

UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA
DEPARTAMENTO DE QUIMICA
ORGANICA Y BIOQUIMICA

INSTITUTO DE PRODUCTOS
NATURALES ORGANICOS
(C.S.I.C.)

ALCALOIDES DEL SENECIO PETASITIS DC.
Y DELPHINIUM CARDIOPETALUM DC.

M E M O R I A presentada para
aspirar al grado de doctor en
Ciencias Químicas

por

MATIAS REINA ARTILES

La Laguna, Octubre de 1.979



Esta tesis ha sido realizada en el Instituto de Productos Naturales Orgánicos, C.S.I.C. y en el Departamento de Química Orgánica y Bioquímica de la Universidad de La Laguna, durante los años 1975-1979 bajo la dirección del Catedrático Dr. D. Antonio González y González y el Dr. D. Gabriel de la Fuente del C.S.I.C., a quienes expreso mi más profundo agradecimiento, al igual que mi compañero de laboratorio Lcdo. Rafael Díaz Acosta.

Este ejemplar ha sido revisado



Firmado:

Gabriel de la Fuente
Colaborador Científico
del C.S.I.C. Instituto
de Productos Natu -
rales Orgánicos.

Firmado:

Antonio González González, Ca-
tedrático Director del Dpto.
de Química Orgánica de la Uni-
versidad de La Laguna y del
Instituto de Productos Natura-
les Orgánicos del C.S.I.C.



Expreso mi agradecimiento al Profesor M.H. Benn de la Universidad de Alberta, Calgary, Canadá, la muestra de Hetisinona que nos suministró, así como los espectros de I.R. y RMN, al Profesor C.G. Gordon-Gray de la Universidad de Natal, Pietermaritzburg, Suráfrica, la muestra de Isolina que nos suministró y al Dr. J. Rivera Aranda del Centro Nacional de Espectroscopía de Masas, Barcelona, la realización de los espectros de masas.

INDICE

	<u>Página</u>
<u>PARTE I</u>	
<u>ALCALOIDES DEL SENECEO PETASITIS D.C.</u>	
Introducción	001
Distribución	001
Constitución química	003
Biosíntesis	005
<u>DISCUSION TEORICA</u>	
La estructura de la Bislina	012
Correlación entre la bislina y la isolina	013
<u>PARTE EXPERIMENTAL</u>	
Extracción de la fracción alcaloidal	017
Aislamiento de los alcaloides	017
Bislina	019
Hidrólisis básica de la bislina	020
Obtención de retronecina	021
Hidrólisis ácida de la bislina	021
Obtención del ácido isolinéxico	022
Hidrólisis de la isolina	022
Conclusiones	025
Bibliografía	027
Reproducción de espectros	030

PARTE II

ALCALOIDES DITERPENICOS DEL DELPHINIUM CARDIOPE-
TALUM D.C.

Introducción	041
Clasificación	041
Los diferentes esqueletos en los alcaloides di - terpénicos	042
Especulación biosintética y biogenética	047
Algunos aspectos farmacológicos	050

IDENTIFICACION DE LOS ALCALOIDES

Estructura de la cardiopetalina	063
Estructura de la cardiopetalidina	066
Correlación biogenética entre cardiopetalina y cardiopetalidina	068
Estructura de la 13-acetilhetisinona	069
Alcaloide de P.F. 267-270°C	073

PARTE EXPERIMENTAL

Planta	086
Separación y aislamiento de los alcaloides	087
Cardiopetalina	089
Acetilación	090
Preparación del triacetato de cardiopetalina ...	090
Cardiopetalidina	091
Acetilación	092

	<u>Página</u>
13-acetilhetisinona	093
Obtención de diacetilhetisinona	094
Hidrólisis de 13-acetilhetisinona	095
Preparación de dicetohetisina	096
Obtención del dihidroderivado de 13-acetilhetisi- nona	097
Oxidación de 13-acetilhetisinona	098
Hidrólisis de 13-acetildicetohetisinona	099
Hetisinona	100
Diacetil hetisinona	101
Producto de oxidación de hetisinona	101
Conclusiones	104
Bibliografía	106
Reproducción de espectros	110

PARTE I

ALCALOIDES DEL SENEPIO PETASITIS

INTRODUCCION

000

Los alcaloides de la pirrolizidina han sido usados en muchas ocasiones más o menos concientemente con fines médicos. En muchos casos han sido el principio activo en hierbas usadas medicinalmente. Como muchas de estas son venenosas y pueden crecer entre las de cultivos, es de mucha importancia determinar si contiene alcaloides venenosos, ya que la utilización de estas plantas como uso doméstico nos lleva a una enfermedad fatal.

Así el consumo de plantas en la familia Boraginacea, por ejemplo, produce lesión en el hígado. Culvenor y col. han demostrado recientemente que algunos alcaloides de la pirrolizidina tiene un efecto retardado importante en el crecimiento de ciertos tumores cancerígenos y es por tanto importante en la investigación médica el conocer la estructura de estos alcaloides.

Solo los alcaloides con un enlace éster-alílico son venenosos y poseen actividad antimitótica (1).

DISTRIBUCION

Los alcaloides del grupo pirrolizidínico son típicos de plantas del género Senecio uno de los más numerosos de las Comuestas, pues se conocen más de 1000 especies. También se han encontrado alcaloides de este tipo en plantas de los géneros Crotalaria (Leguminosa) Heliotropio y Trichodesma (Boraginacea). El género Crotalaria está limitado esencialmente a regiones tró

picales o subtropicales, mientras que la Senecionea y Boraginacea están representadas en todas las regiones climáticas y distribuidas por todo el mundo. Así, por ejemplo, en Australia se han encontrado hasta 50 especies de Senecionae, 45 Crotalaria y 87 Boraginacea.

Los géneros Crotalaria, Heliotropio y Boraginacea han de situarse, junto con el género Senecio, como plantas que poseen una alta proporción de especies ricas en alcaloides de la pirrolizidina. Por su gran variedad estos alcaloides han sido estudiados con gran interés, sobre todo por G.P. Menshikov, R. Adams F.L. Warren, C.C.J. Culvenor y N.J. Leonards.

Aunque hay diferencias en su contenido de carbonos predominan los que tienen 18 átomos. Con respecto al número de oxígeno, varía con la especie.

Los estudios de alcaloides contenidos en el Senecio platifillus han señalado que las concentraciones de alcaloide en las raíces son pequeñas, siendo el otoño el tiempo de mayores rendimientos en la parte aérea de N-óxidos durante la floración (2).

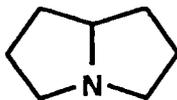
En relación con el tipo estructural los alcaloides presentes en tres principales grupos de especies manifiestan más bien tendencias distintivas que divisiones tajantes. Con muy pocas excepciones los que aparecen en el Senecio son diésteres macrocíclicos (con anillos de 12 miembros) de ácidos adípicos sustituidos.

Típico de las familias Boraginacea son los mono y diéster de los amino-alcoholes de la pirrolizidina con ácidos monocarbo-

xílicos que raramente aparecen en las especies Senecios y que aún no han sido observadas en las Crotalaria. Asimismo, diésteres macrocíclicos descubiertos en las Boraginacea han sido aislados de las especies Heliotropio arguizioides (3) y Trichodesma incanum (4). Otros casos similares son, la monocrotalina que ha sido aislada de las Crotalaria spectabilis y Crotalaria retusa; asimismo, la bislina alcaloide aislado por nosotros del Senecio petasitis ha sido aislado por Coucourakis y Gordon-Gray (5) del Senecio othonniformis y el alcaloide retrorsina ha sido aislado de hasta 8 especies de senecios.

CONSTITUCION

"Leonards (6) ha hecho público recientemente un concepto limitado de los alcaloides del Senecio, estableciendo que estos se caracterizan por la presencia del anillo pirrolizidínico hidroxilado y esterificado con uno o más ácidos. Según Manske la parte básica se le llama necina y ácido néxico a la parte ácida".



Anillo pirrolizidínico

Los alcaloides del Senecio son ésteres de alcalamina y cada uno de ellos produce por hidrólisis un compuesto básico denominado necina y ácido néxico. Estas necinas son aminos-alcoholos.

les derivados de la pirrolizidina. Hasta ahora el número de necinas descubiertas es inferior al de los ácidos.

Los alcaloides del Senecio podemos clasificarlos en tres grandes subgrupos: (7).

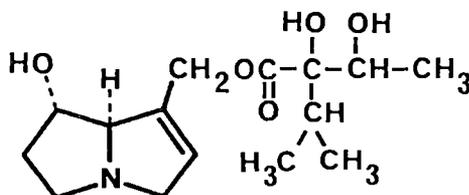
1º.- Monoésteres de una necina y un ácido monobásico.

2º.- Diéster de una necina y dos ácidos diferentes monobásicos.

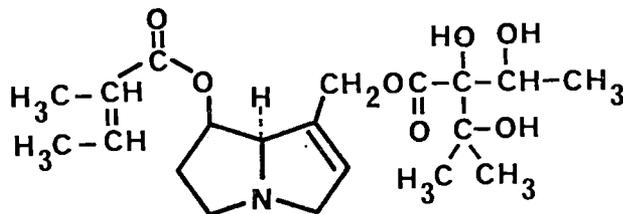
3º.- Diéster **cíclico** de una necina y un ácido básico.

La bislina, alcaloide aislado por nosotros está encuadrado en el tercer subgrupo. EJEMPLO:

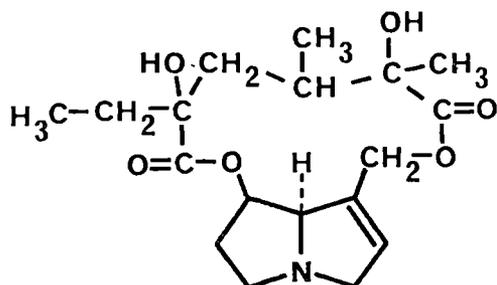
La equinatina es el monoéster de la heliotridina con un dioxiacido de 7 carbonos denominado ácido viridiflórico.



La equimidina, diéster de la retronecina con ácido angélico y con trioxiacido de 7 átomos de carbonos que ha sido llamado equimidínico.

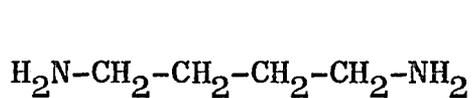


La bislina diéster cíclico de la retronecina con un ácido dicarboxílico llamado isolinécico.

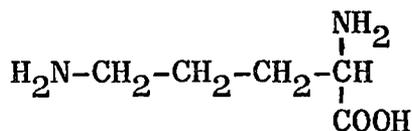


BIOSINTESIS

Los estudios sobre la biosíntesis de los alcaloides de la pirrolizidina han sido efectuados principalmente por Geissman y Warren. La situación actual es que el anillo pirrolizidínico está formado por dos unidades de cuatro átomos de carbono relacionado con la putrescina y la ornitina.

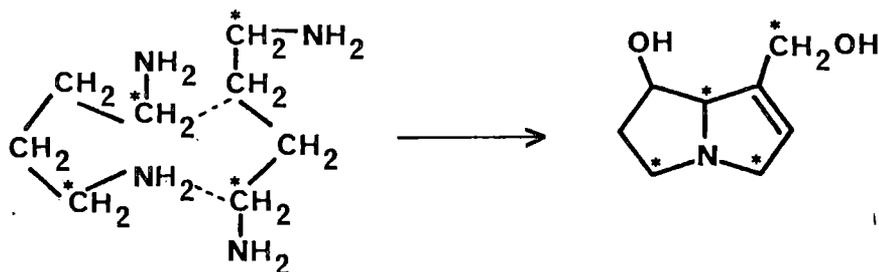


Putrescina



ornitina

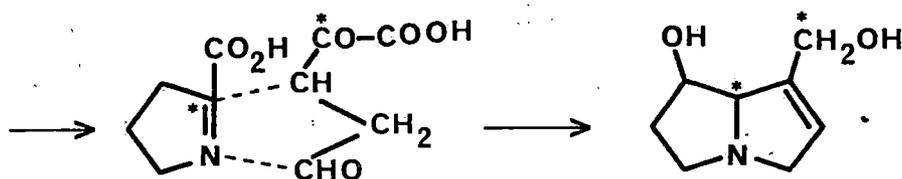
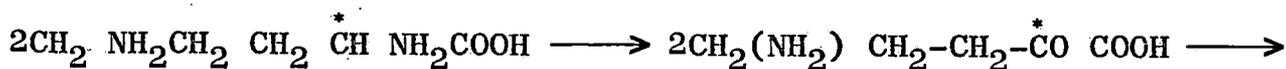
Después de suministrar ornitina o putrescina marcada al *Senecio douglasii*, Bottomley y Geissman (8) encontraron que el 94-98% de la actividad del alcaloide estaba localizado en la retronecina, apreciando que el esqueleto de carbono de los precursores fue incorporado intacto. La retronecina obtenida a partir de cada uno de los tres precursores (2-¹⁴C ornitina y 1,4-¹⁴C putrescina) tenía el 25% de su actividad en el CH₂OH. Esto fue tomado para indicar que la utilización de la 2 y 5 ornitina marcada procedía de un intermediato simétrico (donde las posiciones 2 y 5 se hacen equivalentes e igualmente marcadas. Se señaló que solo la molécula de ornitina que dan lugar al CH₂OH necesitan pasar por un intermedio simétrico).



Hughes y col. (9) llevaron a cabo una degradación más in-

tensa de la retrorsina del *Senecio isatideus* y estimaron el porcentaje de actividad individual de los átomos de carbono de la retrorsina, tales como el C-9; 26%; C-3, 0%; C-5, 0%; C-8, 71%. La ausencia de actividad en el C-3 está en desacuerdo con la formulación de Bottomley y Geissman e implica, o bien que el C-9 no surge de una unidad simétrica de 4 átomos de carbono o bien que la unión no ocurre como en el esquema anterior.

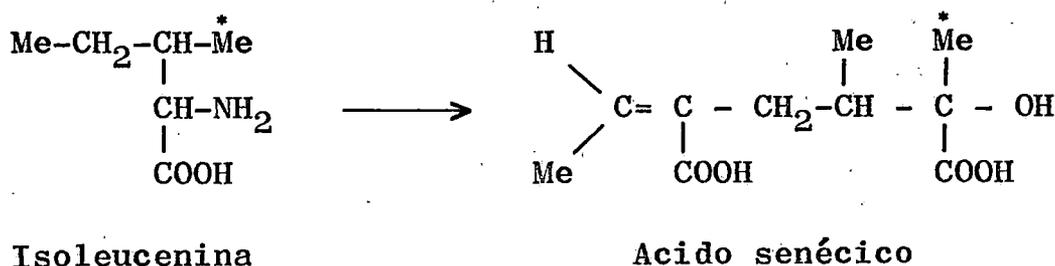
Hughes y Warren (10) explican la actividad desigual de los átomos C-8, C-9 sugiriendo que dos moléculas de ornitina proceden a través de dos intermedios diferentes antes de la incorporación.



En cuanto los ácidos que esterifican los amino-alcoholes, sus esqueletos carbonados y sus productos oxigenados son únicos entre los productos naturales, y su origen biogenético es poco común.

Con respecto a los ácidos néricos de 10 átomos de carbono se ha comprobado que derivan del acoplamiento de dos unidades de isoleucina.

Trabajos recientes han indicado que la parte izquierda de 5 átomos de carbono unido al ácido senecifílico deriva de la isoleucina y de sus precursores biológicos treonina y ácido aspártico (11). Otros experimentos con treonina e isoleucina han sido efectuados en el *Senecio magnificus* (12), concretamente con (2- ^{14}C , 6 ^{14}C) isoleucina que fueron incorporados en ácido senécico y los productos de degradación dieron una incorporación consistente con la biosíntesis de dos unidades de isoleucina:



Estudios de incorporación de acetato en diéster macrocíclicos, principalmente en la senecifilina del *Senecio Douglasii* realizados por Geissman y col. encontraron que la actividad estaba igualmente dividida entre la parte básica y la ácida. Estos resultados condujeron a Crout (11) a considerar a los aminoácidos como precursores, encontrándose que la treonina daba un índice de incorporación alto (0'2-0'4%) y específico en el ácido que esterifica a la senecifilina.

El esquema origen del principal grupo de los ácidos de 10 átomos de carbono queda resumido así:

Es una coincidencia notable que tres grupos completamente no relacionados de especies de plantas en las familias Compositae, Leguminosas y Boraginaceae elaborasen no solo los amino-alcoholes no-usuales de la pirrolizidina, sino que también el mismo tipo de ácidos esterificados no-usuales en asociación con los amino-alcoholes. Esta situación sugiere que los precursores de los ácidos esterificados son parte de los precursores del anillo pirrolizidínico, es decir, que el anillo de la pirrolizidina está formado de dos ésteres relativamente simple de los cuales las proporciones ácidas son posteriormente elaboradas.

PARTE TEORICA

Siguiendo el procedimiento descrito en la parte experimental, aislamos del *Senecio petasitis* un alcaloide cuyo análisis elemental corresponde a un $C_{18}H_{27}NO_6$ (I). Fig. 1. P.F. 169-170°C, $[\alpha]_D = -34'8$ (cloroformo).

El I.R. (BrK) presenta absorciones a $\nu_{\text{máx.}}$: 3500 cm^{-1} (OH no asociado), 3010 cm^{-1} (ancha, asociado), 1710 cm^{-1} (grupo carbonilo). La frecuencia del grupo carbonilo está de acuerdo con los ésteres saturados de los alcaloides pirrolizidínicos (13).

En el U.V. no aparecen absorciones por encima de los 220 nm.

El espectro de R.M.N. da señales a δ : 0'8 (3H, t, J= 6 Hz) $\text{CH}_2\text{-CH}_3$, 1'18 (3H, d, J= 6 Hz) CH-CH_3 , 1'20 (3H, s), C- CH_3 , de acuerdo con la estructura de estos alcaloides podemos suponer que estos agrupamientos se encuentran formando parte del ácido que esterifica el aminoalcohol, 2'3 (2H, m) protones en C-6, 3'92 (H, m) y 4'32 (H, m) atribuibles a los hidrógenos en C-9 (C- $\text{CH}_2\text{-O-CO-R}$) no equivalentes magnéticamente y cuyo $\Delta\delta = 0'4$ ppm está de acuerdo con el observado para un éster macrocíclico (14), 6'15 (H, d, J= 1'5 Hz) C= CH , 3'33 (2H, s) intercambiable con D_2O .

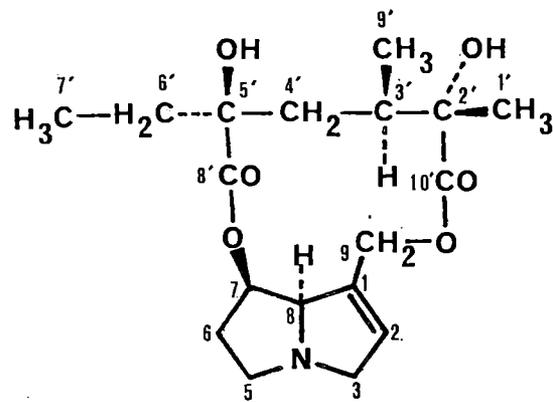
La hidrólisis ácida de esta base conduce a un aminoalcohol de P.F. 119-120°C, $[\alpha]_D = + 52'5$ (etanol) identificado con la retronecina (II), (I.R., R.M.N., punto de fusión mixto) y un hidroxiácido (III) de P.F. 143-145°C, $[\alpha]_D = + 25$ (etanol). I.R. (BrK) presenta absorciones a $\nu_{\text{máx.}}$: 3440 cm^{-1} (OH) y 1720 cm^{-1} (carbonilo). El espectro de R.M.N. en deuteropiridina da seña -

les a δ : 1'14 (3H, t, J= 6 Hz)-CH₂-CH₃, 1'60 (3H, d, J= 6 Hz) CH-CH₃, 1'83 (3H, s) C-CH₃ y -0'30 (2H, intercambiable con D₂O). Este hidroxiaácido se identificó con el ácido isolinéico ó (2S,3R,5S)-5-etil-2,5-dihidroxi-2,3-dimetilhexadienoico (R.M.N., I.R., punto de fusión mixto) obtenido por hidrólisis ácida del alcaloide isolina (IV), aislado del Senecio othonniformis (5,15) y amablemente suministrado por el profesor Gordon-Gray.

De la misma planta se aisló un alcaloide, Bislina, de P.F. 169-170°C, que podría tratarse de la misma sustancia aislada por nosotros. Los autores solo mencionan el punto de fusión y la posición de un metilo en R.M.N.

El E.M. de nuestro alcaloide (Fig. 2) presenta la fragmentación típica por fisión del enlace éster alílico (16,17) lo cual es una prueba de la posición esterificante dada por nosotros. Además se observa la fragmentación sistemática de la neolina para dar la serie de iones a: 137 (20%), 138 (29%), 121 (17%), 95 (54%), 119 (29%), 93 (54%) y 120 (31%).

La estructura y configuración de nuestro alcaloide queda establecida como (I). Dejando pendiente si se trata o no de la Bislina, ya que no hemos efectuado una comparación directa, debido a que no se nos pudo suministrar.

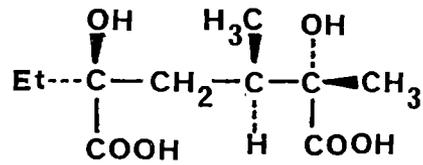


I

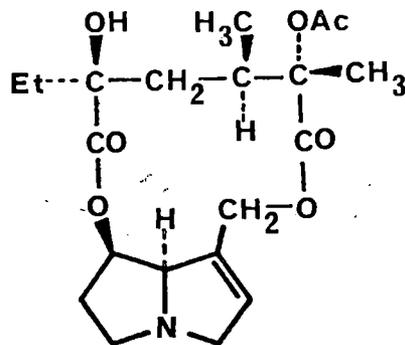


II

+



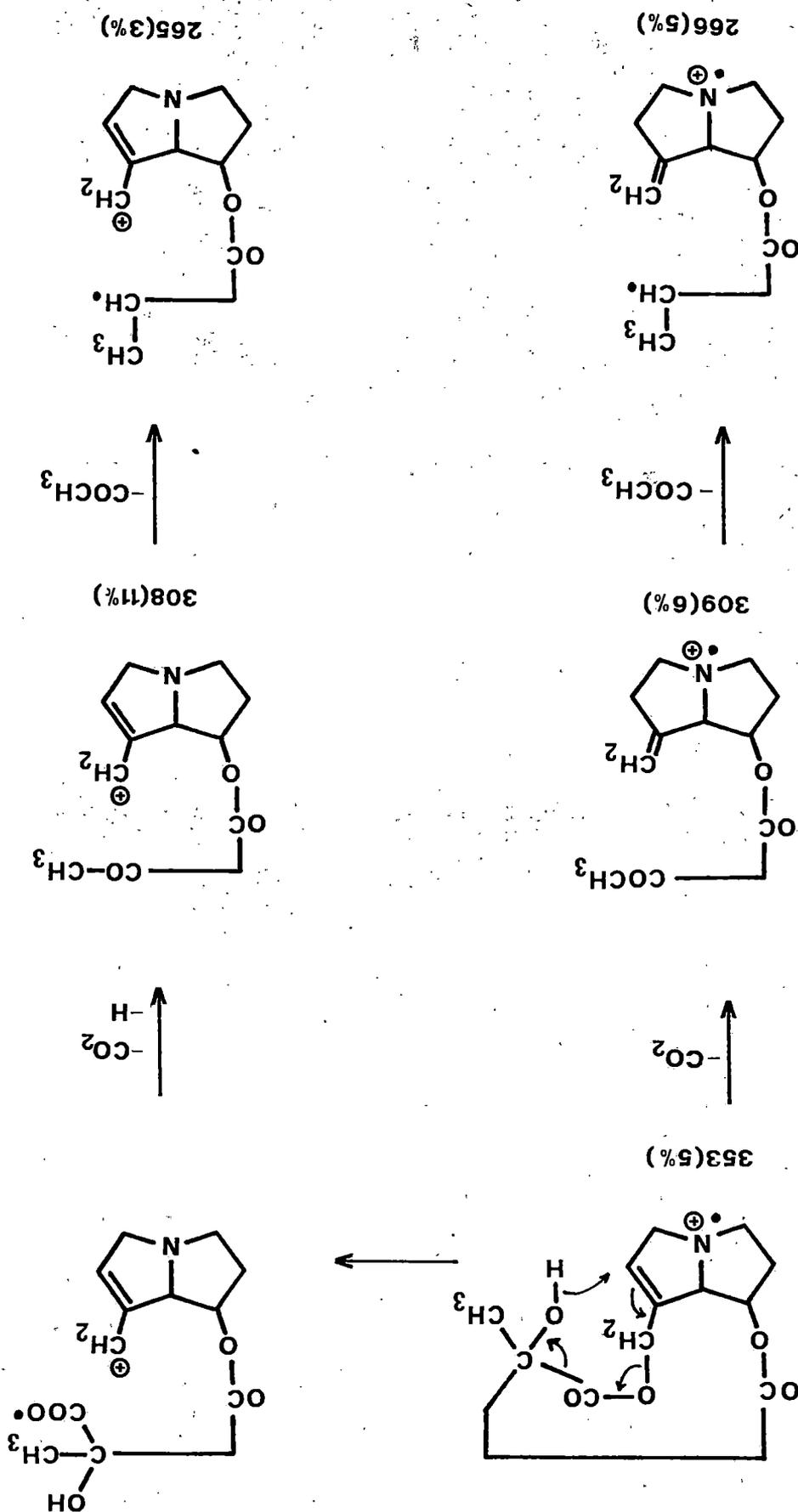
III



IV

Fig. 1

Fig. 2



PARTE EXPERIMENTAL

Extracción de los alcaloides

El Senecio petasitis fue recolectado en los Naranjeros, isla de Tenerife en el mes de Diciembre de 1972.

10'5 kg. de parte aérea, seca, fueron extraídos en un soxhlet con etanol hasta agotamiento. El extracto etanólico fue concentrado a presión reducida. El concentrado se sometió a arrastre en corriente de vapor con el fin de separar los aceites esenciales. La porción no arrastrada en la corriente de vapor se redujo de volumen a vacío. El extracto acuoso así obtenido se aciduló con ClH del 5% hasta pH = 2. El precipitado formado se separó por filtración y la solución ácida se extrajo con Cl₃CH.

El extracto clorofórmico (no despreciado porque puede contener alcaloides en forma de clorhidratos) se lavó con solución saturada de SO₄Na₂ y secó sobre SO₄Na₂ anhidro.

La solución clorhídrica, se neutralizó hasta pH = 7 con CO₃HNa y se alcalinizó posteriormente con CO₃Na₂, se filtró y extrajo con Cl₃CH. La capa orgánica se lavó y secó de la forma ya descrita. Por eliminación de disolvente a vacío se obtiene una masa resinosa de alcaloides (16'19 grs).

Rendimiento de alcaloide en la planta 0'15%.

Aislamiento de los alcaloides

La mezcla resinosa de alcaloides (16'19 gr.) se separó mediante extracción con cloroformo a diferentes pH = (4, 5, 6, 6'5, 7, 8 y 9) de su solución acuosa.

El extracto bruto de alcaloides se disolvió en agua (400 ml.) y ClH del 10% (100 ml.). Dicha solución se llevó a pH = 4 neutralizando con CO_3HNa y se extrajo con cloroformo (100 ml. cada vez, hasta que un ensayo con reactivo Dragendorff recientemente preparado dió negativo). La solución clorofórmica se lavó con una solución de SO_4Na_2 y secó sobre SO_4Na_2 anhidro. Se prosiguió la extracción a los pH indicados. El resultado de las extracciones se comprobó mediante cromatografías de capa fina (silica gel, Cl_3CH ; MeOH 15%).

La fracción a pH = 4 consta de una serie de productos muy poco polares con características de ceras y parafinas (las parafinas dan positivas la reacción de Dragendorff).

El producto obtenido de las fracciones a pH = 5, 6, 6'5 y 7 se purificó en una columna de gel de sílice (600 gr) eluyendo con $\text{Cl}_3\text{CH}/\text{MeOH}$ 5%. Así se obtienen 3'21 gr. de una sustancia única en capa fina (silica-gel, $\text{Cl}_3\text{CH}:\text{MeOH}$; 85:15).

Las fracciones a pH= 8 y 9 (5'38 gr) se disolvieron en ClH 1% (200 ml.) y se llevó a pH= 6'5-7 extrayéndose con Cl_3CH (50 ml. cada vez, hasta ensayo negativo con reactivo Dragendorff) se siguió la extracción mediante capa fina, obteniéndose así 1'5 gr. más de la sustancia anterior.

La solución clorhídrica residual se alcalinizó hasta pH= 8 y 9 y se extrajo con Cl_3CH hasta agotamiento. Mediante cromatografía de capa fina se observó la existencia de una serie de productos más polares que nuestro alcaloide. Posiblemente N-óxidos producidos por oxidación aérea durante la marcha, por lo cual

se procedió a efectuar su reducción.

La reducción se efectuó con SO_4H_2 3N (70 ml.) y cinc en polvo en exceso a temperatura ambiente, con agitación, durante una hora y media. La cromatografía en capa fina indicó la existencia de un solo producto, cuyo R_f se identifica con nuestro alcaloide. Se neutralizó y se extrajo el alcaloide con éter sulfúrico. Operando de la manera usual se obtiene 1'25 gr. más de sustancia.

El alcaloide así obtenido cristalizó de éter de petróleo- Cl_2CH_2 punto de fusión 169-170°C. Cristalizando de C_6H_6 -éter de petróleo fundió a 106-109°C, se recrystalizó y secó a vacío dando el mismo punto de fusión. Mediante R.M.N. se comprobó que ambos productos eran los mismos teniendo distintos puntos de fusión porque ocluía C_6H_6 al cristalizar.

$$[\alpha]_D = -34'8 \text{ (c, } 0'27 \text{ gr/100 ml., } \text{Cl}_3\text{CH)}.$$

I.R. \bigvee $\text{BrK}_{\text{máx.}}$: 3500 cm^{-1} (OH), 1710 cm^{-1} (éster), 1050 y 1080 cm^{-1} (C-O).

I.R. \bigvee $\text{BrK}_{\text{máx.}}$: 3520 cm^{-1} (OH), 1730 cm^{-1} (éster), 1040 y 1080 cm^{-1} (C-O).

U.V. (c, 1 mg/ml., etanol) no presenta absorción por encima de 220 nm.

R.M.N. (c, 25 mg/0'3 ml, Cl_3CD , TMS referencia interna) se aprecian señales a los siguientes valores de δ : 0'8 (3H, t, $J=6$ Hz) CH_3CH_2 , 1'18 (3H, d, $J=6$ Hz) $\text{CH}_3\text{-CH}$, 1'20 (3H, s) metilo angular, 2'3 (2H, $W_{\frac{1}{2}}=10$ Hz), 4'32 (H, $W_{\frac{1}{2}}=8$ Hz), 6'15 (H,

d, $J = 1'3$ Hz) y $3'33$ (2H, s) (OH) intercambiable con D_2O .

E.M. M^+ (353, 8%), $M^+ - 44$ (30, 6%), $M^+ - 45$ (308, 11%), $M^+ - 87$ (266, 5%), como picos más característicos.

Análisis

Calculado para un $C_{18}H_{27}NO_6$: C, 61'17%; H, 7'70%; N, 3'96%.

Hallado: C, 61'52%; H, 7'90%; N, 4'025%.

HIDROLISIS DEL ALCALOIDE

a) hidrólisis básica.

b) hidrólisis ácida.

a) Hidrólisis básica.

El alcaloide (113 mg) fue tratado a reflujo en metanol acuoso (21 ml. de metanol, 9 ml. de agua) CO_3Na_2 (exceso) durante una hora y media. La hidrólisis se siguió por cromatografía en capa fina hasta la total conversión. La mezcla de la reacción se llevó a sequedad, a vacío, extrayendo la parte básica con acetato de etilo hasta ensayo negativo con reactivo de Dragendorff recién preparado, se filtró y secó sobre SO_4Na_2 anhidro, operando de la manera usual se obtiene la necina (47'2 mg., rendimiento 81%) de punto de fusión 119-121°C (Cl_2CH_2 -éter sulfúrico), $[\alpha]_D = + 52'5$ (c, 0'20 gr/100 ml., etanol).

I.R. \checkmark BrK máx. : 3300 cm^{-1} (OH), 1050 cm^{-1} (C-O).

R.M.N. (c, 10 mg/0'3 ml., Cl_3CD , TMS como referencia interna) señales a los siguientes valores de δ : 2'04 (2H, m)

$\text{CH}_2\text{-CHOH}$, 2'8 (H, m), 3'17 (H, m), 3'6 (H, m), 3'9 (H, m), 4'4 (3H, m), 5'9 (2H, m), 5'8 (H, d, $J=1'6$) CH=CH .

De la comparación de nuestra necina, con la Retronecina obtenida por nosotros de la hidrólisis del alcaloide Isolina suministrada por el profesor Gordon-Gray (I.R. y punto de fusión mixto) resultó que se trataba de productos idénticos.

El residuo no extraído se diluye en agua y en medio básico se extrae con Cl_3CH para eliminar las impurezas. Se acidificó con ClH y se extrajo con Cl_3CH , operando de manera usual se obtiene un aceite (11'3 mg).

El espectro de R.M.N. se mostró complejo. Creemos que se trata de una mezcla con productos de descarboxilación del hidroxiaído.

b) Hidrólisis ácida.

El alcaloide (450 mg) fué tratado a reflujo con SO_4H_2 3N (25 ml.) durante 6 horas. La marcha de la hidrólisis se siguió por capa fina (silica-gel, $\text{Cl}_3\text{CH}:\text{MeOH}:\text{AcH}$; 60:30:10) hasta la total conversión.

i) Hidroxiáido.

El hidroxiáido se extrajo de la mezcla de reacción con éter sulfúrico en un extractor líquido-líquido, durante 24 horas. Operando de la manera usual se obtiene 265'2 mg, rendimiento 88'5%. P.F. 143-145°C (éter de petróleo-éter sulfúrico). $[\alpha]_D = +25$ (c, 0'192 mg/100 ml., etanol).

I.R. $\int_{\text{máx.}}^{\text{BrK}}$: 3440 cm^{-1} (OH), 1720 cm^{-1} (COOH) y 1050 y

1090 cm^{-1} (C-O).

R.M.N. (c, 31'5 mg/0'3 ml., deuteropiridina, TMS como referencia interna), presenta señales a los siguientes valores de δ : 1'14 (3H, t, J= 6 Hz) $\text{CH}_3\text{-CH}_2$, 1'60 (3H, t, J= 6 Hz), 1'60 (3H, d, J= 6 Hz) CH-CH_3 , 1'83 (3H, s) $\begin{array}{c} \text{OH} \\ \diagup \\ \text{C-CH}_3 \\ \diagdown \\ \text{HOOC} \end{array}$, 2'45 (5H, m), -0'3 (2H, s) desaparece al tratar con D_2O .

De la comparación de nuestro ácido, con el ácido Isoliné - cico, obtenido por nosotros de la hidrólisis ácida del alcaloi - de Isolina suministrada por el profesor Gordon-Gray (I.R., R.M. N., punto de fusión mixto) resultó que se trataba de productos idénticos.

ii) Necina

La solución ácido restante se alcalinizó con CO_3Na_2 hasta pH= 8. Operando de la manera anterior se obtiene Retronecina (46'8 mgr. R= 17'8%) de punto de fusión 119-121°C identificada por comparación con una muestra auténtica (IR, RMN, punto de fusión mixto).

Hidrólisis ácida de la isolina suministrada por Gordon-Gray.

Isolina (122'5 mg) fue tratada a reflujo con SO_4H_2 3N (10 ml.) durante 14 horas. La marcha de la hidrólisis se siguió por capa fina (silica gel $\text{Cl}_3\text{CH-MeOH-AcH}$; 60:30:10) parando la reacción cuando se consumió el producto de partida.

i) Hidroxiácido

El hidroxiácido se extrajo de la mezcla de reacción con

éter sulfúrico en extractor líquido-líquido (durante 24 horas). Operando de la manera usual se obtiene ácido isolinéico (62 mgr., R= 93'6%). Punto de fusión 141-143°C (éter de petróleo-acetona), IR, RMN, véase colección de espectros.

ii) Necina

La solución ácida resultante se alcalinizó con CO_3Na_2 hasta pH= 8, se extrajo con éter sulfúrico. Operando de la manera usual se obtiene retronecina (29'2 mgr., R= 76'8%), punto de fusión 119-121°C (éter sulfúrico- Cl_2CH_2).

Los puntos de fusión están sin corregir y fueron determinados en un aparato Koeffer. Los espectros infrarrojos se realizaron en dos espectrofotómetros, Perkin-Elmer mod. 237 y PYE UNICAM, mod. SP-1100. Los espesores de las células así como los disolventes usuales en cada caso, se indican en la parte experimental. Los espectros de ultravioleta se realizaron en un espectrofotómetro Perkin-Elmer mod. 137, con células de 0'5 mm. de espesor. Se utilizó como disolvente alcohol etílico. Las rotaciones específicas se efectuaron en un polarímetro Perkin-Elmer mod. 141, en disolución de etanol, utilizando células de 1 dm. de longitud.

Los espectros de resonancia magnética nuclear de 90 MHz. se realizaron en un espectrógrafo Perkin-Elmer mod. R-32. Los espectros de masa se efectuaron en un espectrómetro MS-9 de la AEI, en Barcelona y en un espectrómetro 5930 de la HP en nuestro laboratorio.

Los análisis cuantitativos fueron realizados en el laboratorio de Microanálisis del Centro Nacional de Química Orgánica del C.S.I.C.

CONCLUSIONES

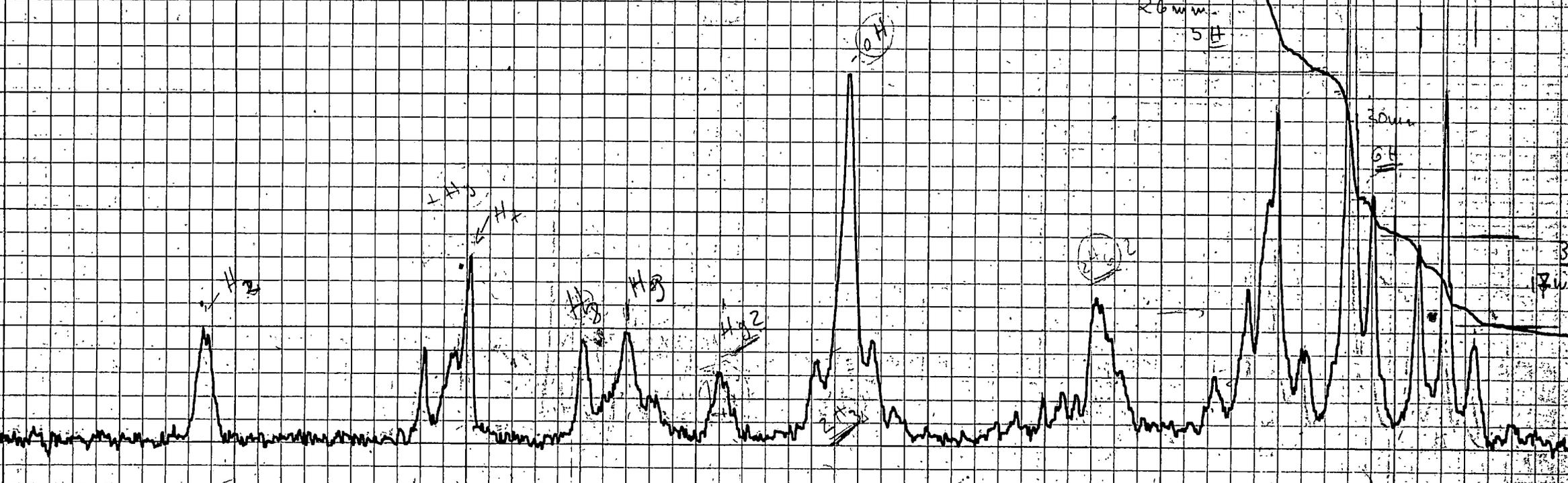
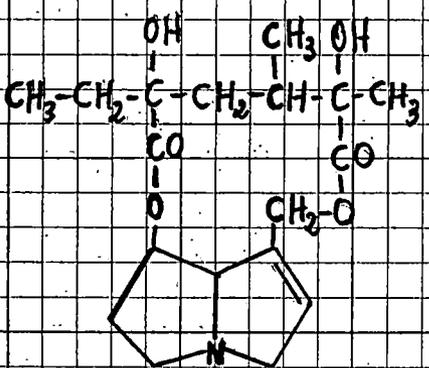
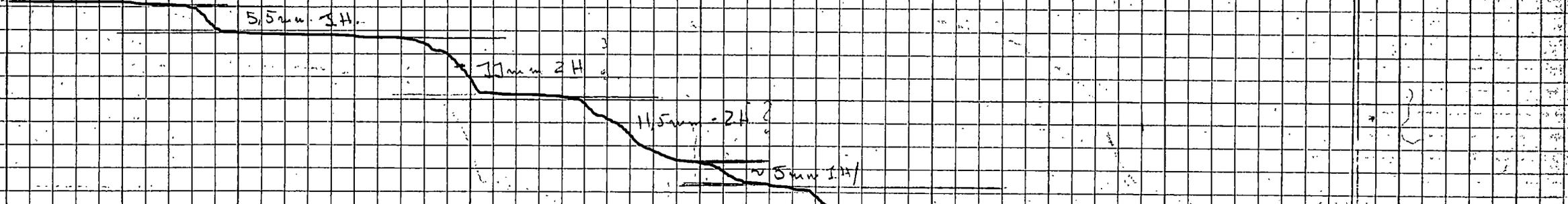
- Del estudio efectuado en el *Senecio petasitis* D.C. perteneciente a la familia Compositae, se puede concluir que dicha planta contiene un alcaloide mayoritario. Hay un segundo grupo de alcaloides, que debido a la pequeña cantidad en que se encuentran, no se pudieron estudiar.
- Se aisla, identifica y determina la estructura y configuración absoluta de Bislina, alcaloide pirrolizidínico; en base a sus datos físicos, espectrales y químicos.
- Por hidrólisis básica se obtuvo la necina, aminoalcohol derivado de la pirrolizidina, que se identifica como retronecina; en base a sus constantes físicas, datos espectrales y comparación directa con una muestra obtenida por hidrólisis de Isolina suministrada por el profesor Gordon-Gray.
- Se estudió el hidroxiaácido que esterifica el aminoalcohol, que se identificó, en base a sus constantes físicas y espectrales, como ácido isolinéico ó (2S,3R,5S)-5-etil-2,5-dihidroxi-2,3-dimetilhexadieno.

BIBLIOGRAFIA

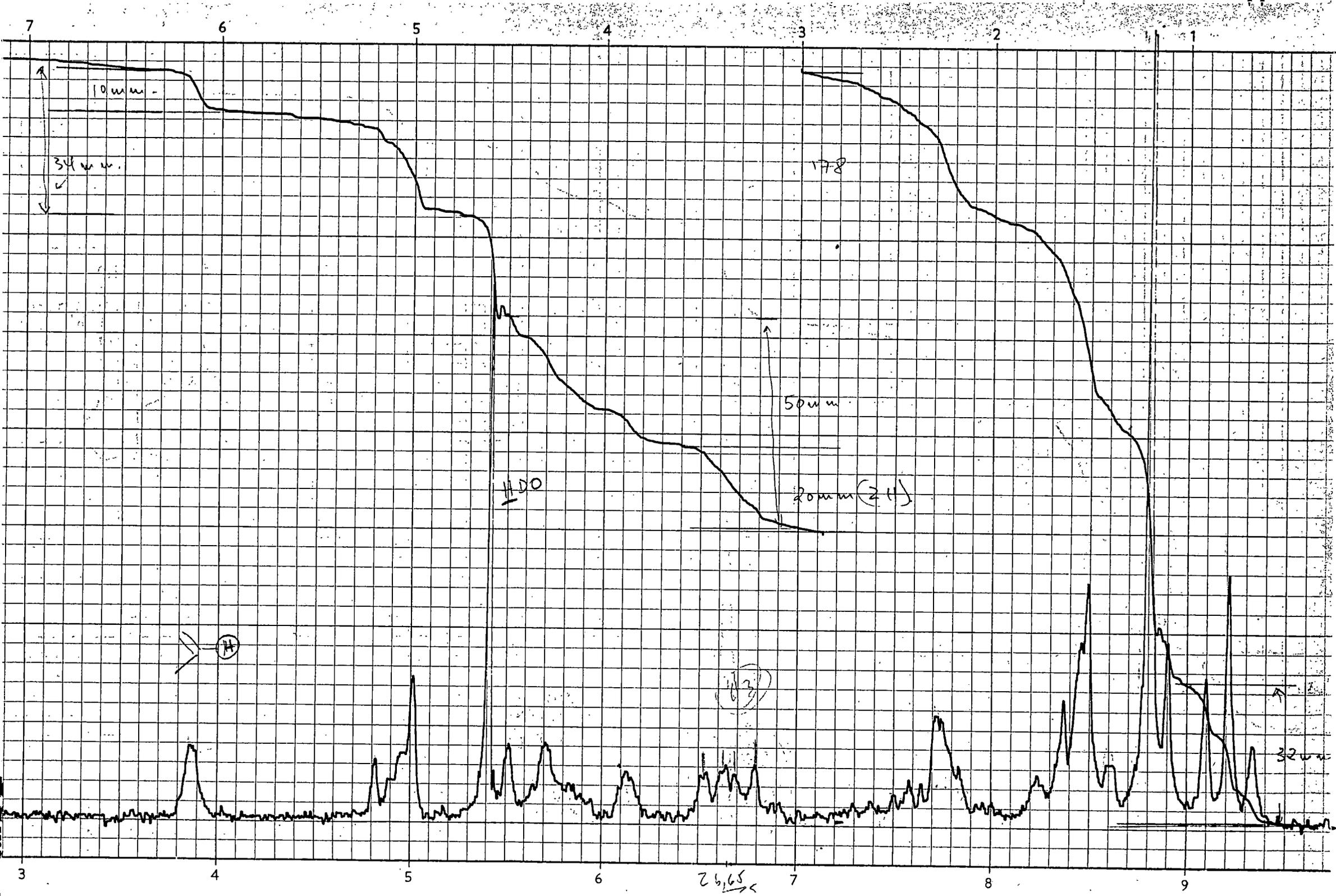
- 1.- Pedersen, E. y Larsen, E.; *Organic Mass Spectrometry*, 4, 249 (1970).
- 2.- Areshkina, L. Ya, *Dokl. Akad. Nauk SSR*, 61, 483 (1948).
V.S. Alekseev, T.G. Bilynga, O.E. Taddykin, A.M. Oleksandrjuk, A.G. Timoshenko, N.N. Maľukha, A.F. Minko, V.S. Sha-beinyk, P.P. Girenko, V.V. Mazenko; *Dokl. Vysshei Shkoli, Bioli. Nauki* 2, 152 (1962); *C.A.*, 57, 10224 (1962).
- 3.- Akramov, S.T., F. Kiyamitdinova y S. Yunusov; *Dokl. Akad. Nauki; Uz., SSR.*, 4, 30 (1961); *C.A.* 60, 16209e (1964).
- 4.- Mens'nikov, G.P. y W. Rubestein; *Ber. Deut. Chem. Ges.*, 68, 2039 (1935).
- 5.- Coucourakis, E.D. y C.G. Gordon-Gray; *J. Chem. Soc. (C)*, 2312 (1970).
- 6.- Leonards, N.J. in "The Alkaloids" (R.H.F. Manske, ed.), Vol. 7, Chapter 3, Academic Press, New York (1960).
- 7.- Bentley, K.W., in "The Alkaloids" part. 2, Chapter 3, 20 (1965).
- 8.- Bottomley, W. y T.A. Geissman; *Phytochemistry*, vol. 3, 357 (1964).
- 9.- Huches, C. y col.; *J. Chem. Soc.*, 4974 (1964).
- 10.- Huches, C. y F.L. Warren; *J. Chem. Soc.*, 34 (1962).
- 11.- Crout, D.G.H., M.H. Benn, H. Imaseki y T.A. Geissman; *Phytochemistry*, vol. 5, 1 (1966).

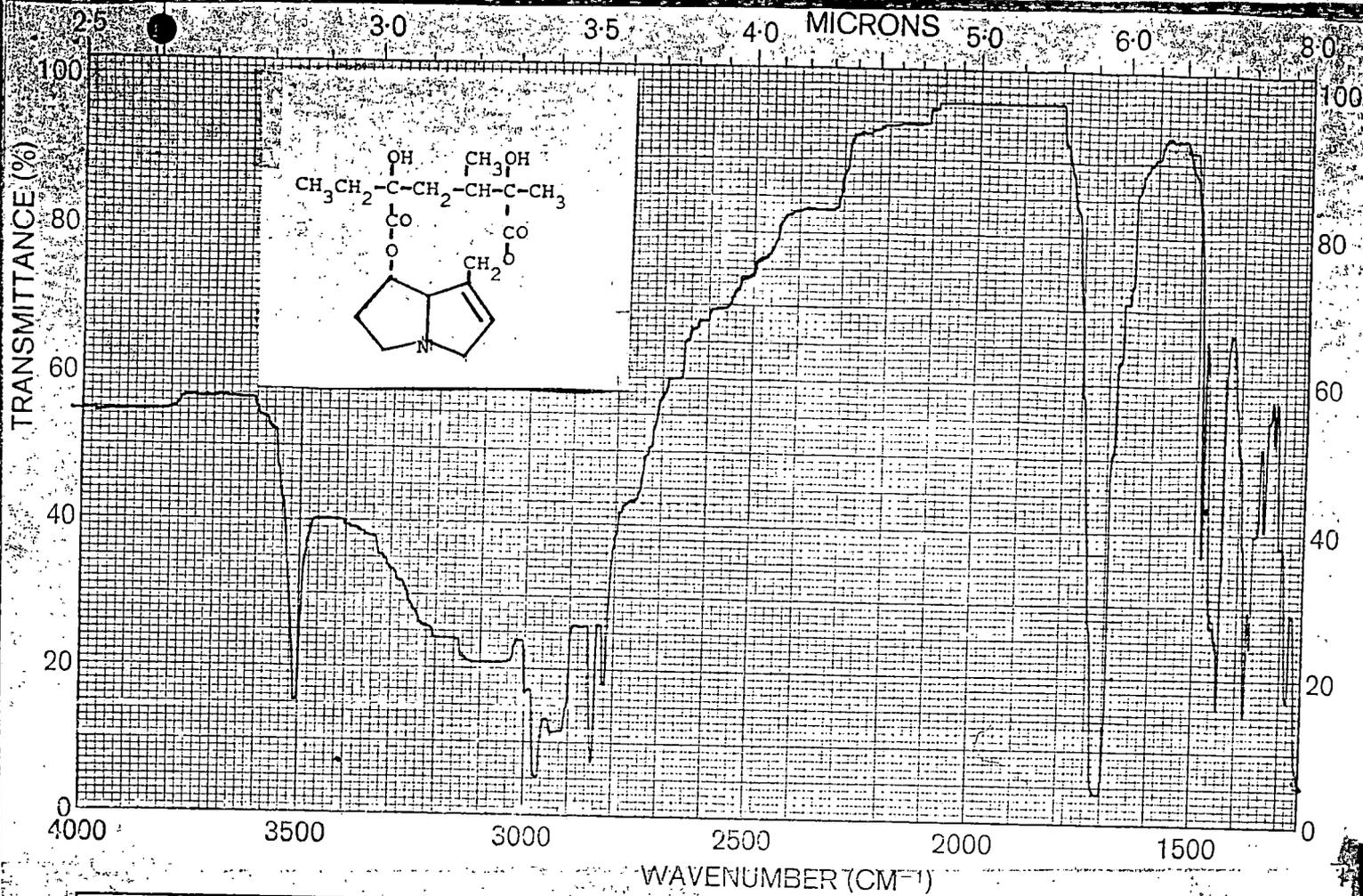
- 12.- Crout, D.G.H., N.M. Davies, E.H. Smith y Whitehouse; Chem. Comm. 635 (1970).
- 13.- Culvenor, C.C.J. y R. dal Bon; Austral. J. Chem., 17, 1296-300 (1964).
- 14.- Culvenor, C.C.J. y W.G. Woods; Austral. J. Chem.; 18, 1625-37 (1965).
- 15.- Gordon-Gray, C.D., E.D. Coucourakis y C.G. Whiteley; J. Chem. Soc., 1, 2339 (1972).
- 16.- Atal, C.K., K.K. Kapur, C.C.J. Culvenor y L.W. Smith; Tetrahedron Letters, 537 (1966).
- 17.- Crout, D.H.G.; J. Chem. Soc (c), 1379 (1966).

7 6 5 4 3 2 1

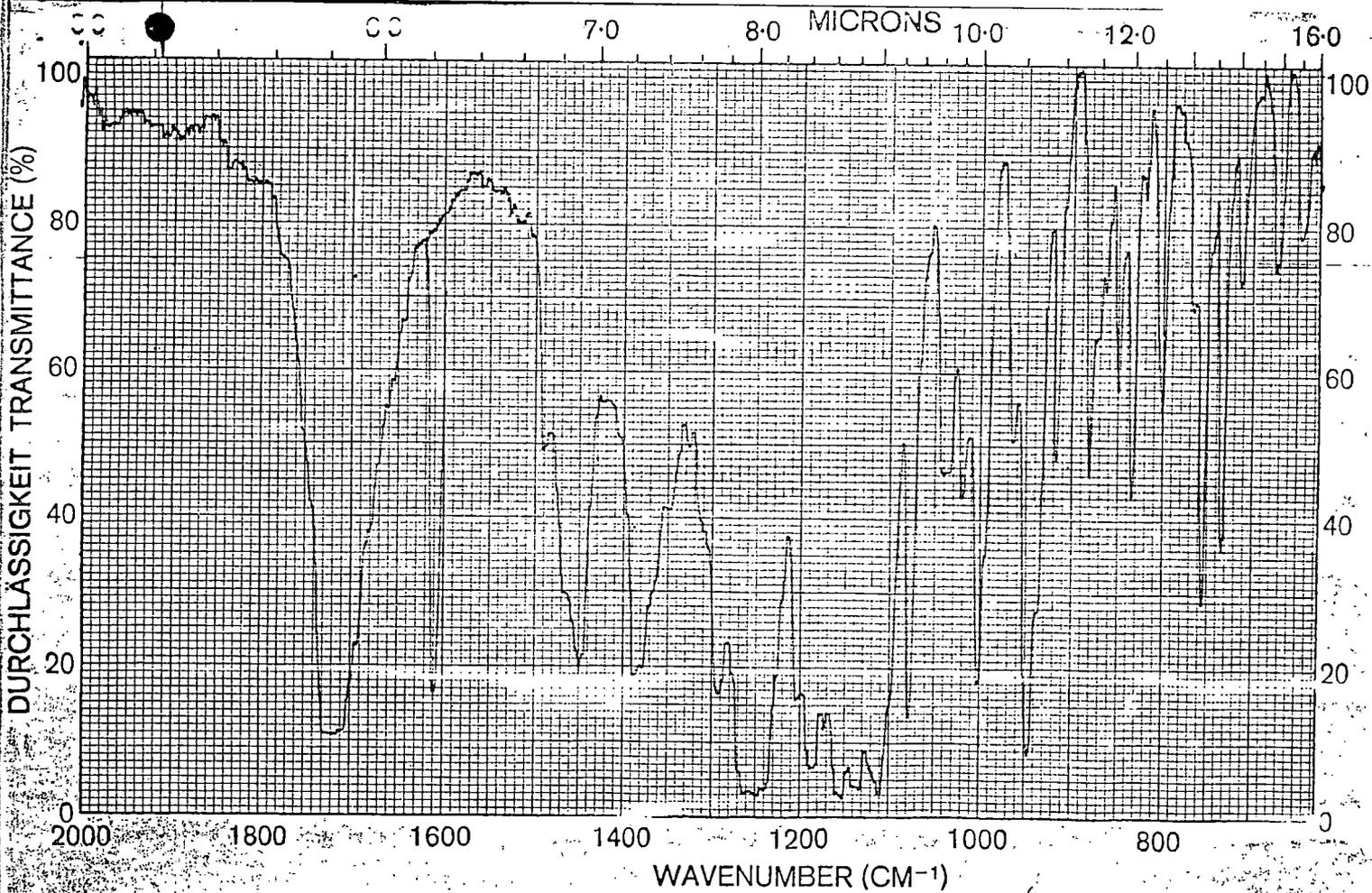


3 6.15 4 5 4.32 6 3.92 3.33 7 2.27 8 1.55 1.12 9 0.80

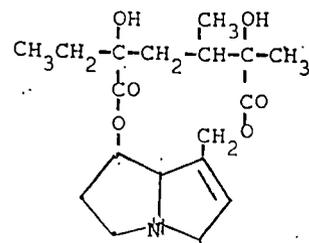


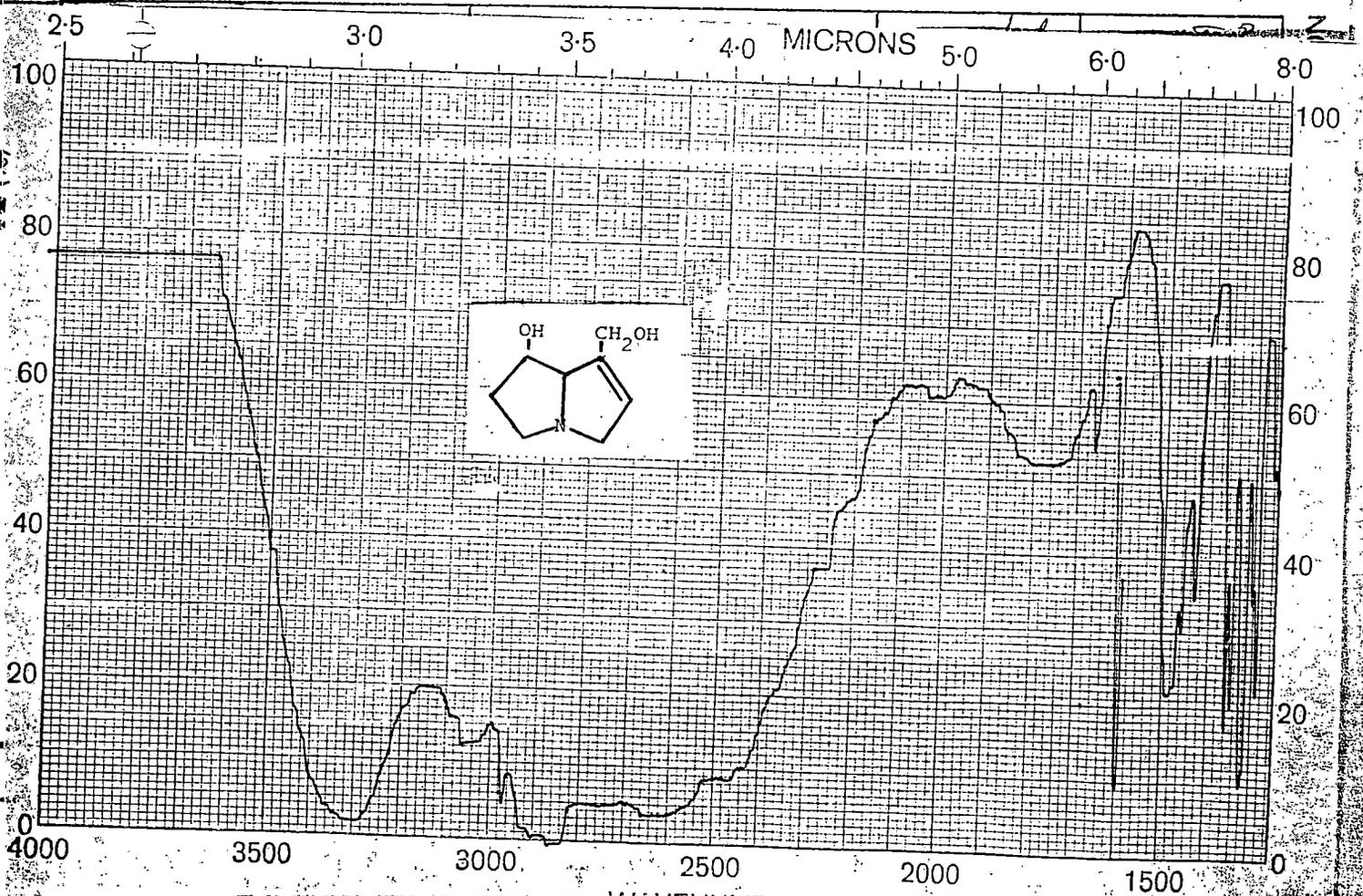
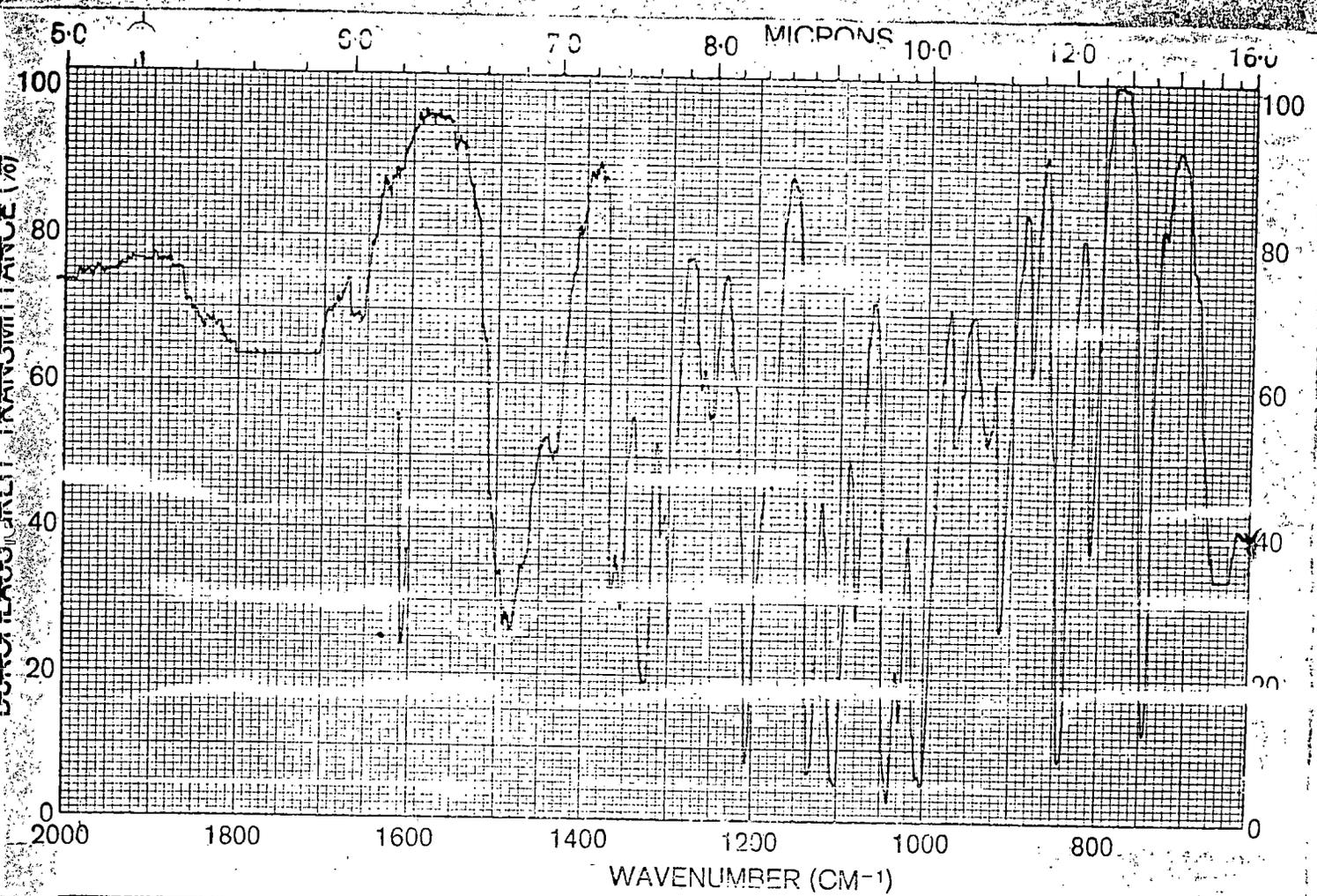


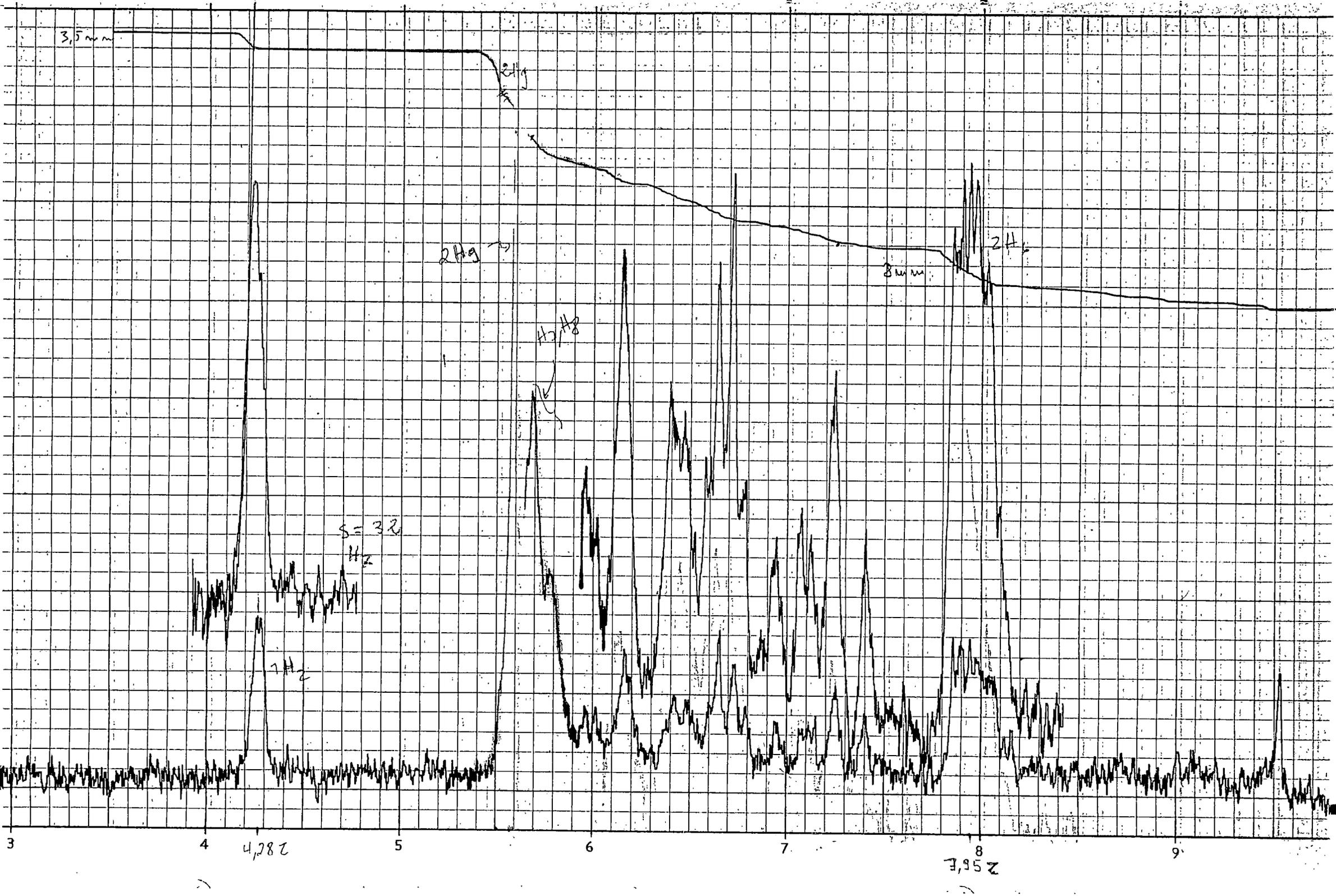
SAMPLE	168-172	CURVE NO.	SCAN SPEED	fast	OPERATOR	Matij R.
ORIGIN	Selicio Petanites	CONC.	SPLIT	25	DATE	12-11-78
SOLVENT	Brk	CELL PATH	REMARKS			
		REFERENCE				

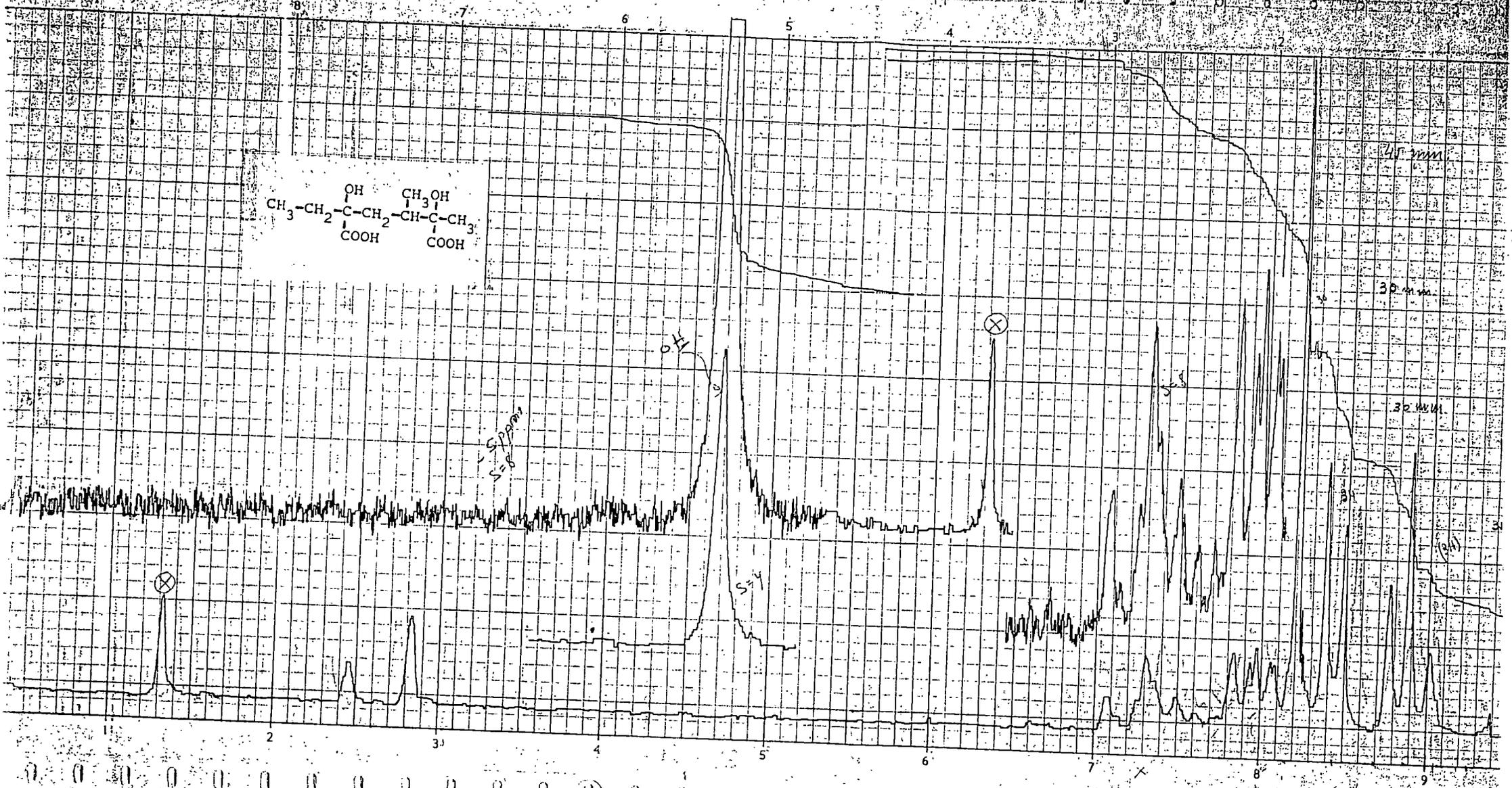
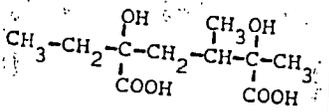


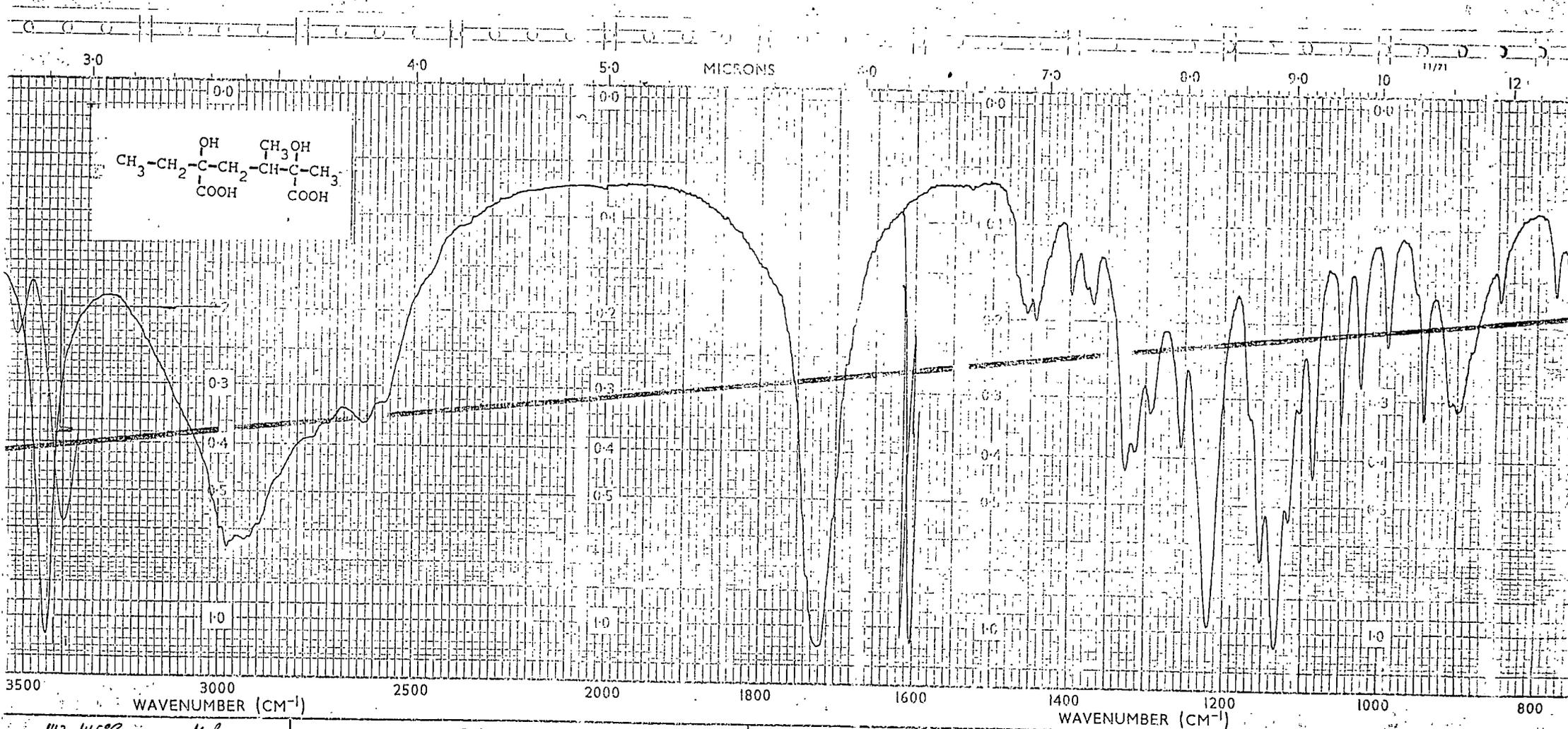
SAMPLE	168-172	CURVE NO.	SCAN SPEED	fast	OPERATOR	Matij R.
--------	---------	-----------	------------	------	----------	----------



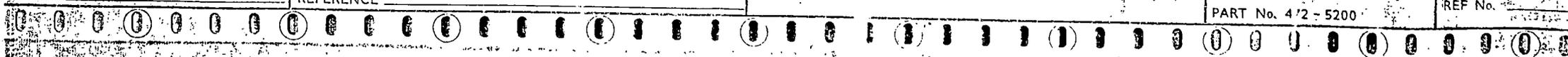








143-145°C <u>M.R.</u>	SOLVENT <u>B.K.</u> CONCENTRATION _____ CELL PATH _____ REFERENCE _____	REMARKS _____ _____ _____	SCAN SPEED <u>Medium</u> SLIT <u>Normal</u> PERKIN - ELMER PART No. 472-5200	OPERATOR <u>Hester</u> DATE <u>28-5-7</u> REF No. _____
--------------------------	--	---------------------------------	---	---



PARTE II

ALCALOIDES DITERPENICOS DEL
DELPHINIUM CARDIOPETALUM DC.

INTRODUCCION

Los alcaloides diterpénicos han sido aislados de varios géneros de las familias Ranunculaceae (*Aconitum*, *Delphinium*), y Garryaceae (*Garrya*), de una especie de las Compuestas (*Inula royleana*) así como de una Rosaceae (*Spiraea Japónica*). Estos compuestos están ampliamente distribuidos en el mundo vegetal y tienen mucho interés por sus propiedades farmacológicas y complejas estructuras. Muchos compuestos son altamente venenosos, la aconitina y pseudoaconitina están entre los productos más tóxicos conocidos por el hombre. Extractos de raíces y hojas de especies *Aconitum* fueron empleadas antiguamente como venenos animales, para tratamientos de enfermedades como neuralgias, hipertensión, gota y reumatismo.

Estos alcaloides son derivados de los diterpenos tetracíclicos o pentacíclicos en los cuales, los átomos de carbono 19 y 20 están unidos con el nitrógeno de una molécula de α -amino-etanol, metilamina y etilamina para formar un anillo heterocíclico.

Los alcaloides diterpénicos pueden dividirse en dos grandes categorías. El primer grupo comprende los ésteres básicos altamente tóxicos (*Aconitina* y *Lycotoxina*) los cuales están bastante sustituidos por grupos metóxilo e hidroxilo.

La hidrólisis de estos ésteres suministra amino alcoholes relativamente no tóxicos (*alcamina*) los cuales poseen un esqueleto hexacíclico de 19 carbonos.

El segundo grupo incluye una serie de *alcaminas* compara-

tivamente simples y relativamente no tóxicas, las cuales poseen un esqueleto pentacíclico de 20 carbonos (Cuadro I). Estos compuestos algunas veces denominados atisinas no están extensamente oxigenados y contienen la mayor parte al menos, un grupo metoxilo.

Uno de los caracteres químicos distinguibles de este grupo es la formación de fenantreno cuando se somete a una deshidrogenación con selenio o con paladio. Algunos compuestos de esta clase se encuentran en las plantas como monoésteres de los ácidos acético o benzoico.

Cuatro tipos diferentes de esqueletos han sido encontrados entre los alcaloides diterpénicos. Estos son los tipos: Veatchina, Atisina, Lycoctonina y Heteratisina. (Fig. 1).

El esqueleto veatchina es el que se encuentra en los alcaloides de la especie *Garrina*, ejemplo: Veatchina, Cuauchichicina y Songorina, incorporan un esqueleto kaurano y obedecen la regla del isopreno.

El esqueleto atisina está construido en un núcleo atisano y difiere del tipo veatchina en que el anillo D es de seis miembros y no de cinco miembros como en este último; y no obedece la regla del isopreno. El esqueleto atisina aparece en alcaloides tales como Atisina, Atidina, Hetisina, Ignavina, y Kobusina. El esqueleto lycoctonina está construido sobre uno de aconano; ejemplo: Aconitina, Lipaconitina, Delfinina, Lycoctonina y Ajacina. Este esqueleto puede derivarse del de atisina por rotura del enlace C-8---C-9, formación de nuevos enlaces entre

C-17 y C-20 y entre C-9 y C-15 y pérdida del grupo metilénico exocíclico C-17.

El esqueleto heteratisina difiere del tipo lycoctonina en que la expansión del anillo C ha ocurrido por inserción de oxígeno para dar una lactona. Todos los alcaloides encontrados hasta el momento en la naturaleza están contruidos sobre cuatro tipos de esqueletos. En ciertos alcaloides están presentes uno o más anillos adicionales, así, la Songorina tiene un enlace entre C-7 y C-20 del esqueleto de la Veatchina y la Kobusina tiene enlaces entre C-14 y C-20 y entre C-6 y el nitrógeno del esqueleto de la atisina. (Fig. 2).

La estructura de los alcaloides diterpénicos (C_{19}), de esqueleto lycoctonina puede ser subdividida en dos tipos generales relacionados.

El primero es del tipo lycoctonina el cual está basado en el alcaloide Lycoctonina, y el segundo es el tipo aconitina basado en el alcaloide del mismo nombre (Cuadro I).

Muchos alcaloides del tipo lycoctonina y aconitina han sido sometidos a análisis cristalográficos por rayos X y su configuración absoluta ha sido establecida de estos estudios. Otros alcaloides de estos dos grupos han sido correlacionados directa o indirectamente.

Hay varios aspectos que son comunes a ambos subgrupos; el más obvio es el ^{de} que poseer un esqueleto hexacíclico, el cual está comprendido de un anillo de siete miembros; tres de seis miembros y dos de cinco miembros.

La denominación de los anillos y el sistema de numeración de los carbonos viene dado en la (Fig. 1).

Hay algunas posiciones donde existe ambigüedad, cuando la configuración de un grupo funcional se refiere como ecuatorial o axial. Esto puede resultar de más de una conformación de un anillo o de aproximadamente 55 grados entre el sustituyente y el plano del anillo. Por lo tanto, es frecuentemente más definitivo referirse a un grupo funcional particular como α o β , donde el primero está definido como cis al puente nitrógeno y el último como trans al mismo.

Todos los esqueletos del tipo lycoctonina y aconitina poseen un nitrógeno terciario sustituido por un grupo metilo o etilo. Además, todos ellos poseen en C-1, en C-8 y en C-14 un oxígeno funcional, estando este último siempre en posición α . Estas sustituciones no podrán prevalecer en todos los futuros alcaloides de este tipo, pero ciertamente ocurrirán en la mayoría de ellos, ofreciendo una clave para la determinación estructural.

La mayor parte de ellos poseen en C-18 un grupo funcional oxígeno. Finalmente, se nota que todos contienen un metoxilo en C-16 en configuración β .

La diferencia más importante entre un esqueleto del tipo aconitina y uno del tipo lycoctonina es que el último, contiene un grupo funcional oxigenado en C-7 mientras que el primero no. La presencia o ausencia de un sistema α -glicol diterciario, como hidroxilo libre o en su forma metilado, es el factor

determinante en la clasificación, así como de mucha de la química de estos compuestos.

La mayoría de los alcaloides del tipo lycoctonina contienen un oxígeno funcional en C-6 β , usualmente metoxilo, y los del tipo aconitina en posición α .

Además, la mayor parte de los alcaloides del tipo lycoctonina que han sido aislados no poseen un sustituyente de cualquier género en C-13. Cuadro II. (1) (2).

Ha sido publicado (3) un método químico interesante para reconocer la configuración de un metoxilo en C-6, que vale la pena considerar (Fig. 3).

El tratamiento de los alcaloides diterpénicos que contienen en C-6 un α -metoxilo, con permanganato potásico neutro en acetona acuosa da como productos predominantes los derivados N-dealquilados. (Fig. 3).

La presencia en algunos de los alcaloides de un hidroxilo en C-3 en el anillo A, no tiene efecto en el curso de la oxidación o en el rendimiento de la base N-dealquilada producida, pero un doble enlace en el anillo A, baja el rendimiento del último.

Por otra parte, un tratamiento similar de los alcaloides que llevan en C-6 un β -metoxilo dió casi exclusivamente el derivado lactámico, excepto en el caso de la Delcosina la cual tiene el C-1 un α -hidroxilo en lugar de un metoxilo.

En este último, el éter carbinolamina fue formado por con-

densación del hidroxilo C-1 con la hidroxilcarbinolamina inicialmente producida y por lo tanto puede ser vista como equivalente a la formación de una lactama, excepto en que la reacción se ha parado a la mitad, por formación de un éter interno estable. (Fig. 4).

Estos resultados pueden ser explicados por el impedimento estérico ofrecido por un α -metoxilo en C-6 y el C-19 metileno previniendo la oxidación del último y por lo tanto, favoreciendo el ataque sobre el grupo etilo. El metoxilo C-6 orientado en β de los alcaloides del tipo lycoctonina, no ofrece interferencias con el metileno C-19, ocurriendo una oxidación normal en esta posición.

Los alcaloides diterpénicos (C_{20}) con esqueleto atisina son bases terciarias que contienen usualmente un metileno exocíclico, un grupo hidroxilo, un metilo, así como un anillo oxazolidínico.

Las posiciones relativas de los grupos hidroxilo y metileno exocíclico fueron determinadas por Dvornik y Edwards. (4).

La evidencia de la existencia de un anillo oxazolidínico en estos compuestos fue establecida de hechos experimentales (5,6).

Una diferencia importante entre los alcaloides con esqueleto atisina y esqueleto veatchina ha sido apreciada de la dehidrogenación con selenio. Mientras que los compuestos con esqueleto veatchina dan 7-etil-1-metilfenantreno y 7-etil-1-metil-3-azafenantreno, los de atisina dan 1-metilfenantreno, 6-etil-

metilfenantreno y 6-etil-metil-3-azafenantreno (7, 8) (Fig. 5).

Especulación biosintética y biogenética.

Los trabajos biosintéticos con alcaloides diterpénicos sólo se han efectuado con carácter preliminar. Frecuentemente en estos trabajos, la incorporación de ácido mevalónico en un producto natural es frecuentemente usado como test, si la sustancia es de origen terpenoide.

Herbert y Kirby (9) encontraron que el 2- ^{14}C mevalonato suministrado al *D. elatum*, a través de un corte entre el tallo y la hoja, no se incorporaba de forma significativa a la Delfelina. Sin embargo, la biosíntesis del alcaloide estaba transcurriendo en la planta en el período de crecimiento, observando un rápido incremento coincidiendo con un vigoroso crecimiento de la planta.

Utilizando la misma técnica de suministro se encontró que el L-(metil- ^{14}C) metionina se incorporó en delfelina (0'025%). La dealkilación con ioduro de hidrógeno reveló actividad en los grupos metoxilos (88%) y N-etilo (11%). Sin embargo la actividad del grupo metilendioxi determinado por hidrólisis a formaldehído, fue muy bajo (5%).

Benn y May (10) inyectaron acetato marcado 1- ^{14}C , 2- ^{14}C y 2- ^{14}C mevalonato a los troncos de *D. brownii* justo antes de florecer.

Comp. sumin.	Total inyectado a 12 plantas.	% incorporación en los alc. no hidrol. hidrol.	
acetato-1 ¹⁴ C	250 μ C	0.007	0.002
acetato-2 ¹⁴ C	100 μ C	0.006	0.003
a. mevalónico ¹⁴ C	50 μ C	0.010	0.006

De los resultados dados en la Tabla puede apreciarse que las incorporaciones fueron pobres y estaban de acuerdo con el modelo esperado de una biosíntesis de terpeno normal. Se encontró que la actividad específica de brownina y lycoctonina pura era la misma en todos los casos consistente con un precursor común.

Benn y May presumen que el primer lugar de la biosíntesis de estos alcaloides en *D. brownii* y *D. elatum* está en la raíz.

Waller y colaboradores (11) usaron el método de inyección directa al tronco con *D. ajacis*. Los precursores glicina-2-¹⁴C y mevalonato-2-¹⁴C fueron inyectados durante la prefloración, floración y postfloración, no encontrando diferencia significativa en el total de alcaloides con respecto a la prefloración, floración y post-floración. La incorporación en delcosina del 2-¹⁴C glicina fue de 0.09% (presumiblemente en el grupo etilo) y de 2-¹⁴C mevalonato en 0'04%.

Se confirmó así, la incorporación de 2-¹⁴C mevalonato en los alcaloides tipo lycoctonina.

En conexión con la biosíntesis de estos alcaloides se ha

de resaltar la conversión de un esqueleto atisina a otro lycoc-tonina por vía química.

Valenta y Wiesner (12) propusieron un esquema biogenético (Fig. 6) por el cual un alcaloide con esqueleto tipo atisina podría reagruparse dando un esqueleto tipo lycoc-tonina o aconi-tina.

~~Los intentos de conversión por solvólisis de derivados de la atisina con sustituyentes en C-15 (las dos configuraciones) dieron productos erróneos (13), (Fig. 7, I-II).~~

Sin embargo se ha encontrado que la pirolisis de un 15^a -tosilato (14) dió con buen resultado la transformación deseada (Fig. 7, III-IV).

Existe, por tanto, una gran probabilidad de que el esqueleto atisina sea un intermedio en la formación del esqueleto lycoc-tonina in vivo.

La mayor controversia biogenética concierne a la etapa en que se formó el puente 7-20.

Se ha postulado (12, 15) una condensación aldólica (Fig. 7, V-VI). Además, se ha sugerido (16) que el puente era la última etapa de la formación del esqueleto, ocurriendo por una ciclación tipo Prins (aconitina) (Fig. 8, VII) o por la ciclación ilustrada en (Fig. 8, VIII). Ambas ciclaciones son posibles en el laboratorio (16, 17).

El aislamiento de Denudatina (Fig. 8, IX) del *D. denudatum* (18) parece apoyar la ruta de la condensación aldólica.

Por otra parte el origen y correlación biogénico de veatchina y atisina fue postulado en una ingeniosa hipótesis por Wenkert (19). Wenkert establece que ambos compuestos se originan de un mismo precursor, primaradieno (Fig. 9, I). La biogénesis del esqueleto veatchina (Fig. 9, II) procedería por protonación del doble enlace 8,14 del intermedio (Fig. 9, III), con posterior transformación a (Fig. 9, IV) que origina el esqueleto atisina (Fig. 9, V).

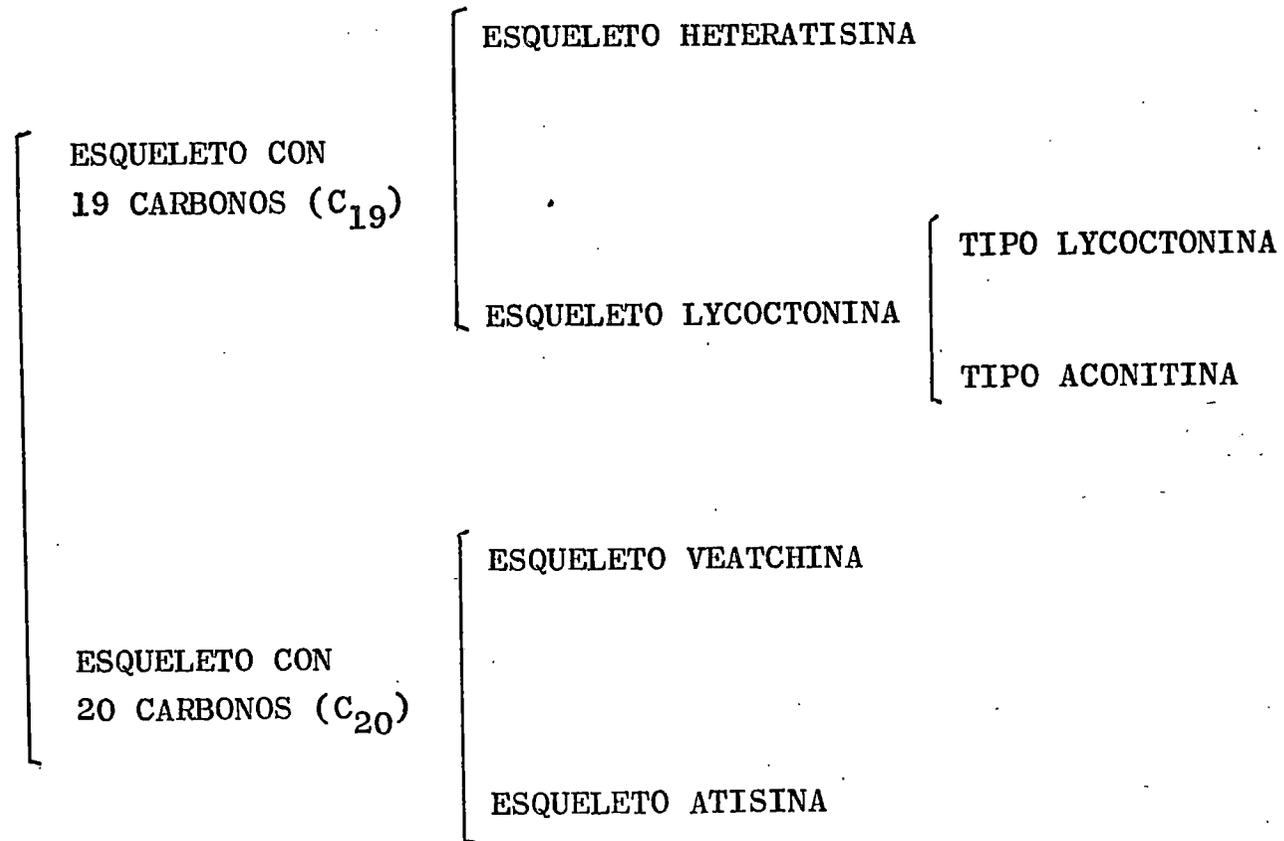
Algunos aspectos farmacológicos

Los alcaloides presentes en las especies de aconitum y delphinium son altamente tóxicos (la dosis letal para el hombre es del orden de 2-5 mg); esta propiedad es ampliamente conocida y la aconitina se usó antiguamente en flechas venenosas. Debido a su gran toxicidad las aconitinas se usan raramente con fines terapéuticos, pero previamente "tintura de aconita" ha sido usada para alivio local de neuralgia y dolor de muelas, y sistemáticamente para la hipertensión, gota y reumatismo.

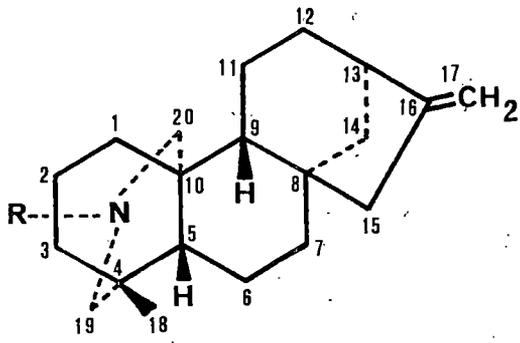
Estos usos están basados en la acción ejercida sobre el sistema nervioso periférico o central. La acción periférica debida a la absorción por la piel o por la mucosa produce primeramente una intensa y característica sensación de subido ^{de} oídos y calor, y por último anestesia de los nervios sensoriales.

Centralmente, la aconitina y los alcaloides relacionados estimulan los centros medulares vagales y causan descenso del ritmo cardíaco y bajan la presión arterial (20).

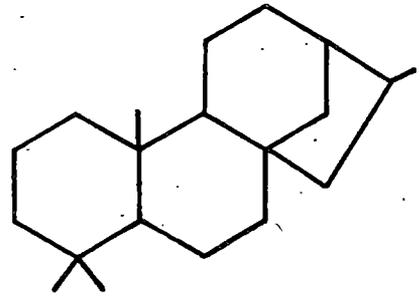
ALCALOIDES DITERPENICOS



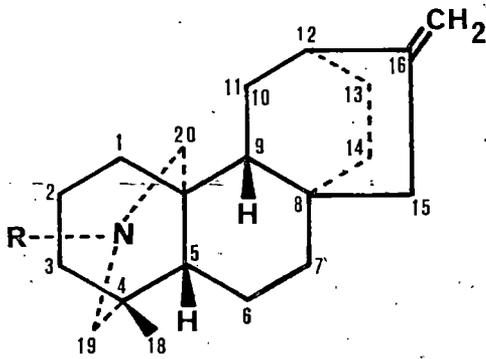
CUADRO I



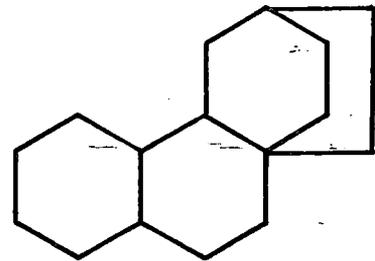
ESQUELETO VEATCHINA(C-20)



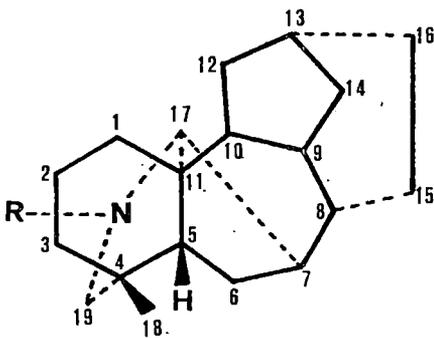
KAURANO



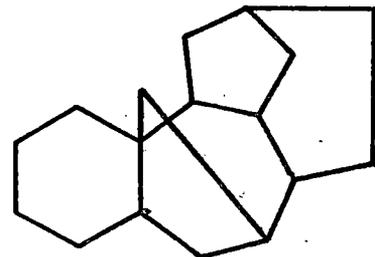
ESQUELETO ATISINA C-20



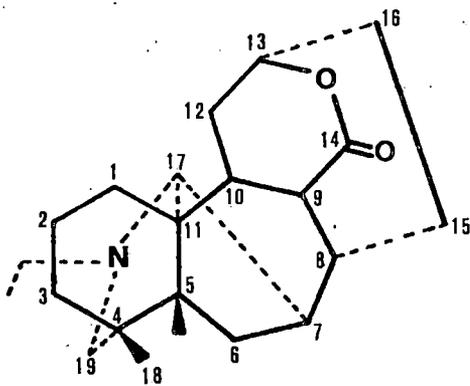
ATISANO



ESQUELETO LYCOCTONINA(C-19)



ACONANO



ESQUELETO HETERATISINA(C-19)

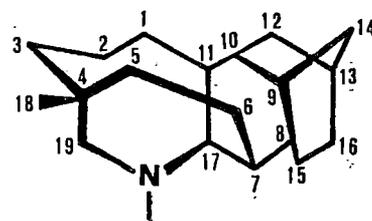
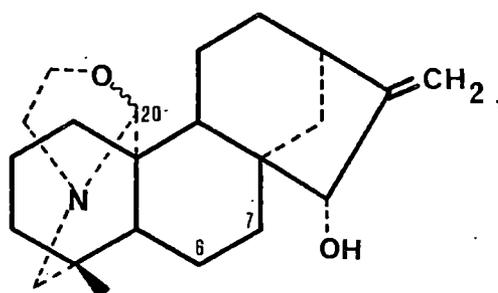
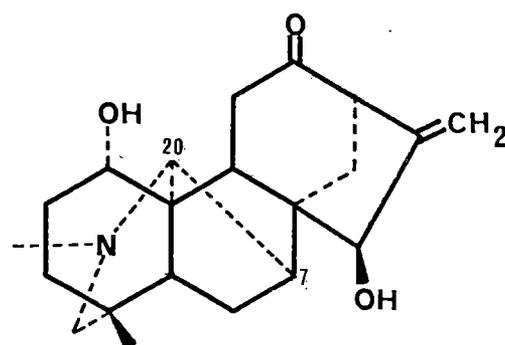


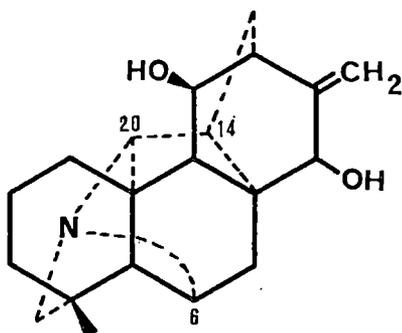
Fig. 1



Veatchina



Songorina



Kobusina

Fig. 2

TIPO LYCOCTONINA



Nitrógeno terciario portando un grupo metilo o etilo.

Oxígeno funcional en C-1, C-8 y C-14 α

Metoxilo en C-16, β .

TIPO ACONITINA



Sistema α -glicólico C-7--C-8 libre o metilado.

La mayoría contiene un oxígeno funcional en C-6, β ; usualmente metoxilo.

La mayoría no poseen función en C-13

La mayoría contiene un oxígeno funcional en C-6 α ; usualmente metoxilo.

CUADRO II

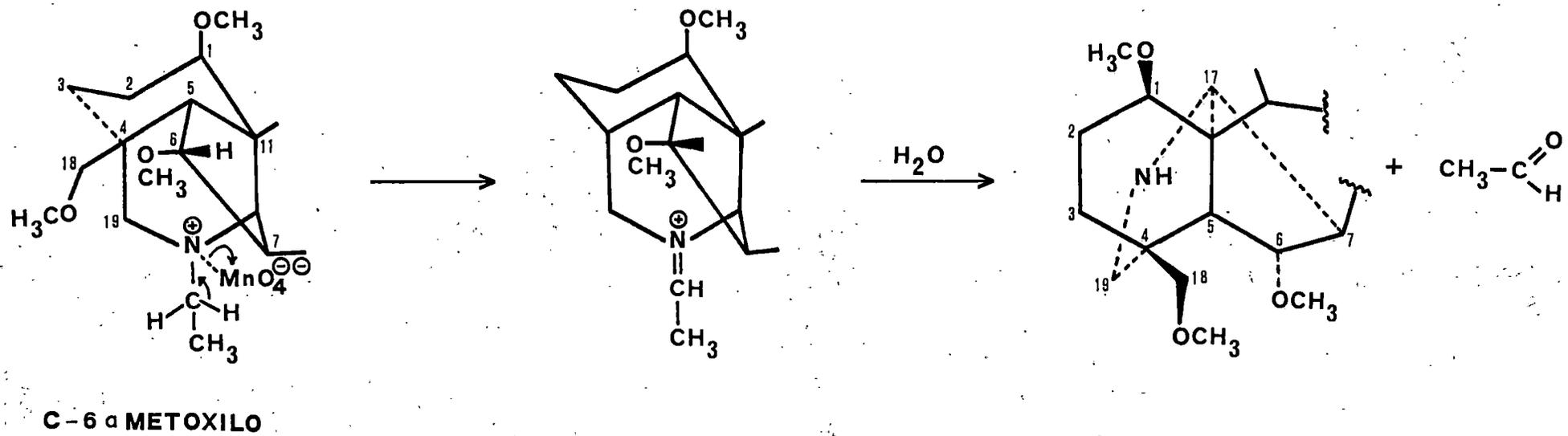
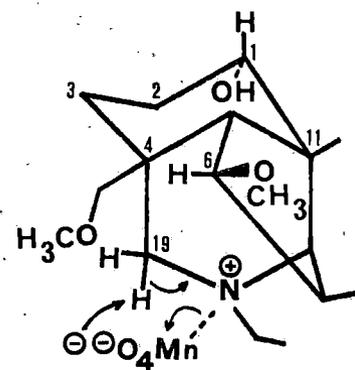
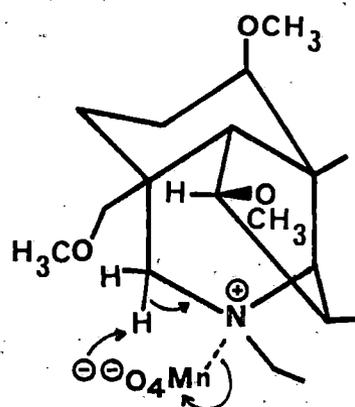
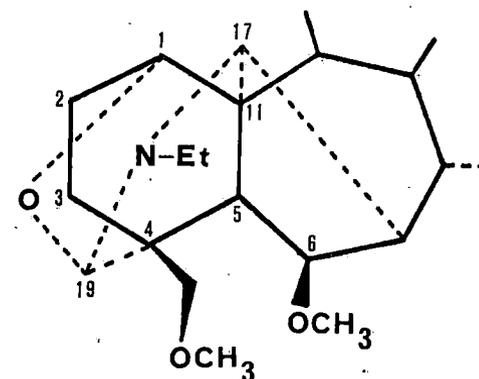
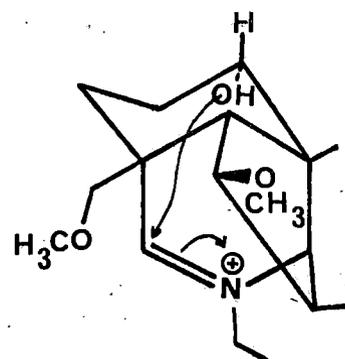


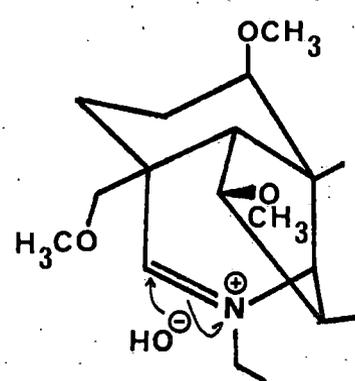
Fig. 3.



C-6 β METOXILO CON C-1 α OH



C-6 β METOXILO



1) H₂O
2) Oxi.

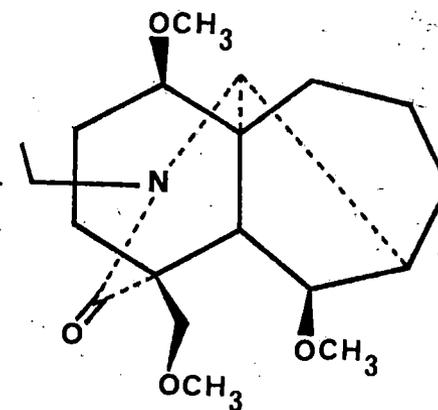


Fig. 4

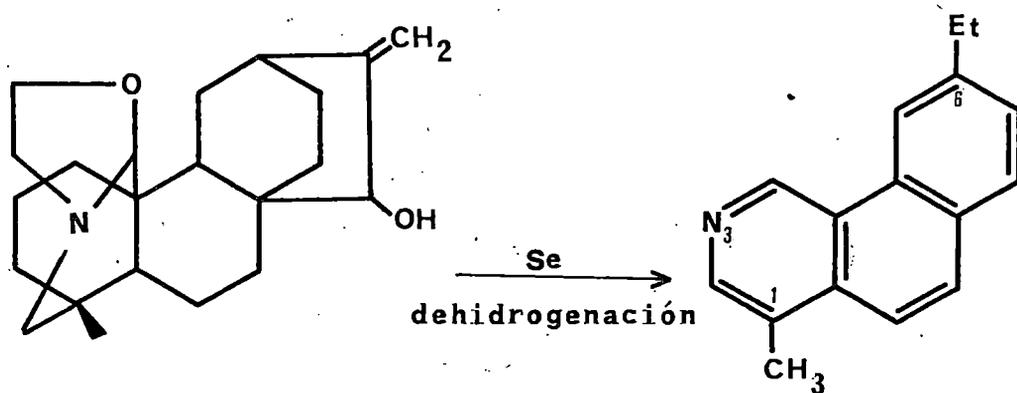
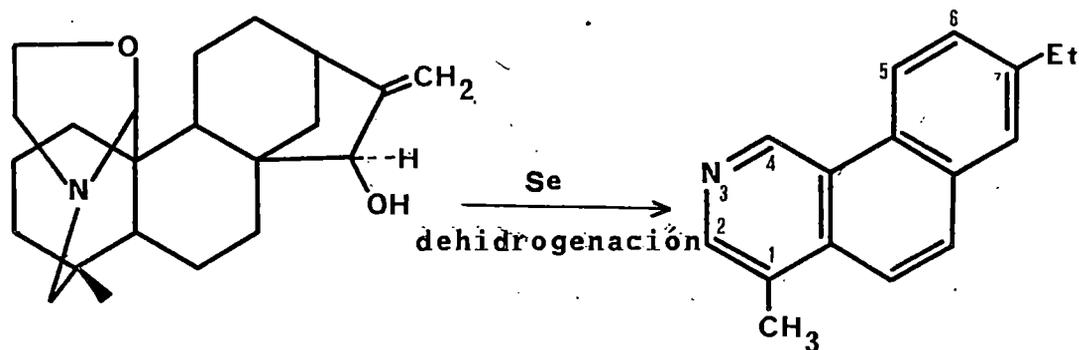
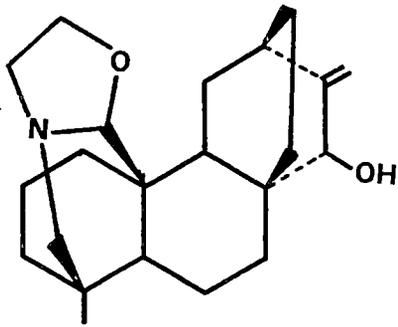
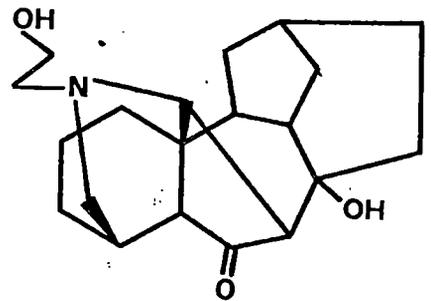
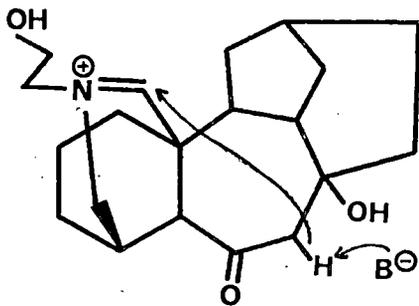
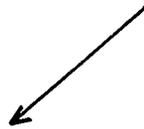
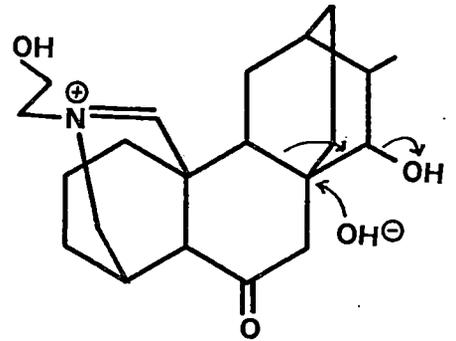


Fig. 5



Tipo atisina



Tipo aconitina

Fig. 6

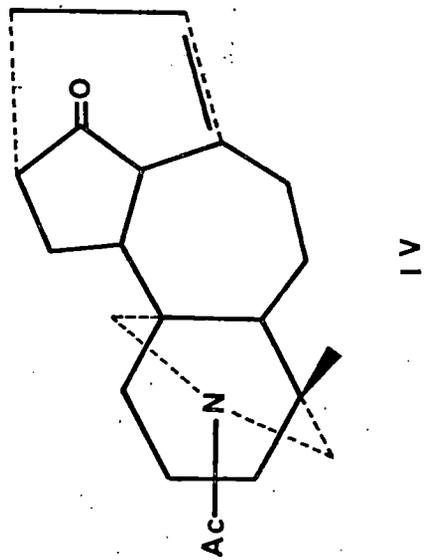
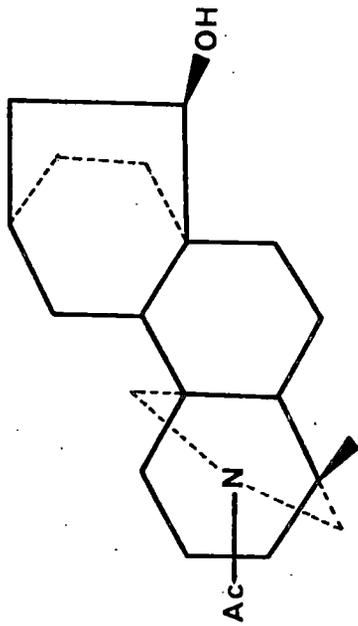
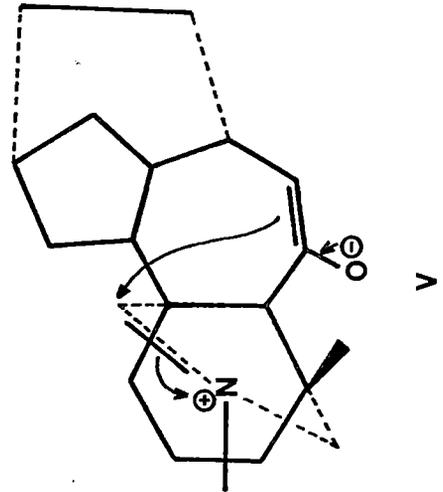
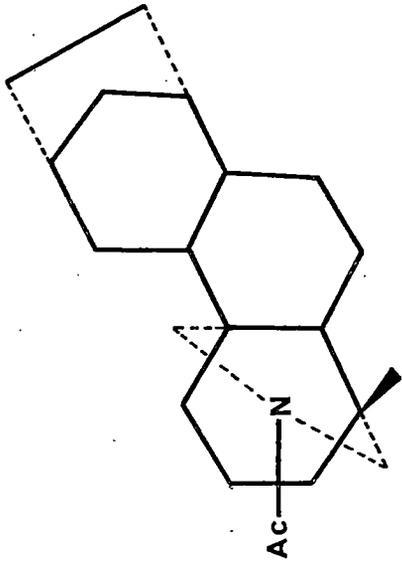
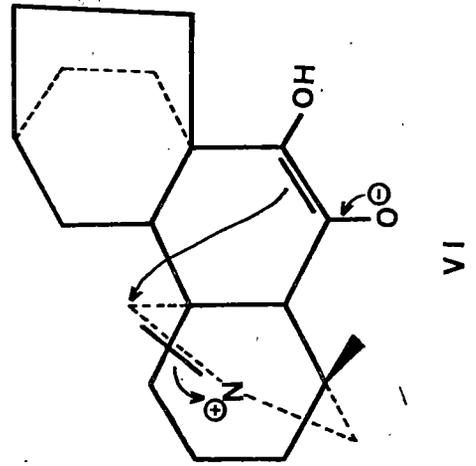
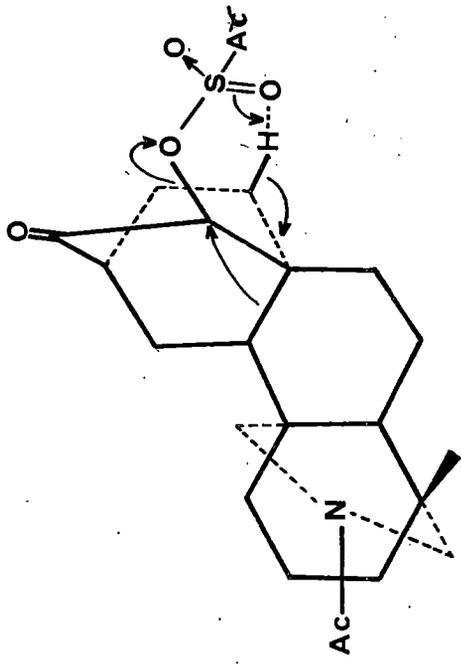


Fig.- 3

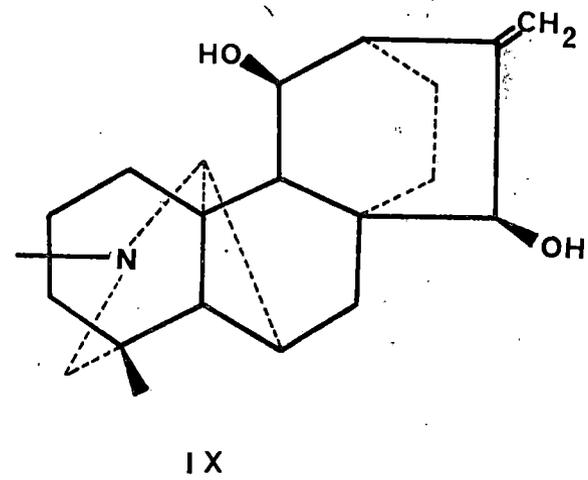
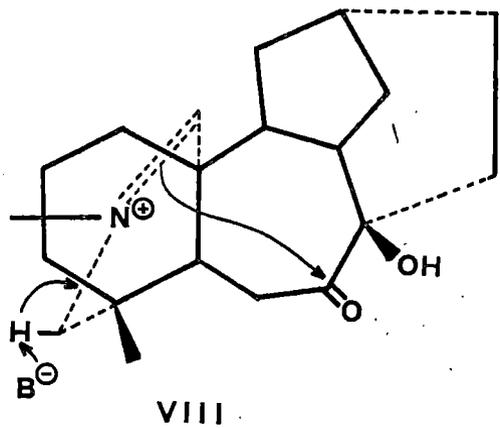
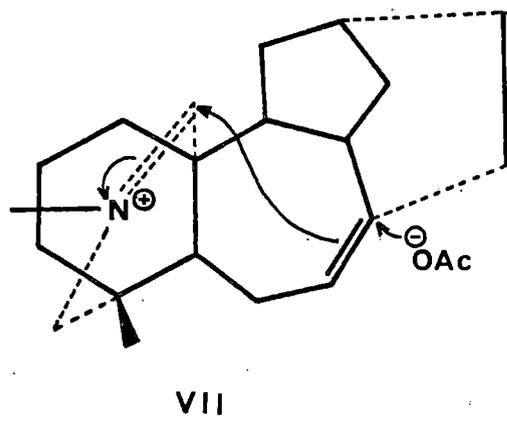


Fig. 8

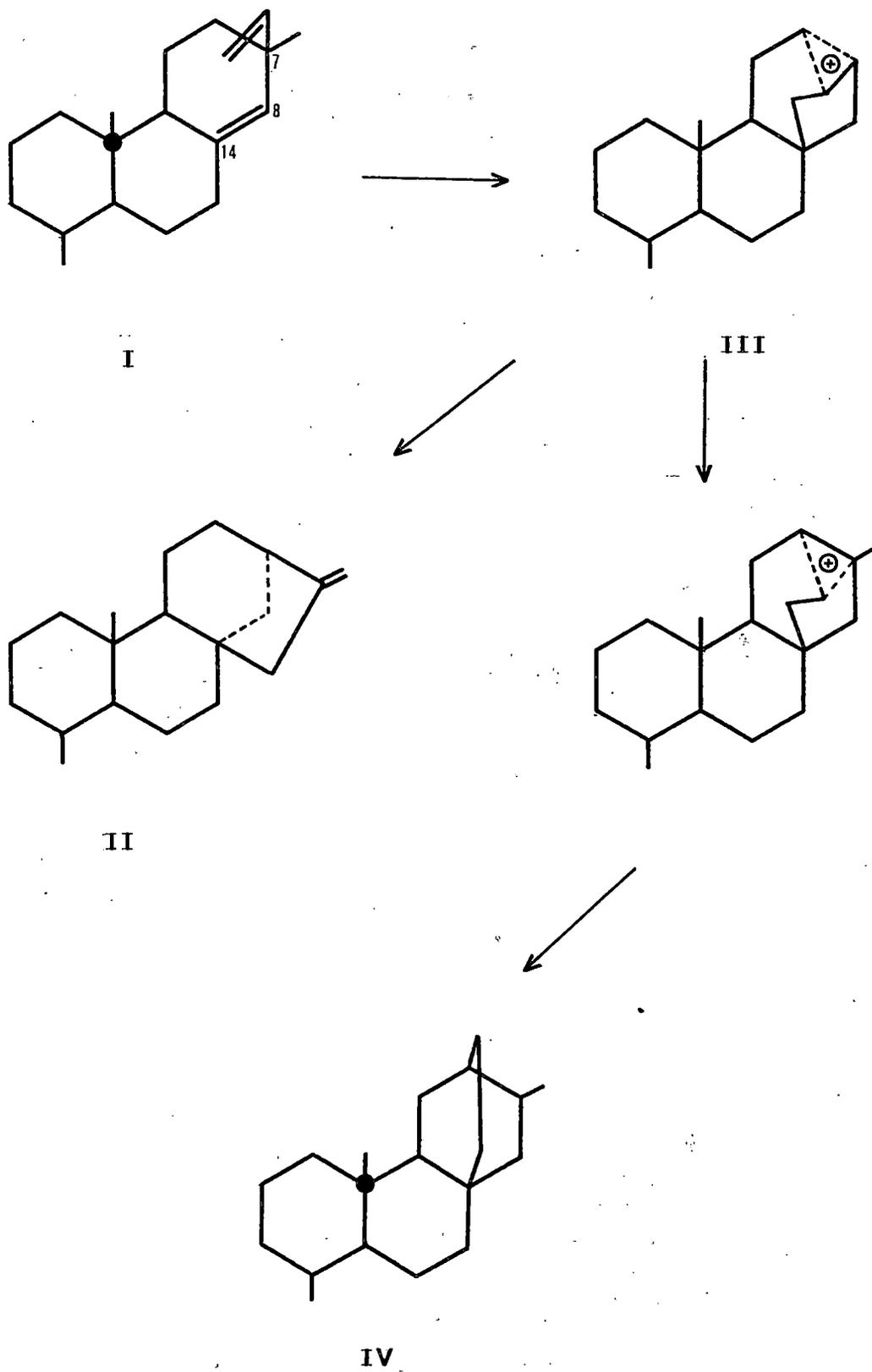


Fig. 9

PARTE TEORICA

ESTRUCTURA DE LA CARDIOPETALINA

Siguiendo el procedimiento descrito en la parte experimental, se aisló un alcaloide diterpénico no descrito en la bibliografía y al que denominamos Cardiopetalina (I), (Fig. 1).

El análisis elemental por combustión y espectroscopía de masas concuerda con un $C_{21}H_{33}NO_3$. P.F. 179-181°C, cristalizado de acetato de etilo $[\alpha]_D = -16$ (etanol, c, 0'22).

El I.R. (BrK) presenta absorciones a $\nu_{\text{máx.}}$: 3520 y 3300 cm^{-1} (OH), 1100 y 1115 cm^{-1} (C-O). No se observan otras frecuencias características de otros grupos funcionales.

El espectro de R.M.N. da señales a δ : 0'88 (3H, singlete) metilo angular $-\overset{|}{\text{C}}-\text{CH}_3$, 1'12 (3H, triplete, $J=7$ Hz) correspondiente a un $\text{N}-\text{CH}_2-\text{CH}_3$, 3'07 (H, s) atribuible al N-C-17H debido a que forman un ángulo dihédrico de 90° , 4'12 (H, dd, $J=4'5$ Hz) señal característica del C-14 β H, α OH, en este tipo de compuesto (21), 3'75 (H, m, $W_{\frac{1}{2}}=6$ Hz) asignable al C-1 β H α OH cuando las conformaciones silla y bote están en equilibrio rápido (21).

Esta señal se transforma en un triplete de constante de acoplamiento $J=3$ Hz, al elevar la temperatura a 55°C . Dicha constante está de acuerdo con la esperada para este protón cuando el anillo A está en la conformación de bote y los ángulos dihédricos son iguales. Así, a alta temperatura la forma bote tiende a predominar. (Fig. 2).

El espectro de masas de la Cardiopetalina (Fig. 3) es característica de este tipo de alcaloides diterpénicos, obtenién-

dose muy pocos iones intensos en la zona de baja masa y fácilmente pierde los sustituyentes periféricos (22a). Presenta picos a M^+ 347; M^+ -15 pérdida de metilo del agrupamiento $N-CH_2-CH_3$; M^+ -17, pico base, característico de la existencia de un $C-1^\alpha OH$ (22c, 22d); M^+ -18 (H_2O) y M^+ -33 (CH_3, H_2O).

Por tratamiento de la Cardiopetalina con anhídrido acético en piridina a temperatura ambiente se obtiene un diacetato (II), en forma de resina, el cual no pudimos cristalizar (M^+ 431).

El I.R. (Cl_3CH) muestra absorciones a $\nu_{\text{máx.}}$: 3560 cm^{-1} correspondiente a un hidroxilo no acetilable, 1725 y 1250 cm^{-1} (acetato).

El espectro de R.M.N. da señales a δ : $2'03$ y $2'10$ (3H, singletes) $2xCH_3COO$, $4'80$ (H, dd, $J=5\text{ Hz}$) característica del $C-14\beta H^\alpha OAc$ y $4'90$ (H, cuadruplete de un sistema ABX de constantes de acoplamiento $J_{AX}=10\text{ Hz}$ y $J_{BX}=6\text{ Hz}$) característica del $C-1\beta H^\alpha OAc$. En este caso el anillo A toma la conformación más estable de silla al desaparecer la interacción por puente de hidrógeno entre el $C-1^\alpha OH$ y el nitrógeno, siendo las constantes de acoplamiento observadas las predecibles atendiendo a los ángulos dihédricos de los protones. Además se observa una señal a $2'30$ intercambiable con D_2O (OH).

El espectro de masas (Fig. 4) presenta un ión a M^+ -59, pico base, correspondiente a la pérdida del $C-1^\alpha OAc$, característica de dicho agrupamiento, como ya hemos mencionado, junto con la pérdida de los sustituyentes periféricos.

La acetilación del diacetato (II) con anhídrido acético en

presencia de cantidades catalíticas de ácido p-toluensulfónico en baño de vapor rindió un triacetato (III), como resina, que no pudimos cristalizar (M^+ 473).

El I.R. (Cl_3CH) muestra absorciones a $\nu_{\text{máx.}}$ 1730 y 1270 cm^{-1} (acetato) y no se observa absorción debida a grupos hidroxilos.

La R.M.N. da señales a δ : 1'94 (3H, s) \underline{CH}_3COO , 2'05 (6H, s) $2x\underline{CH}_3COO$, y 4'80 (2H, m) $2x\underline{CHOAc}$.

El E.M. (Fig. 4) da como iones más característicos: M^+-59 (84%, \underline{CH}_3COO) fragmentación típica del sustituyente C-1 a OAc y a ($M^+-59-60$ (pico base, \underline{CH}_3-COOH) pérdida usual de ácido acético en este tipo de compuestos, cuando existe un grupo acetato β terciario sobre C-8 (22d).

De lo anteriormente expuesto queda establecida la estructura de la Cardiopetalina como (I), alcaloide diterpénico esqueleto lycoctonina tipo aconitina. Este compuesto lo hemos encontrado descrito en la literatura como producto de degradación de la Karakolina, la Dihidroisopiroacetilkarakolina (23). La comparación de ambas sustancias no fue posible debido a que no se nos pudo suministrar la muestra.

Es interesante resaltar que la Cardiopetalina no presenta función oxigenada sobre el C-16, hasta el presente, característica de este tipo de alcaloides (24).

Para corroborar la estructura propuesta para este alcaloide, y ante la gran dificultad de una correlación con un alcaloide de estructura y configuración conocida se envió una mues-

tra para un análisis por rayos X.

ESTRUCTURA DE LA CARDIOPETALIDINA

Tal como se describe en la parte experimental, se aisló un nuevo alcaloide diterpénico, la Cardiopetalidina (IV), (Fig. 5).

La composición elemental de esta sustancia, efectuada por espectroscopía de masas, concuerda con un $C_{21}H_{33}NO_4$. P.F. 223-227°C, cristalizado de acetato de etilo-metanol, $[\alpha]_D = +1.08$ (etanol, $c = 0.18$).

El I.R. (BrK) presenta absorciones a $\nu_{\text{máx.}}$: 3540, 3390 y 3250 cm^{-1} (OH), 1050 y 1110 cm^{-1} (C-O). No se detecta la presencia de otros grupos funcionales en la molécula.

El espectro de R.M.N. da señales a δ : 0.92 (3H, s) correspondiente a un metilo angular $-\overset{|}{\text{C}}-\text{CH}_3$, 1.10 (3H, t, $J = 7$ Hz) asignada al agrupamiento N-CH₂-CH₃; 3.68 (H, m, $W_{1/2} = 6$ Hz) señal típica del C-1 β H α OH; 4.18 (H, dd, $J_1 = J_2 = 4.5$ Hz) característica del C-14 β H α OH (21), 3.08 (H, s) N-C-17 α H-C-7 β OH.

El espectro de masas (Fig. 5), característica de los alcaloides diterpénicos, presenta iones a $M^+ 363$ (27%), $M^+ - 15$ (74%) correspondiente a la pérdida de un grupo metilo del agrupamiento etilamina. La intensidad del pico a $M^+ - 17$ (100%) es indicativo de la existencia de un C-1 α OH en este tipo de compuestos (22).

La acetilación de esta sustancia con anhídrido acético en piridina rindió un diacetato (Fig. 6), como resina, que no pudimos cristalizar.

I.R. (BrK) presenta absorciones a $\nu_{\text{máx.}}$: 3500 cm^{-1} (OH), 1735 y 1250 cm^{-1} (acetato).

Su espectro de R.M.N. da señales a δ : $0'80$ (3H, s) $-\overset{|}{\text{C}}-\text{CH}_3$, $1'10$ (3H, t, $J=7 \text{ Hz}$) $\text{N}-\text{CH}_2-\text{CH}_3$, $2'03$ y $2'10$ (dos singletes, 3H cada uno) $2\text{xCH}_3-\text{COO}$, $4'80$ (H, dd, $J=4'5 \text{ Hz}$) característica del $\text{C}-14 \beta \text{H}^\alpha \text{OCOCH}_3$, y $4'75$ (H, q, $J_{\text{AX}}=10 \text{ Hz}$, $J_{\text{BX}}=6 \text{ Hz}$) típica del $\text{C}-1 \beta \text{H}^\alpha \text{OCOCH}_3$ como ya hemos discutido en el caso de la Cardiotetalina.

El espectro de masas (Fig. 6) da como iones más característico el M^+-59 (388) pico base, correspondiente a la pérdida del sustituyente $\text{C}-1 \alpha \text{OAc}$.

De lo expuesto esta sustancia ha de tratarse de un alcaloi de diterpénico C-19, con un esqueleto hexacíclico, conteniendo un grupo etilamina y cuatro grupos hidroxilo, dos de ellos secundarios el $\text{C}-1 \alpha \text{OH}$ y el $\text{C}-14 \alpha \text{OH}$.

Por consideraciones biogénéticas, los dos grupos hidroxilos restantes deben estar situados en C-7 y C-8, formando el sistema típico, α -glicólico, de los alcaloides diterpénicos con esqueleto lycocotonina tipo lycocotonina.

Por lo tanto, proponemos para este tipo de compuesto la estructura (IV). Una muestra del mismo ha sido enviada a su análisis por rayos X. Desafortunadamente no aislamos suficiente cantidad de producto que nos permitiera aportar más datos que contribuyan a la confirmación de tal estructura.

Es interesante resaltar aquí, que la existencia en la misma planta de dos alcaloides Cardiotetalina y Cardiotetalidina, per-

tenecientes a los tipos aconitina y lycoctonina respectivamente (los dos grandes grupos en que se dividen los alcaloides diterpénicos C-19 esqueleto lycoctonina) no es frecuente en la naturaleza.

Hasta el presente solo se ha citado un caso de la existencia de alcaloides de los tipos mencionados en el *Aconitum ranunculae-folium* (25), de donde se aislaron la Ranaconitina (V) y la Lappaconitina (VI) (Fig. 7).

Por otro lado estas dos bases constituyen el primer ejemplo de alcaloides diterpénicos C-19, esqueleto lycoctonina, que no poseen función oxigenada en C-16 β . Hasta el presente todos los alcaloides de esta familia aislados en la naturaleza poseen dicha función, usualmente metoxilo (89 alcaloides) o hidroxilo, la Cammaconina (26).

Además constituyen los ejemplos de alcaloides menos oxigenados aislados hasta el presente.

En las hipótesis biogénicas (Fig. 8) (12, 15), algunas de cuyas transformaciones han sido efectuadas en el laboratorio con productos modelos (16, 17), las funciones oxigenadas en C-14 (usualmente α OH), C-7 y C-8 (generalmente β OH), provienen de la conversión del esqueleto atisina en el esqueleto lycoctonina. El C-14 α OH de la degradación del doble enlace metilénico, y los C-7, C-8 β OH de la expansión del anillo B de la atisina y/o de la formación del enlace C-20-C-7, etapa de mayor controversia en la biogénesis de estos productos.

Parece pues razonable suponer que la Cardiopetalina sea el precursor biogénico de los alcaloides tipo aconitina que poseen función en C-1 α , C-8 β y C-14 α (hidroxilo, metoxilo, éster); 42 alcaloides de un total de 48 aislados.

Y que, la Cardiopetalidina sea el precursor de los alcaloides tipo lycoctonina que posean función oxigenada en C-1 α , C-7 β , C-8 β y C-14 α (hidroxilo, metoxilo, éster); 11 alcaloides de un total de 44 aislados.

Además, la existencia de tales pares de alcaloides, Lappaconitina, Ranaconitina y Cardiopetalina - Cardiopetalidina, de ambos tipos aislados de la misma planta, sugiere que los alcaloides tipo aconitina sean precursores biogénicos de los del tipo lycoctonina en algunas plantas. Es razonable pensar que en el futuro se aislen tales pares de alcaloides al menos como productos minoritarios.

ESTRUCTURA DE LA 13-ACETILHETISINONA

El análisis elemental de la 13-Acetilhetisinona (VII) (Fig. 9), por combustión y espectroscopía de masas concuerda con un $C_{22}H_{27}NO_4$. P.F. 219-220°C, cristaliza de acetato de etilo, $[\alpha]_D = +17$ (etanol), $c = 0.21$.

I.R. (BrK) presenta absorciones a $\nu_{\text{máx.}}$: 3200 cm^{-1} (OH), 1730 y 1240 cm^{-1} (acetato), 1700 cm^{-1} (cetona hexacíclica), 1650 y 880 cm^{-1} (doble enlace metilénico).

Su espectro de U.V. no contiene absorciones debidas a sistemas conjugados.

El espectro de R.M.N. da señales a δ : 1'14 (3H, s) metilo angular, 2'22 (3H, s) acetato, 4'79 y 4'95 (H, cada uno, sin - glete ancho, $W_{\frac{1}{2}} = 7$ Hz) doble enlace metilénico ($C=CH_2$), 4'28 (H, d, $J = 9$ Hz) CH_{OH} , 5'12 (H, doblete de ramas anchas $W_{\frac{1}{2}} = 8$ Hz, $J = 10$ Hz) $CHOAc$, 2'71 señal que desaparece con D_2O .

El espectro de masas presenta iones a: M^+ 369, $M^+ - 59$ (310, pico base, acetato). Este espectro es característico de los alcaloides diterpénicos, presentando pocos iones a baja masa. Hay que resaltar que el ión molecular es particularmente intenso, 44% a 70 e.v. y 100% a e.v., atribuible a un compuesto policíclico y de gran estabilidad.

La R.M.N. de ^{13}C muestra señales que corresponden a 21 átomos de carbono (5 singletes, 8 dobletes, 6 triplete y 2 cuádrupletes) a ppm: 21'09 (q, $C-CH_3$), 28'70 (q, CH_3-C-O), 73'59 (d, $CH-OH$), 74'44 (d, $CH-OAc$), 106'28 (t, $C=CH_2$), 144'48 (s, $C=CH_2$) 170'30 (s, $O-COCH_3$).

La señal correspondiente al grupo carbonilo cetónico no se observa debido a las condiciones experimentales, anchura espectral 200 ppm.

De acuerdo con el análisis elemental y los grupos presentes en la molécula, esta base ha de poseer un esqueleto heptacíclico de 20 átomos de carbono.

En principio y de acuerdo con criterios biogénéticos, esta sustancia ha de tratarse de un alcaloide diterpénico C-20, tipo atisina, con enlaces adiciones C-20-C-14 y N-C-6, como la Hetisina (27) y Kobusina (28). Conteniendo un grupo cetónico sobre un

anillo de seis miembros, un grupo alcohólico secundario y un grupo acetato, también secundario.

Por hidrogenación sobre Carbono-Paladio al 10% se obtiene el dihidroderivado (VIII) de P.F. 185-189°C, M^+ 371.

I.R. (BrK) $\bigvee_{\text{máx.}}$: 3160 (OH); 1710 (carbonilo), 1730 y 1250 cm^{-1} (acetato). No se observan las frecuencias características del doble enlace metilénico.

El espectro de R.M.N. da señales a δ : 1'03 (H, d, $J=6$ Hz) CH-CH_3 , 1'13 (H, s) metilo angular, 2'20 (3H, s) (acetato). No se observan señales correspondientes a dobles enlaces metilénicos.

Por acetilación de (VII) con anhídrido acético en piridina se obtiene el diacetato (IX), como resina, el cual no pudimos cristalizar. M^+ 411. I.R. (BrK) $\bigvee_{\text{máx.}}$: 1720 y 1230 cm^{-1} (acetato), no dando señales correspondientes a grupos alcohólicos.

En su espectro de R.M.N. aparecen señales a δ : 2'05 y 2'20 (3H, cada una, s) diacetato. No se observa la señal correspondiente al protón α al grupo hidroxilo.

La hidrólisis alcalina de (VII) y de su acetato (IX) conduce al cetodiol (X), de P.F. 267-270°C, M^+ 327. El I.R. y la R.M.N. no da señales pertenecientes a los grupos acetilos.

El compuesto (X) se identificó por comparación de sus espectros I.R. y R.M.N., con la Hetisinona, alcaloide aislado del Delphinium cardinale (27). Por lo tanto, queda determinado el esqueleto como de tipo atisina con los enlaces adicionales C-14-C-20 y C-6-N y las posiciones de las funciones oxigenadas. Res-

tando por localizar el grupo acetilo en C-11 α ó C-13 β .

La oxidación selectiva de la Hetisinona (X), conduce a un dicetoalcohol (X) de P.F. 236-238°C, $[\alpha]_D^{25} = + 83$ (etanol), $M^+ = 325$. El I.R. (BrK) da absorciones a $\nu_{\text{máx.}}$: 3080 y 2700 (OH, asociado), 1705 y 1715 correspondientes a dos cetonas Hexacíclicas, 1640 y 900 cm^{-1} (doble enlace metilénico).

La R.M.N. da señales a δ : 1'14 (H, s) metilo angular, 4'8 y 5'0 (H, cada una, s) doble enlace metilénico y 4'28 (H, doblete de ramas anchas $W_{\frac{1}{2}} = 6$ Hz, $J = 9$ Hz) CHOH . Poniendo de manifiesto la oxidación de un solo grupo hidroxilo.

El U.V. muestra una absorción a $\lambda_{\text{máx.}}$: 304 nm. ($\epsilon = 170$), atribuible por su posición a intensidad a una cetona α , β no saturada.

La estructura dada para este producto de oxidación (XI) está basada principalmente en el hecho de que, en condiciones similares de reacción, un derivado de la Hetisina, la 2-deoxihetisina (XIII), fué oxidada selectivamente a (XIV). (Fig. 10) (29). Es pues razonable suponer que una transformación similar ocurre con Hetisinona (X).

La oxidación de nuestro alcaloide (VII) con el reactivo de Conforth conduce a un dicetoacetato (XII) como resina, que no pudimos cristalizar, $M^+ 367$. El I.R. (BrK) da bandas a $\nu_{\text{máx.}}$: 1740 y 1240 (acetato), 1725 cm^{-1} (cetona hexacíclica).

La RMN muestra señales a δ : 1'14 (3H, s) metilo angular, 2'10 (3H, s) acetato, 4'95 y 5'05 (H, cada una, m) que en prin-

cipio puede ser asignada tanto a un protón en C-13 α H β OAc, como en C-11 β H α OAc, atendiendo a los ángulos dihédricos de los protones acoplados, 90 y 60° aproximadamente, en ambas posiciones. Además, se observa un apantallamiento del grupo acetato de 0'12 ppm. con la introducción del nuevo grupo cetónico, de acuerdo con la posición relativa de dichas funciones.

La posterior hidrólisis alcalina de (XII) conduce al mismo dicetoalcohol (XI), obtenido por oxidación selectiva de la Hetisinona (X). Identidad establecida por sus constantes físicas (punto de fusión, $[\alpha]_D$ y datos espectrales (I.R., R.M.N., U.V., E.M.)).

Por lo tanto, queda establecida la posición de los grupos acetato e hidroxilo en C-11 α OH y C-13 β OAc. Proponiéndose la estructura (VII) para este alcaloide.

En orden a verificar tal estructura, se ha enviado una muestra cristalina para su análisis por rayos X.

ALCALOIDE DE P.F. 267-270°C.

Siguiendo el procedimiento descrito en la parte experimental, se aisló un alcaloide diterpénico (X) (Fig. 10).

El análisis elemental por combustión concuerda con un $C_{20}H_{25}NO_3$. P.F. 267-270°C, cristalizado de acetato de etilometanol. $[\alpha]_D = + 27$ (etanol, $c = 0'11$ mg/100 ml.).

El I.R. (BrK) presenta absorciones a $\nu_{\text{máx.}}$: 3470 y 3330 cm^{-1} (OH), 1700 cm^{-1} (cetona hexacíclica), 1648 y 898 cm^{-1} (doble enlace metilénico), 1070 y 1040 cm^{-1} (C-O).

Su espectro U.V. muestra una absorción débil a $\lambda_{\text{máx.}}$ 291 nm ($\epsilon = 25$).

El espectro de R.M.N. presenta señales a los siguientes valores de δ : 1'15 (3H, s) metilo angular, 4'23 (2H, dobletes de ramas anchas, $W_{\frac{1}{2}} = 6$ Hz, $J = 9$ Hz) 2x CHOH , 4'72 y 4'90 (H, cada una, singlete ancho, $W = 7$ Hz) doble enlace metilénico.

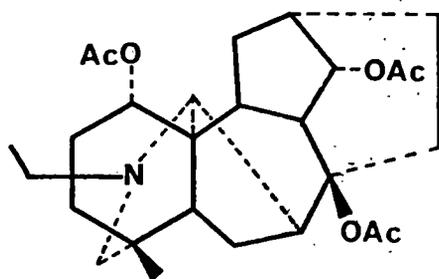
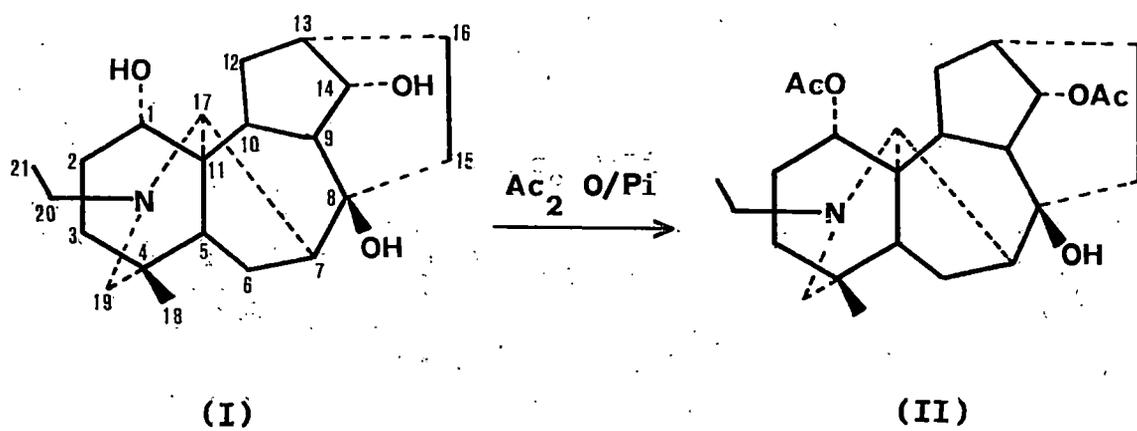
Su espectro de masas presenta picos a : M^+ 327, pico base, característico de compuestos policíclicos y de gran estabilidad, y $M^+ - 17$ (310, pérdida de OH).

Esta sustancia se mostró idéntica a la Hetisinona por comparación de los espectros I.R. y R.M.N. Así como al producto de hidrólisis del alcaloide (VII).

La acetilación y oxidación de esta base conduce a los mismos compuestos (IX) y (XI) respectivamente, obtenidos de manera análoga a partir del producto de hidrólisis de (VII).

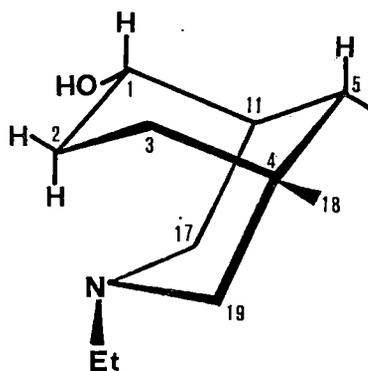
Es interesante notar que no es la primera vez que se aislan alcaloides de los grupos Atisina y Lycoctonina en la misma planta (30).

Parece razonable suponer que los esqueletos lycoctonina y hetisina estén relacionados biosintéticamente, proviniendo de algún precursor diterpénico común, por modificación de la ruta biogénica sugerida para los esqueletos lycoctonina y atisina (Fig. 8).

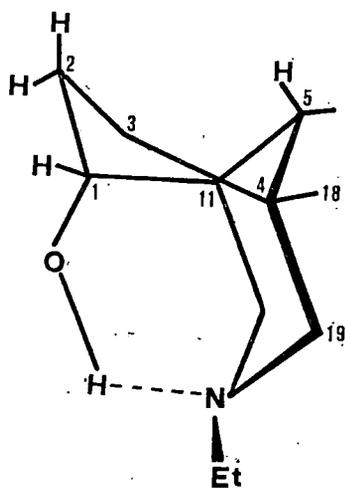


(III)

Fig. 1

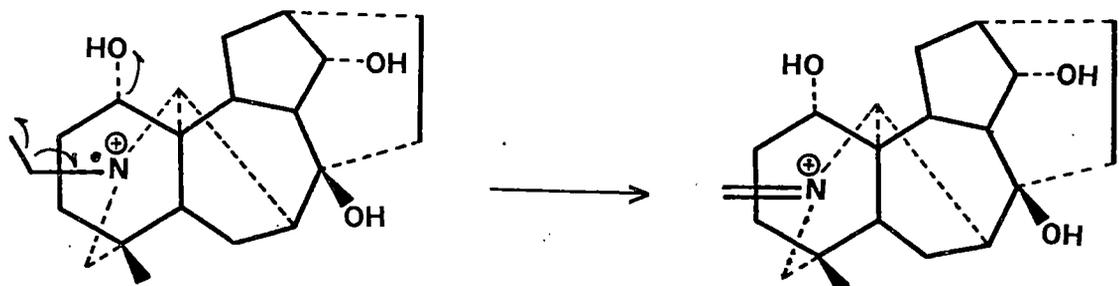


Anillo A silla



Anillo A bote

Fig. 2



(I)

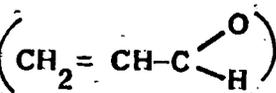
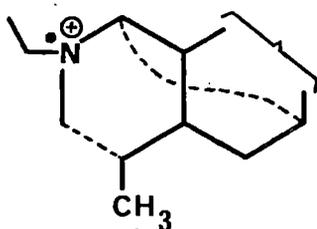
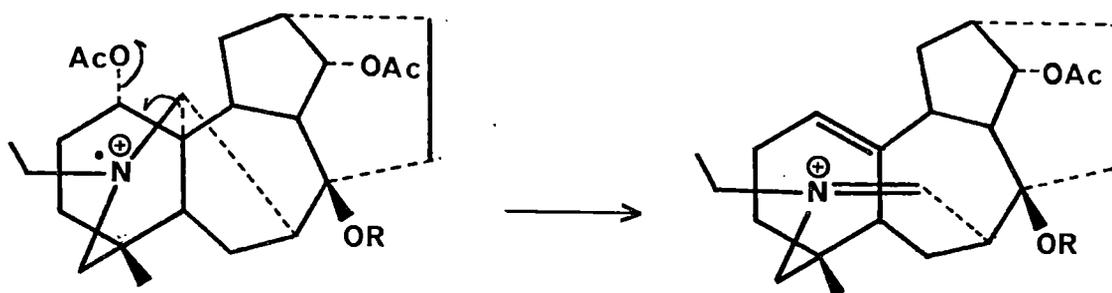
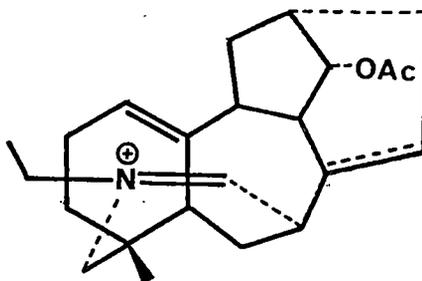
 $M^+ - 347$ (18%) $M^+ - 17$ (330, 100%) $[M^+ - 15] - 18$ (314, 27%) $[M^+ - 15] - 56$ (276, 18%) $M^+ - 56$ (291, 14%)

Fig. 3



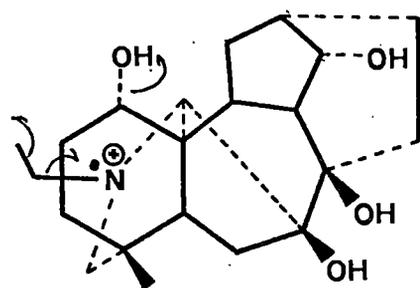
II, R=H, M^+ 431 (10%)
 III, R=OAc, M^+ 473 (2%)

II, M^+ -59 (372, 100%)
 III, M^+ -59 (414, 84%)



II, $[M^+ - 59] - 18$ (354, 5%)
 III, $[M^+ - 59] - 60$ (354, 100%)

Fig. 4



IV

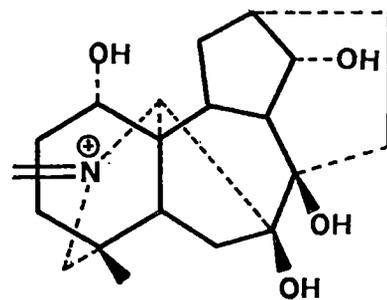
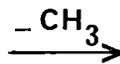
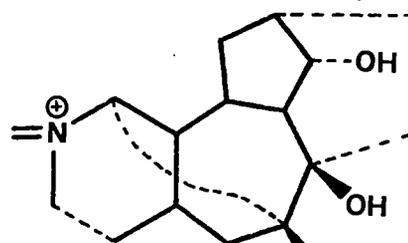
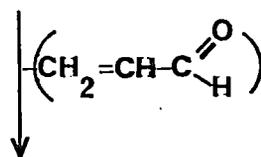
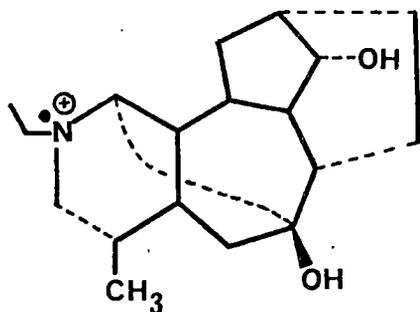
 $M^+ 363$ (27%) $M^+ -15$ (348, 74%) $M^+ -17$ (346, 100%) $M^+ -18$ (345, 7%) $[M^+ -15] -18$ (330, 15%) $[M^+ -15] -56$ (292, 9%) $M^+ -56$ (307, 8%)

Fig. 5

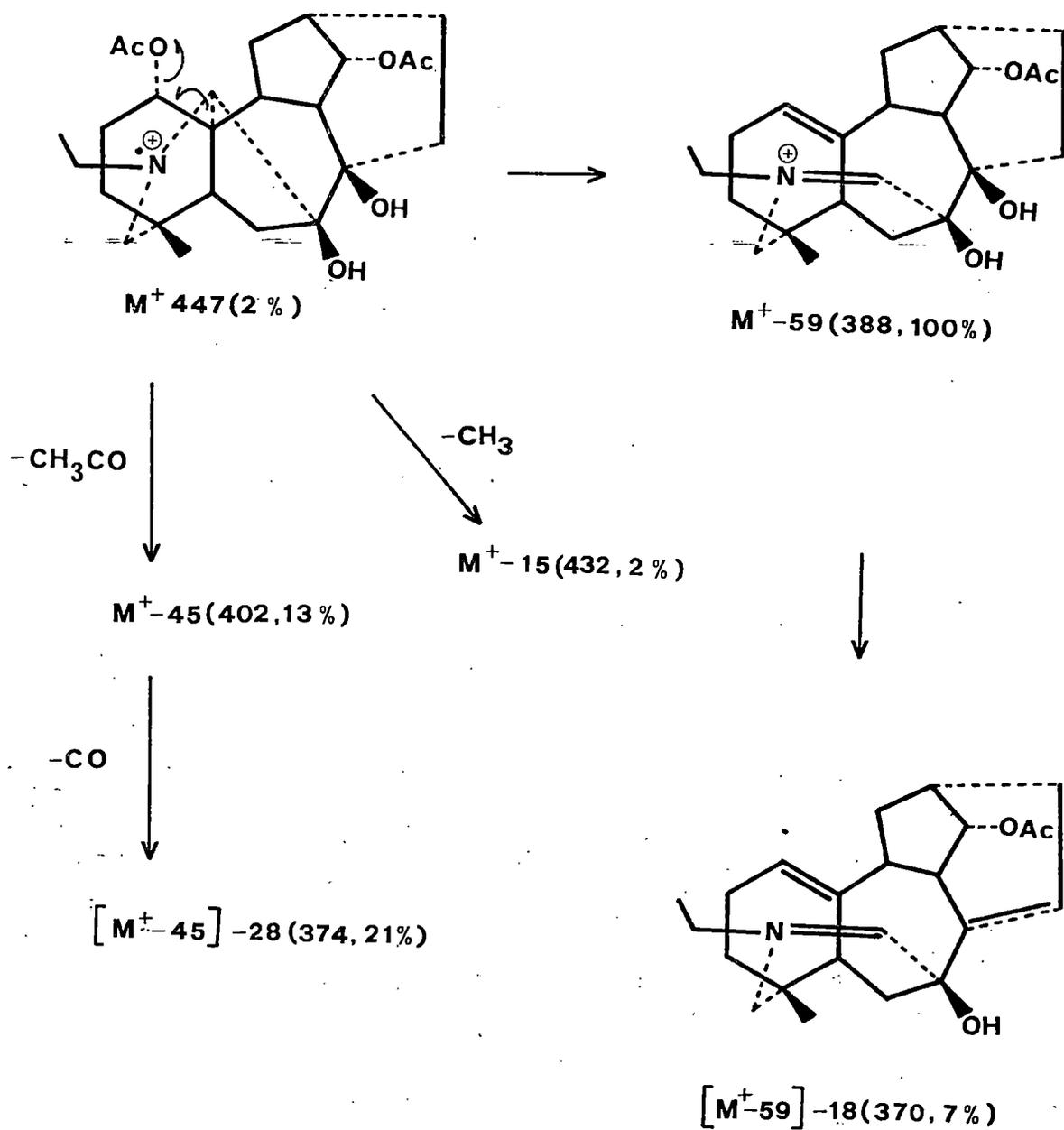
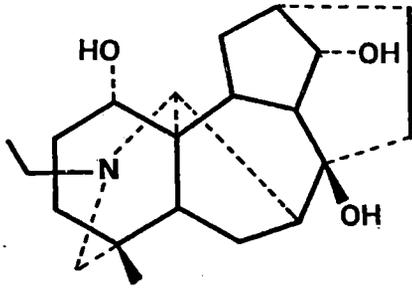
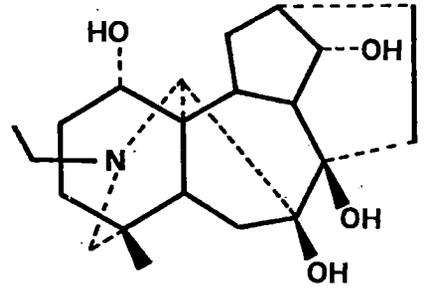


Fig. 6



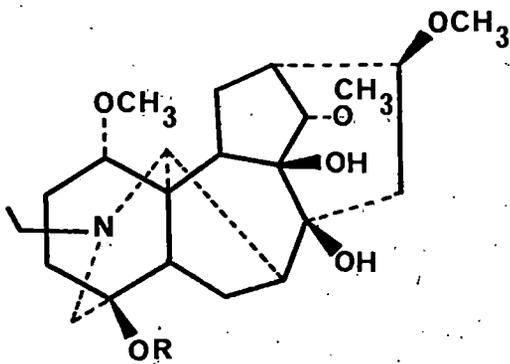
I

Tipo aconitina

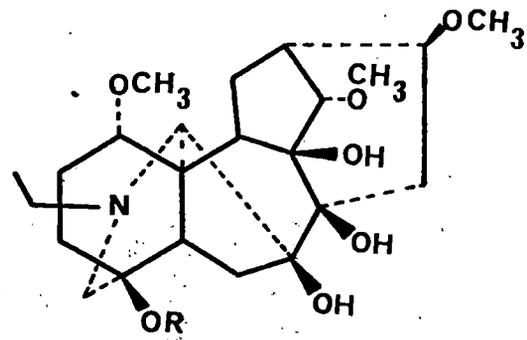


IV

Tipo lycoctonina



VI



V

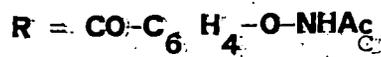
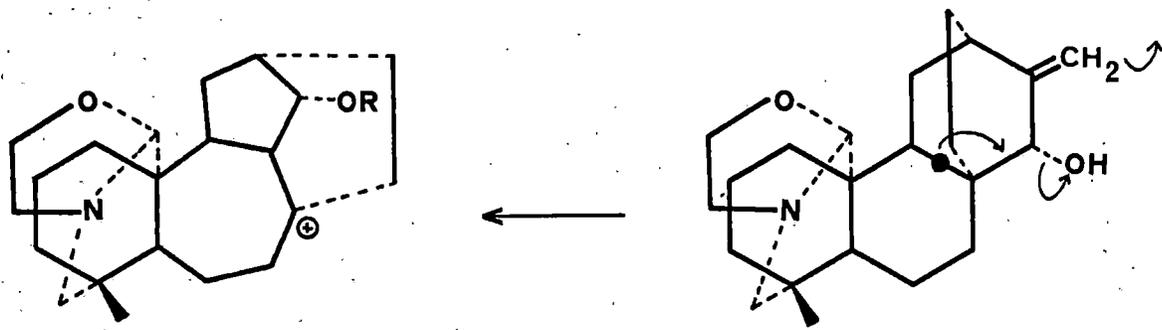


Fig. 7



ATISINA

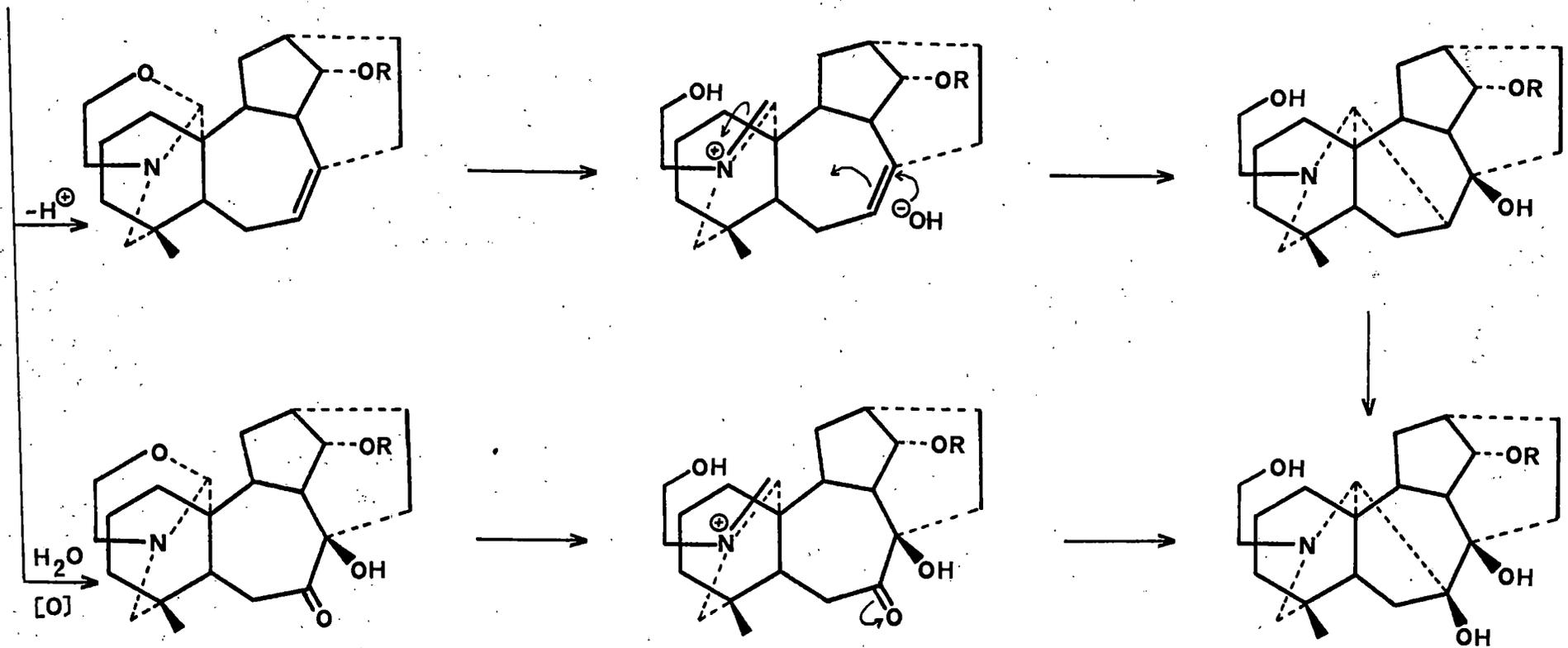


Fig. 8

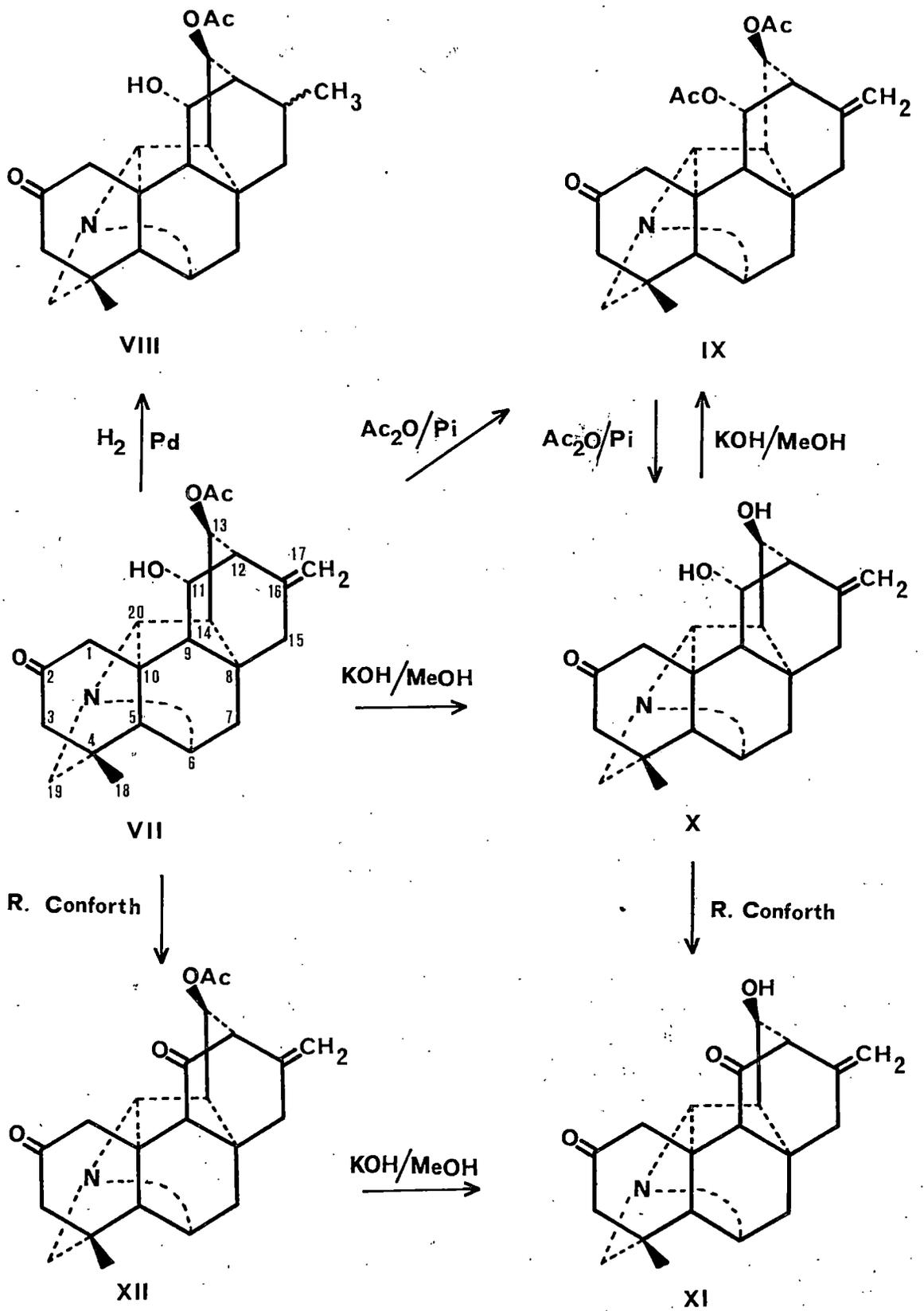


Fig. 9

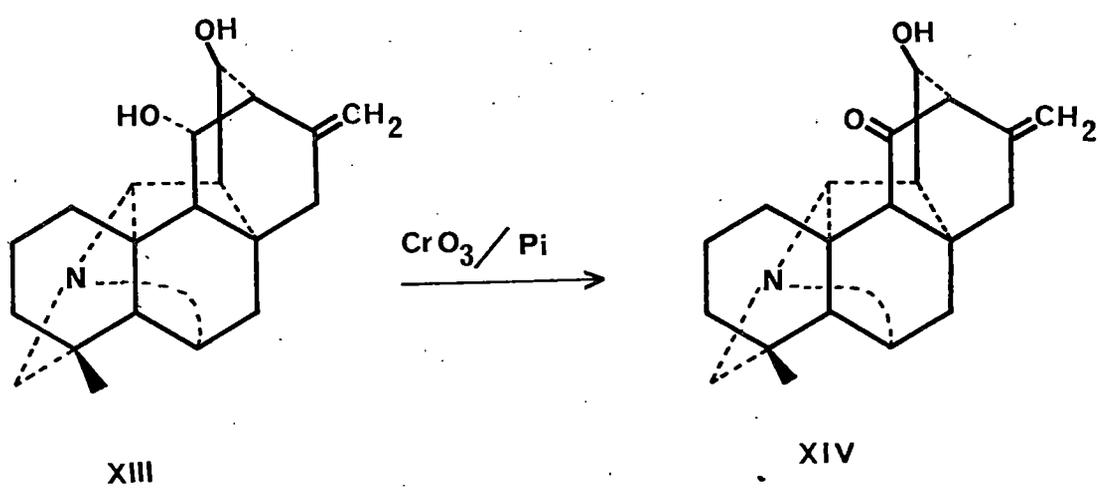


Fig. 10

PARTE EXPERIMENTAL

PLANTA

El *Delphinium cardiopetalum* D.C. ó *Delphinium verdunense* Balbis[®] de la familia Ranunculacea fué recogida en los alrededores de León. La planta seca y cortada (7'850 kg.) se extrajo con etanol en un soxhlet. Se eliminó el volumen de disolvente a vacío y el concentrado se trató repetidas veces con SO_4H_2 0'5M filtrándose y desechándose la parte no soluble.

La disolución ácida se extrajo con cloroformo hasta agotamiento y se neutralizó con CO_3Na_2 a pH= 7. La disolución neutra fué extraída en un extractor líquido-líquido, hasta que el disolvente orgánico no dió reacción de alcaloide con el reactivo de Dragendorff en cromatografía en capa fina.

La disolución clorofórmica así obtenida se secó sobre SO_4Na_2 anhidro y eliminado el disolvente a vacío rindió un crudo enriquecido en alcaloides de peso 28'93 gr. (rendimiento 0'37%).

La disolución neutra se llevó a pH= 8 con CO_3Na_2 y se extrajo con cloroformo. La disolución clorofórmica se trató de la forma anteriormente descrita obteniéndose un crudo alcaloidal de peso 4'68 gr. (rendimiento 0'049%).

(®) La planta fue recolectada por el Sr. Demetrio Jiménez del Dpto, de Botánica de la Universidad Complutense de Madrid. Consultada la S. Flora Europea en Vol. 1, pág. 215, Cambridge 1964, aparece que *Delphinium cardiopetalum* D.C. es una sinonimia del *Delphinium verdureuse* Balbis.

SEPARACION DE LOS ALCALOIDES

La masa total de alcaloides extraídos a pH= 7,28'93 gr., se sometió a una primera separación en columna cromatográfica.

Alumina neutra 1200 gr.

Eluyente: éter de petróleo-acetato de etilo (80:20).

Se tomaron fracciones de 1 litro. Así se obtuvieron dos grandes fracciones:

A= 16'85 gr.

B= 6'2 gr.

AISLAMIENTO DE LOS ALCALOIDES DE LA FRACCION A

El extracto alcaloidal correspondiente a esta fracción (16'85 gr.) se recromatografió repetidas veces en columna de alumina neutra usando como eluyente éter de petróleo-acetato de etilo (85:15).

De esta forma se obtuvieron las fracciones:

F ₁₋₅	2513 mg.	F ₁₈₋₂₃	422'4 mg	F _{70-lav.}	5234 mg.
F ₆₋₁₇	132 mg.	F ₂₄₋₆₉	137'7 mg.		

La fracción 6-17 se recromatografió en columna de alumina neutra obteniéndose 110 mg. de alcaloide que fue purificado por cromatografía preparativa; dos placas 40 x 20 cm, 0'5 mm. de grosor, alumina neutra como soporte y empleando como eluyente éter de petróleo:acetato de etilo (90:10), cinco eluciones. Se

obtiene de esta manera 80 mg. de una sustancia única en capa fina. Por cristalización en acetato de etilo da Cardiopetalina.

Las sucesivas recromatografías en columna de alumina neutra de fracción 18-23 conducen a un alcaloide con cierto grado de pureza (350 mg.). Se purificó mediante cromatografía preparativa de alumina: 8 placas, 40 x 20 cm. de 0'5 mm. de grosor, empleando como eluyente éter de petróleo-acetato de etilo (90:10), 10 eluciones. De esta forma se obtiene 150 mg. de un alcaloide, sustancia única en capa fina. Por cristalización con acetato de etilo obtenemos 110 mg. de cristales en forma de prismas de 13-Acetilhetisinona.

Trabajando de la forma anteriormente descrita con la fracción 24-69 llegamos a 50 mg. de un alcaloide, sustancia única en cromatografía en capa fina. Se cristaliza de acetato de etilo-metanol, obteniendo 35 mg. de Cardiopetalidina pura.

AISLAMIENTO DE LOS ALCALOIDES DE LA FRACCION B

El extracto alcaloidal correspondiente a esta fracción 6'2 gr. se recromatografió sucesivas veces en columna de alumina neutra usando como eluyente éter de petróleo-acetato de etilo (15:85).

Así se obtuvieron las siguientes fracciones:

F₄₋₉ 250 mg. F₁₀₋₂₁ 166 mg. F_{22-lav.} 4529 mg.

La fracción 4-9 se recromatografió en columna de alumina neutra obteniéndose 210 mg. de alcaloide crudo en forma de resi-

na. Este crudo se purificó mediante cromatografía preparativa: cuatro placas 40 x 20 cm., 0'5 mm. de grosor, alumina neutra como soporte y empleando como eluyente éter de petróleo-acetato de etilo (1:1), seis elucciones.

De esta forma se obtiene 160 mg. de una sustancia pura que en cromatografía en capa fina se mostró como una sustancia única. Por cristalización en acetato de etilo da Hetisinona.

CARDIOPETALINA

Punto de fusión: 179-181°C, cristaliza de acetato de etilo
 $[\alpha]_D = -16$ (c, 0'22 gr/ml., etanol).

Análisis

Calculado para $C_{21}H_{33}NO_3$: C, 72'58; H, 9'57; N, 4'03%.

Hallado: C, 72'31; H, 9'34; N, 3'78%.

Calculado por espectroscopía de masas concuerda para un $C_{21}H_{33}NO_3$. $M^+ = 347'2449$.

I.R. (BrK) $\nu_{\text{máx.}}$: 3520 y 3300 cm^{-1} (OH), 1100 y 1115 cm^{-1} (C-O).

No presenta absorciones debidas a otros grupos funcionales.

R.M.N. (c, 15 mg/0'3 ml., Cl_3CD , TMS referencia interna) se aprecian señales a los siguientes valores de δ : 0'88 (3H, s) $-C-CH_3$, 1'12 (3H, t, $J = 7$ Hz) CH_3-CH_2-N , 3'07 (H, s) N-C-17H, 4'12 (H, dd, $J = 4'5$ Hz) C-14 β H, 3'75 (H, m, $W_{\frac{1}{2}} = 6$ Hz) C-1 β H α OH.

E.M. M^+ (347, 18%), M^+-15 (332, 27%), M^+-17 (330, 100%), M^+-18 (331, 14%), M^+-33 (314, 27%), M^+-56 (291, 14%), (M^+-15)-56) (276, 18%).

DIACETATO DE CARDIOPETALINA

La cardiopetalina (20 mg.) se trató con anhídrido acético (1 ml.) en piridina (0'5 ml.). La mezcla de reacción se dejó toda la noche a temperatura del laboratorio. La reacción se siguió por cromatografía en capa fina, la que nos indicó la total conversión. El disolvente se eliminó a vacío dando un crudo de 19'5 mg. Este crudo se cromatografió en columna de alumina neutra, utilizando acetato de etilo como eluyente. De esta forma llegamos a una resina que no se pudo cristalizar.

I.R. $\int_{\text{max.}}^{Cl_3CH}$: 3560 cm^{-1} (OH), 1725 y 1250 cm^{-1} (acetato).

R.M.N. (c, 19'5 mg/0'3 c.c., Cl_3CD , TMS referencia interna) se aprecian señales a los siguientes valores de δ : 0'80 (3H, s) $C-CH_3$, 1'10 (3H, t, $J=7$ Hz) CH_3-CH_2-N , 2'03 y 2'10 (3H, singletes) 2 x CH_3COO , 4'80 (H, dd, $J=5$ Hz) $C-14\beta H^aOAc$, 4'90 (H, q, ABX, $J_{AX}=10$ Hz, $J_{BX}=6$ Hz) $C-1\beta H^aOAc$, además se observa una señal a 2'30 intercambiable con D_2O (OH).

E.M. M^+ (431, 10%), M^+_15 (416, 5%), M^+-17 (414, 3%), M^+-43 (388, 7%), M^+-58 (373, 23%), M^+-59 (372, 100%) y M^+-100 (331, 26%).

TRIACETATO DE CARDIOPETALINA

El diacetato de cardiopetalina (19 mg.) se trató con anhí-

druido acético en presencia de cantidades catalíticas de ácido p-toluensulfónico. La mezcla de la reacción se introduce en un baño de maría entre 100 y 120°C. Después de cuatro horas la reacción se da por finalizada. La reacción se siguió por cromatografía en capa fina. El producto de reacción se purificó mediante cromatografía preparativa: 2 placas de 20 x 20 cm., 0'5 mm. de grosor, alumina neutra como soporte y empleando éter de petróleo: acetato de etilo como eluyente (97:3), tres eluciones.

El producto se extrajo con acetato de etilo caliente y una vez eliminado el disolvente a vacío se llegó a un crudo alcaloidal en forma de resina que no se pudo cristalizar (12'5 mg.) rendimiento 66%).

I.R. $\int_{\text{máx.}}^{\text{Cl}_3\text{CH}}$: 1730 y 1270 cm^{-1} (acetato), 1100 y 1020 (C-O) no se observa absorción debida a grupos hidroxilo.

R.M.N. (c, 12'5 mg/0'3 ml., Cl_3CD , TMS referencia interna) se aprecian señales a los siguientes valores de δ : 0'80 (3H, s) C-CH_3 , 1'10 (3H, t, $J=7$ Hz) $\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-N}$, 1'94 (3H, s) $\text{CH}_3\text{-COO}$, 2'05 (6H, s) 2 x CH_3COO y 4'80 (2H, m) 2 x CHOAc .

E.M. M^+ (473, 2%), M^+ - (430, 4%), M^+ -58 (415, 18%), M^+ -59 (414, 84%), M^+ -60 (413, 6%), M^+ -103 (370, 20%), M^+ -119 (354, 100%).

CARDIOPETALIDINA

P.F. 223-227°C, cristaliza de acetato de etilo-metanol.

$[\alpha]_D = +1'08$ (etanol, c= 0'18 gr/100 ml.).

Análisis

La composición elemental de esta sustancia efectuada por espectroscopía de masas, concuerda con $C_{21}H_{33}NO_4$. $M^+ = 363'2397$.

I.R. $\int_{\text{máx.}}^{\text{BrK}}$: 3540, 3390 y 3250 cm^{-1} (OH), 1050 y 1100 cm^{-1} (C-O).

R.M.N. (c, 10 mg/0'3 ml., Cl_3CD , TMS referencia interna) se aprecian señales a los siguientes valores de δ : 0'92 (3H, s) C- \underline{CH}_3 , 1'10 (3H, t, $J = 7$ Hz) N- \underline{CH}_2 - \underline{CH}_3 , 3'68 (H, m, $W_{\frac{1}{2}} = 6$ Hz) C-1 β \underline{H} α OH, 4'18 (H, dd, $J_1 = J_2 = 4'5$ Hz) C-14 β \underline{H} α OH, 3'08 (H, s) N-C-17 α \underline{H} -C-7 β OH.

E.M. M^+ (363, 27%), $M^+ - 15$ (348, 74%), $M^+ - 17$ (346, 100%), $M^+ - 18$ (345, 7'5%), $M^+ - 28$ (355, 6%), $M^+ - 33$ (330, 15%), ($M^+ - 17$)-18 (328, 6%), $M^+ - 43$ (320, 14%), $M^+ - 56$ (307, 8%), ($M^+ - 15$)-56 (292, 9%).

DIACETATO DE CARDIOPETALIDINA

La Cardiopetalidina (14 mg.) se trató con anhídrido acético (1 ml.) en piridina (0'3 ml.). La mezcla de reacción se dejó toda la noche a la temperatura del laboratorio. La reacción se siguió por cromatografía en capa fina, la que nos indicó la total conversión. El disolvente se eliminó a vacío dando un crudo de 14 mg. Este crudo se purificó por cromatografía en columna de alumina neutra, utilizando acetato de etilo como eluyente. De esta forma llegamos a un crudo alcaloidal en forma de resina que no se pudo cristalizar, 12 mg. rendimiento 86%.

I.R. $\int_{\text{máx.}}^{\text{BrK}}$: 3500 cm^{-1} (OH), 1735 y 1250 cm^{-1} (acetato).

R.M.N. (c, 12 mg/0'3 ml., Cl_3CD , TMS referencia interna) se aprecian señales a los siguientes valores de δ : 0'80 (3H, s) $\text{-}\overset{|}{\text{C}}\text{-CH}_3$, 1'10 (3H, t, $J=7$ Hz) $\text{N-CH}_2\text{-CH}_3$, 2'03 (3H, s) $\text{CH}_3\text{-COO}$, 2'10 (3H, s) $\text{CH}_3\text{-COO}$, 4'80 (H, t, $J=4'5$ Hz) $\text{C-14 } \beta \text{H } \alpha \text{OAc}$, 4'75 (H, q, ABX, $J_{\text{AX}}=10$ Hz, $J_{\text{BX}}=6$ Hz) $\text{C-1 } \beta \text{H } \alpha \text{OAc}$.

E.M. M^+ (447, 2%), M^+-15 (432, 2%), M^+-17 (430, 2%), M^+-45 (402, 13%), M^+-58 (389, 28%), M^+-59 (388, 100%), $\text{M}^+-45-28$ (374, 21%), $\text{M}^+ 99$ (348, 9%), M^+-100 (347, 36%).

13-ACETILHETISINONA

P.F. 219-220°C, cristaliza de acetato de etilo, $[\alpha]_{\text{D}} = +17$ (c, 0'21 gr/100 ml.).

Análisis

Calculado para $\text{C}_{22}\text{H}_{27}\text{NO}_4$: C, 71'52%; H, 7'37%; N, 3'79%.

Hallado: C, 71'12%; H, 6'97%; N, 3'68%.

La composición elemental efectuada por espectroscopía de masas, concuerda para un $\text{C}_{22}\text{H}_{27}\text{NO}_4$ $\text{M}^+ = 369'1958$.

I.R. $\left. \begin{array}{l} \text{BrK} \\ \text{máx.} \end{array} \right\}$: 3200 cm^{-1} (OH), 1730 y 1240 cm^{-1} (acetato), 1700 cm^{-1} (>C=O), 1650 y 880 cm^{-1} (doble enlace metilénico).

R.M.N. (C, 20 mg/0'3 ml., Cl_3CD , TMS referencia interna) se aprecian señales a los siguientes valores de δ : 1'14 (3H, s) $\text{-}\overset{|}{\text{C}}\text{-CH}_3$, 2'22 (3H, s) $\text{CH}_3\text{-COO}$, 4'28 (H, d, $J=9$ Hz) CHOH , 4'79 y 4'95 (H, cada una, singlete ancho, $W_{\frac{1}{2}}=7$ Hz) doble enlace metilénico, 5'12 (H, m) CHOAc , 2'71 señal que desaparece con D_2O (OH).

E.M. M^+ (369, 44%), M^+-17 (352, 7%), M^+-28 (341, 7%), M^+-43 (326, 12%), M^+-58 (311, 22%), M^+-59 (310, 100%), M^+-60 (309, 22%), M^+-87 (282, 42%), M^+-88 (281, 52%), M^+-89 (280, 44%), M^+-115 (254, 14%), M^+-116 (253, 22%), M^+-117 (252, 19%).

R.M.N. de ^{13}C (c, 0'20 milimoles, Cl_3CD , TMS referencia interna) se aprecian señales que vienen expresadas en p.p.m. a: 21'09 (q, $C-\underline{CH}_3$), 28'70 (q, \underline{CH}_3-C-O), 73'59 (d, $\underline{CH}-OH$), 74'44 (d, $\underline{CH}-OAc$), 106'28 (t, $C=\underline{CH}_2$), 144'48 (s, $\underline{C}=\underline{CH}_2$), 170'30 (s, $O-\underline{COCH}_3$).

DIACETILHETISINONA

La Acetilhetisinona (20 mg.) se trató con anhídrido acético (0'25 ml.) en piridina (0'1 ml.). La mezcla de la reacción se dejó toda la noche a la temperatura del laboratorio. La reacción se siguió por cromatografía en capa fina. Después de 16 horas, la reacción se dió por finalizada. El disolvente se eliminó a vacío dando un crudo de 20 mg. Esta crudo se purificó por cromatografía en columna de alumina neutra, utilizando acetato de etilo como eluyente. De esta forma llegamos a una resina que no se pudo cristalizar (18 mg., rendimiento 90%).

I.R. $\int_{\text{máx.}}^{Cl_3CH}$: 1720 y 1230 cm^{-1} (acetato), 1700 cm^{-1} ($\underline{C}=\underline{O}$).

R.M.N. (c, 18 mg/0'3 ml., Cl_3CD , TMS referencia interna) se aprecian señales a los siguientes valores de δ : 1'17 (3H, s) $C-\underline{CH}_3$, 2'05 (3H, s) \underline{CH}_3-COO , 2'20 (3H, s) \underline{CH}_3COO , 4'82 y 5'0 (H cada una, singlete ancho, $W_{\frac{1}{2}} = 7$ Hz) $\underline{C}=\underline{CH}_2$, 5'12 (2H, m) 2 x \underline{CHOAc} .

E.M. M^+ (411, 100%), M^+-27 (384, 7%), M^+-28 (383, 14%), M^+-29 (382, 7%), $(M^+-27)-15$ (369, 10%), $(M^+-28)-15$ (368, 23%), M^+-58 (353, 12%), M^+-59 (352, 35%), M^+-119 (292, 17%).

HIDROLISIS DE 13-ACETILHETISINONA

La 13-acetilhetisinona (40 mg.) se disolvió en metanol caliente. A esta disolución se añadió 1 ml. de potasa metanólica. La mezcla de reacción se dejó toda la noche a la temperatura del laboratorio. La reacción se siguió por cromatografía en capa fina. Después de 17 horas se da por terminada la reacción. El producto de hidrólisis se cromatografió en columna de gel de sílice (0'05-0'2 mm.) para eliminar la potasa, empleando como eluyente acetato de etilo-metanol (80:20). Eliminado el disolvente a vacío se obtiene una resina. Por cristalización con acetato de etilo dió la Hetisinona, P.F. 267-270°C, $[\alpha]_D = +40$ (etanol, c, 0'152 gr/ml.).

La composición elemental de esta sustancia efectuada por espectroscopía de masas, concuerda con un $C_{20}H_{25}NO_3$. $M^+ = 327'1834$.

I.R. $\sqrt{\text{BrK}}_{\text{máx.}}$: 3350 cm^{-1} (OH), 1705 cm^{-1} ($\text{C}=\text{O}$), 1645 y 885 cm^{-1} ($\text{C}=\text{CH}_2$), 1055 y 1100 cm^{-1} (C-O).

U.V. (c, 2 mg/c.c., etanol) presenta absorción a $\lambda_{\text{máx.}}$ 282 nm. con $\xi = 65'4$ y $\log \xi = 1'82$.

R.M.N. (c, 30 mg/0'3 ml., Cl_3CD , TMS referencia interna) se aprecian señales a los siguientes valores de δ : 1'15 (3H, s) $\text{C}-\text{CH}_3$, 4'20 (2H, doblete de ramas anchas, $W_{\frac{1}{2}} = 6$ Hz, $J = 9$ Hz) 2 x CHOH , 4'71 y 4'90 (H, cada una, singlete ancho, $W_{\frac{1}{2}} = 7$ Hz)

$C=CH_2$, 2'30 señal que desaparece con D_2O (OH).

E.M. M^+ (327, 100%), M^+-17 (310, 28%), M^+-18 (309, 14%), M^+-28 (299, 14%), M^+-29 (298, 19%), M^+-43 (284, 10%), M^+-44 (283, 10%), M^+-45 (282, 26%), M^+-47 (280, 50%), $(M^+-45)-28$ (254, 10%), $(M^+-46)-28$ (253, 25%), $(M^+-47)-28$ (252, 7%).

OXIDACION DE HETISINONA

La Hitisinona (20 mg.) disuelta en piridina (0'2 ml.) se trató a 0°C durante 24 horas con el reactivo de Cornforth preparado disolviendo anhídrido crómico (100 mg) en agua (0'1 ml.) y añadiendo esta disolución a piridina (1 ml.) a 0°C. La reacción se siguió por cromatografía en capa fina que mostró la total conversión del producto de partida. La mezcla de reacción se percoló por una columna de alumina neutra, eluyendo con acetato de etilo, Después de eliminado el disolvente se obtiene un crudo (19 mg.). Por cristalización con acetato de etilo dió Dicothetisina de P.F. 236-238°C, $[\alpha]_D = +83$ (etanol, c, 0'166 gr/100 ml.).

I.R. $\nu_{\text{máx.}}^{\text{BrK}}$: 3400 cm^{-1} , 3090 cm^{-1} , 1710 y 1700 cm^{-1} ($>C=O$), 1640 y 900 cm^{-1} ($>C=CH_2$).

U.V. (c, 8'3 mg/5 ml., etanol) presenta absorción a $\lambda_{\text{máx.}}$ 304 con $\xi = 170'3$ y $\log \xi = 2'23$.

R.M.N. (c, 15 mg/0'3 ml., Cl_3CD , TMS referencia interna) se aprecian señales a los siguientes valores de δ : 1'15 (3H, s) $C-CH_3$, 2'35 (4H, s ancho), 4'28 (H, doblete de ramas anchas

$W_{\frac{1}{2}} = 6$ Hz, $J = 9$ Hz) CHOH , 4'85 y 5'0 (H, cada una, singlete ancho, $W_{\frac{1}{2}} = 7$ Hz) $\text{C}=\text{CH}_2$.

E.M. M^+ (325, 100%), M^+-15 (310, 21%), M^+-28 (297, 43%), M^+-44 (281, 29%), M^+-45 (280, 96%), M^+-46 (279, 32%), M^+-56 (269, 25%), M^+-60 (265, 43%), M^+-68 (257, 29%), M^+-69 (256, 64%) (M^+-28)-28 (241, 29%) como picos más característicos.

HIDROGENACION DE 13-ACETILHETISINONA

La Acetilhetisinona (20 mg.) disuelta en 5 ml. de una mezcla de acetato de etilo-etanol (75:25), se hidrogenó, empleando como catalizador Paladio-Carbón activo (10%). La reacción fue seguida por cromatografía en capa fina hasta la conversión total (6 horas). El producto de reacción se filtró y se eliminó a vacío obteniéndose un crudo de 20 mg.

Este crudo se purificó mediante cromatografía preparativa en alumina: 1 placa, 20 x 20 cm., 0'5 mm. de grosor, eluyendo en éter de petróleo-acetato de etilo (65:35), 6 eluciones. El producto se extrajo con acetato de etilo y una vez eliminado el disolvente a vacío se obtuvo 18 mg. de una resina. Por cristalización en acetato de etilo-éter de petróleo dió Dihidroacetilhetisinona de P.F. 185-189°C.

I.R. $\int_{\text{máx.}}^{\text{BrK}}$: 3190 cm^{-1} (OH), 1730 y 1250 (acetato), 1710 cm^{-1} (C=O), 1070 y 1050 cm^{-1} (C-O).

R.M.N. (c, 15 mg/0'3 c.c., Cl_3CD , TMS referencia interna) se aprecian señales a los siguientes valores de δ : 1'03 (3H, d, $J = 6$ Hz) $\text{HC}-\text{CH}_3$, 1'13 (3H, s) $\text{C}-\text{CH}_3$, 2'20 (3H, s) CH_3-COO ,

4'15 (H, dobletes ramas anchas, $W_{\frac{1}{2}} = 6$ Hz, $J = 9$ Hz) CHOH , 5'40 (H, m) CHOAc , 2'65 señal que desaparece con D_2O (OH).

E.M. M^+ (371, 39%), M^+-15 (356, 5%), M^+-17 (354, 5%), M^+-27 (344, 5%), M^+-28 (343, 8%), M^+-29 (342, 8%), M^+-43 (328, 20%), M^+-44 (327, 5%), M^+-45 (326, 6%), M^+-58 (313, 18%), M^+-59 (312, 69%), M^+-60 (311, 12%), M^+-61 (310, 16%), M^+-71 (300, 10%), M^+-86 (285, 24%), M^+-87 (284, 100%), M^+-88 (283, 32%), M^+-89 (282, 61%), $(\text{M}^+-59)-44$ (268, 17%), $(\text{M}^+-60)-45$ (266, 18%), $\text{M}^+-87)-26$ (258, 42%), $(\text{M}^+-87)-27$ (257, 24%), $(\text{M}^+-87)-28$ (256, 94%), $(\text{M}^+-87)-44$ (240, 22%).

OXIDACION DE 13-ACETILHETISINONA

La 13-Acetilhetisinona (30 mg.) disuelta en piridina (0'2 ml.) se trató a 0°C durante 24 horas, con el reactivo de Cornforth recientemente preparado. La reacción se siguió por cromatografía en capa fina que mostró la total conversión del producto de partida. La mezcla de reacción se percoló por una columna neutra, eluyendo con acetato de etilo. Después de eliminado el disolvente a vacío se obtiene un crudo alcaloidal en forma de resina que no pudimos cristalizar.

I.R. $\int_{\text{máx.}}^{\text{BrK}}$: 1740 y 1240 cm^{-1} (acetato), 1725 ($\text{C}=\text{O}$), 1650 y 910 cm^{-1} ($\text{C}=\text{CH}_2$).

U.V. (c, 6 mg/5 ml., etanol) presenta absorción a $\lambda_{\text{máx.}}$ 305 con $\xi = 170'3$ y $\log \xi = 2'23$.

R.M.N. (2, 25 mg/0'3 ml., Cl_3CD , TMS referencia interna) se aprecian señales a los siguientes valores de δ : 1'14 (3H, s)

C- $\underline{\text{CH}}_3$, 2'10 (3H, s) $\underline{\text{CH}}_3\text{COO}$, 4'95 y 5'10 (H, cada una, singlete ancho, $W_{\frac{1}{2}} = 7$ Hz) $\text{>C}=\underline{\text{CH}}_2$, 5'20 (H, q, $J_{\text{AX}} = 9$ Hz, $J_{\text{BX}} = 3$ Hz) $\underline{\text{CHOAc}}$.

E.M. M^+ (367, 10%), M^+-28 (339, 16%), M^+-42 (325, 35%), (M^+-28)-58 (281, 23%), (M^+-28)-59 (280, 100%), (M^+-44) (279, 10%), (M^+-28)-59)-28 (252, 11%).

HIDROLISIS DE 13-ACETILDICETOHEPISINONA

La 13-Acetildicetohetisinona (20 mg.) se disolvió en metanol caliente. A esta disolución se añadió 1 ml de potasa metanólica. La mezcla de reacción se dejó a la temperatura del laboratorio. La reacción se siguió por cromatografía en capa fina. Después de tres horas la reacción se da por terminada. El producto de hidrólisis se cromatografió en columna de alumina neutra para eliminar la potasa, empleando como eluyente acetato de etilo-metanol (80:20). El disolvente se eliminó a vacío obteniéndose 13-Dicetohetisina (20 mg). Cristaliza de acetato de etilo, P.F. 236-239°C.

I.R. $\int_{\text{máx.}}^{\text{BrK}}$: 3400 y 3120 cm^{-1} (OH), 1725 y 1710 cm^{-1} (>C=O), 1645 y 910 (>C=CH_2).

R.M.N. (c, 10 mg/0'3 ml., Cl_3CD , TMS referencia interna) se aprecian señales a los siguientes valores de δ : 1'15 (3H, s) C- $\underline{\text{CH}}_3$, 2'33 (4H, singlete ancho), 4'28 (H, doblete ramas anchas, $W_{\frac{1}{2}} = 6$ Hz, $J = 9$ Hz) $\underline{\text{CHOH}}$, 4'88 y 5'0 (H, cada una, singlete ancho, $W_{\frac{1}{2}} = 7$ Hz) doble enlace metilénico.

E.M. M^+ (325, 100%), M^+-15 (310, 17%), M^+-27 (298, 22%), M^+-28 (297, 78%), M^+-29 (296, 22%), M^+-44 (281, 28%), M^+-45 (280, 78%), M^+-46 (279, 44%), M^+-56 (269, 22%), M^+-60 (265, 78%), M^+-68 (257, 33%), M^+-69 (256, 78%), $(M^+45)-44$ (236, 44%), como picos más significativos.

HETISINONA

P.F. 267-270°C, cristaliza de acetato de etilo, $[\alpha]_D^{+27}$ (etanol, c, 0'110 gr/100 ml.

Análisis

Calculado para $C_{20}H_{25}NO_3$: C, 73'37; H, 7'70; N, 428%.

Hallado: C, 73'26; H, 7'98; N, 4'63%.

I.R. ν $\frac{BrK}{máx.}$: 3470 y 3330 cm^{-1} (OH), 1690 cm^{-1} (C-O), 1648 y 898 cm^{-1} (C=CH₂), 1070 y 1040 cm^{-1} (C-O).

U.V. (c, 16'3 mg/5 ml., etanol), presenta absorción a λ máx. 291 nm. con un coeficiente de extinción $\xi = 25'07$; $\log \xi = 1'4$.

R.M.N. (c, 17 mg/0'3 ml., Cl₃CD, TMS referencia interna) se aprecian señales a los siguientes valores de δ : 1'15 (3H, s) C-CH₃, 4'23 (2H, m) CHOH, 4'72 y 4'90 (H, cada una, singlete ancho, $W_{\frac{1}{2}} = 7$ Hz) doble enlace metilénico.

E.M. M^+ (327, 100%), M^+-17 (310, 30%), M^+-29 (298, 20%), M^+-45 (282, 30%), M^+-46 (281, 70%), M^+-47 (280, 60%), $(M^+-46)-28$ (253, 30%), como picos más significativos.

DIACETILHETISINONA

La Hetisinona (30 mg.) se trató con anhídrico acético (0'5 ml) en piridina (0'25 ml.). La mezcla de reacción se dejó durante 12 horas a la temperatura del laboratorio. La reacción se siguió mediante cromatografía en capa fina que mostró la total conversión. El disolvente se eliminó a vacío dando un crudo de 25 mg. (rendimiento 85%). Este crudo se purificó por cromatografía en columna de alumina, eluyendo con acetato de etilo, que después de eliminado a vacío se obtuvo una resina que no se pudo cristalizar.

I.R. $\int_{\text{máx.}}^{\text{Cl}_3\text{CH}}$: 1730, 1720, 1240 y 1250 cm^{-1} (acetato), 1695 cm^{-1} (>C=O), 1655 y 910 cm^{-1} (>C=CH_2) y 1050 y 1040 cm^{-1} (C-O).

R.M.N. (c, 20 mg/0'3 ml., Cl_3CD , TMS referencia interna) se aprecian señales a los siguientes valores de δ : 1'15 (3H, s) C-CH_3 , 2'05 y 2'22 (3H, cada una, singletes) 2 x $\text{CH}_3\text{-COO}$, 4'84 y 5'0 (H, cada una, singlete ancho, $W_{\frac{1}{2}} = 7$ Hz) doble enlace metilénico, 5'05 y 5'20 (H, cada una, m) 2 x CHOAc .

E.M. M^+ (411, 100%), M^+-27 (384, 7%), M^+-28 (383, 14%), M^+-29 (382, 7%), (M -27)-15 (369, 10%), (M^+-28)-15 (368, 23%), M^+-58 (353, 12%), M^+-59 (352, 35%), M^+-119 (292, 17%).

OXIDACION DE HETISINONA

La hitisinona (20 mg.) disuelta en piridina (0'3 ml.) se trató a 0°C durante 24 horas con el reactivo de Cornforth preparado disolviendo anhídrico crómico (100 mg.) en agua (0'1 ml)

y añadiendo esta disolución a piridina (1 ml.) a 0°C. La reacción se siguió por cromatografía en capa fina que mostró la total conversión del producto de partida. La mezcla de reacción se percoló por una columna de alumina neutra, eluyendo con acetato de etilo. Después de eliminado el disolvente a vacío se obtiene Dicetohetisina (19 mg., rendimiento 95%).

— Por cristalización se obtiene cristales en forma de agujas, P.F. 236-238°C, $[\alpha]_D = +86$ (etanol, c, 0'112 gr/ml.).

I.R. $\nu_{\text{máx.}}^{\text{BrK}}$: 3400 y 3090 cm^{-1} (OH), 1710 y 1700 cm^{-1} ($\text{C}=\text{O}$), 1640 y 900 cm^{-1} ($\text{C}=\text{CH}_2$).

U.V. (c, 6'1 mg/5 ml., etanol) presenta absorción a $\lambda_{\text{máx.}}$ 304 nm. coeficiente de extinción, $\xi = 213$, $\log \xi = 2'32$.

R.M.N. (c, 10 mg/0'3 ml., Cl_3CD , TMS como referencia interna) se aprecian señales a los siguientes valores de δ : 1'15 (3H, s) $-\overset{|}{\text{C}}-\text{CH}_3$, 2'33 (4H, singlete ancho), 4'28 (H, doblete de ramas anchas $W_{\frac{1}{2}} = 6$ Hz, $J = 9$ Hz) CHOH , 4'88 y 5'0 (H, cada una, singlete ancho, $W_{\frac{1}{2}} = 7$ Hz) $\text{C}=\text{CH}_2$.

E.M. M^+ (325, 47%), M^+-15 (310, 7%), M^+-28 (297, 12%), M^+-44 (281, 12%), M^+-45 (280, 48%), M^+-46 (279, 34%), M^+-60 (265, 60%), M^+-61 (264, 22%), M^+-68 (257, 34%), M^+-69 (256, 100%).

CONCLUSIONES

- Del estudio realizado en el *Delphinium cardiopetalum*, perteneciente a la familia Ranunculacea, se puede concluir que dicha planta contiene dos grandes grupos de alcaloides, atendiendo a su polaridad.

Del grupo más polar fueron aislados cuatro alcaloides diterpénicos, tres de ellos no descritos en la naturaleza.

- Se aísla y propone la estructura y configuración absoluta de la Cardiopetalina, nuevo alcaloide diterpénico con esqueleto Lycoctonina, tipo Aconitina, en base a sus datos físicos, espectrales y estudio de sus derivados.
- Se aísla y propone la estructura y configuración absoluta de la Cardiopetalidina, nuevo alcaloide diterpénico, no descrito en la naturaleza, con esqueleto Lycoctonina, tipo Lycoctonina; en base a sus datos físicos y espectrales.
- La existencia en la misma planta de dos alcaloides Cardiopetalina y Cardiopetalidina, pertenecientes a los tipos Aconitina y Lycoctonina respectivamente no es frecuente en la naturaleza.

Asimismo estas dos bases constituyen el primer ejemplo de alcaloides diterpénicos C-19 esqueleto Lycoctonina que no poseen función oxigenada en C-16 .

Además constituyen los ejemplos de alcaloides menos oxigenados hasta el presente.

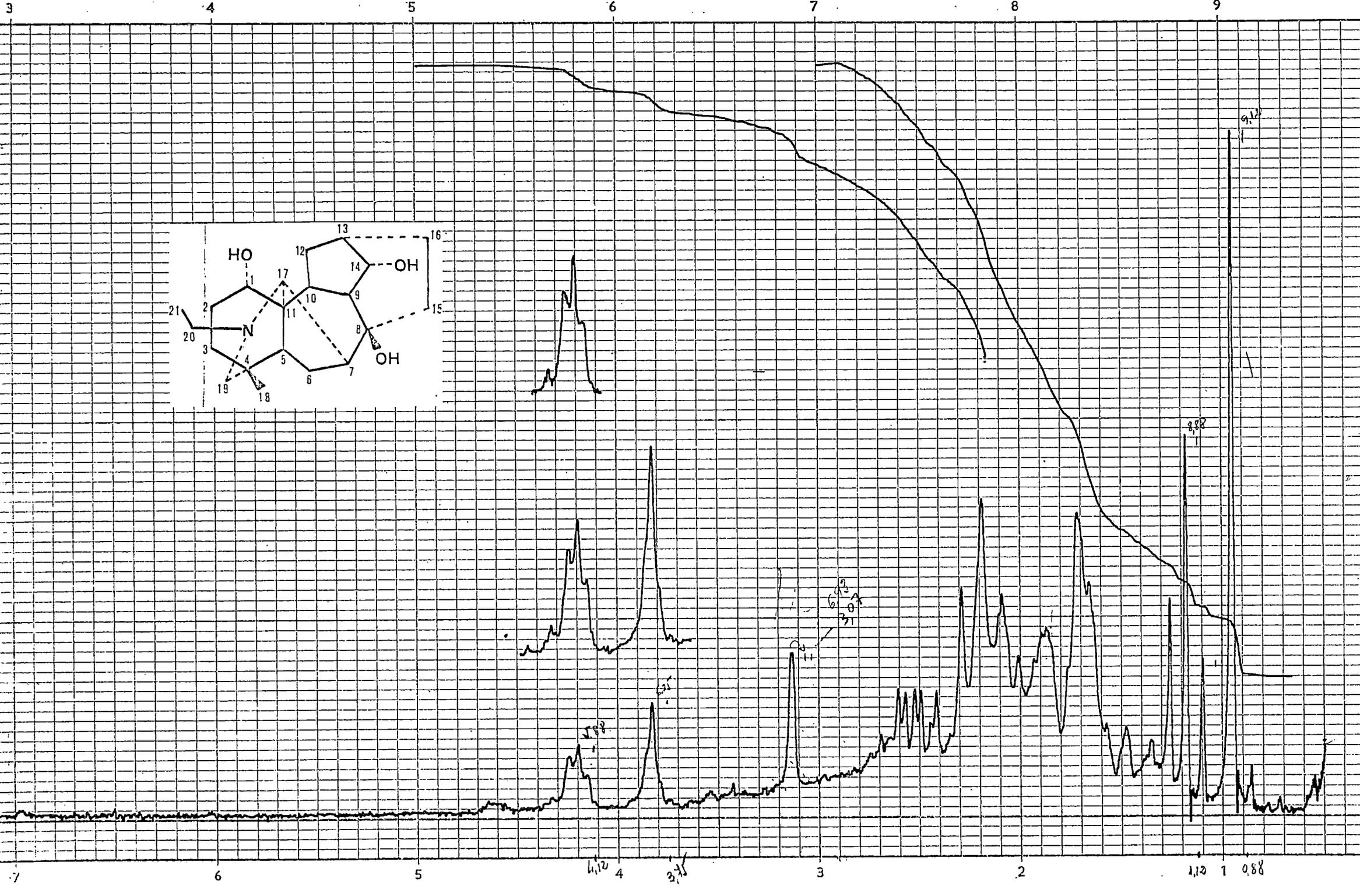
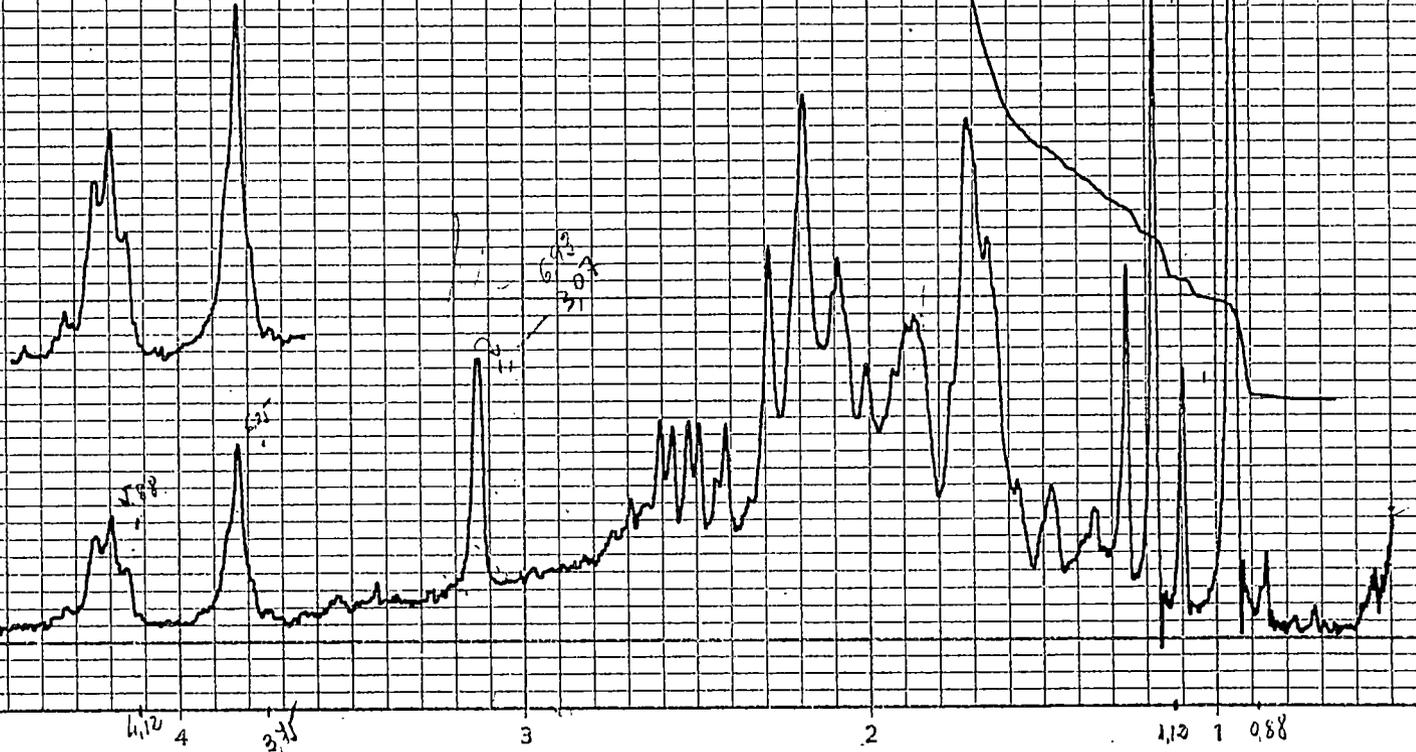
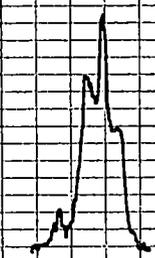
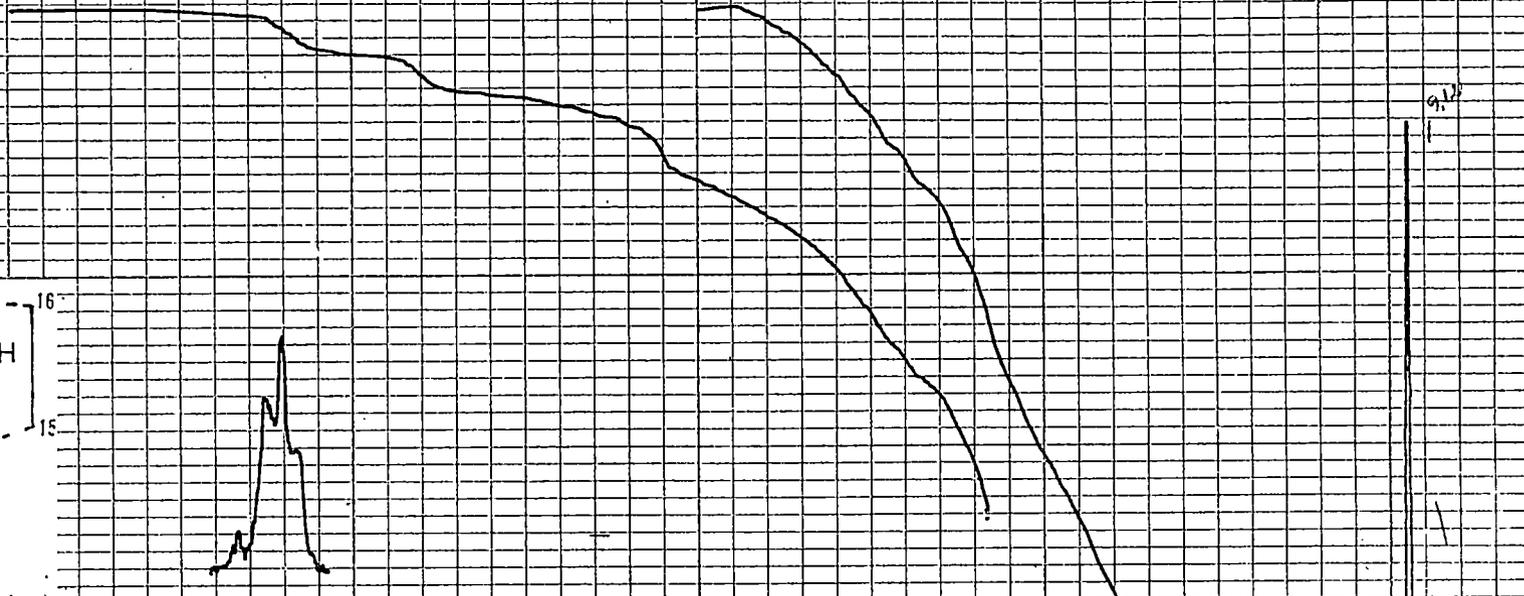
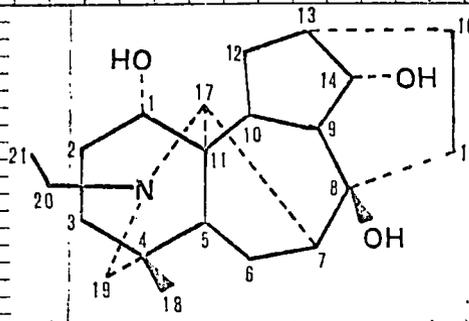
- Se sugiere una ruta biogénica: los alcaloides diterpénicos C-19, con esqueleto Lycoctonina, tipo Aconitina, como precursores biogénicos de los tipos Lycoctonina.
- Se aísla y propone la estructura y configuración absoluta de 13-acetilhetisinona, nuevo alcaloide diterpénico C-20 con esqueleto Atisina y enlaces adicionales tipo Hetisina, no descrito en la naturaleza; en base a sus datos físicos, espectrales y la correlación del producto de hidrólisis con la Hetisinona.
- Se aisló e identificó un alcaloide diterpénico C-20, tipo Atisina como Hetisinona por sus datos físicos, espectroscópicos y por comparación con una muestra auténtica de Hete - sinona (P.F. mixto, I.R., E.M. y R.M.N.).

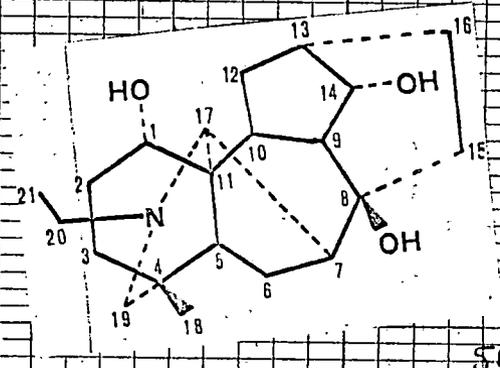
- 1.- Pelletier, S.W. y L.H. Keith; The Alkaloids, Vol. XII, pp. 3. Academic Press, 1970.
- 2.- Keith, L.H. y Pelletier, S.W.; Chemistry of Alkaloids, pp. 550. Van Nostrand-Reinhol, 1970.
- 3.- Achmatovicz, O. Y. Tsuda y L. Marion; Can J. Chem. 43, 2336 (1965).
- 4.- Dvornik, D. y O.E. Ednards; Can. J. Chem. 42, 137 (1964).
- 5.- Pelletier, S.W. y W.A. Jacobs; J. Amer. Chem. Soc., 76, 4496 (1954).
- 6.- Pelletier, S.W. y P.C. Parthasarathy; J. Amer. Chem. Soc., 87, 777 (1965).
- 7.- Huebner, C.F. y W.A. Jacobs; J. Biol. Chem. 174, 1001 (1948).
- 8.- Huebner, C.F. y W.A. Jacobs; J. Biol. Chem. 170, 203 (1947).
- 9.- Herbert, E.J. y G.W. Kirby; Tetrahedron Letters, 1505-6 (1963).
- 10.- Benn, M.H., y J. May; Experientia, 20, 252-3 (1964).
- 11.- Frost, G.M., R.L. Hale, G.R. Waller, L.H. Zalkow y N.N. Girotra; Chem. and Ind. 320-1 (1967).
- 12.- Valenta, Z. y K. Wiesner; Chem. and Ind., 354 (1956).
- 13.- Pelletier, S.W. y A. Ichihara; Chem. and Ind. 2149-50 (1967).
- 14.- Johnston, J.P. y K.H. Overton; Chem. Comm. 329-30 (1969).
- 15.- Cookson, R.C. y M.E. Trevett; J. Chem. Soc., 3121-9 (1956).

- 16.- Edwards, O.E.; Chem. Comm., 318 (1965).
- 17.- Valenta, Z. y T.G. Wrioth; Tetrahedron, 9, 284 (1960).
Edwards, O.E., M. Los y L. Marion; Can. J. Chem. 37, 1959 (1966).
- 18.- Götz, M. y K. Wiesner; Tetrahedron Letters, 4369 (1969).
- 19.- Wenkert, E.; Chem. and Ind., 282 (1955).
- 20.- Manske, R.H.F., H.L. Holme, "The Alkaloids"; Academic Press Vol. IV, pp. 228 (1954).
- 21.- Pelletier, S.W., Z. Djarnati, S. Lajsic, W.H. de Camp.; J. Amer. Chem. Soc., 98, 2617 (1976).
- 22.- a) Sastry, S.D.; Biochem Applications of mass Spectrometry pp. 662, J. Wiley and Sons, 1972.
b) Yunusov, M.S., Ya, V. Rashkes, S. Yu, Yunusov; Khim Prirod. Soedinenii, 8, 85 (1972).
c) Yunusov, M.S., Ya. V. Rashkes, V.A. Telnov y S.V. Yunusov; Khim. Trirod. Soedinenii, 515 (1969).
d) Yunusov, M.S., Ya. V. Rashkes, S. Yu. Yunusov y A.S. Samstov; Khim. Prirod. Soedinenii, 101 (1970).
- 23.- Sultankhodzhaev, M.N., M.S. Yunusov y S. Yu. Yunusov. Khim. Prirod. Soedinenii, 199 (1973).
- 24.- Keith, L.M. y S.W. Pelletier; Chemistry of Alkaloids, pp. 550. Van Nostrand-Reinhold, 1970.
- 25.- Pelletier, S.W. et al.; Tetrahedron Letters, 5045 (1978).
- 26.- Khaimanova, M.A.; Tetrahedron Letters, 819 (1971).

- 27.- Benn, M.H.; Can. J. Chem., 44, 1 (1966).
- 28.- Pelletier, S.W.; Chem. Comm., 98 (1970).
- 29.- Pelletier, S.W., G. Newton, H.E. Wright; Chem. Comm., 507 (1969).
- 30.- Pelletier, S.W. y L.H. Keith, "The Alkaloids", Vol. XII, pp. 3, Academic Press, 1970.

BIBLIOGRAFIA



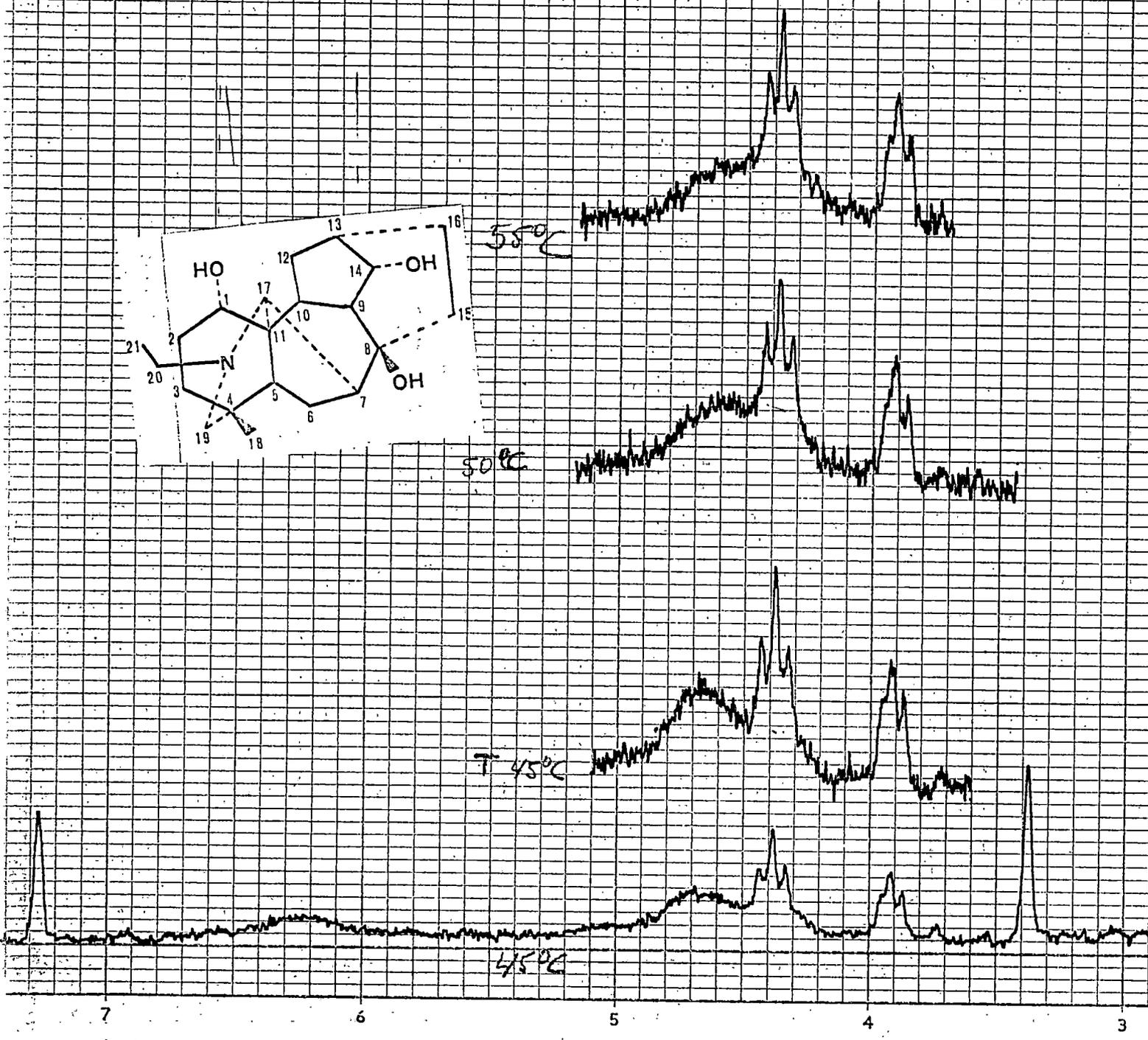


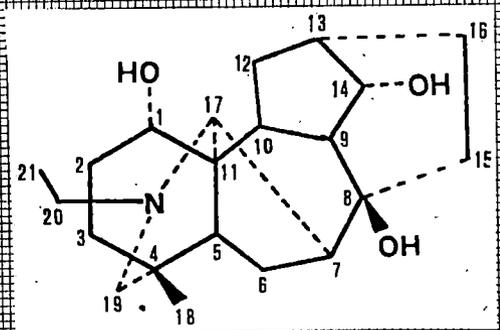
55°C

50°C

T 45°C

45°C





330

M 347

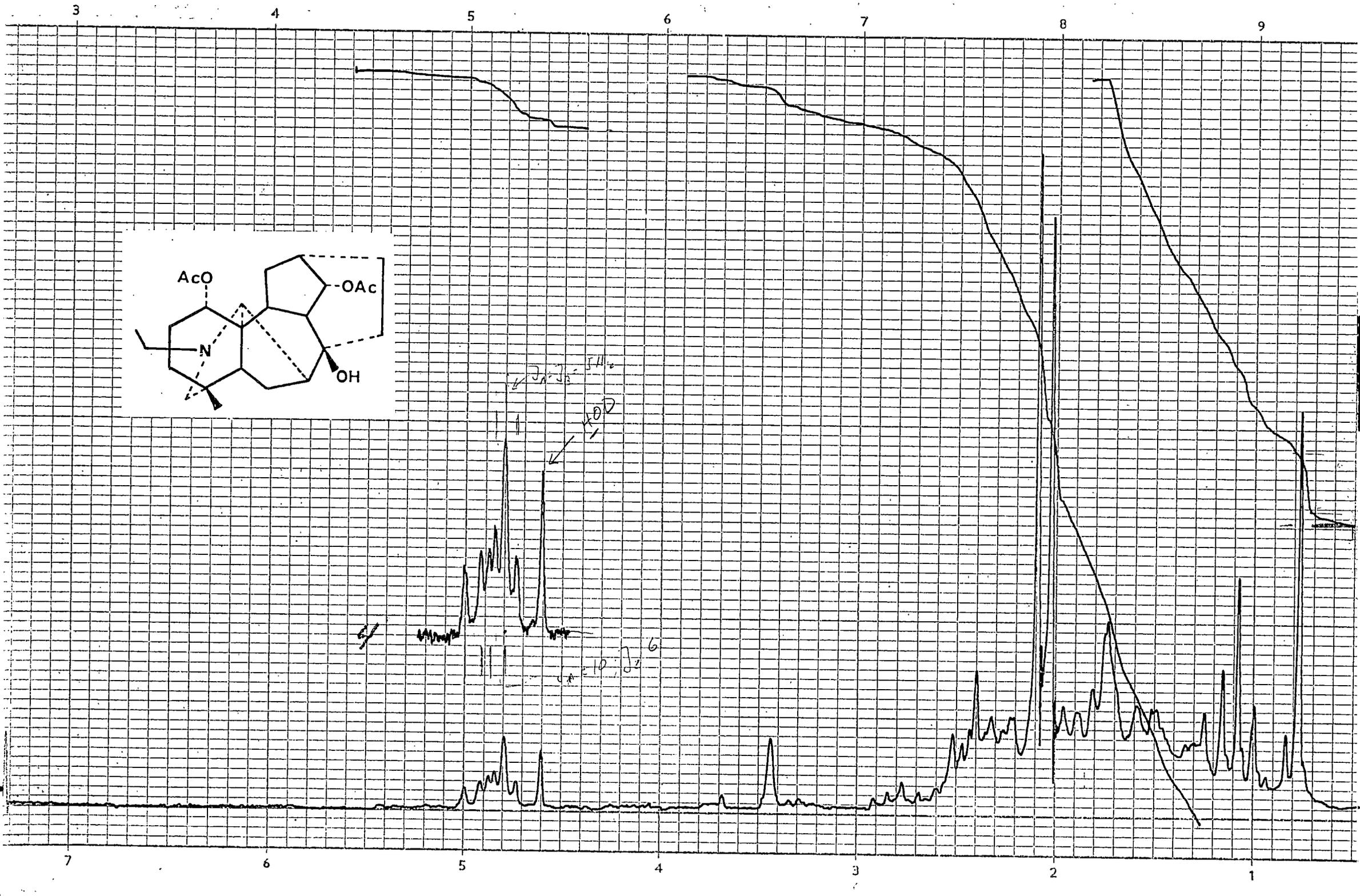
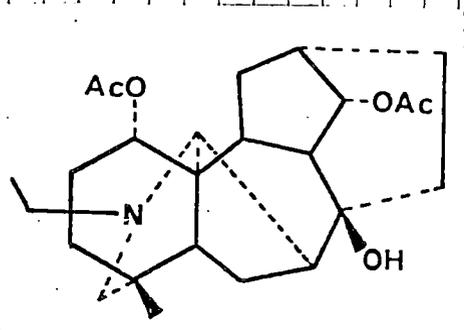
150

200

250

300

350



3.0

4.0

5.0

MICRONS

6.0

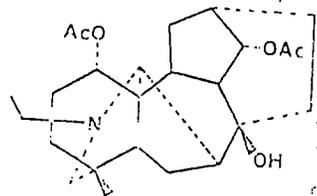
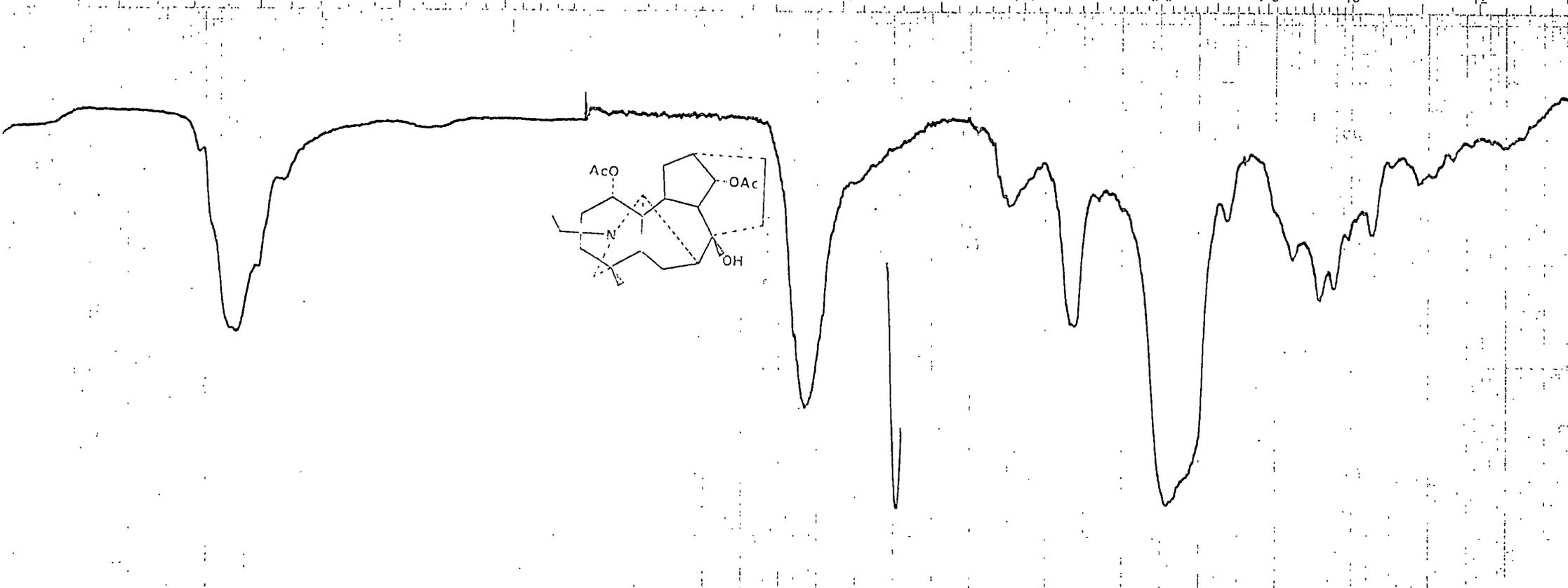
7.0

8.0

9.0

10

12



3000

2500

2000

1800

1600

1400

1200

1000

800

WAVENUMBER (CM⁻¹)

WAVENUMBER (CM⁻¹)

IR-21

SAMPLE *Cl₃CH*
 CONCENTRATION *25 mg/2 ml*
 CELL PATH *0.1 cm*
 REFERENCE *Cl₃CH*

REMARKS

SCAN SPEED *Medium*

OPERATOR *de Foy*

DATE

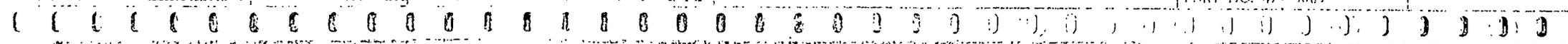
26-58

PERKIN-ELMER

PART NO. 47-5089

REF. NO.

Carbocaine



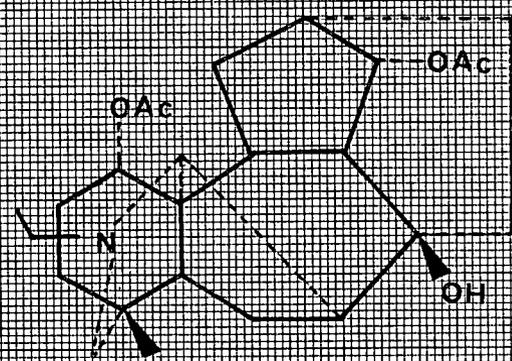
200

250

300

350

400



372

M 431



Quins

3

4

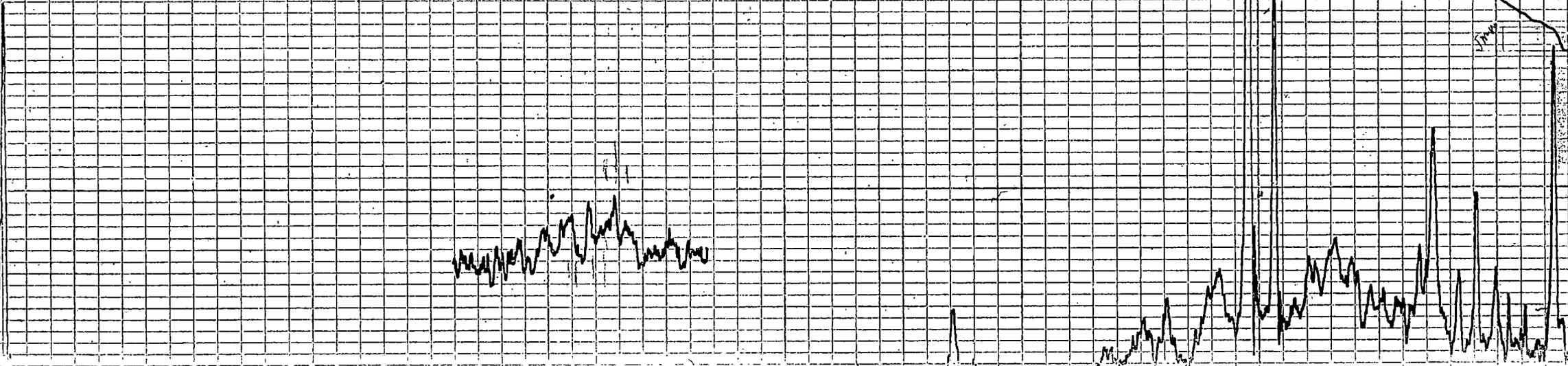
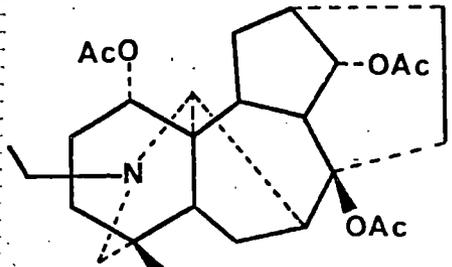
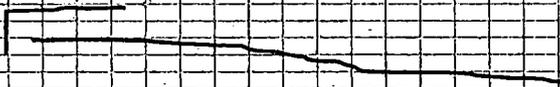
5

6

7

8

9



1.700

1.700

7

6

5

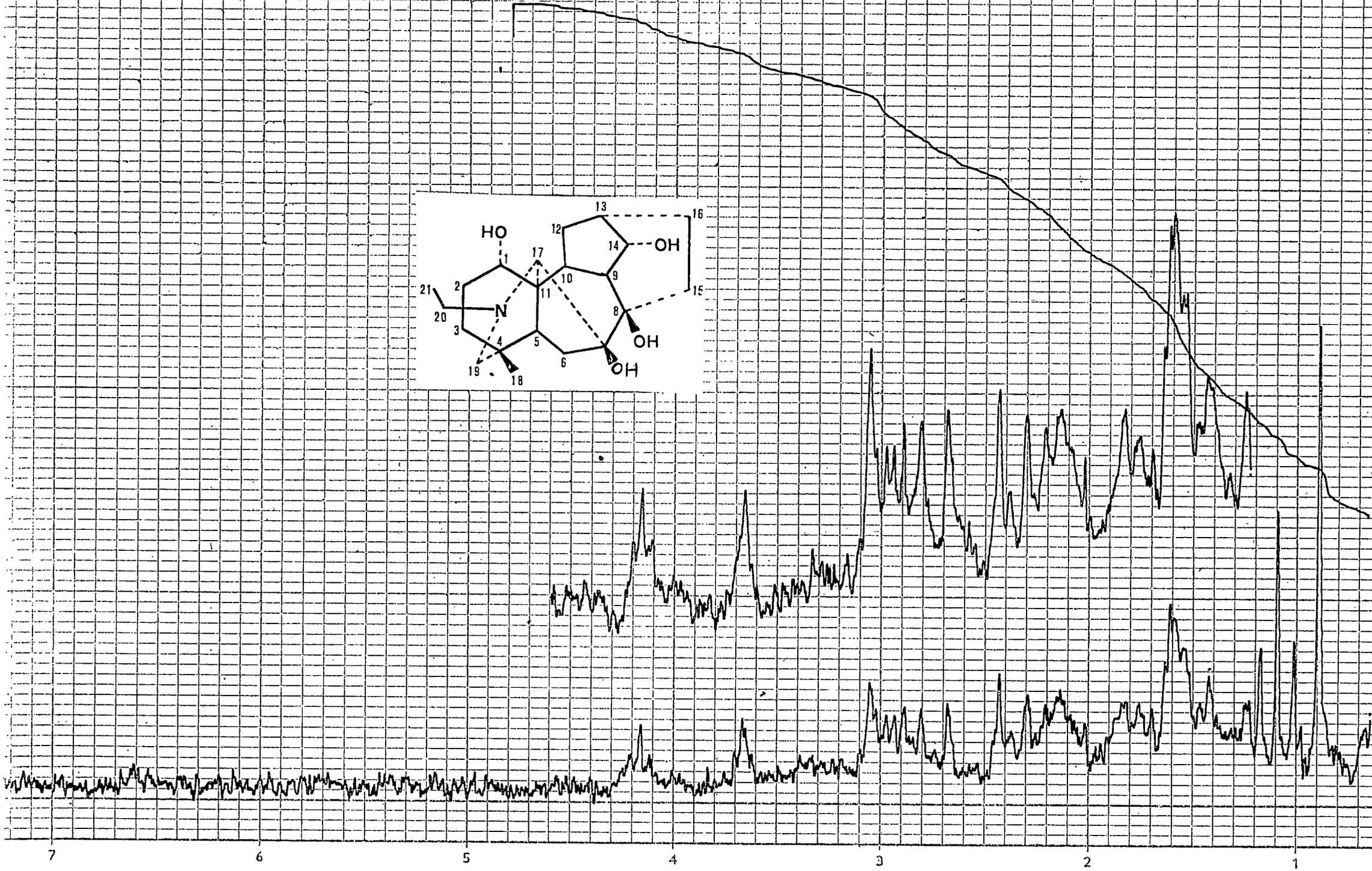
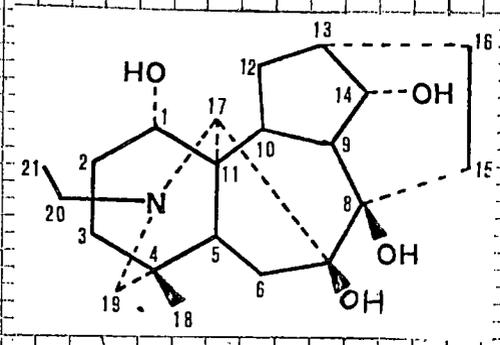
4

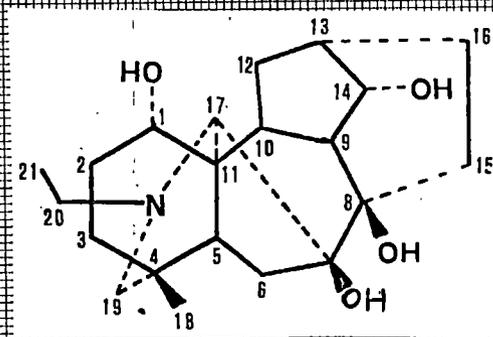
3

2

1

9299 9 91





34.6

M⁺ 363

150

200

250

300

350



Spiras

3

4

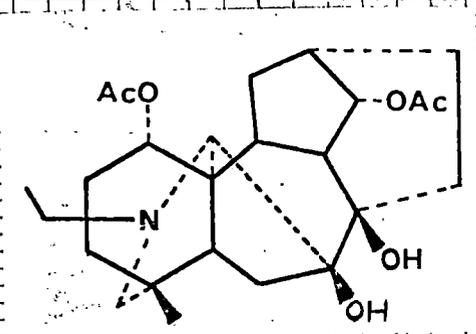
5

6

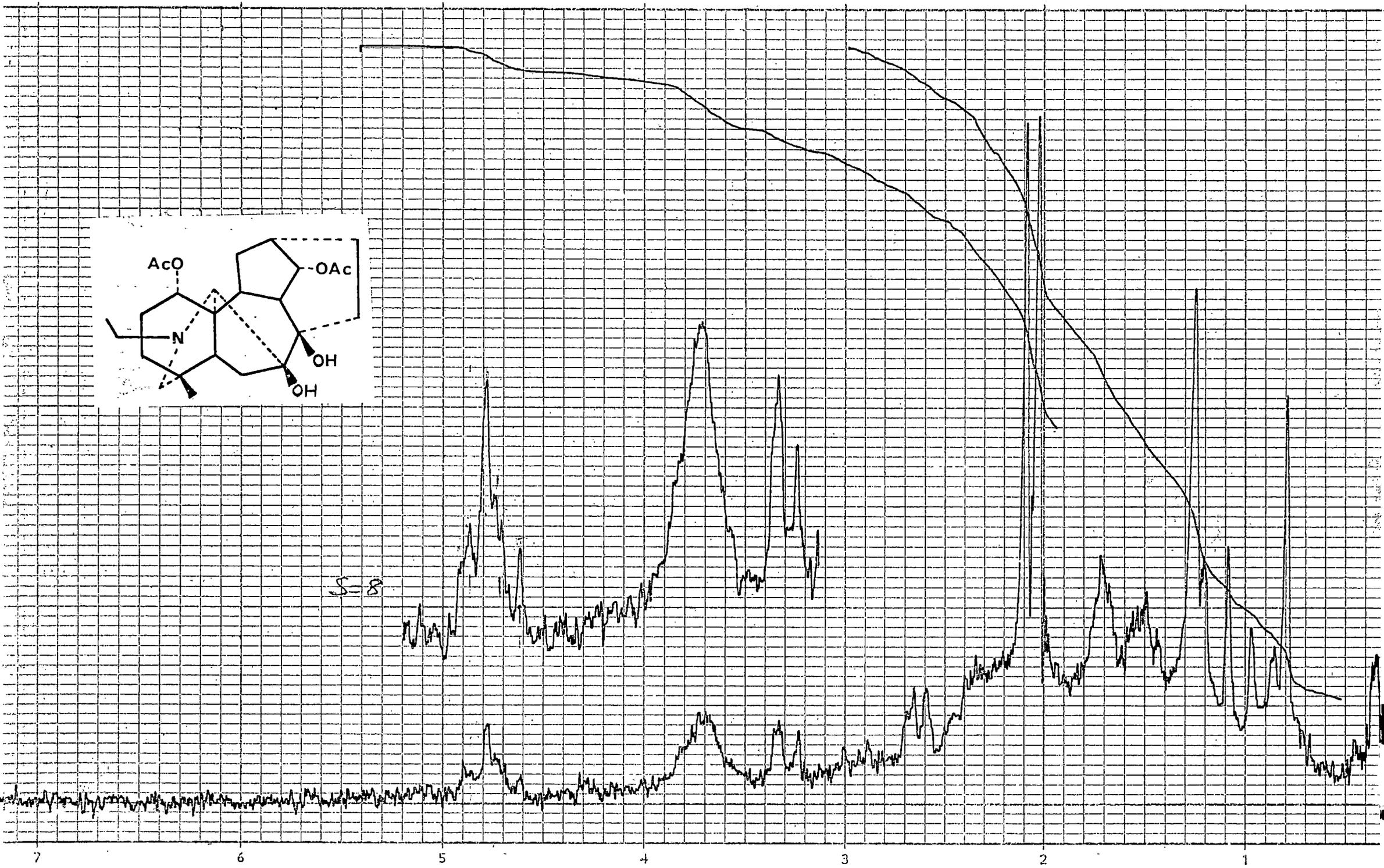
7

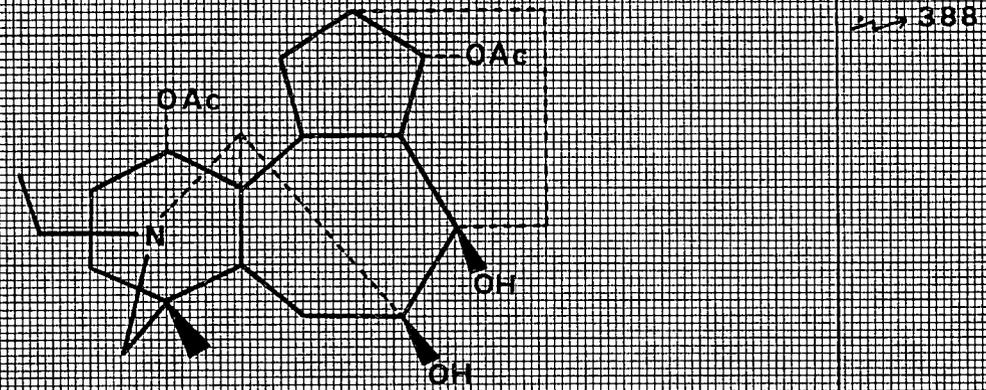
8

9



S-8





→ 388

→ 347

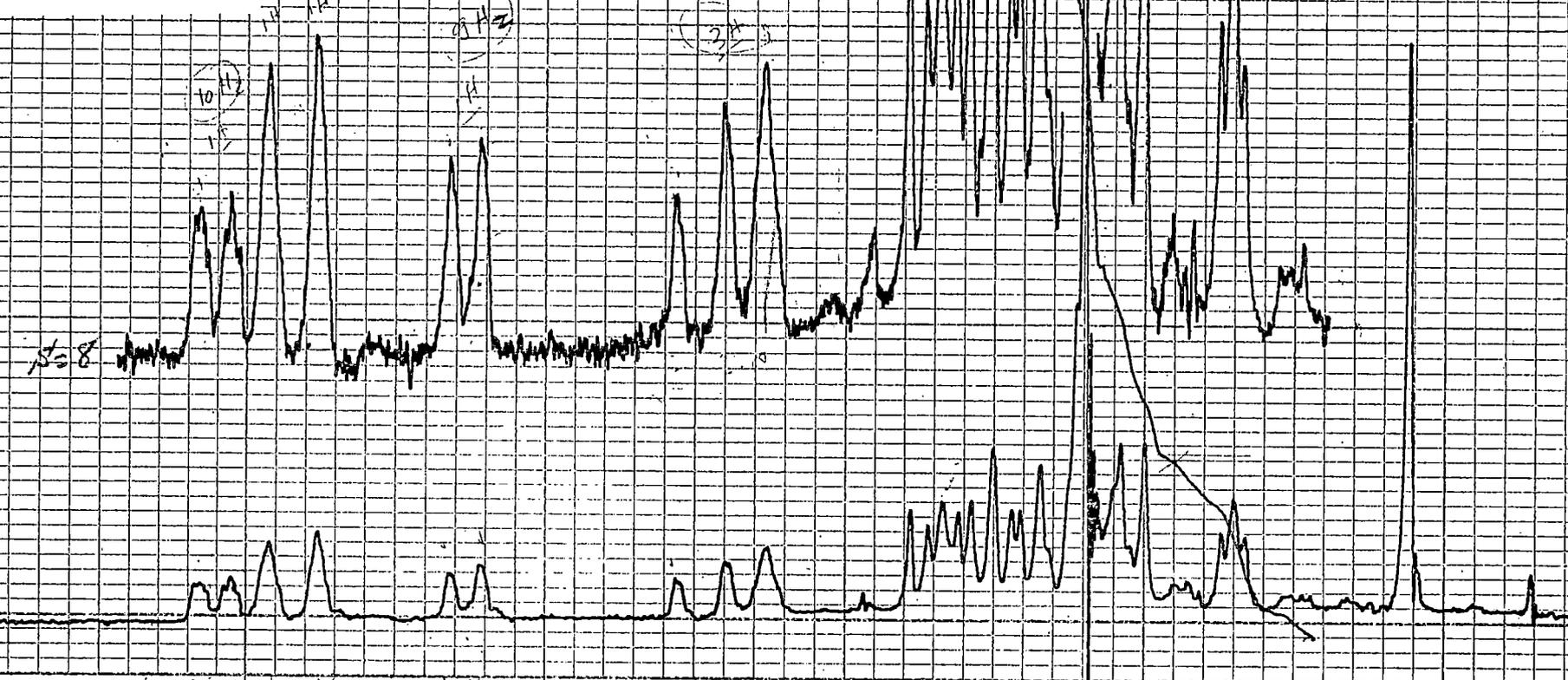
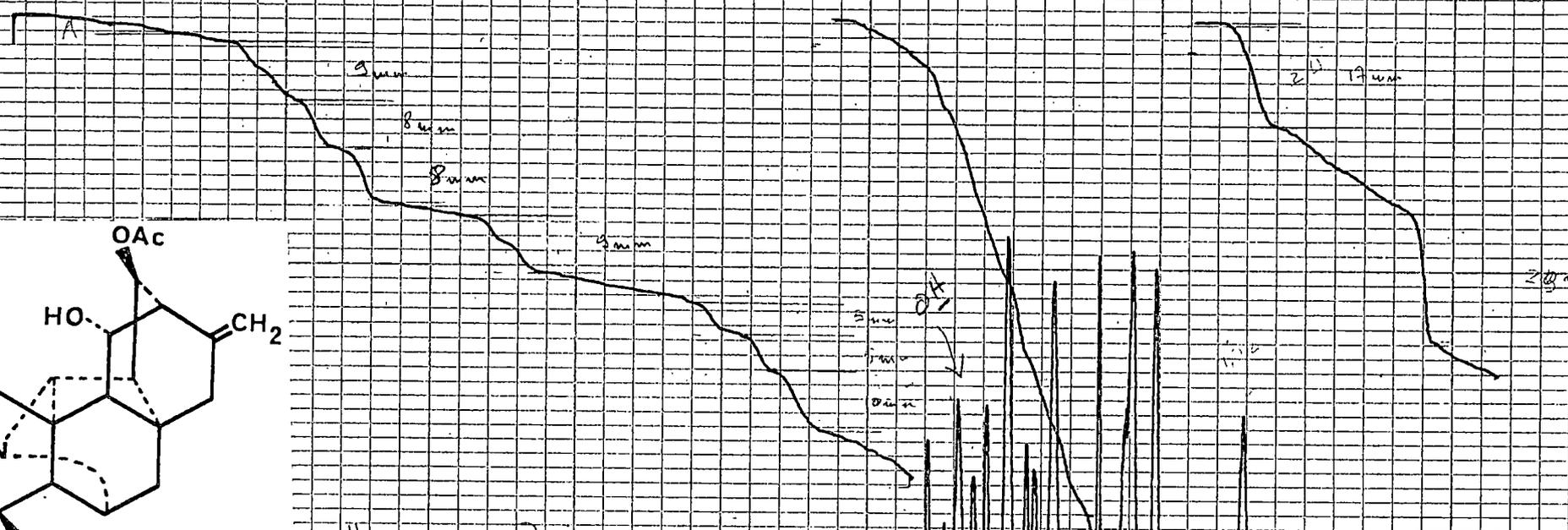
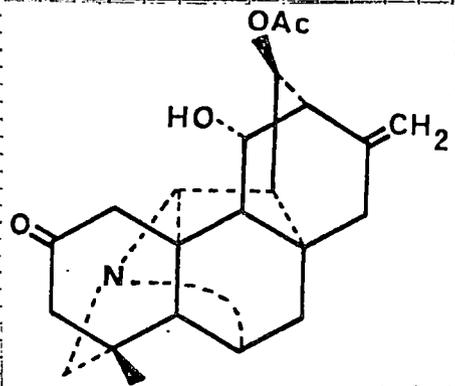
→ 447

300

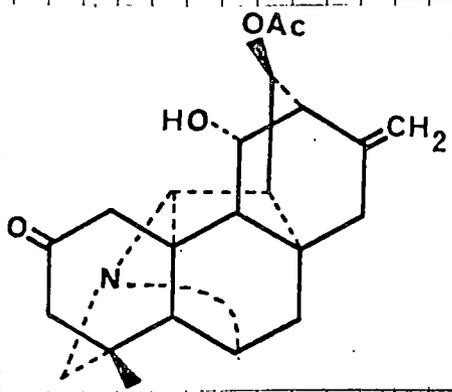
350

400

450

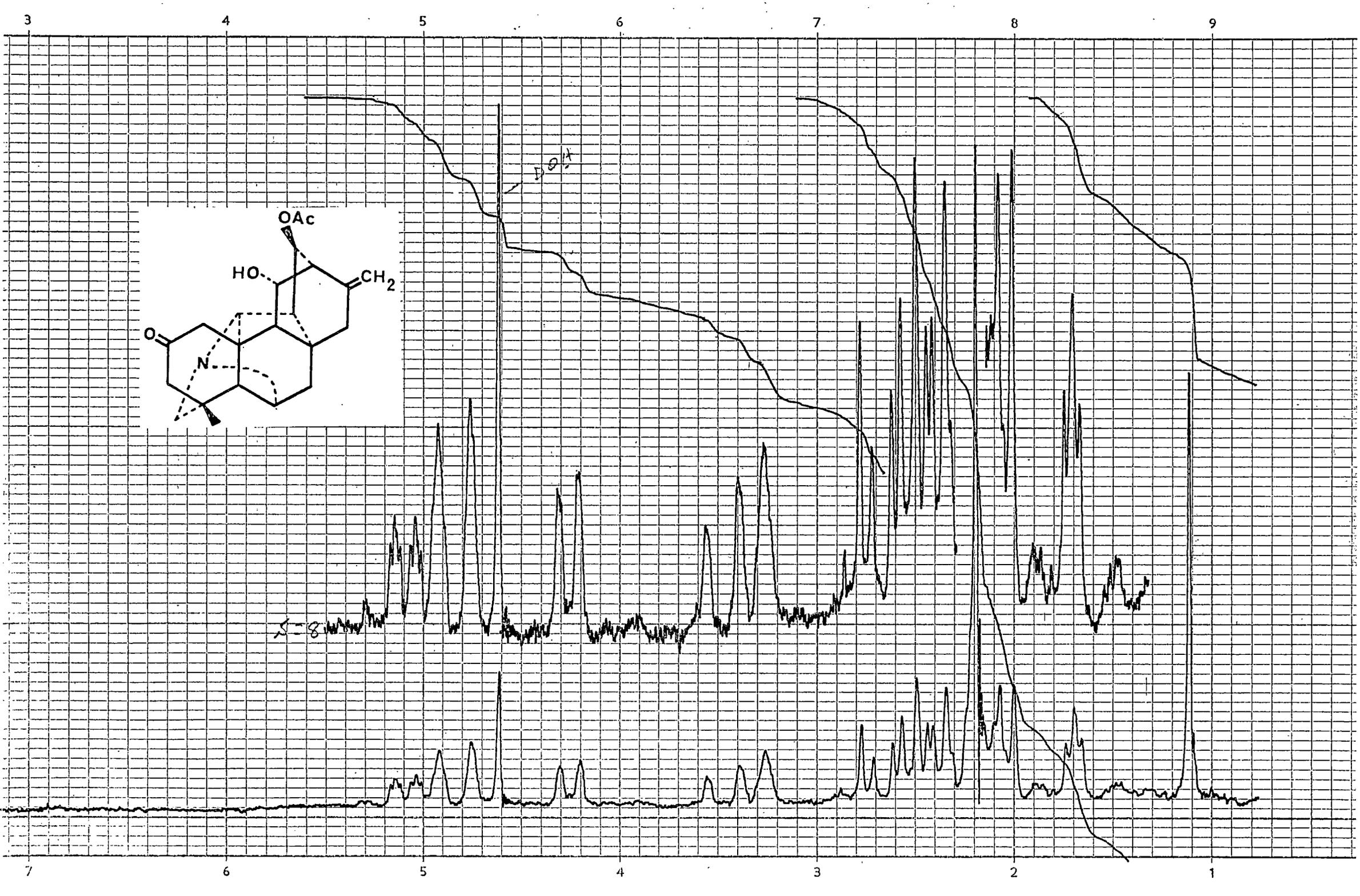


(5.19) (5.07) (4.85) (4.70) (4.53) (4.23) 4
 (4.81) (4.83) (5.05) (5.21) (5.27) (5.11)
 3.53 3.41 2.22 2 1.73 1.145 1
 6.53 6.72 7.73 8.27 9.01



S-8

100%



4

5

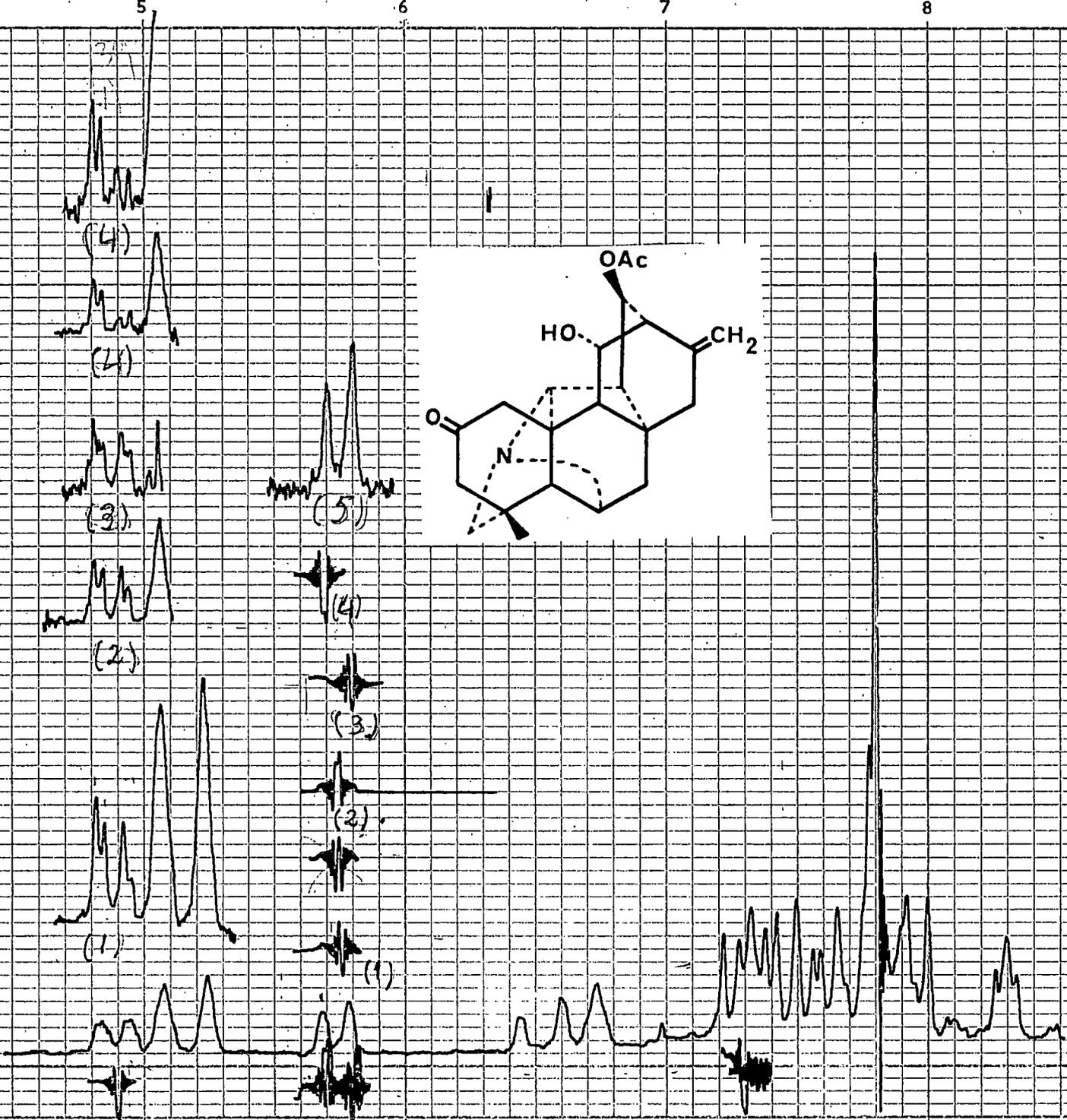
6

7

8

9

10



(4)

(4)

(3)

(2)

(1)

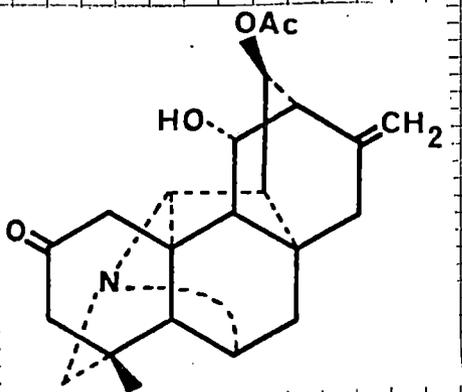
(5)

(4)

(3)

(3)

(1)



(3)

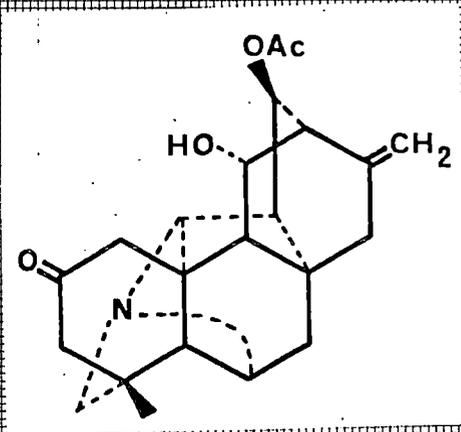
4

3

2

1

0



310

M⁺ 369

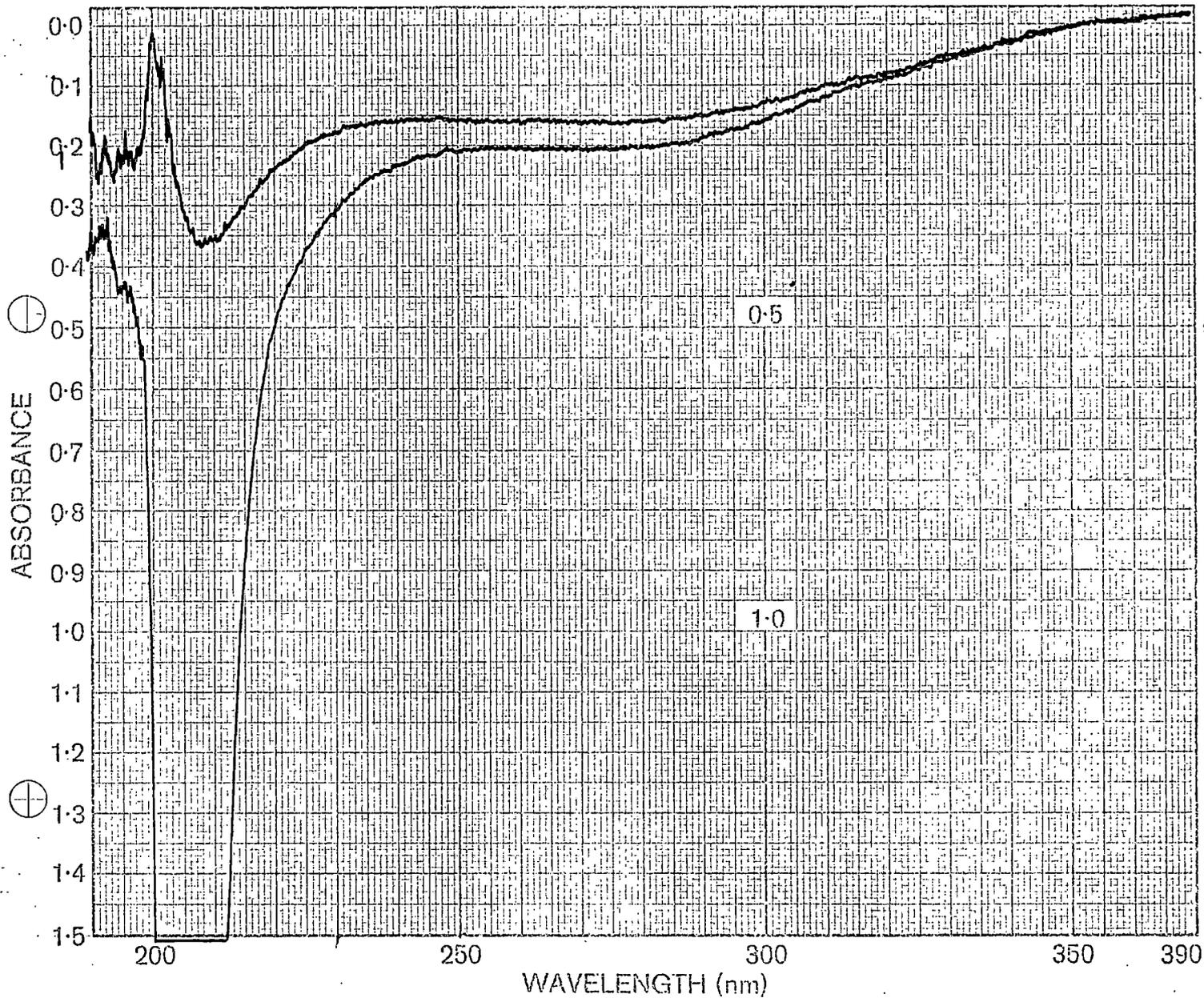
150

200

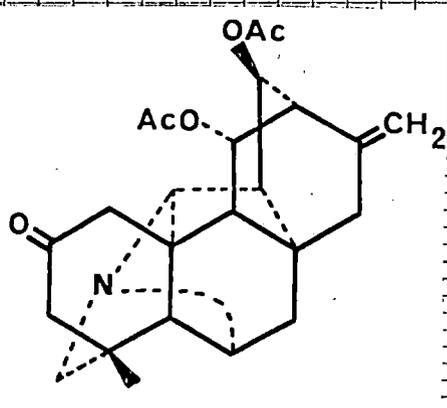
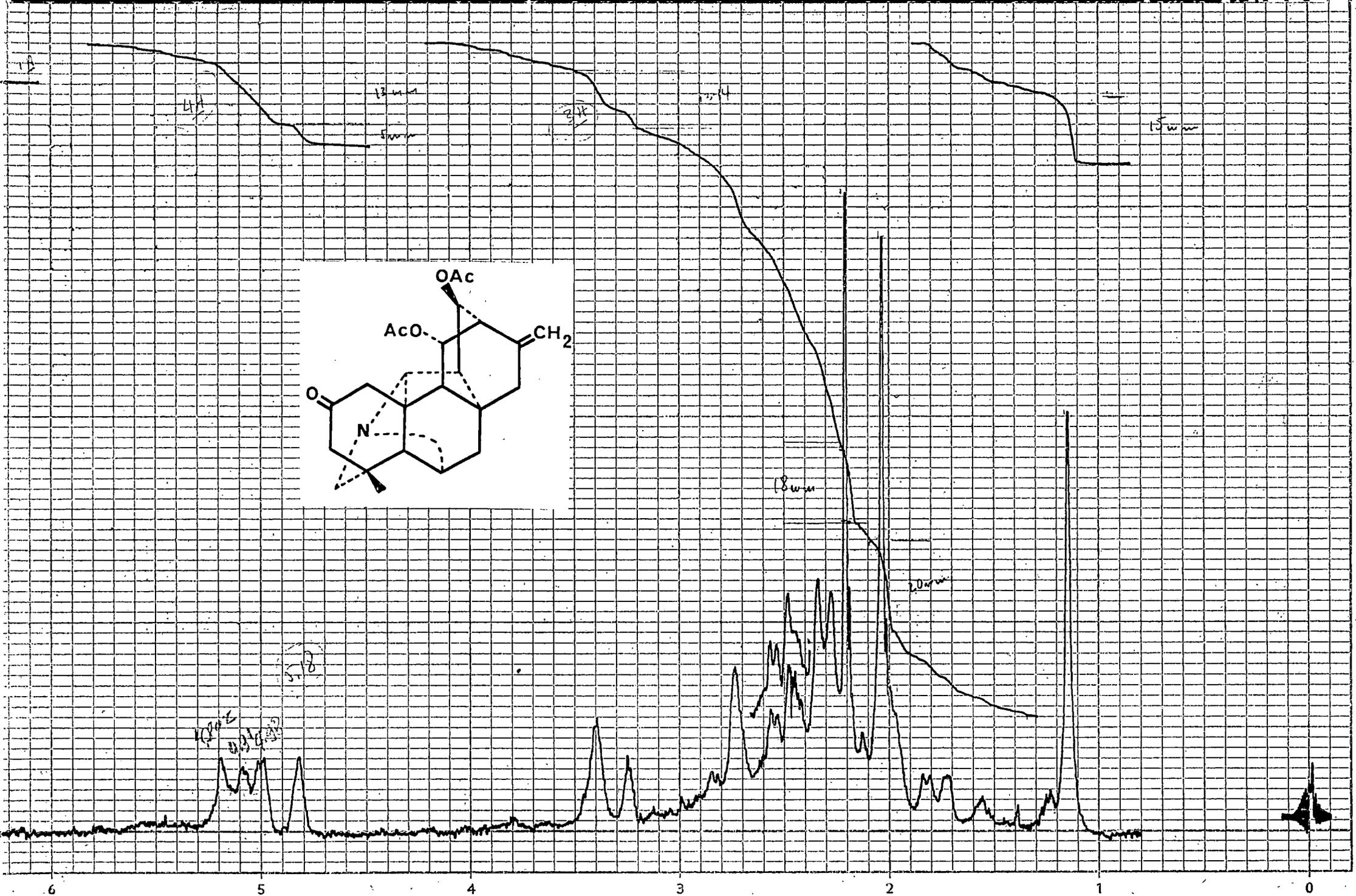
250

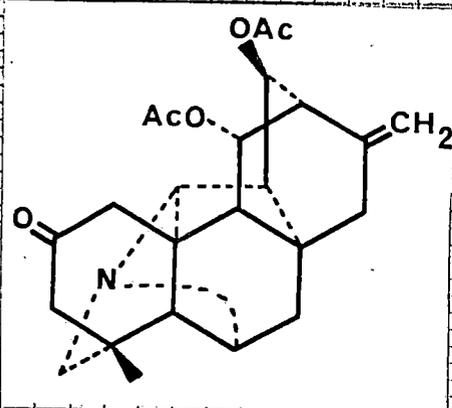
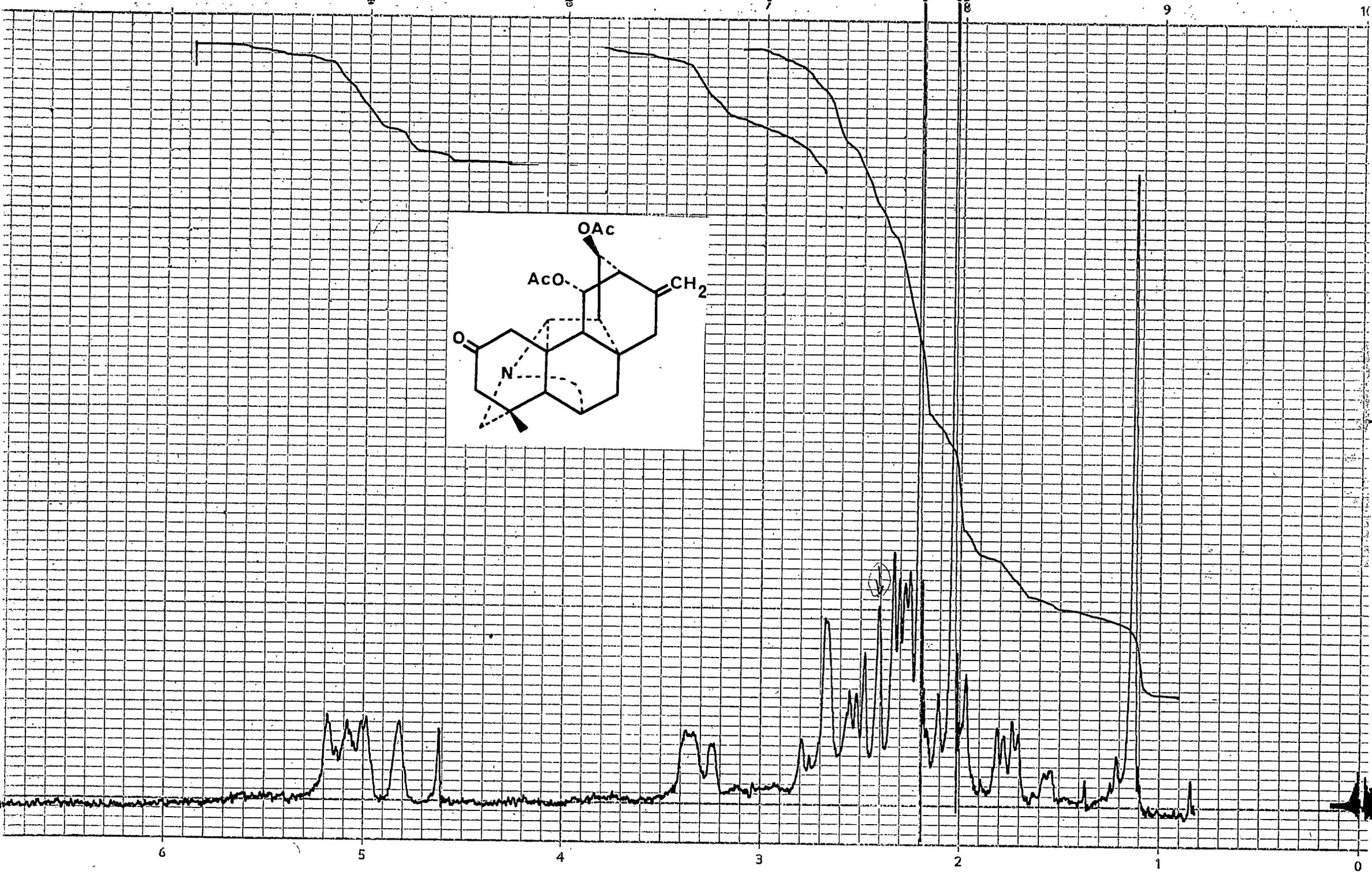
300

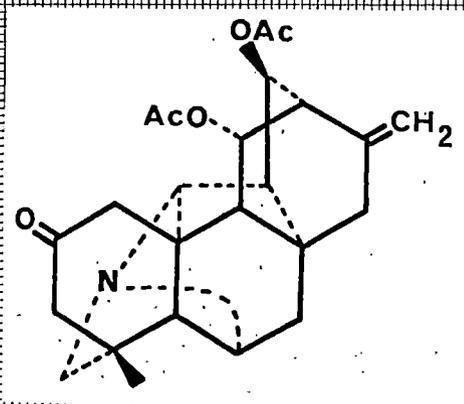
350



SAMPLE <i>Alcaloid 210-213C</i> <i>{20-24}</i> <i>{8-15}</i> ORIGIN _____	SOLVENT <i>EtOH</i> CONC. <i>4.95 mg/25ml</i> CELL PATH <i>1cm</i> REFERENCE _____ PERKIN ELMER	SCAN <i>M</i> SLIT <i>25</i> OPERATOR _____ DATE <i>17-11-78</i> PART No. 492-5002	REMARKS <i>A x 5</i> REF. No. _____
---	---	--	---







200

250

300

350

400

352

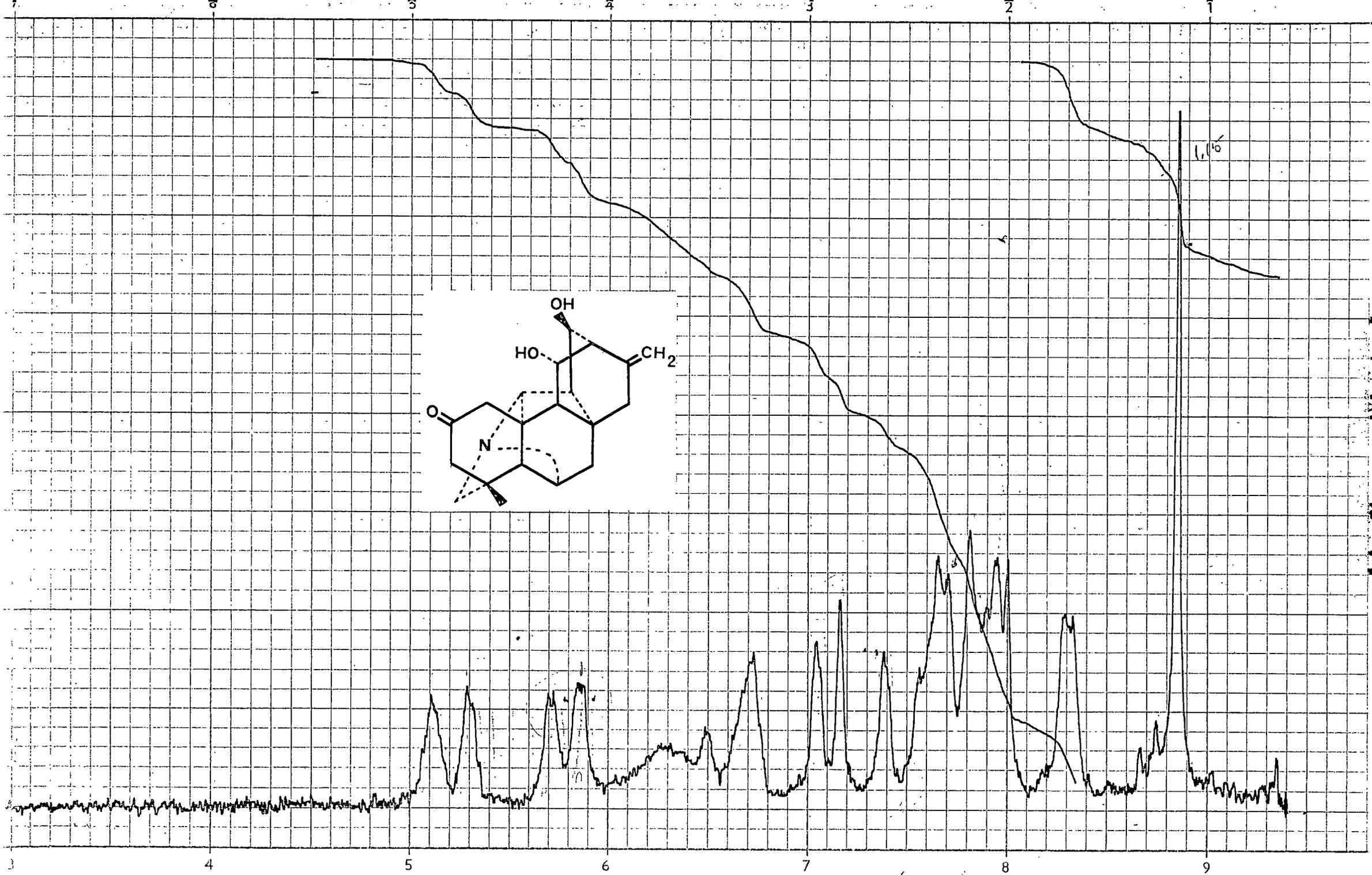
368

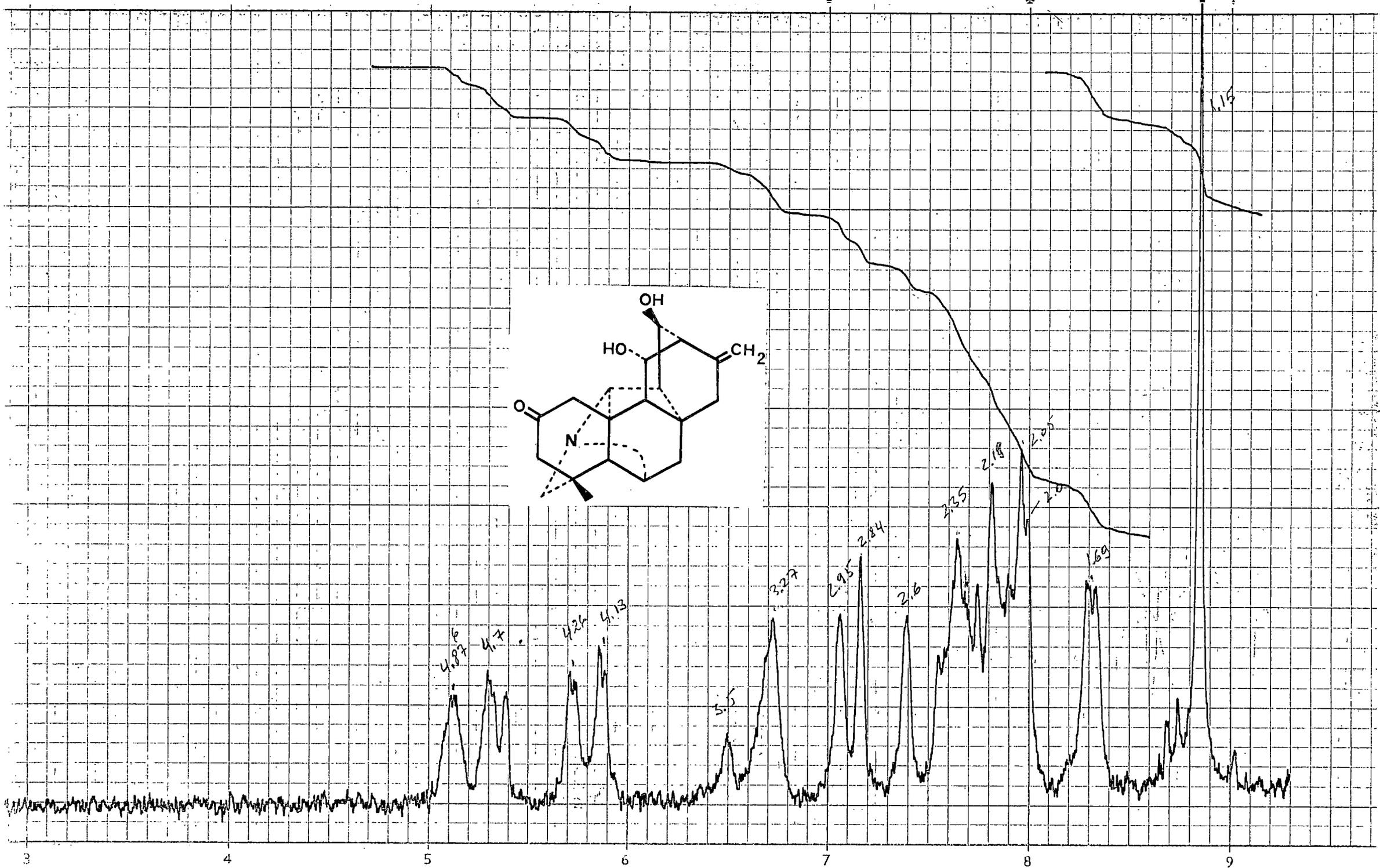
383

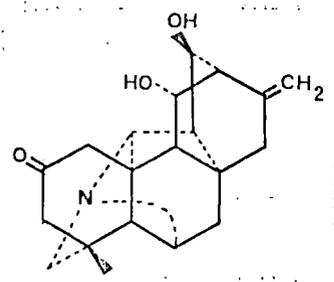
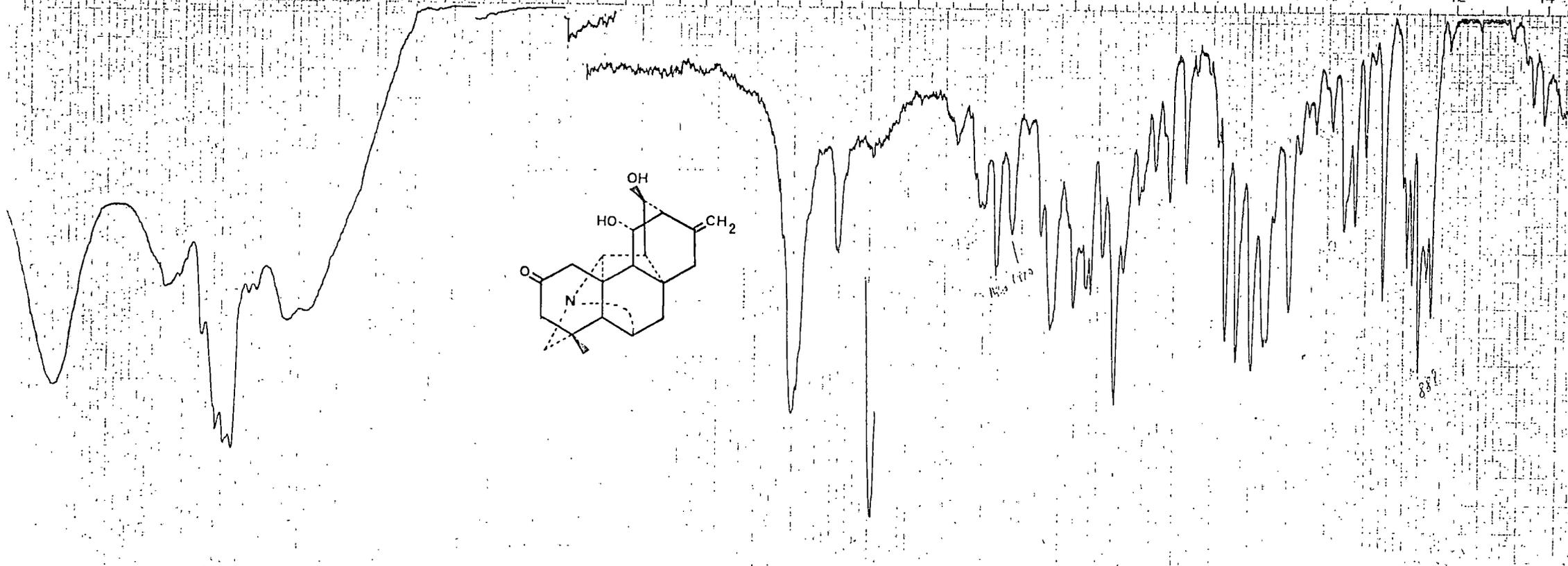
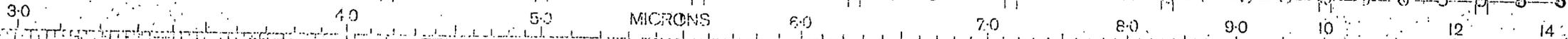
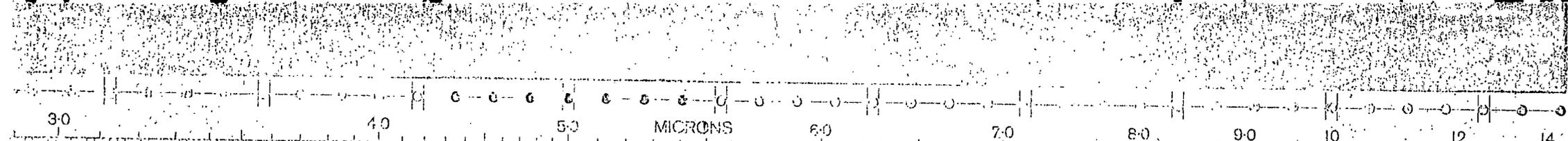
411



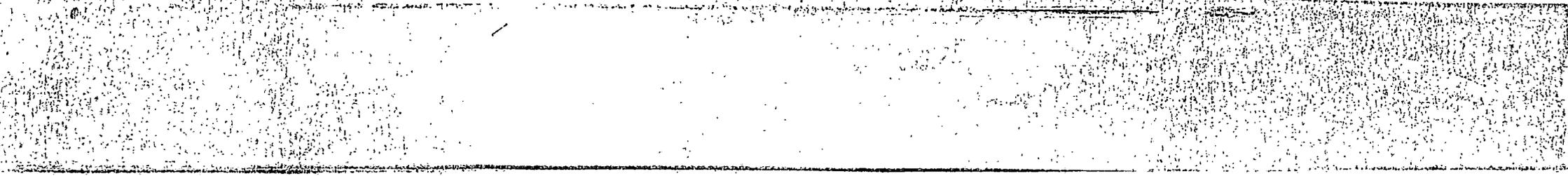
Spiras

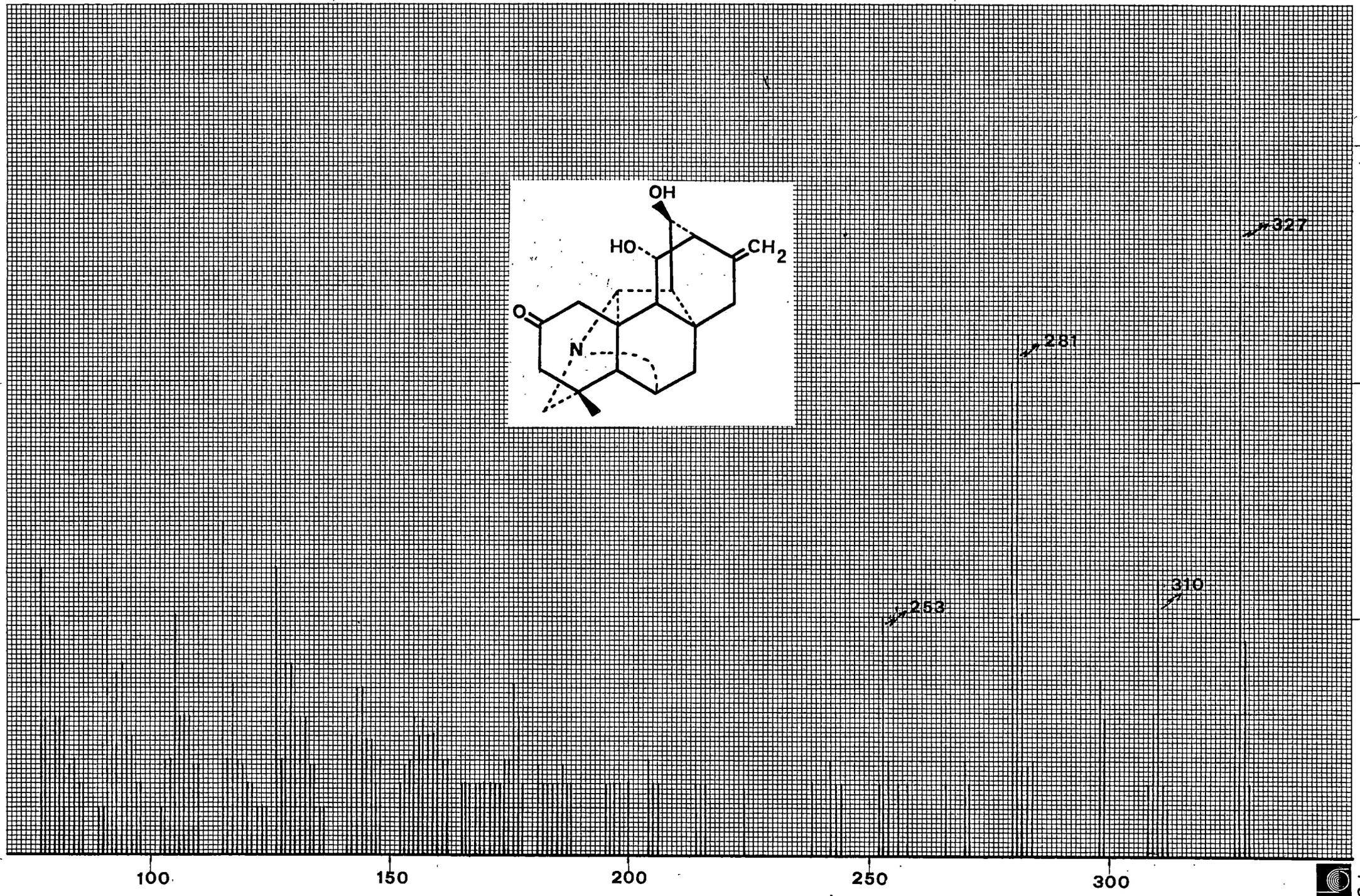


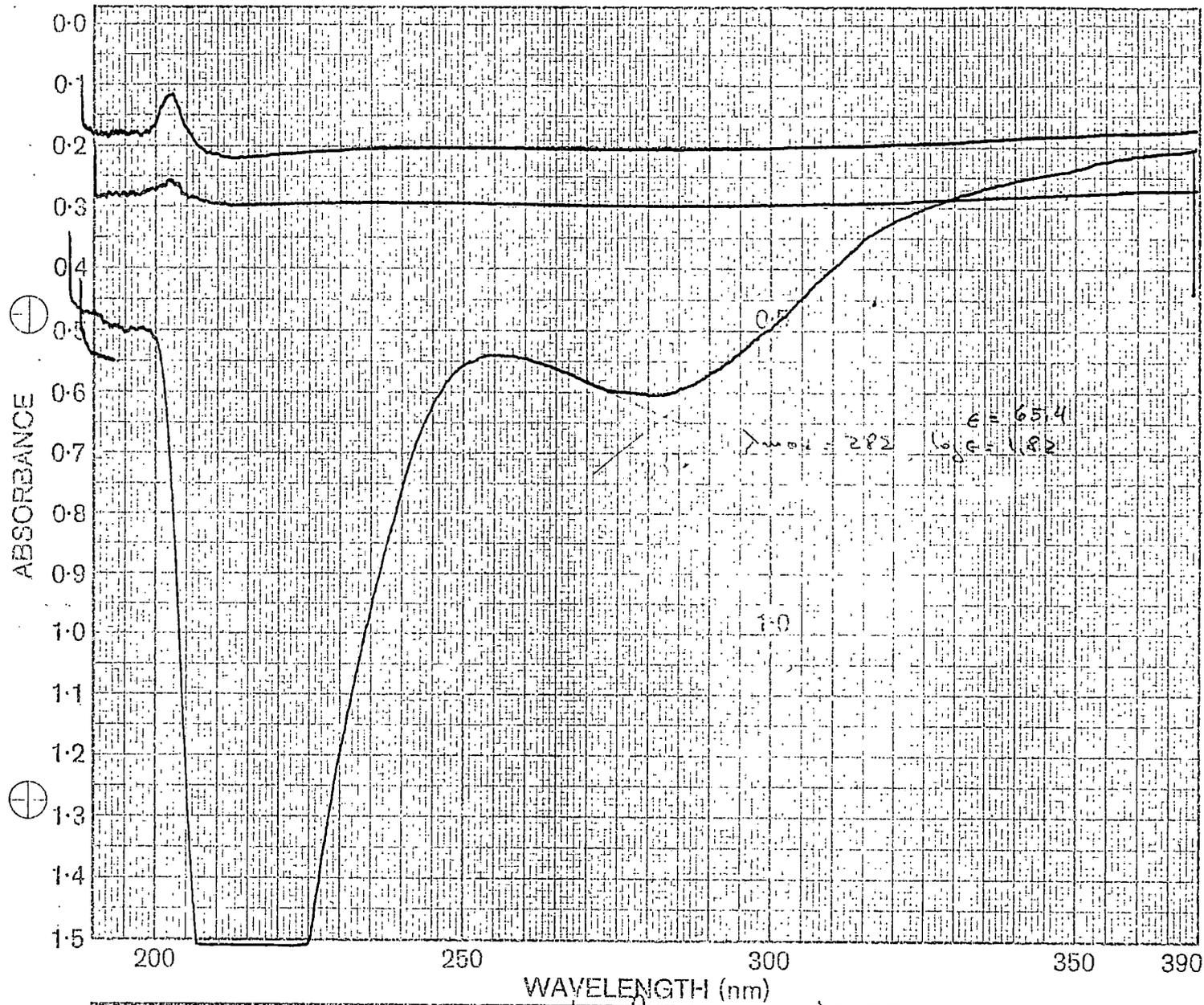




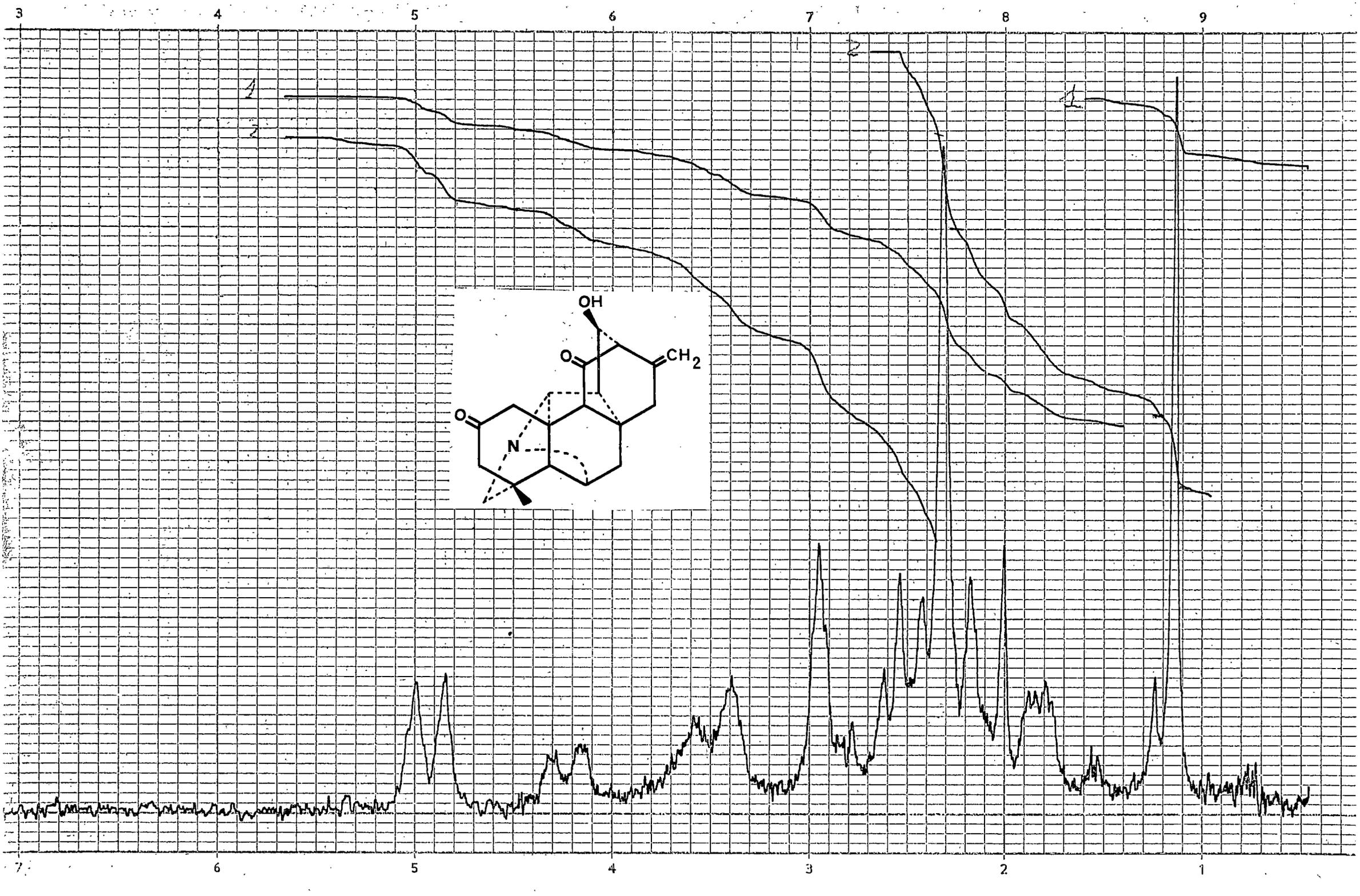
31K
 DATE: 9-11-79
 REF. NO.:

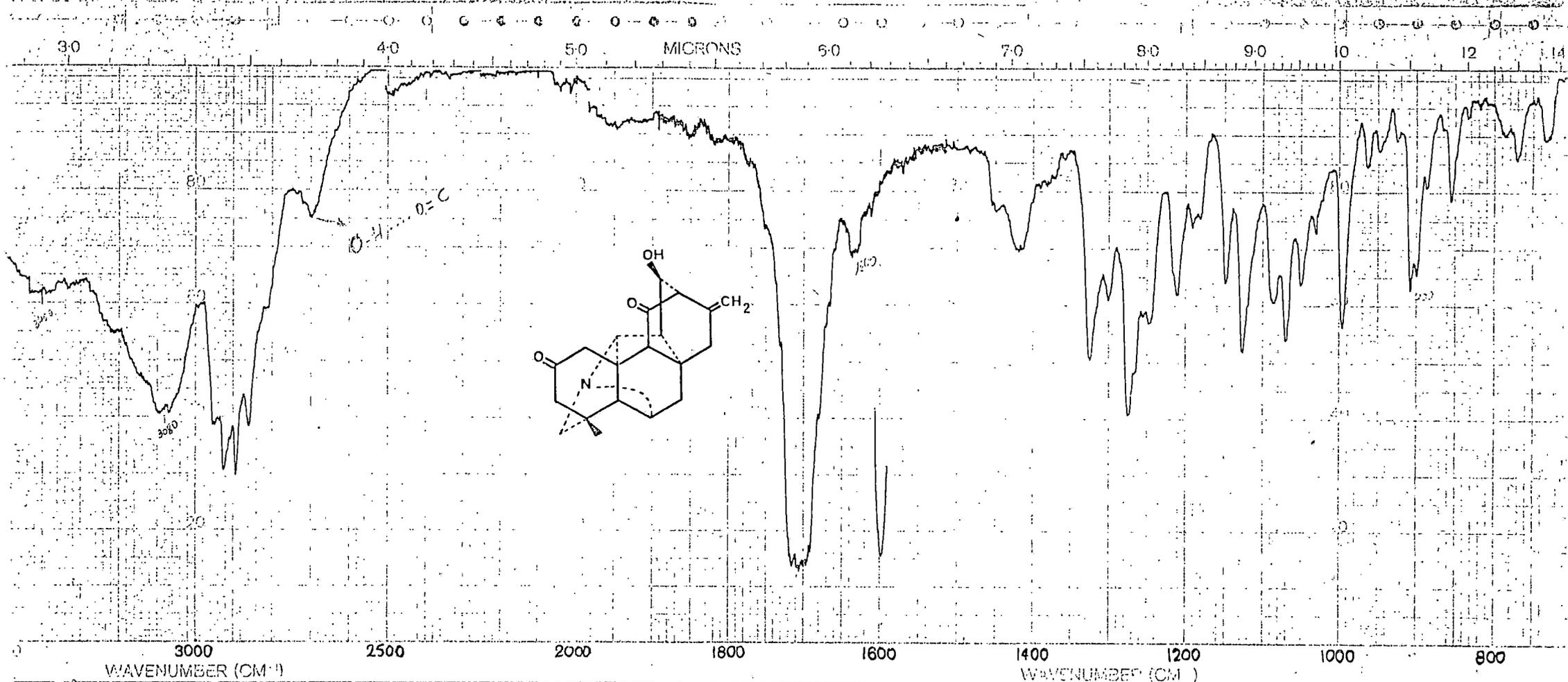




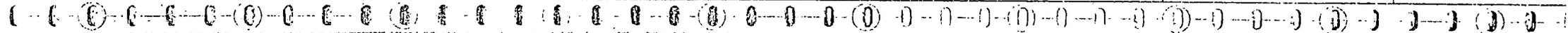


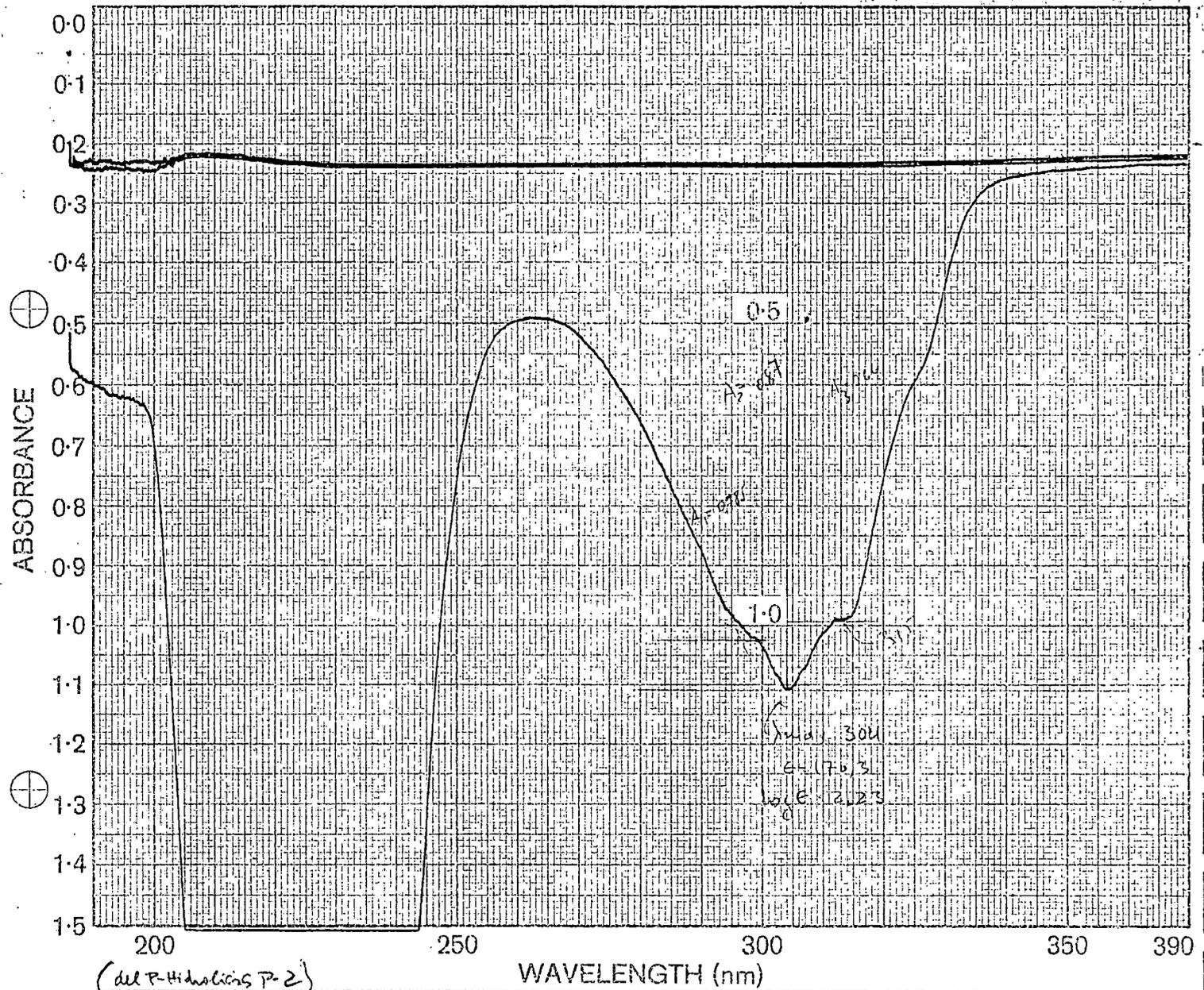
SAMPLE <i>OP. 68.</i> <i>Hydrolysis P-7</i> ORIGIN <i>Dolphin in Perf.</i>	SOLVENT <i>Stanol</i> CONC. <i>10 mg/5 ml</i> CELL PATH <i>1 cm</i> REFERENCE _____ PERKIN ELMER	SCAN <i>Reverse</i> SLIT <i>25</i> OPERATOR <i>W. Jones</i> DATE <i>2-5-73</i>	REMARKS REF. No.
--	--	---	-------------------------





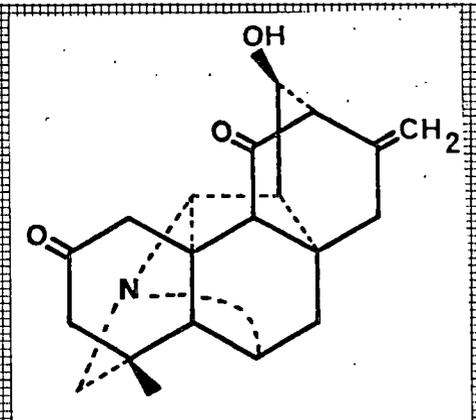
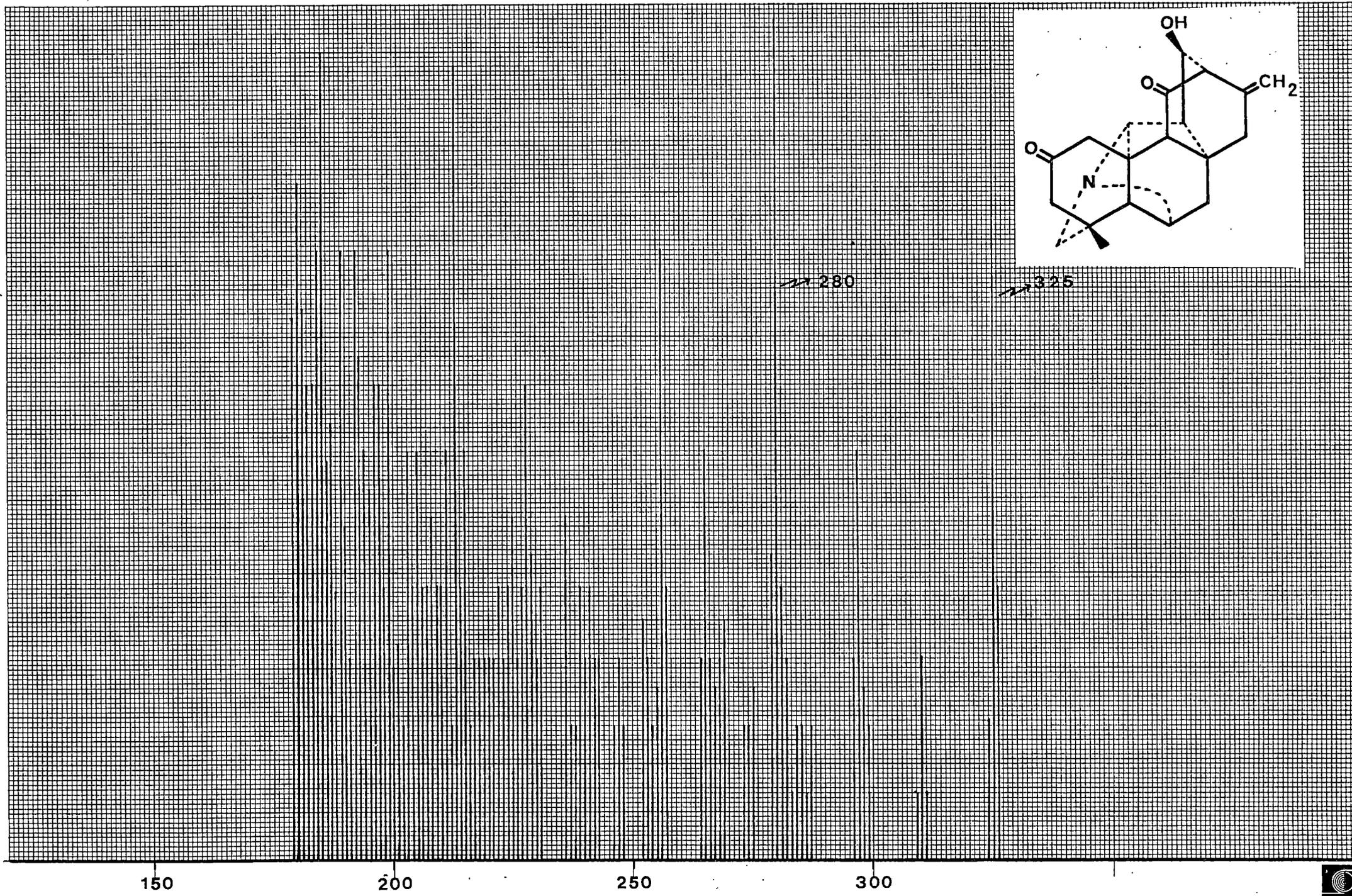
SOLVENT <i>CH₂Cl₂</i> CONCENTRATION CELL PATH REFERENCE	REMARKS	SCAN SPEED <i>medium (low)</i>	OPERATOR <i>Ant</i>
		SLIT <i>✓</i>	DATE <i>31-1-75</i>
		PART NO. 472-5099	REF. No.

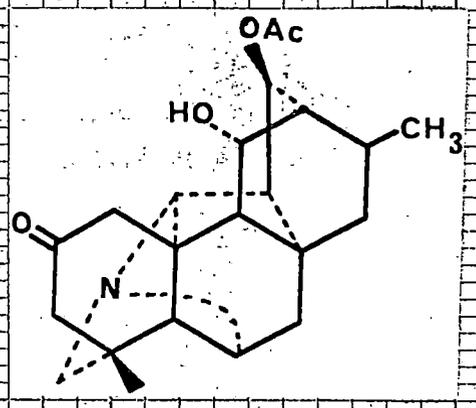
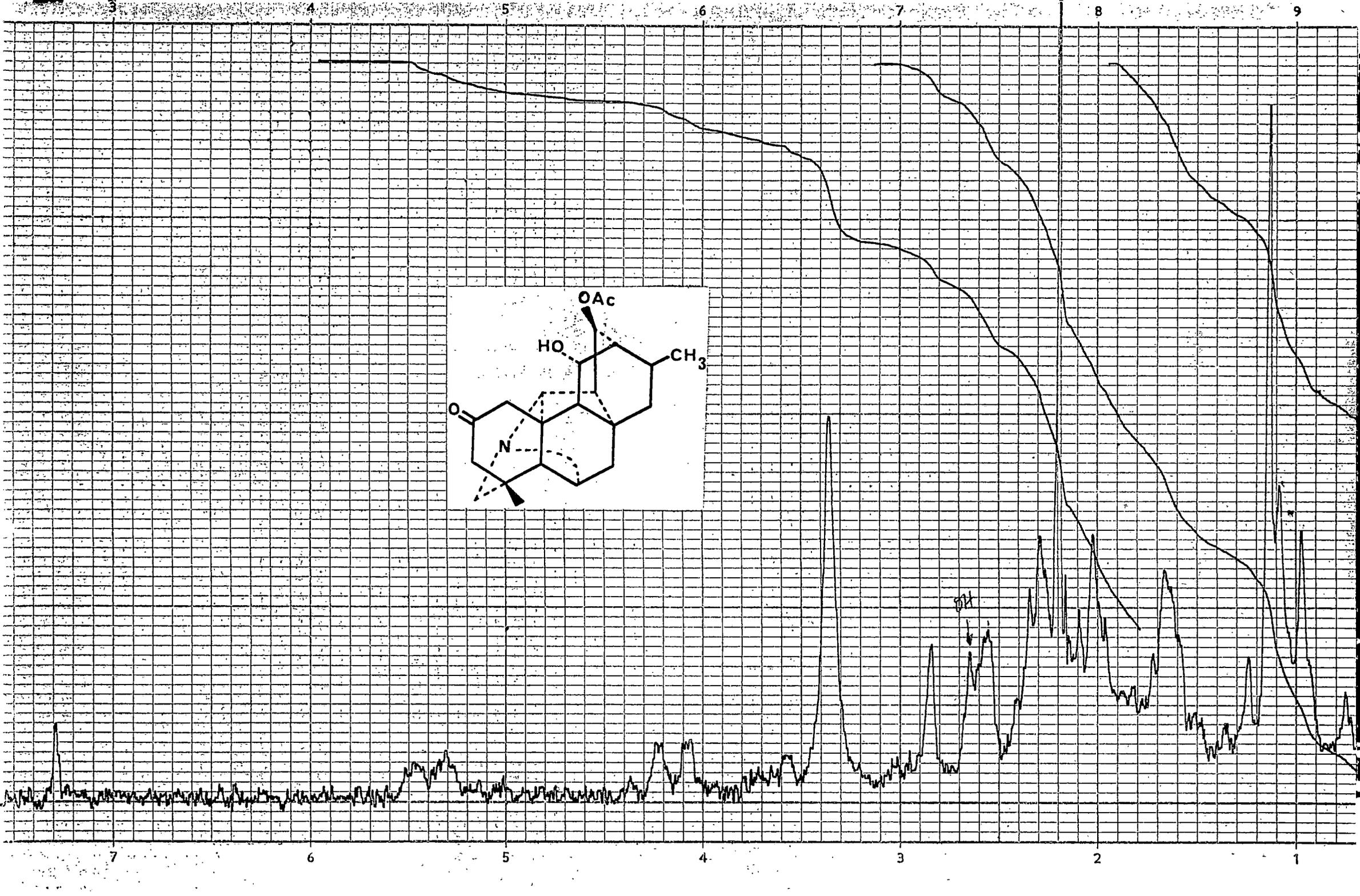


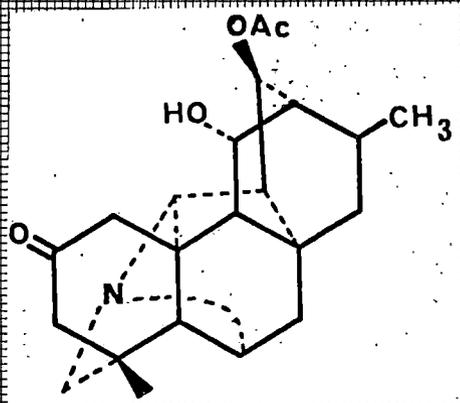


(del P-Hidrolisis P-2)

SAMPLE <i>extracto de</i> <i>OPGP</i> <i>P.F. 236-38°C</i>	SOLVENT <i>etanol</i> CONC. <i>2.3mg/5ml</i> CELL PATH <i>1cm.</i> REFERENCE <i>etanol</i>	SCAN <i>Medium</i> SLIT <i>25</i> OPERATOR <i>M.R.</i> DATE <i>6-2-79</i>	REMARKS <i>A₁ = 0.785</i> <i>A₂ = 0.87</i> <i>A₃ = 0.66</i>
ORIGIN _____	PERKIN-ELMER	PART No. 492-5002	REF. No. _____







256

284

312

371

150

200

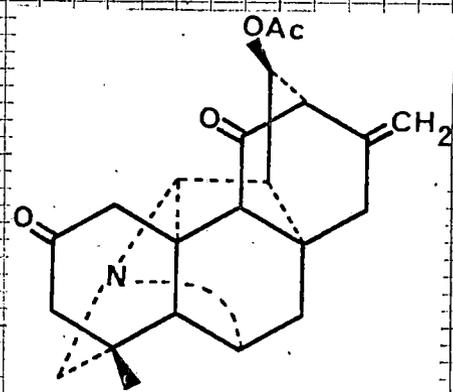
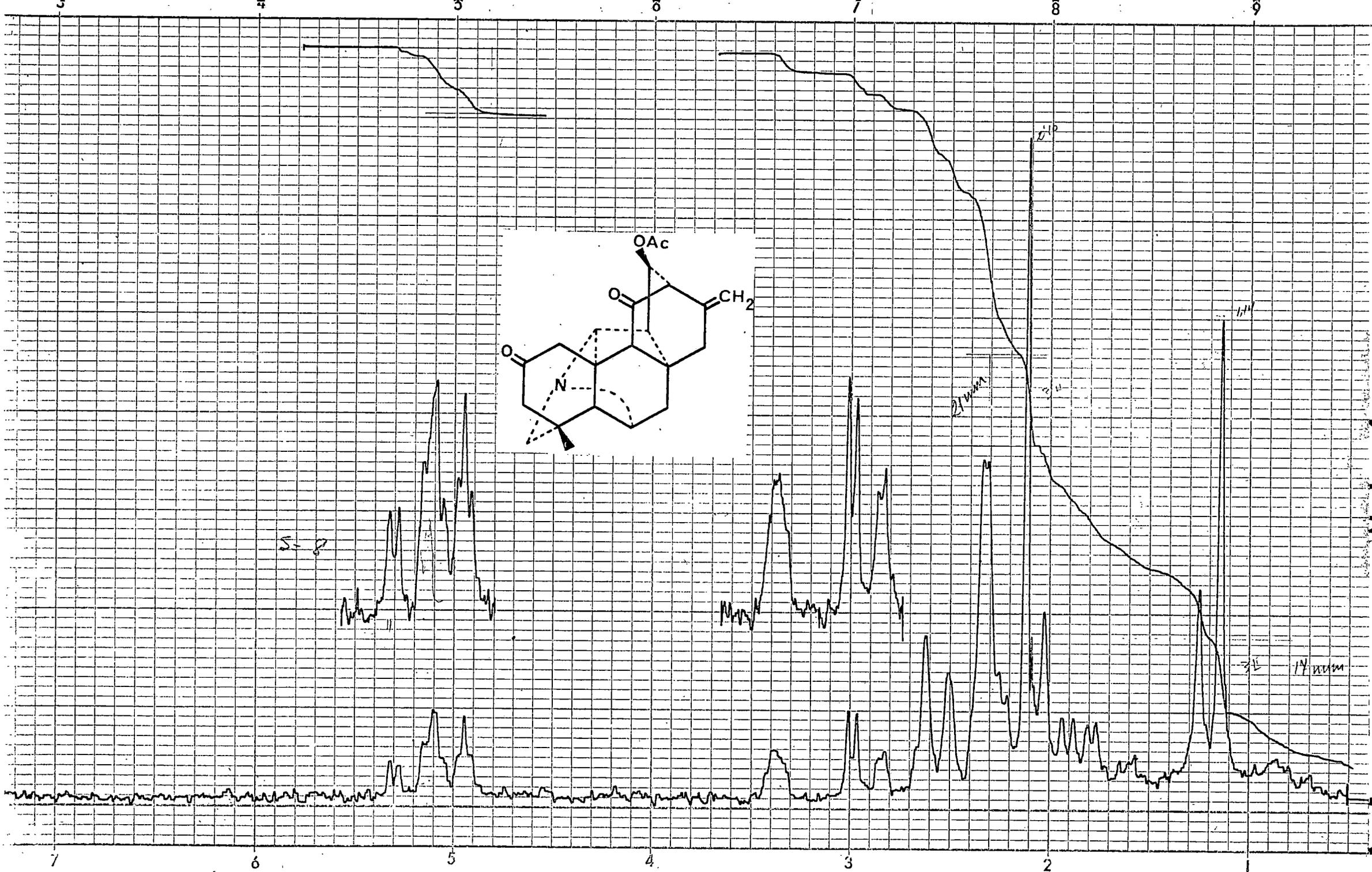
250

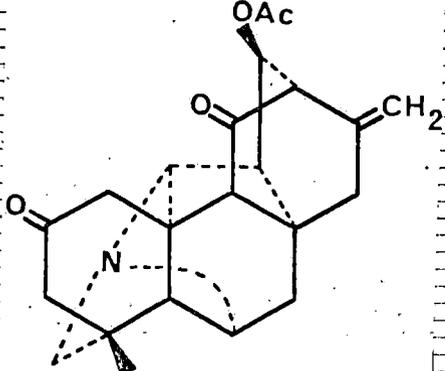
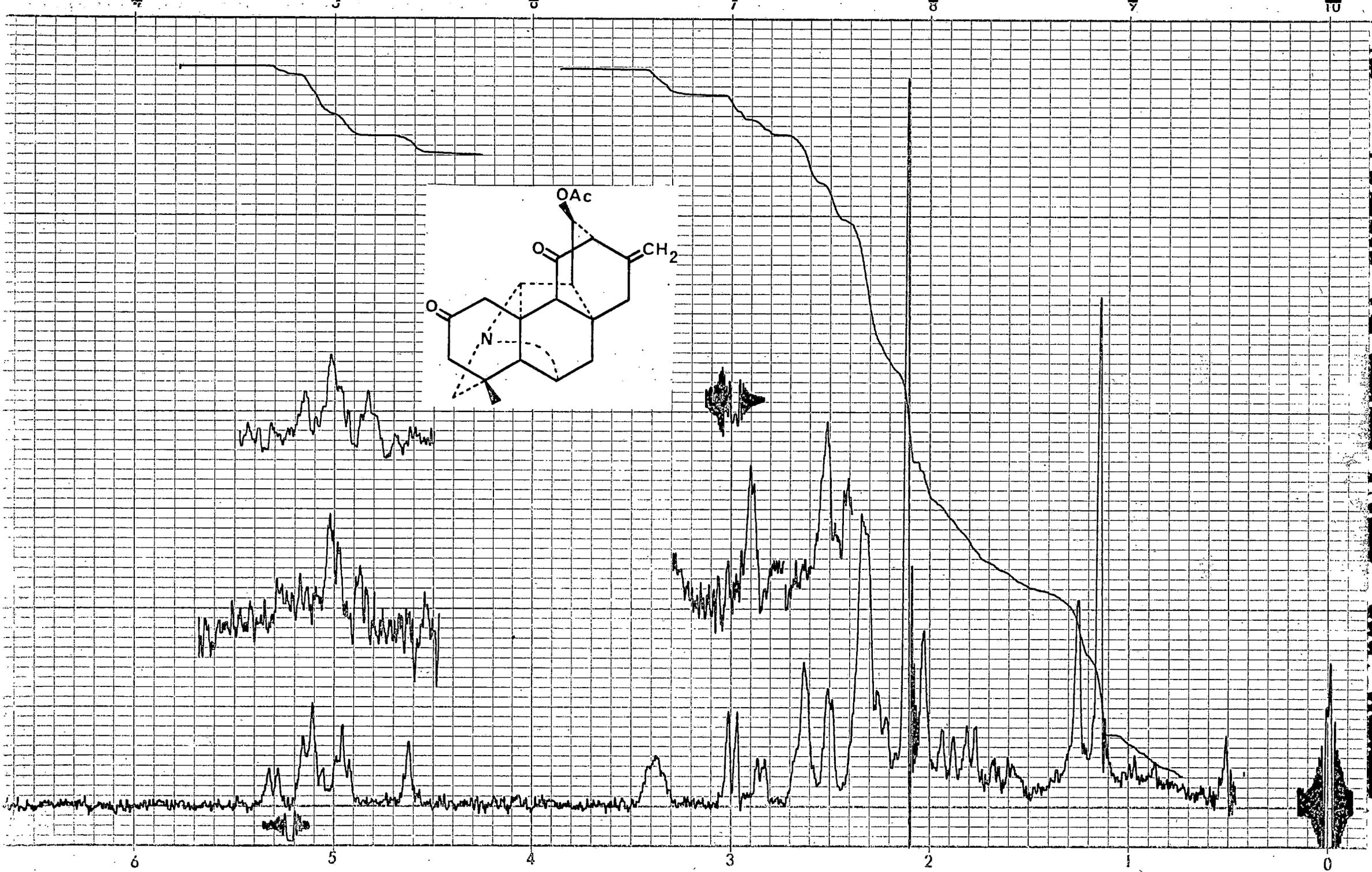
300

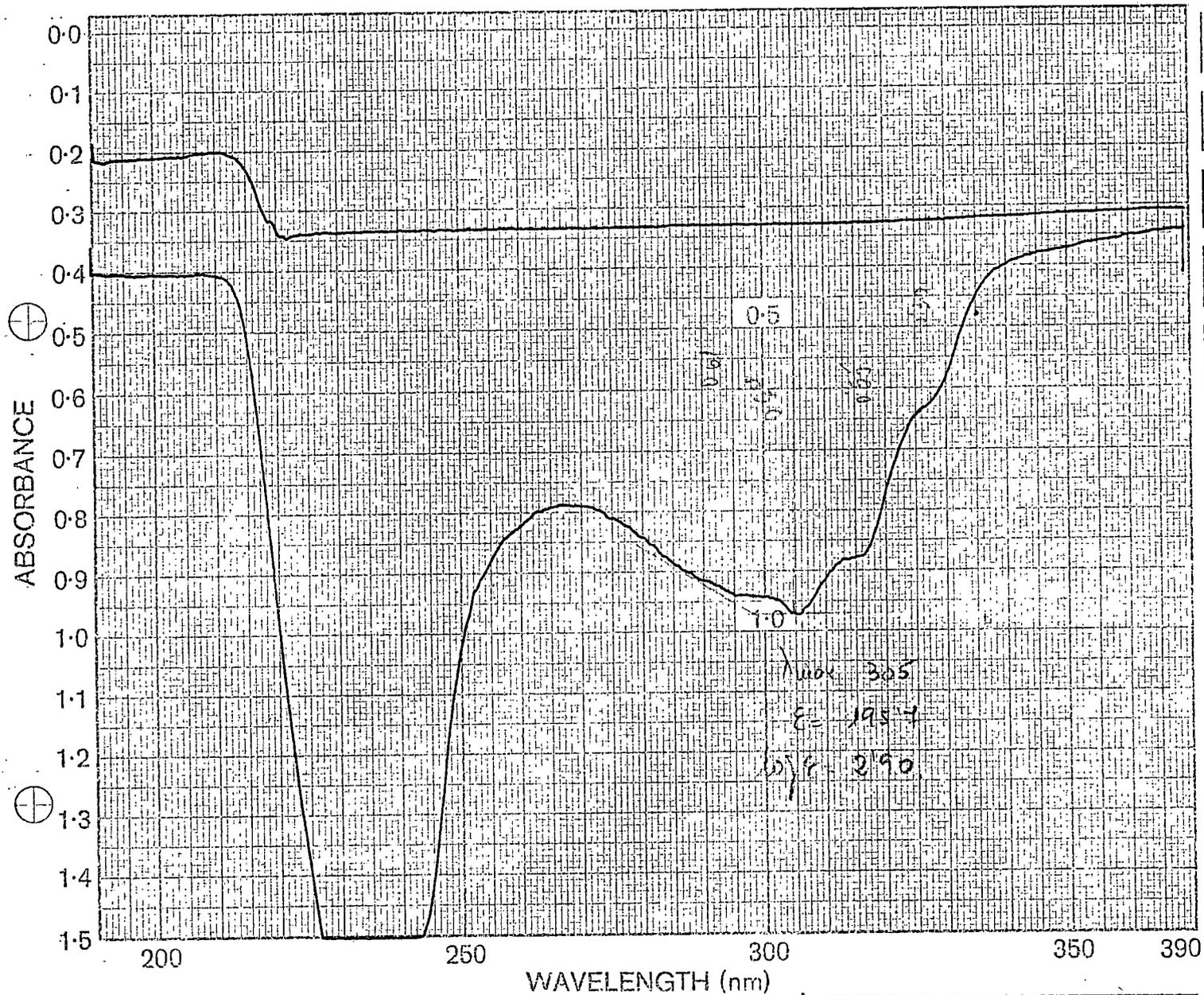
350



Spiros

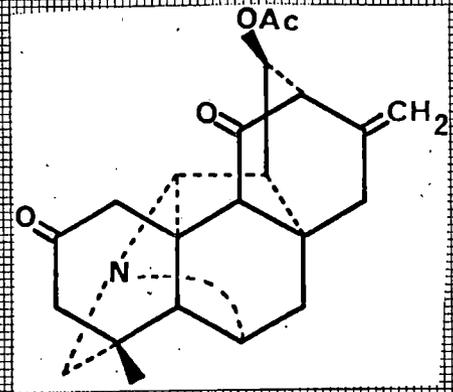






SAMPLE <i>ectona MR-P-2</i>	SOLVENT <i>Ethanol</i>	SCAN <i>last</i>	REMARKS
	CONC. <i>6 mg./5 ml.</i>	SLIT <i>25</i>	
	CELL PATH <i>1 cm.</i>	OPERATOR <i>M.R.</i>	
	REFERENCE <i>Ethanol</i>	DATE <i>10-7-77</i>	
ORIGIN <i>D. Car. di. P. A. Hermann</i>	PERKIN ELMER	PART No. 492-5002	REF. No.

280



367

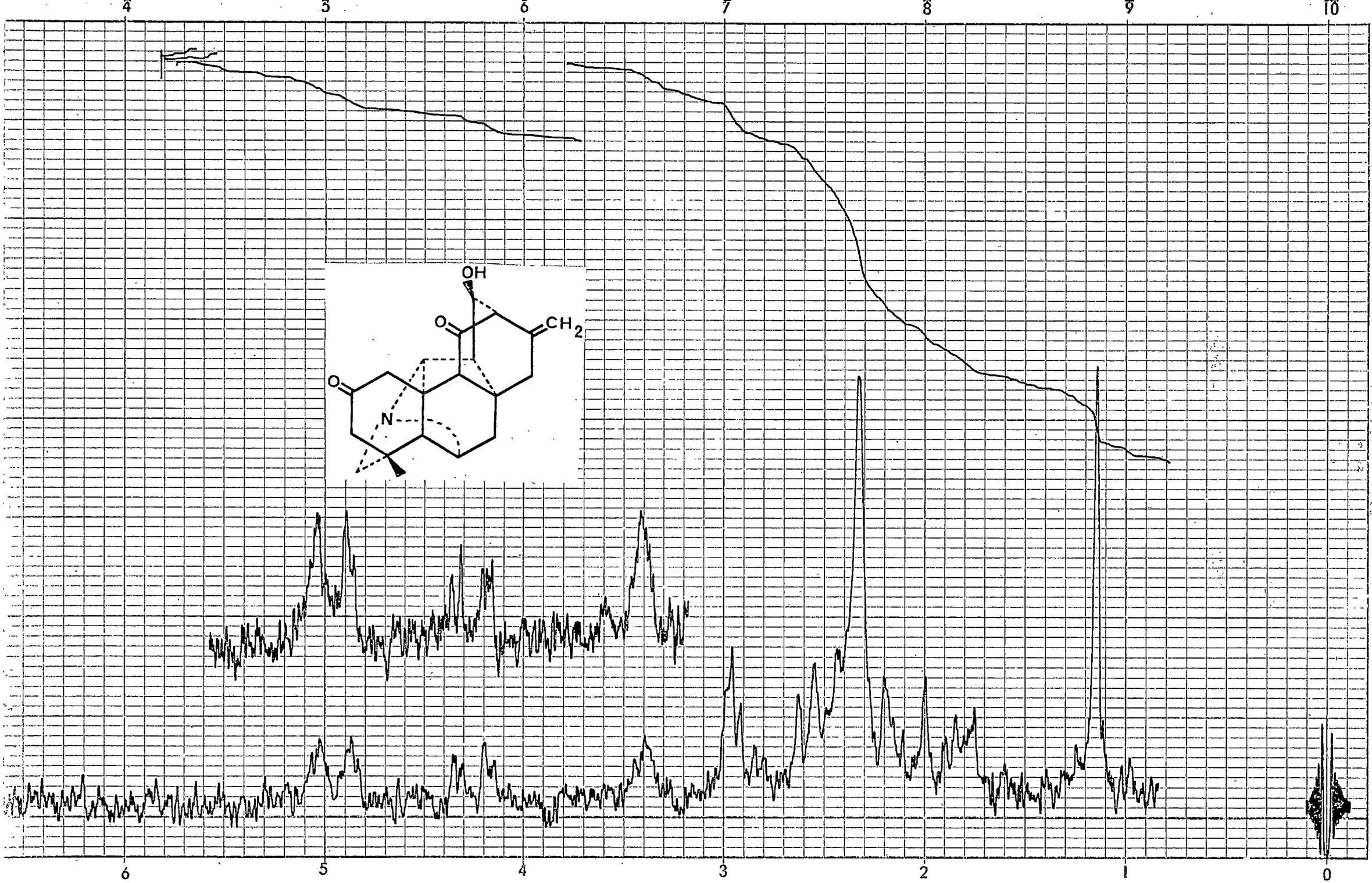
150

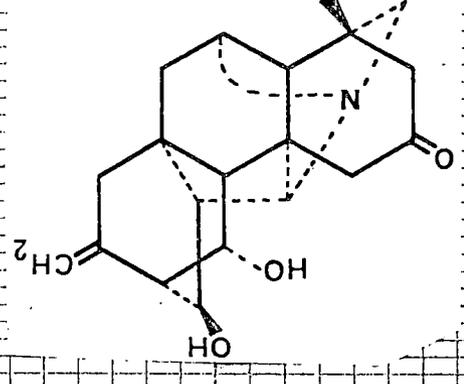
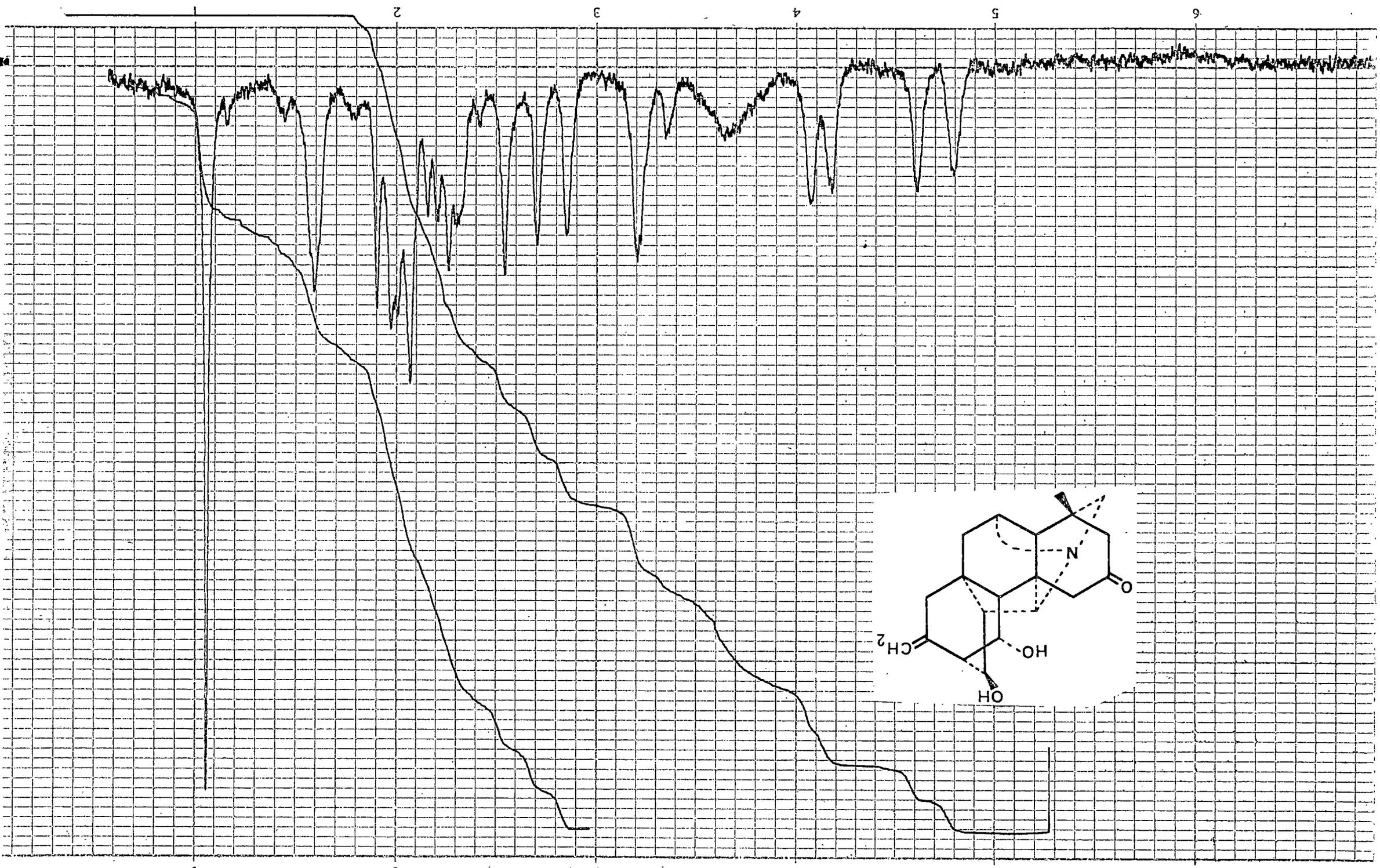
200

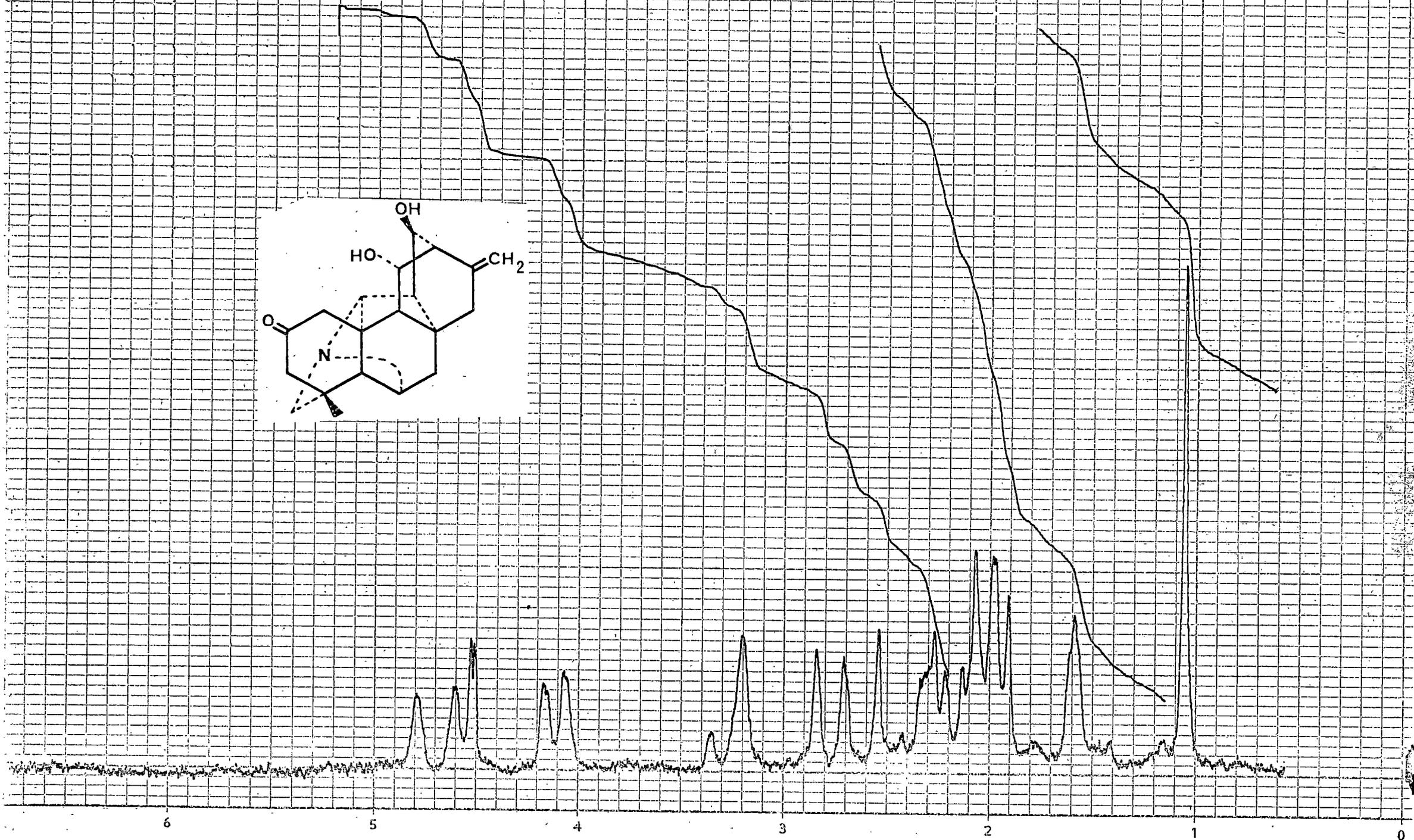
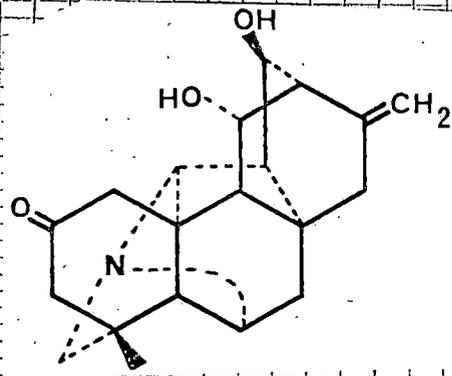
250

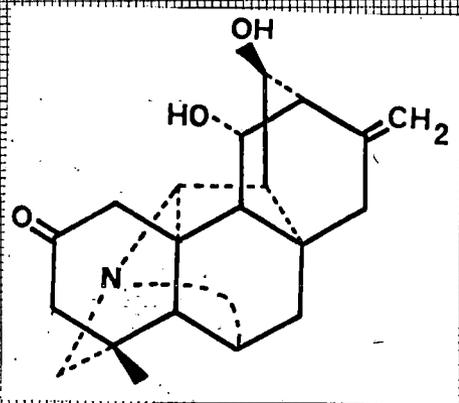
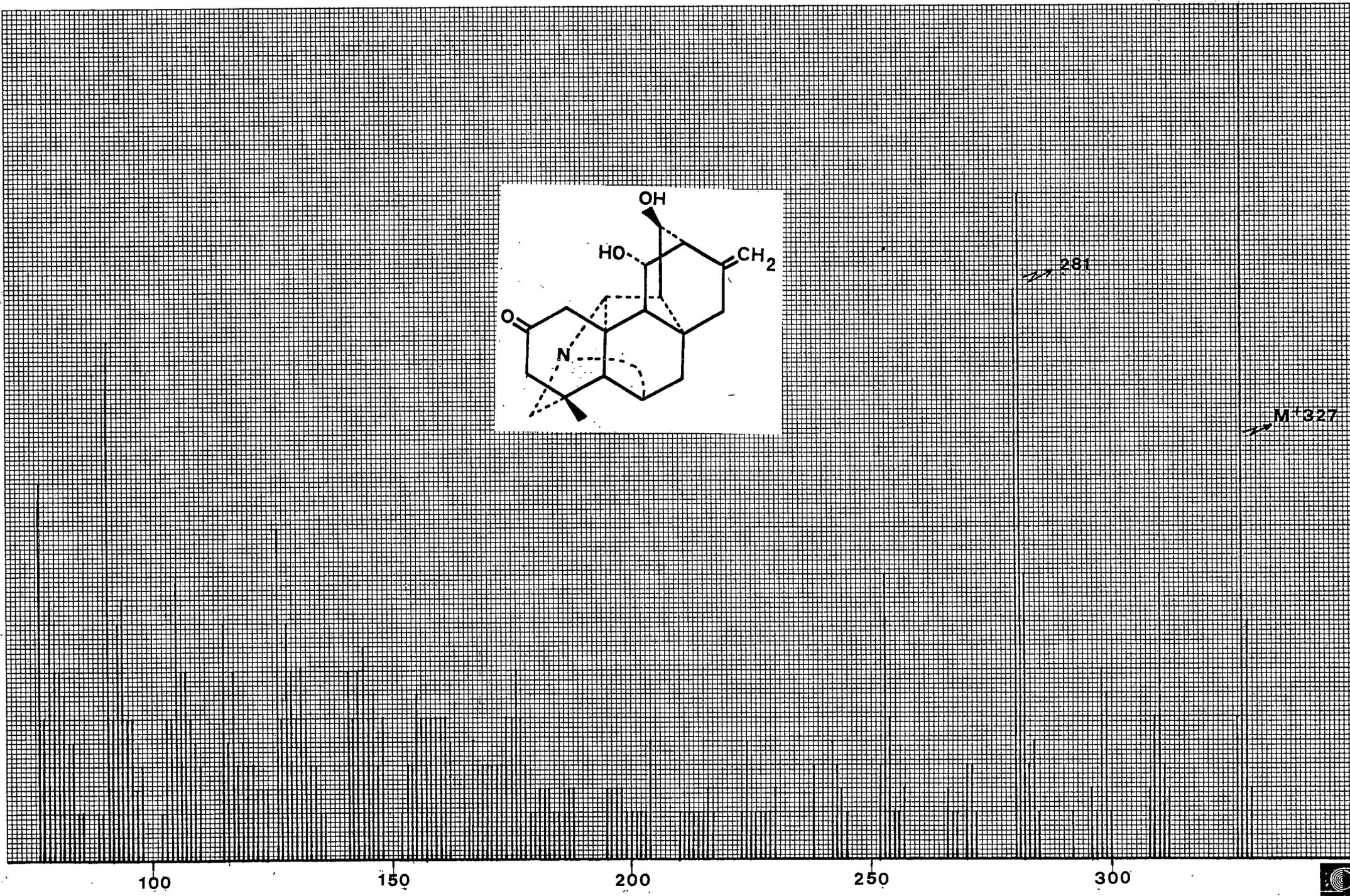
300

350



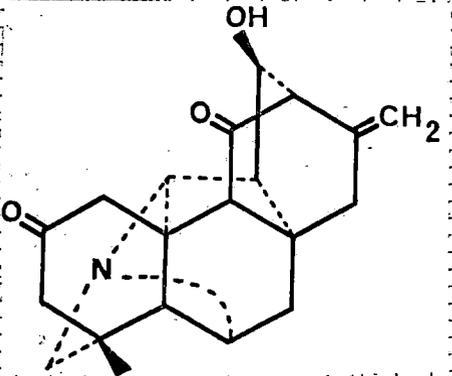
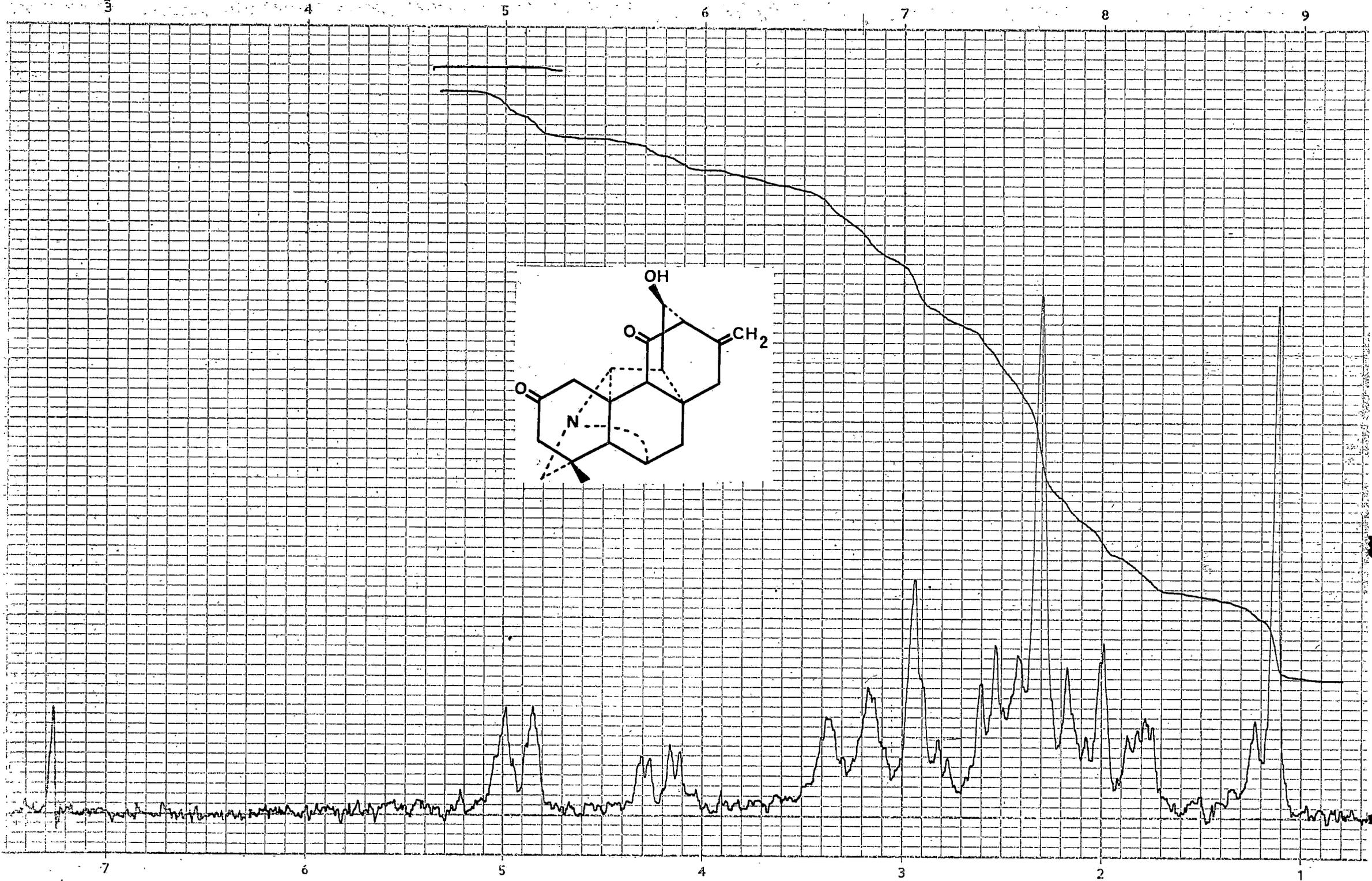


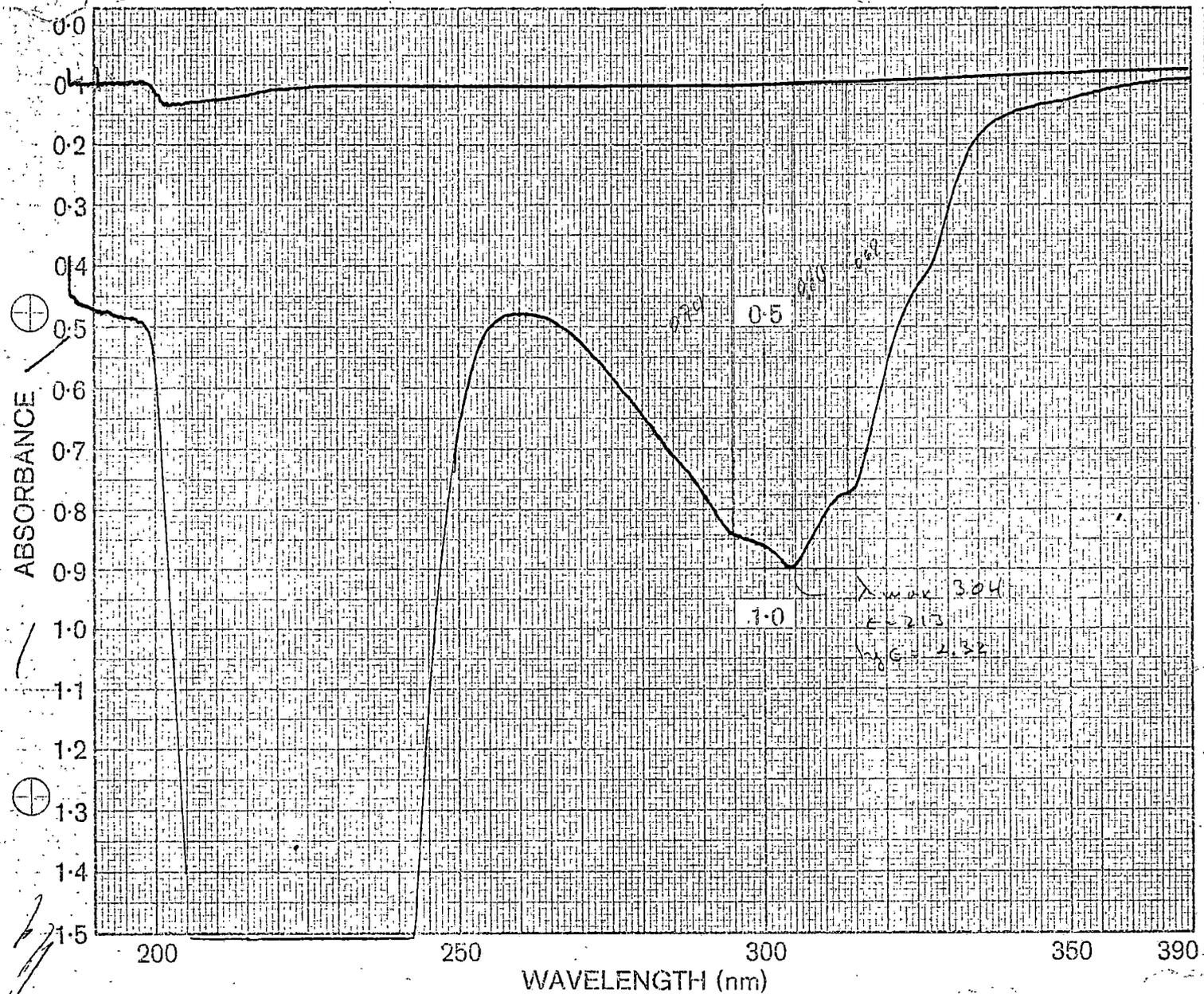




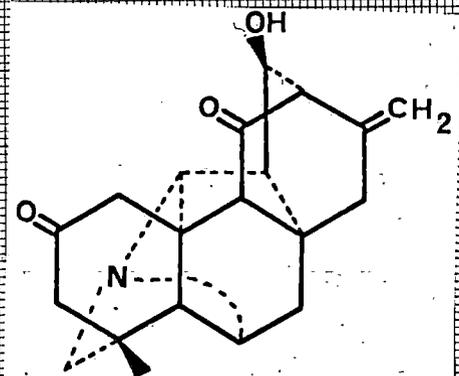
281

M⁺327





SAMPLE <i>Cotona de P5</i>	SOLVENT <i>Ethanol</i>	SCAN <i>Medium</i>	REMARKS
<i>m.p. 236-238.5</i>	CONC. <i>61 mg/ml</i>	SLIT <i>25</i>	
	CELL PATH <i>1 cm</i>	OPERATOR <i>H.L.</i>	
	REFERENCE <i>Ethanol</i>	DATE <i>9-2-78</i>	
ORIGIN <i>10186</i>	PERKIN-ELMER	PART No. 492-5002	REF. No.



→ 212

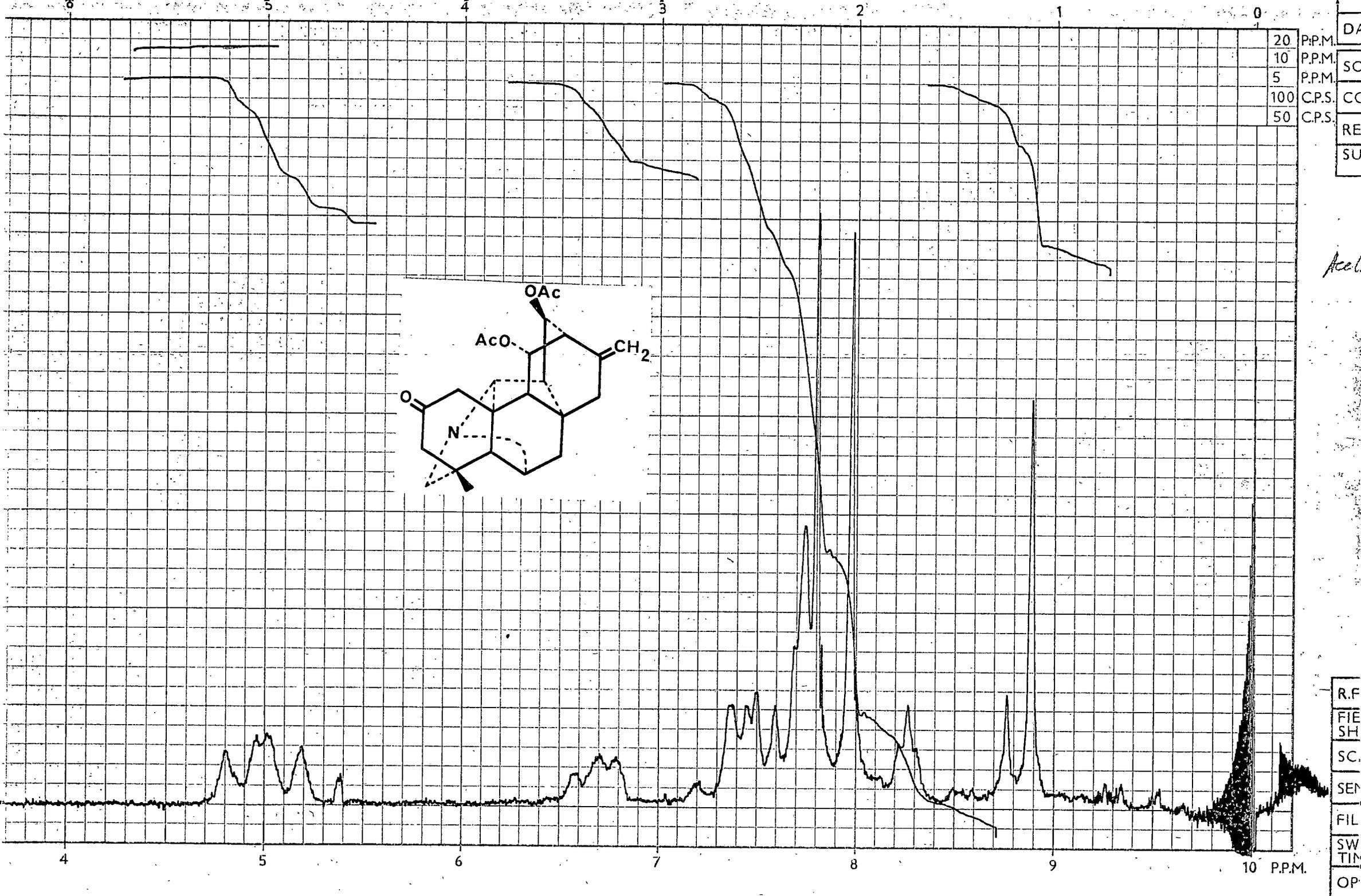
→ 256

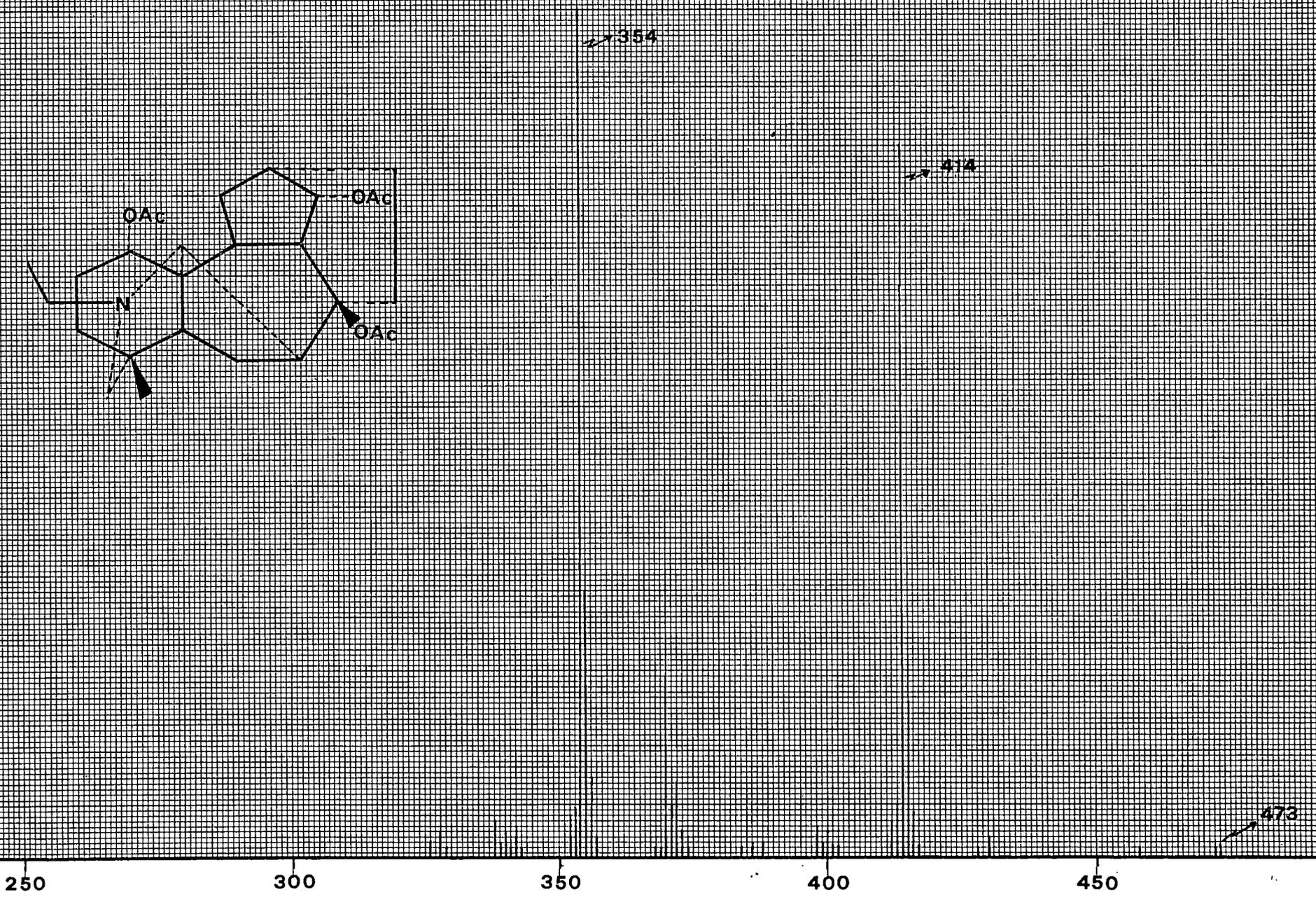
→ 325

200

250

300





250

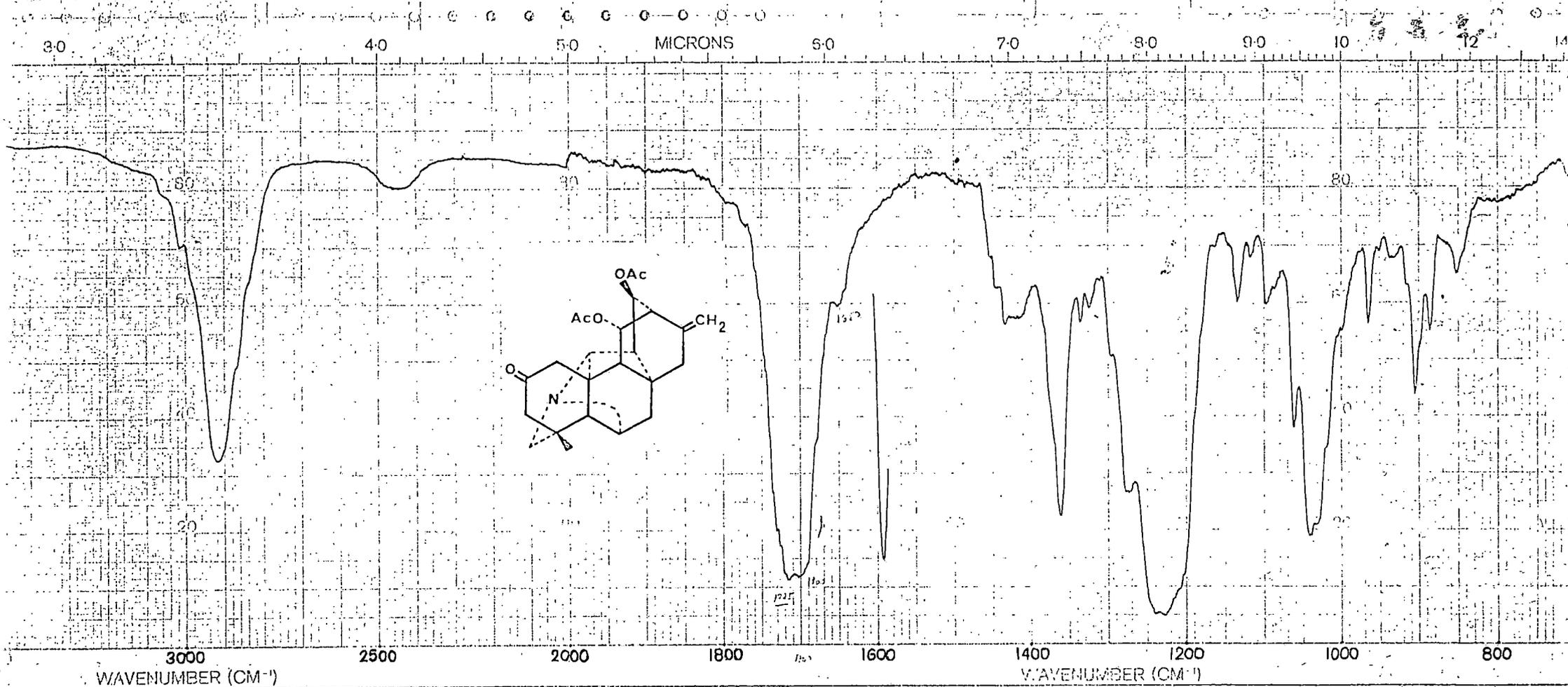
300

350

400

450





R-115 1-12-78	SOLVENT <i>CH₃CH</i>	REMARKS	SCAN SPEED <i>Medium</i>	OPERATOR <i>Matvey</i>
	CONCENTRATION <i>2.0 mg / 0.45 ml</i>		SLIT	DATE <i>1-12-78</i>
CELL PATH <i>0.1 mm</i>	PART NO. 472-5039		REF. No.	
REFERENCE <i>CH₃CH</i>				



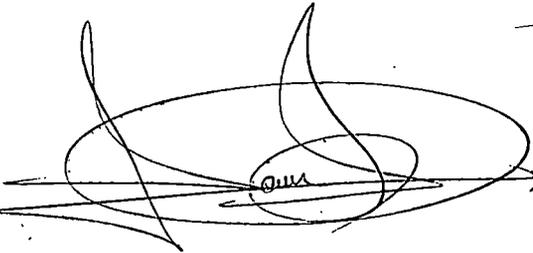
La presente Tesis fué leída en La Laguna ante el Tribunal formado por Prof. Antonio Gonzales y Gonzales (Presidente), Prof. Dr. Wolfredo Wilporet de la Torre, Dr. José Luis Bretón Funes, Dr. Eugenio Domínguez Vilches y Dr. Julián Delgado Martín (Secretario)

mereciendo la calificación de Sobresaliente "Cum Laude"

La Laguna, 13 de Noviembre de 1979


Wolfredo Wilporet

José Luis Bretón Funes


Eugenio Domínguez Vilches


Julián Delgado Martín