

2 E No 49

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA



EXAMENES PROFESIONALES
FAC. DE QUIMICA

ESTRUCTURA Y ESTEREOQUIMICA DE ALGUNOS METABOLITOS
SECUNDARIOS, CON ACTIVIDAD FARMACOLOGICA
POTENCIAL, DEL GENERO HELENIUM

T E S I S

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

EDUARDO HUERTA REYNOSO

MEXICO, D. F.

1984



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis 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.

INDICE

I.	INTRODUCCION - - - - -	1
II.	ANTECEDENTES - - - - -	5
III.	PARTE TEORICA:	
	a) Constituyentes de <i>Helenium scorzoneraefolium</i> -	17
	b) Estructura y estereoquímica de la mexicanina G, guayanólida aislada de <i>Helenium mexicanum</i> -	30
	c) Implicaciones biogenéticas de la mexicanina G en la biosíntesis de pseudoguayanólidas - -	39
	d) RMN de carbono trece de algunas pseudogua- yanólidas - - - - -	46
IV.	PARTE EXPERIMENTAL:	
	a) Constituyentes de <i>Helenium scorzoneraefolium</i> -	71
	b) Purificación y estudio cristalográfico de la mexicanina G - - - - -	78
	c) Obtención de la tetrahidrohelenalina y de la dihidro-isohelenalina - - - - -	81
	d) Obtención de la acetyl-tetrahidrohelenalina -	83
V.	RESUMEN Y CONCLUSIONES - - - - -	85
VI.	APENDICES - - - - -	87
VII.	BIBLIOGRAFIA - - - - -	105

I.

INTRODUCCION

Los seres vivos tienen la capacidad de crecer o desarrollarse, para lo cual requieren tomar de su entorno sustancias químicas de origen mineral y orgánico, transformándolos en compuestos orgánicos propios que les permitan realizar sus funciones vitales. Esto es mediante un proceso de degradación de las sustancias ingeridas (catabolismo) y síntesis, a partir de los productos de degradación, de compuestos propios (anabolismo) que en su conjunto recibe el nombre de metabolismo.

Todos los organismos poseen un cierto número de rutas metabólicas similares, mediante las cuales, utilizan y/o sintetizan ciertos compuestos químicos (orgánicos) esenciales y comunes para todo ser vivo como son: azúcares, aminoácidos, nucleótidos, y sus polímeros: polisacáridos, proteínas y ácidos nucleicos respectivamente. A tales rutas -

metabólicas se les conoce como metabolismo primario y a los compuestos químicos generados en ellas, metabolitos primarios. Por otra parte existen otras rutas metabólicas las cuales producen compuestos químicos que parecen no ser útiles para el organismo que los produce. Estos son metabolitos secundarios y las rutas que los producen se denominan metabolismo secundario.

Los metabolitos secundarios, también llamados productos naturales, son únicos en un organismo dado o comunes en un pequeño número de organismos íntimamente relacionados y a pesar de que aparentemente no son esenciales para el organismo que los produce, tienen funciones determinantes en su supervivencia y desarrollo de acuerdo al medio ambiente en que se desenvuelve. Por ejemplo, los antibióticos producidos por hongos evitan el desarrollo de bacterias que compiten con ellos por los nutrientes presentes en el medio en que se desarrollan. La abeja mielera (*Apis mellifera*) emite una mezcla de compuestos orgánicos (ácido nerólico, geraniol y ácido geránico) para atraer a otras abejas hacia una fuente de néctar que ha descubierto. Algunas plantas poseen un sabor amargo, dado por compuestos tales como lactonas sesquiterpénicas, para así evitar ser devoradas por animales herbívoros.

Estos metabolitos secundarios debido a su acción fisiológica sobre los organismos, han sido utilizados por el hombre desde tiempos remotos en forma de extractos de plantas. El hombre primitivo encontró en estos extractos efectividad: como medicina, para aliviar el dolor y aligerar los síntomas de la enfermedad; como venenos, para el uso en la cacería y en la guerra; como agente efectivo en la eutanasia y pena capital (cicuta); y como narcóticos, alucinógenos o estimulantes para sus ritos sagrados o para aliviar la fatiga o el hambre. También ha utilizado compuestos aromáticos para disimular olores desagradables.

Muchos de estos productos naturales son usados hoy en día y generalmente con el mismo propósito que en la antigüedad, solo que en forma más pura. Por ejemplo, el curare, un extracto de planta que contiene muchos alcaloides tóxicos, fué utilizado en sudamérica por los indígenas como veneno de flecha cuando descubrieron que podía paralizar a cualquier animal mayor. Un componente del curare, la tubocurarina es ahora usada como relajante muscular en cirugía. La efedrina, base de un remedio chino para los males respiratorios, actualmente es utilizada en el tratamiento de asma.

Además del uso farmacológico que le ha dado el hombre a los metabolitos secundarios, también han servido éstos

al proceso de clasificación (al menos en vegetales) dado su carácter de "exclusivos" a cierto tipo de organismos. Las contribuciones químicas a la clasificación de las plantas (quimiotaxonomía vegetal) está basada en los constituyentes químicos (metabolitos secundarios), esto es, en las características moleculares, las cuales están controladas genéticamente y tienen la ventaja sobre las características morfológicas (usadas en la taxonomía clásica) de que pueden ser descritas exactamente en términos de fórmulas químicas, estructural, configuracional y estereoquímicamente bien definidas.

El presente trabajo pretende contribuir al conocimiento de los metabolitos secundarios, determinando la estructura y estereoquímica de algunos de ellos presentes en plantas del género *Helenium* (familia Compositae).

II

ANTECEDENTES

El reino vegetal es el que más ha tenido que adaptarse a su medio ambiente, ya que carece de la capacidad para desplazarse hacia lugares menos inhóspitos para él, por lo que ha tenido que producir una gran cantidad de metabolitos secundarios que le permiten interactuar con su entorno en forma favorable. Así tenemos que dentro de la gran variedad de vegetales, los más evolucionados son las fanerógamas¹ (plantas que ya presentan flores y frutos). Dentro de éstas se encuentra la familia Compositae* como una de las más avanzadas en la escala evolutiva. Esta familia se encuentra ampliamente distribuida en todos los continentes excepto la Antártida, es más abundante que diversa en regiones subtropical-

* Ver apéndice I.

montañosas o latitudes tropicales, y tal diversidad es más evidente en áreas montañosas que bordean regiones áridas o semiáridas.²

Gran número de plantas de la familia Compositae han sido usadas por sus propiedades curativas. Por ejemplo, el extracto de hojas de diente de león (*Taraxacum officinale*) ha sido utilizado como diurético, además compuestas del género *Chamomilla*, *Arnica*, *Cinara*, *Echinacea* y otras, han sido utilizadas en medicina homeopática y han demostrado ser drogas efectivas.³

Debido al extendido uso medicinal de muchas compuestas, desde el siglo pasado, los químicos orgánicos han tenido inquietud por explorar la composición química de esta familia para identificar sus constituyentes activos. A la fecha la química de la familia Compositae se sigue estudiando por varias razones además de su uso medicinal (fines taxonómicos, citotoxicidad en algunas especies, etc.) y como resultado existe ahora una gran información sobre los constituyentes químicos (metabolitos secundarios) presentes. Muchos de estos compuestos son característicos de la familia; fructanos tipo inulina, alcoholes triterpénicos pentacíclicos, ciertos ácidos grasos característicos, lactonas sesquiterpénicas, etc. (tabla 1).²

Tabla 1

PERFIL QUIMICO DE LAS COMPUESTAS

CLASE DE COMPUESTO	LOCALIZACION Y ACTIVIDAD BIOLOGICA
<p>Presente en todas las tribus de familia:</p> <ul style="list-style-type: none"> -Fructanos tipo inulina -Acidos grasos característicos -Lactonas sesquiterpénicas -Alcoholes triterpénicos pentacíclicos. -Esteres de ácido caféico -Flavonoides metilados 	<ul style="list-style-type: none"> -En órganos de almacenamiento. -En aceites de semillas. -Principalmente en hojas; de sabor amargo. -Como esteres en pericarpio de <u>frutas</u> y en lípidos generalmente. -En hojas; <u>Cinaria</u> es diurético. -En hojas y <u>flores</u> (pigmento amarillo).
<p>Presentes en muchas tribus:</p> <ul style="list-style-type: none"> -Compuestos acetilénicos -Aceites esenciales, fenoles monoterpénicos -Ciclitoles -Cumarinas 	<ul style="list-style-type: none"> -En raíces y hojas; actividad antimicrobiana. -En hojas y frutos. -En hojas. -En hojas y flores.
<p>Presentes en pocas tribus:</p> <ul style="list-style-type: none"> -Caucho(poliisopreno) -Alcaloides de pirrolizidina -Acidos triterpénicos -Diterpenos -Glicósidos cianogénicos -Pigmentos antoclorados -Cromenos -Amidas de ácidos grasos 	<ul style="list-style-type: none"> -En raíz y tallos. -En hojas; altamente tóxicos. -Libres en flores, combinados con azúcares en hojas. -En todos los tejidos. -En hojas y frutos; tóxicos. -En flores amarillas. -En hojas y raices; insecticidas. -En raíces; insecticidas.

Dentro de los metabolitos secundarios de la familia de las compuestas, las lactonas sesquiterpénicas ocupan un lugar preponderante ya que son casi exclusivas de ella (tabla 2)⁴ y debido a los diferentes tipos de lactonas encontrados, se han usado como un criterio quimiotaxonómico muy importante dentro de la familia.

TABLA 2

DISTRIBUCION DE LAS LACTONAS SESQUITERPENICAS EN EL REINO VEGETAL

A. Lactonas formadas por oxidación de un grupo metilo terminal.

Compositae	450 especies
Umbelliferae	12
Laureaceae	1
Burseraceae	1
Magnoliaceae	5
Hepaticaeae	4

B. Otras lactonas.

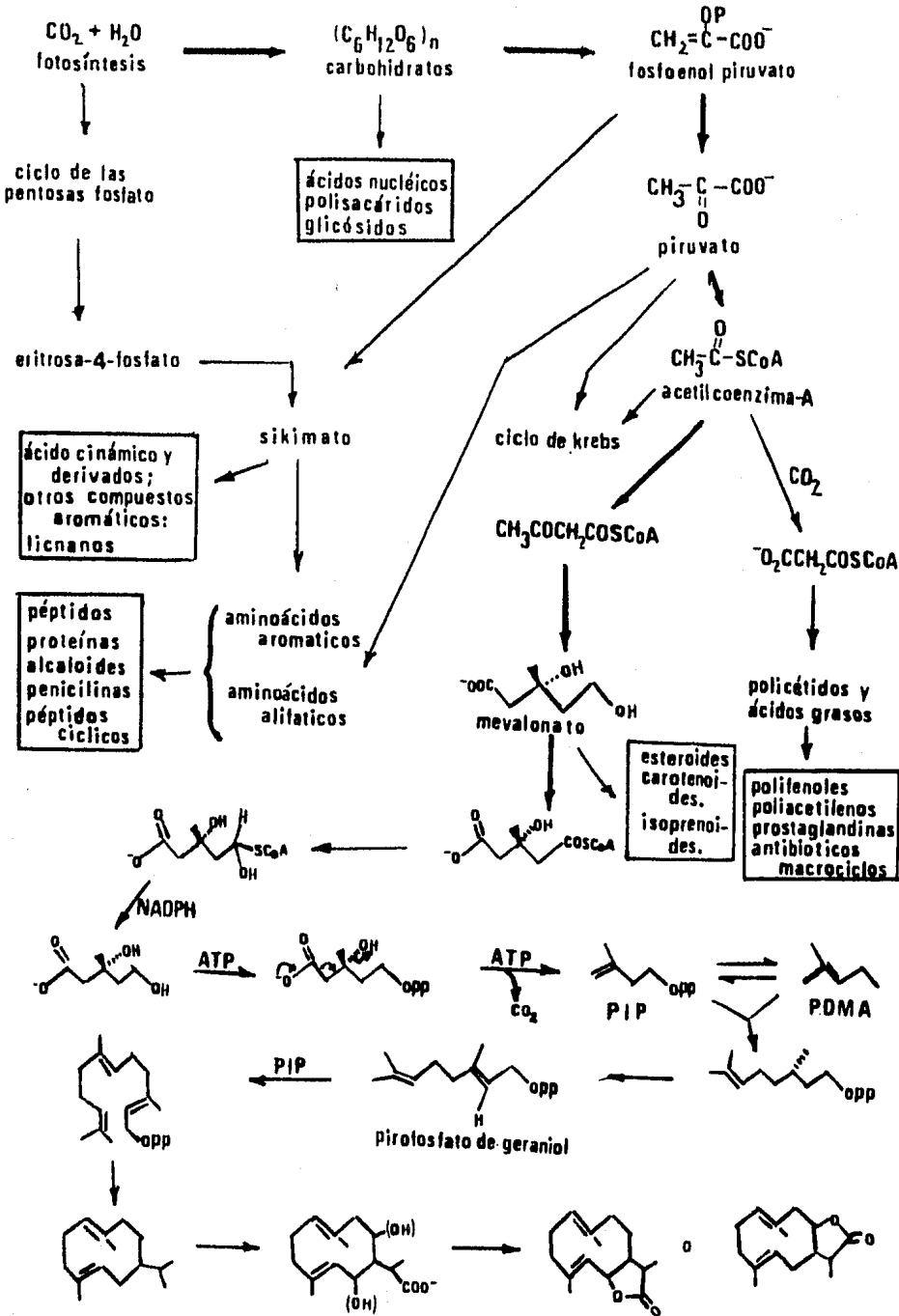
Aramanthaceae	1
Aristolochiaceae	2
Cannellaceae	2
Lauraceae	2
Celastraceae	3

El método de la taxonomía química es en principio simple y consiste en la investigación de la distribución de compuestos químicos o grupos de compuestos biosintéticamente correlacionados, en series de plantas relacionadas o supuestamente relacionadas. Así las lactonas sesquiterpénicas se han examinado y ordenado en forma creciente de complejidad biogénica, esto se basa en los conocimientos que se tienen de su biosíntesis.⁵

Las rutas metabólicas que llevan a la formación de lactonas sesquiterpénicas se pueden resumir como sigue: del proceso de fotosíntesis, efectuado en las hojas (figura 1), se forman inicialmente carbohidratos (anabolismo), los cuales son transferidos a diferentes células del vegetal, donde son degradados (catabolismo) para producir energía (ciclo de Krebs) y para dar las unidades biosintéticas como piruvato y acetilcoenzima A, a partir de las cuales puede formar (anabolismo) cualquier compuesto que requiera el organismo. Para la síntesis de compuestos terpénicos, un acetilcoenzima A se condensa con otras dos moléculas de acetilcoenzima A para dar el mevalonato, vía acetoacetilcoenzima-A, el cual por medio de reducciones enzimáticas sucesivas, fosforilación y descarboxilación posterior, forma el pirofosfato de isopentenilo (PIP), el cual mediante una enzima isomerasa, se interconvierte con el pirofosfato de dimetil

Figura 1

RUTAS METABOLICAS QUE LLEVAN A LA FORMACION DE LACTONAS SESQUITERPENICAS



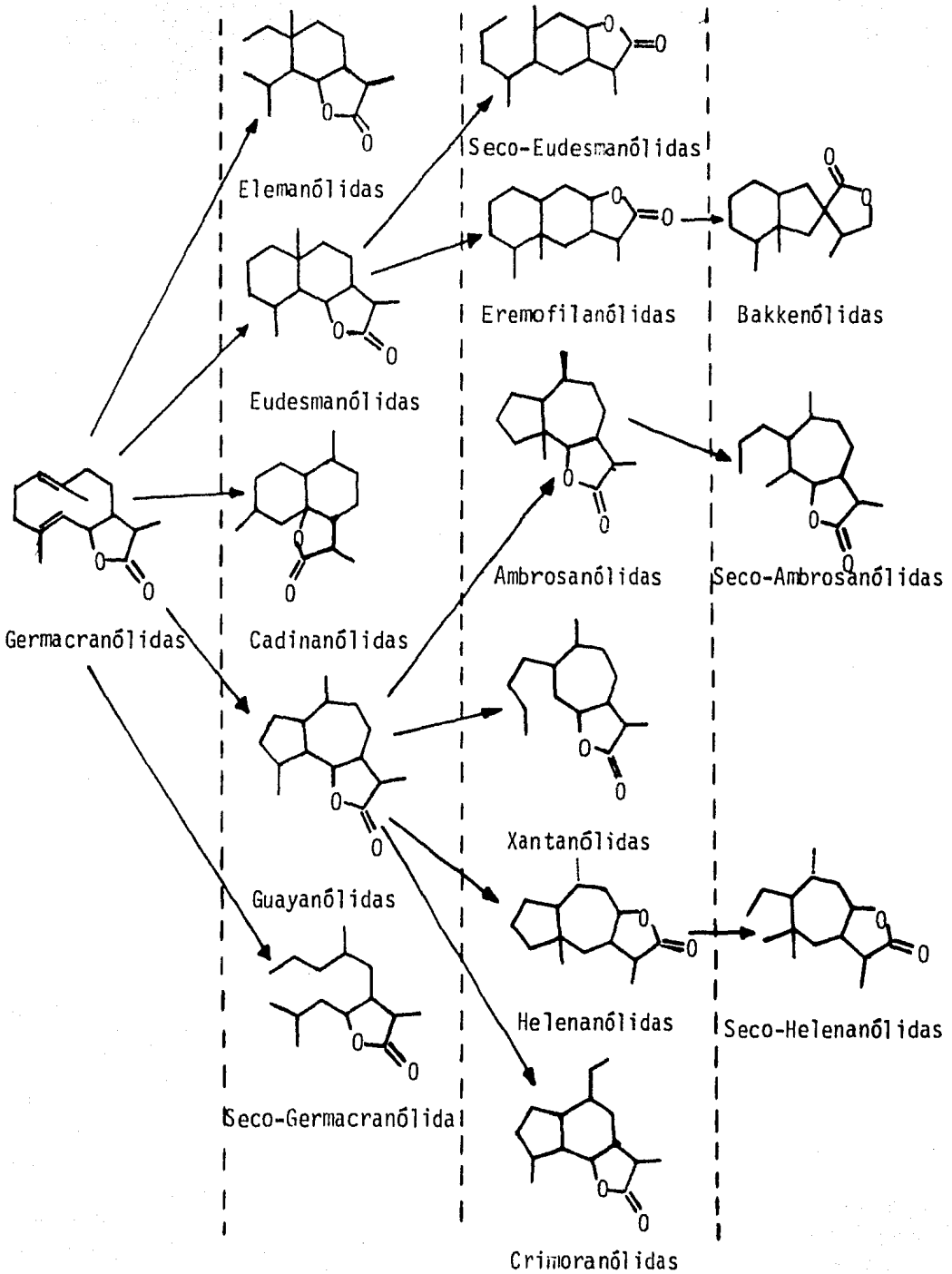
alilo (PDMA). Estas dos entidades reaccionan entre sí para dar pirofostato de geraniol, al cual se le adiciona una mo lécula de pirofosfato de isopentenilo para finalmente obte ner el pirofosfato de farnesilo. Este último se considera precursor biogenético de las lactonas sesquiterpénicas.⁶

La ciclización del pirofosfato de *trans-trans* farnesilo produce un anillo de diez miembros, y la oxidación de - uno de los grupos metilo, en la "cabeza" de isopropilo del precursor tipo farnesol, a un grupo carboxilo, seguido de la oxidación de un grupo metileno adyacente a alcohol secundario y el eventual cierre del anillo, da como resultado la formación de una lactona sesquiterpénica. Los detalles de este proceso no han sido bien definidos.⁷

Se han encontrado a la fecha más de mil quinientas lac tonas sesquiterpénicas diferentes que, sin embargo, pueden reunirse en un pequeño grupo de tipos tomando como base la formación de diferentes sistemas carbocíclicos. Los nombres y fórmulas de los principales tipos de lactonas se dan en la figura 2, donde también se anotan sus hipotéticas relaciones biogenéticas. El sufijo "ólida" en sus nombres se refiere a la función lactona.⁴

Otra parte importante del interés que se tiene en las lactonas sesquiterpénicas es su actividad farmacológica. Se

FIGURA 2



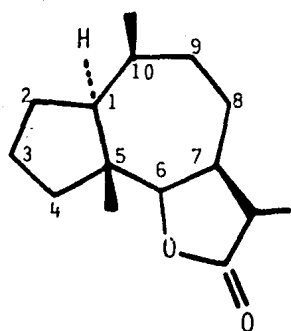
ha encontrado actividad antitumoral y citotóxica en microhelenina-E⁸ y muchas otras lactonas. También han demostrado inhibir el desarrollo de bacterias, hongos y helmintos parásitos del hombre (mikanólida y dihidromikanólida), causan dermatitis alérgica (partenina), es conocida su acción insecticida⁹ y su toxicidad para vertebrados (hymenoratina y acetilhymenograndina).¹⁰ Además las lactonas sesquiterpénicas poseen un sabor amargo que hace a las plantas que las poseen, inapetecibles.

La actividad farmacológica de las lactonas sesquiterpénicas se debe a la presencia del metileno exocíclico conjugado a la γ -lactona y a la presencia de grupos funcionales tales como epóxidos, hidroxilos, clorhidrinas, cetonas insaturadas u O-acilo, adyacentes al metileno alfa de la γ -lactona, con lo cual se incrementa la reactividad de la lactona conjugada hacia nucleófilos biológicos.¹¹ Parece ser que mediante una alquilación selectiva por adición tipo Michael de proteínas sulfhidriladas (el grupo tiol es el nucleófilo específico), son desactivadas ciertas enzimas que contienen grupos sulfhidrilo con lo que se inhibe su función. De ahí el efecto de las lactonas sesquiterpénicas.⁹

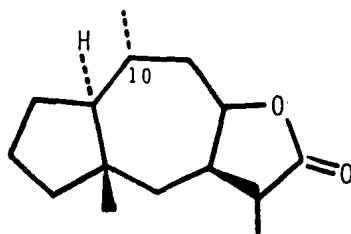
El género *Helenium*, actualmente colocado en la tribu Heliantheae,¹² se encuentra distribuido principalmente en

México y los Estados Unidos. Son plantas herbáceas, anuales que poseen flores grandes de color amarillo, similares a las del girasol. Cuenta con cuarenta especies de las cuales se han estudiado químicamente alrededor de veinticinco, encontrándose lactonas sesquiterpénicas del tipo de las guayanólidas y pseudoguayanólidas principalmente.

Las fórmulas (1) y (2) ilustran los dos tipos principales de pseudoguayanólidas, las cuales poseen una fusión *trans* en el sistema de anillos 5/7. El esqueleto de ambrosanólidas (1) contiene un grupo metilo β en C-10, mientras que en las helenanólidas (características de *Helenium*) el grupo metilo en C-10 es α como en la helenalina de donde toma su nombre este grupo.



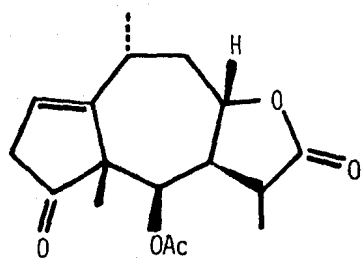
(1) Ambrosanólidas



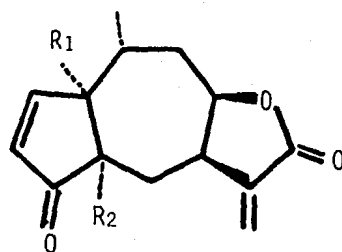
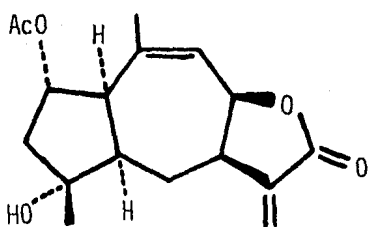
(2) Helenanólidas

Según la revisión hecha por Ozawa,¹³ hasta 1981 se habían encontrado cincuenta y siete lactonas sesquiterpénicas en este género. A la fecha se han encontrado seis lactonas más (figura 3), que son: la isoheleniamarina (3),¹⁴ la microlenina E (4) y F (5),⁸ la 2-acetoxihelenium lactona (6), la 4-0-tigloil-6-epi-picrohelenina (7), la 4-0-tigloil-6-epi-autumnólida (8),¹⁵ y la desacetil-1-epi-isotenulina (9).¹⁶

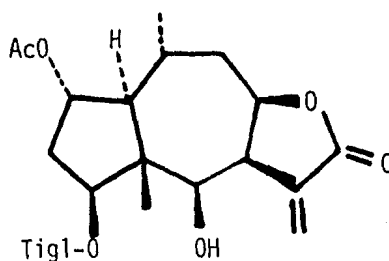
FIGURA 3



(3) Isoheleniamarina

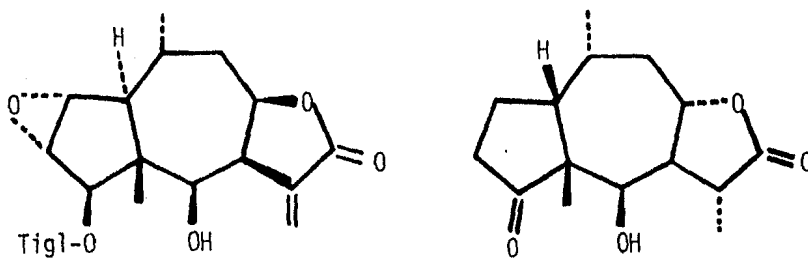
(4) $R_1 = OH$, $R_2 = H$ (Microlenina E)(5) $R_1 = H$, $R_2 = OH$ (Microlenina F)

(6) 2-acetoxihelenium lactona



(7) 4-0-tigloil-6-epi-picrohelenina

FIGURA 3
(continuación)



(8) 4-O-tigloil-6-epi-autumnólida (9) desacetil-1-epi-isotenuлина

En el presente trabajo se realizó el estudio fitoquímico de *Helenium scorzoneraefolium*, se determinó la estructura y estereoquímica de la mexicanina G, que resultó ser un intermediario clave en la biogénesis de las lactonas sesquiterpénicas en *Helenium*, y se establece un modelo de resonancia magnética nuclear de carbono trece de pseudoguyanólidas. Esto se discute a continuación en la parte teórica.

III

PARTE TEORICA

A. CONSTITUYENTES DE *Helenium scorzoneraefolium*.

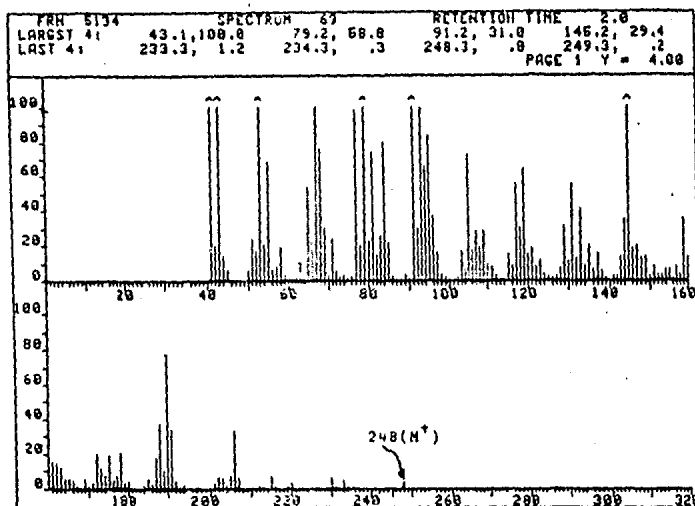
La parte aérea de *Helenium scorzoneraefolium* se extrajo selectivamente como se describe en la parte experimental.

De las fracciones más polares de la cromatografía del extracto hexánico se aisló, por cromatografías sucesivas, un compuesto cristalino, p.f. 86-88°C, que en la espectrometría de masas por impacto electrónico muestra un ión molecular de 248 (espectro 1). Esta sustancia mostró en el espectro de infrarrojo (IR) (espectro 2), bandas de carbono de α -metilen- γ -lactona en 1756 y 1664 cm^{-1} , y un carbonilo, que corresponde a una cetona en 1715 cm^{-1} .

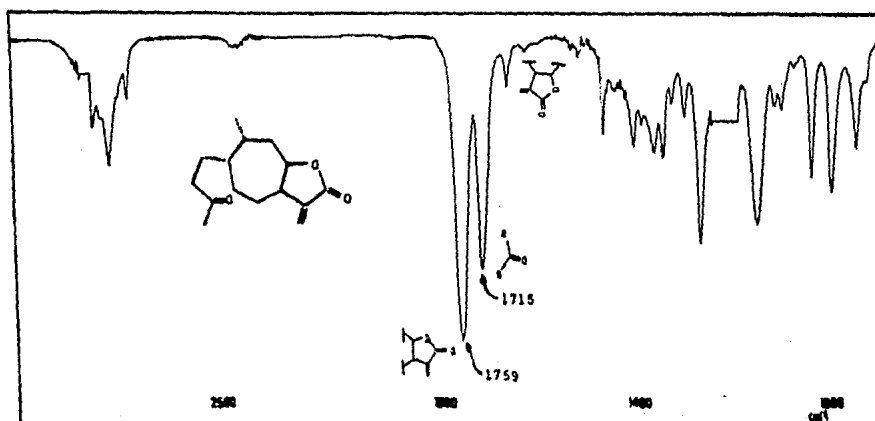
Los datos anteriores en conjunción con la discusión posterior, permiten proponer la fórmula molecular de esta

sustancia como $C_{15}H_{20}O_3$ correspondiente a una lactona sesquiterpénica.

ESPECTRO 1

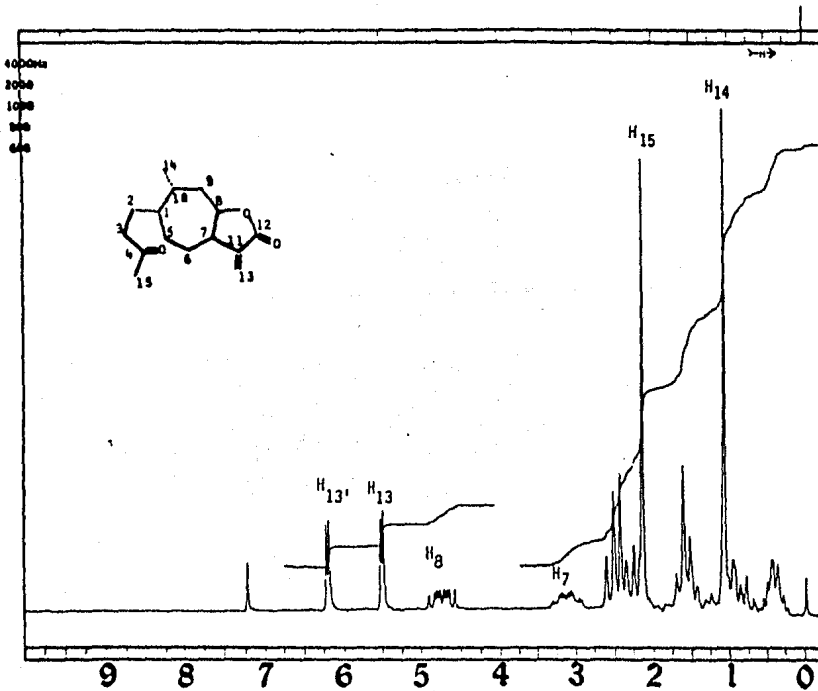


ESPECTRO 2

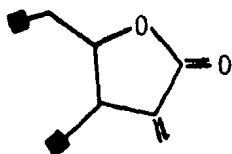
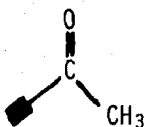


El espectro de resonancia magnetica nuclear de hidrógeno (RMN ^1H) (espectro 3) muestra señales típicas para los protones vinílicos de una α -metilen- γ -lactona en 6.20 y 5.52 partes por millón (ppm),¹⁷ la señal compleja centrada en 4.74 ppm es un doble de doble de doble e integra para un protón y se asigna, por su desplazamiento químico al protón geminal al oxígeno etéreo de la γ -lactona y por su multiplicidad se encuentra flanqueado por un metileno y por un metino (formula parcial A).

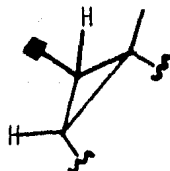
ESPECTRO 3



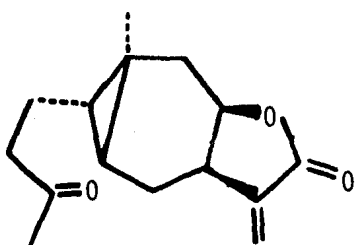
El multiplete a 3.13 ppm se asigna al protón alílico al doble enlace exocíclico conjugado con la γ -lactona. En la región de los metilos se observan señales sencillas (singuletes) en 2.16 y 1.08 ppm. La primera señal correspondería a un metilo de acetato (CH_3COO) o al metilo de una metil cetona (fórmula parcial B). La señal a 1715 cm^{-1} en el espectro de IR indica que se trata de una metil cetona.

FORMULA PARCIAL AFORMULA PARCIAL B

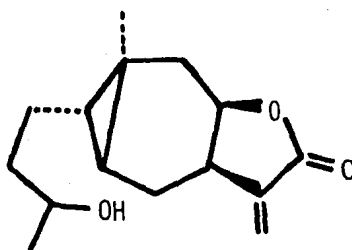
Por otro lado, el metilo en 1.08 ppm es un metilo cuaternario que en conjunción con las señales complejas en 0.45 ppm indican la presencia de un metil ciclopropano (fórmula parcial C). Con las fórmulas parciales se explican cinco de las seis insaturaciones que contiene la molécula por lo que la insaturación restante debe corresponder a un ciclo adicional.

FORMULA PARCIAL C.

Los datos expuestos concuerdan con la estructura de una xantanólida (secoguayanólida), que incorpora un ciclopropano en su estructura. Sólo existen reportadas en la literatura dos secoguayanólidas que poseen un ciclopropano: la carabrona (10) y la 4(H)-carabrona (11).



(10) Carabrona

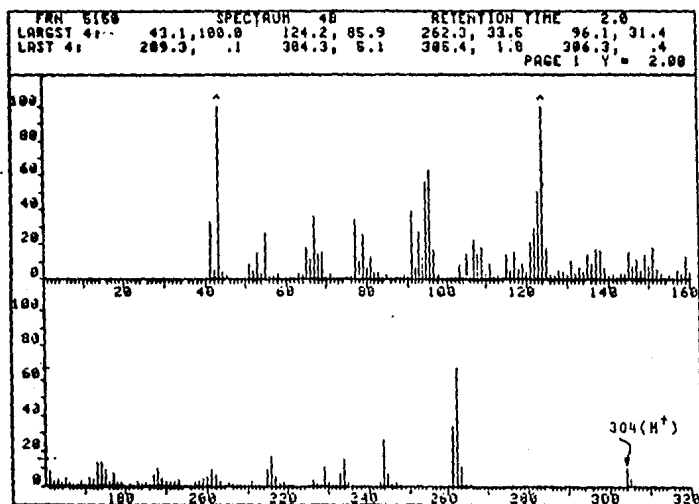


(11) 4(H)-carabrona

La comparación de los datos físicos y espectroscópicos obtenidos, con los reportados en la literatura, concuerdan perfectamente para la carabrona, una xantanólida que ha sido aislada previamente de *Helenium quadridentatum*.¹⁸

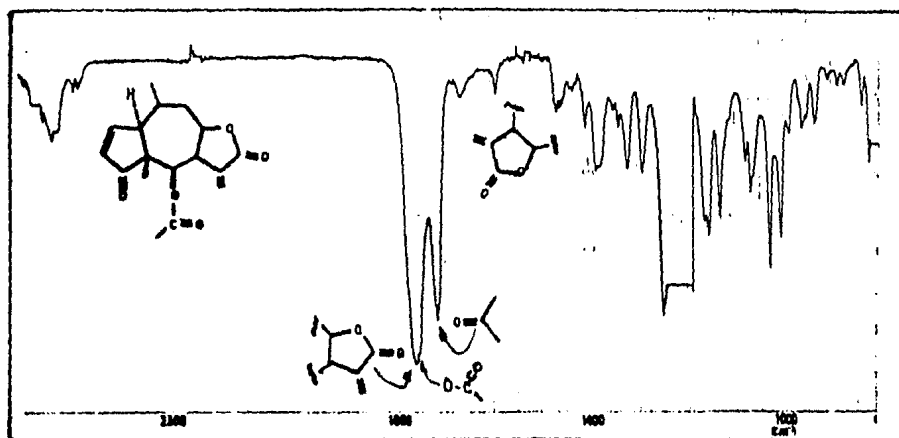
De la cromatografía del extracto polar (véase la parte experimental para los detalles del aislamiento) se aisló otro compuesto cristalino con p.f. de 188-190°C, de fórmula molecular $C_{17}H_{20}O_5$, establecida por espectrometría de masas de impacto electrónico (M^+m/z 304, 6%) (espectro 4), por las diez y siete señales que se observan en el espectro de RMN ^{13}C (espectro 6) y la integración de veinte hidrógenos en el espectro de RMN 1H (espectro 7).

ESPECTRO 4



Esta sustancia muestra en su espectro de IR (espectro 5) señales de tres carbonilos en 1760, 1755 y 1718 cm^{-1} , que corresponden a una γ -lactona α,β insaturada, a un grupo acetato y a una ciclopentanona conjugada, respectivamente.

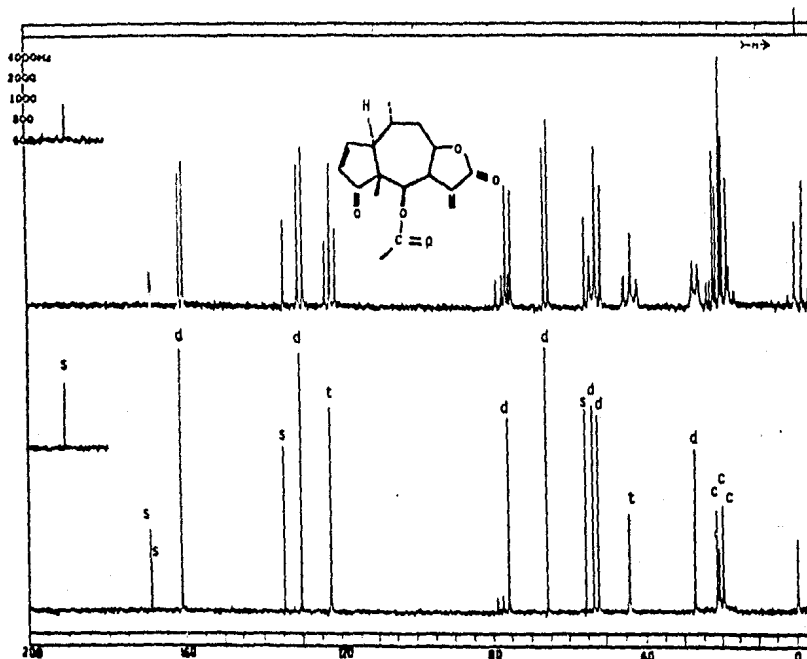
ESPECTRO 5



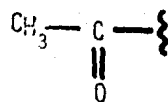
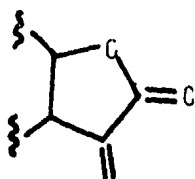
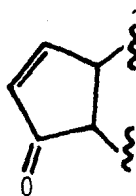
Estas asignaciones se apoyan en las señales del espectro de RMN^{13}C (espectro 6) en 210.73 (carbonilo de ciclo-pentanona), 169.29 y 169.0 ppm (Carbonilo de γ -lactona y de acetato). Además en el mismo espectro, se observan las señales de dos dobles enlaces que, de acuerdo a los datos anteriores, corresponden a un doble enlace disustituido vecinal (130.20 \underline{d} y 160.89 \underline{d}) de la ciclo-pentanona y a un doble enlace *gem* disustituido (134.57 $\underline{\Delta}$ y 122.54 ppm \underline{t}) del α -metileno conjugado con el carbonilo de la lactona. Por lo tanto, en la molécula existen las formulas parciales D, E y F. En el espectro de RMN^{13}C se observan, además de las siete señales anteriormente mencionadas, dos metinos unidos a oxígeno (75.76 \underline{d} y 65.82 ppm \underline{d}), un metileno (44.10 ppm \underline{t}), tres metinos (53.31 \underline{d} , 51.90 \underline{d} y 27.26 ppm \underline{d}), tres me

tilos (21.36 \underline{c} , 20.72 \underline{c} y 19.61 ppm \underline{c}) y un átomo de carbono no cuaternario (55.41 \underline{d}).

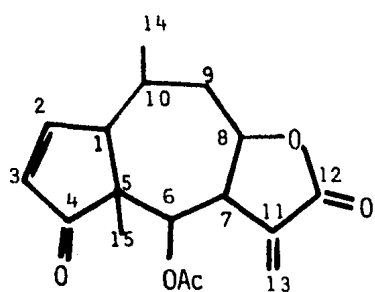
ESPECTRO 6



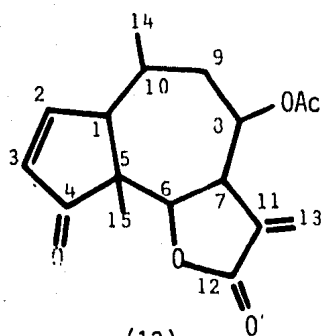
FORMULAS PARCIALES



Estas señales pueden conjuntarse armónicamente en un esqueleto de pseudoguayanólida, que son comunes en *Helenium*. Omitiendo la estereoquímica, pueden proponerse las fórmulas (12) y (13).



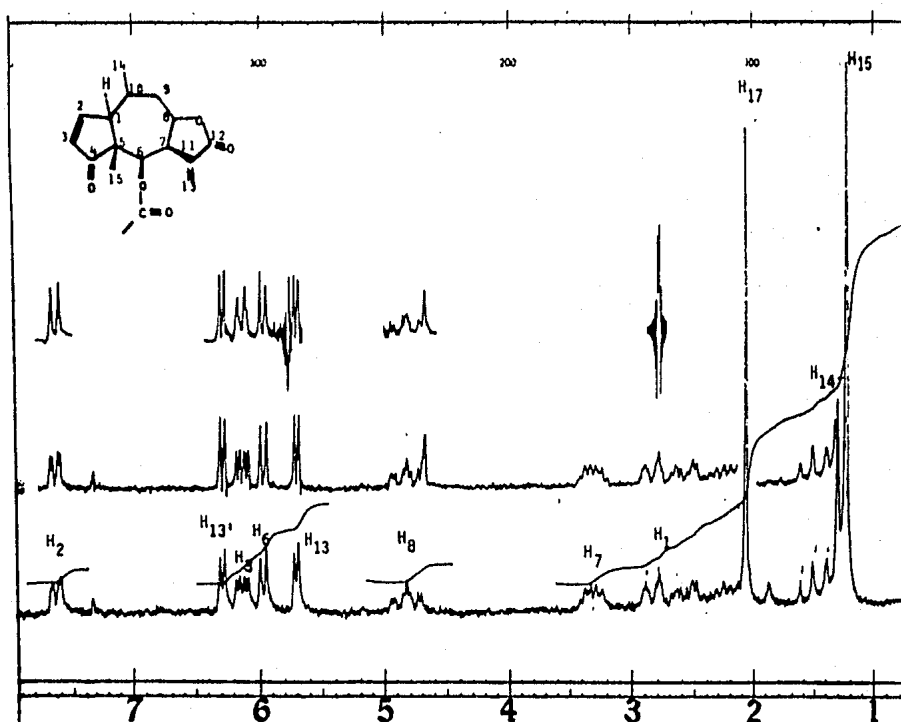
(12)



(13)

En el espectro de RMN¹H (espectro 7), se observan las señales del sistema AMX de los protones de la ciclopentano na (7.62 ppm, H-2, 1H, dd, J=6 Hz ; 6.12 ppm, H-3, 1H, dd, J=6.3 Hz ; 2.81 ppm, H-1, 1H, señal compleja) y las señales correspondientes a los protones vinflicos del metileno exo cíclico (6.28 ppm, H-13', 1H, d, J=3.5 Hz ; 5.70 ppm, H-13, 1H, d, J=3.5 Hz). Se observan señales del metilo del grupo acetato (2.08 ppm, H-17, 3H, s), del metilo en C-10, (1,26 ppm, H-14, 3H, d, J=6.5 Hz) y del metilo en C-14 (1.23 ppm, H-15, 3H, s).

ESPECTRO 7



Las señales de los protones de las bases oxigenadas en RMN¹H, permiten discriminar entre las fórmulas (12) y (13), ya que el protón base del acetato, se desplaza a campo más bajo que el protón base de la lactona, por lo que la señal compleja (doble de doble de doble) centrada en 4.82 ppm corresponde a la base de la lactona y por lo tanto ésta cierra hacia C-8 mientras que el doblete centrado en 5.95 ppm ($J=4.7$ Hz) corresponde a la base del acetato. Esta discu-

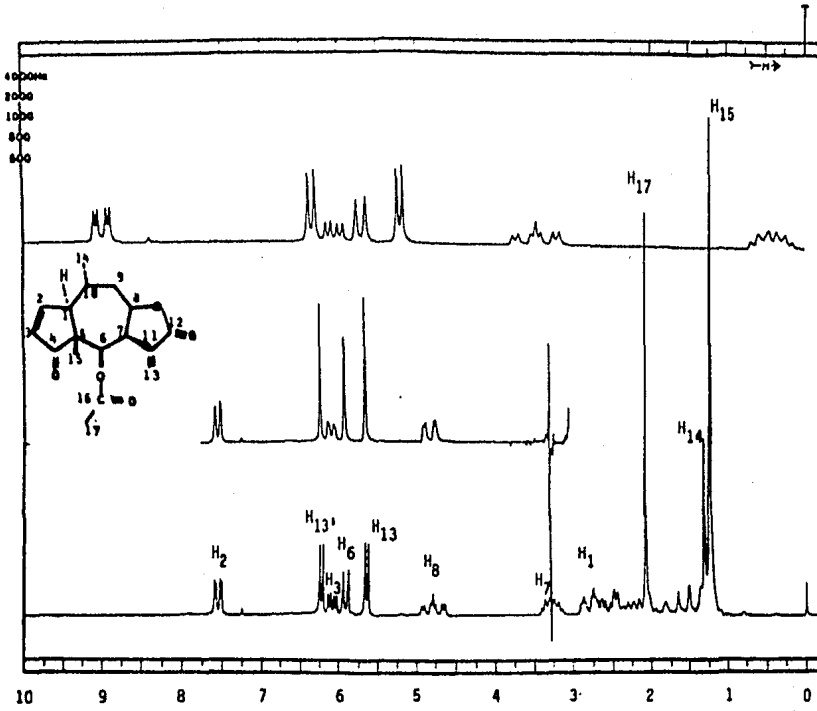
sión establece la estructura (12) para esta sustancia aislada de *Helenium scorzoneraefolium*.

La estereoquímica de esta sustancia se deduce por la correlación de las constantes de acoplamiento en RMN¹H y el ángulo diedro de los protones vecinales. Por convención en la representación de las lactonas sesquiterpénicas, el hidrógeno H-7 es α .³¹ H-6 y H-7 forman un ángulo diedro de 32° (J=4.7 Hz), por lo que el grupo acetato en C-6 de encuentra en disposición β .

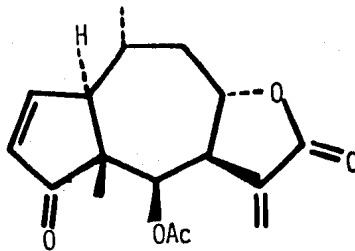
Por otro lado, la constante de acoplamiento de 9.2 Hz (deducida por irradiación de H-7, véase espectro 8), indica que existe un ángulo diedro de 163° entre los protones H-7 y H-8, lo cual está de acuerdo con un cierre *trans* de la γ -lactona. La fusión de anillos 5/7 debe ser *trans* y por analogía con las pseudoguayanólidas de *helenium*, el metilo en C-10 es α , correspondiendo esta molécula a la serie de las helenanólidas (fórmula 14).

La estructura y estereoquímica deducida para esta molécula es idéntica, de acuerdo con los datos físicos, espectroscópicos y por comparación directa, a la de la acetilmexicanina I (linifolina A), aislada anteriormente de *Helenium alternifolium*,¹⁹ *Helenium aromaticum*,²⁰ *Helenium plantagineum*²¹ y *Helenium linifolium*.²²

ESPECTRO 8



FORMULA 14



Por lo tanto, la carabrona y la acetilmexicanina I son los principales metabolitos secundarios aislados de *Helenium scorzoneraefolium*.

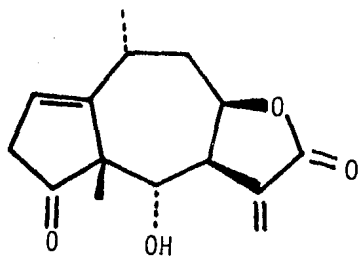
B. ESTRUCTURA Y ESTEREOQUIMICA
DE LA MEXICANINA G, GUAYANO
LIDA AISLADA DE *Helenium me*
xicanum.

Como es bien conocido, el estudio de las lactonas sesquiterpénicas en México, se inició al analizar los constituyentes de *Helenium mexicanum*. En 1959 Romo de Vivar y Romo reportan las constantes físicas de las mexicaninas A, B, C y D²³ que, además de la helenalina, fueron aisladas del mencionado espécimen. Posteriormente los mismos autores aislaron cuatro nuevas lactonas que fueron denominadas mexicaninas E, F, G y H, reportando así mismo, la composición porcentual de las lactonas sesquiterpénicas de *Helenium mexicanum* a diferentes intervalos de su ciclo vital.²⁴ La estructura y estereoquímica de las mexicaninas A(15),²⁵ C(16),²⁶ D(17),²⁵ E(18),²⁷ H(19)²⁸ e I(20)²⁹ (figura 4), fueron establecidas posteriormente por métodos químicos, espectroscópicos y cristalográficos. Sin embargo las estructuras de las mexicaninas B, G y F permanecieron indefinidas.

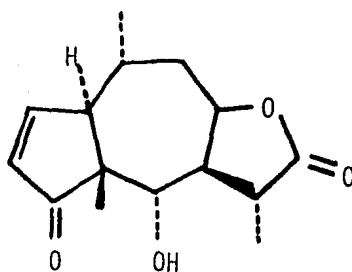
Recientemente se determinó la estructura y estereoquímica de la mexicanina F(21),³⁰ estableciéndose como una lactona norsesquiterpénica dimérica.

La mexicanina G se purificó de una muestra original, como se describe en la parte experimental, obteniéndose una

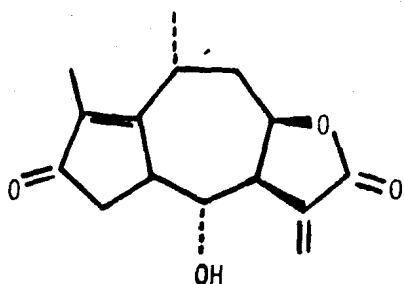
FIGURA 4

LACTONAS AISLADAS DE *HELENIUM MEXICANUM*.

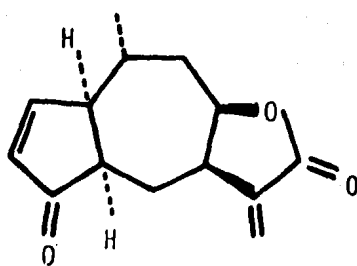
(15) Mexicanina A



(16) Mexicanina C



(17) Mexicanina D

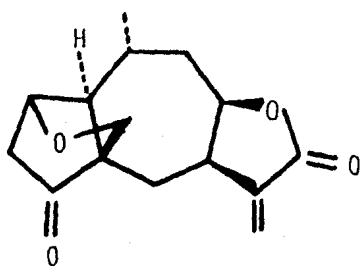


(18) Mexicanina E

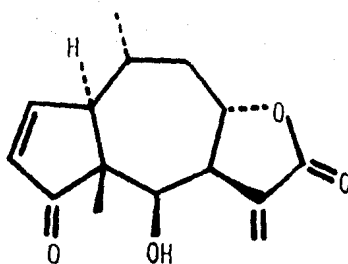
FIGURA 4

LACTONAS AISLADAS DE *HELENIUM MEXICANUM*.

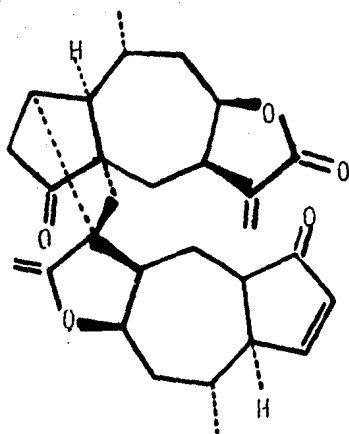
(continuación)



(19) Mexicanina H



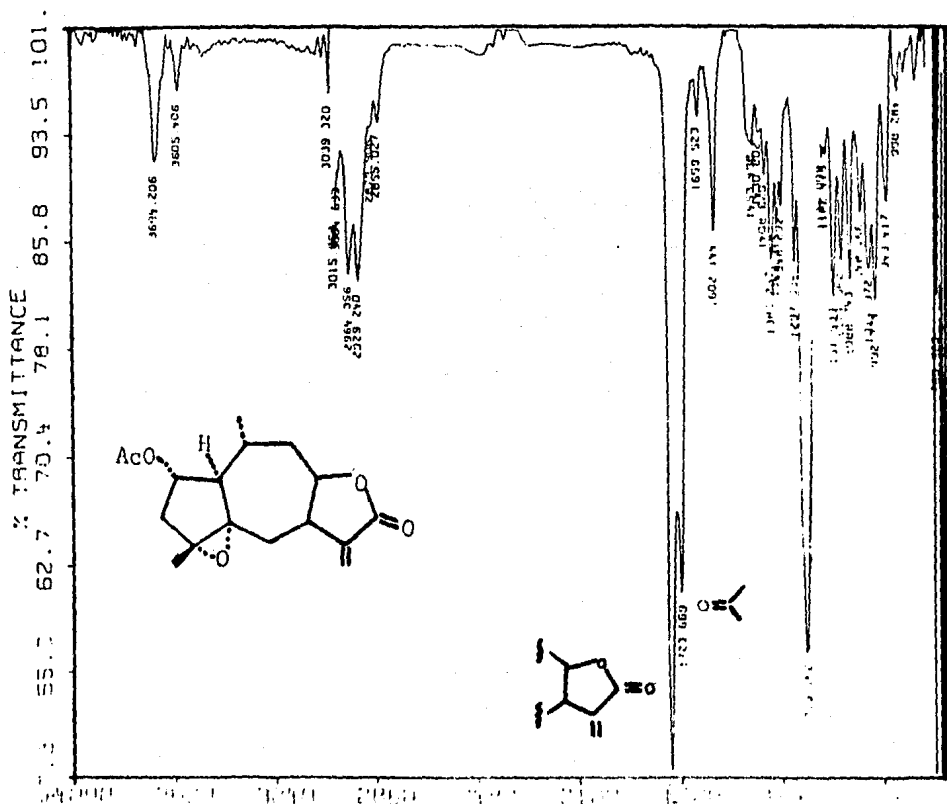
(20) Mexicanina I



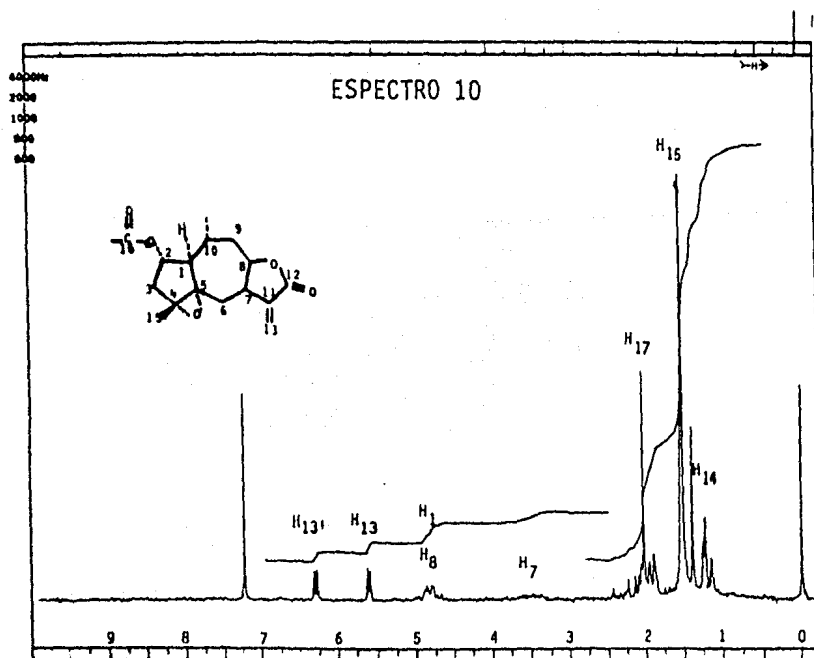
(21) Mexicanina F

cantidad mínima de sustancia, de punto de fusión de 214-216°C y cuyo análisis elemental indica una fórmula mínima de $C_{17}H_{22}O_5$. El espectro de IR (espectro 9) de la mexicana G indica la presencia de una lactona de cinco miembros α - β insaturada por las señales de 1755 y 1655 cm^{-1} , y una banda adicional a 1720 cm^{-1} que se asigna a un grupo carbonilo de éster.

ESPECTRO 9

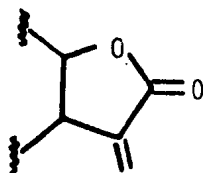


El espectro de RMN¹H (espectro 10) está de acuerdo con las anteriores asignaciones, ya que se observa el par de dobletes centrados en 6.28 y 5.60 ppm ($J=3.2$ Hz) correspondientes a los protones del metileno exocíclico conjugado con la lactona y el éster debe corresponder a un grupo acetato, ya que se observa la señal del metilo en 2.05 ppm (3H, Δ). El espectro de RMN¹H proporciona información adicional al mostrar una señal compleja centrada en 4.78 ppm que integra para dos protones y que por su despla^zamiento químico debe corresponder a protones base de las funciones oxigenadas, probablemente a la base de la lactona y a la base del acetato.

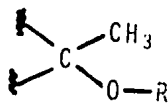


El protón alílico al metileno exocíclico se encuentra en 3.5 ppm (1H, multiplete). Por otro lado, a campo alto se observan un singulete centrado en 1.52 ppm que debe corresponder a un metilo unido a un carbono, el cual está unido a un oxígeno, y centrado en 1.18 ppm se observa un doblete que integra para tres hidrógenos correspondiente a un metilo unido a un metino. Con los datos descritos se pueden escribir las fórmulas parciales G, H, I y J.

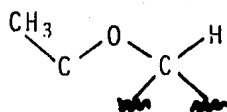
FORMULAS PARCIALES.



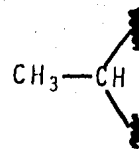
G



I



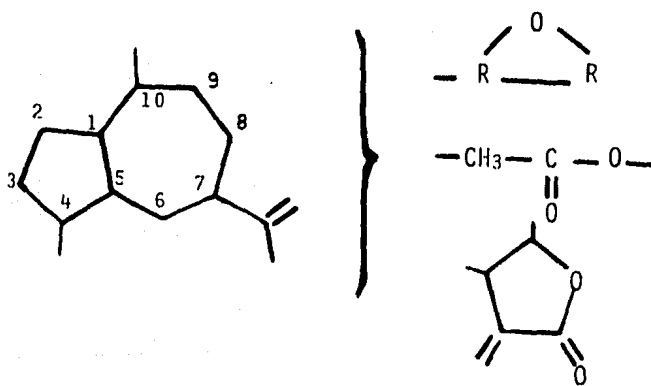
H



J

La imposibilidad de combinar los fragmentos anteriores en un esqueleto de pseudoguayanólida (que son las lactonas características de *Helenium mexicanum*) debido a la ausencia de un metilo unido a un carbono cuaternario, sugiere que la mexicanina G posee un esqueleto de guayanólida, de esta manera se explican seis de las siete insaturaciones que posee

La molécula (dos del biciclo (5,3,0), tres de la lactona α,β -insaturada y una del grupo acetato), por lo tanto la insaturación adicional debe corresponder a un epóxido (metilo unido a un carbono unido a un oxígeno, RMN^1H 1.5 ppm δ). De acuerdo con lo anterior el epóxido puede estar en el metilo en C-4 (cerrado hacia C-3 o hacia C-5), en el metilo en C-10 (cerrado hacia C-1 o hacia C-9), la γ -lactona puede estar cerrada hacia C-6 o hacia C-8 y el grupo acetato puede ubicarse en los átomos de carbono 2, 3, 6, 8 y 9 (fórmula parcial K).



FORMULA PARCIAL K

Es conveniente puntualizar, que en esta discusión de la estructura de la mexicanina G, se han omitido las posibilidades estereoquímicas. La carencia de material impidió la obtención de derivados que permitirían discernir entre

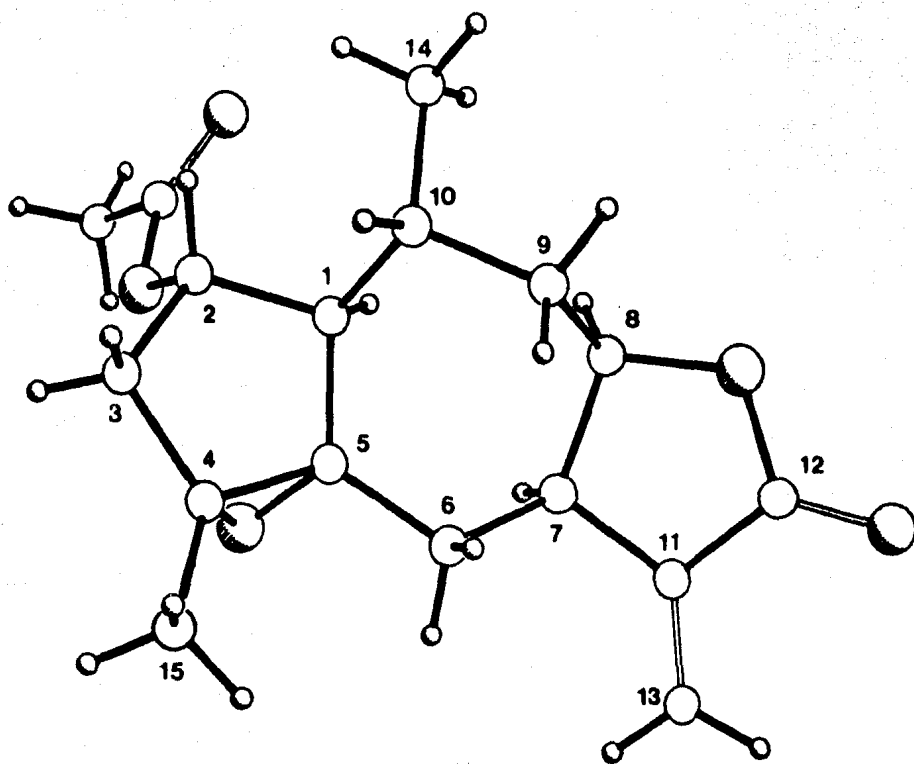
las posibilidades estructurales y estereoquímicas para esta molécula.

Afortunadamente, después de varios intentos (véase la parte experimental) se logró obtener algunos cristales apropiados para el análisis por difracción de rayos-X. La figura 5 es un dibujo en perspectiva, generado por la computadora, del modelo final del análisis por rayos-X (los detalles del estudio cristalográfico se describen en la parte experimental).*

Efectivamente, la mexicanina G es la primer guayanólida aislada de *Helenium mexicanum* con una γ -lactona *cis* cerrada a C-8, un epóxido α entre los carbonos C-4 y C-5, el acetato α en C-2, el hidrógeno sobre el C-1 es α y el metilo en C-10 es α también. La representación se obtuvo tomando como referencia el H-7 α de acuerdo a las convenciones de representación de las lactonas sesquiterpénicas.³¹

* Las coordenadas atómicas, las longitudes de enlace y los ángulos de enlace se incluyen en el apéndice II.

FIGURA 5



DIBUJO ESTEREOSCOPICO DE LA MEXICANINA G.

C. IMPLICACIONES BIOGENÉTICAS DE LA MEXICANINA G EN LA BIOSÍNTESIS DE PSEUDOGUAYANÓLIDAS.

El aislamiento de la mexicana G (que es una guayanólida de fusión de anillos 5/7 *cis*) de *Helenium mexicanum*, tiene implicaciones biogénéticas en la biosíntesis de pseudoguayanólidas (que son los metabolitos secundarios comunes en el género), ya que permiten proponer una ruta biogénética alterna como se describe a continuación.

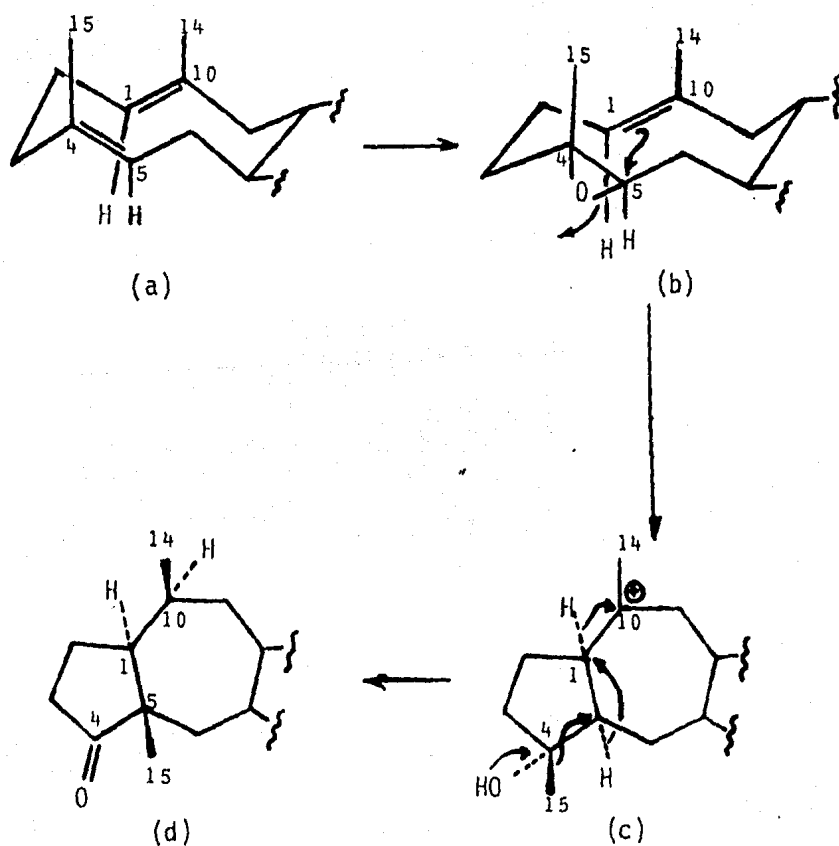
La biogénesis de las lactonas sesquiterpénicas ha sido propuesta y descrita por varios autores^{4,7,32,33} e inclusive mucho antes que la estereoquímica de muchas lactonas fuera establecida.

De acuerdo con el cuadro propuesto por Herz (figura 2) es generalmente aceptado que las pseudoguayanólidas derivan de las guayanólidas y a su vez, éstas derivan de las germacránólidas. Sin embargo los detalles de estas transformaciones no han sido bien establecidos. La mayoría de los autores coinciden en proponer a las germacránólidas* como precursores de las guayanólidas 5/7 *cis* y 5/7 *trans*, derivando

* Ver apéndice III.

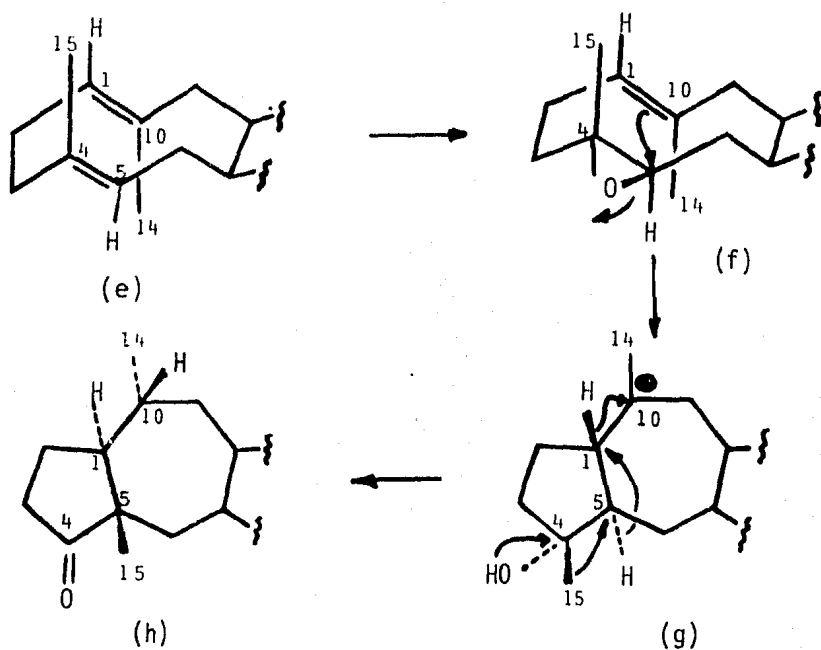
cada una de diferente conformación del ciclodecadieno que se epoxida situ-selectivamente (mediante acción enzimática). La germacrólida con conformación $[{}^1{}^5D_5, {}_1D^{14}]$ produce una guayanólida 5/7 *cis*, que eventualmente conduce a la conformación de pseudoguayanólidas de la serie de las ambrosanólidas (figura 6).

FIGURA 6

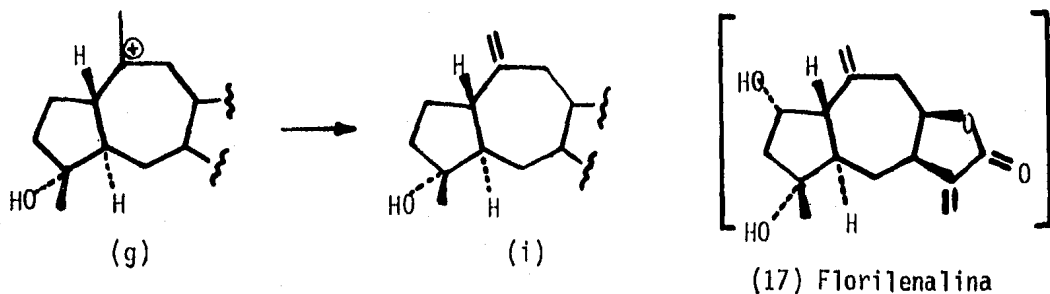


Por otro lado, la germacrólida con conformación $^{15}D_5$ $^{15}D_5, ^1D_{14}$ produce la guayanólida 5/7 *trans*, que conducirá, por medio de un intermediario g,* a la formación de pseudoguayanólidas del tipo de las helenanólidas (figura 7).

FIGURA 7

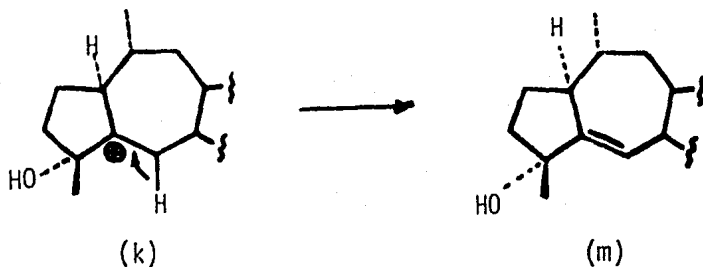


* El intermediario g puede estabilizarse eliminando un hidrógeno de C-14. En tal caso se obtendría la forilenalina aislada de *Helenium autumnale*.³⁴



A partir del intermediario catiónico g es posible derivar a la mexicanina G mediante dos migraciones 1,2 de hidrógeno (hidrógeno del C-1 al C-10 e hidrógeno del C-5 al C-1) conservando la estereoquímica, formando un nuevo carbocatión en C-5 (intermediario k)^{*}, cuya carga es compensada por la formación de un epóxido con el oxígeno en C-4 vecinal (figura 8).

* Es interesante notar que el intermediario k puede estabilizarse eliminando un protón del C-6.



La puberólida (19) (análogo a m) aislada de *Helenium puberulum*³⁵ ha sido reportada con la estructura (19) pero la estereoquímica en C-4 (metilo α , hidroxilo β) es inversa de acuerdo con la biogénesis (metilo β , hidroxilo α). Sin embargo una revisión detallada de la publicación, indica que los argumentos para el establecimiento de la estereoquímica en C-4 son dudosos, por lo que muy probablemente la puberólida tenga estereoquímica inversa en C-4 (20).

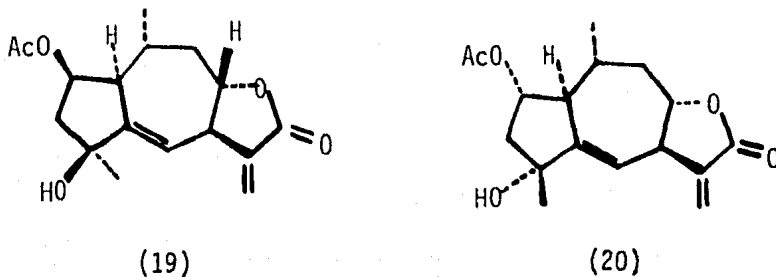
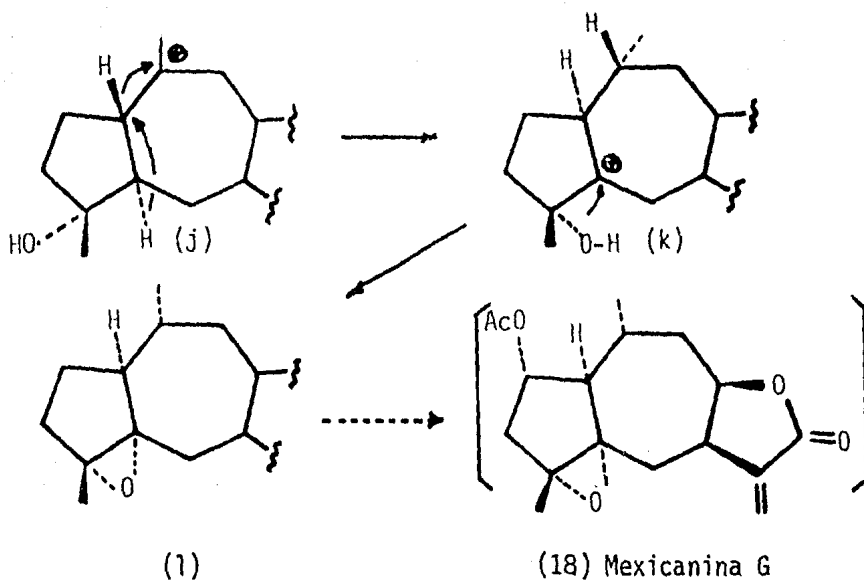
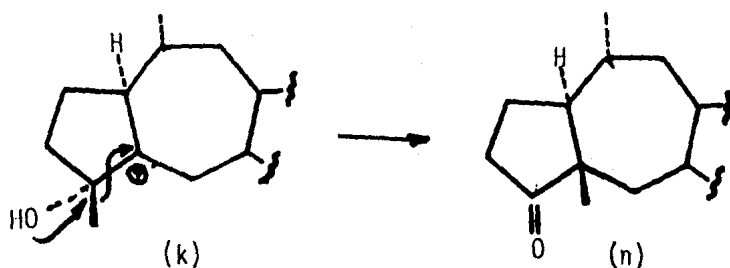


FIGURA 8



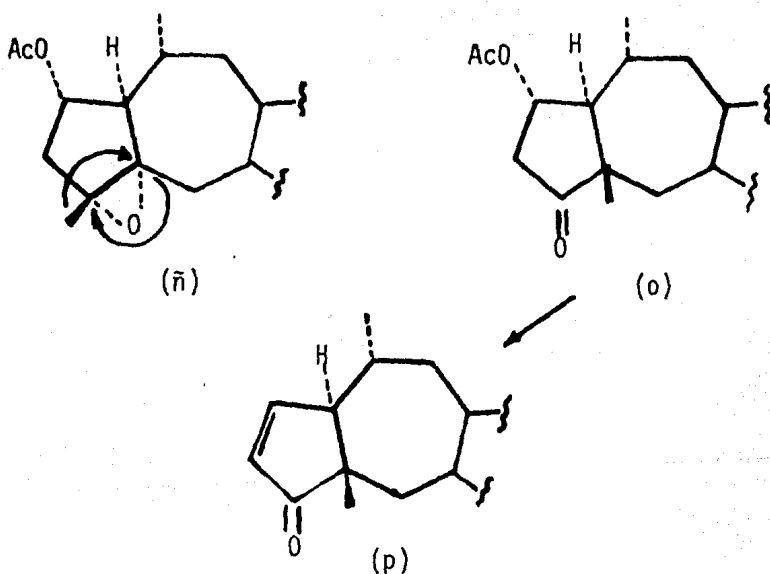
El intermediario k formaría directamente a las helenañólicas como ya ha sido propuesto⁷ (figura 9).

FIGURA 9



Sin embargo las helenanólidas podrían provenir de la mexicanina G, o su equivalente biogénico, mediante una transposición concertada del grupo epóxido en C₄-C₅ para formar un doble enlace en C-4 y migración del metilo en C-5 (figura 10).

FIGURA 10



Es conveniente señalar que esta transformación a helenanólidas a partir de un intermediario con epóxido en C₄-C₅ no había sido propuesta anteriormente. El aislamiento de la mexicanina G de *Helenium mexicanum*, proporciona argu

mentos para proponer esta ruta alterna en la biogénesis de helenanólidas.

D, RMN DE CARBONO TRECE DE ALGUNAS PSEUDOGUAYANOLIDAS.

De las técnicas espectroscópicas es bien conocido que la RMN¹³C proporciona mayores datos estructurales, ya que se obtiene información tal, como el número total de átomos de carbono, el número de metilos, metilenos, metinos y átomos de carbono cuaternarios, el número de insaturaciones y el número y la naturaleza de las funciones oxigenadas.

En la química de productos naturales la información de RMN¹³C, junto con otras técnicas espectroscópicas, proporciona un conjunto de estructuras posibles para determinado producto. La comparación de los datos de RMN¹³C con los reportados en la literatura pueden proporcionar argumentos en favor de algunas de esas estructuras postuladas, tal es la razón por la cual, una mayor disponibilidad de datos de RMN¹³C facilita el proceso de discriminación de estructuras. Recientemente se han publicado un gran número de datos espectroscópicos de RMN¹³C de productos naturales y sintéticos que contribuyen a tal fin.

En este capítulo se realizarán las asignaciones espectroscópicas de RMN¹³C de ocho pseudoguayanólidas no reportadas en la literatura. Algunas sustancias se obtuvieron de trabajos anteriores y otras se obtuvieron en el presente

trabajo (véase la parte experimental).

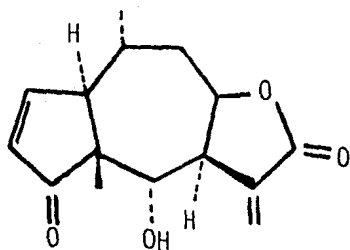
Los desplazamientos químicos se dan en ppm relativos al tetrametilsilano y los datos fueron obtenidos en deuterocloroformo (CDCl_3).

Algunas asignaciones, como se discute a continuación, quedan ambiguas y se marcan con un asterisco. las asignaciones se establecen por comparación de los espectros con desacoplamiento parcial y total de hidrógeno, y de acuerdo a la teoría general del desplazamiento químico.³⁶

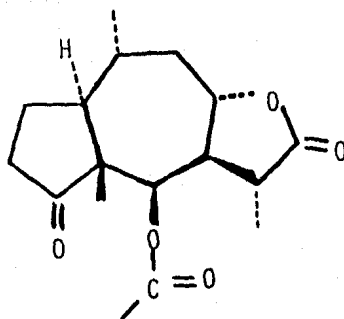
Los datos espectroscópicos de la helenalina (21),³⁷ de la dihidroisotenulina (22) y la desacetilneotenulina (23)³⁸ se incorporan a la discusión la cual incluye a la tetrahidrohelenalina (24), la acetyl-tetrahidrohelenalina (25), la dihidro-isohelenalina (26) la tetrahidro-dehidromexicanina A (27), la 2-metoxi-acetyl-dihidrohelenalina (28), la 2-metoxi-acetyl-tetrahidrohelenalina (29), la acetylmexicanina D (30), la tetrahidro-1-epi-alohelenalina (31) y la acetylmexicanina I (32) (figura 11).

Las señales se describirán en conjunto, de acuerdo con su desplazamiento químico, de campo bajo a campo alto (de menor a mayor energía).

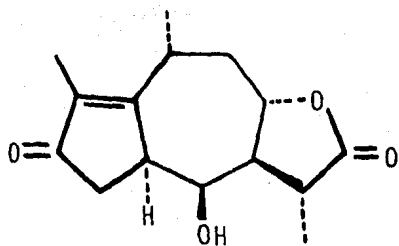
FIGURA 11



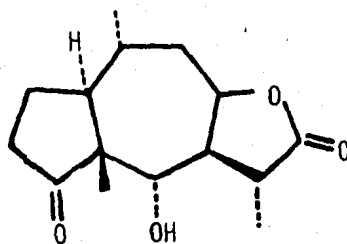
(21) Helenalina



(22) Dihidro-isotenuлина

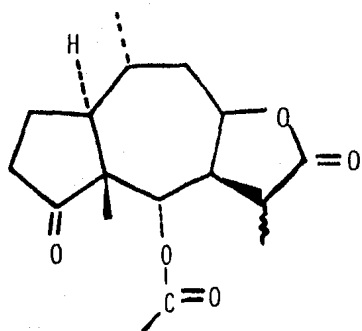


(23) Desacetil-neotenuлина

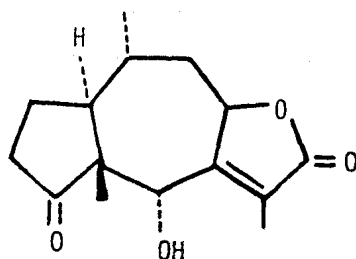


(24) Tetrahidrohelenalina

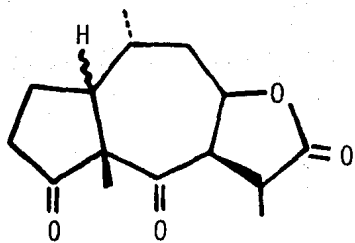
FIGURA 11
(continuación)



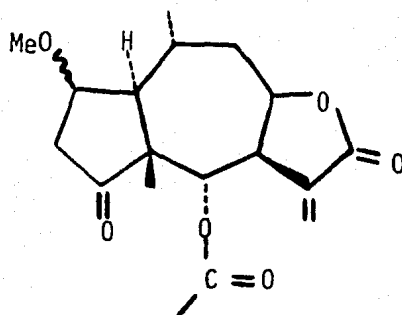
(25) Acetil-tetrahidrohelenalina



(26) Dihidro-iso-helenalina

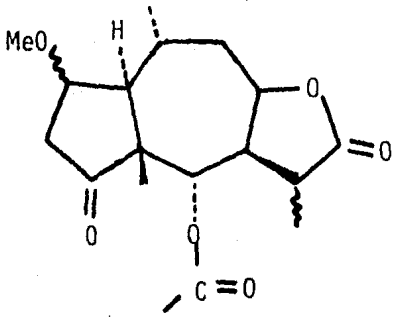


(27) Tetrahidro-dehidromexicanina A

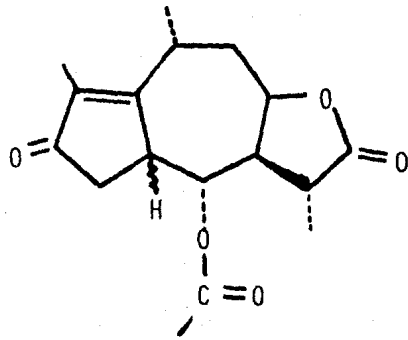


(28) 2-metoxi-acetil-dihidro-helenalina.

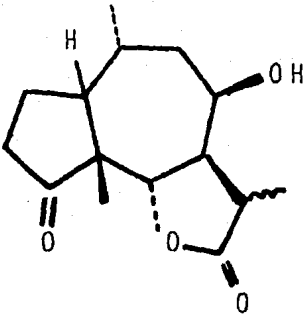
FIGURA 11
(continuación)



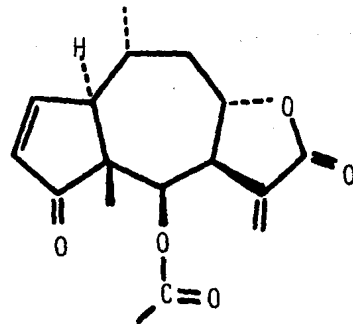
(29) 2-metoxi-acetil-tetrahydro-helenalina



(30) Acetilmexicanina D

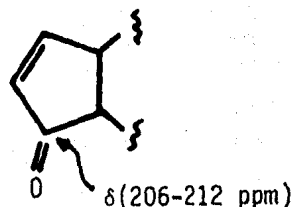
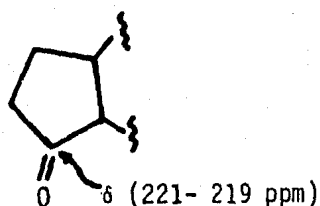


(31) Tetrahydro-1-epi-alohelenalina



(32) Acetilmexicanina I

La señal a más bajo campo de todas las moléculas es la del carbonilo de la ciclopentanona (221-206 ppm) (tabla 3) donde se observa claramente el efecto de la doble ligadura conjugada en las moléculas 21, 23, 30 y 32, que lleva hacia campo alto la señal en aproximadamente 12 a 14 ppm respecto a los demás compuestos que no poseen la enona conjugada (221-219 ppm).



El siguiente carbono que se aprecia en todos los compuestos es el correspondiente al carbonilo de la γ -lactona (169-179 ppm). El carbonilo cetónico en C-6 de la tetrahidro-dehidromexicanina A (27) resuena a 203 ppm de acuerdo a otras ciclopentanonas.³⁸

En los espectros de RMN¹³C de los compuestos 25, 28, 29, 30 y 32 aparece una señal a 169-171 ppm correspondiendo

TABLA 3

	(21)	(22)	(23)	(24)	(25)	(26)
C-1	51.42 (d)	47.30 (d)	173.20 (s)	46.05 (d)	47.88 (d)	43.32 (d)
C-2	163.70 (d)	24.30 (t)	44.20 (d)	22.27 (t)	20.25 (t)	25.47 (t)
C-3	129.74 (d)	35.10 (t)	37.20 (t)	38.53 (t)	35.20 (t)	39.71 (t)
C-4	211.91 (s)	219.80 (s)	207.00 (s)	221.08 (s)	217.31 (s)	221.08 (s)
C-5	57.86 (s)	54.30 (s)	138.40 (s)	55.37 (s)	53.60 (s)	54.58 (s)
C-6	74.10 (d)	67.50 (d)	66.00 (d)	69.95 (d)	72.86 (d)	68.05 (d)
C-7	50.95 (d)	53.60 (d)	58.40 (d)	50.38 (d)	48.12 (d)	161.59 (s)
C-8	78.24 (d)	75.90 (d)	75.80 (d)	80.22 (d)	79.50 (d)	78.17 (d)
C-9	39.51 (t)	44.90 (t)	38.10 (t)	36.56 (t)	38.96 (t)	37.90 (t)
C-10	26.21 (d)	29.50 (d)	31.30 (d)	27.29 (d)	27.28 (d)	29.84 (d)
C-11	137.95 (s)	37.00 (d)	41.20 (d)	39.95 (d)	40.22 (d)	125.81 (s)
C-12	169.60 (s)	177.60 (s)	178.00 (s)	179.52 (s)	178.96 (s)	174.23 (s)
C-13	122.76 (t)	*20.60 (c)	20.60 (c)	20.28 (c)	22.45 (c)	21.66 (c)
C-14	*20.13 (c)	**14.80 (c)	* 8.12 (c)	*12.51 (c)	*12.14 (c)	*14.54 (c)
C-15	*18.71 (c)	**13.80 (c)	*12.00 (c)	*10.96 (c)	*10.46 (c)	* 8.58 (c)
C-17	---	169.20 (s)	---	---	169.35 (s)	---
C-18	---	*19.80 (c)	---	---	20.93 (c)	---

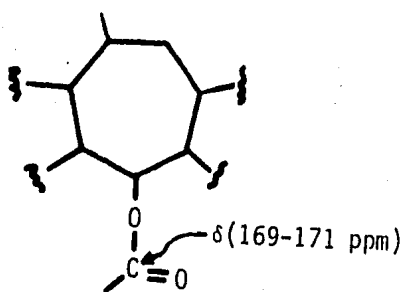
RMN ^{13}C de la helenalina (14), dihidro-isotenuлина (15), desacetil-neotenuлина (16), tetrahidrohelenalina (17), acetil-tetrahidrohelenalina (18), dihidro-isohelenalina (19). En CDCl_3 y TMS como referencia interna. *, **, señales intercambiables.

TABLA 3 (continuación)

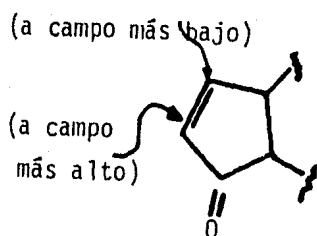
	(27)	(28)	(29)	(30)	(31)	(32)
C-1	50.52 (d)	52.17 (d)	48.24 (d)	170.67 (s)	52.00 (d)	51.90 (d)
C-2	21.80 (t)	80.41 (d)	79.52 (d)	43.01 (d)	19.00 (t)	160.89 (d)
C-3	33.52 (t)	39.08 (t)	40.29 (t)	39.08 (t)	39.20 (t)	130.20 (d)
C-4	218.21 (s)	216.00 (s)	217.09 (s)	206.43 (s)	219.00 (s)	210.73 (s)
C-5	65.50 (s)	54.00 (s)	52.99 (s)	140.42 (s)	51.55 (s)	55.41 (s)
C-6	203.09 (s)	76.75 (d)	73.57 (d)	68.40 (d)	80.00 (d)	65.82 (d)
C-7	55.30 (d)	56.74 (d)	52.00 (d)	59.97 (d)	52.00 (d)	53.31 (d)
C-8	76.50 (d)	78.53 (d)	76.97 (d)	76.20 (d)	64.50 (d)	75.76 (d)
C-9	40.21 (t)	41.52 (t)	39.02 (t)	40.76 (t)	38.00 (t)	44.10 (t)
C-10	28.16 (d)	46.12 (d)	24.16 (d)	31.49 (d)	25.50 (d)	27.26 (d)
C-11	37.79 (d)	138.65 (s)	41.52 (d)	38.25 (d)	37.50 (d)	134.57 (s)
C-12	177.26 (s)	169.27 (s)	178.85 (s)	177.05 (s)	178.50 (s)	169.29 (s)
C-13	21.22 (c)	124.51 (t)	19.70 (c)	21.02 (c)	26.50 (c)	122.57 (t)
C-14	*19.86 (c)	*19.86 (c)	*15.60 (c)	*12.60 (c)	* 23.50 (c)	* 19.61 (c)
C-15	* 9.97 (c)	*16.70 (c)	*10.50 (c)	* 8.30 (c)	* 13.50 (c)	* 21.39 (c)
C-16	---	169.39 (s)	169.22 (s)	170.48 (s)	---	169.00 (s)
C-17	---	20.95 (c)	20.88 (c)	20.29 (c)	---	20.72 (c)
C-18	---	24.07 (c)	56.79 (c)	---	---	---

RMN ^{13}C de la tetrahidro-dehidromexicanina A (20), 2-metoxi-acetil-dihidrohelenalina (21), 2-metoxi-acetil-tetrahidrohelenalina (22), acetilmexicanina D (23), tetrahidro-1-epi-alo helenalina (24), acetilmexicanina I (25). En CDCl_3 y TMS como referencia interna. *, ** señales intercambiables.

te al carbono con hibridación sp^2 del carbonilo del grupo acetato, esto se establece por comparación con el espectro de la dihidro-isotenuлина (22). es conveniente notar la marcada constancia de esta señal, la cual bien puede ser usada para identificar este grupo funcional en moléculas problema.



Las siguientes señales en el espectro corresponden a los carbonos vinílicos (fórmulas 26, 28, 30 y 32). Estos átomos de carbono se asignan por su multiplicidad y desplazamiento, ya que los carbonos α al carbonilo se desplazan menos que los carbonos β (para (26): 125.8 ppm, C-11; 161.5 ppm, C-7; para (30): 140.4 ppm, C-5; 170.6 ppm, C-1; para (28): 124.5 ppm, C-13; 138.6 ppm, C-11; para (32): 122.5 ppm, C-13; 134.5 ppm C-11).

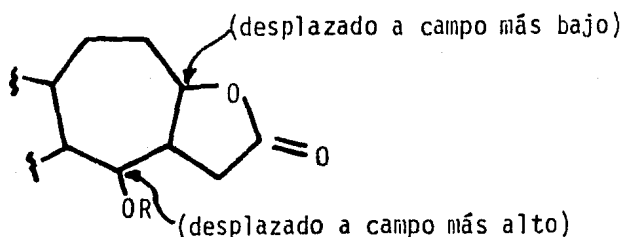


Las asignaciones de la acetil mexicanina D (30) para estos carbonos vinílicos concuerdan con las reportadas para la desacetil-neotenuлина (23) incluidas en la tabla 3 para comparación.

En la región de los carbonos con hibridación sp^3 (señales abajo de 100 ppm) se observan inicialmente las señales de carbonos unidos a oxígeno y corresponden al cierre de la lactona (C-8 en (24), (25), (26), (27), (28), (29), (30) y (32); C-6 en (31)) y a la función oxigenada en C-6 (alcohol secundario en (24) y (19), y acetato en (25), (28) (29), (30) y (32)) y en C-8 para el caso de la tetrahidro-1-epi-alohelenalina (31) que corresponde a un alcohol secundario.

En (21), (22) y (23) se observa que el carbono cierre

de la lactona se desplaza más que el carbono de la otra función oxigenada de acuerdo a los datos de la literatura,³⁸ por lo tanto la señal a campo más bajo se asigna a la base de la lactona y la restante a la otra función oxigenada.



Para la 2-metoxi-acetil-tetrahidrohelenalina (29) la señal en 79.5 ppm (d) corresponde a la base del metoxilo, al igual que la señal de 80.4 ppm (d) para la 2-metoxi-acetil-dihidrohelenalina (25).

El carbono cuaternario C-5 en los compuestos (24), (25), (26), (27), (28), (29), (30) y (31), además de los ya conocidos (21) y (22) aparece en la región de 66-51 ppm, de acuerdo a las funcionalidades vecinas que lo desplazan. Por ejemplo, el C-5 en (27) aparece en 65.5 ppm, ya que este

átomo de carbono se encuentra flanqueado por dos carbonilos (C-4 y C-6).

Con respecto a los metinos fusión de anillos (C-1 y C-7 en (24), (25), (27), (28), (29), (31) y (32)) se observa que C-7 se encuentra a más bajo campo que C-1, esta diferencia es mayor en (27) ya que en esta última molécula el C-7 se encuentra vecinal a un carbonilo que lo desplaza a campo más bajo.

El único metino restante se asigna al C-10 en todas las moléculas. Los metilenos que resuenan en la región de 41 a 20 ppm se asignan por comparación con (21), (22) y (23). Los metilenos de la acetilmexicanina D (30) (39.1 ppm C-3; 40.7 ppm, C-9) concuerdan con los reportados para la desacetil-neotenuлина (23).

Finalmente, a campo alto resuenan las señales correspondientes a los metilos. Estos son C-14 y C-15 en todos los compuestos, C-13 en (24), (25), (26), (27), (29), (30) y (31), y el metilo del acetato en (25), (28), (29), (30) y (32). Esta última señal se asigna en base a la constancia de su desplazamiento químico y al tamaño de la señal, ya que al no tener carbonos hidrogenados vecinos, el tamaño de la señal disminuye (el metilo del acetato tiene un tiempo de relajamiento mayor). Este argumento permite asignar a

este metilo y al metilo C-13 que en (22), (25), (29) y (30) se encuentra en un desplazamiento similar.

Este mismo razonamiento se aplicó para discernir entre C-14 y C-15 en las moléculas (24) a (32) pero dado que la diferencia en las alturas de las señales es menor, tal argumento tiene menor confiabilidad en este caso, por lo que estas últimas asignaciones pueden ser intercambiables (figura 12).

FIGURA 12

FORMULAS DE PSEUDOGUAYANOLIDAS CON ASIGNACIONES DE RMN ^{13}C .

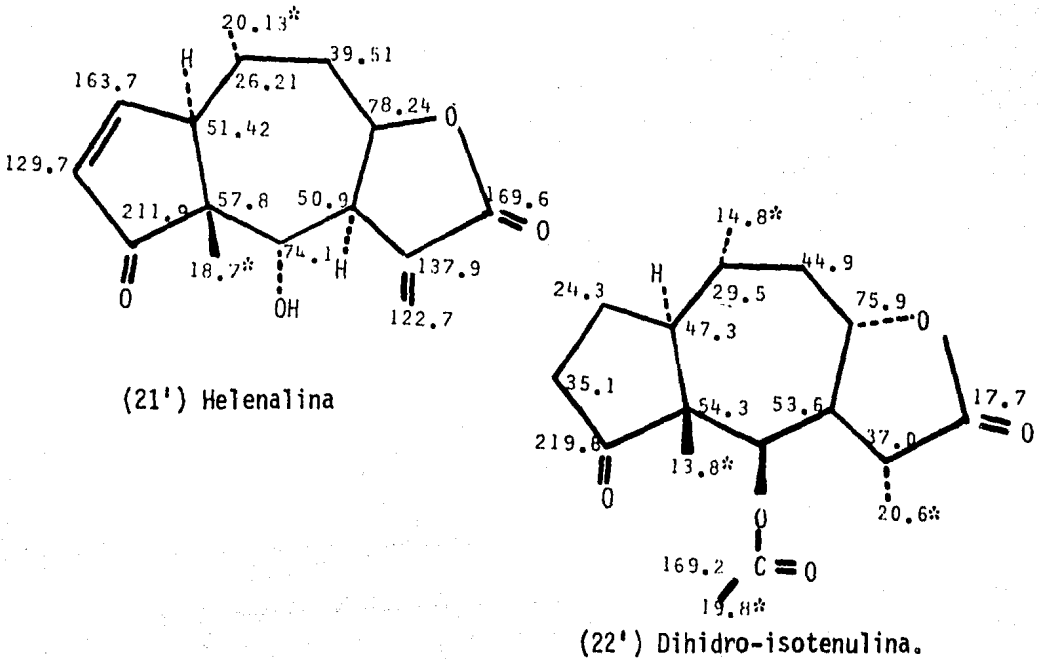
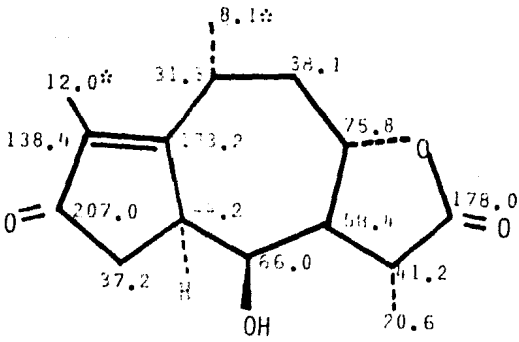


FIGURA 12 (continuación)



(23') Desacetil-neotenuлина

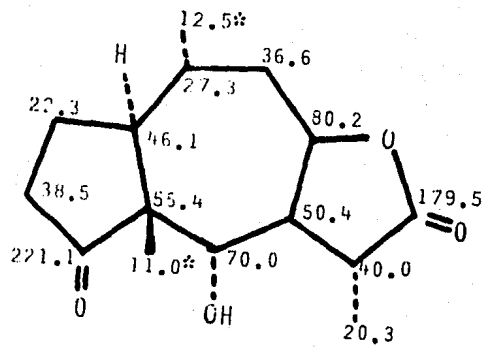
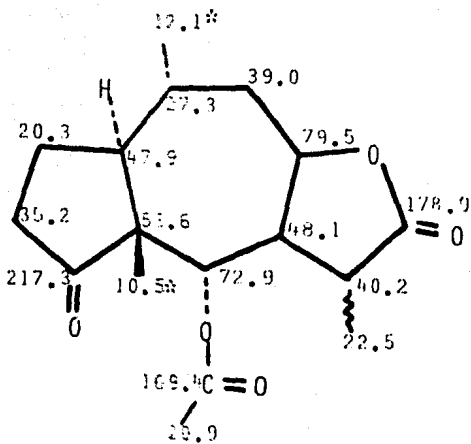
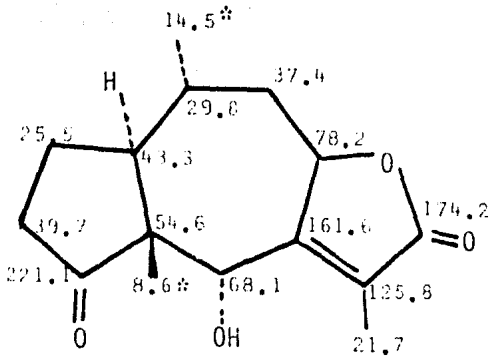
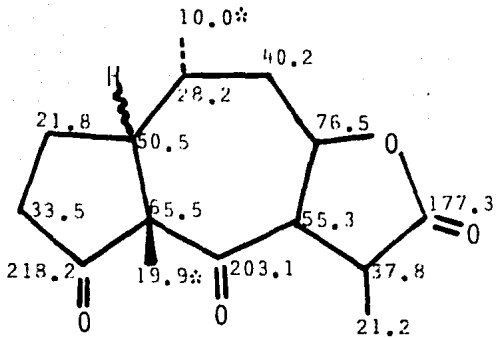
(24') Tetrahydrohelenalina
(espectro 11)(25') Acetil-tetrahydrohelenalina
(espectro 12)

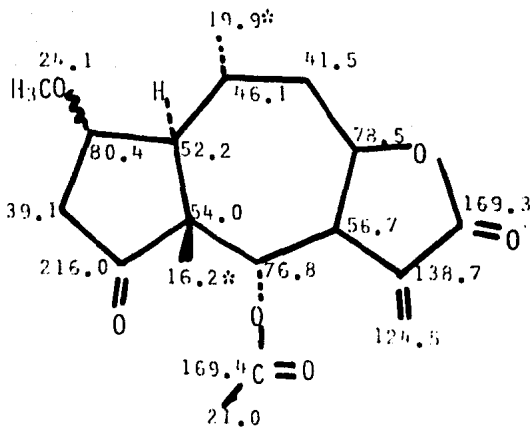
FIGURA 12 (continuación)



(26') Dihidro-isohehelenalina
(espectro 13)

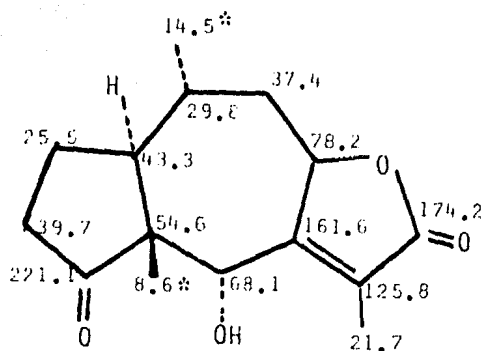
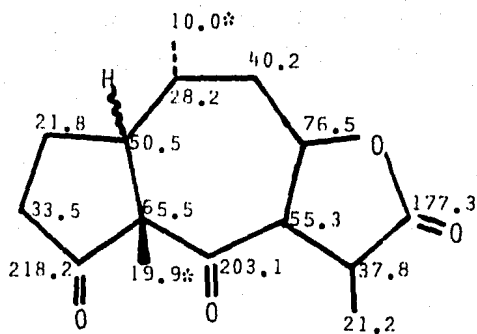
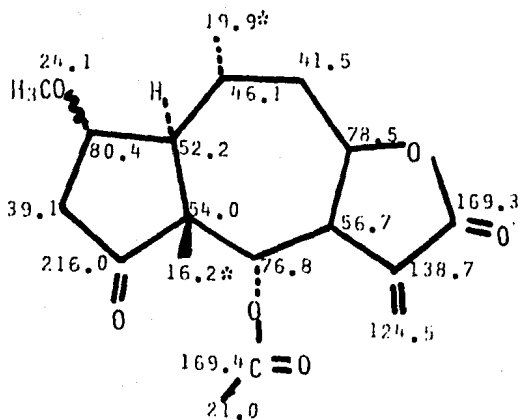


(27') Tetrahidro-dehidromexicanina A
(espectro 14)

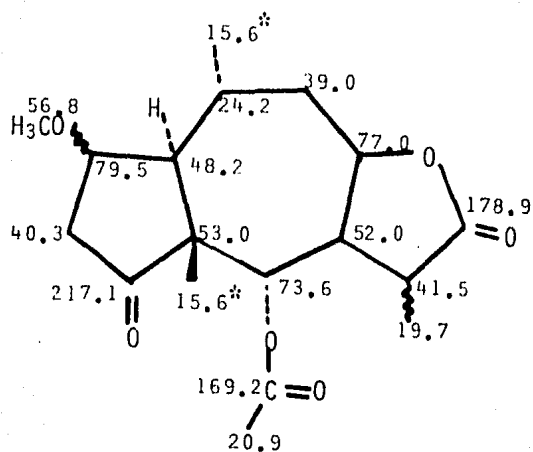


(28') 2-metoxi-acetil-dihidrohehelenalina
(espectro 15)

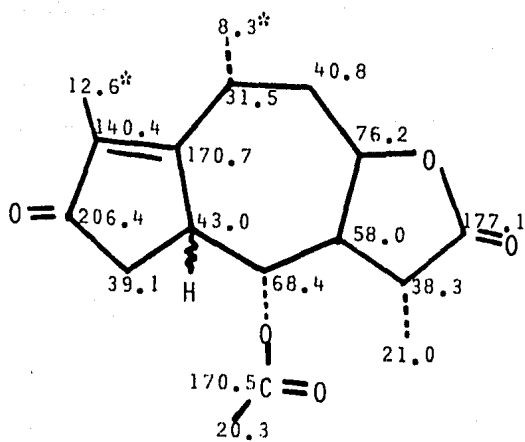
FIGURA 12 (continuación)

(26') Dihidro-isohelenalina
(espectro 13)(27') Tetrahidro-dehidromexicanina A
(espectro 14)(28') 2-metoxi-acetil-dihidrohelenalina
(espectro 15)

FIFURA 12 (continuación)

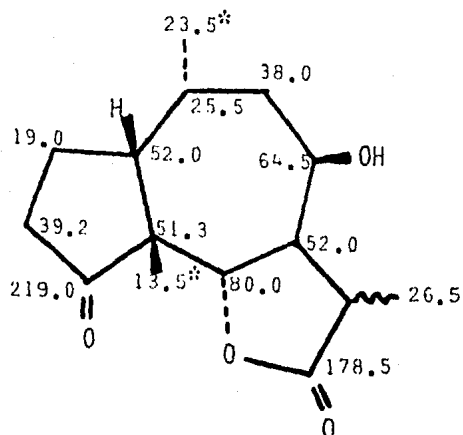
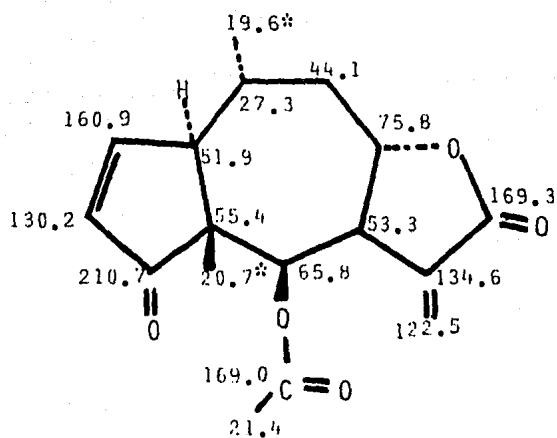


(29') 2-metoxi-acetil-tetrahidrohelenalina
(espectro 16)



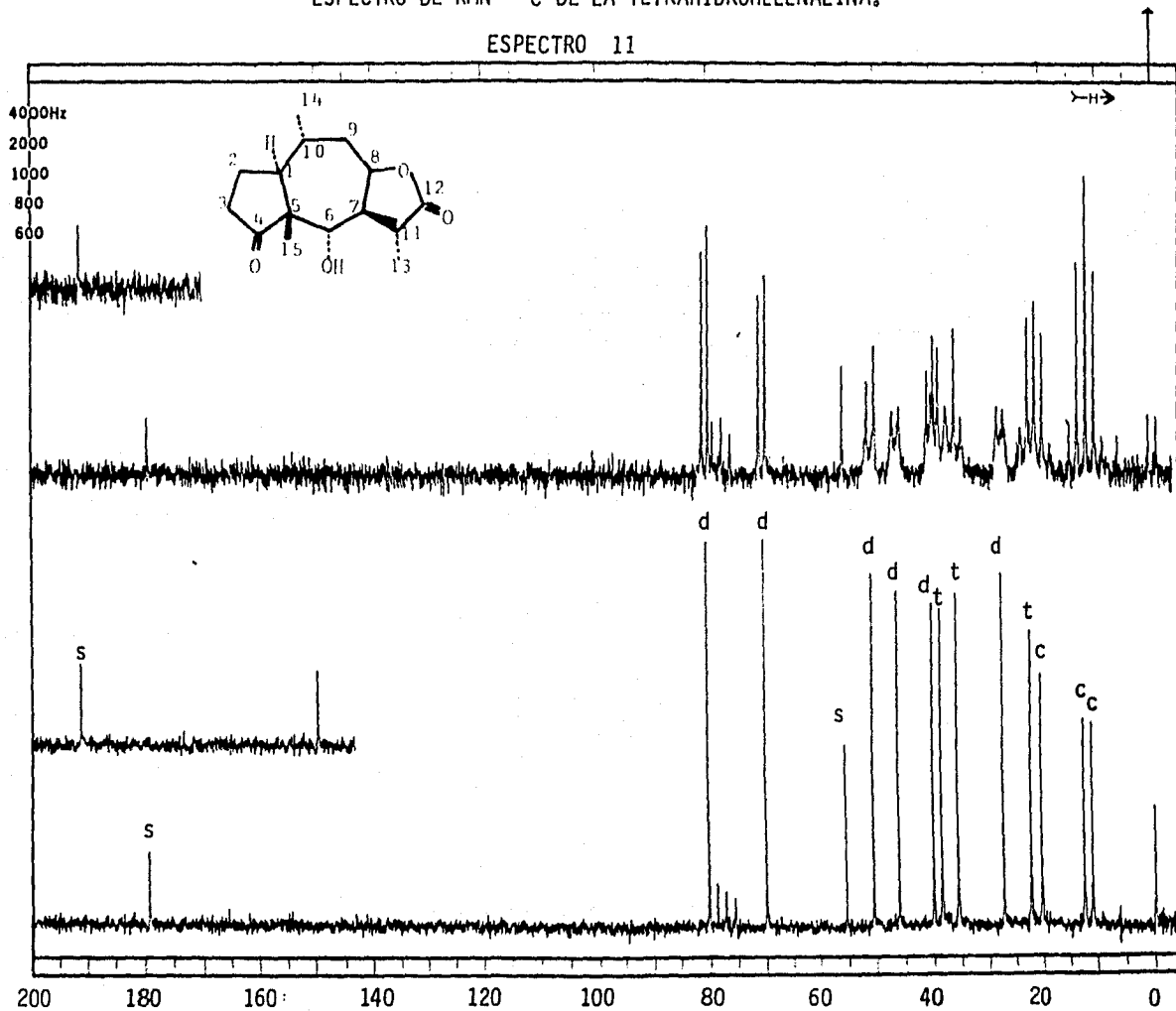
(30') Acetilmexicanina D
(espectro 17)

FIGURA 12 (continuación)

(31') Tetrahydro-1-epi-aloheleolina
(espectro 18)(32') Acetilmexicanina I
(espectro 19)

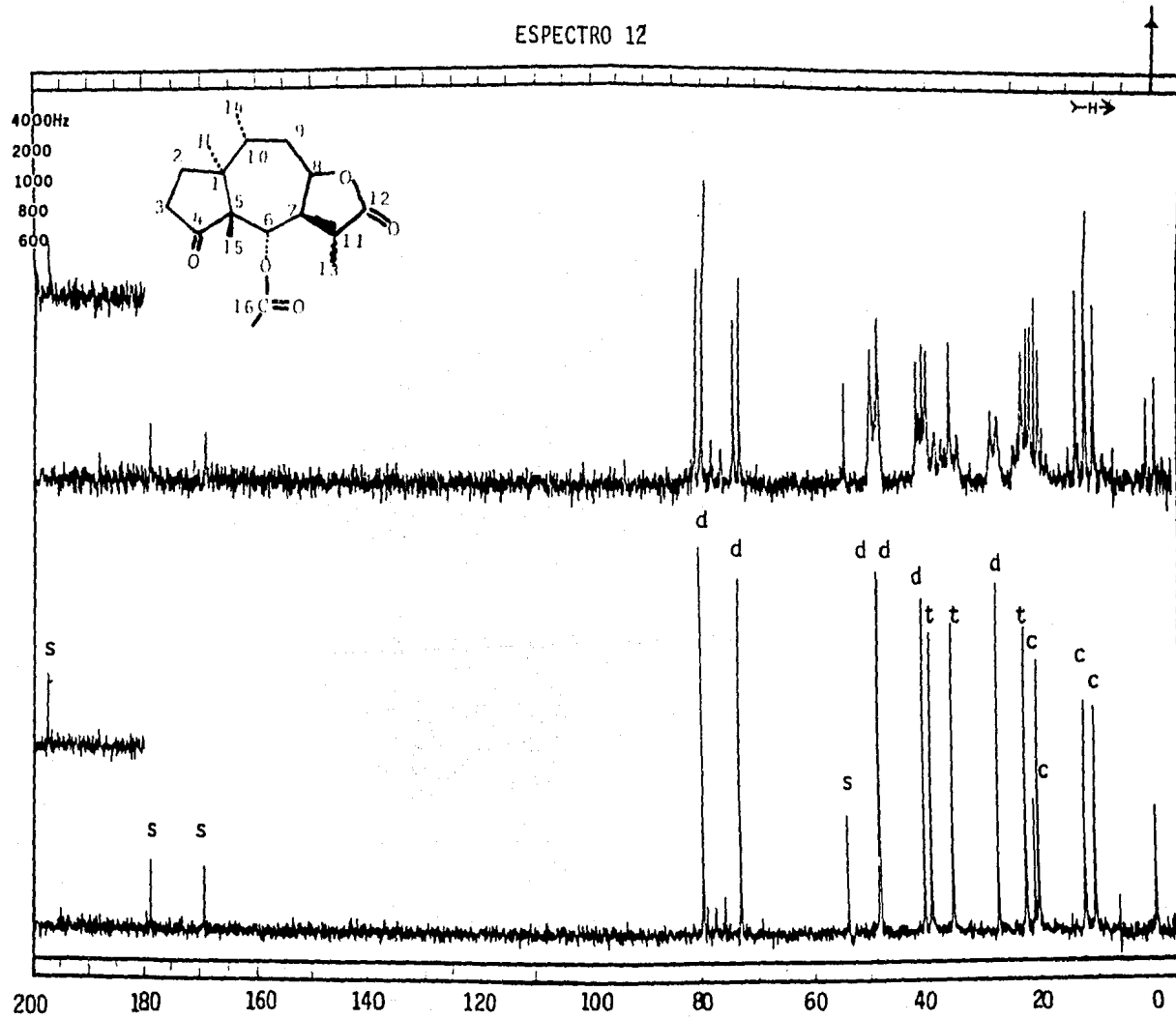
ESPECTRO DE RMN ^{13}C DE LA TETRAHIDROHELENALINA.

ESPECTRO 11

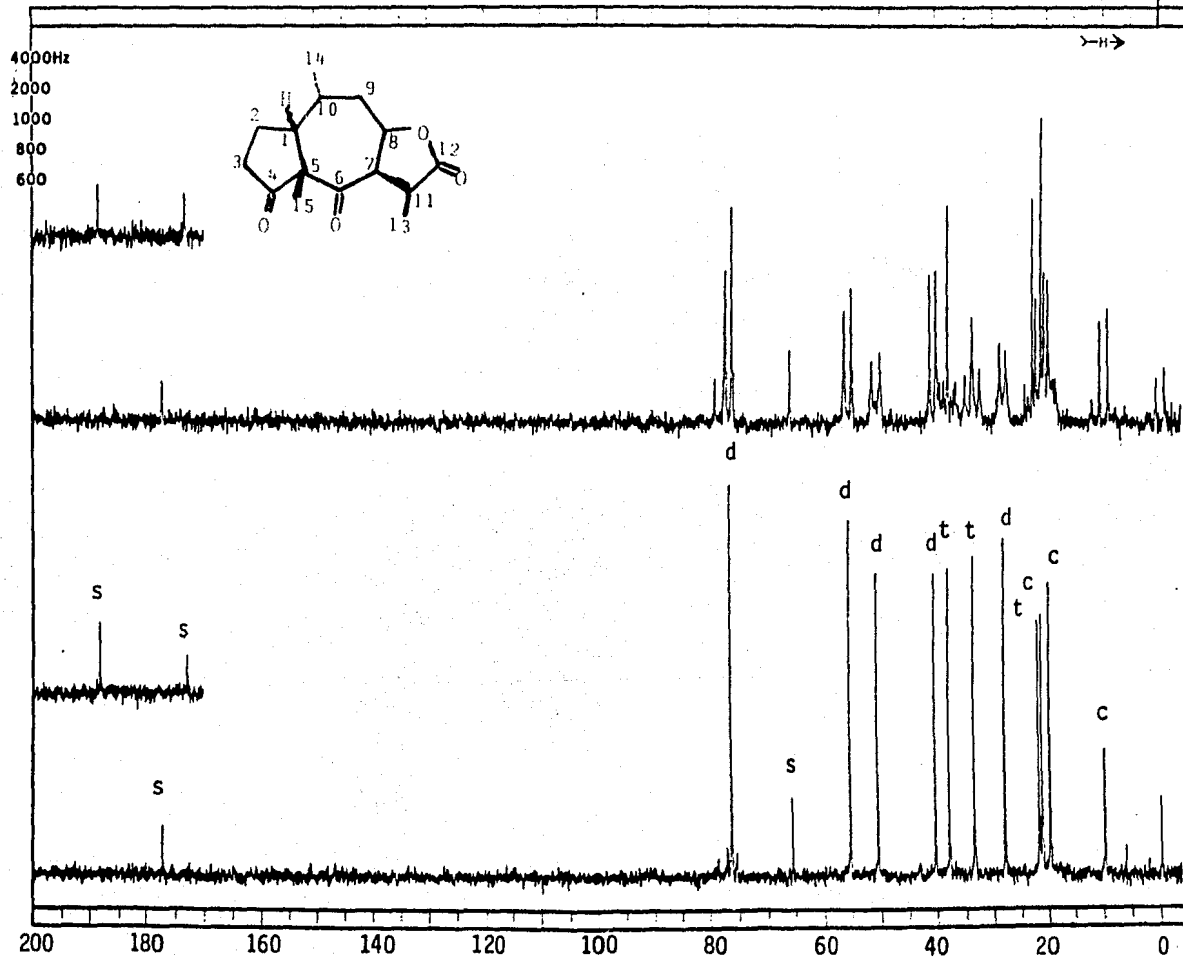


ESPECTRO DE RMN ^{13}C DE LA ACETIL-TETRAHIDROHELENALINA.

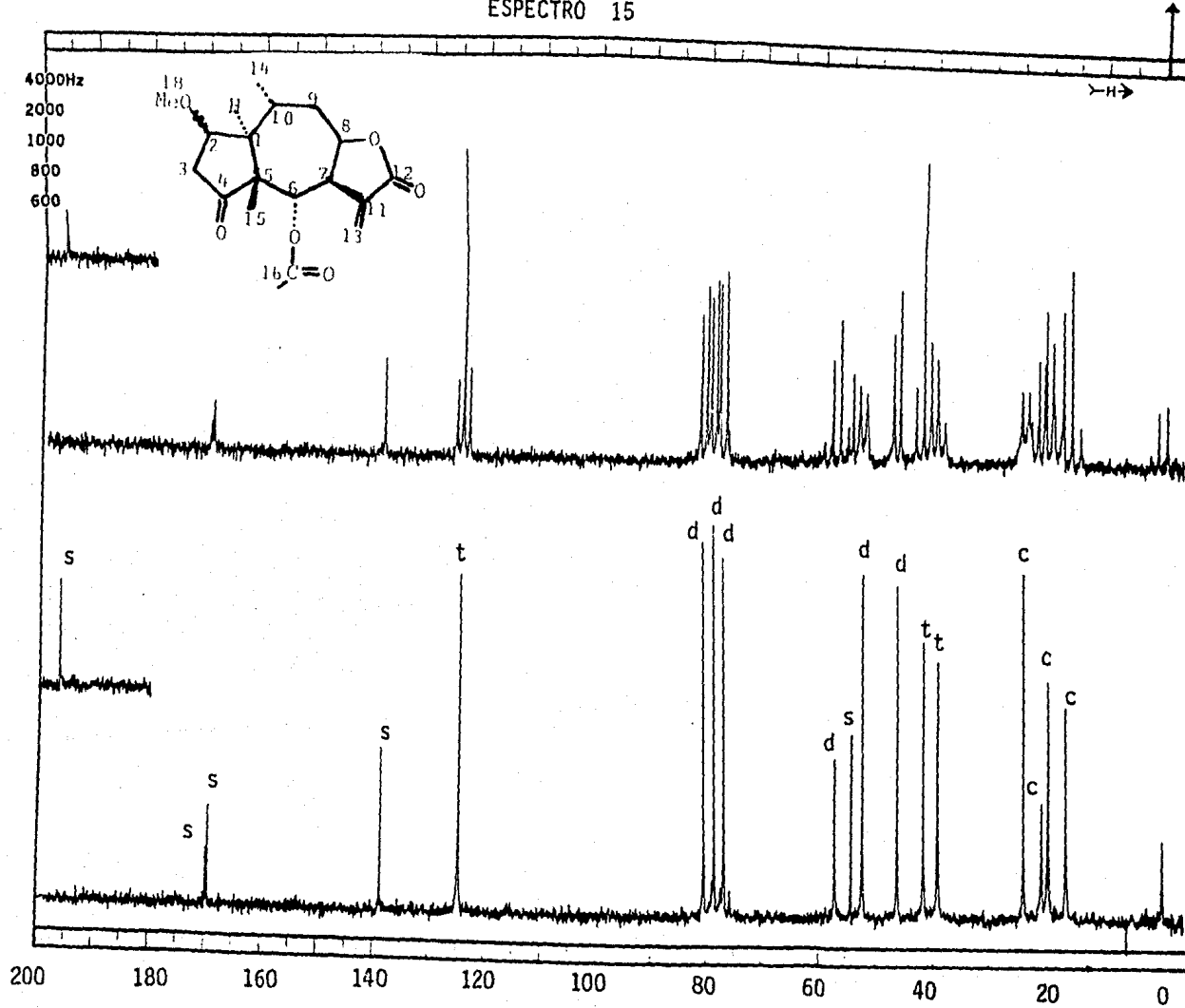
ESPECTRO 12



ESPECTRO DE RMN ^{13}C DE LA TETRAHIDRO-DEHIDROMEXICANINA A.
ESPECTRO 14

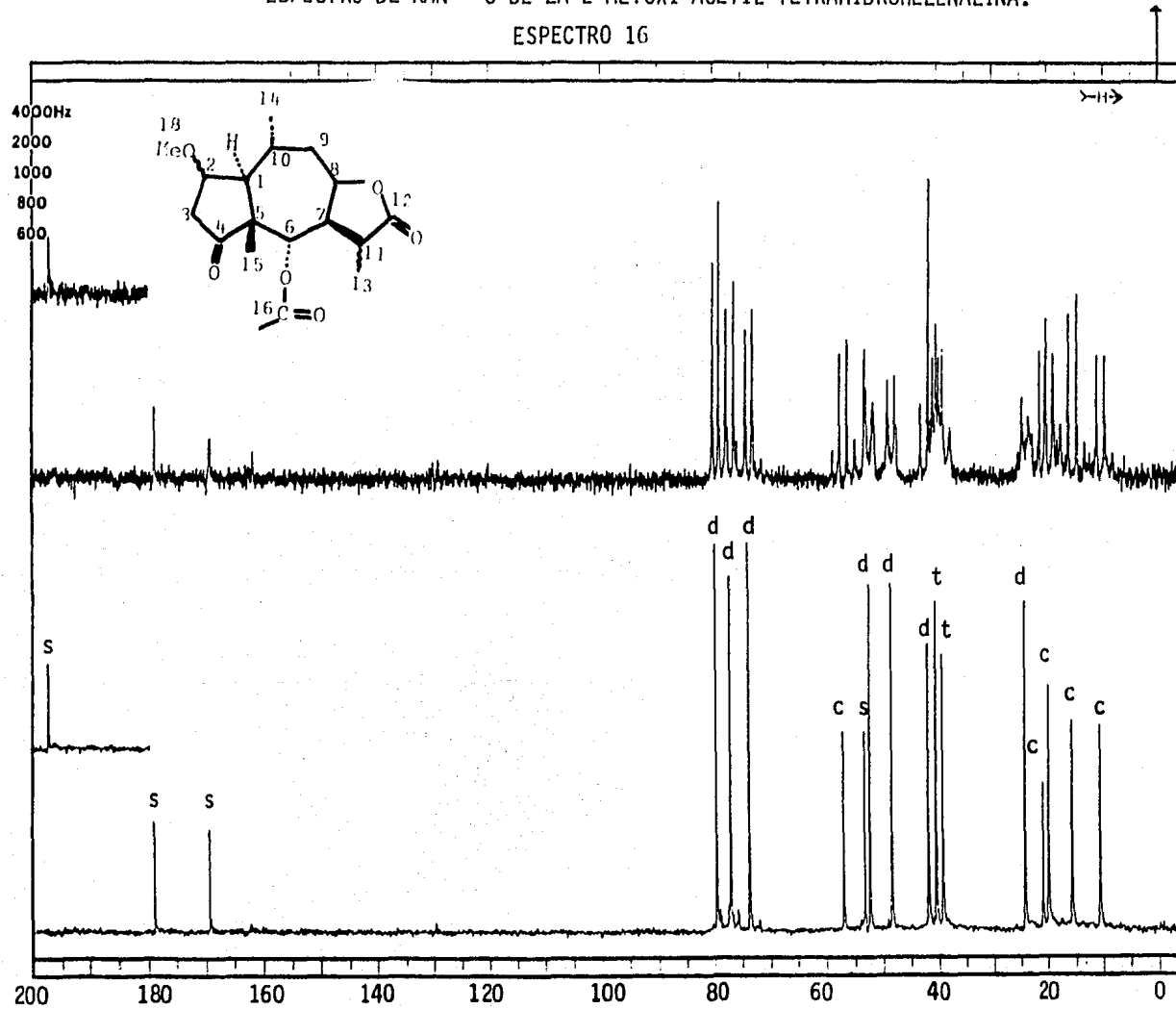


ESPECTRO DE RMN ^{13}C DE LA 2-METOXI-ACETIL-DIHIROHELENALINA.
ESPECTRO 15



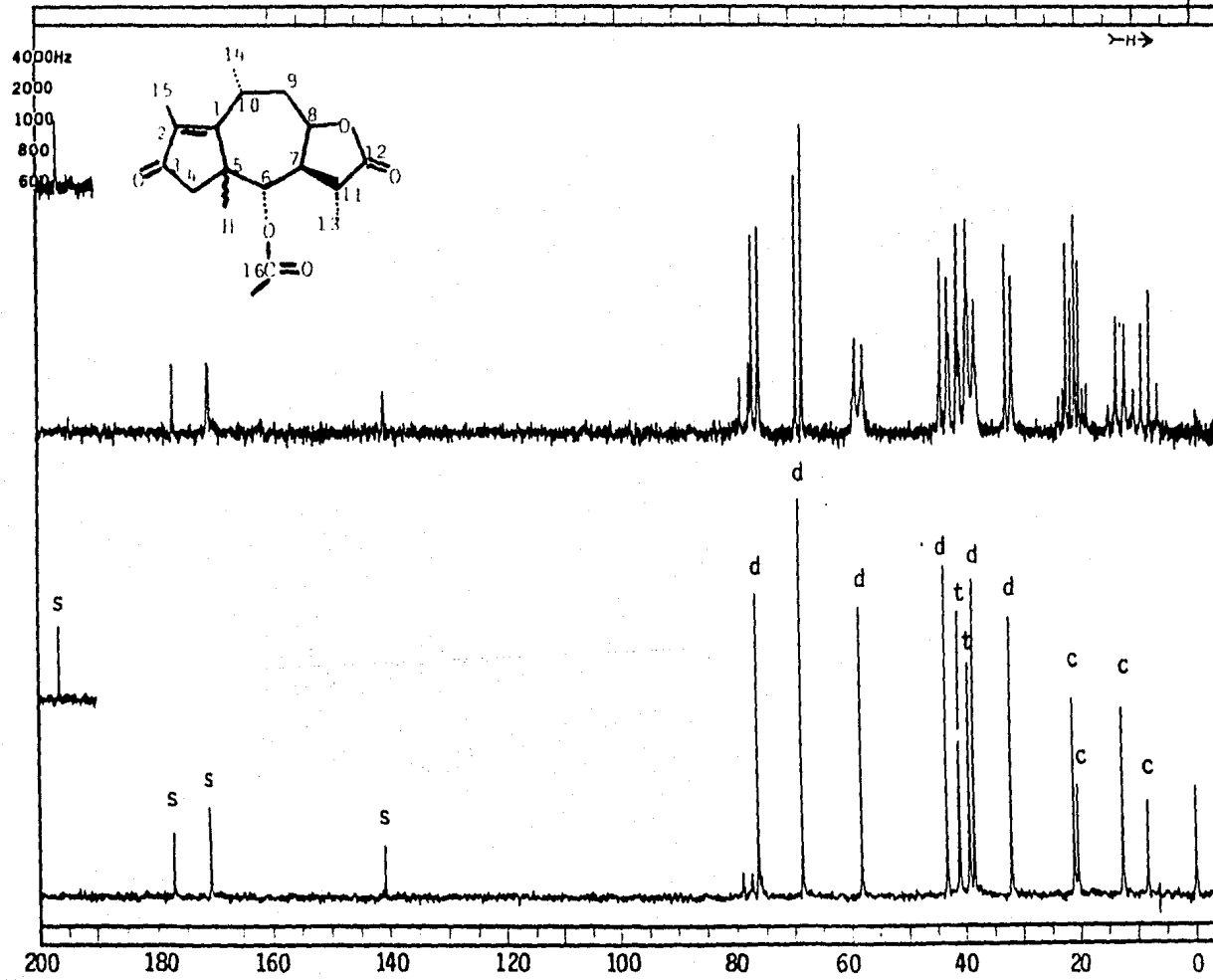
ESPECTRO DE RMN ^{13}C DE LA 2-METOXI-ACETIL-TETRAHIDROHELENALINA.

ESPECTRO 16



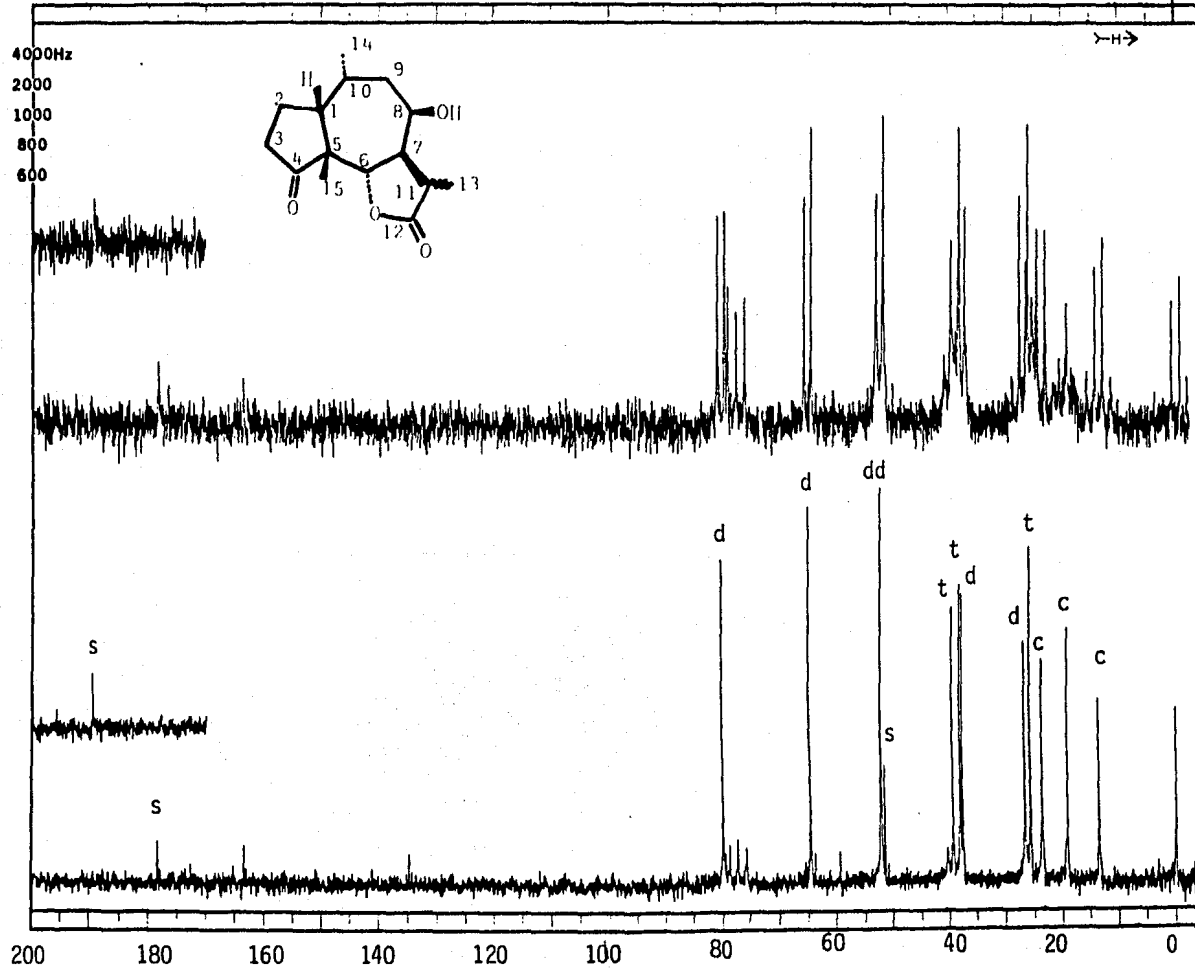
ESPECTRO DE RMN ^{13}C DE LA ACETILMEXICANINA D.

ESPECTRO 17



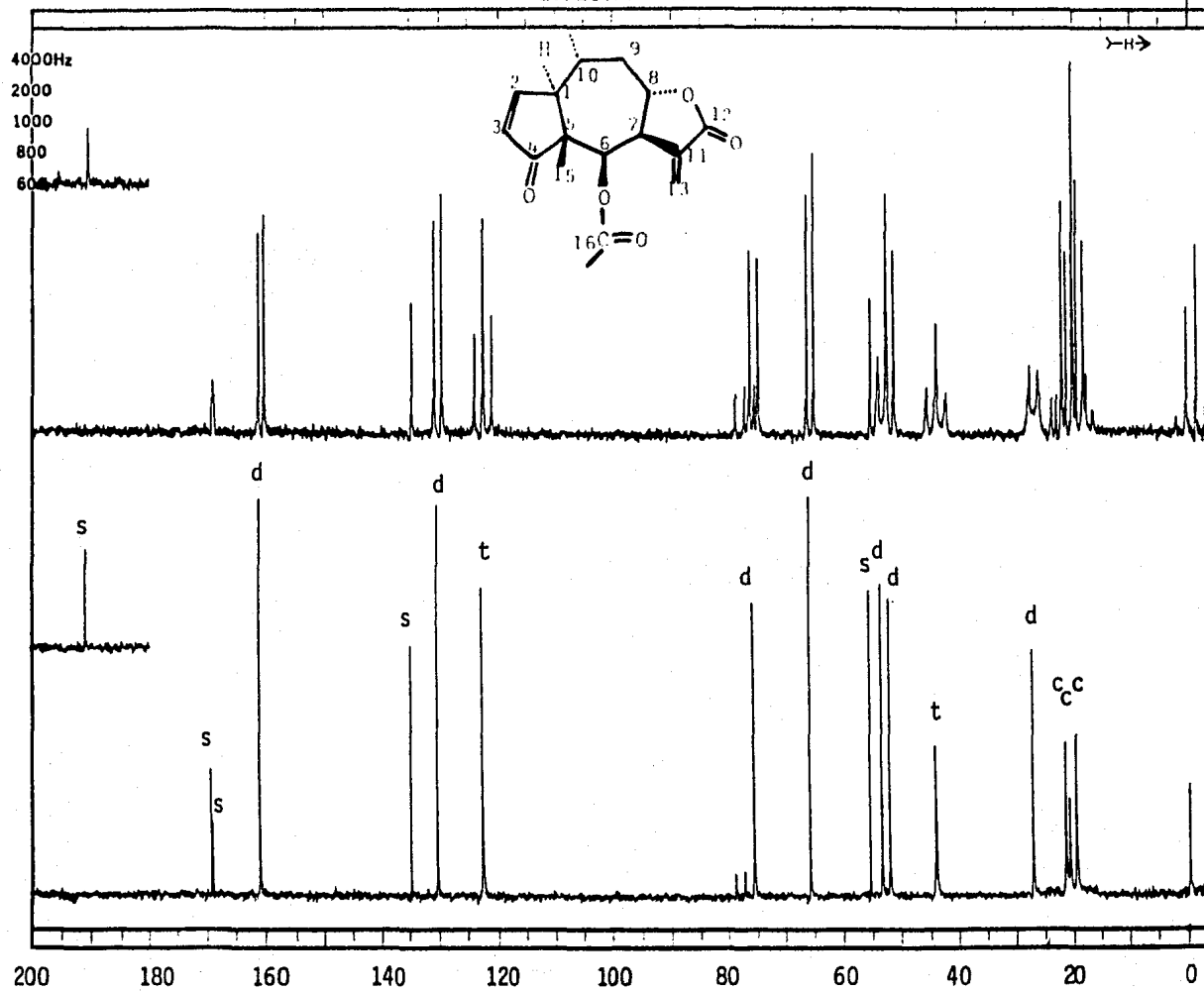
ESPECTRO DE RMN ^{13}C DE LA TETRAHIDRO-1-EPI-ALOHLENALINA.

ESPECTRO 18



ESPECTRO DE RMN ^{13}C DE LA ACETILMEXICANINA I.

ESPECTRO 19



IV

PARTE EXPERIMENTAL

En la realización de este trabajo, los puntos de fusión se determinaron en un aparato Fischer-Jones y no están corregidos. Las cromatografías en columna se efectuaron en gel de sílice 60 Merck (malla 70-230 ASTM). La pureza de los productos y el desarrollo de las reacciones se siguió por cromatoplaque de gel de sílice Merck F-254, usando como revelador sulfato cérico al 1% en ácido sulfúrico 2N. Los espectros de IR se determinaron en solución de CHCl_3 , los espectros de masas en un espectrómetro Hewlett Packard 5985-B y los espectros de RMN^1H y ^{13}C en los aparatos Varian HA-100 y FT-80A. Los desplazamientos químicos están dados en ppm (δ) referidos al tetrametilsilano como referencia interna.

A. CONSTITUYENTES DE *Helenium scorzoneraefolium*.

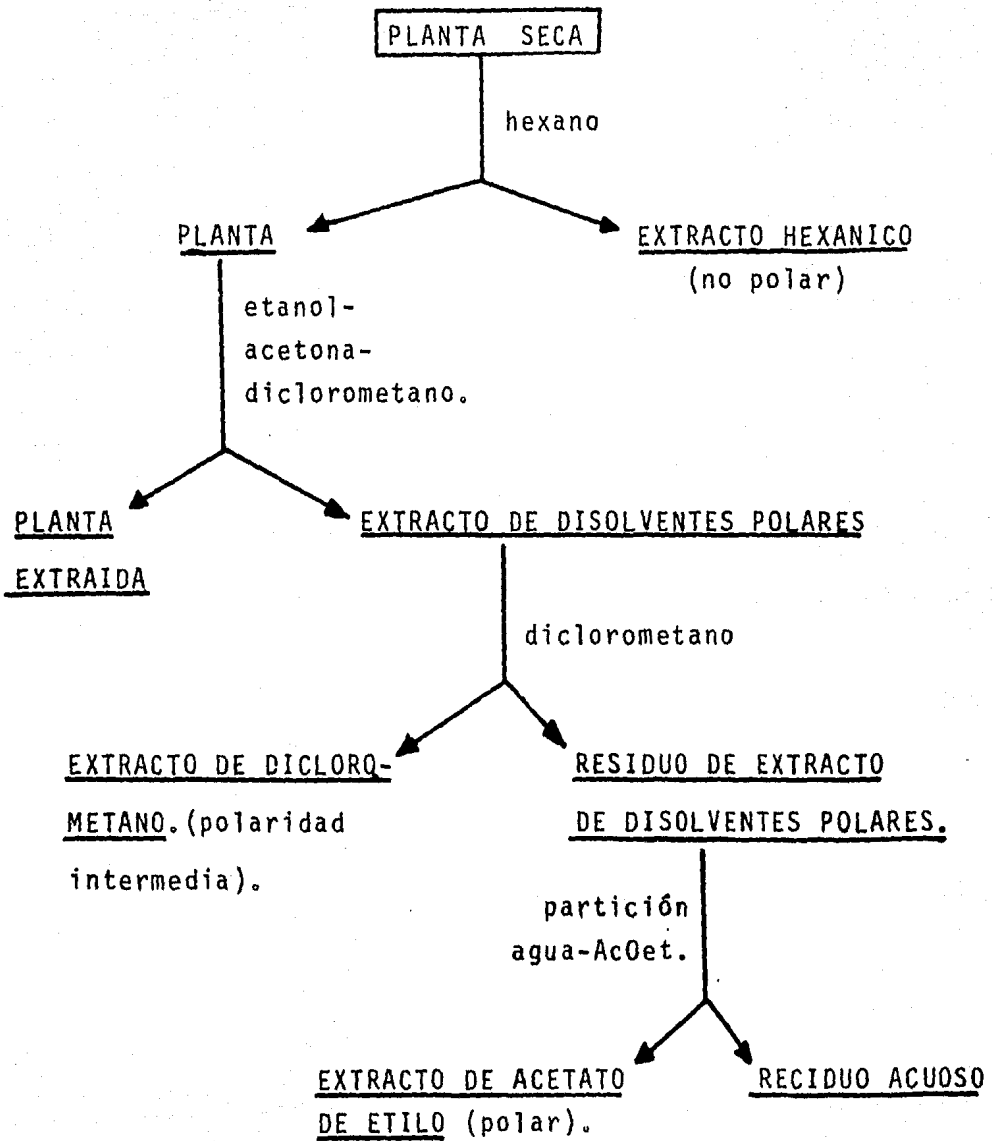
El *Helenium scorzoneraefolium* analizado en el presente trabajo fué colectado cerca de Sultepec, Estado de México (en los alrededores del Nevado de Toluca) en septiembre de 1983 y la muestra botánica del espécimen se encuentra depositada en el Herbario Nacional (Instituto de Biología de la U.N.A.M.).

La planta seca (2.58 Kg) fué extraída tres veces con hexano, obteniéndose un extracto de 37.1 gr. Posteriormente, el mismo material fué extraído con etanol-acetona-diclorometano en proporción 1:1:1 (tres veces). Este último residuo fué extraído con diclorometano obteniéndose una fracción soluble (residuo de polaridad intermedia) y otra insoluble en diclorometano (residuo de polaridad alta).

Al residuo de polaridad alta le fué hecha una partición agua-acetato de etilo (debido a que este residuo contenía agua, presente en el etanol usado en la extracción). De esta manera se obtuvieron los extractos de polaridad baja (hexano), intermedia (diclorometano) y alta (acetato de etilo) como se muestra en la figura 13.

Los extractos fueron fraccionados por cromatografía en columna, usando como fase sólida gel de sílice (en relación

FIGURA 13



aproximada de 30:1 respecto al extracto) y diferentes mezclas de disolventes como eluyentes.

El extracto hexánico que pesó 37.1 gramos se cromatografió en aproximadamente un Kg de gel de sílice usando hexano como eluyente inicial y posteriormente una mezcla de hexano-acetato de etilo en diferentes proporciones, de manera que la polaridad se incrementara hacia el término de la cromatografía. Los eluatos fueron de 250 ml. De las fracciones eluidas en hexano-acetato de etilo (4:1) se aisló la carabrona (10) (después de purificarla por cromatografía utilizando el mismo sistema de elución que el de la columna original) como un sólido cristalino de p.f. 86-88°C y que se identificó por sus propiedades espectroscópicas y punto de fusión.

U.V. (metanol) (espectro 20) λ_{\max} 211nm (ϵ : 8250)

*I.R. (CHCl_3) (espectro 2): 2595 (metilo), 1759 (carbonilo de γ -lactona), 1715 (carbonilo de cetona), 1664 (doble ligadura), 1465, 1404, 1361, 1344, 1268, 1150, 1036, 998, 945 cm^{-1} .

*RMN ^1H -80 MHz (CDCl_3) (espectro 3): 6.20 (H-13', 1H,

*Los espectros del 20 al 29 se encuentran en el apéndice IV.

\underline{d} , 3.5 Hz), 5.52 (H-13, 1H \underline{d} , 3.5 Hz), 4.74 (H-8, 1H, \underline{ddd} , 11.5, 9, 6 Hz), 3.13 (H-7, 1H, \underline{m}), 2.53 (H-3, 2H, \underline{t}), 2.30 (H-6 y H-10 ecuatorial, 2H, \underline{m}), 2.16 (H-15, 3H, \underline{s}), 1.62 (H-2, 2H, \underline{m}), 1.08 (H-14, 3H, \underline{s}) y 0.40 ppm (H-5, 1H, \underline{m}).

*EM (impacto electrónico): (espectro 1) m/z 249 ($M^+ + 1$, 0.2%), 248 (M^+ , 0.8%), 190 [$(M^+) - CH_3COCH_3$, 19%], 145 (29.4%), 93 (24%), 91 (31%), 79 (58.8%), 77 (24%), 67 (25%), 43 (100%).

El extracto de polaridad intermedia (diclorometánico) pesó 49.1 gr y fue resuelto por cromatografía en gel de sílice usando como eluyente una mezcla de hexano-acetona en diferentes proporciones. De aquí, nuevamente se aisló la carabrona en las fracciones que se eluyeron en hexano-acetona 7:3 (fracciones 62-69). Además, eluyendo en esta misma polaridad, se obtuvieron cristales (fracciones 88-101) de punto de fusión 188-190°C, que al realizarle estudios espectroscópicos se identificó la sustancia como acetilmexicana I (14), también llamada linifolina A.

*U.V. (metanol) (espectro 21) λ_{max} 212 nm (ϵ : 18267)

*I.R. ($CHCl_3$) (espectro 5): 1760 (carbonilo de γ -lactona) 1755 (carbonilo de acetato), 1718 (carbonilo de cetona), 1589 (doble ligadura), 1465, 1382, 1320, 1290, 1250,

1150, 1130, 1068, 1030, 1005 cm^{-1} .

*RMN ^1H -100 MHz (CDCl_3) (espectro 7): 7.62 (H-2, 1H, dd, 6 y 1.8 Hz), 6.28 (H-13', 1H, d, 3.5 Hz), 6.12 (H-3, 1H, dd, 6.3 y 3.0 Hz), 5.95 (H-6, 1H, d, 4.7 Hz), 5.70 (H-13, 1H, d, 3.5 Hz), 4.82 (H-8, 1H, ddd, 11.6, 9.2 y 2.9 Hz), 3.30 (H-7, 1H, m), 2.81 (H-1, 1H, dt, 10 y 2 Hz), 2.08 (H-17, 3H, s), 1.26 (H-14, 3H, d, 6.5 Hz) y 1.23 ppm (H-15, 3H, s).

*RMN ^{13}C (CDCl_3) (espectro 6): 210.73 (C-4), 169.3 (C-12), 169.0 (C-16), 160.9 (C-2), 134.6 (C-11), 130.2 (C-3), 122.5 (C-13), 75.8 (C-8), 65.8 (C-6), 55.4 (C-5), 53.3 (C-7), 51.9 (C-1), 44.1 (C-9), 27.3 (C-10), 21.4 (C-17) 20.7 (C-15) y 19,6 ppm (C-14).

*EM (impacto electrónico) (espectro 4): m/z 305 ($\text{M}^+ + 1$, 1.8%), 304 (M^+ , 5.1%), 262 (33.5%), 124 (86%), 123 (27%), 96 (33%), 95 (26%), 91 (20%), 77 (16%), 67 (17.5%) y 43 (100%).

Por otra parte el extracto polar fué adsorbido en gel de sílice (ca. 100 gr) y se fraccionó mediante cromatografía en columna usando 1.2 Kg de gel de sílice y eluyendo con hexano-acetato de etilo-acetona en diferentes proporciones aislándose nuevamente carbón (fracciones 29-36),

acetilmexicanina I (fracciones 46-58) y al parecer por los datos del espectro de infrarrojo, dos lactonas más; la primera (fracciones 80-98) con una banda de absorción en 1754 cm^{-1} (espectro 22) y la segunda (fracciones 150-160) con una banda de absorción en 1756 cm^{-1} (espectro 23). Las sustancias mencionadas sólo se detectaron y las cantidades mínimas que se aislaron no permitieron, debido a la labilidad de las mismas y al grado de impurezas, la recopilación de datos adicionales.

La cantidad total de carabrona obtenida fué de 4.965 gramos que representan un 0.174% en peso de la planta seca. Por otra parte, de la acetilmexicanina I se obtuvo un total de 2.203 gr que representan un 0.077% en peso de la planta seca.

B. PURIFICACION Y ESTUDIO CRIS- TALOGRAFICO DE LA MEXICANI- NA G.

De una muestra, obtenida del trabajo fitoquímico original de *Helenium mexicanum*,²⁴ se inició la purificación de la mexicanina G.

Esta muestra inicial (ca. 200 mg, color amarillo) resultó ser insoluble en hexano y parcialmente soluble en acetato de etilo y acetona. en cromatoplaça analítica (eluída en hexano-acetona 6:4), se observa una mancha homogénea en un gran número de constituyentes de polaridad menor y mayor que la muestra. Es decir, hubo un alto grado de descomposición.

La mexicanina G se purificó de la siguiente manera: el residuo se dejó en contacto con acetona fría, disolviéndose algunas impurezas. Se filtró y el filtrado no contenía mexicanina G. El sólido se disolvió en una mezcla de acetona-acetato de etilo (1:1), se adsorbió en sílice (ca. 3 gr) y se aplicó en una columna de cromatografía (SiO₂, 250 gr) empacada con hexano-acetato de etilo-acetona (2:1:1), manteniendo constante la polaridad del eluyente.

De esta cromatografía se purificó la mexicanina G (alrededor de 10 mg) la cual mostaba características espectros

cópias idénticas a la muestra auténtica aislada en el trabajo original.²⁴

*I.R. (CHCl_3) (espectro 24): 2964 (metilo), 1760 (carbonilo de γ -lactona), 1723 (carbonilo de acetato), 1659 (doble ligadura), 1602, 1383, 1363, 1348, 1255, 1151, 1121, 1088 y 992 cm^{-1} .

*RMN ^1H -80 MHz (CDCl_3) (espectro 25): 6.28 (H-13', 1H, d, 3 Hz), 5.60 (H-13, 1H, d, 3 Hz), 4.82 (H-1 y H-8, 2H, m) 3.45 (H-7, 1H, m), 2.02 (H-17, 3H, Δ), 1.52 (H-15, 3H, Δ), 1.30 (H-14, 3H, d, 13 Hz).

Para el análisis de rayos-X se usó un cristal de dimensiones aproximadas 0.28 x 0.38 x 0.40 mm. Los cristales de la mexicanina G son monoclinicos con un grupo espacial $P2_1$ con $a = 9.3385$ (3), $b = 8.9208$ (3) y $c = 9.4978$ (3) Å.

Los datos fueron obtenidos en un difractómetro Nicolet R3m (radiación monocromada $\text{CuK}\alpha$). Un total de 1885 reflexiones independientes fueron medidas para un ángulo de $2\theta < 45$ de las cuales se consideraron observadas 1540 con $I > 2.0\sigma(I)$. La estructura se resolvió por métodos directos.³⁹ En el refinamiento final fueron usados parámetros térmicos anisotrópicos para los átomos diferentes de hidrógeno y un factor térmico isotrópico fijo para los átomos de

hidrógeno. Los índices de discrepancia finales son:
R= 0.0449 y R_w = 0.0478 para las 1540 reflexiones observadas.

C. OBTENCION DE LA TETRAHIDRO-
HELENALINA Y DE LA DIHIDRO-
ISOHELENALINA,

Se prehidrogenaron 42.8 mg de pd/c al 10% en 20 ml de acetato de etilo. Cuando el catalizador dejó de consumir hidrógeno, se adicionó una solución de 325.3 mg de helenalina en aproximadamente 25 ml de acetato de etilo. Se dejó reaccionar en atmósfera de hidrógeno hasta que la mezcla dejó de consumir hidrógeno. Por medio de una cromatoplaaca analítica, se observaron dos productos, los cuales fueron separados por cromatografía en columna, eluyendo en hexano acetona (4:1). El producto menos polar de p.f. 224-225°C (58.6 mg) se identificó como dihidro-isohelenalina (26) según sus datos espectroscópicos y por comparación con muestra auténtica.

*RMN ^1H -80 MHz (CDCl_3) (espectro 26): 5.18 (H-8, 1H, m), 4.89 (H-6, 1H, d), 1.91 (H-13, 3H, d, 1.5 Hz), 1.2 (H-14, 3H, d, 7Hz) y 0.88 ppm (H-15, 3H, d).

*RMN ^{13}C (CDCl_3) (espectro 13) tabla 3.

*EM (impacto electrónico) (espectro 27): m/z 265 ($\text{M}^+ + 1$, 10%), 264 (M^+ , 26%), 124 (86%), 97 (100%), 69 (60.7%), 41 (52.2%).

Eluyendo en la misma polaridad, se separó la sustancia más polar de la cual se obtuvieron 180.4 mg, que por sus datos físicos y espectroscópicos se identificó como la tetrahidrohelenalina (24) (p.f. 175-176°C).

*RMN ^1H -80 MHz (CDCl_3) (espectro 28): 4.72 (H-8, 1H, \underline{t} , 6 Hz), 4.28 (H-6, 1H, \underline{d} , 5 Hz), 1.33 (H-13, 3H, \underline{d} , 7Hz), 1.02 (H-14, 3H, \underline{d} , 6 Hz) y 0.80 ppm (H-15, 3H, \underline{t}).

*RMN ^{13}C (CDCl_3) (espectro 11), tabla 3.

*EM (impacto electrónico) (espectro 29): m/z 267 ($\text{M}^+ + 1$, 0.1%), 266 (M^+ , 6%), 248 (8%), 220 (21%), 124 (19%), 107 (20%), 97 (100%), 69 (24%), 55 (25%), 41 (28%).

D. OBTENCION DE LA ACETIL- TETRAHIDROHELENALINA (25).

A 130.3 mg de tetrahidrohelenalina (24) se agregó 1.5 ml de piridina y 1.5 ml de anhídrido acético y se dejó reaccionar con agitación en baño de hielo. La reacción se siguió por cromatografía en capa fina y se dió por terminada cuando se observó la desaparición total de la materia prima, se agregó hielo para detener la reacción permitiendo que continuara la agitación veinte minutos más. El producto se extrajo tres veces con acetato de etilo (20 ml). La fase orgánica se lavó con solución de ácido clorhídrico al 10% (15 ml), con solución de bicarbonato de sodio saturada, con agua, y por último el producto se secó con sulfato de sodio anhidro y se concentró.

Se obtuvieron 80 mg del derivado acetilado, el cual se identificó por sus datos físicos y espectroscópicos.

*p.f. 204-206°C.

*RMN ^1H -80 MHz (CDCl_3) (espectro 30): 5.34 (H-6, 1H, Δ), 4.67 (H-8, 1H, \underline{t} , 6 Hz), 2.87 (H-7, 1H, \underline{ddd} , 7,11 Hz), 1.95 (H-17, 3H, $\underline{\Delta}$), 1.43 (H-13, 3H, \underline{d} , 7 Hz), 1.03 (H-14, 3H, \underline{d} , 3 Hz) y 0.83 ppm (H-15, 3H, $\underline{\Delta}$).

*RMN ^{13}C (CDCl_3) (espectro 12), tabla 3.

*EM (impacto electrónico) (espectro 31): m/z (M^+ , 1%),
248 (48%), 220 (20%), 178 (25%), 175 (32%), 133 (71%),
107 (47%), 55 (46%), 43 (100%).

V

RESUMEN Y CONCLUSIONES

Del estudio fitoquímico de *Helenium scorzoneraefolium*, se aislaron e identificaron dos lactonas sesquiterpénicas: la carabrona y la acetilmexicanina I. Además se detectó la presencia de dos lactonas adicionales, que debido a la mínima cantidad aislada, no fué posible la recopilación de datos que permitieran establecer su estructura.

Por otro lado se purificó y determinó la estructura y estereoquímica de la mexicanina G, mediante técnicas espectroscópicas y cristalográficas. La mexicanina G es una nueva lactona sesquiterpénica aislada de *Helenium mexicanum* y representa la primera guayanólida encontrada en esta especie. La estructura y estereoquímica de esta nueva molécula permitió proponer una ruta alterna en la biogénesis de las helenanólidas, que son los metabolitos secundarios típicos de *Helenium*.

Finalmente se realizaron las asignaciones de las señales de RMN ^{13}C de algunas helenanólidas sintéticas y naturales con el fin de obtener un modelo espectroscópico que facilite la determinación estructural de este tipo de sustancias.

APENDICE I

La clasificación botánica de la familia Compositae (Asteraceae) es como sigue:¹

Reino:	Vegetal
división:	Spermatophytas (fanerógamas)
subdivisión:	Angiospermae
clase:	Dicotyledoneae
subclase:	Simpétalas
grupo de orden:	Tetracyclicae
orden:	Sinandrae
familia:	Compositae (Asteraceae).

La familia Compositae consta de trece tribus, que son las siguientes: *Vernonieae*; *Eupatorieae*; *Inuleae*; *Heliantheae*; *Anthemideae*; *Senecioneae*; *Calanduleae*; *Arctotideae*; *Cynareae*; *Mustisieae*; *Tageteae*; *Cichorieae*.

La tribu *Heliantheae* comprende las siguientes quince subtribus: *Melampodiinae*; *Zinninae*; *Echiptinae*; *Coreopsidinae*; *Fitchiinae*; *Bahiinae*; *Madiinae*; *Galinsoginae*; *Neuro-laeninae*; *Engelmanniinae*; *Ambrosiinae*; *Milleriinae*; *Verbesininae*; *Helianthinae* y *Gaillardinae*.

La subtribu *Gaillardinae* tiene nueve géneros, entre

los cuales se encuentra el género *Helenium* que cuarenta especies.¹²

APENDICE II

DATOS OBTENIDOS POR DIFRACCION DE RAYOS-X DE LA MEXICANINA G.

COORDENADAS ATOMICAS ($\times 10$) Y FACTORES DE TEMPERATURA ($A \times 10$)

átomo	x	y	z	U
O-1	4047 (2)	2933	2020 (2)	55 (1)*
O-2	5214 (2)	4295 (3)	4507 (2)	47 (1)*
O-3	9311 (2)	-159 (4)	6243 (3)	65 (1)*
O-1	10311 (3)	9 (4)	8398 (3)	82 (1)*
O-5	4079 (3)	572 (4)	1231 (3)	81 (1)*
C-1	6372 (3)	2242 (4)	3269 (3)	42 (1)*
C-2	5611 (3)	3025 (4)	1994 (4)	50 (1)*
C-3	5996 (4)	4677 (4)	2115 (4)	54 (1)*
C-4	6325 (3)	4950 (4)	3657 (3)	45 (1)*
C-5	6564 (3)	3490 (4)	4347 (3)	41 (1)*
C-6	7450 (4)	3322 (4)	5705 (4)	48 (1)*
C-7	7473 (3)	1727 (4)	6297 (3)	45 (1)*
C-8	8170 (3)	549 (4)	5355 (3)	48 (1)*
C-9	8858 (3)	1149 (4)	4055 (4)	50 (1)*
C-10	7809 (3)	1531 (4)	2827 (4)	48 (1)*
C-11	8335 (3)	1623 (4)	7660 (3)	49 (1)*
C-12	9410 (4)	450 (5)	7638 (4)	58 (1)*
C-13	8238 (5)	2427 (6)	8806 (4)	72 (2)*
C-14	7522 (4)	140 (5)	1927 (4)	66 (1)*
C-15	6939 (4)	6398 (5)	4161 (4)	61 (1)*
C-16	3420 (4)	1685 (5)	1548 (4)	60 (1)*
C-17	1834 (4)	1811 (7)	1488 (5)	79 (2)*

* *Equivalente isotópico U definido como un tercio de la traza de el tensor ortogonalizado U.*

ANGULOS DE ENLACE (grados) EN LA MEXICANINA G.

C(2)-O(1)-C(16)	117.9(2)	C(4)-O(2)-C(5)	60.4(2)
C(8)-O(2)-C(12)	111.9(3)	C(2)-C(1)-C(5)	103.6(3)
C(2)-C(1)-C(10)	110.3(3)	C(5)-C(1)-C(10)	113.7(3)
O(1)-C(2)-C(1)	112.9(3)	O(1)-C(2)-C(3)	106.6(3)
C(1)-C(2)-C(3)	106.2(3)	C(2)-C(3)-C(4)	105.6(3)
O(2)-C(4)-C(3)	110.6(3)	O(2)-C(4)-C(5)	59.9(2)
C(3)-C(4)-C(5)	108.2(3)	O(2)-C(4)-C(15)	116.3(3)
C(3)-C(4)-C(15)	121.0(3)	C(5)-C(4)-C(15)	125.3(3)
O(2)-C(5)-C(1)	110.6(2)	O(2)-C(5)-C(4)	59.7(2)
C(1)-C(5)-C(4)	109.7(3)	O(2)-C(5)-C(6)	113.9(3)
C(1)-C(5)-C(6)	123.3(3)	C(4)-C(5)-C(6)	122.4(3)
C(5)-C(6)-C(7)	113.9(3)	C(6)-C(7)-C(8)	114.9(3)
C(6)-C(7)-C(11)	111.9(3)	C(8)-C(7)-C(11)	103.6(3)
O(3)-C(8)-C(7)	105.8(3)	O(3)-C(8)-C(9)	107.3(2)
C(7)-C(8)-C(9)	115.8(3)	C(8)-C(9)-C(10)	114.9(3)
C(1)-C(10)-C(9)	114.7(3)	C(1)-C(10)-C(14)	110.4(3)
C(9)-C(10)-C(14)	109.8(3)	C(7)-C(11)-C(12)	108.8(3)
C(7)-C(11)-C(13)	129.2(4)	C(12)-C(11)-C(13)	122.0(3)
O(3)-C(12)-O(4)	120.3(4)	O(3)-C(12)-C(11)	109.9(3)
O(4)-C(12)-C(11)	129.8(4)	O(1)-C(16)-O(5)	123.4(3)
O(1)-C(16)-C(17)	112.0(4)	O(5)-C(16)-C(17)	124.6(4)

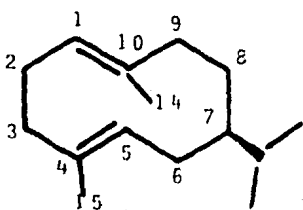
LONGITUDES DE ENLACE (Å) EN LA MEXICANINA G.

O(1)-C(2)	1.465(4)	O(1)-C(16)	1.327(5)
O(2)-C(4)	1.461(4)	O(2)-C(5)	1.464(4)
O(3)-C(8)	1.474(4)	O(3)-C(12)	1.344(5)
O(4)-C(12)	1.214(5)	O(5)-C(16)	1.212(6)
C(1)-C(2)	1.545(5)	C(1)-C(5)	1.518(5)
C(1)-C(10)	1.557(5)	C(2)-C(3)	1.520(6)
C(3)-C(4)	1.504(5)	C(4)-C(5)	1.471(5)
C(4)-C(15)	1.485(5)	C(5)-C(6)	1.512(4)
C(6)-C(7)	1.530(5)	C(7)-C(8)	1.541(5)
C(7)-C(11)	1.500(4)	C(8)-C(9)	1.512(5)
C(9)-C(10)	1.532(5)	C(10)-C(14)	1.524(6)
C(11)-C(12)	1.459(5)	C(11)-C(13)	1.310(6)
C(16)-C(17)	1.484(5)		

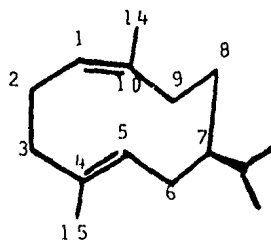
APENDICE III

Las lactonas sesquiterpénicas del tipo de las germacránolidas, se subclasifican en germacrólidas, heliangólidas, melampólidas y *cis,cis*-germacranólidas, de acuerdo a la estereoquímica de los dobles enlaces en posición C₁-C₁₀ y C₄-C₅ del esqueleto de ciclodecadieno. Así tenemos que: las germacrólidas (a) poseen una configuración *trans,trans* referente a sus dobles enlaces; las melampólidas (b), poseen configuración 1(10)-*cis*,4(5)-*trans*; las heliangólidas (c) tienen configuración 1(10)-*trans*,4(5)-*cis*; y las germacránolidas (d) que son *cis,cis*-ciclodecadienos.

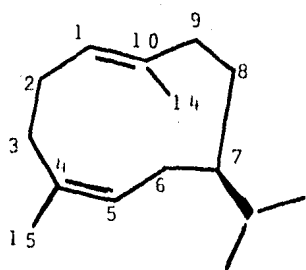
La diferenciación de estas formas isoméricas es importante desde el punto de vista biogenético, ya que de ellas parten los otros tipos de lactonas sesquiterpénicas.



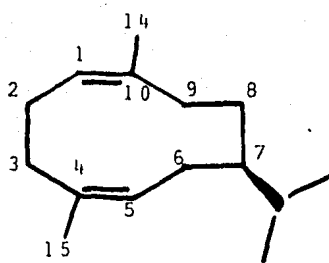
(a) germacrólidas



(b) melampólidas



(c) heliangólidas



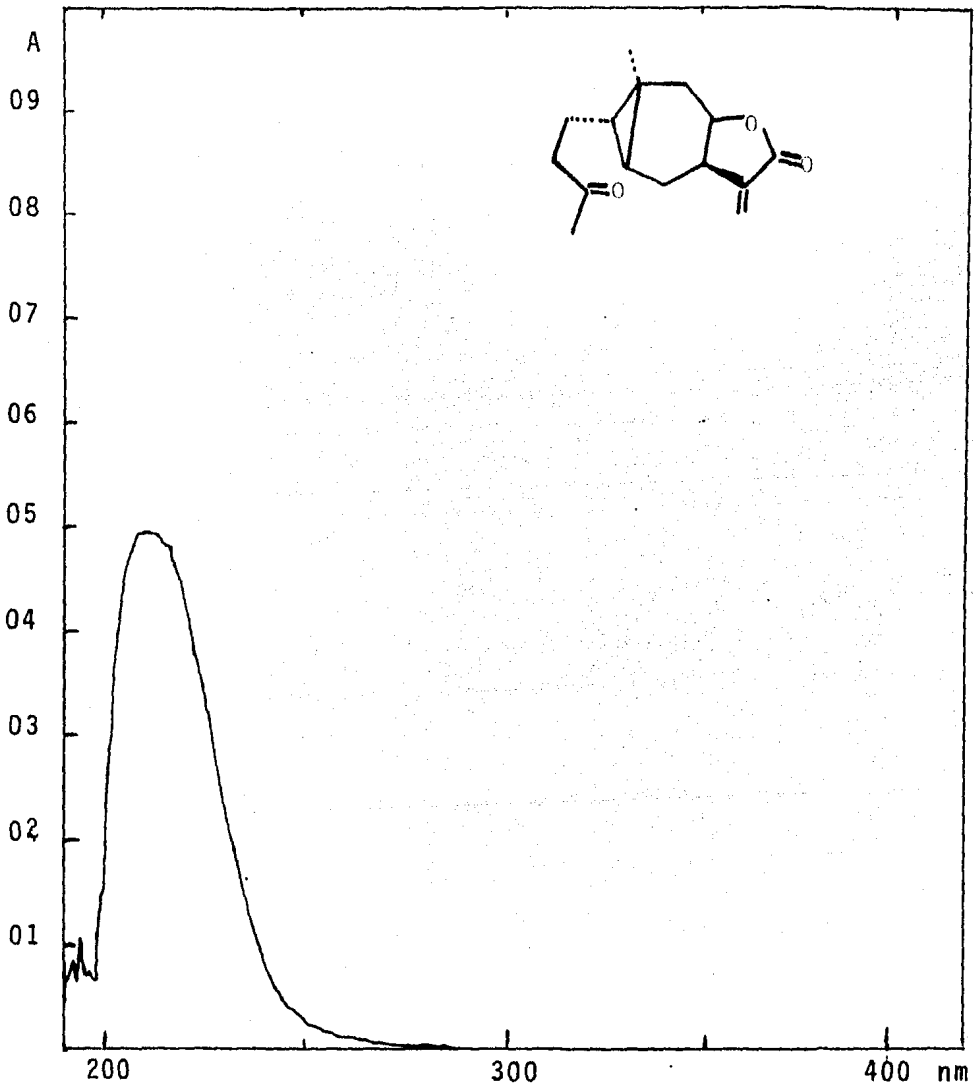
(d) *cis,cis*-germacranólidas

APENDICE IV

ESPECTROS DEL 20 AL 29 (REFERIDOS EN LA PARTE EXPERIMENTAL)

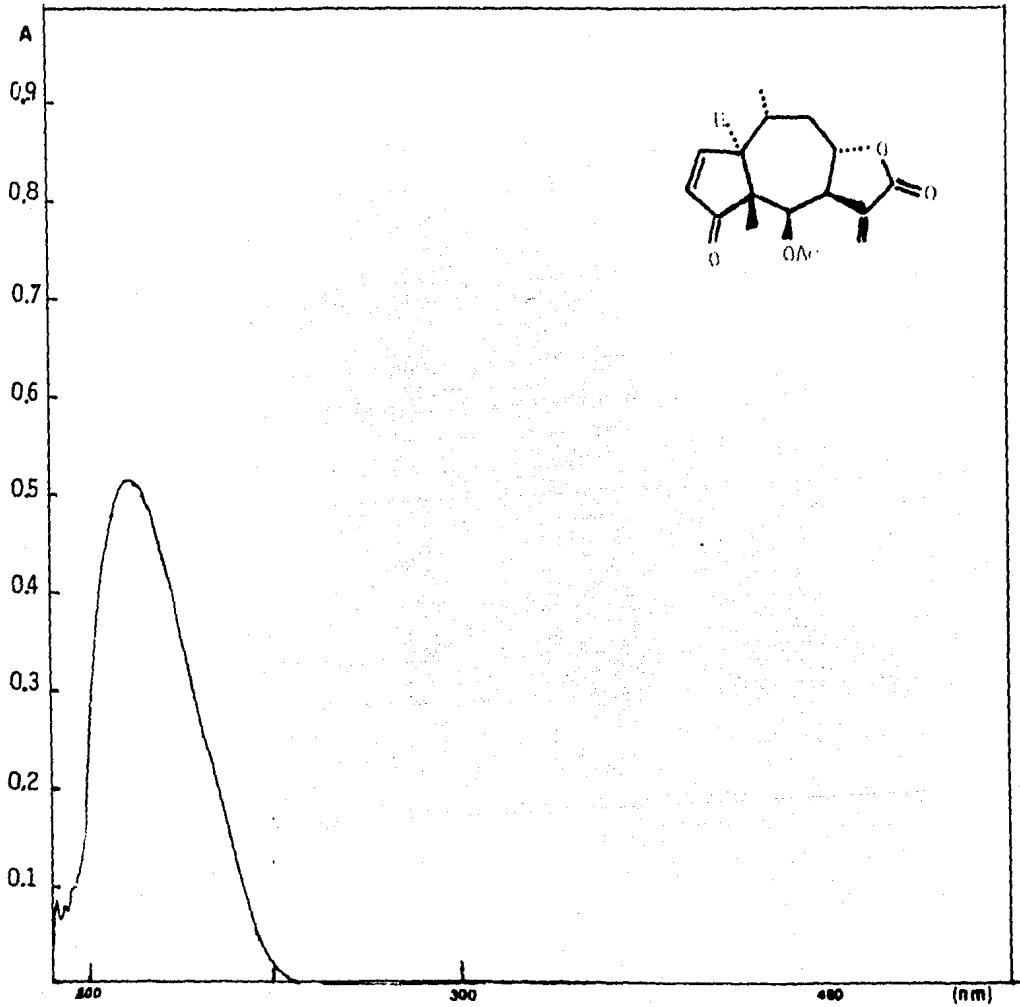
- Espectro de Ultravioleta de la carabrona (espectro 20).
- Espectro de Ultravioleta de la acetilmexicanina I (esp.21)
- Espectro de I.R. de la frac. 80-89 del extracto polar de *Helenium scorzoneraefolium* (esp. 22).
- Espectro de I.R. de la frac. 150-160 del extracto polar de *Helenium scorzoneraefolium* (esp. 23).
- Espectro de RMN ^1H de la dihidro-isohelenalina (esp. 24).
- Espectro de masas de la dihidro-isohelenalina (esp. 25).
- Espectro de RMN ^1H de la tetrahidrohelenalina (esp. 26).
- Espectro de masas de la tetrahidrohelenalina (esp. 27).
- Espectro de RMN ^1H de la acetyl-tetrahidrohelenalina (esp. 28).
- Espectro de masas de la acetyl-tetrahidrohelenalina (esp. 29).

ESPECTRO 20



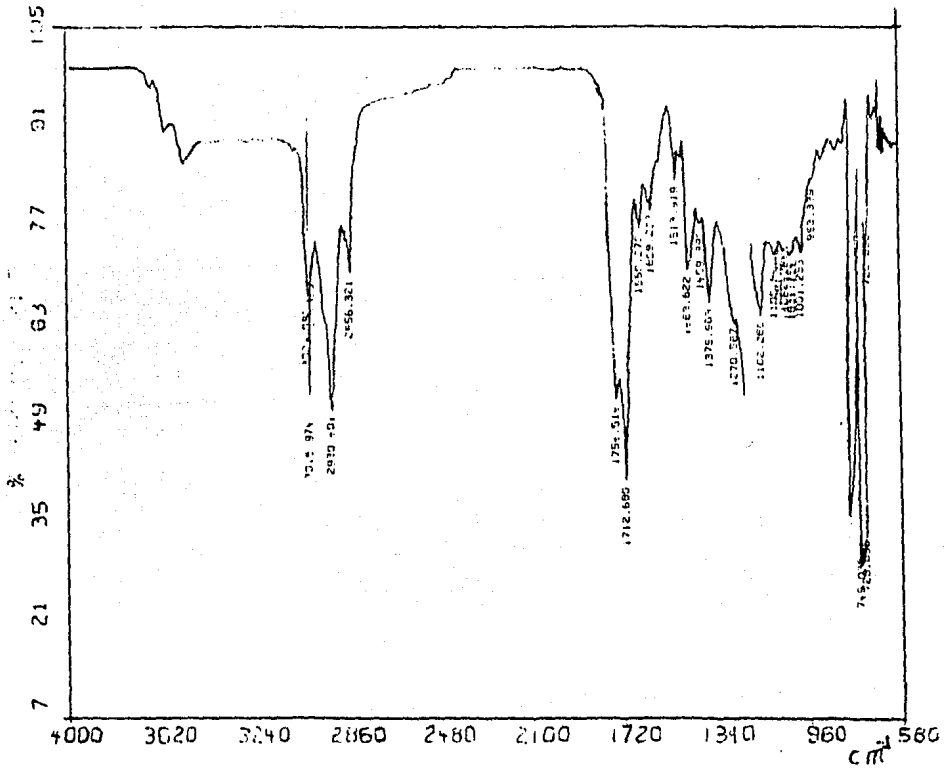
ESPECTRO DE ULTRAVIOLETA DE LA CARABRONA.

ESPECTRO 21



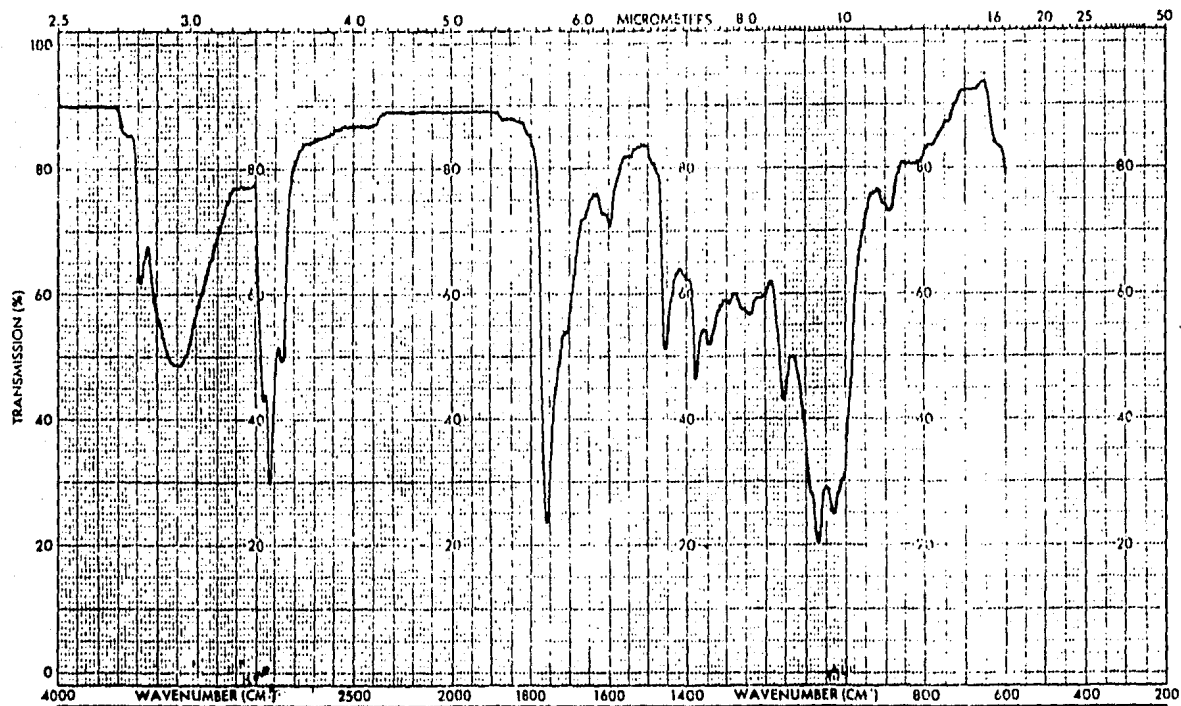
ESPECTRO DE ULTRAVIOLETA DE LA ACETILMEXICANINA I.

ESPECTRO 22



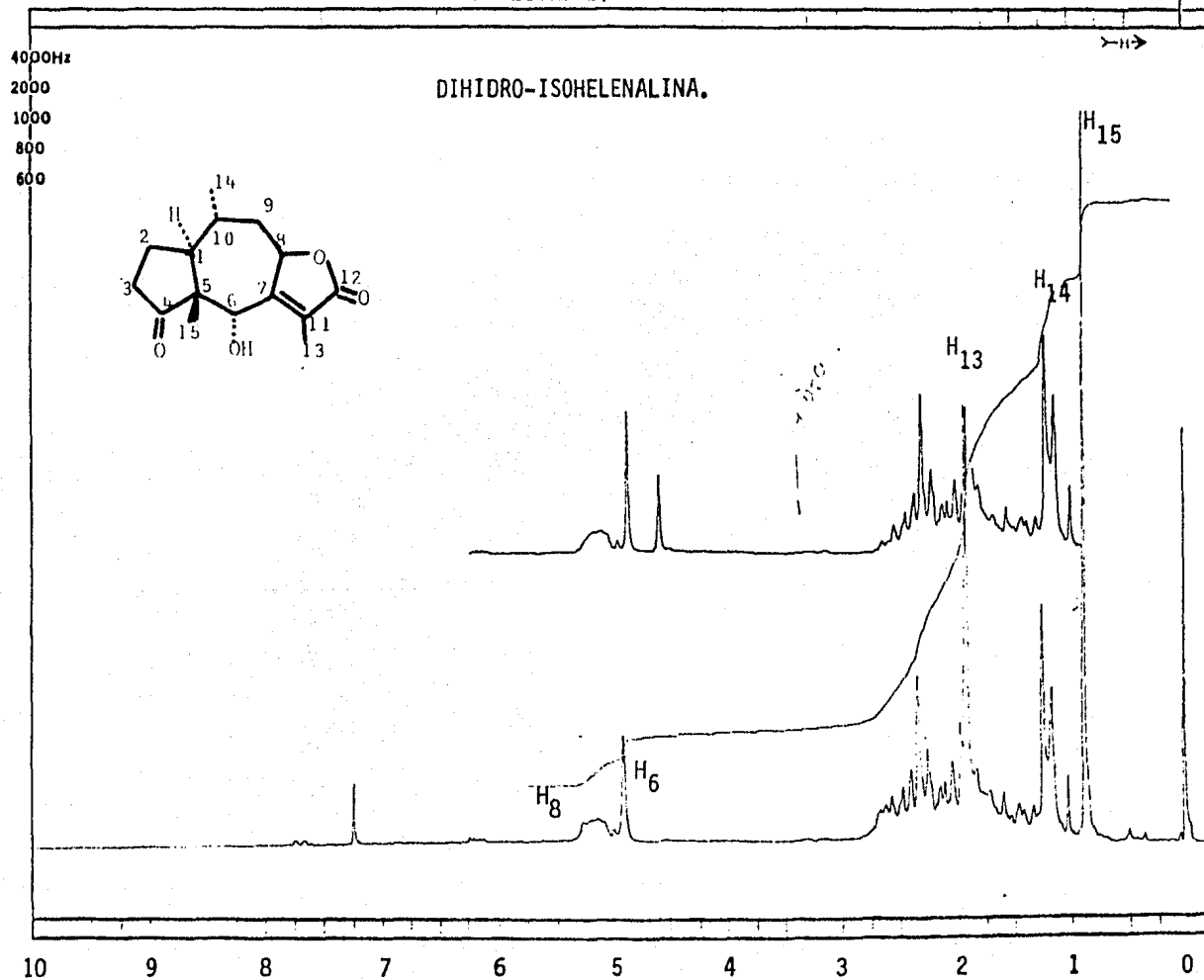
ESPECTRO DE INFRAROJO DE LA FRACCION 80-98 DEL EXTRACTO POLAR DE HELENIVM SCORZONERIFOLIUM.

ESPECTRO 23

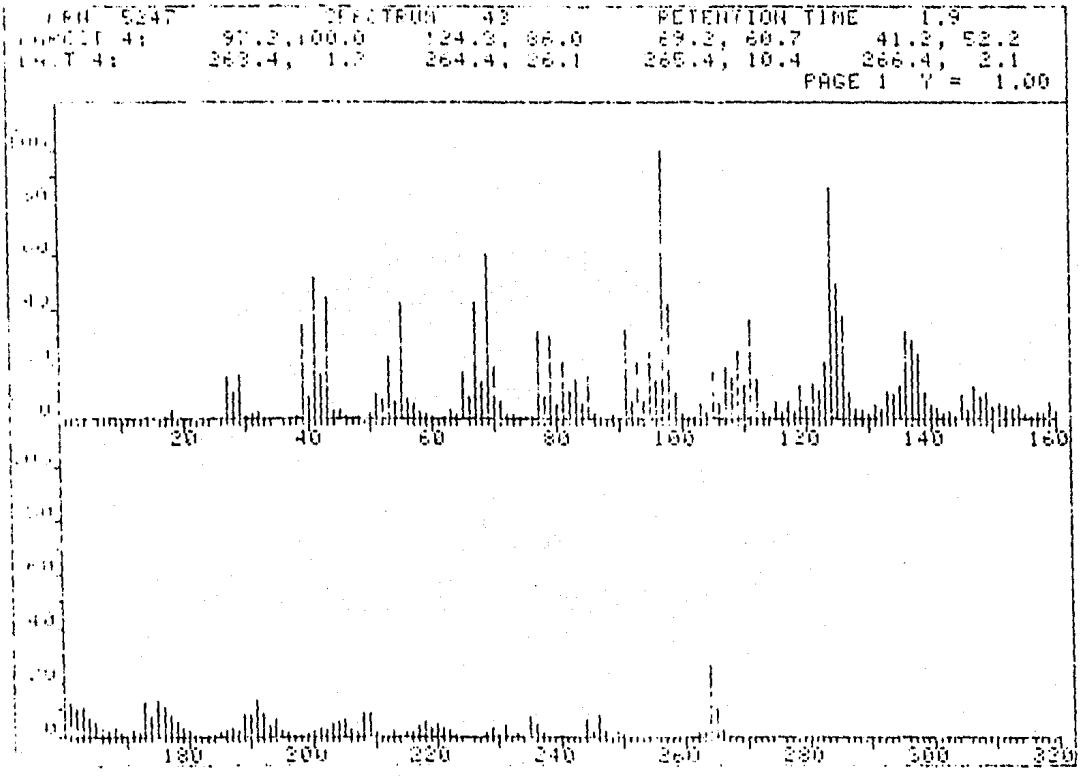


ESPECTRO DE INFRAROJO DE LAS FRACCIONES 150-160 DEL EXTRACTO
POLAR DE HELENIUM SCORZONERIFOLIUM.

ESPECTRO 24

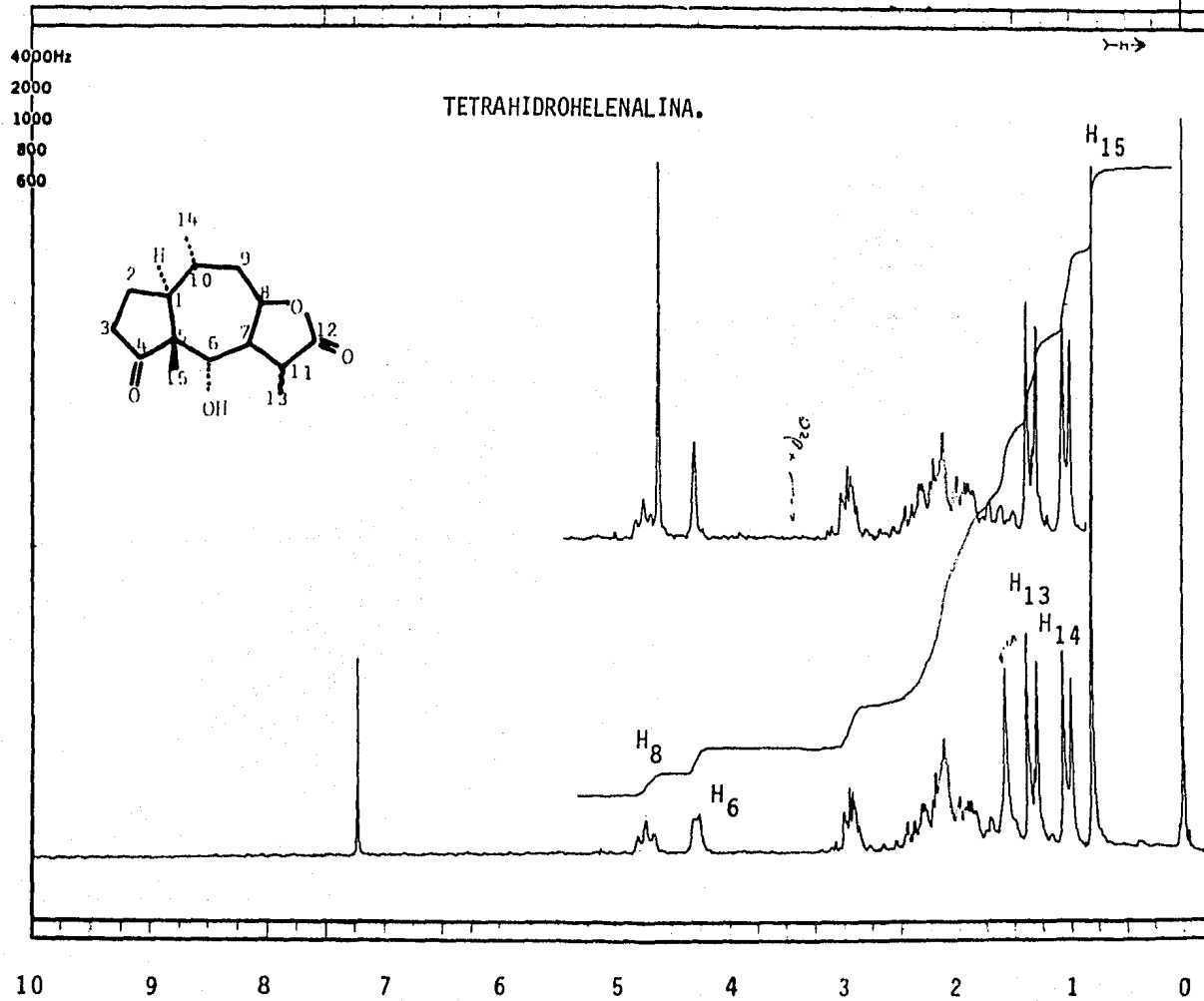


ESPECTRO 25

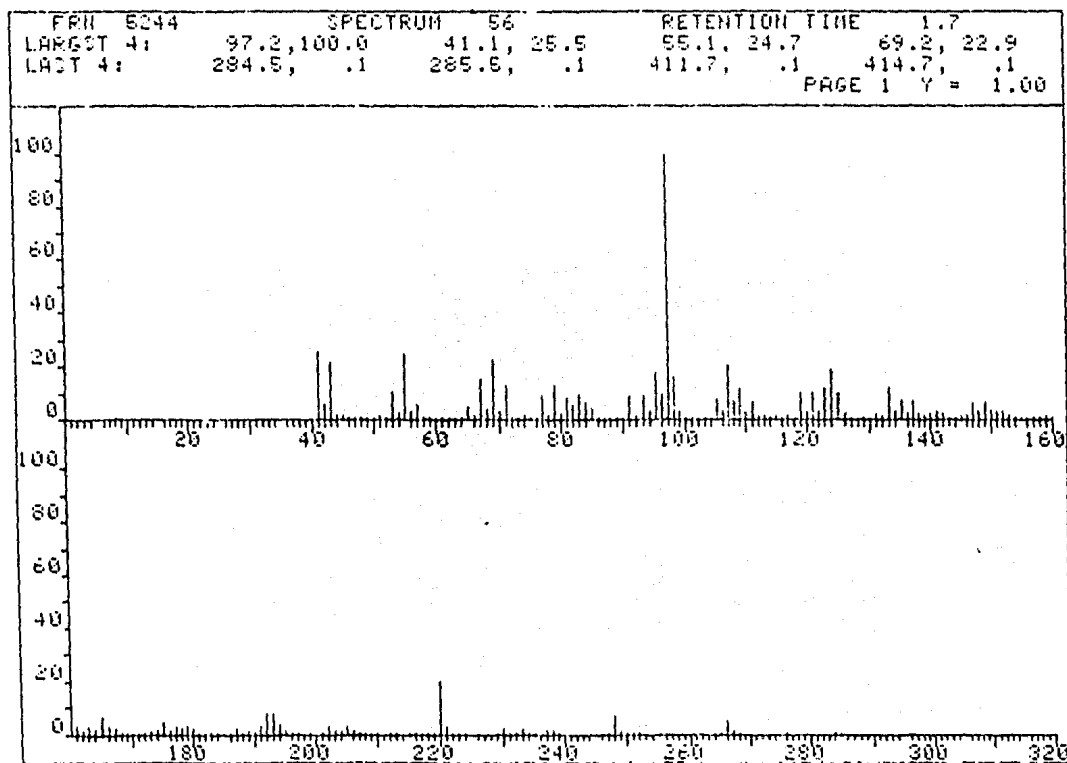


ESPECTRO DE MASAS DE LA DIHIDRO-ISOHLENALINA.

ESPECTRO 26



ESPECTRO 27

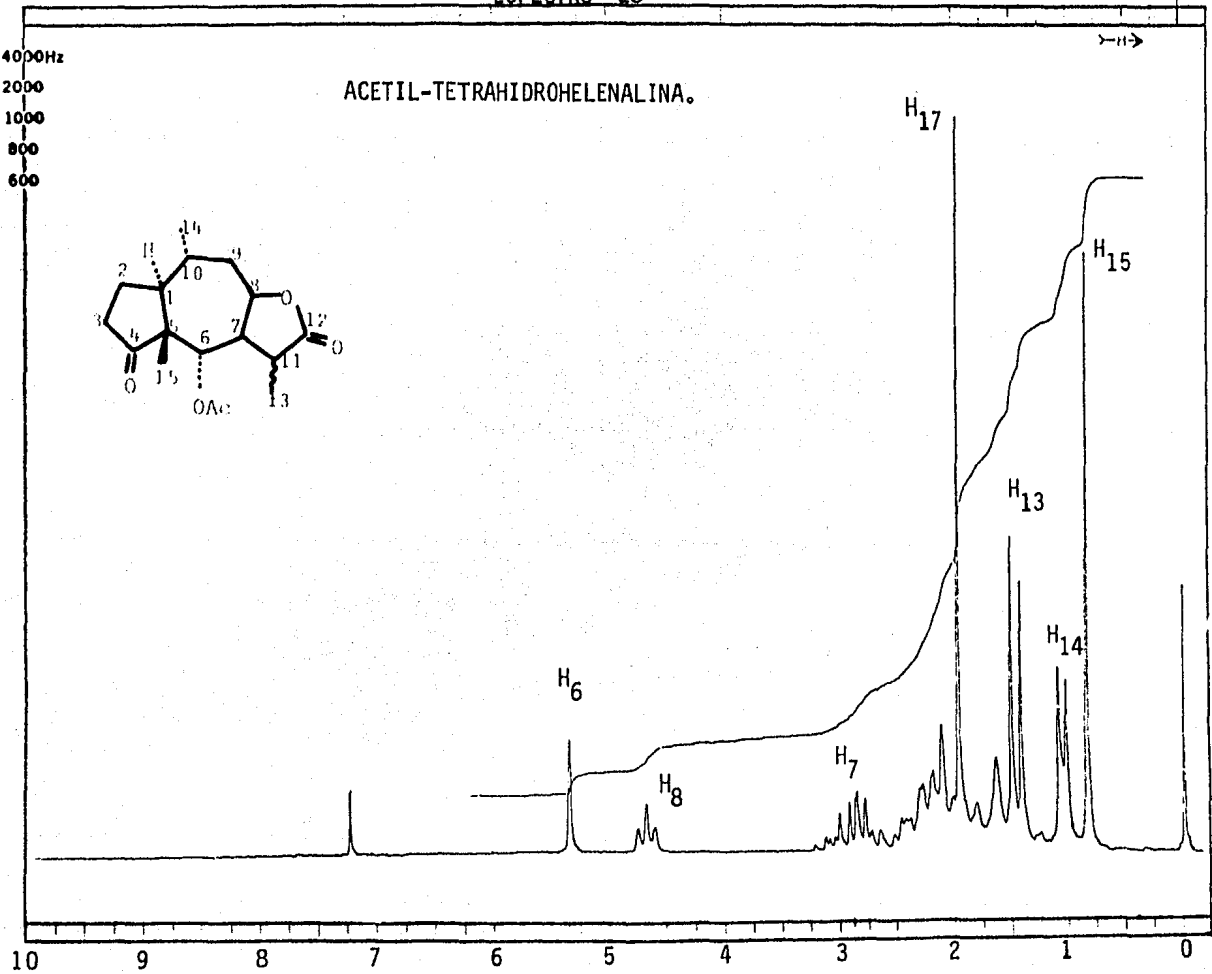
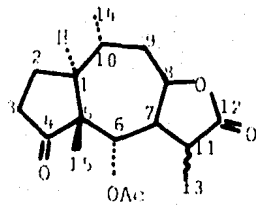


ESPECTRO DE MASAS DE LA TETRAHIDROHELENALINA.

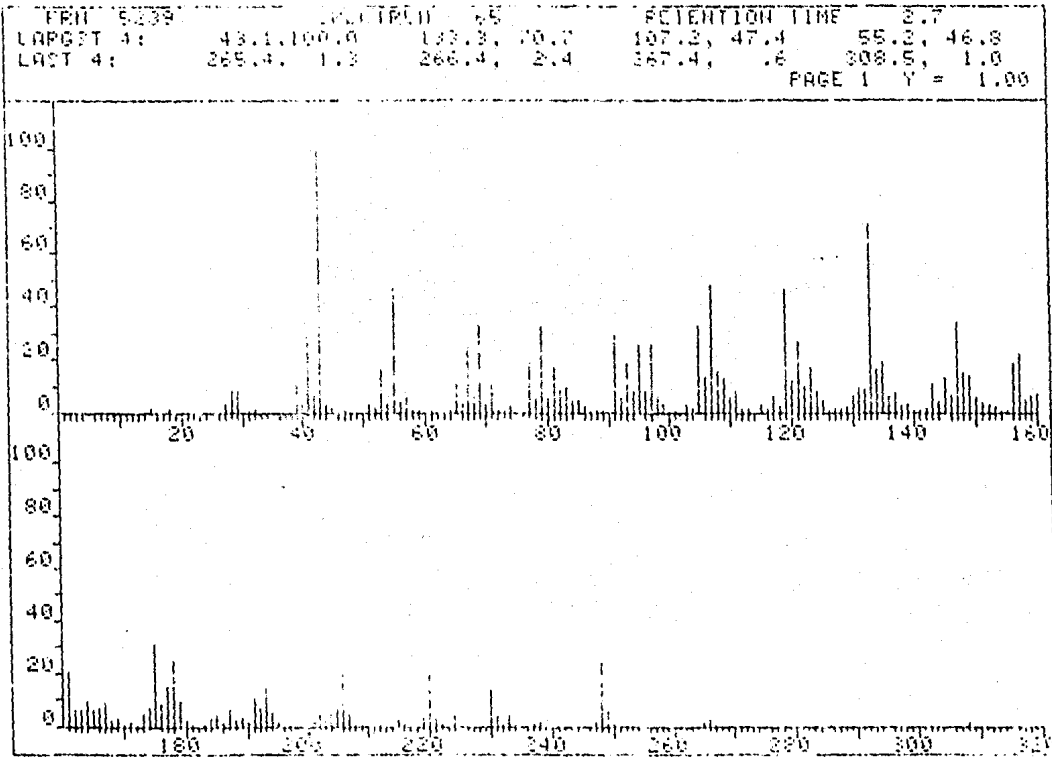
ESPECTRO 28

4000Hz
2000
1000
800
600

ACETIL-TETRAHIDROHELENALINA.



ESPECTRO 29



ESPECTRO DE MASA DE LA ACETIL-TETRAHIDROHELENALINA.

VII

BIBLIOGRAFIA

1. Strassburger E., Tratado de Botánica. 4a. edición, Editorial Manuel Marín & Cia. Barcelona España (1953).
2. Heywood, V. H., Harborne, J. B. and Turner, B. L. The Biology and Chemistry of the Compositae. (Heywood, V. H. Harborne, J. B. and Turner, B. L., eds.) Vol. 1, p. 11. Academic Press. London (1977).
3. Wadner, H., The Biology and Chemistry of the Compositae. (Heywood, V. H., Harborne, J. B. and Turner, B. L., eds) Vol. 1, p.411. Academic Press. London (1977).
4. Herz, W., Biogenetic Aspects of Sesquiterpene Lactone Chemistry. *Israel J. of Chem.* 16, 32 (1977).
5. Erdman, H., Chemical Plant Taxonomy. (Swain edit.) Academic Press. London and New York (1963).
6. Mann, J., Secondary Metabolism. (Oxford Chemistry Series; 27) Oxford University Press. (1980).
7. Fischer, N. H., Oliver, E. J. and Fischer, H. D., The biogenesis and Chemistry of sesquiterpene lactones. *Progress in the Chemistry of Organic Natural Products.* (Herz, W., Grisebach, H. and Kirby, G. W. eds.) 38, 223.

Springer-Verlag. Wien. (1979).

8. Kasai, R., Shingu, T., Wu, R., Hall, I. H., and Lee, K. Antitumor Agents 57. The Isolation and Structural Elucidation of Microhelenin-E a new Antileukemic Nor-pseudoguaianolide, and Microhelenin-F from *Helenium microcephalum*. *J. Nat. Prod.* 45, 317, (1982).
9. Rodríguez, E., Towers, G. H. N. and Mitchell J. C., Biological Activities of Sesquiterpene Lactones. *Phytochemistry*, 15, 1523, (1976).
10. Ozawa T. A., Rivera A. P. y Romo de Vivar, A., Principios Activos de la planta tóxica *Helenium integrifolium*. *Rev. Latinoamer. Quim.* 14, 40, (1983).
11. Kupchan S. M., Eakin, M. A. and Thomas, A. M., Tumor Inhibitors 69. Structure-Cytotoxicity Relationships Among the Sesquiterpene Lactones. *J. Med. Chem.* 14, 1147, (1971).
12. Stuessy, T. F., The Biology and Chemistry of the Compositae. (Heywood, V. H., Harborne, J. B. and Turner, B. L. eds.) 2, 621, Academic Press. London (1977).
13. Ozawa Tanaka Alfredo Takejiro. Acetilhimenograndina e Hy menoratina, lactonas sesquiterpénicas aisladas de la planta tóxica *Helenium integrifolium*. (tesis de la Facultad de Química de la U.N.A.M.) (1982).
14. ElSohly M. A., Sharma, A. S., Turner C. E., Constituents of *Helenium amarum* III. Isolation and Characterization of iso-heleniamarin, a new sesquiterpene lactone. *J. Nat. Prod.* 44, 617, (1981).

15. Bohlman, F., Tsankova, E. and Jakupovic, J., Pseudoguaianolides and guaianolides from *Helenium puberulum*. *Phytochemistry*, 22, 1822, (1983).
16. ElSohly, M. A., Kulanthaivel, P. and Herz, W. Constituents of *Helenium amarum*. IV. Desacetyl-1-episotenuin. *J. Nat. Prod.*, 47, 533, (1984).
17. Yoshioka, H., Mabry, T. J., Timmermann, B. Sesquiterpene Lactones, Chemistry, N.M.R. and Plant Distribution. University of Tokyo Press. (1973).
18. Hernández, R., Sandoval, A., Setzer, A. and Romo, J., Estudio Químico del *Helenium quadridentatum* Labill. *Bol. Inst. Quím.* 20, 81, (1968).
19. Herz, W., Gast, C. M. and Subramaniam, P. S., Sesquiterpene Lactones of *Helenium alternifolium* (Spreng.) Cabrera. Structures of Brevilin A, Linifolin A and Alternilin. *J. Org. Chem.*, 33, 2780, (1968).
20. Romo, J., Joseph-Nathan, P. and Diaz, F. The Constituents of *Helenium aromaticum* (HOOK) Bailey. The structures of Aromatin and Aromaticin. *Tetrahedron*, 20, 79, (1964).
21. Silva, M. Constituents of *Helenium plantagineum*. *J. Pharm. Sci.* 56, 922, (1967).
22. Herz, W. Constituents of *Helenium* Species, XII. Sesquiterpene Lactones of some Southwestern Species. *J. Org. Chem.* 27, 4043, (1962).
23. Romo de Vivar, A. and Romo, J. Constituents of *Helenium mexicanum* H.B.K. *Chem. and Ind.* 882, (1959).

24. Romo de Vivar, A. and Romo, J. Las lactonas de *Helenium mexicanum*. *Ciencia*, 21, 33, (1961).
25. Herz, W., Romo de Vivar, A., Romo, J. and Viswanathan, N. Constituents of *Helenium* Species, XIII. The Estructure of Helenalin and Mexicanin A. *J. Amer. Chem. Soc.* 85, 19 (1963).
26. Herz, W., Romo de Vivar, A., Romo, J. and Viswanathan, N. Constituents of *Helenium* Species, XV. The Structure of Mexicanin C, Relative Stereochemistry of its congeners. *Tetrahedron*. 19, 1359 (1963).
27. Caughlan, C. N. and Ul-Haque, M. The Molecular and Crystal Structure of Bromomexicanin E. *J. Chem. Soc. (B)* 355, (1967).
28. Romo, J., Romo de Vivar, A. and Joseph-Nathan, P. The structure of Mexicanin H. *Tetrahedron Letters*, 10, 1029 (1966).
29. Domínguez, E. and Romo, J. Mexicanin I. A new Sesquiterpene Lactone Related to Tenulin. *Tetrahedron*, 19, 1415, (1963).
30. Romo de Vivar, A. y Delgado, G. Instituto de Química de la U.N.A.M. Comunicación personal. (1984).
31. Rogers, D., Moss, G. P. and Neidle, S. Proposed Conventions for Describing Germacranolide Sesquiterpenes. *J. Chem. Soc., Chem. Comm.* 142 (1972).
32. a) Hendrickson J. B. Stereochemical Implications in Sesquiterpene Biogenesis. *Tetrahedron*. 7, 82, (1959).

- b) Parker W., Roberts, J. S. and Ramage, R. Sesquiterpene Biogenesis. *Quart. Rev.* 21, 331 (1967).
33. Romo de Vivar, A. Sesquiterpene Lactones in Compositae. Biogenesis and Taxonomic Implications. *Rev. Latinoamer. Quím.* 8, 63, (1977).
34. Lee, K. H., Ibaka, T., Kosuka, M., McPhail, T. and Onan D. The Structure and absolute Configuration of Florilenalin, a New Citotoxic Guaianolide from Florida *Helenium autumnale* L. *Tetrahedron Lett.* 2287 (1974).
35. Bohlman, F. and Jakupovic, J. Zwei Neue Sesquiterpenlactone und eine Neue Sesquiterpensäure aus *Helenium puberulum*. *Phytochemistry*, 18, 131 (1979).
36. Wehrli, F. W. and Wirthlin, T. Interpretation of Carbon-13 NMR Spectra. Edit. Heyden & Son Ltd. 1980.
37. Joseph-Nathan, P. Estudios de resonancia magnética nuclear de carbono-13 de la helenalina. *Rev. Soc. Quím. Méx.* 20, 255 (1976).
38. Wehrli, F. W. and Nishida, T. The Use of Carbon-13 Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy in Natural Products Chemistry. *Progres in the Chemistry of Organic Natural Products.* (Herz, W., Grisebach, H. and Kirby, G. W. eds.) 36, Springer-Verlag. Wien (1979).
39. Sheldrick, G. M., SHELXT Revision 3. An integrated system from solving refining and displaying structures from diffraction data. University of Göttingen. Federal Republic of Germany (1981).