

Bol. inst. quim. univ. nal. autón. Méx. XIV, págs. 75-84 (1962).

LA HERNANDEZINA, UN NUEVO ALCALOIDE DE LA SERIE DE LA BISBENCILISOQUINOLINA*, **

J. Padilla y J. Herrán

Contribución N° 130 del Instituto de Química.

El alcaloide hernandezina fue descubierto originalmente por Velázquez, como un constituyente menor de los alcaloides presentes en la raíz del *Thalictrum hernandezii* Tausch. (Ranunculaceae). Se propuso una fórmula empírica $C_{34}H_{38}O_6N_2$ y se describieron las constantes de algunas de sus sales (1).

Un nuevo examen de este alcaloide reveló dificultades analíticas por su tendencia a retener disolventes de cristalización. Secando cuidadosamente al alto vacío una muestra durante un largo período, se obtuvo la fórmula empírica $C_{39}H_{44}O_7N_2$ con 5 metoxilos y 2 N-metilos.

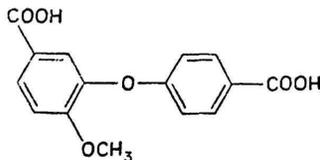
Las pruebas usuales para los grupos fenólicos produjeron resultados negativos, aun con el reactivo de Claisen para criptofenoles (2). No fue posible acetilar, benzoilar, esterificar o eterificar al alcaloide. La prueba con ácido sulfúrico concentrado conteniendo trazas de ácido nítrico, que se considera generalmente específica para los dióxidos de difenileno (3) y para los dióxidos de metileno, produjo resultados negativos. Mezclando el alcaloide con hidróxido de potasio fundido (4), se obtuvo ácido *p*-hidroxibenzóico.

La hernandezina, por oxidación con permanganato de potasio, produjo un ácido dibásico $C_{15}H_{12}O_6$, que se identificó como el ácido 5,4'-dicarboxi-2-metoxi éter difenílico (I), por su punto de fusión

* Traducido de Tetradron 18, 427 (1962), con permiso de los editores.

** Tomado parcialmente de una tesis presentada por J. Padilla a la Universidad Nacional Autónoma de México para obtener el grado de Doctor en Ciencias Químicas.

y por comparación directa de los espectros en el infrarrojo con una muestra auténtica, sintetizada de acuerdo con el método de Spät (4). Los intentos para dividir la molécula con sodio o potasio en amoníaco líquido, no produjeron resultados reproducibles y, en muchos casos, solamente se obtuvieron productos resinosos. Sin embargo, en algunos casos resultó posible asilar un fenol cristalino, soluble en álcali, que por análisis dio la fórmula $C_{39}H_{46}O_7N_2$.



I

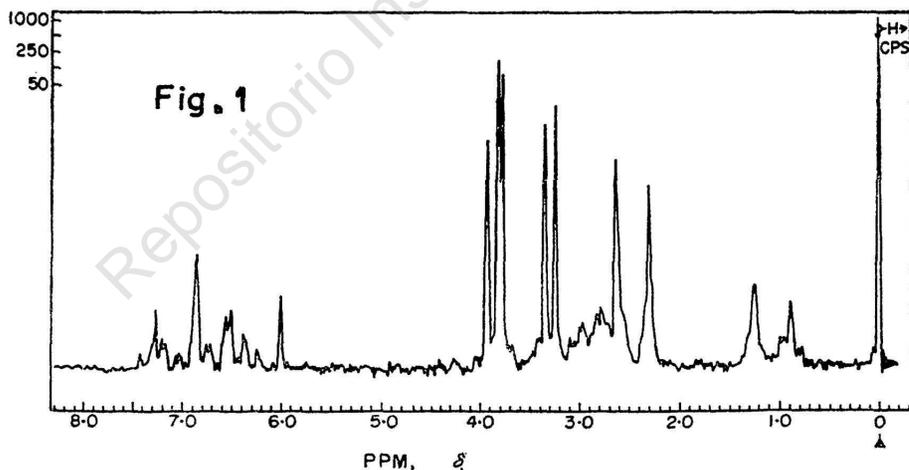
Calentado la hernandezina con yoduro de metilo en solución metanólica de metóxido de sodio, se obtuvo diyodometilato de hernandezina y de éste, por degradación de Hofmann, se obtuvo la base de metino de la hernandezina, ópticamente inactiva, que aún contiene cinco metoxilos. Una porción de esta base de metino se trató con yoduro de metilo, obteniéndose el diyodometilato de la base de metino, en forma cristalina. Una segunda porción se trató con ácido crómico y se obtuvo el mismo ácido dibásico previamente obtenido por oxidación de la hernandezina con permanganato. Dado que el ácido dibásico contiene un metoxilo y un puente etéreo, cuatro oxígenos deben estar en la fracción isoquinolínica como metoxilos y el último oxígeno, siendo inerte, debe estar presente como un puente etéreo. La posición de cuatro de los cinco grupos metoxilo, puede fijarse por medio del espectro de rnm.* Este muestra cinco máximos de metoxilo en 3.91, 3.83, 3.79, 3.34, 3.24 ppm y dos correspondientes a N-metilo en 2.63 y 2.30 ppm, respectivamente. Cuatro de estos máximos corresponden a los reportados por Bick *et al.* (5) para los grupos metoxilo en las posiciones 4'', 6, 6' y 7 de la tetrandrina. Solamente hay tres posiciones posibles para el grupo me-

* Agradecemos al Prof. I. R. C. Bick, de la Universidad de Tasmania, Australia, la interpretación de los espectros de rnm, así como sus valiosos consejos.

toxilo extra, que son las 5, 5' y 8', pero éstas no pueden distinguirse en el espectro de rmn. Un modelo molecular muestra que los hidrógenos del metoxilo en 8' no pasan, en ninguna de sus orientaciones, encima del anillo aromático adyacente, de manera que no debe esperarse un gran desplazamiento en valores δ . El modelo molecular muestra además, que los metoxilos en 8' y 6 están sujetos aproximadamente al mismo impedimento estérico, mientras que los que se encuentran en 5, 5' y 4'', están relativamente libres de impedimentos. Podría esperarse, por lo tanto, que un metoxilo en 8' daría un valor ligeramente más alto que el normal, semejante al del metoxilo en 6 y no al del metoxilo en 4'', como puede verse en el espectro de rmn (Fig. 1). Por analogía con el esquema de los sustituyentes oxigenados en otros alcaloides isoquinolínicos, la posición 8' para el metoxilo es más probable que la 5.

Los espectros en el infrarrojo de la hernandezina (Fig. 2) y de la tetrandrina son muy semejantes, como era de esperarse, debido a que la diferencia es de solamente un metoxilo. Las rotaciones específicas de ambos alcaloides también están de acuerdo.

Según los datos que hemos presentado, la estructura de la hernandezina es como sigue:



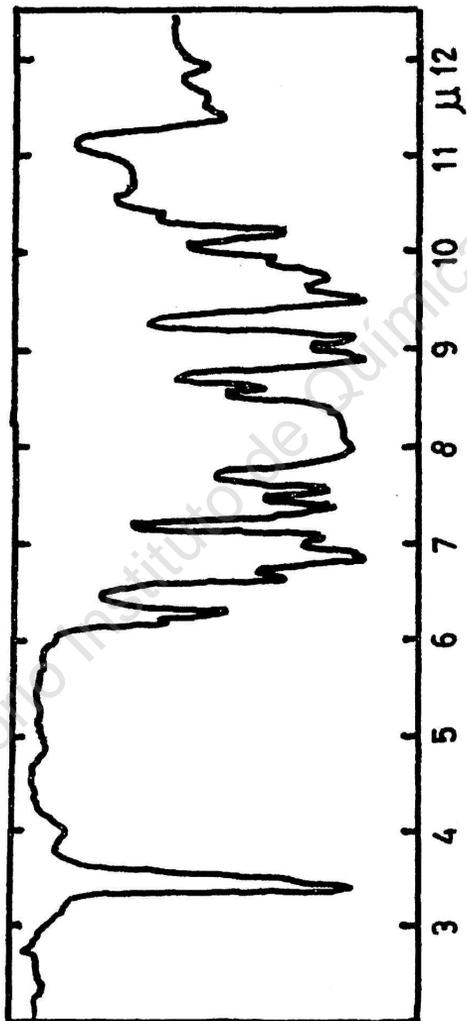
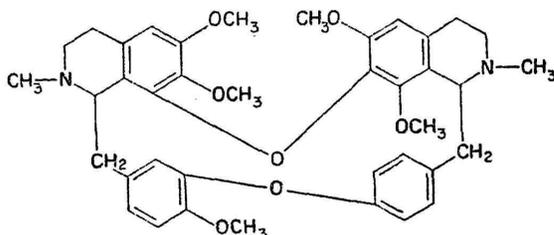


Fig. 2



PARTE EXPERIMENTAL*

*Extracción del *Thalictrum hernandezii*.*** Se extrajeron las raíces finamente molidas (27.35 Kg) con hexano (80 l) refluendo durante dos horas y filtrando. Se repitió el proceso tres veces y los extractos combinados, conteniendo clorofila, ceras, etc., se concentraron hasta sequedad (61 g) que se descartaron. El residuo se extrajo, refluendo con benceno (80 l) y filtrando; se repitió el proceso cinco veces y los extractos combinados se evaporaron a sequedad. Se disolvió el residuo (191 g) en una mezcla de benceno-hexano (3:1) y la solución se cromatografió en una columna con 7 Kg de alúmina Alcoa, grado F-20, y se eluyó con benceno y benceno-éter, colectándose fracciones de 2 l. Las fracciones 23 a 50 (benceno-éter 1:1), se evaporaron a sequedad y los residuos se combinaron. Por adición de una pequeña cantidad de metanol al residuo aceitoso, se obtuvieron 21 g de hernandezina cruda. Después de varias recrystalizaciones de

Anal. Calc. para $C_{39}H_{44}O_7N_2$: C, 71.76; H, 6.79; O, 17.16;

N, 4.29;

5 metoxilos 23.7%; P. M. 652.8.

* Todos los puntos de fusión se determinaron en un bloque de Kofler. Las rotaciones se determinaron en un polarímetro Schmidt y Haensch. Los espectros en el ultravioleta se determinaron en etanol de 95% en un espectrofotómetro Beckman DK2. Los espectros de rnm, en un espectrómetro Varian A-60. Los microanálisis fueron hechos por F. Pascher en Bonn, Alemania y los valores pK fueron determinados por el Dr. N. Neuss en el Lilly Research Laboratory, Indianápolis.

** Agradecemos al Prof. M. Martínez del Instituto de Biología de la Universidad Nacional Autónoma de México la identificación botánica de esta planta.

metanol y finalmente de hexano, mostró p.f. 192-193°; $[\alpha]^{20}_D +250^\circ$ (c. 0.2 en cloroformo); λ máx. 209 (97,985); 283 $m\mu$ (7,977).

Encontrado: C, 71.70; H, 6.87; O, 17.16;
N, 4.29.
metoxilos, 23.53.

La hernandezina muestra diferentes puntos de fusión según el disolvente de que se cristaliza: de metanol, 157-158°; de acetona, 122-124°; de éter, 158-159° y de hexano, 192-193°.

En una solución al 66% de dimetilformamida en agua, muestra dos valores pK de 6.55 y 7.65 y un peso molecular de 713 ± 10 .* La posibilidad de que la muestra usada contuviera dos moléculas de metanol de cristalización (P.M. 716.8) explica ese valor.

Los intentos para benzoilar, acetilar o metilar hernandezina con cloruro de benzoilo, anhídrido acético y una mezcla de formaldehído y ácido fórmico, respectivamente, siguiendo las técnicas de Manske (6), no dieron resultado y la hernandezina se recuperó inalterada. En la misma forma, después de tratarla con una solución etérea de diazometano, se recuperó el producto original.

Fisión alcalina de hernandezina. Se calentó a 200° una mezcla de hidróxido de potasio (20 g) e hidróxido de sodio (20 g) y se agregó lentamente la hernandezina (1 g). Se aumentó la temperatura a 260° y se mantuvo durante 10 minutos y finalmente a 300° durante 5 minutos. Se enfrió la mezcla y se disolvió en agua, se filtró y se extrajo con éter la solución acidulada (HCl). Se lavó la capa orgánica con solución de bicarbonato de sodio y se eliminó la fase etérea. Se extrajo con éter la solución acidulada (HCl), se lavó la capa orgánica con agua, se secó (Na_2SO_4) y se evaporó. Se sublimó el residuo sólido (0.01 mm y 150°) y se recristalizó de agua, p.f. 213-214° que se identificó como ácido *p*-hidroxibenzóico por comparación con una muestra auténtica. Tratando este ácido con una mezcla de anhídrido acético y piridina, se obtuvo ácido *p*-acetoxibenzóico, p.f. 191-192°.

* Agradecemos al Prof. N. Neuss estas determinaciones.

Acido 5,4-Dicarboxi-2-metoxi éter difenilico (I) de la hernandezina. A una solución fría de hernandezina (4.3 g) en agua (800 ml), acidulada con ácido sulfúrico (10 ml), se agregó, agitando, una solución al 1% de permanganato de potasio en agua (1200 ml). Después de una hora se filtró la suspensión y se extrajo la solución con acetato de etilo. Se lavó la capa orgánica con agua y finalmente con bicarbonato de sodio diluido y esta fracción acidulada (HCl) se extrajo con acetato de etilo. Se lavó varias veces con agua la fase orgánica, se secó (Na_2SO_4) y se evaporó. Se sublimó el residuo, que mostró p.f. 300° y al mezclarlo con una muestra auténtica del ácido 5,4'-dicarboxi-2-metoxi éter difenilico, no mostró depresión y al comparar directamente los espectros en el infrarrojo estos fueron idénticos.

Tatamiento de la hernandezina con potasio en amoniaco liquido. Para romper el puente etéreo, se agregaron a 250 ml de amoniaco liquido contenidos en un aparato de Sandoval (7), una solución de hernandezina (1 g) en éter (60 ml) y tolueno (10 ml) y después, con agitación, se agregaron lentamente 1.5 g de potasio en pequeños trozos. Se dejó evaporar el amoniaco durante la noche, se diluyó con más éter y se lavó con NaOH diluido para extraer la fracción fenólica. La fase orgánica, conteniendo la fracción no fenólica, produjo, después de evaporarla, un residuo aceitoso que no pudo separarse por cromatografía en componentes cristalinos. No se hicieron otras investigaciones con esta fracción. La fracción fenólica se aciduló (HCl), se extrajo con éter y se descartó la fracción etérea. La solución ácida se alcalizó (NH_4OH), se extrajo con éter y por evaporación de esta fase se obtuvo 0.4 g de un residuo que cristalizó al agregar unas gotas de metanol. Los cristales se sublimaron al vacío y el sublimado cristalino se recrystalizó de metanol, p. f. $138-139^\circ$.

Anal. Calc. para $\text{C}_{39}\text{H}_{46}\text{O}_7\text{N}_2$: C, 71.54; H, 7.08; O, 17.11;
N, 4.28

Encontrado: C, 71.81; H, 7.16; O, 17.00;
N, 4.52

Diyodometilato de hernandezina. A una solución de hernandezina (10g) en metanol (500 ml), se agregó yoduro de metilo (20 ml).

Después de reflujar durante 5 h se agregó una sola de metóxido de sodio (1 g en 30 ml de metanol), se continuó el calentamiento durante 5 horas. Se concentró la solución hasta 100 ml y se dejó durante la noche. Se separó un sólido blanco, que se filtró (14.56 g) y después de varias cristalizaciones de metanol mostró p.f. 250-260° (d); $[\alpha]_D^{20} +169.6^\circ$ (c. 0.3 en metanol-agua 50%).

Anal. Calc. para $C_{41}H_{50}O_7N_2I_2 \cdot H_2O$: C, 51.58; H, 5.48;
O, 13.40; N, 2.93;
I, 26.59; 2 N-metilos
6.08%.

Encontrado: C, 51.71; H, 5.29;
O, 13.41; N, 3.05;
I, 26.77; N-metilos
6.28%.

Base de metino de la hernandezina. Se disolvieron 14.5 g de diyodo metilato de hernandezina en 300 ml de agua y se agitaron con óxido de plata recién preparado (de 15 g de nitrato de plata), hasta que la solución quedó libre de yoduro (3 h). Se concentró la solución filtrada hasta 100 ml a presión reducida y se calentó en baño de vapor con solución de hidróxido de potasio acuoso (30 ml, 50%). Se colectó la resina amarillenta que se separó lentamente al enfriar y se continuó calentando y enfriando hasta que ya no se formó más resina (cerca de 3 horas). Finalmente se extrajo la solución con éter y la resina que se había separado anteriormente se disolvió en la fase etérea, se secó (Na_2SO_4) y se evaporó (9.425 g). Después de cristalizar de metanol, se obtuvo un producto cristalino blanco, que al recrystalizar de acetato de etilo-hexano, mostró p.f. 189-191°; $[\alpha]_D^{20} \pm 0.0^\circ$ (c. 0.2 en cloroformo).

Anal. Calc. para $C_{41}H_{48}O_7N_2$: C, 72.33; H, 7.11; O, 16.45;
N, 4.12; 5 metoxilos, 22.79%

Encontrado: C, 71.99; H, 7.03; O, 16.42;
N, 4.40; metoxilos, 21.91

Diyodometilato de la base de metino de la hernandezina. Se hirvió durante 40 minutos una mezcla de base de metino de hernandezina (5 g), metanol (100 ml) y yoduro de metilo (5 ml). Después de reposar se separan 5 g del diyodometilato de la base de metino que después de recrystalizarla de metanol, mostró p.f. 260-270° (d).

Anál. Calc. para $C_{43}H_{54}O_7N_2I_2$: C, 53.53; H, 5.64; O, 11.60; N, 2.90; I, 26.31; 5 metoxilos, 16.08%

Encontrado: C, 53.32; H, 5.64; O, 11.23; N, 3.29; I, 26.66; metoxilos, 15.96

Acido 5,4'-dicarboxi-2-metoxi éter difenilico de la base de metino de la hernandezina. A una solución de la base de metino de hernandezina (2 g) en ácido acético glacial (20 ml) se agregó gota a gota una solución de CrO_3 (5 g) disuelto en ácido acético al 85% (50 ml). Se calentó la solución en baño de vapor durante 35 minutos, se dejó reposar durante 3 horas a temperatura ambiente, se virió en agua y se extrajo con éter. Se lavó la fase etérea con agua varias veces hasta neutralidad y después con bicarbonato de sodio diluido. La solución de bicarbonato se aciduló (HCl) y se extrajo con acetato de etilo; se lavó la fase orgánica con agua, se secó (Na_2SO_4), se evaporó hasta sequedad y se sublimó el residuo a presión reducida (200° y 0.01 mm). Se colectó el sublimado blanco cristalino y se recrystalizó de metanol, p.f. 300-302°.

Anál. Calc. para $C_{15}H_{12}O_6$: C, 62.50; H, 4.20; O, 33.30

Encontrado: C, 61.92; H, 4.38; O, 33.81

BIBLIOGRAFIA

1. L. Velázquez C., *Extracción de un nuevo alcaloide del costicpalli, THALICTRUM HERNANDEZII*. Tesis, Escuela Nacional de Ciencias Químicas, México, D. F. (1956).

2. L. Claisen, *Ann.*, **418**, 96 (1919).
3. H. Kondo y M. Tomita, *J. Pharm. Soc. Japan*, **52**, 139 (1932); I. R. C. Bick y A. R. Todd, *J. Chem. Soc.*, 1606 (1950).
4. E. Späth y J. Pikl, *Ber.*, **62**, 2251 (1929).
5. I. R. C. Bick, J. Harley-Mason, N. Sheppard, M. J. Vernengo, *J. Chem. Soc.*, 1896 (1961).
5. I. R. C. Bick, J. Harley-Mason, N. Sheppard, M. J. Vernengo, *J. Chem. Soc.*,
7. A. Sandoval, *Chem. and Ind.*, 1082 (1960). *c.f.*, este Boletín XII, 78 (1960).

Repositorio Instituto de Química UNAM