

00573

5
2ej.

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA



FLOROGLUCINOLES, TERPENOIDES Y ALCALOIDES DE *Esenbeckia nesiotica* y *E. belizensis* (Rutaceae). OXIDACION ESPONTANEA DE ALCALOIDES FUROQUINOLINICOS.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:
MAESTRO EN CIENCIAS QUIMICAS
(QUIMICA ORGANICA)

P R E S E N T A

Q. F. B. MA. YOLANDA RIOS GOMEZ



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

CONTENIDO

INTRODUCCION	1
ANTECEDENTES	4
DISCUSION DE RESULTADOS	
I. Determinación Estructural de los Constituyentes Químicos de <i>Esenbeckia nestotica</i> .	23
II. Determinación Estructural de los Constituyentes Químicos de <i>Esenbeckia belizencis</i> .	55
III. Oxidación Espontánea de Alcaloides Furoquinolínicos (Flindersiamina y Kokusaginina).	63
SECCION EXPERIMENTAL.	
I. Aislamiento y Propiedades Físicas y Espectroscópicas de los Constituyentes Químicos de <i>Esenbeckia nestotica</i> .	71
II. Aislamiento y Propiedades Físicas y Espectroscópicas de los Constituyentes Químicos de <i>Esenbeckia belizencis</i> .	86
III. Determinación de las Condiciones de Oxidación de Alcaloides Furoquinolínicos. Propiedades Físicas y Espectroscópicas de los Productos de Oxidación.	93
CONCLUSIONES	97
ESPECTROS.	
1. RMN ¹ H de Epóxido de Cariofileno (43).	101
2. RMN ¹³ C de Epóxido de Cariofileno (43).	102
3. RMN ¹ H de (Z,Z,Z,Z,Z,Z,Z,Z,E,E,E,E)-Tridecaprenol (46).	103
4. RMN ¹³ C de (Z,Z,Z,Z,Z,Z,Z,Z,E,E,E,E)-Tridecaprenol (46).	104

5.	RMN ¹ H de (Z,Z,Z,Z,Z,Z,E,E,E)-Decaprenol (40).	105
6.	RMN ¹ H de la Mezcla de 1-(3-metilbutanol)-3-geranilfloroglucinol (47), 1-(2-metilbutanol)-3-geranilfloroglucinol (48) y 1-(2-metilpropanol)-3-geranilfloroglucinol (49).	106
	Ampliación del Espectro 6.	107
7.	RMN ¹³ C de la Mezcla de 47, 48 y 49.	108
8.	RMN ¹ H de la Mezcla de 1-(3-metilbutanol)-3-geranil-diacetilfloroglucinol (50) y 1-(2-metilbutanol)-3-geranil-diacetilfloroglucinol (51).	109
	Ampliación del espectro 8.	110
9.	RMN ¹ H de 50.	111
10.	RMN ¹ H de la mezcla de 1-(3-metilbutanol)-3-geranil-triacetilfloroglucinol (52), 1-(2-metilbutanol)-3-geranil-triacetilfloroglucinol (53) y 1-(2-metilpropanol)-3-geranil-triacetilfloroglucinol (54).	112
	Ampliación del Espectro 10.	113
11.	RMN ¹ H de Clovandiol (55).	114
12.	RMN ¹ H de Espatuleno (56).	115
13.	RMN ¹³ C de Espatuleno (56).	116
14.	UV de Flindersiamina (30).	117
15.	RMN ¹ H de Flindersiamina (30).	118
16.	RMN ¹³ C de Flindersiamina (30).	119
17.	RMN ¹ H de Kokusaginina (28).	120
18.	UV de 3-formil-4,6,7-trimetoxi-2-quinolona (59).	121
19.	RMN ¹ H de 3-formil-4,6,7-trimetoxi-2-quinolona (59).	122
20.	RMN ¹ H de 3-formil-4,8-dimetoxi-6,7-metilendioxi- 2-quinolona (60).	123
21.	RMN ¹ H de la Mezcla de Descomposición de Kokusaginina 28.	124

INTRODUCCION

La comprensión de la naturaleza ha sido uno de los objetivos principales de la investigación científica y el aprovechamiento práctico de los conocimientos generados por ella durante las últimas décadas, ha transformado a las sociedades humanas y al medio ambiente de manera notoria y sin precedentes.¹ Sin embargo, el conocimiento de los diversos recursos naturales disponibles en el mundo es sólo parcial, y en el caso particular de la vegetación, tal limitación conlleva al uso irracional del recurso y a la destrucción del mismo, lo que ha generado un grave desequilibrio ecológico,² que sólo ha sido considerado recientemente.

La solución a este problema es de suma importancia si se toma en consideración que diversos organismos vivos biosintetizan numerosos compuestos orgánicos, que son la fuente más importante e inmediata de nutrientes y sustancias bioactivas necesarias para el ser humano, o bien, son compuestos modelo en la síntesis de sustancias útiles al hombre.³ El aprovechamiento racional de estas sustancias sólo puede lograrse mediante la investigación interdisciplinaria integral de las fuentes naturales, y mediante la comprensión de las rutas biosintéticas y mecanismos enzimáticos que las originan.

Precisamente la investigación de los productos naturales orgánicos ha aportado sustancias bioactivas modelo y materias primas para la síntesis y semisíntesis de fármacos y agroquímicos, ha motivado el intenso desarrollo reciente de la síntesis orgánica⁴ y la estereoquímica,⁵ y ha permitido establecer las

rutas biosintéticas principales, entre otras muchas diversas e importantes aportaciones.

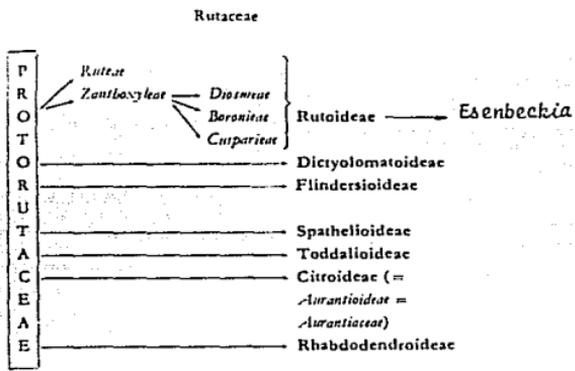
El descubrimiento de nuevas fuentes naturales vegetales de sustancias orgánicas conocidas, y la determinación estructural de sustancias inéditas obtenidas de la flora, contribuyen al conocimiento de este recurso natural para su eventual aprovechamiento racional, y establecen el perfil químico de esta, desarrollando un área del conocimiento relativamente reciente: la quimiotaxonomía.

El objetivo general del presente trabajo de investigación es la generación de conocimientos sobre los constituyentes químicos de la vegetación de nuestro país y sobre la reactividad química de las sustancias naturales. El objetivo particular es llevar a cabo el aislamiento y determinación estructural de los metabolitos secundarios presentes en dos especies de rutáceas no estudiadas previamente: *Esenbeckia nesiotica* y *E. belizencis*.

Los resultados generados en este estudio contribuirán al conocimiento integral de ese recurso natural renovable pero limitado que es la vegetación, y al conocimiento de la reactividad de las sustancias orgánicas.

ANTECEDENTES

La familia *Rutaceae* del reino vegetal está dividida en siete subfamilias que incluyen 150 géneros, el mayor número de los cuales pertenecen a las subfamilias *Rutoideae*, *Toddalioidae* y *Citroideae*. Consta de 1500 a 2000 especies⁶ que se localizan principalmente en las zonas tropicales de América, Asia y Australia. La división infrafamiliar aceptada para este grupo de plantas se muestra en el esquema 1.



Esquema 1. División infrafamiliar de la familia *Rutaceae*.

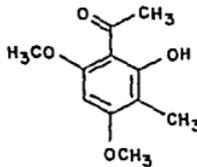
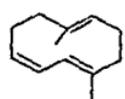
Una gran variedad de metabolitos secundarios han sido aislados de este grupo de plantas, algunos de los cuales presentan actividad biológica, otros han sido utilizados como marcadores taxonómicos, y todos han contribuido al conocimiento de la composición química de la familia.

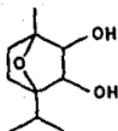
Prácticamente todas las especies de *Rutaceae* contienen aceites esenciales, entre los que se han caracterizado compuestos monoterpénicos y sesquiterpénicos. Sin embargo, la característica

más distintiva de la familia, ha sido el aislamiento de alcaloides de la mayoría de los géneros hasta ahora analizados. Una recopilación importante de la información sobre los constituyentes químicos de la misma es la presentada por Hegnauer en 1973,⁶ la cual indica que los aceites esenciales, los alcaloides, las cumarinas, los flavonoides, los lignanos y los limonoides pueden considerarse como los metabolitos secundarios más frecuentemente caracterizados.

La tabla 1 muestra de manera sucinta los tipos de metabolitos secundarios antes mencionados y su fuente natural.

Tabla 1. Tipos de metabolitos secundarios aislados de Rutaceae

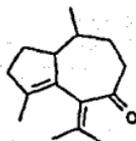
SUBSTANCIA	FUENTE NATURAL	REFERENCIA
<u>Aceites esenciales.</u>		
 <p>The structure shows a benzene ring with a methyl ketone group (-C(=O)CH₃) at the top position, a hydroxyl group (-OH) at the 2-position, a methyl group (-CH₃) at the 4-position, and two methoxy groups (-OCH₃) at the 3 and 5 positions.</p>		
Metibkantoxilina	<i>Acradenia franklinii</i>	7
 <p>The structure is a bicyclic system consisting of two fused six-membered rings, each containing one double bond, with a methyl group attached to one of the ring carbons.</p>		
Pre-geijereno	<i>Geijera parviflora</i>	8



Mulliamdiol

Zanthoxylum rhetsa

9



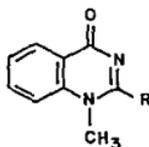
Zierona

Zieria macrophylla

10

Alcaloides

A). Derivados del ácido antranílico.

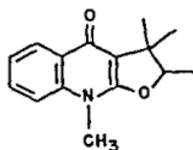


R=H Glicorina

Glycosmis arborea

11

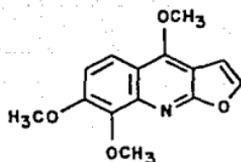
R=CH₂-φ Arborina



Iflayamina

Flindersia iflayiana

12

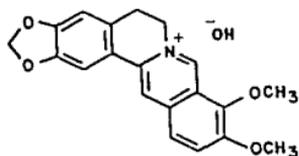


Skimmianina

Fagara coco

13

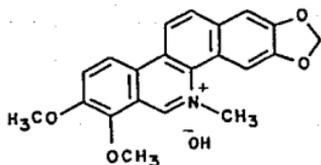
B). Derivados de la Fenilalanina.



Berberina

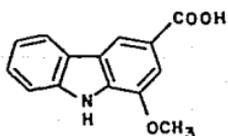
Fagara coco

14



Queleritrina

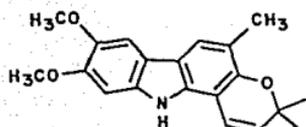
C). Derivados del Carbazol.



Ac. Mucoico

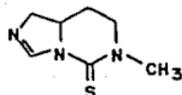
Murraya koenigii

15



Koenimbidina

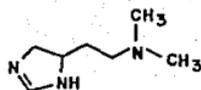
D). Derivados del Imidazol.



Zapotidina

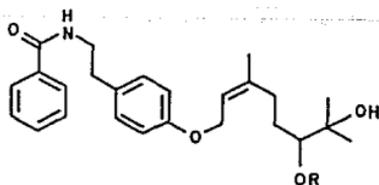
Casimiroa edulis

16



N^{α}, N^{α} -dimetilhistamina

Amidas.

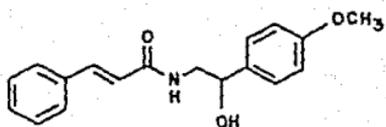


R=H Severina

Severiana buxifolia

17

R= $\text{CO}(\text{CH}_2)_{14}\text{CH}_3$ Palmitato de Severina

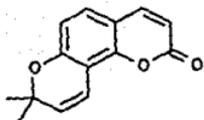


Aegeline

Evodia belae

18

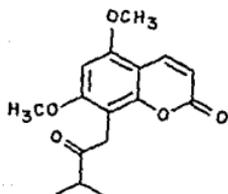
Cumarinas.



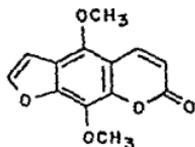
Seselin

Severiana buxifolia

17

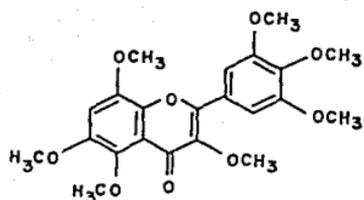


5,7-dimetoxi-8-(3'-metilbutil)cumarina



Isopimpinellina

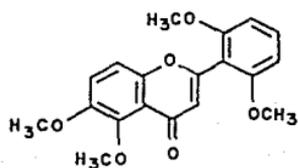
Flavonoides.



Hibiscetin Eter-
heptametílico

Murraya exotica

19

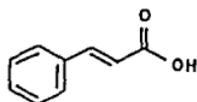


Zapotina

Casimiroa edulis

20

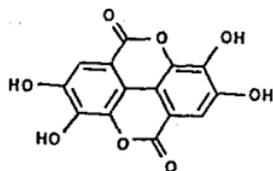
Acidos Benzoicos.



Ac. cinámico

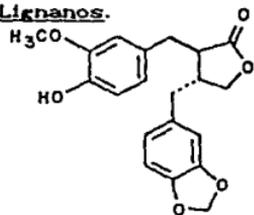
Phebalium nudum

21



Ac. Elágico.

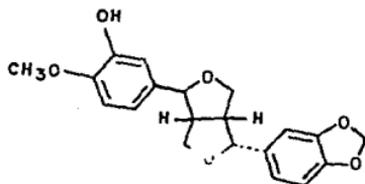
Lignanós.



Pluviatolido

Zanthoxylum pluviatile

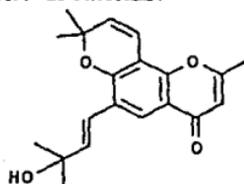
22



Pluviatilol

Compuestos Fenólicos.

A). Cromonas.

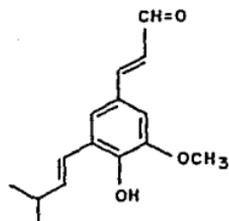


Sorbifolina

Spatelia sorbifolia

23

B). Derivados C₆-C₆.

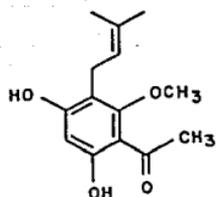


Parvifloral

Zanthoxylum parviflorum

24

C). Derivados del Floroglucinol.

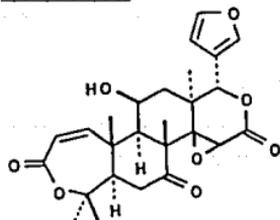


Acronilina

Acrinichi laurifolia

25

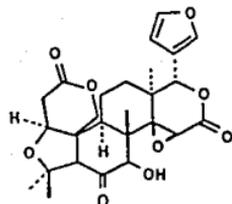
Limonoides.



Zapoterina

Castmiroa edulis

26

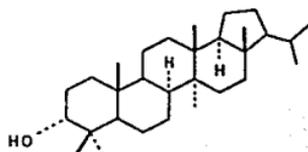


Rutaevina

Evodia rutaecarpa

27

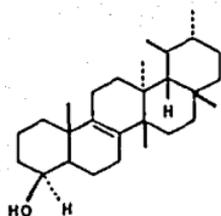
Triterpenos.



Arborinol

Glycosmis arborea

28

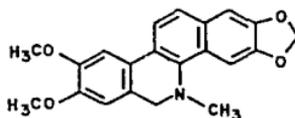


Isobaurenol

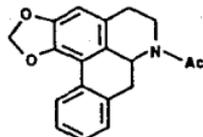
Helietta longifoliata

29

Los estudios químicos más recientes sobre miembros de *Rutaceae* indican el aislamiento de prácticamente el mismo tipo de constituyentes mostrados en la Tabla 1. De este modo, especies incluidas en el complejo *Zanthoxylum-Fagara* presentan alcaloides derivados del ácido antranílico,³⁰⁻³¹ acetofenonas, flavonoides, cumarinas y amidas como constituyentes característicos.³² Algunos metabolitos aislados de este grupo de plantas han mostrado poseer actividad biológica, como es el caso de los alcaloides 6-oxdnitidina (1), aislado de *Fagara macrophylla*, que presenta actividad antitumoral³³ y de la N-acetilanonaina (2), obtenida de *Zanthoxylum clava-herculis*, que posee una marcada actividad ichtiotóxica.³⁴



1

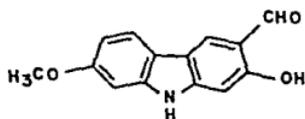


2

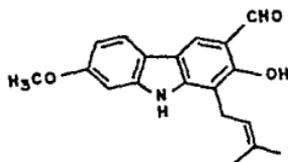
Dos nuevos alcaloides derivados de carbazol que presentan actividad anticancerígena, son el

2-hidroxi-3-formil-7-metoxi-carbazol (3) y la 7-metoxiheptaflina (4), aisladas de *Clausena harmandiana*.³⁵

Burke ha sugerido las implicaciones quimiotaxonómicas de la presencia de cumarinas en los géneros *Amyris* y *Ruta*. Las 3-(3',3'-dimetilalil)-cumarinas pueden considerarse como marcadores potenciales del género *Amyris*, en tanto que las

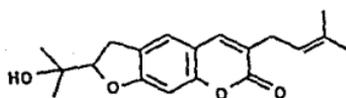


3

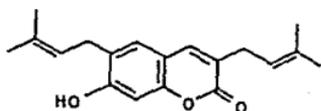


4

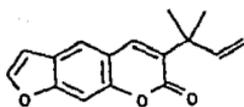
3-(1',1'-dimetilalil)-cumarinas son más bien distintivas del género *Ruta*.³⁶ De acuerdo con lo anterior, 5³⁶ y 6³⁷ son ejemplos de algunas cumarinas aisladas de especies del género *Amyris*, mientras que 7³⁸, 8³⁹ y 9⁴⁰ se han encontrado frecuentemente en *Ruta*.



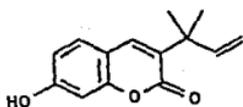
5



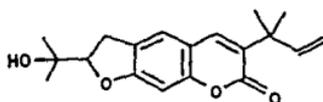
6



7

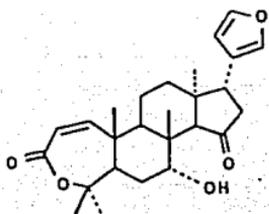


8

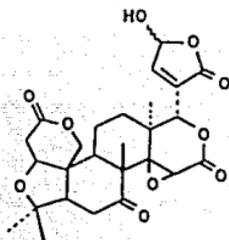


9

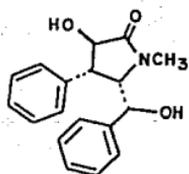
Las especies pertenecientes a la familia Rutaceae han sido fuente abundante de compuestos con estructura novedosa, como es el caso de los limonoides ouabanginona (10) y del ácido rutaevinico (11), aislados de *Teclea ouabanguiensis*⁴¹ y *Tetradium glabrifolium*⁴² respectivamente, de las amidas clausenamida (12), neoclausenamida (13) y cicloclausenamida (14), obtenidas a partir de *Clausena lansium*,⁴³ de algunas flavonas como (15) y (16) cuya fuente natural es *Citrus reticulata*⁴⁴ y de los floroglucinoses sessifloreño (17), sessifloral A (18) y sessifloral B (19), los cuales presentan actividad inhibitora contra el herpes simple y han sido caracterizados de *Melicope sessiliflora*.⁴⁵



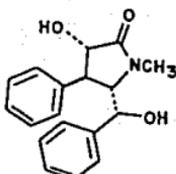
10



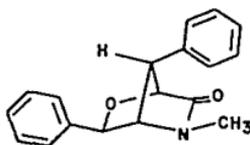
11



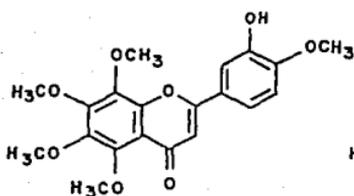
12



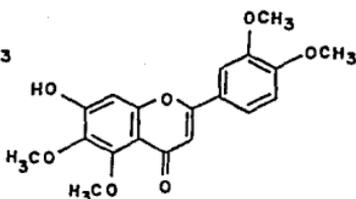
13



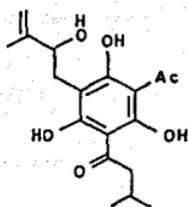
14



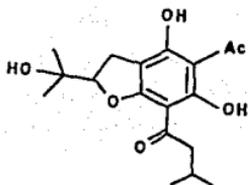
15



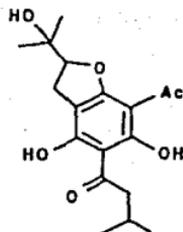
16



17



18



19

La diversidad de esta familia, el gran número de géneros y especies que la conforman, y su amplia distribución en el mundo, la han convertido en objeto de interés continuo para numerosos grupos de investigación.⁴⁶⁻⁵⁴

ANTECEDENTES QUÍMICOS DEL GÉNERO *Esenbeckia*.

Esenbeckia es un género cosmopolita que está constituido por aproximadamente 30 especies,⁵⁵ 17 de las cuales se localizan en México, principalmente en las zonas selváticas y tropicales de los estados de Veracruz, Guerrero, Michoacán, Oaxaca y Chiapas.⁵⁶

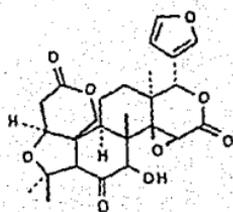
Estudios químicos previos de este grupo de plantas indican que los limonoides, las furanocumarinas, los alcaloides furoquinolinicos y los alcaloides derivados de la acridona son los constituyentes principales de las mismas. La tabla 2 muestra los metabolitos secundarios de las seis especies analizadas hasta ahora del género *Esenbeckia*.

Dado que en México se encuentra la mayoría de las especies de *Esenbeckia* existentes en el mundo, tres de las cuales ya han sido analizadas químicamente,⁶⁰ resulta de interés la realización del análisis de las especies restantes, de manera que se puedan generar resultados integrables al conocimiento del contenido metabólico de este grupo de plantas.

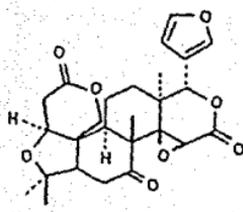
Tabla 2. Constituyentes Químicos del género *Esenbeckia*.

Espece	Constituyentes	Referencia
<i>E. febrifuga</i> (Corteza)	<u>20</u> , <u>22</u> , <u>25</u> , <u>29</u> , <u>30</u>	57-58
<i>E. hartmanii</i> (Tallos)	<u>20</u> , <u>21</u> , <u>22</u> , <u>25</u> , <u>26</u>	59
<i>E. litoralis</i> (Semillas)	<u>20</u> , <u>21</u>	60
(Capsula de semillas)	<u>27</u> , <u>34</u> , <u>35</u>	
(Hojas y tallos)	<u>28</u>	
(Corteza)	<u>31</u> , <u>35</u> , <u>36</u> , <u>37</u> , <u>38</u> , <u>39</u>	
(Madera)	<u>23</u> , <u>24</u> , <u>25</u> , <u>28</u> , <u>29</u> , <u>34</u> , <u>37</u> , <u>38</u>	
<i>E. berlandieri</i> (Semillas)	<u>20</u>	
(Cáscara de frutos)	<u>34</u>	
<i>E. flava</i> (Semillas)	<u>20</u>	
(Madera)	<u>23</u> , <u>24</u> , <u>25</u> , <u>26</u> , <u>30</u> , <u>32</u>	
<i>E. pilocarpoides</i> (Raíz)	<u>27</u> , <u>28</u> , <u>29</u> , <u>30</u> , <u>31</u> , <u>33</u>	61

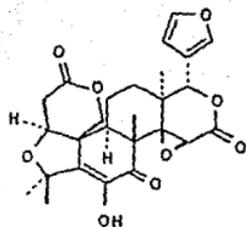
LIMONOIDES



Rutaevina (20)

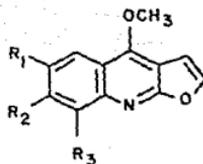


Limonina (21)



Limonina Diosfenol (22)

ALCALOIDES



Dictamina (23)

$R_1 = R_2 = R_3 = H$

Evolitrina (24)

$R_1 = R_3 = H, R_2 = OCH_3$

Skimmianina (25)

$R_1 = H, R_2 = R_3 = OCH_3$

Maculosidina (26)

$R_1 = R_3 = OCH_3, R_2 = H$

Kokusagina (27)

$R_1 = H, R_2, R_3 = OCH_2O$

kokusagina (28)

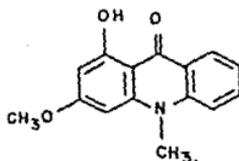
$R_1 = R_2 = OCH_3, R_3 = H$

Maculina (29)

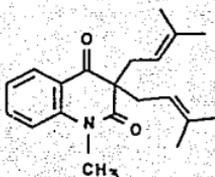
$R_1, R_2 = OCH_2O, R_3 = H$

Flindersianina (30)

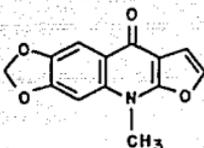
$R_1, R_2 = OCH_2O, R_3 = OCH_3$



1-hidroxi-3-metoksi-N-metilacridona (31)

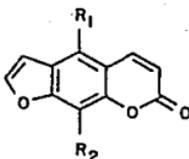


3,3-diisopentenil-N-metil-2,4-quinoldiona (32)



isomaculina (33)

CUMARINAS



bergapteno (34)

$R_1 = \text{OCH}_3, R_2 = \text{H}$

Isopimpinellina (35)

$R_1 = R_2 = \text{OCH}_3$

8-hidroxibergapteno (36)

$R_1 = \text{OCH}_3, R_2 = \text{OH}$

imperatorina (37)

$R_1 = \text{H}, R_2 = \text{OCH}_2\text{CH}=\text{C}(\text{CH}_3)_2$

Felopterinina (38)

$R_1 = \text{OCH}_3, R_2 = \text{OCH}_2\text{CH}=\text{C}(\text{CH}_3)_2$

Alloimperatorina (39)

$R_1 = \text{CH}_2\text{CH}=\text{C}(\text{CH}_3)_2, R_2 = \text{OH}$

DISCUSION DE RESULTADOS

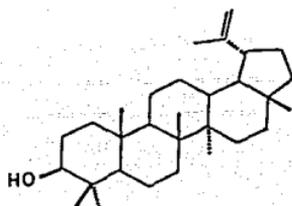
I. DETERMINACION ESTRUCTURAL DE LOS CONSTITUYENTES QUIMICOS DE *Esenbeckia nesiotica*

1.9 Kg de las hojas secas de *E. nesiotica* se sometieron a maceración con hexano y posteriormente con acetona, obteniéndose los extractos correspondientes. La aplicación de los métodos cromatográficos convencionales, descritos en la sección experimental, permitieron la resolución de los mismos en sus componentes. El análisis de sus propiedades físicas, químicas, espectroscópicas y espectrométricas, y la comparación de estas con las informadas en la literatura para las mismas y/o compuestos relacionados fueron los argumentos utilizados para su elucidación estructural.

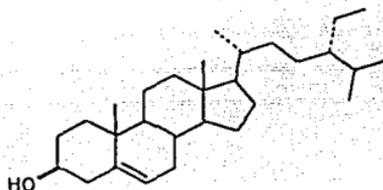
A partir del extracto hexánico fue posible aislar y caracterizar un sesquiterpeno, tres triterpenos, dos esteroides y tres mezclas de compuestos de naturaleza polisoprenica.

En las primeras fracciones de la columna inicial, eluidas con n-hexano, se logró la obtención de una mezcla de sustancias de consistencia cerosa, que contienen un éster en su estructura, de acuerdo con la banda de absorción observada en 1665 cm^{-1} en su espectro de IR. Un singulete amplio en 1.25 ppm en el espectro de RMN ^1H para esta mezcla, establece la presencia de cadenas hidrocarbonadas. La hidrólisis de los ésteres en las condiciones informadas en la sección experimental, permitió

obtener como fracción alcohólica, una mezcla de tres sustancias que pudo resolverse por cromatografía en capa fina, lográndose identificar, mediante el análisis de sus propiedades espectroscópicas, al (Z,Z,Z,Z,Z,Z,E,E)-decaprenol (40)⁷⁴⁻⁷⁵ y, por comparación con muestras auténticas en cromatografía en capa fina, al lupeol (41) y β -sitosterol (42). La elucidación estructural del componente poliprenílico se describirá posteriormente.



41



42

La sustancia de naturaleza sesquiterpénica se obtuvo en fracciones subsecuentes eluidas con n-hexano de esta misma columna. Su purificación final se realizó por cromatografía en placa fina. El análisis de su espectro de RMN ¹H (espectro 1), revela la presencia de tres metilos en la molécula, de acuerdo con la observación de tres singuletes con integración para tres hidrógenos cada uno, en la zona de 1.22 a 0.98 ppm. Esta característica, aunada al valor de 220 para su peso molecular, establecido por espectrometría de masas, correspondiente a una fórmula molecular C₁₅H₂₄O, sugieren la estructura de un sesquiterpeno con cuatro insaturaciones.

En este mismo espectro, en la zona de resonancia de los hidrógenos vinílicos, dos dobletes en 4.98 y 4.86 ppm, con integración para un protón cada uno, establecen la presencia de un metileno exocíclico, el cual se corrobora por las bandas de absorción en 1630 y 892 cm^{-1} en el espectro de IR. La constante de acoplamiento de 2 Hz para las señales antes mencionadas, indica la conectividad alílica de este grupo con al menos un hidrógeno (figura 1).

El desplazamiento químico en 1.19 ppm para uno de los tres metilos, permite establecer su vecindad a un carbono unido a oxígeno. La ausencia de la banda característica para hidroxilo en el espectro de IR y la presencia de dos señales para carbonos unidos a oxígeno (una como doblete y la otra como singulete) en el espectro de RMN ^{13}C (espectro 2), establecen que el heteroátomo se encuentra formando parte de un oxirano (figura 2). Lo anterior justifica dos de las cuatro insaturaciones en la molécula. Las dos insaturaciones restantes deben corresponder a una estructura bicíclica.

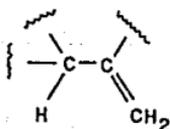


Figura 1

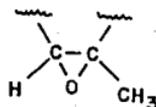


Figura 2

En el espectro de RMN ^{13}C (espectro 2) es posible observar a campo bajo un singulete y un triplete en 151.74 y

112.73 ppm respectivamente, señales características del carbono cuaternario y del metileno de la insaturación exocíclica antes indicada (figura 1). En 63.80 y 59.94 ppm se observan el doblete y el singulete de los carbonos unidos a oxígeno y en la zona entre 51 y 17 ppm resuenan un carbono cuaternario, dos metinos, cinco metilenos y tres metilos, de acuerdo con el análisis del espectro APT.

La comparación de los datos espectroscópicos antes mencionados con los informados para compuestos sesquiterpénicos con esqueleto carbonado bicíclico, permitió identificar a esta substancia como el epóxido de cariofileno (figura 3).

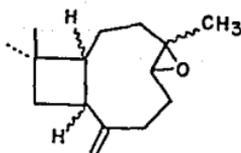
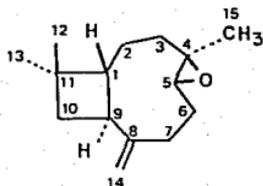
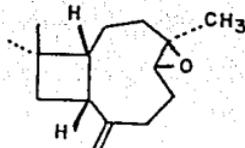


Figura 3

La configuración absoluta para este compuesto ha sido establecida⁶² y correlacionada con el valor de la rotación molecular,⁶³ quedando establecido que un valor negativo indica una fusión trans entre los anillos de cuatro y nueve miembros, cuando el epóxido presenta orientación beta [β -epóxido de cariofileno (43)]. Un valor positivo para la misma indica una fusión cis en ambos anillos y una orientación beta del epóxido [β -epóxido de 9-*epi*- β -cariofileno (44)].



43



44

Estos dos estereoisómeros pueden también ser diferenciados por el análisis de su espectro de RMN ^{13}C , donde el desplazamiento químico de carbonos análogos presenta diferencias significativas⁶⁴ (tabla 3).

Tabla 3. Desplazamientos Químicos en RMN ^{13}C de 43 y 44

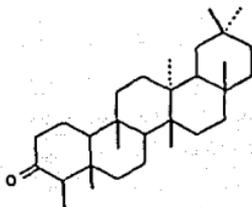
	<u>43</u> ⁶⁴	<u>44</u> ⁶⁴	<u>43</u> *
C(1)	50.9(d)	53.6(d)	50.71(d)
C(2)	27.3(t)	21.3(t)	27.22(t)
C(3)	39.2(t)	41.4(t)	39.14(t)
C(4)	63.7(s)	59.9(s)	59.94(s)
C(5)	59.7(d)	61.7(d)	63.80(d)
C(6)	30.3(t)	27.2(t)	30.19(t)
C(7)	39.8(t)	36.6(t)	39.76(t)
C(8)	151.8(s)	148.5(s)	151.74(s)
C(9)	48.8(d)	42.3(d)	48.72(d)
C(10)	29.9(t)	38.3(t)	29.71(t)
C(11)	34.0(s)	33.0(s)	34.03(s)
C(12)	29.9(q)	29.8(q)	29.90(q)
C(13)	21.6(q)	25.0(q)	21.64(q)
C(14)	112.8(t)	114.5(t)	112.73(t)
C(15)	17.0(q)	18.5(q)	17.01(q)

* Valores obtenidos en el presente trabajo.

El intercambio de los valores de C(3) y C(4) de 43 indicados en la primera columna con respecto a la tercera puede atribuirse a un error tipográfico en la publicación (ref. 64).

El valor negativo para la rotación molecular y la comparación de los datos obtenidos del espectro de RMN ^{13}C permiten identificar a este compuesto como el β -epóxido de cariofileno (43).

En fracciones de mayor polaridad de este mismo extracto y de acuerdo con el orden de elución, pudo identificarse fridelina (45)⁶⁵, lupeol (41) y β -sitosterol (42).



45

Adicionalmente, se obtuvo un residuo homogéneo en CCF, que al ser analizado por cromatografía de líquidos de alta precisión (HPLC) mostró estar constituido por una mezcla de sustancias. La cromatografía preparativa en fase inversa utilizando la misma técnica permitió su fraccionamiento en dos mezclas de menor complejidad que fueron analizadas espectroscópicamente como tales, debido a que la separación en sus componentes se intentó repetidamente sin obtener resultados positivos. Por otro lado, los datos espectroscópicos de las mezclas son claramente interpretables, como se describe a continuación.

La mezcla original presenta en su espectro de IR bandas

características para hidroxilo (3350 cm^{-1}) y doble ligadura trisustituida (1662 cm^{-1}). El máximo de absorción en 197 nm en su espectro de UV indica la ausencia de cromóforos conjugados.

La integración en el espectro de RMN ^1H (espectro 3) para cada una de las señales corresponde a un promedio, que depende del número de componentes de la mezcla y de su proporción relativa en la misma.

El análisis de dicho espectro establece la presencia de señales características para hidrógenos vinílicos, metilenos alílicos y metilos vinílicos, lo que permite suponer la naturaleza isoprenica de los compuestos presentes. De esta manera, un triplete en 5.45 ppm , con integración relativa para un hidrógeno y constante de acoplamiento de 7 Hz , permite establecer la presencia del fragmento molecular indicado en la figura 4.

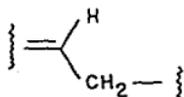


Figura 4

El metileno alílico de este mismo fragmento se manifiesta como un doblete que integra para dos hidrógenos desplazado en 4.20 ppm ($J = 7\text{ Hz}$), lo que establece su conectividad e interacción con el carbono e hidrógeno vinílico, respectivamente. El desplazamiento químico del mismo indica la unión del metileno con el hidroxilo, por lo que la estructura

parcial indicada en la figura 4 se amplía a la estructura mostrada en la figura 5.

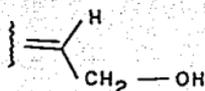


Figura 5

Un singlete amplio en 2.03 ppm indica la presencia de metilenos alílicos, que pueden suponerse unidos al fragmento antes descrito y a fragmentos análogos. De la misma manera, el singlete amplio en 5.12 ppm se asigna a los hidrógenos vinílicos de unidades análogas de isopreno (estructuras parciales indicadas en las figuras 6 y 7).

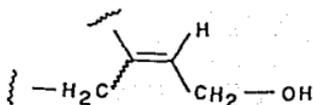


Figura 6

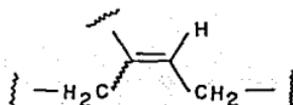


Figura 7

Finalmente, en la región de 1.75 a 1.55 ppm se observan tres singletes, asignables, de acuerdo con su desplazamiento químico, a metilos vinílicos. La existencia de isómeros configuracionales en las unidades de isopreno presentes en los compuestos es evidenciada precisamente por las diferencias en el desplazamiento químico de estos metilos vinílicos.

Las características espectroscópicas anteriores permiten deducir que estas sustancias presentan una estructura acíclica formada por un conjunto de unidades de isopreno agrupadas linealmente, uno de cuyos extremos es la unidad enlazada al hidroxilo (unidad alfa) en tanto que el otro extremo debe estar constituido por una unidad de isopreno con un *gem*-dimetilo sobre carbono vinílico (unidad omega, figura 8).

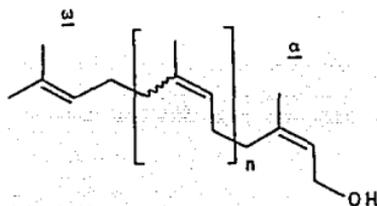


Figura 8

De acuerdo con estudios realizados por Bates y Gale,⁶⁶ un grupo metilo *trans* a un hidrógeno olefínico se encuentra desplazado en 0.07 ppm a campo alto con respecto al metilo análogo con orientación *cis*, debido al mayor congestionamiento espacial que ejerce la cadena lateral. El mismo razonamiento es aplicable a aquellos metilos que tienen como vecino un grupo hidroximetileno (figura 9).

Esta diferenciación en cuanto a desplazamiento químico permite determinar la configuración de los dobles enlaces presentes, y la integración del área bajo la curva para cada señal, el número de los mismos.

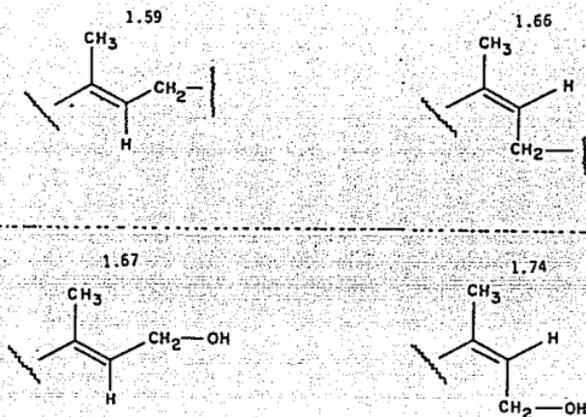


Figura 9

La señal en 1.58 ppm en el espectro de RMN ^1H de esta mezcla de sustancias (espectro 3) integra para quince hidrógenos, lo que indica que existe un promedio de cinco metilos sobre doble enlace trans; y la señal en 1.67 ppm, que integra para veincuatro hidrógenos, establece la presencia de ocho metilos sobre doble ligadura cis.

Tomando en consideración que el isopreno omega de un poliprenol no es una unidad estereogénica, se puede deducir la presencia de cuatro unidades de isopreno con configuración trans y siete con configuración cis. Por otra parte, la señal singulete que integra para tres hidrógenos en 1.75 ppm corresponde al metilo de la unidad alfa del poliprenol, el cual, por su desplazamiento químico, indica que ésta tiene una estereoquímica cis.

Lo anterior establece un promedio de trece unidades de isopreno en la molécula, lo cual se ve corroborado por las siguientes observaciones: (a) la integración para trece hidrógenos vinílicos (5.45 ppm, t, 1H y 5.24 ppm, sa, 12H, espectro 3) y (b) por el valor del coeficiente de extinción molar (11.1456×10^4) obtenido del espectro de UV y su correlación con el valor de 8.07×10^4 observado para el solanesol, como se ha establecido en estudios previos.⁶⁷

El singulete amplio en 2.03 ppm corresponde por consiguiente, a un promedio de veinticuatro metilenos no oxigenados.

Las señales del espectro de RMN ^{13}C de la mezcla (espectro 4), fueron asignadas mediante el análisis comparativo de los desplazamientos químicos observados para estas sustancias con los de compuestos modelo,⁶⁸ así como con la información obtenida del espectro APT. Debido a que el desplazamiento químico para carbonos análogos de una unidad de isopreno a otra se localizan en zonas muy restringidas del espectro, es cuestionable realizar una asignación exacta y confiable para cada uno de ellos, razón por la cual, esta asignación se llevo a cabo por intervalos de desplazamiento químico, adoptándose para ello la numeración mostrada en la figura 10 para los carbonos de cada unidad de isopreno.

La localización de las unidades de isopreno cis y trans en los poliprenoles fué establecida por primera ocasión a través

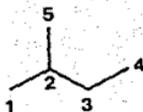


Figura 10

del espectro de RNM ^{13}C por Tanaka y col.⁶⁶ De acuerdo con estudios realizados por estos autores, el desplazamiento químico de los metilenos C(1) de cada unidad de isopreno depende de la geometría en el doble enlace de la unidad de isopreno de la que forma parte y de la unidad inmediatamente unida a él. De esta manera, en una unión de dos unidades con configuración trans, este metileno resuena en 39.72 ppm; en una unión trans-cis, en 31.97 ppm; en una unión de tipo cis-cis, en 32.22 ppm y en una unión cis-trans, en 39.90 ppm (figura 11).

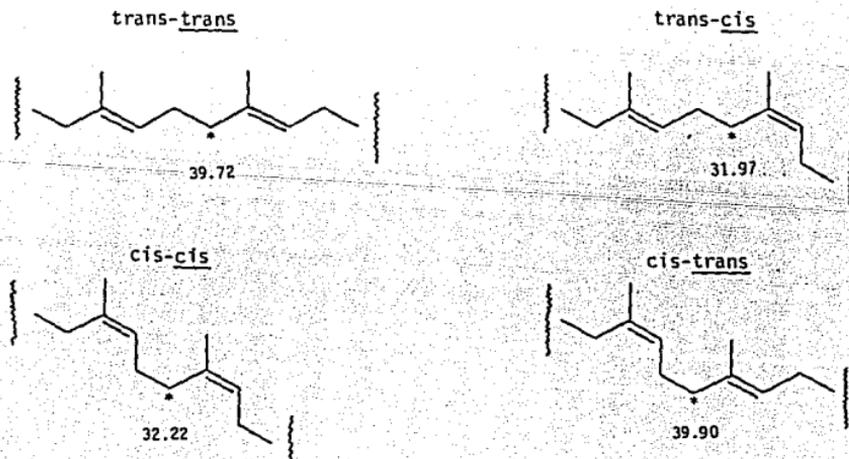


Figura 11

La presencia de las tres primeras señales y la ausencia de la última, permite determinar que las unidades de isopreno trans están unidas secuencialmente.

Se ha establecido que el átomo de carbono C(2) de la unidad omega en una unión ω -trans resuena de 131.0 a 131.3 ppm, en tanto que en una unión de tipo ω -cis se manifiesta en 131.5 a 131.6 ppm⁶⁹ (figura 12). La unión ω -trans en esta muestra queda definida por la señal simple para dicho carbono olefínico, el cual resuena en 131.19 ppm.



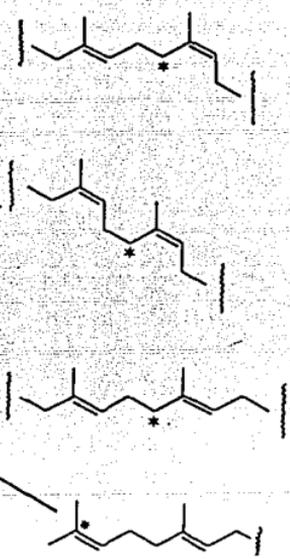
Figura 12

La localización de estos fragmentos y las asignaciones para cada carbono se realizó tomando en consideración compuestos modelo reportados en la literatura^{69,70} y se muestran en la tabla 4.

Tabla 4. Desplazamientos Químicos en RMN ^{13}C de la mezcla de poliprenos.

Desplazamiento Químico (ppm)	Asignación
15.97	-CH ₃ Trans
17.66	-CH ₃ ω (<u>Trans</u>)
23.40	-CH ₃ Cis
25.67	-CH ₃ ω (<u>Cis</u>)
26.21 - 26.51	-CH ₂ Cis
26.61 - 26.65	-CH ₂ Trans
26.74	-CH ₂ ω
31.96	-CH ₂ <u>Trans-Cis</u>
32.18	-CH ₂ <u>Cis-Cis</u>
39.73	-CH ₂ <u>Trans-Trans</u> ω - <u>Trans</u>
58.97	-CH ₂ -OH
124.11 - 124.99	=C-H
131.19	=C ω
134.84	=C <u>Trans-Cis</u>
134.92	=C <u>Cis-α</u>
135.15 - 135.23	=C Cis
135.32	=C <u>Trans-Trans</u>
139.80	=C α

Las evidencias espectroscópicas descritas permiten deducir la secuencia ω -(trans)₄-(cis)₇- α -OH



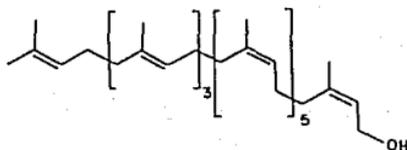
alcohólica de la misma, la cual se realizó una vez determinada la estructura de 46, por comparación de sus datos espectroscópicos en IR y RMN ^1H .

En el espectro de IR de la mezcla de ésteres fueron observables las bandas características de carbonilo (1735 cm^{-1}) y doble ligadura trisustituída (1662 cm^{-1}). En su espectro de RMN ^1H fue posible observar como diferencia notable, con respecto al espectro de 46, el desplazamiento a campo bajo de la señal correspondiente al metileno unido a la función oxigenada (4.55 ppm , $\delta\Delta\ 0.35\text{ ppm}$), lo cual es consistente con la presencia de un éster sobre este átomo de carbono.

La mezcla fue hidrolizada como se indica en la sección experimental, obteniéndose la mezcla de alcoholes correspondiente, de acuerdo con la banda en 3362 cm^{-1} en el espectro de IR y la presencia de la señal doblete característica del hidroximetileno en 4.20 ppm (espectro 5), que es el mismo desplazamiento observado para estos hidrógenos en 46.

Un promedio de diez hidrogenos vinílicos establece la incorporación de diez unidades de isopreno y concuerda con la integración para las señales de metílicos y metilenos. El área bajo la curva de la señal en 1.58 ppm determina tres unidades de isopreno de configuración trans, y la señal en 1.66 ppm indica que son cinco las unidades con geometría cis. El singulete que integra para tres hidrógenos en 1.75 ppm establece la estereoquímica cis en la unidad alfa de isopreno. Estas evidencias espectroscópicas establecen al (Z,Z,Z,Z,Z,Z,E,E)-decaprenol (40), como la

estructura promedio. 40 fue caracterizada previamente de *Cleome spinosa* y *Mallotus japonicus*.⁷⁴⁻⁷⁶



40

Existen informes en la literatura sobre el aislamiento y determinación estructural de compuestos similares,⁷⁷⁻⁸⁸ que de acuerdo con Hemming,⁸⁹ han sido clasificados en tres grupos, dependiendo del número de unidades trans que presentan: (1) dos unidades trans y el resto cis; (2) tres unidades trans y el resto cis; y (3) todas las unidades trans. Las sustancias aisladas de *E. nesiotica* pertenecen al segundo grupo de esta clasificación.

Recientemente Sato y colaboradores han realizado la síntesis estereoselectiva de un análogo de estos compuestos.⁹⁰

De las fracciones eluidas con hexano-acetato de etilo (95:5) del extracto acetónico de *E. nesiotica* fue posible obtener un producto sólido blanco, que revela homogéneamente con sulfato cérico al ser analizado por cromatografía en capa fina. La complejidad observada en su espectro de RMN ¹H (espectro 6) y el ión molecular definido (346 uma) registrado en EM, hicieron suponer que se trataba de una mezcla de sustancias. El

cromatograma obtenido por cromatografía de gases estableció que la muestra consiste en una mezcla de dos sustancias principales (ca. 1:1). La elucidación estructural de las mismas se realizó a partir del análisis e integración de los datos espectroscópicos de la mezcla.

El peso molecular registrado por espectrometría de masas fue de 346, concordante con una fórmula molecular $C_{21}H_{30}O_4$, lo cual sugiere que los dos constituyentes principales de la mezcla, son isómeros.

La presencia de grupos hidroxilo fue establecida por las bandas de absorción en 3570 cm^{-1} característica de hidroxilo libre y $3380\text{-}3340\text{ cm}^{-1}$ debida a hidroxilo quelatado. La banda intensa en 1620 cm^{-1} debe corresponder a un grupo acilo quelatado unido a un anillo aromático que, considerando los máximos de absorción en 223 nm (ϵ 18 919), y 290 nm (ϵ 22 336) en el espectro de UV, es bencenoide. Los fragmentos estructurales deducidos se ilustran en la figura 13.



Figura 13

En el espectro de RMN ^1H (espectro 6), las señales simples con integración para seis hidrógenos cada una (tomando como unidad de integración a la señal de 3.75 ppm) y desplazadas

en 1.82, 1.69 y 1.62 ppm, dan evidencia de la presencia de seis metilos vinílicos, que se localizan, de acuerdo con su multiplicidad sobre carbonos cuaternarios (figura 14).

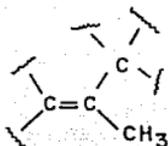


Figura 14

En este mismo espectro, el singulete en 2.09 ppm indica la existencia de cuatro metilenos alílicos, en concordancia con la integración para ocho hidrógenos de esta última señal (figura 15).

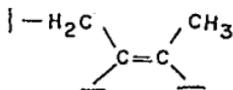


Figura 15

En 5.24 y 5.03 ppm son observables dos triplete con integración para dos hidrógenos cada uno, que son asignados a hidrógenos vinílicos. La multiplicidad de estas señales indica la vecindad de los hidrógenos a un metileno (figura 16).

La asociación de las tres estructuras parciales antes descritas permite establecer el fragmento molecular indicado por la figura 17, que proporciona evidencia de la existencia de cadenas isoprenoides en la molécula.

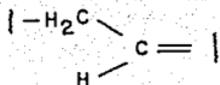


Figura 16

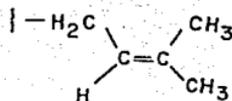


Figura 17

La observación de tres señales para metilos vinílicos y la integración para seis protones de cada una de ellas con referencia a la misma señal de 3.75 ppm (*vide supra*), indica la existencia de tres pares de metilos equivalentes magnéticamente. Esto permite determinar la presencia de dos fragmentos isoprenoides iguales, cada uno con tres metilos, estableciéndose de esta manera, al residuo geranio como constituyente de la estructura, el cual se corrobora por la correlación observada de las señales antes indicadas en el espectro COSY homonuclear.

De acuerdo con una numeración convencional para este fragmento, en el espectro antes mencionado es posible observar la correlación existente entre el hidrógeno vinílico H-3 con el singulete asignado a los protones de los metilenos C(4) y C(5), específicamente con H-4. Por otra parte, el triplete debido al hidrógeno H-7 presenta correlación con el doblete centrado en 3.38 ppm, que corresponde a los hidrógenos H-8 (figura 18).

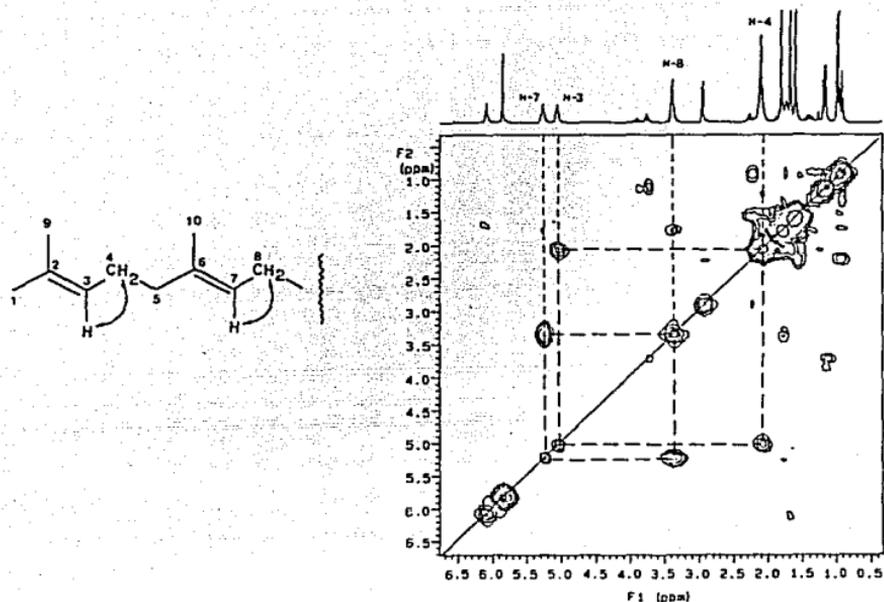


Figura 18

El desplazamiento a campo bajo ($\Delta\delta$ 1.29 ppm) de los hidrógenos del metileno en C(8) con respecto a los hidrógenos de los metilenos en C(4) y C(5) establece la naturaleza bencílica del mismo (figura 19).

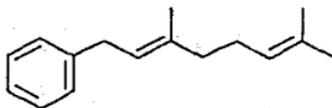


figura 19

Los cinco singletes amplios, que integran para un total

de seis hidrógenos (11.62 ppm, 1H; 11.49 ppm, 1H; 8.5 ppm, 1H; 8.38 ppm, 1H y 6.0 ppm, 2H) observables en el espectro de RMN ^1H de 80 MHz (cuyos datos se informan en la sección experimental) y que desaparecen después de la adición de agua deuterada, se establecen como las señales correspondientes a los protones hidroxílicos.

De acuerdo con la fórmula molecular propuesta ($\text{C}_{21}\text{H}_{30}\text{O}_4$) es posible deducir la presencia de tres hidroxilos en cada componente de la mezcla, uno de los cuales se encuentra quelatado con el carbonilo.

Los tres grupos hidroxilo antes mencionados se ubican sobre el anillo aromático, ya que en el espectro de IR de la mezcla de diacetilderivados de estas sustancias (obtenidos de la acetilación de la mezcla de productos naturales) es posible observar dos bandas para carbonilo: una en 1780 cm^{-1} característica de carbonilo de éster sobre anillo aromático y la de 1620 cm^{-1} de acilo quelatado unido al anillo bencenoide, presente también en el espectro de IR del producto natural.

Un singulete con integración para dos hidrógenos en 5.85 ppm (Espectro 6) sugiere la presencia de un protón aromático altamente protegido en cada componente de la mezcla, que debe encontrarse por tanto en relación *meta* con respecto al acilo, posición en la que el efecto desprotector de grupos electroattractores es mínimo. El desplazamiento químico de esta señal es también indicativo de la ubicación *orto* y *para* de estos hidrógenos con respecto a los hidroxilos, cuyo efecto protector se

hace efectivo en estas posiciones por resonancia (figura 20).

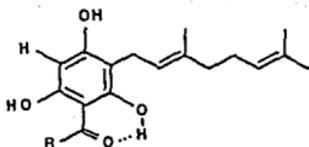


Figura 20

El patrón de sustitución indicado se confirmó por los siguientes hechos experimentales: (a) el desplazamiento a campo alto de la señal debida a los hidrógenos del metileno benílico y del protón vinílico vecino a él (H-7 y H-8. Tabla 5) en el producto diacetilado con respecto al producto natural (H-7 $\Delta\delta = -0.09$ y H-8 $\Delta\delta = -0.12$ ppm), lo que indica que al menos uno de los hidroxilos libres se encuentra en posición orto a la cadena del geranilo, (b) la observación del mismo efecto para el producto triacetilado con respecto al diacetilado (H-7 $\Delta\delta = -0.16$ y H-8 $\Delta\delta = -0.06$), lo que establece la vecindad del grupo geranilo con el hidroxilo quelatado, y (c) el desplazamiento a campo bajo de la señal debida al protón aromático H-5 a medida que el compuesto es acetilado (figura 21).

La naturaleza del grupo acilo para los tres componentes de la mezcla fue determinada por el análisis del espectro homo-COSY (figura 22).

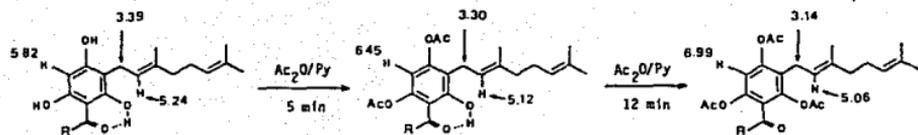


Figura 21

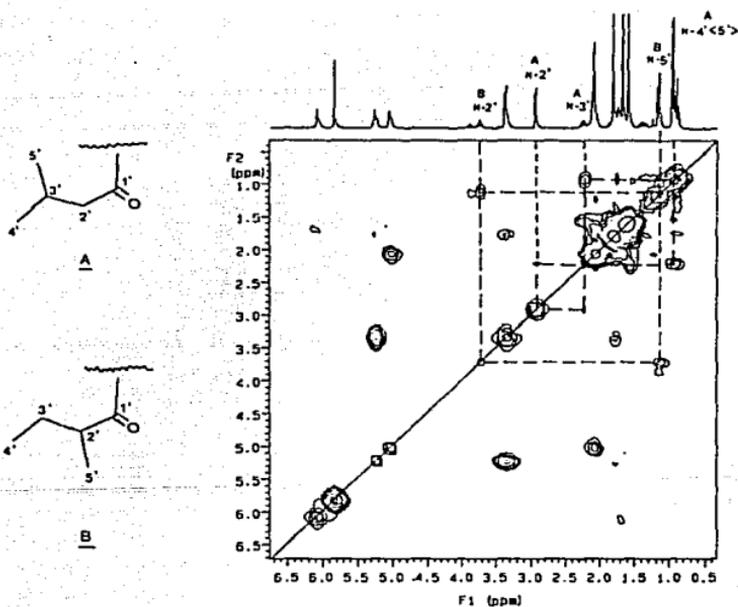
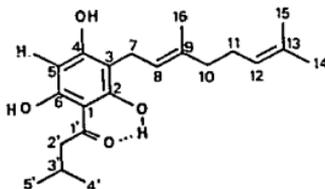


Figura 22

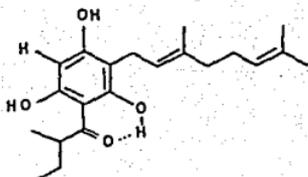
En dicho espectro son observables un doblete en 2.94 ppm ($J = 7$ Hz, 2H), asignable por desplazamiento químico a un metileno alfa a carbonilo y su correlación con el heptuplete en 2.26 ppm ($J = 7$ Hz, 1H), el cual a su vez presenta interacción con el doblete en 0.94 ppm ($J = 7$ Hz, 6H), estas tres señales establecen la presencia del fragmento 3-metil-butanolio y permiten identificar al 1-(3-metilbutanoil)-3-geranil-floroglucinol (47) como uno de los componentes de la mezcla.



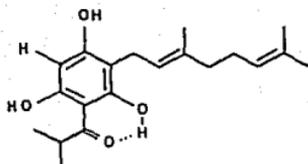
47

Por otra parte, la presencia del fragmento 2-metil-butanolio para el segundo componente de la mezcla, pudo deducirse por la presencia de un múltiplete en 3.75 ppm, el cual presenta correlación con el doblete en 1.15 ppm. Estas dos señales, aunadas a la presencia de un múltiplete en 1.40 ppm y un triplete en 0.84 ppm, indican como segundo componente de la mezcla al 1-(2-metilbutanoil)-3-geranil-floroglucinol (48).

Dos señales adicionales, un heptuplete en 3.90 ppm y un doblete en 1.18 ppm, ambas con $J = 7$ Hz en el espectro de RMN ^1H establecen la presencia de 1-(2-metilpropanoil)-3-geranil-floroglucinol (49) como un constituyente minoritario en la mezcla.

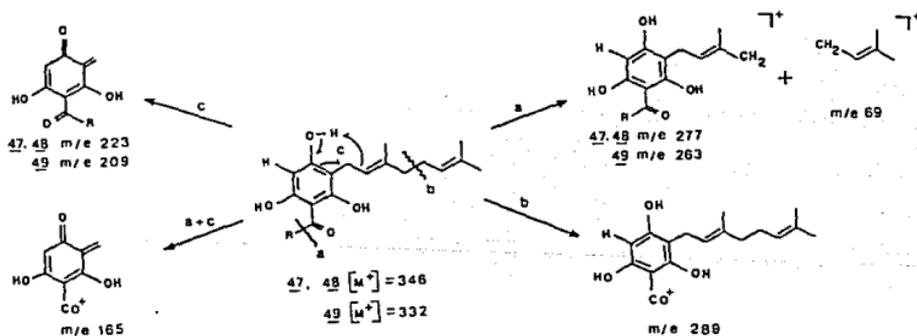


48



49

El análisis del espectro de masas de esta mezcla permite establecer el patrón de fragmentación, el cual es una evidencia adicional a las estructuras propuestas. En particular, la generación de los fragmentos con m/e 289, 277, 223, 165 y 69 a partir del ión molecular para 47 y 48, y los fragmentos con m/e 332, 263 y 209 para 49, son explicables de acuerdo a las rupturas dirigidas por los grupos funcionales presentes (esquema 2).



Esquema 2. Patrón de fragmentación de 47, 48 y 49.

Los datos obtenidos del espectro de RMN ^{13}C (espectro 7) de la mezcla de productos naturales se informan en la sección experimental y son concordantes con las estructuras propuestas. Dichas asignaciones son intercambiables para los carbonos análogos en las tres sustancias y fueron realizadas mediante el análisis comparativo con los datos reportados en la literatura para moléculas análogas.^{45,91}

Estas características espectroscópicas indican por tanto a los derivados del floroglucinol 47, 48 y 49 como los componentes de la mezcla original. 48 y 49 han sido previamente reportados en la literatura,⁹¹ y 47 representa un nuevo producto natural.

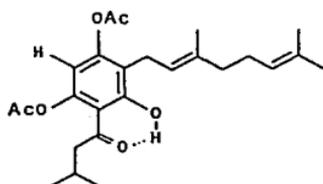
La revisión en la literatura indica que este tipo de sustancias han sido caracterizadas como mezclas, ya que su separación por métodos convencionales muestra una extrema dificultad experimental. Afortunadamente, se logró la purificación del diacetilderivado de 47, (50), mediante cromatografías sucesivas de la mezcla de acetilación.

El producto diacetilado, 50, registra un ión molecular en m/e 430 y presenta en su espectro de IR las bandas características de carbonilo de éster sobre anillo aromático (1780 cm^{-1}) y de grupo acilo quelatado (1620 cm^{-1}).

En el espectro de RMN ^1H (espectro 9) es posible observar la señal singlete del protón del hidroxilo quelatado en 12.5 ppm, la cual se intercambia después de la adición de agua deuterada. Un singlete con integración para un protón en 6.68 ppm caracteriza al único hidrógeno aromático en la molécula.

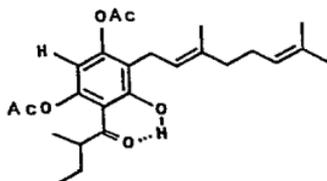
desplazado a campo bajo con respecto al hidrógeno análogo del producto natural ($\Delta\delta = 0.83$ ppm), debido al efecto desprotector que ejercen los grupos acetato vecinos a él. Estos últimos se manifiestan por las señales singulete en 2.28 y 2.35 ppm.

Los grupos geranilo y 3-metil-butanoilo se identifican por sus correspondientes señales descritas en el producto natural, las cuales presentan desplazamientos a campo alto en RMN ^1H después de la reacción de acetilación.



50

El producto diacetilado de 48, (51), fue caracterizado a partir del espectro de RMN ^1H de la mezcla de productos diacetilados (espectro 8) por la eliminación de las señales correspondientes a 50.



51

En el espectro antes mencionado (espectro 8), la identificación de los grupos geranilo, 3-metilbutanoilo de 47 y 2-metilbutanoilo de 48, se corrobora por la correlación observada en el espectro COSY homonuclear, la cual se muestra en la figura 23.

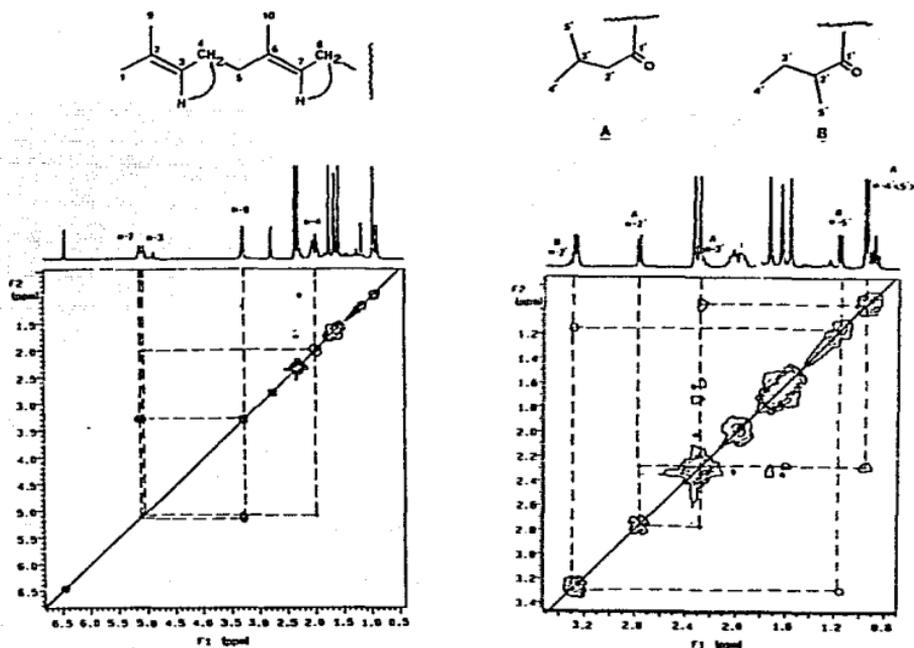
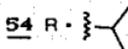
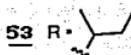
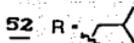
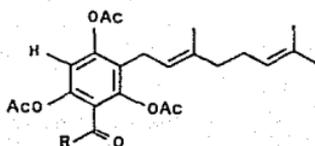


Figura 23

1-(3-metilbutanoil)-3-geranil-triacetilfloroglucinol

(52) y 1-(2-metilbutanoil)-3-geranil-triacetilfloroglucinol (53),
 pudieron ser caracterizados del análisis de su espectro de RMN¹H

(espectro 10), a partir del cual también fue posible determinar la presencia de 1-(2-metilpropanoil)-3-geraniil-triacetilfloroglucinol (54), de acuerdo con la observación de las señales heptuplete en 3.40 ppm ($J = 7$ Hz) y doblete en 1.18 ppm ($J = 7$ Hz).



Los datos de desplazamiento químico en RMN ^1H para estos tres productos naturales y sus productos de acetilación son enlistados en la tabla 5.

Algunos compuestos relacionados estructuralmente con los floroglucinoles recién descritos, han sido informados en la literatura como productos naturales pertenecientes a las familias Compositae³⁻⁴ y Rutaceae.⁴

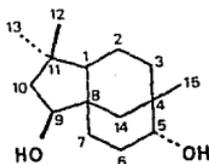
	<u>47</u>	<u>48</u>	<u>49</u>	<u>50</u>	<u>51</u>	<u>52'</u>	<u>53</u>	<u>54</u>
H-5	5.82 (s)	5.82 (s)	5.82 (s)	6.45 (s)*	6.47 (s)*	6.99 (s)*	6.95 (s)*	6.85 (s)*
H-7	3.39 (d)	3.39 (d)	3.39 (d)	3.30 (d)	3.30 (d)	3.14 (d)	3.14 (d)	3.07 (d)
H-8	5.24 (t)	5.24 (t)	5.24 (t)	5.12 (t)	5.12 (t)	5.06 (t)	5.06 (t)	5.06 (t)
H-10	2.10 (s)	2.10 (s)	2.10 (s)	2.04 (m)	2.04 (m)	2.03 (m)	2.03 (m)	2.03 (m)
H-11	2.10 (s)	2.10 (s)	2.10 (s)	1.97 (m)				
H-12	5.06 (t)	5.06 (t)	5.06 (t)	5.06 (t)	5.06 (t)	5.01 (t)	5.01 (t)	5.01 (t)
H-14	1.68 (s)	1.68 (s)	1.68 (s)	1.64 (s)	1.64 (s)	1.64 (s)	1.64 (s)	1.64 (s)
H-15	1.59 (s)	1.59 (s)	1.59 (s)	1.57 (s)	1.57 (s)	1.57 (s)	1.57 (s)	1.57 (s)
H-16	1.81 (s)	1.81 (s)	1.81 (s)	1.74 (s)	1.74 (s)	1.69 (s)	1.69 (s)	1.69 (s)
H-2'	2.94 (d)	3.75 (q)	3.88 (h)	2.78 (d)	3.32 (q)	2.62 (d)	2.80 (q)	3.41 (h)
H-3'	2.26 (h)	1.40 (m)	1.19 (d)	2.29 (h)	1.45 (m)	2.20 (h)	1.40 (m)	1.17 (d)
H-4'	0.97 (d)	0.82 (t)	1.19 (d)	0.97 (d)	0.90 (t)	0.96 (d)	0.92 (t)	1.17 (d)
H-5'	0.97 (d)	1.15 (d)	-	0.97 (d)	1.18 (d)	0.96 (d)	1.12 (d)	-
OH en C-2	11.62 (sa)	11.62 (sa)	11.62 (sa)	13.35 (s)*	13.19 (s)*	-	-	-
OH en C-4	8.50 (sa)	8.50 (sa)	8.50 (sa)	-	-	-	-	-
OH en C-6	6.08 (sa)	6.08 (sa)	6.08 (sa)	-	-	-	-	-
OCOCH ₃	-	-	-	2.20-2.37 (s)				

* Las señales pueden ser intercambiadas.

Tabla 5. Desplazamientos Químicos en RMN ¹H de 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53 y 54.

Finalmente, a partir de las fracciones eluidas con hexano-acetato de etilo (6:4), fue posible obtener una sustancia cristalina que revela en forma homogénea en cromatografía en capa fina como una mancha azul intensa al ser revelada con sulfato cérico. Este compuesto presenta una banda en 3614 cm^{-1} en el espectro de IR, característica de hidroxilos presentes en la molécula.

En el espectro de RMN ^1H (espectro 11) es posible observar dos señales asignables, por su desplazamiento químico, a hidrógenos geminales a hidroxilo, una como doble de doble en 3.76 ppm y la segunda como singulete amplio ($W_{1/2} = 7\text{ Hz}$) en 3.31 ppm , identificando a este compuesto como un diol. Los tres metilos presentes en la molécula presentan señales de resonancia en 1.04 , 0.95 y 0.86 ppm en este mismo espectro. Esta sustancia fue identificada, por comparación con una muestra auténtica, como clovandiol (55).



55

De acuerdo con consideraciones biogenéticas, el clovandiol tiene como precursor biogenético al epóxido de cariofileno, el cual también es constituyente de esta especie.⁹⁵

II. DETERMINACION ESTRUCTURAL DE LOS CONSTITUYENTES QUIMICOS DE

Esenbeckia beltzencis

La aplicación de los métodos cromatográficos convencionales a los extractos orgánicos de las partes aéreas de esta especie, como se describe en la sección experimental, permitió la separación en sus componentes.

De las fracciones de menor polaridad obtenidas a partir de la cromatografía del extracto hexánico, fue posible aislar, en orden creciente de polaridad, una mezcla de ésteres de poliprenol siendo el éster de decaprenol el componente promedio, y un éster de β -sitosterol, caracterizados como sus correspondientes alcoholes 40 y 42, obtenidos mediante hidrólisis en medio básico, así como al epóxido de cariofileno (43). Estos tres metabolitos secundarios también fueron aislados de *E. nesiotica* y su elucidación estructural se describe en la parte correspondiente a esta especie.

En fracciones de mayor polaridad se logró la obtención de una mezcla de tres sustancias dos de las cuales fueron purificadas mediante cromatografía en capa fina, lográndose la identificación de (Z,Z,Z,Z,Z,Z,E,E)-decaprenol (40) como el constituyente menos polar de la mezcla.

El compuesto de polaridad intermedia presenta consistencia aceitosa, es incoloro y de olor agradable. El peso molecular de 220 y el análisis de sus espectros de IR y RMN ¹H

(espectro 12), permiten suponer a éste como un isómero estructural del epóxido de cariofileno.

La fórmula molecular $C_{15}H_{24}O$ determina cuatro insaturaciones en la molécula, mismas observadas para el epóxido de cariofileno, sin embargo, la presencia de una banda en 3393 cm^{-1} característica de hidroxilo en el espectro de IR y la existencia de sólo dos hidrógenos vinílicos en la molécula (pertenecientes a un metileno exocíclico), de acuerdo con la integración para las señales presentes en la zona de resonancia de dichos hidrógenos (4.70 y 4.67 ppm) en el espectro de RMN ^1H , permiten determinar a éste como un sesquiterpeno tricíclico.

Tres metilos terciarios son evidenciados por los singletes con desplazamiento en 1.26, 1.04 y 1.02 ppm, el primero de los cuales ubica a uno de estos metilos sobre el átomo de carbono unido al hidroxilo. Los dos metilos restantes se encuentran ubicados sobre carbono cuaternario, de acuerdo con su multiplicidad, estableciéndose que deben formar parte de un grupo *gem*-dimetilo. El grupo hidroxilo se supone terciario debido a su nula reactividad en las condiciones normales de acetilación (figura 24).



Figura 24

La presencia de un anillo de ciclopropano es manifiesta por las señales doble de doble en 0.45 ppm y doble de doble de doble en 0.71 ppm, que establecen, de acuerdo con su multiplicidad, su vecindad a dos y tres hidrógenos diferentes respectivamente (figura 25).

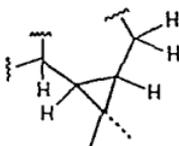
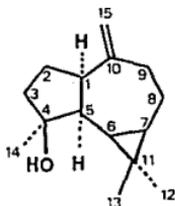


Figura 25

Estos fragmentos estructurales, las características observadas a partir de los espectros de RMN ^{13}C (espectro 13) y APT y el valor obtenido para la rotación óptica, permiten determinar la estructura del (+)-espatulenol (56) para esta substancia, el cual fue aislado por primera ocasión por Bowyer y Jefferies en 1963 a partir de *Eucalyptus spathulata*.⁹⁶



56

El (+)-espatulenol ha sido informado como constituyente de *Citrus junos*,⁹⁷ *Metampodium divaricatum*⁹⁸ y *Salvia sclarea*.⁹⁹

entre otras especies. Inagaki y Abe,¹⁰⁰ en un análisis del espectro de RMN ¹³C obtenido a partir del experimento INEPT de esta molécula, llevaron a cabo las asignaciones de desplazamiento químico para cada uno de los carbonos presentes en la molécula. A través de la correlación de los desplazamientos químicos COSY heteronuclear (¹H-¹³C) y COSY homonuclear (¹H-¹H), determinaron la conectividad H-C en la molécula, llevando a cabo en forma inequívoca las asignaciones para cada señal observada en el espectro de RMN¹H. Las asignaciones para el (+)-espatulenol aislado de *E. pentaphylla* se muestran en la figura 26.

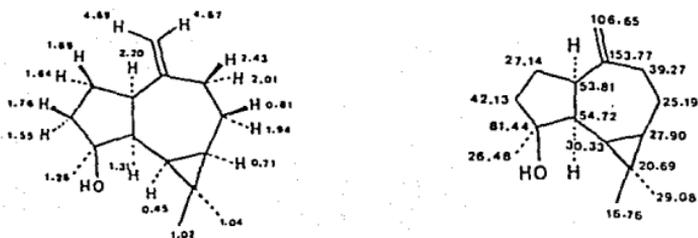
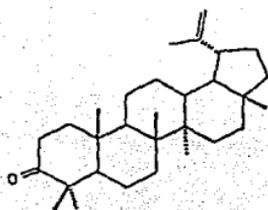


Figura 26

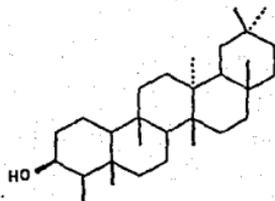
Los dos compuestos sesquiterpénicos aislados a partir de este extracto: epóxido de cariofileno (43) y (+)-espatulenol (56) presentan actividad como disuasivos de la alimentación de insectos.⁹⁶

Adicionalmente, de acuerdo con sus parámetros espectroscópicos y la analogía de los mismos con los datos informados en la literatura, tres compuestos de naturaleza

triterpénica y un esteroi pudieron ser identificados, lupenona (57), fridellina (45), fridelanol (58) y β -sitosterol (42).



57



58

El β -sitosterol (42), la fridellina (45) y el fridelanol (58) son los constituyentes de menor polaridad aislados a partir del extracto de acetato de etilo y también están presentes en el extracto hexánico.

En este mismo extracto, de las fracciones eluidas con hexano-acetato de etilo 7:3, se obtuvo un producto sólido de color blanco, que en cromatografía en capa fina se observa como una mancha roja homogénea al ser revelado con luz ultravioleta. La recristalización de éste dió como resultado la formación de dos tipos de productos sólidos, uno amorfo y otro cristalino cuya separación fue extremadamente difícil por métodos cromatográficos. Afortunadamente, la separación manual de los mismos fue posible y el análisis de sus espectros de IR en solución, obtenidos en forma paralela, indicó que se trataba de dos sustancias diferentes.

El producto sólido amorfo presenta un peso molecular de 273 de acuerdo con su espectro de masas. El valor impar del mismo indica la presencia de un número impar de átomos de nitrógeno en la molécula. En su espectro de IR es observable una banda en 1628

cm^{-1} característica de doble ligadura en anillo aromático. El trazo del espectro de absorción al UV (espectro 14) de este compuesto es característico de un núcleo furoquinolinico. Específicamente, los máximos de absorción en 249 nm y la banda ancha compleja en la región de 295 a 334 nm¹⁰² confirman este esqueleto fundamental.

En el espectro de RMN ¹H (espectro 15), se observa un sistema AB asignable al par de hidrógenos de la doble ligadura del anillo furánico; la señal centrada en 7.55 ppm (d, J = 3Hz) corresponde al hidrógeno alfa al oxígeno y la señal en 6.98 ppm (d, J = 3 Hz) al hidrógeno beta (figura 27).

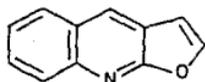


Figura 27

Dos singuletes en 4.25 y 4.37 ppm con integración para tres hidrógenos cada uno, evidencian la presencia de dos metoxilos. Las consideraciones biogenéticas para este tipo de compuestos¹⁰³ y el desplazamiento paramagnético en 0.12 ppm para uno de estos metoxilos, sugiere que éste se encuentra ubicado en C(4),¹⁰⁴ posición sobre la cual el nitrógeno ejerce un efecto desprotector por resonancia (figura 28).

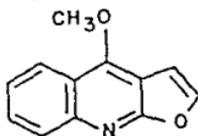
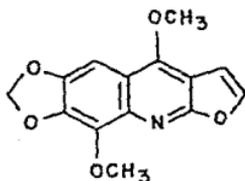


Figura 28

La presencia de un grupo metilendioxo fue confirmada por la señal singlete que integra para dos hidrógenos en 6.02 ppm en el espectro de RMN¹H. Finalmente, un singlete en 7.24 ppm en este mismo espectro, es asignable a un hidrógeno aromático. La ubicación de este protón, del grupo metilendioxo y del metoxilo restante se hizo por comparación de los desplazamientos químicos antes mencionados para los hidrógenos correspondientes a cada uno de ellos con los datos reportados en la literatura, lo que permitió identificar a este compuesto como la flindersiamina (30).⁶¹



30

La estructura propuesta está de acuerdo con los datos obtenidos del espectro de RMN ¹³C (espectro 16) para este compuesto,¹⁰⁵ cuyas asignaciones se ilustran en la figura 29.

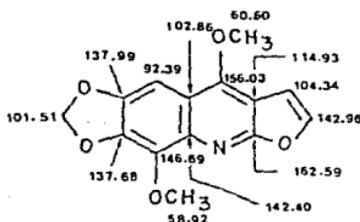
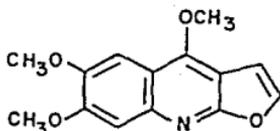


Figura 29

El producto sólido cristalino presenta el ión molecular en m/e 259 y el perfil característico de núcleo de furoquinolina en su espectro de UV.

En el espectro de RMN^1H (espectro 17), es observable nuevamente el sistema AB del anillo furánico como un par de dobletes centrados en 7.52 y 7.00 ppm ($J = 3$ Hz), y la señal singlete característica del metoxilo en C(4) en 4.42 ppm. Un par de singletes con integración para un hidrógeno cada uno, en 7.43 y 7.33 ppm, indican la presencia de dos hidrógenos aromáticos en posición para uno respecto del otro, y dos metoxilos adicionales, son confirmados por la presencia de los singletes correspondientes en 4.04 y 4.02 ppm.

Las anteriores evidencias espectroscópicas caracterizan como kokusaginina (28) a este producto natural.



28

Cabe mencionar que 28 ha sido previamente caracterizado de *Esenbeckia litoralis*⁶⁰ y *E. pilocarpoides*,⁶¹ mientras que 30 se ha aislado de *E. febrifuga*,⁵⁷ *E. flava* y *E. pilocarpoides*.⁶¹

III. OXIDACION ESPONTANEA DE ALCALOIDES FUROQUINOLINICOS

Durante el proceso de aislamiento de la flindersiamina 30 y la kokusaginina 28, se observó que estas sustancias sufren descomposición, obteniéndose como resultado de la misma, una mezcla compleja de sustancias en ambos casos. El único producto aislable de cada mezcla es un sólido amorfo amarillo que revela en forma homogénea de color verde fosforescente al UV al ser analizado por cromatografía en capa fina y que es considerablemente más polar que los alcaloides de partida.

Una experimentación detallada sobre dicha transformación, la cual se describe en la sección experimental, indicó que ésta se lleva a cabo en presencia de luz y aire, por lo que presumiblemente se trata de una oxidación. A continuación se describirá la determinación estructural de los productos de la transformación.

El producto derivado de la kokusaginina registra un peso molecular de 263 en su análisis por espectrometría de masas, lo cual indica un aumento de cuatro unidades de masa atómica a partir del producto natural. El estudio del espectro de IR permite establecer la presencia de dos carbonilos: uno de amida (1647 cm^{-1}), el cual forma parte de un núcleo de 2-quinolona, de acuerdo con los máximos de absorción característicos para este sistema en 233, 260, 315 y 337 nm en el espectro de UV¹⁰² (espectro 18), y uno de aldehído (1683 cm^{-1}), confirmado por la señal no intercambiable con agua deuterada en 10.35 ppm en el espectro de RMN ¹H (espectro 19). Por el análisis de este último espectro es posible confirmar la presencia de los dos hidrógenos aromáticos

(7.25 ppm, 1H, s y 6.79 ppm, 1H, s) y los tres metoxilos (4.14 ppm, 3H, s; 3.96 ppm, 3H, s y 3.85 ppm, 3H, s) establecidos anteriormente para la kokusagrina (28), lo que indica que el producto de descomposición conserva el mismo patrón de sustitución (figura 30).

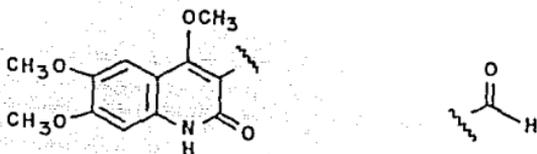
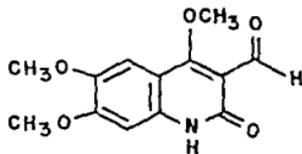


Figura 30

La ausencia del sistema AB del anillo furánico en este mismo espectro indica que durante la transformación éste se ve modificado, siendo por tanto C(3) la única posibilidad de ubicación del grupo aldehído, debido a que se estableció con anterioridad el núcleo de 2-quinolona como estructura base para estas sustancias. De esta manera, queda establecida la estructura para este compuesto como 3-formil-4,6,7-trimetoxi-2-quinolona (59).



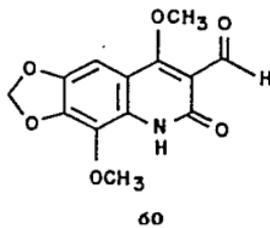
59

La estructura del producto de oxidación de la flindersiamina pudo ser elucidada tomando como referencia la

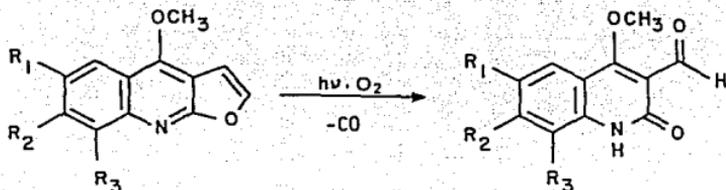
estructura establecida para 59 y por la comparación de sus características espectroscópicas con las del producto natural.

En su espectro de IR nuevamente es observable la presencia de las bandas para carbonilo de anida (1645 cm^{-1}) y de aldehído (1680 cm^{-1}).

En el espectro de RMN^1H (espectro 20) es posible observar el protón aldehídico como un singulete en 10.41 ppm, el singulete para el protón aromático en C(5) en 7.06 ppm, la señal singulete en 6.04 ppm característica del grupo metilendioxi en C(6) y C(7) y los dos grupos metoxilo en 4.18 y 4.16 ppm. Un singulete amplio en 8.95 ppm es asignada al protón lactámico, de acuerdo con el intercambio observado al adicionar agua deuterada a la muestra. Este análisis permite establecer la estructura de 3-formil-4,8-dimetoxi-6,7-metilendioxi-2-quinolona (60) como producto de oxidación de la flindersiamina (30).



La reacción que representa la oxidación de estos productos naturales se muestra en el esquema 3. De acuerdo con ella, la diferencia de cuatro unidades de masa entre el peso molecular del producto natural (kokusaginina, 28) y su producto de oxidación (59), mencionada anteriormente, es debida a la ganancia de oxígeno y la pérdida de monóxido de carbono durante la transformación.



(28) $R_1=R_2= \text{OCH}_3$; $R_3= \text{H}$

(58) $R_1=R_2= \text{OCH}_3$; $R_3= \text{H}$

(30) $R_1=R_2= \text{OCH}_2\text{O}$; $R_3= \text{OCH}_3$

(59) $R_1=R_2= \text{OCH}_2\text{O}$; $R_3= \text{OCH}_3$

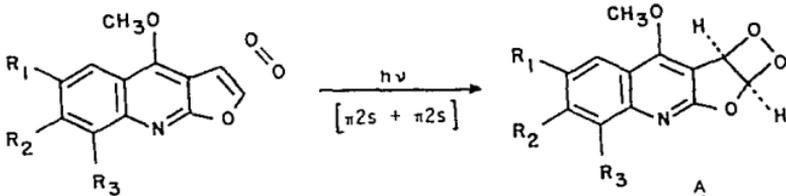
Esquema 3. Reacción de oxidación espontánea de los alcaloides furoquinolinicos 28 y 30.

El análisis de las cromatoplasmas analíticas de las muestras en descomposición permitió observar, como se indicó anteriormente, la obtención de una mezcla compleja de sustancias como producto de la oxidación. La resolución cromatográfica de esta mezcla fue parcial, logrando obtener en forma pura sólo los productos más polares en cada caso (ver sección experimental).

Con el objeto de obtener información acerca de las sustancias adicionales presentes, algunas fracciones de la columna cromatográfica de la mezcla de descomposición de kokusaginata (28), fueron analizadas por RMN ^1H y RMN ^{13}C . Las evidencias espectroscópicas obtenidas a partir de este estudio y los datos reportados en la literatura para reacciones análogas permitieron proponer un posible mecanismo para esta transformación.

En el espectro de RMN ^1H (espectro 21) de la mezcla antes mencionada se observa el par de dobletes característico de

un sistema AB en 6.18 y 5.58 ppm ($J = 6$ Hz). La pertenencia de estas dos señales al sistema antes indicado se confirmó mediante la irradiación de cada una de las ramas del mismo, lo que produjo la simplificación a singulete de la señal restante. El desplazamiento químico para estas señales permite determinar que la señal en 6.18 ppm corresponde a un hidrógeno de tipo acetálico,¹⁰⁷ en tanto que el doblete en 5.58 ppm puede asignarse al hidrógeno de un metino bencilico. Estas evidencias espectroscópicas permiten establecer al intermediario A en el mecanismo de transformación, cuya presencia puede explicarse a través de una reacción de cicloadición [$\pi 2s + \pi 2s$] de oxígeno al doble enlace del anillo furánico (esquema 4).



Esquema 4. Reacción de cicloadición de oxígeno al doble enlace del anillo furánico.

La cicloadición de oxígeno a derivados furánicos en presencia de luz y fotosensibilizador se encuentra bien documentada en la literatura. El intermediario A sufre apertura del anillo de dioxetano, generando el intermediario dicarbonílico B¹⁰⁷⁻¹⁰⁹ (esquema 5).



Esquema 5. Apertura del anillo de dioxetano.

La transformación del intermediario dicarbonílico al producto final involucra la conversión del carbono base del formiato a carbonilo. Esta transformación puede ocurrir a través de una de las tres posibilidades mecanísticas ilustradas en el esquema 6.

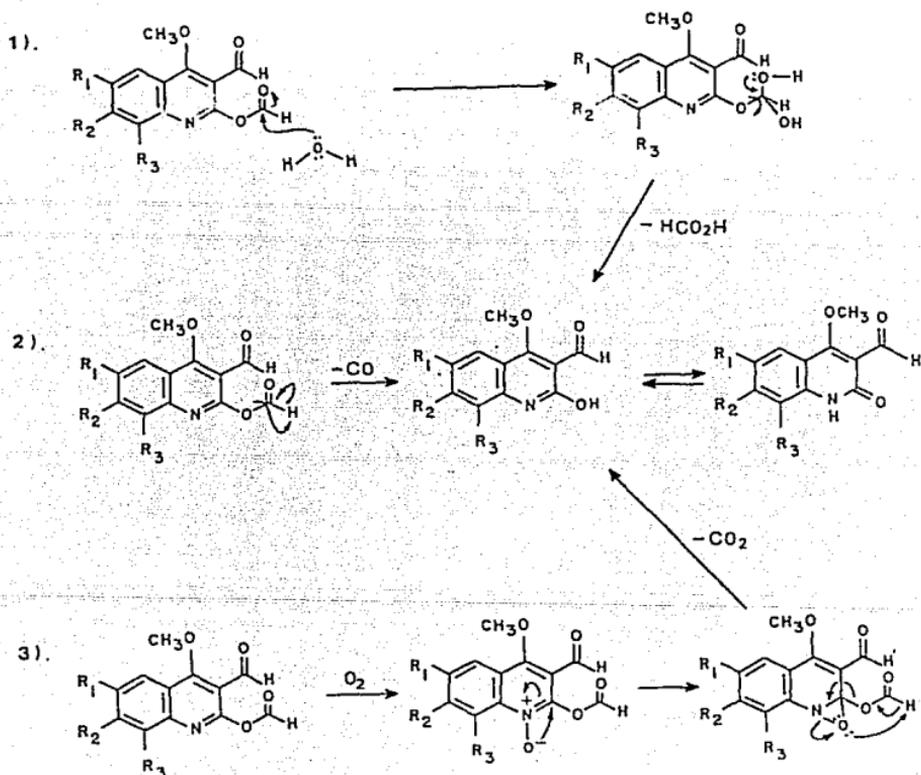
La ruta 1 involucra la hidrólisis del formiato de B, en contraste con la ruta 2, que implica la decarbonilación directa de este grupo funcional. La posibilidad 3 sugiere la N-oxidación de B, lo que genera la oxaziridina C, la cual sufre pérdida de CO₂ con apertura de la misma, para generar el producto.

No se cuenta con evidencias experimentales que permitan determinar la ruta mecanística de esta última transformación, para ello, se hace necesario llevar a cabo experimentación adicional.

Es de particular importancia la determinación estructural de los productos de transformación espontánea de los productos naturales, ya que se contribuye al conocimiento de la reactividad química de estos últimos y puede haber un mayor discernimiento acerca del origen natural de los mismos, o de su posible formación en el proceso de aislamiento y caracterización.

En este contexto, puede mencionarse que recientemente fueron caracterizados los productos de la oxidación espontánea de la reserpina.¹¹⁰

Esquema 6. Posibilidades mecánísticas para la transformación del intermediario B a producto.



SECCION EXPERIMENTAL

I. AISLAMIENTO Y PROPIEDADES FISICAS Y ESPECTROSCOPICAS
DE LOS CONSTITUYENTES QUIMICOS DE *Esenbeckia nestotica*

Esenbeckia nestotica Standl. (C. H. Ramos 84) fue recolectada en la carretera Playa Azul-Tecomán, Municipio de Aquila, Michoacán. El respaldo se encuentra depositado en el Herbario Nacional (MEXU). El material fue identificado por la M. en C. Clara Hilda Ramos, de la Facultad de Ciencias de la UNAM.

1.9 Kg de planta seca (hojas) fueron macerados con hexano durante tres días y en dos ocasiones, proceso que permitió la obtención de 37.5 g del extracto correspondiente, una vez que fue eliminado el disolvente por destilación a presión reducida.

En una segunda maceración, efectuada con acetona, se obtuvieron 108 g de residuo.

El extracto hexánico fue adsorbido en 35 g de sílice 70-230 y fraccionado por cromatografía a presión reducida en una columna empacada con 190 g de gel de sílice para placa, suspendida en n-hexano. Este mismo disolvente fue utilizado como sistema eluyente inicial, colectándose fracciones de 250 ml.

En las fracciones iniciales (3-12) obtenidas a partir de esta columna, se logró la elución de una mezcla de sustancias de consistencia cerosa, que de acuerdo con sus propiedades espectroscópicas contienen en su estructura un grupo éster. La purificación de 172 mg de esta mezcla se ensayó por cromatografía en columna, utilizando gel de sílice 70-230 impregnada con una solución de nitrato de plata al 5% como fase estacionaria y

n-hexano como sistema eluyente.¹¹¹ La elución de noventa fracciones de 50 ml permitió recuperar 153 mg de la mezcla de sustancias originalmente aplicada, sin lograr su resolución.

En un intento más por llevar a cabo dicha separación, se realizó la hidrólisis alcalina de los 153 mg de la mezcla, utilizando para ello 10 ml de una solución al 10% de KOH/MeOH:H₂O (95:5), refluendo por 30 minutos, durante los cuales la reacción fue controlada por cromatografía en capa fina. La extracción sin neutralización de la mezcla de reacción con tres porciones de 20 ml de n-hexano permitió la separación de la fracción alcohólica de la misma.

De acuerdo con el análisis de las placas cromatográficas obtenidas, esta fracción alcohólica estuvo constituida por una mezcla de tres sustancias, cuya separación se efectuó por cromatografía preparativa en placa fina. 123 mg de la misma, aplicados en dos placas de 20 X 20 cm y 1 mm de espesor, se eluyeron con n-hexano-acetato de etilo (95:5) en dos ocasiones, lográndose la separación de sus componentes.

El compuesto de menor polaridad corresponde de acuerdo con sus propiedades físicas y espectroscópicas a una mezcla de poliprenoles cuyo componente promedio es el (Z,Z,Z,Z,Z,Z,E,E)-decaprenol (40),⁷⁴⁻⁷⁶ esta mezcla se obtuvo como un aceite incoloro.

Rendimiento: 48 mg (0.0025 %)

IR (película): 3362, 2961, 2919, 2855, 1665, 1448, 1376, 1000 y 836 cm^{-1} .

RMN ^1H (CDCl_3 , espectro 5) [ó (integración, multiplicidad, J, Asignación): 5.45 (1H, t, J = 7 Hz, = $\text{CH}-\text{CH}_2\text{OH}$), 5.13 (9H, s a, $W_{1/2}$ = 10 Hz, = $\text{CH}-\text{CH}_2-$), 4.09 (2H, d, J = 7 Hz, = CH_2-OH), 2.04 (36H, s, = CH_2-), 1.75 (3H, s, = $\text{CH}(\text{CH}_3)-\text{CH}_2\text{OH}$), 1.68 (18H, s, = $\text{C}(\text{CH}_3)=\text{CH}-\text{cis}$), 1.62 (12H, s, = $\text{C}(\text{CH}_3)=\text{CH}-\text{trans}$).

El lupeol (41) es el compuesto de polaridad intermedia.

Rendimiento: 27.4 mg (0.0014 %)

Pf. 196-198 $^{\circ}\text{C}$.

IR (CHCl_3): 3611, 2946, 2868, 1458, 1380, 1026 y 887 cm^{-1} .

RMN ^1H (CDCl_3 , 300 MHz): 4.68 (1H, d, J = 3 Hz, H_2e), 4.58 (1H, d, J = 3 Hz, H_2d), 3.2 (1H, dd, J = 5.8, 10.5 Hz, H_3), 2.38 (2H, ddd, H_2), 1.70 (3H, s), 1.04 (3H, s), 0.98 (3H, s), 0.95 (3H, s), 0.82 (3H, s), 0.79 (3H, s), 0.76 (3H, s).

EM (Introducción directa, 70 eV); m/e [especie] (Intensidad relativa en %): 426 [M^+] (15.4), 411 [M^+-CH_3] (6.2), 393 [$\text{M}^+-\text{CH}_3-\text{H}_2\text{O}$] (2.5), 218 (34.7), 203 (42), 189 (32), 135 (26), 133 (24), 123 (25), 121 (47), 119 (38), 109 (46), 107 (61), 105 (46), 95 (57), 93 (57), 91 (52), 81 (57), 79 (49), 69 (91), 68 (89), 67 (86), 57 (62), 55 (100), 43 (98), 41 (86).

Finalmente, el compuesto de mayor polaridad pudo ser identificado como β -sitosterol (42), cuyas propiedades físicas y espectroscópicas son las siguientes:

Rendimiento: 31 mg (0.0016 %)

Pf. 138-139 °C.

IR (CHCl₃): 3608, 2959, 2938, 2869, 1464, 1380, 1044 y 956 cm⁻¹.

RMN ¹H (CDCl₃): 5.12 (1H, dd, J = 6,6 Hz, H₆), 3.41 (1H, dddd, J = 11, 6Hz, H₉), 2.25 (2H, d, J = 6Hz, H₂), 1.51 (1H, sa, -OH), 0.89 (3H, s, H₁₈), 0.79 (3H, d, J = 7 Hz, H₂₁), 0.72 (3H, t, J = 7 Hz, H₂₉), 0.69 (6H, d, J = 7 Hz, H_{26,27}), 0.55 (3H, s, H₁₉).

EM: 414 [M⁺], 396 [M⁺-H₂O] (27), 43 (100).

Con el objeto de obtener la fracción ácida de los ésteres, la fase metanólica remanente fue acidulada y extraída con tres porciones de 20 ml de acetato de etilo, sin lograr la extracción de la misma. La operación fue repetida con cloroformo con los mismos resultados, razón por la cual su caracterización no pudo llevarse a cabo.

De las fracciones 13-23 de la columna inicial, eluidas aún con n-hexano se obtuvo una sustancia cristalina (cristales incoloros en forma de agujas), que fue identificada como fridellina (45).

Rendimiento: 204 mg (0.0107 %)

Pf: 262-264 °C.

IR (CHCl₃): 2943, 2867, 1703, 1455 y 1388 cm⁻¹.

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz): 2.42 (1H, dd, J = 5,2 Hz, Hz), 2.375 (1H, dd, J = 5,2 Hz, Hz), 2.25 (1H, C, J = 6 Hz, Hz), 1.18 (3H, s), 1.05 (3H, s), 1.00 (3H, s), 0.993 (3H, s), 0.95 (3H, s), 0.87 (3H, d, J = 7 Hz, Hz), 0.86 (3H, s), 0.72 (3H, s).

RMN ¹³C (CDCl₃, 75 MHz) δ (Multiplicidad, Asignación): 213.19 (s, C₉), 59.47 (d, C₁₀), 58.22 (d, C₄), 53.10 (d, C₆), 42.79 (d, C₁₈), 41.54 (t, C₂), 41.29 (t, C₆), 41.16 (s, C₅), 39.70 (s, C₁₄), 39.26 (t, C₂₂), 38.31 (s, C₁₉), 37.45 (s, C₉), 36.01 (t, C₁₆), 35.63 (t, C₁₁), 35.35 (t, C₁₉), 35.04 (q, C₃₀), 32.78 (t, C₂₁), 32.43 (t, C₁₂), 32.10 (q, C₂₈), 31.79 (q, C₂₉), 30.52 (t, C₁₅), 30.01 (s, C₁₇), 28.19 (s, C₂₀), 22.31 (t, C₁), 20.29 (q, C₂₇), 18.70 (q, C₂₆), 18.26 (t, C₇), 17.97 (q, C₂₅), 14.68 (q, C₂₄), 6.86 (q, C₂₃).⁶⁵

EM: 426 [M⁺] (29), 411 [M⁺-CH₃] (7.4), 302 (16), 274 (22), 273 (37), 246 (25), 231 (25), 218 (29), 205 (24), 191 (30), 179 (32), 164 (36), 125 (59), 123 (60), 121 (40), 109 (77), 107 (49), 96 (52), 95 (100), 81 (60), 79 (36), 69 (96), 67 (62), 55 (93), 43 (33), 41 (53).

Las aguas madres obtenidas de la filtración de la fridolina (45), estaban constituidas por una sustancia mayoritaria que revela de color azul intenso con sulfato cérico, por fridolina y por compuestos de mayor polaridad. La

purificación de la sustancia mayoritaria se logró mediante cromatografía preparativa en placa fina. 179 mg de la mezcla fueron aplicados en una placa cromatográfica, que fue desarrollada con n-hexano-acetato de etilo (9:1), obteniéndose un aceite incoloro de olor agradable, que de acuerdo a sus propiedades espectroscópicas corresponde al β -epóxido de carlofileno (43).⁶⁴

Rendimiento: 117 mg (0.0061 %)

$[\alpha]_D^{25}$: - 35.15° (29.7 mg/ml, hexano).

$[\phi]$: - 77.33°

IR (CHCl₃): 2950, 2930, 2860, 1630, 1450, 1366, 1359, 892, 860 cm⁻¹.

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz, espectro 1): 4.98 (1H, d, J = 2 Hz, H_{14a}), 4.86 (1H, d, J = 2 Hz, H_{14b}), 2.88 (1H, dd, J = 4, 10 Hz, H₅), 2.62 (1H, ddd, J = 8, 8, 8 Hz, H₉), 1.19 (3H, s, H₁₅), 1.01 (3H, s, H₁₂ ó H₁₃), 0.98 (3H, s, H₁₂ ó H₁₃).

RMN ¹³C (CDCl₃, 75 MHz, espectro 2): 151.74 (s, C₉), 112.73 (t, C₁₄), 63.80 (d, C₅), 59.94 (s, C₄), 50.71 (d, C₁), 48.72 (d, C₆), 39.76 (t, C₇), 39.14 (t, C₃), 34.03 (s, C₁₁), 30.19 (t, C₆), 29.90 (q, C₁₂), 29.71 (t, C₁₀), 27.22 (t, C₂), 21.64 (q, C₁₃), 17.01 (q, C₁₅).

EM: 220 [M⁺] (0.7%), 205 [M⁺-CH₃] (2), 187 [M⁺-CH₃-H₂O] (3), 177 [M⁺-CH₃-CO] (3), 136 (10), 123 (10), 121 (13), 109 (18), 107 (20), 95 (22), 91 (33), 79 (44), 69 (29), 67 (28), 55 (25), 43 (63), 41 (100), 39 (42).

A partir de la fracción 26 y hasta la 35 se eluyó una mezcla de sustancias de acuerdo con el análisis por cromatografía de líquidos de alta presión efectuado a estas fracciones. El análisis espectroscópico de dicha mezcla permitió establecer su naturaleza poliprenólica, logrando determinar la estructura promedio como a continuación se describe:

Rendimiento de la mezcla: 1200 mg (0.063 %)

(Z,Z,Z,Z,Z,Z,Z,Z,E,E,E)-tridecaprenol (46).

UV (Hexano) nm (ϵ): 197 (11.1456×10^4).

IR (CHCl₃): 3330, 2960, 2920, 2850, 1665, 1445, 1378, 1000, 830 cm⁻¹.

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz, espectro 3): 5.45 (1H, J = 7 Hz, =CH-CH₂-OH), 5.12 (12H, sa, W_{1/2} = 8 Hz, =CH-CH₂-), 4.2 (2H, d, J = 7 Hz, =CH-CH₂-OH), 2.03 (48H, sa, =CH-CH₂-), 1.75 (3H, s, -C(CH₃)=CH-CH₂-OH), 1.67 (24H, s, -C(CH₃)=CH- cis), 1.58 (15H, s, -C(CH₃)=CH- trans).

RMN ¹³C (CDCl₃, 75 MHz, espectro 4): 139.80 (s, C₂ α), 136.02 (s, C₂ trans-cis), 135.32 (s, C₂ trans-trans), 135.23, 135.20, 135.15 (s, C₂ cis), y 134.92 (s, C₂ cis- α), 134.84 (s, C₂ trans-trans), 131.19 (s, C₂ w-trans), 124.99 y 124.91 (d, C₃ cis), 124.85, 124.79, 124.50, 124.44, 124.37, 124.29, 124.23, 124.21 y 124.11 (d, C₃ ω , C₃ trans, y C₃ α), 58.97 (t, C₄ α), 39.73 y 39.70 (t, C₁ trans-trans y C₁ w-trans), 32.18, 32.04 y 32.02 (t, C₁ cis-cis), 31.96 (t, C₁ trans-cis), 26.74 (t, C₄ ω), 26.65 y 26.61 (t, C₄ trans), 26.51, 26.49, 26.37, 26.29 y 26.21 (t, C₄ cis).

25.67 (q, Cs w-trans), 23.40 (q, Cs cis), 23.34 (q, Cs α), 17.66 (q, Cs ω), 15.97 (q, Cs trans).

Esta mezcla fue fraccionada en dos mezclas de menor complejidad por cromatografía preparativa (HPLC) en fase reversa, utilizando n-propanol como fase móvil. El espectro de RMN ^1H de las mismas presenta el mismo trazo que el de la mezcla original, diferenciándose únicamente en la integración del área de cada señal y corresponden, de acuerdo con ello a las estructuras promedio (Z,Z,Z,Z,Z,Z,Z,Z,Z,E,E,E)-tridecaprenol (46A) [δ 1.67, 27H y δ 1.58, 12H] y (Z,Z,Z,Z,Z,Z,Z,Z,Z,Z,Z,Z,Z,Z,Z,E,E,E)-dodecaprenol (46B) [δ 5.12, 19H; 2.03, 76H; 1.67, 48 H y 1.58, 12H].

El lupeol (41) y el β -sitosterol (42) fueron los compuestos obtenidos en forma mayoritaria de las fracciones 40-56, eluidas con hexano-acetato de etilo (95:5) y 82-105, eluidas con hexano-acetato de etilo (9:1), respectivamente.

El extracto acetónico adsorbido en 100 g de sílice 70-230 fue aplicado a una columna empacada con 540 g de sílicagel para placa, utilizando hexano-acetato de etilo (95:5) como sistema eluyente y cromatografía a presión reducida. Las primeras 16 fracciones de esta columna estaban constituidas por colorantes y ceras que no presentaron homogeneidad en su análisis por cromatografía en capa fina, por lo cual no fueron analizadas.

A partir de la fracción 17 y hasta la 45, se obtuvo un producto sólido blanco que revela con sulfato cérico como una mancha homogénea al ser analizada por cromatografía en capa fina.

pero cuyo espectro de RMN ^1H presenta gran complejidad. El análisis por cromatografía de gases del mismo, indicó la presencia de dos compuestos mayoritarios en relación ca. 1:1. El estudio espectroscópico de la misma permitió identificar a los derivados del floroglucinol: 1-(3-metilbutanol)-3-geranilfloroglucinol (47), al 1-(2-metilbutanol)-3-geranilfloroglucinol (48) y al 1-(2-metilpropanol)-3-geranilfloroglucinol (49) como constituyentes de la misma, en una relación aproximada de 3:3:1, respectivamente. A continuación se informan las propiedades físicas y espectroscópicas de la mezcla.

Rendimiento: 2026 mg (0.106 %).

Pf: 128-130 °C

UV (EtOH): 207 (28648), 223 (18919), 290 (22336).

IR (CHCl₃, espectro δ): 3570, 3360, 2960, 2920, 2870, 1630, 1610, 1430, 1365, 1060 cm^{-1} .

RMN ^1H (CDCl₃, 80 MHz): 11.62 (1H, s, -OH quelatado), 11.49 (1H, s, -OH quelatado); 8.50 (1H, s, -OH), 8.38 (1H, s, -OH), 6.00 (2H, sa, -OH), 5.82 (2H, s, H₅ de 47, 48 y 49), 5.24 (2H, t, J = 7Hz, H₈ de 47 y 48), 5.06 (2H, m, H₁₂ de 47 y 48), 3.72 (1H, m, J = 7 Hz, H₂ de 48), 3.35 (4H, d, J = 7 Hz, H₇ de 47 y 48), 2.92 (2H, d, J = 7Hz, H₂ de 47), 2.13 y 2.09 (8H, s, H₁₀ y H₁₁ de 47 y 48), 1.83 (3H, s, H₁₆ de 47 ó 48), 1.82 (3H, s, H₁₆ de 47 ó 48), 1.69 (6H, s, H₁₄ de 47 y 48), 1.61 (6H, s, H₁₅ de 47 y 48), 1.18 (6H, d J = 7 Hz, H₃ y H₄ de 49), 1.16 (3H, d, J = 7 Hz, H₅ de 48), 0.97 (6H, d, J = 7 Hz, H₄ y H₅ de 47), 0.90 (3H, t, H₄ de 48).

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz, espectro 6).

1-(3-metilbutanol)-3-geranilfloroglucinol (47): 11.62

(1H, sa, -OH quelatado), 8.50 (1H, sa, -OH), 6.08 (1H, s, -OH), 5.82 (1H, s, H₅), 5.24 (1H, y, J = 7 Hz, H₈), 5.06 (1H, t, J = 7 Hz, H₁₂), 3.39 (2H, d, J = 7 Hz, H₇), 2.94 (2H, d, J = 7 Hz, H₂), 2.26 (1H, hept, J = 7 Hz, H₃), 2.10 (4H, s, H₁₀ y H₁₁), 1.81 (3H, s, H₁₆), 1.68 (3H, s, H₁₄), 1.59 (3H, s, H₁₅), 0.97 (6H, d, J = 7 Hz, H₄ y H₅).

1-(2-metilbutanol)-3-geranilfloroglucinol (48): 11.62

(1H, sa, -OH quelatado), 8.50 (1H, sa, -OH), 6.08 (1H, s, -OH), 5.82 (1H, s, H₅), 5.24 (1H, t, J = 7 Hz, H₈), 5.06 (1H, t, J = 7 Hz, H₁₂), 3.75 (1H, c, J = 7 Hz, H₂), 3.39 (2H, d, J = 7 Hz, H₇), 2.10 (4H, s, H₁₀ y H₁₁), 1.81 (3H, s, H₁₆), 1.68 (3H, s, H₁₄), 1.59 (3H, s, H₁₅), 1.40 (2H, m, H₃), 1.15 (3H, d, J = 7 Hz, H₅), 0.82 (3H, t, J = 7 Hz, H₄).

1-(2-metilpropanoil)-3-geranilfloroglucinol (49): Véase

tabla 5 (Pág. 53).

RMN ¹³C (CDCl₃, 75 MHz, espectro 7): 211.79 y 207.30 (s, C₁), 163.80, 163.67, 162.13, 162.03, 161.28 y 161.11 (s, C₂, C₄, y C₆), 141.32 (s, C₉ y C₁₃), 133.41 (s, C₁), 124.82 (d, C₈), 122.68 (d, C₁₂), 106.93 y 106.80 (s, C₃), 96.75 y 96.66 (d, C₅), 54.14 (t, C₂ de 47), 47.24 (d, C₂ de 48), 40.98 (t, C₁₀), 28.25 (t, C₇), 27.58 (t, C₁₁), 27.02 (d, C₃ de 47), 24.12 (t, C₃ de 48), 22.89 y 22.93 (C₄ de 48 y C₅ de 47), 20.61 (q, C₁₄), 19.02 (q, C₁₅) 18.00 (q, C₄ de 47), 17.53 (q, C₁₆), 13.23 (q, C₅ de 48).

EM: 346 [M⁺] de 47 y 48 (20.5), 289 [M⁺-C₄H₆] (39), 277 [M⁺-C₅H₈] (15), 261 (18), 259 (17), 223 [M⁺-C₆H₁₀] (86), 205 (33), 165 [M⁺-C₄H₆-C₆H₁₀] (100), 69 [C₅H₈] (51), 41 (76).

332 [M⁺] de 49 (6), 263 [M⁺-C₅H₈] (9), 209 [M⁺-C₆H₁₀] (14).

Las fracciones 46-107 estuvieron constituidas de mezclas muy coloridas y de bajo contenido de metabolitos secundarios, de acuerdo con su análisis por cromatografía en capa fina, donde revelan como bandas continuas desde el punto de aplicación hasta el frente del eluyente, razón por la cual no se continuó con su estudio.

Finalmente, de las fracciones 108-122, eluidas con hexano-acetato de alilo (6:4), se aisló una sustancia cristalina que revela como una mancha homogénea de color azul con sulfato cérico, y la cual corresponde al clovandiol (55).

Rendimiento: 17 mg (0.0008 %).

Pf. 150-152 °C

IR (CHCl₃): 3614, 2953, 2866, 1464, 1365, 1068, 1037, 989, 940 cm⁻¹.

RMN ¹H (CDCl₃, 80 MHz, espectro 11): 3.76 (1H, dd, J = 6 Hz, H₅), 3.31 (1H, sa, W_{1/2} = 7 Hz, H₆), 2.1-1.1 (13H, m, CH y CH₂), 1.04 (3H, s), 0.95 (3H, s), 0.86 (3H, s).

REACCION DE ACETILACION DE LOS DERIVADOS DEL FLOROGLUCINOL.

52 mg de la mezcla de 47 y 48 fueron acetilados con 1 ml de anhídrido acético y 0.5 ml de piridina a temperatura ambiente. El control cromatográfico realizado a la reacción indicó que después de un minuto de iniciada, la materia prima se agotaba completamente, con la obtención de dos productos de menor polaridad que la materia prima que se encontraban en una relación aproximada 1:1 y cuya proporción permanecía hasta los cinco minutos. Después de este periodo, el producto de menor polaridad relativa disminuía gradualmente hasta agotarse, aproximadamente doce minutos después de iniciada la reacción, transformándose en el producto de mayor polaridad relativa.

El proceso de recuperación usual permitió obtener 59 mg de la mezcla de reacción, la cual fue cromatografiada por columna, utilizando 12 g de gel de sílice 70-230 como fase estacionaria y mezclas de n-hexano-acetato de etilo de polaridad creciente como fase móvil, obteniéndose eluatos de 5 ml. En las fracciones obtenidas con la mezcla n-hexano-acetato de etilo (96:4) fue posible aislar 6 mg del producto de reacción, el cual es un aceite incoloro que estaba constituido por la mezcla de

1-(3-metilbutanoil)-3-geraniil-triacetilfloroglucinol (52),
1-(2-metilbutanoil)-3-geraniil-triacetilfloroglucinol (53) y
1-(2-metilpropanoil)-3-geraniil-triacetilfloroglucinol (54).

IR (CHCl₃): 2965, 2925, 1780, 1370, 1185, 1045 cm⁻¹.

RMN ^1H (CDCl_3 , 300 MHz, espectro 10): 6.99, 6.95 y 6.85 (ca. 3H, s, H_5 de 52, 53 ó 54), 5.10-4.92 (ca. 3H, m, H_8 y H_{12} de 52, 53 y 54), 3.41 (1H, h, $J = 7$ Hz, H_2 de 54), 3.14 (6H, d, $J = 7$ Hz, H_7 de 52, 53 ó 54), 3.07 (2H, d, $J = 7$ Hz, H_7 de 52, 53 ó 54), 2.80 (1H, q, $J = 7$ Hz, H_2 de 53), 2.62 (2H, d, $J = 7$ Hz, H_2 de 52), 2.37-2.20 (8 s, $-\text{OCOCH}_3$), 2.10-1.95 (m, H_{10} y H_{11}), 1.69 (s, C_{10}), 1.64 (s, C_{14}), 1.57 (s, C_{15}), 1.40 (2H, m, H_3 de 53), 1.17 (d, $J = 7$ Hz, H_4 y H_5 de 54), 1.12 (3H, d, $J = 7$ Hz, H_5 de 53), 0.96 (3H, d, $J = 7$ Hz, H_4 y H_5 de 52), 0.92 (3H, t, $J = 7$ Hz, H_4 de 53). La relación aproximada de 51 52 : 53 es de 3 : 3: 1, calculada por la integración del área bajo la curva en el espectro de RMN ^1H .

Con la finalidad de caracterizar el producto de menor polaridad mencionado anteriormente, presente hasta los cinco minutos de reacción y tomando en consideración los resultados descritos, un segundo lote de la mezcla de productos naturales fue acetilado. 615 mg de la misma se hicieron reaccionar con 5 ml de anhídrido acético y 1 ml de piridina, deteniendo la reacción por adición de hielo tres minutos después de iniciada, lo que permitió obtener 635 mg de la mezcla de productos de reacción. La resolución de una parte de ésta mezcla se intentó por cromatografía preparativa en placa fina con resultados negativos, por lo que el material restante (450 mg) fue cromatografiado en una columna aplicando la metodología descrita para la separación de los productos triacetilados. De las fracciones eluidas con la mezcla n-hexano-acetato de etilo (97:3) se obtuvieron 10.6 mg de

una sustancia de consistencia aceitosa aparentemente pura, la cual después del análisis espectroscópico convencional mostró estar constituida por dos sustancias, el 1-(3-metilbutanoil)-3-geranil diacetilfloroglucinol (50) y el 1-(2-metilbutanoil)-3-geranil-diacetilfloroglucinol (51). De las fracciones eluidas posteriormente se logró la recuperación de la mezcla original.

Una segunda recromatografía en columna, de 200 mg de mezcla, permitió obtener 6.1 mg de una segunda sustancia que presenta el mismo valor de R_f que la mezcla de 50 y 51, pero que revela con diferente intensidad en el color, la que fue identificada de acuerdo a sus constantes espectroscópicas como 50.

Los datos espectroscópicos de estas sustancias son los siguientes.

1-(3-metilbutanoil)-3-geranil-diacetilfloroglucinol

(50).

Aceite incoloro.

UV (EtOH): 213 (22802), 250 (4400), 295 (2414).

IR (CHCl₃): 3540-3100. 2960, 2920, 1780. 1640, 1370, 1180, 1135, 1112, 1045, 892 cm⁻¹.

RMN ¹H (CDCl₃, 80 MHz, espectro 9): 12.5 (1H, s, -OH quelatado), 6.66 (1H, s, H₅), 5.05 (1H, m, H₆), 4.96 (1H, m, H₁₂), 3.05 (2H, d, J = 7 Hz, H₇), 2.72 (2H, d, J = 7 Hz, H₂), 2.34 (3H, s, -OCOCH₃), 2.28 (3H, s, -OCOCH₃), 2.0 (4H, sa, W_{1/2} = 6 Hz, H₁₀ y H₁₁), 1.72 (3H, s, C₁₆), 1.68 (3H, s, C₁₄), 1.60 (3H, s, C₁₅), 0.96 (6H, d, J = 7 Hz, H₄ y H₅).

EM: 430 [M⁺] (0.2), 387 [M⁺-COCH₃] (2), 345 [M⁺-COCH₃-42] (2.5), 289 [M⁺-COCH₃-42-C₄H₈] (1.7), 277 [M⁺-COCH₃-42-C₅H₈] (6), 223 [M⁺-COCH₃-42-C₉H₁₅] (10), 165 [M⁺-COCH₃-42-C₄H₈-C₅H₈] (6), 69 [C₅H₈] (44), 43 (100), 41 (53).

1-(3-metilbutanol)-3-geraniil-diacetilfloroglucinol (50)
y 1-(2-metilbutanol)-3-geraniil-diacetilfloroglucinol (51).

Acete incoloro.

UV (EtOH): 202 (31609), 213 (28161), 260 (8891), 325 (3330).

IR (CHCl₃): 3500-3100, 2960, 2920, 1778, 1630-1600, 1405, 1368, 1175, 1093, 1060 cm⁻¹.

RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz, espectro 8): 13.35 (1H, s, -OH quelatado), 13.19 (1H, s, -OH quelatado), 6.47 (1H, s, H₅ de 50 ó 51), 6.45 (1H, s, H₅ de 50 ó 51), 5.12 (2H, t, J = 3 Hz, H_a de 50 y 51), 5.06 (2H, t, J = 7 Hz, H₁₂ de 50 y 51), 3.32 (1H, q, J = 7 Hz, H₂ de 51), 3.30 (4H, d, J = 7 Hz, H₇ de 50 y 51), 2.78 (2H, d, J = 7 Hz, H₂ de 50), 2.29 (1H, h, J = 7 Hz, H₃ de 50), 2.37-2.20 (12H, 3s, -OCOCH₃), 2.18-1.94 (8H, m, H₁₀ y H₁₁ de 50 y 51), 1.74 (6H, s, C₁₆), 1.64 (6H, s, C₁₄ de 50 y 51), 1.57 (6H, s, C₁₅ de 50 y 51), 1.45 (2H, m, H₄ de 51), 1.18 (3H, d, J = 7 Hz, H₅ de 51), 0.97 (6H, d, J = 7 Hz, H₄ y H₅ de 50), 0.90 (3H, t, J = 7 Hz, H₄ de 51).

EM: 430 (2), 387 (25), 345 (22), 289 (23), 277 (56), 223 (63), 165 (50), 69 (55), 43 (100), 41 (52).

II. AISLAMIENTO Y PROPIEDADES FISICAS Y ESPECTROSCOPICAS DE LOS CONSTITUYENTES QUIMICOS DE *Esenbeckia belizensis*.

Las hojas de *Esenbeckia belizensis* Lundell fueron recolectadas en el predio el Agulla, ejido San Agustín, municipio Santa María Jacatepec, distrito de Tuxtepec, en Oaxaca. El respaldo de la misma se encuentra depositado en el Herbario Nacional (MEXU) con el número CH-89.

Después del proceso de secado, 2.53 Kg del material vegetal fue macerado con hexano, obteniéndose 38 g de este extracto. La maceración del material vegetal desengrasado con metanol produjo la extracción no selectiva de los constituyentes de polaridad intermedia y alta. El extracto metanólico se fraccionó mediante particiones agua-cloroformo y agua-acetato de etilo, recuperándose 12 y 131 g de los extractos correspondientes, los cuales fueron analizados por cromatografía en capa fina, observando la misma composición en ambos, por lo que fueron reunidos.

El extracto hexánico (53.5 g) adsorbido en 50 g de gel de sílice, se aplicó a una columna empacada con 280 g de gel de sílice para placa, utilizando como sistema eluyente n-hexano y recolectando eluatos de aproximadamente 500 ml a lo largo del proceso cromatográfico, el cual se realizó utilizando presión reducida. El desarrollo del mismo y la reunión de las fracciones que presentaban homogeneidad en composición fue realizado por cromatografía en capa fina, lo que permitió obtener cuatro mezclas

principales.

La primera de estas mezclas (fracciones 7-16, 3.6 g) fue adsorbida en 4 g de sílice y recromatografiada en columna, utilizando 110 g de gel de sílice como fase estacionaria y n-hexano como sistema eluyente. La elución de 103 fracciones de 50 ml permitió la obtención de una mezcla de consistencia cerosa constituida por dos ésteres principales, cuyos fragmentos alcohólicos fueron identificados como el componente promedio (Z,Z,Z,Z,Z,Z,E,E)-decaprenol (40) y β -sitosterol (42), las características físicas y espectroscópicas de los mismos se informan en la sección experimental correspondiente a E. nesiotica, de donde también fueron caracterizados.

En las fracciones 17-28 se observó la formación de cristales incoloros en forma de agujas, que fueron identificados como fridolina (45) de la cual se obtuvieron en forma pura 132 mg.

De las aguas madres de esta segunda mezcla, se obtuvieron 2 g de residuo, que fueron adsorbidos en 2 g de sílice y aplicados a una columna de cromatografía empacada con 60 g de gel de sílice (70-230), la cual fue eluida con n-hexano, obteniéndose fracciones de aproximadamente 50 ml. A partir de la fracción 108 y hasta la 124 se obtuvo una mezcla de dos sustancias, la que fue resuelta por cromatografía preparativa en capa fina desarrollada con la mezcla n-hexano-acetato de etilo (95:5) como sistema eluyente. Este proceso permitió la obtención

en forma pura de sus dos componentes.

La sustancia de menor polaridad fue identificada como lupenona (57) de acuerdo con sus propiedades físicas y espectroscópicas.

Rendimiento: 19 mg (0.0007 %).

Pf. 170°C

IR (CHCl₃): 2950, 2869, 1699, 1640, 1461, 1383, 1112, 893 cm⁻¹.

RMN ¹H (CDCl₃): 4.68 (1H, sa, W_{1/2} = 6 Hz, H₂), 4.62 (1H, sa, W_{1/2} = 6 Hz, H₂), 1.65 (3H, s), 1.08 (3H, s), 1.04 (3H, s), 1.00 (3H, s), 0.94 (3H, s), 0.89 (3H, s), 0.74 (3H, s).

La más polar de estas sustancias fue obtenida como un aceite incoloro de olor agradable, que se identificó como el epóxido de cariofileno (43), caracterizado también de E. nestotica.

La tercera mezcla (fracciones 28-45 de la cromatografía inicial), estuvo constituida por tres sustancias, de acuerdo con su análisis cromatográfico. La resolución de 6 g de la misma se intentó por cromatografía en columna con resultados negativos.

170 mg de la mezcla se aplicaron a dos placas cromatográficas preparativas, las que se eluyeron con el sistema n-hexano-cloroformo-acetona (45 : 50 : 5), lo que permitió la obtención en forma pura de dos de los componentes.

El menos polar de estos compuestos se obtuvo como un aceite incoloro, que corresponde al promedio de (Z,Z,Z,Z,Z,Z,E,E,E)-decaprenol (40), caracterizado anteriormente como la fracción alcohólica del éster de poliprenol aislado de las fracciones iniciales (705 mg, 0.027 %).

El (+)-espatulenol (56) fue aislado como un aceite incoloro de olor agradable y caracterizado como el segundo de estos compuestos.⁹⁷

Rendimiento: 68 mg (0.0026 %).

$[\alpha]_D^{25}$: + 14.2° (1.97 mg/ml EtOH).

IR (película): 3393; 2926, 2864, 1634, 1453, 1374, 1096, 914, 889 cm^{-1} .

RMN ^1H (CDCl_3 , 300 MHz, espectro 12): 4.69 (1H, s, H₁₅), 4.67 (1H, s, H_{15'}), 2.43 (1H, dd, $J_{\rho\alpha\theta/\beta}=7\text{Hz}$, $J_{\rho/\theta/\beta}=14\text{Hz}$, H _{$\rho/\theta/\beta$}), 2.2 (1H, m, H_{1 α}), 2.01 (1H, m, H _{$\rho\alpha$}), 1.94 (1H, m, H _{$\theta\alpha$}), 1.89 (1H, m, H _{$2/\beta$}), 1.76 (1H, m, H _{$3/\beta$}), 1.64 (1H, m, H _{2α}), 1.55 (1H, m, H _{3α}), 1.31 (1H, m, H _{$5/\beta$}), 1.26 (3H, s, H₁₄), 1.04 (3H, s, H₁₃), 1.02 (3H, s, H₁₂), 0.81 (1H, m, H _{θ/β}), 0.71 (1H, ddd, $J_{\rho\alpha\gamma\alpha}=9.5$, $J_{\gamma\alpha\theta\alpha}=10$, $J_{\gamma\alpha\theta/\beta}=5.2$ Hz, H _{$\gamma\alpha$}), 0.45 (1H, dd, $J_{\beta/\theta\alpha}=J_{\rho\alpha\gamma\alpha}=9.5$ Hz, H _{$\theta\alpha$}).

RMN ^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz, espectro 13): 153.77 (s, C₁₀), 106.65 (t, C₁₅), 81.44 (s, C₄), 54.72 (d, C₅), 53.81 (d, C₁), 42.13 (t, C₉), 39.27 (t, C₈), 30.33 (d, C₆), 29.08 (q, C₁₃), 27.90 (d, C₇), 27.14 (t, C₂), 26.48 (q, C₁₄), 25.19 (t, C₈), 20.69 (s, C₁₁), 16.76 (q, C₁₂).

EM: 220 [M⁺] (1), 205 [M⁺-CH₃] (6), 187 [M⁺-CH₃-H₂O] (4), 177 [M⁺-CH₃-CO] (2), 119 (3), 107 (3), 105 (3), 91 (6), 79 (6), 77 (5) 43 (100), 41 (69).

La cuarta y última mezcla de la cromatografía inicial, estuvo compuesta por las fracciones 57-72, de las cuales fue posible aislar y caracterizar fridelanol (58) y β-sitosterol (42).

Los 143 g de los extractos clorofórmico y de acetato de etilo reunidos fueron adsorbidos en 150 g de sílice y aplicados a una columna empacada con 750 g de gel de sílice para cromatografía en placa fina suspendida en n-hexano, mismo disolvente con el que se inicia la elución. Los eluatos obtenidos fueron de aproximadamente 500 ml. Se utilizó cromatografía a presión reducida.

De las fracciones 9-25 fue posible obtener en forma pura fridelina (45).

En las fracciones 27-34 eluidas con n-hexano-acetato de etilo (9:1), se logró la separación por cristalización fraccionada de fridelanol (58) y β-sitosterol (42).

Con la polaridad n-hexano-acetato de etilo (3:2), a partir de la fracción 100 y hasta la 132, fue posible obtener una sustancia como polvo blanco que presenta absorción al ser expuesta a la luz ultravioleta. La observación minuciosa del sólido obtenido de recristalizaciones sucesivas de estas fracciones permitió discernir la presencia de dos tipos de

productos sólidos, uno amorfo y el otro cristalino, los cuales fueron separados manualmente y analizados por cromatografía en capa fina, observándose el mismo valor de R_f y el desarrollo de la misma coloración para ambos al revelar con luz ultravioleta. Con el objeto de determinar si se trataba del mismo compuesto con dos formas cristalinas diferentes, se obtuvieron los espectros de IR en solución y en forma paralela para ambos sólidos, observándose diferencias significativas en la zona de 1650 a 900 cm⁻¹, lo que indicó que se trataba de dos sustancias diferentes.

El sólido amorfo fué recrystalizado de acetona, obteniéndose cristales incoloros en forma de agujas. Esta sustancia fue identificada como el alcaloide furoquinolinico flindersiamina (30).^{57,61}

Rendimiento: 4850 mg (0.191 %).

Pf. 208-210°C

UV (EtOH, espectro 14): 249 (68687), 295 (7329), 307 (10723), 317 (10241), 334 (6185).

IR (CHCl₃): 3000, 2940, 2905, 1630, 1455, 1440, 1370, 1330, 1100, 1065, 985, 950 cm⁻¹.

RMN ¹H (CDCl₃, 80 MHz, espectro 15): 7.55 (1H, d, J = 3 Hz, H₁), 7.24 (1H, s, H₅), 6.98 (1H, d, J = 3 Hz, H₂), 6.02 (2H, s, -OCH₂O-), 4.37 (3H, s, -OCH₃ en C₄), 4.25 (3H, s, -OCH₃ en C₆).¹⁰⁴

RMN ¹³C (CDCl₃, 75 MHz, espectro 16): 162.59 (s, C₂), 156.03 (s, C₄), 146.69 (s, C₆), 142.96 (d, C₁), 142.40 (s, C_{8a}),

137.99 (s, C₆), 137.68 (s, C₇), 114.93 (s, C₈), 104.34 (d, C₂),
102.86 (s, C_{4a}), 101.51 (t, -OCH₂O-), 92.39 (d, C₅), 60.60 (q,
-OCH₃ en C₄), 58.92 (q, -OCH₃ en C₆).

EM: 273 [M⁺] (100), 272 [M⁺-H] (63.5), 259 (13), 257
(22), 245 (43), 244 (55), 230 (35), 228 (52), 213 (13), 200 (13),
198 (15), 157 (16), 142 (13), 129 (16), 100 (14.6).

El mismo análisis efectuado a las propiedades físicas y
espectroscópicas del sólido cristalino, permitió identificar a
éste como el alcaloide kokusaginina (28).⁶⁰⁻⁶¹

Rendimiento: 785 mg (0.031 %).

Pf. 211-214°C

UV (MeOH): 241 (77868), 247 (76229), 305 (14507), 317
(14637), 330 (10362),

IR (CHCl₃): 1625, 1590, 1480, 1430, 1370, 1320, 1155,
1090, 1010, 945, 850.

RMN ¹H (CDCl₃, 80 MHz, espectro 17): 7.52 (1H, d, J = 3
Hz, H₁'), 7.43 (1H, s, H₅), 7.33 (1H, s, H₆), 7.0 (1H, d, J = 3
Hz, H₂'), 4.42 (3H, s, -OCH₃ en C₄), 4.04 (3H, s, -OCH₃ en C₆),
4.02 (3H, s, -OCH₃ en C₇).

EM: 259 [M⁺] (100), 244 [M⁺-CH₃] (45), 216 (12), 201
(16), 186 (21), 173 (13).

En las fracciones obtenidas con las mezclas de
n-hexano-acetato de etilo de mayor polaridad y hasta el lavado de
la columna con acetato de etilo, no se observó la elución de otras
substancias.

III. DETERMINACION DE LAS CONDICIONES DE OXIDACION DE ALCALOIDES FUROQUINOLINICOS. PROPIEDADES FISICAS Y ESPECTROSCOPICAS DE LOS PRODUCTOS DE OXIDACION.

Durante el proceso de recristalización practicado a los dos alcaloides (kokusaginina 28 y flindersiamina 30), fue posible observar la formación, en ambos casos, de una sustancia de mayor polaridad, así como de otras sustancias minoritarias, las que presentaban absorción al ser reveladas con luz ultravioleta. Con el objeto de determinar las condiciones bajo las cuales se estaba llevando a cabo la transformación espontanea de estos alcaloides, se analizó el efecto de los siguientes factores: disolvente, silicagel, aire y luz, para lo cual muestras de ca. 10 mg de cada alcaloide se sometieron a la influencia de los mismos, de acuerdo con los siguientes experimentos.

1. Las muestras disueltas en cuatro diferentes disolventes (hexano-AcOEt (3:2), AcOEt, CHCl₃ y acetona, ca. 2 ml), en ausencia de luz, en atmósfera inerte y a temperatura ambiente, no se transforman después de 24 horas.

2. Las muestras disueltas en los disolventes mencionados, en presencia de sílice (ca. 20 mg), en ausencia de luz y en atmósfera inerte, no se descomponen al término de 24 horas.

Estos ensayos sugieren que la naturaleza del disolvente y la presencia de la sílice no influyen en la transformación. Por lo que, disolviendo las muestras de 28 y 30 (ca. 10 mg) en acetato

de etilo (ca. 10 ml), se analiza la influencia de la luz y el aire en la transformación. La tabla 6 esquematiza los resultados obtenidos.

Silice	Aire	Luz	Observación
-	-	-	No se transforma
+	-	-	No se transforma
-	+	-	No se transforma
-	-	+	No se transforma
+	+	-	No se transforma
+	-	+	No se transforma
-	+	+	Si se transforma
+	+	+	Si se transforma

De acuerdo con las anteriores observaciones, muestras de 200 mg de ambos alcaloides se disolvieron en acetato de etilo (ca. 20 ml) y se dejaron transformar en presencia de luz y aire. El control de la reacción se realizó por cromatografía en capa fina. Se observó que ésta no proseguía después de 24 y 48 horas para kokusaginina y flindersiamina respectivamente. Sin embargo, en ambos casos el producto natural permanecía como compuesto mayoritario.

La mezcla de kokusaginina (28) y su producto de transformación (59) se adsorbieron sobre 0.5 g de silice y se aplicaron a una columna empacada con 12 g de silice 70:230 suspendida en la mezcla n-hexano-acetato de etilo (9:1). Con la polaridad n-hexano-acetato de etilo (8:2), a partir de la fracción 32 y hasta la 42 eluye kokusaginina (28) en forma pura (ca. 150

mg). De las fracciones 61-76 eluidas con n-hexano-acetato de etilo (6:4) se obtiene una mezcla compleja (ca. 33 mg) que incluye al producto (59) y a partir de la fracción 81 se obtiene el producto 3-formil-4,6,7-trimetoxi-2-quinolona (59) puro (ca. 7 mg).

Pf. 190-192°C

UV (MeOH, espectro 18): 217 (22815), 233 (23640), 260 (10194), 315 (6743), 337 (4852), 355 (4572), 383 (4851).

IR (CHCl₃): 2740, 1683, 1647, 1515, 1462, 1265, 1009 cm⁻¹.

RMN ¹H (CDCl₃, 80 MHz, espectro 19): 10.35 (1H, s, -COH), 7.25 (1H, s, H₅), 6.79 (1H, s, H₈), 4.14 (3H, s, -OCH₃ en C₄), 3.96 (3H, s, -OCH₃ en C₆), 3.85 (3H, s, -OCH₃ en C₇).

EM: 263 [M⁺] (47), 235 (51), 234 (100), 220 (74), 189 (23).

Con el objeto de obtener información acerca de la estructura de los productos minoritarios o intermediarios de la reacción de oxidación, la mezcla obtenida en las fracciones 61-76, que es un polvo amarillo, fue analizada espectroscópicamente. De acuerdo con los datos obtenidos de los espectros de RMN ¹H y RMN ¹³C de estas fracciones fue posible establecer la presencia de 4,6,7-trimetoxi-1',2'-dihidro-1',2'-peroxi-[2,3b]-furoquinolina (A) y de 59.

Los datos espectroscópicos para esta mezcla son los siguientes.

RMN ^1H (CDCl_3 , 300 MHz, espectro 20): 11.7 (s, $-\text{NH}$), 10.4 (s, $-\text{CHO}$), 7.28-6.87 (4s, H_b y H_c de A y 52), 6.18 (d, $J = 6$ Hz, H_1), 5.58 (d, $J = 6$ Hz, H_2), 4.14-3.90 (6s, $-\text{OCH}_3$).

RMN ^{13}C ($\text{CDCl}_3 + \text{DMSO}$, 75 MHz): 189.00 (d, $-\text{CHO}$ de 52), 168.21-163.31 (2s), 154.63-144.27 (4s), 136.94 y 133.43 (2s), 110.14-108.55 (3s), 106.12-93.37 (8s), 63.27-54.91 (6q, $-\text{OCH}_3$ de A y 52).

La misma metodología de purificación descrita para kokusaginata (28) permitió aislar a partir de la mezcla de transformación de flindersiamina (30) 4 mg de su producto oxidado que pudo ser caracterizado como 3-formil-4,8-dimetoxi-6,7-metilendioxi-2-quinolona (60).

Pf. 276°C (desc.)

IR (CHCl_3): 1715, 1682, 1640, 1457, 1090, 1045 cm^{-1} .

RMN ^1H (CDCl_3 , 300 MHz, espectro 20): 10.41 (1H, s, $-\text{COH}$), 8.95 (1H, s, $-\text{NH}$), 7.06 (1H, s, H_5), 6.04 (2H, s, $-\text{OCH}_2\text{O}-$), 4.18 (3H, s, $-\text{OCH}_3$ en C_4), 4.16 (3H, s, $-\text{OCH}_3$ en C_8).

CONCLUSIONES

Los resultados generados a partir de la presente investigación y su comparación con los previamente informados para especies del género *Esenbeckia* permiten establecer las siguientes conclusiones.

Los metabolitos secundarios caracterizados de *Esenbeckia nestotica* y *E. belizencis* pertenecen a los grupos de sesquiterpenos, esteroides, triterpenos pentacíclicos y alcaloides, aislados anteriormente de Rutaceae, sin embargo, esta es la primera ocasión que se aíslan y caracterizan compuestos polisoprenoides de esta familia de plantas. Los polisoprenoides son compuestos conocidos de las familias Euphorbiaceae, Solanaceae y Pinaceae entre otras.

E. nestotica y *E. belizencis* biosintetizan sesquiterpenos y triterpenos pentacíclicos, en contraste con las especies previamente analizadas de este género. Los alcaloides 28 y 30 presentes en *E. belizencis*, son constituyentes de otras especies del mismo. Por otro lado, los floroglucinoles caracterizados de *E. nestotica* 47, 48 y 49 son un nuevo tipo de metabolitos secundarios de *Esenbeckia*.

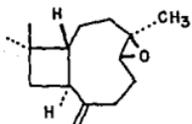
Los sesquiterpenos, esteroides, triterpenos pentacíclicos y polisoprenoles son constituyentes comunes a ambas especies. Sin embargo, *E. belizencis* biosintetiza alcaloides, mientras que *E. nestotica* contiene floroglucinoles.

El floroglucinol 47, aislado de *E. nesiotica* representa un nuevo producto natural.

Durante el proceso de resolución de los constituyentes de *E. bellzencis* se observó que los alcaloides kokusaginina (28) y flindersiamina (30) se oxidan espontáneamente a las 3-formil-2-quinolonas 59 y 60 respectivamente. Ensayos experimentales indicaron que este proceso se efectúa en solución y en presencia de luz y aire.

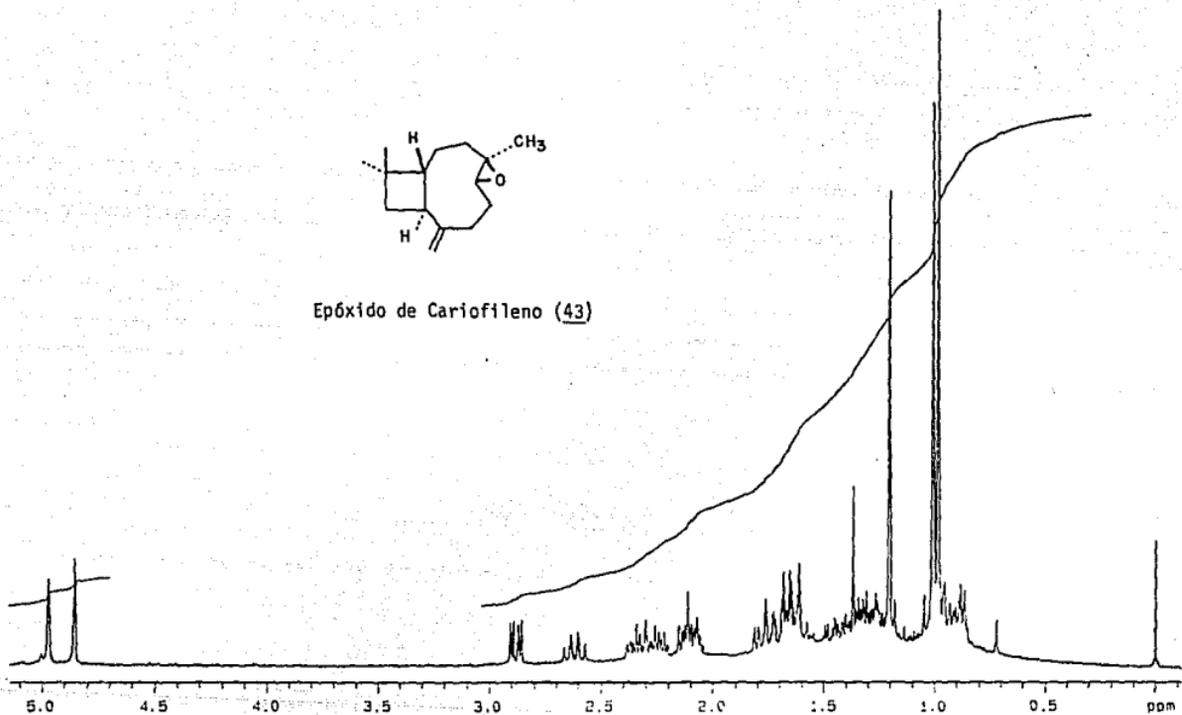
El mecanismo por el cual procede dicha transformación involucra como etapa inicial una cicloadición [$\pi 2_s + \pi 2_s$] de oxígeno a la doble ligadura disustituida del anillo furánico con la formación del dioxetano correspondiente, el cual es un intermediario reactivo que sufre apertura para generar un segundo intermediario, que contiene a los grupos formiato y formilo en las posiciones 2 y 3 del anillo quinolínic. La pérdida de monóxido de carbono de este último intermediario conduce a la obtención de los productos antes indicados.

ESPECTROS

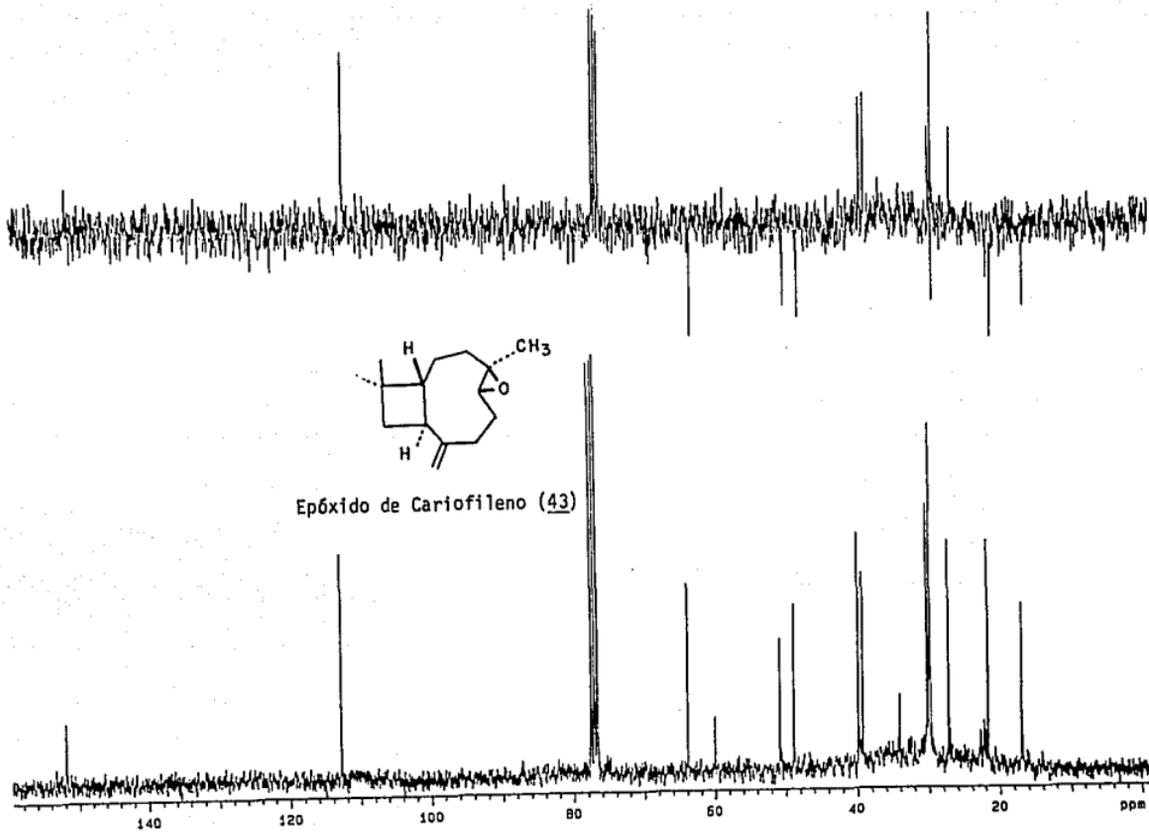


Epóxido de Cariófileno (43)

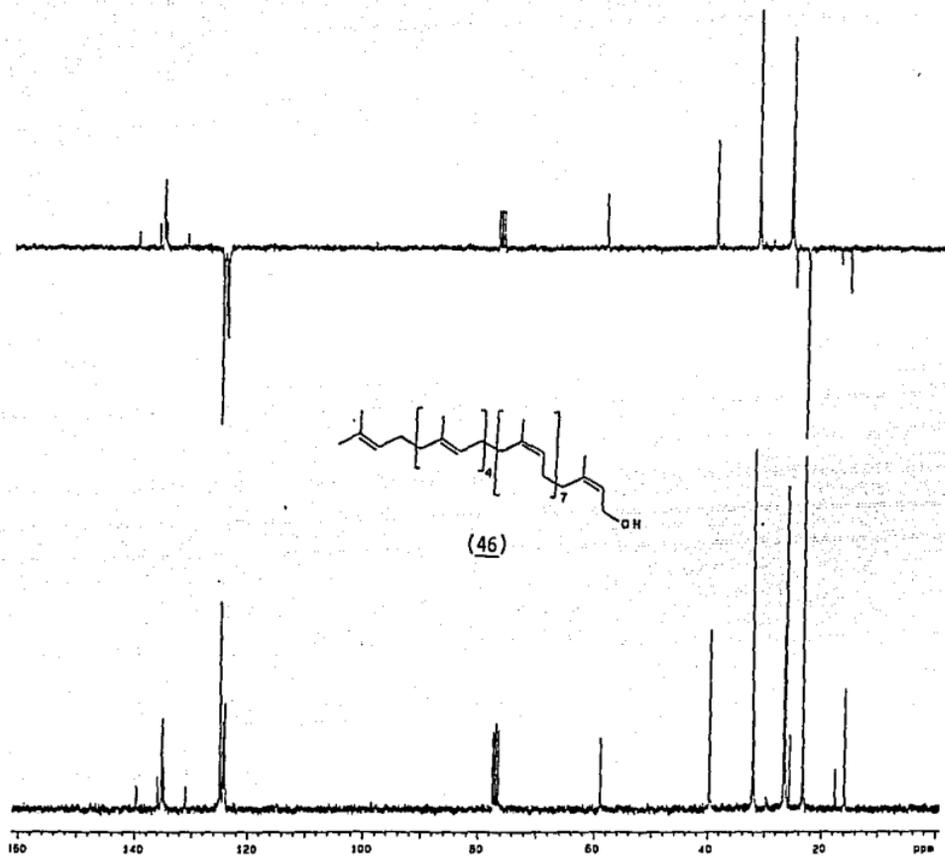
101



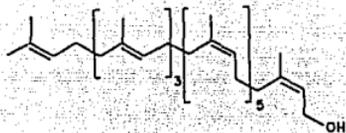
ESPECTRO 1.



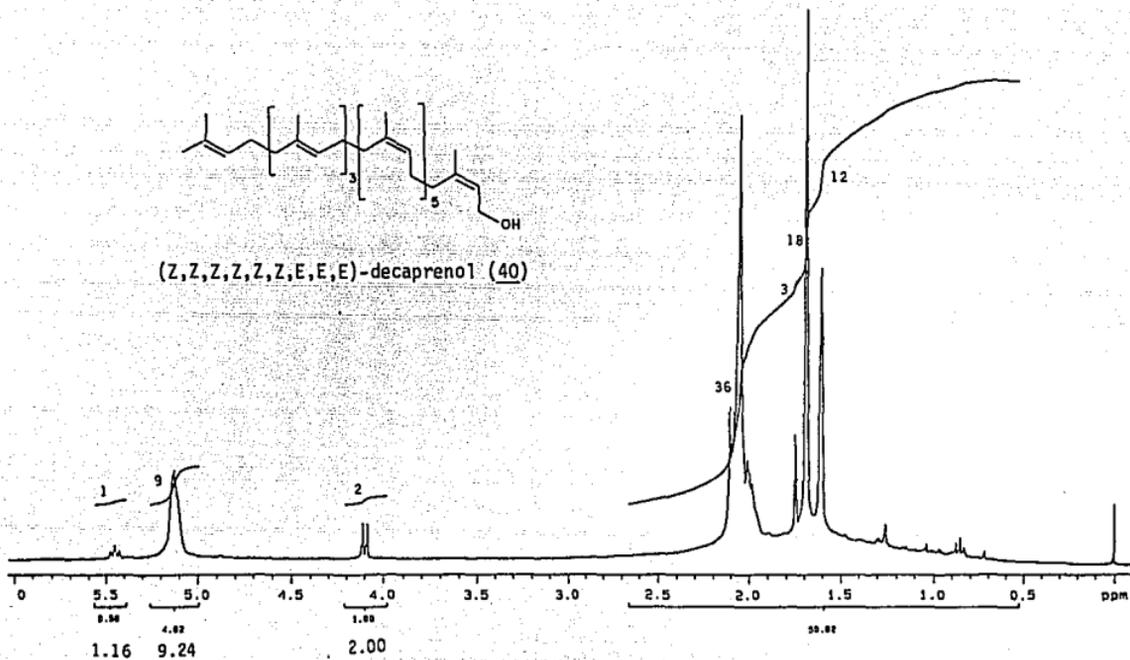
ESPECTRO 2.



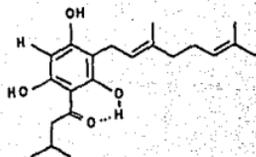
ESPECTRO 4.



(Z,Z,Z,Z,Z,E,E)-decapreno1 (40)

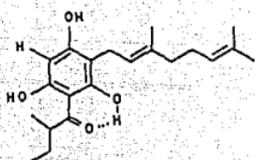


ESPECTRO 5.



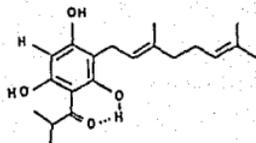
47

+

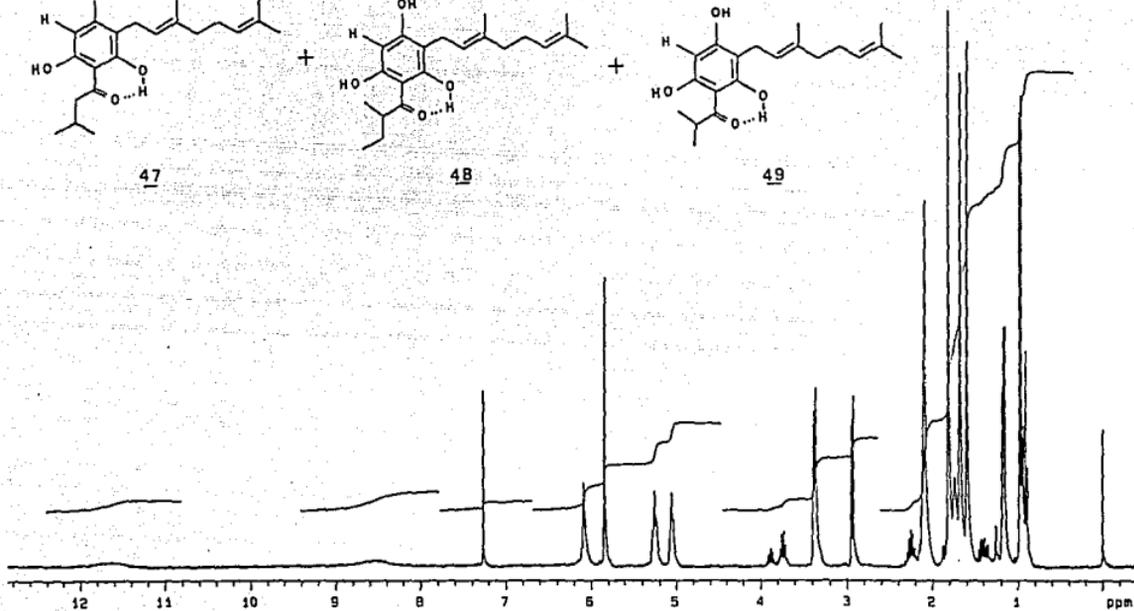


48

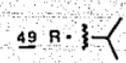
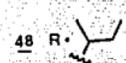
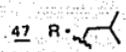
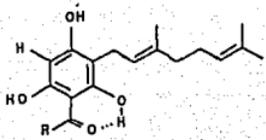
+



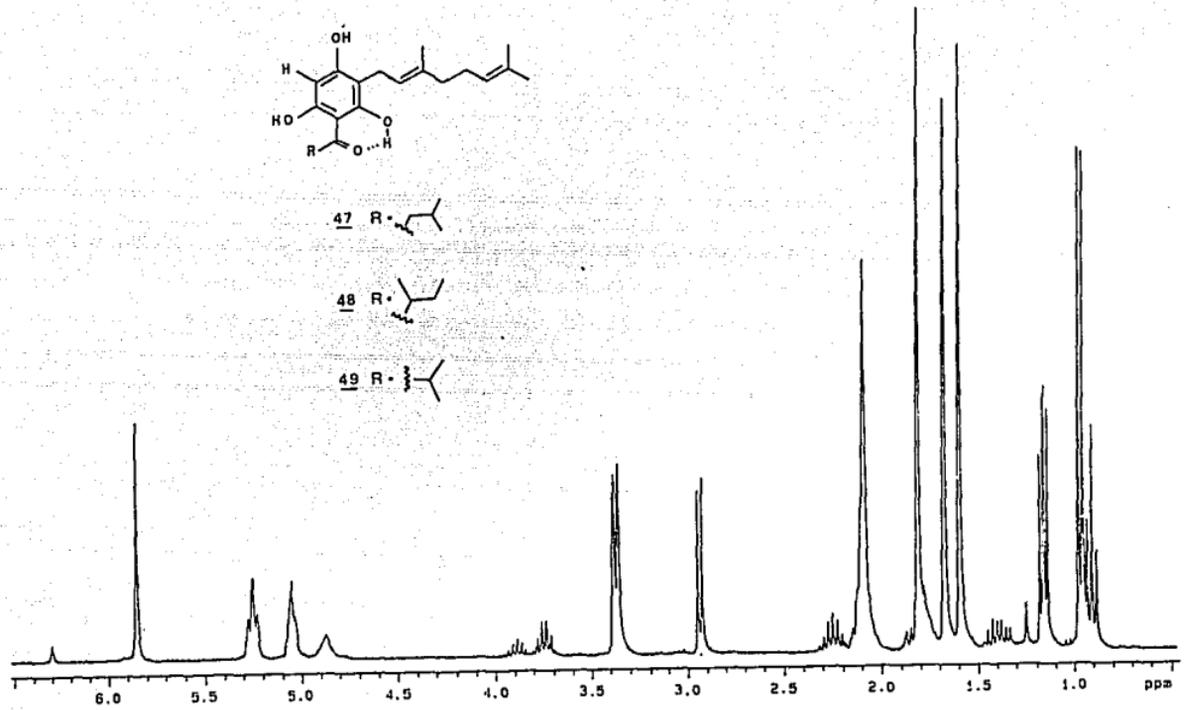
49



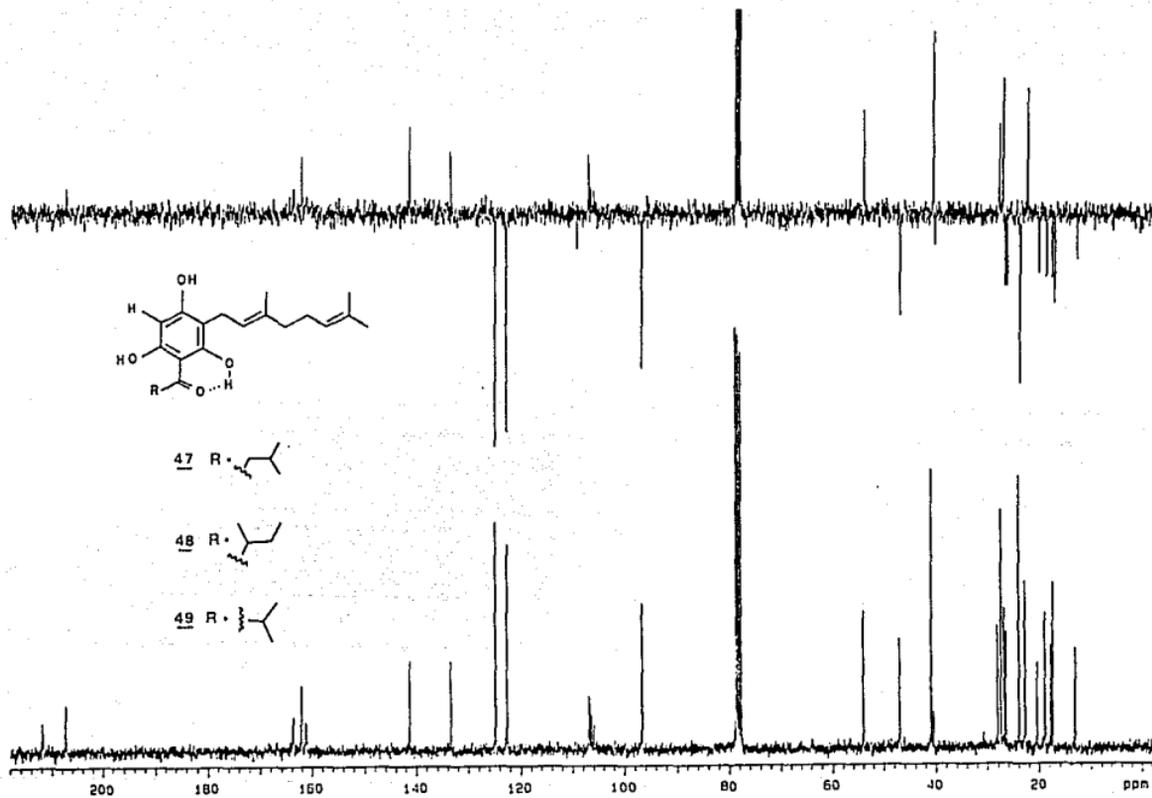
ESPECTRO 6.



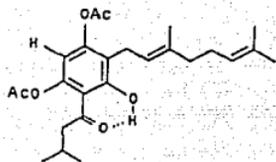
107



ESPECTRO 6 (ampliación).

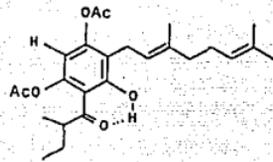


ESPECTRO 7.

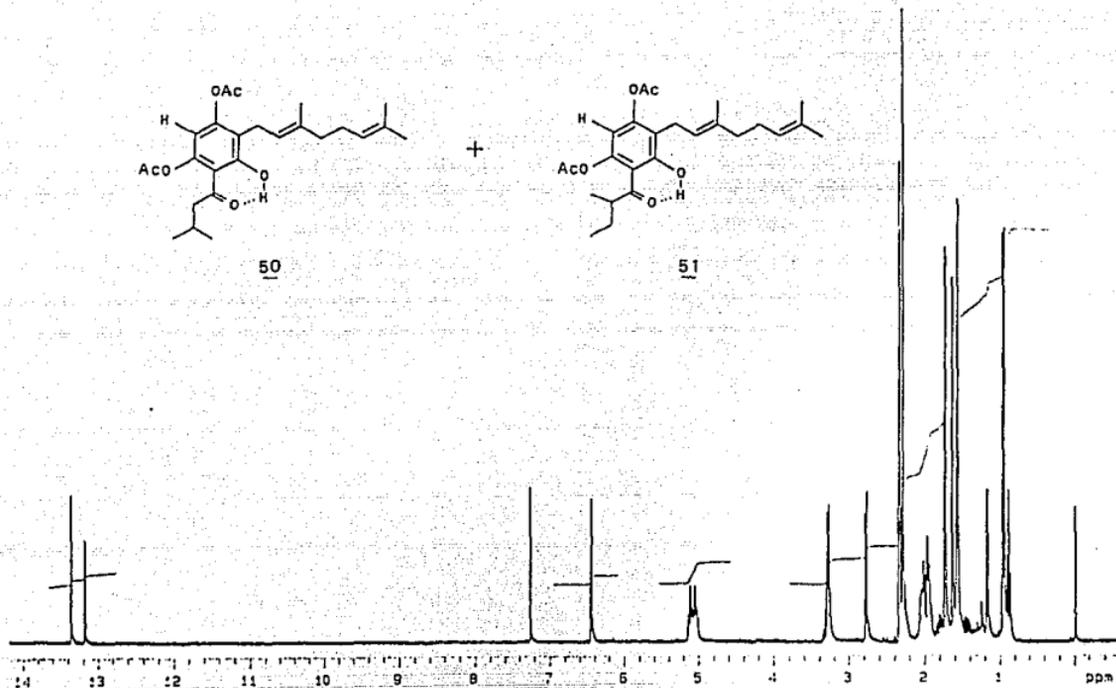


50

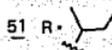
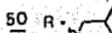
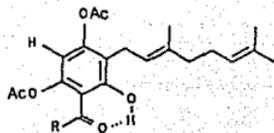
+



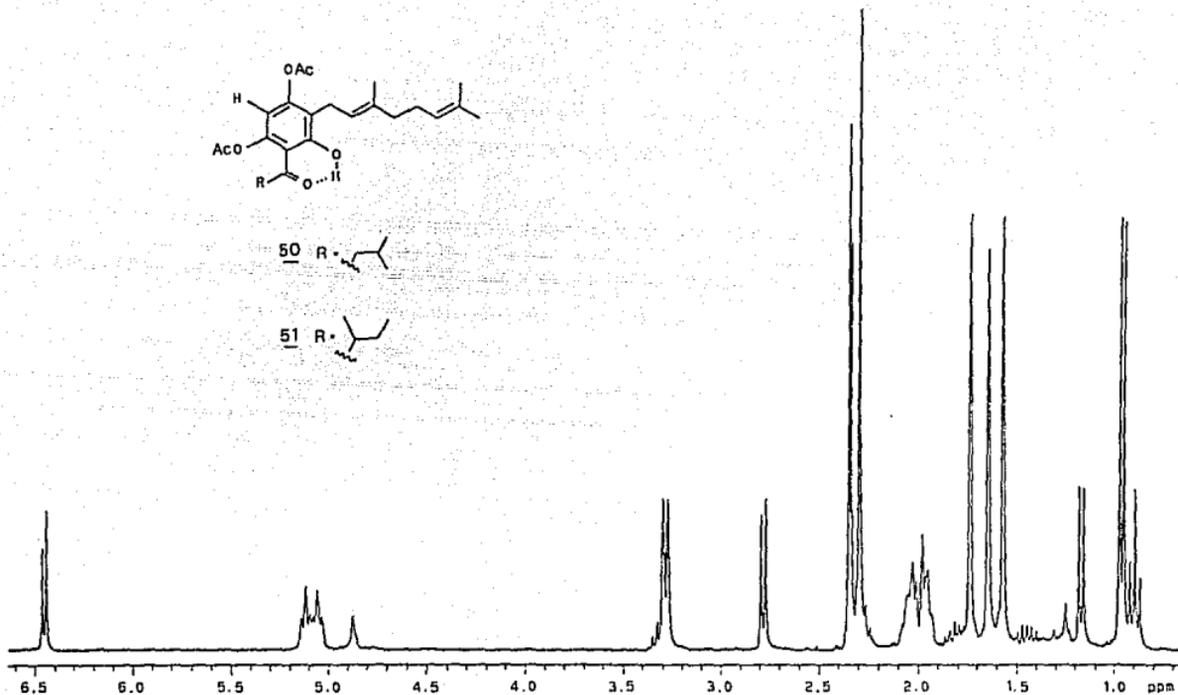
51



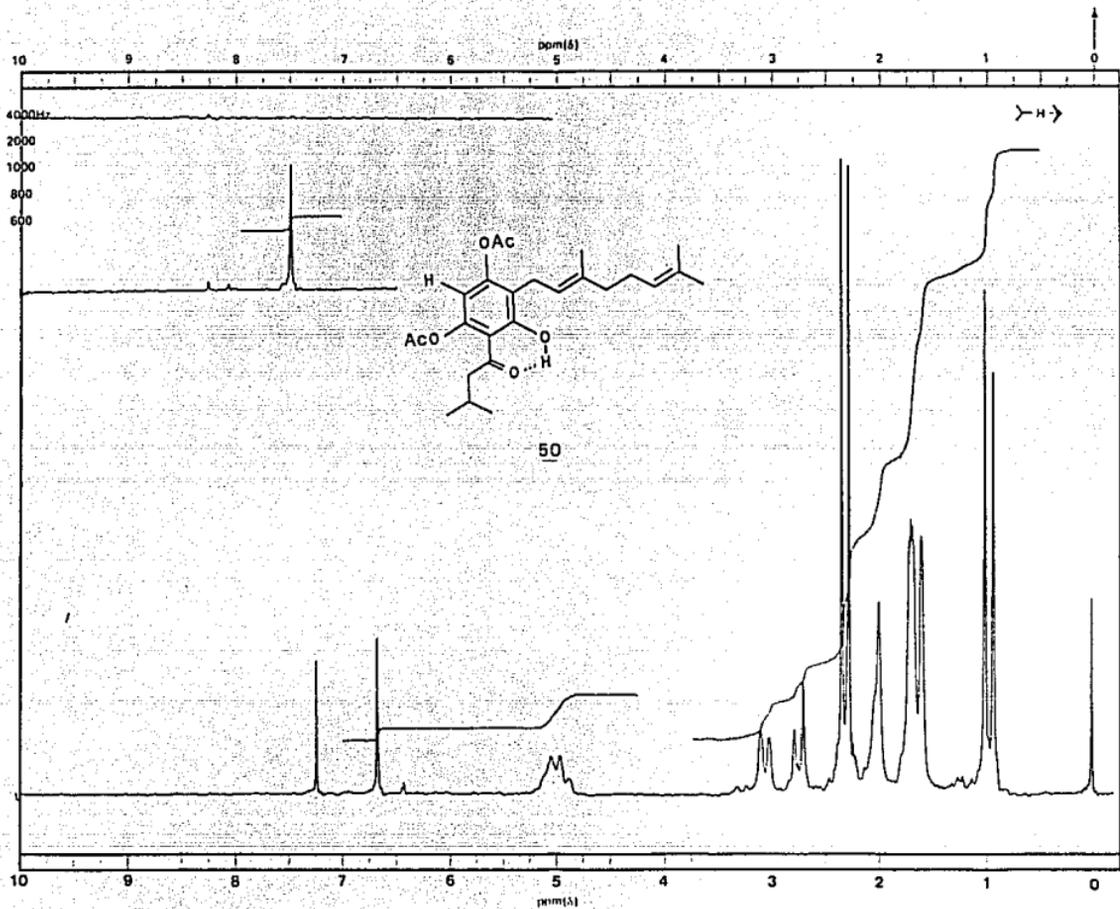
ESPECTRO 8.

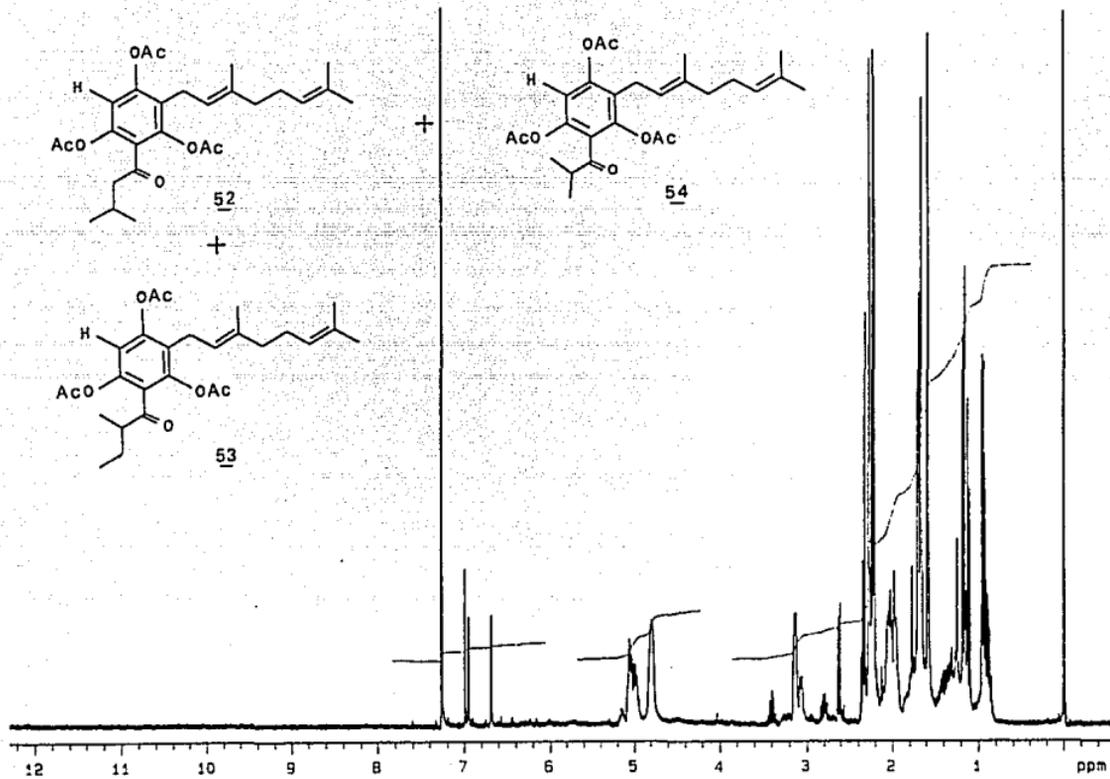


110

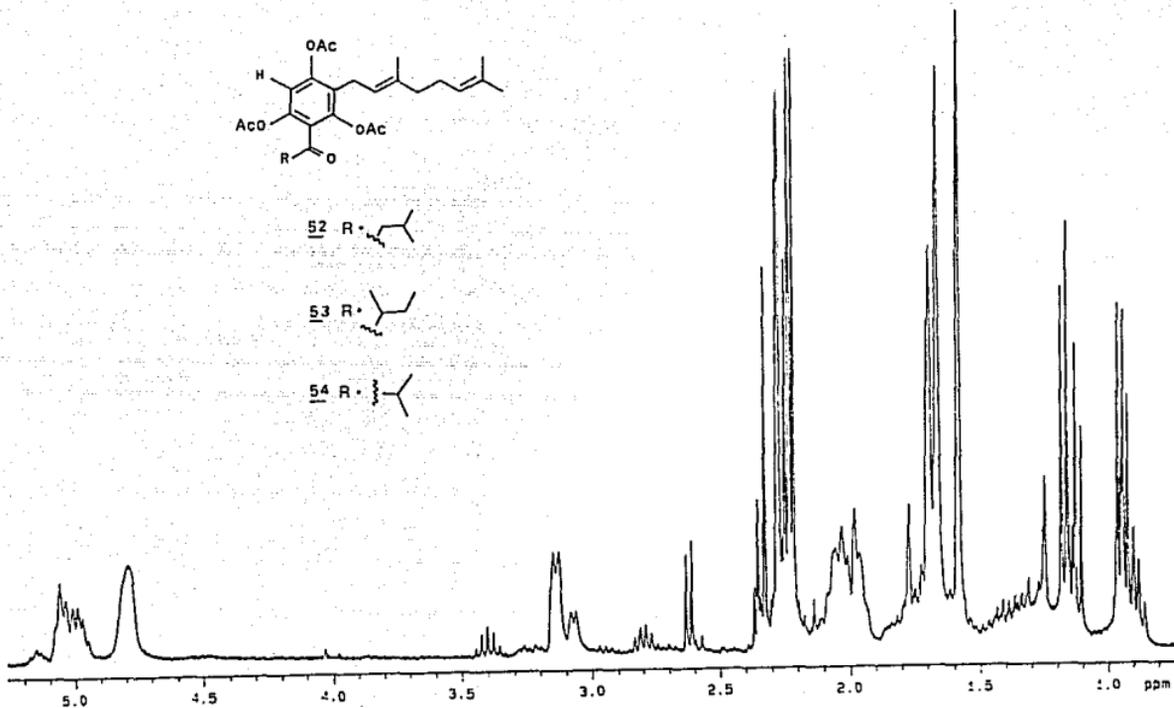
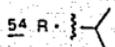
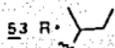
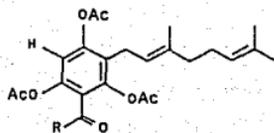


ESPECTRO 8 (ampliación).

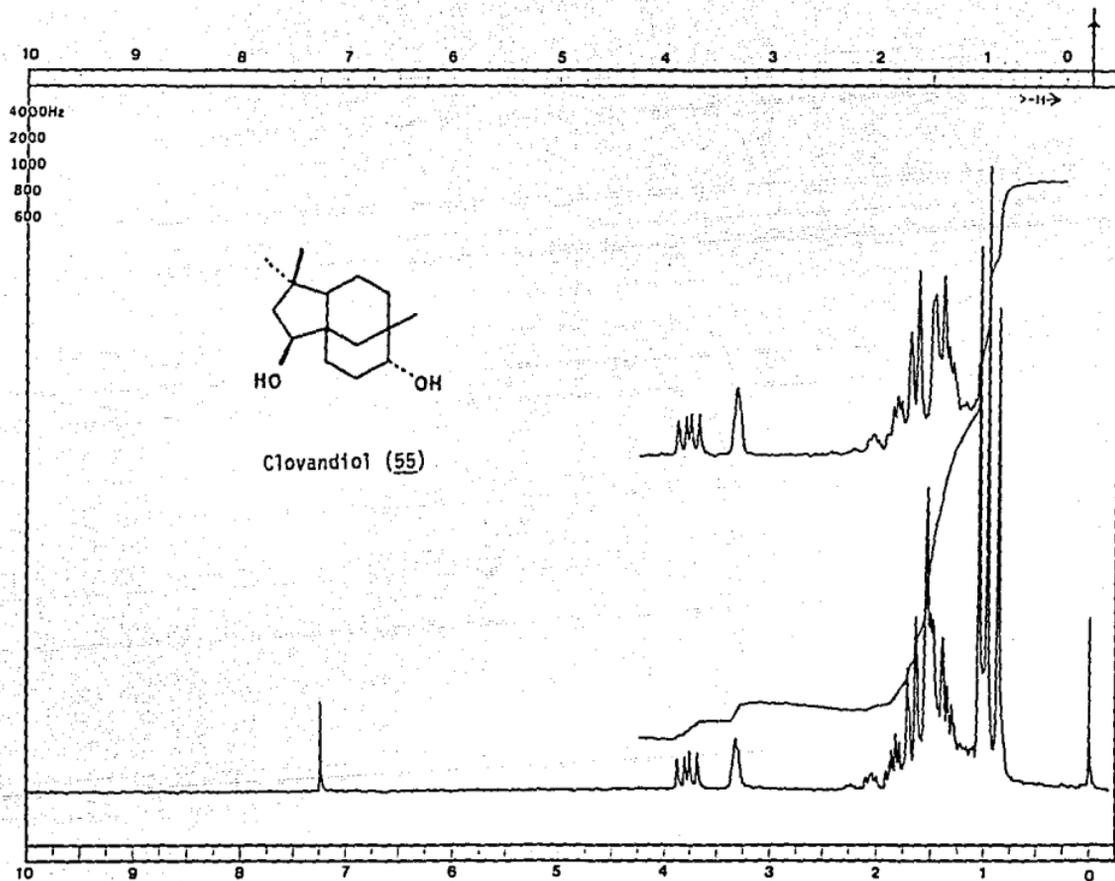


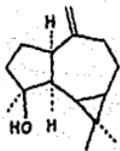


ESPECTRO 10.

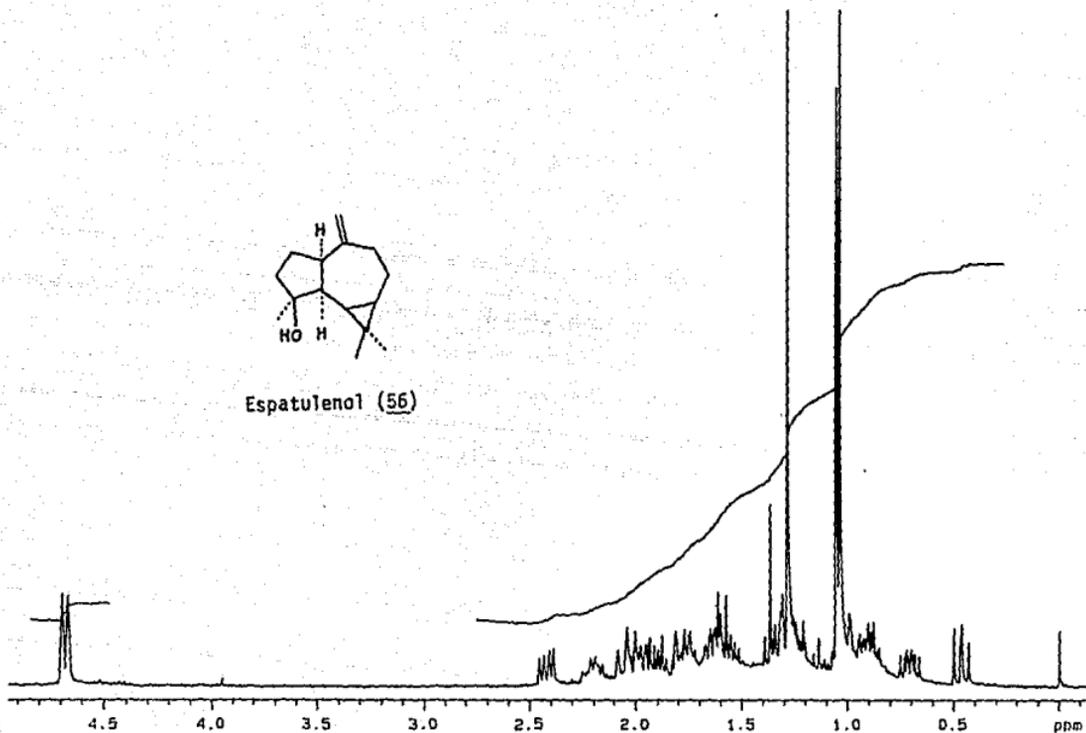


ESPECTRO 10 (ampliación).

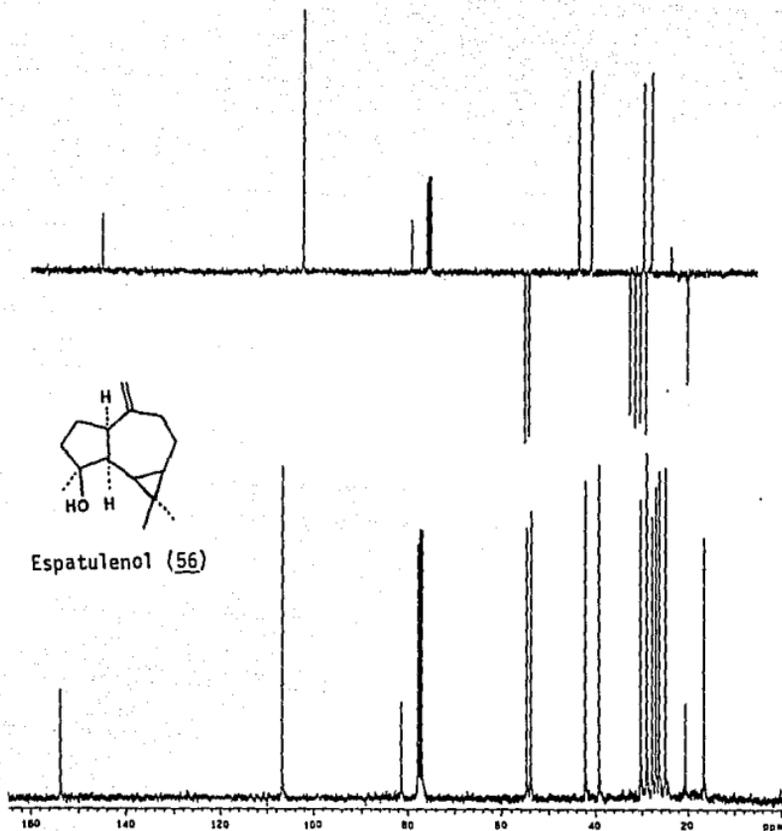




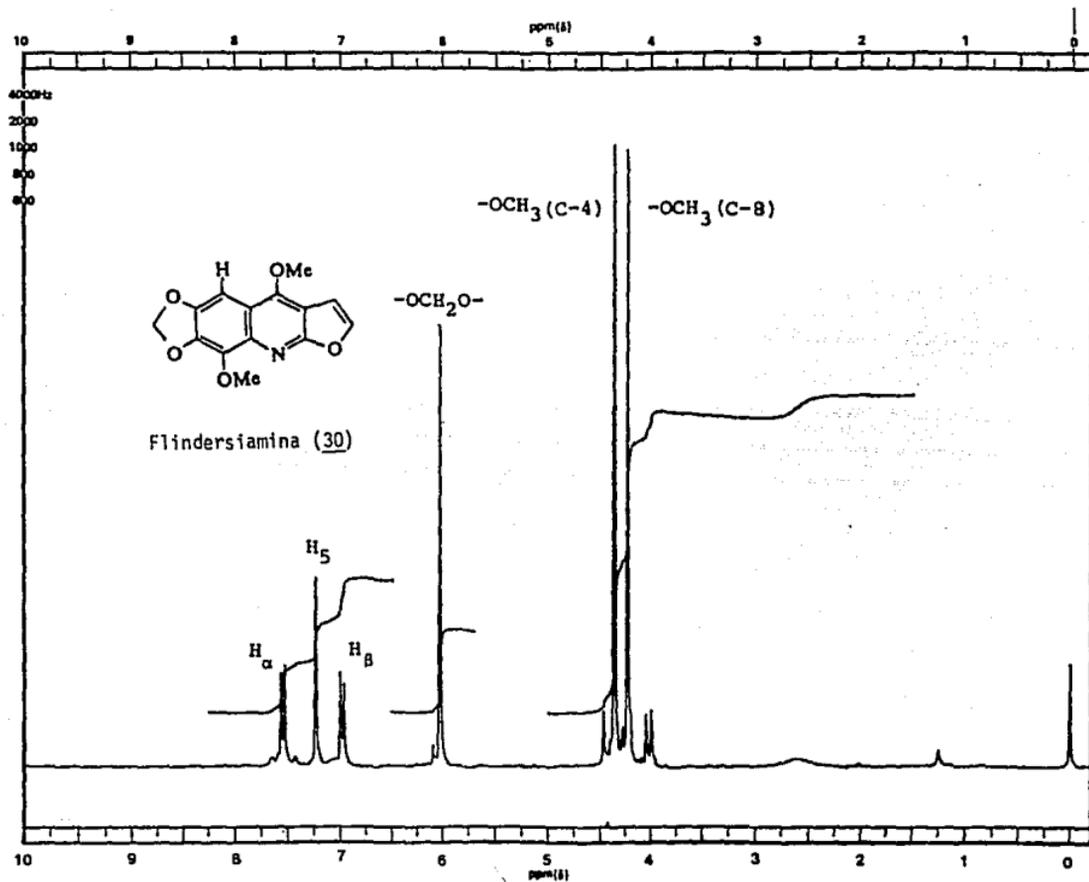
Espatuleno1 (56)

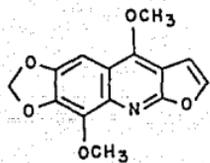


ESPECTRO 12.



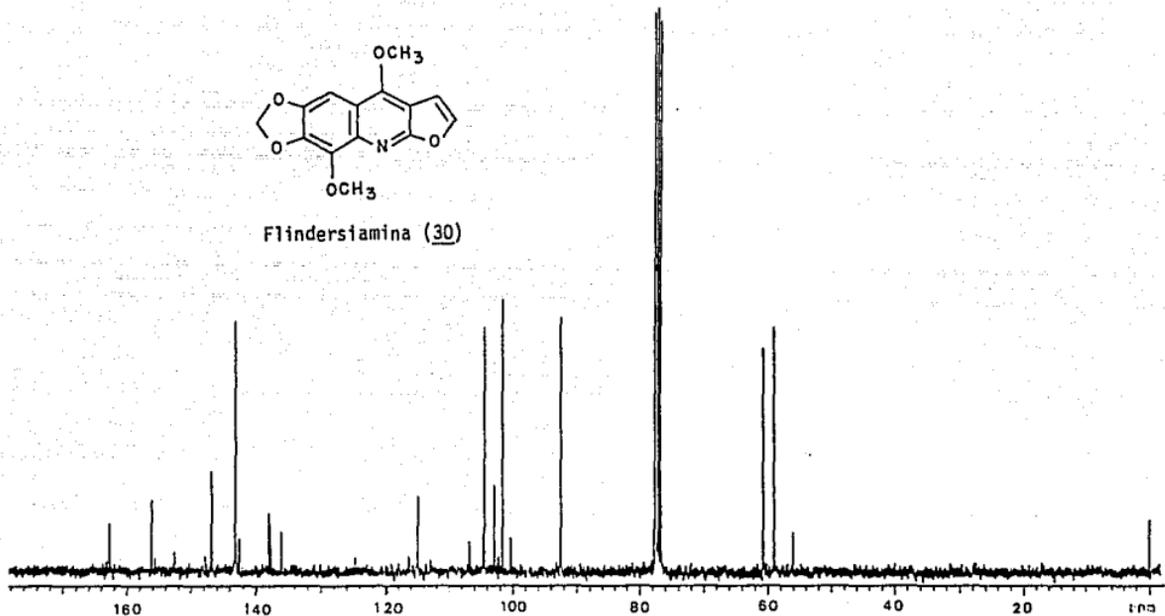
ESPECTRO 13.



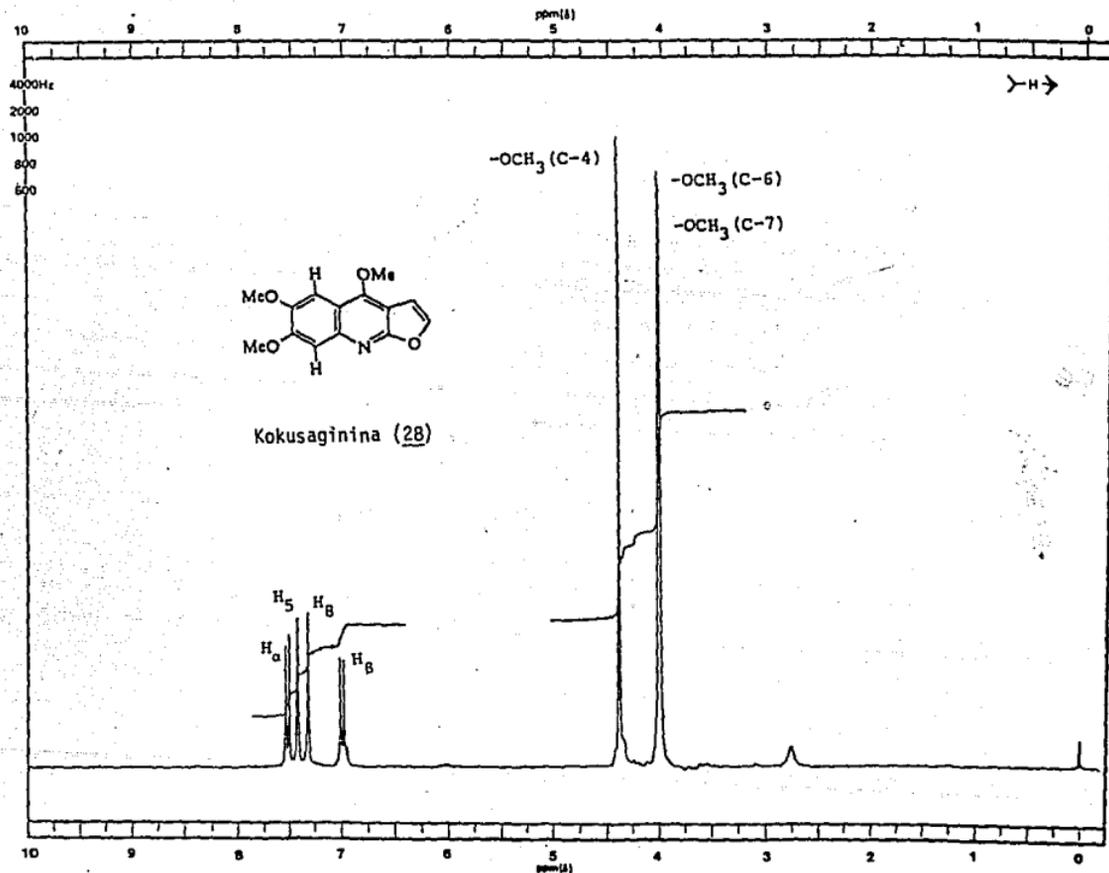


Flindersiamina (30)

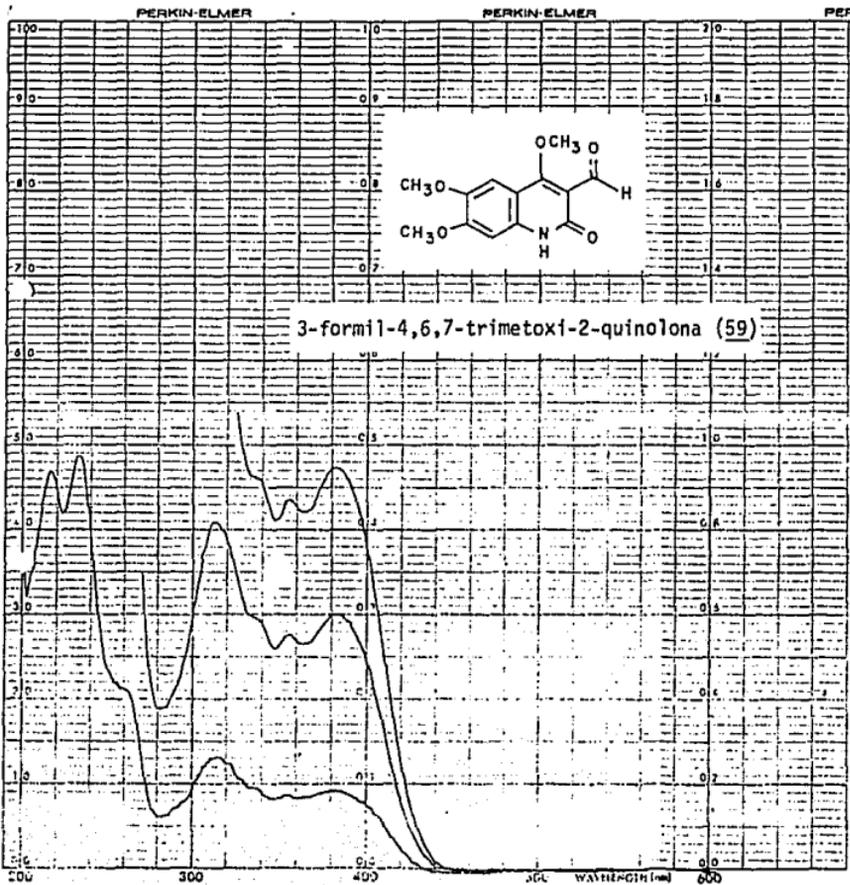
119



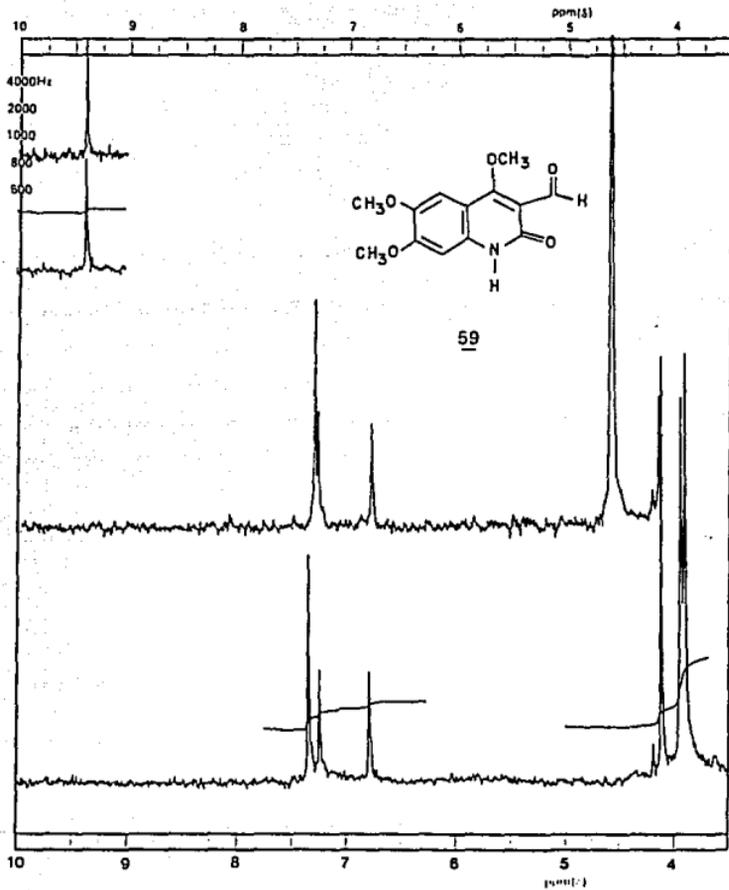
ESPECTRO 16.



ESPECTRO 17.

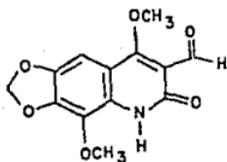
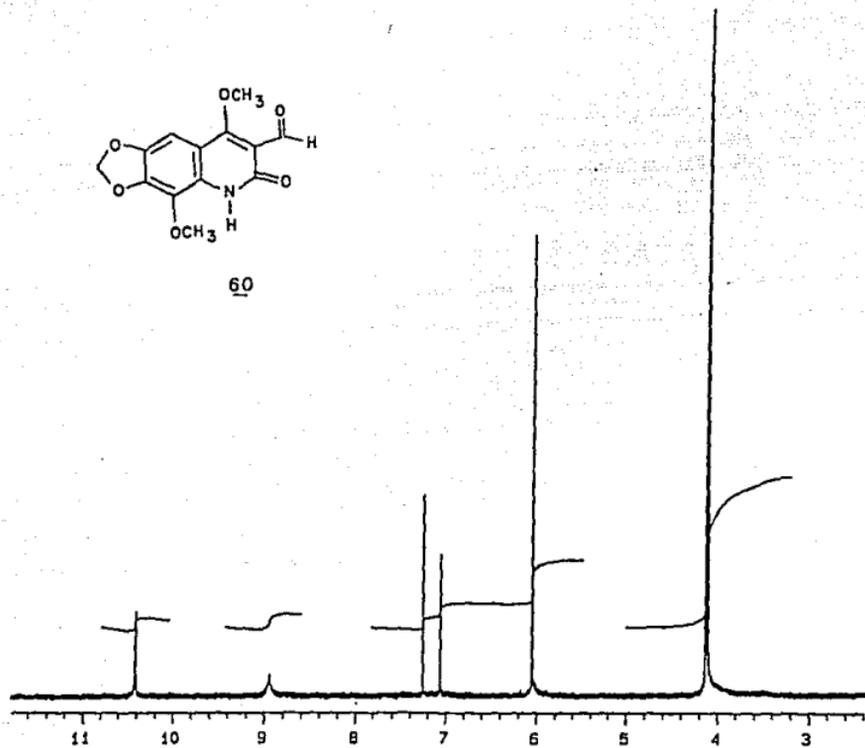


ESPECTRO 18.



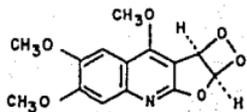
122

ESPECTRO 19.

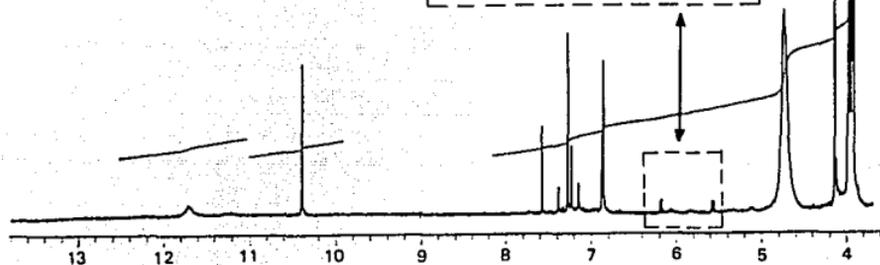
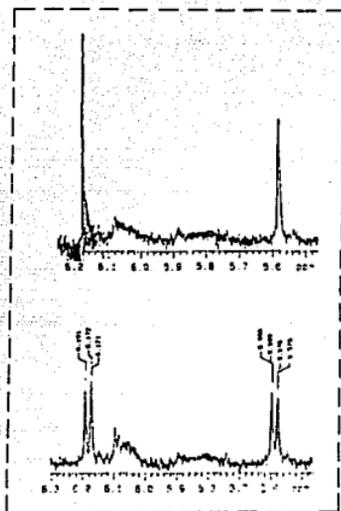
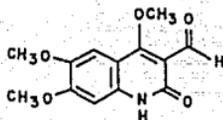
60

ESPECTRO 20.

Mezcla de oxidación de kokusaginina.



+



ESPECTRO 21.

BIBLIOGRAFIA

1. Pérez Tamayo, R., Como acercarse a la Ciencia. Conaculta. Limusa y Gobierno del Estado de Querétaro. 1989.
2. Declaracion de Vancouver, Simposio sobre Ciencia y Cultura para el Siglo XXI: Agenda para la Supervivencia UNESCO-Canadá. Ciencia y Desarrollo, Vol. XVI, Núm. 92, 80. (1990).
3. (a). Manitto, P., Biosynthesis of Natural Products. Ellis Horwood Limited, (1981).
(b). Natural Products Reports. A Journal of Current Developments in Bio-organic Chemistry, (1985-1990).
4. La síntesis estereoselectiva de sustancias orgánicas se ha desarrollado intensamente al introducir materias primas naturales quirales, tales como carbohidratos.
Hanesian, S., Total Synthesis of Natural Products: The Chiron Approach. Pergamon Press. Oxford, 1983.
5. Topics in Stereochemistry, Ellet, E. L. and Wilen, S. H., Eds., Vol 18, John Wiley, 1988.
6. Hegnauer, R., Chemotaxonomie der Pflanzen, Vol. 7, Ed. Birkhäuser Verlag Basel, London, 1973, pp. 174-239.
7. Baldwin, M. E., Rick, I. R. C., Komsac, A. A. and Price, J. R., Some ketones from *Acradenta franklinii*, Tetrahedron 16, 206, (1961).
8. Jones, R. V. H. and Sutherland, M. D., Terpenoids Chemistry XV. 1,5-dimethylcyclodeca-1,5,7-triene, the Precursor of Geijerene in *Geijera parviflora*, Aust. J. Chem. 21, 2255, (1968).
9. Mathur, R. K., Ramaswamy S. K., Rao, A. S. and Bhattacharya, S. C., Terpenoids CVIII. Isolation of an oxidodiol from *Zanthoxylum rhetsa*, Tetrahedron 23, 2495, (1967).
10. Birch, A. J., Collins, D. J., Penfold, A. R. and Turnbull, J. P., The Structure of Zlerone. Part II., J. Chem. Soc. 792, (1962).
11. Pakrashi, S. C. and Bhattacharyya, J., Studies on Indian Medicinal Plants XIV. Interrelationships among the Quinazoline Alkaloids from *Glycosmis arborea* (Roxb.) DC., Tetrahedron 24, 1, (1968).

12. Bosson, J. A., Rasmussen, M., Ritchie, E., Robertson, A. V. and Taylor W. C., The Chemical Constituents of Australian *Flindersia* Species., Aust. J. Chem. 16, 480, (1963).
13. Colonna, A. O., and Gros, E. G., Biosynthesis of the Alkaloid Skimmianine in *Fagara coco* from [$4-^{14}\text{C}$] Mevalonic Acid, [$5-^{14}\text{C}$] Mevalonic Acid and [$1-^{14}\text{C}$] Dimethylallyl alcohol., Chem. Commun. 674. (1970).
14. Kuck, A. M., Albónico S. M., Deuloteu V. and Escalante M. G., Alkaloids from Argentinian *Fagara* Species., Phytochemistry 6, 1541, (1967).
15. Chowdhury, B. K. and Chakraborty D. P., Mukoic Acid, the First Carbazol Carboxylic Acid from a Plant Source. Phytochemistry 10, 1967, (1971).
16. Klinc, F. A., Romo, J., Rosenkrantz, G. and Sondheimer F., The Constituents of *Casimiroa edulis* Llave et Lex. Part I. The Seed., J. Chem. Soc. 4163, (1956).
17. Dreyer, D. L., Chemotaxonomy of the Rutaceae II. Extractives of *Severinia buxifolia* (Poir.) Ten., Tetrahedron 23, 4613, (1967).
18. Rondest, J., Bhupesh, M. and Polonsky J., Sur un nouvel amide naturel, le N-(p-hidroxy-phényl)- β -éthyl-p-hidroxy-cinnamamide, isolé de *Evodia belaha* B. (Rutacée). Bull. Soc. Chim. France 2411, (1968).
19. Chowdhury, B. K. and Chakraborty, D. P., Hibiscetin Heptamethyl Ether, a Natural Flavone., J. Indian Chem Soc. 48, 80, (1971).
20. Dreyer, D. L. and Bertelli, D. J., The Structure of Zapotline., Tetrahedron 23, 4607, (1967).
21. Briggs, L. H. and Cambie, R. G., The Constituents of *Phebalium nudum* Hook-f. The bark., Tetrahedron 2, 256, (1958).
22. Corrie, J. E. T., Green, G. H. Ritchie, E. and Taylor, W. C., The Chemical Constituents of Australian *Zanthoxylum* Species V. The Constituents of *Z. pluviatile* Hartley; The Structure of Two New Lignanes., Aust. J. Chem. 23, 133, (1970).
23. Chan, W. R., Taylor, D. R. and Willis, G. R., The Structure of

- Sorbifolin, a Chromone from *Spathelia sorbifolia* L., J. Chem. Soc. (C) 2540, (1967).
24. Diment, J. A., Ritchie E. and Taylor W. C., The Chemical Constituents of Australian *Zanthoxylum* Species III. The Constituents of *Z. parviflorum* Benth.; The Structure of Parvifloral: Some Observations on the Biogenesis of Furoquinoline Alkaloids., Aust. J. Chem. 20, 565, (1967).
 25. Biswas, G. K. and Chatterjee, A., Isolation and Structure of Acronylin: A New Phenolic Compound from *Acronychia laurifolia* BL., Chem. and Ind. 654, (1970).
 26. Moss, G. P., Toube, T. P. and Murphy, J. W., Structure of the Limonoid Triterpene Zapoterin. J. Chem. Soc. (C) 694, (1970).
 27. Hirose, Y., Studies on Components of *Evodia fructus* III. Structure of Rutaevin and Dehydrolimonin., Chem. Pharm. Bull. 19, 1268, (1971).
 28. Kennard, O. and Riva di Sanseverino, L., The Complete Structure of the Triterpene Arborinol., Tet. Lett. 39, 3433, (1965).
 29. Theumann, D. F. and Comin, J., Isolation of Isobauerenol from *Heliopsis longifoliata*, Phytochemistry 8, 781, (1969).
 30. Dreyer, D. L. and Brenner, R. C., Alkaloids of Some Mexican *Zanthoxylum* Species. Phytochemistry 19, 935, (1980).
 31. Muñoz, M. A., Torres, R. and Cassels, B. K., Aurapten and Flindersine from *Zanthoxylum coco.*, J. Nat. Prod. 45, 367, (1982).
 32. Fish, F. and Waterman, P. G., Chemosystematics in the Rutaceae II. Chemosystematics of the *Zanthoxylum-Fagara* Complex., Taxon 22, 177, (1973).
 33. Wall, M. E., Wani, M. C. and Taylor, H., Plant Antitumor Agents. 27. Isolation, Structure and Structure Activity Relationships of Alkaloids from *Fagara macrophylla.*, J. Nat. Prod. 50, 1095, (1987).
 34. Rao, K. V. and Davies, R., The Ichthyotoxic Principles of *Zanthoxylum clava-herculis.*, J. Nat. Prod. 49, 340, (1986).
 35. Chaichantipyuth, C., Pammangura, S., Noowsaran, K.,

- Thanyavuthie, D., Anderson, J. E. and McLaughlin, J. L., Two New Bioactive Carbazole Alkaloids from the Root Bark of *Clausena harmandiana.*, J. Nat. Prod. 55, 1285, (1988).
36. Burke, B. A. and Philip, S., *Amyris* of Jamaica. Coumarins of *Amyris elemifera* D. C. (Rutaceae), Heterocycles 16, 897, (1981).
37. Burke, B. A., Parkins, H., Coumarins from *Amyris balsamifera.*, Phytochemistry 18, 1073, (1979).
38. Kuffner, F., Nikiforov, A. und Schulz, G., Uber das Rutolid., Monatshefte fur Chemie 104, 911, (1973).
39. Castillo, J. B., Rodriguez, L. F. and Secundino, M., Augustifolln, a Coumarin from *Ruta augustifolia.*, Phytochemistry 27, 650, (1984).
40. Ulubelen, A. and Terem, B., Alkaloids and Coumarins from Roots of *Ruta chalepensis.*, Phytochemistry 27, 650, (1988).
41. Ayafor, J. F., Sondengam, B. L. Bilon, A. N. and Connolly, J. D., Limonoides of *Teclea oubangutensis.*, J. Nat. Prod. 49, 583, (1986).
42. Ng, K. M., Gray, A. I., Waterman, P. G., But, P. P. H. and Kong, Y-Ch., Limonoids, Alkaloids and a Coumarin from the Root and Stem Barks of *Tetradium glabrifolium.*, J. Nat. Prod. 50, 1160, (1987).
43. Ming-he, y., Yang-Yong, CH. and Liang, H., Three Novel Cyclic Amides from *Clausena lansium.*, Phytochemistry 27, 445, (1988).
44. Mizuno, M., Matoba, Y., Tanaka, T., Tachibana, H., Iinuma, M. and Iwamasa, M., Two New Flavones in *Citrus reticulata.*, J. Nat. Prod. 50, 751, (1987).
45. Chan, J. A., Shultis, E. A., Carr, S. A., DeBrosse, C. W., Eggleston, D. S., Francis, T. A., Hyland, L. J., Johnson, W. P., Killmes, L. B., Staiger, D. B. and Westley, J. W., Novel Phloroglucinols from the Plant *Melicope sessiliflora* (Rutaceae), J. Org. Chem. 54, 2098, (1989).
46. Laguna, A., Fajardo, M. and Alvarez, E., Coumarins from the Bark of *Amyris lineata.*, Planta Medica 392, (1987).

47. Fajardo M., Laguna, A. and Pérez, I., Constituents from Steam Bark of *Zanthoxylum pistacifolium*, Planta Medica 392, (1987).
48. Kong, Y. C., Ng, K. M., But, P. P. H., Cheng, K. F. and Waterman, P. G., Aurantiamide Acetate in the Steam Bark of *Murraya exotica*, Planta Medica 393, (1987).
49. Ayafor, J. I. and Okogun, J. I., Isolation and Identification of Three New Phenolic Furoquinoline Alkaloids from *Teclea verdoorniana* Exell. & Mendonca (Rutaceae), J. Chem. Soc., Perkin Trans I 909, (1982).
50. Campell, W. E., Finch, K. P., Bean, P. A. and Finkelstein, N., Alkaloids of the Rutoideae: Tribe Diosmeae., Phytochemistry 26, 433, (1987).
51. Zarga, M. H. A., Three New Simple Indol Alkaloids from *Limonia acidissima*, J. Nat. Prod. 49, 901, (1986).
52. Funayama, S. and Cordell, G. A., Chemistry of Acronycine XII. Further Oligomers of Noracronycine., J. Nat. Prod. 49, 210, (1986).
53. Mitaku, S., Skaltsounis, A.-L., Tillequin, F., Koch, M., Puset, J. and Chauviere, G., Four New Acridone Alkaloids from *Sarcomelicope dogniensis* Hartley (Rutaceae), Heterocycles 26, 2057, (1987).
54. Massanet, G. M., Pando E., Rodríguez, L. F., Salva, F. J. and Zubia, E., Lignanos de *Zanthoxylum fagara* (L.) Sarg., Rev. Latinoamer. Quím. 21, 77, (1990).
55. Standley P. C., Trees and Shrubs of México, Vol. 23. pag. 537. Contributions from the United States National Herbarium, Smithsonian Institution, Washington, D. C. (1923).
56. Ramos, C. H., Revisión Taxonómica de *Esenbeckia* (Rutaceae) de México. Tesis de Maestría. Facultad de Ciencias UNAM. (1991).
57. Vitagliano, J. C. and Comin, J., Studies on Argentine Plants XXVIII. Alkaloids from *Esenbeckia febrifuga* Juss., Anales Asoc. Quím. Argentina 58, 59, (1970).
58. Vitagliano, J. C. and Comin, J., Studies on Argentine Plants XXIX. Limonoids from *Esenbeckia febrifuga* Juss. and *Helietta*

- longifoliata* Britt., Anales Asoc. Quim. Argentina 58. 273. (1970).
59. Dreyer, D. L., Pickering, M. V. and Cohan P., Distribution of Limonoids in the Rutaceae., Phytochemistry 11, 705. (1972).
60. Dreyer, D. L., Alkaloids, Limonoids and Furocoumarins from three Mexican *Esenbeckia* Species., Phytochemistry 19. 941. (1980).
61. Bevalot, F., Fournet, A., Moretti, G. and Vaquette, J., Alkaloids from *Esenbeckia pilocarpoides*., Planta Medica 50, 522, (1984).
62. Barton, D. H. R., Buegstahler, A. W. and Lindsey, A. S., Sesquiterpenoids. Part V. The Stereochemistry of the Tricyclic Derivatives of Caryophyllene., J. Chem. Soc. 4659, (1954).
63. Barton, D. H. R. and Nickon, A., Sesquiterpenoids. Part VI. The Absolute Configuration of Caryophyllene., J. Chem. Soc. 4665, (1954).
64. Bohmann, F. and Zdero, Ch., Neue Furanoeremophylane und Andere Sesquiterpene aus Vertretern der Gattung *Euryops*. Phytochemistry 17, 1135. (1978).
65. Gunatilaka, A. A. C., Nanayakkara, N. P. D. and Wazeer, M. I. M., ¹³C NMR Spectra of Some D:A-friedo-oleananes., Phytochemistry 22, 991, (1983).
66. Bates, R. B., and Gale, D. M., Stereochemistry of Trisubstituted Double Bonds in Terpenoids., J. Am. Chem. Soc. 82, 5749, (1960).
67. El solanesol es un compuesto polisoprenico de estructura conocida, que presenta nueve unidades de isopreno con configuracion trans y un coeficiente de extincion molar de 8.07×10^4 . El valor de 0.90×10^4 es corresponde por tanto a cada doble enlace presente en la molécula.⁶⁸
68. Tanaka, Y., Sato, H. and Kageyu, A., Structural Characterization of Polyprenols by ¹³C NMR spectroscopy: Signals Assignments of Polyprenol Homologs., Polymer 23, 1087, (1982).
69. Tanaka, Y. in Recent Advances in High Resolution and Solid

- State Studies, (Randall, J. C. ed.), American Chemical Society, Washington DC., pp. 233-234, (1985).
70. Tanaka, Y., Sato, H. and Kageyu, A., Determination of Arrangement of Isoprene Units in Pig Liver Dolichol by ^{13}C NMR Spectroscopy., Biochem. J 243, 481, (1987).
 71. Burgos, J., Butterworth, P. H. W., Hemming, F. W. and Morton, R. A., The Biosynthesis of a Long-Chain Polyisoprenoid Alcohol by *Aspergillus fumigatus*, Fresenius., Biochem. J. 91, 22P, (1964).
 72. Wellburn, A. R. and Hemming, F. W., The Subcellular Distribution and Biosynthesis of Castaprenols and Plastoquinone in the Leaves of *Aesculus hippocastanum*., Biochem. J. 104, 173, (1967).
 73. Suga, T., Shishibori, T., Kosela, S., Tanaka, Y. and Itoh, M., The Structural Elucidation and the Biosynthesis Study of Cleomeprenols -9, -10 and -11 the Leaves of *Cleome spinosa*., Chem. Lett. 771, (1975).
 74. Suga T. and Shishibori, T., Structure and Biosynthesis of Cleomeprenol from Leaves of *Cleome spinosa*., J. Chem. Soc. Perkin Trans I 2098, (1980).
 75. Suga T., Shishibori, T. and Nakaya, K., Structure and Biosynthesis of Malloprenols from *Mallot japonicus*., Phytochemistry 19, 2327, (1980).
 76. Suga T., Hirata, T., Aoki, T. and Kataoka, I., Stereochemistry of Hydrogen Elimination in the Biosynthesis of Poliprenols in Higher Plants., J. Am. Chem. Soc. 108, 2366, (1986).
 77. Burgos, J., Hemming F. W., Pennock, J. F. and Morton, R. A., Dolichol: A Naturally Occurring C₁₀₀ Isoprenoid Alcohol., Bioch. J. 88, 470, (1963).
 78. Lindgren, B. O., Homologous Aliphatic C₃₀-C₄₅ Terpenols in Birch Wood., Acta Chem. Scand. 19, 1317, (1965).
 79. Thorne, K. J. I. and Kodicek, E., The Structure of Bactoprenol, a Lipid Formed by *Lactobacilli* from Mevalonic Acid., Biochem. J. 99, 123, (1966).
 80. Fukawa, H., Toyoda, M., Shimizu, T. and Murohashi, M.,

- Isolation of New Isoprenyl from Silkworm Feces., Tet Lett 49, 6205, (1966).
81. Tabacik-Wlotzka, Ch., and Pistre, P., Isolement de Poly-isoprenols dans L'extrait Neutre de *Pistacia terebinthus* (ID.), Phytochemistry 6, 597, (1967).
 82. Wellburn, A. R., Stevenson, J., Hemming, F. W. and Morton, R. A., The Characterization and Properties of Castaprenol -11, -12 and -13 from Leaves of *Ausculus hippocastanum* (Horse Chestnut), Biochem. J. 102, 313, (1967).
 83. Stone, K. J., Wellburn, A. R., Hemming, F. W. and Pennock, J. F. The Characterization of Ficaprenols -10, -11 and -12 from Leaves of *Ficus elastica* (Decorative Rubber Plant), Biochem. J. 102, 325, (1967).
 84. Toyoda, M., Fukawa, H. and Shimizu, T., Isolation of New Polyisoprenyl Ketone from Silkworm feces., Tet. Lett. 35, 3837, (1968).
 85. Ibata, K., Mizuno, M., Takigawa, T. and Tanaka, Y., Long-chain Betulaprenol-type Polyprenols from the Leaves of *Ginkgo biloba*, Biochem. J. 213, 305, (1983).
 86. Ravi, K., Rip, J. W. and Carroll, K. K., Characterization of Dolichol and Dolichylphosphate from Soya beans (*Glycine max.*), Biochem. J. 213, 513, (1983).
 87. Ibata, K., Mizuno, M., Tanaka, Y., and Kageyu, A., Long-chain Polyprenols in the Family Pinaceae. Phytochemistry 23, 783, (1984).
 88. Lanzetta, R., Monaco, P., Previtera, L. and Simaldone, A., Polyprenols and Hidroxylated Lycopersenes from *Myriophyllum verticillatum*, Phytochemistry 27, 887, (1988).
 89. Hemming, F. W., Polyprenols., Int. Rev. Sci. Biochem. Ser. 4, 39, (1979).
 90. Sato, K., Miyamoto, O., Inoue, S., Matsushashi, Y., Koyama, S. and Toshihiko, K., Stereospecific Synthesis of (Z,Z,Z,Z,Z,Z,Z,E,E)-undecaprenol (Bacterialprenol) Using an all-*cis*-Diterpene Building Block., J. Chem. Soc. Chem. Commun. 1761, (1986).

91. Bohlmann, F. and Zdero, Ch., Neue Phloroglucin-derivative aus *Helicrysum natalitium* und *Helicrysum bellum*. Phytochemistry 18, 641, (1979).
92. Bohlmann, F. and Hoffmann, E., Cannabigerol-Ahnliche Verbindungen aus *Helicrysum umbraculigerum*. Phytochemistry 18, 1371, (1979).
93. Bohlmann, F. Zdero, Ch., Abraham, W., Suwita, A. and Grenz, M., Neue Diterpene und Neue Dihydrochalkon-derivative Sowie Weitere Inhaltsstoffe aus *Helicrysum*-Arten.. Phytochemistry 19, 873, (1980).
94. Bohlmann, F. and Mahanta, P. K., Weitere Phloroglucin-derivative aus *Helicrysum gymnoconum*, Phytochemistry 18, 348, (1979).
95. Existen reportes en la literatura que establecen que el clovandiol es un producto de ciclización del epóxido de carlofileno catalizada por acidos.⁶³
96. Bowyer, R. G. and Jefferies, P. R., Structure of Spathulenol. Chem. Ind. 1245, (1963).
97. Shinoda, N., Shiga, M. and Nishimura, K., Constituents of Yuzu (*Citrus junos*) oil. Agric. Biol. Chem. 34, 234, (1970).
98. Hubert, T. D. and Wiemer, D. F., Ant-repellent Terpenoids from *Melampodium divaricatum*., Phytochemistry 24, 1197, (1985).
99. Maurer, B. and Hauser, A., New Sesquiterpenoids from Clary Sage Oil (*Salvia sclarea* L.), Helv. Chim. Acta 66, 2223, (1983)
100. Inagaki, F. and Abe, A., Analysis of ¹H and ¹³C Nuclear Magnetic Resonance Spectra of Spathulenol by Two-dimensional Methods., J. Chem. Soc. Perkin Trans II 1773, (1985).
101. Bohlmann, F., Singh, P., Jakupovic, J., King, R. M. and Robinson, H., Eudesmanolides from *Dimerostemma brasilianum*., Phytochemistry 21, 1343, (1982).
102. Sangster, A. W. and Stuar, K. L., Ultraviolet Spectra of Alkaloids., Chem. Rev. 65, 69, (1965).

103. Grundon, M. F., Harrison, D. M. and Spyropoulos, C. G., Biosynthesis of Aromatic Isoprenoids. Part III. Mechanism of Formation of the Furan Ring and Origin of the 4-methoxy Group in the Biosynthesis of Furoquinoline Alkaloids., J. Chem. Soc. Perkin Trans. I 302, (1975).
104. Robertson A. V., The Proton Magnetic Resonance of Furoquinoline Alkaloids and Related Compounds., Aust. J. Chem. 16, 451, (1963).
105. Brown, N. M. D., Grundon, M. F., Harrison, D. M. and Surgenor, S. A., Quinoline Alkaloids XXI. The ^{13}C NMR Spectra of Hemiterpenoid Quinoline Alkaloids and Related Prenylquinolines., Tetrahedron 36, 3579, (1980).
106. Rivas, C. and Payo, E., Synthesis of Oxetanes by Photoaddition of Benzophenone to Furans., J. Org. Chem. 32, 2918, (1967).
107. Denny, R. W. and Nickon, A., in Sensitized Photooxygenation of Olefins., Organic Reaction, Vol. 20, John Wiley and Sons, New York, N. Y. (1973), pp. 133.
108. Matsumoto, M., Dobashi, S. and Kond, K., The Sensitized Photooxygenation of 2-vinylbenzofurans., Bull. Chem. Soc. Jpn. 50, 3026, (1977).
109. Basseller, J. J., Cherton, J. G. and Calle, J.; Photooxidation of polycyclic furans., C. R. Hebd. Seances Acad. Sci. 273, 514, (1971).
110. Awang, D. V. G., Dawson, B. A., Girard, M., Vincent, A. and Eklé, I., The Product of Reserpine Autoxidation., J. Org. Chem. 55, 4443, (1990).
111. Lichtenhaler, H. K. and Börner, K. J., Separation of Prenylquinones, Prenylvitamines and Prenols on Thinlayer Plates Impregnated with Silver Nitrate., J. Chromat. 242, 196, (1982).