

Bol inst quim univ. nal autón Méx. IX págs. 21-30 (1957).

CASIMIROEDINA*

*C. Djerassi, J. Herrán, H. N. Khastigir***, B. Riniker**** y J. Romo*

Contribución conjunta de la Universidad de Wayne y del Instituto de Química de la Universidad Nacional Autónoma de México.

Desde hace mucho tiempo que las semillas del zapote blanco, del árbol mexicano *Casimiroa edulis* La Llave et Lex. han sido usadas en la medicina indígena (1)****, y nuestro interés en esta planta aumentó con el reporte del aislamiento de la casimiroedina, (2) un nuevo alcaloide cristalino. Hace poco tiempo se describió una investigación química muy detallada de estas semillas, de las cuales se obtuvieron una notable variedad de productos. (3)

Las únicas investigaciones estructurales hechas por Power y Callan (2) sobre la casimiroedina, consistieron en la determinación de su composición analítica, por la cual llegaron a la fórmula empírica $C_{17}H_{24}N_2O_5$. Nosotros aislamos sin dificultad la casimiroedina por un método sustancialmente igual al de los investigadores ingleses, pero, de acuerdo con Aebi (4), le asignamos al alcaloide la fórmula $C_{21}H_{27}N_3O_6$.

Los datos espectroscópicos característicos en el ultravioleta y el infrarrojo ya han sido dados por Aebi (4) quien señaló que además de absorción NH y ú OH, se observaba una fuerte banda en 6.08μ atribuible a una amida, la presencia de un grupo C-metilo y cuatro átomos de hidrógeno activos, aunque las funciones metoxilo y acetilo

* Traducido del *J. Org. Chem.* 21, 1510 (1956), con permiso de los editores.

** Con una beca Squibb postdoctoral, 1952-1953.

*** Con una beca Pfizer postdoctoral, 1955-1956.

**** V. A. Reko (*Magische Gifte*, Ferdinand Enke Verlag, Stuttgart, 1938, 2ª Ed. pp. 148-153) ha sugerido que algunos de los efectos hipnóticos reportados, son causados en realidad por el zapote borracho (*Lucuma salicifolia* H. B. K.) con el cual puede haber sido confundido el zapote blanco.

estaban ausentes y prosiguió la caracterización del alcaloide por sus derivados tetraacetilado y tetrahidro.

Utilizando el trabajo de Aebi (4), describiremos brevemente algunos datos químicos preliminares que sugieren los métodos más eficaces para la completa elucidación de la estructura de este interesante alcaloide.

La hidrogenación catalítica de la casimiroedina con paladio-carbón condujo a la dihidrocasimiroedina, la cual, por el aumento de solubilidad, resulta más adecuada para la mayor parte de las degradaciones. La titulación con ácido perclórico, indicó solamente un átomo de nitrógeno tituable y la casimiroedina formó sólo un monopicrato. La vigorosa hidrólisis ácida o alcalina de la casimiroedina, produjo ácido cinámico (lo que explica el espectro de absorción en el ultravioleta observado en el alcaloide) mientras que la dihidrocasimiroedina* produjo ácido dihidrocinámico. En cada caso, el otro producto de la hidrólisis fue una base cristalina ("casimidina"), soluble en agua, correspondiente a $C_{12}H_{21}N_3O_5$ (con dos átomos de nitrógeno titulables) que se pudo caracterizar como el diclorhidrato y el dipicrato. Está claro, por lo tanto, que el alcaloide casimiroedina es la amida del ácido cinámico** de la casimidina. Tanto la casimiroedina como la dihidrocasimiroedina y la casimidina, son oxidadas rápidamente por medio de ácido periódico, consumiendo dos equivalentes de reactivo y sin liberación de ningún aldehído volátil. Estamos llevando a cabo otros experimentos de degradación con el producto anfotérico de la oxidación con ácido periódico.

Aebi*** ha reportado la presencia de un grupo C-metilo en el alcaloide. Ya que las oxidaciones Kuhn-Roth de la casimiroedina llevadas a cabo en tres laboratorios analíticos distintos, resultaron sumamente diferentes, hemos hecho esa oxidación en grande escala, pero sin lograr aislar ácido acético. Todo el ácido volátil y tituable

* Es interesante observar que mientras la casimiroedina muestra bandas en el infrarrojo en 6.09 y 6.32 μ , el derivado dihidro muestra solamente una banda en 6.20 μ .

** Ya se han observado anteriormente amidas del ácido cinámico de origen natural (cf. F. B. Laforge y W. F. Barthel, *J. Org. Chem.*, 9, 250 (1944); I. Ribas, R. Guitan y P. Taladrid, *Anales real soc. espan. fis. y quim.* 47B, 715 (1951).

*** Estamos muy agradecidos al Dr. Aebi por habernos enviado una copia de su trabajo antes de publicarlo.

resultó ser ácido benzoico (producido por la oxidación del ácido cinámico) y parece que los valores C-metilo observados, son el resultado de las cantidades variables de ácido benzoico que pasa durante la micro determinación Kuhn-Roth. De acuerdo con estas observaciones, la casimiroedina no mostró ningún grupo C-metilo en la determinación Kuhn-Roth. Hemos confirmado la ausencia ya reportada (2, 4) del metoxilo, pero hemos observado que se encuentra presente un grupo N-metilo.

PARTE EXPERIMENTAL*

Casimiroedina.—El alcaloide fue aislado por medio de una modificación en el esquema de Power y Callan (2) que no describiremos en vista de las mejoras introducidas por Aebi (4). La muestra analítica cristalizó de etanol, obteniéndose en forma de cristales incoloros, p. f. 223-224°; $[\alpha]_D^{25}$ -27° (1% HCl); λ máx. (Nujol) 2.97, 6.09, 6.32 y una banda clara y fuerte a 9.0 μ ; λ máx. 219 y 280 $m\mu$, log. ϵ 4.26 y 4.30 (ETOH).

Anál. Calc. para $C_{21}H_{27}N_3O_6$: C, 60.42; H, 6.52; N, 10.07; Peso molecular 417

Encontrado: C, 60.38; H, 6.83; N, 9.81 (sin ni-

trógeno amino); Metoxilo 0.0; equivalente de neutralización 389 (titulación con ácido perclórico), aproximadamente 450 por titulación electrométrica (en solución acuosa de dimetilformamida al 25%), pK'a 5.0

La ausencia del grupo C-metilo quedó demostrada calentando bajo reflujo una solución de 1.5 g. de casimiroedina en 100 cc. de agua y 20 cc. de ácido sulfúrico concentrado y agregando 20 g. de trióxido de cromo en cuatro porciones durante un período de 1.5 horas. Después de 2 horas se arrastró con vapor y las primeras tres

* Los puntos de fusión no están corregidos. Los espectros en el infrarrojo fueron determinados con un espectrofotómetro Baird de doble haz. Los análisis fueron hechos por F. Alicino (Squibb Institute for Medical Research), Spang Microanalytical Laboratory (Plymouth, Michigan) y Geller Laboratories (Hackensack, New Jersey).

destilaciones de 150 cc. fueron tituladas (fenolftaleína) con sosa cáustica 0.2 N, requiriendo, respectivamente, 17, 5 y 1 cc. de base. La primera porción fue evaporada hasta sequedad y se estableció la no identidad del residuo con acetato de sodio por el hecho de que no fundió abajo de 350°. Por disolución en agua del residuo, acidificación con ácido sulfúrico y extracción de éter, se obtuvieron 160 mg. de ácido benzoico puro.

El *picrato de casimiroedina* cristalizó con dificultad de metanol, en forma de agujas amarillas, p. f. 110-112°

Anál. Calc. para $C_{27}H_{30}N_6O_{13}$:	C, 50.87; H, 4.71; N, 13.19
Encontrado:	C, 50.43; H, 4.79; N, 12.61

Tetrabenzoato de casimiroedina.—Se disolvió 1 g. de casimiroedina en 10 cc. de ácido sulfúrico al 5%, se hizo alcalina la mezcla con 50 cc. de una solución de hidróxido de sodio al 30% y se agitó vigorosamente durante 30 minutos con 4 cc. de cloruro de benzoilo. Después de enfriar en hielo, el precipitado (1.21 g.) se filtró y lavó bien con agua. La muestra analítica se obtuvo por precipitaciones repetidas de metanol diluido, pero no se pudo observar un p. f. claro (p. f. 97-105°); $[\alpha]_D +29^\circ$ (etanol); λ máx. 5.79, 6.08, 6.23 y una banda ancha en 7.95 μ ($CHCl_3$).

Anál. Calc. para $C_{49}H_{43}N_3O_{10}$:	C, 70.69; H, 5.20; N, 5.04
Encontrado:	C, 70.35; H, 5.61; N, 4.83

Dihidrocasimiroedina.—Se disolvieron 10.0 g. de casimiroedina calentándolos en 400 cc. de metanol-agua (5:1) y se hidrogenaron a temperatura ambiente y presión atmosférica con 500 mg. de catalizador de carbón paladizado al 10%. Filtrando el catalizador, evaporando hasta sequedad y recristalizando de benceno-etanol, se obtuvieron 9.8 g. de cristales incoloros de dihidrocasimiroedina, p. f. 176-177°; $[\alpha]_D +12^\circ$ (etanol); λ máx. (Nujol) 2.93, 6.20 y 9.0 μ .

Anál. Cal. para $C_{21}H_{29}N_3O_6$:	C, 60.13; H, 6.97; N, 10.02;
	N- CH_3 , 3.6; peso molecular 419.
Encontrado:	C, 59.94; H, 7.03; N, 9.98;

OCH₃, 0.0; N-CH₃, 3.92; equivalente de neutralización, 410 (por titulación con ácido perclórico); p K'a 5.0 (dimetilformamida acuosa al 25%).

Hidrólisis ácida de la casimiroedina.—Se calentó refluendo durante 8-11 horas una solución de 1.0 g. de alcaloide en 20 cc. de ácido clorhídrico 6 N. Después de enfriar se separó un precipitado cristalino. Se extrajo este precipitado con éter y después de procesarlo en la forma usual, se obtuvieron 0.285 g. (78%) de ácido cinámico con p. f. 133-34° que no sufrió depresión al mezclarlo con material auténtico. La solución ácida acuosa, se evaporó a sequedad de un desecador y el residuo se recristalizó varias veces de metanol absoluto, obteniéndose pequeñas agujas incoloras de *diclorhidrato de casimidina*, p. f. 198-200°.

Anál. Calc. para C₁₂H₂₃Cl₂N₃O₅: C, 40.01; H, 6.44; N, 11.67; Cl, 19.69; peso molecular, 360.

Encontrado: C, 39.66; H, 6.71; N, 11.54; Cl, 19.36; Equivalente de neutralización, 172.

La *casimidina* cristalina se prepara más fácilmente pasando una solución metanólica del diclorhidrato a través de una columna de Amberlita IRA-400 y concentrando los eluatos a un volumen pequeño*. La muestra analítica cristalizó de metanol absoluto (la casimidina es bastante soluble en agua) en forma de prismas incoloros, p. f. 207-209°, [α]_D +11° (etanol al 80%), sin bandas de carbonilo en el infrarrojo.

* No es necesario purificar el clorhidrato antes de la cristalización de la casimidina. El paso del clorhidrato crudo (obtenido de la hidrólisis ácida de 7.0 g. de casimiroedina) a través de Amberlita, produjo 3.5 g. de casimidina, suficiente para trabajos posteriores.

Anal. Calc. para $C_{12}H_{21}N_3O_5$:	C, 50.16; H, 7.37; N, 14.63; N-CH ₃ , 5.23; peso molecular, 287.
Encontrado:	C, 50.56; H, 7.45; N, 14.52; N-CH ₃ , 5.03; C-CH ₃ , 0.0; Equi- valente de neutralización (con ácido perclórico), 148.

El *dipicrato de casimidina* fue preparado disolviendo la base (o su clorhidrato) y ácido pícrito en alcohol y agregando agua hasta que principió la turbidez. La muestra analítica cristalizó de etanol diluido, en forma de brillantes cristales amarillos, p. f. 130°, resolidificándose a 50° y fundiendo finalmente a 174-176°.

Anál. Calc. para $C_{24}H_{27}N_9O_{10}$:	C, 38.66; H, 3.65; N, 16.91; peso molecular 745.
Encontrado:	C, 38.86; H, 3.82; N, 16.58; equivalente de neutralización, (titulación con ácido perclórico), 373.

Hidrólisis ácida de la dihidrocasimiroedina.—Se efectuó la reacción con rendimientos esencialmente iguales a los descritos anteriormente para la casimiroedina y produjo clorhidrato de casimidina y ácido dihidrocinámico, p. f. 41-42°.

La identidad de este último fue establecida determinando el p. f. de la mezcla del ácido así como de la amida (p. f. 103-105°) con muestras auténticas.

Hidrólisis básica de la casimiroedina.—Se calentaron bajo reflujo, durante 20 horas, 2.0 g. de casimiroedina con 20 cc. de una solución saturada de hidróxido de bario y después se neutralizaron con hielo seco. Se filtró el carbonato de bario y se extrajo el filtrado con éter, obteniéndose 0.62 g. (87%) de ácido cinámico. La capa acuosa fue evaporada al vacío hasta sequedad produciendo 1.05 g. de casimidina cruda que fundió a 205-208° después de una recrystalización de metanol absoluto.

Oxidaciones con ácido periódico.—Los datos experimentales serán descritos posteriormente al mismo tiempo que la química de los productos de la oxidación. Las oxidaciones con ácido periódico fueron hechas en solución acuosa, disolviéndose inmediatamente la dihidro-casimiroedina en el medio acuoso. A los 10 minutos, se consumió 80% de la cantidad calculada (para dos equivalentes) y 96.5% a los 35 minutos. Cuando la casimidina se oxidó en las mismas condiciones, se usó el 77.5% del reactivo en 5 minutos y 97% de la cantidad teórica (basada en dos equivalentes) en 30 minutos.

BIBLIOGRAFIA

1. *Inter al*, M. Martínez. *Plantas medicinales de México*. Ediciones Botas, México, D. F., 1944, pp. 326-330; L. Vincent. *Bull. Gen. Therap.* 158, 193 (1909); M. J. Chevalier, *ibid.*, 158 96 (1909).
2. F. B. Power y T. Callan, *J. Chem. Soc.*, 1993 (1911).
3. F. A. Kincl, J. Romo, G. Rosenkranz y F. Sondheimer, *ibid*, 4163 (1956).
4. A. Aebi, *Helv. Chim. Acta*, 39, 1495 (1956).