

2ej
56

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA



NUEVAS ELEMNOLIDAS DE Schkuhria schkuhrioides (COMPOSITAE)

T E S I S

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

SALVADOR GUZMAN NAPOLES

MEXICO, D. F.

1986



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 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 Y ANTECEDENTES	3
III.	PARTE TEORICA	8
	Tabla 1. RMN ^{13}C de Schkuhridina A y Derivados	16
	Tabla 2. RMN ^1H de Schkuhridina A y Derivados	24
IV.	ESPECTROS	
	Espectro IR (CHCl_3) de la Schkuhridina A	28
	Espectro UV (MeOH) de la Schkuhridina A	29
	Espectro RMN ^{13}C (CDCl_3) de la Schkuhridina A	30
	Espectro RMN ^1H (CDCl_3) de la Schkuhridina A	31
	Espectro IR (CHCl_3) de la diacetil schkuhridina A	32
	Espectro RMN ^1H (CDCl_3) de la diacetil schkuhridina A	33
	Espectro RMN ^{13}C (CDCl_3) de la diacetil schkuhridina A	34
	Espectro IR (CHCl_3) de la 1(2),11(13)-tetrahydro-schkuhridina A	35
	Espectro RMN ^1H (CDCl_3) de la 1(2),11(13)-tetrahydro-schkuhridina A	36
	Espectro RMN ^{13}C (CDCl_3) de la 1(2),11(13)-tetrahydro-schkuhridina A	37
	Espectro IR (CHCl_3) de la diacetil-1(2),11(13)-tetrahydro-schkuhridina A	38
	Espectro RMN ^1H (CDCl_3) de la diacetil-1(2),11(13)-tetrahydro schkuhridina A	39
	Espectro IR (CHCl_3) de la schkuhridina B	40
	Espectro UV (MeOH) de la schkuhridina B	41
	Espectro RMN ^1H (CDCl_3) de la schkuhridina B	42

V.	RESUMEN Y CONCLUSIONES	43
VI.	PARTE EXPERIMENTAL	44
VII.	BIBLIOGRAFIA	61

1. Introducción

Desde la antigüedad, el hombre ha utilizado los recursos que le brinda la naturaleza para su supervivencia. Originalmente, sobre fundamentos puramente místicos y/o religiosos ha utilizado las drogas para la cura y el alivio de sus enfermedades. Estos conocimientos empíricos adquiridos se han transmitido y enriquecido de generación en generación hasta nuestros días. De esta manera, la medicina popular ha tenido un lugar específico dentro del conocimiento del hombre en cada época y en cada cultura.

Estimaciones recientes, indican que cerca del 60% de los fármacos modernos incluyen productos naturales en su formulación y casi todas las diferentes clases de fármacos provienen de un modelo estructural derivado de moléculas naturales mostrando los efectos clásicos y específicos.

Así, un gran número de productos naturales son ahora de uso médico común como producto de la investigación científica de remedios populares empleados por diversas culturas. La quina, la digitoxina y la reserpina, son algunos ejemplos bien conocidos.¹

Es claro que la investigación sobre nuevos fármacos, tiene en la medicina tradicional una fuente invaluable de información. Sin embargo, algunos países con gran tradición como la India y China, tienden a

fusionar la medicina moderna con la medicina tradicional con gran éxito tanto del punto de vista clínico como económico.

Tal es la importancia de que en nuestro país, que también cuenta con una gran tradición en el uso de plantas, se implemente una infraestructura de investigación interdisciplinaria entre botánicos, antropólogos, etnólogos, químicos, farmacólogos, toxicólogos, etc., con el fin de rescatar una tradición cultural única, de investigar y evaluar los agentes empleados y eventualmente implementar una tecnología para su aprovechamiento.

El presente trabajo describe la extracción, aislamiento y la determinación de la estructura molecular de los metabolitos secundarios de la planta *Schkuhria schkuhrioides* (Link & Otto) Thellung, con el fin de contribuir al conocimiento de los constituyentes químicos de este recurso natural tan importante en nuestro país, que es la vegetación.

**II. Generalidades
y
Antecedentes**

Aunque el término "producto natural" se refiere a las sustancias que se encuentran en la naturaleza, en química orgánica sólo se considera generalmente a aquellas sustancias producidas por el metabolismo secundario,² tales como los terpenos, alcaloides, policétidos, fenilpropanoides, etc. En algunas ocasiones, tales sustancias son responsables de alguna actividad biológica, farmacológica o terapéutica, pero en lo referente a plantas superiores, los metabolitos secundarios son una diferenciación específica a nivel químico, ya que estas moléculas se originan a partir de un esquema biosintético casi universal en el reino vegetal.³

En el caso de la familia Compositae, que es de gran importancia por su abundancia y diversidad en nuestro país,⁴ son las lactonas sesquiterpénicas los metabolitos secundarios que caracterizan a este grupo de plantas.⁵

Las lactonas sesquiterpénicas se forman por la condensación de tres unidades de isopreno con subsecuente ciclización y transformaciones oxidativas para formar un anillo de lactona fusionado *cis* o *trans*,⁶ de aquí su nombre de lactonas sesquiterpénicas.⁷ Este tipo de sustancias se clasifican en base a su esqueleto carbonado.⁸ En particular, las lactonas con anillo ciclodecadiénico se subdividen de acuerdo a la isomería de sus dos dobles enlaces, que pueden ser: 1(10)-*trans*, 4(5)-*cis*;

1(10)-*trans*, 4(5)-*trans*; 1(10)-*cis*, 4(5)-*trans* y 1(10)-*cis*, 4(5)-*cis*.

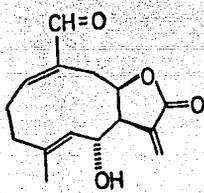
Las lactonas sesquiterpénicas han tenido interés debido a que un gran número de ellas presentan cierta actividad biológica. Por ejemplo, la actividad citotóxica y anticancerígena es atribuida a la doble ligadura exocíclica conjugada con el carbonilo de la γ -lactona.⁹ En algunas otras se ha encontrado que presentan actividad antimicrobiana,¹⁰ pero ligeras modificaciones en su estructura las hacen obsoletas en su actividad biológica. El inconveniente que han presentado es el de la toxicidad, además de que son tremendamente amargas.

La familia Compositae es de gran importancia por su abundancia y diversidad. Tiene aproximadamente 20,000 especies distribuidas en 1,400 géneros que se acomodan en 13 tribus. Una de estas tribus, la Heliantheae es la primera en diversidad, ya que contiene 2,500 especies distribuidas en 150 géneros. El género *Schkuhria* de la familia de las compuestas es miembro de la tribu Heliantheae y de la subtribu Bahiinae. El número de especies que se conocen hasta ahora son seis con algunas variedades y subvariedades.¹¹ Una de estas especies, la *Schkuhria schkuhrioides* es la especie analizada químicamente en este trabajo.

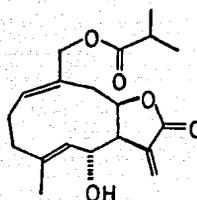
La *Schkuhria schkuhrioides* fue investigada por primera vez en 1979¹² por autores checoslovacos que analizaron esta planta mexicana aislando y caracterizando una lactona sesquiterpénica con anillo de melampólida denominada schkuhriólida ($\frac{1}{\nu}$). Tiene función aldehído sobre

el carbón C-14; fusión *cis* de la γ -lactona e hidroxilo orientado en posición α sobre el carbón C-6.

En un estudio posterior de esta especie,¹³ se encontró además de la schkuhriólida (1); a la schkuhrioidina (2) que también es una melampólida y la diferencia con la primera es la funcionalidad éster para esta última sobre el carbón C-14.

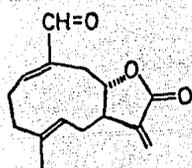


1

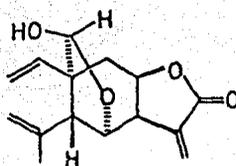


2

Recientemente fueron reportados otros constituyentes de *Schkuhria schkuhrioides*, la melampólida frutescina (3) y la eleman-schkuhriólida (4).¹⁴ La primera de ellas, a diferencia de las dos anteriores, tiene una fusión *trans* del anillo de la γ -lactona y no tiene la función hidroxilo sobre el carbón C-6. La segunda es una elemanólida con fusión *cis* de la γ -lactona y un puente hemiacetalico intramolecular formado a través de los carbonos C-6 y C-14. Esta elemanólida pertenece a la serie poco común $C_{14}\alpha, H_{5\beta}$ elemanólidas.



3



4

También se realizó la transformación de la schkuhriólida (1) a la eleman-schkuhriólida (4) mediante una reacción de Cope y una hemiacetalización intramolecular. Figura 1.

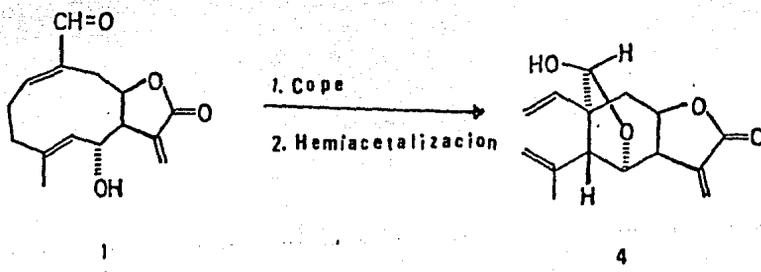


FIGURA 1

En este último estudio se pudo detectar, además de las cuatro lactonas mencionadas anteriormente, algunas otras que no fue posible caracterizar en esa ocasión, ya que presentaron una velocidad de descomposición elevada, además de que se encuentran en menor proporción. Es por eso que en este trabajo se hace la investigación detallada de estas sustancias, tomando en cuenta la alta labilidad que presentan y

tomando las precauciones necesarias para su manejo en el laboratorio.
El aislamiento y determinación de la estructura molecular de estas sustancias será el objetivo del presente trabajo.

III. Parte Teórica

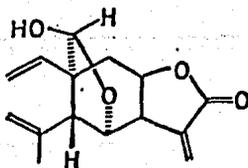
Del extracto acetónico de la parte aérea de *Schkuhria schkuhrioides* (Link & Otto) Thellung, se aislaron cinco lactonas sesquiterpénicas. Tres de ellas fueron identificadas previamente,¹⁴ y las dos sustancias restantes son dos moléculas nuevas que pertenecen al grupo de las elemanólidas. El establecimiento de la estructura y estereoquímica de estas dos moléculas será el tema de la presente discusión.

De las fracciones menos polares (fracción II, véase la parte experimental para los detalles del aislamiento), se aisló una sustancia de consistencia aceitosa, de fórmula molecular $C_{15}H_{18}O_4$ y peso molecular 262. Su espectro en el infrarrojo mostró señales de carbonilo de γ -lactona- α,β -insaturada en 1770 cm^{-1} y 1665 cm^{-1} . Su absorción a 218 nm en el espectro ultravioleta (ϵ 8130) corrobora a este grupo cromóforo. El espectro de RMN ^{13}C muestra señales para un carbonilo, tres dobles enlaces, de los cuales dos de ellos son disustituídos y uno monosustituído, tres carbonos base de oxígeno y un grupo metilo, un metileno, dos metinos y un cuaternario. Esta descripción indica que el esqueleto carbonado corresponde a un divinilciclohexano característico de las elemanólidas.¹⁴

En el espectro de RMN 1H se observan los dos dobletes del metileno exocíclico conjugado con la γ -lactona, H-13a y H-13b, centrados en 6.31 y 5.5 ppm respectivamente. En 3.61 ppm se encuentra un múltiple-

te (dddd) que corresponde al protón H-7, el cual se acopla con H-13a y H-13b, H-6 y H-8. Este último protón se observa como un multiplete en 5.22 ppm (ddd) con 9, 8, 7 Hz, debido al acoplamiento con H-9a, H-9b y H-7. El protón H-6 es base de oxígeno que se observa como un doblete centrado en 4.39 ppm por su acoplamiento con H-7 con 3.8 Hz. En la región de los protones vinílicos, además se observa una señal doble de doble (con acoplamiento de 10 y 18 Hz) y que integra para un protón la cual corresponde a H-1. La señal doble de doble que se observa en 1.74 ppm y que integra para tres protones (con acoplamiento de 1.4 y 0.8 Hz) corresponde a un metilo vinílico que está unido al carbón C-4.

De los tres carbonos base de oxígeno mencionados arriba, uno de ellos corresponde a C-8, debido al desplazamiento químico de la señal del protón a campo bajo (5.22 ppm) el cual cierra la lactona. Otro de ellos está unido a dos oxígenos, para éste se sugiere la presencia de un γ -lactol unido a este C-14 y cerrado en C-6. La estructura de esta molécula se indica en la fórmula 4. La descripción espectroscópica concuerda con al eleman-schkuhriólida (4) previamente aislada de esta misma planta.¹⁴ Su espectro infrarrojo paralelo con una muestra auténtica, confirman su identidad.

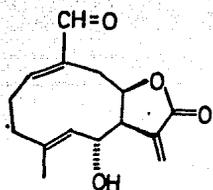


De la fracción que le sigue en polaridad (Fracción III) se aisló una sustancia de consistencia aceitosa cuya fórmula molecular es $C_{19}H_{26}O_5$ con $[\alpha]_D^{25} +86.47$ (MeOH). Su espectro de masas tiene un ión molecular en 344. Su espectro en el infrarrojo indica la presencia de una γ -lactona- α,β -insaturada y banda de hidroxilo. Su espectro de RMN 1H indica el par de dobletes en 6.24 y 5.82 ppm ($J=3$ Hz) característicos para los protones del metileno exocíclico de la γ -lactona. La señal en 2.84 ppm es un doble de doble con acoplamientos de 10 y 5.5 Hz que se asigna a H-7 y que se acopla con H-6 que aparece como un triplete centrado en 3.27 ppm con 10 Hz. El acoplamiento de H-7 con H-8 (que aparece en 4.72 ppm y $J=5.5$ Hz) indica una fusión *cis* de la γ -lactona sobre el oxígeno de este último carbón. El protón vinílico H-1 aparece como una señal compleja en 5.64 ppm por acoplamiento con los protones metilénicos de C-2. El protón que aparece en la zona de los vinílicos en 4.95 ppm como un doblete ancho, corresponde a H-5 que se acopla con H-6, el cual aparece en 4.02 ppm en forma de triplete (10 Hz) y es base de alcohol. Además se observa un sistema AB centrado en 4.53 ppm ($J=12$ Hz) que corresponde a los protones metilénicos de C-14 y que corresponden a un oximetileno alílico. Este oxígeno sobre C-14, corresponde al oxígeno esterificado por el ácido isobutírico (m/z 246). El par de dobletes centrados en 1.6 confirman esta funcionalidad. Esta descripción corresponde a la melampólida schkuhrioidina (2)¹³ aislada previamente de esta misma especie.

La tercera sustancia es la más polar de toda la serie (Fracción VI). Es un sólido cristalino de punto de fusión 160-163° y fórmula

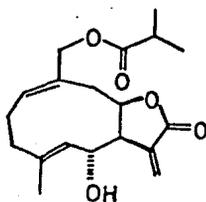
molecular $C_{16}H_{18}O_4$, $[\alpha]_D^{25} +170.8^\circ$.

Esta sustancia también es una γ -lactona sesquiterpénica de anillo decadiénico con esqueleto (al igual que la anterior) de melampólida y la diferencia con respecto a la schkuhrioidina (2) es la funcionalidad sobre el carbón C-14. En el espectro de RMN 1H aparece una señal en 9.40 ppm que corresponde a un protón aldehídico, las demás señales son similares a 2.



1

Las constantes físicas y espectroscópicas (IR, UV y RMN 1H) de esta melampólida son iguales a los de la schkuhriólida (1), que fue la primera molécula identificada en esta especie.¹² La comparación directa con una muestra auténtica estableció la identidad de la sustancia.



2

La fracción V de consistencia aceitosa, contiene además de dos sustancias homogéneas, una flavona que cristaliza en agujas en este medio y que también se aisló de la fracción IV (véase la parte experimental). Esta flavona aislada por filtración y purificada por recristalizaciones sucesivas, fue identificada como 4-metil cisilneol ó 5-hidroxi-6,7,3',4'-tetrametoxiflavona¹⁵ por comparación con los datos físicos y espectroscópicos.

Las otras dos sustancias que componen esta fracción son lábiles, producen manchas homogéneas en CCF y son de polaridad muy semejante. Al aislarse de la flavona muestran una velocidad de descomposición mayor. Esta observación indica que el flavonoide actúa como estabilizador de la mezcla (al retardar la velocidad de descomposición) y específicamente, es probable que actúe como antioxidante, como está reportado en la literatura.¹⁶

Teniendo en cuenta la labilidad de estas dos sustancias y previniendo su descomposición, la manipulación se llevó a cabo protegiéndolas de la luz, del aire y conservándolas a temperatura baja (de refrigeración). Bajo estas condiciones, la descomposición de las sustancias se inhibe casi por completo y de esta manera fue posible el análisis y la caracterización de esta fracción.

Por otra parte, debido a la similitud de la polaridad de ambas sustancias (además de su labilidad), su separación por métodos cromatográficos mostró extrema dificultad experimental.

La sustancia de menor polaridad, denominada schkuhridina A para fines descriptivos, presentó en su espectro en el infrarrojo (espectro 1) bandas de hidroxilo (3580 cm^{-1}), banda de carbonilo de γ -lactona- α , β -insaturada ($1765, 1635\text{ cm}^{-1}$) y banda de carbonilo de éster (1730 cm^{-1}). En el espectro de ultravioleta (espectro 2) presenta un máximo de absorción a 204 nm ($\epsilon 10429$), que está de acuerdo con estas asignaciones. Su fórmula y peso molecular son $\text{C}_{20}\text{H}_{28}\text{O}_6$ y 364 respectivamente, establecidos por espectrometría de masas.

De sus espectros, el que mayor información proporciona de la estructura del esqueleto es el espectro de RMN ^{13}C (espectro 3). En el espectro desacoplado totalmente (trazo inferior) se observan 20 señales, dos pertenecen a carbonilos y se encuentran en 169.82 y 174.65 ppm y continúan como singuletes en el espectro acoplado parcialmente (trazo superior); seis carbonos olefínicos en el rango $145\text{--}110$ ppm, de los cuales se observan, un doble enlace monosustituído y dos dobles enlaces disustituídos geminalmente, de acuerdo al espectro acoplado parcialmente. Se observan también cuatro carbonos base de oxígeno, comprendidos en el rango $65\text{--}80$ ppm, de los cuales tres de ellos son dobletes y el restante es un triplete observados en el espectro acoplado parcialmente. A campo alto se observan ocho señales de carbono saturados; tres metinos, un metileno, tres metilos y un carbón cuaternario. Estos datos se muestran en la tabla 1. Estas señales en conjunto indican que el esqueleto de la molécula corresponde al de las elemanólidas y un éster lateral de cinco átomos de carbono.

El espectro de RMN ^1H de la schkuhridina A (espectro 4, tabla 2), está de acuerdo con la deducción anterior y en él se observan:

- a) El par de señales características de los protones vinílicos H-13a y H-13b, centradas en 6.29 y 5.94 ppm del metileno exocíclico conjugado con el carbonilo de la γ -lactona.
- b) El sistema ABX que forman los protones vinílicos H-1 (dd, 11.5, 15 Hz), H-2a (dd, 11.5, 1.5 Hz) y H-2b (dd, 15, 1.5 Hz) centrados en 5.78, 5.16 y 5.07 ppm respectivamente.
- c) Los protones vinílicos H-3a y H-3b que aparecen como un par de singuletes amplios en 5.24 y 4.85 ppm respectivamente.
- d) El protón H-5 aparece como un doblete en 2.18 ppm ($J=11$ Hz) y está acoplado con H-6, base de hidroxilo que resuena en 3.81 ppm como un doblete de doblete ($J=11, 9$ Hz) por su acoplamiento adicional con H-7.
- e) H-7 aparece como una señal multiplete (dddd) debido al acoplamiento, además del protón H-6, con los protones H-8, H-13a y H-13b con 9, 6, 2.5, 2Hz respectivamente.
- f) El protón H-8 resuena en 4.70 ppm y también tiene una señal compleja (ddd) por acoplarse con H-7, H-9a y H-9b con 6 Hz para ambos protones.
- g) Las señales de los protones H-9a y H-9b se observan translapadas en el rango 1.85-2.30 ppm.
- h) Los protones H-15 son protones metílicos y se encuentran en 1.83 ppm como singulete amplio. Esta señal corresponde a un

metilo unido a un carbón con hibridación sp^2 .

- i) Los protones 14a y 14b aparecen en 4.33 y 4.01 ppm como dobles. Se acoplan geminalmente con 12 Hz. Su desplazamiento químico indica que son base de éster.

Además de las señales correspondientes al esqueleto sesquiterpénico, se observan las siguientes señales correspondientes al éster unido al carbón C-14:

- j) Un doblete en 4.0 ppm ($J=4$ Hz) y que integra para un protón. Corresponde al protón H-7 que es base de oxígeno.
- k) Un par de dobles en 0.99 y 0.94 ppm. Tienen una constante de acoplamiento de 7 Hz que corresponde a un gem dimetilo.

Como se indicó anteriormente, el número de carbonos correspondientes al éster son cinco y de acuerdo a ambas descripciones el éster corresponde al α -hidroxi-isovalerato. Por lo tanto, la estructura de la molécula corresponde a 5, omitiendo la estereoquímica.

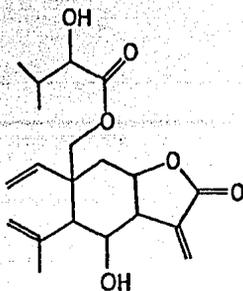
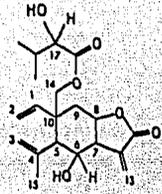
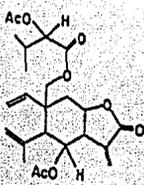
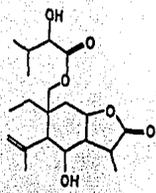


TABLA 1. RMN ^{13}C DE LA SCHKUHRIDINA A Y DERIVADOS

	Schkuhridina A (Producto Natural)	Diacetil Schkuhridina A	1,2,11,13-tetrahidro schkuhridina A
			
# de Carbon	<u>5</u>	<u>6</u>	<u>7</u>
1	142.16 (d)	142.03 (d)	31.30 (t)
2	115.58 (t)	116.59 (t)	7.86 (c)
3	114.31 (t)	114.76 (t)	117.20 (t)
4	142.33 (s)	140.21 (s)	142.43 (s)
5	56.25 (d)	54.26 (d)	56.95 (d)
6	69.72 (d)	71.04 (d)	67.99 (d)
7	46.51 (d)	45.27 (d)	46.95 (d)
8	75.04 (d)	74.99 (d)	75.13 (d)
9	33.02 (t)	32.61 (t)	32.84 (t)
10	42.20 (s)	42.44 (s)	39.66 (s)
11	138.17 (s)	137.17 (s)	41.64 (d)
12	169.82 (s)	168.89 (s)	178.72 (s)
13	123.96 (t)	123.57 (t)	11.04 (c)
14	67.27 (t)	66.85 (t)	66.23 (t)
15	25.88 (c)	24.77 (c)	23.74 (c)
16	174.65 (s)	169.72 (s)	174.73 (s)
17	75.36 (d)	76.41 (d)	77.11 (d)
18	39.11 (d)	36.58 (d)	39.20 (d)
19	15.41 (c)	15.34 (c)	15.40 (c)
20	11.67 (c)	11.43 (c)	11.67 (c)
Me		20.70	
Me		20.51	
CO		170.51	
CO		169.57	

Para corroborar las asignaciones hechas anteriormente, se hicieron los derivados acetilado (6), tetrahidrogenado (7) y el tetrahidrogenado del derivado acetilado (8), figura 2.

La acetilación en condiciones normales (piridina, anhídrido acético de la schkuhridina A (5) produce un derivado diacetilado (6) (figura 2), en cuyo espectro en el infrarrojo (espectro 5) desaparece la absorción de hidroxilo, confirmando la existencia de dos hidroxilos acetilables en el producto natural, las funciones oxigenadas son secundarias y corresponden a C-6 y C-17. Estas asignaciones se deducen al analizar el espectro de RMN ^1H del derivado diacetilado 6, (espectro 6, tabla 2) donde se observa el desplazamiento a campo bajo de H-6 (5.26 ppm, dd, 9, 11 Hz, $\Delta\delta=1.45$ ppm) y H-17 (4.83 ppm, d, 4 Hz, $\Delta\delta=0.83$ ppm). En el espectro de RMN ^{13}C de esta sustancia (espectro 7, tabla 1), se observan 24 señales: cuatro carbonilos, seis carbonos vinílicos, formando tres dobles enlaces: uno monosustituído y dos disustituídos geminalmente, cuatro bases oxigenadas, de las cuales tres son metinos y uno es metileno, un carbón cuaternario, tres metinos, un metileno y cinco metilos. Las asignaciones se establecen por comparación con el producto natural.

La hidrogenación catalítica (H_2 , Pd/C) de la schkuhridina A (5) produce el 1,2,11,13-tetrahidroderivado (7), figura 2, que posee el carbonilo del éster y el carbonilo de la γ -lactona (1760 cm^{-1} , 1725 cm^{-1} , espectro 8).

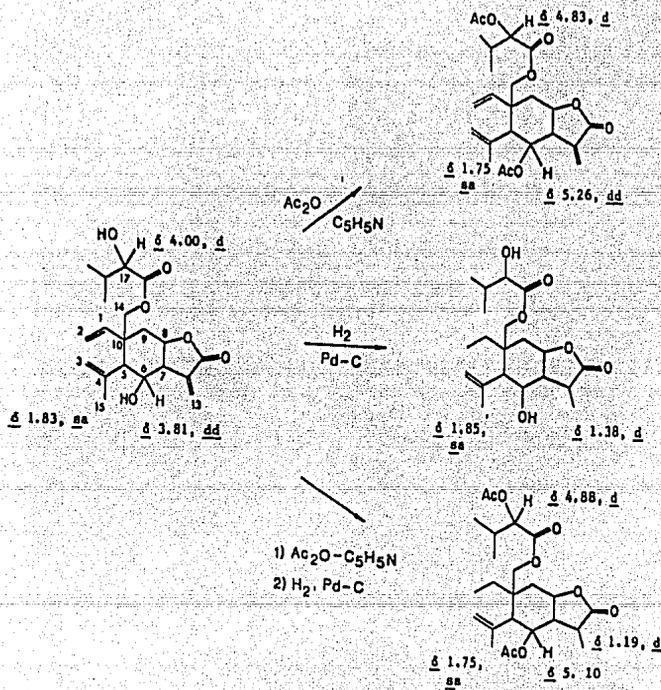
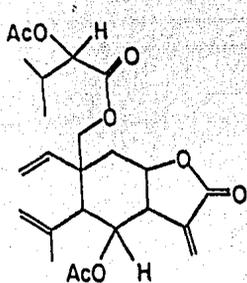
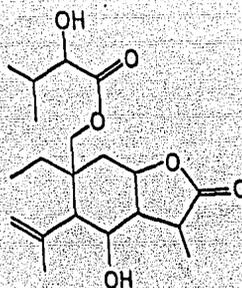


FIGURA 2



6



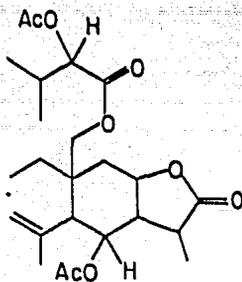
7

En el espectro de RMN ^1H de **7** (espectro 9, tabla 2) se observa la desaparición del sistema ABX de los protones H-1, H-2a, H-2b y de los dobletes de H-13a y H-13b del producto natural. En su lugar aparecen señales complejas a campo alto donde se distingue un doblete centrado en 1.38 ppm ($J=7$ Hz) del metilo formado en C-13.

Es interesante señalar que en estas condiciones de reacción, permanece el doble enlace C(3)-C(4) (5.21 ppm, 1H, sa, H-3a; 4.89 ppm, 1H, sa, H-3b; 1.85 ppm, s, 3H, H-15, tabla 2), debido a que la reacción se suspendió tan pronto como se consumió la materia prima y a la suavidad del catalizador empleado (Pd/C).

Los datos de RMN ^{13}C del tetrahydroderivado (**7**) (espectro 10, tabla 1) está de acuerdo con la estructura propuesta y las asignaciones se establecen por comparación con el espectro de RMN ^{13}C del producto natural (**5**) y del derivado acetilado (**6**).

Finalmente, la hidrogenación catalítica del derivado acetilado de la schkuhridina A (5) produce el diacetil-1(2),11(13)-tetrahydroderivado (8) en cuyo espectro en el infrarrojo (espectro 11), se observan las señales de carbonilos de éster en 1740 cm^{-1} y 1774 cm^{-1} para el carbonilo de la γ -lactona y en 1243 cm^{-1} una banda ancha para la vibración C-O característica del éster acetato. En el espectro de RMN ^1H de 8 (espectro 12, tabla 2) se aprecian los cambios descritos



8

tanto para el derivado diacetilado (6) como para el tetrahydroderivado (7) de la schkuhridina A (5), es decir, desplazamiento a campo bajo de las bases oxigenadas acetilables: H-6 (5.10 ppm, dd, 9, 11 Hz, $\Delta\delta = 1.29$ ppm) y H-17 (4.88 ppm, d, 4 Hz, $\Delta\delta = 0.88$ Hz), desaparición del sistema ABX de los protones H-1, H-2a y H-2b y de los protones vinílicos H-13a y H-13b por saturación de los dobles enlaces C(1)-C(2) y C(11)-C(13), respectivamente. A campo alto se distingue un doblete en 1.19 ppm ($J=8$ Hz) que integra para tres protones y corresponde al nuevo metilo formado en C-13. El doble enlace C(3)-C(4) permanece en 8 ya que se observan los protones vinílicos H-3a y H-3b en 5.24 y 4.85

ppm como singuletes amplios y el metilo vinílico sobre C-4 que resuena en 1.75 ppm como singulete amplio.

Hasta este momento se ha establecido la estructura de schkuhridina A (5) pero no la estereoquímica. Esta se establecerá en conjunción con la estereoquímica de la schkuhridina B, otra elemanólida novedosa de la misma fuente natural y cuya determinación estructural se describe a continuación:

Esta segunda sustancia denominada schkuhridina B, es de polaridad ligeramente mayor con respecto a la schkuhridina A (5) y es también una γ -lactona sesquiterpénica- α,β -insaturada como lo indican sus bandas en el espectro infrarrojo (espectro 13) en 1750 y 1635 cm^{-1} . El espectro en el ultravioleta tiene un máximo de absorción a 204 nm (espectro 14) (ϵ 7333). Su fórmula y peso molecular son $\text{C}_{15}\text{H}_{20}\text{O}_4$ y 264 respectivamente establecidos por espectrometría de masas.

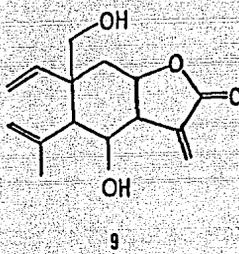
El espectro de RMN ^1H de la schkuhridina B (espectro 15, tabla 2), muestra una gran similitud con el espectro de RMN ^1H de la schkuhridina A (5) (espectro 4, tabla 2), en particular, las siguientes señales: (la numeración de los incisos es análoga a la descripción de la schkuhridina A (5)):

- a) Los dobletes de doblete de los protones vinílicos H-13a y H-13b en 6.27 ppm ($J=2.5$, 1 Hz) y 5.96 ppm ($J=2$, 1 Hz).
- b) El sistema ABX del grupo vinilo monosustituído que forman los

- protones H-1, H-2a y H-2b centrados en 5.78 (J=11.5, 15 Hz), 5.16 (J=11.5, 1.5 Hz) y 5.07 ppm (J=15, 1.5 Hz), respectivamente.
- c) Los singuletes anchos de los protones vinílicos H-3a y H-3b en 4.85 y 5.24 ppm.
 - d) La señal doble (J=11 Hz) que corresponde a H-5 que resuena en 2.18 ppm y que está acoplado con H-6 que aparece como un doblete en 3.33 ppm (J=9, 11 Hz) y es base de hidroxilo.
 - e) El protón sobre C-7 aparece como una señal compleja (dddd) centrado en 2.87 ppm con constantes de acoplamiento de 9, 6, 2.5 y 2 Hz.
 - f) La base de la lactona, H-8, resuena en 4.74 ppm y aparece como una señal múltiple (ddd, 5, 4, 3 Hz).
 - g) Las señales de los protones metilénicos en C-9 aparecen en la región de 1.80-2.35 ppm.
 - h) La señal de los protones del hidroximetileno de C-14 aparece como un singulete amplio centrado en 3.61 ppm e integra para dos protones.
 - i) Finalmente, el metilo vinílico en C-4 aparece como un singulete amplio en 1.60 ppm.

Como se deduce de esta descripción, la diferencia entre Schkuhridina A (5) y la Schkuhridina B (9), es la ausencia del residuo α -hidroxiisovaleroato en esta última.

En efecto, la hidrólisis básica de la Schkuhridina A (5), da origen a la Schkuhridina B (9), (figura 3), de acuerdo con las evidencias espectroscópicas. De esta manera se correlacionan las dos nuevas elemanólicas aisladas de *Schkuhria schkuhrioides*. Esta correlación establece la identidad de los centros quirales C-10, C-5, C-6, C-7 y C-8 en la Schkuhridina A (5) y B (9).



La estereoquímica de estos centros quirales se establece por el análisis de las constantes de acoplamiento.

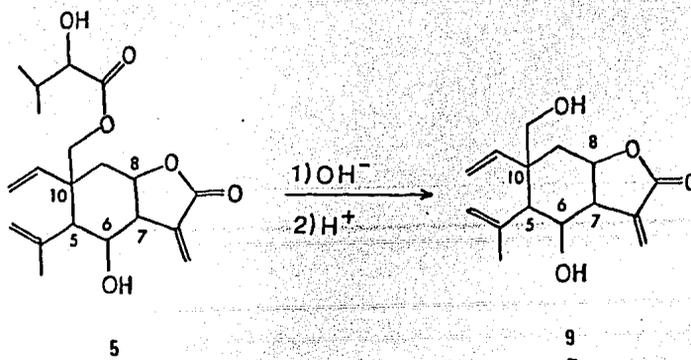


FIGURA 3

	SCHKUIRIDINA "A" (PRODUCTO NATURAL)	DIACETIL SCHKUIRIDINA "A"	1,2,11,13-TETRAHIDRO SCHKUIRIDINA A	DERIVADO ACETIL-TETRAHIDROGENADO	SCHKUIRIDINA "B" (PRODUCTO NATURAL)
* PROTON	<u>5</u>	<u>5</u>	<u>7</u>	<u>B</u>	<u>9</u>
H-1	5.78 1H <u>dd</u> (11.5 15)	5.75 1H <u>dd</u> (11 16)			5.78 1H <u>dd</u> (11.5 15)
H-2a	5.16 1H <u>dd</u> (11.5 1.5)	5.24 1H <u>dd</u> (11)			5.16 1H <u>dd</u> (11.5 1.5)
H-2b	5.07 1H <u>dd</u> (15 1.5)	5.10 1H <u>d</u>			5.07 1H <u>dd</u> (15 1.5)
H-3a	5.24 1H <u>sa</u>	4.75 1H <u>sa</u>	5.21 1H <u>sa</u>		4.85 1H <u>sa</u>
H-3b	4.85 1H <u>sa</u> $W_{1/2} = 2$ $W_{1/2} = 3$	5.01 1H <u>sa</u> $W_{1/2} = 2$ $W_{1/2} = 3$	4.89 1H <u>sa</u> $W_{1/2} = 3$		5.24 1H <u>sa</u> $W_{1/2} = 2$
H-5	2.18 1H <u>d</u> (11)	2.40 1H <u>d</u> (11)	2.25 1H <u>d</u> (11)	2.31 1H <u>d</u> (11)	2.18 1H <u>d</u> (11)
H-6	3.81 1H <u>dd</u> (9 11)	5.26 1H <u>dd</u> (9 11)	3.83 1H <u>dd</u> (9 11)	5.10 1H <u>dd</u> (9 11)	3.83 1H <u>dd</u> (9 11)
H-7	2.90 1H <u>dddd</u> (9 6 2.5 2.0)	3.00 1H <u>dddd</u> (9 6 2 2)			2.87 1H <u>dddd</u> (9 6 2.5 2)
H-8	4.70 1H <u>ddd</u> (6 6 6)	4.67 1H <u>ddd</u> (6 6 6)	4.55 1H <u>ddd</u> (5 4 3)	4.56 1H <u>ddd</u> (5 4 3)	4.74 1H <u>ddd</u> (5 4 3)
H-9	1.85-2.30 señal compleja	1.75-2.0 señal compleja			1.80-2.35 señal compleja
H-13a	6.29 1H <u>dd</u> (2.5 1)	6.20 1H <u>d</u> (2)	1.30 3H <u>d</u> (8)	1.19 3H <u>d</u> (8)	6.27 1H <u>dd</u> (2.5 1)
H-13b	5.94 1H <u>dd</u> (2 1)	5.58 1H <u>d</u> (2)			5.96 1H <u>dd</u> (2 1)
H-14a	4.33 1H <u>d</u>	4.35 1H <u>d</u> (12)	4.22 1H <u>d</u> (10)	4.32 1H <u>d</u> (12)	3.61 1H <u>sa</u> $W_{1/2} = 4$
H-14b	4.01 1H <u>d</u> (12)	3.98 1H <u>d</u> (12)	4.05 1H <u>d</u> (10)	4.00 1H <u>d</u> (12)	
H-15	1.83 3H <u>sa</u> $W_{1/2} = 3$	1.75 3H <u>sa</u> $W_{1/2} = 3$	1.85 3H <u>sa</u> $W_{1/2} = 3$	1.75 3H <u>sa</u> $W_{1/2} = 3$	1.60 3H <u>sa</u> $W_{1/2} = 3$
-OH	2.65 <u>sa</u>		2.25 <u>sa</u>		1.93-2.0 <u>sa</u>
H-17	4.0 1H <u>d</u> (4)	4.83 1H <u>d</u> (4)	4.04 1H <u>d</u> (4)	4.88 1H <u>d</u> (4)	
-Cl ₁	0.99 3H <u>d</u> (7)	0.96 3H <u>d</u> (6)	0.95 3H <u>d</u> (7)	1.01 3H <u>d</u> (7)	
-Cl ₂	0.94 3H <u>d</u> (7)	0.96 3H <u>d</u> (6)	1.05 3H <u>d</u> (7)	0.93 3H <u>d</u> (7)	
CH ₃ CO-		2.00 3H <u>sa</u> $W_{1/2} = 2$		2.12 3H <u>sa</u> $W_{1/2} = 2$	
CH ₃ CO-		2.11 3H <u>sa</u> $W_{1/2} = 2$		1.94 3H <u>sa</u> $W_{1/2} = 2$	

La constante de acoplamiento de los protones H-5 y H-6 de 11 Hz y para los protones H-6 y H-7 de 9 Hz, nos indica una disposición antiperiplanar de estos protones. Tomando en cuenta la asignación del protón H-7, de acuerdo a la convención adoptada en la representación de lactonas sesquiterpénicas,¹⁷ el hidroxilo sobre C-6 tiene una orientación alfa. Por otra parte, la constante de acoplamiento de los protones H-7 y H-8 de 6 Hz y de H-7 con H-13a de 2.5 Hz y H-13b de 2 Hz, que son menores de 3 Hz nos indican una orientación *cis* de la γ -lactona, de acuerdo a la regla de Samek modificada¹⁸ (figura 4). Por lo tanto, estas moléculas aisladas de *Schkuhria schkuhrioides* pertenecen a la serie de C₁₄ β ,H₅ α -elemánolidas.

Para confirmar la estructura y estereoquímica de las nuevas elemánolidas descritas, se procedió a correlacionarlas con alguna otra sustancia de estructura comprobada.

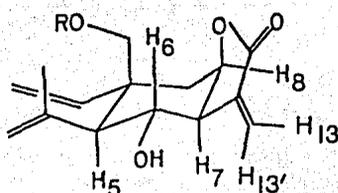
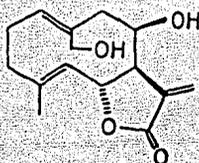


FIGURA 4

Se visualizó que la budlefina B (10), que es un producto natural aislado de varias especies de *Viguiera*,¹⁹ podría eventualmente ser

transformada a la Schkuhridina B (9) por medio de una relactonización a C-8 seguida de una reacción de Cope (figura 5).



10

Es conveniente notar que el curso estereoquímico de la reacción de Cope en 1(10)-trans, 4(5)-trans ciclodecadienos ha sido ampliamente descrito en la literatura y produce generalmente $C_{14}\beta, H_8\alpha$ -divinilciclohexanos.²⁰

Así la transformación de la budleína B (10) a la Schkuhridina B (9) procedió al tratar 10 con base y calentar la mezcla de reacción a 80°C aproximadamente (a esta temperatura ocurre la reacción de Cope).²¹ Al acidular se obtiene una mezcla de productos de la cual se aísla, por métodos cromatográficos, una sustancia que es idéntica, de acuerdo a las evidencias espectroscópicas, a la Schkuhridina B (9), aislada como producto natural de *Schkuhria schkuhrioides*.²²

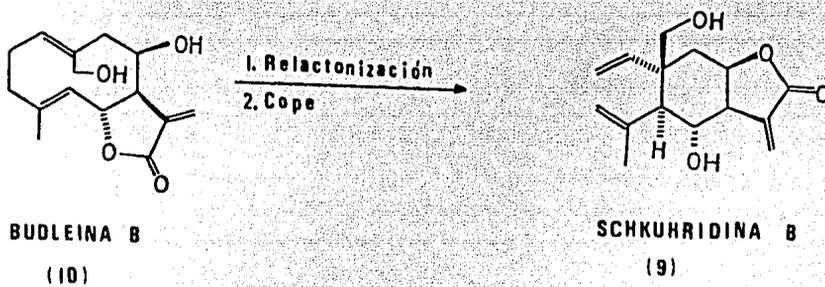


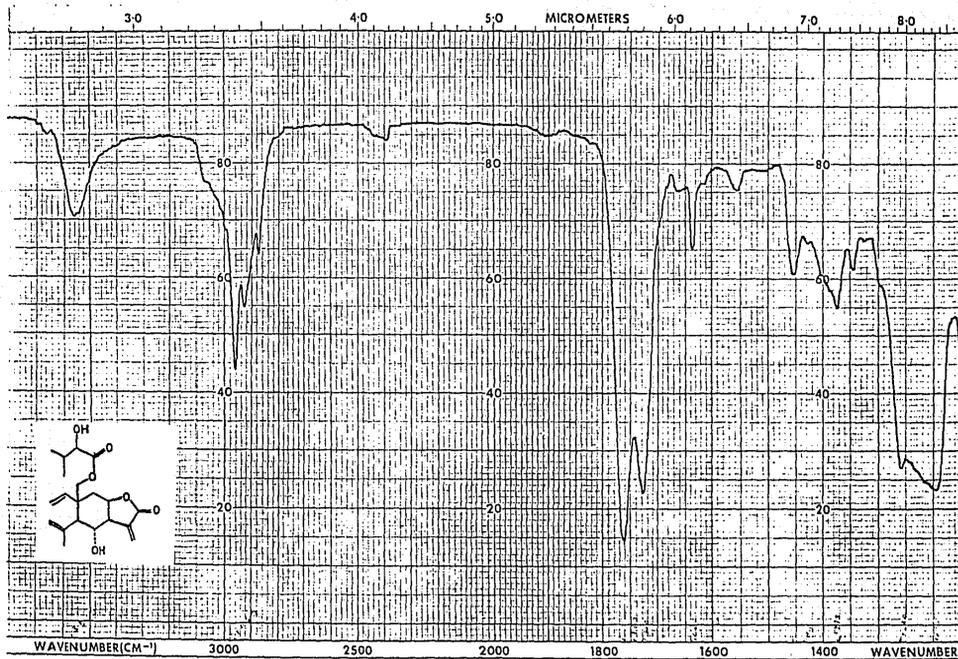
FIGURA 5

De esta manera queda confirmada la asignación de los centros quirales propuestos con anterioridad y la estructura total de las dos moléculas.

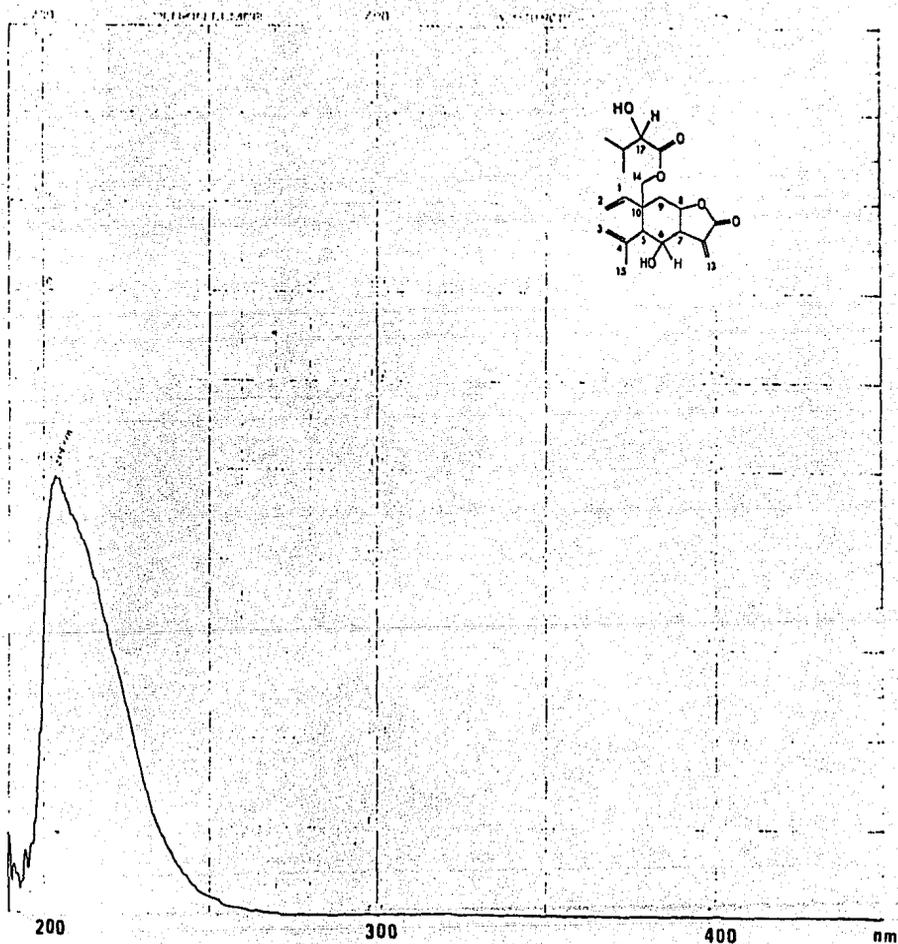
Debido a que la Schkuhrdina B (9) se sintetizó a partir de la budleína B (10), el nombre del producto natural se podría hacer derivar de esta última sustancia, que correspondería a la "elemán-allo-budleína B", por lo tanto, a la Schkuhrdina A (5) se denominaría "14(α -hidroxi-isovaleroil)-elemán-allo-budleína B".

IV. Espectros

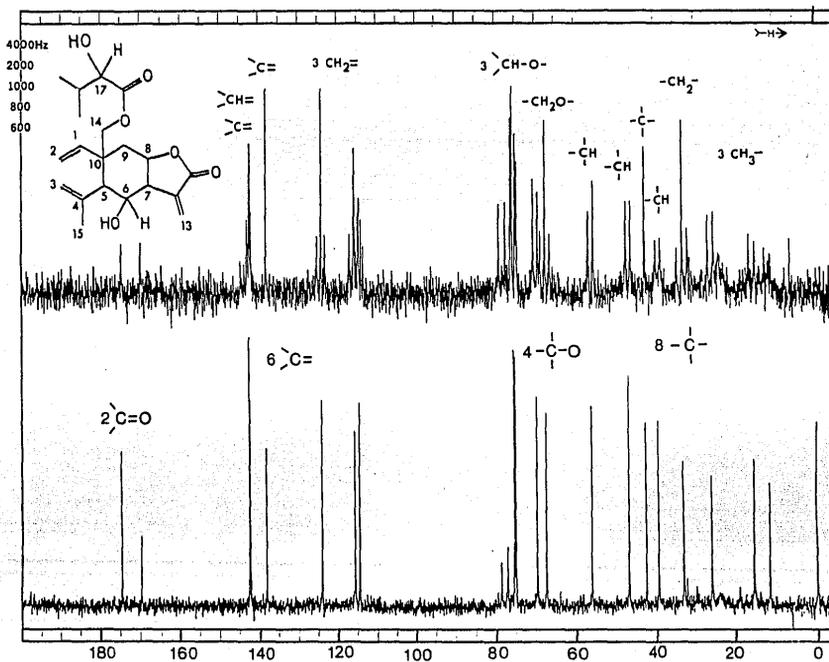
ESPECTRO I



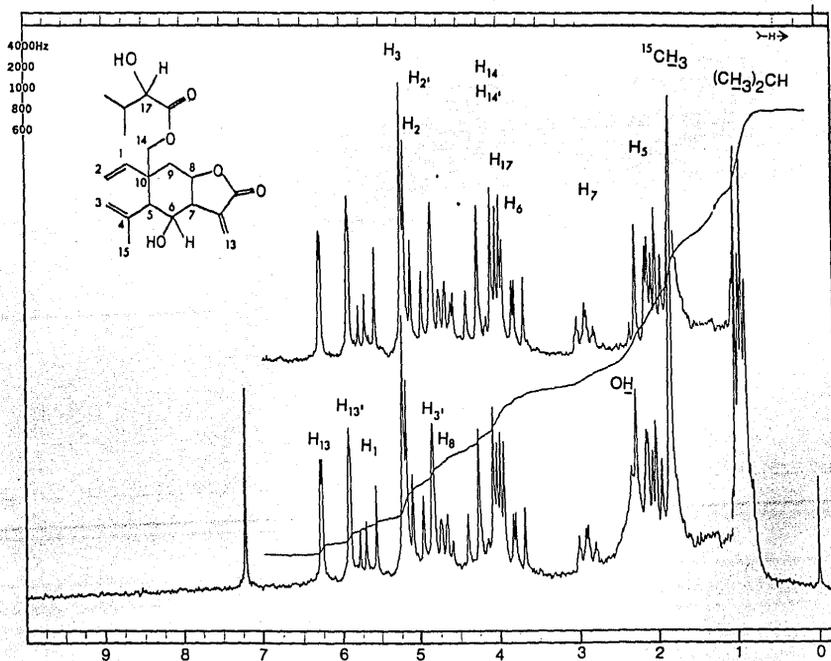
ESPECTRO 2



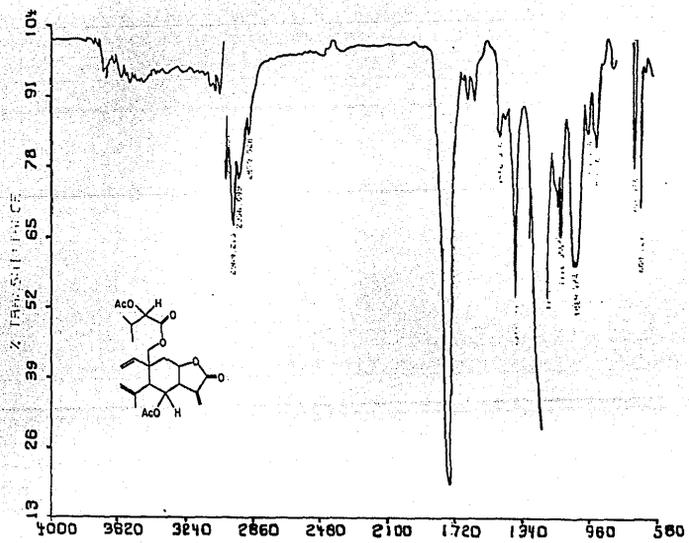
ESPECTRO 3



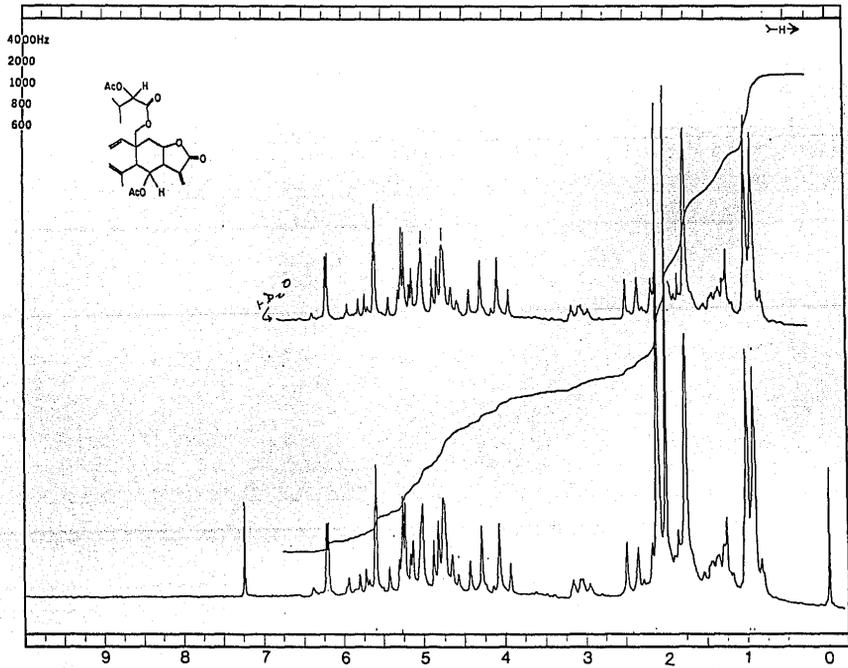
ESPECTRO 4



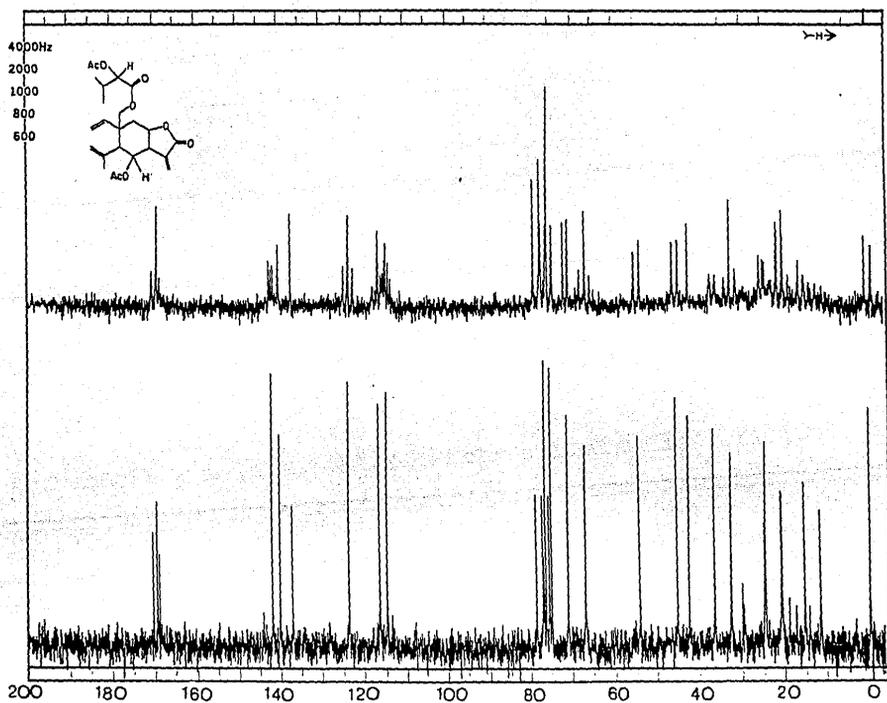
ESPECTRO 5



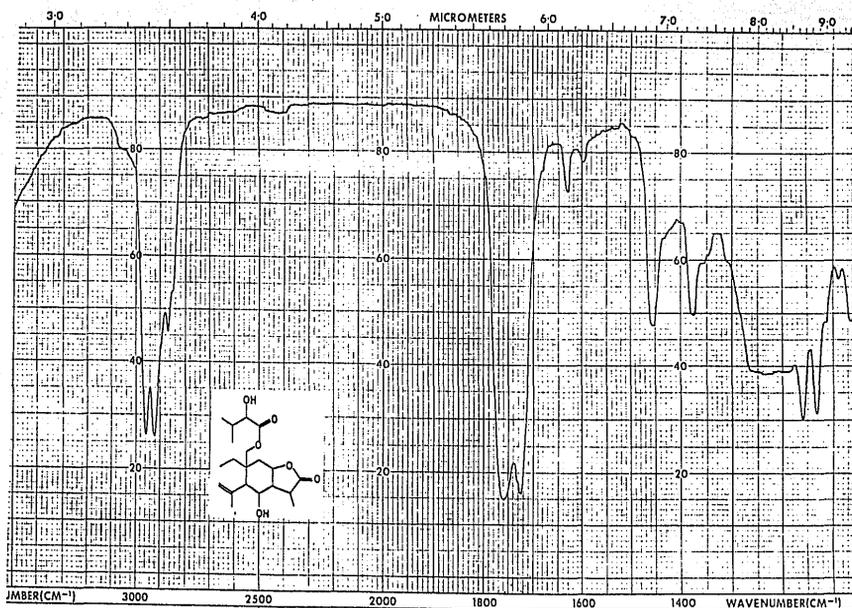
ESPECTRO 6



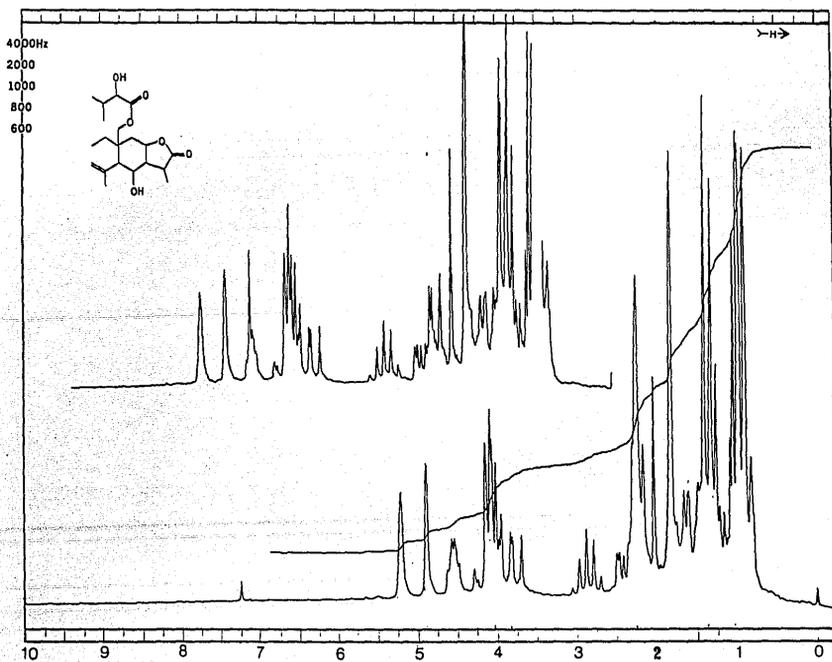
ESPECTRO 7



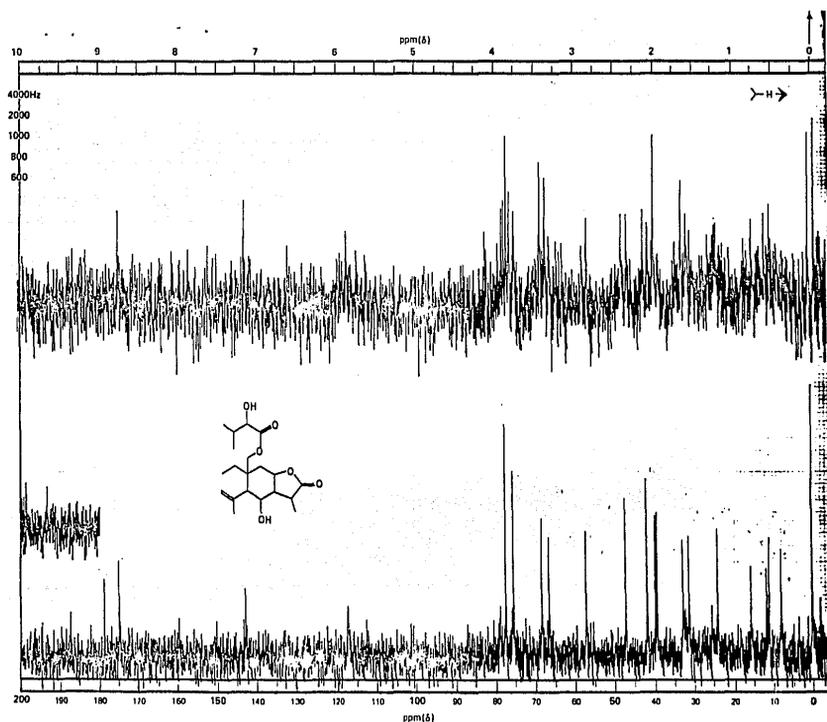
ESPECTRO 8



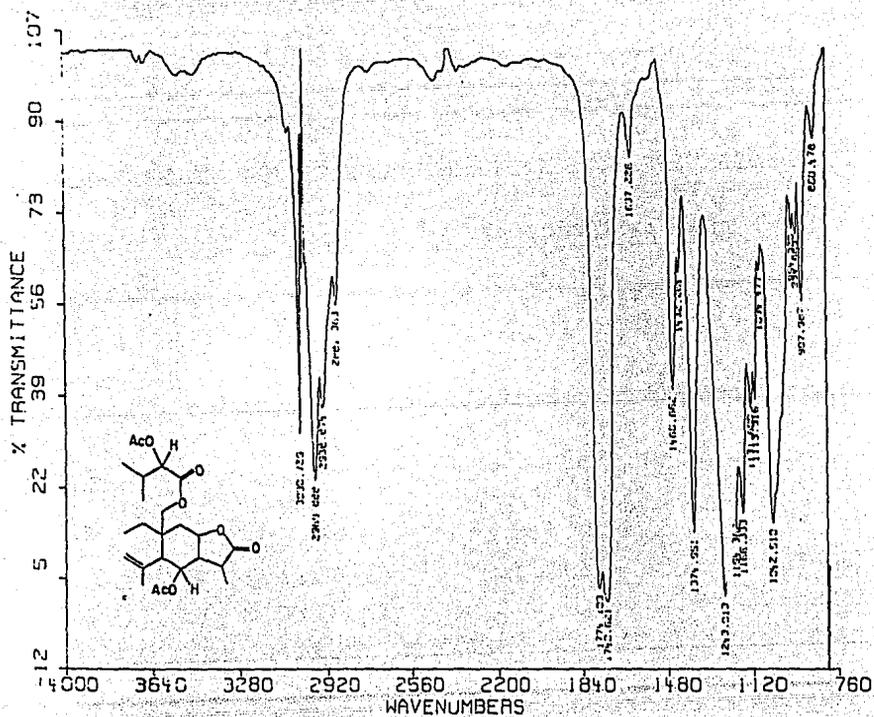
ESPECTRO 9



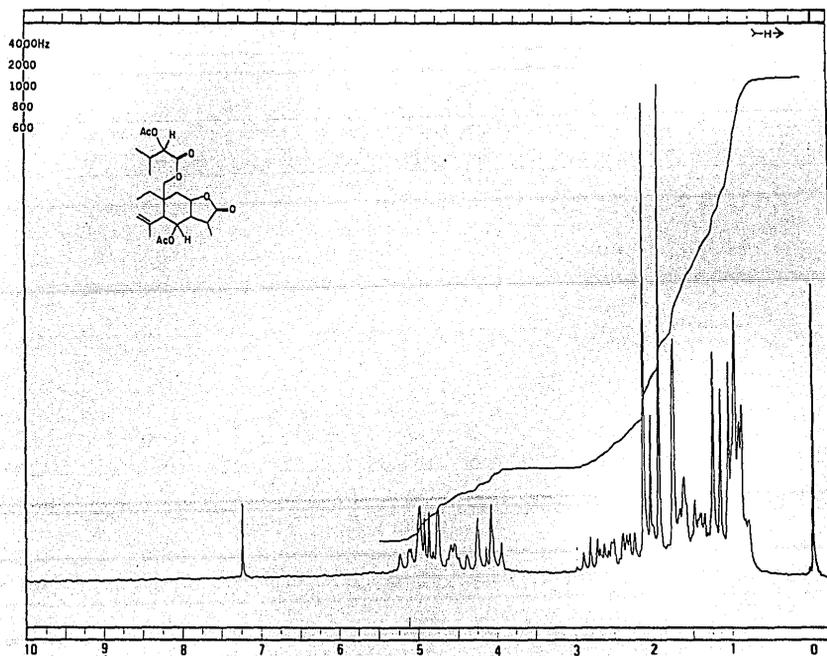
ESPECTRO 10



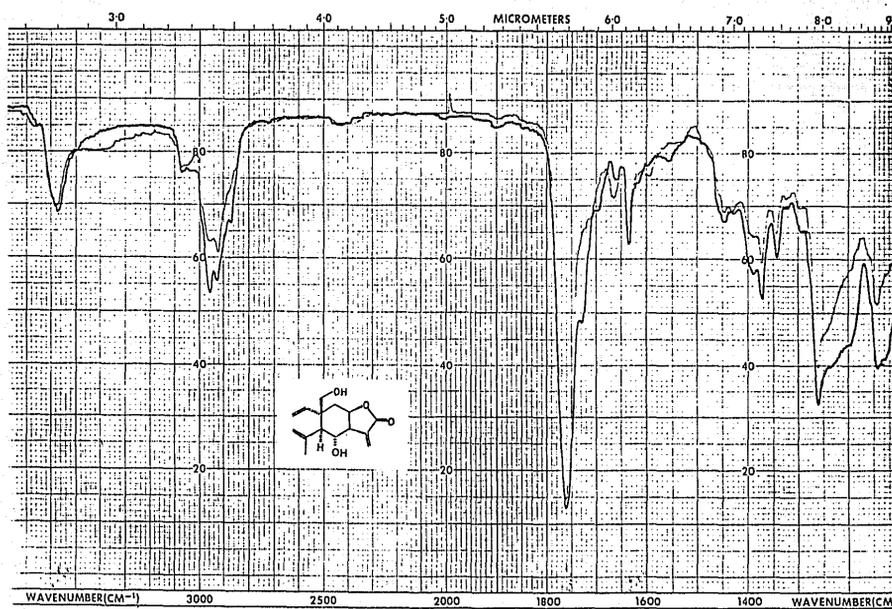
ESPECTRO II



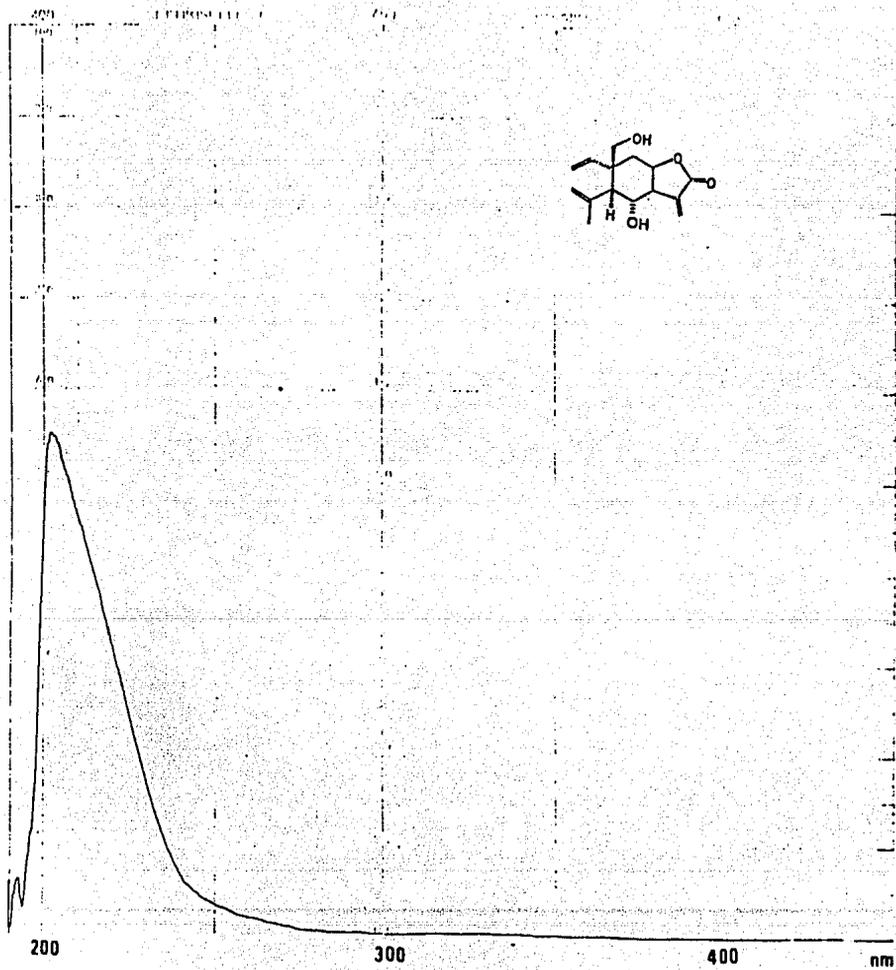
ESPECTRO 12



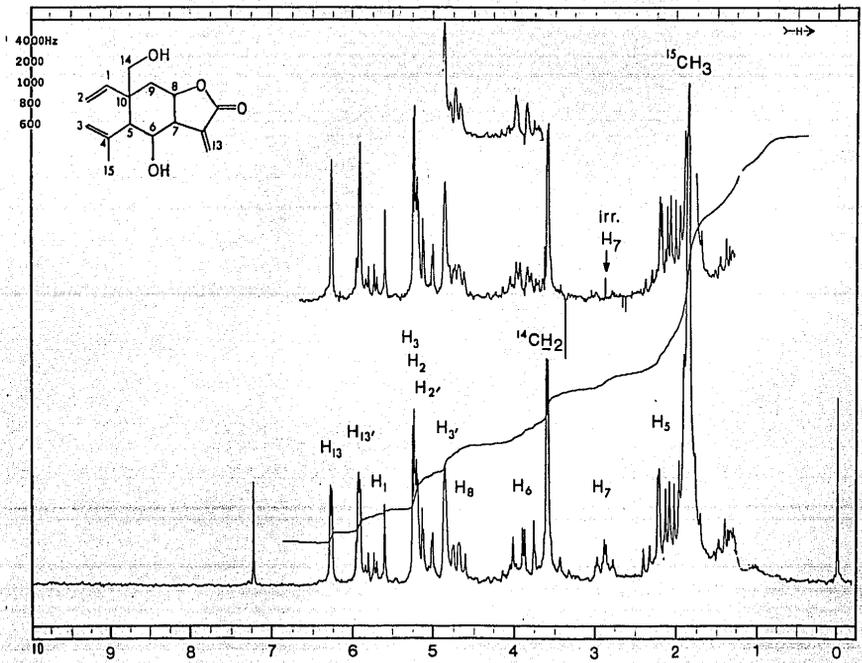
ESPECTRO 13



ESPECTRO 14



E S P E C T R O 1 5



V. Resumen

y

Conclusiones

El análisis químico de *Schkuhria schkuhrioides* tuvo como resultado el aislamiento de tres lactonas sesquiterpénicas con esqueleto de melampólida para dos de ellas, la schkuhriólida (1) y la schkuhrioidina (2). La tercera de ellas, la eleman-schkuhriólida (4), es una elemanólida perteneciente a la serie poco común $C_{14\alpha}, H_{5\beta}$ -elemanólidas. Se hace notar que la frutescina (3), una melampólida aislada en los trabajos previos de este vegetal, no fue detectada en este estudio.

También se aislaron dos nuevas lactonas sesquiterpénicas. Mediante el uso de los métodos espectroscópicos y algunas reacciones químicas, se determinó la estructura y estereoquímica de estas dos nuevas moléculas encontrándose que pertenecen a la serie $C_{14\beta}, H_{5\alpha}$ -elemanólidas. A estas dos elemanólidas se les denominó Schkuhridina A [14[α -hidroxi-isovaleroil]-eleman-allo-budleína B, (5)] y Schkuhridina B [eleman-allo-budleína B (9)] por haberse correlacionado químicamente con la budleína B (10).

Es la primera ocasión que se encuentran en plantas superiores las dos series estereoisoméricas ($C_{14\alpha}, H_{5\beta}$ y $C_{14\beta}, H_{5\alpha}$) de elemanólidas en una misma fuente natural.

VI. Parte Experimental

La planta *Schkuhria schkuhrioides* (Link & Otto) Thellung, fue recolectada en septiembre de 1984, en Lagos de Moreno, Jalisco.

18.3 Kg de la planta completa y seca se sometieron a extracción por maceración en acetona a temperatura ambiente por 3 días. Repetida la operación se obtuvieron por evaporación del disolvente, 196.5 g de extracto.

El extracto se fraccionó en columna de vidrio empacada con 3 Kg de sílica gel (malla 70-230, tamaño de partícula 0.063-0.2 mm) utilizando como eluyente inicial una mezcla de hexano-acetato de etilo (65:35) y recolectando fracciones de 500 ml, concentrándolas en rotaevaporador.

La polaridad del eluyente se aumentó gradualmente hasta acetato de etilo 100%, obteniéndose así siete fracciones numeradas como I, II, III, IV, V, VI y VII.

Las fracciones anteriores se compararon por cromatografía analítica (en cromatoplasmas de 5 x 10 cm de 0.25 mm de espesor, sílica gel 254), utilizando cuatro referencias: eleman-schkuhriólida (1), frutescina (2), schkuhriólida (3) y schkuhrioidina (4). Como eluyente de la placa se utilizó una mezcla de hexano-acetato de etilo (1:1).

La fracción I contiene grasas y ceras. Esta se desechó por no ser de interés en cuanto a metabolitos secundarios característicos.

La fracción II eluida con hexano-acetato de etilo (65:35) son 11.77 g. los cuales se aplicaron en una columna empacada con 350 g. de sílicagel y eluida con una mezcla de hexano-acetato de etilo (70:30). Las fracciones recolectadas fueron de 125 ml y se recolectaron en total 60. Las fracciones de la 20 a la 30 mostraron una mancha constante en CCF por lo que se reunieron obteniéndose 1.2 g. de residuo. Este se recromatografió en columna de vidrio empacada con 40 g. de sílica gel y usando cloroformo como eluyente.

Las fracciones 17-28 que presentaron una mancha única y constante fueron reunidas aislándose pura a la elemanschkuhriólida (1), de consistencia aceitosa e incolora. Esta sustancia se identificó por comparación directa con una muestra auténtica, presentando un Rf de 0.63 en CCF, utilizando como eluyente una mezcla de hexano-acetato de etilo (1:1) y por su color azul característico al ser revelada con sulfato cérico amoniacal.

U.V. (MeOH) $\lambda_{\text{máx}}$ 218 nm (ϵ 8130)

I.R. (CHCl₃) 3420 cm⁻¹ (hidroxilo) 1770 cm⁻¹ (carbonilo de γ -lactona- α,β -insaturada) 1665 cm⁻¹ 920 cm⁻¹ (dobles ligaduras).

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

RMN ¹H (80 MHz, CDCl₃) 6.31 ppm (H-13, 1H, d, 3.5 Hz) 5.78 ppm

(H-1, 1H, dd, 10, 18 Hz) 5.22 ppm (H-8, 1H, ddd, 9, 8, 7 Hz) 5.50 ppm (H-13, 1H, d, 3.1 Hz) 5.48 ppm (H-14, 1H, s) 5.30-4.85 ppm (complejas, H-2a, H-2b, H-3a, H-3b) 4.49 ppm (H-6, 1H, d, 3.8 Hz) 3.61 (H-7, 1H, dddd, 3.8, 9, 3.5, 3.1 Hz) 2.76 ppm (H-9, 1H, dd, 14.9, 8.4 Hz) 2.43 ppm (H-5, 1H, s) 1.74 ppm (H-15, 3H, dd, 1.4, 0.8 Hz) 1.57 ppm (H-9, 1H, dd, 14.9, 7 Hz).

E.M. m/z 263 (ionización química) (M^+ $C_{20}H_{18}O_4$, 100%), m/z 245 (M^+ $-H_2O$, 58%), m/z 235 (M^+ $-C_2H_4$, 18%), m/z 217 (M^+ $-H_2O-C_2H_4$, 30%), m/z 149 (26%), m/z 119 (44%), m/z 105 (100%).

La fracción III (6.98 g), muestra una consistencia viscosa amarillenta. La cromatoplaaca indicó que el residuo contiene schkuhrioidina (4), una lactona sesquiterpénica (melampólida) ya conocida, que comparada con una muestra auténtica presenta el mismo Rf 0.57 en hexano-acetato de etilo (1:1) y de color café rojizo al ser revelada con sulfato cérico amoniacal. Esta fracción se recromatografió en una columna empacada con 150 g de sílicagel y se eluyó con hexano-acetato de etilo (4:1), obteniéndose puras las fracciones intermedias siendo una sustancia aceitosa incolora. Su fórmula y peso molecular son $C_{19}H_{26}O_5$ y 334 respectivamente.

$[\alpha]_D^{25}$ (MeOH) + 86.43°.

U.V. λ_{max} 210 nm (EtOH 95%), (ϵ 4.03)

RMN 1H (100 MHz, $CDCl_3$) 5.64 ppm (H-1, 1H, m) 4.95 ppm (H-5, 1H, d, 10 Hz) 4.02 ppm (H-6, 1H, t, 10 Hz) 2.82 ppm (H-7, 1H, dd, 10,

5.5 Hz) 4.72 ppm (H-8, 1H, ddd, 5.5, 5.5, 12 Hz) 6.24 ppm (H-13a, 1H, d, 1.5 Hz) 5.82 ppm (H-13b, 1H, d, 1.5 Hz) 4.53 ppm (H-14, 2H, dd, 12 Hz) 1.78 ppm (H-15, 3H, sa) 3.48 ppm (-OH, sa) 1.16 ppm (Me-C-Me, da, 7 Hz).

I.R. (CHCl_3) 3500 cm^{-1} (hidroxilo), 1760 cm^{-1} (carbonilo de γ lactona), 1660 cm^{-1} (carbonilo de ester).

E.M. m/z 344 (ión molecular), m/z 43 (Me_2OH^+), m/z 246 ($\text{M}^+ - \text{C}_3\text{H}_7\text{CO}$).

La fracción IV muestra un sólido amarillo cristalino. Estos sólidos se filtraron, recrystalizaron de acetato de etilo, se secaron a vacío y dieron un peso de 105 mg. Los datos físicos (pf 190-192 de acetato de etilo, cristales en aguja y R_f 0.26 en hexano-acetato de etilo 1:1) y los datos espectroscópicos indicaron ser una flavona conocida denominada 3'-metil-circilineol. Esta flavona también cristalizó en la fracción siguiente (fracción V). De esta última fracción se separaron por filtración, se lavaron y se reunieron con los cristales anteriores dando un peso final de 120.8 mg.

I.R. (CHCl_3) $3000-3050\text{ cm}^{-1}$ (aromático), 3610 cm^{-1} (hidroxilo fenólico), 1656 cm^{-1} (carbonilo α), 2969, 2841, 1656, 1592, 1515, 1458, 1359, 1330, 1267 cm^{-1} .

RMN ^1H (80 MHz, CDCl_3) 7.56 ppm (H-6, 1H, dd, 3, 10 Hz) 7.3 ppm (H-2', 1H, d, 3 Hz) 6.93 ppm (H-5', 1H, d, 10 Hz) 6.57 ppm (H-3', 1H, s) 6.25 ppm (H-8, 1H, s) 4.0-3.85 ppm (-OMe, 12H, singuletes superpuestos).

La fracción V (10.13 g) también es un aceite amarillo muy viscoso. La cromatoplaaca analítica indicó principalmente dos sustancias de mancha homogénea, una de ellas en mayor proporción (la de menor polaridad) y con Rf muy similar: 0.507 para la menos polar y 0.433 para la más polar en hexano-acetato de etilo (1:1) y ambas manchas de color café oscuro al ser reveladas con sulfato cérico amoniacal.

La sustancia en mayor cantidad (de menor polaridad), ya había sido detectada en estudios anteriores de la planta como una γ -lactona sesquiterpénica- α,β -insaturada, pero por haberse obtenido muy poca cantidad, el estudio no continuó. Además de que los constituyentes de esta fracción muestran una gran tendencia a la descomposición, ya que el residuo aceitoso endurece a un sólido insoluble en disolventes orgánicos en un tiempo aproximado de seis días si no se le protege de la luz, el aire y el calor. Por lo tanto, el residuo se almacena en atmósfera inerte, a bajas temperaturas (0° - 5°C) y en recipientes protegidos de la luz.

Otra observación es que a mayor grado de pureza de estas sustancias presentes en esta fracción, muestran una mayor labilidad. La manipulación y transformación de estas sustancias se realizó bajo estas observaciones.

La sustancia de mayor polaridad (la de menor proporción), también es una γ -lactona- α,β -insaturada y de estructura muy similar a la anterior, de aquí que los Rf de ambas sean muy similares. Estas dos sus-

tancias fueron caracterizadas en este trabajo denominándolas schkuhridina A (5) y schkuhridina B (9) para la menos polar y la más polar, respectivamente.

Los detalles del trabajo experimental de estas dos sustancias se dará más adelante, después de describir el fraccionamiento del extracto de la planta.

La fracción VI es la fracción de mayor cantidad (26.5 g) y la penúltima del fraccionamiento del extracto. La sustancia que la compone precipita desde el momento de concentrar en el matraz bola de recolección al rotaevaporador. Todos los matraces de recolección que la contienen fueron reunidos y lavados con eter isopropílico. De las aguas de lavado siguió cristalizando, se filtraron, lavaron y reunieron con los cristales anteriores, dando en total la cantidad señalada arriba. Esta sustancia se identificó como la schkuhriólida (3), lactona sesquiterpénica ya conocida. Su identidad se estableció por comparación directa con una muestra auténtica. Presenta un Rf de 0.28 en hexano-acetato de etilo (1:1) y punto de fusión 160-163° de acetato de etilo. Su fórmula molecular es $C_{15}H_{16}O_4$. Así lo confirman sus constantes físicas.

U.V. (MeOH) $\lambda_{\text{máx}}$ 227 nm (ϵ 4.16)

I.R. ($CHCl_3$) 3550 cm^{-1} (hidroxilo) 1760 cm^{-1} (carbonilo de lactona) 1680 cm^{-1} (carbonilo de aldehído) 1660 cm^{-1} (dobles ligaduras).

RMN 1H (80 MHz, $CDCl_3$) 9.48 ppm (H-14, 1H, d, 2Hz) 6.65 ppm

(H-1, 1H, m) 6.22 ppm (H-13a, 1H, d, 1.5 Hz) 5.78 (H-13b, 1H, d, 1.5 Hz) 5.46 ppm (H-8, 1H, ddd, 6, 12, 6 Hz) 4.85 ppm (H-5, 1H, d, 10 Hz) 3.99 ppm (H-6, 1H, t, 10 Hz) 2.54 ppm (H-7, 1H, m) 1.81 ppm (H-15, 3H, d).

La fracción VII es la última del fraccionamiento del extracto, por lo tanto, la de mayor polaridad. El peso de esta fracción es de 8.3 g y en este trabajo no fue analizada detenidamente. Presenta también una consistencia aceitosa y la cromatoplaaca analítica indica una mancha uniforme de Rf. 0.164 en hexano-acetato de etilo (1:1) y un color café amarillento al ser revelada con sulfato cérico amoniacal. Se almacena en atmósfera inerte, protegida de la luz y a baja temperatura para su estudio posterior. El fraccionamiento descrito se resumen en la tabla 3.

TABLA 3. RESUMEN DEL FRACCIONAMIENTO DEL EXTRACTO DE *Schkuhria schkuhrioides**

# Fracción	# Matraz	R _f	Peso del residuo	Sustancias aisladas e identificadas
I	1-6	Muy poco polar		Ceras y grasas
II	7-12	0.16	12.77 g	Elemán-schkuhriólida
III	15-24	0.57	6.98 g	Schkuhrioidina
IV	30-33	0.36	0.1208 g	3'-Metil cirsilineol
V	35-43	0.507 0.433	10.13 g	Schkuhridina A y B
VI	47-83	0.28	26.05 g	Schkuhriólida
VII	92-112	0.16	8.3 g	

* En el extracto no se encontró frutescina (2), una γ -lactona sesquiterpénica aislada de este vegetal anteriormente.

** En hexano-acetato de etilo (1:1) y cromatoplaça de 5 x 10 cm de 0.25 mm de espesor, sílica 254.

FRACCION V. PURIFICACION E IDENTIFICACION DE LAS SUSTANCIAS CONTENIDAS

La fracción presenta una consistencia aceitosa, de color verde oscuro y tiene en suspensión unos cristales amarillos que fueron aislados de la fracción anterior a ésta (fracción IV) e identificados mediante sus constantes físicas como la flavona 3'-metil-cirsilineol,¹⁵ con un Rf de 0.36 en hexano-ácetato de etilo (1:1). Los cristales purificados por recristalización en CHCl₃, mostraron un punto de fusión de 190-192°C, se reunieron junto con los obtenidos anteriormente (fracción IV), dando un peso total de 120.8 mg.

La cromatoplaaca analítica del aceite indicó dos sustancias (una de ellas en mucho mayor proporción), ambas de polaridad muy similar y que eluyen casi con la misma velocidad.

Este residuo aceitoso descompone frente a una serie de agentes físicos tales como la luz, la temperatura y el calor, como se anotó anteriormente, por lo que su almacenaje y manipulación se realizó resguardándolo de tales agentes.

Para resolver la mezcla, se montó una columna de vidrio empacada con 300 g de sílicagel, utilizando como eluyente una mezcla de hexano-ácetato de etilo (7:3) y se recolectaron fracciones de 125 ml.

Las fracciones 13-15 presentaron una sustancia pura que no se había detectado anteriormente, posiblemente por su escasa proporción: 80 mg.

Su espectro de infrarrojo indicó ser una γ -lactona- α,β -insaturada. El estudio de esta sustancia no pudo continuar por su poca cantidad y alta labilidad.

Las fracciones siguientes, 36-44, eluyó una sustancia pura, de consistencia aceitosa e incolora, con eluyente de hexano-acetato de etilo (65:35). Dió un peso de 1.25 g.

Esta sustancia se identificó como una γ -lactona sesquiterpénica- α,β -insaturada del grupo de las elemanólidas, no conocida con anterioridad y denominada schkuhridina A [14-(α -hidroxy-isovaleroil)-eleman-allobudleína B] (V) de fórmula y peso molecular $\text{C}_{20}\text{H}_{28}\text{O}_6$ y 364 respectivamente.

U.V. (MeOH) (espectro 2) $\lambda_{\text{máx}}$ 204 nm (ϵ 10429)

$[\alpha]_{\text{D}}^{25} + 104.58$

I.R. (CHCl_3) (espectro 1) 3580 cm^{-1} (hidroxilo) 1765 cm^{-1} , 1735 cm^{-1} (carbonilo de γ -lactona- α,β -insaturada) 1730 cm^{-1} (carbonilo de éster) 1445 cm^{-1} (metilo) $980, 910\text{ cm}^{-1}$ (vinilo terminal).

RMN ^1H (80 MHz, CDCl_3) (espectro 4) 5.78 ppm (H-1, dd, 11.5, 15 Hz) 5.16 ppm (H-2a, 1H, dd, 11.5, 1.5 Hz) 5.07 ppm (H-2b, 1H, dd, 15, 1.5 Hz) 5.24 ppm (H-3a, 1H, sa, $W_{\frac{1}{2}}=2$ Hz) 4.85 ppm (H-13b, 1H, sa, $W_{\frac{1}{2}}=3$ Hz) 2.18 ppm (H-5, 1H, d, 11 Hz) 3.81 ppm (H-6, 1H, dd, 9, 11 Hz) 2.90 ppm (H-7, 1H, dddd, 9, 6, 2.5, 2.0 Hz) 4.70 ppm (H-8, 1H, ddd, 6, 6, 6 Hz) 4.00 ppm (H-17, 1H, d, 4 Hz) 6.29 ppm (H-13a, 1H, dd, 2.5, 1 Hz) 5.94 ppm (H-13b, 1H, dd, 2, 1 Hz) 4.33 ppm (H-14a, 1H, d, 12 Hz)

4.01 ppm (H-14b, 1H, d, 12 Hz) 1.83 ppm (H-15, 3H, sa, $W_{\frac{1}{2}} = 3$ Hz).

E.M. (Ionización química) m/z 365 ($M^+ + 1$, 1%) m/z 332 ($M^+ - C_3H_7$, 1%) m/z 329 ($M^+ - H_2O$, 1%) m/z 248 ($M^+ - C_5H_9O_3$, 100%).

RMN ^{13}C ($CDCl_3$) (espectro 3) ver tabla 1.

De las fracciones siguientes, 49-51, eluyó mezclada la lactona que se describió anteriormente, schkuhrina A (5), junto con otra que posteriormente se identificó al eluir pura en las últimas fracciones. Después de ser decolorada con carbón activado se obtuvieron puros 15 mg. El espectro infrarrojo de esta fracción indicó ser una γ -lactona- α,β -insaturada, por lo que la purificación de las fracciones 45-91 se intentó de nuevo.

Con el objeto de disponer de más muestra pura de esta última sustancia, se trató de resolver la mezcla de las fracciones 45-91 repitiendo la cromatografía en columna empacada con 60 g de sílicagel y de eluyente, una mezcla de hexano-acetato de etilo (7:3) y recolectando fracciones de 50 ml. La elución de la columna no resolvió la mezcla, ésta siempre eluyó tal cual, recuperándose 1.2 g de mezcla.

Debido a que no se obtuvo éxito en la separación de la mezcla anterior, se optó por separarlas por cromatografía en columna empacada con 40 g de sílicagel impregnada con 4.6 g de nitrato de plata, disueltos en 50 ml de agua y activada con calentamiento. Los ensayos previos de elución de una muestra de la mezcla en CCF, impregnada con nitrato de plata por aspersión de la solución anterior y eluída con una mezcla de hexano-

acetato de etilo (1:1), indicaron una mayor resolución de las dos manchas.

La columna se eluyó con una mezcla de hexano-acetato de etilo (3:1) y las fracciones recolectadas fueron de 50 ml.

Las fracciones 17-31 de esta columna tiene pura a la schkuhridina A (5), de menor polaridad. En todas las demás fracciones, eluyeron mezcladas las dos sustancias excepto en las dos últimas. Se recuperaron 0.4644 g de la mezcla (fracciones 32-90). La última sustancia se caracterizó como una γ -lactona- α,β -insaturada (del grupo de las elemanólidas) de fórmula y peso molecular $C_{15}H_{20}O_4$ y 264 respectivamente, denominada schkuhridina B (9).

$$[\alpha]_D^{20} + 60.54$$

U.V. (MeOH) (espectro 14) $\lambda_{\text{máx}}$ 204 nm (ϵ 8872)

I.R. ($CHCl_3$) (espectro 13) 3570 cm^{-1} (hidroxilo) 1760 cm^{-1} (carbonilo de γ -lactona- α,β -insaturada) 1635 cm^{-1} (dobles ligaduras).

RMN 1H (80 MHz, $CDCl_3$) (espectro 15) 5.78 ppm (H-1, 1H, dd, 11.5, 15 Hz) 5.16 ppm (H-2a, 1H, dd, 11.5, 1.5 Hz) 5.07 ppm (H-2b, 1H, dd, 15, 1.5 Hz) 4.85 ppm (H-13a, 1H, sa, $W_{\frac{1}{2}}=3$ Hz) 5.24 ppm (H-3b, 1H, sa, $W_{\frac{1}{2}}=2$ Hz) 2.18 ppm (H-5, 1H, d, 11 Hz) 3.83 ppm (H-6, 1H, dd, 9, 11 Hz) 2.87 ppm (H-7, 1H, dddd, 9, 6, 2.5, 2 Hz) 4.74 ppm (H-8, 1H, ddd, 5, 4, 3 Hz) 1.8-2.35 ppm (H-9, señal compleja) 6.27 ppm (H-13a, 1H, dd, 2.5, 1 Hz) 5.96 ppm (H-13b, 1H, dd, 2, 1 Hz) 3.61 ppm (H-14, 2H, sa, $W_{\frac{1}{2}}=4$ Hz) 1.60 ppm (H-15, 3H, sa, $W_{\frac{1}{2}}=3$ Hz) 1.93-2.0 ppm (protones

hidroxílicos, sa).

OBTENCION DE LA 1(2),11(13)-TETRAHIDRO-SCHKUHRIDINA A.

7.0 mg de catalizador (paladio adsorbido en carbón) se suspendieron en 5 ml de acetato de etilo en un matraz bola de 25 ml. Se mantuvieron en agitación continua bajo una atmósfera de hidrógeno a temperatura ambiente por una hora, al adquirir el catalizador una consistencia grumosa. 46.9 mg de la sustancia disuelta en 5 ml de acetato de etilo se añadió a la suspensión anterior. Se dejaron reaccionar con agitación continua y bajo atmósfera de hidrógeno a las mismas condiciones. El curso de la reacción se siguió por CCF y al cabo de 3 horas ya había reaccionado toda la materia prima, por lo que la reacción se dio por concluida.

El producto de hidrogenación tiene el mismo Rf que la materia prima, pero de diferente color (más claro) al revelar la placa con sulfato cérico amoniacal.

El producto se extrajo por filtración por columna empacada con celita, se evaporó el disolvente obteniéndose 44.1 mg de un aceite incoloro.

I.R. (CHCl_3) (espectro 8) 3510 cm^{-1} (hidroxilo), $2900\text{-}3000 \text{ cm}^{-1}$ (cadena hidrocarbonada), 1760 cm^{-1} (carbonilo de γ -lactona), 1725 cm^{-1} (carbonilo de éster).

RMN ^1H (80 MHz, CDCl_3) (espectro 9) 5.21 ppm (H-3a, 1H, sa, $W_{\frac{1}{2}}$ =

3 Hz) 4.89 ppm (H-3b, 1H, sa, $W_{\frac{1}{2}}=3$ Hz) 2.25 ppm (H-5, 1H, d, 11 Hz)
 3.83 ppm (H-6, 1H, dd, 9, 11 Hz) 4.55 ppm (H-8, 1H, ddd, 5, 4, 3 Hz)
 4.04 ppm (H-17, 1H, d, 4 Hz) 1.38 ppm (H-13, 3H, d, 8 Hz) 4.22 ppm
 (H-14a, 1H, d, 10 Hz) 4.05 ppm (H-14b, 1H, d, 10 Hz) 1.85 ppm (H-15,
 3H, sa, $W_{\frac{1}{2}}=3$ Hz) 2.25 ppm (2 -OH, sa) 0.95 ppm (H-19, 3H, d, 7 Hz),
 1.05 ppm (H-20, 3H, d, 7 Hz).

OBTENCION DEL DIACETIL DERIVADO DE LA SCHKUHRIDINA A.

221.3 mg de schkuhridina A ($\sqrt{5}$) se disolvieron en 2 ml de piridina y 2.5 ml de anhídrido acético, dejándose reaccionar con agitación continua y temperatura ambiente. El curso de la reacción se siguió por CCF y al cabo de 4 horas ya había reaccionado toda la materia prima, por lo que se dio por terminada la reacción. Se agregaron 5 g de hielo picado y se continuó la agitación por 30 minutos. El producto se diluyó con 10 ml de agua y se extrajo 3 veces con volúmenes de 25 ml de acetato de etilo cada vez, separándose en cada ocasión dos fases.

La fase orgánica se reunió y se lavó 5 veces con volúmenes de 20 ml de ácido clorhídrico al 10%. Enseguida se hicieron 2 lavados de 5 ml cada uno con una solución saturada de bicarbonato de sodio. Posteriormente se lavó 2 veces con volúmenes de 10 ml de agua. Se secó con sulfato de sodio anhidro y se concentró. El producto se purificó por cromatografía en columna de vidrio empacada con 8 g de sílicagel y eluida con hexano-acetato de etilo (7:3) y recolectando fracciones de 10 ml. Se obtuvieron 102.5 mg de producto como aceite incoloro.

I.R. (CHCl_3) (espectro 5) 1744 cm^{-1} (carbonilo de γ -lactona- α,β -insaturada), 1370 cm^{-1} (éster), 1239 cm^{-1} (éster de acetato), 1194 cm^{-1} (carbonilo de éster), 1602 cm^{-1} (dobles ligaduras).

RMN ^1H (80 MHz, CDCl_3) (espectro 6) 5.75 ppm (H-1, 1H, dd, 11, 16 Hz) 5.24 ppm (H-2a, 1H, d, 11 Hz) 5.10 ppm (H-2b, 1H, d, 16 Hz) 4.75 ppm (H-3a, 1H, sa, $W_{\frac{1}{2}}=2$ Hz) 5.01 ppm (H-13b, 1H, sa, $W_{\frac{1}{2}}=3$ Hz) 2.40 ppm (H-5, 1H, d, 11 Hz) 5.26 ppm (H-6, 1H, dd, 9, 11 Hz) 3.06 ppm (H-7, 1H, dddd, 9, 6, 2, 2 Hz) 4.67 ppm (H-8, 1H, ddd, 6, 6, 6 Hz) 1.75-2.0 ppm (H-9, señal compleja) 6.20 ppm (H-13a, 1H, d, 2 Hz) 5.58 ppm (H-13b, 1H, d, 2 Hz) 4.35 ppm (H-14a, 1H, d, 12 Hz) 3.98 ppm (H-14b, 1H, d, 12 Hz) 1.75 ppm (H-15, 3H, sa, $W_{\frac{1}{2}}=3$ Hz) 0.96 ppm (H-19, H-20, 6H, d, 6 Hz) 2.00 ppm (MeCO- , 3H, sa, $W_{\frac{1}{2}}=2$ Hz) 2.11 ppm (MeCO- , 3H, sa, $W_{\frac{1}{2}}=2$ Hz).

OBTENCION DE LA 1(2),11(13)-TETRAHIDRO-DIACETIL SCHKUHRIDINA A.

7 mg de catalizador (paladio adsorbido en carbón) se suspendieron en 5 ml de acetato de etilo. Mediante agitación continua se mantuvieron una hora bajo atmósfera de hidrógeno y temperatura ambiente. 0.1025 g del acetilderivado disueltos en 5 ml de acetato de etilo se añadieron a la suspensión anterior y se dejaron reaccionar con agitación continua y atmósfera de hidrógeno bajo las mismas condiciones. El curso de la reacción se siguió por CCF y al cabo de 3 horas ya había reaccionado toda la materia prima. La reacción se dio por terminada.

El producto se filtró por columna empacada con 0.5 g de celita, se

evaporó el disolvente obteniéndose 0.0980 g de producto impuro.

El producto se purificó por cromatografía en columna empacada con 8 g de sílicagel y como eluyente, una mezcla de hexano-acetato de etilo (75:25), obteniéndose 0.0877 g del producto puro, como un aceite incoloro: $C_{24}H_{36}O_8$.

I.R. ($CHCl_3$) (espectro 11) 2969 cm^{-1} (metilos, metilenos) 1774 cm^{-1} (carbonilo de γ -lactona) 1740 cm^{-1} (carbonilo de éster) 1460 , 1374 cm^{-1} (metilos).

E.M. m/z 43 (100%) m/z 69 (32%) m/z 69 (32%) m/z 129 (24%) m/z 157 (22%) m/z 452 (0.2%).

RMN 1H (80 MHz, $CDCl_3$) (espectro 12) 2.31 ppm (H-5, 1H, d, 11 Hz) 5.10 ppm (H-6, dd, 9, 11 Hz) 4.56 ppm (H-8, 1H, ddd, 5, 4, 3 Hz) 1.75 ppm (H-15, 3H, sa, $W_{\frac{1}{2}}=3\text{ Hz}$) 1.01 ppm (H-19, 3H, d, 7 Hz) 0.93 ppm (H-20, 3H, d, 7 Hz) 2.12 ppm (acetato, 3H, sa, $W_{\frac{1}{2}}=2\text{ Hz}$) 1.94 ppm (acetato, sa, $W_{\frac{1}{2}}=2\text{ Hz}$).

HIDROLISIS DE SCHKUHRIDINA A

144 mg de sustrato se disolvieron en 10 ml de una solución metanólica de hidróxido de sodio (0.8 g en 10 ml) y se refluaron por 45 minutos. Al finalizar el reflujo se añadieron 20 ml de agua fría y se destiló el metanol, se llevó a pH ácido (alrededor de tres) y se neutralizó con bicarbonato. Se hicieron tres extracciones sucesivas con 20 ml de acetato de etilo cada una. La fase orgánica se reunió y secó

con sulfato de sodio anhidro y se concentró. La cromatoplaaca analítica indicó tres productos solubles además de un cuarto que precipita. De los tres solubles, el de menor polaridad presenta el mismo Rf al del producto natural schkuhridina B (9), aislado de *Schkuhria schkuhrioides*.

La mezcla fue resuelta por placa preparativa de 10 x 20 cm y eluida una vez con hexano-acetato de etilo (3:2), obteniéndose 32 mg del producto menos polar, de consistencia aceitosa e incolora.

La espectroscopía de este producto de hidrólisis concuerda con la espectroscopía del producto natural.

VII. Bibliografīa

1. Burbago, L. y Wells, J. Plantas Medicinales: Incremento de las perspectivas en la Industria Farmacéuticas. Forum de Consorcio Internacional 19, 26 (1983).
2. Heywood, V. H., Turner, B. L. and Harborne J. B. (Editores). The Biology and Chemistry of the Compositae. Vol. 1, Academic Press, 1977.
3. Bullock, J. D., Biosíntesis de Productos Naturales U.R.M.O., Bilbao (1969).
4. Rodríguez, E., Sesquiterpene Lactones: Chemotaxonomy, Biological Activity and isolation. Rev. Latinoamericana de Química 8, 56 (1977).
5. Romo de Vivar, A. Productos Naturales de la Flora Mexicana. Ed. Limusa, 1ra. Edición, 1985.
6. Geissman, T. A. Terpenoids, Structure, Biogenesis and Distribution. Recent Advances in Phytochemistry Vol 6, Academic Press, London, 1973.
7. Geissman, T. A. and Crout, D. H. G., Organic Chemistry of Secondary Plant Metabolism, Freeman-Coopes, San Francisco, 1969.
8. Fisher, N. H., Olivier, E. J. and Fisher, 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. 38, 51 (1979).
9. Hanson, R. L., Lardy H. A. and Kupchan, S. M. Science, 168, 378

- (1970).
10. Mathur, S. B., García T., Fermin, C. M. and Mora A. V. Terpenoids of *Makania monogasensis* and their biological activities. Rev. Latinoamericana de Química **6**, 201 (1975).
 11. Heiser, C. B. Jn. Ann. Mo. Bot. Gard. **32**, 265 (1945).
 12. Samek, Z., Holub, M., Bloszyk, F., Drozd, B. Z. Chem. **19**, 449, (1979).
 13. Romo de Vivar, A., León, C. and Delgado, G. 11-13-Dehydroeriolin, Schkuhrioidin and Schkuhriolid, Germacranolides from *Schurria* species. Phytochemistry **21**, 2905 (1982).
 14. Delgado, G., Hernández, H. and Romo de Vivar, A. Structure of Elemanschuhriolide. Melampolides as Possible Biogenetic Precursors of $C_{14}H_{16}$ Elemanolides. Journal of Organic Chemistry **49**, 1944 (1984).
 15. Fraser, A. W. and Lewis, J. R. Flavonoids from *Merrillia caloxylon*. Phytochemistry **13**, 1561 (1974).
 16. a) Dziedzic, S. Z., Hudson, J. F. B. Hydroxy isoflavones as Antioxidants for Edible Oils. Food Chem. **11**, 161 (1983).
b) Dziedzic, S. Z., Hudson, J. F. R. Polyhydroxy chalcones and Flavanones as Antioxidants for Edible Oils. Food Chem. **12**, 205 (1983).
 17. Hendrickson, J. B. Sesquiterpenes IV. Conformational Analysis in the Perhydroazulenic Sesquiterpenes. Tetrahedron **19**, 1387 (1963).
 18. Herz, W., Bhat, S. V. and Sudarsanam, V. Sesquiterpenes Lactones and Flavones of *Iva frutescens*. Phytochemistry **11**, 1829 (1972).
 19. Romo de Vivar, A., Guerrero, C., Díaz, E., Bratoeff, E. A. and Jimenez, L. The Germacranolides of *Viguiera buddleiaeformis*.

- Structures of Budleina A and B. Phytochemistry **15**, 525 (1976).
20. Ken'ichi Takeda. Stereospecific Cope Rearrangement of the Germacrano-type Sesquiterpenes. Tetrahedron **30**, 1525 (1974).
 21. Guerrero, C., Roche, P., Rosas, N. y Tabaoda J. Algunos Derivados de las Budleínas A y B y Actividad Citológica en dos líneas Celulares de la Sustancia A. Rev. Latinoamericana de Química **10**, 145 (1979).
 22. Delgado, G., Comunicación Personal