



# Universidad Nacional Autónoma de México

Escuela Nacional de Estudios Profesionales Zaragoza

" COMPONENTES QUIMICOS DE Tephrosia major Midieli "

T E S I S

Que para obtener el Título de

**QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO**

P r e s e n t a

**MIGUEL ANGEL AGUILAR DELGADILLO**



México, D. F.

1984



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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

## Contenido.

- I. Introducción.
- II. Fundamento del Tema.
- III. Planteamiento del problema.
- IV. Objetivos e hipótesis.
- V. Material.
- VI. Método.
- VII. Desarrollo.
- VIII. Discusión.
- IX. Resumen y Conclusiones.
- X. Lista de espectros.
- XI. Bibliografía.

## I. Introducción.

México es conocido en todo el mundo como un país de gran riqueza y diversidad botánica, el cual gracias a sus circunstancias geográficas permite en su medio, un crecimiento abundante y espontáneo de casi cualquier planta, lo cual le favorece para desarrollarse en el campo farmacobotánico.

" El catálogo de plantas mexicanas útiles en terapéutica " presentado en la Exposición Internacional de París en el año de 1889, fué uno de los pasos importantes para que México se iniciara en la investigación científica desarrollando una institución de altos estudios médicos, el cual fué el Instituto Médico Nacional. Desde entonces se ha despertado un gran interés por las plantas de México, tanto por investigadores nacionales como extranjeros, estos últimos llevarón a cabo la explotación de plantas de la familia de las Dioscoreas, lo cual permitió elaborar hormonas sexuales semisintéticas.

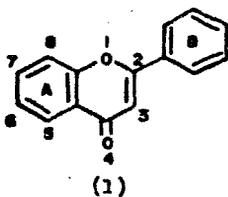
Dentro del estudio del área fitoquímica se han venido destacando un grupo de compuestos fenólicos, los flavonoides, los cuales cuentan con una gran cantidad de informes farmacológicos y son muy abundantes en las siguientes familias de plantas: Poligoláceas, Rutaceas, Umbelíferas, Compuestas y Leguminosas.

Dentro de la familia de las Leguminosas, el género Tephrosia, es un grupo de plantas que cuenta con aproximadamente 400 especies, 50 de las cuales se encuentran en México. Actualmente este género ha sido poco estudiado en nuestro país y considerando las aplicaciones prácticas que pudieran tener algunas de estas plantas, el Instituto de Química de la U.N.A.M. está contribuyendo al estudio químico de estas, en el presente trabajo se describe el estudio químico de la planta Tephrosia major Willd.

## II. Fundamento del tema.

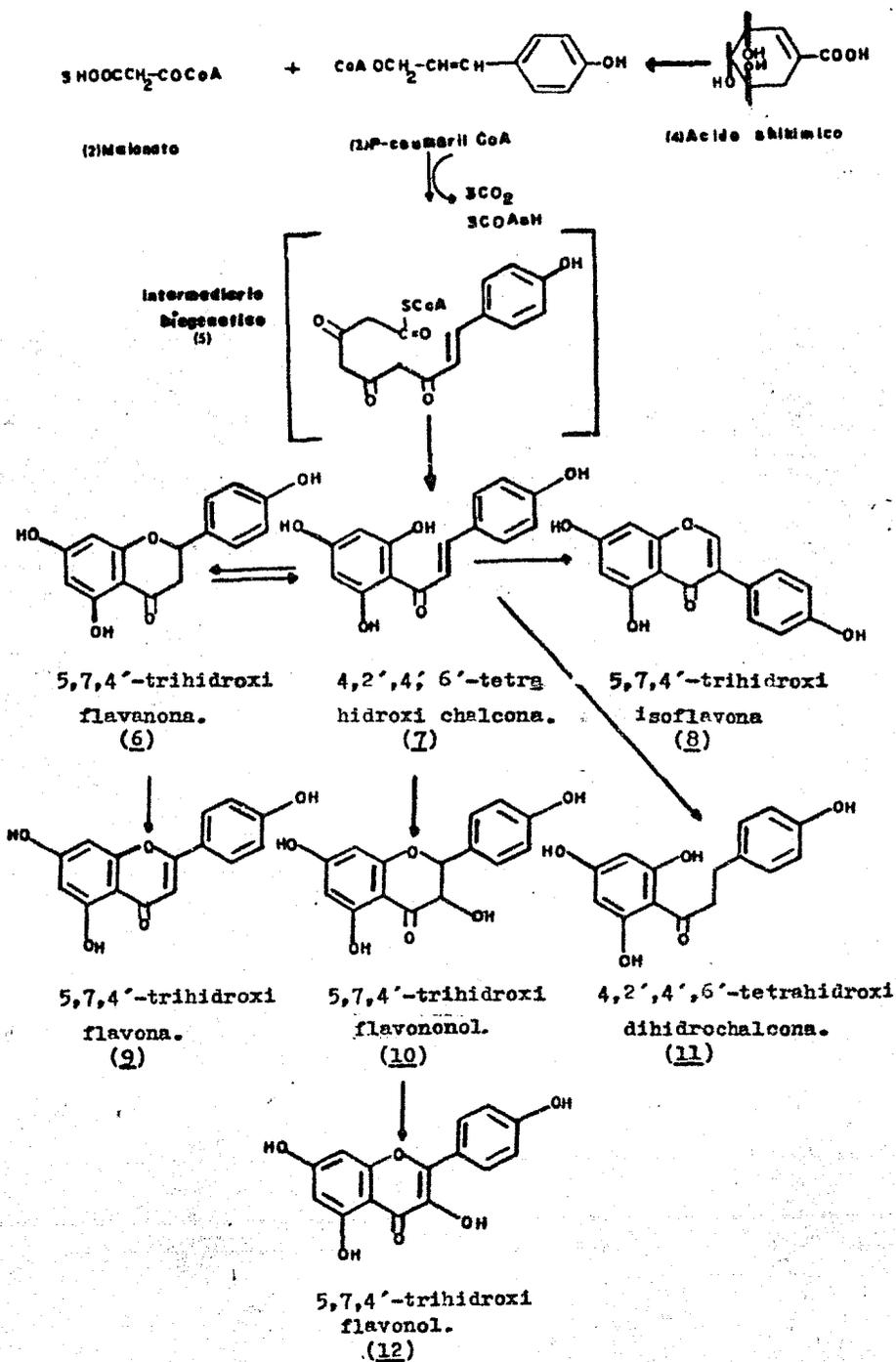
Con excepción de las algas<sup>1</sup>, los flavonoides se encuentran distribuidos en casi todo el reino vegetal, están presentes en cada órgano de las plantas, pero particularmente están concentrados en las hojas y flores.

Los flavonoides son compuestos heterocíclicos que tienen como núcleo base la 2-fenil-4-benzopirona(1).



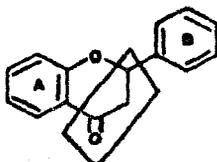
Los flavonoides más representativos(8-12) son biogénicamente formados (Esquema 1) por una cadena de 6 átomos de carbono, originada del agrupamiento cabeza-cola de tres unidades de malonato(2) y de un fenil propanoide  $C_6-C_3$ (3) derivado del ácido shikímico(4), el cual da origen al anillo B. Se cree que la cadena alifática de tres átomos de carbono se adiciona al anillo B, antes de que el anillo A este formado(intermediario biogénético, 5) para dar origen al par isómero chalcona(7)-flavanóna(6), el cual puede sufrir posteriores transformaciones tales como: transposiciones, alquilaciones, ciclizaciones y glicosilaciones, que son las que determinan la amplia diversidad estructural de los cientos de flavonoides conocidos hasta el presente.

Esquema 1.

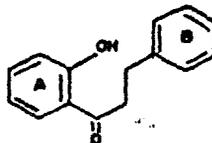


Los principales núcleos de los flavonoides (6a-14a) (Esquema 2) se clasifican de acuerdo al estado de oxidación de los átomos de carbono (C-2, C-3, C-4) que une a los anillos A y B (fórmula 1).

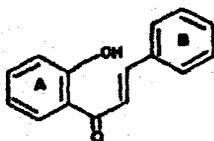
Esquema 2.



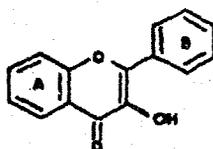
(6a) FLAVANONA



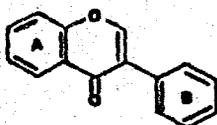
(11a) DIHIDROCHALCONA



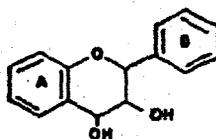
(7a) CHALCONA



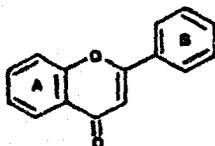
(12a) FLAVONOL



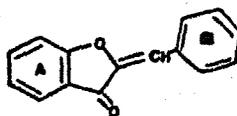
(8a) ISO FLAVONA



(13a) FLAVANODIOL



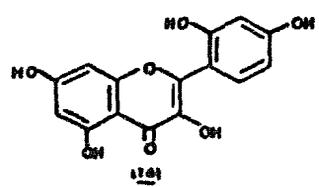
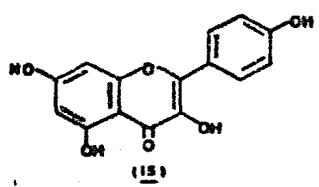
(9a) FLAVONA



(14a) AURONA

Efectos biológicos de los flavonoides.

Probablemente el primer dato de actividad fisiológica reportado para los flavonoides fué el de Koike<sup>4</sup> en 1931, en el que -  
mostró evidencia experimental de que los flavonoles : kaempferol(15) y morina(16) presentaban actividad diurética.

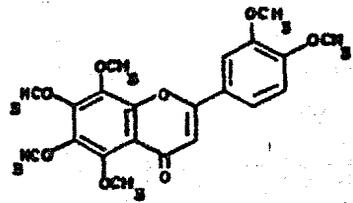
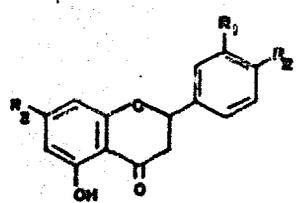


Actividad antiinflamatoria.

En 1936 Szent y Georgyi<sup>5</sup>, observaron que ciertas manifestaciones patológicas, caracterizadas por el incremento de la -  
permeabilidad e fragilidad de los vasos capilares, podía ser curado por preparaciones de ácido ascórbico extraído de -  
Gangicum annum y Citrus limun, sin embargo las preparaciones de ácido ascórbico puro no mostraba el mismo efecto, ellos en -  
contraron que las preparaciones procedentes de los extractos -  
contenían componentes con características de flavonoides y a la preparación la denominaron vitamina P.

Sin embargo otros investigadores obtuvieron resultados -  
contradictorios que llevaron a abandonar el nombre de "vitamina" y las investigaciones subsecuentes en este campo tuvieron como consecuencia cambiar el término bioflavonoides por el de " flavonoides que tienen actividad biológica".

Los flavonoides<sup>6</sup> encontrados en estos extractos fueron : hesperidina(17), naringina(18), una pequeña cantidad de -  
nobiletina(19) y una pentametoxi flavona no identificada.



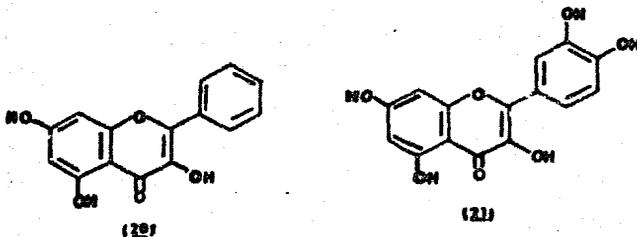
17 R<sub>1</sub> = OH, R<sub>2</sub> = OCH<sub>3</sub>, R<sub>3</sub> = Rutinosil.

18 R<sub>1</sub> = H, R<sub>2</sub> = OH, R<sub>3</sub> = Rhamnosil-glucozil.

DeEds<sup>7</sup> en 1968, en un intento por resumir casi un ciento de informes de las investigaciones efectuadas sobre las propiedades fisiológicas de los flavonoides ensayados para la actividad antiinflamatoria, concluyó, que los flavonoides con grupos oxhidrilo libres en la posición 3',4' ejercen efectos biológicos beneficios por medio de los siguientes mecanismos: 1) quelatan metales y así disminuyen la oxidación del ácido ascórbico; 2) prolongan la acción de la epinefrina por la inhibición de la O-metil transferasa y 3) estimulan el eje adrenal pituitario.

#### Actividad anti-diarreica.

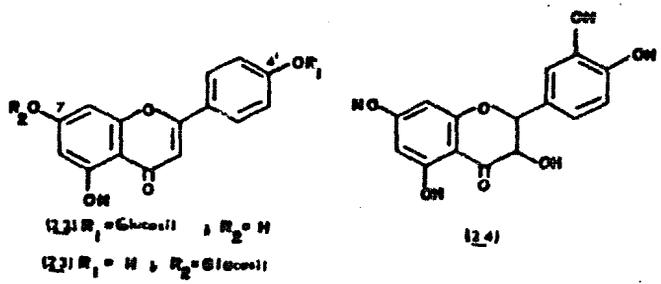
Hacia principios del siglo XIX, uno de los remedios medicinales populares utilizados en Europa Central, para el tratamiento de la diarrea, eran los extractos de Comptonia peregrina<sup>8</sup>, en la que se demostró la presencia de los flavonoides - galangina(20) y quercetina(21), los cuales suponían estar relacionados directamente con este tipo de actividad medicinal.



#### Actividad fúngica.

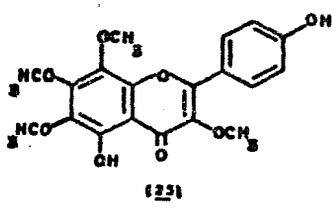
La presencia de compuestos fenólicos y la resistencia a infecciones virales y micóticas de diversas plantas, empezó a determinar una relación contenido fenólico-resistencia infecciosa. La presencia de los glucosidos 4' y 7 de la epigalagina (22, 23) estaban relacionados con ocho especies de plantas del género Pyrus<sup>9</sup>, a la enfermedad denominada "Tizón" causada por los microorganismos patógenos Brevinia amylovora, - Erisma piricola y Agrobacterium tumefaciens.

Esta propiedad fúngica de los flavonoides ha contribuido a la durabilidad de la madera, está se ha observado en el Abeto de Douglas, donde la dihidroquercetina(24) constituye un potente antifúngico.



Actividad antihelmíntica.

La actividad antihelmíntica<sup>10</sup> fué informada por Shedra en 1934 en la que demuestra que el flavonol calycóptero (25) muestra esta actividad. Así mismo Laberte en 1967 - evaluó 116 chalconas y sus análogos en lombrices intestinales de ratón encontrando que las chalconas más efectivas eran las que presentaban varios grupos oxhidrilo.



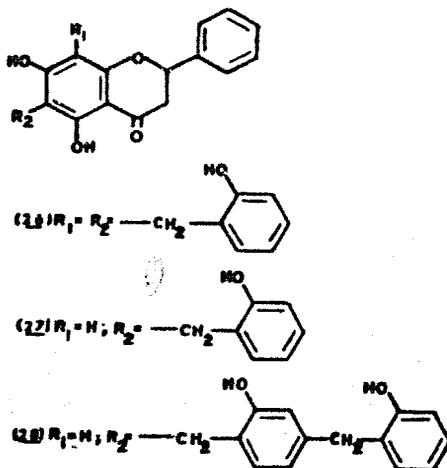
Actividad antiviral.

Los flavonoides también tienen actividad antiviral en células animales, Pusztai en 1936 demostró que la quer-cetina(21) inhibe el crecimiento del Herpes virus hominis en líneas celulares humanas denominadas HeLa, cuando es - inóculada en concentraciones de 300µg/ml, también se - observó que si la quer-cetina(21) es adicionada previamente, puede inhibir el desarrollo de algunos virus relacio - nados con enfermedades humanas, mientras que aquellos ví - rus que ya tienen un determinado desarrollo son moderada o completamente resistentes.

Actividad antimicrobiana.

Hufford<sup>12</sup> en 1978 menciona que los constituyentes de la Uvariae chamae que comprenden diuaretina(26), chamaneti - na(27) y uvarinol(28) muestran actividad antimicrobiana para

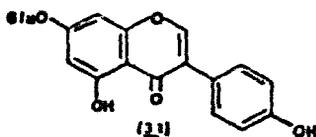
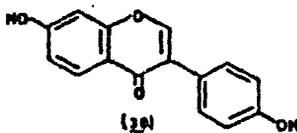
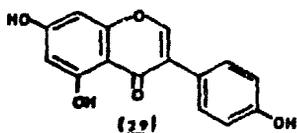
Staphylococcus aureus, Bacillus subtilis y Mycobacterium Smegmatis, con actividad muy similar a la que presenta el sulfato de estreptomycin.



#### Actividad estrogénica

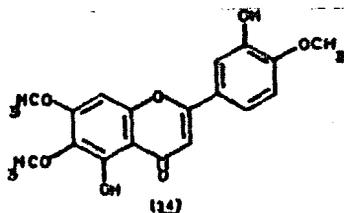
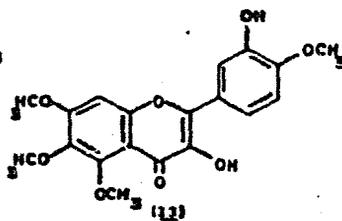
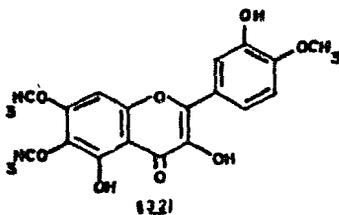
En los últimos 40 años se ha observado que ciertas plantas pueden contener sustancias que tienen actividad estrogénica. Esto se descubrió debido a que uno de los principales problemas en Australia desde el año de 1940 había sido la considerable disminución de la reproducción de abejas, que tuvo como resultado una gran pérdida económica debido a la infertilidad de estos animales, causa que se atribuyó al isoflavano genisteina(29), que estaba presente en la planta silvestre Trifolium subterraneum<sup>13</sup> fuente alimenticia de las abejas.

Posteriormente Mansworth en 1977<sup>14</sup> reportó que los isoflavonas con actividad estrogénica eran estructuralmente similares a los estilbestroles por lo que muchos otros isoflavonas tales como la daidzeina(30) y el 7 glucosido de la biochanina(31) demostraron esta actividad en ensayos realizados en útero de rata, donde se encontró que la más potente de todas era la daidzeina(30).



#### Actividad antitumoral.

Dentro del extensivo programa de la búsqueda de compuestos de origen natural que poseen actividad antitumoral, se ha encontrado que algunos flavonoides tales como la eupatina(32) y la eupatorina(33) de Eupatorium semiserratum demuestran ser moderadamente efectivos contra carcinoma de nasofaringe<sup>15,16</sup>, junto con algunos flavanoles metóxicados de Baccharis sarathroides que también fueron ensayados en carcinoma humano denominado 9KB. Las recientes investigaciones en el género Eupatorium<sup>17</sup> han demostrado que los extractos de las fracciones metánolicas al 50% tienen actividad contra leucemia linfocítica P-388 de ratón en cuyos extractos se encontró la eupatorina(34).

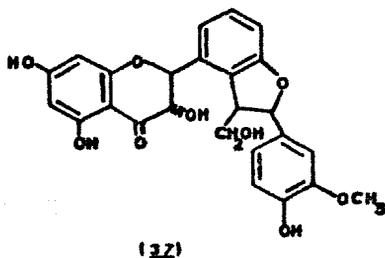
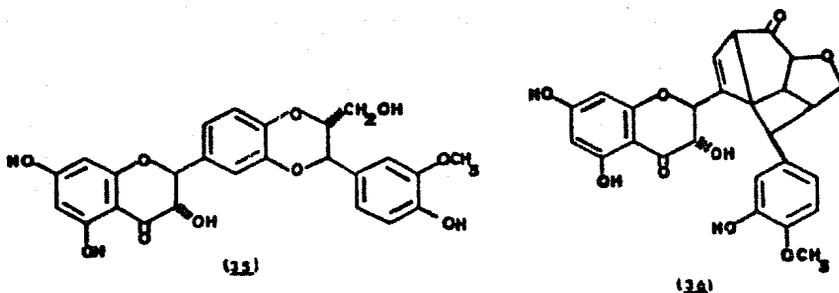


Actividad antihepatotóxica.

Las propiedades medicinales que se le venían atribuyendo a los extractos solubles en agua de los frutos del Cardo (Silybum marianum, Compositae) por más de 2000 años, demostrarán durante el estudio químico que sus componentes eran una mezcla de lignanos-flavanonoles que se denominarán - silybina(35), silydianina(36) y silichrystina(37) todos referidos colectivamente como silymarina<sup>18</sup>.

La silymarina es uno de los pocos fármacos no inmunosupresores que son efectivos en el tratamiento de las enfermedades del hígado<sup>19</sup> especialmente la cirrosis causada por alcohol.

En resumen, estas son algunas de las actividades biológicas más importantes de los flavonoides informadas en los últimos 50 años.<sup>20</sup>



### III. Planteamiento del problema.

Se sabe que en México contamos con una gran diversidad vegetal, éstos vegetales deben ser considerados como un recurso potencial de materias primas, que desde el punto de vista industrial, químico, farmacéutico y de investigación presentan una fuente de interés y trabajo para el químico farmacéutico biólogo. Sin embargo, las aplicaciones prácticas de la flora mexicana no prevalecen hoy en día con la intensidad que fuera de desear, puesto que conocer la composición y contenido de todas las plantas harían una tarea interminable, aunado a esto que no se cuenta con los recursos adecuados para lograr tal labor.

No obstante, tales deficiencias han sido superadas, mediante una minuciosa investigación y otras consideraciones, con las cuales poco a poco se ha logrado elaborar la metodología y clasificación quimiotaxonomica con la que se cuenta hasta ahora, tratando así de lograr que la mayoría de investigaciones de productos naturales tengan mayores aciertos.

Así pues el problema consiste en mantener en pie los logros obtenidos acerca de nuestra vegetación dentro del cual el género *Tephrosia*, que es un grupo botánico similar a algunas especies ya estudiadas en Estados Unidos y Europa, han despertado el interés de algunos grupos de investigación que tratan de fortalecer su escasa clasificación quimiotaxonomica y de ser posible encontrarles alguna utilidad.

#### IV. Objetivos.

Las plantas mexicanas del género *Tephrosia* pertenecientes a la familia de las Leguminosas han sido motivo de interés para los químicos de México, puesto que de ellas se han aislado entre otros compuestos, flavonoides, los cuales presentan una gran diversidad de efectos biológicos, entre los que se puede mencionar, la actividad restauradora de la fragilidad capilar, actividad antimicrobiana, virucida, estrogénica, antidiarreica etc.

El objetivo primordial de este trabajo es contribuir al conocimiento químico del género *Tephrosia*, estudiando y determinando los componentes químicos de la planta *Tephrosia major* Midieli.

El segundo objetivo a perseguir consiste en encontrar componentes químicos estructuralmente diferentes a los ya conocidos, los cuales en un futuro puedan ser aplicados en la investigación farmacológica.

#### Hipotesis.

De las plantas estudiadas del género *Tephrosia* se han aislado entre otros compuestos, flavonoides, por lo que se espera obtener del estudio químico de la planta *Tephrosia major* Midieli algunos componentes que no hayan sido descritos anteriormente en la bibliografía, esperando que dichas sustancias muestren actividad biológica, ya que compuestos de este tipo tienen actividad comprobada.

## Instrumentos.

Los puntos de fusión se determinarán en un aparato Fisher-Johns y no se encuentran corregidos. Los espectros de IR se determinarán en un espectrofotómetro Perkin/Elmer modelo 283B y 681 en pastilla de bromuro de potasio (KBr) - para los sólidos y en película para los líquidos. Las lecturas de rotación óptica se determinarán en un polarímetro Perkin/Elmer modelo 241. Los espectros de UV se determinarán en un espectrofotómetro Perkin/Elmer modelo 552 en solución de metanol. Los espectros de masas (EM) se determinarán en un espectrofotómetro Hawlett-Packard modelo 5985. Los espectros de RMP se determinarán en un espectrofotómetro analítico Varian FT 80A y A-60A en solución de cloroformo deuterado, empleando tetrametilsilano como referencia interna, a menos que se indique otra cosa. La descripción de los espectros de resonancia magnética protónica se expresa de la siguiente manera de acuerdo al tipo de multiplicidad:

s=simple, d=doble, t=triple, dd=doble de doble, dt=doble de triple, to=triplete de cuarteto, m=múltiple y a=ancha. El desplazamiento químico está expresado en partes por millón (ppm), utilizando el parámetro ( $\delta$ ), los valores asignados con la letra J indican constantes de acoplamiento en Hertz (Hz).

Los adsorbentes utilizados en las columnas cromatográficas fueron: Tonsyl (Química Sumex), sílica gel (Merck) malla 35-70 y 250-400. La pureza de los eluatos se analizó mediante cromatoplasmas de sílica gel (Merck) F<sub>254</sub> de espesor 0.25 y 2 mm con dimensiones de 5 x 20 cm. Las purificaciones y / ó separaciones de los compuestos se efectuó mediante placas preparativas de sílica gel (Merck) 60 F<sub>254</sub> de 2 mm de espesor con dimensiones de 20 x 20 cm. La mezcla de disolventes empleados como eluyentes se indica entre paréntesis junto con la proporción en que fueron usados. Se usó como revelador una solución de sulfato cérico al 1% en ácido sulfúrico 2N.

Columnas cromatograficas de 5 x 80 y 10 x 80 cm.  
Equipo de destilación(refrigerante, matras, juntas  
esmeriladas , canastillas, reostatos etc).  
Matraz erlenmeyer de 5, 10, 25, 100 y 250 ml.  
Matraz balón de 100, 250, 500, 1000 y 5000 ml.  
Agitador magnético(Magnestir).  
Balanza analítica (Mettler).  
Rotavapor (Tipo RV 05 Si , Marca Ika-Werk).  
Pipetas de 1 ml.  
Embudos Hirsh.  
Equipo de laboratorio(soportes, pinzas, tubos de en  
saye etc).  
Linea de vacio.

#### Reactivos.

Piridina.  
Anhídrido acético  
Sulfato de dimetilo.  
Dicloro diciano quinona.  
Catalizadores(óxido de platino y paladio-carbón al 10%).  
Magnesio.  
Zinc.  
Acido sulfúrico concentrado.  
Acido clorhídrico concentrado  
Cloruro férrico.  
α-naftol.  
Disolventes(hexano, cloroformo, éter etílico, acetona,  
acetato de etilo, metanol y etanol).

La planta Tephrosia major Midieri (hojas, tallos y raíz) se dejó secar a temperatura ambiente, posteriormente se separó en dos partes, la parte aérea que comprende hojas y tallos y la parte correspondiente a la raíz.

La parte aérea de la planta se dividió finamente y se extrajo con disolventes de diferente polaridad, el disolvente se recuperó, el disolvente empleado se recuperó por evaporación a presión reducida en un rotavapor y los extractos obtenidos fueron nombrados (A), (B) y (C).

Por otra parte la raíz de la planta fue dividida en pequeños trozos y tratada de la manera antes descrita, de la cual se obtuvieron los extractos nombrados (D), (E) y (F). Posteriormente se hizo un ensayo para flavonas a cada uno de los extractos, el cual se describe a continuación:

Ensayo para flavonas. Se coloca en dos tubos de ensayo una porción de extracto y se disuelve en dos ml de metanol, a cada uno de los tubos se le agrega 30 mg de polvo de zinc y al otro igual cantidad de magnesio. Posteriormente se adiciona gota a gota 0.5 ml de ácido clorhídrico concentrado, durante el desprendimiento de hidrógeno, la solución metanólica tomara una coloración que va de rosa pálido a rojo intenso, lo que demuestra una prueba positiva para flavonoides.

#### Cromatografía en columna (procedimiento general).

Cada uno de los extractos se disolvió en la menor cantidad de disolvente posible y fue introducido en una columna empacada con Tonsyl, guardando una relación soporte extracto 10:1 y eluyendo con hexano, cloroformo, acetato de etilo y metanol. Posteriormente los extractos provenientes del fraccionamiento con Tonsyl fueron introducidos en una columna de sílica gel (Merck) malla 35-70 y tratadas de la manera antes descrita, cada fracción fue de un mínimo de 100 ml. La pureza, composición e identidad de cada uno de los eluatos se analizó mediante cromatografía en capa fina.

## VII. Desarrollo.

La Tephrosia major Midieli fué colectada el 30 de junio de 1982, a 15 Km al Este de el Tuito camino a - la población del Cuale Estado de Jalisco

La porción aérea de la planta 1.240 Kg(hojas y tallos) se dejó secar a temperatura ambiente y se extrajo dos veces con 12 l de hexano, posteriormente con 12 l. de cloroforno y finalmente con 10 l. de metanol.

Cada uno de los extractos se concentró por evaporación a presión reducida, dejando residuos pastosos de color verde oscuro cuyos pesos son los siguientes: 7.3 g para el extracto hexánico(A), 32.6 g para el extracto clorofórmico(B) y 35.2 g para el extracto metanólico(C).

Por otra parte la raíz de la planta una vez seca - (582 g) se extrajo con 6 l. de hexano-acetona(1:1) , posteriormente con 6 l. de cloroformo-acetona(1:1) y finalmente con 6 l. de metanol, los extractos concentrados por evaporación a presión reducida por rotavapor - dejarón residuos pastosos de color naranja de color naranja cuyos pesos son los siguientes: 23.6 g para el extracto hexano-acetona(D), 20.3 g para el extracto hexano-acetona(E) y 19.0 g para el extracto metanólico(F).

Cromatografía del extracto hexánico(A).

El extracto hexánico(A) 7.3 g , se disolvió en hexano y se percoló a través de una columna empacada con 73 g de Fonsyl, eluyendose con hexano, cloroformo, acetato de etilo y metanol.

De la fracción eluida con hexano, se logró aislar e identificar: una mezcla de sitosterol-stigmasterol(38a-38b), obovatina(39), lupeol(40), sumatrol(41) y 7 metil glabranina(42)(Esquema 3, pag 24), todas identificadas por sus constantes físicas y espectroscópicas, así como por comparación con muestras auténticas como patrón.

Cromatografía de la fracción cloroformica(B).

El extracto cloroformico(B) 32.6 g se disolvió en hexano-cloroformo(1:1) y se fraccionó a través de una columna empacada con silica gel malla 35-70.

De las fracciones eluidas con cloroformo, se logró aislar 500 mg de un sólido cristalino de p.f. 164-6° que se identifica por sus constantes físicas y espectroscópicas como 5,7-dihidroxi-8-isoprenil flavanona(43) <sup>21</sup>, las constantes espectroscópicas son las siguientes:

$$[\alpha]_D^{25} = -56.12^\circ \quad (c=3.92 \text{ mg/ml, CHCl}_3).$$

UV  $\lambda_{\text{max}}$ (metanol) nm 203 ( $\epsilon$ , 22430), 291( $\epsilon$ , 11664), 330( $\epsilon$ , 475).

IR  $\nu_{\text{max}}$ (KBr)  $\text{cm}^{-1}$  3360(OH), 3035(C-H aromático), 2995, 2850, 2870, 2820(C-H), 1645(C=O), 1620, 1510(C=C aromático). Espectro

No 1.

RMP (CDCl<sub>3</sub>) ppm 1.7, 1.72 s(6H, Me-9', Me-9'), 2.77 dd(1H, J=4, 16, H-3), 3.07 dd(1H, J=10, 16, H-3), 3.3 d(2H, J=7, H-7), 5.20 tc(1H, J=7, H-8'), 5.4 dd(1H, J=4, 12, H-2), 6.0 s(1H, H-6), 6.25 a(1H, 7OH), 7.4 s(5H, aromático), 11.2 s(1H, 5OH). Espectro No. 2.

EM. m/e 324 M<sup>+</sup>(C<sub>20</sub>H<sub>20</sub>O<sub>4</sub>) 100%, 309(M<sup>+</sup>-CH<sub>3</sub>) 39.2%, 281(M<sup>+</sup>-CH<sub>3</sub>-CO) 26.8%, 269(M<sup>+</sup>-C<sub>4</sub>H<sub>7</sub>) 19.5%, 255(M<sup>+</sup>-C<sub>5</sub>H<sub>9</sub>) 9.7%, 205(M<sup>+</sup>-CH<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>H<sub>8</sub>) 79.7%, 177(M<sup>+</sup>-CH<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>H<sub>8</sub>-CO) 53.35%.

Acetilación del compuesto (43b)

Se disolvieron 60 mg del compuesto (43b) en 0.5 ml de piridina y 0.5 ml de anhídrido acético. La mezcla de reacción se dejó a temperatura ambiente durante 15 minutos, siguiendo su desarrollo por cromatografía en capa fina(c.c.f.). Concluida la reacción, se adiciono hielo y se extrajo tres veces con acetato de etilo. La fase orgánica se lavó con una solución de ácido clorhídrico al 5% y finalmente con agua. La solución se secó con sulfato de sodio anhidro y posteriormente se concentró a sequedad por rotavapor. La mezcla de reacción se purificó en placa preparativa de sílica gel, eluyéndose con acetato de etilo-hexano(2:8) aislándose dos productos de diferente polaridad.

El producto de menor polaridad se obtuvo como un aceite incoloro que resulta ser el diacetato(44), cuyas constantes físicas y espectroscópicas son las siguientes:

UV  $\lambda_{\text{max}}$ (metanol) nm 216( $\epsilon$ , 26725), 257( $\epsilon$ , 9650), 317( $\epsilon$ , 3552).

IR  $\nu_{\text{max}}$ (CDCl<sub>3</sub>)  $\text{cm}^{-1}$  3075, 3060(C-H aromático), 3005, 2970, 2920 (C-H), 1775, 1690(C=O), 1620, 1540, 1500(C=C aromático) Espectro

No 3.

RMP (CDCl<sub>3</sub>) ppm 1.57, 1.65 s(6H, Me-9', Me-9'), 2.29, 2.35 s (6H, 5, 7 Ac), 2.72 dd(1H, J=4, 16, H-3), 3.02 dd(1H, J=12, 16, H-3) 3.25 d(2H, J=7, H-7'), 5.08 tc(1H, J=7, H-8'), 5.46 dd(1H, J=4, 12, H-2), 6.26 s(1H, H-6), 7.39 s(5H aromático). Espectro No 4.

EM. m/e 408 M<sup>+</sup>(C<sub>24</sub>H<sub>24</sub>O<sub>6</sub>) 1.8 %, 365 (M<sup>+</sup>-C<sub>2</sub>H<sub>3</sub>O) 61.4%, 323 (M<sup>+</sup>-C<sub>4</sub>H<sub>6</sub>O<sub>2</sub>) 100 %, 309(M<sup>+</sup>-C<sub>4</sub>H<sub>6</sub>O<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>) 15 %, 281(M<sup>+</sup>-C<sub>4</sub>H<sub>6</sub>O<sub>2</sub>-C<sub>4</sub>H<sub>5</sub>-CO) 20 %, 269(M<sup>+</sup>-C<sub>4</sub>H<sub>6</sub>O<sub>2</sub>-C<sub>4</sub>H<sub>7</sub>) 26 %, 256(M<sup>+</sup>-C<sub>4</sub>H<sub>6</sub>O<sub>2</sub>-C<sub>5</sub>H<sub>3</sub>) 8 %, 219(M<sup>+</sup>-C<sub>4</sub>H<sub>6</sub>O<sub>2</sub>-C<sub>8</sub>H<sub>8</sub>) 40.9 %, 205 (M<sup>+</sup>-C<sub>4</sub>H<sub>6</sub>O<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>H<sub>8</sub>) 26%.

El producto de mayor polaridad se obtuvo como un sólido cristalino de p.f 130-1<sup>o</sup>, el cual resultó ser el monoaceta to (45), cuyas constantes espectroscópicas son las siguientes: IR ν<sub>máx</sub>(CDCl<sub>3</sub>) cm<sup>-1</sup> 3065, 3055(C-H aromático), 1740, 1655(C=O), 1630, 1595, 1500 (C=C aromático). Espectro No 5.

RMP (CDCl<sub>3</sub>) ppm 1.57, 1.62 s(6H, Me-9', Me-9'), 2.3 s(3H, 7Ac), 2.82 dd(1H, J=4, 16, H-3), 3.15 dd(3H, J=10, 16, H-3, H-7') 5.05 tc(1H, J=7 H-8'), 5.42 dd(1H, J=4, 10, H-2), 6.27 s(1H, H-6), 7.4 s(5H aromático), 10.6 s(1H, 5OH). Espectro No. 6.

EM. m/e 366 M<sup>+</sup>(C<sub>22</sub>H<sub>22</sub>O<sub>5</sub>) 44.9 %, 323(M<sup>+</sup>-C<sub>2</sub>H<sub>3</sub>O) 100 %, 309(M<sup>+</sup>-C<sub>2</sub>H<sub>3</sub>O-CH<sub>3</sub>) 26.6 %, 281(M<sup>+</sup>-C<sub>2</sub>H<sub>3</sub>O-CH<sub>3</sub>-CO) 25%, 219(M<sup>+</sup>-C<sub>2</sub>H<sub>3</sub>O-C<sub>8</sub>H<sub>8</sub>) 62.8 %, 205(M<sup>+</sup>-C<sub>2</sub>H<sub>3</sub>O-C<sub>8</sub>H<sub>8</sub>-CH<sub>3</sub>) 51.6%.

#### Metilación del compuesto (43b).

Se disolvieron 20.3 mg del compuesto (43b) en 20 ml de acetona anhidra, se le adicionaron 30 mg de carbonato de sodio y 0.5 ml de sulfato de dimetilo. La mezcla de reacción se mantuvo en reflujo durante 4 horas, siguiendo el curso de la reacción - mediante c.c.f. Concluida la reacción el disolvente se concentró a la mitad de su volumen original, se le adicionaron 5 ml de - agua, dejándose toda la noche con agitación mecánica. Posteriormente se hicieron 3 extracciones con acetato de etilo, la fase orgánica se secó con sulfato de sodio anhidro y se concentró por rotavapor. El producto de reacción se cristalizó en acetona-metanol, obteniéndose un sólido amarillo de p.f. 120-1<sup>o</sup>, cuyos datos espectroscópicos de UV, IR, RMP y EM resultaron ser idénticos a los de la 7 metil glabrenina (42):

$[\alpha]_D^{25} = -69.47^{\circ}$  (c=0.095 g/ml, CHCl<sub>3</sub>).

IR ν<sub>máx</sub>(KBr) cm<sup>-1</sup> 3420(OH), 3065, 3035(C-H aromático), 2995, -

2880(C-H), 1635(C=O), 1500(C=C aromático).

RMP ( $\text{CDCl}_3$ ) ppm 1.54, 1.64 s(6H, Me-9', Me-9''), 2.88 dd(1H, J=4, 16, H-3), 3.1 dd(1H, J=10, 16, H-3), 3.2 d(2H, J=7, H-7'), 3.85 s (7MeO), 5.10 tc(1H, J=7, H-8'), 5.37 dd(1H, J=4, 12 H-2), 6.06 s(1H, H-6), 7.38 s(5H aromático), 11.0 s(1H, 5OH).

UV  $\lambda_{\text{máx}}$ (metanol) nm 204 ( $\epsilon$ , 29148), 289( $\epsilon$ , 15280), 337( $\epsilon$ , 3448).

EM m/e 338  $\text{M}^+(\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{O}_4)$  100%, 323( $\text{M}^+-\text{CH}_3$ ) 38.8%, 295( $\text{M}^+-\text{CH}_3-\text{CO}$ ) 28%, 283( $\text{M}^+-\text{C}_4\text{H}_7$ ) 18%, 269( $\text{M}^+-\text{C}_5\text{H}_9$ ) 17%, 219( $\text{M}^+-\text{CH}_3-\text{C}_8\text{H}_8$ ) 81.4%, 191( $\text{M}^+-\text{CH}_3-\text{C}_8\text{H}_8-\text{CO}$ ) 38%.

Ciclización del compuesto (43) con ácido p-tolúeno-sulfónico.

Se disolvieron 20 mg del compuesto (43) en 50 ml de benceno anhidro y se le adicionaron 20 mg de ácido p-toluensulfónico.

La mezcla de reacción se mantuvo en reflujo durante 65 minutos, siguiendo su desarrollo por c.c.f. Concluida está, el disolvente se concentró a la mitad de su volumen y se diluyó con 50 ml de acetato de etilo. La fase orgánica se lavó con una solución de bicarbonato de sodio al 5% tres veces y posteriormente con agua hasta neutralidad. La fase orgánica se secó con sulfato de sodio anhidro y finalmente se concentró a sequedad por rotavapor, obteniéndose después de cristalizar con acetato de etilo-hexano, un sólido cristalino de color amarillo de p.f. 120-1°, el cual resultó ser el compuesto (46a) cuyas constantes espectroscópicas son las siguientes:

UV  $\lambda_{\text{máx}}$ (metanol) nm 213( $\epsilon$ , 24545), 293( $\epsilon$ , 17423).

IR  $\nu_{\text{máx}}$ (KBr)  $\text{cm}^{-1}$  3035(C-H aromático), 2990, 2910, 2875(C-H), 1645(C=O), 1620, 1595, 1485(C=C aromático). Espectro No 7.

RMP ( $\text{CDCl}_3$ ) ppm 1.34 s(6H, Me-6'', Me-6'''), 1.75 t(2H, J=7, H-5''), 2.6 t(2H, J=7, H-4''), 2.75 dd(1H, J=4, 16, H-3), 3.06 dd(1H, J=10, 16 H-3), 5.4 dd(1H, J=6, 10, H-2), 5.9 s(1H, H-6), 7.4 s(5H aromático), 10.34 s(1H, 5OH). Espectro No 8.

EM m/e 324  $\text{M}^+(\text{C}_{20}\text{H}_{20}\text{O}_4)$  100%, 247( $\text{M}^+-\text{C}_6\text{H}_5$ ) 35.4%, 220( $\text{M}^+-\text{C}_8\text{H}_8$ ) 17.5%, 205( $\text{M}^+-\text{C}_8\text{H}_8-\text{CH}_3$ ) 25%, 192( $\text{M}^+-\text{C}_8\text{H}_8-\text{CO}$ ) 30%, 165( $\text{M}^+-\text{C}_4\text{H}_7-\text{C}_8\text{H}_8$ ) 84.1%.

### Hidrogenación catalítica del compuesto (39) con $\text{PtO}_2$ .

Se disolvieron 100 mg del compuesto (39) en 5 ml de acetato de etilo, los cuales se diluyeron en 50 ml de metanol y se hidrogenaron en presencia de 10 mg de óxido de platino previamente hidrogenado, hasta que el compuesto absorbió un equivalente de hidrógeno. Concluida la reacción el catalizador se separó por filtración y el disolvente se eliminó por evaporación en baño maría, obteniéndose dos compuestos de diferente polaridad, los cuales fueron purificados en placa preparativa de sílica gel, utilizando como eluyentes hexano-éter etílico (75:25) dos veces. El compuesto menos polar, cristalizó de acetato de etilo-hexano (p.f.  $119-121^\circ$ ), cuyas constantes espectroscópicas de UV, IR, RMP y EM resultaron ser idénticas a las del compuesto (46e). El compuesto más polar de la hidrogenación, el cual cristalizó de cloroformo-hexano, fue un sólido de color ligeramente naranja de p.f.  $161-4^\circ$ , el cual resultó ser el compuesto (47), cuyas constantes espectroscópicas son las siguientes:

UV  $\lambda_{\text{máx}}$ (metanol) nm 207( $\epsilon$ , 12263), 292( $\epsilon$ , 11241).

IR  $\nu_{\text{máx}}$ (KBr)  $\text{cm}^{-1}$  3350, 3315(OH), 3035(C-H aromático), 2985, 2920 (C-H), 1620(C=O) 1610, 1520, 1495(C=C aromático).

RMP ( $\text{CDCl}_3$ ) ppm 1.33 s(6H, Me-6", Me-6"), 1.77 t(2H, J=7, H-5"), 2.57 t(2H, J=7, H-4"), 3.0 td(2H, J=8, H-8), 3.3 td(2H, J=8, H-8a) 5.7 s(1H, H-5'), 6.13 s(1H, 2'OH), 7.24 s(5H aromático), 10.8 s(1H, 6'OH).

EM. m/e 326  $\text{M}^+(\text{C}_{20}\text{H}_{22}\text{O}_4)$  62.5%, 309( $\text{M}^+-\text{CH}_3$ ) 15%, 221( $\text{M}^+-\text{C}_8\text{H}_8$ ) 94.7%, 194( $\text{M}^+-\text{C}_9\text{H}_{10}\text{O}$ ) 55%, 165( $\text{M}^+-\text{C}_9\text{H}_{10}\text{O}-\text{CHO}$ ) 100%.

### Hidrogenación catalítica del compuesto (39) con Pd-C.

Se disolvieron 106,3 mg del compuesto (39) en 20 ml de metanol y se hidrogenaron en presencia de 10 mg de paladio-carbono previamente hidrogenado, hasta que el compuesto absorbió el volumen de hidrógeno calculado. La mezcla de reacción se purificó como en el caso anteriormente descrito, obteniéndose un sólido cristalino de p.f.  $118-120^\circ$  cuyas constantes espectroscópicas de UV, IR, RMP y EM resultaron ser idénticas a las del compuesto (46e).

Ciclización del compuesto (43) con dicloro diciano quinona.

Se disolvieron 25 mg del compuesto (43) en 50 ml de benceno anhidro y se le adicionaron 25 mg de dicloro diciano quinona. La mezcla de reacción se colocó a reflujo durante 2.30 h, siguiendo el curso de la reacción por c.c.f. Concluida la reacción el benceno se concentró a la mitad de su volumen original y se diluyó con 50 ml de acetato de etilo. La fase orgánica se lavó repetidas veces con agua hasta eliminar la coloración naranja de la solución. Posteriormente la fase orgánica se secó con sulfato de sodio anhidro y se evaporó a sequedad en rotavapor, obteniéndose un sólido cristalino de punto de fusión  $120-1^{\circ}$ , cuyas constantes espectroscópicas de UV, IR, RMP y EM resultaron ser idénticas a las de la obovatina (39).

Epoxidación del compuesto (43) con ácido m-cloroperbenzico.

Se disolvieron 20 mg del compuesto (43) en 25 ml de cloroformo, se le adicionaron 20 mg de ácido m-cloroperbenzico, dejándose reaccionar a temperatura ambiente por 3 h. Concluida la reacción, el cloroformo se concentró a la mitad de su volumen original y se diluyó con acetato de etilo. La fase orgánica se lavó tres veces con una solución de bicarbonato de sodio al 5% y con agua hasta neutralidad, finalmente se secó con sulfato de sodio anhidro y se concentró a sequedad en rotavapor. La mezcla de reacción se purificó en una columna de silica gel malla 250-400 eluyéndose con hexano-cloroformo (95:5), obteniéndose un sólido cristalino de color amarillo de p.f.  $174-6^{\circ}$  (recristalizado de metanol), el cual resultó ser el compuesto (48), cuyas constantes espectroscópicas son las siguientes:

UV  $\lambda_{\text{máx}}$  (metanol) nm 212 (E, 23386), 292 (E, 16190).

IR  $\bar{\nu}_{\text{máx}}$  (CDCl<sub>3</sub>) cm<sup>-1</sup> 3355, 3510(OH) 2990, 2915(C-H), 1640, 1585, 1485(C=C aromático). Espectro No 9.

RMP (CDCl<sub>3</sub>) ppm 1.34 s(6H, Me-6", Me-6"), 2.92 m(4H, H-3, H-5"), 3.42 s(1H, 4"OH), 3.79 t(1H, J=7, H-3"), 5.43 dd(1H, J=7, H-2), 6.0 s(1H, H-6), 7.4 s(5H aromático), 10.45 s(1H, 5OH). Espectro No 10.

EM. m/e 340 K<sup>+</sup>(C<sub>20</sub>H<sub>20</sub>O<sub>5</sub>) 92.7%, 269(H<sup>+</sup>-C<sub>4</sub>H<sub>7</sub>O) 42.5%, 263 (H<sup>+</sup>-

$C_6H_5$ ) 42 %,  $235(M^+-C_6H_6)$  20%,  $155(M^+-C_4H_7O-C_8H_8)$  100%.

#### Cromatografía del extracto metanólico (C).

El extracto metanólico (C) 35 g , dió prueba positiva de flavonas por lo que se suspendió en 300 ml de agua y se le hicieron tres extracciones de 100 ml de cloroformo cada una. La fase orgánica se secó con sulfato de sodio anhidro y se concentró por sequedad en rotavapor, obteniéndose un residuo pastoso de color verde oscuro, cuyo peso fué de 17.2 g. Por otra parte las partículas sólidas que no se solubilizaron se filtraron y se encontró que eran solubles en metanol y su peso fué de 8.1 g.

El concentrado de cloroformo (17.2 g) fué disuelto en hexano cloroformo (1:1) y se llevó a una columna previamente empaçada con silica gel malla 35-70 y se eluyó con los siguientes disolventes : hexano, cloroformo , acetona y metanol.

De las fracciones eluidas con hexano se identificarán por comparación (c.c.f) con muestras auténticas los siguientes compuestos: una mezcla de sitosterol-stigmasterol (38a-38b), lupeol (40) y 7 metil glabranina (42).

De las fracciones eluidas con cloroformo resultarán, ser por el mismo método de comparación, los siguientes compuestos: sumatrol (41) , 5,7-dihidroxi-8-isoprenil flavanón (43) y  $\alpha$ -toxicarol (49). En las fracciones eluidas con acetona y metanol , no se encontró ningún compuesto de importancia.

De él sólido soluble en metanol (8.1 g) , se tomo un gramo y se disolvió en 50 ml de metanol, adicionandole un ml de ácido clorhídrico concentrado y se puso a reflujo durante 24 h. Concluida la hidrólisis, se neutralizó con hidróxido de sodio al 5% y se extrajo tres veces con acetato de etilo. La fase orgánica se lavó con agua hasta neutralidad, posteriormente se secó con sulfato de sodio anhidro y finalmente se concentró a sequedad en rotavapor . La mezcla de hidrólisis se purificó en placa preparativa de silica gel , utilizando como eluyentes acetato de etilo-metanol (1:1) , obteniéndose un sólido amarillo el cual se identificó en base a su espectroscopia de IR, RMP y EM como quercetina (50) 24 d.

Cromatografía de la fracción hexánica(D).

El extracto hexánico de la raíz(D) 24.2 g, fué disuelto en hexano-cloroformo(8;2) y percolado a través de una columna empacada con Tonsyl, eluyéndose con hexano, cloroformo, acetato de etilo y metanol.

De la primera fracción hexánica se obtuvieron 635.5 mg de un sólido de p.f. 120-1<sup>o</sup>, el cual resulto ser 7 metil glabranina(42), que fué identificada en base a sus constantes físicas y espectroscópicas.

De las fracciones eluidas con hexano-cloroformo(1;1), se obtuvo 1.48 g de un sólido cristalino de p.f. 164-6<sup>o</sup>, el cual resulto ser 5,7-dihidroxi-8-isoprenil flavanóna (43b), identificada por sus constantes físicas y espectroscópicas de IR, RMP y EM.

Cromatografía de la fracción cloroformo-acetona(E).

Por cromatografía comparativa en capa fina con muestras auténticas, se observó que la composición del extracto(E), mostraba: una mezcla de sitosterol-stigmasterol(38a-38b), 7 metil glabranina(42) y 5,7-dihidroxi-8-isoprenil flavanóna(43b).

Cromatografía del extracto metanólico(F)

El extracto metanólico(F) 19.0 g fué disuelto en acetona y pasado a través de una columna cromatografica previamente empacada con silica gel malla 35-70 y eluida con los siguientes disolventes: cloroformo, acetona y metanol.

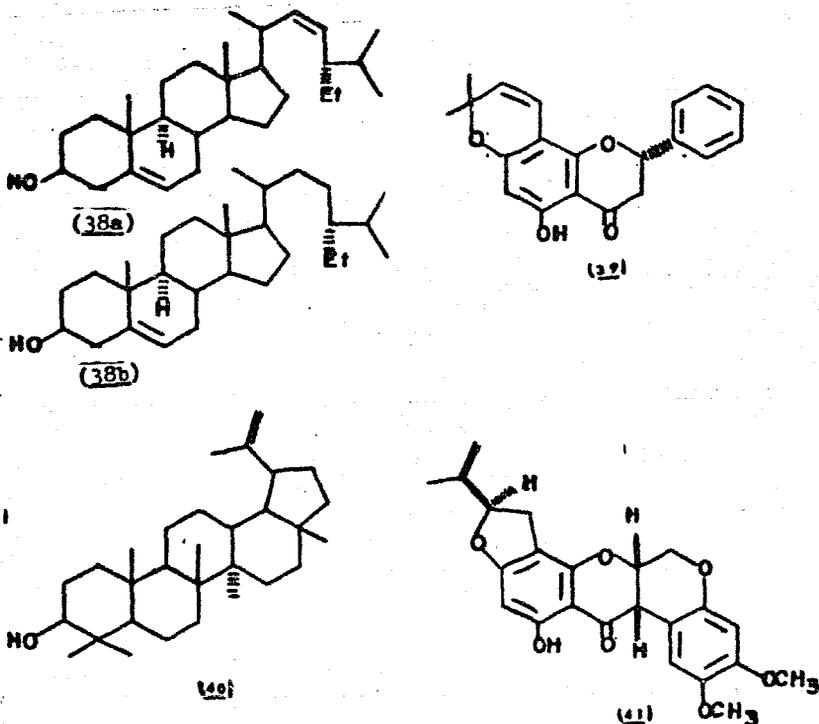
La única fracción de importancia fué la eluida con cloroformo, de la cual se aislaron e identificaron por comparación con muestras auténticas(standar): 7 metil glabranina(42) y 5,7-dihidroxi-8-isoprenil flavanóna(43b), cuyos datos físicos y espectroscópicos ya han sido descritos anteriormente.

### VIII. Discusión.

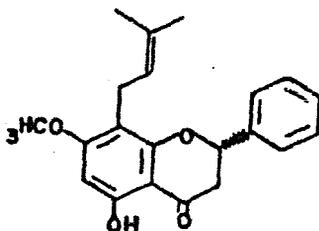
La Tephrosia major Midgley<sup>+</sup> es un arbusto silvestre de 1-1.7 m de altura, perteneciente a la familia de las Leguminosas, que fué colectada el 30 de junio de 1982 a 15 Km al Este de el Tuito camino al Cuale Estado de Jalisco.

De la parte aérea de la planta (hojas y tallos) se prepararon los extractos (A), (B) y (C), de la misma forma, de la raíz de la planta se prepararon los extractos (D), (E) y (F) descritos anteriormente. Por cromatografía del extracto hexánico (A) de la planta se logró aislar e identificar por sus constantes físicas y espectroscópicas, así como por comparación directa con muestras auténticas: una mezcla de sitosterol-stigmasterol (38a-38b), obovatina (39), lupeol (40), sumatrol (41) y 7 metil glabranina (42).

Esquema 3.



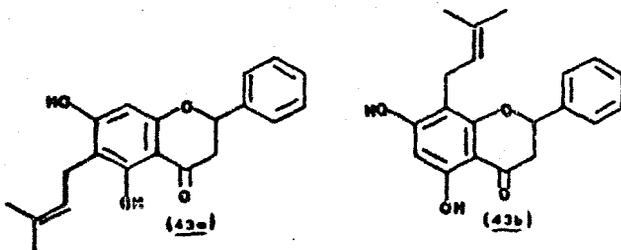
\* Agradecemos al Sr. O. Telles del Instituto de Biología de la U.N.A.M. la recolección e identificación de la planta.



(42)

De igual forma se separó por cromatografía del extracto cloroformico(B) un sólido cristalino (43a) ó (43b) de punto de fusión 164-6°,  $[\alpha]_D^{25} = 56.12^\circ$ , cuyo peso molecular determinado por espectrometría de masas  $M=324$  es congruente para la fórmula  $C_{20}H_{20}O_4$ . Sus datos espectroscópicos de UV, IR y RMP resultarán ser idénticos a los descritos en la literatura para la glabranina, compuesto aislado por Kattaev et al<sup>21</sup> de Glycyrrhiza glabra con la única diferencia de que el punto de fusión informado(p.f. 154-5°) era diferente<sup>+</sup>.

Por los datos anteriormente descritos se pensó que este compuesto podría ser glabranina (43b) ó un isómero de ella(43a) por lo cual se efectuó una secuencia de reacciones tendientes a establecer la posición relativa de los sustituyentes y de ser posible correlacionarla con algún compuesto de estereoquímica conocida.



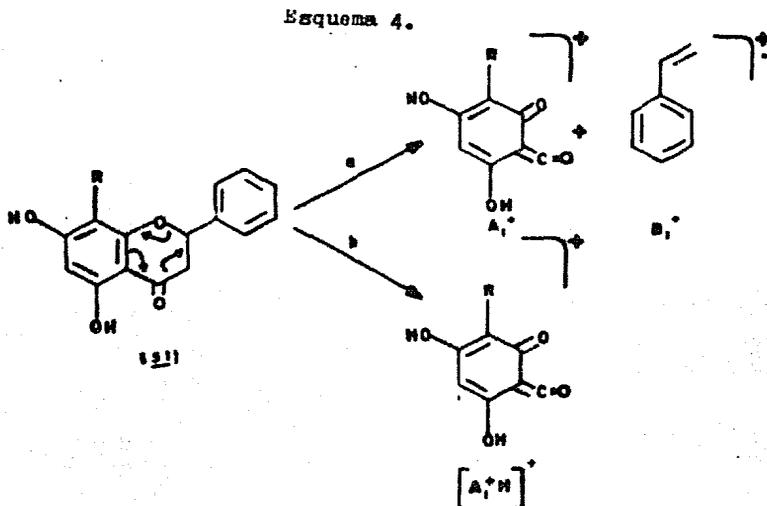
+ Algunos de estos compuestos por su naturaleza fenólica pueden presentar formas isomorfas y los puntos de fusión no concuerdan con los informados.

En primer lugar la naturaleza de los grupos fenólicos del compuesto (43a) ó (43b) se puso de manifiesto al acetilarlo con anhídrido acético y piridina, obteniéndose después de purificar la mezcla de reacción en placa preparativa de sílica gel, dos compuestos de diferente polaridad.

El producto de mayor polaridad resultó ser un diacetato al cual se denominó compuesto (44), cuyo peso molecular  $M = 408$  determinado por espectrometría de masas indica un incremento de ochenta y cuatro unidades de masa y es congruente para la fórmula  $C_{24}H_{24}O_6$ . En su espectro de IR se observan las absorciones en 1775 y 1690  $cm^{-1}$  características de acetatos fenólicos y cetona respectivamente, observándose un desplazamiento de la banda correspondiente al grupo  $C=O$  de la cetona del compuesto (43a) ó (43b), lo que indica que dicho compuesto es un diacetato. En el espectro de RMP del compuesto (44) se observa la desaparición de las señales asignadas a los oxhidrilos fenólicos, observándose dos nuevas señales simples en 2.29 y 2.35 ppm que integran para tres protones cada una y que fueron asignadas a los metilos del grupo acetoxi. Además se observa dos señales características para el heterociclo del núcleo de la flavanón en forma de un sistema ABX, con dos señales doble de doble en 2.72 ppm ( $J=4,16$  Hz) y 3.02 ppm ( $J=12,16$ ) asignada a los protones AB(C-2, C-3) y una señal doble de doble en 5.46 ppm ( $J=4,12$ ) asignada al protón X(C-3). En la región de los protones aromáticos muestra una señal simple en 7.38 ppm que integra para cinco protones, asignado al anillo B del núcleo de la flavanón y en 6.26 ppm una señal simple que integra para un protón cuya posición y multiplicidad indica que se trata de un hidrógeno aromático, vecino a dos grupos electronegativos. Finalmente se observa un sistema  $A_2X$  (C-7', C-8') como una señal doble de doble en 3.25 ppm ( $J=7$  Hz) asignada a los protones  $A_2$ (C-7'), un triplete de cuarteto en 5.08 ppm asignada al protón X(C-8'), así como dos señales simples en 1.57 y 1.65 ppm, que sugieren la presencia de un grupo  $\beta$ -dimetil alilo.

Es conocido que las flavonas(51) siguen un patrón de -

fragmentación típica en espectrometría de masas<sup>22</sup>, dando lugar como se indica en el Esquema 4, a los fragmentos  $A_1^+$  y  $B_1^+$  que son producto de una ruptura retro Diels - Alder, ó como en el caso (b) el fragmento  $A_1 + H^+$  origina do de la misma fragmentación pero con transferencia de - hidrógeno.

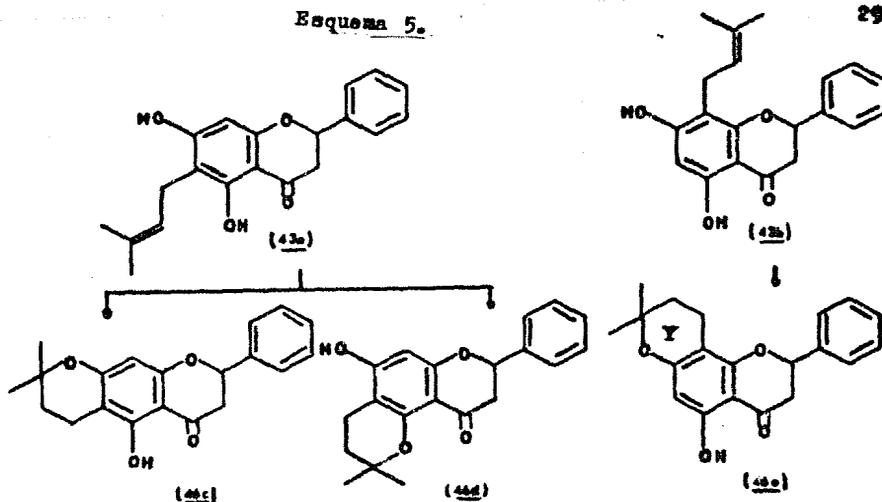


El espectro de masas del compuesto (44)<sup>+</sup>, presento el - ión molecular de m/e 408 el cual es congruente para la - formula  $C_{24}H_{24}O_6$  y los fragmentos de m/e 365( $M^+ - C_2H_3O$ ), - m/e 323( $M^+ - C_4H_6O_2$ ), m/e 269( $M^+ - C_4H_7$ ), m/e 255( $M^+ - C_5H_9$ ), -  $A_1^+$  m/e 219( $C_{12}H_{11}O_4$ ) y  $B_1^+$  m/e 104( $C_8H_8$ ).

El producto de menor polaridad obtenido de la acetila - ción del compuesto (43a) ó (43b) fué un sólido cristalino de p.f. 131-4°, al cual denominamos compuesto (45)<sup>+</sup>, cuyo peso molecular  $M=366$  obtenido por espectrometría de masas indica un incremento de cuarenta y tres unidades de masa y es congruente para la formula  $C_{22}H_{22}O_5$ . En su espectro - de IR se observan las bandas de absorción en 1740 y 1655 -  $cm^{-1}$  asignados al carbonilo de un acetato fenólico y al - carbonilo de una cetona quelatada respectivamente. Su es - pectro de RMP es similar al del compuesto (44)<sup>+</sup> con la úni - ca diferencia de que se observa una señal simple en 10.6 - ppm, la cual desaparece cuando el compuesto es tratado con  $D_2O$ , asignado al protón del oxhidrilo en C-5, así como una señal simple en 2.3 ppm asignada al metilo del grupo ace - toxi.

Con el fin de establecer la posición relativa del grupo  $\gamma,\gamma$ -dimetil alilo presente en el compuesto (43a) ó (43b), este se ciclizó con ácido p-toluensulfónico, obteniéndose un sólido cristalino de color amarillo (ver parte experimental) de p.f. 120-1°, que por las razones que describiremos posteriormente puede tener las estructuras (46c), (46d) ó (46e). Su peso molecular determinado por espectrometría de masas es congruente para la fórmula  $C_{20}H_{20}O_4$ . En su espectro de IR se observa la absorción característica en 1645  $cm^{-1}$  para un grupo carbonilo de una cetona quelatada. Su espectro de RMP muestra en la región de los protones vinílicos, la desaparición del sistema  $A_2X$ , asignada al protón C-8' del grupo  $\gamma,\gamma$ -dimetil alilo, apareciendo en su lugar un sistema  $A_2X_2$ , caracterizado por dos tripletes en 1.75 y 2.6 ppm ( $J=7$  Hz) asignada a los protones en C-7' y C-8', así como un desplazamiento a campo alto (0.2 ppm) de los protones del grupo gem-dimetilo del compuesto (43a) ó (43b), anteriormente situado en 1.54 ppm.

De las estructuras propuestas para el compuesto (43a) ó (43b) se sugiere que durante la ciclización con ácido para-toluensulfónico, el compuesto (43a) puede originar los productos (46c) y (46d) Esquema 5, este último con menor probabilidad de obtenerse, dado el impedimento de la fuerte unión formada entre el OH en C-5 y el carbonilo de la cetona en C-4 del núcleo de la flavanóna, mientras que el compuesto de estructura (43b) proporcionaría el producto (46e), que tiene como única opción el cierre del grupo  $\gamma,\gamma$ -dimetil alilo (C-8) con el OH presente en la posición C-7, cuyas estructuras propuestas se describen en el Esquema 5.



Debido a que en el espectro de IR del compuesto obtenido de la ciclización con ácido p-toluensulfónico presenta una banda de absorción para un carbonilo quelatado en  $1645\text{ cm}^{-1}$  se puede eliminar la estructura (46d), quedando como únicas estructuras posibles la (46c) y (46e) citadas en el Esquema 4. Dichos compuestos deben presentar espectroscopías muy similares, por lo tanto con los datos espectroscópicos hasta aquí mencionados no nos hacen posible asignarle estructura a este compuesto.

Posteriormente, en un segundo experimento que nos llevara a predecir la estructura correcta del compuesto obtenido de la ciclización con ácido p-toluensulfónico y por medio de éste designarle estructura al compuesto (43a) ó (43b), se consulto la bibliografía pertinente, encontrándose que la obovatina(39) compuesto de estructura y estereoquímica conocida<sup>27</sup>, difiere estructuralmente del compuesto (46e) en el doble enlace presente en el anillo Y del citado compuesto (Esquema 5), por lo que dicho compuesto se hidrogeno catalíticamente en presencia de óxido de platino, empleando acetato de etilo-metanol como disolventes de reacción. De esta reacción se obtuvieron dos compuestos de diferente polaridad los cuales fueron separados por cromatoplaça de sílica gel y purificados por cristalización(ver parte experimental).

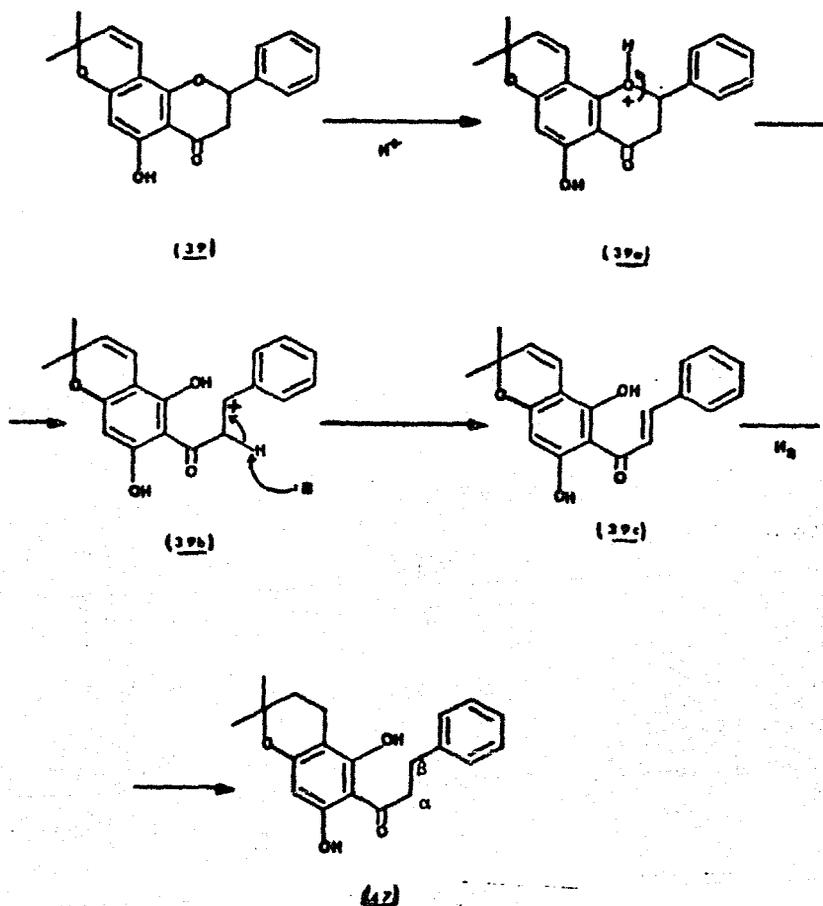
El producto de menor polaridad fué un sólido cristalino de color amarillo de p.f.  $119-121^{\circ}$ , cuyos datos espectroscópicos de UV, IR, RMP y EM resultaron ser —

idénticos a los del compuesto obtenido de la ciclización con ácido p-toluensulfónico, hecho que viene a confirmar que éste compuesto tiene la estructura(46e).

El producto de mayor polaridad obtenido de la hidrogenación catalítica con óxido de platino fué un sólido de color naranja de p.f.  $161-4^{\circ}$ , al cual se denominó compuesto(47), cuyo peso molecular  $M=326$  determinado por espectrometría de masas es congruente para la fórmula  $C_{20}H_{20}O_4$ . Su espectro de UV presenta las bandas de absorción en  $207\text{ nm}(\epsilon, 12263)$  banda II y  $292\text{ nm}(\epsilon, 11241)$  para banda I, cuya banda I sugiere debe tratarse de una dihidrochalcona<sup>23</sup>. En su espectro de RMP se observa la aparición de dos nuevos tripletes centrados en 3.3 y 3.0 ppm( $J=8$ ) asignado a los protones H- $\alpha$  y H- $\beta$  del núcleo de una dihidrochalcona(vea Esquema 6, compuesto 47), se observa también dos señales simples en 6.13 y 10.8 ppm, las cuales desaparecen cuando la muestra es tratada con  $D_2O$ , que fueron asignadas a los protones de los oxhidrilos en C-2' y C-6' respectivamente.

La obtención del compuesto(47), se puede explicar en base al tautomerismo existente para el par isomérico chalcona-flavanona y su interconvertibilidad por catálisis ácida ó básica<sup>24a</sup>. Bajo las condiciones experimentales en las que se hizo reaccionar la obovatina(39), hacen posible la formación de una 2'-hidroxi chalcona(39c), debido a que durante la hidrogenación, el acetato de etilo utilizado como disolvente en el medio de reacción, se pudo hidrogenolizar para formar pequeñas cantidades de ácido acético, el que cataliza la formación de la 2',6'-dihidroxi-6",6"-dimetil- $\Delta^2$ -dihidropirano[2",3"-c] dihidrochalcona, que es la estructura propuesta para el compuesto (47), cuyo probable mecanismo se describe en el Esquema 6.

## Esquema 6.

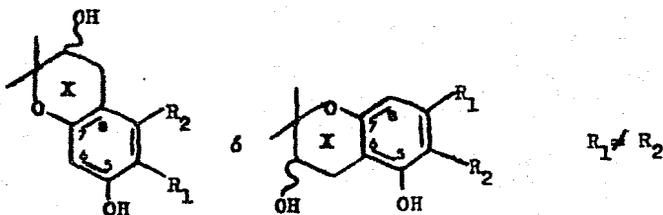


Posteriormente con el objeto de establecer la presencia del doble enlace etilénico del grupo  $\gamma,\gamma$ -dimetil - alilo presente en el compuesto (43a) ó (43b), dicho compuesto se epóxido con ácido *m*-cloroperbenzoico, obteniéndose un producto al cual denominamos compuesto (48) el cual presento las siguientes características: Un p.f. de 174-6°, un peso molecular  $M=340$  determinado por espectrometría de masas el cual es congruente para la formula  $C_{20}H_{20}O_5$ . En su espectro de IR se observo las bandas de absorción en 3555 y 3510  $cm^{-1}$  característica de los grupos oxhidrilo, una banda a 1640  $cm^{-1}$  caracteris -

tico del grupo carbonilo de una cetona quelatada y las - bandas de absorción en 1595 y 1485  $\text{cm}^{-1}$  de los dobles en - laces aromáticos. El espectro de RMP muestra una señal - múltiple centrada en 2.92 ppm que integra para cuatro - protones asignada a los protones en C-3 y C-4" respecti- vamente , se observa también dos señales simples en 3.42 y 10.45 ppm que integran para un protón cada una, las - cuales desaparecen cuando la muestra es tratada con  $\text{D}_2\text{O}$  y que fuerón asignadas a los oxhidrilos en C-3" y C-5 - respectivamente.

De acuerdo con los datos espectroscópicos antes mencio- nados sacamos las siguientes conclusiones:

1. Efectivamente existe un grupo  $\gamma,\gamma$ -dimetil alilo en el compuesto (43a) ó (43b), sin embargo no sabemos si - dicho sustituyente se encuentra en la posición C-6 ó - C-8.
2. Durante la epoxidación del compuesto (43a) ó (43b) con ácido *m*-cloroperbenzónico se formo un cuarto anillo (X) del siguiente tipo:



Que por la razón descrita en el punto 1 pudo dar cual- quiera de estas dos orientaciones. Por lo que más adelan- te daremos la estructura del compuesto (48) , una vez - que identifiquemos al compuesto (43a) ó (43b).

Con el fin de correlacionar al compuesto (43a) ó (43b) con un derivado de estructura y estereoquímica conocida, nuevamente se hizo una revisión bibliografica, encontran se que la 7 metil glabranina(42), aislada anteriormente de Tephrosia villosa<sup>25</sup>, diferia del compuesto (43b) (des- crito en el Esquema 5) en el grupo metoxil situado en la posición C-7 de dicho compuesto, por lo que el compuesto

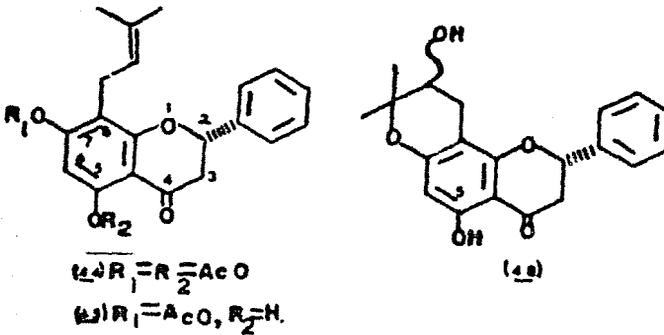
(43b) se metilo parcialmente con sulfato de dimetilo, obteniéndose un sólido amarillo de p.f. 120-1° (ver parte experimental) cuyos datos físicos y espectroscópicos de IR, UV, RMP y EM resultarán ser idénticos a los de la 7 metil glabranina(42).

De igual forma se encontró que el compuesto(43b) mediante ciclodehidrogenación en presencia de dicloro diciano - quinona<sup>26</sup>, podía formarnos un derivado de estructura y estereoquímica conocida, y en caso de que dicha reacción se efectuara obtendríamos la obovatina(39), aislada por primera vez de Tephrosia obavata<sup>27</sup>. De la reacción postulada anteriormente se obtuvo un sólido cristalino de p.f. 120-1°, cuyos datos físicos y espectroscópicos de UV, IR, RMP y EM resultarán ser idénticos a los de la obovatina(39).

Estos dos hechos establecen que la estructura correcta del compuesto obtenido de la fracción cloroformica(B), debe poseer la estructura designada como(43b)(descrita anteriormente en el Esquema 5), la cual posee el grupo  $\gamma$ -dimetil alilo en la posición C-8, por lo que queda establecido que la molecula de este compuesto debe ser la 5,7-dihidroxi-8-isoprenil flavanóna, aislada por primera vez de Glycyrrhiza glabra(Leguminosa).

Finalmente queda por establecer la estereoquímica del centro asimétrico C-2 del compuesto (43b), el cual se dedujo tiene una configuración absoluta " S " dada que su valor de densidad óptica  $[\alpha]_D^{25} = -56.12^\circ$  está de acuerdo con los valores informados en la literatura para las flavanónas levorotatorias<sup>24c</sup>.

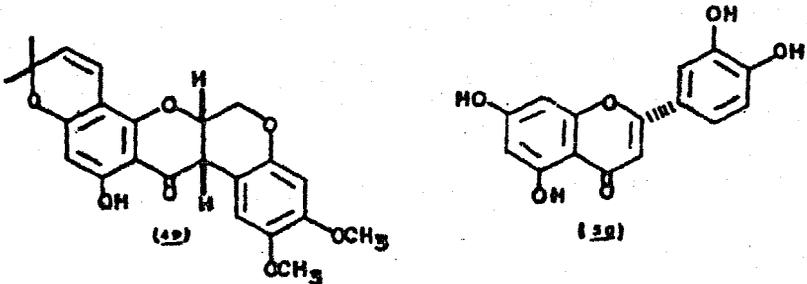
De esta forma, establecida la posición de los sustituyentes del compuesto (43b), podemos indicar que los acetatos (44) y (45) son, la 5,7-diacetil-8-isoprenil flavanóna y 7-acetil-5-hidroxi-8-isoprenil flavanóna respectivamente. Así como la estructura del compuesto(48) debe ser la 5,5"-dihidroxi-6",6"-dimetil- $\Delta^2$ -dihidro pirano [2",3"-h] flavanóna.



Además por cromatografía de los extractos (C), (D), (E) y (F) se lograrán aislar e identificar por sus constantes físicas y espectroscópicas, así como por comparación directa con muestras auténticas (c.c.f.) los siguientes compuestos:

Extracto (C).

Mezcla de sitosterol-stigmasterol (38a-38b), lupeol (40), sumatrol (41), 7 metil glabranina (42),  $\alpha$ -toxicarol (49) y quercetina (50).



Extracto (D) y (F).

7 metil glabranina (42) y 5,7-dihidroxi-8-isoprenil flavanóna (43b)

Extracto (E).

Mezcla de sitosterol-stigmasterol (38a-38b), 7 metil glabranina (42) y 5,7-dihidroxi-8-isoprenil flavanóna - (43b)

## IX. Resumen y Conclusiones.

1. Se efectuó el estudio químico de Tephrosia major Midieli, planta perteneciente a la familia de las Leguminosas recolectada en el Estado de Jalisco en junio de 1982.
2. Por cromatografía de los extractos (B), (C), (D) y (F) se logró aislar glabranina(43b); obtenida anteriormente por Kattaev et al de Glycyrrhiza glabra<sup>21</sup>.
3. Se prepararon cuatro derivados de la glabranina - (43b) no descritos en la literatura los cuales fueron:
  - 5,7-diacetil-8-isoprenil flavanona (44).
  - 5-hidroxi-7-acetil-8-isoprenil flavanona (45).
  - 5-hidroxi-6",6"-dimetil- $\Delta^2$ -dihidro pirano [2",3"-h] flavanona (46e).
  - 5,5"-dihidroxi-6",6"-dimetil- $\Delta^2$ -dihidro pirano - [2",3"-h] flavanona (48).
 Que comprueban la estructura propuesta por Kattaev et al para éste compuesto.
4. Se correlacionó la glabranina(43b), con la obovatina(39) y la 7 metil glabranina(42), compuestos de estructura y estereoquímica conocida, los cuales establecieron que la estructura de la glabranina(43b) debe ser la 5,7-dihidroxi-8-isoprenil flavanona.
5. Se propone la configuración absoluta " S " para la glabranina(43b) en su centro asimétrico C-2, en base a su lectura de densidad óptica y los derivados de estereoquímica conocida citados en el punto 4.
6. Además de la misma planta se logró aislar e identificar: una mezcla de sitosterol-stigmasterol(38a-38b), obovatina(39), lupeol(40), sumatrol(41), 7 metil glabranina(42),  $\alpha$ -toxicarol(49) y quercetina(50).

## X. Lista de espectros.

5,7-diacetil-8-isoprenil flavanóna(43b).

Espectro No 1. IR.

Espectro No 2. RMP.

5,7-diacetil-8-isoprenil flavanóna(44).

Espectro No 3. IR.

Espectro No 4. RMP.

5-hidroxi-7-acetil-8-isoprenil flavanóna(45).

Espectro No 5. IR.

Espectro No 6. RMP.

5-hidroxi-6",6"-dimetil- $\Delta^2$ -dihidro pirano [2"-3"-h]  
flavanóna(46e).

Espectro No 7. IR.

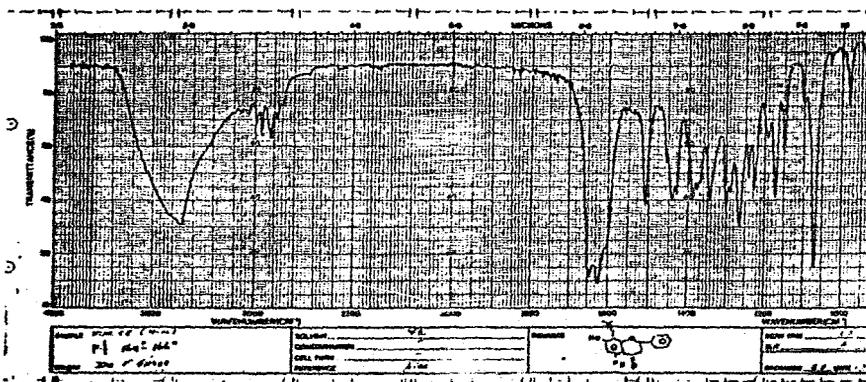
Espectro No 8. RMP.

5,5"-dihidroxi-6",6"-dimetil- $\Delta^2$ -dihidro pirano  
[2"-3"-h] flavanóna(48).

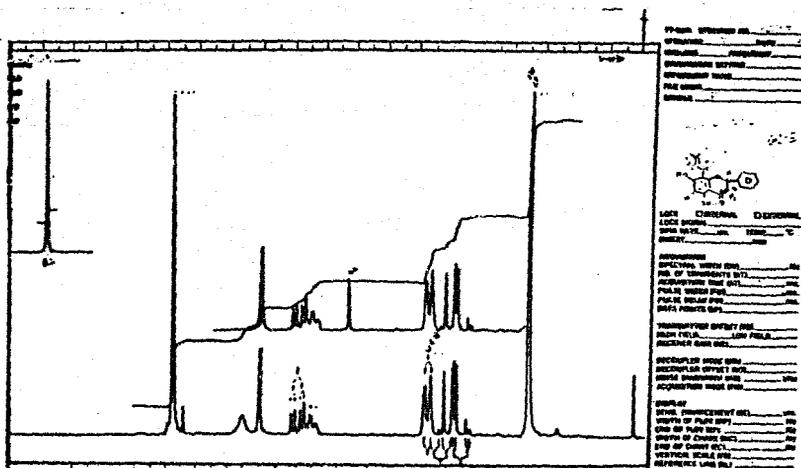
Espectro No 9. IR.

Espectro No 10. RMP.

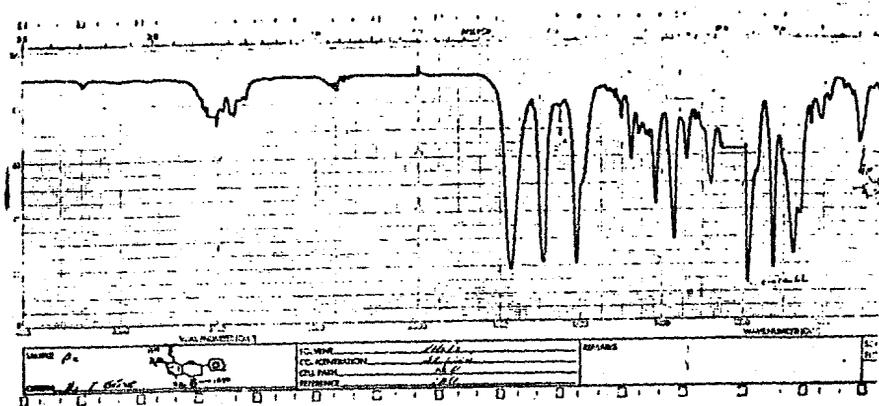
Espectro No 1.



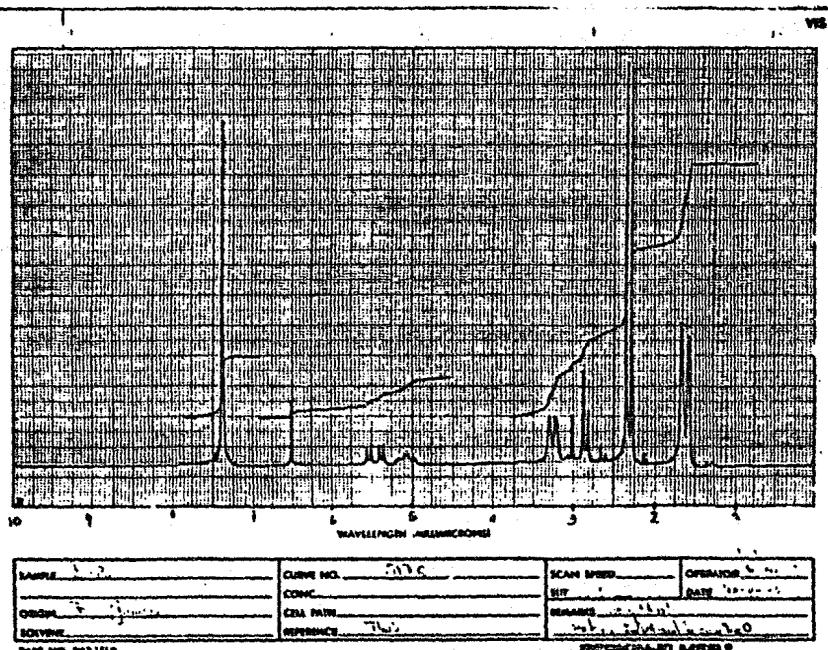
Espectro No 2.



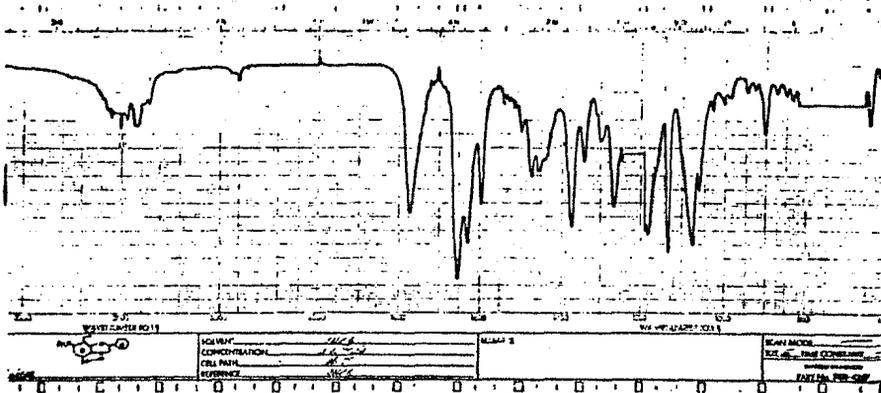
**Espectro No. 3.**



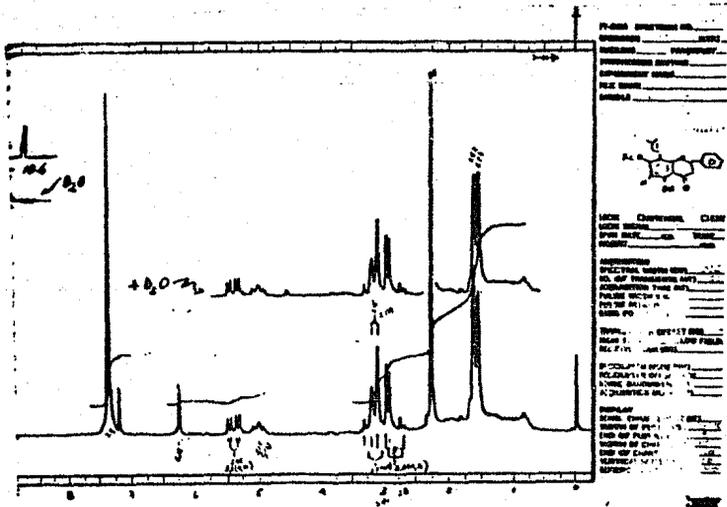
**Espectro No. 4.**



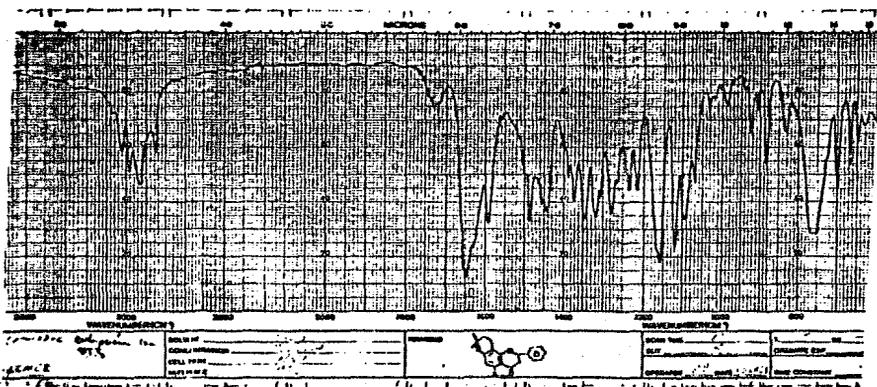
**Espectro No. 5.**



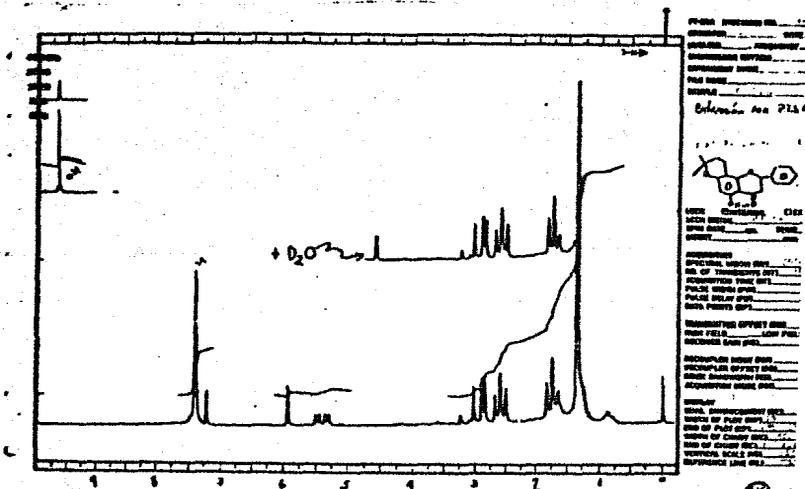
**Espectro No. 6.**



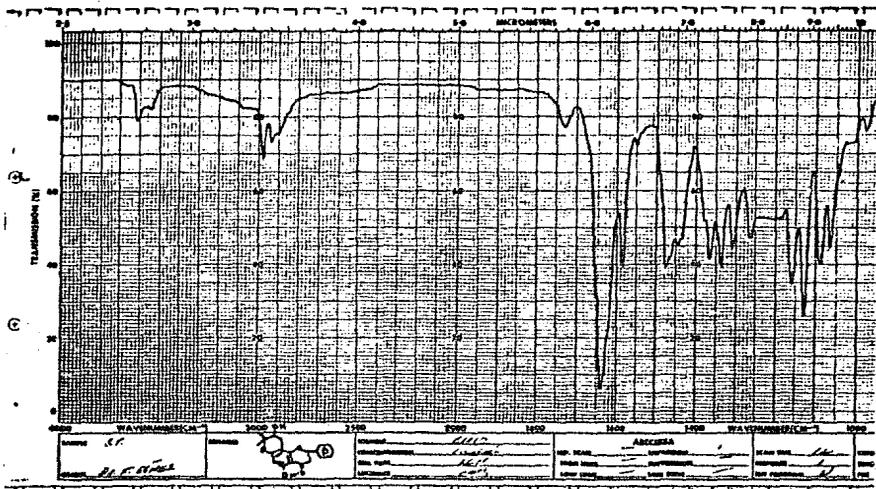
## Espectro No.7.



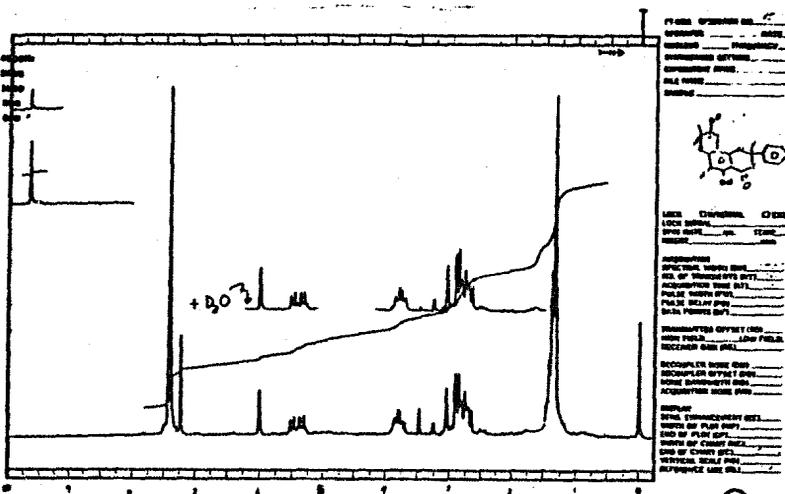
## Espectro No.8.



Espectro No. 9.



Espectro No. 10.



## XI. Bibliografía

- 1.- J.B. Harborne "Comparative biochemistry of the flavonoids". Academic Press Inc. (London) LTD 1967 p. 101.
- 2.- T. J. Mabry y A. Ulubelen, J. Agric. Food. Chem. (1980), 28 (2), 188.
- 3.- Trevor Robinson " The organic constituents of higher plants" 4a.ed., Ed. Cardus Press P.O. Box 1981; p.218-9
- 4.- H. Koike., Chem. Abs. (1931), 25,3395.
- 5.- S. Rusnyak, A. Szent-Gyorgyi., Nature (London) (1936),27,138.
- 6.- L. Freedman, A.J., Merritt. Science (1963), 139. 344.
- 7.- De Eds en "Comprehensive Biochemistry" M. Flurkin y G.H. Srutz Elsever Publishing Co. Amsterdam. vol.20 (1968) p. 127.
- 8.- C.A. Lau Chan, H.H. Chem, Phytochemistry. (1973), 12, 1829.
- 9.- J.S. Chalise, M.N. Westwood, Phytochemistry. (1972), II, 37.
- 10.- A.N. Ratnagiriswaran., K.B. Shedra., y K. Venka Toraman., Biochem. J. (1934), 28. 1964.
- 11.- R. Laberte., D. Campbell. y F. Bruderlein., Can. J. Pharm. Sci. (1967), 2, 37.
- 12.- D. Charles Hufford., India. (1978), 2, 41
- 13.- R.B. Bradbury y D.E. White., J. Chem. Soc.(1951),3447.  
J.D. Bigger. y D.H. Curnow., Biochem. J. (1954), 58, 278.
- 14.- N.R. Fornsworth., A.S. Bingel., y G.A. Cardell., J. Pharm. Sci. (1975), 64, 717.
- 15.- G.J. Martin., Science (1953), 117, 363.  
E.W.K. Cheng. y L. Yuder Story., Science. (1954), 120,575.  
E. Wung Flux., J. Endocrinol. (1962), 24, 341.
- 16.- S.M. Kupchan, C.W. Siegel y J.R. Knox., J. Org. Chem. (1969), 34, 1460.
- 17.- S.M. Kupchan, y E. Bauerschmidt., Phytochemistry. (1971), 10, 664.
- 18.- R.H. Doberstein., H. Tin Wa., y H.H.S. Fung., Jour. Pharm. Sci. (1976). 66 (4), 600.

- 19.- H. Warner., U. Seligman y M. Seitz., Tetrahedron Lett. (1971), 1895.
- 20.- B. Braatz., "Symposium on the pharmacodynamics of silymarin" Ed. Urban. Munchen 1976, a través de T.J. Mabry y A Ulubelen, J. Agric. Food. Chem. (1980), 28 (2). 191.
- 21.- Kattaev Nish y G.H. Nikonov. Khim. Prir. Soedin. (1972), 6, 805.
- 22.- T.J. Mabry. Rev. Latinoamer. Quim. (1975), 6, 107.
- 23.- B.A. Bohm y C.W. Glennie., Phytochemistry. (1969), 8, 905. W. E. y T. Inoue., Ibid. (1967), 6, 59.
- 24.- T.A. Geissman., "The chemistry of flavonoids compounds". Oxford Ed. Pergamon Press 1962. a p-289, bp-451, cp-175, dp-423.
- 25.- Indrani Jayamaram., A. Ghanin y Hmid A., Phytochemistry. (1980), 19, 1267.
- 26.- K. S. Ashok., P.S. Ram., K.P. Madhusudaman, Werner Herz y V.G. Sorengolaman., Phytochemistry. (1981), 20, 803.
- 27.- Yuh-Lin Chen., Yei Shung Wang., Yun-Lian Lin y Keiichi Otha. Agric. Biol. Chem. (1978), 42, 2431.