

29  
13

# UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA



AISLAMIENTO Y DETERMINACION DE LA ESTRUCTURA  
MOLECULAR DE LOS METABOLITOS SECUNDARIOS  
DE *Arracacia nelsonii* C&R (UMBELLIFERAE)

T E S I S

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

JOSE GARDUÑO RODRIGUEZ

MEXICO, D. F.

1986



## **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 está 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	1
II) .-	GENERALIDADES	4
III) .-	OBJETIVO	8
IV) .-	ANTECEDENTES	10
V) .-	PARTE TEORICA	12
	A) .- Constituyentes de <i>Arracacia nelsonii</i>	
VI) .-	PARTE EXPERIMENTAL	39
VII) .-	RESUMEN Y CONCLUSIONES	61
VIII) .-	ESPECTROS	64
	IR(CHCl <sub>3</sub> ) = 3'-acetil,4'-isovaleroil- <u>cis</u> -khellactona	65
	IR(Nujol) = 3'-acetil,4'-isovaleroil- <u>cis</u> -khellactona	66
	RMN <sup>1</sup> H(CDCl <sub>3</sub> ) = 3'-acetil,4'-isovaleroil- <u>cis</u> -khellactona	67
	RMN <sup>1</sup> H(CDCl <sub>3</sub> ) = 3'-acetil,4'-senecioil- <u>cis</u> -khellactona	68
	UV(Metanol) = 3'-angeloil,4'-oxo-khellactona	69
	IR(CHCl <sub>3</sub> ) = 3'-angeloil,4'-oxo-khellactona	70
	RMN <sup>1</sup> H(CDCl <sub>3</sub> ) = 3'-angeloil,4'-oxo-khellactona	71
	RMN <sup>13</sup> C(CDCl <sub>3</sub> ) = 3'-angeloil,4'-oxo-khellactona	72
	RMN <sup>1</sup> H(CDCl <sub>3</sub> ) = 4'-acetil- <u>cis</u> -khellactona	73
	3'-angeloil- <u>cis</u> -khellactona	
	RMN <sup>1</sup> H(CDCl <sub>3</sub> ) = 3'-angeloil- <u>cis</u> -khellactona	74
	RMN <sup>1</sup> H(CDCl <sub>3</sub> ) = (+)- <u>cis</u> -etil-khellactona	75
	RMN <sup>1</sup> H(CDCl <sub>3</sub> ) = (-)- <u>trans</u> -etil-khellactona	76
	RMN <sup>1</sup> H(CDCl <sub>3</sub> ) = 3-acetil,4-etil,5-hidroxi,2,2-dimetil,6(propanoato de etilo),benzo(a,b),dihidropirano.	77

$\text{RMN}^1\text{H}(\text{CDCl}_3) = 3'\text{-acetil}, 4'\text{-senecioil-cis-khellactona}$ $4'\text{-acetil-cis-khellactona}$ $3'\text{-angeloil-cis-khellactona}$	78
$\text{RMN}^1\text{H}(\text{CDCl}_3) = 3'\text{-acetil}, 4'\text{-senecioil-cis-khellactona}$ $3'\text{-acetil}, 4'\text{-acetil-cis-khellactona}$ $4'\text{-acetil}, 3'\text{-angeloil-cis-khellactona}$	79
$\text{RMN}^1\text{H}(\text{CDCl}_3) = 3,4\text{-dihidro}, 3'\text{-acetil}, 4'\text{-isovaleroil-cis-khellactona}$	80

IX).- BIBLIOGRAFIA

81

I. INTRODUCCION

Todo ser vivo desde su aparición en la tierra ha buscado alimento y protección, y ha creado barreras físicas y químicas en defensa a las adversidades del medio.

El hombre aprendió por medio de la observación y experimentación el uso de algunas plantas para remediar algunos males, desde los espirituales hasta los materiales, constituyendo una tradición popular cuyo conocimiento aún es transmitido en forma oral o por medio de escritos que se van heredando y transformando de una cultura a otra.<sup>1</sup>

Sin embargo, es importante indicar que la tradición herbolaria se circunscribe a los principios filosóficos de cada civilización y cada sociedad. Tal es la razón por la cual en muchos países disminuyó el uso de las plantas medicinales debido por un lado, a la influencia de fármacos comerciales modernos y por el otro, al menoscabo de ciertas tradiciones indígenas.

En años recientes se ha incrementado el interés de la herbolaria tradicional y diversas instituciones nacionales han dirigido investigaciones hacia tal fin.

Debido a su flora tan vasta y rica, así como su cultura centenaria, el Continente Americano y México especialmente, poseen desde la época prehispánica una amplia tradición herbolaria, la cual ha incorporado desde el siglo XVI, a plantas del todo el mundo.<sup>2</sup>

Basta señalar que en la actualidad se ha incrementado notablemente la producción, recolección, identificación, conservación y comercialización de productos extraídos de plantas.

Aunque cabe mencionar que la explotación irracional de la vegetación trae como consecuencia un desequilibrio ecológico.<sup>3</sup> Por otra parte, la interacción de diversos grupos de científicos (Químicos, Biólogos, Farmacéuticos, etc.) sobre el particular, aunado a los avances tecnológicos en los instrumentos de investigación, imprimen actualmente a esta área del conocimiento gran dinamismo y versatilidad.

## II. GENERALIDADES

A medida que los seres vivos han evolucionado hacia formas más complejas y altamente diferenciadas, se desarrollan nuevas biomoléculas de mayor complejidad y variedad. Entre ellas se cuentan pigmentos, aceites esenciales y aromáticos, hormonas, antibióticos, alcaloides y diversas moléculas estructurales tales como la lignina de la madera.<sup>4</sup>

La biogénesis de tales sustancias muestra que derivan de biomoléculas primordiales, por ejemplo, los terpenos que comprenden algunas vitaminas, muchos aceites esenciales, pigmentos vegetales y productos complejos naturales, tales como el caucho, proceden en último término del ácido acético, producto principal de la degradación de la glucosa y de ácidos grasos. Se conocen centenares de alcaloides diferentes, la mayor parte derivan de los aminoácidos.

El metabolismo intermediario puede dividirse en rutas catabólicas que son las responsables de la degradación de las moléculas nutritivas de alto contenido energético, y en rutas anabólicas por las cuales se efectúa la biosíntesis de los componentes celulares. La ruta anfibólica central puede desempeñar ambas funciones. Cada ruta se halla promovida por una secuencia de enzimas específicas que catalizan las reacciones consecutivas. El catabolismo de las moléculas de los compuestos nutritivos va acompañada de la conservación de la energía de aquellos en forma de energía de enlace fosfato (ATP). Recíprocamente la energía química necesaria para las rutas biosintéticas es aportada por la desfosforilación del ATP.

La energía química es transportada también desde las rutas catabólicas a las anabólicas en forma de coenzimas reducidas, especialmente NADPH.

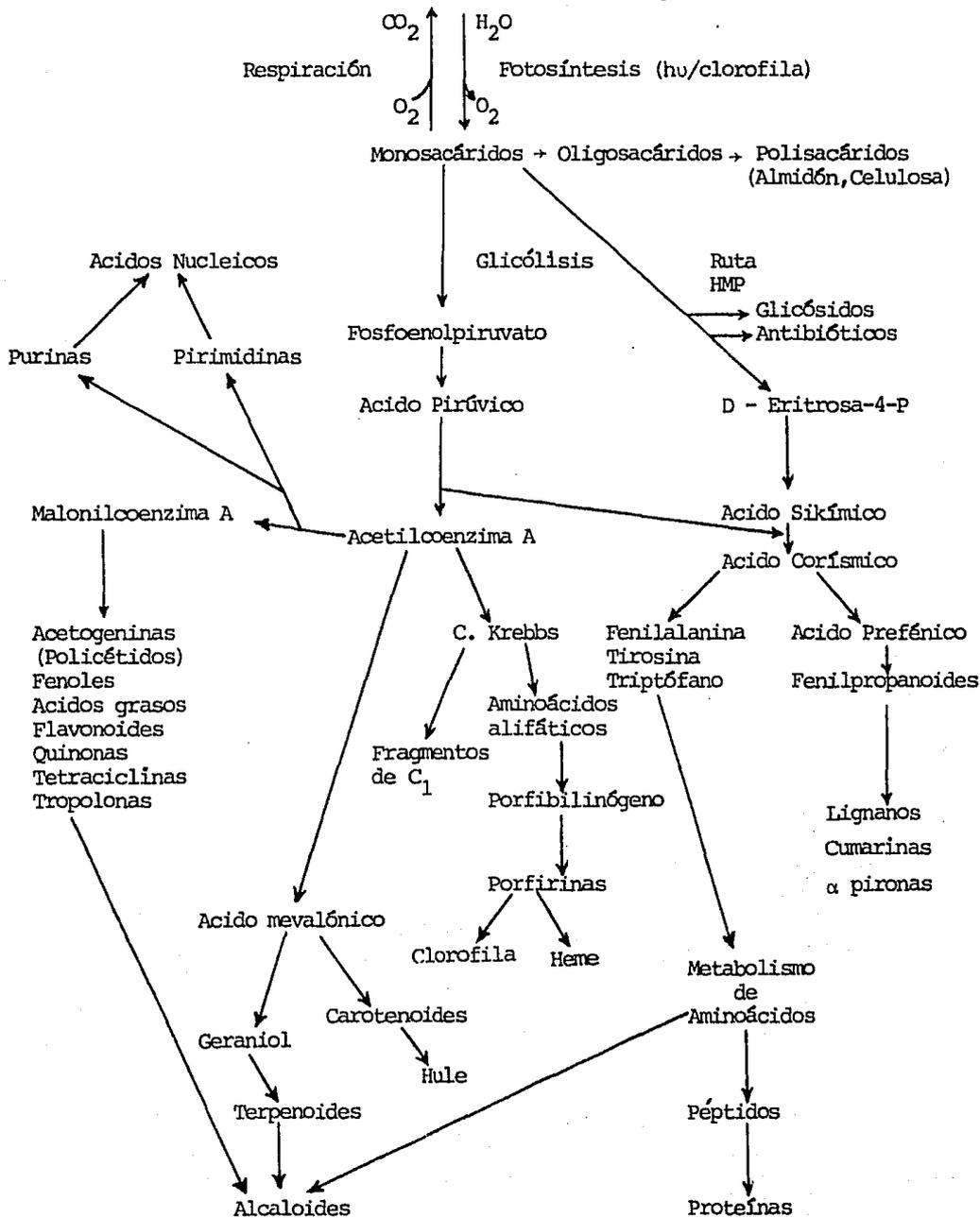
En animales como en vegetales, la energía para los fenómenos vitales proviene de una cadena de oxidaciones y reducciones, en las que producen sustancias (metabolitos) útiles para el crecimiento, reproducción y defensa.

En el Esquema I, se hace notar la interrelación que hay entre los productos primarios y los secundarios del metabolismo vegetal.<sup>5-6</sup>

Es de extrema importancia práctica la visualización de las sustancias naturales dentro de la interrelación representada en el Esquema I, ya que sustancias con estructura molecular diferente, pueden relacionarse íntimamente si provienen de la misma ruta biogénica. Por otro lado, la proposición de la estructura de un producto natural vegetal puede apoyarse en argumentos biogenéticos, no sólo en cuanto al esqueleto fundamental, sino también en cuanto al patrón de oxidación, ya que las uniones C-C se llevan a cabo mediante reacciones que pueden racionalizarse convencionalmente en química orgánica.

Por otro lado, la acumulación de ciertos metabolitos secundarios en determinado grupo de plantas, permite el uso de los primeros como marcadores taxonómicos del reino vegetal, es decir, como argumento para una división (quimiotaxonomía), como complemento a la taxonomía morfológica racional de las plantas. Sin embargo, la cladística del reino vegetal debe incorporar diversos argumentos a nivel geno y fenotipo.<sup>6-7</sup>

## Rutas en la Biosíntesis de Metabolitos vegetales



ESQUEMA I

III. OBJETIVO

Contribuir al conocimiento de los constituyentes químicos de la cubierta vegetal de nuestro país, mediante la extracción, el aislamiento y la determinación de la estructura molecular de los metabolitos secundarios de una planta mexicana.

*Arracacia nelsonii* C&R (Umbelliferae subfamilia Smyrneae), que por su propiedad de causar alergia al contacto con la piel (dermatitis), es el argumento de estudio en este trabajo.

IV. ANTECEDENTES

El genero *Arracacia* pertenece a la familia *Umbelliferae*, de la cual se han hallado como constituyentes principales, compuestos cumarínicos,<sup>8,26-35</sup> flavonoides,<sup>26-28</sup> compuestos acetilénicos,<sup>17,27</sup> ftaluros,<sup>36-39</sup> y terpenoides.<sup>15,17,26,29-34</sup>

La química sistemática de la familia ha sido sugerida en referencia a sus constituyentes de tipo flavonoide, en conjunción con algunas macromoléculas proteínicas.<sup>27</sup> También se han hecho revisiones en la literatura sobre los constituyentes químicos de esta familia, en especial lactonas sesquiterpénicas,<sup>26,27-34</sup> y ftaluros.<sup>36-39</sup>

Resulta importante hacer notar que las umbelíferas se encuentran dentro de las primeras familias de importancia en cuanto a su contenido y variedad de cumarinas.<sup>22-43</sup> Y es en la subfamilia *Apioidae*, y principalmente en las tribus *Smyrneae*, *Ammiineae* y *Peucedaneae* en donde se localizan el mayor número de ellas.

También se hace notar que en la tribu *Smyrneae* sólo se han hallado cumarinas sencillas y furanocumarinas tanto lineales como angulares.<sup>22</sup> No habiendo reportes recientes de que se hayan encontrado en esta tribu piranocumarinas.

El análisis químico de las umbelíferas es interesante desde diversos puntos de vista, ya que algunas de ellas son alimenticias, como el apio (*Apium graveolens*) o medicinales de uso popular, como el hinojo (*Foeniculum vulgare*) y el chuchupaste (*Ligusticum porteri*). Todas ellas abundantes en nuestro país.<sup>40-42</sup>

V. PARTE TEORICA :

(DISCUSION DE RESULTADOS)

Las partes aéreas secas de *Arracacia nelsonii* C&R, fueron extraídas por maceración con acetona, obteniéndose por eliminación del disolvente, un residuo el cual fué resuelto en sus componentes mediante un proceso de partición preliminar y sucesivas cromatografías, como se describe en la parte experimental. La separación cromatográfica permitió el aislamiento de seis sustancias, cuyas estructuras se establecieron por métodos químicos, espectroscópicos, espectrométricos y por comparación con datos reportados en la literatura como se describe a continuación.

De las partes menos polares se aisló estigmasterol (Figura 1), que es un compuesto común en muchas plantas y cuya identidad fué establecida por comparación con una muestra auténtica utilizando los criterios usuales: <sup>44-45</sup>R<sub>f</sub>, p<sub>f</sub>, p<sub>fm</sub>, IR, RMN<sup>1</sup>H y la obtención del acetyl derivado correspondiente.

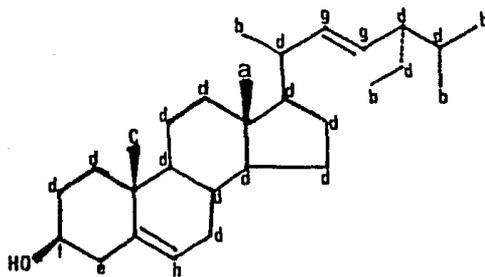
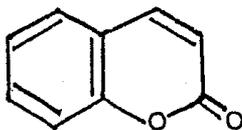


Figura 1

$\delta$  0.7 ( 3H, s, Ha ),  $\delta$  0.75 - 1.05 ( 12H, m, Hb )  
 $\delta$  1.01 ( 3H, s, Hc ),  $\delta$  0.70 - 2.01 ( 23H, m, Hd )  
 $\delta$  2.25 ( 2H, d, He ),  $\delta$  3.5 ( 1H, m, Hf ),  $\delta$  5.07 -  
 ( 2H, m, Hg ),  $\delta$  5.35 ( 1H, m, Hh ),  $\delta$  1.51 ( 1H,  
 s, OH ). Formula molecular C<sub>29</sub>H<sub>48</sub>O.  
 Pf. 161 - 163 °C.

En esta ocasión solo se describen en la Figura 1 las señales características en RMN<sup>1</sup>H.

Subsecuentes fracciones de la cromatografía permitieron aislar una sustancia ópticamente activa ( $[\alpha]_D^{25} +2.5^\circ$ , etanol, 2mg/ml), de peso molecular 388 y fórmula molecular C<sub>21</sub>H<sub>24</sub>O<sub>7</sub> establecidos por espectrometría de masas y análisis elemental, respectivamente. El espectro de IR (solución clorofórmica, espectro 1) indica la presencia de grupos carbonilos (banda amplia en 1744 cm<sup>-1</sup>) y de un núcleo aromático (señales en 1608, 1575, 1490 y 1468 cm<sup>-1</sup>). Efectivamente, las absorciones en el espectro de UV ( $\lambda_{\max}$  203 nm, log  $\epsilon$  3.9 y  $\lambda_{\max}$  220 nm, log  $\epsilon$  3.41) confirman a un anillo bencénico tetrasustituido y permite proponer a una cumarina (A) como base estructural.



(A)

Esta proposición es congruente con la observación experimental de fluorescencia azul que muestra la sustancia al exponer la cromatoplaca analítica a la luz ultravioleta (365 nm), carac-

terística de este tipo de sustancias.<sup>43</sup>

La presencia de dos carbonilos (de éster) adicionales se manifiesta por las señales en el IR corrido en Nujol (espectro 2), que muestra bandas en 1744 y 1722  $\text{cm}^{-1}$ , por lo que se asignan cuatro oxígenos más, que en adición a los dos de la  $\alpha$  pirona su man en total seis de los siete oxígenos que posee la molécula. La ausencia de bandas atribuibles a oxirano o hidroxilo en el IR, sugieren que el oxígeno restante es etéreo y forma parte de un anillo adicional (de 5 o 6 miembros), por lo tanto, la molécula debe ser un triciclo con dos ésteres, de acuerdo a los requerimientos de la fórmula molecular.

Los datos de  $\text{RMN}^1\text{H}$  (espectro 3, Tabla 1) confirman las pro posiciones anteriores y permiten establecer la estructura completa de la molécula.

En efecto, se observa el sistema AB de los protones de la doble ligadura conjugada con el carbonilo de la  $\alpha$  pirona, centra do en  $\delta$  6.18 (1H, d,  $J=9.3$  Hz, H-3), y  $\delta$  7.55 (1H, d,  $J=9.3$  Hz, H-4). Figura 2.

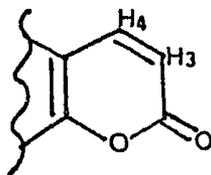


Figura 2

Se observa también otro sistema AB que forman los protones orto de un anillo bencenoide, centrados en  $\delta$  7.32 (1H, d,  $J=8.0$  Hz, H-5) y  $\delta$  6.75 (1H, d,  $J=8.0$  Hz, H-6), Figura 3. Por lo tanto, el núcleo aromático debe poseer tetrasustitución vecinal.

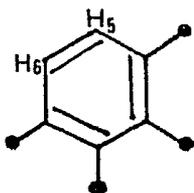


Figura 3

La combinación de los fragmentos deducidos, permite escribir las fórmulas parciales, Figuras 4 y 5.

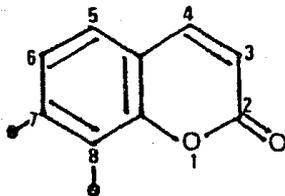


Figura 4

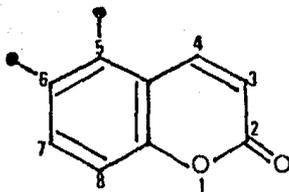


Figura 5

El desplazamiento químico a campo bajo de un protón bence-  
noide ( $\delta$  7.32) sólo está de acuerdo con H-5 de la representación  
de la Figura 4.<sup>46</sup>

La presencia de un gem dimetilo en la molécula se manifies-  
ta por el par de singuletes en  $\delta$  1.43 y  $\delta$  1.45 (espectro 3, Ta-  
bla 1), que por su desplazamiento químico a campo bajo, indica  
que estan sobre un carbono unido a oxígeno. Figura 6.

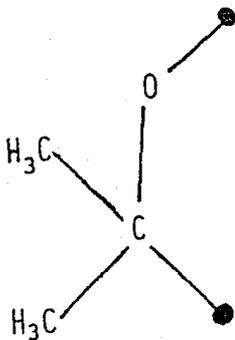


Figura 6

En consonancia con esta descripción, se observa otro sistema AB en  $\delta$  6.52 (1H, d,  $J=5.3$  Hz, H-4') y  $\delta$  5.27 (1H, d,  $J=5.3$  Hz, H-3') que por su desplazamiento químico debe corresponder a bases de éster. Figura 7.

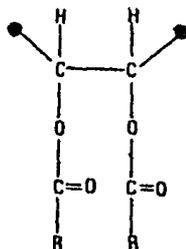


Figura 7

La conexión de las fórmulas parciales 6 y 7 permiten escribir la fórmula parcial de la figura 8.

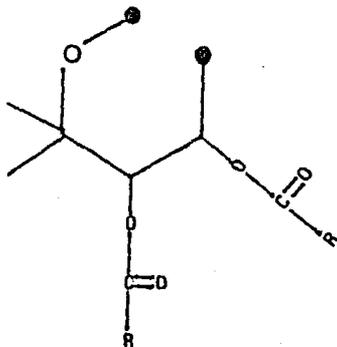


Figura 8

Existen dos maneras de combinar las fórmulas parciales de la Figura 4 y la Figura 8, las cuales se muestran en la Figura 9 (A y B), y corresponden a piranocumarinas angulares.<sup>47</sup>

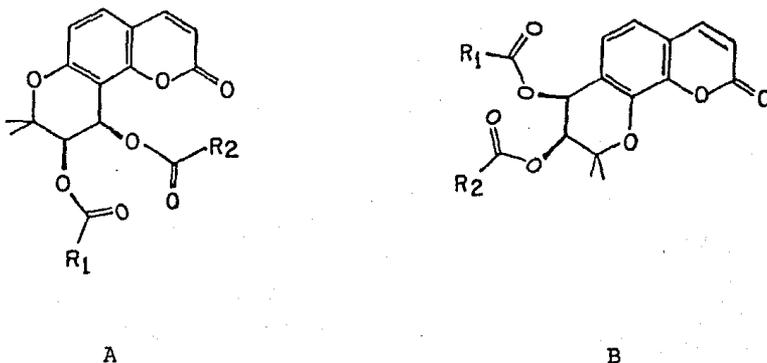


Figura 9

Las fórmulas A y B de la Figura 9. se discriminan por argumentos biogénéticos, ya que la ruta biosintética de este tipo de sustancias indica oxigenación en C-7.<sup>43</sup> Por otro lado, la totalidad de las piranocumarinas angulares y lineales de estructura establecida poseen oxígeno en esa posición. Por lo tanto, la estructura de la Figura 9 A, es la que corresponde a la molécula aislada de *A. nelsonii*.

La naturaleza de los ésteres  $R_1$  y  $R_2$  se deduce con el mismo espectro de  $RMN^1H$  (espectro 3. Tabla 1), ya que se observa una señal simple que integra para tres protones en  $\delta$  2.1 que indica la presencia de un acetato ( $CH_3COO-$ ) y las señales en  $\delta$  0.98 (6H. d.  $(\underline{CH}_3)_2-CH-$ ),  $\delta$  2.1 (2H, m,  $(CH_3)_2-CH-\underline{CH}_2-$ ) y  $\delta$  2.23 (1H,

m,  $(\text{CH}_3)_2\text{-}\underline{\text{CH}}\text{-CH}_2\text{-}$ ) son característicos de los protones de un isobutirato ( $(\text{CH}_3)_2\text{-CH-CH}_2\text{-COO-}$ ), de acuerdo a los fragmentos en EM: m/e 43 (27%  $\text{CH}_3\text{CO}^+$ ) y m/e 85 (24%  $\text{C}_5\text{H}_9\text{O}^+$ ), por lo que existen dos posibilidades de ubicación de tales residuos en la molécula: por un lado el acetato en 3' y el isobutirato en 4' (Figura 10 C) y por el otro, el isobutirato en 3' y el acetato en 4' (Figura 10 D).

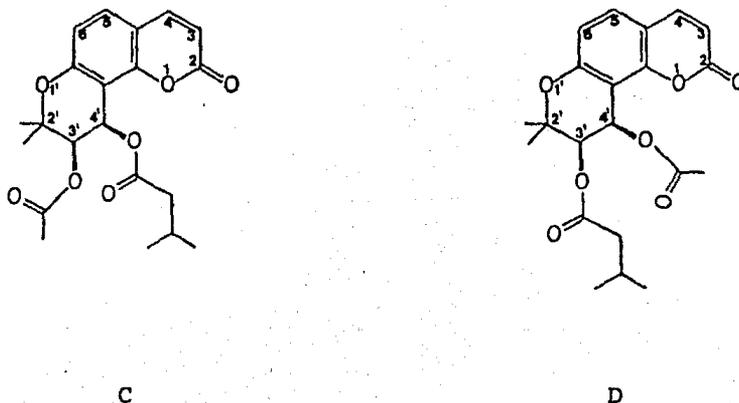


Figura 10

Si en conjunción a las posibilidades posicionales (C) y (D), se toma en cuenta la configuración en los centros quirales C-3' y C-4', se obtienen ocho posibles estereoisómeros ( $2 \times 2^2$ ), entre los cuales es necesario discernir el producto aislado. Para simplificar la discusión, es conveniente omitir las posibilidades enantioméricas y considerar solo la relación cis y trans de los ésteres en C-3' y C-4'. Con la anterior consideración y tomando

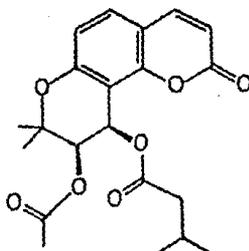
en cuenta la ubicación relativa de los ésteres, se reduce a cuatro el número posible de estereoisómeros.

El valor de la constante de acoplamiento ( $J=5.3$  Hz) de los protones H-3' y H-4', indican una relación cis de los sustituyentes en concordancia con lo reportado en la literatura.<sup>21,22</sup> Tal asignación está de acuerdo con la mayoría de las piranocumarinas con sustituyentes en estos centros quirales aisladas con anterioridad. Por lo tanto, las fórmulas isoméricas se simplifican a las dos posibilidades de ubicación relativa de los ésteres.

La comparación de los datos descritos en la presente discusión con los publicados para la suksdorfina<sup>9</sup> sugieren la identidad de ambas sustancias. La comparación de ciertas constantes físicas ( $p_f$ ,  $[\alpha]_D$ ) apoyan tal proposición.

Finalmente, la configuración absoluta de la suksdorfina (1) se ha correlacionado con la (+)-cis-khellactona,<sup>13a</sup> la que se ha definido con una configuración 3'R y 4'R. Por lo tanto, la representación de la Fórmula 1, indica la estereoquímica absoluta y relativa.

Estos resultados son análogos a los obtenidos para el visnagano,<sup>13b</sup> que posee una configuración absoluta 3'R, 4'R, y de esta manera se correlaciona con la suksdorfina.



1

Las sustancias aisladas en las fracciones sucesivas de la cromatografía inicial, están muy relacionadas estructuralmente con la suksdorfina (1), por lo que su discusión estructural se circunscribirá a resaltar las diferencias con respecto a esta dihidropiranocumarina angular.

El siguiente compuesto de polaridad similar a la suksdorfina (1), es también una dihidropiranocumarina, como lo indican la fluorescencia azul que resulta al exponer la cromatoplaaca analítica a la luz ultravioleta, y sus características espectroscópicas.

El espectro de RMN<sup>1</sup>H (espectro 4, Tabla 1) es muy parecido al de la suksdorfina (1), presenta también tres sistemas AB con constantes de acoplamiento similares.

En el espectro de masas se observa que este compuesto tiene dos unidades de masa menos (C<sub>21</sub>H<sub>22</sub>O<sub>7</sub>, PM=386), debido a la presencia de un radical senecióllo en lugar del isobutirollo, que

esterifica al oxígeno en C-4'. Se observan en el espectro de RMN<sup>1</sup>H (espectro 4, Tabla 1) las señales características de este residuo (senecioilo), las cuales se muestran en la Figura 11.

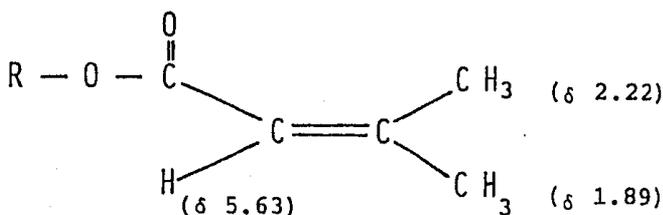


Figura 11

En base a lo antes mencionado, la estructura de esta molécula queda representada por la Fórmula 2 y corresponde a la isosamidina, 3'-acetil,4'-senecioil-cis-khellactona. La compara-

---

Nota: La nomenclatura usada para nombrar a las dihidropiranocumarinas angulares descritas en este trabajo, se derivan de la cis-khellactona (Figura i), cuyo enantiómero dextrorrotatorio es el que posee la configuración 3'R v 4'R.<sup>13</sup> Por lo tanto, se anteponen a este nombre los residuos de ácido en 3' y 4'.

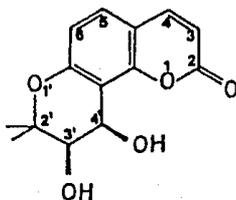
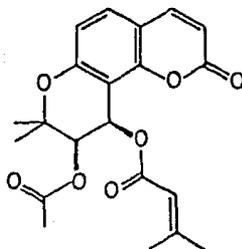


Figura i. (+)-cis-khellactona



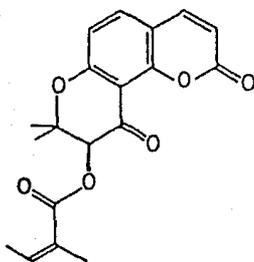
2

ción de las constantes físicas y espectroscópicas confirman su identidad.<sup>11,21</sup>

La siguiente sustancia aislada tiene una fórmula molecular de  $C_{19}H_{18}O_6$  y  $PM=342$ , establecidos por análisis elemental y espectrometría de masas respectivamente. A diferencia de las dos sustancias anteriores, ésta presenta fluorescencia verde claro, lo cual sugiere alguna variación en los grupos cromóforos. El espectro de IR (espectro 6) muestra bandas anchas en 1735 y 1715  $cm^{-1}$  que indican la presencia de varios grupos carbonilos. El espectro de  $RMN^1H$  (espectro 7, Tabla 1) muestra el sistema AB de los protones de la  $\alpha$  pirona ( $\delta$  7.58, 1H, d,  $J=9.5$  Hz, H-4 y  $\delta$  6.29, 1H, d,  $J=9.5$  Hz, H-3) y el sistema AB de los protones orto del núcleo bencénico ( $\delta$  7.53, d,  $J=8.5$  Hz, H-5 y  $\delta$  6.87, 1H, d,  $J=8.5$  Hz, H-6).

Se observa una señal simple en  $\delta$  5.60 que corresponde a la

base del éster que es un angelato y éste debe estar ubicado en C-3' (ya que en C-4' el protón base, por ser bencílico resonaría en  $\delta$  6.50 aproximadamente). Por lo tanto, en C-4' se encuentra un carbonilo, de acuerdo a los requerimientos de la fórmula molecular, permitiendo escribir la Fórmula 3 para esta molécula.



3

En efecto, tal estructura está de acuerdo con el cambio de las absorciones máximas en el ultravioleta de la molécula con respecto a la suksdorfina (1) y la isosamidina (2), (espectro 5).

De manera análoga, el desplazamiento químico a campo bajo de H-5 ( $\Delta\delta = 0.20$ ), con respecto a la suksdorfina (1) y la isosamidina (2), se explica por la forma resonante (W) de la Figura 12.

Esta molécula que corresponde a la 3'-angeloil,4'-oxo-khellactona (3) no ha sido reportada en la literatura por lo que representa un nuevo producto natural.

La estructura fué confirmada por RMN<sup>13</sup>C y por correlación

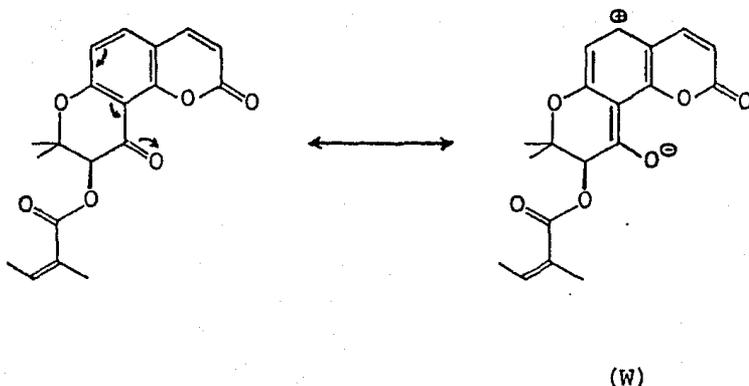


Figura 12

química como se describe a continuación.

Las asignaciones de RMN<sup>13</sup>C (espectro 8) se establecieron mediante los experimentos de desacoplamiento total de hidrógeno (trazo inferior) y de desacoplamiento parcial de hidrógeno (trazo superior), de acuerdo a la teoría general de desplazamiento químico y por comparación de los datos con los reportados en moléculas relacionadas.<sup>48,50</sup>

Se observan las señales de tres carbonilos en  $\delta$ 184.38, 166.12 y 162.09, que corresponden a C-4', al carbonilo del éster y a C-2 respectivamente. Entre  $\delta$  160.00 y 108.00, resuenan los diez carbonos olefínicos cuya asignación se establece por su posición y multiplicidad, el singulete en  $\delta$  82.46 corresponde a C-2', el doblete en  $\delta$  76.54 se asigna a C-3 y los carbonos metílicos resuenan en  $\delta$  20.43 y 19.80. Las asignaciones se muestran en la Figura 13.

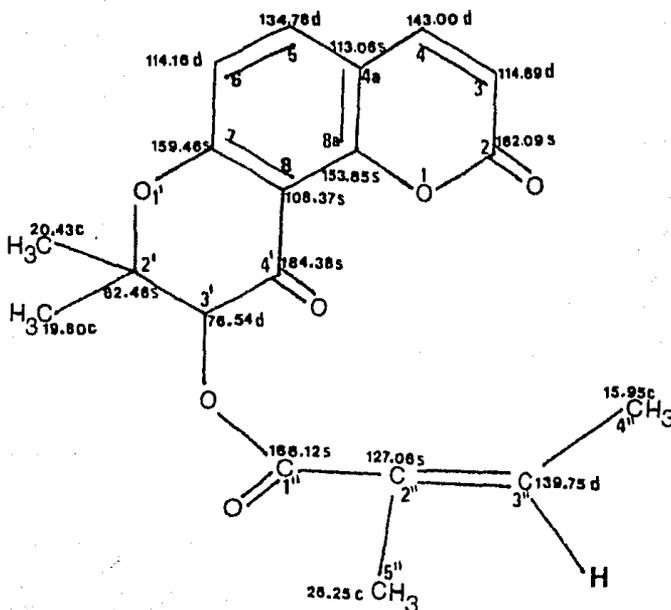
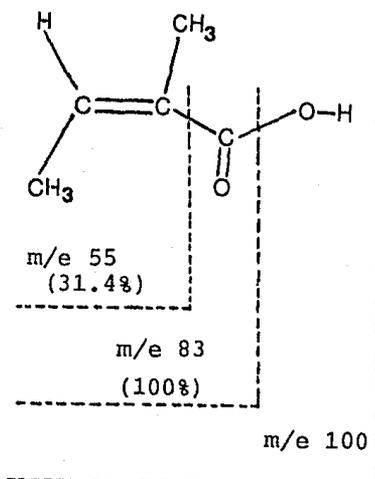
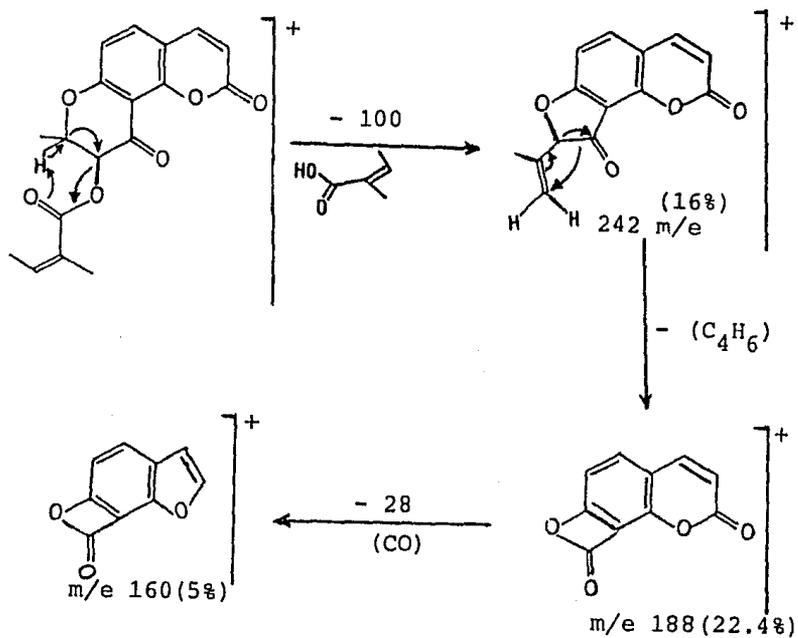


Figura 13

Asignaciones de los datos de RMN<sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 20 MHz) de 3'-angeloil,4'-oxo-khellactona (3).

La estructura 3 es congruente con el patrón de fragmentación que se muestra en el Esquema II el cual explica los principales iones observados.

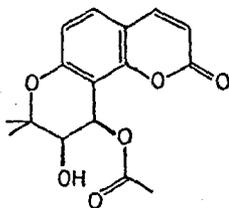
Una quinta sustancia presente en *A. nelsonii*, de polaridad intermedia, no pudo separarse completamente de la isosamidina (2) y de la 3'-angeloil-cis-khellactona (5), en algunas fracciones y de esta última (espectro 9) en las fracciones subsecuentes.



ESQUEMA II

(Véase la parte experimental para los detalles de la purificación).

Sin embargo, la comparación de los espectros de las mezclas con los de las sustancias puras, indicó claramente la presencia de 4'-acetil-cis-khellactona (4).

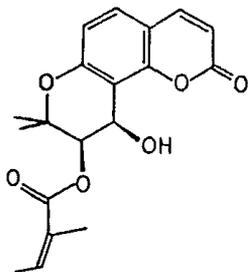


4

Esta sustancia muestra en el espectro de RMN<sup>1</sup>H (espectro 9, Tabla 1), los tres sistemas AB correspondientes al núcleo de dihidropiranocumarina angular con funciones oxigenadas en C-3' y 4', ya descritos previamente. El desplazamiento a campo alto de H-3' ( $\delta$  4.15) respecto a las anteriores sustancias ( $\delta$  5.3) indican que este hidrógeno es base de un hidroxilo secundario. La presencia del acetato bencílico secundario se manifiesta tanto por la señal base del éster ( $\delta$  6.45, d, J=5.0 Hz, H-4'), como por el singulete del metilo correspondiente ( $\delta$  1.95, 3H, s).

En consecuencia, el producto natural queda representado por la Fórmula 4, previamente reportada en la literatura.<sup>15,43</sup>

El compuesto eluido en las fracciones más polares de la cromatografía inicial, es también un derivado de la cis-khellactona, como lo indica sus características espectroscópicas, solo difiere en la sustitución en C-3' y C-4'. En efecto el sistema AB que forman en RMN<sup>1</sup>H estos protones (espectro 10, Tabla 1) es está centrado en  $\delta$  5.18 (1H, d, J=5.0 Hz, H-3') y en  $\delta$  5.46 (1H, d, J=5.0 Hz, H-4') e indica la presencia de un hidroxilo en C-4' y un angelato en C-3'. La presencia del éster antes mencionado está de acuerdo con los requerimientos de fórmula molecular C<sub>19</sub>H<sub>20</sub>O<sub>6</sub>, y a las señales características del éster en espectrometría de masas y RMN<sup>1</sup>H. Por lo tanto, ésta molécula corresponde a 3'-angeloil-cis-khellactona (5).

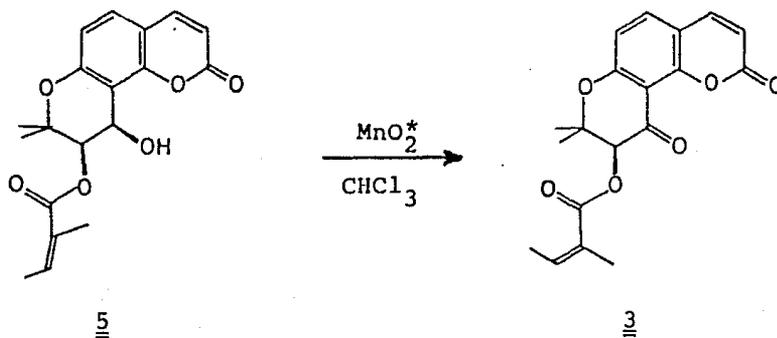


5

La comparación de las constantes físicas y espectroscópicas del producto natural con las reportadas en la literatura<sup>43</sup> confirman la identidad de esta sustancia.

El aislamiento de esta última sustancia resultó de gran

importancia ya que la oxidación del alcohol benéfico secundario de la 3'-angeloil-cis-khellactona (5) con  $MnO_2$  activado en cloroformo, produce 3'-angeloil,4'-oxo-khellactona (3) descrita en el presente trabajo como producto natural novedoso.



Reacción de oxidación con  $MnO_2$  activado.

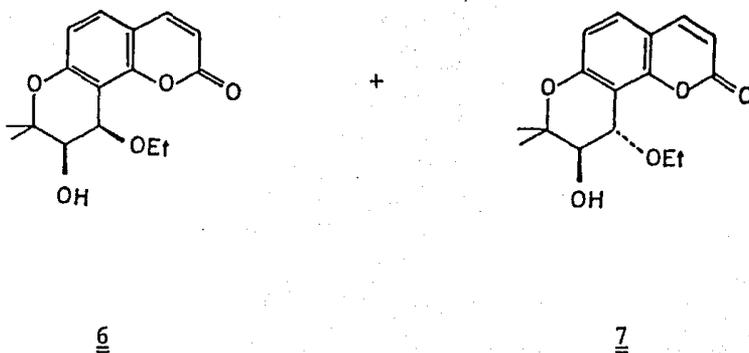
Este resultado permite la correlación química del producto nuevo a partir de uno ya conocido, y a confirmar la estructura de la sustancia inédita.

La reacción de hidrólisis de la suksdorfina (1) con NaOH en etanol, da como resultado la obtención de la (+)-cis-etil-khellactona (6) y la (-)-trans-etil-khellactona (7).

La comparación de los datos del espectro de  $RMN^1H$  (espectro 11, 6), de la (+)-cis-etil-khellactona con el espectro de  $RMN^1H$  de la suksdorfina (espectro 3, 1), muestran la ausencia de las señales características del isobutirofólio y del acetilo. Sigue presentando los tres sistemas AB, el de la  $\alpha$  pirona ( $\delta$  6.22, 1H, d,  $J=10.0$  Hz, H-3 y  $\delta$  7.58, 1H, d,  $J=10.0$  Hz, H-4), el del nú-

cleo bencénico ( $\delta$  7.27, 1H, d,  $J=9.0$  Hz, H-5 y  $\delta$  6.72, 1H, d,  $J=9.0$  Hz, H-6), así como para los protones H-3' y H-4' ( $\delta$  3.82, 1H, d,  $J=6.0$  Hz, H-3' y  $\delta$  4.78, 1H, d,  $J=6.0$  Hz, H-4'). Es de hacer notar el corrimiento a campo alto de estos protones a consecuencia de cambiar a bases de hidroxilo y éter respectivamente. Se presentan dos señales múltiples en  $\delta$  4.13 y  $\delta$  1.37 que corresponden al metileno y al metilo del etilo, y una señal simple en  $\delta$  2.93 correspondiente al hidroxilo. Se observa también la presencia del gem dimetilo en la señal doble centrada en  $\delta$  1.44.

De la misma manera, la comparación del espectro de  $\text{RMN}^1\text{H}$  (espectro 12, 7) de la (-)-trans-etil-khellactona con el espectro de la suksdorfina (espectro 3, 1), muestra las mismas diferencias que da la (+)-cis-etil-khellactona, la ausencia de las señales del isobutiroilo y del acetilo. Se manifiesta la presencia de los tres sistemas AB, el de la  $\alpha$  pirona ( $\delta$  6.22, 1H, d,  $J=10.0$  Hz, H-3 y  $\delta$  7.57, 1H, d,  $J=10.0$  Hz, H-4), el del núcleo bencénico ( $\delta$  7.28, 1H, d,  $J=8.0$  Hz, H-5 y  $\delta$  6.75, 1H, d,  $J=8.0$  Hz, H-6) y el de los protones H-3' y H-4' ( $\delta$  3.88, 1H, d,  $J=5.0$  Hz, H-3' y  $\delta$  4.63, 1H, d,  $J=5.0$  Hz, H-4'); nótese aquí una diferencia en la constante de acoplamiento con la constante de acoplamiento de la (+)-cis-etil-khellactona. La presencia de dos señales múltiples en  $\delta$  4.00 y  $\delta$  1.3, indican el metileno y el metilo del etilo, y una señal simple en  $\delta$  1.86 que corresponde al hidroxilo. Otra señal que es diferente con la (+)-cis-etil-khellactona es la señal del gem dimetilo que aparece como una



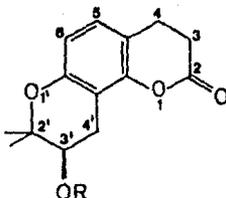
señal simple en  $\delta$  1.47.

La comparación de los datos obtenidos para la (+)-cis-etil-khellactona (6) y la (-)-trans-etil-khellactona (7), con muestras similares reportadas en la literatura<sup>9</sup> confirman la identidad y configuración absoluta de los productos.<sup>13</sup>

Se han reportado en la literatura reacciones de reducción catalítica de piranocumarinas angulares en las que se obtiene el 3,4-dihidroderivado, y en otras condiciones, el producto de reducción en C(3) y C(4) e hidrogenólisis en C-4' (Fórmula 8).

En este caso la hidrogenación catalítica de la suksdorfina (1, etanol, Pd/C), seguida de filtración sobre celita y filtración sobre alúmina produce una sustancia que no corresponde a los productos de reacción antes mencionados.

Los datos de fórmula molecular de la sustancia obtenida ( $C_{20}H_{28}O_7$ ) y PM=380 establecido por EM, sugieren la incorpora-



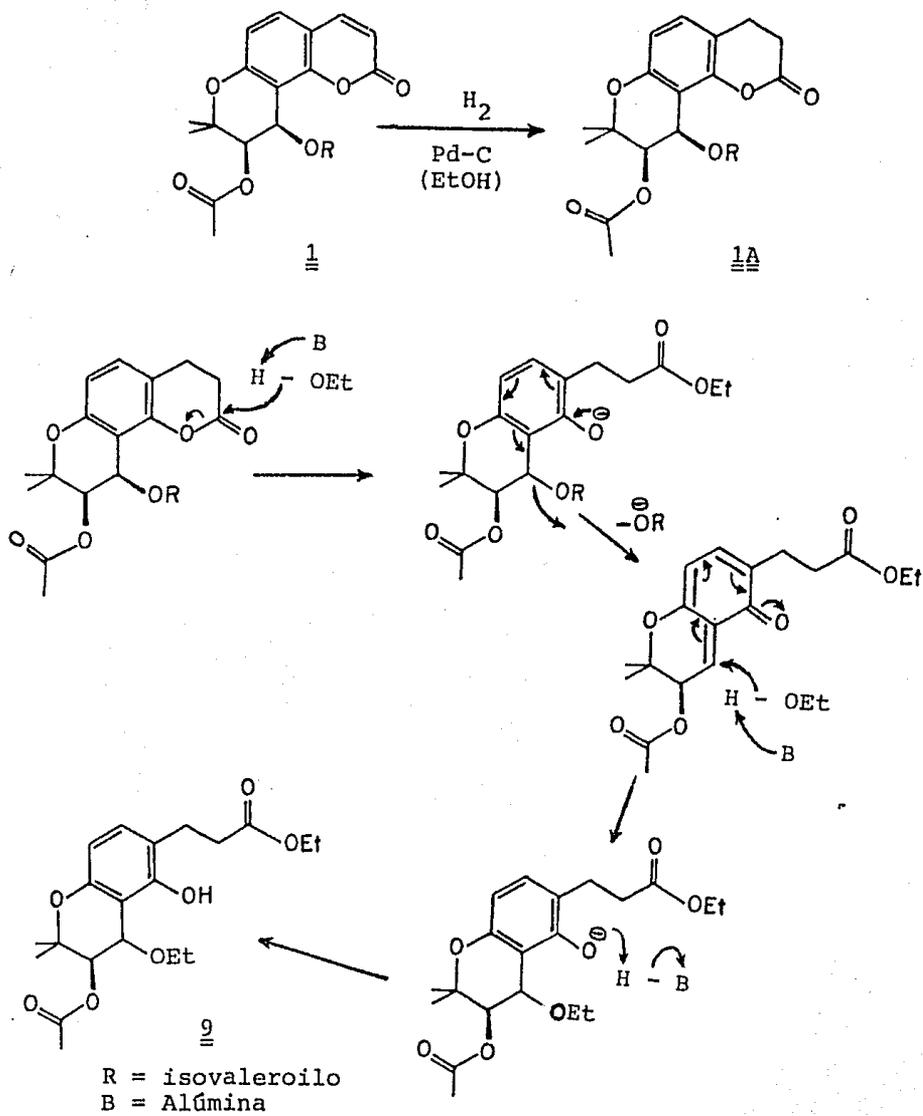
8

ción de dos radicales etilo. Las señales en IR para bandas de carbonilo (banda ancha en  $1730\text{ cm}^{-1}$ ) e hidroxilo ( $3340\text{ cm}^{-1}$ ) sugieren una transformación mayor en la molécula.

En efecto, el espectro de  $\text{RMN}^1\text{H}$  (espectro 13), muestra el sistema AB de los protones bencenoides ( $\delta\ 6.98$ , 1H, d,  $J=9.0\text{ Hz}$ , H-5 y  $\delta\ 6.31$ , 1H, d,  $J=9.0\text{ Hz}$ , H-6) y el sistema AB de los protones H-3' y H-4' del núcleo del benzodihidropirano ( $\delta\ 5.28$ , 1H, d,  $J=6.0\text{ Hz}$ , H-3' y  $\delta\ 4.64$ , 1H, d,  $J=6.0\text{ Hz}$ , H-4').

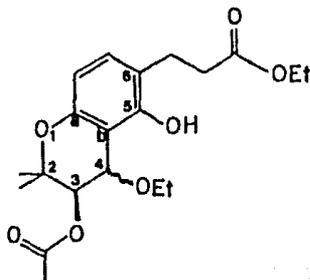
La saturación del doble enlace C(3)-C(4) se manifiesta por la desaparición de la señal de los protones vinílicos y aparición de la señal compleja en  $\delta\ 3.00$  y  $2.50$  correspondiente a los protones metilénicos formados.

Los dos radicales etilo se manifiestan por los dos cuartetos centrados en  $\delta\ 4.12$  y  $\delta\ 3.70$ , y los tripletes superpuestos a campo alto  $\delta\ 1.30$  y  $1.25$ , que en conjunción con la señal del fenol



Esquema III

en  $\delta$  7.97, permiten proponer la estructura 9, de acuerdo a los requerimientos de la fórmula molecular.



9

Este producto se explica si el dihidroderivado sufre apertura de la  $\alpha$  pirona con etanol (promovido por la alúmina), la eliminación del residuo isobutírico en 4' asistido por el fenol formado y finalmente la adición, en el mismo átomo de carbono, de etanol para neutralizar la molécula, de acuerdo al Esquema III.

La participación de la alúmina en la transformación descrita es sustanciada por la observación de que al realizar la hidrogenación catalítica, y omitir el contacto con la alúmina, se obtiene el 3,4-dihidroderivado (1A) de la suksdorfina (1).

La comparación de los datos obtenidos del espectro de RMN<sup>1</sup>H (espectro 16, 1A) del 3,4-dihidroderivado, con el de la suksdorfina (espectro 3, 1), muestra la ausencia del sistema AB de los protones de la  $\alpha$  pirona. Sigue presentando el sistema AB del

núcleo bencénico ( $\delta$  6.58, 1H, d,  $J=8.0$  Hz, H-6 y  $\delta$  7.04, 1H, d,  $J=8.0$  Hz, H-5) y el sistema AB de los protones H-3' y H-4' del dihidropirano ( $\delta$  5.22, 1H, d,  $J=5.3$  Hz, H-3' y  $\delta$  6.35, 1H, d,  $J=5.3$  Hz, H-4'). Siguen apareciendo las señales propias del isovalerato y del acetato; en el intervalo de  $\delta$  3.0 y 2.5 aparece una señal múltiple dobleteada la cual nos indica la presencia de hidrógenos metilénicos del C(3) y C(4).

Son muchas las reacciones realizadas en las cumarinas en general, sin embargo, es interesante notar que la transformación descrita con la alúmina no había sido reportada previamente en la literatura.

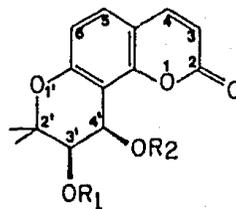
La reacción de acetilación de la mezcla obtenida en la recromatografía de la fracción 24 de la columna inicial, nos llevó a confirmar la presencia de 4 y 5. Esto se vió al ya no aparecer la señal en  $\delta$  2.98 que correspondía a los hidroxilos, y al desplazamiento a bajo campo de los protones base de hidroxilo, H-3' de 4, de  $\delta$  4.07 a  $\delta$  5.4. En esta también aparece la señal para el protón base del acetato de 2. El H-4' ( $\delta$  5.46) de 5, se desplazó hasta  $\delta$  6.57 en donde aparece también la señal del protón base del acetato de 4. Las demás señales a campo bajo se simplificaron debido a la similitud de los protones base de éster. Al igual las señales a campo alto no sufrieron mayor cambio, solo la aparición de dos acetatos en  $\delta$  2.1 (espectro 15).

Señales de RMN<sup>1</sup>H en CDCl<sub>3</sub> de las piranocumarinas aisladas de *Arracacia nelsonii* C&R

Fórmula	H-3 (d)	H-4 (d)	H-5 (d)	H-6 (d)	H-3' (d)	H-4' (d)	(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> -2'	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>
<u>1</u>	6.18(9.3)	7.55(9.3)	7.32(8.0)	6.75(8.0)	5.27(5.3)	6.52(5.3)	0.95-1.02	2.10s	0.98d, 2.10d 2.23m.
<u>2</u>	6.20(9.5)	7.57(9.5)	7.34(8.6)	6.77(8.6)	5.30(4.8)	6.58(4.8)	1.42-1.45	2.08s	1.89d, 2.22d 5.63m.
<u>3</u>	6.29(9.5)	7.58(9.5)	7.53(8.5)	6.87(8.5)	5.60 s	—	1.42-1.59	1.99s, 2.09d 6.18m	—
<u>4</u>	6.18(9.5)	7.53(9.5)	7.25(9.5)	6.53(9.5)	4.05(5.0)	6.46(5.0)	1.42-1.47	2.89s	1.95s
<u>5</u>	6.22(9.5)	7.58(9.5)	7.29(9.0)	6.75(9.0)	5.18(5.0)	5.46(5.0)	1.43-1.50	1.93s, 2.04d 6.11m	2.57s

=====

	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	TABLA - 1
<u>1</u>	COCH <sub>3</sub>	COCH <sub>2</sub> CH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	
<u>2</u>	COCH <sub>3</sub>	COCH=C(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	
<u>3</u>	COC(CH <sub>3</sub> )=CH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	4'-oxo	
<u>4</u>	H	COCH <sub>3</sub>	
<u>5</u>	COC(CH <sub>3</sub> )=CH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	H	



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

Los puntos de fusión se determinaron en un aparato Fisher-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 fueron corridos en soluciones de  $\text{CHCl}_3$  ó Nujol. Los espectros de masas se determinaron en un espectrómetro Hitachi Perkin-Elmer RMU 6D de doble foco. Los espectros de  $\text{RMN}^1\text{H}$  se determinaron en un aparato FT-80A Varian. Los desplazamientos químicos están dados en ppm referidos al tetrametilsilano como referencia interna. El espectro de  $\text{RMN}^{13}\text{C}$  se efectuó en el espectrómetro FT-80A (20 MHz), tomando la misma referencia.

Las partes aéreas de *Arracacia nelsonii* C&R (Umbelliferae) fueron recolectadas en Chiapas, y se dejaron secar a temperatura ambiente. La muestra botánica se encuentra depositada en el Herbario Nacional, Instituto de Biología de la U.N.A.M., Voucher M-6817, y fué identificada por el Biólogo Esteban Manuel Martínez, de la misma Institución, a quien expresamos nuestro agradecimiento por su colaboración.

4.25 Kg de la planta seca se fragmentaron y se sometieron a maceración con acetona. Al residuo obtenido, por eliminación del disolvente, se le hizo una partición cloroformo-agua. De la fase clorofórmica por eliminación del disolvente se obtuvo 150 g de extracto.

El extracto clorofórmico se aplicó a una columna de cromatografía empacada con 2.25 Kg de Sílica-gel. Se eluyó la columna inicialmente con cloroformo 100% y se fué aumentando la polaridad con mezcla de cloroformo-acetona (9:1, 4:1, 7:3 y 1:1), terminando de eluir con acetona 100%. Las fracciones recolectadas fueron de 1 litro.

Se recolectó un total de 232 fracciones: con cloroformo 100% (21 fracciones), cloroformo-acetona 9:1 (59 fracciones), cloroformo-acetona 4:1 (62 fracciones), cloroformo-acetona 7:3 (25 fracciones), cloroformo-acetona 1:1 (26 fracciones) y con acetona 100% (39 fracciones).

Las primeras fracciones (21 clorofórmicas), estaban constituidas por hidrocarburos de baja polaridad, de acuerdo a sus características físicas (pf < 50°C, RMN<sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>): δ 1.25, IR: sólo bandas en 3000 cm<sup>-1</sup>) y no fueron analizados.

Las fracciones que presentan mayor homogenidad y que además dan fluorescencia azul al exponer la cromatoplaaca analítica a la luz ultravioleta, son las fracciones recolectadas con cloroformo-acetona 9:1.

Debido a la interferencia del colorante natural de la planta, se realizaron decoloraciones de las fracciones obtenidas con

carbón activado, de la manera usual. De acuerdo al análisis por cromatoplaque de las fracciones decoloradas, se reunieron las siguientes: 22-23, 24, 25-27, 28-32, 33-80, 81-139 y 140-232.

Se decidió llevar a cabo la recromatografía de algunas fracciones reunidas de la cromatografía inicial, tomando los siguientes criterios de discriminación: a) constancia y homogeneidad de las manchas obtenidas en el análisis por cromatografía en capa fina de las fracciones obtenidas con respecto al extracto total; b) solubilidad de las fracciones en cloroformo o mezclas de hexano-acetato de etilo, con el fin de utilizar como método de separación, cromatografías preparativas convencionales en sílica-gel.

Debido a la similitud en la polaridad (y por lo tanto, de su  $R_f$  en diversas mezclas de disolventes) de los constituyentes de polaridad intermedia, la resolución de la cromatografía inicial sólo fué parcial, ya que recromatografía sucesivas condujo al aislamiento de la misma sustancia en varias fracciones.

Para simplificar la descripción experimental, inicialmente solo se mencionarán las sustancias aisladas de las diversas cromatografías. Posteriormente se indicará su rendimiento total, se describirán las características físicas y espectroscópicas, las reacciones realizadas y la caracterización de los productos.

El residuo (43.8 g) correspondiente a las fracciones 22-23 de la columna inicial, eluidas con cloroformo-acetona 9:1, se aplicó a una columna de cromatografía montada con hexano-acetato de etilo (9:1), colectándose fracciones de 250 ml. La polari

dad del eluyente se aumenta a hexano-acetato de etilo (4:1), a partir de la fracción 110, y a acetato de etilo 100% a partir de la 173. De las fracciones 8-32 de esta recromatografía se aisló estigmasterol (Figura 1), de las fracciones 66-81 se aisló suksdorfina (3'-acetil,4'-isovaleroil-cis-khellactona, 1), de las fracciones 82-118 se aisló isosamidina (3'-acetil,4'-seneciooil-cis-khellactona, 2) y de las fracciones 152-164 se aisló 3'-angeloil,4'-oxo-khellactona, 3.

La fracción 24 (10.4 g) de la cromatografía inicial se intentó separar en sus componentes por medio de una recromatografía en columna, iniciando la elución con hexano-acetato de etilo 9:1, obteniéndose 169 fracciones con esta polaridad, con hexano-acetato de etilo 4:1, 24 fracciones, con hexano-acetato de etilo 3:2, 17 fracciones y con acetato de etilo 100%, 3 fracciones. Se colectaron eluatos de 250 ml.

De las fracciones 52-71 de esta recromatografía, se aisló suksdorfina (3'-acetil,4'-isovaleroil-cis-khellactona, 1), y a partir de las fracción 72 hasta la 124, se obtuvo una mezcla de 3 compuestos: isosamidina (3'-acetil,4'-seneciooil-cis-khellactona, 2), 4'-acetil-cis-khellactona, 4 y 3'-angeloil-cis-khellactona, 5, de acuerdo al control por RMN<sup>1</sup>H.

La fracción 25-27 de la cromatografía inicial (21.1 g) se aplicó a una columna de cromatografía montada con hexano-acetato de etilo 7:3 y se colectaron fracciones de 250 ml. A partir de la fracción 44 se aumentó la polaridad a hexano-acetato de etilo 1:1, colectándose 17 fracciones y finalmente con acetato de eti

lo 100%, 10 fracciones. Las primeras fracciones de esta recromatografía (fracciones 4 y 5) permitió el aislamiento del compuesto 3'-angeloil-cis-khellactona, 5, de acuerdo al control por RMN<sup>1</sup>H.

Desafortunadamente a partir de la fracción 6 y hasta la 22 se eluyó una mezcla de 4'-acetil-cis-khellactona, 4 y 3'-angeloil-cis-khellactona, 5.

Con la finalidad de obtener puro el compuesto 4'-acetil-cis-khellactona, 4, las fracciones 6-22 obtenidas de la recromatografía anterior, se aplicaron a una columna de cromatografía, utilizando cloroformo como eluyente constante. Se eluyeron 526 fracciones de 50 ml. En estas condiciones no se logró resolver la mezcla, de acuerdo al control por RMN<sup>1</sup>H.

Las fracciones 81-139 de la cromatografía inicial (8.6 g) fueron también recromatografiadas, utilizando mezcla de hexano-acetato de etilo 7:3 y aumentando la polaridad con este último disolvente. Sin embargo, el análisis por cromatografía en capa fina de las fracciones no indicó la presencia de constituyentes homogéneos, y el análisis espectroscópico (IR y RMN<sup>1</sup>H) indica la presencia de glucósidos. La caracterización de estos constituyentes no se prosiguió en este trabajo.

Descripción espectroscópica de los compuestos aislados:

Estigmasterol (Figura 1):

0.5396 g, pf 161-163 °C, Rf 0.6 en mezcla de hexano-acetato de etilo (3:2), rendimiento 0.012%. No da fluorescencia en UV y revela una mancha café con sulfato cérico.

IR  $\nu$  (CHCl<sub>3</sub>) cm<sup>-1</sup>: 3608, 2959, 2870, 1379, 1045 y 975.

RMN<sup>1</sup>H (80 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  0.7 (3H, s),  $\delta$  0.75-1.05 (12H, m),  $\delta$  1.01 (3H, s),  $\delta$  0.70-2.01 (23H, m),  $\delta$  2.25 (2H, d),  $\delta$  3.5 (1H, m),  $\delta$  5.07 (2H, m),  $\delta$  5.35 (1H, m) y  $\delta$  1.51 (1H, s).

Suksdorfina (1):

4.9975 g, con un rendimiento del 0.117%, pf 137-139 °C, Rf 0.5 en mezcla de hexano-acetato de etilo (3:2), da fluorescencia azul en UV y revela una mancha café claro con sulfato cérico.

IR  $\nu$  (CHCl<sub>3</sub>) cm<sup>-1</sup>: 3015, 2963, 1744, 1608, 1575, 1490, 1467, 1406, 1389, 1373, 1284, 1161, 1116, 1105, 1056, 1010, 991, 913, 897 y 836. (Espectro 1).

IR  $\nu$  (Nujol) cm<sup>-1</sup>: 2920, 2870, 1740, 1722, 1600, 1485, 1460, 1400, 1385, 1365, 1280, 1230, 1195, 1180, 1115, 1095, 1075, 1050, 1008, 990 y 850. (Espectro 2).

RO [  $\alpha$  ]<sub>D</sub><sup>25</sup>: (+) 2.5 (2.0 mg/ml, etanol).

UV (Metanol):  $\lambda_{\max}$  203 (log  $\epsilon$  3.9),  $\lambda_{\max}$  220 (log  $\epsilon$  3.41).

EM (I.E.) m/e : 388 (M<sup>+</sup>, 6.0%), 287 (4.0%), 261 (7.0%), 244 (24.7%), 229 (100%), 85 (22%), 57 (24.5%) y 43 (27.6%).

RMN<sup>1</sup>H (80 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  0.98 (6H, d, (CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>-CH),  $\delta$  1.43 (3H, s, CH<sub>3</sub>-C),  $\delta$  1.45 (3H, s, CH<sub>3</sub>-C),  $\delta$  2.00 (2H, d, (CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>-CH-

CH<sub>2</sub>-CO),  $\delta$  2.1 (3H, s, CH<sub>3</sub>-CO),  $\delta$  2.23 (1H, m, (CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CH-CH<sub>2</sub>-),  
 $\delta$  5.27 (1H, d, J=5.3 Hz, H-3'),  $\delta$  6.18 (1H, d, J=9.3 Hz, H-3),  
 $\delta$  6.52 (1H, d, J=5.3 Hz, H-4'),  $\delta$  6.75 (1H, d, J=8.0 Hz, H-6),  
 $\delta$  7.32 (1H, d, J=8.0 Hz, H-5),  $\delta$  7.55 (1H, d, J=9.3 Hz, H-4).  
 (Espectro 3).

Isosamidina (2):

1.3068 g, con un rendimiento del 0.030%, pf 119-121 °C,  
 Rf 0.43 en mezcla de hexano-acetato de etilo (3:2), da fluores-  
 cencia azul en UV y revela una mancha café claro con sulfato cé-  
 rico.

IR  $\nu$  (CHCl<sub>3</sub>) cm<sup>-1</sup>: 2985, 1735, 1650, 1608, 1492, 1442, 1406,  
 1374, 1282, 1188, 1137, 1106, 1073, 1010, 920 y 837.

RO [  $\alpha$  ]<sub>D</sub><sup>25</sup>: - 10 (2.0 mg/ml, cloroformo).

UV (Metanol):  $\lambda_{\max}$  203 (log  $\epsilon$  3.97),  $\lambda_{\max}$  214 (log  $\epsilon$  3.78),  
 $\lambda_{\max}$  295 (log  $\epsilon$  3.3),  $\lambda_{\max}$  318 (log  $\epsilon$  3.46).

EM (I.E.)m/e: 386 (M<sup>+</sup>, 3%), 326 (21%), 311 (10%), 229  
 (17.1%), 83 (100%), 55 (12.4%) y 43 (13.2%).

RMN<sup>1</sup>H (80 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  1.42 (3H, s, CH<sub>3</sub>-C-),  $\delta$  1.45 (3H,  
 s, CH<sub>3</sub>-C-),  $\delta$  1.89 (3H, d, CH<sub>3</sub>-C=CH-),  $\delta$  2.08 (3H, s, CH<sub>3</sub>-CO-),  
 $\delta$  2.22 (3H, d, CH<sub>3</sub>-C=CH-),  $\delta$  5.3 (1H, d, J=4.8 Hz, H-3'),  $\delta$  5.63  
 (1H, m, CO-CH=(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>),  $\delta$  6.2 (1H, d, J=9.5 Hz, H-3),  $\delta$  6.58 (1H,  
 d, J=4.8 Hz, H-4'),  $\delta$  6.77 (1H, d, J=8.6 Hz, H-6),  $\delta$  7.34 (1H,  
 d, J=8.6 Hz, H-5),  $\delta$  7.57 (1H, d, J=9.5 Hz, H-4). (Espectro 4).

3'-angeloil,4'-oxo-khellactona (3):

0.1052 g, con un rendimiento del 0.002%, pf 198-201 °C,

Rf 0.3 en mezcla hexano-acetato de etilo (3:2), da fluorescencia verde claro en UV y revela una mancha café claro con sulfato cérico.

IR  $\nu$  ( $\text{CHCl}_3$ )  $\text{cm}^{-1}$ : 2980, 2920, 1735, 1715, 1610, 1600, 1555, 1480, 1455, 1420, 1400, 1390, 1370, 1350, 1300, 1240, 1140, 1115, 1095, 1065, 915 y 840. (Espectro 6)

RO  $[\alpha]^{25}$ :  $\frac{589}{-30}$   $\frac{-578}{-32.5}$   $\frac{546}{-34.5}$   $\frac{436}{-49}$   $\frac{365 \text{ nm}}{-45.5 \text{ lec}}$  (2.0 mg/ml, cloroformo).

UV (Metanol):  $\lambda_{\text{max}}^{212}$  (log  $\epsilon$  4.39),  $\lambda_{\text{max}}^{265}$  (log  $\epsilon$  3.85), y  $\lambda_{\text{max}}^{346}$  (log  $\epsilon$  3.87). (Espectro 5).

EM (I.E.) m/e: 342 ( $\text{M}^+$ , 6.1%), 271 (3%), 242 (16.0%), 189 (22.4%), 160 (8%), 83 (100%) y 55 (31.4%).

RMN<sup>1</sup>H (80 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  1.42 (3H, s,  $\text{CH}_3\text{-C-}$ ),  $\delta$  1.59 (3H, s,  $\text{CH}_3\text{-C-}$ ),  $\delta$  1.99 (3H, s,  $\text{CH}_3\text{-CO-C=C-}$ ),  $\delta$  2.09 (3H, d,  $\text{CH}_3\text{-CH=C}$ ),  $\delta$  5.6 (1H, s, H-3'),  $\delta$  6.18 (1H, m,  $\text{CH}_3\text{-CH=C-}$ ),  $\delta$  6.29 (1H, d, J=9.5 Hz, H-3),  $\delta$  6.87 (1H, d, J=8.5 Hz, H-6),  $\delta$  7.53 (1H, d, J=8.5 Hz, H-5) y  $\delta$  7.58 (1H, d, J=9.5 Hz, H-4). (Espectro 7).

RMN<sup>13</sup>C (20 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  15.95 (c, C-4'),  $\delta$  19.80 y 20.43 (c, cada uno, gem  $\text{CH}_3$  en C-2'),  $\delta$  26.25 (c, C-5"),  $\delta$  76.54 (d, C-3'),  $\delta$  82.46 (s, C-2'),  $\delta$  108.37 (s, C-8),  $\delta$  113.06 (s, C-4a),  $\delta$  114.16 (d, C-6),  $\delta$  114.89 (d, C-3),  $\delta$  127.06 (s, C-2"),  $\delta$  134.78 (d, C-5),  $\delta$  139.75 (d, C-3"),  $\delta$  143.00 (d, C-4),  $\delta$  153.85 (s, C-8a),  $\delta$  159.46 (s, C-7),  $\delta$  162.09 (s, C-2),  $\delta$  166.12 (s, C-1") y  $\delta$  184.38 (s, C-4'). (Espectro 8, Figura 13).

La mezcla obtenida de la recromatografía de la fracción 24 de la columna inicial, contiene a 2, 4 y 5:

3.8637 g, con un rendimiento del 0.089%, aceite, Rf 0.37 en mezcla hexano-acetato de etilo (3:2), da fluorescencia azul en UV y con sulfato cérico revela una mancha café claro, teniendo en el centro una tonalidad amarilla.

IR  $\nu$  ( $\text{CHCl}_3$ )  $\text{cm}^{-1}$ : 2980, 1735, 1730, 1605, 1475, 1405, 1370, 1240, 1140, 1108 y 865.

RMN<sup>1</sup>H (80 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):

2 :  $\delta$  5.28 (1H, d, J=5.0 Hz, H-3'),  $\delta$  5.65 (1H, m,  $\text{CH}=\text{CC}(\text{CH}_3)_2$ ),  $\delta$  6.19 (1H, d, J=9.5 Hz, H-3),  $\delta$  6.57 (1H, d, J=5.0 Hz, H-4'),  $\delta$  6.77 (1H, d, J=9.0 Hz, H-6),  $\delta$  7.33 (1H, d, J=9.0 Hz, H-5) y  $\delta$  7.57 (1H, d, J=9.5 Hz, H-4).

4 :  $\delta$  4.15 (1H, d, J=5.0 Hz, H-3'),  $\delta$  6.20 (1H, d, J=9.5 Hz, H-3),  $\delta$  6.45 (1H, d, J=5.0 Hz, H-4'),  $\delta$  6.77 (1H, d, J=9.0 Hz, H-6),  $\delta$  7.33 (1H, d, J=9.0 Hz, H-5),  $\delta$  7.57 (1H, d, J=9.5 Hz, H-4) y  $\delta$  2.98 (1H, s, OH).

5 :  $\delta$  2.98 (1H, s, OH),  $\delta$  5.2 (1H, d, J=5.0 Hz, H-3'),  $\delta$  5.47 (1H, d, J=5.0 Hz, H-4'),  $\delta$  6.1 (1H, m,  $\text{CH}_3\text{-CH}=\text{C}(\text{CH}_3)\text{CO-}$ ),  $\delta$  6.22 (1H, d, J=9.5 Hz, H-3),  $\delta$  6.77 (1H, d, J=9.0 Hz, H-6),  $\delta$  7.33 (1H, d, J=9.0 Hz, H-5) y  $\delta$  7.62 (1H, d, J=9.5 Hz, H-4).

Las señales asignables para los metilos del acetato, seneoato y angelato, quedan comprendidas en el intervalo de  $\delta$  1.4-2.5. (Espectro 14).

La mezcla obtenida de la recromatografía de la fracción 25-27 de la columna inicial, contiene a 4 y 5.

9.619 g, con un rendimiento del 0.226%, aceite, Rf 0.33 en mezcla de hexano-acetato de etilo (3:2), da fluorescencia azul en UV y con sulfato cérico revela una mancha de tonalidad amarillo-café.

IR  $\nu$  (CHCl<sub>3</sub>) cm<sup>-1</sup>: 2830, 1735, 1605, 1490, 1405, 1240, 1140, 1108, 1002 y 835.

RMN<sup>1</sup>H (80 MHz, CDCl<sub>3</sub>): (Espectro 9)

4 :  $\delta$  1.42 (3H, s, CH<sub>3</sub>-C-),  $\delta$  1.47 (3H, s, CH<sub>3</sub>-C-),  $\delta$  1.95 (3H, s, CH<sub>3</sub>-CO-),  $\delta$  2.89 (1H, s, OH),  $\delta$  4.05 (1H, d, J=5.0 Hz, H-3'),  $\delta$  6.18 (1H, d, J=9.5 Hz, H-3),  $\delta$  6.46 (1H, d, J=5.0 Hz, H-4'),  $\delta$  6.53 (1H, d, J=9.5 Hz, H-6),  $\delta$  7.25 (1H, d, J=9.5 Hz, H-5) y  $\delta$  7.53 (1H, d, J=9.5 Hz, H-4).

5 :  $\delta$  1.42 (3H, s, CH<sub>3</sub>-C-),  $\delta$  1.47 (3H, s, CH<sub>3</sub>-C-),  $\delta$  1.93 (3H, s, CH<sub>3</sub>-CH=C(CH<sub>3</sub>)CO-),  $\delta$  2.04 (3H, s, CH<sub>3</sub>-C(CO)=C(CH<sub>3</sub>)H),  $\delta$  2.89 (1H, s, OH),  $\delta$  5.18 (1H, d, J=5.0 Hz, H-3'),  $\delta$  5.42 (1H, d, J=5.0 Hz, H-4'),  $\delta$  6.11 (1H, m, CH-C(CH<sub>3</sub>)=C(CH<sub>3</sub>)CO-),  $\delta$  6.21 (1H, d, J=9.5 Hz, H-3),  $\delta$  6.53 (1H, d, J=9.0 Hz, H-6),  $\delta$  7.3 (1H, d, J=9.0 Hz, H-5) y  $\delta$  7.59 (1H, d, J=9.5 Hz, H-4).

3'-angeloil-cis-khellactona (5):

1.1138 g, con un rendimiento del 0.026%, pf 149-151 °C, Rf 0.35 en mezcla de hexano-acetato de etilo (3:2), da fluorescencia azul en UV y revela una mancha café claro.

IR  $\nu$  (CHCl<sub>3</sub>) cm<sup>-1</sup> : 3604, 3089, 3007, 2986, 1726, 1606, 1492,

1457, 1405, 1386, 1351, 1284, 1145, 1114, 1085, 1050, 1028, 1004, 893 y 836.

RO [  $\alpha$  ]<sub>D</sub><sup>25</sup>: - 49 (2.0 mg/ml, cloroformo).

UV (Metanol):  $\lambda_{\max}^{205}$  (log  $\epsilon$  3.42),  $\lambda_{\max}^{217}$  (log  $\epsilon$  3.2),  $\lambda_{\max}^{255}$  (log  $\epsilon$  3.41),  $\lambda_{\max}^{324}$  (log  $\epsilon$  4.06).

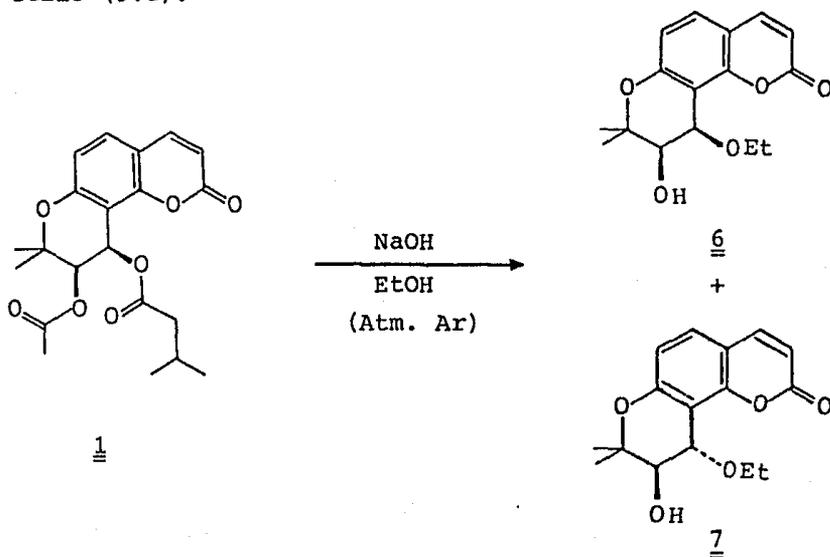
EM (I.E.) m/e: 344 (M<sup>+</sup>, 89%), 229 (12.6%), 191 (8%), 134 (7%), 83 (100%), 55 (35%) y 39 (6%).

RMN<sup>1</sup>H (80 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  1.43 (3H, s, CH<sub>3</sub>-C-),  $\delta$  1.5 (3H, s, CH<sub>3</sub>-C-),  $\delta$  1.93 (3H, s, CH<sub>3</sub>-CH=C(CH<sub>3</sub>)CO-),  $\delta$  2.04 (3H, d, CH<sub>3</sub>-C(CO)=C(CH<sub>3</sub>)H),  $\delta$  2.57 (1H, s, OH),  $\delta$  5.18 (1H, d, J=5.0 Hz, H-4'),  $\delta$  5.44 (1H, d, J=5.0 Hz, H-3'),  $\delta$  6.1 (1H, m, CH(CH<sub>3</sub>)C=C(CH<sub>3</sub>)CO),  $\delta$  6.22 (1H, d, J=9.5 Hz, H-3),  $\delta$  6.75 (1H, d, J=9.0 Hz, H-6),  $\delta$  7.29 (1H, d, J=9.0 Hz, H-5),  $\delta$  7.58 (1H, d, J=9.5 Hz, H-4). (Espectro 10).

Hidrólisis de la suksdorfina (1) con NaOH en etanol.

1.5 g de la muestra se disuelven en 15 ml de etanol. Se hace reaccionar con una solución de NaOH alcohólica (0.6 g de NaOH en 15 ml de etanol). Se deja reaccionar por 30 min a temperatura ambiente y aproximadamente una hora en atmosfera de argón. Terminada la reacción se aciduló hasta pH neutro con 0.2 ml de ácido sulfúrico concentrado. Se extrae la materia orgánica con acetato de etilo usando primero 100 ml y luego seis veces con 50 ml cada una. Se lava con solución saturada de NaHCO<sub>3</sub>. Se seca con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y se concentra en el rotavapor. El producto obtenido (1.1723 g) de la hidrólisis revela en la cromatoplaca

una mezcla de tres productos. Se aplica a una columna de cromatografía con sílica-gel, eluyendo con mezcla de hexano-acetato de etilo (9:1).



De esta separación cromatográfica se obtuvieron dos sólidos: (+)-cis-etil-khellactona (6) y (-)-trans-etil-khellactona (7).

Características de los compuestos obtenidos:

(+)-cis-etil-khellactona (6):

pf 126-128 °C

IR  $\nu$  (CHCl<sub>3</sub>) cm<sup>-1</sup>: 3585, 2981, 1728, 1605, 1490, 1404, 1371, 1353, 1308, 1283, 1243, 1199, 1182, 1112, 1059, 1015 y 837.

IR  $\nu$  (Nujol) cm<sup>-1</sup>: 3405, 2925, 1708, 1602, 1487, 1462, 1405, 1354, 1294, 1273, 1242, 1186, 1119, 1065, 990 y 835.

RO [  $\alpha$  ]<sub>D</sub><sup>25</sup> + 182 (2.0 mg/ml, etanol).

RMN<sup>1</sup>H (80 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  1.29 (3H, t, CH<sub>3</sub>-CH<sub>2</sub>-O-),  $\delta$  1.44 (6H, d, (CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>C-),  $\delta$  2.93 (1H, s, OH),  $\delta$  3.82 (1H, d, J=6.0 Hz,

H-3'),  $\delta$  4.13 (2H, c, CH<sub>3</sub>-CH<sub>2</sub>-O-),  $\delta$  4.78 (1H, d, J=6.0 Hz, H-4'),  
 $\delta$  6.22 (1H, d, J=10.0 Hz, H-3),  $\delta$  6.72 (1H, d, J=9.0 Hz, H-6),  
 $\delta$  7.27 (1H, d, J=9.0 Hz, H-5) .y  $\delta$  7.58 (1H, d, J=10.0 Hz, H-4).  
 (Espectro 11).

(-)-trans-etil-khellactona (7):

pf 157-159 °C

IR  $\nu$  (CHCl<sub>3</sub>) cm<sup>-1</sup> : 3620, 3580, 2980, 1727, 1606, 1491, 1467,  
 1405, 1373, 1355, 1289, 1238, 1199, 1116, 1081, 1058, 1021, 982  
 y 836.

IR  $\nu$  (Nujol) cm<sup>-1</sup> : 3514, 2925, 1718, 1608, 1670, 1492, 1463,  
 1401, 1379, 1360, 1295, 1244, 1148, 1128, 1082, 1020, 979, 942  
 y 893.

RO [  $\alpha$  ]<sub>D</sub><sup>25</sup> - 55 (2.0 mg/ml, etanol).

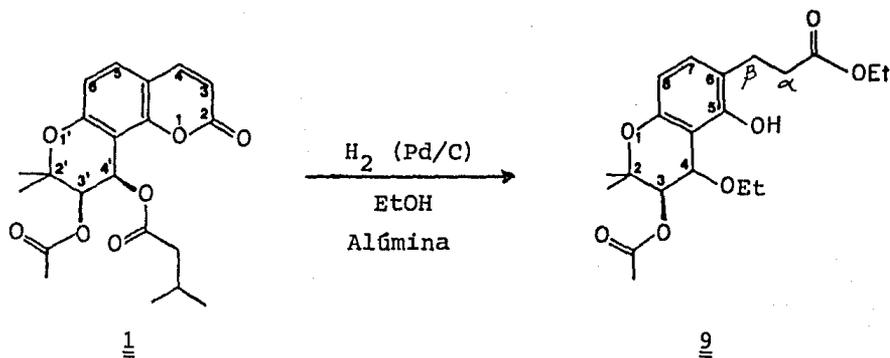
EM (I.E.)m/e : 290 (M<sup>+</sup>, 31.7%), 218 (64.8%), 191 (100%),  
 162 (88.8%), 134 (52%), 89 (32%), 77 (40%), 57 (50%) y 43 (69.2%).

RMN<sup>1</sup>H (80 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  1.3 (3H, t, CH<sub>3</sub>-CH<sub>2</sub>-O-),  $\delta$  1.47  
 (6H, s, (CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>C-),  $\delta$  1.86 (1H, s, OH),  $\delta$  3.88 (1H, d, J=5.0 Hz,  
 H-3'),  $\delta$  4.0 (2H, c, CH<sub>3</sub>-CH<sub>2</sub>-O-),  $\delta$  4.63 (1H, d, J=5.0 Hz, H-4'),  
 $\delta$  6.22 (1H, d, J=10.0 Hz, H-3),  $\delta$  6.75 (1H, d, J=8.0 Hz, H-6),  
 $\delta$  7.28 (1H, d, J=8.0 Hz, H-5) y  $\delta$  7.57 (1H, d, J=10.0 Hz, H-4).  
 (Espectro 12).

Reducción de la suksdorfina (1) y tratamiento del pro-  
ducto con alúmina.

500 mg de la muestra se disuelven en 50 ml de etanol y se  
 hacen reaccionar con una atmósfera de H<sub>2</sub>, en presencia de Pd/C

(50 mg), como catalizador y previamente hidrogenado. Se deja la reacción por un período de 45 horas, siguiéndola por cromatografía en capa fina hasta la desaparición total de la materia prima. Se filtra sobre celita y luego sobre alúmina. El filtrado se concentra al vacío y el residuo obtenido (que es una mezcla de tres productos menos polares que la materia prima) se aplicó a una columna en sílice, eluyendo con mezcla de hexano-acetato de etilo (95:5).



De esta separación cromatográfica se obtiene como único producto 3-acetoxi,4-etoxi,5-hidroxi,2,2-dimetil,6( $\beta$ -propanoato de etilo),benzo(a,b)dihidropirano (9), 121.5 mg, el cual es un aceite y no corresponde a ninguno de los productos esperados (1A y 8).

Características del compuesto obtenido:

IR  $\nu$  ( $\text{CHCl}_3$ )  $\text{cm}^{-1}$  : 3500, 3200, 3026, 2982, 1731, 1624, 1595, 1495, 1440, 1373, 1347, 1297, 1156, 1058 y 920.

EM (I.E.) m/e : 380 ( $M^+$ , 12.4%), 336 (1.5%), 292 (27%), 274 (45.8%), 259 (67.7%), 229 (29%), 200 (35%), 187 (50%) y 43 (100%).

RMN<sup>1</sup>H (80 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  1.3-1.25 (6H, t(d), 2(CH<sub>3</sub>-CH<sub>2</sub>-O-)),  $\delta$  1.33 (6H, d, (CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>C-),  $\delta$  2.14 (3H, s, CH<sub>3</sub>-CO-),  $\delta$  3.0-2.5 (4H, m, R-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CO-O-),  $\delta$  3.7 (2H, c, CH<sub>3</sub>-CH<sub>2</sub>-O-),  $\delta$  4.12 (2H, c, CH<sub>3</sub>-CH<sub>2</sub>-O-),  $\delta$  4.64 (1H, d, J=6.0 Hz, H-4),  $\delta$  5.28 (1H, d, J=6.0 Hz, H-3),  $\delta$  6.36 (1H, d, J=9.0 Hz, H-8),  $\delta$  6.98 (1H, d, J=9.0 Hz, H-7) y  $\delta$  7.97 (1H, s, OH fenólico). (Espectro 13)

#### Reducción de la suksdorfina (1).

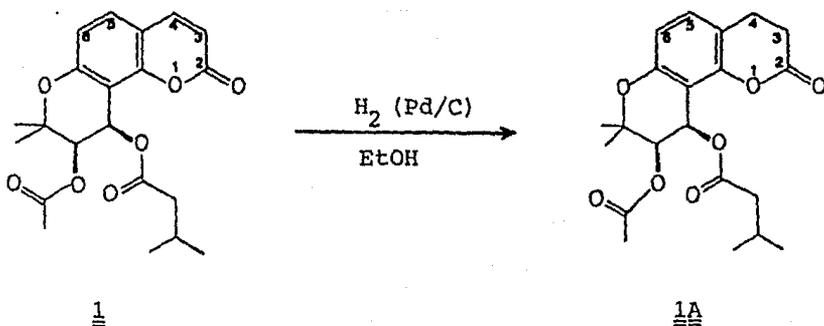
200 mg de la muestra se disuelven en 20 ml de acetato de etilo y se hacen reaccionar con una atmósfera de H<sub>2</sub>, en presencia de Pd/C (20 mg), como catalizador y previamente hidrogenado. Se deja reaccionar por un período de 20 horas, siguiéndola por cromatografía en capa fina hasta la desaparición de la materia prima. Se recupera el producto filtrando sobre celita. El filtrado se concentra evaporando el disolvente. Una parte del residuo obtenido (que es una mezcla de varios productos), se aplica a una columna cromatográfica en sílice y se eluye con mezcla de hexano-acetato de etilo (7:3).

De esta separación cromatográfica se obtiene como único producto el 3,4-dihidroderivado (1A) de la suksdorfina (1).

Características del compuesto obtenido:

Aceite

IR  $\nu$  (CHCl<sub>3</sub>) cm<sup>-1</sup> : 2963, 1749, 1627, 1593, 1488, 1373, 1235, 1138, 1107, 1077, 1055, 996 y 816.



$\text{RMN}^1\text{H}$  (80MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  0.97 (6H, d,  $(\text{CH}_3)_2\text{-CH-}$ ),  $\delta$  1.39 (6H, d, gem  $(\text{CH}_3)_2\text{C}$ ),  $\delta$  2.03 (2H, d,  $(\text{CH}_3)_2\text{CH-CH}_2\text{-CO-}$ ),  $\delta$  2.07 (3H, s,  $\text{CH}_3\text{-CO-}$ ),  $\delta$  2.2 (1H, m,  $(\text{CH}_3)_2\text{CH-CH}_2\text{-CO-}$ ),  $\delta$  3.0-2.5 (4H, m, 2H-3 y 2H-4),  $\delta$  5.22 (1H, d,  $J=6.0$  Hz, H-3'),  $\delta$  6.35 (1H, d,  $J=6.0$  Hz, H-4'),  $\delta$  6.58 (1H, d,  $J=8.0$  Hz, H-6) y  $\delta$  7.04 (1H, d,  $J=8.0$  Hz, H-5). (Espectro 16)

Acetilación de la mezcla obtenida en la recromatografía de la fracción 24. Acetilación de 2, 4 y 5.

404 mg de la mezcla se disuelven en 4 ml de piridina, se le adicionan 4 ml de anhídrido acético y se deja reaccionar durante 22 horas. La reacción se suspendió por adición de 10 g de hielo. Se hacen tres extracciones de 15 ml cada una, de la materia orgánica, con acetato de etilo. Se lava con HCl (10%) siete veces, cada vez con 15 ml, se lava dos veces con solución saturada de  $\text{NaHCO}_3$ , con 15 ml cada vez. Se lava con  $\text{H}_2\text{O}$  dos veces, con 15 ml cada vez. Se seca con  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidro y se concentra.

Se obtiene como producto un aceite que contiene los mismos compuestos que la mezcla inicial, pero 4 y 5 estarán acetilados en 3' y 4' respectivamente.

Características espectroscópicas en RMN<sup>1</sup>H:

RMN<sup>1</sup>H (80 MHz, CDCl<sub>3</sub>): En comparación con el espectro 14 de la mezcla inicial, únicamente se mencionará los protones que sufrieron cambio en su desplazamiento:

H-3 (4) de  $\delta$  4.07 de desplazó hasta 5.4 y H-4' (5) de  $\delta$  5.46 se desplazó hasta 6.57.

Las demás señales sufrieron un pequeño desplazamiento a bajo campo, además que se simplificaron y se hicieron un poco más anchas. Las señales asignables a los metilos de los acetatos, angelato y senecioato se hallan comprendidas entre  $\delta$  2.6 y 1.4. (Espectro 15).

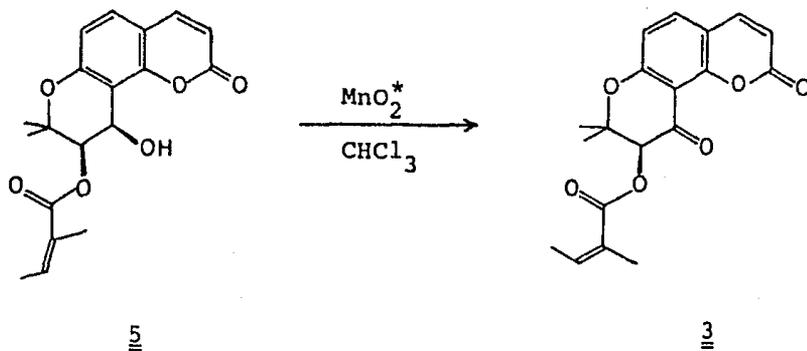
#### Oxidación de 5 con MnO<sub>2</sub> activado.

A 200 mg del compuesto se le adicionan 2 g de MnO<sub>2</sub> activado (calentado previamente), se mezcla y se adicionan 20 ml de cloroformo. Se deja reaccionar durante 4 horas, siguiendo la reacción por cromatografía en capa fina.

Como producto de la reacción se obtiene un sólido que funde a 206-208 °C, R<sub>f</sub> 0.3 en mezcla de hexano-acetato de etilo (3:2), da fluorescencia verde claro en UV y revela una mancha muy clara, es decir, de poca intensidad.

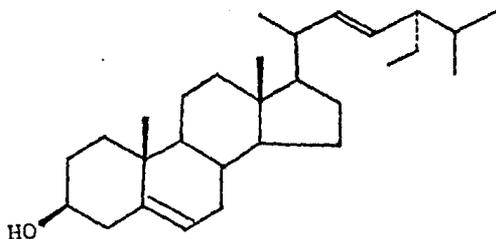
Características espectroscópicas del compuesto obtenido:

IR  $\nu$  (CHCl<sub>3</sub>) cm<sup>-1</sup> : 2988, 1732, 1715, 1620, 1600, 1555, 1480, 1400, 1385, 1370, 1348, 1298, 1135, 1092, 1062, 910 y 865.

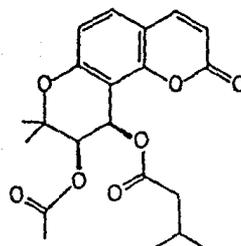


$\text{RMN}^1\text{H}$  (80 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  1.42 (3H, s,  $\text{CH}_3\text{-C-}$ ),  $\delta$  1.6 (3H, s,  $\text{CH}_3\text{-C-}$ ),  $\delta$  1.9 (3H, s,  $\text{CH}_3\text{CH=C(CH}_3\text{)CO-}$ ),  $\delta$  2.17 (3H, d,  $\text{CH}_3\text{C(CO)=CHCH}_3$ ),  $\delta$  5.65 (1H, s, H-3'),  $\delta$  6.12 (1H, m,  $\text{CHC(CH}_3\text{)=C(CH}_3\text{)CO-}$ ),  $\delta$  6.28 (1H, d,  $J=9.5$  Hz, H-3),  $\delta$  6.84 (1H, d,  $J=9.0$  Hz, H-6),  $\delta$  7.51 (1H, d,  $J=9.0$  Hz, H-5) y  $\delta$  7.57 (1H, d,  $J=9.5$  Hz, H-4).

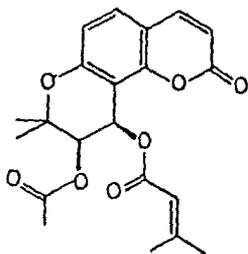
La comparación de estos datos con los obtenidos para 3, Tabla 1, comprueban la identidad de ambos compuestos.



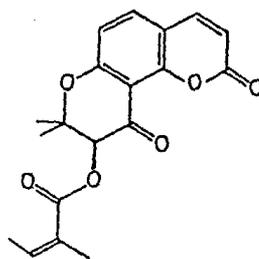
Stigmasterol  
(Figura 1)



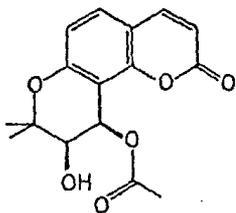
3'-acetyl,4'-isovaleroil-cis-khellactona. Suksdorfina. (1)



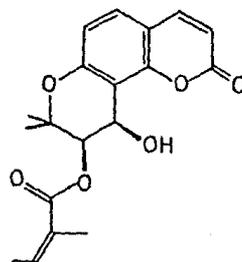
3'-acetyl,4'-seneciioil-cis-khellactona. Isosamidina. (2)



3'-angeloil,4'-oxo-khellactona (3)



4'-acetyl-cis-khellactona (4)



3'-angeloil-cis-khellactona. (5)

Compuestos aislados de *Arracacia nelsonii* C&R

Características de los compuestos aislados del extracto clorofórmico de *Arracacia nelsonii* C&R

Compuesto	Peso (g)	Pf. °C	Rf (mezcla de hexano-AcOEt (3:2))	Fluorescencia	Estado Físico	Rendimiento (%). (A partir del peso seco de la planta).
Figura 1	0.5396	161-163	0.6	-----	Sólido	0.012
<u>1</u>	4.9975	137-139	0.5	azul	Sólido	0.117
<u>2</u>	1.3068	119-121	0.43	azul	Sólido	0.030
<u>3</u>	0.1052	198-201	0.3	verde claro	Sólido	0.002
Mezcla de <u>2</u> , <u>4</u> y <u>5</u>	3.8637	-----	0.37	azul	Aceite	0.089
Mezcla de <u>4</u> y <u>5</u>	9.6119	-----	0.33	azul	Aceite	0.226
<u>5</u>	1.1138	149-151	0.35	azul	Sólido	0.026

TABLA - 2

Figura 1 - Estigmasterol

1 - Suksdorfina (3'-acetil, 4'-isovaleroil-cis-khellactona)

2 - Isosamidina (3'-acetil, 4'-senecioil-cis-khellactona)

3 - 3'-angeloil, 4'-oxo-khellactona

4 - 4'-acetil-cis-khellactona

5 - 3'-angeloil-cis-khellactona

Fórmula	589 (EtOH)	589 (CHCl <sub>3</sub> )	578 (CHCl <sub>3</sub> )	546 (CHCl <sub>3</sub> )	436 (CHCl <sub>3</sub> )	365 (CHCl <sub>3</sub> )
<u>1</u>	+ 2.5	-----	-----	-----	-----	-----
<u>2</u>	-----	- 10	-----	-----	-----	-----
<u>3</u>	-----	- 30	- 32.5	- 34.5	- 49	- 45.5
<u>5</u>	-----	- 49	-----	-----	-----	-----

=====

TABLA - 3 R.O. [  $\alpha$  ]<sup>25</sup>

Fórmula								
<u>1</u>	203(3.9)	220(3.41)	244(3.14)	253(3.18)	292(3.37)	320(3.48)	-----	-----
<u>2</u>	203(3.97)	214(3.78)	-----	252(3.04)	295(3.30)	318(3.46)	-----	-----
<u>3</u>	-----	212(4.39)	-----	265(3.85)	271(3.91)	305(3.91)	333(3.86)	346(3.87)
<u>5</u>	205(3.42)	217(3.20)	-----	255(3.41)	-----	324(4.06)	-----	-----

=====

TABLA - 4 U.V.  $\lambda_{\max}^{\text{MeOH}}$  nm (log  $\epsilon$ )

Piranocumarinas aisladas de *Arracacia nelsonii* C&R

VII. RESUMEN Y CONCLUSIONES

Los reportes de estudios fitoquímicos de extractos de umbelíferas muestran que es una familia que posee una gran variedad de compuestos, entre los cuales destacan flavonoides, compuestos acetilénicos, ftaluros, terpenoides y compuestos cumarínicos. Estos últimos tienen mucha importancia tanto en la industria farmacéutica, en la alimenticia como en la tabacalera.

Del extracto clorofórmico obtenido de la parte aérea de *Arracacia nelsonii* C&R (*Umbelliferae*), colectada en el Estado de Chiapas, se aislaron por métodos cromatográficos seis compuestos. Estigmasterol (Figura 1), una nueva cumarina, 3'-angeloil, 4'-oxo-khellactona (3) y cuatro cumarinas ya reportadas en la literatura: suksdorfina (3'-acetil,4'-isovaleroil-cis-khellactona (1)), isosamidina (3'-acetil,4'-senecioil-cis-khellactona (2)), 4'-acetil-cis-khellactona (4) y 3'-angeloil-cis-khellactona (5).

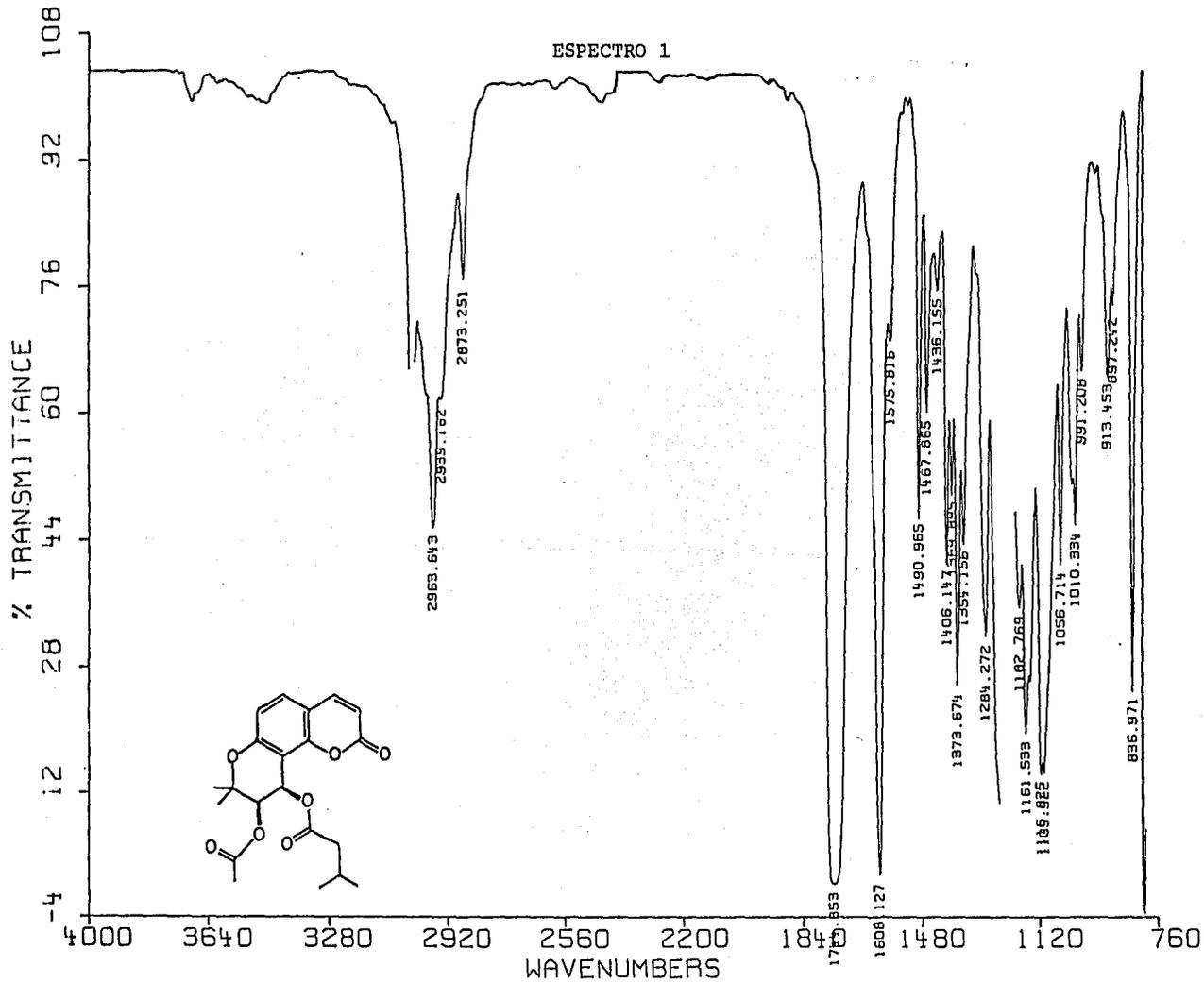
Sus estructuras fueron determinadas por análisis espectroscópico y por comparación con datos reportados en la literatura. La confirmación de la estructura de la nueva cumarina se logró por la transformación de la 3'-angeloil-cis-khellactona (5) a la 3'-angeloil,4'-oxo-khellactona (3), mediante una oxidación bencílica.

El tratamiento con alúmina del producto de hidrogenación de la suksdorfina (1) produce una transformación novedosa (apertura del anillo de la  $\alpha$  pirona y sustitución del radical bencílico para obtener 9), en esta serie de moléculas.

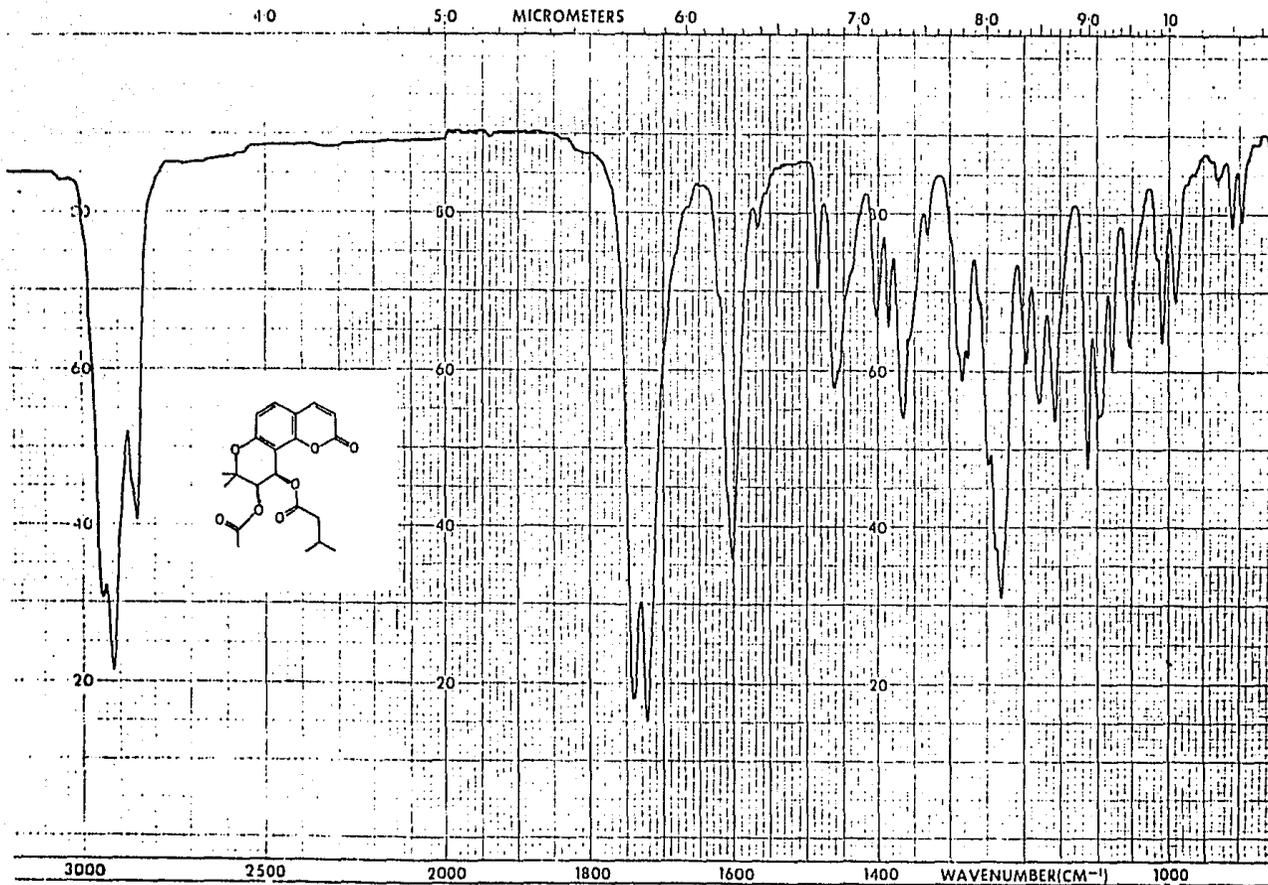
Es recomendable que los constituyentes del aceite esencial de *Arracacia nelsonii* sean también analizádos.

Los resultados aquí reportados son una contribución al conocimiento de los constituyentes químicos de plantas de la familia *Umbelliferae*.

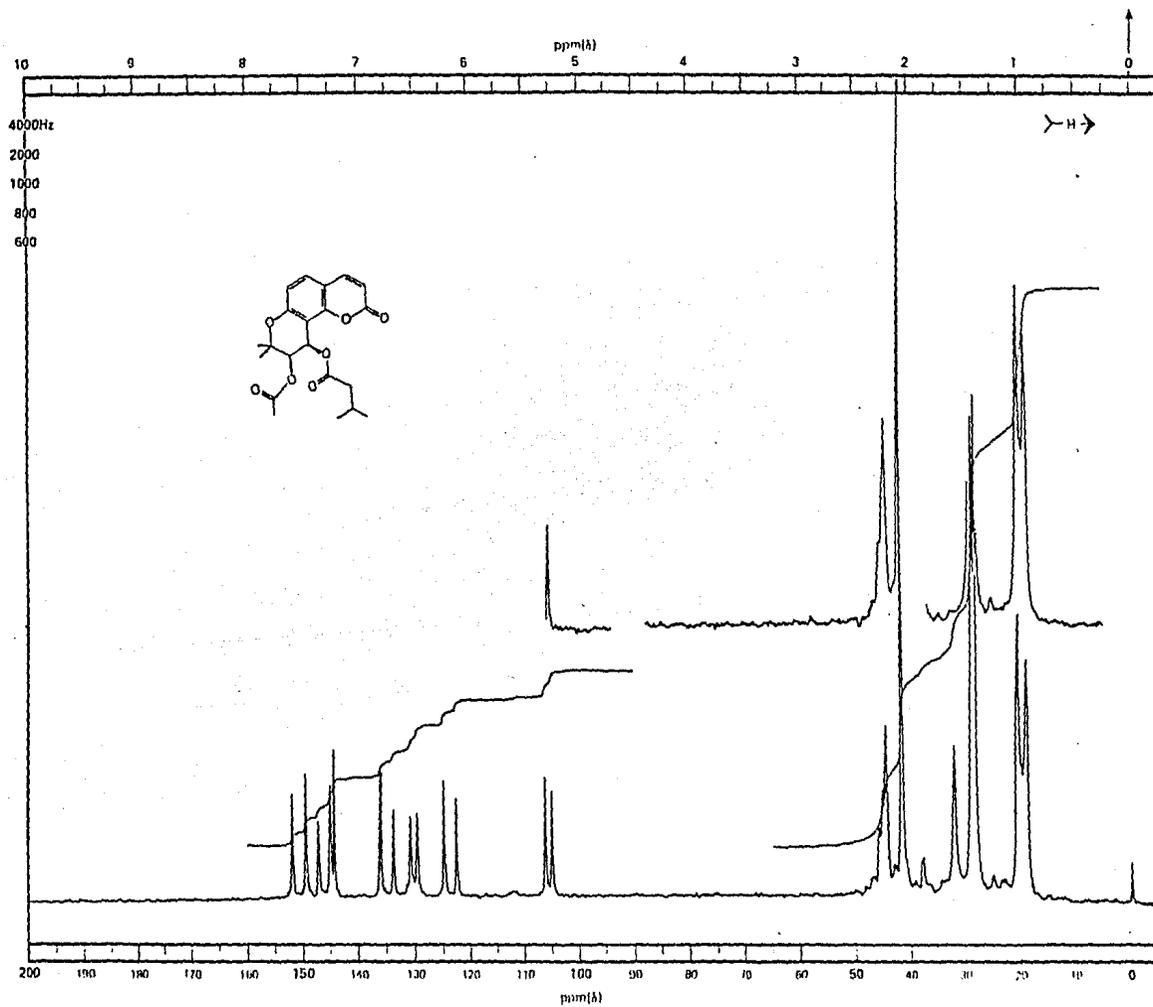
VIII. ESPECTROS



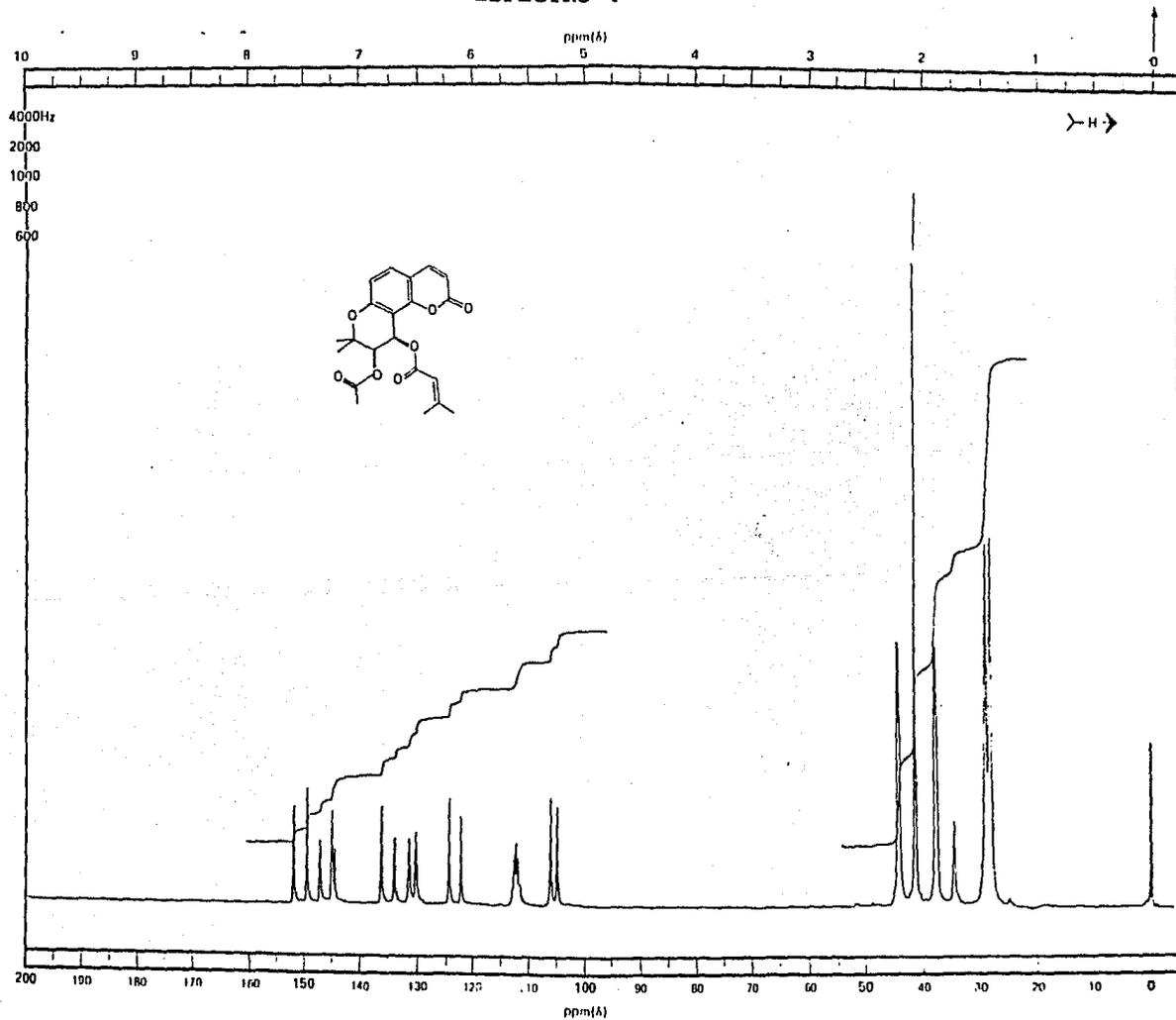
ESPECTRO 2



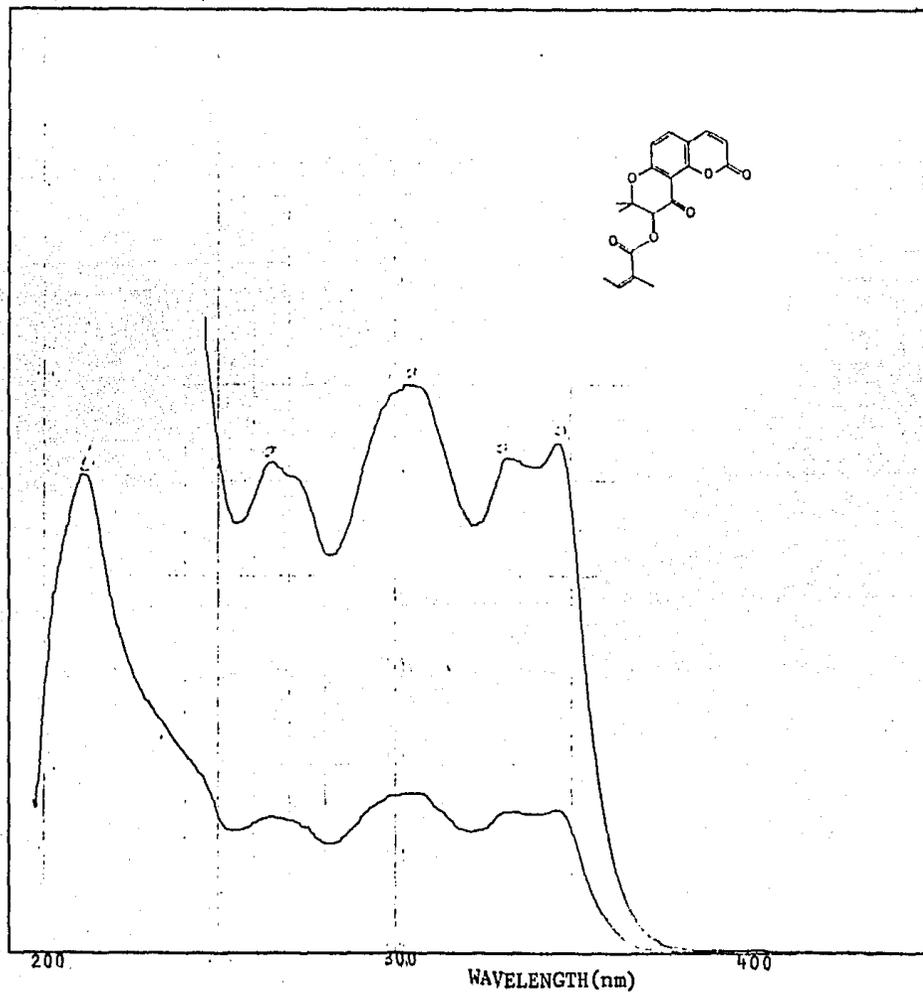
ESPECTRO 3



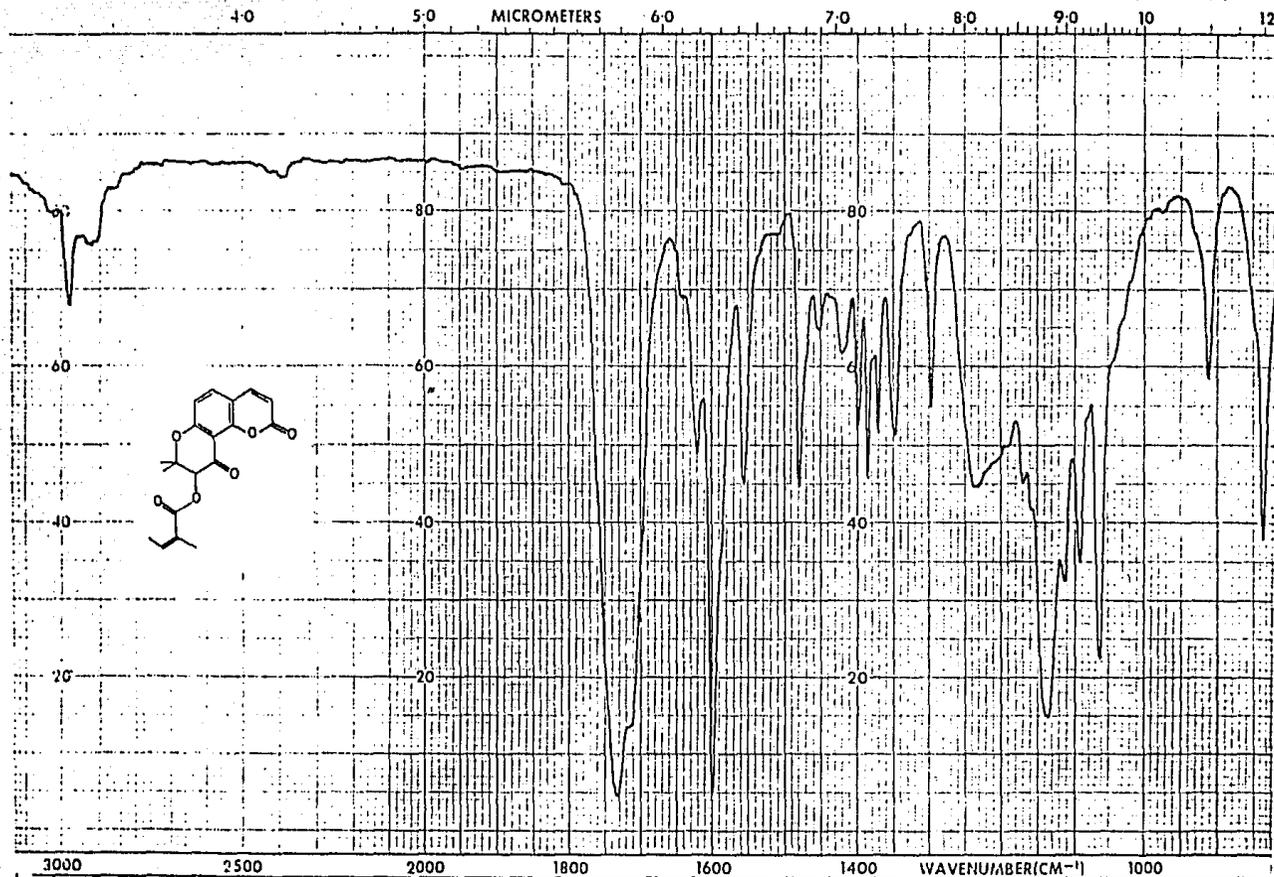
ESPECTRO 4



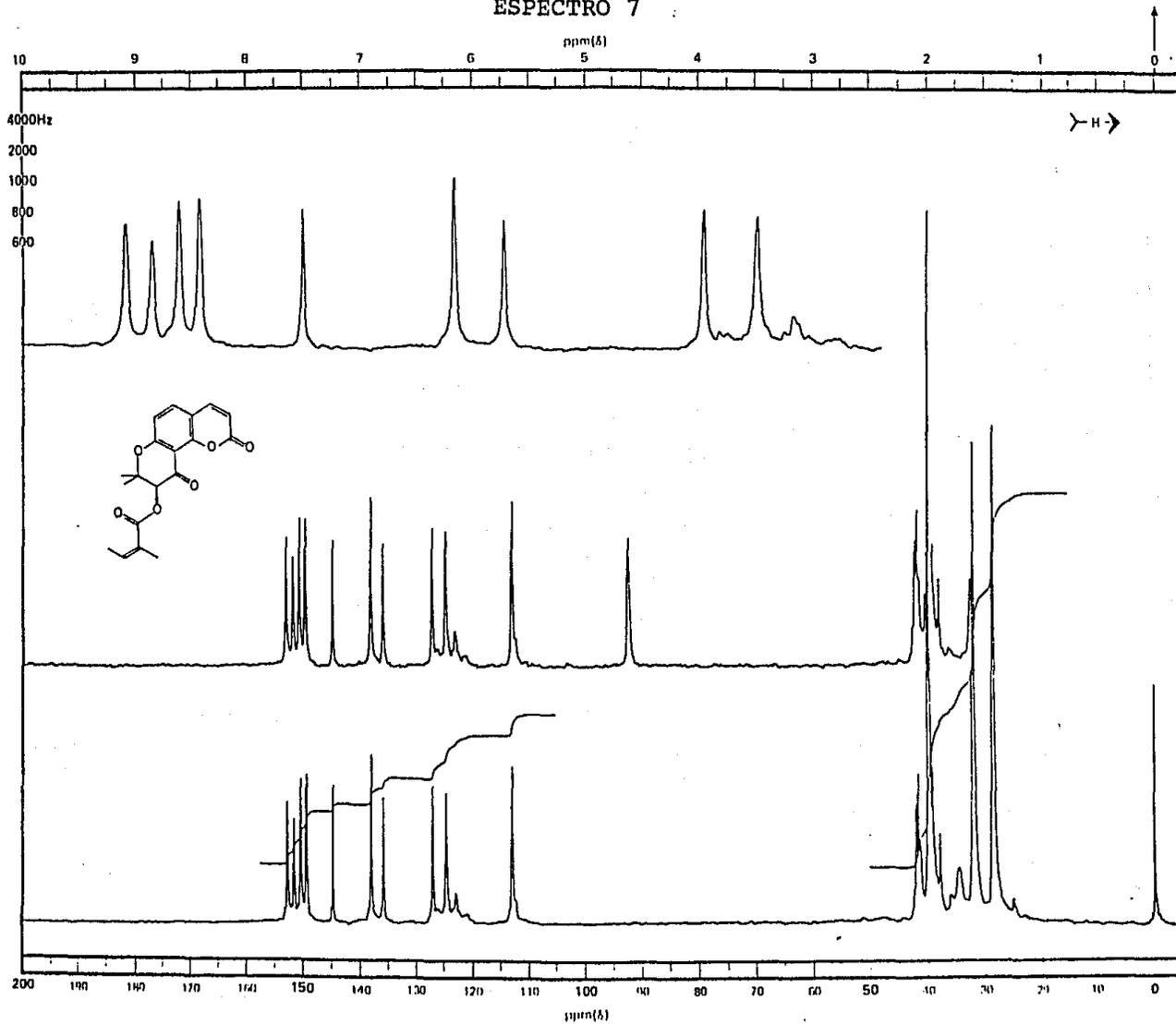
ESPECTRO 5



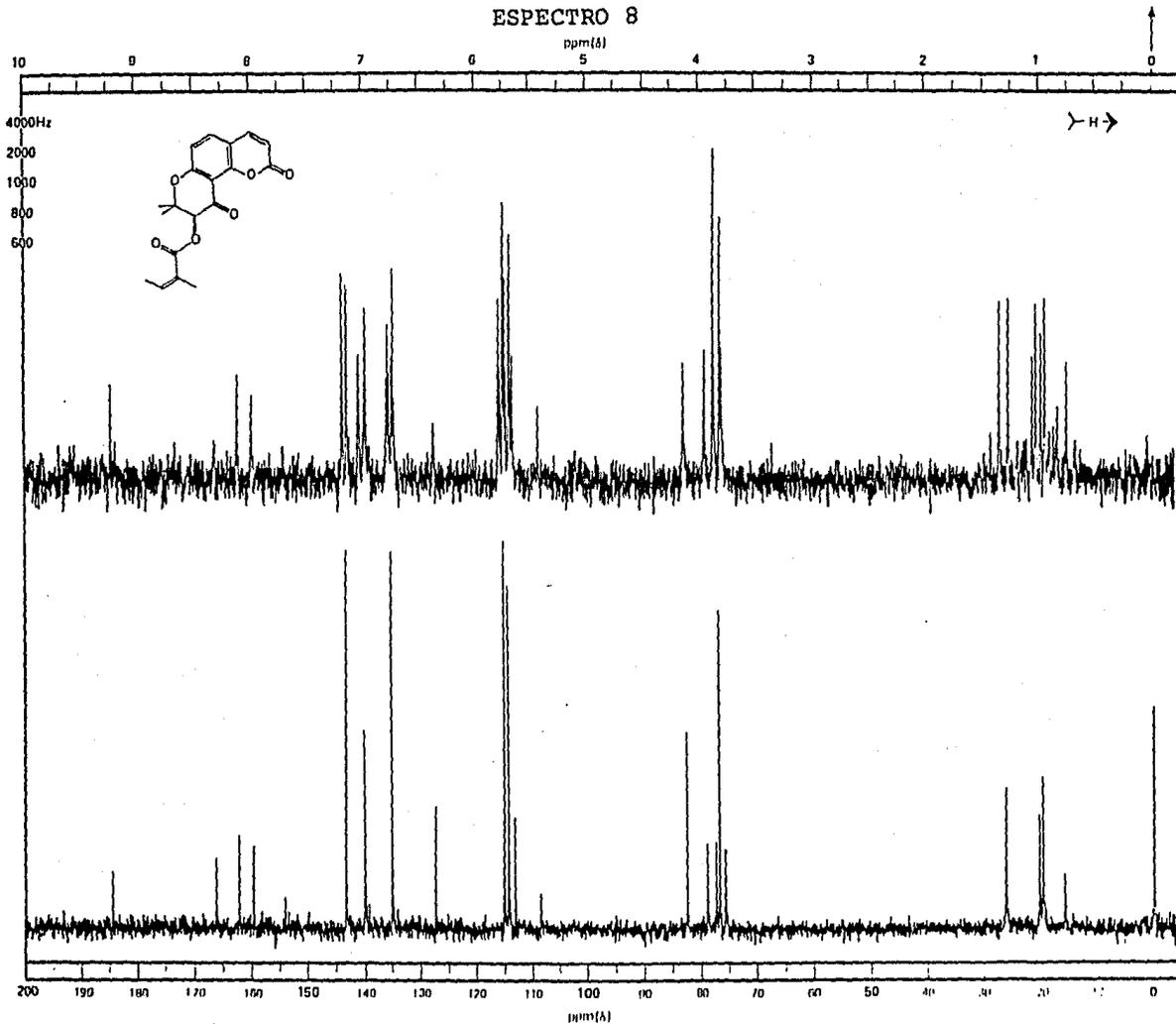
ESPECTRO 6



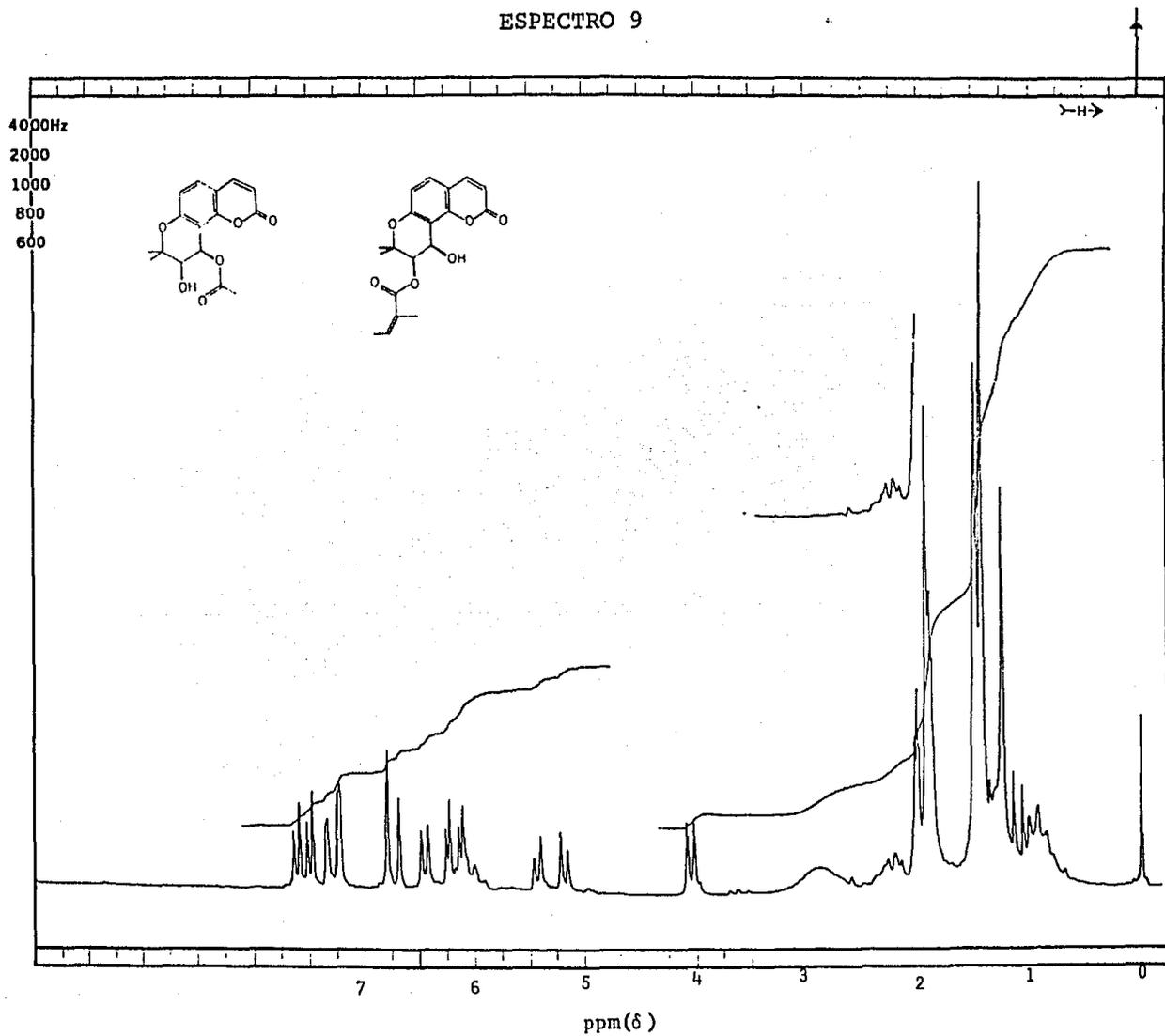
ESPECTRO 7



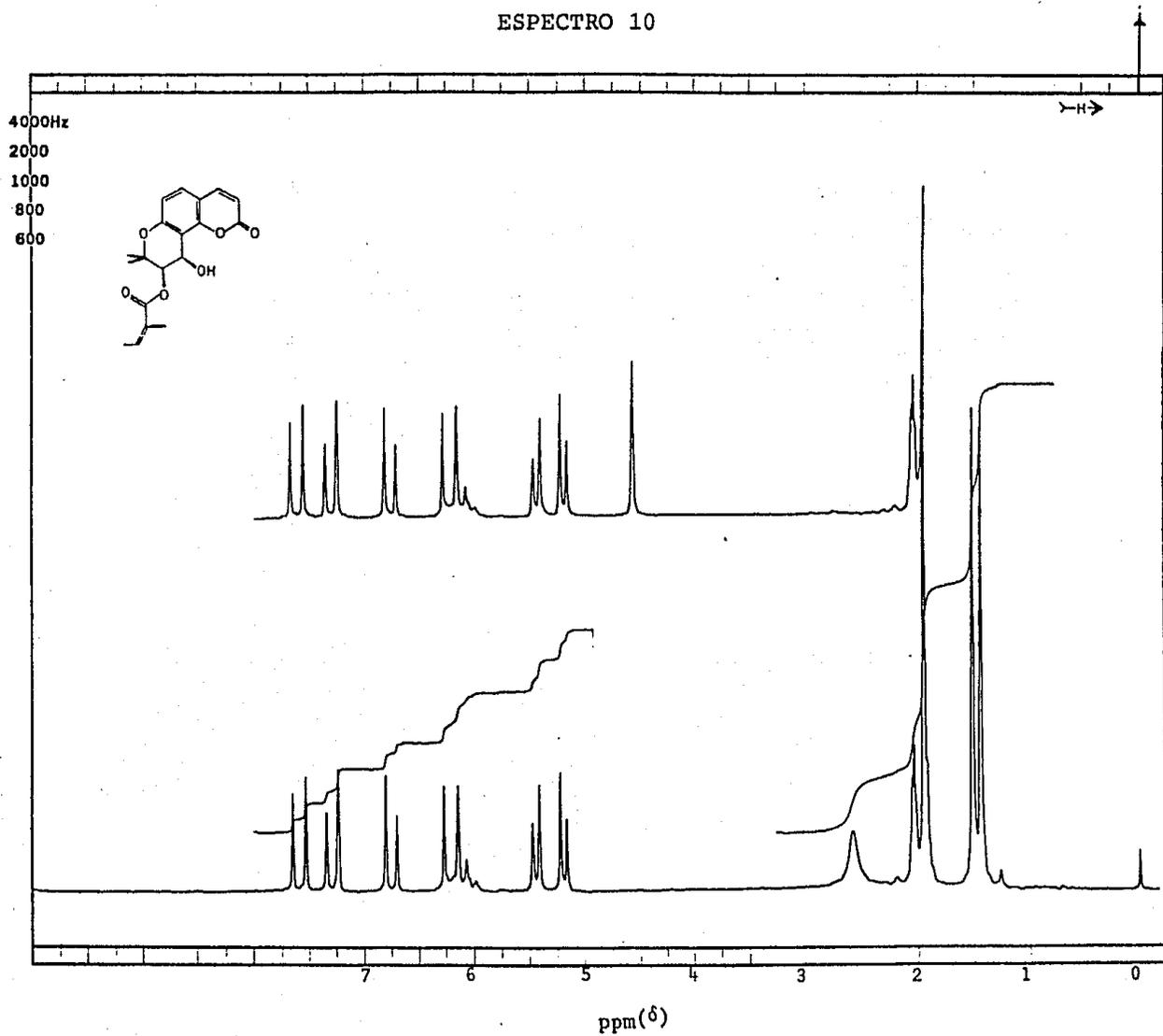
ESPECTRO 8



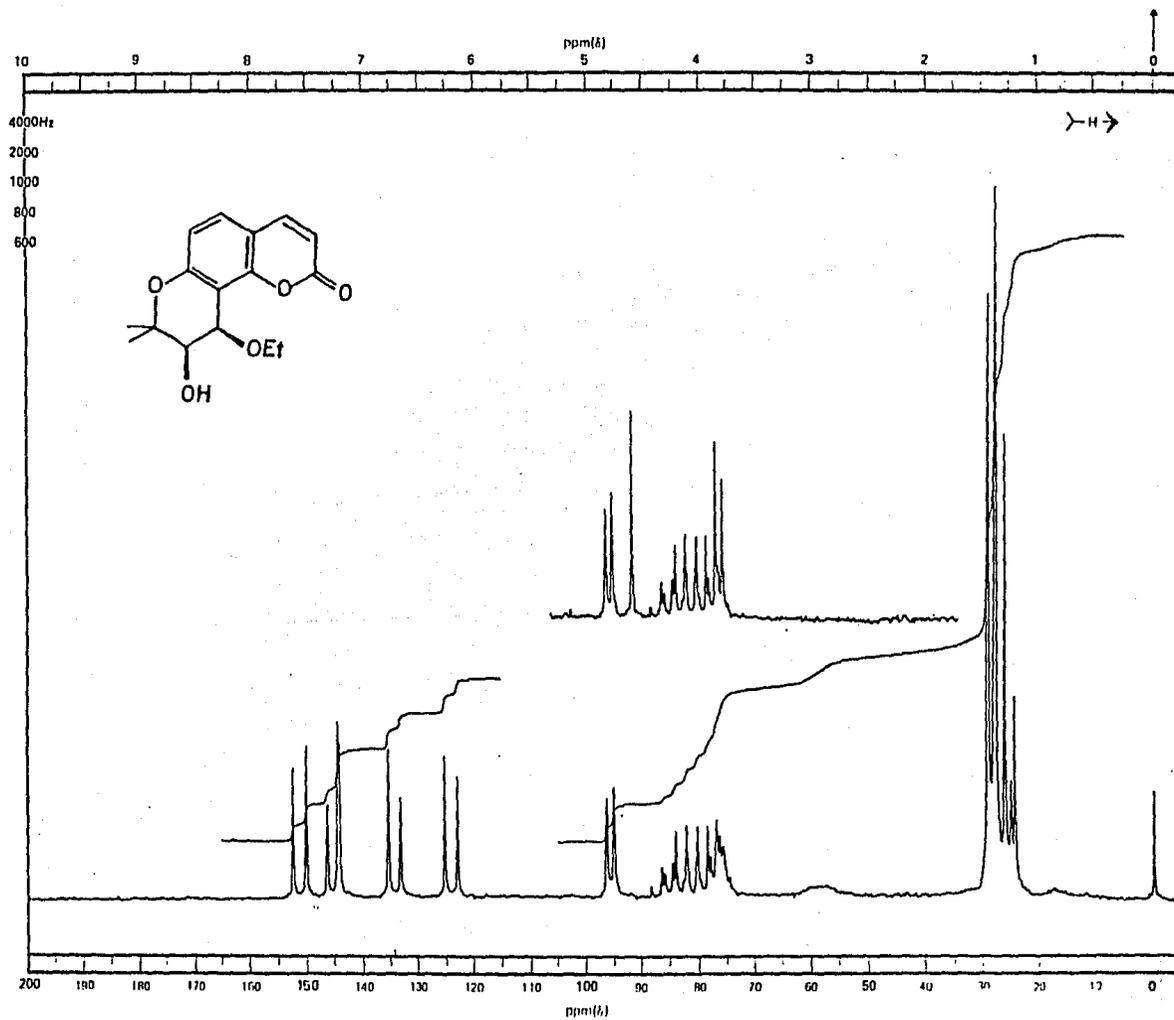
ESPECTRO 9



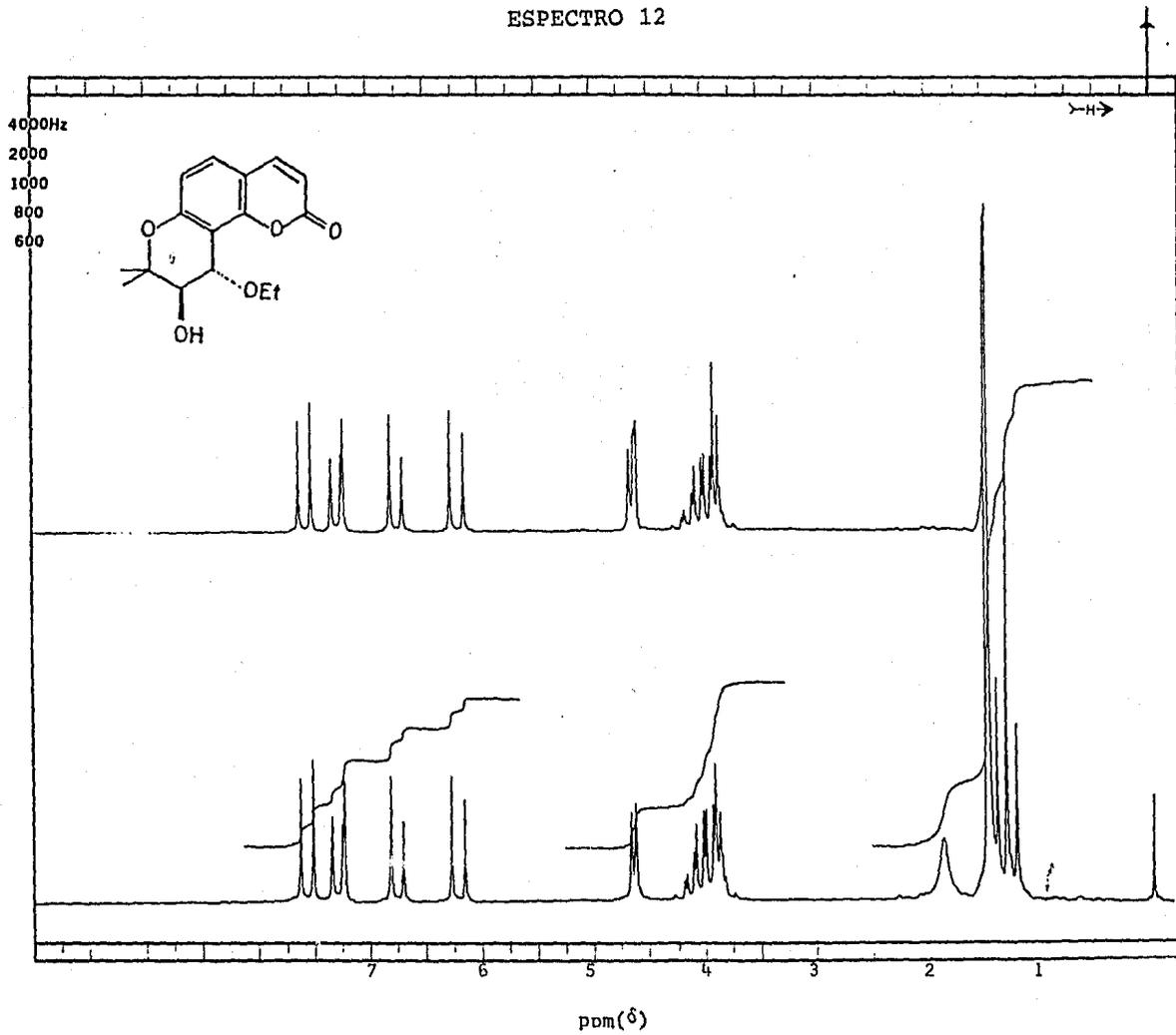
ESPECTRO 10



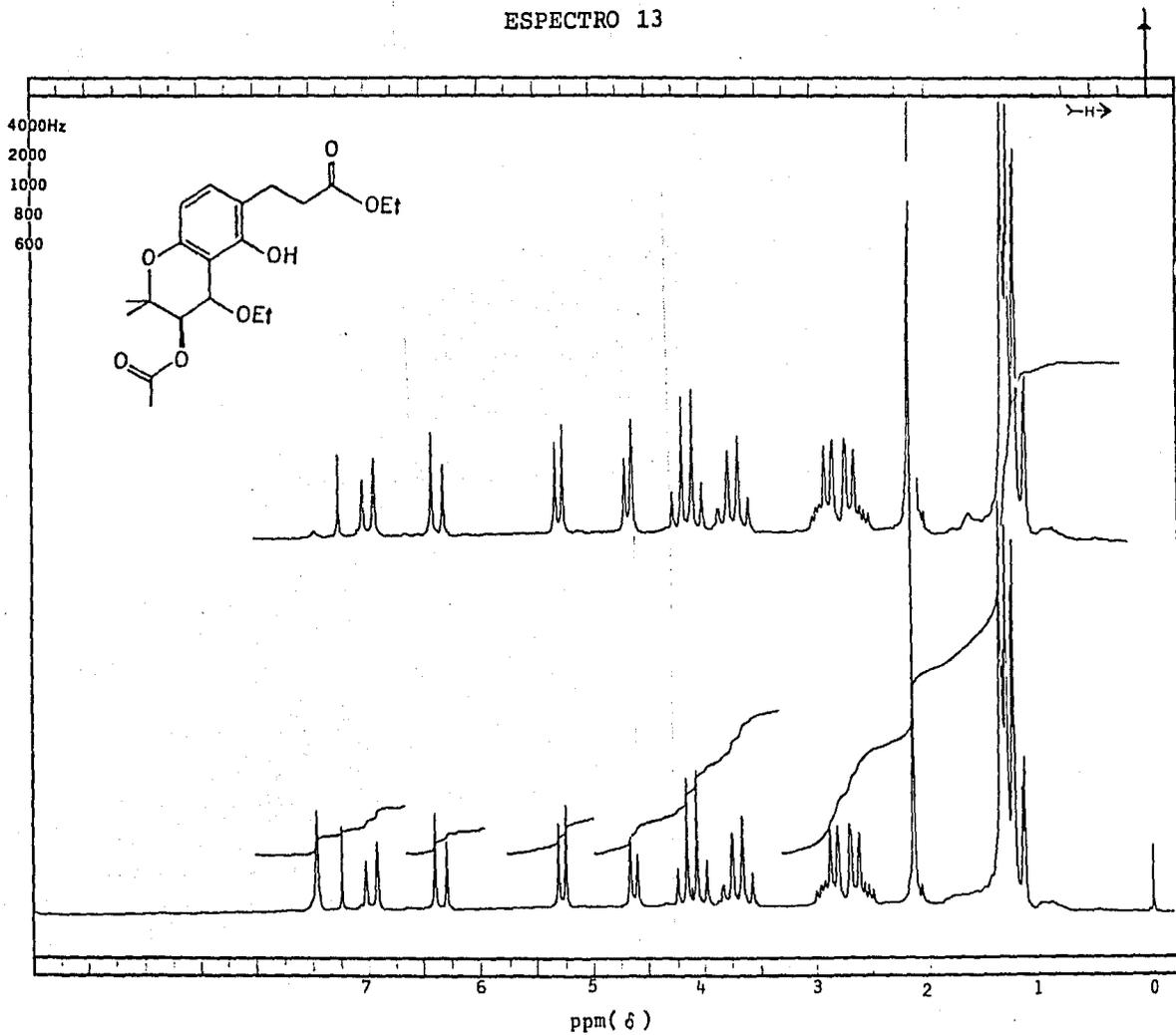
ESPECTRO 11



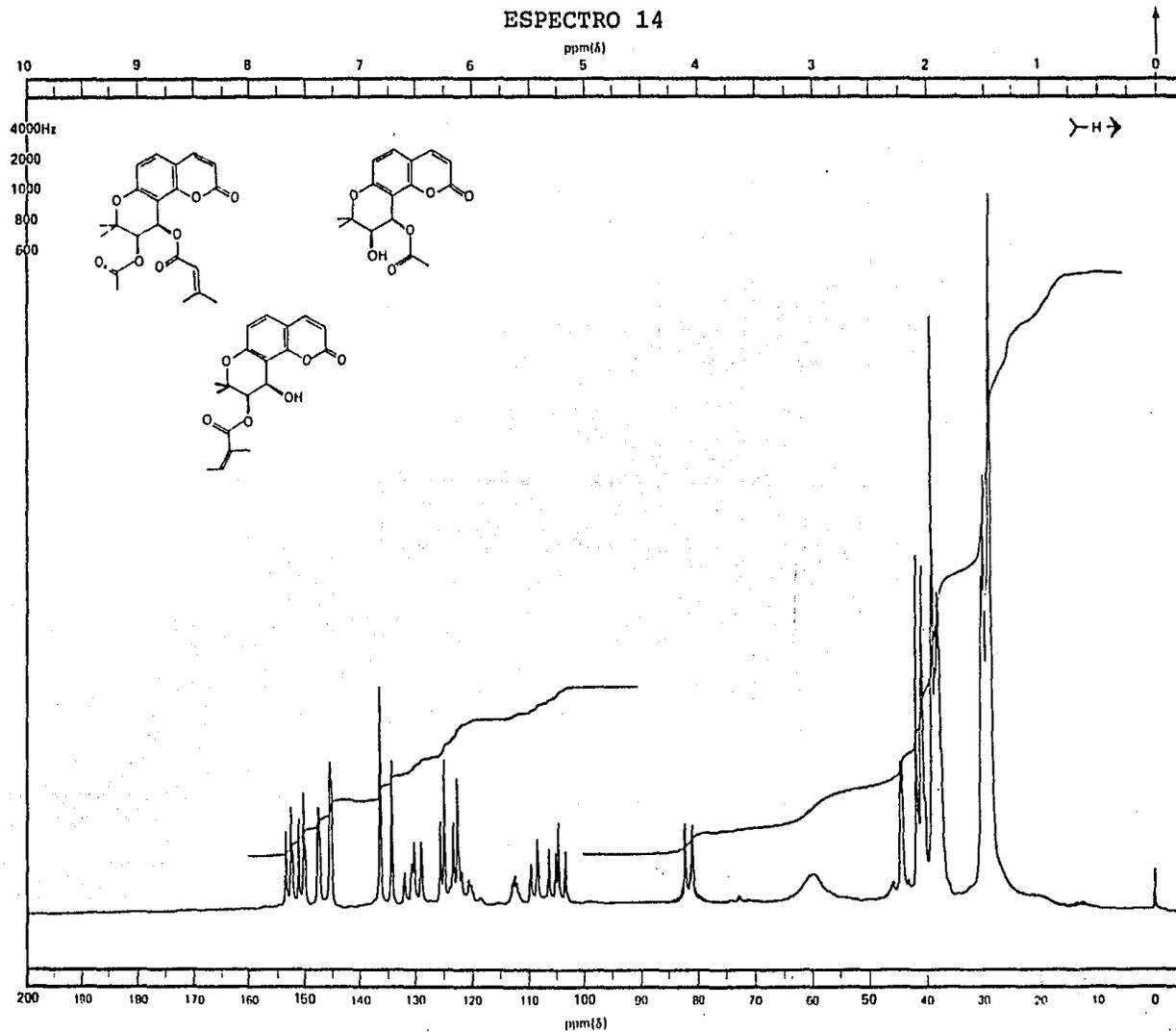
ESPECTRO 12



ESPECTRO 13

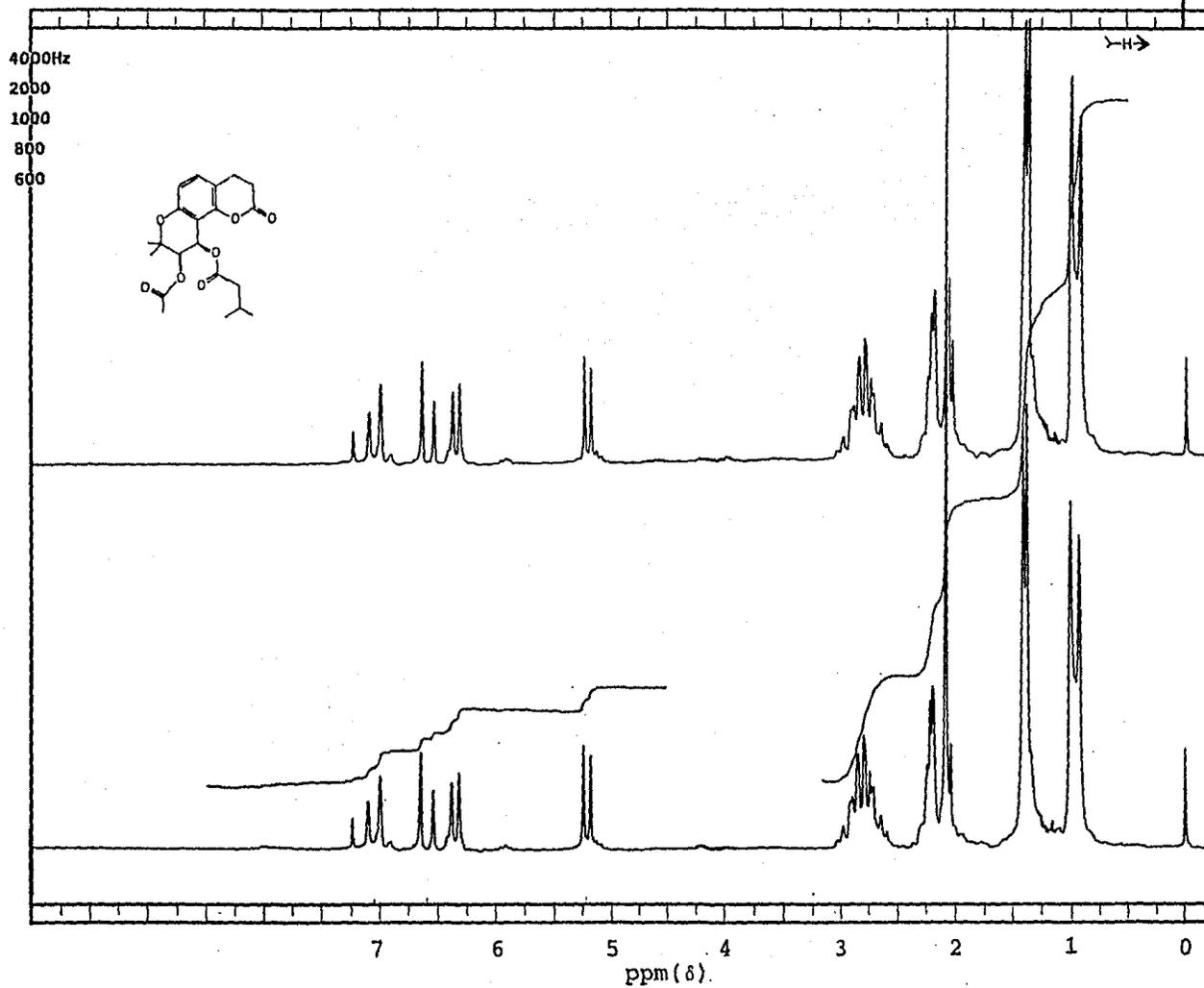


ESPECTRO 14





ESPECTRO 16



IX. BIBLIOGRAFIA

- 1).- Aikman L., "Nature Gifts to Medicine", National Geographic, 420 (1974).
- 2).- Jiménez R. J. "El uso del té en México, producto de la Tradición y el Conocimiento", Gaceta de la U.N.A.M. Vol.II, No.10. Febrero de 1986.
- 3).- Gottlieb O. R. "Fitoquímica Evolutiva", Conferencia plenaria impartida en el Primer Congreso Latinoamericano de Fitoquímica. Instituto de Química de la U.N.A.M. 3 de Marzo de 1986.
- 4).- Lehninger A. L. "Bioquímica, Las bases Moleculares de la Estructura y Función Celular". 2a. Edición. Ed. Omega. Barcelona 1980.
- 5).- Domínguez X. A. "Métodos de Investigación Fitoquímica". Ed. Limusa. México 1973.
- 6).- Romo de Vivar A. "Productos Naturales de la Flora Mexicana". Ed. Limusa. México 1985.
- 7).- Delgado G. Instituto de Química de la U.N.A.M. Comunicación personal.
- 8).- Nielsen B. E. and Soine T. O. "Constituents of Umbelliferous. Plant IV. The coumarins of Peucedanum palustre L. The structure of a New coumarins". Acta Chem. Scand. 18, 1379 (1964).
- 9).- Willette R. E. and Soine T. O. "Coumarins I. Isolation. Purification and estructura determination of Pteryxin and Suksdorfin". J. Pharm. Sci. 51, 149 (1962).

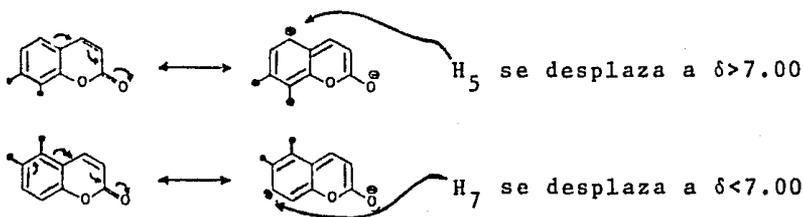
- 10).- Nielsen B. E., Lemmich J. "Constituents of Umbelliferous Plants. V. On the configuration of Archangelicin and Related coumarins". Acta Chem. Scand. 18, 2111 (1964).
- 11).- Lemmich J., Lemmich E. and Nielsen B. E. "Constituents of Umbelliferous. Plants. VIII. Coumarins from Root of Seseli libenotis L.(Koch). The estructure of three New Coumarins". Acta Chem. Scand. 20, 2467 (1966).
- 12).- Nielsen B. E. and Soine T. O. "Coumarins IV. Coumarins of Pteryxia terebinthina. Structure of two New Coumarins Iso-teryxin and Calipteryxin". J. Pharm. Sci. 56, 184 (1967).
- 13a).- Lemmich J., Pedersen P. A. and Nielsen B. E. "Revised absolute configurations of natural Khellactone Esters". Tetrahedron Lett., 3365 (1969).
- 13b).- Bernotat-Wuef, H., Niggli, A., Ulrich, L. and Schmid, H. "Uber die absolute Konfiguration der Visnagane". Helv. Chim. Acta. 52, 1165 (1969).
- 14).- Nielsen B. E., Larsen P. K. and Lemmich J. "Constituents of Umbelliferous. Plants. XVII. Coumarins from Seseli gum-miferum Pall. The estructure of two New Coumarins". Acta Chem. Scand. 25, 529 (1971).
- 15).- Bohlmann F., Bhaskar Rao V. S. and Grenz M. "Uber Die cumarine aus Angelica ursina und Seseli libanotis". Tetrahedron Lett., 3947 (1968).
- 16).- Kappor S. K., Sharma Y. N. and Zaman A. "Umbelliferae: Extractives of Angelica glauca". Phytochemistry, 11, 475 (1972).

- 17).- Nielsen B. E. "Structural on Constituents of Umbelliferae" Angew. Chem. Internat. Edit. 11, 239 (1972).
- 18).- Yamada Y., Hsu C. S., Iguchi K. and Susuki M. "Two New Kellactone Esters, from Peucedanum japonicum Thunb". Tetrahedron Lett. 2513 (1974).
- 19).- González A.G., Cardona R. J., Medina J. M. y Rodríguez Luis F. "Componentes de Umbellíferas. VII. Dos nuevas coumarinas del Peucedanum stenocarpum B.et. R.". Anal. Quím. 72, 88 (1976).
- 20).- González A. G., Barroso J. T., Cardona R. J., Luis J. R. y Rodríguez Luis F. "Componentes de Umbellíferas. IX. Tres nuevas coumarinas del Seseli tortuosum L.". Anal. Quím. 72, 92 (1976).
- 21).- González A. G., Barroso J.T., López Dorta H., Luis J. R. and Rodríguez Luis F. "Pyranocoumarin derivatives from Seseli tortuosum". Phytochemistry 18, 1021 (1979).
- 22).- Borges del Castillo J., Rodríguez Luis F. y Rodríguez Ubis J. C. "Coumarinas Naturales. Distribución y Síntesis". Rev. Latinoam. 14, 117 (1984).
- 23).- Miski M., Ulubelen A., Lee E. and Mabry T. J. "Sesquiterpene-coumarin ethers of Ferula tinginata". J. Nat. Prod. 48, 326 (1985).
- 24).- Le Quesne P. W., Do M. N., Ikram M., Israrkkhan and Mir I. "Furocoumarins from the Fruit Amni visnaga". J. Nat. Prod. 48, 496 (1985).

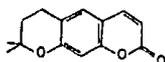
- 25).- Piñar M. and Galan M. P. "Coumarins from Eryngium ilicifolium". J. Nat. Prod. 48, 853 (1985).
- 26).- González A. G., Breton J. I., Galindo A. y Rodríguez Luis F. "Lactonas sesquiterpénicas en Umbellíferas". Rev. R. Acad. Cienc. Exactas, Fis. Nat. (Madrid), 69, 647 (1976).
- 27).- Crowden R. K., Harborne J. B. and Heywood V. H. "Chemosystematics of the Umbelliferae. A General Survey". Phytochemistry. 8, 1963 (1969).
- 28).- Saleh N. A. M., El-Negoumy S. I., El-Hadidi M. N. and Hosni H. A. "Comparative study of the flavonoids of some local member of the Umbelliferae". Phytochemistry. 22, 1417 (1983).
- 29).- Ulubelen A., Oksuz S., Goren N., Mabry T. J. and Bohlmann F. "A furanoeudesmane from the fruits of Smyrniun olosatrum". Phytochemistry. 24, 1105 (1985).
- 30).- Fayos J., Perales A., Piñar M., Rico M. and Rodríguez B. "Desangeloylshairidin, X-ray Structure Determination of a Sesquiterpen Lactone from Gullonea scabra". Phytochemistry. 24, 1983 (1985).
- 31).- De Pascual Teresa J., Morán J. R., Hernández J. M. and Grande M. "Tovarol and other Germacrane derivatives from Thapsia villosa". Phytochemistry. 24, 1779 (1985).
- 32).- Ulubelen A., Goren N., Bohlmann F., Jakapovic J., Grenz M. and Tanker N. "Sesquiterpene lactones from Smyrniun cordifolium". Phytochemistry. 24, 1305 (1985).

- 33).- Piñar M., Rodríguez B., Rico M., Perales A. and Fayos J. "Guillonein and Epoxyguaianolide from Guillonea scabra, X-ray Structure Determination". Phytochemistry. 22, 987 (1983).
- 34).- Bohlmann F. and Grenz M. "Über weitere terpen derivate aus Umbelliferen (1)". Tetrahedron Lett. 1453 (1970).
- 35).- Shanbhag S. N., Mesta C. K. and Maheshwari M. L., Parnikar S. K. and Bhattacharyya S. C. "Jatamisin a New Terpenic Coumarin from Nardostachys jatamansi. Terpenoids LII!" Tetrahedron Lett. 2605 (1964).
- 36).- Mitsuhashi H., Nagai V., Muramatsu T. and Tashiro H. "Studies on the Constituents of Umbelliferae Plants II. Isolation of Active Principles of Ligusticum Root". Chem. Pharm. Bull. 8, 243 (1960).
- 37).- Mitsuhashi H. and Nagai I. "Studies on the Constituents of Umbelliferae Plants VII, Structure of Ligustide 2". Tetrahedron. 19, 1277 (1963).
- 38).- Mitsuhashi H. and Muramatsu T. "Studies on the Constituents of Umbelliferae Plants IX. Structure of Cnilde and Neocnilde". Tetrahedron. 20, 1971 (1964).
- 39).- Gijbels M. J. M., Scheffer J. J. C. and Suendin A. B. "Phtalides in Umbelliferae". Revista Italiana E.P.P.O.S. 51, 335 (1979).
- 40).- Díaz J. L. "Índice y Sinonimia de las plantas medicinales en México". Monografías Científicas I. Inst. Mex. para el estudio de las plantas medicinales. México 1976.

- 41).- Martínez M. "Flora del Estado de México". Edición Facsimilar de los fascículos publicados en los años 1953-1972. Tomo III. Biblioteca Enciclopédica de la Ciudad de México. México 1979.
- 42).- Sánchez S. O. "La flora del Valle de México". Ed. Herrero 6a. Ed. México 1980.
- 43).- Murray R. D. H., Méndez J. and Brown S. A. "The Natural Coumarins. Occurrence, Chemistry and Biochemistry". John Wiley & Sons L. T. D. Chichester-New York, Brisbane-Toronto-Singapore. 1982.
- 44).- Devon K. and Scott A. I. "Terpenes". Handbook of Naturally Occurring Compunds, Vol. II Academic Press. New York and London. 1972.
- 45).- Sadtler-Research. "Reosnancia Magnetica Nuclear". Laboratories, INC. Research, Editors & Publishers. U. S. A. 1970.
- 46).- Estructuras resonantes de la Figura 4 y 5.



- 47).- Piranocumarina lineal:



- 48).- Sadtler-Research. "Resonancia Magnetica Nuclear de Carbon 13". Laboratories, INC. Research, Editors & Publishers.

U. S. A. 1980.

- 49).- Bose A. K., Fujiwara H., Kamat V. S., Trivedi G. K. and  
Bhattacharyya, S. C. "  $^{13}\text{C}$ NMR Spectra of Some Furocoumarin".  
Tetrahedron. 35, 13 (1979).
- 50).- Elgamal M. H. A., Elewa N. H., Elkhisy E. A. M. and Duddeck  
H. " $^{13}\text{C}$ NMR Chemical shifts and carbon-proton coupling constants  
of Some Furocoumarins and Furochromones". Phytochemistry. 18, 139 (1979).
- 51).- Bhacca N. S., Johnson L. F. and Shoolery J. N. "NMR Spectra  
Catalog". Instrument Division of Varian Associates  
Lithographed in the U. S. A. National Press.