

10523
2 2c



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLAN

ESTUDIO FITOQUIMICO DE LA FAMILIA DE LAS COMPUESTAS PERTENECIENTES A LA TRIBU EUPATORIE

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE;
Q U I M I C O
P R E S E N T A ;

VICTOR MANUEL HERNANDEZ MURGUIA



DIRECTOR DE TESIS.
M. EN C. RENE MIRANDA RUVALCABA



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

I N D I C E.

INTRODUCCION -----	1
GENERALIDADES -----	3
CLASIFICACION DEL ESPECIMEN -----	11
PARTE EXPERIMENTAL -----	12
DISCUSION -----	15
CONCLUSIONES -----	18
ESPECTROS -----	19
BIBLIOGRAFIA -----	26

INTRODUCCION

I.- INTRODUCCION .

Los productos naturales son sustancias químicas originadas por sus procesos metabólicos, algunas de ellas son comunes a todas las plantas, como es el caso de las proteínas, los carbohidratos y los ácidos grasos entre otras. A estas sustancias se les conoce como metabolitos primarios. Otras sustancias que son productos de una ruta metabólica específica, solamente se encuentran en una o varias especies de algún género de una familia particular, a estas sustancias se les denomina metabolitos secundarios.

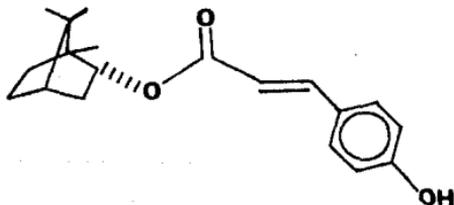
Se ha visto que algunos de estos metabolitos secundarios actúan como antitumorales, citotóxicos, antileucémicos, anticancerígenos^{1,6} etc.

Los productos naturales o metabolitos secundarios presentan estructuras muy complejas y su distribución suele estar limitada al tipo de especie.

Dentro de la gama de géneros que existen en las plantas, me avocaré al estudio de un espécimen del género Eupatorie, género del cual se han aislado una gran cantidad de metabolitos secundarios, algunos de los cuales se mencionan en el desarrollo del presente trabajo.

El objetivo de el presente trabajo de tesis es el estudio fitoquímico de las raíces de Eupatorium deltoideum Jacq, raíces que de acuerdo con la literatura no habían sido estudiadas previamente. Como resultados de el estudio realizado se reporta:

- a) El aislamiento de p-coumarato de bornilo (figura 1), - siendo ésta la primera vez que se informa de la presencia de dicho metabolito en el género Eupatorium?
- b) Caracterización del producto natural aislado, mediante métodos espectroscópicos como U.V, I.R, RMN-H¹ y muy particularmente por una correlación estructural de su espectro de RMN-C¹³ con los espectros correspondientes a el α -acetato de bornilo⁸ y el ácido p-coumárico⁹.



(figura No. 1)

GENERALIDADES

II.- GENERALIDADES.

La mayor y más variada clase de metabolitos secundarios de las plantas incluyen a los terpenos y compuestos relacionados, como son: Monoterpenos, sesquiterpenos, diterpenos, triterpenos y politerpenos.

Los terpenoides están relacionados por su origen (diagrama) y una relación estructural comunes,⁷ ellos están formados por múltiples unidades de carbono cuya estructura base es el esqueleto de isopreno. En los estudios iniciales de los terpenos, dicha unidad fué encontrada como producto de descomposición pirolítica en muchos de ellos,¹⁰ de esta manera los terpenos fueron considerados como compuestos generados por una o más unidades de isopreno.

Los terpenoides,¹¹ suelen ser clasificados de acuerdo al número de unidades de isopreno que los constituyen (tabla 1).

DIAGRAMA.

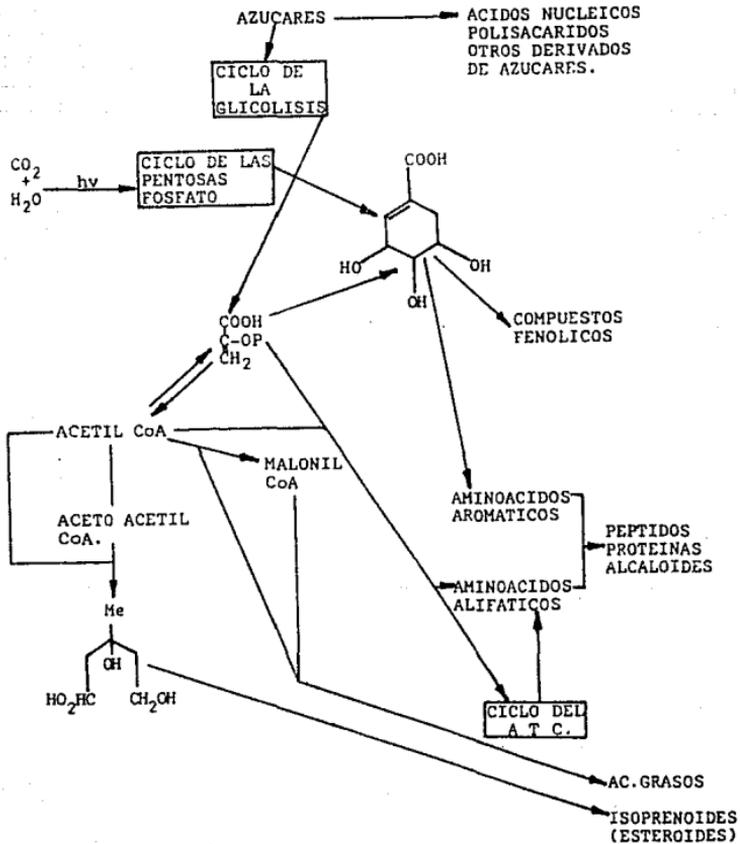


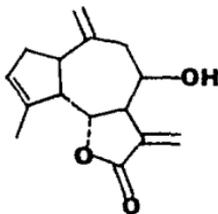
TABLA No. 1.

CLASIFICACION GENERAL DE LOS TERPENOIDES

NOMBRE	UNIDAD DE ISOPRENO	No. DE CARBONOS
Hemiterpenos	1	5
Monoterpenos	2	10
Sesquiterpenos	3	15
Diterpenos	4	20
Sesterpenos	5	25
Triterpenos	6	30
Tetraterpenos	8	40
Politerpenos	n	n5

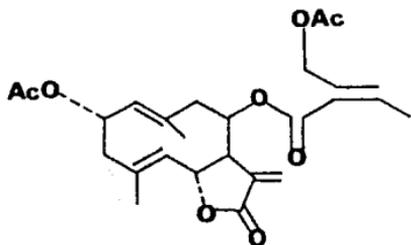
Los sesquiterpencs,^{12,13} compuestos de 15 carbonos, derivados biogénicos del pirofosfato de farnesilo, tienen -- como característica una gran diversidad estructural y funcional, comparada con otra clase de terpenoides; algunos -- ejemplos aislados del género Eupatorie son los siguientes.

a) Ligustrina.- Guaianólido aislado de Eupatorium ligustrinum¹⁴ recolectado en la parte norte de Veracruz. La cromatografía del extracto etanólico permitió el aislamiento de este guaianólido (figura 2).

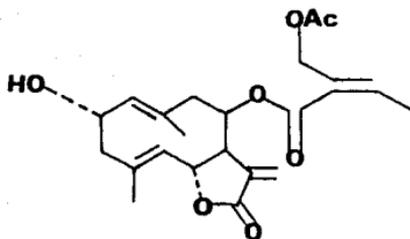


(figura No. 2)

b) Aislamiento y caracterización estructural de la Eupaserrina, diacetil eupaserrina y varias lactonas aisladas del Eupatorium semiserratum¹⁵ (figuras 3 y 4).

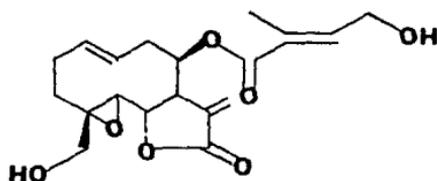


(figura No. 3)

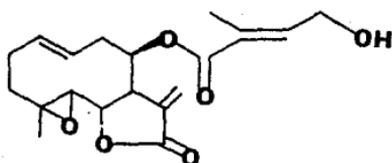


(figura No. 4)

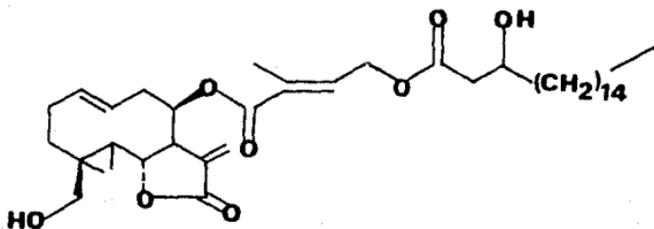
c) Lactonas sesquiterpénicas de Eupatorium hissofolium¹ y tres germacranólidos muy relacionados entre sí, la Eupassopina, la Eupassopilina y la Eupassofilina (figuras 6,7 y 8).



(figura No. 6)



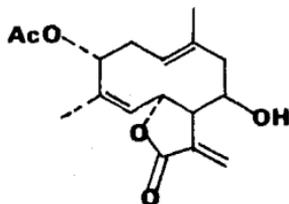
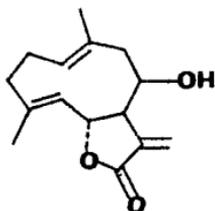
(figura No. 7)



(figura No. 8)

Siendo este último caso bastante raro, ya que es el primer éster del ácido D(-)-3-hidroxi-octadecanoico aislado de la parte aérea de la planta, estos tres germacranólidos son citotóxicos y antitumorales.^{16,20}

d) Aislamiento y determinación estructural de dos nuevos agentes citotóxicos, eupatólido y eupeformonin, obtenidos del Eupatorium formosanum²⁻⁶ (figura 9).



(figura No. 9)

Posteriores investigaciones de las fracciones etanólicas mostraron actividad in vivo contra el carcinoma Walker 256- así como contra la leucemia linfocítica, con ésto se ha lle- gado a un nuevo y potente principio antileucémico y antitu- moral?¹

e) L. Quijano y colaboradores²² investigaron la parte - aérea del Eupatorium deltoideum Jacq, reportando el aisla - miento y caracterización de dos nuevos germacranólidos y - varias lactonas sesquiterpénicas, encontrándose un guaianó- lido conocido como ligustrina y tres diterpenos: Acido kaura -9(11), 16-dienoico, ácido xilópico y el ácido kaurenico, - así como los triterpenos taraxasterol, acetato de 1-taraxas - terilo y una mezcla de palmitato y esterato de taraxasterilo.

CLASIFICACION DEL ESPECIMEN ESTUDIADO.

(Voucher, Quijano 26, Instituto de Biol. UNAM)

Reino ----- Vegetal

División ----- Spermathopyta

Subdivisión ----- Angiospermale

Clase ----- Dicotyledonale

Orden ----- Synadrale

Familia ----- Compuestas

Tribu ----- Eupatoriale

Género ----- Eupatorie

Especie ----- Deltoideum

Variedad ----- Deltoideum Jackq.

PARTE EXPERIMENTAL

III.- PARTE EXPERIMENTAL.

La pureza y separación del producto se determinaron por ccf utilizando cromatoplasmas de sílice F254 y como reveladores, sulfato cérico al 1% en ácido sulfúrico 2N, vapores de yodo y luz ultravioleta.

Las cromatografías en columna se realizaron con gel de sílice tamaño de partícula de 0.2 - 0.5 milímetros (35-70 - mallas), utilizando un gradiente del sistema n-Hexano/AcOEt como eluyentes. El punto de fusión se determinó en un aparato Fisher-Jones y no está corregido.

La determinación de la rotación óptica se efectuó en un polarímetro digital Perkin Elmer modelo 241. El espectro de ultravioleta se realizó en un espectrofotómetro UV - VIS, - Perkin Elmer modelo 552 con etanol como disolvente. Los espectros de infrarrojo se determinaron en un espectrofotómetro Perkin Elmer modelo 283 y en un Nicolet modelo Ft-5SK, - utilizando la técnica de pastilla (KBr) o disolución clorofórmica. Los espectros de masas fueron obtenidos en un espectrómetro de masas HP-5985 GC/MS.

Los espectros de RMN-¹H fueron determinados en un espectrofotómetro FT-80A, a 80 Mhz utilizando CDCl₃ o C₅D₆ como disolvente, los desplazamientos químicos están dados en ppm referidos al tetrametilsilano.

Para indicar patrones de acoplamiento se utilizan las siguientes abreviaturas: s= señal simple, sa= señal simple ancha, d= señal doble, t= señal triple, q= señal cuádruple, -m= señal múltiple, sc= señal múltiple compleja.

La planta (E. deltoideum) se colectó en el mes de septiembre de 1985 en el Km. 33 de la carretera México-Puebla, una muestra de este espécimen fué depositado en el Herbario Nacional del Instituto de Biología (Voucher Quijano 26).

Las raíces secas y finamente molidas (2kg) se extrajeron con AcOEt (4 litros). El extracto fué concentrado a presión reducida y cromatografiado sobre gel de sílice. De las fracciones eluidas con una mezcla de n-Hexano/AcOEt (8:2) se obtuvieron cristales que recristalizados de CHCl₃/Hexano resultaron 125mg. de p-coumarato de bornilo puro. P.f. 146°-148°C (lit.(2) p.f. 153°-154°C (MeOH/H₂O)); $(\alpha)_D^{25} = -33.2^\circ (c, 5 \text{ CHCl}_3)$; U.V. (MeOH) λ máx. nm(log ϵ): 213(4.00), 228(4.02), 313(4.32);

I.R. (CHCl_3) v $\text{m}\ddot{\text{a}}\text{x}.\text{cm}^{-1}$: 3590, 3380, 3015, 1694, 1635, 1606;
RMN- P (60 MHz, C_6D_6) δ_{ppm} : 0.76 (s, 3H, Me), 0.80 (s, 3H, Me), -
0.92 (s, 3H, Me), 5.30 (ddd, J=10, 4Hz, 1H, H-2), 5.5 (sa, OH),
6.43 (d, J=16Hz, 1H, H-2'), 6.80 (d, J=8Hz, 2H, H-5'y H-9')-
7.16 (d, J=8Hz, 2H, H-6'y H-8'), 7.93 (d, J=16Hz, 1H, H-3');
RMN- ^{13}C (25.2MHz, CDCl_3) δ_{ppm} : 168.7 (s, C-1'), 158.5 (s, -
C-7'), 144.8 (d, C-3'), 129.9 (d, C-5'y C-9'), 126.4 (s, C-4),
115.8 (d, C-6'y C-8'), 115.1 (d, C-2'), 80.4 (d, C-2), 48.9-
(s, C-1), 47.8 (s, C-7), 44.9 (d, C-4), 36.8 (t, C-3) 28.0 -
(t, C-5), 27.2 (t, C-6), 19.7 (q, C-8), 18.8 (q, C-9), 13.6-
(q, C-10).

RESULTADOS Y DISCUSION

IV.- DISCUSION.

Las raíces de la planta E. deltoideum, recolectada en el Km. 33 de la autopista México-Puebla en septiembre de 1985 - se dejaron secar al aire libre durante 10 días, (las cuales) posteriormente se trituraron obteniéndose 2 Kg de polvo de raíz finamente molido y seco; éste se sometió a una extracción con 4 litros de acetato de etilo durante una semana a temperatura ambiente. De la cromatografía en columna del extracto concentrado, utilizando como soporte gel de sílice y de las fracciones eluidas con Hexano/AcOEt (8:2) se obtuvo por cristalización con Cloroformo/Hexano, 125mg de cristales puros de un producto que se caracterizó como p-coumarato de bornilo en base a los siguientes datos espectroscópicos: En el espectro de absorción en el U.V. se observan tres bandas de máxima absorción con valores $\lambda_1 = 213 \text{ nm}$ (4), $\lambda_2 = 288 \text{ nm}$ (4.02) y $\lambda_3 = 315 \text{ nm}$ (4.32) asignados a tres sistemas conjugados entre sí: doble ligadura, anillo bencénico y carbonilo del éster respectivamente. En espectrofotometría de absorción infrarroja se presentan bandas de absorción en: 3590 y 3380 cm^{-1} , características para un oxhidrilo de fenol libre y asociado, 3014 cm^{-1} asignada a enlace C-H de tipo vinílico, 1694 cm^{-1} asignada al carbonilo de éster- α - β insaturado, 1606 cm^{-1} asignada al doble enlace carbono-carbono.

En el espectro de resonancia magnética nuclear protónica se observan tres señales simples en 0.76 ppm, 0.80 ppm y 0.92 ppm, en donde cada una de ellas integra para tres protones asignadas a los tres metilos (dos gemdimetilos en posición siete y un metilo angular en posición uno) de la parte del esqueleto perteneciente al α -bornilo; para el mismo esqueleto se asigna una señal doble de dobles, centradas en 5.3 ppm ($j=10$, 4hz) que integra para un protón y que se asigna para el protón base del éster; una señal doble en 6.43 ppm ($j=16$, hz) que igualmente integra para un protón asignado a el hidrógeno en posición 2' (parte correspondiente al coumarato) así mismo una señal doble en 7.3 ppm ($j=16$, hz) que integra para un protón que es asignado al hidrógeno de la posición 3; con lo que esas señales quedan inequívocamente asignadas a los protones vinílicos de un p-coumarato haciéndose patente una configuración de tipo E en base a el valor de la constante de acoplamiento entre 2'-3' ($J_{2-3}=16$ Hz) se observa un sistema AA'BB' (d, 6.6 ppm, $j=8$ hz, 2H, H-5; H-9'; d, 7.20 ppm, $j=8$ hz, 2H, H-6; H-8') con lo cual se permite una excelente correlación a un anillo bencénico p-disustituido lo que a su vez es congruente a un esqueleto de p-coumarato, y finalmente una señal ancha centrada en aproximadamente 5.5 ppm, que intercambia con D₂O la cual corresponde al protón del hidróxilo fenólico.

V.- CONCLUSIONES.

- 1.- Por primera vez se reporta el aislamiento de p-coumarato de α -bornilo, de raíces de el género Eupatorium.
- 2.- De los valores de las constantes físicas como son el punto de fusión y de la rotación óptica así como de los datos espectroscópicos U.V., I.R., RMN- ^1H y particularmente de la correlación de los espectros de RMN- ^{13}C del acetato de α -bornilo y del ácido p-coumárico se hace evidente la estructura del compuesto aislado.

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

E S P E C T R O S .

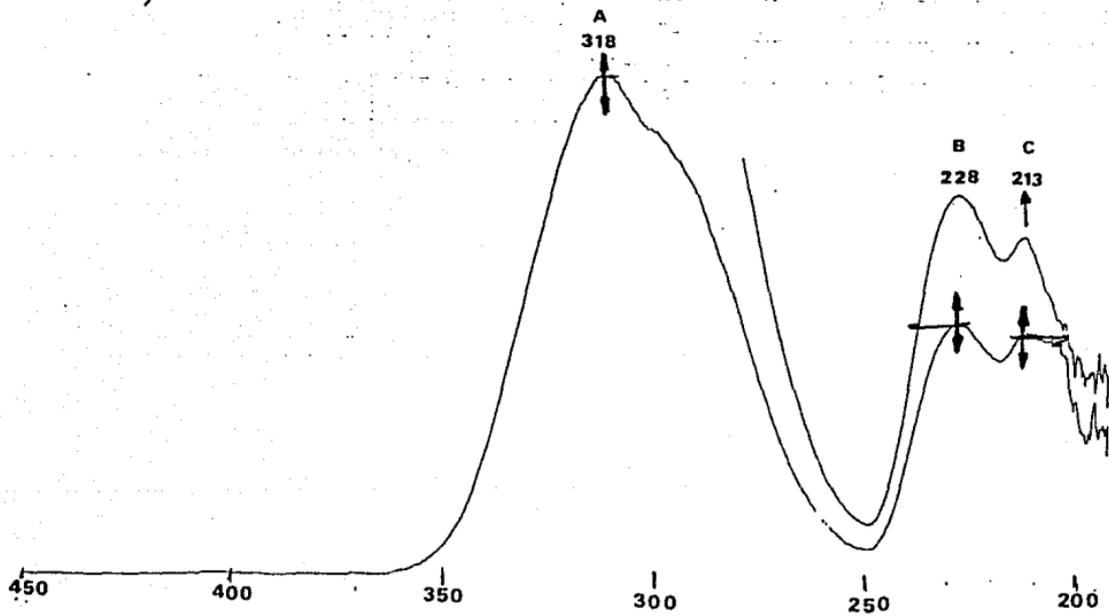
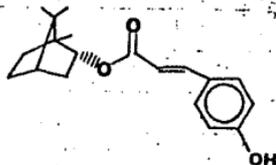
UV/MeOH

P.F. 144-146

A=0.10 ml/5nl

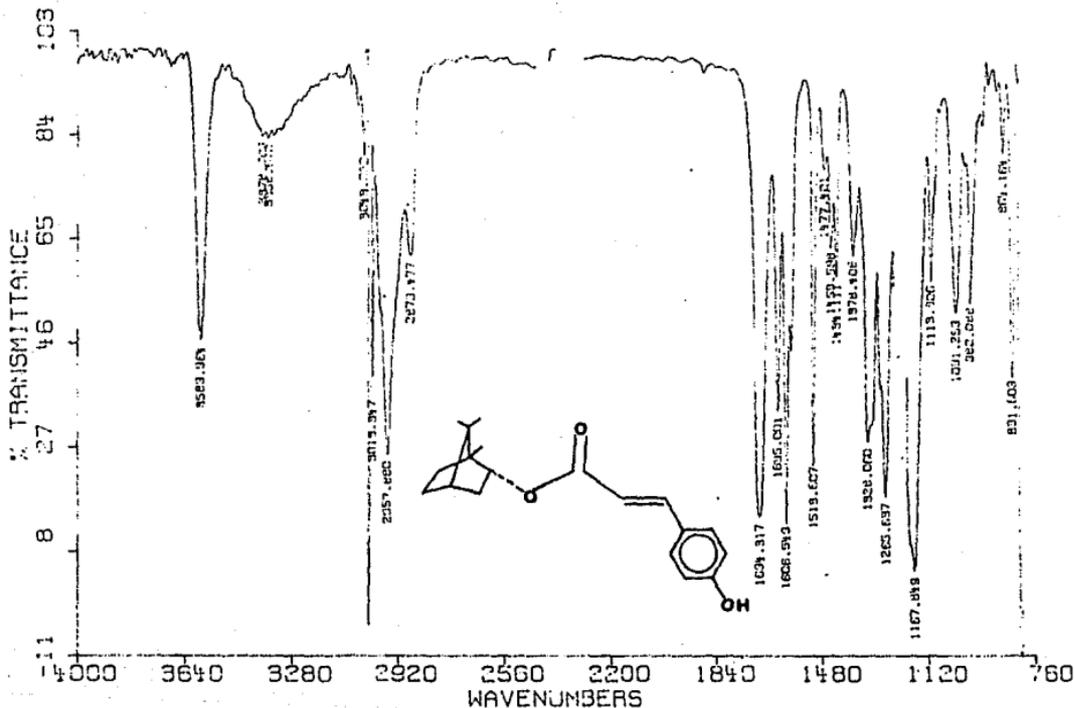
B=0.15 ml/5nl

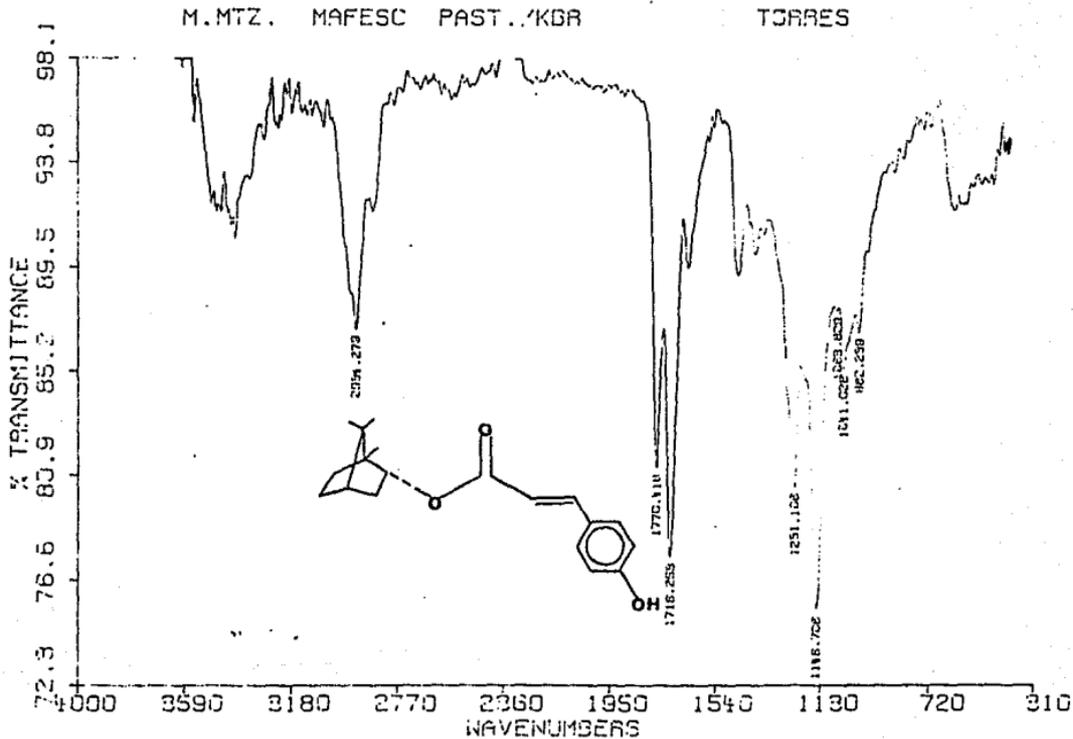
C=0.39 mg/nl

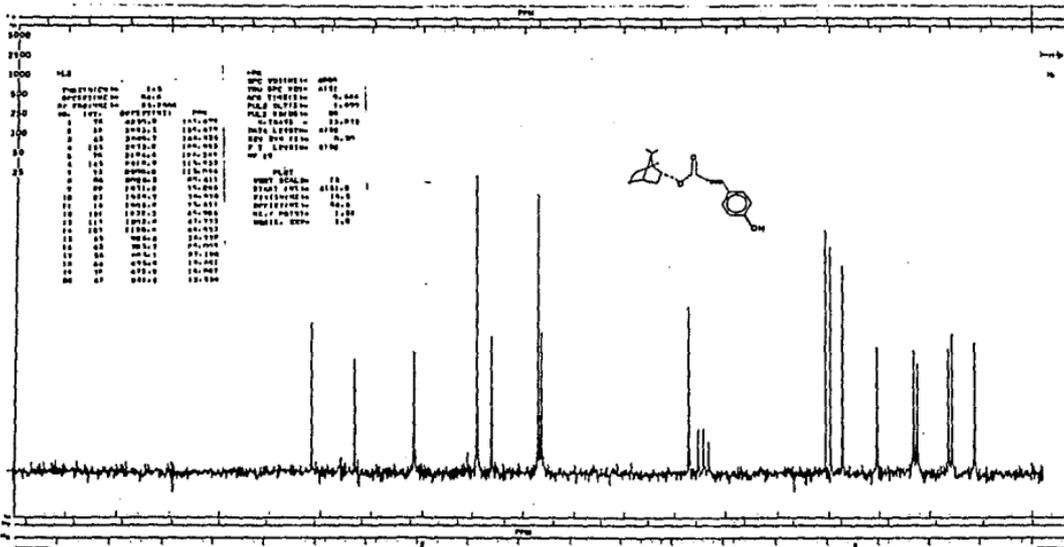


NUNO, REYES, SOLER, TORRES

R. VILLENA







AL 100A SPECTRUM NO. 2044

GAIN: 1000
 LOOK: 1000
 T₁: 100.0 MHz T₂: 15.0 MHz
 T₃: 50.0 MHz T₄: 50.0 MHz
 T₅: 40.0 MHz T₆: 100.0 MHz
 T₇: 25.0 MHz T₈: 10.0 MHz
 C₁: C₂: PULSED:

C1: 100.0 MHz
 C2: 100.0 MHz
 C3: 100.0 MHz
 C4: 100.0 MHz
 C5: 100.0 MHz
 C6: 100.0 MHz
 C7: 100.0 MHz
 C8: 100.0 MHz

SAMPLE: Resins Fraction 3-35

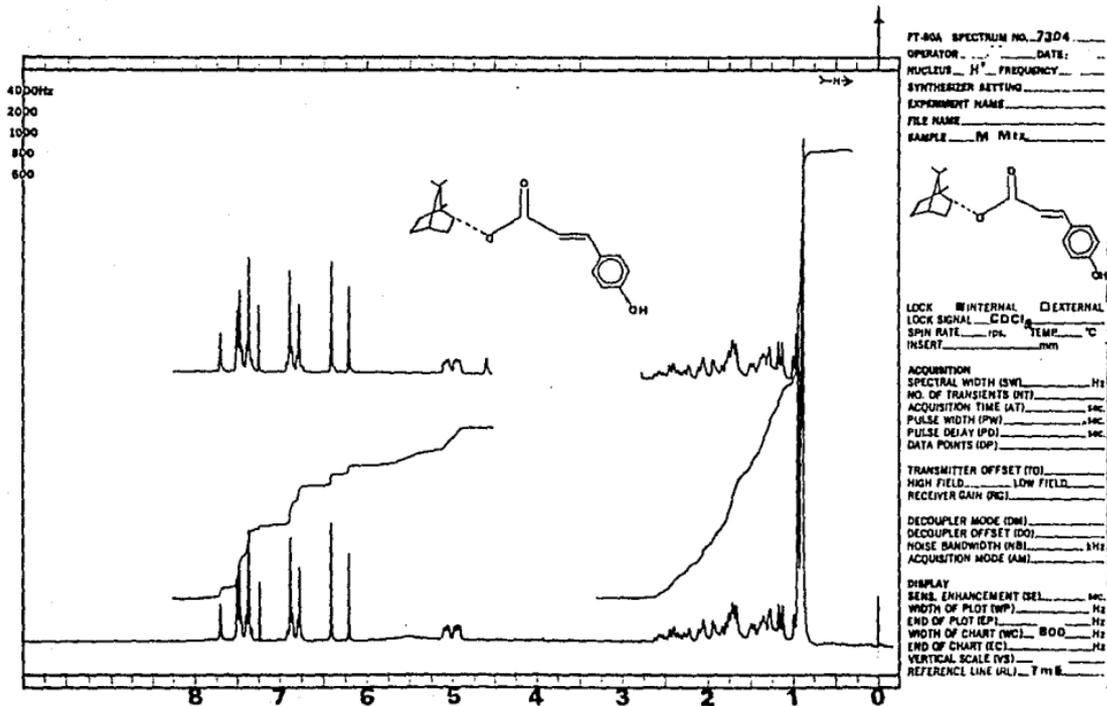
Oc1ccc(cc1)CCc2ccccc2

SOLVENT: CDCl₃ TEMP: 300 K
 TUBE: OD-5 SWEEP RATE: 20 PPM

LOCK: SIGNAL: CDCl₃ F1: 100.0 MHz
 OBSERVE: CW FID INT
 OFFSET: 30.000 Hz
 SPECTRAL WIDTH: 10000 Hz
 ACQUISITION TIME: 10.000 sec
 FID PULSE WIDTH: 10.000 sec
 PULSE DELAY: 1.000 sec
 SPECTR AMP: 0.212 V
 TIME CONSTANT: 0.100 sec
 DATA POINTS: 65536
 FILTER: 100000 Hz
 NO SCANS/TARGETS: 1

NUCLEUS: 13C GATED:
 NUCLEUS: 1H GATED:
 OFFSET FWD 48307 Hz BY POWER: 100
 NOISE BANDWIDTH: 10.0 Hz
 PWD BANDWIDTH: 10.0 Hz
 OPERATOR: BSH/RE/EA DATE:

CHART 3 J000A



BIBLIOGRAFIA

BIBLIOGRAFIA.

- 1.- HERZ,W.;SHARMA,R.P.- J.Org.Chem.,41, (6),(1976),1015-1020
- 2.- LEE,K.;HUANG,H.C.;HUANG,E.S.;FURUKAWA,H.-J.Pharm Sci,61, (1972), 629.
- 3.-PHAIL,A.T.;ONAN,K.D.- J.Chem Scienc.,11, (1975), 1798.
- 4.-PHAIL,ONAN,K.D.;LEE,K.H.;IBUKA,T.;HUANG,H.C.-Tet. Lett., (1974), 3203.
- 5.-PHAIL,A.T.;ONAN,K.D.- J.Chem Soc., 11, (1976),578.
- 6.-LEE,K.H.;KIMURA,T.;HARUNA,M.;PHAIL,A.T.;ONAN,K.D.-Pytochem., 16, (1977), 1068-1070.
- 7.-GEISMAN,T.A.;CROUT,D.-"Organic Chemistry of Secondary - Plant Metabolisms", Cooper and Co.,USA., (1969). 281-288.
- 8.-BREMSER,W.;FRANKE,B.- Spectral Data., (1979),Comp. 5079.
- 9.-COMPADRE,C.M.;JAUREGUI,J.F.;NATHAN-JOSEPH,P.;ENRIQUEZ,R.G.- Planta Med., 46, (1982), 42.
- 10.-RUZICKA,L.;CHEM,A.- Proc.Chem.Soc., 51, (5), (1938),341.
- 11.-ROBERT and CASERIO.; "The Chemistry of Natural Products in Basic Principles of Organic Chemistry",W.A. Benjamin.,Ing. - N.York (1964).
- 12.-NAKANISHI,K.;GOTO,T.-"Natural Products Chemistry",KODANSHA Scientific LTD. Tokyo (1974).,6-43.

- 13.- DEVON,T.K.;SCOTT,A.I.-"Handbook of Naturally Occurring Compounds",Academic Press, II, N.York (1983),55-56.
- 14.-QUIJANO,L.;RIOS,T.;ROMO,J.- Tetrahedron, 24, (1968), 6087-6091.
- 15.-KUPCHAN,S.M.;TSOU,G.;SIGA,C.W.- J.Org.Chem., 38, (1973), 1420.
- 16.-HERZ,W.;WAHLBERG,I.- J.Org.Chem., 38,(1973), 2485.
- 17.-KUPCHAN,S.M.;FUJITA,T.;BRITTON,R.W.- J.Org.Chem.,(1973), 1260.
- 18.-LEE,K.H.;HUANG,E.S.;FURUKAWA,H.- J.Pharm.Sci., 61, (1972), 629.
- 19.-KUPCHAN,S.M.;KELSEY,J.E.;MARUYAMA,J.M.;CASSIDY,J.M.;HEMIN GWAY,J.C.;KNOX,J.R.- J.Org.Chem., 34, (1969), 3876.
- 20.-KUPCHAN,S.M.;FUJITA,T.;MARUYAMA,M.;BRITTON,R.W.-J.Org.Chem., 38, (1973), 1260.
- 21.-GERAN,R.I.;GREENBERG,N.H.;MacDONALD,M.M.;SCHUMAGER,A.M.; ABBOTT,B.J.- Cancer Chemother.,3, (1972),1.
- 22.-QUIJANO,L.;CALDERON,F.;GOMEZ,G.;GARDUÑO,J.T.;RIOS,T.- Phytochem., 19, (1980), 1975-1977.