

## Tesis de Posgrado

# Principios amargos de Aeschrion Crenata Vell. Limonoides de Esenbeckia Febrifuga Juss. y Helietta Longifoliata Britt. : Alcaloides principales de Esenbeckia Febrifuga Juss.

Vitagliano-Rochaix, Juan Carlos

1970

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](http://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](http://digital.bl.fcen.uba.ar). It should be used accompanied by the corresponding citation acknowledging the source.

**Cita tipo APA:**

Vitagliano-Rochaix, Juan Carlos. (1970). Principios amargos de Aeschrion Crenata Vell. Limonoides de Esenbeckia Febrifuga Juss. y Helietta Longifoliata Britt. : Alcaloides principales de Esenbeckia Febrifuga Juss.. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. [http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis\\_1362\\_VitaglianoRochaix.pdf](http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_1362_VitaglianoRochaix.pdf)

**Cita tipo Chicago:**

Vitagliano-Rochaix, Juan Carlos. "Principios amargos de Aeschrion Crenata Vell. Limonoides de Esenbeckia Febrifuga Juss. y Helietta Longifoliata Britt. : Alcaloides principales de Esenbeckia Febrifuga Juss.". Tesis de Doctor. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. 1970.  
[http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis\\_1362\\_VitaglianoRochaix.pdf](http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_1362_VitaglianoRochaix.pdf)

**EXACTAS** UBA

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales



**UBA**

Universidad de Buenos Aires

UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES  
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES

PRINCIPIOS AMARGOS DE AESCHRION CRENATA VELL.  
LIMONOIDES DE ESENBECKIA FEBRIFUGA JUSS. Y  
HELIETTA LONGIFOLIATA BRITT.  
ALCALOIDES PRINCIPALES DE ESENBECKIA FEBRIFUGA JUSS.

JUAN CARLOS VITAGLIANO-ROCHAIX

TESIS PRESENTADA PARA OPTAR POR EL TITULO DE  
DOCTOR EN QUIMICA  
(ORIENTACION QUIMICA ORGANICA)

- 1 3 6 2 -

1970

A mis padres

A mi novia

Mi mas sincero agradecimiento  
al Dr. Jorge H. Z. Comin, quien  
sugiriera los temas del presente  
trabajo y que mediante su dedica-  
ción, apoyo y seguro consejo fuera  
inapreciable guía.

Agradezco también:

Al Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas, por haberme otorgado una beca de iniciación que permitió llevar a cabo parte de esta tesis.

A los doctores O.O.Orazi (Universidad de La Plata), D.L.Dreyer (Pasadena, California) y C.G.Casinovi (Istituto Superiore de Sanità, Roma), por haberme facilitado una muestra de flinder-siamina, rutaevina y 12-norquassina respectivamente.

Al personal técnico de Varian-MAT, por la realización de los espectros de masa.

A la Dra. Blanca de Deferrari, por los microanálisis realizados.

Al Sr. Juan J. Ferrer, por los espectros realizados.

A la Srta. María Susana Tembours, quien con su constante apoyo y aliento posibilitara la concreción de este trabajo.

A los licenciados Carlos A. Mammarella y Héctor López Irabedra, por sus sugerencias y fructíferas discusiones.

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

Al personal del Departamento de Biblioteca y publicaciones, por su colaboración desinteresada.

## INDICE

I.- PRINCIPIOS AMARGOS DE SIMARUBACEAS Y RUTACEAS	
Principios amargos de simarubáceas.....	1
Revisión de principios amargos de simarubáceas.....	4
Principios amargos de rutáceas.....	18
Revisión de principios amargos de rutáceas.....	21
Biogénesis.....	34
II.- PRINCIPIOS AMARGOS DE <u>ABSCHRON</u> <u>CREMATA</u> VELL.	
Aislamiento y determinación de estructuras.....	54
Espectros.....	68
Parte experimental.....	78
III.- LIMONOIDES DE <u>ESENBLONIA</u> <u>FEBRIFUGA</u> JUSS. Y <u>HELIETTA</u> <u>LONGIFOLIATA</u> BRITT.	
Aislamiento y determinación de estructuras.....	85
Espectros.....	90
Parte experimental.....	96
IV.- ALCALOIDES PRINCIPALES DE <u>ESENBLONIA</u> <u>FEBRIFUGA</u> JUSS.	
Aislamiento y determinación de estructuras.....	102
Espectros.....	107
Parte experimental.....	111
RESUMEN.....	114
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	119

I. PRINCIPIOS AMARGOS DE SIMARUBACEAS Y  
RUTACEAS

## PRINCIPIOS AMARGOS DE SIMARUBACEAS

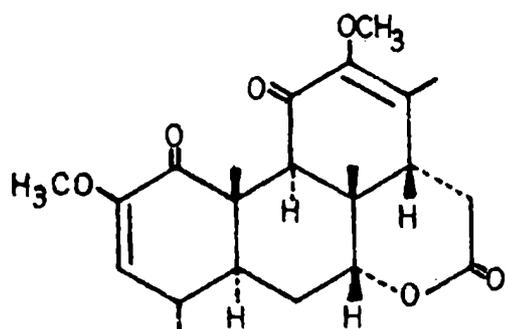
La familia de las simarubaceas esta constituida aproximadamente por treinta generos y unas docientas especies, que se encuentran generalmente en regiones tropicales, y solamente algunas pocas, como Ailanthus, se desarrollan en regiones templadas. En la Republica Argentina, en la parte norte del pais, crecen ocho especies, pertenecientes a cinco generos(1): Simaba glabra Engl., Castela cococinea Gris., Castela tweedi Planch., Aeschrion orenata Vell., Picramnia sellowi Planch., Picramnia regnelli Engl., Picramnia parviflora Engl., y Alvaradoa puberulenta (Monach.) Sleumer.

Se ha podido determinar hasta ahora, que quince especies de esta familia contienen sustancias amargas, responsables aparentemente de las propiedades medicinales puestas en evidencia por el uso que le daban los aborigenes de las regiones en que estas crecen.

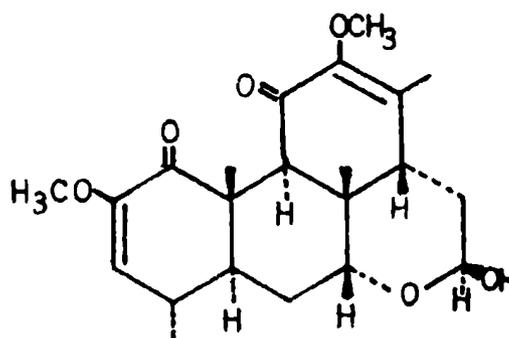
La existencia de sustancias amargas en la corteza de Quassia amara, fue anunciada hace mas de un siglo(2). En 1937, Clark(3,4) pudo aislar, con un alto grado de pureza, los dos componentes mayores de la corteza de Quassia amara: quassina(I) y neoquassina(II). Esto determino que Robertson y colaboradores iniciaran una secuencia de investigaciones quimicas(5,6,7,8,9) tendientes a elucidar la estructura de quassina, que sin embargo no pudo establecerse hasta la introduccion en quimica organica de los metodos espectroscopicos ahora disponibles.

Recien en el periodo comprendido entre 1960-1962, Garman y Ward(10,11) y principalmente Valenta y colaboradores(12,13,14) pudieron determinar la estructura de quassina(I) y neoquassina(II), basandose especialmente en la interpretacion de los espectros de resonancia magnetica nuclear. Este es el primer ejemplo de elucidacion total de la estructura de un principio amargo (simaruboloide), llegandose a la conclusion que son derivados dimetoxilados de com-

puestos de C-20, en donde la quassina es una  $\delta$ -lactona y la neo-quassina el hemiacetal correspondiente.

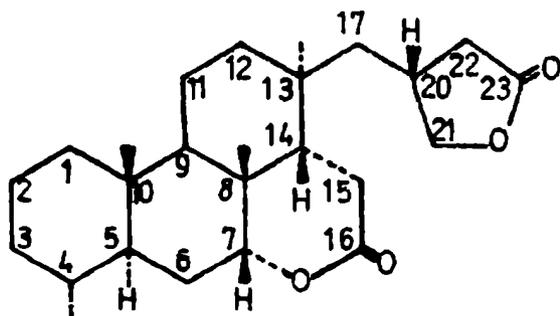


I

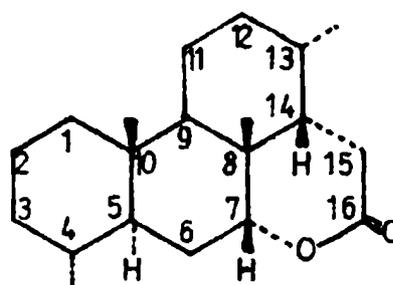


II

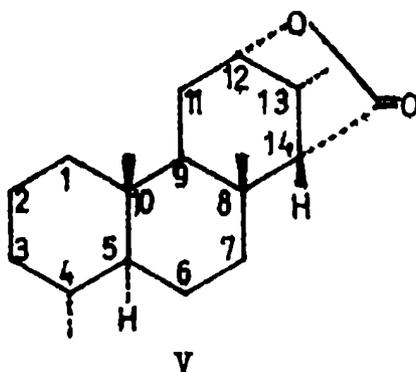
El aislamiento de nuevos principios amargos además de quassina, es reciente. En la elucidación de sus estructuras, la espectroscopía de resonancia magnética nuclear juega un papel muy importante, dada la gran dispersión de las señales de los protones, sometidos a entornos químicos muy diferentes por la polifuncionalidad de la molécula. Estos principios amargos, fundamentalmente compuestos de C-19, C-20 y C-25, están relacionados químicamente. Pueden dividirse en tres grupos según su esqueleto hidrocarbonado fundamental: simarolidano (C-25) (III), quassolidano (C-20) (IV) y cedrolidano (C-19) (V).



III



IV



La mayoría de los principios amargos de las simarubáceas tienen al quassolidano como esqueleto fundamental y poseen un anillo  $\delta$ -lactónico. Los pertenecientes al grupo del cedrolidano, tienen un anillo  $\gamma$ -lactónico por pérdida de un átomo de carbono de la posición C-16. Se conoce solo un representante del grupo simarolidano, y este posee una unidad de cinco átomos unida al carbono C-13, teniendo además de un anillo  $\delta$ -lactónico otro  $\gamma$ -lactónico.

Los principios amargos de cada grupo difieren entre sí en su grado de oxidación, o sea en la naturaleza de sus grupos funcionales. La distribución de estos grupos funcionales sigue un ordenamiento dado, y es así que todas estas sustancias poseen un grupo oxigenado en el C-7. Todos los principios amargos de esta familia, salvo los de Brucea amarissima, tienen funciones oxigenadas en C-1 y C-2. También se pueden encontrar funciones oxigenadas en C-11 y C-12, y en menor proporción en el C-15. El grupo metilo situado en C-8 puede encontrarse en un estado de oxidación en el cual forma un puente hemiacetalico o etéreo con C-11 o C-13. Asimismo en la mayoría de los casos puede haber un doble enlace en la posición C-3, con orientación hacia C-2 o C-4.

El hecho de haber aislado de una simarubácea argentina, la Aeschrion crenata Vell., un principio amargo de estructura desconocida hasta el presente, determina que se haga una revisión sobre

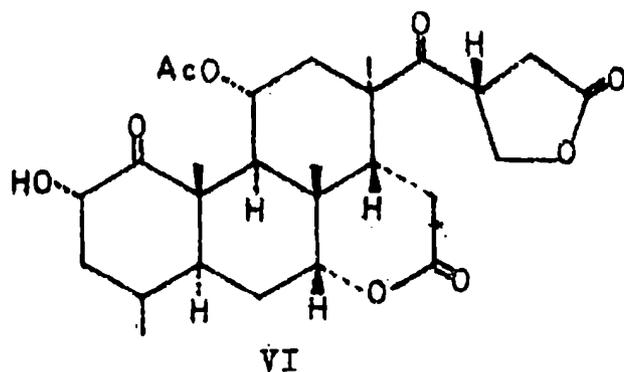
este tipo de productos. Desde el último resumen acerca de los principios amargos de simarubáceas(15) hasta el presente se ha podido aislar y determinar la estructura de ocho nuevos compuestos de esta familia.

### Revisión de principios amargos de simarubáceas.

En esta revisión se dan los siguientes datos de cada principio amargo: nombre, fórmula bruta, fórmula estructural, punto de fusión, poder rotatorio, derivados conocidos y especies de las cuales se los ha aislado. Se dan además las citas bibliográficas correspondientes a los siguientes datos espectroscópicos: U.V., I.R., R.M.N. y E.M. en los casos en que estos esten publicados. El orden de la presentación se hace en base a los esqueletos fundamentales indicados de III a V.

#### SIMAROLIDANO

Simarolida(VI)



$C_{27}H_{36}O_9$  pf 264-270°  
 $[\alpha]_D +73,6^\circ$  (cloroformo).  
 acetato pf 290-294°

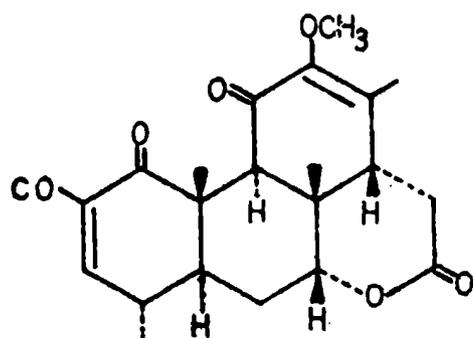
$[\alpha]_D -28,9^\circ$  (cloroformo).

Fue aislada por primera vez de Simaruba amara(16) y su estructura y configuración se pudo determinar mediante la espectroscopía de rayos X(17, 18).

Espectros: I.R.(16), R.M.N.(17)

#### QUASSOLIDANO

## Quassina (VII)



VII

$C_{22}H_{28}O_6$  pf 221-222°

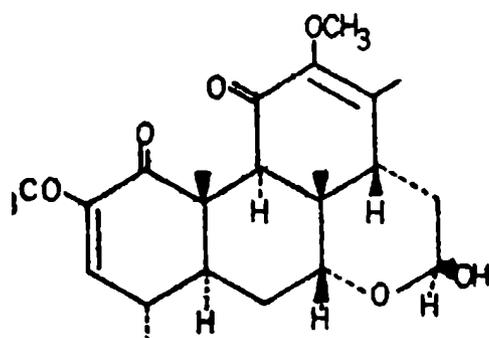
$[\alpha]_D +34,5^\circ$  (cloroformo)

2-4 dinitrofenilhidrazona pf 198-199°

Se aisló por primera vez de Quassia amara(2) y también de Picraena excelsa(19), Aeschrion crenata(20) y de Picrasma ailanthoides(21). Se la puede transformar en neoquassina por reducción(13).

Espectros: U.V.(13), I.R.(13), R.M.N.(11, 13,14).

## Neoquassina (VIII)



VIII

$C_{22}H_{30}O_6$  pf 227-228°

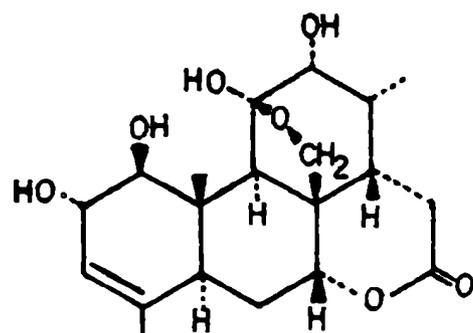
$[\alpha]_D +41^\circ$  (cloroformo).

acetato pf 213-215°

Se la encuentra acompañando a la quassina y se puede transformar en ésta por oxidación(13) dado que es el hemiacetal correspondiente del anillo  $\delta$ -lactónico de la quassina.

Espectros: U.V.(13), I.R.(13), R.M.N.(11, 13).

## Chaparrina (IX)



IX

$C_{20}H_{28}O_7$  pf 309-310°

$[\alpha]_D +45,2^\circ$  (piridina)

triacetato pf 125-135°  $[\alpha]_D -4^\circ$  (piridina)

tetraacetato pf 229-231°

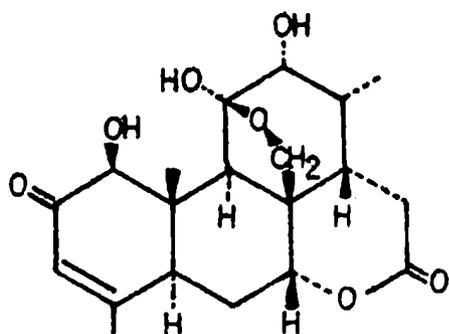
Se aisló de Castela nicholsoni(22) y de Ailanthus altissima(27) y su estructura fue elucidada simultáneamente por Geissman(23) y de Mayo(24,25,26)

Espectros: U.V.(23,24), I.R.(23,24), R.M.N.(23,24,25,26).

## Chaparrinona (X)

 $C_{26}H_{26}O_7$  pf 238-242° $[\alpha]_D -47^\circ$  (piridina)

triacetato pf 135-137°



X

Pudo ser aislada de Hannoa klaineana (28) y de Ailanthus altissima (47).

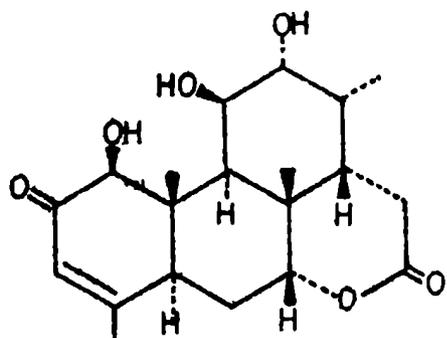
Su estructura fue determinada por Polonsky y colaboradores (28). Se puede obtener por oxidación con bióxido de manganeso a partir de chaparrina (28).

Espectros: U.V. (28, 47), I.R. (28, 47), R.M.N. (28, 47), E.M. (28, 61).

## Klaineanona (XI)

 $C_{20}H_{28}O_6$  pf 253-258° $[\alpha]_D -52^\circ$  (piridina)

diacetato pf 263-270°



XI

 $[\alpha]_D +32,5^\circ$  (cloroformo)

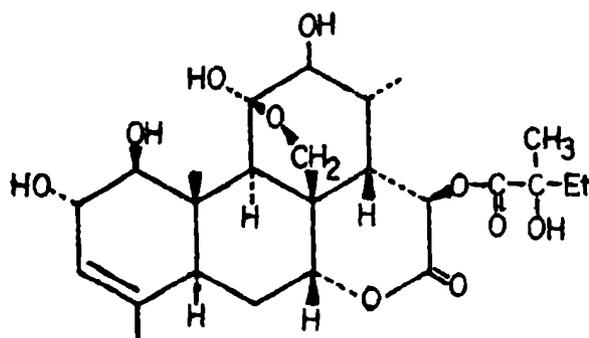
Fue aislada conjuntamente con la chaparrinona, de Hannoa klaineana (28)

Espectros: U.V. (28) I.R. (28), R.M.N. (28), E.M. (28).

## Glaucarubina (XII)

 $C_{25}H_{36}O_{10}$  pf 250-255° $[\alpha]_D +45^\circ$  (piridina) $[\alpha]_D +69^\circ$  (metanol)

acetato pf 161-163°

 $[\alpha]_D +49^\circ$  (piridina)

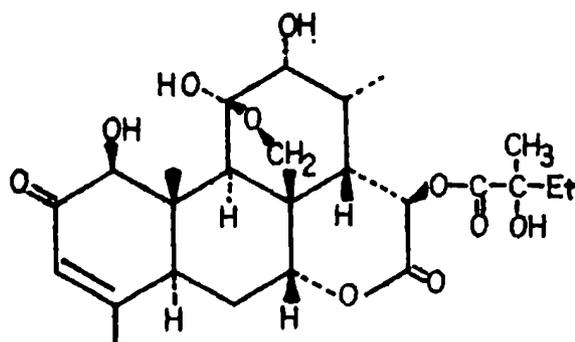
XII

Se la aisló por primera vez de Simaruba glauca (29) y de Perrieria madagascariensis (39). Su estructura fue elucidada a través

del estudio de sus productos de hidrólisis(30,31,32,33,34,35). Su configuración pudo ser establecida por el estudio con rayos X del correspondiente p-bromobenzoato(36,37).

Espectros: I.R.(29), R.M.N.(35).

#### Glaucarubinona(XIII)



XIII

$C_{25}H_{34}O_{10}$  pf 228-230°

$[\alpha]_D +50^\circ$  (metanol)

tetraacetato pf 190-193°

$[\alpha]_D +44^\circ$  (metanol)

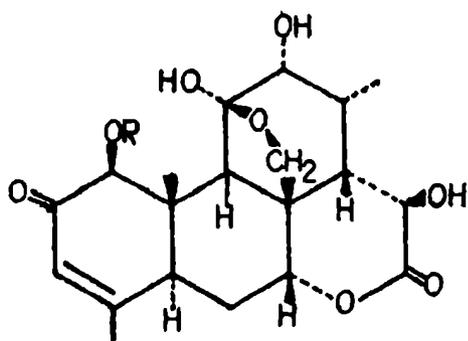
triacetato pf 195-198°

$[\alpha]_D +40^\circ$  (metanol)

Fue aislada de Simaruba glauca (38) y de Ferriera madagascariensis(39) conjuntamente con glaucarubina. Se puede obtener por oxidación de ésta con bióxido de manganeso(38).

Espectros: U.V.(38), I.R.(38), R.M.N.(38), E.M.(61).

#### Glaucarubolona(XIVa)



XIV a) R=H

b) R=CH<sub>3</sub>

$C_{20}H_{26}O_8$  pf 255-258°

$[\alpha]_D -34^\circ$  (piridina)

tetraacetato pf 232-236°

$[\alpha]_D +44^\circ$  (cloroformo)

metoxiderivado(XIVb) pf 160-170°

$[\alpha]_D -18,2^\circ$  (metanol)

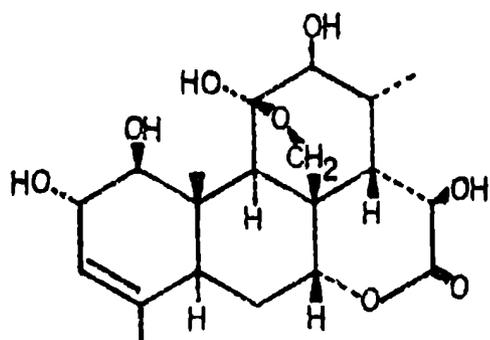
Se aisló de Hannoa klaineana(28) conjuntamente con klaineanona y chaparrinona. La presencia simultánea de tres compuestos de grado de oxidación diferente y de

ser uno de ellos común a otras especies de simarubáceas, constituye un argumento en favor de un mismo camino biogénico para todos

Los principios amargos de esta familia. Hay evidencias sobre su presencia en Castela erecta (25). La glaucarubolona es uno de los productos obtenidos en la hidrólisis alcalina de la glaucarubinona (38).

Espectros: I.P. (25), R.M.N. (28), E.M. (61).

#### Glaucarubol (XV)



XV

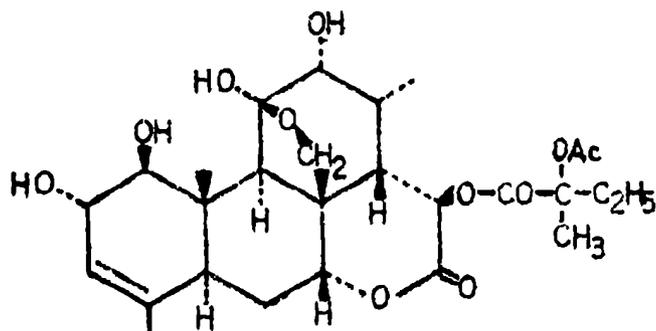
$C_{20}H_{28}O_8$  pf 290-291°  
 $[\alpha]_D +38,2^\circ$  (piridina)  
 pentaacetato pf 199-200°

La existencia de glaucarubol como producto natural se estableció al ser aislado de Castela nicholsoni (22) y de Holacantha emoryi (40). Es uno de los productos de la hidrólisis alcalina de la glaucarubina (30) y su estructura fue establecida como paso previo a la elu-

cidación de la estructura de ésta (30, 31, 32, 33, 34, 35).

Espectros: U.V. (35), I.R. (35), R.M.N. (35).

#### Simaruboloide (XVI)



XVI

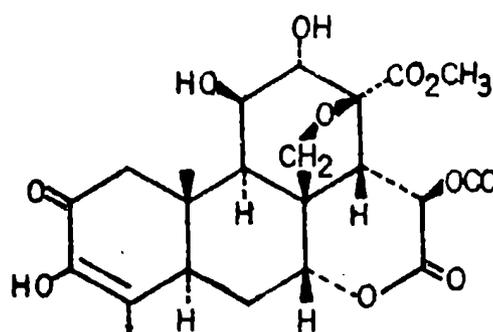
$C_{27}H_{36}O_{11}$  pf 170-173°  
 $[\alpha]_D +74^\circ$  (cloroformo)  
 triacetato pf 187-189°  
 $[\alpha]_D +45^\circ$  (metanol)

Fue aislado de Ferriera madagascariensis (41). Su estructura fue elucidada por Polonsky y colaboradores a través de la comparación de su espectro de masa y el de resonancia magnética nuclear, con los de glaucarubina y glaucarubolona (38, 41).

Por acetilación se transforma en el tetraacetato de glaucarubina.

Espectros: I.F. (26), P.M.N. (26), E.M. (61).

Bruceína A (XVII)



XVII

$C_{26}H_{34}O_{11} [\alpha]_D -86,3^\circ$  (piridina)

Se aisló de Brucea amarissima

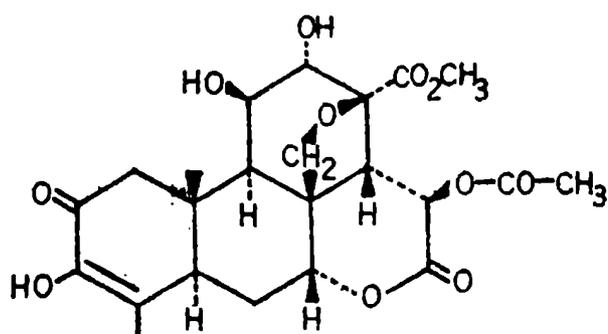
y su estructura pudo ser elucidada por espectroscopía de resonancia magnética nuclear

de masa (42).

Espectros: U.V. (42), I.R. (42)

R.M.N. (42), E.M. (42).

Bruceína B (XVIII)



XVIII

$C_{23}H_{28}O_{11} [\alpha]_D -77,2^\circ$  (piridina)

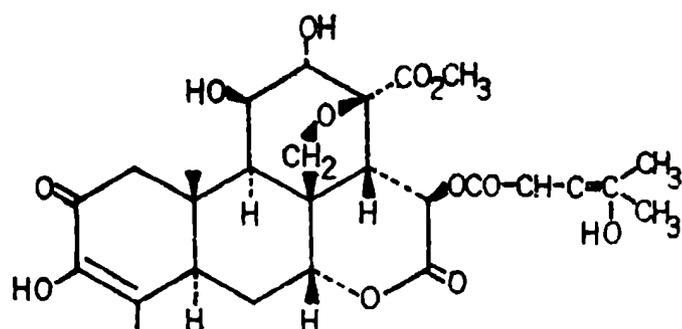
Fue aislada de Brucea amarissima

y su estructura determinada por Polonsky y colaboradores (42).

Espectros: U.V. (42), I.R. (42),

R.M.N. (42), E.M. (42).

Bruceína C (XIX)



XIX

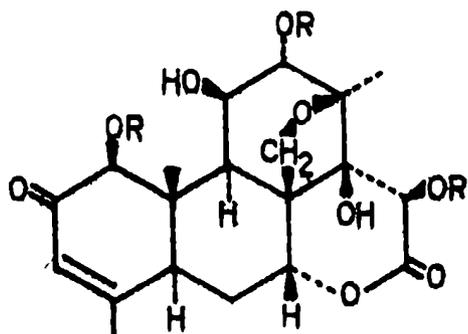
$C_{28}H_{36}O_{12} [\alpha]_D -34,2^\circ$  (piridina)

Se aisló conjuntamente con las bruceínas A y B de Brucea amarissima (42).

Espectros: U.V. (42), I.R. (42)

R.M.N. (42), E.M. (42).

## Bruceína D (XXa)



- XX a) R=H  
b) R=Ac

R.M.N. (43), E.M. (43).

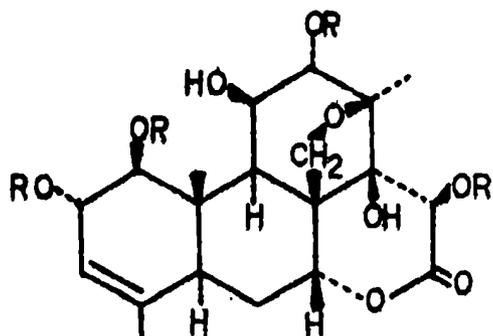
$C_{20}H_{26}O_9$  pf 285-290°  
 $[\alpha]_D -21^\circ$  (piridina)

triacetato (XXb) pf 185-190°

Fue aislada de Brucea amarissima (42,43) y de Brucea sumatrana (47). Su estructura se estableció por estudio de los espectros de resonancia magnética nuclear del triacetato y de la cetona obtenida por oxidación de éste (43).

Espectros: U.V. (43), I.R. (43),

## Bruceína E (XXIa)



- XXI a) R=H  
b) R=Ac

$C_{20}H_{28}O_9$  pf 260-264°  
 $[\alpha]_D +25^\circ$  (piridina)

tetraacetato (XXIb) pf 250-254°

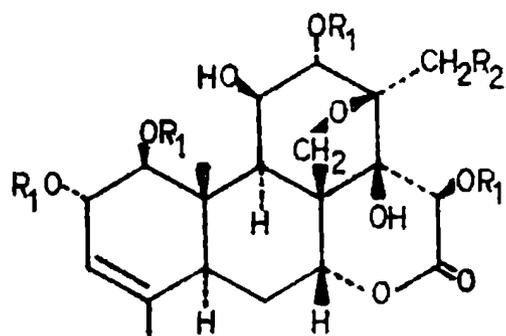
Se aisló de Brucea amarissima (43) y de Brucea sumatrana (44, 45). Es la 2-dihidrobruceína D, y conjuntamente con la bruceína D son los primeros principios amargos que presentan un

$\alpha$ -glicol en C-14 y C-15 (44).

Espectros: U.V. (43), I.R. (43),

R.M.N. (43,45).

## Brucefina F (XXIIa)

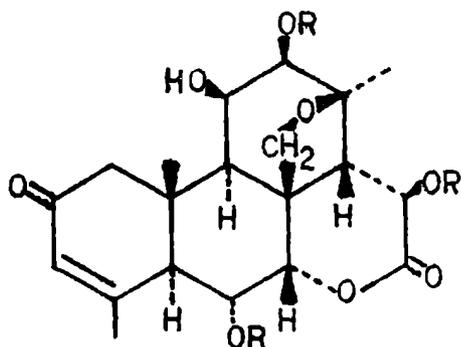
XXII a)  $R_1=H, R_2=OH$ b)  $R_1=Ac, R_2=OAc$  $C_{20}H_{28}O_{10}$  pf 224-227°

Forma un pentaacetato (XXIIb), al ser tratado con una mezcla de piridina y anhídrido acético (45).

Se aisló de Bucea amarissima (45) y es el primer componente de este grupo de principios amargos que posee un grupo hidroximetilo en la posición C-13.

Espectros: I.R. (45), R.M.N. (45).

## Brucefina G (XXIIIa)

XXIII a)  $R=H$ b)  $R=Ac$  $C_{20}H_{26}O_8$  pf 254-258° $[\alpha]_D +58,9^\circ$  (piridina) $[\alpha]_D +85,4^\circ$  (agua)

triacetato pf 243-248°

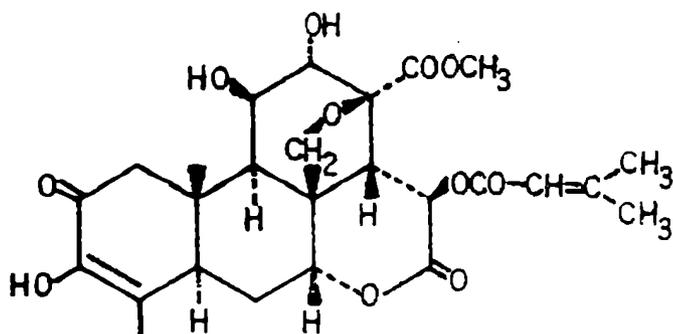
 $[\alpha]_D +89^\circ$  (etanol)

Se aisló conjuntamente con brucefina D de Bucea sumatrana (47) y es el único componente del grupo de las brucefinas, que posee una función hidroxilo en C-6.

Espectros: U.V. (47), I.R. (47)

R.M.N. (47), E.M. (47)

## Brusatol (XXIV)



XXIV

 $C_{26}H_{32}O_{11}$  pf 276-278°

monoacetato pf 260-263°

triacetato pf 247-250°

Fue aislado de Bucea sumatrana (48). Por hidrogenación se transforma en brucefina A (48).  
Espectros: U.V. (48), R.M.N. (48)  
E.M. (48).

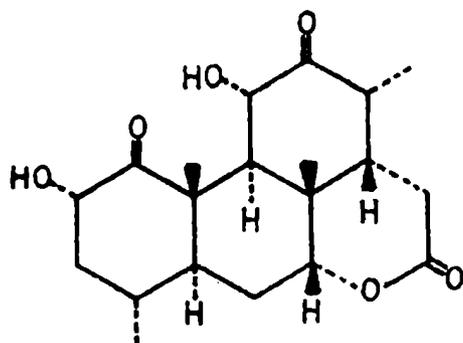
## Amarolida (XXV)

 $C_{20}H_{28}O_6$  pf 253-255°

acetato pf 269-270°

Se aisló de Ailanthus glandulosa (49, 50) y de Castela nicholsoni (51). Su estructura, previamente presentada por Casinovi y colaboradores (49), fue corregida por Geissman y Casinovi a la actual (51).

Espectros: I.R. (49), R.M.N. (49, 51)



XXV

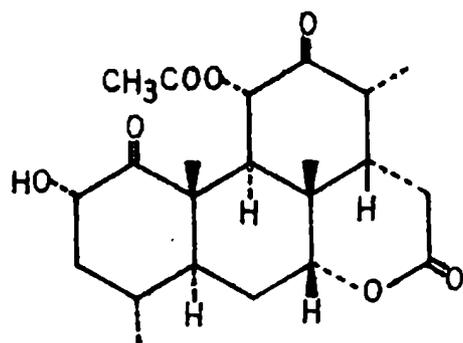
## Acetilamarolida (XXVI)

 $C_{22}H_{30}O_7$  pf 264-265°

acetato pf 269-270°

Se la aisló conjuntamente con amarolida de Ailanthus glandulosa (49). Es el derivado monoacetilado de la amarolida, lo que se confirmó al dar los dos el mismo producto de diacetilación.

Espectros: I.R. (49), R.M.N. (49, 51).



XXVI

## Ailantona (XXVII)

 $C_{20}H_{24}O_7$  pf 234-238° $[\alpha]_D +12,5^\circ$  (etanol)

triacetato pf 225-228°

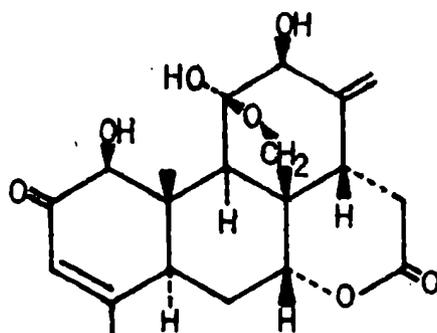
 $[\alpha]_D +30,5^\circ$  (cloroformo)

Fue aislada de Ailanthus glandulosa (52) y Ailanthus altissima (53, 54).

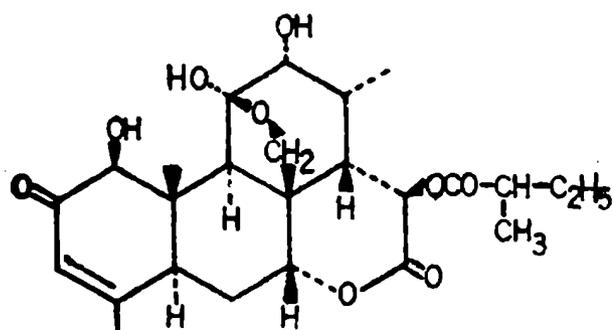
Su estructura fue elucidada por Polonsky (52) y Casinovi (54) en forma simultánea.

Espectros: U.V. (52, 54), I.R. (52, 54)

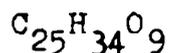
R.M.N. (52, 54), E.M. (61).



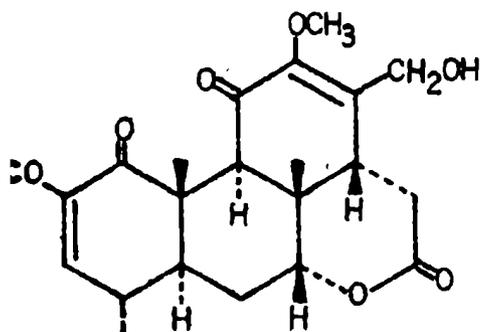
XXVII

**Ailantinona (XXVIII)**

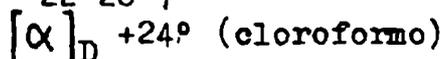
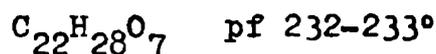
XXVIII



Se aisló de Ailanthus altissima, en la cual aparece como un componente menor (50) conjuntamente con amarolida y acetilamarolida. Se diferencia de la ailantona por tener un resto de ester metilbutírico en C-15. Su estructura fue elucidada por Polonsky y colaboradores (15,50).

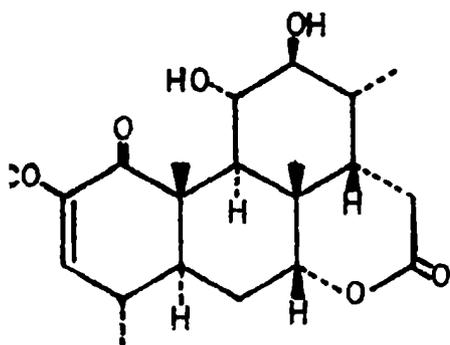
**18-oxiquassina (XXIX)**

XXIX

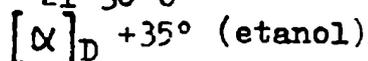
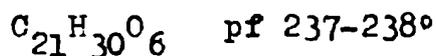


Se aisló del extracto de Quassia amara (55) conjuntamente con quassina y neoquassina. Por oxidación con bióxido de manganeso en cloroformo, da el aldehído correspondiente (55).

Espectros: U.V. (55), I.R. (55), R.M.N. (55).

**Nigakilactona A (XXX)**

XXX

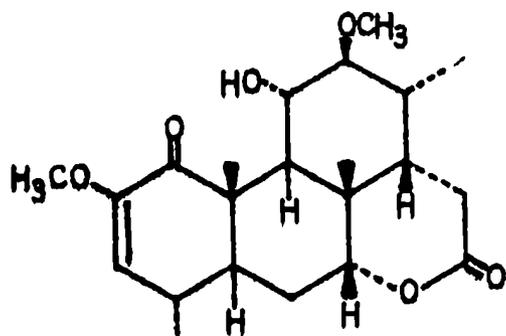


monoacetato pf 224-225°

Se aisló de Picrasma ailanthoides (21) y su estructura se determinó por transformación en quassina (21).

Espectros: U.V. (21), I.R. (21), R.M.N. (21).

## Nigakilactona B(XXXI)



XXXI

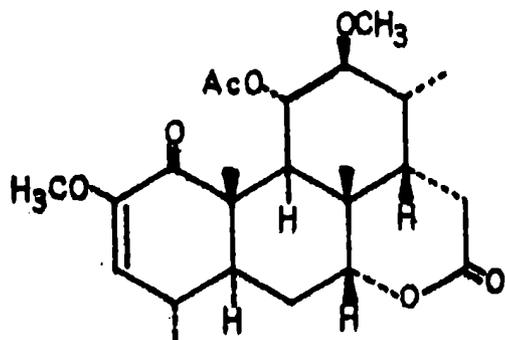
$C_{22}H_{32}O_6$  pf 278-278,5°

$[\alpha]_D +17^\circ$  (etanol)

Se aisló de Picrasma ailanthoides(21) y se puede obtener por metilación de nigakilactona A con yoduro de metilo y óxido de plata. Por acetilación da nigakilactona C, lo que indica la interrelación existente entre estos principios amargos.

Espectros: U.V.(21), I.R.(21), R.M.N.(21).

## Nigakilactona C(XXXII)



XXXII

$C_{24}H_{34}O_7$  pf 252-253°

$[\alpha]_D +9^\circ$  (etanol)

Fue aislada conjuntamente con las nigakilactonas A y B y con quassina de Picrasma ailanthoides(21).

Espectros: U.V.(21), I.R.(21), R.M.N.(21).

CEDROLIDANO

## Samaderina A(XXXIII)

$C_{18}H_{18}O_6$  pf 255-258°

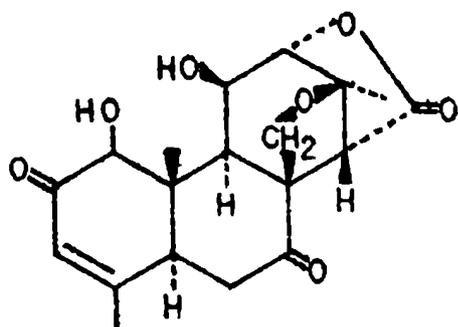
$[\alpha]_D +11,7^\circ$  (cloroformo)

$[\alpha]_D -18,6^\circ$  (piridina)

Se aisló de Samadera indica(56) conjuntamente con las samaderinas B y C. Su estructura no ha podido ser elucidada hasta ahora. Del estudio de sus espectros ultravioleta, infrarrojo y de resonancia magnética nuclear, se ha podido comprobar que es una lactona hidroxilada que presenta una fuerte insaturación(56).

Espectros: U.V. (56), I.R. (56), R.F.N. (56).

Samaderina B (XXXIV)



XXXIV

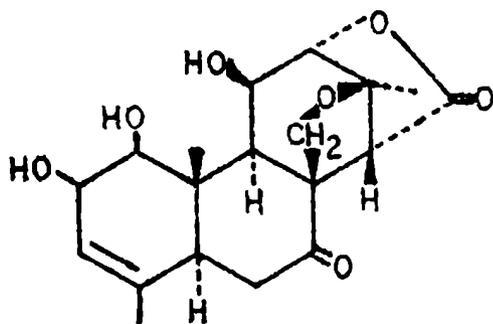
$C_{19}H_{22}O_7$  pf 235-240°

$[\alpha]_D +67,5^\circ$  (piridina)

Se aisló de Samadera indica (56) y su estructura pudo ser determinada a través de la comparación de su espectro de resonancia magnética nuclear con el de samaderina C. Esta última por oxidación con bióxido de manganeso se transforma en la samaderina B (57). Con ac. sulfúrico concentrado da una coloración rojo violacea.

Espectros: U.V. (56), I.R. (56), R.M.N. (56, 57).

Samaderina C (XXXV)



XXXV

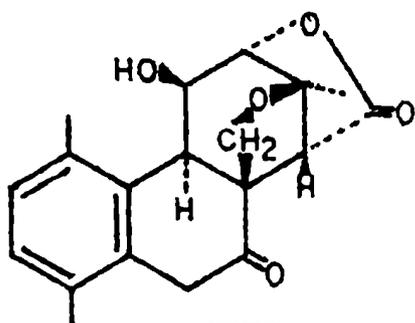
$C_{19}H_{24}O_7$  pf 265-268°

$[\alpha]_D +58,4^\circ$  (piridina)

diacetato pf 215-220°

$[\alpha]_D +83,2^\circ$

Se aisló conjuntamente con la samaderina B de Samadera indica (56). Por tratamiento con una solución acuosa de ac. sulfúrico al 5%, se deshidrata dando un producto cristalino de pf 115-120° (205-210°) denominado samaderol (XXXVI) (56, 57) el cual fue el punto de partida para la elucidación de su estructura. Es decir que la monodeshidratación de la función  $\alpha$ -glicol, seguida de un reordenamiento "dienol-benceno", implica la migra-



XXXVI

ción de un metilo angular(57).Este reordenamiento es comparable, con los que se producen en la transformación del glaucarubol(XV) (35,58) en glaucanol y de chaparrina(IX)(23,24) en chaparrol, en los cuales se forma el mismo anillo aromático tetrasustituido que en el samaderol.

Espectros:U.V.(56),I.R.(56),R.M.N.(56,57).

Cedronina(XXXVII)

$C_{19}H_{24}O_7$  pf 275-280°

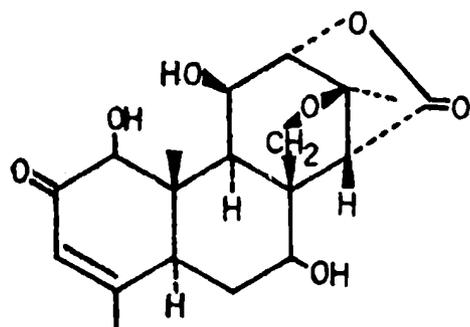
$[\alpha]_D -12,6^\circ$  (piridina)

dihidrocedronina pf 270-273°

$[\alpha]_D -2,2^\circ$  (piridina)

Fue aislada de Simaba cedron(59) y el único dato sobre su estructura es su identificación como 7-dihidro-samaderina B(31,57).

Espectros:U.V.(59),I.R.(59),R.M.N.(59).



XXXVII

Cedronilina(XXXVIII)

$C_{19}H_{26}O_7$  pf 263-267°

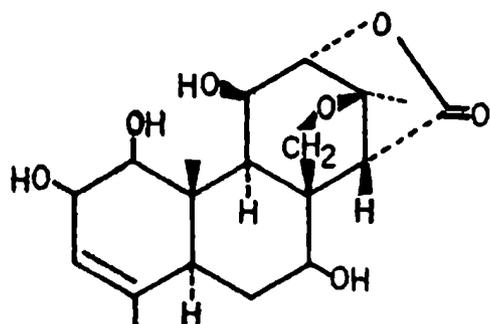
$[\alpha]_D +17,2^\circ$  (piridina)

triacetato pf 207-210°

$[\alpha]_D +48,7^\circ$  (etanol)

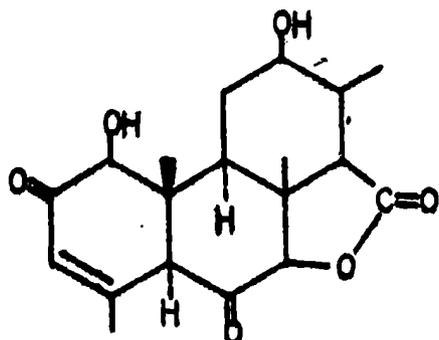
Se la aisló conjuntamente con la cedronina de Simaba cedron(59) y fue identificada como la 7-dihidrosamaderina C(31,57).

Espectros:U.V.(59),I.R.(59),E.M.(59).



XXXVIII

## Eurycomolactona (XXXIX)



XXXIX

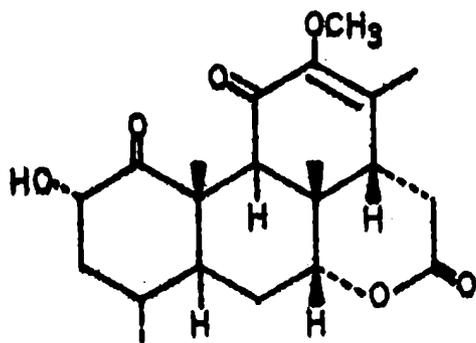
$C_{19}H_{24}O_6$  pf 268-270°  
 $[\alpha]_D +100^\circ$   
 enol acetato pf 248-249°  
 $[\alpha]_D -95^\circ$

Se aisló de Eurycoma longifolia (60) y constituye el primer ejemplo en el grupo de los principios amargos de simarubáceas, donde la función carbonilo aparece en el C-6 y el anillo  $\gamma$ -lactónico entre C-14 y C-7 (60).

Espectros: U.V. (60), I.R. (60), R.M.N. (60).

Addendum

## Picrasin B



$C_{21}H_{28}O_6$  pf 255-257°  
 Se aisló de Picrasma quassioides (149) y su estructura fue recientemente elucidada a través de estudios espectroscópicos y por transformación en quassina mediante oxidación con trióxido de bismuto y posterior metilación con diazometano (149).

Espectros: U.V. (149), I.R. (149), R.M.N. (149).

## PRINCIPIOS AMARGOS DE RUTACEAS

Los principios amargos presentes en las especies de la familia Rutaceae, son triterpenos transformados de veintiseis átomos de carbono. Estos principios amargos, también denominados limonoides, forman conjuntamente con las meliacinas y simaruboloides, un importante grupo de productos naturales de igual origen biogénico, que aparecen en las familias Rutaceae, Meliaceae y Simarubaceae, las cuales están muy relacionadas entre sí (62).

Existen no obstante, notables diferencias entre estos grupos de principios amargos, debidas a diferentes estados de oxidación, reordenamientos y degradaciones del esqueleto triterpénico fundamental. La principal diferencia entre los limonoides y las meliacinas es que estas últimas presentan una mayor complejidad y variación estructural, que va desde compuestos relativamente simples a terpenos modificados de C-26 que han sufrido grandes alteraciones estructurales.

Es conveniente destacar la diferente frecuencia de aparición de estos dos grupos de principios amargos. Se puede observar que en las rutáceas esta frecuencia es relativamente baja si se tiene en cuenta que, a pesar de ser esta una familia bien estudiada, solamente se han podido detectar en el 1% de sus géneros. Por el contrario, en la familia de las meliáceas, la aparición de las meliacinas ha sido informada en un 25% de sus géneros.

En la familia de las rutáceas el nivel de oxidación de los limonoides encontrados depende fundamentalmente de la subfamilia a la que pertenece el género que los produce. Así, en la subfamilia Toddalioidae, de las especies del género Vepris, Casimiroa y Phe-llodendron, se aíslan solamente precursores biogénicos de limonina (ej. deacetilnomilina (XLV), obacunona (XLVI)), es decir sustancias con un menor nivel de oxidación que ella. Las especies del género Citrus, (subfamilia Aurantioidae) presentan la particula-

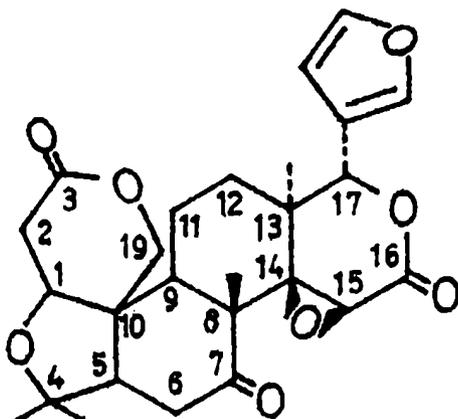
ridad de transformar eficientemente los precursores biogénicos de limonina (XL) en ésta, y por lo tanto las cantidades presentes de nomilina (XLIV), deacetilnomilina (XLV) y obacunona (XLVI) es pequeña. En cambio en la subfamilia más grande, Rutoideae, no se acumulan los precursores de limonina y sólo se produce ésta y sus productos de oxidación como ser limonina diosfenol (XLI) y rutaevina (XLII).

Algunos géneros de la familia de las rutáceas, que han resultado ser productores de estos limonoides, tienen amplio uso en el campo de la medicina popular como ser en el caso de Evodia, Casimiroa, Calodendrum, Phellodendron y Esenbeckia (62). En la mayoría de estos casos no es posible responsabilizar a los limonoides de la actividad terapéutica de la especie, dada la coexistencia de estos productos con otros, fundamentalmente alcaloides, como ocurre en el caso de Phellodendron, Casimiroa, Evodia y recientemente en Esenbeckia (Pag. 102). Sin embargo se ha podido determinar que dietas ricas en semillas de citrus, de elevado contenido de limonina, producen lesiones y la muerte en ciertos animales (63). Esto parecería indicar un cierto grado de toxicidad por parte de la limonina.

La limonina fue el primer componente aislado de este grupo de principios amargos, en 1841 (64), pero el comienzo de una intensa investigación sobre su estructura es relativamente reciente. La elucidación de ésta (XL) se logró en 1960 y pudo ser confirmada con el perfeccionamiento de las nuevas técnicas espectroscópicas (65, 66, 67, 68, 69).

Dada la complejidad estructural de estos productos, su espectro de resonancia magnética nuclear presenta ciertas características que permiten la sistematización del estudio estructural. La distribución de un número grande de grupos funcionales en un esqueleto rígido, como el de los limonoides, determina una protec-

ción diferencial para cada uno de los protones, por lo cual muchos de estos aparecen en regiones muy distintas del espectro y por lo tanto es poco probable la superposición de señales.



XL

Las características principales del espectro de resonancia magnética nuclear de un limonoide de la familia de las rutáceas son, desde la zona de campos altos, las siguientes:

- a) bandas debidas a la absorción de C-metilos.
  - b) bandas de absorción de los cuatro protones de C-2 y C-6  $\alpha$  a los grupos carbonilos.
  - c) un singulete muy agudo debido al protón de C-15, adyacente al grupo epóxido. En algunos casos esta banda se superpone con la señal debida al protón de C-1.
  - d) una banda ancha debida al protón de C-1, que puede llegar a resolverse en un triplete simétrico.
  - e) un sistema AB de los protones de C-19, que en algunos casos aparece como un singulete ensanchado.
  - f) un singulete ensanchado debido al protón de C-17, adyacente al anillo furano.
  - g) las señales de los protones del anillo furánico  $\beta$ -sustituído.
- La sistematización del estudio por resonancia magnética nuclear ha permitido confeccionar tablas de las señales de estos limonoi-

des(68). También se ha sistematizado el estudio de la dispersión rotatoria(O.R.D.) y dicroísmo circular(C.D.)(70).

Hasta el presente no se ha podido hacer una correlación general entre la estructura y el sabor amargo de estos productos, que algunos no poseen. La limonina no es la responsable del sabor amargo en la fruta cítrica o en su jugo recién preparado; es necesario un período de doce a veinticuatro horas de estacionamiento para que el sabor amargo aparezca. Para explicar este retardo, Kefford(71) postula que dicho período es el tiempo necesario para que la limonina difunda desde el tejido al jugo, dado que debe estar en solución para tener sabor amargo.

Trabajos más recientes de Maier y Beverly(72), indican como responsable del retardo a la presencia de la limonina en los tejidos en una forma en la cual uno de los anillos lactónicos está abierto. Este ácido limónico es estable al pH neutro del tejido del fruto, pero cuando el mismo se rompe en la trituración, el anillo se cierra para dar la limonina debido a la acidez del jugo (pH 3,5).

El hecho de haber aislado de dos rutáceas argentinas, la Esenbeckia febrífuga Juss. y Helietta longifoliata Britt., dos terpenos pertenecientes a este grupo de limonoides, rutaevina(XLII) y limonina(XI) respectivamente, determina que se haga una revisión sobre este tipo de productos.

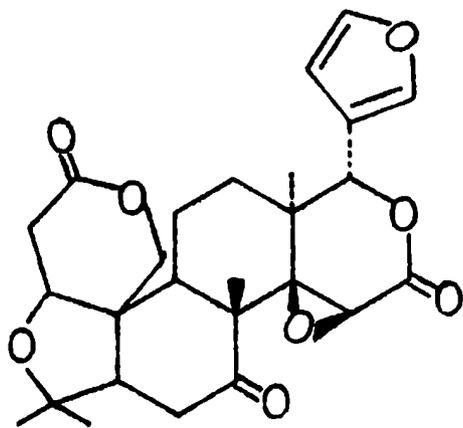
#### Revisión de principios amargos de rutáceas

En esta revisión se dan los siguientes datos de cada principio amargo: nombre, fórmula bruta, fórmula estructural, punto de fusión, poder rotatorio y especies de las cuales se los ha aislado.

Se dan además las citas bibliográficas correspondientes a los siguientes datos espectroscópicos: espectro ultravioleta(U.V),

espectro infrarrojo (I.P.), espectro de resonancia magnética nuclear (R.M.N.) y espectro de masa (M.I.) en los casos en que éstos están publicados.

Limonina (XL)



XL

$C_{26}H_{30}O_8$  pf 298-300°

$[\alpha]_D -125^\circ$  (acetona)

$[\alpha]_D +36^\circ$  (HOF 1N en etanol)

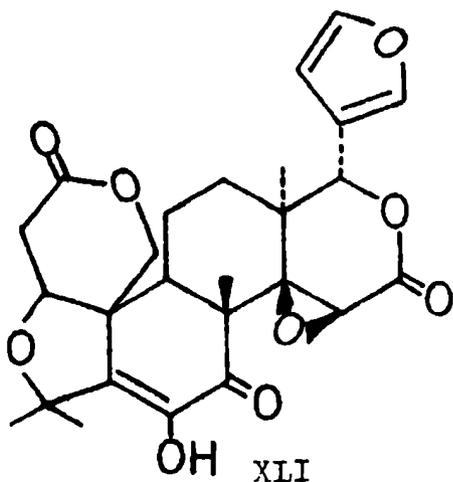
oxima pf 236-239°  $[\alpha]_D +115^\circ$  (acetona).

fenilhidrazona pf 215-220° (73)

Fue aislada de una gran cantidad de géneros, especialmente de especies del Citrus (74). También de Phellodendron amurense (75, 76), Evodia rutaecarpa (77, 78), Evodia danielli (79), Dictamnus albus (80, 81), Calodendrum capense (82),

Poncirus trifoliata (74), Juvunga eleutheranda (83) y Helietta longifoliata (Pag. 85). La elucidación de su estructura se logró por los trabajos de tres grupos de investigadores: Barton y colaboradores (69) en Londres, Arigoni y colaboradores (65) en Zürich y Corey y colaboradores (66) en Urbana. Ello dió lugar a una posterior publicación conjunta (67) que reúne los trabajos anteriores. La confirmación de su estructura y configuración se logró por rayos X (84). Espectros: U.V. (65, 69, 85), I.P. (65, 69, 86), R.M.N. (68, 69).

Limonina diosfenol (XLI)



XLI

$C_{26}H_{28}O_9$  pf 280-285°

$[\alpha]_D -200^\circ$  (acetona) (87)

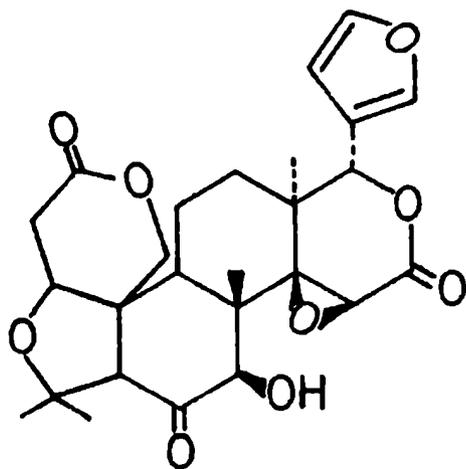
acetato pf 292-299°

$[\alpha]_D -101^\circ$  (acetona).

Se aisló por primera vez de Evodia rutaecarpa (87, 88) y luego de Evodia danielli (79), Calodendrum capense (74). Existen evidencias de su presencia

en Evodia hupenhensis(74) y Esenbeckia febrifuga(Pag.85). Su estructura se determinó fácilmente al ser el producto principal de la autoxidación de la limonina con terbutóxido de potasio(69,90).  
Espectros:U.V.(69),I.R.(69),R.M.N.(68,69).

Rutaevina(XLII)



XLII

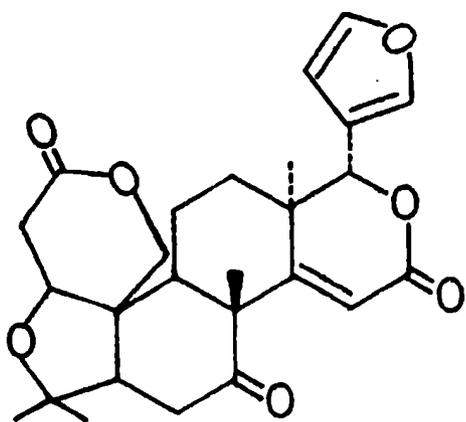
$C_{26}H_{30}O_9$  pf 301-305°  
 $[\alpha]_D -130^\circ$  (acetonitrilo)  
 acetato pf 186-191°  
 benzoato pf 285-288°  
 oxima pf 266-271°

Fue aislada por primera vez por Fujita(89,91) de Evodia rutaecarpa. También fue aislada de Evodia hupenhensis(74), Calodendrum capense(92) y Esenbeckia febrifuga(Pag.85).

Su estructura fue establecida por

Dreyer(92) a través de su transformación en limonina diosfenol(XLI).  
Espectros:U.V.(92),I.R.(92),R.M.N.(68,92),E.M.(92).

Deoxilimonina(XLIII)



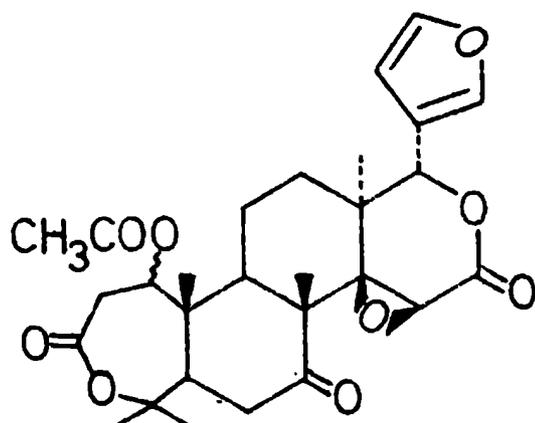
XLIII

$C_{26}H_{30}O_7$  pf 331-336°  
 $[\alpha]_D -39^\circ$  (cloroformo)  
 oxima pf 258-259°  
 $[\alpha]_D +31^\circ$  (acetona)

Se aisló por primera vez de Citrus paradisi(93) y conjuntamente con limonina diosfenol(XLI) son los únicos derivados sintéticos de la limonina que aparecen en la naturaleza. Se obtiene de la limonina por tratamiento de ésta con ácido iodhídrico(69).

Espectros:U.V.(69),I.R.(69),R.M.N.(68).

## Nomilina(XLIV)



XLIV

 $C_{28}H_{34}O_9$  pf 278-279°

 $[\alpha]_D -95,7^\circ$  (acetona)

da una oxima no cristalizabile(85).

Fue aislada de varias especies del género Citrus(74,85). También pudo

ser aislada de Casimiroa edulis(94, 95,74) y de Poncirus trifoliata(74).

Las primeras tentativas para establecer su estructura(96) fueron

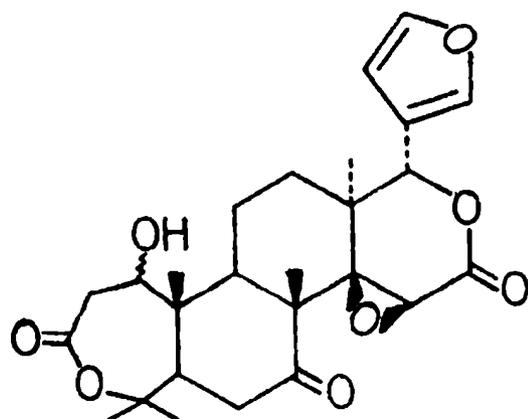
llevadas a cabo por Dean y Geissman(97), pero la postulación final

fue hecha por Barton y colaboradores(69) a través de su relación con obacunona(XLVI).

Dada la gran importancia de la estereoquímica de C-1 en la relación biogénica de los limonoides, se hicieron varios intentos para establecerla(70) sin llegar a un resultado concreto.

Espectros: U.V.(69,85,97), I.R.(69,97), R.M.N.(68,69).

## Deacetilnomilina(XLV)



XLV

 $C_{26}H_{32}O_8$  pf 253-265°

 $[\alpha]_D -112^\circ$  (dioxano)

Fue aislada de varias especies

del género Citrus y de Poncirus trifoliata(74,92). Aparentemente

la deacetilnomilina es idéntica

con isolimonina, anteriormente aislada de varios Citrus por Koller

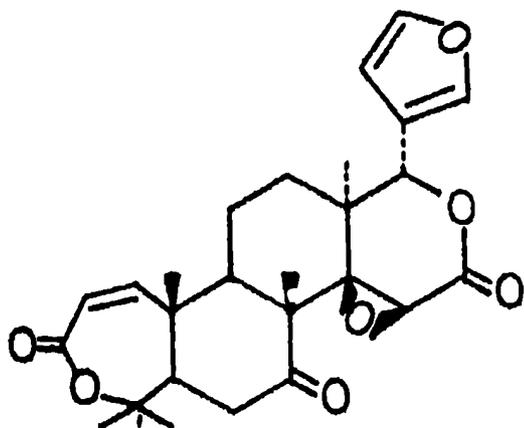
y Czerny(98) y luego por Higby(99).

Por acetilación con piridina-anhídrido acético(92) se obtiene nomi-

lina(XLIV) y obacunona(XLVI), lo que pone en evidencia la relación estructural entre estos compuestos.

Espectros: I.R.(92), R.M.N.(68,92).

## Obacunona (XLVI)

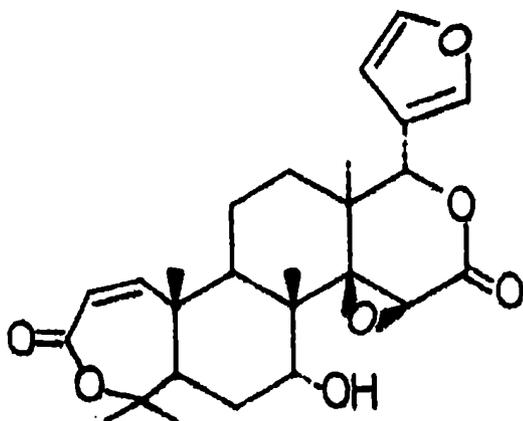


XLVI

$C_{26}H_{30}O_7$  pf 229-230°  
 $[\alpha]_D -50^\circ$  (cloroformo)  
 oxima descompone a 230°

Fue aislada por primera vez de Phellodendron amurense (100) y de Casimiroa edulis (94, 101, 102). Posteriormente pudo ser aislada de varias especies del género Citrus (74). El estudio de su estructura se inició con los trabajos de Emerson (85, 96) y el posterior aporte de otros investigadores (97, 103, 104, 105, 106)

permitió la total elucidación de su estructura y configuración (69). La correlación existente entre obacunona y limonina establece la identidad de todos los centros estereoquímicos con excepción de C-17. Se supone que es la misma debido a: a) origen botánico común; b) igualdad de desplazamiento químico para H-17 de ambos sistemas en el R.M.N. (68); c) similitud de las curvas de O.R.D. y D.C. en los dos sistemas (70, 107). Esta identidad estereoquímica se cumple para nomilina y deacetilnomilina dada su relación con obacunona. Espectros: U.V. (96), I.R. (97), R.M.N. (68, 69).

7 $\alpha$ -obacunol (XLVII)

XLVII

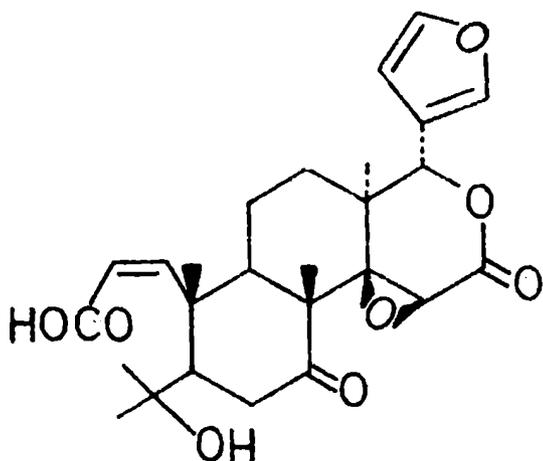
$C_{26}H_{32}O_7$  pf 242-245°  
 $[\alpha]_D +91^\circ$  (dioxano)

Se lo aisló de Casimiroa edulis (107), pero ya había sido obtenido por reducción de obacunona con borohidruro de sodio (97). Por oxidación con ácido crómico se transforma en obacunona (107). Se le asigna la configuración  $\alpha$  al hidroxilo de C-7 por la pequeña constante de acoplamiento que presenta el

e proton de 6-7.

Espectros: I.R. (97,107), R.M.N. (107).

Ac. obacunico (XLVIII)



XLVIII

$C_{26}H_{32}O_8$  pf 203-209°

$[\alpha]_D -89,6^\circ$  (etanol)

$[\alpha]_D -99^\circ$  (acetona)

acetato pf 145°

ester metílico pf 177-178°

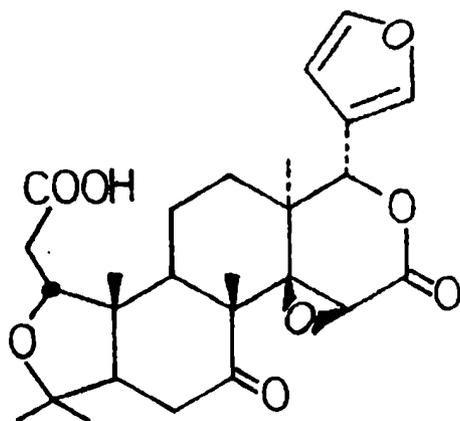
$[\alpha]_D -95,9^\circ$  (acetona)

Se aisló recientemente de Dictamnus dasycarpus (108), pero ya había sido preparado por Emerson (85,96) por tratamiento de la nomilina (XLIV) y obacunona (XLVI) con hidróxido

de sodio. Esto permitió establecer la relación estructural entre ambos limonoides.

Espectros: U.V. (96,97), I.R. (97), R.M.N. (63).

Veprisona (XLIX)



XLIX

$C_{27}H_{34}O_8$  pf 180-181°

$[\alpha]_D -18^\circ$  (cloroformo)

oxina pf 197°

semicarbazona pf 222-224°

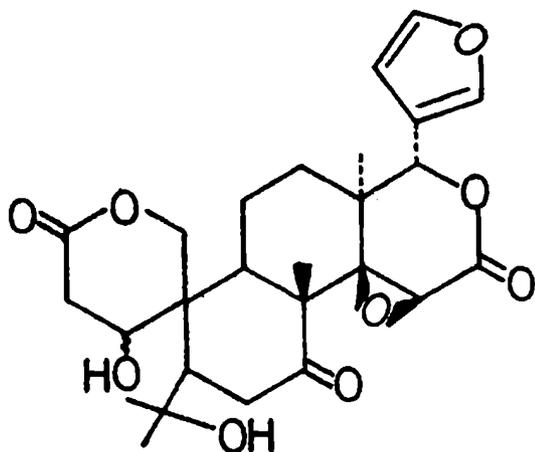
Fue aislada de Vepris bilocularis (109) y su estructura y configuración fue determinada por Govindachari y colaboradores (109).

La veprisona es el ester metílico del ácido epi-isobacunico el cual se obtiene por tratamiento suave del ácido obacunico con

hidróxido de sodio (105,109).

Espectros: U.V. (109), I.R. (109), R.M.N. (109), E.M. (109).

## Ichangina(L)



I

$C_{26}H_{32}O_9$  pf 209-212°

$[\alpha]_D -78^\circ$  (dioxano)

monoacetato pf 147-151°

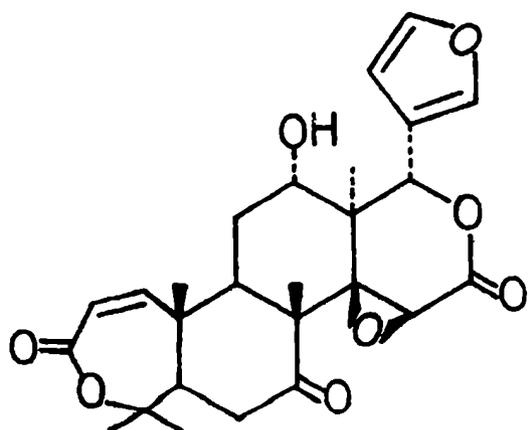
diacetato pf 246-248,5°

Se aisló de Citrus ichangensis y de sus híbridos(102), los cuales tienen la característica de acumular precursores de limonina. Su estructura fue determinada por Dreyer mediante métodos espectroscópicos(110). La transformación de ichangina en limonina(XL) por

acción del ácido trifluoracético, permitió confirmar su estructura y hacer ciertas consideraciones biogénicas(Pag.42).

Espectros:U.V.(110),I.R.(110),R.M.N.(110).

## Zapoterina(LI)



LI

$C_{26}H_{30}O_8$  pf 269-271°

$[\alpha]_D -51^\circ$  (cloroformo)

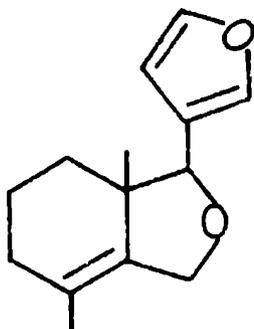
acetato pf 277-280°

Fue aislada por Kincl y colaboradores(94) de los extractos de Casimiroa edulis y su estructura y configuración pudo ser establecida por Dreyer(107) a través de las propiedades espectroscópicas del producto y sus derivados. La estereoquímica del C-12 se pudo

aclarar en base al corrimiento de las señales de R.M.N., en el derivado acetilado, de los metilos en C-8 y C-10 hacia campos menores (107). La similitud de la curva de O.R.D. con la de obacunona, permitió postularla como 12 $\alpha$ -hidroxiobacunona.

Espectros:U.V.(107),I.R.(107),R.M.N.(107).

## Fraxinellona(LII)



LII

 $C_{14}H_{16}O_3$  pf 116°

 $[\alpha]_D -44^\circ$  (etanol)

 aducto con anhídrido maleico pf  
139-140°

 Se aisló de Dictamnus albus(81,111)

 y su estructura fue establecida  
por Pailer y colaboradores(111).

 El hecho de haber sido aislada de  
una especie en la cual co-ocurren  
una gran variedad de limonoides,

indujo a Moss(112) a postularla como un limonoide que ha sufrido la pérdida por degradación, de C-16 y de los anillos A y B. Sin embargo hasta el presente no se ha podido establecer su estereoquímica, que permita confirmar su origen(62).

Espectros: U.V.(111), I.R.(111), R.M.N.(111), E.M.(111).

Principios amargos de estructura desconocida.

 De Casimiroa edulis: sin nombre pf 249-250° (62,74).

 De Phellodendron sacchalinense(113):

## Fellandrona

 $C_{25}H_{30}O_7$  pf 224-225°

 $[\alpha]_D -80,8^\circ$  (cloroformo)

 2-4 dinitrofenilhidrazona pf 289°  
semicarbazona pf 259°

 Se ha podido determinar que posee un anillo  $\delta$ -lactónico y que carece de grupos hidroxilos y carboxilos.

## Fellandrina

 $C_{26}H_{30}O_8$  pf 280-281°

 $[\alpha]_D -34,0^\circ$  (cloroformo)

 Tiene al igual que la anterior un anillo  $\delta$ -lactónico y además un hidrógeno activo.

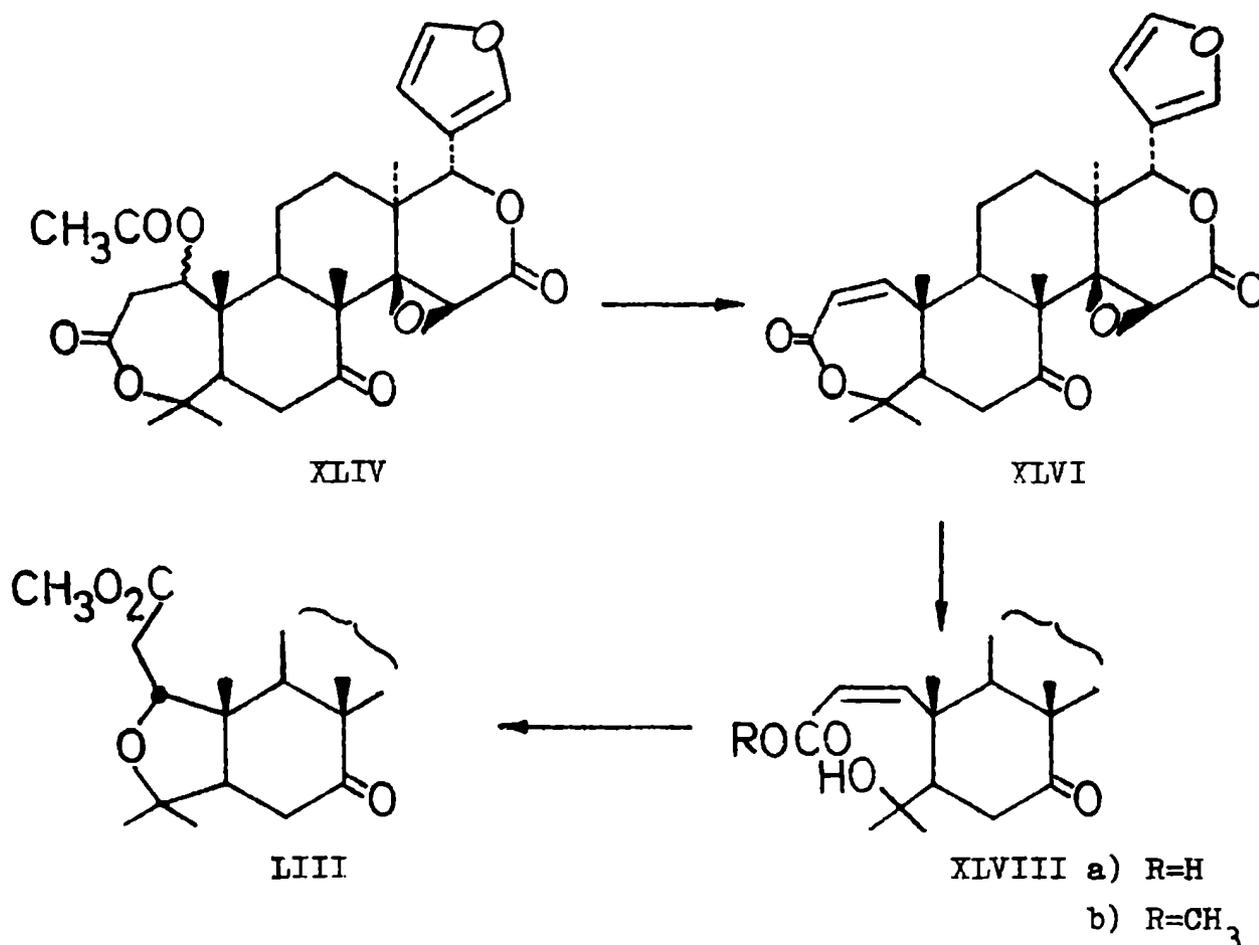
### Reacciones de los principios amargos de rutáceas

Dada la diversidad de grupos funcionales que poseen en su estructura, estos principios amargos sufren una serie de transformaciones químicas que resulta interesante estudiar, ya que algunas de ellas permitieron establecer la estructura de los mismos. Para ello se hará una discusión de las reacciones más típicas de cada uno de los anillos del esqueleto triterpénico, según el esquema de Curisson y colaboradores (114).

#### Reacciones del anillo A

Debido a las características particulares de los limonoides, las reacciones a las cuales están sometidos involucran más de un anillo, por lo cual es dificultoso considerar solamente las reacciones del anillo A.

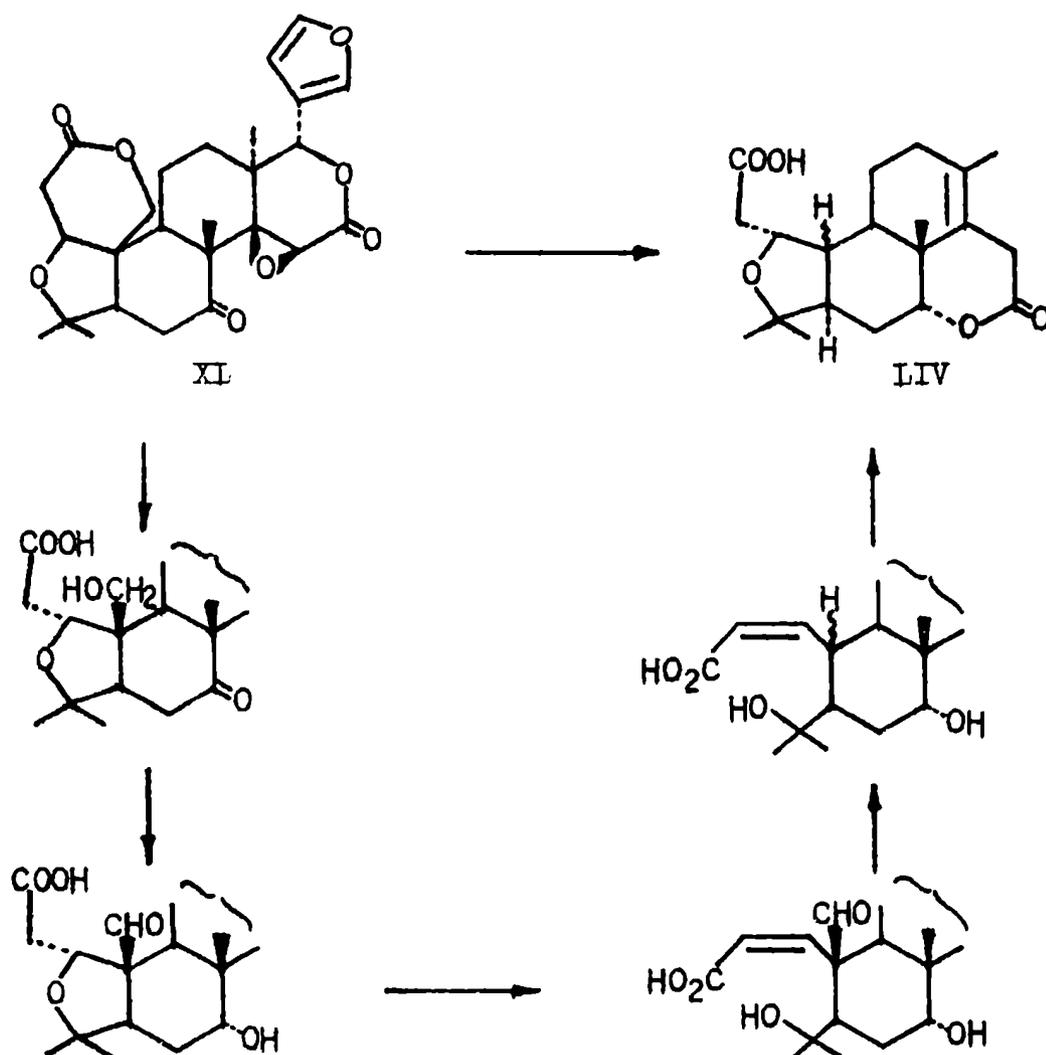
Cuando a la nomilina (XLIV) se la trata con una amina terciaria, se produce la eliminación del grupo acetoxi que se encuentra  $\beta$  al carbonilo de la lactona, para dar obacunona (XLVI) (97).



Cuando la obacunona se trata con hidróxido de sodio en condiciones suaves, se transforma en el ácido obacunónico (XLVIIIa) que no se lactoniza por acidificación, lo que indica la existencia de un anillo  $\epsilon$ -lactónico en este tipo de sustancias.

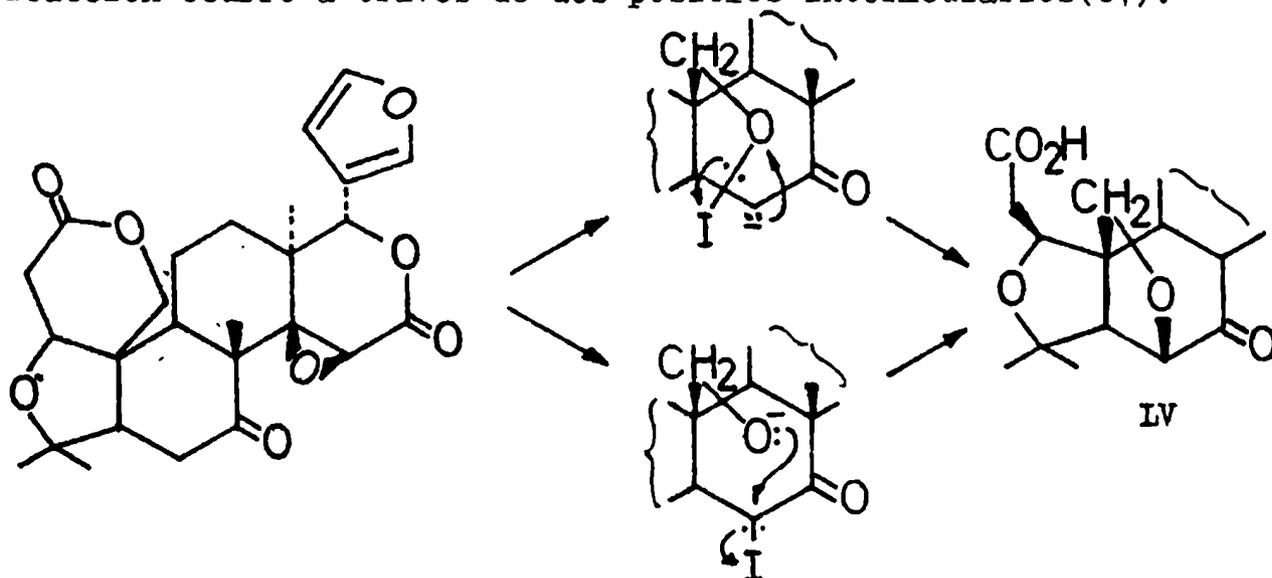
Asimismo cuando el éster metílico del ácido obacunónico (XLVIIIb) se somete a un tratamiento suave con metóxido de sodio, se obtiene el éster metílico del ácido isoobacunónico (LIII), o sea se produce la adición del grupo hidroxilo de C-4 al doble enlace del éster no saturado.

Cuando se somete a la limonina (XL) a un tratamiento alcalino intenso, se produce el ácido limoclastico (LIV) a través de los intermediarios descritos en la siguiente secuencia (69).

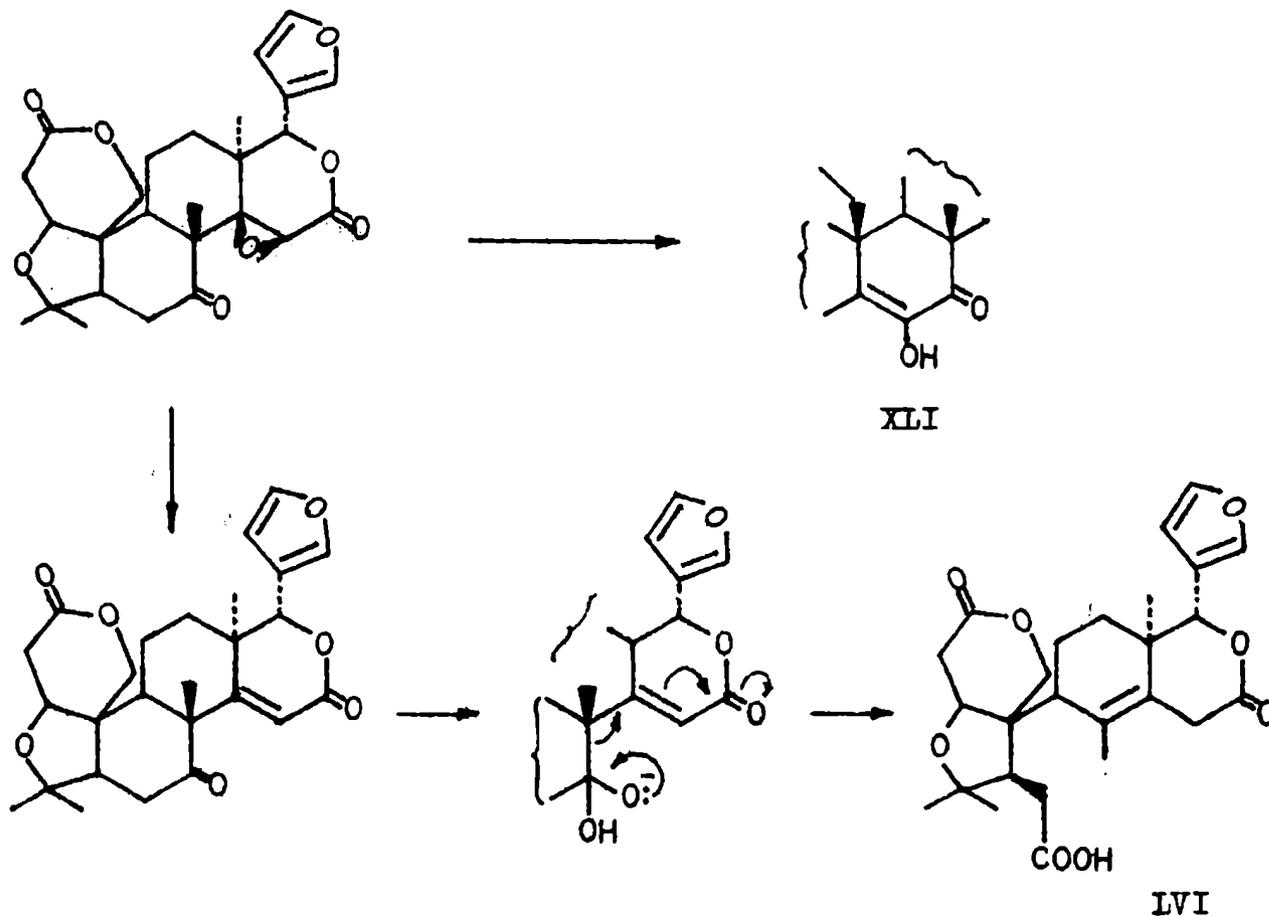


## Reacciones del anillo B y C

La limonina se convierte en el ác. limonílico(IV) cuando se la trata con hipiodito de sodio(115). Se ha sugerido que esta reacción ocurre a través de dos posibles intermediarios(67).



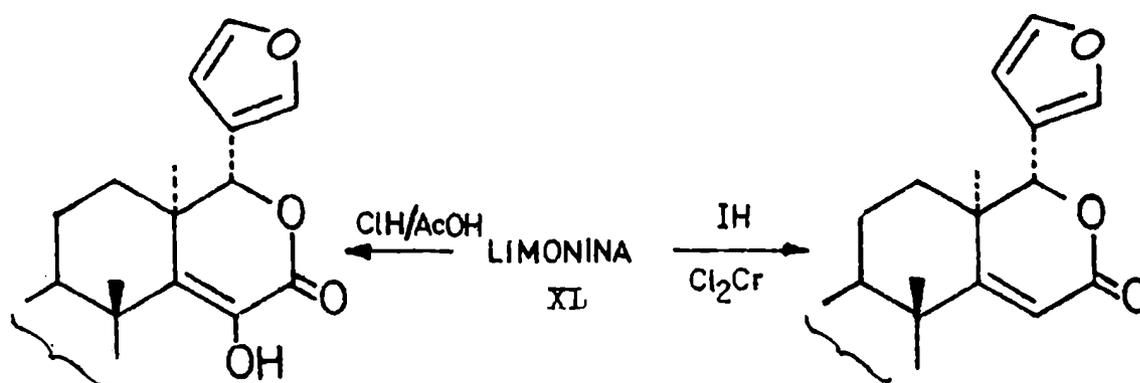
Una reacción muy importante y característica, es la autooxidación que sufre la limonina en presencia de *t*-butóxido de potasio para dar limonina diosfenol(XLI)(69), tomando un mol de oxígeno.



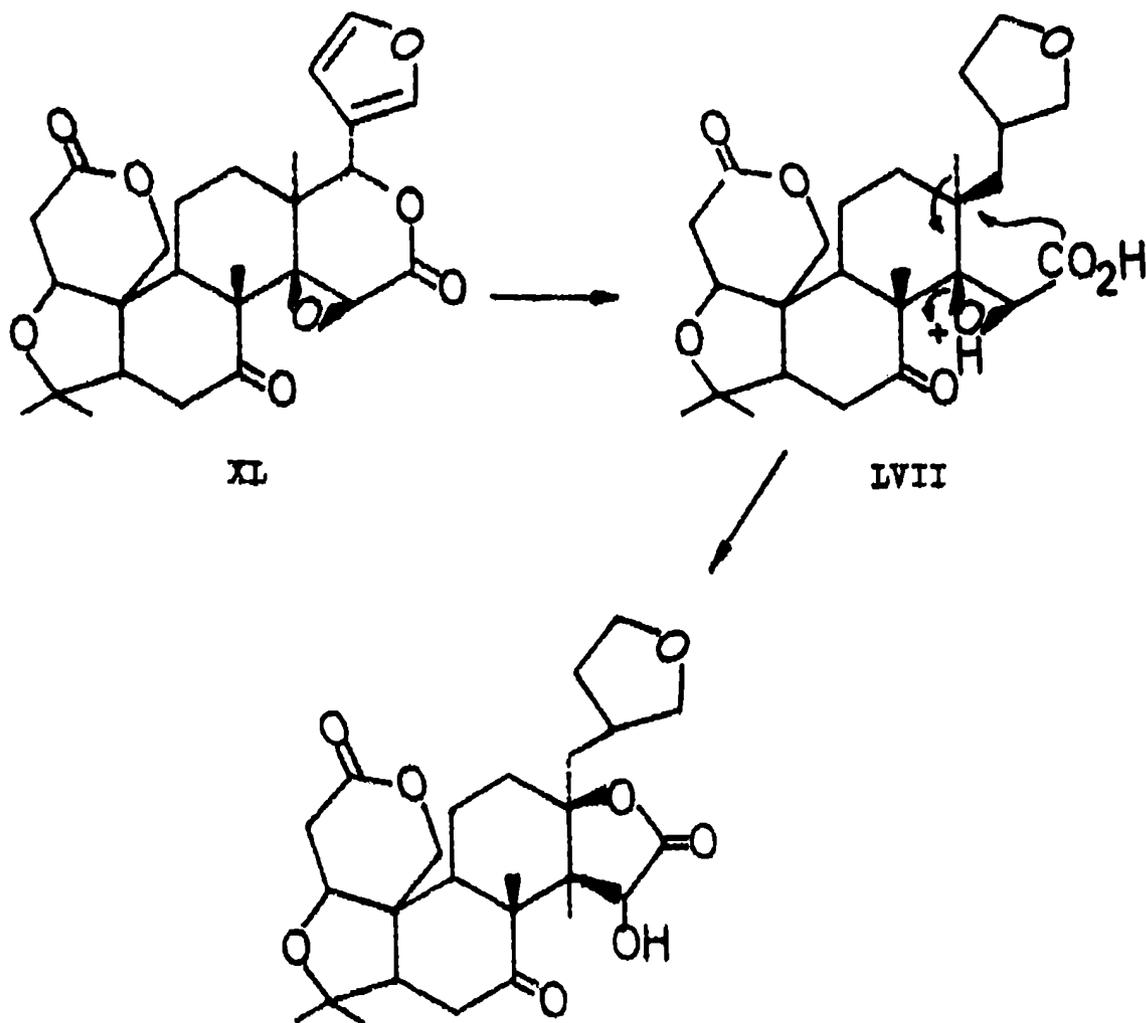
Cuando la limonina se trata con ác. iodhídrico el grupo epóxido se transforma en una doble ligadura (deoxilimonina (XLIII)) la cual por tratamiento alcalino sufre la ruptura del anillo B para dar el ácido (LVI) (67).

#### Reacciones del anillo D

Como ya se mencionara anteriormente, el anillo D de la limonina y otros productos relacionados como nomilina, contiene una lactona glicídica que puede ser transformada en una lactona  $\alpha$ - $\beta$  no saturada con ác. iodhídrico o cloruro cromoso. Esta reacción tiene importancia estructural debido a que la reducción eliminativa de epóxidos 1-2 con sales de cromo II, solo ocurre cuando este grupo está conjugado con un grupo carbonilo (116). Asimismo el grupo epoxi-lactónico puede reaccionar con una mezcla de ác. clorhídrico y acético, en condiciones controladas, para dar la enol-lactona fácilmente caracterizable (67).



Una última reacción interesante es la que se observa con el ác. hexahidrolimonílico (IVII) el cual se obtiene por hidrogenación de la limonina. Cuando se lo somete a condiciones ácidas, se lactoniza con la migración simultánea del grupo metilo angular de C-18 (67).

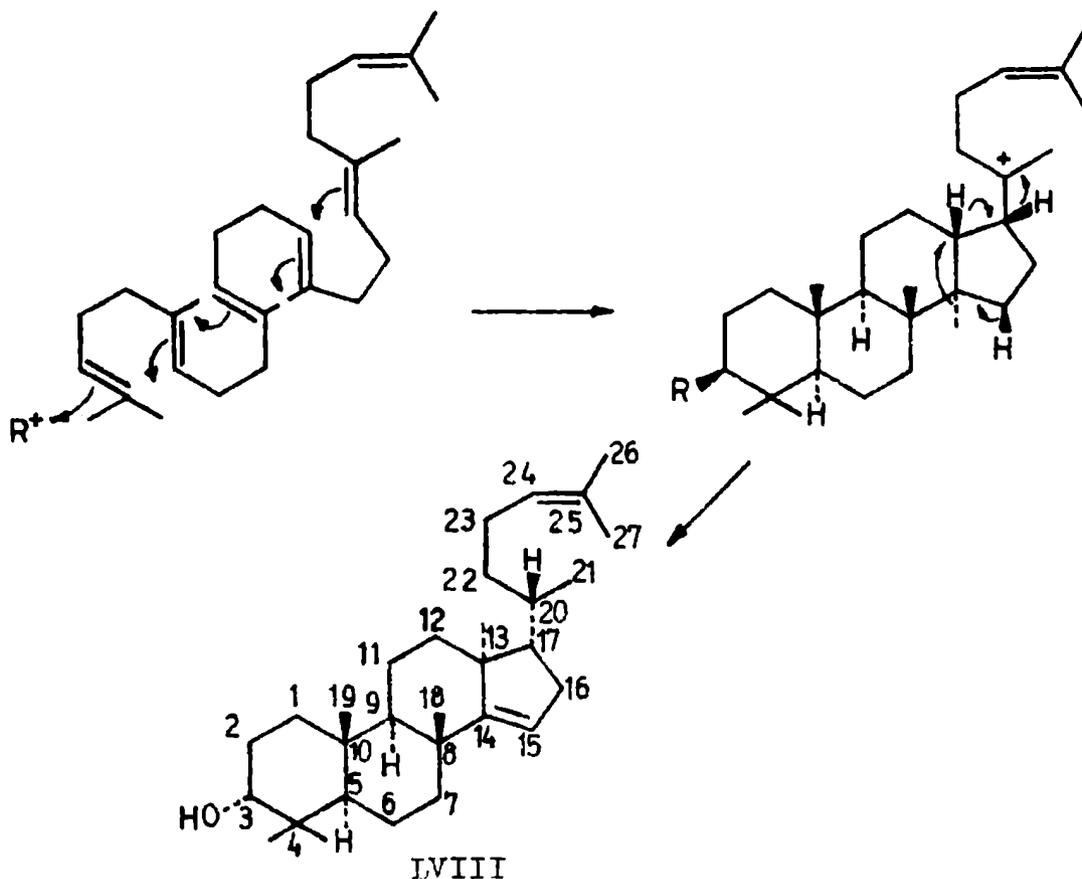


BIOGENESIS DE PRINCIPIOS AMARGOS

La evidente similitud estructural de los diferentes principios amargos de rutáceas y simarubáceas, permite suponer un mismo camino biogénético para todos los componentes una misma familia.

Dada la estrecha relación existente entre las familias pertenecientes al suborden Rutineae: Burseraceae, Meliaceae, Rutaceae y Simarubaceae, puede suponerse que los precursores biogénéticos de los principios amargos de rutáceas y de simarubáceas sean comunes, por lo cual la postulación de su biogénesis se hará simultáneamente.

De la comparación de las estructuras, se puede inferir que todos ellos pueden derivar de un prototriterpeno del tipo apoefol(IVIII), fácilmente derivable del escualeno, quien por su parte proviene del ácido mevalónico(117) y en última instancia del ácido acético.

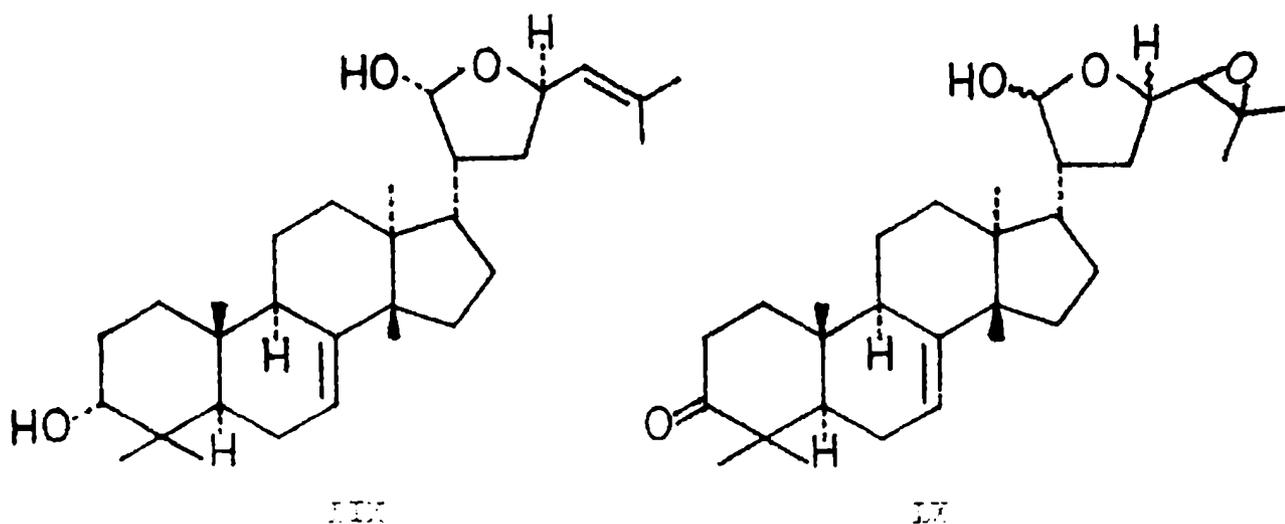


El proceso de biogénesis de los principios amargos de rutáceas y simarubáceas se separa a partir de la formación del prototriterpene, para seguir caminos más específicos.

Barton y Moss(118,119), dicen que el grupo  $R^+$  puede ser un protón o el hipotético  $CH^+$  y que en el caso de las simarubáceas, el doble enlace de C-14 estaría probablemente hidrogenado para dar el derivado 14  $\beta$ H.

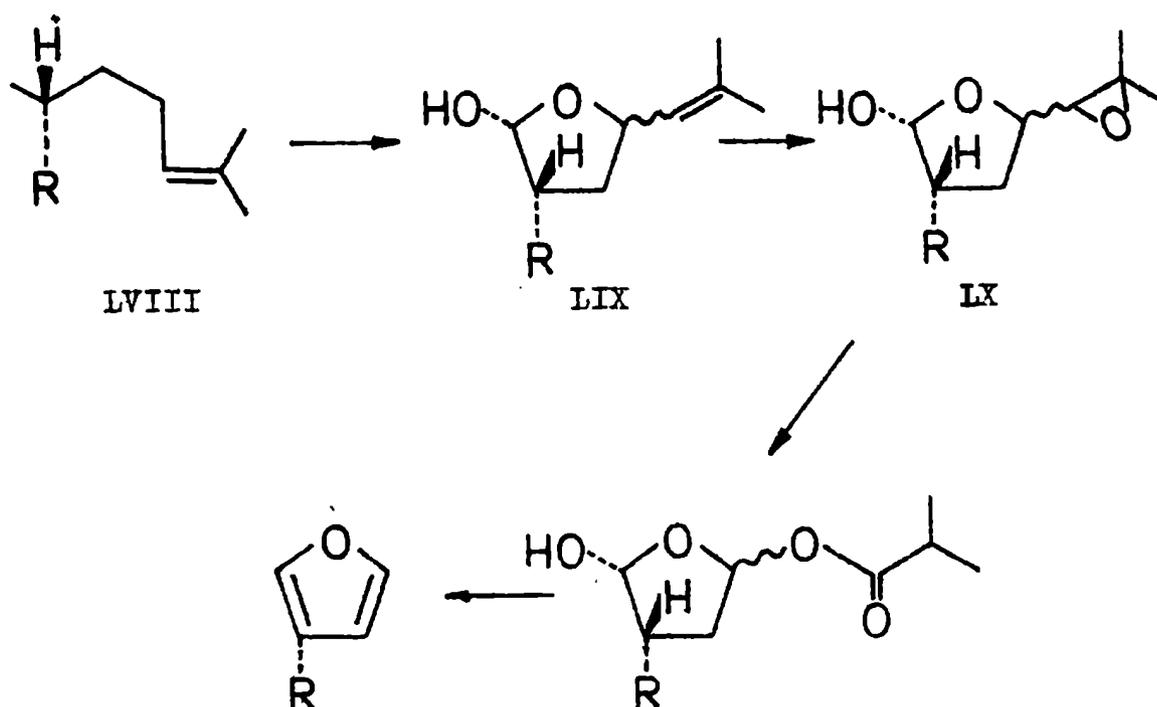
El mecanismo mediante el cual el anillo furánico, correspondiente a los principios amargos de rutáceas, se deriva de la cadena lateral, está probablemente indicado por el aislamiento del flindisol(LIX) de Flindersia dissosperma(120) y de Flindersia maculosa(121).

Se puede observar que la oxigenación de las posiciones C-21 y C-23 y posterior ciclación, puede dar un hemiacetal como en el caso del flindisol, el cual según Birch(121) debe ser considerado como un intermediario biogénico en la conversión de compuestos que tienen la cadena lateral intacta, en aquellos como limonina que tienen un anillo furánico  $\beta$ -sustituido y carecen del resto de la cadena lateral.



La formación del anillo furánico  $\beta$ -sustituido puede continuar con la epoxidación del doble enlace de C-24, lo cual se encuentra fundamentado en el aislamiento de melianona(IX) de Melia azedarach, cuya estructura fue elucidada por Lavie y colaboradores (122).

El epóxido puede sufrir la isomerización a cetona y posteriormente una ruptura del tipo Baeyer-Villiger(123), la cual, seguida de un proceso de deshidratación daría el furano  $\beta$ -sustituido, como lo indica el esquema siguiente.

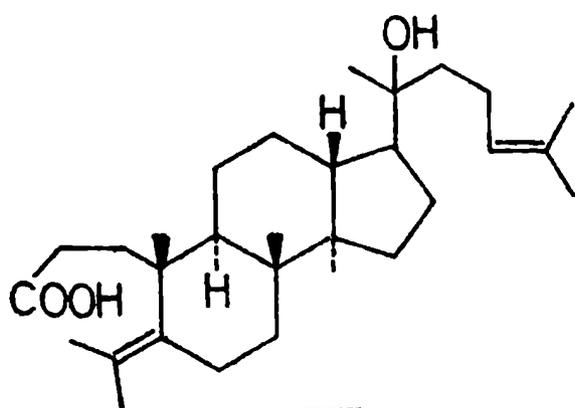


Tschesche(124) sugirió un camino biogénico análogo para la formación del anillo butenólido de la digitoxigenina, pero que implicaría la degradación de la cadena lateral del prototriterpeno(LVIII) a un derivado del pregnano, que por reacción con una molécula de acetato daría el anillo  $\gamma$ -lactónico. Posteriores experiencias de Leete y Gros(125) y Ew(126) permitieron confirmar la hipótesis anterior.

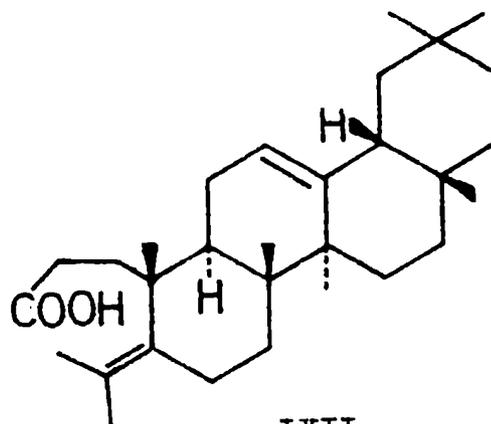
Barton(69) por su parte considera a la limonina(XLVIII) como derivada del prototriterpeno(LVIII), en el cual los últimos cuatro átomos de carbono de la cadena lateral han sido eliminados

y los átomos comprendidos entre C-20 y C-23 se han convertido en el anillo furánico. El anillo A del esqueleto triterpénico sufre una ruptura oxidativa entre C-3 y C-4 y el grupo carboxílico formado en C-3 se cicla oxidativamente sobre el C-19.

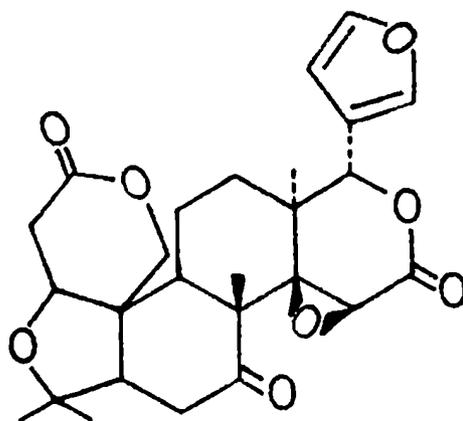
El aislamiento del ácido dammarenólico (IXI) de la resina de Hopea micrantha (127,128) y del ácido nictántico (LXII) de Nyctanthes arbor-tristis (129), constituye un buen precedente para el tipo de ruptura postulada.



IXI



LXII

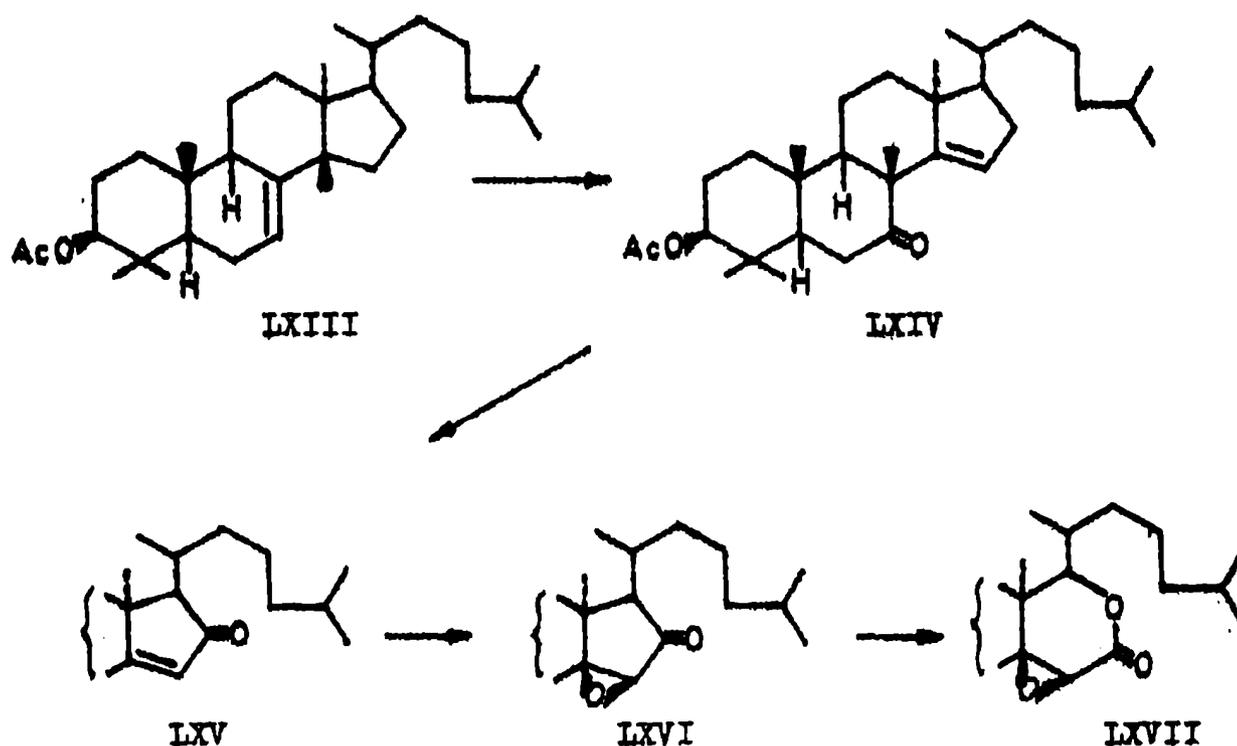


XL

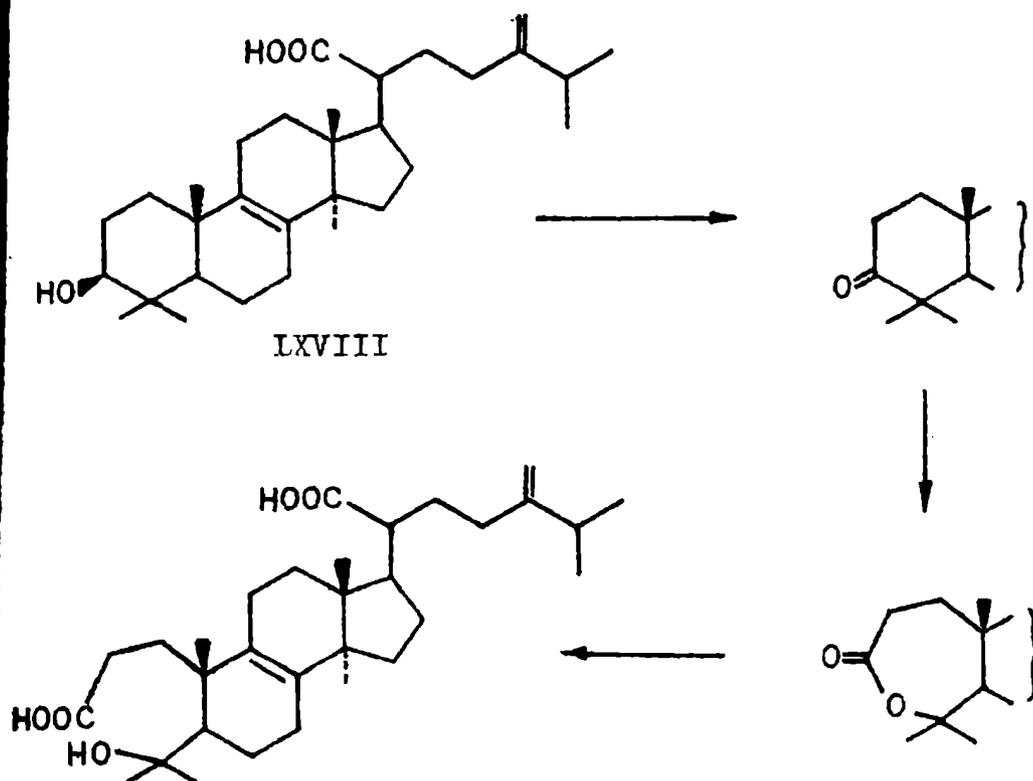
La estructura de la limonina (XL) (67) requiere que el anillo D del esqueleto triterpénico con una función cetónica en C-16, sufra una ruptura oxidativa del tipo Baeyer-Villiger, para dar el anillo  $\delta$ -lactónico (119).

Barton (67) sugiere que la oxidación del acetato de dihidrobutirospermol (LXIII) con ácido crómico (130) para dar la cetona

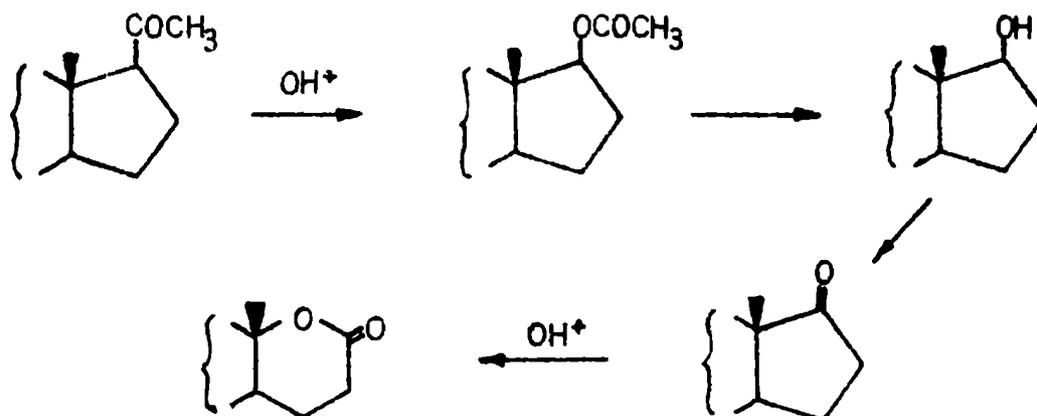
(LXIV), es un buen indicio que la ruptura oxidativa del anillo D a través de un grupo cetónico en C-16 es posible. El compuesto (LXIV) así obtenido podría ser oxidado a la cetona (LXV), epoxidarse a la óxido-cetona (LXVI) para posteriormente sufrir la ruptura oxidativa que conduciría a un compuesto (LXVII) de estructura parcial similar a la de limonina.



La ruptura oxidativa anteriormente postulada para el anillo A y D, está evidenciada por la transformación que sufre el ácido eburicoico (LXVIII) por acción del hongo Glomerella fusarioides (131) la cual puede ser visualizada como una oxidación del tipo Baeyer-Villiger de la cetona en C-3, derivada de (LXVIII), seguida de la hidrólisis de la  $\epsilon$ -lactona resultante. Se confirma esta transformación en la naturaleza con el aislamiento de los ácidos dammarenólico y nictántico anteriormente mencionados.

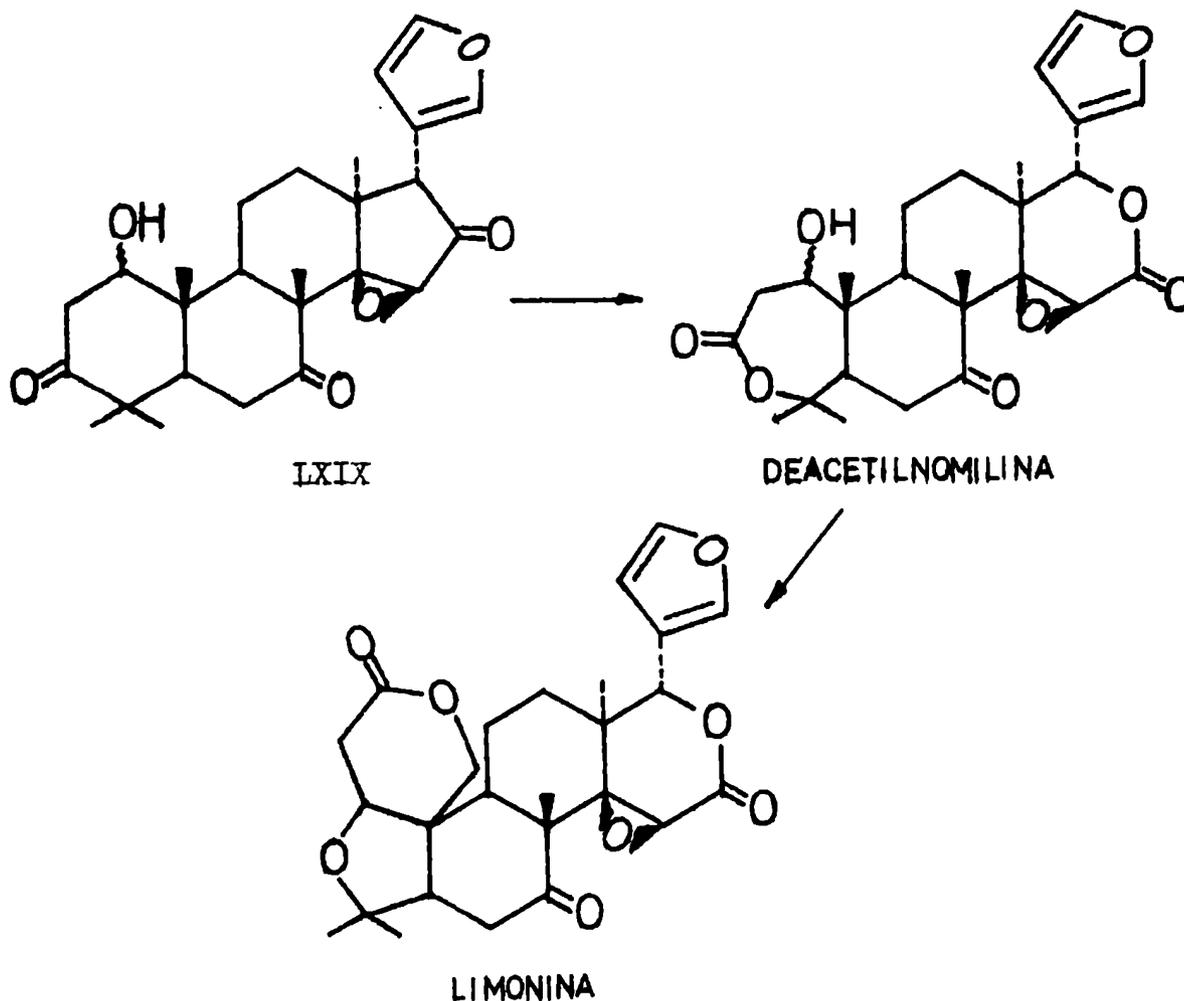


En el campo de las transformaciones microbiológicas se encuentran otros ejemplos, como ser la degradación del anillo D de la progesterona a lactona (132,133), que implica entre sus etapas, dos rupturas del tipo de la reacción de Baeyer-Villiger. La secuencia, que ha sido caracterizada por aislamiento y estudio con marcadores (134,135,136), es la siguiente.



El  $\text{OH}^+$  es el símbolo utilizado para el equivalente bioquímico del perácido todavía no identificado.

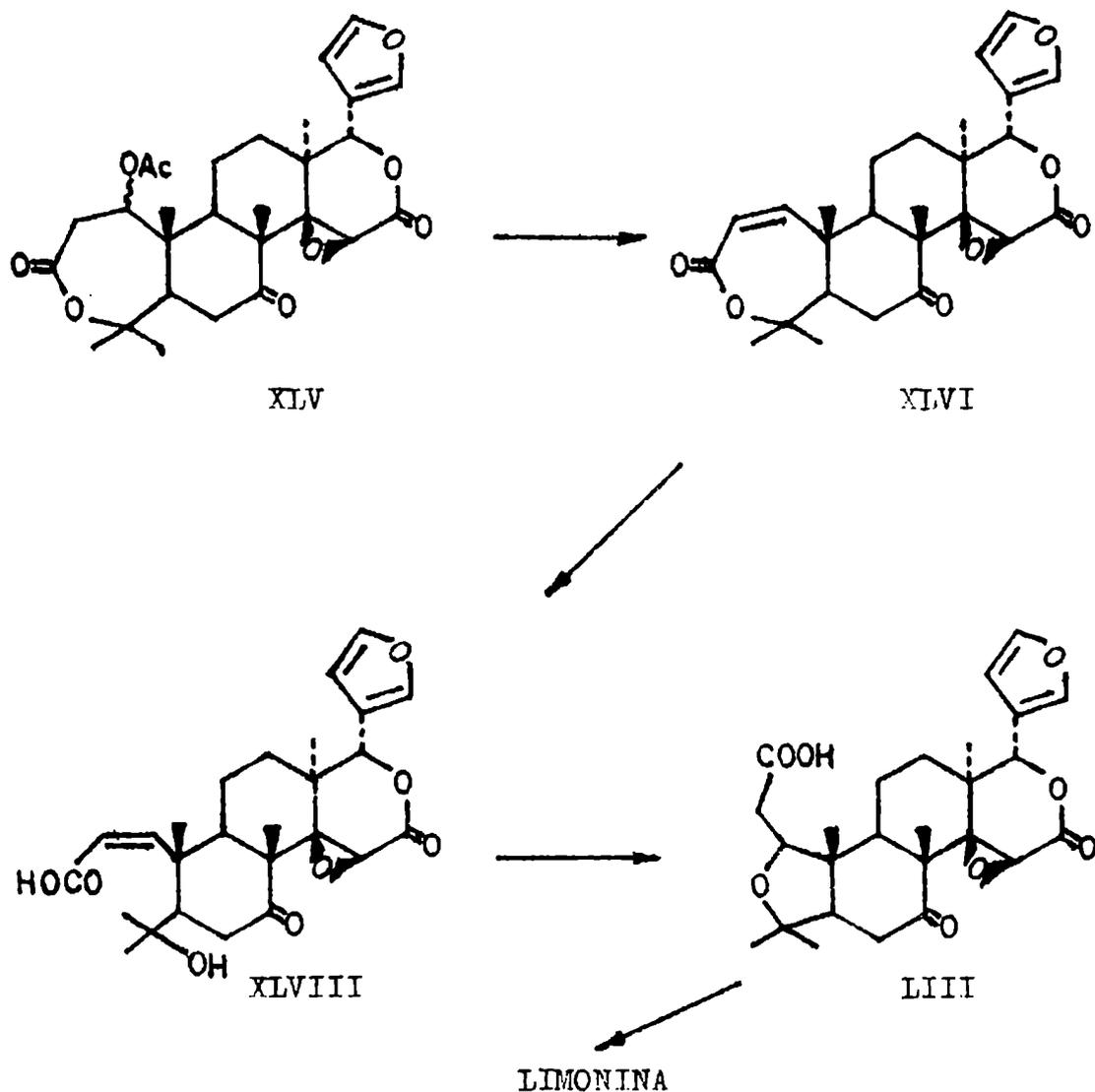
A partir de las evidencias descriptas anteriormente, Moss (119) establece que el prototriterpeno (LVIII) se reordenaría al triterpeno (LXIX), el cual mediante las rupturas oxidativas mencionadas daría lugar a los principios amargos de rutáceas.



La existencia de un hidroxilo  $\beta$  en C-1, como en deacetilnomilina, impide aparentemente la oxidación del C-19, y se producen los análogos como ser nomilina (XLIV), obacunona (XLVI) y veprisona (XLIX). En cambio con el hidroxilo  $\alpha$  en el C-1, ocurre la oxidación y la  $\epsilon$ -lactona se transforma en la  $\delta$ -lactona más estable. Los grupos hidroxilos de C-1 y C-4 tendrían una disposición favorable para formar la unión éter como en el caso de la limonina.

En trabajos más recientes, Dreyer(93) hace resaltar la importancia biogénica que tendría el hecho que la deacetilnomilina no experimenta pérdida de agua, en contraposición con la nomilina, que si bien no sufre la hidrólisis del grupo acetilo, pierde ácido acético con mucha facilidad.

Suponiendo que esto fuera el reflejo del proceso que ocurre en la naturaleza, las etapas que conducen a la limonina serían: pérdida del hidroxilo de C-1 de la deacetilnomilina(XLV) a través del acetato para dar obacunona(XLVI) y posteriores transformaciones de ésta en ácido obacunico(XLVIII), isoobacunico(LIII) y por último en limonina.



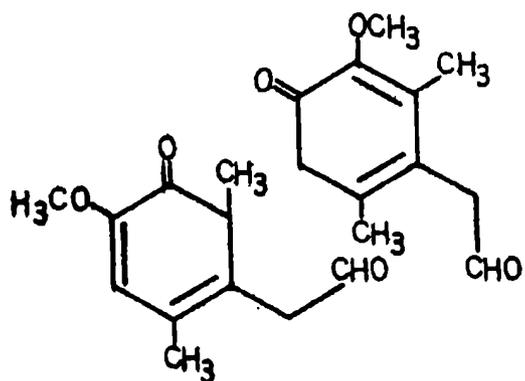
El aislamiento de ichangina(L) y su fácil transformación en limonina, permitió a Dreyer(110) postular otra posible alternativa de biogénesis, en la cual la ichangina sería un intermediario entre deacetilnomilina y limonina.

Por otra parte se pone de manifiesto que es más plausible suponer a la deoxilimonina como resultado de un paso de epoxidación incompleto y no por un proceso de reducción de la limonina. Esta afirmación se basa en el hecho que la mayoría de los compuestos de las rutáceas son productos de oxidaciones, en cambio solo unos pocos muestran etapas reductivas en su biogénesis. Por otro lado, si la deoxilimonina fuese el resultado de un proceso de reducción, se podría esperar la existencia de deoxi-derivados de los demás limonoides como ser deoxiobacunona o deoxinomilina, los que hasta el presente no se han encontrado en la naturaleza.

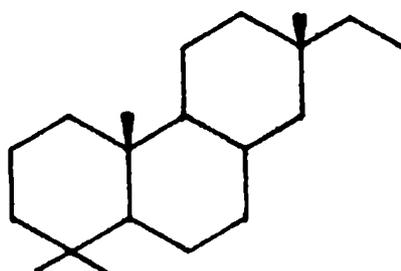
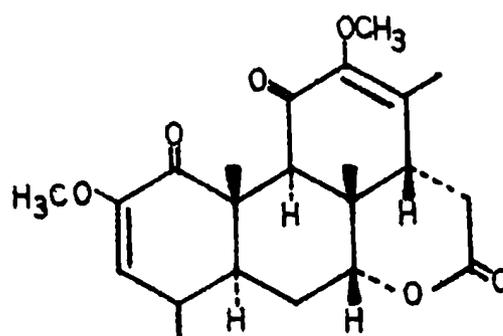
Hasta este punto se ha hecho una formulación del posible origen biogenético de estos principios amargos de rutáceas. Las diferentes etapas de la biogénesis se han explicado y fundamentado no por comprobación directa sino a través de analogías con otros sistemas y por aislamiento de ciertos productos naturales, postulados como posibles intermediarios de reacción. Hasta el presente la literatura no registra la realización de ningún estudio sistemático tendiente a elucidar el origen biogenético de estos productos.

En cuanto a los principios amargos de simarubáceas, la marcada similitud estructural entre ellos permite suponer un mismo camino biogenético para todos los componentes de este grupo de sustancias naturales.

Conjuntamente con la elucidación de la estructura de la quassina(VII), Valenta y colaboradores(13) propusieron dos caminos biogenéticos: uno a través de un acoplamiento oxidativo de dos unidades fenólicas idénticas de diez átomos de carbono(LXX) y el otro mediante el reordenamiento de un diterpeno del tipo pimarano(LXXI).



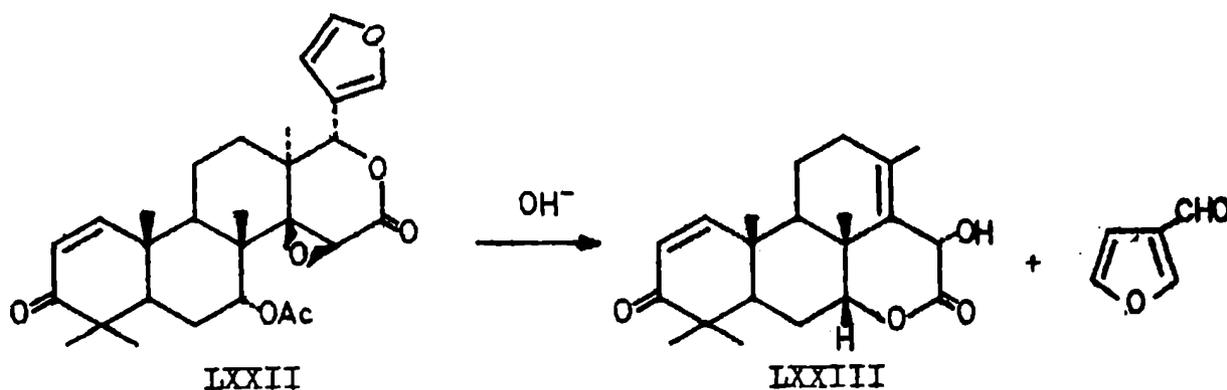
LXX



LXXI

Ultimamente ha surgido una tercera hipótesis en la cual se postula el origen triterpénico de estos principios amargos.

Bredenberg(137) y Dreyer(138) postularon la formación de estos principios amargos a partir de los componentes de la familia de los limonoides.

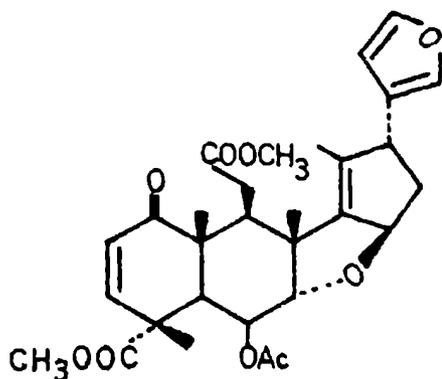


Todos los componentes de esta familia sufren una conversión,

catalizada por bases, de limonol a merolimonomol(LXXIII)(67), como se ejemplifica con la gedunina(LXXII)(139,140). Esta reacción depende de la presencia de un hidroxilo  $\alpha$  en el C-7.

Dreyer postula que la estrecha relación botánica existente entre estas familias de plantas (Rutaceae, Meliaceae y Simarubaceae) y la similitud estructural del merolimonomol(LXXIII) con los principios amargos de C-20, sugiere la posibilidad de un paso biogénico análogo con pérdida de una fracción de cinco átomos de carbono. Además la estereoquímica del merolimonomol coincide con la de quassina(14) en los centros asimétricos de C-5, C-8, C-9, C-10 y C-7. La eliminación del metilo axial del grupo gem-dimetilo de C-4 en el merolimonomol, para dar los principios amargos de C-20, se postuló como una descarboxilación oxidativa.

Según Dreyer, la nimbina(LXXIV)(141) podría considerarse como un posible intermediario de este proceso, dado que uno de los metilos de C-4 se encuentra oxidado a un grupo carboxílico.



LXXIV

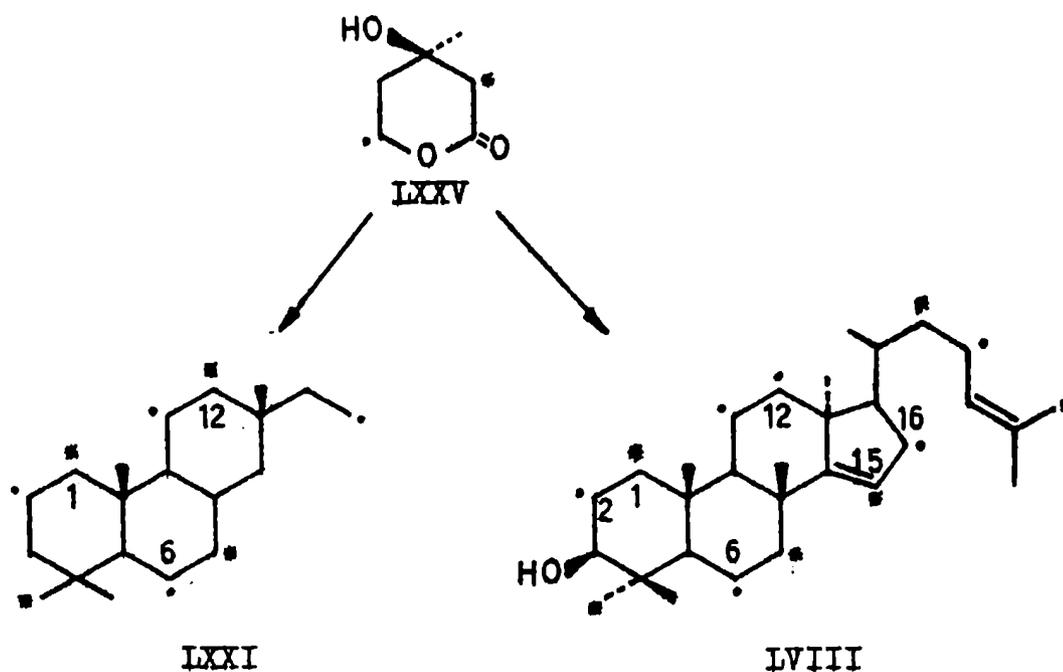
Posteriormente otros autores postularon un camino biogénico análogo para simarolida(17) y chaparrina(26).

Recientemente Polonsky y colaboradores(142) pudieron comprobar recientemente el origen triterpénico de estos principios amargos. Para ello se inyectó el ácido DL-(2-<sup>14</sup>C)mevalónico (marcación \*), en un ejemplar de Simaruba glauca, y se aisló glaucaru-

binona(XIII).

La degradación de la glaucarubinona, permitió determinar que todos los grupos metilos así como los C-4, C-10, C-12, C-13 y C-16 no contenían radioactividad, pero que en cambio el C-1 deriva específicamente del ácido mevalónico(LXXV).

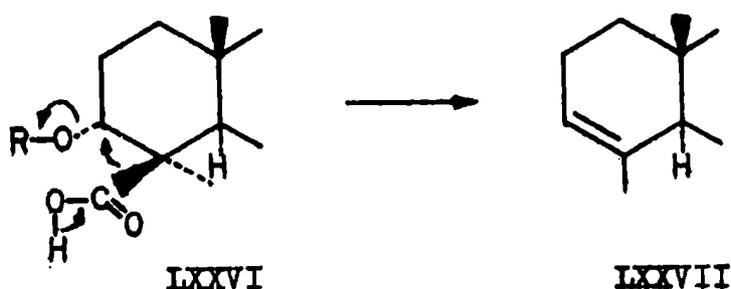
La ausencia de radioactividad en el C-12 es muy importante ya que permite excluir al pimarano(LXXI) como precursor biogénético. Según el esquema siguiente, el ácido mevalónico marcado en C-2 daría lugar al pimarano marcado en C-12 y al triterpeno(LVIII) carente de radioactividad en el C-12.



Se confirmó lo anterior inyectando la lactona del ácido DL-(5-<sup>14</sup>C)mevalónico (marcación \*). Si el origen fuera diterpénico solo cuatro átomos de carbono acusarían radioactividad y si fuera triterpénico aparecerían cinco átomos marcados. Los resultados obtenidos por Polonsky y colaboradores(143) confirman esta última hipótesis.

Si consideramos las estructuras de los diferentes principios amargos de simarubáceas, vemos que en general carecen de una

función oxigenada en C-3, que tienen un solo grupo metilo en C-4 y un doble enlace entre C-3 y C-4. Moss (119) explica este hecho a través de una descarboxilación eliminativa de un  $\beta$  carboxilo en C-4 (LXXVI) que llevaría a la estructura (LXXVII). El resto R puede ser hidrógeno, pero también un resto de ácido fosfórico que proveyería un mejor grupo saliente.

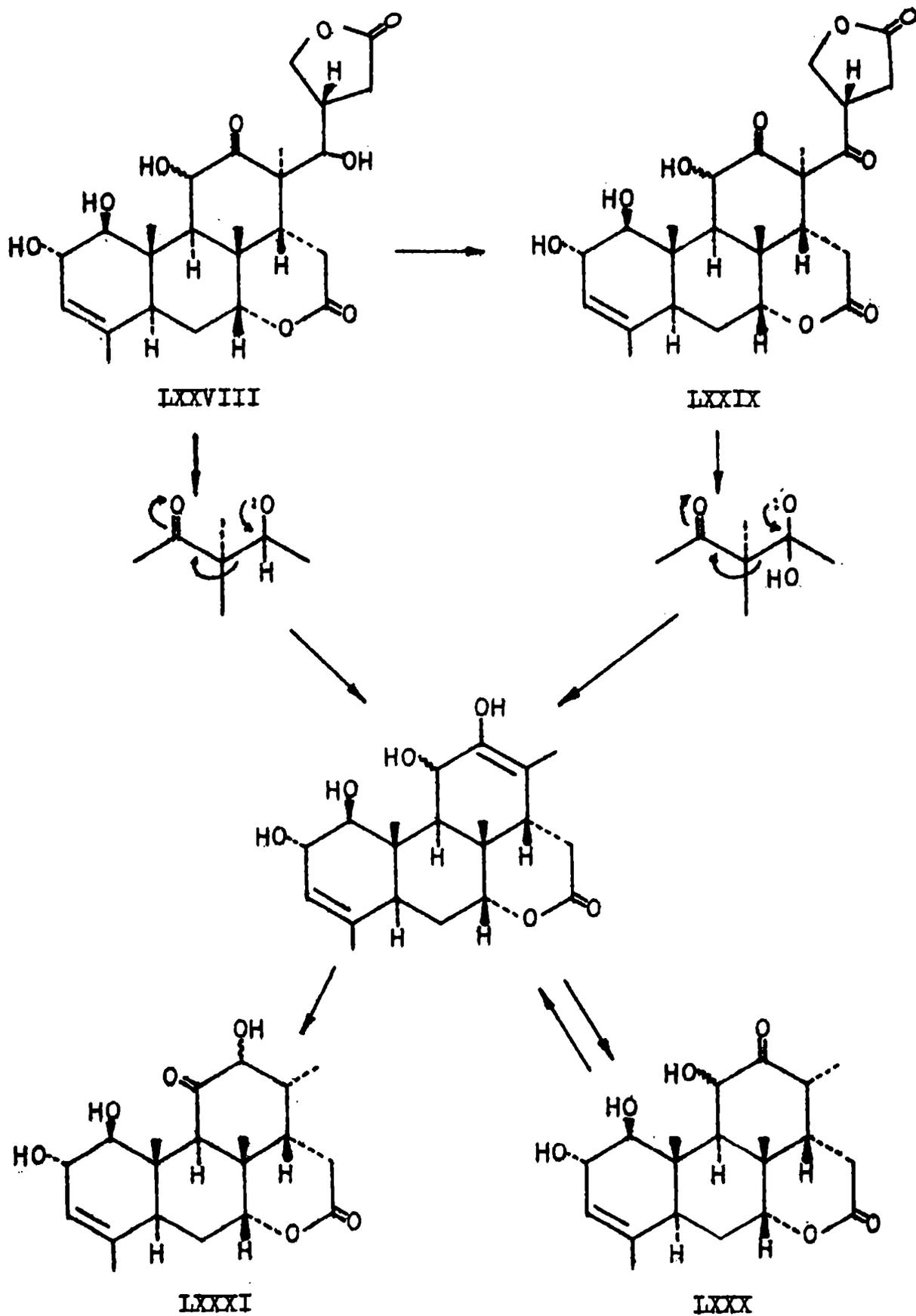


Además de este proceso, el prototriterpeno (LVIII) debe haber sufrido oxidaciones en las posiciones C-1, C-2, C-7, C-11, C-12 y C-16. Consecuentemente el anillo D se abrirá para posteriormente lactonizarse con el hidroxilo  $\alpha$  de C-7. Este hecho ocurre análogamente en la formación de los principios amargos de las ruta-ceas.

El aislamiento de simarolida (VI) constituye el único caso, en la familia de las simarubáceas, en que la cadena lateral del prototriterpeno sufre un reordenamiento similar al que ocurre en el caso de los limonoides. Evidentemente este proceso transcurre hasta la formación de un anillo  $\delta$ -lactónico. La posterior oxidación del hidróxilo de C-17 en la cadena lateral conduciría a una  $\beta$ -dicetona (LXXIX).

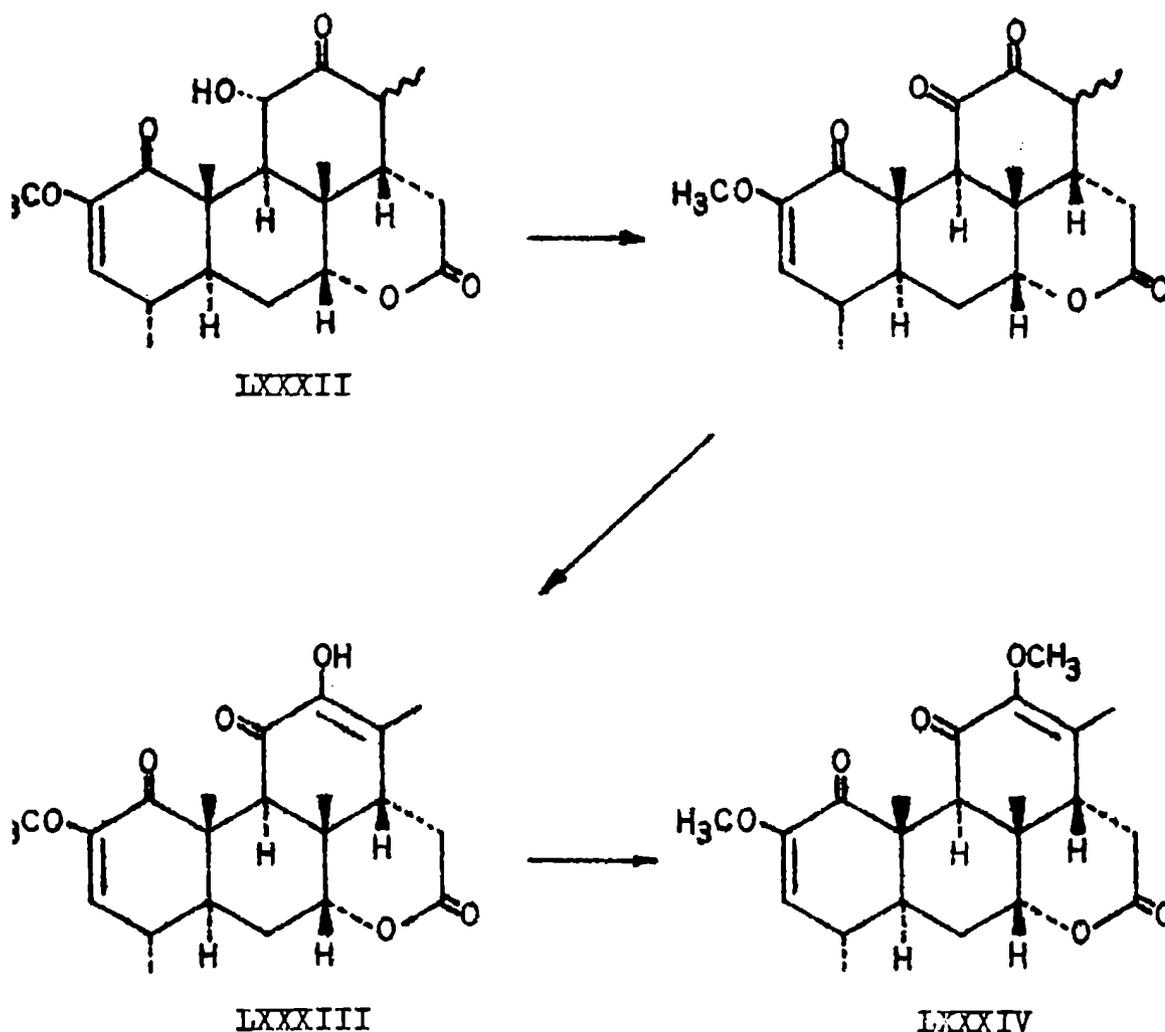
La simarolida presenta una característica muy importante que es la carencia de una función oxigenada en C-12 a diferencia de los otros principios amargos. Esto permite suponer que en ellos, la unión entre los carbonos C-13 y C-17 desaparece por ruptura del sistema  $\beta$  carbonílico (LXXIX) o por una reacción retroaldólica del aldol (LXXVIII). Ambos caminos conducen al mismo precursor,

el cual dará origen al resto de los principios amargos de esta familia.



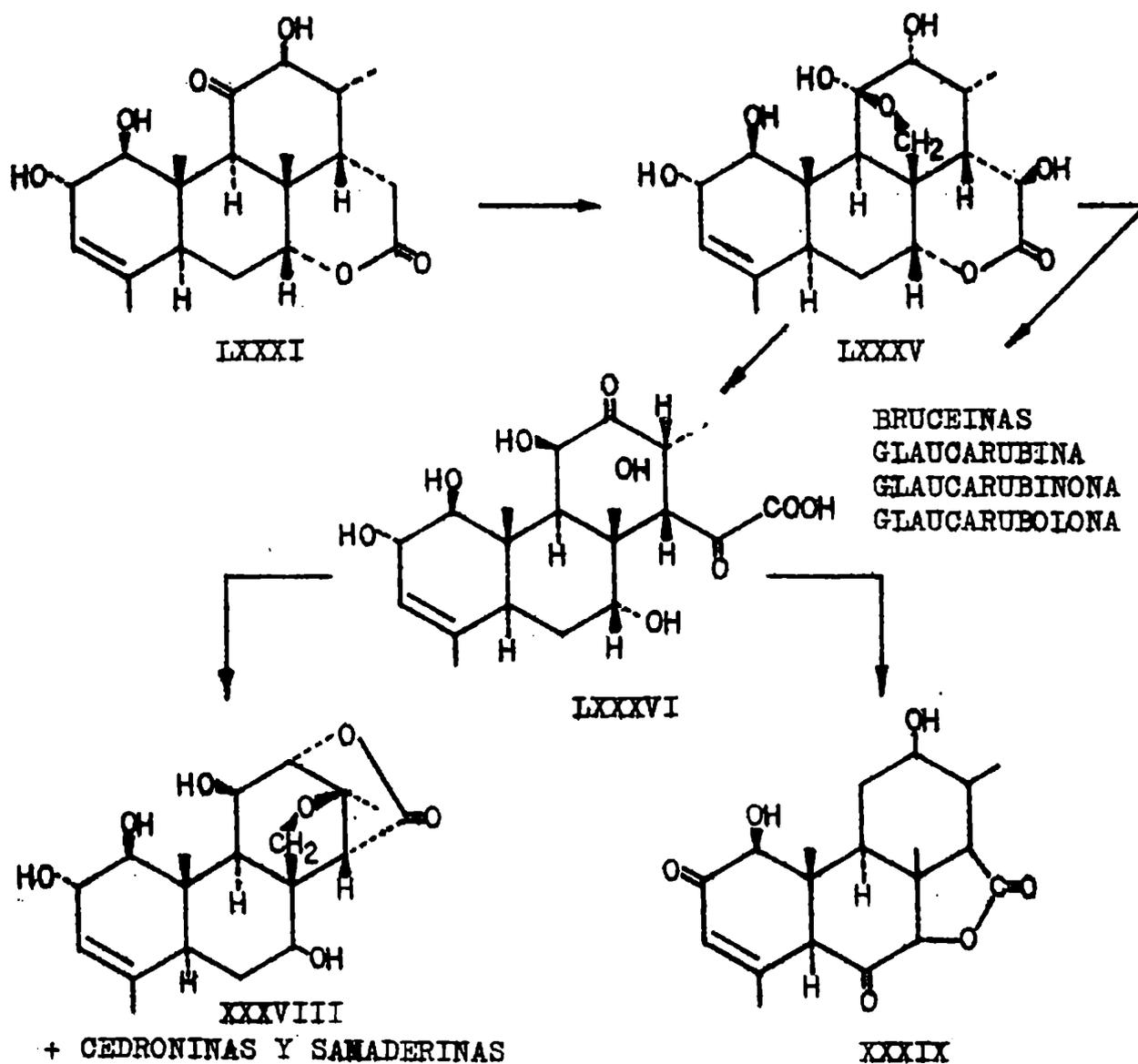
La postulación de LXXX como intermediario biogénico de la quassina estaría fundamentada en el presente aislamiento de paraína (LXXXII) y de 12-norquassina (LXXXIII) de Aeschynomene crenata (Pag.54) de donde también se aisló quassina (LXXXIV) (20).

La paraína sufre la oxidación del grupo hidroxilo de C-11 para dar la dicetona, la cual se enoliza rápidamente para dar la 12-norquassina, otro de los intermediarios aislados. Este último por metilación se transforma en quassina. Los antecedentes de este proceso están descriptos en la página 63.



Puede suceder que en la posición del C-8 se encuentre un grupo hidroximetilo, en cuyo caso se forma un hemiacetal con C-11. La posterior oxidación de C-15 en LXXXI, da el esqueleto fundamental (LXXXV) del cual derivan las bruceínas (XVII a XXIII), glaucarubina (XII), glaucarubinona (XIII) y glaucarubolona (XIV).

El hidroxilo producto de la oxidación del C-15 puede a su vez oxidarse a cetona, la cual por una oxidación de Baeyer-Villiger pierde el grupo carboxilo para dar LXXXVI. Una posterior ciclación por el mecanismo indicado daría lugar a la cedronilina (XXXVIII). La subsiguiente oxidación del hidroxilo de C-2 permitiría obtener cedronina (XXXVII) y las samaderinas (XXXIII a XXXV).

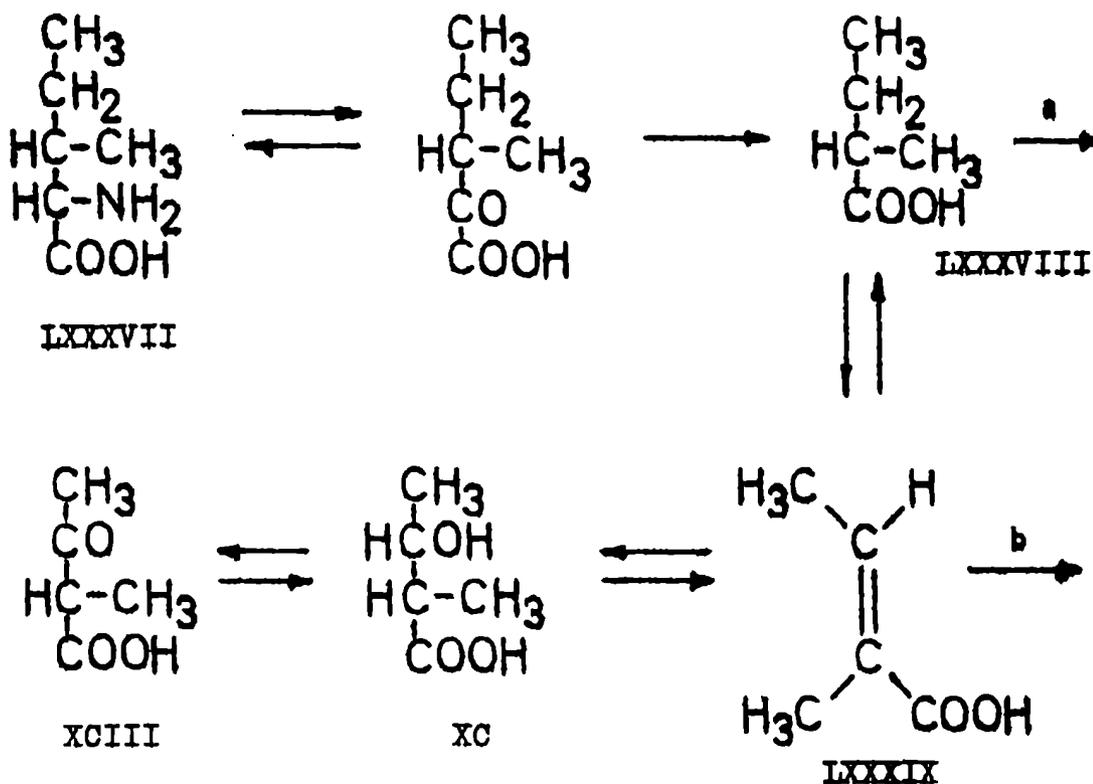


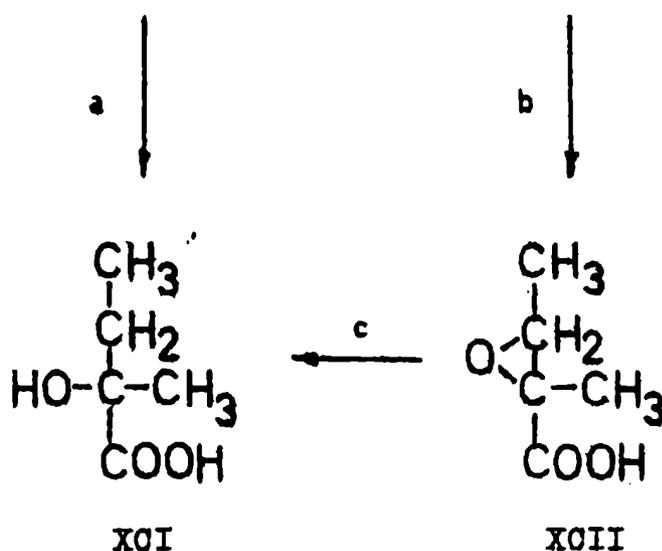
La posible descarboxilación del  $\alpha$ -cetoácido(LXXXVI) y posterior esterificación con el hidroxilo de C-7, sería un camino para la biogénesis de la eurycomolactona(XXXIX).

Todos los procesos hasta aquí desarrollados son postulaciones teóricas con base química, que requieren una fundamentación basada en un estudio sistemático y en el aislamiento de los precursores postulados.

La glaucarubina(XII) y la glaucarubinona(XIII) poseen el hidroxilo de la posición C-15 esterificado por un resto 2-hidroxi-2-metil butírico, cuyo origen no parece provenir de un desarrollo biogénético como el anterior. Este hecho fue confirmado por Polonsky y colaboradores(142,143) al inyectar la lactona DL-(2- $^{14}$ C) y (5- $^{14}$ C) del ácido mevalónico en un ejemplar de Sin-ruba glauca. Se aisló glaucarubina radioactiva, pero la actividad estaba solamente en la glaucarubona (producto de saponificación) y no en el resto ácido esterificante.

Robinson y colaboradores(144) pudieron determinar que el ácido 3-hidroxi-2-metil butírico(XC) es un producto del metabolismo de la isoleucina en tejidos vivos, según el siguiente esquema.





La isoleucina(LXXXVII) se transforma en el ácido 2-metil butírico(LXXXVIII), que por deshidrogenación pasa al ácido tíglico (LXXXIX) el cual por hidratación da el ácido 3-hidroxi-2-metil butírico(XC). Posteriormente los trabajos de Evans y Woolley(145), Leete(146) y Crout(147) confirmaron el esquema metabólico anteriormente descrito.

Estos hechos llevaron a Polonsky y colaboradores(148) a sugerir que la biogénesis del ácido 2-hidroxi-2-metil butírico(XCI) podría ocurrir a partir de la isoleucina por oxidación del ácido 2-metil butírico(LXXXVIII)(reacción a) o por la epoxidación del ácido tíglico(LXXXIX) seguida de reducción (reacción b y c).

Se pensó en una segunda hipótesis, la cual postulaba al ácido acetoacético como precursor. Este por una reacción de C-metilación se transformaría en el ácido 2-metil acetoacético(XCIII) que es también un producto del metabolismo de la isoleucina(ver esquema). Para verificar esta hipótesis se inyectaron ejemplares de Simaruba glauca con acetato de sodio ( $1-^{14}\text{C}$ ) y L(U- $^{14}\text{C}$ ) isoleucina(148). La saponificación de la glaucarubinona activa aislada, permitió determinar que el ácido 2-hidroxi-2-metil butírico, proveniente de la inyección de acetato de sodio marcado, no pre-

sentaba actividad apreciable, en cambio el que provenía de la inyección de isoleucina era portador de toda la actividad de la glaucarubinona.

Esto pone de manifiesto la validez de la primera hipótesis postulada, es decir que el resto de ácido 2-hidroxi-2-metil butírico de la glaucarubina y glaucarubirona proviene del metabolismo de la isoleucina.

II. PRINCIPIOS AMARGOS DE AESCHRION CRENATA VELL.

La Aeschrion crenata Vell. (sin. Picraena palo-amargo (Speg.), Picrasma crenata (Vell.) Engl.) cuyo nombre vulgar es palo amargo o quina brava, es un árbol de mediano porte que crece, en nuestro país, en la selva misionera. Pertenece a la familia Simaroubaceae y dentro de ésta a la subfamilia Simarouboideae, tribu Picrasmeae. Dentro de esta tribu se pueden encontrar los siguientes géneros: (150).

Picrasmeae

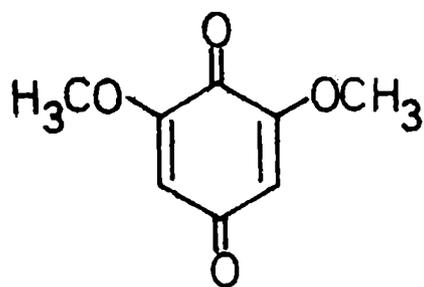
Castela  
Brucea  
Picrasma (Aeschrion)  
Ailanthus  
Perriera  
Picrella

Existen varios antecedentes sobre la utilidad de esta planta en la medicina aborigen. Los guaraníes, que la conocían bajo el nombre de parafñ, la utilizaban como tónica y febrífuga, y para combatir ciertos insectos, especialmente a los mosquitos. Con respecto a esta última propiedad, Bertoni (151) describe como mediante la decocción de la corteza con agua se evitaba la acción de los mosquitos. También pone de manifiesto el uso de la corteza como tónico, reconstituyente y como en altas dosis era empleada para combatir la malaria.

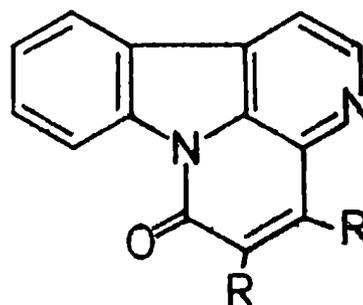
En 1928, Domínguez (152) informa que la corteza de Aeschrion crenata contiene un alcaloide y un principio amargo. Posteriormente, Pereira (153) hace un estudio farmacológico con un extracto de alcaloides crudos, encontrando una cierta acción hipoglucémica en perros.

Polonsky y colaboradores (20) aislaron de la corteza de esta planta 2,6-dimetoxi-p-benzoquinona (XCIV) y quassina. Posteriormente se informó (154) del aislamiento de cantin-6-ona (XCVa) y

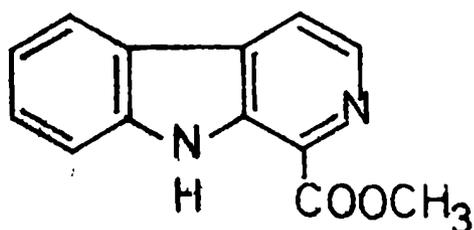
más recientemente se encontraron en la misma tres alcaloides  $\beta$ -carbolínicos(155): 1-carbometoxi- $\beta$ -carbolina(XCVI), crenatina (XCVII) y crenatidina(XCVIII).



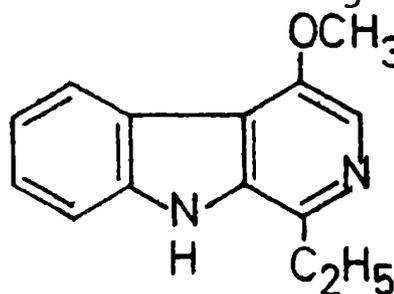
XCIIV



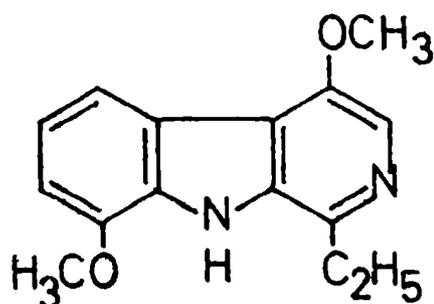
XCV a) R= H

b) R= OCH<sub>3</sub>

XCVI



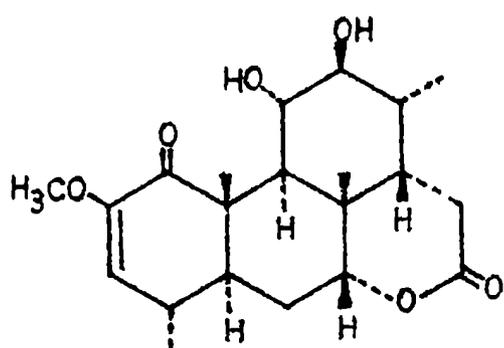
XCVII



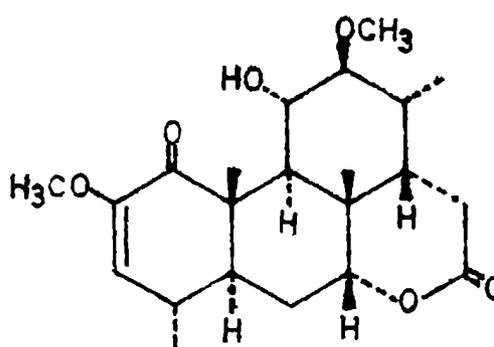
XCVIII

De otras especies de este género se han aislado diversos principios amargos y alcaloides. De Picrasma excelsa, Clark(3) aisló en 1938 un producto al que denominó picrasmina, que resultó

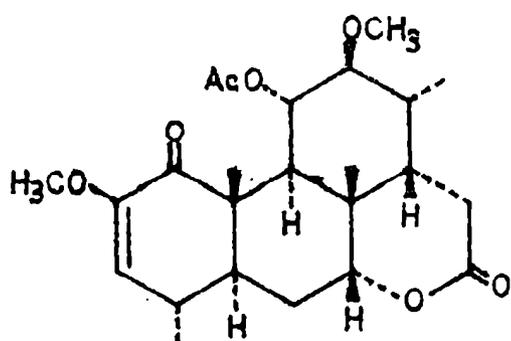
ser una mezcla de quassina y nequassina(5). De Picrasma ailanthoides se aisló 2,6-dimetoxi-p-benzoquinona(XCIV) y 4,5-dimetoxi cantin-6-ona(XCVb)(156) y cuatro nuevos principios amargos, las nigakilactonas A(XCIX), B(C), C(CI) y picrasina B(CII) (21,149). De Picrasma javanica, Lambertson y colaboradores(157) han aislado un nuevo alcaloide  $\beta$ -carbolínico, muy similar a la crenatina: la 4-metoxi-1-vinil- $\beta$ -carbolina(CIII).



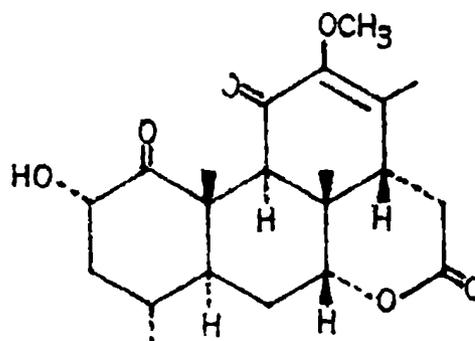
XCIX



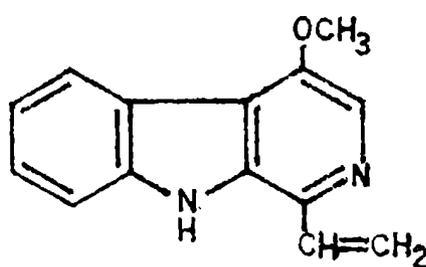
C



CI



CII



CIII

El material empleado en el presente estudio, que forma parte de la corteza del tronco, fue recolectado en las cercanías de Pto. Iguazú en la provincia de Misiones.

La corteza seca y molida se extrajo con éter de petróleo y luego con metanol. El extracto metanólico, concentrado y filtrado, se volcó sobre ácido clorhídrico 1% apareciendo un precipitado pulverulento el cual fue denominado IH y que se filtró y guardó para su posterior estudio. La alcalinización de las aguas madres permitió obtener por filtración los alcaloides anteriormente mencionados (155). Las aguas madres resultantes se extrajeron con cloroformo y este a su vez con ácido clorhídrico 1%. La evaporación del extracto clorofórmico permitió obtener un residuo que tenía un fuerte sabor amargo y que se denominó NAL.

Por cromatografía en columna de gel de sílice de la solución clorofórmica de este residuo (NAL), se obtuvo un producto cristalino de color blanco, que recristalizado varias veces de metanol funde a 245-246°, al que se denominó parafina. La sustancia es ópticamente activa,  $[\alpha]_D +28,6^\circ$  (cloroformo) y su análisis corresponde a  $C_{21}H_{28}O_6$ , fórmula que pudo ser confirmada mediante el espectro de masa (Fig. 15) donde el pico molecular es  $M^+ = 376$  m/e.

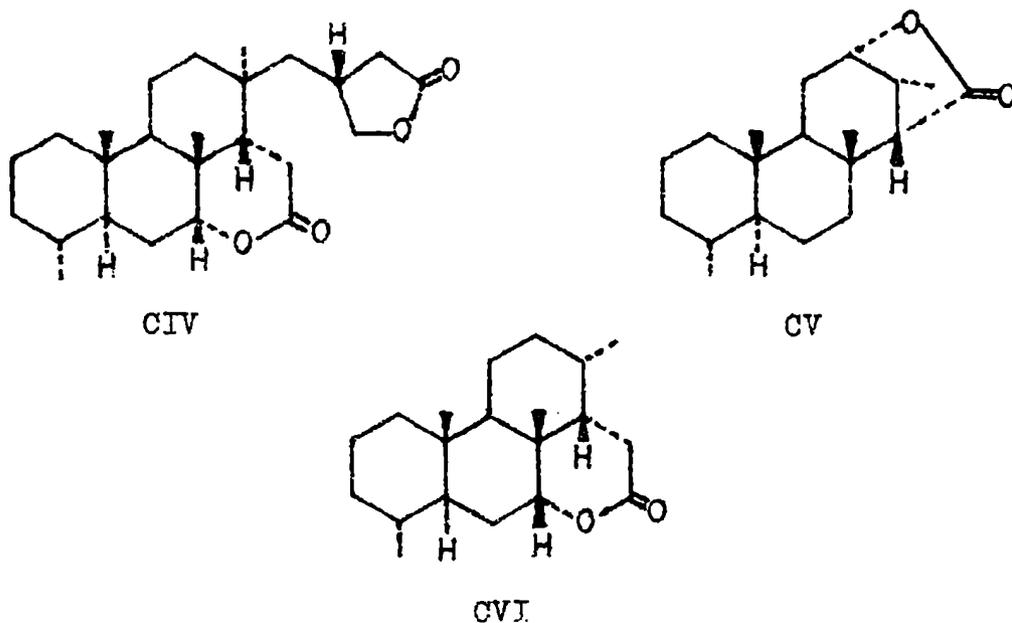
En el espectro I.R. (Fig. 5), la banda ancha a ca.  $3400\text{ cm}^{-1}$  indica la presencia de un grupo hidroxilo involucrado en uniones hidrógeno. La preparación de un acetato, pf 142-145°,  $C_{23}H_{30}O_7$ , en cuyo espectro I.R. (Fig. 7) esta banda ha desaparecido, confirmó esta asignación. El hecho que la parafina no de una reacción coloreada con ácido sulfúrico concentrado, permite excluir la posibilidad que el hidroxilo sea del tipo alílico, ya que ésta sería la causa por la cual algunos principios amargos de simarubáceas dan color púrpura con este reactivo (51).

La banda intensa a  $1720\text{ cm}^{-1}$  puede atribuirse a un grupo carbonilo. Esta banda presenta una inflexión a ca.  $1736\text{ cm}^{-1}$  lo

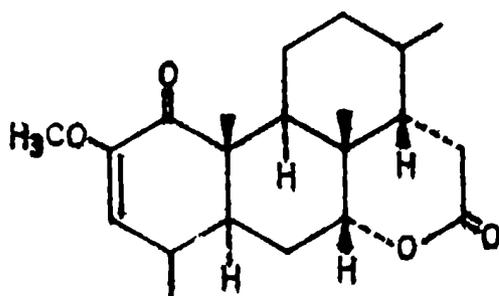
que, junto con la solubilidad de la sustancia en álcali a pesar de la ausencia de grupos fenólicos y carboxílicos, puede tomarse como una indicación de la presencia de una  $\delta$ -lactona(158).

Las bandas a  $1680\text{ cm}^{-1}$  y  $1640\text{ cm}^{-1}$  (débil) son atribuibles a un grupo carbonilo conjugado y a la doble ligadura respectivamente. Esto nos permite individualizar cinco de los seis átomos de oxígeno de la molécula. El espectro U.7. (Fig.3) presenta un máximo a  $270\text{ nm}$  ( $\log \epsilon$  3,67) que puede ser debido a una agrupación diosfenol. El hecho que no se produzca un efecto batocrómico por alcalinización de la solución indica que debería tratarse de un diosfenol alquilado(159).

Los datos anteriores, junto con consideraciones fitoquímicas y su intenso sabor amargo, reafirmaron la suposición que la sustancia pertenecía al grupo de los principios amargos de simarubáceas. Además, la presencia del diosfenol alquilado hacía que, de los tres esqueletos posibles, simarolidano(CIV), cedrolidano(CV) y quassolidano(CVI)(15), este último fuera el más probable. El espectro de R.M.N. (Fig.6), similar en muchos aspectos al de quassina(13) (Fig.14) confirmó esta hipótesis y permitió el establecimiento de la estructura total de la molécula, posteriormente confirmada químicamente.



Un primer análisis del espectro de R.M.N. (Tabla 1) permitió detectar la presencia de un protón olefínico (doblete a  $\delta$  5,48,  $J=3$  cps, 1 H); de un grupo metoxilo (singulete a  $\delta$  3,64, 3 H); de dos metilos cuaternarios (singuletes superpuestos a  $\delta$  1,55, 6 H) y de dos metilos terciarios (dobletes a  $\delta$  1,06 y 1,15,  $J=7$  cps, 3 H c/u.). Estos datos, junto con los obtenidos de los otros métodos espectroscópicos pueden acomodarse perfectamente a la estructura parcial (CVII).



CVII

En la misma, el protón olefínico está unido al C-3, el grupo metoxilo al C-2, los dos metilos cuaternarios al C-8 y C-10 y los dos terciarios al C-4 y C-13. Contiene además un grupo diosfenol metilado y un anillo  $\delta$ -lactónico. Faltaría ubicar en la misma al hidroxilo alcohólico y al carbonilo no conjugado.

Si comparamos los espectros de R.M.N. de paráina y de los otros quassinólidos como quassina, las norquassininas o las nigakilactonas (Tablas 1 y 2) notamos una diferencia significativa. Mientras que en los demás quassinólidos los dos grupos metilos cuaternarios aparecen como dos picos separados por 0,20-0,30 ppm. estando la señal correspondiente al metilo en C-8 a ca.  $\delta$  1,20 y la del metilo en C-10 a ca.  $\delta$  1,50, en el caso de la paráina ambas señales aparecen superpuestas a  $\delta$  1,55. Es decir se ha producido un fuerte desplazamiento paramagnético de la señal del metilo en C-8. Este metilo es estereoquímicamente equivalente, en

relación al anillo D, al metilo en C-10 de un esqueleto 5  $\alpha$ -androstánico en relación al anillo A. Del estudio de las tablas de Zürcher (160) surge que una desprotección de este orden puede provenir de la presencia de un carbonilo en C-3, es decir en el C-12 de la parafina. Este grupo carbonilo no afecta el desplazamiento químico del metilo en C-10 de la parafina, lo que está en un todo de acuerdo con lo previsto por las tablas de Zürcher para el caso estereoquímicamente equivalente de un carbonilo en el C-12 de un esqueleto 5  $\alpha$ -androstánico respecto del metilo en C-10. Estas relaciones están representadas en la Fig. 1, donde están registrados, entre paréntesis, los valores pertinentes de las tablas de Zürcher y los valores de los desplazamientos químicos.

El grupo hidroxilo alcohólico puede ubicarse, por analogía con otros principios amargos de este grupo, en el C-11. El espectro de R.M.N. del acetato de parafina proporciona una primera confirmación al respecto (Fig. 2). En efecto, en él una de las señales de los metilos cuaternarios se ha desplazado a  $\delta$  1,33 ( $\Delta = -0,22$  ppm.) mientras que la otra se desplaza a  $\delta$  1,53 ( $\Delta = -0,02$  ppm.). Ocurre exactamente lo mismo en el caso de la nigakilactona B, en la cual al acetilar el hidroxilo ecuatorial en C-11, la señal debida al metilo en C-10 sufre un desplazamiento diamagnético de 0,18 ppm., mientras que la del metilo en C-10 sufre un desplazamiento diamagnético de 0,06 ppm. a campos más bajos. \*

---

\* Existe una discrepancia en la diferencia de desplazamiento químico de la señal del metilo en C-10 observada entre parafina y acetato de parafina ( $\Delta = -0,22$  ppm.) y nigakilactona B y su acetato ( $\Delta = -0,18$ ) y el valor calculado en base a las tablas de Zürcher para un sistema estereoquímicamente equivalente ( $\Delta = -0,03$  ppm.). Esta no concordancia puede ser atribuible a la fuerte unión hidrógeno intramolecular entre el hidroxilo en C-11 y el carbonilo en C-1, que desaparece al acetilar y que de alguna manera influencia el desplazamiento químico del metilo en el C-10.

Fig. 1

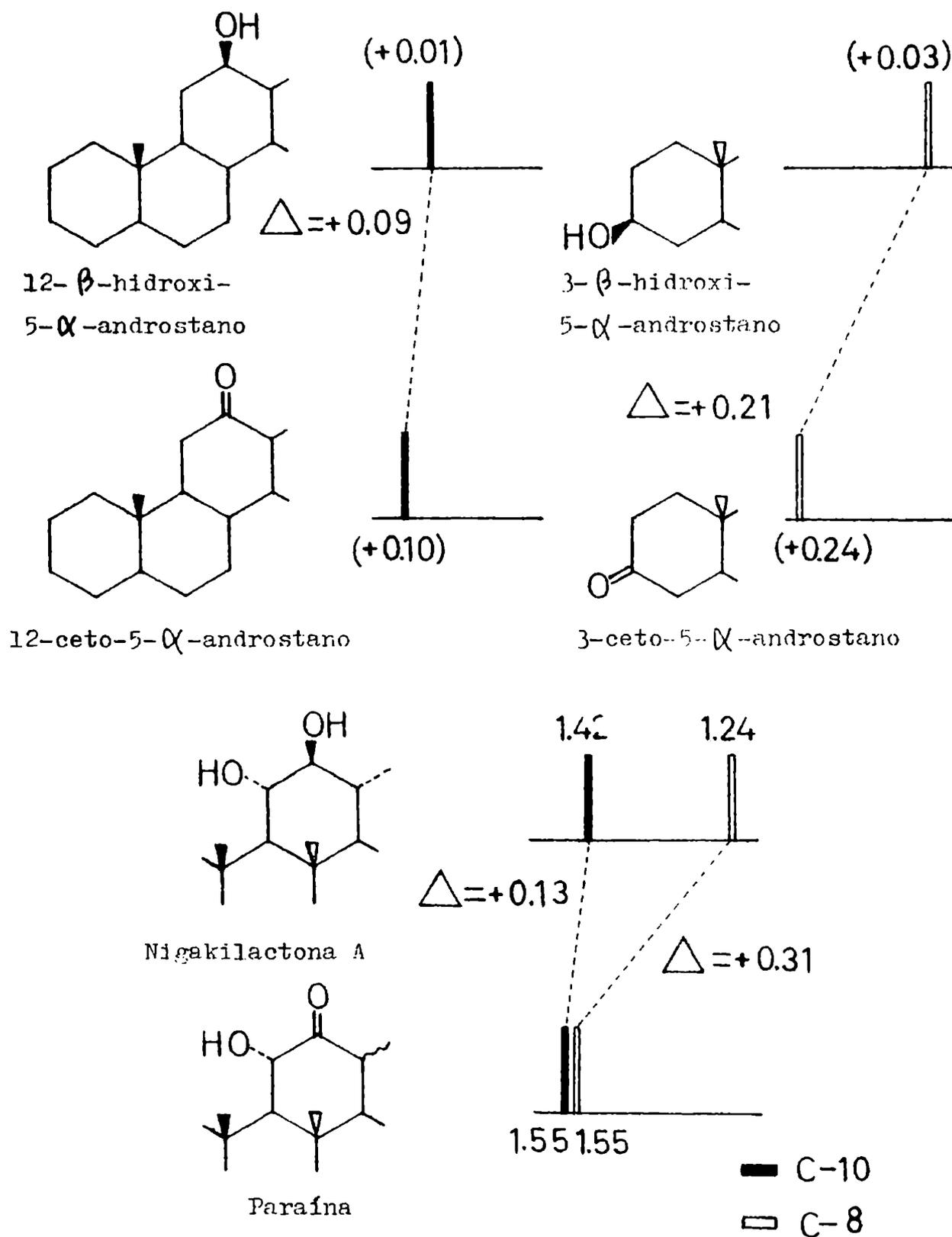
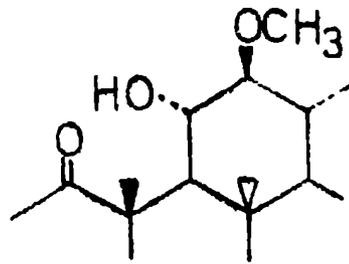
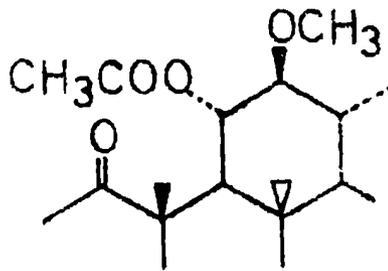
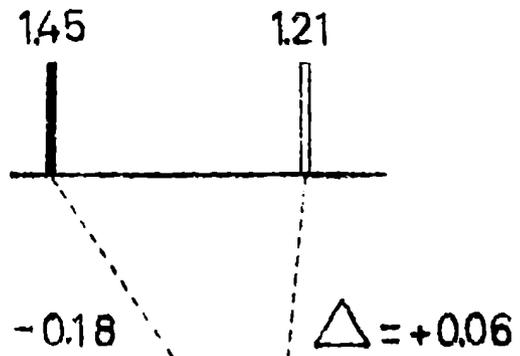


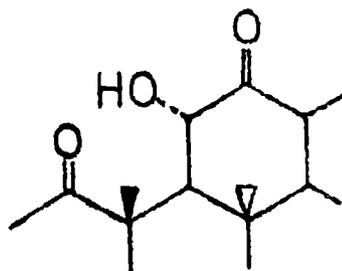
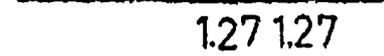
Fig. 2



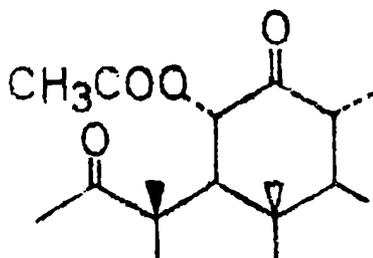
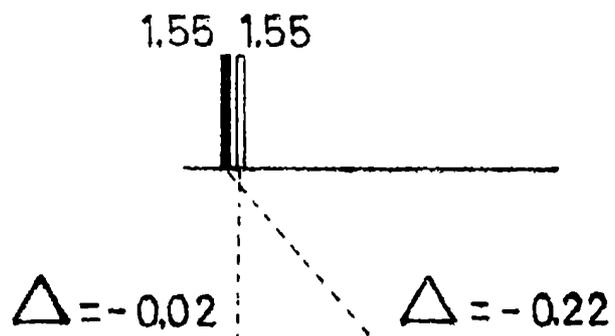
Nigakilactona B



Nigakilactona C



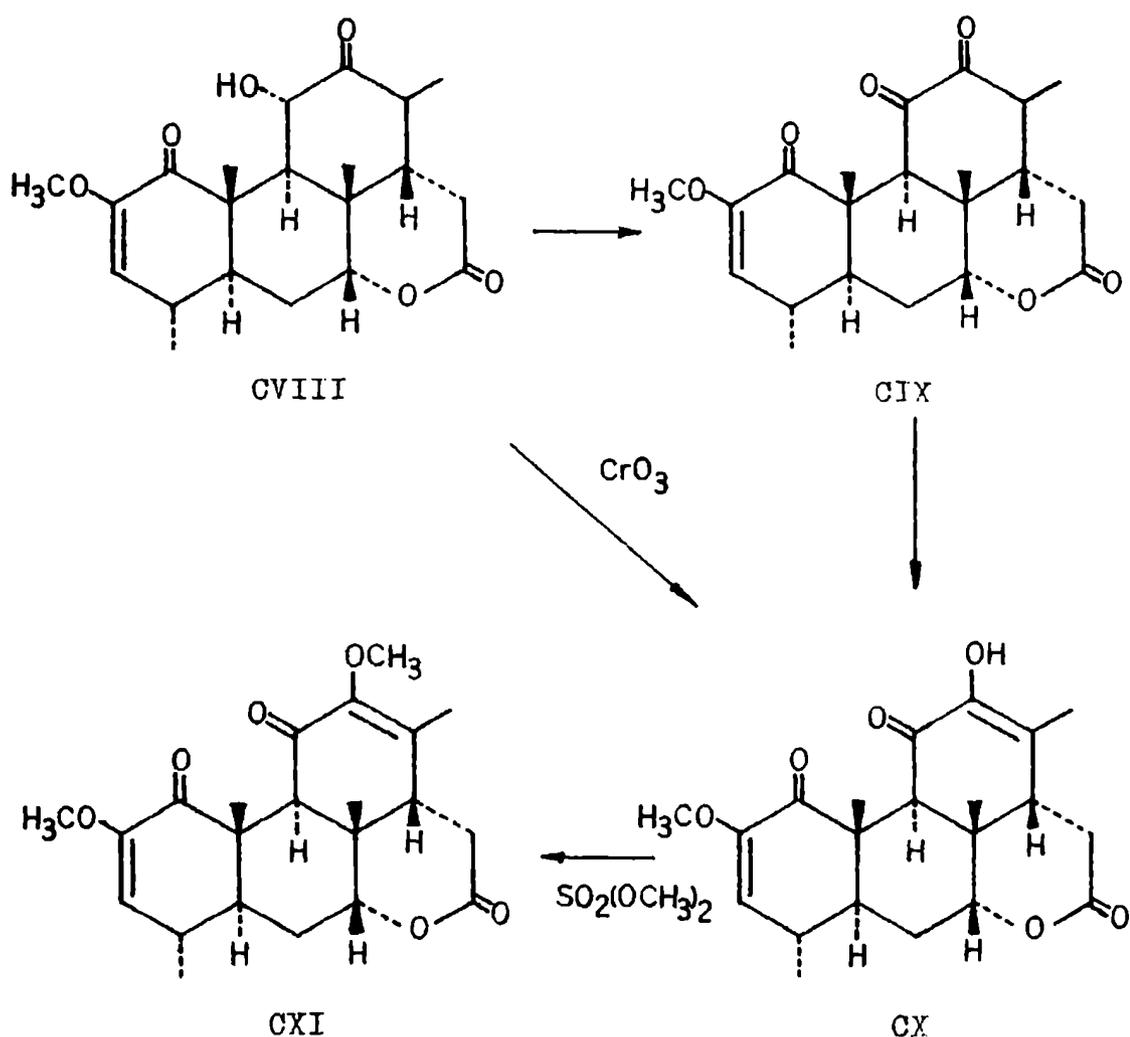
Parafina



Acetato de parafina



La estructura propuesta para la parafina pudo confirmarse mediante su transformación en *sina* por una simple reacción química en dos etapas, lo que al mismo tiempo permitió determinar la configuración relativa de todos sus centros asimétricos excepto los carbonos C-11 y C-13. Por oxidación de la parafina con el reactivo de Jones (161) se obtiene la dicetona (CIX), no aislable, que se enliza a 12-norquassina (CX), identificada por comparación con una muestra auténtica, y que por metilación con sulfato de metilo da quassina (CXI) también identificada por comparación con una muestra auténtica.



Sobre la configuración del hidroxilo del C-11 ya se obtuvo una primera indicación por la variación del desplazamiento químico del metilo en C-10 en el acetato de parafina, por comparación con la nigakilactona B (Pag.60). La misma se confirma en el mismo espectro de R.M.N. (Fig.8) por el análisis de las señales debidas al protón carbinólico que aparece aquí bien separada del resto de las señales, a  $\delta$  5,29, como un doblete de  $J=13$  cps. indicando su carácter axial, acoplado con el protón axial en C-9. El hidroxilo es por consiguiente ecuatorial, llegándose así a la fórmula (CVIII) para la parafina.

Queda por determinar inequívocamente la configuración del C-13. No obstante, por analogía con todos los otros casos conocidos de sustancias de este tipo puede asignarse tentativamente, pero con bastante seguridad, la conformación ecuatorial al metilo correspondiente.

El precipitado IH, aislado durante el fraccionamiento del extracto metanólico de la corteza, se extrajo con solución de hidróxido de sodio al 5%, en busca de más parafina. La acidificación del extracto alcalino, permitió obtener una mezcla de productos, de fuerte sabor amargo, cuya solución clorofórmica se cromatografió por una columna de gel de sílice. De esta forma se aisló un producto cristalino blanco, que recristalizado dos veces de etanol funde a 282-286°. La sustancia es ópticamente activa y su poder rotatorio es  $[\alpha]_D +122,5^\circ$  (cloroformo). Analiza para  $C_{21}H_{26}O_6$ , lo cual pudo ser confirmado a través de su espectro de masa (Fig.16) donde  $M^+ = 374$  m/e.

Su espectro de absorción en el ultravioleta (Fig.4), muestra una absorción intensa a 263 nm ( $\log \epsilon$  3,85), la cual por agregado de hidróxido de sodio al 1% se desdobra en dos bandas a 265 nm ( $\log \epsilon$  3,81) y 317 nm ( $\log \epsilon$  3,65). Este hecho permitió asegurar la existencia de una estructura del tipo diosfenol libre.

El estudio de los espectros de absorción en el infrarrojo (Fig.9) y de resonancia magnética nuclear (Fig.10) hizo suponer que se estaría en presencia de 12-norquassina(CX).La identificación del producto aislado se confirmó por comparación con una muestra auténtica determinándose la no depresión del punto de fusión mezcla,el espectro I.R. y los  $R_f$  en distintos sistemas cromatográficos.

Es esta la primera vez que se aísla 12-norquassina,obtenida recientemente por síntesis por Casinovi y colaboradores(162), como producto natural,hecho de cierto interés biogénético(Pag.48).

TABLA I

SUSTANCIA	OH <sub>3</sub> O-(2)	H-3	OH <sub>3</sub> -(4)	H-7	OH <sub>3</sub> -(8)	CH <sub>3</sub> -(10)	H-11	CH <sub>3</sub> -(13)
PARAINA	3,64 s	5,46 d J=3	1,06 d J=7	4,36 m	1,55 s	1,55 s	-	1,15 d J=7
12-NORQUASSINA	3,59 s	5,32 d J=3	1,12 d J=7	4,26 m	1,21 s	1,50 s	-	1,88 s
QUASSINA	3,71 s	5,41 d J=3	1,13 d J=7	4,36 m	1,21 s	1,58 s	-	1,90 s
ACETATO DE PARAINA	3,54 s	5,19 d J=3	1,05 d J=7	4,30 m	1,53 s	1,33 s	5,29 d J=13	1,10 d J=7
ACETATO DE 12-NORQUASSINA	3,56 s	5,30 d J=3	1,11 d J=7	4,31 m	1,33 s	1,50 s	-	1,83 s

Los valores de los desplazamientos químicos están expresados en  $\delta$  y la constante de acoplamiento (J) en cps.; s=singulete, d=doblete y m=triplete.

TÁBLA II

SUSTANCIA	CH <sub>3</sub> O-(2)	H-3	CH <sub>3</sub> -(4)	H-7	CH <sub>3</sub> -(8)	CH <sub>3</sub> -(10)	H-11	CH <sub>3</sub> -(13)
NIGAKILACTONA A(a)	3,54 s	5,35 d J=2,5	1,01 d J=6,5	4,10 m	1,24 s	1,42 s	-	1,10 d J=6
NIGAKILACTONA B(a)	3,60 s	5,45 d J=2,5	1,00 d J=6,5	4,15 m	1,21 s	1,45 s	-	1,13 d J=6,5
NIGAKILACTONA C(a)	3,42 s	5,10 d J=2,5	1,01 d J=6	4,14 m	1,27 s	1,27 s	5,22 q J=11 J=9	1,06 d J=7
2-NORQUASSINA (b)	-	5,75 d J=2,3	0,94 d J=6,5	4,42 m	1,16 s	1,66 s	-	1,87 s

Los valores de los desplazamientos químicos están expresados en  $\delta$  y la constante de acoplamiento (J) en cps.; s=singulete, d=doblete, q=cuadruplete y m=multiplete. (a) Ref.21,(b) Ref.162.

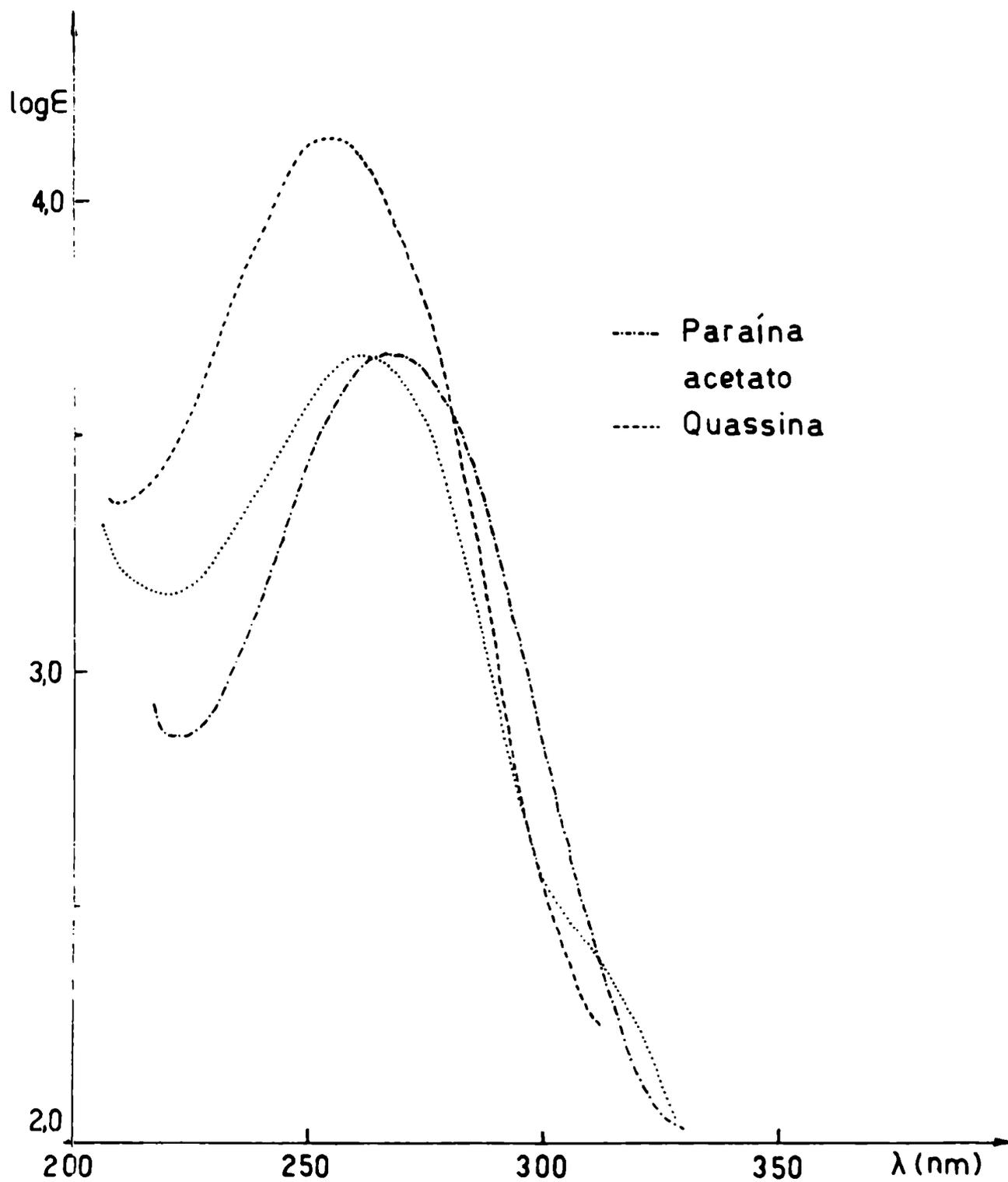


Fig.3 Espectros U.V. de principios amargos

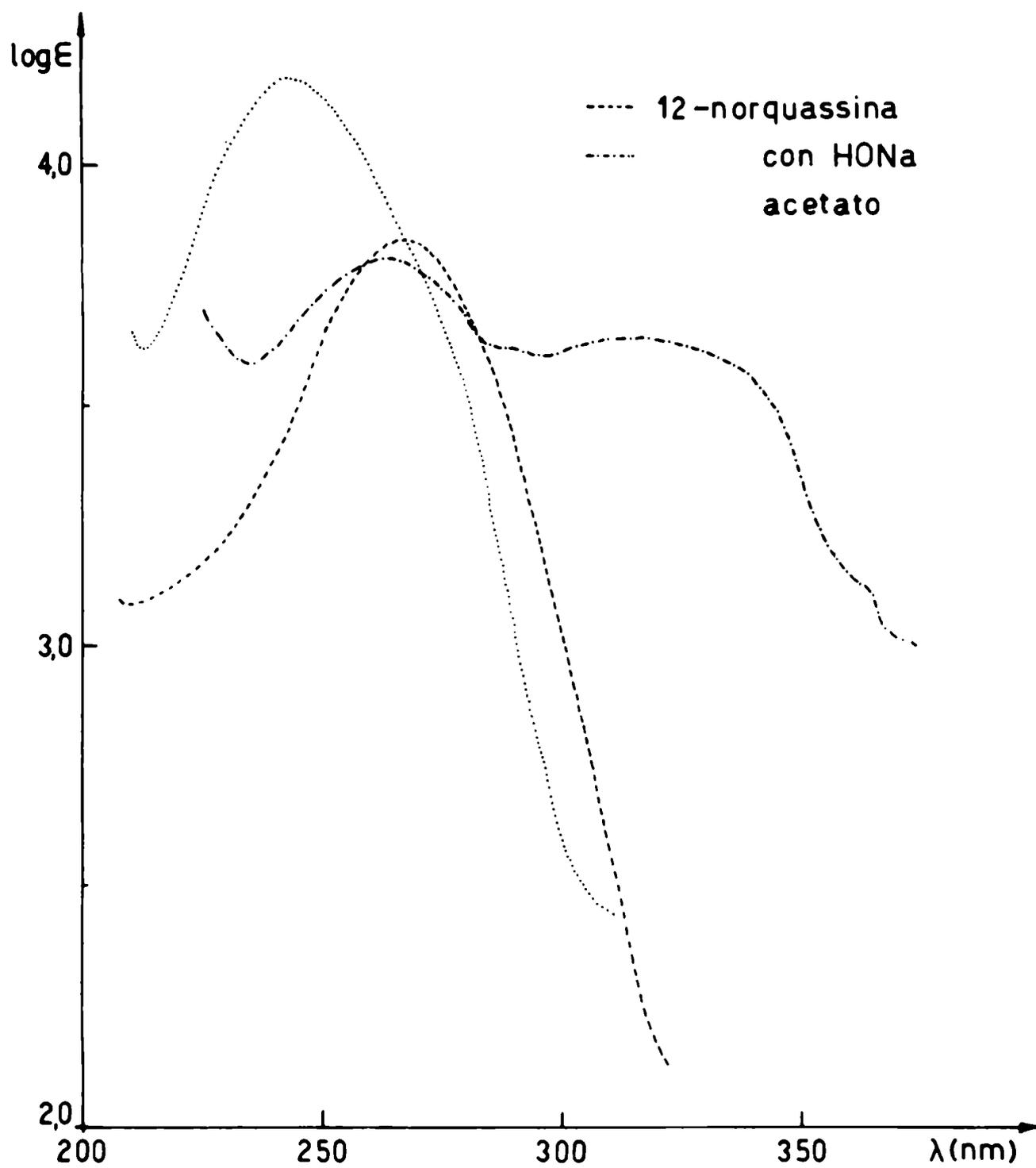


Fig.4 Espectros U.V. de principios amargos

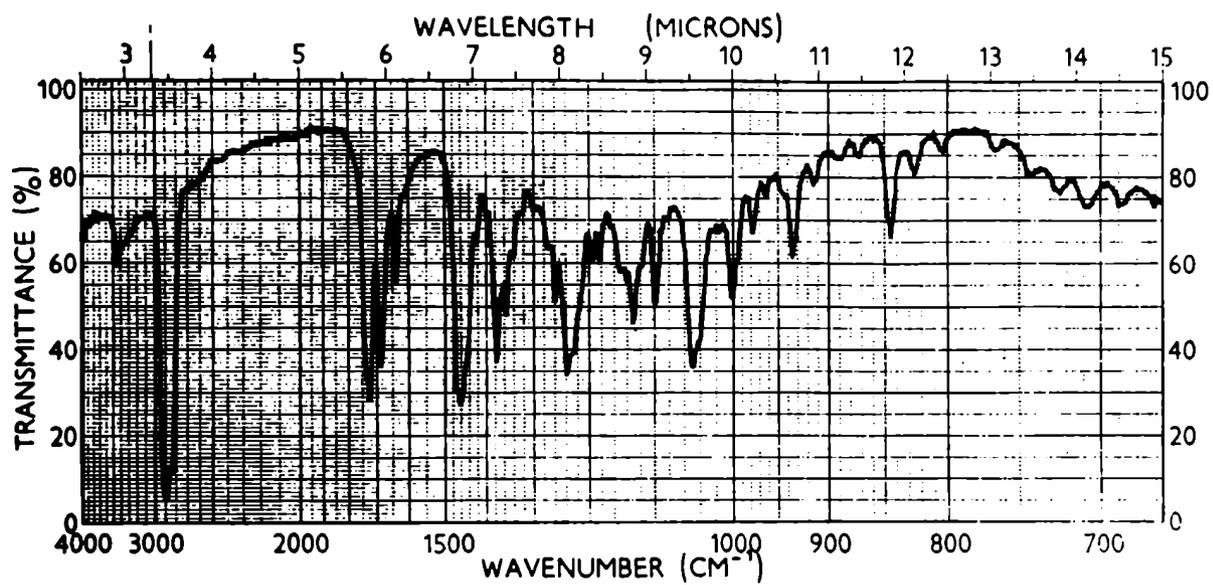


Fig.5 Espectro I.R. de parafina

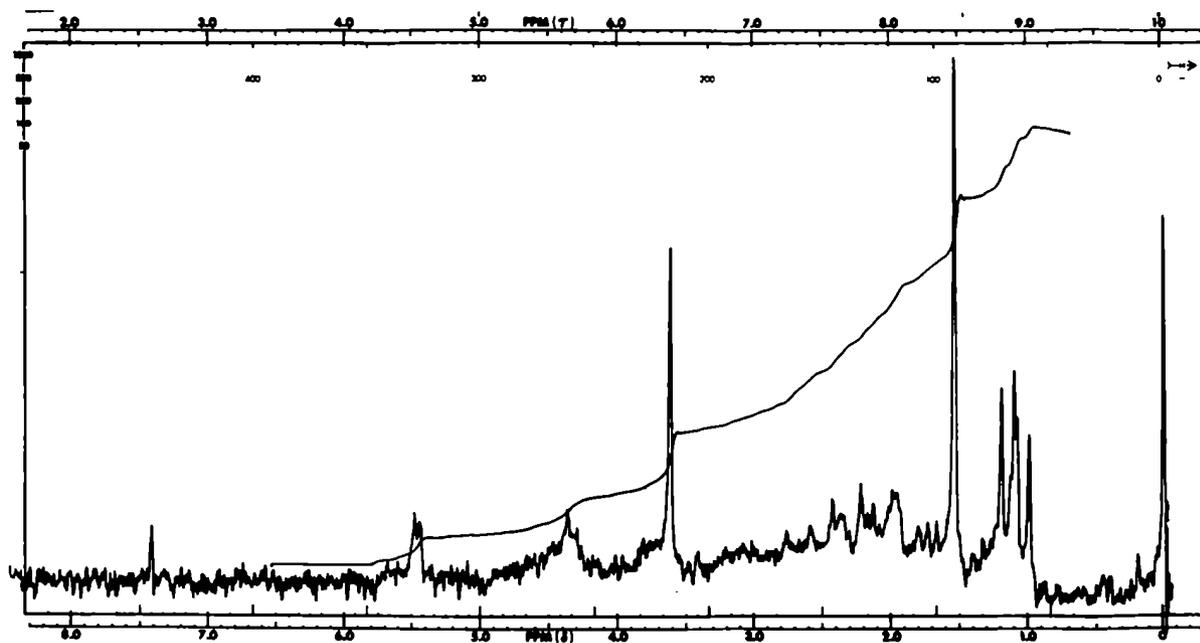


Fig.6 Espectro de R.M.N. de parafina

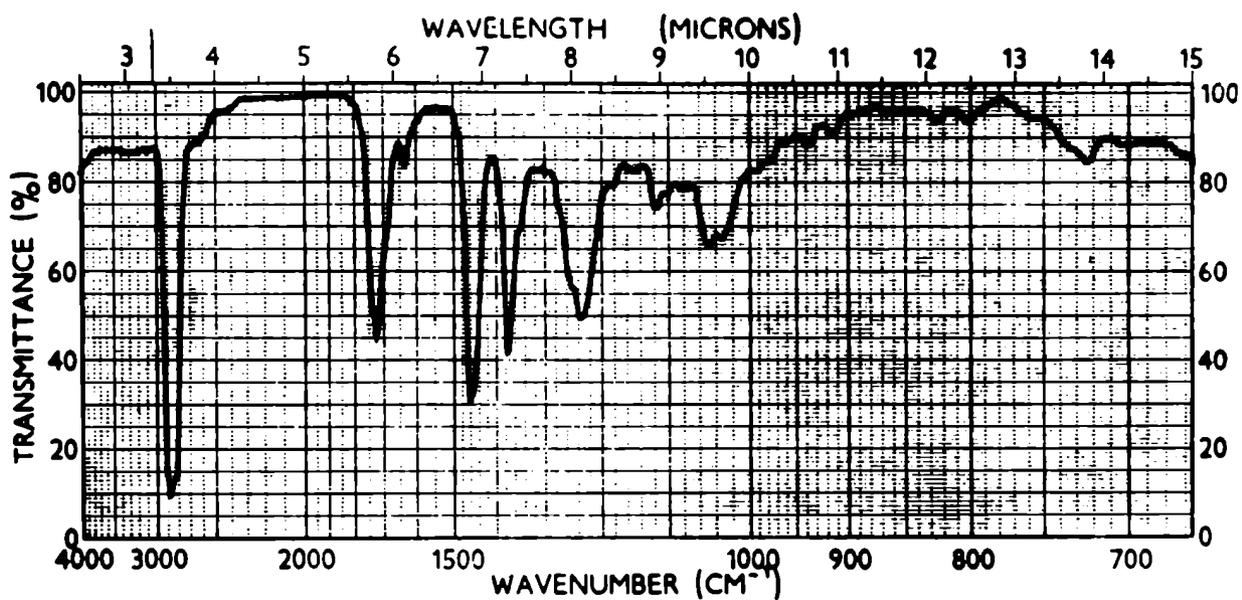


Fig.7 Espectro I.R. de acetato de parafina

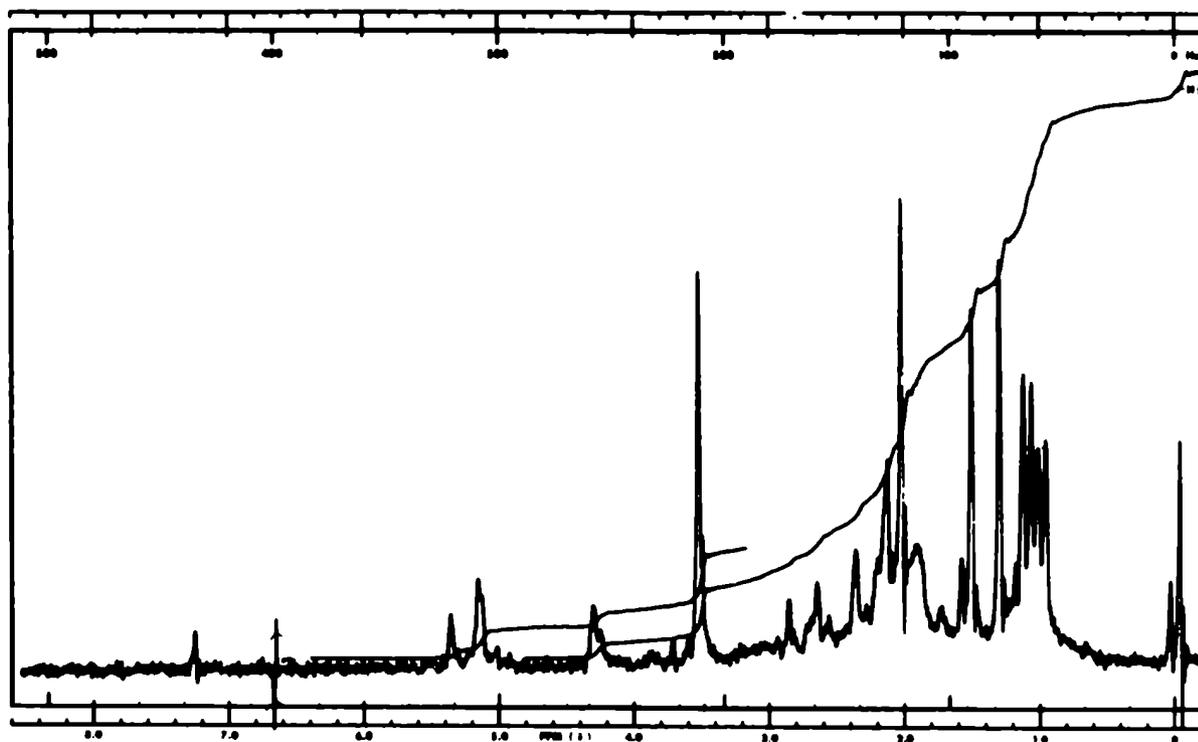


Fig.8 Espectro de R.M.N. de acetato de parafina

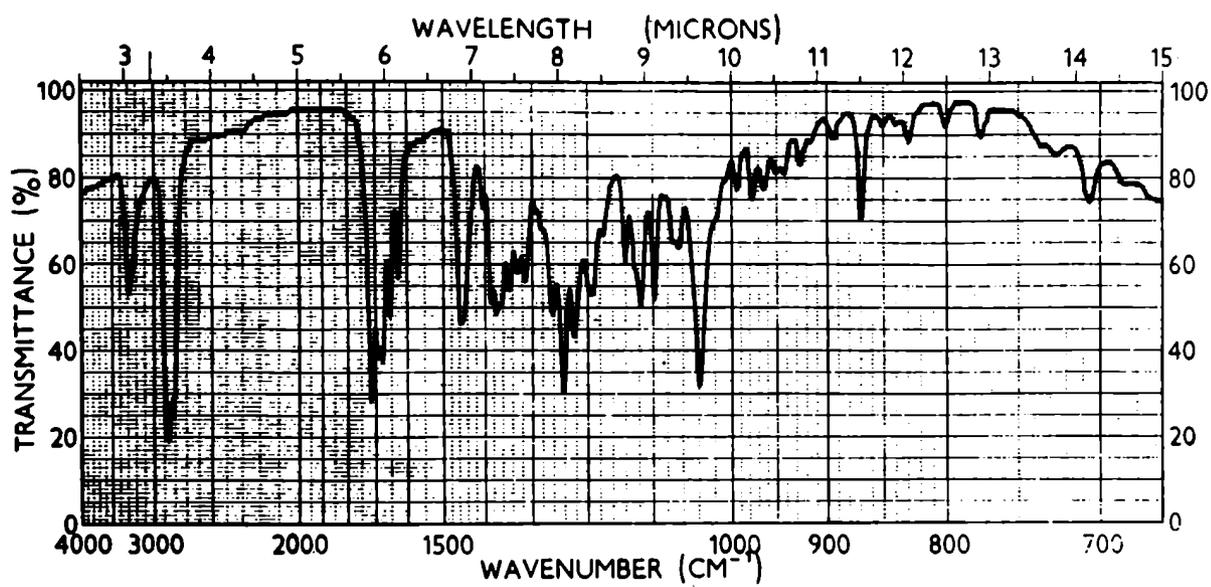


Fig.9 Espectro I.R. de 12-norquassina

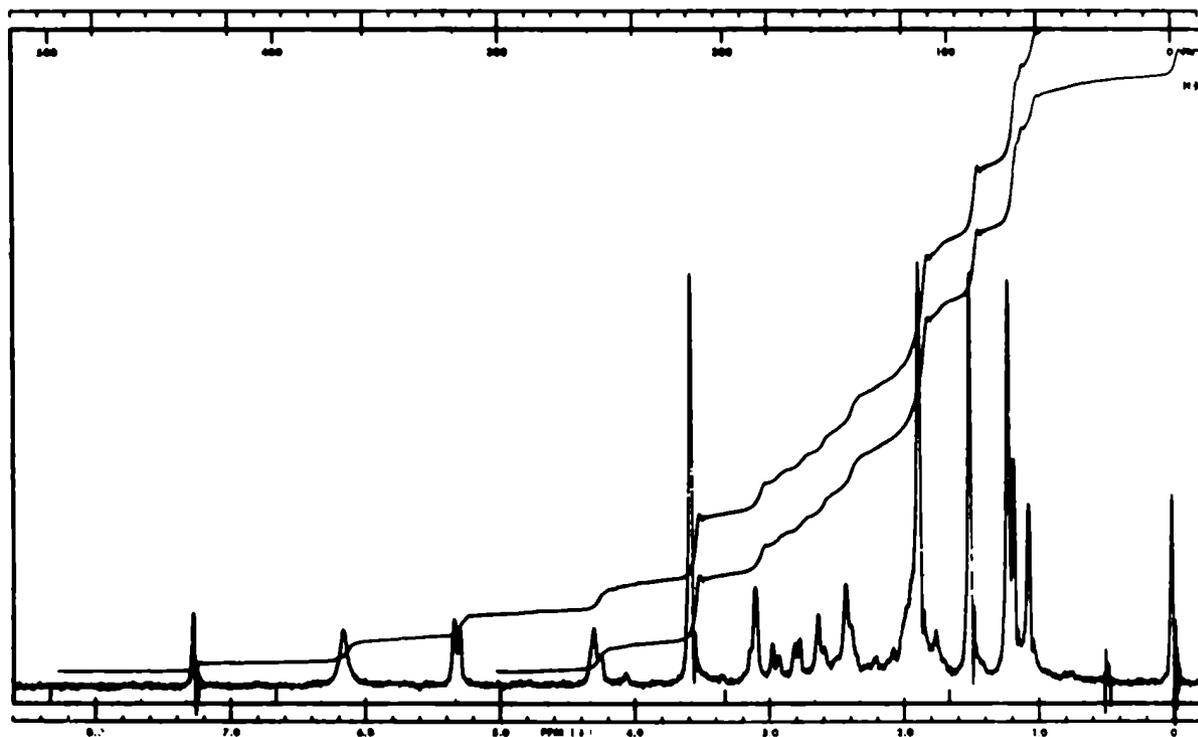


Fig.10 Espectro de R.M.N. de 12-norquassina

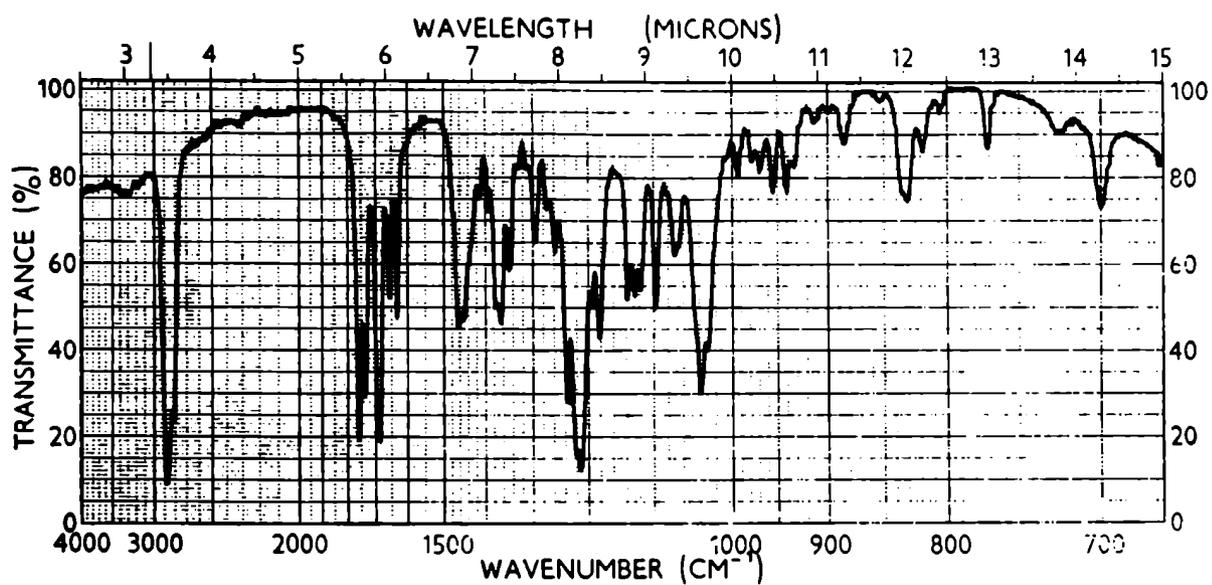


Fig.11 Espectro I.R. de acetato de 12-norquassina

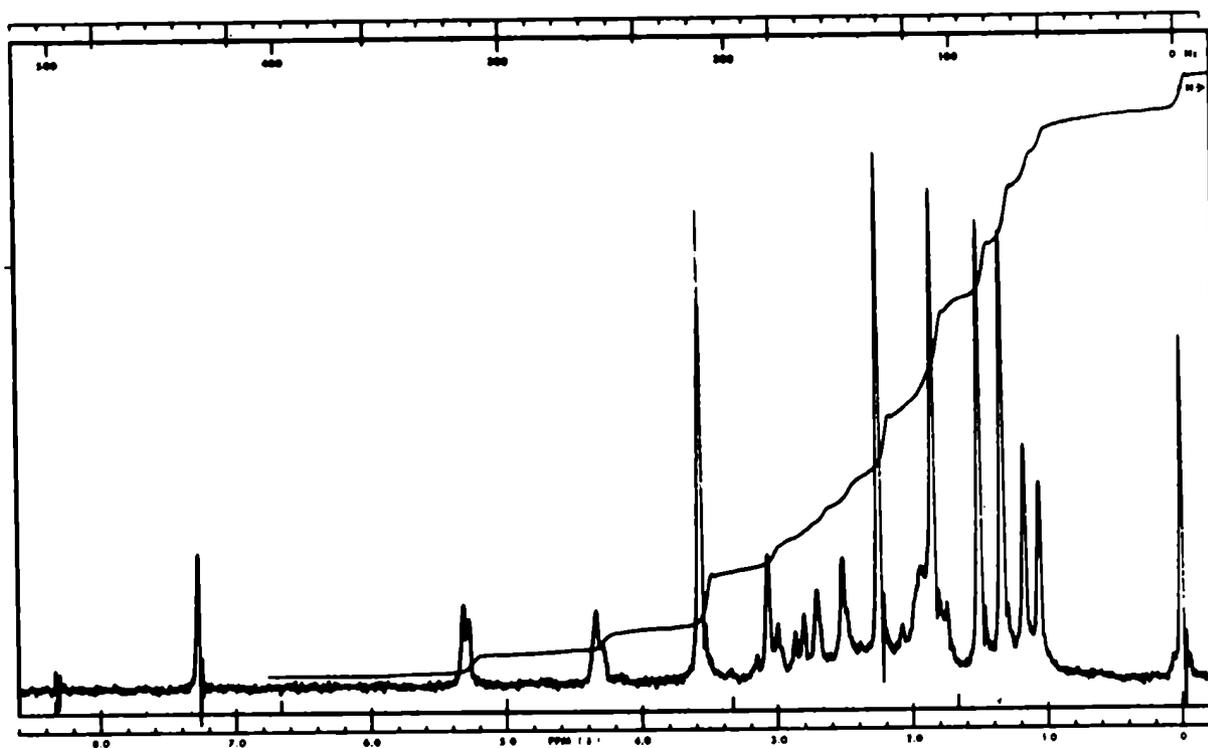


Fig.12 Espectro de R.M.N. de acetato de 12-norquassina

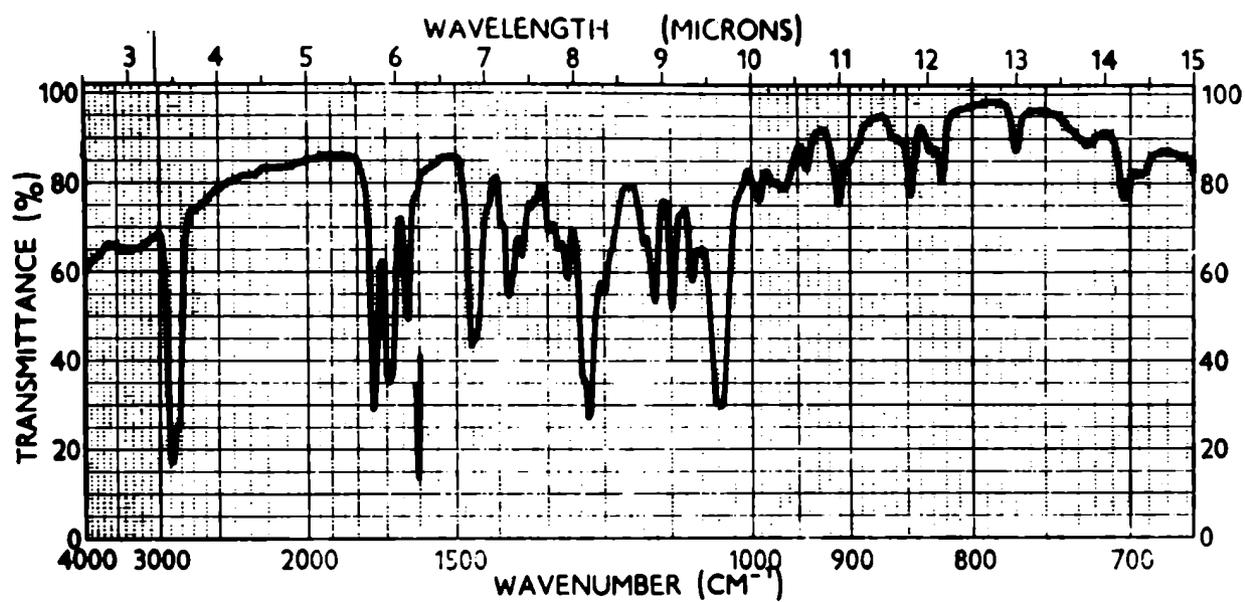


Fig.13 Espectro I.R. de quassina

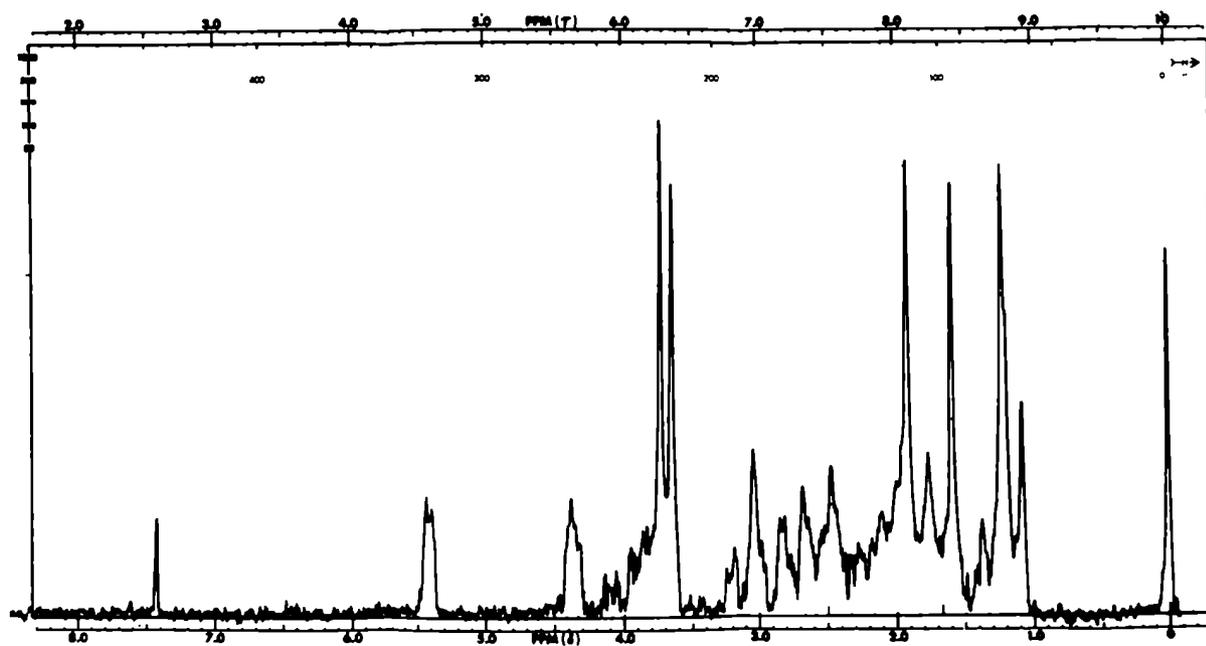


Fig.14 Espectro de R.M.N. de quassina

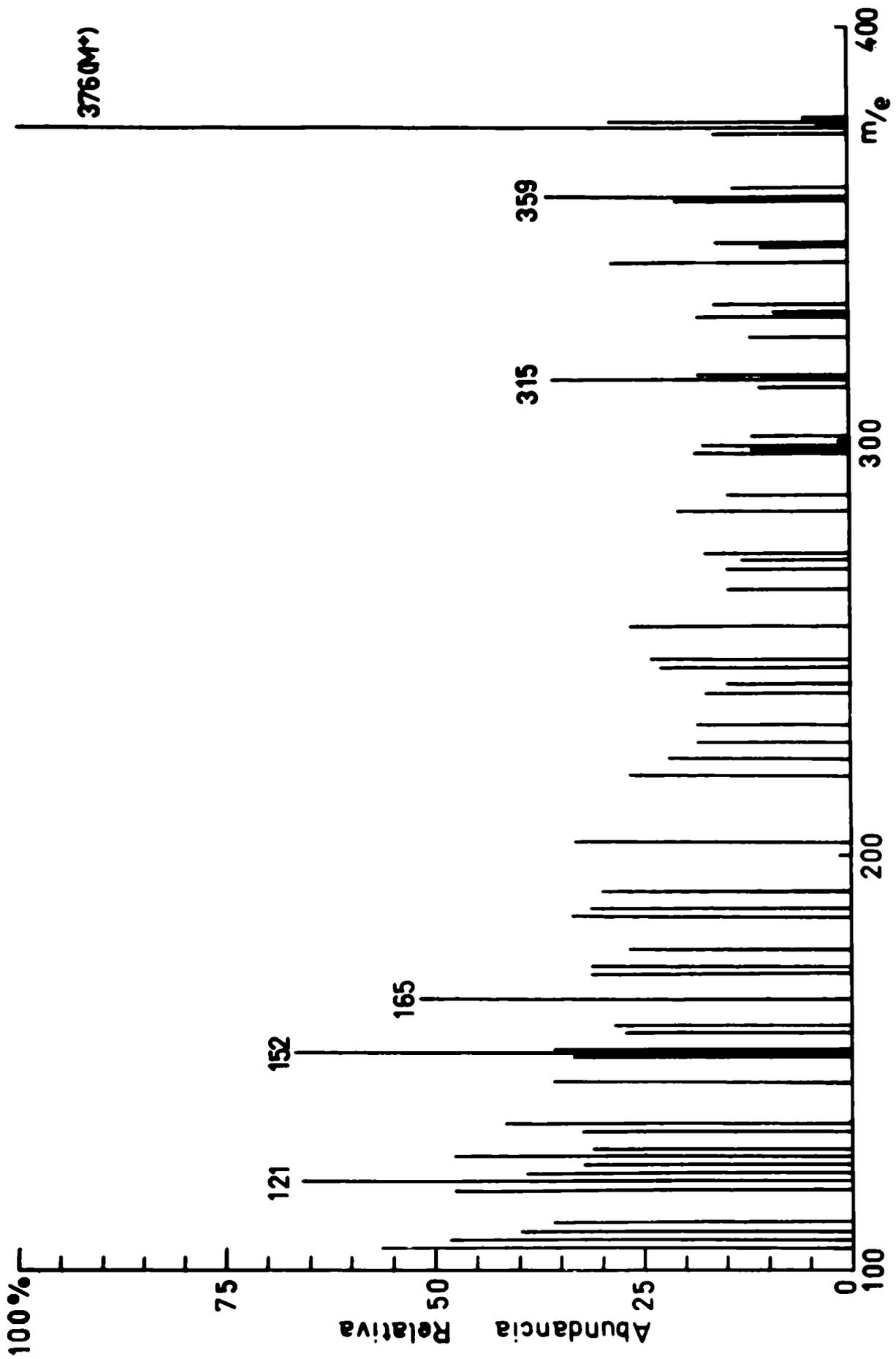


Fig.15 Espectro de masa de parafina

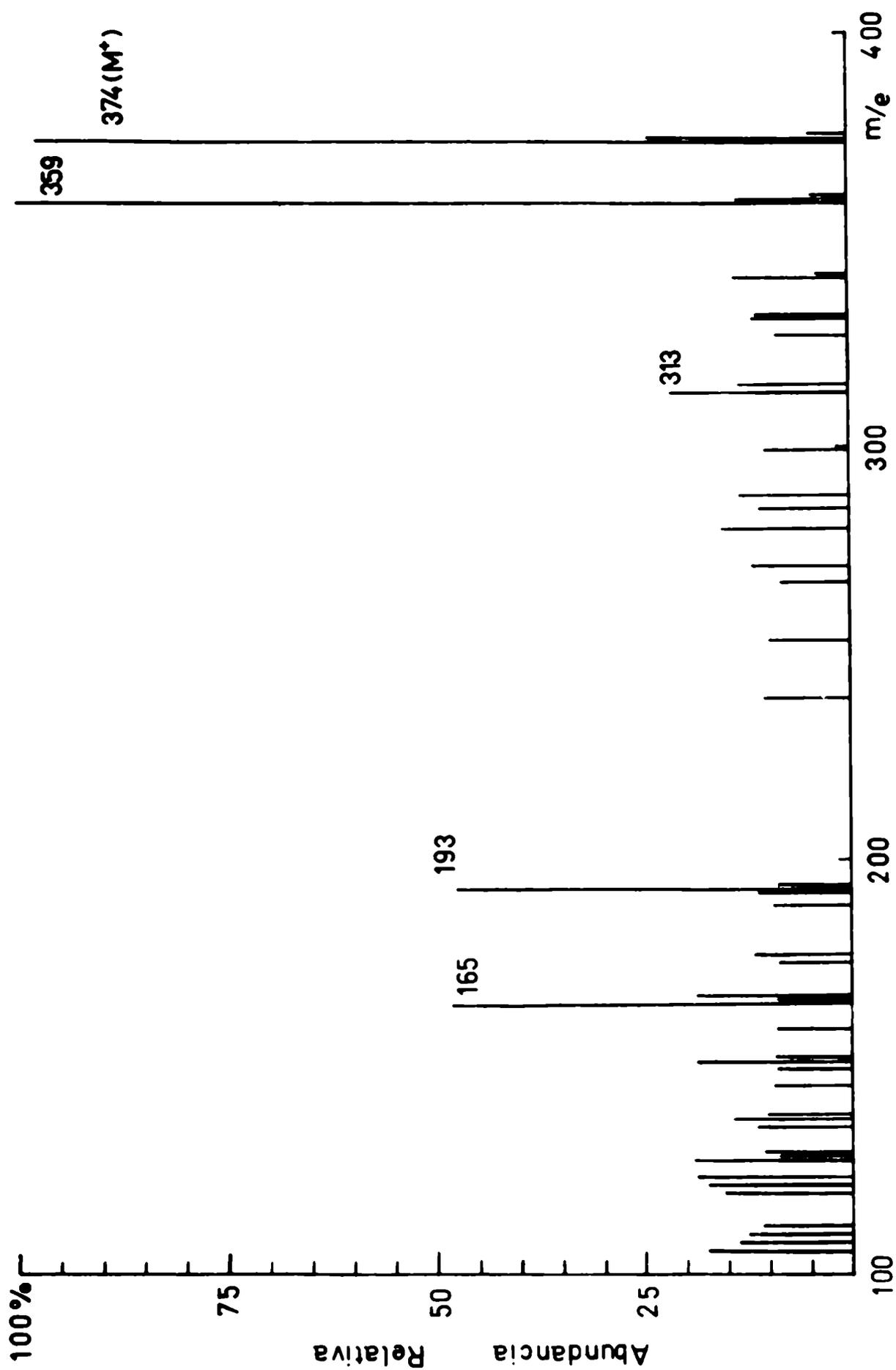


Fig.16 Espectro de masa de 12-norquassina

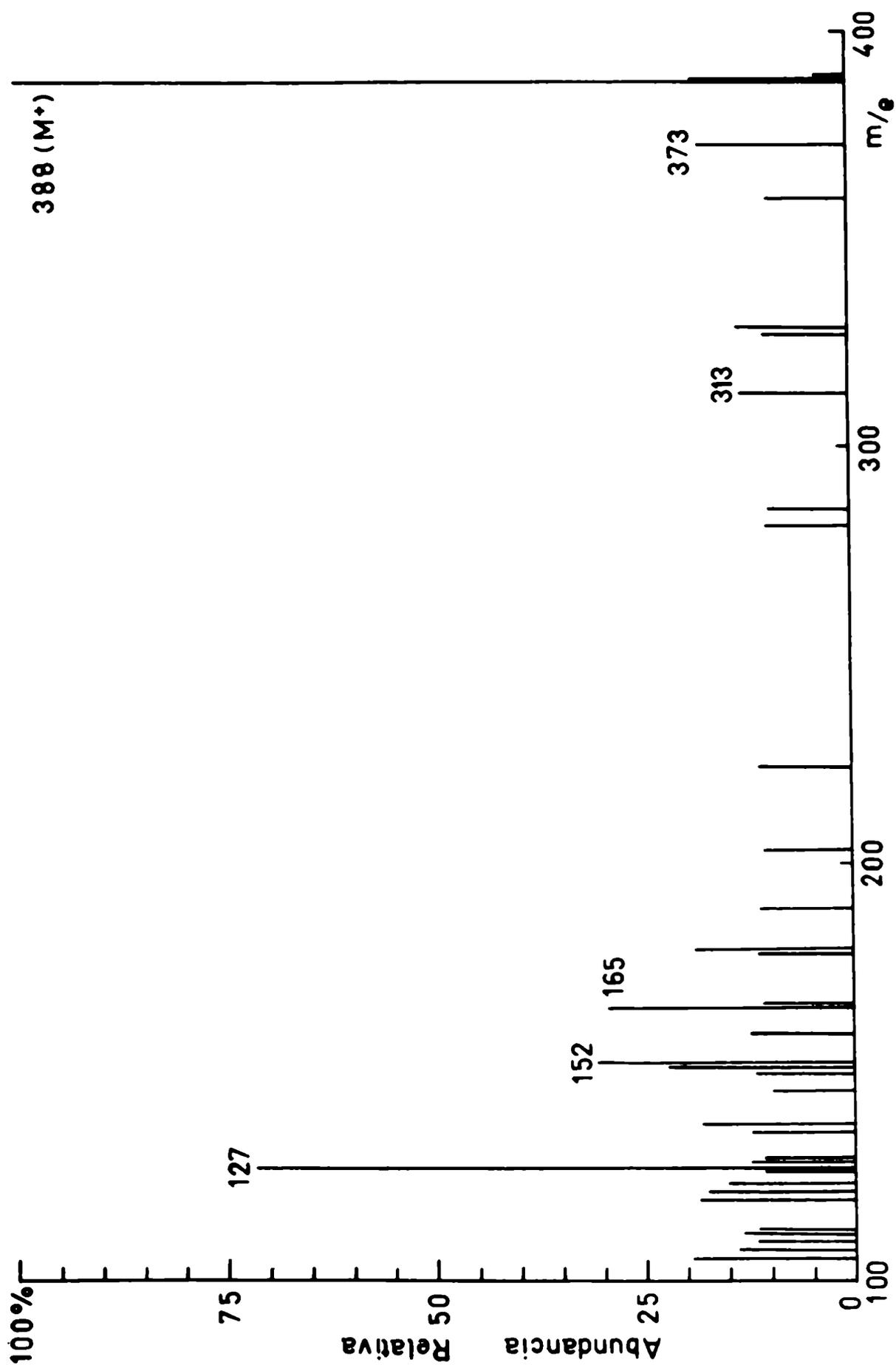


Fig.17 Espectro de masa de quassina

### PART E EXPERIMENTAL

Los puntos de fusión no están corregidos y fueron determinados por el método del tubo capilar. Los poderes rotatorios fueron medidos en un polarímetro O.C. Rudolph and Sons, modelo 70, en cloroformo y la concentración se expresó en gramos de soluto por 100 ml de solución. Los espectros de absorción en el ultravioleta se determinaron mediante un espectrofotómetro Beckman DK-2A en etanol 95%. Los espectros de absorción en el infrarrojo fueron determinados en espectrofotómetro perkin-Elmer 137-B, en nujol. Los espectros de resonancia magnética nuclear se determinaron mediante un espectrómetro Varian A-60, usando deuterocloroformo como solvente y tetrametilsilano como referencia interna. Los espectros de masa fueron determinados en un espectrómetro de masa Hitachi-perkin-Elmer PMU6-D por Morgan-Schaffer Corp. (Canada). Los microanálisis fueron efectuados en el laboratorio de microanálisis Alfred Bernhardt (Alemania).

Las columnas de cromatografía fueron preparadas con gel de sílice Davison, malla 100-200. Para las cromatografías en capa delgada se empleó gel de sílice G (Merck) como fase fija y cloroformo-etanol 95:5 (sist. A) y éter isopropílico-acetona 5:2 (sist. B), como solventes de desarrollo. El revelado se realizó con vapores de yodo. Las relaciones de frente se midieron con respecto a quassina, la cual en el sistema A tiene  $R_f$  0,61 y en el sistema B  $R_f$  0,23.

#### Extracción y fraccionamiento

Se extrajeron 2,5 kg de corteza seca y molida de Aeschrion crenata Vell. con éter de petróleo liviano (p.eb. 60-80°), por un total de 50 horas. El extracto se filtró y evaporó a sequedad obteniéndose 18 g (0,72% sobre corteza seca) de residuo, que no se trabajó ulteriormente. Se extrajo luego con metanol por un total de 50 horas. El extracto se filtró, concentró a 1,5 l y enfrió obteniéndose 23 g (0,92%) de un precipitado pulverulento de color rojo pardo que se separó para su posterior estudio. El filtrado se

concentró a 200 ml y se volcó sobre 1,5 l de ClH 1%, obteniéndose 50 g(2%) de un precipitado pulverulento de color amarillo claro que se filtró (precipitado IH) y cuyo fraccionamiento se describe mas adelante. La solución acuosa se alcalinizó con  $\text{NH}_3$  obteniéndose 16 g(0,64%) de precipitado de alcaloides.

Las aguas madres, que daban reacción positiva con el reactivo de Mayer, se extrajeron con cloroformo y este extracto se extrajo a su vez con ClH 1%. La solución clorofórmica se lavó con agua, secó sobre  $\text{SO}_4\text{Na}_2$  y evaporó dando 3,5 g(0,14%) de un residuo que tenía un fuerte sabor amargo (residuo NA1).

El residuo NA1 (3,5 g) indicó por cromatografía en capa delgada (sistema A) ser una mezcla de por lo menos 10 sustancias, estando una de ellas en mayor proporción. Se disolvieron 2,3 g de esta mezcla en cloroformo y la solución se cromatografió por una columna de 230 g de gel de sílice, empleándose como eluyentes sucesivamente 1400 ml de cloroformo; 1400 ml de cloroformo-etanol (99:1); 450 ml de cloroformo-etanol (98:2); 1000 ml de cloroformo-etanol (97:3) y 700 ml de cloroformo-etanol (96:4). De esta columna se obtuvieron 7 fracciones, de las cuales la primera no dió residuo apreciable.

Fracción 2: residuo de evaporación 357 mg. Por cromatografía indicó la presencia de dos manchas de  $R_f$  0,54 y  $R_f$  0,36. La inferior estaba en menor proporción.

Fracción 3: residuo de evaporación 927 mg, cuya cromatografía reveló una mancha principal de  $R_f$  0,36 y otras muy secundarias de  $R_f$  inferior.

Las fracciones 4,5,6 y 7 indicaron por cromatografía ser una mezcla de sustancias de sabor amargo.

### paráina

El residuo de la fracción 3 se recristalizó de metanol, obteniéndose 350 mg (equivalente al 0,018% sobre corteza seca) de pf 230-233°.

Una muestra para análisis, luego de tres recristalizaciones de metanol fundió a 245-246°.

Análisis: calculado para  $C_{21}H_{28}O_6$ : C 67,00%; H 7,50%; O 25,50%  
 encontrado : C 67,04%; H 7,47%; O 25,57%

poder rotatorio:  $[\alpha]_D^{31} +28,6^\circ$  (c.c, 69 cloroformo).

Espectro U.V.(Fig.3):  $\lambda_{max}$  270 nm ( $\log \epsilon$  3,67).

Espectro I.R.(Fig.5):  $\bar{\nu}_{max}$  3400  $cm^{-1}$  (hidroxilo); 1680 (carbonilo conjugado); 1725 ( $\delta$ -lactona); 1640 (doble enlace).

Espectro de R.M.N.(Fig.6)

Espectro de masa (Fig.15):  $M^+$  376(100%), 359(37,8%), 315(35,5%), 165 (53,9%), 152(67%), 121(65,3%).

$R_q$  0,59 (A)

#### Acetato de parafina

Se disolvieron 100 mg de parafina en una mezcla de anhídrido acético-piridina (1:1) y se dejó durante 48 horas a temperatura ambiente. La mezcla se volcó sobre agua y hielo y se extrajo con cloroformo. El extracto clorofórmico se lavó con agua, secó sobre  $SO_4Na_2$  y evaporó, obteniéndose 128 mg de un producto crudo que por recristalización de etanol dió 56 mg de pf 142-145°.

Análisis: calculado para  $C_{23}H_{30}O_7$  : C 66,01%; H 7,23%  
 encontrado : C 65,83%; H 7,27%

Espectro U.V.(Fig.3):  $\lambda_{max}$  262 nm ( $\log \epsilon$  3,67).

Espectro I.R.(Fig.7):  $\bar{\nu}_{max}$  1730  $cm^{-1}$  (carbonilo); 1640 (doble enlace).

Espectro de R.M.N.(Fig.8)

$R_q$  0,92 (A)

#### Oxidación de parafina con $CrO_3$

Se disolvieron 104 mg de parafina en 50 ml de acetona y se agregó gota a gota y con agitación un exceso de reactivo de Jones, el cual se preparó disolviendo 7 g de  $CrO_3$  en 50 ml de agua y agregando con agitación 6 ml de ac. sulfúrico concentrado.

Luego de 20 minutos a temperatura ambiente, se destruyó el exceso de reactivo por agregado de gotas de metanol y se volcó sobre agua llevando a pH 7 por agregado de  $\text{CO}_3\text{K}_2$ , extrayéndose posteriormente con cloroformo. La solución clorofórmica se lavó con agua, secó sobre  $\text{SO}_4\text{Na}_2$  y evaporó obteniéndose 82 mg (79%) de producto crudo, el cual recristalizado de etanol fundió a 272-275°.

Espectro U.V. (Fig. 4):  $\lambda_{\text{max}}$  268 nm ( $\log \epsilon$  3,85).

Espectro I.R. (Fig. 9):  $\bar{\nu}_{\text{max}}$  3300  $\text{cm}^{-1}$  (hidroxilo); 1720 ( $\delta$ -lactona) 1690 (carbonilo conjugado); 1660 (carbonilo conjugado); 1630 (doble enlace). Coincidente con el de una muestra auténtica.

Espectro de R.M.N. (Fig. 10)

$R_q$  1,03 coincidente con el de una muestra auténtica, (A).

### Quassina

Se disolvieron 30 mg de 12-norquassina en 0,6 ml de HClNa 2N y luego se agregaron lentamente y con agitación 0,15 ml de sulfato de metilo. La solución quedó ácida y se hizo un nuevo agregado de HClNa 2N. Se colocó en agitador hasta total destrucción del exceso de sulfato de metilo. Se extrajo con cloroformo y la solución clorofórmica se lavó con agua, secó sobre  $\text{SO}_4\text{Na}_2$  y evaporó, dando 28 mg (90%) de producto crudo que recristalizado de metanol acuoso fundió a 220-222° (lit.<sup>13</sup> 221-222°). El punto de fusión mezcla con una muestra auténtica de pf 221-222° fue 221-222°.

Espectro U.V. (Fig. 3):  $\lambda_{\text{max}}$  255 nm ( $\log \epsilon$  4,13).

Espectro I.R. (Fig. 13):  $\bar{\nu}_{\text{max}}$  1740  $\text{cm}^{-1}$  ( $\delta$ -lactona); 1690 (carbonilo conjugado); 1640 (doble enlace). Coincidente con el de una muestra auténtica.

Espectro de R.M.N. (Fig. 14)

Espectro de masa (Fig. 17):  $M^+$  388 (100%), 373 (18%), 313 (13%), 165 (29%), 152 (31%), 127 (71%).

$R_f$  0,61 (sist.A); 0,23 (sist.B). Coincidentes con una muestra auténtica.

#### Fraccionamiento del precipitado IH

El precipitado amarillo (50 g) obtenido por agregado a ClH 1% del residuo de extracción metanólica, se extrajo durante 12 horas por agitación en frío con HONa 2N, filtrándose el insoluble. El extracto se lavó, secó sobre  $SO_4Na_2$  y evaporó dejando 2,22 g de un residuo de fuerte sabor amargo, que se aumentó en 1,82 g por extracción con cloroformo del precipitado obtenido al acidificar.

La fracción obtenida (4 g) indicó por cromatografía en capa delgada, ser una mezcla de por lo menos 10 sustancias, estando dos de ellas en mayor proporción. Se disolvió en cloroformo y se cromatografió la solución por una columna de 400 g de gel de sílice, empleándose como eluyentes sucesivamente 2800 ml de cloroformo; 2800 ml de cloroformo-etanol (99:1); 1400 ml de cloroformo-etanol (98:2); 350 ml de cloroformo-etanol (97:3); 200 ml de cloroformo-etanol (96:4) y 500 ml de metanol puro. De esta columna se obtuvieron 7 fracciones, de las cuales las dos primeras no dieron residuo apreciable. Fracción A 3: residuo de evaporación 1097 mg. Por cromatografía indicó la presencia de dos manchas de  $R_f$  0,54 y  $R_f$  0,36. Fracción A 4: residuo de evaporación 175 mg, cuya cromatografía reveló una mancha principal de  $R_f$  0,36 y otras muy secundarias de  $R_f$  superior. Fracción A 5: residuo de evaporación 121 mg que por cromatografía indicó una mancha principal de  $R_f$  0,36 y otras de componentes menores. Junto con la fracción A 4 se dejó para su posterior estudio. Fracción A 6 y A 7: residuo de evaporación 161 mg y 2350 mg respectivamente, indicaron por cromatografía ser una mezcla compleja de sustancias de sabor amargo.

La fracción A 3 se recromatografió por una columna de 100 g de

gel de sílice, empleándose como eluyentes sucesivamente 1000 ml de cloroformo; 1000 ml de cloroformo-etanol (199:1) y 700 ml de cloroformo-etanol (99:1). De esta columna se obtuvieron 5 fracciones de las cuales las dos primeras no dieron residuo apreciable.

Fracción B 3: residuo de evaporación 332 mg. por cromatografía indicó la presencia de una sola mancha de  $R_f$  0,54.

Fracciones B 4 y B 5: residuo de evaporación 242 mg y 380 mg respectivamente. Ambas fracciones por cromatografía revelaron la existencia de un solo producto de  $R_f$  0,36, que se dejó para su posterior estudio.

### 12-norquassina

El residuo de la fracción B 3 (332 mg) se recrystalizó de etanol, obteniéndose 171 mg (0,007% sobre corteza seca) de pf 280-286°.

Una muestra para análisis, luego de dos recrystalizaciones de etanol fundió a 282-286°.

Análisis: calculado para  $C_{21}H_{26}O_6$ : C 67,36%; H 7,00%; O 25,64%  
 encontrado : C 67,41%; H 6,97%; O 25,47%

Poder rotatorio:  $[\alpha]_D^{15} +122,5^\circ$  (c. 0,93 cloroformo).

Espectro U.V. (Fig. 4):  $\lambda_{max}$  268 nm ( $\log \epsilon$  3,85)  
 $\lambda_{max}$  265 nm ( $\log \epsilon$  3,81), 317 (3,65) con  
 agregado de HONa.

Espectro I.R. (Fig. 9):  $\bar{\nu}_{max}$  3300  $cm^{-1}$  (hidroxilo); 1715 ( $\delta$ -lactona); 1690 y 1670 (carbonilo conjugado); 1630 y 1655 (doble enlace). Coincidente con el de una muestra auténtica.

Espectro de R.M.N. (Fig. 10)

Espectro de masa (Fig. 16):  $M^+$  374 (98%), 359 (100%), 313 (22,5%), 193 (47,5%), 165 (48%).

$R_q$  1,03 coincidente con el de una muestra auténtica, (A).



III. LIMONOIDES DE ESENBECKIA FEBRIFUGA JUSS. Y  
HELLETTA LONGIFOLIATA BRITT.

La Esenbeckia febrifuga Juss. es un árbol de porte mediano que crece en la selva misionera de nuestro país, conjuntamente con la Helietta longifoliata Britt. Ambas especies pertenecen a la familia Rutaceae, la cual se caracteriza por su amplia distribución en todas las partes cálidas del mundo. Esta familia se puede dividir en las siguientes subfamilias(163):

Rutaceae	{	Rutoideae
		Dictyolomatoideae
		Flindersioideae
		Spathelioideae
		Toddalioideae
		Citroideae
		Rhabdodendroideae

La Esenbeckia febrifuga pertenece a la tribu Cusparieae, en cambio la Helietta longifoliata a la tribu Toddalieae. Dentro de estas tribus pertenecen a las subtribus Pilocarpinae y Pteleinae respectivamente, las cuales contienen los siguientes géneros (entre paréntesis el nº de especies existentes en algunos de ellos):

Pteleinae	{	Helietta	Pilocarpinae	{	Pilocarpus (20)
		Balfourodendron			Esenbeckia (25)
		Ptelea			Metrodorea
		Taravalia			

tribu Toddalieae

tribu Cusparieae

La Esenbeckia febrífuga Juss., cuyo nombre vulgar es guatamburá o "quina de Mato" fue utilizada ampliamente por los aborígenes por sus propiedades febrífugas y "tónico-amargas". Se la utilizó como sucedáneo de la quina y de la cáscara de angostura (164). Ya en el año 1928, Domínguez (165) responsabiliza a dos principios amargos y un alcaloide de las propiedades terapéuticas de esta planta. En la parte **IM** de esta tesis se describe el aislamiento de la misma de tres alcaloides furoquinolínicos: skimmianina, flindersianina y maculina.

En esta parte del presente trabajo se describe el aislamiento e identificación de un principio amargo aislado de la corteza de esta planta.

La corteza seca y molida de Esenbeckia febrífuga, se extrajo primero con éter de petróleo y luego con metanol. El extracto metanólico se concentró y enfrió, filtrándose el precipitado obtenido. Este precipitado se recristalizó repetidas veces de ácido acético, dando agujas blancas de pf 310-312°  $-\left[\alpha\right]_D -138^\circ$  (dioxano).

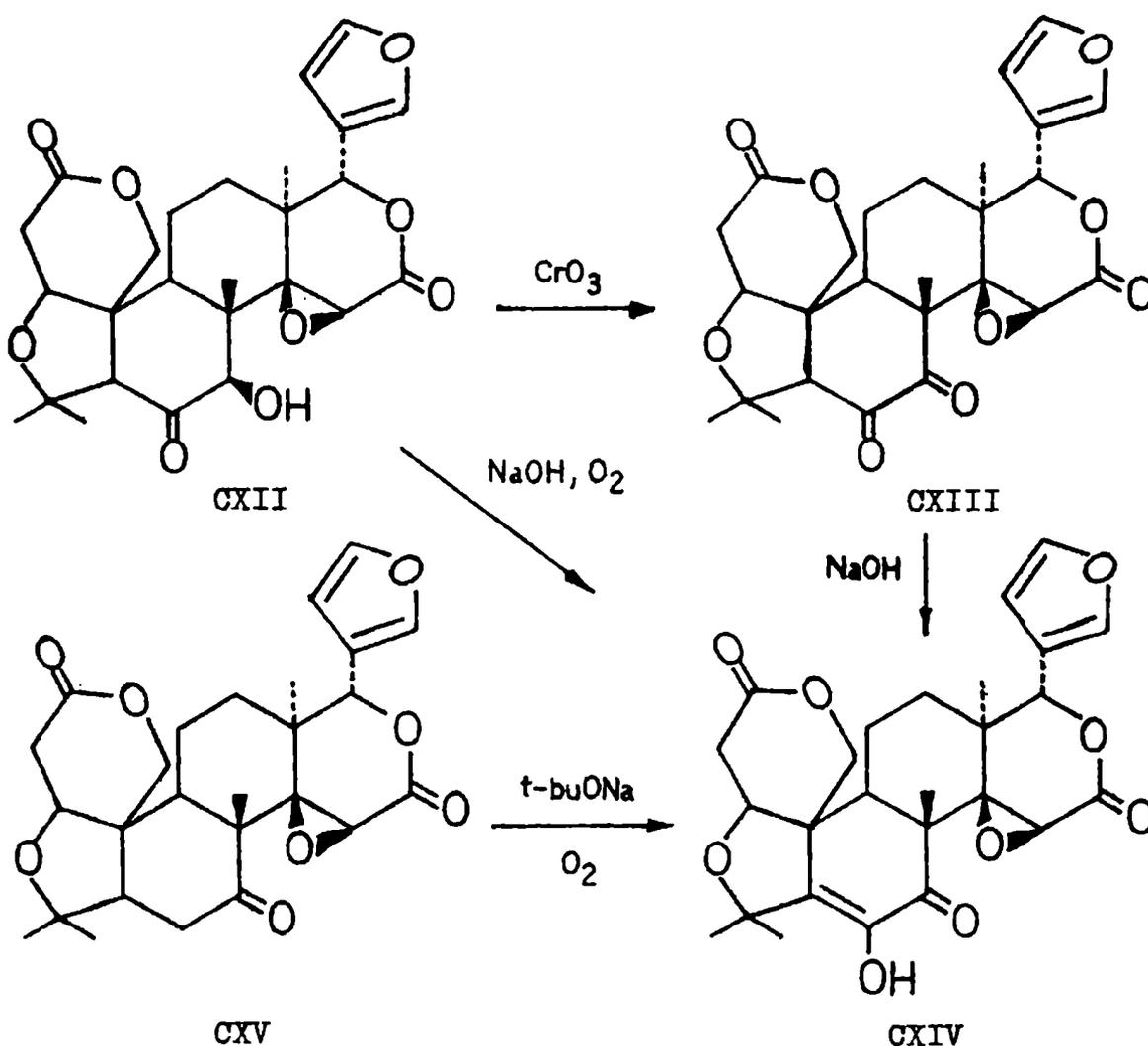
Su espectro de absorción en el ultravioleta no presenta absorción apreciable, pero su espectro de resonancia magnética nuclear (Fig. 19) muestra dos multipletes a  $\delta$  6,45 y 7,51 (1 y 2 H respectivamente) que fueron atribuidos a los protones  $\beta$  y  $\alpha$  de un anillo furánico  $\beta$ -sustituido, indicando que la sustancia aislada era muy probablemente un limonoide (62, 65), grupo de sustancias de frecuente ocurrencia en la familia de las rutáceas (74). Esta hipótesis resultó estar respaldada por el hecho que la sustancia daba reacción positiva con el reactivo de Ehrlich (93, 166).

Sus constantes físicas y el pf del acetato (187-191°), indicaron la posibilidad que el limonoide aislado fuera rutaevina (CXII) aislada anteriormente de Evodia rutaecarpa (87, 89) y cuya estructura fuera elucidada recientemente por Dreyer (82).

La identidad del producto aislado con rutaevina, se confirmó por la transformación de éste en limonina diosfenol (OXIV) por dos

caminos diferentes: por tratamiento directo con HONa 4N, o por oxidación a 6-cetolimonina (CXIII) mediante el reactivo de Jones (82,161) y posterior enolización de ésta a limonina diosfenol con HONa alcohólico.

Para poder identificar al diosfenol obtenido fue necesario preparar una muestra auténtica por oxidación de limonina (CXV) con terbutóxido de potasio y oxígeno, según el método desarrollado por Barton (69).



La identidad del limonoide principal de Esenbeckia febrífuga con rutaevina, fue finalmente confirmada por comparación con una muestra auténtica (pf, pf mezcla, I.R., R.M.N. y  $R_f$ ).

Por cromatografía en capa delgada de rutaevina cruda, se pudo

detectar la presencia de otros dos componentes menores, que también serían limonoides a juzgar por la reacción positiva que dan con el reactivo de Ehrlich. Uno de ellos tenía el mismo  $R_f$  que limonina diosfenol, el cual según Dreyer (74) acompaña a la rutaevina en todos los casos conocidos.

Este hecho refuerza la suposición según la cual, la existencia de rutaevina y limonina diosfenol estaría restringida a la subfamilia Rutoideae de la familia Rutaceae (74).

De la corteza de Helietta longifoliata Britt. se han podido aislar la furocumarina heliETTina (167), las furoquinolinas maculina (168), dictamnina, 6-metoxidictamnina, kokusaginina, flindersiamina, skimmianina e isodictamnina (169), y un triterpeno pentacíclico, el isobauerenol (170).

En esta parte del presente trabajo se describe el aislamiento e identificación del limonoide principal de la corteza de esta planta.

La corteza de Helietta longifoliata se extrajo primero con éter de petróleo y luego con metanol. El extracto metanólico se concentró y al enfriar se produjo un precipitado cristalino que se lavó con metanol. El precipitado obtenido se recristalizó repetidas veces de piridina acuosa dando un producto blanco cristalino de pf 296-300°  $[\alpha]_D -130^\circ$  (acetona).

Como en el caso anterior, el espectro de resonancia magnética nuclear (Fig. 27) permitió establecer la presencia de un núcleo furánico  $\beta$ -sustituido, indicando así el posible carácter de limonoide del producto aislado. Finalmente se lo pudo identificar con limonina (CXV) por comparación con una muestra auténtica (pf, pf mezcla, I.R., R.M.N. y  $R_f$ ) aislada de Poncirus trifoliata (74, 93).

El aislamiento de rutaevina y limonina de dos especies pertenecientes a las subfamilias Rutoideae y Toddaloideae, constituye un ejemplo más de la relación biogenética que existe entre ambas, a través de la capacidad de éstas de oxidar el C-19 del

esqueleto triterpénico de estos principios amargos. Esta característica la comparten con la subfamilia Citroideae(62).

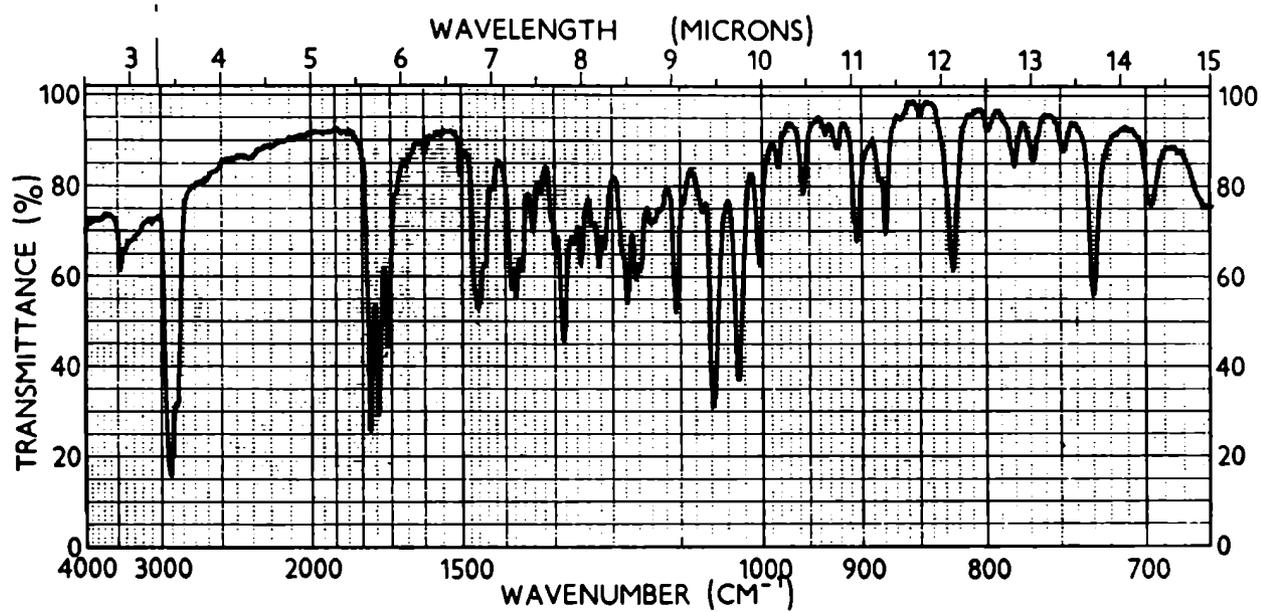


Fig. 18 Espectro I.R. de rutaevina

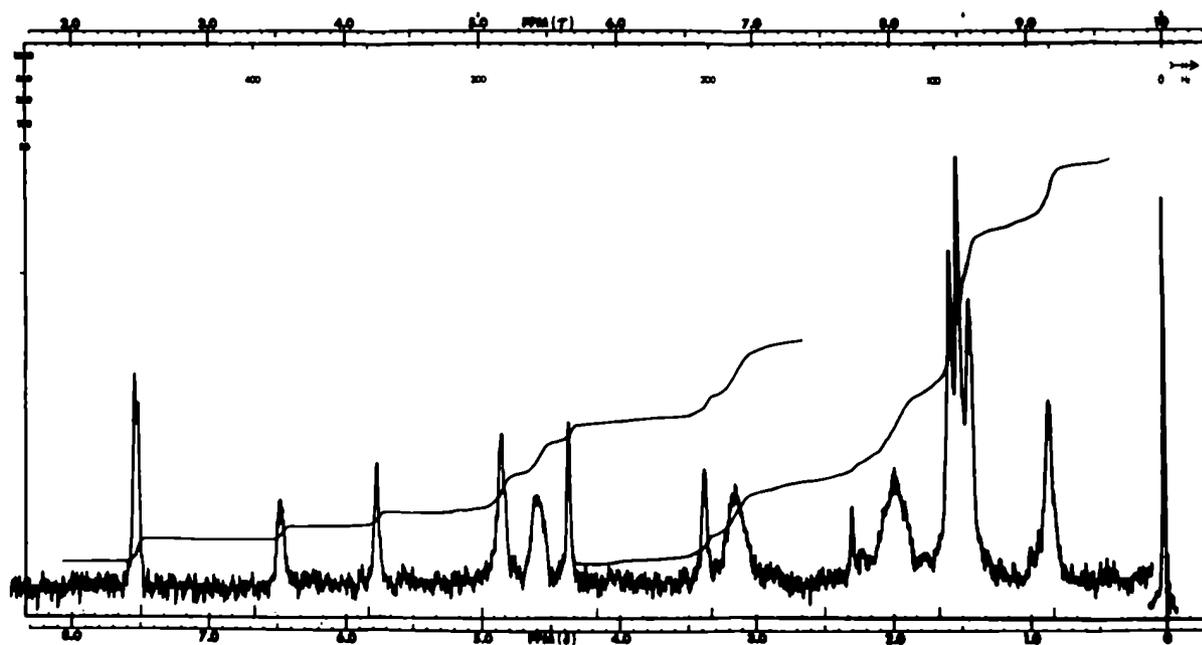


Fig. 19 Espectro de R.M.N. de rutaevina(TFA)

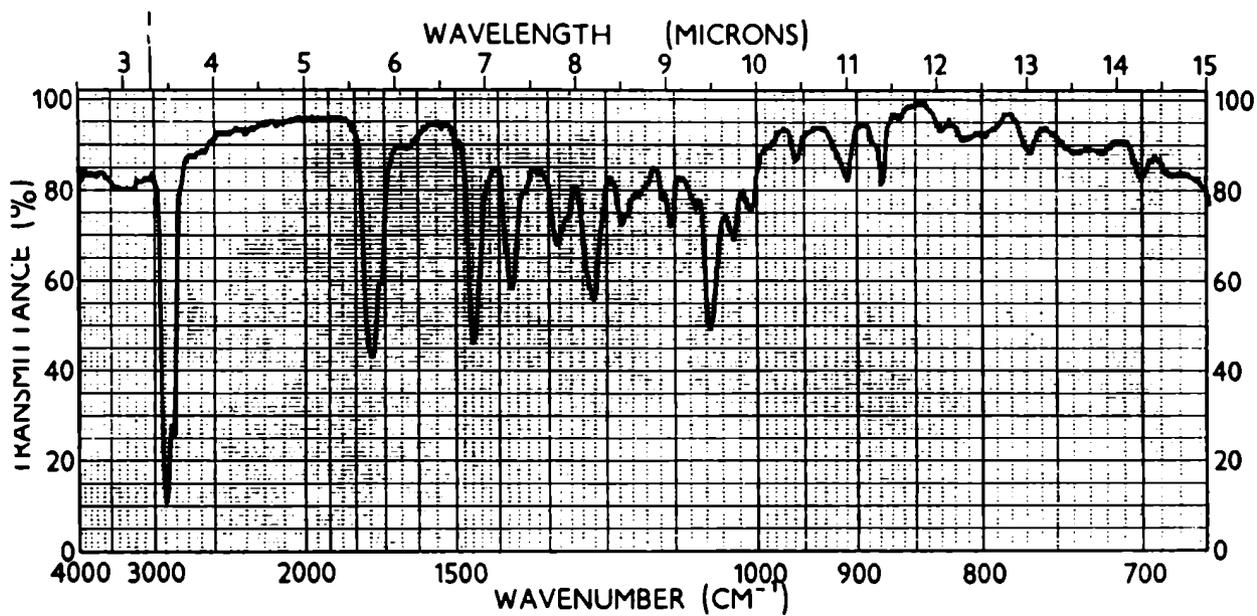


Fig. 20 Espectro I.R. de acetato de rutaevina

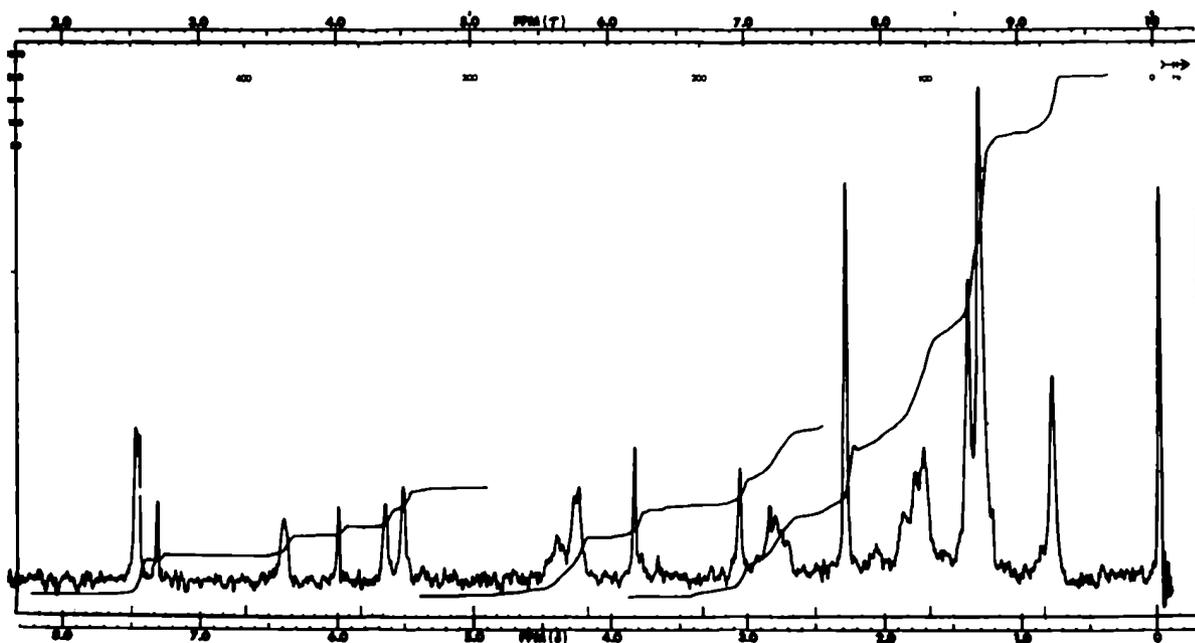


Fig. 21 Espectro de R.M.N. de acetato de rutaevina( $\text{Cl}_3\text{CD}$ )

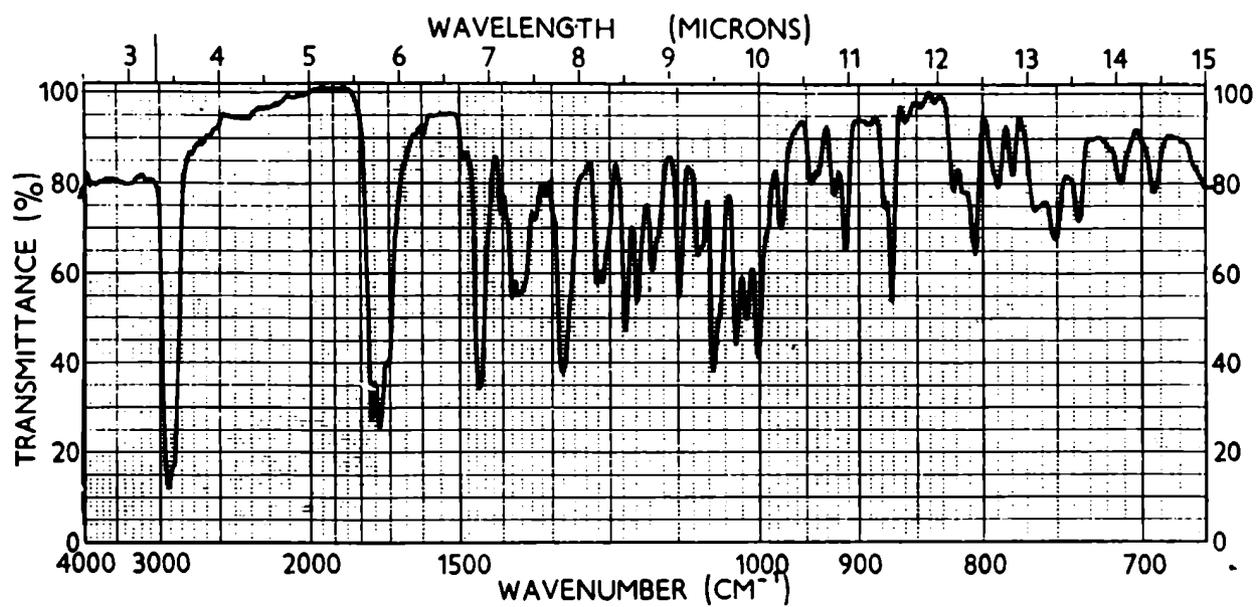


Fig. 22 Espectro I.R. de 6-cetolimonina

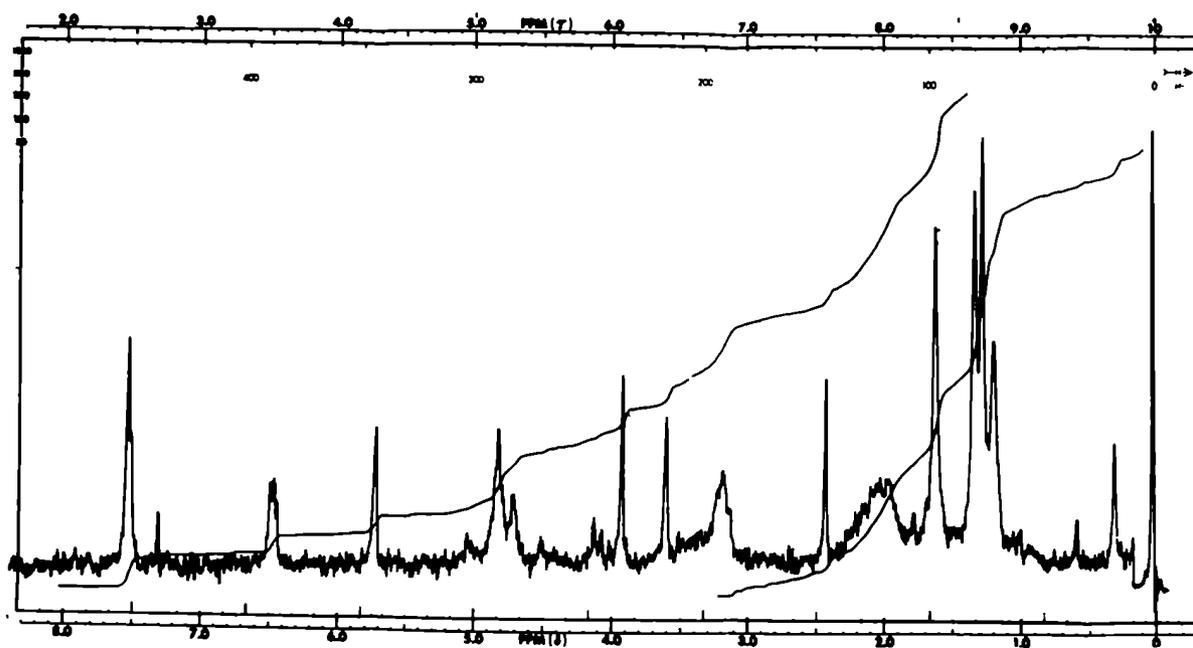


Fig. 23 Espectro de R.M.N. de 6-cetolimonina( $\text{Cl}_3\text{CD}$ )

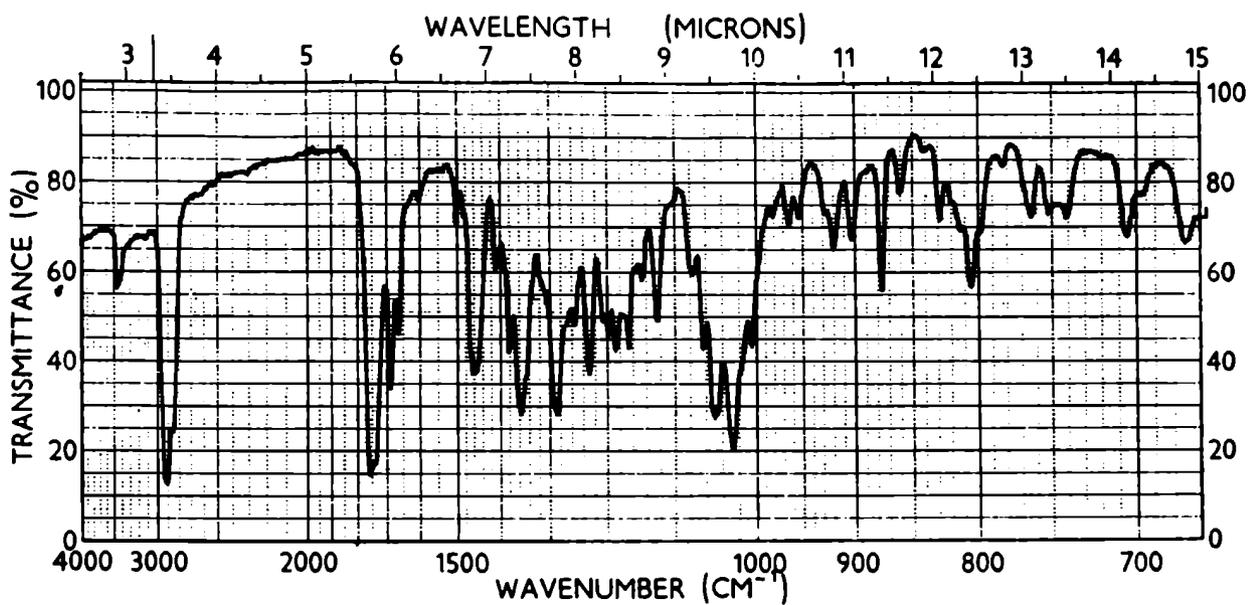


Fig. 24 Espectro I.R. de limonina diosfenol

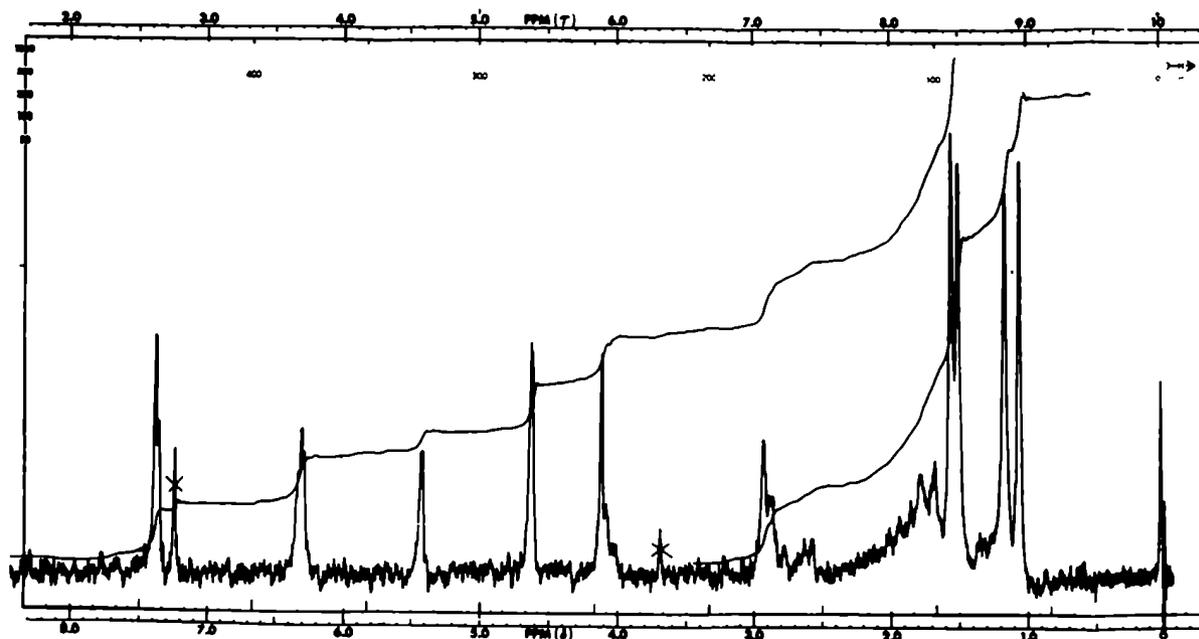


Fig. 25 Espectro de R.M.N. de limonina diosfenol( $\text{Cl}_3\text{CD}$ )

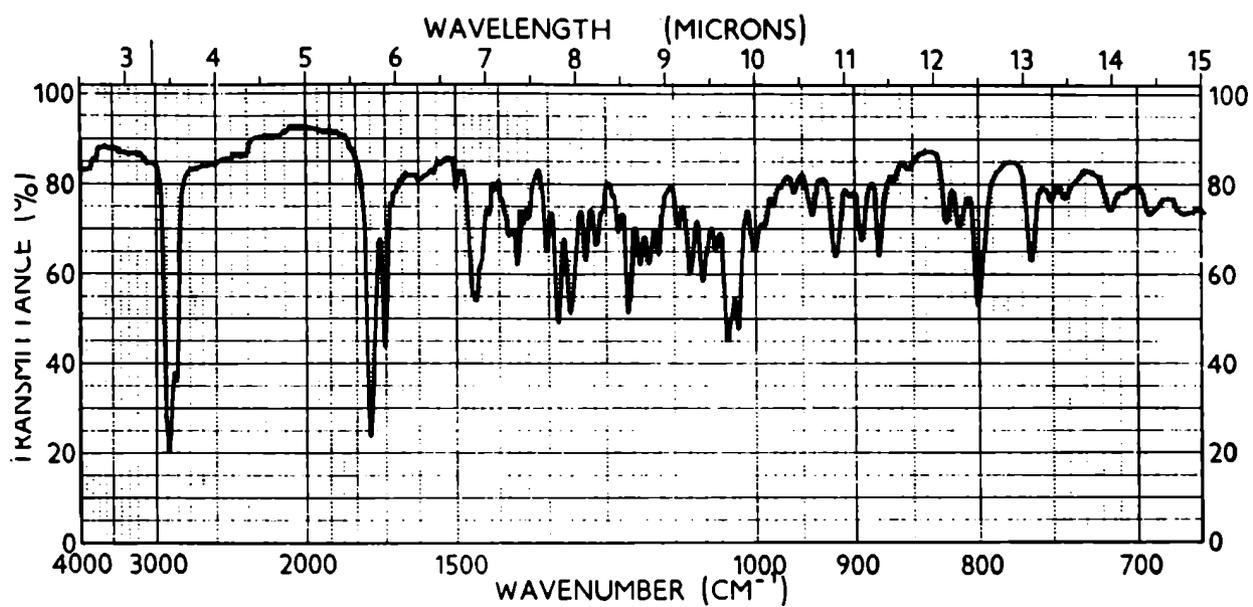


Fig. 26 Espectro I.R. de limonina

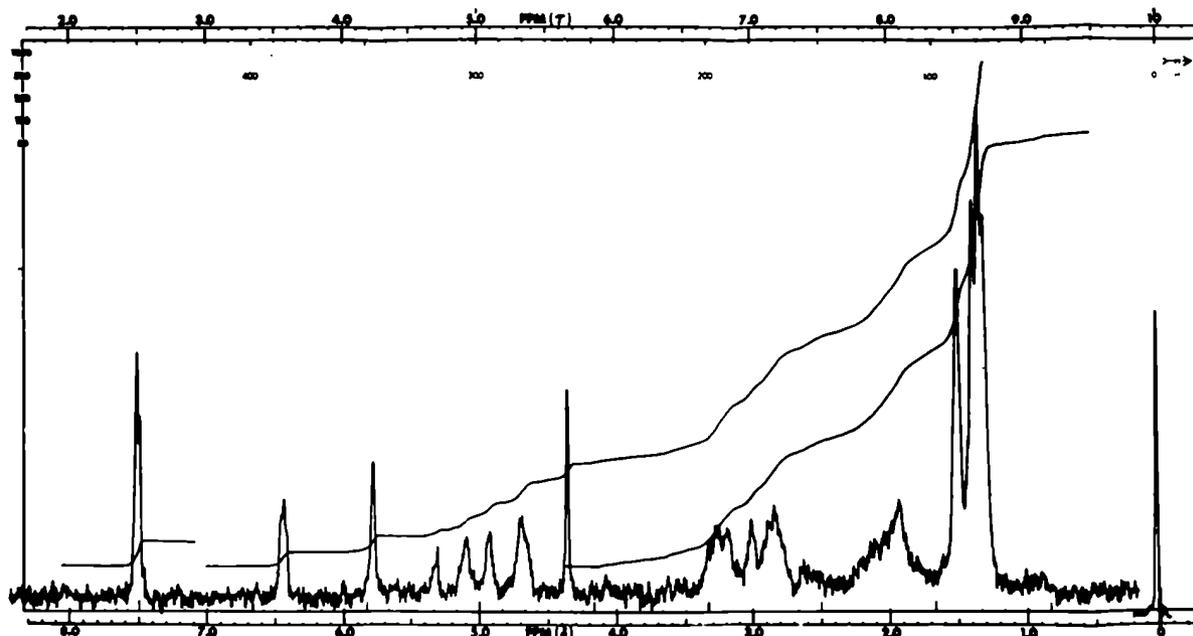


Fig. 27 Espectro de R.M.N. de limonina(TFA)

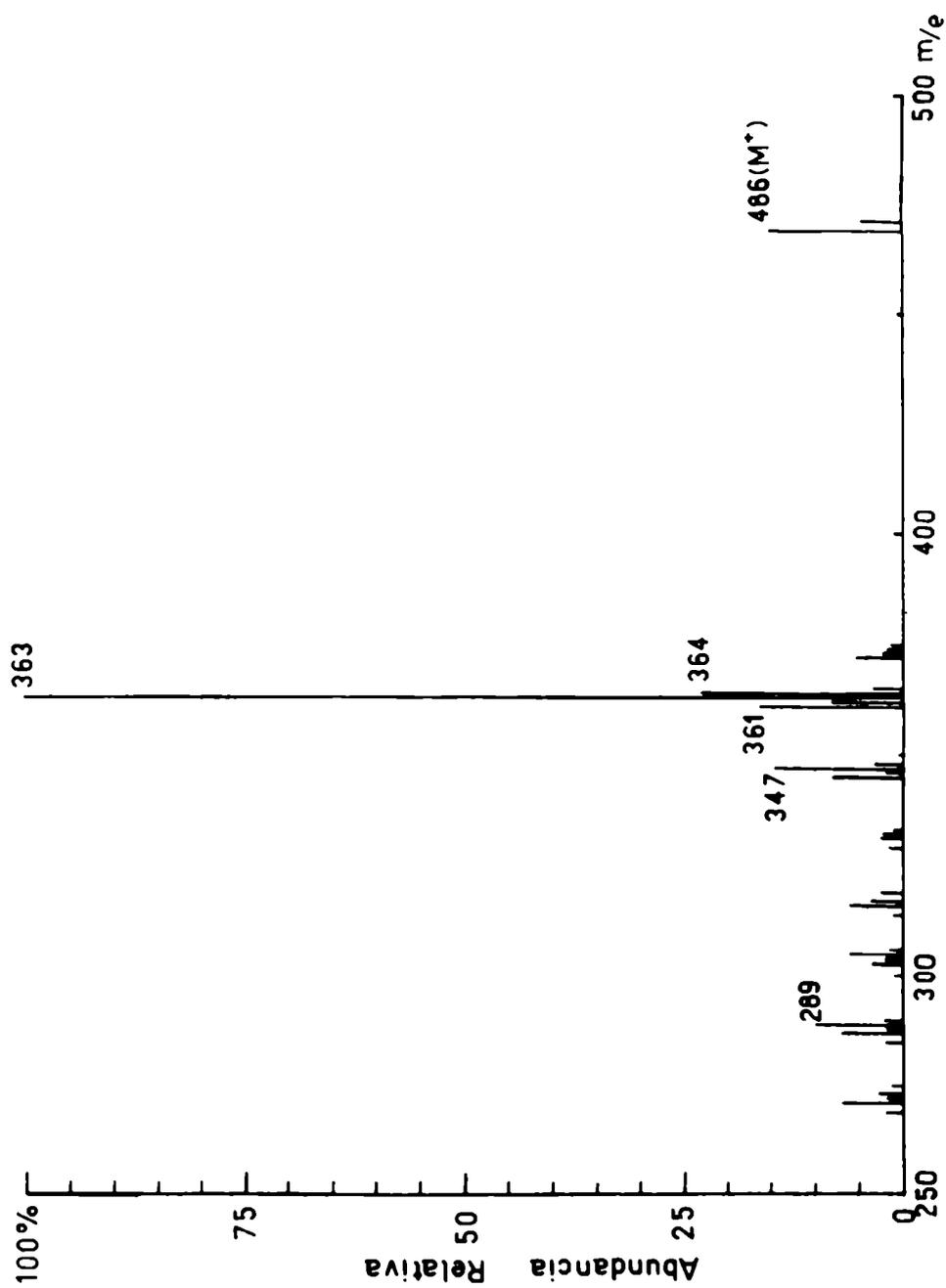


Fig.28 Espectro de masa de rutaevina

### PARTE EXPERIMENTAL

Los puntos de fusión no están corregidos y fueron determinados por el método del tubo capilar en un block de cobre. Los poderes rotatorios se midieron en un polarímetro O.C. Rudolph and Sons, modelo 70, la concentración se expresó en gramos de soluto por 100 ml de solución. Los espectros de absorción en el ultravioleta se determinaron mediante un espectrofotómetro Zeiss RPO 200 en etanol. Los espectros de absorción en el infrarrojo fueron determinados en un espectrofotómetro Perkin-Elmer B-137, en nujol. Los espectros de resonancia magnética nuclear se determinaron mediante un espectrómetro Varian A-60, usando ácido trifluoroacético, y deuterocloroformo como solventes y tetrametilsilano como referencia interna. Los espectros de masa se determinaron en un espectrómetro de masa Varian-MAT CH-7.

Los microanálisis fueron efectuados por la Dra. Blanca B. de Deferrari, en el laboratorio de microanálisis de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales.

Las cromatografías en capa delgada se efectuaron empleando gel de sílice G (Merck) como fase fija y benceno-etanol 95:5 (sist. A) y cloroformo-acetato de etilo 1:1 (sist. B) como solventes de desarrollo. El revelado se realizó mediante el reactivo de Ehrlich, que consiste en rociar la cromatoplaqueta con una solución alcohólica de p-dimetilamino benzaldehído y ponerla en una atmósfera de vapores de  $\text{Cl}_2$ . Las relaciones de frente se midieron con respecto a limonina, la cual en el sistema A tiene  $R_f$  0,26 y en el sistema B  $R_f$  0,34.

#### Aislamiento e identificación

El extracto metanólico de 8 kg de corteza seca de Esenbeckia febrífuga Juss., previamente extraída con éter de petróleo, se concentró a 2 l y enfrió. Se produjo un precipitado que se filtró y lavó con metanol y luego con acetona obteniéndose 23 g (0,28% sobre corteza seca) de un sólido blanco de pf 274-290°.

por cromatografía en capa delgada se observa que el producto obtenido consiste de una sola sustancia acompañada de otra en mucha menor proporción.

### Rutaevina

El sólido blanco obtenido anteriormente se recrystalizó repetidas veces de ac. acético obteniéndose un producto de pf 310-312° y cuyo pf mezcla con una muestra auténtica de rutaevina de pf 306-309° fue 309-313°.

Análisis: calculado para  $C_{26}H_{30}O_9$ : C 64,18%; H 6,22%  
 encontrado : C 64,27%; H 6,47%

poder rotatorio:  $[\alpha]_D$  -138° (c.o, 37 dioxano)  
 $[\alpha]_D$  +91,2° (c.o, 65 HOK 1N en etanol 50%).

Espectro U.V.: no se detectó absorción apreciable.

Espectro I.R.(Fig.18): idéntico con el de una muestra auténtica

Espectro de R.M.N. (Fig.19)

Espectro de masa (Fig.28):  $M^+$  484(15%); 364(23%); 363(100%); 361(16%);  
 347(15%); 289(10%).

$R_1$  1,38 coincidente con una muestra auténtica, (A).

### Acetato de rutaevina (82)

Se disolvieron 100 mg de rutaevina en 5 ml de piridina anhidra y se agregaron 8 ml de anhídrido acético. se agitó y dejó a temperatura ambiente durante 36 horas; se volcó sobre agua y hielo, filtrándose el precipitado. Se obtuvieron así 147 mg de producto crudo el cual recrystalizado de etanol funde 220-230° y por cromatografía resultó ser una mezcla de dos componentes, al igual que la segunda cosecha, que se obtuvo al reducir a la mitad de su volumen las aguas madres. Estas llevadas a seco dieron un residuo que recrystalizado dos veces de etanol funde a 187-194° (lit<sup>82</sup> 186-191°). Espectro I.R. (Fig. 20) y espectro de R.M.N. (Fig.21) coincidentes con datos publicados (82).  $R_1$  1,30 (A).

6-cetolimonina (82)

Se disolvieron 250 mg de rutaevina en 50 ml de acetona y se agregó gota a gota y con agitación un exceso del reactivo de Jones (a una solución de 70 g de  $\text{CrO}_3$  en 500 ml de agua, se agregaron con agitación 61 ml de ac. sulfúrico conc.). Luego de 20 minutos a temperatura ambiente, se agregó un gran volumen de agua y se extrajo la mezcla con cloroformo. El extracto clorofórmico se lavó con  $\text{CO}_3\text{HNa}$  al 5%, luego con agua, secó sobre  $\text{SO}_4\text{Na}_2$  y evaporó. El residuo se recristalizó de ac. acético obteniéndose 98,7 mg de producto amarillo de pf  $304-308^\circ$  (lit<sup>82</sup>  $304-308^\circ$ ).

poder rotatorio:  $[\alpha]_D -313^\circ$  (c. 0,24 acetónitrilo).

Espectro I.R. (Fig. 22) y espectro de R.M.N. (Fig. 23) coincidentes con datos publicados (82).  $R_1$  1,53(A).

Limonina diosfenol

a) De rutaevina (82): se disolvieron 167 mg de rutaevina en cloroformo y la solución se extrajo con  $\text{HONa}$  4N. En la solución alcalina se hizo burbujear aire y luego se acidificó con  $\text{ClH}(c)$ , extrayéndose posteriormente con cloroformo. El extracto se lavó con agua, secó sobre  $\text{SO}_4\text{Na}_2$  y evaporó, dejando 210 mg de un residuo que recristalizado de etanol dió 85 mg de pf  $294-299^\circ$ , que por cromatografía resultó ser una mezcla de dos productos. Se colocaron 35 mg de esta mezcla en una columna de 3,5 g de gel de sílice, eluyéndose con benceno y luego con mezclas de benceno y cantidades crecientes de etanol. Se obtuvieron 3 fracciones, de las cuales la primera dió limonina diosfenol de pf  $292-295^\circ$  (lit<sup>82</sup>  $291-298^\circ$ ).

poder rotatorio:  $[\alpha]_D -203^\circ$  (c. 0,45 acetona) (lit<sup>69</sup>  $[\alpha]_D -200^\circ$  acetona).

Espectro I.R. (Fig. 24) y espectro de R.M.N. (Fig. 25) idénticos con los de una muestra auténtica.

$R_1$  1,84 (A).

b) De 6-cetolimonina (82): se disolvieron 95 mg de 6-cetolimonina en  $\text{HONa}$  5% en etanol acuoso 50% y se calentó 20 minutos sobre baño de agua a ebullición, se enfrió y acidificó con  $\text{ClH}(c)$ , produ-

ciéndose un precipitado blanco que se filtra (65 mg) y que recristalizado de etanol funde a 292-294°; pf mezcla con limonina diosfenol de pf 292-295° fue 292-295°. Espectro I.R. (Fig. 24) y espectro de R.M.N. (Fig. 25) idénticos con los de una muestra auténtica.

$R_1$  1,84(A).

c) De limonina(69): se suspendieron 250 mg de limonina en 25 ml de ter-butanol 1N en ter-butóxido de potasio y se agitó con oxígeno durante 1-2 horas. Luego se agregaron 20 ml de agua y 5 ml de ClH 6N. La solución se extrajo con cloroformo y el extracto se lavó primero con  $\text{CO}_3\text{HNa}$  acuoso y luego con agua. El extracto clorofórmico se extrajo con HONa 4N y la solución alcalina se acidificó con ClH 6N, produciéndose un precipitado blanco el cual se extrajo con cloroformo. El extracto se lavó con agua, secó sobre  $\text{SO}_4\text{Na}_2$  y evaporó, dando 242 mg de un producto que recristalizado de etanol funde a 292-295° (lit pf 273-288°<sup>69</sup>, 291-298°<sup>82</sup>, 281-282°<sup>88</sup>)  
 Poder rotatorio:  $[\alpha]_D^{20}$  -201° (c.0,57 acetona) (lit<sup>69</sup>  $[\alpha]_D^{20}$  -200° acetona).  
 Espectro I.R. (Fig. 24) y espectro de R.M.N. (Fig. 25) coincidentes con datos publicados(69).

$R_1$  1,84(A).

#### Aislamiento e identificación de limonina

La corteza seca y molida de Helietta longifoliata (400 g) se extrajo primero con éter de petróleo y luego con metanol. El extracto metanólico se concentró a 500 ml y se enfrió, produciéndose un precipitado que se filtró (670 mg, 0,16% sobre corteza seca), tomó en 20 ml de etanol absoluto a ebullición y filtró en caliente. El precipitado se recristalizó dos veces de piridina-agua 1:1 dando pf 296-300°. Su pf mezcla con limonina de pf 298-304° fue 296-300°.

poder rotatorio:  $[\alpha]_D^{20}$  -137° (c.0,29 cloroformo) (lit<sup>171</sup>  $[\alpha]_D^{20}$  -135° cloroformo).

Espectro I.R. y espectro de R.M.N. coinciden con los de una muestra auténtica.  $R_f$  coincidente con el de una muestra auténtica, (A).

Obtención de limonina de poncirus trifoliata(93)

La semilla seca y molida (2 kg) de poncirus trifoliata se extrajo primero con éter de petróleo y luego con acetona. El extracto de éter de petróleo se concentró, enfrió y filtró obteniéndose 3,5 g (0,18% sobre semilla seca) de la furocumarina imperatorina de pf 95-97° (lit<sup>172</sup> 94-96°). El extracto de acetona se llevó a sequedad obteniéndose un residuo pardo pulverulento.

Limonina

El residuo pardo obtenido por evaporación del extracto de acetona, se recristalizó dos veces de cloruro de metileno-isopropanol dando 173 mg(0,008%) de limonina de pf 298-304° (lit<sup>171</sup> 304°).  
 Espectro I.R.(Fig.26):  $\bar{\nu}_{\max}$  1750  $\text{cm}^{-1}$  (C-lactona), 1700 (carbonilo)  
 Espectro de R.M.N.(Fig.27)  
 $R_f$  0,26 (sist.A); 0,34 (sist.B).

IV. ALCALOIDES PRINCIPALES DE ESENBECKIA FEBRIFUGA JUSS.

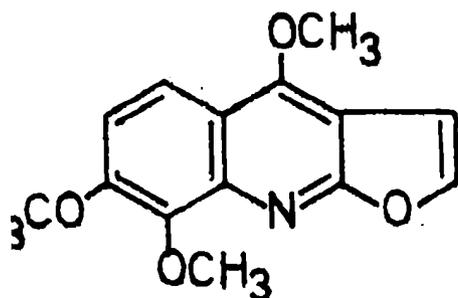
La familia Rutaceae está constituida por alrededor de ciento cincuenta géneros, los cuales están representados por mil seiscientas especies (173) distribuidas en las zonas cálidas del mundo.

En la República Argentina existen doce especies autóctonas, de las cuales ocho pertenecen al género Fagara, siendo las restantes Balfourodendron riedelianum, Helietta longifoliata, Pilocarpus pennatifolius y Esenbeckia febrífuga.

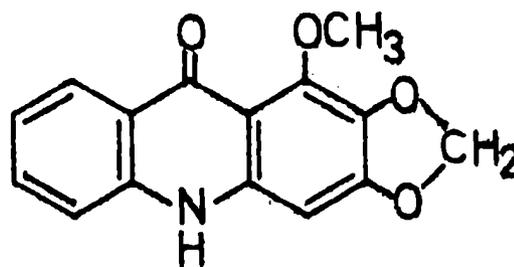
Desde un punto de vista puramente químico, las rutáceas constituyen una familia muy versátil considerando las diferentes clases de alcaloides que producen. Dentro del conjunto total de éstos, los furoquinolínicos (CXVI) y los acridínicos (CXVII) constituyen el grupo más característico ya que solamente existen en esta familia, lo que les confiere una notable importancia taxonómica (174).

De la naturaleza se han podido aislar, hasta el presente, mas de cincuenta alcaloides furoquinolínicos, siendo la skimmiana (CXVI) el más ampliamente distribuido y el primero en ser aislado.

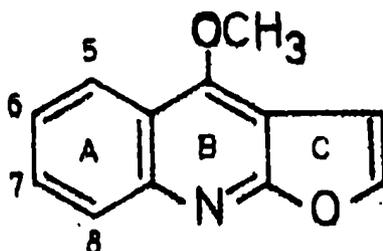
Estos alcaloides presentan un ordenamiento tricíclico lineal y están oxigenados en el C-4. El esqueleto fundamental está representado por la dictamnina (CXVIII), la base más simple del grupo.



CXVI

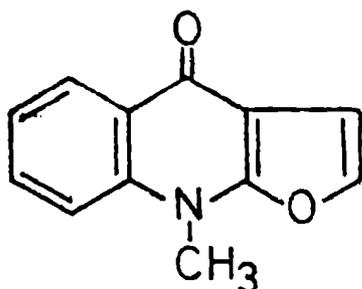


CXVII

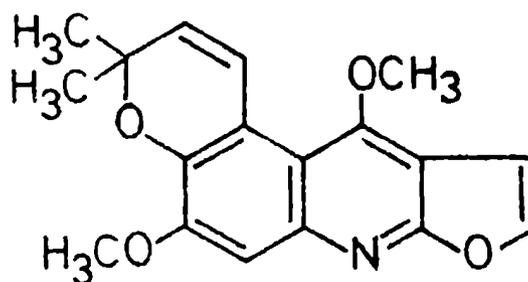


CXVIII

El oxígeno en C-4 aparece como un grupo metoxilo, pero en ciertos casos puede formar parte de un grupo carbonilo, como en la isodictamnina (CXIX) recientemente aislada de Helietta longifolia (169).



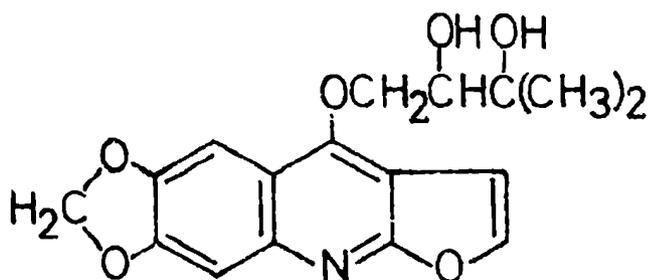
CXIX



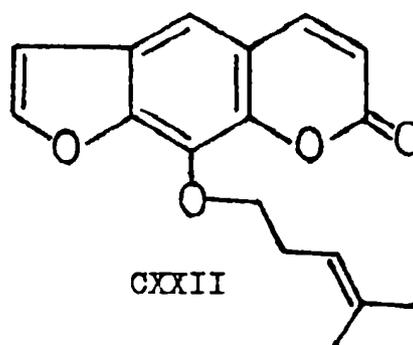
CXX

El anillo aromático se encuentra frecuentemente sustituido por grupos metoxilos en una o mas posiciones. El grupo dioximetileno es también un sustituyente común, como puente entre C-6 y C-7 ó entre C-7 y C-8.

Otras variaciones estructurales importantes son la hidrogenación del anillo furano para dar las bases dihidrofuroquinolfinicas (175, 176) y la anexión de una unidad isoprenica al esqueleto, como en la acronidina (CXX) aislada por Lambertson y Price de Acronychia baueri (177).



CXXI



CXXII

También existen ejemplos de furoquinolinas en las cuales el resto isoprenoide se encuentra como sustituyente en un hidroxilo, como en la maculosina(CXXI) aislada de Flindersia maculosa(178, 179). Este hecho no es circunstancial en la familia de las rutáceas, ya que hay varios ejemplos, especialmente entre las cumarinas, como ser la imperatorina(CXXII) aislada de Poncirus trifoliata(93,180).

La capacidad de agregar una unidad de isopreno a una gran variedad de estructuras, se encuentra muy distribuída entre todos los géneros de las rutáceas y aparece como una característica bioquímica de la familia(174).

Sobre el origen biogenético de los alcaloides furoquinolínicos ha habido grandes discrepancias. Si bien se está de acuerdo en la existencia de una unidad de ácido antranílico, Schöpf y Thierfelder(181) y Robinson(182) propusieron diferentes intermediarios. Sin embargo el papel que desempeña el ácido antranílico como precursor en la biosíntesis de las bases furoquinolínicas está perfectamente establecido(183,184).

Sobre el origen biogenético del anillo furano de estos alcaloides, se ha postulado una gran variedad de hipótesis(182,185, 186,187). Pero experiencias recientes, han permitido tener evidencias ciertas sobre la formación del anillo furano a partir de un resto de isopentenilo, proveniente del ácido mevalónico(188,189).

En esta parte del presente trabajo, se describe el aislamiento e identificación de las tres bases principales que se encuentran en Esenbeckia febrífuga Juss.

La corteza seca y molida se extrajo primero con éter de petróleo y luego con metanol. El extracto de éter de petróleo se concentró y extrajo con ClH 1%. El extracto metanólico se llevó a seco sobre filtercell y se tomó con ClH 1%. Ambas soluciones clorhídricas se alcalinizaron y extrajeron con éter etílico, dan-

de dos mezclas de alcaloides (0,02% sobre corteza seca) que por cromatografía en capa delgada indicaron tener la misma composición. Su resolución se logró mediante el empleo de la cromatografía en capa preparativa de gel de sílice. De esta forma se pudieron obtener tres bases puras. La determinación de los espectros ultravioletas correspondientes (Fig.29), permitió establecer que se estaba en presencia de tres alcaloides furoquinolínicos(190).

Una primera apreciación del espectro de resonancia magnética nuclear, permitió asegurar que los alcaloides aislados pertenecían al grupo de la diotamnina, debido a la señal a  $\delta$  4,40 (singulete, 3 H) correspondiente a un grupo metoxilo en C-4 y las señales a  $\delta$  7,57 y 7,00 (dobletes,  $J=2,5$  cps, 1 H cada uno) correspondientes al sistema AX de los protones  $\alpha$  y  $\beta$  respectivamente del anillo furano disustituído(180).

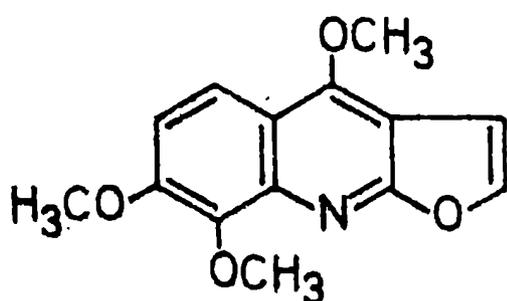
El espectro correspondiente al alcaloide nº1 (Fig.31) indicó la existencia de dos grupos metoxilos adicionales ( $\delta$  4,13 y 4,05, singuletes, 3 H cada uno). Dos dobletes a  $\delta$  7,25 y 8,03 ( $J=9,0$  cps, 1 H cada uno) correspondientes a un sistema AX aromático, señalan la presencia de dos protones adyacentes en el anillo bencénico (180), indicando la posibilidad que este alcaloide fuera skimmianina(OXXIII).

Por otra parte, el espectro del alcaloide nº2 (Fig.33) indicó la existencia de un grupo dioximetileno ( $\delta$  6,05 singulete, 2 H), un grupo metoxilo ( $\delta$  4,26 singulete, 3 H) y de un protón aromático cuyo desplazamiento químico ( $\delta$  7,27 singulete, 1 H) parece indicar que se encuentra en C-5(180). Esto llevó a la conclusión que el alcaloide podría ser flindersiamina(CXXIV).

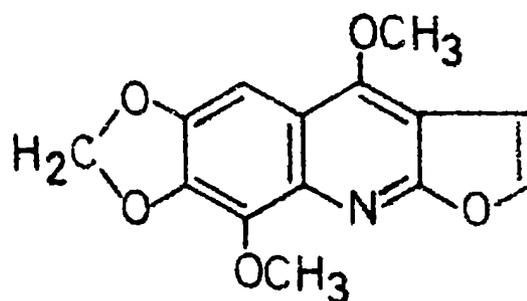
En el caso del alcaloide nº3, el espectro de resonancia magnética nuclear (Fig.35) permitió detectar la presencia de un grupo dioximetileno ( $\delta$  6,07 singulete, 2 H) como único sustituyente del anillo A, y de dos protones aromáticos no acoplados a  $\delta$  7,30 y 7,47 (singuletes, 1 H cada uno)(180). La estructura del

alcaloide nº 3 correspondía por consiguiente a la de maculina (CXXV).

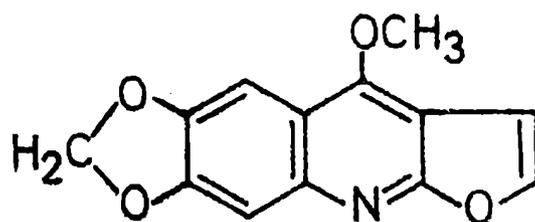
La identificación de las tres bases aisladas se confirmó por comparación con muestras auténticas, determinándose los puntos de fusión mezcla, espectros infrarrojos y relaciones de frente en distintos sistemas cromatográficos.



CXXIII



CXXIV



CXXV

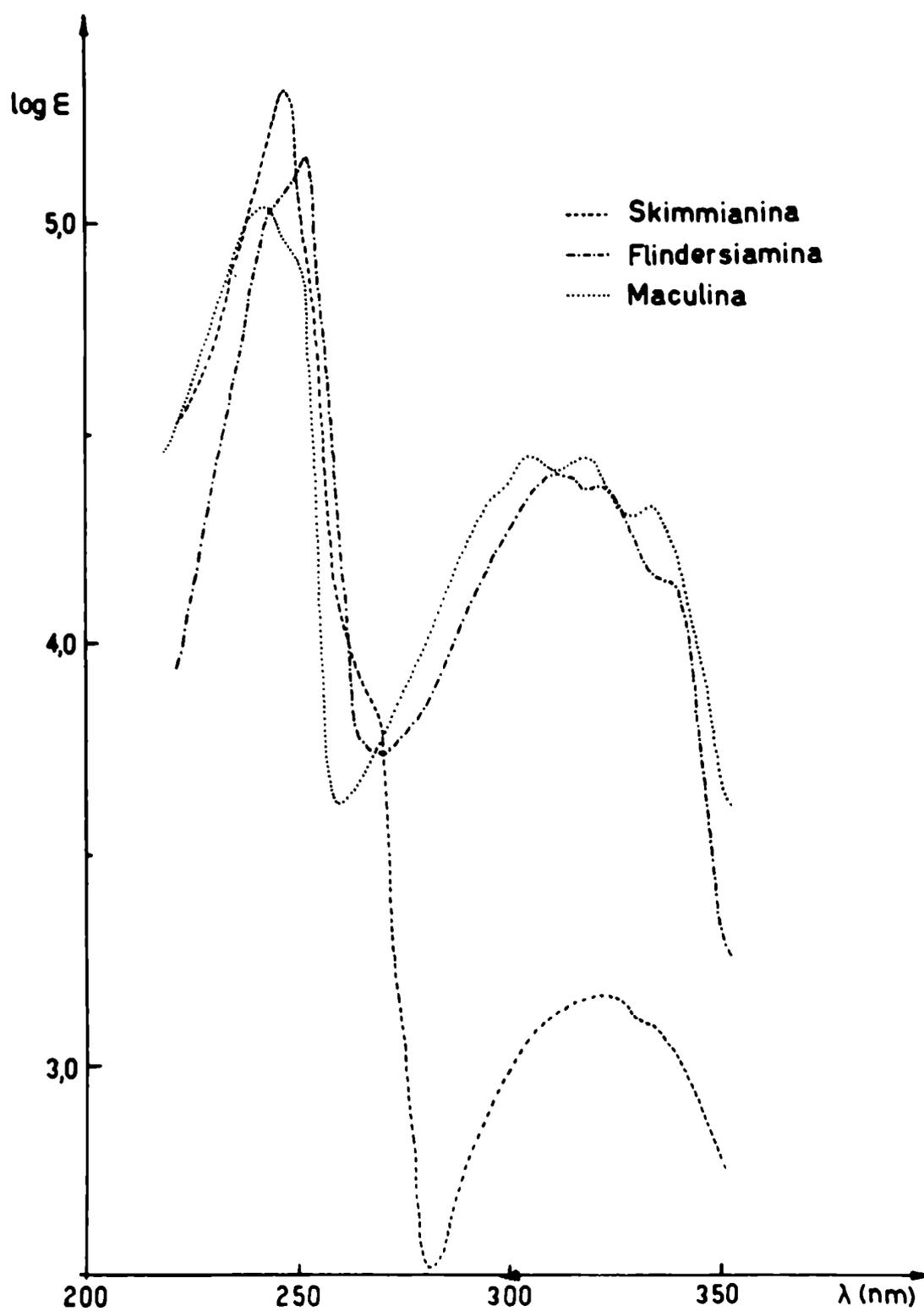


Fig. 29 Espectros ultravioletas de alcaloides furoquinolínicos

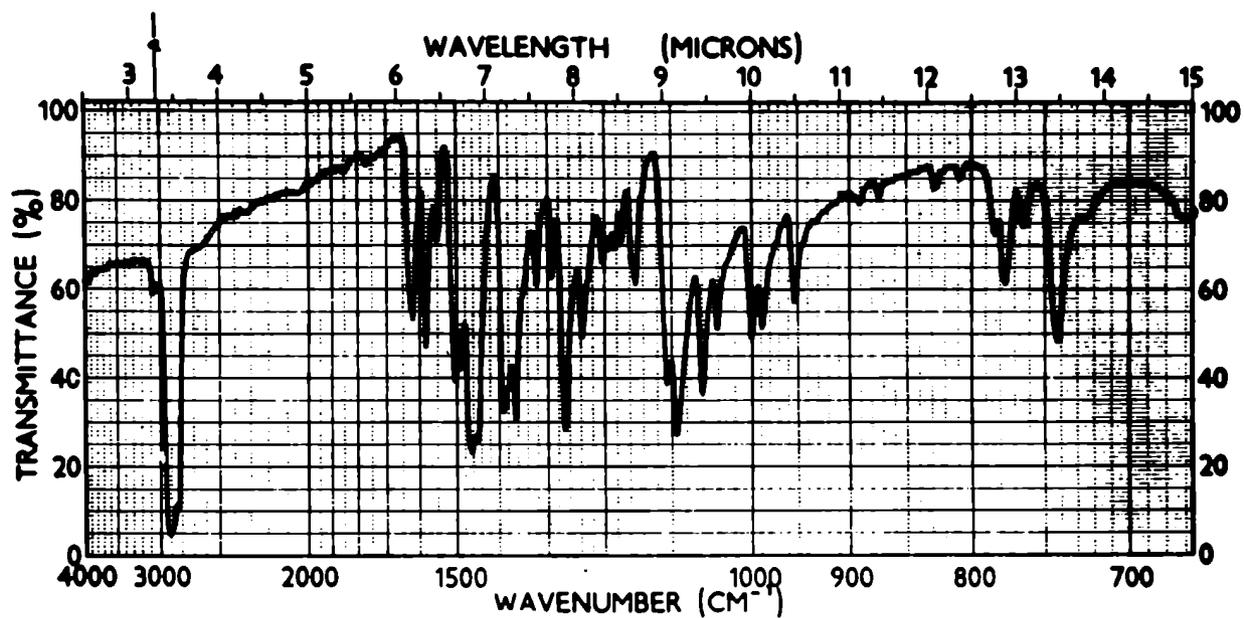


Fig. 30 Espectro I.R. de skimmianina

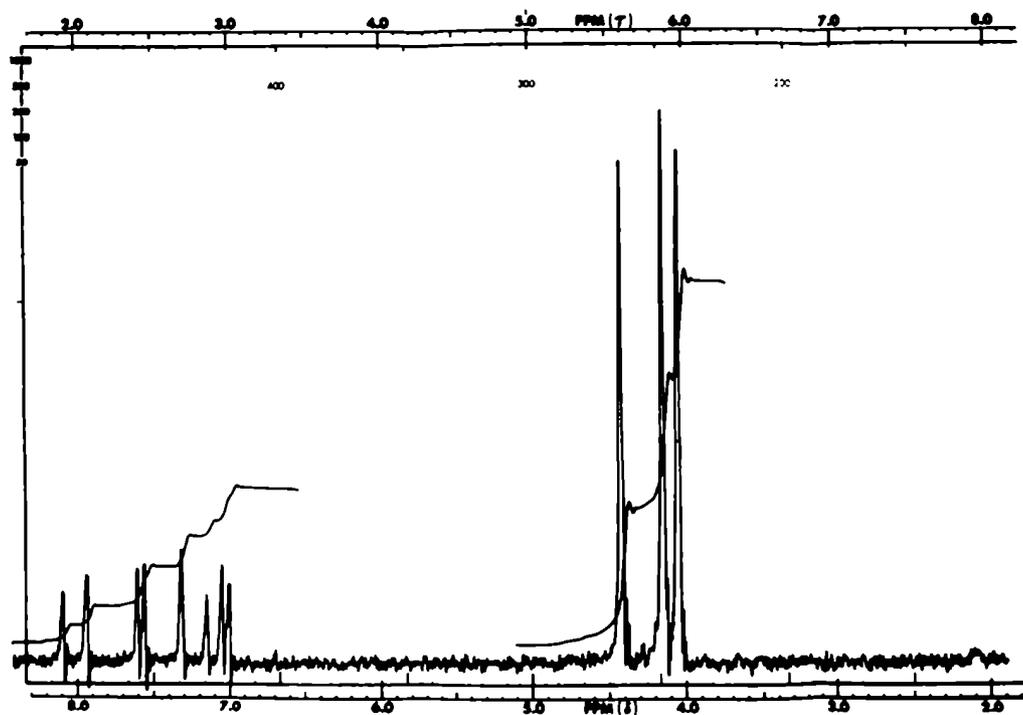


Fig. 31 Espectro de R.M.N. de skimmianina

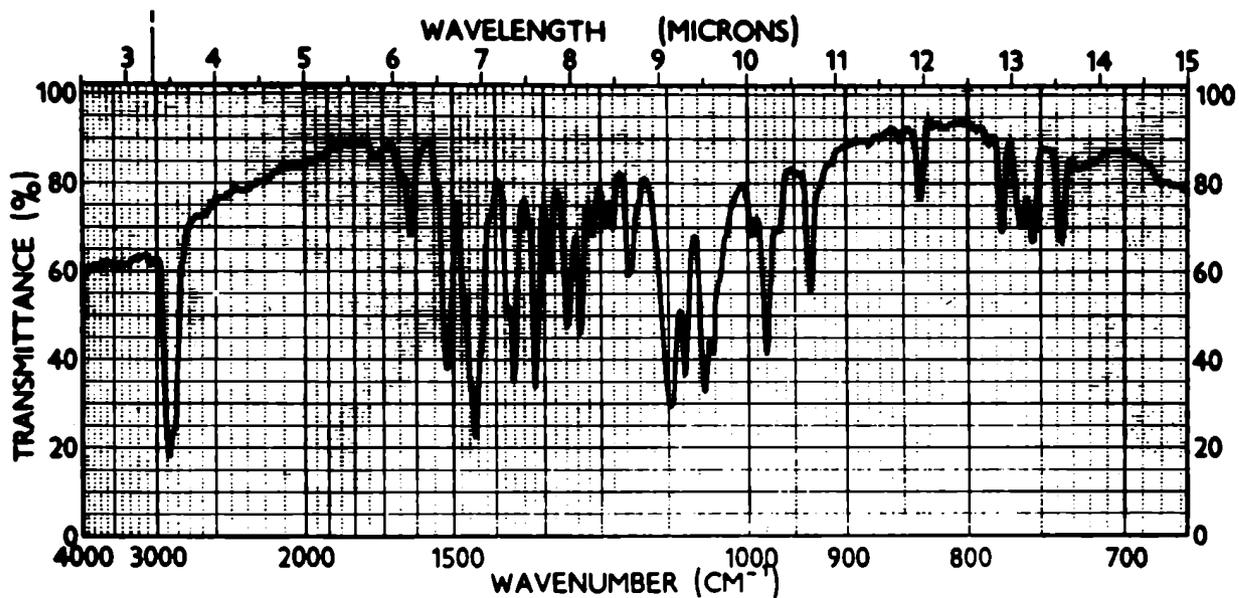


Fig. 32 Espectro I.R. de flindersiamina

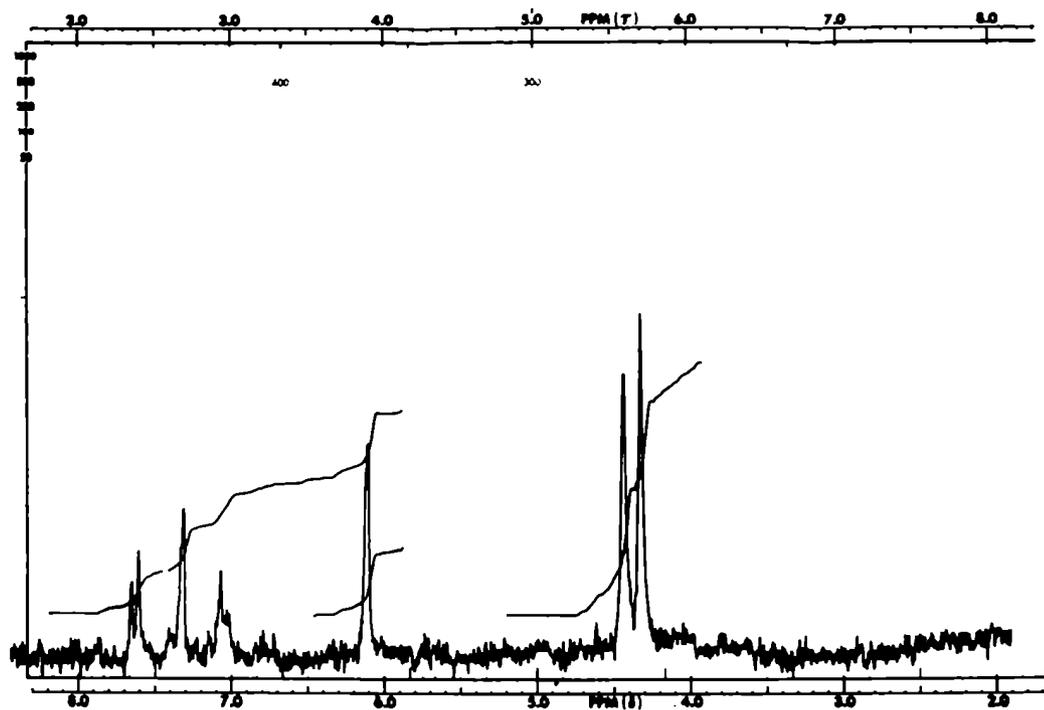


Fig. 33 Espectro de R.M.N. de flindersiamina

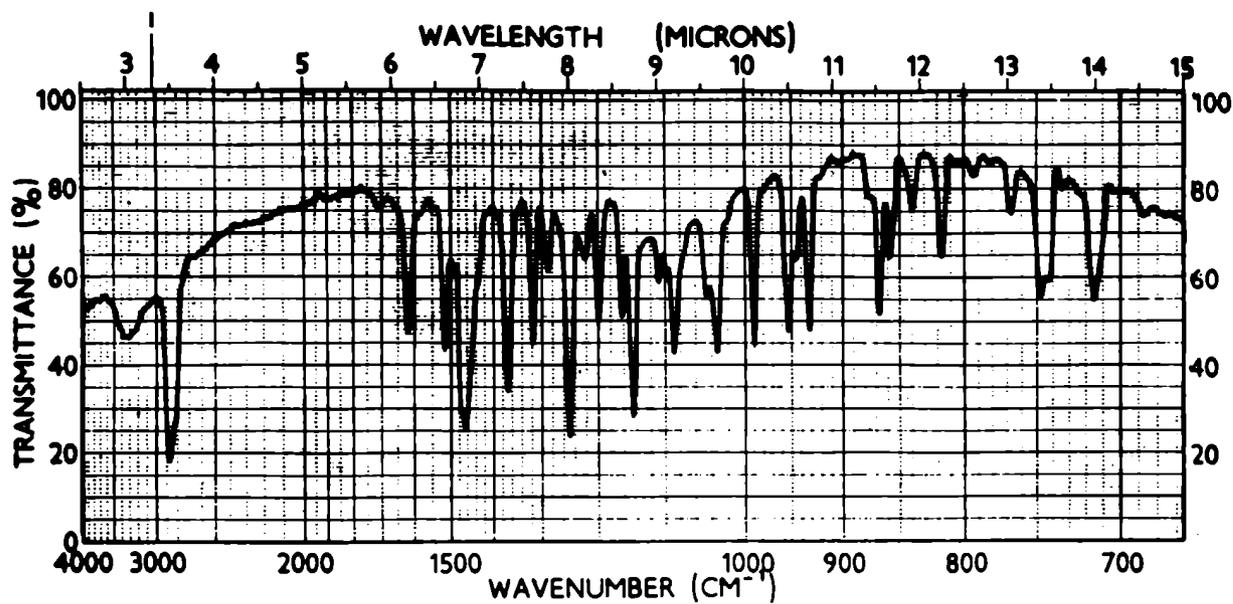


Fig. 34 Espectro I.R. de maculina

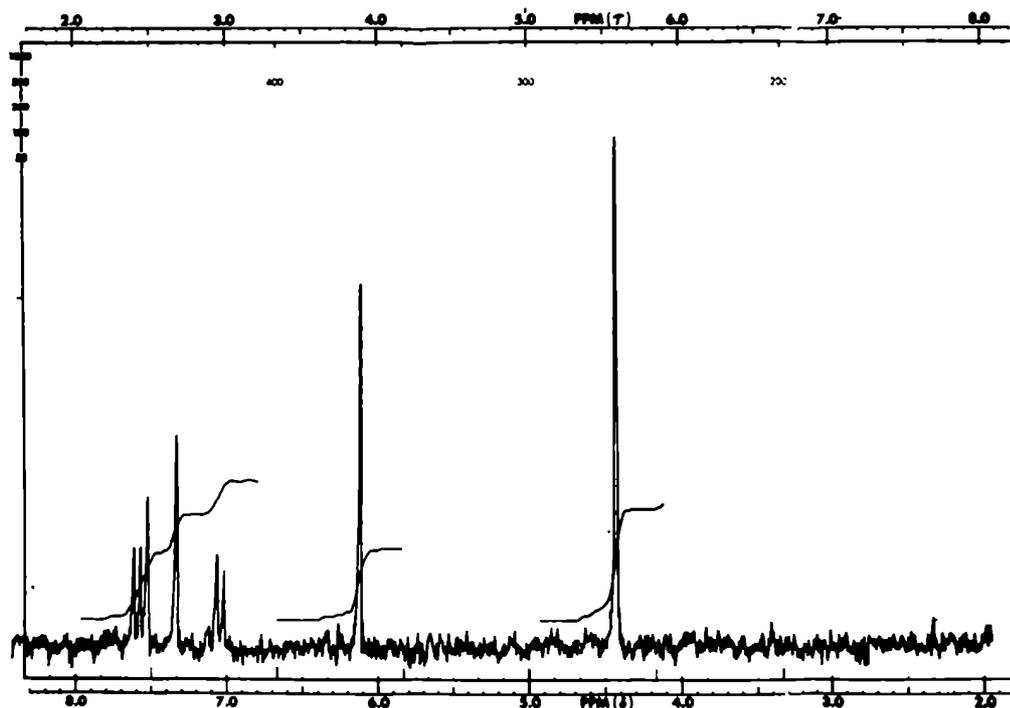


Fig. 35 Espectro de R.M.N. de maculina

### PARTE EXPERIMENTAL

Los puntos de fusión no están corregidos y fueron determinados por el método del tubo capilar en un aparato según Tottoli. Los espectros de absorción en el ultravioleta se determinaron mediante un espectrofotómetro Zeiss RPQ 20C, en etanol. Los espectros de absorción en el infrarrojo fueron determinados en un espectrofotómetro Perkin-Elmer B-137, en nujol. Los espectros de resonancia magnética nuclear se determinaron mediante un espectrómetro Varian A-60, usando deuterocloroformo como solvente y tetrametilsilano como referencia interna.

Las cromatografías en capa delgada y preparativa, se efectuaron empleando gel de sílice G (Merck) como fase fija y cloroformo como eluyente. El revelado se realizó mediante el reactivo de Dragendorff anhidro (191).

#### Extracción y fraccionamiento

Se extrajeron 8 kg de la corteza seca y molida de Psenbeckia febrífuga Juss., primero con éter de petróleo y luego con metanol. El extracto de éter de petróleo se llevó a seco y el residuo se disolvió en éter etílico. La solución etérea se extrajo con ClH 1N y la solución clorhídrica se lavó con éter etílico y luego se alcalinizó con NH<sub>3</sub>, extrayéndose posteriormente con éter etílico. La solución etérea resultante se lavó con agua, secó sobre SO<sub>4</sub>Na<sub>2</sub> y evaporó dando 1,703 g (0,021% sobre corteza seca) de alcaloides crudos. La solución etérea resultante de la extracción con ácido se reservó para su posterior estudio.

El extracto metanólico se concentró a 2 l, produciéndose al enfriar un precipitado que por lavado con metanol primero y luego con acetona dió 23 g (0,28%) de un sólido blanco que resultó ser rutaevina cruda. El filtrado metanólico se llevó a seco sobre filtercell y el jarabe resultante se extrajo con ClH 1%.

La solución clorhídrica se filtró por lecho de filtercell, se lavó con éter etílico y luego se alcalinizó con NH<sub>3</sub> y extrajo con

éter etílico. El extracto se secó sobre  $\text{SO}_4\text{Na}_2$  y evaporó dando un residuo de 1,057 g (0,013%) de alcaloides crudos. Una posterior extracción con cloroformo permitió obtener 360 mg más de alcaloides.

Los residuos de los extractos de éter de petróleo y metanol se purificaron por disolución en cloroformo, extracción con  $\text{ClH 1N}$ , alcalinización con  $\text{NH}_3$  concentrado y extracción con éter etílico. De la fracción de éter de petróleo se recuperaron 1,11 g y de la fracción metanólica 610 mg.

Por cromatografía en capa delgada, se pudo determinar que la composición de ambas fracciones era la misma a menos de uno de los tres alcaloides existentes, a los cuales se denominó 1, 2 y 3 en el sentido de  $R_f$  crecientes. Todas las manchas presentaban fluorescencia que variaba del celeste al violeta.

Se recrystalizó la fracción cruda de alcaloides primero de metanol y luego de acetona, obteniéndose 228 mg de producto cristalino. Por cromatografía se pudo determinar que en el precipitado cristalino quedaban los tres alcaloides principales, purificados de los componentes menores de la mezcla inicial.

La separación de los alcaloides se encaró mediante cromatografía en capa preparativa de gel de sílice. Se sembró la fracción cristalina y las aguas madres de la última recrystalización, desarrollándose las cromatoplasmas dos y tres veces con cloroformo. La visualización de las bandas correspondientes a los tres alcaloides principales, se logró mediante la fluorescencia que estos presentan. La posterior elución de las bandas se hizo con metanol, obteniéndose tres fracciones que por cromatografía indicaron ser homogéneas y corresponder a cada uno de los alcaloides mencionados.

La cromatografía en capa preparativa de gel de sílice de la fracción de alcaloides del extracto metanólico, solo permitió obtener el alcaloide n.º 1.

Skimmianina

La banda inferior dió 89 mg de un residuo cristalino que fue recristalizado de metanol; pf 174-176° (lit<sup>192</sup> 176-177°), y cuyo pf mezcla con skimmianina de pf 175-176° fue 175-176°.

Espectro U.V.(Fig.29):  $\lambda_{\max}$  250 nm(log  $\hat{C}$  4,76); 320(3,97); 332(3,98)

Espectro I.R.(Fig.30): idéntico con el de una muestra auténtica.

Espectro de R.M.N.(Fig.31)

R<sub>f</sub> 0,12, coincidente con una muestra auténtica.

Flindersiamina

La banda media dió un residuo (41 mg) que recristalizado de metanol fundió 200-203° (lit<sup>193</sup> 206-207°), cuyo pf mezcla con una muestra de flindersiamina de pf 210-213° fue 204-208°.

Espectro U.V.(Fig.29):  $\lambda_{\max}$  253(log  $\hat{C}$  5,25); 312(4,39); 322(4,36)

Espectro I.R.(Fig.32): idéntico con el de una muestra auténtica.

Espectro de R.M.N.(Fig.33)

R<sub>f</sub> 0,24, coincidente con una muestra auténtica.

Maculina

La extracción de la banda superior dió 54 mg de residuo, que recristalizado de acetona dió pf 196-198° (lit<sup>194</sup> 196-197°), y cuyo pf mezcla con maculina de pf 197-199° fue 196-198°.

Espectro U.V.(Fig.29):  $\lambda_{\max}$  243 nm(log  $\hat{C}$  5,04); 305(4,44); 320(4,43).

Espectro I.R.(Fig.34): idéntico con el de una muestra auténtica.

Espectro de R.M.N.(Fig.35)

R<sub>f</sub> 0,33, coincidente con una muestra auténtica.

## RESUMEN

El presente trabajo está dividido en cuatro partes:

- I) Principios amargos de Simarubáceas y Rutáceas.
- II) Principios amargos de Aeschrion crenata Vell.
- III) Limonoides de Esenbeckia febrífuga Juss. y Helietta longifolia Britt.
- IV) Alcaloides principales de Esenbeckia febrífuga Juss.

I) Principios amargos de Simarubáceas y Rutáceas.

En esta primera parte del presente trabajo, se hace una revisión de todos los principios amargos pertenecientes a estos dos grupos, conocidos hasta el presente (julio 1970), indicándose para cada uno el nombre, fórmula bruta, punto de fusión, poder rotatorio, derivados conocidos y especies de las cuales se los ha aislado. Como introducción a cada una de las revisiones mencionadas, se discuten las características generales de los diversos principios amargos que se han aislado de las diferentes especies de las familias Simarubaceae y Rutaceae.

La discusión de los procesos biogénicos postulados para la formación de estos principios amargos, se hace conjuntamente ya que ambos tienen un precursor común.

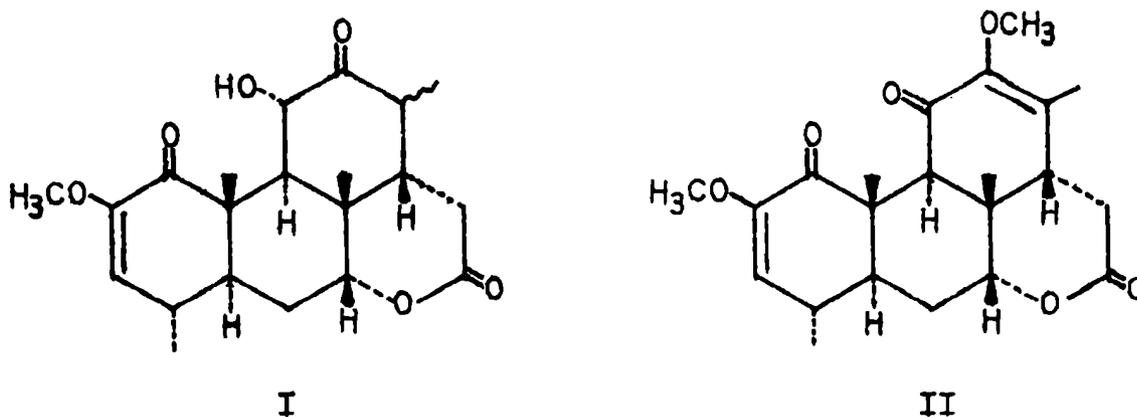
II) Principios amargos de Aeschrion crenata Vell.

En esta segunda parte, se describen los resultados obtenidos en el estudio de dos principios amargos, paraína y 12-norquassina, aislados de Aeschrion crenata Vell., y que condujeron a la determinación de la estructura de los mismos.

El primer producto aislado, la paraína, funde a 245-246°, es ópticamente activo ( $[\alpha]_D +28,6^\circ$ ) y analiza para  $C_{21}H_{28}O_6$ , fórmula que pudo ser confirmada mediante la determinación del peso molecular por espectrometría de masa.

El espectro de absorción en el infrarrojo permitió individualizar cinco de los seis átomos de oxígeno presentes en la molécula, ubicándolos en un grupo hidroxilo, un carbonilo, un carbonilo perteneciente a un anillo  $\delta$ -lactónico y un carbonilo conjugado. El espectro ultravioleta indicó la presencia de un grupo diosfenol alquilado ( $\lambda_{\max}$  270 nm log  $\epsilon$  3,67).

El análisis del espectro de resonancia magnética nuclear, permitió detectar la presencia de un protón olefínico, de un grupo metoxilo, de dos metilos cuaternarios y de dos metilos terciarios. A diferencia de lo que ocurre en los demás quassinólidos, las señales de los dos metilos cuaternarios se hallan superpuestas, en una señal única a campos bajos, indicando que una de ellas ha sufrido un fuerte desplazamiento paramagnético. Comparando este desplazamiento con el que sufre un metilo estereoquímicamente equivalente en un sistema  $5\alpha$ -androstánico, cuando un hidroxilo sustituyente en C-3 se transforma en carbonilo, se postuló la siguiente estructura (I).



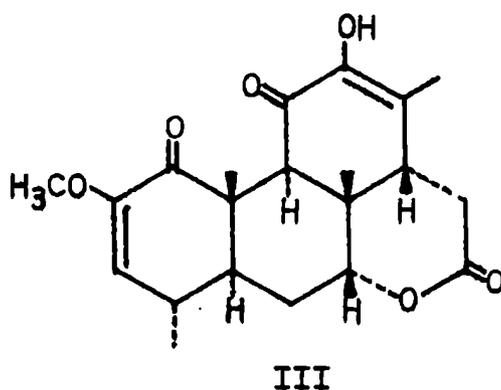
La posición y configuración del hidroxilo se determinaron por comparación de los desplazamientos que sufren las señales de los metilos cuaternarios en el acetato de parafina, con los de la nigakilactona B cuando se acetila el hidroxilo en C-11.

La configuración  $\alpha$  del hidroxilo se pudo establecer, por medición de la constante de acoplamiento del protón carbinólico

con los protones adyacentes. La confirmación química de la estructura postulada se logró por transformación en quassina(II), por oxidación con trióxido de cromo y posterior metilación con sulfato de metilo.

Queda por determinar inequívocamente la configuración del C-13. No obstante, por analogía con todos los otros casos conocidos, puede asignarse con bastante seguridad la conformación ecuatorial al metilo correspondiente.

El segundo principio amargo aislado (pf 282-286°,  $[\alpha]_D^{25} +122,5^\circ$ ) analiza para  $C_{21}H_{26}O_6$ , lo cual fue confirmado también por espectroscopía de masa. El estudio de sus espectros ultravioleta, infrarrojo y de resonancia magnética nuclear, permitió identificarlo con la 12-norquassina(III). La identificación se confirmó por comparación directa con una muestra auténtica gentilmente cedida por el profesor Dr. Carlo G. Casinovi (Istituto Superiore di Sanità, Roma).

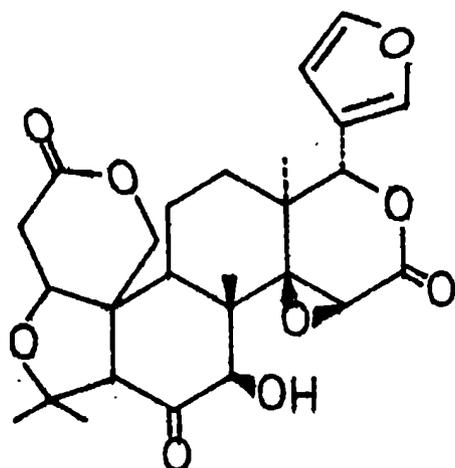


En el último capítulo de esta segunda parte, se dan los datos de todos los compuestos obtenidos, describiéndose las técnicas experimentales empleadas.

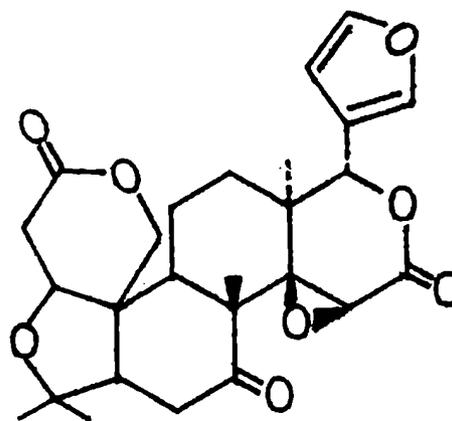
### III) Limonoides de Esenbeckia febrifuga Juss. y Helietta longifolia Britt.

En esta parte del presente trabajo, se describe el aislamiento

de un limonoide de Esenbeckia febrifuga Juss. y otro de Helietta longifoliata Britt., y su identificación como rutaevina(IV) y limonina(V) respectivamente, aislados anteriormente de otras especies de la familia de las rutáceas.



IV



V

La identificación anteriormente mencionada, se llevó a cabo por interpretación de los espectros de resonancia magnética nuclear y pudo ser confirmada por comparación directa con una muestra auténtica de rutaevina, cedida por el Dr. David L. Dreyer (Pasadena, California) y de limonina aislada de Poncirus trifoliata.

#### IV) Alcaloides principales de Esenbeckia febrifuga Juss.

En esta parte, la última de esta tesis, se describe el aislamiento e identificación de los tres alcaloides principales de la corteza de Esenbeckia febrifuga Juss.

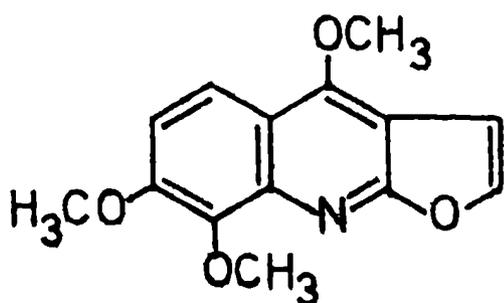
Las bases se aislaron por extracción, de la corteza seca y molida, con éter de petróleo y luego con metanol. El extracto de éter de petróleo se llevó a seco y extrajo con ácido clorhídrico 1%. La solución clorhídrica se alcalinizó con amoníaco y extrajo con éter etílico. El extracto etéreo se evaporó dando un residuo de alcaloides crudos que recristalizado dos veces de metanol y acetona, y posteriormente cromatografiados en capa preparativa de

gel de sílice, permitió obtener los tres alcaloides 1, 2 y 3 puros de pf 174-176°, 200-203° y 196-198° respectivamente.

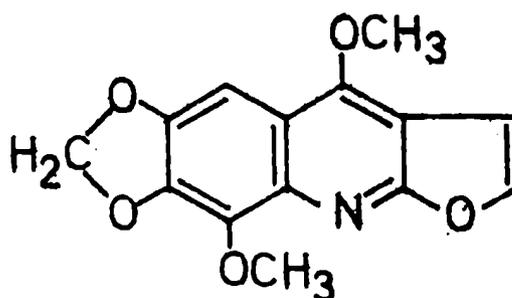
El procesamiento del extracto metanólico permitió obtener, solamente el alcaloide 1.

El espectro de absorción en el ultravioleta indicó que se estaba en presencia de bases furoquinolónicas, y el espectro de resonancia magnética nuclear llevó a postular como estructuras más probables la de skimmianina (VI), flindersiamina (VII) y maculina (VIII) para los alcaloides 1, 2 y 3 respectivamente.

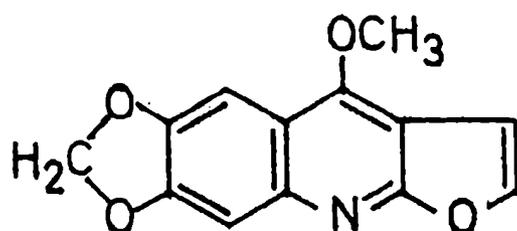
Estas estructuras fueron confirmadas por comparación directa con muestras auténticas de skimmianina, flindersiamina, cedida por el profesor Dr. Orfeo O. Orazi (Universidad de La Plata) y maculina.



VI



VII



VIII

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- 1.- A. sleumer: Lilloa 26,161(1953).
- 2.- F.Winckler: Repert.pharm. 4,85(1835),15,74(1838) citado de  
E.P.Clark: J.Amer.Chem.Soc. 59,927(1937).
- 3.- E.P.Clark: J.Amer.Chem.Soc. 59,927(1937).
- 4.- E.P.Clark: J.Amer.Chem.Soc. 59,2511(1937).
- 5.- R.Beer,D.Jaquiss,A.Robertson y W.Savidge: J.Chem.Soc. 3431(1950).
- 6.- R.Beer,D.Jaquiss,A.Robertson y W.Savidge: J.Chem.Soc. 3672(1954).
- 7.- R.Beer,D.Jaquiss,A.Robertson y W.Savidge: J.Chem.Soc. 4238(1954).
- 8.- R.Beer,D.Jaquiss,A.Robertson y W.Savidge: J.Chem.Soc. 3280(1956).
- 9.- R.Beer,D.Jaquiss,A.Robertson y W.Savidge: J.Chem.Soc. 4850(1956).
- 10.- R.Carman y A.Ward: Tetrahedron Letters 317(1961).
- 11.- R.Carman y A.Ward: Austr.J.Chem. 15,807(1962).
- 12.- Z.Valenta,A.Gray,S.Papadopoulos y C.Podesva: Tetrahedron Letters 20,25(1960).
- 13.- Z.Valenta,S.Papadopoulos y C.Podesva: Tetrahedron 15,100(1961).
- 14.- Z.Valenta,A.Gray,D.Orr,S.Papadopoulos y C.Podesva: Tetrahedron 18,1433(1962).
- 15.- J.Polonsky: planta Medica suppl. 107(1966).
- 16.- J.Polonsky: Bull.Soc.Chim.France 1546(1959).
- 17.- J.Polonsky: proc.Chem.Soc. 292(1964).
- 18.- W.Brown y G.Sim: proc.Chem.Soc. 293(1964).
- 19.- R.Adams y W.Whaley: J.Amer.Chem.Soc. 72,375(1950).
- 20.- J.Polonsky: Bull.Soc.Chim.France 1157(1959).
- 21.- T.Mura,T.Tsuyuki,T.Nishihama,S.Masuda y T.Takahashi: Tetrahe-  
dron Letters 3013(1969).
- 22.- T.Geissman y K.Chandorkar: J.Org.Chem. 26,1217(1961).
- 23.- T.Geissman y G.Ellestad: Tetrahedron Letters 1083(1962).
- 24.- T.Davidson,T.Hollands y P.de Mayo: Tetrahedron Letters 1089 (1962).
- 25.- T.Davidson,T.Hollands,P.de Mayo y M.Nisbet: Canad.J.Chem. 43, 2996(1965).

- 26.- T.Hollands, P.de Mayo, M.Nisbet y P.Crabbe: Canad.J.Chem. 43, 3008(1965).
- 27.- J.L.Fourrey y J.Polonsky (en prensa), citado en J.Polonsky: Planta Medica suppl. 107(1966).
- 28.- J.Polonsky y N.Zylber: Bull.Soc.Chim.France 2793(1965).
- 29.- A.Ham, H.Schaffer, R.Denkewalter y N.Brink: J.Amer.Chem.Soc. 76, 6066(1954).
- 30.- J.Polonsky y A.Gaudemer: Bull.Soc.Chim.France 1432(1961).
- 31.- J.Polonsky, C.Fouquey y A.Gaudemer: Bull.Soc.Chim.France 1255, (1962).
- 32.- J.Polonsky, C.Fouquey y A.Gaudemer: Bull.Soc.Chim.France 169, (1963).
- 33.- J.Zylber, J.Polonsky y C.Mitra: Bull.Soc.Chim.France 1322(1963).
- 34.- J.Polonsky, C.Fouquey y A.Gaudemer: Bull.Soc.Chim.France 1818 (1964).
- 35.- J.Polonsky, C.Fouquey y A.Gaudemer: Bull.Soc.Chim.France 1827 (1964).
- 36.- G.Kartha y D.Haas: J.Amer.Chem.Soc. 86, 3630(1964).
- 37.- G.Kartha, D.Haas, H.Schaffer y K.Kaistha: Nature 202, 389(1964).
- 38.- A.Gaudemer y J.Polonsky: Phytochemistry 4, 149(1965).
- 39.- N.Bourguignon y J.Polonsky: Bull.Soc.Chim.Biol. 46, 1145(1964).
- 40.- W.Stöcklin, L.de Silva y T.Geissman: Phytochemistry 8, 1565(1969).
- 41.- N.Bourguignon-Zylber y J.Polonsky: comunicación personal.
- 42.- J.Polonsky, Z.Baskevitch, A.Gaudemer y B.Das: Experientia 23, 424 (1967).
- 43.- J.Polonsky, Z.Baskevitch, B.Das y J.Müller: Comptes Rendus 267, 1346(1968).
- 44.- W.Stöcklin y T.Geissman: Tetrahedron Letters 6007(1968).
- 45.- J.Polonsky, Z.Baskevitch y J.Müller: Comptes Rendus 268, 1392 (1969).
- 46.- C.Liang: J.Chinese Chem.Soc.(Peiping) 16, 53(1949), Chem.Abstr. 43, 9377(1949).

- 47.- G.Duncan y D.Henderson: Experientia 24,768(1968).
- 48.- K.Sim,J.Sims y T.Geissman: J.Org.Chem. 33,429(1968).
- 49.- C.Casinovi,V.Bellavita,G.Grandolini y P.Ceccherelli: Tetrahedron Letters 2273(1965).
- 50.- J.Fourrey y J.Polonsky: en preparación citado en J.Polonsky Ciencia e Cultura(Sao paulo) 20,19(1968).
- 51.- W.stöcklin,M.Stefanović,T.Geissman y C.Casinovi: Tetrahedron Letters 2399(1970).
- 52.- J. Polonsky y J.Fourrey: Tetrahedron Letters 3983(1964).
- 53.- C.Casinovi y G.Grandolini: Rend.Acad.Naz.Lincei Classe 35, 348 (1963), Chem.Abstr. 61,10719(1964).
- 54.- C.Casinovi y P.Ceccherelli: Tetrahedron Letters 3991(1964).
- 55.- C.Casinovi,P.Ceccherelli y G.Grandolini: Ann.Ist.super.sanità 2,414(1966).
- 56.- J.Polonsky y J.Zylber: Bull.Soc.Chim.France 1715(1962).
- 57.- J.Zylber y J.Polonsky: Bull.Soc.Chim.France 2016(1964).
- 58.- J.Polonsky,C.Fouquey y A.Gaudemer: Bull.Soc.Chim.France 169, (1960).
- 59.- J.Polonsky: Bull.Soc.Chim.France; 1845(1960).
- 60.- L.Thoi y N.Suong: Chem.Com. 821(1969).
- 61.- J.Fourrey,B.Das y J.Polonsky: Org.Mass Spectr. 1,819(1968).
- 62.- D.L.Dreyer: Forts.Chem.Naturstoffe 26,190(1968).
- 63.- J.M.Kingsbury: "poisonous plants of the United states and Canada"p.205,prentice Hall,New Jersey(1964).
- 64.- F.Bernays: Liebigs Ann. 40,317(1841),citado en D.Barton,S. Pradhan,S.Sternhell y J.Templeton: J.Chem.Soc. 255(1961).
- 65.- A.Melera,K.Schaffner,D.Arigoni y O.Jeger: Helv.Chim.Acta 40, 1420(1957).
- 66.- E.Corey,G.Slomp,S.Dev,S.Tobinaga y E.Glazier: J.Amer.Chem.Soc. 80,1204(1958).
- 67.- D.Arigoni,D.Barton,E.Corey,O.Jeger,L.Caglioti,S.Dev,F.Ferrini, E.Glazier,A.Melera,S.Pradhan,K.Schaffner,S.Sternhell,J.Templeton y S.Tobinaga: Experientia 16,41(1960).

- 68.- D.L.Dreyer: Tetrahedron 21,75(1965)
- 69.- D.Barton, S.Pradhan, S.Sternhell y J.Templeton: J.Chem.Soc. 255(1961).
- 70.- D.L.Dreyer: Tetrahedron 24,3273(1968).
- 71.- J.Kefford: Adv.Food Res. 9,285(1959).
- 72.- V.Maier y G.Beverly: J.Food sci.(en prensa),citado en:  
D.L.Dreyer: Forts.Chem.Naturstoffe 26,190(1968).
- 73.- A.Mockerjee: J.Indian Chem.Soc. 17,593(1940),Chem.Abstr. 36,4283(1942).
- 74.- D.L.Dreyer: phytochemistry 5,367(1966).
- 75.- A.Fujita y K.Wada: J.Pharm.soc.Japan 51,506(1931),Chem.Abstr. 25,4870(1931).
- 76.- T.Kaku y H.Ri: J.Pharm.soc.Japan 55,222(1935),Chem.Abstr. 31,6643(1937).
- 77.- A.Fujita y Y.Hirose: J.Pharm.soc.Japan 74,365(1954),Chem.Abstr. 49,5407(1955).
- 78.- A.Fujita y Y.Hirose: J.Pharm.soc.Japan 76,129(1956),Chem.Abstr. 50,13052(1956).
- 79.- S.Maeda: J.Pharm.soc.Japan 55,531(1935),Chem.Abstr. 29,5831(1935).
- 80.- H.Thoms: Ber.Deut.Pharm.Ges. 33,68(1923),Chem.Abstr. 17,2583(1923).
- 81.- T.Kaku y H.Ri: J.Pharm.soc.Japan 55,219(1935),Chem.Abstr. 31,6642(1937).
- 82.- D.L.Dreyer: J.Org.Chem. 32,3442(1967).
- 83.- A.Ganguly, T.Govindachari, A.Manmade y P.Mohamed: Indian J.Chem. 4,292(1966).
- 84.- S.Arnett, A.Davie, J.Robertson, G.Sim y D.Watson: Experientia 16,49(1960).
- 85.- O.H.Emerson: J.Amer.Chem.soc. 70,545(1948).
- 86.- R.Rosenfeld y K.Hofmann: J.Amer.Chem.Soc. 73,2491(1951).
- 87.- J.H.Chu: sci.Record(China) 4,279(1951),Chem.Abstr. 46,11589(1952).

- 88.- Y.Hirose: Chem.Pharm.Bull.(Tokyo) 11,535(1963)
- 89.- A.Fujita y M.Akatsuka: J.Pharm.Soc.Japan 69,322(1949),Chem. Abstr. 44,1954(1950).
- 90.- E.Bailey,D.Barton,J.Elks y J.Templeton: J.Chem.Soc. 1578(1962).
- 91.- A.Fujita,N.Nozone y T.Shimada: J.Pharm.Soc.Japan 55,474(1935).  
Chem.Abstr. 44,1954(1950).
- 92.- D.L.Dreyer: J.Org.Chem. 32,3442(1967).
- 93.- D.L.Dreyer: J.Org.Chem. 30,749(1965).
- 94.- F.Kincl,J.Romo,G.Rosenkranz y F.Sondheimer: J.Chem.Soc. 163  
(1956).
- 95.- F.Sondheimer,A.Meisels y F.Kincl: J.Org.Chem. 24,870(1959).
- 96.- O.H.Emerson: J.Amer.Chem.Soc. 73,2621(1951).
- 97.- F.Dean y T.Geissman: J.Org.Chem. 23,596(1958).
- 98.- G.Koller y H.Czerny: Monatsh. 67,248(1936),Chem.Abstr. 30,3831  
(1936).
- 99.- R.H.Higby: J.Amer.Chem.Soc. 60,3013(1938).
- 100.- Y.Murayama y J.Takada: J.Pharm.Soc.Japan 47,1037(1928),Chem. Abstr. 22,1613(1928).
- 101.- F.Power y T.Callan: J.Chem.Soc. 99,2004(1911).
- 102.- A.Aebi: Helv.Chim.Acta 39,1495(1956).
- 103.- T.Tokoroyama,T.Kamikawa y T.Kubota: Bull.Chem.Soc.Japan 34,  
131(1961).
- 104.- T.Kubota,T.Kamikawa,T.Tokoroyama y T.Matsuura: Tetrahedron Letters 1 (1960).
- 105.- T.Kamikawa y T.Kubota: Tetrahedron 12,262(1961).
- 106.- T.Matsuura,T.Kamikawa y T.Kubota: Tetrahedron 12,269(1961).
- 107.- D.L.Dreyer: J.Org.Chem. 33,3577(1968).
- 108.- G.K.Nikonov: Med.Prom.SSSR. 18,15(1964),Chem.Abstr. 62,12157  
(1965).
- 109.- T.Govindachari,B.Joshi y V.Sundarajan: Tetrahedron 20,2985  
(1964).

- 110.- D.L.Dreyer: J.Crg.Chem. 31,2279(1966).
- 111.- M.Pailer,G.Schaden,G.Spiteller y W.Fenzl: Monatsh.Chem. 96,  
1324(1965).
- 112.- G.P.Moss: planta Medica Suppl. 86(1966).
- 113.- G.Nikonov y R.Veremei: Doklady Akad.Nauk.SSSR 148,850(1963).  
Chem.Abstr. 59,3785(1965)
- 114.- G.Ourisson,P.Crabbé y O.Rodig:"Tetracyclic triterpenes" p.42  
Holden-day, San Francisco(1964).
- 115.- O.Emerson: J.Amer.Chem.Soc. 74,688(1952).
- 116.- W.Cole y P.Julian: J.Crg.Chem. 19,131(1954).
- 117.- H.J.Nicholas:"Biogenesis of Natural Compounds" p.829,Ed.Peter  
Bernfeld,pergamon Press,New York(1967).
- 118.- D.H.Barton y G.P.Moss: Chem.Comm. 261(1966).
- 119.- G.P. Moss: planta Medica Suppl. 86(1966).
- 120.- R.Brown,P.Gilhman,G.Hughes y E.Ritchie: Austral.J.Chem. 7,  
181(1954).
- 121.- A.Birch,D.Collins,S.Muhammad y J.Turnbull: J.Chem.Soc.  
2762(1963).
- 122.- D.Lavie,M.Jain y I.Kirson: Tetrahedron Letters 2049(1966).
- 123.- C.H.Hassal:"Organic Reactions"p.73,v.9,John Wiley & Sons Inc.,  
New York(1957).
- 124.- R.Tschesche: Fortschr.Chem.Org.Naturstoff. 12,131(1955).
- 125.- E.Leete,H.Gregory y E.Gros: J.Amer.Chem.Soc. 87,3475(1965).
- 126.- J.Euw y T.Reichstein: Helv.Chim.Acta 47,711(1964).
- 127.- J.Mills y A.Werner: J.Chem.Soc. 3132(1955).
- 128.- D.Arighoni,D.Barton,R.Bernasconi,C.Djerassi,J.Mills y R.Wolff:  
Proc.Chem.Soc. 306(1959).
- 129.- G.H.Whitman: Proc.Chem.Soc. 271(1959).
- 130.- W.Lawrie,W.Hamilton,F.Spring y H.Watson: J.Chem.Soc. 3272  
(1956).
- 131.- A.Laskin,P.Grabowich,C.Meyers y J.Fried: J.Med.Chem. 7,406  
(1964).-

- 132.- J.Fried, R.Thoma y A.Klingsberg: J.Amer.Chem.Soc. 75, 5764 (1953).
- 133.- D.Peterson, S.Eppstein, P.Meister, H.Murray, H.Leigh, A.Weintraub y L.Reineke: J.Amer.Chem.Soc. 75, 5768(1953).
- 134.- G.Fonken, H.Murray y L.Reineke: J.Amer.Chem.Soc. 82, 5507(1960).
- 135.- G.Peterson, R.Thoma, D.Perlman y J.Fried: J.Bacteriol. 74, 684
- 136.- R.Prairie y P.Talalay: Biochemistry 2, 203(1963). // (1957).
- 137.- J.B.Bredenberg: Chem.& Ind. 73(1964).
- 138.- D.L.Dreyer: Experientia 20, 297(1964).
- 139.- A.Akisanya, C.Bevan, T.Halsall, J.Powel y D.Taylor: J.Chem.Soc. 3705(1961).
- 140.- J.Housley, F.King, T.King y D.Taylor: J.Chem.Soc. 5095(1962).
- 141.- P.Sengupta, S.Sengupta y H.Khastgir: Tetrahedron 11, 67(1960).
- 142.- J.Moron, J.Rondelet y J.Polonsky: Experientia 22, 511(1966).
- 143.- J.Moron y J.Polonsky: Tetrahedron Letters 385(1968).
- 144.- W.Robinson, B.Bachhawat y M.Coon: J.Biol.Chem. 218, 391(1956).
- 145.- W.Evans y J.Woolley: J.Pharm.Pharmacol.Suppl. 17, 375(1965).
- 146.- F.Leete y J.Murrill: Tetrahedron Letters 1727(1967).
- 147.- D.H.Crout: J.Chem.Soc. 1233(1967).
- 148.- J.Moron y J.Polonsky: European J.Biochem. 3, 488(1968).
- 149.- H.Hikino, T.Ohta y T.Takemoto: Chem.Pharm.Bull. 18, 219(1970).
- 150.- A.Fengler: "Syllabus der Pflanzenfamilien" VII, p.266, Ed. Gebrüder Borntraeger, Berlín(1964).
- 151.- M.S.Bertoni: "La Civilización Guaraní" VIII p.297, 436, Puerto Bertoni(1927).
- 152.- J.Domínguez: "Contribuciones a la Materia Médica Argentina" p.101, Ed. Peuser, Buenos Aires(1928).
- 153.- J.R.Pereira: Annaes Fac.Med.Univers.Sao paulo 14, 269(1938).
- 154.- H.Macphillamy: comunicación personal citada por W. Taylor en "The Alkaloids", R.Manske vol VIII p.250, Academic Press, New York, (1964).
- 155.- E.Sanchez y J.Comin: An.Asoc.Quim.Argentina 57, 57(1969)
- 156.- N.Inamoto, S.Masuda, O.Simamura y T.Tsuyuki: Bull.Chem.Soc. Japan 34, 888(1961).

- 157.- S.Johns, J.Lamberton y A.Sioumis: Austr.J.Chem. 23, 629 (1970).
- 158.- K.Nakanishi: "Infrared Absorption Spectroscopy" p.44, Nankodo Com.Lim., Tokyo (1962).
- 159.- A.J.Scott: "Interpretation of the Ultraviolet Spectra of Natural products" p.60, Pergamon Press, New York (1964).
- 160.- R.F.Zürcher: Helv.Chim.Acta 46, 2057 (1963) en N. Bhacca y D.Williams: "Applications of N.M.R.Spectroscopy in Organic Chemistry", Holden-Day Inc., San Francisco (1964).
- 161.- C.Djerassi, R.Engle y A.Bowers: J.Org.Chem. 21, 1547 (1956)
- 162.- C.Casinovi, G.Grandolini, G.Marini-Bettólo y V.Bellavita: Ann.Chim.(Roma) 59, 230 (1969).
- 163.- A.Engler's: "Syllabus der Pflanzenfamilien" p.263, t. II, Gebrüder Borntraeger, Berlín (1964).
- 164.- R.pardal: "Medicina Aborígen Americana" p.113, Buenos Aires (1937).
- 165.- J.A.Domínguez "Contribuciones a la Materia Médica Argentina" p.100, Peuser, Buenos Aires (1928).
- 166.- T.Reichstein: Helv.Chim.Acta 15, 1110 (1932).
- 167.- H.Pozzi, E.Sanchez y J.Comin: Tetrahedron 23, 1129 (1967).
- 168.- D.Theumann y J.Comin: Anal.Asoc.Quím.Argentina 55, 253 (1967).
- 169.- C.Mammarella y J.Comin: comunicación personal.
- 170.- D.Theuman y J.Comin: phytochemistry 8, 781 (1969).
- 171.- K.Feist y L.Schulte: Ber. 59B, 1322 (1936), Chem.Abstr. 30, 5586 (1936).
- 172.- W.Stanley y S.vannier: J.Amer.Chem.Soc. 79, 3488 (1957).
- 173.- G.K.Brizicky: J.Arnold.Arbor 43, 1 (1962) citado en S.pakrashi y J.Bhattacharyya: J.Sci.Ind.Res. 24, 226 (1965)
- 174.- J.R.Price: pure Appl.Chem. 2, 367 (1961).
- 175.- R.Prager, F.Ritchie y W.Taylor: Austr.J.Chem. 13, 380 (1960).
- 176.- J.R.Price: progress in the Chemistry of Natural products 13, 302 (1960).
- 177.- J.Lamberton y J.Price: Austr.J.Chem. 6, 66 (1953).

- 178.- R.Brown, P.Gilham, G.Hughes y E.Ritchie: Austr.J.Chem. 7, 181 (1954).
- 179.- R.Prager, E.Ritchie y W.Taylor: Austr.J.Chem. 13, 380(1960).
- 180.- A.V.Robertson: Austr.J.Chem. 16, 451(1963).
- 181.- C.Schöpf y K.Thierfelder: Ann.Chem. 518, 127(1935) citado por H.Openshaw: "The Alkaloids" p.260 t IX, R.Manske, Academic-press, London(1967).
- 182.- R.Robinson: "The structural Relations of Natural products" p.94, Oxford University press(1955).
- 183.- I.Monkovic, I.Spenser y A.Plunkett: Canad.J.Chem. 45, 1935 (1967).
- 184.- D.Gröger: Lloydia 32, 221(1969).
- 185.- E.Wenkert: Experientia 15, 165(1959).
- 186.- S.Ghosal: sci.Cult.(Calcutta) 30, 142(1964), Chem.Abstr. 61, 12248(1964).
- 187.- R.Aneja, S.Mukerjee y T.Seshadri: Tetrahedron 4, 256(1958).
- 188.- J.Collins y M.Grundon: Chem.Com. 621(1969).
- 189.- A.Colonna y E.Gros: Chem.Com. 674(1970).
- 190.- A.Sangster y K.Stuart: Chem.Rev. 65, 69(1965).
- 191.- H.Thies y F.Reuther: Naturuss 41, 230(1954).
- 192.- Y.Asahina y M.Inubuse: Ber. 63, 2052(1930).
- 193.- F.Anet, P.Gilham, P.Gow, G.Hughes y E.Ritchie: Austr.J.Sci. Res. A5, 412(1952).
- 194.- R.Brown, P.Gilham, G.Hughes y E.Ritchie: Austr.J.Chem. 7, 181 (1954).