester se redujo con hidruro de aluminio y litio en solución de tetrahidrofurano o eter etílico. Se obtuvo así el 3,3-dimetilpentanol (XXVI)(128) que por oxidación en solución alcalina con permanganato de potasio dió el ácido β,β -dimetilvalérico (XXVII)(128)(129). De todos estos compuestos se hicieron análisis, determinación del

espectro de absorción en el infrarrojo y derivados, para comprobar su identidad.

Haciendo reaccionar el ácido β,β -dimetilvalérico con cloruro de tionilo se obtuvo el cloruro del mismo (XXIII) que con más ácido, en presencia de piridina seca dió el anhídrido (XXIX), que se purificó por destilación a presión reducida.

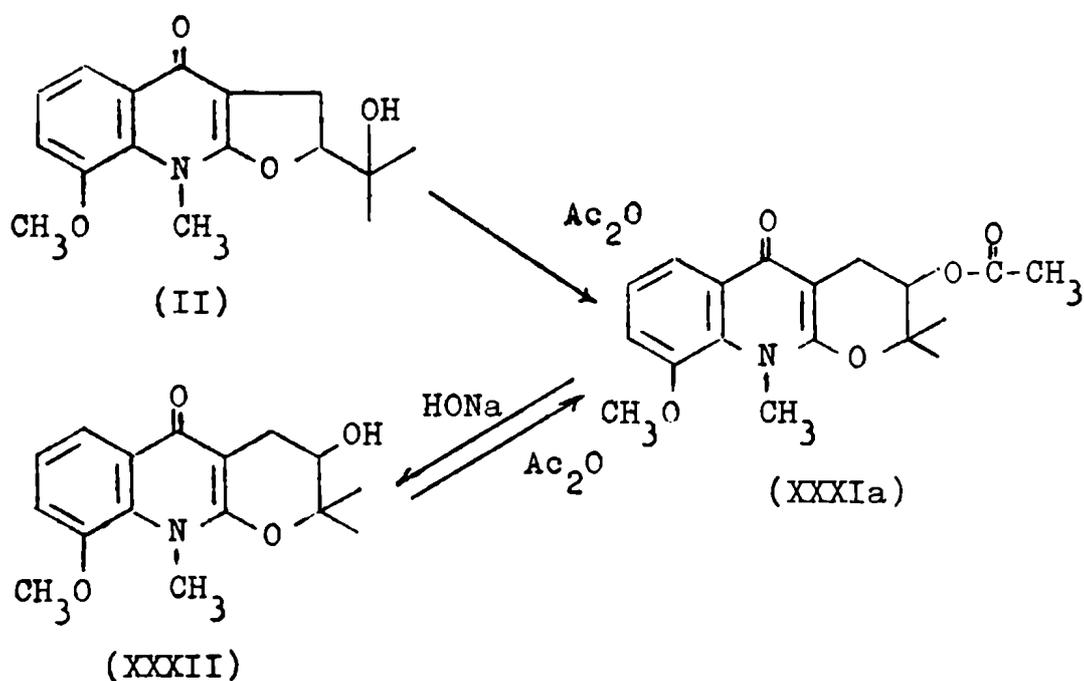


Por condensación del anhídrido del ácido β,β -dimetilvalérico con 2,4-dihidroxibenzaldehído (XXX), calentando los productos en trietilamina, se obtuvo la 3[2'-metilbutil]-7-hidroxicumarina (XXXI), que se hidrolizó por tratamiento con metanol, con ácido sulfúrico como catalizador dando (XXII). El producto se purificó por cromatografía en placa preparativa de gel de sílice y luego por sublimación.

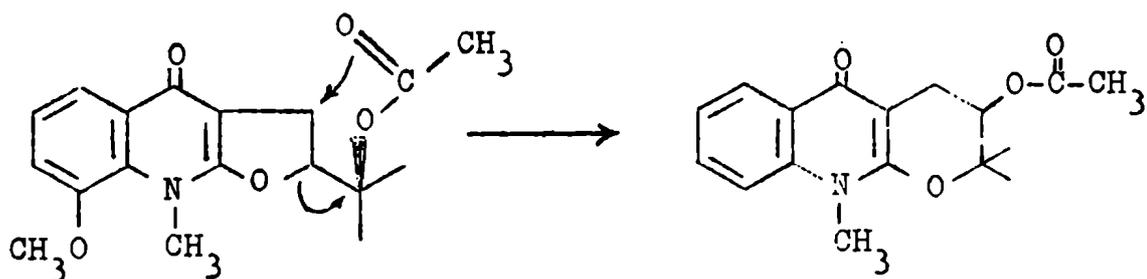


Dadas las pequeñas cantidades de productos obtenidas no fue posible analizarlas. La identificación entre el producto sintético y el degradativo se realizó por comparación de los espectros de absorción en el ultravioleta y en el infrarrojo (figuras 8, 15 y 16) y por cromatografía en placa delgada de gel de sílice en cuatro sistemas diferentes de solventes.

En la preparación del acetato de dihidroscupidina hemos encontrado una diferencia interesante con los resultados obtenidos por Rapoport y Holden (101b) con el alcaloide balfourodina (II). Los mismos trataron balfourodina con anhídrido acético y piridina en caliente y obtuvieron un acetato (XXXIa) que resulta idéntico al obtenido a partir de isobalfourodina (XXXII).



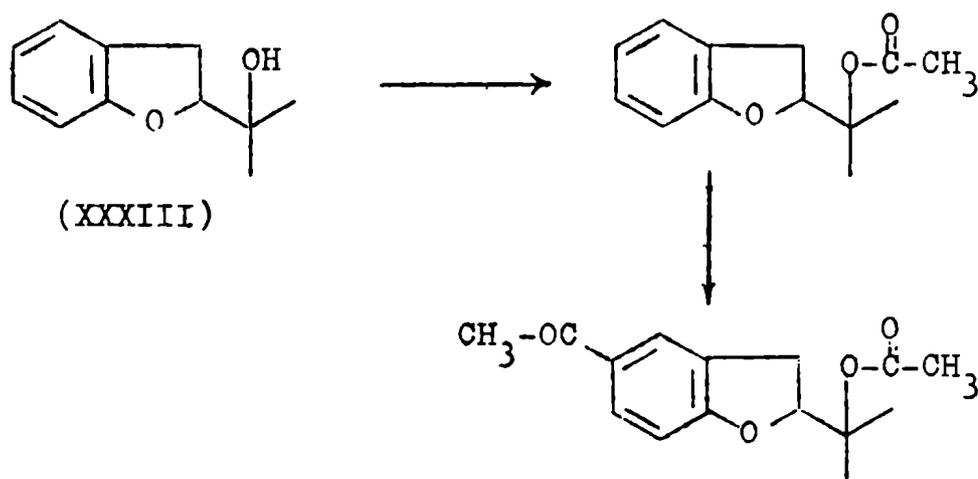
Por saponificación del mismo obtienen isobalfourodina. Para explicar esta isomerización y la racemización solamente parcial del acetato obtenido a partir de balfourodina proponen un mecanismo concertado de expansión del anillo



Por acetilación de dihidro cuspidatina en las mismas condiciones se obtiene un acetil-derivado $C_{21}H_{26}O_5$,

Espectro de absorción en el infrarrojo y de resonancia magnética nuclear en las figuras 14 y 24 respectivamente.

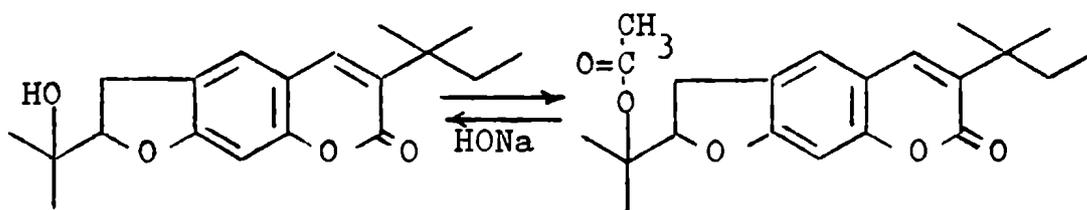
Si la acetilación se lleva a cabo en las condiciones empleadas por De Graw et al. (130) (Ver también Tedder (131)) con el 2-(2,3-dihidro-2-benzofuril)-2-propanol (XXXIII) con anhídrido trifluoroacético en ácido acético a temperatura ambiente, 15 minutos, en las cuales no ocurre aparentemente transposición, se obtiene un producto idéntico con el anterior, como resulta de la comparación de sus Rf en cromatografía en placa delgada de gel de sílice en diversos solventes y sus espectros de absorción en el infrarrojo y de resonancia magnética nuclear.



Por saponificación de este acetato en las condiciones empleadas por De Graw (130) se obtiene nuevamente dihidrocuspdatina.

Es decir, por acetilación de dihidrocuspdatina

en las condiciones dadas por Rapoport y Holden (101b) no se produce reordenamiento del resto α -hidroxiisopropil-dihidrofuránico a 2,2-dimetildihidropiránico.



Esta diferencia con los resultados obtenidos por Rapoport sólo puede interpretarse suponiendo una diferente reactividad en el oxígeno dihidrofuránico según este ciclo esté unido a un núcleo γ -piridónico o a uno bencénico.

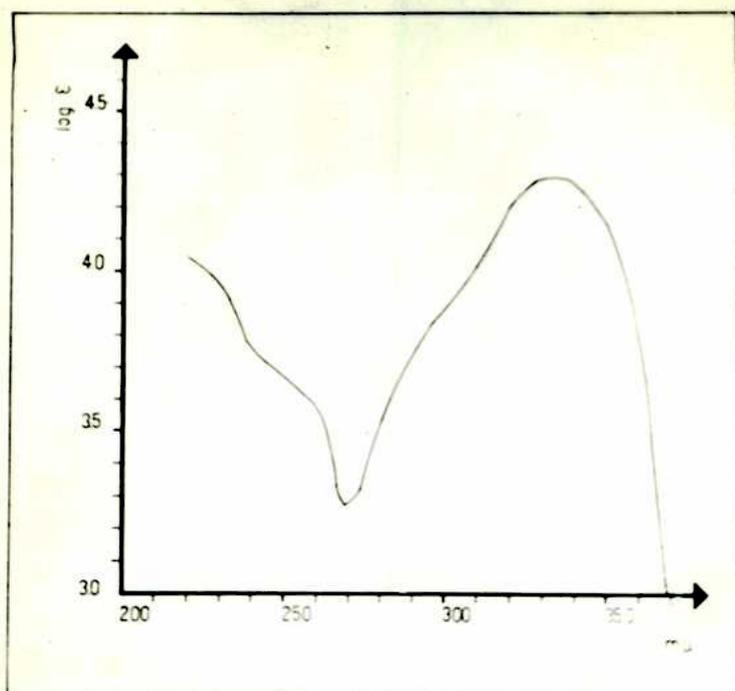
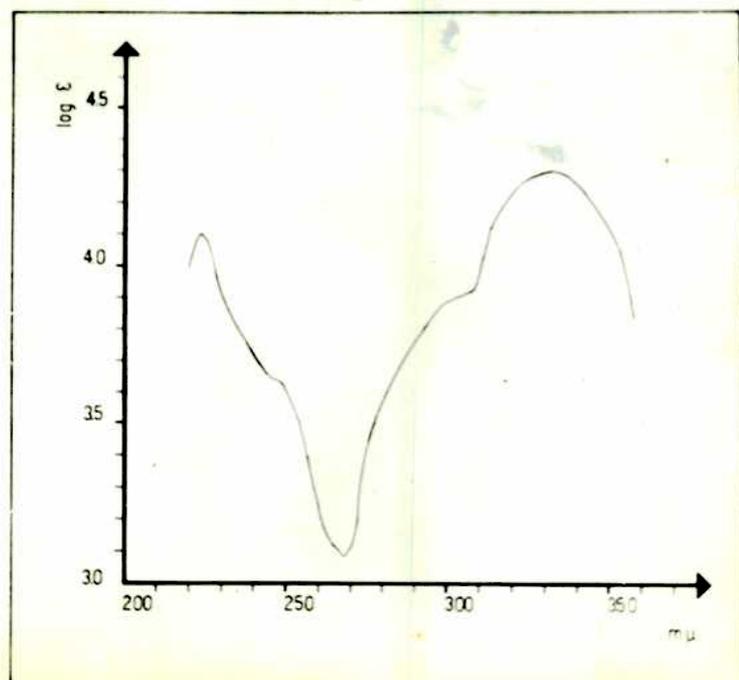


Figura 1
Espectro UV de
Cuspidatina
(en etanol 95 %;
c 1,96 mg/ 100 ml)

Figura 2
Espectro UV de
Dihidrocuspidatina
(en etanol 95 %;
c 2,68 mg/ 100 ml)



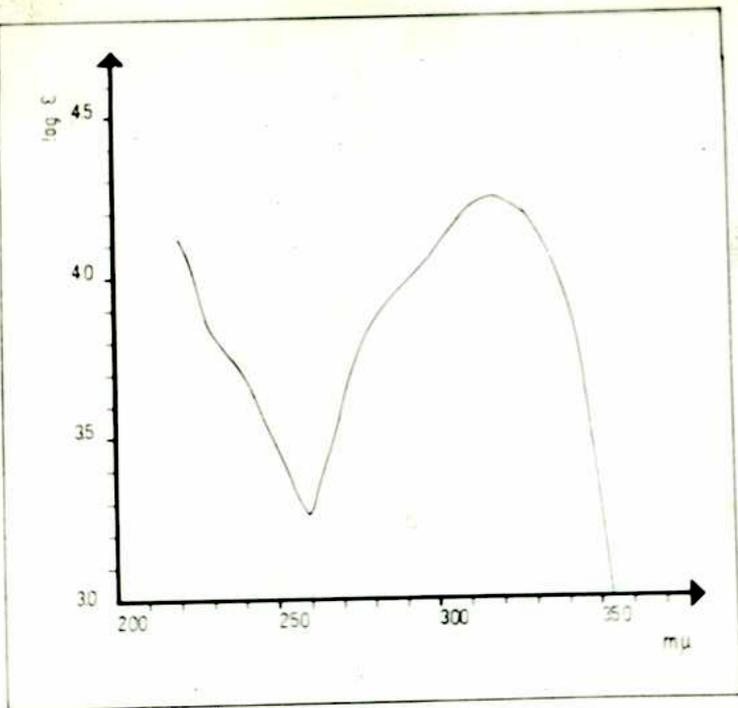
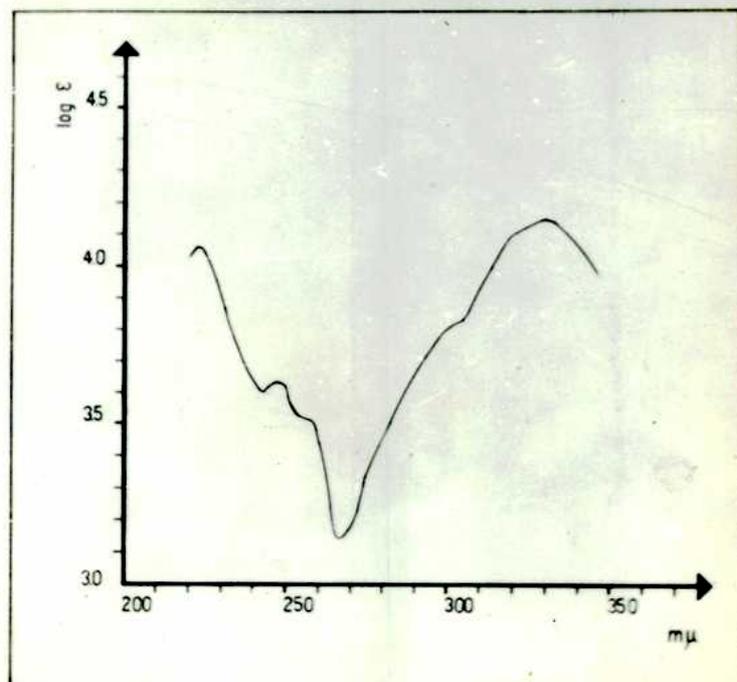


Figura 3
Espectro UV de
3-etil-7-metoxi-cumarina
(en etanol 95 %, c 1,91 mg/ 100 ml)

Figura 4
Espectro UV de
2,3-dihidropsoraleno
(en etanol 95 %)
(105a)



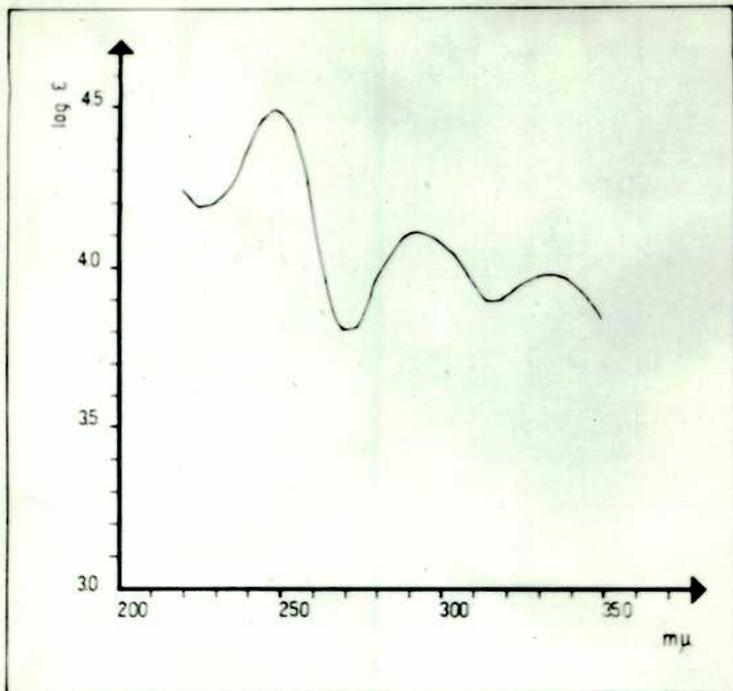
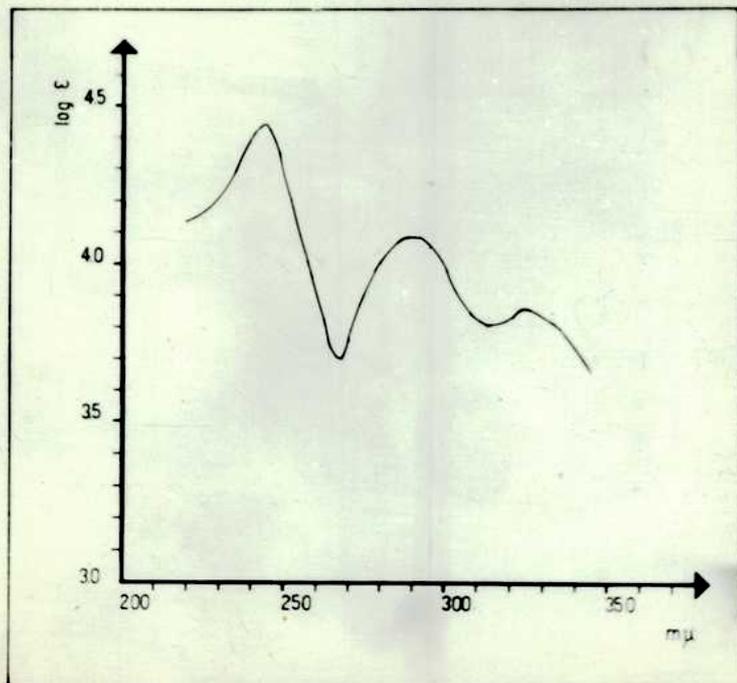


Figura 5
Espectro UV de
Dihydroanhidroscupidatina
(en etanol 95 %;
c 2,00 mg/ 100 ml)

Figura 6
Espectro UV de
Psoraleno
(en etanol 95 %)
(105a)



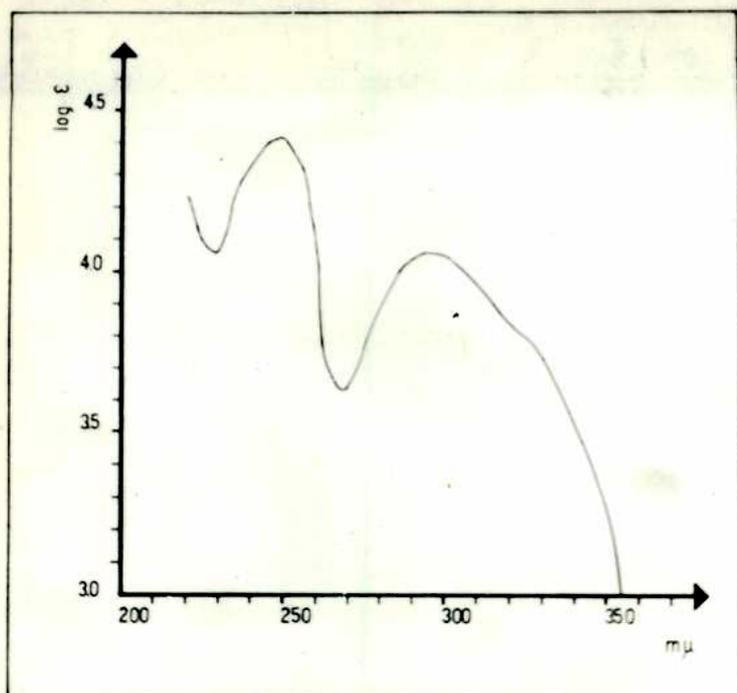
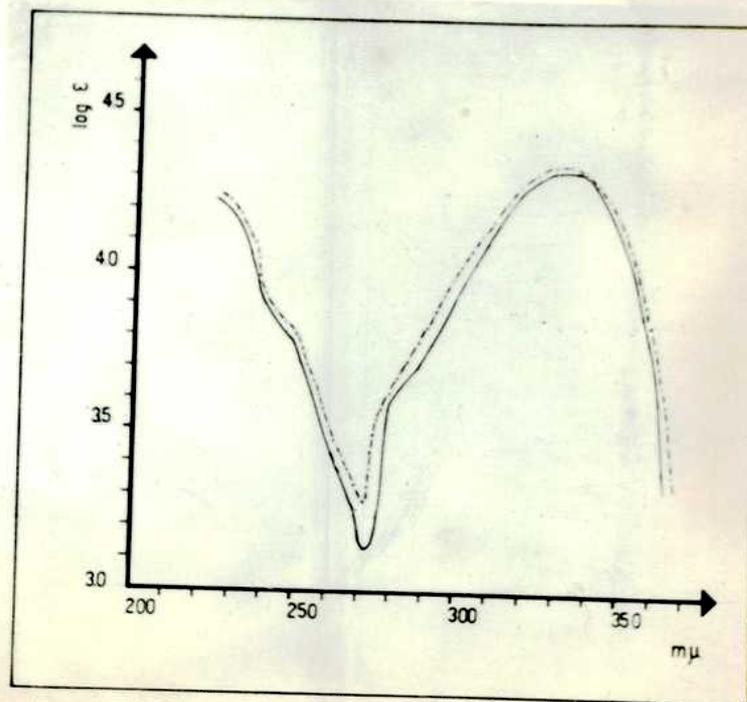


Figura 7
Espectro UV de
Angelicina
(en etanol 95 %)
(105b)

Figura 8
Espectros UV de
3-teramil-7-
hidroxicumarina
Obtenida por síntesis—
obtenida por oxidación.



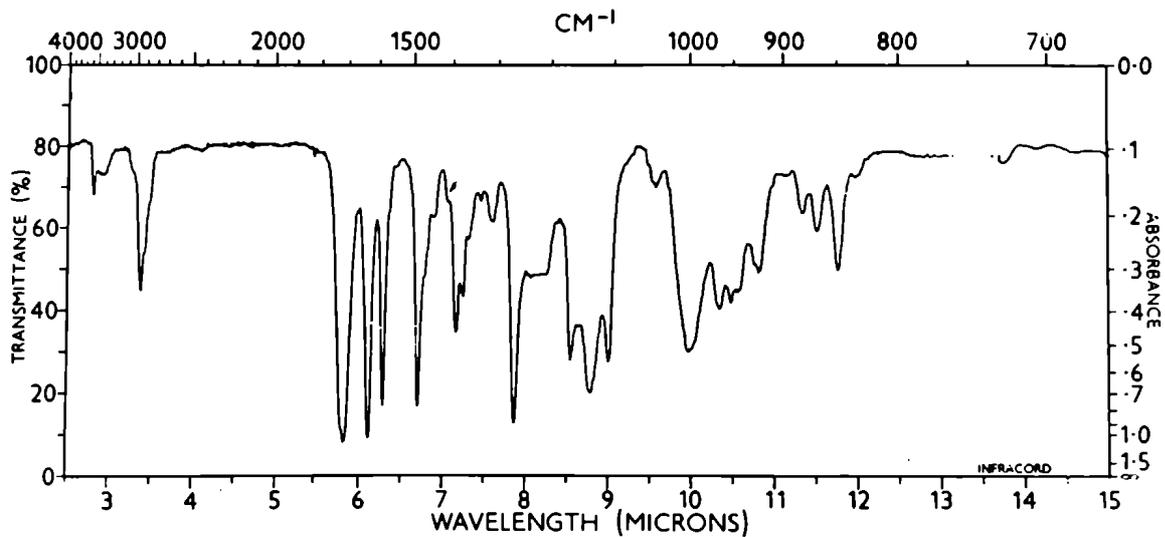


Figura 9, Espectro IR de Cuspidatina (en cloroformo)

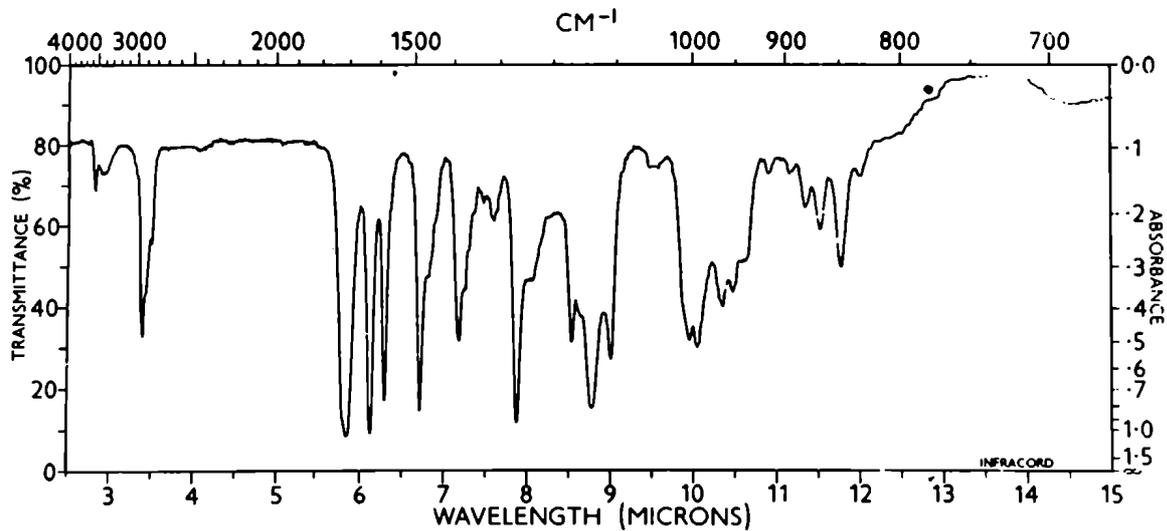


Figura 10, Espectro IR de Dihidrocuspidatina (en cloroformo)

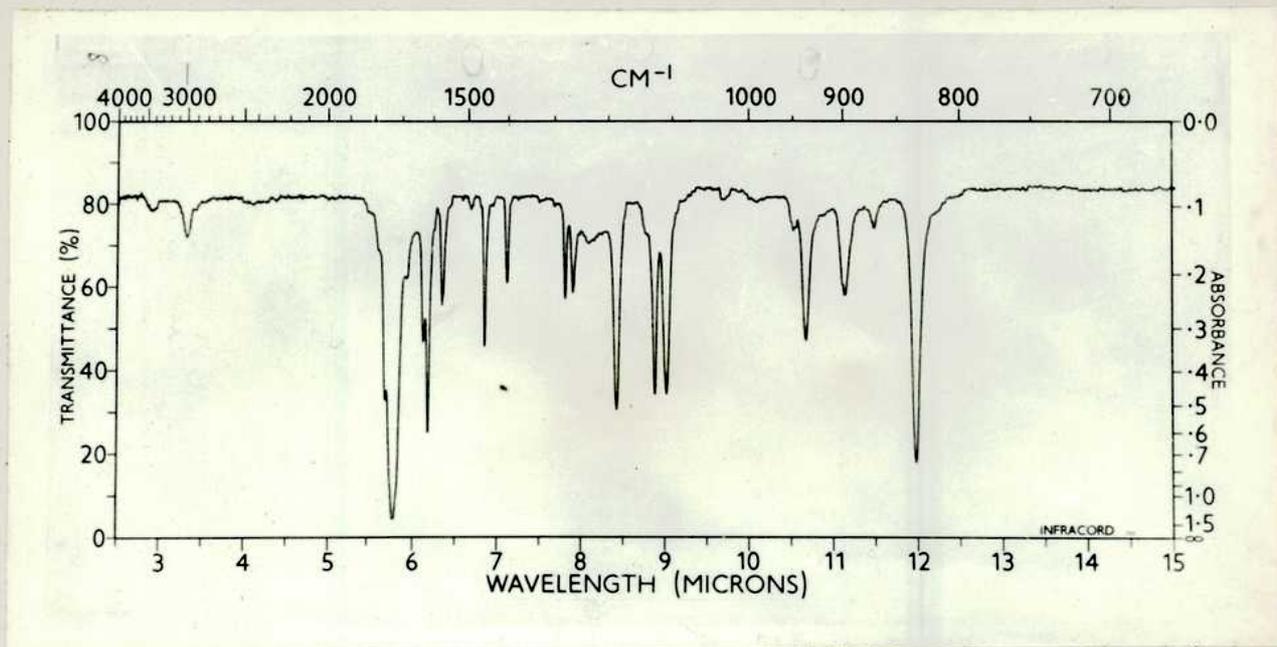


Figura 11, Espectro IR de Cumarina (en cloroformo)

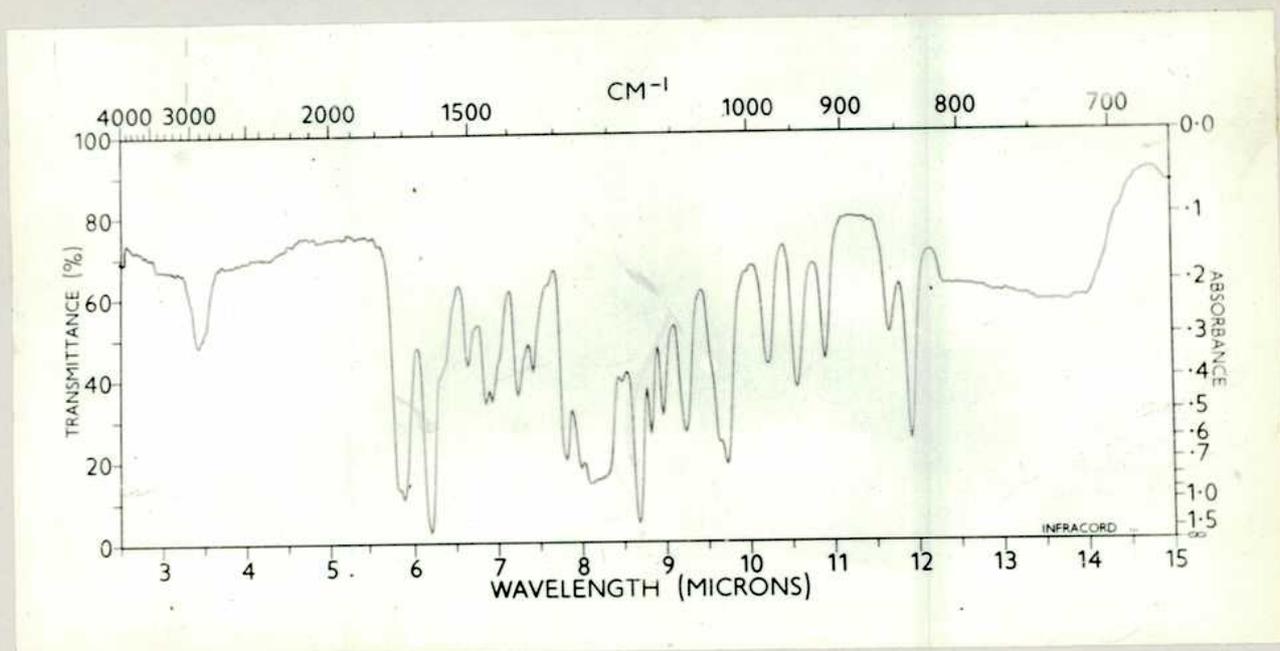


Figura 12, Espectro IR de 3-etil-7-metoxicumarina (en cloroformo)

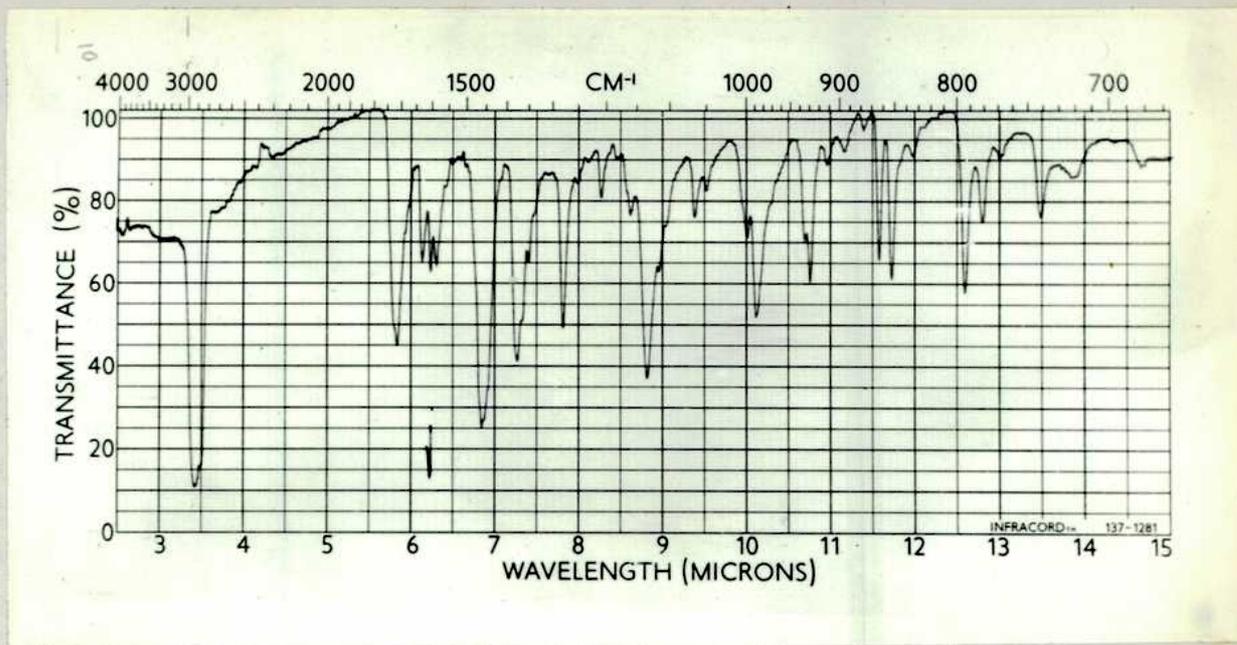


Figura 13, Espectro IR de Dihydroanhydrocuspidatina (en Nujol.)

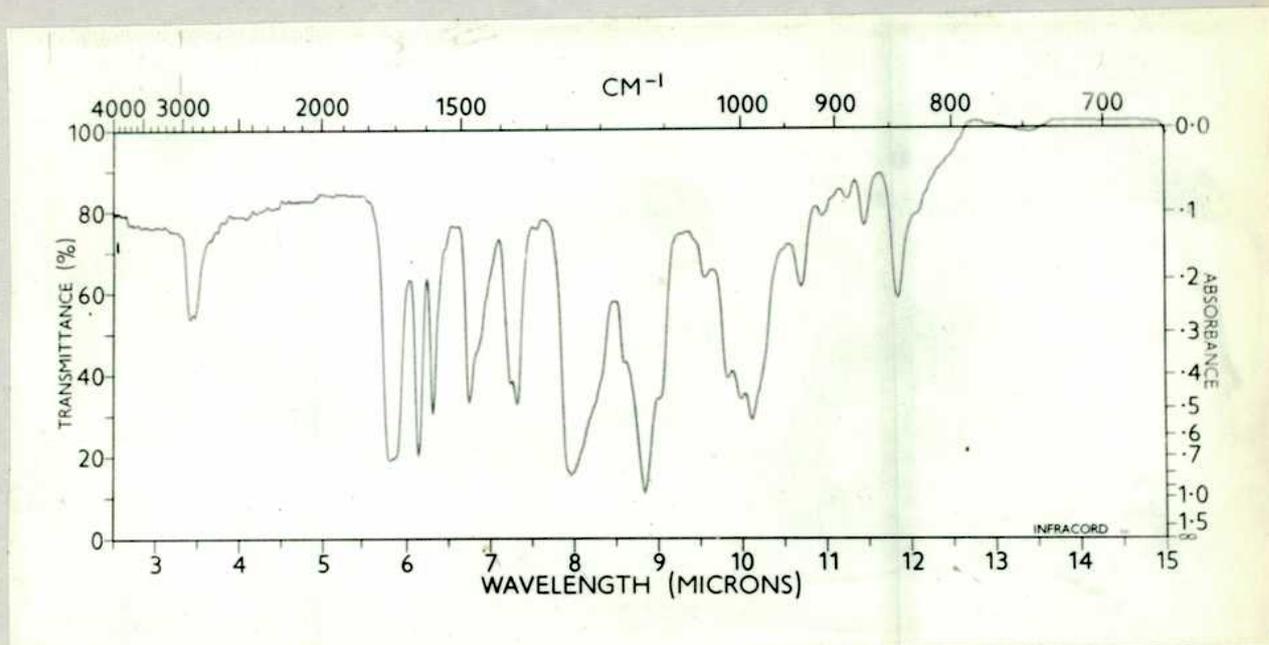


Figura 14, Espectro IR de Acetildihydrocuspidatina (en cloroformo)

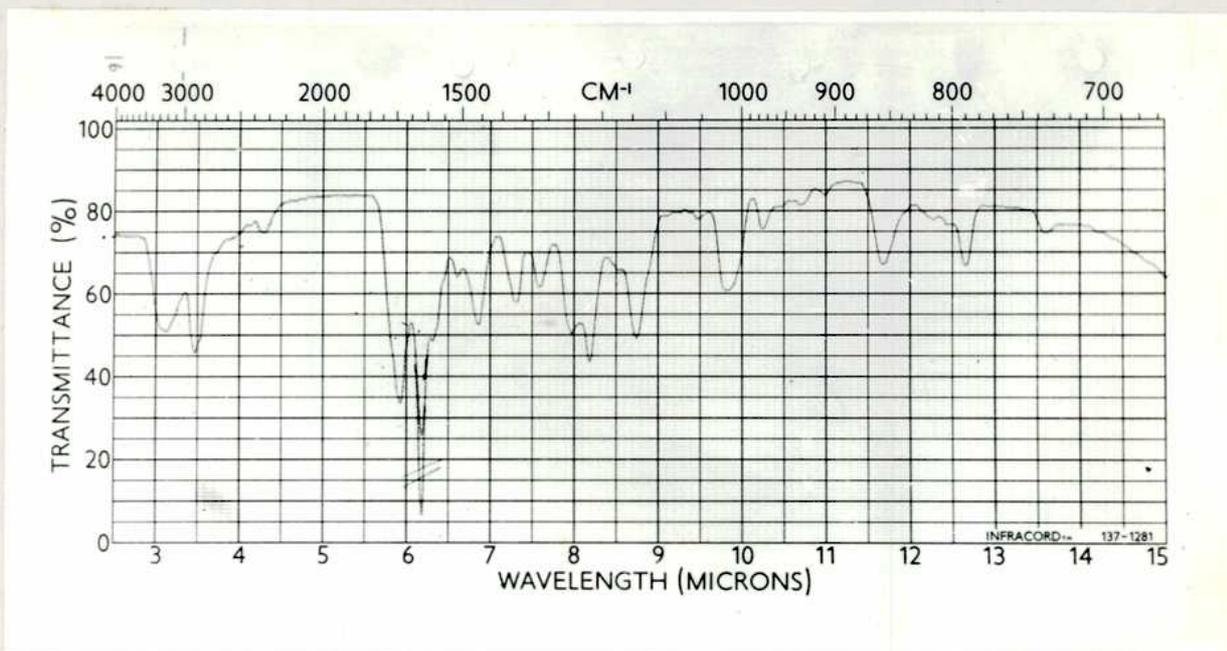


Figura 15, Espectro IR de 3-teramil-7-hidroxicumarina, obtenida por oxidación de dihidroanhydrocospidatina (film)

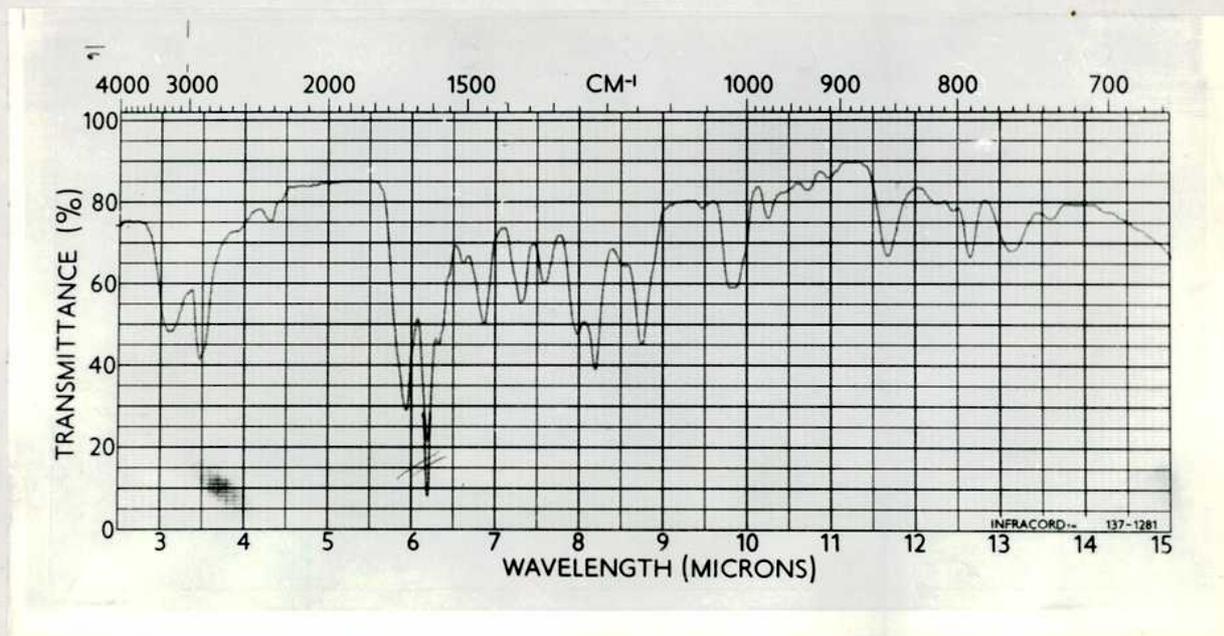


Figura 16, Espectro IR de 3-teramil-7-hidroxicumarina, obtenida por síntesis (film)

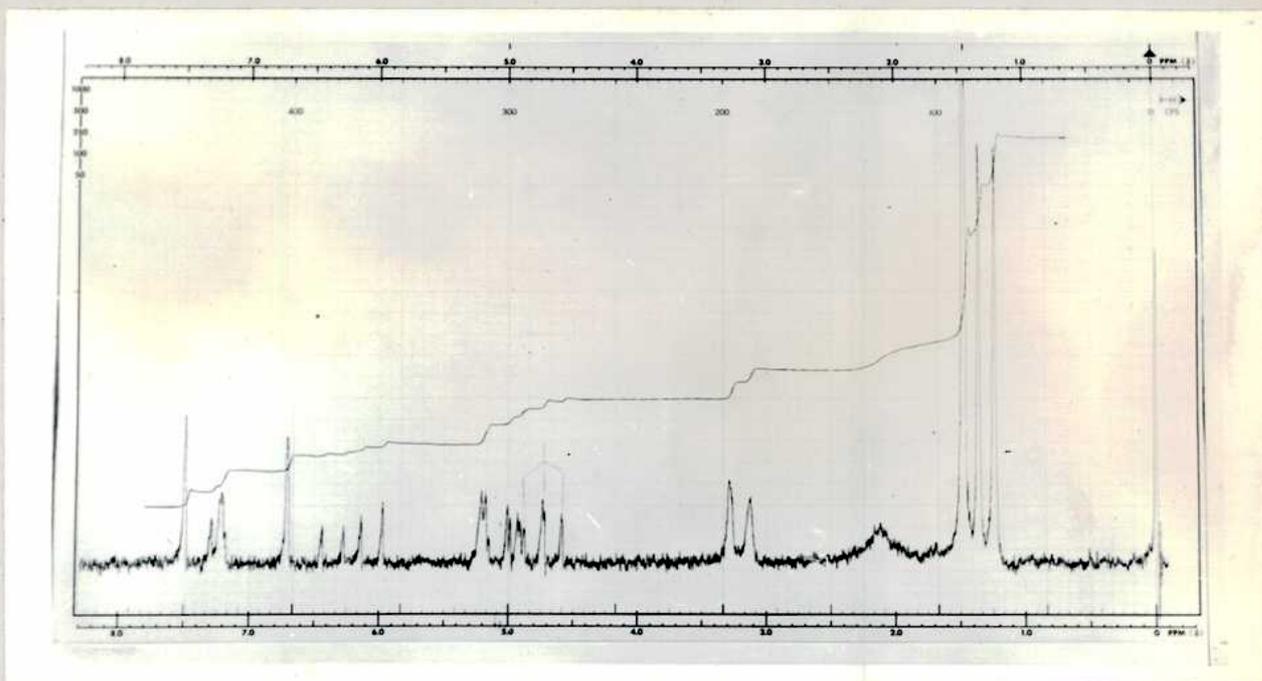


Figura 17, Espectro RMN de cuspidatina (en deuterocloroformo)

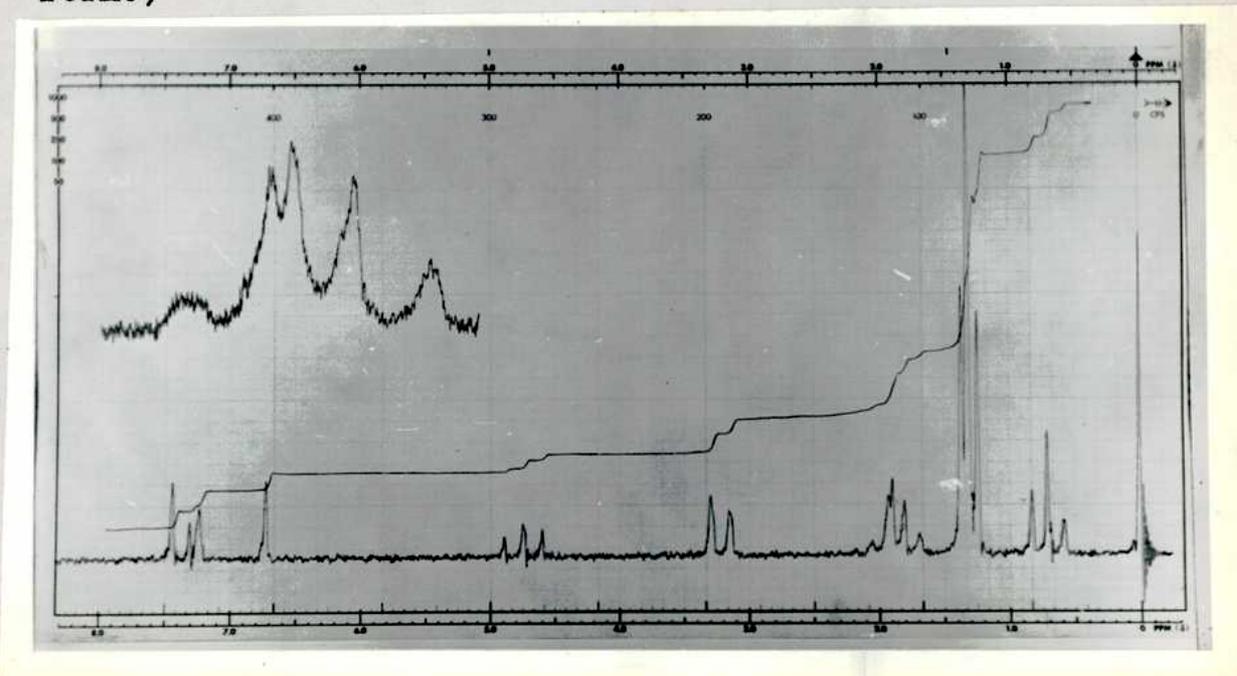


Figura 18, Espectro RMN de Dihidrocuspidatina (en deuterocloroformo)

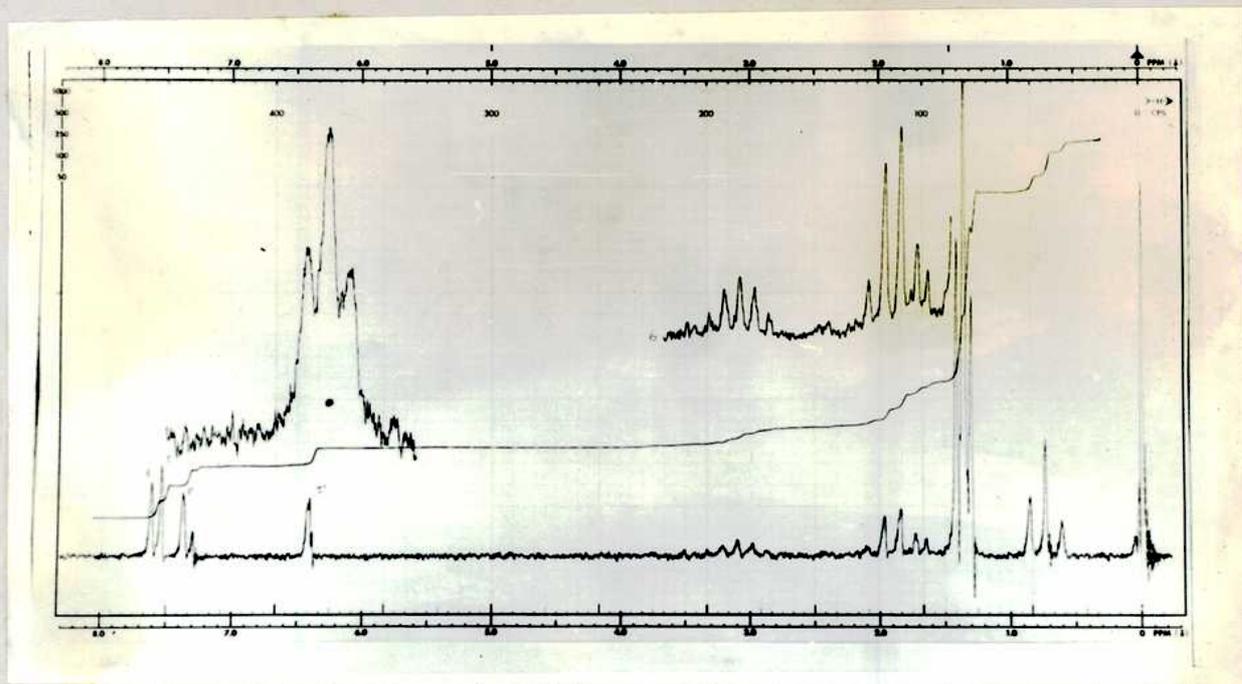


Figura 19, Espectro RMN de Dihydroanhydrocuspidatina
(en deuterocloroformo)

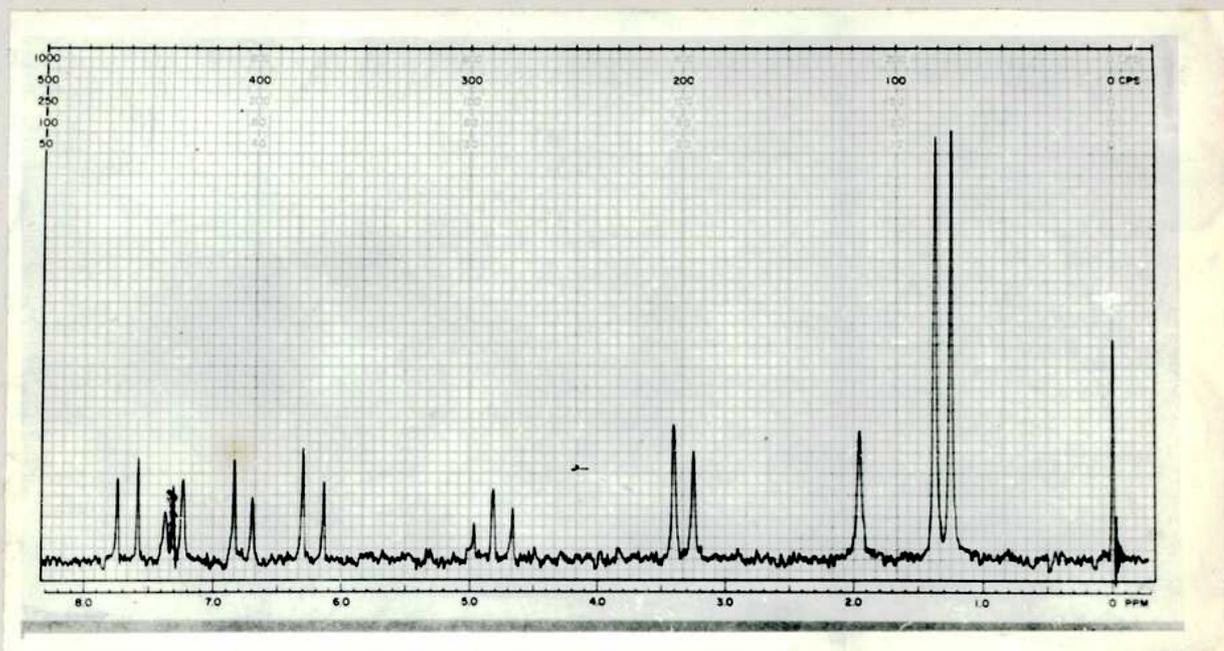


Figura 20, Espectro RMN de Columbianetina (110)

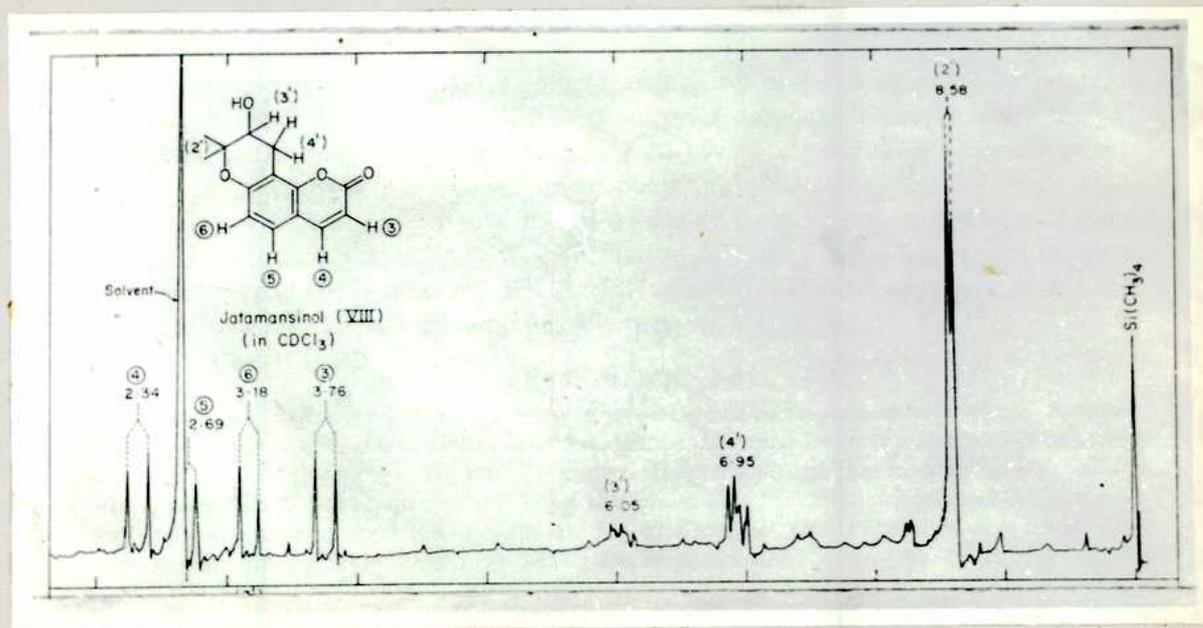


Figura 21, Espectro RMN de Jatamansinol (73)

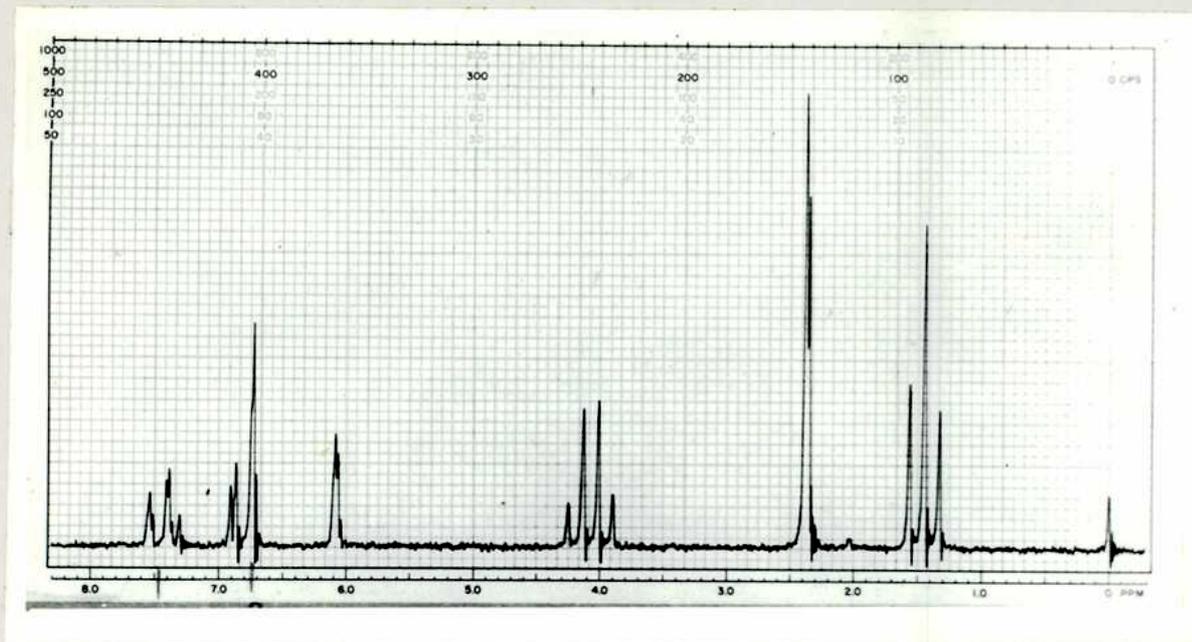


Figura 22, Espectro RMN de 7-etoxi-4-metilcumarina (111)

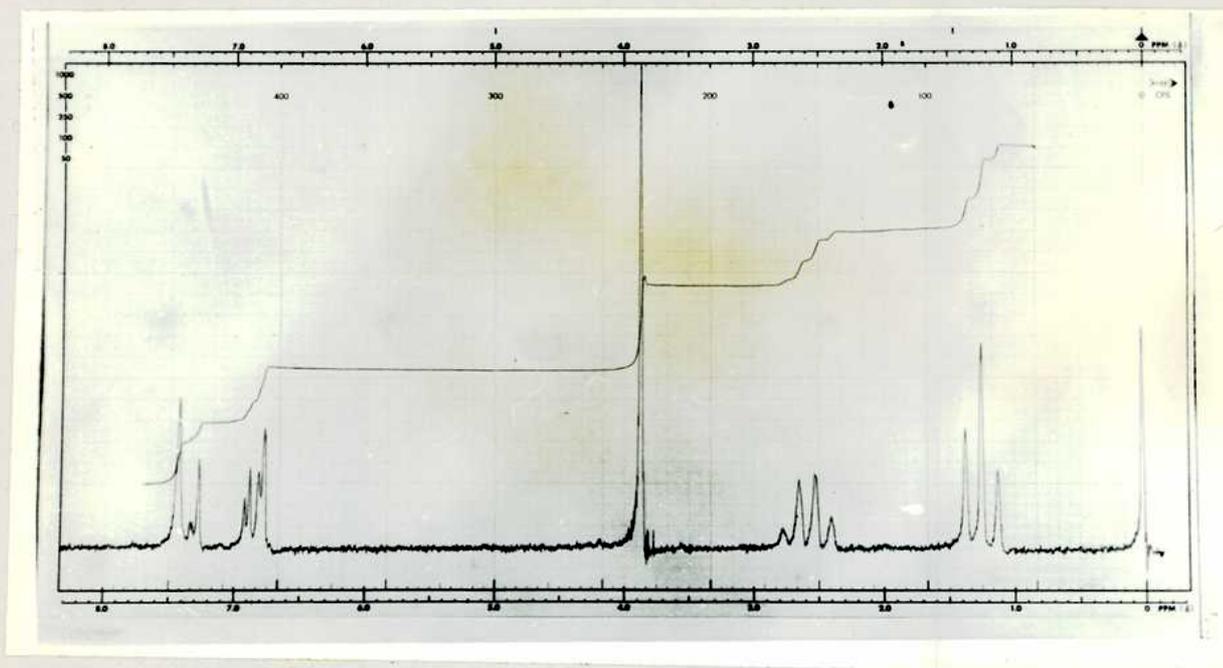


Figura 23, Espectro RMN de 7-metoxi-3-etilcumarina (en deuterocloroformo)

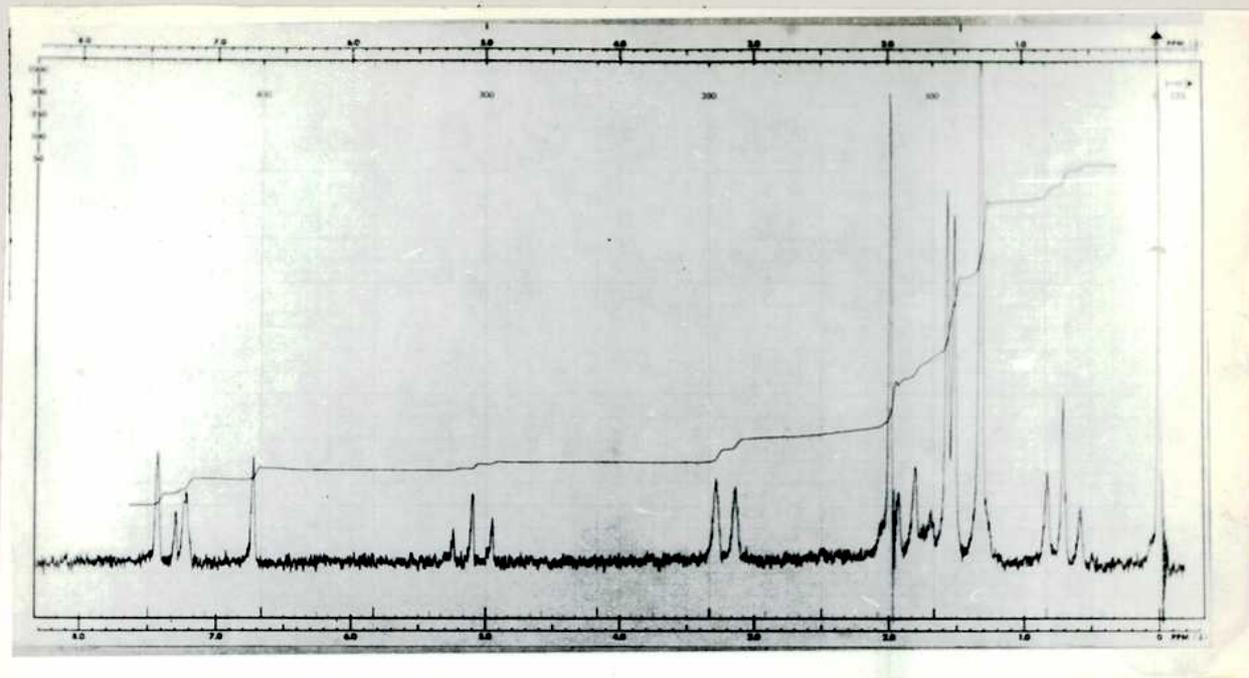


Figura 24, Espectro RMN de Acetildihidroscupidatina, obtenida por tratamiento de dihidroscupidatina con anhídrido acético (en deuterioclorofórmio)

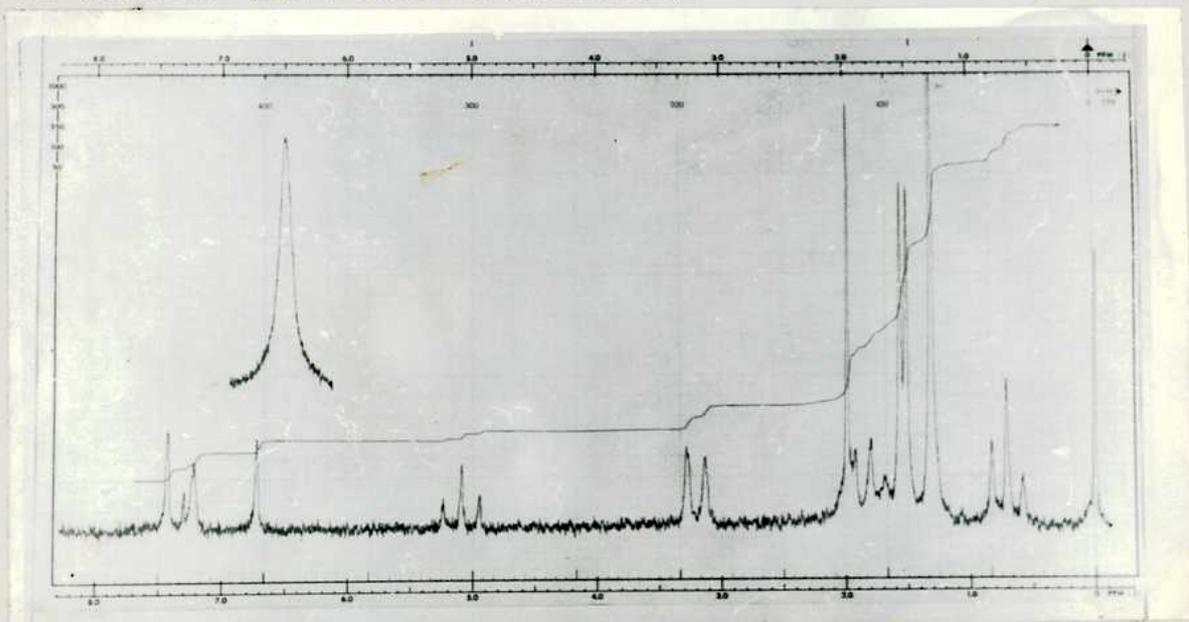


Figura 24a, Espectro RMN de Acetildihidroscupidatina, obtenida por tratamiento de dihidroscupidatina con anhídrido trifluoroacético (en deuterioclorofórmio)

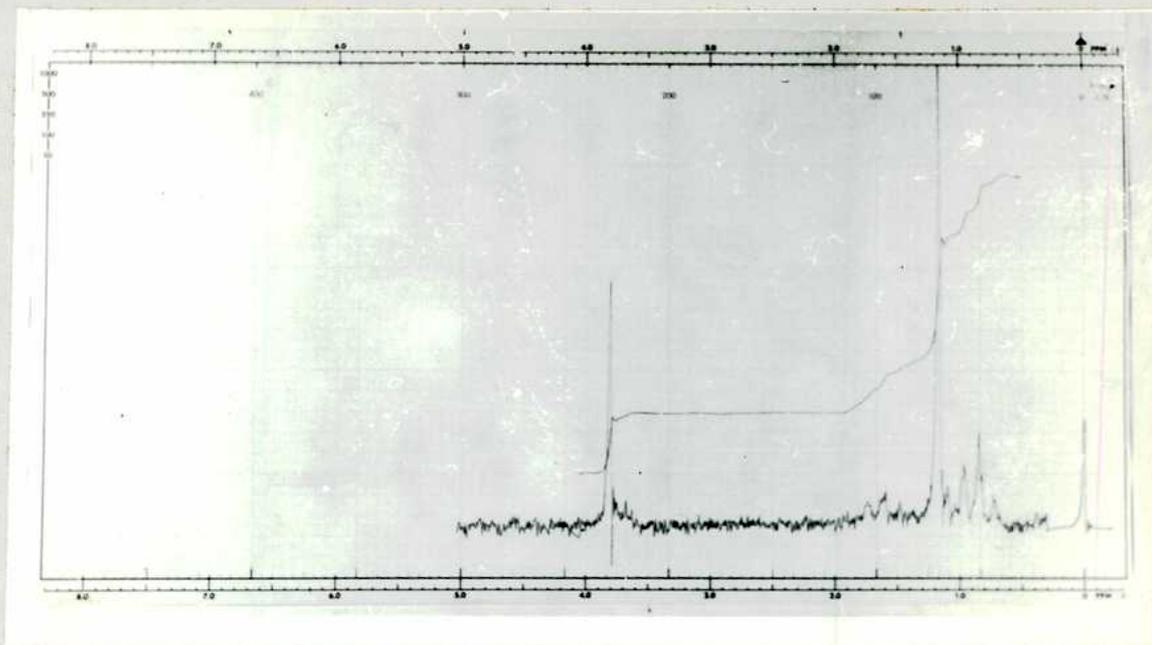


Figura 25, Espectro RMN del éster metílico del ácido α -ceto- β,β -dimetilvalérico, obtenido por oxidación de dihidrocuspdatina (en deuterocloroformo)

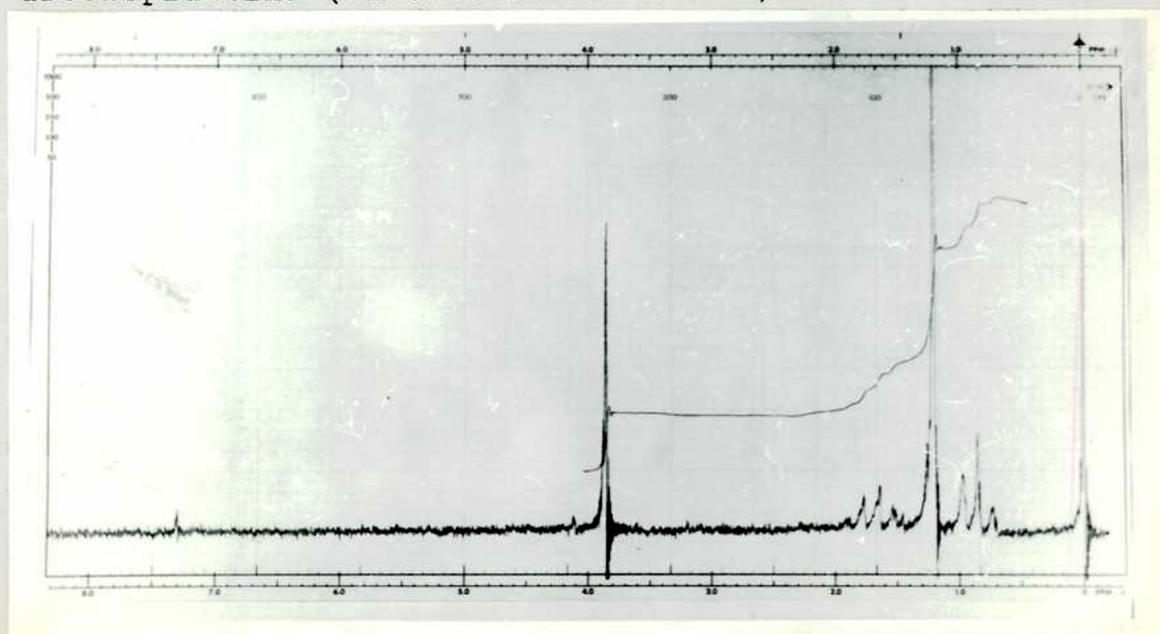


Figura 26, Espectro RMN del éster metílico del ácido α -ceto- β,β -dimetilvalérico, obtenido por síntesis (en deuterocloroformo)

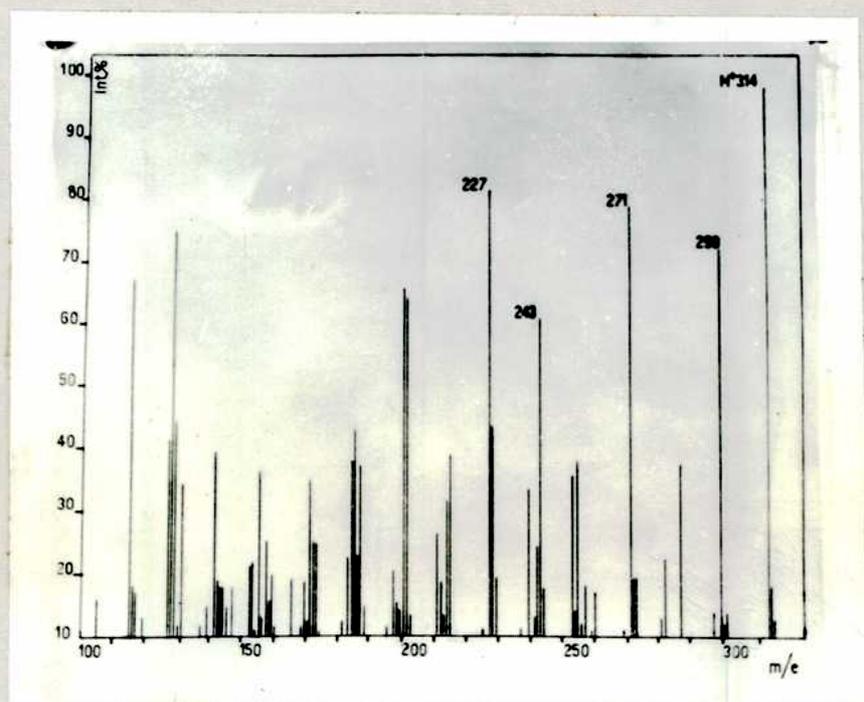


Figura 27, Espectro de masa de la Cuspidatina

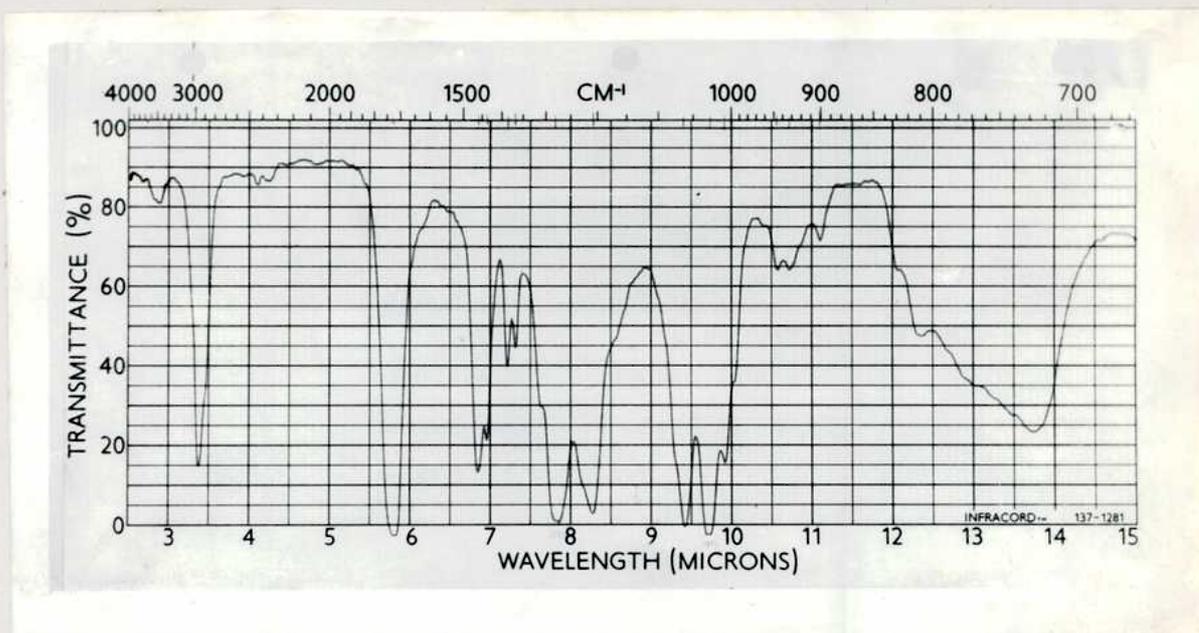


Figura 28, Espectro IR del ester metálico del ácido α -ceto- β,β -dimetilvalérico, obtenido por oxidación de dihidrocupidatina (en cloroformo)

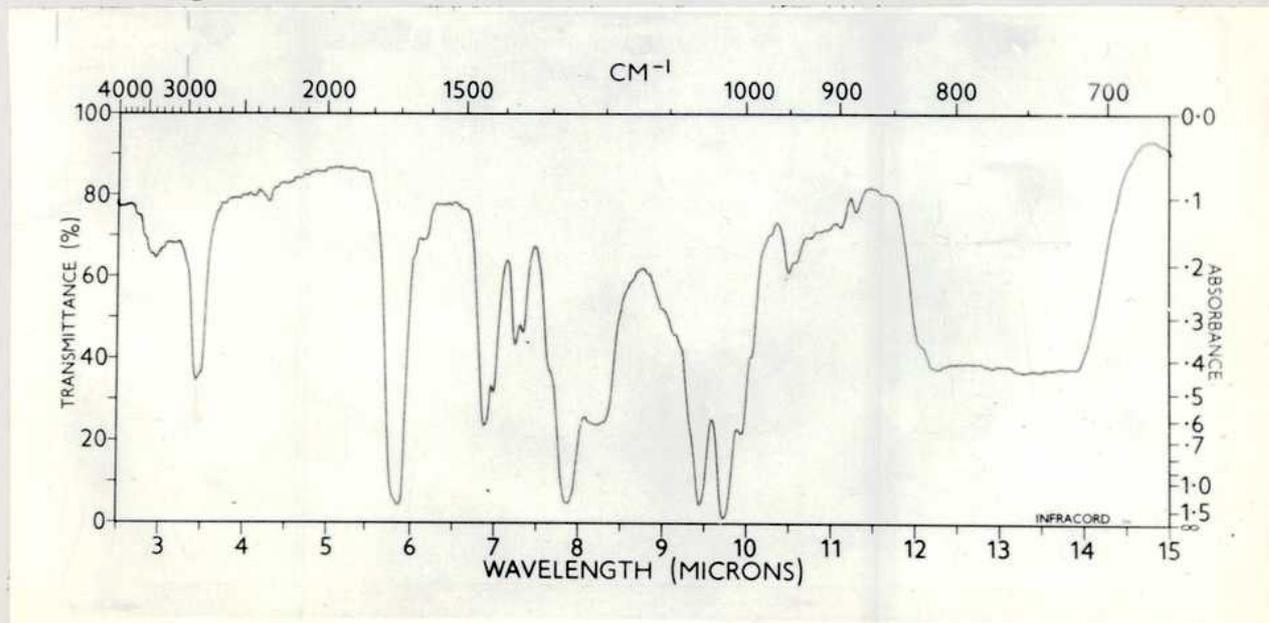


Figura 29, Espectro IR del ester metálico del ácido α -ceto- β,β -dimetilvalérico, obtenido por síntesis (en cloroformo)

PARTE EXPERIMENTAL

Los puntos de fusión son sin corregir. Los espectros de absorción en el ultravioleta se obtuvieron en un espectrofotómetro Beckmann DU, en solución etanólica. Los espectros de absorción en el infrarrojo se determinaron en un espectrofotómetro Perkin-Elmer 137-B. Los espectros de resonancia magnética nuclear fueron obtenidos en un espectrómetro Varian A-60 en solución en deuterocloroformo con tetrametilsilano como referencia interna. Los análisis fueron llevados a cabo por el Laboratorio Microanalítico Alfred Bernhard de Mülheim, Alemania y por la Dra. Blanca B. de Deferrari, Laboratorio de Microanálisis de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales.

Las cromatografías se realizaron sobre capa delgada de gel de sílice (Kieselgel G Merck) con los siguientes sistemas de solventes: a) eter de petróleo (p eb 60-70°C)-acetato de etilo (100:30), desarrolla 12 cm en 20 minutos; b) tolueno-formiato de etilo-ácido fórmico (5:4:1), desarrolla 12 cm en 30 minutos; c) cloroformo, desarrolla 12 cm en 20 minutos; d) eter de petróleo-eter etílico (75:25), desarrolla 12 cm en 25 minutos; f) cloroformo-metanol (90:10), desarrolla 12 cm en 30 minutos; e) etanol-amoniaco-agua (80.4:16), desarrolla 12 cm en 60 minutos.

Las placas fueron reveladas con luz ultravioleta, salvo indicación en sentido contrario.

CUSPIDATINA

1,5 kg de corteza molida de Helietta cuspidata Benth., se extrajeron durante 3 días, en un extractor continuo, con eter de petróleo (ρ eb 60-70°C). Con el mismo solvente usado en esta operación se extrajo otra cantidad igual de corteza, por idéntico período de tiempo. Los extractos combinados se filtraron y concentraron a 500 ml, a presión reducida. En la solución concentrada apareció un precipitado cristalino, blanco amarillento. Se dejó 12 horas a 4°C y filtró. Peso: 3,232 g, pf 146-148°C.

Otros 3,5 kg de corteza, se trabajaron en igual forma, obteniéndose 3,995 g de cuspidatina, pf 149-154,5°C.

Rendimiento: 1,1 g de cuspidatina/kg de corteza.

Se recrystalizaron 3,23 g de cuspidatina bruta de 15 ml de benceno, obteniendose 2,33 g (88 %) de pf 150-154°C. La cuspidatina así obtenida se recrystalizó de 40 ml de eter isopropílico-propanol (3:1) dando 1,32 g (57 %) de agujas incoloras de pf 165-166°C. La cuspidatina obtenida en la segunda extracción se purificó en la misma forma, usando las cantidades apropiadas de solventes. Se obtuvieron 1,71 g de cuspidatina de pf 165-166°C.

Las aguas madres de las dos recrystalizaciones con eter isopropílico-isopropanol se concentraron a sequedad, a presión reducida. El residuo obtenido se recrystalizó de la misma forma dos veces más. En la primera de ellas la solución se filtró en caliente, previo agregado

de carbón decolorante; peso 0,743 g de pf 165-166°C.

Rendimiento de cuspidatina pura: 0,58 g de cuspidatina/kg de corteza.

Una muestra de 0,388 g de cuspidatina de pf 165-166°C se preparó para análisis recristalizándola 3 veces de metanol. Se obtuvieron 0,179 g de pf 165,5-166°C.

Análisis: Calculado para $C_{19}H_{22}O_4$: C 72,59 %; H 7,05 %. Encontrado: C 72,58 %; H 7,06 %.

Espectro de absorción ultravioleta (etanol 95 %)
 $\lambda_{\text{máx.}}$ 330 m μ ($\log \epsilon$ 4,292), (figura 1).

Espectro de absorción en el infrarrojo, figura 9.

Espectro de resonancia magnética nuclear, figura 17.

Poder rotatorio: $\left[\alpha \right]_D^{28} + 14,5$ (c 0,0177 g/ml; cloroformo)

Peso molecular (Espectrometría de masa, figura 27): 314

Cromatografía en capa delgada: sistema (a) Rf 0,19; sistema (b) Rf 0,52

DIHIDROCUSPIDATINA

Una suspensión de 0,102 g de cloruro de paladio sobre carbón (Pd 10 % sobre carbón), en 5ml de ácido acético, se hidrógenó a temperatura ambiente y presión atmosférica. A esta suspensión se agregó una solución de 0,497 g de cuspidatina en 25 ml del mismo ácido, y se hidrógenó en idénticas condiciones. En el término de una

hora la absorción de hidrógeno se detuvo, correspondiendo la cantidad absorbida a un mol de sustancia. La solución acética se filtró para separar el catalizador. Se diluyó con 200 ml de eter etílico y lavó 5 veces con 80 ml de agua destilada, cada vez, y luego una vez con 80 ml de solución saturada de bicarbonato de sodio (para separar todo el ácido acético). Se secó el extracto etéreo sobre sulfato de sodio anhidro, y se eliminó el eter por evaporación a presión reducida. Se obtuvieron 0,466 g de un producto cristalino (agujas blancas) de pf 148-149,5°C, que se recristalizó de eter isopropílico-metanol (4:1), obteniéndose 0,368 g de pf 149-150,5°C.

Se preparó una muestra para análisis, recristalizando 0,289 g de la sustancia obtenida anteriormente, dos veces del mismo solvente. Se obtuvieron 0,189 mg de pf 150,5-151°C.

Análisis: Calculado para $C_{19}H_{24}O_4$: C 72,12 %; H 7,65 %. Encontrado: C 72,16 %, H 7,56 %.

Espectro de absorción ultravioleta (etanol 95 %) figura 2. λ_{max} 335 m μ (log ϵ 4,303).

Espectro de absorción en el infrarrojo, figura 10.

Espectro de resonancia magnética nuclear, figura 18.

Cromatografía en capa delgada, sistema (a) Rf 0,22; sistema (b) Rf 0,56

Acetildihidroocupidatina:

a) A 53 mg de dihidroocupidatina se agregaron 28 mg de ácido acético y 112 mg de anhídrido trifluoracético, obteniéndose una solución límpida, que se dejó a temperatura ambiente durante 60 minutos. Se agregaron luego 6 ml de solución saturada de bicarbonato de sodio, formándose un precipitado amorfo. La suspensión se extrajo 3 veces con 10 ml de eter cada vez. Los extractos etéreos reunidos se llevaron a sequedad a presión reducida, obteniéndose 64 mg de un residuo, que recristalizado de eter isopropílico fundía a 158-160°C. Luego de tres recristalizaciones más del mismo solvente se obtuvieron 23 mg de pf 161,5-162,5°C.

Análisis: Calculado para $C_{21}H_{26}O_5$: C 70,45 %; H 7,32 %. Encontrado: C 70,79 %; H 7,51 %.

Espectro de absorción en el infrarrojo, figura 14.

Espectro de resonancia magnética nuclear, figura 24a.

Cromatografía en placa delgada en el sistema (a) Rf 0,30; sistema (b) Rf 0,62.

b) Una solución de 50 mg de dihidroocupidatina en 0,5 ml de piridina y 2,5 ml de anhídrido acético, se calentó a reflujo durante 6 horas. Se dejó enfriar y se tomó con 100 ml de solución saturada de bicarbonato de sodio. Esta solución acuosa se extrajo 5 veces con 25 ml de eter cada vez. Los extractos etéreos reunidos

se lavaron dos veces con 30ml de ácido clorhídrico 2 N cada vez y se secaron sobre sulfato de sodio. Se llevaron a sequedad obteniéndose 53 mg de residuo, que se recristalizó de eter isopropílico. Se obtuvieron 35 mg de pf 160,5-161,5°C (Rend: 62 %).

Espectro de resonancia magnética nuclear, figura 24.

Cromatografía en capa delgada en el sistema (a) Rf 0,30; sistema (b) Rf 0,62.

Hidrólisis: Una solución de 30 mg de acetildihidrocuspidatina en 4ml de hidróxido de potasio metanólico 5 %, se calentó a reflujo durante 50 minutos. Se dejó enfriar, diluyó con un volumen igual de agua y acidificó con ácido clorhídrico concentrado, apareciendo un precipitado blanco. Se concentró a presión reducida hasta eliminar todo el metanol, enfrió y filtró. Peso: 29 mg, pf 150-150,5°C.

Espectro de absorción en el infrarrojo, coincide con el de dihidrocuspidatina.

Cromatografía en capa delgada en el sistema (a) Rf 0,20, (b) Rf 0,55.

Test de oxidación: 1) (103) Se disolvieron 10 mg de dihidrocuspidatina en 1 ml de acetona. A esta solución se agregó una gota de otra de 25 g de ácido crómico en 25 ml de ácido sulfúrico concentrado, diluída con 75 ml de agua. No desarrolla color verde en el término de 2", indicando que el hidroxilo alcoholico presente es

terciario.

Se realizó la misma reacción con:

alcohol ter-amílico: negativo n-propanol: positivo

2) Oxidación con dióxido de manganeso activo:

a) Preparación del dióxido de manganeso activo (132):

Una solución de 96 g de permanganato de potasio en 100 ml de agua se calentó a 80°C. Se le agregaron, simultáneamente, y en el término de una hora, 200 ml de una solución de hidróxido de sodio al 40 % y 150 ml de una solución de sulfato manganeso ($\text{SO}_4\text{Mn} \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$) al 74 %, con agitación suficiente y manteniendo la temperatura en 80°C. Una vez terminado el agregado se prolongó la agitación y el calentamiento por una hora más. La suspensión se enfrió y centrifugó. La fase acuosa se desechó y el precipitado se suspendió en 100 ml de agua, se volvió a centrifugar y eliminar la capa acuosa. Se continuó lavando de esta forma hasta desaparición del color rosa del agua de lavado. Fueron necesarios aproximadamente 10 de ellos. Finalmente se secó en estufa a 100°C durante 2 días.

b) Oxidación de dihidrocupidatina: (133) Se agitó durante 24 horas y a temperatura ambiente, una solución de 100 mg de dihidrocupidatina en 15 ml de tetracloruro de carbono, a la que se había agregado un gramo de dióxido de manganeso activo. Transcurrido el tiempo indicado la solución se filtró, y el filtrado se llevó a sequedad. Se obtuvo un residuo de 60 mg, pf 149-150,5°C Pf mezcla con dihidrocupidatina 149-150,5°C.

Cromatografía en capa delgada en el sistema (a)
Rf 0,22.

Se hizo la misma reacción con alcohol bencílico y el benzaldehído obtenido se reconoció como su semicarbazona. Por la cantidad de ésta obtenida se calculó un rendimiento del 63% en la oxidación del alcohol.

3)-Oxidación según Jones (106): A una solución de 62 mg de dihidroscupidatina en 20 ml de acetona, enfriada a 0°C, se agregaron 0,1 ml de otra solución de 2,763 g de trióxido de cromo en 2,3 ml de ácido sulfúrico concentrado, llevada a 10 ml con agua. La mezcla tomó un color verde, y se dejó a la misma temperatura por espacio de una hora. Durante toda la operación se mantuvo ambiente de nitrógeno. Transcurrido este tiempo, se agregaron 30 ml de agua y se evaporó la acetona a presión reducida. La solución acuosa así obtenida se extrajo cuatro veces con 15 ml de cloroformo cada vez. Los extractos cloroformicos reunidos se secaron sobre sulfato de sodio y se evaporaron a presión reducida. Se obtuvieron 60 mg de un residuo que cristalizado de éter isopropílico-metanol (4:1) fundía a 150-151°C. Punto de fusión mezcla con dihidroscupidatina de pf 150-151°C: 150-151°C.

Espectro de absorción en el infrarrojo, coincide con el de dihidroscupidatina.

Cromatografía en capa delgada en el sistema (b)
Rf 0,57.

DIHIDROANHIDROCUSPIDATINA

a)-A una solución de 503 mg de dihidroscupidatina en 100 ml de benceno anhidro, se agregaron 5 g de pentóxido de fósforo y se calentó a reflujo durante 5 horas. En el fondo del balón quedó un precipitado de color naranja. La solución se filtró por lana de vidrio. El precipitado se lavó con dos porciones de 8 ml de benceno que se filtraron por la misma lana de vidrio y se juntaron a la solución principal. El total de la solución bencénica se concentró a sequedad y se dejó en desecador durante la noche para eliminar el resto de solvente. Se obtuvieron 363 μ g de una sustancia blanca, cristalina de pf 94-95°C que se recrystalizó de metanol-agua. Se obtuvieron 354 μ g de pf 101-102°C. Se preparó una muestra para análisis recrystalizándola tres veces mas del mismo solvente. Pf 101,5-102,5°C.

Análisis: Calculado para $C_{19}H_{22}O_3$: C 76,48 %; H 7,43 %; Encontrado: C 76,31 %; H 7,55%.

Espectro de absorción en el ultravioleta, figura 5. λ_{\max} 250 m μ (log ϵ 4,510); λ_{\max} 295 m μ (log ϵ 4,115); λ_{\max} 335 m μ (log ϵ 3,983).

Espectro de absorción en el infrarrojo, figura 13.

Espectro de resonancia magnética nuclear, figura 19.

Cromatografía en capa delgada en el sistema (a) Rf 0,76; sistema (b) Rf 0,70.

b)-Este producto se obtuvo también por el siguiente procedimiento: se mezclaron intimamente 99 mg de dihidrocuspidatina con 200 mg de pentóxido de fósforo y se calentaron a reflujo, a 2 mm de Hg, en baño de aceite a 200°C, durante 2 horas. Destiló un producto muy denso, que cristalizó inmediatamente al enfriar. Pf 94-95°C. Luego de dos recristalizaciones de metanol-agua (4:1), fundía 101-102°C.

RECONOCIMIENTO DE GRUPOS METILENO O ISOPROPILIDENO TERMINALES

- Reactivos: (a)-Carbonato de sodio 0,1 N
(b)-Periodato de sodio 0,02 M
(c)-Permanganato de potasio 0,005 M
(d)-Hidróxido de sodio 10 N
(e)-Arsenito de sodio 2 M
(f)-Solución de ácido cromotrópico: 0,200 g de este ácido se trataron con 20 ml de agua. La solución se filtró para separar el insoluble y el filtrado se llevó a 100 ml con ácido sulfúrico-agua (2:1).
(g)-Acido sulfúrico 20 N
(h)-Acido salicílico 20 % en etanol

Se disolvieron 6 mg de sustancia en 7 ml de agua y 2 ml de piridina, con calentamiento. Se dejó enfriar. Se agregaron 10 ml de (b) y 1 ml de (c). Se dejó reposar durante 30 minutos. Luego se agregaron 5 ml de (e) y 1 ml de (g). Se dejó reposar durante 5 minutos, (I).

Reconocimiento de formaldehído: A 1 ml de (I) se agregó uno de (f) y la solución resultante se calentó a baño maría durante 60 minutos. El resultado es positivo cuando la solución toma una coloración violeta.

Cuspidatina: positivo

Cumarina: negativo

Dihidrocuspidatina: negativo

Cinconina: positivo

Reconocimiento de acetona: A 1 ml de (I) se le agregó un ml de (d) y 1 ml de (h). La solución resultante se calentó a baño maría durante 30 minutos. El resultado es positivo cuando la solución toma un color rojo sangre.

Cuspidatina: negativo

Cumarina: negativo

Dihidrocuspidatina: negativo

Oxido de mesitilo: positivo

3-TER-AMIL-7-HIDROXICUMARINA

a)-Por oxidación de dihidrocuspidatina

1)-3-ter-amil-6-carboxi-7-hidroxicumarina: A una solución de 239 mg de dihidrocuspidatina en 9 ml de ácido acético, calentada a 80°C, se agregó gota a gota y con agitación, otra de 480 mg de dicromato de potasio en 4,75 ml de ácido sulfúrico 1 N, previamente llevada a la misma temperatura, y se prosiguió con la agitación, siempre a 80°C, durante 5 horas mas.

La mezcla de oxidación se enfrió, se diluyó a 20 ml con agua y se extrajo 3 veces con 15 ml de cloroformo cada vez. Los extractos clorofórmicos reunidos (A) se lavaron 2 veces con 15 ml de agua cada vez y luego se extrajeron 7 veces con 15 ml de solución de bicarbonato de sodio 5% cada vez. Se secaron sobre sulfato de sodio y se

concentraron a presión reducida. Peso: 77 mg de residuo (B).

Los extractos acuosos (solución de bicarbonato) reunidos, se acidificaron con ácido sulfúrico concentrado y se extrajeron 5 veces con 25 ml de cloroformo cada vez. Se secaron sobre sulfato de sodio y se concentraron a presión reducida. Se obtuvieron 93 mg de residuo (C).

Una cromatografía en capa delgada de los productos A, B y C en el sistema (b) dió los siguientes resultados (A) Rf 0,30; 0,48; 0,54; 0,62; 0,70. (B) Rf 0,30; 0,54; 0,62; 0,70. (C) Rf 0,30; 0,48.

La fracción (C) se tomó con 6 ml de solución de bicarbonato de sodio al 5 %. A esta solución se agregó una pequeña cantidad de carbón decolorante y se filtró por filtercel. El filtrado se acidificó con ácido clorhídrico concentrado. Apareció un precipitado que se centrifugó y se recrystalizó de 1,5 ml de metanol. Se enfrió, centrifugó decantó el solvente y secó en desecador. Se obtuvieron cristales de pf 210-220°C, con descomposición. Luego de una segunda recrystalización se obtuvieron 24 mg de sustancia. De las aguas madres, por agregado de agua y recrystalización se recuperaron otros 30 mg de sustancia.

El total de producto se sublimó a 135°C y 1 μ . Se obtuvieron 30 mg de un producto cristalino, blanco. Pf 175-205°C con descomposición.

Análisis; Calculado para $C_{15}H_{16}O_5 \cdot \frac{1}{2}H_2O$: C 63,21% H 6,01 %. Encontrado: C 63,24 %; H 6,02 %.

Cromatografía en capa delgada en el sistema (b)

Rf 0,45.

2)-3-ter-amil-7-hidroxicumarina: Se calentaron 17 mg de 3-ter-amil-6-carboxi-7-hidroxicumarina a 260°C y 30 cm de Hg durante 20 minutos. El producto de reacción se tomó con 20 ml de eter y extrajo con bicarbonato de sodio 5 %. La solución etérea extraída se secó sobre sulfato de sodio y concentró a presión reducida, obteniéndose 7 mg de residuo. Este residuo se purificó mediante cromatografía en capa delgada preparativa de sílica gel, con el sistema (a). Se eluye la franja de Rf 0,35 con cloroformo-metanol (1:1). Por evaporación del solvente se obtienen 2 mg de residuo cristalino que se sublima a 115°C a 0,7 μ de presión, obteniéndose aproximadamente 1 mg de cristales blancos en forma de finas agujas.

Espectro de absorción en el ultravioleta figura 8

λ_{\max} 322,5 m μ (log ϵ 4,357)

Espectro de absorción en el infrarrojo, figura 15.

Cromatografía en capa delgada en el sistema (a) Rf 0,34; sistema (b) Rf 0,61; sistema (c) Rf 0,33 y sistema (d) Rf 0,22.

b)-Por síntesis:

1)- β,β -dimetil- δ -valerolactona (134): Una solución, caliente de 27,2 g de anhídrido β,β -dimetilglutárico, en 250 ml de etanol absoluto, se agregó lo mas rápidamente posible (50 minutos), a 36 g de sodio recientemente cortado en trozos pequeños. Se produjo un abundante des-

prendimiento de hidrógeno y aumento de temperatura, de manera que el sodio fundió. Una vez terminado el agregado se dejó durante 30 minutos a temperatura ambiente y luego se calentó a 140-150°C durante 12 horas.

Terminado el calentamiento se obtuvo una solución blanca, que al enfriar se transformó en una masa pastosa de color marrón claro. Se eliminó el alcohol por destilación, agregándose durante el transcurso de la misma 250 ml de agua. En el balón quedó una solución acuosa, que se acidificó fuertemente con ácido clorhídrico concentrado (fueron necesarios 130 ml del mismo) y se arrastró con vapor de agua. Se recogieron 750 ml del destilado, el cual se saturó con sulfato de amonio y se extrajo 5 veces con 200 ml de éter etílico cada vez. Los extractos etéreos reunidos, se secaron sobre sulfato de sodio anhidro y se llevaron a sequedad a presión reducida, obteniéndose 14,3 g de producto bruto, que se destiló, recogiendo la fracción que pasó entre 120-125°C a 23 mm de Hg. El producto solidifica debajo de 30-35°C.

2)-Ester etílico del ácido δ -bromo- β,β -dimetilvalérico (127): A 10 g de β,β -dimetil- δ -valerolactona se agregaron 35 g de pentabromuro de fósforo, agitándose hasta lograr disolución total. Al principio de la reacción, se produjo un leve calentamiento, pero para que prosiguiera fué necesario pasar el tubo, de tanto en tanto por una llama muy suave. Finalmente se obtuvo una solución pardorrojiza, que se volcó, lentamente y agitando, sobre 50 ml

de etanol absoluto enfriado exteriormente en un baño de hielo y agua. La solución alcohólica se diluyó con un volumen igual de agua y se separó la capa inferior de ester.

La fase acuosa se extrajo 3 veces con 30 ml de éter cada vez. Estos extractos etéreos se reunieron al total de ester. La solución etérea se lavó dos veces con 20 ml de agua cada vez, se secó sobre sulfato de sodio anhidro y se concentró a presión reducida. Se obtuvieron 19,9 g de producto crudo, que contenía un poco de alcohol.

Se destiló a presión reducida, recogién dose la fracción que pasó entre 116,5-119,5°C a 12-13 mm de Hg. Se obtuvieron 12,95 g de destilado (Rendimiento 70%).

Análisis: Calculado para $C_9H_{17}O_2Br$: C 45,61 %; H 7,23 %; Br 33,72 %; Encontrado: C 45,81 %; H 7,36 %; Br 33,93 %.

3)- β,β -dimetilpentanol: A una suspensión de 3 g de hidruro de aluminio y litio en 100 ml de éter absoluto, se agregaron lentamente 10 g de ester etílico del ácido δ -bromo- β,β -dimetilvalérico disueltos en 100 ml del mismo solvente. Terminado el agregado la mezcla se diluyó con 100 ml mas de eter y se calentó a reflujo durante 40 horas (hasta que una muestra de la solución dio ensayo de ester negativo). Se enfrió y trató con eter húmedo, luego con ácido clorhídrico 2N y finalmente con el mismo ácido concentrado hasta disolución total del precipitado de hidróxido de aluminio formado. Se separó la capa etérea y la capa acuosa se extrajo 5 veces con 80 ml de eter cada vez.

Los extractos etéreos reunidos se secaron sobre sulfato de sodio y se llevaron a sequedad a presión reducida. Se obtuvieron 4,4 g de producto que se purificó por destilación a presión reducida. Se recogió la fracción que pasó entre 74-76°C a 18-20 mm de Hg. Se obtuvieron aproximadamente 2,3 g de alcohol. (Rendimiento 47 %).

3,5-dinitrobenzoato: Una mezcla de 390 μ g de cloruro de 3,5-dinitrobenzoílo y 100 mg de β, β -dimetilpentanol, se calentó, muy suavemente, sobre llama, hasta que fundió. Se dejó fundida durante 10 minutos y luego se enfrió. El producto se trató repetidamente con solución de carbonato de sodio al 2 %, hasta que cristalizó. El precipitado se filtró y lavó con agua. Se secó y se recristalizó 3 veces de metanol. Se obtuvieron 98 mg de cristales blanco-amarillentos de pf 50,5-51,5°C. Pf del 3,5-dinitrobenzoato del β, β -dimetilpentanol (128): 50-51°C

4)-Acido β, β -dimetilvalérico (128): A una solución de 1,64 g de carbonato de sodio, en 16,35 g de agua se agregaron 8,5 g de β, β -dimetilpentanol. A esta suspensión enfriada exteriormente en un baño de hielo y agua se le agregó, con agitación, en el término de 5 minutos una solución de 15,35 g de permanganato de potasio en 300 ml de agua. Se mantuvo la temperatura a 0°C durante 3 horas y luego se dejó llegar gradualmente a temperatura ambiente. Se continuó la agitación por un período total de 20 horas. Se agregó luego sulfito de sodio sólido y solución de ácido sulfúrico 2N hasta decoloración completa del

permanganato. Se filtró la solución para separar el dióxido de manganeso formado. El precipitado se lavó con agua y luego con éter. La fase acuosa se extrajo 3 veces con 100 ml de éter cada vez. Los extractos etéreos reunidos se secaron sobre sulfato de sodio y se concentraron a sequedad a presión reducida. Se recuperaron 1,4 g de alcohol. La fase acuosa se cubrió con una capa de 100 ml de éter y se llevó a pH 3 con ácido sulfúrico 2N. Se extrajo 6 veces con 80 ml de éter cada vez. Los extractos etéreos reunidos se secaron sobre sulfato de sodio y se concentraron a presión reducida. Se obtuvieron 7,84 g de producto crudo, el cual se purificó por destilación a presión reducida. Se recogió la fracción que pasó entre 104-105°C a 14-15 mm de Hg. Se obtuvieron 6,3 g de ácido. (Rendimiento: 67 %).

Anilida: Se calentaron a reflujo en baño de agua, 120 mg del ácido anterior con 0,8 ml de cloruro de tionilo, durante 30 minutos. Terminado el calentamiento se eliminó el exceso de reactivo a presión reducida y se le agregó una mezcla de 0,3 ml de anilina (recientemente destilada sobre cinc), en 20 ml de benceno seco, calentándose a reflujo durante 15 minutos. La preparación se dejó enfriar y se agregaron 5 ml de agua. Se separó la capa acuosa, y la bencénica se lavó con 5 ml de ácido clorhídrico 5 %, luego con 5 ml de hidróxido de sodio 5 % y finalmente con 5 ml de agua. La solución bencénica se secó sobre sulfato de sodio anhidro y se llevó a sequedad. Se

obtuvieron 24,7 μ g de un residuo cristalino blanco, que se recristalizó de metanol-agua (3:1), obteniéndose 16,6 mg de cristales blancos de pf 105-106°C. Pf de la anilida del ácido β,β -dimetilvalérico (128): 105-106°C.

5)-Anhidrido β,β -dimetilvalérico: Se calentó a reflujo, una mezcla de 3 g de ácido β,β -dimetilvalérico y 3 ml de cloruro de tionilo, durante una hora. Se eliminó el exceso de reactivo a presión reducida, y se dejó en desecador, durante 14 horas.

Al cloruro de ácido así preparado se agregó una solución de 3,8 ml de piridina seca, en 5,2 ml de benceno seco. Al efectuar el agregado, la temperatura de la preparación se elevó muy poco, y apareció un precipitado blanco. Se agregaron luego 3 g de ácido β,β -dimetilvalérico. Se produjo un aumento de temperatura y el precipitado se hizo más abundante. Se colocó en un baño de aceite a 65°C, agitando continuamente durante 10 minutos. Se filtró rápidamente para separar el clorhidrato de piridina, lavándose el precipitado dos veces con 5 ml de benceno cada vez.

La solución bencénica se concentró a presión reducida y el residuo se destiló, recogiendo la fracción que pasó entre 130-133,5°C a 11 mm de Hg. Se obtuvieron 2,7 g de producto.

6)-3-ter-amil-7-hidroximarina: Se calentó a reflujo durante 20 horas, en baño de aceite a 170°C, una mezcla de 0,310 g de 2,4-dihidroxibenzaldehído, 2,7 g de anhidrido β,β -dimetilvalérico y 0,7 g de trietilamina.

Se enfrió, se agregaron 5 ml de agua y trató luego con carbonato de sodio sólido, calentando a 80°C, hasta llegar a pH 8. La solución se extrajo 4 veces con 30 ml de éter cada vez. Los extractos etéreos reunidos se secaron sobre sulfato de sodio y se concentraron a presión reducida, obteniéndose 1,729 g de residuo.

El producto de la condensación se disolvió en 50 ml de metanol, se agregaron 2 gotas de ácido sulfúrico concentrado, y se dejó a temperatura ambiente durante 48 horas. La solución se concentró a 2 ml a presión reducida. Se diluyó luego con 30 ml de agua y la solución acuosa resultante se alcalinizó con hidróxido de sodio 2N. Se extrajo 5 veces con 20 ml de éter cada vez. Los extractos etéreos reunidos se secaron sobre sulfato de sodio y se concentraron a presión reducida. Residuo: 1,089 g (Ester metílico del ácido β,β -dimetilvalérico).

La fase acuosa se adidificó y extrajo con éter en igual forma que la anterior. Los extractos etéreos una vez secos sobre sulfato de sodio se evaporaron a presión reducida. El residuo se disolvió en 20 ml de éter y se extrajo la solución etérea 2 veces con 5 ml de bicarbonato de sodio 5 % cada vez. La solución etérea se extrajo luego 3 veces con 5 ml de hidróxido de sodio 2N y los extractos acuosos reunidos se acidificaron con ácido sulfúrico 2N. Esta solución se extrajo 3 veces con 10 ml de éter cada vez. Los extractos etéreos se secaron sobre sulfato de sodio y se concentraron a presión reducida, obteniéndose

117 mg de residuo.

El residuo anterior se purificó por cromatografía por una columna de 3 g de alúmina de actividad III, eluyendo con una mezcla de cloroformo-metanol (99-1). Se obtuvo una fracción de 12 mg que por cromatografía en capa delgada en el sistema (a) y revelada con luz ultravioleta daba una mancha de Rf 0,33.

El producto obtenido de la columna se purificó ulteriormente por cromatografía en una placa preparativa de sílica gel de 1,0 mm de espesor. Se sembró la sustancia en solución clorofórmica, en manchas de 400 γ cada una. Se corrió en el sistema (a). Se separó la banda fluorescente principal, de Rf 0,37 y se eluyó con una mezcla de cloroformo-metanol 50 %, que se llevó a seco en corriente de nitrógeno. Se obtuvieron 2 mg de sustancia que se sublimaron a 115°C y 0,7 μ , obteniéndose aproximadamente 1 mg de cristales en forma de finas agujas blancas.

Espectro de absorción en el ultravioleta, figura 8; λ_{\max} 325 m μ (log ϵ 4,326).

Espectro de absorción en el infrarrojo, figura 16.

Cromatografía en capa delgada en el sistema (a) Rf 0,37; sistema (b) Rf 0,61; sistema (c) Rf 0,38; sistema (d) Rf 0,22.

ACIDO α -CETO- β, β -DIMETILVALERICO

a)-Por oxidación de dihidrocupidatina: Se disolvieron 500 mg de dihidrocupidatina en 25 ml de hidróxido

de potasio al 10 % acuoso, por calentamiento a reflujo durante 4 horas. La solución se llevó a 250 ml con agua y se calentó a 70°C. Se agregó una solución de permanganato de potasio al 2 %, gota a gota y con agitación, hasta persistencia del color del permanganato durante 15 minutos. Se consumieron 118 ml.

Se enfrió y se hizo pasar una corriente de anhídrido sulfuroso para destruir el dióxido de manganeso formado. La solución se acidificó con ácido clorhídrico concentrado y se extrajo 5 veces con 100 ml de éter etílico cada vez. Los extractos etéreos se reextrajeron 5 veces con 80 ml de solución de bicarbonato de sodio al 5 %, cada vez. Los extractos acuosos se acidificaron con ácido clorhídrico y se extrajeron 5 veces con 100 ml de éter cada vez. Los extractos etéreos reunidos se secaron sobre sulfato de sodio y se eliminó el éter en baño de agua a 50°C. Residuo: 238 mg.

La fase acuosa original y la obtenida de la solución de bicarbonato acidificada se extrajeron con éter en un extractor continuo durante 12 horas. El extracto se secó sobre sulfato de sodio y se concentró en igual forma que la vez anterior. Se obtuvieron 152 mg más de sustancia.

Cromatografía en capa delgada en el sistema f) revelado con púrpura de bromo cresol 0,04 % en etanol 5 %.

- 1)-Acido α, α -dimetilbutírico Rf 0,47
- 2)-Producto de oxidación, 1° extracción Rf 0,47
- 3)-Producto de oxidación, 2° extracción Rf 0,38, 0,47

Los productos obtenidos de ambas extracciones, reunidos, se disolvieron en 3 ml de éter etílico, y se les agregó solución etérea de diazometano hasta persistencia del color amarillo. Se dejaron 20 minutos a temperatura ambiente. Se destruyó el exceso de reactivo por calentamiento a 50°C y se evaporó al mismo tiempo el solvente.

La mezcla de éteres metílicos así obtenida se separó por cromatografía en fase vapor, en un aparato Aerograph A.700, usando como fase fija Chromosorb W y como gas vector nitrógeno puro y seco a 152°C y flujo de 200 ml/minuto.

Se obtuvo una fracción que tenía igual tiempo de retención que una muestra auténtica de ester metílico del ácido α,α -dimetilbutírico y una segunda fracción de tiempo de retención mayor que presentaba espectros de absorción en el infrarrojo (figura 28) y de resonancia magnética nuclear (figura 25), idénticos a los del ácido α -ceto- β,β -dimetilvalérico (figura 29 y 26 respectivamente).

b)-Por síntesis:

1)-p-ter-amilfenol (122): Se calentó en un baño de aceite a 180°C, una mezcla de 20 g de fenol, 18 g de alcohol ter-amílico y 48 g de cloruro de cinc (recientemente fundido y pulverizado). Al principio la reacción es muy violenta y el recipiente con la mezcla solo puede sumergirse en el baño parcialmente. Una vez terminada la reacción inicial se mantuvo a 180°C durante 20 minutos mas. Se dejó enfriar y se agregaron 20 ml de agua. Se separaron 2

capas, de las cuales se desechó la inferior. La superior solidificó. Se destiló y se recogió la fracción que pasó entre 180 y 230°C. El destilado se tomó con 5 ml de solución de hidróxido de sodio al 20 %. Comenzó a aparecer un precipitado blanco cristalino. Se siguió agregando la misma solución hasta que no precipitó más. Se enfrió y filtró. El precipitado se disolvió en 100 ml de agua y se llevó la solución a pH 2 con ácido clorhídrico concentrado. Apareció un precipitado amarillo que se enfrió, filtró y se secó. Se obtuvieron 13,74 g de pf 75-83°C. Recristalizado de éter de petróleo (aproximadamente 20 ml), se obtiene una sustancia blanca cristalina, que funde a 90,5-93°C; peso 10,10 g Pf del p-ter-amil-fenol (122): 92-93°C.

2)-Acido α -ceto- β,β -dimetilvalérico: (123) Se disolvieron 10 g de p-ter-amilfenol en 50 ml de hidróxido de sodio al 7 %, y se diluyó con 500 ml de agua. A esta solución con agitación constante se agregó otra de 37,5 g de permanganato de potasio en 500 ml de agua. Se continuó la agitación durante 14 horas. Se filtró y el precipitado de dióxido de manganeso se lavó con 30 ml de agua que se reunieron al filtrado. El filtrado se acidificó con ácido clorhídrico y se neutralizó con bicarbonato de sodio. La solución se concentró a presión reducida a 200 ml. Se enfrió y acidificó con ácido clorhídrico. Se dejó a 4°C durante 14 horas. Apareció un precipitado cristalino que se filtró y desechó. Las aguas madres se alcalinizaron con bicarbonato de sodio y se concentraron, en las mismas con-

diciones que la vez anterior, hasta 100 ml. Se enfriaron y acidificaron con ácido clorhídrico. Apareció un precipitado no cristalino. La suspensión se extrajo 5 veces con 50 ml de éter etílico cada vez. Los extractos etéreos reunidos se secaron sobre sulfato de sodio. Se llevaron a sequedad a presión reducida. Se obtuvieron 3,157 g de una sustancia aceitosa, que se destiló a 10 mm de Hg. Se recogió la fracción que pasó entre 90-97°C. Peso: 1,319 g.

Se purificaron por cromatografía en una columna de 70 g de sílica gel, 720 mg de esta sustancia, usando como eluyente cloroformo, al cual se fué agregando metanol hasta llegar a una concentración del 5%. Se recogieron fracciones de 10 ml, las cuales se analizaron por cromatografía en capa delgada de gel de sílice, en el sistema (f), revelándose con púrpura de bromo cresol 0,04% en etanol 50%. Se obtienen dos fracciones ácidas principales: una cuyo Rf coincidió con el del ácido α,α -dimetilbutírico, y otra de Rf 0,35 que revelaba también con solución de 2,4-dinitrofenilhidrazina 0,4% en ácido clorhídrico 2 N.

Fenilhidrazona del ácido α -ceto- β,β -dimetilvalérico: Se disolvieron en 1,5 ml de metanol, 28 mg del ácido de Rf 0,35. Se calentó a ebullición durante un minuto, agregaron dos gotas de fenilhidrazina (base) y calentó durante otro minuto. Se agregó finalmente una gota de ácido acético y se prosiguió el calentamiento durante 5 minutos mas. Se le agregó agua gota a gota hasta persistencia de turbidez en la solución. Se dejó enfriar. Apare-

ció un precipitado cristalino, amarillo, que se filtró y recristalizó de 1,5 ml de metanol-agua (2:1). Pf 144-146°C. Pf de la fenilhidrazona del ácido α -ceto- β,β -dimetilvalérico (123): 146°C.

3)-Ester metílico del ácido α -ceto- β,β -dimetilvalérico: A una solución de 197 mg de ácido α -ceto- β,β -dimetilvalérico en 1,5 ml de éter etílico, se agregó, gota a gota, y hasta persistencia del color amarillo, otra solución de diazometano en éter. La preparación se dejó a temperatura ambiente durante 20 minutos. Se calentó en baño de agua a 50°C para destruir el exceso de reactivo. Se dejó evaporar el éter a temperatura ambiente.

Espectro de absorción en el infrarrojo, figura 29.

Espectro de resonancia magnética nuclear, figura 26.

3-ETIL-UMBELIFERONA

Una mezcla de 2,80 g de 2,4-dihidroxibenzaldehído, 16 ml de anhídrido butírico y 5 ml de trietil-amina se dejó durante 12 horas a temperatura ambiente. Luego se calentó, por igual período de tiempo, a 170°C. Se dejó enfriar durante otras 12 horas. Se obtuvo una sustancia cristalina (cristales en forma de grandes placas, muy delgadas, incoloras), suspendida en una solución espesa de color marrón. Se filtró y los cristales se lavaron con solución saturada de carbonato de sodio. Las aguas de lavado se juntaron al filtrado principal, y se trataron con más solución

saturada de carbonato de sodio, hasta obtener una solución neutra. En esta solución apareció más precipitado del mismo tipo del anterior, el cual se filtró y reunió al primero. Se obtuvieron 3,927 g de pf 90-95°C (Rend: 75%). Se recrystalizó de metanol-agua (4:1). Peso: 3,22 g; pf 96-96,5°C.

Se disolvieron 1,222 g de esta sustancia en 60 ml de metanol y 2 gotas de ácido sulfúrico concentrado, y se dejaron a temperatura ambiente durante 72 horas. La solución se concentró a aproximadamente 8 ml, a baño maría en corriente de nitrógeno, y luego se le agregó agua gota a gota (aproximadamente 3 ml), en caliente, hasta que empezó a aparecer precipitado. Se enfrió y filtró. Se obtuvieron 758 mg de pf 124-126°C (Rend: 84%). Pf de 3-etilumbeliferona (134): 123-124°C.

Cromatografía en capa delgada en el sistema (b)
Rf 0,40.

3-etil-7-metoxicumarina: Una solución de 210 mg de 3-etil-7-hidroxycumarina en 3 ml de metanol se trató con solución etérea de diazometano hasta persistencia del color amarillo en la solución. Se dejó durante 30 minutos a temperatura ambiente. Se agregó una gota de ácido acético para destruir el exceso de reactivo. La solución se concentró a presión reducida. Se obtuvieron 219 mg de una sustancia cristalina de pf 95-98°C. Se recrystalizaron de eter isopropílico. Se obtuvieron 166 mg de pf 99-100°C.

Espectro de absorción en el ultravioleta, figu-

ra 3; λ_{\max} 320 m μ (log ϵ 4,245),

Espectro de absorción en el infrarrojo, figura 12.

Espectro de resonancia magnética nuclear, figura 23.

RESUMENA- Parte general

- 1)-Se ha efectuado una revisión de los métodos de síntesis, de las propiedades físicas y de la reactividad química del núcleo cumarínico.
- 2)-Se ha puesto al día una tabla con todas las cumarinas aisladas de la naturaleza hasta la fecha, con sus fórmulas, puntos de fusión y referencias bibliográficas.
- 3)-Se ha escrito un resumen de los conocimientos actuales sobre biosíntesis de cumarinas.

B- Parte especial

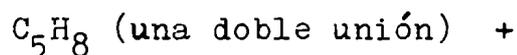
- 1)-Se ha determinado la estructura de una nueva cumarina (cuspidatina) aislada de la corteza de Helietta longifoliata Britt, una Rutácea que crece en la provincia de Misiones. Esta determinación se ha hecho en base a datos espectroscópicos, reacciones químicas y síntesis de productos de degradación parcial.

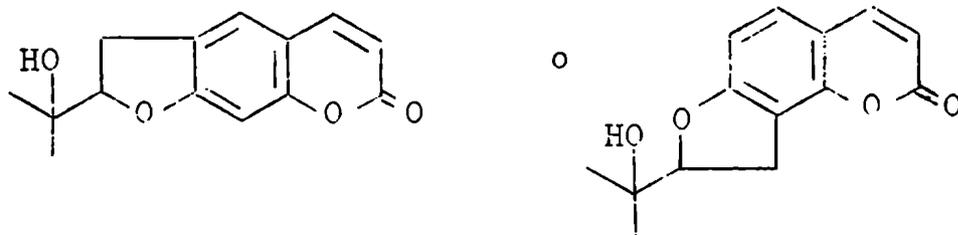
Los puntos más importantes en el estudio de la molécula de cumarina son los siguientes: fórmula molecular $C_{19}H_{22}O_4$, punto de fusión 165,5-166°C

$\left[\alpha \right]_D^{28} +14,5^\circ$ (CHCl_3). Presenta una fluorescencia violeta, se disuelve en álcali en caliente y precipita al acidificar, indicando la posibilidad de ser una cumarina. Su espectro de absorción en el ultravioleta, en etanol, es del tipo de los de cumarinas con sustituyentes oxigenados en posición 7. El espectro de absorción en el infrarrojo indicaba la presencia de un grupo hidroxilo y del sistema de dobles ligaduras y del carbonilo de la cumarina.

Por reducción con paladio sobre carbón como catalizador, a presión atmosférica y temperatura ambiente se absorbe un mol de hidrógeno obteniéndose dihidrocupidatina, pf 150,5-151° cuyo análisis, espectros de absorción en el ultravioleta y en el infrarrojo y espectro de resonancia magnética nuclear indicaban la desaparición de una doble ligadura extranuclear, no conjugada con el núcleo cumarínico.

Ensayos de oxidación realizados sobre cupidatina y dihidrocupidatina indicaban que el grupo hidroxilo presente en ellas correspondía a un alcohol terciario. Teniendo en cuenta consideraciones biogénicas podían suponerse para esta sustancia dos estructuras parciales posibles

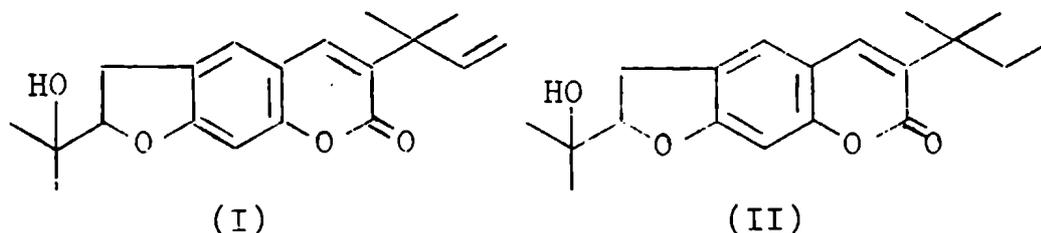




La disposición lineal de los anillos se confirmó mediante deshidratación con pentóxido de fósforo a dihidroanhidrocuspidatina de pf 94-95°C, cuyo espectro de absorción en el ultravioleta es similar al del psoraleno, de estructura lineal.

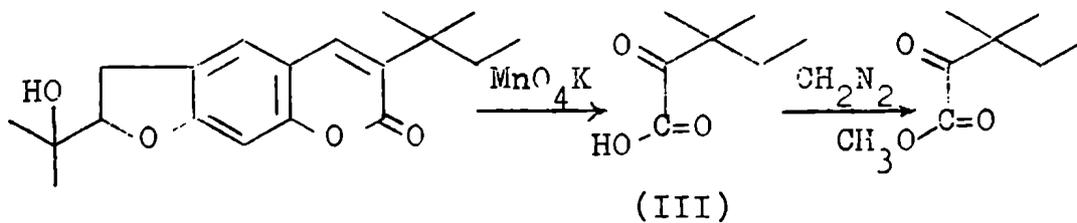
El estudio de los espectros de resonancia magnética nuclear de cuspidatina, dihidrocuspidatina y del acetato de dihidrocuspidatina confirmaba la disposición lineal de los anillos, así como la presencia del grupo 1- α -hidroxiisopropil-dihidrofuránico. Indicaba además la presencia de una cadena lateral ter-amilénica en la posición 3 de la cuspidatina (confirmado por oxidación de Lemieux y Rudloff) que se reduce a ter-amílica en la dihidrocuspidatina.

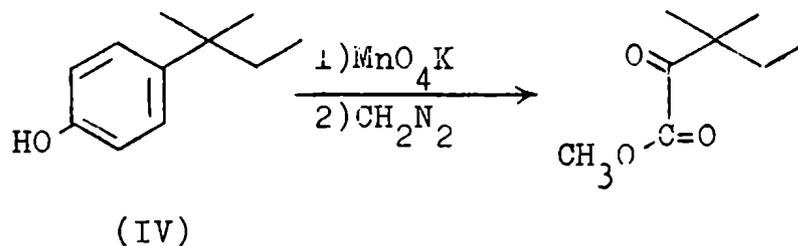
Los resultados anteriores permitieron formular las siguientes estructuras (I) y (II) para cuspidatina y dihidrocuspidatina respectivamente.



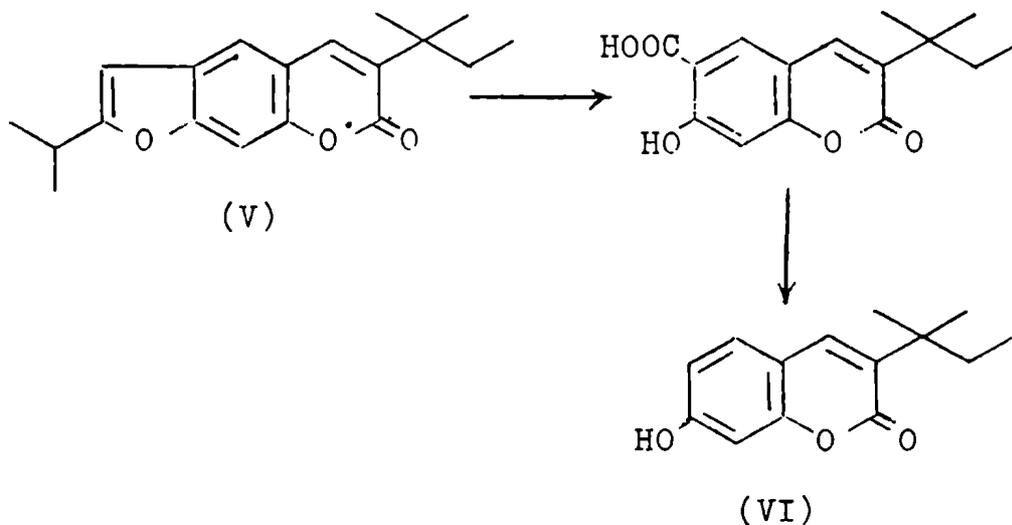
El espectro de masa de la cuspidatina confirma el peso molecular de 314 para la misma y los picos más importantes del mismo en el rango hasta $m/e = 200$ pueden racionalizarse fácilmente en base a esquemas de fragmentación aceptados.

La confirmación de la existencia de la cadena ter-amilénica en la posición 3 del núcleo de dihidrocupidatina se obtuvo por dos líneas de evidencia. Por oxidación de esta sustancia con permanganato de potasio en medio alcalino, se obtuvo el ácido α -ceto- (β,β) -dimetilvalérico (III) como ester metílico, el cual se identificó por comparación directa con una muestra auténtica del mismo, obtenida por oxidación de p-ter-amilfenol (IV) con permanganato de potasio y subsiguiente esterificación del ácido.





Por otra parte la dihidroanhidrocupidatina (V) por oxidación con ácido crómico en ácido acético y descarboxilación del producto obtenido dió 3-ter-amil-7-hidroxicumarina (VI), cuyos Rf en cromatografía en placa delgada en gel de sílice, espectros de absorción en el infrarrojo y en el ultravioleta coincidían con los de una muestra de la misma sustancia obtenida por síntesis.

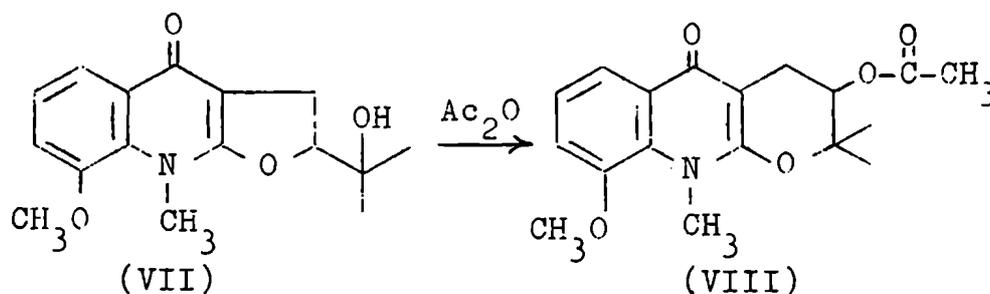


leta coincidían con los de una muestra de la misma sustancia obtenida por síntesis.

Hay dos aspectos singulares en la estruc-

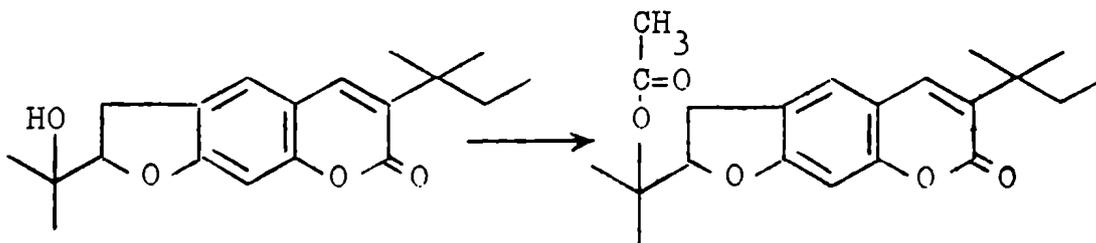
tura de la cuspidatina que merecen ser notados y son: a) la sustitución por un grupo alquilo en el carbono 3, pues hasta el presente solo hay otras dos cumarinas naturales con sustituyente alquílico en dicho carbono y ambas son 4-hidroxycumarinas cuyas propiedades son bastante diferentes de las otras cumarinas, y b) la presencia de un resto ter-amilénico en la molécula que se halló por primera vez en un producto fenólico vegetal en la cuspidatina y posteriormente por Wolfrom y col. en la molécula de macluroxantona.

2)-En la preparación del acetato de dihidro cuspidatina se ha encontrado una discrepancia con los resultados obtenidos por Rapoport y Hoiden con el alcaloide balfourodina (VII), pues cuando tratan esta sustancia con anhídrido acético y piridina obtienen un acetato de estructura (VIII).



Cuando la dihidro cuspidatina se somete a la misma reacción se obtiene un acetato idéntico al obtenido por tratamiento de la misma sustancia con anhídrido trifluoroacético en ácido acético a tempe-

ratura ambiente. Cuando ambos acetatos son hidrolizados se recupera la dihidrocupidatina, de manera que en este caso no se produce reordenamiento del resto α -hidroxiisopropildihidrofuranico a 2,2-dimetil-dihidropiránico.



BIBLIOGRAFIA

- (1)-S. Wawzonek, "Heterocyclic Compounds", Vol. 2, editado por Elderfield, R. C., Jhon Wiley and Sons, Inc. New York, 1951, pág: 173.
- (2)-N. Campbell, "Chemistry of Carbon Compounds", Vol. IV, parte B, "Heterocyclic Compounds", editado por E. H. Rodd, Elsevier Publishing Company, 1959, pág: 869.
- (3)-F. M. Dean, "Progress in the Chemistry of Organic Natural Products", Vol. 9, editado por L. Zechmeister, Spring-Verlag, Viena, 1952, pág: 225.
- (4)-S. M. Sethna y N. M. Shah, Chem. Reviews, 36,10,(1945)
- (5)-T. O. Soine, J. Pharm. Sci., 53,231,(1964)
- (6)-B. y A. Pullman, "Quantum Biochemistry", Interscience Publishers, 1963, pág: 732.
- (7)-A. Mangini y R. Passerini, Gazz. Chim. Ital. 87,243, (1957)
- (8)-W. H. Perkin, J. Chem. Soc., 53,(1868)
- (9)-J. R. Johnson, "Organic Reactions", Vol. 1, John Wiley and Sons, 1947, pág: 215
- (10)-D. J. Cram y G. S. Hammond, "Organic Chemistry", Mc Graw-Hill Book Company, Inc, 1959, pág: 289.
- (11)-D. S. Breslow y C. R. Hauser, J. Am. Chem. Soc., 61,786,(1939).
- (12)-M. Crawford y J. A. M. Shaw, J. Chem. Soc. 3435,(1953)
- (13)-H. Yanagisawa y H. Konda, J. Pharm. Soc. Japan, 472, 498,(1921).

- (14)-E. Knoevenagel, Ber., 31,2585,(1898); 37,4461,(1904)
- (15)-S. Reformatsky, Ber. 20,1210,(1887)
- (16)-R. C. Fuson y N. Thomas, J. Org. Chem., 18,1762,
(1953).
- (17)-T. C. Chadha, H. S. Mahal y K. Venkataraman, J. Chem.
Soc., 1459,(1933).
- (18)-K. C. Ghosh, J. Indian Chem. Soc. 24,323,(1947)
- (19)-V. Pechman, Ber. 17,929,(1884); V. Pechman y Duis-
berg, Ber, 16, 2119,(1883); S. Sethna y R. Phadke,
"Organic Reactions", Vol 7, pág: 1
- (20)-A. Robertson, R. B. Waters y E. T. Jones, J. Chem.
Soc. 1681,(1932)
- (21)-R. S. Kapil y S. S. Joshi, J. Indian Chem. Soc. 36,
596,(1959)
- (22)-L. I. Smith y J. W. Horner, Jr., J. Am. Chem. Soc.
60,676,(1938)
- (23)-G. D. Padva, Zhur. Priklad. Khim., 33,489,(1960),
(C. A. 54, 13110a)
- (24)-J. Russell, R. H. Thomson y A. G. Wylie, Chem. and
Ind. 34,(1964).
- (25)-I. Ishimura, Yakugaku Zasshi, 80,771,(1960), (C. A.
54, 21646e).
- (26)-R. G. Goodwing y F. Kavanagh, Arch. Biochem., 27,152,
(1952).
- (27)-C. E. Wheelock, J. Am. Chem. Soc., 81,1348,(1959)
- (28)-B. N. Matoo, Trans. Faraday Soc., 52,1184,(1956).
- (29)-R. S. Shah y S. L. Bafna, Indian J. Chem., 1,400,

- (1963).
- (30)-K. Sen y P. Bagchi, J. Org. Chem., 24,316,(1959).
- (31)-B. K. Ganguly y P. Bagchi, J. Org. Chem., 21,1415,
(1956).
- (32)-B. K. Sabata y M. K. Rout, J. Indian Chem. Soc., 41,
74,(1964).
- (33)-P. Bassignana y C. Cogrossi, Tetrahedron, 20,2859,
(1964).
- (34)-K. Nakanishi, "Infrared Absorption Spectroscopy",
Holden-Day, Inc., San Francisco y Nankodo Company
Limited, Tokyo, 1962, pág: 52.
- (35)-W. Bottomley, Australian J. Chem., 16,143,(1963).
- (36)-H. R. Arthur y W. D. Ollis, J. Chem. Soc. 8910,(1963)
- (37)-S. S. Dharmatti, G. Govil, C. R. Kanekar, C. L.
Khetrapal y Y. P. Virmani, Proc. Indian Acad. Sci.
Sect. A, 56,71,(1962).
- (38)-N. S. Wulfson, V.I. Zaretski y V. G. Zaikin, Isv.
Akad. Nauk. SSSR, Ser. Khim. 2215,(1963).
- (39)-H. Budzikiewicz, C. Djerassi y D. H. Williams,
"Structure elucidation of natural products by mass
spectrometry", Vol. II, Holden-Day, Inc., San Fran-
cisco, 1964, pág: 254.
- (40)-N. S. Wulfson, V. I. Zaretski y V. G. Zaikin, Dokl.
Nauk. SSSR, 155,1104,(1964),(C. A. 61,1737a)
- (41)-B. B. Dey y K. K. Row, J. Chem. Soc., 125,554,(1924)
- (42)-R. N. Sen y D. Chakravarti, J. Indian Chem. Soc. 7,
247,(1930).

- (43)-T. R. Seshadri, Chem. and Ind., 308,(1954).
- (44)-N. R. Krishnaswamy, T. R. Seshadri y B. R. Sharma,
Indian J. Chem., 2,182,(1964).
- (45)-E. Y. Spencer, G. F. Wright, J. Am. Chem. Soc., 63,
2017,(1941).
- (46)-S. S. Lele y S. Sethna, J. Sci. Ind. Research, 14B
101,(1955).
- (47)-S. S. Lele, M. G. Patel y S. Sethna, J. Indian Chem.
Soc., 37,775,(1960).
- (48)-S. S. Lele, N. G. Savant y S. Sethna, J. Org. Chem.,
25,1713,(1960)
- (49)-C. H. Ruof y H. C. Howard, J. Am. Chem. Soc. 76,5565,
(1954).
- (50)-E. A. Mustafa, M. Kamel, M. A. Allam, A. H. Harhash
y A. E. A. A. Hassan, J. Am. Chem. Soc., 78,5011,
(1956).
- (51)-J. R. Merchant y R. C. Shah, J. Indian Chem. Soc.,
34,35,(1957).
- (52)-J. R. Merchant y R. C. Shah, J. Org. Chem., 22,884,
(1957).
- (53)-R. B. Desai, J. Org. Chem., 26,5250,(1961).
- (54)-R. H. Mehta, Indian J. Chem., 2,336,(1964).
- (55)-R. M. Naik y V. M. Thakor, J. Org. Chem., 22,1626,
(1957).
- (56)-R. M. Naik y V. M. Thakor, J. Org. Chem., 22,1631,
(1957).
- (57)-E. Späth y H. Holzen, Ber., 66,1137,(1933).

- (58)-B. Chaudhury, S. K. Saha y A. Chatterjee, J. Indian Chem. Soc., 39,783,(1962).
- (59)-R. J. Parikh y V. M. Thakor, J. Indian Chem. Soc., 31,137,(1954).
- (60)-A. Darapsky, H. Berger, A. Nauhaus, J. Pr. Ch., 147, 145,(1936); (citado por (61)).
- (61)-U. Chiodoni, Chim. Ind. (Milan), 45,968,(1963).
- (62)-F. Castañeda y G. B. Marini-Bettolo, Gazz. Chim. Italiana, 93,344,(1963).
- (63)-G. B. Marini-Bettolo, C. G. Casinovi y I. L. de Albuquerque, Gazz. Chim. Italiana, 94,366,(1964).
- (64)-R. Anet, Canad. J. Chem., 40,1249,(1962).
- (65)-G. S. Hammond, C. A. Stout y A. A. Lamola, J. Am. Chem. Soc., 86,3103,(1964).
- (66)-T. Nakabashi, Nippon Kagaku Zasshi, 83,182,(1962); (C. A. 59,1578a)
- (67)-Y. N. Sharma, A. Zaman y A. R. Kidwai, Tetrahedron, 20,87,(1964)
- (68)-H. A. Pozzi, J. H. Comin, Octavo Congreso Latinoamericano de Química, Buenos Aires, 16-22 de septiembre de 1962, pág: 87
- (69)-A. Chatterjee y S. S. Gupta, Tetrahedron Letters, 1961,(1964).
- (70)-B. E. Nielsen y J. Lemmich, Acta Chem. Scand. 18,932,(1964).
- (71)-R. A. Finnegan y W. H. Mueller, Chem. and Ind., 1065,(1964).

- (72)-T. O. Soine y F. H. Jawad, J. Pharm. Sci., 53,990,
(1964).
- (73)-S. N. Shanbhag, C. K. Mesta, M. L. Maheshwari, S. K.
Paknikar y S. C. Bhattacharyya, Tetrahedron, 20,2605,
(1964).
- (74)-T. R. Seshadri y M. S. Sood, Tetrahedron Letters 3367,
(1964).
- (75)-S. Carboni, V. Malaguzzi y A. Marsili, Tetrahedron
Letters 2383,(1964).
- (76)-A. Pelter y P. Stainton, Tetrahedron Letters 1209,
(1964).
- (77)-H. Grisebach y W. D. Ollis, Experientia, 17,4,(1961).
- (78)-S. A. Brown, Lloydia, 26,211,(1963).
- (79)-W. B. Whalley, "Recent Developments in the Chemistry
of Natural Phenolic Compounds", Editor: W. D. Ollis,
Pergamon Press, 1961, pag: 27.
- (80)-A.J. Birch R. A. Massey-Westropp, R. W. Rickards y
H. Smith, Proc. Chem. Soc. 98,(1957).
- (81)-E. B. Kalam, E. D. Davis, P. R. Srinivasan y D. B.
Sprinson, J. Biol. Chem., 223,907,(1956).
- (82)-F. Weygand y H. Wendt, Z. Naturforsch., 14b,421,(1959)
- (83)-T. Kosuge y E. E. Conn, J. Biol. Chem., 234,2133,
(1959).
- (84)-S. A. Brown, G. H. N. Towers y D. Wright, Can. J.
Biochem. Physiol., 38,143,(1960).
- (85)-W. Rudolf y P. Schwarze, Z. Pflanzenzücht, 39,245,
(1958); (citado por (86)).

- (86)-F. A. Haskins y H. J. Gorz, Science, 139,496,(1963).
- (87)-J. R. Stoker y D. M. Bellis, J. Biol. Chem. 237,2303,
(1962).
- (88)-F. A. Haskins y H. J. Gorz, Biochem. Biophys. Res.
Comm., 6,298,(1961).
- (89)-J. R. Stoker, Biochem. Biophys. Res. Comm., 14,17,
(1964).
- (90)-S. A. Brown, Science, 137,977,(1962).
- (91)-S. A. Brown, Phytochemistry, 2,137,(1963).
- (92)-S. A. Brown, G. H. Towers y D. Chen, Phytochemistry,
3,469,(1964).
- (93)-S. A. Brown, Canad. J. Biochem. and Physiol., 40,607,
(1962).
- (94)-R. D. Haworth, J. Chem. Soc., 448,(1942)
- (95)-A. I. Scott, P. A. Dodson, F. Mc. Capra y M. B. Mey-
ers, J. Am. Chem. Soc., 85,3702,(1963).
- (96)-D. J. Austin y M. B. Meyers, Tetrahedron Letters 765,
(1964).
- (97)-G. W. Kenner, M. A. Murray y C. M. B. Tylor, Tetrahe-
dron, 1,259,(1957).
- (98)-C. A. Bunton, G. W. Kenner, M. J. T. Robinson y B.
R. Webster, Tetrahedron, 19,1001,(1963).
- (99)-K. Chambers, G. W. Kenner, M. J. T. Robinson y B. R.
Webster, Proc. Chem. Soc. 291,(1960).
- (100)-H. Grisebach y W. Barz, Chem. and Ind., 690,(1963).
- (101)-a)-H. Rapoport y K. G. Holden, J. Am. Chem. Soc.,
81,3738,(1959); b)-82,4395,(1960).

- (102)-a)-R. A. Corral y O. O. Orazi, Tetrahedron, (en prensa), Anales de la Asoc. Quim. Arg., 51,174,(1963)
- (103)-F. G. Bordwell y K. M. Wellman, J. Chem. Ed., 39, 308,(1962).
- (104)-A. Chatterjee y S. S. Mitra, J. Am. Chem. Soc., 71, 606,(1949).
- (105)-a)-E. C. Horning y D. B. Reisner, J. Am. Chem. Soc., 72,1516,(1950); b)-G. Caporale y Cingolani, Rend. Ist. Super. Sanita, 21,943,(1958).
- (106)-B. F. Burrows, N. Finch, W. D. Ollis y I. O. Sutherland, Proc, Chem. Soc., 150,(1959).
- (107)-F. A. L. Anet, G. K. Hughes y E. Ritchie, Austral. Sci. Res., 42,608,(1949).
- (108)-C. Djerassi, E. J. Eisenbraun, B. Gilbert, A. J. Lemmin, S. P. Marfey y M. P. Morris, J. Am. Chem. Soc., 80,3686,(1958); b)-C. Djerassi, E. J. Eisenbraun, R. M. Finnegan y B. Gilbert, Tetrahedron Letters, 1, (1959).
- (109)-R. Lemieux y E. von Rudloff, Canad. J. Chem., 33, 1701,(1955).
- (110)-High Resolution NMR Spectra Catalog, Varian Associates, Tomo I, 1962, Espectro N° 310.
- (111)-High Resolution NMR Spectra Catalog, Varian Associates, Tomo I, 1962, Espectro N° 294.
- (112)-E. Späth y P. Kainrath, Ber., 69,2065,(1936).
- (113)-E. Späth, N. Platzler y H. Schmid, Ber., 73,709, (1940).

- (114)-E. Späth y O. Pesta, Ber., 66,754,(1933).
- (115)-J. B. Bredenberg y J. N. Schoolery, Tetrahedron Letters, 285,(1961).
- (116)-R. E. Willette y T. O. Soine, J. Pharm. Sci., 53,275,(1964).
- (117)-L. M. Jackman, "Applications of Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy in Organic Chemistry", Pergamon Press, 1959, pág: 55.
- (118)-J. A. Pople, W. G. Scheeder y H. J. Bernstein, "High Resolution Nuclear Magnetic Resonance", Mc Grow-Hill, New York, 1959, pág: 240-3.
- (119)-High Resolution NMR Spectra Catalog, Varian Associates, Tomo I, 1962 , Espectro 155.
- (120)-S. Alexander, J. Chem. Phys., 28,358,(1958).
- (121)-M. L. Wolfrom, F. Komitzky (Jr.), G. Fraenkel, J. H. Looker, E. E. Dickey, P. Mc Wain, A. Thompson, P. M. Mundell y O. M. Windrath, J. Org. Chem., 29, 692,(1964).
- (122)-B. Fisher y B. Grützner, Ber., 26,1646,(1893).
- (123)-R. Anschütz y G. Rauff, Ann., 327,201,(1903).
- (124)-J. Arima, Bull. Chem. Soc. Japan, 4,113,(1929).
- (125)-E. A. Abu-Mustafa y M. B. E. Fayez, J. Org. Chem., 26,161,(1961).
- (126)-H. N. Rydon, J. Chem. Soc., 595,(1936).
- (127)-G. Blanc, Bull. Soc. Chim. Fr., 4,291,(1908).
- (128)-L. Schmerling, J. Am. Chem. Soc., 67,1152,(1945).
- (129)-V. P. Gol'mer y Z. P. Malevannaia, J. General Chem.

- USSR. (Z. Obsch. Khim.), 28,3106,(1958).
- (130)-J. I. De Graw (Jr.), M. D. Bowen y W. A. Bonner,
Tetrahedron, 19,19,(1963).
- (131)-J. M. Tedder, Chem. Rev., 55,787,(1955).
- (132)-J. Attenburrow, J. Chem. Soc., 1904,(1952).
- (133)-R. J. Gritter y T. J. Wallace, J. Org. Chem., 24,
1051,(1959).
- (134)-F. Fichter y M. Goldhaber, Ber., 37,2382,(1904).

INDICE

El núcleo cumarinico.....	1
Cumarinas en la naturaleza.....	43
Tabla de cumarinas naturales.....	45
Biosíntesis	64
Estructura de la cuspidatina	77
Espectros	107
Parte Experimental	123
Resumen	150
Bibliografía	157