

Bol. inst. quím. univ. nal. autón. Méx. VII, págs. 81-100 (1955).

LA ESTRUCTURA DE LOS ALCALOIDES DITERPENOIDES GARRIFOLINA* Y CUAUCHICHICINA**

Carl Djerassi, C. R. Smith, A. E. Lippman, S. K. Figdor y J. Herrán

El árbol *Garrya laurifolia* Hartw., comúnmente conocido como "cuauchichic" está ampliamente distribuido en México (1) y los extractos de su corteza se usan como agentes antidiarreicos en la medicina indígena. Nuestro interés en esta planta aumentó por un trabajo anterior (2) en el que se indica que contiene uno o más alcaloides no identificados, y por la publicación de Oneto (3) sobre el aislamiento de dos nuevos alcaloides, veatchina y garrina de la *Garrya veatchii* Kellog, así como de otras cinco especies de *Garrya*.

Nuestros experimentos de aislamiento iniciales hechos según el sistema de Oneto (3) y proseguidos por medio de los clorhidratos, sugieren que la composición alcaloídica de la *G. laurifolia* es bastante parecida a la de las otras especies *Garrya*. Poco después apareció el primero de una serie de importantes trabajos de Wiesner y colaboradores (4a) que culminaron en la elucidación de la estructura de la veatchina (I) y la garrina (II)*** (4c, d). Los investigadores canadienses (4 c) reconociendo la estrecha semejanza entre los alca-

* En el artículo original se le había dado el nombre Laurifolina a éste alcaloide. Posteriormente se notó que el Prof. M. Tomita de la Universidad de Kyoto le había dado el nombre de Laurofolina a un alcaloide del tipo de la aporfina, aislado del *Cocculus laurifolius* DC. (M. Tomita y F. Kusuda Pharm. Bull. (Japón). 1, 1 (1953). En vista de la prioridad de los investigadores japoneses para usar éste nombre y para evitar confusiones en la literatura de los alcaloides, proponemos el cambio del nombre de nuestro alcaloide a "garrifolina".

** Traducido con permiso de los editores del *J. Am. Chem. Soc.*, 77, 4801 (1955).

*** Nosotros proponemos un sistema de numeración que sigue tan estrechamente como es posible al del abietano [W. Klyne, *J. Chem. Soc.*, 3072 (1953)], para realzar la similitud estructural con los diterpenos.

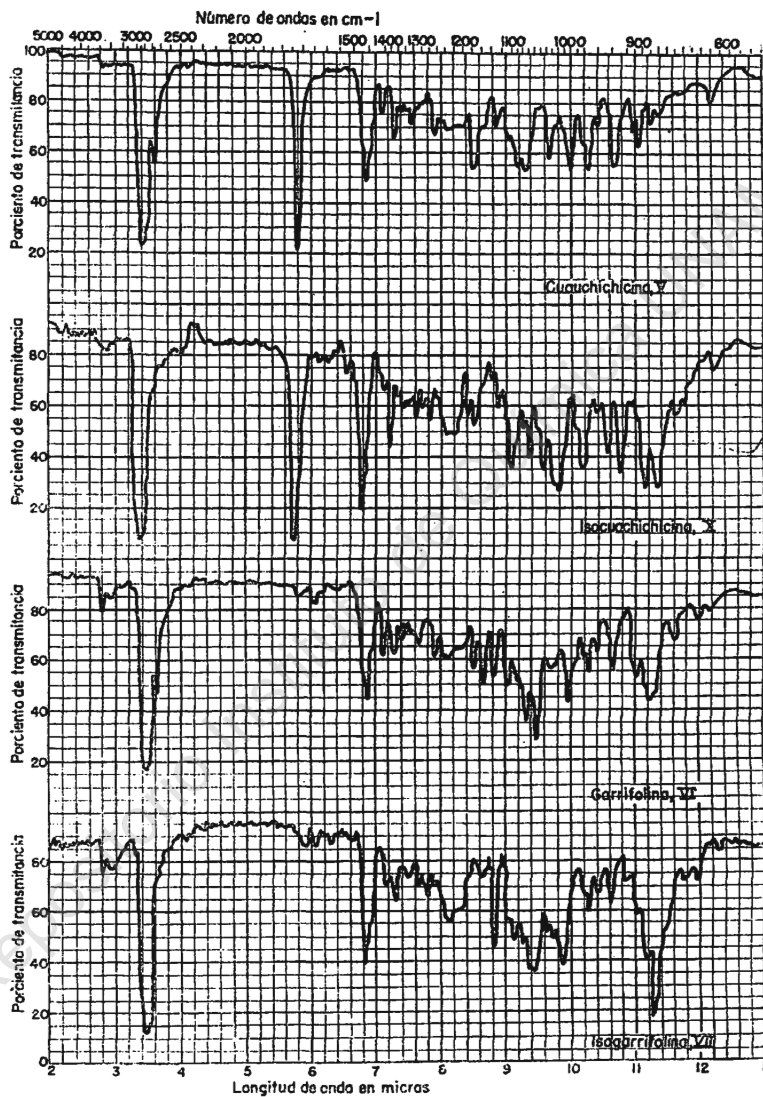
loides de la *Garrya* y las atisinas (5), propusieron también una estructura para esta última clase de alcaloides, que ha sido confirmada por la evidencia experimental proporcionada recientemente por Pelletier y Jacobs (6).

La separación fácil y casi cuantitativa de los alcaloides isoméricos veatchina (I) y garrina (II) por distribución en contra corriente (4a), nos indujo a aplicar un procedimiento similar a los alcaloides crudos de la *Garrya laurifolia* que habían sido extraídos con etanol y subsecuentemente separados con ácido clorhídrico diluido (ver más adelante). Con este sistema de aislamiento se separó un alcaloide cristalino, $C_{22}H_{33}NO_2$, que resultó isomérico, pero no idéntico a la veatchina y garrina. Hemos llamado a este alcaloide "cuauchichicina", tomado del nombre indígena de la planta, "cuauchichic". Nuestros estudios iniciales sobre la estructura se llevaron a cabo con esta sustancia.*

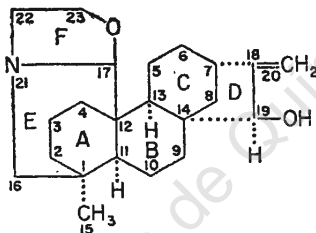
La diferencia más importante entre la cuauchichicina y los otros alcaloides de la especie *Garrya*, (I, II) se nota en el espectro en el infrarrojo (Fig. 1), que muestra la ausencia completa de absorción por grupos NH o OH pero tiene una intensa banda carbonílica en 5.78μ , que puede ser atribuida a una cetona cíclica de cinco miembros. El grupo carbonilo es moderadamente reactivo como se demostró por la preparación de una oxima (de isocuauchichicina X); la formación de semicarbazona ó 2, 4-dinitrofenilhidrazona no tuvo éxito. Otra diferencia importante entre la cuauchichicina y los otros alcaloides de la *Garrya* (I, II) es la ausencia del grupo metileno exocíclico en C-18; así es que la ozonización no produjo formaldehído y una determinación Kuhn-Roth hecha paralelamente con veatchina (I) indicó que la cuauchichicina posee dos grupos C-metilo en vez de uno como la veatchina. La naturaleza de cinco de los seis anillos presentes en el alcaloide quedó definida por una pirólisis con selenio a 290-300°, que produjo la base pirolítica A (III), idéntica a una muestra**

* Para la comunicación preliminar véase C. Djerassi, C. R. Smith, S. K. Figdor, J. Herrán y J. Romo, *J. Am. Chem. Soc.*, 76, 5889 (1954). Es necesario cambiar ligeramente las constantes (p. f. y $[\alpha]_D$) para la cuauchichicina, reportadas en esa comunicación, porque probablemente el material estaba contaminado con isocuauchichicina, que se describe en este trabajo.

** Estamos muy agradecidos al Prof. K. Wiesner de la Universidad de New Brunswick por este material.



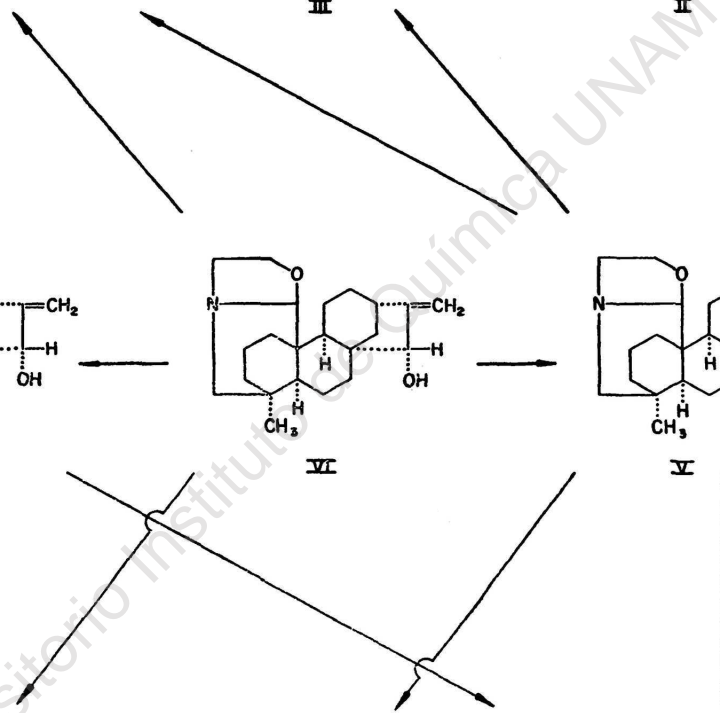
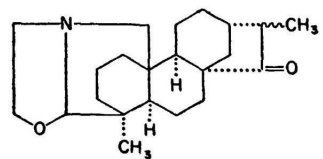
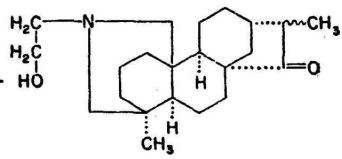
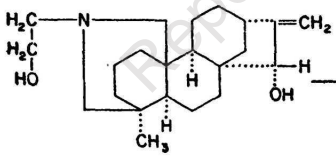
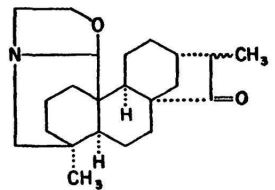
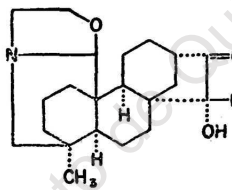
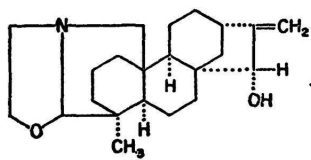
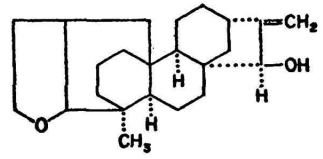
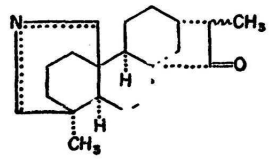
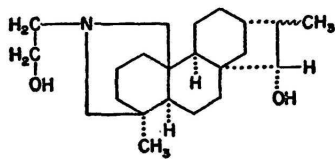
obtenida anteriormente de la veatchina (I) con un tratamiento semejante (4b). La reducción de la cuauchichicina con hidruro de litio y aluminio o borohidruro de sodio dió la tetrahidroepiveatchina (IV) que había sido sintetizada anteriormente por Wiesner *et al.*, (4b) a partir de la base pirolítica A. Resulta entonces que el grupo carbonilo de la cuauchichicina debe estar localizado en C-19 y que el anillo de oxazolidina fué abierto en la forma usual por la reducción con hidruro (7). El punto de unión (C-16 ó C-17) del anillo de oxazolidina puede establecerse por la basicidad del alcaloide, puesto que ya se ha observado anteriormente (4a) que la veatchina (I) (pK



11.5) y la garrina (II) (pK 8.7) difieren enormemente en este aspecto. La cuauchichicina exhibió un pK de 11.15* y se le asignó por lo tanto la estructura V.

En las distribuciones en contracorriente de las que se aisló la cuauchichicina (V), se encontró siempre en las fracciones iniciales una sustancia no cristalina, que no poseía banda de carbonilo en el infrarrojo. La cantidad de este material parecía variar aparentemente en proporción inversa al tiempo que los alcaloides crudos permanecían en la solución de ácido clorhídrico (antes de la distribución en contracorriente). Suponiendo que esta sustancia podía ser lábil con los ácidos minerales, empleamos una secuela de aislamiento que

* Este valor se obtiene solamente cuando el alcaloide (en cellosolve-20% de agua) es titulado inmediatamente con HCl 0.1 N. Si se deja la solución durante la noche en una atmósfera de nitrógeno antes de la titulación, se observan dos inflexiones (11.15 y 8.80) en la curva de titulación, indicando una isomerización parcial a isocuauchichicina (X).



implicó la extracción de la corteza con etanol y la partición del extracto etanólico entre ácido acético diluido y dicloruro de metileno. Los alcaloides crudos obtenidos de la extracción con ácido acético, no mostraron banda de carbonilo en el infrarrojo y fueron sometidos a distribución en contracorriente. En esta forma se obtuvo un segundo alcaloide cristalino, que hemos llamado garrifolina.

La garrifolina resultó isomérica con la cuauchichicina (V) y por lo tanto con la veatchina (I) y la garrina (II). Su basicidad (pK 11.8) está en el mismo orden que la observada en I y V, pero su espectro en el infrarrojo (Fig. I) mostró solamente absorción debida a grupo oxihidrido, pareciéndose en esto a la veatchina (I). Se demostró una nueva semejanza durante la ozonización, en la cual se aisló formaldehído, estableciéndose así la presencia de un grupo metileno exocíclico.

Cuando la garrifolina fué disuelta en ácido clorhídrico diluido y dejada durante al noche, el producto obtenido mostró una banda intensa de carbonilo en el infrarrojo y se recuperó cuauchichicina (V) con buen rendimiento.

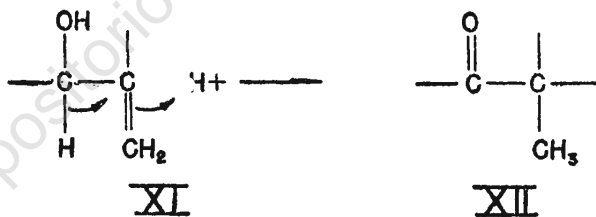
La siguiente secuencia demuestra que solamente el anillo D puede intervenir en esta isomerización y que la garrifolina (VI) debe considerarse como el epímero C-19 de la veatchina (I). La reducción de la garrifolina con hidruro de litio y aluminio, dió como resultado la apertura del anillo de oxazolidina (7) y la formación de la F-dihidro-garrifolina (VIII),* que a su vez pudo ser isomerizada con ácido clorhídrico diluido a la F-dihidro-cuauchichicina (IX), que también puede obtenerse por hidrogenación catalítica de la cuauchichicina (V). Además, la reducción de la F-dihidro-cuauchichicina (IX) con hidruro de litio y aluminio produjo la tetrahidroepiveatchina (IV), que también se obtuvo por la hidrogenación catalítica de la garrifolina (VI).

Según estas transformaciones la fórmula adecuada para la garrifolina es VI. Es interesante hacer notar que en experimentos paralelos, la veatchina (I) (ver nota pág. 82) se recupera inalterada, aún al tratarla con ácido clorhídrico diluido caliente. Por lo tanto, la

* No existiendo una nomenclatura sistemática para estos alcaloides, estamos usando el prefijo F para indicar que la reducción ocurrió en el anillo F más bien que en el anillo D.

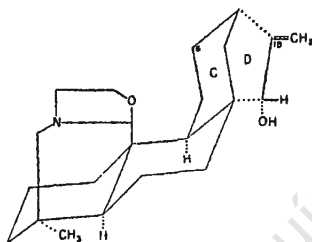
asombrosa diferencia entre estos dos epímeros debe obedecer a alguna característica estereoquímica poco usual. La unión del anillo E al anillo A debe implicar dos ligaduras axiales (en las posiciones 1 y 12), y la posibilidad de una configuración α en las posiciones 11 y 13 parece justificada si se tiene en cuenta la analogía biogenética con los diterpenos. Esto deja solamente dos alternativas para la estereoquímica en C-14 (y por lo tanto en C-7) y Wiesner y Edwards (8) han presentado recientemente argumentos coherentes en favor de la ligadura α al anillo D, como se expresa en las fórmulas I y II para la veatchina y la garrina. La cuauchichicina (V) debe mostrar precisamente las mismas características estereoquímicas que la veatchina (I), puesto que ha sido relacionada con ella por medio de la tetrahidroepiveatchina (IV). Por lo tanto, si se exceptúa una ruptura poco probable de la ligadura 14-19 en la isomerización ácida de la garrifolina (VI) a la cuauchichicina (V), la primera debe poseer la misma estereoquímica en estos centros, quedando solamente en duda la asignación del grupo oxhidrilo C-19 en la veatchina (I) y la garrifolina (VI).

La isomerización de la garrifolina (VI) a la cuauchichicina (V) puede describirse como XI a XII, siendo probablemente el hidrógeno orientado axialmente el que sufre una fácil eliminación. Con la información que tenemos no fué posible deducir la configuración del grupo oxhidrilo C-19 en la laurifolina (VI) (y por lo tanto en la tetrahidroepiveatchina IV) comparada con la de la veatchina (I).



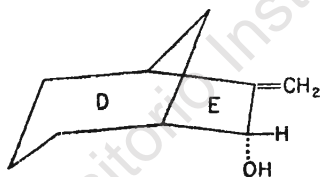
La reducción de las cetonas *reactivas* con hidruro de litio y aluminio produce generalmente el alcohol ecuatorial correspondiente (9), pero esta generalización no puede aplicarse fácilmente a este

caso, puesto que: (a) el grupo carbonilo de la cuauchichicina (V) es, cuando mucho, moderadamente reactivo y (b) los términos ecuatorial y axial pierden su significado preciso, puesto que estamos tratando con cetonas cíclicas de cinco y siete miembros, *respectivamente*, y es necesario escoger primero un punto de referencia. La representación estérica de la gatrifolina (VI) se muestra en XIII y la de los

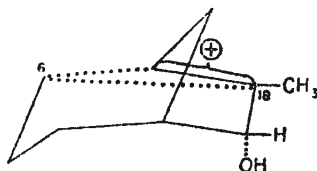


XIII

anillos D y E en XIV. Usando C-19 como ejemplo, esta última expresión muestra claramente que un sustituto casi-ecuatorial con respecto al anillo de siete miembros se hace casi axial con respecto al anillo de cinco miembros y viceversa.



XIV

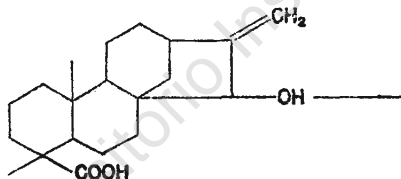


XV

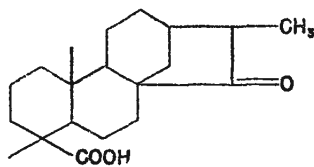
Para determinar si la reducción con hidruro de litio y aluminio de la cuauchichicina (V) o de la dihidrocuauchichicina (IX) produce realmente el alcohol más estable, hemos llevado a cabo la reducción de la dihidrocuauchichicina (IX) con litio en amoníaco líquido y alcohol, puesto que este procedimiento de reducción (9, 10) conduce

invariabilmente al epímero termodinámicamente más estable. El producto principal de la reacción resultó ser la tetrahidroepiveatchina (IV) obtenida previamente por la reducción de V y IX con hidruro o por la hidrogenación catalítica de la garrifolina (VI), demostrándose así que el grupo oxhidrilo C-19 de la garrifolina más bien que el de la veatchina (I), es el que existe en la configuración más estable. La fácil eliminación iónica 1,2 requiere que los cuatro centros que intervienen queden en el mismo plano (9) y esto se podría explicar más fácilmente en este caso, imaginando un ion carbonio no clásico como intermediario* (XV), en el cual el átomo de hidrógeno C-19 casi axial (con respecto al anillo D de cinco miembros) queda en el mismo plano que la ligadura 6-18 (línea punteada). Esto conduce a la estereoquímica completa de la garrifolina descrita en VI y XIII, de la que resulta que el grupo oxhidrilo en la veatchina (I) debe de ser casi axial con respecto al anillo D.

Aunque parece no haber ejemplos sencillos en la literatura del rearreglo garrifolina-cuauchichicina, es de obvia importancia biogénica que las estructuras** recientemente propuestas para el diterpeno esteviol (XVI) y su producto de rearreglo catalizado por ácidos, el isoesteviol, (XVII) son completamente análogos a estos ejemplos (VI a V, VIII a IX). No hay duda de que este rearreglo tiene lugar por



XVI



XVII

* Este intermediario fué sugerido inicialmente al Prof. K. Wiesner por el Prof. R. B. Woodward (Harvard University) y estamos agradecidos a los dos por esta información. Debemos mencionar que E. Wenkert ha propuesto intermediarios parecidos. [*Chemistry and Industry*, 282 (1955)] en una discusión teórica de ciertos esquemas biogénicos en las series diterpénicas que también tienen relación con el caso que estamos discutiendo.

** E. Mosettig y W. R. Nes, *J. Org. Chem.*, 20, 884 (1955). Agradecemos a los Dres. E. Mosettig y W. R. Nes (National Institutes of Health) por proporcionarnos una copia de este manuscrito antes de su publicación.

el mismo mecanismo y con la misma fuerza motriz estereoquímica que interviene en el rearrreglo esteviol-isoesteviol.

En vista de la labilidad de la garrifolina, se seguía su purificación por medio de análisis en el infrarrojo. Se notó que cuando la garrifolina (VI) se recrystaliza de metanol, cambia la región de huellas digitales en el espectro (Cf. Fig. 1) y que por último se obtiene otro isómero con constantes físicas muy diferentes. Esta isomerización se logró refluendo garrifolina con metanol durante varias horas y el producto resultante fué llamado isogarrifolina (VII). Se estableció que esta isomerización es estrictamente análoga al cambio Veatchina I \rightarrow Garrina II, por el curso de la reducción de la garrifolina (VII), que con hidruro de litio y aluminio, produce F-dihidro-garrifolina VIII, el cual implica solamente la apertura de la ligadura del anillo oxazolidínico. La basicidad reducida (pK 8.6) de VII también es comparable a la observada (pK 8.7) (7a) en la garrina (II). Se logró una isomerización similar con la cuauchichicina (V) al hervirla con metanol y la isocuauchichicina (X) resultante (Cf. Fig. 1) también fué obtenida cuando se sujetó la isogarrifolina (VII) a un tratamiento suave con ácido clorhídrico. Como era de esperarse, la reducción de la isocuauchichicina (X) con hidruro de litio y aluminio, produjo la tetrahidroepiveatchina (IV).

La isomerización de la veatchina (I) a la garrina (II) se había llevado a cabo previamente con hidróxido de potasio metanólico (7a), pero está claro que el álcali es superfluo, puesto que la veatchina misma es una base suficientemente fuerte. Se puede preguntar como fué posible aislar la garrifolina (VI) y la cuauchichicina (V)* de la planta, puesto que el esquema de extracción utiliza el prolongado calentamiento con alcohol, condición bajo la cual estos alcaloides fueron isomerizados a las series "iso" (VII, X). La explicación más sencilla es suponer que la isomerización implica a XVIII** como

* No se puede decir hasta este momento si la cuauchichicina existe como tal en la planta o se produce por la isomerización ácida de la garrifolina (VI). Se puede obtener algo de cuauchichicina (V) cuando se extrae la planta con ácido clorhídrico diluido después de haber extraído la garrifolina (VI) con ácido acético diluido. La cuauchichicina es, naturalmente, el producto principal cuando se hace la extracción inicial directamente con ácido clorhídrico.

** Este es, esencialmente, el mecanismo propuesto por Wiesner y colaboradores (7b) con la excepción de que no requiere una base externa como ellos suponen.

intermediario, actuando el anión alcohoxido como una base interna en la eliminación del protón, permitiendo en esta forma, el deslizamiento de la doble ligadura y siendo la última etapa la reciclización de XIX al derivado "iso". Se sugiere que en la planta, estos alcaloides existen como sales de ácidos orgánicos, que impiden la formación del anión interno (XVIII) requerido para la isomerización.



Esta investigación se llevó a cabo como parte de un programa de investigación sobre plantas de Hispanoamérica hecho en conjunto por la Universidad de Wayne y la Universidad Nacional Autónoma de México, financiado por la Fundación Rockefeller. Deseamos expresar nuestro agradecimiento al Prof. K. Wiesner de la Universidad de New Brunswick por proporcionarnos varias muestras para comparación e informarnos sobre trabajos de su laboratorio aún no publicados.

PARTE EXPERIMENTAL*

Extracción de alcaloides. (a) *Con ácido clorhídrico.* La corteza de la *Garrya luarifolia* Hartw, fué recolectada cerca de Huixquilucan (Estado de México) e identificada botánicamente por el Prof. M. Martínez, del Instituto de Biología, de la Universidad de México. Des-

* Todos los puntos de fusión fueron determinados en el Kofler. Agradecemos a la Sra. Dolores Phillips los espectros en el infrarojo que fueron medidos en solución de cloroformo con un espectrofotómetro Baird de doble luz. Todas las rotaciones fueron hechas en solución de cloroformo en tubos de 1 dm. Los microanálisis fueron hechos por los Laboratorios Celler, Hackensack, New Jersey. Las titulaciones potenciométricas (cello.solve-agua 20%) fueron hechas por el Dr. R. Dietrich, Zurich, Suiza.

pués de secar y pulverizar, la corteza (15 kg.) se extrajo hasta agotamiento con etanol hirviente y se eliminó el disolvente al vacío, obteniéndose 800 g. aproximadamente de un residuo con consistencia de jarabe, que fué usado en los siguientes experimentos de extracción.*

Se calentó una porción (97 g.) del extracto con 500 c. c. de ácido clorhídrico al 10% y el material insoluble fué eliminado por filtración. El filtrado se alcalinizó con solución de hidróxido de sodio y se extrajo continuamente con éter durante una noche. Después de evaporar el éter, el residuo (4.7 g.) fue repartido entre cloroformo y ácido clorhídrico al 10%, obteniéndose 4.3 g. de alcaloides crudos. Se llevó a cabo una distribución en contracorriente de 10 pasos con 15 g. de estas fracciones de alcaloides crudos, usando 200 c. c. de cloroformo y solución buffer de ácido cítrico-fosfato disódico de pH 7.4, con los siguientes resultados:

<i>Fracción</i>	<i>Peso (g.)</i>	<i>Fracción</i>	<i>Peso (g.)</i>
1	1.89	6	1.32
2	2.00	7	1.52
3	2.11	8	0.85
4	1.40	9	0.76
5	1.29	10	1.54

Las fracciones 1-3 resultaron amorfas y el espectro en el infrarrojo mostró que consisten principalmente de garrifolina (sin banda carbonilo). Las fracciones 5-8 fueron cristalinas y el análisis en el infrarrojo mostró que contienen principalmente cuauchichicina. Este orden de movimiento en la distribución en contracorriente está de acuerdo con los valores de pK observados en los dos alcaloides.

(b) *Con ácido acético.* Una segunda porción (394 g.) del extracto crudo de *Garrya* fué repartida entre cloruro de metileno y ácido acético al 10%. El extracto ácido fué alcalinado y extraído continuamente con éter. El residuo etéreo (28 g.) fué dividido de nuevo entre cloruro de metileno y ácido acético al 10% produciendo 21 g.

* Agradecemos al Sr. B. I. Jackson su ayuda en las etapas iniciales de esta extracción.

de un sólido amorfo casi incoloro, que está formado, principalmente, por garrifolina como lo indicó el espectro en el infrarrojo.

La solución de cloruro de metileno inicial fué extraída con ácido clorhídrico al 10% y después del proceso usual, se aislaron 1.4 g. de cuauchiclicina cristalina y casi pura.

Caracterización de la cuauchiclicina (V). La cuauchiclicina, obtenida por distribución en contracorriente, fué recrystalizada varias veces de éter y secada cuidadosamente a 65° al vacío; p. f. 152-155° (dependiendo mucho de la velocidad del calentamiento y el grado de sequedad) $[\alpha]_D -71.4^\circ$, sin absorción selectiva en el ultravioleta, λ máx. 5.78 μ (CHCl_3) (véase fig. 1), pK 11.15. *Anal.* Calc. para $\text{C}_{22}\text{H}_{33}\text{NO}_2$: C, 76.92; H, 9.68; N, 4.08; $1-(\text{C})-\text{CH}_3$, 4.37.

Encontrado: C, 77.04; H, 9.60; N, 3.93; $(\text{C})-\text{CH}_3$, *5.04.

El clorhidrato fué preparado en solución de metanol y recrystalizado de metanol-éter; p. f. 259-262° después de secar al vacío a 100°.

Anal. Calc. para $\text{C}_{22}\text{H}_{34}\text{ClNO}_2$: C, 69.53; H, 9.02; N, 3.69; Cl, 9.33
Encontrado: C, 69.44; H, 9.32; N, 3.89; Cl, 9.47.

Isocuauchiclicina (X). La cuauchiclicina (0.5 g.) fué refluada durante 24 horas con 10 c. c. de metanol y después evaporada hasta sequedad. El producto crudo (p. f. 114-120°) mostró un espectro infrarrojo casi idéntico al del producto puro (Fig. 1) obtenido después de dos recrystalizaciones de metanol; p. f. 134-136°, $[\alpha]_D - 8.4^\circ$, pK 8.10.

Anal. Calc. para $\text{C}_{22}\text{H}_{33}\text{NO}_2$: C, 76.92; H, 9.68; N, 4.08
Encontrado: C, 76.79; H, 9.82; N, 4.16

La oxima** fué preparada en solución de piridina-etanol (3 h.

* Una determinación Kuhn Roth, llevada a cabo al mismo tiempo con la veatchina (I), mostró 2.87 $\text{C}-\text{Cl}_{13}$.

** La oxima mencionada en nuestra comunicación preliminar (ver nota pág. 82) es en realidad la oxima de la isocuauchiclicina.

baño de vapor) y recristalizar primero de tetracloruro de carbono y después de metanol diluido; p. f. 192-194°.

Anal. Calc. para $C_{22}H_{34}N_2O_2$: C, 73.70; H, 9.56; N, 7.81.

Encontrado: C, 73.27; H, 9.89; N, 7.60.

Caracterización de garrifolina (VI). Los 21 g. de garrifolina cruda fueron sometidos a distribución en contracorriente entre 200 c. c. de dicloruro de metileno y 200 c. c. de solución buffer (11) (pH 9.6) con los siguientes resultados:

<i>Fracción</i>	<i>Peso (g.)</i>	<i>Fracción</i>	<i>Peso (g.)</i>
1	0.14	6	2.95
2	0.39	7	4.01
3	0.60	8	4.83
4	1.15	9	0.79
5	2.00	10	3.72

Las fracciones 1-9 mostraron el espectro infrarrojo de la garrifolina, mientras que la fracción 10 mostró una pequeña banda de carbonilo. Los intentos iniciales para cristalizar la garrifolina fracasaron, la fracción central de la distribución a contra corriente se sublimó (a 0.01 mm.) y analizó. (Encontrado: C, 77.23; H, 9.77; N, 4.14). Una vez que de una solución muy concentrada de acetona se obtuvieron cristales para siembra, la recristalización resultó posible aunque la considerable solubilidad de la garrifolina impidió que se obtuvieran rendimientos altos. Los espectros infrarrojos del material amorfo y el material cristalino (Fig. 1) fueron idénticos. La muestra analítica de la garrifolina se obtuvo después de recristalizar de éter y después de hexano; p. f. 130-133°, $[\alpha]_D^{20}$ -60°, pK 11.81.

Anal. Cal. para $C_{22}H_{33}NO_2$: C, 76.92; H, 9.68; N, 4.08.

Encontrado: C, 77.07; H, 9.63; N, 4.36.

La ozonización de la garrifolina en ácido acético glacial seguida de arrastre con vapor a una solución de dimedona en etanol, produjo 20-25% del derivado del formaldehído en dos experiencias separadas.

No se encontró formaldehído en una ozonización paralela de la cuauchichicina.

La acetilación de 0.21 g. de garrifolina con anhídrido acético-piridina (temperatura ambiente, 45 h.) dió un monoacetato básico que no pudo ser cristalizado aún después de cromatografiar y distribuir en contracorriente. El material amorfo dió un análisis bastante satisfactorio (encontrado: C, 74.76; H, 9.15) y pudo ser convertido a un oxalato cristalino tratándolo con una solución etérea de ácido oxálico; p. f. 161-165° después de recrystalizar de metanol-éter.

Anal. Calc. para $C_{26}H_{37}NO_7$: C, 65.66; H, 7.84; N, 2.95.
Encontrado: C, 65.55; H, 8.24; N, 3.31.

Isogarrifolina (VII). La garrifolina (VI) fué reflujaada con metanol exactamente como se describió anteriormente para la cuauchichicina y se obtuvo un producto crudo con rendimiento cuantitativo cuyo espectro infrarrojo fué casi idéntico al de la isogarrifolina pura (Fig. 1) obtenida por recrystalización (solución concentrada) de acetona y después hexano, p. f. 140-144°, $[\alpha]_D -57^\circ$, pK 8.60.

Anal. Calc. para $C_{22}H_{33}NO_2$: C, 76.92; H, 9.68; N, 4.08.
Encontrado: C, 77.09; H, 9.83; N, 4.15.

Isomerización de garrifolina (VI) a cuauchichicina (V). La garrifolina (0.75 g.), purificada por distribución en contracorriente, fué dejada una noche a temperatura ambiente en 10 c. c. de ácido clorhídrico al 10%. Agregando hidróxido de sodio, extrayendo con cloruro de metileno y evaporando, se obtuvieron 0.69 g. de cuauchichicina cruda, que fué purificada por distribución en contracorriente. La cristalización de metanol produjo 0.41 g. de cuauchichicina, p. f. 146-149°, $[\alpha]_D -72.5^\circ$, espectro infrarrojo igual al de la muestra analítica (Fig. 1). El clorhidrato fundió a 256-258° y no se observó depresión en el p. f. de mezcla.

La ventichina (I) (ver nota pág. 82) fué recobrada sin cambio después de un tratamiento semejante o después de ser reflujaada durante 3 h. en ácido clorhídrico metanólico 0.75 N.

Isomerización de la isogarrifolina (VII) a isocuauchichicina (X).

La isogarrifolina (0.2 g.) fué tratada en la forma descrita anteriormente, con ácido clorhídrico diluído dando 0.15 g. de isocuauchichicina (X) identificada por el espectro infrarrojo, p. f. 132-136° y p. f. de mezcla sin depresión.

Pirólisis con selenio de la cuauchichicina (V). Siguiendo el procedimiento de Wiesner (4b) para la pirólisis de la veatchina (I), se calentaron durante 8 h. a 290-300°, 3.6 g. de cuauchichicina con 7.2 g. de selenio rojo en una corriente de nitrógeno seco. El residuo, triturado, fué extraído continuamente con cloroformo en un extractor Soxhlet, el material básico fué extraído con ácido sulfúrico diluído y recuperado agregando hidróxido de sodio y extrayendo con cloroformo. La evaporación del disolvente, cromatografía en alúmina del residuo (1.6 g.), seguida de elución con benceno y recristalización de hexano produjo 0.4 g. de base pirolítica A (III) (4b), p. f. 133-136°. La identidad con el material auténtico fué establecida determinando el p. f. de mezcla y comparando los espectros en el infrarrojo.

F-Dihidrogarrifolina (VIII). La garrifolina (VI) (0.97 g.) fué reducida con 1 g. de hidruro de litio y aluminio en solución etérea durante 6 horas, empleando la técnica del Soxhlet; se agregó solución saturada de sulfato de sodio y sulfato de sodio anhidro; se filtraron las sales inorgánicas y se evaporó el filtrado; rendimiento, 0.78 g., p. f. 110-120°. La muestra analítica fué recristalizada de metanol diluído y de acetona diluida; p. f. 127-130° (después de secar a 65° al vacío), $[\alpha]_D -79^\circ$, sin absorción debida a carbonilo, en el infrarrojo.

Anál. Calc. para $C_{22}H_{35}NO_2$: C, 76.47; H, 10.21; N, 4.05.

Encontrado: C, 76.24; H, 10.34; N, 4.33.

También se obtuvo la F-dihidrogarrifolina (0.17 g.) reduciendo en la misma forma 0.23 g. de isogarrifolina (VII) con hidruro de litio y aluminio.

F-Dihidro cuauchichicina (IX). (a) *Por isomerización ácida de F-dihidrogarrifolina (VIII).* Se dejaron durante una noche 0.48 g. de F-dihidrogarrifolina en solución de ácido clorhídrico al 10%. Se agregó hidróxido de sodio, se extrajo con cloroformo, lavó, secó y evaporó, obteniéndose 0.56 g. de F-dihidro-cuauchichicina IX, p. f.

103-109°, banda intensa de carbonilo en el infrarrojo. Las recristalizaciones de éter y de hexano produjeron cristales incoloros, p. f. 113-117°, $[\alpha]_D -102^\circ$ λ max. 5.79, μ (CHCl_3).

Anal. Cal. para $\text{C}_{22}\text{H}_{36}\text{NO}_2$: C, 17.47; H, 10.21; N, 4.05.

Encontrado: C, 76.46; H, 10.29; N, 4.36.

(b) *Por hidrogenación catalítica de la cuauchichicina (V).*

Una muestra (0.2 g.) de cuauchichicina (V) fué hidrogenada durante una noche a temperatura ambiente, en solución de ácido acético glacial con 0.05 g. de catalizador de óxido de platino.* Filtrando el catalizador, agregando hidróxido de sodio hasta alcalinizar, extrayendo con cloroformo y evaporando el extracto, se obtuvieron 0.17 g. de F-dihidrocuauichicina, p. f. 99-109° C. Una recristalización posterior de hexano produjo 0.12 g. de IX, que fué identificado con material preparado por el procedimiento (a) por p. f. de mezcla y comparación del espectro infrarrojo.

Tetrahydroepiveatchina (IV). (a) Por reducción con NaBH_4 o LiAlH_4 de cuauchichicina (V). Se dejó durante 48 h. a temperatura ambiente una solución de 0.3 g. de cuauchichicina y 0.3 g. de borohidruro de sodio en 30 c. c. de etanol y después fué diluída con agua y extraída con éter. Evaporando el éter se obtuvieron 0.25 g. de tetrahydroepiveatchina, p. f. 172-177° C., que se elevó a 175-177° C., después de varias recristalizaciones de metanol, $[\alpha]_D^{20} -86.7^\circ$, pK 6.84. La identidad con una muestra auténtica (4b) (valores observados en nuestro laboratorio: p. f. 175-178°, $[\alpha]_D^{20} -85.2^\circ$) fué establecida por p. f. de mezcla, sin depresión y superimposición de los espectros infrarrojos.

Anal. Calc. para $\text{C}_{22}\text{H}_{37}\text{NO}_2$: C, 76.03; H, 10.73; N, 4.03;
peso equivalente 347.5.

Encontrado: C, 76.11; H, 10.71; N, 4.53;
peso equivalente 357.

* Ya se ha observado anteriormente (4b) que el grupo carbonilo en C-19 de la base pirrolítica A (III) es estable bajo estas condiciones de hidrogenación.

La reducción con hidruro de litio y aluminio de 0.2 g. de cuachichicina hecha en la forma acostumbrada, dió un producto crudo con p. f. 155-163° C.; una recristalización produjo 0.070 g. de tetrahydroepiveatchina pura.

El clorhidrato, preparado en solución metanólica, fué recristalizado de éter-metanol; p. f. 292-300° (d.).

Andl. Calc. para $C_{22}H_{38}ClNO_2$: C, 68.81; H, 9.97; N, 3.65;
Cl, 9.24.

Encontrado: C, 68.54; H, 10.10 N, 3.71;
Cl, 9.32.

(b) *Por reducción con $NaBH_4$ o $LiAlH_4$ de isocuauchichicina (X).*

Reduciendo, durante 30 minutos, 0.2 g. de X con 0.1 g. de hidruro de litio y aluminio en solución de éter y descomponiendo con éter húmedo, se obtuvieron, después de una recristalización de metanol-éter, 0.16 g. de tetrahydroepiveatchina, p. f. 169-173°, el espectro infrarrojo fué idéntico al de una muestra auténtica. Se obtuvieron los mismos resultados cuando se empleó borohidruro de sodio en la forma descrita en (a).

(c) *Reducción de la F-dihidrocuachichicina (IX) con $LiAlH_4$.*

La reducción durante 3 horas de 88 mg. de IX con 300 mg. de hidruro de litio y aluminio en solución de éter, produjo 82 mg. de tetrahydroepiveatchina, p. f. 166-172°, que se elevó a 175-177° después de dos recristalizaciones de éter y una de metanol. Se estableció la identidad en la forma acostumbrada.

(d) *Por reducción con litio en amoníaco y metanol de la F-dihidrocuachichicina (IX).*

Se destiló amoníaco líquido sobre sodio (100 c. c.) recibiendo en un matraz de 3 bocas enfriado en un baño de hielo seco. El destilado se agitó continuamente y se agregaron 0.5 g. de litio y 4 c. c. de metanol. Se agregó gota a gota una solución de 0.48 g. de IX en 60 c. c. de éter y después de 30 minutos se paró la reacción agregando 6 g. de cloruro de amonio y agua. Se extrajo el producto y después de evaporar el disolvente, se obtuvieron 0.46 g. de un sólido, p. f. 134-155°, que resultó difícil de purificar por recristalización y que

fué por lo tanto cromatografiado en 10 g. de alúmina (actividad III). Eluyendo con benceno y recrystalizando del mismo disolvente, se obtuvieron 0.18 g. de tetrahidroepiveatchina, p. f. 175-176°.

(e) *Por hidrogenación catalítica de garrifolina (VI).*

Se hidrogenaron durante 2.5 horas a temperatura ambiente, 0.5 g. de garrifolina con 0.05 g. de óxido de platino en 25 c. c. de etanol absoluto. El producto fué cromatografiado en 15 g. de alúmina (actividad III). Eluyendo con benceno se obtuvieron 170 mg. de un material amorfo, cuyo espectro infrarrojo se parece mucho al de la F-dihidrocuauichicina (IX). No se prosiguió la investigación de esta fracción, aunque sugería que el rearreglo del alcohol alílico a la metilcetona (VIII a IX) puede también llevarse a cabo en la superficie del catalizador. Eluyendo con benceno-éter (9:1) y recrystalizando de metanol se obtuvieron 0.16 g. de tetrahidroepiveatchina, p. f. 174-177°, sin depresión al mezclarse con material auténtico. Esto hace suponer la hidrogenación directa de VI, más bien que la transformación a través de la cetona IX, puesto que el grupo carbonilo C-19 no puede reducirse en estas condiciones.

RESUMEN

Se describe el aislamiento y la elucidación de la estructura de dos alcaloides diterpenoides, Garrifolina y Cuauichicina obtenidos de la *Garrya laurifolia* Hartw y que la garrifolina (VI) es la 19-epiveatchina que se isomeriza fácilmente con ácidos a cuauichicina (V) y con alcohol caliente a isogarrifolina (VII).

BIBLIOGRAFIA

1. M. Martínez, "Las Plantas Medicinales de México", Ediciones Botas, México, D. F., 1944, 3ra. edición, pp. 92-95.
2. C. Olguín H., Tesis, Facultad de Ciencias Químicas, México, D. F., 1932.
3. J. F. Oneto, *J. Am. Pharm. Assoc.*, 35, 204 (1946)
4. a) K. Wiesner, S. K. Figdor, M. F. Bartlett y D. R. Henderson, *Can J. Chem.*, 30, 608 (1952); b) K. Wiesner, W. I. Taylor, S. K. Figdor, M. F. Bartlett, J. R. Armstrong y J. A. Edwards, *Ber.*, 86, 800 (1953); c) K. Wiesner, R. Armstrong, M. F. Bartlett y J. A. Edwards, *Chemistry and Industry*, 192 (1954); d) K. Wiesner, R. Armstrong, M. F. Bartlett y J. A. Edwards, *J. Am. Chem. Soc.*, 76, 6068 (1954).

5. Cf. E. S. Stern, en R. H. F. Manske y H. L. Holmes "The alkaloids", Academic Press, Inc. New York, 1954, Vol. IV, capítulo 37.
6. S. W. Pelletier y W. A. Jacobs, *J. Am. Chem. Soc.*, 76, 4496 (1954).
7. E. D. Bergman, *Chem. Revs.*, 53, 309 (1953); N. G. Gaylord, *Experientia*, X, 351 (1954).
8. K. Wiesner y J. A. Edwards, *ibid.*, XI, 255 (1955).
9. Cf. D. H. R. Barton, *J. Chem. Soc.*, 1027 (1953).
10. Cf. F. Sondheimer, O. Mancera, G. Rosenkranz y C. Djerassi, *J. Am. Chem. Soc.*, 75, 1282 (1953).
11. W. R. G. Atkins y C. F. A. Pantin, *Biochem. J.*, 20, 102 (1926).

Repositorio Instituto de Química UNAM