

24/43



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

"ESTUDIO DE ALCALOIDES DE
Tecoma stans"



EXAMEN DE TESIS DE GRADO
FAC. DE QUIMICA

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

QUIMICO FARMACEUTICO BILOGO

P R E S E N T A :

JOSE LUIS GARCIA SUAREZ

FALLA DE ORIGEN



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 está 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

INTRODUCCION	1
ANTECEDENTES	3
PARTE EXPERIMENTAL	23
COMPUESTOS AISLADOS	45
CONCLUSIONES	60
BIBLIOGRAFIA	62

INTRODUCCION

En 1899 se descubrió por primera vez la presencia de alcaloides en la planta Tecoma stans¹, el primer alcaloide - aislada de esta planta fue la Tecomanina² (1).

Investigaciones posteriores han permitido la identificación de otros alcaloides. Estos alcaloides han mostrado tener carácter monoterpénico, en los que se conjuga un anillo - metilciclopentano a uno piridínico o piperidínico. La estructura base de estos alcaloides es la Actinidina³ (18) en el caso del anillo piridínico y la Skitantina⁴ (17) en el piperidínico.

Thomas⁵ y Wenkert⁶ introdujeron sus teorías sobre la biosíntesis de alcaloides indólicos, teniendo como precursor un iridoide esto hizo pensar que otros alcaloides pueden ser derivados de iridoides. Se piensa que en esta planta (Tronadora) como ocurre en otras bignonáceas, los alcaloides monoterpénicos se pueden encontrar acompañados de glucósidos iridoides. En los estudios en Tecoma capensis⁷ se reporta el aislamiento de un glucósido amorfo, cuyo comportamiento al ser hidrolizado es similar al de los glucósidos iridoides.

A la tronadora, como vulgarmente se conoce a la Tecoma stans, se le han atribuido propiedades de tónico en general, para combatir la gastritis de origen alcohólico y como antidisentérico a nivel popular. Para estos padecimientos se usa la infusión de las hojas. A la raíz se le atribuyen propiedades diuréticas, tónicas y antisyfílicas. Sin embargo su uso más generalizado entre la población es como antidiabético. Farmacológicamente, se han realizado estudios de algunos de los alcaloides presentes en la planta (Tronadora), encontrándose que la Tecomanina (1) y Tecostanina (2) son poderosos agentes hipoglucemiantes en determinadas condiciones de experimentación. 30-31

E.M. Dickson y G. Jones³, en estudios realizados en Tecoma stans de diferentes orígenes como son: Cuba, Egipto, Estados Unidos y México, encontraron que existe una variación en el contenido de los alcaloides presentes en esta planta. El factor común encontrado por ellos, es que todas las especies examinadas presentan a la Tecomanina (1) como el alcaloide principal. Otra observación, es que en las raíces de la planta de origen mexicano, sólo presenta a la Tecomanina (1) ya que los demás alcaloides sólo muestran huellas de su presencia.

ANTECEDENTES

Nombre científico: Tecoma stans. (L)H.B.K.

Familia: Bignoniaceae.

Nombre popular: Tronadora.

Esta planta recibe otros nombres vulgares como son: -
Flor de San Pedro ó Hierba de San Pedro, Guichichi ó Tulasu-
chil, Hierba de San Nicolás, Hoja de Baño, Huachacata, Kanló
ó Xhanlol, Lluvia de Oro, Miñona, Mazorca, Nextamalxochitl, -
Retama, Trompeta, etc.

Localización: La planta crece en varias partes del -
mundo. En México se encuentra en regiones de varios estados,
como son: El estado de Coahuila, Guerrero, Guanajuato, Hidal-
go, Michoacán, Morelos, Nuevo León, Oaxaca, San Luis Potosí,-
Veracruz y Yucatán.

Descripción de la planta: Es un arbusto o árbol pe-
queño, variando su altura entre 1 metro y hasta 12 metros de
alto, con troncos de 25 centímetros de diámetro. Las hojas -
son lampiñas, opuesto cruzadas y tienen de cinco a trece - -
hojuelas generalmente dentadas, lineal-lanceoladas o de forma
elíptica, son glabras, raramente pubescentes y miden cerca de
seis centímetros de largo. Las ramas son frecuentemente lar-

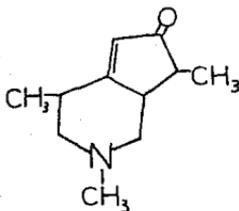
gas con muchas flores, dispuestas en racimos terminales de corola amarilla brillante, funiforme de tres y medio centímetros de largo, con glándulas lepidotas esparcidas cuando son botones, lóbulos blancos ciliados, arteras pilosas con bolsas divergentes, cuatro estambres insertados en la corola más un estaminodio; ovario bicapilar, bilocular con muchos óvulos. El fruto es una cápsula negrusca, larga de unos quince centímetros y florece de Julio a Septiembre.

Alcaloides identificados en Tecoma stans

TECOMANINA

El primer alcaloide aislado de Tecoma stans, fue la Tecomanina (1). Este alcaloide fue aislado por Hammouda y colaboradores² en 1959. Los autores mencionados lo aislaron por cromatografía de una fracción de alcaloides y su estructura fue establecida con ayuda de Jones y colaboradores⁸. Con el alcaloide aislado obtuvieron derivados: un picrato, un metil-Ioduro y registraron sus espectros de UV. e IR. En los espectros se detectó la presencia de una ciclopentanona insaturada. En el espectro de RMN-II, sólo se detectó un protón aromático, junto con dos dobletes para tres protones y un grupo N-metilo.

La reducción en ácido acético y posteriormente una reducción de Huang-Minlon dan una mezcla de tres bases, las cuales son tratadas con paladio sobre carbón dando como producto principal Actinidina (18), por lo tanto la estructura fué establecida y se denominó Tecomanina (1). Una reducción catalítica en etanol adiciona una mol equivalente de hidrógeno y el producto formado con mayor proporción es un dihidro derivado obtenido por recristalización del picrato. Comparándolo con los cuatro picratos sintéticos conocidos de la Skitantina -- (17) se encontró que el derivado obtenido era un nuevo compuesto.



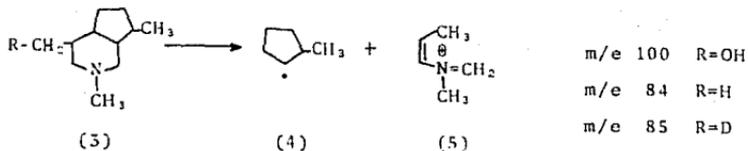
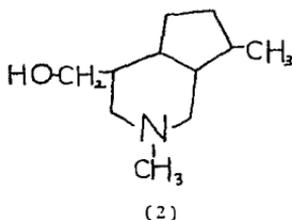
(1)

TECOSTANINA

La Tecostanina (2) fué el siguiente alcaloide aislado de Tecoma stans, por Hammouda⁹ y su estructura fué establecida en colaboración con Le Men y Plat¹⁰. El espectro de IR., muestra el grupo funcional alcohol primario y este fué confirmado por una fácil acetilación para dar un derivado monoacetilado⁹. El átomo de oxígeno fué removido por medio de una tosilación y subsecuentemente una reducción con hidruro de litio y aluminio. La base fué entonces hidrogenada con paladio sobre carbón y el producto fué idéntico a la Actinidina (18). Pero nuevamente la base libre del grupo hidroxilo, no fué -- idéntica con los isómeros sintéticos de la Skitantina (17) o de la Tecomanina (1) sin el grupo ceto.

La Tecostanina (2) corresponde con un derivado de la Skitantina (17) es decir, con una hidroxiskitantina. Por espectroscopía de RMN-H., se determinó que el alcohol era primario. Una decisión que se tomó inicialmente para la posición del grupo hidroxilo, fué confirmada posteriormente con la ayuda de la espectrometría de masas¹⁰ con el siguiente mecanismo probable, los iones fragmentados se observan a m/e 100, 58¹¹. El fragmento de ión m/e 100 cambio a 84, cuando se uso la base sin el átomo de oxígeno del carbono que esta unido en la posición número - -

cuatro y cuando se realiza sobre el compuesto marcado con deuterio en el mismo carbón que soporta al grupo hidroxilo, la masa del ión fragmento fué m/e 85. Con lo cual se demostró la posición del grupo hidroxilo y se concluyó que el compuesto aislado era un nuevo alcaloide, al cual se le denominó - - Tecostanina (2) y cuya fórmula aparece en la parte de abajo, - así como la de los fragmentos antes mencionados.



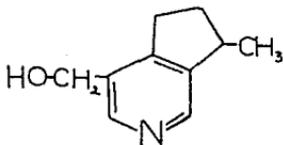
TECOSTIDINA

Este alcaloide (6) presente en Tecoma stans, fué aislado de las aguas madres después de la cristalización de la Tecostanina (2).

La Tecostidina¹² es una base inestable que da un derivado pícrico cristalino y muestra una rotación negativa, $[\alpha]_D = -4^\circ$. El espectro de UV., muestra la presencia de la piridina sustituida en las posiciones 3, 4 y 5. El espectro de IR., muestra la presencia de un alcohol primario. La base no puede ser reducida catalíticamente. En el espectro de RMN-H., se pueden observar trece protones y la espectrometría de masas, muestra un ión m/e 163, lo cual sugiere la fórmula $C_{10}H_{15}NO$. En el espectro de RMN-H., se observan dos singuletes a 8.22 y 8.27 ppm., correspondientes a los protones en las posiciones dos y seis de la piridina y un doblete para tres protones a 1.27 ppm., para el metilo de la posición número 8 de la Tecostidina (6). El grupo metilo esta entonces en el anillo del ciclopentano y el grupo hidroxilo en el carbono que esta unido a la posición número 4 de la molécula de la Tecostidina (6), ya que presenta un singulete para dos protones a 4.65 ppm.

De la planta Pedicularis rhinantoides, Abdusamatov y Yunusov identificaron un alcaloide¹³ de fórmula molecular -

$C_{10}H_{13}NO$, que en el espectro de IR., mostró un grupo hidroxilo. Esta base fué oxidada con permanganato de potasio alcalino y como resultado se obtuvo un grupo carboxilo. Al comparar este último producto con la molécula del ácido Boschniakínico (11) resultaron ser idénticas. La base encontrada en Pedicularis rhinantoides fué idéntica a la encontrada en Tecoma stans, salvo por la rotación específica $[\alpha]_D = +59^\circ$, en Pedicularis rhinantoides y $[\alpha]_D = -4^\circ$ en Tecoma stans. La estructura propuesta para la Tecostafina es la siguiente.

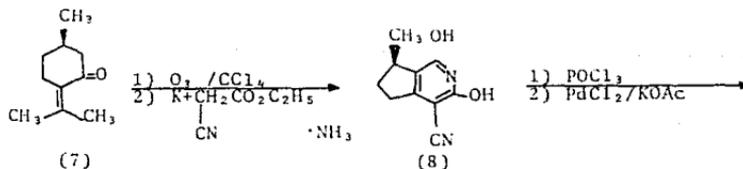


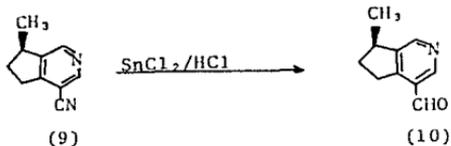
(6)

BOSCHNIAKINA

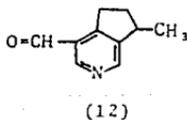
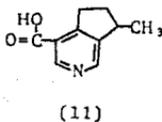
La Boschniakina (12) fue aislada de la planta Boschniakia rossica¹⁴, como un líquido de punto de ebullición 80 - 90°C. a 3 mm. de presión y una rotación específica $[\alpha]_D = +21.02^\circ$, correspondiente a la fórmula molecular $C_{10}H_{11}NO$. -- Sus derivados presentaron los siguientes puntos de fusión: un picrato con punto de fusión entre 126.5-128°C y una semicarbazona con punto de fusión entre 227-228°C. La base obtenida del picrato por medio de una reducción de Huang-Minlon con -- cuerda con la Actinidina (18).

Por espectroscopía de IR., se confirmó la presencia de un aldehído a 3050, 2725 y 1700 cm^{-1} . Se identificó un ácido, el cual se formó al hacer una oxidación de la base con óxido de plata, dando como producto el ácido Boschniakínico (11). Para confirmar la estructura y la estereoquímica absoluta, la Boschniakina (12) fue sintetizada por una ruta análoga a la Actinidina (18)¹⁵⁻¹⁶, a partir de d-pulegona. La síntesis es la siguiente:



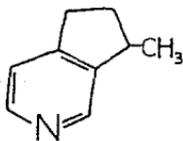


El producto obtenido fue idéntico a la Boschniakina (12) natural. Posteriormente la Boschniakina fue aislada en Tecoma stans³, por cromatografía de gases de una fracción básica y por comparación directa con la obtenida por el profesor Sakan¹⁴, se determinó que los dos compuestos eran idénticos.



4-NORACTINIDINA

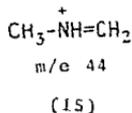
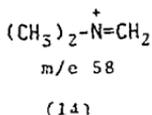
Dickinson y Jones⁵ identificaron la 4-Noractinidina (13) en forma de picrato, con una fórmula para la base de $C_9H_{11}N$. El espectro de U.V., muestra λ_{max} a 259.5 y 267 nm., para una piridina disustituida en las posiciones 3 y 4 esto fue -- confirmado por espectroscopía de RMN-H., la cual muestra tres protones aromáticos: un protón α en la piridina en forma de -- doblete a 8.85 ppm., otro protón α en la piridina en forma -- de singulete a 8.8 ppm., y un protón β en la piridina en forma de doblete a 8.03 ppm. Por otro lado se observó un doblete para tres protones a 1.6 ppm., este concuerda con el grupo metilo de la posición número 8 de la molécula y otros cinco -- protones fueron observados como multipletes, tres de ellos -- bencílicos en la región de 3.2-3.8 ppm., los dos restantes en las regiones de 2.5-3.0 ppm. y 2.0-2.4 ppm., lo cual confirma la estructura (13) que propusieron.



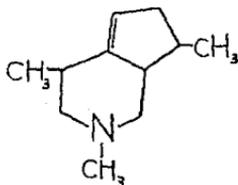
(13)

Δ^5 DEHIDROSKITANTINA

En 1973, Gross y colaboradores¹⁸ aislaron un nuevo alcaolide el cual fue idéntificado por espectrometría de masas, mostrando un ión m/e 165, esto sugirió la fórmula molecular - $C_{12}H_{19}N$, y se le denominó Δ^5 Dehidroskitantina (16). Con la base aislada se formó un derivado pírcico y un derivado de Metil-Ioduro. Una hidrogenación catalítica con paladio sobre carbón dió un dihidro derivado idéntico a la δ Skitantina (22). El espectro de RMN-H., mostró la presencia de dos grupos metilos secundarios y solamente un protón olefínico a 5.5 ppm. El espectro de masas mostró la presencia de iones m/e 58 y 44, por lo tanto la doble ligadura debe estar en la posición que une los carbonos 5 y 6. Para los fragmentos m/e 58 y 44 se propusieron las siguientes estructuras.



Apoyado en las evidencias antes mencionadas, se propuso la siguiente fórmula para la Δ^5 Dehidroskitantina (16).

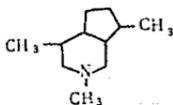


(16)

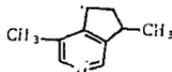
SKITANTINA

Coincidentalmente en 1961, dos grupos de investigadores identificaron la Skitantina (17) de Skitanthus acutus y un año después se realizó una tercera identificación¹⁹. La degradación de la Skitantina, mostró que era un biciclo natural y la localización de uno de los grupos metilo²²⁻²³

Una de las primeras aplicaciones de la RMN-H., se usó en la determinación de la estructura de la Skitantina. El espectro de RMN-H., de la base deshidrogenada mostró 13 protones y junto con los datos analíticos del derivado pícrico se propuso la fórmula molecular $C_{10}H_{13}N$. Una comparación directa de la Actinidina (18) natural y la deshidrogenación de la Skitantina confirmó su identidad. La estructura de la Skitantina fue establecida con la fórmula 17.

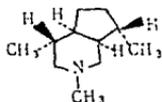


(17)



(18)

Investigadores Italianos²⁴⁻²⁵ trabajando por un camino diferente aislaron la Skitantina y con datos analíticos que indicaban dos grupos C-metilo y un grupo N-metilo, propusieron una fórmula molecular $C_{11}H_{21}N$. Ellos también realizaron una deshidrogenación y el producto resultante fue identificado como Actinidina (18). Diferencias en las constantes físicas del compuesto aislado por el grupo Italiano²⁴⁻²⁵ y por Appel¹⁹ motivaron un estudio cuidadoso del compuesto. Una cromatografía de gases del compuesto mostró la presencia de 4 picos. Analizando la estructura de la Skitantina un número de posibilidades estereoquímicas son posibles y cuatro de ellas fueron sintetizadas. Las estructuras de estas cuatro Skitantinas se muestran a continuación.

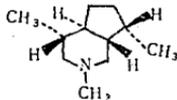


(19)

a

$$[\alpha]_D +79^\circ$$

pf. Picrato: 120°C

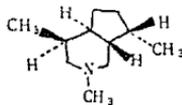


(21)

γ

$$[\alpha]_D +59^\circ$$

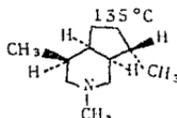
pf. Picrato: 162°C



(20)

ε

$$+16^\circ$$



(22)

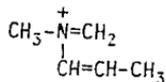
δ

$$+9^\circ$$

139°C

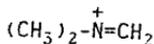
Un estudio posterior²⁹ demostró que la composición de la Skitantina en sus diferentes formas estereoquímicas es variable.

En Tecoma stans los investigadores Gross y colaboradores¹⁸ aislaron una base. En el espectro de masas mostró ser un derivado saturado de Skitantina, con iones m/e 84, 58, 44. y cuyas estructuras propuestas son las siguientes:



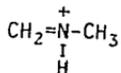
m/e 84

(23)



m/e 58

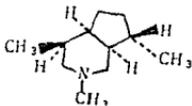
(24)



m/e 44

(25)

Con la base aislada se formó un picrato con un punto de fusión entre 144-146°C., y un derivado de metil-ioduro con un punto de fusión entre 300-302°C. Esta información junto con la de la base libre, mostró una rotación específica $[\alpha]_D = +10^\circ$ dió como resultado la fórmula 26 para la Skitantina.



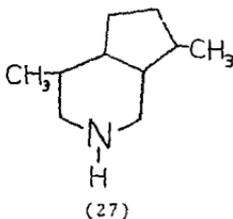
(26)

N-NORMETILSKITANTINA

La N-normetilskitantina (17) fue aislada en una muestra de Tecoma stans, procedente del estado de Florida por --- Dicknson y Jones³. Por espectrometría de masas el alcaloide mostró un ión m/e 153, para la fórmula $C_{10}H_{19}N$. El espectro de IR., mostró una señal para un grupo NH en la región de --- 3000 cm^{-1} y el espectro de RMN-H mostró dos dobletes para los grupos C-metilo, pero no una absorción para el grupo funcional N-metilo.

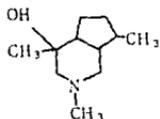
Con el alcaloide aislado se procedió a realizar una - deshidrogenación, que dió como producto Actinidina (18). Esta Actinidina fue identificada en forma de picrato, lo que - confirmó su estructura. Por otro lado también se realizó una metilación Clark-Eschweiler la cual dió como producto una Skitantina (17), con una rotación específica $[\alpha] = + 5.5^\circ$ y un picrato con un punto de fusión de $142-143^\circ\text{C}$.

La base aislada fue identificada como N-normetilskitantina¹⁷ y su fórmula es la siguiente.

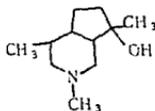


5 y 9-HIDROXISKITANTINA

En 1961 Appel y Müller aislaron de Skytanthus acutus¹⁹ un alcaloide cristalino D y sugirieron que esta sustancia era un hidroxido-derivado de la Skitantina (17). En el espectro de IR., se confirmó la presencia de un grupo hidroxilo. El espectro de RMN-H indicó que el grupo hidroxilo era probablemente terciario y unido al carbón que soporta a uno de los grupos metilo, con una señal en forma de singulete a 1.24 ppm. para tres protones. El espectro también mostró un grupo N-metilo, por medio de un singulete para tres protones a 2.3 ppm. y un doblete para tres protones a 0.85 ppm. para el grupo metilo secundario. Sobre estas bases se propusieron las siguientes estructuras para el alcaloide D.



(28)

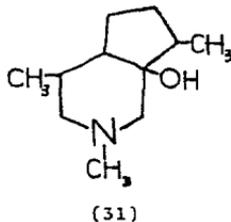
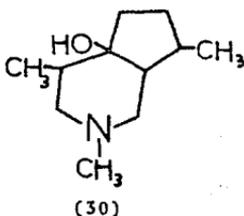


(29)

En 1967 nuevamente fue aislado el alcaloide D junto con su isomero²¹. El espectro de RMN-H del isomero fue similar al del alcaloide D, mostrando un singulete a 2.18 ppm. para el grupo N-metilo y un singulete a 1.12 ppm. para el gru-

po metilo el cual esta unido al carbón que soporta el alcohol terciario. De esta manera se propuso la estructura 29, para el alcaloide D y la estructura 30, para el isómero. Una decisión que se tomó para la elección entre estas estructuras fue hecha sobre las bases de la espectrometría de masas y la RMN-H.

En Tecoma stans se identificaron dos hidroxiskitanti-
nas³, ambas bases no mostraron absorción en el espectro de UV.
y se propuso la fórmula molecular $C_{11}H_{21}NO$. En el espectro
de IR., se observó un grupo hidroxilo a 3609 cm^{-1} , en el es-
pectro de RMN., se observaron dos dobletes para C-metilo y no
un singulete como en las hidroxiskitantinas de Skytanthus --
acutus. Una decisión entre las dos posibles estructuras de --
las Skitantinas de Tecoma stans, fue hecha sobre la base de --
él examen de los espectros en el IR. El espectro de la ba-
se de punto de fusión $82-94^{\circ}\text{C}$., mostró evidencia de una liga-
dura de hidrógeno intramolecular, como se muestra en la es --
tructura 30 y la base de punto de fusión $91-92^{\circ}\text{C}$., no mostró
evidencia de la ligadura de hidrógeno intramolecular y se le
asignó la estructura 31.



FARMACOLOGIA

La Tronadora es usada principalmente como antidiabético, el uso continuo de la planta motivó que aparecieran en el mercado formas farmacéuticas, como el extracto fluido, tintura y preparados de patente como Glucolisina y Diabetolina a base de Tronadora.

En México se han empleado varias especies de Tecoma stans en el tratamiento de la diabetes^{30, 31}. El estudio de la planta Tecoma stans, fué iniciado por el Instituto Médico Nacional a fines del siglo pasado. Los estudios realizados en el laboratorio con animales, no tuvieron éxito y los pacientes tratados con el extracto de la planta no mostraron mejoría en todos los casos. Sin embargo se reportó que el extracto de la planta disminuía la sed y la sensación de hambre, así como la cantidad de azúcar en la orina.

Acosta Lagunas en 1934 observa que el extracto de Tecoma stans, sólo tuvo efecto en pacientes diabéticos sometidos a un régimen de dieta, en caso contrario no se presentó la acción de la planta. Montemayor en 1947 ensaya en conejos un modelo de diabetes experimental, la cual es inducida con Aloxana y concluye, que la planta carece de efecto sobre este tipo de diabetes. El interés por corroborar científica-

mente la acción hipoglucemiante de la planta, llevó a una nueva investigación realizada en IMEPLAN. Se ensayaron diferentes extractos de Tronadora en ratas y conejos normales; así como en animales sometidos a la extirpación del páncreas y a ratas con diabetes inducida con estreptozotocina. El efecto hipoglucemiante de los extractos de la Tronadora, fué bajo en animales normales, mientras que en aquellos a los cuales se les indujo la diabetes por diferentes procedimientos, la acción de la Tronadora fué más evidente.

También se han realizado estudios farmacológicos, en algunos de los compuestos puros como son: Tecomanina y Tecostanina. El citrato de Tecomanina y el cloruro de Tecostanina, fueron ensayados en conejos para comprobar su actividad anti-diabética^{33, 34}. Ambos alcaloides mostraron actividad a 20 mg/kg., por vía intravenosa y 50 mg/kg., por vía oral en animales puestos en ayuno. En los conejos a los cuales se les extirpo el páncreas, los compuestos no mostraron actividad.

Skitantina. La farmacología de la Skitantina, ha sido investigada por Gatti y Marotta³², ellos encontraron para la Skitantina cierta acción sedativa, una toxicidad ligera y se comprobó que su uso no produce efectos psicotrópicos.

De la información bibliográfica existente se deduce - que la interpretación sobre la acción hipoglucemiante de la Tronadora, es muy contradictoria, los variados modelos experimentales en animales y las investigaciones clínicas dan resultados variables. Por lo cual se creé, que las características de cada modelo experimental son la explicación de la controversia a la acción hipoglucemiante de la Tronadora.

PARTE EXPERIMENTAL

Las constantes físicas y espectroscópicas se determinaron en los siguientes aparatos:

Los puntos de fusión en un aparato Fisher Johns.

Los espectros de UV. en un aparato Perkin Elmer modelo 552 y fueron determinados por el Q. Misael Torres. Los espectros de IR. en espectrofotómetros Perkin Elmer modelos 283B, 681 y Nicolet FT-5sx y los determinó el Q. Rene Villena y el Q. Misael Torres, empleando celdas de NaCl.

Los espectros de RMN. en un aparato Varían FT-80A de 80 MHz y un Perkin Elmer R-24B de 60 MHz, empleando como disolvente deuterocloroformo y tetrametilsilano como referencia interna, estos aspectos fueron determinados por el Q. Ricardo Jorge Cárdenas y el Q. Rubén Luis Gaviño.

Los espectros de masas en un espectrómetro Hewlett Packard modelo 5985B por impacto electrónico y los determinaron los Químicos Luis Velasco y José Federico Del Río.

Los cromatogramas en fase vapor fueron determinados en un cromatografo de gases Hewlett-Packard modelo 5890, con un detector de ionización de flama, usando una columna de metilsilicon de 0.53 mm. de diámetro interno por 5 m. de largo. Los cromatogramas los determinó Carmén Marques. La cromatografía líquido-Líquido a alta precisión la realizó Carmén Marques, en un cromatografo de líquidos Varian modelo 8500 -- usando un detector de indice de refracción. En este tipo de cromatografía se usaron dos columnas, una Micropack Si-10 de 2 mm. de diámetro interno por 25 cm. de largo y una Si-NH₂ de 2 mm. de diámetro interno por 25 cm. de largo. Las cromatografías en columna se realizaron empleando alúmina neutra II-III (Brockman). Para verificar el aislamiento de los compuestos se usaron placas de Silica Gel 60 Merck F-254, empleando reactivo de Dragendorff como revelador.

Metodología de la extracción

El estudio de los alcaloides de la planta Tecoma stans, se realizó en plantas de diferentes orígenes (Iguala, Morelos y una más conseguida en el mercado). Para el estudio propuesto, se procedió a extraer los alcaloides presentes en la planta, por medio de dos métodos diferentes. Estos métodos se basaron en las propiedades químicas de los alcaloides.

Método de extracción 1

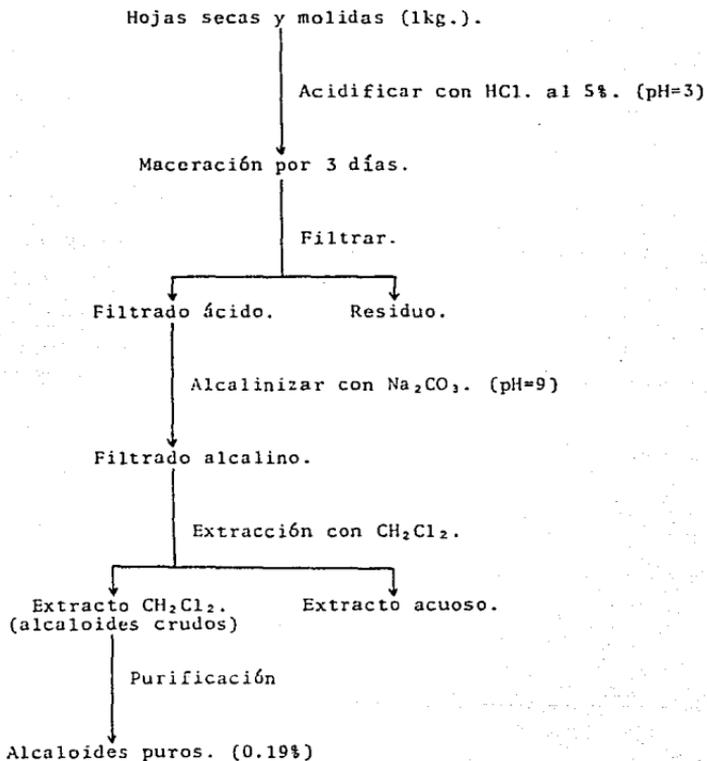
Las hojas de la tronadora (1Kg) son secadas a temperatura ambiente y posteriormente son molidas. La molienda obtenida se coloca en un matraz redondo de fondo plano de 5 lts. de capacidad y se le adiciona HCl al 5% hasta que las hojas quedan totalmente cubiertas (4 lts.), posteriormente se dejan en maceración por tres días. Al cabo de este tiempo, se realiza una filtración, y el filtrado es alcalinizado con Carbonato de sodio hasta pH de 9. A este filtrado se le realizan extracciones con cloruro de metileno, hasta la extracción total de los alcaloides. Los extractos orgánicos se juntan, y se elimina el disolvente en un rotavapor a una temperatura de 35°C.

Al final se obtuvo un extracto oleoso de color café, que representó el 0.21% con respecto al peso de las hojas secas. Los alcaloides son purificados de la siguiente manera:

Primero se disuelve la mezcla de los alcaloides en cloruro de metileno; debido a que este disolvente tiene un punto de ebullición bajo y por lo tanto es fácilmente eliminable de los alcaloides. Los alcaloides solubilizados en cloruro de metileno, son colocados dentro de un embudo de separación y se procede a su extracción con ácido clorhídrico al 5% acuoso. Los alcaloides con el ácido pasan a formar el clorhidrato, el cual es soluble en la fase acuosa, las extracciones con el ácido clorhídrico se continúan hasta que la fase orgánica no da positiva la prueba con reactivo de Dragendorff. Posteriormente la fase acuosa se lava con cloruro de metileno y posteriormente es alcalinizada con carbonato de sodio hasta tener un pH = 9, lo anterior se realizó con el fin de que los alcaloides pasaran a su forma de base libre y así poderlos extraer con cloruro de metileno, la fase orgánica se lava con agua destilada. El paso de la fase orgánica a la acuosa y viceversa, se realizó hasta que la cromatografía en capa fina sólo reveló alcaloides.

Al final de la purificación de la mezcla de los alcaloides, estando esta en solución de cloruro de metileno se la

DIAGRAMA DE EXTRACCION I



Método de extracción II

Las hojas de la planta se secan a temperatura ambiente y posteriormente son molidas. La molienda obtenida se coloca en un soxhlet y es alcalinizada con amoníaco. Posteriormente se procede a realizar una extracción exhaustiva con cloroformo por 24 hrs. Después de obtener los extractos cloroformicos, se verificó la presencia de los alcaloides en el extracto con reactivo de Dragendorff. Los extractos son concentrados en un rotavapor a una temperatura de 35°C. lavados con agua destilada y secados con sulfato de sodio anhidro, posteriormente se elimina el disolvente restante en un rotavapor a 35°C. Al final de la eliminación del disolvente se obtuvo un líquido oleoso color café, como el de la extracción I, este líquido se pesó y dió un porcentaje de 0.17% con respecto al peso de las hojas secas. Los alcaloides son purificados como se mencionó en el método de extracción I, al final de la purificación se obtuvo un rendimiento de 0.16% con respecto al peso de las hojas secas. También aquí se usó reactivo de Dragendorff para verificar la presencia de los alcaloides.

DIAGRAMA DE EXTRACCION II

Hojas secas y molidas. (1 Kg.)

↓
Colocar en un Soxhlet.

1.-Alcalinizar con NH_4OH acuso.
(pH=9)

2.-Extraer con CHCl_3 .
(24 Hrs.)

↓
Extracto clorofórmico.
(alcaloides crudos.)

Purificación.

↓
Alcaloides purificados. (0.16%)

Detección de los alcaloides

Cromatografía en placa

Una vez purificada la mezcla de los alcaloides, esta fué cromatografiada en placa fina. En la cromatografía desarrollada se usaron diferentes mezclas de eluyentes, presentando una mejor separación la mezcla de disolventes formada por Acetato de Etilo: Metanol en una relación de 9:1 y revelada con reactivo de Dragendorff. En el revelado de la placa se detectó la presencia de tres alcaloides principales.

Cromatografía de gases

En esta cromatografía se uso una columna de metil-silicon de 5 m. de largo con un diámetro interno de 0.53 mm., un flujo de Hidrógeno de 5 ml. por minuto, una temperatura inicial de 120°C por 4 minutos y programada a 10°C por minuto hasta 260°C.

De la mezcla original de los alcaloides se tomaron dos muestras, una de ellas fué sometida directamente a la cromatografía de gases y la otra muestra antes de ser introducida a la cromatografía de gases, se sometió a una pirólisis. Analizando los cromatogramas de las dos muestras, se puede observar que en la muestra que no fué pirolizada el número de

compuestos es de 38 y pasa a 46 cuando la muestra es pirolizada. Una observación es que los compuestos polares disminuyen en tanto que los menos polares aumentan. Lo anterior está basado en los tiempos de retención de cada compuesto.

En la cromatografía de los alcaloides originales obtenidos en Soxhlet, se observa un mayor número de compuestos que los que son observados en el cromatograma de los alcaloides obtenidos por el método de extracción I. Por lo que se deduce que existe una descomposición térmica, como una comprobación a lo anterior existe el hecho de que si al hacer la cromatografía se programa una temperatura más alta, se observan 20 o más componentes adicionales.

Cromatografía Líquido-Líquido a alta precisión.

La mezcla de los alcaloides originales fué sometida a una cromatografía líquido-líquido a alta precisión (CLLAP), -- usando una columna de Si-10, una fase móvil de Acetato de Etilo: Metanol en una relación 9.5:1.5 y con un flujo de 50 ml/hr. Por este tipo de cromatografía se lograron detectar 7 compuestos principales, cuatro más que en la cromatografía de placa fina y los porcentajes son los siguientes:

Porcentajes de los alcaloides detectados por cromatografía
líquido-líquido a alta precisión.

Primero	-----	18.68%
Segundo	-----	12.08% (Identificado como Boschniakina)
Tercero	-----	6.19%
Cuarto	-----	4.39%
Quinto	-----	3.39%
Sexto	-----	48.35%
Séptimo	-----	6.59%

Tabla 1

Espectrospía de Ultra-Violeta

La mezcla original de los alcaloides analizada por espectroscopía de UV. mostró la presencia de algo de compuestos de tipo piridínico. Dentro de estos compuestos presentes en la mezcla, se detectan algo de compuestos del tipo de la Boschniakina (10) y también de la 4-Noractinidina (13), pero no se observa el máximo correspondiente a la Tecomanina en 226 nm., alcaloide reportado como componente mayoritario en la Tecomastans.

Espectroscopía de Infra-Rojo

Por este tipo de espectroscopía, la mezcla original de los alcaloides mostró que existe algo del compuesto Boschniakina (10), apoyado en la presencia de bandas características para este compuesto de intensidad pequeña con respecto a la mezcla total de alcaloides a 1700 y 2725 cm^{-1} . Por otro lado la presencia de bandas características para la Tecomanina (1) no son detectables, sobre todo la de 1620 cm^{-1} correspondiente a la insaturación α, β del anillo de la ciclopentana.

La intensidad de las bandas correspondientes a las insaturaciones de tipo piridínico son de baja intensidad - - -

(1500-1600 cm^{-1}). Por lo que se piensa que los compuestos -- aromáticos sí están presentes pero en pequeñas cantidades.

También se observa en el espectro la presencia de un gran número de alcoholes, por medio de una banda ancha de -- gran intensidad a 3350 cm^{-1} y bandas entre 1000 y 1150 cm^{-1} . Otro dato interesante es la presencia de una banda a 1740 cm^{-1} la cual es característica para un anillo de ciclopentanona.

Resonancia Magnética Nuclear

A la mezcla original de los alcaloides, se le realizó un análisis de RMN. En este análisis se confirmó que no hay evidencia de que exista una cantidad elevada del compuesto -- llamado Boschniakina (10), ni tampoco de la 4-Noractinidina - (15). Además en el espectro no se detectan las señales características de la Tecomanina (1).

Por lo que se puede observar, los compuestos principales que se detectan parecen ser los precursores biogénicos de los compuestos antes mencionados y de otros más que la literatura describe como alcaloides presentes en la Tecoma - - stans.

Los compuestos más abundantes detectados, son deriva-- dos oxihidrilados de la Normetilskitantina, (27), ya que no presen

tan la señal característica para el metilo unido al nitrógeno ($\text{CH}_3\text{-N}$) en 2.75 ppm., y sí en cambio presentan señales a 1.27 ppm., para metilos que soportan a grupos oxhidrilos terciarios.

Cromatografía de Gases/Masas.

Con el objeto de obtener una información más amplia de la mezcla original de los alcaloides, se procedió a realizar una cromatografía de gases/masas. El cromatograma obtenido por este tipo de análisis, mostró la presencia de 8 compuestos principales presentes en la mezcla original de los alcaloides.

Los siguientes datos fueron obtenidos de los espectros de U.V., I.R., R.M.N. ^1H . y C.G/E.M., realizados a la mezcla original de los alcaloides, la cual se extrajo por el método de extracción I, anteriormente mencionado.

U.V. (metanol, nm.); 224; 256; 267; 272; 282.5.

I.R. (película, cm^{-1} .); 3350(ancha); 2965; 2949; 2940; 2920; 2860; 2795; 2725; 1740(angosta); 1700; 1678; 1650; 1610; 1600; 1580; 1460; 1454; 1375; 1160; 1143; 1125; 1100; 1070; 1050.

R.M.N. ^1H . (CDCl_3 , s, m.); 1.24,d; 1.27,s; 1.29,s; 1.30,s; 1.6,d; 1.96,s; 2.02,s; 2.22,s; 2.35,m; 2.82,m; 2.95,m; 3.24,m; 3.33,AB; 3.89,m; 4.15,m; 4.31,m; 4.65,m; 4.72,AB; 4.82,m; 5.25,d(ancho); 5.5,t; 5.77,m; 5.82,d; 5.92,s; 7.1,AB; 8.0,d; 8.22,s; 8.30,s; 8.53,s; 8.72,s; 8.85,d.

C.G./E.M. (I.E., tr., m/e., I.)*

- 1.-1.9, 148, M^+ (18); 133(40); 118(93); 117(42); 71(32); 43(100);
- 2.-2.2, 154, M^+ (5); 139(15); 96(58); 81(100); 71(45); 59(75); --
43(100).
- 3.-2.4, 183, M^+ (5); 182(38); 181(46); 150(28); 147(34); 134(46);
84(45); 58(47); 43(100).
- 4.-2.7, 182, M^+ (7); 176(15); 149(30); 141(40); 131(39); 77(100);
71(78); 43(100).
- 5.-3.0, 181, M^+ (1.5); 97(25); 81(54); 79(89); 55(96); 41(100).
- 6.-3.3, 161, M^+ (100); 160(22); 146(62); 132(32); 118(50); 117(55)
91(38).
- 7.-4.7, 163, M^+ (50); 162(28); 148(35); 145(50); 144(33); 130(100);
117(35); 77(32).
- 8.-7.5, 207, M^+ (5); 177(5); 168(8); 162(10); 150(8); 135(12)
124(100); 77(22); 55(26); 43(56).

* I.E.: Impacto electrónico.

tr.: Tiempo de retención.

m/e.: Relación masa carga.

I.: Intensidad.

Metodología de la separación

Destilación al vacío

La mezcla de los alcaloides purificados, se introdujo en un tubo de micro-destilación. Posteriormente este tubo se colocó en un cañón pequeño, se extrajo el aire hasta una presión de 3mm., y se calentó a una temperatura entre 80-90°C. Al final de la micro-destilación a las condiciones antes mencionadas, se obtuvo un líquido transparente. Este líquido se mandó analizar por espectroscopía de UV., IR., RMN. y EM., los datos obtenidos mostraron que se trataba del compuesto llamado boschniakina (10), cuya estructura puede ser comprobada por comparación directa con los datos reportados en la bibliografía por T. Sakan¹⁴.

El rendimiento a partir de 2 grs. fue del 50%, que no concuerda con el % detectado por Cromatografía LLAP. (Ver tabla 1). El aumento que se observa, es evidencia de que existe descomposición térmica de los compuestos presentes en la mezcla original, para dar lugar a la formación de compuestos más estables.

Con el compuesto aislado se formó un derivado de semi carbazida, para este fin el alcaloide aislado, se disolvió en 10 ml. de etanol y se le adicionó agua destilada hasta una ligera turbidez, la turbidez se eliminó adicionándole unas go

tas de etanol. A esta solución se le adicionó 1g., de clorhidrato de semicarbazida y 1.5 g., de acetato de sodio. La mezcla se agitó y se depositó en un vaso de precipitados con agua caliente, se dejó enfriar la solución a temperatura ambiente. Posteriormente se depositó en un vaso de precipitados con hielo y se rasparon las paredes con una varilla de vidrio. Los cristales de semicarbazona se formaron y se filtraron, al final se recrystalizaron en etanol al 30% y se obtuvo un rendimiento de 45%. Este compuesto se analizó y los datos obtenidos concuerdan con los reportados en la bibliografía -- por T. Sakan¹⁴ para la semicarbazona de la Boschniakina.

Intento de Formación de Derivados

El tratamiento de una muestra de 1.5 g., de mezcla de los alcaloides originales con fenilisonitrilo, con la idea de obtener uretanos a partir de los alcoholes presentes, produce 0.85 g. de Boschniakina, lo cual corresponde a un 60% de la mezcla original. También se detectó la presencia de la producción de otros compuestos en cantidades menores, que no son los alcaloides mayoritarios de la mezcla original. No fué posible aislar, ni siquiera en pequeña cantidad uretanos a partir de los alcaloides originales, esto demuestra que los alcoholes originalmente presentes en la muestra son principalmente terciarios que se descomponen durante el tratamiento (reflujo en acetona).

Se trató de preparar derivados pícricos a partir de la mezcla original de los alcaloides. La mezcla de los alcaloides se disolvió en etanol y se trató con ácido pícrico disuelto en etanol. De este tratamiento se obtuvo un precipitado de café-amarillento, el precipitado se sometió a un análisis de espectroscopía de IR. Este espectro muestra la presencia de algunas bandas características del ácido pícrico y otras más que aparecen como adicionales. Al parecer se formaron derivados del ácido pícrico, pero debido a la cantidad tan pequeña y al hecho de encontrarse mezclados, no fué posible realizar más análisis y tampoco realizar una separación de los derivados.

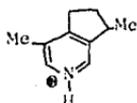
Cromatografía de gases/masas

Para esta cromatografía se usó una columna capilar de metil-fenil-silicón de 25 m. de largo, con un diámetro interno de 0.32 mm., una temperatura inicial de 80°C por 5 minutos y programada a 3°C. por minuto hasta 130°C.

A 407 mg. de la mezcla original de los alcaloides, se realizó una cromatografía de gases/masas. El cromatograma obtenido mostró 8 compuestos principales, a cada uno de los 8 compuesto se les realizó una espectrometría de masas. A los espectros obtenidos para estos compuestos, se les asignó una fórmula. Cada fórmula propuesta esta basada en la informa --

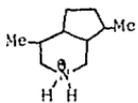
ción anteriormente obtenida, en los estudios biogénéticos de la planta y en los espectros de masas obtenidos para cada uno de los compuestos.

Todas las fórmulas propuestas están ordenadas en base a su tiempo de retención registrado.



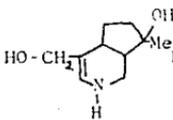
m/e 148

(32)



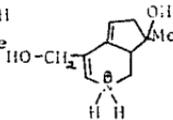
m/e 154

(33)



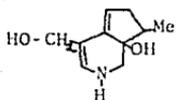
m/e 185

(34)



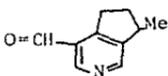
m/e 182

(35)



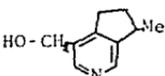
m/e 181

(36)



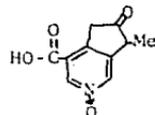
m/e 161

(37)



m/e 163

(38)



m/e 207

(39)

Cromatografía en columna

Para este tipo de cromatografía se usaron 190 mg., de la mezcla de los alcaloides, los cuales se adsorbieron en -- 2 grs de alúmina, esta alúmina se secó con vacío y se adicionó a una columna cromatográfica de 2 cm. de diámetro interno por 80 cm. de altura, empacada con 100 grs. de alúmina neutra.

Se extrajeron fracciones de 50 ml. c/u, con una mezcla de eluyentes hexano: propanol 98:2, en las primeras muestras obtenidas (1-3) no se extrajo producto alguno, a partir de la muestra 4 se empezó a detectar un compuesto, el cual estuvo presente hasta la fracción 12. Las fracciones se reunieron una vez que se observó que los Rf., de estas fracciones eran iguales, el disolvente se eliminó y la muestra obtenida fué enviada a análisis de IR. El cual mostró evidencia de ser un alcaloide con grupos hidroxilo, por medio de una banda ancha a 3350 cm^{-1} . Debido a la cantidad tan pequeña que se obtuvo, no fué posible realizar más análisis a la muestra y esta muestra no volvió a ser detectada en posteriores extracciones de columna cromatográfica. Tratando de obtener otros compuestos se procedió a cambiar la polaridad, usando una mezcla de eluyentes Benceno:Acetato de etilo en una relación 85:15, con esta mezcla de eluyentes se logró extraer un compuesto desde las primeras muestras, se lograron juntar 22 --

fracciones de 50 ml. c/u. El compuesto se mandó a analizar por IR, UV, RM N-H y EM. La información obtenida nos indicó que se trataba de la Boschniakina (10) cuya estructura pudo ser comprobada mediante la comparación directa con los datos reportados en la bibliografía (UV, IR, RMN y EM)¹⁴. Por este tipo de cromatografía sólo se logró aislar a la Boschniakina; ya que las demás muestras obtenidas presentaban mezclas de alcaloides difíciles de separar. Por lo tanto se trató de utilizar otros métodos de separación.

Cromatografía Líquido-Líquido a alta precisión

Tratando de lograr una mejor separación de los alcaloides se realizó una cromatografía líquido-líquido a alta precisión (CLLAP). En esta cromatografía se usó una columna Si-NH₂ de 25 cm. de largo, con una fase móvil formada por Isopropanol:Éter-isopropílico:Hexano 10:90:10 y un flujo de 50 ml/hr. En estas condiciones se lograron aislar 5 alcaloides a partir de la mezcla original. La separación se realizó de la siguiente manera:

La mezcla de los alcaloides (980 mg) se introdujo al cromatografo de líquidos en metanol y posteriormente se comenzó su separación con la mezcla de eluyentes antes mencionada, los alcaloides que se lograron separar se recolectaron individualmente y se mandaron a analizar por UV, IR, RMN y EM. Al-

analizar la información se observó que los compuestos aislados eran alcaloides oxhidrilados principalmente.

Compuestos aislados

En el presente trabajo se lograron aislar algunos alcaloides por diferentes métodos de separación.

La Boschniakina (10) fue el único alcaloide que se logró aislar por todos los métodos ensayados (destilación al vacío, cromatografía de gases/masas, cromatografía en columna y cromatografía líquido-líquido a alta precisión). Los resultados de los análisis (UV; IR; RMN. y EM.) hechos a este compuesto, así como los del derivado formado de semicarbazida, se compararon con los reportados en la bibliografía, en donde se observa que este compuesto aislado es estructuralmente igual al aislado de la planta Boschniaka rossica¹⁴ de fórmula molecular comprobada por UV; IR; RMN. y EM. El ácido Boschniakínico también se logró aislar e identificar por comparación¹⁴.

7-ceto-8,9-dihidroxi-2¹dehidro-N-normetilskitanina (40)

Una de las fracciones obtenidas por CLLAP y analizada por técnicas espectroscópicas, muestra en el espectro de IR. una banda a 1740 cm^{-1} , correspondiente a un grupo carbonilo en un anillo de cinco miembros, pero no conjugado a diferencia del reportado para la Tecomanina (1). También muestra la presencia de grupos hidroxilo, con bandas a 3500, 1070 y 1120 cm^{-1} y la presencia de una banda de intensidad pequeña a 1610 cm^{-1} para una doble ligadura aislada, así como las bandas caracte-

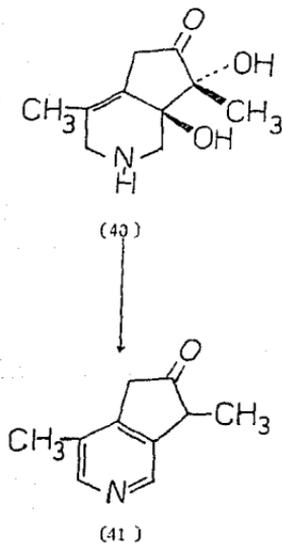
rísticas para los grupos metilos y metilenos.

Por espectroscopía de RMN-H, se observa un singulete para un metilo que tiene un oxhidrilo geminal a 1.27 ppm. y otro más desplazado a 2.02 ppm., este último sería el metilo insertado en el carbono número 4, que sostiene una doble ligadura. Además presenta un sistema entre 4.15 y 4.65 ppm. para los protones del carbono 6 y dos señales múltiples a 3.22 y 3.89 ppm. para los protones vecinos al nitrógeno. En este espectro no se detecta la señal característica a 2.75 ppm., para el grupo metilo unido al nitrógeno en la molécula de la Tecomanina. Espectro No. 1

Por espectrometría de masas, se detectó una señal para el ión molecular m/e 197. Además de esta señal, se detectaron otras más correspondientes a los diferentes fragmentos de la molécula, entre los cuales están los siguientes: Un fragmento para el ión m/e 164, correspondiente a la pérdida del metilo de la posición número 8 de la molécula (M-15). Dos fragmentos para la pérdida de los grupos oxhidrilo en forma de agua a m/e 179 y m/e 161 (M-18 y M-36).

A partir de la molécula aromatizada, se pierden los fragmentos correspondientes a los carbonos 6 y 7 ($\text{CH}_2\text{-C=O}_3$), para dar el ión m/e 105, otro de los fragmentos que se pierden es el correspondiente a los carbonos 6,7 y 8

($\text{CH}_2\text{-CO-CH-CH}_3$), para dar el ión m/e 91. Por último, a partir del anillo de metil-piridina se pierde el grupo metilo - para dar el ión m/e 77. Este alcaloide por calentamiento se aromatiza dando 7-Cetoactinidina (41). La presencia de la 7-cetoactinidina se observa en el espectro de los alcaloides totales de RMN-H., por medio un singulete a 2.22 ppm., para el metilo de la posición número 4 y un doblete a 1.24 ppm., para el metilo de la posición número 8.



Los siguientes datos se obtuvieron de los espectros de I.R., R.M.N.¹H. y E.M.

I.R. (película, cm^{-1} .); 3300(ancha); 2965; 2940; - - 2860; 1740 (angosta); 1610; 1460; 1380; 1120; 1070.

RMN, ¹H. (CDCl_3 , δ , m.); 1.27, s; 2.02, s; 3.22, m; 3.89 m; 4.15 y 4.65, m; 4.82, m.

E.M. (I.E., m/e, 1.); 197, M^+ (2); 179(M-18,4); 164(2); 161 (M-36,96); 105(6); 91(26); 77(18).

10-aldo-8,9dihidroxi- Δ^6 dehidro-N-normetilskitantina (42).

Este compuesto se aisló por CLLAP y fué analizado por espectroscopía de IR., mostró tener bandas para grupos hidroxilo a 3356, 1039, 1067, 1125 y 1143 cm^{-1} ; bandas a 2795 y -- 1701 cm^{-1} , para un grupo aldehído; una banda a 1656 cm^{-1} , para una ligadura aislada; así como las bandas características para los metilos y metilenos a 2949, 2870, 1454 y 1375 cm^{-1} .

Por RMN-H, este compuesto mostró tener una señal a -- 1.27 ppm., para un metilo que tiene un oxhidrilo geminal; dos señales múltiples a 2.82 y 3.27 ppm. para los protones vecinos al nitrógeno y dos señales dobles a 5.25 y 5.82 ppm. para -- los protones del doble enlace. Por otro lado se observa que no existe el metilo insertado en el nitrógeno, por lo que podemos decir que este compuesto es un derivado de la N-normetilskitantina. Espectro No. 2.

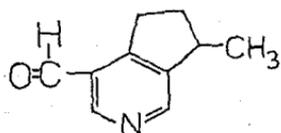
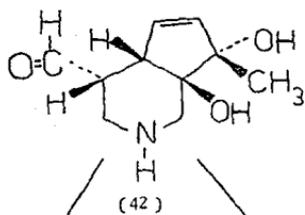
Por espectrometría de masas, este compuesto muestra -- una señal para un ión molecular m/e 197. También muestra señales para fragmentaciones subsecuentes de la molécula, como -- son la presencia de iones m/e 179 y 161, para la pérdida de -- dos grupos oxhidrilo en forma de agua. Este compuesto muestra -- que una vez aromatizada la molécula, pierde el grupo meti -- lo con una señal m/e 146; la pérdida del grupo aldehído con -- una señal m/e 132; la pérdida del fragmento que compren --

de los carbonos 6 y 7 ($\text{CH}_2\text{-CH}_2$), con una señal m/e 133; la pérdida del fragmento entre los carbonos 7 y 8 ($\text{CH}_2\text{-CH-CH}_3$), con una señal m/e 119 y por último la pérdida del anillo de cinco miembros con una señal a m/e 105.

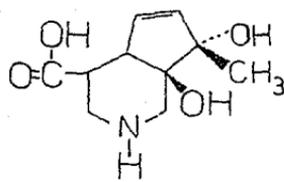
Este compuesto es uno de los precursores de la Bosch niakina, resultante en la destilación al vacío de la mezcla de los alcaloides totales.

Este compuesto se autooxida fácilmente al aire y el espectro de RMN- ^{13}C , del producto de oxidación muestra diez señales, las cuales son las siguientes: Espectro No. 3.

- 1.- 170.25 (carbonilo de ácido) singulete C_{10} .
- 2.- 130.82 (carbono del doble enlace) doblete C_6 .
- 3.- 128.88 (carbono del doble enlace) doblete C_7 .
- 4.- 70.74 (carbono angular con el oxhidrilo terciario) singulete C_8 .
- 5.- 68.29 (carbono angular con el oxhidrilo terciario) singulete C_9 .
- 6.- 48.20 (carbono α al nitrógeno) triplete C_1 .
- 7.- 47.00 (carbono α al nitrógeno) triplete C_3 .
- 8.- 39.02 doblete C_4 .
- 9.- 29.72 doblete C_5 .
- 10.- 20.94 cuarteto C_{11} .



(43)



(44)

Los siguientes datos fueron obtenidos de los espectros de I.R., R.M.N.¹H., E.M. y R.M.N.¹³C.

I.R. (película, cm⁻¹.); 3356(ancha); 2949; 2870; 2795; 1701; 1656; 1454; 1375; 1143; 1125; 1067; 1039.

R.M.N.¹H. (CDCl₃, δ, m.); 1.27,s; 2.82,m; 3.27,m; 5.25,d; (ancho); 5.82,d.

E.M. (I.E., m/e, I.); 197,M⁺(5); 179(M-18,15); 161(M-36,8); 146(5); 132(24); 133(12); 119(30); 105(45).

* R.M.N.¹³C. (CDCl₃, δ, m.); 170.25,s; 130.82,d; 128.88,d; 70.74,s; 68.29,s; 39.46,t; 39.33,t; 39.02,d; 29.72,d; 20.94,c.

• Para el ácido(44), producto de fotooxidación de (42).

4,8,10-trihidroxi- Δ^5 , Δ^9 -didehidro-N-normetilskitantina. (45)

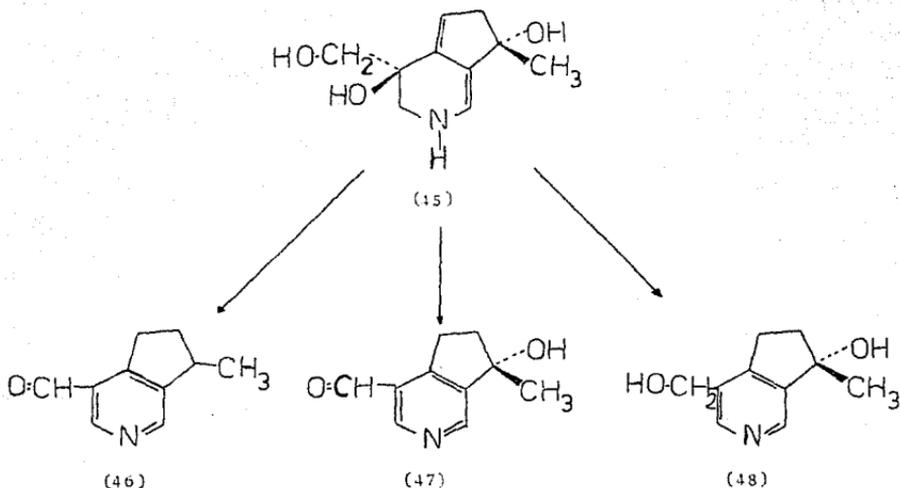
Un alcaloide más aislado por CLLAP e identificado por técnicas espectroscópicas es el siguiente.

Por IR. se observan bandas 3460, 1035, 1100 y 1160 cm^{-1} para grupos hidroxilo; bandas a 1600 y 1650 cm^{-1} para una doble ligadura conjugada; así como las bandas características para los metilos y metilenos.

En el espectro de RMN-H, se pueden observar los hidrógenos correspondientes al sistema conjugado, por medio de un singulete a 5.92 ppm., para el protón del carbono 1 y un triplete asimétrico a 5.5. ppm., para el protón en el carbono 6; un singulete desplazado a menor campo, para el metilo insertado en el carbono 8, el cual tiene un oxhidrilo geminal a 1.50 ppm.: existe la evidencia de los protones del metilo unido al hidroxilo por medio de un sistema AB entre 3.85 y 4.72 ppm.; un sistema AB, para los protones alfa al nitrógeno del carbono 5 con una señal a 3.33 ppm. y un multiplete a 2.35 ppm., para los protones del carbono 7. Espectro No. 4.

La espectrometría de masas, mostró un ión molecular m/e 197 y los fragmentos susecuentes por la ruptura de la molécula. El espectro muestra la pérdida de los grupos hidroxilo en forma de agua con iones a m/e 179 y 161. Una vez aromatiza-

da la molécula, se observa la pérdida del grupo metilo con ión a m/e 148; la pérdida del fragmento entre los carbonos 6 y 7, dando un ión a m/e 135 (163-28), así como la pérdida del fragmento entre los carbonos 7 y 8, para el ión m/e 121 - y por último la pérdida del anillo de cinco miembros para dar el ión m/e 107.



Los siguientes datos fueron obtenidos de los espectros de I.R., R.M.N.¹H. y E.M.

I.R. (película, cm^{-1}); 3460(ancha); 2960; 2945; 2870; 1650; -- 1600; 1455; 1160; 1100; 1035.

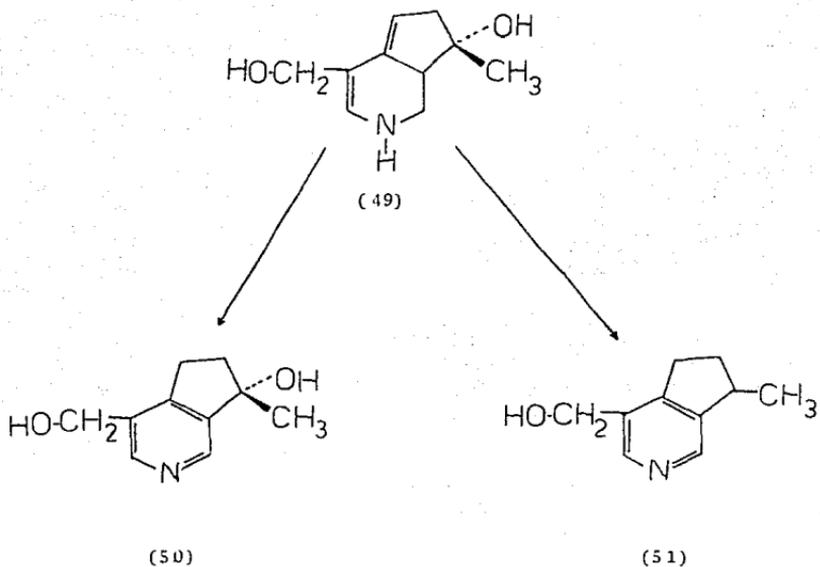
RMN, ¹H. (CDCl_3 , δ , m.); 1.30, s; 2.35, m; 3.33, AB; 3.85 y 4.72, AB; 5.50, t; 5.92, s.

E.M. (E.E., m/e, I.); 1.97, M⁺ (5); 179(M-18,10); 161(4); 148(4); 135(12); 121(17); 107(10).

Los siguientes alcaloides se lograron aislar por una cromatografía de gases/masas y se les determinó su espectro de masas. De estos alcaloides sólo se tiene evidencia de su presencia por la espectrometría de masas. Basándonos en los estudios biogénéticos de esta planta (Tronadora), en los alcaloides aislados en trabajos anteriores a este, en la información de IR. y RMN. obtenida de la mezcla original de los alcaloides y en sus espectros de masas correspondientes, se proponen las siguientes estructuras:

8,10-dihidroxi- Δ^3 , Δ^5 -didehidro-N-normetilskitantina(49)

La espectrometría de masas mostró un ión molecular -- m/e 181 y sucesivos fragmentos del rompimiento de la molécula como son: el ión m/e 123, para la pérdida del fragmento entre los carbonos 7 y 8; el ión 110, para la pérdida del fragmento entre los carbonos 6, 7 y 8. Una vez aromatizada la molécula se observan iones a m/e 96, para la pérdida del protón de la función alcohol; un ión m/e 80, para la pérdida del hidroxilo y un ión m/e 66, para la pérdida del grupo CH_2OH en la molécula de la piridina. Este alcaloide es un posible precursor de la Tecostidina (51), la cual la identificamos por EM. con un ión molecular m/e 163 y ha sido reportada por Hammouda y colaboradores¹².

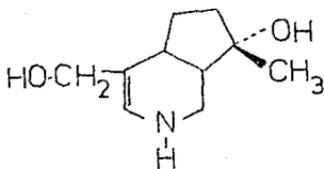


Los siguientes datos se obtuvieron del espectro de masas.

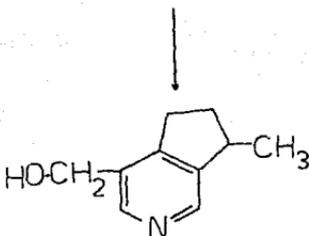
E.M. (I.E., m/e, I.); 181, M^+ (2); 123(4); 110(10); 96(15);
80(3); 66(3).

8,10-dihidroxi- Δ^3 -dehidro-N-normetilskitantina. (52)

En la espectrometría de masas, se observó un ión molecular m/e 183, un ión m/e 165, para la pérdida del grupo hidroxilo; un ión m/e 150, para la pérdida del grupo metilo. Cuando la molécula se aromatiza, se observa la pérdida del fragmento entre los carbonos 6 y 7 con un ión m/e 135; un ión m/e 107, para la pérdida del fragmento entre los carbonos 5, 7 y 8; un ión m/e 121, para la pérdida del fragmento entre los carbonos 7 y 8. Por último el anillo de la hidroximetil-piridina, pierde el grupo hidroximetilo y su ión m/e es observado a 73. Este alcaloide es un posible precursor de la Tecostidina, (53) la cual ha sido reportada por Hammouda y colaboradores¹².



(52)



(53)

ESTA TERCERA NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

Los siguientes datos se obtuvieron del espectro de
masas.

E.M. (I.E., m/e, I.); 183, M⁺ (38); 165(9); 150(27); 135(7)
121(4); 107(8); 78(10).

CONCLUSIONES

En el presente trabajo se logró el aislamiento de 3 - nuevos alcaloides (43,45 y 48) de Tecoma stans. Estos alcaloides no han sido reportados y parecen ser los posibles precursores biogénéticos de otros alcaloides presentes en esta - planta.

Los derivados más abundantes de la planta (Tronadora) estudiada por nosotros, son derivados oxhidrilados de la serie de la N-normetilskitantina (27), ninguno pertenece a la serie de la Skitantina (17).

En las muestras analizadas de diferentes orígenes (hojas), no logramos detectar la presencia de Tecomanina (1) en - contra de lo mencionado por los autores E.M. Dickinson y G. - Jones,³ quienes trabajaron Tecoma stans de diferentes orígenes. Nosotros tratamos de imitar las condiciones de aislamiento descritos, pero no logramos detectar el metilo apoyado en el nitrógeno, ni el grupo carbonilo conjugado en el anillo de cinco miembros en la mezcla de los alcaloides originales, a pesar de haber utilizado dos métodos de extracción diferentes. Por lo tanto es posible que se encuentre la Tecomanina, pero en todo caso en una proporción muy baja (componente minoritario). Esta diferencia posiblemente se puede atribuir a una variación de tipo estacional o bien a - - -

que las especies estudiadas, en este trabajo corresponden a -
variedades de la Tecoma stans.

BIBLIOGRAFIA

1. Boorsma, G. E., Meded. Lands' Plantent 18, 39 (1897).
2. Hammouda, Y. and Motawi, M. M. Egypt. Pharm. Bull. 41, -
75 (1959).
3. Dickinson, E. M. and Jones, G. Tetrahedron 25, 1523 - -
(1969).
4. Gross, D., Berg, W. and Schuette, H. R. Phytochemistry -
11, 3082 (1972).
5. Thomas, R. Tetrahedron Letters 1179 (1962).
6. Wenkert, E. J. Am. Chem. Soc. 84, 98 (1962).
7. Hammouda, Y. and Khalafallah, N. J. Pharm. Sci. 60, 1142
(1971).
8. Jones, G. H., Fales, M. and Wildman, W. C. Tetrahedron -
Letters 397 (1963).
9. Hammouda, Y. Plat, M. and Le Men, J. Ann. Pharm. Fr. 21,
699 (1963).
10. Hammouda, Y. Plat, M. and Le Men, J. Bull. Soc. Chim. Fr.
2802 (1963).
11. Gross, D. Fortschr. Chem. Org. Naturst. 28, 109 (1970).
12. Hammouda, Y. and Le Men, J. Bull. Soc. Chim. Fr. 188 - -
(1963).
13. Abdusamatov, A. and Yunusov, S. Khim. Prir. Saedin. 5, -
354 (1969); C. A. 72, 51805k (1970).
14. Sakan, T., Murai, F., Hayashi, Y., Honda, Y., Shono, T.,
Nakajima, M. and Kato, M. Tetrahedron 23, 4635 (1967).

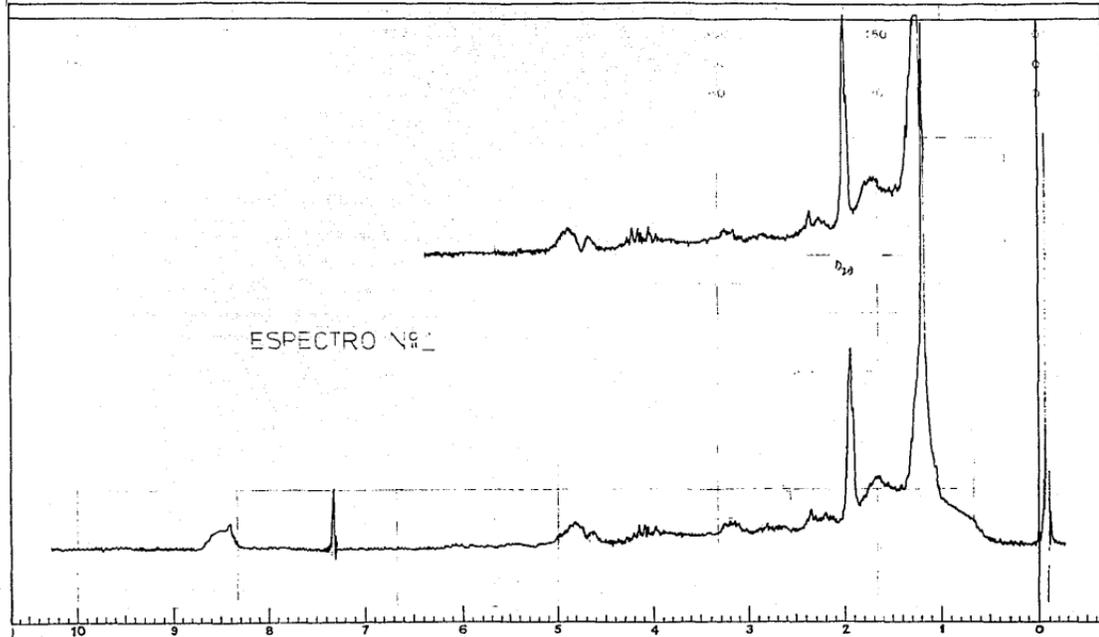
15. Sakan, T., Fujino, A., Murai, F., Suzui, A., Butsugan, Y. and Terashima, Y. Bull. Chem. Soc. J. 35, 712 (1960).
16. Sakan, T., Fujino, A., Murai, F., Butsugan, Y. and Terashima, Y. Nippon Kagaku Zasshi 81, 1447 (1960); CA. 56, 11645d (1960).
17. Abdusamatov, A., Yagudaev, M. R. and Yunoso, S. Khim. -- Priir Soedin. 4, 265 (1968); CA. 70, 68580g (1969).
18. Gross, D., Berg, W. and Schütte, H. R. Phytochemistry 12, 201 (1973).
19. Appel, H. H. and Müller, B. Scientia (Valparaiso) 28, 5 (1961); CA. 57, 2332g (1962).
20. Casinovi, C. G., Monache, F. D., Grandolino, G., Marini-Bettolo, G. B. and Appel, H. H. Chem. Ind. (London) 984 (1963).
21. Adolphsen, G., Appel, H. H., Overton, K. H. and Warnock, W.D.C. Tetrahedron 23, 3147 (1967).
22. Djerassi, C., Kutney, J. P., Shamma, M., Shoolery, J.N. and Johnson, L. F. Chem. Ind. (London) 210 (1961).
23. Djerassi, C., Kutney, J. P. and Shamma, M. Tetrahedron 18, 183 (1962).
24. Casinovi, C. G., Garbarino, J. A. and Marini-Bettolo, G. B. Rend. Ist. Super. Sanita 23, 1073 (1960); CA. 56, 7371 h (1962).

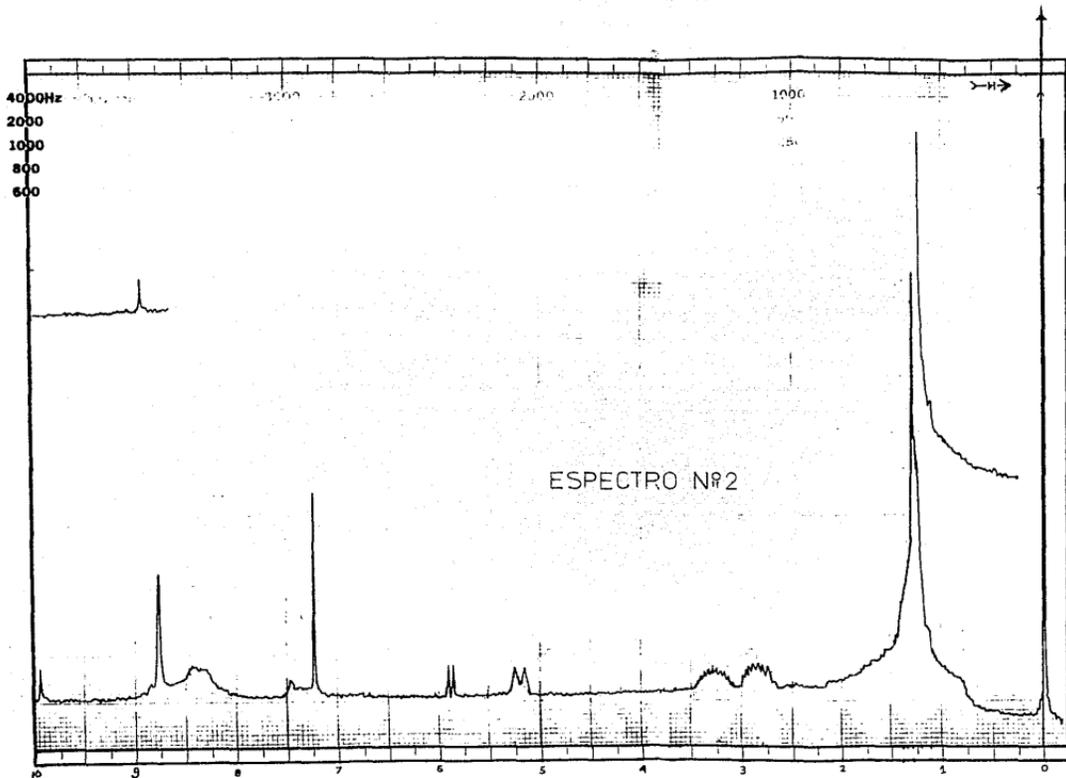
25. Casinovi, C. G., Garbarino, J. A. and Marini-Bettolo, G. B. Chem. Ind. (London) 253 (1961).
26. Eisenbraun, E. J., Bright, A. and Appel, H. H. Chem. Ind. (London) 1242 (1962).
27. Casinovi, C. G., Monache, F. D., Marini-Bettolo, G.B., - Bianchi, E. and Garbarino, J. A. Gazz. Chim. Ital. 92, - 479 (1962); CA. 57, 13813e (1962).
28. Casinovi, C. G., Monache, F. D., Marini-Bettolo, G.B., - Biachi, E. and Garbarino, Sci. Rep. Ist. Super, Sanita 1 588 (1961); CA. 63, 4349d(1965).
29. Eisenbraun, E. J., Auda, H., Schorno, K. S., Waller, G. R. and Appel, H. H. J. Org. Chem. 35, 1364 (1970).
30. Colin, G.G. J. Am. Pharm. Assoc. 15, 556 (1926).
31. Colin, G. G. J. Am. Pharm. Assoc. 16, 199 (1927).
32. Gatti, G. I. and Marotta, M. Ann. Ist. Super. Sanita 2, 29 (1965); CA. 65, 14293e (1963).
33. Hammouda, Y., Rashid, A. K. and Amer, M. S. J. Pharm. Pharmacol. 16, 833 (1964).
34. Hammouda, Y. and Amer, M. S. J. Pharm. Sci. 55, 1452 -- (1966).

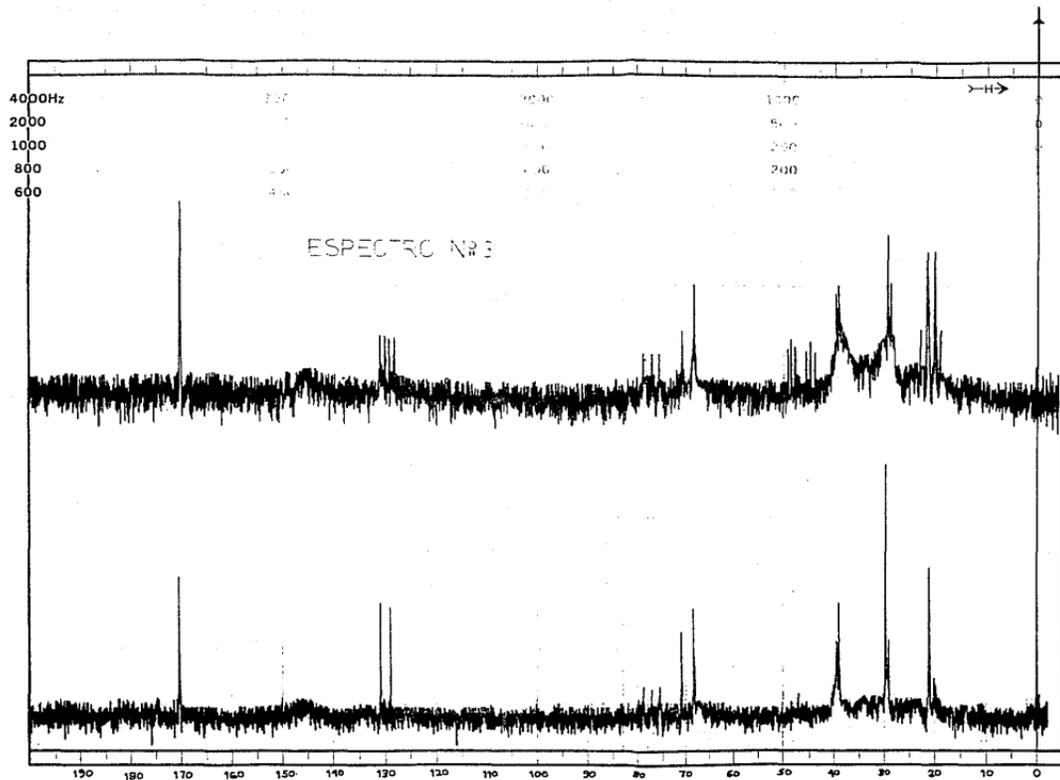
E S P E C T R O S .

START OF SWEEP

END OF SWEEP







START OF SWEEP

→←

END OF SWEEP

