

Tesis de Posgrado

Estudio sobre los métodos de síntesis de estructuras del tipo de la tubulosina

Gerszberg, Szepsel

1968

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:

Gerszberg, Szepsel. (1968). Estudio sobre los métodos de síntesis de estructuras del tipo de la tubulosina. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_1325_Gerszberg.pdf

Cita tipo Chicago:

Gerszberg, Szepsel. "Estudio sobre los métodos de síntesis de estructuras del tipo de la tubulosina". Tesis de Doctor. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. 1968. http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_1325_Gerszberg.pdf

EXACTAS UBA

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales



UBA

Universidad de Buenos Aires

UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES

ESTUDIO SOBRE LOS METODOS
DE SINTESIS DE ESTRUCTURAS DEL TIPO
DE LA TUBULOSINA

SZEPSEL GERSZBERG

1325

Tesis presentada para optar al título
Doctor en Química
(Orientación Química Orgánica)
1968

1325

A mis padres

A mi esposa

Al Dr. Venancio Deulofeu,
quien me sugiriera el tema del presen-
te trabajo y fuera con su permanente
dedicación, inestimable apoyo, guía y
consejero, testimonio aquí mi más sin-
cero agradecimiento.

Agradezco también:

Al Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas, el haberme otorgado una beca de iniciación durante la cual comencé el presente trabajo.

A la Cámara Argentina de Especialidades Medicinales, que a través de la Asociación Argentina para el Progreso de las Ciencias, me concediera una beca en los primeros períodos de este estudio.

Al Dr. Marcelo J. Vernengo, por sus enseñanzas y la desinteresada colaboración prestada al iniciar esta tesis.

Al Dr. E. I. Ruveda por sus valiosos consejos.

A los Dres. A. Brossi (Hoffman-La Roche, USA), H.T. Openshaw (Wellcome Research Laboratories, Beckenham, Kent, Inglaterra) y A.R. Battersby (Universidad de Liverpool, Inglaterra), por el envío de diversas sustancias y muestras de productos que facilitaron nuestro trabajo.

A los Dres. H. Budzikiewicz y C. Djerassi (Universidad de Stanford, California, USA) por la realización de los espectros de masa de la psicotrina y tubulosina utilizado para la interpretación que se describe del mismo.

A la Dra. Blanca B. de Deferrari por la realización de los microanálisis.

Al Dr. B.E. Dennler, a la Lda. M.E. Lalli y al Sr. J.J. Ferrer por los espectros realizados.

Al personal de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, especialmente del Departamento de Química Orgánica.

A los profesores del Departamento de Química Orgánica y a mis compañeros, por su apoyo y cordialidad.

CAPITULO I

INTRODUCCION

Esta tesis trata principalmente del estudio de reacciones que conducen a la síntesis de estructuras del tipo de la tubulosina, alcaloide que fuera aislado del P. tubulosus (DC.) Schumann, Rubiácea que crece en el norte argentino.

La estructura de la tubulosina resultó ser novedosa y se caracteriza porque mientras una porción de su molécula está formada por el mismo núcleo benzoquinolizínico característico de los alcaloides del grupo del Ipecac, la porción restante es un núcleo β -carbolínico en lugar del isoquinolínico de los alcaloides mencionados. Esta combinación benzoquinolizina - β -carbolina no se había encontrado en la naturaleza.

De acuerdo con lo conocido sobre biogénesis de alcaloides, el triptofano debe tener una participación en la biosíntesis de la tubulosina, que en las bases del Ipecac está sustituida por los aminoácidos aromáticos (tirosina).

No debe extrañar, debido a éste parentesco biogenético entre ambos grupos de bases, que se haya podido demostrar en el P. tubulosus la presencia de psicotrina, una base de la Psychotria ipecacuanha también de la familia de las Rubiáceas.

Por otra parte en el Alangium lamarckii Thwaites, de la familia de las Alangiáceas, que crece en la India, se han encontrado junto a varios alcaloides del grupo de la tubulosina, cierto número de bases de la familia del Ipecac. Además de éstas dos familias, se ha hallado también un alcaloide del tipo de la tubulosina, en la Cassinopsis ilicifolia (Kuntze), que crece en Sud Africa y pertenece a la familia de las Icacináceas.

Nuestro principal tema de trabajo consistió en estudiar las

vías sintéticas que pueden conducir a estructuras como la encontrada en la tubulosina.

Para llevar a cabo el mismo, se estudiaron algunas de las etapas finales de la preparación de la porción benzoquinolizínica de su molécula con los grupos activos necesarios que permitiera su condensación con triptaminas. La amida obtenida conduce por tratamientos conocidos a la formación de la porción β -carbolfínica restante, que está unida al núcleo anteriormente indicado.

Debido al papel que juega en una etapa de la síntesis (preparación del éster $\alpha\beta$ -no saturado benzoquinolizínico) la reacción de Wittig, se ha hecho un análisis de su mecanismo y en particular de su estereoquímica.

Razones de disponibilidad de drogas nos ha exigido trabajar con materiales cuya configuración es la opuesta a la encontrada en la naturaleza.

Mientras este trabajo estaba en marcha, Openshaw y Whittaker (1966) publicaron la síntesis de la tubulosina y de algunas sustancias relacionadas.

CAPITULO II

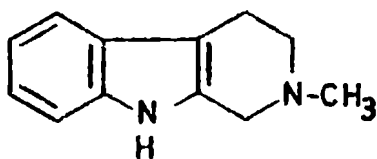
ALCALOIDES β -CARBOLINICOS

Entre la numerosa cantidad de alcaloides indólicos conocidos, existe un grupo, cuya porción triptamínica por condensación en su posición alfa, con restos de naturaleza variable forman una estructura β -carbolínica.

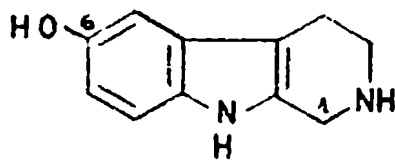
Mientras en algunos casos, esta estructura β -carbolínica, se encuentra unida al resto de la molécula solamente por el carbono 1, en otros, se han producido transformaciones metabólicas que dan lugar a la formación de alcaloides indólicos policíclicos condensados, cuya variedad es considerable.

Por esta razón, teniendo en cuenta la estructura de los alcaloides a que se refiere esta tesis, consideraremos en particular a aquellos alcaloides indólicos que tienen una estructura β -carbolínica no condensada con otro ciclo. La distribución de estos alcaloides es muy amplia, botánica y geográficamente.

Los alcaloides β -carbolínicos más simples que se conocen, son aquellos en los cuales el carbono 1 no contiene ningún sustituyente. Se han encontrado tan sólo dos bases con esta estructura: la N-metil-tetrahidro- β -carbolina (I) y la plectococmina (II).



(I)



(II)

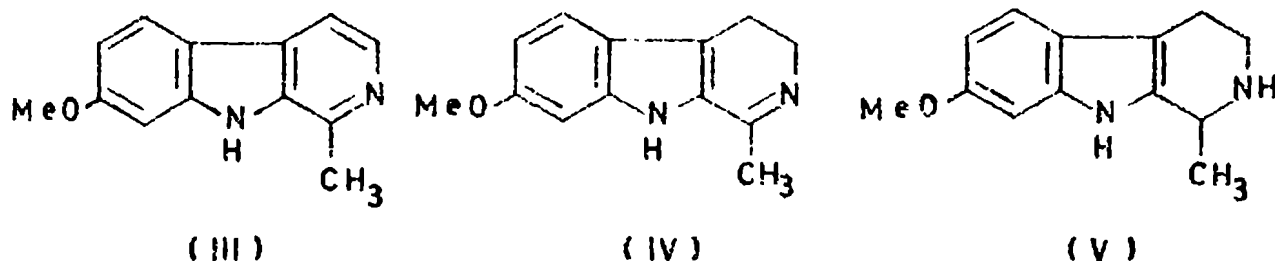
La primera de las bases, fué aislada en 1958 por Platonova y col. en una Quenopodiácea, la Hammada leptoclada M.IIjin (Arthrophytum leptocladum Popov) y ocho años más tarde de las hojas de una Miristicácea, la Gymnacranthera paniculata (A.DC.) Warb. var. Zippelisna (Miq.) J.Sinclair, por Johns, Lambertson y Occolowitz (1967).

En 1967, Kiang, Chan y Taylor, de los frutos de la Plectocomiopsis geminiflorus Becc., familia Palmae, aislaron la plectocomina (II). Este último alcaloide tiene en el carbono 6, un sustituyente oxigenado, variante estructural que se repite en muchos otros.

En orden de complejidad creciente, el grupo siguiente está formado por los alcaloides que tienen unido al carbono 1, un grupo metilo. Conocidos desde hace más de cien años, son los alcaloides del grupo del harmano, que originariamente fueron hallados en una Zigofilácea, el Peganum harmala L.. Más tarde, se comprobó su presencia en plantas de distintas familias. (Manske, 1965).

Son típicos representantes, la harmina (III) y la harmalina (IV), aisladas respectivamente hace más de un siglo por Fritsche (1848) y Goebel (1841).

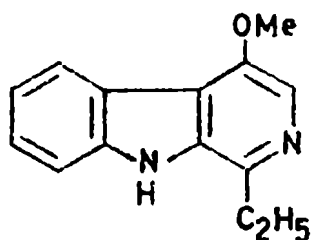
Muy posteriormente, en 1957, se consiguió aislar la tetrahidro-harmina (V) de la Leptactina densiflora Hook. (Rubiácea),



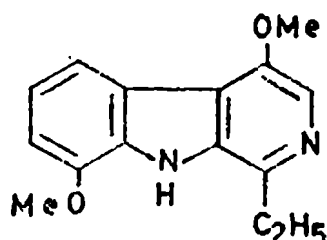
por Paris y col.

En años recientes, se han aislado nuevos representantes de este grupo con sustituyente hidroxilado en el núcleo bencénico y metilado en el nitrógeno.

En nuestros laboratorios, Sánchez y Comín (1966), recientemente hallaron β -carbolinas, que tienen en el carbono 1 un grupo etilo. Aislaron las bases crenatina (VI) y crenatidina (VII), de una Simarubácea, la Aeschrión crenata Vell., que crece en el sur de Brasil, Paraguay y Argentina.



(VI)

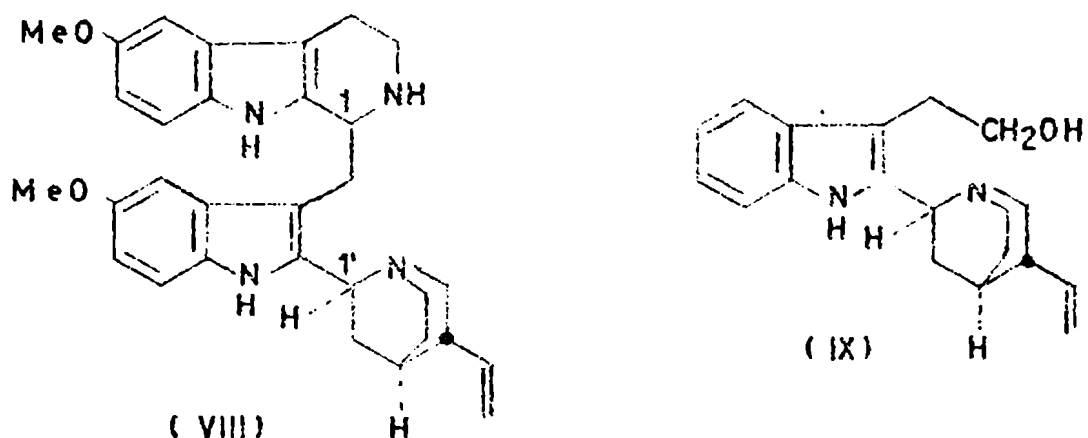


(VII)

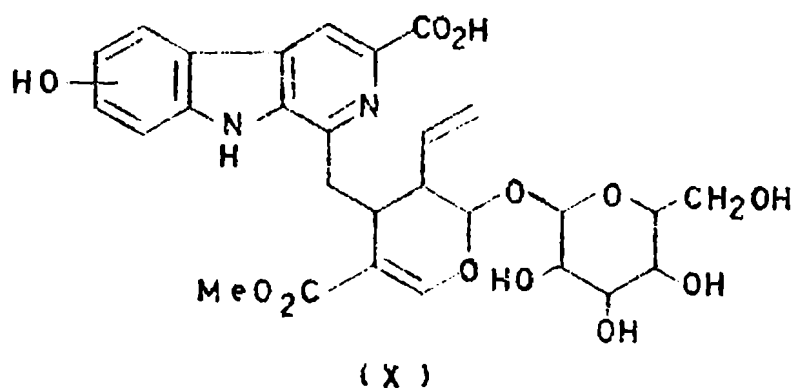
Se encuentra luego un grupo de alcaloides donde la estructura del grupo unido al carbono 1, es de mayor complejidad, sin haberse aislado etapas intermedias entre éstos y los primeros.

Su número es reducido y a nuestro conocimiento, los únicos representantes existentes son la cincofilamina e isocincofilamina (VIII), cordifolina (X) y las bases que constituyen el grupo de la tubulosina (XI).

La cincofilamina e isocincofilamina (VIII, epímeros en el carbono 1'), fueron aislados de las hojas de Cinchona ledgeriana Moens, por Potier y col. en el año 1966. Tienen un sustituyente en el carbono 1 de la β -carbolina, de evidente relación estructural con los alcaloides de la quina. Formalmente resultarían de la condensación de un derivado triptamínico y la cinconamina (IX).

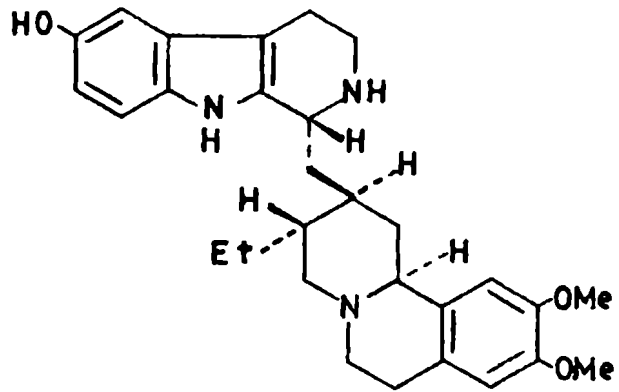


En el año 1967, Brown y Row del leño de una Rubiácea, la Adina cordifolia Hook., que crece en el sudeste de Asia, aislaron un nuevo alcaloide, la cordifolina (X), en el cual el sustituyente es un glucósido y cuyo aglucona tiene una estructura isoprenoide.

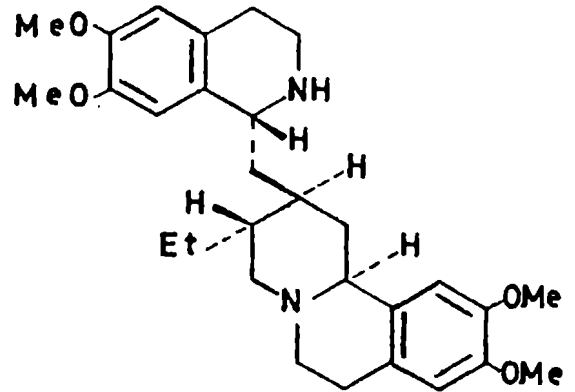


Finalmente, se hallan las bases del grupo de la tubulosina (XI), donde el sustituyente es la benzoquinolizina característica de los alcaloides del Ipecac, circunstancia que los vincula estructuralmente con éstos últimos. La fórmula de la emetina (XII), una de las bases más representativas de este gru-

po, permite ver claramente esa relación.



(XI)



(XII)

CAPITULO III

ESTUDIOS SOBRE EL POGONOPUS TUBULOSUS (DC.) SCHUMANN

a) Datos botánicos y fitogeográficos.

El Pogonopus tubulosus (DC.) Schumann, especie de la familia de las Rubiáceas, conocido en la zona donde crece con los nombres de Sacha Quina, Quina morada, Quina virreyña, Virreyña del monte, flor del diablo, tola y cascarilla, es un arbusto de 3 a 8 m. de alto, que se encuentra en sitios abrigados en el interior de las selvas. En nuestro país crece en Salta, Jujuy, Tucumán y Chaco y además ha sido coleccionado en Bolivia, Brasil y Perú.

Esta planta fué descrita por primera vez en 1830, por De Candolle con el nombre de Calycophyllum tubulosum y luego, en 1849 por Weddel, bajo la denominación de Chrysoxylon febrifugum. Este último autor consideró años más tarde (1854), que esta especie pertenecía al género Howardia.

En 1873, Hooker señaló que su verdadero lugar sistemático era el género Pogonopus, llamándole Pogonopus febrifugus (Weddel) Hooker y en 1889, Schumann por razones de prioridad dió a la especie el nombre empleado por De Candolle (tubulosum) con el cual se conoce actualmente: Pogonopus tubulosus (DC.) Schumann.

b) Estudios químicos.

Las primeras noticias que se poseen sobre estudios químicos del P. tubulosus, datan del año 1854, en que Weddel publicó una monografía sobre algunas rubiáceas de América del Sur y al ocuparse del mismo (al que llamaba Howardia febrifugum), mencionó los resultados obtenidos por Howard al analizar un tro-

zo de corteza, de la cual logró aislar un alcaloide al que denominó howardina.

Años más tarde, Arata y Canzoneri (1888), estudiaron una muestra que pertenecía a una planta conocida por el colector de la misma, como quina morada. Esto determina dudas sobre la identificación botánica de la misma, duda que se desprende también de la lectura de su trabajo y que los mismos autores no excluyen. Sin embargo, el título de su publicación se refiere al Pogonopus febrifugus.

Aislaron de dicha muestra una sustancia no nitrogenada, a la que denominaron moradina, llamativa por su fluorescencia, de p.f. 201-202° y cuyo análisis elemental permitió atribuirle una fórmula de $C_{16}H_{14}O_6$ y sobre cuya estructura presentan algunos datos.

También aislaron un alcaloide sólido, al cual denominaron moradefina, de p.f. 199-200°. Por la exigua cantidad que poseían del mismo, postergaron su análisis y el estudio de sus propiedades, con la esperanza de reunir más material, hecho que parece no haber tenido lugar. La presencia de alcaloides en esta especie, estaría confirmado por Hartwich y Jama (1909), quienes señalaron que la corteza de la quina morada es rica en alcaloides, llegando a contener 5,48 %.

Pasaron muchos años, hasta que se retornara a trabajar con esta planta y recién en 1940-1943, Deulofeu intentó, sin éxito, cristalizar las bases presentes en la corteza.

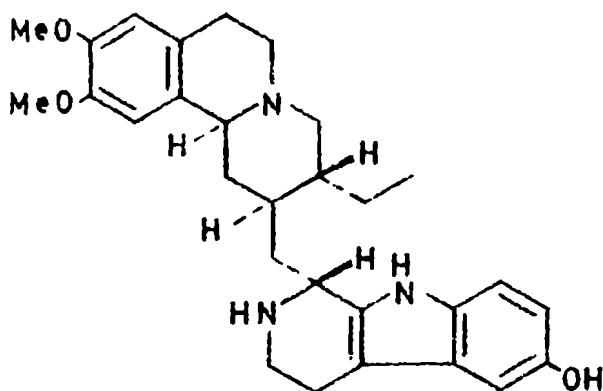
Resultados similares obtuvieron Soto y col. (1948), quienes con el objeto de conocer los principios activos del P.tubulosus, hicieron ensayos de separación de bases aislando un producto de p.f. 142°, que por su descripción no es cristalino.

En el mismo año, Dalma y Mateu Amengual, aplicando el fraccionamiento por solventes, describieron la separación de tres bases amorfas de la corteza del P.tubulosus, a las cuales denominaron pogonopina, pogonopsina y pogonopidina y una cristalina a la que llamaron pogonopamina, pero no publicaron el punto de fusión de las mismas u otra constante característica.

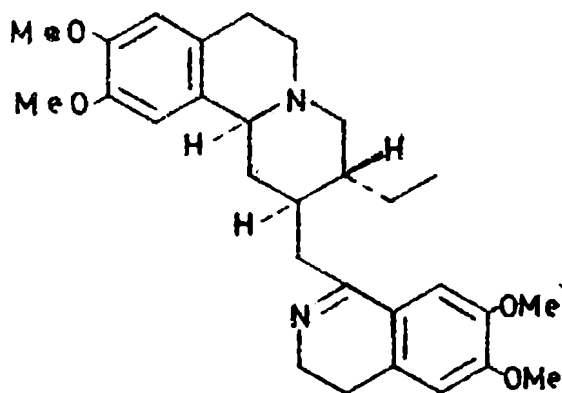
Es interesante señalar, que la descripción de algunos caracteres del material de origen y de las bases descritas por Dalma y Mateu Amengual (1948) (propiedades organolépticas, oxidabilidad y no fluorescencia de sus infusiones) hacen recordar las mencionadas por Howard.

Recién en los años 1962-1963, Brauchli, estudiando las bases contenidas en la corteza del P.tubulosus, logró aislar un alcaloide cristalizado en los laboratorios de investigación de Squibb y posteriormente en los de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. El mismo fué denominado tubulosina (I) (ver Capítulo IV).

La cromatografía en placa delgada de los extractos frescos de P.tubulosus indica la presencia de no menos de seis sustan-



(I)



(II)

cias de naturaleza básica, una de las cuales corresponde a la tubulosina (I) y otra a la psicotrina (II), una base típica del Ipecac, que fuera aislada y caracterizada posteriormente en nuestros laboratorios. No se conocen las sustancias responsables de las demás manchas.

c) Ensayos farmacológicos.

En la medicina popular del noroeste argentino y muy probablemente en otras regiones, se han usado las infusiones de la corteza como tónico antipalúdico y febrífugo en general. Hieronymus (1882), menciona estos datos, los que parecen resaltados por la denominación botánica de C. febrifugum que le diera Weddel.

En base al hecho que los pobladores en zonas donde existe malaria, utilizan la corteza de esta planta como útil en el tratamiento de fiebres intermitentes, indujo a realizar pruebas para conocer su actividad.

En 1946, bajo la dirección de Wisegogle, se efectuaron en los Estados Unidos, ensayos de los alcaloides crudos de la corteza de P. tubulosus, en pollos inoculados con Plasmodium gallinaceum, encontrándose que su actividad estaba por debajo de los límites considerados útiles en la lucha contra la malaria.

Las propiedades farmacológicas de los extractos de P. tubulosus, fueron estudiados por Soto y col. (1948), quienes encontraron que posee propiedades antifibrilantes y que no tiene acciones vasculares (en perros), ni acción sobre la temperatura (en conejos). A nuestro conocimiento no se han hecho otros estudios farmacológicos.

Debe sin embargo recordarse, que el P. tubulosus contiene psicotrina (II) en proporción no determinada y que algunas propiedades farmacológicas de los alcaloides totales podrían resul-

tar de la presencia de esta base.

Tiene interés conocer que otra planta muy rica en alcaloides, el Alangium lamarokii Thwaites (Alangiácea), de la cual se han aislado varias bases del grupo de la tubulosina, es utilizada en la India para detener hemorragias y como febrífugo. Los estudios farmacológicos sobre extractos de la corteza de raíz mostraron tener acción hipotensiva.

CAPITULO IV

ALCALOIDES DEL GRUPO DE LA TUBULOSINA

La tubulosina (I), caracterizada por primera vez entre los alcaloides del Pogonopus tubulosus (DC.) Schumann (Brauchli, Deulofeu, Budzikiewicz y Djerassi, 1964), tipifica una nueva clase de bases con una estructura formada por dos porciones, una dimetoxi-benzoquinolizínica característica común con los alcaloides del grupo del Ipecac y otra tetrahidro- β -carbolínica.

Más tarde, esta misma base y otras con estructura similar, fueron aisladas de distintas especies vegetales.

Constituyen este grupo, la tubulosina (I), la isotubulosina (IV), la deoxitubulosina (V), la alangimarckina (VI) y la demetil-tubulosina (IX a) o (IX b).

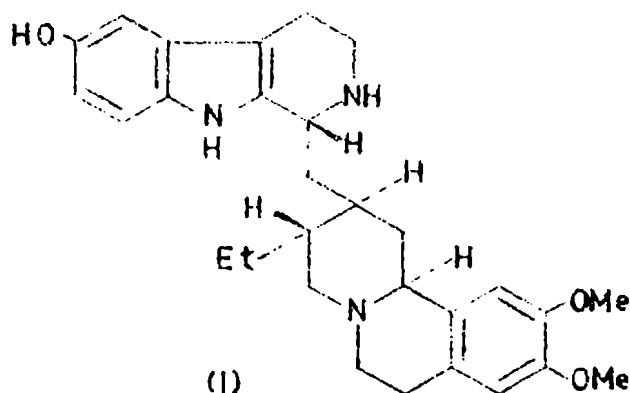
a) Tubulosina

La tubulosina aislada por Brauchli, tiene un p.f. de 259-261° y $[\alpha]_D^{25} - 65,9^\circ$ (Py); su análisis elemental y espectro de masa, están de acuerdo con la fórmula $C_{29}H_{37}N_3O_3$ (m/e 475), siendo su estructura la indicada en (I).

La tubulosina ha sido también encontrada entre las bases presentes en la corteza de raíz del Alangium lamarckii Thwaites (Alangiácea), planta que crece en el subcontinente indopakistanico. De la misma, Siddiqui, Ahmad y Ali (1964), lograron obtener dos bases cristalinas a las cuales denominaron marckina y marckidina. La marckina tenía un p.f. de 281° y $[\alpha]_D^{22} - 68^\circ$ (Py), mientras que la marckidina presentaba un p.f. de 228° y $[\alpha]_D^{25} - 84^\circ$ (Py).

El análisis elemental de ambas estaba de acuerdo con la

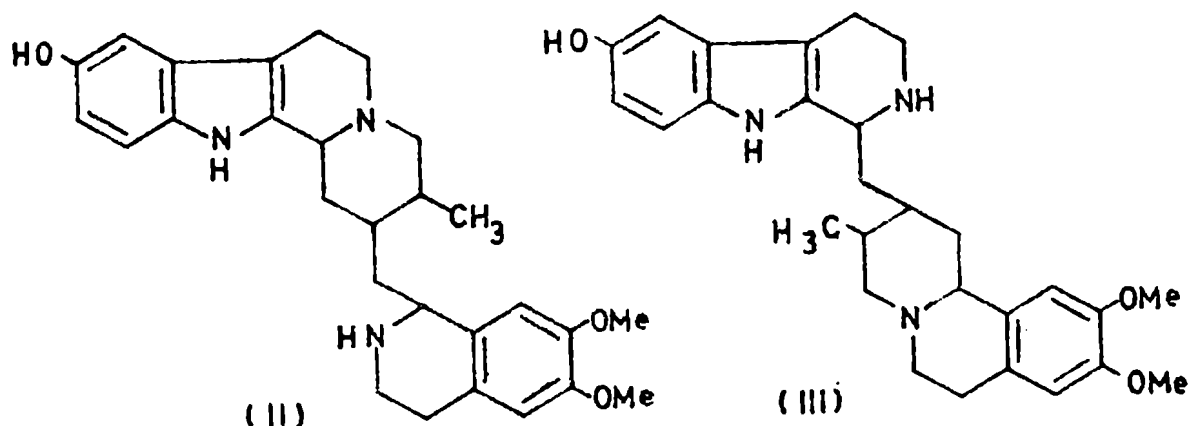
fórmula molecular $C_{28}H_{35}N_3O_3$, pero el análisis de los grupos funcionales indicaba una clara diferencia, mientras la primera tenía dos grupos O-metilos y uno C-metilo, en la segunda se encontraron dos grupos O-metilos, dos C-metilos y dos N-metilos.



En un trabajo publicado un año más tarde (1965), los mismos autores comentan que en base a estudios degradativos sobre la marckina, así como a datos de los espectros de este alcaloide y de sus derivados, habían considerado como hipótesis de trabajo las fórmulas estructurales (II) y (III). La comparación con una muestra auténtica de tubulosina (I), les indicó que su base era idéntica a ésta última.

En el año 1964, Pakrashi aisló de la misma planta, un alcaloide al que provisoriamente designó AL 64, de p.f. 272° y $[\alpha]_D - 64^\circ$ (cloroformo), que analizaba de acuerdo con la fórmula $C_{29}H_{37}N_3O_3$ y que contenía dos grupos O-metilos y uno C-metilo. Al año siguiente, Monteiro y col. (1965), identificaron a este alcaloide con la tubulosina (I). Señalemos de paso, que los p.f. de los mono y diacetil derivados del alca-

loide AL 64 de Pakrashi y la tubulosina obtenidos en Buenos Aires, son idénticos, pero difieren ambos de los descriptos por Siddiqui.



Una confirmación más de la presencia de tubulosina en dicha planta, fué dada en el año 1966 por tres grupos de investigadores: Albright, Van Meter y Goldman en Estados Unidos, Popelak, Haack y Spingler en Alemania (ambos estudiaron la corteza de raíz) y Salgar y Merchant en la India (corteza de ramas).

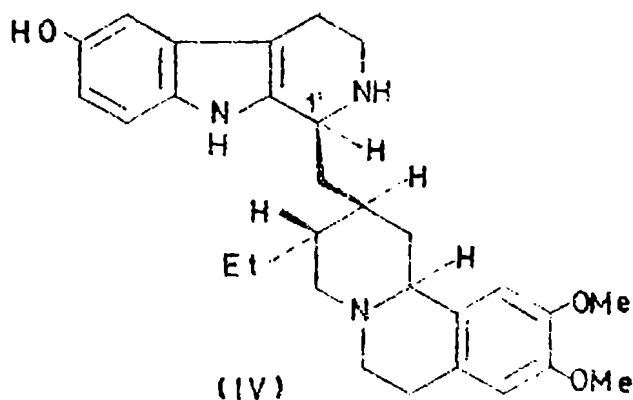
b) Isotubulosina

Popelak, Haack y Spingler (1966a) en el transcurso del aislamiento de la tubulosina (I) de la corteza de raíz del A. Lamarckii, trabajando el residuo de los líquidos madres, hallaron una base de p.f. 177-178° cuyo análisis elemental estaba de acuerdo con la fórmula $C_{29}H_{37}N_3O_3$ confirmada por su espectro de masa (m/e 475).

Hallaron que poseía dos grupos O-metilos y uno fenólico y que los espectros U.V. en medio neutro, ácido y alcalino de la tubulosina (I) con el nuevo alcaloide eran idénticos. Por otra parte, sus espectros I.R. eran similares en sus bandas princi-

pales. Su poder rotatorio era $[\alpha]_D^{25} - 84^\circ$ (Py) en lugar de $[\alpha]_D - 68,2^\circ$ (Py) para la tubulosina (I).

En base a diferencias en los espectros de masa y N.M.R., concluyeron que ambos alcaloides son epímeros en carbono 1', conclusión que estuvo justificada al encontrar que sus datos coincidían con las constantes de la isotubulosina (IV) sintetizada por Openshaw y Whittaker (1966), respecto de la cual no había dudas en la configuración de sus carbonos asimétricos.




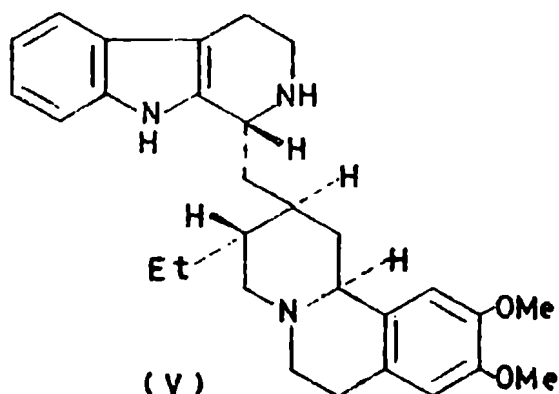
c) Deoxitubulosina

Una base racémica con esta estructura fué sintetizada antes de su aislamiento de la naturaleza, por Battersby y col. (1961):

El primer aislamiento fué realizado por Salgar y Merchant en 1964, de los frutos del A. Lamarckii, quienes obtuvieron un alcaloide de p.f. 223-224° y poder rotatorio $[\alpha]_D^{25} - 18,3^\circ$, cuyo análisis elemental correspondía a la fórmula $C_{29}H_{37}N_3O_3$, confirmada por su espectro de masa (m/e 459).

Por su reacción con el reactivo de Ehrlich, consideraron que poseía un anillo tetrahidro- β -carbolínico. En 1965, jun-

tamente con Battersby y Ruveda, los autores mencionados, en base a los espectros U.V., I.R., N.M.R. y principalmente al espectro de masa, asignaron para este alcaloide la estructura de una deoxitubulosina (V). Esta misma base fué aislada posteriormente, de la corteza de raíz y de las hojas de la misma planta (Salgar y Merchant, 1966 ).



Un alcaloide con igual fórmula molecular, de p.f. 230-232° y $[\alpha]_D - 17^\circ$ (cloroformo) fué encontrado en la especie Cassipoupa ilicifolia Kuntze (Icacinácea), por Arndt y Baarschers en Pretoria (Sud Africa).

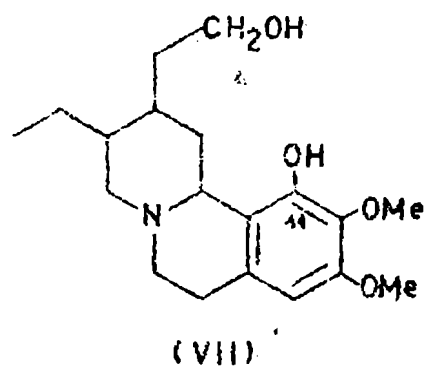
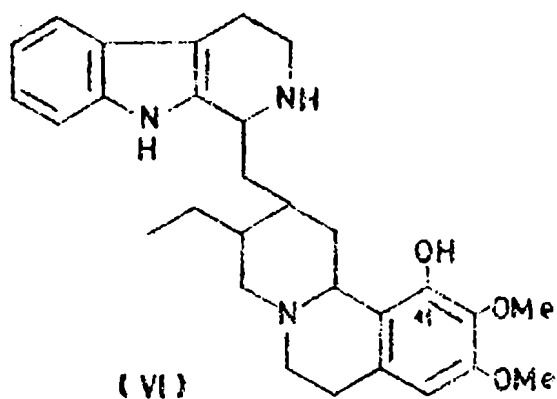
La configuración absoluta de sus centros asimétricos fué establecida por Battersby y col. (1965), realizando su síntesis mediante el empleo de una benzoquinolizina de configuración idéntica a la emetina natural. La configuración del carbono 1' de la deoxitubulosina (V) fué establecida mediante el estudio de las diferencias de poder rotatorio de emetina, isoemetina, y deoxitubulosina y sus respectivos derivados acetilados. (Ver Capítulo V).

d) Alangimarckina

En 1966, Battersby y col. aislaron de las hojas del A. lamarkii un nuevo alcaloide de p.f. 184-186° y $[\alpha]_D^{25} - 67,7^\circ$ (Py), al que denominaron alangimarckina. El análisis elemental permitió atribuirle una fórmula molecular igual a la tubulosina (I), o sea $C_{29}H_{37}N_3O_3$ (m/e 475).

Las conclusiones estructurales más importantes de la nueva base, fueron obtenidas de su espectro de masa. Este era similar al de la tubulosina (I) y deoxitubulosina (V), con la sola diferencia que en las dos últimas bases, los picos derivados de la porción benzoquinolizínica se hallaban desplazados a valores más bajos de m/e en 16 unidades, en cambio los picos derivados de la porción tetrahidro- β -carbolílica eran idénticos a los presentados por la tubulosina (I), pero al mismo tiempo estaban desplazados en 16 unidades mayores que en el caso de la deoxitubulosina (V).

De ello concluyeron que posee un grupo fenólico en la porción benzoquinolizínica. La ubicación de éste último en el carbono 11, la asignaron al comparar el espectro N.M.R. de la alangimarckina (VI) con la de la ankorina (VII), cuya estructura consideran bien establecida.

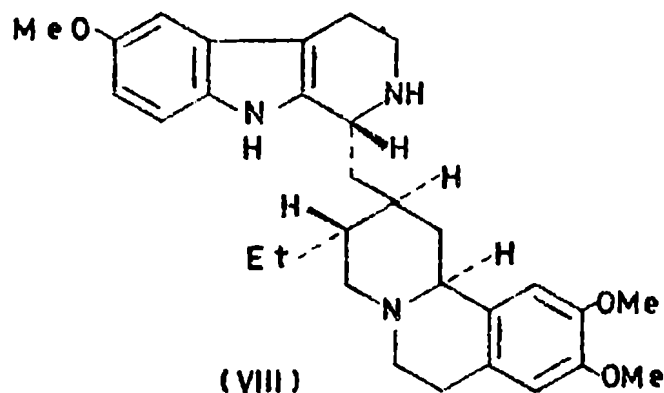


Propusieron para la alangimarckina la estructura VI, pero por falta de material, no pudieron comprobar la quiralidad de sus diversos carbonos asimétricos, que suponen idéntica a la tubulosina.

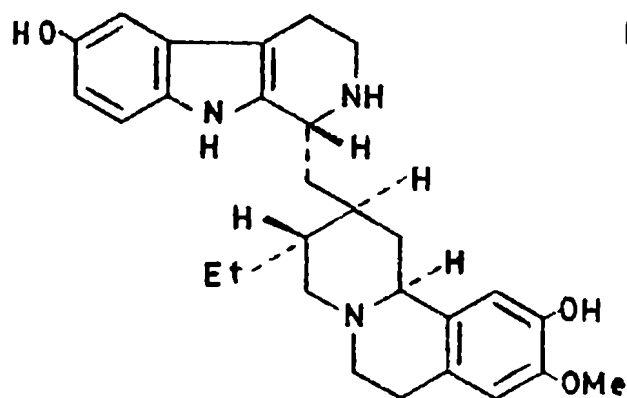
e) Demetil-tubulosina

En 1966, Popelak, Haack y Spingler, aislaron de la corteza de raíz y tronco del A. lamarckii, una base de p.f. 198-200° y $[\alpha]_D^{23} -51,9^\circ$ (Py), a la cual por su análisis elemental correspondía una fórmula de $C_{28}H_{35}N_3O_3$ (m/e 461). Hallaron que poseía dos hidroxilos fenólicos y sólo un grupo O-metilo, que confirmaron en su espectro N.M.R.

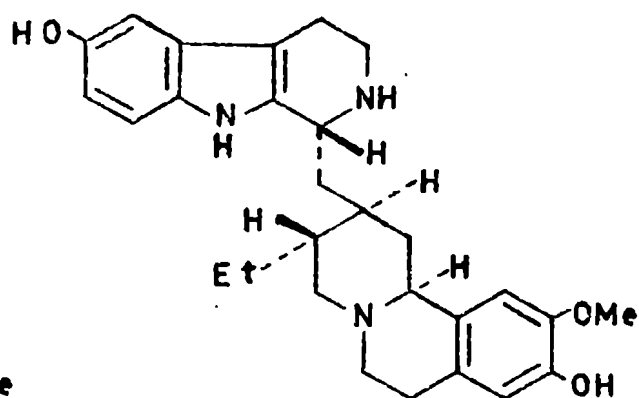
Por otra parte, el espectro U.V. de la tubulosina (I) y de este nuevo alcaloide eran idénticos en medio neutro y ácido, pero en cambio diferían en medio alcalino. En su espectro de masa, los picos correspondientes a la porción benzoquinolizínica aparecían 14 unidades de m/e más bajos que los correspondientes a la tubulosina, mientras que los de la porción tetrahydro- β -carbolínica eran idénticos. A la vez, la estereoquímica fué establecida al obtener por metilación un producto que coincide en todas sus propiedades con la O-metil-tubulosina (VIII), que obtuvieron cristalina por primera vez.



Por lo tanto, consideran con razón que ésta es una demetil-tubulosina con estructura (IXa) o (IXb).



(IXa)



(IXb)

f) Propiedades biológicas de la tubulosina.

La analogía estructural y configuracional entre la emetina (I) y la tubulosina (I), sugirió a Grollman (1967) que se reflejaría también en la similitud de sus actividades biológicas.

Un año antes, este autor había señalado que la emetina (I) y otros alcaloides del Ipecac y algunos de sus derivados, lo mismo que la cicloheximida (XI), un antibiótico del grupo de la glutarimida, de estructura que consideró guardaban cierta semejanza entre sí, presentaban no solamente propiedades amebicidas y antitumorales, sino que también ambas inhibían la biosíntesis de proteínas en células He La, protozoarios, hongos, plantas y células de mamíferos, pero eran inactivas cuando se empleaba E. coli.

Grollman (1966) interpretaba sus experiencias considerando que la acción inhibidora se debía al bloqueo de la transferencia de aminoácidos del ácido aminoacil-ribonucleico a los ribosomas.

La misma actividad fué encontrada para la tubulosina (I), la cual además inhibe parcialmente la síntesis del ácido desoxirribonucleico, pero no afecta la del ácido ribonucleico (Grollman, 1967).

Grollman llegó a la conclusión que en este grupo de sustancias, las condiciones estructurales necesarias para exhibir actividad inhibidora son: la presencia de una configuración R en el carbono 1' y de un nitrógeno secundario vecino al mismo.

En el caso de la cicloheximida (XI), donde falta el nitrógeno secundario, el autor explica su actividad, por la formación de un puente de hidrógeno entre el hidroxilo y el carbonilo, formándose un heterociclo con cierta analogía a la estructura de la tetrahidro-isoquinolina.

Posteriormente Grollman (1967) utilizó la tubulosina (I), como testigo de su hipótesis referente a la base configuracional y funcional responsable de la actividad, que consideró contenida en una unidad estructural más amplia XII.

Encontró confirmada su predicción que la tubulosina (I) debía ser activa, al comprobar que la inhibición que produce, se obtiene con concentraciones molares de esta base del mismo orden que las concentraciones de emetina (X).

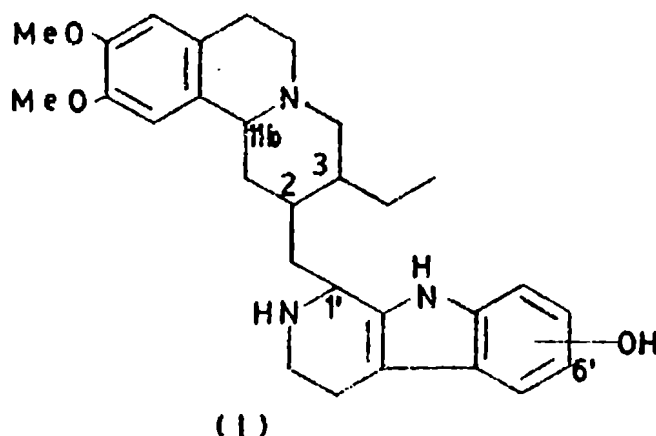
En cambio la isoemetina y la isotubulosina, que son epímeros de los respectivos alcaloides en el carbono 1' (configuración S), la N-metil-emetina, que posee el nitrógeno secundario sustituido y la 1',2'-dehidroemetina (O-metil-psicotrina) y 2',3'-dehidro-6'-deoxitubulosina que tienen la posición 2' insaturada, presentan una actividad del orden del 0,5% de las bases anteriores, por lo cual considera comprobada la hipótesis mencionada anteriormente.

CAPITULO V

ESTRUCTURA Y ESTEREOQUIMICA DE LA TUBULOSINA

1.-El empleo de métodos químicos.

La estructura de la tubulosina (I), con excepción de la posición del hidroxilo fenólico en el núcleo β -carbólico y la quiralidad de los diversos centros asimétricos (C-11b, C-2, C-3 y C-1'), fué establecida poco después de su aislamiento por Brauchli, Deulofeu, Budzikiewicz y Djerassi (1964).

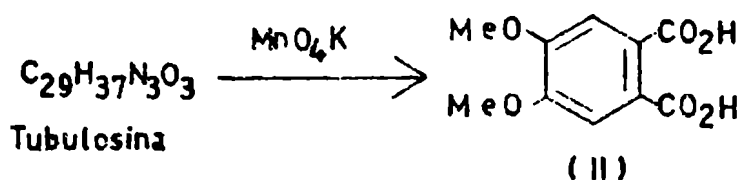


Su análisis elemental permitió asignarle la fórmula $C_{29}H_{37}N_3O_3$ y las reacciones de coloración indicaron la presencia de un grupo fenólico (copulación con p-nitroanilina diazotada; color azul con el reactivo de Folin-Denis e igual coloración con $FeCl_3 - K_3Fe(CN)_6$) y de una estructura indólica (color violeta en caliente con p-dimetil-aminobenzaldehído en HCl conc. (reactivo de Ehrlich) y azul violáceo con vainillina-HCl). Es interesante señalar que las reacciones de fenoles resultó dudosa con cloruro férrico y reactivo de Millon.

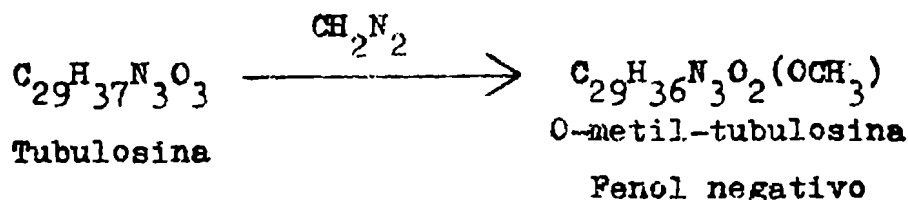
El análisis funcional indicó la presencia de dos grupos

O-metilos, quedando así aclarada la naturaleza de los tres átomos de oxígeno y la oxidación por el método de Kuhn y Roth dió un mol de ácido volátil por mol de alcaloide, indicando que hay un grupo C-alquilo en la molécula.

La degradación oxidativa con permanganato de potasio alcalino, condujo al ácido meta-hemipínico (II), identificado como metilimida indicando la posición orto de los dos metoxilos.



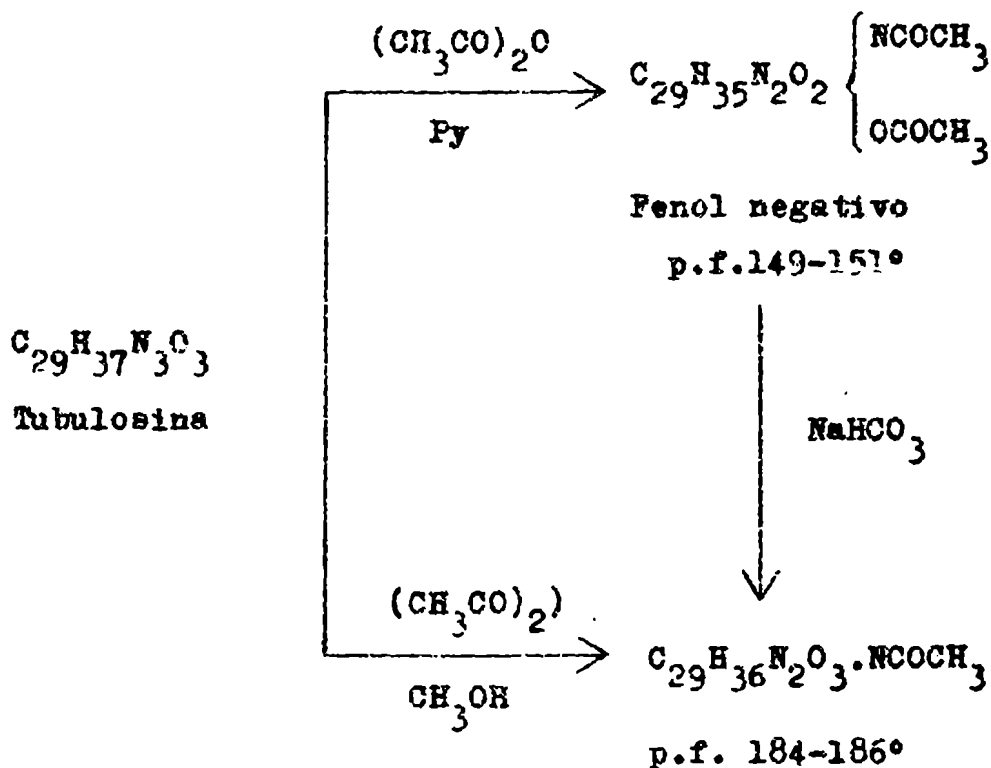
La presencia de un hidroxilo fenólico en la tubulosina (I), se confirmó también por el tratamiento con diazometano, obteniéndose una sustancia con reacciones de fenoles negativa y cuyo espectro de masa (ver figura 5), que luego se analizará, presenta un desplazamiento de 14 unidades en su pico molecular y en otros que, posteriormente se comprobó derivaban de la porción de tubulosina (I) que contiene la función fenólica. Este producto obtenido como un jarabe en los primeros trabajos, fué preparado en forma cristalina (p.f. 183°) por Popelak y col., (1966).



La preparación de derivados acetilados de la tubulosina,

confirma también la presencia de algunas de las funciones descritas. Cuando se la trata con anhídrido acético y piridina, se obtiene un diacetil derivado de p.f. 149-151° (Brauchli y col., 1964; Albright y col., 1965), cuyo espectro I.R. presenta una banda a 1760 cm^{-1} característica de un carbonilo en un O-acetilo y otra a 1639 cm^{-1} que corresponde al de un N-acetilo en una amida terciaria.

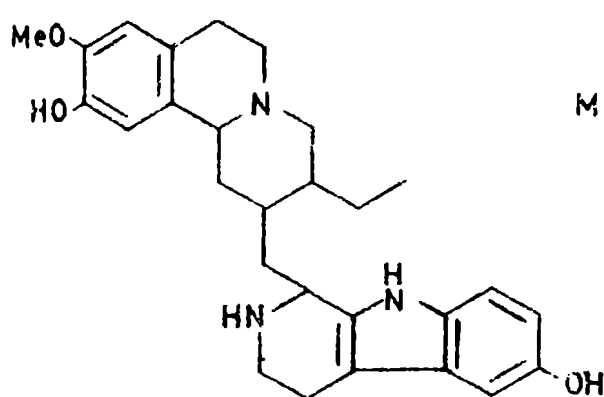
Esta diacetil-tubulosina tratada con bicarbonato de sodio en condiciones muy suaves, pierde un acetilo y se obtiene un derivado monacetilado de p.f. 184-186° (Brauchli y col., 1964), idéntico al que se produce por tratamiento con anhídrido acético de la misma base, en solución metanólica. En este derivado debe considerarse que el resto acetilo se halla en el nitrógeno imínico de la β -carbolina, lo cual explica su estabilidad en medio alcalino.



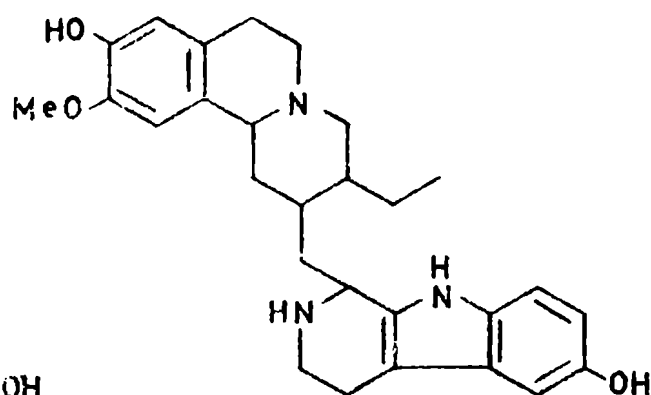
2. Determinación de la estructura por métodos físicos.

a) Espectro infrarrojo.

El espectro I.R. de la muestra original (figura 1), si bien indica claramente, la existencia de un grupo NH, no mostró la absorción correspondiente a un hidroxilo fenólico, tal como encontraron posteriormente Popelak, Haack y Spingler (1966) en el caso de la demetil-tubulosina (IIIa) o (IIIb).



(IIIa)



(IIIb)

Estos autores consideran, sin explicar las causas por las cuales llegan a tal conclusión, que en esta base la banda a 3500 cm^{-1} corresponde al fenol benzoquinolizínico y en cambio, el correspondiente a la porción tetrahydro- β -carbolínica se halla ausente debido a la formación de una sal interna.

A nuestro juicio, la formación de una sal interna estaría corroborada por la ausencia de las bandas de trans-quinolizidinas en la zona de $2700\text{--}2800\text{ cm}^{-1}$ que desaparecerían al protonarse el nitrógeno terciario del núcleo benzoquinolizínico, apareciendo en su lugar la banda de N^+H a 2740 cm^{-1} . Esto es de esperar si en los cristales, la tubulosina se encuentra bajo la

forma de un zwitterión.

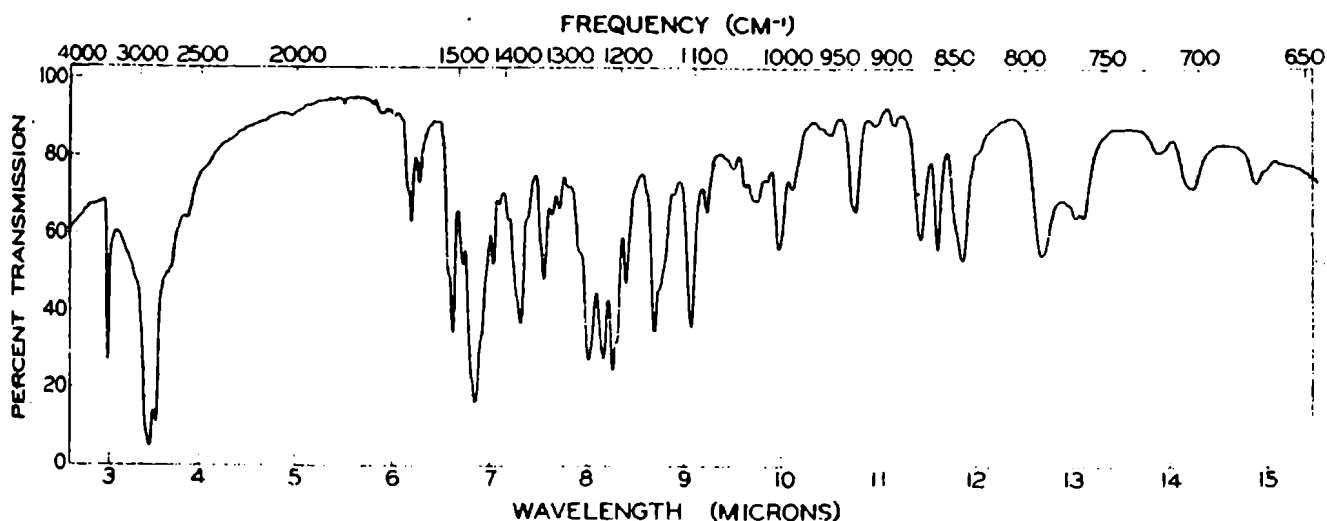


Figura 1. Espectro I.R. de tubulosina (nujol).

b) Espectro de resonancia magnética nuclear.

El espectro N.M.R. de la tubulosina (I) (figura 2), en dimetilsulfóxido y cloroformo deuterado confirmó la presencia de dos grupos O-metilos ($3,78 \delta$, singulete, 6 H) e indicó que poseía cinco protones aromáticos (multiplete en la región $6,4-7,1 \delta$) y un grupo metilo ($0,95 \delta$, 3 H) que luego se vio correspondía al etilo de la cadena lateral en el núcleo benzoquinolizínico, que era responsable de la producción de un mol de ácido volátil en el método de Kuhn y Roth.

Una señal un poco difusa centrada en $4,15 \delta$ que corresponde a un protón, evidencia la existencia de una función NH, mientras que el NH indólico aparece en $10,04 \delta$ (singulete, 1 H) y el hidroxilo fenólico se presenta como una señal difusa en $8,4 \delta$ (singulete, 1H).

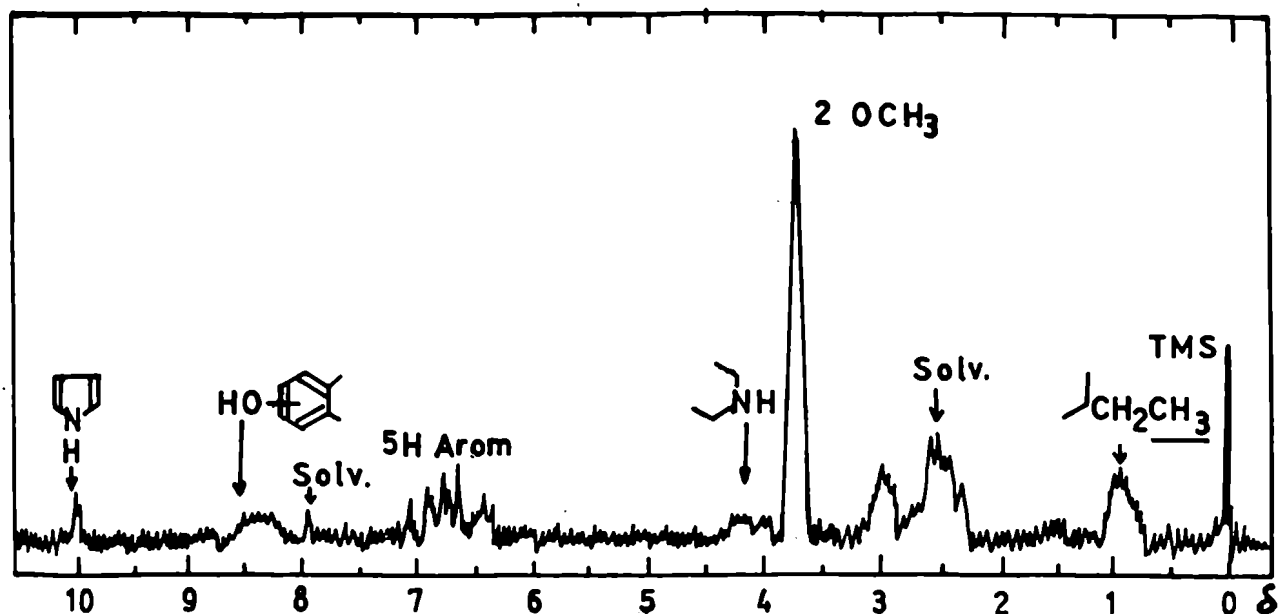


Figura 2.- Espectro N.M.R. de tubulosina (I').

o) Espectro ultravioleta ..

El espectro U.V. de la tubulosina (I) (figura 3), también sirvió para confirmar algunas presunciones estructurales y funcionales, así como para ubicar al hidroxilo fenólico.

En medio neutro (etanol) presenta bandas que no se ven desplazadas al pasar a medio ácido, en cambio en medio alcalino se produce un corrimiento batocrómico del lomo en 310 m μ a 320 m μ , corroborando la presencia de un fenol, tal como ocurre en la bufotenina o 5-hidroxi- ω -N,N-dimetil-triptamina (IV) (Stoll y col., 1955) y en la sarpagina (V) (Poisson y Goutarel, 1956) (ver tabla 1).

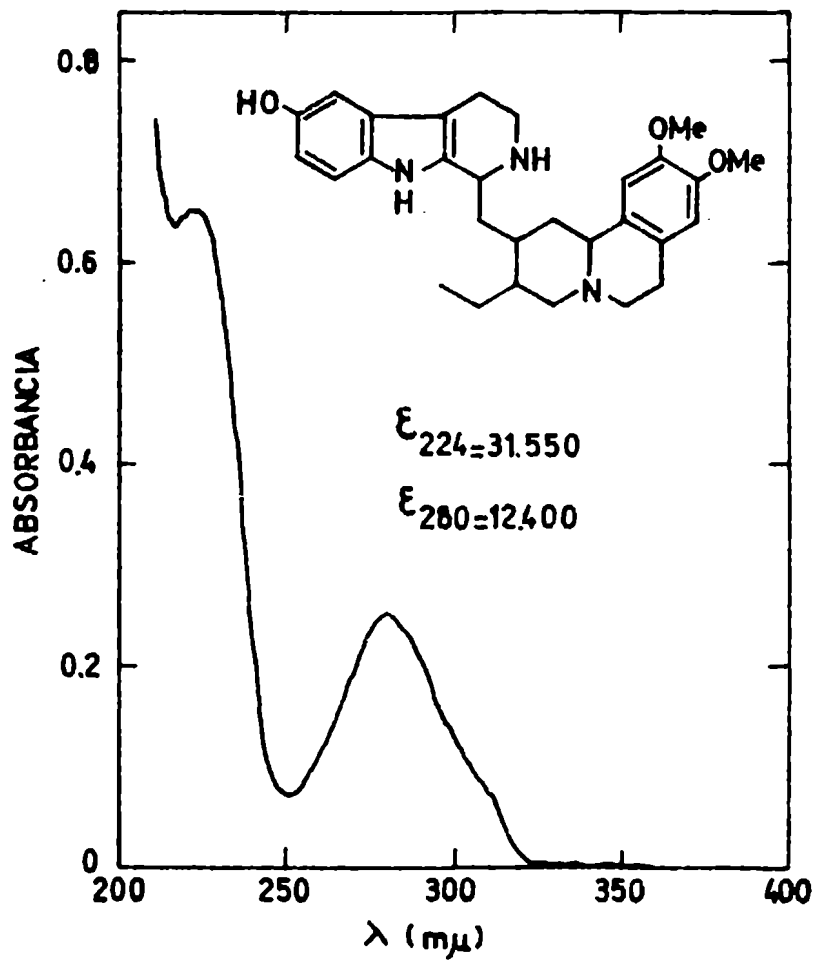


Figura 3.- Espectro U.V. de tubulosina (etanol).

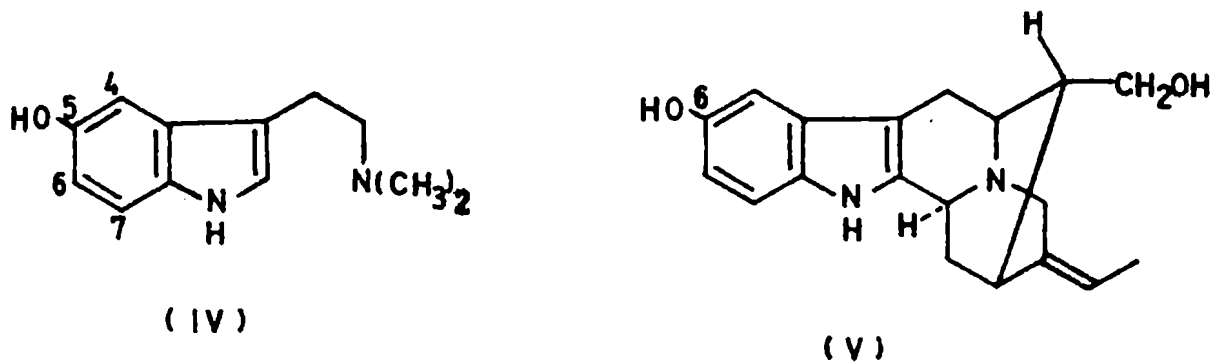


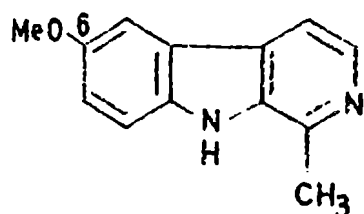
TABLA 1

solvente	TUBULOSINA		EUPOTENINA		SARPAGINA	
	λ_{\max}	(log ϵ)	λ_{\max}	(log ϵ)	λ_{\max}	(log ϵ)
Etanol	223	4,6	225	4,35	230	4,30
	279	4,16	280	3,83	278	3,92
	310(inf.)	3,67	303(inf.)	3,71		
HONa 0,1N	215	4,72	218	4,37	276	3,68
	279	4,09	276	3,74	322	3,59
	320	3,63	323	3,65		

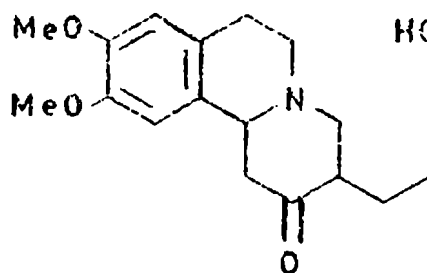
El espectro de la tubulosina (I) es evidentemente muy similar a los compuestos 5-hidroxi-indólicos (tabla 1), indicados anteriormente y distinto de los que poseen el hidroxilo en otra posición. La diferencia de su espectro con la 4-hidroxi- ω -N,N-dimetil-triptamina (psilocina), 6-hidroxi- ω -N,N-dimetil-triptamina y 7-hidroxi- ω -N,N-dimetil-triptamina, indicaba como más segura la asignación de su grupo fenólico en el carbono 6 de la β -carbolina (5 de las triptaminas).

En el año 1965, Monteiro y col. aportaron datos que apoyaban la posición en carbono 6 del hidroxilo fenólico. Por deshidrogenación de la tubulosina (I) con ácido maleico y negro de paladio, aromatizaron la porción carbolínica de la base y encontraron que su espectro era muy similar al de la 6-metoxi-1-metil- β -carbolina (VI), diferenciándose de los otros isómeros de posición (Doig, Loudon y McCloskey, 1952).

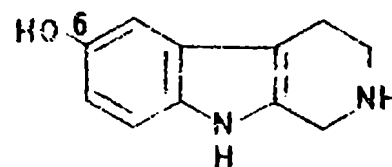
En 1966, Openshaw y Whittaker arribaron a la misma conclusión, pues al restar la absorción del cromóforo veratrol el espectro de la tubulosina (I), la absorción debida a la porción β -carbólica favorecía la posición 6 del hidroxilo. En apoyo a esta consideración, encontraron que la absorción de una mezcla equimolecular de 3-etil-1,2,3,4,6,7-hexahidro-9,10-dimetoxi-2-oxo-11bH-benzo-(a)-quinolizina (VII) con 1,2,3,4-tetrahidro- β -carbolina (VIII) era muy similar al de la tubulosina (I) misma.



(VI)



(VII)



(VIII)

La síntesis total realizada por dichos autores confirmó la hipótesis de la ubicación del hidroxilo en el carbono 6.

d) Espectro de masa.

La aclaración del esqueleto de la tubulosina (I), fué principalmente el resultado del análisis de su espectro de masa y de los espectros de algunos de sus derivados, así como de la comparación de los mismos con los obtenidos con la deoxitubulosina (XVI), cuyo racémico fuera preparado sintéticamente por Batters-

Nota: Los espectros de masa y las fórmulas de los distintos compuestos e iones se indican en la parte de "Interpretación del espectro de masa" (pág. 35).

by y col. (1964). También se utilizaron en su interpretación los espectros de masa de algunas bases del Ipecac.

Los estudios hechos en el campo de la espectroscopía de masa por Spiteller y Spiteller-Friedmann (1963) sobre la emetina (IX;R=CH₃) y Rudzikiewicz, Pakrashi y Vorbrüggen (1964) sobre la psicotrina (X;R=H), O-metil-psicotrina (X;R=CH₃), emetsmina (X;R=CH₃, anillo D aromatizado) y cefalina (IX;R=H), cuyas estructuras eran bien conocidas, dieron una valiosa información sobre los principales procesos de fragmentación de los alcaloides con la característica estructural dimetoxibenzoquinolizínica. Más aún, ello indicó en qué medida, los diferentes sustituyentes y el grado de no saturación, afectaban el modo de fragmentación característico de estos alcaloides.

En el espectro de masa de la emetina (IX;R=CH₃) y cefalina (IX;R=H), los picos de m/e 288 (a), 286 (a'), 274 (c), 272 (c'), 246 (e) y 244 (e') son característicos de la fragmentación de la porción ABC de sus moléculas. Tales picos también se hallan presentes en el espectro de masa de la tubulosina (XI) (figura 4), O-metil-tubulosina (XII) (figura 5), O,N-diacetil-tubulosina (XV) (figura 6) y deoxitubulosina (XVI) (figura 7), indicando la presencia de un anillo benzoquinolizínico.

Los iones derivados de la porción isoquinolínica de la emetina (IX;R=CH₃) provenientes de los anillos D y E de su molécula, son aquellos de m/e 206 (d), 205 (d'), 192 (b), 191 (b') y 190 (b''), aunque también estos tres últimos, como luego se verá, provienen de la porción benzoquinolizínica y por lo tanto aparecen en la tubulosina, aunque con intensidad menor.

Hasta aquí pareció completamente razonable asignar a la tubulosina (XI) la misma estructura ABC de la emetina (IX;R=CH₃),

de tal forma, que en el resto de la molécula debían hallarse dos grupos NH y uno fenólico.

Otros picos significativos en el espectro de la tubulosina eran aquellos de m/e 201 (k) y 187 (j).

El hecho que estos últimos iones posean número de masa impar, indica que contienen dos átomos de nitrógeno.

Debido a que tanto las reacciones de coloración de la tubulosina (XI) como su espectro U.V. indicaban la presencia en la misma de un núcleo indólico, se consideró que los picos observados en su espectro de masa, que la diferenciaban de las bases del Ipecac, se originaban en una estructura β -carbolínica que contendría por lo tanto los dos átomos de nitrógeno restantes.

Se puede llegar a la conclusión que existe un núcleo β -carbolínico en la tubulosina por otro camino. De acuerdo a la fórmula elemental $C_x H_y N_z O_n$ se puede calcular el número de anillos y dobles ligaduras según la ecuación:

$$\text{N}^\circ \text{ de anillos} + \text{dobles ligaduras} = x - \frac{1}{2} y + \frac{1}{2} z + 1$$

correspondiéndole a la tubulosina (XI), cuya fórmula es

$C_{29}H_{37}N_3O_3$, un total de trece.

Como la porción benzoquinolizínica caracterizada con seguridad, tiene un total de anillos y dobles ligaduras de seis, la otra porción de la molécula debe contener los siete restantes.

Según el espectro N.M.R. debía haber otro núcleo aromático, lo que da un valor de cuatro (tres dobles ligaduras y un anillo). Se pueden explicar las tres restantes por dos caminos: con un ciclo condensado con dos dobles ligaduras o bien dos ciclos y una doble ligadura. Como esta porción de la molécula debía contener dos nitrógenos, fué más lógico pensar en la segunda solución y por razones biogénicas adoptar la estructura de

una tetrahidro- β -carbolina.

La postulación de un anillo tetrahidro- β -carbolínico halló un fuerte aporte por la presencia de picos de m/e 146 (p) y 160 (n), ambos característicos del sistema indólico. Esta asignación estructural fué confirmada por tres caminos, que en esencia emplean la técnica del desplazamiento en la espectroscopía de masa (Biemann, 1962).

El agregado de un grupo adicional a una molécula, cambiará el espectro solamente desplazando la masa del ión particular que contiene dicho grupo, pero no modifica en gran medida la abundancia relativa de estos iones. Esto es cierto si el grupo modificado no afecta la estabilidad de una unión particular y por lo tanto no cambia su esquema de ruptura.

Más aún, Biemann había observado que en los alcaloides indólicos o dihidroindólicos, la sustitución en la porción aromática de este núcleo no modifica la ruptura de los iones principales ya que el sustituyente aromático (hidroxilo o metoxilo) no gobierna la reacción.

Al analizar el espectro de masa de la deoxitubulosina (XVI) (figura 7), se observó la existencia de todos los picos correspondientes a la porción benzoquinolizínica (Battersby y col., 1965), pero aquellos de m/e 201 (k) y 187 (j) de la tubulosina (XI) se hallaban desplazados en 16 unidades menos (m/e 185 y 171), diferencia que se debía evidentemente a la presencia en esta última base de un grupo hidroxilo.

Al comparar los espectros de la tubulosina (XI) (figura 4) y O-metil-tubulosina (XII) (figura 5), se encontró que los picos de la porción tetrahidro- β -carbolínica se hallaban desplazados en 14 unidades, apareciendo en m/e 201 y 215 en lugar de m/e 187 y

201 que tienen en la tubulosina (XI). Según este espectro de masa el producto de metilación no era sólo O-metil-tubulosina (XII) (M^+ m/e 489;16%), sino que también contenía algo del O,N-dimetil derivado (XIII) (M^+ m/e 503;9%), dando lugar a que el pico con m/e 215 tenga mayor intensidad y un pico menor en m/e 229.

Estos desplazamientos no sólo confirman la presencia de un núcleo tetrahidro- β -carbolínico, sino también la de un hidroxilo fenólico y un grupo NH en esta porción de la molécula. La última conclusión (ubicación del grupo NH) se halla corroborado por el espectro de la O,N-diacetil-tubulosina (XV) (figura 6).

Como es común en los acetatos fenólicos el grupo O-acetilo se pierde durante la fragmentación, produciéndose ahora las especies \downarrow con m/e 229 y 187.

Interpretación del espectro de masa

El espectro de masa de la tubulosina (XI) (figura 4), muestra el pico correspondiente al ión molecular (m/e 475) con una intensidad relativamente alta (55%) resultado de la presencia de varios ciclos aromáticos y de heteroátomos, lo cual le confiere estabilidad.

Composición de la tubulosina	Masa	Valor experimental	Valor calculado
$C_{29}H_{37}N_3O_3$	M+1	34	32,98
	M+2	8	5,68

Tabla 2.- Intensidad de los picos isotópicos de masa M+1 y M+2 (en por ciento de intensidad de M) (según Biemann, 1962)

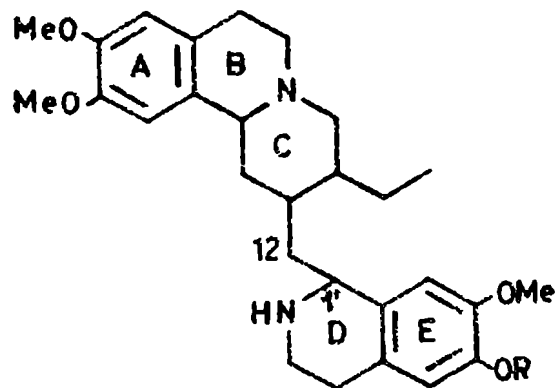
Los picos de m/e 476 ($M+1$) y 477 ($M+2$), se deben a la contribución isotópica y no a la fijación de otros protones, de acuerdo a la concordancia entre los valores experimentales y los calculados según la fórmula dada por Biemann (1962), para la intensidad del pico M (Tabla 2).

Anteriormente se mencionaron los trabajos de Spiteller y Spiteller-Friedmann (1963) y de Budzikiewicz, Pakrashi y Vorbrüggen (1964) sobre espectroscopía de masa de los alcaloides del Ipecac, que permitieron establecer que la molécula de tubulosina (XI) contenía una porción idéntica a la benzoquinolizínica de los alcaloides mencionados. Los picos que se encuentran también en los espectros de estos últimos y que derivan de esa porción estructural son los siguientes: m/e 288 (a), 286 (a'), 274 (c, f'''), 273 (f, f'), 272 (c', f''), 258 (h), 246 (e), 244 (e', g), 206 (d), 205 (d'), 192 (b), 191 (b') y 190 (b'').

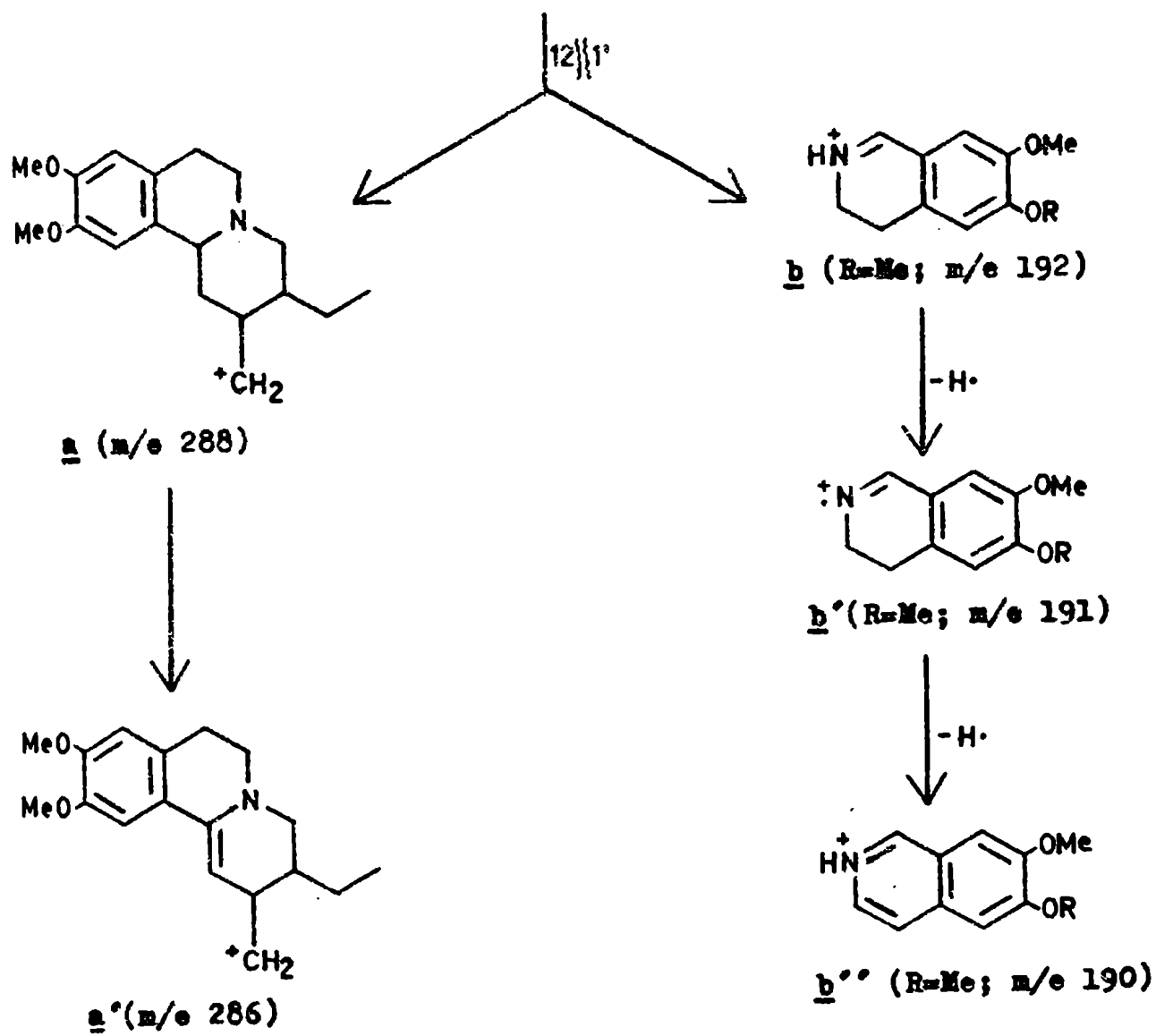
En cambio el espectro de masa de la tubulosina (XI) (figura 4), poseía los picos: m/e 201 (k), 200 (m), 199 (k'), 198 (m'), 187 (j), 185 (j'), 172 (o), 160 (n) y 146 (p), que no aparecían en los alcaloides del Ipecac que hemos mencionado. El significado de estos últimos iones y su origen serán analizados posteriormente.

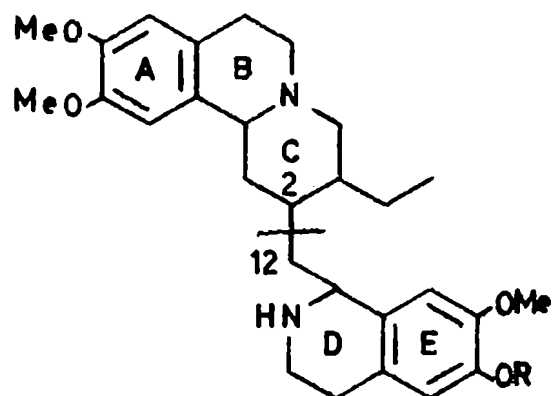
La formación de los iones que tienen origen en el núcleo benzoquinolizínico fué explicada por los autores mencionados según los esquemas 1, 2, 3, 4, y 5 que se indican más adelante.

En la emetina (IX; $R=CH_3$) y cefalina (IX; $R=H$), debido a la ausencia de la doble ligadura en la posición 1'-2'', no hay activación alílica de la unión C_2-C_{12} y por lo tanto en su espectro de masa los picos de m/e 274, 273, 272, 258 y 244 son menos intensos que en la psicotrina (X; $R=H$) y emetamina (X; $R=CH_3$, anillo D aromatizado) que tienen preformada esa doble ligadura.

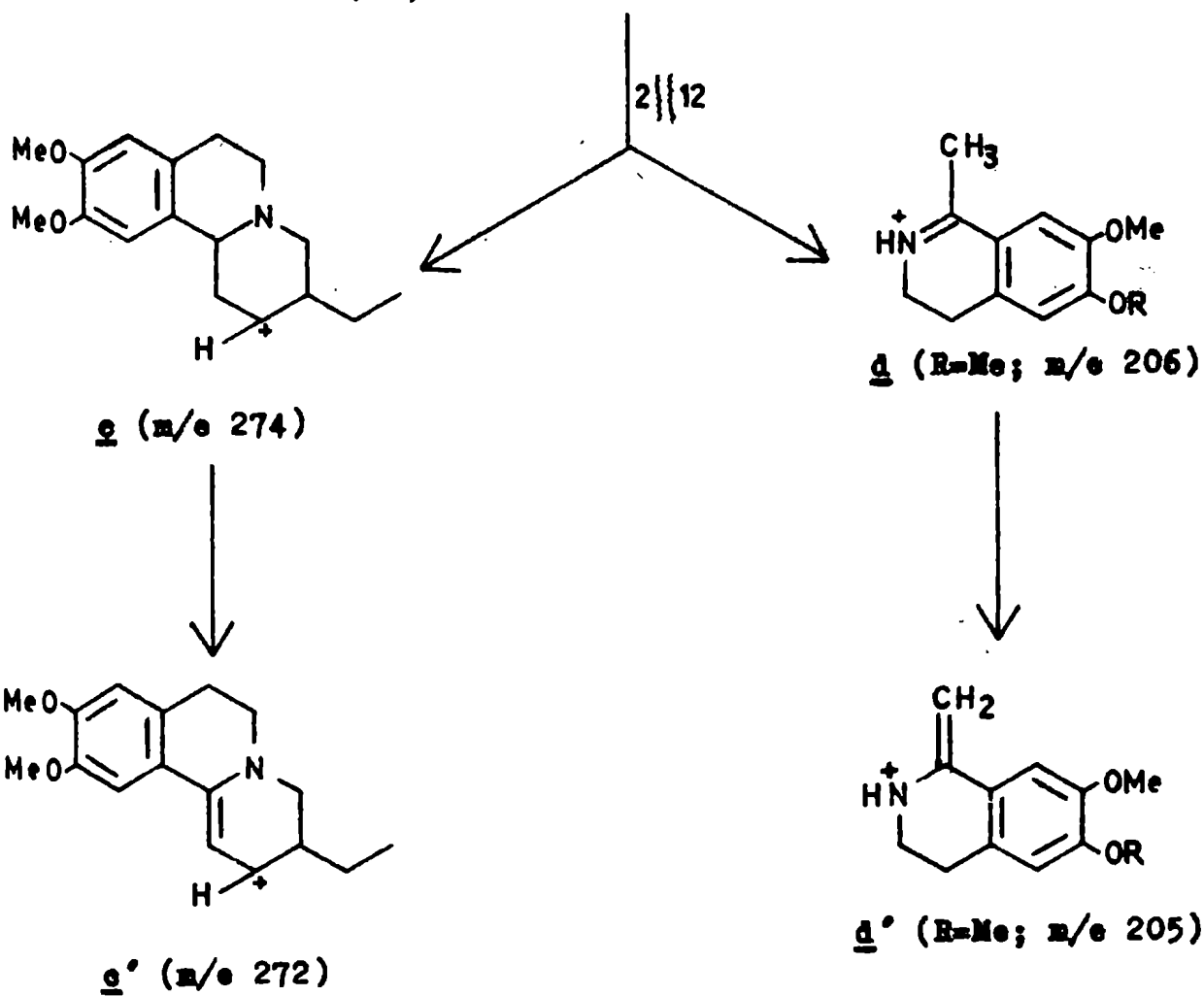


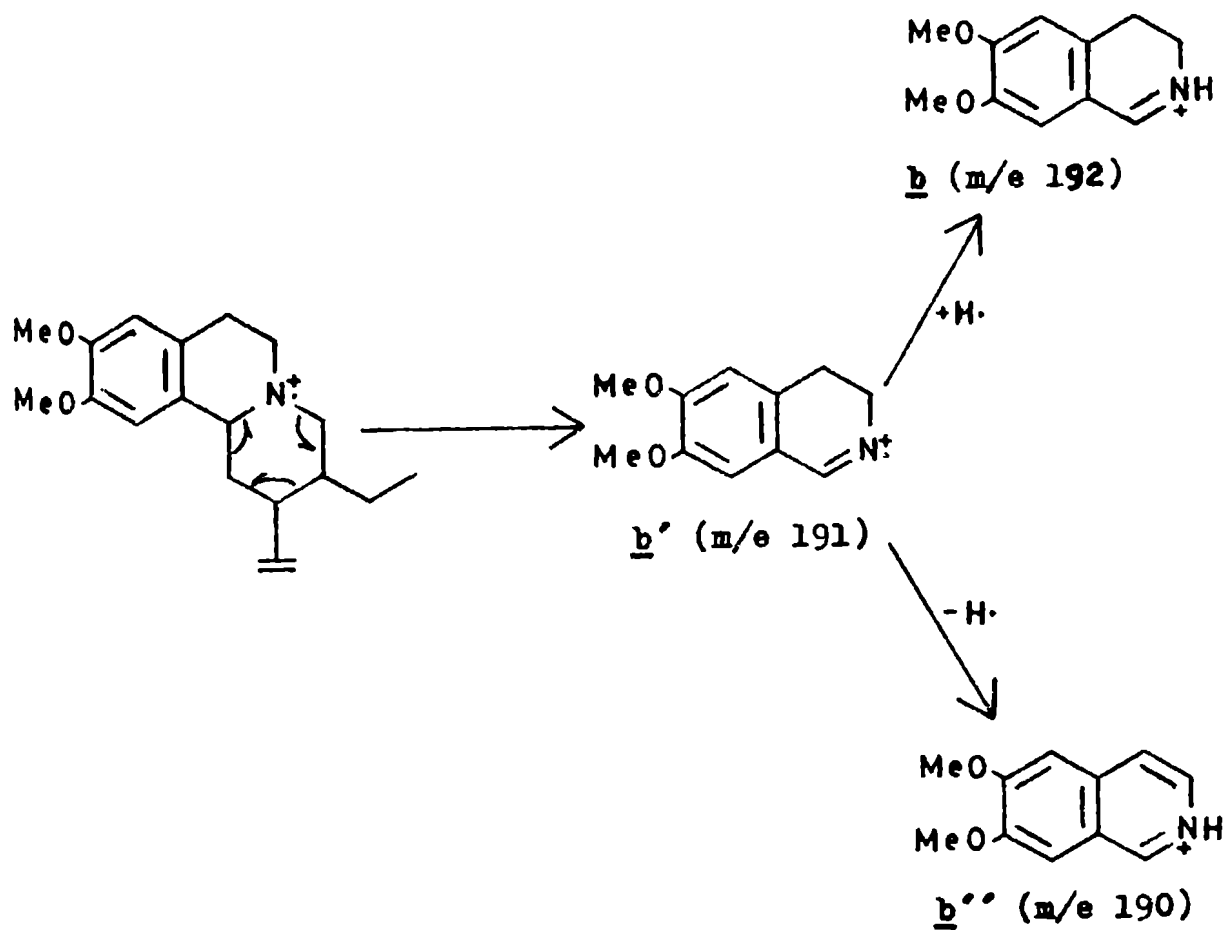
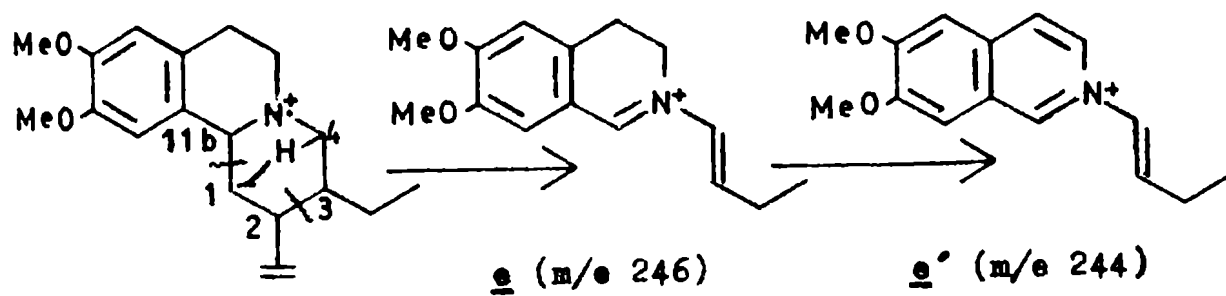
(IX; R=Me) Emetina



ESQUEMA 2

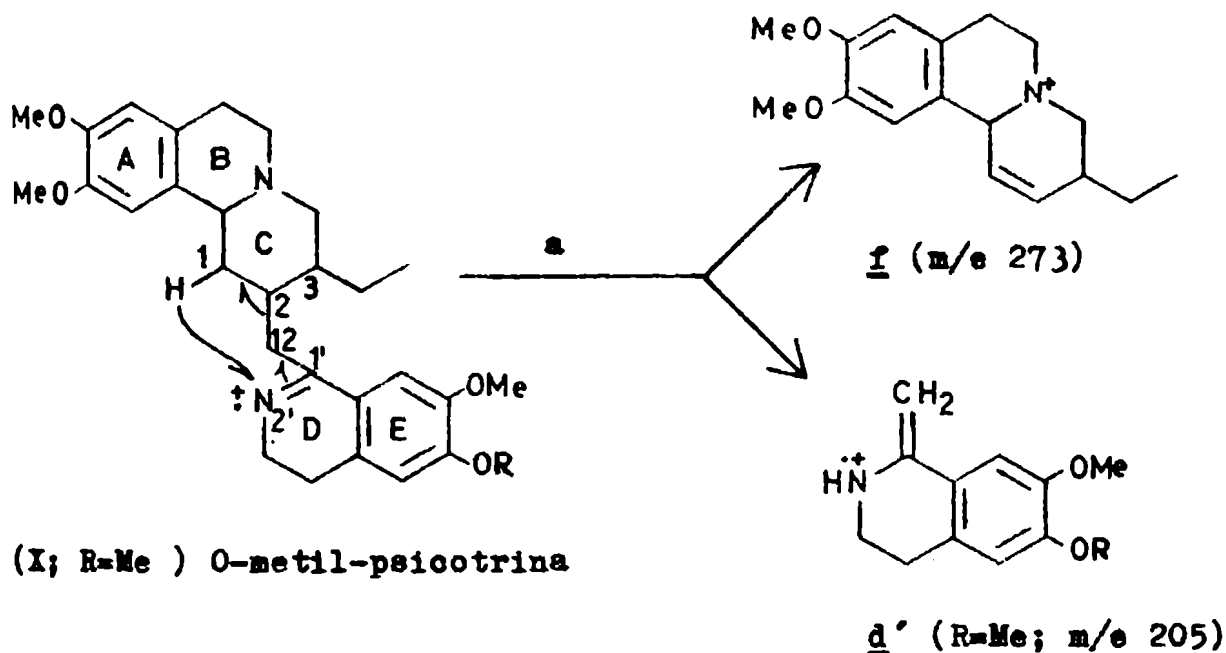
(IX; R=Me) Emetina



ESQUEMA 3ESQUEMA 4

El origen de los picos mencionados fueron explicados por Budzikiewicz y col. (1964), en el caso de la O-metil-psicotrina (X; R=CH₃), por un reordenamiento de McLafferty con participación del hidrógeno del carbono 1 (camino a; esquema 5).

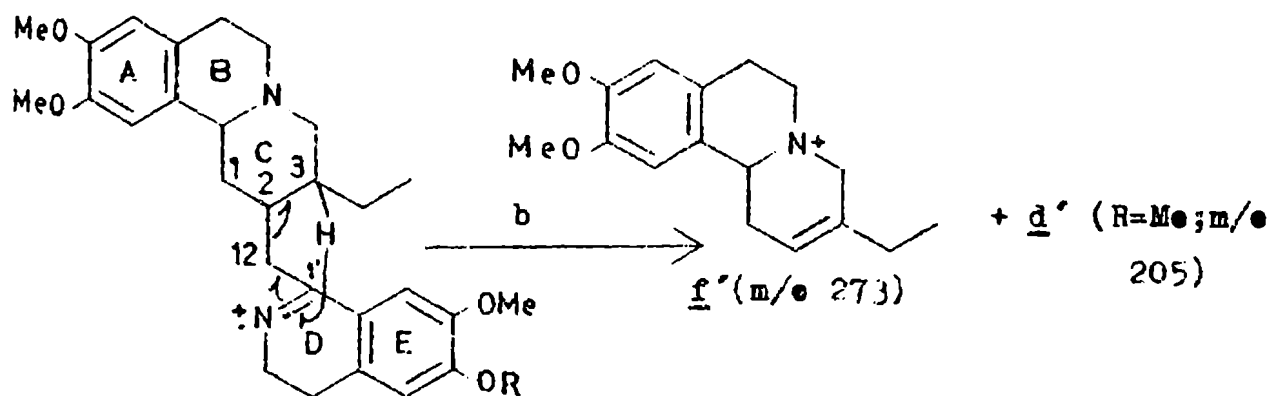
Esquema 5: Reordenamiento de McLafferty (camino a).



Nosotros consideramos que puede existir un reordenamiento similar con la participación esta vez del hidrógeno del carbono 3 (camino b; esquema 6), formándose un ión de la misma masa m/e 273, pero con la doble ligadura en posición diferente.

Así como el ión g (m/e 244) fué explicado por dichos autores debido a la pérdida del etilo activado alílicamente en el ión f (m/e 273), se puede suponer que por el mismo motivo se eliminaría el metilo del ión f' (m/e 273) para dar la especie h. (m/e 258).

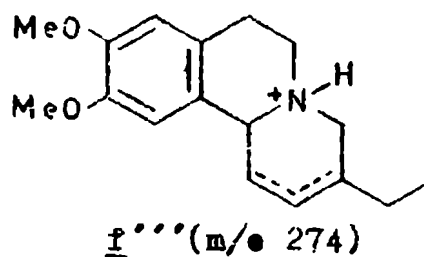
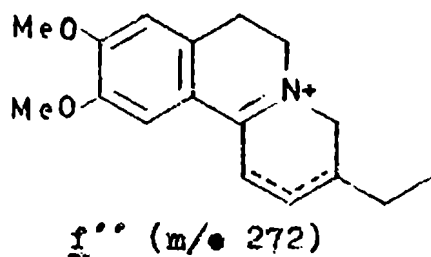
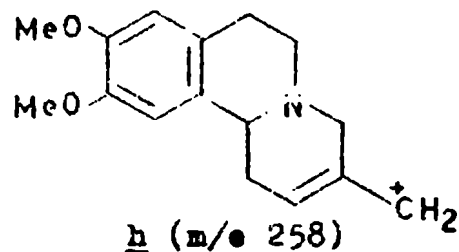
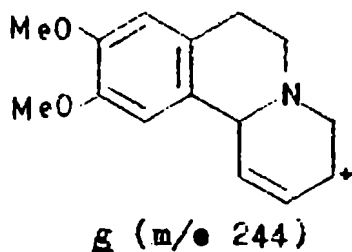
Esquema 6: Reordenamiento de McLafferty (camino b).



(X; R=Me) O-metil-psicotrina

Por otra parte cualquiera de estos iones de m/e 273 (f, f'), puede dar origen a los iones f''' (m/e 274) y f'' (m/e 272) por fijación o pérdida de un hidrógeno.

Djerassi y Budzikiewicz, en una comunicación privada, consideran que los iones de m/e 274 y 272 pueden tener respectivamente las estructuras c y c' (ver página 38).

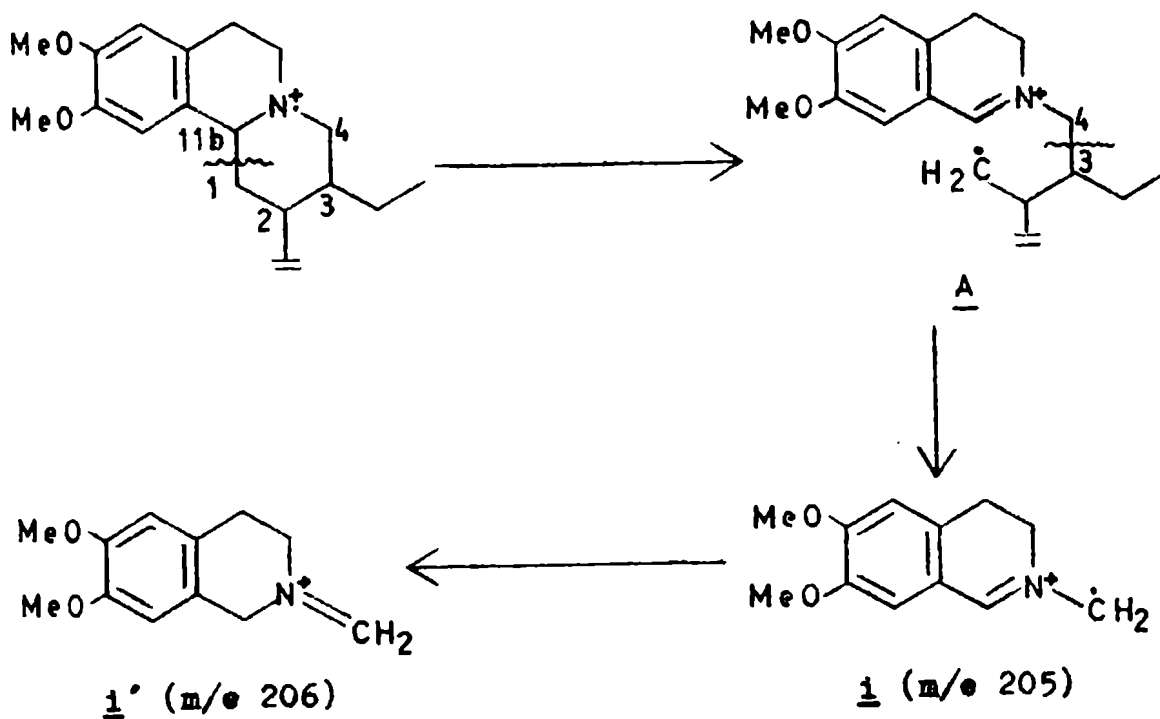


En el espectro de masa de la emetina (IX; R=CH₃) y psicotrina (X; R=H), se encuentran también picos de m/e 205 y 206 relativamente intensos, que según Budzikiewicz y col. (1964) tienen un doble origen.

Por una parte como ya se ha mencionado, los iones d y d', formarían de la porción isoquinolinica de la molécula al producirse la fisión de la unión C₂-C₁₂, mientras que la porción benzoquinolizínica daría origen a iones isóbaros con un metileno unido al átomo de nitrógeno (1, 1').

A nuestro juicio, estos últimos iones, sobre cuyo origen nada se ha discutido, podrían originarse en una ruptura de la unión C₁-C_{11b} que conduciría al ión A. En este último, la nue-

Esquema 7



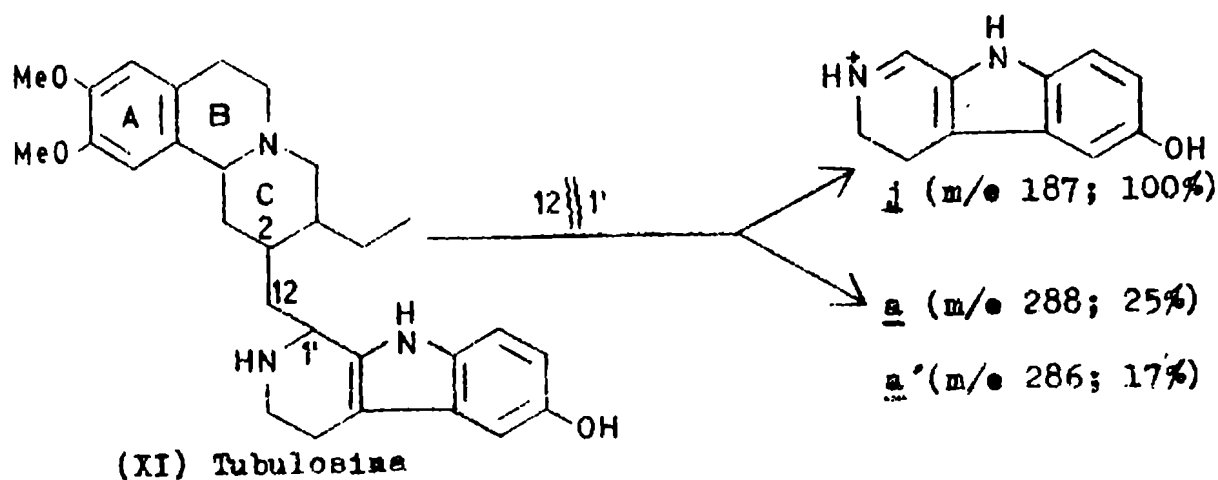
va doble ligadura labilizaría la unión C_3-C_4 cuya ruptura originaría el ión \underline{i} (m/e 205), mientras que el proceso anterior con simultánea transferencia de hidrógeno al carbono 11b daría lugar al ión \underline{i}' (m/e 206) (Esquema 7).

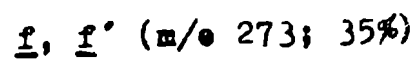
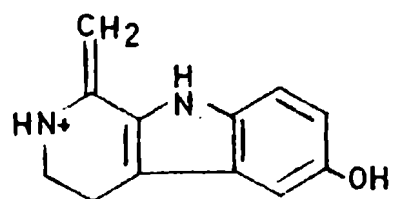
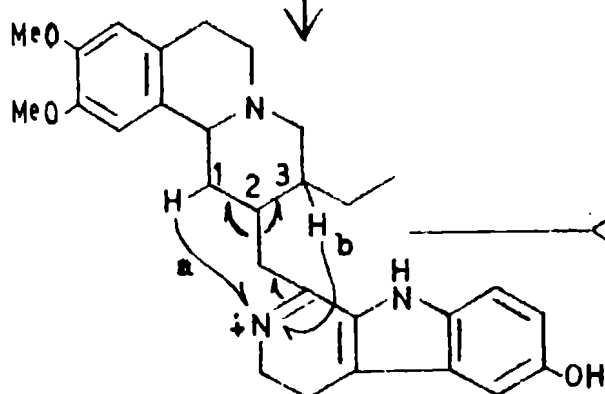
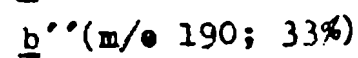
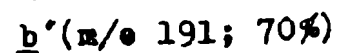
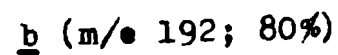
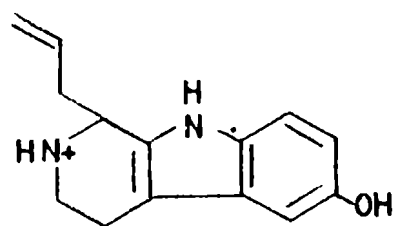
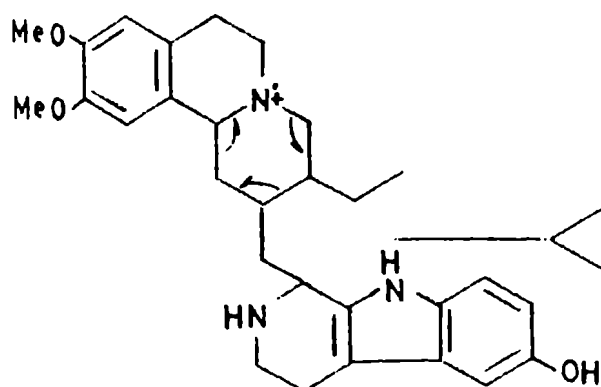
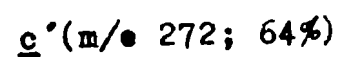
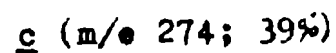
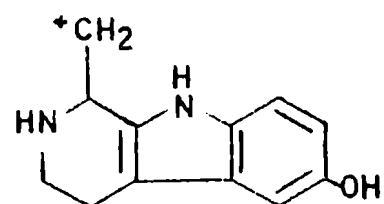
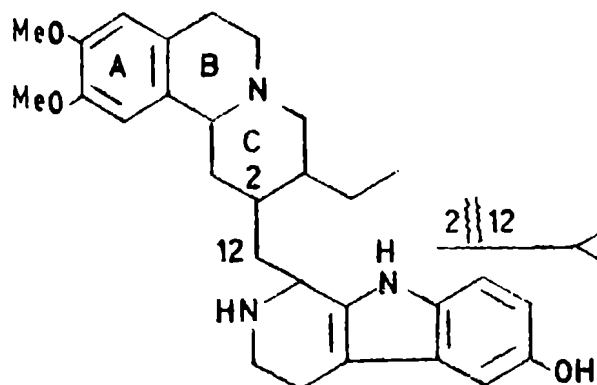
Una confirmación que los iones: m/e 192 (b), 191 (b'), 190 (b''), 205 (\underline{i}) y 206 (\underline{i}'), tienen origen en el resto benzoquinolizínico (ver esquemas 3 y 7), estaría confirmado por encontrarse presente en el espectro de masa de la tubulosina (XI) (figura 4) y deoxitubulosina (XVI) (figura 7), cuyas estructuras no contienen la porción isoquinolínica.

Conviene señalar que como estos picos tienen solamente origen benzoquinolizínico, poseen una intensidad menor en el caso de estas últimas bases que en la encontrada para los alcaloides del Ipecac, donde tienen un doble origen, pues también provienen de la porción isoquinolínica (ver esquemas 1 y 2).

La formación de los iones que conservan la estructura β -carbolínica se explican por rupturas y reordenamientos similares a los indicados para los alcaloides del Ipecac. Los mismos sufren luego diversas evoluciones.

Los esquemas siguientes indican las primeras fragmentaciones:

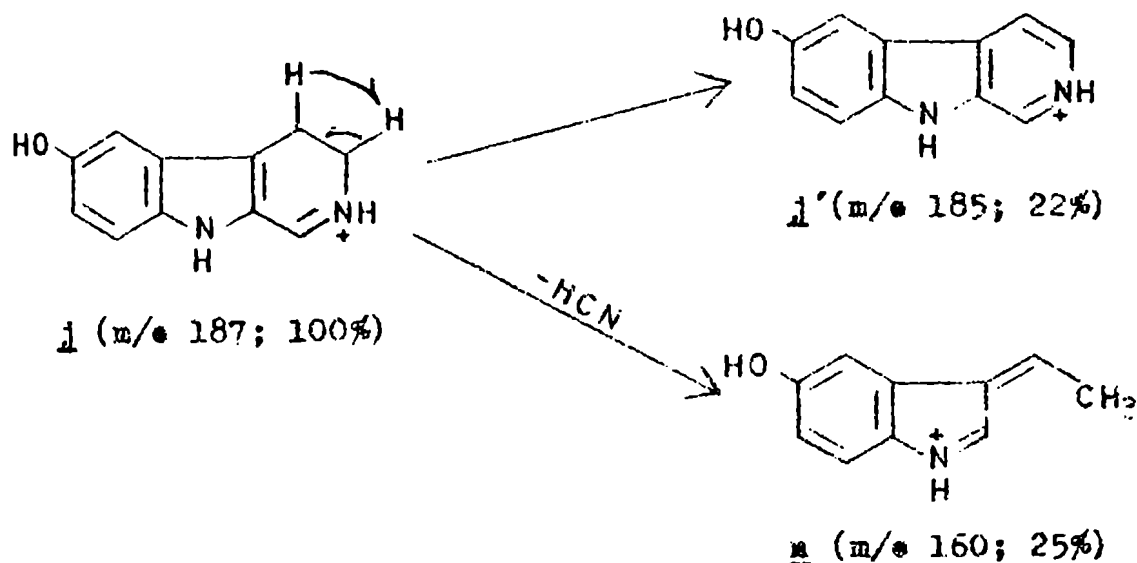




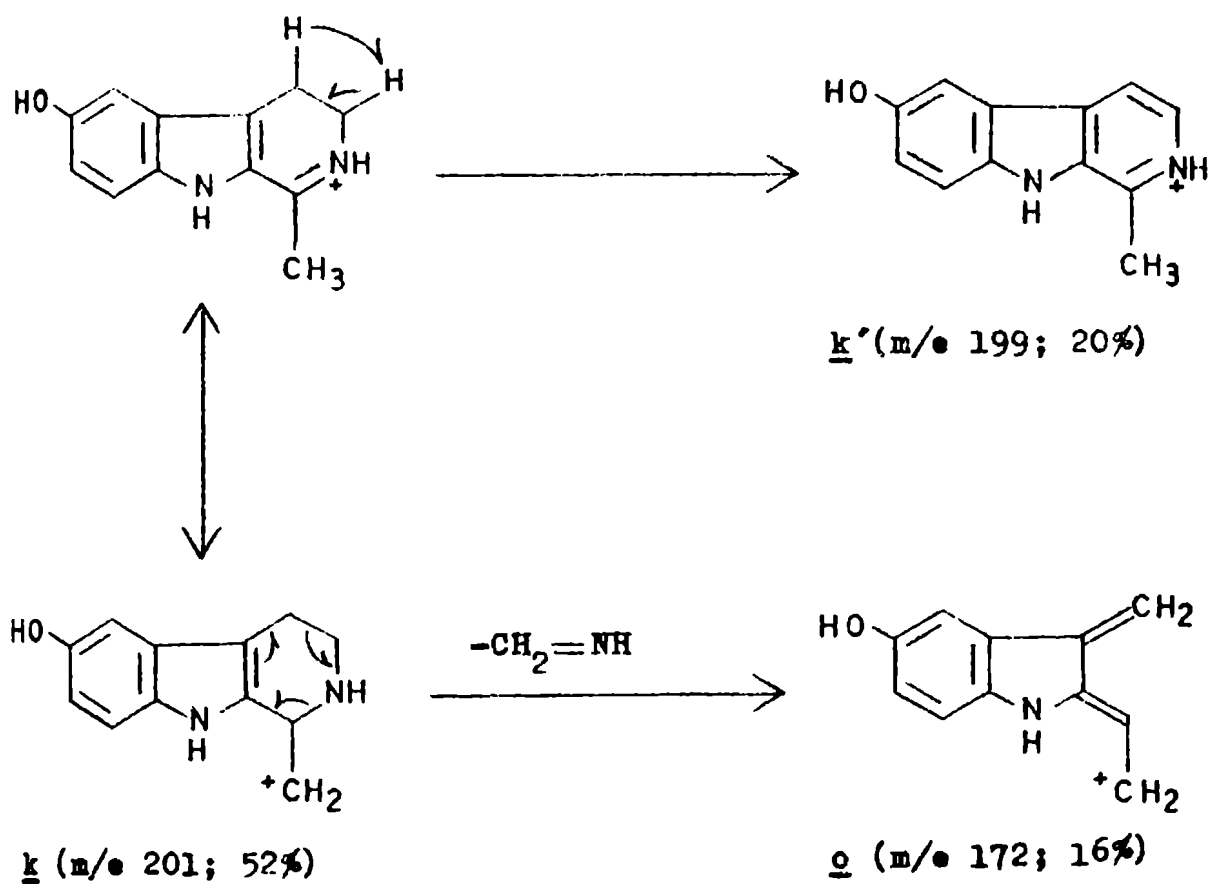
A los iones j (m/e 187) y k (m/e 201) se les atribuyó la estructura indicada, porque sumados a las especies a (m/e 288) y c (m/e 274) respectivamente, completaban la masa de la molécula (m/e 475).

El ión j (m/e 187) que es el pico base, es evidentemente de gran estabilidad por ser el que contiene mayor número de núcleos aromáticos y heteroátomos.

A nuestro juicio, la evolución del ión j conduce al ión j' (m/e 185) y por otra parte aplicando lo que se ha observado en los alcaloides isoquinolínicos, por pérdida de HCN conduce al ión n (m/e 160).

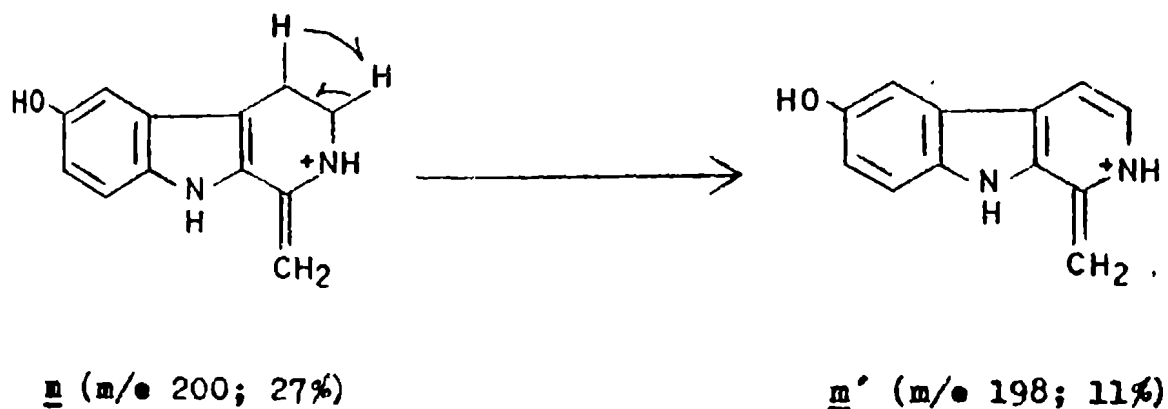


A su vez el ión k (m/e 201) puede aromatizarse conduciendo al ión k' (m/e 199) o en base a lo observado en los alcaloides β -carbolínicos perder $\text{CH}_2=\text{NH}$ por una reacción de retro Diels-Alder para dar la especie o (m/e 172) (Budzikiewicz, Baumann y Djerassi, 1965; Kiang, Chan y Taylor, 1967).

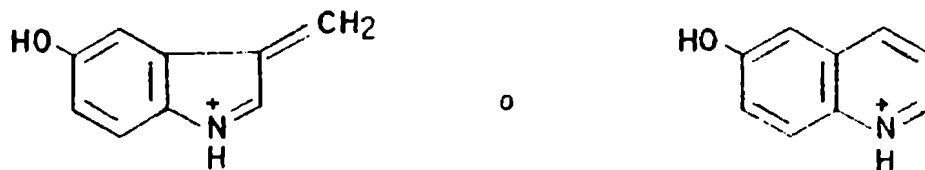


Por el mismo proceso de deshidrogenación el ión \underline{m} (m/e 200) dá la especie $\underline{m'}$ (m/e 198) aunque su intensidad está muy disminuída.

También en el espectro de masa de la tubulosina (XI) (figura 4) aparece el ión \underline{p} (m/e 146) que es característico de los



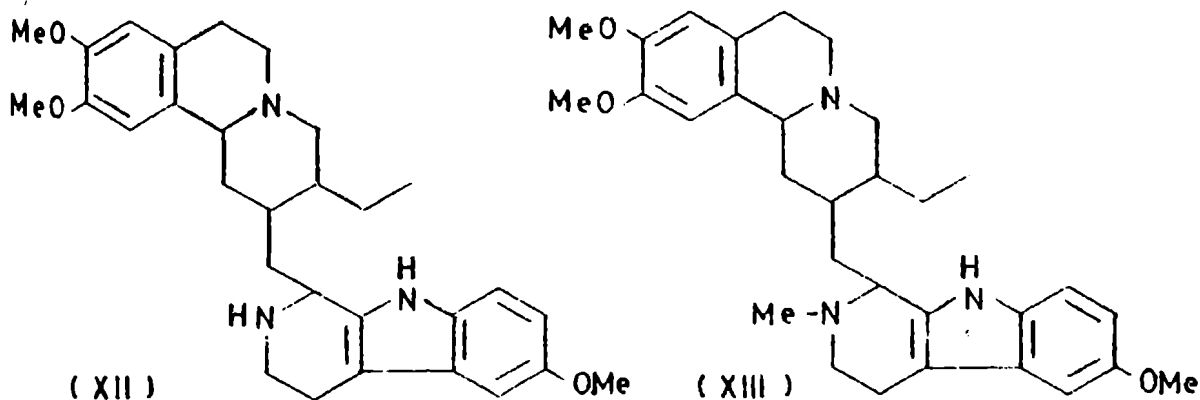
sistemas indólicos (Powers, 1968).



p (m/e 146; 19%)

Que los iones j, k, l, m y las especies que resultan de su evolución j', n, k', o, m', así como el ión p, provienen de la porción β -carbolínica de la tubulosina (XI), resultó del estudio de los espectros de masa de sus derivados.

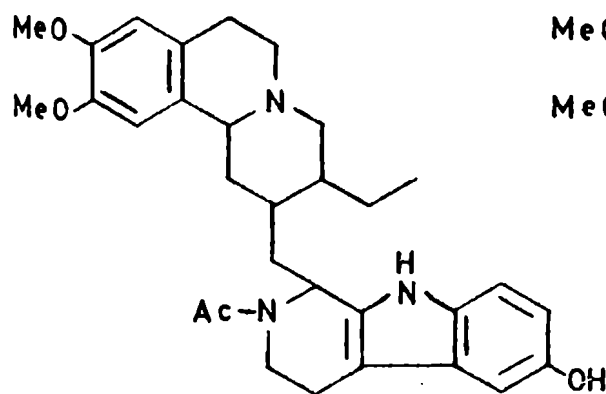
Cuando se analizó el producto del tratamiento de la tubulosina con diazometano, se encontró un ión de m/e 489 que correspondía a una O-metilación (XII), junto al ión de m/e 503 proveniente de una O,N-dimetilación (XIII) (ver figura 5).



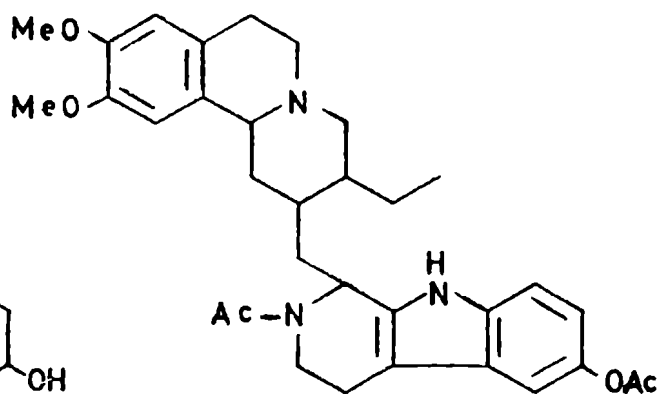
En esta mezcla de sustancias se repiten los picos derivados de la porción benzoquinolizínica (iones a a h) y en cambio aparecen desplazados en 14 y 28 unidades los picos correspondientes a la porción β -carbolínica de la molécula (iones j,

k, l, m).

Resultados similares se obtuvieron con la N-acetil-tubulosina (XIV) (M^+ m/e 517) y la O,N-diacetil-tubulosina (XV) (figura 6) (M^+ m/e 559). Se repiten en ambos productos los picos provenientes de la porción benzoquinolizínica (iones a a h) y aparecen los picos de origen β -carbolfínico (iones j, k, l, m) desplazados en 42 unidades en ambos espectros, lo cual puede interpretarse por la rápida pérdida del O-acetilo como ceteno, proceso que es común en los acetatos de fenoles y que explican la ausencia de iones de 84 unidades de masa superiores a la tubulosina (XI).



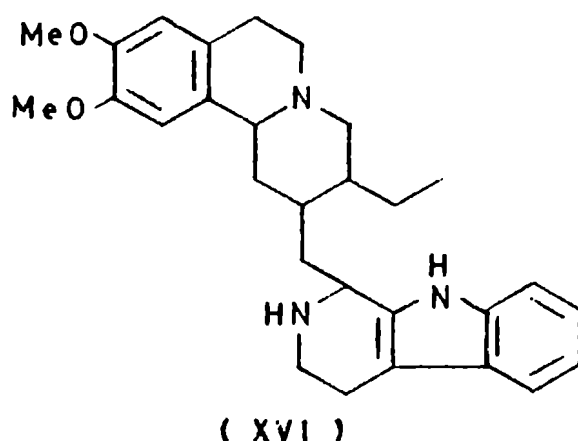
(XIV)



(XV)

La especie j aparece en m/e 229 y 271 respectivamente, pero con menor intensidad que el correspondiente en la tubulosina (figura 4) y O-metil-tubulosina (XII) (figura 5). Según Budzikiewicz y Djerassi (comunicación privada), esto se debe a la menor estabilización de la carga positiva sobre el nitrógeno N-acetilado. La especie k se halla prácticamente ausente en ambos derivados, probablemente por la misma causa.

Finalmente, una confirmación más definitiva de la adecuada interpretación del espectro de masa de la tubulosina (XI), se obtuvo analizando el correspondiente a la deoxitubulosina (XVI) (figura 7), producto sintético de estructura bien establecida.



Este espectro también presenta los picos correspondientes a la porción benzoquinolizínica (iones a a h) y aquellos provenientes del núcleo β -carbolínico (iones j, k, l, m) aparecen con 16 unidades de masa inferiores. (átomo de oxígeno ausente) respecto a la tubulosina .

Como es conocido los picos de un espectro de masa pueden originarse en iones de la misma relación m/e , pero que poseen diferentes estructuras (isóbaros).

En las bases del Ipecac, todos los autores están de acuerdo que el pico de m/e 244, tiene un doble origen (iones e'y g, ambos provenientes de la porción benzoquinolizínica).

A nuestro juicio, el ión de m/e 244 del espectro de masa de la tubulosina, tiene un origen triple, pues debe sumarse a los dos antes mencionados (iones e'y g) el aporte del ión l, de origen β -carbolínico .

TUBULOSINA

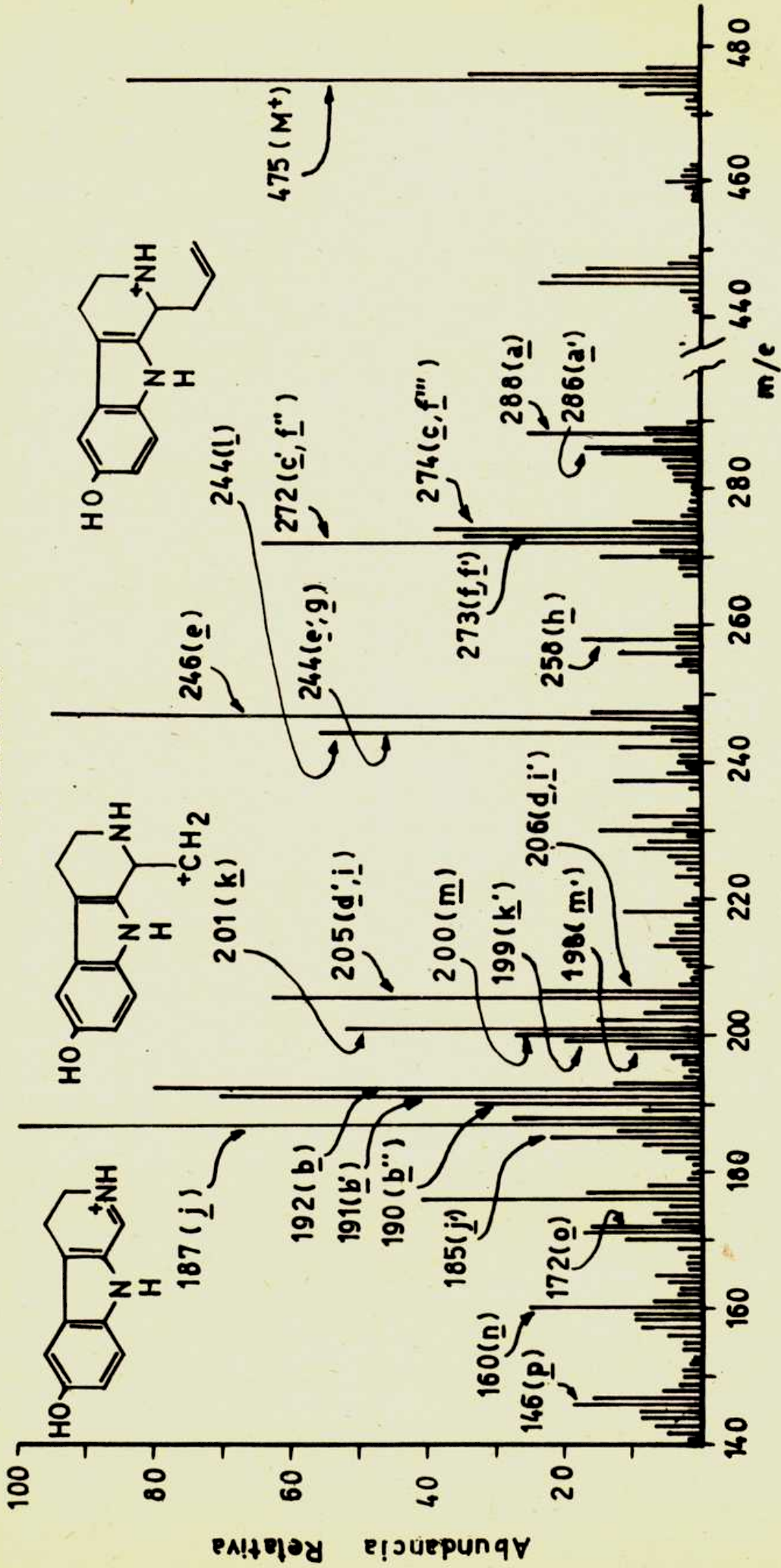


Figura 4.- Espectro de masa de la tubulosina (XI).

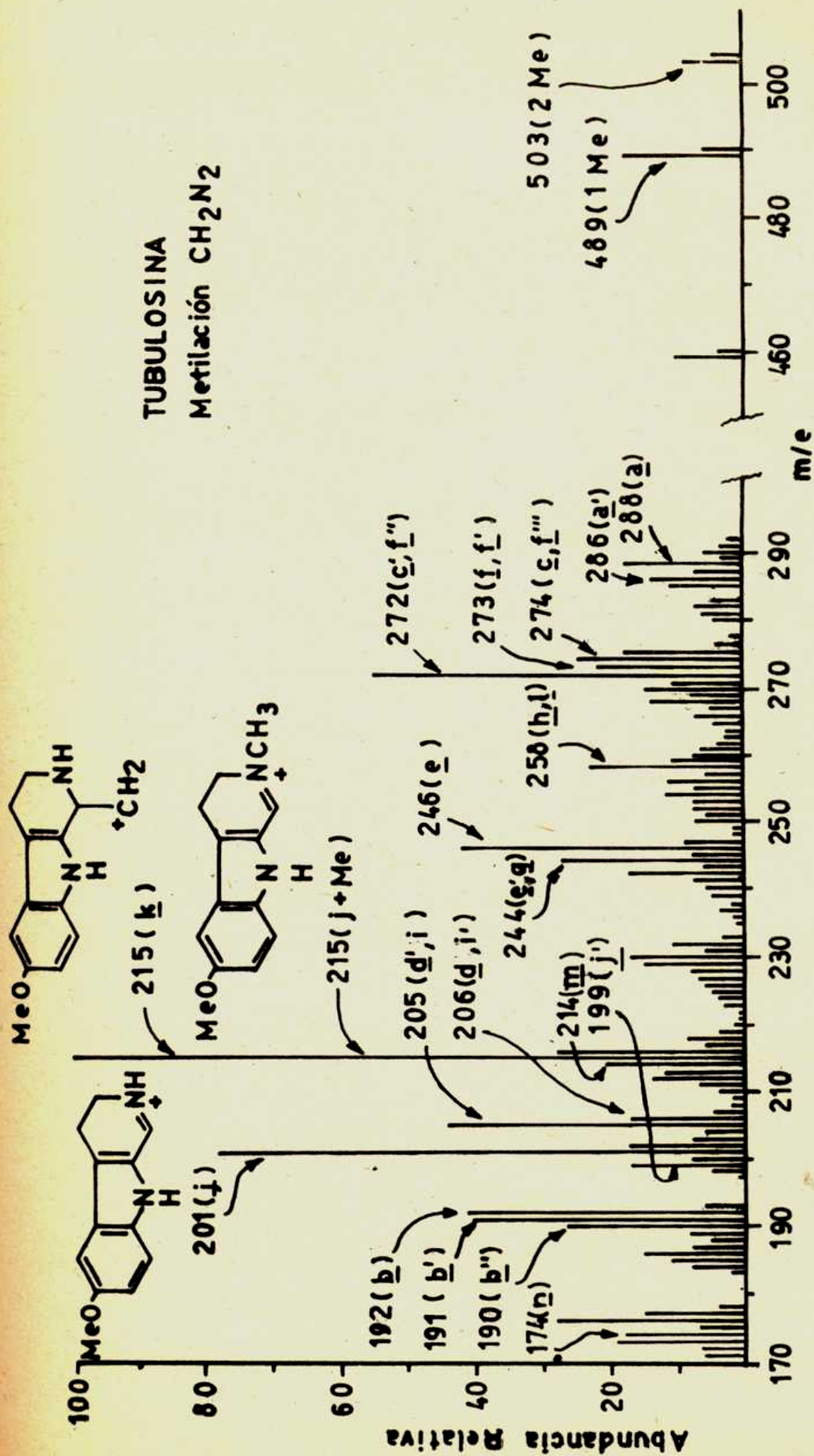


Figura 5.- Espectro de masa de la O-metil-tubulosina (XII).

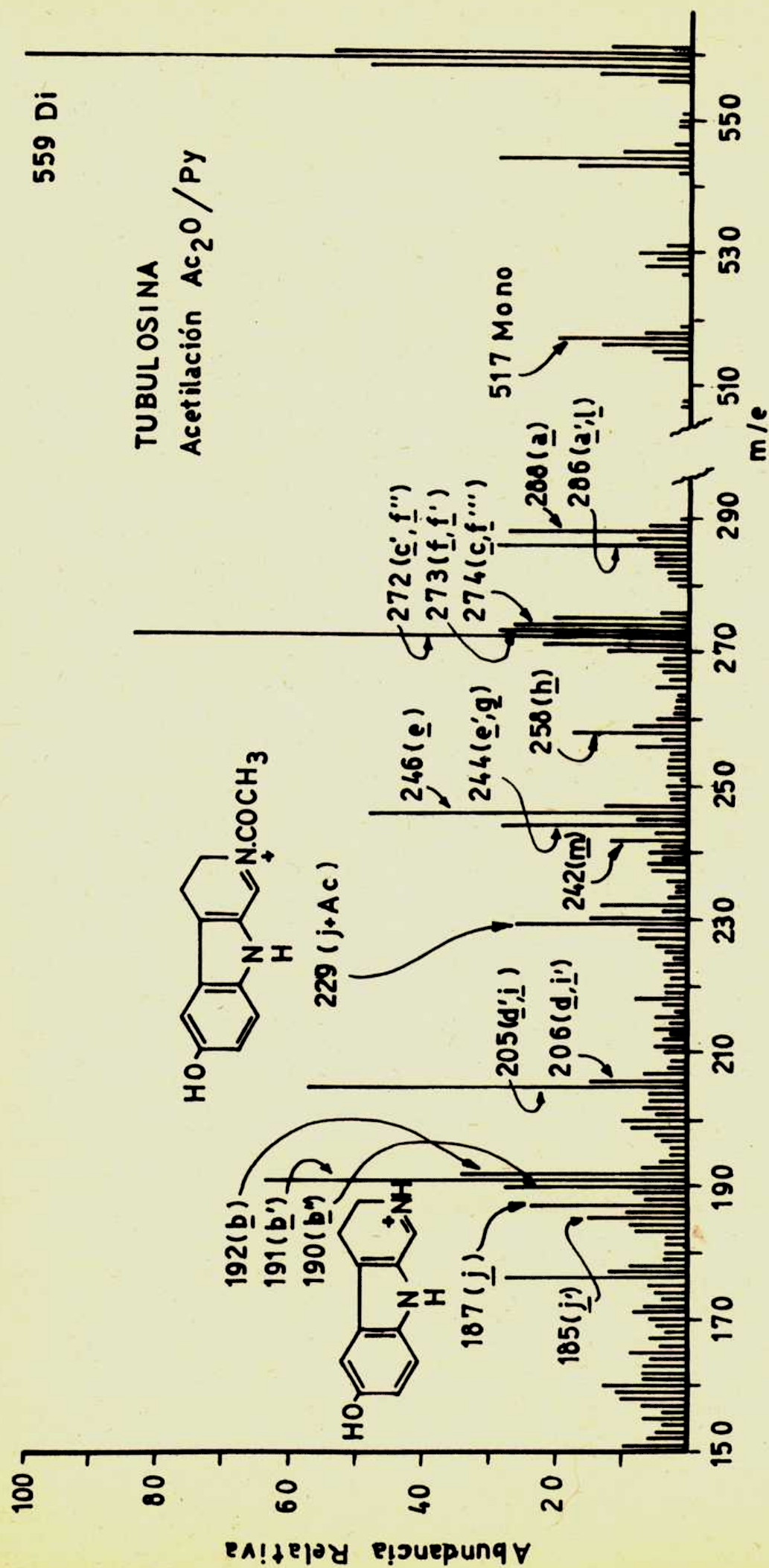


Figura 6.- Espectro de masa de la O,N-diacetil-tubulosina (XV).

DEOXITUBULOSINA

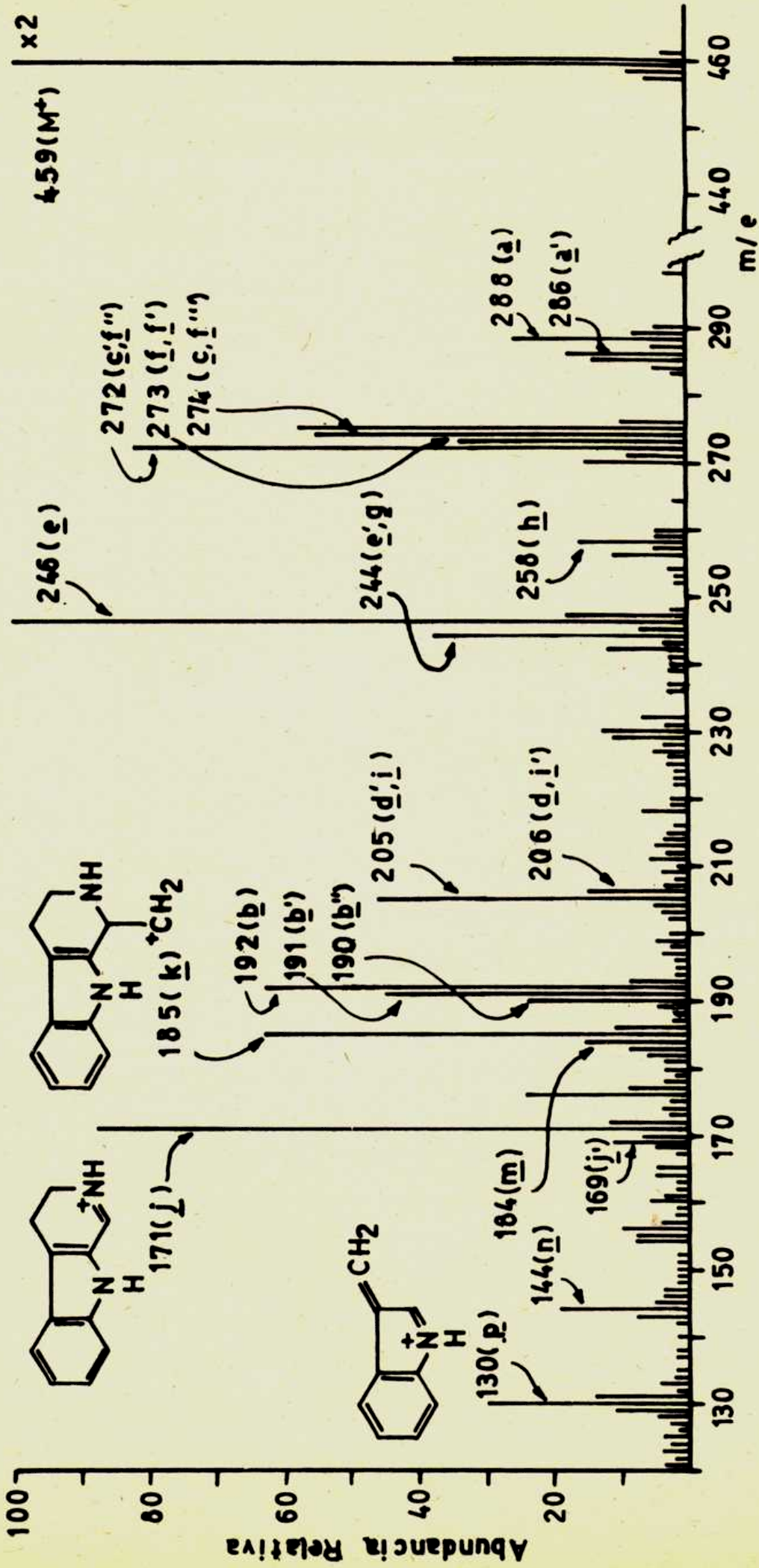
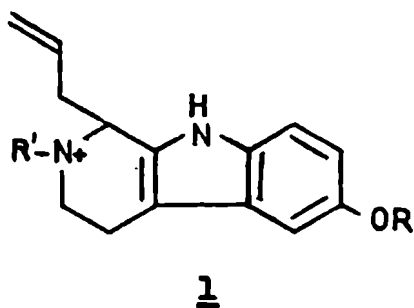


Figura 7.- Espectro de masa de la deoxitubulosina (XVI).

Pensamos que así puede explicarse porque en la tubulosina (XI) (figura 4) el pico de m/e 244 es un 57% del pico base, mientras que en la O-metil-tubulosina (XII) y N-acetil-tubulosina (XIV), donde no puede formarse, es sustituido por los iones de m/e 258 y 286 respectivamente y el pico correspondiente, 1 (m/e 244) disminuye al 28%.

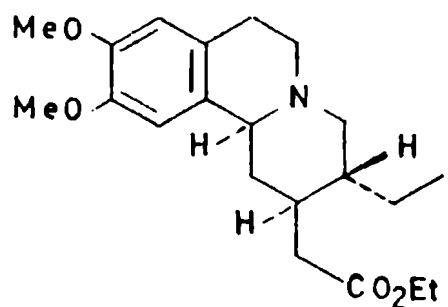


$R=R'=H$	m/e 244
$R=Me ; R'=H$	m/e 258
$R=H ; R'=COCH_3$	m/e 286

3.- Estereoquímica.

La quiralidad de los distintos centros asimétricos de la tubulosina (XI'; $R=H$), fué establecida por transformación en un derivado de la deoxitubulosina (XVI'; $R=H$) (Monteiro y col., 1965), cuya estereoquímica había sido determinada en el mismo año por Battersby y col.. Aunque podría sospecharse que la estereoquímica de la tubulosina y deoxitubulosina correspondería a la presente en la emetina (IX'; $R=H$), la demostración fué realizada entonces por los trabajos de los dos grupos de investigación mencionados.

Por una parte, en la Universidad de Liverpool, Battersby y col. (1965) sintetizaron la deoxitubulosina empleando el sintón benzoquinolizínico (XVII), de configuración absoluta totalmente conocida por los trabajos previos en la síntesis de los alcaloides del Ipecac.



(XVII)

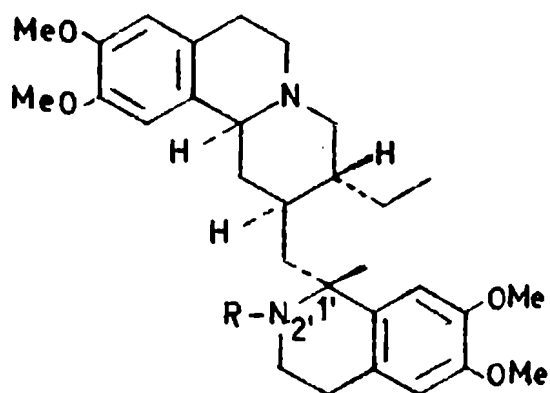
Consideraron que la quiralidad del carbono 1' correspondía a la encontrada en la emetina (IX'; R=H), porque las diferencias de rotación molecular entre éste último alcaloide y la N-acetil-emetina (IX'; R=Ac) ($\Delta [M] -74^\circ$) es del mismo signo y orden que la correspondiente a la diferencia entre la deoxitubulosina (XVI'; R=H) y su acetil derivado (XVI'; R=Ac) ($\Delta [M] -17^\circ$) y en cambio la isoemetina (IX'; R=H, epímero en C-1') muestra por acetilación un $\Delta [M] +460^\circ$.

La vinculación de la tubulosina (XI'; R=H) con la deoxitubulosina (XVI'; R=H), fue realizada por Monteiro y col. (1965) al encontrar que el N-tosilato de deoxitubulosina (XVI'; R=p-CH₃-C₆H₄SO₂) (p.f. 145-150°; M⁺ m/e 613, C₃₆H₄₃N₃O₄S), obtenido a partir de la O,N-ditosil-tubulosina era idéntico al producto de N-tosilación de la primera base.

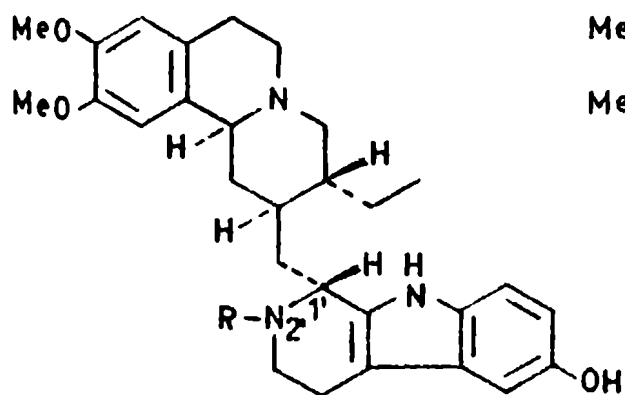
La quiralidad del carbono 1' en la tubulosina y en los alcaloides del Ipecac, ha tenido una confirmación de caracteres biológicos en las experiencias de Grollman (1966, 1967), quien encontró que tanto la emetina (IX'; R=H) como la tubulosina inhiben la biosíntesis de proteínas (ver capítulo IV f).

Digamos finalmente, que la síntesis de la (-)-tubulosina (XI') e (-)-isotubulosina (XI'; epímero en C-1') por Openshaw

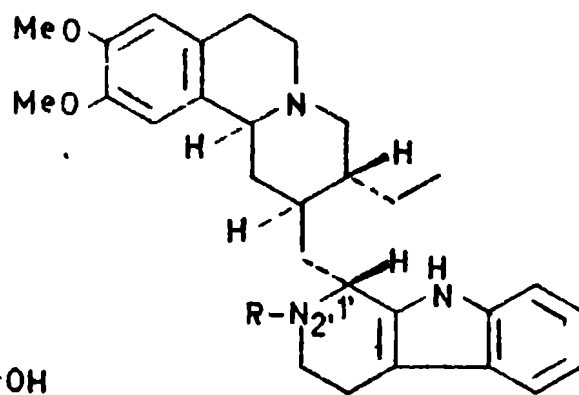
y Whittaker (1966), confirmó la quiralidad de los diversos centros asimétricos establecida por los trabajos anteriores.



(IX')



(XI')



(XVI')

CAPITULO VI
BIOGENESIS DE LOS ALCALOIDES DEL IPECAC
RELACION CON LA TUBULOSINA

Winterstein y Trier (1910), fueron los primeros en formular la hipótesis que la molécula de los alcaloides, se originaba por transformaciones metabólicas de los aminoácidos. La misma fué elaborada posteriormente por varios autores, entre los cuales se destaca R. Robinson.

Tanto este químico, como Schöpf (1935) realizaron experiencias en las cuales se obtenían alcaloides, mediante el empleo de sustancias que podían considerarse derivadas del metabolismo de los aminoácidos y en las condiciones habitualmente denominadas fisiológicas. El ejemplo clásico fué la síntesis de la troponina. (Robinson, 1917; Schöpf y Lehmann, 1935).

La demostración experimental de esta teoría, no pudo llevarse a cabo hasta el desarrollo de las técnicas que emplean sustancias marcadas con isótopos estables o radioactivos.

Mediante su utilización, varios grupos de investigadores pudieron mostrar, que determinados tipos de alcaloides se forman efectivamente en las plantas a partir de aminoácidos.

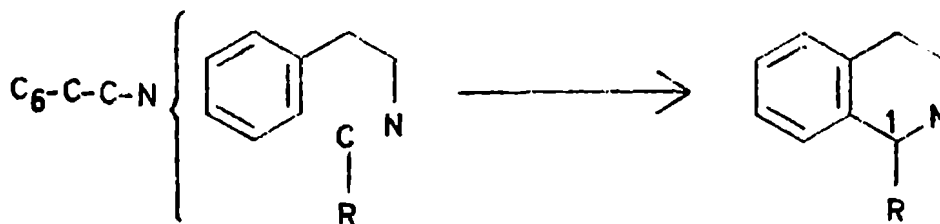
A las primeras investigaciones de Leete y Marion (1953), quienes encontraron que la hordenina se originaba en la cebada (Hordeum distichum) a partir de tirosina, se sucedieron otros grupos de trabajo entre los cuales se destaca la labor realizada por Leete mismo en los Estados Unidos, Mothes en Alemania, Spencer en Canadá y Battersby en Inglaterra. A raíz de sus estudios, no quedó la menor duda que los aminoácidos jugaban un papel muy importante en la biogénesis de varios grupos de alcaloides.

Leete y col. (1954), demostraron que los alcaloides del tropano provienen en parte de la ornitina y un año más tarde el mismo autor, halló que el anillo pirrolidínico de la nicotina tiene el mismo origen.

Se demostró que la lisina es el precursor biológico tanto de la anabasina (Leete, 1956) como de las bases con estructura quinolizidínica (Schütte y Nowacki, 1959).

Las investigaciones iniciales de Battersby y Harper (1959) y todas las realizadas posteriormente sobre la biogénesis de los alcaloides isoquinolínicos, indicaron que esta porción de su molécula, con excepción del carbono 1 de la misma, se originaba en los aminoácidos aromáticos fenilalanina o tirosina.

Estos aminoácidos, proveen la porción $C_6-C-C-N$ que se condensa parcialmente con otros restos de naturaleza variada que suministran el carbono 1, formando la isoquinolina.



La naturaleza del resto R-C y las etapas metabólicas ulteriores a esta condensación inicial, dan lugar a la producción de alcaloides con estructuras muy variadas, que no consideraremos.

En 1960, Kaczkowzki, Schütte y Mothes, señalaron que otros metabolitos participaban en la formación de las bases vegetales, como ocurría con el ácido acético en el caso de los alcaloides del tropano.

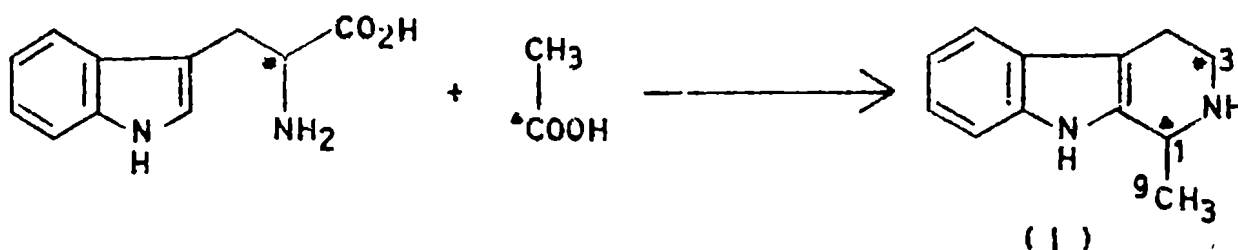
En los alcaloides indólicos que se han estudiado, se ha en-

contrado que la unidad indol-C-C-N, similar a la fenilo-C-C-N de los isoquinolínicos, tiene origen en el triptofano (Gröger, Mothes, Wendt y Weygand, 1959; Leete, 1960 a, 1960 b; 1961).

La biogénesis de uno de estos alcaloides, la eleagnina (I) o tetrahidroharmano, sintetizada in vitro por Hahn y col. (1934) en condiciones fisiológicas a partir de triptamina y acetaldehído, ha sido investigada recientemente por O'Donovan y Kenneally (1967).

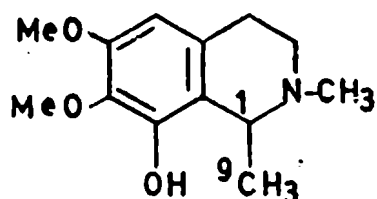
Para estudiar esta biogénesis, los autores mencionados administraron en experiencias separadas, a plantas jóvenes de Eleagnus angustifolia L., triptofano y ácido acético marcados.

Cuando administraron [α - ^{14}C]-triptofano, la radioactividad de la eleagnina aislada estaba concentrada en el carbono 3, indicando que dicho aminoácido participaba sin descomposición en la formación de la porción etil-indólica de la molécula. Al administrar ácido acético [1 - ^{14}C], la radioactividad de la eleagnina se ha encontrado acumulada en el carbono 1, con muy poca distribución en el resto de la molécula.



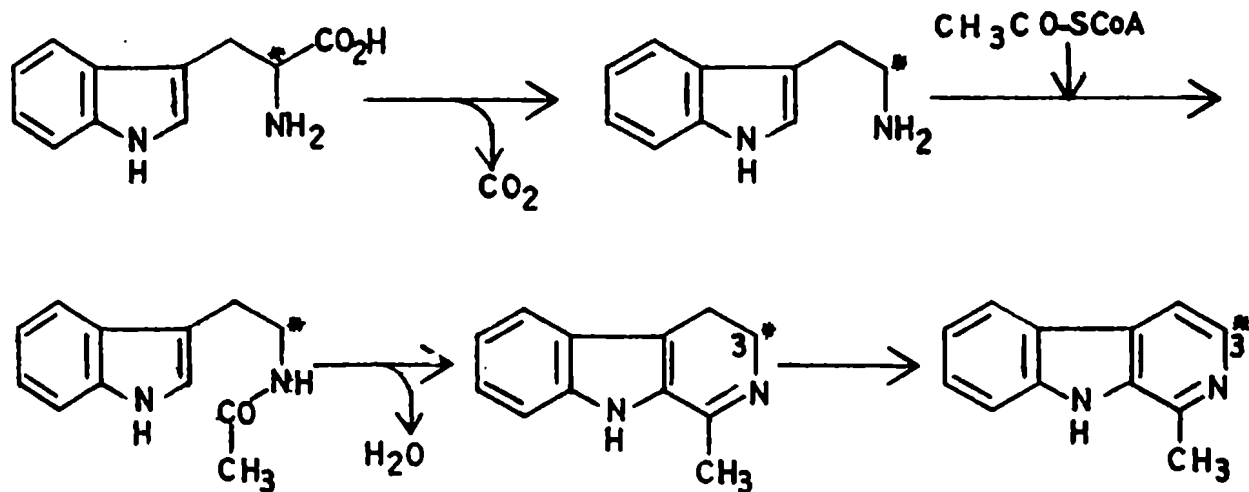
Esto indicaría una diferencia entre estos resultados y el camino de formación de las isoquinolinas, pues Battersby y col. (1967) al estudiar la biosíntesis de los alcaloides del cactus, hallaron que de plantas de Lophophora williamsii, a las cuales administraban acetato de sodio [1 - ^{14}C] se hallaba pelletina (II),

en la cual se encontraba una dispersión cuantitativamente vecina de la radioactividad, entre los carbonos 1 y 9, que no puede explicarse por incorporación o condensación directa con el ácido acético o un metabolito derivado del mismo.



(II)

Recientemente, Slaytor y McFarlane (1968), estudiaron la biosíntesis del harmalano (III) y harmano (IV) en plantas de Passiflora edulis y hallaron que el N -[2- ^{14}C]-acetiltryptofano no era precursor del anillo β -carbolínico, en cambio sí lo eran el β - ^{14}C -tryptofano y la N -[2- ^{14}C]-acetiltryptamina, ya que su administración a la planta producía ambas bases, cuya radioactividad se hallaba concentrada en el carbono 3.



(III)

(IV)

benzoquinolizínica (anillos A y B) que posee igualmente una estructura isoquinolínica.

Los alcaloides del Ipecac, poseen una porción benzoquinolizínica cuya biogénesis analizaremos a continuación, porque forma también parte de la tubulosina.

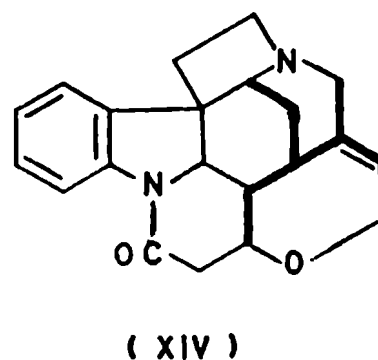
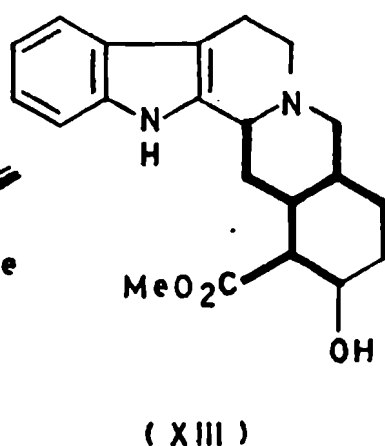
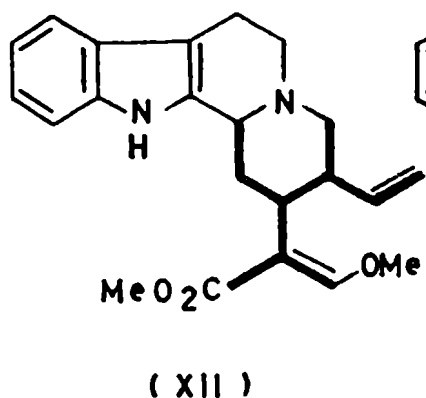
Como se aceptó en base a experiencias anteriores, que los átomos contenidos en el recuadro de líneas de trazos se originan en los aminoácidos aromáticos, el problema de la biogénesis de la porción benzoquinolizínica consistió principalmente, en explicar el origen de los nueve carbonos indicados en líneas gruesas.

De las teorías formuladas para explicar el origen de esta porción de la molécula, hay tres (Woodward, 1948; Wenkert y Bringi, 1959; Leete, Ghosal y Edwards, 1962) que tuvieron cierta boga y que a pesar de sus diferencias, tienen como factor común la participación de una unidad de un carbono en la biosíntesis. Ninguna de ellas tuvo comprobación experimental mediante el empleo de sustancias marcadas (Battersby y col., 1965).

La única teoría donde no se postula la participación de esa unidad de carbono, es la formulada por Thomas (1961) y posteriormente por Wenkert (1962), quienes sugieren una relación entre esa unidad de C₉₋₁₀ y un monoterpene ciclopentánico hipotético de estructura carbonada (VIII), que se originaría a partir de ácido mevalónico (VI) vía geraniol.

La ruptura del anillo ciclopentánico entre los carbonos 2 y 3 de este terpeno y el giro que se indica en (VIII), conduciría a la estructura (IX), que por condensaciones con el aminoácido correspondiente, puede dar origen a la estructura benzoquinolizínica que se encuentra en los alcaloides del Ipecac y del grupo de la tubulosina. Participa también en la biogénesis de varios alcaloides indólicos, por ejemplo, corinanteína (XII),

yohimbina (XIII) y estriconina (XIV).



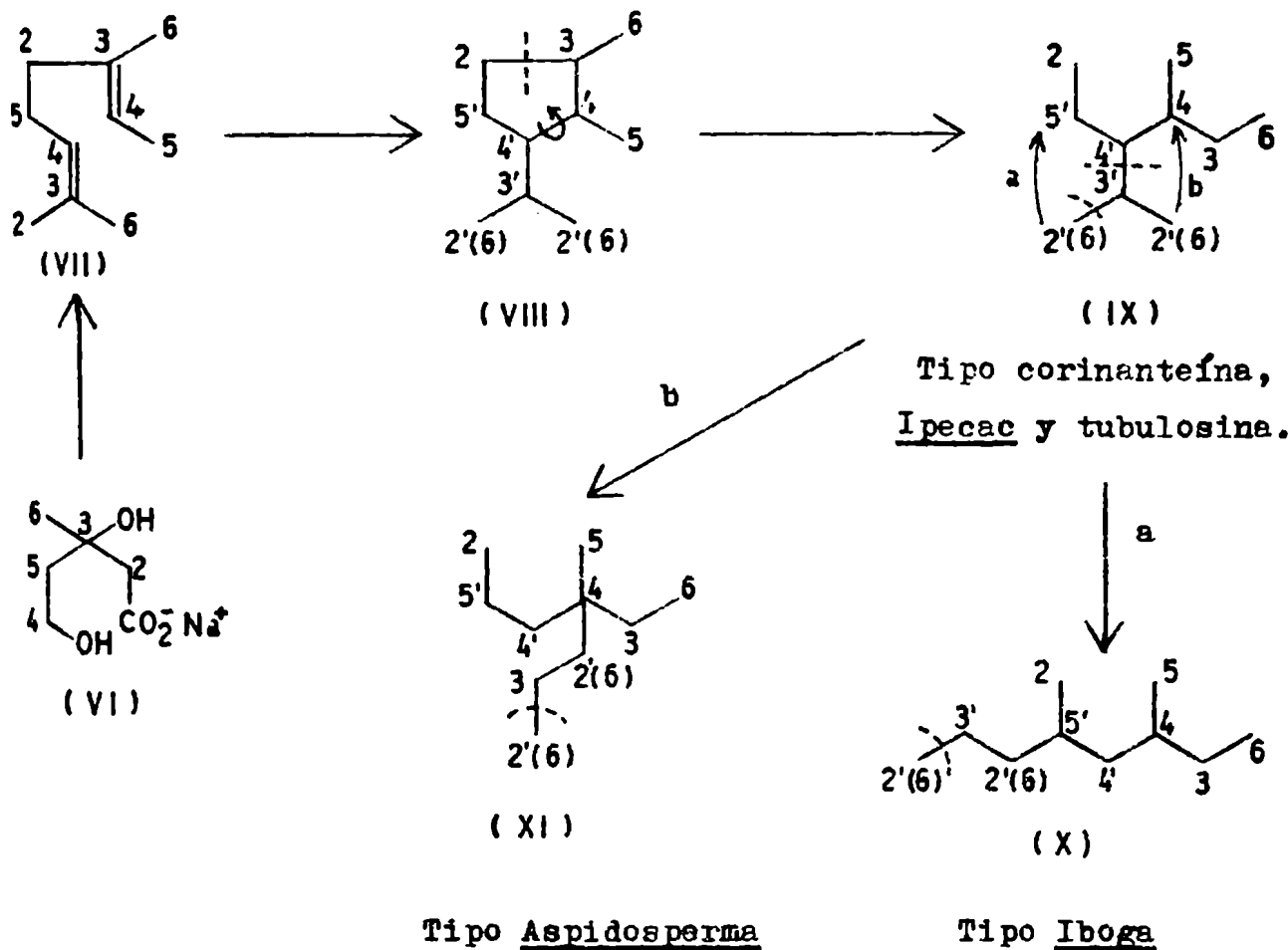
Una fisión entre los carbonos 3'-4' de (IX), con simultánea transferencia de un fragmento de 3 carbonos, permite formar las estructuras (X) (unión de los carbonos 2' y 5'; camino a) y (XI) (unión de los carbonos 2' y 4; camino b) (Esquema 1). La primera al condensarse con triptaminas da lugar a la formación de los alcaloides de la Iboga (p.ej. catarantina (XVII)), mientras que la segunda por una condensación similar origina los alcaloides de las Aspidospermas (p.ej. vindolina (XVIII)).

En aquellos alcaloides donde aparecen solamente nueve átomos de carbono y no diez agregados al residuo triptamínico o feniletilamínico, se pierde el átomo de carbono indicado por un arco punteado. Este es un camino esquemático y no puede considerarse como expresión real del existente en la naturaleza.

Simultánea e independientemente, tres grupos de investigadores, (McCapra y col., 1965; Goeggel y Arigoni, 1965; Hall y col., 1966; Battersby y col., 1965 a; 1966; 1966 b) establecieron el origen mevalónico de esta parte de la molécula en varios alcaloides indólicos (ajmalicina, vindolina y catarantina) dando una

base a la teoría de Thomas y Wenkert.

ESQUEMA 1

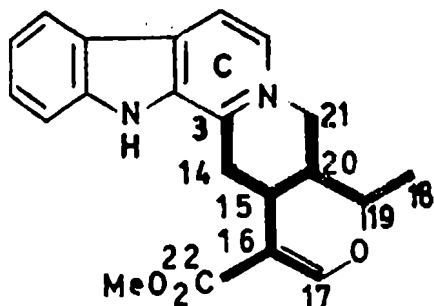


Según se indica en la tabla 1, cuando se administraba ácido mevalónico (VI) marcado en las posiciones indicadas (primera columna) a diversas plantas (segunda columna), este formaría un terpeno (VIII) que participaría en la biogénesis de los alcaloides mencionados (tercera columna). En estas bases, determinados carbonos deben poseer una radioactividad elevada y se los ha señalado en la cuarta columna. La medida de su radioactividad in-

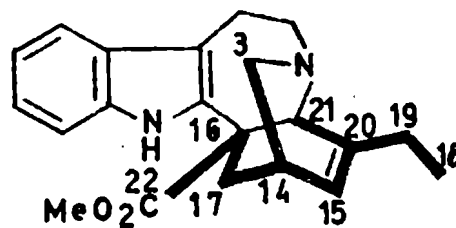
Tabla 1.- Incorporación de ácido mevalónico y degradación de los alcaloides marcados.

Posición del ^{14}C en el ácido mevalónico.	Planta	Alcaloide	Posición del carbono(s) aislado.	% actividad total	
				Hallado	Calculado
2	<u>V. rosea</u>	Ajmálicina (XVI)	16-17	22	25
2	"	Serpentina (XV)	3	43	50
2	"	Vindolina (XVIII)	22	45	50
3	"	Catarantina (XVII)	18-19	44	50
3	"	Vindolina (XVIII)	19	45	50
4	"	Serpentina (XV)	15	45	50
4	"	Catarantina (XVII)	20	48	50
4	"	Vindolina (XVIII)	20	45	50
5	"	Serpentina (XV)	14	45	50

dicó ser muy cercana a la esperada (columna 5 y 6).

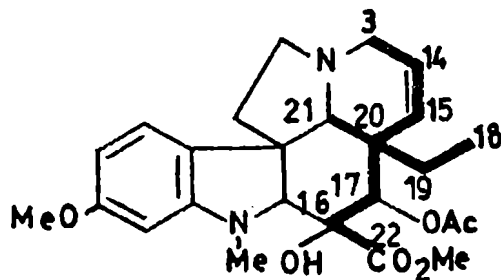


(XV)



(XVII)

(XVI) Anillo C reducido



(XVIII)

Como la combinación cabeza-cola de dos unidades mevalónicas dan el geraniol (XIX) o el nerol (XX), se ensayaron estos últimos como precursores de los alcaloides mencionados o similares (Leete y Ueda, 1966; Loew y col., 1966; Battersby y col., 1966a,d)

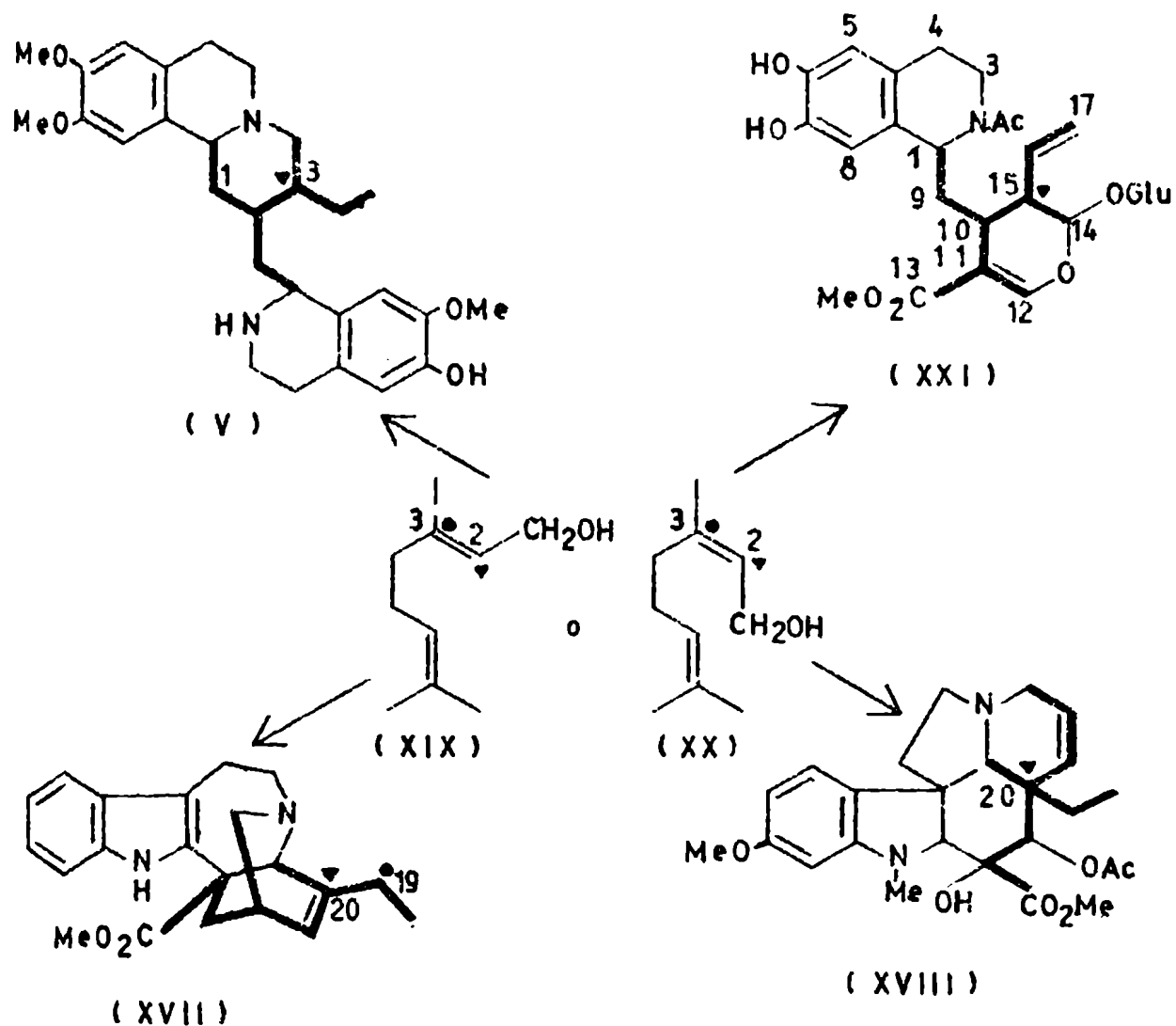
Administrando geraniol o nerol marcado en las posiciones indicadas (primera columna, Tabla 2) a diversas plantas (columna 2), se encontró que las bases aisladas (columna 3) presentan

Nota: El esquema de numeración de los alcaloides indólicos es el de LeMen y Taylor (1965).

Tabla 2.- Incorporación de geraniol y degradación de los alcaloides marcados.

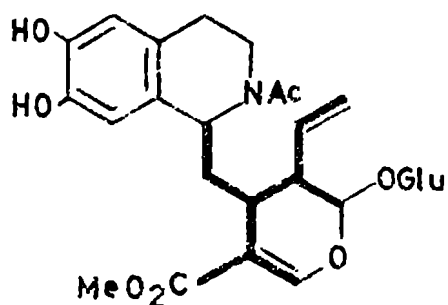
Posición del ¹⁴ C en el geraniol.	Planta	Alcaloide	Posición del carbono(s) aislado.	% actividad total	
				Hallado	Calculado
2	<u>C. ipecoc.</u>	Cefalina (V)	3	49	50
2	"	Ipecósido (XXI)	15	49	50
2	<u>V. rosea</u>	Vindolina (XVIII)	20	49	50
2	"	Catarantina (XVII)	20	50,5	50
3	"	Catarantina (XVII)	19	48	50

radioactividad elevada en las posiciones indicadas en la cuarta columna. La medida de la radioactividad indicó ser muy cercana a la esperada (columna 5 y 6). La incorporación era mayor que la obtenida con ácido mevalónico.

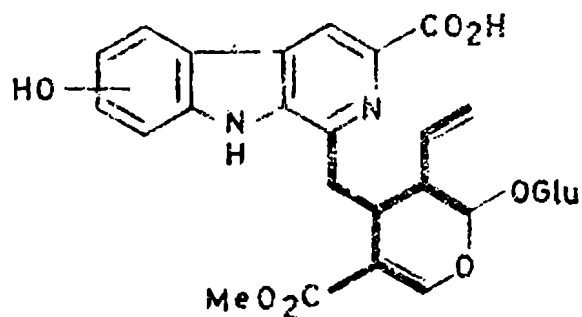


Contribuyó al apoyo de la teoría que estamos discutiendo, la determinación de la estructura de dos glicósidos, el ipecósido (XXI) (Battersby y col., 1967) y la cordifolina (XXII) (Brown y Row, 1967), donde la porción de sus moléculas indica-

das en líneas gruesas, posee una estructura claramente monoter-

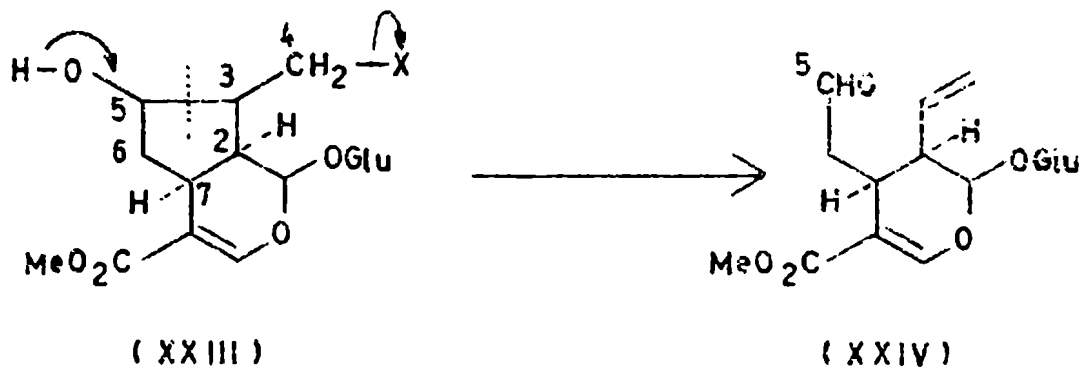


(XXI)



(XXII)

penoide, cuyo origen podría explicarse por la ruptura de la unión C_3-C_5 del precursor hipotético (XXIII) que daría origen al aldehído (XXIV).



(XXIII)

(XXIV)

En el primer caso, la condensación del aldehído (XXIV) (carbono 5 del mismo) con el aminoácido aromático da el ipecósido (XXI) (ver esquema 4) y en el segundo caso, al hacerlo con triptofano, origina la cordifolina (XXII) (ver esquema 6).

Es interesante señalar que el ipecósido (XXI) pudo ser transformado en el laboratorio, según el esquema 2, en proto-

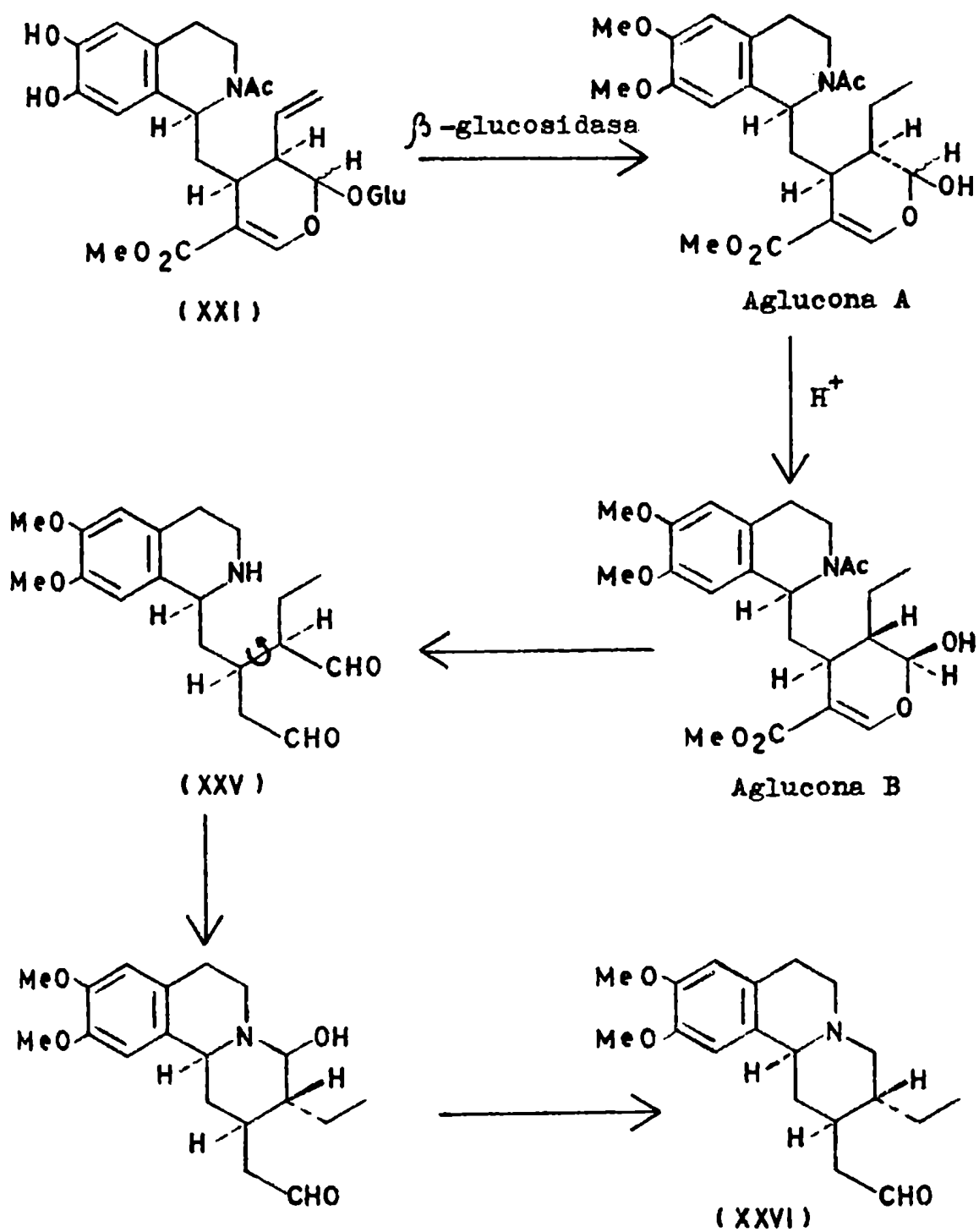
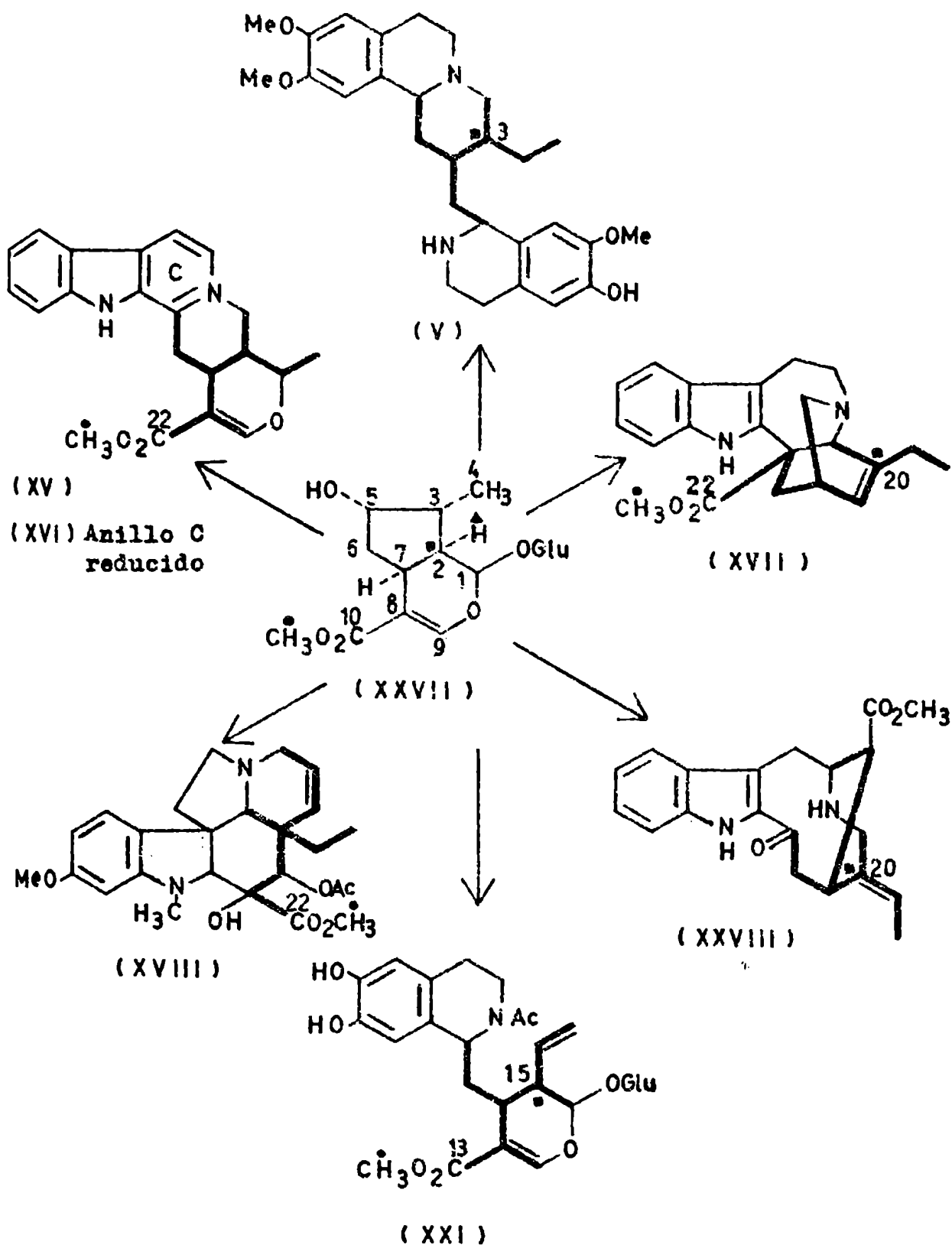
ESQUEMA 2

Tabla 3.- Incorporación de loganina y degradación del alcaloide marcado.

Posición de la marca en la loganina	Planta	Alcaloide	Posición del átomo marcado	% actividad total	
				Hallado	Calculado
$\text{CO}_2\text{C}^3\text{H}_3$	<u>C. Inacac</u>	Ipecónido (XXI)	$(\text{CO}_2\text{C}^3\text{H}_3)\text{-C-13}$	104	100
$2\text{-}^{14}\text{C}$	"	Ipecónido (XXI)	C-15	85	100
$2\text{-}^{14}\text{C}$	"	Cefalina (V)	C-3	86	100
$2\text{-}^3\text{H}$	<u>V. rosea</u>	Catsrentina (XVII)	C-20	100	100
$2\text{-}^3\text{H}$	"	Perivina (XXVIII)	C-20	96	100
$\text{CO}_2\text{C}^3\text{H}_3$	"	Catarantina (XVII)	$(\text{CO}_2\text{C}^3\text{H}_3)\text{-C-22}$	100	100
$\text{CO}_2\text{C}^3\text{H}_3$	"	Serpentina (XV)	$(\text{CO}_2\text{C}^3\text{H}_3)\text{-C-22}$	109	100
$\text{CO}_2\text{C}^3\text{H}_3$	"	Ajmalicina (XVI)	$(\text{CO}_2\text{C}^3\text{H}_3)\text{-C-22}$	103	100
$\text{CO}_2\text{C}^3\text{H}_3$	"	Vindolina (XVIII)	$(\text{CO}_2\text{C}^3\text{H}_3)\text{-C-22}$	100	100

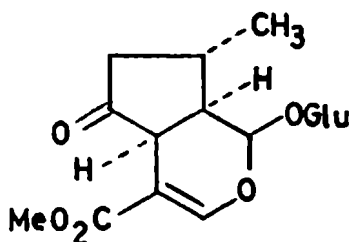


emetina (XXVI) idéntica a la base natural (Battersby y col., 1967).

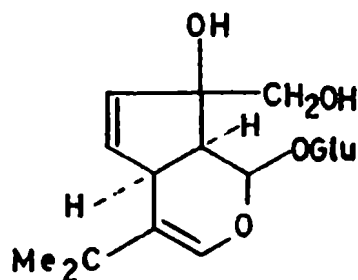
Posteriormente, se pudo demostrar que un monoterpene ciclo-pentánico de naturaleza glicosídica, aislado de varias especies de Strychnos, la loganina (XXVII), es un precursor de varios alcaloides indólicos (Battersby y col., 1966c, 1966e, 1968, 1968a; Loew y Arigoni, 1968), del ipecósido y de la porción benzoquinolizínica de la cefalina (V; R=H) (Battersby y col., 1968 a).

En la tabla 3, se condensan los resultados obtenidos al administrar loganina (XXVII) marcada en las posiciones indicadas (columna 1) a diversas plantas (columna 2). Por los procesos antes indicados daría origen a los alcaloides señalados en la columna 3, en los cuales hay determinadas posiciones que deben poseer una radioactividad elevada (columna 4). La medida de esta última indicó ser muy cercana a la esperada (columna 5 y 6).

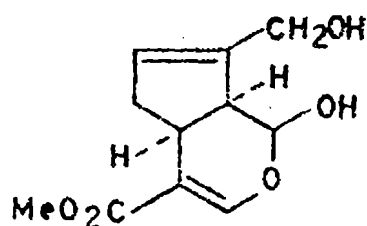
Mientras los terpenos verbenalina (XXIX), monotropeína (XXX) y genipina (XXXI) con una estructura y stereoquímica muy cercanos de la loganina (XXVII), no resultaron ser precursores de alcaloides (Battersby y col., 1966c) el swerósido (XXXII), un glicósido monoterpénico seco-ciclopentánico donde la ruptura de la unión C₃-C₅ de la estructura XXIII ya ha tenido lugar, dió una alta incorporación (11%) en la base indólica vindolina (XVIII) (Inouye y col., 1968).



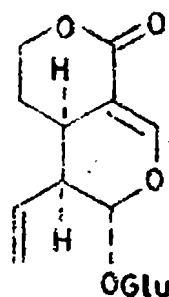
(XXIX)



(XXX)



(XXXI)



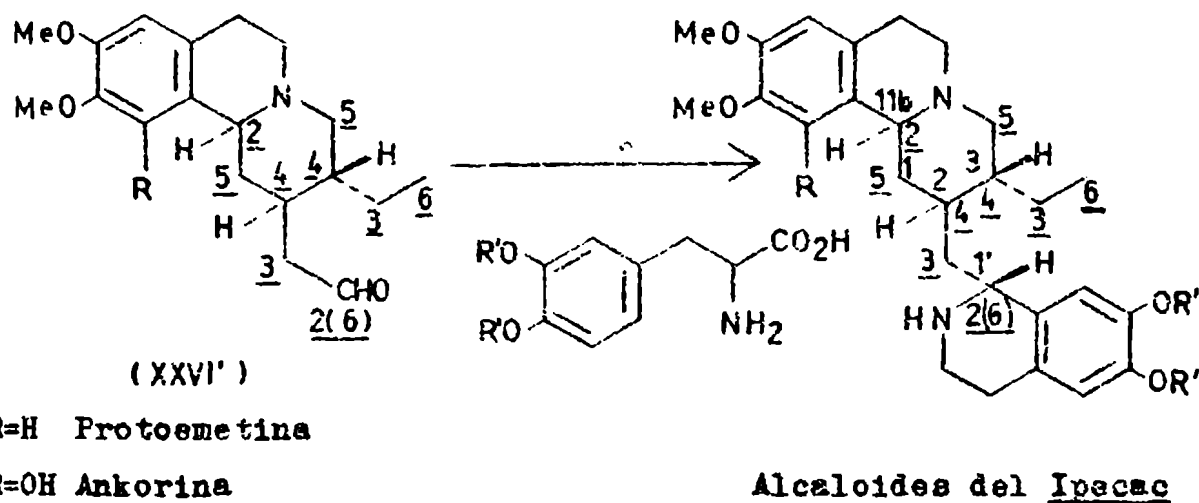
(XXXII)

Es interesante señalar que todos los alcaloides fitoquímicamente relacionados a la loganina (XXVII), excepto solamente la ψ -akuammicina (Edwards y Smith, 1960), presentan idéntica configuración absoluta en el carbono que deriva de la posición 7 de este terpenoide, que aparentemente permanece inalterada en virtud de no ser vecino a ningún centro que favorezca su racemización.

En cambio el carbono proveniente de la posición^{2/} de la loganina (XXVII), se encuentra con la configuración invertida cuando aparece en la molécula de varios alcaloides indólicos y es digno de notar que se encuentra vecino a un centro enolizable (carbono 1). (ver ejemplos en Hesse, 1964, 1968).

El hecho que cuando a plantas de C. ipecacuanha se administra loganina (XXVII), ésta participa en la biogénesis del ipecósido (XXI) y de la cefalina (V; R=H), da apoyo a un esquema muy sencillo en el cual un desacetil-ipecósido sería el precursor de la protoemetina (XXVI'; R=H) o de la ankorina (XXVI'; R=OH), aislada del A. lamarkii (Dasgupta y col., 1965). Estas últimas bases por posterior condensación con los aminoácidos aromáticos originarían a su vez los alcaloides del grupo de la smetina (Cassino 1, esquema 3).

Pero si se analiza el problema con más detalle resulta evi-

ESQUEMA 3Camino 1

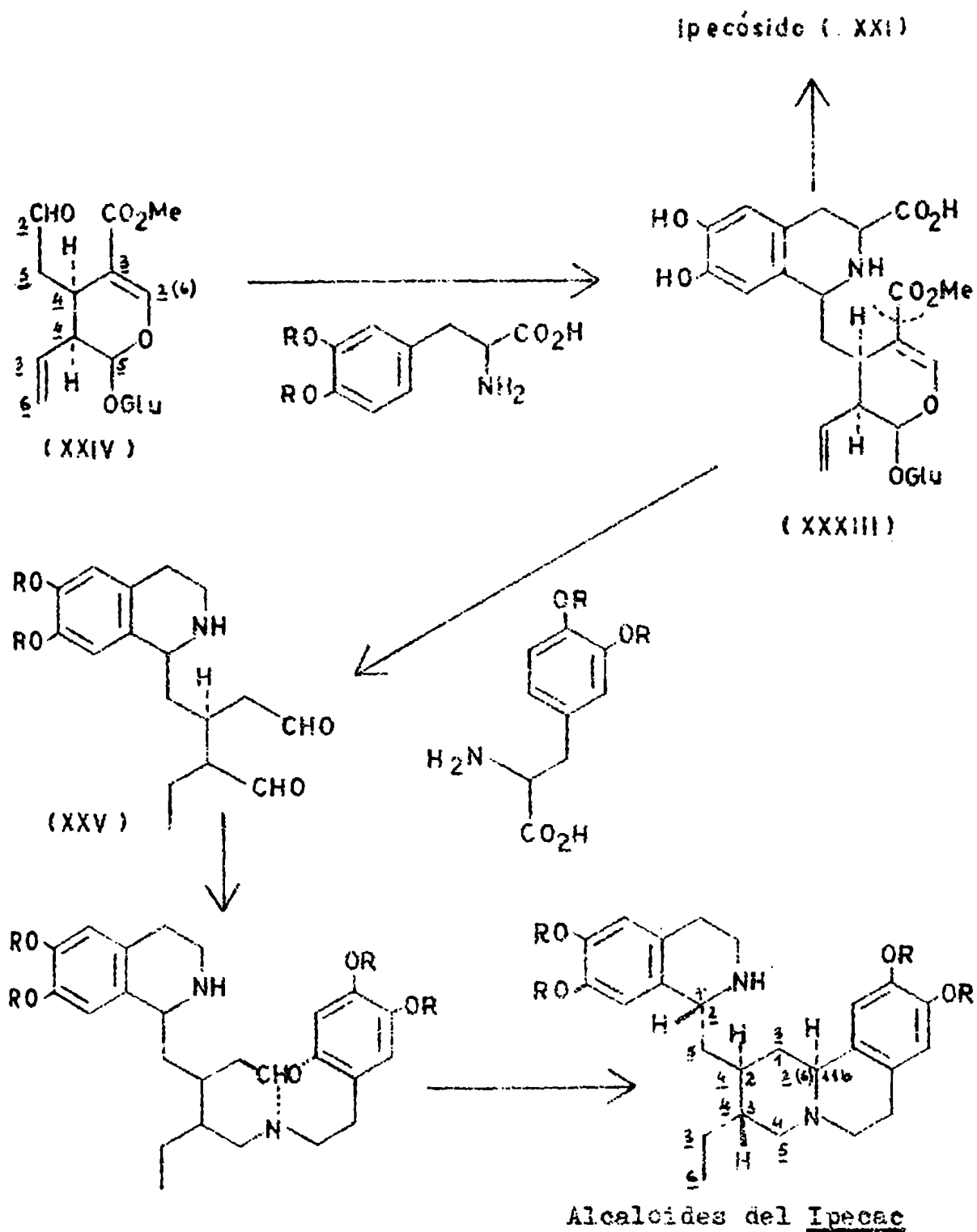
dente que puede existir otro camino, en el cual la porción benzoquinolizínica se forma por etapas muy similares a las propuestas pero en un orden diferente.

Este segundo camino (esquema 4) comenzaría por una condensación de un derivado de la loganina (XXVII) de estructura XXIV con los aminoácidos aromáticos, formándose un compuesto hipotético que en el caso de los alcaloides con estructura isoquinolínica sería (XXXIII). Este producto por descarboxilación y acetilación originaría el ipecósido (XXI) y por la vía del compuesto (XXV) daría el núcleo benzoquinolizínico, por condensación con una segunda molécula de aminoácido.

Si bien es verdad que en el grupo de los alcaloides de estructura isoquinolínica, no tenemos ningún indicio que el com-

Nota: En los esquemas 3 y 4 los números subrayados indican el carbono de ácido mevalónico del cual provienen según el esquema 1.

ESQUEMA 4

Camino 2

puesto (XXXIII) se forme en la naturaleza, en cambio el similar de la serie indólica (XXXVI), aparece salvo pequeñas modificaciones estructurales en el alcaloide cordifolina (XXII).

Las experiencias efectuadas con moléculas marcadas que han sido discutidas anteriormente, no permiten diferenciar entre si ambos caminos.

Para demostrar la posible existencia de este segundo camino, sería necesario comprobar la ubicación de la radioactividad en el alcaloide, al administrar ácido mevalónico marcados en las posiciones que se indican a continuación.

El empleo de ácido mevalónico ($2-^{14}\text{C}$) determinaría por el camino biogénico 1, que en los alcaloides del Ipecac un 50% de la actividad total se encuentre en el C-11b y un 25% en el C-1', mientras que si el proceso ocurre por el camino 2, se ha de encontrar justamente la inversa, 50% de la actividad en el C-1' y 25% en el C-11b.

El empleo de ácido mevalónico ($3-^{14}\text{C}$) determinaría según el camino 1 la aparición del 50% de la actividad en el puente metilénico mientras que siguiendo el segundo camino, el 50% se hallaría en el C-1 del núcleo benzoquinolizínico.

Finalmente el ácido mevalónico ($5-^{14}\text{C}$) daría dos distribuciones según su incorporación siga el camino 1 o 2. En el primer caso aparecería 50% de la actividad en el C-1, mientras que en el segundo caso el 50% de actividad se encontraría en el puente metilénico.

Biogénesis de los alcaloides del grupo de la tubulosina.

En la biogénesis de la tubulosina deben contemplarse dos aspectos: la formación de la porción β -carbólinica y la génesis del núcleo benzoquinolizínico.

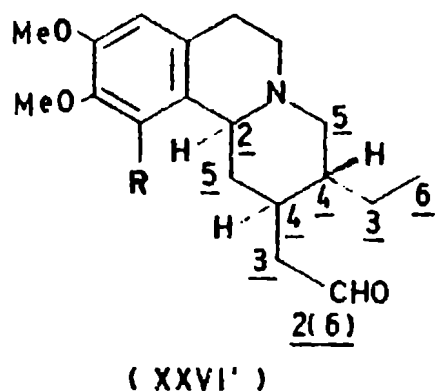
Como en todos los casos estudiados, la estructura β -car-

bolínica presente en alcaloides indólicos naturales proviene del triptofano (XXXIV) o de un metabolito del mismo, podemos admitir también por extensión que lo mismo ocurre con la tubulosina y los miembros de su grupo.

En los esquemas 5 y 6 se señalan para el grupo de la tubulosina los caminos biogénéticos 1 y 2 explicados anteriormente para los alcaloides del Ipecac (esquema 3 y 4). En el primer caso se formarían por condensación de triptofano (XXXIV) con protoemetina (XXVI';R=H) o ankorina (XXVI',R=OH) (camino 1, esquema 5).

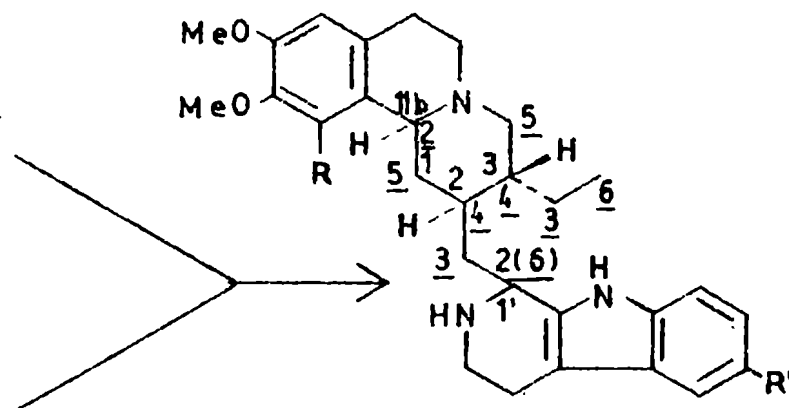
ESQUEMA 5

Camino 1

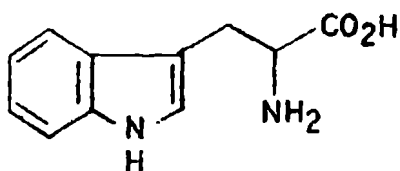


R=H Protoemetina

R=OH Ankorina



Alcaloides del grupo de la
tubulosina

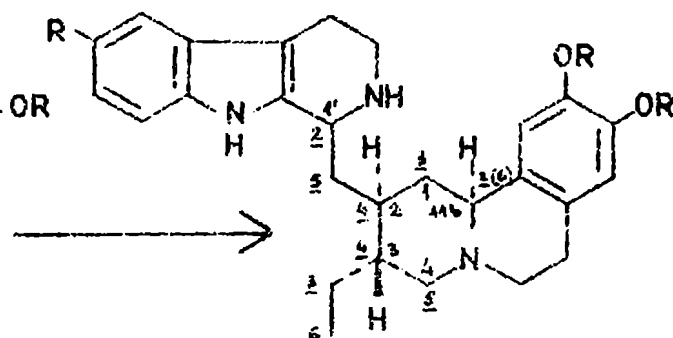
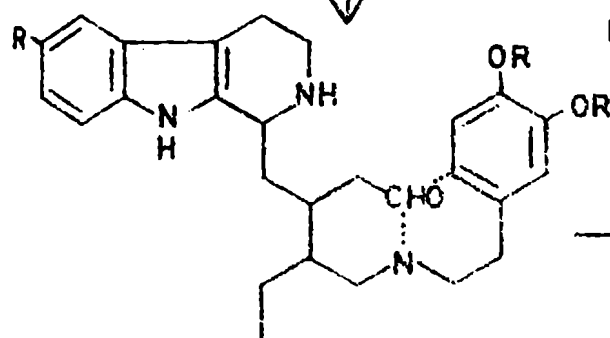
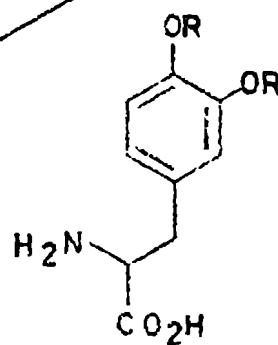
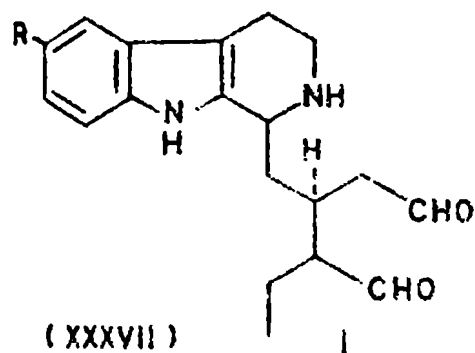
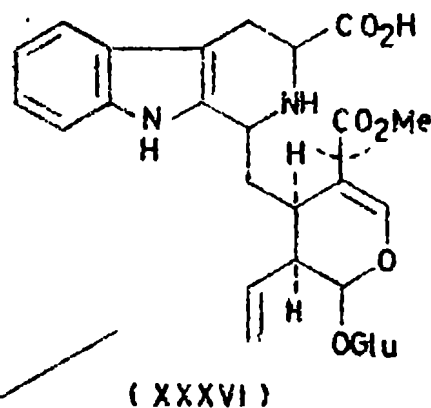
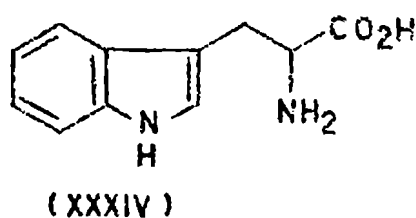
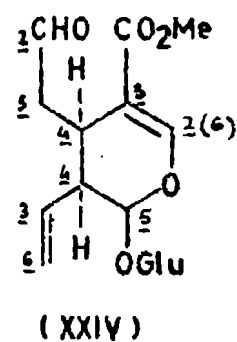


(XXXIV)

ESQUEMA 6Camino 2

Corinantesina (XII)

Cordifolina (XXII)

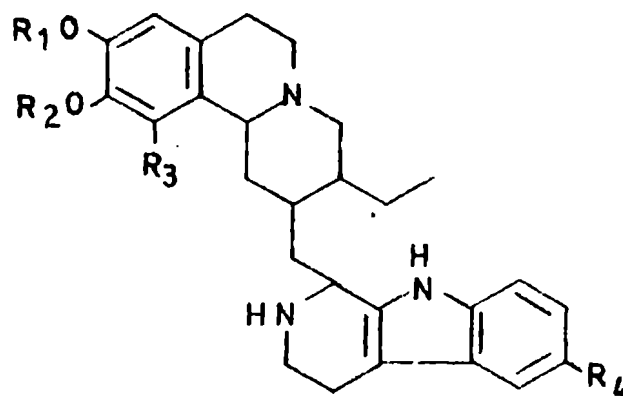


Alcaloides del grupo de la
Tubulosina

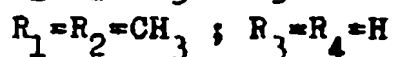
Por otra parte en la naturaleza se han encontrado ciertos alcaloides β -carbólicos, por ejemplo la cordifolina (XXII) cuya estructura justifica la posibilidad del segundo camino que hemos analizado anteriormente.

En nuestro caso el compuesto hipotético XXXVI por simple deshidrogenación daría la cordifolina y por mecanismos similares a los señalados para la transformación del ipecósido en protoemetina (esquema 2) se podría formar la corinanteína (XII). La condensación del producto XXXVI vía el compuesto XXXVII (camino 2, esquema 6).

La similitud de síntesis de los alcaloides del Ipecac y del grupo de la tubulosina, encuentra apoyo en el aislamiento del A.lamarckii y del P.tubulosus de ambos grupos de bases. De la



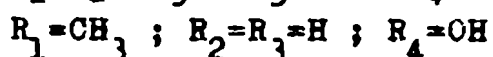
Tubulosina e isotubulosina



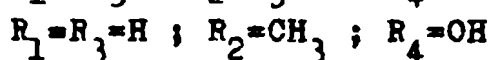
Deoxitubulosina



Alangimarckina

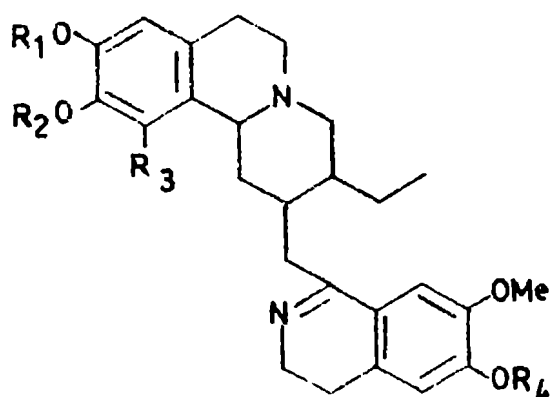


Demetil-tubulosina



primera especie se han aislado los siguientes alcaloides del grupo de la tubulosina: tubulosina, isotubulosina, alangimarckina, demetil-tubulosina y deoxitubulosina (ver Capítulo IV) y los que se indican a continuación de la familia del Ipecac: emetina, cefalina, psicotrina, alamarckina (N-metil-cefalina) (Budzikiewicz, Pakrashi y Vorbrüggen, 1964), demetil-psicotrina y alangicina (11-hidróxi-psicotrina) (Pakrashi y Ali, 1967).

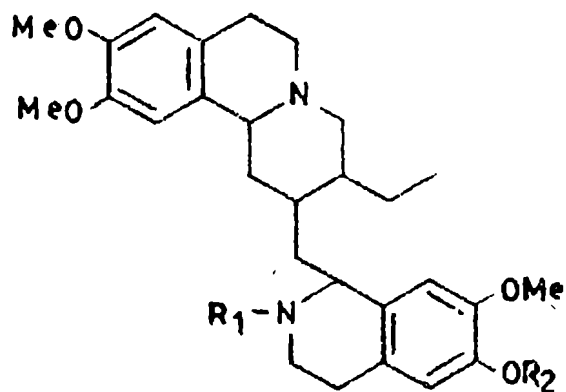
Del Pogonopus tubulosus se aisló originariamente la tubulosina y ha sido también identificada una base del Ipecac, la psicotrina.



$R_1=R_2=CH_3$; $R_3=R_4=H$ Psicotrina

$R_1=R_2=CH_3$; $R_3=OH$; $R_4=H$ Alangicina

$R_1=R_3=R_4=H$; $R_2=CH_3$ $R_1=CH_3$; $R_2=R_3=R_4=H$ $R_1=R_3=H$; $R_2=R_4=CH_3$ $R_1=R_4=CH_3$; $R_2=R_3=H$	}	Demetil-psicotrina
--	---	--------------------



$R_1 = H ; R_2 = CH_3$ Emetina

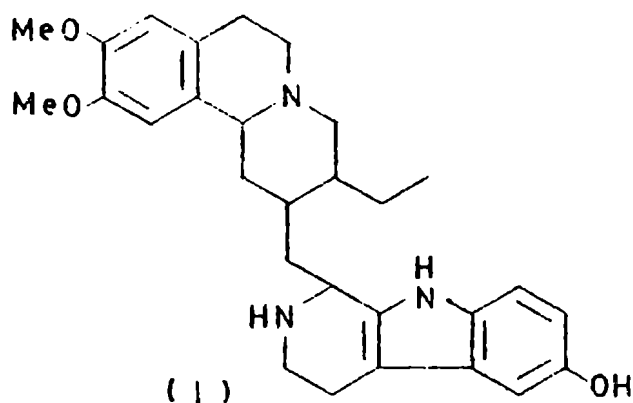
$R_1 = R_2 = H$ Cefalina

$R_1 = CH_3 ; R_2 = H$ Alamarckina

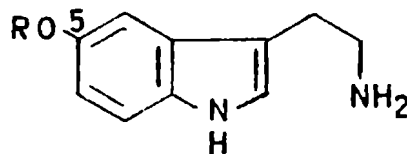
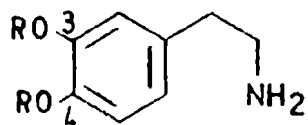
CAPITULO VII

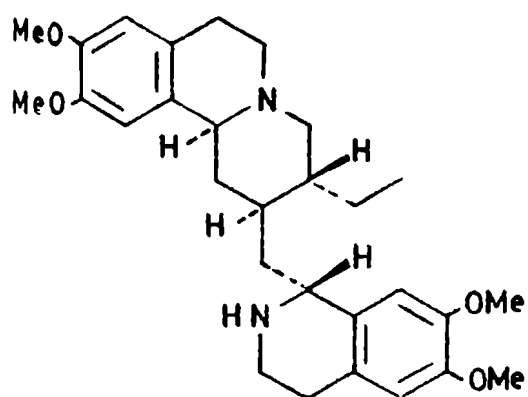
LA SINTESIS DE ESTRUCTURAS VINCULADAS A LA (+)-TUBULOSINA1. Consideraciones generales

La estructura de la tubulosina (I), indica claramente que pueden aplicarse a la síntesis de la misma, los métodos que han tenido éxito en el caso de los alcaloides del Ipecac.

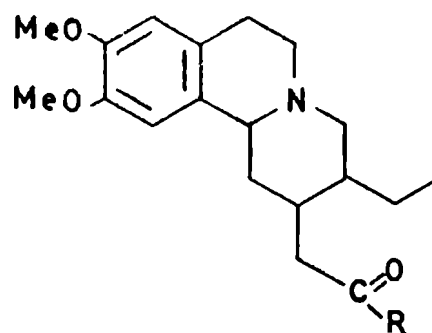


Solamente sería necesario reemplazar las feniletilaminas 0-sustituídas en 3,4 (II), que conducen a esos alcaloides (p. ej. emetina (III)), por la hidroxitriptamina correspondiente (IV; R=H) con el grupo fenólico protegido y condensarla con las estructuras benzoquinolizínicas apropiadas (V), cuya preparación es conocida por haberse empleado en la síntesis de los primeros alcaloides.





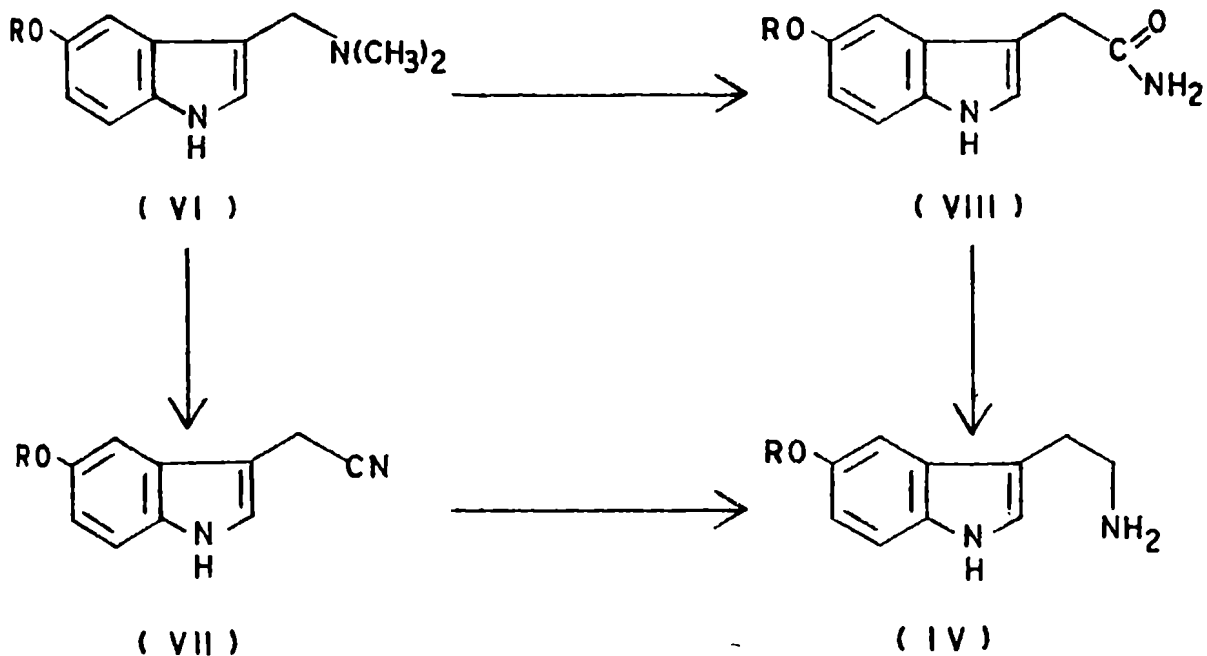
(III)



(V)

2. Preparación de 5-benciloxitriptamina

Algunas de las hidroxitriptaminas son productos comerciales y sus síntesis, con relativo buen rendimiento, han sido descritas por varios autores. La obtención de la 5-benciloxitriptamina necesaria para efectuar los ensayos sintéticos, no pre-

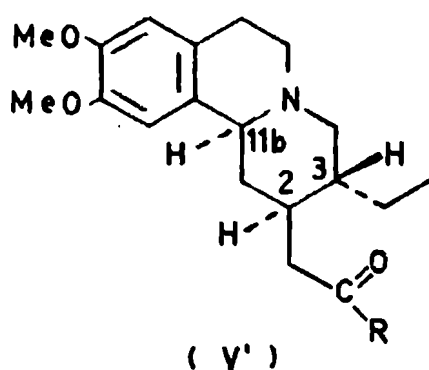


sentó ningún problema importante. En algunas oportunidades, la hemos preparado a partir de 5-benciloxigramina (VI) siguiendo el método de Ek y Witkop (1954), vía el acetonitrilo (VII) o la acetamida (VIII), obteniendo el clorhidrato de 5-benciloxitriptamina (IV). Los rendimientos fueron los descritos por dichos autores.

En la 5-hidroxitriptamina, que no posee carbonos asimétricos, se encuentra ausente un factor que determina siempre un aumento en la complejidad de la síntesis de productos naturales.

3. Preparación de cetona (X rac.) y su desdoblamiento en isómeros ópticos.

La preparación del sintón benzoquinolizínico (V'), se conocía bastante bien de la síntesis de los alcaloides del Ipecac. Conviene tener presente que el mismo posee tres carbonos asimétricos (C-11b, C-2 y C-3) y que la variación del grupo funcional que permite por condensación con la triptamina, obtener la β -carbolina, puede ser un grupo carboxilo o un derivado del mismo o bien un grupo aldehído.

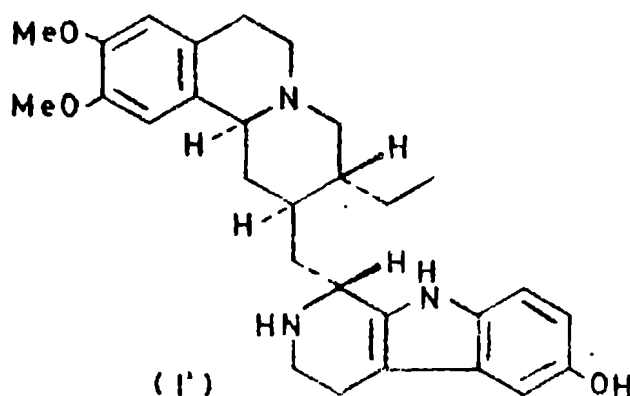


R=OH
 R=Cl
 R=OEt
 R=OCO₂Et
 R=H

En su síntesis de la (-)-tubulosina (I', producto natural), es evidente que Openshaw y Whittaker (1966) consideraron a priori

que la porción benzoquinolizínica de la misma poseía una configuración idéntica a la presente en los alcaloides del Ipecac. (p. ej. emetina (III)).

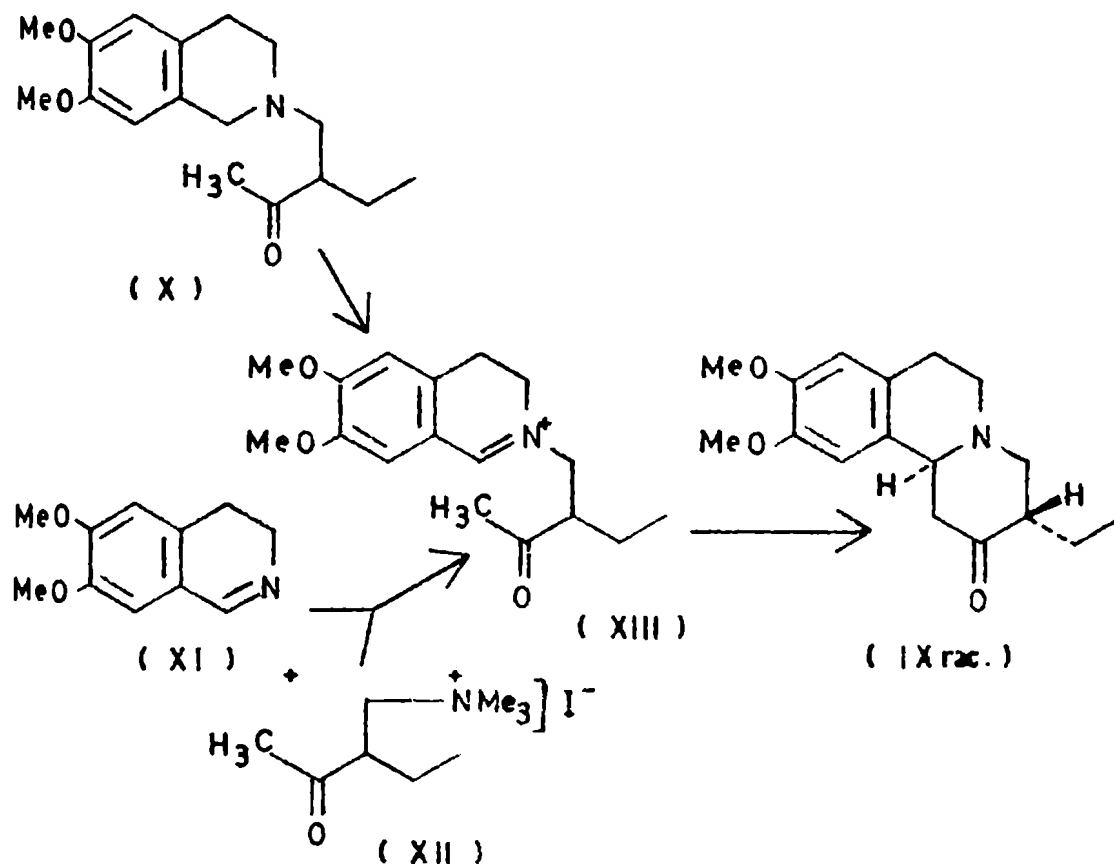
Para la obtención de esta benzoquinolizina (V'), con la configuración apropiada, no existe actualmente mejor método que aquel que parte de la cetona (IX). La cetona racémica fué preparada por primera vez por Battersby y Openshaw (1950), por un proceso que requiere varias etapas, luego modificado levemente por Brosi y col. (1958). En 1963^(a), Openshaw y Whittaker describieron una síntesis más sencilla de esta cetona, que permitió su preparación en escala casi industrial.



En algunas ocasiones la hemos preparado según este último método. En el mismo, se parte de una dihidro-isoquinolina (XIII) que se cicla con facilidad y aún espontáneamente para dar la cetona buscada (IX).

El mejor método para preparar el intermediario (XIII), es la reacción de la dihidro-isoquinolina (XI) con la base de Mannich (XII) por una reacción de intercambio de aminas. Un método no tan simple, pero que puede ser conveniente en preparaciones similares, consiste en la obtención del intermediario (X)

a partir de la tetrahidro-isoquinolina que se condensa por una reacción de Mannich con formaldehído y α -etil-acetoacetato de etilo. El compuesto (X) se transforma en el intermediario (XIII) antes señalado, por oxidación con acetato mercúrico.



Openshaw y Whittaker (1963)^a, encontraron que la cetona (IX rac.) puede ser resuelta en sus enantiómeros mediante el empleo de los ácidos (+) y (-)-10-canfosulfónico. Cuando la cetona racémica se calienta a reflujo en solución de acetato de etilo con uno de los ácidos 10-canfosulfónicos mencionados, se aísla una sal cristalina de la misma, de la que puede obtenerse la (+) cetona (IX a) cuando se parte del ácido (+)-10-canfosulfóni-

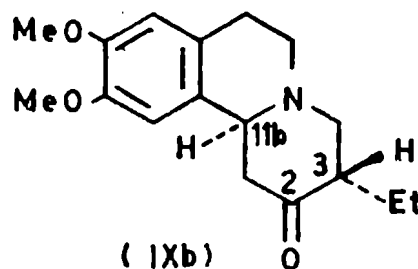
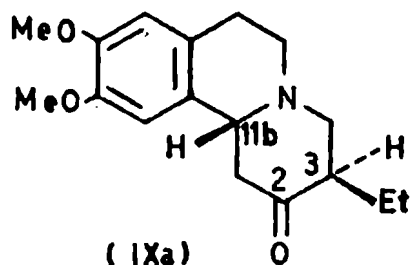
co y la (-) cetona (IX b) de quiralidad opuesta a la anterior e idéntica a la cetona natural cuando se utiliza el ácido enantiómero.

A medida que aumenta el tiempo de reflujo se incrementa el rendimiento de la cetona desdoblada y su pureza óptica es también mayor. Después de 22,5 horas de tratamiento, se obtiene un 80% de rendimiento en cetona ópticamente activa calculado sobre el peso inicial del racémico empleado.

El hecho que se obtenga más del 50% de uno de los enantiómeros, se debe a que a medida que va cristalizando la sal del ácido, por ejemplo del (-)-10-canfosulfónico y la (-) cetona (IX b), se produce una racemización del exceso del (+) enantiómero que queda en solución que provee nuevas cantidades de (-) cetona (IX b).

La racemización de la cetona (IX) implica la inversión de la configuración de dos carbonos asimétricos, el carbono 3 y el carbono 11b.

Openshaw y Whittaker (1963)^a consideran que la racemización



Nota: Las fórmulas de los compuestos con núcleos benzoquinolizínicos indican, cuando se trata de un compuesto ópticamente activo, la configuración absoluta del mismo. Cuando se refiere a compuestos racémicos se indica la estructura de un enantiómero y a la numeración se añade la abreviatura rac., por ejemplo (IX rac.)

del carbono 11b se produce probablemente por la reversibilidad de la ciclación (XIII \rightleftharpoons IX) catalizada por los ácidos, lo cual es una retro-reacción de Mannich.

Se formaría así el catión isoquinolinio (XIII) el cual al ciclarse nuevamente da cetona racémica. La epimerización del carbono 3 se debería a su activación por el grupo carbonílico vecino. Se explicaría por el mismo mecanismo la observación de que la (+) cetona (IX a) se racemiza lentamente cuando se la calienta en medio ácido.

Nosotros hemos utilizado este método en nuestro trabajo para preparar el (+) enantiómero (IX a), que hemos empleado en la síntesis de estructuras vinculadas a la (+)-tubulosina.

Los rendimientos y purezas del (+)-10-canfosulfonato y de la (+) cetobase (IX a) obtenidos, fueron los indicados por los autores mencionados (ver parte experimental).

Merece señalarse que esta cetona, en presencia de bases, se epimeriza en el carbono 3, a pesar que dicha epimerización significa que el grupo etilo pasa de una configuración de menor energía ecuatorial a otra de mayor energía axial.

Esta relativa facilidad de epimerización se explica por el efecto "2-alkil cetona" que se discute más adelante.

4. Preparación del éster α - β -no saturado (XXIX; R = OEt)

El paso siguiente para la síntesis de V' es la introducción en la posición ocupada por el carbonilo en la cetona (IX), de una cadena lateral de dos átomos de carbono, uno de los cuales integra una función carboxilo, habitualmente bajo la forma de éster. La introducción de esta cadena, debe hacerse en condiciones tales que no se produzca modificación alguna en los centros asimétricos de la cetona (IX).

Se han descrito esencialmente dos métodos para introducir estos dos átomos de carbono. Uno emplea la reacción de Knoevenagel con cianacetato de etilo y el otro la reacción de Wittig original o modificada.

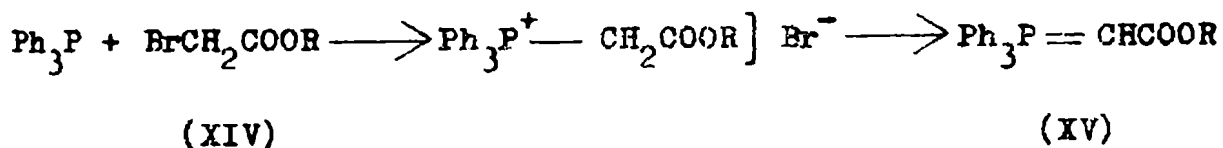
Battersby, Openshaw y Wood (1953), hallaron que la cetona (IX) no reacciona con el ácido malónico, mientras que con el malononitrilo el producto de condensación se isomeriza, bajo las condiciones de hidrólisis, a un compuesto que contiene la doble ligadura originalmente exocíclica en posición endocíclica. Seis años más tarde, Brossi y col. (1959) corroboraron esta observación.

La reacción de Knoevenagel con cianacetato de etilo, si bien conduce a la adición de la cadena de dos átomos de carbono sobre el carbonilo, no puede emplearse, porque durante el proceso de condensación se produce la inversión de la configuración del carbono 3 (Brossi y Schnider, 1962; Openshaw y Whittaker, 1963).

a) La reacción de Wittig original (empleo de fosforanos).

La no aplicabilidad de la reacción de Knoevenagel ha determinado que la preparación del éster no saturado se efectúe empleando la reacción de Wittig y su modificación.

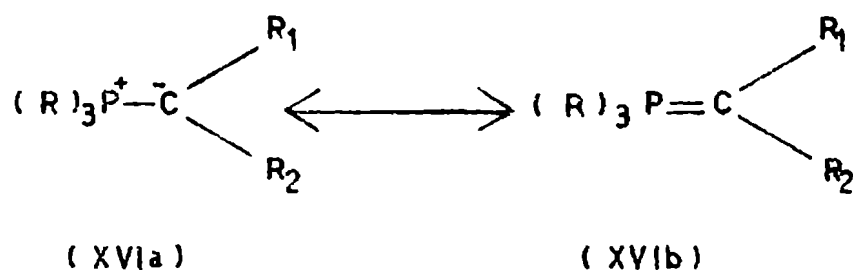
En la descripción de esta reacción, originalmente se emplearon fosforanos, por ejemplo (XV; R=Et), que se preparan fácilmente a partir de bromoacetato de etilo (XIV; R=Et) y trifenilfosfina.



Los fosforanos de este tipo son altamente estables y sólo a temperaturas elevadas reaccionan con los carbonilos cetónicos, lo cual, sin embargo, no impide su utilización en casos como el nuestro.

La reactividad de los fosforanos está determinada por la distribución de la carga negativa de la molécula, que a su vez depende de la naturaleza de los sustituyentes tanto en la porción alquilidénica (R_1 y R_2) así como en el átomo de fósforo (R).

Los fosforanos pueden ser considerados como híbridos de resonancia de dos estructuras límites, la forma iluro (XVIa) y la forma ileno (XVIb). El carácter nucleofílico del fosforano disminuye y la estabilidad aumenta, si el par de electrones sobre el carbono alfa de la forma XVIa se encuentra deslocalizado entre los grupos R_1 y R_2 como ocurre cuando estos últimos atraen electrones.

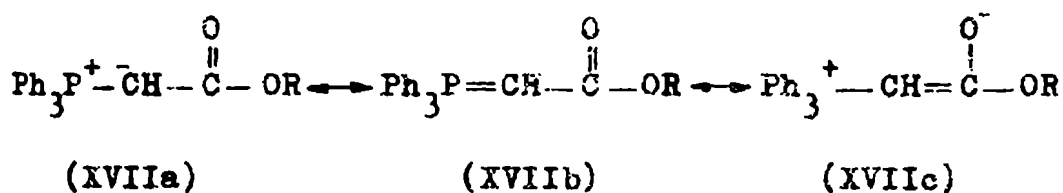


Por ejemplo, la mayor estabilidad del fosforano (XVIIb) en una estructura clásica, se debe principalmente a la resonancia entre las estructuras límites XVIIa, XVIIb y XVIIc que contiene un grupo carbonilo que atrae y favorece la distribución de las cargas (XVIIc).

Esto se refleja en el espectro infrarrojo, por un desplazamiento de la banda del carbonilo de $5,76 \mu$ (ésteres) a $6,20 \mu$ que coincide prácticamente con la banda de absorción asignada

al anión carboxilato.

Por esta razón, estos fosforanos (XVII; R=Et) reaccionan con las cetonas, solamente elevando la temperatura de reacción (Sugasawa y Matsuo, 1960; Fodor y Tömösközi, 1961; Trippett y Walker, 1961).



La necesidad de forzar la reacción vá en aumento cuando las cetonas tienen sustituyentes en posición alfa al carbonilo, como en el caso del compuesto (IX), en que se reduce aún más la reactividad de las mismas en la reacción.

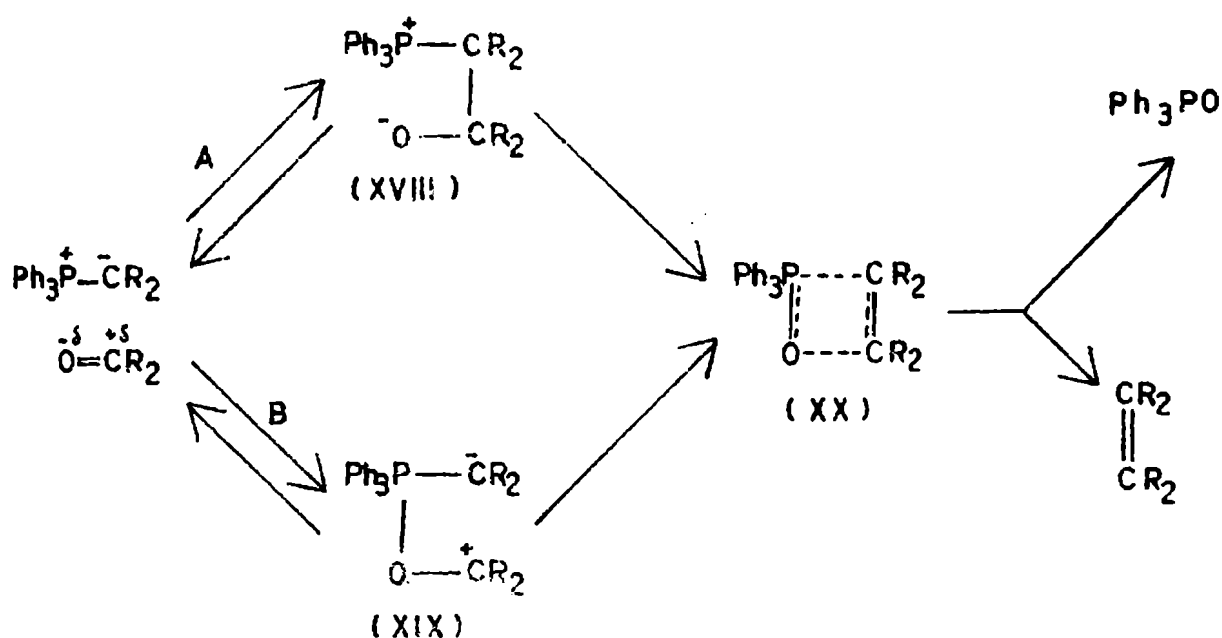
Cuando se emplean los fosforanos en la forma anteriormente indicada, no se producen desplazamientos de la doble ligadura a posiciones endocíclicas.

b) Mecanismo.

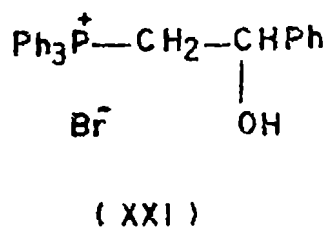
La reacción de Wittig procede por un primer paso de adición del fosforano al compuesto carbonílico con la formación de una betáina (XVIII o XIX), seguida de una eliminación de óxido de trifenilfosfina, con formación de una olefina que puede ser cis o trans. Se acepta como estado de transición el complejo de cuatro miembros (XX).

Se han formulado dos caminos para la reacción de Wittig original, que difieren entre sí en las estructuras de las betáinas resultantes (XVIII y XIX) al reaccionar el iluro y el compuesto carbonílico.

El camino A ocurre por ataque nucleofílico del carbono del iluro sobre el carbono carbonílico, produciéndose la betaina (XVIII) como intermediario (Wittig y Schöllkopf, 1954), mientras que el camino B tiene lugar por un ataque electrofílico del fósforo sobre el oxígeno carbonílico para dar en este caso la betaina (XIX) (Bergelson y Shemyakin, 1963). Las betainas (XVIII) y (XIX) se descomponen posteriormente con formación de la olefina.



De los dos caminos de reacción propuestos, sólo se tiene evidencia experimental del primero (A), pues al emplear el fosforano estabilizado por resonancia $\text{Ph}_3\text{P}=\text{CH}_2$ se pudo aislar y caracterizar la betaina (XXI) como bromhidrato (Wittig, 1954).



Bergelson y Shenyakin (1963), formularon el paso B con el objeto de explicar la imposibilidad de aislar la betafina (XVIII) cuando se utilizan fosforanos estabilizados por resonancia, pero no aportaron prueba experimental alguna a favor de su teoría.

Estos autores consideran que en este último tipo de fosforanos, la densidad de carga en el carbono alfa del iluro ha disminuído en un grado tal, que su reacción con el carbono electrofílico del carbonilo se realiza a muy baja velocidad. Por lo tanto, la reacción más probable es aquella en la cual el átomo de oxígeno del carbonilo (carga negativa) se une con el átomo de fósforo del iluro (carga positiva).

Dentro de la reacción global, la formación de las betafinas es el paso más lento (Speziale y Bissing, 1963) y durante el mismo se determina el curso estérico de la reacción. Su formación es prácticamente reversible en todos los casos (Speziale y Bissing, 1963; Fliszar, Hudson y Salvadori, 1963).

La diferencia entre la betafina (XVIII) y el complejo de cuatro miembros (XX) es la libertad de rotación de la primera. El último puede considerarse una representación del estado de transición que conduce a la eliminación.

La existencia del complejo de cuatro miembros, se ha inferido del hecho que las sales de fosfonio ópticamente activas (fósforo con cuatro sustituyentes distintos) sometidas a la reacción de Wittig dan óxidos de fosfina con retención de la configuración (Hornar y col., 1961).

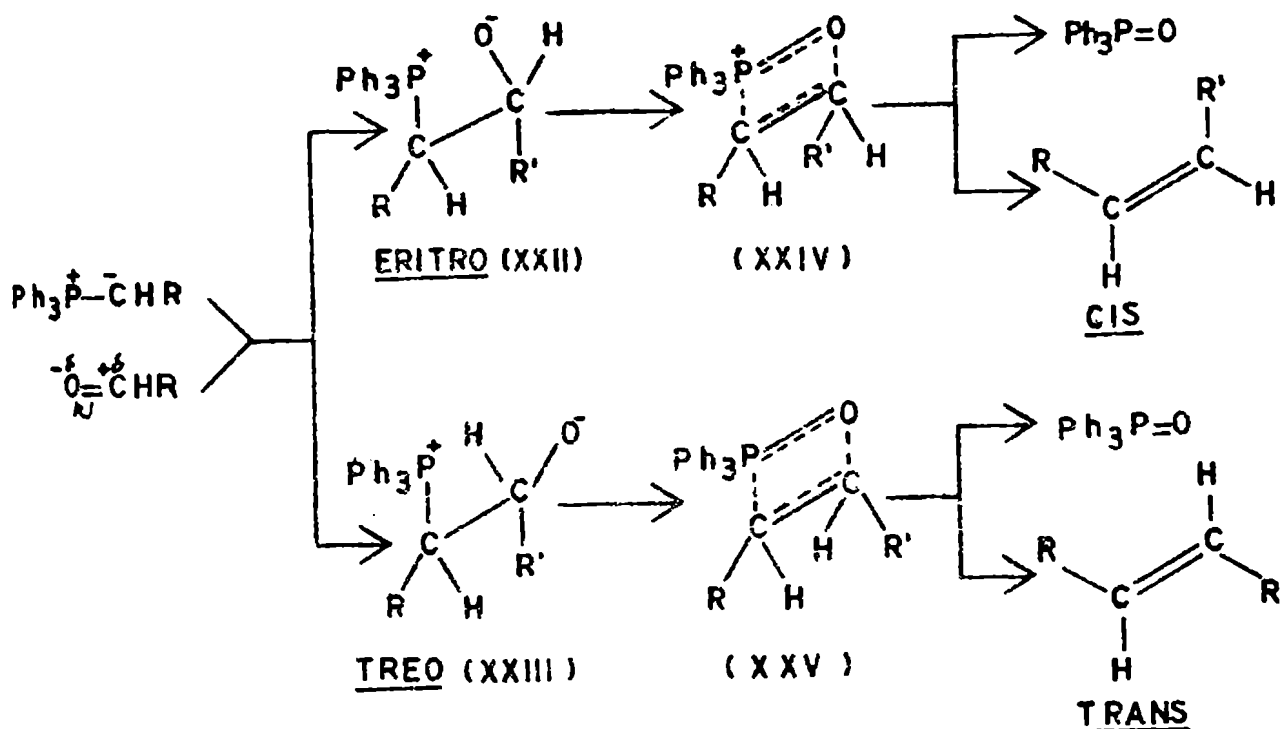
Cuando los sustituyentes R disminuyen el carácter positivo del fósforo (p. ej. por efectos +I, +M o hiperconjugativos), decrecerá su velocidad de reacción con el oxígeno, para dar el complejo de cuatro miembros (XX) y por lo tanto el paso de eliminación estará retardado.

En cambio, este último se acelerará cuando los sustituyentes, tanto del fosforano como del compuesto carbonílico, estabilizan por conjugación la doble ligadura en desarrollo, como más adelante se discute para el éster α - β -no saturado (XXIX).

c) Esterequímica

Cuando la reacción de Wittig puede conducir a la formación de olefinas cis y trans, la razón de los isómeros geométricos depende de la naturaleza de los reactivos y del solvente utilizado en la reacción. Con los fosforanos estabilizados por resonancia predomina el isómero trans, mientras que el aumento de polaridad del solvente incrementa la proporción del isómero cis (Bergelson y Shemyakin, 1953).

La formación de las olefinas isómeras, cis y trans, dependerá de la configuración de la betaina intermediaria, que según el caso puede ser eritro (XXII) o treo (XXIII).



Un factor que desempeña un papel en la estabilidad de las conformaciones de las betaínas eritro y treo, es el volumen de los sustituyentes, los cuales tenderán a distribuirse de manera de estar a máxima distancia, adoptando la molécula una conformación estrellada eritro (XXII) o treo (XXIII), en las cuales el fósforo y el oxígeno ocupan una posición sesgada y el fósforo y sustituyente R' una posición transoide.

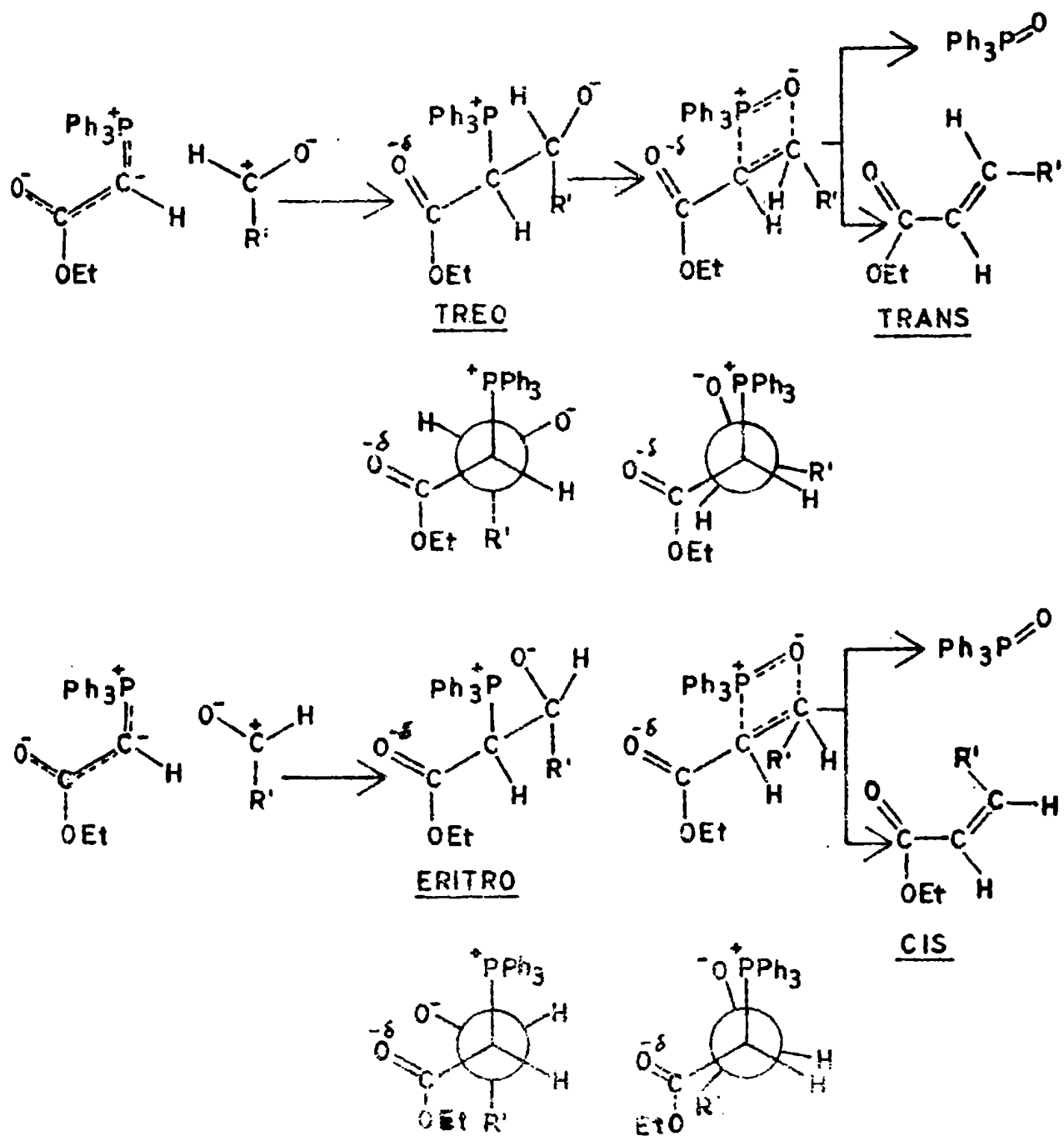
Este factor se vé en parte contrarrestado por las cargas reales de los átomos de fósforo y oxígeno, que darán origen a fuerzas de atracción dipolar interna, tendiendo la molécula a adoptar conformaciones eclipsadas (XXVI) o (XXVII).

En la conformación más estable, la betaína eritro se diferenciará de la treo por la interacción desfavorable entre el sustituyente R y el oxígeno.

Es por lo tanto evidente, que la betaína treo (XXIII) se formará con mayor facilidad, por razones estereoquímicas y eléctricas. Su conformación eclipsada (XXVII) o muy vecina a ésta, será más estable que en el caso del diastereoisómero eritro (XXVI).

Si se tiene en cuenta que las conformaciones eclipsadas (XXVI y XXVII) son cuasi representativas de los complejos de cuatro miembros (XXIV y XXV), se vé claramente que la betaína eritro conducirá por eliminación de óxido de fosfina a una cis olefina, mientras que la treo betaína conducirá al isómero trans.

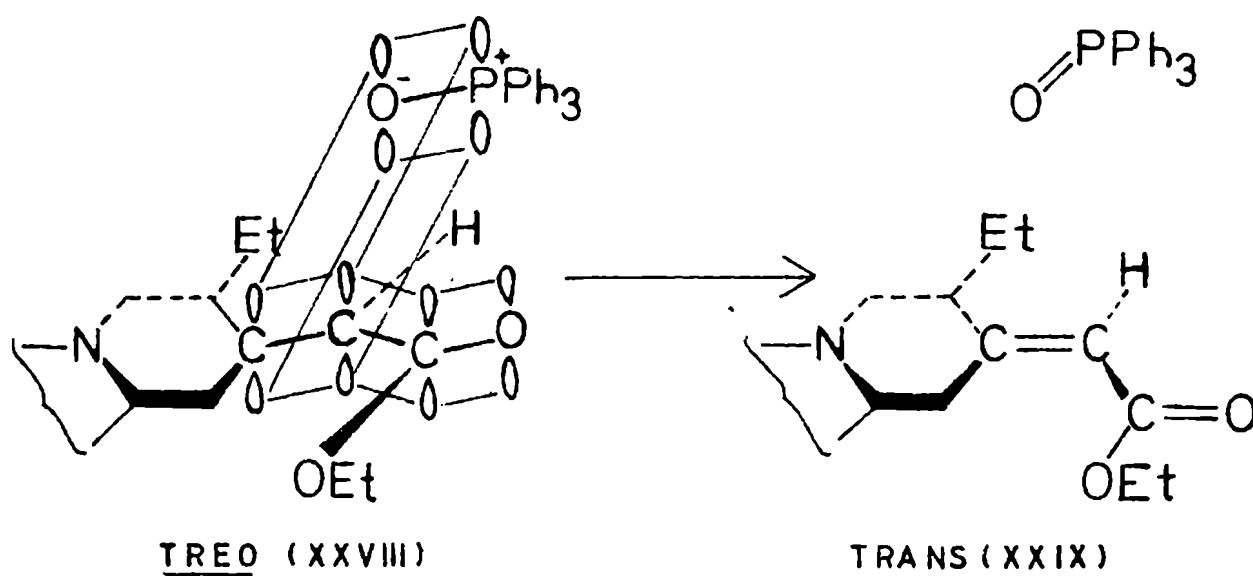
Nota: La designación eritro se refiere a la betaína diastereo-isómera cuya configuración es tal que en una de las conformaciones (proyección de Newman) se eclipsan entre sí ambos átomos de hidrógeno y ambos sustituyentes R y R'. El término treo se refiere al otro diastereoisómero.



Heuse y Kasmasen (1961), postularen que la interacción estérica entre el ilure y el compuesto cetónico en la formación de la betaína no es suficiente para explicar el valor de la razón trans/cis y señalaron que la betaína tree (que conduce a la trans olefina) requiere menor energía de activación que la be-

taíne eritro (que produce cis olefinas).

En nuestro caso particular, la formación de la betaína treo (XXVIII) se estabilizaría por interacción de los electrones pi del carbonilo con los de la doble ligadura en desarrollo, mientras que en la formación de la betaína eritro (XXX) la compresión estérica entre el carboxilo y el etilo dificulta una estabilización similar por falta de coplanaridad, produciendo un aumento de la energía de activación.



Junto a los factores mencionados anteriormente, se agrega en este caso otro más, cual es la presencia de un etilo ecuatorial en posición alfa al grupo carbonilo.

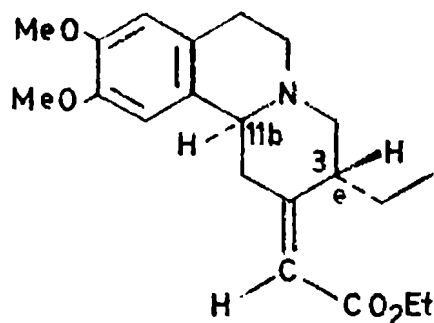
Evidentemente el ión dipolar formado por la unión de la cetona (IX b) y el fosforano (XVII; R=Et) puede tomar dos posibles configuraciones, eritro (XXX) y treo (XXVIII), de las cuales la última es la preferida por estar a distancia máxima los grupos voluminosos carboxilo y etilo y las dos cargas negativas.

El estudio con modelos moleculares permite ver claramente

en la cetona (IXb) donde la ciclohexanona tiene una conformación relativamente rígida, que el grupo etilo ecuatorial inhibe casi totalmente por razones estéricas, la formación de la eritro betaína correspondiente (XXX).

El volumen del grupo etilo y carboxilo es tal, que su cercanía constituye un factor que inestabiliza dicha configuración. En cambio, en el caso de la betaína treo (XXVIII) el alejamiento de ambos grupos elimina el factor estérico mencionado.

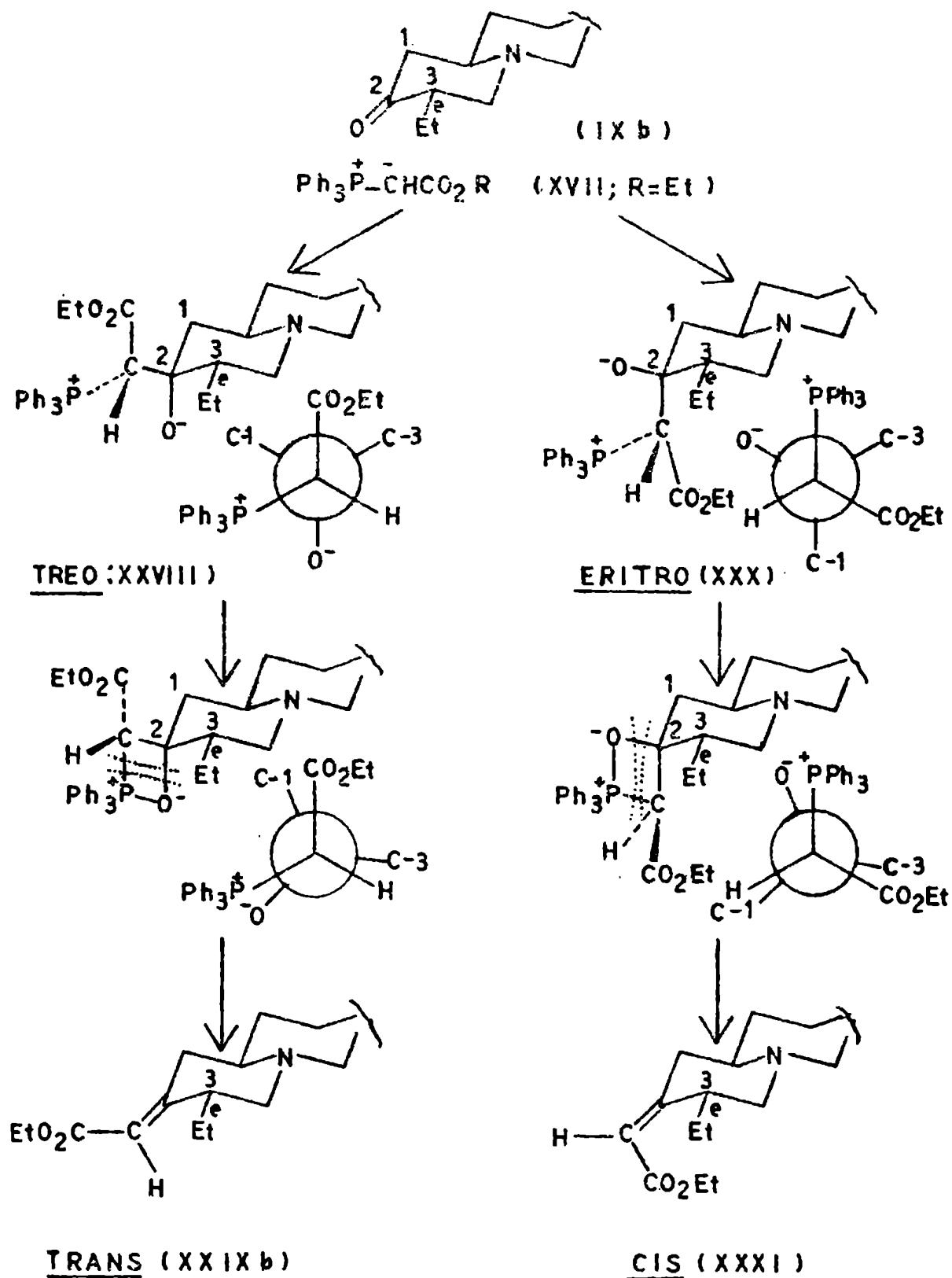
El papel decisivo que juegan todas estas interacciones estéricas se vé corroborado por el hecho que no ha sido posible aislar ni detectar cromatográficamente el éster $\alpha\beta$ -no saturado cis de estructura (XXXI).



(XXXI)

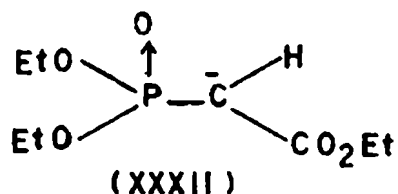
Como la formación de ambas betaínas ha sido considerada por todos los autores rápida y reversible, a medida que se consume más velozmente la betaína treo (que forma trans olefina) se producirá un desplazamiento del equilibrio en el sentido de su formación a partir de la eritro (que produce cis olefina) y por lo tanto predominará la primera.

Nota: Siguiendo la nomenclatura convencional designamos estereoisómero trans a aquel en el cual el grupo éster está en esa posición respecto al carbono beta más sustituido.



d) La reacción de Wittig modificada (empleo de fosfonatos).

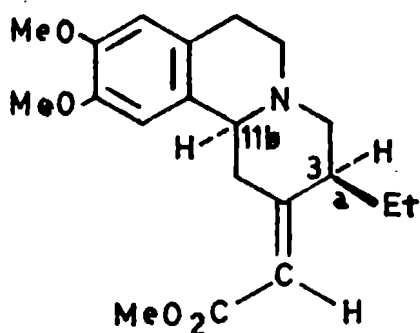
Además de la reacción de Wittig descrita anteriormente se ha utilizado una modificación de la misma (Horner y col., 1962) que consiste en emplear como reactivo un anión fosfonato (XXXII) en lugar del fosforano, siendo necesario para preparar el primero, añadir una base al medio de reacción, base que también influye en el resultado de la condensación.



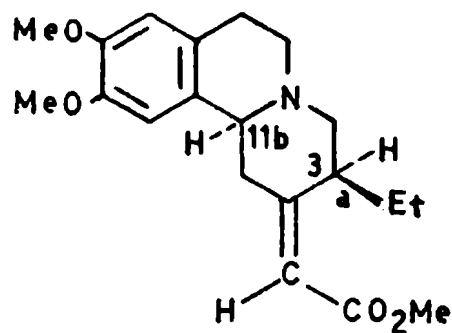
La principal ventaja que presenta la modificación de Horner, es que debido al mayor carácter nucleofílico del anión fosfonato respecto a los correspondientes fosforanos, se condensan con aquellos compuestos carbonílicos que lo hacen dificultosamente con estos últimos. Además su preparación es más económica y la separación de los productos más fácil.

Desgraciadamente en el caso de la cetona (IX) esta reacción conduce a mezclas de productos que malogran las buenas condiciones operativas, pues la base presente determina la epimerización en el carbono 3. Por lo tanto se forman ésteres α - β -no saturados en los cuales dicho carbono posee una configuración opuesta a la existente en los alcaloides naturales.

Se explican así los resultados obtenidos por Openshaw y Whittaker (1963) al aplicar por vez primera la modificación fosfónica de la reacción de Wittig (empleando hidruro de sodio como base en dimetoxietano o metilato de sodio en metanol) a la cetona (IX). Encontraron que se formaban solamente los dos ésteres α - β -no saturados (XXXIII) y (XXXIV) en los cuales el carbono



(XXXIII)

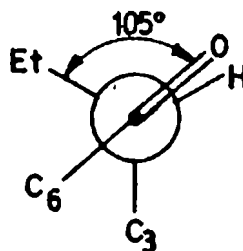
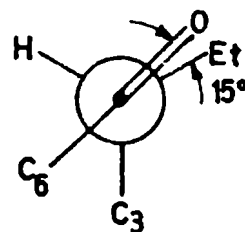
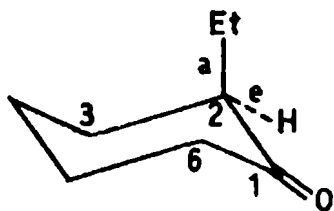
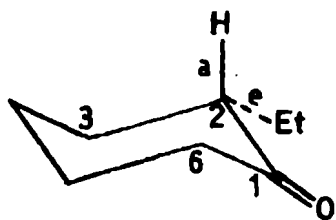


(XXXIV)

3 poseía la configuración opuesta a la natural.

Esta epimerización es un ejemplo más del denominado efecto "2-alkil cetona" estudiado por varios autores (Robins y Walker, 1954; Klyne, 1956; Allinger y col., 1961).

Los mismos indicaron que un grupo 2-alkilo ecuatorial (el efecto es sólo válido para alquiles superiores al metilo) vecino al grupo carbonilo de una ciclohexanona, determina que en la conformación silla el grupo alquilo (etilo en nuestro caso) y la doble ligadura del carbonilo se encuentran casi completamente eclipsados.



Debido a este eclipse, la diferencia de energía entre la conformación con el etilo axial y el etilo ecuatorial, disminuye a 0,5 Kcal/mol (1,5 Kcal/mol para el ciclohexano) permitiendo la existencia de un equilibrio donde ambos epímeros se encuentran en concentraciones relativamente altas.

Sin embargo cuando posteriormente Szántay y col. (1967) efectuaron condensaciones por el mismo método empleando t-butoxido de potasio como base y dimetilformamida como solvente, obtuvieron no solamente los dos isómeros aislados por los autores ingleses (XXXIII y XXXIV), sino también ^{el} trans (XXIX) no epimerizado, con un rendimiento tan elevado como el que obtenían empleando la reacción de Wittig original (58%).

Ambos grupos de autores coinciden en que la base empleada (hidruro de sodio, t-butoxido de potasio o metilato de sodio) es el principal factor catalizante de la epimerización, pero no hay acuerdo en los detalles de esa catálisis, pues mientras los primeros piensan que la epimerización es más rápida a medida que se emplean bases más fuertes, Szántay y col. son de opinión que el factor más importante es el exceso de la misma.

A nuestro juicio no hay en este momento datos cuantitativos adecuados que permitan resolver esta diferencia.

El mecanismo de la reacción que emplea el fosfonato es muy similar al descrito para los fosforanos. La formación de las betainas es también reversible y ocurrirá con ambos epímeros de la cetona (IX). La estabilización será mayor cuando el grupo etilo ocupa una posición axial y reaccionará más velozmente que aquella que contiene el etilo ecuatorial.

e) Estructura del éster α - β -no saturado

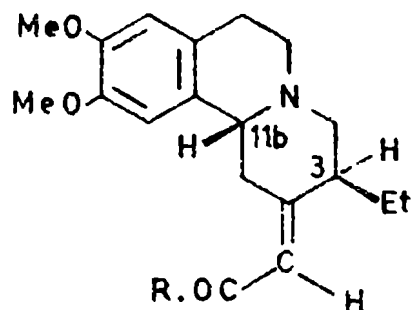
El éster α - β -no saturado (XXIX) fué preparado por vez pri-

mera en el año 1963 por dos grupos distintos de investigadores. Openshaw y Whittaker lo hicieron empleando la reacción de Wittig original, mientras que Szántay y col. mediante el uso de la modificación fosfónica.

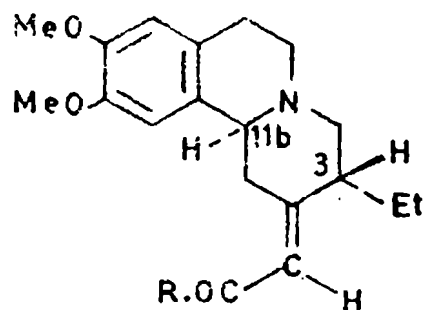
Los autores ingleses realizaron la reacción de Wittig con la cetona (IX rac.) y (IX b) en ausencia de solvente a 152° y obtuvieron el éster α - β -no saturado (XXIX rac.; R=OMe) y (XXIX b; R=OMe) sin epimerizar en carbono 3, con un rendimiento de 54 y 67% respectivamente, que en el primer caso fué levemente aumentado a 58% cuando la reacción se efectuó en xileno.

Nosotros hemos realizado la síntesis por ambas modificaciones a partir de la cetona (IX rac.) y (IX a) obteniendo el éster (XXIX rac.; R=OEt) y (XXIX a; R=OEt). En ambos casos los rendimientos fueron prácticamente idénticos a los descriptos.

La hidrólisis ácida condujo al compuesto carboxílico correspondiente (p. ej. XXIX a; R=OH).



(XXIX a)



(XXIX b)

La disponibilidad del éster α - β -no saturado (XXIX; R=OEt), del saturado (V'; R=OEt) así como de la cetona (IX) nos permitió realizar el estudio de sus espectros N.M.R. (Figuras 1, 2 y 3

respectivamente) y confirmar que el compuesto resultante de la reacción de Wittig es el isómero trans. Este hecho está plenamente de acuerdo con la teoría mecanística de la reacción.

En estos espectros son característicos los desplazamientos químicos de los protones en carbono 8 y 11 y de los dos grupos metoxilos en carbono 9 y 10 del núcleo bencénico.

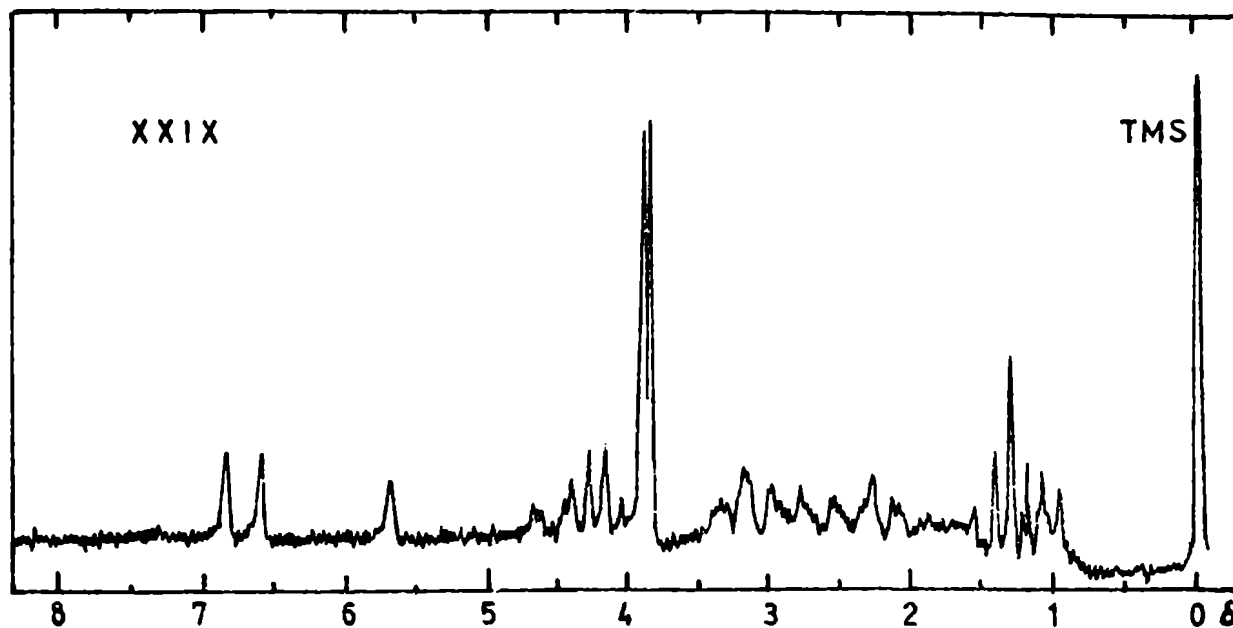
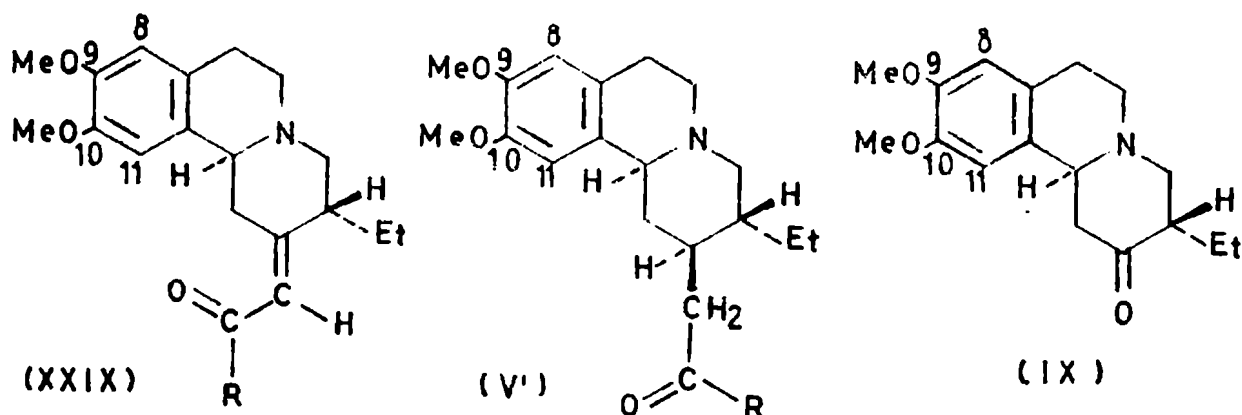


Figura 1.- Espectro N.M.R. del éster α - β -no saturado (XXIX; R=OEt)

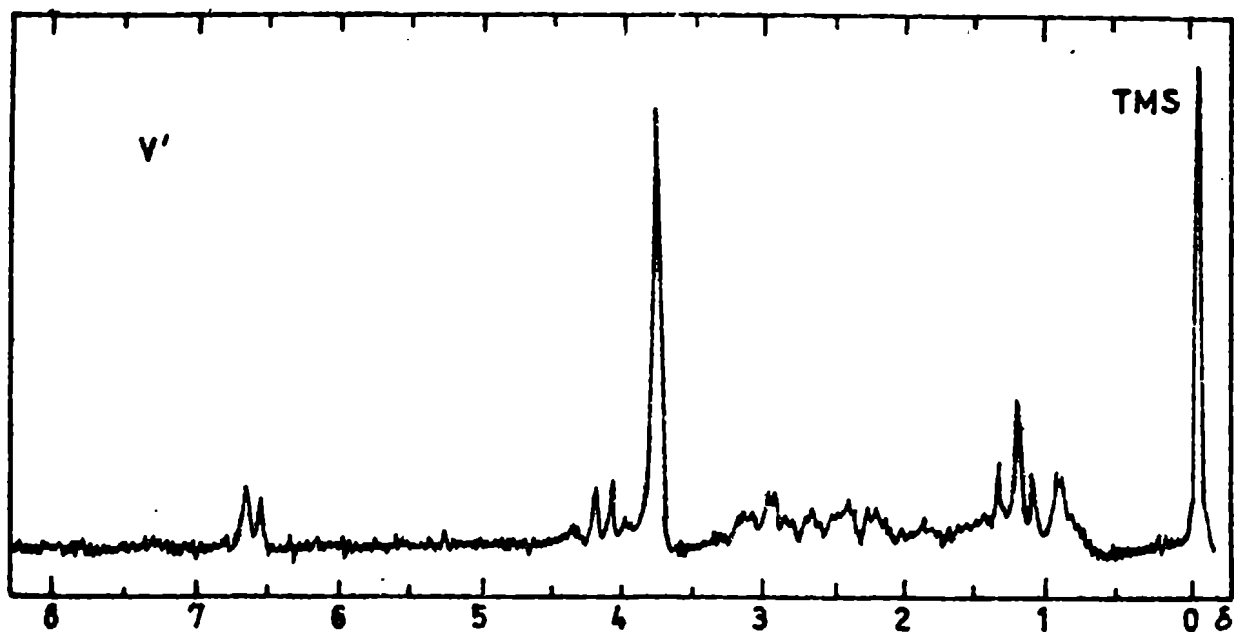


Figura 2.- Espectro R.M.N. del éster saturado (V'; R=OEt).

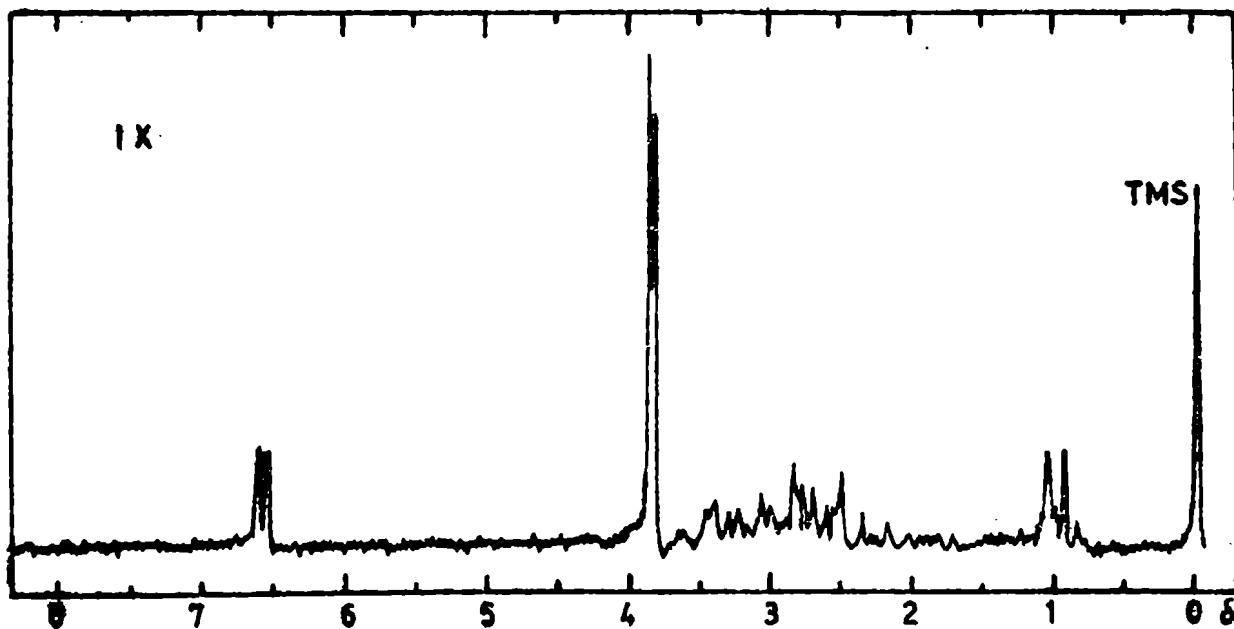


Figura 3.- Espectro R.M.N. de la cetona (IX).

TABLA 1.

Protón	XXIX	V'	IX	$\Delta \delta$ entre XXIX y V'-IX
H-8	6,60 δ	6,55 δ	6,55 δ	0,05 δ
H-11	5,83 δ	6,64 δ	6,62 δ	0,19-0,21 δ
OCH ₃ -9	3,85 δ	3,78 δ	3,82 δ	0,03-0,07 δ
y 10	3,90 δ		3,85 δ	0,05-0,12 δ

Los valores de la Tabla 1, muestran que en la cetona (IX) y en el éster reducido (V'; R=OEt) donde el grupo carboxilo puede girar libremente, se encuentran muy pequeñas diferencias en el desplazamiento químico correspondiente a los protones de los carbonos 8 y 11; además los dos metoxilos en carbono 9 y 10 dan un sólo pico integrado para seis protones en el caso del éster reducido. Cuando se comparan esos valores con los obtenidos con el éster α - β -no saturado (XXIX; R=OEt), se observa que mientras el desplazamiento del protón del carbono 8 es casi el mismo que en el caso del éster saturado, el protón del carbono 11 se desplaza claramente a campos más altos. A su vez los grupos metoxilos en carbono 9 y 10 dan dos señales separadas y desplazadas a campos mayores (3,85 δ y 3,90 δ).

Consideramos que esos desplazamientos a campos más altos, en especial el correspondiente al protón en el carbono 11 y de

los metoxilos, es un resultado del efecto desprotector del carbonilo ($-\text{CO}_2\text{Et}$) sobre los mismos. Pensamos que el metoxilo del carbono 10 sería el más desplazado. La construcción de modelos moleculares permite justificar estas conclusiones.

A conclusiones similares llegaron Szántay y col. (1967), en un trabajo publicado recientemente. Estos autores tuvieron oportunidad de determinar también el espectro N.M.R. del éster α - β -no saturado trans (XXXV) (Figura 4) y cis (XXXVI) (Figura 5). En éste último, el carboxilo ya no tiene influencia sobre los desplazamientos de los protones señalados. En ambas sustancias el carbono 3 ha sufrido una epimerización.

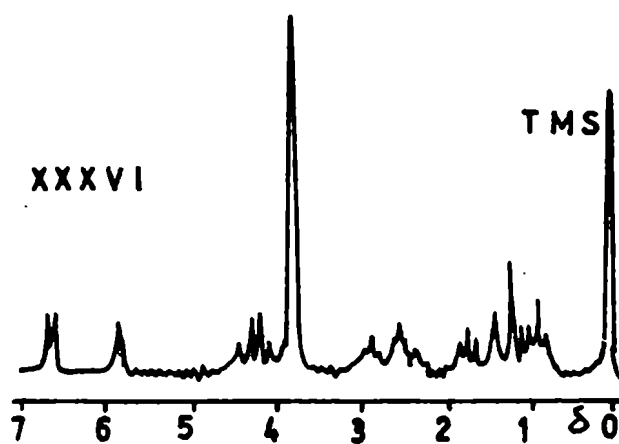
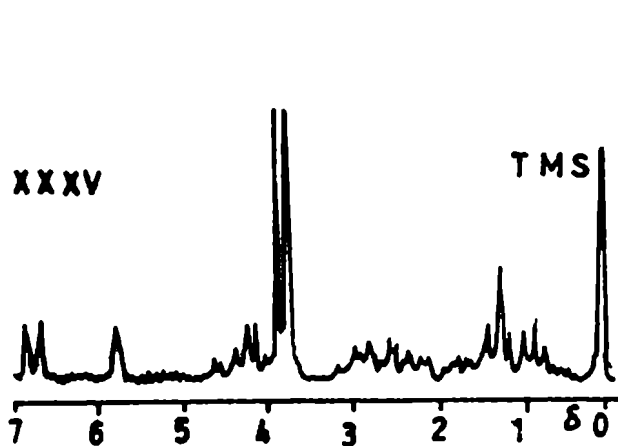
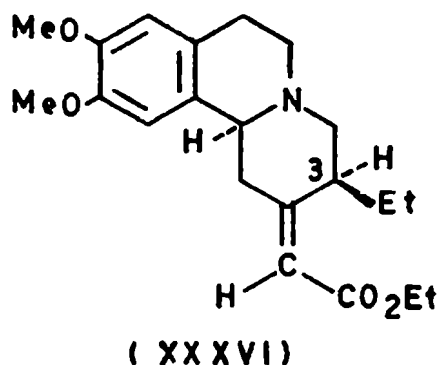
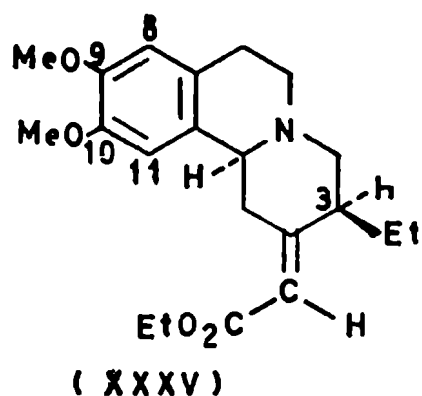


Fig. 4.-Espectro NMR del éster α - β -no saturado (XXXV)

Fig. 5.- Espectro NMR del éster α - β -no saturado (XXXVI)

Sus valores se indican en la Tabla 2 y puede verse como los desplazamientos en el compuesto (XXXVI) se acercan a los del éster saturado (V'; R=OEt) y a la cetona (IX).

TABLA 2

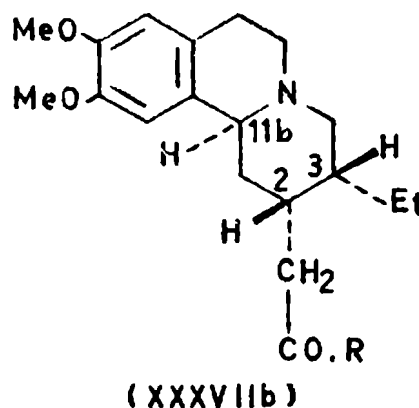
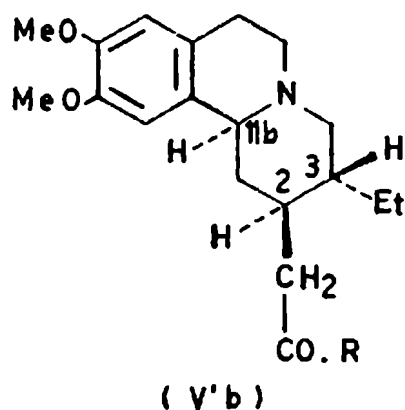
Protón	XXIX *	XXV	XXXVI
H-8	6,60 δ	6,60 δ	6,60 δ
H-11	6,83 δ	6,83 δ	6,66 δ
OCH ₃ -9 y 10	3,82 δ	3,82 δ	3,86 δ
	3,89 δ	3,90 δ	

* Valores dados por Szántay y col.

5. Preparación del éster saturado (V'; R=OEt).

La siguiente etapa de la síntesis, consiste en la preparación del sintón (V') por reducción de la doble ligadura presente en el éster (XXIX). Esta reducción puede dar lugar a la formación de un par de diastereoisómeros al crearse un nuevo centro asimétrico en el carbono 2. Openshaw y Whittaker (1963) debieron buscar condiciones que determinaran una reducción estereoespecífica del éster (XXIX), de tal manera que se obtuviera el rendimiento máximo posible del compuesto con la configuración deseada en el carbono 2 (V').

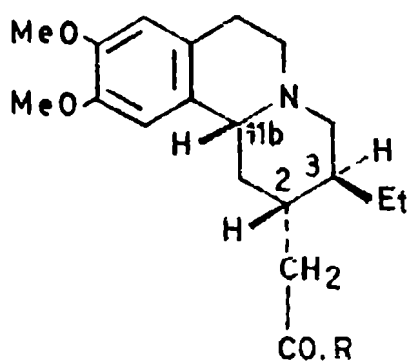
En un estudio preliminar, utilizando el éster (XXIX rac.; R=OMe) encontraron que su hidrogenación empleando platino, en clorhídrico metanólico, producía el (+)-2,3-trans-éster (V'rac.; R=OMe) con un rendimiento del 51%, mientras que el empleo de paladio-C 5% en el mismo medio lo aumentaba al 74%.



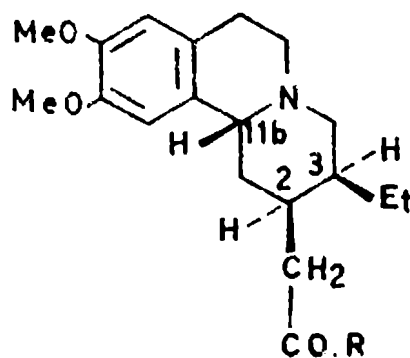
Con el (+)-éster α - β -no saturado (XXIX b; R=OMe) cuyos carbonos asimétricos tienen una quiralidad idéntica al natural, obtuvieron un 68% de rendimiento del (-)-2,3-trans-éster (V' b; OEt en lugar de OMe) al usar platino. Se forma siempre una cierta cantidad del epímero en el carbono 2 (XXXVII b; R=OMe) que no se pudo cristalizar (Openshaw y Whittaker, 1963).

En nuestro caso, partiendo de un éster α - β -no saturado de quiralidad opuesta a la estructura benzoquinolizínica natural (XXIX a; R=OEt) obtuvimos empleando Pt un 50% de rendimiento del éster (V'a; R=OEt) cristalizado, rendimiento que subió con paladio-C al 60%. No pudimos llegar a obtener los rendimientos descritos para el otro enantiómero por Openshaw y Whittaker (1963). En los líquidos madres de cristalización fué detectado por cromatografía el epímero (XXXVII a; R=OEt).

La hidrólisis condujo al compuesto carboxílico correspondiente (V' a; R=OH).



(V'a)



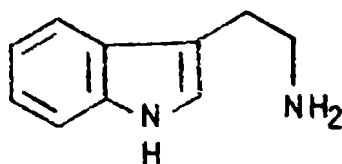
(XXXVIIa)

6. Preparación de las amidas.

a) Activación de la función carboxilo. Método de los anhídridos mixtos.

Para lograr estructuras del grupo de la tubulosina (I'), debe prepararse en la etapa siguiente la amida del ácido benzoquinolizínico (V'; R=OH) con triptamina (XXXVIII) o sus derivados. Uno de los mejores métodos para efectuar esta condensación, es utilizando derivados de la función carboxilo que activen esta última y en particular los anhídridos mixtos.

Esta activación, que es relativamente fácil de realizar, tiene la ventaja especial que si se preparan los anhídridos mixtos de los semiésteres etílico o isobutílico del ácido carbónico,

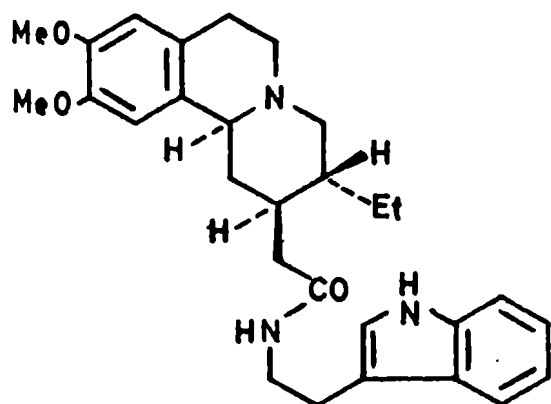


(XXXVIII)

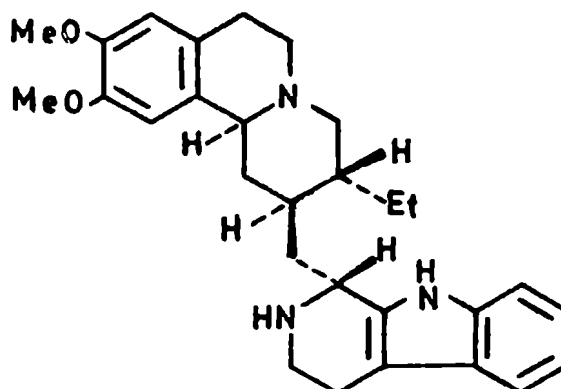
se eliminan fácilmente el anhídrido carbónico y el alcohol que se producen como sustancias secundarias de la reacción.

Este método empleado para obtener carboxilos activados destinados a la síntesis de péptidos (Wieland y Sehring, 1950; Vaughan y Osato, 1951; Boissennas, 1951) fué usado por primera vez para activar el ácido benzoquinolizínico (V' rac.; R=OH) por Battersby y col. (1961) en la síntesis de la deoxitubulosina (XL rac.).

Para ello prepararon la amida (XXXIX rac.) a partir del éster (V' rac.; R=OEt), con un rendimiento del 37%. Cuatro años más tarde (Battersby y col.) repitieron la síntesis anterior, empleando el éster levógiro (V' b; R=OEt) con un rendimiento del 45%.



(XXXIX b)

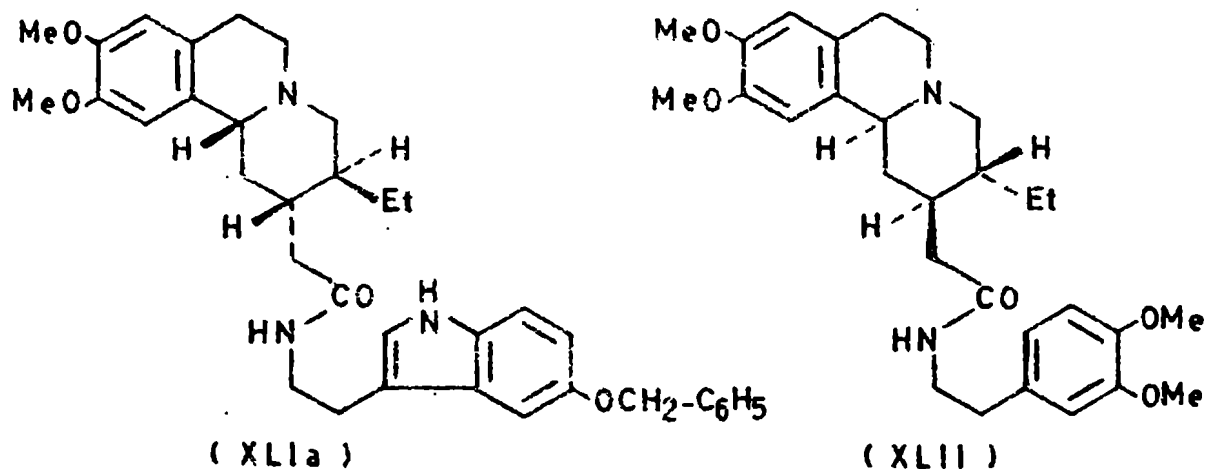


(XL b)

Nuestra preparación de los anhídridos mixtos fué efectuada haciendo reaccionar el ácido (+) benzoquinolizínico (V' a; R=OH) con cloroformiato de etilo o isobutilo, de preferencia el último, en cloroformo anhidro y en presencia de trietilamina que fija el ácido clorhídrico producido.

Mediante el empleo de éstos anhídridos obtuvimos con la 5-

benciloxitriptamina (IV; $R=CH_2C_6H_5$), la amida correspondiente (XLI a) enantiómera de la sintetizada por Openshaw y Whittaker (1966) por catálisis con α -piridona (XLI b).



Los rendimientos óptimos (35%) se obtienen empleando el éster isobutílico, pues con el etílico no supera el 15%.

b) Formación de amidas por fusión directa de la amina y el éster.

Efectuamos además diversas tentativas en aumentar aún más el rendimiento de la reacción de condensación.

Como Openshaw y Whittaker (1963) habían obtenido rendimientos elevados de amida (XLII rac.) (79%) por calentamiento directo del éster (V' rac.; $R=OMe$) y la homoveratrilamina (II; $R=Me$ en carbono 3 y 4), estudiamos el método para la condensación con triptamina.(XXXVIII).

Se empleó el éster saturado (V' rac.; $R=OEt$), calentándolo con triptamina a 180° en corriente de nitrógeno. La amida (XXXIX rac.) se obtiene con rendimiento del 40-45%, que si bien menor que el obtenido en el caso de la homoveratrilamina era del mismo orden que los logrados por Battersby y col. (1961) empleando el método del anhídrido mixto.

Desgraciadamente, los primeros ensayos demostraron que la reacción de fusión directa no puede aplicarse con 5-benciloxi-triptamina (IV; $R=CH_2C_6H_5$), pues como deben utilizarse temperaturas elevadas (260°) se forma una masa de reacción oscura de la cual no pudo obtenerse la amida esperada (XLI a) ni identificarse su presencia por cromatografía en placa.

c) Estructura de la amida no saturada (XLIII rac.)

Se trató de ver también si se obtenían mejores resultados invirtiendo el orden de las reacciones o sea condensando el ácido α - β -no saturado (XXIX rac.; $R=Et$) con las aminas, para luego reducir la doble ligadura y obtener la amida saturada.

Se efectuó una experiencia condensando triptamina (XXXVIII) con el ácido α - β -no saturado activado como anhídrido mixto (XXIX rac.; $R=OCO_2Et$) obteniéndose la amida (XLIII rac.) con un rendimiento de 67%, es decir superior al obtenido con los ácidos saturados.

La amida, por reducción, dió una mezcla de dos productos de muy difícil separación y aunque en mayor proporción pudo detectarse cromatográficamente la amida necesaria, el método no resultó conveniente a nuestros fines.

El espectro N.M.R. de esta sustancia mostró la presencia de un protón olefínico a $5,50 \delta$, indicativo de que no se había producido desplazamiento de la doble ligadura durante la reacción.

La ausencia de desplazamiento en la doble ligadura es interesante, porque Openshaw y Whittaker (1963), al condensar el mismo éter con homoveratrilamina obtuvieron una amida a la cual asignaron una doble ligadura endocíclica (XLIV rac.)

El espectro N.M.R. de nuestra amida, presenta los picos

correspondientes a los protones en el carbono 8 y 11, así como de los metoxilos en los carbonos 9 y 10 casi idénticos en sus desplazamientos a los que se encuentran en el éster α - β -no saturado (XXIX) (Tabla 3). (Figura 6).

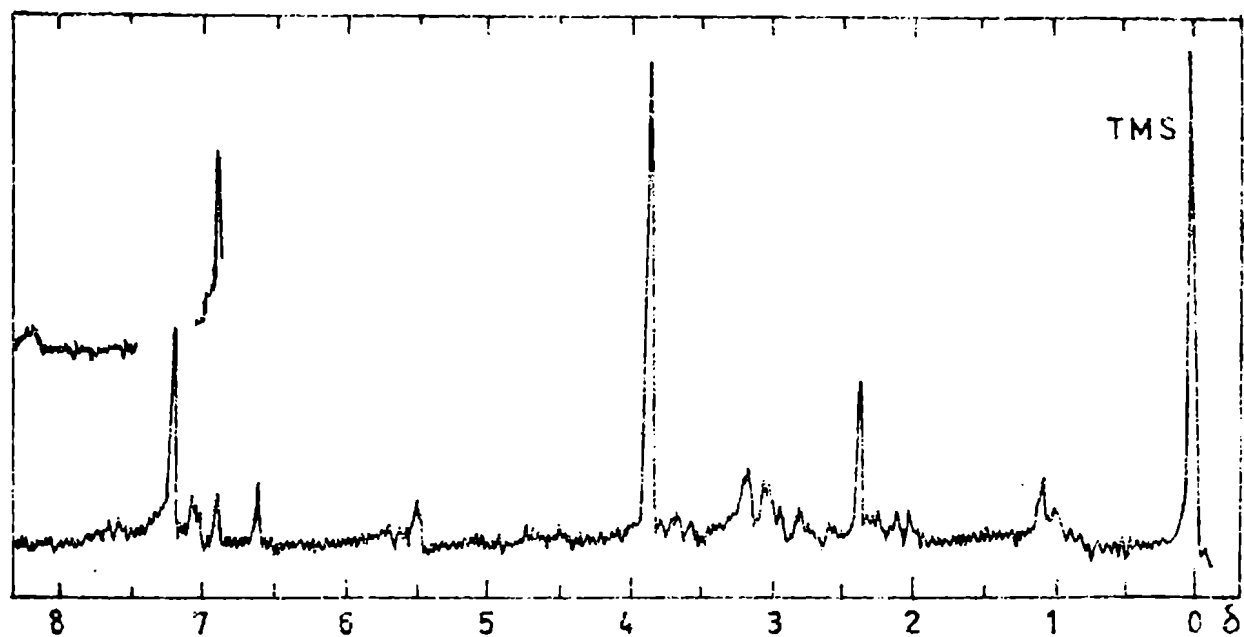
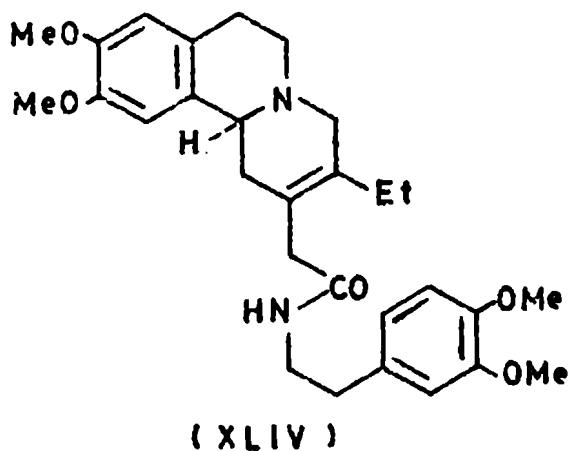
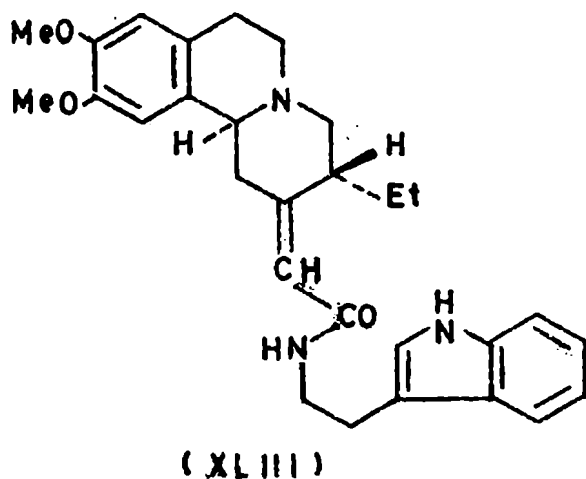


Figura 6.- Espectro R.M.N. de la amina no saturada (XLIII).

TABLA 3

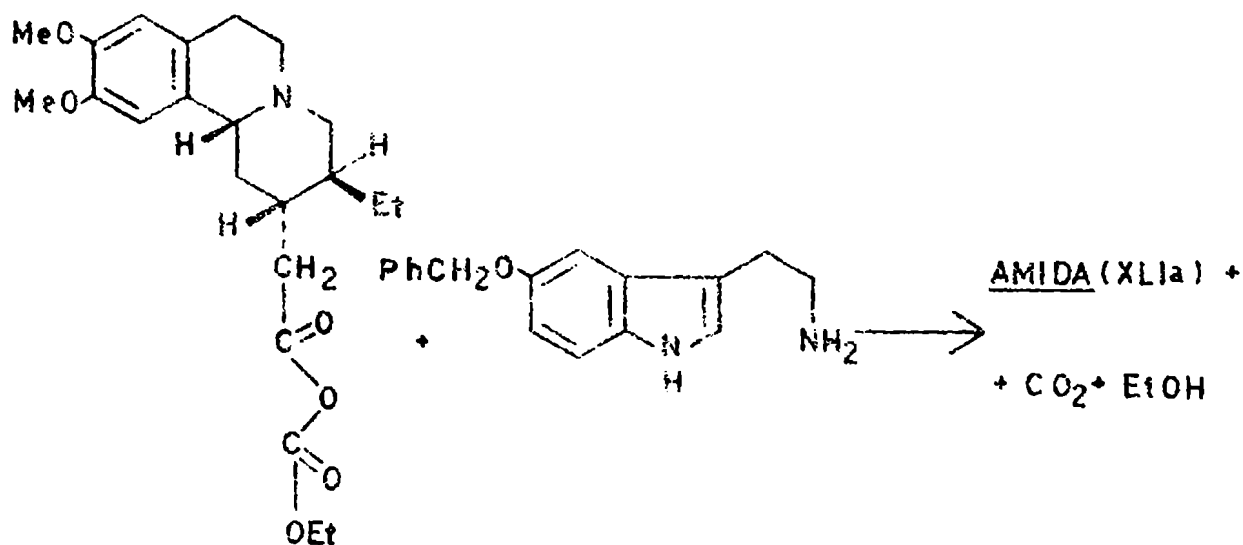
PROTON	XLIII	XXIX
H-8	6,61 δ	6,60 δ
H-11	6,89 δ	6,83 δ
OCH ₃ -9 y 10	3,88 δ	3,85 δ
		3,90 δ
H olefínico	5,50 δ	5,70 δ

d) Reacciones secundarias durante la reacción de formación de amidas.

El estudio cromatográfico de la condensación de triptaminas con carboxilos activados, nos indicó que además de la amida buscada y de una porción de amina sin reaccionar, se encontraba presente una tercera sustancia que fué separada y caracterizada como el éster etílico del ácido original (V'; R=OEt). La medida del poder rotatorio demostró que no se había producido modificación estereoquímica alguna durante el proceso.

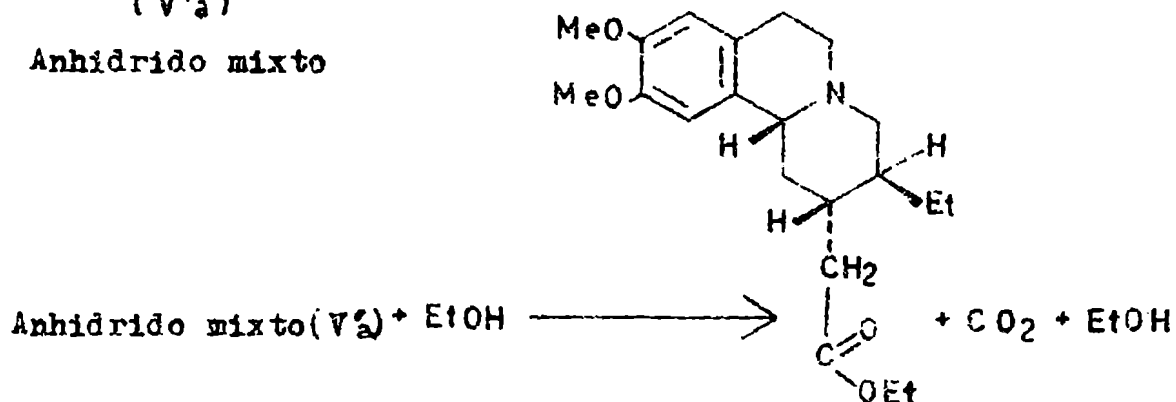
La formación de ésteres fué observada en los casos de síntesis de péptidos vía anhídridos mixtos, pero en la reacción de formación de amidas del ácido benzoquinolizínico (V'; R=OH) no había sido señalada.

La formación del éster puede explicarse por tres caminos principales. Uno de ellos consiste en admitir que el anhídrido mixto (V'a; R=OCO₂Et) reacciona con el alcohol liberado durante la formación de la amida (XLI a) (Esquema 1).

ESQUEMA 1

(V'a)

Anhidrido mixto



Ester saturado (V'a)

Si este fuera el único mecanismo, es difícil explicar la apreciable cantidad de éster que se forma, especialmente en un medio en que se halla presente una amina primaria como la 5-benziloxitriptamina que se acilaría preferentemente en lugar del

Nota: En los esquemas de reacción siguientes, para mayor claridad de los mismos, se indica también la composición del sustituyente R en las fórmulas del anhidrido mixto (V'a; R=OCO₂Et) y el éster saturado (V'a; R=OEt).

alcohol.

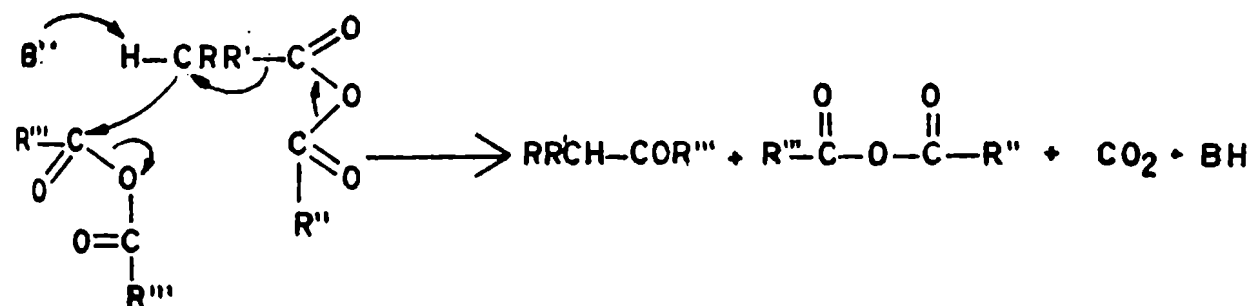
Se han propuesto otros dos mecanismos para explicar la formación del éster etílico. Son bastante similares, pues ambos implican una transposición dentro de la molécula con liberación de anhídrido carbónico. Esta eliminación se vería facilitada en ambos casos por la geometría de la molécula, que permitiría la formación de sendos intermediarios de cuatro miembros (XLV) y (XLVI), que por simultáneos desplazamientos electrónicos conducirían a la formación del éster por pérdida de anhídrido carbónico.

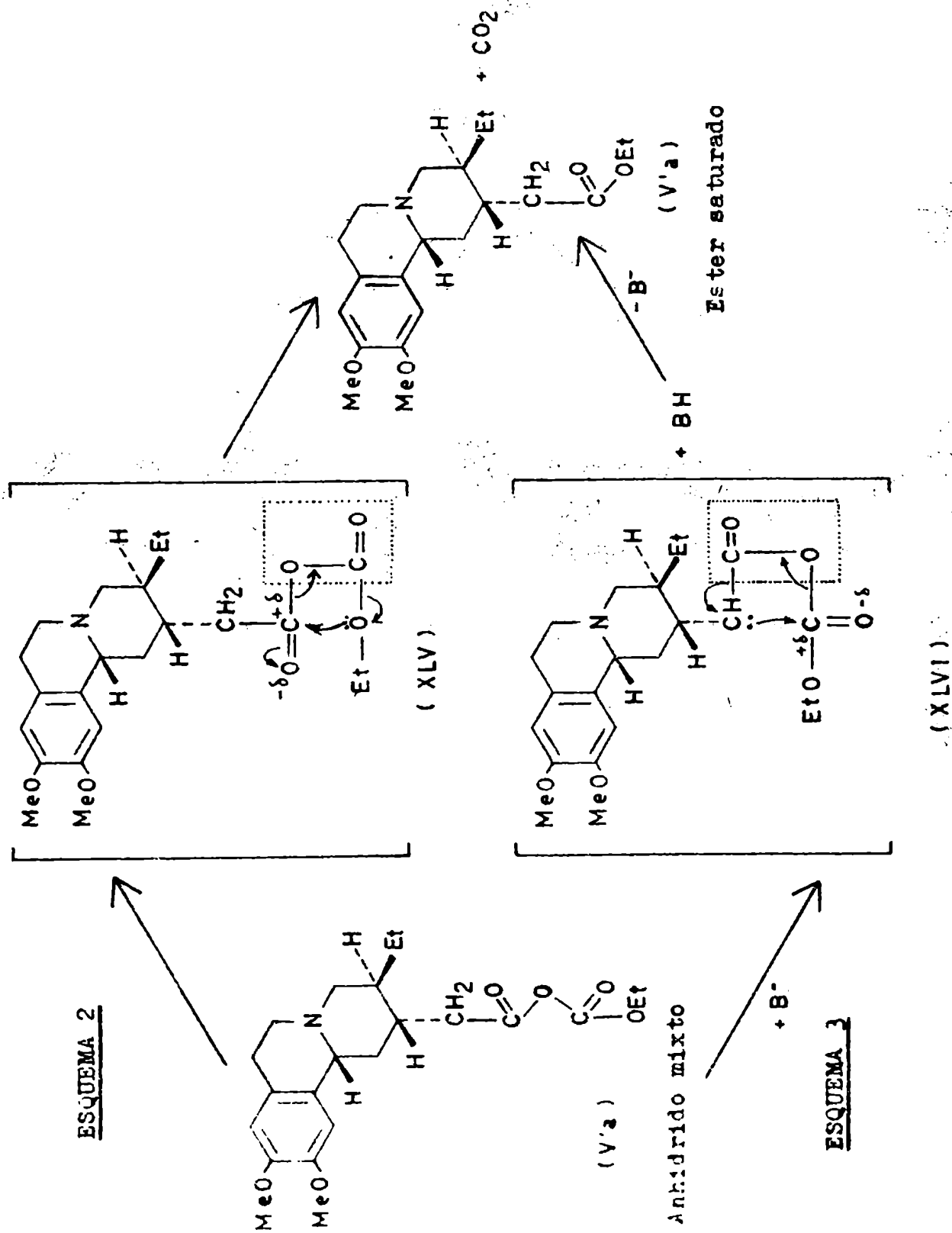
En uno de éstos mecanismos (Esquema 2), el desprendimiento de anhídrido carbónico tiene su origen en el carbonilo del semiéster activante, produciéndose simultáneamente una transposición del grupo etoxilo (Vaughan, 1955).

El otro mecanismo (Esquema 3), ha sido propuesto por Albertson (1962) extendiendo a éste caso la interpretación realizada por King y Mc Millan (1951, 1955) para explicar la reacción de Dakin y West.

Esta reacción de acilación descarboxilativa, tiene lugar cuando se trata un ácido carboxílico con un agente acilante, de preferencia el anhídrido acético, en presencia de una base (piridina).

Por calentamiento se produce la descarboxilación y como resultado final el grupo carboxilo es reemplazado por el grupo acilo. Aplicado a nuestro caso se expresa en el esquema 3.





Es difícil decidir cual de los dos mecanismos puede aplicarse en nuestro caso. En favor del mecanismo de King y Mc Millan estaría el empleo de trietilamina, base más fuerte que la piridina, la cual aceptaría con mayor facilidad el protón del carbono alfa del ácido que se descarboxila. Por otra parte, la circunstancia que la reacción de Dakin y West sólo se realizó calentando a 60-70° por un período de varias horas, mientras que los anhídridos mixtos se preparan habitualmente a temperaturas por debajo de la ambiente, hace pensar en un mecanismo donde la ruptura de una unión carbono-carbono no sea predominante.

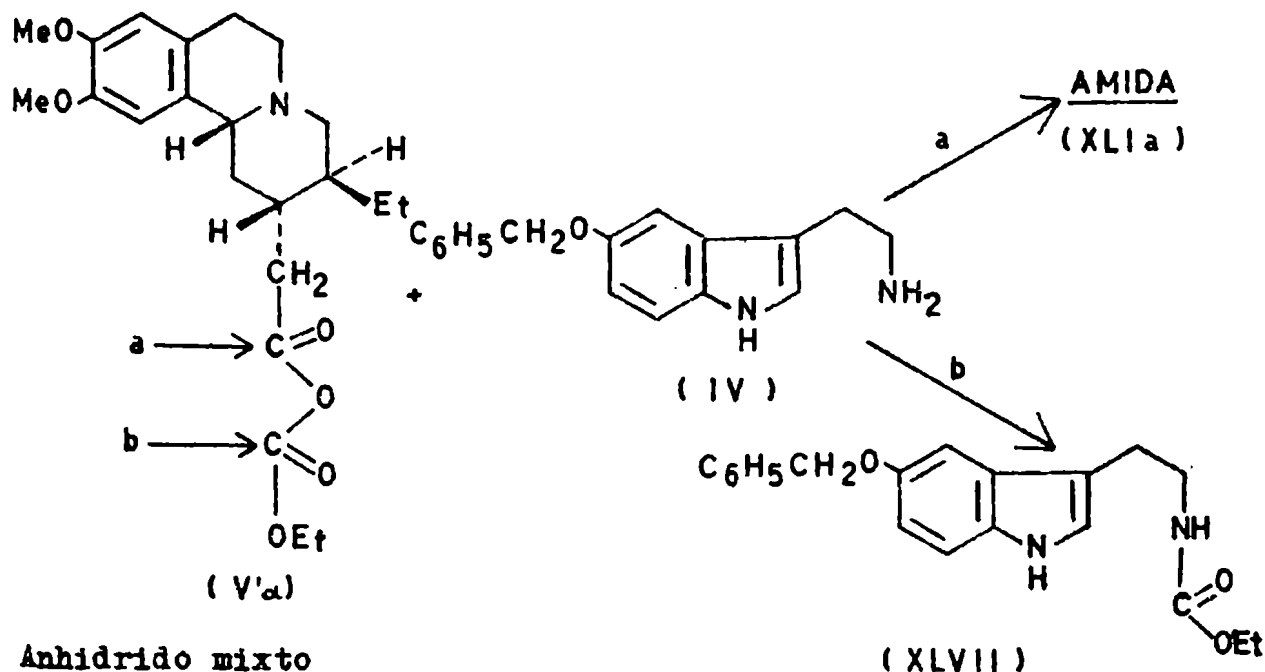
En ocasiones se observó por análisis cromatográfico de la mezcla de reacción, que amén de las tres manchas correspondientes a la amida (XLIa), la 5-benciloxitriptamina (IV; $R=CH_2C_6H_5$) y al éster (V'a; $R=OEt$) se encuentra una cuarta. La sustancia responsable de esta mancha fué aislada en una oportunidad, encontrándose que es el uretano de la 5-benciloxitriptamina (XLVII).

La formación de uretanos ha sido observada en varias oportunidades durante la síntesis de péptidos por vía de los anhídridos mixtos, no habiendo sido señalada previamente en el caso benzoquinolizínico a pesar del empleo que se ha hecho de los mismos en el último tiempo.

Su formación puede interpretarse como debido a la presencia de cloroformiato de etilo sin reaccionar o bien como un ataque nucleofílico de la amina sobre el carbonilo original del carbeto-rilo (ruta b).

Recordando que al pasar del anhídrido mixto etílico al isobutílico el rendimiento de amida aumenta del 15 al 35%, es razonable pensar que dicha mejora se debe a que entre los dos centros electrofílicos por los cuales compite la amina (carbonilos a y b),

un sustituyente que a su mayor volumen, como el grupo t-butilo suma un efecto +I mayor, determinará un aumento de la velocidad de reacción con el carbonilo b, incrementándose el rendimiento de amida.



7. Pasos finales de la síntesis.

a) La reacción de Bischler-Napieralski.

La amida (XLIa) sometida a una reacción de Bischler-Napieralski conduce a la formación de un núcleo β -carbolínico. En nuestras manos, los mejores rendimientos se han obtenido utilizando tolueno como solvente y oxiclóruo de fósforo como agente de condensación.

La dihidro- β -carbolina (XLVIIIa) es extremadamente sensible al aire y rápidamente se oxida a un producto rojo. Conviene llevarlo sin pérdida de tiempo al estado de sal. Nosotros hemos

desarrollado una metódica que se describe en la parte experimental, que permite llegar sin mayor descomposición a un dibromhidrato cristalino cuya preparación fué descrita sin detalles para la serie enantiómera por Openshaw y Whittaker (1966).

b) Reducción con borohidruro de sodio.

La reducción del dibromhidrato de la dihidro- β -carbolina (XLVIIIa) con borohidruro de sodio, dá lugar a la formación de dos epímeros en carbono 1', que corresponden a la estereoquímica de la tubulosina (LIIa) e isotubulosina (LIa).

La separación de estos diastereoisómeros O-bencilados debe realizarse mediante cromatografía en columna sobre alúmina. Desgraciadamente en nuestras experiencias se produce una proporción de O-bencil-isotubulosina (XLIXa) mucho mayor que la O-bencil-tubulosina (La). La primera se aísla como un producto cristalino, mientras la segunda es un jarabe.

c) Debencilación.

La debencilación por el método usual por hidrogenólisis (Palladio-carbón 5%) de la O-bencil-isotubulosina (XLIXa) condujo a la (+)-isotubulosina (LIa), enantiómera del producto descrito por Openshaw y Whittaker (1966).

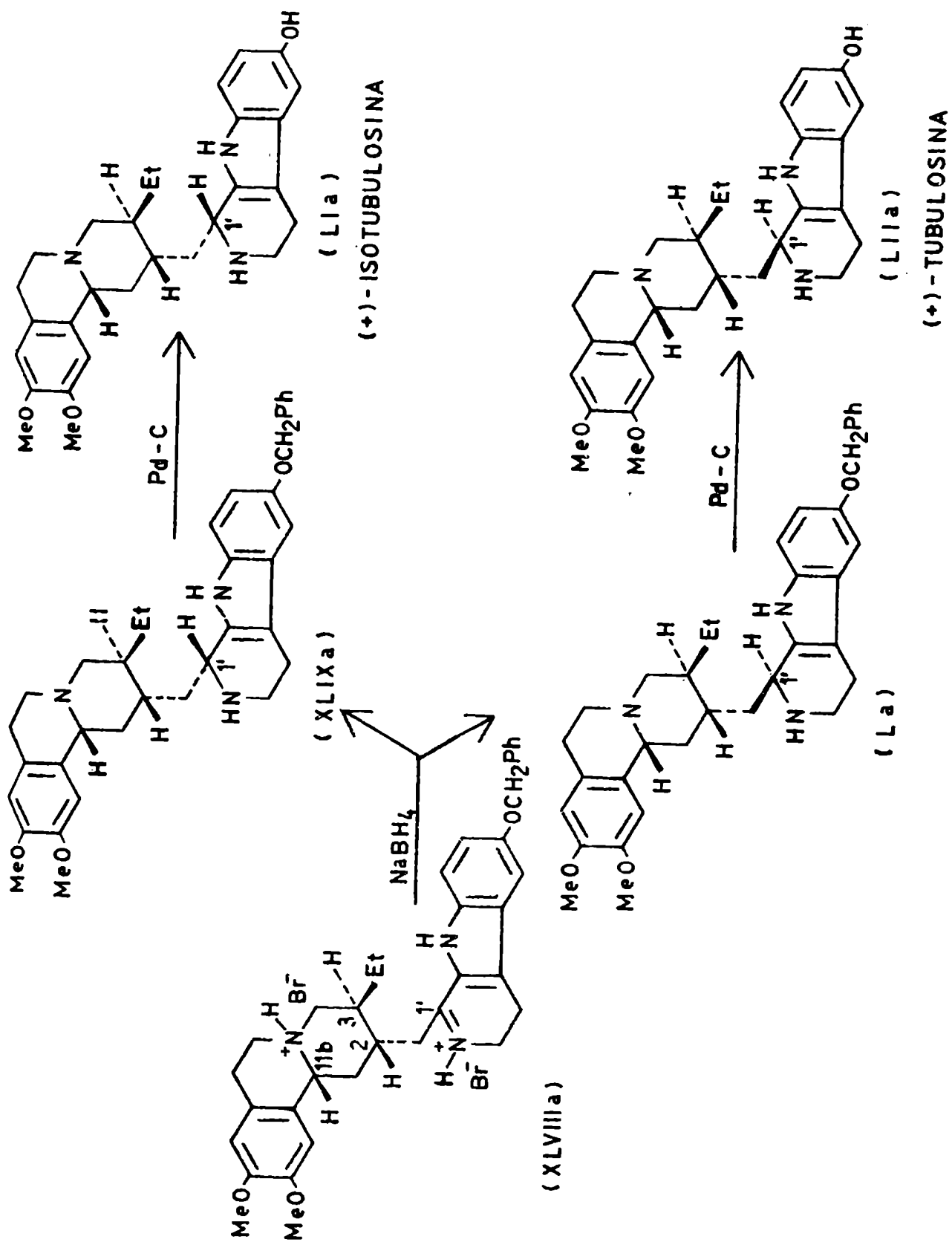
En cuanto a la preparación de la (+)-tubulosina (LIIa) se vió dificultada por el escaso material con que arribamos al paso final, pudiéndose sólo detectarse su presencia cromatográficamente; corrida sobre diversas fases fijas y con distintos sistemas de desarrollo, presentó idénticos Rf a la tubulosina natural y a la preparada por los autores ingleses.

d) Síntesis vía protoemetina. Empleo de la reacción de Pictet-Spengler.

Szántay y col. (1967) también sintetizaron la tubulosina le-

vógira y racémica, pero mediante el uso del sintón (V' ; $R=H$), que obtienen por reducción con hidruro de di-isobutil aluminio en tolueno a -60° de la función éster del compuesto (V' ; $R=OEt$) al correspondiente aldehído, obteniendo así la protoemetina (V' ; $R=H$).

Por posterior tratamiento de éste compuesto mediante una reacción de Pictet-Spengler, dichos autores obtuvieron la tubulosina e isotubulosina.



CAPITULO VIII
PARTE EXPERIMENTAL

Técnicas generales:

Los puntos de fusión determinados en tubo capilar no están corregidos.

Los espectros de absorción en el ultravioleta se determinaron en etanol 95% en un aparato Zeiss RQ 200 de registro automático. Los espectros infrarrojos se realizaron en nujol, utilizando un aparato Perkin-Elmer 137B Infracord. Los espectros de resonancia magnética nuclear se determinaron en un aparato Varian A 60, utilizando deuterocloroformo como solvente. Los poderes rotatorios fueron medidos con un polarímetro O.C.Rudolph & Sons, modelo 70.

Los solventes empleados fueron purificados según las técnicas descritas por Vogel (1959).

Para la cromatografía en placa delgada (CCD) se empleó placas de vidrio y como fase fija óxido de aluminio G según Stahl, sílica gel G según Stahl o celulosa microcristalina (Avicel) preparada según la técnica de Giacobello (1965).

Se utilizaron los siguientes sistemas de solventes de desarrollo:

Sistema 1. benceno;cloroformo:dietilamina (5:4:1)

Sistema 2: metanol

Sistema 3: n-butanol saturado de ácido acético 0,5%

Sistema 4: éter etílico

Sistema 5: cloroformo con 5% de etanol en atmósfera de amoníaco

Para obtener resultados rápidos se utilizaron frecuentemente micronlacas preparadas con portaobjetos para microscopía con capas delgadas de sílica gel G u óxido de aluminio G, pre-

paradas según la técnica de Peifer (1962).

Los cromatogramas se revelaron con el reactivo de Dragendorff modificado por Munier y Macheboeuf (1951), reactivo de Ehrlich y de Folin-Denis.

En las cromatografías en columna se utilizó alúmina neutra Woelm de actividad I.

Preparación de 5-Benciloxitriptamina (IV).

a) A partir de 5-Benciloxigramina (VI) vía 5-Benciloxi-indol-3-acetamida (VIII).

5-Benciloxi-indol-3-acetamida (VIII): Se utilizó el método de Ek y Witkop (1954). Una solución de 8,78 g ($3,15 \cdot 10^{-2}$ mol) de 5-benciloxigramina, 7,84 g de cianuro de sodio en 126 ml de etanol y 32 ml de agua fueron reflujaados durante 88 horas. Al terminar el calentamiento se había producido una pequeña cantidad de precipitado, que aumentó notablemente por añadido de 250 ml de agua. El insoluble así formado fué filtrado, lavado con agua fría y secado, obteniéndose 4,72 g (rendimiento 54%) de la amida de p.f. 132-137°.

Recristalizada de benceno conteniendo unas gotas de metanol, dió finas agujas incoloras de p.f. 157-158°. Los autores dan un p.f. de 158-159°.

Clorhidrato de 5-Benciloxitriptamina (IV): Se empleó la técnica de Ek y Witkop (1954). La reducción se realizó en un Soxhlet por el método de extracción continua empleando 5 g ($1,78 \cdot 10^{-2}$ mol) de 5-benciloxi-indol-3-acetamida (VIII) y 700 ml de éter anhidro que contienen 10 g de hidruro de aluminio y litio y se prolongó durante 40 horas.

La solución fué entonces enfriada con agua helada y se procedió a destruir el exceso de hidruro por agregado lento de eta-

nol y finalmente agua. La capa etérea se decantó y la suspensión acuosa se lavó con éter hasta reacción de indoles negativa.

Las soluciones etéreas se reunieron, lavaron con agua, secaron con hidróxido de potasio y finalmente se evaporaron al vacío a sequedad en corriente de nitrógeno. El residuo aceitoso obtenido se disolvió en 50 ml de éter anhidro y a la solución se le hizo pasar una corriente de ácido clorhídrico gaseoso, precipitando el clorhidrato de 5-benciloxitriptamina.

Se obtuvieron 3,36 g (rendimiento 62%) de clorhidrato incoloro de p.f. 257-259°. Recristalizado de isopropanol se elevó a 261-263°. Los autores describen un p.f. de 263-264° y Speeter y col. (1951) dan un p.f. de 265°.

b) A partir de 5-Benciloxigramina (VI) vía 5-Benciloxi-indol-3-acetonitrilo (VII).

5-Benciloxi-indol-3-acetonitrilo (VII): Se siguió el método de Stoll y col. (1955). A 8,4 ml de yoduro de metilo se añadió lentamente 0,600 g ($2,15 \cdot 10^{-3}$ mol) de 5-benciloxigramina. Se mantiene una agitación constante y se emplean unos 15 minutos en la adición. De inmediato se produce un precipitado blanco y se deja estacionar a 5° durante la noche. El insoluble se filtró y se secó a 50°, obteniéndose 0,909 g de yodometilato.

Se lo mezcló con 1,2 g de cianuro de sodio, se añadió 22 ml de agua y se calentó la solución resultante a 80° durante 2 horas bajo enérgica agitación. Se extrajo luego con cloroformo (3x10ml) y los extractos reunidos fueron lavados y finalmente secados con sulfato de sodio y evaporados al vacío. El residuo colocado en desecador dió 0,460 g (rendimiento 52%) de un aceite viscoso.

Aún luego de su purificación por filtración a través de una columna de alúmina neutra, no se logró cristalizarlo. Los

autores describen un producto de p.f. 75-78° obtenido por cristalización de éter de petróleo.

I.R.(nujol): $\nu_{\text{máx}}$ 2245 cm^{-1} ($\text{C}\equiv\text{N}$); 1640 ($\text{C}=\text{C}$ conjugado)

Clorhidrato de 5-Benciloxitriptamina (IV): Se disolvieron en 60 ml de éter anhidro 0,400 g ($9,6 \cdot 10^{-4}$ mol) de 5-benciloxi-indol-3-acetonitrilo bajo forma de aceite y se agregaron lentamente 0,800 g de hidruro de aluminio y litio. Terminada la adición, se reflujo la suspensión 48 horas.

Se siguió el mismo proceso usado para su aislamiento en el caso de la 5-benciloxi-indol-3-acetamida, obteniéndose 0,210 g (rendimiento 78%) de clorhidrato de 5-benciloxitriptamina de p.f. 225-235°. Recristalizado de etanol y éter se elevó el p.f. a 260-262°.

Yodometilato de 3-Dimetilamino-metil-pentan-2-ona (XII): Se siguió la técnica descrita por Brossi y col. (1960). Se agregó 4,8 ml ($3 \cdot 10^{-2}$ mol) de α -etil-acetoacetato de etilo recién destilado a 30 ml de una solución fría de hidróxido de potasio 0,92 N y para su saponificación se agitó a temperatura ambiente durante tres horas.

La solución es liberada de un aceite por extracción con éter etílico y la solución acuosa de la sal de potasio del ácido α -etil acetoacético se trató con 2,5 g ($3 \cdot 10^{-2}$ mol) de clorhidrato de dimetilamina y 3 ml ($4 \cdot 10^{-2}$ mol) de formaldehído como solución al 40% P/V.

La mezcla de reacción por separación de anhídrido carbónico se vuelve alcalina y por agregado de ácido clorhídrico 2N en forma lenta y en pequeñas porciones, se mantuvo casi constantemente a pH 3. Después se dejó estacionar durante la noche a temperatu-

ra ambiente y se lavó con éter etílico para eliminar un pequeño aceite formado.

La solución acuosa se alcalinizó con hidróxido de sodio al 20%, separándose la cetobase como un aceite que fué extraído con éter etílico (2x30 ml). Los extractos etéreos reunidos se lavaron con agua, secaron con sulfato de sodio y evaporaron al vacío a sequedad dando 1,2 g (rendimiento 27,8%) de la cetobase.

El producto crudo fue purificado a través de su yodometilato, siguiéndose la técnica de Mannich y Bauroth (1924). La base se disolvió en 5 ml de etanol y se agregó 1 ml de yoduro de metilo dejándose estacionar en heladera.

Los cristales fueron recogidos y lavados con éter etílico, obteniéndose el yodometilato de 3-dimetilamino-metil-pentan-2-ona de p.f. 136-137°. Recristalizado de etanol absoluto se elevó a 147-148°. Brossi y col. (1960) describen un p.f. de 148°; Openshaw y Whittaker (1963)² de 146-148°.

I.R.(nujol): $\nu_{\text{máx}}$ 1700 cm^{-1} ($>C=O$).

3,4-Dihidro-6,7-dimetoxi-isoquinolina (XI):

a) Método de Whaley (1953)

Se calentaron durante 5 horas a 170° en baño de aceite 9g ($4,7 \cdot 10^{-2}$ mol) de homoveratrilamina y 3,5 g de ácido fórmico al 90%.

La formamida cruda (9,39 g) fué ciclada reflujiéndola dos horas con 11 ml (69 g) de oxocloruro de fósforo en 176 ml de tolueno seco. A la solución enfriada se le agregó agua helada (80 ml) y se calentó hasta que todo el sólido entró en solución.

Se separó la fase orgánica y la capa acuosa se extrajo con éter etílico (2x50 ml).

Se alcalinizó con hidróxido de sodio al 20% y el precipi-

tado se extrajo con éter etílico (2x50 ml) y los extractos reunidos fueron secados con sulfato de sodio. Evaporados al vacío dieron 3,47 g de un aceite (rendimiento 37%).

Se identificó como 3,4-dihidro-6,7-dimetoxi-isoquinolina por preparación de su yodometilato (Fuck e Ide, 1938).

A 100 mg de la dihidrobase disueltos en 4 ml de benceno se agregó 0,5 ml de yoduro de metilo, formándose inmediatamente un precipitado amarillo que se dejó estacionar una hora en heladera. El precipitado formado se filtró, lavó con benceno frío y se secó.

Se obtuvieron 0,123 g de yodometilato de p.f. 192-194°, que recristalizado de etanol aumentó a 197,5-199°. Whaley describe un p.f. de 201-202°.

b) Método de Openshaw y Whittaker (1963):

Una mezcla de 3,1 g ($1,36 \cdot 10^{-2}$ mol) de clorhidrato de tetrahidro-isoquinolina se trataron con 5 ml de cloroformo y una solución de 0,7 g de hidróxido de sodio en 20 ml de agua y fueron agitados hasta disolución del sólido. La fase orgánica se separó y la acuosa se extrajo con 5 ml de cloroformo.

Las soluciones clorofórmicas reunidas se lavaron con agua, secaron con sulfato de sodio y evaporaron al vacío a sequedad. Los restos de cloroformo se eliminaron por sucesivas destilaciones con metanol.

El residuo sólido así obtenido se tomó en 50 ml de metanol, enfrió a 0° y se lo trató con hipoclorito de sodio (7,3 ml) aproximadamente 2molar, durante 15 minutos con enfriamiento a -5°. Se nota la aparición de cloruro de sodio y luego de mantener la mezcla una hora a temperatura ambiente se agregó 5 g de hidróxido de sodio, reflujiéndose durante 45 minutos, obser-

vándose el aumento del insoluble.

La solución fue enfriada y se agregaron 30 ml de agua helada, solubilizándose completamente el insoluble.

El metanol fue evaporado al vacío y la suspensión acuosa residual se extrajo con cloroformo (2x120 ml). Los extractos cloroformicos reunidos fueron lavados con agua, secados con sulfato de sodio y evaporados al vacío a sequedad.

El residuo se disolvió en 8 ml de éter etílico y se agregó nieve carbónica finamente dividida. formándose de inmediato un insoluble.

El precipitado fué filtrado y la solución evaporada, obteniéndose 1,27 g (rendimiento 49%) de un aceite que resultó ser la dihidro-isoquinolina.

Se la identificó a través de su yodometilato, que se preparó como se indicara anteriormente. El yodometilato obtenido tiene un p.f. de 199-201°.

Clorhidrato de 1,2,3,4-Tetrahidro-6,7-dimetoxi-isoquinolina:

Se siguió la técnica empleada por Buck (1934). A 7,2 g ($3,97 \cdot 10^{-2}$ mol) de homoveratrilamina se agregó 3,3 ml ($4,4 \cdot 10^{-2}$ mol) de formaldehído como solución al 40% P/V.

Al mezclar se desprende calor, enturbiándose la solución, la cual se calentó 30 minutos a baño maría. Luego de enfriar se eliminó con una pipeta la capa superior de agua formada y se agregaron 13,2 ml de ácido clorhídrico al 23%.

Se evaporó lentamente sobre baño maría y por sucesivos agregados de etanol absoluto fue llevado a sequedad. El residuo fue cristalizado solubilizándolo en 30 ml de etanol caliente y se agregó agua (ca. 1 ml) hasta turbidez incipiente. Se obtuvo 5,1 g (rendimiento 51,6%) de clorhidrato de dimetoxi-tetrahi-

dro-isoquinolina de p.f. 240-243°. Recristalizado de la misma mezcla etanol-agua, aumentó a 249-250°. Buck describe un p.f. de 253°.

(+)-3-Etil-1,2,3,4,6,7-hexahidro-9,10-dimetoxi-2-oxo-11bH-benzo(a)quinolizina (IXrac.)

Se siguió la técnica de Openshaw y Whittaker (1963)^o. A una solución de 0,375 g ($1,96 \cdot 10^{-3}$ mol) de 3,4-dihidro-6,7-dimetoxi-isoquinolina en 4 ml de etanol se agregó 0,563 g ($1,98 \cdot 10^{-3}$ mol) de yodometilato de 3-dimetilamino-metil-pentan-2-ona y se reflujo durante una hora.

A la solución resultante enfriada se la diluyó con 3 ml de agua y el alcohol se evaporó entonces al vacío.

La suspensión acuosa residual se agitó con 8 ml de cloroformo y una solución acuosa de hidróxido de potasio (2,15 g en 10 ml).

La mezcla se filtró de un sedimento a través de celite, la solución clorofórmica fue separada y la acuosa nuevamente extraída con 8 ml de cloroformo.

Los extractos clorofórmicos reunidos se lavaron con agua y secaron sobre sulfato de sodio y se evaporaron al vacío a sequedad y el residuo fué liberado de trazas de cloroformo por sucesivas destilaciones con etanol.

El sólido resultante se disolvió en 3 ml de etanol hirviendo y por estacionamiento en heladera por la noche, cristalizó.

Los cristales fueron filtrados, lavados con etanol frío y secados, Se obtuvo 0,285 g de la 2-oxo-benzo(a)quinolizina de p.f. 109-111°.

Por estacionamiento de los líquidos madres se obtuvieron

otros 0,022 g del mismo punto de fusión. Rendimiento total 55%.

Recristalizado de etanol el p.f. asciende a 111-112°, coincidente con el p.f. de Openshaw y Whittaker.

I.R.(nujol): $\nu_{\text{máx}}$ 1698 cm^{-1} ($>\text{C}=\text{O}$).

R.M.N.(CDCl_3): δ 3,82 y 3,85 (6H, OCH_3 -9 y 10); 6,55 (s, H-8);
6,62 (s, H-11)

(+)-Canfor-10-sulfonato de (+)-3-Etil-1,2,3,4,6,7-hexahidro-9,10-dimetoxi-2-oxo-11bH-benzo(a)quinolizina(IXa):

Se mezclan una solución de 10 g ($3,47 \cdot 10^{-2}$ mol) de 2-oxo-benzoquinolizina racémica (IX) en 70 ml de acetato de etilo caliente con otra de 8,5 g ($3,70 \cdot 10^{-2}$ mol) de ácido (+)-canfor-10-sulfónico en 60 ml del mismo solvente caliente.

Se añade entonces una pequeña cantidad de cristales de (+)-10-canfosulfonato de la (+)-cetona y se refluja bajo agitación. Este añadido acelera la aparición de cristales, que comienzan a formarse en cantidad apreciable a los 10-15 minutos. La ebullición se continúa durante 30 horas. La suspensión se deja a temperatura ambiente durante la noche y luego se filtra, lavando con acetato de etilo frío y secando en desecador.

Se obtuvieron 16,27 g (rendimiento 90,5%) de (+)-canfo-10-sulfonato de la (+)-base cetónica (IXa), de p.f. 187-188° y $[\alpha]_{\text{D}}^{21} +41,7^\circ$ (c 2 agua).

Openshaw y Whittaker (1963) describen para el mismo, un p.f. de 189-190° y $[\alpha]_{\text{D}}^{26} +41^\circ$.

La obtención de los primeros cristales de (+)-canfo-10-sulfonato de (+)-cetobase (IXa) se realizó siguiendo las indicaciones de Openshaw y Whittaker (1963).

A una solución de 0,084 g de 2-oxo-benzo(a)quinolizina racémica y 0,070 g de ácido (+)-canfo-10-sulfónico en 3 ml de ace-

tona, se agregó éter etílico hasta aparición de turbidez.

Se deja en heladera durante la noche, apareciendo al día siguiente los primeros cristales de sal. Se deja estacionar con raspado periódico, hasta que no se observe mayor aumento de la masa cristalina. Entonces se filtró, lavando con acetona fría y secado en desecador, obteniéndose 0,116 g de (+)-canfo-10-sulfonato de (+)-cetobase (IXa) de p.f. 178-181°.

Para su recristalización es disuelto en acetona caliente, agregándose luego acetato de etilo hasta turbidez incipiente. Se dejó tres horas en heladera y los cristales fueron recolectados, lavados con acetona fría y secados en desecador. El p.f. aumenta a 185-187°.

El poder rotatorio se determinó en agua (c 2), siendo su valor $[\alpha]_D^{25} + 20,3^\circ$, demostrando que la resolución no fué completa pero los cristales resultaron eficaces para el fin necesario.

(+)-3-Etil-1,2,3,4,6,7-hexahidro-9,10-dimetoxi-2-oxo-11bH-benzo(a)quinolizina (IXa):

Se disuelven 16 g ($3,08 \cdot 10^{-2}$ mol) de (+)-canfo-10-sulfonato de (+)-cetobase (IXa) en 350 ml de agua caliente. A la solución **enfriada** en baño helado se agrega lentamente, bajo agitación, amoníaco acuoso concentrado hasta reacción alcalina, produciéndose de inmediato un precipitado cristalino.

La suspensión se dejó por la noche en heladera y luego se filtró, lavándose el sólido con agua fría.

Se obtuvieron 8,5 g (rendimiento operativo 96%) de (+)-3-etil-1,2,3,4,6,7-hexahidro-2-oxo-11bH-benzo(a)quinolizina (IXa) de p.f. 110-112° y $[\alpha]_D^{23} + 95,7^\circ$ (c 1 en etanol).

Recristalizado de etanol, el p.f. se elevó a 121,5-122,5° y el poder rotatorio a $[\alpha]_D^{27} + 98,5^\circ$. Openshaw y Whittaker

describen un p.f. de 121,5-123° y $[\alpha]_D^{24} +98^\circ$.

Bromuro de carbetoxi-metil-trifenil-fosfonio:

Se adaptó la técnica de Isler y col. (1957). A una solución de 180 g (0,69 mol) de trifenilfosfina en 345 ml de benceno seco, se agregaron bajo agitación y muy lentamente, una solución de 78 ml (0,69 mol) de bromoacetato de etilo recién destilado (p.eb. 157-159°) en 150 ml de benceno seco. El agregado se realizó a temperatura ambiente e insumió aproximadamente tres horas. La sal de fosfonio comenzó a cristalizar de inmediato y la temperatura alcanzó a 70° en pocos minutos. Se agitó la mezcla vigorosamente durante tres horas y se dejó estacionar por la noche.

Se filtró, lavó con una mezcla al 50% de benceno y éter de petróleo (p.eb. 61-69°) (200 ml) y se secó a temperatura ambiente en desecador, ablandando a 110° y fundiendo a 154-156°.

Posteriormente fué secado a 65°, al vacío sobre pentóxido de fósforo, obteniéndose 270 g de bromuro de fosfonio de p.f. 154-156° (rendimiento 91%).

Para recrystalizarlo se lo solubilizó en cloroformo y luego se agregó éter etílico hasta turbidez. Se dejó dos horas en heladera y los cristales fueron recolectados y lavados con éter.

Secado como se indicó previamente elevóse el p.f. a 153,5-160°. Los autores describen un p.f. de 158°, mientras que Wittig y Haag (1955) dan un valor de 155-155,5° y en cambio Michaelis y Gimborn (1894) describen un p.f. de 147°.

Trifenil-carbetoximetilén-fosforano (XVII; R=Et):

Se adaptó el método descrito por Isler y col., (1957). A una solución de 314 g de bromuro de carbetoximetil-trifenil-fos-

fonio en 6 litros de agua fría a 5° (hielo interno), se agregó bajo agitación y muy lentamente una solución de hidróxido de sodio al 20%, hasta reacción alcalina con fenolftaleína.

De inmediato se nota la aparición de un aceite que en el curso de 2-3 horas se hace friable. Se deja estacionar por la noche en heladera. El precipitado formado fué recogido por decantación, transferido a un filtro, lavado con abundante agua y secado en desecador, obteniéndose 215,5 g (rendimiento 84,5%) de fosforano de p.f. 117-120°.

Para su recristalización se lo disolvió en 250 ml de acetato de etilo caliente y se agregó éter de petróleo (p.cb. 61-69°) hasta turbidez. Se dejó cuatro horas en heladera y los cristales fueron recolectados y lavados con éter de petróleo frío.

Se obtuvieron 185,5 g de fosforano de p.f. 127-128°, que corresponde al p.f. elevado que menciona la literatura: Isler y col., (1957) dan un p.f. de 116-117°; Denney y Ross (1962) de 125-127° y Michaelis y Gimborn describen un p.f. de 124-125°. I.R. (CHCl₃): $\nu_{\text{máx}}$ 1613 cm⁻¹ (>C=O de anión carboxilato).

Reacción de Wittig.- Obtención de (+)-3-Etil-1,2,3,4,6,7-hexahidro-9,10-dimetoxi-2-etoxicarbonilmetilén-11bH-benzo(a)quinolizina (XXIX rac.; R=OEt):

Se utilizó la técnica descripta por Openshaw y Whittaker (1963).

a) La mezcla íntima lograda en un mortero de 10 g ($3,46 \cdot 10^{-2}$ mol) de la 2-oxobenzoquinolizina (IX rac.) con 18 g ($5,2 \cdot 10^{-2}$ mol) de fosforano (XVII; R=Et) preparado como se ha indicado, se introdujo en un balón de tres bocas y se calentó en un baño de aceite a 160-162°, bajo corriente de nitrógeno.

El líquido resultante se mantuvo durante tres horas a la

temperatura interna de 150-152°.

El producto de la reacción se enfrió a temperatura ambiente y se agregó 65 ml de benceno y 7 ml (7,4 g; $7 \cdot 10^{-2}$ mol) de benzaldehído recién destilado.

La mezcla fué reflujaada durante una hora y la solución benecénica fría se extrajo con ácido clorhídrico 2N (3x100 ml) dando un extracto acídico.

El extracto acuoso fué lavado con benceno y alcalinizado con solución acuosa de hidróxido de sodio al 20%.

La base precipitada fué extraída con cloroformo (3x100 ml), lavada con agua, secada con sulfato de sodio y evaporada al vacío. El residuo fue liberado de trazas de cloroformo por destilación con éter de petróleo (p.eb. 60-80°), dando un sólido muy impuro.

El residuo sólido es cristalizado de etanol, dando el éster α - β -no saturado (XXIX rac.; R=O.t). Se obtienen 8,8 g de producto crudo de p.f. 84-87°. Recristalizado de isopropanol el p.f. se elevó a 92,5-93,5°, obteniéndose 4,25 g (rendimiento 53%).

Análisis: Calculado para $C_{21}H_{29}NO_4$

C: 70,17; H: 8,13; N: 3,90%

Encontrado: C: 69,92; H: 8,20; N: 3,78%

U.V. (metanol): $\lambda_{\text{máx}}$ 232 m μ (inflexión) (log ϵ 4,20); 281 (3,59)

I.R. (nujol): $\nu_{\text{máx}}$ 1718 cm^{-1} ($>C=O$ conjugado); 1640 ($>C=C<$ conjugado).

R.M.N. ($CDCl_3$): δ 3,85 y 3,90 (6H, OCH_3 -9 y 10); 5,70 (s, $-CH=$); 6,60 (s, H-8); 6,83 (s, H-11).

CCD: R_f 0,81 (sílica gel; sistema 1).

b) Una solución de 12 g ($4,15 \cdot 10^{-2}$ mol) de 2-oxo-benzoquinolizi-

na (IX rac.) y 33 g ($9,15 \cdot 10^{-2}$ mol) de fosforano (XVII; R=Et) se calentó en 110 ml de xileno hasta destilar 67 ml del mismo.

Luego se reflujo durante 6 horas bajo corriente de nitrógeno seco. Se enfrió la solución y agregó 13 ml de benzaldhido recién destilado y nuevamente se reflujo una hora.

La solución fría se extrae con HCl 2N (3x120 ml) para dar un extracto ácido. El extracto acuoso fue lavado con benceno y alcalinado con solución acuosa de HONa 20%. La base precipitada fue extraída con cloroformo (3x120 ml), lavada con agua, secada con sulfato de sodio y evaporada al vacío a sequedad.

El residuo es liberado de trazas de cloroformo por destilación con éter de petróleo (p.ah. 60-80°) dando 10,8 g (rendimiento 73%) de producto crudo. Este es tomado en éter de petróleo y luego de filtrarlo de una resina es evaporado.

Se lo toma de isopropanol cristalizando 3,3 g (rendimiento 56%) del éster α - β -no saturado (XXIX rac.; R=OEt) de p.f. 90-91°.

Examinando la base y los líquidos madres por cromatografía en placa delgada de sílica gel, no se detectó la presencia de isómeros.

(-)-3-Etil-1,2,3,4,6,7-hexahidro-9,10-dimetoxi-2-etoxicarbonilmetilén-11bH-benzo(a)quinolizina(XXIX a; R=OEt):

Se preparó a partir de 19,4 g ($6,7 \cdot 10^{-2}$ mol) de (+)-2-oxo-benzoquinolizina (IXa) de p.f. 121,5-122,5° y $[\alpha]_D^{27} +98,5^\circ$ y 52,7 g ($15,2 \cdot 10^{-2}$ mol) de fosforano (XVII; R=Et), en ausencia de solvente, siguiéndose la técnica empleada para el racémico.

Se obtuvieron 21,36 g de residuo que cristalizados de 20 ml de etanol dieron 15,2 g (rendimiento 64% del (-)-éster α - β -

no saturado de p.f. 114-117°. Recristalizado del mismo solvente aumentó a 117-118° y su poder rotatorio fué $[\alpha]_D^{24} -44,2^\circ$ (c 1 en etanol). Openshaw y Whittaker (1963) dan para el enantiómero el p.f. de 117-119° y $[\alpha]_D^{21} + 44^\circ$ (c 1 en etanol).

Hidrólisis del éster α - β -no saturado (XXIXrac.; R=OEt):

Un gramo del éster (XXIX rac.; R=OEt) se mezclaron con 14 ml de HCl 2N y se reflujearon durante una hora.

La solución resultante se dejó estacionar a temperatura ambiente durante 5 horas, apareciendo luego de enérgico raspado los primeros cristales de clorhidrato. Por posterior enfriamiento en baño de agua helada, la masa íntegra solidificó, adquiriendo el aspecto de gel.

Los cristales hidratados resultantes fueron filtrados y muy bien secados a 60° y se convirtieron en un fino polvo de p.f. 8-84°. Secados a 1.10^{-3} mm de presión durante 2 horas a 90° con HOK, se obtuvo 0,95 g (rendimiento 91%) de clorhidrato anhidro del ácido α - β -no saturado (XXIX rac.; R=OH) de p.f. 143-145° formando un vidrio. Openshaw y Whittaker (1963) describen un p.f. de 142-146°.

(⁺)-2-Etoxicarbonilmetil-3-etil-1,2,3,4,5,6,7,11b-octahidro-9,10-dimetoxibenzo(a)quinolizina (V'rac.; R=OEt):

a) Reducción empleando como catalizador Paladio sobre carbón (10%)

Se disuelven 6 g ($1,68.10^{-2}$ mol) del éster α - β -no saturado (XXIXrac.; R=OEt) en 100 ml de etanol al que se adicionó 2,6 ml de HCl conc. (3% de exceso). Se hidrogenó a 3 atmósferas de presión durante 3 horas, empleando 7,9 g de Paladio sobre carbón (10%).

Se filtró el catalizador por Celite y se lavó con etanol hasta reacción de Dragendorff negativa. La solución etanólica

concentrada al vacío dió un residuo vidrioso que se dejó durante la noche en desecador sobre potasa.

El mismo fué disuelto en 50 ml de agua y la solución se alcalinizó con hidróxido de sodio al 20%, lo cual determinó la precipitación de la base, que fué extraída con cloroformo (4x 50 ml). Los extractos clorofórmicos reunidos fueron lavados con agua, secados con sulfato de sodio y evaporados al vacío a sequedad.

El residuo fué liberado de trazas de cloroformo por destilación con éter de petróleo (p.eb. 60-80°) dando 4,26 g de producto crudo. Recristalizado de éter de petróleo (p.eb. 60-80°) dió 2,92 g (rendimiento 48%) del éster saturado (V'rac.; R=OEt) de p.f. 65-66°. Battersby y Turner (1960) describen un p.f. de 66-66,5°.

I.R.(nujol): $\nu_{\text{máx}}$ 1736 cm^{-1} ($>\text{C}=\text{O}$)

R.M.N.(CDCl_3): δ 3,78 (6H, OCH_3 -9 y 10); 6,55 (s, H-8); 6,64 (s, H-11).

CCD: R_f 0,90 (sílica gel, sistema 1)

b) Reducción empleando catalizador de Adams:

Se disuelven 1,23 g ($3,45 \cdot 10^{-3}$ mol) de-(+)-éster α - β no saturado (XXIX rac.; R=OEt) en 15 ml de metanol conteniendo 0,12 ml de ácido clorhídrico concentrado (3% de exceso) y se agitaron durante 15 minutos a 25° y a presión atmosférica con 0,063 g de catalizador (PtO_2) previamente reducido, habiéndose consumido 83 ml de hidrógeno.

Se filtró el catalizador por Celite y la solución se evaporó al vacío, dando un residuo vidrioso que se dejó por la noche en desecador sobre potasa.

El mismo fué disuelto en 10 ml de agua, la solución alcali-

linizada con hidróxido de sodio al 20% y la base precipitada fué extraída con cloroformo (3x10 ml).

Los extractos clorofórmicos reunidos, fueron lavados con agua, secados con sulfato de sodio y evaporados al vacío.

El residuo fué liberado de trazas de cloroformo por destilación con éter de petróleo (p.eb. 60-80°). Recristalizado del mismo solvente se obtuvo 0,550 g (rendimiento 44,5%) del éster saturado (V' rac.; R=OEt) de p.f. 64-66°.

Hidrólisis del (+)-éster etílico saturado (V' rac.; R=OEt) al ácido (V' rac.; R=OH)

En 12 ml de ácido clorhídrico 2N se suspendieron 0.860 g de (+)-éster saturado (V' rac.; R=OEt) y se refluxaron durante una hora.

La solución resultante fué evaporada a presión reducida hasta sequedad. Se eliminaron los restos de agua por sucesivas destilaciones con etanol absoluto y finalmente se mantuvo una noche en desecador sobre pentóxido de fósforo.

Se obtuvieron 0,840 g de clorhidrato de (+)-aminoácido-benzo(a)quinolizínico (V' rac.; R=OH), que se usó para la síntesis de las amidas vía anhídrido mixto.

(+)-2-Etoxicarbonilmetil-2-etil-1,2,3,4,5,6,7,11b-octahidro-9,10-dimetoxibenzo(a)quinolizina (V' a; R=OEt).

a) Reducción empleando paladio sobre carbón (10%)

Se disuelven en 50 ml de etanol que contienen 2,8 ml de ácido clorhídrico concentrado 6,5 g ($1,82 \cdot 10^{-2}$ mol) de (-)-éster α - β -no saturado (XXIX a; R=OEt).

Se hidrogenó a 3 atmósferas de presión durante cuatro horas empleando 8,64 g de paladio sobre carbón (10%) y conti-

nuando con la técnica descripta para el racémico. Por cristalización de éter de petróleo (p.eb. 60-80°) se obtuvo el éster reducido activo de p.f. 75-79°.

Recristalizado del mismo solvente dió 3,84 g (rendimiento 60,5%) de p.f. 86-83° y poder rotatorio $[\alpha]_D^{17} +38,9^\circ$ (c 1 en etanol). Openshaw y Whittaker (1963) dan para el enantiómero el p.f. de 89-90° y $[\alpha]_D^{23} -39^\circ$ (c 1 en etanol).

b) Reducción empleando catalizador de Adams:

Se disuelven 13 g ($3,64 \cdot 10^{-2}$ mol) del (-)-éster α - β -no saturado (XXIXa; R=OEt) en 100 ml de etanol y 5,6 ml de ácido clorhídrico concentrado y se hidrogenó a tres atmósferas de presión con 0,650 g de óxido de platino.

Se sigue la misma técnica usada para el racémico. Rindió 12,28 g de residuo que cristalizado de éter de petróleo (p.eb. 60-80°) produjo 8 g de (+)-éster etílico saturado de p.f. 76-79°.

Recristalizado del mismo solvente se obtuvo 6,45 g (rendimiento 49,5%) de p.f. 87-89° y $[\alpha]_D^{20,5} +39,6^\circ$ (c 1 en etanol).

Hidrólisis del (-)-éster etílico saturado (V'a ; R=OEt) al ácido (V'a; R=OH):

Una solución de 6,609 g del (-)-éster etílico saturado (V'a; R=OEt) en 11 ml de etanol fueron reflujaados durante 1,5 horas con 24,5 ml de hidróxido de sodio 1N.

La solución resultante se enfrió con agua helada y se acidificó exactamente con ácido clorhídrico concentrado.

Se evaporó a sequedad al vacío y se eliminó las trazas de agua por sucesivas evaporaciones con etanol absoluto.

Se secó durante la noche en desecador sobre pentóxido de fósforo y se extrajo luego exhaustivamente con etanol absoluto, filtrándose el cloruro de sodio insoluble.

La solución se evaporó al vacío a sequedad y se dejó nuevamente una noche en desecador sobre pentóxido de fósforo. Se obtuvo 6,354g de clorhidrato de (-)-aminoácido benzoquinolizínico (V'a; R=OH) que se usó para la síntesis de la amida vía anhídrido mixto.

(⁺)-3-Etil-1,2,3,4,6,7-hexahidro-2-[(N-2-3'-indoliletilcarbamoyl) metil] 9,10-dimetoxi-11bH-benzo(a)quinolizina (XXXIX rac.)

a) Por fusión de la triptamina con el (⁺)-éster saturado (V'rac.; R=OEt):

Se adaptó el procedimiento empleado por Openshaw y Whittaker (1963) en la preparación de la homoveratrilamida benzo(a)-quinolizínica (XLIII rac.).

La mezcla de 0,372 g ($1,03 \cdot 10^{-3}$ mol) de (⁺)-éster etílico saturado (V'rac.; R=OEt) y 0,380 g de triptamina (XXXVIII) ($2 \cdot 10^{-3}$ mol) se calentó a 180° en baño de aceite durante tres horas bajo corriente de nitrógeno.

El sólido obtenido al enfriar (0,430 g) se disolvió en cloroformo y se filtró por una columna de alúmina neutra (4,5g) eluyendo con el mismo solvente (55 mL). El eluido es evaporado a sequedad al vacío, obteniéndose un residuo friable que es liberado de trazas de cloroformo por evaporación con metanol y mantenido por la noche en desecador.

Tratado con benceno, cristaliza la amida (XXXIX rac.), obteniéndose 0,196 g (rendimiento 40%) de p.f. 161-166°. Recristalizada del mismo solvente se eleva el p.f. a 175-177°, sinterizando a 155°. Battersby y col. (1961) dan el p.f. 175-

176°.

I.R. (nujol): $\nu_{\text{máx.}}$ 3390 cm^{-1} ($>\text{NH}$); 1658 ($>\text{C=O}$).

CCD: R_f 0,51 (sílica gel; sistema 1).

b) Vía anhídrido mixto:

Se disolvieron en 17 ml de cloroformo seco 0,730 g ($2 \cdot 10^{-3}$ mol) de clorhidrato de (\pm)-aminoácido benzo(a)quinolizínico (V'rac.; R=OH) y luego de enfriar a -5° se añadió 0,55 ml de trietilamina recién destilada con exclusión absoluta de humedad.

Cuidando de mantener la temperatura entre -5 y -10° se agregó 0,20 ml ($2 \cdot 10^{-3}$ mol) de cloroformiato de etilo recién destilado y se mantuvo a esta temperatura bajo agitación durante 25 minutos.

Entonces se agregó 0,320 g ($1,7 \cdot 10^{-3}$ mol.) de triptamina. Se observa la aparición inmediata de un insoluble y la mezcla se agitó una hora a 0° y luego dos horas eliminando el enfriamiento.

La mezcla de reacción fué lavada sucesivamente con solución de carbonato de sodio al 1% (3x60 ml), agua (3x60 ml) y buffer de fosfatos (pH 6,6; 3x45 ml).

La fase clorofórmica se secó con sulfato de sodio y se evaporó a sequedad al vacío obteniéndose 0,906 g de un residuo marrón.

La cromatografía en placa delgada en sílica gel (sistema 1) indicó la presencia de tres sustancias:

a) una sustancia con reacción de Dragendorff positiva y Ehrlich negativa de R_f 0,88. Este producto resultó ser el (\pm)-éster saturado etílico (V'; R=OEt).

b) un producto con reacción de Dragendorff y Ehrlich posi-

tivo, de R_f 0,51 que resultó ser la amida buscada.

c) una sustancia con débil reacción de Dragendorff y Ehrlich intensamente positiva, con R_f 0,10 y que fué identificada como clorhidrato de triptamina (p.f. 230-235°).

La resina obtenida se filtró por columna de alúmina neutra (9,5 g) eluyendo con cloroformo. Evaporado el eluido y luego de eliminar trazas de cloroformo por sucesivas destilaciones con metanol se mantuvo en desecador durante la noche. Tratado con benceno seco se obtuvieron 0,217 g (rendimiento 23%) de amida (XXIX rac.) de p.f. 164-166°, sinterizando a 155°. Recristalizada del mismo solvente se elevó a 174-176°.

Los líquidos madres fueron evaporados a sequedad y el residuo se dejó por la noche en desecador. Hervido con éter de petróleo (p.eb. 61-69°) se obtuvo 0,110 g de un producto de p.f. 64-66°. Recristalizado del mismo solvente se elevó a 67-69°.

Este producto corresponde a la sustancia de R_f 0,38 en placa de sílica gel (sistema 1). Analiza perfectamente bien para el éster saturado (V' ; R=OEt).

Análisis: Calculado para $C_{21}H_{31}NO_4$

C: 69,75; H: 8,65; N: 3,87%

Encontrado: C: 70,15; H: 8,69; N: 3,85%

(⁺)-3-Etil-1,2,3,4,6,7-hexahidro-2- [(N,3'-indoliletilcarbamoil) metilén] 9,10-dimetoxi-11bH-benzo(a)-quinolizina (XLIII rac).

El clorhidrato de aminoácido (XXIX rac.; R=OH) (3,3 g) preparado como se ha descrito a partir de 4 g ($1,12 \cdot 10^{-2}$ mol) del (⁺)-éster α - β -no saturado (XXIX rac.; R=OEt) se disolvió en 92 ml de cloroformo seco. Se enfrió a -5° y agregó 3,8 ml ($2,72 \cdot 10^{-2}$ mol) de trietilamina recién destilada con exclusión absoluta de humedad.

Cuidando que la temperatura se mantenga entre -5 y -10° se agregó 1,32 ml ($1,38 \cdot 10^{-2}$ mol) de cloroformiato de etilo recién destilado y se mantuvo la mezcla bajo agitación durante 25 minutos. Entonces se agregó 2,2 g ($1,38 \cdot 10^{-2}$ mol) de triptamina.

Se observó la formación inmediata de un insoluble y la mezcla se agitó una hora a 0° y luego dos horas eliminando el enfriamiento. El insoluble fué filtrado, lavado con benceno-cloroformo (2:1)(15 ml) y secado. Su p.f. es $230-235^{\circ}$ y resultó ser el clorhidrato de triptamina.

El filtrado se lavó sucesivamente con solución de bicarbonato de sodio al 1% (3x150 ml), agua (3x150 ml) y buffer de fosfatos (pH 6,6; 3x150 ml).

La fase clorofórmica se secó con sulfato de sodio y evaporada a sequedad al vacío, eliminando posteriormente las trazas de solvente por sucesivas destilaciones con metanol y manteniendo el residuo durante la noche en desecador. Tratado con 15 ml de benceno seco se obtuvieron 2,91 g (rendimiento 67%) de amida (XLIII rac.) de p.f. $133-137^{\circ}$.

Por sucesivas recristalizaciones del mismo solvente el p.f. se elevó a $137-140^{\circ}$.

Análisis: Calculado para $C_{29}H_{35}N_3O_3$

C: 73,54; H: 7,45; N: 8,87%

Encontrado: C: 73,46; H: 7,67; N: 9,00%

U.V. (etanol): $\lambda_{\text{máx}}$ 291 m μ (log ξ 3,80); 287 (inflexión)(3,82); 276 (3,88); 258 (3,36); 252 (3,30); 245 (3,51); 239 (inflexión)(3,93); 222(4,60).

I.R. (nujol): $\nu_{\text{máx}}$ 3390 cm^{-1} (>NH); 1669 (>C=O).

R.M.N. (CDCl_3): δ 3,88 (6H, OCH_3 -9 y 10); 6,61 (1H, s, H-8); 6,89 (1H, s, H-11); 5,50 (1H, s, -CH=).

CCD: R_f 0,60 (sílica gel; sistema 1).

(+)-3-Etil-1,2,3,4,6,7-hexahidro-2 [(N-2,3'-benciloxi-indolil-etilcarbamoil)metil] 9,10-dimetoxi-11bH-benzo(a)quinolizina (XLIa):

En 10 ml de cloroformo seco se disolvió 0,730 g ($2 \cdot 10^{-3}$ mol) de clorhidrato de aminoácido benzo(a)quinolizínico (V'a; R=OH) preparados a partir del éster dextrógiro (V'a; R=OEt). Se enfrió a -5° y se añadió 0,56 ml ($4 \cdot 10^{-3}$ mol) de trietilamina recién destilada, con exclusión absoluta de humedad.

Cuidando que la temperatura se mantenga entre -5 y -10° se agregó 0.19 ml ($2 \cdot 10^{-3}$ mol) de cloroformiato de etilo recién destilado y se mantuvo bajo agitación durante 25 minutos.

Se agregó entonces 0,606 g ($2 \cdot 10^{-3}$ mol) de clorhidrato de 5-benciloxitriptamina y luego 0,28 ml ($2 \cdot 10^{-3}$ mol) de trietilamina.

Se observó la aparición inmediata de un insoluble y la mezcla se agitó una hora a 0° y luego dos horas eliminando el enfriamiento. El insoluble se filtró, lavó con cloroformo y fué secado. Se obtuvieron 0,255 g de un producto que resultó ser el clorhidrato de 5-benciloxitriptamina (identificado por su p.f. de $260-263^{\circ}$).

La solución clorofórmica se lavó sucesivamente con solución de carbonato de potasio al 1% (3x60 ml), agua (3x60 ml) y buffer de fosfatos (pH 6,6; 3x45 ml). La fase clorofórmica se secó con sulfato de sodio y se evaporó al vacío a sequedad obteniéndose 0,809 g de un residuo marrón oscuro.

La cromatografía en placa delgada de sílica gel (sistema 1) indicó la presencia de tres sustancias:

1) una sustancia con reacción de Dragendorff positiva y Ehrlich negativa de R_f 0,90. Este producto resultó ser el (+)-éster etílico saturado (V'a; R=OEt).

b) un producto con reacción de Dragendorff y Ehrlich positivas, de R_f 0,55 y que resultó ser la amida buscada.

c) una sustancia con débil reacción de Dragendorff y Ehrlich intensamente positiva y que fué identificada cromatográficamente como 5-benciloxitriptamina.

La separación de las sustancias anteriores se efectuó por cromatografía en una columna de alúmina neutra (80 g) eluyéndose con cloroformo y recojiéndose las siguientes fracciones de 5 ml cada una:

1.-Tubos 1 a 20 inclusive (volumen total 100 ml). Evaporados dieron un residuo que por sucesivas destilaciones con éter de petróleo (p.eb. 61-69°) para eliminar trazas de cloroformo rindió 0,130 g de un producto cristalino de p.f. 81-85°. Recristalizado del mismo solvente, el p.f. se elevó a 38,5-39,5°. Su poder rotatorio era $[\alpha]_D^{22} +39^\circ$ (c 1 en etanol).

El producto es el (+)-éster etílico saturado (V'a; R=OEt) que se vuelve a formar a partir del ácido benzo(a)quinolizínico y el anhídrido mixto, tal como ocurriera en la experiencia con el (-)-ácido (V'rac.; R=OH) que diera el éster etílico correspondiente de p.f. 67-69° .

2.-Tubos 21 a 26 inclusive (volumen 30 ml). Cromatográficamente se detectaron la sustancia anterior con R_f 0,90 y la de R_f 0,55. Evaporados dieron un residuo de 0,055 g, que tratados con isopropanol rindieron 0,028 g de 5-benciloxitriptamida del ácido benzo(a)quinolizínico (XLIIa) de p.f. 174-177°.

3.- Se continuó luego la elución con cloroformo (180 ml) y cloroformo-etanol 2% (75 ml) hasta que las fracciones recogidas no dieran reacción de alcaloides. Los eluidos contenían solamente el producto de R_f 0,55. Evaporados a sequedad al vacío y tratados con isopropanol dieron 0,162 g (rendimiento 15%) de una

sustancia cristalina de p.f. 176-180° idéntica a la obtenida de la fracción 2.

Recristalizados de tolueno el p.f. se elevó a 182-183,5°. Para análisis se lo recristalizó de isopropanol y el p.f. se mantuvo en 182-183,5°. Openshaw y Whittaker describen para el enantiómero el p.f. de 186-187,5°.

Su poder rotatorio es $[\alpha]_D^{26,5} +44,4^\circ$ (c 1,09 en cloroformo).

Análisis: Calculado para $C_{36}H_{43}N_3O_4$

C: 74,32; H: 7,45; N: 7,22%

Encontrado: C: 74,13; H: 7,34; N: 7,00%

U.V. (etanol): $\lambda_{\text{máx}}$ 309 m μ (inflexión) ($\log \epsilon$ 3,58); 290 (inflexión) (3,98); 280 (4,06); 224 (inflexión)(3,65).

I.R. (nujol): $\nu_{\text{máx}}$ 3350 cm^{-1} (>NH); 1652 (>C=O).

En las siguientes preparaciones se procedió a aislar la amida sin previa separación cromatográfica de los componentes de la mezcla. Al residuo de evaporación libre de trazas de cloroformo se lo trató con isopropanol y añadió una pequeña cantidad de cristales de amida antes obtenida. Se obtiene así una amida cruda de p.f. 175-178°, con un rendimiento de 18-20%.

Los líquidos madres son evaporados a sequedad al vacío y el residuo dejado por la noche en desecador. Hervido con éter de petróleo (p.eb. 61-69°) (10 ml) se lo separa por decantación de un aceite que se forma y se concentra la solución a mitad de su volumen, precipitando 0,172 g del éster etílico saturado de p.f. 83-86°.

A su vez estos líquidos madres evaporados a sequedad y tomados de isopropanol, rindieron 0,020 g de un producto de p.f. 81-83°, pero que cromatográficamente no se comportaba como el éster saturado. En placa de sílica gel (sistema 1) su R_f era

0,42 en lugar de 0,90.

Recristalizado de benceno-hexano se elevó el p.f. a 86-88°. El descenso de su punto de fusión mezcla con el éster y las diferencias en sus espectros I.R. confirmó la no identidad de ambos productos.

En cambio el punto de fusión mezcla con el uretano de 5-benciloxitriptamina (XLVII) auténtico no sufrió depresión.

Dibromhidrato de (-)-2 [(3,4-Dihidro-6-benciloxi- β -carbolín-1-ilmetil)] -3-etil-1,2,3,4,6,7-hexahidro-9,10-dimetoxi-11bH-benzo(a)quinolizina (XLVIIIa):

Se disuelven 0,407 g (7.10^{-4} mol) de 5-benciloxitriptamida benzo(a)quinolizínica (XLIa) de p.f. 182-183° y $[\alpha]_D +44^\circ$ en 44 ml de tolueno, libre de tiofeno y secado sobre sodio.

La solución se enfrió a temperatura ambiente y se agregó 0,7 ml ($7,7.10^{-3}$ mol) de oxiclورو de fósforo recién destilado y previamente refluado sobre pentóxido de fósforo.

La solución se enturbia de inmediato y luego se calentó a reflujo durante 2,5 horas con exclusión absoluta de humedad y en baño de aceite cuidando que la temperatura no pase de los 130°.

Durante el calentamiento se observa la formación de un precipitado gomoso que se adhiere a las paredes.

A la solución enfriada a 0-5° se le agregó 120 ml de agua-hielo y la capa de tolueno se separó. La fase acuosa se lava con éter etílico (2x120 ml) y luego se alcaliniza con solución de hidróxido de sodio al 20%.

Al balón conteniendo la goma se añade cloroformo, luego la solución alcalina y se agita y mezcla bien hasta obtener la disolución prácticamente total del producto pastoso.

Se decanta la fase clorofórmica y se extrae la fase alcalina acuosa hasta agotarla con cloroformo (3x120 ml).

Los extractos clorofórmicos totales reunidos fueron lavados con agua y secados sobre sulfato de sodio. Se evaporaron al vacío a sequedad sobre corriente de nitrógeno y los restos de cloroformo se eliminaron por sucesivas destilaciones sobre metanol. El residuo se tomó en 1,5 ml de isopropanol y se agregó una solución diluida de ácido bromhídrico preparada añadiendo 0,2 ml de HBr 48% aq. en 5 ml de isopropanol.

Se separa un producto gomoso que cristaliza difícilmente por disoluciones y enfriamientos repetidos. Se deja en heladera por la noche, con lo cual la masa de cristales aumenta.

Se lo filtró, lavó con isopropanol frío y finalmente secó. Se obtuvo 0,155 g (rendimiento 29,5%) de un producto amarillo brillante de p.f. 226-230°, que resultó ser el dibromhidrato de la dihidro- β -carbolina.

Recristalizado de 4,5 ml de metanol, el p.f. se elevó a 235-236°.

Se consiguió aumentar el rendimiento, añadiendo a los extractos clorofórmicos 5 ml de acetato de etilo conteniendo 0,200 g de ácido oxálico. De inmediato se formó un insoluble y la suspensión se evaporó a sequedad al vacío. El oxalato amorfo formado se dejó por la noche en desecador, se disolvió en 7 ml de agua fría y se agregó una solución de 0,180 g de bromuro de potasio en 2 ml de agua. Se separa un producto gomoso que al enfriar se hace friable. Se lo filtró, lavó con suficiente agua helada y se lo dejó por la noche en desecador.

Se lo disolvió en 10 ml de metanol hirviente y filtró en caliente para eliminar un insoluble inorgánico y concentró la solución a 3 ml. Se añadió entonces una pequeña cantidad de

cristales anteriormente obtenidos y luego de repetido raspado de las paredes para ayudar aún más la cristalización y enfriamiento, cristalizó la sal.

Se obtuvieron 0,210 g (rendimiento 40%) de p.f. 218-224° que aumentó por recristalización del mismo solvente a 235-236°.

Su poder rotatorio es $[\alpha]_D^{25} -83,6^\circ$ (c 1,06 en metanol).

Openshaw y Whittaker (1966) describen para el enantiómero un p.f. de 242-243° y poder rotatorio de $[\alpha]_D^{22} +86,1^\circ$ (c 1 en metanol).

Análisis: Calculado para $C_{36}H_{43}N_3O_3Br_2 \cdot 1,5 H_2O$

C: 57,44; H: 6,16%

Encontrado: C: 57,76; H: 6,09%

C: 57,45; H: 6,45%

U.V. (etanol): $\lambda_{m\acute{a}x.}$ 369 m μ (log ξ 4,33); 284 (3,33); 247 (inflexión) (3,80); 231 (inflexión) (4,22).

I.R. (nujol): $\nu_{m\acute{a}x.}$ 3340 cm^{-1} (NH); 2600 ($>C=NH$)

CCD: R_f 0,7E (sílica gel; sistema 1); R_f 0,35 (Avicel; sistema 3);

R_f 0,43 (sílica gel; sistema 2)

Reducción de la dihidro- β -carbolina (XLVIIIa).- Obtención de (+)-O-bencil-isotubulosina (XLIXa) y O-bencil-tubulosina (La):

Se disolvió 0,176 g ($2,3 \cdot 10^{-4}$ mol) de dibromhidrato de dihidro- β -carbolina (XLVIIIa) en 30 ml de metanol-agua (2:1) y se trató con 0,020 g de borohidruro de sodio, decolorándose de inmediato la solución amarilla. Se calentó a reflujo durante 30 minutos, enfriándose luego la solución a temperatura ambiente, se agregó 20 ml de agua y se extrajo con éter etílico (4x50 ml). Los extractos etéreos reunidos fueron lavados con agua, secados sobre sulfato de sodio y evaporados al vacío a sequedad.

En cromatografía en placa delgada se detectó la desaparición de la sustancia original y la aparición de dos manchas nuevas, que en placa de sílica gel (sistema 1) tenían un R_f de 0,55 y 0,75 respectivamente y en alúmina neutra (sistema 4), sus R_f eran 0,40 y 0,64.

El residuo se hierve con 30 ml de éter etílico, se deja enfriar y se filtra la porción insoluble. La cromatografía en placa delgada indica que el producto insoluble es cromatográficamente puro y corresponde a la sustancia de R_f 0,40 (alúmina) o 0,55 (sílica gel) y que es idéntica a la 0-bencil-isotubulosina en sus características cromatográficas.

El producto crudo tiene un p.f. de 174-177°. Los 0,081 g obtenidos (rendimiento 61,8%), se disolvieron en 3 ml de éter n-butílico (libre de peróxidos) caliente y por posterior enfriamiento cristalizó la 0-bencil-isotubulosina de p.f. 182-184° y $[\alpha]_D^{30} + 20,6^\circ$ (c 1,02 en cloroformo). Openshaw y Whittaker (1966) describen para el enantiómero un p.f. de 194-196° en capilar evacuado y un poder rotatorio de $[\alpha]_D^{25} -18,5^\circ$ (c 1 en cloroformo).

En los líquidos madres se detectó como producto principal la sustancia de R_f 0,64 (alúmina) y 0,75 (sílica gel) y en menor cantidad la presencia de 0-bencil-isotubulosina.

La solución se evaporó al vacío a sequedad, dando un residuo de 0,026 g que se disolvió en cloroformo y se cromatografió en columna de alúmina neutra (2,6 g) eluyendo con éter etílico.

Los primeros 25 ml de eluido no contenían ningún producto (Dragendorff negativo). Este apareció en los eluidos posteriores que se recogieron en fracciones de 2 ml cada una:

1.-Tubos 1-7 (volumen 14 ml): contenía la sustancia de R_f 0,64 (alúmina).

2.-Tubos 8-10(volumen 6 ml): dieron reacción de Dragendorff negativa.

3.-Tubos 11-17 (volumen 36 ml): contenían la sustancia de R_f 0,40 (alúmina).

Los tubos 11-17 que contenían evidentemente O-bencil-isotubulosina se evaporaron dando 0,005 g (p.f. 182-185°).

Los tubos 1-7 por evaporación dieron 0,015 g de un producto levemente amarillo que como se verá posteriormente, sometido a hidrogenólisis dió origen a una sustancia que se comportaba cromatográficamente como tubulosina.

(+)-Isotubulosina (LIIa):

Se disuelven 0,246 g de (+)-O-bencil-isotubulosina (XLIXa) en 5 ml de etanol y se agrega igual peso de catalizador (Pala-dio -carbón 5%), hidrogenándose durante tres horas a 3 atmósfe-ras de presión.

Se filtra el catalizador por Celite y se lava el mismo con etanol. Se evapora el filtrado a sequedad bajo corriente de ni-trógeno. Tratado el residuo con etanol cristaliza la isotubulo-sina de p.f. 163-165° y $[\alpha]_D^{28} +82^\circ$ (c 2 en piridina).

Openshaw y Whittaker (1965). describen para el enantiómero un p.f. de 163-164° (tubo evacuado) y $[\alpha]_D^{26} - 78,7^\circ$ (c 2 en pi-ridina), mientras que Popelak y col. (1966) para la isotubulosi-na natural dan un p.f. de 177-178° y $[\alpha]_D^{25} -84^\circ$ (piridina).

CCD: R_f 0,34 (sistema 1; sílica gel); 0,65 (sistema 2; sílica gel); 0,57(sistema 3; Avicel); 0,40 (sistema 5; sílica gel).

Tubulosina (LIIa):

Se disolvió 0,010 g de la fracción de R_f 0,64 (alúmina) de O-benciltetrahidro- β -carbolina (La) en 3 ml de etanol.

Repetidas las operaciones indicadas en la hidrogenólisis de la O-bencil-isotubulosina, se obtuvo un residuo sólido, amorfo y levemente coloreado cuya cristalización no pudo lograrse.

Sus R_f en distintos sistemas eran idénticos a la tubulosina natural

CCD: R_f 0,43 (sistema 1; sílica gel); 0,29 (sistema 2; sílica gel); 0,32 (sistema 3; Avicel); 0,52 (sistema 5; sílica gel).

RESUMEN

1.- Se hace una revisión del grupo de alcaloides que se han encontrado en la naturaleza hasta mediados del presente año, que contienen un núcleo β -carbolínico y cuyo nitrógeno indólico no participa en la formación de ningún otro ciclo.

Es bien visible la gradación del resto en el carbono 1, que va desde la plectocomina, sin sustituyente en esa posición, hasta llegar a estructuras de la complejidad de la tubulosina.

Terminado de escribir dicho capítulo, se ha hallado un nuevo alcaloide, la strictosidina (Smith, 1968: Brown, Smith y Stapleford, 1968) que debería sumarse a la lista indicada.

2.- Se describen individualmente las distintas bases naturales que contienen la estructura fundamental de la tubulosina y que se han aislado de varias familias de plantas.

Se señalan las propiedades biológicas que se han descrito recientemente para la tubulosina, que muestra capacidad para inhibir la biosíntesis de proteínas.

3.- Se hace una revisión histórica de la información que se posee sobre el Pogonopus tubulosus (DC.) Schumann, en cuanto a los datos botánicos y fitogeográficos; los estudios químicos realizados y los ensayos farmacológicos de las bases que contiene.

4.- Se efectúa una revisión del trabajo realizado para establecer la estructura y estereoquímica de la tubulosina. Hemos podido efectuar una interpretación, que consideramos bastante completa, del espectro de masa.

5.- Se ha efectuado un análisis de la biogénesis de los alcaloides que contienen el núcleo benzoquinolizínico (alcaloides

del Ipecac y del grupo de la tubulosina) y basándose en el hallazgo de los nuevos alcaloides, la cordifolina, al cual debería sumarse ahora la strictosidina, se señala la posibilidad que la biogénesis de la porción benzoquinolizínica de la molécula pueda realizarse por dos caminos.

6.- Se hace un análisis exhaustivo de la síntesis de estructuras relacionadas a la (+)-tubulosina y de los intermediarios necesarios para llevarla a cabo.

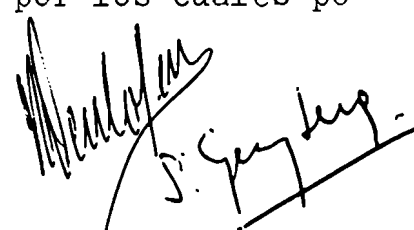
En vista de la importancia que juega la reacción de Wittig en una de las etapas de esta síntesis, se ha analizado en extenso su mecanismo y en particular la estereoquímica.

7.- Mediante la aplicación de las reacciones descriptas anteriormente, se pudo efectuar la síntesis de la (+)-isotubulosina cristalizada y demostrar por cromatografía en placa delgada, que una sustancia sólida, que no pudo cristalizarse, cromatográficamente homogénea, se comportaba como la tubulosina.

8.- a) Se ha asignado estructura trans al éster α - β -no saturado (XXIX; R=OEt) resultante de la aplicación de la reacción de Wittig a la cetona benzoquinolizínica (IX).

b) Se ha demostrado la estructura exocíclica de la amida no saturada (XLIII) obtenida por el método de los anhídridos mixtos cuando se condensa el ácido (V'; R=OH) con la triptamina. Cuando la reacción se hace por fusión la doble ligadura se desplaza y se transforma en endocíclica (Openshaw y Whittaker, 1963).

c) Se identificaron los compuestos que se originan como resultado de reacciones secundarias durante la formación de amidas, indicándose los posibles mecanismos por los cuales podrían formarse los mismos.



REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Ahmad V.U., Ali M.A. y Siddiqui S., Pakistan J. Sci. Ind. Res., 8,166 (1965).
- Albertson N.F., "Organic Reactions" Vol. 12, Capitulo 4, pág. 157. John Wiley Sons, New York (1962).
- Albright J.D., Van Meter J.C. y Goldman L., Lloydia, 28, 212(1965)
- Allinger N.L. y Blatter H.M., J. Am. Chem. Soc., 83,994 (1961).
- Arata P.N. y Canzoneri P., Revista Farmacéutica, 27, 323, 355 (1888).
- Battersby A.R. y Openshaw H.T., Experientia, 6, 378 (1950).
- Battersby A.R., Openshaw H.T. y Wood H.C.S., J. Chem. Soc. 2463 (1953).
- Battersby A.R. y Harper B.J.T., Proc. Chem. Soc., 152 (1959).
- Battersby A.R. y Turner J.C., J. Chem. Soc., 717 (1960).
- Battersby A.R., Davidson G.C. y Turner J. C., J. Chem. Soc., 3899 (1961).
- Battersby A.R., Merchant J.R., Ruveda E.A. y Salgar S.S., Chem. Comm., 315 (1965).
- Battersby A.R., Binks R., Lawrie W., Parry G.V. y Webster B.R., J. Chem. Soc., 7459 (1965 a).
- Battersby A.R., Brown R.T., Kapil R.S., Plunkett A.O. y Taylor J.B., Chem. Comm., 46 (1966).
- Battersby A.R., Brown R.T., Knight J.A., Martin J.A. y Plunkett A.O., Chem. Comm., 346 (1966 a).
- Battersby A.R., Brown R.T., Kapil R.S., Knight J.A., Martin J.A. y Plunkett A.O., Chem. Comm., 810 (1966 b).
- Battersby A.R., Brown R.T., Kapil R.S., Martin J.A. y Plunkett A.O., Chem. Comm., 812 (1966 c).
- Battersby A.R., Brown R.T., Kapil R.S., Knight J.A., Martin J.A. y Plunkett A.O., Chem. Comm., 888 (1966 d).
- Battersby A.R., Brown R.T., Kapil R.S., Martin J.A. y Plunkett A.O., Chem. Comm., 890 (1966 e).

- Battersby A.R., Kapil R.S., Bhakuni D.S., Popli S.P., Merchant J.R. y Salgar S.S., *Tetrahedron Letters*, 4965 (1966 f).
- Battersby A.R., Gregory B., Spencer H., Turner J.C., Janot M.M., Potier P., Francois Ry Levisalles J., *Chem. Comm.*, 219 (1967).
- Battersby A.R., Binks R. y Huxtable R., *Tetrahedron Letters*, 563 (1967 a).
- Battersby A.R., Kapil R.S., Martin J.A. y Mo I., *Chem. Comm.*, 133 (1968)
- Battersby A.R. y Gregory B., *Chem. Comm.*, 134 (1968 a).
- Bergelson L.D. y Shemyakin M.M., *Tetrahedron*, 19, 149 (1963).
- Biemann K., "Mass Spectrometry: Organic Chemical Applications", pág. 319. McGraw-Hill, New York (1962).
- Boissonnas R.A., *Helv. Chim. Acta*, 34, 874 (1951).
- Brauchli P., Deulofeu V., Budzikiewicz H. y Djerassi C., *J. Am. Chem. Soc.*, 86, 1895 (1964).
- Brossi A., Lindlar H., Walter M. y Schnider O., *Helv. Chim. Acta*, 41, 119 (1958).
- Brossi A., Baumann M., Chopard-dit-Jean L.H., Würsch J., Schneider F. y Schnider O., *Helv. Chim. Acta*, 42, 772 (1959).
- Brossi A., Chopard-dit-Jean L.H., Würsch J. y Schnider O., *Helv. Chim. Acta*, 43, 583 (1960).
- Brossi A. y Schnider O., *Helv. Chim. Acta*, 45, 1899 (1962).
- Brown R.T. y Row L.R., *Chem. Comm.*, 453 (1967).
- Brown R.T., Smith G.N. y Stapleford K.S.J., *Tetrahedron Letters*, 4349 (1968).
- Buck J.S., *J. Am. Chem. Soc.*, 56, 1769 (1934).
- Buck J.S. y Ide W.S., *J. Am. Chem. Soc.*, 60, 2102 (1938).
- Budzikiewicz H., Pařrashi S.C. y Vorbrüggen H., *Tetrahedron*, 20, 399 (1964).

- Budzikiewicz H., Brauman J.I. y Djerassi C., *Tetrahedron*, 21, 1855 (1965).
- Dalma G. y Mateu Amengual B., *Arch. Farm. Bioquim. Tucuman*, 4, 59 (1948).
- Dasgupta B., *J. Pharm. Sci.*, 54, 481 (1965).
- De Candolle, *Prodrromus*, 4, 397 (1830).
- Denney D.B. y Ross S.T., *J. Org. Chem.*, 27, 998 (1962).
- Doig G.G., Loudon J.D. y McCloskey P., *J. Chem. Soc.*, 3912 (1952).
- Edwards P.N. y Smith G.F., *Proc. Chem. Soc.*, 215 (1960).
- Ek A. y Witkop B., *J. Am. Chem. Soc.*, 76, 5579 (1954).
- Fliszar S., Hudson R.F. y Salvadori G., *Helv. Chim. Acta*, 46, 1580 (1963).
- Fodor G. y Tomoskozi I., *Tetrahedron Letters*, 579 (1961).
- Fritsche J., *Ann.*, 64, 360 (1848).
- Giacopello D., *J. Chromatography*, 19, 172 (1965).
- Goebel F., *Ann.*, 38, 363 (1841).
- Goeggel H. y Arigoni D., *Chem. Comm.*, 538 (1968).
- Groger D., Wendt H.J., Mothes K. y Weygand F., *Naturforsch.*, 14b, 355 (1959).
- Grollman A.P., *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.*, 56, 1867 (1966).
- Grollman A.P., *Science*, 157, 189 (1967).
- Hahn G. y Ludewig H., *Ber.*, 67, 2031 (1934).
- Hall E.S., Mc Capra F., Money T., Fukumoto K., Mootoo B.S., Phillips T. y Scott A.I., *Chem. Comm.*, 348 (1966).
- Hartwich C. y Jama A., *Schweiz. Wochschr.*, 47, 625, 641 (1909); *Chem. Abstr.* 4, 364 (1910).
- Hesse M., "Indolalkaloide", Springer-Verlag, Berlin (1964, 1968).
- Hieronymus J., "Plantas Diaforicas. Flora Argentina", pag. 149. Ed. Atlantida, Cerdoaba (1882).
- Korner L., Winkler H., Rapp A., Mentrup A., Hoffmann H. y Beck

- P., Tetrahedron Letters, 161 (1961).
- Horner L., Hoffmann H., Klink W., Ertl H. y Toscano V.G., Ber., 95, 581 (1962).
- Hooker, Genera Plantarum, 2, 47 (1873).
- House H.O. y Rasmusson G.R., J. Org. Chem., 24, 4278 (1961).
- Inouye H., Veda S. y Takeda Y., Tetrahedron Letters, 3453 (1968).
- Isler O., Gutmann H., Montavon M., Rüegg R., Rysery G. y Zeller P., Helv. Chim. Acta, 40, 1242 (1957).
- Johns S.R., Lamberton J.A. y Occolowitz J.L., Australian J. Chem., 20, 1737 (1967).
- Kaczkowski J., Schütte H.R. y Mothes K., Naturwiss., 47, 304 (1960).
- Kiang A.K., Chan K.C. y Taylor W.I., Lloydia, 30, 189 (1967).
- King J.A. y McMillan F.H., J. Am. Chem. Soc., 73, 4911 (1951).
- King J.A. y McMillan F.H., J. Am. Chem. Soc., 77, 2814 (1955).
- Klyne W., Experientia, 12, 119 (1956).
- Leete E. y Marion L., Can. J. Chem., 31, 126 (1953).
- Leete E., Marion L. y Spenser I.D., Nature, 174, 650 (1954); Can. J. Chem., 32, 1116 (1954).
- Leete E., Chem. and Ind., London, 537 (1955).
- Leete E., J. Am. Chem. Soc., 78, 3520 (1956).
- Leete E., Chem. and Ind., London, 692 (1960 a).
- Leete E., J. Am. Chem. Soc., 82, 6338 (1960 b).
- Leete E., Tetrahedron, 14, 35 (1961).
- Leete E., Ghosal S. y Edwards P.W., J. Am. Chem. Soc., 84, 1068 (1962).
- Leete E. y Ueda S., Tetrahedron Letters, 4915 (1966).
- Le Men J. y Taylor W.I., Experientia, 21, 508 (1965).
- Loew P., Goeggel H. y Arigoni D., Chem. Comm., 347 (1966).
- Loew P. y Arigoni D., Chem. Comm., 137 (1968).
- Mannich C. y Bauroth M., Ber., 57, 1108 (1924).

- Manske R.H.F., "The Alkaloids", Vol VIII, pág. 48. Academic Press, New York (1965).
- Mc Capra F., Money T., Scott A.I. y Wright I.G., Chem. Comm., 537 (1965).
- Michaelis A. y Gimbom H., Ber., 27, 272 (1894).
- Monteiro H., Budzikiewicz H., Djerassi C., Arndt R.R. y Baarschers W.H., Chem. Comm., 317 (1965).
- Munier R. y Macheboeuf M., Bull. Soc. Chim. Biol., 38, 846 (1951).
- Openshaw H.T. y Whittaker N., J. Chem. Soc., 1449 (1963 **a**).
- Openshaw H.T. y Whittaker N., J. Chem. Soc., 1461 (1963).
- Openshaw H.T. y Whittaker N., Chem., 131 (1966).
- O'Donovan D.G. y Kenneally M.F., J. Chem. Soc. (C) Org., 1109 (1967).
- Pakrashi S.C., Indian J. Chem., 2, 468 (1964).
- Pakrashi S.C. y Ali E., Tetrahedron Letters, 2143 (1967).
- Paris R.R., Percheron F., Mainil J. y Goutarel R., Bull. Soc. Chim. France, 780 (1957).
- Peifer J.J., Mikrochim. Acta, 529 (1962).
- Platonova T.F., Kuzovkov A.D. y Massagetov P.S., Zhur. Obsheei Khim., 28, 3128 (1958); Chem. Abstr. 53, 7506 (1959).
- Poissan J. y Goutarel R., Bull. Soc. Chim. France, 1703 (1956).
- Popelak A., Haack E. y Spingler H., Tetrahedron Letters, 1081, (1966).
- Popelak A., Haack E. y Spingler H., Tetrahedron Letters, 5077 (1966 a).
- Potier P., Kan Ch., Le Men J., Janet M.M., Budzikiewicz H. y Djerassi C., Bull. Soc. Chim. France, 2309 (1966).
- Powers J.C., J. Org. Chem., 33, 2044 (1968).
- Robins P.A. y Walker J., J. Chem. Soc., 3960 (1954).

- Robinson R., J. Chem. Soc., 111, 762 (1917).
- Salgar S.S. y Merchant J.R., Current Sci. (India), 33, 745 (1964);
Chem. Abstr. 62, 8046 h (1965).
- Salgar S.S. y Merchant J.R., Current Sci. (India), 35, 281 (1966);
Chem. Abstr. 65, 7624 e (1966).
- Sanchez E. y Comín J., 4th. International Symposium on The Chem.
of Natural Products. Stockholm (1966).
- Schöpf C. y Lehmann G., Ann., 518, 1 (1935).
- Schumann, Martius, Flora Brasiliensis, 6, 6, 265 (1889).
- Schütte H.R. y Nowacki E., Naturwiss., 46, 493 (1959).
- Siddiqui S., Ali M.A. y Ahmad V.U., Pakistan J. Sci. Ind. Res.,
7, 144 (1964).
- Siddiqui S., Ali M.A. y Ahmad V.U., Pakistan J. Sci. Ind. Res.,
8, 161 (1965).
- Slaytor M. y McFarlane I.J., Phytochemistry, 7, 605 (1968).
- Smith G.N., Chem. Comm., 912 (1968).
- Soto M., Lopez Ramirez P.R., Litter M. y Griot C., La Prensa
Médica Argentina, 35, 2317 (1948).
- Speziale A.J. y Bissing D.E., J. Am. Chem. Soc., 85, 1888, 3878
(1963).
- Speeter M.E., Heinzelmann R.V. y Weisblat D.I., J. Am. Chem.
Soc., 73, 5514 (1951).
- Spiteller G. y Spiteller-Friedmann M., Tetrahedron Letters, 153
(1963).
- Stoll A., Troxler F., Peyer J. y Hoffmann A., Helv. Chim. Acta,
38, 1452 (1955).
- Sugasawa S. y Matsu H., Chem. and Pharm. Bull., 8, 819 (1960);
Chem. Abstr. 55, 20901 a (1961).
- Szántay C., Töke L. y Kolonits, Tetrahedron Letters, 247 (1963).

- Szántay C., Töke L. y Kolonits P., M. Chem. Folyóirat, 73, 293 (1967).
- Thomas R., Tetrahedron Letters 544 (1961).
- Trippett S. y Walker D.M., Chem. and Ind., London, 990 (1961).
- Vaughan J.R. y Osato R.L., J. Am. Chem. Soc., 73, 5553 (1951).
- Vaughan J.R., 128 th. Am. Chem. Soc. Meeting, Minneapolis, Minn., 276 (1955).
- Vogel A.I., "Text Book of Practical Organic Chemistry", Third Edition, Longmans , Green & Co., London. (1959).
- Weddel H.A., Hist. Quinq., 397 (1849).
- Weddel H.A., Ann. Sc. Nat., IV/I,67 (1854).
- Wenkert E. y Bringi N.V., J. Am. Chem. Soc., 81, 1474 (1959).
- Wenkert E., J. Am. Chem. Soc., 84, 98 (1962).
- Whaley W.M. y Meadow M., J. Chem. Soc., 1067 (1953).
- Wieland T. y Sehring R., Ann., 569, 122 (1950).
- Winterstein E. y Trier G., "Die Alkaloide", Gebr. Bornträger, Berlin (1910).
- Wisegogle F.Y., "A Survey of Antimalarial Drugs", Ann. Arbor, 2,1596 (1946).
- Wittig G. y Schöllkopf U., Ber., 87, 1318 (1954).
- Wittig G. y Haag W., Ber., 88,1654 (1955).
- Woodward R.B., Nature, 162, 155 (1948).

INDICE

	Pág.
CAPITULO I. INTRODUCCION	1
CAPITULO II. ALCALOIDES β -CARBOLINICOS.....	3
CAPITULO III. POGONOPUS TUBULOSUS (DC.) SCHUMANN	
a) Datos botánicos y fitogeográficos	8
b) Estudios químicos	8
c) Ensayos farmacológicos	11
CAPITULO IV. ALCALOIDES DEL GRUPO DE LA TUBULOSINA	13
a) Tubulosina	13
b) Isotubulosina	15
c) Deoxitubulosina	16
d) Flangimarckina	17
e) Demetil-tubulosina	19
f) Propiedades biológicas de la tubulosina	20
CAPITULO V. ESTRUCTURA Y ESTEREOQUIMICA DE LA TUBULOSINA	
1. El empleo de métodos químicos	23
2. Determinación de la estructura por métodos físicos.	
a) Espectro infrarrojo	26
b) Espectro de resonancia magnética nuclear	27
c) Espectro ultravioleta	28
d) Espectro de masa	31
Interpretación del espectro de masa	35
3. Estereoquímica	54
CAPITULO VI. BIOGENESIS DE LOS ALCALOIDES DEL IPECAC. RE- LACION CON LA TUBULOSINA	57
Biogénesis de los alcaloides del grupo de la tubulosina	77

CAPITULO VII. LA SINTESIS DE ESTRUCTURAS VINCULADAS A LA
(+)-TUEULOSINA.

1. Consideraciones generales	83
2. Preparación de 5-benciloxitriptamina	84
3. Preparación de cetona (X rac.) y su desdoblamiento en isómeros ópticos	85
4. Preparación del éster α - β -no saturado (XXIX; R=OEt)	89
a) La reacción de Wittig original (empleo de fosforanos)	90
b) Mecanismo	92
c) Estereoquímica	95
d) La reacción de Wittig modificada (empleo de fosfonatos)	102
e) Estructura del éster α - β -no saturado	104
5. Preparación del éster saturado (V'; R=OEt)....	110
6. Preparación de amidas	
a) Activación de la función carboxilo (Método de los anhídridos mixtos)	112
b) Formación de amidas por fusión directa de la amina y el éster	114
c) Estructura de la amida no saturada (XLIII) ..	115
d) Reacciones secundarias durante la reacción de formación de amidas	117
7. Pasos finales de la síntesis	
a) La reacción de Bischler-Napieralski	122
b) Reducción con borohidruro de sodio	123
c) Debencilación	123
d) Síntesis vía protoemetina. Empleo de la	

	Pág.
reacción de Pictet-Spengler	123
CAPITULO VIII. PARTE EXPERIMENTAL	126
RESUMEN	157
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	159
INDICE	166