

2 E. No. 48

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA



EXAMENES PROFESIONALES
FAC. DE QUIMICA

CONSTITUYENTES DE Schkuhria schkuhrioides. ESTRUCTURA
Y ESTEREOQUIMICA DE LA ELEMEN-SCHKUHRIOLIDA

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE;
QUIMICO FARMACEUTICO BILOGO
P R E S E N T A

HILDA YOLANDA HERNANDEZ SEPULVEDA

MEXICO, D. F.

1984



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

CONTENIDO

I.	INTRODUCCION Y ANTECEDENTES	1
II.	PARTE TEORICA	
	(a) Constituyentes de schkuhria schkuhrioides	19
	(b) Estructura de la eleman-schkuhriólida	24
	(c) Estereoquímica de la eleman-schkuhriólida	32
III.	ESPECTROS	43
	IR de la frutescina	43
	RMN ¹ H de la frutescina	44
	IR de la schkuhriólida	45
	RMN ¹ H de la schkuhriólida	46
	IR de la acetyl schkuhriólida	47
	RMN ¹ H de la acetyl schkuhriólida	48
	IR de la eleman-schkuhriólida	49
	UV de la eleman-schkuhriólida	50
	RMN ¹³ C de la eleman-schkuhriólida	51
	RMN ¹ H de la eleman-schkuhriólida	52
	EM de la eleman-schkuhriólida	53
	IR de la acetyl eleman-schkuhriólida	54
	RMN ¹ H de la acetyl eleman-schkuhriólida	55
	EM de la acetyl eleman-schkuhriólida	56
	IR de la dehidro eleman-schkuhriólida	57
	RMN ¹ H de la dehidro eleman-schkuhriólida	58
	EM de la dehidro eleman-schkuhriólida	59
IV.	RESUMEN Y CONCLUSIONES	60
V.	PARTE EXPERIMENTAL	62
VI.	BIBLIOGRAFIA	72

INTRODUCCION

INTRODUCCION

Es indudable que el reino vegetal ha representado una fuente inagotable de recursos para satisfacer las múltiples necesidades del hombre, entre las cuales se encuentran algunas tan esenciales como el prevenir y curar sus enfermedades. Encuestas recientes en países industrializados indican que un alto porcentaje de productos farmacéuticos contienen principios activos provenientes de productos naturales.

Aún cuando se reconocen los beneficios aportados por los medicamentos sintéticos, se ha encontrado que muchos de ellos, aunque eficaces, poseen una toxicidad elevada haciendo de su uso un riesgo potencial, lo que hace que actualmente se acentúe el interés por los fármacos de origen natural.

Resulta conveniente destacar el valor de los compuestos de origen natural en el área de la síntesis de compuestos con actividad terapéutica. Tal es el caso de los productos que sirven de materia prima para la síntesis de las denominadas drogas semisintéticas, como la diosgenina (saponina esteroïdal) que se obtiene del barbasco y se utiliza para la síntesis de la mayoría de las hormonas esteroidales.

Las prostaglandinas, que desempeñan un papel impor-

tante en la regulación de numerosos procesos bioquímicos vitales, tienen alto valor como agentes terapéuticos debido a su gran actividad y a la diversidad de sus efectos fisiológicos como tranquilizantes del sistema nervioso central y agentes hipotensores, entre otros¹. Anteriormente se obtenían del tracto gastro intestinal del tiburón y del esperma de peces del tipo del bacalao y del atún, pero en muy pequeñas cantidades. Actualmente se han encontrado en algas, hongos, helechos y muy abundantemente en el coral de la especie Plexaura homomalla, siendo una fuente importante para su extracción².

Las lactonas sesquiterpénicas son constituyentes característicos de la familia Compositae de la cual se aíslan. Son productos naturales que poseen diferentes actividades biológicas y farmacobiológicas, tales como reguladores del crecimiento vegetal, insecticidas, actividad antitumoral, citotóxica, antimicrobial y alergénica, entre otras. Sin embargo, su uso terapéutico aún se encuentra en fase de investigación³.

En relación a la búsqueda de nuevos agentes medicinales, en muchos países se cuenta con una infraestructura científica y tecnológica que permite el estudio sistemático de productos naturales como fuentes potenciales de drogas. En el caso particular de México, que posee una de las floras más diversas y ricas del mundo, existen importantes perspectivas para el desarrollo de nuevos fármacos y moléculas con diversa actividad biológica.

En general, la selección de fuentes potenciales de medicamentos se realiza con base en numerosos criterios, entre los cuales, por su importancia y posible implantación en nuestro país, caben mencionar los siguientes:

- a) La selección de plantas de reconocido uso popular, incluyendo aquellas consideradas en estudios etnobotánicos. Como es sabido, la medicina popular es rica en información acerca de plantas y otros productos naturales utilizados para combatir las más diversas enfermedades. Aunque esto no implica que cualquier droga de uso folklórico es necesariamente útil, éstas experiencias empíricas han servido en muchos casos para el desarrollo de nuevos medicamentos.

En México aproximadamente el diez por ciento de las plantas son consideradas como medicinales, por lo que ameritan ser investigadas químicamente.

- b) El mundo marino constituye una inmensa fuente potencial de moléculas naturales para uso farmacológico. Recientes investigaciones han demostrado las acciones terapéuticas de toxinas extraídas de organismos marinos cuando son químicamente transformadas o utilizadas en dosis

adecuadas.

Tres de las más importantes toxinas encontradas son:

- La tetrodotoxina (Esquema 1), aislada del pez globo, el cual es un platillo tradicional muy apreciado en Japón. Sin embargo, su consumo puede causar una intoxicación mortal. La toxina actúa básicamente por bloqueo de la transmisión del impulso nervioso y se ha convertido en una sustancia extremadamente útil en investigación neurofisiológica.
- La saxitoxina (Esquema 1), es una toxina que se aisló de el alga microscópica que causa la marea roja.
- La palitoxina (Esquema 1), aislada de un antozoario, cuyas secreciones eran utilizadas por aborígenes del Hawaii para envenenar las puntas de las flechas. Su efecto letal proviene de su potente efecto vaso constrictor. Actualmente se le reconocen importantes propiedades antitumorales¹.

En la actualidad se están realizando diversas investigaciones acerca del uso de recursos naturales como agentes terapéuticos. Sin embargo, la existencia de bibliografía referente al uso de plantas medicinales mexicanas, es limitada.

La información de las civilizaciones prehispánicas solo es parcial y fragmentaria, ya que la mayoría de los códices en que se registró dicha información, fueron destruidos durante la conquista y la colonia.

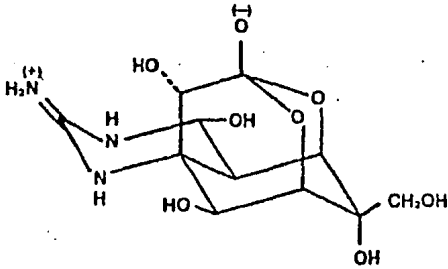
A principios de este siglo se publicó la obra de Maximino Martínez "Las plantas medicinales de México", que contiene la descripción y uso medicinal de numerosas plantas haciendo referencia a diversas obras de autores españoles⁴.

Recientemente se ha publicado un "Índice, Sinonimia y Usos de la Flora Medicinal de México"⁵ y en 1982 el I.M.S.S. publicó una obra análoga⁶.

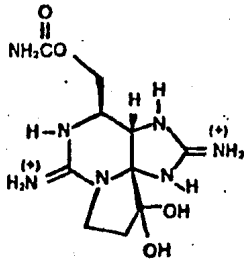
Es evidente la importancia del estudio químico de la cubierta vegetal de nuestro país, ya que constituye un aporte al desarrollo de moléculas con interés biológico y farmacológico. El presente trabajo pretende ser una contribución a este fin.

ESQUEMA 1

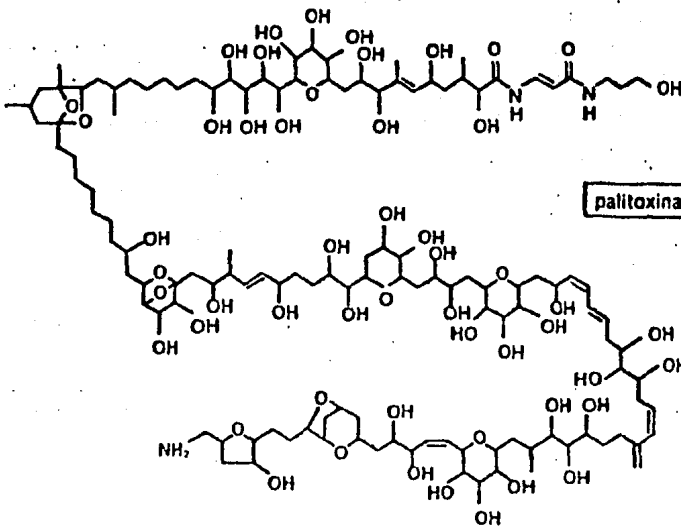
B.



tetrodotoxina



saxitoxina



palitoxina

A N T E C E D E N T E S

ANTECEDENTES

Los productos inicialmente formados en la fotosíntesis son carbohidratos, que transformados por un complejo enzimático producen sustancias simples y de bajo peso molecular como son: aminoácidos, ácidos grasos, etc. Estas sustancias son formadas dentro del proceso metabólico que se describe como primario. Tales sustancias son la materia de partida para la biosíntesis de compuestos complejos específicos, mediante reacciones catalizadas por medio de enzimas y controladas genéticamente. Estos compuestos complejos se forman en el metabolismo secundario de las plantas, no intervienen en forma directa en el metabolismo celular, en la mayoría se desconoce la función que ejercen en los organismos de donde provienen y son reconocidos como metabolitos secundarios⁷. Ejemplo de éstos son las flavonas, los compuestos terpenoides, esteroides, compuestos acetilénicos y lactonas sesquiterpénicas, y son precisamente este tipo de sustancias las que caracterizan a las plantas superiores.

En particular la familia Compositae tiene una gran importancia por su dinámica y complejidad, además de que se localizan en casi cualquier medio ambiente. Por otro lado, es en México donde se localiza la mayor abundancia y varie-

dad de especies.

La familia Compositae tiene aproximadamente 20,000 especies distribuidas en 1,400 géneros que se acomodan en 13 tribus. Una de estas tribus, la Heliantheae se considera la más primitiva de todas, es segunda en tamaño solamente a la Inulae pero es la más diversa ya que la tribu contiene 2,500 especies distribuidas en 150 géneros.

Muchas de las sustancias elaboradas por la familia Compositae son tóxicas o muestran otras actividades fisiológicas significativas; probablemente ésta es una razón del porqué las plantas de ésta familia son raramente usadas en la dieta humana o como alimento para animales⁸.

Las lactonas sesquiterpénicas están ampliamente distribuidas en la familia Compositae, encontrándose principalmente en las partes aéreas de las plantas. Biogénicamente derivan del pirofosfato del trans-trans farnesilo. Tienen la característica que la cadena lateral de isopropilo de los sesquiterpenos se ha modificado formando un anillo de lactona fusionado cis o trans⁹, de ahí el sufijo "ólida" con que se designan. Son sustancias incoloras, relativamente estables y amargas, siendo ésta última característica una probable defensa contra los depredadores. Las lactonas sesquiterpénicas frecuentemente provienen de plantas consideradas como medicinales, por lo que además de su bien conocida actividad citotóxica es posible que posean otro tipo de actividad far-

macológica¹⁰.

Se clasifican en base a su esqueleto hidrocarbonado en diferentes compuestos, los que se muestran en el Esquema 2 junto con sus relaciones biogenéticas¹¹.

El género *Schkuhria* de la familia de las compuestas, es miembro de la tribu Heliantheae y de la subtribu Bahiinae. Está estrechamente relacionada con el género *Bahia*. Incluso anteriormente los botánicos se encontraron con el problema de discernir si colocarlas en el mismo género o separadas, optando por lo último.

El género *Schkuhria* se localiza completamente en América, pero con la excepción de unas pocas especies reportadas en Africa, donde fueron introducidas. En Norteamérica se encuentra desde el sudoeste de los Estados Unidos hasta México y Guatemala y en Sudamérica desde Venezuela hasta Argentina.

El número de especies que se conocen hasta ahora es de seis con algunas variedades y subvariedades¹², las cuales son:

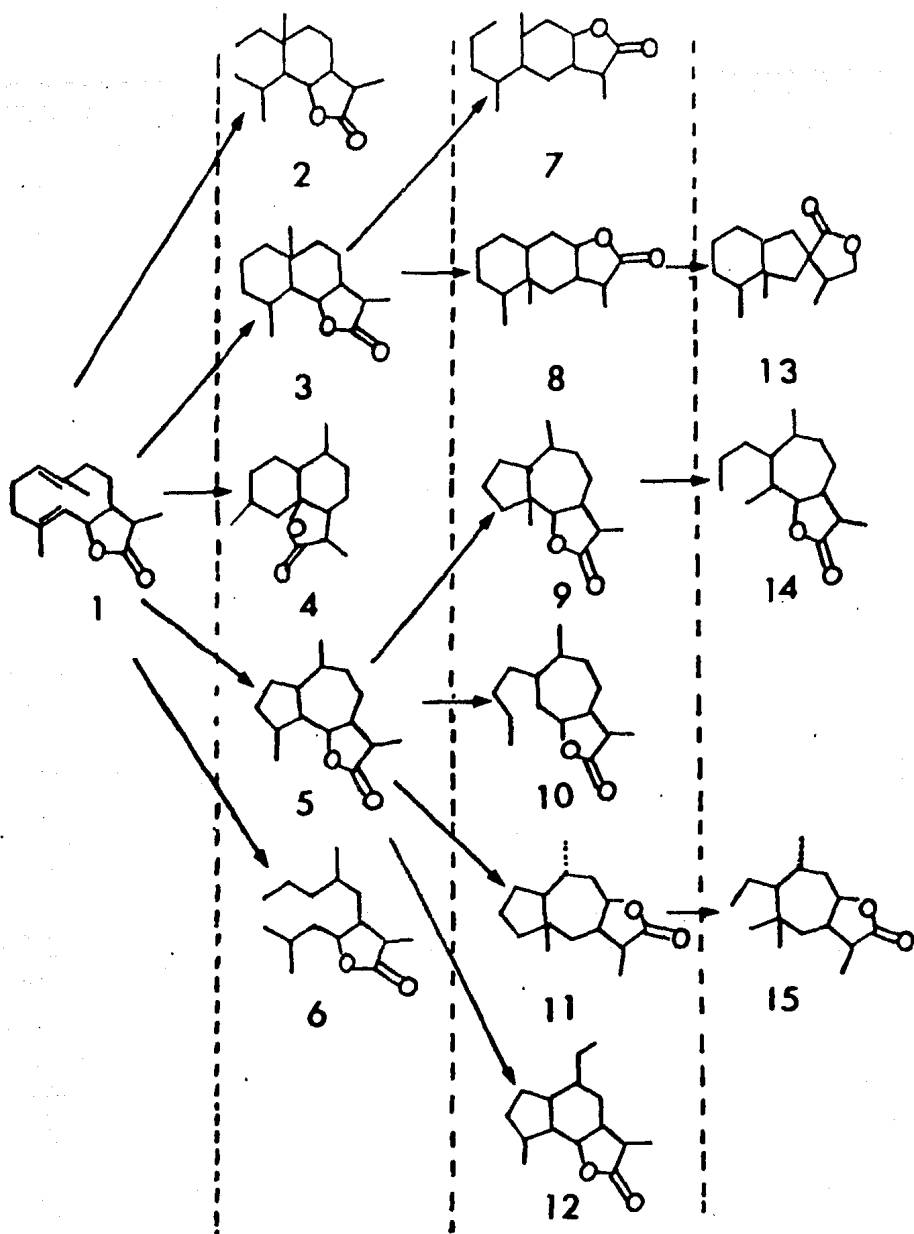
Schkuhria pinnata

S. pinnata var. *octoaristata*.

S. pinnata var. *abrotenoides*

S. pinnata var. *virgata*

S. pinnata var. *virgata* subvar. *pringlei*



Esquema 2. 1. Germacranólidas. 2. Elemenólidas. 3. Eudesmanólidas. 4. Cadinanólidas. 5. Guayanólidas. 6. Seco-germacranólidas. 7. Seco-eudesmanólidas. 8. Eremofilanólidas. -- 9. Ambrosanólidas. 10. Xantanólidas. 11. Helenanólidas. -- 12. Crymoranólidas. 13. Bakkenólidas. 14. Seco-ambrosanólidas. 15. Seco-helenanólidas.

- S. anthemoidea*
- S. anthemoidea* var. *guatemalensis*
- S. anthemoidea* var. *wislizenii*
- S. anthemoidea* var. *wislizenii* subvar. *flava*
- S. multiflora* var. *pusilla*
- S. degenerica*
- S. schkuhrioides*
- S. greenmanii*

Los trabajos fitoquímicos de *Schkuhria* son relativamente recientes y las especies analizadas con los resultados correspondientes se encuentran enlistados en la Tabla 1.

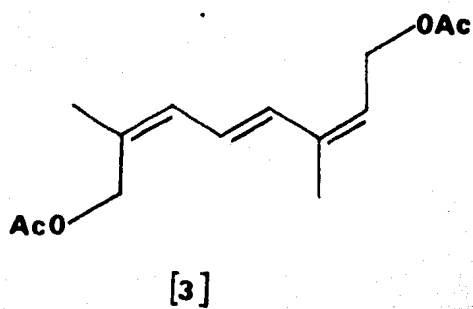
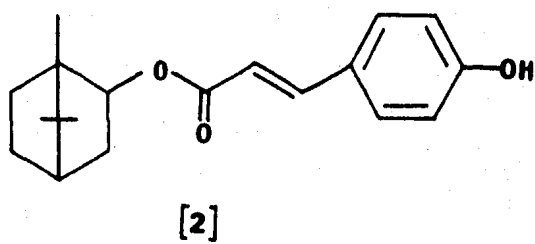
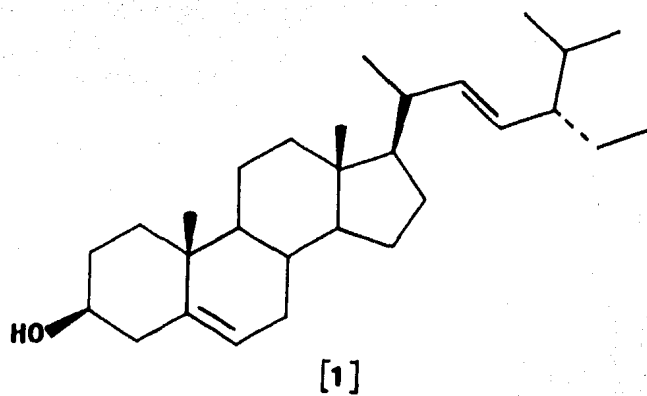
Tabla 1

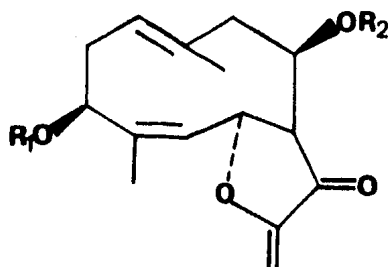
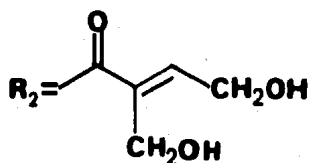
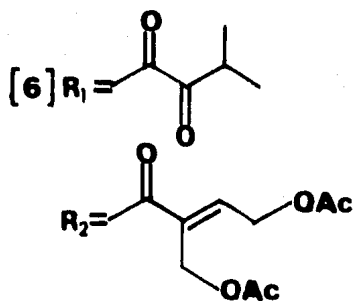
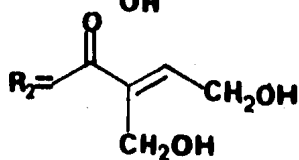
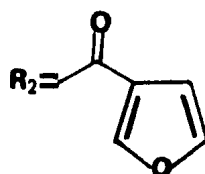
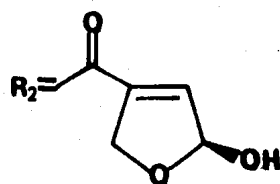
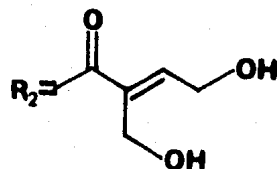
<u>Especie</u>	<u>Distribución Geográfica</u>	<u>Compuesto</u>	<u>Referencia</u>
<i>Schkuhria pinnata</i>	Ecuador, Chile y Argentina	Hidrocarburos	13
<i>S. pinnata</i>	Ecuador, Chile y Argentina	Estigmasterol (1)	14
<i>S. senecioides</i> (<i>Sin. S. Schkuhrioides</i>)	Centro y Sur de México	-compuestos acetilénicos -Ester del borneol (2) -derivado del dehidroneol (3)	15
<i>S. pinnata</i>	Ecuador, Chile y Argentina	Heliangólidas (4 y 5)	16
<i>S. schkuhrioides</i>	Centro y Sur de México	Schkuhriólida (8)	17
<i>S. virgata</i> (<i>sin. s. anthemioidea</i>)	Guatemala y El Salvador	Eucanabinólida (4)	18
<i>S. multiflora</i>	E.U., México y Sudamérica	-compuestos acetilénicos -acetoschkuhriadiol (9) -cicloschkuhriadiol (10)	19
<i>S. pinnata</i>	Ecuador, Chile y Argentina	Bendióxido (11)	20
<i>S. pinnata</i>	Ecuador, Chile y Argentina	Heliangólida (6)	21
<i>S. schkuhrioides</i>	Centro y Sur de México	11,13 dehidroeriolina (12) Schkuhriólida (8) Schkuhrioidina (13)	22
<i>S. anthemioidea</i>	Desde Arizona hasta Sureste de México	(7a), (20) (7b), (7c),	23
<i>S. schkuhrioides</i>	Centro y Sureste de México	Frutescina (17) Schkuhriólida (8) Elemanschkuhriólida (18)	Presente Trabajo

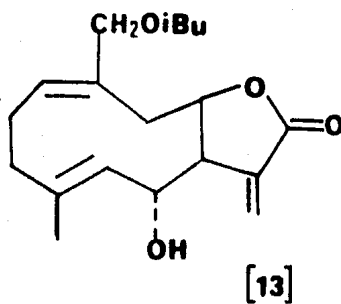
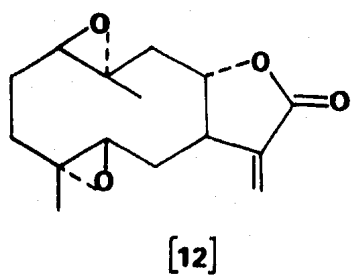
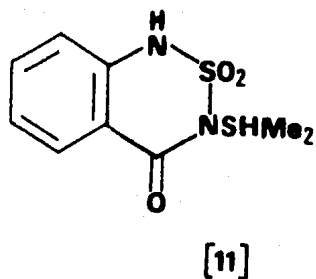
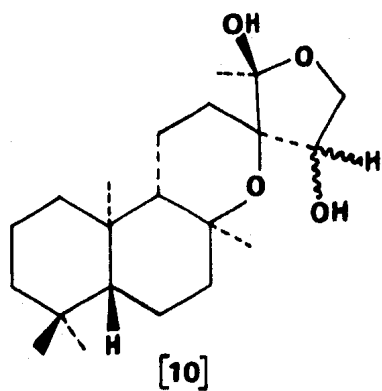
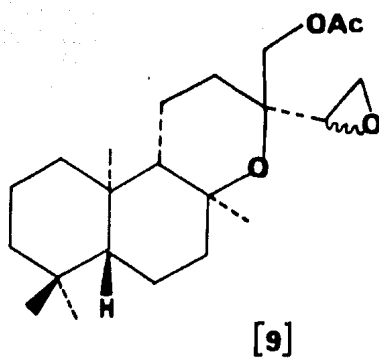
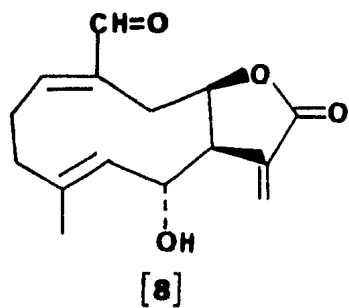
Como se observa, de algunas especies se han aislado diterpenos policíclicos¹⁹ y compuestos acetilénicos, mientras que de otras se han aislado lactonas sesquiterpénicas heliangólidas^{16,21}, melampólidas¹⁷, germacrólidas¹⁷ y elemanólidas (presente trabajo).

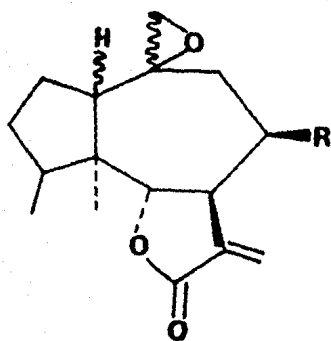
Del género *Bahia* que está estrechamente relacionada filogenéticamente con el género *schkuhria*, se han estudiado tres especies, la *Bahia pringlei* de la cual se aislaron la Bahía I (14) y la Bahía II (15)²⁴, de la *B. woodhousei* se obtuvo la woodhousina (19)²⁵ y finalmente de *B. oppositifolia* se aisló la Bahifolina (16)²⁶.

Del género *schkuhria* se han aislado germacranólidas y elemanólidas, del género *Bahia* se han aislado guayanólidas y furanogermacranólidas. Esta diferencia de sustancias encontradas apoyan la separación taxonómica de ambos géneros.

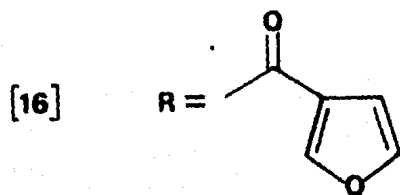
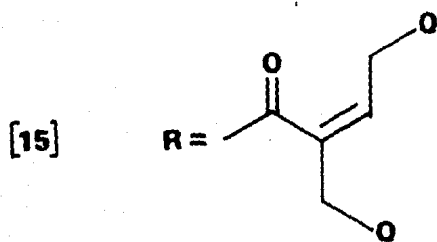


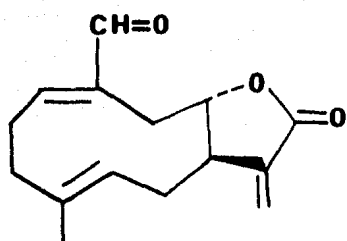
[4] $R_1 = Ac$ [5] $R_1 =$ [7a] $R_1 = Ac$ [7b] $R_1 = Ac$ [7c] $R_1 = Ac$ 



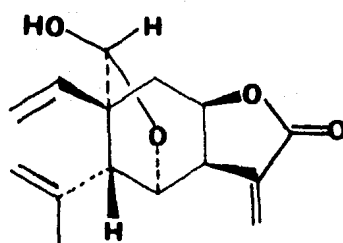


[14] R = OH

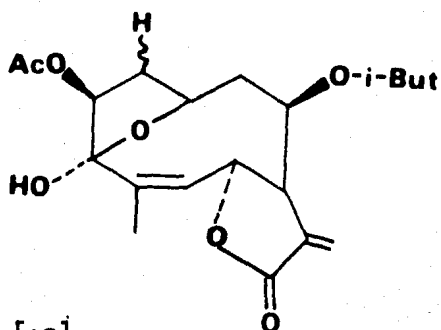




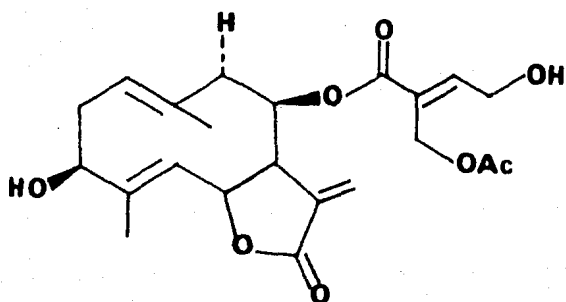
[17]



[18]



[19]



[20]

PARTE TEORICA

PARTE TEORICA

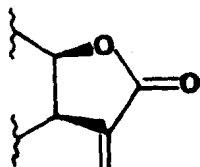
(a) Constituyentes de Schkuhria schkuhrioides.

Del extracto clorofórmico de la parte aérea de *Schkuhria schkuhrioides* se aislaron tres lactonas sesquiterpénicas de las cuales, las dos primeras son sustancias previamente descritas y la tercera es una nueva sustancia cuya estructura y estereoquímica será discutida en detalle posteriormente.

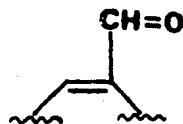
El primer producto aislado de las fracciones menos polares de la cromatografía, fue un compuesto cristalino con p.f. de 155-158° que mostró el IR (espectro 1) bandas de carbonilo de γ -lactona en 1765 cm^{-1} y de carbonilo de aldehído α , β insaturado en 1685 y 1640 cm^{-1} .

El espectro de RMP (espectro 2) muestra señales típicas para los protones vinílicos de una α -metilén γ -lactona a 6.18 y 5.22 ppm. El doblete ($J=0.8$ Hz) que integra para un protón y aparece en 9.47 ppm corresponde al protón aldehídico. En 6.66 ppm se observa un triplete ancho ($J=8$ Hz) que por su desplazamiento químico debe ser asignado al protón vinílico (C-1) β al carbonilo del aldehído. El multiplete en 3.93 ppm que integra para un protón se asigna al protón geminal al oxígeno etéreo de la lactona.

El compuesto posee una fórmula molecular de $C_{15}H_{18}O_3$ (EM: M^+ m/z 246) e indica que la molécula tiene 7 insaturaciones de las cuales 3 se deben a la γ -lactona α, β insaturada, y 2 a un aldehído α, β insaturado, como se muestra en las fórmulas parciales A y B.



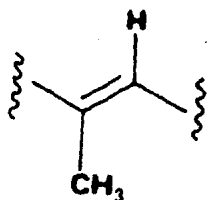
A



B

Otra de las insaturaciones correspondería al macrociclo que forma el esqueleto de la germacranólida. Hasta aquí sólo se han determinado 6 insaturaciones. Las germacranólidas se caracterizan por un esqueleto de ciclodecadieno con dobles enlaces en la posición C-1 (10) y C-4 (5)²⁷, por lo que la insaturación restante corresponde a un doble enlace. La posición de esta última doble ligadura se establece por el espectro de RMP, donde se observa en la región de los protones vinílicos una señal compleja en 5.05 ppm y un doblete que aparece en 1.69 ppm y que corresponde a un grupo metilo sobre un doble

enlace (fórmula parcial C), así la insaturación restante debe estar en C-4 (5).



Fórmula Parcial C

Los datos antes descritos nos permiten postular una estructura de una germacranólida (Fig. 1) aún sin la estereoquímica.

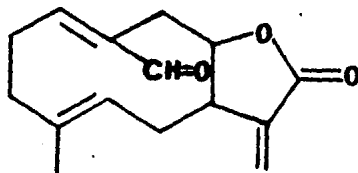
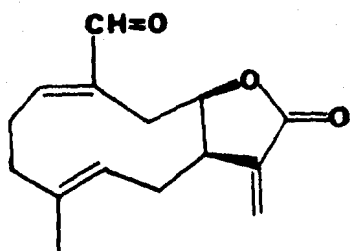
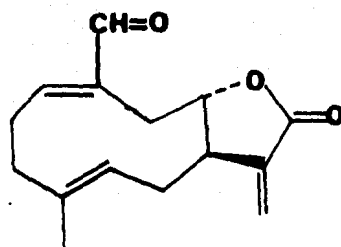


Figura 1

Las propiedades físicas y espectroscópicas obtenidas de este compuesto concuerdan con las reportadas en la literatura para la lactona sesquiterpénica frutescina (I). Esta molécula fue aislada previamente de *Iva frutescens* y se le asigna un esqueleto de melampólida (cis 1 (10), trans 4 (5) germacranólida) de acuerdo a sus características espectroscópicas y una fusión cis del anillo de la lactona basada en la regla de Samek^{28, 29}. Sin embargo, en una publicación más reciente³⁰, se corrige la stereoquímica del anillo de la lactona a trans (II), de acuerdo a la misma regla de Samek modificada³¹ y al análisis cristalográfico de la frutescina.



(I)



(II)

La comparación directa con una muestra auténtica confirma que la frutescina, aislada de *Iva frutescens*, es idéntica a la lactona sesquiterpénica aislada de *Schkuhria schkuhrioides*³².

También de las fracciones menos polares de la cromatografía se aisló, como un aceite, una sustancia que presenta una γ -lactona, una función hidroxilo y dobles enlaces, de acuerdo a su espectro de infrarrojo. El estudio de esta molécula aún continúa, por lo cual, su estructura no se discutirá en el presente trabajo.

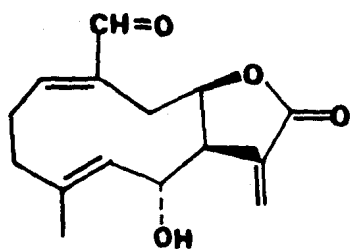
De las fracciones de polaridad intermedia se aisló un sólido cristalino de p.f. 160-163° cuya fórmula molecular es de $C_{15}H_{18}O_4$. En el espectro de IR (espectro 3) se observa una banda ancha en 3500 cm^{-1} que corresponde a un grupo hidroxilo; en 1760 cm^{-1} una banda que representa al carbonilo de una γ -lactona; en 1680 cm^{-1} carbonilo de aldehído insaturado y en 1660 cm^{-1} se observan absorciones correspondientes a dobles ligaduras.

En el espectro de RMP (espectro 4) se observa un par de dobletes, uno en 6.22 y el otro en 5.78 ppm que son característicos de los protones vinílicos del metileno exocíclico conjugado con el carbonilo de la γ -lactona. La señal dobleteada $J=2\text{ Hz}$ que se observa en 9.40 ppm corresponde al protón del aldehído en C-14. Por otro lado, el protón H-8 base de la lactona se localiza en 5.46 ppm como un multiplete. El protón base del alcohol aparece como un triplete en 3.99 ppm y corresponde a H-6. El multiplete que se observa en 6.65 ppm y que integra para un protón se asigna a H-1. Centrado en 2.54 ppm aparece un multiplete que integra para un protón

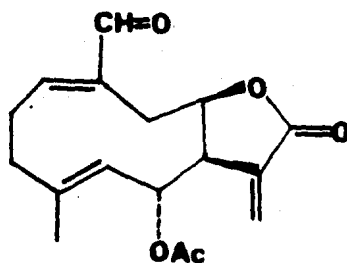
y corresponde a H-7 el cual se acopla con los protones vinílicos del metileno exocíclico de la lactona. La señal intensa que aparece a campo alto en 1.81 ppm se debe al metilo vinílico en C-4.

La sustancia se identificó como Schkuhriólida (III), que se utilizó como referencia en las cromatografías en placa fina (véase la parte experimental). Esta sustancia fue aislada anteriormente de una población recolectada en el estado de Jalisco²².

La obtención del derivado acetilado (IV) presenta datos físicos y espectroscópicos idénticos con los reportados, confirmándose la identidad de la sustancia.



(III)



(IV)

(b) Estructura de la Eleman-schkuhriólida.

El tercer compuesto aislado, también de las fracciones de polaridad intermedia, es una nueva lactona sesquiterpénica cuya elucidación estructural se discutirá detallada-

mente a continuación.

Es un sólido amorfo, con p.f. de 125-128°, fórmula molecular de $C_{15}H_{18}O_4$, PM=262, establecido por espectrometría de masas $[\alpha]_D^{25} = + 123.06^\circ$ (C=0.116, MeOH).

En su espectro de IR (espectro 7) se observa una banda en 3420 cm^{-1} correspondiente a grupo hidroxilo, en 1770 cm^{-1} banda de carbonilo de γ -lactona α, β insaturada, 1665 cm^{-1} y 920 cm^{-1} , bandas de dobles enlaces. El espectro de U.V. (espectro 8) presenta una absorción máxima a 218 nm (ϵ 8130) que corrobora la presencia de la γ -lactona α, β insaturada.

En el espectro de ^{13}C RMN (espectro 9) aparecen 15 señales que se muestran en la Tabla 2 indicando su desplazamiento, multiplicidad y fórmulas parciales correspondientes. La señal del carbón del carbonilo (δ 170.16) corresponde a la γ -lactona (IR: 1760 cm^{-1}). Por otro lado, de los restantes tres carbonos unidos a oxígeno, uno debe corresponder a la base de la γ -lactona y otro a la base del alcohol (IR: 3420 cm^{-1}). Las señales de los carbonos vinílicos tomados en conjunto con las señales de los carbonos saturados indican claramente la presencia de un esqueleto de divinil ciclohexano (Fig. 2) siendo éste característico de las elemanólidas³³.

TABLA 2

Desplazamientos, Multiplicidad y Formulas parciales de las señales que aparecen en el Espectro de ^{13}C RMN (Espectro 7)

	MULTIPLICIDAD	FORMULAS PARCIALES
170.16	s	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \\ -\text{C}- \end{array}$
137.44	d	$\begin{array}{c} \text{H} \blacksquare \\ \quad \\ \text{H}-\text{C}=\text{C}-\text{H} \end{array}$
115.96	t	
113.98	t	$2 \begin{array}{c} \blacksquare \quad \text{H} \\ \quad \\ \blacksquare-\text{C}=\text{C}-\text{H} \end{array}$
143.47	s	
136.61	s	
122.47	t	
81.25	d	$2 \begin{array}{c} \text{O} \\ \\ \blacksquare-\text{C}-\blacksquare \\ \\ \text{H} \end{array}$
75.21	d	
101.70	d	$\begin{array}{c} \text{O}- \\ \diagup \\ \text{H}-\text{C} \\ \diagdown \\ \text{O}- \end{array}$
24.96	c	$\blacksquare-\text{CH}_3$
38.56	t	$\blacksquare-\text{CH}_2-\blacksquare$
56.56	d	$2 \begin{array}{c} \blacksquare \\ \\ \blacksquare-\text{CH}-\blacksquare \end{array}$
46.55		
50.53	s	$\begin{array}{c} \blacksquare \\ \\ \blacksquare-\text{C}-\blacksquare \\ \\ \blacksquare \end{array}$

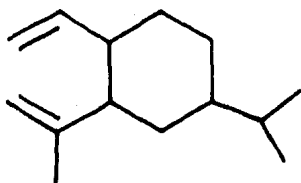


Figura 2

En el espectro de RMP (espectro 10) se observan los dos dobletes característicos de los protones del metileno exo cíclico conjugado con la lactona (IR) H-13 y H-13' (Fig. 3) centrados a campo bajo en 6.31 y 5.50 ppm.

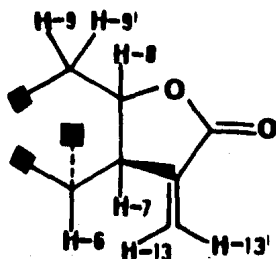


Figura 3

El multiplete que aparece en 3.61 ppm se asigna al protón H-7 el cual se encuentra acoplado con H-13 y H-13', H-6 y H-8; éste último, a su vez, se observa como un multiplete (ddd $J=9, 8$ y 7 Hz) centrado en 5.22 ppm por lo que debe tener acoplamiento con dos protones vecinos que deben ser H-9 y H-9'. Las señales de estos dos protones se localizan a campo alto en 2.76 y 2.43 respectivamente, cada uno como un doblete de doblete y corresponden a la parte A B del sistema A B X que forman los protones H-9, H-9' y H-8. La señal que se asigna para H-6 se observa

como un doblete ($J=3.8$ Hz) centrado en 4.39 ppm. En la región de los protones vinílicos se observa una señal doble de doble ($J=10$ y 18 Hz) centrada en 5.78 ppm y que integra para un protón, la cual corresponde a H-1. El desplazamiento a campo bajo del singulete que aparece en 5.48 ppm, y que integra un protón, indica que se trata del protón base del alcohol des protegido por un grupo electronegativo por lo que se asigna inicialmente a H-14. La señal doble de doble que se observa en 1.74 ppm que integra para tres protones ($J=1.4$ y 0.8 Hz) co rresponde al grupo metilo vinílico C-15.

Con todos los datos discutidos hasta este momento, podemos inferir que la estructura de la molécula es como la que se muestra en la Fig. 4.

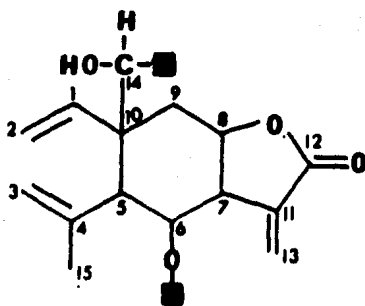


Figura 4

Para confirmar la disposición de los protones del ciclohexano se llevaron a cabo experimentos de doble resonan-

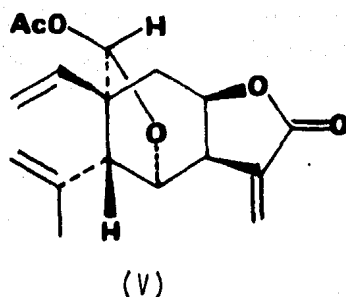
cia en RMN (espectro 10). La irradiación a la frecuencia de H-7 (3.61 ppm) colapsa a singuletes los dobletes correspondientes a los protones vinílicos conjugados con la lactona H-13 y H-13', así mismo se simplifica el multiplete centrado en 5.22 ppm y el doblete centrado en 4.39 ppm que corresponden a H-8 y H-6 respectivamente; éste último aparece ahora como un singulete al desaparecer su acoplamiento vecinal con H-7, lo que indica que no presenta acoplamiento con H-5. Opuestamente, al irradiar en la frecuencia de H-8 colapsan dos dobletes de dobletes anchos centrados en 2.76 y 1.57 ppm a dobletes, cuya apariencia indica que los protones están en acoplamiento geminal (sistema AB, $J=14.9$ Hz) los que deben ser H-9 y H-9'. También se simplificó el multiplete centrado en 3.61 ppm correspondiente a H-7.

Por otro lado, en el espectro de ^{13}C RMN se observan, como se había mencionado, tres señales que indican la presencia de 2 carbonos unidos a oxígeno ($\delta=81.25$ y $\delta=75.21$) de los cuales uno de ellos corresponde al C-8 que es el que está unido a la lactona, y la de un carbono unido a dos oxígenos ($\delta=101.70$). Para justificar la presencia de éste último y del otro carbono unido a oxígeno se sugiere la existencia de un γ -lactol unido a C-14 y cerrado en C-6 tomando como base el hecho de que el C-14 en el espectro de ^{13}C RMN se encuentra desplazado a campo bajo (101.70 ppm) lo que indica la influencia de dos oxígenos, siendo este caso el del alcohol

y el del oxígeno etéreo.

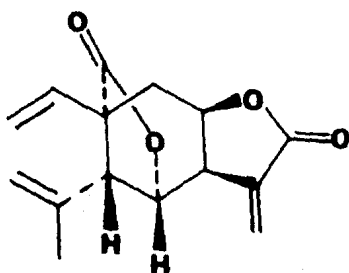
La presencia del γ -lactol se confirmó por medio de una reacción de acetilación y otra de oxidación de la molécula.

Por acetilación (anhídrido acético, piridina) se obtuvo el derivado (V) en cuyo espectro de IR (espectro 12) se observa que desaparece la banda ancha en 3420 cm^{-1} del grupo oxhidrilo. Su espectro de RMP (espectro 13), muestra un desplazamiento a campo más bajo (6.22 ppm) del singulete asignado a H-14, el cuál sufre la desprotección ejercida por el carbonilo del acetato.



En la reacción de oxidación (Jones) se obtiene como producto una dilactona (VI), confirmada su presencia por el espectro de IR (espectro 15) en donde desaparece la banda de grupo hidroxilo y la señal en 1770 cm^{-1} se intensifica

debido a las dos lactonas. En el espectro de RMP (espectro 16) desaparece la señal correspondiente a H-14 por la formación del carbonilo, y la señal del protón H-5 aparece desplazado ligeramente a campo más bajo (2.82 ppm $\Delta\delta=0.39$).



(VI)

Lo anteriormente expuesto nos permite presentar la fórmula completa, excluyendo la estereoquímica, de la nueva lactona sesquiterpénica, a la cual denominaremos elemanschku hriólida, como se muestra en la Fig. 5.

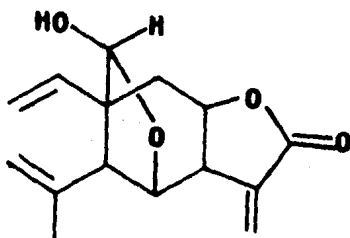


Figura 5

(c) Estereoquímica de la Eleman-schkuhriólida.

Para determinar la estereoquímica de la molécula, se analizarán varios modelos esteroisoméricos y en base a las constantes de acoplamiento, se escogerá aquel en que los valores de ángulos dihedros teóricos concuerden con los valores observados.

La molécula posee seis centros quirales (señalados en la Fig. 6), por lo tanto, los esteroisómeros posibles son 64 ($2^6=64$).

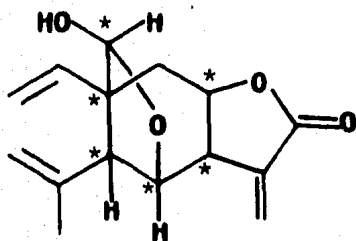


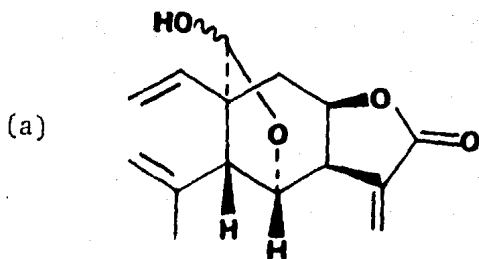
Fig. 6

Con el fin de reducir al mínimo la cantidad de esteroisómeros posibles haremos las siguientes consideraciones: Por razones biogénicas, todas las lactonas sesquiterpénicas aisladas de plantas superiores poseen el sustituyente en C-7 en posición β^3 . De manera análoga, por razones de la geome

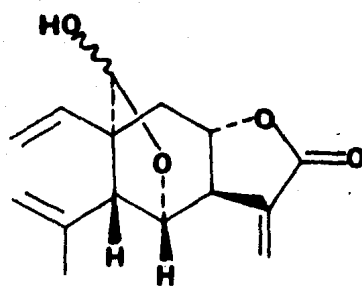
tría molecular C-14 y H-6 siempre están en posición trans, formando en este caso, ya sea un lactol α ó un lactol β y en consecuencia al determinar la estereoquímica del lactol, simultáneamente se determinará la estereoquímica en C-10, C-5 y C-6; por consiguiente, estos tres centros asimétricos interrelacionados pueden considerarse un solo centro quiral.

Omitiendo por el momento la estereoquímica de C-14, sólo queda el equivalente a los centros quirales (C-8 y C-5, -6 y -10) y por ende cuatro estereoisómeros posibles que son:

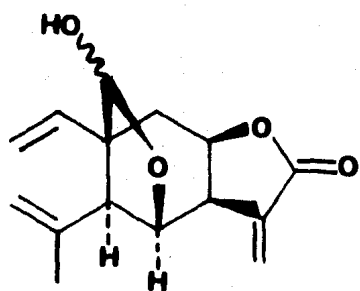
- a) γ -lactol α , γ -lactona cis
- b) γ -lactol α , γ -lactona trans
- c) γ -lactol β , γ -lactona cis
- d) γ -lactol β , γ -lactona trans



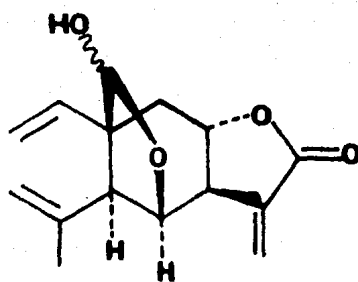
(b)



(c)

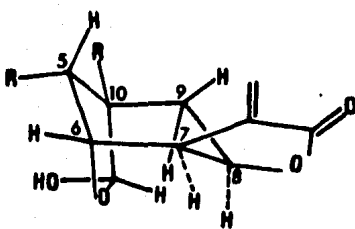


(d)



En la Tabla 3 se muestran las constantes de acoplamiento teóricas para cada estereoisómero, calculadas en base a la ecuación de Karplus³⁵ y las encontradas experimentalmente.

En el modelo (a).- La molécula tiene cierta libertad conformacional, el ángulo entre H-5 y H-6 es aproximadamente de 85° por lo cual se espera una $J \sim 0$; ésta concuerda con la obtenida, pudiéndose ver en el espectro de RMP que al irradiar H-7 en 3.61 ppm, el doblete de H-6 en 4.39 ppm se colapsa a singulete confirmando que no presenta acoplamiento con H-5. Por otro lado, los ángulos entre H-6 - H-7, H-7 - H-8, H-8 - H-9 y H-8 - H-9' calculados se aproximan bastante a los encontrados experimentalmente (véase la Tabla 3).



Modelo (b).- La molécula no tiene tanta libertad conformacional y la lactona se encuentra relativamente tensionada. La constante de acoplamiento calculada para los proto-

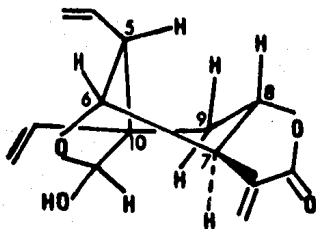
TABLA 3

Constantes de acoplamiento calculadas y experimentales de los esteroisómeros posibles de la eleman-schkuhriólida.

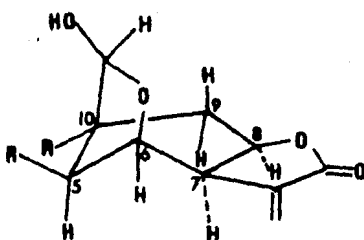
MODELO	ANGULOS	J CALCULADA (KARPLUS) en Hz	J EXPERIMENTAL en Hz
(a)	H-5 - H-6 = 85°	0.20	0
γ-lactol α	H-6 - H-7 = 60°	3.0	3.8
γ-lactona <u>cis</u>	H-7 - H-8 = 20°	8.8	9
	H-8 - H-9 = 140°	9.0	8
	H-8 - H-9' = 30°	7.45	7
(b)	H-5 - H-6 = 80°	0.23	0
γ-lactol α	H-6 - H-7 = 117°	2.8	3.8
γ-lactona <u>trans</u>	H-7 - H-8 = 170°	15.8	9
	H-8 - H-9 = 50°	4.2	8
	H-8 - H-9' = 180°	16.0	7
(c)	H-5 - H-6 = 80°	0.30	0
γ-lactol β	H-6 - H-7 = 45°	5.0	3.8
γ-lactona <u>cis</u>	H-7 - H-8 = 25°	8.0	9
	H-8 - H-9 = 90°	0.0	8
	H-8 - H-9' = 30°	7.45	7
(d)	H-5 - H-6 = 80°	0.23	0
γ-lactol β	H-6 - H-7 = 70°	1.2	3.8
γ-lactona <u>trans</u>	H-7 - H-8 = 170°	15.8	9
	H-8 - H-9 = 60°	3.0	8
	H-8 - H-9' = 180°	16.0	7

nes H-5 y H-6 es ≈ 0 correspondiendo al valor observado, sin embargo, la constante de acoplamiento calculado para H-6 y H-7 que forman un ángulo de 117° sería de 2.8 Hz y no concuerda con la experimental que es de 3.8 Hz.

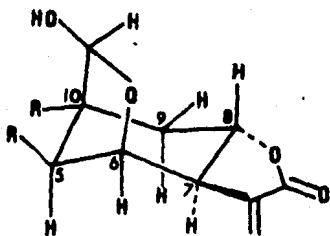
Así mismo, H-7 - H-8 presentan una constante de acoplamiento teórica muy grande (15.8 Hz) la cual no corresponde con la real que es más pequeña (9 Hz). Las constantes de acoplamiento de H-8 - H-9 y H-8 - H-9' calculadas también difieren de las observadas.



Modelo (c).- En este caso la molécula tiene cierta libertad conformacional y las constantes de acoplamiento calculadas para H-5 - H-6, H-7 - H-8 y H-8, H-9' se aproximan a los valores observados, pero el ángulo entre los protones H-6 y H-7 que es de 45° debería de tener una constante de acoplamiento de 5.0 Hz, y no corresponde con la observada que es de 3.8 Hz. De igual manera tampoco concuerdan los valores de H-8 - H-9.



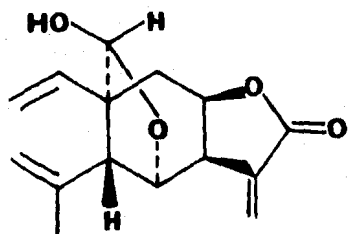
Modelo (d).- El anillo de la lactona se encuentra muy tensionado. A excepción del ángulo entre H-5 y H-6 (0.23 Hz), las constantes de acoplamiento calculadas para los ángulos de H-6 - H-7 (1.2 Hz), H-7 - H-8 (15.8 Hz), H-8 - H-9 (3 Hz) y H-8 - H-9' (16.0 Hz) no concuerdan con las constantes de acoplamiento observadas



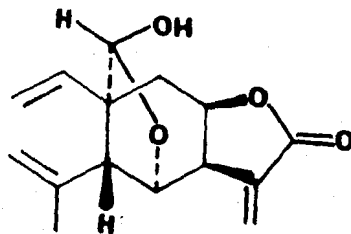
Por lo tanto, el modelo que corresponde a esta nueva lactona sesquiterpénica es el (a), confirmándose por las siguientes observaciones: La constante de acoplamiento entre H-7 - H-13 y H-13' es de 3.5 Hz que de acuerdo a la regla de

Samek recientemente reformulada³⁰, corresponde a un cis- γ -lactona unida a un anillo de ciclohexano. Todos los datos calculados para este modelo corresponden con los datos experimentales. Por lo que ésta molécula pertenece a la serie poco usual de C-14 α , H-5 β elemanólicas.

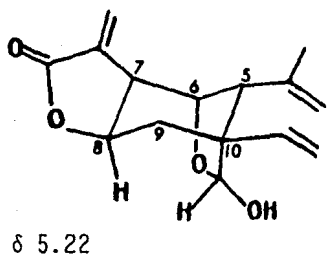
El único centro quiral que queda por determinar es C-14 ya que la posición del OH puede ser exo como se muestra en VII-A ó endo como se muestra en VII-B.



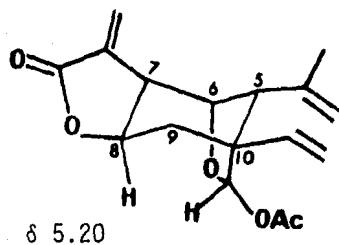
VII-A



VII-B



(a)



(V)

La constancia del desplazamiento químico de H-8 en la eleman-schkuhriólida (a) $\delta=5.22$ y en el acetyl derivado (V) $\delta=5.20$ indican la orientación exo de la función oxigenada en C-14³⁶.

La estructura y estereoquímica de la eleman-schkuhriólida queda entonces representada en VII-A.

La comprobación de la estructura y estereoquímica de la molécula se llevó a cabo por difracción de rayos X del dehidro derivado (VI) cuyo dibujo estereoscópico se muestra en (VIII). Se observa que concuerda con la estructura y estereoquímica deducida por métodos espectroscópicos.

En la literatura se ha sugerido que las elemanólidas aisladas de plantas son artefactos que se forman de las geracranólidas mediante un rearrreglo de Cope durante el proceso de aislamiento³³. Sin embargo, se ha visto que el tratamiento térmico de la schkuhriólida (III) a 200° durante 10 min. produce la eleman-schkuhriólida pero en un rendimiento muy bajo que no es comparable al que se obtiene por extracción directa de la planta. Además, durante el proceso de aislamiento nunca se alcanza esa temperatura.

Por otro lado, la schkuhriólida que es el precursor biogénico de la eleman-schkuhriólida, se mezcló bajo diversas condiciones con sílice en diferentes disolventes (véase parte experimental); los resultados obtenidos, junto con

las razones antes expuestas apoyan el hecho de que la eleman-
schkuhriólida es un producto natural y no un artefacto.

VIII

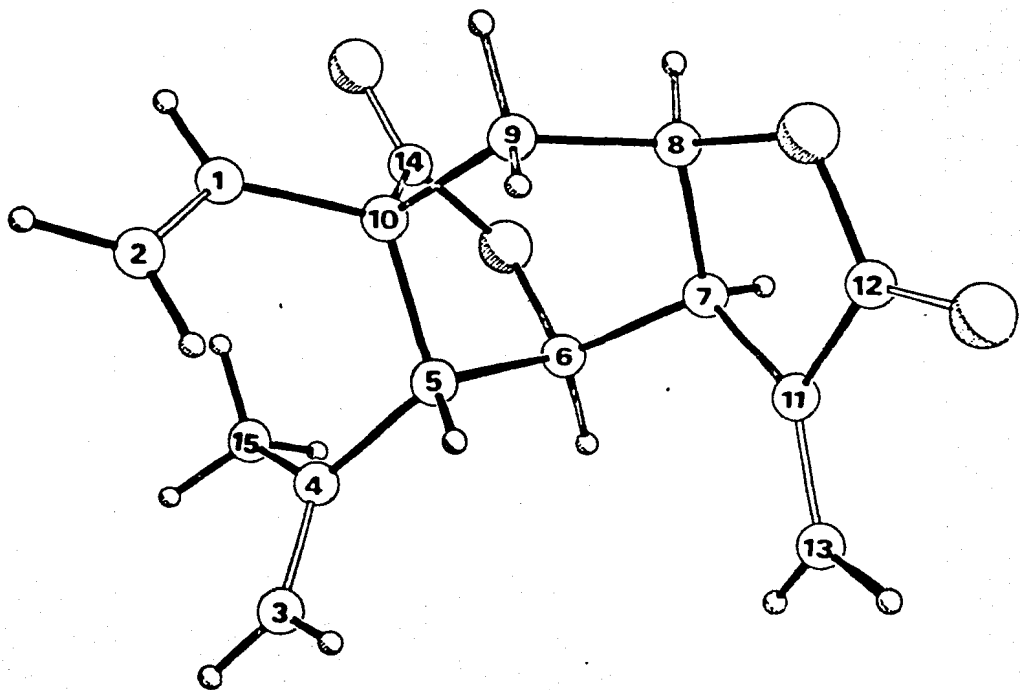


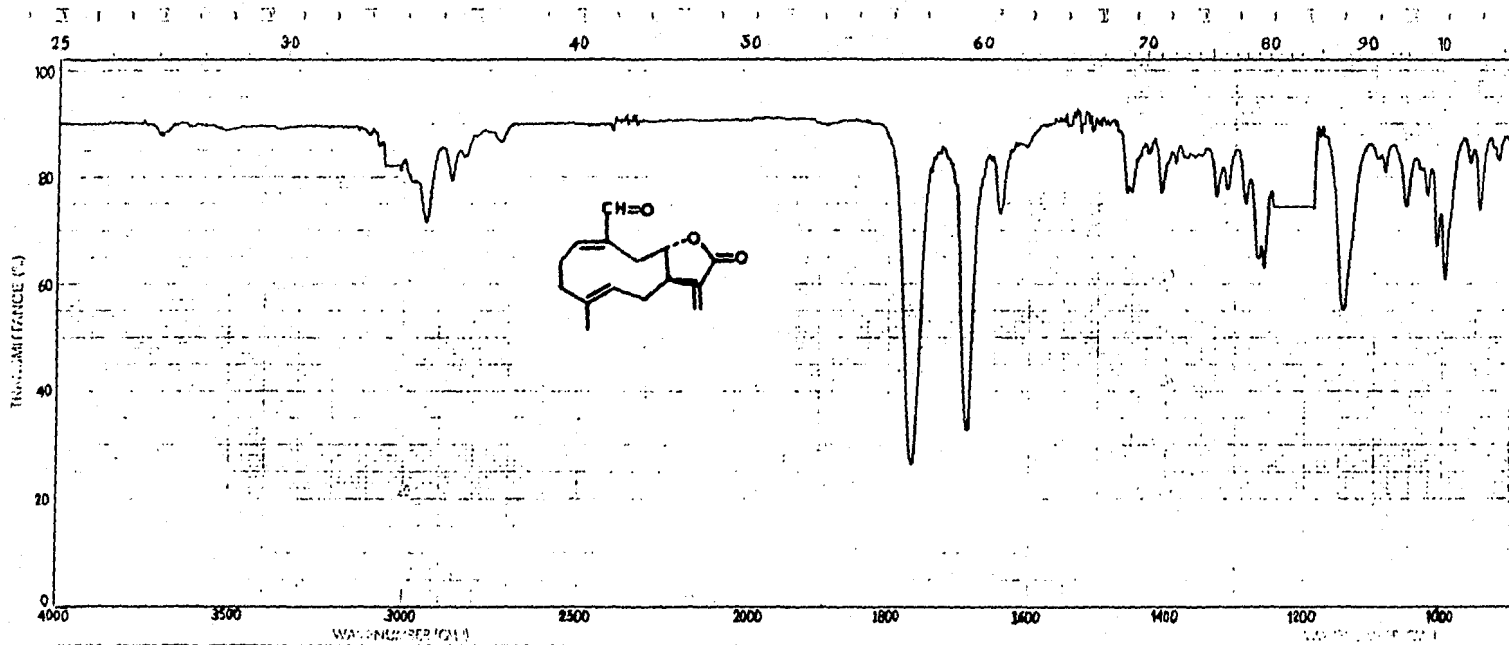
TABLA 4

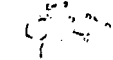
Asignaciones de ^{13}C para eleman-schkuhriólida

#C	δ ppm	multiplicidad
1	137.44	d
2	115.96	t
3	113.98	t
4	143.47	s
5	56.56	d
6	81.25	d
7	46.55	d
8	75.21	d
9	38.56	t
10	50.53	s
11	136.61	d
12	170.16	s
13	122.47	t
14	101.70	d
15	24.96	c

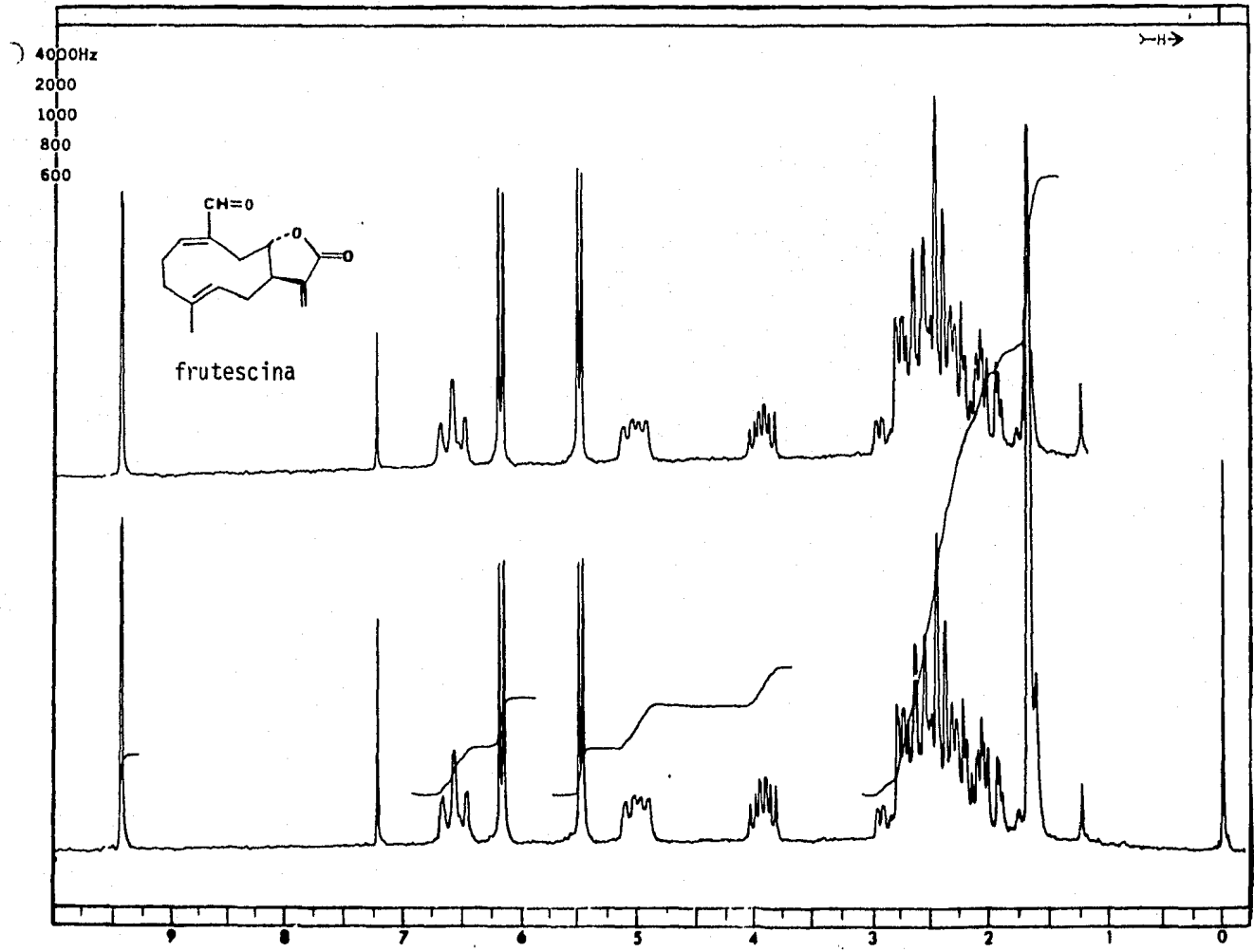
ESPECTROS

ESPECTRO 1

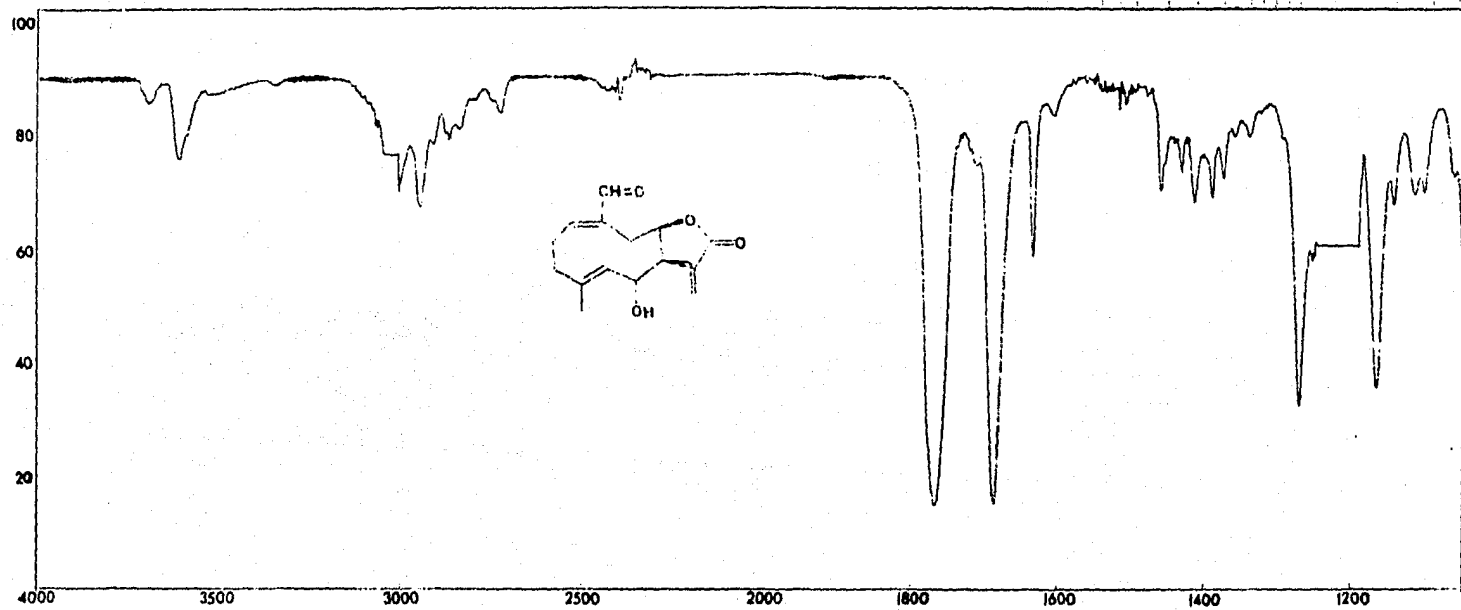


NAME <i>1217</i> STRUCTURE  OTHER <i>6 DOLINS</i>	SOLVENT <i>CHCl₃</i> CONCENTRATION <i>5mg/ml</i> CELL PATH <i>NaCl</i> SAMPLE <i>6126</i>	PDAMMS
--	--	--------

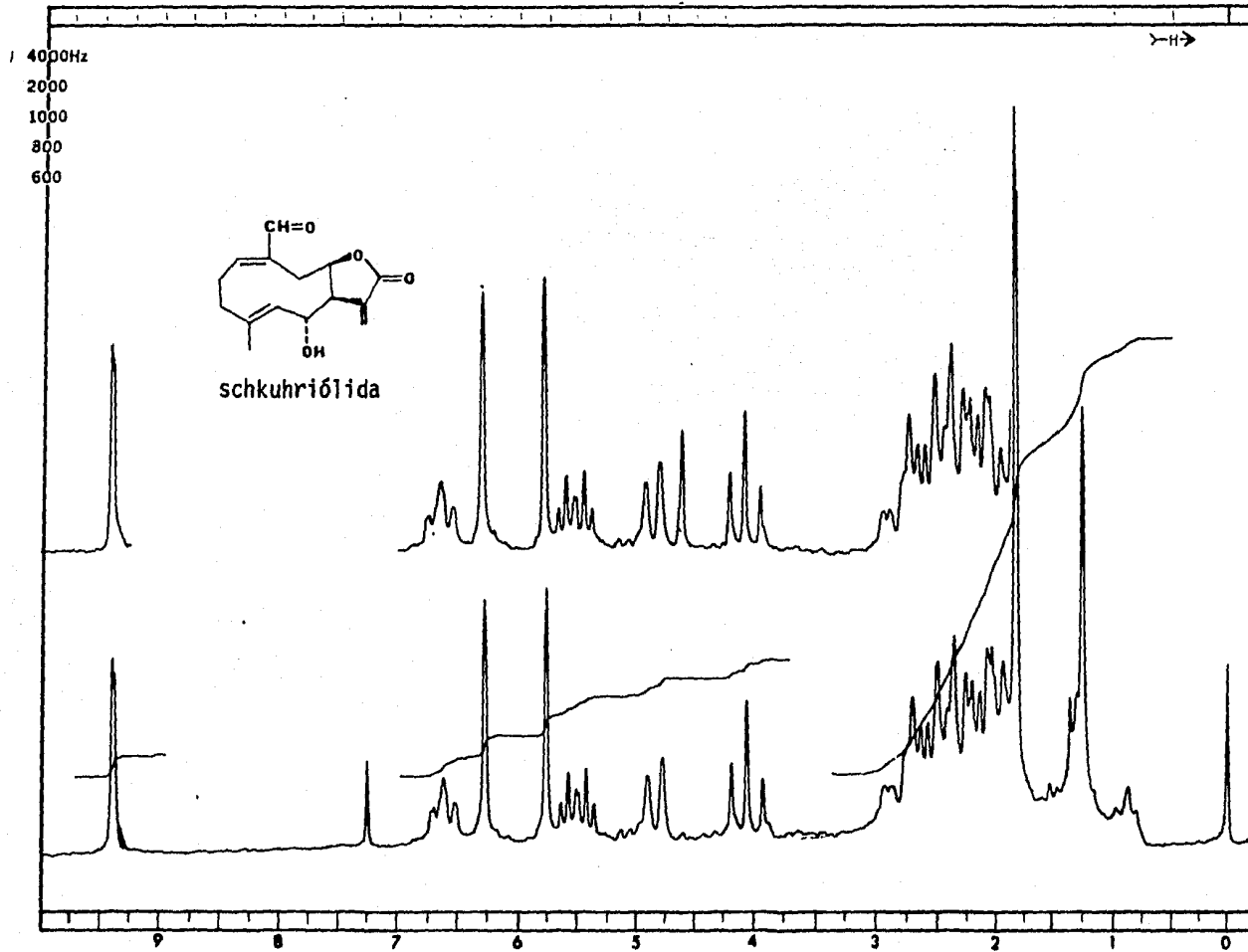
ESPECTRO 2



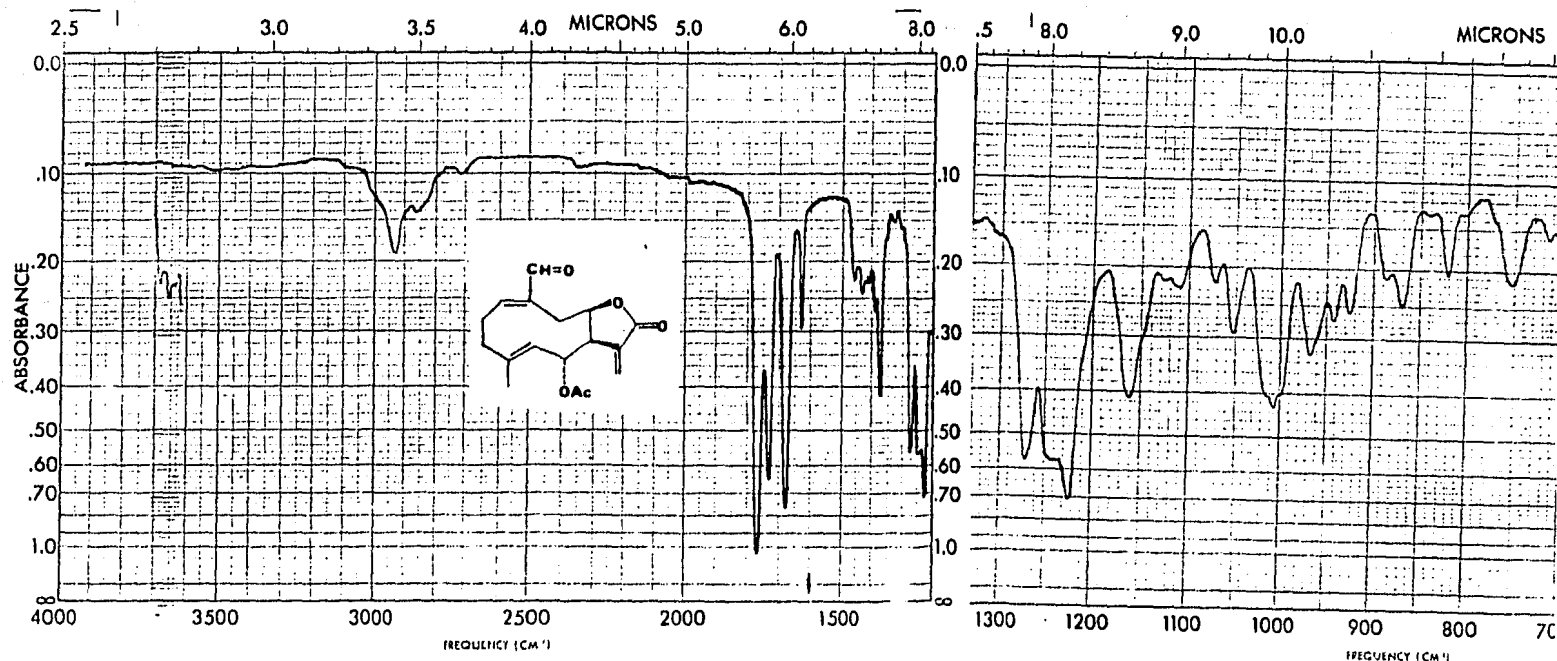
ESPECTRO 3



ESPECTRO 4



ESPECTRO 5



SAMPLE <i>S. ...</i>	CURVE NO. <i>3823</i>	SCAN SPEED <i>F</i>	OPERATOR <i>A.P.L.</i>
<i>...</i>	CONC. <i>...</i>	SPLIT <i>...</i>	DATE <i>22-10-57</i>
ORIGIN <i>...</i>	CELL PATH <i>...</i>	REMARKS <i>...</i>	
SOLVENT <i>...</i>	REFERENCE <i>...</i>		

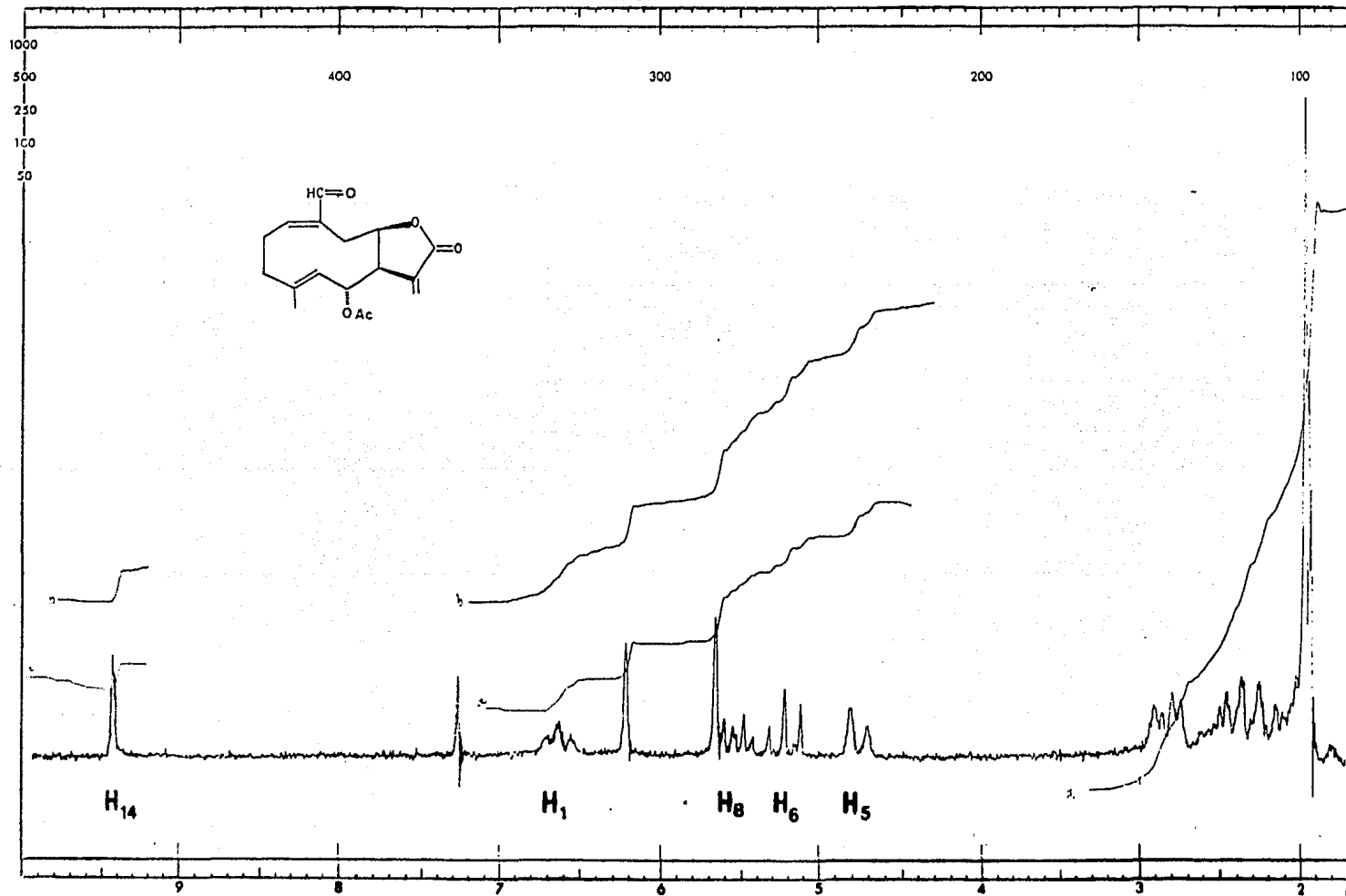
SAMPLE <i>S. ...</i>	CURVE NO. <i>3823</i>	SC
<i>...</i>	CONC. <i>...</i>	TL
ORIGIN <i>...</i>	CELL PATH <i>...</i>	RL
SOLVENT <i>...</i>	REFERENCE <i>...</i>	

ART NO 337-1207

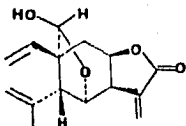
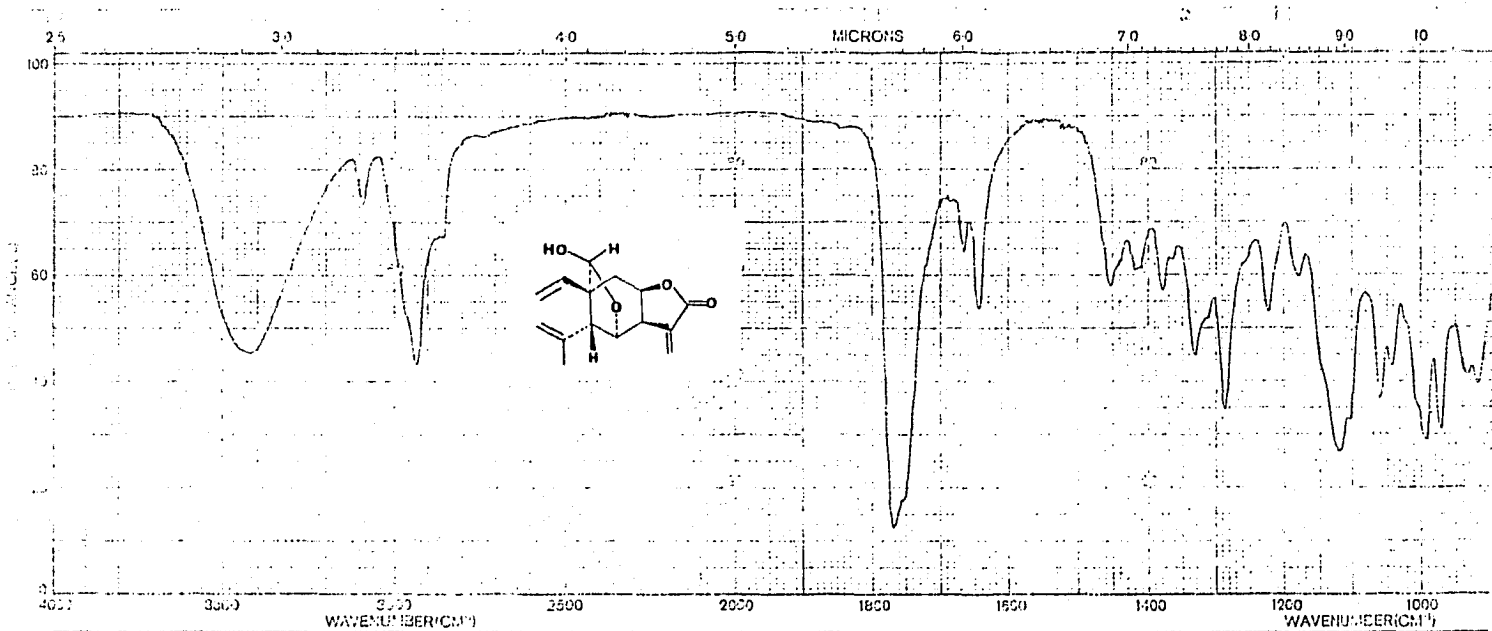
PERKIN ELMER

ART NO 337-1208

ESPECTRO 6

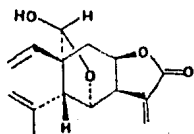
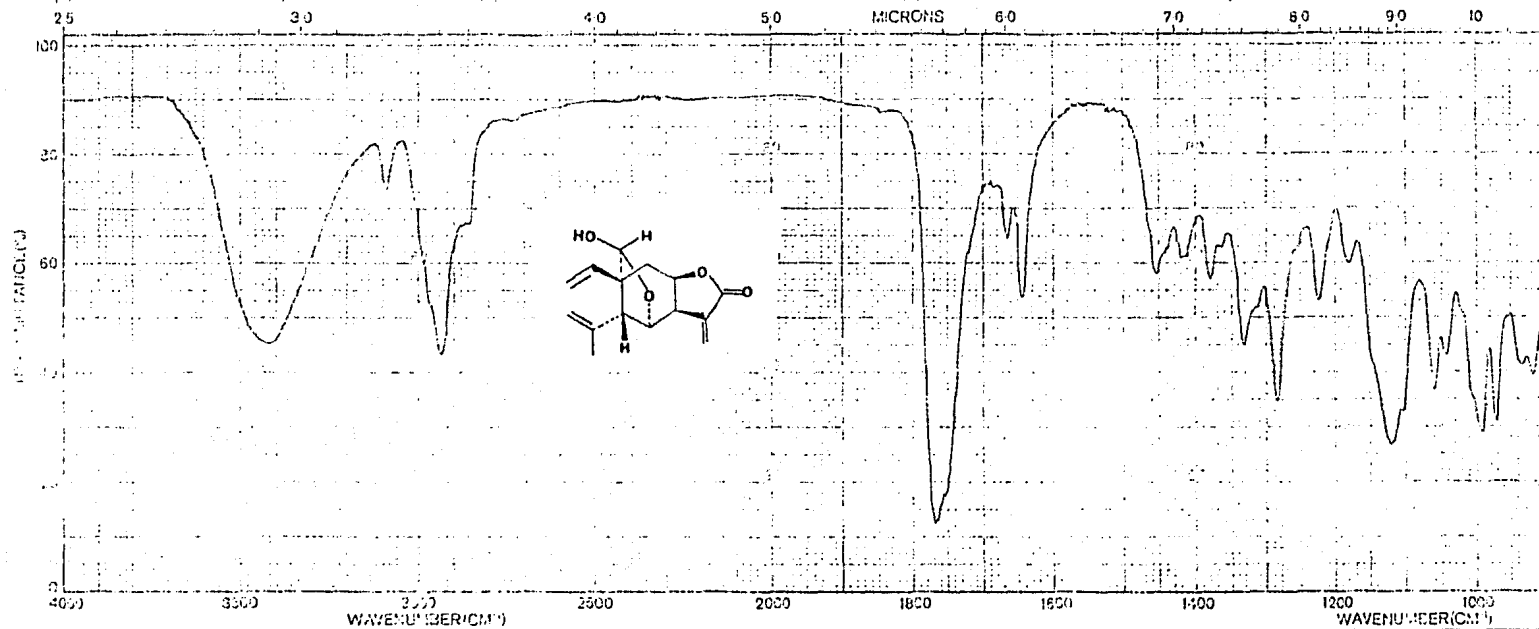


ESPECTRO 7

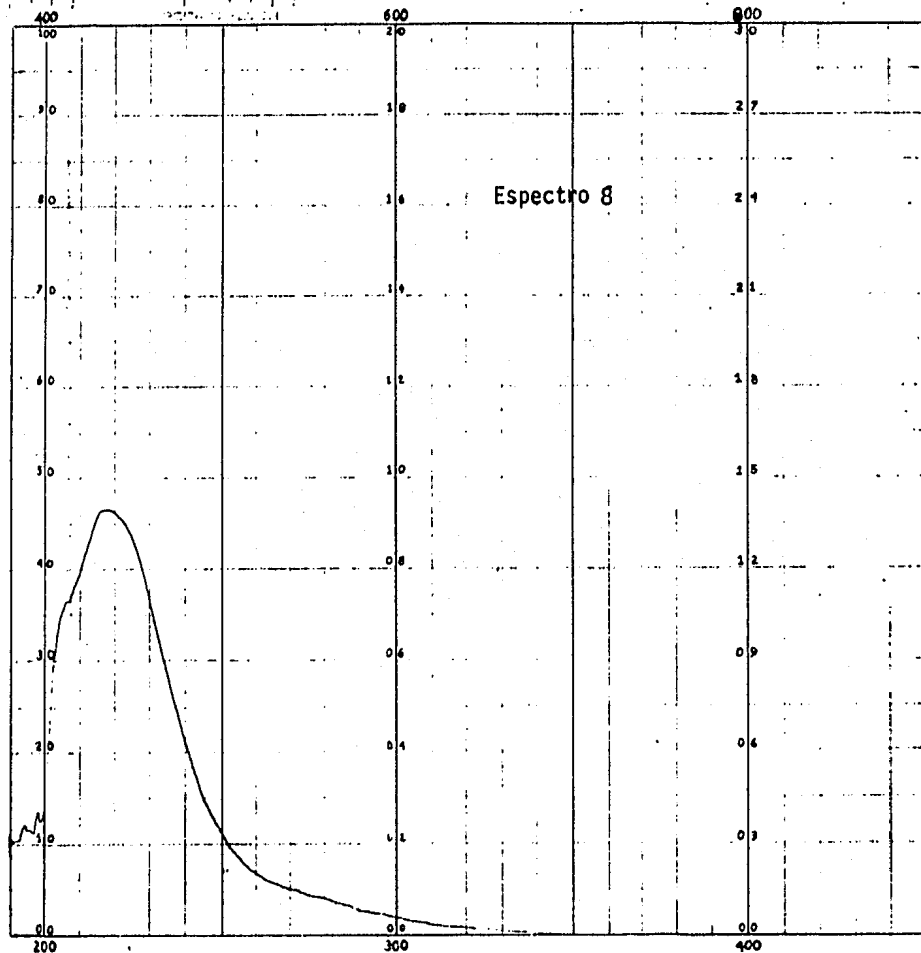


SAMPLE NO.	SOLVENT CONCENTRATION CELL PATH REFERENCE	REMARKS	SCAN TIME SLIT OPERATOR DATE
---------------	--	---------	---

ESPECTRO 7



SAMPLE _____ _____ _____ QUANT.	SOLVENT _____ CONCENTRATION _____ CELL PATH _____ REFERENCE _____	REMARKS _____ _____ _____	SCAN TIME _____ SLIT _____ OPERATOR DATE
---	--	------------------------------------	---

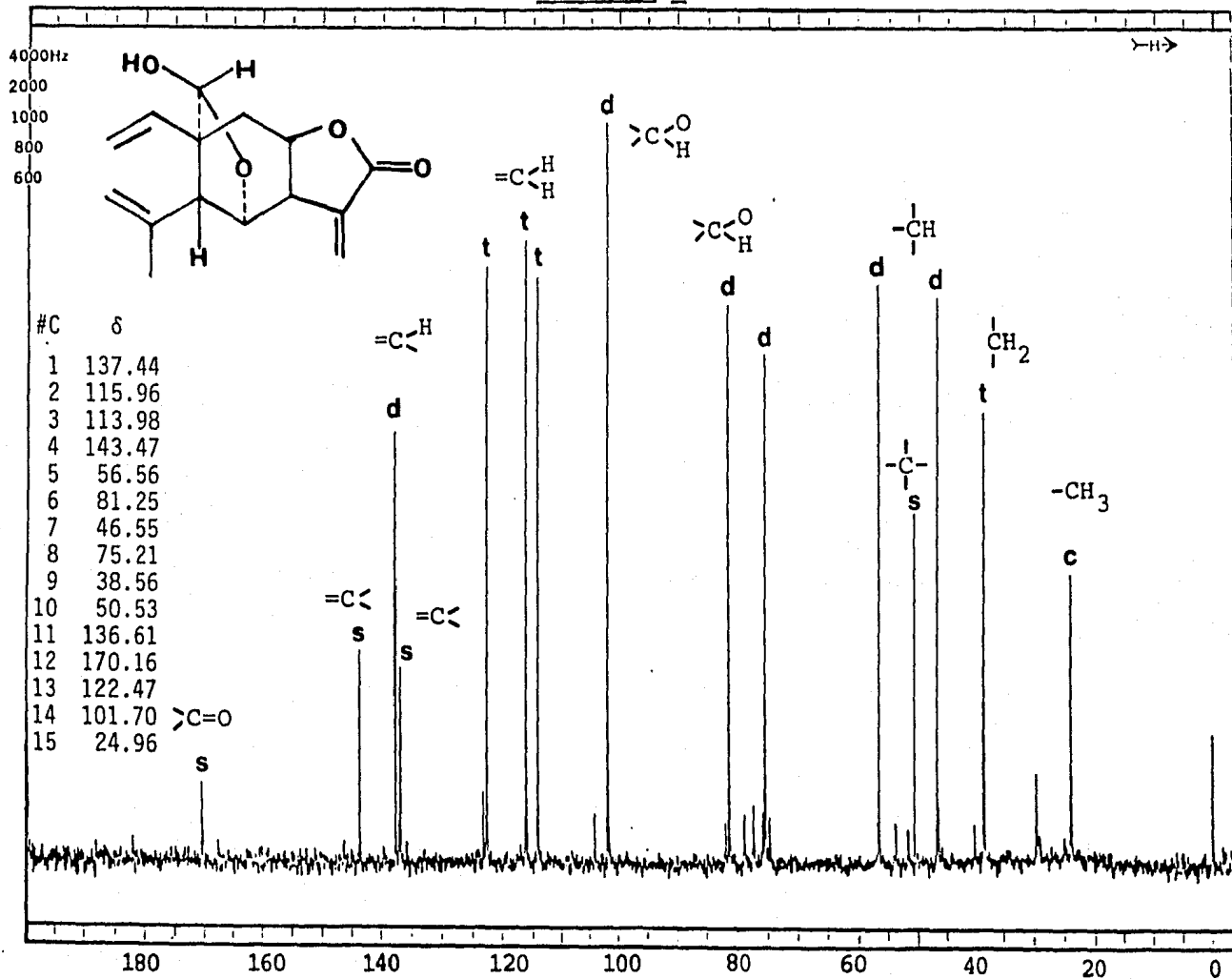


990
 AZUL.
 G. DELICADO
 0.25 mg/ml
 118.011
 118.011
 0.4 mg/ml

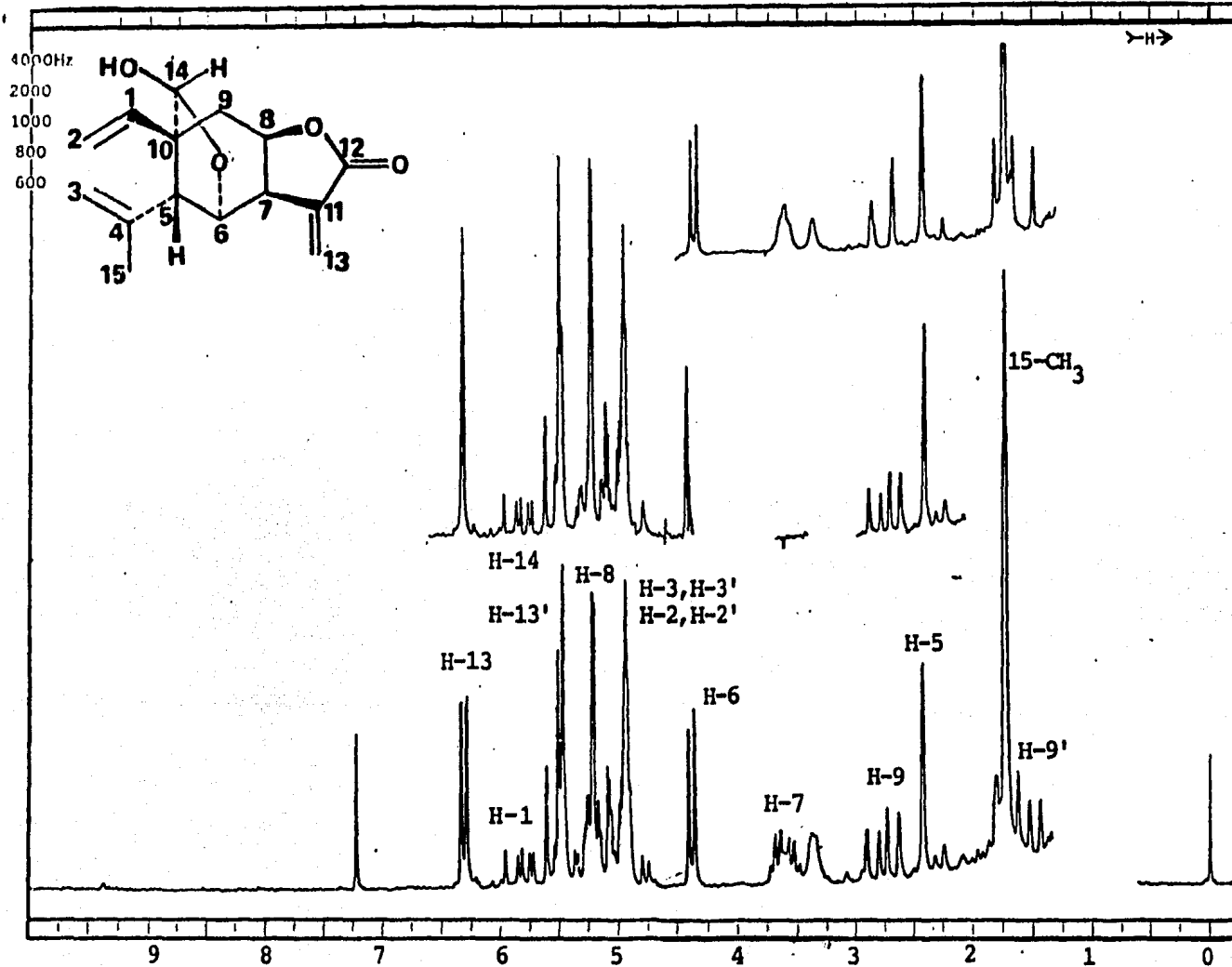
10
 1.

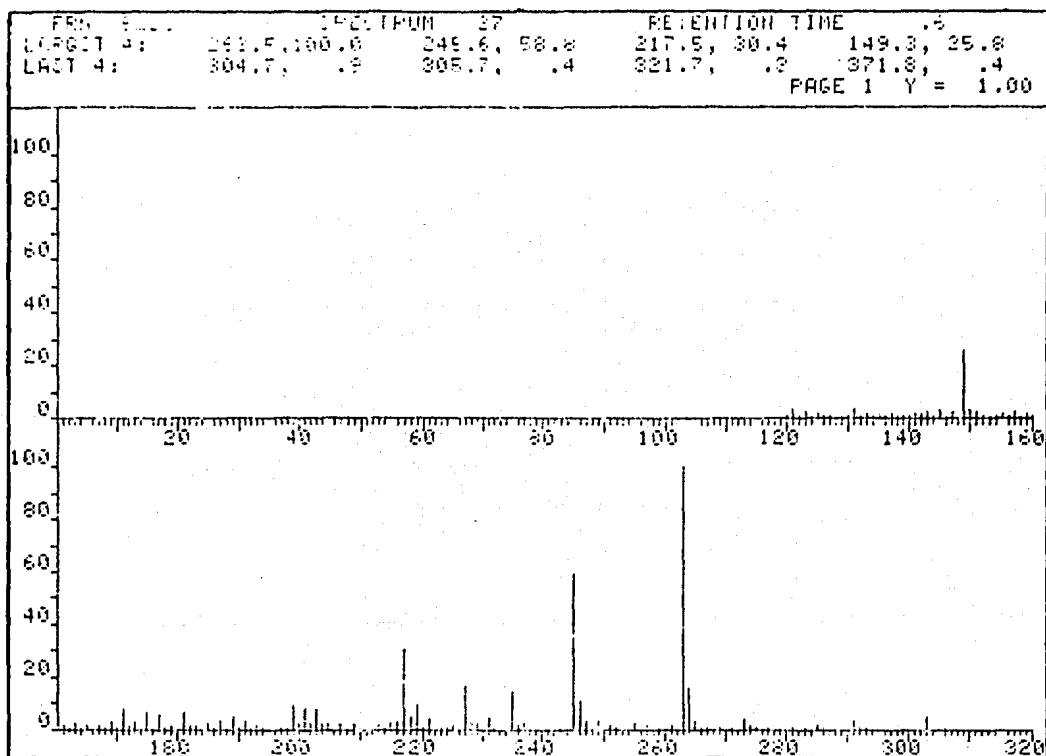
5/20/83

ESPECTRO 9

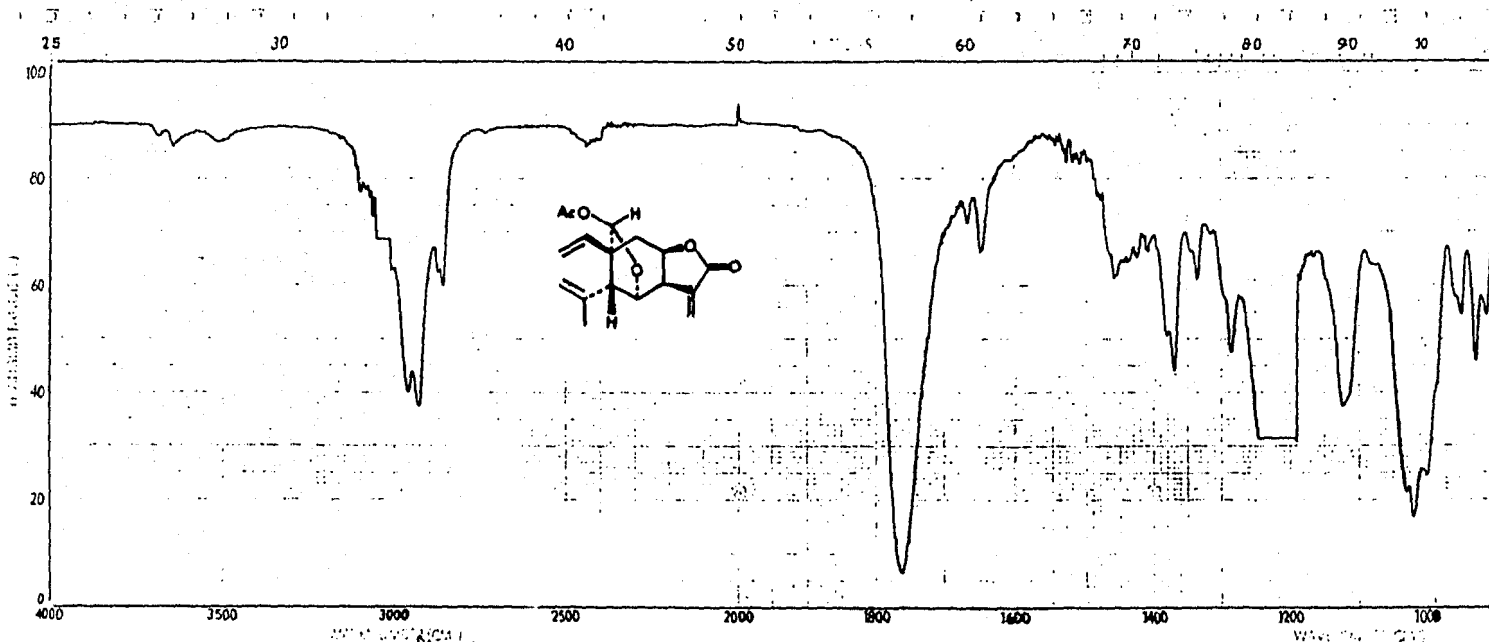


ESPECTRO 10



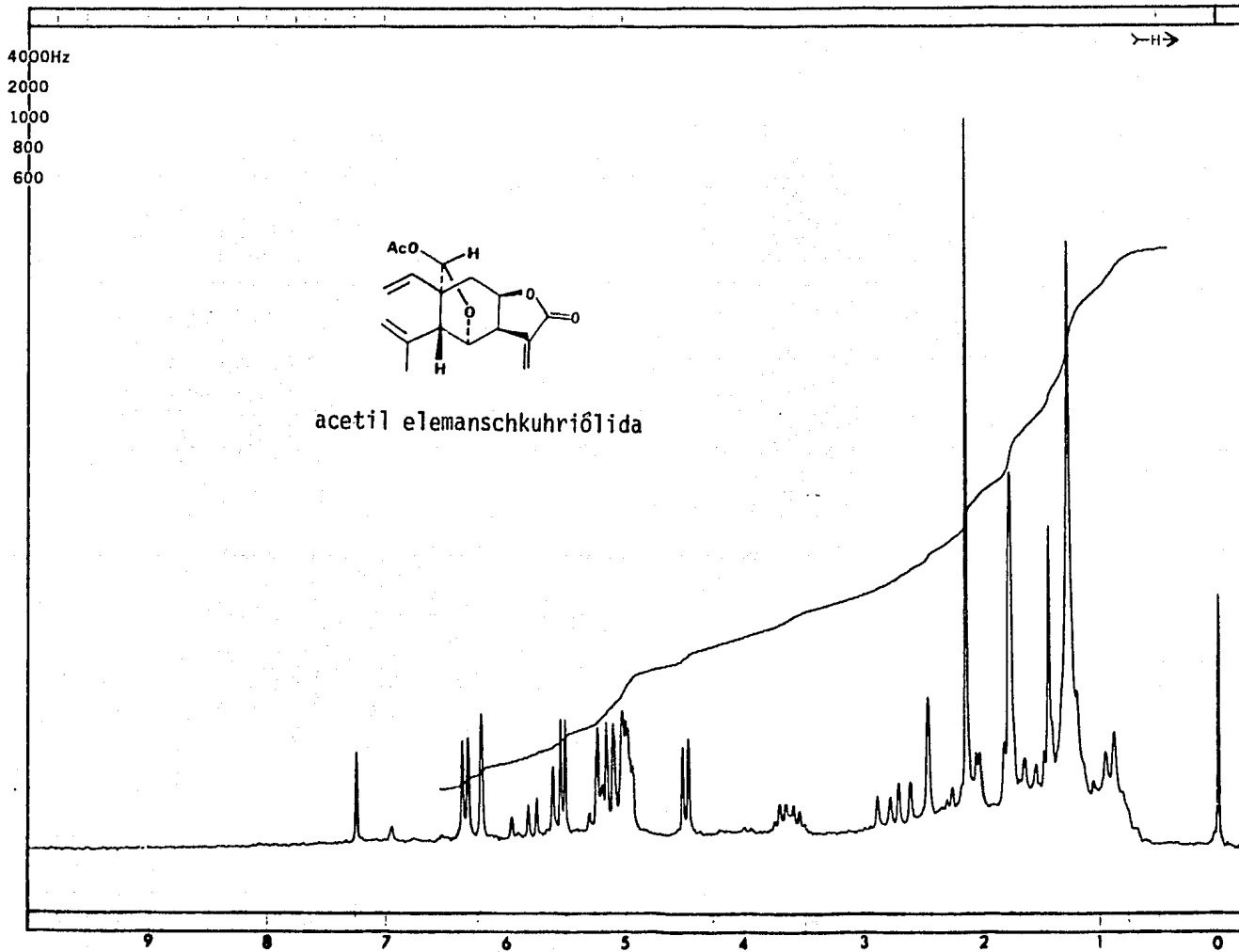
ESPECTRO 11

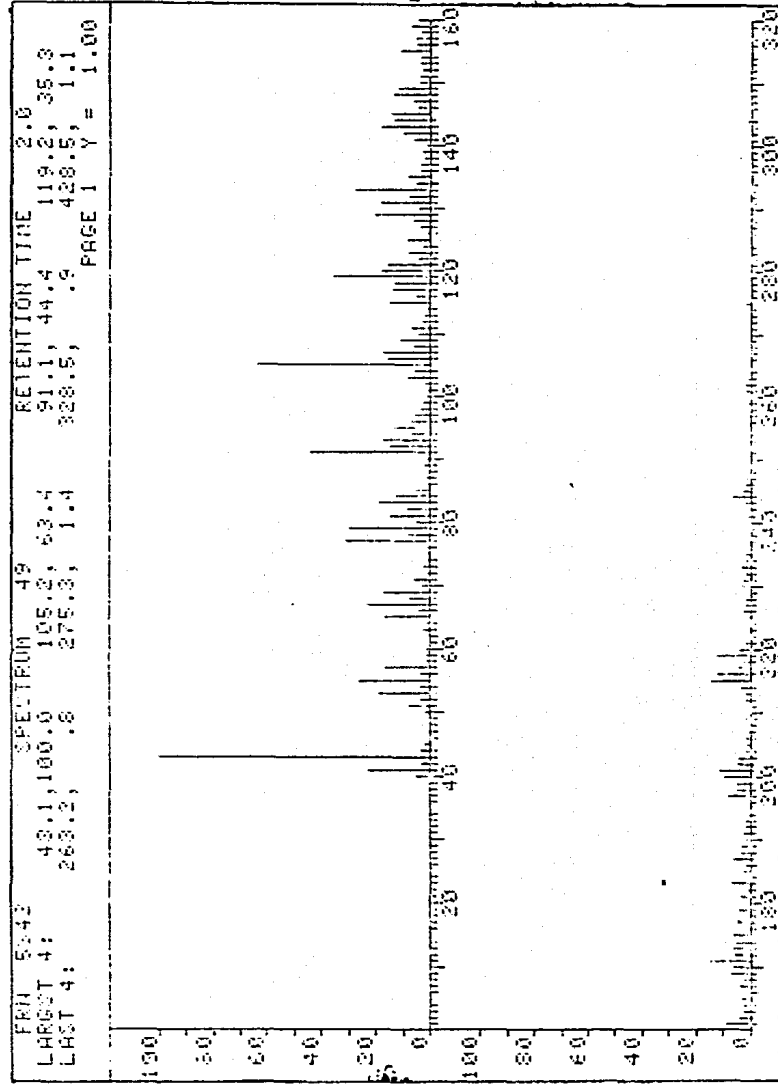
ESPECTRO 12



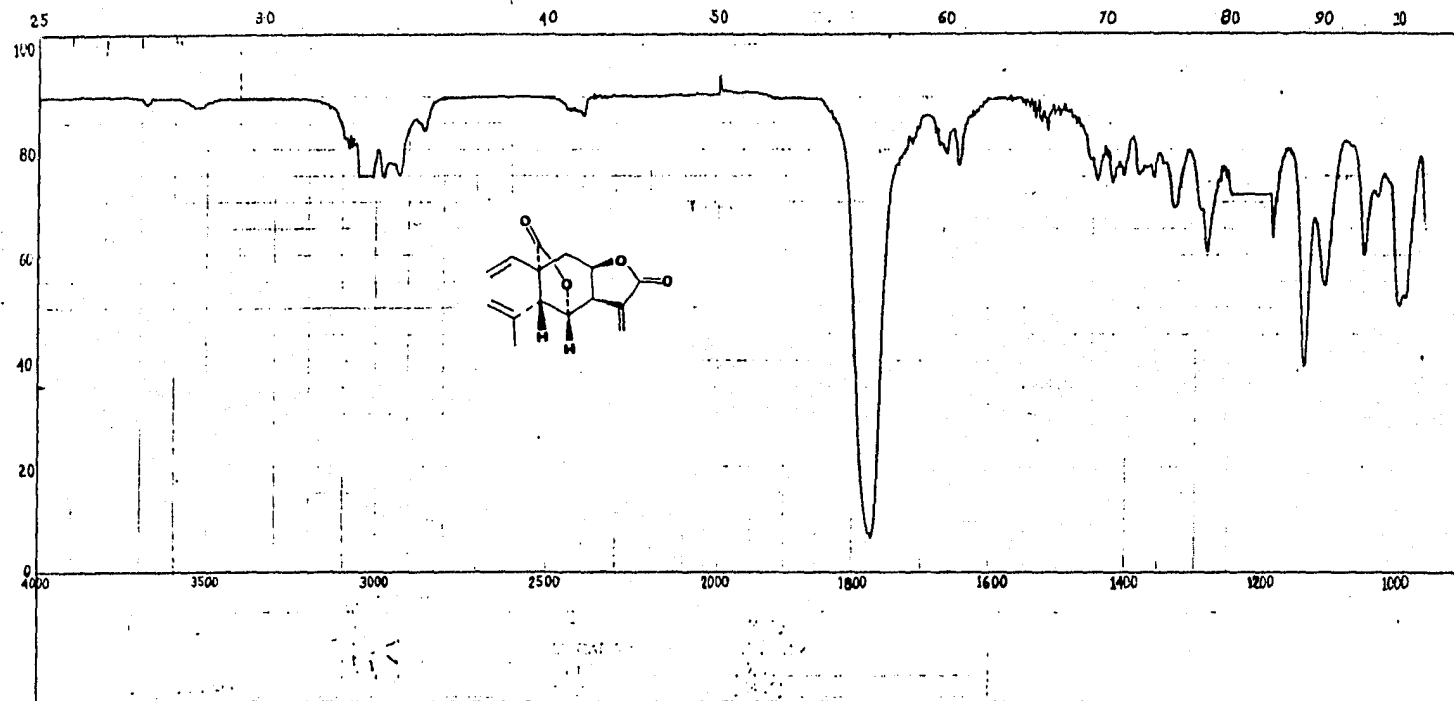
<p>NAME (OCU. RESIDUO)</p>	<p>SOLVENT <i>CHCl3</i></p>	<p>REMARKS</p>
<p>ORIGIN <i>G. DELANTO</i></p>	<p>CONCENTRATION <i>SOLUCION</i></p>	
	<p>CELL PATH <i>1/51</i></p>	
	<p>REFERENCE <i>GPC</i></p>	

ESPECTRO 13

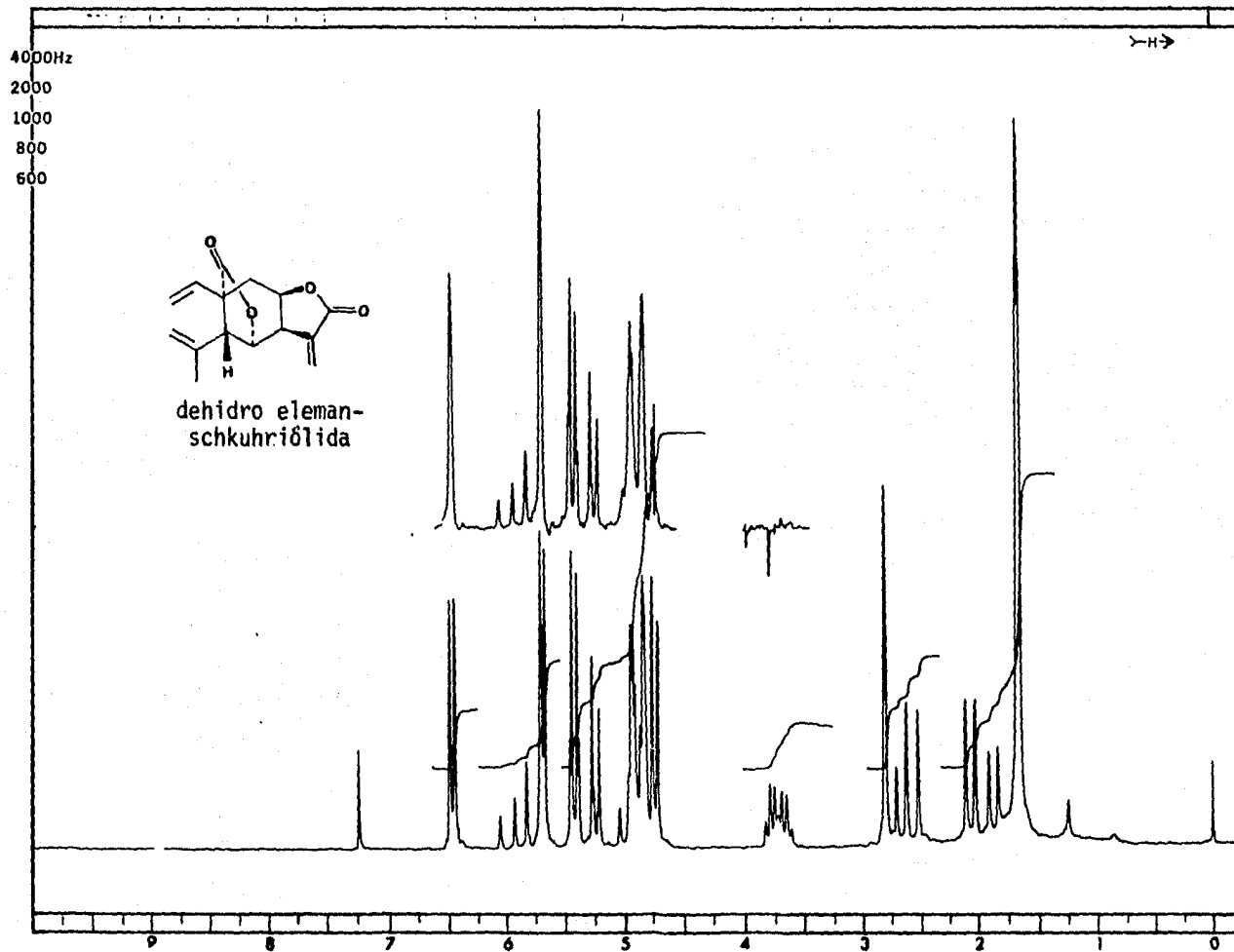


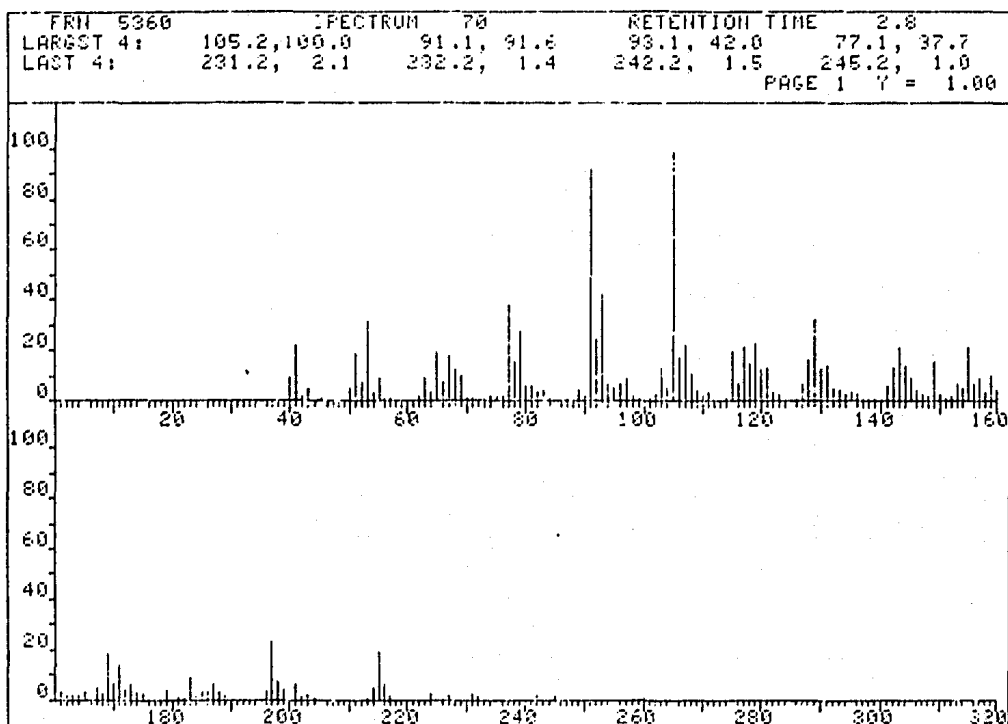
ESPECTRO 14

ESPECTRO 15



ESPECTRO 16



ESPECTRO 17

RESUMEN Y CONCLUSIONES

RESUMEN Y CONCLUSIONES

El análisis fitoquímico de *Schkuhria schkuhrioides* tuvo como resultado el aislamiento de dos lactonas sesquiterpénicas con esqueleto de melampólidas, identificándose como frutescina y schkuhriólida.

Se aisló también una nueva lactona sesquiterpénica y haciendo uso de las técnicas espectroscópicas y algunas reacciones químicas, se determinó la estructura y estereoquímica de la molécula que fue confirmada por difracción de rayos x del dehidro derivado y a la cual se le denominó eleman-schkuhriólida, encontrándose que pertenece a la serie poco usual de las C-14 α , H-5 β elemanólidas.

Esta es la primera ocasión que se aísla una elemanólida de *Schkuhria*, ya que anteriormente solo se habían aislado germacranólidas. Se demuestra experimentalmente que la eleman-eschkuhriolida no es un artefacto, sino un nuevo producto natural.

Por otro lado, a pesar del número limitado de especies analizadas, la diferencia estructural entre las lactonas sesquiterpénicas aisladas de *Schkuhria* y *Bahía* apoyan la división a nivel genérico de ambos taxa.

P A R T E E X P E R I M E N T A L

PARTE EXPERIMENTAL

El espécimen analizado fue clasificado por el M. en C. F.J. Espinoza, del Instituto de Biología de la U.N.A.M. El espécimen se encuentra depositado en el Herbario Nacional.

Los puntos de fusión se determinaron en un aparato Fischer-Jones y no están corregidos. Las cromatografías en columna se efectuaron en Sílica-gel 60 Merck (70-230 mesh ASTM). La pureza de los productos y el desarrollo de las reacciones se siguió por cromatoplaque de Sílica-gel Merck F-254, usando como revelador sulfato cérico al 1% en ácido sulfúrico 2N. Los espectros de IR se determinaron en soluciones de CHCl₃ ó en pastilla de KBr, los espectros de masas en un espectrómetro Hewlett Packard 5985-B y los espectros de RMN ¹H y ¹³C en los aparatos Varian HA-100 y FT-80A. Los desplazamientos químicos están dados en δ (ppm) referidos al tetrametilsilano como referencia interna.

La planta *Schkuhria schkuhrioides* fue recolectada en septiembre de 1982 en Teoloyucan, Edo. de México.

9.5 Kg de la planta seca se sometieron 3 veces a extracción con cloroformo a reflujo durante una hora y después se mantuvo 24 h a temperatura ambiente, obteniéndose después de la evaporación del disolvente 102.3 g de extracto total, el cual se percoló en una columna empacada con tonsil, utilizando como eluyente cloroformo-hexano (1:1), y aumentando la polaridad hasta llegar a cloroformo 100% y por último cloroformo-acetona (3:2), obteniéndose así 4 fracciones.

Las 4 fracciones se compararon por cromatografía en placa fina con 3 referencias: frutescina, schkuhriólida y estigmasterol (cloroformo-acetona 8:2). La fracción II presentó una mancha con el mismo Rf que la frutescina y la fracción IV presentó una mancha con Rf igual al de la schkuhriólida.

Las 4 fracciones numeradas como I, II, III y IV se trabajaron de la manera siguiente:

a).- De la fracción I (9 g) obtenida al eluir con cloroformo-hexano (1:1) y que es la menos polar, se obtuvieron únicamente hidrocarburos y ceras, las cuales no se analizaron.

b).- La fracción II (28.3 g) obtenida por elución con cloroformo 100%, se analizó por cromatografía en columna empacada con 600 g de sílice y eluida con hexano-acetato de etilo (65:35) y posteriormente con hexano-acetato de etilo (30:70), obteniéndose 2 fracciones (II-A y II-B), que a su vez fueron recromatografiadas.

La fracción II-A, que pesó 4.24 g, se cromatografió en una columna empacada con 120 g de sílice y se eluyó con hexano-acetato de etilo (80:20). Las fracciones intermedias separadas de esta columna al ser reveladas en placa analítica mostraban una mancha homogénea de color rojo y las fracciones siguientes mostraban también una mancha homogénea de color rojo pero más polar que la anterior. En un primer estudio se detectaron una γ -lactona y una función hidroxilo por lo cual, el estudio de estas fracciones continúa para lograr la elucidación estructural de sus componentes.

De la fracción II-B se obtuvieron 420 mg de unos cristales amarillos que fueron purificados por recristalización sucesiva con acetona-eter isopropílico. Su punto de fusión, 155-158°, y sus propiedades espectroscópicas corresponden a las de la frutescina (II); ésta se comparó con una muestra auténtica.

* I.R. (CHCl_3) (espectro 1) 1765 (carbonilo de lactona), 1685, 1640 cm^{-1} (aldehído α , β -insaturada).

* RMN ^1H -80 MHz (CDCl_3) (espectro 2) 9.47 (H-14, 1H

d, 0.8 Hz), 6.66 (H-1, 1H, t, 8 Hz), 6.18 (H-13a, 1H, d, 3 Hz), 5.22 (H-13b, 1H, d, 2.8 Hz), 5.05 (H-5, 1H, dd, 10 y 6 Hz), 3.93 (H-8, 1H, ddd, 4, 7 y 7.5 Hz) y 1.69 ppm (Me-15, 3H, d, 1Hz).

c).- Fracción III. Se obtuvo igualmente por elución con cloroformo (10.4 g). Se cromatografió en una columna empacada con 300 g de sílice y empleando hexano-acetato de etilo (70:30) como eluyente. Las fracciones recolectadas fueron de 125 ml cada una y se recolectaron en total 60; las fracciones 20 a 30 mostraron una mancha constante en CCF por lo que se reunieron, obteniéndose 1.2 g de residuo. Este se recromatografió en una columna con 40 g de sílice y usando CHCl_3 como eluyente; las fracciones 17-28 (de 50 ml c/u) de esta recromatografía, que presentaban una mancha constante en CCF fueron reunidas y de ellas se aisló una sustancia aceitosa que con el tiempo formaban un sólido amorfo de punto de fusión 125-128°, que demostró por sus propiedades espectroscópicas ser una nueva lactona sesquiterpénica a la cual se le denominó eleman-schkuhriólida (VII-A).

* U.V. (MeOH) (espectro 8) λ_{max} 218 nm (ϵ :8130)

* I.R. (CHCl_3) (espectro 7) 3420 (grupo hidroxilo) 1770 (carbonilo de γ -lactona), 1665, 920 cm^{-1} (dobles ligaduras)

* RMN ^1H -80 MHz (CDCl_3) (espectro 10) 6.31 (H-13a, 1H, d, 3.5 Hz), 5.78 (H-1, 1H, dd, 10 y 18 Hz), 5.22 (H-8, 1H, ddd, 9, 8 y 7 Hz), 5.50 (H-13b, 1H, d, 3.1 Hz), 5.48 (H-14, 1H, s), 5.30-4.85 (compleja, H-2, H-2', H-3, H-3'), 4.39 (H-6, 1H, d,

3.8 Hz), 3.61 (H-7, 1H, dddd, 3.8, 9, 3.5 y 3.1 Hz), 2.76 (H-9, 1H, dd, 14.9 y 8.4 Hz), 2.43 (H-5, 1H, s), 1.74 ppm (Me-15, 3H, dd, 1.4 y 0.8 Hz) y 1.57 ppm (H-9', 1H, dd, 14.9 y 7 Hz).

* RMN ^{13}C (CDCl_3) (espectro 9), Tabla 4.

* EM (Ionización Química): (espectro 11) m/z 263 (M+1, 100%), 245 [(M⁺+1)-H₂O, 58%], 235 [(M⁺+1)-C₂H₄, 18%], 217 [(M⁺+1)-H₂O-C₂H₄, 30%], 149 (26%), 119 (44%), 105 (100%).

* $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = +123.06$ (c 0.116, MeOH).

De las fracciones más polares (86-97) de la cromatografía inicial eluidas con hexano-acetato de etilo (70:30) se cristalizaron 400 mg de schkuhriólida (III), p.f.=160-163°, la cual es una lactona sesquiterpénica ya conocida y su identidad se estableció por comparación directa con una muestra auténtica. Su fórmula molecular es $\text{C}_{15}\text{H}_{18}\text{O}_4$:

* U.V. (MeOH) λ_{max} 227 nm (ϵ : 4.16)

* I.R. (CHCl_3) (espectro 3) 3500 (grupo hidroxilo) 1760 (carbonilo de γ -lactona), 1680 (carbonilo de aldehído insaturado) y 1660 cm^{-1} (dobles ligaduras).

* RMN ^1H -80 MHz (CDCl_3) (espectro 4) 9.40 (H-14, 1H, d, 2 Hz), 6.65 (H-1, 1H, m), 6.22 (H-13a, 1H, d, 1.5 Hz), 5.78 (H-13b, 1H, d, 1.5 Hz), 5.46 (H-8, 1H, ddd, 6, 12 y 6 Hz), 4.85 (H-5, 1H, d, 10 Hz), 3.99 (H-6, 1H, t, 10 Hz), 2.54 (H-7, 1H, m) y 1.81 ppm (Me-15, 3H, d).

d).- Fracción IV. Por elución con cloroformo-acetona (3:2) se obtuvieron 40.7 g que se disolvieron en cloroformo y se cromatografiaron en una columna empacada con 100 g de sílice; la elución se inició con cloroformo 100%, posteriormente se aumentó la polaridad a cloroformo-acetona (97:3) y por último acetato de etilo 100%. Se colectaron fracciones de 250 ml, las fracciones obtenidas que en CCF presentaban una mancha constante y del mismo Rf fueron reunidas de la siguiente manera:

- i) 100-157
- ii) 159-235
- iii) 236-324
- iv) 325-409

i) fracción de la 100-157; con un peso de 3.12 g se aplicó a una columna empacada con 100 g de sílice y se eluyó primero con cloroformo 100% y posteriormente con cloroformo-acetona (97:3). De las fracciones intermedias se aisló nuevamente la elemanschkuhriólida (VII) (400 mg) la cual se purificó por cromatografía en placa preparativa de sílice eluyendo con cloroformo-acetona (97:3) y obteniéndose 157.5 mg de producto.

ii) fracción 159-235; mediante recristalizaciones sucesivas con acetona-éter isopropílico o cloroformo-éter isopropílico se obtuvieron 2.54 g de schkuhriólida (III), esto es en mayor proporción que en las fracciones anteriores. Las aguas madres se recromatografiaron en una columna empacada con 60 g de sílice

ce y que fue eluída con hexano-acetato de etilo (80:20), obteniéndose 69.7 mg de schkuhriólida.

iii) las fracciones reunidas de la 236-324 con un peso de 4.05 g contenían schkuhriólida impura. Dado que las impurezas tienen un Rf muy semejante a la schkuhriólida, éste resíduo se sometió a una acetilación (la que se describe posteriormente).

* I.R. (CHCL₃) (espectro 5) 1760 (carbonilo de lactona), 1730 (carbonilo de acetato), 1680 (carbonilo de aldehído), 1630 y 925 cm⁻¹ (dobles ligaduras).

* RMN¹H-80 MHz (CDCl₃) (espectro 6) 9.42 (H-14, 1H, d, 2Hz), 6.62 (H-1, 1H, m), 6.22 (H-13a, 1H, d, 1.5 Hz), 5.76 (H-13b, 1H, d, 1.5 Hz), 5.54 (H-8, 1H, ddd, 6.12 y 6 Hz), 5.22 (H-6, 1H, t, 10 Hz), 4.76 (H-5, 1H, d, 10 Hz), 1.96 (CH₃-CO-, 3H, s) y 1.94 ppm (H-15, 3H, s).

iv) las fracciones más polares (325-409) reunidas según su Rf muestran en IR bandas de γ -lactona (1765 cm⁻¹) y bandas de COOH 3700 cm⁻¹. El estudio de estas fracciones continúa.

Acetilación de la schkuhriólida.

La schkuhriólida impura, obtenida de la fracción iii) (236-324), se disolvió en 25 ml de piridina y 35 ml de anhídrido acético y se dejó reaccionar con agitación magnética y a temperatura ambiente. El curso de la reacción se siguió por CCF; al cabo de 20 horas ya había reaccionado toda

la materia prima por lo que la reacción se dió por terminada, se agregó H_2O y 20 g de hielo permitiendo que continuara la agitación durante 30 minutos más. El producto se extrajo 3 veces con acetato de etilo (70 ml). La fase orgánica se lavó con solución de HCl al 10% (50 ml), con solución de $NaHCO_3$ sat., con H_2O y por último el producto se secó con Na_2SO_4 anhidro y se concentró. Se purificó por cromatografía en columna empacada con 30 g de sílice y eluída con hexano-acetato de etilo (5:5). Por cristalización de acetona-éter isopropílico se obtuvieron 15.3 mg de IV como cristales de p.f. 140-143°.

Obtención de la acetyl eleman-schkuhriólida.

157.3 mg de eleman-schkuhriólida (VII) en 2 ml de piridina y 2 ml de anhídrido acético se dejaron reaccionar con agitación y a temperatura ambiente durante 12 h. La reacción se siguió por CCF y cuando se observó que toda la materia prima había desaparecido, la reacción se suspendió adicionando H_2O y hielo. Después de tres extracciones con acetato de etilo, la fase orgánica se lavó con HCl al 10%, solución saturada de $NaHCO_3$, H_2O y se secó con Na_2SO_4 anh. El producto se purificó en placa preparativa de sílice (cloroformo-acetona 90:10) desarrollando tres veces la misma mezcla de disolventes. Se obtuvieron 18.8 mg de un aceite.

* I.R. ($CHCl_3$) (espectro 12) 1760 (carbonilo de

γ -lactona, 1730 (carbonilo de acetato), 1648 y 925 cm^{-1} (dobles ligaduras).

* RMN ^1H -80 MHz (CDCl_3) (espectro 13) 6.37 (H-13a, 1H, d, 3.5 Hz), 6.22 (H-14, 1H, s), 5.77 (H-1, 1H, dd, 10 y 18 Hz), 5.52 (H-13b, 1H, d, 3.1 Hz), 5.15 (H-8, 1H, ddd, 9.8 y 7 Hz), 4.48 (H-6, 1H, d, 3.8 Hz), 3.61 (H-7, 1H, m). 2.76 (H-9a, 1H, dd, 14.9 y 8.4 Hz), 2.46 (H-5, 1H, s), 2.14 (CH_3 del acetato, 3H, s), 1.75 (Me=15, 3H, dd, 1.4 y 0.8 Hz) y 1.57 ppm (H-9B, 1H, dd, 14.9, 7 Hz).

* EM (espectro 14) m/z 304, (M^+ 129, 35%), 119 (35%), 105 (63%), 91 (44%), 79 (30%), 55 (27%), 43 (100%).

Obtención del Dehidro eleman-schkuhriólida.

400 mg de una fracción cuyo principal constituyente es la eleman-schkuhriólida se disolvió en 150 ml de acetona, con agitación a 0° , agregando gota a gota reactivo de Jones³⁷ ($\text{CrO}_3/\text{H}_2\text{SO}_4/\text{H}_2\text{O}$); el curso de la reacción se siguió por CCF. Cuando ya no se observó materia prima, se dió por terminada la reacción y se agregaron 5 gotas de 2-propanol, se filtró y se cromatografió en una columna empacada con 5 g de alúmina. El eluato se concentró, se diluyó con acetato de etilo y se lavó con NaHCO_3 y H_2O , secándose con Na_2SO_4 anhidro. Después de concentrar, se obtuvieron 125.7 mg de producto el cual se purificó por cromatografía en columna empacada con 10 g de

sílice, usando como eluyente una mezcla de hexano-acetato de etilo (80:20). Se obtuvieron cristales en forma de agujas, 69.3 mg con p.f. 125-128°.

* I.R. (CHCl_3) (espectro 15) 1770 (carbonilo de γ -lactona), 1665 y 930 cm^{-1} (dobles ligaduras).

* RMN ^1H -80 MHz (CDCl_3) (espectro 16) 6.46 (H-13a, 1H, d, 3.1 Hz), 5.88 (H-1, 1H, dd, 8 y 10 Hz), 5.70 (H-13b, 1H, d, 3.1 Hz), 5.42 (H-8, 1H, m), 5.25 (H-6, 1H, d), 3.72 (H-7, 1H, m), 2.82 (H-5, 1H, s), 2.62 (H-9a, 1H, dd, 6 y 8 Hz), 1.98 (H-9b, 1H, dd, 6 y 6 Hz), 1.67 ppm (H-15, 3H, s).

* EM: m/z 260 (M^+ , $\text{C}_{15}\text{H}_{16}\text{O}_4$, 1%), 105 (100%), 93 (43%), 91 (91%), 77 (37%), 65 (18%) y 63 (20%) (espectro 17).

Pruebas realizadas para observar la transformación con sílice de la schkuhriólida en eleman-schkuhriólida bajo diferentes condiciones. Los resultados se controlaron por CCF y fueron comparados con muestras auténticas.

1. schkuhriólida, CHCl_3 , luz, a temperatura ambiente, 1 semana.
2. schkuhriólida, CHCl_3 , HCl , luz, a temperatura ambiente, 1 semana
3. schkuhriólida, CHCl_3 , obscuridad, 4°C, 1 semana
4. schkuhriólida, Benceno, luz, a temperatura ambiente, 1 semana.

5. schkuhriólida, Benceno, HCl, luz, a temperatura ambiente, 1 semana.
6. schkuhriólida, benceno, obscuridad, 4°C, 1 semana.

Resultados.

1. se observa claramente la transformación pero en baja proporción.
2. se descompone totalmente la schkuhriólida.
3. no se observa transformación.
4. se observa transformación pero en baja proporción.
5. se descompone la schkuhriólida.
6. no se observa transformación.

B I B L I O G R A F I A

BIBLIOGRAFIA

1. Braek, J-C., Dalozze, D., "Los medicamentos del Mar". Mundo Científico, Vol. 3, 600-609 (1984).
2. Crabbé, P., "Prostaglandin Research" Organic Chemistry. A Serie of Monographs, Vol. 36, p. 5, Academic Press, London (1977).
3. Rodriguez, E., Towers, G.H.N. y Mitchell, J.C., Phytochemistry, 15, 1573 (1976).
4. Martinez, M., Las Plantas Medicinales de México, 4a ed., Ediciones Botas (1959).
5. Díaz, J. L., Indice y Sinonímia de las Plantas Medicinales de México, Vol. I, Instituto Mexicano para el Estudio de las Plantas Medicinales, A.C.
6. Lozoya, X., Flora Medicinal de México. División de Biología Experimental. Unidad de Investigación Biomédica en Medicina Tradicional y Herbolaria., I.M.S.S. (1982).
7. Geissman, T.A. and Crout, D.H.G., Organic Chemistry of Secondary Plant Metabolism, Freeman-Coopes, San Francisco (1969).
8. Heywood, V.H., Harborne, J.B. and Turner, B.L. The Biology and Chemistry of the Compositae. Vol. 1, Academic Press, London (1977).

9. Geissman, T.A., Terpenoids, Structure, Biogenesis and Distribution. Recent. Advances in Phytochemistry, vol. 6, p. 65, Academic Press, London (1973).
10. Domínguez, X.A., Métodos de Investigación Fitoquímica, p.93, Ed. Limusa, México (1973).
11. Fischer, N.H., Olivier, E.J. and Fischer, H.D. The Biogenesis and Chemistry of Sesquiterpene Lactones, en: "Progress in the Chemistry of Organic Natural Products", vol. 38, p. 51, Springer-Verlag, Wien (1979).
12. Heiser, C.B., Jr, Ann. Mo. Bot. Gard., 32, 265 (1945).
13. Flematti, S.M. y Gros. E.G., An. Asoc. Quim. Argent., 59, 405 (1971); CA, 76, 151051n. (1972).
14. Flematti, S.M. y Gros, E.G. An. Asoc. Quim. Argent., 60, 347-57 (1972); CA, 78, 26462n (1973).
15. Bohlmann, F. y Zdero, C. Phytochemistry, 16, 780-781 (1977).
16. Pettei, M.J., Miura, I., Kubo, I. and Nakanishi, K., Heterocycles, 11, 471-480 (1978).
17. Samek, Z., Holub, M., Bloszyk, E. y Drozde, B., Z. Chem., 19, 449 (1980); CA, 92, 198558d (1980).
18. Herz, W. y Govindan, S.V., Phytochemistry 19, 1234 (1980).
19. Bohlmann, F., Jakupovic, J., Robinson, H. y King, R. Phytochemistry, 19, 881-884 (1980).
20. Mulder, C.E.G. y Wortmann, G.B. Proc. Nat. Weeds. Conf. S. Afr. 3rd, 159-66 (1979): CA, 95, 1757 (1981).
21. Bohlmann, F. y Zdero, C. Phytochemistry, 20, 2431-32 (1981).

22. Romo de Vivar, A., Pérez, A.L., León, C. y Delgado, G. Phytochemistry, 21, 2905 (1982).
23. Romo de Vivar, A., Comunicación Personal.
24. Romo de Vivar, A. y Ortega, A., Canad. J. Chem., 47, 2849 (1969).
25. Herz, W. y Bhat, S.V., J. Org. Chem., 37, 906 (1972).
26. Herz, W., Bhat, S.V., Crawford, H., Maurer, G. y Farkas, L., Phytochemistry, 11, 371 (1972).
27. Fischer, N.H., Olivier, E.J. y Fisher, H.D., The Biogenesis and Chemistry of Sesquiterpene Lactones, en: "Progress in the Chemistry of Organic Natural Products". vol. 38, p. 58. Springer-Verlag, Wien (1979).
28. Samek, Z. y Harmatha, J., Collect. Czech. Chem. Commun., 43, 3210 (1978).
29. Herz, W., Bhat, S.V. y Sudarsanam, V., Phytochemistry, 11, 1829 (1972).
30. Herz, W. y Prasad, J., J. Org. Chem., 47, 2206 (1982).
31. Samek, Z. y Harmatha, J., Collect. Czech. Chem. Commun., 43, 2779 (1978).
32. Agradecemos al Dr. Werner Herz (Florida State University, U.S. A.) el envío de frutescina y copias de sus espectros.
33. Fischer, N.H., Olivier, E.J. y Fischer, H.D. The biogenesis and Chemistry of Sesquiterpene Lactones. en: "Progress in the Chemistry of Organic Natural Products.", vol. 38, p. 214, Springer-Verlag, Wien (1979).
34. Kupchan, S. y Kelsey, J.E., Tetrahedron Lett., 30, 2863

(1967).

35. Bhacca and Williams., Applications of NMR Spectroscopy in Organic Chemistry, p. 50, Holden-day, Inc., San Francisco, London (1964).
36. La función oxigenada endo ejercería un efecto anisotrópica sobre H-8, lo cual sería evidente en la diferencia del desplazamiento químico de este protón al pasar de R-OH a R-OAc.
37. Fieser, L. y Fieser, M., Reagents for Organic Synthesis, vol. I, p. 142, John Wiley, (1967).