

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

**FACULTAD DE QUIMICA
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO**



**ESTUDIO FITOQUIMICO DE ASCLEPIAS GLAUCESCENS
Y
ASCLEPIAS LINARIA**

TESIS
QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRO EN CIENCIAS
(QUIMICA ORGANICA)
PRESENTA
GLADYS VICTORIA FONSECA GONZALEZ

MEXICO, D.F.

1989



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.



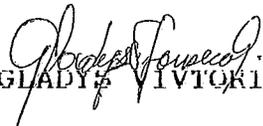
JURADO ASIGNADO

PRESIDENTE	Dr. Eugene Bratoeff
1er. VOCAL	Dra. Rocio Pozas Horcasitas
SECRETARIO	Dra. Martha Albores Velasco
SUPLENTE	M. en C. José Manuel Méndez S.
SUPLENTE	Dr. Guillermo Delgado Lamas

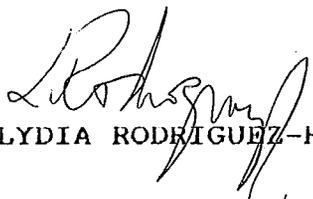
SITIO DONDE SE DESARROLLO EL TEMA:

INSTITUTO DE QUIMICA, UNAM

SUSTENTANTE:


GLADYS VICTORIA FONSECA GONZALEZ

ASESOR


Dra. LYDIA RODRIGUEZ-HAHN

ESTA TESIS SE LLEVO A CABO BAJO LA DIRECCION DE LA DRA. LYDIA RODRIGUEZ-HAHN, EN EL INSTITUTO DE QUIMICA DE LA U.N.A.M. CON UNA BECA PARCIAL OTORGADA POR LA ORGANIZACION INTERNACIONAL DE LAS CIENCIAS QUIMICAS PARA EL DESARROLLO (I.O.C.D.).

RESUMEN

Varios géneros de la familia Asclepiadaceae, particularmente Asclepias producen cardenólidos (glicósidos cardíacos) tóxicos a vertebrados. Algunos insectos, principalmente la mariposa monarca (Danaus plexipus) y las chinches (Oncopeltus fasciatus), se alimentan de estas plantas y acumulan los glicósidos cardíacos contenidos en ellas lo que les sirve de defensa contra los depredadores.

El género Asclepias (familia Asclepiadaceae), se encuentra ampliamente distribuido en la República Mexicana. Se han descrito 108 especies en México y Norteamérica.

En el presente trabajo se realizó el estudio de las especies A. glaucescens y A. linaria que contribuye a la investigación de insecticidas naturales biodegradables.

De la A. glaucescens se aislaron 4 triterpenos pentacíclicos (en mezclas binarias), todos con estructura conocida, Acetato de Taraxasterilo (I), Acetato de Pseudotaraxasterilo (II), Taraxasterol (III) y Pseudotaraxasterol (IV); también se aisló Labriformina (V), un glicósido cardíaco común en varias especies del género Asclepias.

Del estudio fitoquímico de A. linaria, se lograron separar y caracterizar 5 glicósidos cardíacos, de estructura conocida: Calactina (VI), Calotoxina (VII), Gomfósido (VIII) Procerosido (IX), Desglucouzarina (X) y un nuevo cardenólido que se caracterizo como 6'-p-hidroxicinamoil desglucouzarina (XI).

Este es el primer estudio de los metabolitos secundarios de Asclepias Mexicanas.

SUMMARY

Several genera of the Asclepiadaceae family particularly Asclepias, produce cardenolides (cardiac glycosides) which are toxic to vertebrates. Some insects, such as the Monarch butterfly (*Danaus plexipus*) and the bedbugs (*Oncopeltus fasciatus*), are feed on this plants and accumulate the cardiac glycosides which they use as a defense against the predators.

The genus Asclepias (Asclepiadaceae family), is widely distributed throughout Mexico. Hundred and eight species have been described in Mexico and North America.

The present project presents a phytochemical study, on the species A. glaucescens and A. linaria, which is a contribution to the research on biodegradable natural insecticides.

From the A. glaucescens, four pentacyclicos triterpenoids were isolated (in binary mixture), all of them with known structures: Taraxasteryl acetate, Pseudotaraxasteryl acetate, Taraxasteryl and Pseudotaraxasteryl; and Labri-formine, a cardiac glycoside common in several species of the genus Asclepias.

From the A. linaria phytochemical study, five cardiac glycosides were separated and characterized: Calactin, Calotoxin, Gomphoside, Proceroside, Desglucouzarine and a new cardenolide which was characterize as 6'-p-hydroxycinnamoyl desglucouzarine.

This is the first study on secondary metabolites of Mexican Asclepias.

CONTENIDO

I.	INTRODUCCION	1
II.	GENERALIDADES	3
III.	PARTE TEORICA	9
IV.	PARTE EXPERIMENTAL	43
V.	CONCLUSIONES	59
VI.	ESPECTROS	61
VII.	BIBLIOGRAFIA	77

I. INTRODUCCION

INTRODUCCION

Una de las características más importantes de muchos metabolitos secundarios es su distribución relativamente restringida en la naturaleza que, en algunos casos, se limita a especies o subespecies únicas, en consecuencia son una manifestación de la individualidad del organismo que los contiene. Se ha atribuido a estos compuestos una gran variedad de funciones, aunque muchas de éstas no se han determinado con certeza. [1]

Es posible que algunos de estos metabolitos no sean esenciales para el organismo que los produce, pero en general deben tener algún significado biológico ya que son biosintetizados y biodegradados, por lo que se presume que deben poseer algunas funciones, probablemente específicas. Un ejemplo muy notable lo constituye la interacción que existe entre algunas plantas e insectos y algunos vertebrados que forman parte de una cadena alimenticia.

Para entender esta relación se han desarrollado técnicas eficientes para identificar cantidades muy pequeñas de compuestos orgánicos presentes en sistemas biológicos. Por otra parte, desde el punto de vista ecológico se sabe que algunas sustancias químicas tienen un papel significativo en las complejas interacciones que se presentan entre animales, animales y plantas o plantas y plantas, en el ambiente natural. [2]

Este conocimiento ha hecho posible desarrollar nuevas aplicaciones en el control de plagas y enfermedades microbianas en plantas cultivadas y en la conservación de comunidades naturales.

Existen muchas plantas con propiedades de insecticidas que pueden ser favorables para el combate de insectos sin el eventual problema de contaminación que pueden presentar algunos insecticidas orgánicos.

En un estudio hecho por el profesor A. Lagunes y colaboradores se encontraron estas propiedades de insecticidas en algunas especies del género Asclepias de la familia Asclepiadaceas [3], hecho que ha llevado a estudiar los metabolitos secundarios de dos especies de Asclepias, Asclepias glaucescens y Asclepias linaria y determinar sus posibles propiedades insecticidas.

II. GENERALIDADES

GENERALIDADES

El género Asclepias tiene una amplia distribución geográfica. Las Asclepias pertenecen a la familia Asclepiada-ceae que agrupa 200 géneros y 2500 especies [4]. Se han descrito 108 especies pertenecientes al género Asclepias, distribuidas entre Norteamérica y México [5]. La característica principal de estas plantas es la producción de un jugo lechoso (látex) cuando se les cortan hojas y/o tallos.

En algunos países como Costa Rica, México y la India, se han utilizado varias especies de Asclepias en preparados medicinales para el tratamiento de cáncer, tumores y verrugas [6]; como vomitivos y para el tratamiento de bronquitis. [7].

El estudio fitoquímico de varios géneros de Asclepiada-ceae y en general de muchas especies de Asclepias, ha sido muy importante debido a la alta concentración de cardenólidos tóxicos para los vertebrados. Algunos insectos como la mariposa monarca (*Danaus plexipus*), y las chinches (*Oncopeltus fasciatus*), se alimentan de estas plantas, utilizándolas como defensa contra los depredadores. Ha llamado la atención el caso de la mariposa monarca, que en su estado larval captura las toxinas, las ingiere al alimentarse y luego las almacena en diferentes partes del cuerpo. [8]. La mariposa monarca adulta, por sus colores llamativos es distinguida por algunos vertebrados como los pájaros, pero como la ingestión de dos o más especímenes les causa vomito o incluso hasta la

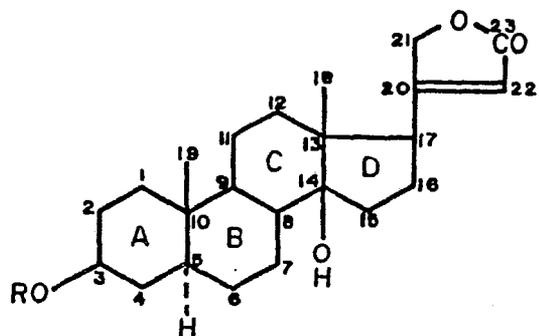
muerte, posteriormente hacen caso omiso de ella. [9].

Los cardenólidos son un grupo de derivados esteroidales de 23 átomos de carbono. Generalmente se presentan en la naturaleza como glicósidos ("glicósidos cardíacos"). La mayoría de estos compuestos aislados de las asclepiadaceas están formados por un azúcar y una aglicona. Las características importantes de la estructura de la genina o aglicona (1,R=H) son, la presencia de una γ lactona (β -butenólido) α, β insaturada, unida al C-17 del esqueleto esteroide; una unión anular C/D cis, con un grupo oxhidrilo terciario en el C-14. La mayoría de los compuestos pertenecen a la serie 5 α , todos poseen un grupo oxhidrilo β ecuatorial en el C-3; también pueden hallarse presentes oxhidrilos en C-1,2,11,12,15, 16 y 19. Algunas geninas son portadoras de un grupo aldehído en C-19, [10].

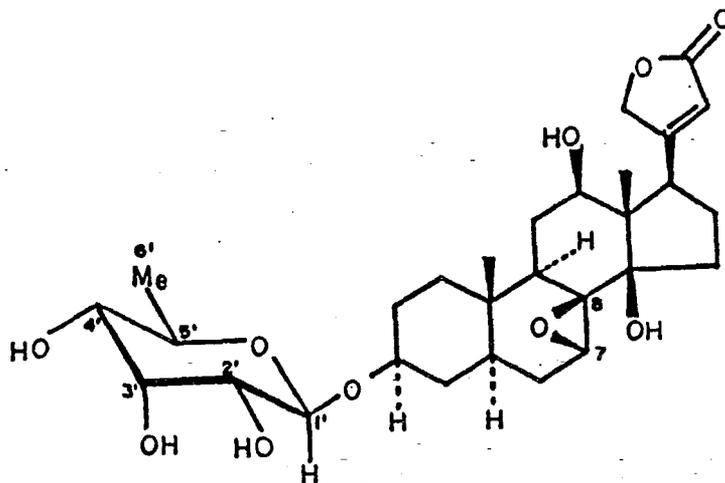
Entre los azúcares que van unidos al grupo oxhidrilo en posición 3 del esteroide, se encuentra la glucosa, la ramosa y una serie de azúcares poco comunes como la 4,6 didesoxihexosas (estructura 2).

Se ha encontrado que muchos glicósidos aislados de este tipo de plantas tienen el azúcar unido en las posiciones 2 α y 3 de la aglicona, formando un acetal y un hemiacetal, lo que los hace muy resistentes a la hidrólisis ácida [11], a menudo con diferentes sustituyentes en C-3' (estructura 3).

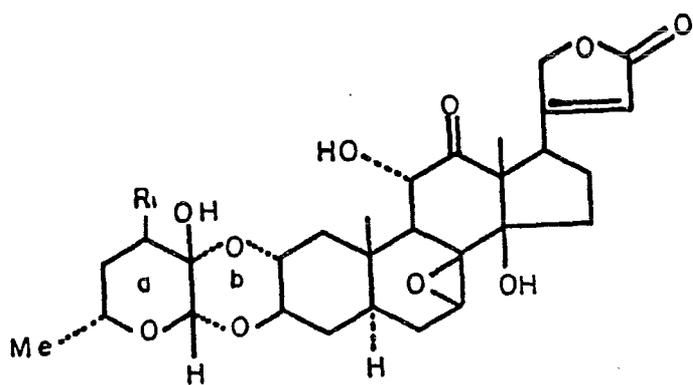
Algunos cardenólidos (glicósidos cardíacos), son muy ú-



1



2



3

R₁ = OH, O

tiles en el tratamiento de enfermedades del corazón. Sin embargo, un exceso de estas sustancias pueden causar hasta la muerte. La actividad cardíaca de los glicósidos es debida a la genina; el azúcar suministra la solubilidad y las características de distribución las cuales incrementan la potencia y duración del efecto en el miocardio. [4].

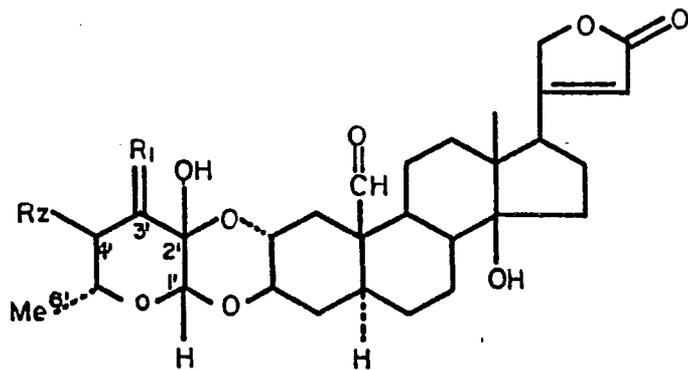
Los glicósidos cardíacos han sido aislados unicamente de las Angiospermas pero son particularmente abundantes en las familias Apocinaceae y Asclepiadaceae. Se han aislado aproximadamente de 12 géneros de Asclepiadaceae y se cree que existen en algunos otros géneros. [12]

Entre las especies de Asclepias más estudiadas se pueden mencionar las siguientes:

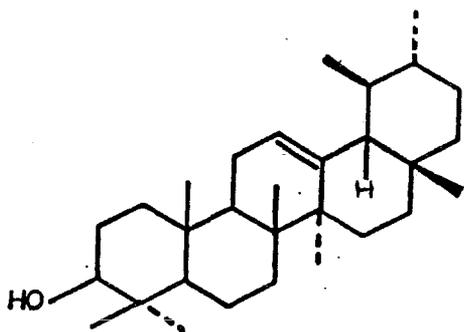
<u>A. syriaca</u> [17]	<u>A. cardifolia</u> [13]
<u>A. eriocarpa</u> [8]	<u>A. especiosa</u> [29]
<u>A. curasavica</u> [6]	<u>A. erosa</u> [13]
<u>A. labriformis</u> [18]	<u>A. vestita</u> [13]
<u>A. fruticosa.</u> [19]	

Algunos compuestos aislados de estas plantas se pueden ver en las estructuras 4,5 y 6.

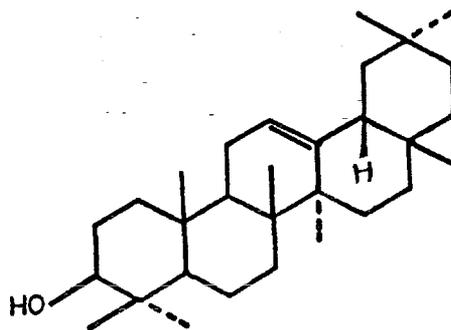
El análisis de varios géneros de Asclepiadaceae ha mostrado una variación extensa cualitativa y cuantitativamente en el contenido de glicósidos cardíacos. Esta variación podría producirse por factores genotípicos (geográfico, ecotópico y polifórmico) y/o por factores fenotípicos (edad y



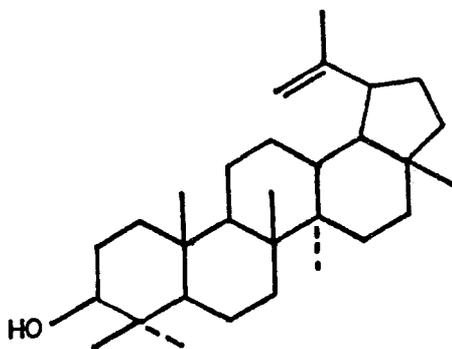
	R ₁	R ₂
4	OH	H
5		H
6	O	H



7



8



9

partes de la planta seleccionadas para análisis), también se pueden mencionar los métodos de colección, manejo y análisis. Por ejemplo, en estudios de análisis del látex de diferentes especies, se ha comprobado que existe más concentración de glicósidos en el látex que en hojas, tallos y raíces. [13]

En muchos estudios fitoquímicos de Asclepias, también se han aislado triterpenos pentacíclicos [14], con esqueleto del ursano (α amirina, 7), del oleanano (β amirina, 8) y del lupano (lupeol, 9) y compuestos con esqueleto de pregnano, por ejemplo polihidróxipregnanos, (10). [15]

Con base en la información anterior se emprendió el estudio de Asclepias glaucescens y Asclepias linaria para contribuir al estudio fitoquímico de la flora mexicana y poder determinar la actividad biológica de los compuestos aislados de estas especies.

III. PARTE TEORICA

PARTE TEORICA

1-. Estudio fitoquímico de Asclepias glaucescens.

La Asclepias glaucescens, comunmente llamada oreja de liebre, pertenece al género Asclepias de la familia Asclepiadaceae.

La especie de A. glaucescens analizada fue recolectada a la orilla de la carretera Oaxtepec, Cuautla. El látex estudiado fue resultado de varias recolecciones efectuadas en este mismo lugar.

La parte soluble en CH_2Cl_2 del residuo sólido obtenido por centrifugación del látex, se cromatografió en columna de la cual se separaron los siguientes componentes:

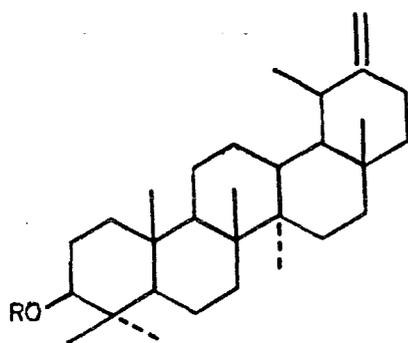
De las fracciones eluidas con hexano- CH_2Cl_2 (9:1), se aisló un sólido amorfo blanco (mezcla binaria) muy abundante, que fundió a 175-178 °C (hexano). El espectro de IR mostró bandas características para carbonilo de ester (1719 cm^{-1}), y una función de doble ligadura (1639 y 903 cm^{-1}).

En el espectro de RMN'H se observan varias señales en 0.80 -1.05 ppm con una integración para 21 hidrógenos, lo que indica la presencia de 7 metilos. En 2.05 ppm se ve un singulete que integra para tres protones, correspondientes a un metilo de acetato.

El espectro de RMN'H también revela tres señales en 4.65, 4.55 y 4.45 ppm, dos son singuletes anchos, cuyos desplazamientos indican la presencia de un metileno exocíclico

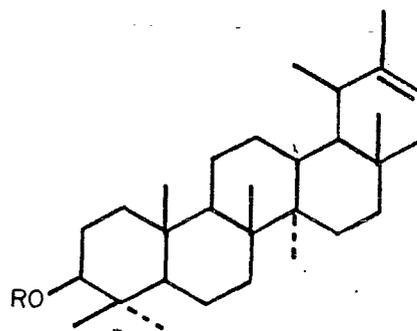
y un protón vinílico. La otra señal es un doble de dobles y se encuentra sobrepuesta con uno de los singuletes, se asignó al protón gem del acetato. Para estas señales no está muy bien definida la integración.

La señal que se observa como singulete en 1.67 ppm, integra para tres hidrógenos y corresponde a un metilo vinílico. La comparación de espectros de compuestos aislados anteriormente de otras plantas, corroboran la presencia de una mezcla de Acetato de Taraxasterilo (I) y Acetato de Pseudotaraxasterilo (II).



I R = Ac

III R = H



II R = Ac

IV R = H

De las fracciones eluidas con hexano- CH_2Cl_2 (1:1), se aisló un producto sólido blanco de pf:145-148 $^\circ$ C (CH_2Cl_2 -acetona), que se caracterizó como la mezcla de Taraxasterol (III) y Pseudotaraxterol (IV), de acuerdo a las siguientes observaciones: En el espectro de IR de la mezcla de compues-

tos III y IV ya no se observa la banda característica de acetato. Comparando el espectro de RMN ^1H de I y II con el espectro de RMN ^1H de III y IV éste solo difiere en la ausencia de la señal de acetato y el doble de dobles correspondientes al gem de OH que se encuentra centrado en 3.20 ppm.

De las fracciones eluidas con $\text{CH}_2\text{Cl}_2\text{-MeOH}$ (49:1), se aislaron dos compuestos, que de acuerdo a sus propiedades espectroscópicas se identificaron como glicósidos cardíacos, su elucidación estructural se describe a continuación.

El producto más abundante (V), es un sólido cristalino blanco de pf. 222-225 $^{\circ}\text{C}$ (acetona-hexano). El espectro de IR muestra bandas de oxhidrilo (3504 cm^{-1}), dos bandas en 1784 (d) y 1749(f) cm^{-1} que indican la presencia de un anillo β -butenólido, estas dos bandas de absorción se explican por la resonancia de Fermi [16], una banda a 1704 cm^{-1} fue atribuida a una ciclohexanona. También se observa una banda a 1635 cm^{-1} , correspondiente a dobles ligaduras. (espectro No.1)

La presencia del anillo β -butenólido se ve apoyado en el espectro de RMN ^1H (espectro No.2), al observar una señal doble de triples en 5.95 ppm ($J=2\text{Hz}$), que integra para un protón y un doblete ancho a 4.81 ppm ($2\text{H}, J=2\text{ Hz}$). Por doble irradiación estas señales se afinan debido a la interacción que existe entre estos hidrógenos, que se asignaron a H22 y H-21 respectivamente.

A campo alto se observan dos singuletes en 1.09 y 1.19

ppm, cada uno integra para tres hidrógenos, que corresponden a los metilos angulares C-18 y C-19. Un doblete en 1.20 ppm (3H, J=6Hz) indica la presencia de un metilo secundario, el cual por comparación con datos descritos en la literatura, pertenece al metilo de la posición 5' del azúcar 4,6-didesoxihexosulosa. [17]

Un singulete ancho muy desplazado a campo bajo (7.5 ppm), que integra para un protón y un doblete (2H, J=1.5Hz), a 3.85 ppm, indican la presencia de un anillo de tiazolina en la molécula. La señal simple a 7.5 ppm se asignó a Ha y la señal doble a 3.85 ppm al metileno (Hb), de la tiazolina unida en C-3' del azúcar, por comparación con los datos de la literatura. [18]

A 5.10 ppm se observa un singulete fino y muy intenso que integra para un protón, señal típica para cardenólidos en que la hexosulosa está unida en las posiciones 2 y 3 de la aglicona y con el sustituyente de tiazolina en C3'. Esta señal se asignó al protón acetálico H1". [19]

La señal en 4.70 ppm es un doble de dobles (H11, J=13 y 4Hz), al determinar el espectro con D₂O esta señal se transforma en un doblete (J=13 Hz), por lo que se deduce que la constante de acoplamiento de 4 Hz se debe a la interacción de este hidrógeno con un oxhidrilo unido al C-11. El valor de J=13 Hz se debe al acoplamiento vecinal axial-axial con el hidrógeno en C-9, lo que indica que el oxhidrilo de C-11

debe tener una orientación α ecuatorial.

A 3.40 ppm se observa un doblete ancho ($J=6\text{Hz}$), que integra para un hidrógeno. El desplazamiento observado permite asignarlo al protón gem a una función epóxido, que en estos productos se encuentra normalmente entre los carbonos 7 y 8; por lo que esta señal se puede asignar a H7.

Un multiplete centrado en 3.95 ppm se asignó a los hidrógenos 2 y 3 gem a ligaduras carbono-oxígeno de la unión del anillo A de la aglicona con el azúcar y al protón 5' del azúcar. Al irradiar esta señal se observa una diferencia en la señal que se encuentra en 2.62 ppm ($d, J=4\text{Hz}$), lo cual indica que esta señal corresponde a los hidrógenos vecinos a H5' y se asignó al metileno 4'.

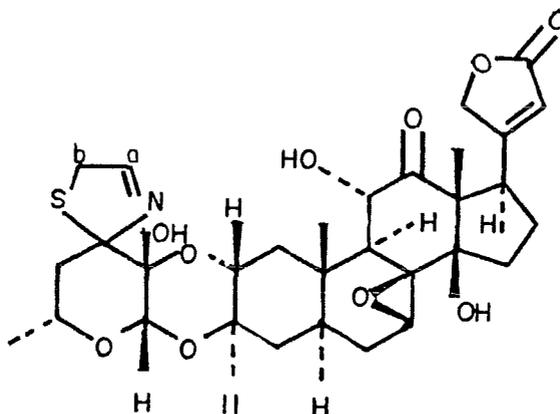
Para tener mayor información acerca de este compuesto (V) y poder llegar a la estructura final, se determinó el espectro RMN C (espectro No.3, tabla No.1), las asignaciones de las señales se hicieron por comparación con los datos de la literatura [20].

A campo bajo aparecen 3 señales simples. El singulete a 212.59 ppm se asignó a una ciclohexanona, el desplazamiento a campo bajo puede explicarse por la presencia de un oxhidrilo en α . Los singuletes a 173.71 y 170.58 ppm se asignaron al carbonilo del β -butenólido y a C-20 [21]. También se observan dos dobletes a 160.06 y 118.86 ppm correspondientes a los carbonos sp_2 de la tiazolina y de la β -butenólida res-

pectivamente.

En la región de carbonos sp^3 de bases oxigenadas se observan 5 dobletes que se asignan a C-1', C-5', C-2, C-3 y C-11 y un triplete correspondiente a C-21. Además se observa una señal doble en 54.11 ppm y una simple en 62.32 ppm que se asignaron a C-7 y C-8, estas señales corroboran la presencia de un epóxido en el anillo B de la aglicona. Los singuletes en 81.17, 91.66 y 99.70 ppm corresponden a los carbonos 14, 2' y 3'. Los demás desplazamientos y señales asignadas se encuentran en la tabla No.1.

Con base en los datos discutidos, el compuesto V se identificó como Labriformina producto aislado anteriormente de A. labriformis. [18].



V

El segundo producto aislado, es un sólido amarillo con pf 195-205°C que cristaliza en acetona-hexano. La CPF indica que no es un compuesto homogéneo. Esta mezcla se trató de

TABLA No. 1

DESPLAZAMIENTOS QUIMICOS EN ^{13}C DE LA LABRIFORMINA (V)

C No.	δ (ppm)	C No.	δ (ppm)
1'	95.17 (d)	11	73.66 (d)
2'	91.66 (s)	12	212.59 (s)
3'	99.70 (s)	13	63.25 (s)
4'	47.21 (t)	14	81.17 (s)
5'	68.99 (d)	15	28.44 (t)
6'	20.90 (q)	16	26.88 (t)
1	44.24 (t)	17	42.64 (d)
2	68.18 (d)	18	18.33 (q)
3	71.46 (d)	19	13.60 (q)
4	31.68 (t)	20	170.58 (s)
5	40.85 (d)	21	73.66 (t)
6	36.08 (t)	22	118.86 (d)
7	54.11 (d)	23	173.71 (s)
8	62.32 (s)	C=N	160.06 (d)
9	48.42 (d)	C-S	42.64 (t)
10	37.80 (s)		

Corrido en CDCl_3 a 20 MHz. Referencia interna TMS

purificar por varios métodos pero no fue posible separar los compuestos. El espectro de IR mostró bandas de oxhidrilo (3505 cm^{-1}), y tres bandas en 1784 , 1747 y 1632 cm^{-1} que corresponde a un anillo β -butenólido α,β -insaturado. También se observa una banda de ciclohexanona en 1705 cm^{-1} .

En el espectro de RMN'H se observa cierta similitud con el espectro de la labriformina (V), pero no fue posible llegar a una estructura ya que las señales no están bien definidas.

Se trabajó también un lote de la parte aérea de Asclepias glaucescens. Al residuo del extracto etanólico se le hicieron particiones con benceno-hexano y metanol-agua. La parte polar, después de eliminar el disolvente, se extrajo con cloruro de metileno y luego con acetato de etilo.

La fracción soluble en cloruro de metileno, se cromatografió en columna de gel de sílice utilizando como eluyentes hexano y acetato de etilo de polaridad creciente. Las fracciones eluidas con hexano-acetato de etilo 1:1 se recromatografiaron usando como eluyente hexano-acetona 1:2. Se obtuvo así un sólido blanco que por sus características físicas (pf: $218-221^{\circ}\text{C}$), espectroscópicas y por CPF se identificó como labriformina V.

Otra fracción cristalina en esta misma elución, da un sólido amarillo con punto de fusión $195-205^{\circ}\text{C}$, equivalente a la mezcla de cardenólidos no identificados, aislados del lá-

tex.

A la parte hexánica también se le hizo cromatografía en columna con gel de sílice, se aislaron así cuatro componentes. El producto menos polar fue un sólido amorfo (mezcla), que correspondió a los acetatos de taraxasterilo (I) y pseudotaraxasterilo (II); el siguiente compuesto fue el taraxasterol (III), todos aislados del látex.

En las siguientes fracciones y con la misma polaridad, se aisló un producto muy cristalino de pf:135-136 °C que se identificó como β -sitosterol al compararlo con una muestra auténtica.

De acuerdo a lo expuesto anteriormente y teniendo en cuenta los datos cuantitativos de la parte experimental, es de gran interés el hecho de que esta especie de Asclepias, es una rica fuente de cardenólidos, y que estos se encuentran en mayores concentraciones en el látex que en las hojas y los tallos.

2-. Estudio de los constituyentes químicos de Asclepias linaria. Determinación estructural de los componentes.

La Asclepias linaria, es una planta herbácea, que se encuentra por muchas partes de México. Del corte del tallo brota un jugo lechoso y sus flores, cuando abren, parecen copos de algodón.

La muestra de A. linaria, analizada fue recolectada en Río Hondo, Municipio de Texcoco, Edo. de México, en octubre 1988.

Al extracto metanólico se le hicieron particiones con benceno-hexano y metanol-agua. La parte polar se extrajo con cloruro de metileno y acetato de etilo. Al extraer con AcO-Et, se forma un sólido blanco cristalino (mezcla, por CPF) de pf. 258-263 °C.

Una parte de este sólido se cromatografió en columna de sílice al vacío, así se lograron separar 2 componentes. A continuación se describe la elucidación estructural de ambos.

De las fracciones eluidas con cloruro de metileno-MeOH 2% se aisló un sólido blanco muy abundante de pf. 243-245 °C (acetona).

El espectro de IR de esta sustancia muestra bandas características de oxhidrilos (3509 cm^{-1}), una banda débil en 2720 cm^{-1} correspondiente a aldehído. (espectro No.4)

La existencia del grupo aldehído se confirma en el es-

pectro de RMN'H con la señal singulete en 10.0 ppm que integra para un protón y se asigno a H-19.

Las bandas a 1778 cm^{-1} y 1718 cm^{-1} , se deben a la presencia de un anillo de β -butenólido así como la de doble ligadura en 1618 cm^{-1} . De acuerdo a esto en el espectro de RMN'H de (VI) (espectro No.5, tabla No. 2), se observa una señal como singulete ancho (5.87 ppm), que integra para un protón y se asignó a H-22. También se observa la parte AB de un sistema ABX (ocasionado por las interacciones entre los protones H-21a,b y H-22), un doble de dobles centrado en 5.05 ppm asignado a H-21a ($J=18\text{-Hz}$ y 1.5-Hz), y el otro dd en 4.75 ppm al protón H-21b ($J=18\text{ Hz}$ y 1.5 Hz), los acoplamientos y desplazamientos anteriores indican que se trata de un acoplamiento alílico con protones diasterotópicos en una lactona de 5 miembros. La presencia de esta función, se confirma con las absorciones características en el espectro de UV, a 213 (23100).

En 4.73 ppm se observa un singulete muy agudo, este desplazamiento indica la presencia de un grupo metino unido a dos átomos de oxígeno y se asignó al H3'. Existe una señal compleja como multiplete en 4.15-3.85 ppm que integra para tres hidrógenos que corresponde a los protones de tres metinos unidos a átomos de oxígeno y ha sido asignada a H-2,3, 5'. En esta zona, después de efectuar el intercambio con D_2O , se observa que la señal se afina debido a la existencia de

TABLA No. 2.

DESPLAZAMIENTOS QUIMICOS EN ^1H DE LOS COMPONENTES DE A.linaria Y DERIVADOS

H	VI	VIA	VII	VIII	VIIIA	IX
1		2.47 2d(4)				
2	4.15-3.85 m	4.15-3.85 m	3.40 m	4.15-3.85 m	4.15-3.85 m	
3						
15	-	-	-	-	-	4.40 t(8)
16	-	-	-	-	-	-
17	-	2.72 m	-	2.75 m	2.75 m	-
18	0.87 s	0.85 s	-	0.87 s	0.85 s	0.85 s
19	10.0 s	10.05 s	9.95 s	0.87 s	0.90 s	9.98 s
21a	5.05 dd (*)	4.97 dd (*)	5.03 dd(*)	5.05 dd (*)	5.0 dd(*)	5.05 dd(*)
21b	4.75 dd (*)	4.68 dd (*)	4.73 dd(*)	4.75 dd (*)	4.70 dd(*)	4.75 dd(*)
22	5.87 sa	5.87 t(1.5)	5.82 sa	5.85 t(1.5)	5.85 t(1.5)	5.80 t(1.5)
1'	4.70 s	4.80 s	4.66 s	4.75 s	4.80 s	4.73 s
2'						
3'	3.65 t(3)	5.73 t(3)	3.65 d(3)	3.66 t(3)	5.72 t(3)	3.68 t(3)
4'			3.40 dd(9y3)			
5'	4.15-3.85 m	4.15-3.85 m		4.15-3.85 m		
6'	1.25 d (6)	1.25 d(6)	1.28 d(6)	1.25 d(6)	1.25 d(6)	1.2 d(6)
-OCOMe	-	2.08 s	-	-	2.1 s	-
	-	2.10 s	-	-	2.12 s	-

Corridos en CDCl_3 a 80 MHz-Referencia interna TMS. Desplazamientos químicos en ppm.

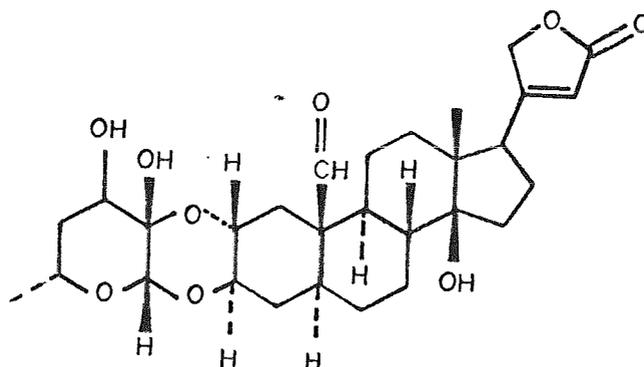
Las constantes de acoplamiento en Hz están en paréntesis.

(*) 18 y 1.5

oxhidrilos. Lo mismo ocurre con la señal en 3.65 ppm después de efectuar el intercambio con D_2O , se observa una señal triple ($J=3$ Hz), que indica la presencia de un protón geminal a un OH, la cual se le atribuyó a H3'.

La presencia de un doblete en 1.25 ppm (3H,d, $J=6$ Hz), correspondiente a un metilo secundario, indica que el azúcar unido a la aglicona es del tipo de 6-desoxihexosulosa.[17]. Un singulete intenso que integra para 3 hidrógenos en 0.85 ppm, se asignó al metilo angular C-18.

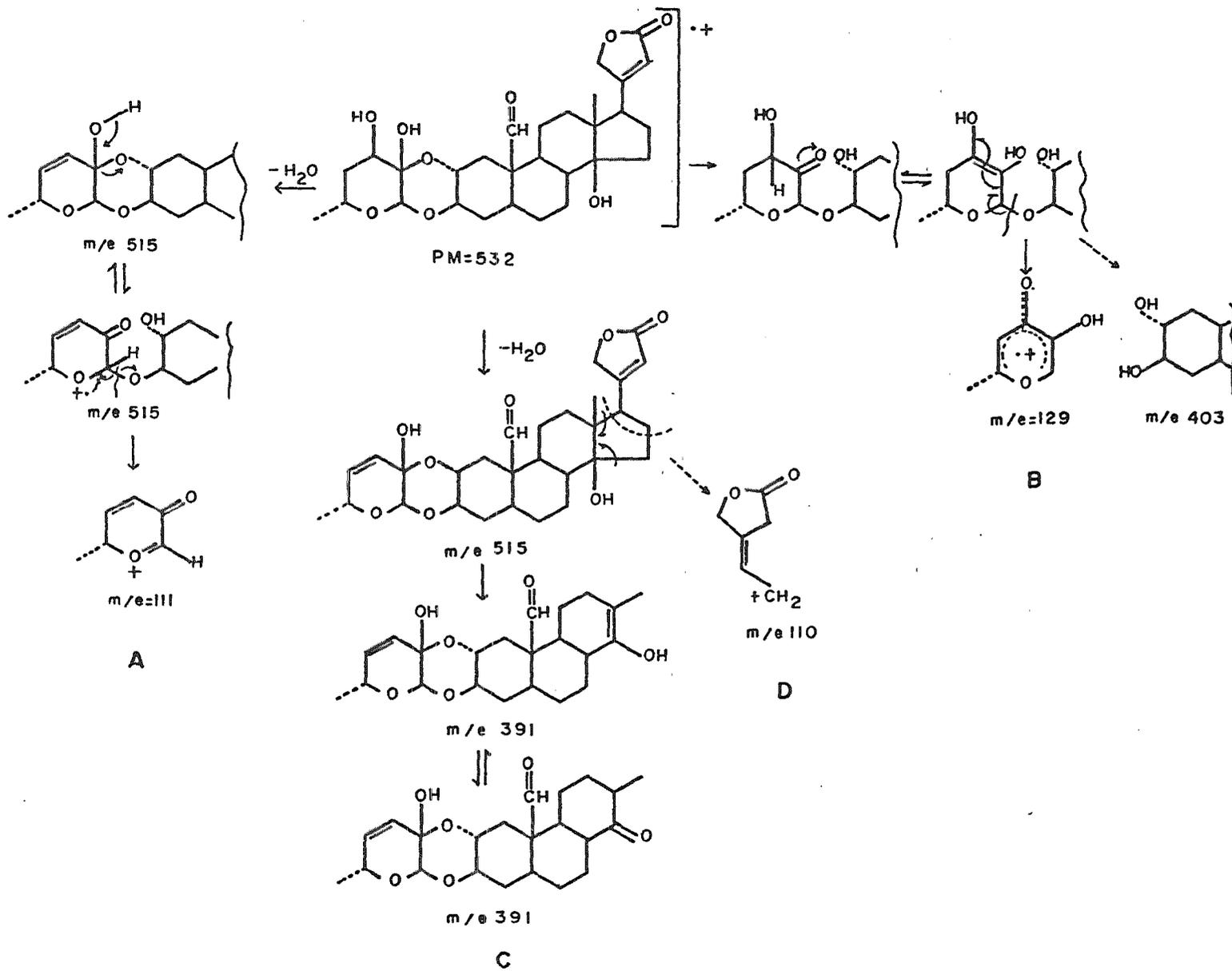
De acuerdo a la información anterior se propone la estructura VI, para este compuesto que corresponde a la estructura de la Calactina. La estereoquímica mostrada en VI es la asignada para esta molécula de acuerdo con estudios de Cheung. [22]



En el espectro de masas (I.Q.), para este compuesto (VI), no se alcanza a registrar el ion molecular pero si la presencia del pico m/e 129 y el de m/e 403, que segun Reichstein, [17] corresponde a la fragmentación que separa el azúcar de la aglicona. La suma de estos dos fragmentos indicó el peso molecular (PM=532). Se detecta también el fragmento m/e 391 que se debe a la pérdida de agua y el fragmento $C_7H_9O_2$, (esquema No. 1). El ion m/e 111 puede originarse en la deshidratación del anillo A del azúcar y/o provenir de la fragmentación del anillo D de la aglicona.

Para confirmar la estructura del compuesto anterior (V-I), se efectuó una acetilación con piridina y Ac_2O a $40^\circ C$. En estas condiciones se obtuvo el diacetato correspondiente (VIA), sólido blanco de pf: $235-238^\circ C$ (acetona). Este producto es soluble en cloroformo con lo que se facilitaron los análisis espectroscópicos y se obtuvo la siguiente información:

El análisis elemental de este compuesto reveló una fórmula molecular de $C_{33}H_{44}O_{11}$, correspondiente a un PM de 616. En el espectro de IR aparece una banda aguda atribuible a oxhidrilo terciario en 3616 cm^{-1} , dos bandas fuertes en 1747 y 1244 cm^{-1} , características del grupo acetato y una absorción en 1618 cm^{-1} correspondiente a dobles ligaduras. La absorción de la γ -lactona α, β -insaturada se sobrepuso a la de los acetatos (1747 cm^{-1}).



MECANISMO DE FRAGMENTACION DE LA CALACTINA

ESQUEMA No.1

En el espectro de RMN'H de VIA (espectro No.6), la señal para H3' se desplaza a campo bajo (5.73 ppm) con la misma constante de acoplamiento ($J=3$ Hz), debido al gem de acetato en la posición C3' de esta manera se comprueba la existencia de un OH en 3' del compuesto original. La multiplicidad observada en esta señal indica la interacción con los protones de un metileno vecino.

Asimismo la presencia de dos señales simples en 2.1 y 2.13 ppm para metilos de acetato y de solo un protón gem a acetato indica que el oxhidrilo terciario unido al C-2' se ha acetilado en estas condiciones. Esto se puede explicar por una reacción de transacetilación normal en dioles vecinales cercanos en el espacio.

La presencia del grupo acetato en C2', produce un desplazamiento a campo bajo de 1 ppm debido a la desprotección que ejerce este sustituyente para el H1'. [23].

Además se observa en el espectro de RMN'H las señales correspondientes a los hidrogenos 17, un multiplete en 2.72 ppm y H1a en 2,47 ppm (dd, $J=4$ Hz c/u), que en el espectro del compuesto original habian sido opacadas por las señales del DMSO.

La calactina VI ha sido aislado de A. syriaca, A. curavavica, A. fruticosa y Calotropis procera. [24],[25]

El segundo compuesto, es un sólido blanco (VII), aisla-

do de las fracciones eluidas con CH_2Cl_2 -MeOH 4% con un pf: 250-255°C (acetona-MeOH), y una fórmula molecular de $\text{C}_{27}\text{H}_{46}\text{O}_{10}$ que fue determinada por espectrometría de masas.

El espectro de IR muestra señales características de alcohol aldehído, β -butenólido α,β -insaturado (3508-3398, -2720, 1722 y 1618 cm^{-1}).

Según el espectro de RMN'H de VII (espectro No.7), la diferencia que presenta con el de la calactina (VI), es que la señal que aparece a 3.65 ppm como triplete ($J=3\text{Hz}$) en el espectro de la calactina, ahora se observa como un doblete ($J=3\text{ Hz}$) con el mismo desplazamiento y la presencia de una nueva señal en 3.40 ppm como un doble de dobles de $J=9\text{Hz}$. Este desplazamiento y acoplamiento indican la presencia de un grupo oxhidrilo en la posición C4', después del intercambio con D_2O , esta señal se afina. El valor de $J=9\text{ Hz}$, se debe al acoplamiento diaxial de H-4' y H-3'. Las demás señales para ambos compuestos se identifican con desplazamientos y acoplamientos iguales.

La estructura de esta sustancia fue comprobada con la determinación de su espectrometría de masas (I.Q.), llegando a las siguientes aseveraciones: presenta un fragmento de m/e 404 y uno de m/e 145, los cuales comparados con los fragmentación de la calactina indican que el oxhidrilo adicional se encuentra en el azúcar, de acuerdo al fragmento B (m/e 129 + 16 -- m/e 145 (esquema No.1)).

oxhidrilo (3506 cm^{-1}) y β -butenólido 1780 , 1710 y 1614 cm^{-1} . La existencia del anillo β -butenólido, es apoyada por la absorción en el espectro de UV en 210 nm ($\epsilon=14507$), característica para este cromóforo.

En el espectro de RMN'H de VIII (espectro No.8), se observa una señal triple a 5.85 ppm asignada al protón vinílico H-22 que muestra una constante de acoplamiento de $J=1.5\text{ Hz}$ con los dos protones diasterotopicos de C-21. Estos protones se observan como la parte AB de un sistema ABX en 5.05 ppm (dd, $J=18\text{ Hz}$ y 1.5 Hz), en 4.75 ppm (dd, $J=18\text{ Hz}$ y 1.5 Hz), que por analogía con los desplazamientos y acoplamientos de los protones de C-21 de los compuestos VI y VII se asignan a H-21a y b.

Por comparación del espectro de RMN'H de este compuesto con el espectro de RMN'H de la calactina se observa la ausencia de la señal de aldehído y en cambio aparece un singulete en 0.87 ppm que integra para seis hidrógenos atribuible a los metilos terciarios 18 y 19.

La acetilación del compuesto VIII con piridina y Ac_2O a T.amb. contribuyó a la elucidación de su estructura.

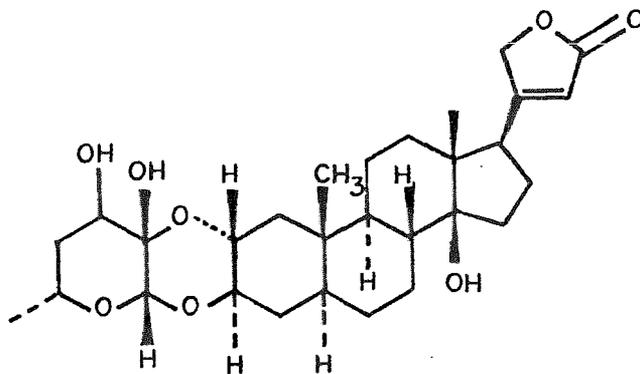
De la purificación del derivado acetilado se obtuvo un sólido blanco de pf: $243-245^\circ\text{C}$ (acetona). En IR se identificaron dos bandas de β -butenólido en 1747 cm^{-1} y 1615 cm^{-1} , y dos bandas que corresponden a acetato en 1747 cm^{-1} y 1245 cm^{-1} .

En el espectro de RMN'H (espectro No. 9, tabla No.2), la señal singlete de H1' sufrió un desplazamiento a campo bajo de 1 ppm, debido a la desprotección que ejerce el grupo acetato de C2' sobre este hidrógeno, por otro lado se observa solo un gem de acetato en 5.72 ppm (t, J=3 Hz), que corresponde a la señal de H3'.

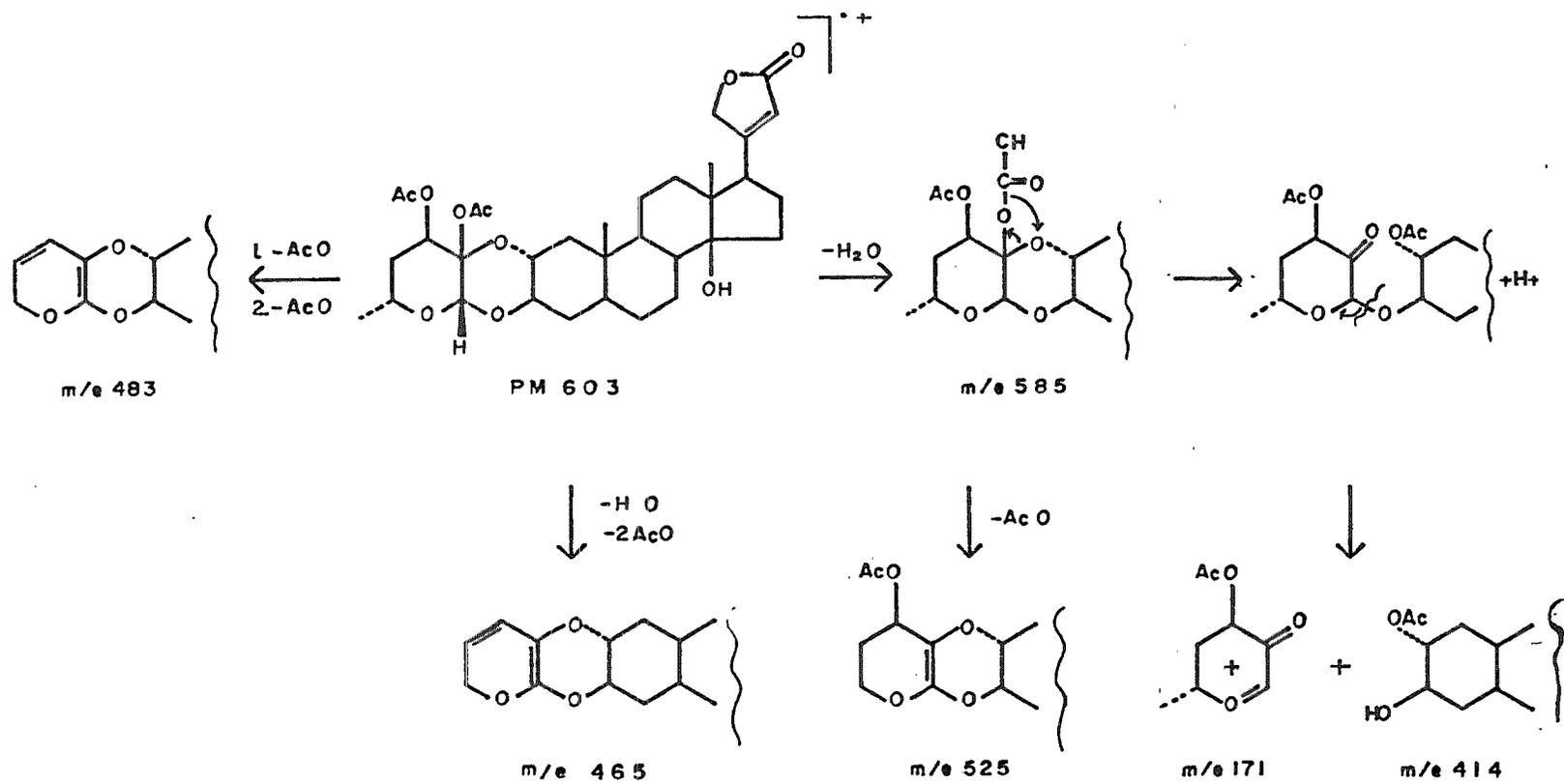
También se observan dos singletes en 2.1 y 2.12 ppm correspondientes a los metilos de los dos grupos de acetato de C-3' y C-2', las demás señales permanecan inalteradas.

El espectro de masas (I.Q.) del derivado acetilado de VIII, mostró los picos característicos para el azúcar de m/e 171 ($M + H^+ - 18$ ----- 171) por la pérdida de agua y la genina con un acetato. También se observa un pico de m/e 465 correspondiente a la pérdida de los acetatos de C2' y C3' (esquema No.2).

Con base en los datos anteriores el compuesto VIII tiene la siguiente estructura :



VIII



ESQUEMA No. 2

Este compuesto fué aislado anteriormente de A. fruticos
sa [26] y se denominó Gomfósido.

El otro glicósido (IX), es un sólido blanco cristalino con pf 243-245 °C (acetona-MeOH). Tiene una fórmula molecular determinada por análisis elemental de $C_{29}H_{42}O_{10}$, que corresponde a un PM 548.

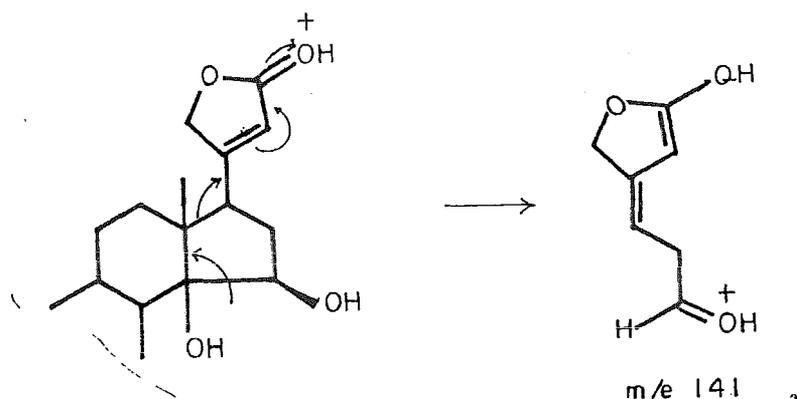
En IR mostró bandas para oxhidrilos en 3460 cm^{-1} , una banda para aldehído en 2730 cm^{-1} cuyo carbonilo aparece sobrepuesta a la de 1730 del β -butenólido responsable de una absorción débil a 1779 cm^{-1} , una fuerte a 1730 cm^{-1} y una banda de doble ligadura en 1630 cm^{-1} .

En el espectro de RMN'H (espectro No.10, tabla No. 2), se observa un singulete en 10.0 ppm que integra para un protón y corresponde al hidrógeno del grupo aldehído y se asignó a H-19. De igual manera se ve otra señal como triplete en 5.75 ppm (t, H-22, $J=1.5$ Hz), que según lo indicado en el análisis de la RMN'H de los compuestos anteriores ha sido atribuida a H-22. Se observa también la parte AB del sistema ABX centrada en 4.90 ppm (5.05 ppm, dd, H-21a, $J=18$ Hz y 1.5 Hz), y (4,75 ppm, dd, H-21b, $J=18$ Hz y 1.5 Hz), asignada a los hidrógenos 21a y 21b.

En 4.40 ppm se observa un triplete ancho ($J=7$ Hz), que integra para un protón. Este desplazamiento corresponde al hidrógeno gem a un oxhidrilo que se localiza en C-15 con orientación pseudo ecuatorial por comparación con la RMN de

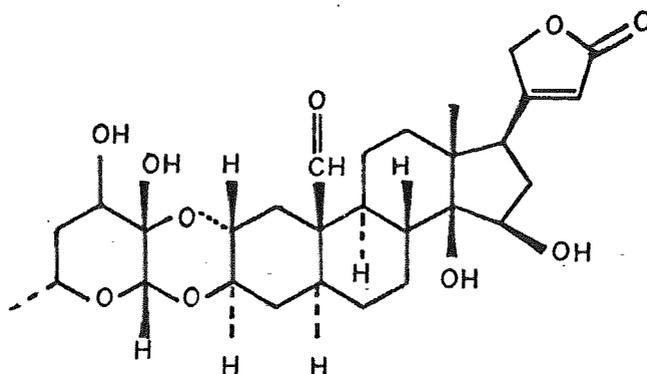
productos similares [26].

El espectro de masas de este producto apoya la estructura (IX) propuesta y la localización del oxhidrilo adicional en C15, el cual presenta los picos de m/e 129 y m/e 402, con una mayor abundancia que para la calactina, los cuales se han formado después de la pérdida de agua. La diferencia que presenta con la fragmentación de la calactina, es la mayor abundancia del pico de m/e 111 (esquema No.1, fragmento D, m/e 110 + H^+), y la presencia del fragmento m/e 141, $M + H^+$ ----- 141 (esquema No.3), [27] debido al oxhidrilo presente en el carbono 15, de este compuesto (IX).



ESQUEMA No.3

De acuerdo a los datos anteriores el compuesto IX correspondió al Procerosido, anteriormente aislado de Calotropis procera. [24], [28]



IX

Por otro lado, se trató el extracto de acetato de etilo por cromatografía en columna a vacío con sílice, utilizando como mezcla de eluyentes hexano- CH_2Cl_2 y CH_2Cl_2 -MeOH de polaridad creciente. se lograron separar dos compuestos cardenólidos los cuales se identificaron de acuerdo a sus propiedades espectroscópicas.

El producto más abundante (X) es un sólido cristalino blanco de $\text{pf}=260-262\text{ }^\circ\text{C}(\text{CH}_2\text{Cl}_2\text{-acetona})$. El espectro de IR muestra bandas de oxhidrilo (3487 cm^{-1} - 3274 cm^{-1}), anillo de β -butenólido (1780 y 1720 cm^{-1} , y de doble ligadura (1612 cm^{-1}), (espectro No. 11). El máximo de absorción en el espectro de UV para este compuesto en 215 nm ($\epsilon=17047$), apoya la existencia del anillo de β -butenólido.

En RMN¹H (espectro No.12, tabla No. 3), se observa un

triplete en 5,65 ppm ($J=1.5$ Hz), que corresponde al H-22. También la parte AB del sistema ABX, un doble de dobles en 5.05 ppm ($J=18$ Hz y 1.5 Hz), correspondiente a H-21a y el otro doble de dobles en 4.75 ppm ($J=18$ Hz y 1.5 Hz), pertenece al H-21b.

La señal en 4.36 ppm es un doblete con un acoplamiento de $J=7$ Hz, que se asigna al protón anomérico H1'[29], del azúcar. Entre 3.5 y 4.0 ppm, después del intercambio con D_2O , se observa un multiplete que antes había sido opacado por las señales del DMSO y corresponde, según datos descritos en la literatura, para este tipo de compuestos, a los protones 2',3',4' y 6' de un azúcar unido en la posición 3 de la aglicona.[30]

Los singuletes en 0.80 y 0.87 ppm (3H c/u), corresponden a los protones H-18 y H-19.

Debido a que no fue posible detectar el ión molecular ni la fragmentación de este compuesto, a través del sistema de "Espectrometría de masas por Ionización Química" (I.Q.), se hizo necesario realizar el espectro de masas mediante "Bombardeo Atómico Rápido" (FAB). En este proceso se utilizó alcohol-p-nitrobencílico como matriz y se usó amoniaco como gas ionizador.

Bajo estas condiciones en el espectro se pueden registrar iones: $(M + H)$, $(Mx + H)$, $x= 1,2\dots$ etc.

$(M + \text{matriz})$, $(Mx + \text{matriz})$.

TABLA No. 3

DESPLAZAMIENTOS QUÍMICOS EN 'H DE LOS COMPONENTES DE A.linaria Y DERIVADOS

H	X	XA	XI	XIA
3	-	3.55-4.05 m	-	-
17	-	2.75 m	2.75 m	2.75 m
18	0.80 s	0.83 s	0.75 s	
19	0.87 s	0.92 s	0.87 s	
21a	5.05 dd(18 y 1.5)	4.88	5.05 dd(18,1.5)	
21b	4.75 dd(18 y 1.5)	-	4.75 dd(18,1.5)	
22	5.65 t(1.5)	5.87 t(1.5)	5.83 sa (w=3.5)	
1'	4.36 d(7)	4.60 d(7)	4.45 m	4.58 d(7)
2'	-	-		
3'	-	4.95-5.25 m		3.85-3.50 m
4'	-			
5'	-	3.55-4.05 m		3.85-3.50 m
6'	-	4.18 m	4.45 m	4.28 d(4)
-OH fenólico	-	-	9.36 s	
Ha	-	-	7.60 d(16)	7.65 d(16)
Hb	-	-	6.25 d(16)	6.37 d(16)
Hc	-	-	7.40 d(8)	7.52 d(8)
Hd	-	-	6.82 d(8)	7.08 d(8)
-OCOMe fenólico		-	-	2.30 s
-OCOMe		2.12 s	-	2.05 s
		2.08 s	-	2.0 s
		2.06 s		

Corrido en CDCl_3 a 80 MHz-Referencia interna TMS. Desplazamientos químicos en ppm.
Las constantes de acoplamiento en Hz están en paréntesis.

En el espectro de X se observó un ion molecular de $M + 2 = 538$ el cual corresponde a un PM de 536. Se observan además dos picos, uno de m/e 357 y otro de m/e 180, que indican la fragmentación del compuesto cardenólido en la aglicona y el azúcar respectivamente.

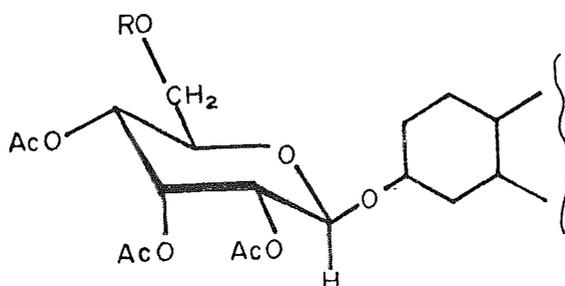
La acetilación con Ac_2O y piridina a temperatura ambiente condujo a la formación del derivado tetraacetilado que facilitó la asignación de las señales restantes. Mediante la purificación del producto de reacción se obtuvo un sólido blanco que funde a $153-154^{\circ}C$ (acetona- CH_2Cl_2).

En IR las bandas correspondientes al anillo β -butenólido están sobrepuestas con las de los acetato (1747 cm^{-1}), además se observa la banda de doble ligadura (1612 cm^{-1}).

En el espectro de RMN'H de XA (espectro No.13), un multiplete a 4.18 ppm, que integra para dos protones, se atribuyó a los hidrogenos del metileno C-6'. El resto de los protones gem de acetato aparecen como multiplete entre 4.95 y 5.25 ppm. Un doblete a 4.60 ppm ($J=7\text{Hz}$) se atribuyó al protón anomérico 1'. Esta señal sufre un ligero desplazamiento a campo bajo con relación al desplazamiento químico de este protón en el producto original (4.35 ppm), que se puede deber a la interacción 1,3 diaxial con el grupo acetato en C-3'.

La presencia de una señal múltiple entre 3.55 y 4.05 ppm, se atribuye a hidrógenos gem de oxígeno la cual se asig-

nó a los protones de 5' del azúcar y 3 de la genina. Las señales para los metilos de los acetatos se encuentran entre 2.12 y 2.04 ppm como cuatro singuletes (3H c/u).



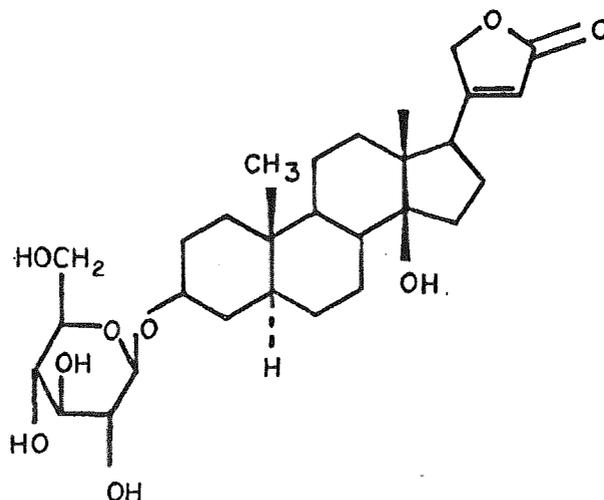
ESQUEMA No. 4

La existencia de 4 grupos de acetato y la señal para el metileno de C-6' indicaron que se trata de una hexosa que en este caso se identificó como glucosa por comparación con datos descritos de la literatura, la cual, de acuerdo a la señal del protón 3, se encuentra unido en la posición C3 de la aglicona [30] y [31].

En el espectro de masas (FAB), se observa el ion molecular ($M + 1$) a m/e 705 (100). Asimismo se detecta el fragmento correspondiente a la genina a m/e 357 (8.19), y un pico de m/e 331 (50.27), generado por la pérdida de 16 unidades de masa del azúcar acetilado.

Con base en los datos descritos, se propone la estructura X para este compuesto que corresponde a la Desglucouza-

rina, producto aislado anteriormente de A. syriaca [32] y A. meliodora [33]



X

El último glicosido aislado de esta especie de Asclepias, fue separado después de varias recromatografías de las fracciones eluidas de CH_2Cl_2 -MeOH. Este es un compuesto no descrito en la literatura y la estructura se determinó en base a las siguientes evidencias.

El producto XI es un sólido blanco poco abundante de $\text{p.f.}: 220-222^\circ\text{C}$ (acetona-hexano), el espectro de IR presenta bandas en $3440-3220\text{ cm}^{-1}$ (oxhidrilo), 1730 y 1630 cm^{-1} (β -butenólido α, β -insaturado), y 1604 cm^{-1} sistema aromático. (espectro No.14)

La absorción en el espectro de U.V. en 218 nm ($\epsilon=10400$) y 310 ($\epsilon=10000$), confirman la presencia de la β -butenólida

α,β -insaturada y sugieren que el anillo aromático tiene una conjugación adicional .

En el espectro de RMN'H (espectro No.15, tabla No. 3), en 5.83 ppm se observa un singulete ancho ($w, h/2 = 3.5\text{Hz}$), que corresponde al H-22, y en 5.05 ppm y 4.75 ppm las señales correspondientes a los protones H-21 del anillo -bute-nólico.

Al comparar el espectro de RMN'H de este compuesto (X1) con el espectro del compuesto anterior (X) se observa que las señales entre 4.0 y 2.40 ppm se asemejan a las observadas en el espectro de (X). Dos singuletes que aparecen en 0.75 y 0.85 ppm se asignan a los metilos terciarios C-18 y C-19. En 4.45 ppm se observa una señal compleja que se simplifica después del intercambio con D_2O y engloba el proton anomérico 1' y dos protones más, asignables al metileno C-6'. A campo bajo se observa un sistema AA' BB', un doblete en 7.40 ppm (2H, $J=8\text{ Hz}$) y el otro doblete en 6.82 ppm (2H, $J=8\text{ Hz}$), que por su desplazamiento y acoplamiento se asignó a los protones Hc y Hd de un anillo aromático con sustitución para. Una señal simple a 9.35 ppm que intercambia con D_2O , se atribuyó a un oxhidrilo fenolico. Dos dobletes que aparecen a 7.6 y 6.25 ppm (1 H c/u, $J=16\text{ Hz}$), como un sistema AB, se deben a la presencia de una doble ligadura unida al anillo aromático y al carbonilo de un grupo ester. El valor de la constante de acoplamiento indica que se trata de

un doble enlace trans y se asignó a Ha y Hb.

Estos datos conducen a proponer la presencia del ácido p-hidroxicinámico esterificando un oxhidrilo del azúcar del glucósido cardíaco.

La presencia de un doblete ancho (2H, $J=4$ Hz), en 4.3 ppm sugiere que el ácido p-hidroxicinámico está esterificando el oxhidrilo primario de la glucosa.

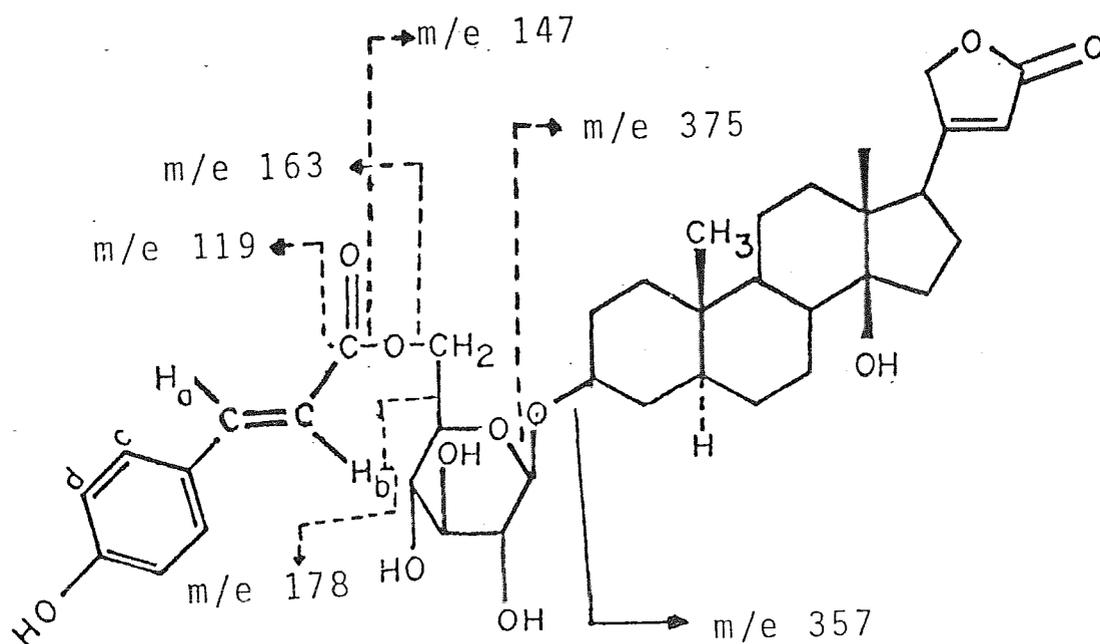
En EM (FAB), se registra un pico a 684 que corresponde a $[M + 2]$, ($PM = 682$). También se observan los picos de $m/e = 147$ (100), 121, 165, correspondientes a la fragmentación del cinámato y un pico de m/e 177 proveniente de la ruptura de la unión C5' - C6' del azúcar, lo cual confirma que el ácido p-hidroxicinámico está esterificando el alcohol primario del azúcar. Además se observa el fragmento de m/e 357 correspondiente a la aglicona y fragmentos que provienen de ésta, 375, 357, 339, 229, etc. (esquema No. 4).

Debido a la insolubilidad del compuesto XI en $CHCl_3$, fue necesario llevar a cabo una acetilación con piridina y Ac_2O a Temperatura ambiente y así poder llegar a asignar correctamente la estructura de este compuesto.

El derivado XIa fue un sólido blanco de $pf=240-242$ °C (acetona-hexano). En IR presentó bandas en 1749 cm^{-1} de acetato y β -butenólido sobrepuestas, en 1633 cm^{-1} de doble ligadura y en 1247 cm^{-1} de C-O de acetato.

En el espectro de RMN'H de XIa (espectro No. 16, tabla

No. 3), no se observa el singulete a 9.37 ppm atribuido al oxhidrilo fenólico. Un singulete a 2.30 ppm (3H) se asignó al metilo de un acetato fenólico, lo cual confirma la presencia del grupo fenólico en el producto original (X1).



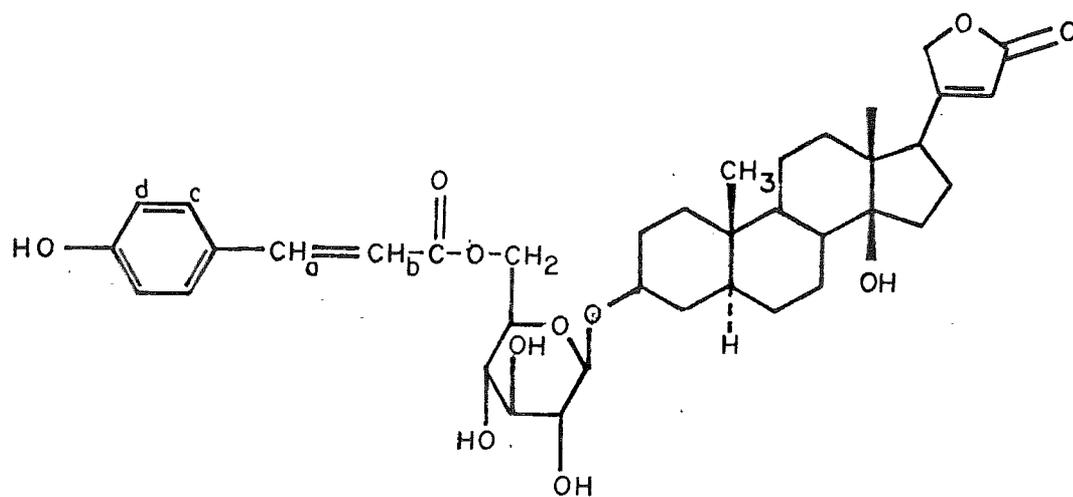
ESQUEMA No. 5

Se observan además un singulete (6H) a 2.05 ppm y otro a 2 ppm (3H) que se pueden asignar a los metilos de tres grupos acetato, los cuales esterifican los oxhidrilos secun-

darios de la glucosa, cuyos protones gem aparecen como señal compleja entre 4.95 y 5.25 ppm. La presencia de un doblete ancho ($J=4\text{Hz}$), a 4.3 ppm sugiere que el ácido p-hidroxicinámico está esterificando el oxhidrilo primario de la glucosa puesto que esta señal no ha sufrido desplazamiento a campo bajo como consecuencia de la acetilación del producto natural.

En el espectro de masas (FAB), no se observó el ion molecular, pero sí un primer fragmento de m/e 666 que puede ser originado del ion M^+ (850) por pérdida de ácido acético (m/e 60) y el fragmento proveniente de la ruptura del anillo D, ($C_7H_6O_2$, m/e 124), $850 - (124 + 60)$. También se observan los picos correspondientes a la fragmentación del cinamato, el azúcar y la genina, en mayor abundancia que para el compuesto original (147, 165, 374, 357, 339) y un pico de m/e 207 (100) que proviene de la ruptura de la unión $C5' - C6'$.

La discusión anterior está de acuerdo con la estructura XI que corresponde a 6'-p-hidroxicinamoil desglucouzarina.



XI

IV. PARTE EXPERIMENTAL

PARTE EXPERIMENTAL

1.- Estudio fitoquímico de Asclepias glaucescens.

La especie de Asclepias glaucescens estudiada fue recolectada en la orilla de la carretera Oaxtepec-Cuautla, Estado de Morelos, en febrero de 1988.

El látex fue recolectado de la misma planta, y analizado por el siguiente procedimiento: [12]

200 ml de látex colectado se centrifuga a 30.000 revoluciones por minuto, 50' a 5 °C por 2 horas. Este se separa en un suero y un sedimento.

El sedimento fue secado en una cámara de vacío durante 3 días a temperatura ambiente obteniéndose 26 gr de sedimento seco. Este residuo se extrajo con 200 ml de MeOH a 50 y 60 °C, con agitación constante, por 3 veces, la solución fue decantada y evaporada a sequedad. El residuo obtenido (21 gr), fue disuelto en EtOH-H₂O (1:1) y se extrajo con cloruro de metileno. La solución de cloruro de metileno se lavó con solución concentrada de NaCl, se secó con Na₂SO₄ anhidro y se evaporó a sequedad.

El residuo (12.3 gr), absorbido en sílice se sometió a una separación por cromatografía en columna seca, empacada con sílice (70-230, 500 gr), desactivada con el 10% en peso de agua. Se utilizó como eluyente una mezcla de hexano-CH₂-Cl₂ de polaridad creciente.

De las fracciones eluidas con hexano-CH₂Cl₂ (9:1), se

obtuvieron 8.5 gr de un producto, sólido blanco (mezcla binaria), de pf:175-178°C (hexano), con las siguientes propiedades espectroscópicas:

IR (CHCl₃) ν máx. cm⁻¹ 1719 (carbonilo de acetato), 1639 y 903 cm⁻¹ (doble ligadura).

RMN¹H 80 MHz (CDCl₃) δ ppm. 2.05(s,3H), 4.55 y 4.65 (2d,2H,J=2 Hz), 4.45(sa, 1H, H vinilica), 1.76(s,3H, metino vinílico).

Las propiedades físicas y espectroscópicas de esta mezcla (I y III) corresponden con las descritas para la mezcla de Acetato de Taraxasterilo y Acetato de pseudotaraxasterilo.

De las fracciones eluidas con hexano-CH₂Cl₂ (1:1), se obtuvo un producto sólido cristalino (100 mg) de pf:145-148°C (acetona).

IR (CHCl₃) ν máx. cm⁻¹: 3500 (OH), 1639 y 903 (doble ligadura)

RMN¹H 80MHz (CDCl₃) δ ppm: 3.20(m, 1H,H-3 gem de OH), 4.57 y 4.65(sa, 1H).

De las fracciones eluidas con CH₂Cl₂-MeOH 2% se obtuvieron 75 mg de un producto sólido blanco de pf: 222-225 °C (acetona-hexano), que se identificó como Labriformina V, por comparación de sus datos espectroscópicos con los descritos en la literatura. [17]

IR. CHCl₃ ν máx. cm⁻¹ 3504 (OH), 1784 y 1749 (lactona

α , β -insaturada), 1704 (carbonilo de ciclohexanona), y 1635 (doble ligadura).

RMN¹H 80MHz (CDCl₃) δ ppm: 7.5 (s,1H, -CH=N-), 5.95 (d, J=2 Hz,1H,H-22), 5.10 (s,1H,H-1'), 4.81 (da,J=2 Hz,2H,H-21), 3.85 (d,J=2 Hz,2H, -S-CH₂-), 4.67 (dd,J=13 Hz y 4.5 Hz, 1H, H-11; int. D₂O=d,J=13 Hz), 3.7-3.9 (m,H-2,3,5'), 1.09 (s,3H, H-18), 1.19(s,3H, H-19), 1.15-1.23(d,J=6 Hz,3H,H-6').

RMN¹³C 20 MHz CDCl₃), (espectro No.3, tabla No.1).

En un segundo procedimiento el sedimento obtenido de 150 ml de látex después de centrifugar, se trato de la siguiente manera:

El sedimento del látex se deja secar por 3 días en una cámara de vacío obteniendose 12 gr de sedimento seco. Este residuo se extrajo con cloruro de metileno repetidas veces, la solución orgánica se lavó con solución concentrada de NaCl, se secó con sulfato de sodio anhidro y se concentró hasta sequedad.

El residuo(10.5 gr) fue sometido a una cromatografía a vacío utilizando gel de sílice para placa preparativa, de ésta cromatografía se separaron los mismos compuestos en las siguientes cantidades: 9 gr de mezcla de acetato de taraxasterol y acetato de pseudotaraxasterilo, 115 mg de taraxasterilo, 90 mg del cardenólido labriformina y 25 mg de una mezcla de cardenólidos, cuyas estructuras no se determinaron por dificultades en la purificación.

La purificación de esta mezcla de cardenólidos se intentó por varios métodos. Cromatografía en placa preparativa, en columna a vacío, en cromatografía relámpago y por HPLC con una columna Micro Pak Si-10 de 50 cm por 8 mm od en una mezcla de disolventes AcOEt-MeOH a un flujo de 200 ml/hr. Además se intentó la purificación a través de la formación de los derivados acetilados sin éxito.

De la Asclepias glaucescens se estudiaron también las partes aéreas de la planta de la siguiente forma:

1.5 kg de planta seca fueron extraídas con MeOH (20 l), cuatro veces c/u, por 3 días a T.amb. Al evaporar el disolvente a presión reducida se obtuvieron 220 g de extracto, que se sometió a una partición líquido-líquido entre benceno-hexano (1:1) y MeOH-H₂O (4:1).

La fracción soluble en benceno-hexano se concentró a vacío para dar 51 gr de residuo. La fracción hidroalcohólica se concentró a presión reducida y la fracción acuosa se extrajo con cloruro de metileno (13.5 gr), y con acetato de etilo (190 gr).

Cada uno de los residuos extraídos se cromatografiaron en sílice (70-230).

De la fracción soluble en cloruro de metileno se aislaron los compuestos cardenólidos, ya descritos, 10 mg de labriformina V y 40 mg de la mezcla de glicósidos cardíacos.

De la parte soluble en benceno-hexano se separaron los

triterpenos pentacíclicos, mezcla de acetato de taraxasterilo y acetato de pseudo-taraxasterilo y β -sitosterol.

2.- Estudio de los componentes de Asclepias linaria.

La especie de Asclepias linaria analizada, fue recolectada en Río Hondo Municipio de Texcoco, Estado de México. Las partes aéreas de la planta, secas (1.8 Kg.) fueron extraídas con MeOH (20L) a temperatura ambiente, durante 4 días por tres veces consecutivas. Al evaporar el disolvente a presión reducida, se obtuvieron 318 g de extracto, al cual se le hicieron particiones con MeOH-Agua (4:1) y benceno-hexano (1:1). La parte polar se concentró y se extrajo con cloruro de metileno y acetato de etilo.

Del extracto de acetato de etilo se obtuvieron 8 g de un producto cristalino (mezcla por CPF) de $pf=258-263^{\circ}C$. 2 g. de éste sólido se sometieron a una separación por cromatografía en columna a vacío empacada con sílice para placa preparativa, (columna de 5 cm. de diámetro y 5 cm. de altura de sílice). Se utilizó como eluyente una mezcla de cloruro de metileno-MeOH de polaridad creciente.

De las fracciones eluidas con cloruro de metileno-MeOH 2 %, se aislaron 500 mg de un sólido blanco puro de $pt=243-245^{\circ}C$ (acetona) que se identificó como Calactina (V) [23 y 24] de acuerdo con las siguientes propiedades espectroscópicas:

UV (MeOH) λ máx. nm (ϵ): 213 (23093).

IR (Nujol) ν máx. cm^{-1} : 3509 ancha (-OH), 2730 (aldehído) 1778 y 1718 (β -butenólido), 1618 (doble ligadura).

RMN'H 80MHz ($\text{CDCl}_3 + \text{DMSO-d}_6$) (espectro No.4, tabla 2) δ ppm: 10.0 (s, 1H, H-19), 5.87(sa, 1H, H-22), 5.05(dd, J=18 Hz y 1.5 Hz, 1H, H-21a), 4.75(dd, J=18 Hz y 1.5-Hz, 1H, H-21b), 4.70 (s, 1H, H-1') 4.15-3.85 (m, 3H, H-2, 3, 5'), 3.65(t, J=3 Hz, después de int. D_2O , 1H, H-3'), 1.25 (d, J=6 Hz, 3H, H-6'), 0.87 (s, 3H, H-18).

EM (I.Q.) m/e (% abundancia relativa): 29 (100), 111 (12.6), 195(9.77), 355(35.6), 337(27), 391(20.1), 403(4).

De las fracciones eluidas con cloruro de metileno-MeOH 4 %, se aislaron 10 mg de un producto cristalino con un pf: 250-255° (acetona-MeOH) que se identificó como el glicósido cardiaco Calotoxina (VII). [22 y 23]

UV (MeOH) λ máx. nm (ϵ): 214 (14615).

IR (Susp. Nujol) ν máx. cm^{-1} : 3508 (-OH), 2720 (HC=O), 1780 y 1722 (β -Butenólido), 1618 (doble ligadura).

RMN'H 80MHz ($\text{CDCl}_3 + \text{DMSO-d}_6$), (tabla 2) δ ppm: 9.95(s, 1H, H-19), 5.82(sa, 1H, H-22), 5.03(dd, J=18 Hz y 1.5 Hz, 1H, H-21a), 4.73(dd, J=18 Hz y 1.5 Hz, 1H, H-21b), 4.66(s, 1H, H-1'), 3.40 (m, 3H, H-2, 3, 5'), 3.65(d, J=3 Hz, 1H, H-3'), 3.40 (dd, J=9 Hz y 3 Hz, 1H, H-4'), 1.28(d, J=6 Hz, 3H, H-6'), 0.80(s, 3H, H-18).

EM (I.Q.), m/e (% abundancia relativa): 41(100), 111 (-

9.7), 145(7.47), 369(17.8), 404(5.17).

Los 6 g restantes del producto sólido se sometieron a varias recromatografías de columna a vacío, utilizando el mismo tipo de sílice y dimensiones de la columna, con una mezcla de eluyentes de hexano-cloruro de metileno 80% y cloruro de metileno-MeOH en polaridad creciente hasta MeOH 8%.

De las fracciones eluidas con cloruro de metileno, se obtuvieron 100 mg de un sólido blanco de $pf=248-250^{\circ}C$ (MeOH). Las propiedades físicas y espectroscópicas de éste compuesto (VIII) corresponden con las descritas para el gomfocido (VIII), aislado anteriormente de Asclepias fruticosus gomfocarpus [25].

UV (MeOH) λ máx. nm(ϵ): 210 (14507).

IR (Susp. Nujol) ν máx. cm^{-1} ; 3506(-OH), 1780 débil y 1710 fuerte (β -butenólido), 1614 (doble ligadura).

RMN'H 80MHz (CDCl₃ + DMSO-d₆) (Espectro No.6, Tabla2), δ ppm: 5.85(t, J=1.5 Hz, 1H, H-22), 5.05 (dd, J=18 Hz y 1.5 Hz, -1H, H-21a), 4.75 (dd, J=28 Hz y 1.5 Hz, 1H, H-21b), 4.75 (s, 1H, H-1'), 4.15-3.85 (m, 3H, H-2,3,5'), 3.66 (t, J=3 Hz, con D₂O, 1H, H-3'), 2.75 (m, 1H, H-17), 1.25 (d, J=6 Hz, 3H, H-6'), 0.87(s, 6H, H-18,19).

De las 8 primeras fracciones eluidas con cloruro de metileno-metanol 2% se aisló 1 gr de calactina pura V y las cinco fracciones siguientes fueron una mezcla binaria formada por calactina y otro cardenólido.

La mezcla (400 mg), se pudo separar por repetidas cromatografías a vacío sobre gel de sílice para placa preparativa utilizando como eluyentes una mezcla de CH_2Cl_2 -MeOH de polaridad creciente. Se obtuvieron así 40 mg de un producto cristalino IX de $\text{pf}=243-245^\circ\text{C}$ (acetona-MeOH), que se identificó como el glicósido cardíaco procerosido aislado anteriormente de Calotropis procera. [22, 26]

UV (MeOH), λ máx.nm(ϵ): 215(27549)

IR (Susp.Nujol) ν máx.cm⁻¹: 3460 (OH), 2730(CHO), 1779 (débil) y 1731(fuerte) (β -butenólido) 1630(doble ligadura).

RMN'H. 80 MHz (CDCl_3 +DMSO) (tabla No.2) δ ppm: 9.98(s, 1H,H-19), 5.80 (t,J=1.5 Hz,1H,H-22), 5.05 (dd,J=18 Hz y 1.5 Hz,1H,H-21a), 4.75(dd,J=18 Hz y 1.5 Hz,1H,H-21b), 4.73(s,1H, H-1'), 4.40(t,J=8 Hz,1H,H-15), 3.68(t,J=3 Hz, cuando int. D_2O , 1H, H-3'), 1.2(d,J=6 Hz,3H,H-6'), 0.85 (s,3H,H-18).

EM (I.Q.) m/e (% abundancia relativa): 41(100), 111 (27.6), 129 (24) 338 (25.8), 374(25.2), 402(43.1).

Análisis elemental: encontrado C, 63.49%, H, 7.35% calculado para $\text{C}_{29}\text{H}_{40}\text{O}_{10}$: C, 62.93%, H, 7.43%.

De la parte soluble en Acetato de Etilo, se obtuvieron 8.5 gr de extracto y se sometieron a una separación por cromatografía en columna a vacío con Sílice para placa preparativa, utilizando como eluyente Hexano- CH_2Cl_2 y CH_2Cl_2 -MeOH de polaridad creciente hasta MeOH 4 %.

De las fracciones eluidas con Hexano- CH_2Cl_2 (9:1) se

logró cristalizar la calactina (VI). De las fracciones eluidas con CH_2Cl_2 100 % cristalizaron 40 mg del compuesto X. Las demás fracciones eluidas hasta 4% de MeOH fueron separadas como mezcla de sólidos amorfos y sometidas a varias recromatografías.

Por una recromatografía en columna a vacío con Sílice para placa preparativa y utilizando como eluyente CH_2Cl_2 - MeOH de polaridad creciente, se lograron aislar 20 mg de un producto sólido blanco de $\text{pf}=220-222^\circ\text{C}$, el cual se identificó como 6'-p-hidroxicinamoil desglucouzarina XI.

$[\alpha]_D = -22$ (metanol).

UV (MeOH) $\lambda_{\text{máx. nm}}(\epsilon)$: 218(10447), 310(9893)

IR (Nujol) $\nu_{\text{máx. cm}^{-1}}$: 3440-3220 (OH), 1730 fuerte (β -Butenólido), 1630(doble ligadura, 1604(sistema aromático).

RMN¹H 80 MHz (CDCl_3 + DMSO) (tabla No. 3) δ ppm: 9.36 (s, intercambia con D_2O , 1H, OH), 7.60 (d, $J=16$ Hz, 1H, Ha), 6.25 (d, $J=16$ Hz, 1H, H-b), 7.40 (d, $J=8$ Hz, 2H, Hc), 6.82 (d, $J=8$ Hz, 2H, Hd), 5.83 (sa, 1H, H-22), 5.05(dd, $J=18$ Hz y 1.5 Hz, 1H, H-21), 4.75 (dd, $J=18$ Hz y 1.5 Hz, 1H, H-21b), 4.45 (m, H-1', 6', 3H), 3.75(sa, int. D_2O , OH azúcar, H-4'), 2.85 (s, int. D_2O , OH azúcar), 2.75 (m, 1H, H-17), 0.87 y 0.75 (2s, 3H c/u, H-18 y 19).

EM (FAB), m/e (% abundancia relativa): 147(100), 121 (41.81), 165(10.34), 177(1.66), 357(4.74), 375(15.06), 339 (7.85), 229(0.80).

De las fracciones eluidas con CH_2Cl_2 -MeOH 5%, se aisló un sólido blanco de $\text{pf} = 260-262^\circ \text{C}$ (CH_2Cl_2 -acetona), que se identificó como el glicósido cardíaco desglucouzarina (X) aislado anteriormente de A. syriaca y A. mellodora. [31, 32]

UV (MeOH) λ_{max} .cm-1; 3487-3274(OH), 1780, 1720 (anillo β -butenólido), 1612 (doble ligadura).

RMN'H 80 MHz (CDCl_3 + DMSO) (tabla No.3) δ ppm: 5.65 (t, J=1.5 Hz, 1H, H-22), 5.05 (dd, J=18 Hz y 1.5 Hz, 1H, H-21a), 4.75 (dd, J=18 y 1.5 Hz, 1H, H-21b), 4.36 (d, J=7 Hz, 1H, H-1'), 3.50-4.0 (protones del azúcar), 0.80 y 0.87 (2s, 3H c/u, H-18, 19).

EM (FAB) m/e (% abundancia relativa): M+2, 538(100), 357(36.37), 180(16.67).

ACETILACION DE CALACTINA

El producto VI (100 mg) se disolvió en piridina seca (1 ml), se agregó Ac_2O (1 ml recién destilado) y se dejó a una temperatura de 40°C durante 6 horas. Al término de la reacción se eliminó la piridina y Ac_2O a presión reducida y el residuo de la reacción se disolvió en acetato de etilo, se lavó con agua, se neutralizó con una solución de NaHCO_3 al 10 % y finalmente se lavó con salmuera hasta pH neutro. La fase orgánica se secó con sulfato de sodio anhidro y se eliminó el disolvente a presión reducida.

El residuo se purificó por cromatografía en columna relámpago con SiO_2 (230-400) y como eluyente una mezcla de CH_2 -

Cl₂- MeOH 1% de polaridad constante.

De las fracciones intermedias se obtuvieron 40 mg de diacetil calactina como un sólido blanco que cristalizó de acetona y mostró un pf=235-238°C.

IR (CHCl₃) δ máx.cm⁻¹ 3616(OH), 1747 fuerte (β-butenóli- do y acetato), 1610 (doble ligadura).

RMN'H (CDCl₃) (espectro No.6, tabla No.2) δ ppm: 9.5 (s, 1H, H-19), 5.87 (t, J=1.5 Hz, 1H, H-22), 5.73 (t, J=3 Hz, 1H, H-3'), 4.97 (dd, J=18 Hz y 1.5 Hz, 1H, H-21a), 4.68 (dd, J=18 Hz y 1.5 Hz, 1H, H-21b), 4.83(s, 1H, H-1'), 4.15-3.85 (m, 3H, H-2,3,5'), 2.72(m, 1H, H-17), 2.47(2d, J=4 Hz, 1H, H-20), 2.08 y 2.10(s, 3H c/u, OCOCH₃), 1.25 (d, J = 6 Hz, 3H, H-6'), 0.85(s, 3H, H-18).

Análisis elemental encontrado C, 64.27; H, 7.19 y calculado para C₃₃H₄₄O₁₁: C, 63.93; H, 7.10.

ACETILACION DE GOMFOSIDO

El compuesto VIII (50 mg), se disolvió en piridina seca (0.5 ml) previamente destilada, se le adicionó Ac₂O y se dejó a temperatura ambiente durante 24 hrs. Al término de la reacción se eliminaron los disolventes a presión reducida y el residuo se disolvió en acetato de etilo, se lavó con agua hasta PH neutro. La fase orgánica se secó con sulfato de sodio anhidro y se eliminó el disolvente a presión reducida.

El residuo se purificó por cromatografía en columna re-

lámpago con SiO₂(230-400) y como eluyente una mezcla de CH₂-Cl₂-MeOH 1 % de polaridad constante.

De las primeras fracciones se obtuvieron 20 mg de diacetil gomfósido como un sólido blanco que cristalizó de acetona y mostró pf=243-245 °C.

IR (CHCl₃) $\nu_{\text{máx.}}$ cm⁻¹ 1747 fuerte, 1245 mediana (acetato y β -butenólido).

RMN'H 80 MHz (CDCl₃) (espectro No. 8, tabla No.2) δ ppm: 5.85 (t, J=1.5 Hz, 1H, H-22), 5.72 (t, J=3 Hz, 1H, H-3'), 5.0 (dd, J=18 Hz y 1.5 Hz, 1H, H-21a), 4.70 (dd, J=18 Hz y 1.5 Hz, 1H, H-21), 4.83 (s, 1H, H-1'), 4.5-3.85 (m, 3H, H-2, 3, 5'), 2.75 (m, 1H, H-17), 2.1 y 2.12 (s, 3H c/u, OCOCH₃), 1.25 (d, J=6 Hz, 3H, H-6'), 0.85 y 0.90 (2s, 3H c/u, CH₃, H-18 y H-19).

EM m/e (% abundancia relativa): 61(100), 111(11.42), 171(12.57), 465(40.57), 483(14.28), 585(4.57), 603(3.42).

ACETILACION DE 6'-P-HIDROXICINAMOIL DESGLUCOUZARINA

El compuesto XI (10 mg), se trató en las mismas condiciones que para VIII, obteniéndose 7 mg de un sólido blanco con pf=240-242 °C (acetona-hexano) que correspondió al tetraacetato de 6'-p-hidroxi cinamoil de desglucouzarina, y mostró las siguientes características:

IR (CHCl₃) $\nu_{\text{max.}}$ cm⁻¹ 1749 fuerte (carbonilo de acetato y β -butenólido), 1247 (C-O de acetato), 1637 (doble ligadura).

RMN'H 80 MHz (CDCl₃) δ ppm: 7.65(d, J=16 Hz, 1H, Ha), 6.37 (d, J=16 Hz, 1H, Hb), 7.53 (d, J=8 Hz, 2H, Hc), 7.08(d, J=8 Hz, 2H, Hd), 5.83(t, J=1.5 Hz, 1H, H22), 4.90-4.25 (m, 3H, protones del azúcar), 4.95 (dd, J=18 Hz y 1.5 Hz, 1H, H-21a), 4.72 (dd, J=18 Hz y 1.5, 1H, H-21b), 4.58(d, J=7 Hz, 1H, H-1'), 4.28(d, J=4 Hz, 1H, H6'), 3.85-3.50 (m, 2H, H-3, 5'), 2.75(m, 1H, H-17), 2.30 (s, acetato del OH fenólico), 2.05 y 2.0(2s, 6H y 3H c/u, OCOCH₃), 0.75 y 0.85 (2s, 3H c/u, H-18, 19).

E.M. (FAB) m/e (%abundancia relativa), 207(100), 147-(88.47), 309(51.86), 339(40.0), 357(52.03), 374(94.92), 375 (52.20), 447(0.68), 666(5.08).

ACETILACION DE DESGLUCOUZARINA

70 mg de X fueron disueltos en 1 ml de Ac₂O y 1 ml de piridina dejando la solución durante 30 h a T. amb. Al termino de este tiempo los disolventes fueron eliminados a vacío. El residuo fue cristalizado en acetona-CH₂Cl₂ obteniéndose 50 mg de un sólido blanco, de pf=153-154°C.

IR (CHCl₃) ν máx. cm⁻¹ 3043(OH), 1746(anillo butenólido y carbonilo de acetato).

RMN'H 80Mhz (CDCl₃) δ ppm: 5.87(t, J=1.5 Hz, 1H, H-22), 4.95-5.25(m, 3H metinos del azúcar), 4.88(dd, 2H, H-21a), 4.60 (d, J=7.0 Hz, 1H, H-1' del azúcar), 4.18 (m, 2H, H-6'azúcar), 3.55-4.05 (m, 2H, H-3, 5'), 2.75 (m, 1H, H-17), 2.12. 2.08. 2.06 y 2.04(4s, 3H c/u OCOCH₃), 0.83 y 0.92(2s, 3H c/u H-18, 19).

EM (FAB) m/e (%abundancia relativa): 705(100), 357

(8.19), 339(23.39), 331(50.27).

De la especie Asclepias linaria, se trataron las flores y semilla en las mismas condiciones que el resto de la parte aérea y se obtuvieron los mismos componentes descritos.

Para las cromatografías en columna se utilizó gel de sílice 60 Merck (35-70, 70-230, 230-400 y sílice para placa preparativa, todas Mesh ASTM).

La pureza de los productos y el desarrollo de las reacciones se siguió por cromatografía con gel de sílice Merck usando como revelados sulfato cerico al 1 % en H_2SO_4 2 N.

Los puntos de fusión fueron determinados en un aparato Fisher-Jones.

Los espectros de IR fueron obtenidos en cloroformo o en nujol en un espectrometro Perkin-Elmer Mod. 337 o en un Nicolet FT-5X.

Los espectros de RMN'H y de ^{13}C se realizaron a 80 y 20 MHz respectivamente, en un aparato Varian FT-80 A. Los desplazamientos químicos están dados en ppm en unidades δ , con respecto al TMS. Los valores de J están dados en Hz. Las asignaciones en C fueron hechas con ayuda de los espectros parcial y totalmente desacoplados.

Los espectros de masas fueron determinados por el Dr. Michael S. Tempesta, director del centro de servicios analíticos de la Universidad de Missouri-Columbia, mediante la técnica de ionización química (IQ) y Bombardeo Atómico Rápido (FAB), (dentro del programa de agroquímica de la IOCD).

Se le agradece al Dr. Barbarin Arreguín, a la M.C. Adela Rodríguez y a la M.C. Marisela Tablero del Instituto de Química de la UNAM, de proporcionarnos el residuo sólido del

látex de A. glaucescens, a la química Carmen Márquez por todos los intentos de purificación de la mezcla de compuestos por HPLC de ésta misma planta. A Cesario Rodriguez del colegio de Posgraduados de Chapingo, por la recolección y clasificación de la planta A. linaria para su estudio. Al químico Jorge Cárdenas por la espectroscopia de RMN C, RMN'H y sus sugerencias y al químico Misael Torres por su colaboración en la espectroscopia de IR.

V. CONCLUSIONES

CONCLUSIONES

1.- Se estudiaron los metabolitos secundarios de dos especies de Asclepias (familia Asclepiadaceae): Asclepias glaucescens y Asclepias linaria, abundantes en la república Mexicana.

2.- De la Asclepias glaucescens se estudiaron el látex y la parte aérea total de la planta.

De ambos se aislaron los mismos metabolitos secundarios cuyas estructuras se establecieron por métodos químicos y espectroscópicos. Se identificaron cuatro triterpenos pentacíclicos; Tarxasterol y Seudo-taraxasterol y sus derivados acetilados.

Se aisló y caracterizó un glicósido cardíaco, la Labri-formina. La concentración de labriformina en el látex es mayor que en el total de la parte aérea de la planta.

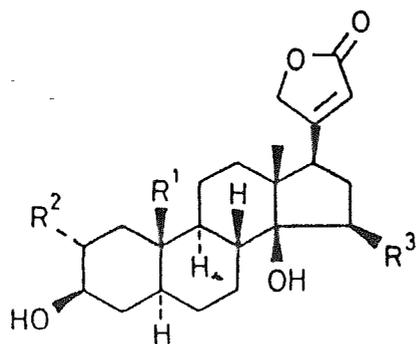
3.- El estudio de la parte aérea de la Asclepias linaria condujo al aislamiento e identificación de 5 glicósidos cardíacos conocidos: Calactina VI, Calotoxina VII, Gomfósido VIII, Procerosido IX y Desglucouzarina X y un nuevo cardenólido que se identificó como 6'-p-hidroxicinamoil desglucouzarina.

La calactina es el cardenólido más abundante de la mezcla de glicósidos cardíacos aislados de A. linaria.

4.- De las especies de Asclepias estudiadas se aislaron e identificaron varios cardenólidos derivados de la Calotro-

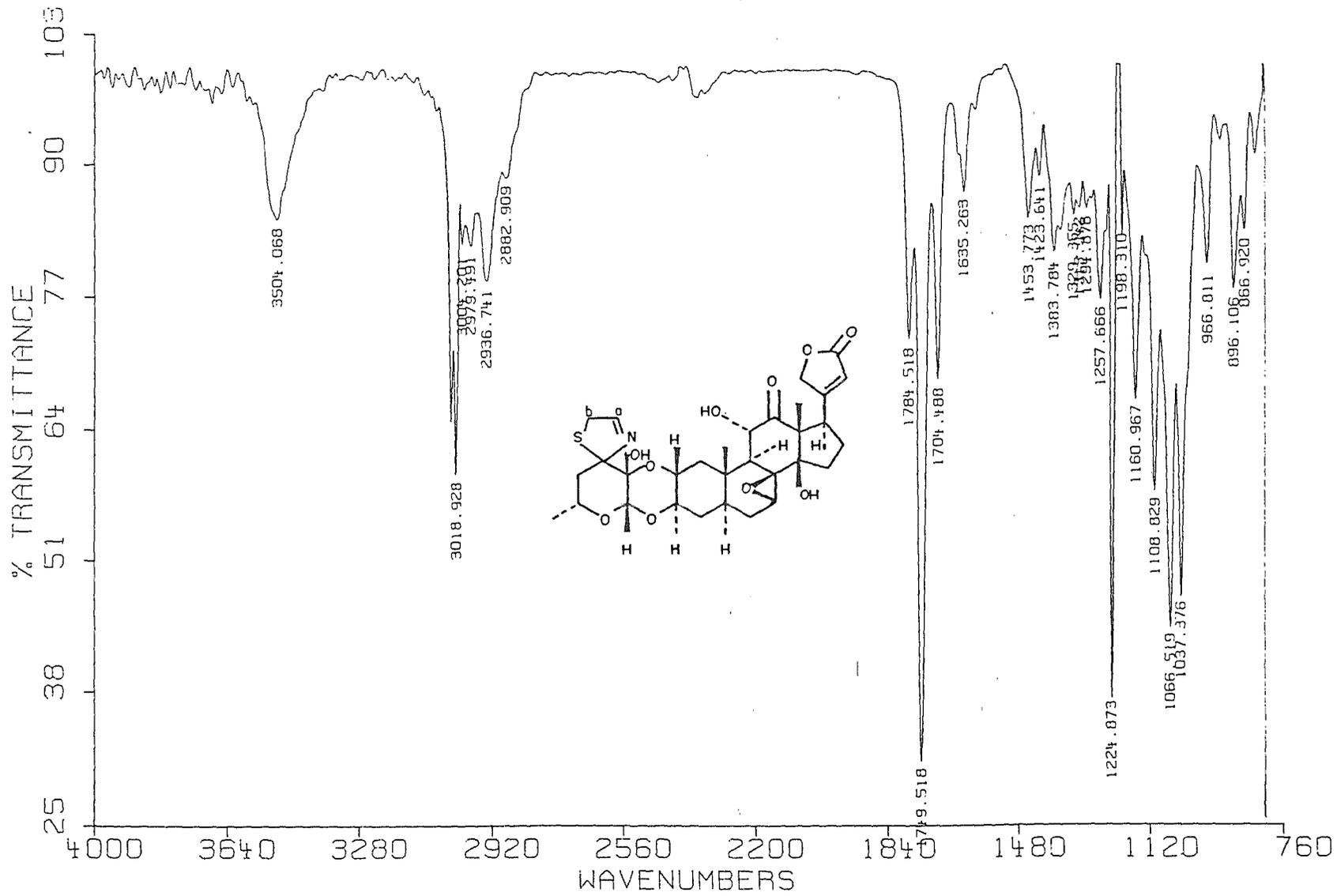
pagenina (11) y de la Uzarigenina (12).

5.- Las posibles propiedades insecticidas de los glicósidos cardíacos aislados, está en estudio en el Colegio de Posgraduados de Chapingo, dentro del programa agroquímico de la IOCD.

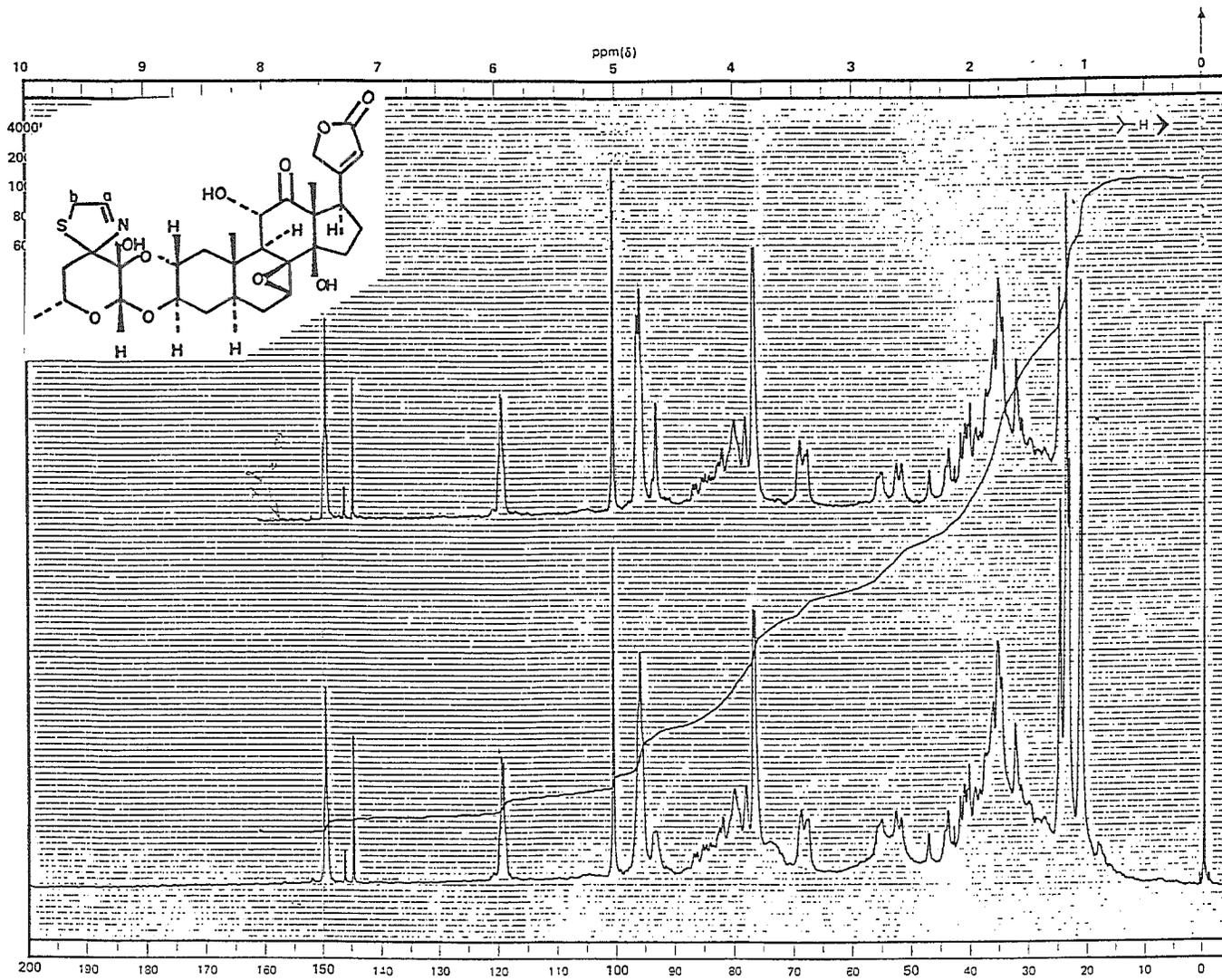


	R ¹	R ²	R ³
(11)	= CHO	OH	H
(12)	= Me	H	H

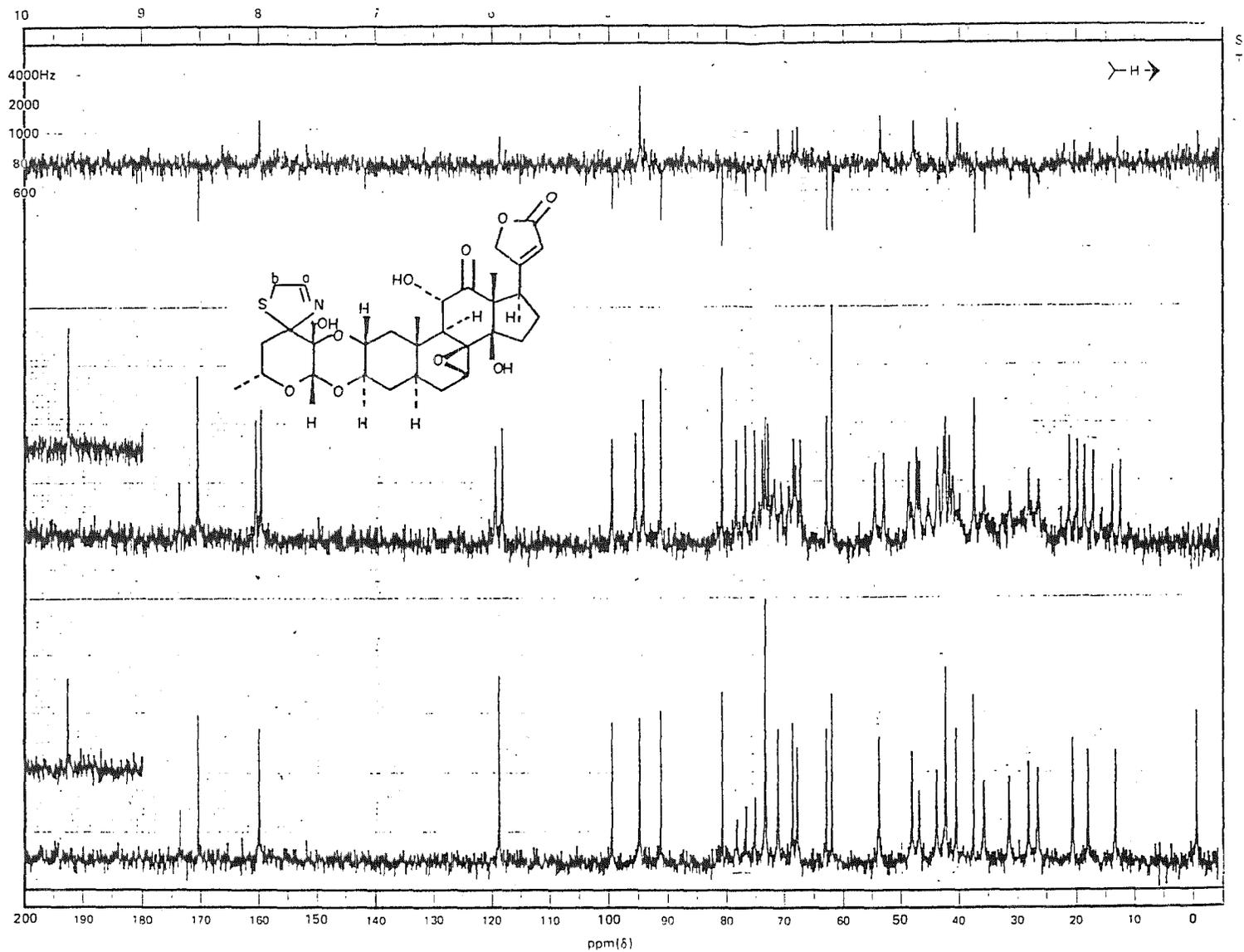
VI. ESPECTROS



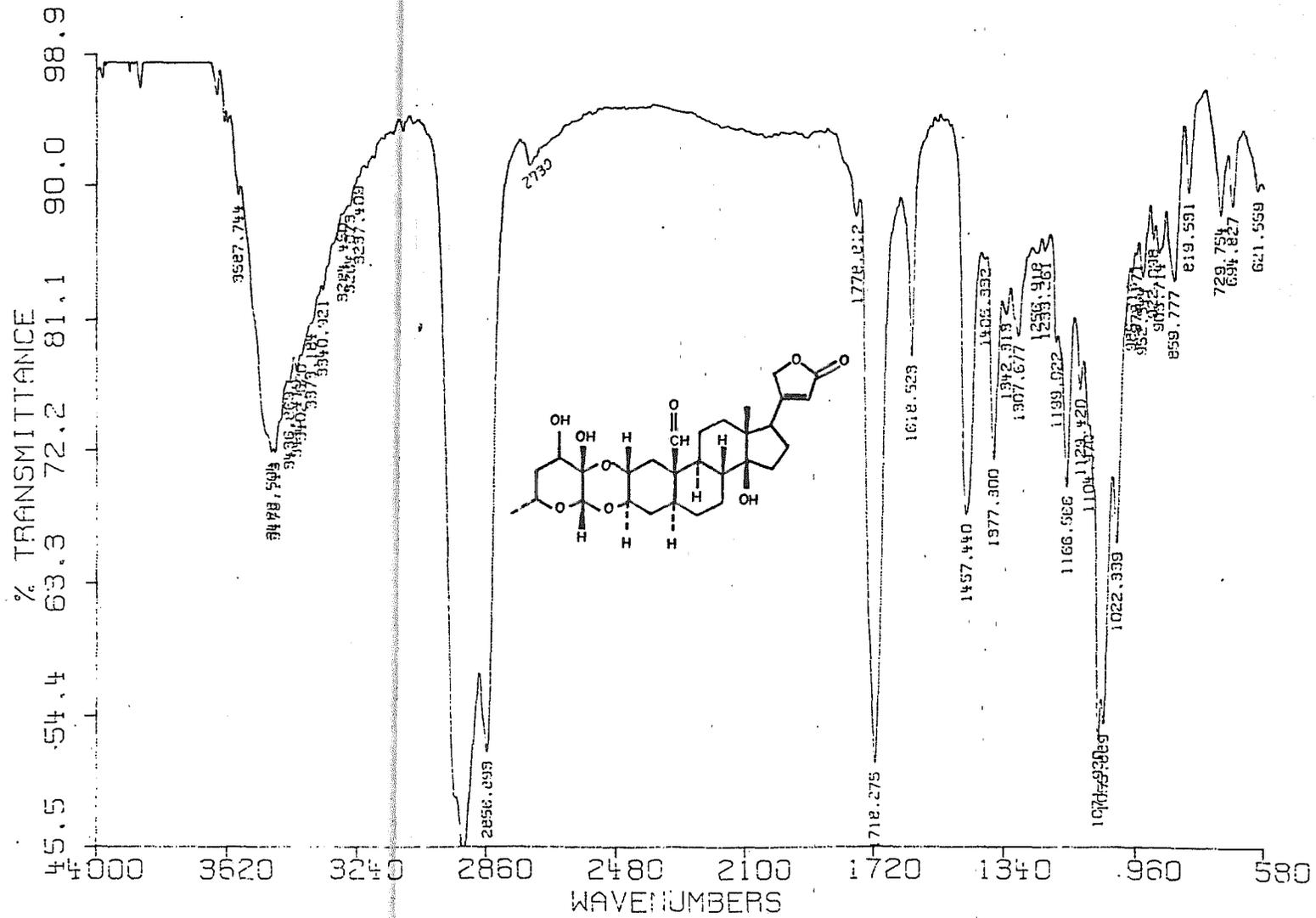
ESPECTRO No. 1



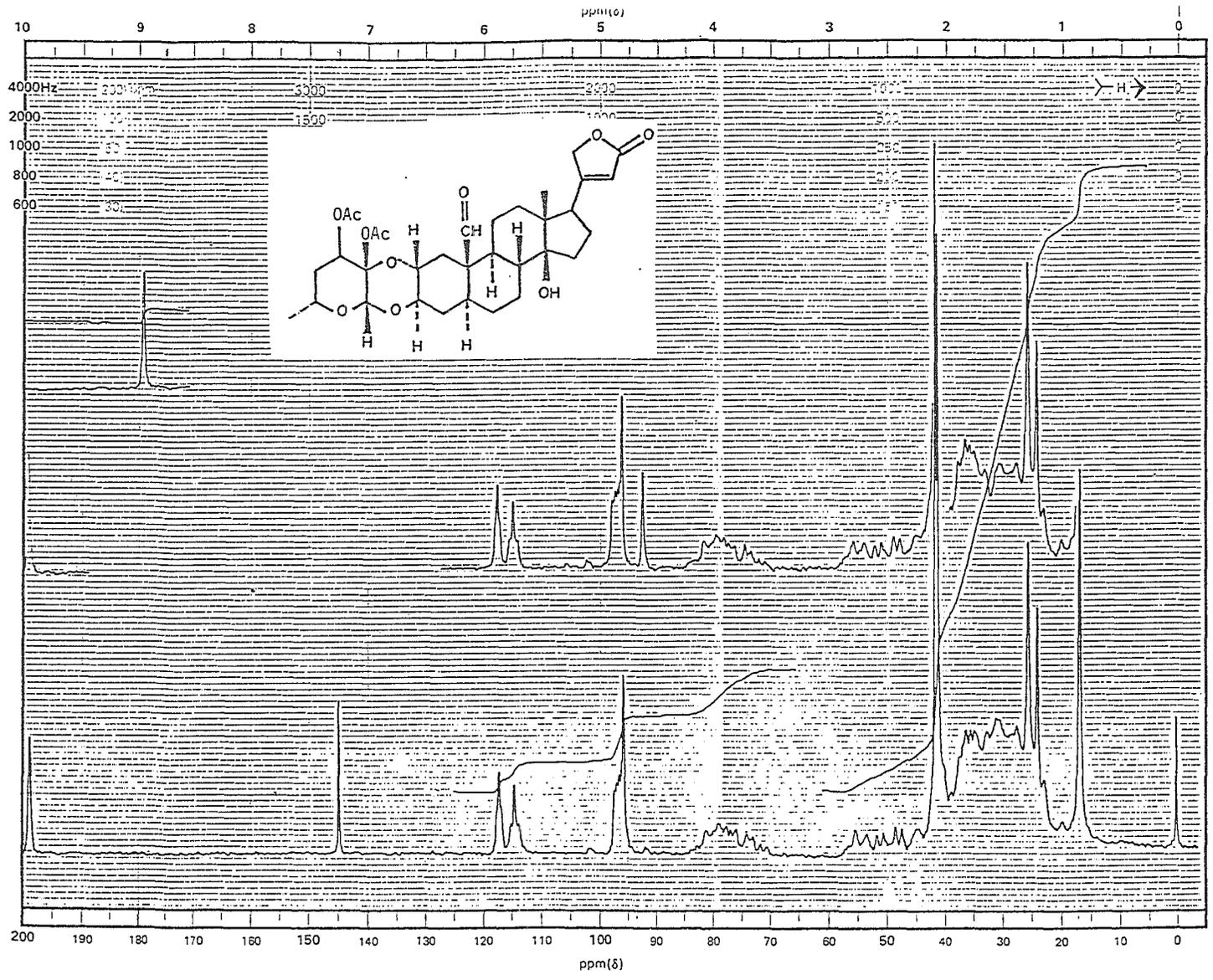
ESPECTRO No. 2



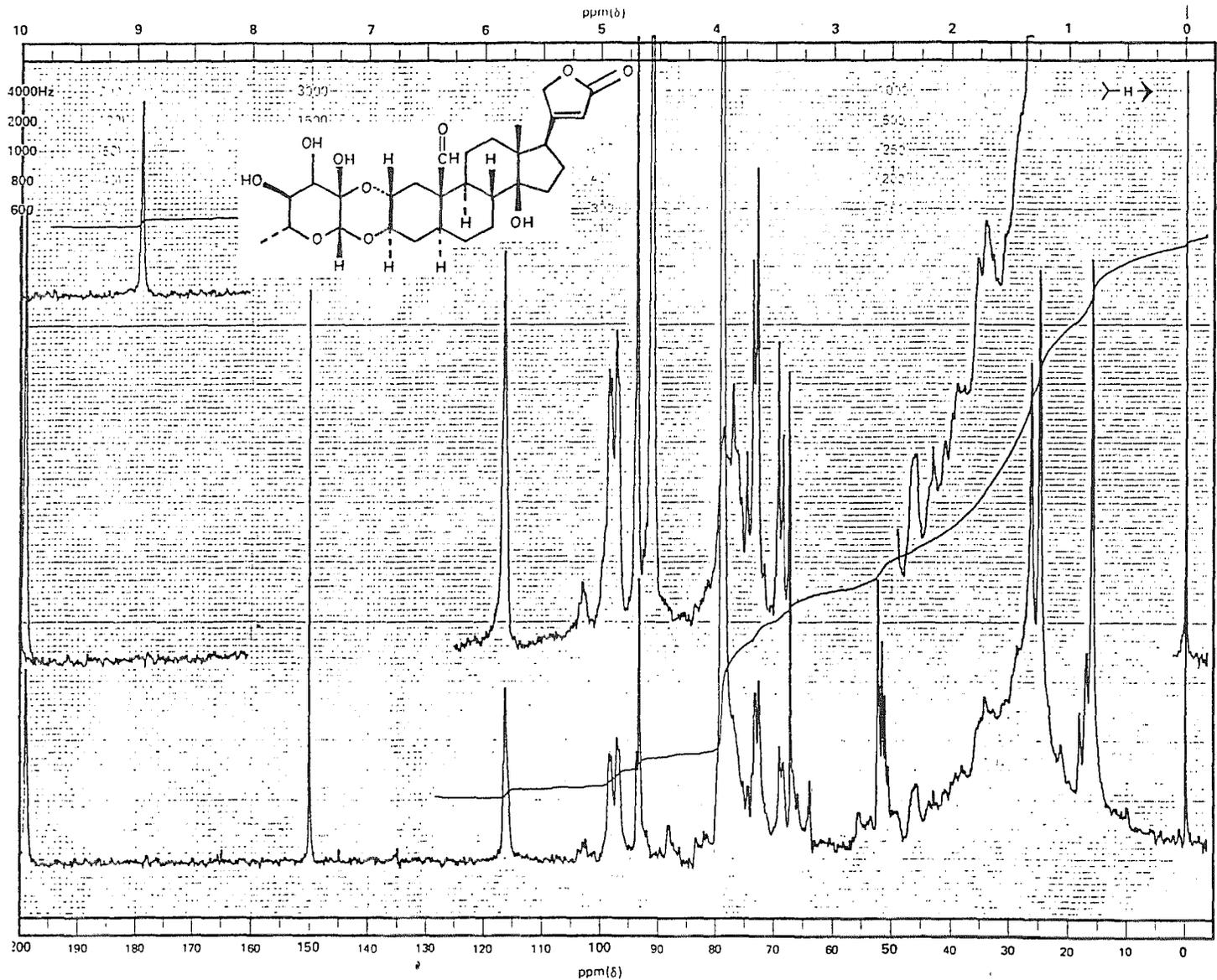
ESPECTRO No. 3



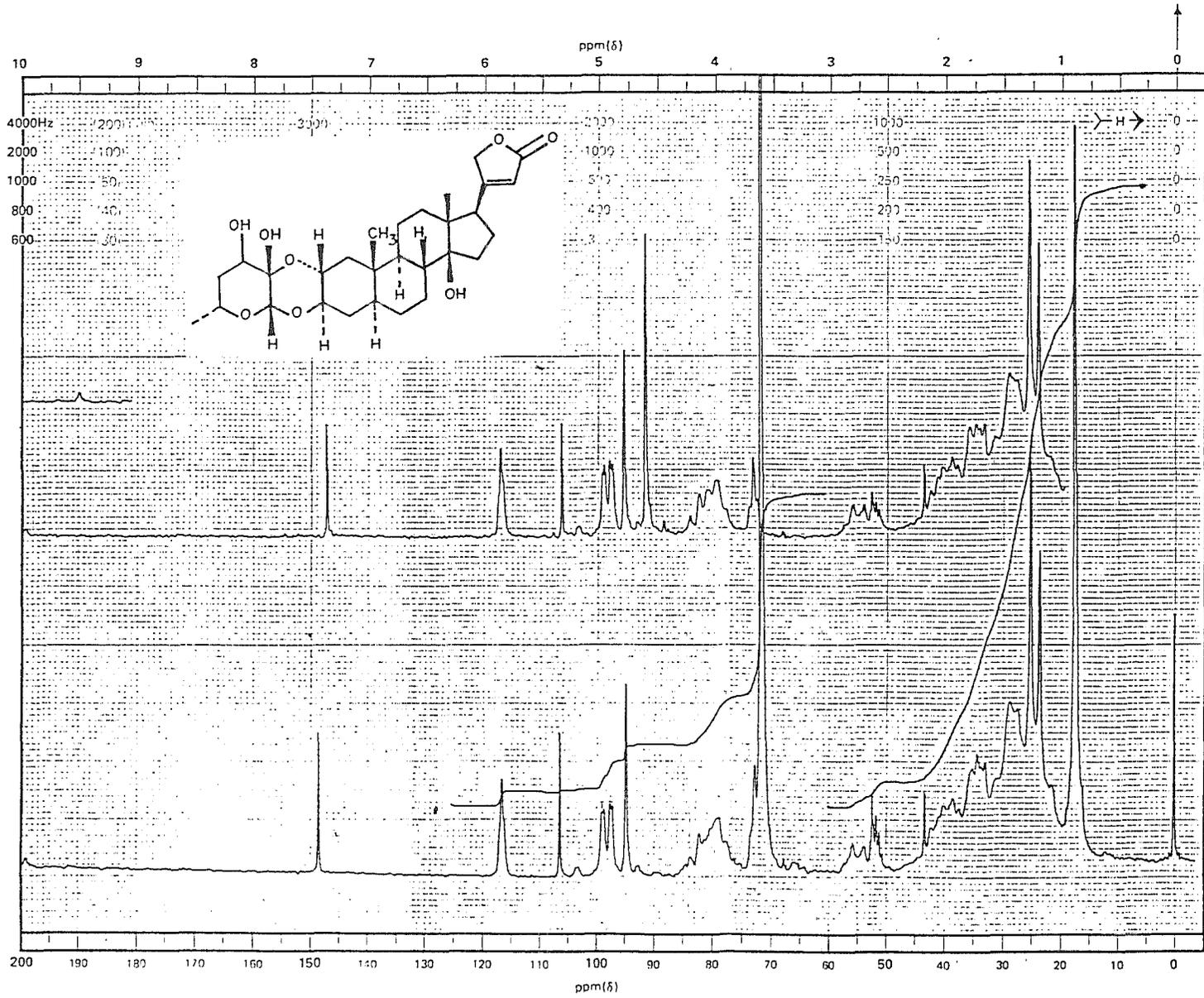
ESPECTRO No. 4



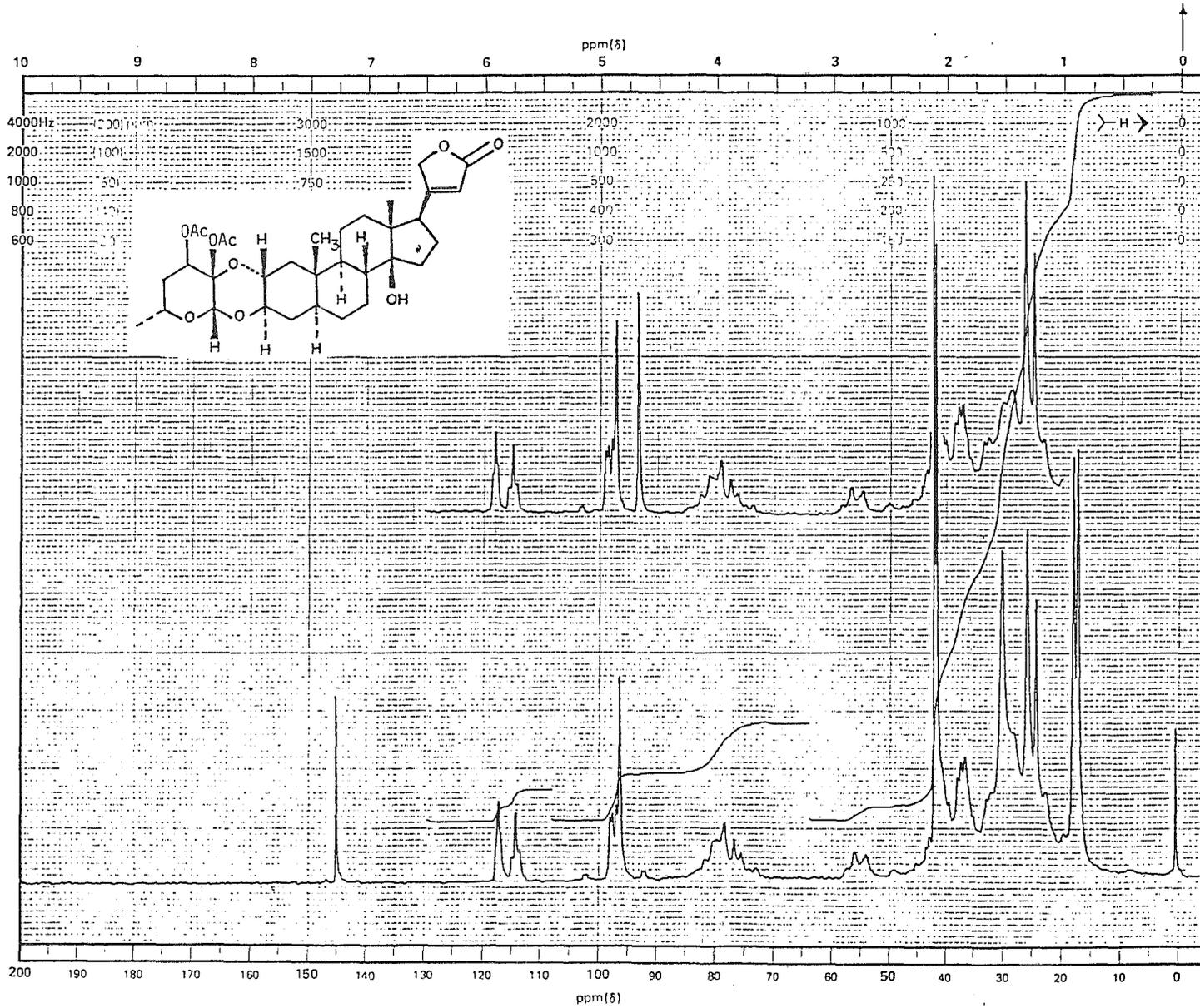
ESPECTRO No. 6



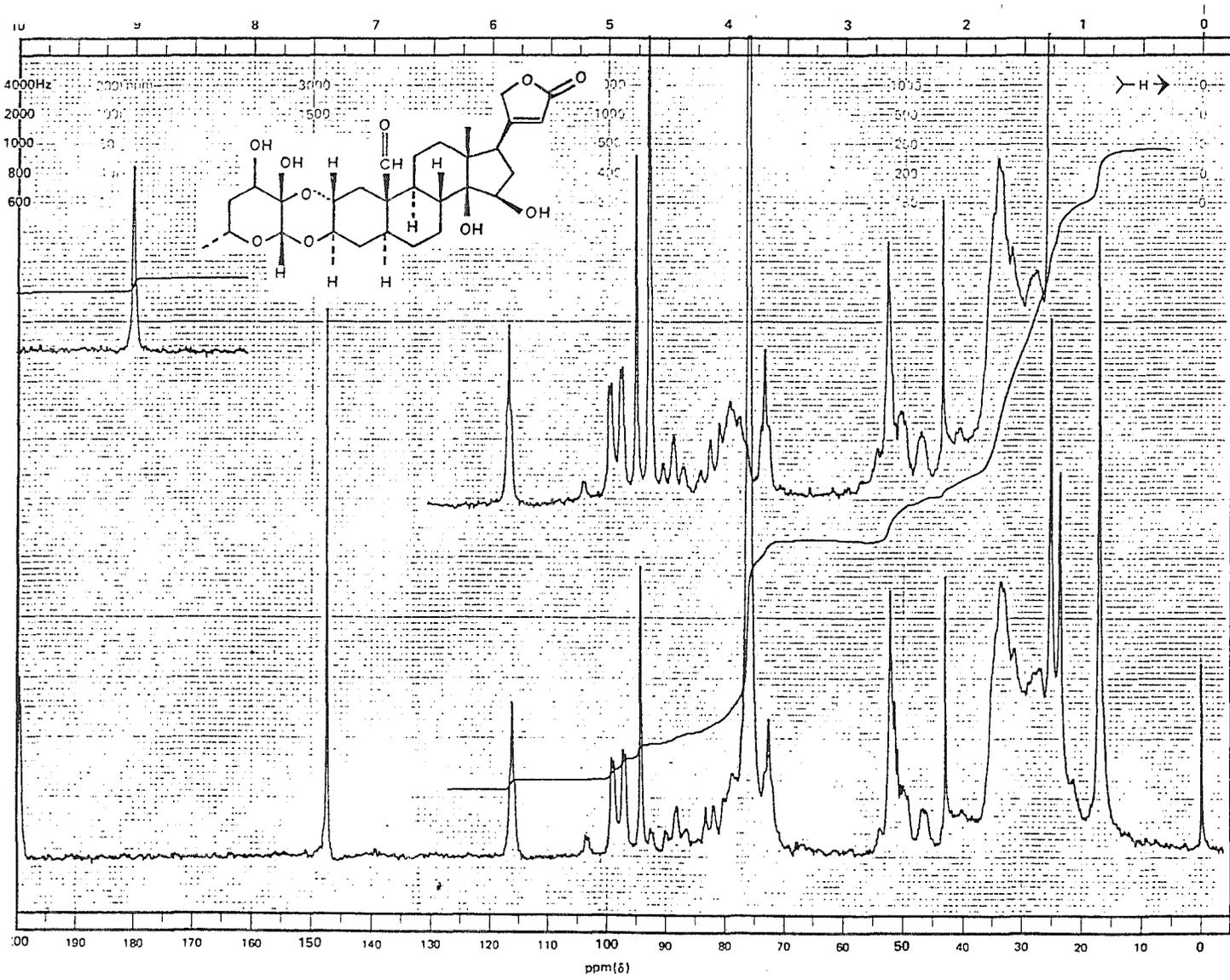
ESPECTRO No. 7



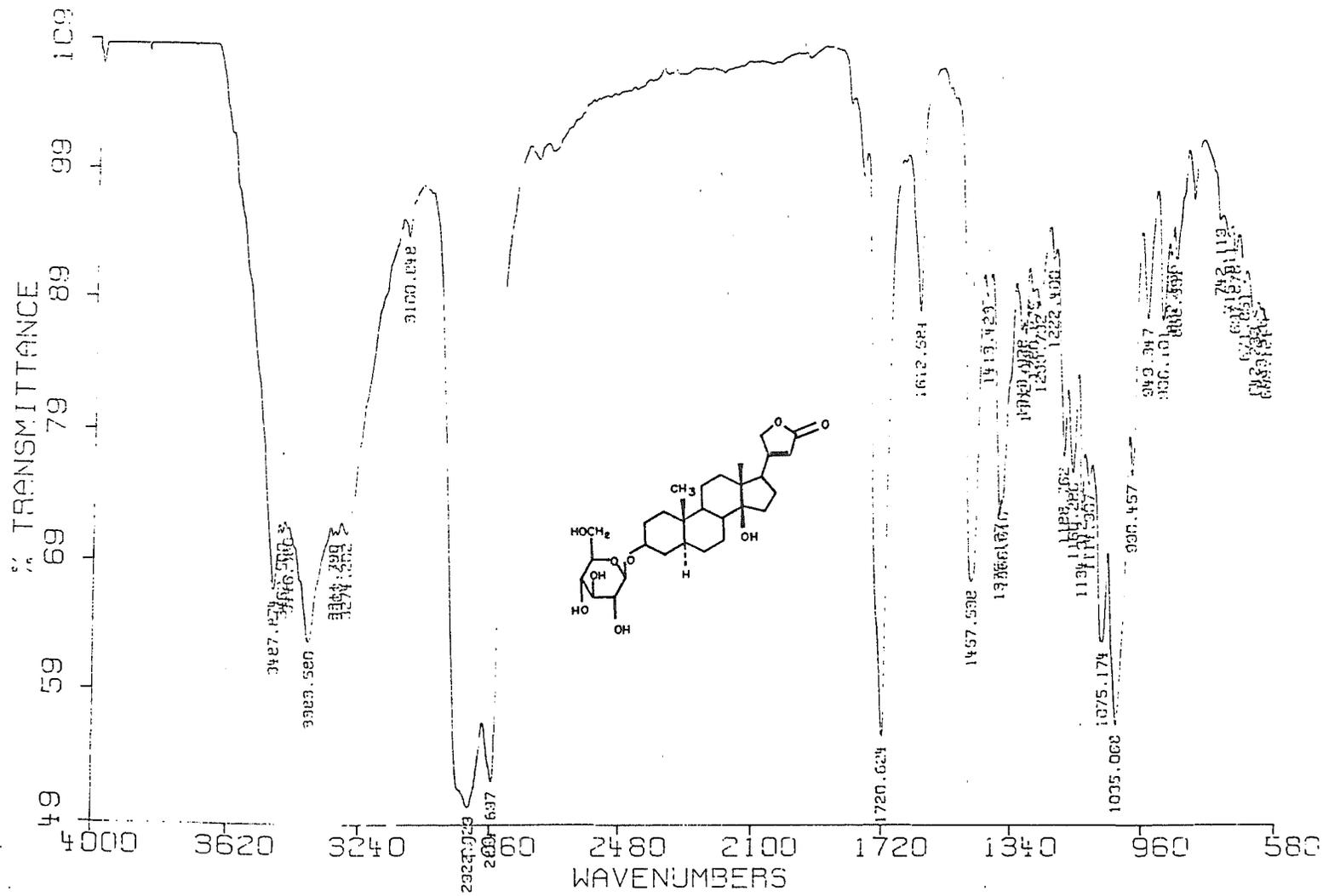
SPECTRO No. 3



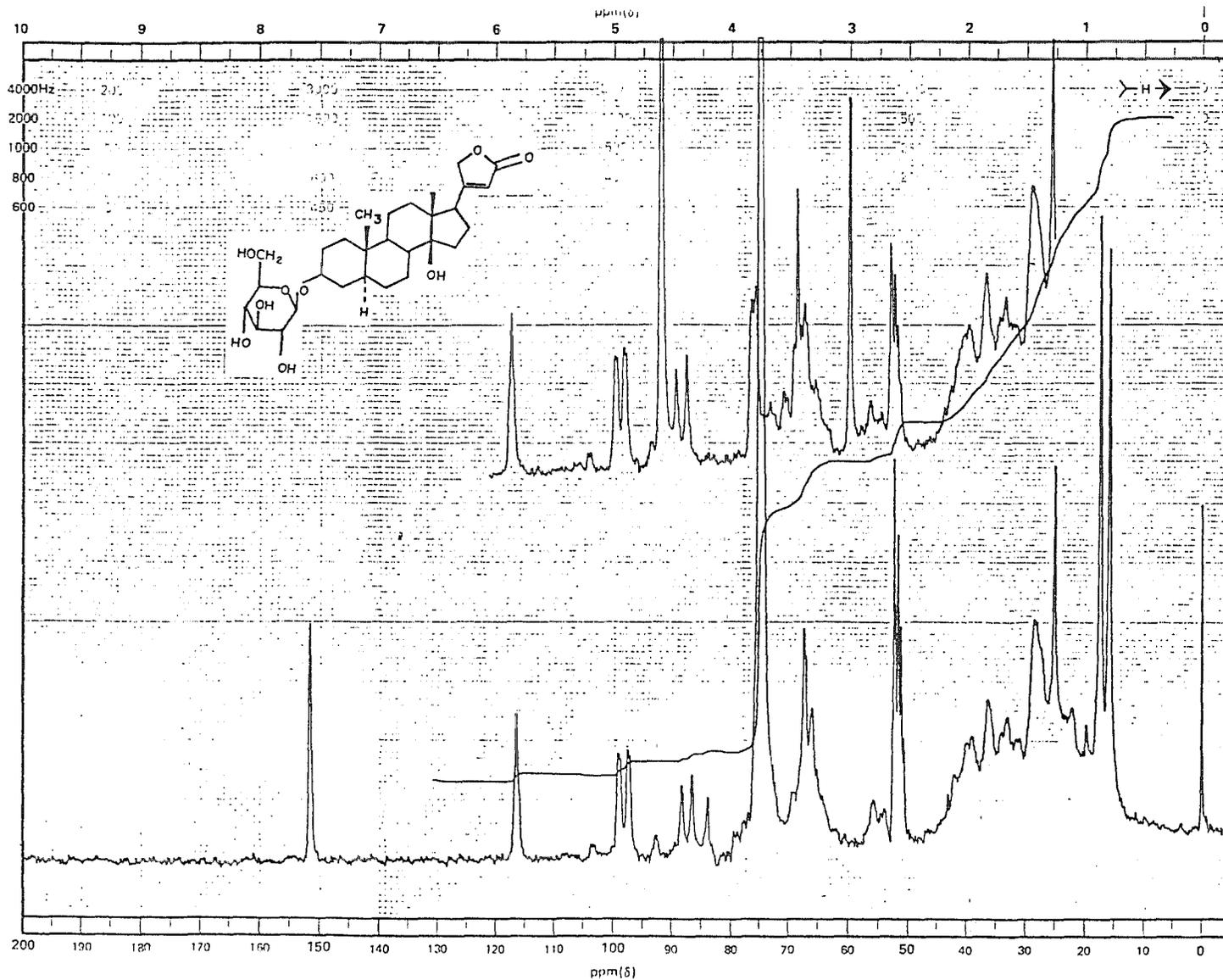
ESPECTRO No.9



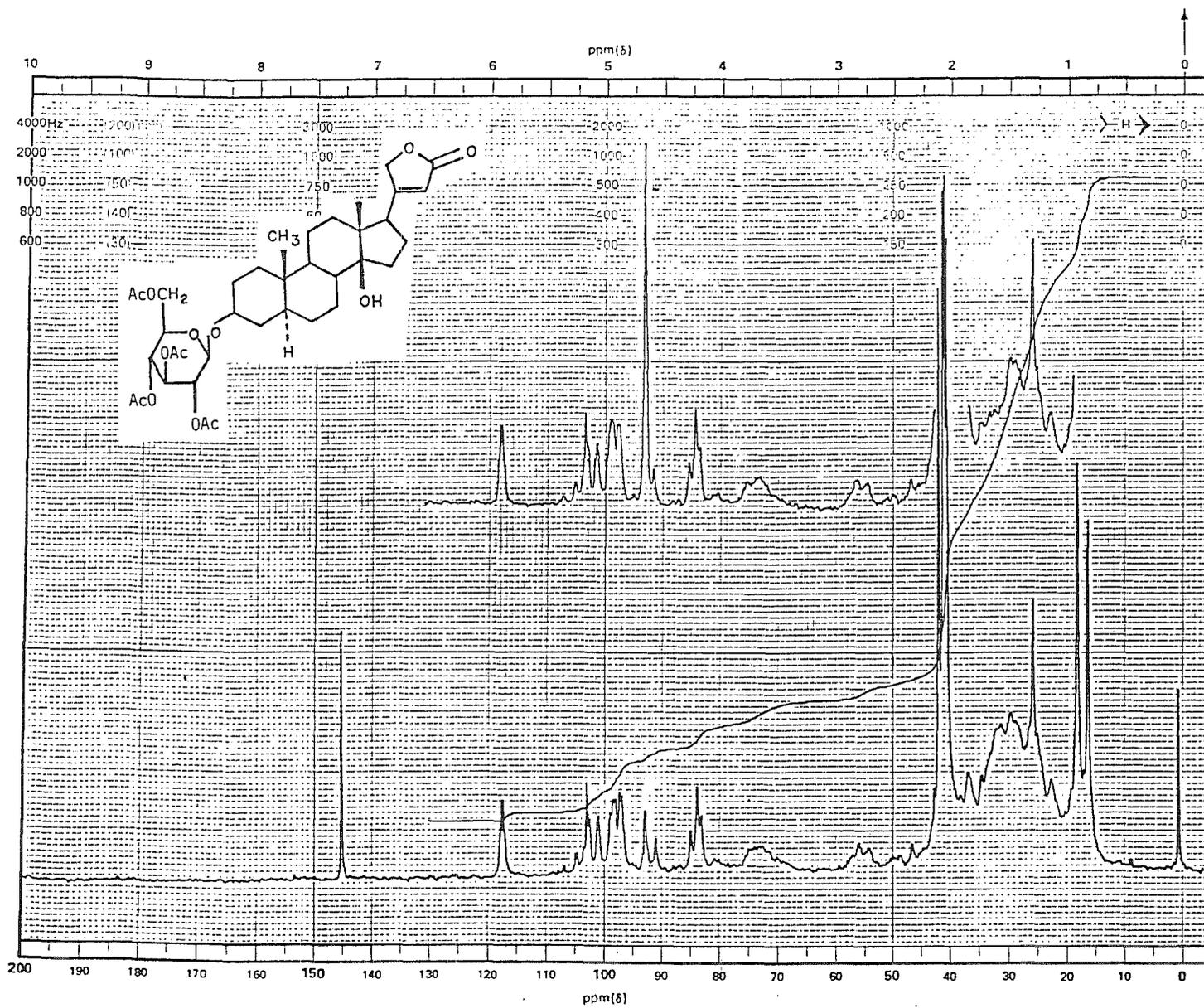
ESPECTRO No.10



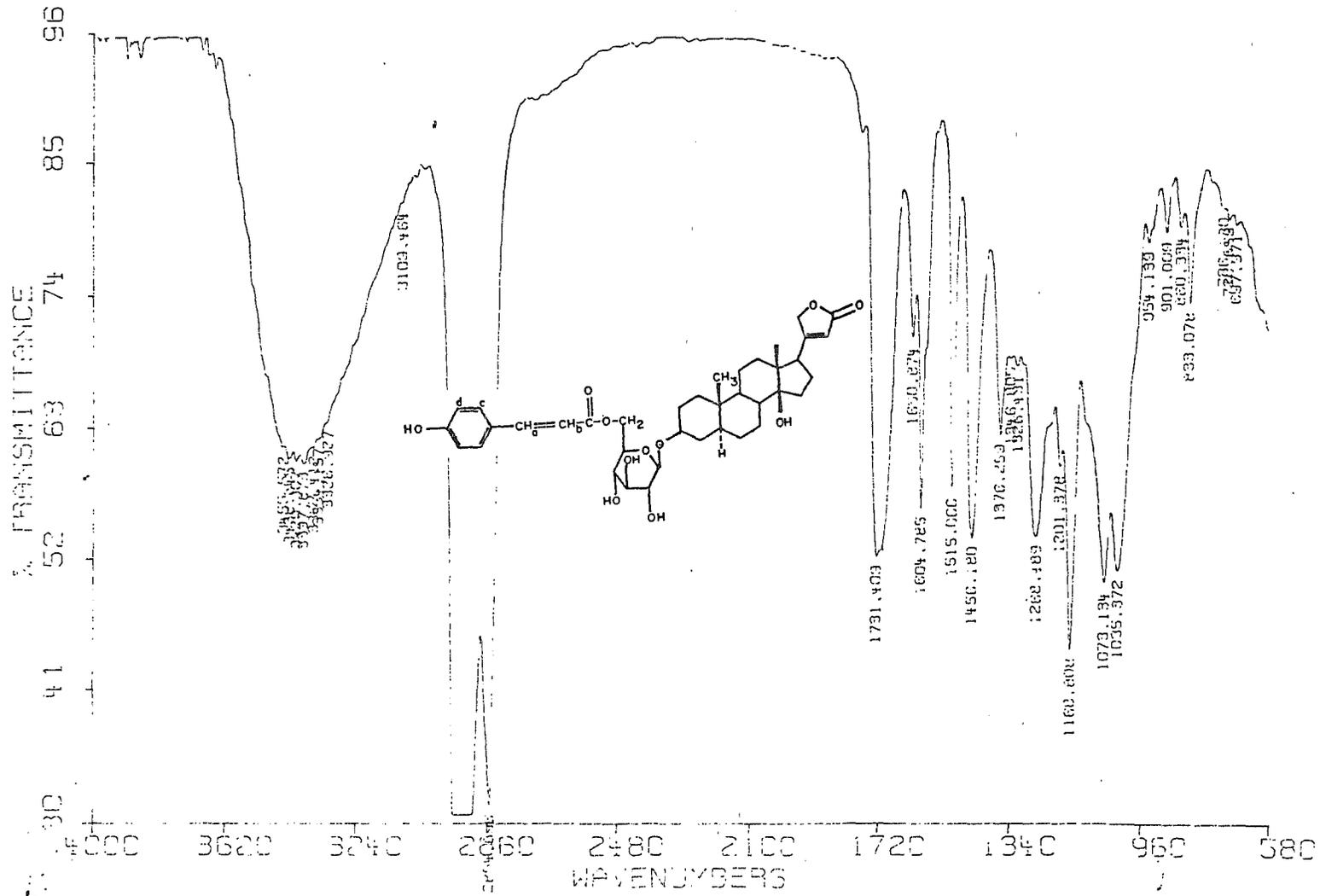
ESPECTRO No.11



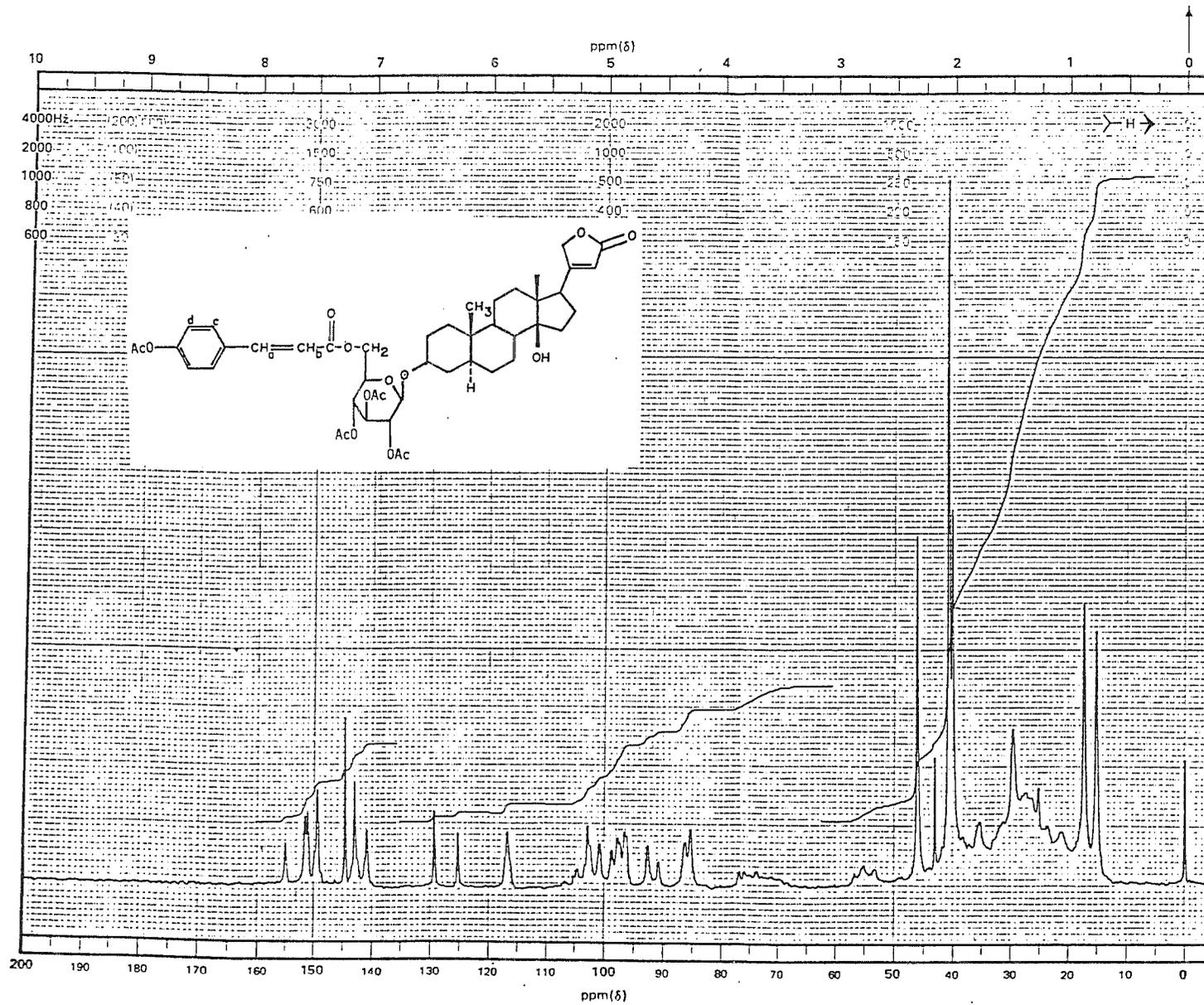
ESPECTRO No.12



ESPECTRO No.13



FSPECTRO No. 14



ESPECTRO No. 16

VII. BIBLIOGRAFIA

BIBLIOGRAFIA

- [1] E. D. BELL. 1981, The Biochemistry of plants, A Comprehensive Treatise. Vol 7, Cap. 1, Secondary plant products. E.E. Conn, editor.
- [2] J.B. Harbone. 1984, Phytochemical Methods. 2ª Edición. cap. 3, London New York Chapman and Mall.
- [3] A. Lagunes T., C. Arenas L., C. Rodriguez H. 1985, Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología. Colegio de Postgraduados.
- [4] J. V. Wallace and R. L. Mancell. 1975. Recent advances in Phitochemistry Biochemical Interaction Between Plants and Insects. Vol 10 pg 93. New York and London.
- [5] S.B. Malcolm and L.P. Brower, 1989. Experientia, 284.
- [6] Kupchan, S. M., J.R. Knox, J.E. Kelsey and J. A. S. Renault. 1964, Science, 146, 1685.
- [7] Mittal, O. P. CH., Tamm and T. Reichstein. 1962. Helv. Chem. Acta, 45, 907.
- [8] L.P. Brower and Susan C. Glazier. 1975. Science. 188, 19
- [9] J.B. Harborne. 1988. Introduction To Ecologica Biochemistry. 105.
- [10] L. F. Fieser. Esteroids. 1959. cap 20, Reinhold Publishing Comparation. New York.

- [11] D.H.G. Crout, C.H. Hassall, and T.L. Jones, 1964. J. Chem. Soc. 2187.
- [12] B. Singh and R. P. Rastogi. 1970. Phytochemistry, 9, 315.
- [13] J. N. Seiber, C. J. Nelson and S. Mark Lee 1982. Phytochemistry, 21, 2343.
- [14] R. Hegnauer, Chemotaxonomie der Pflanzen III, 199 Birkhäuser Verlag Basel und Stuttgart. 1964.
- [15] S. Terada, K. Hayashi, H. Mitsuhashi. 1977. Chem. Pharm. Bull., 25, 2802.
- [16] R. N. Jones, C. N. Angell, T. Ito and R. J. D. Smith 1959. Can. J. Chem. Vol 27, 2007.
- [17] P. Brown, J. von Euw, T. Reichsteim, K. Stockel and T. Rober Watson 1979. Helv. Chem. Acta. 62, 412.
- [18] J. N. Seiber, C. N. Roeske and J.M. Benson, 1978. Phytochemistry 17, 967.
- [19] H.T. Andrew Cheung, F. C. K Chiu, T. R. Watson, and Robert J. Well. 1983. J. Chem. Soc., Perkin 1, 2827.
- [20] H.T. Andrew Cheung, Thomas R. Watson, James N. Seiber and C. Nelson, 1980. J. Chem. Soc. Perkin 1 2169.
- [21] F. R. Van Heerden and R. Vleggaar, 1988. Mag. Res. Chem. 26, 464.
- [22] H.T. A. Cheung and T. R. Watson, 1980. J. Chem. Soc. Perkin 1, 2162.
- [23] B. Singh and R.P. Rastogi. 1972, Phytochemistry, 11, 757.

- [24] F. Bruschiweiler, W. Stockel und T. Reichstein, 1964. Helv. Chem. Acta, 52, 2087.
- [25] F. Bruschiweiler, K. Stokel und T. Reichstein 1969. Helv. Chem. Acta, 52, 2276.
- [26] T.R. Watson and S.E. Wright. 1956, Austral J. Chem. 9, 497.
- [27] H.T. A. Cheung, R. G. Coombe, W.T.L. Sidwell, 1981. J. Chem. S. Perkin I, 64.
- [28] A. Lardon, K. Stokel und T. Reichstein, 1969. Gomphogenin Teilsynthese und Struktur des calotropagenins. Helv. Chem Acta 52, 1940.
- [29] H.T. A. Cheung and T. R. Watson, 1986. J. Chem. Soc. Perkin Trans 1, pag 61.
- [30] S.D. Jolad, R. B. Bates, Y. R Cole, J. J. Hoffmann, T. J. Scahaan and B. N. Timmermann, 1986. Phytochemistry, 25, 2581.
- [31] K. Koike, Carolyn Bevelle, S. K. Talapatra, 1980. Chem. Pharm. Bull. 28, 401.
- [32] S. Bauer, L. Masler, O. Bauerova, 1960. Experientia 17, 15.
- [33] J. Petricic 1966. Desglucouzarin, das Hauptcardenolidglykosid von Asclepias mellodora St.Hil. Naturwissenschaften 53, 332.

