

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO  
Escuela Nacional de Estudios Profesionales Zaragoza



---

---

"NUEVOS FLAVONOIDES AISLADOS DE  
Tephrosia quercetorum Wood."

T E S I S  
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE  
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO  
P R E S E N T A  
SIXTO MORALES NERIA



México, D. F. 1984



Universidad Nacional  
Autónoma de México



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

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

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

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

## I N D I C E

	Pag.
I.- INTRODUCCION	1
II.- FUNDAMENTACION DEL TEMA	2
III.- PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	10
IV.- OBJETIVOS	11
V.- HIPOTESIS	12
VI.- MATERIAL Y METODOS	13
VII.- DESARROLLO	16
VIII.- DISCUSION	25
IX.- RESUMEN Y CONCLUSIONES	37
X.- BIBLIOGRAFIA	38

## I.- INTRODUCCION

El avance científico y tecnológico de los tiempos modernos requiere de conocimientos más exactos acerca de los recursos naturales disponibles, uno de estos recursos son los vegetales.

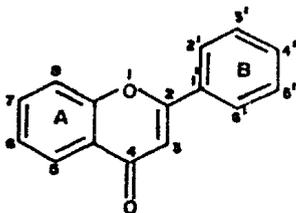
Recientemente se están tratando de cambiar los medicamentos del tipo sintético por los naturales, ya que éstos últimos tienen menos probabilidad de ser tóxicos o venenosos por haberse desarrollado en asociación con la vida. De ahí el interés por el conocimiento de las plantas medicinales.

En la actualidad el avance de la investigación científica en el campo de las sustancias de origen vegetal se ha incrementado notablemente, gracias al desarrollo de los métodos de purificación y las técnicas espectroscópicas, los cuales ayudan a establecer la estructura química de muchos compuestos, con mayor eficacia, facilitando la tarea del investigador.

En el Instituto de Química de la U.N.A.M. se han venido realizando estudios sobre los constituyentes químicos de plantas mexicanas, entre ellas las del género Tephrosia, de la familia de las Leguminosas. En el presente trabajo se describe el estudio químico de tres plantas del género Tephrosia: T. quercetorum Wood, T. belizensis Lundell y T. macrophylla .

## II.- FUNDAMENTACION DEL TEMA

Los flavonoides son un grupo de compuestos que contienen como estructura base la 2-fenil- $\gamma$ -benzopirona o flavona (I) .



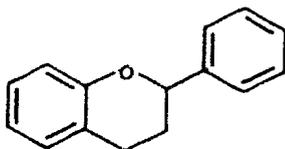
( I )

Los flavonoides se encuentran distribuidos en las plantas, tanto libres (generalmente en los tejidos leñosos) como formando glicósidos<sup>1</sup>.

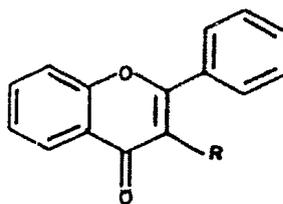
Estos compuestos se forman biogénicamente por dos rutas: <sup>2,3</sup>

- 1.- El anillo A es formado enzimáticamente por tres unidades de malonil-CoA, originadas por la ruta del acetato-malonato.
- 2.- El anillo B y las tres unidades de carbono, son formados por nueve átomos de carbono con estructura de 1-arilpropano, originados por la ruta ya conocida del ácido shiquímico.

Las dos rutas biogénicas se unen para formar la chalcona. El par isomérico chalcona-flavanona sufre posteriores transformaciones que incluyen oxidaciones, transposiciones, alquilaciones, acilaciones, etc., originando los flavanos (II), flavanonas (III), dihidroflavonoles (IV), flavonas (V), flavonoles (VI), chalconas (VII), isoflavanos (VIII), etc.

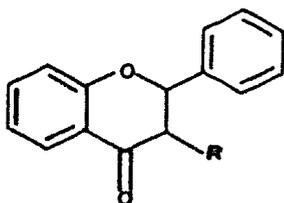


(II)



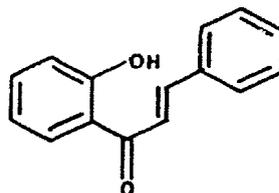
(V) R = H

(VI) R = OH

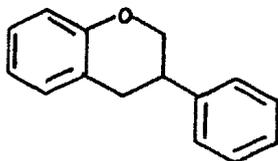


(III) R = H

(IV) R = OH



(VII)



(VIII)

Se ha demostrado que éstos compuestos tienen diferentes efectos biológicos.

En la tabla 1 se citan varios flavonoides con su actividad biológica, en la cual se puede apreciar que ésta es extremadamente diversa. Además, diferentes flavonoides pueden tener efectos opuestos: aumento ó disminución del tono muscular cardíaco; hipotensores ó hipertensores sanguíneos; inhibidores ó activadores enzimáticos, etc.

TABLA 1

COMPUESTO	ACTIVIDAD BIOLÓGICA	REF.
Butina (IX)	Piscicida	5
Quercetina (X)	Anticancerígeno	4
	Aumento del tono muscular cardiaco	6
	Reducción del Iodo en la Tiroides	9
	Potenciación de la epinefrina	13
	Protección contra el shock histamínico	4
	Espermaticida	4
	Espasmolítico	20
	Antiviral	4
Hesperetina (XI)	Disminución del tono muscular cardiaco	4
Genkwanina (XII)	Contracción del útero	8
	Relajante muscular	8
	Incremento en los movimientos respiratorios.	8
Miricetina (XIII)	Hipertensor sanguíneo	11
	Antidiarréico	3
Rutina (XIV)	Fortificante de los capilares	7
	Protección contra los rayos X	12
Naringenina (XV)	Hipotensor sanguíneo	6
	Antioxidante en grasas	4
	Antiinflamatorio	16
Genisteina (XVI)	Estrogénico	14
Flavona (XVII)	Bactericida	15
Calycopterina (XVIII)	Antihelmíntico	17
Noviletina (XIX)	Fungistático	18
Eupatorina (XX)	Anticancerígeno (Contra el carcinoma de nasofaringe) <sup>21, 22</sup>	19
Silybina (XXI)	Antihepatotóxico	3

Algunas otras propiedades de interés biológico que pueden presentar los flavonoides, son las siguientes:

INHIBICION ENZIMATICA.- La quercetina (X), la quercitrina (XXII) y la miricitrina (XXIII), mostraron ser más potentes que los inhibidores previamente conocidos de la aldosa reductasa<sup>10,23</sup>. Esta enzima está implicada en la formación de cataratas, en diabetes y galactosemia. La formación de alcoholes a partir del azúcar, catalizada por la aldosa reductasa, parece ser el iniciador del proceso de cataratas. Debido a que en algunos flavonoides estudiados, la actividad inhibitoria difiere de un compuesto a otro, no es posible hasta hoy en día, determinar con exactitud la relación entre la estructura y la capacidad inhibitoria de un compuesto; sin embargo algunas generalidades se pueden establecer:

- 1.- Las flavonas son más potentes que las flavanonas.
- 2.- Los éteres de los flavonoides son menos potentes que los correspondientes fenoles.
- 3.- En los flavonoles, una sustitución orto-dihidroxi, en el anillo C, favorece una mayor inhibición que una sustitución meta-dihidroxi.
- 4.- La glicosidación tiene diferentes influencias, la 3-O-glicosidación con un disacárido disminuye la actividad inhibitoria, mientras la 3-O-glicosidación con L-ramnosa incrementa la actividad inhibitoria y la C-glicosidación no afecta la potencia.
- 5.- La acilación de la azúcar incrementa la potencia inhibitoria.

T. Mikaido et al<sup>24</sup>, investigaron que la noviletina (XIX) y la iriginina (XXIV) tenían una notable actividad inhibitoria del AMP<sub>C</sub>-fosfo-

diesterasa. El efecto farmacológico de estos flavonoides, fué estudiado "in vivo" con referencia al transporte de sulfato de bario, observado en el intestino del ratón.

El estudio de las relaciones estructura-actividad, de diferentes flavonoides estudiados, muestran que los polimetoxiflavonoides son generalmente más inhibitorios del AMP<sub>c</sub>-fosfodiesterasa que los correspondientes polihidroxifenoles.

Por otro lado, estudios llevados a cabo por Alain Bertz<sup>25</sup>, demuestran el efecto inhibitorio de la quercetina sobre la agregación plaquetaria y secreción de la serotonina, inducida por ADP, colágena o trombina. La compleja interacción de las plaquetas con los componentes de las paredes del bazo, es el primer paso en la trombosis y la arterioesclerosis. Así, parece ser que la quercetina y otros flavonoides pueden presentar interés farmacológico como agentes antitrombóticos.

Yoshiyuki K. et al<sup>26</sup>, observaron que las raíces secas de Cutellaria radix, contenían varios flavonoides, que una vez aislados mostraron inhibitorio sobre la peroxidación de los lípidos, que en animales superiores es considerada como dañina al hígado.

Por último, Mildred K. Buening, et al<sup>27</sup>, muestran que la adición "in vitro" de la flavona (XVII), noviletina (XIX) y la tangeritina - (XXVII), activaron la hidroxilación del benzopirano en los microsomas del hígado humano, mientras que la flavanona (XXVIII), Kaempferol - - (XXV), naringenina (XV) y la quercetina (X), inhibieron dicha hidroxilación. El benzopirano fué inoculado en el homogenizado de hígado.

Un examen en su estructura de los productos ensayados indica que los flavonoides que inhibieron poseen grupos -OH en varias posiciones de su molécula, mientras los flavonoides activadores poseen sustituyentes menos polares.

PROPIEDAD EDULCORANTE.- La propiedad edulcorante de alguna dihidrochalconas no ha tenido una aplicación en gran escala, debido en parte a su poca solubilidad en medio ácido, ya que la mayoría de los alimentos tienen éste pH, sin embargo presentan un potencial edulcorante considerable, como puede verse en la tabla 2, en la cual se ha tomado como referencia la sacarosa<sup>28</sup>.

TABLA 2

COMPUESTO	VALOR EDULCORANTE
Sacarosa	1
Naringenina-dihidrochalcona (XXIX)	300
Homoneohesperidin-dihidrochalcona (XXX)	1100
CH-401 (XXXI)	1600
Neohesperidin-dihidrochalcona (XXVI)	2000

AGENTES MUTAGENICOS.- R.K. Sauhu, et al<sup>29</sup>, demuestran que la queretina (X), kaempherol (XXV) y NHDC (XXVI) son clastogénicos\*. Estos compuestos exhiben grandes efectos citotóxicos sobre los eritrocitos de la médula de ratones machos. Los autores sugieren que el mecanismo de mutagenicidad es debido al anillo del flavonoide con un grupo -OH

\* Rompimiento de genes.

sobre la posición 3, un doble enlace en la posición 2-3 y el grupo ceto en la posición 4, estructura que permite al protón 3-OH tautomerizarse al compuesto 3-ceto.

La actividad clastogénica de éstos compuestos ha sido observada en dosis de 100-400 mg/kg en ratones machos. La dosis usada de estos flavonoides para el consumo humano, puede no mostrar ningún efecto clastogénico, pero su potencial para inducir alteraciones en los cromosomas a altas concentraciones es de tomarse en cuenta en la formulación de un producto que esté destinado para el consumo humano.

**ACTIVIDAD DE ALGUNOS FLAVONOIDES.-** El modelo usado para explicar las diferentes actividades de varios flavonoides, está basado en la actividad cardiovascular que presentan algunos de ellos. Desde el punto de vista de interacción del flavonoide con el receptor, los autores distinguen tres unidades estructurales<sup>20</sup>: I.- Unidad farmacofórica, II.- Unidad haptofórica adicional, y III.- Unidad de fijación.

En la unidad farmacofórica (I), los tres átomos de oxígeno de la molécula están parcialmente cargados, facilitando su unión con los receptores. Las distancias interatómicas de los tres átomos de oxígeno juegan un papel importante en dicha interacción. En la unidad haptofórica adicional (II), consta de los grupos que soportan los C-2 y C-3, que pueden interactuar con los receptores por un mecanismo de - - transferencia de carga. La unidad de fijación (III), que es el grupo R-CH<sub>2</sub>- soportado en el oxígeno del C-7, es la que determina el complejo molecular formado con los receptores. (Diagrama 1) .

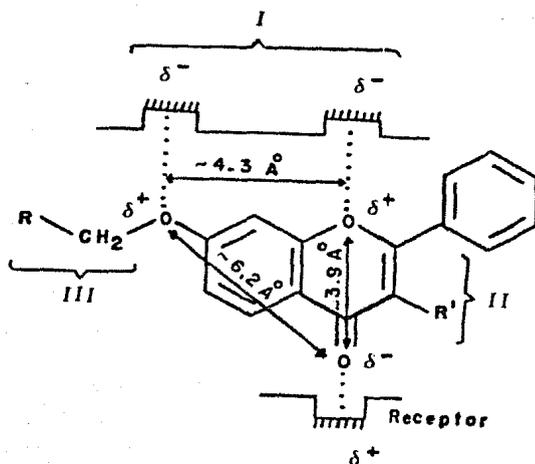
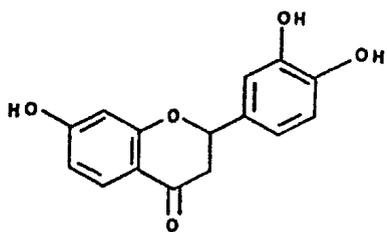
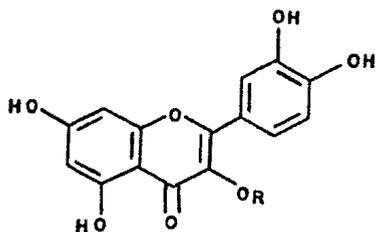


DIAGRAMA 1

Representación esquemática de las posibles uniones al receptor de los flavonoides.



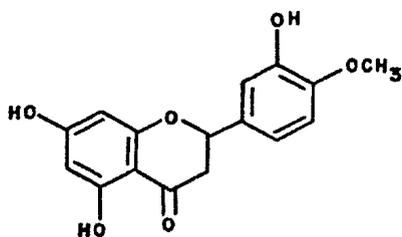
( IX )



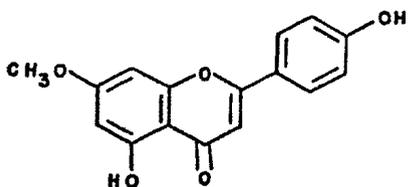
( X ) R = H

( XXII ) R = Ramnosa

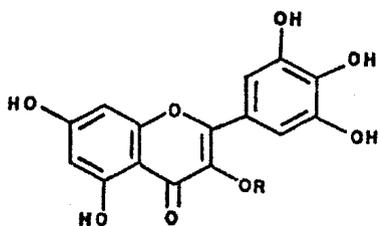
( XIV ) R = Glucosil ramnosa



( XI )

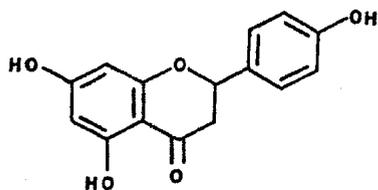


( XII )

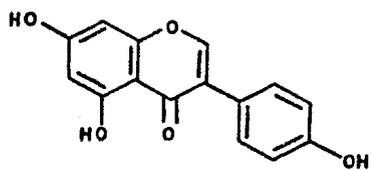


( XIII ) R = H

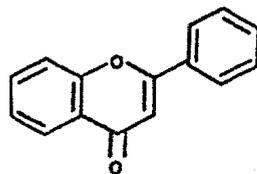
( XXIII ) R = Ramnosa



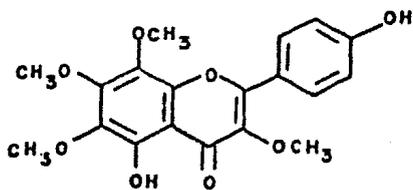
( XV )



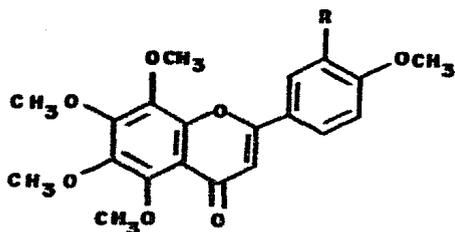
( XVI )



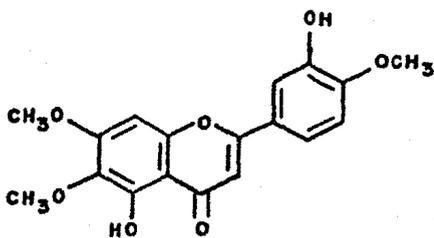
( XVII )



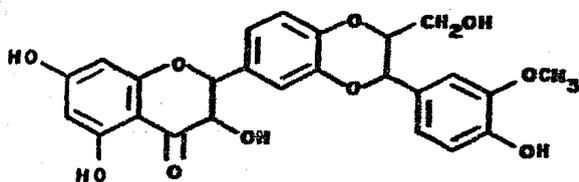
(XVIII)



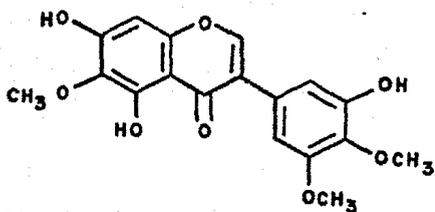
(XIX) R = OCH<sub>3</sub>  
(XXVII) R = H



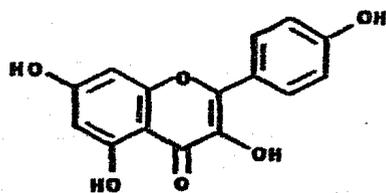
(XX)



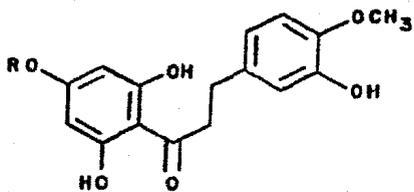
(XXI)



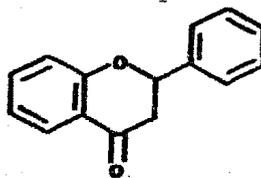
(XXIV)



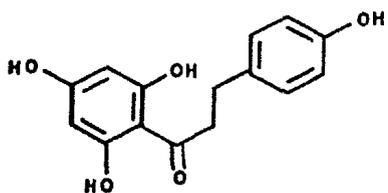
(XXV)



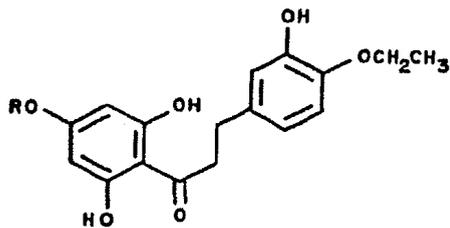
(XXVI) R = Glucosyl rambosa



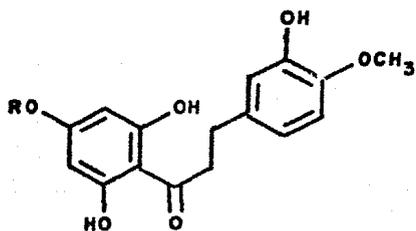
(XXVII)



(XXIX)



(XXX) R = Neohesperidosa



R = -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>Na

(XXXI)

### III.- PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La preocupación y el interés científico por conocer los recursos naturales con que cuenta el país, se ha incrementado notable y particularmente en lo que se refiere a las plantas.

Entre la diversa flora nacional, México cuenta con 50 especies de plantas del género Tephrosia (familia de las Leguminosas), de un total de 400 que existen en el mundo. La abundancia en México se registra en las costas, sobre el oceano pacífico (estados de Jalisco, Guerrero, Oaxaca y Chiapas) y parte del estado de Tabasco. De éstas plantas se han aislado flavonoides y rotenoides, compuestos con actividad farmacológica comprobada.

Primeramente es necesario conocer los componentes químicos que contienen dichas plantas, y posteriormente encontrar su posible aplicación, por lo tanto, se debe ampliar y completar la investigación fitoquímica de las plantas del género Tephrosia.

#### IV.- OBJETIVOS

Las plantas del género Tephrosia han sido motivo de interés en el Instituto de Química, y en otros centros de investigación de la U.N.A.M., ya que ésta plantas mexicanas son poco conocidas botánicamente y de ellas se han aislado entre otros compuestos, flavonoides y rotenoides, sustancias que han demostrado tener efectos biológicos interesantes. Por lo anterior se consideró importante estudiar algunas de las variedades mexicanas.

El objetivo principal de éste trabajo, es contribuir a la investigación y conocimiento químico del género Tephrosia, aislando e identificando los compuestos conocidos, así como determinar las estructuras moleculares de los compuestos no descritos en la literatura, de tres especies de éste genero: Tephrosia quercetorum Wood, Tephrosia belizensis Lundell y Tephrosia macrophylla.

Como objetivo secundario, está el familiarizarme con las principales técnicas de investigación aplicadas en el estudio químico de las plantas del genero Tephrosia, así como ayudar a ampliar el conocimiento químico de la flora mexicana.

## V.- HIPOTESIS

Si se utilizan los métodos de cromatografía y las técnicas instrumentales de espectroscopía de IR, UV, RMP, y EM, además de las insustituibles transformaciones y correlaciones químicas, que generalmente se utilizan en la investigación de metabolitos secundarios en plantas, es posible el aislamiento, la identificación, así como la determinación de las estructuras de los componentes químicos de las tres plantas del género Tephrosia en estudio, e incluso aislar sustancias que no han sido descritas en la literatura.

## VI.- MATERIAL Y METODOS

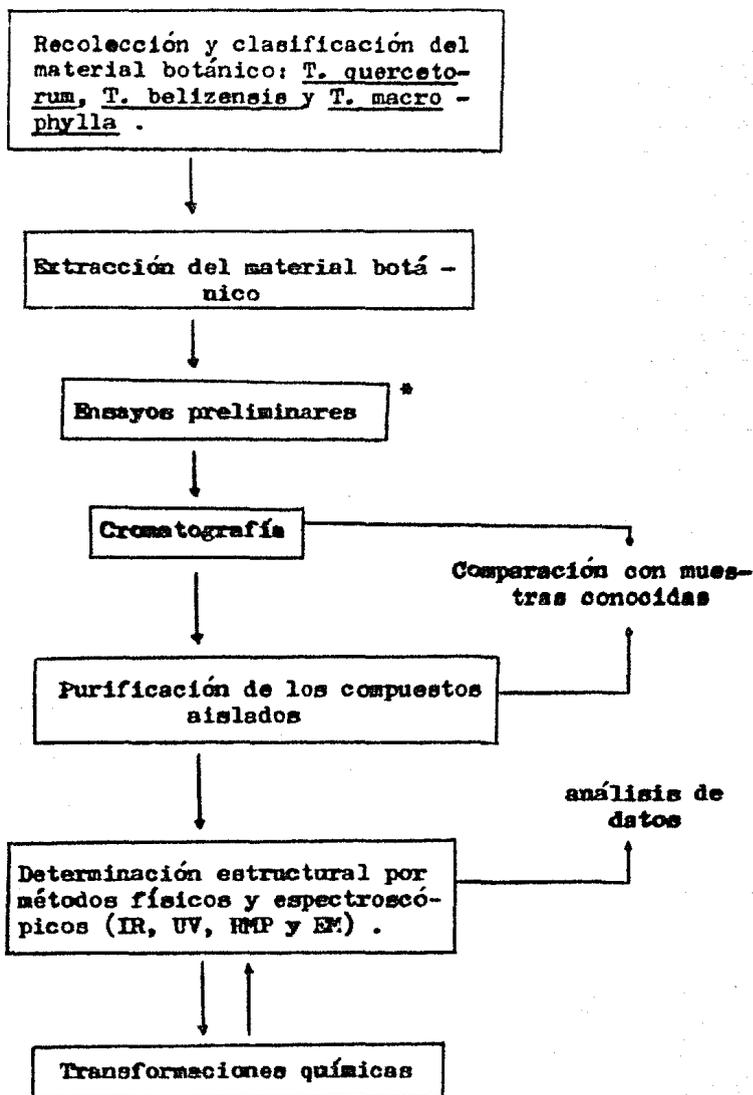
Se estudiaron tres plantas del género Tephrosia: T. quercetorum Wood, T. belizensis Lundell y T. macrophylla.

El material para el aislamiento y purificación de los componentes químicos de las plantas fueron: 3 recipientes de vidrio de 18 l, equipo de destilación, matraces esféricos de 100, 250, 500, 1000 y 10 000 ml, matraces Erlenmeyer de 5, 25, 50, 100, 250 y 500 ml, matraces Kitasato de 250 y 500 ml, pipetas graduadas de 1, 5 y 10 ml, agitador magnético (Magnestir), embudos de vidrio de varias dimensiones, embudos Hirsch de varias dimensiones, pinzas de tres dedos, nueces y soportes universales, columnas cromatográficas de varios tamaños, gel de sílice de malla 10-40  $\mu$ , placas preparativas de gel de sílice 60 F<sub>254</sub> de 2 mm de espesor y cromatoplacas de gel de sílice F<sub>254</sub> de 0.25 y 2 mm de espesor.

Equipo: balanza analítica (Mettler), lámpara de UV, bomba de vacío, refrigerador y parrilla.

Los principales disolventes fueron: hexano, cloroformo, acetato de etilo, acetona y metanol.

Reactivos: sulfato de sodio anhidro, bicarbonato de sodio, magnesio, cinc, piridina, anhídrido acético, acetona, ácido sulfúrico concentrado, ácido clorhídrico, "reactivo de Jones", "reactivo de Sarett", "reactivo de Molisch" y solución de cloruro férrico.

ESQUEMA GENERAL DE TRABAJO

\* Para flavonoides, enoles y azúcares.

Los puntos de fusión se determinaron en un aparato Fisher Johns y no están corregidos. Los espectros de IR se determinaron en un espectrofotómetro Perkin-Elmer, modelo 283B ó 681, en película, cloroformo ó KBr. Los espectros de UV se determinaron en un espectrofotómetro Perkin-Elmer modelo 552, en metanol. Los espectros de masas se determinaron en un espectrofotómetro Hewlett-Packard modelo 5985. Los espectros de RMP se determinaron en un espectrofotómetro analítico Varian modelo FT-80A ó A-60A, en solución de  $\text{CDCl}_3$ , los desplazamientos químicos ( $\delta$ ) están dados en ppm referidos al TMS como referencia interna. La multiplicidad de las señales se indican como: s = simple, d = doble, t = triple, dd = doble de doble, dt = doble de triple y m = múltiple. Los valores entre parentesis indican constantes de acoplamiento en Hertz.

La pureza de los productos se siguió mediante cromatografía en placa delgada, usando como revelador una solución de sulfato cérico al 1% en ácido sulfúrico 2N .

## VII.- DESARROLLO

La Tephrosia quercetorum Wood\*, es una planta perteneciente a la familia de las Leguminosas; una muestra de ésta fue recolectada el 5 de diciembre de 1982 en el km 16.8 sobre el camino a Tetipac, Guerrero, a 21 km de Taxco.

La raíz de la planta (660 g) se dejó secar a temperatura ambiente, se cortó en trozos pequeños y se extrajo a reflujo con hexano ( 8 l) durante 4 horas, posteriormente con una mezcla de hexano-acetona 1:1 (8 l) y finalmente con metanol (8 l). Los extractos, a los cuales denominamos A, B y C respectivamente, se concentraron por destilación a presión reducida, obteniéndose en cada caso residuos pastosos de color verde.

### Cromatografía del extracto hexánico (A)

El extracto A (27.8 g) se disolvió en hexano y se fraccionó en una columna sobre 450 g de gel de sílice, malla 10-40  $\mu$ , utilizando como eluyentes: hexano, hexano-acetato de etilo (8:2), acetato de etilo y finalmente con acetato de etilo-metanol (1:1). Se obtuvieron fracciones de 500 ml a las cuales se les eliminó el disolvente por destilación a presión reducida.

De las fracciones eluidas con hexano se logró aislar 2.3 g de un sólido blanco de p.f. 119-121° (cristalizado de acetona-hexano) el cual se identificó por sus datos físicos, espectroscópicos y por comparación con una muestra auténtica, como 7-metil glabranina (1), (p.f. descrito - - 123-125°) <sup>30</sup>.

\* Agradecemos al Sr. O. Tellez del Instituto de biología (U.N.A.M.), la recolección y clasificación del material botánico.

De las fracciones eluidas con hexano-acetato de etilo (8:2) se aislaron 100 mg de un sólido blanco con p.f. 138-140° (cristalizado de éter-hexano), el cual se identificó por sus datos físicos, espectroscópicos y por comparación con una muestra auténtica, como 5-metil obovatina (3), (p.f. descrito 145-148°) <sup>31</sup>.

También de éstas fracciones, se aislaron 520 mg de un sólido blanco de p.f. 154-155° (cristalizado de acetona-hexano), el cual se identificó por sus datos espectroscópicos (UV, IR, RMP y EM) como tephrobottina (2), (p.f. descrito 147-148°), aislado anteriormente de T. abbotiae <sup>32</sup>.

De las fracciones de mayor polaridad, eluidas con hexano-acetato de etilo (8:2), se aislaron 490 mg de un sólido blanco, que, cristalizado de acetona-hexano dió un p.f. 99-100° y al cual denominamos tephrobottinol (5) y cuyas constantes físicas y espectroscópicas son las siguientes:

$$[\alpha] = -2.71^{\circ} (\text{c}, 0.221 \text{ g}/100\text{ml}, \text{CHCl}_3)$$

UV  $\lambda$  max. (Metanol), nm ( $\epsilon$ ); 203 (11078), 234 (32253),

286 (41142).

IR  $\nu$  max. (KBr) 3440  $\text{cm}^{-1}$  (O-H), 3040  $\text{cm}^{-1}$  (C-H aromático), 2980, 2930 y 2840  $\text{cm}^{-1}$  (C-H alifático), 1585 y 1490  $\text{cm}^{-1}$  (C=C aromático), 1130  $\text{cm}^{-1}$  (C-O, alcohol secundario).

RMP ( $\text{CDCl}_3$ ) 1.38 s (6H, 2XCH<sub>3</sub>-9'), 2.17 m (2H, OH-3 y OH-4), 3.8 s (3H, CH<sub>3</sub>O-5), 3.92 dd (H, J=6,8, H-3), 4.92 d (H, J=8, H-2), 4.95 d (H, J=6, H-4), 5.34 d (H, J=10, H-E'), 6.06 s (H, H-6), 6.52 d (H, J=10, H-7'), 7.41 m (5H, aromático).

EM m/e 354  $M^+(C_{21}H_{22}O_5)$  20%, 339  $(M^+ - CH_3)$  46.8%, 321  $(M^+ - CH_3 - H_2O)$  31%, 219  $(339 - C_8H_8O)$  100% .

También de éstas fracciones se aislaron, por cromatografía en placa preparativa de gel de sílice (hexano-acetato de etilo 1:1), 400 mg de un aceite de color amarillo, que se identificó por sus datos espectroscópicos (IR, UV, RMP y EM) como 4-hidroxi-5,7-dimetoxi-8-isoprenilflavano (4), aislado por primera vez de T. watsoniana y denominado tephrowatsina A<sup>33</sup>.

De las fracciones eluidas con acetato de etilo se aislaron 30 mg de un sólido blanco, que, cristalizado de acetona-hexano dió un p.f. 88-90°, el cual se identificó por sus datos espectroscópicos (IR, UV, RMP y EM) como 5,7-dimetil glabranina (6). Este compuesto fue obtenido por Jayaraman et al<sup>30</sup>, por metilación de 7-metil glabranina (1), p.f. reportado 92-94°, pero es la primera vez que se obtiene en forma natural.

#### Cromatografía del extracto hexano-acetona 1:1 (B)

El extracto B (12.5 g), se disolvió en una mezcla de hexano-acetona (9:1) y se fraccionó en una columna con 75 g de gel de sílice, procediendo en la forma anteriormente descrita.

De las fracciones eluidas con hexano y hexano-acetona se identificaron, por comparación con muestras auténticas, los siguientes compuestos: 7-metil glabranina (1), tephrobottina (2), tephrowatsina A (4), tephrobottinol (5) y 5,7-dimetil glabranina (6) .

## Cromatografía del extracto metanólico (C)

El extracto C (23.9 g) se fraccionó en columna sobre 100 g de gel de sílice, procediendo en la forma anteriormente descrita.

De las fracciones eluidas con hexano y hexano-acetona se lograron identificar, por comparación con muestras auténticas, los siguientes compuestos: 7-metil glabranina (1), tephrobotina (2), 5-metil obovatina (3), tephrobotinol (5) y 5,7-dimetil glabranina (6).

Por recromatografía en placa preparativa de gel de sílice, de las fracciones eluidas con hexano, utilizando como eluyente hexano-éter (7:3), se obtuvieron los compuestos (7) y (8).

El producto menos polar 7 (30 mg) resultó ser un aceite de color amarillo, el cual fue identificado por sus datos espectroscópicos (IR, UV, RMP y EM) como 4-metil tephrobotina, cuyas constantes físicas y espectroscópicas son las siguientes:

$$[\alpha] = -16.4^{\circ} \quad (c, 0.322 \text{ g/100 ml, CHCl}_3) .$$

UV  $\lambda$  max. (Metanol), nm ( $\epsilon$ ); 204 (23750), 235 (25000) y 287 (6574) .

IR  $\nu$  max. (Película) 3030  $\text{cm}^{-1}$  (C-H aromático), 2970, 2930, 2860 y 2820  $\text{cm}^{-1}$  (C-H alifático), 1585 y 1500  $\text{cm}^{-1}$  (C=C aromático) .

RMP ( $\text{CDCl}_3$ ) 1.37 s (6H, 2XCH<sub>3</sub>-9'), 2.28 m (2H, H-3), 3.42 s (3H, CH<sub>3</sub>O-), 3.78 s (3H, CH<sub>3</sub>O-), 4.48 t (H, J=3, H-4), 5.2 dd (H, J=4,12, H-2), 5.31 d (H, J=10, H-8'), 6.0 s (H, H-6), 6.56 d (H, J=10, H-7'), 7.35 m (5H, aromático) .

EM m/e 352 M<sup>+</sup> (C<sub>22</sub>H<sub>24</sub>O<sub>4</sub>) 27%, 321 (M<sup>+</sup>-OCH<sub>3</sub>) 15%, 337 (M<sup>+</sup>-CH<sub>3</sub>) 88%  
233 (337-C<sub>8</sub>H<sub>8</sub>) 100% .

El producto de mayor polaridad 8 (35 mg), al que denominamos tephrowsina F, fue identificado por sus datos espectroscópicos (IR, UV, RMP y EM) como 4,5,7-trimetoxi-8-isoprenilflavano, cuyas constantes físicas y espectroscópicas son las siguientes:

$$[\alpha]_D^{25} = -42.18^\circ \quad (c, 0.192 \text{ g}/100 \text{ ml, CHCl}_3).$$

UV  $\lambda$  max. (Metanol), nm ( $\epsilon$ ); 211 (66240), 277 (1646).

IR  $\nu$  max. (Película) 3030  $\text{cm}^{-1}$  (C-H aromático), 2930 y 2840  $\text{cm}^{-1}$  (C-H alifático), 1610 y 1500  $\text{cm}^{-1}$  (C=C aromático).

RMP ( $\text{CDCl}_3$ ) 1.62 s (6H,  $2\text{XCH}_3$ -9'), 2.34 m (2H, H-3), 3.26 d (2H,  $J=7$ , H-7'), 3.46 s (3H,  $\text{CH}_3$ O-), 3.81 s (3H,  $\text{CH}_3$ O-), 3.85 s (3H,  $\text{CH}_3$ O-), 4.54 t (H,  $J=3$ , H-4), 5.1 t (H,  $J=7$ , H-8'), 5.29 dd (H,  $J=4,12$ , H-2), 6.12 s (H, H-6), 7.39 m (5H, aromático).

EM m/e 368  $\text{M}^+$  ( $\text{C}_{23}\text{H}_{28}\text{O}_4$ ) 70%, 337 ( $\text{M}^+ - \text{OCH}_3$ ) 47%, 353 ( $\text{M}^+ - \text{CH}_3$ ) 3.7%, 249 ( $353 - \text{C}_8\text{H}_8$ ) 100%, 221 ( $249 - \text{CO}$ ) 75%.

#### Acetilación del tephrobottinol (5)

Al compuesto 5 (58.9 mg) disuelto en 0.5 ml de piridina, se le adicionó 0.5 ml de anhídrido acético y se dejó reaccionar a temperatura ambiente durante 10 minutos, siguiendo el curso de la reacción por cromatografía en capa fina (c.c.f.). Concluida esta se agregó agua fría, filtrando un sólido amorfo de color blanco, el cual se purificó en placa preparativa de gel de sílice (hexano-acetato de etilo 7:3), obteniéndose un líquido viscoso de color amarillo, el cual fue identificado por sus datos espectroscópicos (UV, IR, RMP y EM) como el diacetato 9, cuyas constantes espectroscópicas son las siguientes:

UV  $\lambda$  max. (Metanol), nm ( $\epsilon$ ); 204 (20106), 235 (27660) y 287 (6085).  
 IR  $\nu$  max. (Película) 3020  $\text{cm}^{-1}$  (C-H aromático), 2980, 2940 y 2850  
 $\text{cm}^{-1}$  (C-H alifático), 1745  $\text{cm}^{-1}$  (C=O de acetato), 1620, 1585 y 1490  
 $\text{cm}^{-1}$  (C=C aromático).

RMP ( $\text{CDCl}_3$ ) 1.44 s (6H,  $2\text{XCH}_3$ -9'), 1.8 s (3H,  $\text{CH}_3$ -Ac), 2.12 s  
 (3H,  $\text{CH}_3$ -Ac), 3.76 s (3H,  $\text{CH}_3$ O-5), 5.12 dd (H, J=6,7, H-3), 5.22 d  
 (H, J=7, H-2), 5.36 d (H, J=10, H-8'), 6.02 s (H, H-6), 6.4 d (H,  
 J=6, H-4), 6.5 d (H, J=10, H-7'), 7.36 m (5H, aromático).

EM m/e 438  $\text{M}^+$  ( $\text{C}_{25}\text{H}_{26}\text{O}_7$ ) 16%, 423 ( $\text{M}^+-\text{CH}_3$ ) 71%, 381 ( $423-\text{C}_2\text{H}_2\text{O}$ ) 5%,  
 321 ( $381-\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2$ ) 20%, 219 ( $321-\text{C}_8\text{H}_6$ ) 100% .

#### Oxidación de Tephrowatsina A (4) con el "reactivo de Jones"

Al compuesto 4 (84 mg) disuelto en 3 ml de acetona, previamente  
 colocado en un recipiente, en baño de hielo, se le adicionó 3 gotas  
 de reactivo de Jones (anhídrido crómico y ácido sulfúrico diluido)  
 durante 10 minutos, siguiendo el curso de la reacción por c.c.f. Una  
 vez concluida ésta, se diluyó con hexano y se fraccionó en columna  
 sobre 17 g de gel de sílice, malla 10-40  $\mu$ , eluyéndose con hexano,  
 acetato de etilo y acetona.

De las fracciones eluidas con hexano-acetato de etilo se logra-  
 ron aislar 8 mg de un sólido cristalino de color rojo, de p.f. 114-  
 116°, al que se identificó por sus datos espectroscópicos (IR, RMP  
 y EM) como 2-isoprenil-3,5-dimetoxifenol (10), cuyas constantes es-  
 pectroscópicas son las siguientes:

IR  $\nu$  max. (Película)  $3270\text{ cm}^{-1}$  (O-H),  $3030\text{ cm}^{-1}$  (C-H aromático),  $2980$  y  $2930\text{ cm}^{-1}$  (C-H alifático),  $1675\text{ cm}^{-1}$  (C=C),  $1630$  y  $1610\text{ cm}^{-1}$  (C=C aromático).

RMP ( $\text{CDCl}_3$ ) 1.6 s (3H,  $\text{CH}_3$ -3'), 1.72 s (3H,  $\text{CH}_3$ -3'), 3.13 d (2H,  $J=7$ , H-1'), 3.76 s (6H,  $2\text{XCH}_2\text{O}$ -), 5.13 t (H,  $J=7$ , H-2'), 5.8 s (2H, H-4 y H-6), 6.65 s (H, OH-1).

EM m/e  $222\text{ M}^+$  ( $\text{C}_{13}\text{H}_{18}\text{O}_3$ ) 7.5%,  $207\text{ (M}^+-\text{CH}_3)$  100%,  $192\text{ (207-CH}_3)$  29%,  $69\text{ (C}_5\text{H}_9)$  15%.

#### Oxidación de Ternrowatsina A (4) con el "reactivo de Sarett"

El compuesto 4 (123.8 mg) se disolvió en 2 ml de piridina y se adicionó a 514 mg de  $\text{CrO}_3$  en 3 ml de piridina. La mezcla de reacción se dejó en agitación durante 3 horas a temperatura ambiente, siguiendo el curso de la reacción por c.c.f. Una vez concluida ésta, se vertió en agua y se extrajo varias veces con acetato de etilo; la fase orgánica se lavó con HCl al 10%, con  $\text{NaHCO}_3$  al 10% y finalmente con agua hasta neutralidad, se secó con  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  y se eliminó el disolvente por destilación al vacío.

El producto obtenido se fraccionó en columna sobre 10g de gel de sílice, malla 0.06-0.2 mm, utilizando como eluyentes hexano y hexano-acetato de etilo.

De las fracciones eluidas con hexano-acetato de etilo se aisló el producto de oxidación, el cual se purificó en placa preparativa de gel de sílice (hexano-acetona 1:1), obteniéndose 20 mg de un sólido blanco de p.f.  $88-90^\circ$ , el cual fue identificado por sus constantes físicas, espectroscópicas, y por comparación con una muestra autén -

tica, como 5,7-dimetil glabranina (6) .

Estudio químico de Tephrosia belizensis Lundell

La Tephrosia belizensis Lundell, fue recolectada en el Estado de Oaxaca, es una planta perenne perteneciente a la familia de las Leguminosas. La parte aérea de la planta (1.235 kg) se dejó secar a temperatura ambiente y se extrajo con hexano (12 l) por 24 horas, posteriormente con cloroformo (12 l) y por último con metanol (12 l). Los tres extractos se concentraron por destilación al vacío, obteniéndose residuos pastosos de color verde.

De las cromatografías, por los métodos ya descritos, de los extractos hexánico, clorofórmico y metanólico, se lograron aislar e identificar por sus datos físicos y espectroscópicos, los siguientes compuestos ya descritos en la literatura: Lupeol<sup>34</sup> (11), mezcla de estigmasterol- $\beta$ -sitosterol<sup>35</sup> (12b-12a), mezcla de rotenona-deguelina<sup>36</sup> (13a-13b), 5-metil obovatina<sup>31</sup> (3) y quercetina<sup>37</sup> (14) .

Estudio químico de Tephrosia macrophylla\*

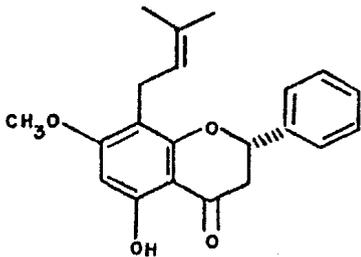
La Tephrosia macrophylla, es una planta perteneciente a la familia de las Leguminosas, recolectada a 10 km de "El Tuito", camino a El Cuale, Estado de Jalisco. La parte aérea de la planta (1 kg) se dejó secar a temperatura ambiente y se extrajo con hexano (12 l) y posteriormente con cloroformo (12 l) a temperatura ambiente. Ambos extractos se

---

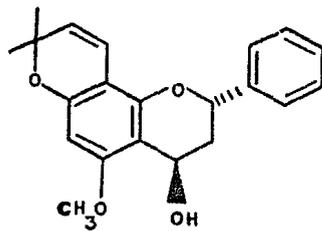
\* Una nueva especie no descrita del género Tephrosia. O. Tellez.

concentraron por destilación a presión reducida, obteniéndose residuos pastosos de color verde.

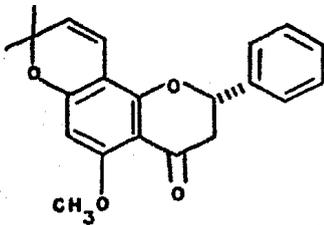
De las cromatografías, de los extractos hexánico y clorofórmico, se logró aislar un sólido cristalino de p.f. 190-191<sup>o</sup>, el cual fue identificado por comparación directa con una muestra original y sus datos físicos y espectroscópicos, como lupeol<sup>34</sup> (11) .



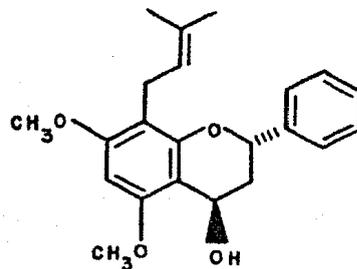
(1)



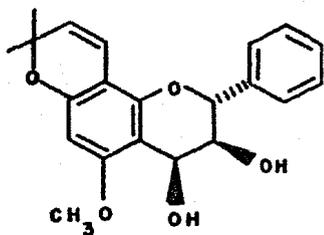
(2)



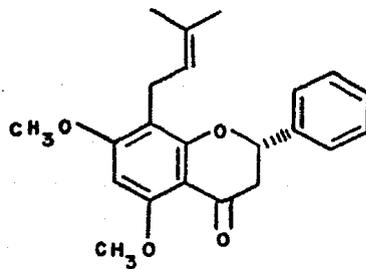
(3)



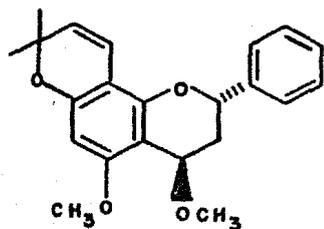
(4)



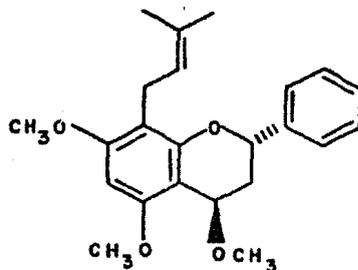
(5)



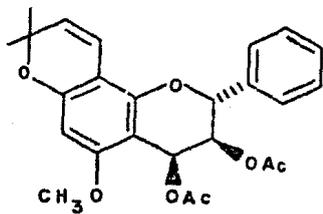
(6)



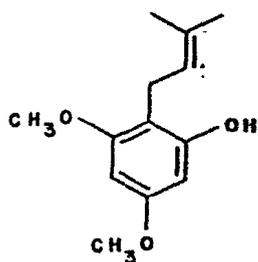
(7)



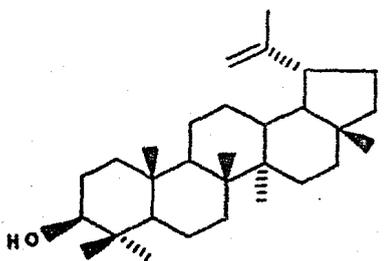
(8)



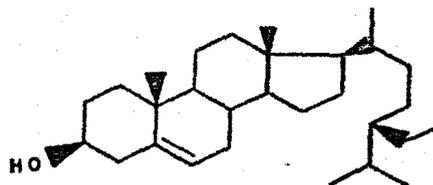
( 9 )



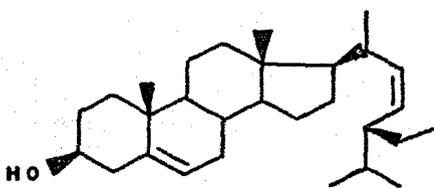
( 10 )



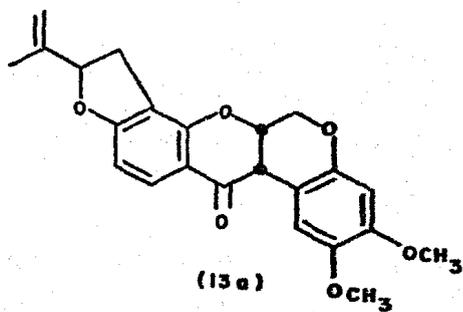
( 11 )



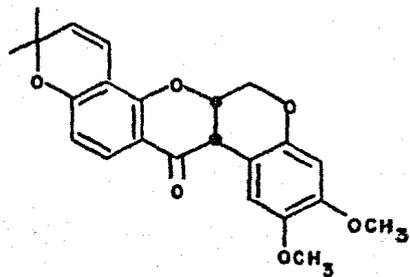
( 12 a )



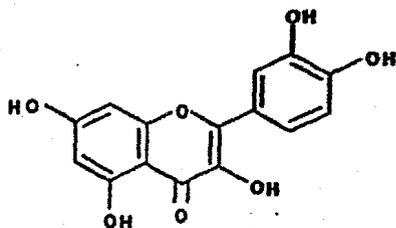
( 12 b )



( 13 a )



( 13 b )



( 14 )

VIII.- DISCUSIONTephrosia quercetorum Wood.

De la raíz de Tephrosia quercetorum Wood, se prepararon para su estudio químico tres extractos a los que denominamos A, B y C .

Del extracto hexánico (A), se logró aislar e identificar por sus constantes físicas y espectroscópicas, así como por comparación con muestras auténticas, los siguientes compuestos: 7-metil glabranina (1)<sup>30</sup>, tephrobottina (2)<sup>32</sup>, 5-metil obovatina (3)<sup>31</sup>, tephrowatsina A (4)<sup>33</sup> y 5,7-dimetil glabranina (6)<sup>30</sup>, y tres nuevos flavonoides: tephrobottinol (5), 4-metil tephrobottina (7) y tephrowatsina F (8). Los dos últimos compuestos se aislaron del extracto metanólico.

## Tephrobottinol (5)

Del extracto hexánico (A), de las fracciones eluidas con hexano-acetato de etilo (8:2), se aisló un compuesto que resulto ser un sólido cristalino,  $[\alpha] = -2.71^{\circ}$ , de color blanco, p.f. 99-100°, al cual denominamos tephrobottinol (5). Su peso molecular de 354 obtenido por espectrometría de masas, está de acuerdo para la fórmula condensada  $C_{21}H_{22}O_5$ .

En el espectro de IR presentó absorción para grupos oxhidrilo en  $3440\text{ cm}^{-1}$  y para dobles enlaces aromáticos en  $1585$  y  $1490\text{ cm}^{-1}$ .

En el espectro de UV se observaron absorciones a  $203\text{ nm}$  ( $\epsilon = 32253$ ),  $234\text{ nm}$  ( $\epsilon = 41142$ ) y  $286\text{ nm}$  ( $\epsilon = 11078$ ); lo cual indica la presencia de grupos aromáticos.

El tephrobottinol (5) presentó en su espectro de RMP, señales muy similares a las observada en la tephrobottina (2) lo cual sugiere

que las estructuras de ambos compuestos deben estar íntimamente relacionadas. En 7.41 ppm presentó una señal múltiple, equivalente a 5H, asignada al anillo aromático B del esqueleto de un flavonoide; en la región de los protones vinílicos, en 6.52 y 5.34 ppm se observaron señales correspondientes a un sistema AB ( $J = 10$  Hz), las cuales junto con una señal simple en 1.38 ppm (6H) nos sugieren la presencia de un dimetil cromeno. En la región de los protones aromáticos, en 6.03 ppm presentó, además, una señal simple cuya posición y multiplicidad están de acuerdo para un protón aislado, vecino a dos grupos electronegativos, uno de estos grupos debe ser un metoxilo, ya que en 3.8 ppm se observó una señal simple que integra para tres protones.

En 4.92 ppm presentó una señal doble ( $J = 8$  Hz), asignada al protón en  $C_2$ ; en 4.95 ppm aparece otra señal doble ( $J = 6$  Hz), asignada al protón base del oxhidrilo en  $C_4$ ; en 3.92 ppm se observó una señal doble de doble ( $J = 6$  Hz y  $J = 8$  Hz), asignada al protón en  $C_3$ .

Es interesante señalar que se observa una marcada diferencia en la multiplicidad de los protones  $H_2$ ,  $H_3$  y  $H_4$ ; además los desplazamientos químicos de los protones  $H_2$  y  $H_4$ , son aproximadamente iguales a los de la tephrobottina (2), cosa que no ocurre para el protón  $H_3$  el cual aparece a campo más bajo.

Por consiguiente la posición  $C_3$ -H debe estar ocupada por un grupo oxhidrilo.

La anterior suposición es confirmada por el espectro de masas, ya que la diferencia entre el peso molecular obtenido por espectrometría de masas para el tephrobottinol (5) y para la tephrobottina (2) es de 16 unidades de masa, lo que hace suponer que el tephrobottinol (5)

tenga un oxígeno de más, suposición que se comprueba en el espectro de RMP, por la señal múltiple en 2.17 ppm que integra para dos protones, la cual desaparece por intercambio con  $D_2O$ .

El espectro de masas del tephrobottinol (5) presentó, además, el fragmento de  $m/e$  339 que corresponde a  $(M^+ - CH_3)$  característico para un cromeno-flavonoide<sup>38</sup>. También se observó el fragmento de  $m/e$  321 que corresponde a  $(M^+ - CH_3 - H_2O)$  y los fragmentos de  $m/e$  219 ( $C_{12}H_{11}O_4$ ) y de  $m/e$  120 ( $C_8H_8O$ ) originados por la ruptura de tipo retro Diels-Alder, (esquema 1), los cuales están de acuerdo para el patrón de fragmentación de un 3,4-flavandiolo<sup>39</sup>.

En el espectro de RMP, las constantes de acoplamiento spin-spin entre los protones H-2 y H-3, H-3 y H-4, junto con sus desplazamientos químicos, indican la presencia de los grupos oxhidrilo en  $C_3$  y  $C_4$ , además de definir la estereoquímica y la conformación del anillo heterocíclico para el 3,4-flavandiolo<sup>40</sup>.

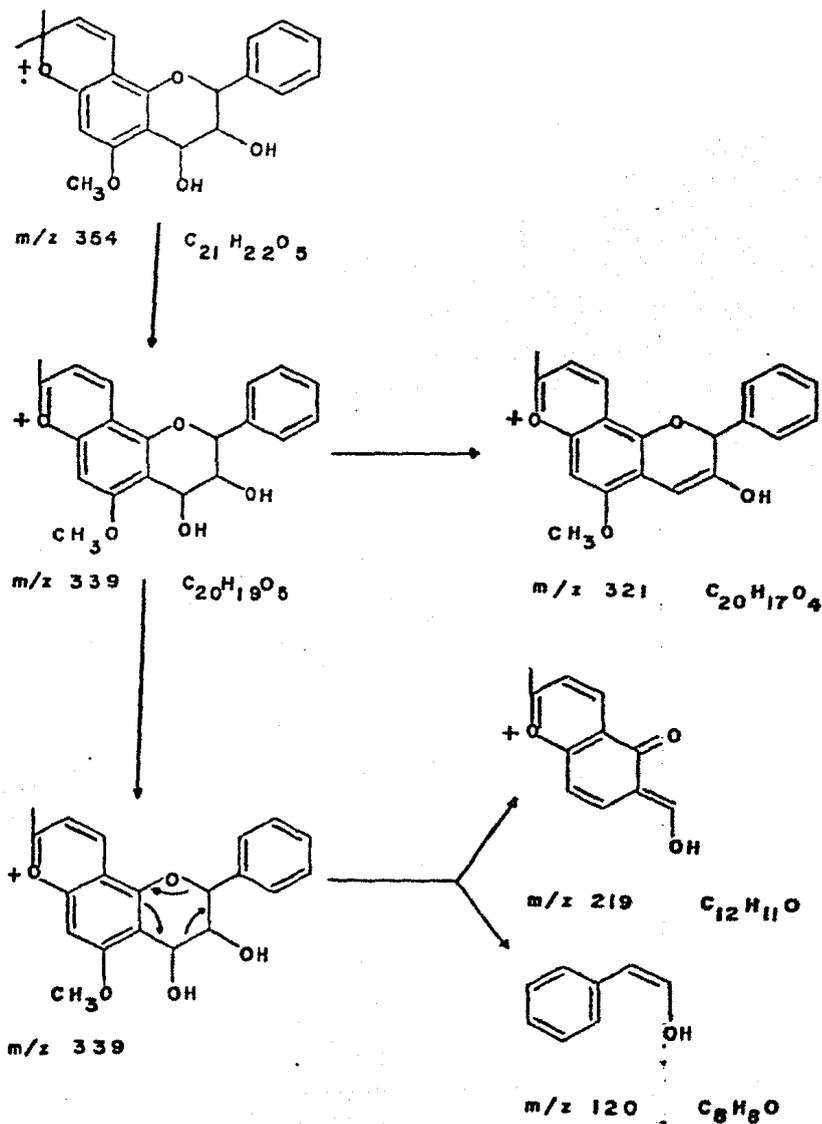
De ésta manera la constante de acoplamiento de 8 Hz entre los protones  $H_2$  y  $H_3$ , indican una interacción trans-diaxial y la constante de acoplamiento de 6 Hz entre los protones  $H_3$  y  $H_4$ , una interacción cis, axial ecuatorial, condiciones que se cumplen cuando el fenilo en  $C_2$  y el oxhidrilo en  $C_3$  están en posición ecuatorial, y el oxhidrilo en  $C_4$  en posición axial.

La naturaleza de los grupos oxhidrilo en la molécula del tephrobottinol (5) se comprobó cuando se acetiló con anhídrido acético-piridina a temperatura ambiente. El diacetato obtenido (9), presentó en el espectro de masas el ión molecular en  $m/e$  438, el cual está de acuerdo para la fórmula  $C_{25}H_{26}O_7$ .

En el espectro de IR, mostró la ausencia de bandas de absorción para grupos oxhidrilo, lo cual demuestra que la reacción de aceti -

## ESQUEMA 1

Fragmentación del tephrobotinol por impacto electrónico



lación se llevó a cabo, observándose además una banda de absorción en  $1745\text{ cm}^{-1}$ , asignada a carbonilo de acetato.

En el espectro de UV se observaron absorciones a  $204\text{ nm}$  ( $\epsilon = 20106$ ),  $235\text{ nm}$  ( $\epsilon = 27660$ ) y  $287\text{ nm}$  ( $\epsilon = 6085$ ): lo cual indica la presencia de grupos aromáticos.

Las características más importantes en el espectro de RMF del compuesto 9, son dos señales simples en  $1.8$  y  $2.12\text{ ppm}$  asignadas a los metilos de dos grupos acetoxi, lo que confirma la existencia de un diacetato, así como el corrimiento a campo bajo de los protones  $\text{C}_3\text{-H}$  ( $5.12\text{ ppm}$ ) y  $\text{C}_4\text{-H}$  ( $6.4\text{ ppm}$ ).

En el espectro de masas del compuesto 9 se observó el patrón de fragmentación típico para diacetatos de un  $3,4$ -flavandiolo, en el cual existe un efecto de la estereoquímica sobre la velocidad de eliminación de  $\text{Ac-OH}$ . Las abundancias relativas que involucran la pérdida de  $\text{Ac-OH}$ , indican una estereoquímica que está de acuerdo con la asignada para el tephrobottinol (5)<sup>41</sup>.

De esta manera se establece la naturaleza y las posiciones relativas de los grupos oxhidrilo, los cuales deben encontrarse en los átomos de carbono  $\text{C}_3$  y  $\text{C}_4$  del núcleo del flavano.

Por todo lo anterior, se propone que la estructura del tephrobottinol debe representarse por la fórmula estructural 5.

#### 5,7-dimetil glabranina (6)

De las fracciones eluidas con acetato de etilo, del extracto (A), se logró aislar un sólido cristalino (6), de color blanco con p.f.  $88-90^\circ$ ,  $[\alpha]_D^{25} = -30.9^\circ$ , cuyo peso molecular de  $352$ , obtenido por espectrometría de masas está de acuerdo para un compuesto de fórmula  $\text{C}_{22}\text{H}_{24}\text{O}_4$ .

Los datos espectroscópicos de IR, UV, RMN y E<sup>m</sup> permitieron establecer la estructura del compuesto 6, como 5,7-dimetil glabranina. Estos datos son congruentes con los reportados por Jayaraman, que obtiene dicho compuesto por metilación de 7-metil glabranina (1)<sup>30</sup>.

Con el fin de correlacionar la estructura del compuesto 6, se sometió a oxidación la tephrowatsina A (4), de estructura y estereoquímica conocidas.

Cuando se oxidó el compuesto 4, con el reactivo de Jones (CrO<sub>3</sub>-H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), se obtuvo un sólido cristalino (10), color naranja, de p.f. 114-116°. En el espectro de masas del compuesto 10, se observó el ión molecular en m/e 222, que está de acuerdo para un compuesto de fórmula condensada C<sub>13</sub>H<sub>18</sub>O<sub>3</sub>.

En el espectro de IR se observó una banda de absorción en 3270 cm<sup>-1</sup>, asignada a grupos oxhidrilo, notándose la ausencia de la banda de absorción para el grupo carbonilo.

El espectro de RMP del compuesto 10 presentó, en 1.6 y 1.75 ppm, dos señales simples, las cuales fueron asignadas a dos metilos vinílicos, una señal triple en 5.13 ppm (J = 7 Hz) atribuido a un protón olefínico y en 3.13 ppm una señal doble ancha (2H, J=7 Hz) cuyo desplazamiento y multiplicidad nos sugieren dos protones benecílicos. Estas señales nos permiten suponer la existencia de una cadena isoprenílica<sup>42</sup> en la molécula del compuesto 10.

En 3.76 ppm se observó una señal simple (6H), la cual fue asignada a dos metoxilos: en 5.8 ppm una señal simple, que por su posición y área bajo la curva de integración se asignó a dos protones aromáticos equivalentes, vecinos cada uno a dos grupos electronega-

tivos; finalmente en 6.65 ppm aparece una señal simple que integra para un protón, asignada a un oxhidrilo aromático, la cual desaparece cuando el compuesto es agitado con  $D_2O$ .

Los datos anteriores sugieren que se trata de un compuesto que contiene el anillo A del compuesto 4, así como sus sustituyentes. Esto se puede explicar en función del comportamiento de las flavanonas en medio ácido, el cual provoca la ruptura en el anillo del pirano, para formar la chalcona<sup>43</sup>, la cual por posteriores oxidaciones podría originar el 2-isoprenil,3,5-dimetoxifenol (10).

Por otro lado la oxidación del compuesto 4, por el método de "Sarett" ( $CrO_3$ -piridina), originó un sólido blanco de p.f. 88-90°, cuyos datos espectroscópicos de IR, UV, RMP y EM resultaron ser idénticos al compuesto 6.

Cabe mencionar que la estereoquímica y configuración absoluta en  $C_2$ , para el compuesto 6, se establece como "S"; al considerar, por una parte, que todas las flavanonas levorrotatorias tienen ésta configuración y, por otra parte, al hecho de que de la misma planta se aislaron las flavanonas: 7-metil glabranina (1) y la 5-metil obovatina (3), las que presentan dicha configuración.

#### Cromatografía del extracto hexano-acetona 1:1 (B)

De las fracciones eluidas con hexano y hexano-acetona (varias proporciones), del extracto B, se lograron aislar e identificar por sus constantes físicas y espectroscópicas, así como por comparación con muestras auténticas, los siguientes compuestos: 7-metil glabranina (1)<sup>30</sup>, tephrobottina (2)<sup>32</sup>, tephrobottinol (5), tephrowatsina A (4)<sup>33</sup> y 5,7-dimetil glabranina (6)<sup>30</sup>.

Estos cinco compuestos se aislaron también del extracto hexánico (A), descritos anteriormente.

#### Cromatografía del extracto metanólico (C)

Del extracto metanólico (C), se lograron aislar e identificar en la forma anteriormente expuesta, los mismos compuestos descritos para el extracto (B). Además, junto con estos compuestos, se aislaron dos nuevos flavonoides que resultaron ser: 4-metil tephrobottina (7) y tephrowatsina F (8).

#### 4-metil tephrobottina (7)

Del extracto metanólico (C), se aislaron dos compuestos. El producto de menor polaridad 7, resultó ser un aceite de color amarillo,  $[\alpha]_D^{20} = -16.4^{\circ}$ , cuyo peso molecular de 352 obtenido por espectrometría de masas está de acuerdo para un compuesto de fórmula  $C_{22}H_{24}O_4$ .

En el espectro de IR se observaron bandas de absorción a 1585 y 1500  $cm^{-1}$  características para dobles enlaces aromáticos.

En el espectro de UV se observaron absorciones a 204 nm ( $\epsilon = 23750$ ), 235 nm ( $\epsilon = 25000$ ) y 287 nm ( $\epsilon = 6574$ ), lo cual indica la presencia de grupos aromáticos.

El compuesto 7 presentó, en su espectro de RMP, señales muy similares a las observadas en la tephrobottina (2), con la diferencia de que el compuesto 7 muestra dos señales simples en 3.42 (3H) y 3.78 (3H) ppm, que indican la presencia de dos grupos metoxilo. También se observó una señal múltiple (5H) en 7.35 ppm, asignada al anillo aromático B del esqueleto de un flavonoide; en la región de -

los protones vinílicos, en 6.56 y 5.31 ppm se observaron las señales correspondientes a un sistema AB ( $J = 10$  Hz), las cuales junto con una señal simple en 1.37 (6H) ppm nos sugieren la presencia de un grupo dimetil cromeno; en la región de los protones aromáticos, en 6.0 ppm el espectro presentó una señal simple cuya posición y multiplicidad están de acuerdo para un protón aislado, vecino a dos grupos electronegativos; en 5.2 ppm presentó una señal doble de doble ( $J = 4$  Hz y  $J = 12$  Hz) asignada al protón en  $C_2$ ; en 2.28 (2H) ppm presentó una señal múltiple, asignada a los protones en  $C_3$ ; finalmente, en 4.48 ppm se observó una señal triple ( $J = 3$  Hz) asignada al protón base del metoxilo en  $C_4$ .

Por otro lado, debido a la pequeña constante de acoplamiento observada para el protón  $C-H_4$ , se le asignó al grupo metoxilo una valencia axial, ya que de encontrarse en valencia ecuatorial debería - mos observar una constante de acoplamiento mayor ( $J = 12$  Hz) hecho - que no se observa.

El espectro de masas del compuesto 7, presentó el ión molecular en  $m/e$  352 que está de acuerdo con la fórmula  $C_{22}H_{24}O_4$ . También se observaron los fragmentos en  $m/e$  321 y 337 que corresponden a las pérdidas de  $(M^+ - OCH_3)$  y  $(M^+ - CH_3)$  respectivamente, así como los fragmentos en  $m/e$  233 y 104 que corresponden a  $(C_{13}H_{13}O_4)$  100% y  $C_8H_8$ , originados por la ruptura de tipo retro Diels-Alder.

Con respecto a la estereoquímica y configuración absoluta del compuesto 7, se propone para el centro quiral  $C_2$  una configuración absoluta "S", basándonos en la coexistencia de la 7-metil glabrani-na (1) y la 5-metil obovatina (3) que tienen dicha configuración,

y de las cuales el compuesto 7 podría considerarse uno de sus precursores biogénicos. Por otra parte, la constante observada para el protón en  $C_4$  ( $J = 3$  Hz) indica que éste debe ser  $\alpha$ -ecuatorial, con lo cual el metoxilo debe encontrarse localizado en valencia  $\beta$ -axial. Basándonos en éstos datos, proponemos una configuración absoluta "R" para el centro quiral  $C_4$ .

Por los datos espectroscópicos de IR, UV, RMP y EM anteriormente expuestos, se propone que la estructura de la 4-metil tephrobottina deba ser representada por la fórmula 7.

#### Tephrowatsina F (8)

El producto de mayor polaridad 8, resultó ser un aceite de color amarillo,  $[\alpha]_D^{20} = -42.18^\circ$ , al que denominamos tephrowatsina F (8), cuyo peso molecular de 368, obtenido por espectrometría de masas, está de acuerdo para un compuesto de fórmula  $C_{23}H_{28}O_4$ .

En el espectro de IR se observaron bandas de absorción a 1610 y 1500  $cm^{-1}$  características para dobles enlaces carbono-carbono aromático.

En el espectro de UV se observaron absorciones a 211 nm ( $\epsilon = 66240$ ) y 277 nm ( $\epsilon = 1648$ ), lo cual indica la presencia de grupos aromáticos.

El compuesto 8 presentó, en su espectro de RMP, señales muy similares a las observadas en la tephrowatsina A (4), con la diferencia de que el compuesto 8, muestra tres señales simples en 3.46 (3H), - 3.81 (3H) y 3.85 (3H) ppm, que indican la presencia de tres grupos

metoxilo. También se observó en 7.39 ppm, una señal múltiple que integra para cinco protones, la cual confirma la presencia de un anillo aromático no sustituido; en 6.12 ppm aparece una señal simple, que por su desplazamiento y multiplicidad se asignó a un protón aromático aislado, vecino a dos grupos electronegativos. Igualmente se observó en 1.62 ppm una señal simple (6H), la que fue asignada a dos metilos vinílicos; en 5.1 ppm presentó una señal triple ( $J = 7$  Hz) atribuida a un protón olefínico y en 3.26 (2H) ppm se observó una señal doble sencilla ( $J = 7$  Hz) cuyo desplazamiento y multiplicidad nos sugieren dos protones bencílicos. Estas señales nos permiten suponer la existencia de un grupo  $\gamma$ - $\gamma$ -dimetil alilo<sup>42</sup> en la molécula del compuesto 8.

Por último, en 2.34 (2H) ppm presentó una señal múltiple, asignada a los protones en  $C_3$ ; en 4.54 ppm presentó una señal triple ( $J = 3$  Hz), asignada al protón base del metoxilo en  $C_4$ , y en 5.29 ppm se observó una señal doble de doble ( $J = 4$  Hz y  $J = 12$  Hz), asignada al protón en  $C_2$ .

El espectro de masas del compuesto 8, presentó el ión molecular en  $m/e$  368 que está de acuerdo con la fórmula  $C_{23}H_{28}O_4$ . También se observaron los fragmentos en  $m/e$  337 y 353 que corresponden a las pérdidas de  $(M^+ - OCH_3)$  y  $(M^+ - CH_3)$  respectivamente, así como los fragmentos en  $m/e$  249 y 104 que corresponden a  $(C_{14}H_{17}O_4)$  100% y  $C_8H_8$  originados por la ruptura de tipo retro Diels-Alder.

Para el compuesto 8, se propone la configuración absoluta "S" en  $C_2$  y una orientación  $\beta$ -axial del metoxilo en  $C_4$ , en base a los argumentos mencionados para el compuesto 7.

Por los datos de IR, UV, RMP y EM anteriormente expuestos, se propone que la estructura de la 4-metil tephrowatsina A deba ser representada por la fórmula 8 .

Tephrosia belizensis Lundell

De la T. belizensis, fueron aislados cinco compuestos, los que por sus constantes físicas y espectroscópicas (IR, RMP y EM) fueron identificados como lupeol<sup>34</sup> (11), mezcla de estigmasterol -  $\beta$ -sitosterol<sup>35</sup> (12b-12a), mezcla de rotenona-deguelina<sup>36</sup> (13a-13b), 5-metilobovatina<sup>31</sup>(3) y quercetina<sup>37</sup> (14) .

Tephrosia macrophylla.

De la T. macrophylla, se aisló un compuesto, que por sus constantes físicas y espectroscópicas de IR, RMP y EM, fue identificado como lupeol<sup>34</sup> (11) .

IX.- RESUMEN Y CONCLUSIONES

- 1.- Se describe el estudio fitoquímico de tres plantas mexicanas del género Tephrosia: T. quercetorum Wood, recolectada en el Estado de Guerrero; T. belizensis Lundell, recolectada en el Estado de Oaxaca, y T. macrophylla, recolectada en el Estado de Jalisco.
- 2.- De la planta T. quercetorum Wood, se lograron aislar e identificar tres nuevos flavonoides: tephrobottinol, aislado del extracto hexánico; 4-metil tephrobottina y tephrowatsina F, aislados del extracto metanólico.
- 3.- Se establecieron las estructuras 5, 7 y 8 respectivamente para los nuevos flavonoides.
- 4.- Además se aislaron cinco sustancias ya descritas en la literatura: 7-metil glabranina (1), tephrobottina (2), 5-metil obovatina (3), tephrowatsina A (4) y 5,7-dimetil glabranina (6), ésta última sustancia sólo se ha obtenido anteriormente por síntesis.
- 5.- Se determinaron las características físicas y espectroscópicas de los nuevos compuestos aislados y de los derivados preparados.
- 6.- De la planta T. belizensis Lundell, se aislaron e identificaron cinco sustancias ya descritas en la literatura: mezcla de estigmasterol- $\beta$ -sitosterol (12b-12a), mezcla de rotenona-deguelina (13a-13b), 5-metil obovatina (3), quercetina (14) y lupeol (11), ésta última sustancia se aisló también de T. macrophylla.

X.- BIBLIOGRAFIA

- 1.- X.A. domínguez, "Metodos de investigación fitoquímica", Ed. Limusa, México 1973, 81 .
- 2.- T.W. Goodwin, "Introducción a la química de plantas", Ed. Pergamon Press, Alemania 1972, 309 .
- 3.- T.J. Mabry y A. Ulubelen, J. Agric. Food, Chem. (1980), 28 (2), 188 .
- 4.- J.J. Willaman, J. Amer. Pharm. Assoc. (1955), 44 (7), 404 .
- 5.- C.W. Gayler, Chem. Abs. (1948), 42, 5604<sup>d</sup> .
- 6.- H. Eagle, Chem. Abs. (1932), 26, 3298 .
- 7.- J.Q. Griffith, C.F. Krewson y J. Naghski, "Rutin and related flavonoids", Ed. Mack Publishing Co., Easton Pa., U.S.A. 1955, 53 .
- 8.- C.R. Addinall, Chem. Abs. (1937), 31, 7520<sup>B</sup>
- 9.- H.L. Williams, Chem. Abs. (1948), 42, 4220i
- 10.- S.D. Varma, I. Mikani y J.H. Kinoshita, Science (1975), 188, 1215 .
- 11.- M. Levy, Chem. Abs. (1938), 32, 5073 .
- 12.- J.T. Myers, Chem. Abs. (1950), 44, 10169e .
- 13.- L.E. Gilson, Chem. Abs. (1945), 39, 3067<sup>4</sup> .
- 14.- C.E. Story, C.D. et al., Science, (1953), 118, 164 .
- 15.- E.H. Sheers, Chem. Abs. (1950), 44, 6581 .
- 16.- L. Freedman, Science (1963), 139, 344 .
- 17.- Katnagiriswaran et al., Biochem. J. (1934), 28, 1964 .
- 18.- A.ben-aziz, Science (1967), 155, 1026 .
- 19.- S.K. Kupchan, C.W. Sigel, R.J. Hemingway, J.R. Knox y N.S. Udayamurthy, Tetrahedron (1969), 25, 1603 .
- 20.- T. Swain, "Biochemistry of plant phenolics" (1977), 12, 589 .

- 21.- S.M. Kupchan, C.W. Siegel, J.R. Knox y M.S. Udayamurthy, J. Org. Chem. (1969), 34, 1460 .
- 22.- S.M. Kupchan, y E. Bauerschmidt, Phytochemistry (1971) 10, 661 .
- 23.- A.B. Segelman, F.P. Segelman, S.D. Varma, H. Wagner y O. Seligmann, J. Pharm. Sci. (1977), 66, 1358 .
- 24.- T. Nikaido, T. Ohmoto, U. Sankawa, T. Hamanaka y K. Totsuka, Planta Médica (1982), 46, 162 .
- 25.- A. Beretz, A. Stierle, R. Anton y J.P. Cazenave, Biochemical Pharmacology (1982), 31, 3597 .
- 26.- Y. Kimura, H. Okuda, T. Tani y S. Arichi, Chem. Pharm. Bull. (1982), 30 (5), 1792 .
- 27.- M.K. Buening, R.L. Chang, M.T. Huang, J.G. Fortner, A.W. Wood, y A.H. Conney, Cancer Research (1981), 41, 67 .
- 28.- G.E. Inglett, L. Krbechok, B. Dowling y R. Wanger, J. Food Science (1969), 34, 101 .
- 29.- R.K. Sauhu, R. Basu y A. Sharma, Mutation Research (1981), 89, 69 .
- 30.- I. Jayaraman, A. Ghanim y H.A. Khan, Phytochemistry (1980), 19, 1267 .
- 31.- O.J. Ruy y S. Mukhopadmyay, Ind. J. Chem. (1981) 20B, 628 .
- 32.- G. Aguirre, Tesis profesional de Químico, Universidad Autónoma de Baja California, México, 1982.
- 33.- C. Rodríguez, Tesis profesional de Químico, Universidad Autónoma de Baja California, México, 1982 .
- 34.- S.K. Talapatra, D.S. Bhar y B. Talapatra, Phytochemistry (1974), 13 (1), 284 .
- 35.- M.I.E. Soria, Tesis profesional de Químico, Universidad Autónoma de Baja California, México, 1980 .

- 36.- G. Srimannarayana y N.V. Subba rao, J. Indian. Chem. Soc. (1974),  
51, 83 .
- 37.- K. Yamaguchi, "Spectral data of natural products" V-1, Ed. Elsevier Publishing company, Japón 1970, 78 y 88 .
- 38.- S.E. Drewes, "Chroman and related compounds", Ed. Progress in mass spectrometry, U.S.A. 1974, 15 .
- 39.- J.B. Harborne, T.J. Mabry y Helga Mabry, "The flavonoids", Parte I, Ed. Academic Press, U.S.A. 1975, 112 .
- 40.- J.W. Clark-Lewis y L.M. Jackman, Proc. Chem. Soc. (1961) 165 .
- 41.- S.E. Drewes, J. Chem. Soc. (C) (1968), 1140 .
- 42.- T.M. Swalberger, R. Vleggaar y J.C. Weber, Tetrahedron (1974),  
30, 3927 .
- 43.- J.B. Harborne, T.J. Mabry y H. Mabry, "The flavonoids", Parte I, Ed. Academic Press, U.S.A. 1975, 127 .