

Tesis de Posgrado

Alcohol triterpénico y alcaloide principal de *Helietta longifoliata* Britt : Alcaloides de *Colletia paradoxa* (Spreng.) Escal.

Theumann, Diego Francisco

1968

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

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

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

Cita tipo APA:

Theumann, Diego Francisco. (1968). Alcohol triterpénico y alcaloide principal de *Helietta longifoliata* Britt : Alcaloides de *Colletia paradoxa* (Spreng.) Escal.. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires.

http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_1311_Theumann.pdf

Cita tipo Chicago:

Theumann, Diego Francisco. "Alcohol triterpénico y alcaloide principal de *Helietta longifoliata* Britt : Alcaloides de *Colletia paradoxa* (Spreng.) Escal.". Tesis de Doctor. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. 1968.

http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_1311_Theumann.pdf

EXACTAS UBA

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales



UBA

Universidad de Buenos Aires

UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES

FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES

Alcohol triterpénico y alcaloide principal
de Helietta longifoliata Britt.

Alcaloides de Colletia paradoxa (Spreng.) Escal.

Resumen

Diego Francisco Theumann

1311
2
2.4

Tesis presentada para optar
al título de Doctor de la
Universidad de Buenos Aires

1968

El presente trabajo está dividido en tres partes,
I) Alcohol triterpénico de Helietta longifoliata Britt.
II) Alcaloide principal de Helietta longifoliata Britt.
III) Alcaloides de Colletia paradoxa (Spreng.) Escal.

I) Alcohol triterpénico de Helietta longifoliata Britt.

En el comienzo de esta primera parte se presentan los esqueletos hidrocarbonados fundamentales de triterpenos pentacíclicos, se comentan las reglas para la nomenclatura de dichos compuestos y se ofrece una revisión de los monoalcoholes triterpénicos pentacíclicos conocidos hasta el presente (julio de 1967), indicándose para cada uno el nombre derivado del esqueleto fundamental, fórmula bruta, punto de fusión, poder rotatorio, derivados conocidos y especies de las cuales se los ha aislado.

Se continúa con una revisión de la muy extensa bibliografía publicada sobre la biogénesis de terpenos, desde los precursores más sencillos hasta las etapas finales de la ciclación de los intermediarios, aún no del todo elucidadas, y se propone un esquema biogénético para el alcohol aislado de Helietta longifoliata Britt.

En un nuevo capítulo se presenta una serie de métodos químicos de empleo estructural, que se han utilizado en la determinación original de muchas estructuras de triterpenos y continúan empleándose en el presente.

En el capítulo siguiente se efectúa una discusión sobre los resultados obtenidos en el estudio del alcohol triterpénico pentacíclico aislado de Helietta longifoliata Britt., y que condujeron a la determinación de la estructura del mismo.

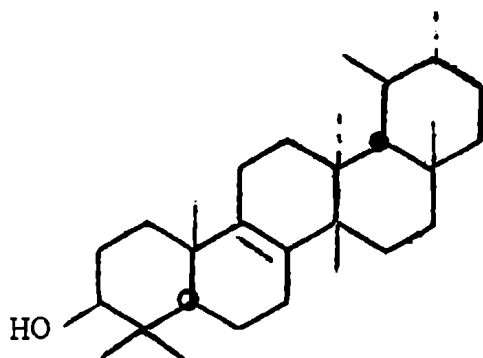
Dicho compuesto tiene punto de fusión 168-170° y es ópticamente activo ($[\alpha]_D^{25}$) + 45°, y analiza para $C_{30}H_{50}O$, lo cual fue confirmado por la determinación del peso molecular mediante espectrometría de masa.

El espectro infrarrojo muestra una banda a 3400 cm^{-1} , indicando la presencia de un grupo hidroxilo. En el espectro de

resonancia magnética nuclear no aparece señal alguna debida a protones olefínicos, de modo que el doble enlace, cuya presencia es sugerida por la fórmula antes indicada, debe ser cuaternario. Esto se confirmó por oxidación del acetato del alcohol (p.f. 212-213°; $[\alpha]_D^{25} + 44^\circ$) con CrO_3 , pudiéndose aislar un compuesto de fórmula $\text{C}_{32}\text{H}_{48}\text{O}_4$, cuyos espectros de absorción en el infrarrojo y en el ultravioleta permitieron determinar que el doble enlace es de tipo cuaternario con dos grupos metilenos vecinos.

La curva de dispersión óptica rotatoria de la cetona obtenida por oxidación del alcohol (p.f. 184-185°; $[\alpha]_D^{25} + 76.5^\circ$) con reactivo de Kiliani es del mismo tipo que las ^{de}diversas 3-cetonas con el doble enlace en $\xi(9)$, indicando que la posición más probable de la doble ligadura es la indicada y que la del hidroxilo del alcohol es la más usual, el C-3. La configuración de dicho hidroxilo pudo ser determinada en base a un análisis de los espectros de resonancia magnética nuclear del alcohol y de su acetato, hallándose que la configuración del protón de C-3 es axial y, en consecuencia, el hidroxilo ecuatorial, lo cual se confirmó mediante una comparación de las diferencias de rotaciones moleculares de diversos alcoholes triterpénicos y sus acetatos, las cuales son positivas para los alcoholes β (ecuatoriales) - como ocurre en el caso de nuestro alcohol - y negativas para los α (axiales). Una última confirmación de la configuración del C-3 se logró por un método químico: la oxidación del alcohol a la cetona correspondiente y posterior reducción de ésta con BH_4Na , permitieron obtener nuevamente el alcohol original.

Un estudio comparativo de las constantes físicas del alcohol de Helietta longifoliata Britt. y de sus derivados, con las de los alcoholes (y sus derivados) conocidos, con el doble enlace en la posición $\xi(9)$, indica como estructura probable para nuestro alcohol la siguiente:



ISOBAUERENOL

que corresponde al isobaueranol o 3 β -hidroxi-D:C-friedo-ursa-8-eno, no pudiéndose descartar aún, a esta altura, la posibilidad de que se trate de un compuesto similar con estructura de arborano o uno con esqueleto aún no conocido.

Una primera confirmación de la estructura propuesta se pudo obtener mediante el estudio de los espectros de masa del alcohol, de la cetona e hidrocarburo correspondientes y de su acetato y éter metílico, y la comparación de los mismos con los de otros triterpenos pentacíclicos.

La confirmación final de la identidad del alcohol con el isobaueranol se llevó a cabo por comparación directa con una muestra de este último, gentilmente cedida por el profesor Dr. F. Sengupta (Universidad de Kalyani, India).

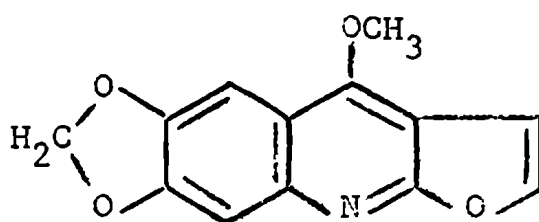
En el último capítulo de esta primera parte se dan los datos de todos los compuestos obtenidos, describiéndose las técnicas experimentales empleadas.

II) Alcaloide principal de Helietta longifoliata Britt.

Se describe el aislamiento e identificación del alcaloide principal de la mezcla de, por lo menos, cinco bases que contiene la corteza de Helietta longifoliata Britt.

Las bases se aislaron por extracción con metanol, de la corteza seca y molido, previamente extraída con éter de petróleo. De la mezcla de bases se pudo cristalizar, por tratamiento con metanol, una de ellas, la cual funde a 197-199°, y da un clorhidrato de p.f. 207-210°.

El espectro de absorción en el ultravioleta indicó que se trataba de una base furoquinolinica, y el espectro de resonancia magnética nuclear llevó a postular como estructura más probable la de maculina, un alcaloide furoquinolinico que ya había sido aislado anteriormente de otras rutáceas. Esta estructura fue confirmada por comparación directa con una muestra auténtica de maculina, cedida por el Dr. E. Ritchie (Universidad de Sydney, Australia).

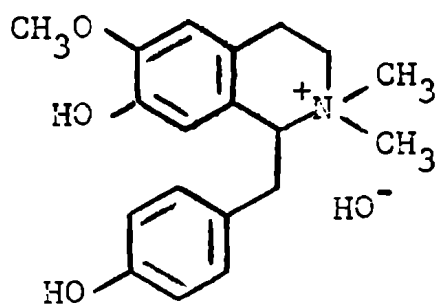


MACULINA

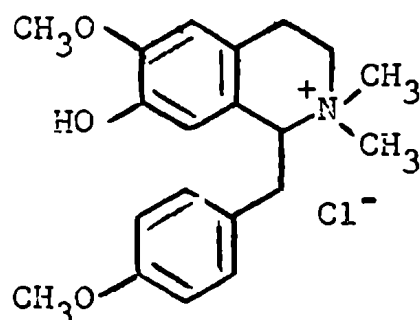
III) Alcaloides de Colletia paradoxa (Spreng.) Escal.

En ésta, la última parte del trabajo, se presenta una revisión de alcaloides bencilisoquinolínicos, en la cual aparecen todas las bases cuyas estructuras se determinaron desde 1965 hasta el presente (octubre de 1967), citándose también todos aquellos alcaloides ya conocidos y que se han aislado, durante ese lapso, de nuevas especies.

Posteriormente se describió el aislamiento de dos bases cuaternarias de Colletia paradoxa (Spreng.) Escal., la separación de éstas por cromatografía sobre alúmina y la determinación de su estructura. Estos alcaloides resultaron ser idénticos a las bases benciltetrahydroisoquinolínicas colletina, obtenida como cloruro (p.f. 130-131°; $[\alpha]_D^{25}$ - 132,2°) y magnocurarina (p.f. 201-203°; $[\alpha]_D^{25}$ - 91,1°), las cuales ya habían sido aisladas anteriormente de Colletia spinosissima Gmel.



MAGNOCURARINA



CLORURO DE COLLETINA

Grego Trujillo

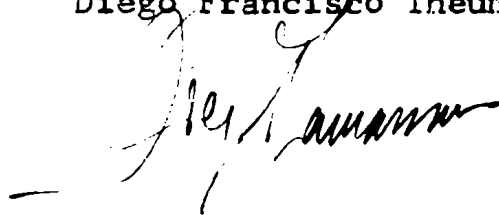
UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES

FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES

Alcohol triterpénico y alcaloide principal
de Helietta longifoliata Britt.

Alcaloides de Colletia paradoxa (Spreng.ⁿ) Escal.

Diego Francisco Theurmann



1311-4

Tesis presentada para optar
al título de Doctor de la
Universidad de Buenos Aires

1968

A mis padres

Mi más sincero agradecimiento
al profesor Dr. Jorge H. Z.
Comín, quien sugiriera el tema
del presente trabajo y fuera,
con su permanente dedicación,
inestimable guía y consejero.

mi sincero agradecimiento

a la Universidad de Buenos Aires y al Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas, por haberme concedido sendas becas que me permitieron llevar a cabo el presente trabajo;

a la Dra. Blanca B. de Deferrari por los microanálisis;

a los Dres. C. O. Orazi y R. A. Corral, de la Universidad de La Plata, por la realización de la curva de dispersión rotatoria;

al Dr. E. B. Dennler, a los Idos. C. R. Portal y H. E. Lalli, al Bioquímico Sr. Santiago Reil y al Sr. J. J. Ferrer, por los espectros realizados;

a los Dres. F. Korte y H. J. Fehlhaber (Universidad de Bonn, República Federal Alemana), H. Nesvadba y H. Egger (Universidad de Viena, Austria) y al Sr. L. H. Smithson, Jr. (Varian Associates, USA), por haber realizado los espectros de masa;

al Dr. P. Sengupta (Universidad de Kalyani, India) por la muestra de isobaueranol, y al Dr. E. Ritchie (Universidad de Sydney, Australia) por la de maculina;

al Sr. Director y al Sr. Jefe del Departamento de Química del Instituto de Farmacología y de Normalización de Drogas y Medicamentos, Dres. Marcelo J. Vernengo y Alberto Lezerovich, respectivamente, por su constante apoyo;

a la firma Manufactura de Tabacos Piccardo y Cia. Ltda. por la ayuda prestada en la recolección del material botánico;

a mis amigos, compañeros, profesores y personal del Departamento de Química Orgánica y de la facultad, por su apoyo y cordialidad permanentes, y en particular a los Dres. E. L. Sánchez y E. G. Gros, por sus consejos y colaboración desinteresada;

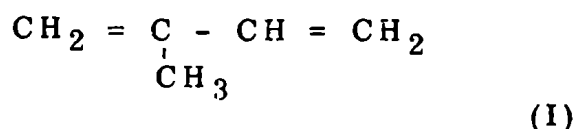
al Personal del Departamento de Biblioteca y Publicaciones, en especial a la Sra. Amalia E. Costa de Bernatet, y a todos aquellos que de una u otra forma colaboraron en el desarrollo del presente trabajo.

INDICE

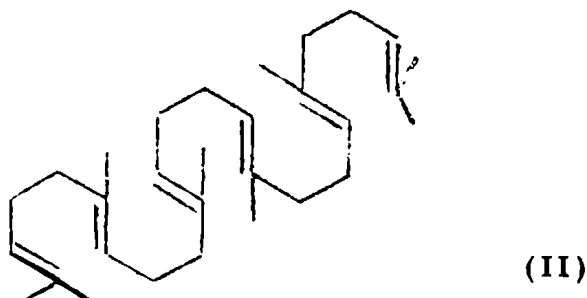
	Pág.
TRITERPENOS PENTACICLICOS	
Introducción	1
Nomenclatura	3
Revisión de monoalcoholes triterpénicos pentacíclicos	5
Biogénesis de los triterpenos	16
Reacciones químicas de empleo estructural	37
I. ALCOHOL TRITERPENICO DE <u>HELIETTA LONGIFOLIATA</u> BRITT.	
Extracción, aislamiento y determinación de estructura	45
Espectros	60
Parte experimental	66
II. ALCALOIDE PRINCIPAL DE <u>HELIETTA LONGIFOLIATA</u> BRITT.	
Extracción, aislamiento y determinación de estructura	72
Parte experimental	72
Espectros	74
III. ALCALOIDES DE <u>COLLETIA PARADOXA</u> (SPRENG.) ESCAL.	
Revisión de alcaloides bencilisoquinolínicos	76
Extracción, aislamiento y determinación de estructuras	79
Espectros	81
Parte experimental	84
RESUMEN	86
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	90

TRITERPENOS PENTACICLICOS

Dentro de los productos naturales ocupan un lugar importante los terpenos, los cuales pueden ser considerados como derivados del isopreno (I):

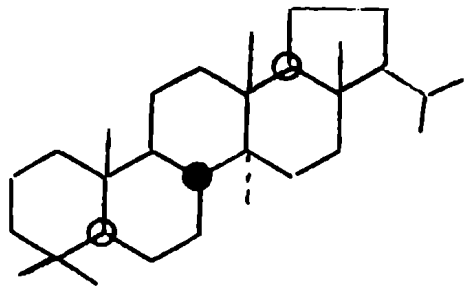


Se conoce una gran cantidad de estos compuestos, dividiéndolos, según el número de unidades isoprenicas que los constituyen, en monoterpenos (C_{10}), sesquiterpenos (C_{15}), diterpenos (C_{20}), triterpenos (C_{30}) y tetraterpenos (C_{40}). De entre estos grupos dedicaremos nuestra atención a los triterpenos, los cuales se pueden derivar del hidrocarburo escualeno (II), según la disposición espacial que adopte la molécula del mismo.

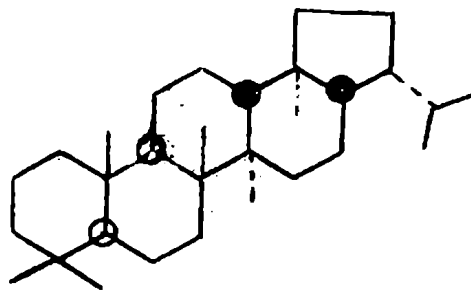


El hecho de haber aislado de una rutácea argentina la Helietta longifoliata Britt., un monoalcohol triterpénico pentacíclico, hace que tomemos para nuestra revisión a este tipo de compuestos, y sus éteres. Desde el último resumen acerca de compuestos triterpénicos pentacíclicos (1) hasta el presente se ha determinado la estructura de ocho nuevos compuestos del tipo de los que hemos de estudiar, lo que eleva la cantidad total de los mismos, con estructura conocida, a treinta y tres.

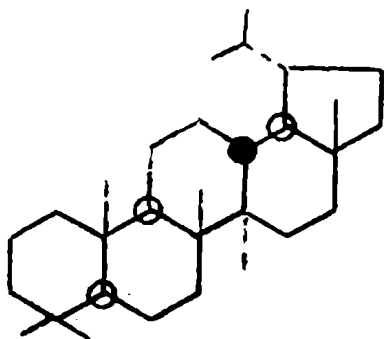
Los esqueletos hidrocarbonados fundamentales de estos terpenos son los siguientes:



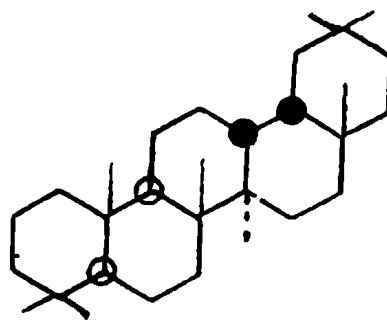
ARBORANC (III)



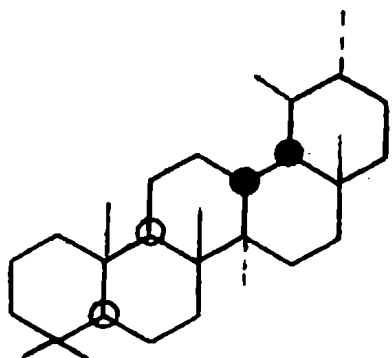
HCPANO (IV)



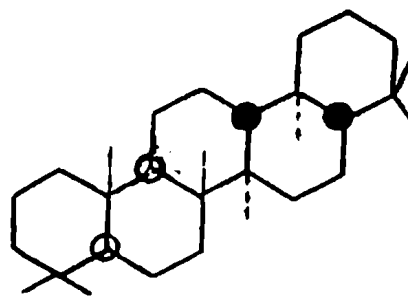
LUPANO (V)



OLEANANO (VI)



URSANC (VII)



GAMMACERANC (VIII)

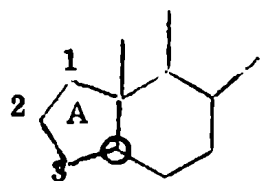
y en base a estos esqueletos fundamentales (III a VIII) se ha de presentar un resumen de todos los triterpenos pentacíclicos con una función hidroxilo y sus éteres conocidos hasta el presente (julio de 1967).

Nomenclatura.-

Todos los triterpenos pentacíclicos conocidos pueden ser nombrados en base a los esqueletos hidrocarbonados fundamentales. En el caso de modificaciones de los mismos la designación se hace con prefijos que acompañan al nombre fundamental (2):

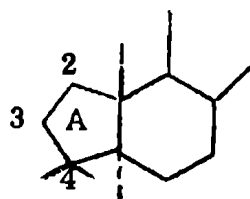
i) Modificaciones del número de grupos metilo: El reemplazo de un grupo metilo por un átomo de hidrógeno se indica con el prefijo nor - precedido por el número del metilo suprimido. La configuración del centro asimétrico correspondiente se conserva, salvo indicación especial, en la configuración del esqueleto.

ii) Modificaciones en las dimensiones de los ciclos: La contracción de un ciclo, con eliminación de un átomo de carbono, es indicada por el prefijo nor - precedido por la letra característica del ciclo modificado y, entre paréntesis, por el número del átomo de carbono que se considera eliminado. Este átomo es, en principio, aquél con el número más elevado, a excepción de átomos comunes a dos ciclos; si esta elección conduce a la pérdida de sustituyentes que en realidad se conservan en el esqueleto modificado, se elige como átomo desaparecido a aquél que lleva el número más bajo:



23,24-di-nor-

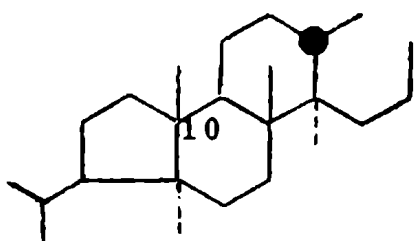
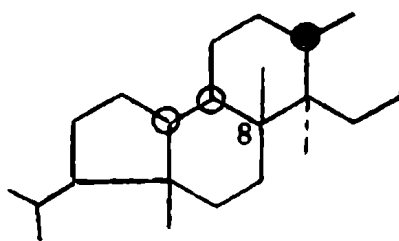
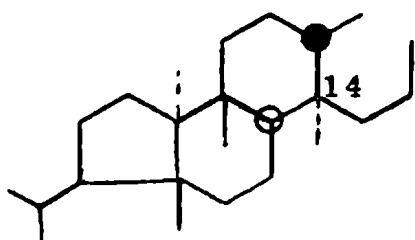
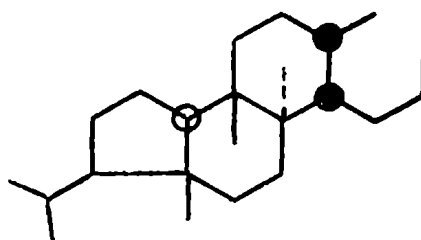
A (4)-nor-



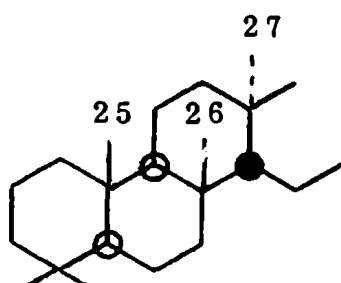
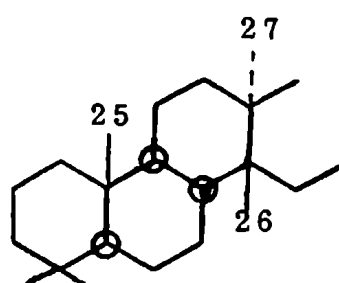
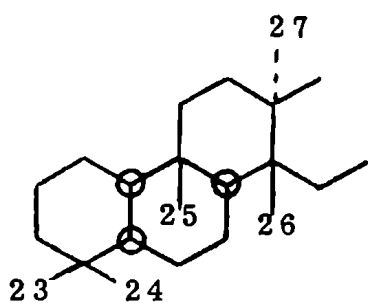
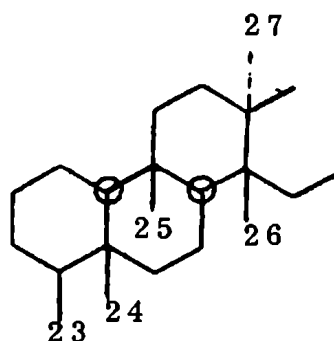
A (1)-nor-

iii) Modificaciones del esqueleto por transposiciones: Dos tipos principales de productos de transposición han sido descritos, sea como productos naturales, sea como derivados de elaboración de diferentes esqueletos: los productos de la serie neo y los de la serie friedo.

a) Serie neo. Una serie de transposiciones conduce sucesivamente, por contracción del ciclo A, y posterior migración de los metilos angulares situados en 10 (unión A/B), 8 (unión B/C) y 14 (unión C/D), a esqueletos parciales en los cuales las modificaciones correspondientes son designadas como A-neo, A:B-neo, A:C-neo y A:D-neo, seguidos por el nombre del esqueleto fundamental. Se conserva la numeración inicial del esqueleto y de los grupos metilo que hubieran migrado:

A-neo-A:B-neo-A:C-neo-A:D-neo-

b) Serie friedo. Comprende los productos derivados de esqueletos normales por migración (experimental o postulada) de los grupos metilo angulares de 14 (unión C/D) a 13, de 8 (unión B/C) a 14, de 10 (unión A/B) a 9, y de 4 (grupo axial 24, ciclo A) a 5. Esto conduce, sucesivamente, a modificaciones de esqueleto designadas, respectivamente, por D-friedo, D:C-friedo, D:B-friedo y D:A-friedo, seguidos del nombre del esqueleto fundamental. Se conserva la numeración de los ciclos y de los grupos metilo:

D-friedo-D:C-friedo-D:B-friedo-D:A-friedo-

Revisión de monoalcoholes triterpénicos pentacíclicos.-

En la siguiente revisión se dan los siguientes datos de cada terpeno: nombre derivado del esqueleto fundamental, fórmula bruta, fórmula estructural, punto de fusión, poder rotatorio, derivados conocidos y especies de las cuales se los ha aislado. La presentación se hace en base a los esqueletos indicados por las fórmulas (III) a (VIII).

ARBCRANO.-

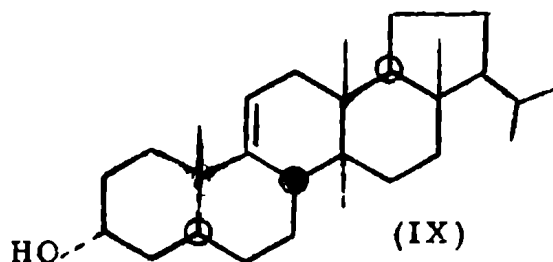
Arborinol (IX) (3 α -hidroxi-arbora-9(11)-eno). C₃₀H₅₀O.

P.f. 274-274,5° C; [α]_D 34.2°

Acetato: p.f. 242-243° C; [α]_D
+ 12.7°

Arborinona: p.f. 214-214.5° C; [α]_D
+ 28.8°

Arboreno: p.f. 247-247,5° C; [α]_D
+ 52.5°



Ha sido aislado de Glycosmis arborea (3) (rutácea). Su estructura fue definitivamente aclarada por estudios de espectroscopía de

rayos X (4,5).

Is Arborinol (3 β -hidroxi-arbora-9(11)-eno). C₃₀H₅₀O.

P.f. 294-294.5° C; [α]_D +47.0°

Acetato: p.f. 287-288° C; [α]_D + 56.0°.

Es el epímero en C₃ del arborinol (IX) por lo cual su denominación correcta debiera ser epi-arborinol

También ha sido aislado de Glycosmis arborea (3) (rutácea) y de Zoysia japonica, Imperata cylindrica (6) (gramíneas)

Cilindrina (3 β -metoxi-arbora-9(11)-eno). C₃₁H₅₂O.

P.f. 269-270° C; [α]_D +60.0°

Es el éter metílico del is Arborinol y se lo ha aislado de Zoysia japonica (6) y de Imperata cylindrica (7,8) (gramíneas).

HCPANCO.-

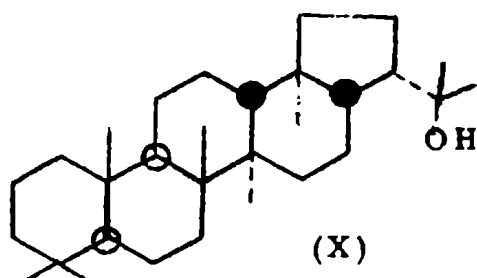
a) Compuestos con esqueleto de hopano inalterado.

Diploterol (X) (22-hidroxi-hopano). C₃₀H₅₂O.

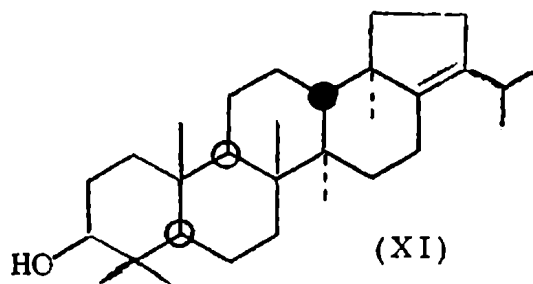
p.f. 254-256° C; [α]_D +44.0°

Diploteno: p.f. 196.5-198.5° C

Aislado de Dyploterigium glaucum (Gleichenia glauca) (9,10) (gleicheniácea).

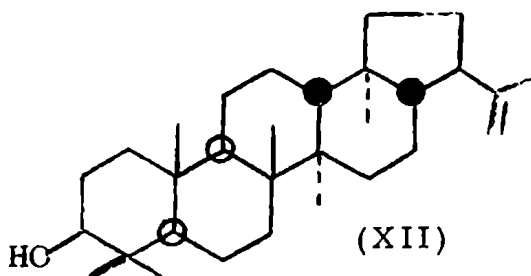


3 β -hidroxi-hop-17(21)-eno (XI). C₃₀H₅₀O.
 P.f. 228-229° C; $[\alpha]_D^{20} +45.3^\circ$
 Acetato: p.f. 258-262° C; $[\alpha]_D^{20} +55.4^\circ$
 Aislado, junto con su acetato, de
Quercus championi (11) (fagácea).



b) Compuesto con esqueleto de isohopano (21 α H).

Moretenol (XII) (3 β -hidroxi-isohop-22(29)-eno). C₃₀H₅₀O.
 P.f. 236-236.5° C; $[\alpha]_D^{20} +27.0^\circ$
 Acetato: p.f. 283-285° C; $[\alpha]_D^{20} +24.0^\circ$
 Moretenona: p.f. 202-204° C; $[\alpha]_D^{20} +54.0^\circ$
 Moreteno: p.f. 202-204° C; $[\alpha]_D^{20} +24.0^\circ$
 Moretanol: p.f. 225-227° C; $[\alpha]_D^{20} +10.0^\circ$
 Moretanona: p.f. 190-192° C; $[\alpha]_D^{20} +33.0^\circ$
 Moretano: p.f. 192-194° C; $[\alpha]_D^{20} +20.0^\circ$
 Ha sido aislado de Ficus macrophylla (12) (morácea)

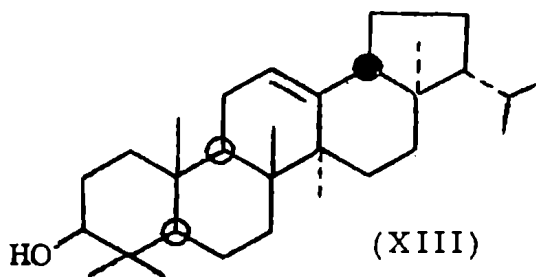


c) Compuestos con esqueleto de hopano reordenado.

i) Derivados de E-friedo.-

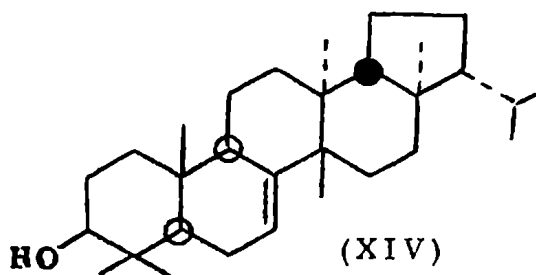
Neomotioli (XIII) (3 β -hidroxi-E-friedo-hop-12-eno).

C₃₀H₅₀O.
 P.f. 228° C; $[\alpha]_D^{20} -24.0^\circ$
 Acetato: p.f. 234° C; $[\alpha]_D^{20} -24.0^\circ$
 Neomotienona: p.f. 211° C; $[\alpha]_D^{20} +50.0^\circ$
 Neomotieno: p.f. 168-169° C; $[\alpha]_D^{20} -54^\circ$
 Ha sido aislado de Rhododendron linearifolium (13) (ericácea).



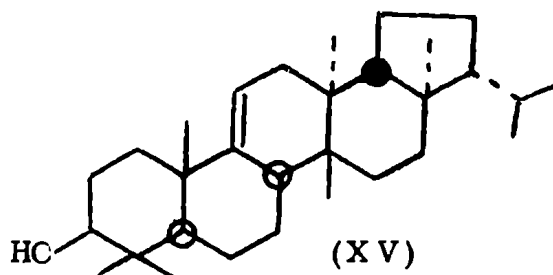
Motioli (XIV) (3 β -hidroxi-E-friedo-hop-7-eno). C₃₀H₅₀O.

P.f. 218° C; $[\alpha]_D^{20} -44.0^\circ$
 Acetato: p.f. 247° C; $[\alpha]_D^{20} -3.0^\circ$
 Motienona: p.f. 218° C
 Motieno: p.f. 208° C; $[\alpha]_D^{20} -27.0^\circ$
 Fue aislado de Rhododendron linearifolium (13,14) (ericácea).



ii) Derivados de E:C-friedo-(fernano).

Fernenol (XV) (3 β -hidroxi-E:C-friedo-hop-9(11)-eno).



$C_{30}H_{50}O$.

P.f. 194° C; $[\alpha]_D^{20} -24.0^\circ$

Acetato: 215-216° C; $[\alpha]_D^{20} -10.0^\circ$

Fernenona: p.f. 187-188° C; $[\alpha]_D^{20} -43.2^\circ$

Se ha aislado de Artemisia vulgaris (15) (compuesta) y de Imperata cylindrica (6) (gramínea).

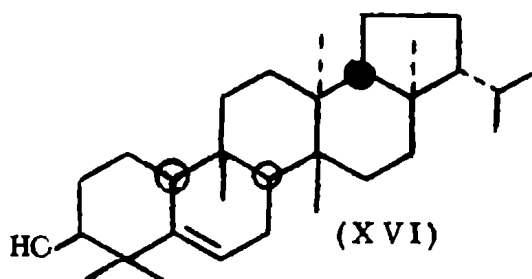
Arundofina (3 β -metoxi-E:C-friedo-hop-9(11)-eno). $C_{31}H_{52}O$.

P.f. 235-237° C (y 271-273° C); $[\alpha]_D^{20} -5.3^\circ$

Es el metil éter del fernenol (XV). Ha sido aislado de Cortaderia toetoe (Arundo conspicua) (16, 17, 18), C. richardii (18), C. fulvida (18), Imperata cylindrica (6, 7, 8), y de Saccharum officinarum (19) (gramíneas).

iii) Derivados de E:B-friedo.-

Simiarenol (XVI) (3 β -hidroxi-E:B-friedo-hop-5-eno).



$C_{30}H_{50}O$.

P.f. 209-210° C; $[\alpha]_D^{20} +50.8^\circ$

Acetato: p.f. 209° C; $[\alpha]_D^{20} +73.9^\circ$

Benzoato: p.f. 197° C; $[\alpha]_D^{20} +77.8^\circ$

Simiarenona: p.f. 207-208° C; $[\alpha]_D^{20} +24.0^\circ$

Isosimiarenol ($\Delta^5(10)$): p.f. 225-228° C; $[\alpha]_D^{20} -39.0^\circ$

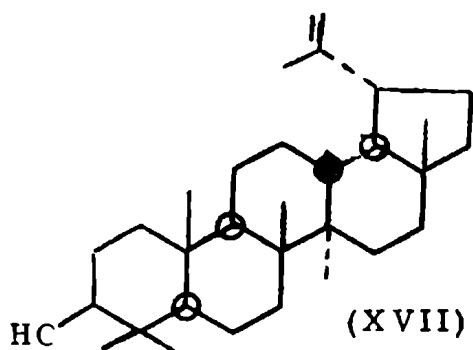
Simiaren-3 α -ol: p.f. 191-195° C; $[\alpha]_D^{20} +46.8^\circ$

Aislado de Rhododendron simiarum (20, 21, 22) (ericácea) y de Imperata cylindrica (6) (gramínea).

LUPANO.-

a) Compuestos con esqueleto de lupano inalterado.

Lupeol (XVII) (3 β -hidroxi-lup-20(29)-eno). $C_{30}H_{50}O$.



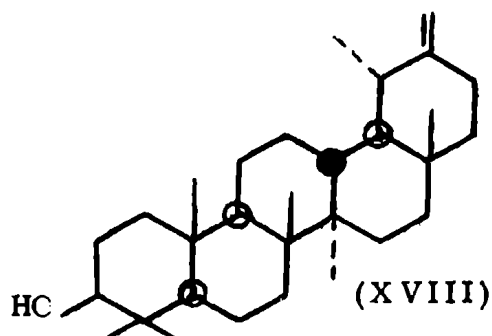
P.f. 215° C; $[\alpha]_D^{25} + 27.0$
 Acetato: p.f. 220° C; $[\alpha]_D^{25} + 47.00$
 Benzoato: 273-274° C; $[\alpha]_D^{25} + 61.00$
 Lupenona: p.f. 170° C; $[\alpha]_D^{25} + 63.10$
 Se ha aislado de diferentes especies de leguminosas, moráceas, sapotáceas, rutáceas, apocináceas, lináceas, rosáceas, etc. (23).

Epi-lupeol (3 α -hidroxi-lup-20(29)-eno). C₃₀H₅₀O.

P.f. 203° C; $[\alpha]_D^{25} + 17.00$
 Acetato: p.f. 161-161.5° C; $[\alpha]_D^{25} - 3.00$
 Lupenona: p.f. 165.5-167.5° C; $[\alpha]_D^{25} + 58.40$
 Lupanona: p.f. 201-204° C; $[\alpha]_D^{25} + 17.50$
 Es el epímero en C₃ del lupeol (XVII). Ha sido aislado de Bursera bipinnatum, B. sessiflorum, B. jorullense, B. galleotarium (24) (bursáceas) y de Glochidion hohenaekeri (25) (euphorbiácea).

b) Compuestos con esqueleto de lupano reordenado (taraxastano).

Taraxasterol (XVIII) (3 β -hidroxi-taraxast-20(30)-eno). C₃₀H₅₀O.



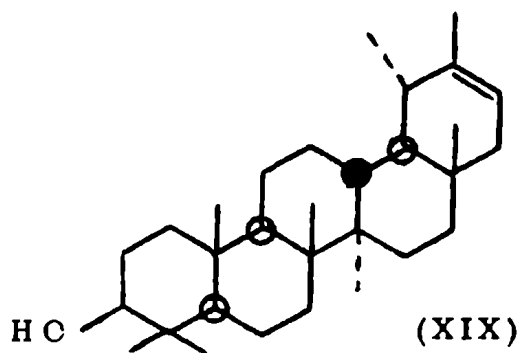
P.f. 226-227° C; $[\alpha]_D^{25} + 1080$
 Acetato: p.f. 255-256° C; $[\alpha]_D^{25} + 1000$
 Benzoato: p.f. 260-262° C; $[\alpha]_D^{25} + 1110$
 Taraxasterona: p.f. 184-185° C; $[\alpha]_D^{25} + 1320$

Aislado de Lactuca virosa (26, 27), Taraxacum officinale (28, 29, 30), Anthemis nobilis (31), Lactuca sativa (29), Andryala canariensis

(32). Eupatorium cannabinum (33) (el taraxasterol se aisló de esta planta como palmitato) (compuestas) y de Euphorbia tirucalli (34) (euphorbiácea).

Estudios de Ruzicka y colaboradores (35, 36) y de Ames y colaboradores (37) llevaron a la determinación total de la estructura de este terpeno.

Ψ-taraxasterol (XIX) (3 β -hidroxi-taraxast-20-eno) (C₃₀H₅₀O).



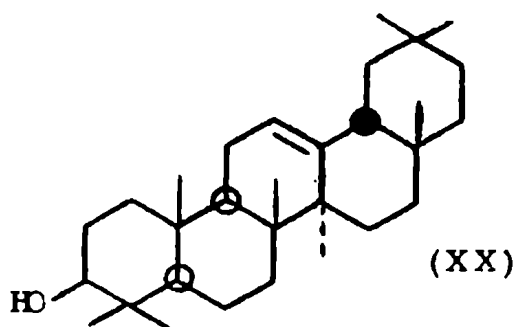
P.f. 219-221° C; $[\alpha]_D^{20} +45.0^\circ$
 Acetato: p.f. 238-240° C; $[\alpha]_D^{20} +56.0^\circ$
 Benzoato: p.f. 273-275° C; $[\alpha]_D^{20} +75.0^\circ$
 Ψ -taraxasterona: p.f. 174-175° C; $[\alpha]_D^{20} +81.5^\circ$
 Ψ -taraxastereno: p.f. 182-184° C; $[\alpha]_D^{20} +50^\circ$

Se aisló de Taraxacum officinale (30), Andryala canariensis (32) (compuestas) y de Canarium commune (manila elemi) (38) (bursácea). Su estructura fue determinada por Ames y colaboradores (37).

CLEANANO.-

a) Compuestos con esqueleto de oleanano inalterado.

β -amirina (XX) (3 β hidroxiolean-12-eno). C₃₀H₅₀O.



P.f. 197-197.5° C; $[\alpha]_D^{20} +88.4^\circ$
 Acetato: p.f. 241° C; $[\alpha]_D^{20} +81.4^\circ$
 β -amirenona: p.f. 168° C; $[\alpha]_D^{20} +105.6^\circ$
 Metil éter: p.f. 247-248° C; $[\alpha]_D^{20} +98.0^\circ$

Se halla en la naturaleza (a menudo junto a la α -amirina) en bursáceas, compuestas, rutáceas, moráceas, sapotáceas, apocináceas,

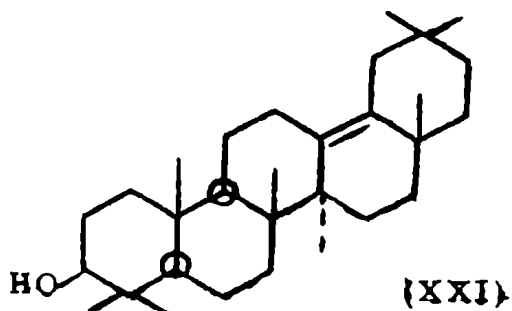
asclepiadáceas y otras familias (23). Ha sido aislada también como acetato de Quercus championi (11) (fagácea).

Isosawamilletina (3 β -metoxiolean-12-eno), C₃₁H₅₂O.

P.f. 248-250° C; $[\alpha]_D^{20} +98.0^\circ$

Es el éter metílico de la β -amirina (XX). Ha sido aislado de Cortaderia toetoe (Arundo conspicua) (16, 17, 18) (gramíneas), y fue sintetizado por primera vez a partir del alcohol por Morice y Simpson (39).

δ -amirina (XXI) (3 β -hidroxiolean-13(18)-eno). C₃₀H₅₀O.

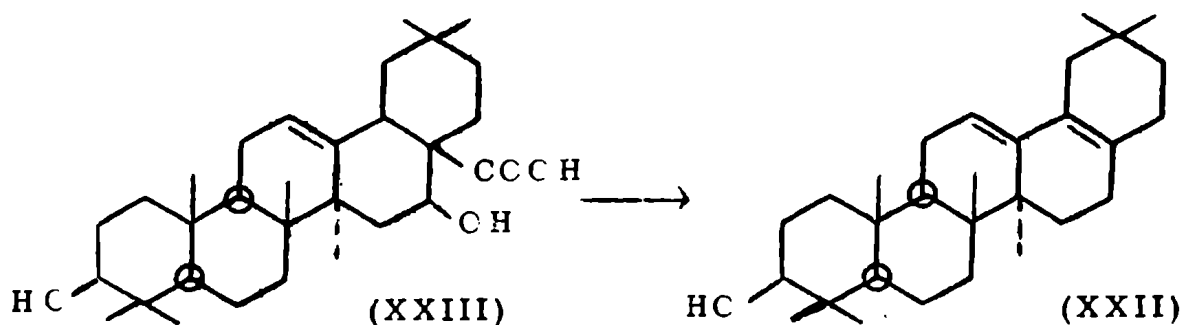


P.f. 213-213.5° C; $[\alpha]_D^{20} +52.0^\circ$
 Acetato: p.f. 208.5-209.5° C; $[\alpha]_D^{20} -35.0^\circ$
 Benzoato: p.f. 224-225° C; $[\alpha]_D^{20} -8.0^\circ$
 δ -amirenona: p.f. 203° C; $[\alpha]_D^{20} +10.0^\circ$

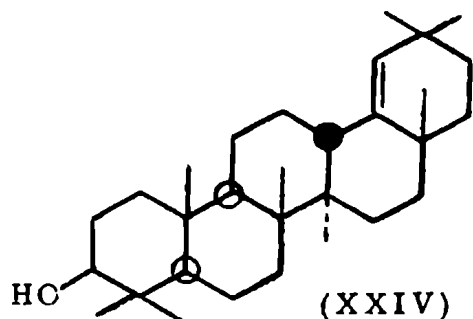
Ha sido aislada por vez primera de Spartium junceum (40) (leguminosa).

Aegiceradienol (XXII) (3 β -hidroxi-28-nor-olean-12,17-dieno)C₂₉H₄₆O: p.f. 185-186° C; $[\alpha]_D^{25} + 74.0^\circ$ Acetato: p.f. 187-188° C; $[\alpha]_D^{25} + 62.0^\circ$ Benzoato: p.f. 229-231° C; $[\alpha]_D^{25} + 81.0^\circ$ Aegiceradienona: p.f. 121-123° C; $[\alpha]_D^{25} + 114.0^\circ$

Es el primer alcohol triterpenico natural de C₂₉ y ha sido aislado de Aegiceras majus (41) (mirsinácea). El empleo de condiciones acídicas fuertes en su aislamiento hace pensar que se pueda tratar de un "artefacto" (1). Ya habia sido obtenido anteriormente, por decarboxilación del ácido echi-nocístico (XXIII) por Noller y Carson (42):

Germanicol (XXIV) (3 β -hidroxi-olean-18-eno). C₃₀H₅₀O.P.f. 175° C; $[\alpha]_D^{25} + 23.0^\circ$ Acetato: p.f. 274-275° C; $[\alpha]_D^{25} + 20.0^\circ$ Benzoato: p.f. 265° C; $[\alpha]_D^{25} + 39.0^\circ$ Germanicona: p.f. 186° C; $[\alpha]_D^{25} + 39.3^\circ$

Ha sido aislado de Lactuca virosa (27) (compuesta), Euphorbia balsamifera (43, 44, 45) (euphorbiacea) y de Flindersia bourjotiana (46) (rutácea). La determinación de su estructura se debe fundamentalmente a los trabajos de S. David (47, 48, 49).

Epi-germanicol (3 α hidroxi-olean-18-eno). C₃₀H₅₀O.P.f. 221-222° C; $[\alpha]_D^{25} - 34.8^\circ$ Acetato: p.f. 134-135° C; $[\alpha]_D^{25} - 24.2^\circ$ Benzoato: p.f. 197-198° C; $[\alpha]_D^{25} + 3.8^\circ$ Germanicona: p.f. 189-189.5° C; $[\alpha]_D^{25} + 39.3^\circ$

Es el epímero en C₃ del germanicol (XXIV) y ha sido aislado por primera vez en la naturaleza de Euphorbia candellilla, variedad Luxurians (50) (euphorbiácea).

Miliacina (3β -metoxi-olean-18-eno). $C_{31}H_{52}O$.

P.f. $283^{\circ} C$; $[\alpha]_D^{20} + 8.0^{\circ}$

Oxido: p.f. $285-286^{\circ} C$; $[\alpha]_D^{20} + 52.3^{\circ}$

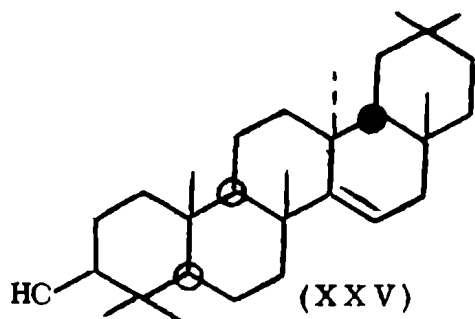
Isomiliacina ($\Delta^{13(18)}$): p.f. $189^{\circ} C$; $[\alpha]_D^{20} - 23.4^{\circ}$

Es el éter metílico del germanicol (XXIV). Ha sido aislado de Panicum miliaceum (51, 52) y de Syntherisma sanguinalis var. ciliaris Honda (53) (gramíneas). Su estructura fue determinada por S. Abe y colaboradores (52, 53, 54, 55).

b) Compuestos con esqueleto de oleanano reordenado.

i), Derivados de D-friedo - (taraxerano).

Taraxerol (XXV) (3β -hidroxi-D-friedo-olean-14-eno).



$C_{30}H_{50}O$.

P.f. $282-285^{\circ} C$; $[\alpha]_D^{20} + 0^{\circ}$

Acetato: p.f. $304-305^{\circ} C$; $[\alpha]_D^{20} + 9.0^{\circ}$

Benzoato: p.f. $292-293^{\circ} C$; $[\alpha]_D^{20} + 37.0^{\circ}$

Taraxerona: p.f. $240-241^{\circ} C$; $[\alpha]_D^{20} + 12.0^{\circ}$

Ha sido aislado de Alnus incana (56, 57, 58), Alnus glutinosa (59, 60), Alnus rubra (61), Alnus viridis (Alnaster fruticosus) (62)

(betuláceas), Skimmia japonica (63), (rutáceas), Litsea dealbata (64) (lauráceas), Ledum palustre (58), Rhododendron arboreum (65) (ericáceas), Quercus robur (66), Quercus sessilis (67) (fagáceas) y de Taraxacum officinale (30) (compuesta). La determinación de su estructura se debe a investigaciones efectuadas por Brooks (68, 69) y por Beaton y colaboradores (70, 71, 72).

Sawamilletina (3β -metoxi-D-friedo-olean-14-eno). $C_{31}H_{52}O$.

P.f. $278^{\circ} C$; $[\alpha]_D^{20} + 8.2^{\circ}$

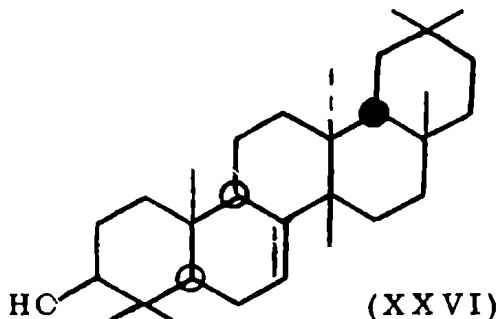
Oxido: p.f. $218.5-219.5^{\circ} C$.

Isosawamilletina: p.f. $247-248^{\circ} C$; $[\alpha]_D^{20} + 92.0^{\circ}$

Es el éter metílico del taraxerol (XXV) y ha sido aislado de Echinocloa crusgalli (73, 74) y de Saccharum officinarum (19) (gramíneas). Su estructura fue determinada por Obara y Abe (75, 76).

ii) Derivado de D:C-friedo - (multiflorano).

Multifloreol (XXVI) (3β -hidroxi-D:C-friedo-olean-7-eno).



$C_{30}H_{50}O$.

P.f. $188-190^{\circ} C$; $[\alpha]_D^{20} - 28.0^{\circ}$

Acetato: p.f. $227-228^{\circ} C$; $[\alpha]_D^{20} + 0^{\circ}$

Benzoato: p.f. $217-218^{\circ} C$; $[\alpha]_D^{20} + 27.0^{\circ}$

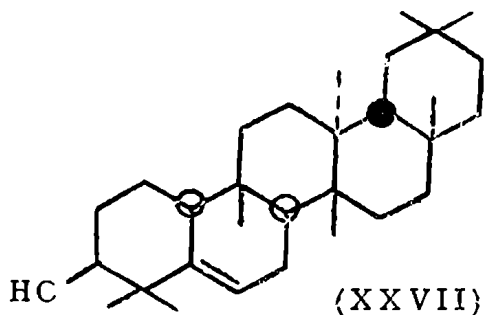
Multifloreona: p.f. $148-150^{\circ} C$; $[\alpha]_D^{20} - 60.0^{\circ}$

Multifloreol: p.f. $138-141^{\circ} C$; $[\alpha]_D^{20} - 20.0^{\circ}$

Ha sido aislado de Gelonium multiflorum (77, 78) (euforbiácea).

iii) Derivados de D:B-friedo-(glutano)

Glutinol (XXVII) (3 β -hidroxi-D:B-friedo-olean-5-eno).



$C_{30}H_{50}O$.

P. f. 205-207° C; $[\alpha]_D^{20} + 60.00$

Acetato: p. f. 188-190° C; $[\alpha]_D^{20} + 81.00$

Glutinona: p. f. 240-241.5° C; $[\alpha]_D^{20} + 23.00$

Glutineno: p. f. 226° C; $[\alpha]_D^{20} - 30.00$

Se ha aislado de Alnus glutinosa (60) (betulácea), Quercus robur (79) (fagácea), Euphorbia royleana (80), Euphorbia cyparissias (81) (euforbiáceas) y de Salvia

glutinosa (82) (labiada).

Epi-glutinol (3 α -hidroxi-D:B-friedo-olean-5-eno).

$C_{30}H_{50}O$.

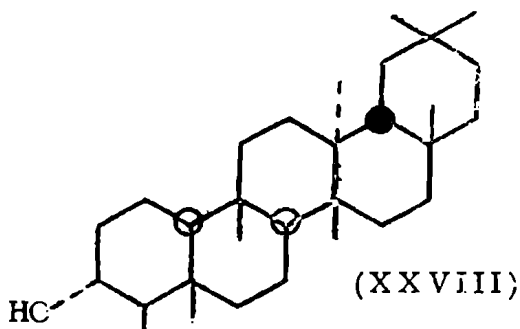
P. f. 198-201° C

Acetato: p. f. 233-237° C

Es el epímero en C₃ del glutinol (XXVII) y también se lo ha aislado de Euphorbia cyparissias (81) (euforbiácea).

iiii) Derivados de D:A-friedo-.

Friedelinol (XXVIII) (3 α -hidroxi-D:A-friedo-oleanano).



$C_{30}H_{52}O$.

P. f. 293-299.5° C; $[\alpha]_D^{20} + 10.00$

Acetato: p. f. 310-312° C; $[\alpha]_D^{20} - 11.00$

Benzoato: p. f. 245-246° C; $[\alpha]_D^{20} - 13.00$

Friedelina (cetona): p. f. 253-253° C; $[\alpha]_D^{20} - 23.00$

Este alcohol fue aislado de Quercus robur (79, 83) (fagácea) y de Balanops australiana (84) (balanopsidácea).

Epi-friedelinol (3 β -hidroxi-D:A-friedo-oleanano). $C_{30}H_{52}O$.

P. f. 279-283° C; $[\alpha]_D^{20} + 24.00$

Acetato: p. f. 290-294° C; $[\alpha]_D^{20} + 45.00$

Benzoato: p. f. 254-257° C; $[\alpha]_D^{20} + 40.00$

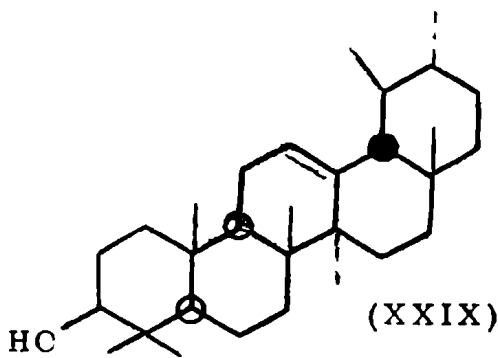
Es el epímero en C₃ del friedelinol (XXVIII) y se lo ha aislado, como alcohol y como acetato, de Balanops australiana (84) (balanopsidácea), Ceratopetalum apetalum (85)

(líquen, cunoniácea), Cetraria nivalis (86) (líquen, parmeliácea), Rhododendron westlandi (87), Rhododendron cinnamomeum (88) (ericáceas), Eugenia jambolana (89) (mirtácea) y de carbón Bohemia (90)

URSANO.-

a) Compuestos con esqueleto de ursano inalterado.

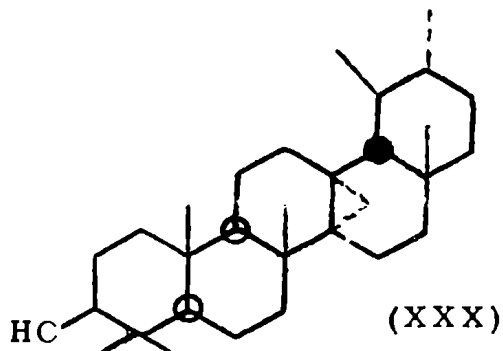
α-amirina (XXIX) (3β-hidroxi-ursa-12-eno). C₃₀H₅₀O.



P. f. 186° C; $[\alpha]_D^{20} + 83.0^\circ$
 Acetato: p. f. 225-226° C; $[\alpha]_D^{20} + 77.0^\circ$
 Benzoato: p. f. 194° C; $[\alpha]_D^{20} + 94.6^\circ$
 α-amirenona: p. f. 125-126° C;
 $[\alpha]_D^{20} + 119.0^\circ$

Es un triterpeno ampliamente distribuido en el reino vegetal. Se lo ha aislado de bursáceas, rutáceas, moráceas, sapotáceas, asclepiadáceas, etc. (como alcohol y como acetato) (23).

Phyllanthol (XXX) (3β-hidroxi-13α: 27α-ciclo-ursano).



C₃₀H₅₀O.
 P. f. 233-234° C; $[\alpha]_D^{20} + 43.0^\circ$
 Acetato: p. f. 271° C; $[\alpha]_D^{20} + 50.0^\circ$
 Benzoato: p. f. 263-264° C; $[\alpha]_D^{20} + 57.0^\circ$
 Phyllanthona: p. f. 164-165° C;
 $[\alpha]_D^{20} + 52.0^\circ$
 Phyllanteno: p. f. 166-167° C;
 $[\alpha]_D^{20} + 46.0^\circ$

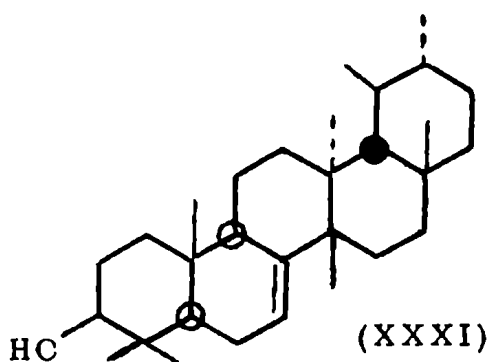
Es, en realidad, un triterpeno hexacíclico, pero se lo incluye dentro de los pentacíclicos por ser considerado derivado de éstos. Ha sido aislado de Phyllanthus engleri (91) y de Phyllanthus acidus (92) (euforbiáceas). La determinación de su estructura se debe a trabajos de investigación de de Mayo y Burton (93, 94).

b) Compuestos con esqueleto de ursano reordenado.

Derivados de D:C-friedo- (bauerano).

Bauerenol (XXXI) (3β-hidroxi-D:C-friedo-ursa-7-eno).

C₃₀H₅₀O.
 P. f. 207-208° C; $[\alpha]_D^{20} - 30.0^\circ$

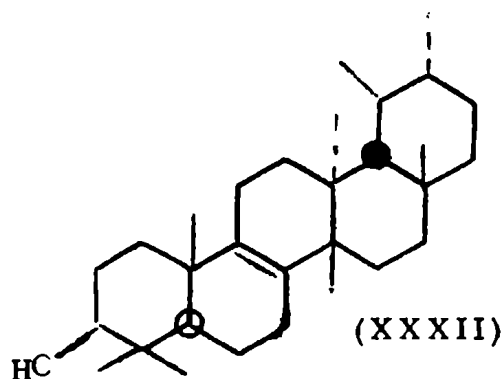


Acetato: p. f. 293-294° C; $[\alpha]_D^{20} + 3.7^\circ$

Benzoato: p. f. 260-261.5° C;
 $[\alpha]_D^{20} + 26.0^\circ$

Ha sido aislado de Kopsia longiflora (95) (apocinácea), Acronychia baueri (96) (rutácea) y de Gelonium multiflorum (78) (euforbiácea).

Isobauerenol (XXXII) (3β -hidroxi-D:C-friedo-ursa-8-eno) $C_{30}H_{50}O$.



P. f. 168-170° C; $[\alpha]_D^{20} + 45.0^\circ$
Acetato: p. f. 212-213° C; $[\alpha]_D^{20} + 44.0^\circ$
Isobauerenona: p. f. 184-185° C;

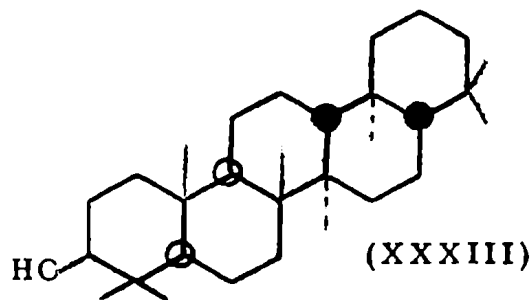
$[\alpha]_D^{20} + 76.5^\circ$
Isobauereno: p. f. 173-174° C;
 $[\alpha]_D^{20} + 37.0^\circ$

Eter metílico: p. f. 168-183° C;
 $[\alpha]_D^{20} + 49.2^\circ$

Aislado de Helietta longifoliata (97) (rutácea).

GAMMACERANO.-

Tetrahymanol (XXXIII) (3β -hidroxi-gammacerano). $C_{30}H_{52}O$.
P. f. 312.5-314.5° C.



Acetato: p. f. 303-305° C.

Tetrahymano (gammacerano): p. f. 290° C.

Se trata del primer triterpeno pentacíclico aislado de un protozario, Tetrahymena pyriformis (98). Su estructura fue determinada (99) por síntesis del hidrocarburo simétrico gammacerano (VIII)

el cual resultó ser idéntico al hidrocarburo obtenido por reducción de la tetrahymanona.

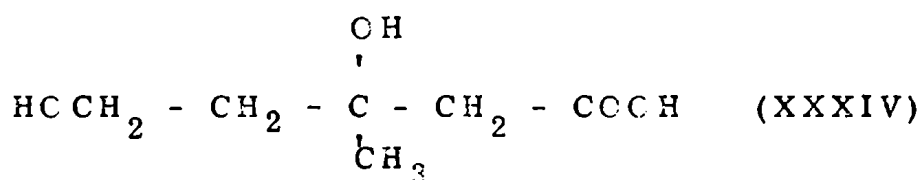
Fe de erratas: El motiol (XIV) (pág. 7) debe incluirse entre los derivados de E:C-friedo-(fernano) y su nombre correcto es 3β -hidroxi-E:C-friedo-hop-7-eno.

BIOGENESIS DE LOS TRITERPENOS * (100)

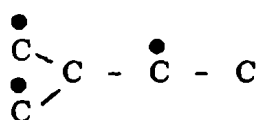
Una vez que se ha determinado la estructura y la configuración de un producto natural el problema que lógicamente surge es el de la biogénesis del mismo, es decir el modo en que el compuesto es sintetizado en la naturaleza.

De mucha utilidad, tanto para la determinación de sus estructuras, como para el estudio de la biogénesis de los triterpenos, ha sido la regla isoprénica, la cual establece que el esqueleto carbonado de los terpenos está compuesto por unidades isoprénicas dispuestas en un ordenamiento regular e irregular (regla isoprénica empírica) (101).

Experiencias de Bloch y colaboradores (102,103), en las cuales se suministraba acetato marcado a animales o se lo añadía al medio de incubación de cortes de tejidos, aislándose luego colesterol radioactivo, indicaron que el ácido acético era un precursor del esterol mencionado. Cuando se realizó este descubrimiento fue muy difícil de imaginar la secuencia de reacciones mediante las cuales se podía formar la compleja molécula del colesterol a partir de una sustancia tan sencilla como el ácido acético. Recién el descubrimiento (104) del ácido mevalónico (XXXIV), en 1956, permitió profundizar en esta importante cuestión.



La distribución de los átomos de carbono del acetato (XXXV) en el colesterol (XXXVII) muestra que en la molécula de este último se repite en tres lugares una unidad de cinco átomos de carbono, que contiene carbonos de metilos y carboxilos de acetato, en una estructura de isopentano:

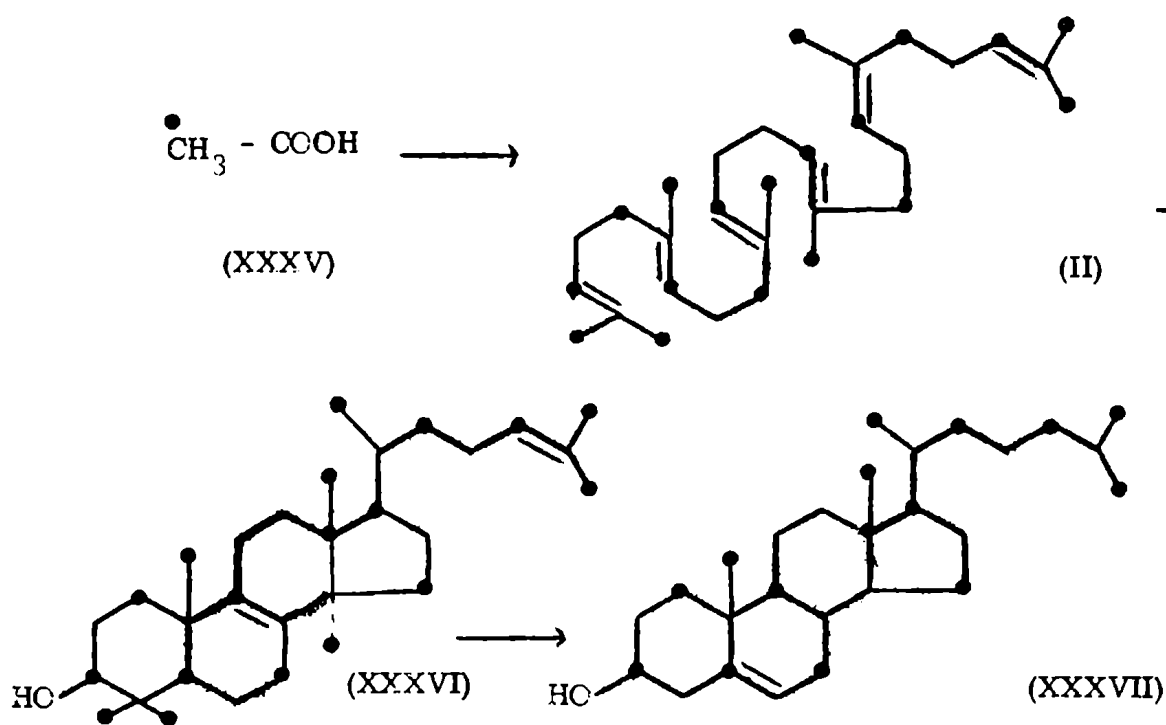


• C son carbonos provenientes del metilo del acetato.

* En el texto del presente capítulo se han de emplear las siguientes abreviaturas: P (fosfato); PP (pirofosfato); CoA (coenzima A); ATP (adenosina trifosfato); ADP (adenosina difosfato); NADPH (nicotinamido adenina dinucleótido fosfato reducido).

Esta es la llamada "unidad isoprénica". Este hecho fue reconocido por vez primera por Bloch (105), y lo llevó a resucitar la vieja hipótesis de que el escualeno era un intermediario en la biosíntesis de esteroides, lo cual había sido sugerido en 1926 por Heilbron y colaboradores (106), apoyados por experiencias de Channon (107), quien había hallado un aumento en el contenido de colesterol en ratas a las cuales había suministrado escualeno.

En 1932 Robinson (108) propuso la conformación que debería adoptar la molécula de escualeno para dar colesterol, previa eliminación de tres grupos metilo. Woodward y Bloch (109) reconocieron que la biogénesis del colesterol via escualeno podía explicarse suponiendo la formación de lanosterol (XXXVI) como intermediario. Esta suposición pudo ser confirmada pocos años después por Bloch (110) y por Cornforth y Popjak (111,112,113), mediante dos tipos de experiencias, empleando en unas acetato marcado con C^{14} en el metilo, y en otras con C^{14} en el carboxilo. En las fórmulas del esquema 1 los círculos negros representan los átomos de carbono provenientes del metilo del acetato. Las doce posiciones no marcadas indican que esos átomos de carbono proceden del carboxilo del acetato. En el caso del colesterol se comprobó por degradación (105,112,113) el origen de cada uno de sus veintisiete átomos de carbono,



Esquema 1

confirmándose la marcación predicha por la hipótesis escualeno-lanosterol. La suposición de que el colesterol se forma a partir de escualeno via lanosterol está prácticamente confirmada, ya que en determinadas experiencias se pudo comprobar que tanto escualeno como

lanosterol marcados daban origen a colesterol radioactivo (114, 115).

En su trabajo de 1953 Ruzicka (101) ya había señalado que también los tres tipos principales de triterpenos pentacíclicos conocidos hasta ese entonces, representados por lupeol (XVII), α -amirina (XXIX) y β -amirina (XX), podían derivarse del escualeno (esquema 9). El mismo Ruzicka, en base a muchos ejemplos de otros grupos de terpenos (mono-, sesqui- y diterpenos) sustituyó la regla isoprénica empírica por la biogenética, la cual no sólo define la estructura de los terpenos, sino que también describe una hipótesis biogenética para los mismos.

Como pocos años después se identificaron las unidades isoprénicas fundamentales, isopentenil y dimetilalil pirofosfatos (XXXVIII) y (L) (116, 117), se puede definir del siguiente modo la regla isoprénica biogenética (118):

"En la biogénesis de los terpenos se producen primeramente, a partir de unidades isoprénicas del tipo isopentenil y dimetilalil pirofosfatos, intermediarios alifáticos del tipo geraniol, farnesol, geraniogeraniol, escualeno, licoperseno y otros isoprenólogos, los cuales pueden luego ciclarse, reordenarse y modificarse de diversas formas".

La denominación "del tipo de" indica que pueden incluirse las formas trans y cis de los isoprenólogos intermediarios. También podrían participar los alcoholes terciarios isómeros, los cuales se hallan en equilibrio alílico con los primarios, como en los casos del linalool, nerolidol, etc.

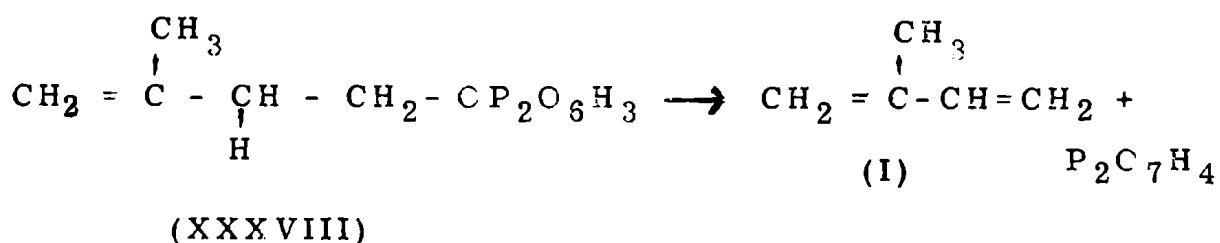
Todos los esqueletos terpénicos que se forman sin transposiciones ni otras modificaciones cumplen, lógicamente, la regla isoprénica empírica. Incluso muchos terpenos en los cuales han ocurrido transposiciones y otras modificaciones (como lupeol, α - y β -amirinas y otros) cumplen igualmente la regla empírica. Si no fuera éste el caso no hubiera podido tener vigencia durante tanto tiempo dicha regla. Otros terpenos formados por transposiciones y otras modificaciones no cumplen la regla isoprénica empírica (lanosterol, friedelina, etc.); ellos han llevado a la postulación de la regla biogenética.

El camino biogenético

La similitud de las estructuras de esteroides y triterpenos así como la formación de los mismos a partir de precursores comunes (ácido acético, ácido mevalónico) ha llevado a aceptar que también son comunes las etapas que llevan desde esos precursores sencillos hasta el escualeno. La mayor parte de las experiencias se han hecho en tejidos de animales y en microorganismos y sólo unas pocas en plantas superiores. Veremos primeramente los estudios realizados para conocer las etapas iniciales de la biosíntesis de esteroides y terpenos, y luego los trabajos sobre triterpenos de plantas.

Como un tributo a la visión del descubridor de la regla isoprénica, L. Ruzicka, en 1958 se identificó (116, 117) el

precursor común ("isopreno activo"), que en realidad es un isopreno disimulado: el isopentenil pirofosfato (XXXVIII), que por pérdida de ácido pirofosfórico daría isopreno (I):



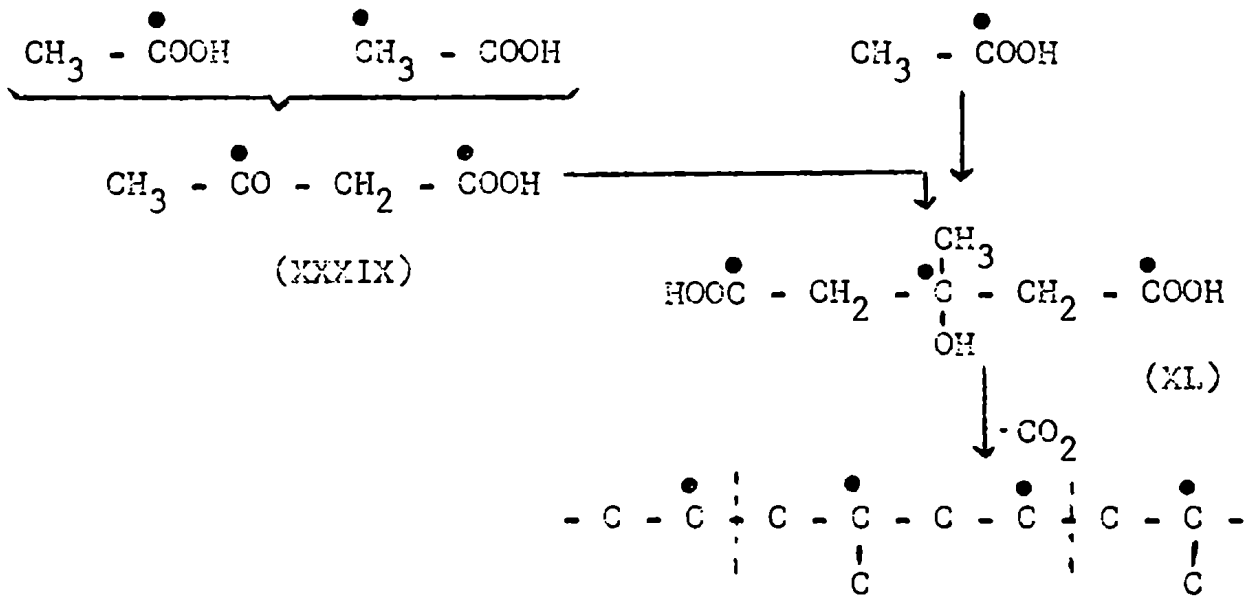
por más que esta reacción no participa en la biosíntesis de los terpenos y esteroides.

Las primeras experiencias con isótopos radioactivos fueron llevadas a cabo por Sonderhoff (119), quien suministró ácido trideuterioacético a células de levadura y halló que los esteroides de las mismas contenían deuterio. La muerte de Sonderhoff interrumpió estas experiencias y recién en la década del cincuenta Bloch (120) y Cornforth y Popják (111, 112, 113) realizaron experimentos que condujeron a la demostración de que los veintisiete átomos de carbono del colesterol provienen del ácido acético, y que la biosíntesis procede via escualeno (II)-lanosterol (XXXVI), con lo cual quedaban relacionados los problemas de la biogénesis de esteroides y triterpenos, es decir que la formación de los esteroides en animales y de los terpenos en plantas sigue, por lo menos hasta cierto punto, caminos paralelos.

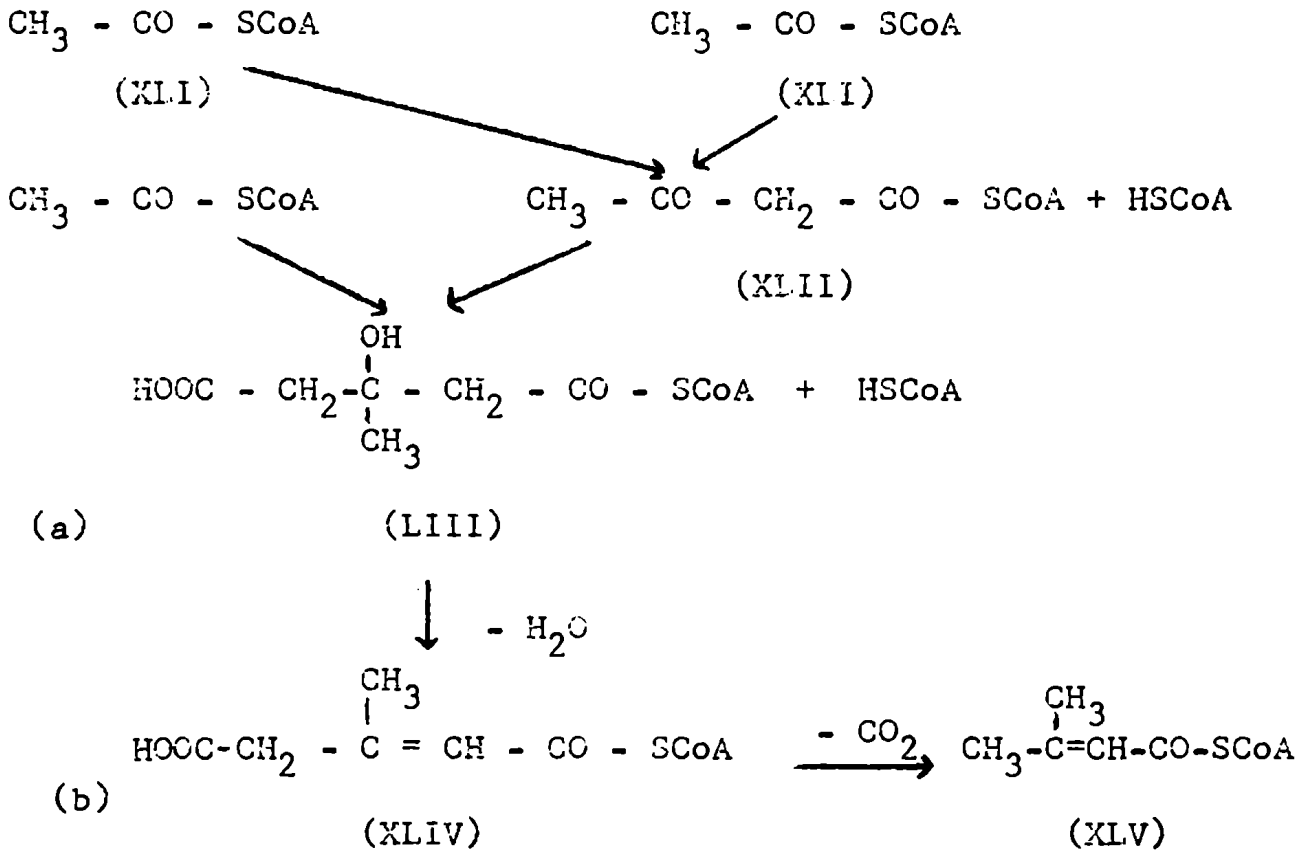
Los estudios de Bloch y de Cornforth y Popják acerca de la utilización de ácido acético marcado en el metilo y en el carboxilo fueron muy útiles en la elucidación del camino que sigue la conversión del acetato a terpenos. Estos experimentos mostraron que los carbonos del metilo y del carboxilo se alternan en el esqueleto del colesterol y del escualeno, mientras que los átomos de carbono de los grupos metilo provienen exclusivamente de los metilos del acetato (Esquema 1). Una distribución tal de los átomos de carbono es de esperar cuando la unidad de C₅ de los terpenos se forma a partir de tres moléculas de ácido acético, via ácido acetilacético (XXXIX) y descarboxilación del ácido β-hidroxi-β-metil-glutárico (XL) (120) (Esquema 2).

En base a su descubrimiento del llamado "acetato activo", la acetil coenzima A (121), Lynen propuso el curso hipotético de la reacción (122). La serie de reacciones de condensación postulada en ese esquema (Esquema 3a) que lleva de acetil CoA (XLI) a β-hidroxi-β-metil-glutaril-CoA (XLIII) fueron confirmadas posteriormente en forma experimental empleando enzimas purificadas obtenidas de hígado de mamíferos y de levaduras (123, 124).

Además, como los estudios con átomos marcados, de Bloch y de Cornforth y Popják, habían mostrado que la eliminación



Esquema 2



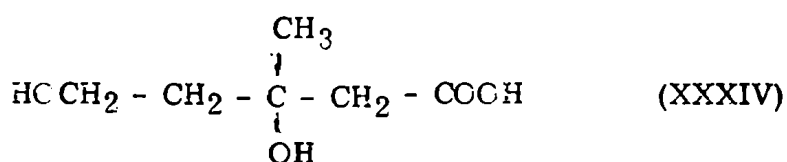
Esquema 3

de un grupo carboxilo en forma de CO_2 , acompaña a la conversión del ácido β -hidroxi- β -metil-glutárico (XL) a politerpenos, era una suposición razonable el que el precursor de C_5 podía ser la β -metil-crotonil-CoA (XLV).

Este compuesto puede formarse a partir de la β -hidroxi- β -metil-glutaril-CoA (XLIII) por eliminación de agua para dar β -metil-glutaconil-CoA (XLIV), seguida de descarboxilación (Esquema 3b).

En realidad, en muchos organismos se halla que la β -hidroxi- β -metil-glutaril-CoA (XLIII) se transforma en β -metil-crotonil-CoA (XLV) como se formulara en el Esquema 3. Sin embargo, esta conversión no participa en la formación de terpenos a partir de β -hidroxi- β -metil-glutaril-CoA.

El camino correcto fue descubierto en experiencias que no tenían relación directa con el problema de la biosíntesis de terpenos. La búsqueda de factores de nutrición desconocidos ha sido uno de los problemas más apasionantes de la bioquímica. Trabajando en este campo, Folkers y colaboradores (104) descubrieron un nuevo factor nutritivo para el Lactobacillus acidophilus, que agregado en muy pequeñas cantidades al medio de cultivo podía reemplazar al ácido acético requerido para el crecimiento. El principio activo se pudo aislar de residuos de destilería que contenían levaduras y fue identificado como el ácido 3,5-dihidroxi-3-metilvalérico, o ácido mevalónico (XXXIV):

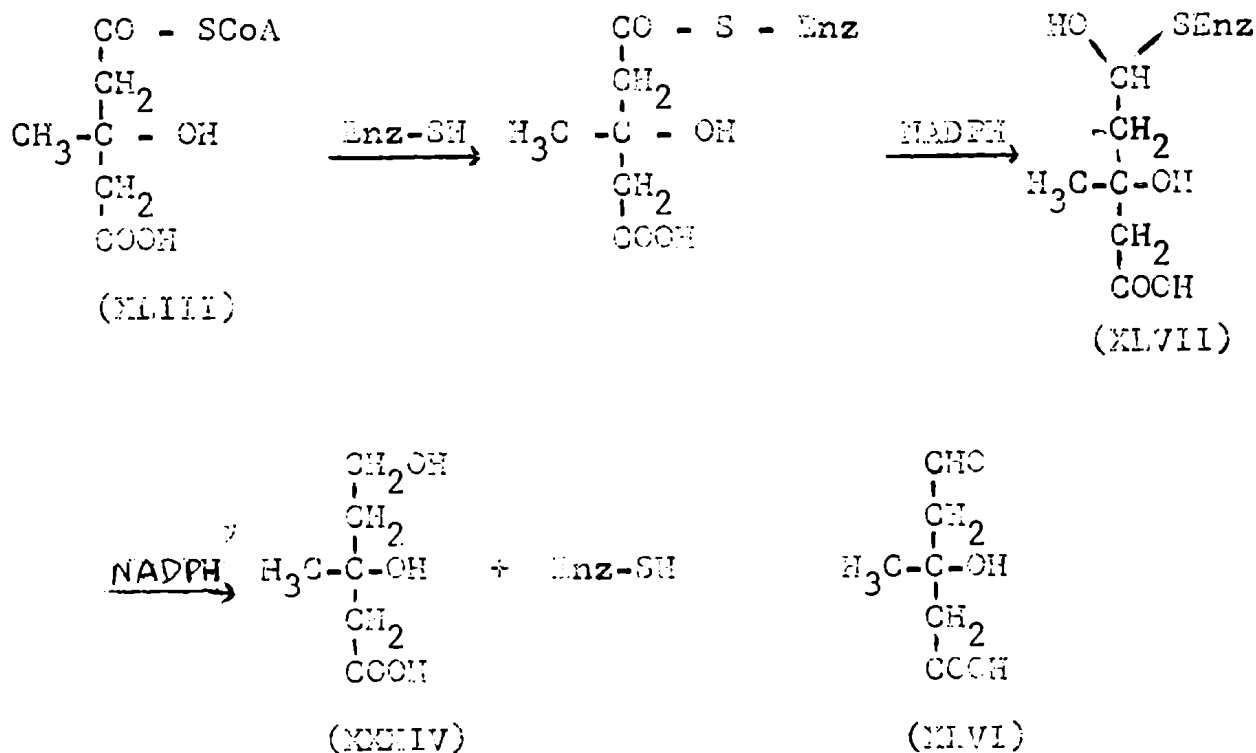


Tavormina y colaboradores (125) mostraron que extractos de hígado de células, eran capaces de incorporar ácido mevalónico radioactivo a colesterol, y posteriormente apareció una apreciable cantidad de publicaciones en las cuales se describía la incorporación de ácido mevalónico a escualeno (126,127), mono y triterpenos cíclicos (128,129), goma (130), etc. Ya no había duda de que se había hallado el puente entre el ácido acético y el "isopreno activo". Comparando las fórmulas estructurales de la β -hidroxi- β -metil-glutaril CoA (XLIII) y del ácido mevalónico (XXXIV) se observa que ambos contienen el mismo esqueleto carbonado y que sólo difieren en su estado de oxidación. Durr y Rudney (131) y Lynen y colaboradores (132), trabajando en forma separada e independiente, demostraron la reducción enzimática de la β -hidroxi- β -metil-glutaril-CoA a ácido mevalónico, por acción de extractos de hígado y de levadura.

El camino indicado en el esquema siguiente (Esquema 4)

ha sido aceptado como la ruta de biosíntesis de ácido mevalónico en levaduras y tejidos de mamíferos y ha sido discutido en detalle por Cornforth y Popják (133). Las evidencias indican una reducción del hidroximetilglutarato a mevalonato, la cual es reversible con dificultad, hecho que ayuda a la eficiente utilización del mevalonato en la síntesis de terpenos y esteroides. El ácido meváldico (XLVI), a pesar de ser reducido por una reductasa específica a ácido mevalónico (134) no parece ser un intermediario en el camino biogénico (131); en su lugar se ha postulado un intermediario unido a una enzima (XLVII), en un estado de oxidación equivalente al del ácido meváldico (133).

Además de estas investigaciones que explican la formación de ácido mevalónico a partir de acetil-CoA, diversos grupos de trabajo se ocuparon de la posterior conversión del mevalonato en colesterol y/o escualeno, la cual requiere ATP, Mg⁺⁺ y NADPH (133). Mediante experiencias con ácido mevalónico-1-C¹⁴ Tavormina y Gibbs (135) mostraron que el grupo



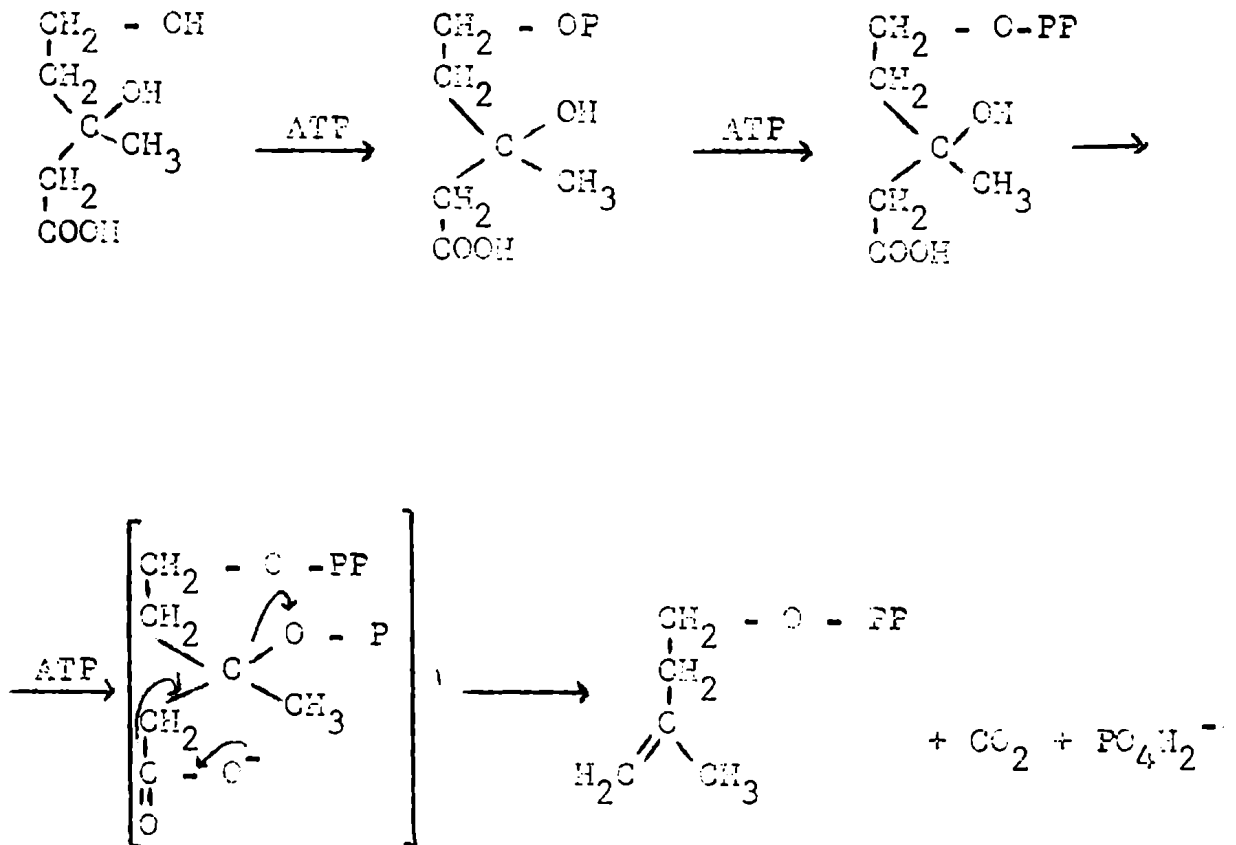
Esquema 4

carboxilo era eliminado como CO₂, incorporándose los cinco átomos de carbono restantes al escualeno y colesterol.

En la actualidad ya se conoce en forma más concreta el camino que sigue la síntesis de terpenos a partir de ácido

mevalónico. Trataremos de resumir brevemente los resultados obtenidos.

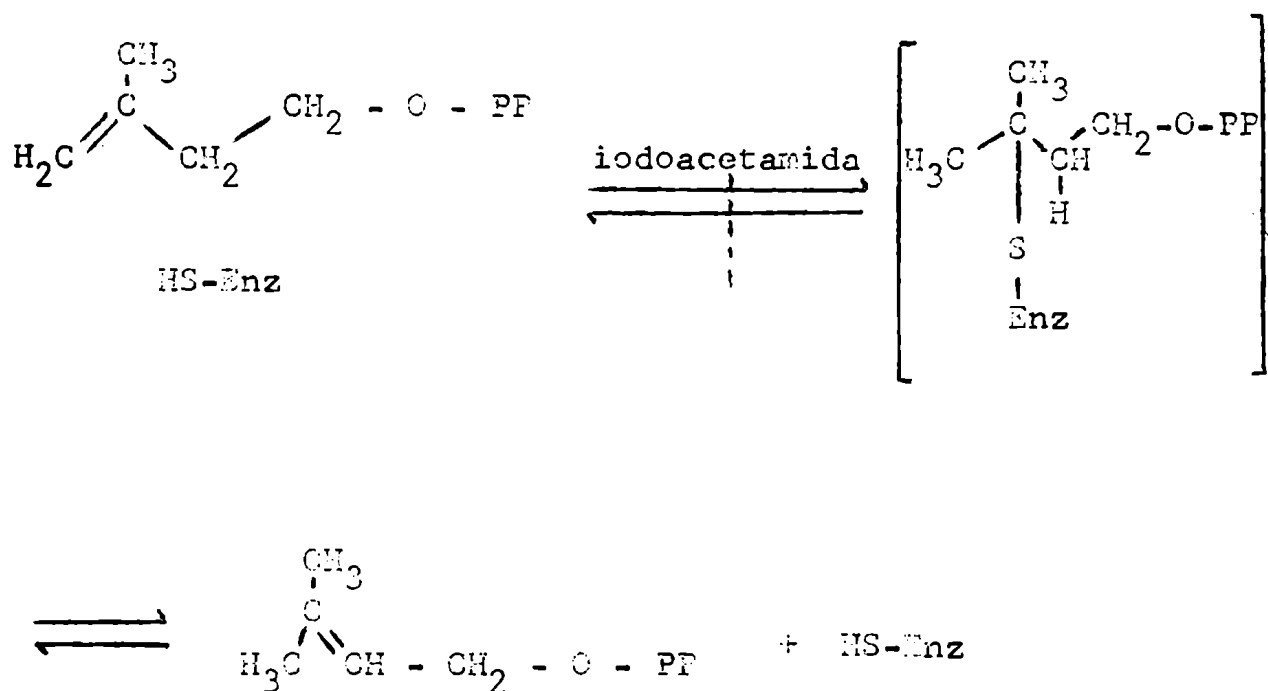
El ácido mevalónico se transforma en su éter fosfórico en C-5 (XLVIII) (136, 137) y luego en el pirofosfato (XLIX) (116, 117, 138, 139, 140): Posteriormente ocurre una deshidratación y una descarboxilación simultánea del último compuesto. La reacción requiere ATP, y cuando se la efectuó en agua tritiada no se halló tritio en el producto de la reacción, razón por la cual Bloch (139) propuso un mecanismo concertado para la misma:



El ácido pirofosfomevalónico (XLIX) podría fosforilarse sobre el hidroxilo terciario ocurriendo luego una eliminación concertada de fosfato y CO_2 , produciendo isopentenil pirofosfato (XXXVIII). Bloch confirmó este mecanismo en experiencias con ácido mevalónico marcado con O^{18} (141); en las mismas, el O^{18} unido al C-3 se halló en el fosfato liberado.

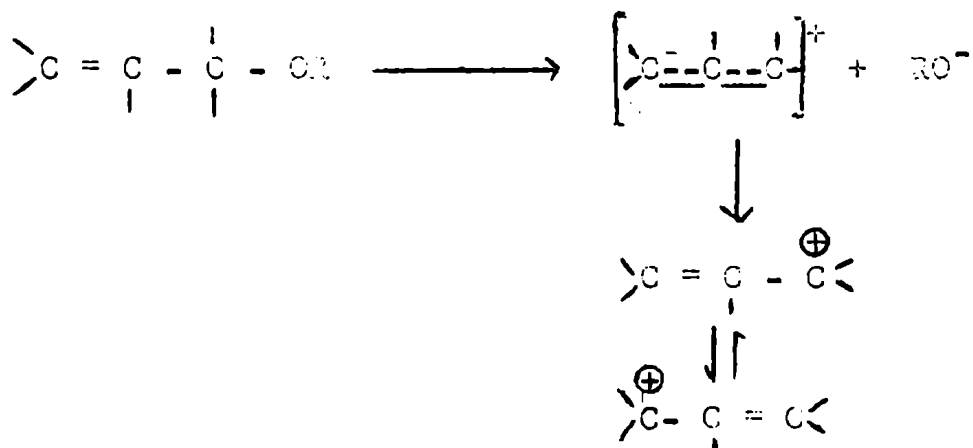
El proceso de formación de la cadena carbonada se inicia con la isomerización del isopentenil pirofosfato (el "Isopreno activo") a α, γ -dimetilalil pirofosfato (L), por una transposición del doble enlace. Como la isomerasa es inhibida por iodacetamida, un veneno de grupos sulf-hidrilo, el centro activo de la enzima comprende probablemente un grupo tal. Se supone que la isomerización resulta de una adición de la

enzima al doble enlace del isopentenil pirofosfato (117):

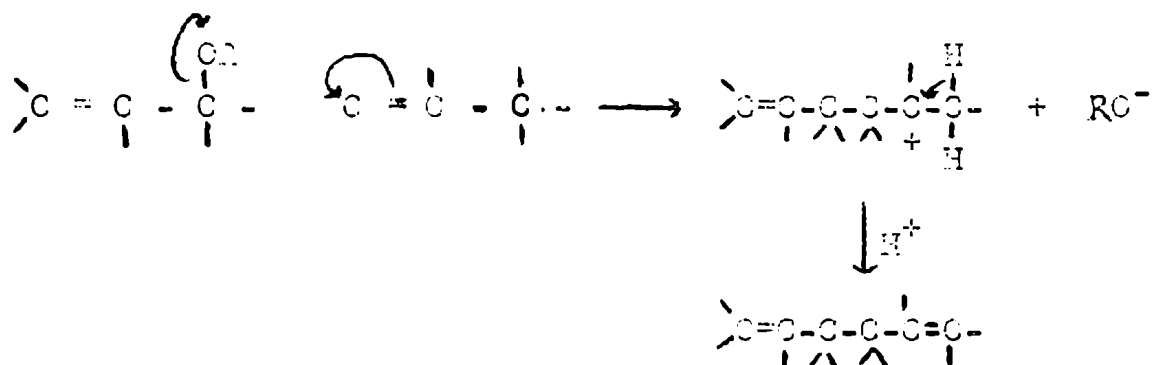


La reacción catalizada por la isomerasa es reversible y la mezcla de equilibrio contiene 93 % del dimetilalil pirofosfato y 7% del isopentenil pirofosfato. Que la isomerasa juega un papel fundamental en la biosíntesis de politerpenos está demostrado por el hecho de que la síntesis de escualeno a partir de fosfomevalonato, en extractos de levadura, se interrumpe en la etapa de isopentenil pirofosfato cuando se agrega iodoacetamida a la mezcla de reacción. Para confirmar que esta interrupción se debe sólo a la inhibición de la isomerasa se realizaron experiencias con δ, γ -dimetilalil pirofosfato sintético, el cual añadido a la mezcla de reacción con el extracto enzimático inhibido hace que éste recupere su capacidad para formar escualeno (142).

El dimetilalil pirofosfato tiene propiedades en común con otras sustancias en las cuales un átomo de halógeno, un hidroxilo o un hidroxilo esterificado, p.ej. con ácido pirofosfórico, se halla en posición α a un doble enlace. Es fácil que ocurra una eliminación en este tipo de sustancias, particularmente en el caso de un éster pirofosfórico pues el anión pirofosfato es fácilmente desplazable, ya que la especie deficiente en electrones resultante se estabiliza parcialmente por resonancia entre dos formas equivalentes (143):

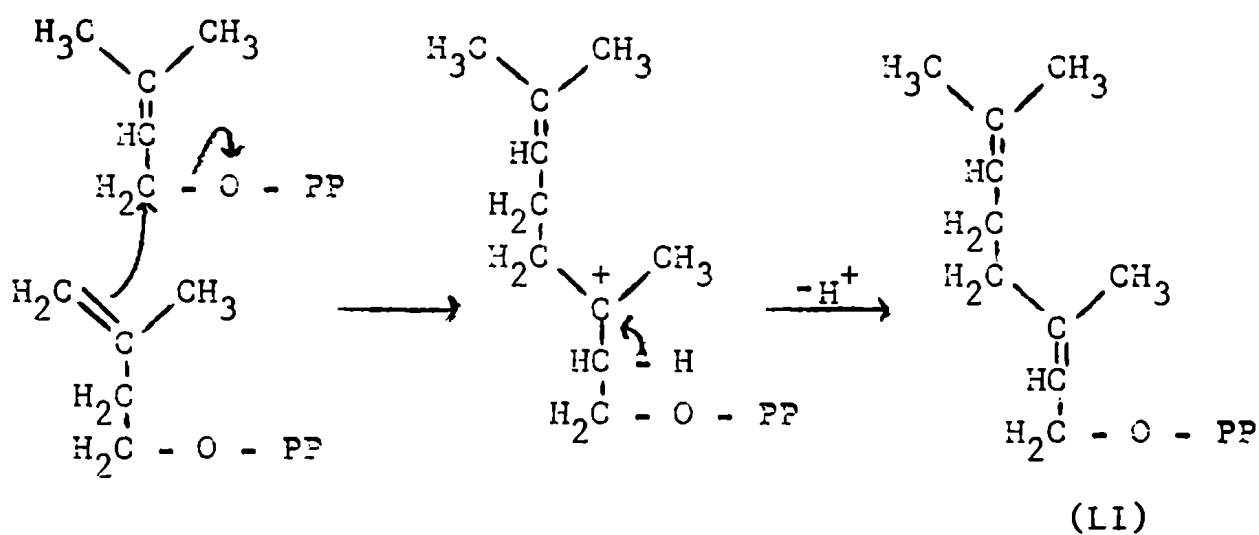


Las sustancias de este tipo son reactivos electrofílicos fuertes y pueden atacar un grupo metileno terminal. El producto de condensación lleva un exceso de carga positiva, estabilizándose por eliminación de un protón:

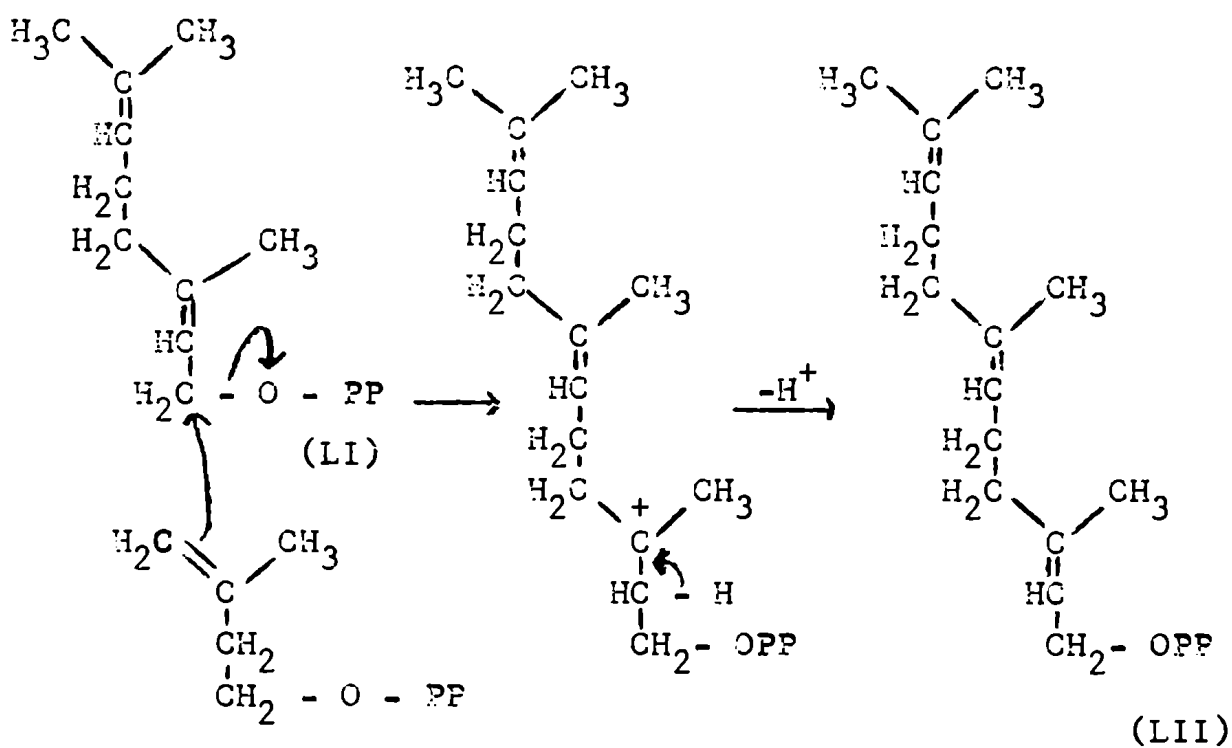


La primera condensación más probable, que lleva a la síntesis del escualeno, ocurre entre una molécula de dimetilalil pirofosfato y otra de isopentenil pirofosfato, con eliminación de ácido pirofosfórico del primer reactivo, siendo el producto el geranil pirofosfato (LI). La validez del esquema siguiente (Esquema 5) se ve apoyada por el hallazgo (142) en levadura y en incubaciones con enzimas de hígado de un derivado del geraniol, que posee las propiedades de su éster pirofosfórico.

En el geraniol pirofosfato tenemos otra vez un reactivo electrofílico que se puede condensar con otra molécula de isopentenil pirofosfato, de acuerdo con el mecanismo propuesto más arriba, para dar farnesil pirofosfato (LII) (Esquema 6), el cual fue aislado de incubaciones de fosfo-mevalonato con enzimas obtenidas por autólisis de levadura con tolueno (117):



Esquema 5



Esquema 6

Se ha demostrado que estas sustancias son realmente intermediarios en la cadena biogénica, suministrando a sistemas enzimáticos adecuados, isopentenil pirofosfato, dimetilalil pirofosfato, geranil pirofosfato y farnesil pirofosfato sintéticos, incorporándose cada uno de ellos a escualeno o colesterol, según las experiencias (144, 142, 145, 146, 117).

El mecanismo de la condensación de dos unidades de farnesil pirofosfato (LII) para dar origen al escualeno no ha sido aún totalmente elucidado, por más que ya se pueden describir con detalle muchos aspectos de la misma, en base, fundamentalmente, a los brillantes trabajos de Cornforth y Popják. Estos autores han sugerido (147, 148, 149) dos mecanismos generales para esta condensación, los cuales son consistentes con los datos experimentales.

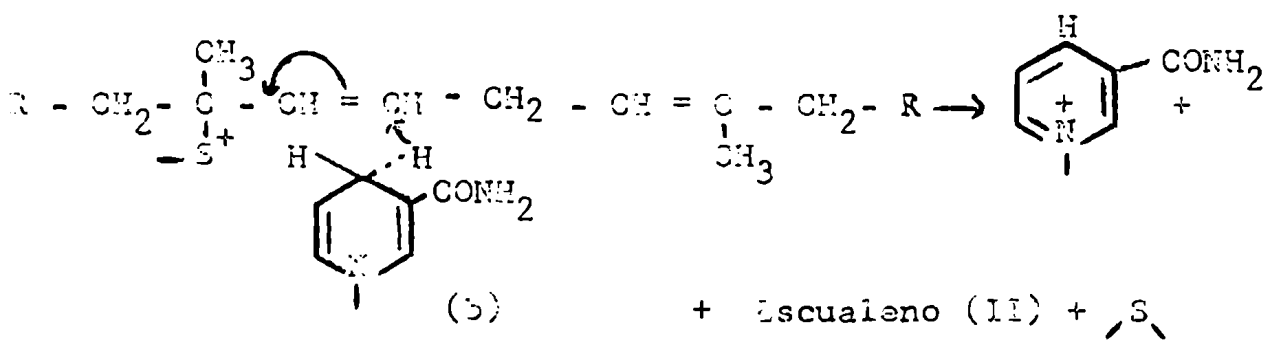
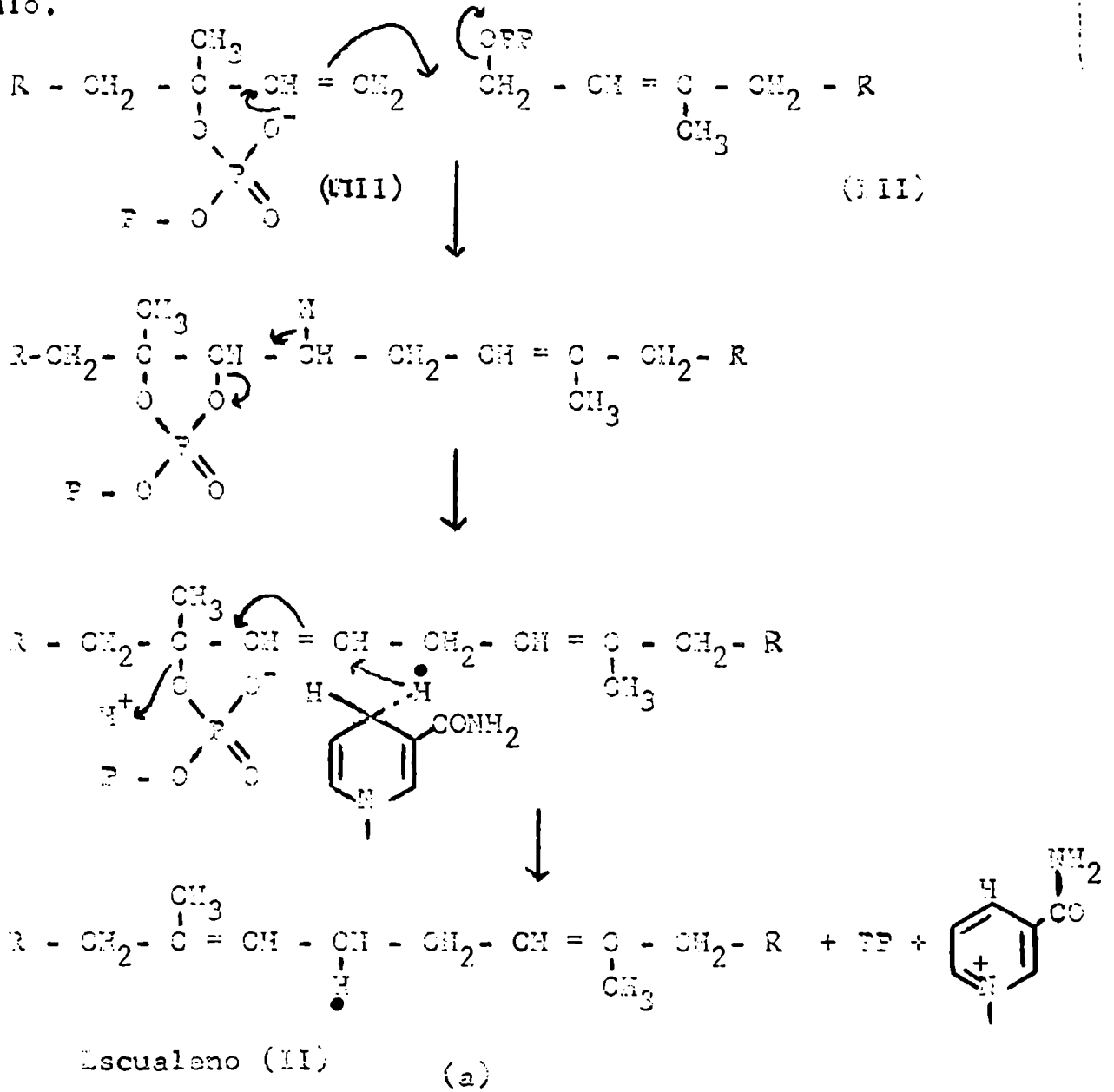
En el primero de esos mecanismos (Esquema 7) se hace la suposición de que una de las moléculas de farnesil pirofosfato sufre una isomerización previa a nerolidil pirofosfato (LIII) (esta suposición se ve confirmada por el hecho de haberse hallado en el sistema de enzimas de hígado, no sólo derivados del geraniol y del farnesol, sino también del nerolidol), convirtiendo al C-1 de esa molécula en un grupo metileno capaz de entrar en una reacción del tipo SN_2 con el C-1 de la segunda molécula de farnesil pirofosfato. La carga positiva que queda sobre la cadena puede ser neutralizada, por la formación de un fosfato cíclico (Esquema 7a) o por la formación de un compuesto de sulfonio por reacción con un resto de metionina (Esquema 7b). En ambos casos se puede imaginar un etapa reductiva final que produce escualeno, y en la que se introduce un nuevo átomo de hidrógeno en el carbono (originalmente el C-1 del nerolidil pirofosfato) del cual un hidrógeno se ha eliminado como protón. En base a evidencias experimentales se comprueba que este intercambio no involucra cambio en la configuración.

Se ha comprobado que el hidrógeno transferido del NADPH a uno de los átomos de carbono centrales del escualeno, es eliminado de la cara posterior del anillo piridínico del nucleótido (150, 151).

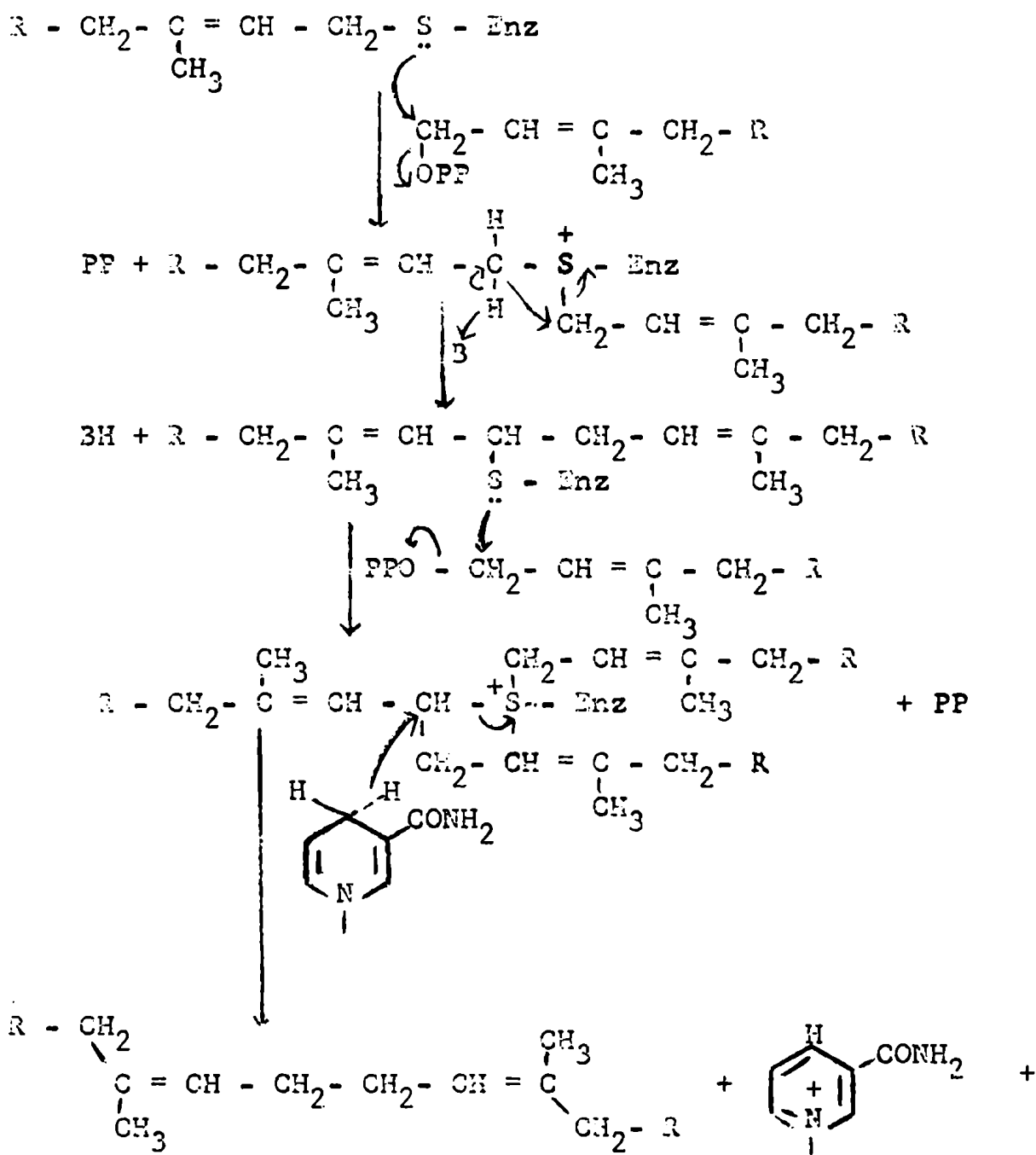
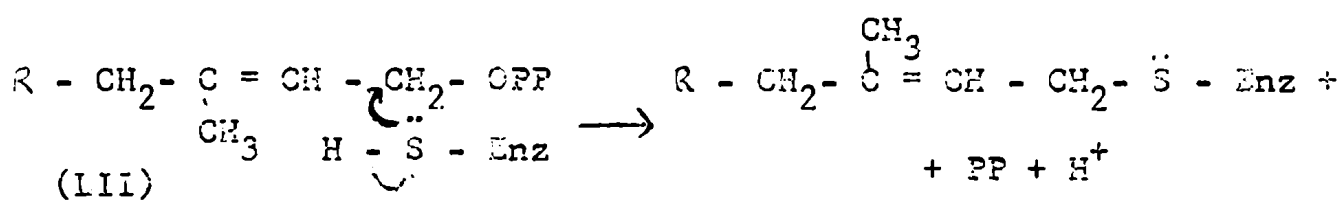
El segundo tipo de mecanismo (149) es el siguiente (Esquema 8): el paso inicial es el desplazamiento de pirofosfato de una molécula de farnesil pirofosfato, por acción de un grupo sulfhidrilo de la enzima. Luego podría ocurrir una reacción entre el complejo farnesilo-S-enzima (LIII) con una segunda molécula de farnesil pirofosfato, dando un complejo difarnesilo-enzima, el cual podría sufrir una transposición que llevaría a la formación de la unión central carbono-carbono del escualeno. Es probable que dicha transposición se vea asistida por un aceptor de protones (B) adecuadamente situado, que posiblemente forme parte del centro activo de la enzima. De acuerdo a una sugestión de Woodward la liberación reductiva del escualeno del complejo enzimático podría verse facilitada por una reacción

previa con una tercera molécula de farnesil pirofosfato, para producir un nuevo complejo sulfonio.

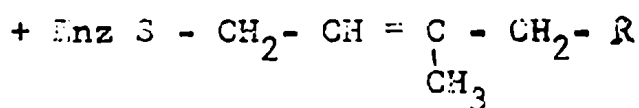
Los productos de la ruptura reductiva serían escualeno y farnesilo-S-enzima. Como ha hecho notar Popják (149), la precedente sugestión debería ser comprobada experimentalmente ya que ella implica que la enzima, en su estado de reposo, debería acomodar siempre un residuo de farnesilo.



R = geranilo



Escualeno (II)



R = geranilo

B = aceptor de protones

Esquema E

Ciclación del escualeno.-

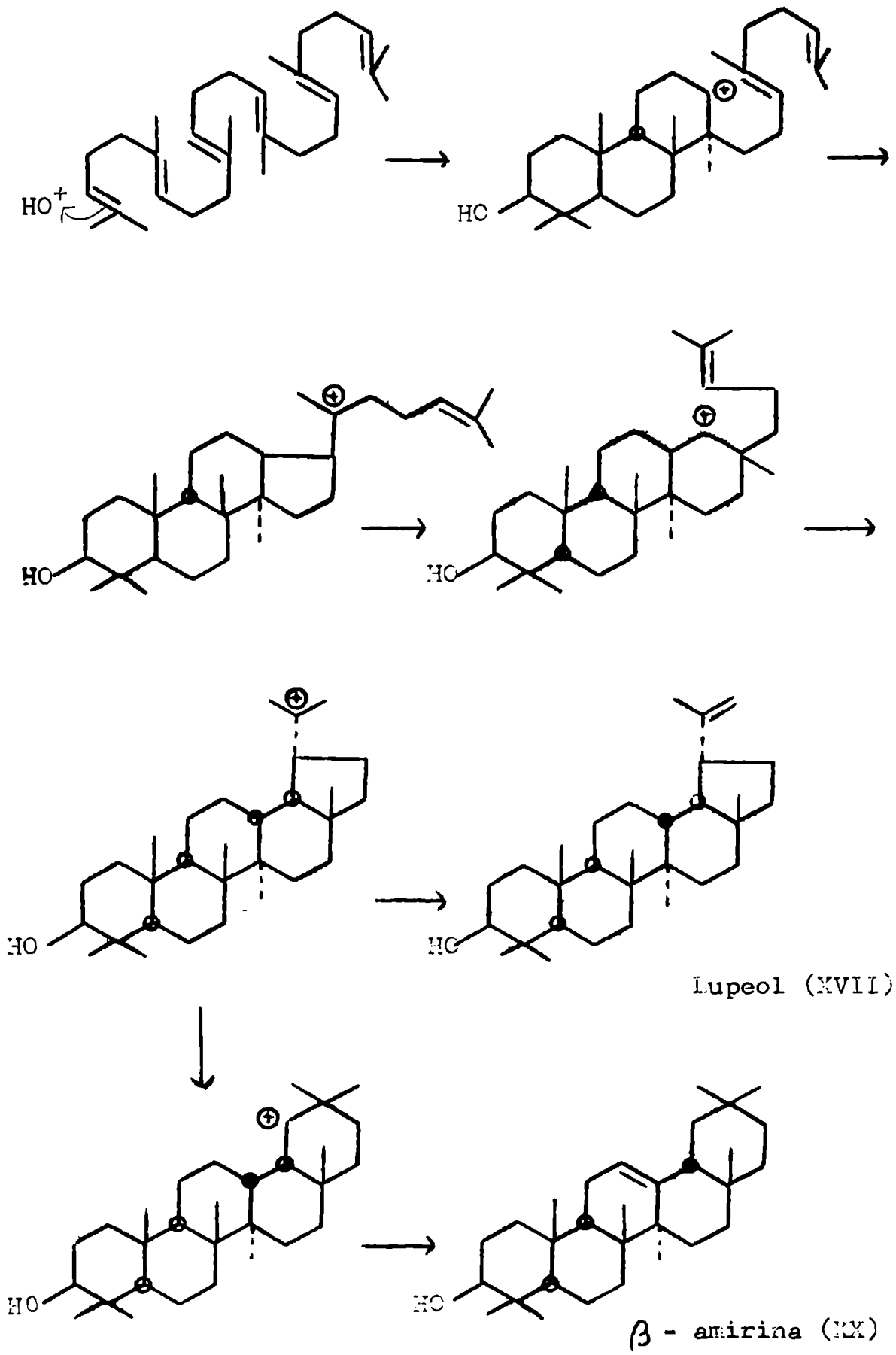
El esquema de ciclación de escualeno a colesterol (esquema 1) propuesto por Woodward y Bloch (109) implicaba que el lanosterol o un compuesto con él relacionado debería ser un intermediario, lo cual fue confirmado en diversas experiencias (152, 153, 154, 155, 156). Las investigaciones subsiguientes se encaminaron a elucidar el mecanismo de la conversión de escualeno en lanosterol. Los trabajos experimentales fueron precedidos por un notable desarrollo teórico, debido fundamentalmente a Ruzicka y colaboradores (101, 157). De acuerdo con ellos, el escualeno es visualizado como un precursor común, no sólo del lanosterol y triterpenos tetracíclicos relacionados, sino también de los triterpenos pentacíclicos como la β -amirina (XX) y el lupeol (XVII). En este tratamiento teórico la ciclación del escualeno es considerada como un proceso controlado estereoelectrónicamente, iniciado por un ataque electrofílico por un catión como el H^+ o el CH^+ y que involucra una serie de iones carbonio intermediarios, de vida muy breve. La estabilización del producto final de la ciclación puede ocurrir por pérdida de un protón o neutralización de la carga positiva por un CH^- . El esquema 9 nos muestra algunos ejemplos.

La biogénesis de las diferentes clases de triterpenos pentacíclicos fue racionalizada en términos de diversas conformaciones alternativas de la cadena del escualeno y varios reordenamientos de iones carbonio. De este modo el papel esencial de la enzima que cataliza la ciclación debe ser el de imponer la conformación apropiada a la cadena del escualeno.

La hipótesis acerca del papel central del escualeno como precursor biológico de triterpenos policíclicos en animales y plantas es ahora apoyada por diversas experiencias, algunas de las cuales hemos de mencionar más adelante. La biosíntesis de escualeno a partir de mevalonato marcado ha sido demostrada también en plantas superiores (158), incorporándose la radioactividad con la misma distribución que en el escualeno de tejidos animales (159).

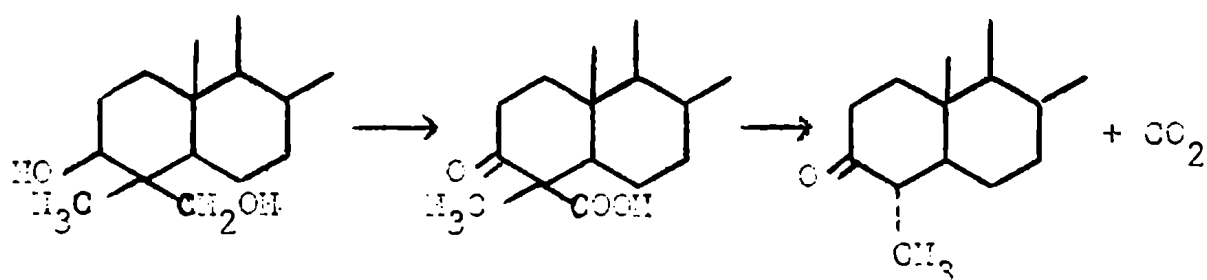
Experimentos desarrollados por Nicholas (158, 160, 161, 162) y por Nes (163) han demostrado que el acetato y el mevalonato son precursores de escualeno, fitosteroles y triterpenos pentacíclicos de plantas superiores.

Si bien diversas experiencias de Nes y colaboradores (164, 165) mostraron que el escualeno, los fitosteroles y la β -amirina eran sintetizados in vivo a partir de ácido mevalónico en arvejas en germinación, y que la proporción de C^{14} del mevalonato que aparecía en el escualeno decaía a medida que la radioactividad aumentaba en los fitosteroles y la β -amirina, no se había probado que hubiera una relación precursor-producto entre el escualeno y estos últimos compuestos. Recién Bennett y Heftman (166) y el mismo Nes (159) en 1965,

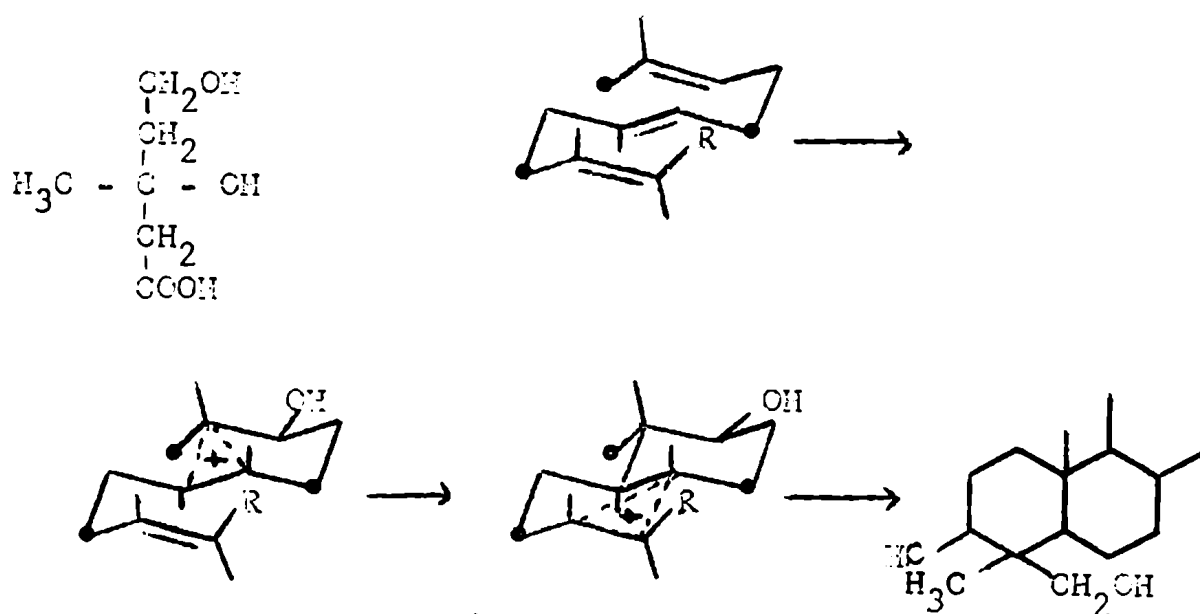


Esquema 3

pudieron demostrar la conversión directa de escualeno en los compuestos cíclicos. En su trabajo, Nes propone un mecanismo basado en la estereoquímica del isopentenil pirofosfato y del dimetilalil pirofosfato como explicación para la distribución de la radioactividad en el escualeno, y fundamentalmente para el hecho de que sólo uno de los metilos de cada grupo isopropilideno terminal del escualeno se halla marcado. La validez de este mecanismo fue demostrada por Cornforth y Popják (167). Ya en 1954 Arigoni (168) había demostrado que la ciclación debe ser estrictamente estereoespecífica, manteniendo los metilos de los grupos isopropilideno mencionados su identidad individual. Para ello suministró a semillas de soja ácido mevalónico-2- C^{14} y aisló los sojasapogenoles (triterpenos pentacíclicos) marcados. La estructura de 1,3-diol del anillo A fue oxidada (esquema 10a) para dar el ácido 3-oxo-24-carboxílico, el cual fue fácilmente descarboxilado a la cetona correspondiente dando CO_2 que no contenía C^{14} . Esto indica que en la formación de estos triterpenos pentacíclicos el grupo hidroximetilo axial de C_4 deriva del metilo que en el escualeno se halla en posición trans respecto del H del doble enlace, o sea, del metilo del ácido mevalónico (esquema 10b).



(a)

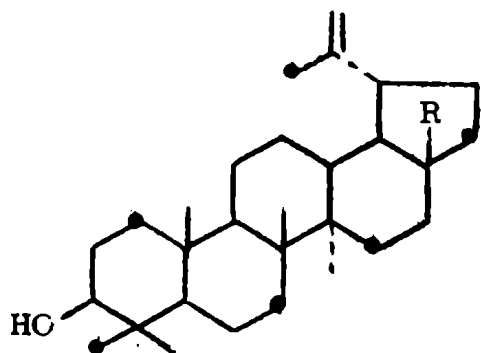


(b)

Esquema 10

Una suposición necesaria para la ciclación específica es que la conformación del escualeno debe ser totalmente trans, como lo es la del escualeno natural (169); la enzima ciclante pliega luego a la molécula de escualeno en forma silla o bote.

Para comprobar si en el otro extremo del escualeno la ciclación también transcurre en forma estereoespecífica como en el anillo A se biosintetizó (118), a partir de ácido mevalónico-2- C^{14} , la mezcla de lupeol (XVII), betulina (XVII a) y ácido betulínico (XVII b) de Menyanthes trifoliata. El grupo isopropenilo del anillo E de estos triterpenos proviene de uno de los grupos isopropilideno terminales del escualeno. En cada uno de los tres compuestos se oxidó el grupo isopropenilo con C_8C_4 y $(CH_3CO)_4Pb$, a formaldehído y la correspondiente nor-cetona: El formaldehído no posea radioactividad. También el metilo del grupo acetilo de la nor-cetona se degradó a formaldehído: oxidación con SeC_2 a cetoaldehído, reducción de éste con BH_4Na al glicol y posterior oxidación del mismo con $(CH_3CO)_4Pb$. El formaldehído así obtenido posea 1/6 de la radioactividad total. Estos resultados demuestran que la ciclación del anillo E también es estereoespecífica.

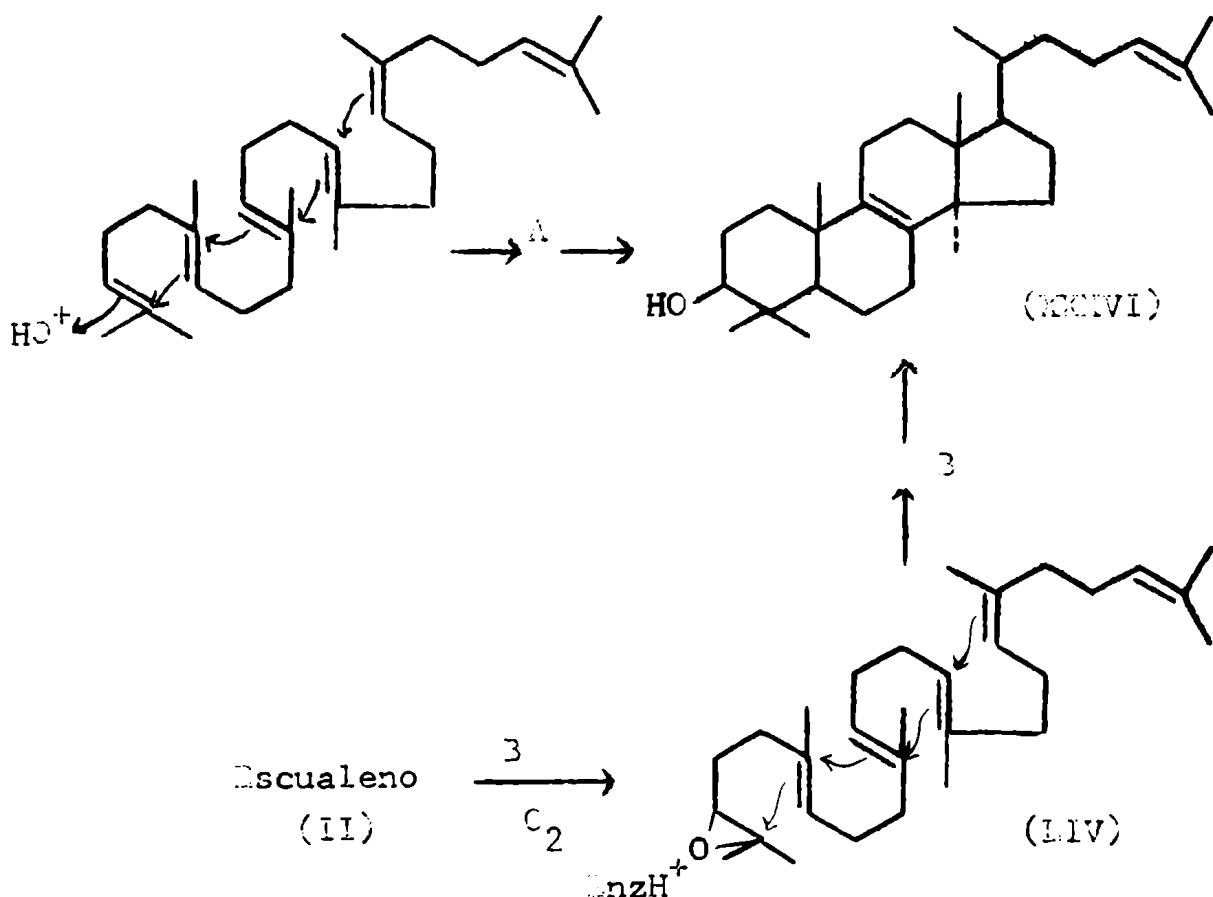


(XVII): $R = CH_3$
 (XVII a): $R = CH_2OH$
 (XVII b): $R = CCOH$

Si bien los trabajos de Bloch (170, 171, 172, 173, 174, 175, 176, 177) ya habfan aclarado gran parte del mecanismo de formación de colesterol a partir de escualeno, quedaba aún por aclarar la primera etapa, es decir, cómo se inicia la ciclación del escualeno. Los estudios de Tchen y Bloch (172) hablan en favor de un mecanismo concertado para esta ciclación.

El papel del oxígeno en el proceso no había sido investigado en detalle hasta el presente, a pesar de que los autores mencionados habfan demostrado (171) que el oxígeno atmosférico da lugar al hidroxilo en 3 β en el lanosterol.

Estas observaciones son consistentes con el mecanismo A (esquema 11) pero no descartan otras posibilidades. Una de éstas se indica en B, en donde el oxígeno se adiciona primero al doble enlace terminal del escualeno para dar el 2,3-óxido escualeno (LIV), el cual sufre luego una ciclación iniciada por un protón.



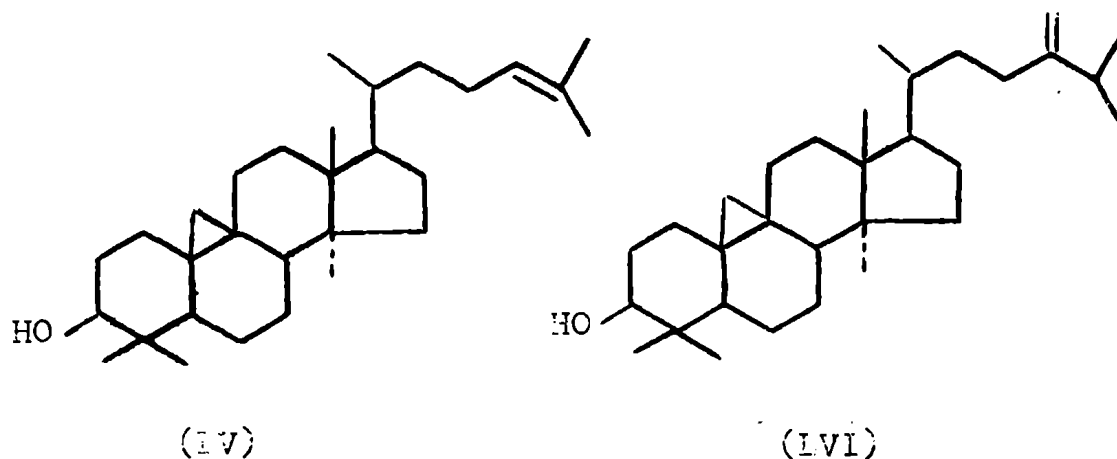
Esquema 11

Recientes experiencias de Corey y colaboradores (178, 179, 180) y de van Tamelen y colaboradores (181, 182) indican que el escualeno se transforma in vivo en el epóxido mencionado y que cuando éste, obtenido sintéticamente, se incubaba con homogeneizados de hígado de rata se obtienen lanosterol y colesterol. Esto sugiere que, por lo menos en ratas, la síntesis de esteroides comprende un intermediario como el 2,3-óxido escualeno (esquema 11, mecanismo B). Además, se ha comprobado que el sistema enzimático responsable de la ciclación del óxido de escualeno no requiere oxígeno (170).

También se ha hecho un estudio similar aplicado al caso de un triterpeno pentacíclico, el α - β -amirina (183). Se comprobó, por incubación anaeróbica de 2,3-óxido escualeno marcado con C^{14} , en un homogeneizado libre de células, de Pisum sativum, que el epóxido es también un precursor de dicho triterpeno. El estudio de estos pasos iniciales de la ciclación aún continúa.

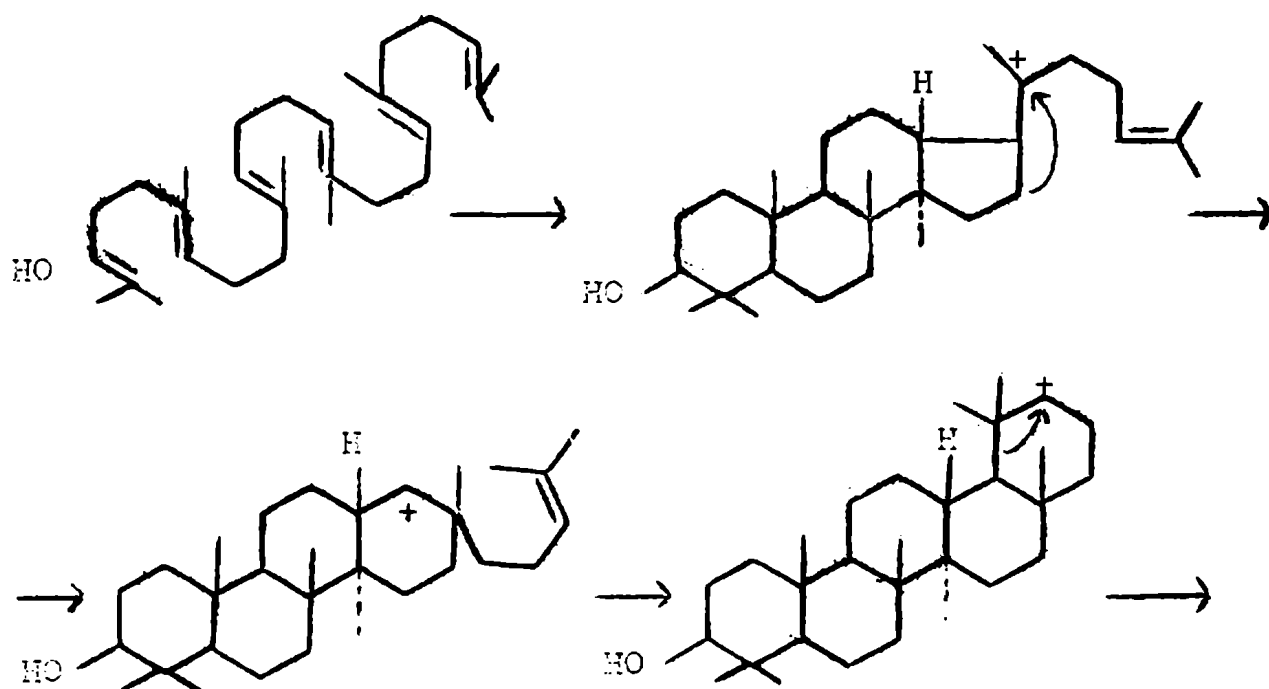
Por otra parte, diversos investigadores han tratado de aclarar el mecanismo de formación de los triterpenos pentacíclicos de plantas superiores. Estudios de Ourisson y

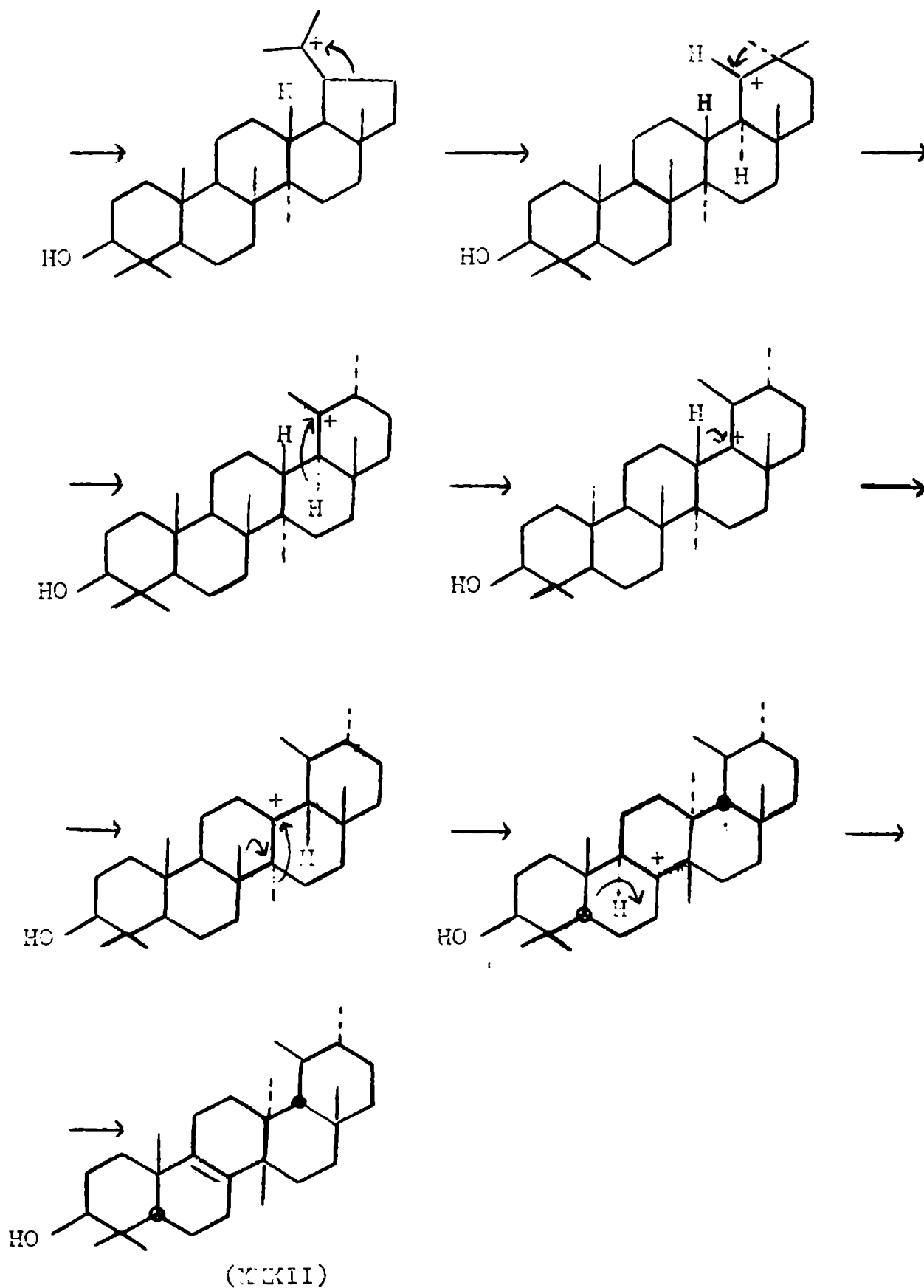
colaboradores (184,185) han indicado que, después de incubar diversos materiales vegetales con acetato-1-C¹⁴, no se pudo aislar lanosterol pero sí cicloartenol (LV) y 24-metil-encicloartenol (LVI) marcados.



A primera vista se puede suponer que, en las plantas superiores estudiadas, el cicloartenol puede ser el equivalente del lanosterol en la biosíntesis de fitosteroles y triterpenos cíclicos. Si ello fuera así se plantearía el problema de la apertura del anillo ciclopropano (que se realiza con facilidad in vitro, por tratamiento con ácidos) que debe llevar necesariamente a productos no saturados que aún no se han hallado.

Para el caso del isobauerenol, aislado de Helietta longifoliata, se puede postular el siguiente esquema de ciclación a partir de esqualeno (esquema 12):





Esquema 12

REACCIONES QUIMICAS DE EMPLEO ESTRUCTURAL. -

Si bien gran parte del proceso de determinación de estructuras en el campo de los triterpenos, como en muchos otros, se realiza hoy mediante el empleo de métodos físicos (espectros de absorción en el infrarrojo y en el ultravioleta, de resonancia magnética nuclear y de masa, dispersión óptica rotatoria, etc.) daremos un corto resumen de algunos de los métodos químicos de empleo estructural más importantes que se han utilizado en la determinación original de muchas de estas estructuras y que continúan empleándose en el presente.

Determinación de la presencia de dobles ligaduras y de la posición de las mismas. -

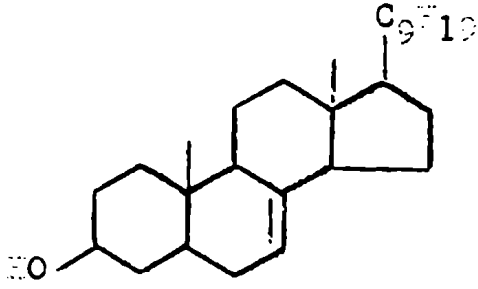
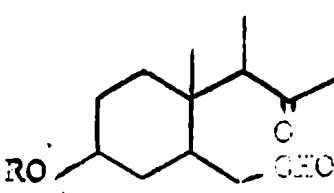
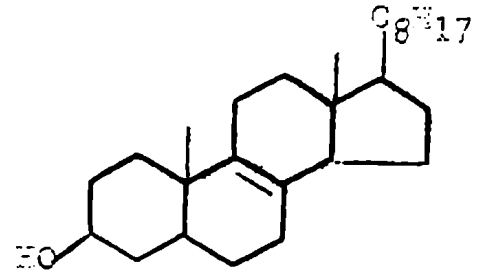
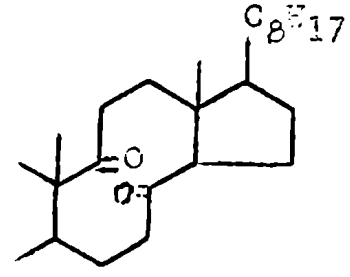
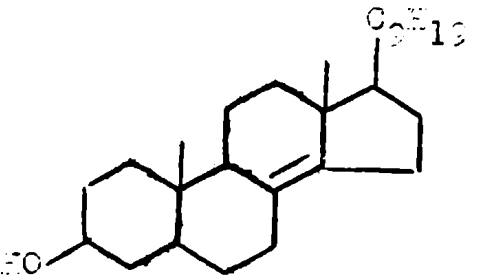
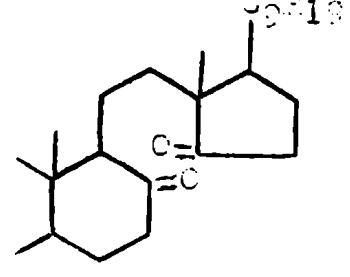
a) Reacción con tetranitrometano: El tetranitrometano forma complejos coloreados con muchas olefinas y otros compuestos no saturados, por lo que es útil para la detección de dobles enlaces (186, 187). La reacción se efectúa añadiendo una gota del reactivo, en solución clorofórmica, a trazas de la muestra a investigar. La coloración que se produce varía del amarillo al rojo oscuro, al aumentar la insaturación y es positiva para compuestos que tienen dobles enlaces resistentes a la hidrogenación, entre ellos los tetrasustituídos, los cuales no son detectables por espectroscopía de resonancia magnética nuclear.

Heilbronner (188) ha desarrollado una técnica para diferenciar tipos de dobles enlaces por medición de la longitud de onda de absorción de un complejo de la olefina con tetranitrometano, a un coeficiente de extinción de referencia. Cada sustituyente alquílico produce un desplazamiento de aproximadamente 56 m μ a longitudes de onda mayores, como lo indican los siguientes datos de olefinas esteroides: doble enlace disustituído, Δ^2 , λ 478 m μ ; trisustituído, Δ^4 , λ 530 m μ ; tetrasustituído, $\Delta^{8(14)}$, λ 559, 570, 580 m μ (diferentes casos). Del mismo modo se puede aplicar a triterpenos.

b) Reacción con tetróxido de osmio y tetraacetato de plomo: La base de este método (189, 190) es la conversión de la de las dobles ligaduras en sistemas con características espectrales diferentes y fácilmente reconocibles.

Con los reactivos indicados cada doble enlace da origen a dos grupos funcionales que absorben en la región carbonílica del espectro infrarrojo. En resumen, el método es el siguiente: El grupo hidroxilo, si lo hubiera, se protege por bencilación, hirviéndose luego el benciléter con $C_6H_5CO_2$ en éter, convirtiéndose el osmiato formado en el diol correspondiente por calentamiento a reflujo con $LiAlH_4$ en tetrahidrofurano. Por último el diol se hace reaccionar con tetraacetato de plomo ácido acético y ter-butanol. Sobre el producto final crudo se efectúa la determinación del espectro de absorción en el infrarrojo.

Un doble enlace disustituído da lugar a dos grupos aldehído (bandas alre-
 dor de 2700 y 1730 cm^{-1}), mientras que uno trisustituído es convertido en un
 aldehído y una cetona en un anillo de seis átomos de carbono
 (bandas a aproximadamente 2700 , 1730 y 1710 cm^{-1}). Un doble
 enlace tetrasustituído, Δ^8 , origina dos cetonas, ambas sobre
 un mismo anillo de diez átomos de carbono (absorción en la
 zona de 1700 cm^{-1}), mientras que un doble enlace tetrasusti-
 tuído en $\Delta^{3(4)}$ produce también dos cetonas, pero una en un anillo
 de seis carbonos y otra en un anillo de cinco (bandas alrede-
 dor de 1710 y 1740 cm^{-1}). A continuación se presentan algu-
 nos ejemplos en esteroides pudiéndose, en forma similar,
 determinar la posición de un doble enlace en el esqueleto de
 triterpenos.

Esteroides	Producto	Bandas I.R.
 γ -ergosterol		2700 y 1725 s 1705 s
 $3\beta\text{-OH-cholest-6-eno}$		1705 s
 α -ergosterol		1712 s 1735 s
	$R = \text{C}_6\text{H}_5 - \text{CO}_2$	

c) Oxidación con tetróxido de rutenio: Snatzke y Fehlhaber (191) han modificado el método anteriormente descrito, empleando RuC_4 en lugar de CsC_4 , y lo han aplicado a esteroides y triterpenos.

En el caso de dobles ligaduras disustituídas se debería obtener un dialdehído, mas éste parece ser retenido por el RuC_2 formado y, por lo tanto, no se lo puede detectar. Este comportamiento no se observó en el caso de los demás tipos de dobles enlaces, lo cual da un indicio sobre la presencia de una doble ligadura disustituída.

Si se trata de dobles enlaces trisustituídos se observan las mismas bandas que en el método con CsC_4 .

Las dobles ligaduras tetrasustituídas exocíclicas (ej. $\Delta^{13(18)}$) dan origen a bandas de cetonas en anillo de seis átomos de carbono, como en los casos de los esqueletos de oleanano (VI), ursano (VII) y gammacerano (VIII), y bandas de cetonas en anillos de cinco y seis carbonos, como ocurre en compuestos derivados del arborano (III), hopano (IV) y lupano (V).

Si el doble enlace tetrasustituído se halla en posición endocíclica (Δ^8 , por ejemplo) se forma una ciclodecan-1,6-diona, cuyo espectro de absorción en el infrarrojo, en Cl_4C , muestra una banda fuerte alrededor de 1700 cm^{-1} . Hirviendo el producto de oxidación con ácido acético y clorhídrico desaparece esa banda, apareciendo en cambio un par de bandas característico de cetonas α, β no saturadas (1610 y 1650 cm^{-1}). De este modo se pueden diferenciar claramente dobles enlaces tetrasustituídos endo y exocíclicos ya que en éstos últimos no se observa la mencionada desaparición de bandas por tratamiento ácido.

d) Oxidación de un doble enlace tetrasustituído endocíclico con ácido crómico: Ruzicka y colaboradores (192) oxidaron el acetillanosterol con ácido crómico, y obtuvieron un compuesto de fórmula $\text{C}_{32}\text{H}_{50}\text{O}_4$, de color amarillo. De su fórmula bruta y de su espectro de absorción en el ultravioleta ($\lambda_{\text{max}} 275\text{ m}\mu$; $\log \epsilon 3,94$) se dedujo que se trataba de una 1,4-dicetona con un doble enlace entre los grupos cetónicos (los cuales no reaccionan, ni aún en condiciones enérgicas, con reactivos de cetonas):



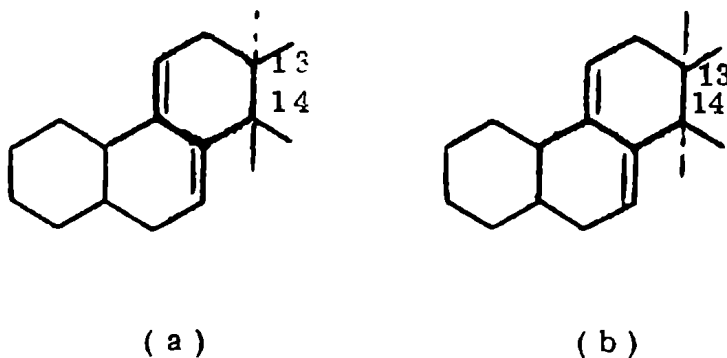
Para que este compuesto pueda formarse se requiere que la doble ligadura se halle rodeada por lo menos por dos grupos metilenos, o que durante la oxidación migre a una posición tal. Este método se ha aplicado con el mismo resultado al acetilisomultiflorenol (78) y al acetilisobaurenol (96, 78, 97).

La presencia de las dos funciones cetónicas conjugadas con el doble enlace tetrasustituído hace que éste, que no es hidrogenable en los alcoholes ni en sus derivados directos, sea reducido con facilidad, con zinc y ácido acético (193).

Determinación de la configuración de los átomos de carbono 13 y 14.-

De gran utilidad para la determinación de la configuración de los átomos de carbono 13 y 14 han sido, y siguen siendo, los métodos que permiten obtener un dieno heteroanular (194) mediante ciertas reacciones de oxidación del doble enlace presente originalmente en la molécula del terpeno, previa protección de los grupos hidroxilos, si los hubiera.

Si el doble enlace original se halla en 7(8), 8(9) o 9(11) el dieno formado es el 7,9(11), originándose 2 tipos de compuestos según la configuración de los C 13 y 14:



Ambas series de compuestos presentan diferente absorción en el ultravioleta, de modo que la espectroscopía en esa zona permite distinguir a los dienos, según tengan C-13 α , C-14 β (a) o C 13 β , C 14 α (b), como se puede apreciar en los siguientes ejemplos:

(a)
Ferneno (195): λ máx. 232 m μ (ϵ .13.600)
240 m μ (ϵ .14.800)
248 m μ (ϵ . 9.700)

Acetil bauerenol(78): λ máx. 232 m μ (ϵ .16.600)
239 m μ (ϵ .17.500)
247 m μ (ϵ .11.000)

Acetil multiflorenol(78): λ máx. 233 m μ (ϵ ,13.300)
239 m μ (ϵ ,14.700)
248 m μ (ϵ , 8.800)

Arundofna(8): λ máx. 233 m μ (ϵ ,14.700)
239 m μ (ϵ .16.400)
247 m μ (ϵ ,10.700)

(b)

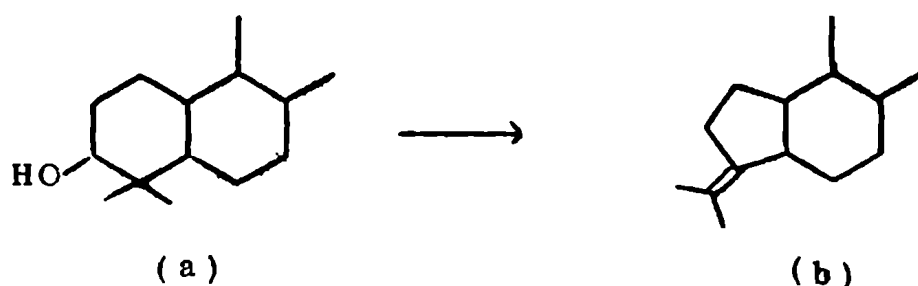
Arboreno(3): λ máx. 236 m μ (ϵ .11.000)
243 m μ (ϵ .12.600)
251 m μ (ϵ . 8.500)

Cilindrina(7): $\lambda_{\text{máx.}}$ 237 m μ (ϵ , 17.500)
 244.5 m μ (ϵ , 20.700)
 252 m μ (ϵ , 14.200)

Los métodos empleados para la obtención de los dienos varían según la resistencia de los dobles enlaces. Así se han empleado SeC_2 en ácido acético (196, 78, 195), N-bromo-succinimida (196), ácido perbenzoico y posterior hidrólisis ácida (197, 198, 199), ácido trifluoroperacético y posterior hidrólisis ácida (200, 3) y CrO_3 en ácido acético (201).

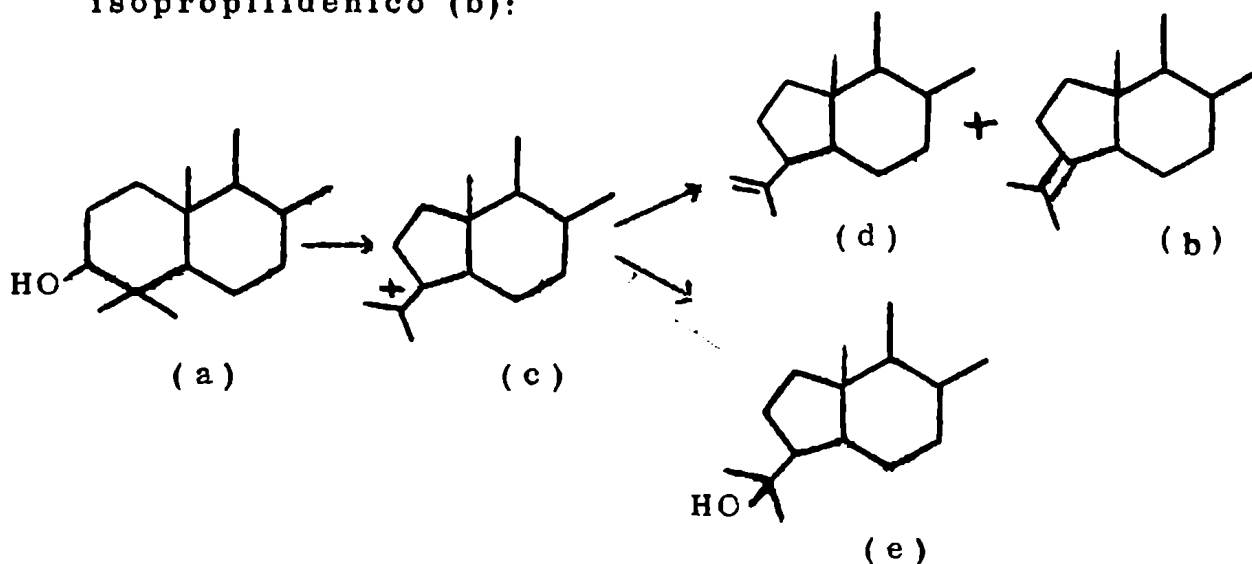
Confirmación de la presencia del sustituyente oxigenado en la posición 3 y determinación de su configuración-Contracción del anillo A del esqueleto triterpénico.-

Una de las reacciones más características de los triterpenos es aquella que experimentan los alcoholes 3β ecuatoriales, en los cuales la configuración del C 10 es β , por tratamiento con PCl_5 (202, 203, 204):



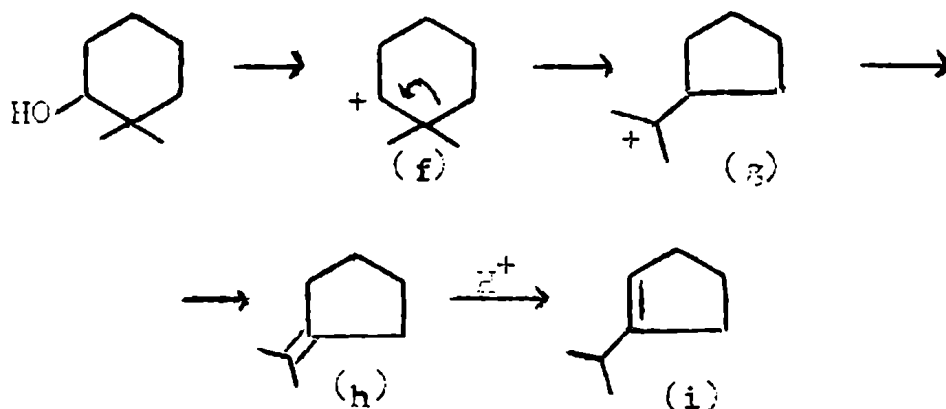
obteniéndose productos en los cuales el anillo A ha sufrido una contracción.

De modo similar se ha estudiado la solvólisis de ésteres sulfónicos de los alcoholes del tipo (a), la cual conduce a derivados del ion (c), rara vez al derivado isopropenílico (d) y generalmente al alcohol terciario (e) y al derivado isopropilidénico (b):

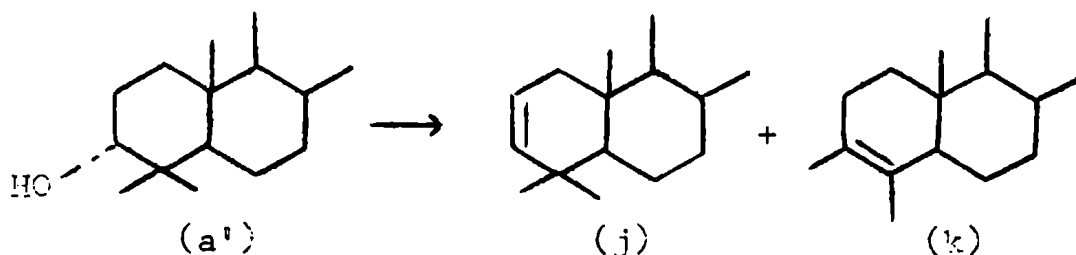


En compuestos en los cuales está ausente el metilo 19 (sobre el C 10) los productos de estructuras parciales (d) o (e) se forman en cantidades importantes.

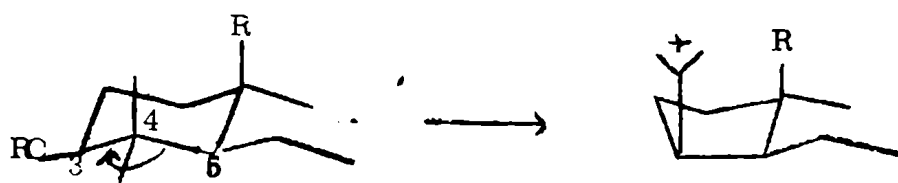
Curisson y colaboradores (204, 205, 206) han demostrado la estructura y estereoquímica de los productos de reacción precisando además los aspectos estructurales de la contracción del ciclo A. En términos generales la transposición puede representarse por el mecanismo formal aquí descrito (ejemplificado con el 2,2-dimetil ciclohexanol): el catión (f) se transpone al catión (g) y éste pierde un H⁺ dando el producto (h). La obtención del isómero (i) en medio ácido debe atribuirse a una isomerización posterior:



En la serie triterpénica, así como en los esteroides, la reacción de contracción sólo se produce en los alcoholes 3 β ecuatoriales con el metilo o el hidrógeno de C 10 en posición β y en los alcoholes 3 α ecuatoriales con configuración en C 10 opuesta a la anterior. Los epímeros son sólo deshidratados al compuesto Δ^2 (j) sin transposición, o al 3-4-dimetil-derivado (k) (207):



La conformación del alcohol inicial es el factor determinante. En los dos tipos de alcoholes que dan la reacción de contracción el átomo de oxígeno y los de carbono 3, 4 y 5 son coplanares, y la conformación relativa de las uniones C-C 3 y C 4-C 5 es opuesta, lo que da una disposición favorable para que la ruptura de la primera de ellas sea acompañada por la migración de la segunda (208):



I. ALCOHOL TRIFENILICO DI HELIETTA LONGIFOLIATA BRITT.

La Helietta longifoliata Britt. (sin. Helietta cuspidata (Engl.) Chod. et Hassl.) es un árbol de porte mediano que crece en la selva misionera de nuestro país, habiéndose recolectado el material empleado en el presente estudio en las inmediaciones de Fuerte Iguazú. Su nombre popular es canela doviado o canela de venado. Pertenece a la familia de las Rutáceas, subfamilia Toddalioidae, tribu Toddaliae, subtribu Pteleinae.

El género Helietta está emparentado con el Balfourodendron, perteneciente a la misma subtribu, y de una de cuyas especies, Balfourodendron riedelianum (Engler), que también crece en Misiones, han sido estudiados los alcaloides presentes, por Rapoport y Molden (209) y por Orazi y Corral (210).

De Helietta longifoliata Britt. se ha aislado y determinado la estructura de una nueva furocurarina, denominada Heliettina (211, 212). En esta parte del presente trabajo se describe el aislamiento y la caracterización de un triterpeno aislado de la corteza de esta planta.

Por cromatografía sobre gel de sílice del residuo de evaporación de las aguas madres de heliettina (211, 212) se obtuvo un producto cristalino blanco (0,1% sobre planta seca), el cual, una vez recristalizado de metanol y sublimado, funde a 168-170°. La sustancia es ópticamente activa, $[\alpha]_D^{25} + 45^\circ$ (CHCl₃), y analiza para C₃₀H₅₀O. El espectro de absorción en el infrarrojo (figura 1) muestra una banda a 3400 cm⁻¹, indicando que nos halláramos frente a un alcohol al que denominamos, provisoriamente, heliottol.

El método de aislamiento y los datos físicos hicieron pensar que se trataba de un esteroide o un alcohol triterpénico. El punto de fusión, relativamente alto, y el aspecto general de su espectro de resonancia magnética nuclear (figura 7) parecían apoyar la segunda de las posibilidades mencionadas.

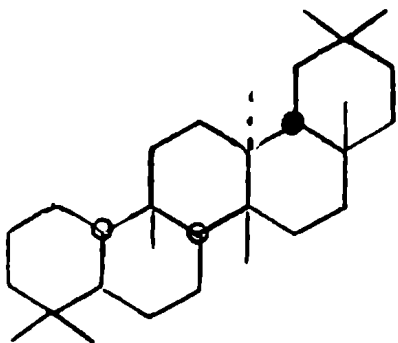
La determinación del peso molecular mediante espectrometría de masa dió un valor de 426, confirmando la fórmula antes indicada. Esta fórmula puede corresponder a un alcohol triterpénico pentacíclico con un doble enlace. En el espectro de resonancia magnética nuclear del heliottol (figura 7) no aparece señal alguna debida a protones olefínicos. Esto indica que el doble enlace presente es cuaternario y al mismo tiempo hace muy improbable la hipótesis alternativa de que se trate de un tri-

terpeno tetracíclico con dos dobles enlaces. En los esqueletos pentacíclicos conocidos (página 2) las posiciones posibles para un doble enlace cuaternario son las siguientes: 1,6 (glutano, LVII); 8,9 (arborano, III; fernano, LVIII; multiflorano, LIX; bauerano, LX); 13,18 (oleanano, VI; ursano, VII); 19,20 (lupano, V) y 21,22 (arborano, III; hopano, IV; fernano, LVIII).

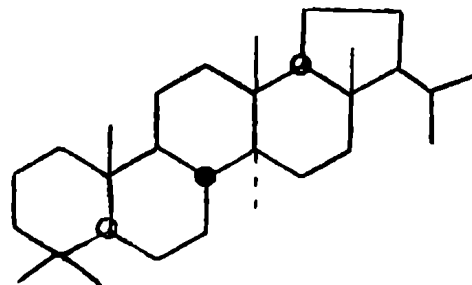
A una decisión primera a este respecto se pudo llegar mediante la oxidación del acetato del alcohol con CrO_3 (192). De esta reacción se obtuvo un compuesto que analizaba para $\text{C}_{32}\text{H}_{48}\text{O}_4$ y cuyos espectros de absorción en el infrarrojo (figura 6) y en el ultravioleta (figura 14) permiten determinar que el doble enlace del alcohol es de tipo cuaternario con dos grupos metilenos vecinos (ver discusión en la página 39). De este modo se pueden limitar las posibilidades mencionadas en el párrafo anterior sobre la posición de la doble ligadura, a las posiciones 1,6 y 8,9. Los esqueletos conocidos que pueden contener un doble enlace de este tipo son los de glutano (LVII), arborano (III), fernano (LVIII), multiflorano (LIX) y bauerano (LX).

La curva de dispersión óptica rotatoria (figura 13) de la cetona obtenida por oxidación del alcohol con reactivo de Kiliani (213) es del tipo de las que dan la isomultifloretona (LXI) (78), la Δ^8 -lanostea-3-ona (LXII) (214) y la isobauerona (LXIII) (214), indicando que la posición más probable para el doble enlace es la 8,9, con lo que se elimina el glutano de la lista anterior de posibilidades, y que el hidroxilo del alcohol está en la posición más usual, el C-3.

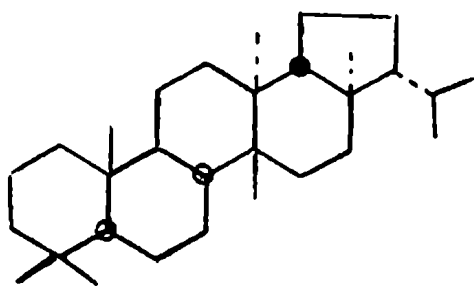
La configuración de dicho hidroxilo fue determinada en base a los espectros de resonancia magnética nuclear del alcohol (figura 7) y de su acetato (figura 8). Un análisis de primer orden de la señal del protón carbinólico unido al C-3 ($J = 3,25$ y $J = 4,57$, para el alcohol y el acetato, respectivamente) y que corresponde a la zona X de un sistema AX, siendo los protones A y X los unidos al C-2, permite obtener para la suma $J_{AX} + J_{BX}$ un valor de 15 cps. Este valor sólo puede alcanzarse existiendo una interacción axial-axial ($J_{aa} \approx 11$ cps) (215) entre el protón de C-3 y uno de los de C-2, pues $J_{ae} = J_{ee}$ tiene, en estos compuestos, un valor de 4 cps (215). Es decir, el protón de C-3 debe ser axial, y, en consecuencia, el hidroxilo ecuatorial.



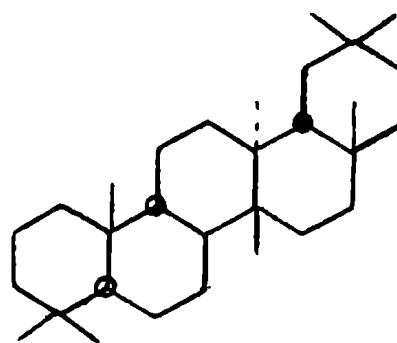
GLUTANO (LVII)



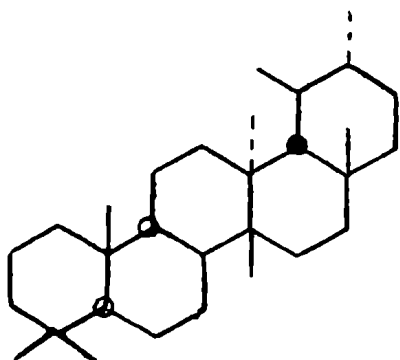
ARBORINO (LIII)



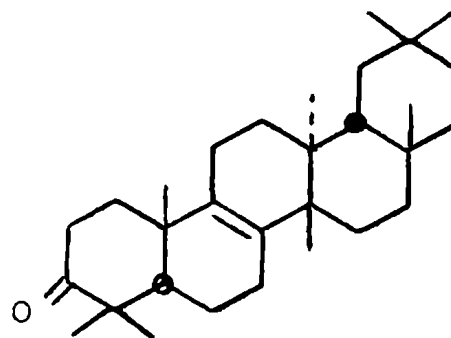
FERNANO (LVIII)



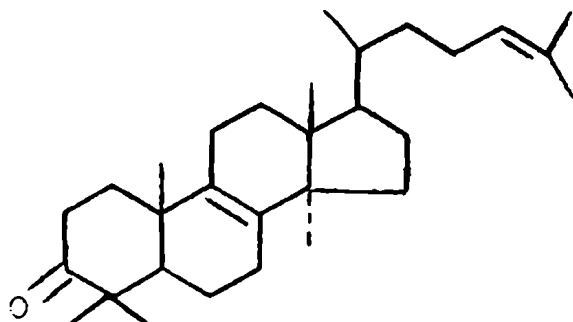
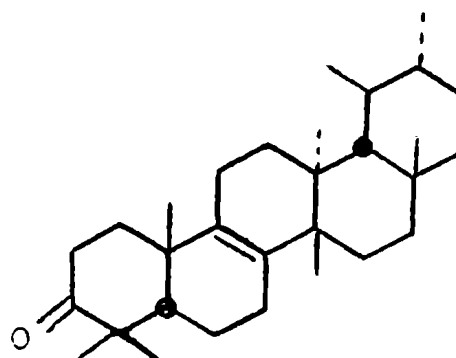
MULTIFLORANO (LIX)



BAUERANO (LX)



ISOMULTIFLORENONA (LXI)

 Δ^8 -lanosten-3-ona (LXII)

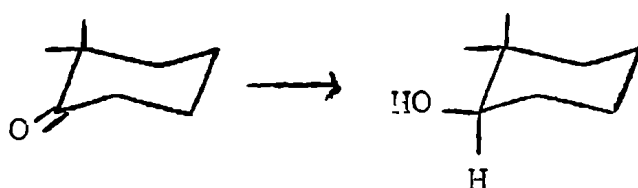
ISOBAUERENONA (LXIII)

Un estudio de las diferencias de las rotaciones moleculares de diferentes alcoholes triterpénicos pentacíclicos y sus acetatos (Tabla 1) muestra que en los casos estudiados esta diferencia es de signo positivo para los alcoholes β (ecuatoriales y negativa para los α (axiales), con la posible excepción del epigermanicol (50). En el caso del heliottol esa diferencia es de signo positivo.

Tabla 1

Compuesto	Rotaciones moleculares		Ref. bibliog.
	Alcohol	Acetato	
Heliottol	+ 192	+ 206	+ 14
Isomultiflorenol (ec., β)	+ 102	+ 140	+ 38 78
Isobaueranol (ec., β)	+ 150	+ 197	+ 47 78
Arborinol (ax., α)	+ 146	+ 60	- 86 3
Isoarborinol (ec., β)	+ 200	+ 262	+ 62 3
Lupeol (ec., β)	+ 115	+ 220	+ 105 23
Epilupeol (ax., α)	+ 72	- 14	- 86 24
Friedelinol (ax., α)	+ 77	- 56	- 133 84
Epifriedelinol (ec., β)	+ 102	+ 210	+ 108 84

La configuración β del hidroxilo pudo confirmarse químicamente mediante la oxidación del alcohol a la cetona correspondiente, como ya se indicó, y la posterior reducción de la misma con BH_4Na , obteniéndose nuevamente el alcohol del cual se partió con un rendimiento del 94%. Como la reducción de cetonas por medio de borohidruros ocurre en forma prácticamente estereoespecífica con producción del alcohol ecuatorial la configuración del C-3 se ve de este modo confirmada.

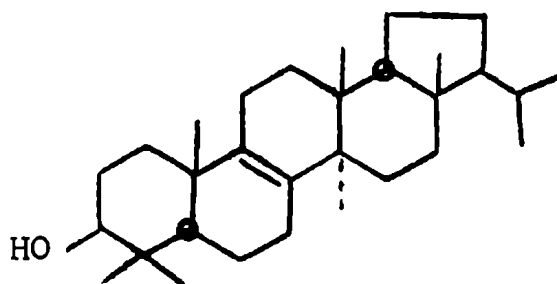
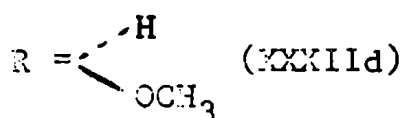
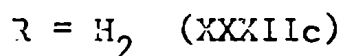
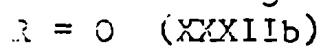
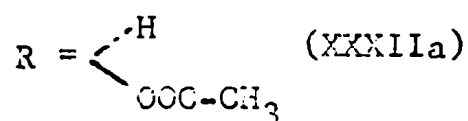
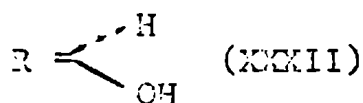
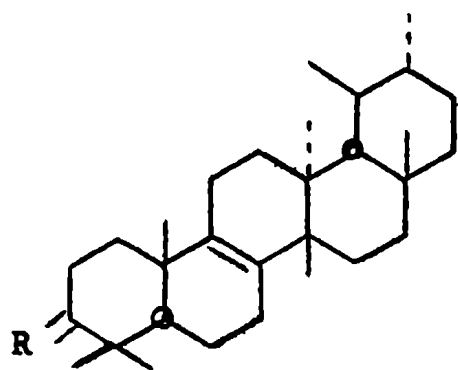


Por comparación de los puntos de fusión y poderes rotatorios del heliottol y de sus derivados, con los compuestos correspondientes con doble enlace en C, C de los esqueletos antes mencionados como posibles (excepto el arborano, ya que no se conocen compuestos con este esqueleto en los cuales el doble enlace se halla en la posición antes mencionada) (Tabla 2) se pueden descartar los esqueletos de multiflorano (LIX) y fernano (LVIII) para el compuesto en estudio.

Tabla 2

Compuesto	p.f. (°C)		Ref.bibliog.
<u>Heliottol</u>	168-170	+ 45°	
Acetato	212-213	+ 44°	
Cetona	184-185	+ 76.5°	
Hidrocarburo	173-174	+ 37°	
Acetilenediona	250-253	- 20°	
<u>Isobaueranol</u>		+ 36°	(96)
Acetato	223-225	+ 42°	(78)
Acetilenediona	256-258	- 27°	(96) (78)
<u>Isomultifloranol</u>	181-182	+ 24°	(78)
Acetato	227-228	+ 30°	(78)
Cetona	173-175	+ 74°	(78)
Acetilenediona	232-234	- 23°	(78)
<u>Isofernanol</u>	185-187		(8)
Acetona	226-227	+ 20.3°	(8)
Cetona	214-216		(8)
Hidrocarburo	185-186	+ 20°	(8) (216)

Quedan entonces como estructuras probables para el heliottol, el alcohol aislado de Heliotta longifoliata Britt., las siguientes:



3 β -hidroxi-arbora-8-eno (LXIV)

las cuales corresponden al 3 β -hidroxi-D:C-friedo-ursa-8-eno ó isobauerenol (XXXII) (96,78) y al 3 β -hidroxi-arbora-8-eno, respectivamente. Tampoco es posible descartar la posibilidad de que se trate de un alcohol triterpénico pentacíclico de esqueleto no conocido.

Los datos físicos antes mencionados (página 49) no están en contradicción con la estructura de isobauerenol, pudiendo obtenerse una primera confirmación de la misma mediante el análisis de los espectros de masa del alcohol (figura 10), de su acetato y éter metílico y de la cetona (figura 11) e hidrocarburo (figura 12) correspondientes (Tabla 3).

Los espectros de masa de triterpenos pentacíclicos no saturados han sido estudiados por Djerassi y colaboradores (217). Una comparación del espectro de masa de la cetona (figura 11) obtenida por oxidación del heliottol, con los espectros de masa de 3-ceto triterpenos pentacíclicos mononosaturados muestra una notable similitud con el de la bauerenona (LXV), difiriendo en cambio, en forma neta, de los de multiflorenona (LXVI), isomultiflorenona (LXI) y arborinona (LXVII) (217).

Tabla 3

Espectros de masa

a) Heliettol

m/e	Abundancia relativa (%) al pico base (100%)	Tipo de ruptura
428 ($M^+ + 2$)	9	
427 ($M^+ + 1$)	52	
426 (M^+)	100	
412	20	
411*	57	
393*	7	
274	9	
260	10	C
259	46	C
248	13	B
247*	68	B
241*	10	
230	8	
229*	31	
206	12	A
205	21	A

* Confirmado por presencia de pico metaestable

b) Heliettona

m/e	Abundancia relativa (%) al pico base (100%)	Tipo de ruptura
426 (M^{+2})	7	
425 (M^{+1})	28	
424 (M^{+})	80	
410	11	
409*	18	
271	7	
258	7	C
257	32	C
246	24	D
245	100	B
231	7	
206	16	A
205	60	A

* Confirmado por presencia de pico metaestable

c) Acetil heliettol

m/e	Abundancia relativa (%) al pico base (100%)	Tipo de ruptura
470 ($M^+ + 2$)	8	
469 ($M^+ + 1$)	39	
468 (M^+)	100	
454	10	
453*	27	
393	10	
301	23	C
290	10	B
289	49	B
255	9	
242	17	
231	9	
230	10	
229	45	
206	22	A
205	59	A
204	19	
203	10	

* Confirmado por presencia de pico metaestable

d) Eter metílico del heliettol

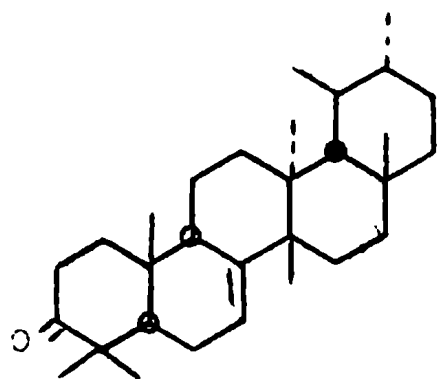
m/e	Abundancia relativa (%) al pico base (100%)	Tipo de ruptura
442 (M^{+2})	9	
441 (M^{+1})	45	
440 (M^{+})	100	
426	15	
425 *	43	
393	19	
274	6	C
273 *	24	C
262	14	B
261 *	64	B
255	6	
241	19	
231	8	
230	7	
229	48	
221	7	
218	11	
206	21	A
205	21	A
204	12	
203	12	

* Confirmado por presencia de pico metaestable

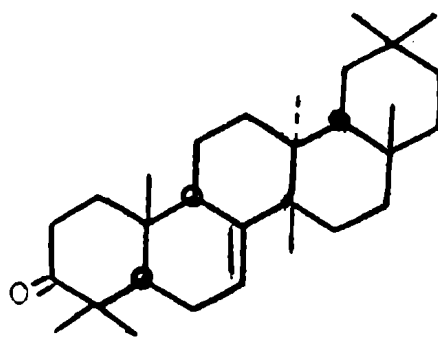
e) Helietteno

m/e	Abundancia relativa (%) al pico base (100%)	Tipo de ruptura
412 ($M^+ + 2$)	8	
411 ($M^+ + 1$)	34	
410 (M^+)	100	
396	17	
395 *	50	
257	8	
244	9	C
243	44	C
232	22	B
231	100	B
227	13	
207	8	
206	25	A
205	23	A
204	8	

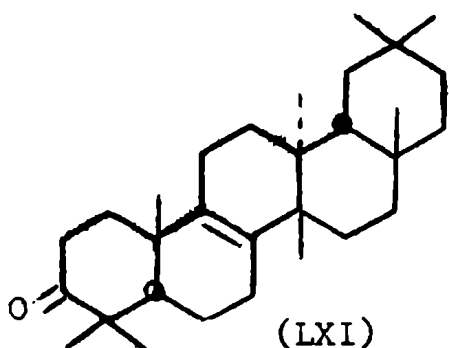
* Confirmado por presencia de pico metaestable



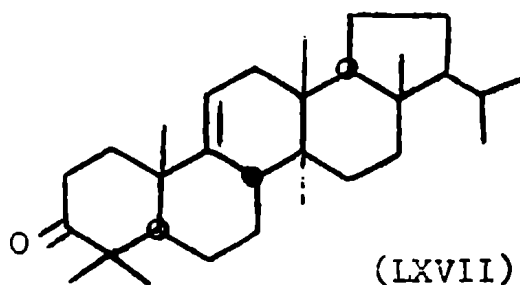
(LXV)



(LXVI)

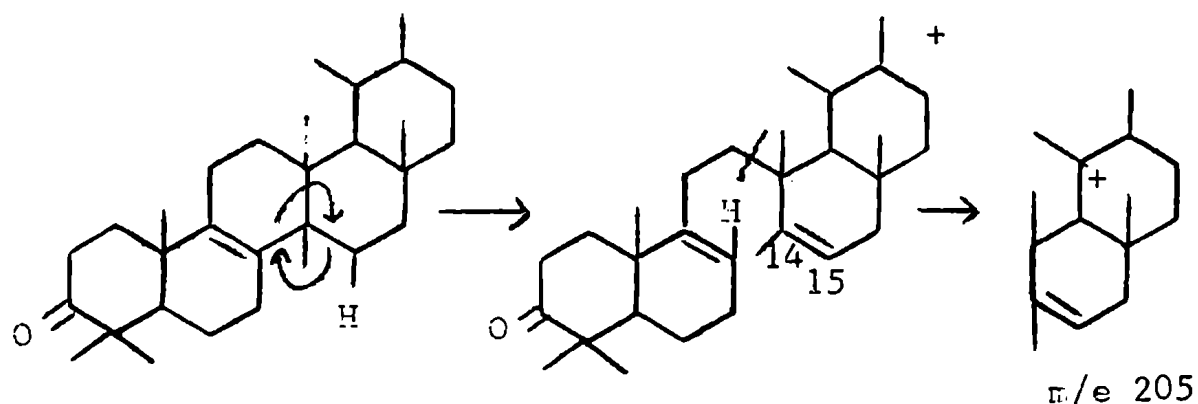


(LXI)



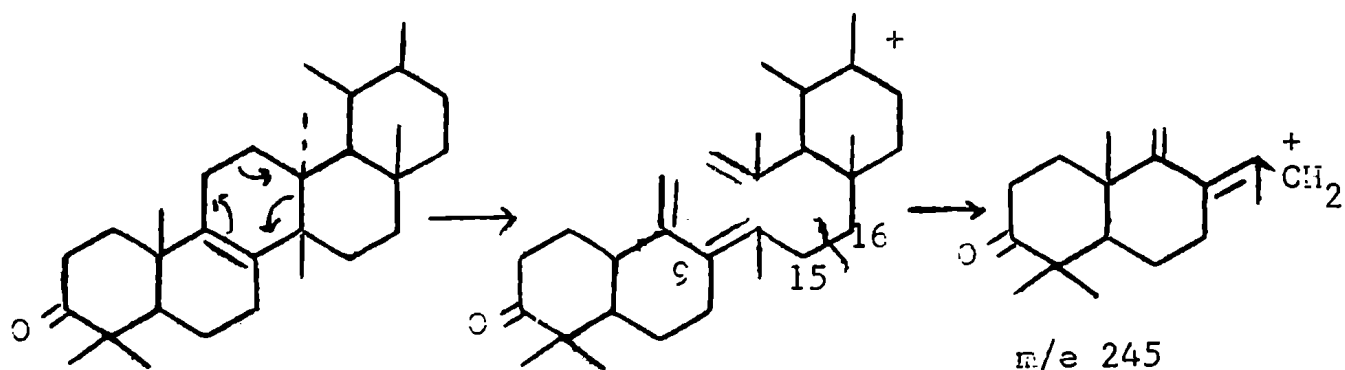
(LXVII)

Teniendo en cuenta que el tipo de fragmentación de los α -terpenos pentacíclicos 13,14 dimetilados, es decir, los esqueletos que tenemos en consideración, es gobernado por las diferencias de tensión estérica de las moléculas y no por la posición del doble enlace (217), los resultados del espectro de masa de la heliettona (figura 11) también indican que nos hallamos en presencia de un esqueleto de bauerao (IX) (D:C-friedo-ursano). El mencionado espectro presenta los picos importantes indicados en la Tabla 3, pudiéndose atribuir la presencia de dichos picos a las siguientes fragmentaciones: El pico de m/e 424 es el molecular y el de m/e 409 corresponde a la pérdida de un metilo, lo cual es completamente general. Debido a que la tensión se ve aumentada por el metilo en C-13 la mayor parte de la fragmentación ocurre en los alrededores de la unión de los anillos C y D. Sólo un ion principal involucra a los anillos D y E de la molécula: es el de m/e 205. Un plausible modo de formación de este ion implica la transferencia de un átomo de hidrógeno, indicada por las flechas, seguida por una ruptura de la unión 12-13 activada por la doble ligadura alílica en 14,15:



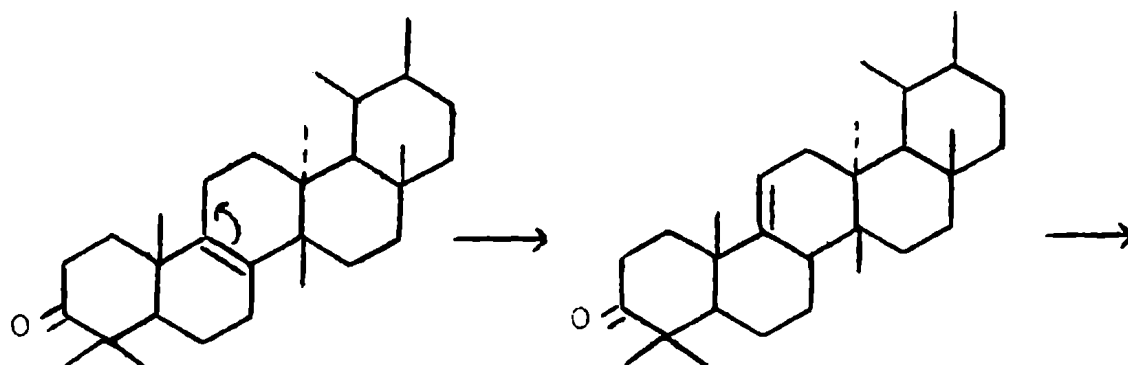
Ruptura tipo A

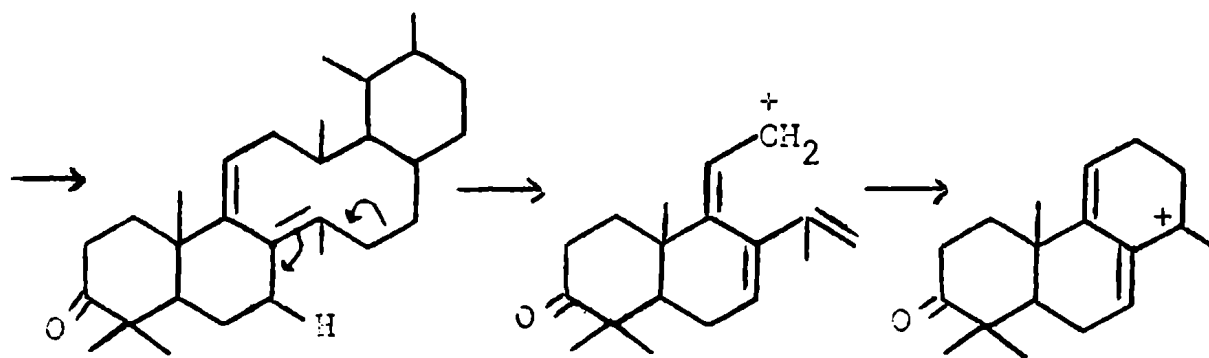
El ion que da lugar al pico base, m/e 245, puede formarse por una descomposición retro Diels-Alder del anillo C, seguida por una ruptura de la unión 15-16, activada por el doble enlace en 9,14:



Ruptura tipo B

La formación del ion de m/e 257 puede ocurrir por el mecanismo siguiente, suponiendo una previa migración del doble enlace, lo cual explicaría el hecho de que su abundancia sea menor en el caso de la arborinona (LXVII) (217):





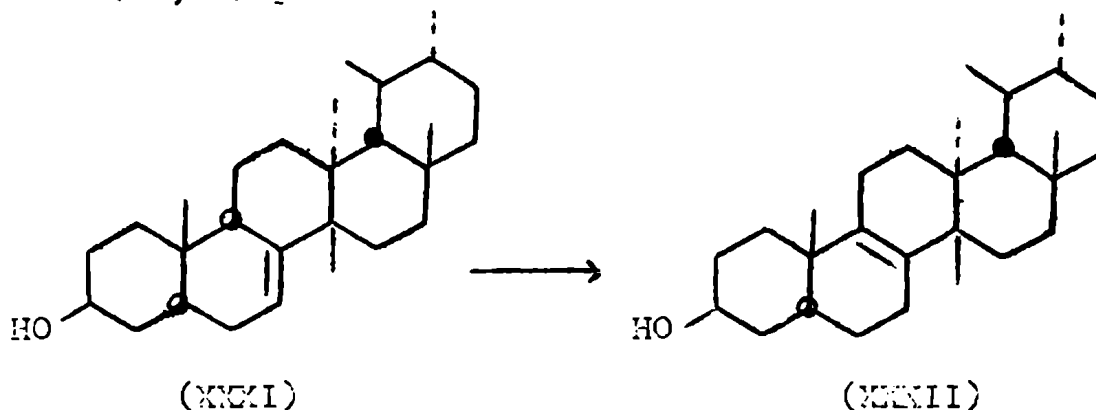
Ruptura tipo C

m/e 257

En los espectros del alcohol, de su acetato y éter metílico, y de la cetona e hidrocarburo correspondientes aparece un solo pico común a todos ellos, el de m/e 205, ya que, como dijimos, es éste el único fragmento importante formado por los anillos D y E, y esta parte de la molécula permanece invariable en todos los compuestos mencionados. En los casos del alcohol, acetato y éter metílico, además de aparecer los picos debidos a las fragmentaciones indicadas, se observa la presencia de nuevos picos originados por la pérdida de agua, ácido acético y metanol, respectivamente.

La confirmación final de la identidad del heliottol con el isobauerenol (XXXII) (78,96) se llevó a cabo por comparación directa con una muestra de isobauerenol auténtico, gentilmente cedida por el Prof. Dr. P. Sengupta. Los espectros de absorción en el infrarrojo y de masa de ambas muestras resultaron idénticos, así como también los R_f en diversos sistemas cromatográficos.

En consecuencia, el alcohol triterpénico pentacíclico aislado de Heliopsis longifoliata Britt. es el isobauerenol (XXXII). Este es el primer aislamiento de este alcohol como producto natural, pues dicha sustancia había sido obtenida anteriormente (96,78) por reordenamiento del bauerenol (XXXI).



(XXXI)

(XXXII)

Es de hacer notar que el único caso conocido de un triterpeno pentacíclico natural con doble enlace en 8,9 es el del isoferneno, aislado por Natori y colaboradores (216) de Adiantum monochlamys Eaton (Adiantácea). La posibilidad de que el isobauerenol (XXXII) sea un artefacto, formado por isomerización del bauerenol (XXXI), puede excluirse dado el método de extracción y aislamiento empleado.

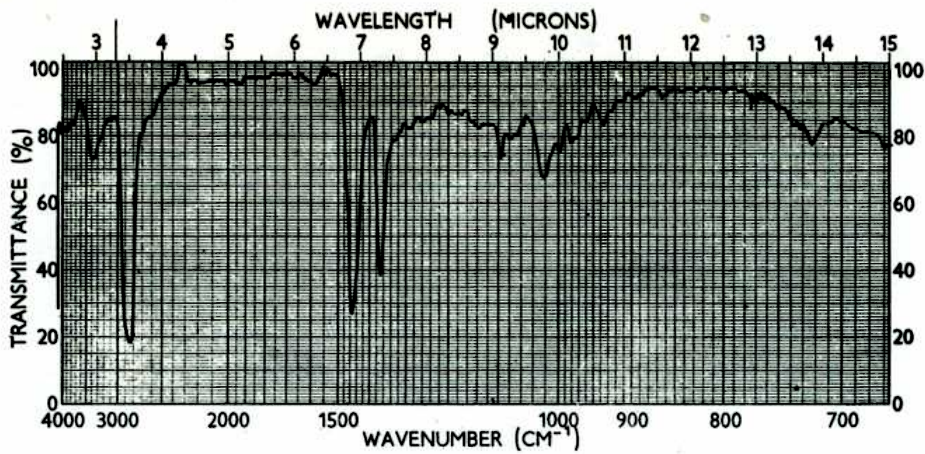


Figura 1. Espectro de absorción en el infrarrojo del isobauerenol.

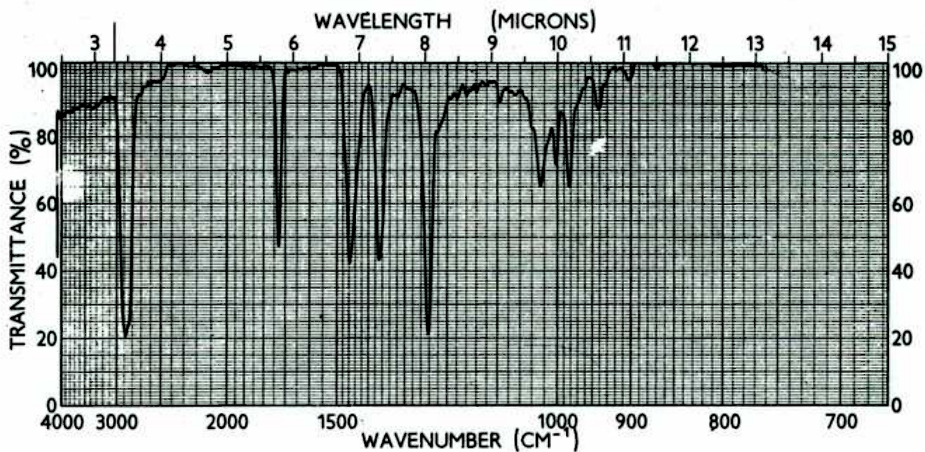


Figura 2. Espectro de absorción en el infrarrojo del acetil isobauerenol.

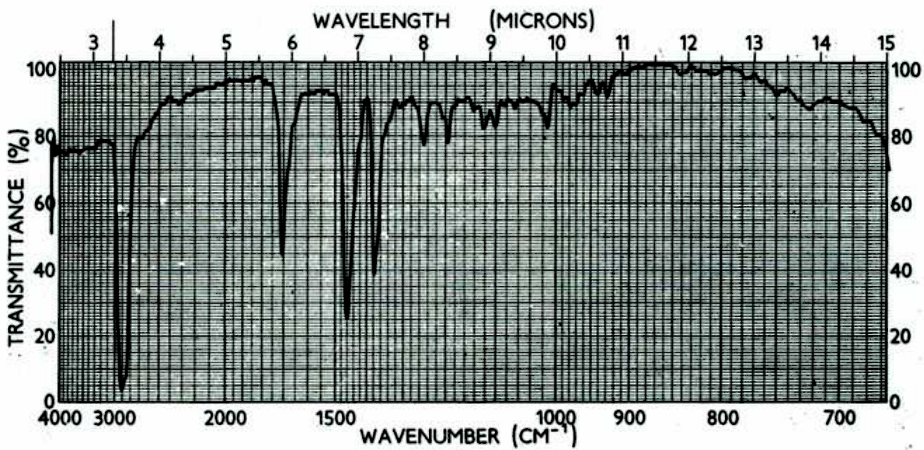


Figura 3. Espectro de absorción en el infrarrojo de isobauerenona.

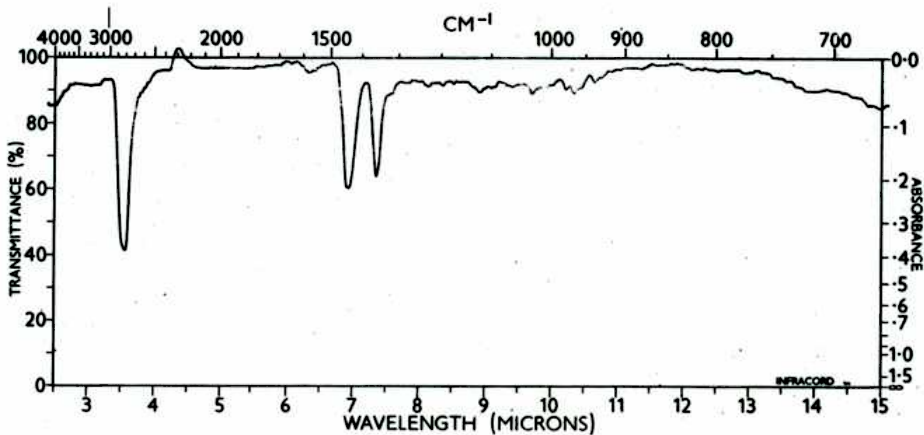


Figura 4. Espectro de absorción en el infrarrojo del isobaueremo.

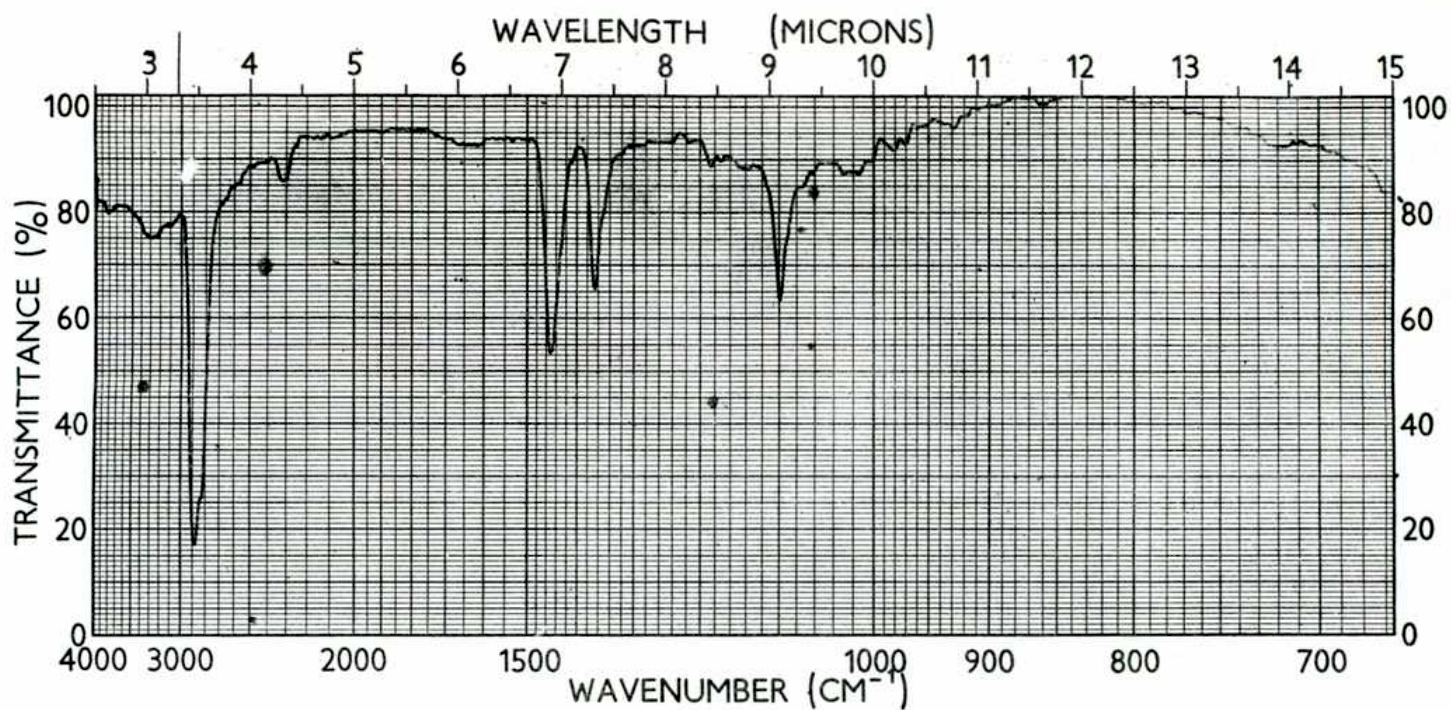


Figura 5. Espectro de absorción en el infrarrojo del éster metílico del isobauerenol.

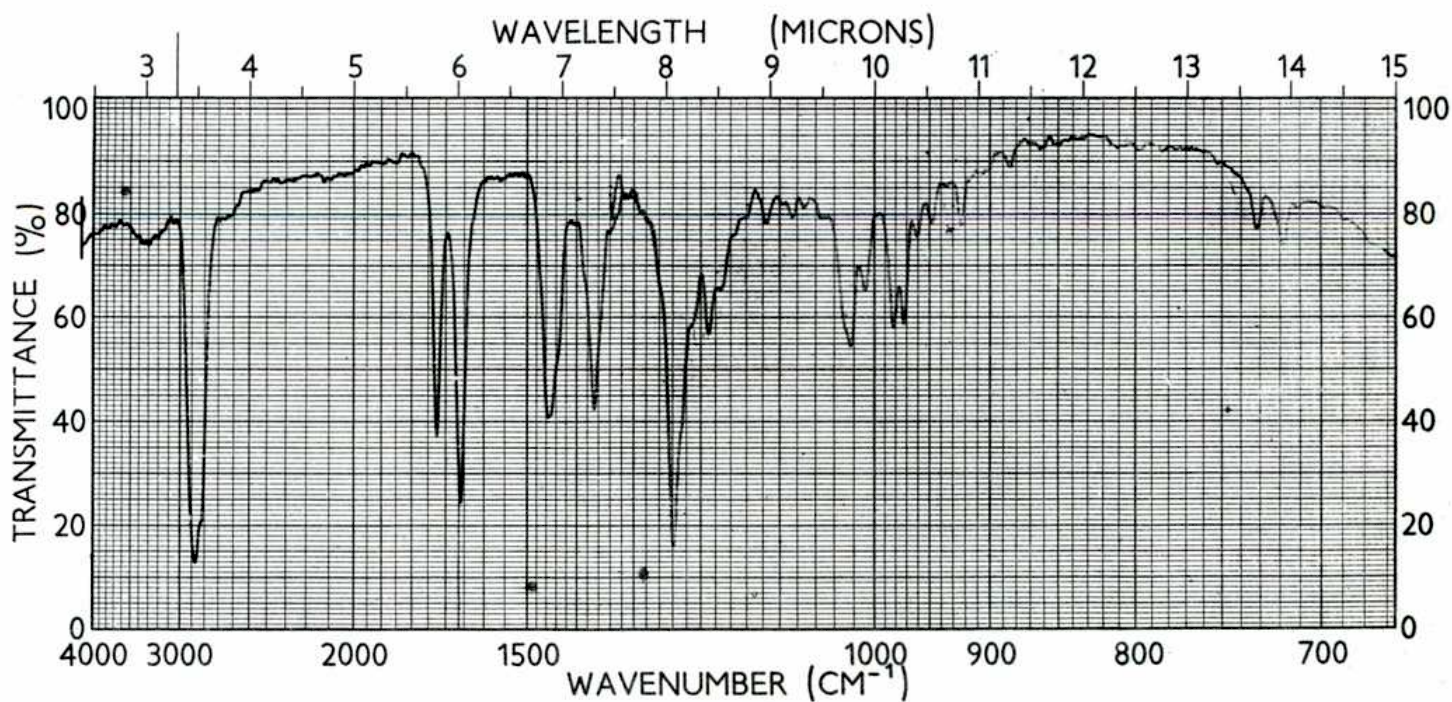


Figura 6. Espectro de absorción en el infrarrojo de la 3β-acetil-isobaueren-7,11-diona.

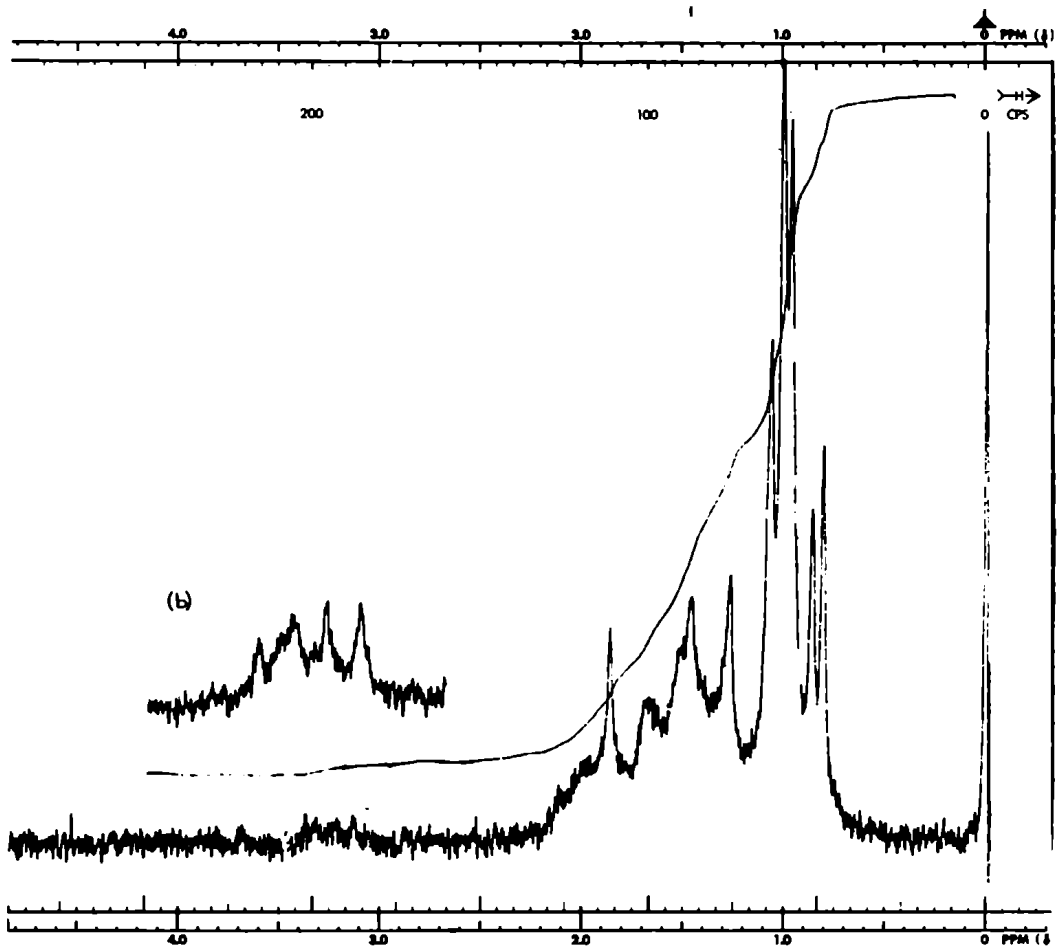


Figura 7. Espectro de resonancia magnética nuclear del isobutireno;
(b) amplitud de barrido 250 cps.

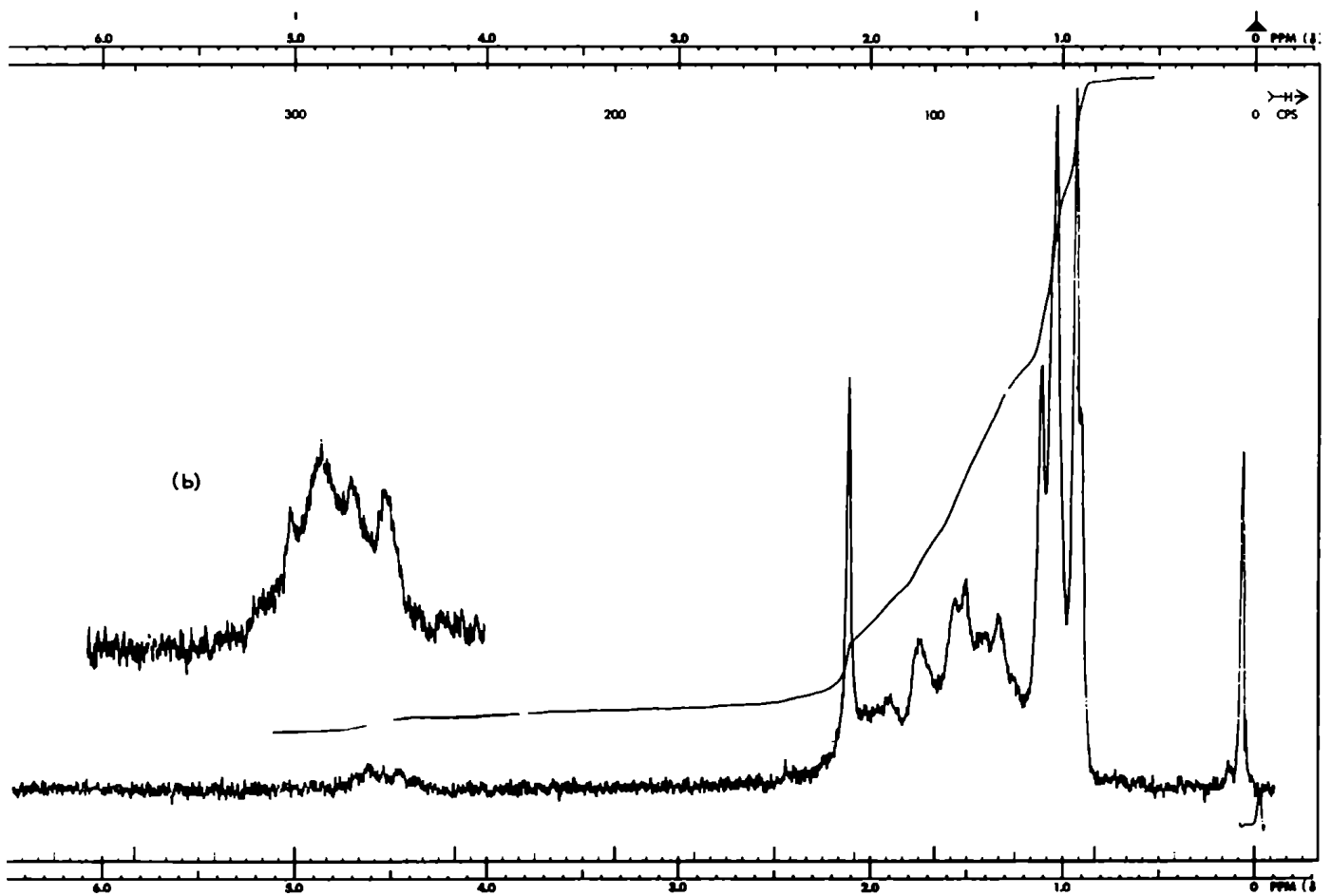


Figura 8. Espectro de resonancia magnética nuclear del acetileno;
(b) amplitud de barrido 250 cps.

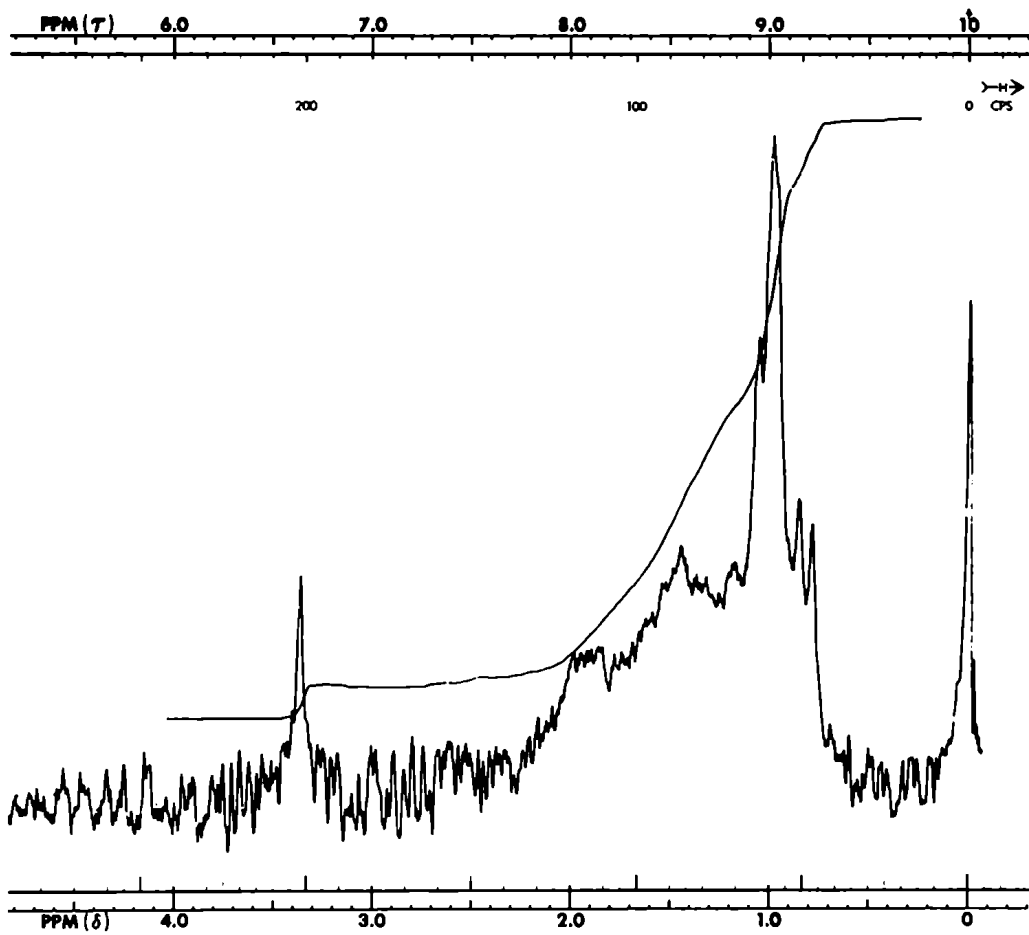


Figura 9. Espectro de resonancia magnética nuclear del éster metílico del isobauerenol.

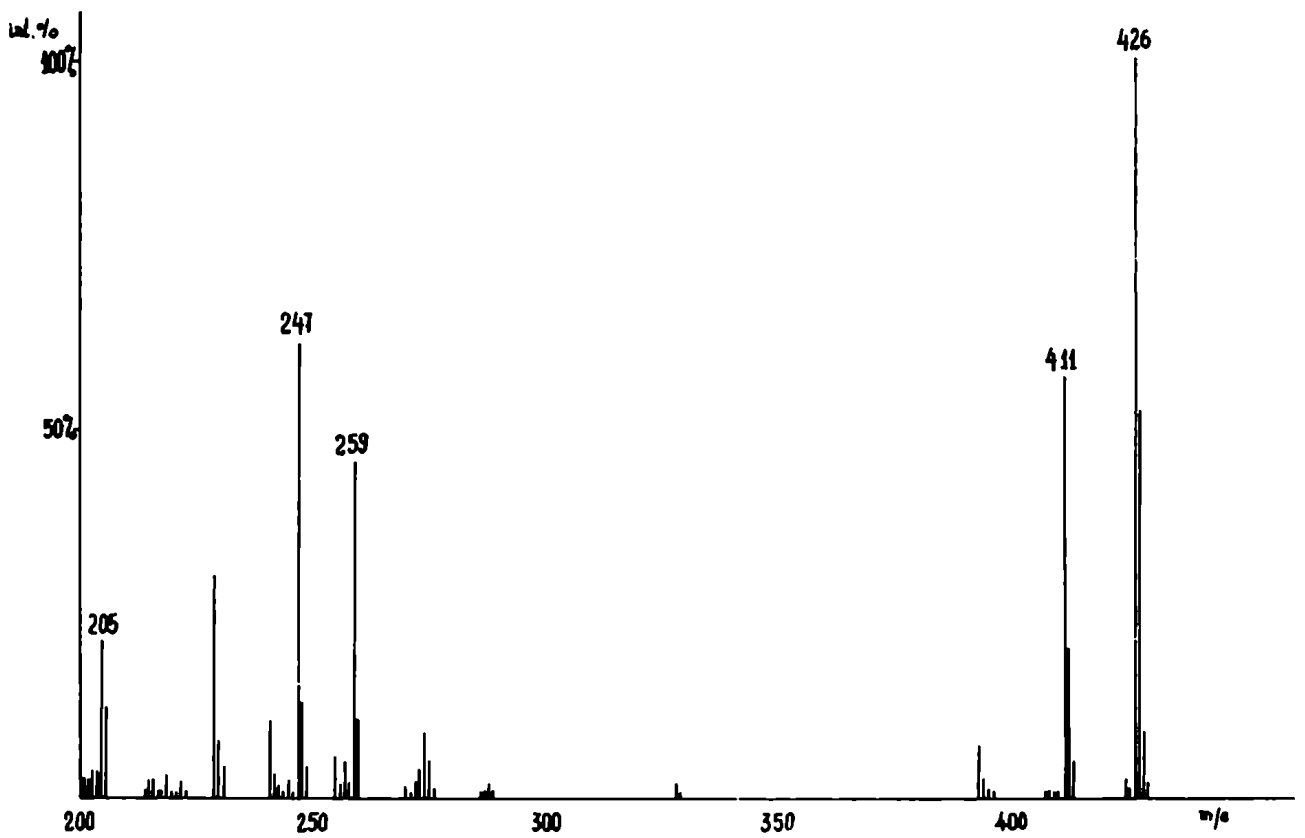


Figura 10. Espectro de masa del isobauerenol.

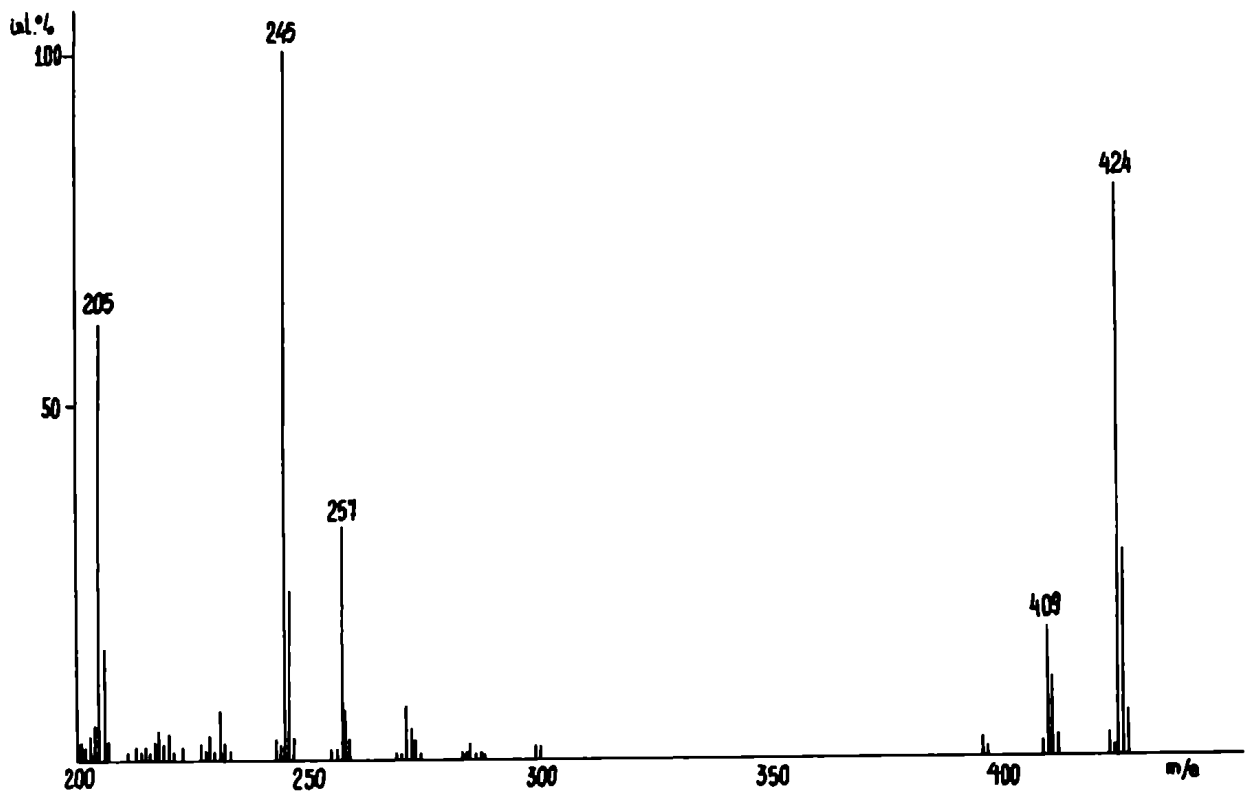


Figura 11. Espectro de masa de isobauerenona.

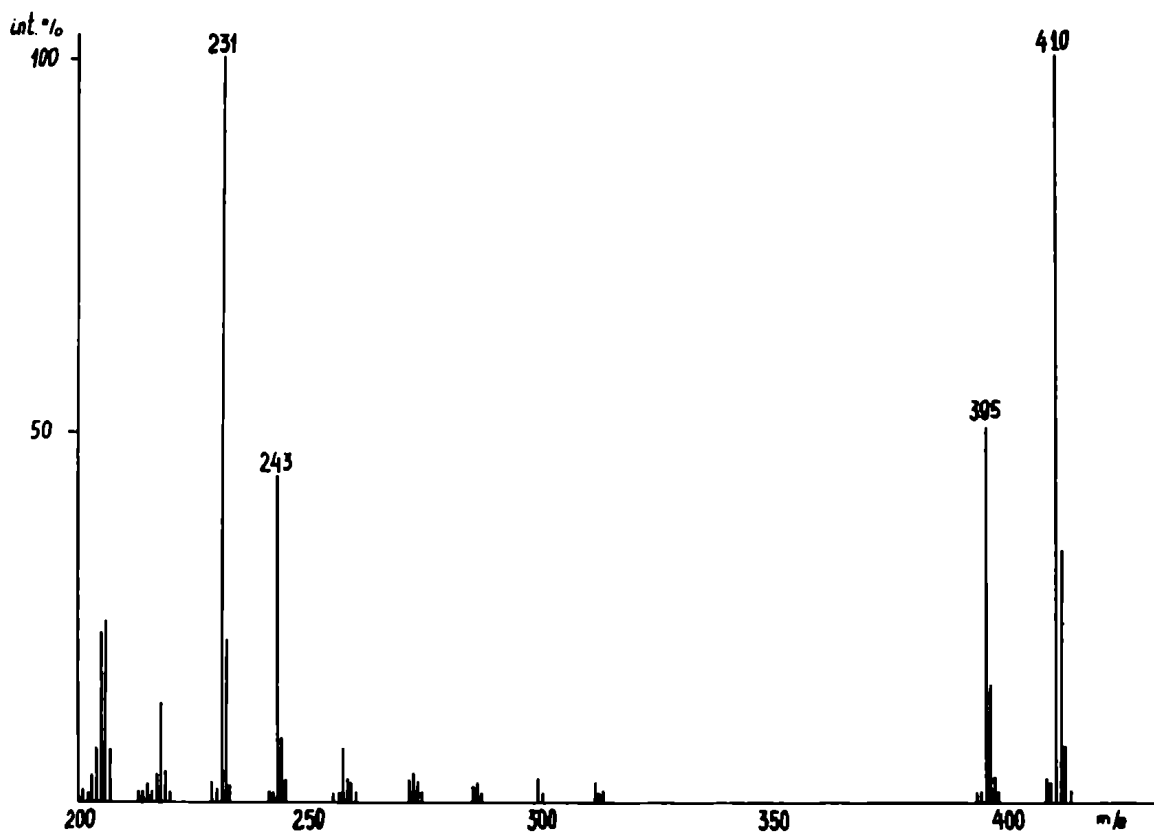


Figura 12. Espectro de masa del isobauereno.

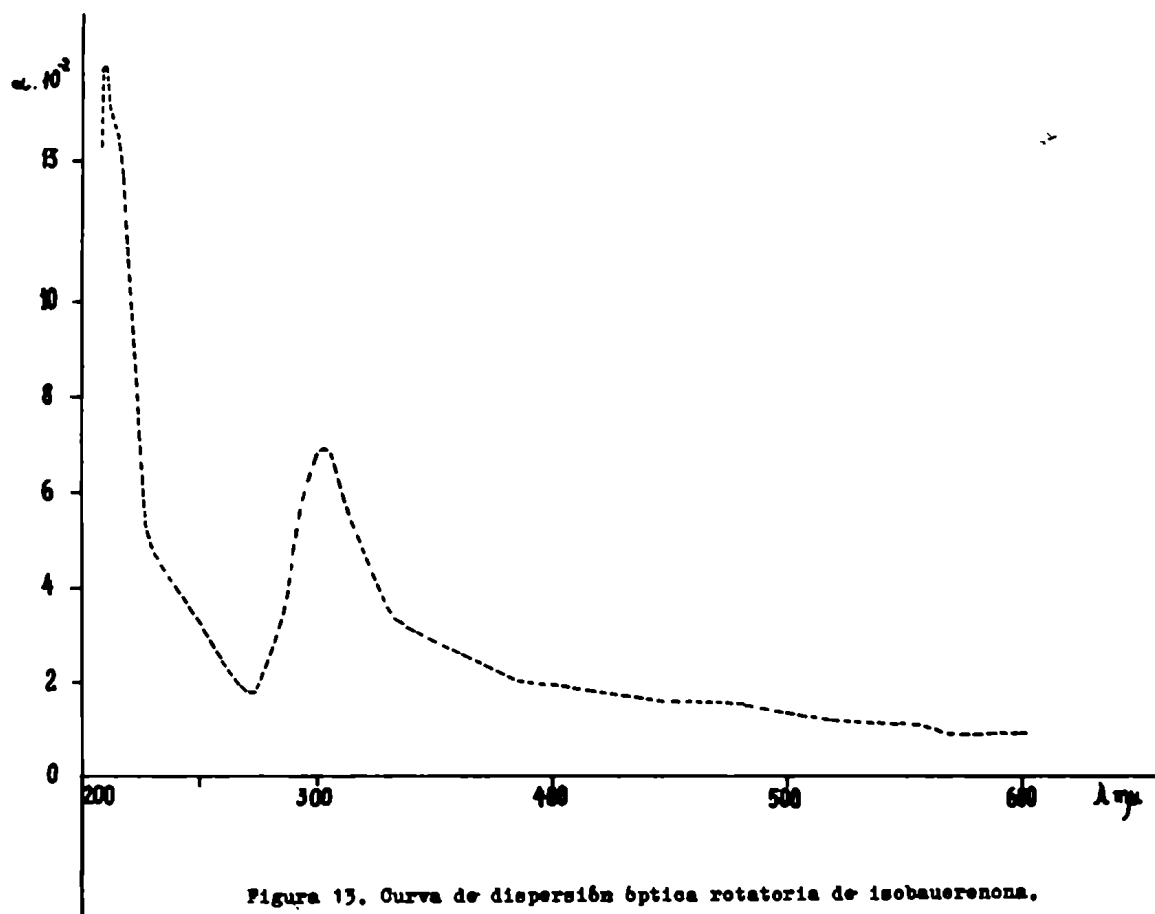


Figura 13. Curva de dispersión óptica rotatoria de isobauerenona.

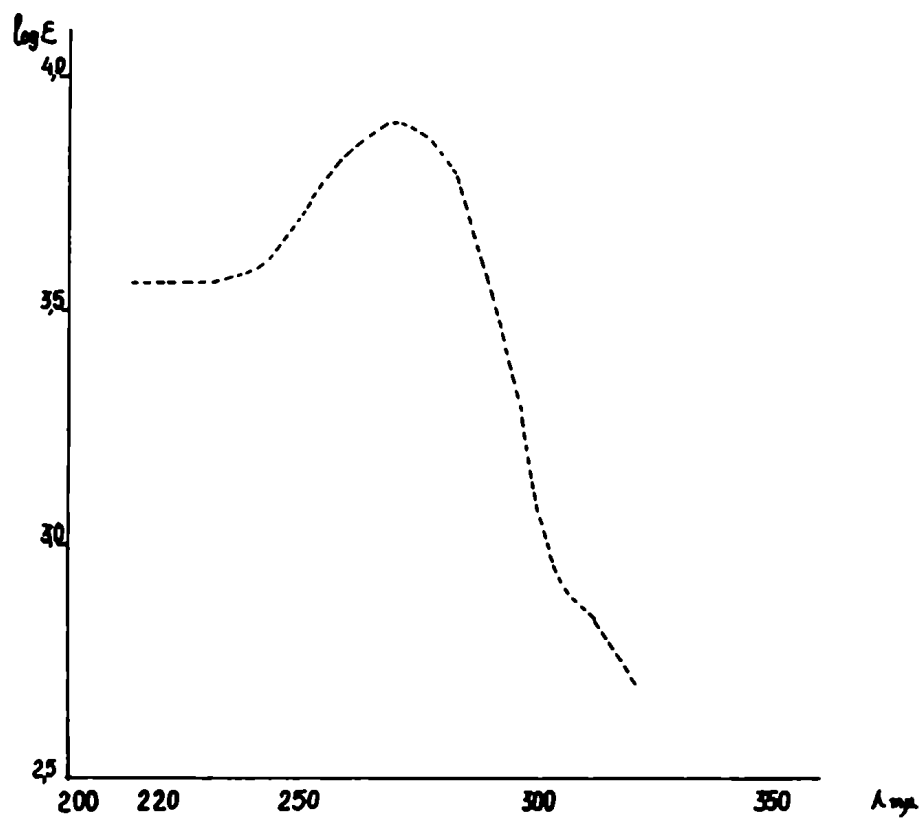


Figura 14. Espectro de absorción en el ultravioleta de 3 β -acetil-isobaueren-7,11-diona.

Parte experimental .-

Los puntos de fusión, que no están corregidos, fueron determinados por el método del tubo capilar en aparato según Tottoli. Los espectros de absorción en el ultravioleta se determinaron mediante un espectrofotómetro registrador Carl Zeiss RPQ 20 C, en etanol (c 0,5mg/100ml solución). Los espectros de absorción en el infrarrojo fueron determinados por medio de un espectrofotómetro Perkin-Elmer B-137, en nujol. Los espectros de resonancia magnética nuclear fueron determinados mediante un espectrómetro Varian A-60, a 60 Mc, usando como solvente deuterocloroformo, con tetrametilsilano como referencia interna. Los desplazamientos químicos fueron determinados utilizando la convención δ (ppm), relativos al tetrametilsilano (0 ppm). Los poderes rotatorios fueron determinados en un polarímetro O. C. Rudolph and Sons, Modelo 70, en cloroformo. La concentración se expresó en gramos de soluto por 100 ml de solución. La curva de dispersión rotatoria de la isobauerenona se determinó en un espectrofotopolarímetro Japan Spectroscopic Co, Ltd., Tokyo, Modelo ORD/UV 5. Los espectros de masa fueron determinados en espectrómetros de masa Varian M-66, Atlas-CH4 y Associated Electrical Industries Ltd., modelo MS9. Los microanálisis fueron efectuados por la Dra. Blanca B. de Deferrari, en el Laboratorio de Microanálisis de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales.

Salvo aclaración en contrario las cromatografías se efectuaron en capa delgada, empleándose como fase fija óxido de aluminio G, según Stahl, con benceno (sistema 1) y éter de petróleo (sistema 2) como solventes de desarrollo. Las mismas fueron reveladas con iodo.

Extracción y aislamiento.

■ El residuo obtenido por evaporación de las aguas madres de cristalización de heliettina (211,212) (25g, correspondientes a 2,5K₂ de corteza seca de Helietta longifolia Britt) se disolvió en 20 ml de benceno y se extrajo con solución 2N de ácido clorhídrico hasta reacción de Dragendorf para alcaloides negativa en la fase orgánica (durante este proceso ocurrieron pérdidas por formación de una emulsión muy difícil de romper).

La fase orgánica se llevó a sequedad a presión reducida y el residuo obtenido (18,183g) se disolvió en benceno y se cromatografió por una columna de 250 g de gel de sílice Davison, malla 100-200, empleándose como eluyentes, sucesivamente, 5000 ml de benceno, 1500 ml de benceno-acetato de etilo (9:1) y 2500 ml de metanol. Se recogió el eluido en tubos de ensayo de 20 ml de capacidad, reuniéndose luego sus contenidos en las fracciones siguientes, según las manchas presentes en cromatografía en capa delgada (sistema 1):

Fracción 1 (tubos 1 a 20): Residuo de evaporación 2, 872 g. Esta fracción ¹⁾ un aceite de color pardo oscuro. La cromatografía mostraba manchas fluorescentes: una en el origen y otra de $R_f = 0,94$. Ambas aparecen también al revelar con iodo.

Fracción 2 (tubos 21 a 80): Residuo de evaporación 1,962g. Aceite amarillento cuya cromatografía mostraba una mancha fluorescente en el origen, y otras dos, que aparecían al revelar con iodo, de $R_f = 0,92$ y $0,12$.

Fracción 3 (tubos 81 a 120): Residuo de evaporación 1,310 g. Sólido amorfo, amarillento. Su cromatografía indicaba la presencia de una mancha fluorescente en el origen y otras dos manchas, al revelar con iodo, de $R_f = 0,92$ y $0,40$.

Fracción 4 (tubos 121 a 250): Residuo de evaporación 3,508 g. Sólido blanco, cristalino, cuya cromatografía mostraba una mancha fluorescente en el origen y otras dos de $R_f = 0,92$ (débil) y $0,40$, al revelar con iodo.

Fracción 5 (tubos 251 a 400): Residuo de evaporación 0,588 g. Aceite amarillento que en cromatografía en capa delgada presentaba una mancha fluorescente en el origen, y al revelar con iodo una mancha débil de $R_f = 0,40$.

Fracción 6 (tubos 401 a 430): Residuo de evaporación 5,644 g. Aceite parduzco, cuya cromatografía mostraba manchas fluorescentes en el origen y de $R_f = 0,15$.

Fracción 7 (tubos 431 a 500): Residuo de evaporación 0,641 g. Jarabe pardo cuya cromatografía indicaba la presencia de una mancha fluorescente en el origen, y otra, también fluorescente, de $R_f = 0,21$.

Isobauerenol (XXXII)

Se recrystalizaron de metanol 500 mg del residuo de la fracción 4, completándose la purificación por sublimación a $150^{\circ}\text{C}/0,001$ mm. Se obtuvieron 380 mg de p.f. $168-170^{\circ}\text{C}$ (rendimiento sobre planta seca: 0,1 %).

Análisis: Calculado para $\text{C}_{30}\text{H}_{50}\text{O}$: C 84,44%; H 11,81%

Encontrado: C 84,32% ; H 11,64%.

Espectro ultravioleta: No se aprecia absorción.

Espectro infrarrojo: Presenta una banda de OH a 3400 cm^{-1} . Figura 1.

Espectro de resonancia magnética nuclear: Figura 7.

Espectro de masa: $m/e = 426$ (M^+), 411, 259, 247, 241, 229, 205. Figura 10.

Poder rotatorio: $[\alpha]_D^{25} + 45.0^{\circ}$ (c 0,8).

$R_f = 0,34$ (sistema 1); con gel de sílice como fase fija y solvente de desarrollo éter isopropílico: $R_f = 0,86$; cloroformo: $R_f = 0,38$.

Da reacción positiva con tetranitrometano y produce un color rojo borravino con el reactivo de Liebermann-Burchard.

Los datos de p.f., R_f y los espectros infrarrojo y de masa coinciden con los de una muestra auténtica de

isobauerenol

Acetil isobauerenol (XXXII a)

A una solución de 150 mg de isobauerenol en 8 ml de piridina se añadieron 8 ml de anhídrido acético. Se agitó y dejó a temperatura ambiente durante 36 horas. Se volcó luego la solución sobre agua e hielo, apareciendo un precipitado blanco, el cual se filtró y secó. Se obtuvieron 142 mg de una sustancia cristalina de etanol, completándose la purificación por sublimación a $150^{\circ}\text{C}/0,001\text{ mm}$: p.f. $212-213^{\circ}\text{C}$.

Análisis: Calculado para $\text{C}_{32}\text{H}_{52}\text{O}_2$: C 82,40% ; H 10,80%,

Encontrado: C 82,07% ; H 10,94%.

Espectro ultravioleta: No hay absorción.

Espectro infrarrojo: Se observan bandas de $-\text{CH}_3-\text{C}=\text{O}$ a 1240 y 1730 cm^{-1} . Figura 2.

Espectro de resonancia magnética nuclear: Figura 8.

Espectro de masa: $m/e = 468$ (M^+), 453, 393, 301, 289, 229, 205.

Poder rotatorio: $[\alpha]_D^{25} + 44^{\circ}$ (c 0,56).

Rf = 0,42 (sistema 2).

Isobauerenona (XXXII b)

Se disolvieron 200 mg de isobauerenol en 20 ml de acetona, enfriándose la solución a 0°C . Se agregaron, gota a gota, 5 ml de reactivo de Killiani, el cual se preparó disolviendo 2,7 g de CrO_3 en 4 ml de ácido sulfúrico concentrado y 16 ml de agua. Se destruyó el exceso de oxidante agregando gotas de metanol, volcándose luego la solución sobre agua e hielo, formándose un precipitado blanco, que una vez filtrado y seco pesó 187 mg (93%). Recristaliza de acetona obteniéndose un producto de p.f. $184-185^{\circ}\text{C}$.

Análisis: Calculado para $\text{C}_{30}\text{H}_{48}\text{O}$: C 84,91% ; H 11,40%.

Encontrado: C 84,92% ; H 11,38%.

Espectro ultravioleta: No se aprecia absorción.

Espectro infrarrojo: Se observa una banda de $-\text{C}=\text{O}$ a 1700 cm^{-1} . Figura 3.

Espectro de masa: $m/e = 424$ (M^+), 409, 271, 257, 245, 205.

Figura 11.

Poder rotatorio: $[\alpha]_D^{25} + 76.5^{\circ}$ (c 0,6).

Curva de dispersión rotatoria: $[\Phi]_{302}^{25} = 2934$ (pico) y $[\Phi]_{270}^{25} = 771$ (valle).

Amplitud: 21,63. Figura 13.

Rf = 0,86 (sistema 1) ; 0,17 (sistema 2).

Reducción de isobaurenona con BH_4Na .

Se disolvieron 53 mg de isobaurenona en 60 ml de isopropanol, calentándose a reflujo la solución durante 90 minutos, con 195 mg de BH_4Na . El exceso de reductor se destruyó cuidadosamente con ácido acético, y la solución, tal cual, se llevó a sequedad, a presión reducida.

Se tomó el residuo en cloroformo y se filtró sobre filtercel para eliminar las sales que habían quedado sin disolver. Se lavó la solución cloroformica con solución saturada de CO_3HNa , se secó sobre SO_4Na_2 y llevó a sequedad, obteniéndose 50 mg de un residuo cristalino, de igual Rf que el del isobauerenol (presenta además otra mancha muy débil de Rf menor). Se recrystaliza dos veces de metanol y se sublima a $150^\circ\text{C}/0,001\text{ mm}$; p.f. $165-167^\circ\text{C}$; p.f. mezcla con isobauerenol: $166-168^\circ\text{C}$. Espectro infrarrojo idéntico al del isobauerenol.

Isobauereno. (XXXII c)

Se disolvieron 76,7 mg de isobauerenona en 11 ml de dietilenglicol y 5 ml de n-butanol, y se calentó a reflujo, bajo corriente de N_2 , durante 18 horas (218). Se enfrió luego la solución y se añadieron a la misma 300 mg de HOK, destilándose hasta que la temperatura alcanzó los 300°C (aproximadamente una hora). Posteriormente se calentó a reflujo durante una hora más, se enfrió, se agregaron 30 ml de agua y se extrajo con éter etílico. La fase etérea se lavó con $\text{SO}_4\text{H}_2\text{N}$ y con agua, secándose sobre SO_4Na_2 . Por evaporación a presión reducida se obtuvieron 75 mg de residuo. Este se filtró, previa disolución en éter de petróleo, por 12 g de alúmina básica (Woelm, grado I), obteniéndose por evaporación de la solución 25 mg de un producto cristalino, el cual se purificó por sublimación a $130^\circ\text{C}/0,001\text{ mm}$. P.f. $173-174^\circ\text{C}$.

Análisis: Calculado para $\text{C}_{30}\text{H}_{50}$: C 87,73% ; H 12,27%.

Encontrado: C 87,70% ; H 11,90%.

Espectro ultravioleta: No se aprecia absorción.

Espectro infrarrojo: Figura 4.

Espectro de masa: $m/e = 410(\text{M}^+)$, 395, 243, 231, 205. Figura 12.

Poder rotatorio: $[\alpha]_D + 37^\circ$ (c 0,47).

Eter metílico del isobauerenol. (XXXII d)

Se mezclaron 10 ml de cloruro de metileno y 3 ml de solución de KOH al 40%, y se enfriaron a 5°C , con agitación. Se añadió lentamente 1 g de nitrosometilurea finamente pulverizada, separándose la fase orgánica, la cual se secó sobre HOK. Esta solución se agregó a otra enfriada a -6°C , que contenía 120 mg de isobauerenol y 0,05 ml de F_3B -eterato, disueltos en 5 ml de cloruro de metileno (219; 220).

Después de dejar durante una hora a -10°C , se eliminó, por filtración, el polimetileno formado y se llevó la solución a sequedad, a presión reducida. El producto cristalizó y recrystalizó de etanol, completándose la purificación por sublimación a $140^\circ\text{C}/0,001\text{ mm}$. Se obtuvieron así 60 mg de producto, de p.f. $168-183^\circ\text{C}$.

Análisis: Calculado para $\text{C}_{31}\text{H}_{52}\text{O}$: C 84,48% ; H 11,89%.

con 3 ml de
hidrato de
hidrazina 98%

Encontrado: C 84,18% ; H 11,94%.

Espectro ultravioleta: No se aprecia absorción.

Espectro infrarrojo: Se observa una banda atribuible a una función éter, a 1100 cm^{-1} .

Figura 5.

Espectro de resonancia magnética nuclear: Figura 9.

Espectro de masa: $m/e = 441,440(M^+), 425, 410, 393, 273, 261, 241, 229, 206, 205$.

Poder rotatorio: $[\alpha]_D^{20} + 49,2^\circ$ (c 0,43).

Rf = 0,96 (sistema 1) ; 0,66 (sistema 2).

3 β -acetil-isobaueren-7,11-diona.

Se disolvieron 170 mg de acetil isobauerenol en 10 ml de ácido acético glacial a 70°C y a esta solución se añadieron durante 30 minutos, 300 mg de CrO_3 en 10 ml de ácido acético y 5 gotas de agua (78,192). Se enfrió la solución resultante, agregándose unas gotas de metanol para destruir el exceso de oxidante y luego se agregaron 25 ml de agua y 25 ml de éter etílico. Se separaron ambas fases, extrayéndose la acuosa con otros 20 ml de éter etílico, reuniéndose luego las fases etéreas, las cuales se secaron sobre SO_4Na_2 . Se evaporó el solvente a presión reducida y el residuo disuelto en éter de petróleo, se filtró sobre 15 g de óxido de aluminio (Woelm, grado I) desactivados con 1 ml de ácido acético al 10%, eluyéndose con éter de petróleo-benceno (9:1). Se recogieron 250 ml de eluido, los cuales llevados a sequedad produjeron un residuo que pesó 85 mg. Este residuo se cromatografió por 15 g de óxido de aluminio neutro (Woelm, grado I), empleándose benceno como eluyente. El eluido (300 ml) se llevó a sequedad a presión reducida, obteniéndose 25 mg de un residuo amarillo. Recristalizado de metanol y sublimado a $180^\circ\text{C}/0,001\text{ mm}$, funde a $250-253^\circ\text{C}$.

Análisis: Calculado para $\text{C}_{32}\text{H}_{48}\text{O}_4$: C 77,37% ; H 9,74%.

Encontrado: C 77,01% ; H 9,88%.

Espectro ultravioleta: λ máx. 269 m μ (ϵ 7.900). Figura 14.

Espectro infrarrojo: Se aprecian bandas de $-\text{CH}_3-\text{COO}^-$ (1240 y 1730 cm^{-1}) y de cetona conjugada (1660 cm^{-1}). Figura 6.

Poder rotatorio: $[\alpha]_D^{20} -20^\circ$ (c 0,35).

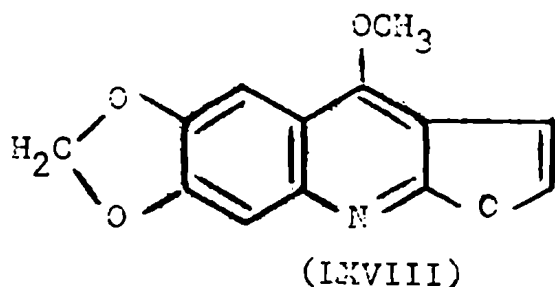
II. ALCALOIDE PRINCIPAL DE HELLETTA LONGIFOLIATA BRITT.

En el presente capítulo se describe el aislamiento e identificación del alcaloide principal de la mezcla de por lo menos cinco bases que contiene la Helietta longifolia Britt.

La corteza seca y molida se extrajo sucesivamente con éter de petróleo y metanol. El extracto metanólico se concentró a sequedad en vacío y el residuo se tomó con ácido clorhídrico diluido y filtró. El filtrado se extrajo con éter etílico, se alcalinizó con amoníaco concentrado y se extrajo nuevamente con éter etílico hasta reacción de Mayer negativa en la fase acuosa, previamente acidificada. Este último extracto etéreo se secó y concentró a sequedad.

De la mezcla de bases que contiene el residuo, por tratamiento con metanol cristaliza una, que recristalizada de acetona funde a 197-199°C, y da un clorhidrato de p.f. 207-210°C. El espectro de absorción en el ultravioleta (figura 16) indicó que muy posiblemente se trataba de una base furoquinolínica. El espectro de resonancia magnética nuclear (figura 17) llevó a postular como estructura más probable la (LXVIII), correspondiente a maculina, un alcaloide furoquinolínico aislado anteriormente de otras rutáceas (221-226). Esta estructura fue confirmada por comparación con una muestra auténtica de maculina: p.f. mezcla no da depresión, igual Rf en dos sistemas distintos, espectros de absorción en el infrarrojo (figura 15) y en el ultravioleta (figura 16) coincidentes.

Las furoquinolinas son alcaloides característicos de las rutáceas, y es el grupo de bases de más frecuente ocurrencia en esta familia. La maculina había sido aislada hasta ahora de especies del género Flindersia (221-225), perteneciente a la sub-familia Flindersioideae, y del género Vepris (226), subfamilia Toddalioidae.



Parte experimental:

Los puntos de fusión son sin corregir y fueron determinados por el método del tubo capilar en aparato según Tottoli. Los espectros de absorción en el ultravioleta se determinaron mediante un espectrofotómetro registrador Carl Zeiss RPQ 20 C, en etanol (c 0,5mg/100 ml solución). Los espectros de absorción en el infrarrojo fueron determi-

nados por medio de espectrofotómetro Perkin-Elmer B-137, en nujol. El espectro de resonancia magnética nuclear se determinó mediante un espectrómetro Varian A-60, a 60 MC, usando como solvente deuterocloroformo, con tetrametilsilano como referencia interna. Los desplazamientos químicos fueron determinados utilizando la convención (ppm), relativos al tetrametilsilano (0 ppm).

Las cromatografías en capa delgada se llevaron a cabo con óxido de aluminio G (Merck) como adsorbente y cloroformo-benceno 7:3 (A) o cloruro de etileno (B) como solventes de desarrollo, revelándose las mismas con yodoplatinato de potasio.

Extracción de las bases y aislamiento de maculina.

Se extrajeron con metanol durante 30 horas 5,3 kg. de corteza seca y molida de Helietta longifoliata Britt., que había sido previamente extraída con éter de petróleo liviano. El extracto se concentró hasta 500 ml a presión reducida, y se dejó durante dos días a 0°C. Se filtró el precipitado formado y se llevó el filtrado a sequedad. El residuo se tomó con 4 litros de HCl 1N, eliminándose el insoluble por filtración. El filtrado se extrajo con éter etílico, descartándose el extracto. La fase acuosa se llevó a pH 8 con 700 ml de NH₃ concentrado y se extrajo con éter etílico hasta reacción de Mayer negativa. El extracto etéreo se secó sobre SO₄Na₂ y se evaporó a sequedad. El residuo obtenido pesaba 2,8 g y en cromatografía en capa delgada (A) presentaba por lo menos cinco manchas al reactivo de Dragendorff. Al tomar este residuo con metanol se separó un producto cristalino que se filtró (0,130 g). Las aguas madres se evaporaron a sequedad, obteniéndose 2,6 g de residuo que se reservó para su estudio posterior.

Maculina.

El precipitado cristalino formado se recrystalizó dos veces de acetona, obteniéndose una sustancia de p.f. 197-199°C; p.f. mezcla con una muestra auténtica de maculina de p.f. 196-197°C; 196-198°C.

Espectro ultravioleta: figura 16; coincidente con el de maculina.

Espectro infrarrojo: figura 15; coincidente con el de maculina.

Espectro de resonancia magnética nuclear: figura 17.

R_f = 0,82 (A) ; 0,85 (B), coincidentes con los de maculina

Clorhidrato: A 10 mg de maculina, disueltos en acetona caliente, se agregó HCl concentrado hasta reacción ácida y se concentró la solución hasta aparición de un precipitado cristalino. Se enfrió y filtró, obteniéndose un producto de p.f. 207-210°C; lit. (221) 205-210°C .

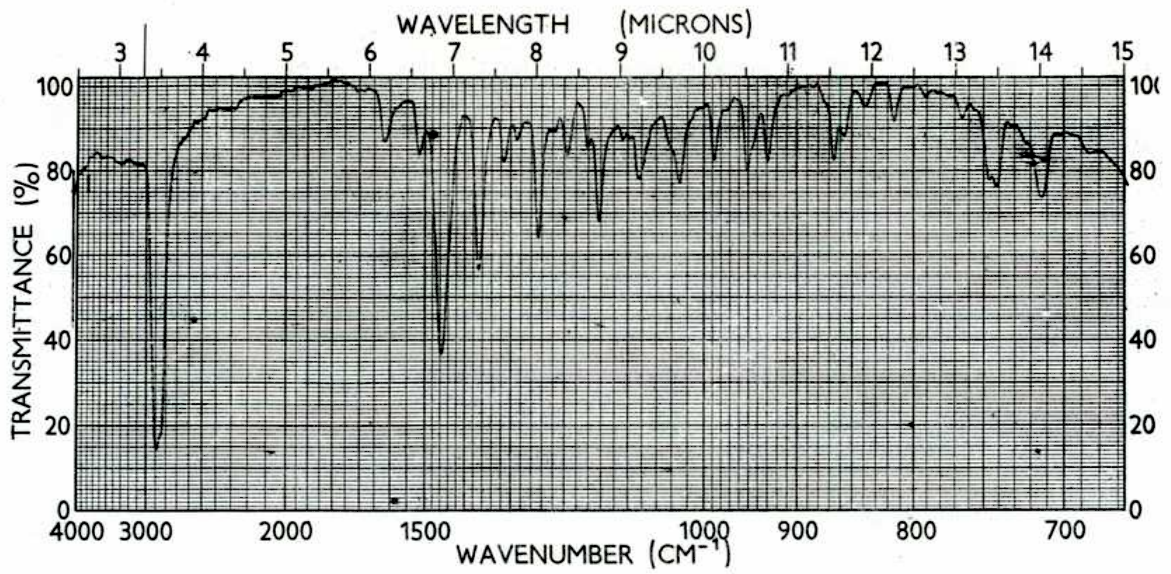


Figura 15. Espectro de absorción en el infrarrojo de maculina.

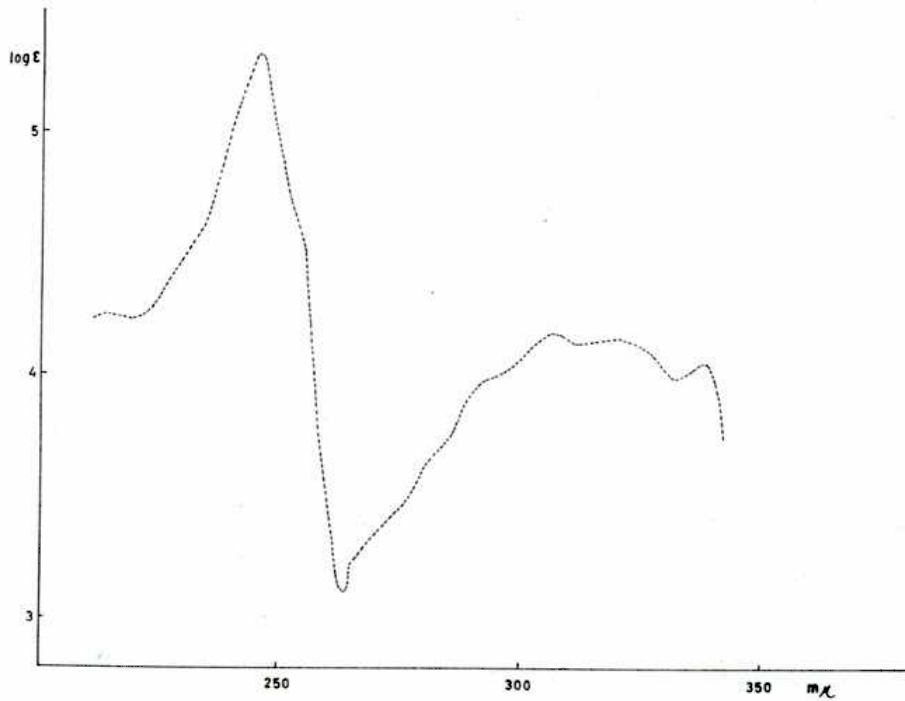


Figura 16. Espectro de absorción en el ultravioleta de maculina.

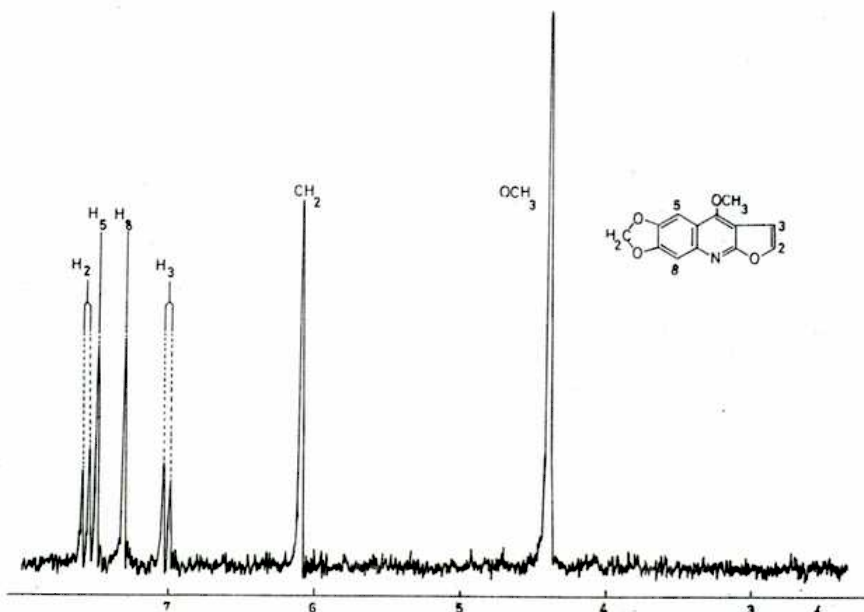


Figura 17. Espectro de resonancia magnética nuclear de maculina.

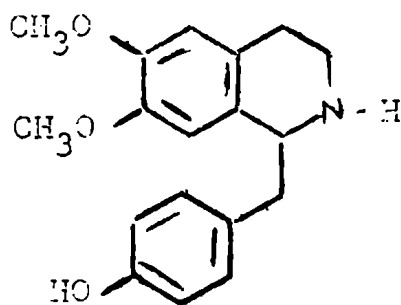
III. ALCALOIDES DE COLLETIA PARADOXA (SPRENG.) ESCAL.

Desde el último resumen sobre alcaloides bencilisoquinolínicos (227) hasta el presente (julio 1967) se han encontrado varias nuevas bases de este tipo y determinado su estructura, y se han aislado algunas ya conocidas de nuevas especies. En este capítulo haremos una breve revisión de las mismas, dando para los alcaloides nuevos, la fórmula bruta, fórmula estructural, punto de fusión, poder rotatorio, derivados conocidos y especies de las cuales han sido aisladas. En el caso de las bases ya conocidas sólo se han de indicar las fórmulas brutas y estructurales y las especies de las cuales se las ha aislado.

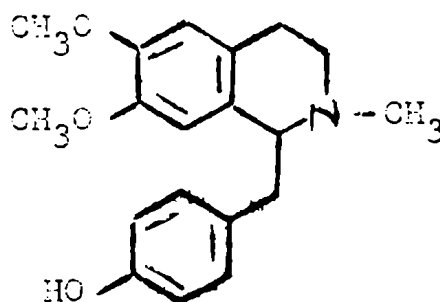
Alcaloides benciltetrahydroisoquinolínicos con tres sustituyentes oxigenados.-

L(-) N-nor-armepavina (LXIX): $C_{18}H_{21}NO_3$. Aislada de Cryptocarya konishii Hayata (laurácea) (228).

DL-N-nor-armepavina: Aislada de Cryptocarya konishii Hayata (laurácea) (228)



(LXIX)

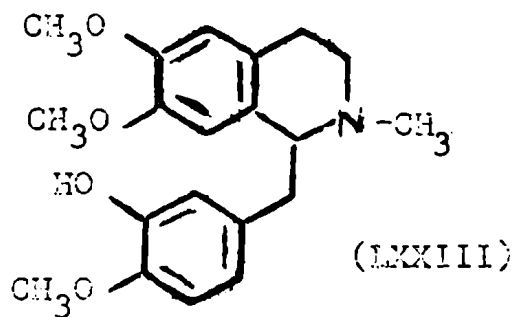
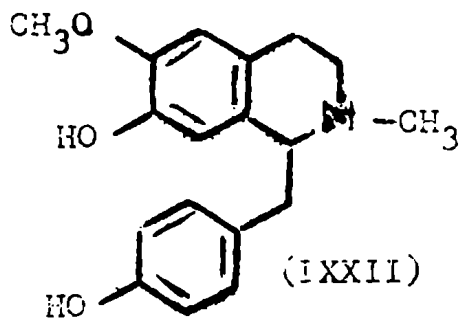
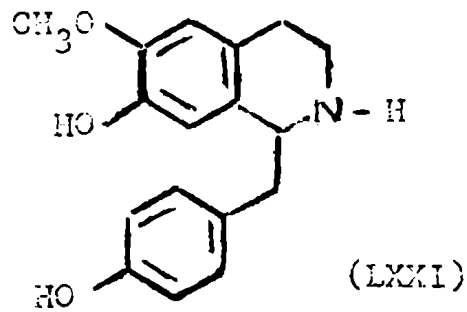


(LXX)

D(-) armepavina (LXX): $C_{19}H_{23}NO_3$. Ha sido aislada de Papaver triniaefolium Boiss, P. armeniacum (L.), P. persicum Lindl. (detectada por cromatografía en capa delgada) (229) y de Papaver polychaetum Schott et Kotsky (230) (papaveráceas).

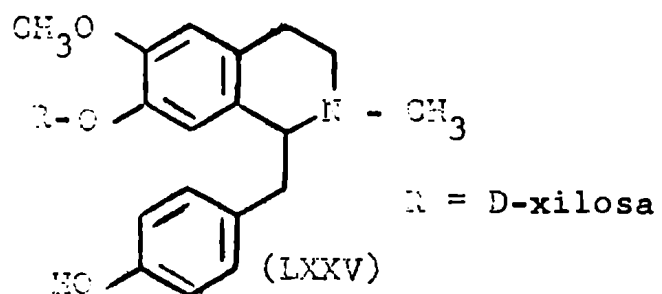
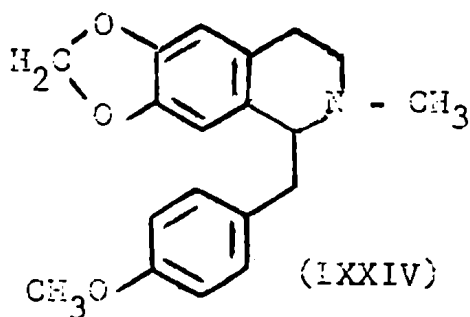
DL-coclaurina (LXXI): $C_{17}H_{19}NO_3$. Aislada de Cryptocarya konishii Hayata (laurácea) (228).

Coclanolina: Kunitomo reinvestigó la estructura (231, 232) y el aislamiento (233) de coclanolina, una base presente en Cocculus laurifolius DC. (menispermácea) (234), comprobando que se trataba de una mezcla de (+)-N-metil coclaurina (LXXII) y una pequeña cantidad de otro alcaloide, probablemente laudanina (LXXIII).



Doryafrantina (LXXIV): $C_{19}H_{21}NO_3$, p.f. $92-94^\circ$, $[\alpha]_D^{25} + 41.5^\circ$ ($CHCl_3$).

Ha sido aislada de Doryphora sassafras Endlicher (monimiácea) (235).



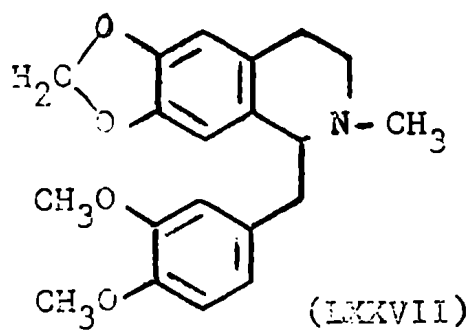
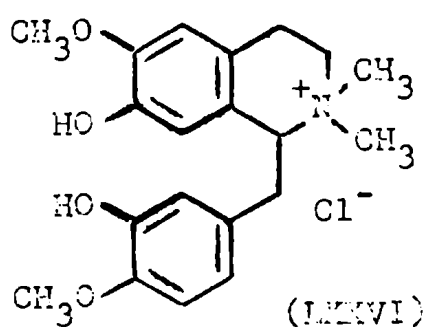
Latericina (LXXV): $C_{23}H_{29}NO_7$, p.f. $216-223^\circ$, $[\alpha]_D^{25} + 40.0^\circ$ (piridina).

Se trata del primer alcaloide bencilisoquinolínico glicosídico, y ha sido aislado de Papaver latericium C.Koch, P.pilosum Sibth et Smith y de P.monanthum Trautv. (papaveráceas) (236). La unidad de hidrato de carbono es la D-xilosa y la aglicona es la L-(+)-N-metilcoclaurina (LXXII).

Alcaloides benciltetrahidroisoquinolínicos con cuatro sustituyentes oxigenados.-

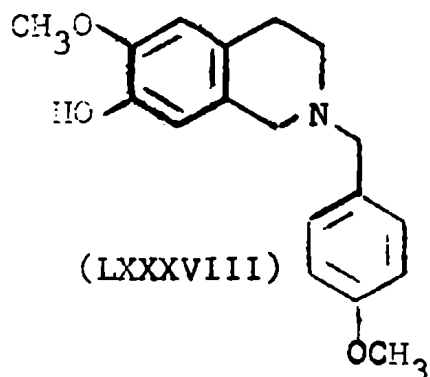
Cloruro de tembetarina (LXXVI): $C_{20}H_{26}NO_4Cl$. Ha sido aislado de Fagara chiloperone (Engl.) Engl., F. coco (Gill.) Engl., F. hyemalis (St.Hil.) Engl., F. naranjillo (Griseb.) Engl., F. nigrescens Fries, F. pterota L. y F. rhoifolia (Lam.) Engl. (rutáceas) (237) y de Phoebe porphiria (Gris) Mez. (laurácea) (238).

Romnefna (LXXVII): $C_{20}H_{23}NO_4$, aceite, $[\alpha]_D^{25} -275^\circ$ ($CHCl_3$); bromhidrato: p.f. 224-225°. Aislada de Romneya coulteri Harv. var. trichocali (Eastw) Jepson (papaverácea) (239).



Alcaloides N-benciltetrahidroisoquinolínicos.-

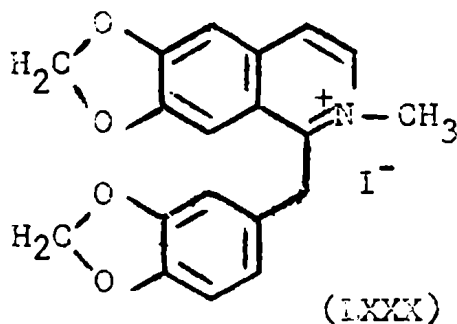
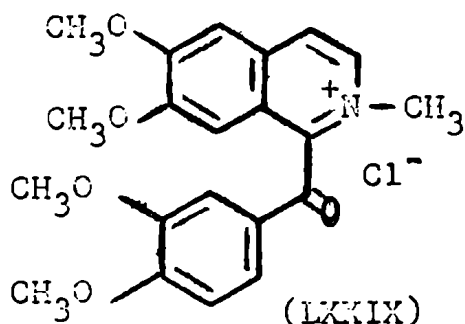
Sendaverina (LXXXVIII): $C_{18}H_{21}NO_3$, p.f. 139-140°; clorhidrato: p.f. 202-207°. Ha sido aislado de Corydalis aurea Willd. (papaverácea) (240) por Manske y su estructura fue determinada por Kametani y Ohkubo (241).



Corpaverina: Este es el nombre dado por Manske (240) a una base aislada de Corydalis aurea Willd., para la cual el mismo Manske propuso una estructura definida (242). Una nueva investigación de la muestra original llevó a la conclusión de que la corpaverina era una mezcla del alcaloide tetrahydroberberfínico (-) capaurina y sendaverina (LXXVIII) (243). El análisis térmico ha mostrado que se trata de un compuesto molecular que contiene un mol de cada uno de los alcaloides mencionados (244).

Alcaloides del tipo de la papaverina. -

Cloruro de N-metil papaveraldinio (LXXIX): $C_{21}H_{22}O_5NCl$,
p.f. 159.5-160°. Aislado de Stephania sasakii Hayata (menispermácea) (245).



Ioduro de escholamina (LXXX): $C_{19}H_{16}NO_4I$, p.f. 265-270°.

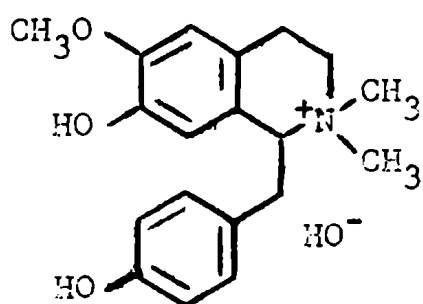
Aislado de una especie de Eschscholtzia (probablemente E. oregana Greene) y detectado en E. glauca Greene y E. lobii Greene (papaveráceas) (246).

Alcaloides de Colletia paradoxa (Spreng.) Escal. -

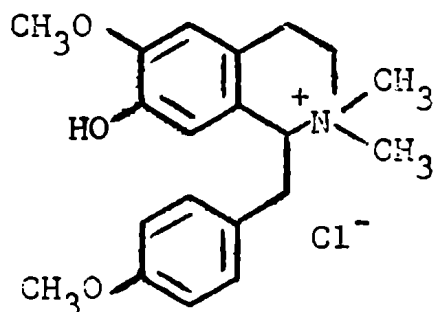
La Colletia paradoxa (Spreng.) Escal. es un arbusto espinoso perteneciente a la familia de las Ramnáceas, tribu Colletiae, que crece, en la República Argentina, en la provincia de Buenos Aires, principalmente en los partidos de Balcarce y Lobería. Es conocido vulgarmente como curro o curá-mamuel, este último nombre de origen araucano que significa árbol de piedra. Su empleo en medicina aborigen, especialmente como febrífugo, es mencionado entre otros

por Hieronymus (247). Existe un estudio químico sobre esta especie en el que se describen las propiedades de una saponina que contiene (248).

La muestra estudiada fue recogida cerca de Balcarce, en julio de 1964. Las partes aéreas de la planta fueron secadas y molidas, y extraídas luego sucesivamente con éter de petróleo y metanol. El extracto metanólico fue concentrado a sequedad y el residuo tomado con ácido clorhídrico diluido y filtrado. De la solución se aislaron las bases cuaternarias por fijación sobre una resina intercambiadora de cationes carboxílica. La mezcla de bases obtenida se separó por cromatografía sobre alúmina, obteniéndose dos fracciones principales. Una de ellas fue identificada como D (-) magnocurarina (LXXXI) y la otra como D (-) colletina (LXXXII) (227, 249).



(LXXXI)



(LXXXII)

La D (-) magnocurarina, $C_{19}H_{23}NO_3 \cdot H_2O$ se obtuvo por alcalinización de su solución metanólica. Recristalizada de metanol-agua funde a $201-203^\circ$, $[\alpha]_D -91.1^\circ$ (agua), y da un picrato de p.f. $180-182^\circ$. Su identidad se confirmó por comparación con una muestra auténtica (227, 249): los espectros de resonancia magnética nuclear (figura 22) y de absorción en el infrarrojo (figura 18) resultaron idénticos, así como sus R_f en dos sistemas diferentes.

La D (-) colletina se obtuvo en forma de cloruro, $C_{20}H_{26}NO_3Cl \cdot H_2O$, que recristalizado de acetato de etilo-etanol funde a $130-131^\circ$, $[\alpha]_D -132.2^\circ$ (etanol). Su identidad pudo demostrarse por comparación de una muestra auténtica obtenida de Colletia spinosissima (227, 249): espectros de absorción en el infrarrojo (figura 20) y de resonancia magnética nuclear (figura 23) coincidentes, igual R_f en dos sistemas diferentes, punto de fusión mezcla no da depresión.

Las configuraciones absolutas de ambos alcaloides resultan de sus poderes rotatorios, siendo las mismas iguales que las de las bases aisladas de Colletia spinosissima, cuyas configuraciones fueron demostradas por correlación química.

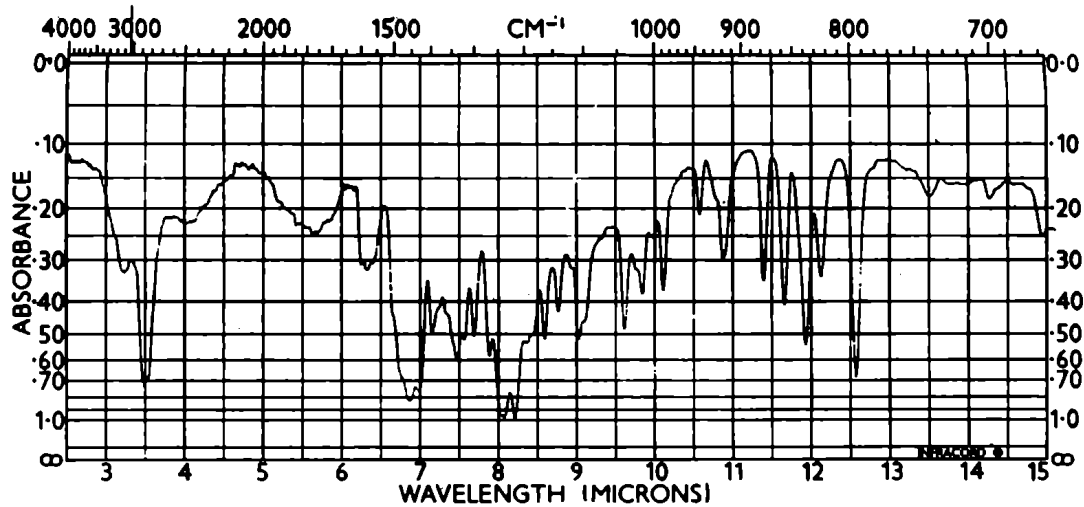


Figura 18. Espectro de absorción en el infrarrojo de magnocurarina.

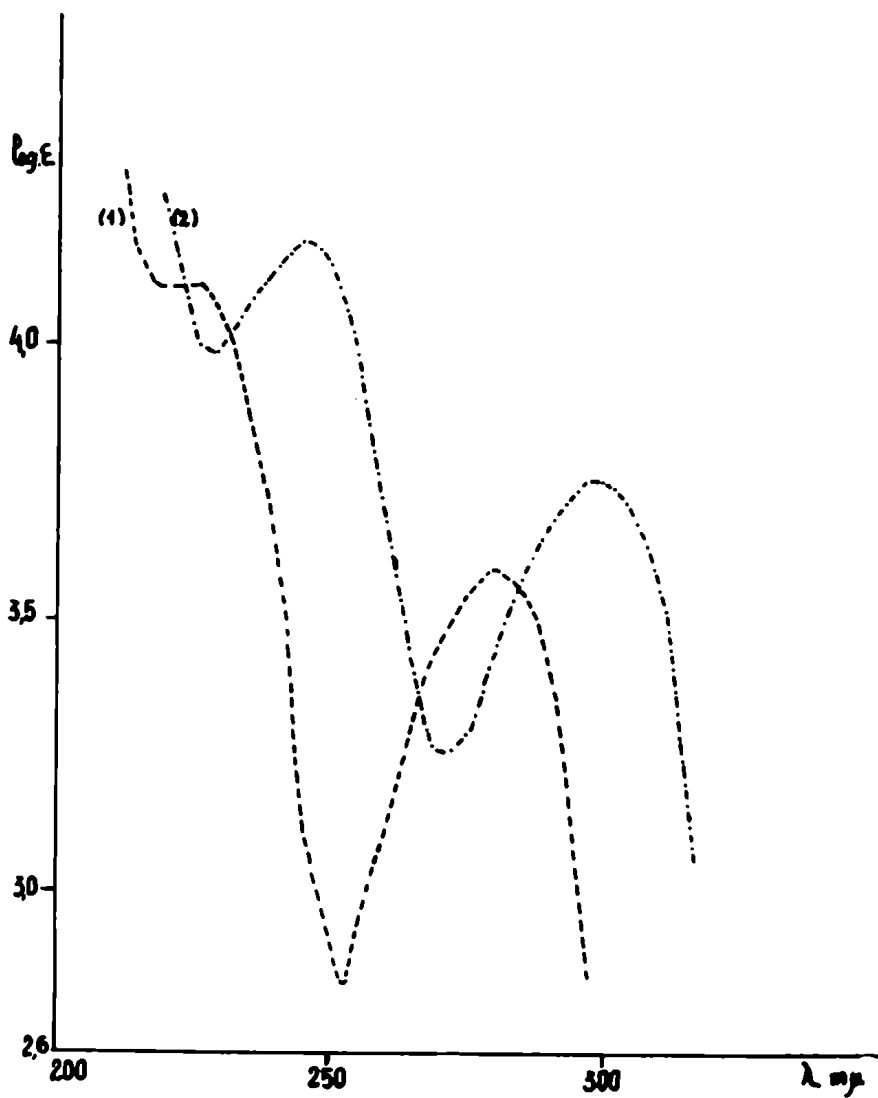


Figura 19. Espectro de absorción en el ultravioleta de magnocurarina,
(1) en medio neutro; (2) en medio alcalino.

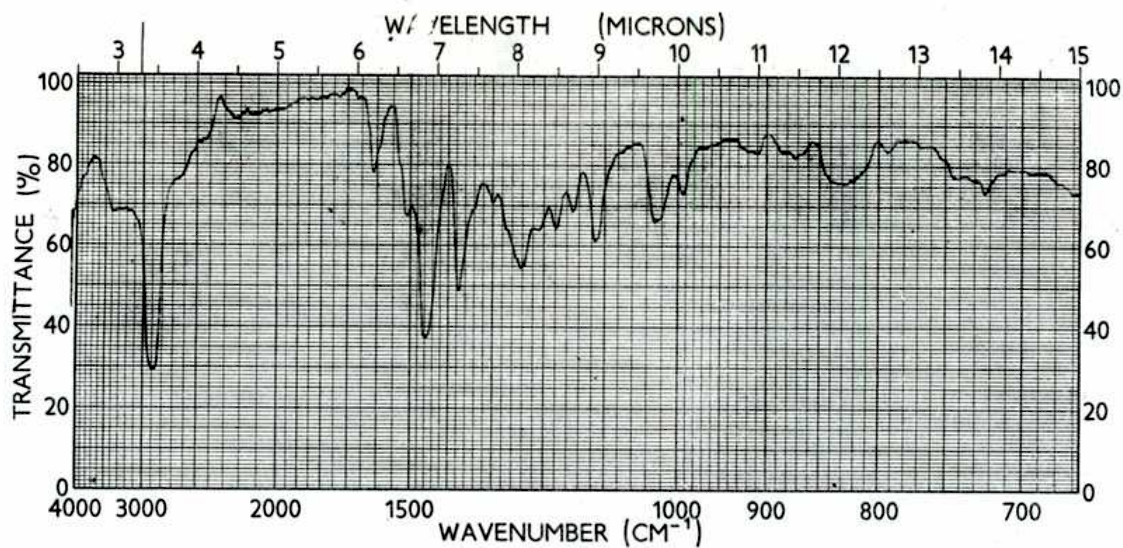


Figura 20. Espectro de absorción en el infrarrojo de cloruro de colletina.

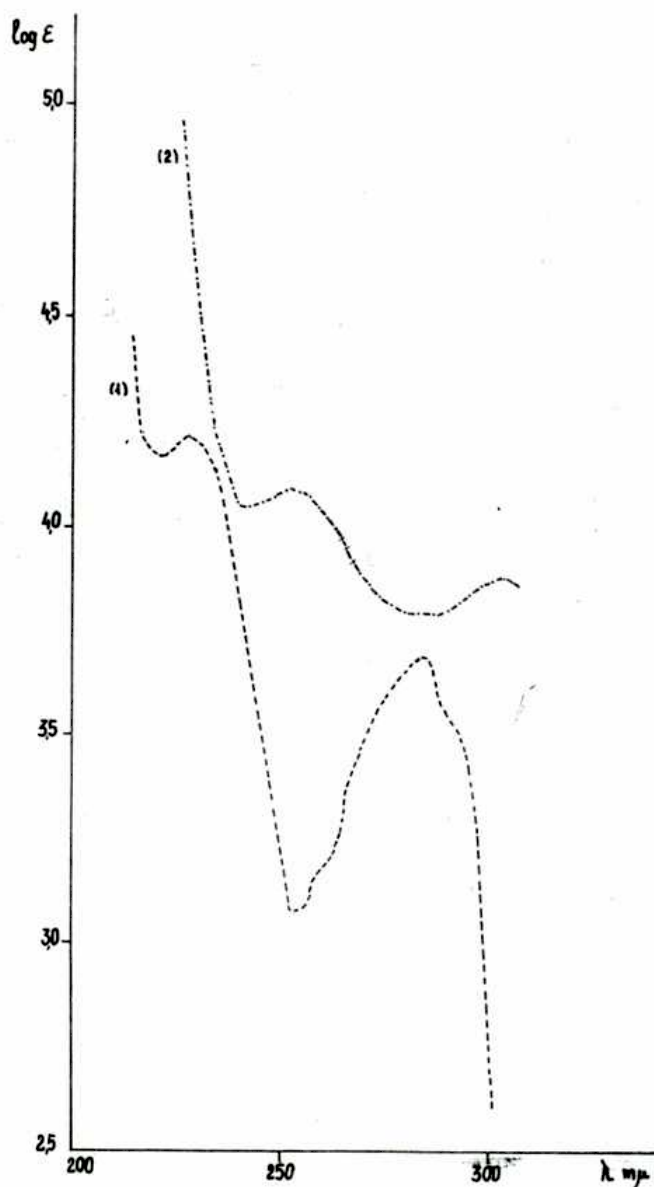
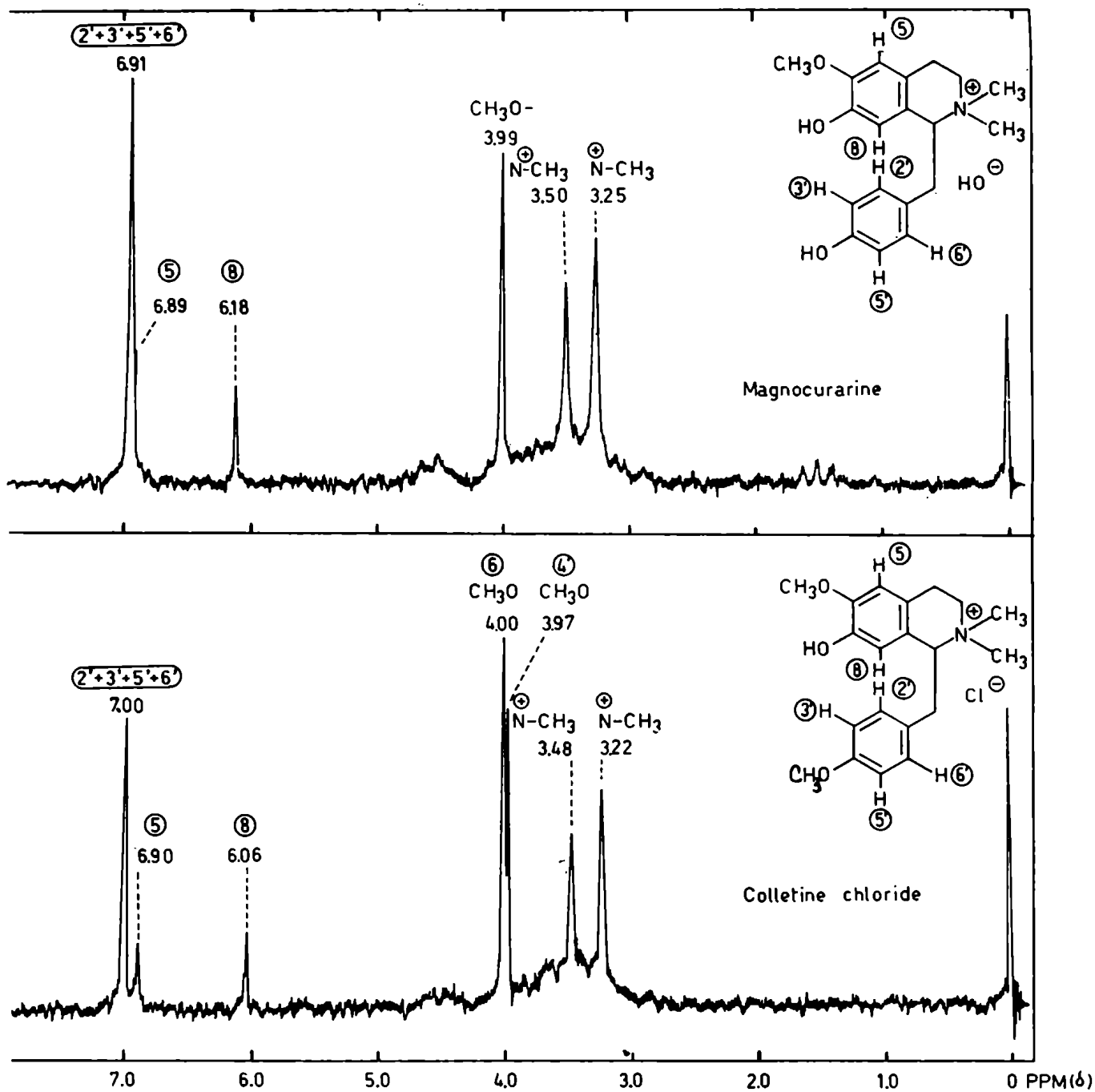


Figura 21. Espectro de absorción en el ultravioleta de cloruro de colletina; (1) en medio neutro; (2) en medio alcalino.



Figuras 22 y 23. Espectros de resonancia magnética nuclear de magnocurarina y de cloruro de colletina, respectivamente.

Parte experimental. -

Los puntos de fusión son sin corregir y fueron determinados por el método del tubo capilar en aparato según Tottoli. Los espectros de absorción en el ultravioleta se determinaron mediante un espectrofotómetro registrador Carl Zeiss RPQ 20 C, en etanol. Los espectros de absorción en el infrarrojo se midieron en nujol, en un espectrofotómetro Perkin-Elmer 137B. Los espectros de resonancia magnética nuclear se determinaron mediante un espectrómetro Varian A-60, a 60 Mc, en soluciones de ácido trifluoroacético, con tetrametilsilano como referencia interna. Los desplazamientos químicos fueron determinados utilizando la convención δ (ppm), relativos al tetrametilsilano (0 ppm). Los poderes rotatorios fueron medidos en un polarímetro Rudolph 70, expresándose la concentración en gramos de soluto/100ml de solución. Los análisis elementales fueron realizados por la Dra. B.B. de Deferrari, laboratorio de microanálisis.

Las cromatografías sobre papel se hicieron con Whatman 1, usando como solvente de desarrollo n-butanol-ácido acético-agua 10:1:3 (A). Las cromatografías en capa delgada se llevaron a cabo con celulosa microcristalina (Avicel) como adsorbente y t-butanol-benceno-agua 3,1:1:2 como solvente de desarrollo (B), revelándose con reactivo de Dragendorff.

Extracción y separación de las bases. -

Las partes aéreas de Colletia paradoxa se secaron a 70° molieron. 1,1 Kg de parte aérea molida se extrajeron con éter de petróleo liviano durante 40 horas. El material se extrajo luego con metanol hasta reacción de Dragendorff negativa en el extracto, en total 35 horas. El extracto metanólico (6 litros) se dejó a 4° durante 48 horas, filtrándose el precipitado formado.

La solución resultante se llevó a sequedad a presión reducida, sobre filtercel. El residuo friable que se obtuvo se tomó con 250 ml de HCl 0,1N y se dejó a 4° durante una semana, al cabo de la cual se filtró. El filtrado se extrajo con éter etílico y se llevó luego a pH 7 por pasaje a través de una columna de 50 ml de Amberlite IRA--400. A la solución alcalina se agregaron 60 ml de resina intercambiadora de cationes carboxílica Amberlite IRC-50 en su forma H⁺, agitándose hasta que el sobrenadante dio reacción de Mayer muy débilmente positiva. La resina se colocó en una columna y se eluyó con HCl 1 N hasta reacción de Mayer negativa. Los eluidos se evaporaron a presión reducida, obteniéndose un residuo del cual se eliminaron las sales inorgánicas por repetidos tratamientos con etanol absoluto. El residuo purificado (3,45 g; 0,31 % sobre planta seca) mostró por cromatografía sobre papel, estar formado por dos alcaloides principales, de Rf 0,65 y 0,75 (A).

Para separar ambas bases se cromatografió el residuo, disuelto en 10 ml de acetato de etilo-etanol (9:1) por una columna de 300 g de alúmina (Woelm, neutra, grado I), eluyendo con la misma mezcla, en la que se fue aumentando paulatinamente el porcentaje de etanol. Se obtuvieron tres fracciones. La primera de ellas (0,44 g) estaba formada por el alcaloide de Rf 0,75 (A). La tercera (0,48 g) contenía la base de Rf 0,65 (A). La fracción intermedia (0,16 g) contenía ambas bases.

D (-) magnocurarina (LXXXI).

Se disolvió la tercera fracción en 4 ml de metanol y se agregó HOK metanólico 1 N hasta pH 9. Se formó un precipitado blanco cristalino (0,300 g) que recristalizado de metanol-agua (1:2) funde a 201-203°, $\alpha_D^{20} -91.1^\circ$ (c 0,44 agua). Espectro de absorción en el ultravioleta: λ_{max} 245 y 297 m μ (log ϵ 4,18 y 3,75, respectivamente) (figura 19). Espectro de absorción en el infrarrojo: coincidente con el de una muestra auténtica de D (-) magnocurarina (figura 18). Espectro de resonancia magnética nuclear: coincidente con el de una muestra auténtica de D (-) magnocurarina (figura 22). Rf 0,65 (A); 0,32 (B).
Análisis: Calculado para $C_{19}H_{23}NO_3 \cdot H_2O$: C 68,66%, H 7,60% N 4,23%.
Encontrado: C 68,82%; H 7,89%; N 4,22%.
Picrato: A 30 mg de D (-) magnocurarina disueltos en 0,1 ml de HCl 2 N y 1,0 ml de agua, se añadió una solución alcalina de picrato de sodio, hasta que no ocurriera más precipitación. Se enfrió y filtró, obteniéndose 38 mg de precipitado, el cual recristalizado de acetona-agua tiene p.f. 180-182°.

Cloruro de D (-) colletina (LXXXII).

El residuo de la primera fracción se cristalizó de acetato de etilo-etanol, obteniéndose 0,30 g de producto, que recristalizado del mismo solvente funde a 130-131°, $\alpha_D^{20} -132.2^\circ$ (c 0,38 etanol). Espectro de absorción en el ultravioleta: λ_{max} 228 y 282 m μ (log ϵ 3,17 y 3,61 respectivamente) (figura 21). Espectros de absorción en el infrarrojo y de resonancia magnética nuclear: coincidentes con los de una muestra auténtica de cloruro de D (-) colletina (figuras 20 y 23, respectivamente). Rf 0,75 (A); 0,67 (B).
Análisis: Calculado para $C_{20}H_{26}NO_3Cl \cdot H_2O$: C 62,55%; H 7,35%; N 3,65%. Encontrado: C 62,52%; H 7,35%; N 3,50%.

RESUMEN

El presente trabajo está dividido en tres partes,
 I) Alcohol triterpénico de Helietta longifoliata Britt.
 II) Alcaloide principal de Helietta longifoliata Britt.
 III) Alcaloides de Colletia paradoxa (Spreng.) Escal.

I) Alcohol triterpénico de Helietta longifoliata Britt.

En el comienzo de esta primera parte se presentan los esqueletos hidrocarbonados fundamentales de triterpenos pentacíclicos, se comentan las reglas para la nomenclatura de dichos compuestos y se ofrece una revisión de los monoalcoholes triterpénicos pentacíclicos conocidos hasta el presente (julio de 1967), indicándose para cada uno el nombre derivado del esqueleto fundamental, fórmula bruta, punto de fusión, poder rotatorio, derivados conocidos y especies de las cuales se los ha aislado.

Se continúa con una revisión de la muy extensa bibliografía publicada sobre la biogénesis de terpenos, desde los precursores más sencillos hasta las etapas finales de la ciclación de los intermediarios, aún no del todo elucidadas, y se propone un esquema biogénico para el alcohol aislado de Helietta longifoliata Britt.

En un nuevo capítulo se presenta una serie de métodos químicos de empleo estructural, que se han utilizado en la determinación original de muchas estructuras de triterpenos y continúan empleándose en el presente.

En el capítulo siguiente se efectúa una discusión sobre los resultados obtenidos en el estudio del alcohol triterpénico pentacíclico aislado de Helietta longifoliata Britt., y que condujeron a la determinación de la estructura del mismo.

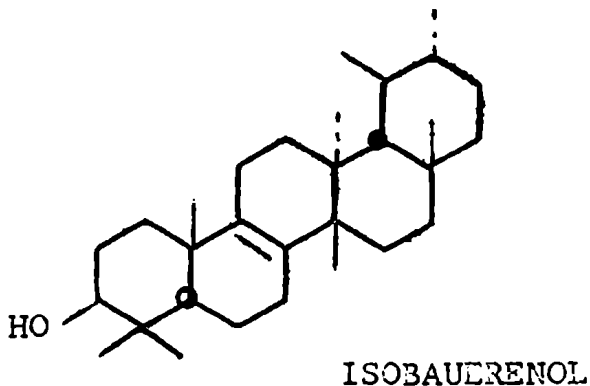
Dicho compuesto tiene punto de fusión 168-170° y es ópticamente activo ($[\alpha]_D + 45^\circ$), y analiza para $C_{30}H_{50}O$, lo cual fue confirmado por la determinación del peso molecular mediante espectrometría de masa.

El espectro infrarrojo muestra una banda a 3400 cm^{-1} , indicando la presencia de un grupo hidroxilo. En el espectro de

resonancia magnética nuclear no aparece señal alguna debida a protones olefínicos, de modo que el doble enlace, cuya presencia es sugerida por la fórmula antes indicada, debe ser cuaternario. Esto se confirmó por oxidación del acetato del alcohol (p.f. 212-213°; $[\alpha]_D + 44^\circ$) con CrO_3 , pudiéndose aislar un compuesto de fórmula $\text{C}_{32}\text{H}_{48}\text{O}_4$, cuyos espectros de absorción en el infrarrojo y en el ultravioleta permitieron determinar que el doble enlace es de tipo cuaternario con dos grupos metileno vecinos.

La curva de dispersión óptica rotatoria de la cetona obtenida por oxidación del alcohol (p.f. 184-185°; $[\alpha]_D + 76.5^\circ$) con reactivo de Kiliani es del mismo tipo que las diversas 3-cetonas con el doble enlace en C(9), indicando que la posición más probable de la doble ligadura es la indicada y que la del hidroxilo del alcohol es la más usual, el C-3. La configuración de dicho hidroxilo pudo ser determinada en base a un análisis de los espectros de resonancia magnética nuclear del alcohol y de su acetato, hallándose que la configuración del protón de C-3 es axial y, en consecuencia, el hidroxilo ecuatorial, lo cual se confirmó mediante una comparación de las diferencias de rotaciones moleculares de diversos alcoholes triterpénicos y sus acetatos, las cuales son positivas para los alcoholes β (ecuatoriales) - como ocurre en el caso de nuestro alcohol - y negativas para los α (axiales). Una última confirmación de la configuración del C-3 se logró por un método químico: la oxidación del alcohol a la cetona correspondiente y posterior reducción de ésta con BH_4Na , permitieron obtener nuevamente el alcohol original.

Un estudio comparativo de las constantes físicas del alcohol de Helietta longifoliata Britt. y de sus derivados, con las de los alcoholes (y sus derivados) conocidos, con el doble enlace en la posición 8(9), indica como estructura probable para nuestro alcohol la siguiente:



que corresponde al isobaueranol o 3 β -hidroxi-D:C-friedo-ursa-8-eno, no pudiéndose descartar aún, a esta altura, la posibilidad de que se trate de un compuesto similar con estructura de arborano o uno con esqueleto aún no conocido.

Una primera confirmación de la estructura propuesta se pudo obtener mediante el estudio de los espectros de masa del alcohol, de la cetona e hidrocarburo correspondientes y de su acetato y éter metílico, y la comparación de los mismos con los de otros triterpenos pentacíclicos.

La confirmación final de la identidad del alcohol con el isobaueranol se llevó a cabo por comparación directa con una muestra de este último, gentilmente cedida por el profesor Dr. F. Sengupta (Universidad de Kalyani, India).

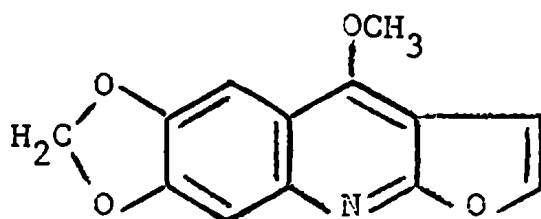
En el último capítulo de esta primera parte se dan los datos de todos los compuestos obtenidos, describiéndose las técnicas experimentales empleadas.

II) Alcaloide principal de Helietta longifoliata Britt.

Se describe el aislamiento e identificación del alcaloide principal de la mezcla de, por lo menos, cinco bases que contiene la corteza de Helietta longifoliata Britt.

Las bases se aislaron por extracción con metanol, de la corteza seca y molido, previamente extraída con éter de petróleo. De la mezcla de bases se pudo cristalizar, por tratamiento con metanol, una de ellas, la cual funde a 197-199°, y da un clorhidrato de p.f. 207-210°.

El espectro de absorción en el ultravioleta indicó que se trataba de una base furoquinolinica, y el espectro de resonancia magnética nuclear llevó a postular como estructura más probable la de maculina, un alcaloide furoquinolinico que ya había sido aislado anteriormente de otras rutáceas. Esta estructura fue confirmada por comparación directa con una muestra auténtica de maculina, cedida por el Dr. E. Ritchie (Universidad de Sydney, Australia).

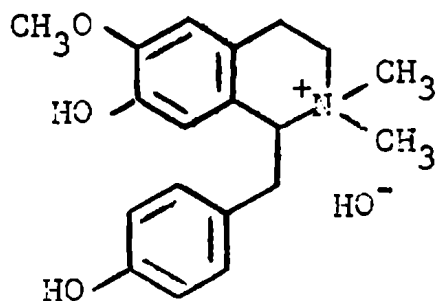


MACULINA

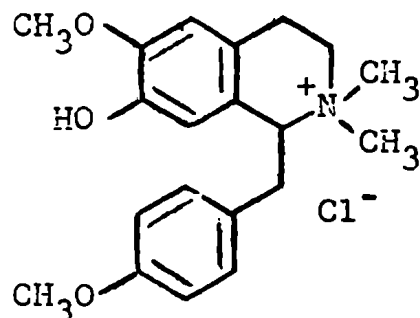
III) Alcaloides de Colletia paradoxa (Spreng.) Escal.

En ésta, la última parte del trabajo, se presenta una revisión de alcaloides bencilisoquinolínicos, en la cual aparecen todas las bases cuyas estructuras se determinaron desde 1965 hasta el presente (octubre de 1967), citándose también todos aquellos alcaloides ya conocidos y que se han aislado, durante ese lapso, de nuevas especies.

Posteriormente se describe el aislamiento de dos bases cuaternarias de Colletia paradoxa (Spreng.) Escal., la separación de éstas por cromatografía sobre alúmina y la determinación de su estructura. Estos alcaloides resultaron ser idénticos a las bases benciltetrahidroisoquinolínicas colletina, obtenida como cloruro (p.f. 130-131°; $[\alpha]_D^{25}$ - 132,2°) y magnocurarina (p.f. 201-203°; $[\alpha]_D^{25}$ - 91,1°), las cuales ya habían sido aisladas anteriormente de Colletia spinosissima Gmel.



MAGNOCURARINA



CLORURO DE COLLETINA

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- (1) T.G.Halsall y R.T.Aplin, *Fortsch. Chem. Org. Naturstoffe*, 21, 153 (1964).
- (2) S.Allard y G.Ourisson, *Tetrahedron*, 1, 277 (1957).
- (3) H.Vorbrüggen, S.Pakrashi y C.Djerassi, *Ann.*, 568, 57 (1963).
- (4) G.Kennard, L.Riva di Sanseverino, C.Djerassi y H.Vorbrüggen, *Tetrahedron Letters*, 3433 (1965).
- (5) G.Kennard, L.Riva di Sanseverino y J.S.Rollet, *Tetrahedron*, 23, 131 (1967).
- (6) K.Nishimoto, I.Ito, S.Natori y T.Ohmoto, *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo)*, 14, 97 (1966).
- (7) T.Ohmoto, K.Nishimoto, I.Ito y S.Natori, *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo)*, 13, 224 (1965).
- (8) K.Nishimoto, I.Ito, S.Natori y T.Ohmoto, *Tetrahedron Letters*, 2245 (1965).
- (9) T.Kariyone y H.Ageta, *Yakugaku Zasshi*, 79, 105 (1959); *Chem. Abstr.*, 53, 10031 (1959).
- (10) H.Ageta, K.Iwata e Y.Otake, *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo)*, 11, 407 (1963).
- (11) H.R.Arthur, T.H.Hui, C.H.Lan y S.K.Szeto, *Australian J. Chem.*, 17, 697 (1964).
- (12) M.W.Galbraith, C.J.Miller, J.L.L.Rawson, E.Ritchie, J.C.Shannon y W.C.Taylor, *Australian J. Chem.*, 18, 226 (1965).
- (13) S.Nakanura, T.Yanada, H.Wada, Y.Inoue e Y.Hirata, *Tetrahedron Letters*, 2017 (1965).
- (14) T.Kariyone, Y.Nashimoto y S.Tobinaga, *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo)*, 5, 368 (1957).
- (15) S.Kundu, A.Chatterjee y A.S.Rao, *Tetrahedron Letters*, 1043 (1966).
- (16) G.Eglinton, R.J.Hamilton, M.Martin-Smith, S.J.Smith y G.Subramanian, *Tetrahedron Letters*, 2323 (1964).
- (17) T.A.Bryce, G.Eglinton, R.J.Hamilton, M.Martin-Smith y G.Subramanian, *Phytochemistry*, 6, 727 (1967).
- (18) M.Martin-Smith, G.Subramanian y M.E.Connor, *Phytochemistry*, 6, 559 (1967).
- (19) T.A.Bryce, M.Martin-Smith, G.Osske, K.Schreiber y G.Subramanian, *Tetrahedron*, 23, 1283 (1967).

- (20) H. R. Arthur, S. I. Tam y V. Angusingh, *Australian J. Chem.*, 12, 506 (1960).
- (21) F. H. Hui, H. R. Arthur y V. Angusingh, *Symp. Phytochem. Proc. Meeting Univ. Hong Kong*, 142 (1961) (Publ. 1964); *Chem. Abstr.*, 51, 14723 (1964).
- (22) A. F. Aplin, H. R. Arthur y F. H. Hui, *J. Chem. Soc. (C)*, 1251 (1966).
- (23) Elsevier's encyclopaedia of organic chemistry, Vol. 14, p. 526; Vol. 14 Supplement, p. 936. Elsevier Publishing Co. Amsterdam-New York, 1940 y 1952.
- (24) B. Tursch y E. Tursch, *Bull. Soc. Chim. Belges*, 70, 585 (1961).
- (25) A. K. Ganguly, T. R. Govindachari, F. A. Mohamed, A. D. Rahmitulla y N. Viswanathan, *Tetrahedron*, 22, 1513 (1963).
- (26) O. Hesse, *Ann.*, 234, 243 (1886); 244, 268 (1888).
- (27) J. C. Simpson, *J. Chem. Soc.*, 283 (1944).
- (28) F. B. Power y H. Browning, *J. Chem. Soc.*, 101, 2411 (1912).
- (29) J. Zellner, *Monatsh.*, 47, 681 (1926).
- (30) S. Burrows y J. C. E. Simpson, *J. Chem. Soc.*, 2042 (1938).
- (31) F. B. Power y H. Browning, *J. Chem. Soc.*, 105, 1829 (1914).
- (32) M. Vilkas, *Compt. rend.*, 235, 179 (1952).
- (33) J. Grzybowska, E. Jerzmanowska y H. Witowski, *Roczniki Chem.*, 28, 197 (1954); *Chem. Abstr.*, 48, 12378 (1954). *Roczniki Chem.*, 28, 213 (1954); *Chem. Abstr.*, 48, 12370 (1954).
- (34) D. V. Haines y F. M. Warren, *J. Chem. Soc.*, 2554 (1949).
- (35) G. Bardelli, Hs. K. Krüssi, O. Jeger y E. Ruzicka, *Helv. Chim. Acta*, 31, 1159 (1948).
- (36) G. Bardelli, Hs. K. Krüssi, O. Jeger y E. Ruzicka, *Helv. Chim. Acta*, 31, 1815 (1948).
- (37) F. L. Anes, J. E. Beton, A. Bowers, J. G. Halsall y A. H. Jones, *J. Chem. Soc.*, 1905 (1954).
- (38) I. M. Horice y J. C. E. Simpson, *J. Chem. Soc.*, 795 (1940).
- (39) I. M. Horice y J. C. E. Simpson, *J. Chem. Soc.*, 198 (1942).
- (40) O. C. Musgrave, J. Stark y F. Spring, *J. Chem. Soc.*, 4393 (1952).
- (41) K. V. Rao y B. K. Bose, *J. Org. Chem.*, 27, 1470 (1962).
- (42) C. A. Moller y J. F. Carson, *J. Am. Chem. Soc.*, 63, 2230 (1941).
- (43) G. Dupont y M. Julia, *Bull. Soc. Chim. France*, 1071 (1947).
- (44) A. G. González y M. L. G. Mora, *Anal. real soc. españ. fís. y quím. (Madrid)*, 48 B, 475 (1952).
- (45) A. G. González, *Anuar. Estud. Atlánticos*, 61 (1960); *Chem. Abstr.*, 60, 5585 (1964).

- (46) G.J.V. Breen, R. Ritchie, W.T.L. Sidwell y F.C. Taylor, *Australian J. Chem.*, 19, 455 (1966).
- (47) S. David, *Bull. Soc. Chim. France*, 155 (1949).
- (48) S. David, *Bull. Soc. Chim. France*, 427 (1949).
- (49) S. David, *Bull. Soc. Chim. France*, 169 (1950).
- (50) H. Estrada, *Bol. Inst. Quím. Univ. Fac. Autón. México*, 8, 45 (1956).
- (51) H. Ito, *J. Chem. Soc. Japan*, 59, 274 (1938); *Chem. Abstr.* 32, 9072 (1938).
- (52) H. Sugiyama y S. Abe, *Nippon Kagaku Zasshi*, 82, 1051 (1961); *Chem. Abstr.*, 57, 13810 (1962).
- (53) S. Abe, *Bull. Chem. Soc. Japan*, 33, 271 (1960).
- (54) S. Abe, *Nippon Kagaku Zasshi*, 82, 1054 (1961); *Chem. Abstr.*, 57, 13811 (1962).
- (55) S. Abe, *Nippon Kagaku Zasshi*, 82, 1057 (1961); *Chem. Abstr.*, 57, 13811 (1962).
- (56) C. Feinberg, J. Hermann, I. Roglsperger y J. Zellner, *Monatsh.*, 44, 261 (1924); *Chem. Abstr.*, 18, 2543 (1924).
- (57) K. Fröschl, J. Zellner y E. Sikrunda, *Sitzber. Akad. Wiss. Wien, Math. naturw. Klasse. Abt. IIb.*, 138, 474 (1930).
- (58) A.A. Ryabinin y E.G. Matyukhina, *J. Gen. Chem. USSR*, 31, 954 (1961).
- (59) L. Koller, A. Niestand, F. Dietrich y O. Jeger, *Helv. Chim. Acta*, 33, 1050 (1950).
- (60) F.G. Fischer y H. Peiler, *Ann.*, 644, 162 (1961).
- (61) H.F. Kurth y E.F. Becker, *Tappi*, 36, 461 (1953); *Chem. Abstr.*, 48, 3929 (1954).
- (62) T.V. Donareva, V.F. Lopunova, A.A. Ryabinin e I.A. Saltykova, *J. Gen. Chem. USSR*, 31, 2270 (1961).
- (63) K. Takeda, *Yakugaku Zasshi*, 61, 117 (1941); *Chem. Abstr.*, 36, 444 (1942).
- (64) W.J. Dunstan, G.K. Hughes y H.L. Smithson, *Nature*, 160, 577 (1947). *Australian J. Chem.*, 6, 321 (1953).
- (65) V. Hariharan y S. Rangaswami, *Current Sci. (India)*, 35, 390 (1966); *Chem. Abstr.*, 65, 10630 (1966).
- (66) U. Irzaciono, *Roczniki Chem.*, 30, 79 (1964); *Chem. Abstr.*, 60, 14548 (1964).
- (67) U. Irzaciono, *Roczniki Chem.*, 39, 385 (1965); *Chem. Abstr.*, 63, 16362 (1965).
- (68) G.J. Brooks, *Chem. Ind. (London)*, 1179 (1953).
- (69) G.J. Brooks, *J. Chem. Soc.*, 1675 (1955).

- (70) J.M. Beaton, F.S. Spring, R. Stevenson y J.L. Stewart, *Chem. Ind. (London)*, 1454 (1959).
- (71) J.M. Beaton, F.S. Spring, R. Stevenson y J.L. Stewart, *Chem. Ind. (London)*, 35 (1955).
- (72) J.M. Beaton, F.S. Spring, R. Stevenson y J.L. Stewart, *J. Chem. Soc.*, 2131 (1955).
- (73) T. Obara y S. Abe, *Bull. Agr. Chem. Soc. Japan*, 21, 388 (1957); *Chem. Abstr.*, 52, 10304 (1958).
- (74) T. Obara y S. Abe, *Nippon Kagaku Zasshi*, 80, 677 (1959); *Chem. Abstr.*, 55, 3646 (1961).
- (75) S. Abe y T. Obara, *Nippon Kagaku Zasshi*, 80, 1487 (1959); *Chem. Abstr.*, 55, 3646 (1961).
- (76) S. Abe, *Nippon Kagaku Zasshi*, 80, 1491 (1959); *Chem. Abstr.*; 55, 3646 (1961).
- (77) H.N. Khastgir y F. Sengupta, *Chem. Ind. (London)*, 945 (1961); 1077 (1961).
- (78) P. Sengupta y H.N. Khastgir, *Tetrahedron*, 19, 123 (1963).
- (79) U. Wrzeczono, *Roczniki Chem.*, 37, 1457 (1963); *Chem. Abstr.*, 60, 8069 (1964).
- (80) P. Sengupta y S. Ghosh, *J. Indian Chem. Soc.*, 42, 543 (1965).
- (81) A.N. Starrat, *Phytochemistry*, 5, 1341 (1966).
- (82) D.A.H. Taylor, *J. Chem. Soc. (C)*, 490 (1967).
- (83) U. Wrzeczono, *Roczniki Chem.*, 37, 3 (1963); *Chem. Abstr.*, 59, 6657 (1963).
- (84) C.H. Shopee, M.E.H. Howden y G.A.R. Johnston, *J. Chem. Soc.*, 498 (1962).
- (85) F.R. Jefferies, *J. Chem. Soc.*, 473 (1953).
- (86) T. Bruun, *Acta Chem. Scand.*, 8, 71 (1954).
- (87) H.R. Arthur, C.M. Lee y C.N. Ha, *J. Chem. Soc.*, 1461 (1956).
- (88) S. Rangaswami y K. Sambanurthy, *Proc. Indian Acad. Sci.*, 54, 99 (1961); *Chem. Abstr.*, 56, 1774 (1962).
- (89) P. Sengupta y P. Bikram Das, *J. Indian Chem. Soc.*, 42, 255 (1965).
- (90) V. Jarolím, M. Streibl, M. Hovák y F. Šorm, *Chem. Ind. (London)*, 1142 (1958).
- (91) K.B. Albarmann y F.B. Kipping, *J. Chem. Soc.*, 2296 (1951).
- (92) P. Sengupta y J. Mukhopadhyay, *Phytochemistry*, 5, 531 (1966).
- (93) D.H.R. Barton y P. de Mayo, *J. Chem. Soc.*, 2178 (1953).
- (94) D.H.R. Barton, J.E. Page y E.W. Varnhoff, *J. Chem. Soc.*, 2715 (1954).

- (95) W.D.Crow y M.Michael, *Australian J.Chem.*, 8, 129 (1955).
- (96) F.N.Lahey y M.V.Leeding, *Proc.Chem.Soc.*, 342 (1958).
- (97) D.F.Theumann, Tesis. Universidad de Buenos Aires (1968).
- (98) F.B.Mallory, J.Gordon y R.L.Conner, *J.Am.Chem.Soc.*, 85, 1362 (1963).
- (99) Y.Tsuda, A.Horimoto, T.Sano, Y.Inibushi, F.B.Mallory y J.T.Gordon, *Tetrahedon Letters*, 1427 (1965).
- (100) a) H.J.Nicholas, en "Biogenesis of Natural Compounds", Ed.P.Bernfeld, p.641, The Macmillan Company, New York, 1963.
 b) F.Lynen, en "Biogenesi delle Sostanze Naturali", p.181, Accademia Nazionale dei Lincei, Roma, 1964.
 c) "The Biosynthesis of Steroids, Terpenes and Acetogenins". J.H.Richards y J.B.Hendrickson. W.A.Benjamin, Inc., New York-Amsterdam, 1964.
 d) R.B.Clayton, *Quart.Revs.*, 19, 168 (1965).
 e) F.Lynen, en "Main Lectures presented at the Fourth International Symposium on the Chemistry of Natural Products", Stockholm (Suecia) 1966. Butterworths, London, 1967.
- (101) L.Ruzicka, A.Eschenmoser y H.Meusser, *Experientia*, 9, 357 (1953).
- (102) K.Bloch y D.Rittenberg, *J.Biol.Chem.*, 145, 625 (1942).
- (103) K.Bloch, E.Borek y D.Rittenberg, *J.Biol.Chem.*, 162, 441 (1946)
- (104) D.E.Wolf, C.H.Hoffmann, F.E.Aldrich, H.R.Skeggs, L.D.Wright y K.Folkers, *J.Am.Chem.Soc.*, 78, 4499 (1956); 79, 1486 (1957).
- (105) J.Würsch, R.L.Huang y K.Bloch, *J.Biol.Chem.*, 195, 439 (1952).
- (106) I.K.Heilbron, E.D.Kamm y W.N.Owens, *J.Chem.Soc.*, 1630 (1926).
- (107) H.J.Channon, *Biochem.J.*, 20, 400 (1926).
- (108) T.Robinson, *Chem.Ind. (London)*, 51, 464 (1932).
- (109) R.B.Woodward y K.Bloch, *J.Am.Chem.Soc.*, 75, 2023 (1953).
- (110) K.Bloch, *Vitamins Hormones*, 15, 119 (1957).
- (111) G.Popják, *Ann.Rev.Biochem.*, 27, 533 (1958).
- (112) J.V.Cornforth, G.D.Hunter y G.Popják, *Biochem.J.*, 54, 590 (1953).
- (113) J.V.Cornforth e I.Y.Gore, *Biochem.J.*, 65, 94 (1957).
- (114) T.T.Chen y K.Bloch, *J.Biol.Chem.*, 226, 921 (1957); 226, 931 (1957).
- (115) R.B.Clayton y K.Bloch, *J.Biol.Chem.*, 218, 319 (1956).
- (116) S.Chaykin, J.Law, A.H.Phillips, T.T.Chen y K.Bloch, *Proc. Nat.Acad.Sci.U.S.A.*, 44, 998 (1958).
- (117) F.Lynen, H.Eggerer, U.Henning e I.Kessel, *Angew.Chem.*, 70, 738 (1958).

- (118) I. Ruzicka, *Pure Appl. Chem.*, 6, 493 (1963).
- (119) R. Sonderhoff y H. Thomas, *Ann. Chem.*, 530, 195 (1937).
- (120) K. Bloch, *Harvey Lecturs*, 48, 68 (1954).
- (121) F. Lynen, E. Reichert y L. Rueff, *Ann. Chem.*, 574, 1 (1951).
- (122) F. Lynen, *Nature (London)*, 174, 962 (1954).
- (123) F. Lynen y S. Ochoa, *Biochim. Biophys. Acta*, 12, 299 (1953).
- (124) F. Lynen, U. Henning, C. Dublicz, B. Sörbo y L. Kröplin-Rueff, *Biochem. Z.*, 320, 269 (1958).
- (125) P. A. Tavormina, M. H. Gibbs y J. J. Huff, *J. Am. Chem. Soc.*, 78, 4498 (1956).
- (126) J. W. Cornforth, R. H. Cornforth, G. Popják e I. Y. Gore, *Biochem. J.* 69, 146 (1958).
- (127) B. H. Andur, H. Rilling y K. Bloch, *J. Am. Chem. Soc.*, 79, 2646 (1957).
- (128) R. G. Stanley, *Nature (London)*, 182, 738 (1958).
- (129) D. Arigoni, *Experientia*, 14, 153 (1958).
- (130) R. B. Park y J. Bonner, *J. Biol. Chem.*, 233, 340 (1958).
- (131) I. F. Durr y H. Rudney, *J. Biol. Chem.*, 235, 2572 (1960).
- (132) J. Knappe, E. Ringelmann y F. Lynen, *Biochem. Z.*, 332, 195 (1959).
- (133) J. W. Cornforth y G. Popják, *Advanc. Enzymol.*, 22, 281 (1960).
- (134) M. J. Schlesinger y H. J. Con, *J. Biol. Chem.*, 236, 2421 (1961).
- (135) P. A. Tavormina y M. H. Gibbs, *J. Am. Chem. Soc.*, 78, 6210 (1956).
- (136) T. T. Chen, *J. Am. Chem. Soc.*, 79, 6344 (1957).
- (137) T. T. Chen, *J. Biol. Chem.*, 233, 1100 (1958).
- (138) A. De Waard y G. Popják, *Biochem. J.*, 73, 410 (1959).
- (139) A. De Waard, A. H. Phillips y K. Bloch, *J. Am. Chem. Soc.*, 81, 2913 (1959).
- (140) K. Bloch, S. Chaykin, A. H. Phillips y A. De Waard, *J. Biol. Chem.*, 234, 2595 (1959).
- (141) M. Lindberg, C. Yuan, A. De Waard y K. Bloch, *Biochemistry*, 1, 182 (1962).
- (142) F. Lynen, B. J. Agranoff, H. Eggerer, U. Henning y E. H. Möslin, *Angew. Chem.*, 71, 657 (1959).
- (143) J. W. Cornforth y G. Popják, *Tetrahedron Letters*, 19, 29 (1959).
- (144) H. Eggerer y F. Lynen, *Ann*, 630, 58 (1960).
- (145) G. Popják, J. J. Cornforth, R. H. Cornforth, R. Rhyage y DeW. S. Goodman, *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, 1, 204 (1961).
- (146) G. Popják, J. J. Cornforth, R. H. Cornforth, R. Rhyage y DeW. S. Goodman, *J. Biol. Chem.*, 237, 56 (1962).
- (147) G. Popják, *Tetrahedron Letters*, 19, 19 (1959).
- (148) G. Popják, DeW. S. Goodman, J. J. Cornforth, R. H. Cornforth y R. Rhyage, *J. Biol. Chem.*, 236, 1934 (1961).

- (149) J. I. Cornforth, R. H. Cornforth, C. Donninger y G. Popják, *Proc. Royal Soc. London, Serie B*, 163, 492 (1965).
- (150) J. I. Cornforth, G. Ryback, G. Popják, C. Donninger y G. Schroepfer, *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, 9, 371 (1962).
- (151) G. Popják, G. Schroepfer y J. I. Cornforth, *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, 6, 438 (1961/62).
- (152) J. I. Cornforth, G. D. Hunter y G. Popják, *Biochem. J.*, 54, 590, 597 (1953).
- (153) J. I. Cornforth y G. Popják, *Biochem. J.*, 58, 403 (1954).
- (154) R. B. Clayton y K. Bloch, *J. Biol. Chem.*, 218, 305, 319 (1956).
- (155) J. I. Cornforth, I. Y. Gore y G. Popják, *Biochem. J.*, 65, 94 (1957)
- (156) P. B. Schneider, R. B. Clayton y K. Bloch, *J. Biol. Chem.*, 224, 175 (1957).
- (157) A. Eschenmoser, L. Ruzicka, O. Jeger y D. Arigoni, *Helv. Chim. Acta*, 38, 1890 (1955).
- (158) H. J. Nicholas, *J. Biol. Chem.*, 237, 1485 (1962).
- (159) E. Capstack, Jr., N. Rosin, G. A. Blondin y W. R. Nes, *J. Biol. Chem.* 240, 3258 (1965).
- (160) H. J. Nicholas, *J. Biol. Chem.*, 237, 1476 (1962).
- (161) H. J. Nicholas, *J. Biol. Chem.*, 237, 1481 (1962).
- (162) R. Axel, S. Evans, N. Kelley y H. J. Nicholas, *Phytochemistry*, 6, 511 (1967).
- (163) D. J. Baisted y W. R. Nes, *J. Biol. Chem.*, 238, 1947 (1963).
- (164) D. J. Baisted, E. Capstack, Jr. y W. R. Nes, *Biochemistry*, 1, 537 (1962).
- (165) E. Capstack, Jr., D. J. Baisted, W. F. Newschwander, G. A. Blondin, N. L. Rosin y W. R. Nes, *Biochemistry*, 1, 1178 (1962).
- (166) R. D. Bennett y E. Heftmann, *Phytochemistry*, 4, 475 (1965).
- (167) J. I. Cornforth, R. H. Cornforth, G. Popják y L. Yengoyan, *J. Biol. Chem.*, 241, 3970 (1966).
- (168) D. Arigoni, *Experientia*, 14, 153 (1958).
- (169) N. Nicolaides y F. Laves, *J. Am. Chem. Soc.*, 76, 2596 (1954).
- (170) T. T. Chen y K. Bloch, *J. Am. Chem. Soc.*, 78, 1516 (1956).
- (171) T. T. Chen y K. Bloch, *J. Biol. Chem.*, 226, 921 (1957).
- (172) T. T. Chen y K. Bloch, *J. Biol. Chem.*, 226, 931 (1957).
- (173) F. Gautschi y K. Bloch, *J. Am. Chem. Soc.*, 79, 684 (1957).
- (174) J. D. Johnston y K. Bloch, *J. Am. Chem. Soc.*, 79, 1145 (1957).
- (175) J. A. Olson, N. Lindberg y K. Bloch, *J. Biol. Chem.*, 226, 941 (1957).
- (176) R. K. Faudgal, T. T. Chen y K. Bloch, *J. Am. Chem. Soc.*, 80, 2589 (1958).

- (177) J. Pudles y K. Bloch, *J. Biol. Chem.*, 235, 3417 (1966).
- (178) E. J. Corey, W. E. Russey y F. R. O. de Montellano, *J. Am. Chem. Soc.*, 88, 4750 (1966).
- (179) E. J. Corey y W. E. Russey, *J. Am. Chem. Soc.*, 88, 4751 (1966).
- (180) E. J. Corey, F. R. O. de Montellano, K. Lin y P. D. G. Dean, *J. Am. Chem. Soc.*, 89, 2797 (1967).
- (181) L. D. van Tanselen, J. D. Fillet, R. B. Clayton y K. E. Lord, *J. Am. Chem. Soc.*, 88, 4752 (1966).
- (182) L. D. van Tanselen, R. B. Sharples, J. D. Fillet, R. B. Clayton y A. L. Burlingame, *J. Am. Chem. Soc.*, 89, 3920 (1967).
- (183) E. J. Corey y F. R. O. de Montellano, *J. Am. Chem. Soc.*, 89, 3362 (1967).
- (184) P. Benveniste, L. Hirth y G. Ourisson, *Phytochemistry*, 5, 45 (1966).
- (185) J. D. Erhardt, L. Hirth y G. Ourisson, *Phytochemistry*, 6, 815 (1967).
- (186) A. Verner, *Ber.*, 42, 4325 (1909).
- (187) J. Ostromisslensky, *Ber.*, 43, 197 (1910).
- (188) E. Heilbronner, *Helv. Chim. Acta*, 36, 1121 (1953).
- (189) J. Castells y D. Peakins, *Chem. Ind. (London)*, 248 (1956).
- (190) J. Castells, G. D. Peakins y A. Swindells, *J. Chem. Soc.*, 2917 (1962).
- (191) G. Snatzke y H. W. Pehlhaber, *Ann.*, 663, 123 (1963).
- (192) I. Ruzicka, Ed. Rey y A. C. Fuhr, *Helv. Chim. Acta*, 27, 472 (1944).
- (193) C. Dorée, J. F. McGhie y F. Kurzer, *J. Chem. Soc.*, 988 (1948).
- (194) F. de Mayo, "The Higher Terpenoids", p. 78, 100. Interscience Publishers, Inc., New York, 1959.
- (195) H. Ageta, K. Iwata y S. Natori, *Tetrahedron Letters*, 3413 (1964).
- (196) C. Dorée, J. F. McGhie y F. Kurzer, *J. Chem. Soc.*, 570 (1949).
- (197) I. Bellamy y C. Dorée, *J. Chem. Soc.*, 176 (1941).
- (198) H. J. Birchenough y J. F. McGhie, *J. Chem. Soc.*, 2038 (1949).
- (199) J. F. McGhie, P. J. Palmer y M. Rosenberg, *Chem. Ind. (London)*, 1221 (1959).
- (200) R. A. Nichelli, *J. Org. Chem.*, 27, 666 (1962).
- (201) Y. I. In, H. Kakisawa, Y. Shiobara y K. Nakanishi, *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo)*, 13, 986 (1965).
- (202) I. Ruzicka, O. Jeger y J. Huber, *Helv. Chim. Acta*, 28, 942 (1945).
- (203) C. Dorée, J. F. McGhie y F. Kurzer, *J. Chem. Soc.*, 1467 (1947).
- (204) J. Biellmann, D. Kucan, M. Rajic, F. Witz y G. Ourisson, *Bull. Soc. Chim. France*, 330 (1962).

- (205) J.F. Biellmann y G. Curisson, *Bull. Soc. Chim. France*, 331 (1962)
- (206) J.F. Biellmann, D. Kucan y G. Curisson, *Bull. Soc. Chim. France*, 337 (1962).
- (207) F. Sengupta, S. Ghosh y L.J. Durhan, *Tetrahedron*, 22, 3469 (1966)
- (208) D.H.R. Barton, *J. Chem. Soc.*, 1027 (1953).
- (209) H. Rapoport y K.G. Holden, *J. Am. Chem. Soc.*, 81, 3738 (1959).
- (210) R.A. Corral y O.S. Orazi, *Tetrahedron*, 21, 909 (1965).
- (211) H.A. Pozzi, Tesis. Universidad de Buenos Aires (1965).
- (212) H.A. Pozzi, E. Sánchez y J. Corin, *Tetrahedron*, 23, 1129 (1967).
- (213) H. Kiliiani y B. Merk, *Ber.*, 34, 3562 (1901).
- (214) C. Djerassi, *Optical Rotatory Dispersion*, p. 97. McGraw-Hill Book Company, Inc., New York, 1960.
- (215) A. Lablache-Combier, J. Levisalles, J.P. Pate y H. Rudler, *Bull. Soc. Chim. France*, 1689 (1963).
- (216) H. Ageta, K. Iwata y S. Matori, *Tetrahedron Letters*, 1447 (1963). Ver también **cita** (195).
- (217) H. Budzikiewicz, J.M. Wilson y C. Djerassi, *J. Am. Chem. Soc.*, 85, 3688 (1963).
- (218) Huang Pinlon, *J. Am. Chem. Soc.*, 71, 3301 (1949).
- (219) F. Neeman, M.C. Caserio, J.D. Roberts y I.S. Johnson, *Tetrahedron*, 6, 36 (1959).
- (220) I.O. Mastronardi, S.H. Fioratti, J.O. Deferrari y E.G. Gros, *Carbohydrate Res.*, 3, 177 (1966).
- (221) R.F.C. Brown, P.T. Gilman, G.K. Hughes y E. Ritchie, *Australian J. Chem.*, 7, 181 (1954).
- (222) S.V. Binns, B. Halpern, G.K. Hughes y E. Ritchie, *Australian J. Chem.*, 10, 480 (1957).
- (223) E. Ritchie, W.C. Taylor y D.V. Willcocks, *Australian J. Chem.*, 13, 426 (1960).
- (224) A.F. Hollis, R.H. Prager, E. Ritchie y W.C. Taylor, *Australian J. Chem.*, 14, 100 (1961).
- (225) E. Ritchie, W.C. Taylor y S.T.K. Vautin, *Australian J. Chem.*, 14, 469 (1961).
- (226) A.K. Ganguly, T.R. Govindachari, A. Manade y P.A. Mohamed, *Indian J. Chem.*, 4, 334 (1966).
- (227) E.L. Sánchez, Tesis. Universidad de Buenos Aires (1966).
- (228) S.T. Lu, *Yakugaku Zasshi*, 86, 296 (1966); *Chem. Abstr.*, 65, 2631 (1966).
- (229) J. Slavik y J. Appelt, *Coll. Czech. Chem. Commun.*, 30, 3687 (1965)

- (230) E. Kühn y S. Pfeiffer, *Pharmazie*, 20, 520 (1965).
- (231) J. Kunitoro, *Yakugaku Zasshi*, 81, 1253 (1961); *Chem. Abstr.*, 56, 11640 (1962).
- (232) J. Kunitoro, *Yakugaku Zasshi*, 81, 1257 (1961); *Chem. Abstr.*, 56, 11641 (1962).
- (233) J. Kunitoro, *Yakugaku Zasshi*, 81, 1261 (1961); *Chem. Abstr.*, 56, 11641 (1962).
- (234) F. Kusuda, *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo)*, 1, 189 (1953); *Chem. Abstr.* 49, 4683 (1955).
- (235) S. A. Gharbo, J. L. Beal, R. H. Schlessinger, F. P. Cava y G. H. Svoboda, *Loydia*, 28, 237 (1965); *Chem. Abstr.*, 64, 2135 (1966).
- (236) V. Freininger, A. D. Cross y F. Santavý, *Coll. Czech. Chem. Commun* 31, 3345 (1966).
- (237) A. M. Kuck, S. M. Albónico y V. Deulofeu, resultados no publicados.
- (238) A. M. Kuck, resultados no publicados.
- (239) F. R. Sterritz, I. Chen y J. I. White, *Tetrahedron*, 22, 1095 (1966)
- (240) R. H. F. Manske, *Can. J. Res.*, 316, 81 (1938).
- (241) T. Kanetani y K. Ohkubo, *Tetrahedron Letters*, 4317 (1965).
- (242) R. H. F. Manske, *J. Am. Chem. Soc.*, 74, 2864 (1952).
- (243) T. Kanetani, K. Ohkubo, I. Noguchi y R. H. F. Manske, *Tetrahedron Letters*, 3345 (1965).
- (244) T. Kanetani, K. Ohkubo y R. H. F. Manske, *Tetrahedron Letters*, 985 (1966).
- (245) J. Kunitoro, E. Yuge e Y. Nagai, *Yakugaku Zasshi*, 86, 456 (1966) *Chem. Abstr.*, 65, 10633 (1966).
- (246) L. Slavikova y J. Slavik, *Coll. Czech. Chem. Commun.*, 31, 3362 (1966).
- (247) J. Hieronymus, *Plantas diafóricas. Flora argentina*, p. 72. Buenos Aires.
- (248) I. Pelanda Ponce, *Rev. Fac. Cienc. Quím. La Plata*, 1, 183 (1929).
- (249) E. I. Sánchez y J. Comin, *Tetrahedron*, 23, 1139 (1967).