

# BOLETIN DEL INSTITUTO DE QUIMICA U. N. A. M.

REDACCION:

DR. ALBERTO SANDOVAL L.

Q. F. B. HUMBERTO J. FLORES

Traductor: JORGE GIL L.

Dirección: Torre de Ciencias, Piso 11, Ciudad Universitaria.

México 20, D. F.

*Este boletín se publicó con la ayuda económica del Instituto Nacional de la Investigación Científica.*

---

VOL. VII

JULIO DE 1955

NUM. 1

---

Bol. Inst. Quím. Univ. Nal. Autón. Méx. VII pág. 3-10 (1955).

AISLAMIENTO DE LA RESERPINA, SERPENTINA Y AJMALINA DE LA *RAUWOLFIA HETEROPHYLLA* ROEM. Y SCHULT. \*' \*\*

*Carl Djerassi, Marvin Gorman, \* \* \* A. L. Nussbaum \* \* \* \*  
y Jesús Reynoso*

Contribución conjunta del Laboratorio Samuel C. Hooker del Departamento de Química de la Universidad de Wayne y del Instituto de Química de la Universidad Nacional Autónoma de México.

Se han encontrado alcaloides en varias especies asiáticas y africanas de *Rauwolfia* (1, 2), pero la mayor parte de la investigación se ha hecho sobre la *Rauwolfia serpentina Benth, que*

---

\* Traducido del *Journal of the American Chemical Society*, 76, 4463 (1954), con permiso de los editores.

\* \* Estamos agradecidos a la Fundación Rockefeller por habernos proporcionado fondos para la recolección de la planta.

\* \* \* Con una beca predoctoral del U. S. Public Health Service, 1952-1954.

\* \* \* Con una beca predoctoral Pfizer, 1953-1954.

ha sido empleada en la India para el tratamiento de la hipertensión y otros trastornos clínicos (1, 3). Recientemente se despertó un enorme interés en la *R. serpentina* india debido a que Schlittler *et al*, (4) aislaron un alcaloide débilmente básico, la reserpina, que resultó ser el principio hipotensor y sedante (5) y que está siendo empleado ampliamente en la práctica clínica en los Estados Unidos de Norte América (6).

De las especies de *Rauwolfia* nativas de América, la más abundante es la *R. heterophylla* Roem. y Schult. puesto que crece extensamente en México (7), Guatemala (“chalchupa”) (8), Costa Rica (9) y Colombia (“pinique-pinique”) \*. En vista del intenso trabajo de investigación que estamos haciendo en nuestros laboratorios acerca de productos naturales de plantas latino americanas, nos pareció interesante investigar la *Rauwolfia heterophylla*, especialmente porque en trabajos anteriores (8, 10, 11) se indica la presencia de alcaloides y se registran los efectos farmacológicos de los extractos crudos (8, 10, 11, 12); los primeros estudios químicos (8, 10) se limitaron al aislamiento de dos productos amorfos, llamados “chalchupina A” y “chalchupina B”, a los que se les asignaron las fórmulas  $C_{14}H_{21}N_3O_{12}$  y  $C_{15}H_{24}N_6O_{11}$ , que son poco probables.

Las plantas usadas como material en esta investigación fueron recolectadas en parte por uno de nosotros cerca de Tomellín, Oaxaca, y fueron identificadas botánicamente por el Prof. M. Martínez. Las plantas guatemaltecas fueron obtenidas por cortesía del Sr. Mario Wunderlich de la Ciudad de Guatemala. Al iniciar esta investigación no contábamos con detalles acerca del procedimiento para aislar reserpina de la *R. serpentina* \*\* ni se

\* M. M. Janot y R. Mendoza (*Compt. rend.*, 290, 653 (1939), llevaron a cabo una comparación botánica entre muestras de la planta colombiana y guatemalteca (8).

\*\* Los detalles de este esquema de aislamiento —muy diferente del empleado por nosotros— y algunos notables experimentos de degradación de la reserpina han sido publicados por L. Dorfman, A. Furlenmeyer, C. F. Huebner, R. Lucas, H. B. Phillamy, J. M. Müller, E. Schlittler y A. F. St. André, *Helv. Chim. Acta*, 37, 59 (1954)

conocía la fórmula empírica de este alcaloide.\* En nuestros primeros intentos, basados en la supuesta inestabilidad de la reserpina, utilizamos la cromatografía directa de la porción soluble en benzeno del extracto metanólico de la planta y obtuvimos como resultado el aislamiento de la reserpina cristalina y de la 1-narcotina.\*\* Por lo tanto la *R. heterophylla* es la segunda especie de *Rauwolfia* en la que se ha encontrado la presencia de la tan buscada reserpina.\*\*\*

Experimentos posteriores han conducido a un esquema de aislamiento mejorado que se describe en la parte experimental de este trabajo.

\* La fórmula empírica correcta  $C_{33}H_{46}N_2O_9$  a la que llegamos independientemente (ver nota siguiente), ha sido publicada después por A. Furlenmeyer, R. Lucas, H. B. MacPhillamy, J. M. Müller y E. Schlittler, *Experientia*, 9, 331 (1953), y por N. Neuss, H. E. Boaz y J. W. Forbes, *J. Am. Chem. Soc.*, 75, 4870 (1953). Cf. M. W. Klohs, M. D. Draper, F. Keller y F. J. Petracek, *ibid.*, 75, 4867 (1953).

\*\* C. Djerassi, M. Gorman, A. L. Nussbaum y J. Reynoso, *J. Am. Chem. Soc.*, 75, 5446 (1953). El aislamiento del alcaloide del opio, la narcotina, descrito en nuestra comunicación era sorprendente, puesto que todos los alcaloides de la *Rauwolfia* encontrados hasta ahora (1,2) tienen un esqueleto del indol. Después se descubrió que aun cuando se obtuvo reserpina en todos los casos, la narcotina no se encontró en ciertos lotes elaborados hasta el estado de residuo metanólico en la Universidad de México. Una detallada verificación experimental reveló que el único material del que se extrajo narcotina, era el obtenido de plantas frescas enviadas de Guatemala a Detroit, donde las raíces habían sido molidas en un laboratorio comercial cuyo molino había sido utilizado anteriormente para moler opio. Cuando una nueva remesa de planta guatemalteca fué procesada completamente en el laboratorio de la Universidad de Wayne, no se encontró narcotina y nunca fué aislada de las plantas mexicanas. Está claro, por lo tanto, que el aislamiento de narcotina descrito anteriormente fué debido a contaminación. Sin embargo, se debe hacer notar que A. Hofmann, *Helv. Chim. Acta* 37, 849 (1954) ha comunicado recientemente el aislamiento de dos alcaloides del opio, la tebaina y la papaverina, de la *Rauwolfia serpentina* de la India.

\*\*\* Ya terminado este trabajo ha aparecido una comunicación de M. W. Klohs, M. D. Draper, F. Keller y F. J. Petracek (*J. Am. Chem. Soc.*, 76, 1381 (1954)) y por J. Poisson, A. Le Hir, R. Goutarel y M. Janot (*Compt. Rend.*, 238, 1607 (1954)), en la cual se describe el aislamiento de la reserpina de la *R. canescens* Linn. y *R. vomitoria*, respectivamente.

Habiendo establecido la presencia de este alcaloide en la *R. heterophylla*, nos pareció interesante ver si era posible aislar otros alcaloides adicionales, que se encuentran en otras especies de *Rauwolfia*. Cuando una fracción de alcaloides crudos se sometieron a una distribución a contracorriente a pH 6.6, se obtuvo ajmalina \*, \*\* y serpentina \*, \*\*, \*\*\*, \*\*\*\* en forma cristalina.

Parece por lo tanto que por lo que respecta a sus principales componentes alcaloídicos la *R. heterophylla* americana y la *R. serpentina* asiática son muy similares cualitativamente.

Agradecimientos: Estamos muy agradecidos a los Sres. Mario y Edgar Wunderlich de la ciudad de Guatemala por habernos ayudado a conseguir materiales, y a los Sres. Dres. M. W. Klohs de los Laboratorios Riker, Los Angeles, Cal., y Oskar Wintersteiner del Instituto Squibb de Investigación Médica, New Brunswick, N. J., por muestras auténticas de alcaloides de la *Rauwolfia*. Agradecemos también al Prof. M. Martínez del Instituto de Biología de la Universidad Nacional Autónoma de México, por su ayuda en la identificación botánica.

---

\* Los primeros en aislarla de *R. serpentina* fueron S. S. Siddiqui y R. H. Siddiqui, *J. Ind. Chem. Soc.*, 8 667 (1931); 9, 539 (1932); 12, 37 (1935) y L. Van Itallie y A. J. Steenhauer, *Arch. Pharm.*, 270, 313 (1932).

\*\* Para estudios estructurales cf, D. Mukherji, R. Robinson y E. Schlittler. *Experientia*, 5, 215 (1949), y A. Chatterjee y S. Bose, *ibid.*, 9, 254 (1953).

\*\*\* Después de terminado este manuscrito apareció un artículo de M. M. Janot, R. Goutarel y A. Le Hir, *Compt. rend.*, 238, 720 (1954), en el que se registra el aislamiento de la serpentina de la *R. heterophylla*.

\*\*\*\* Para los estudios estructurales, cf, E. Schlittler y H. Schwarz, *Helv. Chim. Acta*, 33, 1463 (1950); F. Badet y H. Schwarz, *ibid.*, 35, 1594 (1952); M. W. Klohs, M. D. Draper, F. Keller, W. Malesh y F. J. Petracek, *J. Am. Chem. Soc.*, 76, 1332 (1954) F. L. Weisenborn, M. Moore y P. A. Diassi, *Chemistry & Industry*, 375 (1954).

## PARTE EXPERIMENTAL \*

*Extracción en frío. Aislamiento de Reserpina y  $\gamma$ -Sitosterol.*

Las raíces completas de *Rauwolfia heterophylla* tanto de México como de Guatemala se cortaron en pedazos de cerca de 5 cm., se secaron a peso constante en una estufa de vapor a 85° y después se molieron en un molino Wiley hasta que pasara por una malla de 1 mm. Una parte (250 g.) de esta raíz molida, fué agitada en atmósfera de nitrógeno durante 15 minutos con 2.5 l. de la siguiente solución (A) \*\*: 1.7 l. de éter, 550 cc. de benceno y 170 cc. de etanol al 90%. Se agregó en seguida hidróxido de amonio acuoso (1: 1, 425 cc.) y se continuó agitando durante 48 horas. El extracto fué decantado de la raíz molida y ésta fué lavada tres veces con porciones de 100 cc. de la solución A, y se agitó dos veces más con 1 l. de solución A cada vez, siguiendo el proceso anterior. Los extractos y los lavados combinados fueron secados sobre sulfato de sodio, y evaporados hasta sequedad al vacío \*\*\*. El residuo, disuelto en 200 cc. de benceno, fué cromatografiado en 75 g. de alúmina neutra (actividad II).

Los eluatos de éter, después de ser cristalizados de acetona, produjeron 85 mg. de  $\gamma$ -sitosterol \*\*\*\*, p.f. 147-148°;  $[\alpha]_D^{25}$ —46°; acetato, p.f. 139-140°;  $[\alpha]_D^{25}$ —46°; benzoato, p.f. 147-149°;  $[\alpha]_D^{25}$ —19°.

\* Todos los puntos de fusión están sin corregir. Las rotaciones están medidas en cloroformo y los espectros de absorción en el ultravioleta en solución de etanol absoluto. Los espectros en el infrarrojo fueron obtenidos con un espectrofotómetro infrarrojo de doble haz Baird Associates, empleando un espesor de celda de 0.1 mm.

Estamos agradecidos a la Srita. Phylis Tocco (Universidad de Wayne) y al Sr. Joseph F. Alicino (Metuchen, N. J.) por los microanálisis.

\*\* Esta es una modificación del sistema de divolventes dada en el British Pharmaceutical Codex, Pharmaceutical Press, London, 1949, pág. 762-763.

\*\*\* Después de evaporar el disolvente, se observó que de los residuos se sublimaba un sólido incoloro. Este sólido resultó ser acetamida, probablemente debida a una reacción secundaria, en el proceso de extracción.

\*\*\*\* Reportado (Elsevier's Encyclopedia of Organic Chemistry, 14, 91 (1940);  $\gamma$ -sitosterol, p.f. 147-148°,  $[\alpha]_D$ —43°; acetato, p.f. 143-144;  $[\alpha]_D$ —45.3; benzoato, p.f. 152°;  $[\alpha]_D$ —19.6°.

*Anál.* Calc. para  $C_{36}H_{54}O_2$ : C, 83.34; H, 10.49

Encontrado: C, 83.60; H, 10.35.

Se reunieron los eluatos de éter-cloroformo y se recristalizaron de metanol, produciendo 117 mg. de reserpina con p.f. 262-263°;  $[\alpha]_D^{22}$ —115°;  $\lambda$  máx. 268  $m\mu$  (log.  $\epsilon$  4.15) e inflexión a 288-297  $m\mu$  (log.  $\epsilon$  3.95) (EtOH) que no sufrió depresión al mezclarse con una muestra auténtica, aislada de *R. serpentina*, proporcionada bondadosamente por el Dr. M. W. Klohs. El espectro en el infrarrojo fué idéntico al de un espécimen auténtico (ver nota en pág. 5).

*Anál.* Cal. para  $C_{27}H_{22}N_2O_3$   $(OCH_3)_6$ :

C, 65.11; H, 6.62; N, 4.60; metoxilo 30.59;  
peso molecular 608.

Encontrado: C, 65.25; H, 6.42; N, 4.54; metoxilo 29.83;  
peso molecular (Rast) 619.

*Extracción en caliente. Aislamiento de serpentina, ajmalina y sacarosa.* La raíz molida (250 g.) fué extraída en un aparato de Soxhlet con 2.5 l. de metanol absoluto durante 60 horas en una atmósfera de nitrógeno. Al concentrar el extracto hasta un volumen de 150 cc., aparecieron cristales incoloros, que filtrados y lavados con cloroformo, pesaron 0.43 g. de *sacarosa*, p.f. 185°, identificada por el punto de fusión de la mezcla y comparación en el espectro infrarrojo. El filtrado fué diluido con 300 cc. de alcohol amílico y se continuó la concentración (a 18 mm.) hasta que no quedó metanol. La suspensión resultante se filtró, se eliminó el precipitado resinoso y después la solución se concentró hasta formar un jarabe espeso. Este residuo fué lixiviado varias veces con ácido clorhídrico al 5%; los extractos ácidos se alcalinizaron a 0° con hidróxido de amonio\* y se extrajeron completamente con cloroformo. Después de secar y evaporar el disol-

\* Este tratamiento no es suficiente para liberar toda la serpentina.

vente, el residuo (2.4 g.) fué sometido a una distribución en contracorriente de diez pasos, entre 100 cc. de cloroformo y 100 cc. de solución buffer de citrato-fosfato (pH 6.6) con los siguientes resultados:

Fracción No.	Peso (g.)	Fracción No.	Peso (g.)
0	0.65	6	0.05
1	0.22	7	0.035
2	0.17	8	0.09
3	0.13	9	0.205
4	0.09	10	0.63
5	0.08		

El material amorfo de las fracciones 0 y 1 fué triturado con 50 cc. de ácido acético al 10% y filtrado. Se alcalinizó el filtrado con hidróxido de amonio y se filtró de nuevo. La solución amoniacal se hizo fuertemente alcalina a 0° con hidróxido de sodio al 20%, se recogió el precipitado obtenido, se disolvió en cloroformo, y después de secado se evaporó el disolvente. Una cristalización del residuo, de etanol absoluto, produjo 0.13 g. de cristales amarillos brillantes de *serpentina* (ver notas pág. ) con p.f. 156-157°; la identidad fué establecida por los puntos de fusión mixtos y comparación en el espectro infrarrojo con una muestra auténtica proporcionada por el Dr. M. W. Klohs.

La trituración de las fracciones 2-5 con metanol dió como resultado una cristalización lenta. Por recristalización del sólido de metanol, se obtuvieron 0.053 g. de cristales incoloros de *ajmalina*, p.f. 158-160°, idéntica en todos aspectos (p.f. mixto y espectro en el infrarrojo) con una muestra auténtica.

#### RESUMEN

Los alcaloides Reserpina, Serpentina y Ajmalina han sido aislados de la planta mexicana y guatemalteca *Rauwolfia heterophylla*. También se ha observado la presencia de  $\gamma$ -sitosterol y sacarosa.

## BIBLIOGRAFIA

- (1) T. A. HENRY, "The Plant Alkaloids", Blankiston Co., Philadelphia, Penna., 1949, págs. 761-765; L. MARION en R. H. F. MANSKE y H. L. HOLMES, "The Alkaloids", Academic Press, Inc., New York, N. Y., 1952, Vol. II, págs. 424-429.
- (2) A. CHATTERJEE en L. ZECHMEISTER, "Progress in the Chemistry of Organic Natural Products", Springer, Viena, 1953, Vol. X, pág. 390.
- (3) *Inter al.* M. D. CHAKRAVARTI, *Brit. Med. J.*, 1390 (1953).
- (4) J. M. MÜLLER, E. SCHLITTLER y H. J. BEIN, *Experientia*, 8, 338 (1952).
- (5) H. J. BEIN, *ibid*, 9, 107 (1953).
- (6) *Cf.* "Conference on Reserpine and other Alkaloids of *Rauwolfia serpentina*: Chemistry, Pharmacology and Clinical Applications", *Ann. N. Y. Acad. Scien.* 59, 1 (1954).
- (7) M. MARTÍNEZ, "Las plantas medicinales de México", Ediciones Botas, México, D. F., 1944 pág. 356.
- (8) E. C. DEGER, *Arch. Pharm.* 275, 496 (1937).
- (9) Comunicación privada del Dr. J. LEÓN, Turrialba, Costa Rica.
- (10) R. PARIS y R. MENDOZA D., *Bull. Sci. Pharmacol.*, 48, 146 (1941).
- (11) I. OCHOTERENA, *Anál Inst. Biol. Méx.* 9, 85 (1938).
- (12) RAYMOND-HAMET, *Compt. rend.* 209, 384, 599 (1939).