

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA

FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS

" SOBRE UN ALCALOIDE DE BALFOURODENDRON "

ISABEL A. BENAGES

1969

PADRINOS DE TESIS:

PROFESORES DRES. RENEE A. CORRAL

Y ORFEO O. ORAZI

A LA MEMORIA DE MI PADRE

A MI MADRE

Cumpliendo con las disposiciones reglamentarias elevo el presente trabajo de tesis para optar al grado de Doctor en Farmacia y Bioquímica.

El trabajo fué realizado en la División de Química Orgánica Superior de la Facultad de Ciencias Exactas de la Universidad Nacional de La Plata durante el ejercicio de un cargo de Ayudante Diplomado con dedicación exclusiva.

El tema fué proporcionado por los Profesores René A. Corral y Orfeo O. Orazi quienes también ejercieron la dirección del trabajo.

Agradezco a esta Facultad, al Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas y a la Comisión de Investigaciones de la Provincia de Buenos Aires por el apoyo recibido.

S U M A R I O
= = = = =

- I) OBJETO DEL TRABAJO
- II) INTRODUCCION BIBLIOGRAFICA.
- Generalidades sobre alcaloides de RUTACEAS
 - Tipos de alcaloides de los generos LUNASIA y BALFOURODENDRON.
- III) PARTE EXPERIMENTAL.
- Operaciones generales.
 - Aislamiento del nuevo alcaloide ribalinidina.
 - Caracterización y análisis funcional de la ribalinidina.
 - Aislamiento de ribalinidina con exclusión de medio alcalino.
 - Derivados de la ribalinidina:
 - O⁷-metil derivado.
 - O³,O⁷-diacetil ribalinidina.
 - hidrólisis del diacetil derivado.
 - O⁷-acetil ribalinidina.
 - Correlación química de la ribalinidina con el cloruro de ribalinio.
- IV) DISCUSION DE LOS RESULTADOS.
- V) CONCLUSIONES.
- VI) BIBLIOGRAFIA.

I) Objeto del trabajo

El objeto del presente trabajo ha sido la investigación de una fracción alcaloídica aislada del Balfourodendron riedelianum (Engler) Engler (Rutáceas) obtenida ya anteriormente en este laboratorio en el curso de investigaciones sobre esta planta^(1,2).

El interés principal era lograr el aislamiento de algún alcaloide nuevo, y en tal situación llevar a cabo su caracterización y los estudios tendientes a determinar su estructura.

II.- INTRODUCCION BIBLIOGRAFICA

Generalidades sobre alcaloides de Rutáceas

Las Rutáceas constituyen la familia más importante del orden -
Terebiantales⁽³⁾ y están ampliamente distribuidas en 140 géneros y -
1.300 especies⁽⁴⁾

Están constituidas por árboles, arbustos, subarbustos o plantas
herbáceas ampliamente distribuidas por las regiones tropicales y -
subtropicales de ambos hemisferios y especialmente en Africa y Aus-
tralia⁽⁵⁾.

Muchas de las plantas contienen aceites volátiles en sus cavi-
dades secretoras que son extraídos y usados en medicina, cosméti-
cos y perfumes.

En nuestro país se encuentran entre otros los géneros Balfourodendron, Fagara, Helietta muy explotados por la calidad de su made-
ra⁽⁶⁾.

El Balfourodendron riedelianum (Engl.) Engl. es conocido vul-
garmente por "guatambú", "guatambú blanco", "guatambú morotí" e -
"ibirañotí" encontrándose en nuestro país distribuido por las pro-
vincias de Misiones y Corrientes. Es un árbol esbelto alto y grueso
muy explotado por la calidad de su madera.

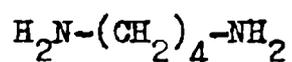
Del género Fagara se encuentran en nuestro país ocho especies
entre ellas la Fagara coco (Gill.) Engl. que crece en las provin-
cias de Catamarca, La Rioja, Salta, Jujuy, Tucumán, Córdoba y San-
Luis. Es un árbol alto y aromático que puede llegar a los 15m. y -
de copa globosa que es designado con los nombres vernáculos de "co-
cucho" y "sauco hediondo". Su madera es usada en carpintería.

Del género Helietta tenemos por ejemplo la especie Helietta longifoliata Britt. que crece en Misiones conocida vulgarmente por "canela de venado", "canela amarilla" e "ibirá-oby". Es un árbol de hasta 15 m. de altura y 35 cm. de diámetro. también explotado por su madera de color claro especial para ornamentación.

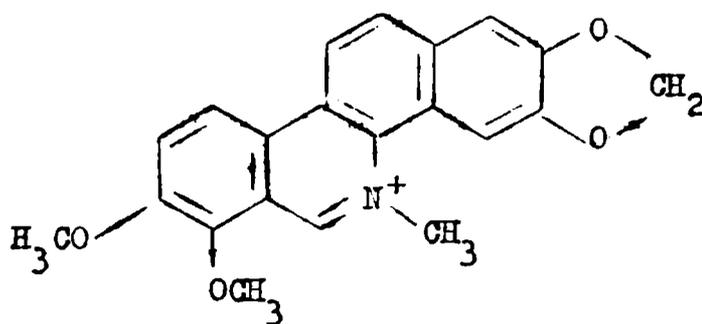
En la literatura se encuentran numerosos trabajos sobre especies de esta familia que han mostrado que la misma contiene un grupo numeroso y variado de alcaloides.

Considerando solamente los alcaloides cuya estructura ha sido resuelta, puede decirse que en la actualidad se conocen alrededor de 150 distribuidos en unos 35 géneros.

Desde el punto de vista de la constitución química estos compuestos alcalóidicos presentan una muy variada complejidad que va desde una combinación nitrogenada simple como la putrescina hasta bases de esqueleto policíclico como la queleritrina



putrescina



queleritrina

Para una más fácil visualización estas combinaciones se han agrupado en el cuadro 1 distribuyéndolas tomando como base su tipo estructural. Un primer tipo está representado por sustancias relativamente simples y los restantes según la naturaleza del sistema heterocíclico-fundamental. En cada caso se da un ejemplo de un alcaloide representativo del grupo con indicación de la cita bibliográfica sobre determinación de su estructura sea del trabajo original o de publicación que — sirve de guía de referencias; cuando no hay indicación significa que — la información correspondiente figura en H.G.Boit "Ergebnisse der — Alkaloid Chemie bis 1960", Akademie - Verlag (Berlín, 1961).

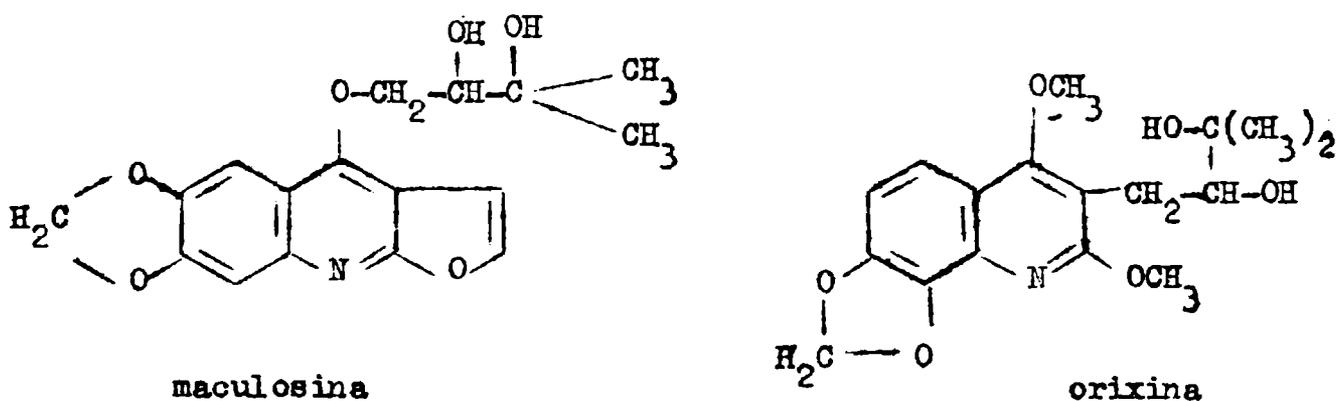
Un aspecto que es de interés señalar se refiere a la distribución botánica de los compuestos alcalóidicos de Rutáceas. Si bien un buen número de ellos figuran en la literatura aislados de especies vegetales de otras familias, los representantes del grupo de acridina y-furoquinoleicos son, hasta el presente, exclusivos de la familia de Rutáceas.

Precisamente esta última circunstancia de orden químico ha sido esgrimida como apoyo por algunos autores⁽⁷⁾ para mantener el género — Flindersia dentro de las Rutáceas tal como fuera ubicado por Engler y-Prantl. Para otros botánicos el género Flindersia no debería estar incluido dentro de la familia de las Rutáceas; así se lo ha incorporado a las Meliáceas o bien se ha diferenciado una nueva familia, las Flin-dersiáceas.

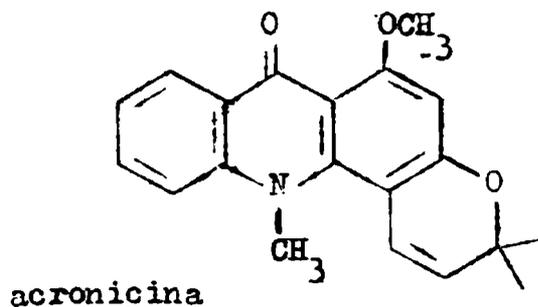
En conexión con problemas taxonómicos es de mencionar una recién

te publicación de autores argentinos⁽⁸⁾ referente a alcaloides de especies del género Fagara (Rutáceas) que existen en nuestro país; los autores señalan que hay una correspondencia entre la ubicación taxonómica de las especies y el tipo de sustitución de los alcaloides aporfínicos que ellas contienen.

Ha sido señalado⁽⁹⁾ que especies de esta familia son capaces de biosintetizar sustancias que contienen un número relativamente grande de átomos de oxígeno y por otro lado combinaciones que llevan como cadena lateral un resto isoprenoide. Ejemplos que muestran ambas capacidades están dados por la maculosina y orixina



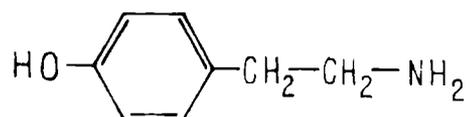
Algunos alcaloides de esta familia figuran también en la literatura en razón de otro aspecto de interés, el debido a sus acciones biológicas marcadas. De todos ellos, el de mayor significación actual es la acronicina en el que se ha encontrado⁽¹⁰⁾ una actividad antitumor para una variedad de neoplasmas experimentales



CUADRO 1: ALCALOIDES DE RUTACEAS

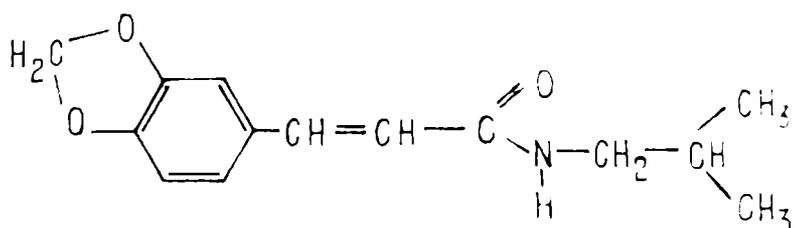
Tipo I: Aminas simples y derivados

a) Aminas libres



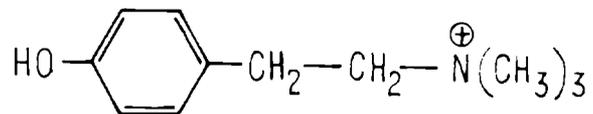
tiramina

b) Aminas aciladas



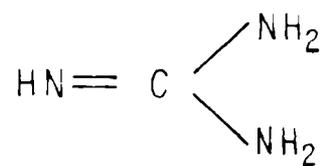
fagaramida

c) Aminas cuaternizadas



candicina

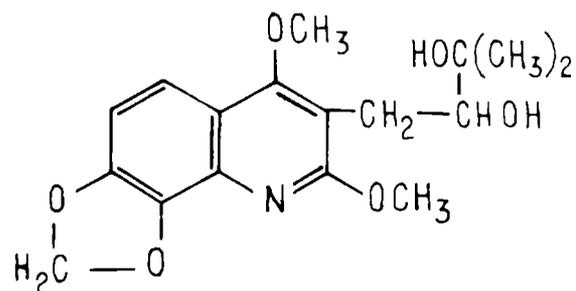
d) Guanidina



guanidina

Tipo II: Quinolínicos

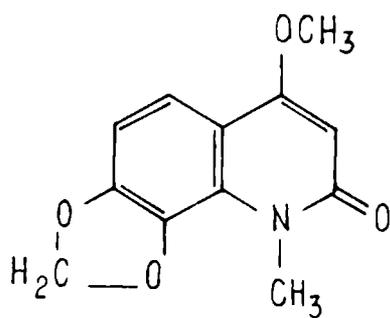
a) Simples



orixina

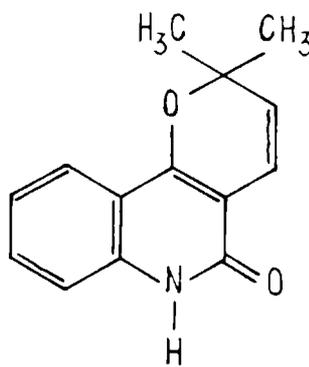
b) Quinolonas-2

-Simples



casimirofina

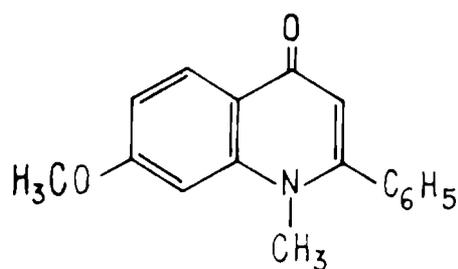
**-Condensadas con
anillo pirano**



flindersina

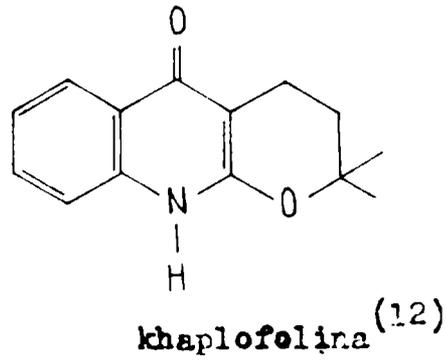
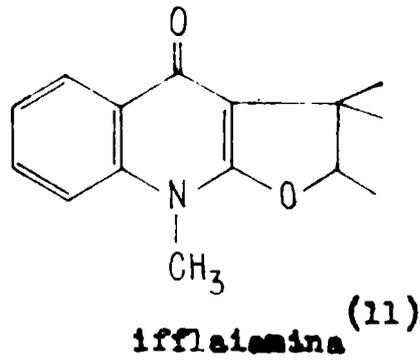
c) Quinolonas-4

-Simples

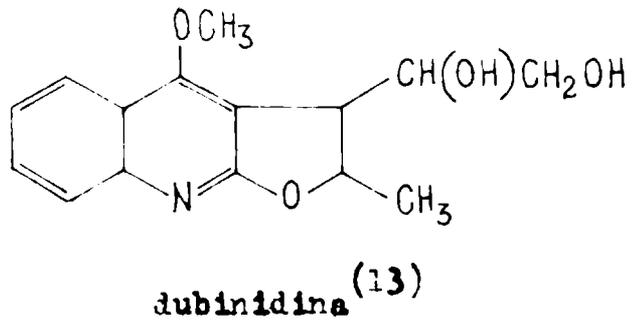
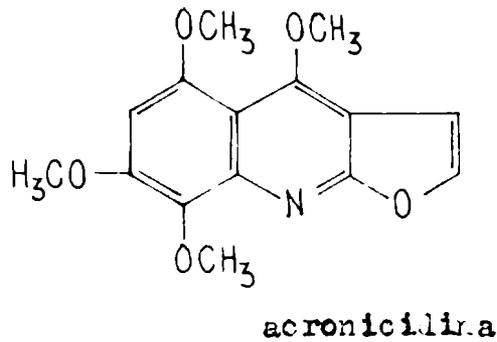


edulefina

-Condensadas con
anillo furano o
pirano



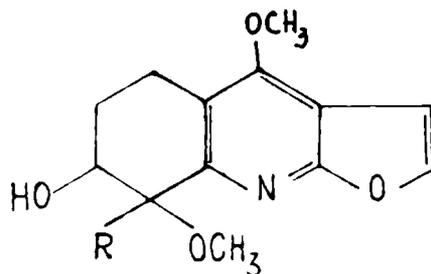
d) Furoquinolínicos
-terciarios*



*Corresponde una mención aparte para la perforina y haplofilidina para las que recientemente (14) se han dado las estructuras I y II respectivamente; el mismo laboratorio anteriormente (15) había asignado a la haplofilidina una estructura típica de alcaloides furoquinolínicos.

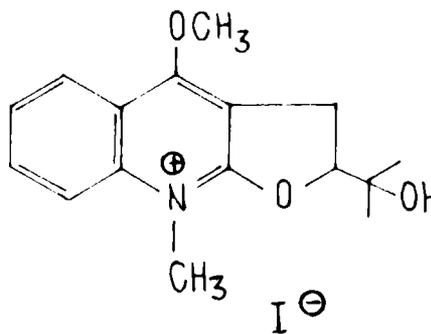
$\text{CH}_2\text{CH}_2\text{C}(\text{OH})\text{Me}_2$: perforina

$\text{CH}_2\text{CH}=\text{CMe}_2$: haplofilidina



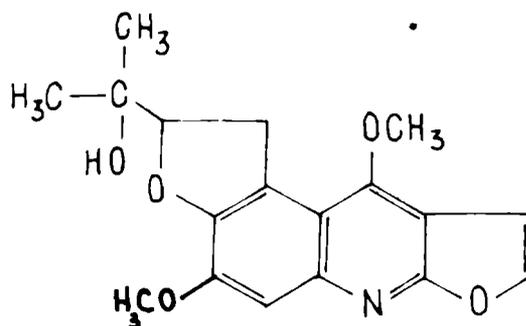
-cuaternarios

-16-

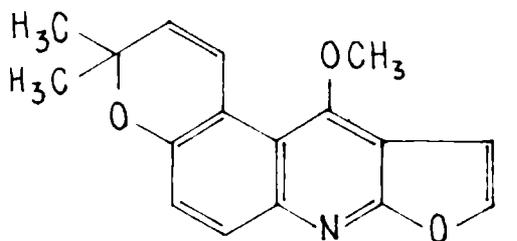


iodometilato de platidocmina (16)

-condensados con otro anillo furano o pirano



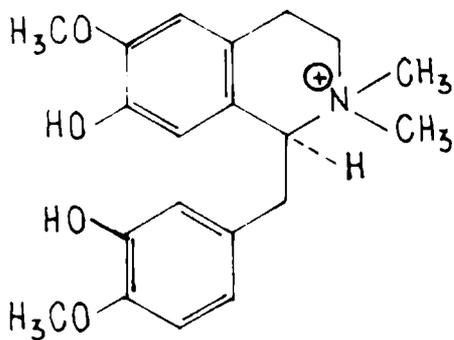
choisyina (17)



medicosmina (17)

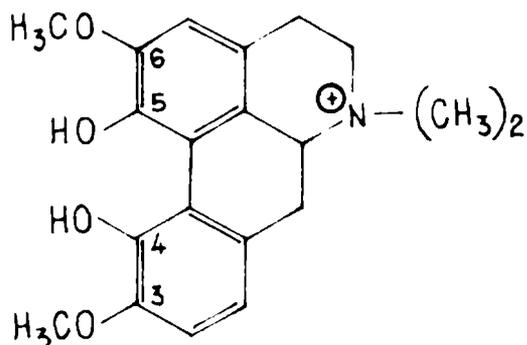
Tipo III: Isoquinolinicos

a) Benzilisoquinolinicos



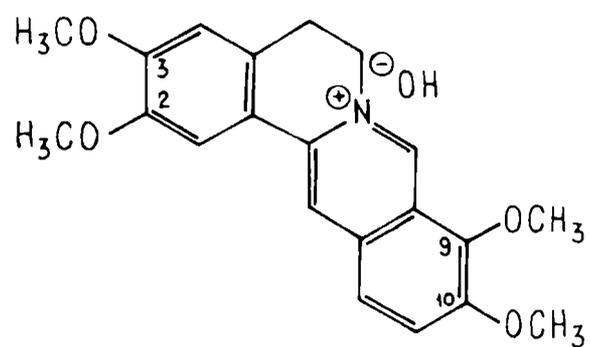
tembotarina (18)

b) Aporfínicos



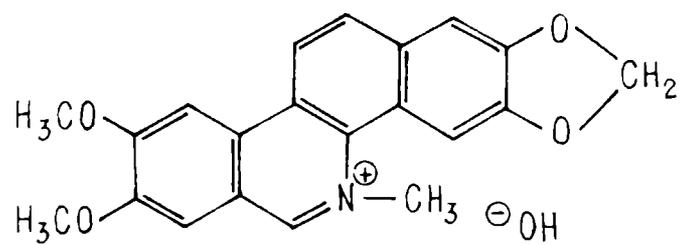
magnoflorina

c)Protoberberinas



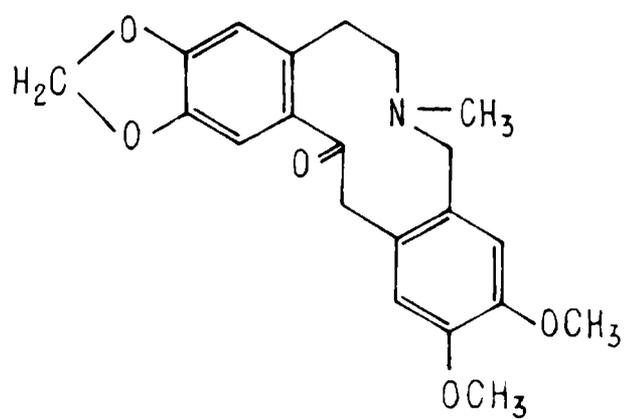
palmatina

d)Benzofenanthridínicos



nitidina

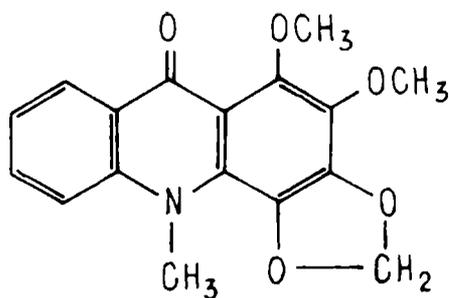
e)Relacionados (Protopinas)



fagarina II

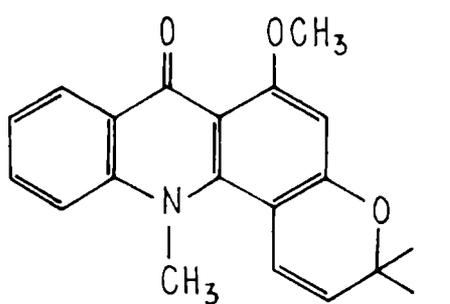
Tipo IV: Acridonas

a) Acridonas simples



melicopina

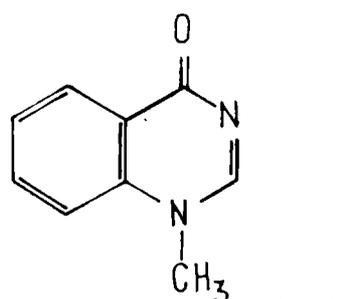
b) Acridonas con anillo adicional adicional



acronicina (19)

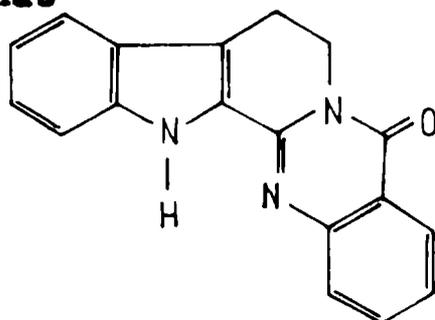
Tipo V: Quinazolínicos

a) Quinazolonas simples



gliorina (20)

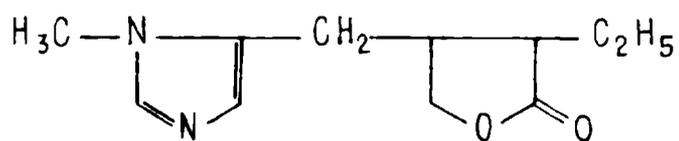
b) β -Carbolino-quinazolonas



rutaecarpina

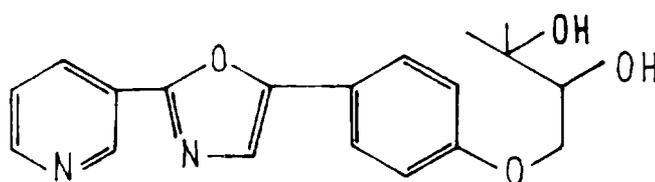
Tipo VI: Miscelánea

a) Imidazólicos



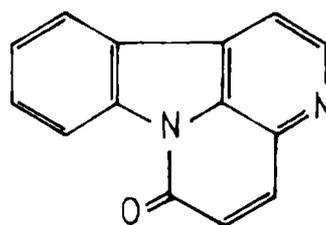
pilocarpina

b) Oxazólicos



halfordina (21)

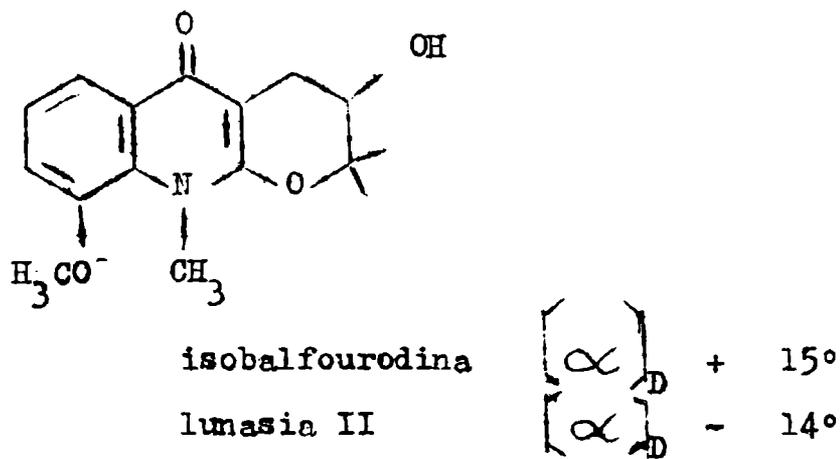
c) Indolnaftiridinas



cantinona

Tipos de alcaloides de los géneros Lunasia y Balfourodendron.

La notable similitud general desde el punto de vista químico presentada por los alcaloides aislados de especies de ambos géneros, da una amplia base para que se haga un análisis conjunto de los compuestos alcaloidicos provenientes de LUNASIA y BALFOURODENDRON. Esta semejanza estructural en su más alto grado está representada por la presencia de alcaloides en el género BALFOURODENDRON que son antípodas ópticos de los aislados de plantas de LUNASIA; por ejemplo isobalfourodina⁽²²⁾ es el isómero dextrógiro del lunacrinol (lunasia II)⁽²³⁾



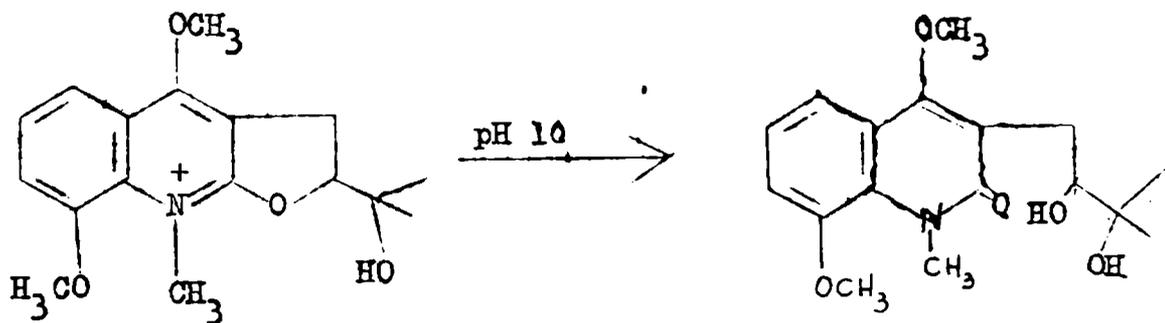
En el cuadro 2 (pág. 29) se han incluido los alcaloides hasta ahora aislados de especies de ambos géneros y cuya estructura es conocida; la distribución se ha hecho siguiendo la clasificación usada en el cuadro 1 correspondiente a alcaloides de Rutáceas en general. La mención de referencias bibliográficas se ha hecho siguiendo el criterio indicado para el cuadro 1.

Los alcaloides aislados son en general de naturaleza terciaria con unos pocos ejemplos de combinaciones cuaternarias.

Unas muy pocas bases corresponden al grupo de acridonas (tipo IV)

y de quinolínicos simples (tipo IIa); estos últimos representan las primeras arilquinolínicas que fueron conocidas como productos naturales.

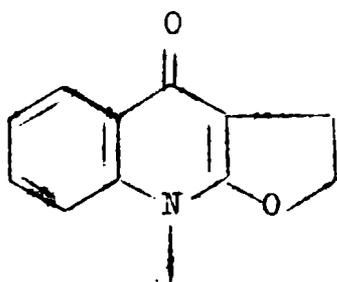
En segundo término están incluidas las quinolonas-2. Al respecto corresponde señalar que en la literatura⁽²⁴⁾ está hecha la salvedad de que este tipo de combinaciones puede surgir como un artificio en los procesos de aislamiento, sin que realmente estén preformadas en el vegetal. Ello es debido a que las condiciones corrientes de aislamiento implican un grado de alcalinidad suficiente para degradar a quinolonas-2 combinaciones de quinolinio presentes en el vegetal. Un soporte de esta generalización es el aislamiento de balfourolona⁽²⁵⁾ en el fraccionamiento de alcaloides de Balfourodendron riedelianum cuando la extracción de bases terciarias se hace a pH 10; evitando la alcalinización (eliminación de bases terciarias a pH 7) en su lugar se obtiene el 0⁴-metil-balfourodinio. Además se mostró experimentalmente que este último cuaternario se transforma con alto rendimiento en balfourolona por tratamiento con buffer a pH 10.



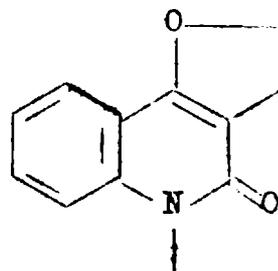
Quinolonas-4

El grupo siguiente, quinolonas-4, es de especial significación en parte por el número relativamente alto de ejemplos que comprende y además por incluir los alcaloides furo o pirano-quinolónicos-4, que son casi exclusivos de especies de estos dos géneros. Por esta circunstancia y además en razón de que el alcaloide aquí estudiado pertenece a este tipo, nos referiremos a este grupo de combinaciones con cierto detalle.

El estudio estructural de estas combinaciones comprendió distintos aspectos que pueden resumirse así: 1°) reconocimiento del esqueleto quinolónico-4, lo que implica además la unión lineal (y no angular) del anillo oxigenado adicional;



lineal; quinolona-4



angular; quinolona-2

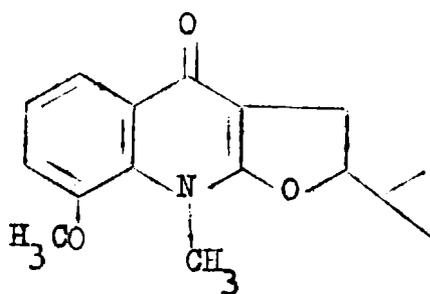
- 2°) naturaleza del anillo oxigenado condensado, sea del furano o pirano;
3°) tipo y ubicación de los sustituyentes.

En general puede decirse que, si bien se ha recurrido a variados procesos de orden químico, una parte muy significativa de la resolución de estas estructuras se ha logrado mediante aplicación de métodos físicos.

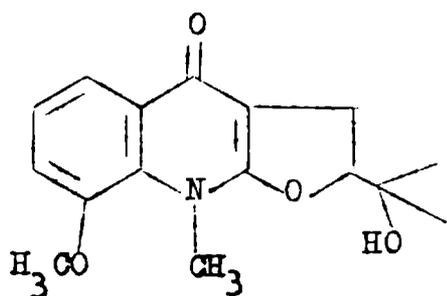
El primer problema indicado arriba pudo resolverse más comunmente

analizando el comportamiento de estas sustancias en su absorción en la zona ultravioleta en diferentes medios. Como otros datos de utilidad están la absorción en el infrarrojo (región de 6μ) y el examen de la zona aromática del espectro NMR. Así, la lunacrina⁽²⁶⁾ presenta en el espectro ultravioleta en medio neutro dos bandas a 313 y 326 $m\mu$ que al pasar a medio ácido coalescen en una banda a 300 $m\mu$; este comportamiento es usado como indicativo de un sistema quinolona-4 (contrariamente la lunina⁽²⁴⁾, una quinolona-4, presenta efecto batocrómico).

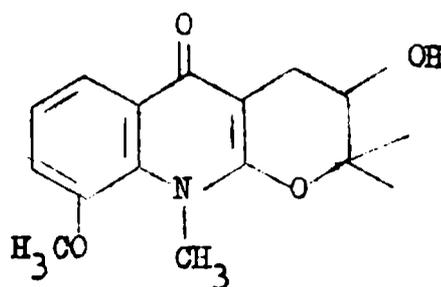
lunacrina



En otros ejemplos se emplearon otros criterios basados igualmente en la absorción ultravioleta. Balfourodina e isobalfourodina fueron reconocidas⁽²²⁾ como quinolonas-4 por presentar un mínimo en la región de 270 $m\mu$; (quinolonas-2 tienen en esta zona una serie de máximos) y además por variación de la absorción a aproximadamente 250 $m\mu$ ya sea por cambio del pH o de la naturaleza del solvente



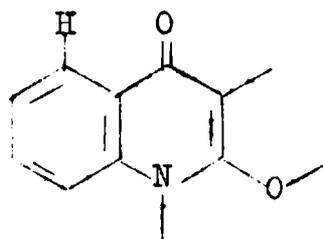
balfourodina



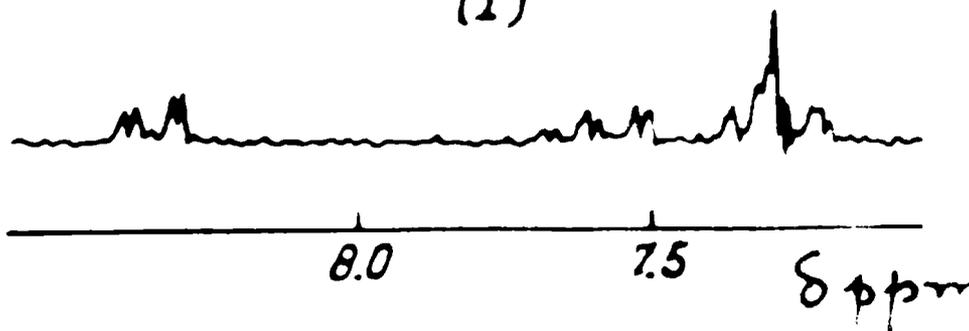
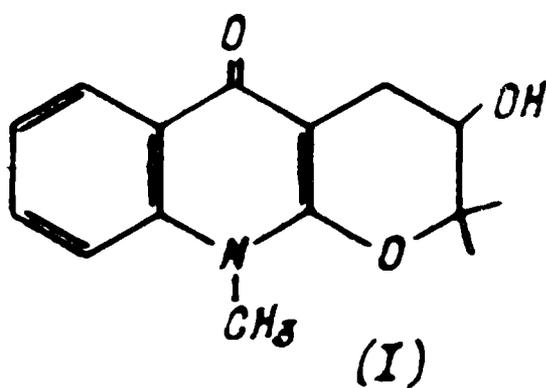
isobalfourodina

Para soportar estas asignaciones para estos últimos ejemplos se recurrió a la espectroscopía infrarroja aplicando las generalizaciones referentes al número y ubicación de las bandas en la zona 1665-1470 cm^{-1} ; quinolonas-4 poseen una banda intensa a alrededor de 1550 cm^{-1} , en tanto que sus isómeros, quinolonas-2, dan un mínimo.

La aplicación del NMR para reconocer quinolonas-4 se basa en el marcado efecto desprotector ejercido por el grupo carbonilo de la quinolona-4 sobre el hidrógeno aromático vecino⁽²⁷⁾.



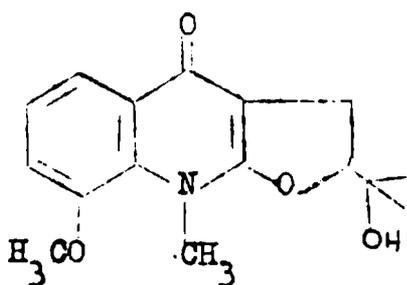
Un ejemplo lo encontramos en la ribalinina⁽²⁸⁾: la figura siguiente muestra la zona aromática del espectro NMR (en Cl_3CD a 100 Mc /s) donde se ve un grupo de señales correspondientes a 3 protones aromáticos (centro a δ 7,43 ppm) y un cuarteto de picos (δ 8,36 ppm) - que, según el área, provienen de un protón (H_6)



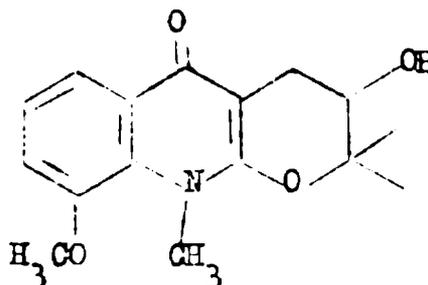
Zona aromática del espectro NMR de ribalinina (I)

El segundo aspecto estructural mencionado, decidir si el tercer anillo presente es furánico o piránico, es un problema de muy difícil resolución para el que no existe un método de aplicación general.

En algunos alcaloides por ejemplo balfourodina⁽²²⁾ y lunasia II⁽²⁹⁾



balfourodina

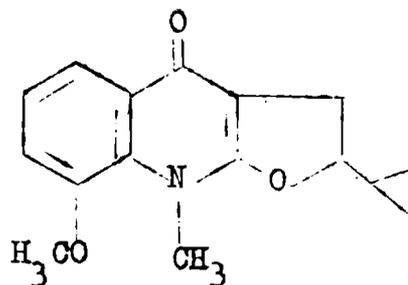


lunasia II

esta distinción se hizo por comparación de los espectros ultravioleta con modelos sintéticos conteniendo en su cromóforo un anillo dihidrofuránico o dihidropiránico; este camino no es muy concluyente debido a que los espectros de los dos tipos de modelos no presentan diferencias significantes⁽²⁾.

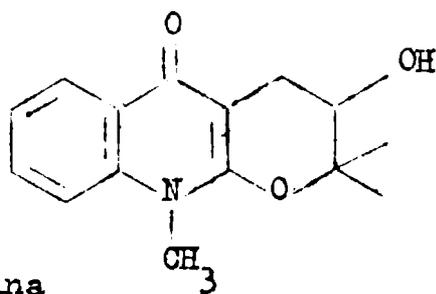
En otros ejemplos como lunacrina⁽³⁰⁾ (furánico) y ribalinina⁽²⁸⁾ (piránico) este problema fué encarado por aplicación de espectrometría NMR complementada con datos químicos; en realidad es un método indirecto pues se basa centralmente en un análisis de los sustituyentes sobre el anillo oxigenado. Así, en lunacrina el NMR indicó la presencia de una cadena isopropilica no sustituida de modo que, teniendo en cuenta la fórmula molecular del compuesto, esto permitió concluir que el anillo oxigenado era pentagonal; el análisis de las señales en el NMR de los restantes protones de ese anillo concuerda con esa asigna-

asignación



lunacrina

Por su parte, el NMR de la ribalinina y su acetyl derivado indicó que el anillo oxigenado lleva dos metilos gem ubicados en posición α al oxígeno y además que la función alcohólica presente es secundaria. De estos datos y la composición elemental se dedujo que el anillo era piránico.



ribalinina

Finalmente, el tercer aspecto relativo a tipo y ubicación de los grupos sustituyentes se ha examinado a través de análisis funcional, correlación química con sustancias de estructura determinada (por ej. — ref. 25) y aplicación de métodos físicos, (para ejemplo ver ref. 24).

Furoquinolínicos

Las bases terciarias de este tipo que figuran en el cuadro 2 son de amplia distribución dentro de la familia de Rutáceas y su estudio estructural fué hecho con anterioridad a su aislamiento de plantas de los géneros Lunasia y Balfourodendron.

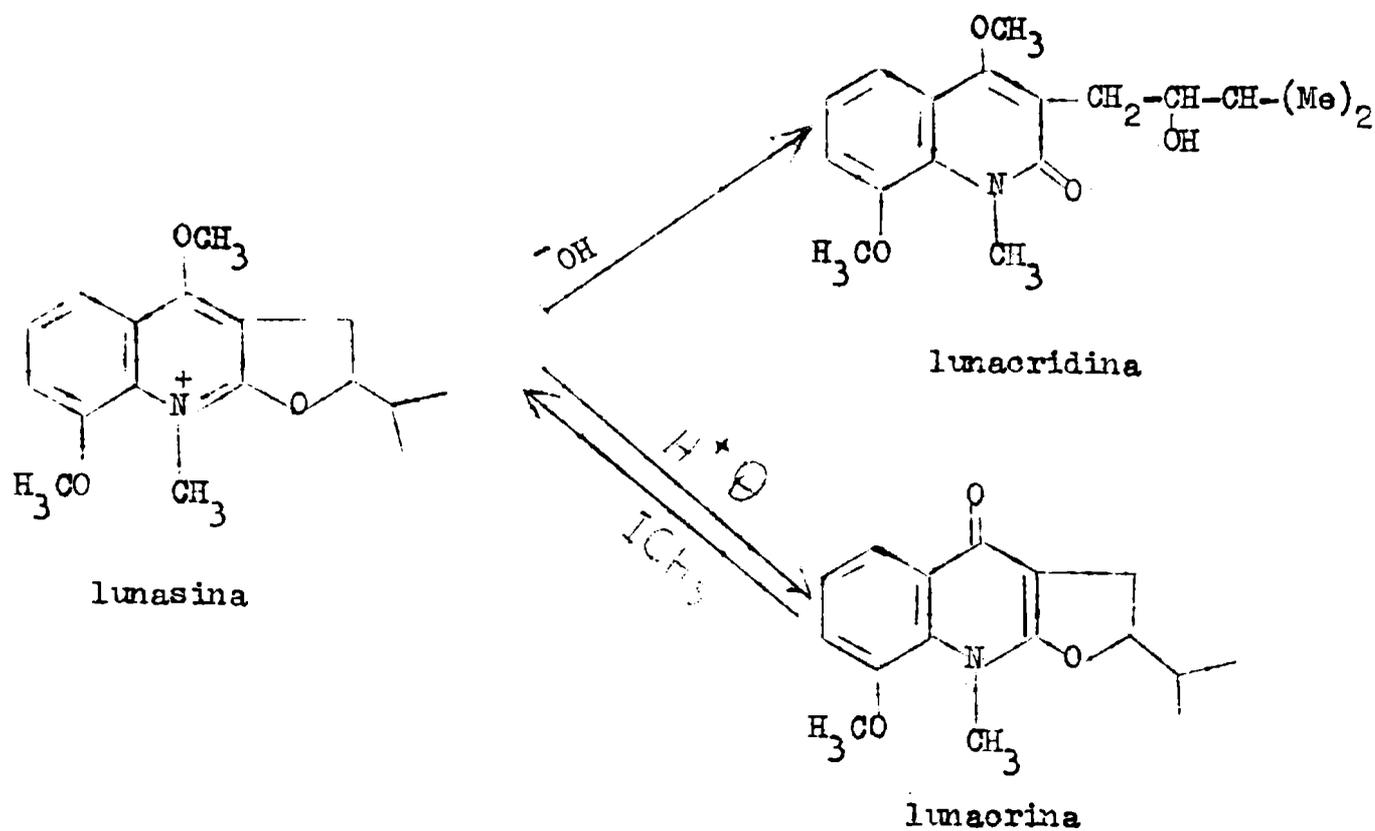
En cuanto al grupo de cuaternarios es de mencionar que este tipo de compuestos fué encontrado inicialmente en estos géneros y sólo hace

poco tiempo ha sido descrito otro alcaloide similar, el iodometilato - de (+)-platidesmina, aislado del género Skimmia⁽¹⁶⁾.

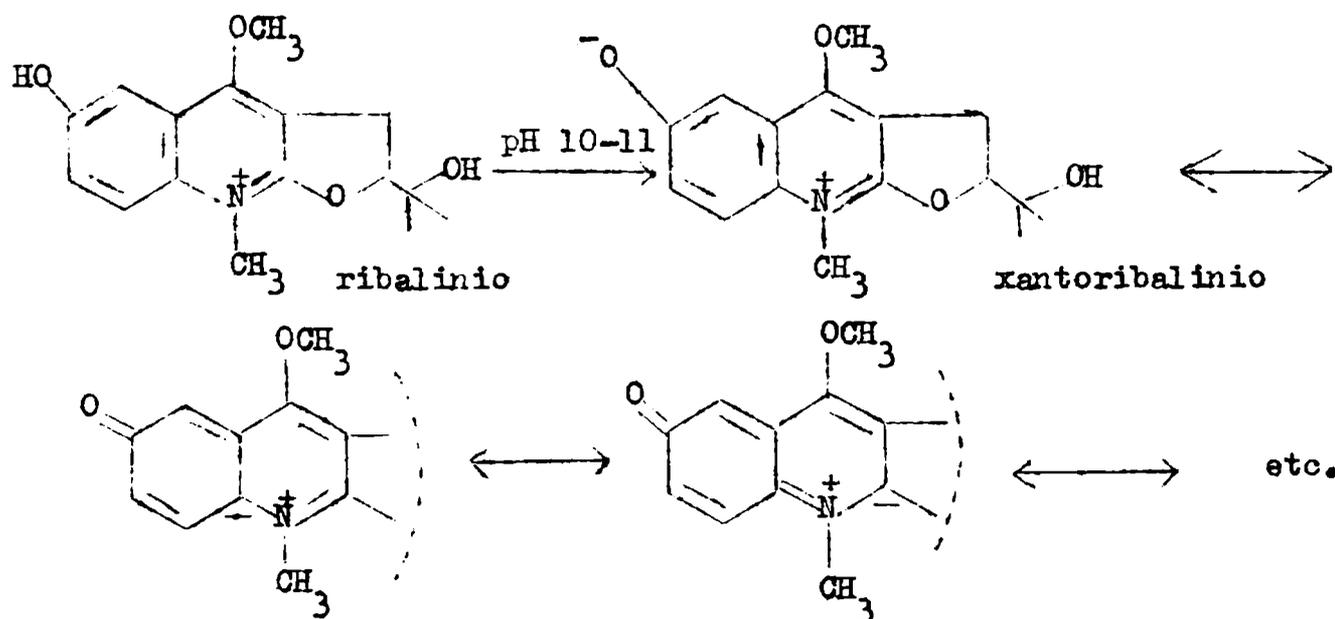
Una característica saliente de estos alcaloides que fué advertida desde los comienzos de su estudio es la muy marcada sensibilidad a la acción de los álcalis que da como resultado su transformación en bases débiles insolubles en agua⁽³¹⁾. Esta fácil descomposición determinó que en el aislamiento de estas sustancias se tomara la precaución de no llegar a un medio alcalino⁽²⁵⁾, o a lo sumo operar sólo por breve tiempo a una alcalinidad débil^(32,33) en la etapa de eliminación de bases terciarias mediante solvente orgánico; subsiguientemente la combinación cuaternaria es extraída con solvente o precipitada como una sal.

La descomposición de estos cuaternarios en medio alcalino conduce por apertura del anillo dihidrofuránico a la formación de quinolonas-2 según se ejemplificó al describir este último tipo de sustancias.

La determinación de las estructuras de los cuaternarios se llevó a cabo principalmente a través de la correlación química con las correspondientes quinolonas-4 y/o quinolonas-2; el conocimiento previo o dilucidación subsiguiente de las estructuras de estas quinolonas permitió establecer las de los cuaternarios. El primer ejemplo resuelto fué la lunasina principalmente mediante interconversión con lunacridina y lunacrina⁽³²⁾



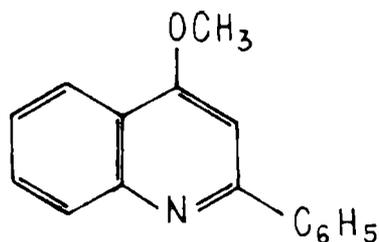
Uno de estos cuaternarios, el ribalinio⁽²⁾, es una excepción a este — comportamiento señalado dado que es estable en condiciones de basicidad (pH 10-11) usadas corrientemente para la eliminación de la fracción de bases terciarias. Esta estabilidad es una consecuencia de su carácter fenólico; a pH 10-11 está presente el ión dipolar que estabiliza el anillo oxigenado impidiendo su apertura⁽³⁴⁾



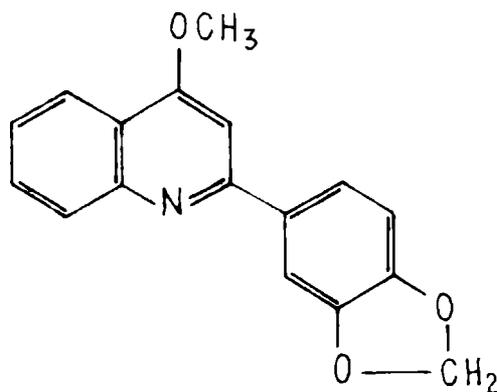
CUADRO 2.1 ALCALOIDES DE LOS GENEROS LUNASIA Y BALFOURODEDRON

Tipo II: Quinolínicos

a) Simples



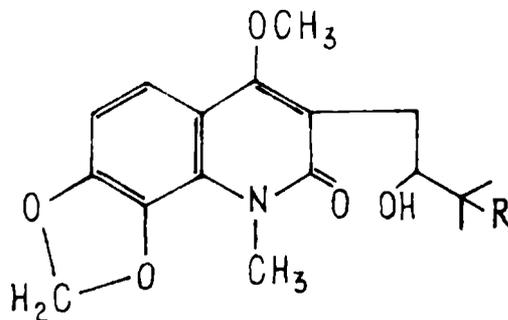
2-fenil-4-metoxi-quinolina



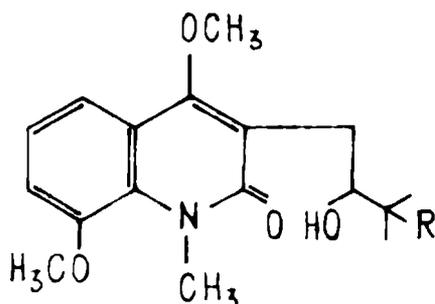
2-(3,4-metilendioxi-fenil)-4-metoxi quinolina (graveolinina) (35)

b) Quinolonas-2

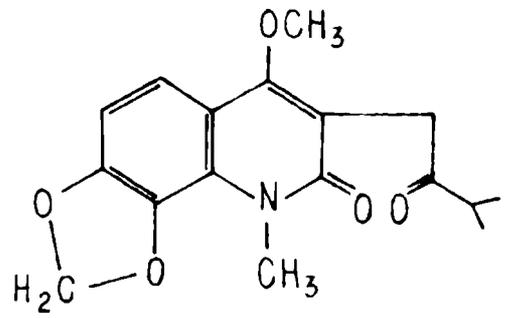
-Simples



**R = H : lunidina (36)
R = OH: hidroxilunidina**

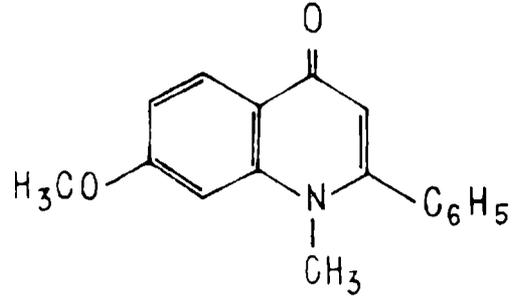


**R = H : lunacridina
R = OH: hidroxilunacridina**

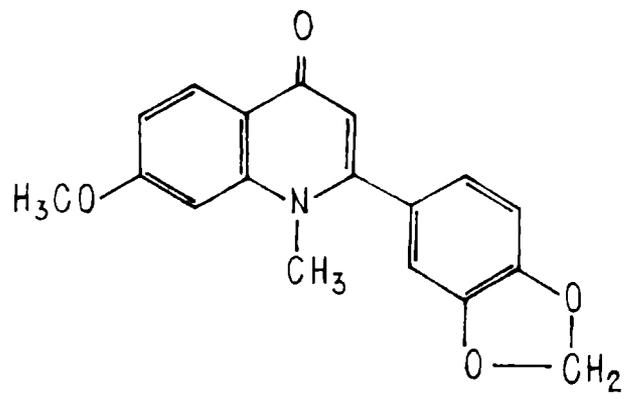


lunidonina (35)

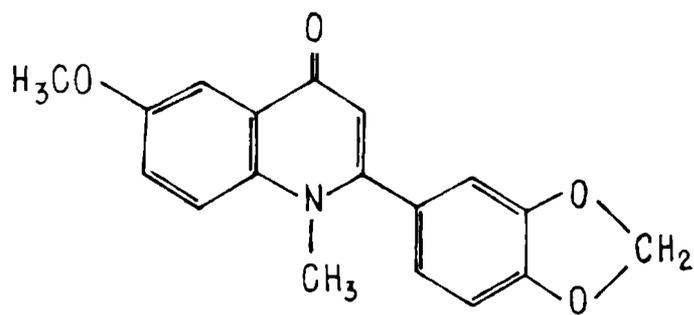
c) Quinolonas-4
-Simples



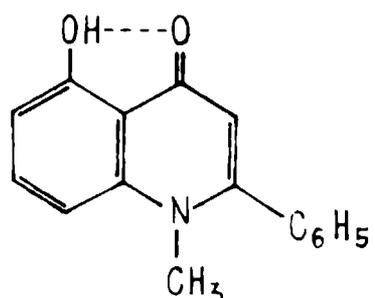
edulefina



lunamarina

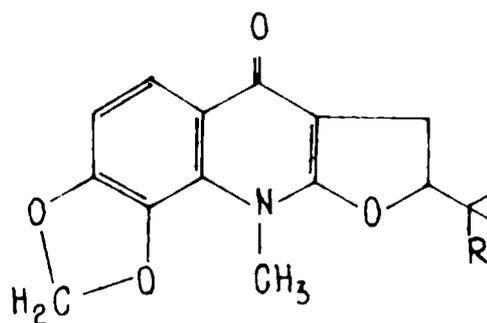


lunasia I (37)



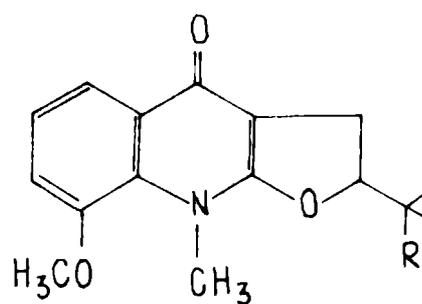
5-hidroxi-1-metil-2-fenil-quinolona-4 (36)

Condensado otro anillo



R = H : lumina

R = OH : hidroxilumina

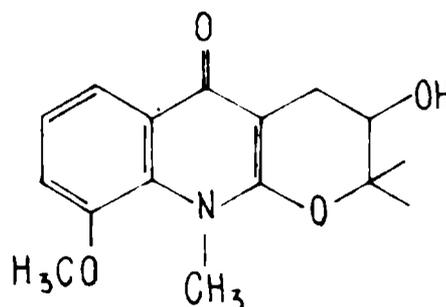


R = H : lunacrina

(⁺) lunacrina = lunasia IV (29)

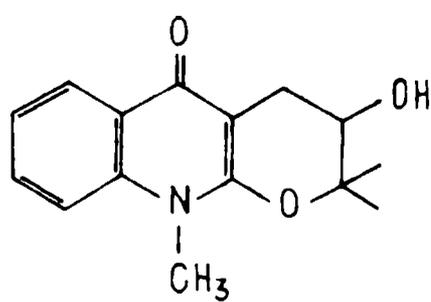
R = OH : (-) hidroxilunacrina

(+) balfouredina



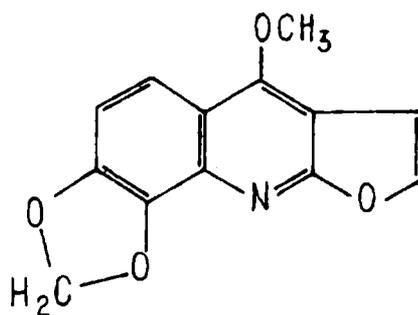
lunacrinol = (-) lunasia IX (23)

(+) isobalfouredina

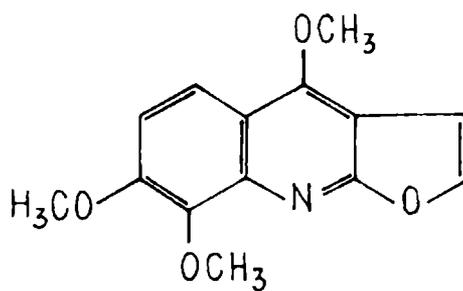


(+)ribalinina⁽²⁸⁾

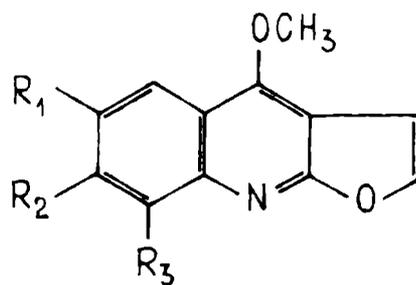
**d) Furoquinolinicos
-terciarios**



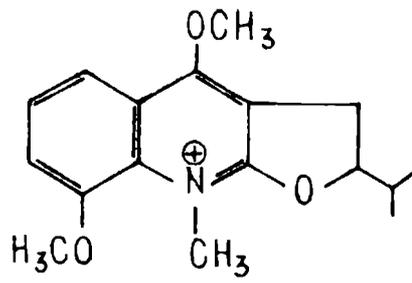
kokusagina



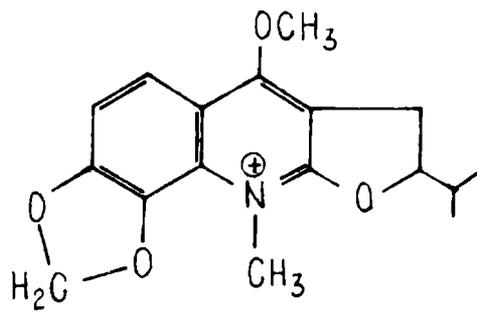
skimianina



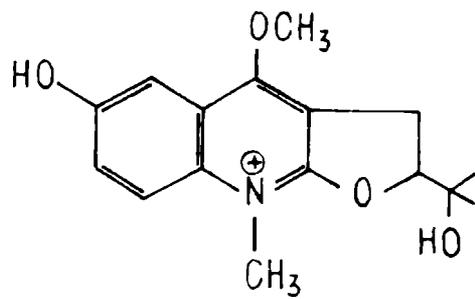
	R₁	R₂	R₃
dictamnina	H	H	H
kokusaginina	OCH ₃	OCH ₃	H
maculesidina	OCH ₃	H	OCH ₃
flindersianina		O-CH ₂ -O	OCH ₃



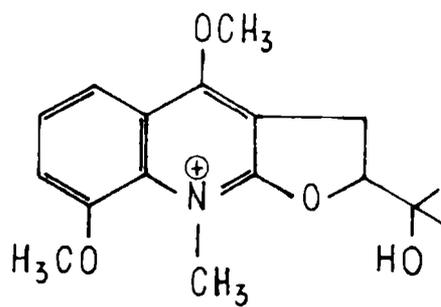
lunasina



O-metil-luninio⁽³³⁾

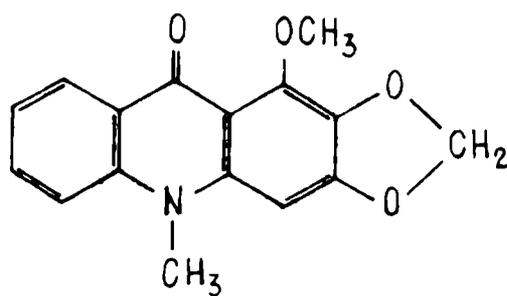


ribalinio⁽²⁾



O⁴-metil-balfourodinio

Tipo IV:Aspidonas



evoxantina

III) PARTE EXPERIMENTAL

Operaciones generales

Determinaciones espectroscópicas.[⊠]

Los espectros ultravioleta fueron medidos en instrumentos BECKMAN DK-2 y JASCO ORD/UV-5, este último ha sido usado también para la obtención de las curvas de dispersión rotatoria óptica.

Para los registros en el infrarrojo se recurrió a los espectrofotómetros BECKMAN IR-4, PERKIN-ELMER 337-B y 221; en cada caso se indica el medio utilizado para la medición y los valores de absorción de mayor significación con relación al análisis de la estructura.

Los espectros de resonancia núcleo magnética fueron registrados en un aparato VARIAN modelo A-60 utilizando tetrametilsilano como estándar interno.

Otras determinaciones.

Los valores de rotación específica fueron obtenidos en un polarímetro HUDOLPH modelo 80 y los de pH mediante un TITRISKOP-E-366 (Mettler)

Los puntos de fusión se determinaron en capilares Pyrex cerrados en aparatos ELECTROTHERMAL (cámara de aire) o en BÜCHI (baño de silicón); en algunos casos se utilizó un microscopio KOFLER de platina calentable.

Las determinaciones de análisis elemental y funcional estuvieron a cargo de los laboratorios del Dr. A. Bernhardt (Mülheim, Alemania) y —

⊠ Parte de estas mediciones estuvo a cargo de la tesista y parte fueron hechas por personal del laboratorio.

del Dto. de Qca. Orgánica (Facultad de Ciencias Exactas, Bs.As.) a cargo de la Dra. B.B. de Deferrari.

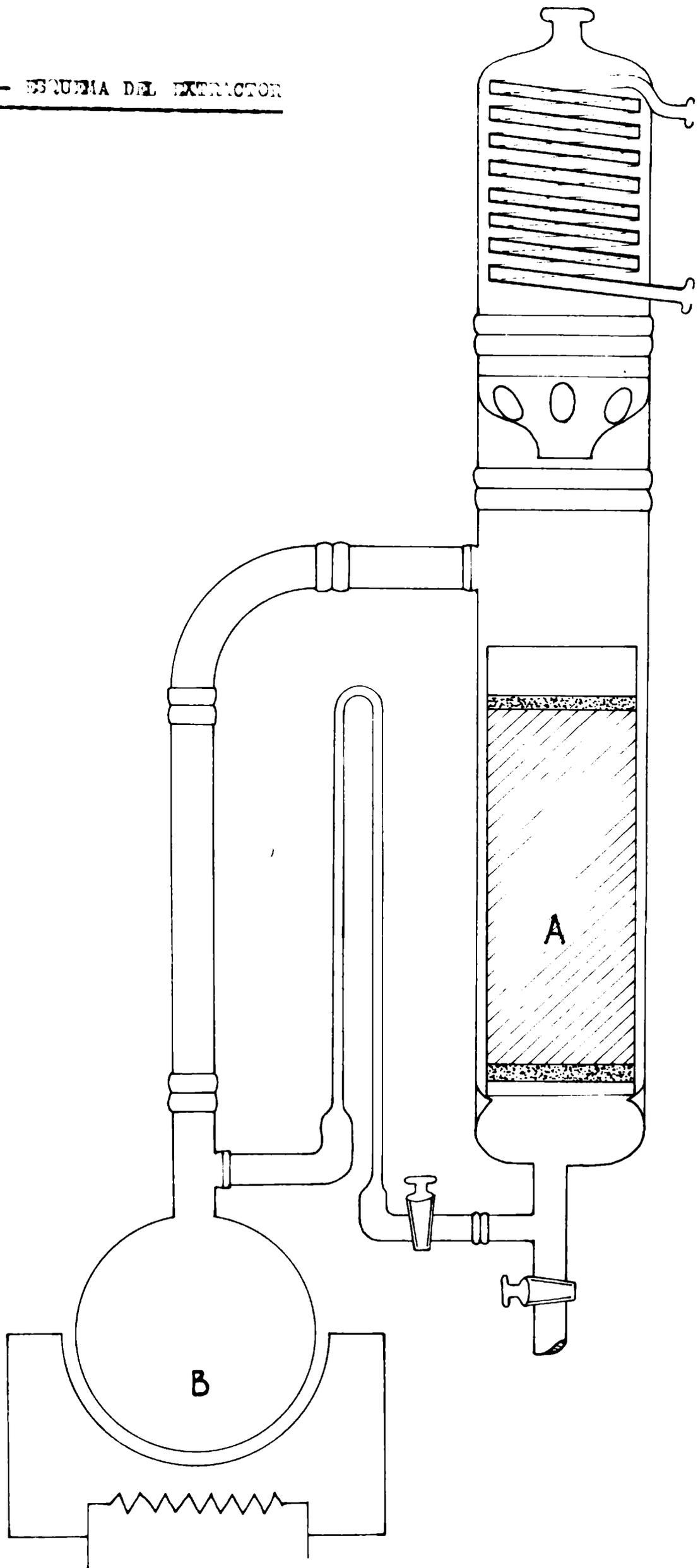
-Corridas cromatográficas.

Fueron hechas sobre papel Whatman N° 1 sembrando 240 γ de material y como solvente, butanona saturada de agua con agregado de un 5% de CH_3OH (solvente B). La butanona utilizada fue purificada para eliminación de peróxidos mediante agitación con una solución concentrada de sulfato ferroso y después de lavado con agua se destiló recogiendo la mezcla butanona-agua. El revelado fué hecho a la luz ultravioleta y con reactivo de Munier (39).

Las columnas fueron hechas con polvo de celulosa Whatman (standard grade).

La descripción experimental que se da en cada caso es representativa de los resultados logrados en varias experiencias.

FIG. 1 - ESQUEMA DEL EXTRACTOR



Aislamiento del nuevo alcaloide ribalinidina

El aislamiento inicial fué llevado a cabo sobre un material alcaloídico obtenido en el curso de un estudio anterior sobre alcaloides de Balfourodendron riedelianum (Rutáceas) realizado en este laboratorio^(1,2).

El fraccionamiento de los cloruros cuatemarios³ de la planta mediante cromatografía de partición en columna de celulosa proporcionó el cloruro de ribalinio y el material inicialmente usado en este estudio provino de reunir las fracciones n° 31 a 62 (p = 0,629 g.) de la columna — descrita en dicha publicación⁽²⁾.

Se hizo un análisis de esa fracción realizando cromatografía de papel con solvente B. El revelado permitió observar dos manchas alcaloídicas parcialmente superpuestas de $R_f \approx 0,85$, fluorescencia celeste grisáceo y otra de $R_f \approx 0,75$ correspondiente a una fluorescencia celeste verdoso.

■

Sin embargo es de hacer notar que el alcaloide aquí aislado es terciario.

Se practicaron ulteriormente nuevas obtenciones de fracción alcaloídica equivalente a la anterior con el objeto de obtener mayores cantidades del alcaloide a estudiar.

Extracción y fraccionamiento.

Se efectuaron extracciones de material vegetal seguidas por fraccionamiento de los alcaloides; estas etapas se realizaron siguiendo esencialmente las descripciones de la literatura^(1,2).

Se describe a continuación en un ejemplo representativo el trabajo efectuado para la extracción y fraccionamiento de los alcaloides.

Se usó corteza del tronco de Balfourodendron riedalianum (Engler) Engler que era el mismo material vegetal utilizado en estudios anteriores de este laboratorio.

En un aparato de Soxhlet (ver esquema Fig.1) se colocaron en A - dos kilos de corteza de vegetal (previamente secada a 40°/vacío, reducida a polvo y secada nuevamente), se mezclaron con aproximadamente igual volumen de arena gruesa (lavada y calcinada dos horas en mufla a 600°) y con 8 litros de alcohol. En el balón B se colocaron 10 litros de alcohol y se calentó a reflujo continuo durante 16 hs.

El proceso se repitió cuatro veces retirando cada vez el extracto

alcoholico y reemplazándolo con una nueva porción de 10 lt de alcohol.

Agotado el material vegetal (100 ml del último extractivo dieron un residuo seco de 3 mg.) se procedió a concentrar la totalidad de los extractos alcohólicos obtenidos hasta un volumen de dos litros; la operación se practicó a 45°/presión reducida.

Un litro de este extracto, equivalente a un kilo de planta, fué nuevamente concentrado hasta aproximadamente 150 ml y se agregaron 500ml de una solución enfriada de HCl 0,5N operando en baño de hielo y con agitación mecánica. Terminado el agregado de la solución clorhídrica se dejó agitando durante una hora.

Después de dejar una noche en la heladera fué separado un insoluble de consistencia pastosa por centrifugación y posterior filtración por papel del líquido decantado. El insoluble fué lavado con cinco fracciones de 25 ml de agua.

Se obtuvo así:

- un insoluble en ácido de consistencia gomosa que no fué estudiado.

- un extracto hidroalcohólico ácido.

Al extracto ácido (pH 1) se agregaron 150 ml de Cl_3CH ; manteniendo la mezcla en baño de hielo y con agitación magnética se agregó una solución acuosa enfriada de NaOH al 15% hasta llegar a pH 9 y luego con solución de NaOH al 5% se llevó a pH 10,6.

Se separó la fase clorofórmica y a la solución acuosa se la fué agotando, operando siempre a baja temperatura, con los siguientes volúme

nes de cloroformo: 2 x 150 ml, 3 x 100 ml y 2 x 50 ml.

Además se practicó una última extracción adicional de contralor con 50 ml de Cl_3CH que se lavó con dos fracciones de 5 ml de agua, se secó sobre SO_4Mg anhidro, luego se filtró por papel y se evaporó a presión reducida hasta sequedad obteniéndose un residuo de 12 mg.

El extracto clorofórmico total (700 ml) se lavó con tres fracciones de 100 ml de agua y luego se secó sobre SO_4Mg anhidro (fracción de alcaloides 3^{rios} ya estudiada antes (1)).

La fase acuosa de pH 10,6, ya extraída con Cl_3CH , se enfrió exteriormente con hielo y se le agregó HCl 1:1 hasta llegar a pH 2,5 para precipitar los alcaloides 4^{rios} como reineckatos.

Se preparó la solución de la sal de Reinecke agregando a 10 g de reineckato de amonio 140 ml de ácido acético glacial y 70 ml de H_2O . Se dejó durante 12 hs. con agitación magnética y protegido de la luz; se centrifugó y decantó la solución y al insoluble se agregaron 60 ml de ácido acético-agua (2:1), se agitó 4 hs. y luego se separó la solución reuniendo ésta con la anterior.

Sobre la solución acuosa de pH 2,5 operando en baño de hielo y con agitación mecánica se fué agregando por goteo 240 ml de solución enfriada de reineckato de amonio; terminado el agregado se dejó con agitación media hora más. Para constatar si la precipitación había sido completa se separó luego de centrifugación de una alícuota el líquido sobrenadante y se agregó solución de reineckato de amonio (no se vió formación de precipitado).

Los reineckatos precipitados se filtraron a través de un Buchner lavando con fracciones de 20 ml de agua enfriada hasta no viraje del papel de Rojo Congo. El secado fué hecho a temperatura ambiente y presión reducida, al abrigo de la luz y hasta constancia de peso, obteniéndose 11,85 g.

Los reineckatos así obtenidos fueron disueltos en 1.200 ml de acetona-metanol (1:1). La solución se pasó lentamente a través de una columna con una suspensión en dicha mezcla de solventes de 200 g de resina -- DOWEX 2-X4 forma Cl^- previamente tratada con HCl y posteriormente lavada con agua.⁽²⁾

Una vez terminado el pasaje de la solución se lavó la columna con las siguientes fracciones de metanol: 300 ml, 2 x 200 ml y finalmente una de 100 ml; cada fracción fué llevada a seco a presión reducida, la última dió 28 mg de residuo indicando un lavado prácticamente completo.

Los líquidos de elución fueron reunidos y evaporados a presión reducida obteniéndose 7,55 g de residuo que fué sometido a un fraccionamiento mediante columna de celulosa.

A 600 g de polvo de celulosa se agregaron 2 l. de butanona saturada con agua con adición de 5% de CH_3OH y se dejó 2 hs. con agitación mecánica.

Con esta suspensión se llenó una columna de 100 cm de longitud y 8 cm de diámetro; para ello se procedió a verter la suspensión en pequeñas porciones dejando sedimentar homogéneamente por rotación de la columna al mismo tiempo que se dejaba fluir solvente. Finalizado el llenado ..

de la columna se lavó con 200 ml de la misma mezcla de solventes.

En la parte superior, sobre la celulosa, se colocó un disco de - papel de filtro para evitar que al sembrar la celulosa se suspendiera y sobre él se dejó una capa de solvente de aproximadamente 2 cm de altura.

El material a sembrar (7,55 g) se disolvió en diez veces su peso de metanol y se agregaron 25 g de celulosa en polvo; se mezcló bien hasta homogeneizar la suspensión, el solvente se eliminó a presión reducida y el residuo se pulverizó hasta obtener polvo fino. Este material se colocó homogéneamente sobre la superficie del disco de papel.

La columna se eluyó hasta agotamiento con butanona saturada de - agua con adición de 5% de metanol recogiéndose 224 fracciones de 20 ml. cada una.

Las fracciones fueron evaporadas individualmente a presión reducida y los residuos secados a peso constante (in vacuo); éstos fueron - analizados por cromatografía de papel con solvente B, sembrando 240 μ de cada uno. El revelado por la fluorescencia a la luz ultravioleta y con reactivo de Munier permitió reunir las siguientes fracciones.

- En las fracciones 63 a 69 (p = 79 mg) aparece una mancha cerca del frente, de fluorescencia azul a la luz u.v. y que se colorea debilmente con el reactivo de Munier.

- En las fracciones 70 a 124 (p = 1,68 g) aparecen dos alcaloi--des que al ser revelados con reactivo de Munier dan dos manchas anaranjadas de Rf \approx 0,85 y 0,75 cuyas fluorescencias a la luz u.v. son de color celeste grisáceo y celeste verdoso respectivamente.

- En las fracciones 125 a 152 (p=530 mg) aparece mezclado el alcaloide de Rf 0,85 con el cloruro de ribalinio⁽²⁾.

Finalmente en los tubos 153 a 192 (p= 3,62 g) se nota únicamente la presencia del último alcaloide citado (Rf 0,31).

El cloruro de ribalinio se purificó por cristalización: 3,62 g. de cloruro de ribalinio crudo se disolvió en caliente en 35 ml de metanol y luego se agregaron gradualmente 75 ml de acetato de etilo; se dejó a baja temperatura y luego se filtró por schott, lavando con tres -- fracciones de 1 ml de acetato de etilo. Se secó hasta peso constante -- (45°/vacío) obteniendo 2,82 g de p.f. 192-194° (desp.gas).

Ribalinidina

La fracción 70-124 (p= 1,68 g) de la columna de celulosa descrita arriba era un sólido pulverulento de color pardo oscuro cuya primera purificación se hizo por filtración a través de alúmina. Para ello se disolvió en 90 ml de alcohol absoluto, se agregaron 22,5 ml de Cl_3CH y la solución se pasó a través de una columna llenada con 42 g de alúmina neutra de actividad II suspendida en alcohol absoluto-cloroformo (4- (4 + 1)).

Se eluyó hasta agotamiento con la misma mezcla de solventes reco^ggiéndose 20 fracciones de 40 ml cada una que fueron evaporadas individualmente a presión reducida. La fracción n° 20 dejó un residuo seco de 2 mg , lo cual indicó agotamiento prácticamente total de la columna.

Así se obtuvieron 1,07 g de un sólido pulverulento menos coloreado

do que el material de partida y que fué fraccionado con agua en la siguiente forma: se calentó a ebullición en diez veces su peso de H₂O durante cinco minutos con agitación y luego de una noche en heladera se centrifugó separándose la solución sobrenadante límpida y ligeramente coloreada de amarillo; el remanente insoluble se sometió en igual forma a dos nuevos tratamientos con 5 ml de agua cada vez.

Los extractos acuosos reunidos, evaporados y el residuo secado hasta peso constante (45°/presión reducida) proporcionaron 510 mg de un material alcaloídico que no fué estudiado aquí. La fracción insoluble en agua fué secada hasta peso constante (515 mg). Ambos residuos fueron cromatografiados sobre papel con solvente B lo que mostró una satisfactoria separación de los dos alcaloides contenidos en la fracción proveniente de la columna de celulosa. Esencialmente el material soluble en agua muestra la mancha de fluorescencia celeste verdoso (Rf 0,76) y el insoluble la de fluorescencia celeste grisáceo (Rf 0,85).

El material insoluble en H₂O se recrystalizó de diez veces de etanol absoluto y después de tres recrystalizaciones se obtuvieron 214mg de ribalinidina, cristales incoloros con p.f. 253-254°. (color pardo y desp. de gas), siendo el rendimiento de 0,02 % referido a corteza seca.

Caracterización y análisis funcional de la ribalinidina.

La ribalinidina anterior parcialmente purificada, fué recrystalizada de alcohol absoluto hasta p.f. constante 257-258° (color pardo, gas).

Con este producto se hicieron los siguientes ensayos:

- Es muy escasamente soluble en acetona, butanona y cloroformo,-

casi insoluble en agua, benceno, eter etílico o isopropílico, acetato de etilo y dioxano.

- La cromatografía en papel con solvente B mostró una sola mancha Rf 0,86 de fluorescencia celeste grisáceo a la luz ultravioleta y color anaranjado con el reactivo de Munier (no se revela con reactivo iodoplatínico).

- La corrida electroforética se hizo en aparato RECO modelo E-800-2 con distancia de 40 cm. entre los polos y voltaje aplicado de 400V. Se sembraron 120 μ y como electrolito se usaron buffer de pH 3 o de pH 8 de igual fuerza iónica ($\mu = 0,02$)⁽⁴⁰⁾ y con un tiempo de corrida de alrededor de 10 h. A pH 3 apareció una sola mancha (u.v. y reactivo de Munier) cuyo centro estaba a 19 cm. del lugar de siembra; a pH 8 prácticamente no hubo desplazamiento.

- Se disolvió 0,5 mg de ribalinidina en 0,2 ml de alcohol 96° y se agregó 0,02 ml de NO_3H 6N y 0,05 ml de NO_3Ag 0,1N: quedó solución límpida (reacción negativa de ión cloruro).

- 1 mg de alcaloide se disuelve a temperatura ambiente en 0,1 ml de NaOH acuoso 0,01 N y parcialmente en 0,1 ml de CO_3Na_2 acuoso 0,5M (pH 12,2).

<u>Análisis</u>	C	H	N	O	OCH ₃	NCH ₃	CCH ₃	H activo
% calculados para C ₁₅ H ₁₇ NO ₄	65,24	6,22	5,09	23,25	(a) 11,26	(a) 5,46	(a) 5,45	(b) 0,70
Encontrados	65,22	6,24	5,23	23,41	0,12	6,40	5,48	0,67

(a) para un grupo.

(b) para dos grupos.

Peso molecular por espectrometría de masa [■] : 275; $\left[\alpha\right]_D^{20} -15^\circ$ (conc. 0,1% en CH₃OH)

Espectros ultravioleta de ribalinidina en alcohol de 50° como solvente -
(Fig. 2):

- medio neutro (conc. $3,63 \times 10^{-5}$ moles/lit.) y en bicarbonato de sodio 0,01 N (conc. $3,63 \times 10^{-5}$ moles/lit): λ máx 220 m μ (sh)(log ξ : 4,31); 235 (4,48); 245 (4,43); 301 (3,88); 331 (3,87); 346 (3,81).
 λ mín. 266 (3,09); 310 (3,66); 341 (3,80).

[■] Registrado en el Dto. de Qca. de la Universidad de Stanford (California, USA) por gentileza del Prof. C. Djerassi en aparato Atlas y mediante inserción directa de la muestra.

Con una determinación efectuada por el método de Rast no se logró resultado por ser insuficiente la solubilidad del alcaloide.

- medio ácido clorhídrico 0.3 N (conc. $3,63 \times 10^{-5}$ moles/lit.):

λ máx. 220 m μ (log ϵ 4,34); 243 (4,48); 301 (3,90); 342 (3,64).

λ mín 225 (4,32); 262 (3,10); 316 (3,42).

- medio alcalino en hidróxido de sodio 0,01 N (conc. $3,63 \times 10^{-5}$ moles/lit.): λ máx. 240 m μ (sh) (log ϵ 4,41); 256 (3,52); 296 (3,63); 300

(infl.) (3,64); 307 (3,70).

λ mín. 277 (4,43); 320 (2,14)

Espectro infrarrojo: Fig. 3

Espectro NMR : Fig. 4

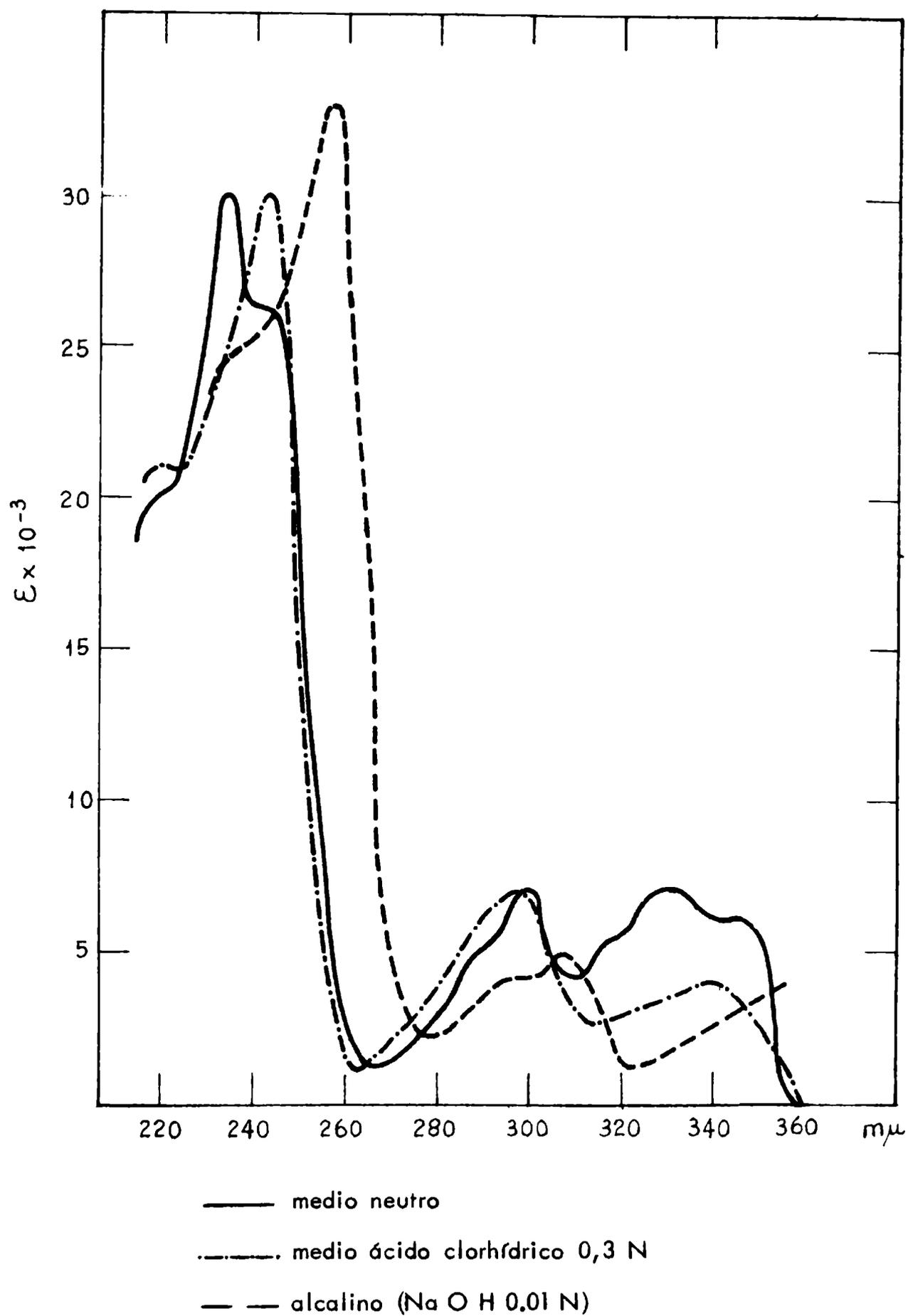


Fig. 2 - Espectro ultravioleta de ribalinidina

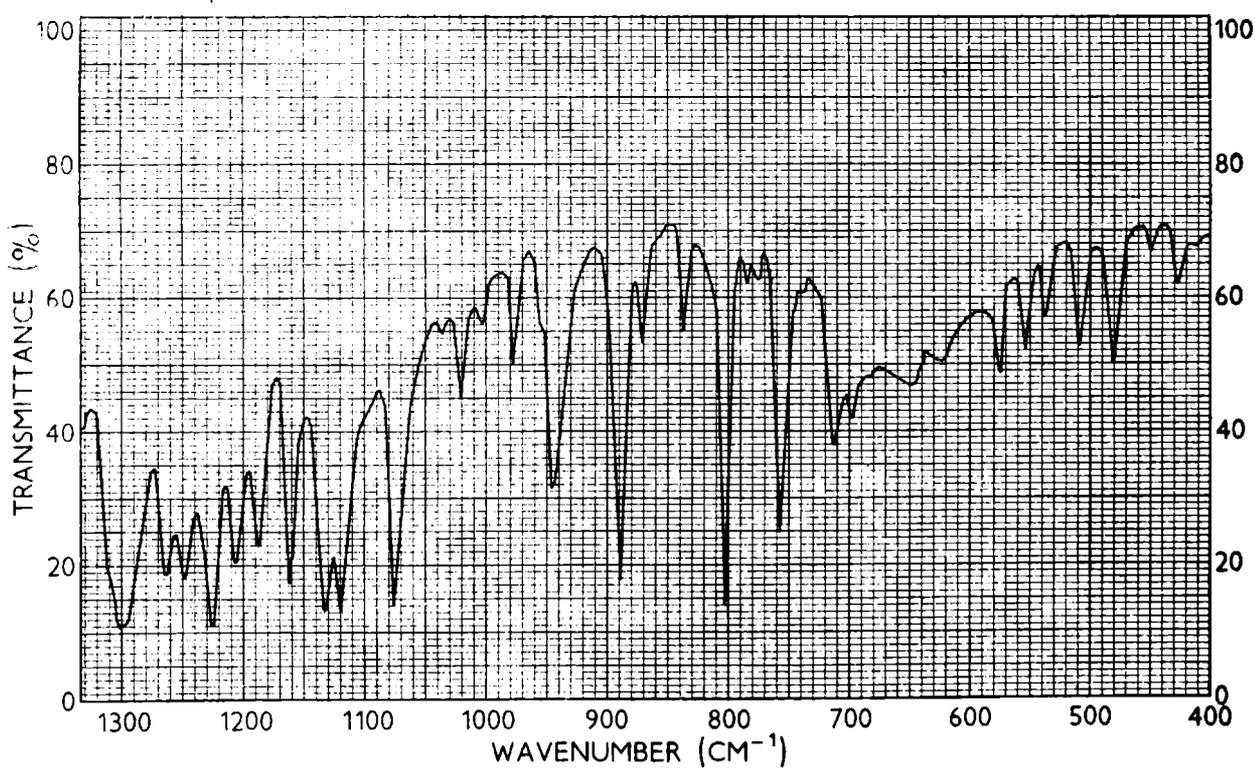
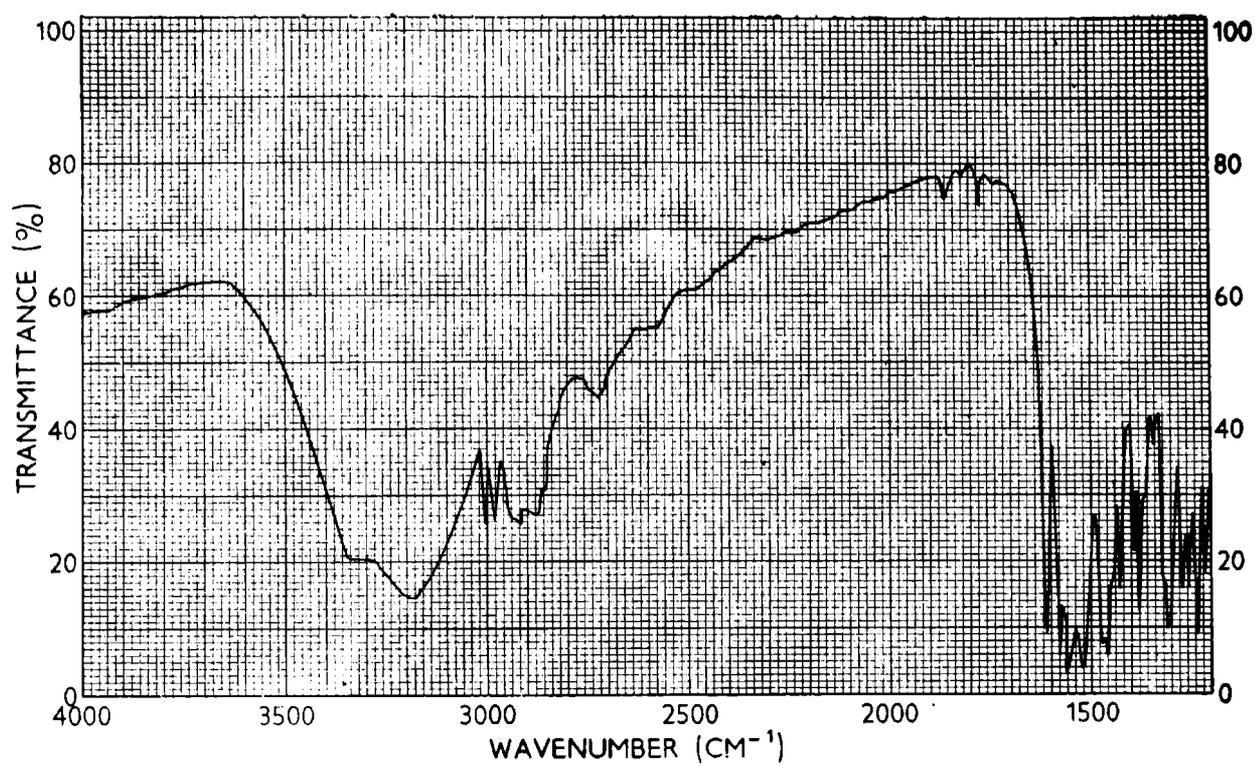
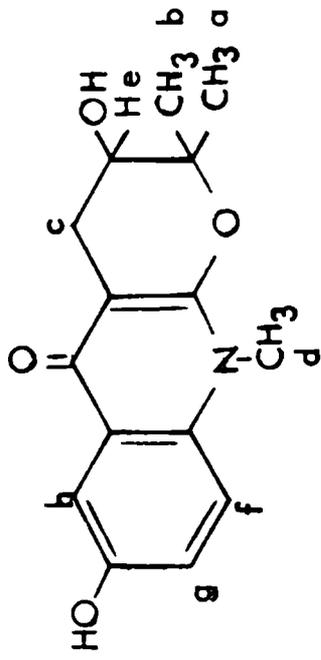


FIG.3 Espectro infrarrojo de ribalinidina en KBr (1,5 mg en 250 mg)

Bandas en la región de 1500 cm^{-1} : 1610; 1578; 1558; 1520 y 1470 cm^{-1}



$\alpha, b = 1,66$ y $1,83$ ($6 H$)

$c = 3,38$ ($d ; 2 H$)

$d = 4,18$ ($3 H$)

$e = 4,48$ ($t ; 1 H$)

$f, g, h = 7,86 - 8,06$ ($m ; 3 H$)

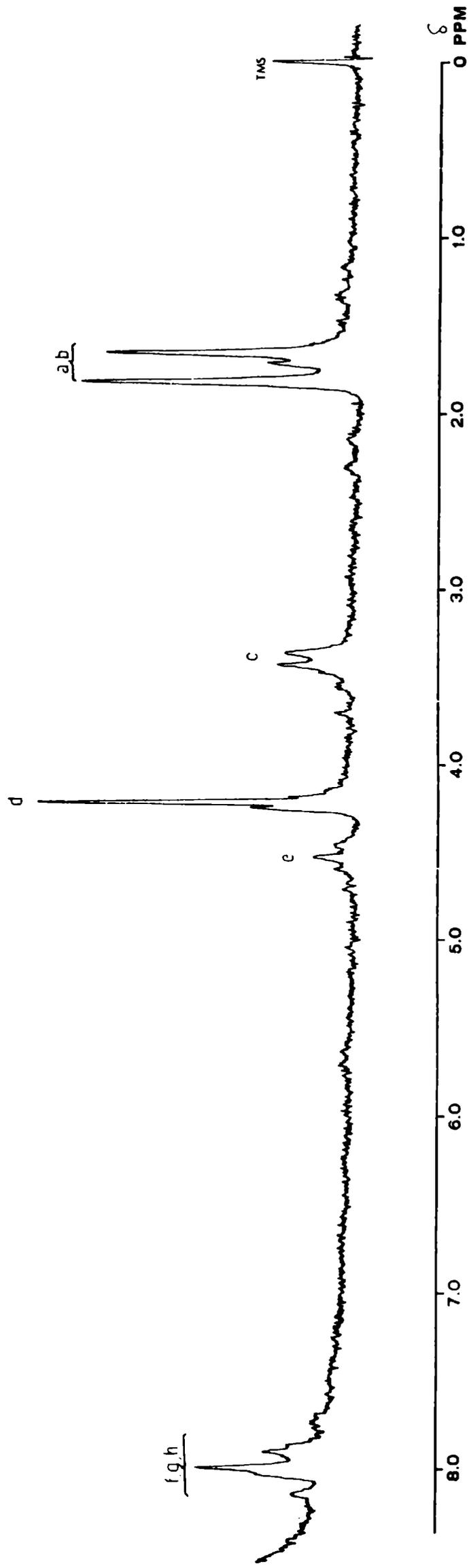


Fig. 4. Espectro de NMR de ribalinidina en $F_3C-COOH$ (conc. 5,8 g %). (Integración de áreas por "corte y pesada" de las superficies correspondientes a cada señal).

Aislamiento de ribalinidina con exclusión de medio alcalino.



Se hizo una extracción alcoholica en un aparato de Soxhlet con dos kilos de material vegetal operando igual que en la descripción anterior.

Obtenido el extracto alcohólico se lo concentró a 45°/presión reducida hasta llegar a tener un volumen de dos litros de extracto concentrado. Un litro de este extracto (equivalente a un kilo de polvo de corteza seca) se concentró subsiguientemente hasta aproximadamente 150 ml; operando en baño de hielo y con agitación magnética se agregaron lentamente 500 ml de una solución enfriada de HCl 0,5 N en agua y se continuó la agitación durante una hora. Luego de una noche en heladera se centrifugó para separar un insoluble pastoso que se lavó con tres fracciones de 25 ml de agua.

Los líquidos acuosos reunidos (pH 1,1) se mezclaron con 150 ml de Cl_3CH y bajo agitación magnética se agregó de a poco CO_3HNa sólido hasta llegar a pH 5.

Se separó la fase clorofórmica y a continuación el extracto acuoso se extrajo con las siguientes porciones de Cl_3CH : 2 x 150 ml; 3 x 100 ml y 2 x 50 ml. Una nueva extracción con 50 ml de cloroformo se recogió aparte, se lavó dos veces con 5 ml de agua, se secó sobre SO_4Mg y llevó a seco (45°/presión reducida) dando 9 mg de residuo.

Se controló el pH del extracto acuoso ya agotado con cloroformo: dió pH 5,2. A este extracto, en baño de hielo y con agitación magnética, fué agregada lentamente una solución enfriada de HCl 1:1 hasta llegar a-

obtener pH 2,5.

Luego se adicionaron lentamente y con agitación 215 ml de una solución enfriada de sal de Reinecke (preparada según descripción ante—rior); acabado el agregado se continuó la agitación media hora. Adición ulterior de solución de sal de Reinecke no dió precipitación.

Se dejó una noche en heladera y luego se filtró por Buchner, se lavó el precipitado con porciones de 20 ml de agua enfriada hasta que no viró el papel Rojo Congo; se escurrió lo más completamente posible a presión reducida y luego se secó a temperatura ambiente en desecador — con NaOH a 60 mm de presión protegido de la luz. Se dejó en estas condiciones hasta obtener un peso constante de 10,42 g.

El pasaje de reineckatos a cloruros se hizo en la forma descrita en el aislamiento anterior. El total de líquido eluido de la columna de intercambio iónico llevado a seco a 45°/presión reducida dió 5,69 g. de material sólido.

Se realizó la cromatografía a través de columna de celulosa en — forma análoga a la descrita en la extracción anterior.

En base a análisis cromatográfico en papel con solvente B y sembrando ribalinidina con fines comparativos, se reunieron las fracciones que contenían esencialmente esta base (peso total del material reunido—579 mg).

Siguiendo lo detallado en el aislamiento arriba descrito este material fué sometido sucesivamente a filtración por alúmina y fracciona—miento con agua obteniéndose así 187 mg de fracción insoluble en agua.

Luego de tres cristalizaciones de alcohol absoluto resultaron -
63 mg de p.f. 253-254° (pardo, desp. gas) que por nuevas cristalizacio--
nes se elevó a p.f. constante 255-256° (color pardo, desp. gas).

Esta base fué identificada como ribalinidina por coincidencia -
do los espectros infrarrojo (K Br) y ultravioleta (medios neutro, áci
do y alcalino).

Derivados de la Ribalinidina

O⁷-metil derivado del alcaloide

a) Metilación con diazometano.

Por calentamiento a ebullición se disolvieron 125 mg ($4,5 \times 10^{-4}$ mol) de ribalinidina en 15 ml de metanol (redistilado de NaOH); seguidamente se enfrió exteriormente con hielo y se añadieron 3,5 ml de solución etérea de diazometano ($1,25 \times 10^{-3}$ mol) recientemente preparada y titulada. Se tapó el recipiente de reacción con una firme torunda de algodón y se colocó en un baño de hielo dentro de la heladera; después de una hora se hizo un nuevo agregado de igual cantidad de diazometano y en la misma forma se hicieron 5 agregados más espaciados 12 horas.

En total la metilación insunió cuatro días al cabo de los cuales se evaporó el eter a temperatura ambiente con presión reducida quedando una solución metanólica amarilla y algo opalescente; para descomponer el diazometano remanente se agregó una gota de ácido acético glacial -- con lo que desapareció el color amarillo. A continuación se evaporó el metanol a vacío y el residuo obtenido se particionó entre 15 ml de cloroformo y 7,5 ml de una solución acuosa de NaOH. Después de separar la fase acuosa el cloroformo se extrajo dos veces más con 4 ml de solución de NaOH N (eliminación del fenol sin reaccionar)

La fase clorofórmica se lavó dos veces con 2,5 ml de agua, se secó con sulfato de magnesio, se filtró y se evaporó el solvente a presión reducida obteniéndose 131 mg de producto crudo. Por cristalización

de 10 veces su peso de etanol absoluto se obtuvieron 85 mg (rto.65%) de un producto cristalino, incoloro, de p.f. 230-231° (desc.) que por una segunda cristalización rindió 76 mg de p.f. constante 231° - 232° (desc.); $[\alpha]_D^{14} - 17^\circ$ (c, 1,03% en CH₃OH)

Análisis

	% C	% H	% N
Calculado para C ₁₆ H ₁₉ NO ₄	66,42	6,62	4,84
Encontrado	66,15	6,82	4,65

Espectro ultravioleta de O⁷-metilribalinidina en alcohol 50° (fig.5)

- medio neutro y alcalino en NaOH 0,01 N: (conc. $3,46 \times 10^{-5}$ moles/lt): λ máx. 220 m μ (sh) (log. ϵ 4,41); 235 (4,57); 245(4,56); 302(3,98); 327(3,97); 345(3,93).

λ mín. 242 (4,53); 265(3,22); 309(3,78); 335(3,89).

- medio ácido clorhídrico 0,3 N (conc. $3,46 \times 10^{-5}$ moles/lt): -

λ máx. 223 m μ (log ϵ 4,50); 244 (4,67); 301(4,02); 332(3,78); 345 (3,76).

λ mín. 230 (4,49); 262 (3,34); 314(3,64); 337(3,76).

Espectro infrarrojo : Fig. 6

Espectro N.M.R. : Fig. 7

b) Ensayos preliminares de metilación con otros reactivos:

- Sulfato de dimetilo.

A 10 mg de la base se agregó 0,5 ml de metanol anhidro, 5 mg de carbonato de potasio anhidro y finamente pulverizado, se agitó magnéticamente y luego se añadió 0,05 ml de sulfato de dimetilo. Protegiendo de la humedad se dejó con agitación magnética a temperatura ambiente durante tres horas.

Transcurrido ese tiempo se centrifugó y de la fase líquida, previa eliminación del metanol a presión reducida se obtuvo un residuo — que se particionó entre 1 ml de cloroformo y una solución de 25 mg de bicarbonato de sodio en 0,5 ml de agua. La capa clorofórmica se secó con SO_4 Mg y se llevó a seco dando un residuo de 8 mg.

Este material fué cromatografiado en papel junto con el de partida usando solvente B; el producto metilado con reactivo de Munier — dió una mancha de Rf 0,90 (fluorescencia azul a la luz ultravioleta) — mientras que la ribalinidina (fluorescencia celeste grisáceo) mostró un Rf de 0,85.

El producto crudo de reacción fué identificado como O^7 -metilribalinidina obtenida con diazometano, por coincidencia de la absorción en el ultravioleta (medios neutro y alcalino) y en el infrarrojo.

- ioduro de metilo

A una solución de 38 mg del alcaloide en 2 ml de metanol se agregaron 40 mg de carbonato de potasio anhidro reducido a polvo fino y se —

agitó magnéticamente veinte minutos; se añadió 0,25 ml de ioduro de metilo, se tapó con un tapón de teflon y protegiendo de la luz se siguió agitando durante tres horas a 45°.

A continuación se procedió en forma similar a la descrita en la metilación con sulfato de dimetilo obteniéndose 24 mg de producto crudo libre de material de partida según lo indicó la cromatografía de papel.

La identificación de este material con O⁷-metilribalinidina pura fué hecha mediante comparación de los espectros ultravioleta (medio neutro y alcalino) y de NMR.

La fase acuosa alcalina separada en la partición con Cl₃CH fué acidificada al Rojo Congo y concentrada con lo que cristalizó un producto de p = 16 mg . Las cromatografías en papel con solvente B y en capa delgada sobre alúmina con Cl₃CH+CH₃OH (19:1) mostraron que este material recuperado era ribalinidina de partida.

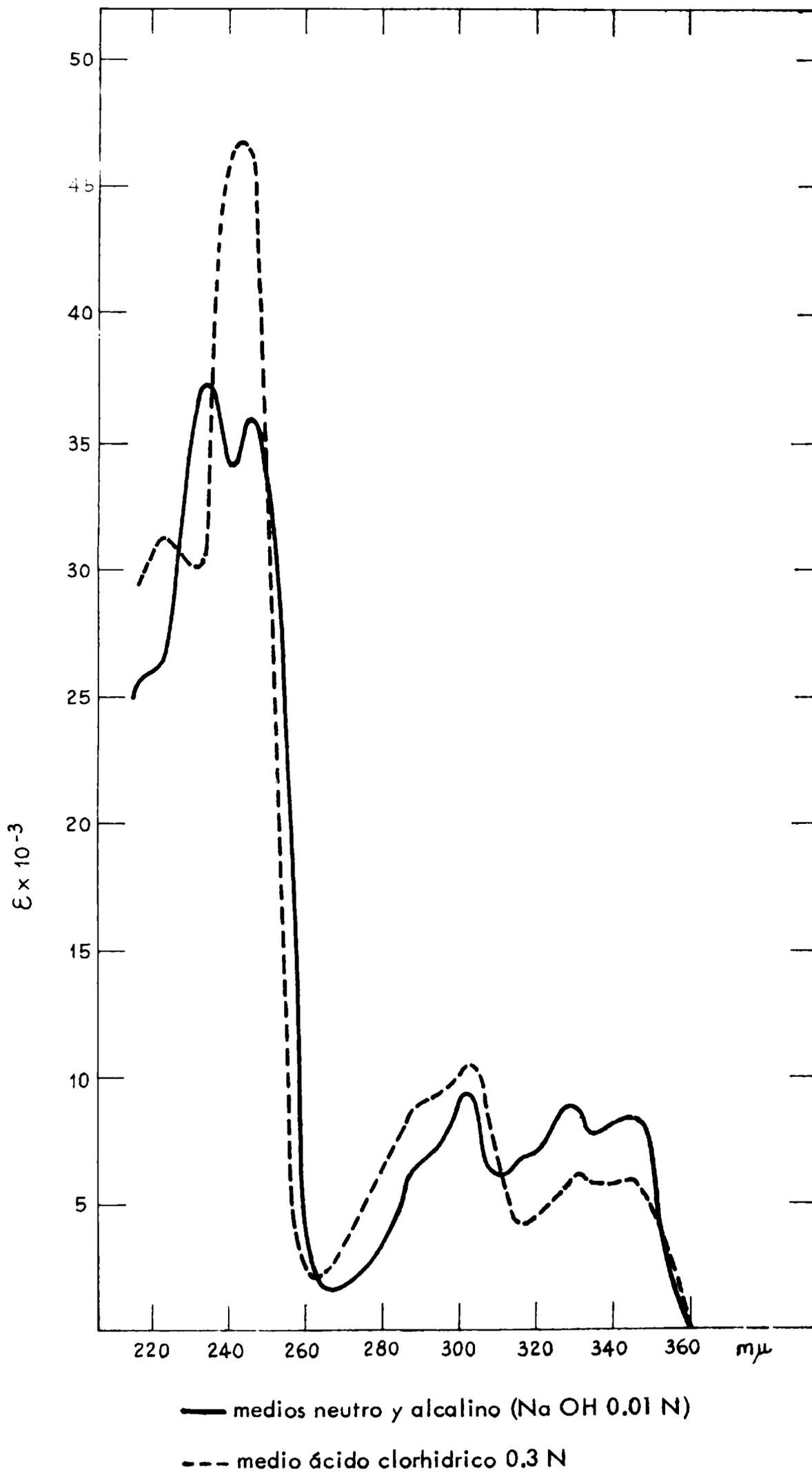


Fig. 5 - Espectro ultravioleta de 0⁷ - metilribalinidina

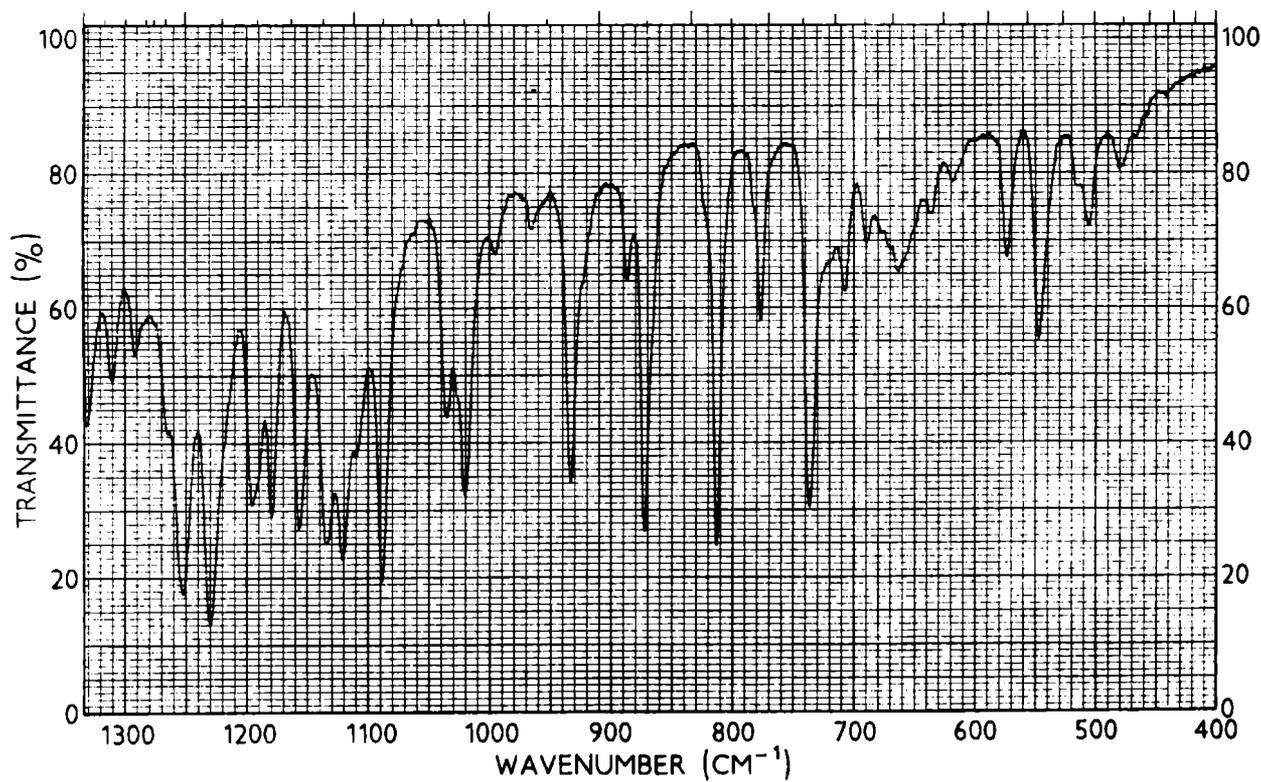
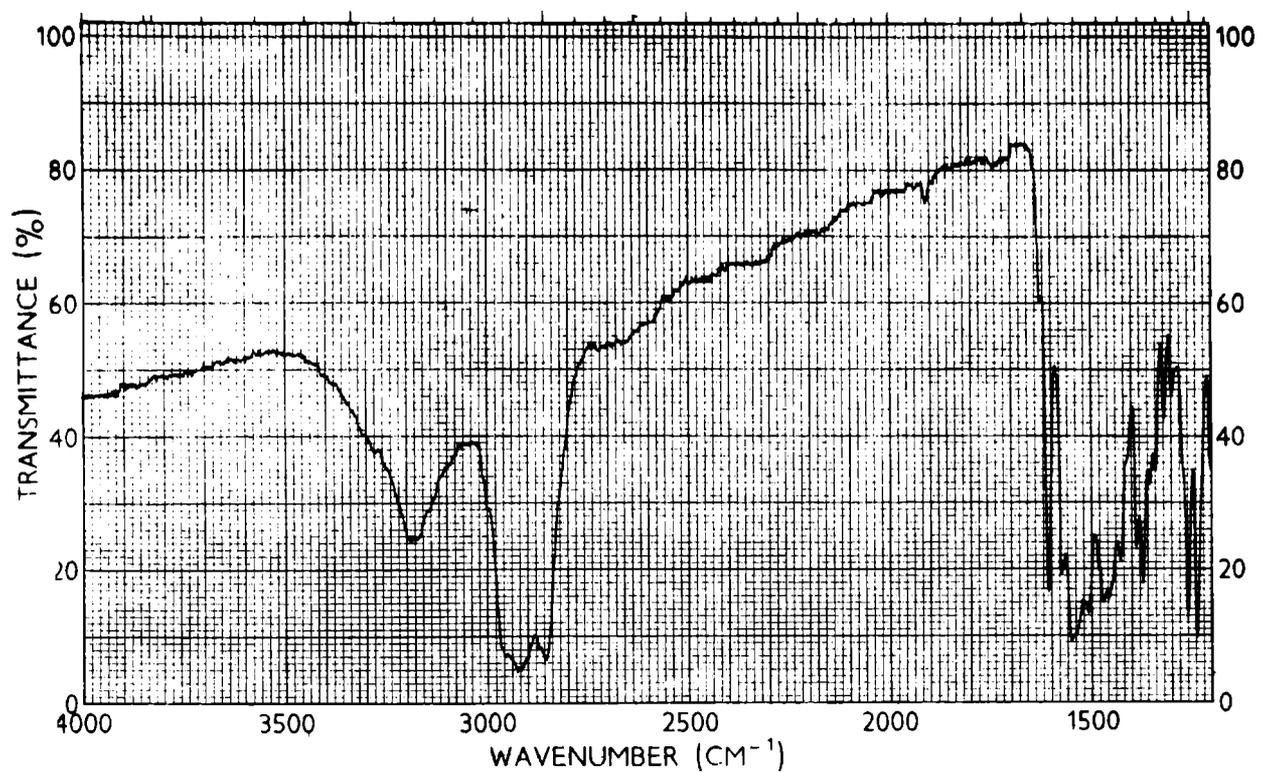
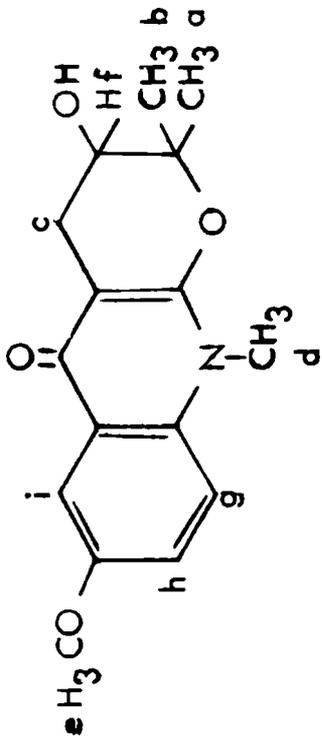


FIG.6 Espectro infrarrojo de O^7 -metil ribalinidina (Nujol)

Bandas de mayor interés: 3180 (ancha); 1608; 1575; 1550; 1508; 1470 cm^{-1}



a, b = 1,62 y 1,78

f = 4,43 (t)

c = 3,3 (d)

g, h, i = 7,77 - 8,0 (m)

d, e = 4,01 y 4,10

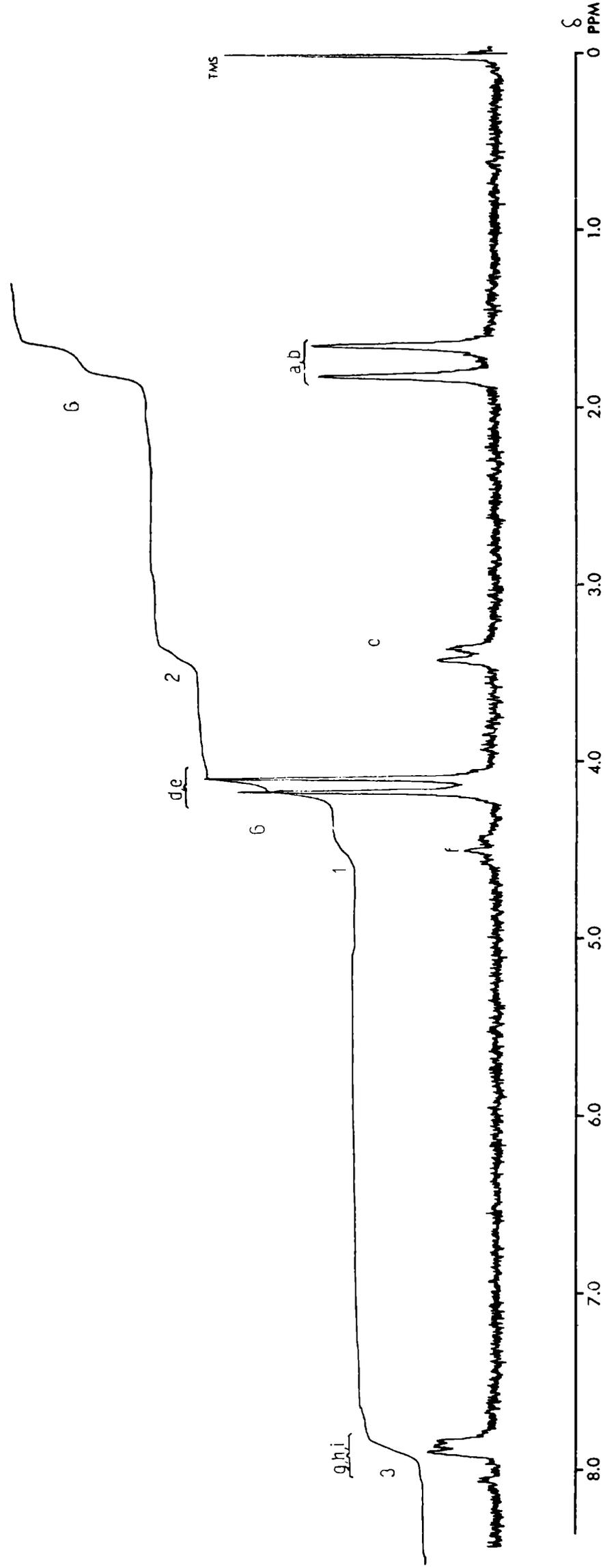


Fig. 7. Espectro de NMR de 0⁷ metilribalinidina en F₃C-COOH (conc. 4,4 g %).

0³, 0⁷-Diacetil ribalinidina.

Con agitación y en un baño a 30° se disolvieron 30 mg (1,09 x 10⁻⁴ mol) de ribalinidina en 1 ml. de piridina anhidra; luego se agregó a temperatura ambiente 0,50 ml de anhídrido acético rectificado y se dejó en estufa a aproximadamente 25° durante siete días protegido de la humedad.

Se particionó entre 8 ml de cloroformo y 16 ml de solución acuosa de bicarbonato de sodio al 4%; después de separar las fases se extrajo nuevamente la solución acuosa con 2,5 ml de cloroformo. Los extractos clorofórmicos reunidos se lavaron con dos fracciones de 2,5 ml de agua y previo secado sobre sulfato de magnesio anhidro se eliminó el solvente a temperatura ambiente y presión reducida quedando un residuo de 36 mg (NMR fig. 9).

Este material se recristalizó de diez veces de acetona obteniendo 15 mg (rto. 38%) de producto cristalizado p.f. 200-202°C que por posteriores recristalizaciones alcanzó p.f. constante 203-204°C.

Análisis

	% N
Calculado para C ₁₉ H ₂₁ NO ₆	3,90
Encontrado	3,68

Espectro infrarrojo de diacetilribalinidina: Fig. 8

Hidrólisis del diacetilderivado:

8 mg ($2,2 \times 10^{-5}$ mol) del derivado diacetilado se disolvieron en 1 ml de metanol y a temperatura ambiente se añadió 1 ml de solución acuosa de hidróxido de sodio 0,5 N. Se dejó dos días a temperatura ambiente, después de lo cual el metanol se evaporó a temperatura ambiente y presión reducida.

Por agregado de 1 ml de solución acuosa de ClNH_4 2N, se separaron 3 mg de un producto cristalino que fué purificado por recristalización de alcohol absoluto obteniéndose 2 mg de p.f. 245-249° (desc.; Kofler) que no mostró depresión por mezcla con ribalinidina de p.f. 255-256° (desc.). Esta identidad fué confirmada por comparación de los espectros infrarrojo de ambas muestras (en KBr)

O⁷-acetil-ribalinidina

Se disolvieron 100 mg ($3,6 \times 10^{-4}$ mol) de ribalinidina en 2,5 ml de piridina anhidra con agitación en un baño a 30°C; después se agregaron 1,25 ml de anhídrido acético rectificado y se dejó durante 48 hs. a temperatura ambiente. Acabado este tiempo se particionó entre 10 ml de cloroformo y 6 ml de agua; la fase clorofórmica lavada 3 veces con 2 ml de agua se secó sobre sulfato de magnesio.

La eliminación del solvente se hizo a presión reducida hasta constancia de peso y el residuo se extrajo 2 veces con acetona (0,9 y 0,45 ml) a ebullición.

La fracción soluble en acetona fué llevada a seco (40°/presión -

reducida) obteniéndose 27 mg de un producto que en base a los espectros infrarrojo (Nujol) y N M R (en Cl_3CD) mostró estar constituido esencialmente por el derivado diacetilado.

El insoluble en acetona se secó hasta constancia de peso obteniéndose así 45 mg de producto; una primera cristalización de veinte veces de alcohol absoluto rindió 38 mg (rto. 33%) de la O^7 -acetil-ribalinidinina de p.f. 233-236° (desc.; escaso desp. de gas) que por subsiguientes recristalizaciones dió p.f. constante 240-242° (desc.; escaso desp. de gas).

Análisis

	% N
Calculado para $\text{C}_{17}\text{H}_{19}\text{NO}_5$	4,41
Encontrado	4,72

Espectro infrarrojo de la O^7 -acetil-ribalinidina: Fig. 10.

Espectro N M R de la O^7 -acetil-ribalinidina: Fig. 11.

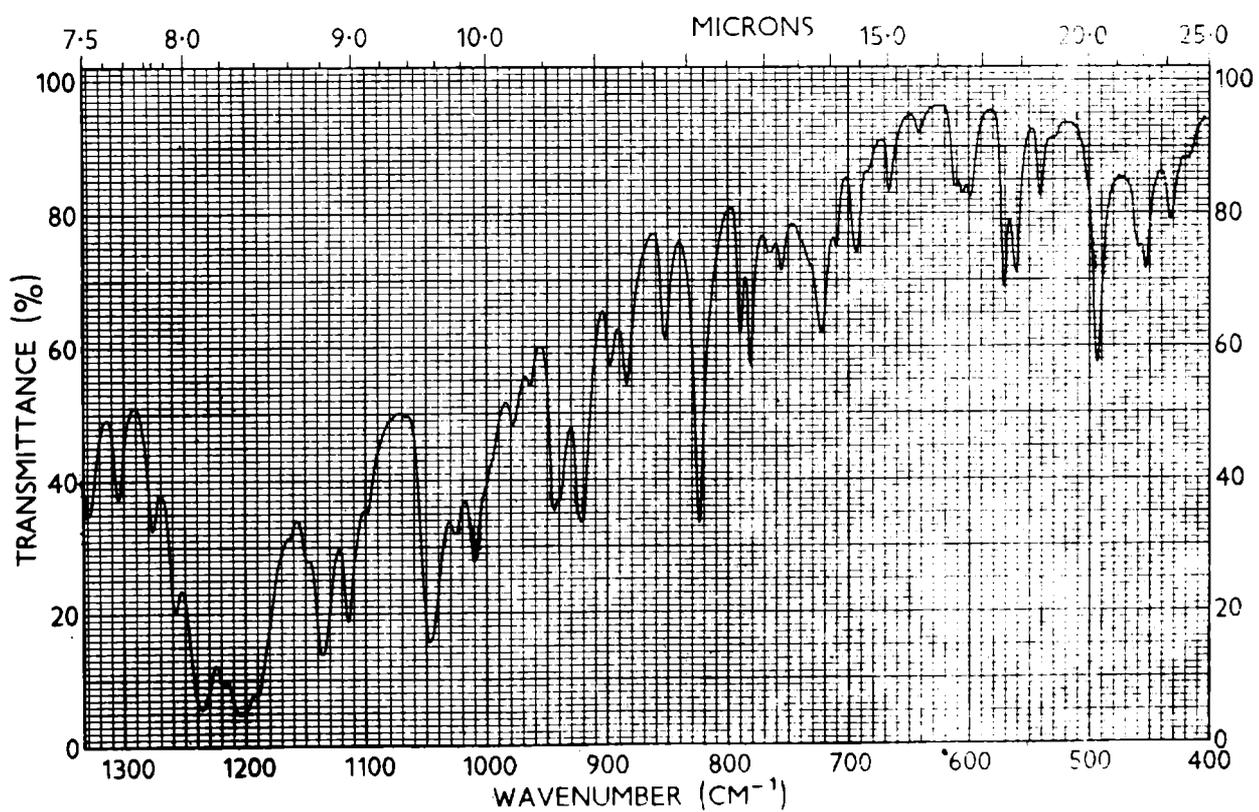
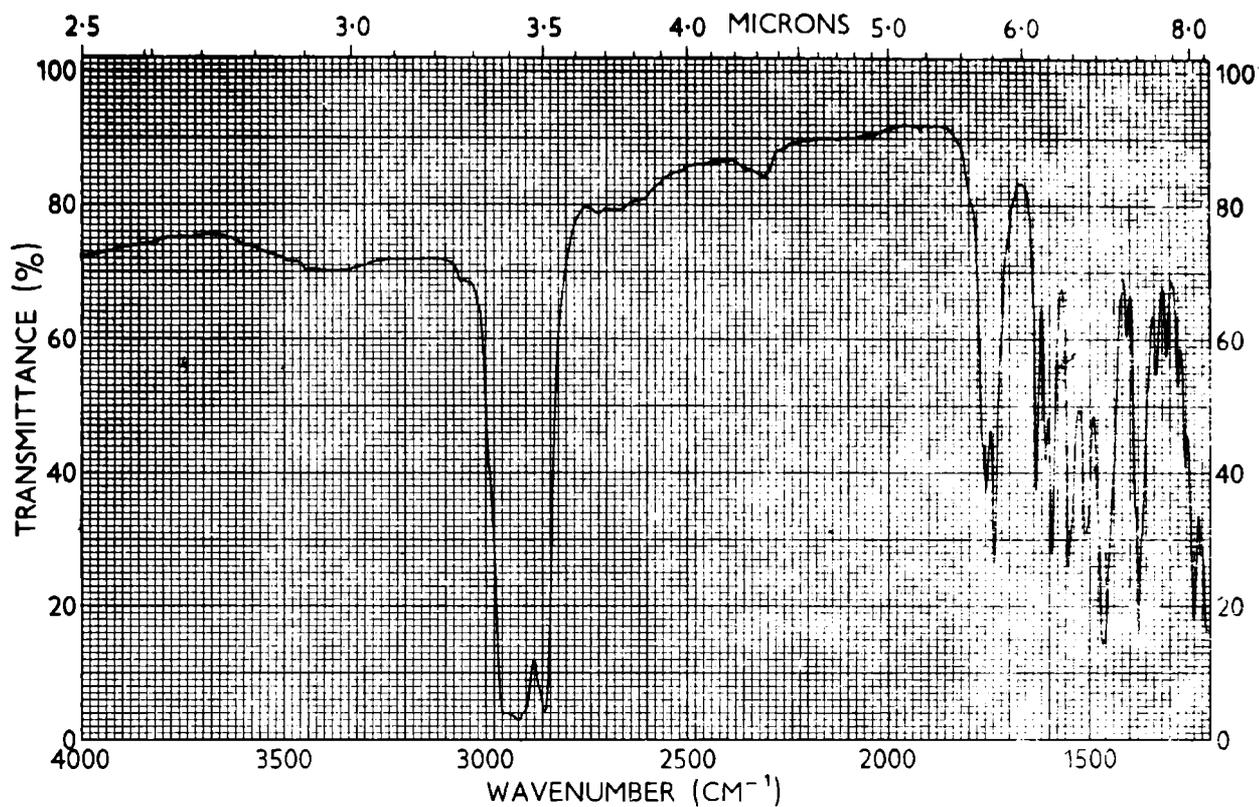
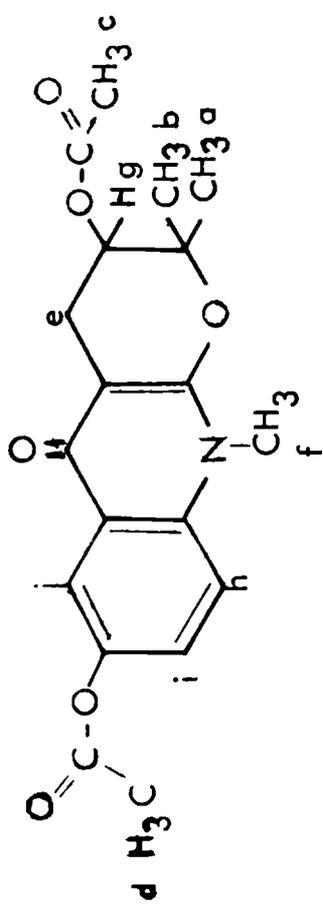


Fig. 8. Espectro infrarrojo de $0^3,0^7$ -diacetilribalinidina(Nujol)
Bandas de mayor interés: 1750;1730;1635;1610;1595;1555; 1510 cm^{-1}



a, b = 1,38 y 1,43 f = 3,68

c = 2,02 g = 5,13 (t)

d = 2,30 h, i = 7,38 (m)

e = 2,90 (d) j = 8,03 (m)

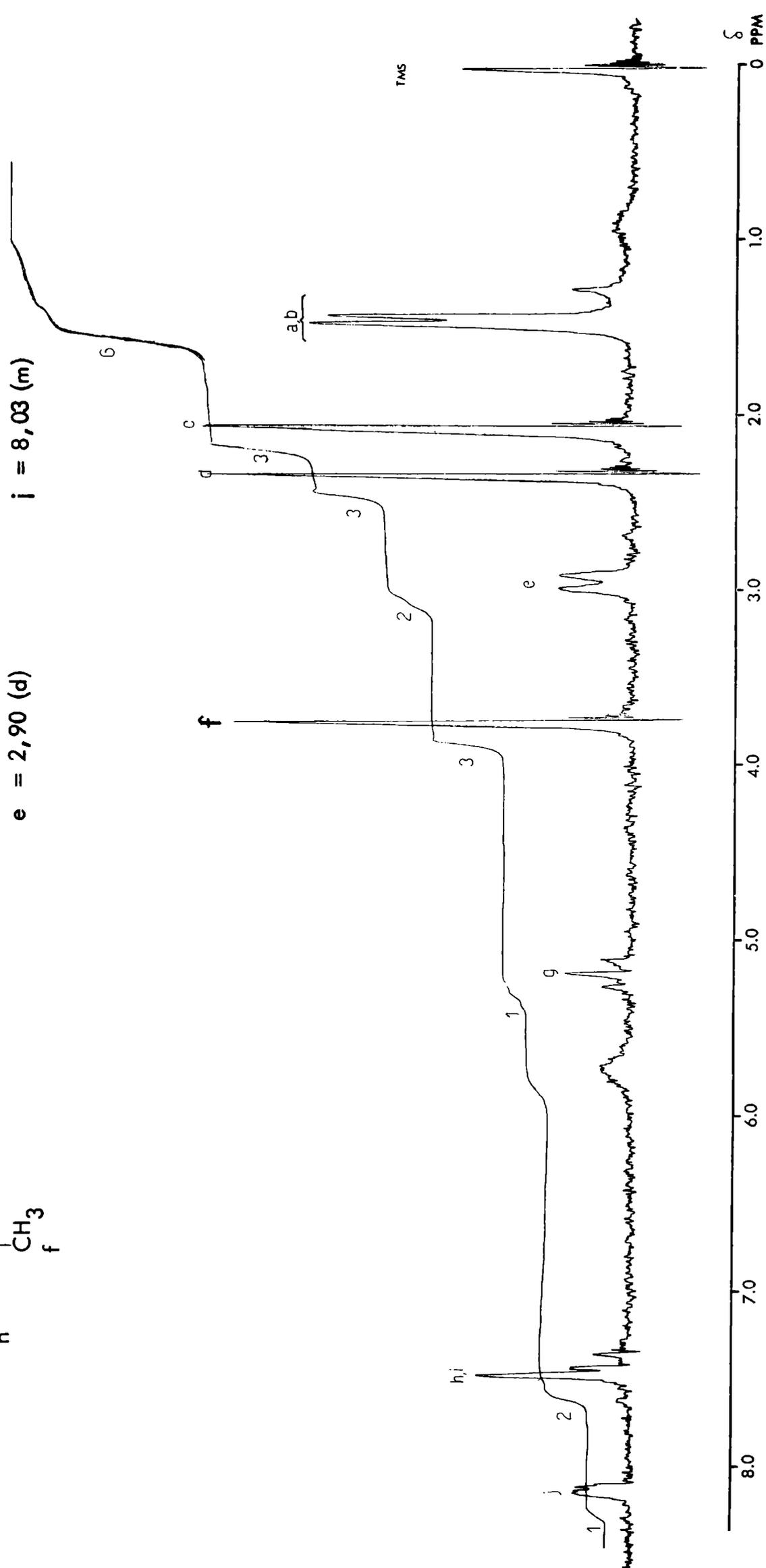
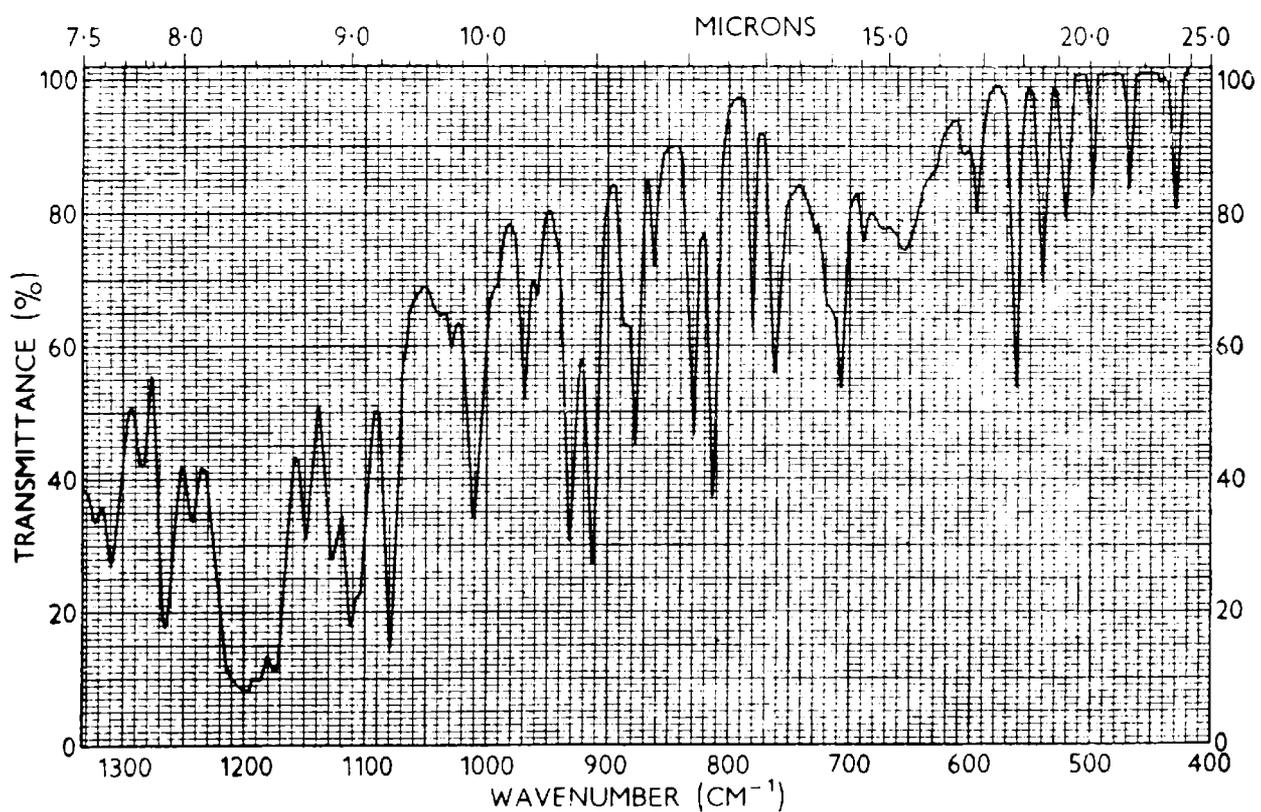
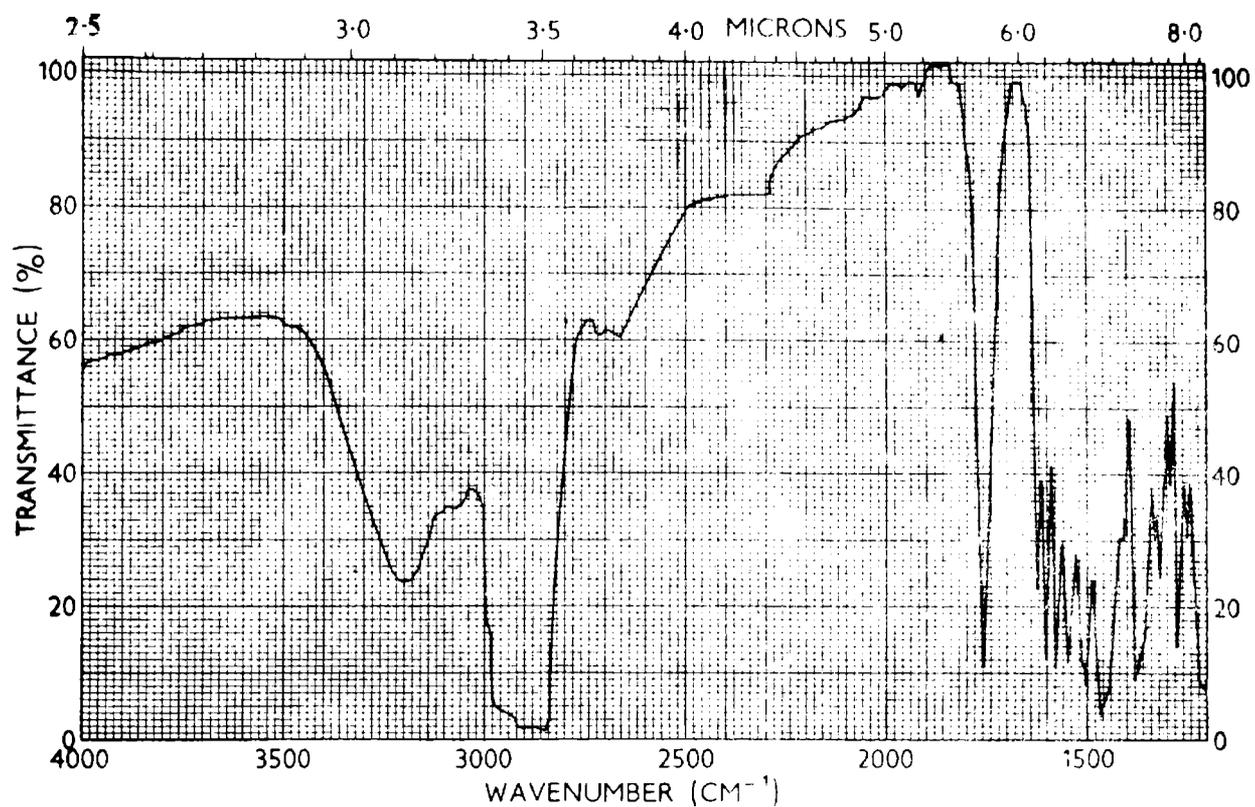


Fig. 9. Espectro de NMR de diacetil ribalinidina en Cl_3CD (conc. 17,3 g %) (cruda)



10. Espectro infrarrojo de O⁷-acetil-ribalinidina (Nujol)

Bandas de mayor interés: 3185(ancha); 1752; 1622; 1600; 1578; 1545; 1500 cm⁻¹

Correlación química de la ribalinidina con el cloruro de ribalinio

1) Se transformó el cloruro de ribalinio en el yoduro de O⁶-metilribalinio que subsiguientemente fué degradado a su nor base siguiendo los métodos ya descritos⁽²⁾.

a) A una solución de 0,98 g (0,003 mol) de cloruro de ribalinio en metanol (35 ml) se agregaron 0,625 g (0,006 mol) de CO₃Na₂ previamente pulverizado y secado, dejando la mezcla con agitación magnética durante 15 minutos. Luego se agregó un exceso de yoduro de metilo (7ml) y se dejó protegido de la luz y en tubo cerrado con agitación magnética durante 24 hs. en un baño termostatzado a 45°. Se filtró por papel y el filtrado fué acidificado con ácido acético.

Se destiló el solvente a presión reducida y el residuo se cristalizó de 20 ml de agua con agregado de 10 mg de sulfito de sodio (eliminación de iodo libre); así se obtuvo 1,092 g (rto.84%) de yoduro de O⁶-metilribalinio de p.f. 189-191 (desp.gas); literatura p.f. 188-190 (gas) rto.80%.

Una corrida electroforética paralela con una muestra de cloruro de ribalinio (a pH 8 en las condiciones descritas para ribalinidina) - mostró a la luz ultravioleta que el producto de reacción daba una sola mancha de fluorescencia azul a 23 cm del lugar de siembra mientras que el cloruro de ribalinio daba una mancha amarilla (desplazamiento 22 cm).

b) A 216 mg (0,0005 mol) de yoduro de O⁶-metilribalinio se agregaron 4 ml de piridina rectificada y anhidra y la mezcla de reacción se mantuvo en tubo cerrado protegida de la luz durante 12 hs. a 80°. Se-

llevó a seco a presión reducida y el residuo se particionó entre 10 ml de cloroformo y 2 ml de agua; la fase acuosa se volvió a extraer con fracciones de 5 ml de Cl_3CH . Los extractos clorofórmicos reunidos se secaron sobre sulfato de magnesio y la ulterior eliminación del solvente proporcionó un residuo que disuelto en etanol absoluto- Cl_3CH (1:2) se filtró por una columna de 1 g. de Al_2O_3 neutra actividad II. El material eluido (141 mg) fué recristalizado de alcohol rindiendo 82 mg (rto.56%). p.f. 220-223° de la nor base. En la literatura está indicado un rendimiento del 92 % para el producto crudo de p.f. 215-220°; para el producto purificado se indica p.f. 223-224°.

2) La nor base obtenida fué isomerizada con simultánea acetilación siguiendo un método que en la literatura⁽²²⁾ está aplicado a combinaciones similares.

La nor base (254 mg.) se disolvió en 1,3 ml de piridina, rectificada y anhidra, luego se añadieron 5,2 ml de anhídrido acético rectificado y se calentó 3 hs. a 125° protegiendo de la humedad.

Después se particionó entre 25 ml de cloroformo y 15 ml de agua; la fase cloroformica se lavó tres veces con 2 ml de agua y luego se secó sobre sulfato de magnesio; finalmente la solución fué filtrada por alúmina debilmente ácida (pH 6), actividad IV, en una proporción de 25 veces el peso del material sembrado. El eluido fué llevado a seco (45°/presión-reducida) obteniéndose 278 mg de residuo seco.

Su cristalización de diez veces su peso de acetonitrilo rindió 167 mg (rto.58%) de la iso-nor base acetilada con un p.f. 225-226,5° (des

comp.); por repetidas recristalizaciones se obtuvo una muestra analítica de p.f. constante 228-229° (desc.); ópticamente inactivo en el rango de 700 - 370 m μ (o, 3,26 % en CH₃OH).

Análisis

	C	H	N
%Calculados para C ₁₈ H ₂₁ NO ₅	65,24	6,39	4,23
Encontrados	65,46	6,47	4,41

Espectro ultravioleta de la (+)-iso-nor-base acetilada en alcohol 50° —
(Fig. 12):

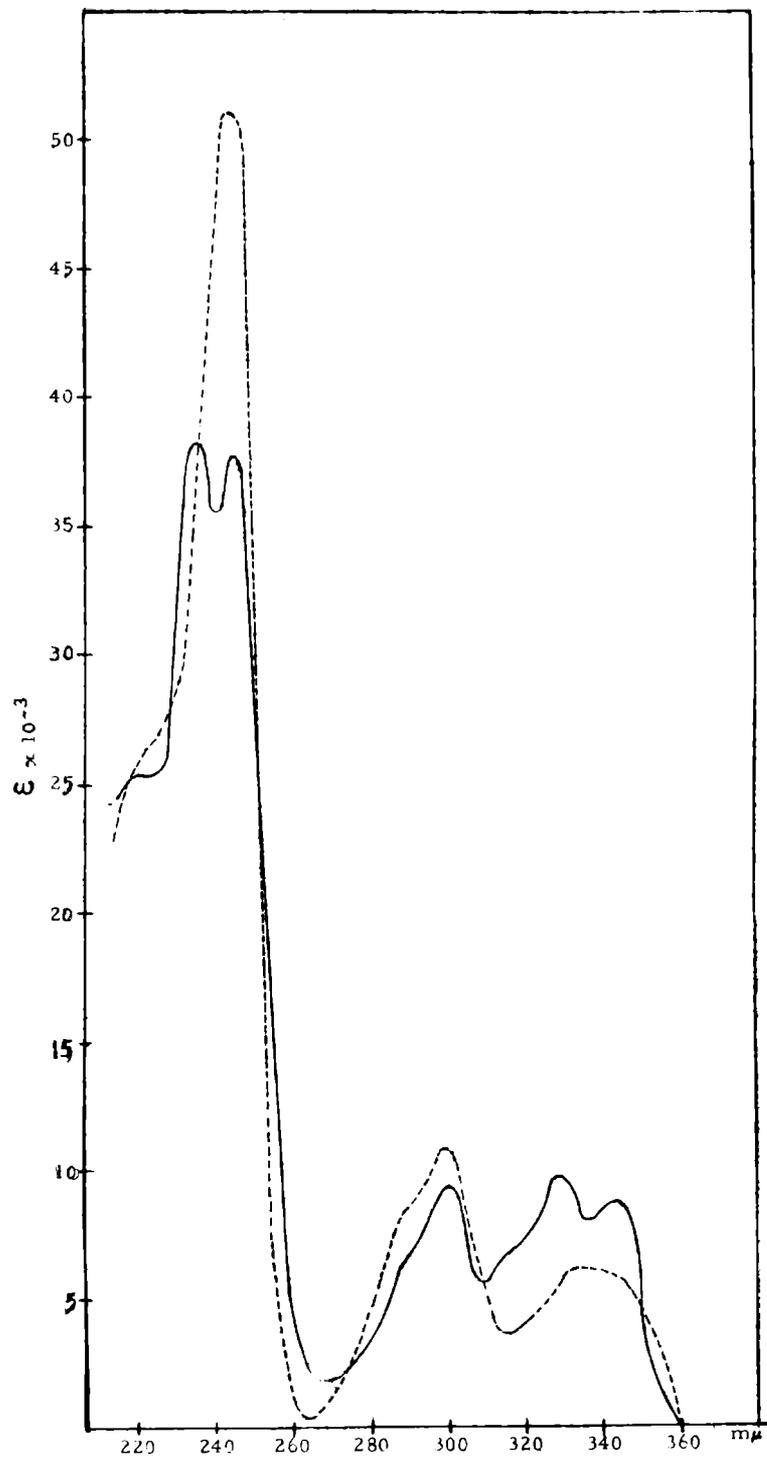
- medio neutro (conc. 3,18 x 10⁻⁵ moles/lit): λ máx. 342 m μ (log ϵ 3,95); 328 (3,99); 315 (infl.) (3,82); 300 (3,97); 288 (infl.) (3,80); - 245 (4,58); 235 (4,58); 220 (4,41). λ mín. 336 (3,91); 308 (3,75); 266 (3,26); 241 (4,55); 224 (4,40).

- medio ácido clorhídrico 0,3 N (conc. 2,72 x 10⁻⁵ moles/lit):
 λ máx. 299 m μ (log ϵ 4,04); 288 (infl.) (3,92); 244 (4,71); 224 (sh) (4,43) λ mín. 314 (3,56); 263 (2,57).

Espectro infrarrojo de la (+)-iso-nor-base-acetilada: Fig. 13.

Espectro N M R de la (+)-iso-nor-base-acetilada: Fig. 14.

3) El producto acetilado anterior fue hidrolizado disolviendo 150 mg -
($4,53 \times 10^{-4}$ mol) en 13 ml de metanol y a esta solución se añadieron 13
ml de una solución acuosa de NaOH 0,5 N y se dejó 24 horas a temperatur
ra ambiente. Se evaporó el metanol a 30°/presión reducida y luego de dil
lución con 50 ml de agua se hicieron tres extracciones de 10 ml de —
cloroformo cada vez. El reunido de las tres extracciones clorofórmicas—
se secó con sulfato de magnesio y luego de filtrar y evaporar el solvent
te se obtuvo un residuo de 120 mg; por cristalización de etanol absoluto
resultaron 100 mg (rto. 76%) de la (+) iso-nor-base de p.f. 233-234° —
que después de dos recristalizaciones llegó a p.f. constante 235-236° .



— medio neutro
--- " ácido clorhídrico 0.3 N

12 Espectro ultravioleta de iso-nor-base acetilada

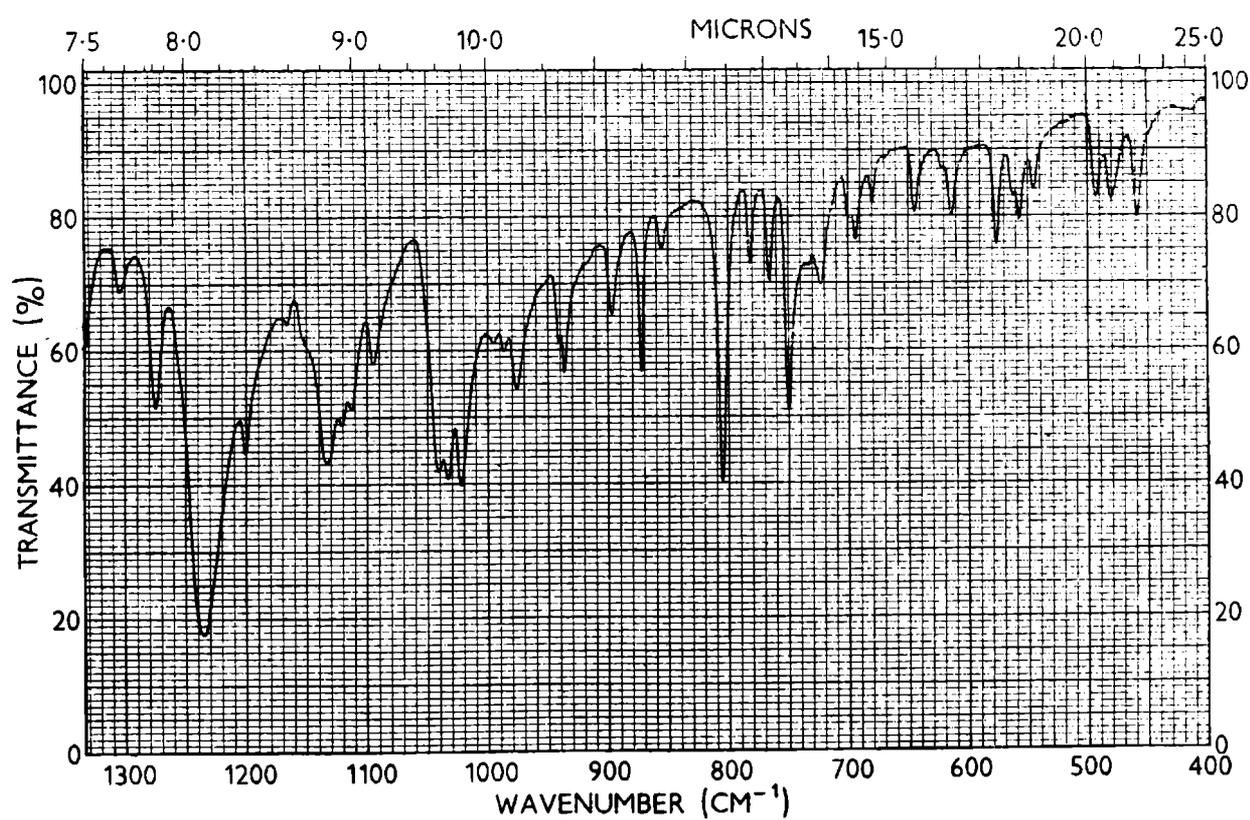
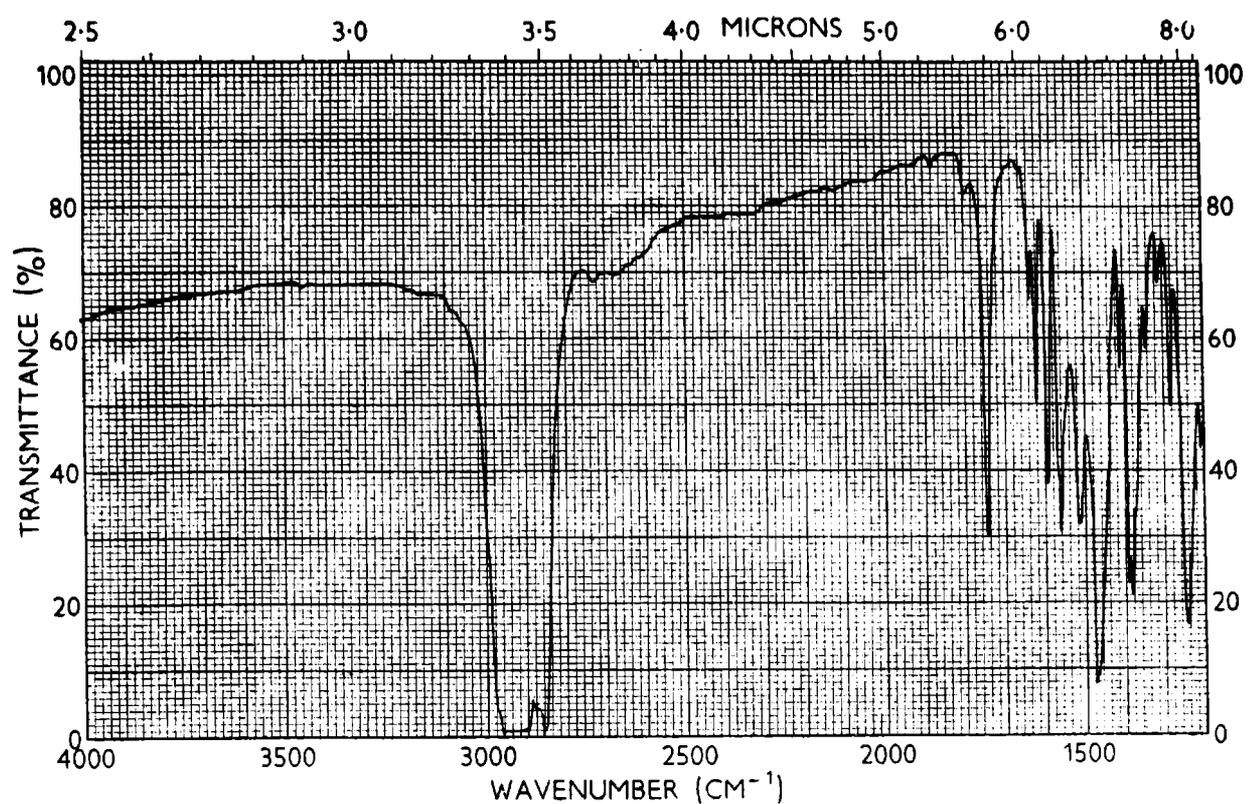


FIG.13 Espectro infrarrojo de la (+) iso-nor-base acetilada (Nujol)
Bandas de mayor interés: 1745; 1620; 1595; 1562; 1515 cm^{-1}

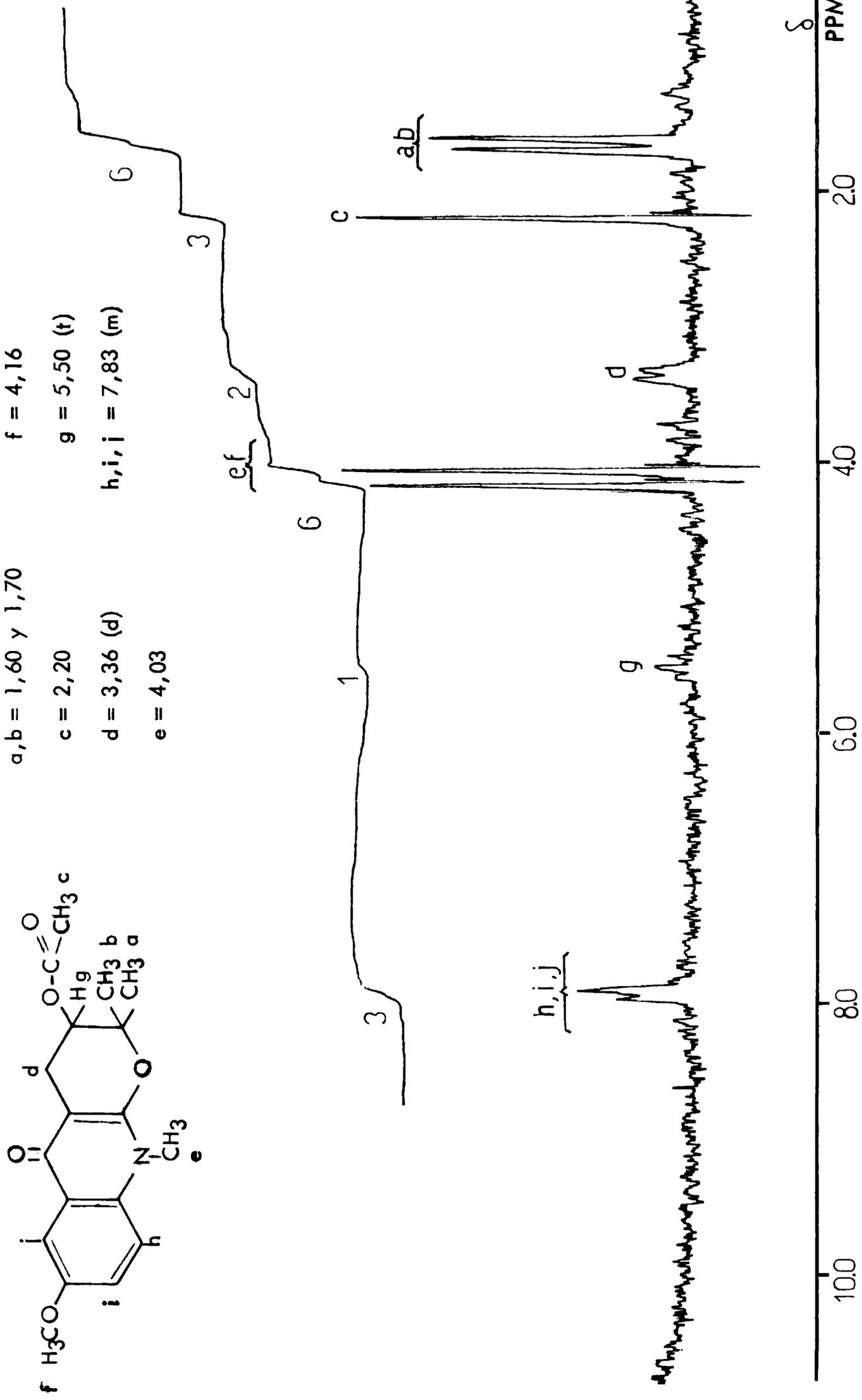


Fig. 14. Espectro de N M R de iso-nor-base acetilada en F₃C-COOH

Análisis

	C	H	N
% Calculados para $C_{16}H_{19}NO_4$	66,42	6,62	4,84
Encontrados	66,37	6,54	4,92

Espectros ultravioleta de la (+)-iso-nor-base en alcohol 50° (figs. 15 y 15a).

- medio neutro (conc. $3,46 \times 10^{-5}$ moles/lit): λ máx. 220 m μ (sh)
 (log ϵ 4,32); 236 (4,47); 246 (4,44); 291 (infl.) (3,72); 301 (3,88);
 327 (3,86); 343 (3,82).

λ mín. 241 (4,42); 264 (3,06); 310 (3,69); 336 (3,79).

- medio ácido clorhídrico 0,3 N (conc. $3,11 \times 10^{-5}$ moles/lit):
 λ máx. 224 m μ (log ϵ 4,42); 244 (4,59); 291 (3,87); 300 (3,94); 332 -
 (3,71); 345 (3,67)

λ mín 231 (4,41); 261 (3,28); 314 (3,52); 337 (3,68)

Espectro infrarrojo de la (+)-iso-nor-base: Fig. 16

Espectro N.M.R. de la (+)-iso-nor-base: Fig. 17

Se hicieron p.f. y p.f. mezcla de los dos productos ~~con las~~ siguientes;
 resultados:

O^7 -metilribalinidina p.f. 227-228° (desc.), iso-nor-base p.f. 231-232° - (desc.) y la mezcla p.f. 225-226° (desc.)

4) Fué mostrado que el producto final de las transformaciones anteriores, la (+)-iso-nor-base, es constitucionalmente idéntica con el producto de metilación de la ribalinidina, la (-) O^7 -metilribalinidina, en base a los siguientes datos:

(pequeña diferencia de intensidad)

- Coincidencia de la absorción en la zona del ultravioleta tanto en medio neutro como ácido (ClH 0,3 N): Figs. 15 y 15 a.

- Coincidencia de los espectros infrarrojo en nujol salvo un ligero corrimiento en la ubicación de las bandas (figs. 6 y 16). Los espectros en solución de bromoformo fueron coincidentes.

- Coincidencia de los espectros de N M R (figs. 7 y 17).

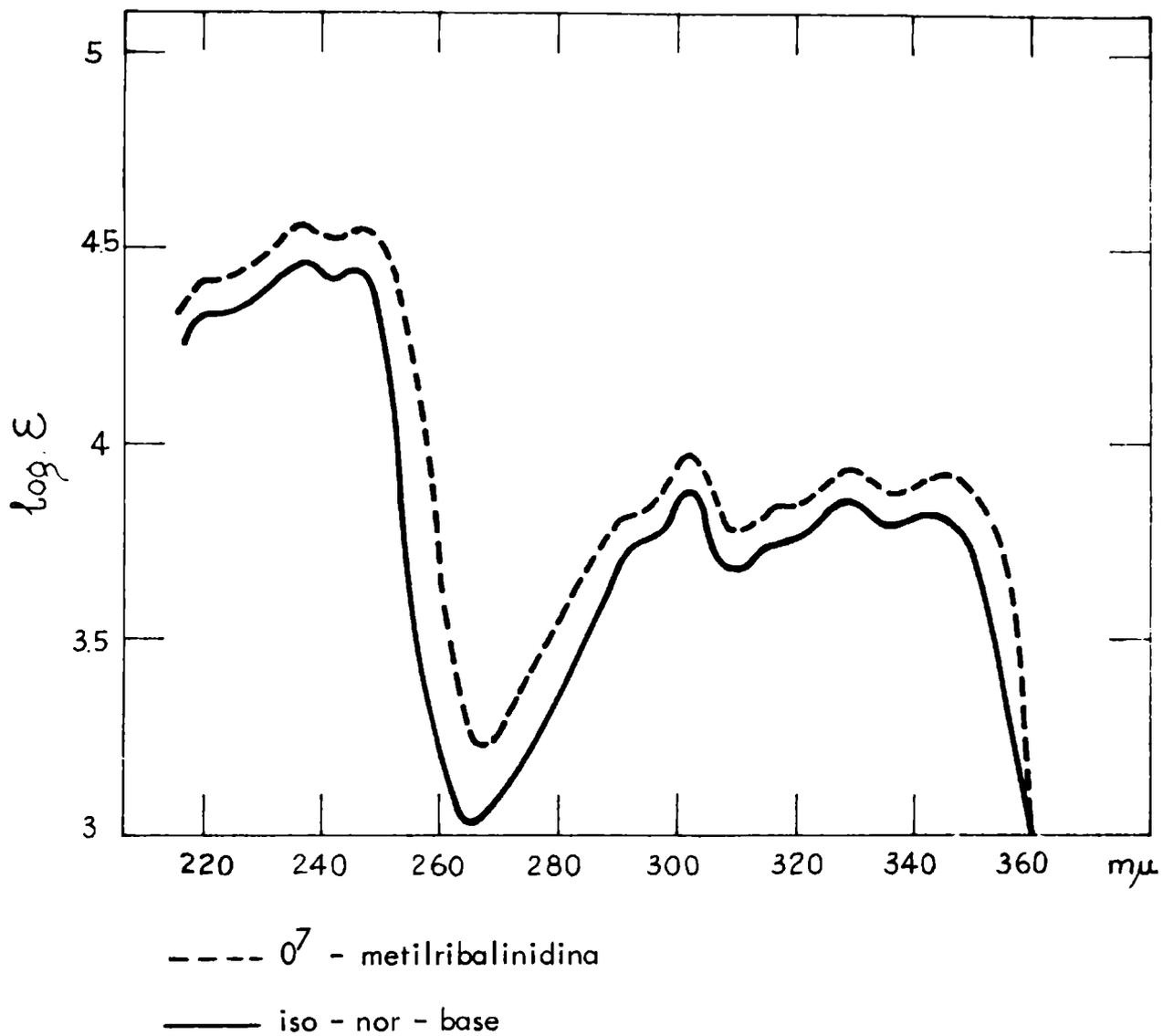


Fig. 15 - Espectros ultravioleta en medio neutro de 07 - metilribalinidina e iso - nor - base.

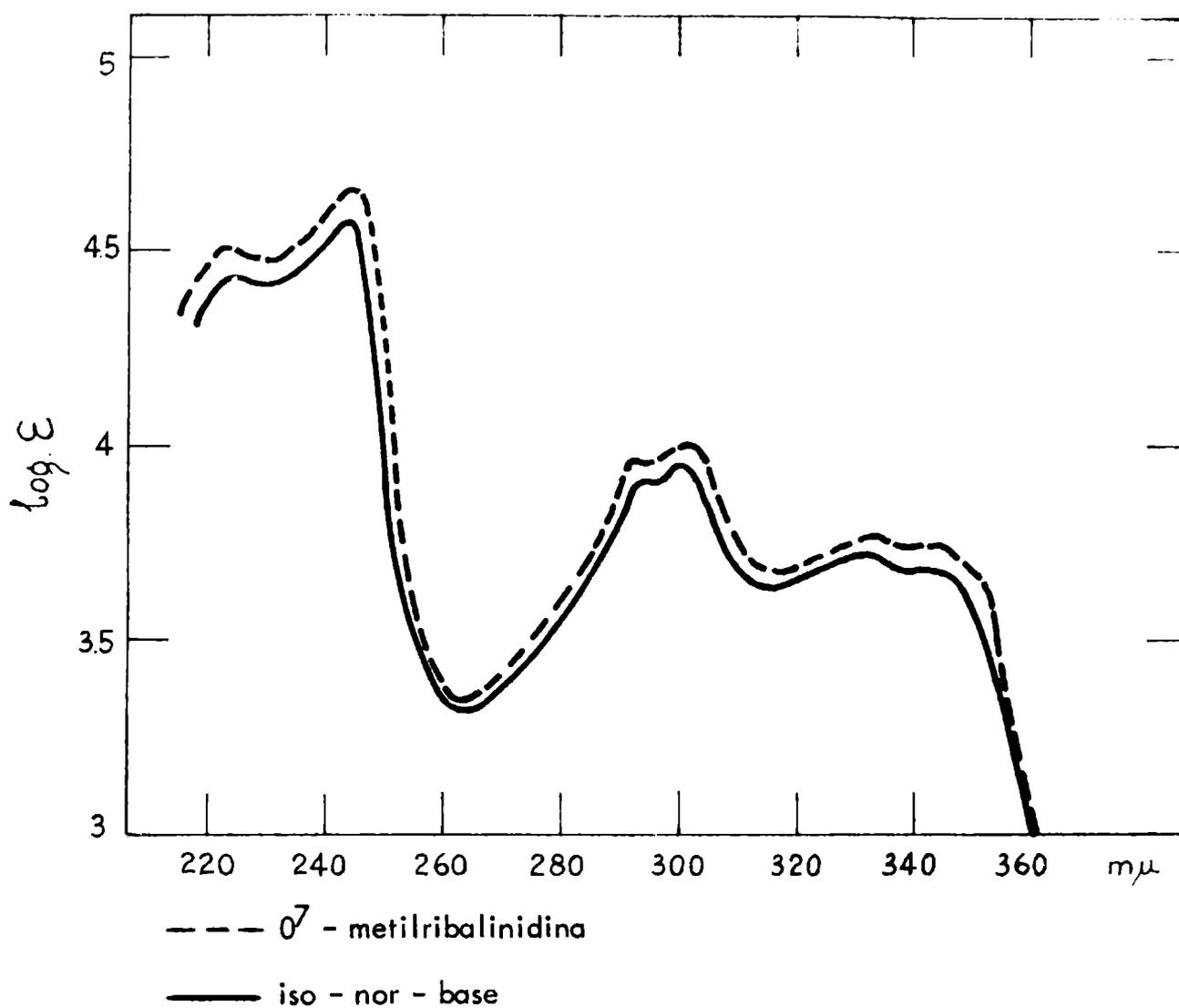


Fig. 15.a - Espectros ultravioleta en medio ácido clorhídrico 0.3 N de 0⁷ - metilribalinidina e iso - nor - base.

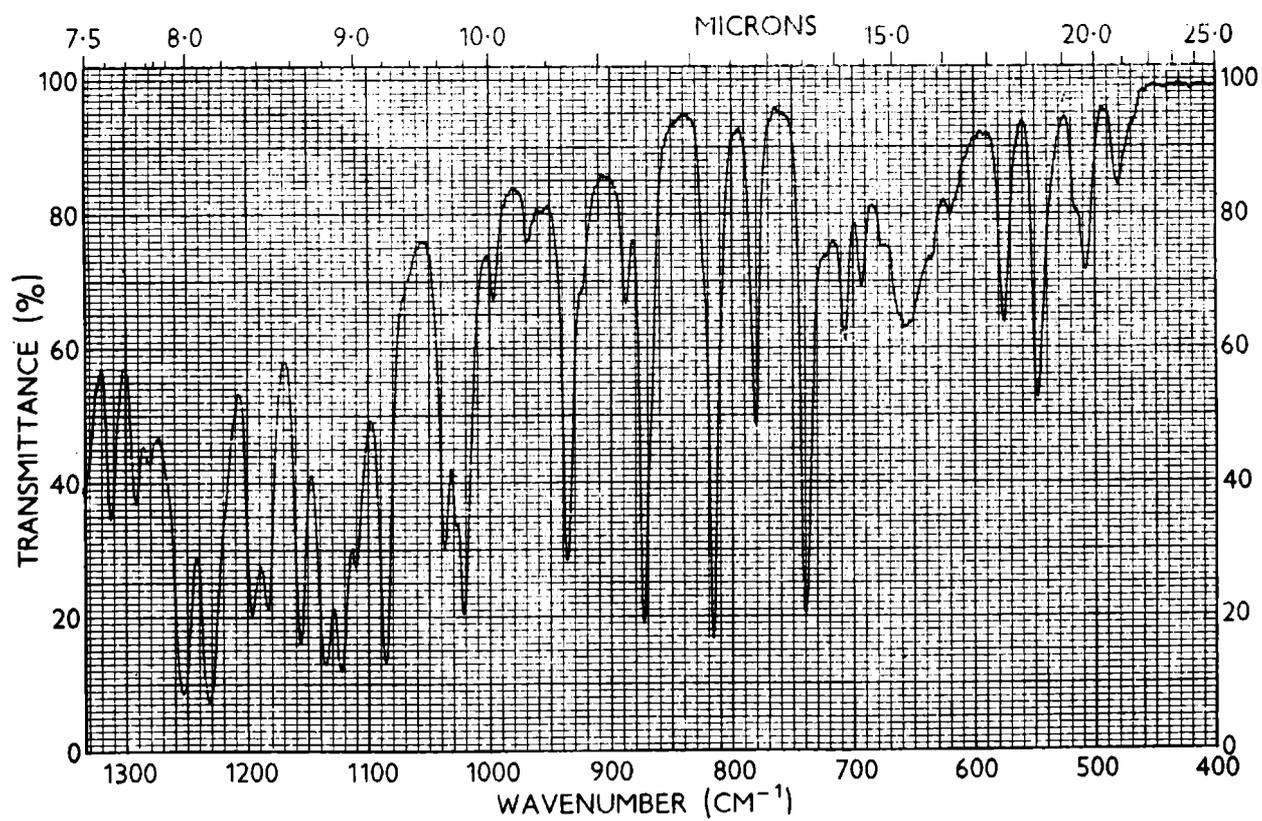
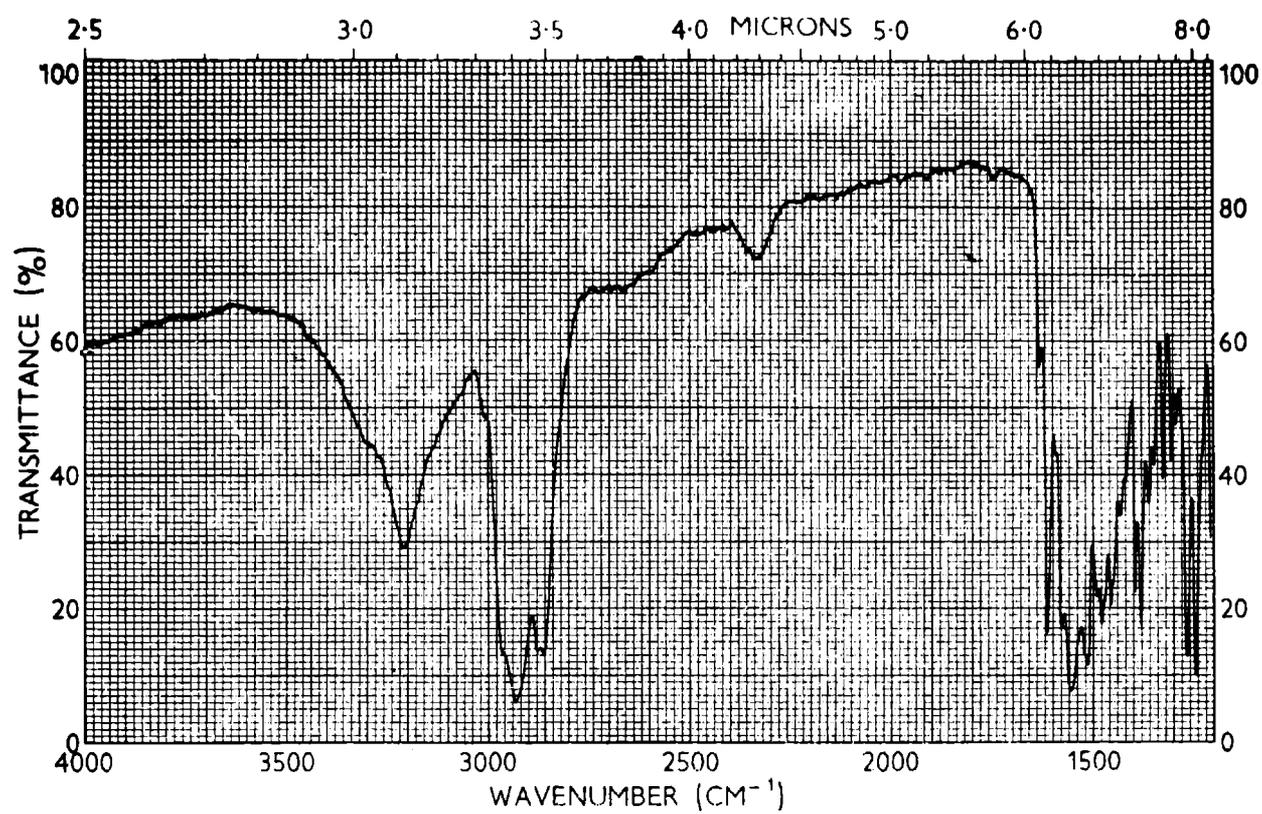
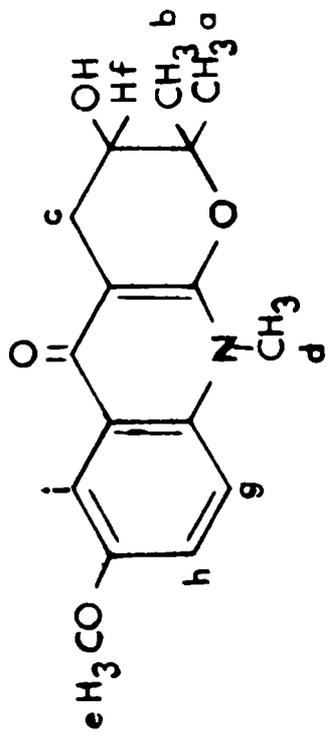


FIG.16 Espectro infrarrojo de la (+) iso-nor-base (Nujol)

Bandas de mayor interés: 3210(ancha); 1615; 1580; 1558; 1515; 1480 cm^{-1}



a,b = 1,62 y 1,80

c = 3,33 (d)

d,e = 4,03 y 4,11

f = 4,43 (t)

g,h,i = 7,77 - 8,0 (m)

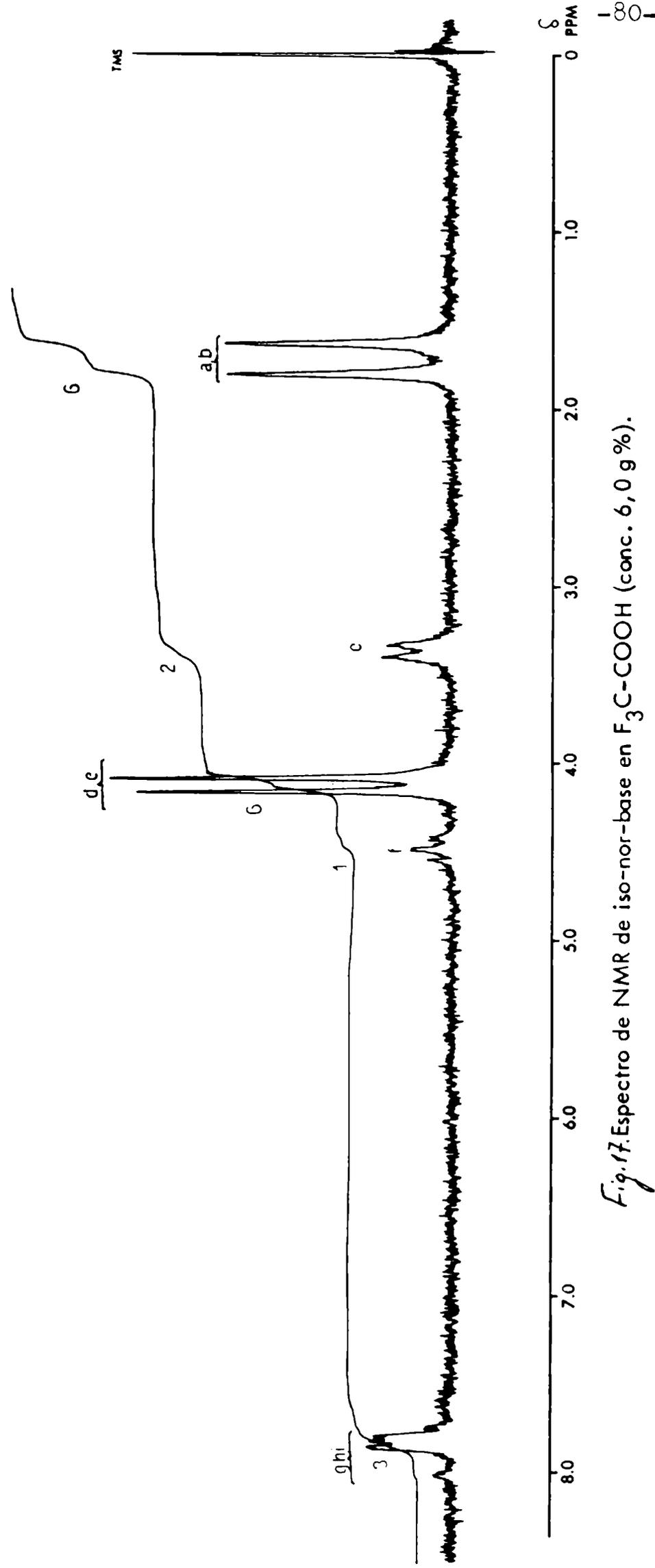


Fig. 17. Espectro de NMR de iso-nor-base en $F_3C-COOH$ (conc. 6,0 g %).

IV) DISCUSION DE LOS RESULTADOS

Discusión de los resultados

La ribalinidina se obtuvo de la fracción global de cloruros de bases cuaternarias proveniente de la corteza del tronco de Balfourodendron riedelianum. El aislamiento se hizo mediante cromatografía de — partición en columna de celulosa seguida de otros procesos de fraccionamiento y purificación final por cristalización.

En apoyo de su homogeneidad y pureza la base aislada (rto. 0,2°/°°) dió p.f. constante luego de recristalizaciones y una sola mancha en — las corridas cromatográficas y electroforéticas sobre papel.

En su ulterior estudio este alcaloide, designado ribalinidina, reveló ser de naturaleza terciaria no obstante haber sido separado de la — fracción de cloruros de las bases cuaternarias. Los datos que llevaron a esta conclusión fueron los siguientes: la movilidad electroforética a pH 3 es alta mientras que a pH 8 es prácticamente nula; además no — contiene ión cloruro.

El comportamiento de la ribalinidina en el proceso de fracciona— miento de alcaloides, excepcional para una base terciaria, puede ser — explicado por su muy baja solubilidad en cloroformo; esto hace que no sea extraída en la etapa de eliminación de alcaloides terciarios (a — pH 10,6) previa a la precipitación de las combinaciones cuaternarias.

Teniendo en cuenta datos de la literatura (ver Introducción Biblio— gráfica) sobre alcaloides de esta planta y de otras Rutáceas que señalan el aislamiento de bases que son artificios formados en el proceso de fraccionamiento, se hizo un nuevo aislamiento en el que se suprimió

la etapa de alcalinización. Las bases terciarias se extrajeron a pH 5 y de la fase acuosa se obtuvo la fracción global de cuaternarios de la — que se aisló ribalinidina (rte 0,06 ‰) identificada por cromatografía de papel p.f., p.f. mezcla y espectroscopía infrarroja y ultravioleta.

Resolución de la estructura de ribalinidina

La fórmula molecular de la ribalinidina, $C_{15}H_{17}NO_4$, fué deducida del análisis elemental cuantitativo y de la determinación del peso molecular mediante el espectro de masa.

El análisis funcional indicó que tiene un $N-CH_3$, un $C-CH_3$, dos H-activos y que no posee grupos OCH_3 . Parte de estos resultados son confirmados por el espectro NMR (Fig.4). El $N-CH_3$ da una señal (área 3H) a δ 4.18 ppm. A δ 1,66 y 1,83 ppm aparecen dos señales (singletes; — áreas 3H cada uno) de $C-CH_3$; como no hay escisión de estas señales significa que el átomo de carbono unido al metilo no lleva hidrógeno; por este dato y el de análisis (un solo $C-CH_3$) resulta que el compuesto tiene ambos metilos soportados por un mismo C (gem-dimetilo).

Este espectro indica también la existencia de un anillo aromático con 3 protones y además ausencia de H etilénicos.

Según puede preverse por la presencia de H activos, la ribalinidina presenta fuerte absorción en la zona infrarroja de 3300 cm^{-1} (Fig.3; en Nujol bandas anchas a 3.200 y 3.340 cm^{-1}).

Se determinó a continuación la presencia de función fenólica usando espectroscopía ultravioleta (Fig. 2): al pasar de medio neutro a

alcalino se observa un pronunciado desplazamiento batocrómico. Esta conclusión se confirmó mediante metilación con diazometano y registro de los espectros u.v. del producto en medio neutro y alcalino (Fig.5): la coincidencia de ambas curvas indica que hubo metilación de la o las funciones fenólicas presentes.

El análisis elemental cuantitativo del producto de metilación muestra que en esta reacción se ha incorporado un grupo metilo solamente, es decir que la ribalinidina contiene una sola función fenólica; mas concluyentemente el espectro NMR (Fig.7) del producto de metilación presenta señal de un solo grupo OCH_3 (δ 4,01 ó 4,10 ppm; area 3H).

Este producto metilado (O^7 -metilribalinidina) debe contener aún un H-activo y, en acuerdo con esto, presenta una banda ancha de absorción en el infrarrojo (Fig.6) a 3.180 cm^{-1} . Para decidir sobre la naturaleza de la función responsable se condujeron algunos experimentos con la ribalinidina misma. Mediante acetilación la ribalinidina proporcionó dos derivados. Uno de ellos, de p.f. $240-242^\circ$, ha incorporado un solo grupo acetilo según lo indican por un lado el espectro IR (Fig.10) con banda de éster a 1.752 cm^{-1} y por otro el NMR (Fig.11) que muestra una señal con área de 3 hidrógenos a δ 2,27 ppm; en concordancia con esto aún tiene absorción en el IR a 3.185 cm^{-1} .

El otro producto de acetilación p.f. $203-204^\circ$, presenta en el espectro de NMR (Fig. 9) dos picos correspondientes a acetilo a δ 2,02 y 2,30 ppm : es decir que es un diacetil derivado (O^3, O^7 -diacetil ribali-

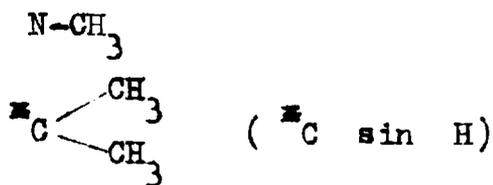
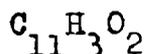
ridina)²; su absorción en el infrarrojo (Fig.8), bandas a 1.750 y 1.730 cm^{-1} , confirman esa conclusión y además señalan que es un diéster.

En consecuencia los dos H activos de la ribalinidina corresponden a una función fenólica y a una alcohólica. El tipo de esta última función fué resuelto mediante análisis de espectros NMR de ribalinidina y sus derivados. En los espectros de la ribalinidina (Fig.4) y de su metil derivado (Fig. 7) aparece una señal (triplete) a δ 4,48 y 4,43 ppm — mientras que en la diacetil-ribalinidina esta señal está ausente y en cambio hay un triplete a δ 5,54 ppm en ácido trifluoracético como los anteriores. Según la literatura⁽⁴¹⁾ esto implica que esa señal corresponde a la de un H_α a un hidroxilo alcohólico secundario. La misma conclusión surge de comparar los espectros en Cl_3CD del mono y diacetil derivados de la ribalinidina (figs.11 y 9); esto lleva a concluir también — que el monoacetil derivado es el ester fenólico de la ribalinidina — (O⁷-acetil ribalinidina) en concordancia con la posición (1.752 cm^{-1}) de la banda de éster en el infrarrojo (Fig. 10).

Resumiendo, tenemos para la ribalinidina:

■ Dado que es conocido⁽²²⁾ que algunos alcaloides de Rutáceas experimentan transposiciones durante procesos de acilación, este compuesto diacetilado fue sometido a hidrólisis recuperándose la ribalinidina intacta.

$C_{15}H_{17}NO_4$ que se desglosa en

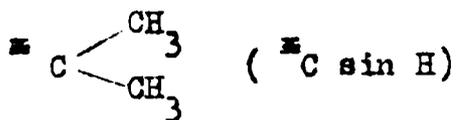
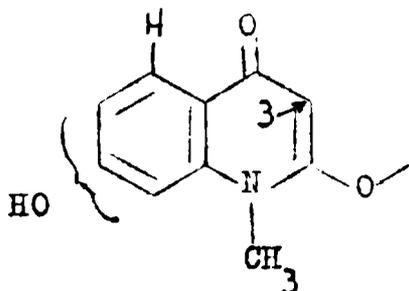


OH fenólico
 OH alcohólico 2rio.
 3H aromáticos

R = 8 (Nº de insaturación y/o anillos)

La co-ocurrencia en la misma planta de la ribalinidina con otras bases alcaloidicas características de Rutáceas orientó a suponer para aquélla un esqueleto de tipo quinolinico. Con esta idea fueron analizados los datos espectroscópicos de ribalinidina y derivados lo que llevó a concluir que se estaba en presencia de un alcaloide derivado de 2-alcoxi-quinolona-4. En apoyo de esto está el cambio que se observa en la absorción ultravioleta al pasar de medio neutro a ácido (Fig.2); además por las bandas que presenta el espectro infrarrojo en la zona de 1.500 cm^{-1} (Fig. 3) y así mismo por la aparición de una señal de un protón aromático en el NMR en Cl_3CD (Figs. 9 y 11) desplazada a campo más bajo con respecto a las señales de los restantes hidrógenos aromáticos.

La nueva formulación parcial es la siguiente:



OH alcohólico 2rio.

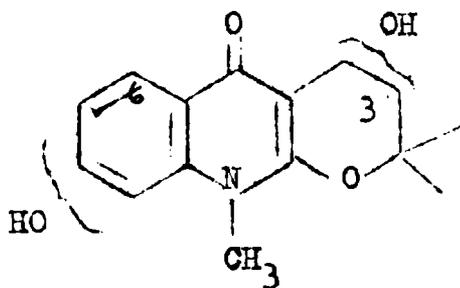


R = 1 (Hay un anillo por ausencia de H-etilénicos)

La posición 3 del sistema quinolona-4 está sustituida pues en los espectros NMR de ribalinidina y derivados (por ej. Fig.4) no aparece señal en la región de δ 6 ppm⁽³⁸⁾. Por lo tanto esa posición 3 es un lugar de unión del 3er. anillo que hay que agregar a la fórmula-parcial anterior según lo requiere el valor de R = 1. Esto conduce, — conjuntamente con los sustituyentes indicados, a una única posibilidad y es la existencia de un anillo piránico.

La agrupación gem-dimetilo es ubicada en posición 2 del ciclo-piránico, pues sus valores de δ en los espectros NMR en Cl₃CD (por ej. Fig. 11 δ 1,33 y 1,47 ppm) apoyan que los grupos metilos están sobre un carbono unido a un átomo de oxígeno^(27, 28, 42).

Con este nuevo dato se llega a la siguiente formulación



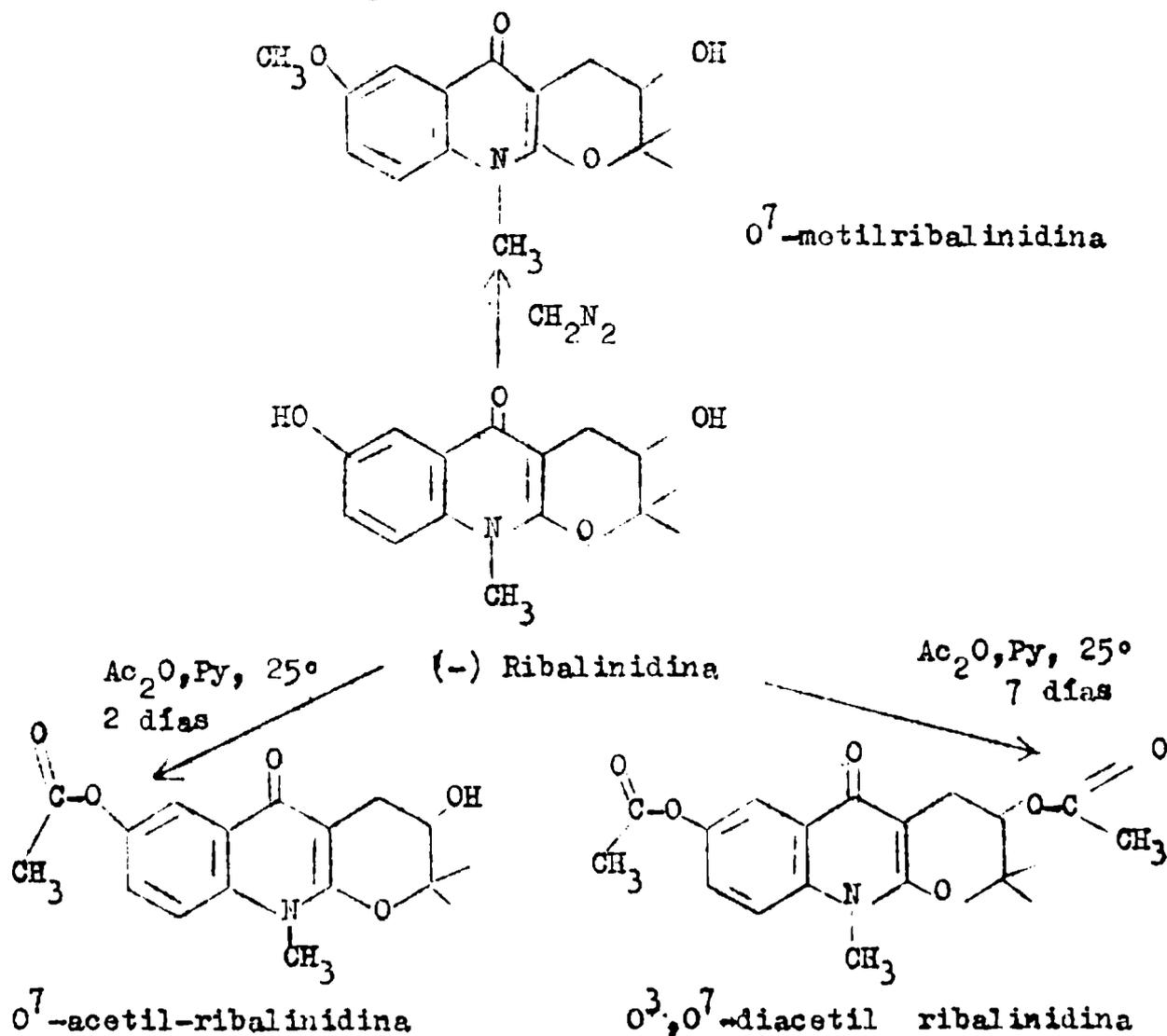
Las ubicaciones de los dos sustituyentes hidroxílicos derivaron del análisis de espectros NMR medidos en Cl₃CD como solvente. Valores de δ de la literatura⁽²⁷⁾ para grupos metileno en piranoquinolonas-4 ubicados en posición 3 ($\delta \approx 2,0$) o en posición 4 ($\delta \approx 2,7$) permitieron decidir que en la ribalinidina el grupo metileno está en posición 4 (Fig. 11 : en la monoacetilribalinidina δ del CH₂ a 2,83 ppm).

La señal del protón aromático de posición -6 (por ej. Fig. 9)

es un multiplete en el que se distinguen dos dobletes con valores de J de 1,0 y 2,5 c/s; estos son valores típicos⁽⁴³⁾ para un hidrógeno aromático acoplado con dos protones, uno ubicado en para y el otro en meta respectivamente.

Solo resta la posición 7 para ubicar el hidroxilo fenólico.

Con lo expuesto queda demostrada la estructura de ribalinidina y en consecuencia las de sus derivados[Ⓜ] cuyas interrelaciones son mostradas en el cuadro siguiente

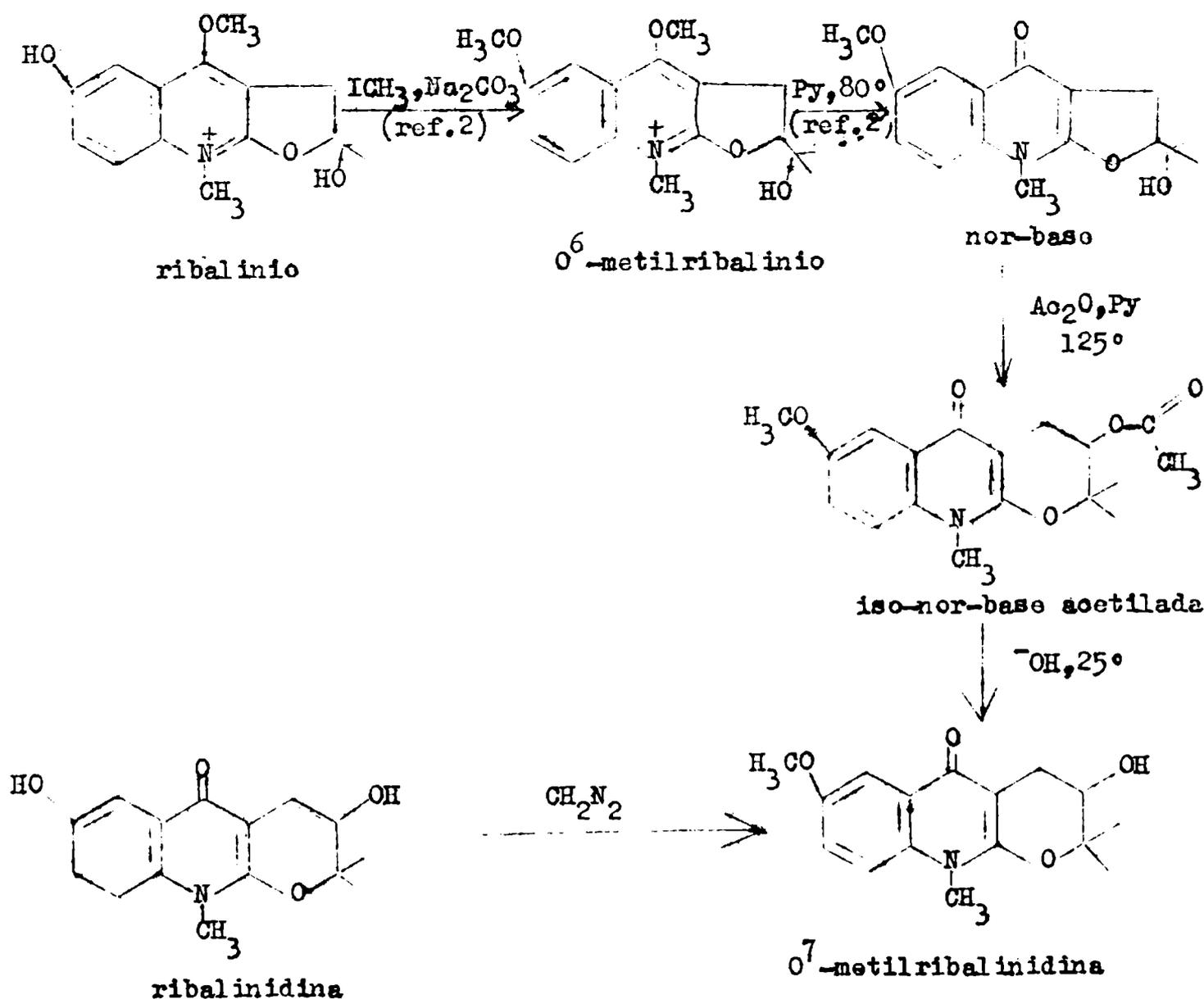


[Ⓜ] La deducción de estas estructuras basada principalmente en datos espectroscópicos fué motivo de una comunicación preliminar: R.A.Corrall, O.O.Orazi e I.A.Benages, Tetrahedron Letters, 545 (1968)

Demostración de la estructura de ribalinidina por correlación química - con el cloruro de ribalinio.

Una demostración de la estructura de la ribalinidina independiente de la descrita arriba fué lograda por transformaciones químicas partiendo del cloruro de ribalinio, de estructura determinada ⁽²⁾ y haciendo uso de reacciones ya conocidas por su aplicación sobre compuestos similares.

A continuación se esquematizan estas transformaciones indicándose sumariamente las condiciones de reacción y las referencias bibliográficas en las etapas descritas antes en la literatura.



Las muestras de O⁷-metilribalinidina obtenidas por ambas vías - fueron constitucionalmente idénticas demostrándose así la estructura - de la ribalinidina.

La O⁷-metilribalinidina preparada por metilación con CH₂N₂ es- ópticamente activa ($(\alpha)_D^{14} - 17^\circ$) mientras que la proveniente de la ~~nor~~-base por isomerización e hidrólisis ulterior es racémica.

La reacción de acetilación e isomerización de la ~~nor~~-base (furá nica) a iso-~~ncr~~-base acetilada (piránica) ha sido aplicada anterior- mente por otros autores ⁽²²⁾ sobre ejemplos de estructura similar y se- ha señalado que ella ocurre con racemización parcial. En nuestro caso- solo hemos aislado la (+) -iso-~~ncr~~-base acetilada que condujo por lo - tanto a la (+)-O⁷-metilribalinidina.

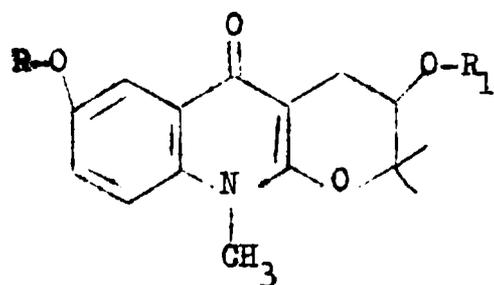
V) CONCLUSIONES

CONCLUSIONES

1) De la corteza del tronco del Balfourodendron riedelianum (Engler) Engler fué aislado un nuevo alcaloide terciario ($0.2 \text{ }^{\circ}/\rho^{\circ}$) denominado ribalinidina, p.f. $257-258^{\circ}$ (desc.), $[\alpha]_{\text{D}}^{20^{\circ}} - 15^{\circ}$ y de fórmula molecular $\text{C}_{15}\text{H}_{17}\text{NO}_4$ obtenida de datos analíticos y determinación de peso molecular por espectrometría de masa.

2) La ribalinidina presenta la peculiaridad de que, a pesar de ser una base tria, se la obtiene de la fracción alcaloídica correspondiente a bases trias en razón de su muy baja solubilidad en Cl_3CH (solvente empleado en la eliminación previa de bases trias).

3) La deducción de las estructuras siguientes de ribalinidina y de derivados obtenidos aquí se logró usando en forma complementada resultados del análisis funcional, del examen de registros espectroscópicos y de reacciones de metilación y acetilación:



	R	R ₁
ribalinidina	H	H
O ⁷ -metil ribalinidina	CH ₃	H
O ⁷ -acetil ribalinidina	Ac	H
O ³ ,O ⁷ -diacetil ribalinidina	Ac	Ac

4) Un camino diferente que permitió demostrar también la anterior estructura para la ribalinidina consistió en la correlación química de este nuevo alcaloide con el cloruro de ribalinio, cuya estructura ya figura en la literatura.

Luzbel Zuñiga

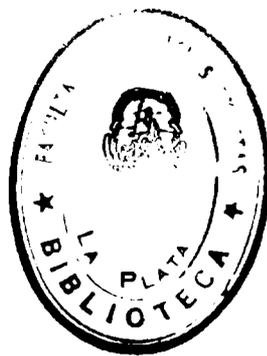
VI) BIBLIOGRAFIA

B I B L I O G R A F I A
 = = = = =

- 1) O.O.Orazi y R.A. Corral, Anales Asoc. Quím. Argentina 51, 177(1963).
- 2) R.A. Corral y O.O. Orazi, Tetrahedron 21, 909 (1965).
- 3) E. Strasburger, Tratado de Botánica, M. Marín (Barcelona, 1943) p.607.
- 4) G.H.M. Lawrence, Taxonomy of Vascular Plants, Macmillan (New York, -
1951) p.557.
- 5) D.B. Swingle, Text Book of Systematic Botany, Mc Graw-Hill (New York
1946) p.111.
- 6) L.A. Tortorelli, Maderas y Bosques Argentinos. ACME (Bs.As., 1956).
p.470.
- 7) E. Ritchie, Rev. Pure and Appl. Chem (Australia) 14, 47 (1964)
- 8) A.M. Kuck, S.M. Albónico, V. Deulofeu y M. G. Escalante, Phytochemistry
6, 1541 (1967).
- 9) J.R. Price, Progress in the Chemistry of the Natural Products. Ed. L.
Zechmeister; Springer-Verlag (Viena, 1956) Vol.13 p.326.
- 10) G.H. Svoboda, G.A. Poore, P.V. Simpson y G.B. Boder, J. Pharm. Sci. 55,
758 (1966).
- 11) J.A. Bosson, M. Rasmussen, E. Ritchie, A.V. Robertson y W.C. Taylor,
Austr. J. Chem 16, 480 (1963).
- 12) R.M. Bowman y M.F. Grundon, J. Chem. Soc. (C) 1084 (1966).
- 13) G.P. Sidiyakin, I.A. Bessonova, V.I. Pastukhova y S.Yu. Yunusov, J.
Gen. Chem. (U.S.S.R.) 32, 4016 (1962). (Versión inglesa).
- 14) Z.Sh. Faizutdinova, I.A. Bessonova y S. Yu. Yunusov, Z.A. 68, 69160 (1968)
Khim. Prir. Soedin. 3, 356 (1967).

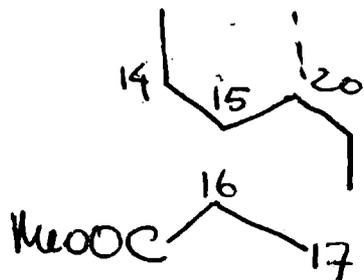
- 15) T.T. Shakirov, G.P. Sidiyakin y S. Yu. Yunusov, C.A. 57, 9902 (1962)
Dokl. Akad. Nauk Uz. SSR 4961, 47
- 16) D.R. Boyd y M.F. Grunden, Tetrahedron Letters 2637 (1967).
- 17) S.R. Johns, J.A. Lamberton y A.A. Sioumis Austr. J. Chem. 20, 1975
(1967).
- 18) S.M. Albonico, A.M. Kuck y V. Deulofeu Annalen Chem. 685, 200 (1965).
- 19) J.R. Beck, R. Kwok, R.N. Booher, A.C. Brown, L.E. Patterson, P.
Franc, B. Rockey y A. Pohland, J. Am. Chem. Soc. 90, 4706 (1968).
- 20) S.C. Pakrashi, J. Bhattacharyya, L.F. Johnson, H. Budzikiewicz,
Tetrahedron 19, 1011 (1963).
- 21) W.D. Crow y J.H. Hodgkin, Aust. J. Chem. 17, 119 (1964).
- 22) H. Rapoport y K.G. Holden, J. Amer. Chem. Soc. 82, 4395 (1960).
- 23) H.C. Beyerman y R.W. Rooda, Proc. Koninkl. Nederl. Akad. Wetensch. B 63,
154 (1960).
- 24) S. Goodwin, A.F. Smith, A.A. Velasquez y E.C. Horning, J. Amer. Chem.
Soc. 81, 6209 (1959).
- 25) H. Rapoport y K.G. Holden, J. Amer. Chem. Soc. 81, 3738 (1959).
- 26) S. Goodwin y E.C. Horning, J. Amer. Chem. Soc. 81, 1908 (1959).
- 27) A.V. Robertson, Austral J. Chem. 16, 451 (1963).
- 28) R.A. Corral y O.O. Orazi, Tetrahedron Letters 7, 583 (1967).
- 29) H.C. Beyerman y R.W. Rooda, Proc. Koninkl. Nederl. Akad. Wetensch. B 62
187 (1959).
- 30) S. Goodwin, J.N. Shoolery y L.F. Johnson, J. Amer. Chem. Soc. 81, 3065 (1959)
- 31) R. Johnstone, J.R. Price y A.H. Todd, Aust. J. Chem. 11, 562 (1958).
- 32) J.R. Price, Aust. J. Chem. 12, 458 (1959)

- 33) N.K.Hart y J.R.Prico, Aust. J.Chem. 19, 2185 (1966).
- 34) R.A. Corral y O.O. Orazi, Tetrahedron 22, 1153 (1966).
- 35) A. Chatterjee y A.Deb, Chem. and Ind. 1982 (1962).
- 36) A. Rüegger y D. Stauffacher, Helv. 46, 2329 (1963).
- 37) H.C. Beyerman y R.W. Rooda, Proc. Koninkl. Nederl. Akad. Wetensch.
Chim. Acta
B 63, 427 (1960).
- 38) N.K. Hart, S.R. Johns, J.A.Lamberton y J.R. Price, Aust.J.Chem. 21,
1389 (1968).
- 39) R.Munier, Bull.Soc.Chim. Biol. 35, 1225 (1953).
- 40) J.A. Coch Frugoni, Gazz. Chim. Ital. 87, 403 (1957).
- 41) L.M. Jackman, Aplications of Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy
in Organic Chemistry. Pergamon Press (London,1959) p.55.
- 42) D. Williams e I. Fleming, Spectroscopic methods in Organic Chemis-
try. Mc Graw-Hill (London, 1966) p.126.
- 43) Id. p. 128.



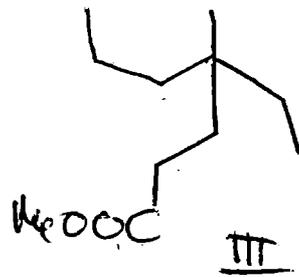
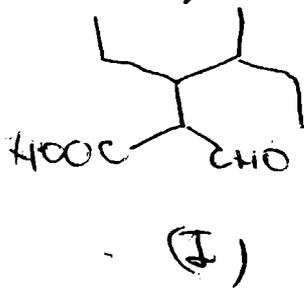
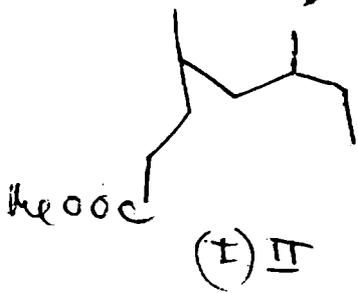
Apocynaceae
 Asclepiadaceae
 Rubiaceae

Indolicois



ruptura del enlace 15
 recicla 16

6C - 1C - 3C
 precursor



- 1) dehidrop. polisis. → aromatiz.
- 2) det. grupo funcional
- 3) Inter. Relación entre grupo func. y sus sitios en la molécula
- 4) grupo con algunos carbonos
- 5) degradación paso a paso a partir de uno de los grupos func.