



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

---

**FACULTAD DE QUÍMICA**

**Aislamiento e Identificación de los Alcaloides de  
la Flor de Erythrina Americana Mill**

**T E S I S**

**MAESTRIA EN CIENCIAS QUÍMICAS**

**(Síntesis de Farmacos)**

**MARIA ISABEL AGUILAR LAURENTS**

**México, D. F.**

**1978**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## C O N T E N I D O

- I.- INTRODUCCION
- II.- GENERALIDADES
- III.- DISCUSION
- IV.- PARTE EXPERIMENTAL
- V.- CONCLUSIONES
- VI.- BIBLIOGRAFIA

## I N T R O D U C C I O N

La flora de México es muy extensa y químicamente no ha sido bien estudiada.

Uno de los objetivos de la química farmacéutica es buscar sustancias con actividad farmacológica y una de las fuentes tradicionales para encontrar dichas sustancias es por medio del estudio de las plantas unido a la tradición popular; así, las flores de Erythrina americana Miller comunmente llamada "colorín", han sido utilizadas en diferentes partes de la República Mexicana como alimento, considerando que una reacción secundaria es la de producir un sueño tranquilo.

Las plantas del género Erythrina han sido estudiadas ampliamente por el interés sobre la acción fisiológica curarizante que presentan sus extractos. Los estudios realizados en mas de cincuenta especies diferentes del género Erythrina, demostraron la presencia de numerosos alcaloides y con excepción de la hipafantina, todos tienen actividad paralizante<sup>1,2,3</sup>.

El propósito de este trabajo es conocer la composición química de las flores de E. americana colectadas en el Estado de Morelos, para buscar entre sus componentes la o las sustancias responsables de esta actividad farmacológica.

Se estudió la planta por los procedimientos usuales. Del extracto hexánico se aislaron las grasas que ya han sido estudiadas con anterioridad<sup>4</sup>. Del extracto metanólico se obtuvo una mezcla de alcaloides que fueron aislados e identificados como al

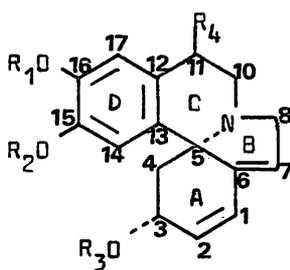
fa y beta-eritroidina y cuyas identidades fueron confirmadas por sus propiedades espectroscópicas, por formación de los derivados de amonio cuaternario (yodohidrato y yodometilato) de la base libre beta-eritroidina y finalmente por la isomerización de alfa a beta-eritroidina.

## GENERALIDADES

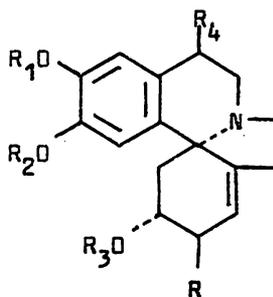
El género Erythrina pertenece a la familia de las leguminosas, subfamilia papilionáceas y está formada por cerca de 108 - especies distribuidas ampliamente en las zonas tropicales y sub tropicales del mundo<sup>5</sup>.

Los compuestos mas comunmente obtenidos de este género son alcaloides que en su estructura incluyen un núcleo indólico parcialmente reducido pero se han clasificado dentro del gran grupo de alcaloides tetrahidroisoquinolínicos encontrados en plantas de las menispermáceas de acuerdo a la ruta biosintética propuesta para ellos<sup>6,7</sup>.

Están constituidos por un esqueleto tetracíclico en el que los anillos A, B y C son comunes en todos los casos y solamente difieren en la naturaleza del anillo D. Estos alcaloides se han dividido en dos tipos principales: los que en su estructura contienen un sistema diénico conjugado heteroanular en los anillos A y B (I) y los que contienen una sola doble ligadura  $\Delta^{1,6}$  en el anillo A (II); en ambos casos, el anillo D es de carácter bencenoide con sustituyentes oxigenados en las posiciones 15 y 16.

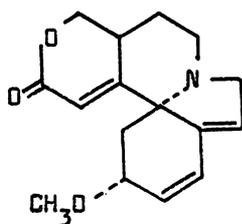


(I)

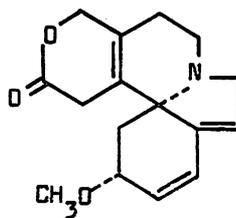


(II)

Un tercer grupo de alcaloides con aspectos estructurales diferentes a los anteriores incluye los isómeros alfa (III) y beta-eritroidina (IV) en los que el anillo D es una  $\delta$ -valerolactona insaturada.

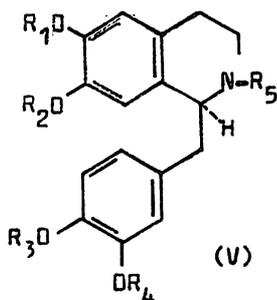


(III)

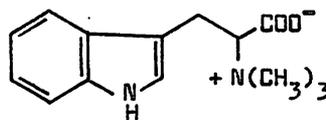


(IV)

Otros alcaloides no pertenecientes al grupo Erythrina han sido aislados de varias especies de este género y son predominantemente del tipo tetrahidrobencilisoquinolina (V). Un alcaloide sin relación estructural con los anteriores y que se ha encontrado presente en casi todas las especies de Erythrina estudiadas es la hipaforina (VI) pero no se ha registrado su presencia en otras plantas por lo que parece característica de este género; químicamente es la betaína del triptófano o beta-indolilalanina.



(V)



(VI)

Con excepción de la hipaforina, los alcaloides del género -

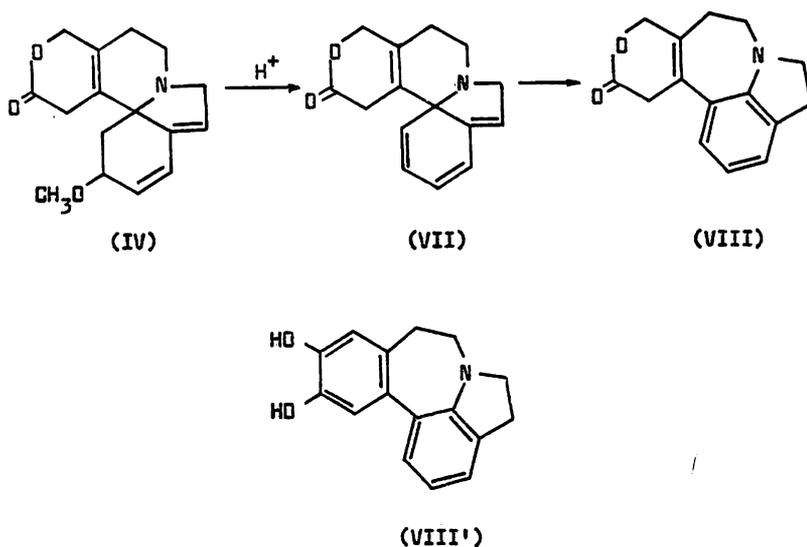
Erythrina se han subdividido en alcaloides "libres" y son nombrados con el prefijo "Eritr-", por ejemplo eritramina<sup>8</sup>, eritralina<sup>2</sup>, eritrevina, eritroidina, eritratidina, eritratina<sup>9</sup>, eritratidona; alcaloides "combinados" los que se encuentran en la planta formando ésteres del ácido sulfoacético y se nombran con la raíz "Erisotio-", de este tipo solamente se han aislado dos compuestos: erisotiovina y erisotiopina<sup>10,11</sup>. La hidrólisis de los alcaloides "combinados" produce los alcaloides "liberados" y éstos se designan con el prefijo "Eriso-", dentro de este grupo se describen la erisopina<sup>10</sup>, erisonina, erisolina, erisodina, erisovina, erisotrina<sup>12</sup>, erisotina y erisosalvina.

La acción curarizante de los extractos de las semillas de Erythrina americana fué reconocida en 1877 por Domínguez y Altamirano<sup>13</sup>. En 1937, Folkers y Major describieron por vez primera el aislamiento en forma cristalina de un alcaloide biológicamente activo de las semillas de E. americana<sup>14</sup> al que Domínguez llamó eritroidina para referirse a los principios activos desconocidos de la planta. Por análisis posteriores del alcaloide, se demostró -- que estaba formado por una mezcla de dos isómeros y se nombraron alfa y beta-eritroidinas. Después del descubrimiento de las eritroidinas, Folkers y sus colaboradores iniciaron una intensa investigación sobre mas de cincuenta especies de Erythrina colectadas de todo el mundo y de esta manera se aislaron otros alcaloides de Erythrina. No obstante que Folkers y sus colaboradores aislaron muchos alcaloides puros, pocos datos pudieron ser establecidos acer-

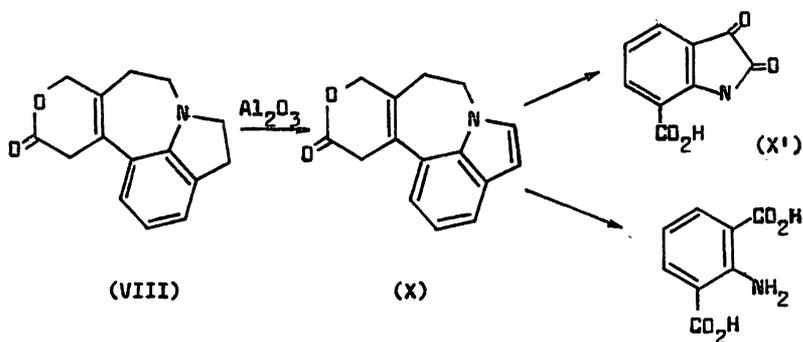
ca de sus estructuras en esa época.

Debido a las propiedades físicas tan semejantes entre alfa y beta-eritroidina, se pensó en un principio que fuesen diastereoisómeros, su comportamiento en medio básico sugirió la presencia del anillo de lactona, cuya apertura por hidrólisis puede ser fácilmente reversible. El espectro infrarrojo presenta bandas de carbonilo en la misma posición a  $5.78 \mu$ , mientras que la absorción máxima de los clorhidratos en el ultravioleta es diferente: 224 nm (log E, 4.5) y 238 nm (log E, 4.4). Ambos alcaloides por reacción con ácido fluorhídrico dan el desmetoxiderivado (VII).

Cuando las bases libres eritralina (I,  $R_1+R_2=-CH_2-$ ,  $R_3=-CH_3$ ,  $R_4=-H$ ), erisodina (I,  $R_1=-H$ ,  $R_2=R_3=-CH_3$ ,  $R_4=-H$ ) y beta-eritroidina (IV) o sus derivados desmetoxilados son sometidos a tratamiento ácido en condiciones vigorosas, por ejemplo ácido bromhídrico o polifosfórico a  $125^\circ C$ , ocurre un reagrupamiento con aromatización del anillo A<sup>15</sup>. Como resultado de esta reacción conocida como apo-transposición se obtiene un derivado dihidroindólico, que en el caso de apo-beta-eritroidina (VIII) y apoerisopina (VIII') son ópticamente inactivos, por destrucción de los centros asimétricos en las posiciones tres y cinco, además, este reagrupamiento es acompañado de la ruptura de las ligaduras de éter en los alcaloides aromáticos.

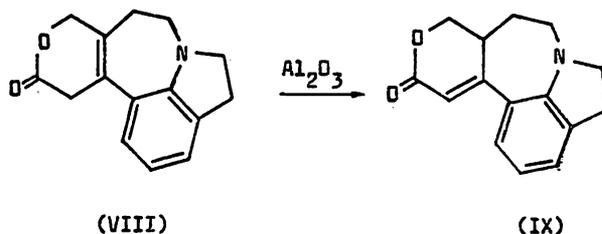


Por deshidrogenación de apo-beta-eritroidina se obtiene un verdadero derivado indólico (X), que al ser oxidado con permanganato dá 7-carboxisatina (X') y ácido 2-aminoisoftálico<sup>16</sup>.

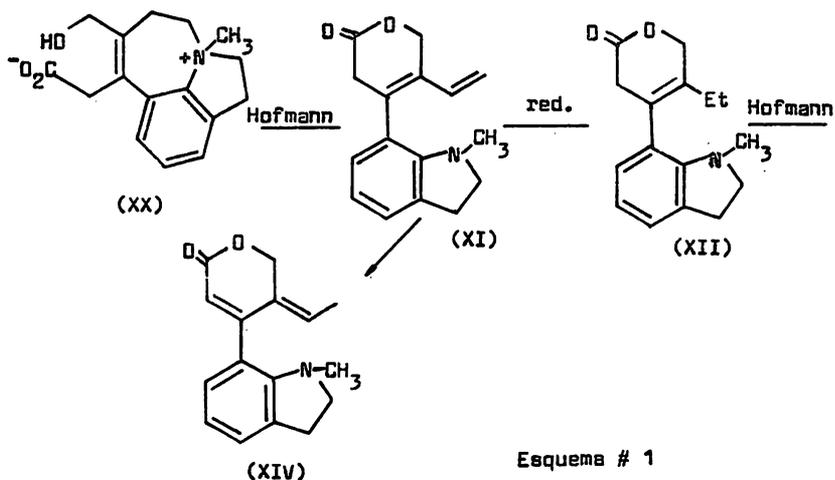


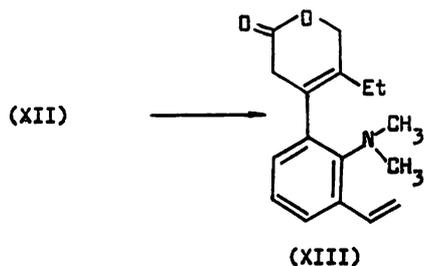
En el caso de beta-eritroidina (IV), la doble ligadura en el anillo D es estable y no se isomeriza para conjugarse con el carbono de la lactona mientras el sistema aminoespíramico esté intacto.

Siñ embargo, con la aromatización del anillo A, que ocurre en la apo-transposición, la doble ligadura se vuelve inestable y así, apo-beta-eritroidina (VIII) se isomeriza rápidamente a isoapo-beta-eritroidina (IX) aún en condiciones muy suaves por ejemplo con óxido de aluminio<sup>17</sup>.

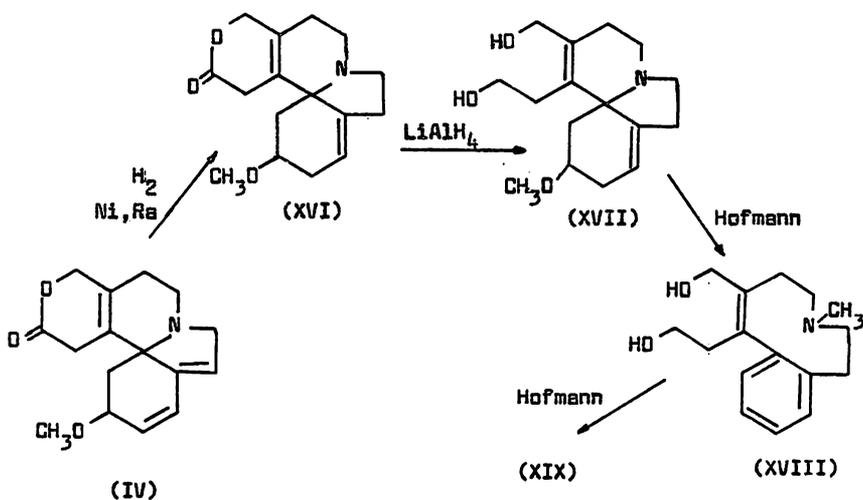


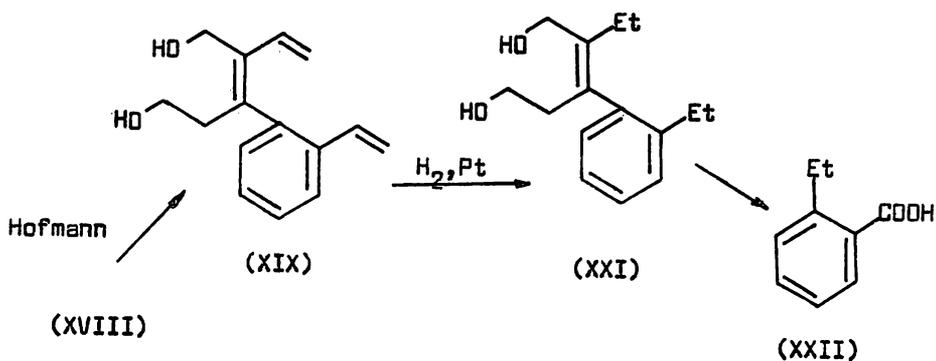
La degradación de Hofmann de apo-beta-eritroidina (VIII) -- (esquema # 1) da posterior información acerca del sistema de anillos<sup>17</sup>. Esta procede por medio de la sal interna (XX) para dar las bases (XI), (XII) y (XIII) y demuestra la presencia del agrupamiento  $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{N}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$ . La base (XI) por isomerización da un compuesto amarillo (XIV), que por ozonización da acetaldehído, mientras que (XI) y (XIII) por ozonización dan formaldehído.





Beta-eritroidina (IV) es poco favorecida para un estudio de la degradación de Hofmann, las condiciones son mejores en el caso de dihidro-beta-eritroidina (XVI) (esquema # 2) que es obtenida de (IV) por hidrogenación con níquel-Raney en solución alcalina <sup>18</sup>. - La degradación de Hofmann de dihidro-beta-eritroidinol (XVII) que es obtenido por reducción del compuesto (XVI) con hidruro de litio y aluminio, provee el compuesto (XIX) el cual por hidrogenación y posterior oxidación da ácido o-etil benzoico (XXII).

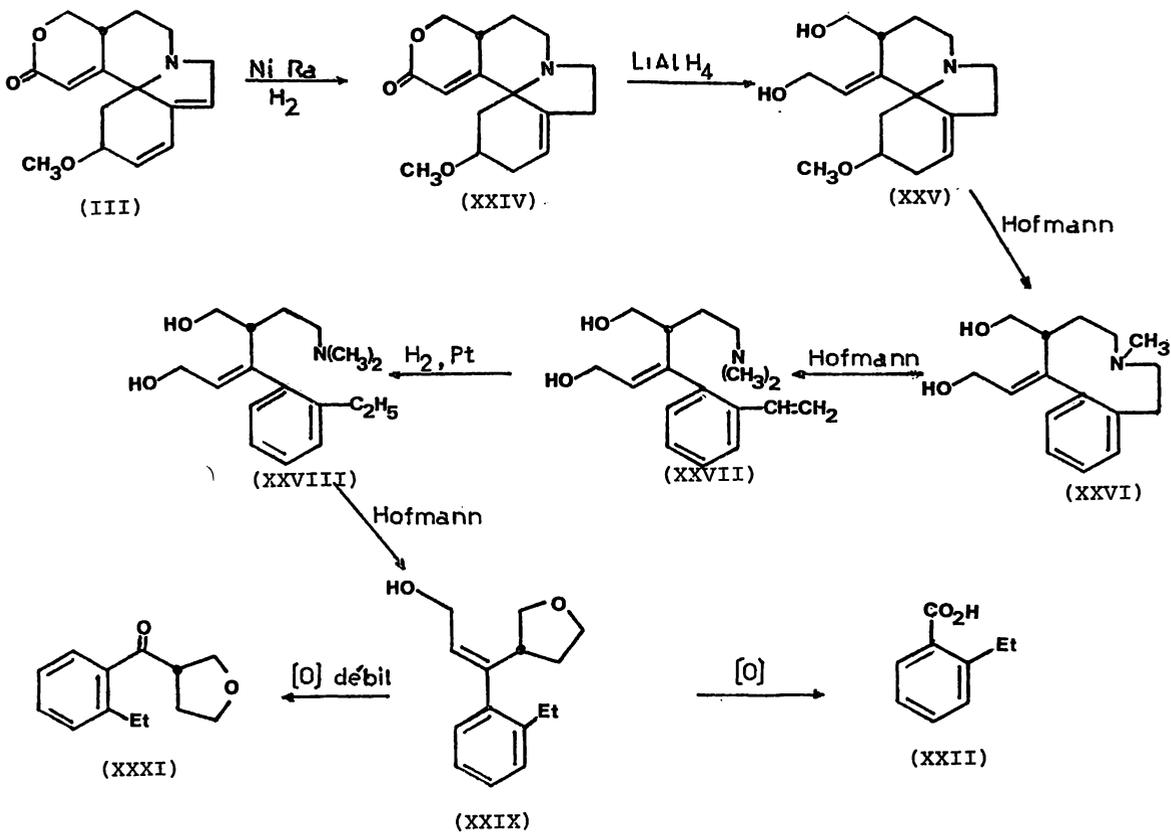




Esquema # 2

En contraste con la correspondiente degradación de Hofmann del isómero beta, la degradación de Hofmann de dihidro-alfa-eritroidinol (XXV) (esquema # 3), da la base ópticamente activa -- (XXVI) debido a que alfa-eritroidina tiene un centro de asimetría adicional. Por posteriores degradaciones del compuesto (XXVI), se llegó a la obtención de una cetona ópticamente activa (XXXI) cuya estructura ha sido confirmada por síntesis<sup>19</sup>.

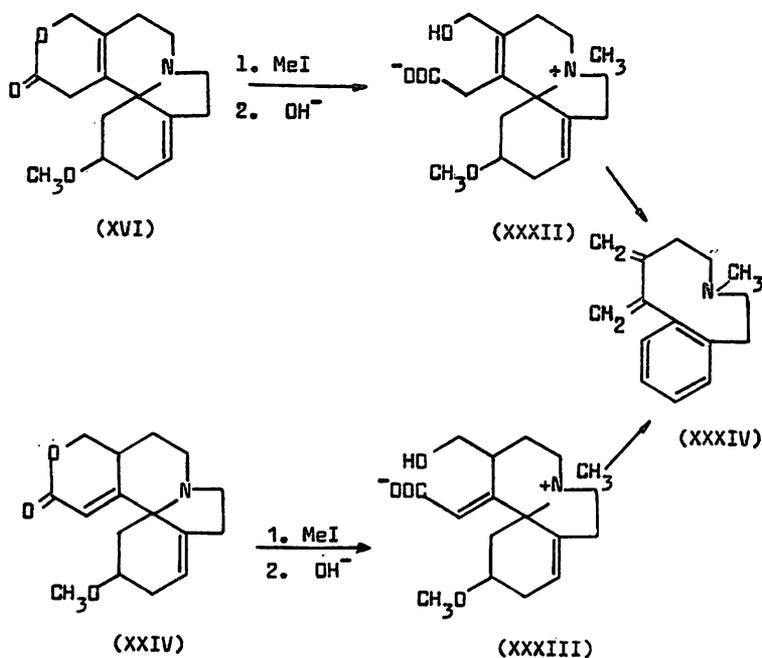
DEGRADACION DE HOFMANN DE ALFA-ERITROIDINA



Esquema # 3

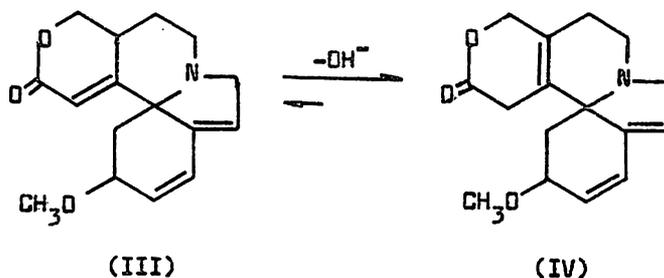
Alfa eritroidina es extremadamente sensible al aire, pero relativamente estable en forma de sus sales<sup>20</sup>.

La secuencia de la degradación de Hofmann para alfa-eritroidina reveló que la posición del doble enlace alifático está entre -- los carbonos 13 y 14 pero no distingue si el grupo carbonilo de la lactona está en C-15 o en C-17. Esto fué aclarado por Morrison y - Boekelheide cuando se convirtió dihidro-alfa-eritroidina (XXIV) a su correspondiente betaína cuaternaria (XXXIII) (esquema # 4) y ésta a su vez por descomposición térmica lenta dió una mezcla de productos, uno de los cuales (XXXIV) fué idéntico al compuesto formado de manera similar por dihidro-beta-eritroidina (XVI)<sup>21</sup>.



Puesto que la degradación de alfa y beta-eritroidina a este producto común implica la pérdida del grupo carbonilo de la lactona mediante la descarboxilación, se concluyó que la función carbonilo ocupa la misma posición en ambos isómeros y la única diferencia entre éstos está en la posición del doble enlace alifático.

Así, alfa y beta-eritroidina son simplemente isómeros de doble ligadura y debe ser posible su interconversión. En 1958 Morrison y Boekelheide realizaron la isomerización de alfa a beta-eritroidina en medio básico<sup>22</sup>, con lo que se demostró que ambos isómeros son estereoquímicamente iguales y la única diferencia radica en la localización del doble enlace alifático en el anillo D. El equilibrio en dicha isomerización está desplazado casi por completo hacia la formación del isómero no conjugado beta-eritroidina (IV).

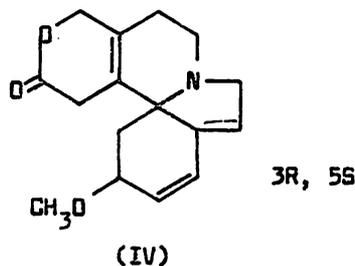
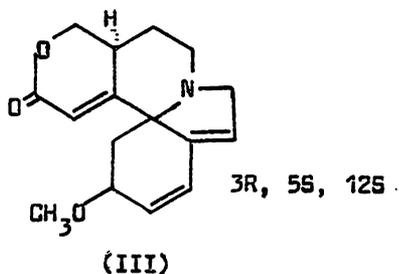


Todos los alcaloides aromáticos (excepto eritratina (II, -- R<sub>1</sub>+R<sub>2</sub>=-CH<sub>2</sub>-, R<sub>3</sub>=-CH<sub>3</sub>, R=-OH, H, R<sub>4</sub>=H)) y beta-eritroidina poseen dos átomos de carbono asimétricos: el carbono espiro en C-5 y el carbono no sustituido por el metoxilo en C-3. Alfa-eritroidina posee un --

centro de asimetría adicional en C-12. La asignación de las configuraciones relativa y absoluta de los centros asimétricos se efectuó por métodos químicos, espectroscópicos y cristalográficos.

En 1964 Boekelheide y Wenzinger<sup>23</sup>, determinaron químicamente la configuración absoluta de los carbonos en posición 3 y 5; resultando ser ésta 3R, 5S, para beta-eritroidina. Esta determinación fué confirmada por los estudios con rayos X realizados por Hanson, con el bromhidrato de dihidro-beta-eritroidina<sup>24</sup>.

La configuración en el centro remanente en alfa-eritroidina (C-12, fué determinada por Hill y Schearer<sup>25</sup> quienes emplearon el método de metilación exhaustiva de Hofmann en el cual el alcaloide se degradó a una cetona ópticamente activa (XXXI) (esquema #3) cuyo centro asimétrico corresponde al carbono en posición 12 del alcaloide y que no fué afectado en ningún paso de la degradación, encontrándose que su configuración es S.

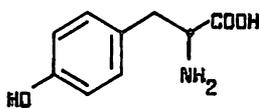


Por un estudio cristalográfico de rayos X, Hanson encontró la estereoquímica correspondiente al bromhidrato de dihidro-beta-eritroidina. Los anillos A y B son casi planares y se encuentran perpendicularmente situados al plano formado por los anillos C y D. La unión

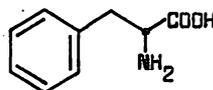
carbono-oxígeno del metoxilo en C-3 es "cis" a la unión carbono-nitrógeno del carbono 5.

BIOSINTESIS

En 1966, Leete y Ahmad<sup>26</sup> suministraron 2-C<sup>14</sup>-DL-tirosina - (XXXV) a plantas de E. berteroana y por extracción de las mismas aislaron alfa y beta-eritroidina radiactivas<sup>27</sup>. La administración de 2-C<sup>14</sup>-DL-fenilalanina (36) a la misma especie de plantas, no llevó a la formación de alcaloides radiactivos, indicando que la tirosina es un precursor de las eritroidinas, a su vez la fenilalanina no se transforma en tirosina en estas especies.

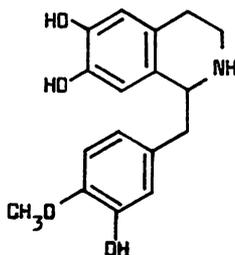


(XXXV)



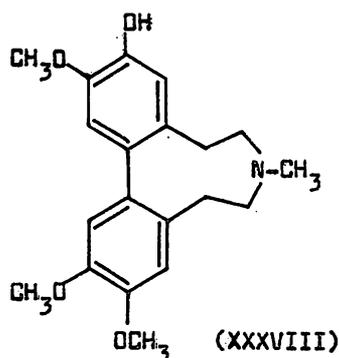
(XXXVI)

La radioactividad proveniente de la tirosina se encontró que estaba distribuida igualmente entre los carbonos 8 y 10 de las eritroidinas, implicando que existe un intermediario simétrico del tipo C<sub>6</sub>-C<sub>2</sub>-N-C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub> en el patrón biosintético de los alcaloides de eritrina. Barton<sup>28</sup> demostró que este intermediario podría ser N-norprotosinomenina (XXXIX) que se incorporó en buen porcentaje a los alcaloides de E. cristagalli.



(XXXIX)

Los últimos pasos en la biosíntesis de alcaloides de Erythrina involucran el acoplamiento oxidativo para-para de las especies fenólicas de N-norprotosinomenina (XXXIX) (esquema #5) para dar -- una dibenzazonina (XL). Un compuesto de esta clase, eribidina --- (XXXVIII), se aisló posteriormente de E. xbidwili por investigadores japoneses<sup>29</sup>.

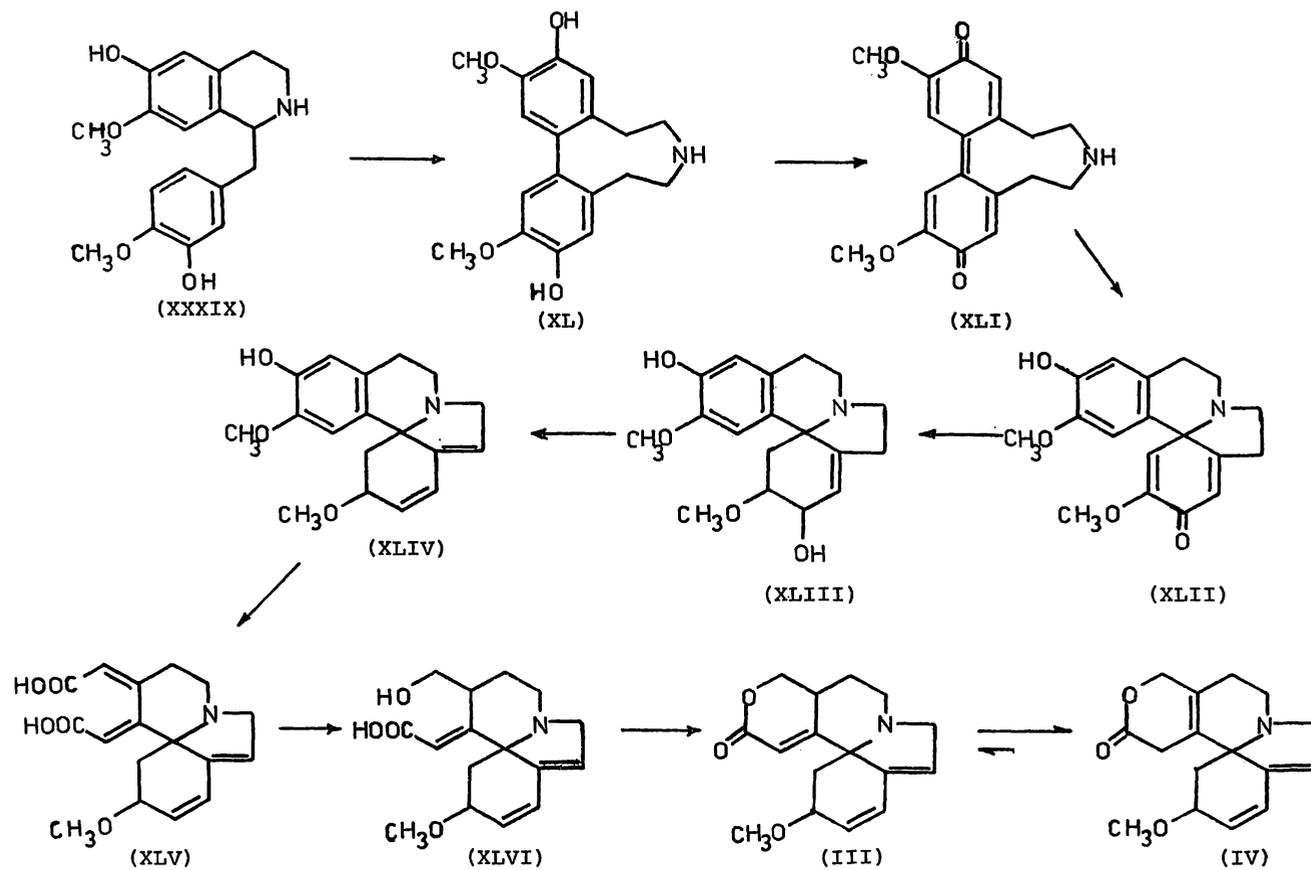


Posterior oxidación de la dibenzazonina produce una difenoquina (XLI), seguida por un ataque intramolecular del nitrógeno para obtener erisodienona<sup>30</sup> (XLII). Por reducción de la doble ligadura en posición  $\Delta^{3,4}$  y de la función cetona, se produce un alcaloide de clase monoeno (XLIII), el cual por deshidratación puede dar origen a un alcaloide de tipo diénico (XLIV). El alcaloide erisodienona (XLII), biosintéticamente importante fué posteriormente -- aislado junto con el también intermediario de biosíntesis N-norprotosinomenina (XXXIX) de las especies asiáticas de E. lithosperma - Blume<sup>31</sup>.

Por una fisión del anillo de catecol de la erisopina<sup>32</sup> se obtiene el compuesto (XLV) que por descarboxilación e hidratación de una doble ligadura olefínica da el compuesto (XLVI). Alfa-eritroi-

dina (III) se obtiene por formación de la lactona; la isomerización de la doble ligadura en el anillo D provee beta-eritroidina (IV).

RELACIONES BIOGENETICAS PROBABLES



Esquema # 5

### ACCION FARMACOLOGICA

Lehman demostró que los extractos alcohólicos de las semillas de E. americana tienen una acción periférica y que éstos son efectivos para disminuir las convulsiones en varios animales de prueba<sup>33</sup>. La acción paralizante que se presenta en animales ha sido conocida desde hace por lo menos 60 años. El examen sistemático de cerca de 51 especies de Erythrina demostró que todos contenían alcaloides con actividad curarizante cuya potencia variaba ampliamente<sup>33</sup>.

Han sido examinados farmacológicamente los alcaloides y algunos de sus derivados de por lo menos 28 especies de Erythrina. Los más activos del grupo, beta-eritroidina y dihidro-beta-eritroidina han sido los más extensamente estudiados ya que fueron los primeros agentes curarizantes efectivos oralmente. Recientemente Slater y sus colaboradores<sup>34</sup>, publicaron un estudio más definitivo sobre beta-eritroidina y sus derivados, que incluyen efectos periféricos y sobre el sistema nervioso central. Estos resultados se presentan en las tablas A y B.

Los alcaloides de Erythrina presentan la peculiaridad de tener una alta actividad como bases terciarias, sin embargo, por cuaternización de éstas, disminuye la potencia curarizante, a diferencia de otros compuestos (p. ej. acetilcolina y d-tubocurarina) en los que la acción de la sal cuaternaria es mayor<sup>33</sup>.

Por otro lado, el efecto de cuaternización sobre el bloqueo gangliónico es mucho menor siendo que dicha acción generalmente

es predominante en tales sales cuaternarias. Dihidro-beta-eritroidina es cinco veces más potente que beta-eritroidina. Por hidrogenación de los dobles enlaces conjugados, se obtienen las dos tetrahidro-beta-eritroidinas estereoisoméricas; farmacológicamente, beta-tetrahidro-beta-eritroidina es la más potente<sup>33</sup>.

La sal de sodio de beta-eritroidina (cuando el anillo de lactona se abre) es mucho menos activa que su precursor, pero el clorhidrato y las sales de sodio de dihidro-beta-eritroidina son de potencia comparable<sup>33</sup>.

En general, beta-eritroidina, desmetoxi-beta-eritroidina y sus derivados, que todos contienen el sistema del anillo espiránico, producen bloqueo neuromuscular o gangliónico o ambos en mayor o menor grado<sup>35</sup>.

Los efectos centrales observados incluyeron actividad depresora y convulsivante.

Apo-beta-eritroidina (que no es un compuesto de tipo espiránico) y sus derivados exhiben actividad depresora central y no tienen efectos curarizantes<sup>33</sup>.

Al igual que con la d-tubocurarina, la acción bloqueadora neuromuscular de beta-eritroidina es antagonizada por anticolinesterasas<sup>36</sup>.

Las eritroidinas causan disminución de la presión arterial y depresión respiratoria a dosis paralizantes; a diferencia de la d-tubocurarina, no se libera histamina. Cuando se administra oralmente, beta-eritroidina tiene un efecto hipnótico el cual no se mani-

fiesta cuando es administrada por vía parenteral. La acción paralizante de las eritroidinas no es tan intensa o prolongada como la de las preparaciones estandarizadas de curare, pero el margen de seguridad parece ser mayor. Beta-eritroidina y dihidro-beta-eritroidina han sido usadas en medicina clínica y en anestesia como sustitutos de curare con algún éxito y así como el curare, las eritroidinas son sinérgicas con ciertos anestésicos e hipnóticos<sup>33</sup>.

EFFECTOS PERIFERICOS

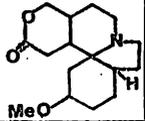
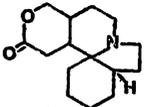
COMPUESTO	ESTRUCTURA	LD <sub>50</sub> (retón) Intraperitoneal (mg/kg)	ED 50 Diafragma (rete) (mM/1)	Dosis bloqueadora en gato	
				Neuromuscular (mg/kg)	Ganglionar (mg/kg)
1. $\beta$ -Eritroidina	(IV)	29.5±2.0	0.4	10	20
2. $\beta$ -Eritroidina (yodometilato)	(IV)·MeI	32.2±6.0	1	15	5
3. $\beta$ -Eritroidinol		46.1±3.3	1	20	10
4. $\beta$ -Eritroidinol (yodometilato)				15	5
5. Dihidro- $\beta$ -eritroidina	(XVI)	4.5±0.5	0.08	0.5	0.5
6. Dihidro- $\beta$ -eritroidina (yodometilato)	(XVI)·MeI	160±12		20	7
7. Dihidro- $\beta$ -eritroidinol	(XVII)	178±20	1	1	5
8. $\beta$ -Tetrahidro- $\beta$ -eritroidina		10.6 1.7	0.12	1	0.5
9. $\beta$ -Hexahidrodesmetoxi- $\beta$ -eritroidina		72.0 9.6	0.7	5	5
10. Apo- $\beta$ -eritroidina (yodometilato)	(VIII)·MeI	14.0±0.8	0.3	5	5

TABLA A

EFFECTOS CENTRALES

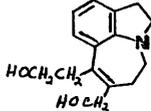
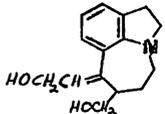
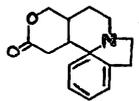
COMPUESTO	ESTRUCTURA	LD 50 (ratón)	ACCION	Dosis efectiva en gato		Flexor
				Neuro musc.	Gangliónica	
Apo- $\beta$ -eritroidina	(VIII)	510 $\pm$ 53	Depresora	50	50	10
Apo- $\beta$ -eritroidinol		520	Depresora	50	50	15
Isoapo- $\beta$ -eritroidina	(IX)	620	Depresora	50	50	20
Isoapo- $\beta$ -eritroidinol		620	Convulsivante			Variable
Desmetoxi- $\beta$ -eritroidina	(XV)	175 $\pm$ 21	Convulsivante	30	5	
Alodihidrodesmetoxi- $\beta$ - eritroidina		189 $\pm$ 31	Convulsivante	90	40	

Tabla B

## D I S C U S I O N

El método que se empleó para el estudio de las flores del colorín es el habitual en trabajos de fitoquímica.

Las flores se cortaron directamente del árbol, de las cuales únicamente se utilizó el perianto (cáliz y corola), androceo y gineceo; se secaron al sol por una semana, se molieron y desengrasaron con hexano por extracción continua. El extracto hexánico constituyó el 0.93% en peso de las flores. Estas grasas se han estudiado anteriormente<sup>4</sup>.

Las flores libres de disolvente se extrajeron exhaustivamente con metanol. El extracto metanólico (418 g, 16.72% del peso total de las flores secas) está constituido por un polvo café oscuro higroscópico. Utilizando los métodos habituales no se aisló hipafantina.

El extracto seco fue purificado (como se indica en la parte práctica) y extraído con cloroformo a pH de 9; así se obtuvo la fracción de alcaloides "libres" con un 0.41% de rendimiento.

La fracción de los alcaloides libres analizada por cromatografía en placa fina, presentó tres manchas que absorben con luz ultravioleta: las dos más polares ( $R_f$ s. = 0.35 y 0.48, cloroformo-metanol 95-5, v/v) dieron prueba positiva para alcaloides al revelar con reactivo de Dragendorff y fueron las que se aislaron.

Para prevenir la descomposición de las bases libres, que son altamente inestables en presencia de aire, todas las manipulaciones siguientes incluyendo la cromatografía en columna, se hicie-

ron bajo atmósfera de nitrógeno y se prepararon los yodhidratos de la mezcla de las bases libres, que son estables.

Una parte de esta mezcla de yodhidratos se liberaron como bases libres, por tratamiento con bicarbonato de sodio y posterior extracción clorofórmica y se trataron de separar por cromatografía en placa preparativa de sílice (cloroformo-metanol, 95-5 v/v) pero no fué posible ya que al extraer ambos compuestos de la gel de sílice, mostraban varias manchas al analizarse por cromatografía en placa fina, lo que sugirió la idea de que se descomponían en poco tiempo; se utilizó entonces cromatografía de gases con acoplamiento a un espectrómetro de masas y se encontró que la mezcla de compuestos no es separable por este método. D.S. Millington et al<sup>37</sup> describen este procedimiento para separar e identificar alcaloides del género Erythrina, obteniendo buenos resultados, específicamente con los alcaloides de tipo aromático (I y II); al tratar de reproducir el método con alfa y beta-eritroidina, obtuvieron los mismos resultados que en nuestro trabajo.

Por cristalización fraccionada, es casi imposible efectuar una separación de ambos alcaloides.

Finalmente por cromatografía en columna de alúmina neutra, se separaron los dos compuestos.

El alcaloide mas polar (Rf.=0.35) cristaliza de eter etílico como agujas amarillas con un punto de fusión de  $100^{\circ}$  C; en el espectro infrarrojo, se observa una banda en  $1720\text{ cm}^{-1}$  que sugiere un grupo carbonilo; se encuentran otras absorciones en 2810, 1090, 810 y  $645\text{ cm}^{-1}$ . En el espectro ultravioleta, un máximo de absorción en 235 nm (log E, 4.15); la rotación óptica a  $20^{\circ}$ C fué ---  $+80.39^{\circ}$ . El espectro de resonancia magnética nuclear (espectro #1) muestra las siguientes señales: en 6.43 ppm aparece una señal doble de dobles que integran para un protón (J= 10 y 2 Hz). En 5.85 ppm, se presenta una señal doble que integra para un protón ---- (J= 10 Hz) y en 5.71 ppm, una señal múltiple que integra para un protón. La asignación de las señales en r.m.n., se hizo basándose en estructuras de alcaloides conocidas en otras especies del género Eritrina; al no existir señales en i.r. ni en r.m.n. para protones aromáticos, se descartó la posibilidad de tener alcaloides de tipo aromático (por ejemplo (I) y (II)), tetrahidrobencilisquinolínicos (V) o hipaforina (VI).

Las señales dobles en 6.43 y 5.85 ppm con una misma constante de acoplamiento, sugirieron la presencia de dos protones vinílicos acoplados entre sí; por la tercera señal en la misma región del espectro y la absorción máxima en el espectro u.v. a 235 nm, se pensó que la molécula contenía dos dobles enlaces conjugados heteroanulares ( $\text{C}=\text{C}$ ) (cálculo teórico para un dieno heteroanular = 234 nm).

En 4.63 ppm, se presenta una señal ancha que integra para dos protones y se asigna a un grupo metileno unido directamente a un átomo electronegativo que pudiera ser oxígeno o nitrógeno (y muy -

cercano a una doble ligadura); en 3.58 ppm, se observó una señal ancha que integra para dos protones y se asignó a un grupo metileno semejante al anterior; como en espectrometría de masas el ión molecular aparece con 273 unidades de masa, se puede suponer que la molécula tiene un número impar de átomos de nitrógeno. La diferencia en desplazamientos químicos que se observa en las dos señales anteriores se puede explicar si consideramos que en un caso (a campos mas bajos) el grupo metileno se encuentra unido a un átomo de oxígeno (mas electronegativo) y en el otro, a un átomo de nitrógeno, sin descartar que ambos grupos metileno sean a la vez alílicos.

Se presenta una señal aguda simple en 3.38 ppm, que integra para tres protones y se asignó a un grupo metoxilo; de 2.35 a 3.23 ppm aparecen señales múltiples (separadas en dos grupos) que integran para seis protones y de 1.58 a 1.96 ppm, aparece una señal múltiple que integra para dos protones.

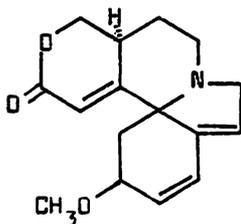
En el espectro de masas de alta resolución se observa que el ión molecular aparece a 273.1360 unidades de masa y que corresponde a la fórmula molecular de  $C_{16}H_{19}NO_3$ . En el espectro i.r. no se observan vibraciones de tipo N-H, ni las características de una amida terciaria, por lo que se supuso que el átomo de nitrógeno provenía de una amina terciaria. La banda a  $1720\text{ cm}^{-1}$  sugiere la presencia de un grupo carbonilo de cetona o de éster y como en r.m.n. se observó la presencia de un grupo metoxilo, se puede suponer que los tres átomos de oxígeno de la fórmula corresponden a

un éter metílico y a un éster.

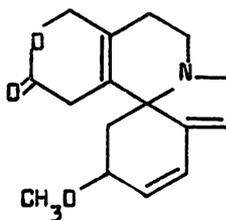
Por la fórmula encontrada en el espectro de masas de alta resolución se puede saber que el compuesto debe tener ocho -- "insaturaciones"; por i.r. se sabe que una de ellas pertenece a un grupo carbonilo y en r.m.n. se observan tres (sistema dié-nico heteroanular), quedando solamente cuatro "insaturaciones", las que pueden corresponder a cuatro anillos, o tres anillos y una doble ligadura tetrasustituída, etc.

Al eliminar la posibilidad de que se tratara de un alcaloide de tipo aromático, se relacionaron los datos obtenidos con las estructuras de los alcaloides de tipo lactona alfa y beta-eritroidina, cuyas fórmulas moleculares son idénticas a la obtenida.

Alfa-eritroidina (III), debería presentar en r.m.n. un -- protón vinílico extra, por lo que se supuso que el compuesto -- mas polar correspondiera al isómero beta (IV) y tal vez el -- otro alcaloide menos polar fuera alfa-eritroidina.



(III)



(IV)

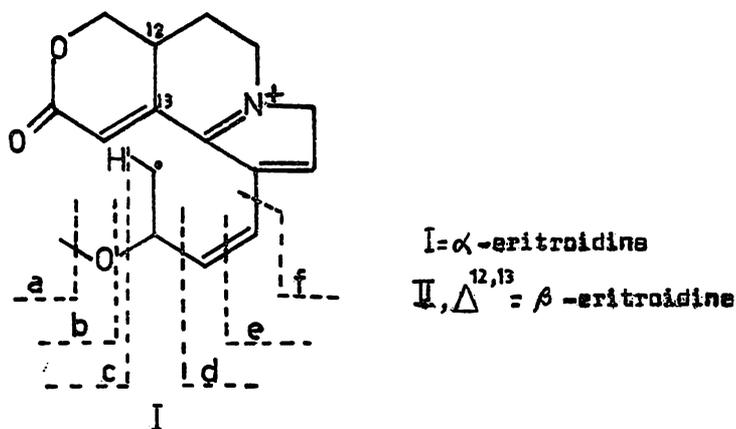
Así, las señales en 6.43, 5.85 y 5.71 ppm, se asignaron a los

protones vinílicos en las posiciones 2, 1 y 7 respectivamente; la señal en 4.63 ppm, para los protones del grupo metileno en posición 17; en 4.1 ppm, la señal múltiple para el protón en posición 3 (base del grupo metoxilo), cuya irradiación llevó a la simplificación de la señal para el grupo metileno en posición 4 (de 1.58 a 1.96 ppm), que se presentaba como un triplete y después de la irradiación, como un doblete, lo que demuestra que esta señal era un doblete de dobletes superpuesto y no un triplete; del mismo modo se simplificó la señal doble de dobles producida por el protón vinílico en 2.

La señal múltiple en 3.58 ppm se asignó a los protones del grupo metileno alílico en posición 8, adyacentes al nitrógeno y las señales de 3.23 a 2.35 ppm se asignaron a los protones de los grupos metileno en las posiciones 14, 10 y 11.

El espectro de masas de baja resolución (espectro #3) señaló el peso molecular correcto con 273 unidades de masa. El ión padre en 242 es debido a la pérdida del grupo metoxilo. Los principales fragmentos se encuentran en 258, 228, 214, 198, 170 y 156.

Boar y Widdowson<sup>38</sup> en 1970 publicaron un patrón de fragmentación para alfa y beta-eritroidina en el que proponen que este proceso es efectuado únicamente por el anillo A de estos alcaloides (esquema #6), lo cual implica que es imposible diferenciar ambos isómeros por este método.

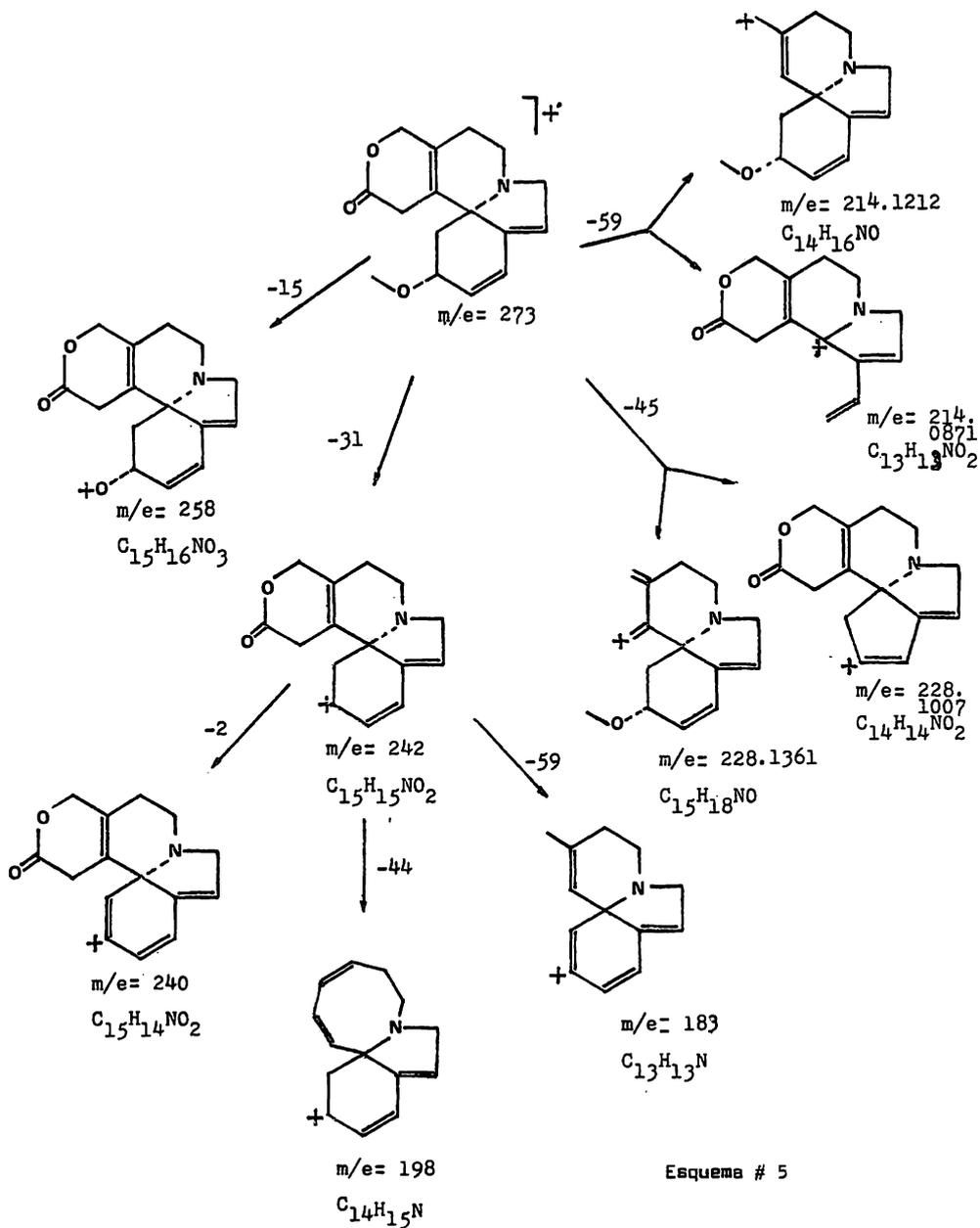


Esquema # 6

En el espectro de masas de alta resolución (esquema #4), se evidencia además del peso molecular correcto con gran aproximación (273.1359 calc., 273.1360 exp.) y el análisis elemental exacto ( $C_{16}H_{19}NO_3$ ), la aparición de dobletes de masa para varios de los fragmentos obtenidos por baja resolución; esto dió lugar a la posibilidad de que el mecanismo de fragmentación no solamente ocurriera por el anillo A sino al mismo tiempo por otra parte de la molécula. Al hacer un análisis de los procesos metaestable unimolecular tanto del ión molecular como del pico padre, resultó que el primero debe lugar a los iones con unidades de masa de 258, 242 - (pico padre), 228, 214 200, 174 y 161; el segundo participa en la génesis de los fragmentos con 224, 214, 198, 183 y 169 unidades de masa. Casi todos los iones involucrados en los dos procesos de descomposición metaestable anteriores, aparecen en el espectro de masas de alta resolución. Al combinar estos datos se propone el patrón de fragmentación que aparece en el esquema #5 para beta-eritroidina.

ESPECTRO DE MASAS DE ALTA RESOLUCION DE BETA-ERITROIDINA

MASA OBSERVADA	ABUNDANCIA RELATIVA (%)	COMPOSICION ELEMENTAL
273.1360	79.97	C <sub>16</sub> H <sub>19</sub> NO <sub>3</sub>
258.1104	30.73	C <sub>15</sub> H <sub>16</sub> NO <sub>3</sub> ← A
243.1186	21.24	C <sub>15</sub> H <sub>16</sub> NO <sub>2</sub>
242.1163	100.00	C <sub>15</sub> H <sub>16</sub> NO <sub>2</sub>
240.1045	16.49	C <sub>15</sub> H <sub>14</sub> NO <sub>2</sub>
216.1008	4.14	C <sub>13</sub> H <sub>14</sub> NO <sub>2</sub>
216.1336	1.61	C <sub>14</sub> H <sub>18</sub> NO ← D
215.0937	4.95	C <sub>13</sub> H <sub>13</sub> NO <sub>2</sub>
215.1249	2.13	C <sub>14</sub> H <sub>16</sub> NO
202.0879	3.14	C <sub>12</sub> H <sub>12</sub> NO <sub>2</sub>
202.1243	3.22	C <sub>13</sub> H <sub>16</sub> NO
199.1324	3.34	C <sub>11</sub> H <sub>19</sub> D <sub>3</sub>
198.1201	16.89	C <sub>11</sub> H <sub>17</sub> D <sub>3</sub>
196.1123	15.29	C <sub>11</sub> H <sub>16</sub> D <sub>3</sub> ← B
186.0926	2.05	C <sub>12</sub> H <sub>12</sub> NO
186.1298	4.55	C <sub>13</sub> H <sub>16</sub> N
184.1109	10.82	C <sub>13</sub> H <sub>14</sub> N
182.0975	17.66	C <sub>13</sub> H <sub>12</sub> N
170.0972	17.14	C <sub>12</sub> H <sub>12</sub> N
156.0815	11.02	C <sub>8</sub> H <sub>12</sub> D <sub>3</sub>
130.0668	22.89	C <sub>9</sub> H <sub>8</sub> N



Esquema # 5

Se elaboraron dos derivados de amonio cuaternario de la base libre. El yodhidrato se formó con un 97% de rendimiento, como cristales amarillo claro que se recrystalizaron de etanol absoluto y presentaron un punto de fusión de 209-210°C (lit. 206°C), un máximo de absorción en el espectro u.v. de 230 nm (E, 16,447). El espectro de r.m.n. obtenido es semejante al de beta-eritroidina, con la diferencia de que en la región entre 5.76 y 6.63 ppm, además de aparecer los dobletes característicos de los protones vinílicos en la base libre, aparece una banda ancha con centro en 6.25 ppm y que desaparece con agua deuterada y que relacionada con las bandas de 2510 a 2670  $\text{cm}^{-1}$  del espectro i.r., confirman la presencia de la unión  $-\overset{+}{\text{N}}\text{H}-$  en la molécula.

El yodometilato se formó en un 86% de rendimiento por reacción de la base libre con yoduro de metilo, resultando un sólido blanco amorfo con punto de fusión de 219-220.5°C. El espectro i.r. presentó bandas en 1740 (del carbonilo de la lactona), 2820, 1110, 840 y 810  $\text{cm}^{-1}$ . No se obtuvieron espectros u.v. y de r.m.n. ya que este derivado fué insoluble en los disolventes comunmente utilizados en espectroscopía.

El alcaloide menos polar (R.f.=0.48) es inestable; por exposición al aire se descompone tan rápidamente que no fué posible cristalizarlo. Algunas de sus constantes fueron determinadas bajo atmósfera de nitrógeno.

El espectro i.r. presenta una banda fuerte en  $1730\text{ cm}^{-1}$  que sugiere un grupo carbonilo y otras absorciones en 2840, 1090, 890 y  $650\text{ cm}^{-1}$ .

En el espectro ultravioleta, un máximo de absorción en 226 nm (log E, 4.18); la rotación óptica a  $20^{\circ}\text{C}$  es +123.85.

El espectro de r.m.n. (espectro # 2) presenta las siguientes señales: en 6.43 ppm una señal doble de dobles que integra para un protón ( $J=11$  y 2 Hz). Entre 6.2 y 5.6 ppm, se presenta un grupo de señales superpuestas que integran para tres protones y se asignaron como sigue: en 5.91 ppm, se presenta una señal doble ( $-J=11$  Hz); en 5.8 ppm una señal superpuesta con una señal múltiple de menor intensidad en 5.76 ppm. En el caso de este compuesto (como en el de beta-eritroidina), los datos obtenidos de los espectros u.v., i.r. y r.m.n., no concordaron para una estructura aromática, además las bandas en  $1730\text{ cm}^{-1}$  y 226 nm de los espectros i.r. y u.v., podrían indicar la presencia en la molécula de un éster alfa,beta-insaturado; en el espectro de r.m.n. apareció otro protón vinílico (5.8 ppm), además de los otros ya existentes en el caso de beta-eritroidina.

Por las señales a campos mas bajos en el espectro de r.m.n., se deduce un sistema de dienos heteroculares parecido al del isó

mero beta, a pesar de que en el espectro u.v. la banda de absorción típica para este tipo de compuestos no se observa, probablemente porque queda incluida dentro de la banda de absorción mas intensa en 226 nm para el grupo carbonilo  $\alpha,\beta$ -insaturado.

Las características espectrométricas anteriormente citadas, llevaron a suponer que este compuesto correspondía al isómero  $\alpha,\beta$ -insaturado de los alcaloides con anillo de lactona y la asignación de señales por r.m.n. concordó con esta suposición.

Las señales en 6.43 y 5.91 ppm se asignaron a los protones vinílicos en las posiciones 2 y 1 respectivamente, acoplados entre sí; la señal en 5.76 ppm, se asignó al protón vinílico en la posición 7. En 4.46 ppm se encuentra una señal doble de dobletes ( $J=11$  y  $6$  Hz), la parte A de un sistema ABX cuyo centro se encuentra en 4.25 ppm y la parte B del mismo sistema se encuentra en 4.03 ppm ( $J=11$  y  $8$  Hz) también representada por una señal doble de dobles, ambas integraron para dos protones y se asignaron al grupo metileno en posición 17, vecinos al átomo de oxígeno de la lactona. La señal para estos protones está desplazada a campos mas altos con respecto a la señal para los mismos en beta-eritroidina (4.63 ppm), por no existir la doble ligadura entre los carbonos 12 y 13 presente en el isómero beta.

La señal múltiple en 3.65 ppm que integró para dos protones se asignó al grupo metileno alílico en posición 8 adyacente al nitrógeno; en 3.4 ppm, la señal sencilla para los protones del grupo metoxilo; de 2.33 a 3.23, una señal múltiple que fué asignada a los protones de los grupos metileno en las posiciones 10,

12 y 11 y de 1.66 a 1.93 ppm, señal múltiple para los protones en la posición 4.

Se comprobó la suposición de que el compuesto anterior es - alfa-eritroidina cuando se realizó su isomerización a beta-eritroidina<sup>22</sup> por reacción con hidróxido de sodio al 15% a reflujo.

El hecho de que alfa y beta-eritroidina experimenten casi la misma absorción en el i.r. para el grupo carbonilo, aunque en un caso se trate de una lactona  $\alpha,\beta$ -insaturada y en el otro de una lactona  $\beta,\gamma$ -no saturada, es una situación anómala para la que no se ha encontrado explicación. Este hecho ha sido informado anteriormente<sup>22</sup> para los clorhidratos de ambas bases.

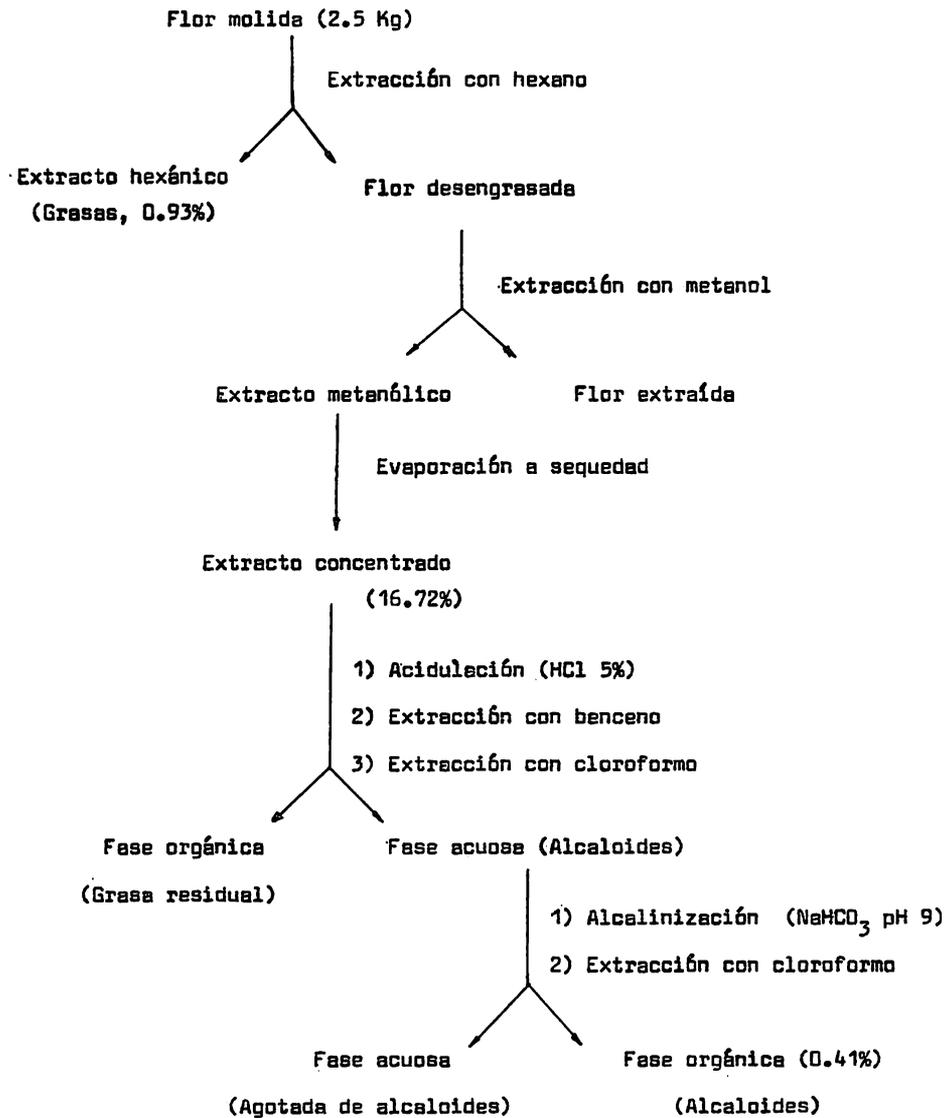
Los resultados anteriores nos conducen a la conclusión de que los únicos alcaloides existentes en las flores de Erythrina americana Mill., son alfa y beta eritroidina, se encuentran en un porcentaje de 0.034 y 0.11 respectivamente y probablemente son los responsables de la actividad farmacológica observada, por los estudios farmacológicos hechos sobre beta-eritroidina y sus derivados<sup>35</sup>.

PARTE EXPERIMENTAL

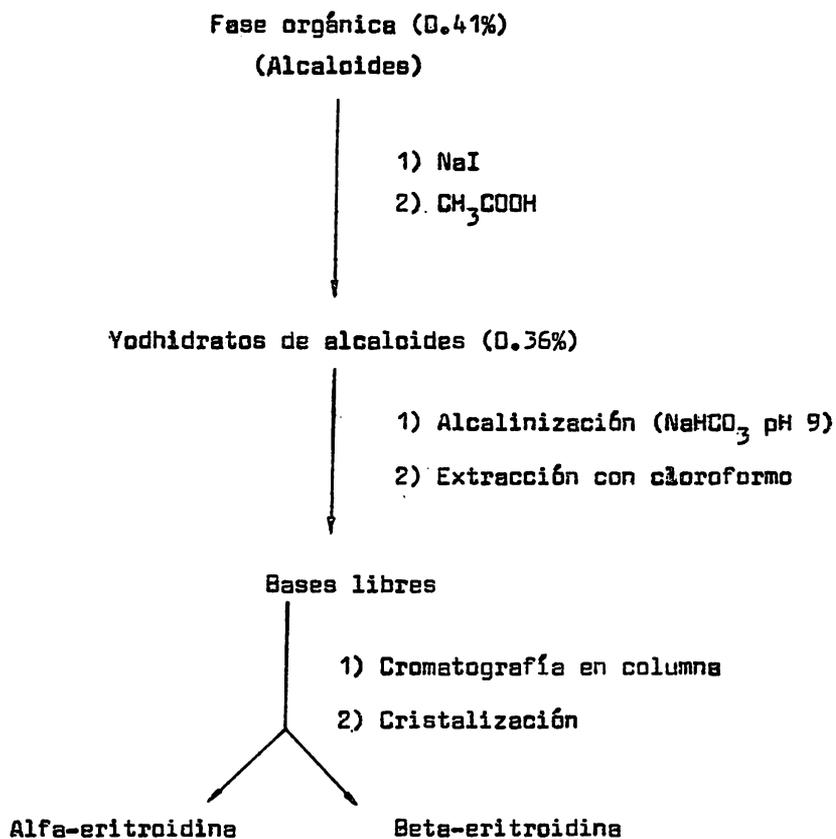
Los puntos de fusión se determinaron en un aparato Thomas Hoover de capilar y están corregidos. Los espectros de absorción en el infrarrojo fueron hechos en un espectrofotómetro "Perkin Elmer Modelo 337" en discos de bromuro de potasio o en solución clorofórmica. Las rotaciones específicas fueron determinadas en un espectrofotómetro "Perkin Elmer Modelo 241" en agua. Los espectros de absorción en el ultravioleta se hicieron en un espectrofotómetro "Perkin Elmer Modelo 202" usando como disolvente etanol absoluto. Los espectros de resonancia magnética nuclear se determinaron en un espectrofotómetro analítico "Varian EM 360", utilizando cloroformo deuterado como disolvente y tetrametilsilano como referencia interna (TMS); el desplazamiento químico está expresado en partes por millón, utilizando el parámetro delta ( $\delta$ ). Las constantes de acoplamiento (J) en Hertz (Hz). Los espectros de masas se hicieron en un espectrómetro de masas "Hitachi RMU-9" de geometría inversa y se empleó el método de introducción directa. El espectro de masas de alta resolución se determinó en un espectrómetro de masas "AEI-Ms-902" con computadora digital PDP8.

Para la cromatografía en película se utilizaron placas fluorescentes de gel de sílice (Merck) tipo GF 254. Para la cromatografía en columna se empleó alúmina neutra grado II-III según Brockmann.

## PROCEDIMIENTO DE EXTRACCION



## PROCEDIMIENTO DE EXTRACCION (CONT.)



### Extracción

2.5 Kg de flores (cáliz, corola, androceo y gineceo) de colorín se molieron en un molino "Thomas-Wiley modelo 4" hasta tener un polvo fino que se desengrasó con heptano por 24 horas obteniéndose 23.3 g de grasa. Las flores desengrasadas se extrajeron continuamente durante 48 horas con 12.5 litros de metanol (la extracción se considera completa cuando el último extracto alcohólico no da reacción positiva de alcaloides con los reactivos de Mayer y Dragendorff).

### Intento de aislamiento de hipaforina

Los extractos metanólicos se concentran en el rotavapor, manteniendo la temperatura del baño maría entre 40 y 50°C. Los residuos de disolvente se eliminaron usando bomba de vacío a temperatura ambiente durante 12 horas, resultando 418 g de una goma color café oscuro. Este residuo se disolvió en 2.25 litros de ácido clorhídrico al 5% y se dejó en reposo en el refrigerador por 5 días con el propósito de cristalizar hipaforina (no cristalizó nada).

### Purificación

La solución acuosa ácida se extrajo con 4 litros de cloroformo (8 fracciones de 500 ml) para eliminar trazas de grasa, impurezas solubles en cloroformo y materia colorida. Esta fracción orgánica

nica . La fase acuosa se neutralizó con bicarbonato de sodio hasta ajustar un pH de 9 y se extrajo con 10 litros de cloroformo para dar la fracción de alcaloides "libres". Se controló la extracción de los alcaloides, haciendo pruebas con reactivo de Mayer a los últimos extractos orgánicos. Los extractos clorofórmicos combinados se secaron con sulfato de sodio anhidro y concentraron a sequedad resultando 10.45 g de extracto crudo de alcaloides que por cromatografía en capa fina presentó 3 manchas al u.v. (95/5 cloroformo-metanol, dos de ellas revelan con reactivo de Dragendorff).

#### Formación de yodhidratos

9.6 g del extracto crudo de alcaloides se disolvieron en etanol absoluto, se agregaron 5 g de yoduro de sodio y se aciduló con ácido acético glacial hasta precipitación de los alcaloides como yodhidratos. El precipitado se filtró y recrystalizó de etanol-cloroformo. Los cristales resultantes pesaron 9.05 g y fundieron a  $227^{\circ}\text{C}$  (lit.  $226^{\circ}\text{C}$ ).

300 mg de esta mezcla de yodhidratos se disolvieron en 5 ml de agua; el medio se alcalinizó con bicarbonato de sodio a un pH de 8 y se extrajo con cloroformo.

#### Separación

Los extractos clorofórmicos se concentraron bajo vacío y a sequedad.

Se intentó separar los componentes del residuo, usando cromatografía en placa preparativa de sílice (cloroformo-metanol, 95-5 v/v). Este método no resultó adecuado porque al extraer los alcaloides de la gel de sílice, mostraban varias manchas de menor polaridad además de la que se trataba de separar, al analizarse por cromatografía en capa fina.

Una parte del residuo se inyectó en un cromatógrafo de gases acoplado a un espectrómetro de masas modelo Finnigan 3200, con columna OV-1, 3%, temperatura programada de 150 a 250°C, 4°C/min., flujo de helio = 2 Kg/cm<sup>2</sup> y temperatura de inyección 250°C y la mezcla de alcaloides no se separó.

El residuo se hizo pasar por una columna cromatográfica de alúmina neutra grado II-III (Brockmann) utilizando benceno como disolvente en las primeras fracciones (30x150 ml) y posteriormente benceno-acetato de etilo (95-5 v/v) y se separaron dos productos: el menos polar (R.f. = 0.48) pesó 0.041 g (alfa-eritroidina) y el mas polar (R.f. = 0.35) pesó 0.133 g (beta-eritroidina).

Alfa-eritroidina (III) presenta las siguientes características:

sólido vidrioso;  $\lambda_{\text{máx.}}$  226 nm (log E, 4.18);  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +123.85$  (2.39 mg/ml agua); i.r.  $\nu_{\text{máx.}}$  CHCl<sub>3</sub>) 2840, 1730, 1090, 890 y 650 cm<sup>-1</sup>; r.m.n. 6.43 (dd, J<sub>2,1</sub>: 11 Hz, J<sub>2,3</sub>: 2 Hz, 2-H), 5.91 (d, J<sub>1,2</sub>: 11 Hz, 1-H), 5.8 (s, 14-H), 5.76 (m, 7-H), 4.46 (A de ABX, dd, J<sub>A,B</sub>: 11 Hz, J<sub>A,X</sub>: 6 Hz, 17-H<sub>ax</sub> o eq), 4.03 (B de ABX, dd, J<sub>B,A</sub>: 11 Hz,

$J_{B,X}$ : 8 Hz, 17-H<sub>eq</sub> o ax), 3.5-3.96 (m, 3-H), 3.65 (s.a., 8-H), -  
3.4 (s, -OCH<sub>3</sub>), 2.33-3.23 (m, -CH<sub>2</sub>- 10, 11, 12-H), 1.66-1.93 ppm  
(m, -CH<sub>2</sub>- 4-H).

Beta-eritroidina (IV) presenta las siguientes constantes:

p.f. 100°C (lit. 99.5-100°C);  $\lambda_{\text{máx.}}$  235 (log E, 4.15); i.r.  
 $\lambda_{\text{máx.}}$  (KBr) 2810, 1720, 1090, 810 y 645 cm<sup>-1</sup>; r.m.n. 6.43 (dd, -  
 $J_{2,1}$ : 10 Hz,  $J_{2,3}$ : 2 Hz, 2-H), 5.85 (d,  $J_{1,2}$ : 10 Hz, 1-H), 5.71  
(m, 7-H), 4.63 (s.a., 17-H), 4.1 (m, 3-H), 3.58 (m, 8-H), 3.38 -  
(s, -OCH<sub>3</sub>), 2.35-3.23 (m, -CH<sub>2</sub>- 14,10,11-H), 1.58-1.96 ppm (m,  
4-H); m/e 273 (M<sup>+</sup>), 258, 242 (100%), 198, 182 y 170; M<sup>+</sup> 273.1360  
exp., M<sup>+</sup> 273.1359 calc.

#### Yodhidrato de beta-eritroidina<sup>37</sup>

500 mg de beta-eritroidina (como base libre) se disolvieron  
en alcohol etílico absoluto, se agregaron 274 mg de yoduro de --  
sodio y se aciduló con ácido acético glacial, precipitando unos -  
cristales amarillos que por recristalización de etanol absoluto -  
presentaron las siguientes constantes:

p.f. 209-210°C (lit. 206°C);  $\lambda_{\text{máx.}}$  229 nm (E, 16,447); i.r.-  
 $\lambda_{\text{máx.}}$  (KBr) 2510-2670, 1740 y 1100 cm<sup>-1</sup>; r.m.n. (CDCl<sub>3</sub>-DMSO) 6.25  
(m, -NH<sub>2</sub><sup>+</sup>).

#### Yodometilato de beta-eritroidina

250 mg de beta-eritroidina (base libre) se disolvieron en al-  
cohol etílico absoluto y se agregaron tres equivalentes de yoduro

de metilo. La mezcla de reacción se dejó a temperatura ambiente y bajo atmósfera de nitrógeno durante la noche. Después de 14 horas de reacción, se filtró el precipitado blanco que presentó las siguientes constantes:

p.f. 219-220°C; i.r.  $\nu_{\text{máx.}}$  (KBr) 2820, 1740, 1110, 840 y 810  $\text{cm}^{-1}$ .

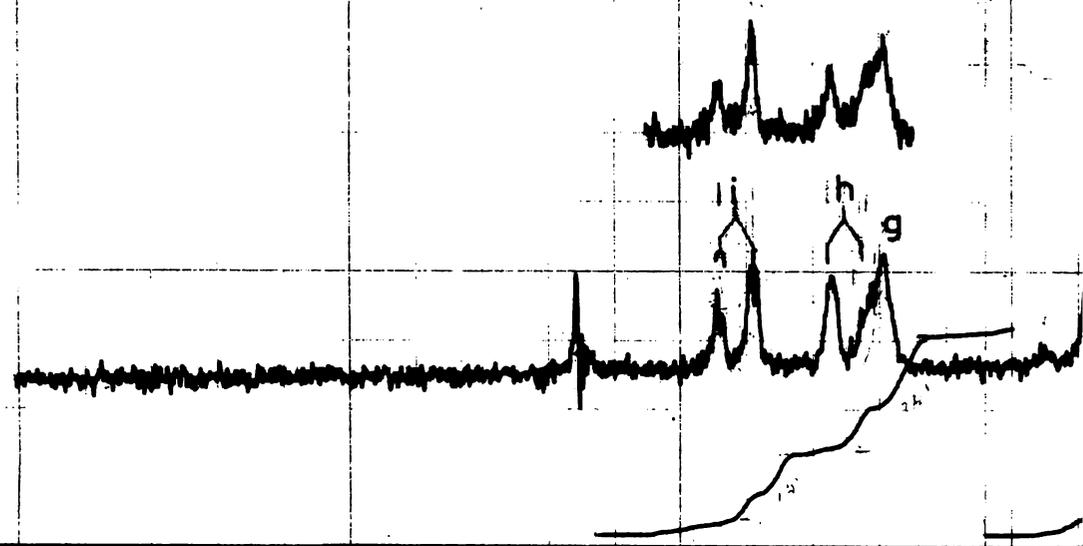
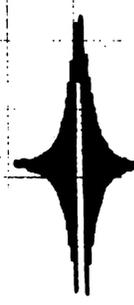
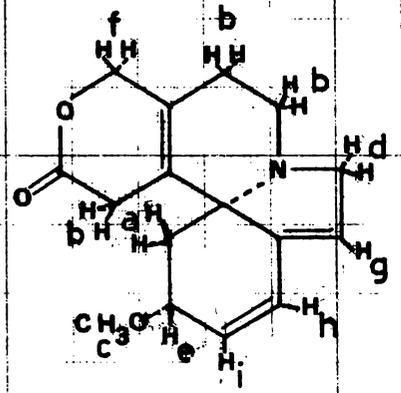
#### Reacción de isomerización de alfa a beta-eritroidina

4 g de mezcla de yodhidratos de alfa y beta-eritroidina se di solvieron en 40 ml de hidróxido de sodio al 15% y se dejaron a reflujo por tres horas bajo atmósfera de nitrógeno. La mezcla de reac ción se enfrió en un baño de hielo y se le añadió ácido clorhídrico concentrado hasta que se tuvo un pH menor que dos. Se dejó la reacción en reposo por tres horas y al cabo de ese tiempo se aña dió cuidadosamente bicarbonato de sodio hasta tener un pH arriba de 7. La solución acuosa se extrajo cinco veces con cloroformo y los extractos combinados se secaron con sulfato de sodio y concentra- ron. Por cromatografía en capa delgada se observó la presencia de una sola mancha cuyo R.f. coincidió con el de una muestra auténti ca de beta-eritroidina y que reveló positivamente con reactivo de Dragendorff. El producto se purificó por cristalización (éter etí lico 100%) y presentó las mismas características físicas y espec trométricas que la muestra auténtica de beta-eritroidina.

START OF SWEEP



20ppm	1200Hz	1000	800	600
10ppm	600	500	400	300
5ppm	300	250	200	150
2ppm	120	100	80	60
1ppm	60	50	40	30
0.5ppm	30	25	20	15



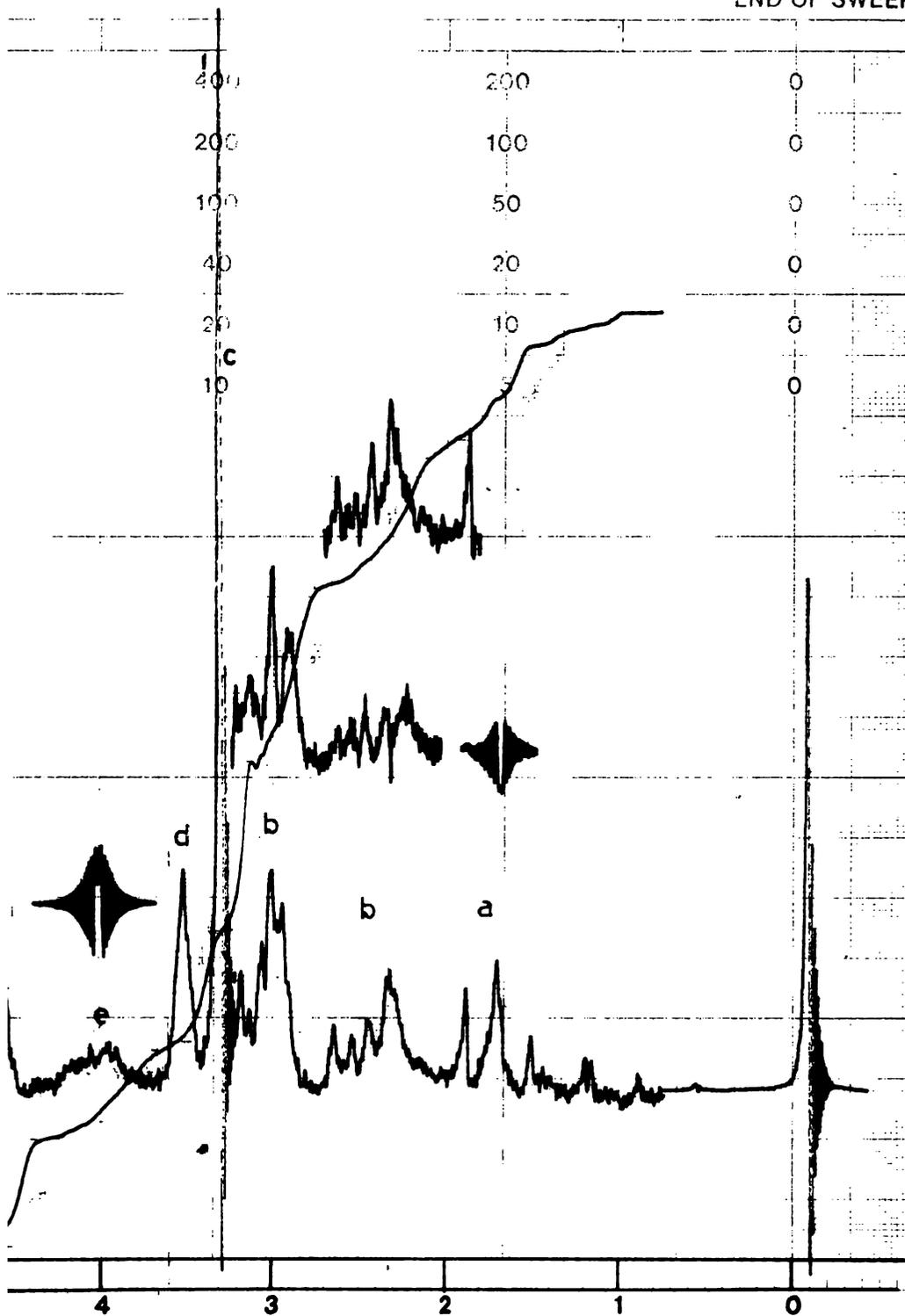
ppm ( $\delta$ )      10                  9                  8                  7                  6                  5

SPECTRUM AMPL. 1000      SWEEP TIME 5      min      SAMPLE: \_\_\_\_\_

FILTER .05      sec      SWEEP WIDTH 10      ppm or Hz

RF POWER .07      mG      END OF SWEEP 0      ppm or Hz      SOLVENT: \_\_\_\_\_

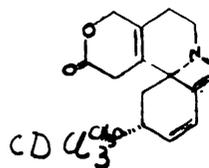
END OF SWEEP



nystroindna

REMARKS: MI-2-91

OPERATOR: *Paul*



DATE: *1/8 / 79*

SPECTRUM NO. *76 (1)*

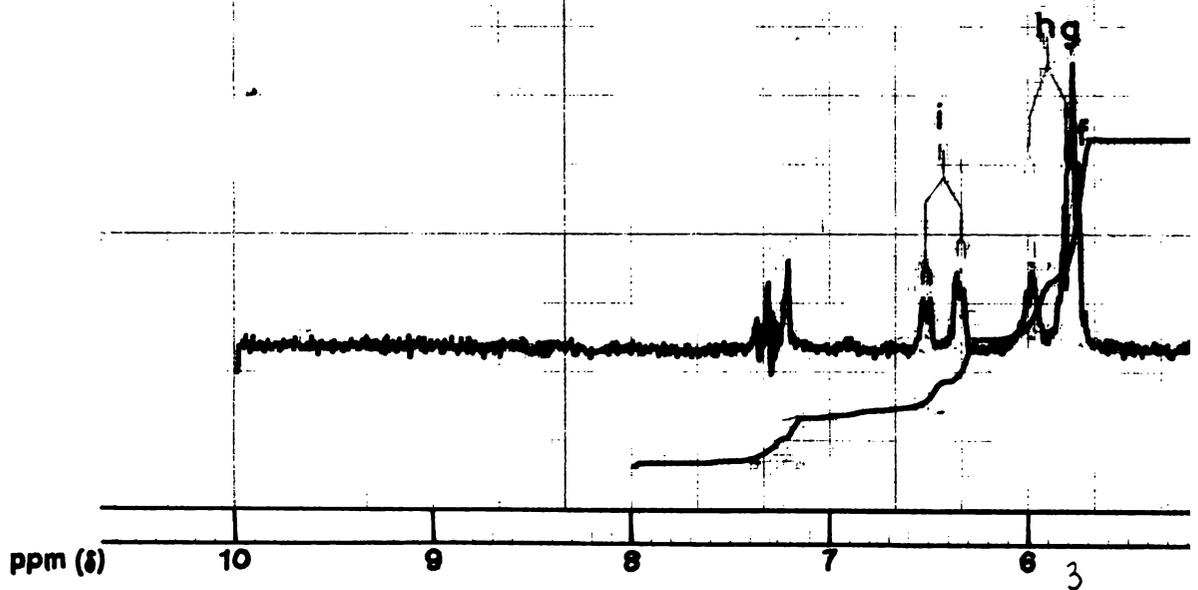
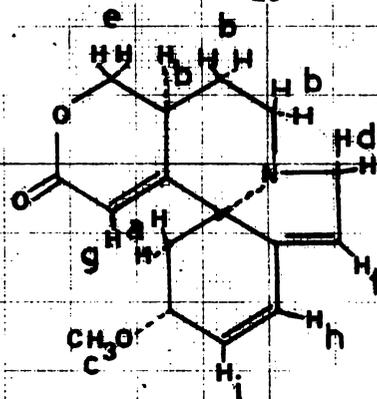
START OF SWEEP >

20ppm  
10ppm  
5ppm  
2ppm  
1ppm  
0.5ppm

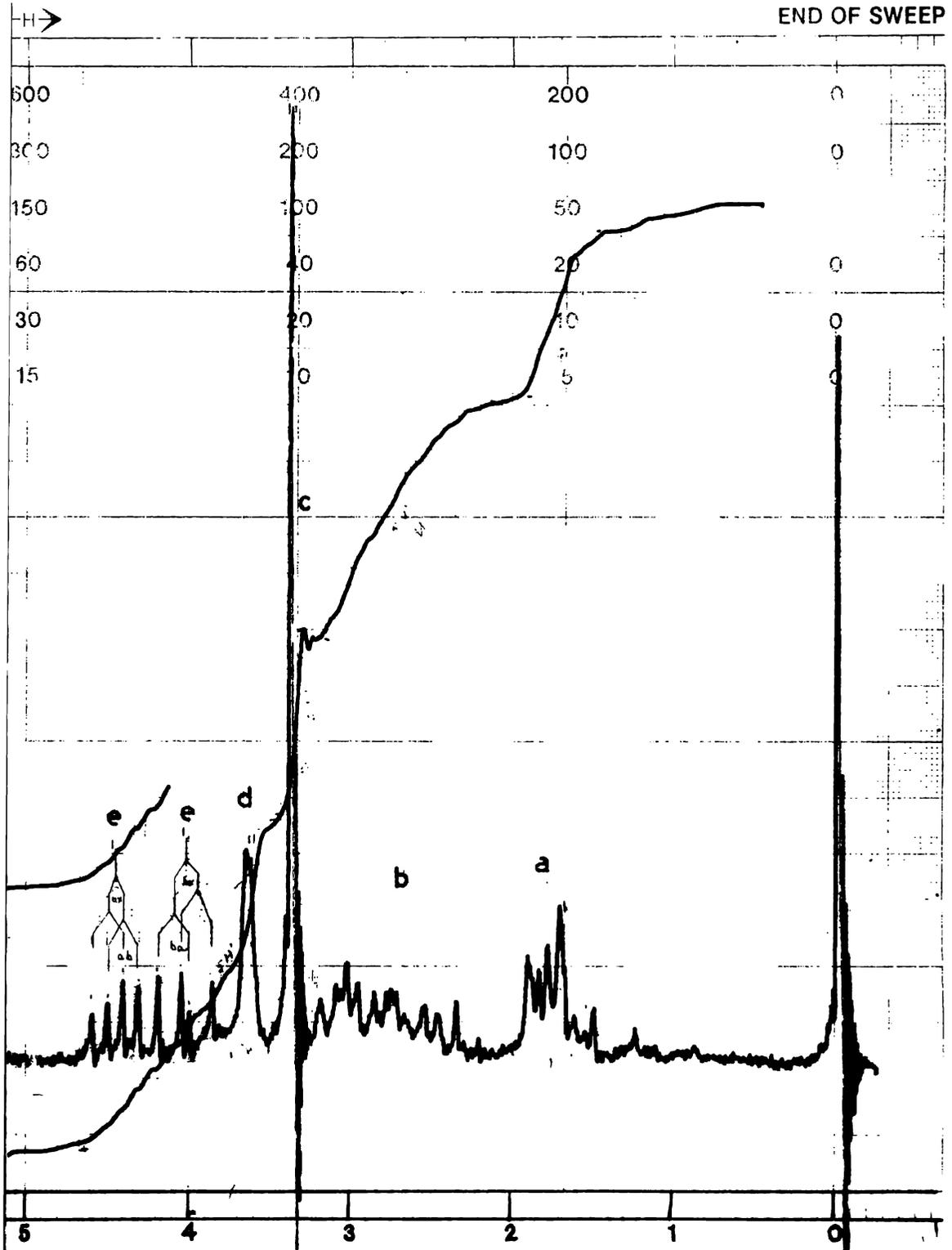
1200Hz  
60  
300  
120  
60  
30

1000  
500  
250  
100  
50  
25

800  
400  
200  
80  
40  
20



SPECTRUM AMPL. 250 SWEEP TIME 5 min SA  
 FILTER 102 sec SWEEP WIDTH 10 ppm or Hz  
 RF POWER 05 mG END OF SWEEP 0 ppm or Hz SO



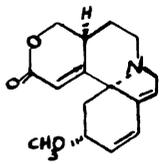
SAMPLE: L-eritrodine

REMARKS: MI-26-50

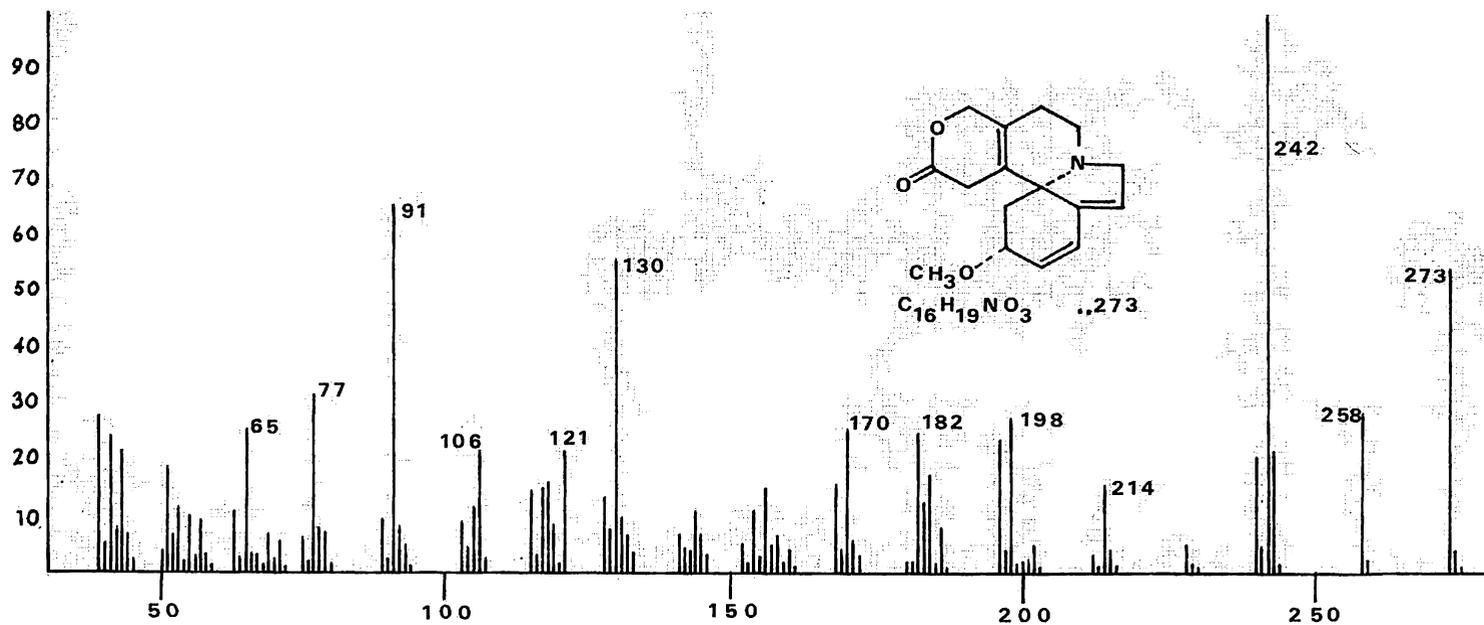
OPERATOR Paul E.

DATE 15 / Mar / 77

SPECTRUM NO. 4781 (2)



SOLVENT: CDCl<sub>3</sub>



## CONCLUSIONES

## QUIMICA

De 2.5 kg de flores de E. americana se aislaron dos productos que fueron identificados como alfa y beta-eritroidina, de acuerdo a las constantes físicas de la base libre y de sus derivados y por análisis de los espectros de ultravioleta, infrarrojo, resonancia magnética protónica y masas; los rendimientos obtenidos fueron 0.034 y 0.11% respectivamente y 0.246% de alcaloides totales.

A diferencia de las semillas de esta misma planta, no se encontraron hipaforina, erigodina ni otros alcaloides en las flores.

La identidad de alfa-eritroidina fué confirmada por su conversión a beta-eritroidina por isomerización en medio básico.

Se presentan datos de espectroscopía de resonancia magnética nuclear para alfa y beta-eritroidina que no habían sido informados en la literatura química.

Se propone un mecanismo de fragmentación por espectrometría de masas que puede diferenciar entre alfa y beta-eritroidina.

### FARMACOLOGIA

Debido a que los alcaloides encontrados en las flores de E. americana son exclusivamente alfa y beta-eritroidina. la acción de inducción al sueño que se atribuye a las flores puede ser debida a un efecto indirecto ocasionado por una relajación muscular y no por acción directa sobre el sistema nervioso central; esto fué - comprobado por las pruebas farmacológicas realizadas por C. Hanna y sus colaboradores<sup>17</sup>.

Tomando esto en consideración, se sugiere que se debe dar ma yor atención al uso de relajantes musculares como inductores del sueño, en lugar de utilizar exclusivamente sustancias con efecto hipnótico.

## BIBLIOGRAFIA

1. Folkers, K. y Unna, K. J. Am. Pharm. Assoc., 27, 693 (1938).
2. Folkers, K. y Unna, K. J. Am. Pharm. Assoc., 1019 (1939).
3. Pichard, R. y Lucio, J. V. J. Pharmacol., 80, 62 (1944).
4. Giral, F. y Mariel, R. Ciencia (Méx.), 19, 27 (1959).
5. Raven, P. H. Lloydia, 40, 401 (1977).
6. Hargreaves, R. T., Johnson, R. D., Millington, O. S., Mondal, M. H., Beavers, W., Becker, L., Young, C. y Rinehart Jr., K.L. Lloydia, 37, 569 (1974).
7. Barton, D. H. R., Boar, R. B. y Widdowson, D. A. J. Chem. Soc. (c), 1213 (1970).
8. Barton, D. H. R., Gunatilaka, A. A., Letcher, R. M., Lobo, A. M. y Widdowson, D. A. J. Chem. Soc. Perkin. Trans. 1, 874 (1973).
9. Folkers, K., Koniuszy, F. y Shavel, J. J. Am. Chem. Soc., 63, 1544 (1941).
10. Folkers, J. y Koniuszy, F. J. Am. Chem. Soc., 62, 1677 (1940).
11. Folkers, K. y Koniuszy, F. U. S. Pat., 2, 391,013 Dic. 18, 1945; Chem. Abstracts, 40, 1283 (1946).
12. Miana, G. A., Ikram, M., Sultana, F. y Khan, M. I., Lloydia, 35, 92 (1972).

13. Domínguez, R. y Altamirano, F. 1877, Gac. Méd. México, 12:77.
14. Folkers, K. y Major, R. T. J. Am. Chem. Soc., 59, 1580 (1937).
15. Sauvage, G. L. y Boekelheide, V. J. Am. Chem. Soc., 72, 2062 (1950).
16. Grundon, M. F. y Boekelheide, V. J. Am. Chem. Soc., 74, 2637 (1952).
17. Grundon, M. F. y Boekelheide, V. J. Am. Chem. Soc., 75, 2537 (1953).
18. Boekelheide, V. y Agnello, E. J. Am. Chem. Soc., 73, 2286 (1951).
19. Godfrey, J. C., Tarbell, D. S. y Boekelheide, V. J. Am. Chem. Soc., 77, 3342 (1955).
20. Boekelheide, V. y Grundon, M. F. J. Am. Chem. Soc., 75, 2563 (1953).
21. Boekelheide, V., Weinstock, J., Grundon, M. F., Sauvage, G. L., Agnello, E. J. J. Am. Chem. Soc., 75, 2550 (1953).
22. Boekelheide, V. y Morrison, G. C. J. Am. Chem. Soc., 80, 3905 (1958).
23. Boekelheide, V. y Wenzinger, R. J. Org. Chem., 29, 1307 (1964).
24. Hanson, A. W. Proc. Chem. Soc., 52 (1963).

25. Hill, R. K. y Shearer, W. R. J. Org. Chem., 27, 921 (1962).
26. Leete, E. y Ahmad, A. J. Am. Chem. Soc., 88, 4722 (1966).
27. Barton, D. H. R., Potter, C. J. y Widdowson, D. A. J. Chem. Soc. Perkin I., 3, 346 (1974).
28. Barton, D. H. R., James, R., Kirby, G. W., Turner, D. W. y Widdowson, D. A. J. Chem. Soc. (c), 1529 (1966).
29. Ito, K., Furukawa, H. y Tanaka, H. Chem. Pharm. Bull., 19, - 1509 (1971).
30. Barton, D. H. R., Bear, R. B. y Widdowson, D. A. J. Chem. Soc. (c), 1288 (1970).
31. Ghosal, S., Majumdar, S. K. y Chakraborti, A. Aust. Journal of Chem., 24, 2733 (1971).
32. Barton, D. H., Bracho, R. D., Potter, C. J., Widdowson, D. A. J. Chem. Soc. Perkin I., 19, 2278 (1974).
33. Craig, L. E. en "The Alkaloids", Vol. 5, Manske, R. H., Ed., - Academic Press, New York, N. Y. (1950).
34. Meigirian, D., Leary, D. E. y Slater, I. H., J. Pharm. Exptl. - Therap., 113, 212 (1955).
35. Hanna, C., Mc. Millan, M. H. y Mc. Hugo, P. B. Arch. Intern. - Pharmacodyn., 124, 445 (1960).

36. Unna, K. R., Kniazuk, M. y Greslin, J. G. J. Pharmacol. Exptl. Therap., 80, 39 (1944).
37. Millington, D.S., Steinman, D.H., Rinehart Jr., K. L. J. Am. - Chem. Soc., 96, 1909 (1974).
38. Boar, R. B. y Widdowson, D. A. J. Chem. Soc. (B), 1521 (1970).