

00573

3
24

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA



EMPLEO DE LOS PRODUCTOS NATURALES
COMO FUENTE DE INTERMEDIARIOS
SINTETICOS (BOSCHNALOSIDO)

T E S I S

PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS QUIMICAS
(QUIMICA ORGANICA)

P R E S E N T A :

ARTURO NAVARRO OCAÑA



TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

MEXICO, D. F.

1991



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.

INDICE

	Pág.
1.- Introducción	2
2.- Antecedentes	3
3.- Parte Experimental	38
4.- Discusión de Resultados	51
5.- Conclusiones	70
6.- Bibliografía	71
7.- Espectros	78

INTRODUCCION.

En los últimos años las investigaciones en la química de los productos naturales ha concentrado sus esfuerzos en la búsqueda de sustancias biológicamente activas presentes en plantas, para que sean utilizados en diferentes áreas, tales como la farmacología y la agricultura (1).

Estos estudios han impulsado a los fitoquímicos a aislar y asignar la estructura a un gran número de compuestos, para utilizarlos en forma natural o modificada, ya sea como fármacos, colorantes, esencias, herbicidas, insecticidas, etc. o bien como materia prima para la preparación de moléculas nuevas (2).

Una clase importante de productos naturales son los monoterpénos-ciclo-pentanoídes también llamados iridoides, compuestos de origen vegetal predominantemente, los cuales han sido objeto de numerosos estudios desde que se aisló, el iridodial, de una especie de hormigas australianas (*Iridomyrmex detectus*) (3). Debido a su variedad e importancia biológica se sigue trabajando intensamente en este campo con el fin de obtener iridoides bioactivos (4).

El presente trabajo es parte del programa de investigación sobre química de iridoides de plantas mexicanas, que comprende como primera etapa el aislamiento y determinación de su estructura y la segunda que consiste en la utilización de los iridoides como fuente de compuestos ópticamente activos. La última aborda la investigación de su actividad fisiológica y, por lo tanto, de algún uso comercial potencial.

El objetivo principal de este trabajo es el de mostrar los resultados de los ensayos sintéticos realizados con el iridoide glucosídico, boschnalósido y su aglucón.

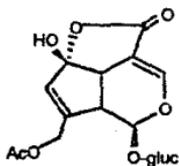
Las modificaciones químicas nos van a permitir obtener moléculas que conserven inalterables los centros quirales del ciclo-pentano del iridoide, a los que posteriormente se les harán pruebas de actividad biológica (5).

ANTECEDENTES.

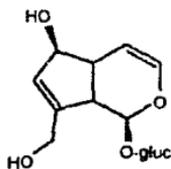
Los terpenos son básicamente productos de las cadenas de reacciones que constituyen el sistema metabólico secundario de las plantas, que se conocen como metabolitos secundarios y aparentemente no desempeñan ningún papel en el crecimiento y mantenimiento de las células⁽⁶⁾.

Los monoterpenos están clasificados en dos grupos principales: Monoterpenos normales y ciclopentanoides (al segundo grupo pertenecen los iridoides).

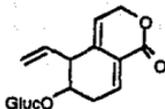
Los Iridoides y los secoiridoides se conocen desde hace mucho tiempo, por ejemplo, el Iridóide glucosídico, esperulósido I y aucubina II, fueron aislados en 1848 y 1902 respectivamente; y el secoiridóide glucosídico gentiopicrósido III, en 1862⁽⁷⁾, sin embargo no fue sino hasta los años sesentas del siglo XX cuando se estudiaron sistemáticamente con la aparición de nuevas técnicas de análisis físico-químicos, resonancia magnética nuclear, cromatografía de gases, espectrometría de masas, rayos X, etc.; lo que permitió determinar la esteoquímica de este grupo de productos naturales⁽⁴⁾.



Asperulósido (I)



Aucubina (II)



Gentopicrosido (III)

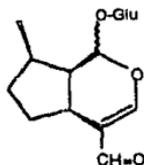
Se han publicado numerosos trabajos relativos a iridoides entre los que destacan una revisión de Bobbit y Segebarth ⁽⁶⁾, en 1969, que contiene datos físico-químicos; Plouvier y Favre-Bonvin ⁽⁸⁾, que hace énfasis en la distribución, estructura, propiedades y biosíntesis; Buchbauer ⁽⁹⁾, en 1974, discute la importancia farmacológica de los iridoides; Sticher y Junod-Busch ⁽¹⁰⁾, en 1975, presentan un estudio de los métodos de separación; Jensen-Nelsen y Dahlgren ⁽¹¹⁾, en 1975, hablan de su distribución botánica; Van Der Sluis y Labadie ⁽¹²⁾, en 1976, presentan una monografía sobre secoiridoides. En 1978, Johodar, Rimpler y Sticher ⁽¹³⁾, dan a conocer los resultados de sus investigaciones acerca de los iridoides glucosídicos; Inouye y Col. ⁽¹⁴⁾, han discutido ampliamente el punto relativo a la biosíntesis.

Finalmente mencionaremos algunas revisiones más recientes de este importante grupo de monoterpenos. En 1980 El-Naggar ⁽¹⁵⁾ da a conocer un glosario acerca de iridoides glucosídicos, secoiridoides, bis-iridoides e iridoides no glucosídicos; presenta datos de sus constantes físicas, análisis físico-químicos y da información sobre este tipo de compuestos desde que se aisló el primero hasta 1980.

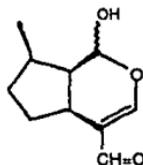
En 1989 aparece un suplemento de Nicoletti, M. ⁽¹⁶⁾, donde presenta brevemente los avances más recientes en esta área, biosíntesis, reacciones importantes, resonancia magnética nuclear de C-13 e H, espectrometría de masas y técnicas de separación.

Por último el capítulo que dedica Stermitz, F. R. (5) en el libro " Productos Naturales Biológicamente Activos ", aborda el tema de la utilización de los iridoides glucosídicos en la síntesis de compuestos ópticamente activos (sintones quirales), así como también lo referente a los estudios de su actividad biológica (compuestos bioactivos).

Como se mencionó en la Introducción, el motivo principal de este trabajo es el mostrar los resultados de los ensayos sintéticos realizados con el boschnalósido y su aglucón (IV y V), con el fin de obtener alcaloides relacionados a este tipo de iridoides, así como preparar un intermediario que permita obtener moléculas con diferente esqueleto al Iridolde original; también como ya se mencionó, dentro del programa de Investigación sobre Química de Iridoides de Plantas Mexicanas emprendido por el Dr. Jiménez y Col (17). Este comprende tres etapas: Aislamiento y caracterización; modificaciones al esqueleto básico de Iridoides aislados en nuestro laboratorio; y finalmente, pruebas de actividad biológica teniendo como marco de referencia la información existente en la literatura sobre este tópico.



Boschnalósido (IV)



Aglucón del Boschnalósido (V)

Si bien es cierto que se han publicado numerosos trabajos sobre iridoides, en los tres puntos mencionados anteriormente, el interés sobre estos compuestos se mantiene y aumenta como lo revela el siguiente dato: En 1980 se conocían 180 iridoides glucosídicos y en 1986 aumentó a 300 (5); el renovado interés se atribuye al hecho de que cada vez se utilizan más como intermediarios quirales y a que, las nuevas técnicas de separación han permitido obtener cantidades adecuadas para los ensayos sintéticos y pruebas de bioactividad.

Con el fin de presentar más claramente el tema principal de este trabajo es conveniente dar a conocer en forma breve los aspectos más sobresalientes en el estudio de los Iridoides, para tal fin hemos dividido los antecedentes en cuatro partes:

- I. a) Química de monoterpenos ciclopentanoides
 - b) Iridoides de plantas mexicanas.
 - c) Alcaloides monoterpenos ciclopentanoides.
- II. a) Iridoides como fuente de intermediarios.
 - b) Iridoides de plantas mexicanas
- III. a) Actividad biológica
- IV. a) Preparación de alcaloides monoterpénicos.

Ia-1 QUIMICA DE MONOTERPENOS CICLOPENTANOIDES.

Los Iridoides son un grupo numeroso de monoterpenos ciclopentanoides que se caracterizan por tener un sistema anular de ciclopentano y un pirano; se encuentran como glucósidos y en pocas ocasiones como aglucones en un gran número de plantas (16).

El término Iridolde fue sugerido por Brigg, Cain, Le Quesne y Shooter (19), debido a que el esqueleto básico de estos monoterpenos heterocíclicos corresponden al Iridodial, el cual presenta un grupo enol-hemiacetal (esquema I) característico de estos compuestos, también se les llamó pseudo-Indikans, debido a la coloración que presentan al hidrolizarse en medio ácido; otra forma de referirse menos común, es como aglucones de la aucubina II.



Esquema I. (Iridodial)

El Iridodial junto con el Iridomyrmeciny la Iridolactona se aislaron de un Insecto, en este caso de una hormiga australiana *Iridomyrmex detectus* (3).

Estos monoterpenos ciclopentanoides están clasificados según Sticher (10) en cinco grupos:

- I.- Monoterpenos, metilciclopentanoides del tipo de la nepetolactona.
- II.- Iridoides glucosídicos y no glucosídicos.
- III.- Alcaloides monoterpénicos.
- IV.- Secoiridoides.
- V.- Indol, isoquinolalcaloides no derivados del triptofano.

Ejemplos de cada uno de estos grupos así como de su actividad biológica se encuentran en la tesis de Meléndez (17)

1a-2 AISLAMIENTO DE LOS IRIDOIDES.

Aunque se encuentren en numerosas familias, su obtención presenta algunos problemas, debido a que son compuestos poco estables. Se descomponen fácilmente, en medio ácido ó en presencia de enzimas se hidrolizan y oxidan rápidamente; las observaciones generales indican que, se les encuentra en tejidos jóvenes, lo que sugiere una rápida utilización en el metabolismo de la planta. Experimentos con *Verbena officinalis* confirman estas observaciones (16), por lo que deben estudiarse en esta etapa. Para realizar un estudio sobre Iridoides por regla general se realizan las tres etapas siguientes:

Primero: detección de iridoides que puede realizarse por medio de la reacción de coloración con reactivos de vainillina o de paranísidina.

Segundo: Purificación preliminar, con el fin de eliminar fenoles, taninos, flavonoides glucosídicos y diterpenos ácidos de polaridad comparable. Para eliminar estos compuestos se siguen tres técnicas: Tratamiento con acetato de plomo, óxido de aluminio y con carbón activado.

El tercer paso consiste en la purificación de los componentes individuales, que se realiza por cromatografía de columna fase normal y fase reversa por CCD, DCCD y HPLC (20).

1a-3 DETERMINACIÓN ESTRUCTURAL DE IRIDOIDES.

Esta se apoya en el uso de análisis físico-químico, U.V., RMN C¹³ y protónica, espectrometría de masas y cromatografía de gases(21).

Una característica de los iridoídes es su inestabilidad en medio ácido, y su facilidad para dar reacciones de hidrólisis, que conducen a aglucones inestables y que se descomponen fácilmente, por lo que sólo se conocen unos cuantos(22). Los derivados acetilados generalmente son más estables, también se recomienda las reacciones de reducción y epimerización para tener compuestos conocidos y de fácil manejo(23).

1b- ANTECEDENTES SOBRE IRIDOIDES DE PLANTAS MEXICANAS.

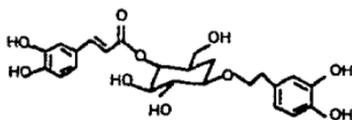
Durante mucho tiempo las plantas que componen la familia de las Escrophulariaceas han sido utilizadas en la medicina popular, contra las más diversas enfermedades. Se ha encontrado que este tipo de plantas poseen entre otras actividades, antimicrobiana, diurética, espasmódica y cerminativa(24).

La familia de las Escrophulariaceas se subdividen en tres subfamilias: Las Pseudosolaninas, Antirrinoides y Rinantoideas; la subfamilia más importante es la Antirrinoides. En la República Mexicana las escrofulariáceas que existen son las siguientes: Angelonia, Bacopa, Buchnera, Calcedonia, Castilleja, Capruria, Digitalis, Mimulus, Penstemon, Scoperia,

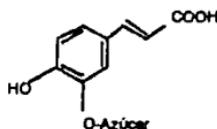
Sibthorpia, Tetramena, Verbascos y Veronica (25).

Los iridoides son los compuestos característicos y más abundantemente aislados de las escrofulariáceas (26). En nuestro país está ampliamente distribuida esta familia. Por ejemplo del género *Lamourouxia* existen 24 especies dentro de la república (25). La abundancia de estas plantas aunado al hecho de la importancia de los estudios de iridoides, hacen indispensable el estudio de esta familia y de los compuestos que ésta contiene, en nuestro país.

El Dr. Jiménez y Col. ha iniciado el estudio de este grupo de productos naturales. Su primer trabajo consistió en el estudio químico de los componentes del *Penstemon roseus* (Sweet) G. (27, 28), de donde aislaron dos Iridoides glucosídicos: Boschnalósido IV y plantarrenalósido VI así como también el acetósido VII; glucosidos de fenilpropanoides VIII;

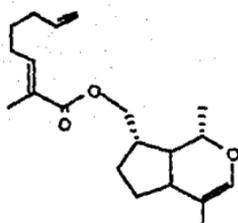


Acetosido (VII)



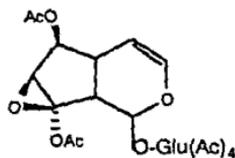
Fenil-propanoide con azúcar (VIII)

También estudierón la *Lamourouxia multifida*, de la cual caracterizaron un nuevo iridolide glucosídico, lamouróxido IX (29, 30).

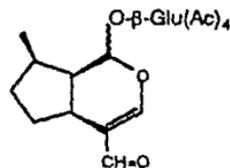


Lamouróxico (IX)

Otros trabajos han sido la determinación por medio de rayos X de la estructura del hexaacetato del catalpol X (31), del glucósido del boschnalósido como acetato XI (32). También se han realizado trabajos de modificaciones químicas a los productos aislados de las plantas que han estudiado, oxidaciones del aglucón del boschnalósido (33) y estudio químico del boschnalósido (17).



Hexaacetato de catalpol (X)

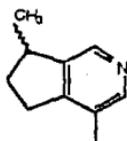


Acetato de boschnalósido (XI)

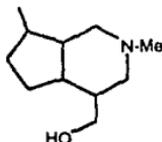
1c- ALCALOIDES MONOTERPENICOS.

Dentro de la clasificación de los monoterpenos ciclopentanoides, el grupo de los alcaloides monoterpenos está biogénicamente relacionado a la loganina y a otros iridoides glucosídicos, en donde el oxígeno de la posición dos se encuentra sustituido por nitrógeno reteniéndose el esqueleto bicyclico (esquema II), éstos se pueden obtener a partir de iridoides por tratamiento

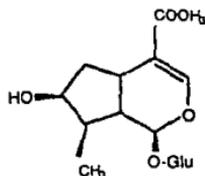
con amoníaco o sales amoniacales de cobre y hierro. Este tipo de alcaloides se han aislado junto con iridoides, lo que hace pensar que probablemente sean artefactos que se forman durante el proceso de extracción y su existencia en fuentes naturales no se ha discutido⁽¹⁶⁾.



Actinidina



Tecostarina

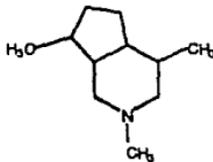


Loganina

Esquema II.

En 1961 dos grupos^(34,35), aislaron simultáneamente la "Skytantina" de-

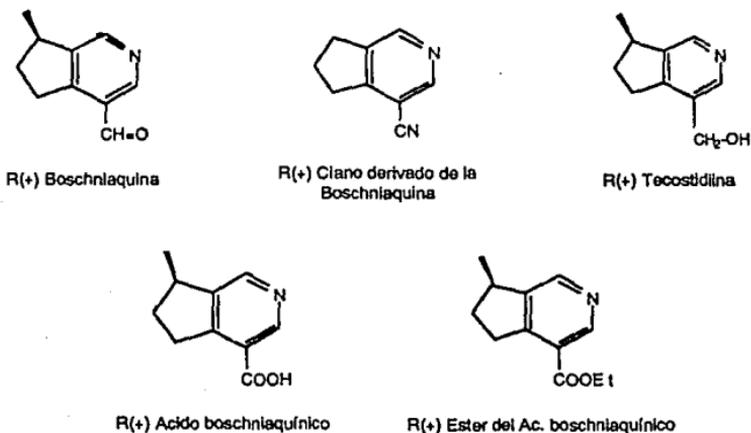
Skylanthus acutus (Apocynaceae), y años después apareció un tercer Informe donde se habla de este compuesto⁽³⁶⁾, siendo el primero de estos alcaloides que se conoce. Una de las primeras aplicaciones de la RMN¹H en el área de los productos naturales fué en la determinación de la estructura de esta molécula⁽³⁷⁾, su estereoquímica no fué determinada.



"Skytantina"

A raíz de este trabajo aparecieron muchos otros como se puede ver en la revisión que hace Cordell⁽³⁸⁾ sobre estos compuestos.

Los alcaloides de nuestro interés están relacionados a la actinidina y son R(+), boschniaquina, R(+), tecostidina, R(+), ácido boschniaquínico, R(+), éster del ácido boschniaquínico, los cuales pueden prepararse a partir de la boschniaquina o del nitrilo derivado de ésta (esquema III).



Esquema III.

Estos alcaloides se han aislado de fuentes naturales ya sea como productos del metabolismo o bien como artefactos; otros se han obtenido por síntesis a partir de un análogo con una estereoquímica conocida con el fin de poder hacer correlaciones. En la revisión de Cordell se discute ampliamente la química de estos alcaloides.

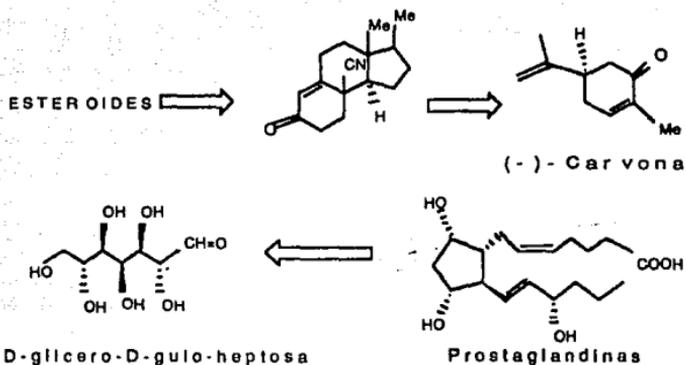
Las propiedades farmacológicas de las piridinas monoterpénicas han sido poco estudiadas, aunque algunas de ellas se han obtenido de plantas activas biológicamente⁽³⁸⁾.

IIa. IRIDOIDES COMO FUENTE DE INTERMEDIARIOS OPTICAMENTE ACTIVOS

Generalmente cuando se desea sintetizar nuevas moléculas, se persiguen varios

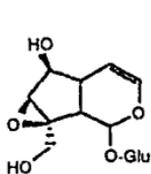
propósitos de los que se destacan los siguientes: Académico e Industrial. En el aspecto académico el de diseñar una nueva ruta con el objeto de reducir las etapas de construcción de una molécula objetivo, probar un reactivo novedoso, ensayar una reacción nueva o ya sea para demostrar un mecanismo de reacción, o bien, probar una hipótesis que tenga como fin modificar o confirmar la teoría del enlace o del equilibrio químico, preparar un compuesto de estructura compleja o novedosa, etc. Y en el Industrial se desea sintetizar una molécula nueva o conocida para que ésta se utilice en la industria química (perfumería, farmacéutica, agroquímicos) o bien, como materia prima para la preparación de otras sustancias, etc.

En la síntesis de carácter aplicativo se tiene como objetivo abaratar el proceso, en síntesis de interés académico la de ampliar el conocimiento; en el campo de los productos naturales muchas veces las estructuras encontradas son muy complejas y se obtienen en cantidades pequeñas, que no permite realizar otro tipo de investigaciones (de carácter aplicativo o académico), lo que hace indispensable buscar nuevas rutas para su preparación. Dentro de este campo los monoterpenos que más se han utilizado son; (-)-carvona, (+)-citronellol, (-)-alcanfor, (S)-ácido málico, secologanina, etc, y los azúcares ;D-glucosa, 2-deoxi-D-eritro-pentosa, D-glicero-D-gulo-heptosa, etc⁽³⁹⁾ En el (esquema IV) se muestran dos ejemplos. Sin embargo los Iridoides se han empleado poco.

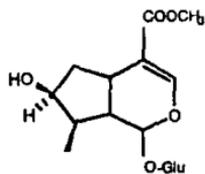


Esquema IV

Los irldoides que más se han utilizado son la aucubina I (40), asperulósido I (41), catalpol XI (42) y loganina XII (43).

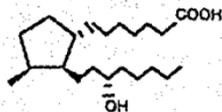
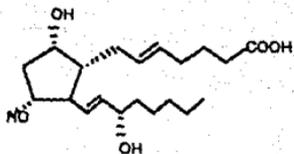


Catalpol (XI)

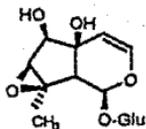


Loganina (XII)

han sido usados como Intermedarios ópticamente activos para la síntesis de prostaglandinas XIV (44); otro irldoide que se podría utilizar para la preparación del 11-metilprostaglandinas XV, es el antirrhinósido XVI (45).



Prostaglandinas PGF (XIV) 11-Metilprostaglandinas (XV)



Antirrhinosido (XVI)

Hasta 1986 se habían publicado dieciocho artículos y once patentes refiriéndose a la utilización de iridoídes en la preparación de este importante grupo de productos naturales que poseen una gran variedad de aplicaciones biológicas (regulación hormonal y metabolismo) (46).

En el campo de la síntesis de prostaglandinas uno de los objetivos principales es el de obtener productos enantioméricamente puros; éste objetivo se puede cubrir vía las cuatro siguientes aproximaciones (47):

Primero.— Resolución de la mezcla enantiomérica. Generalmente es costosa y consume mucho tiempo, no es muy eficiente.

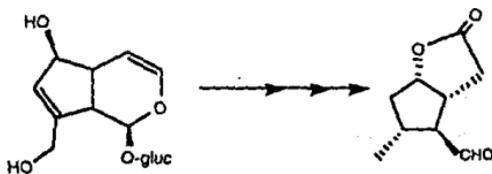
Segundo.— El enantiómero deseado puede obtenerse manipulando adecuadamente un producto natural que contenga más centros quirales de los requerido en el producto.

Tercero.— Amplificación de la quiralidad presente en un producto natural que contiene un centro quiral, a través de reacciones estereoselectivas.

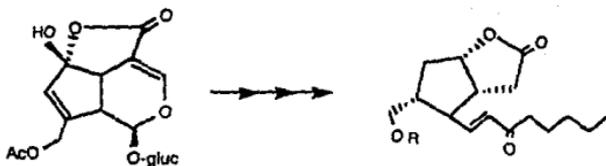
Cuarto.- Utilización de un auxiliar quiral para controlar la estereoquímica relativa y absoluta.

Para preparar prostaglandinas se han utilizado las cuatro aproximaciones⁽⁴⁸⁾; el uso de iridoides cae en el segundo y tercer caso.

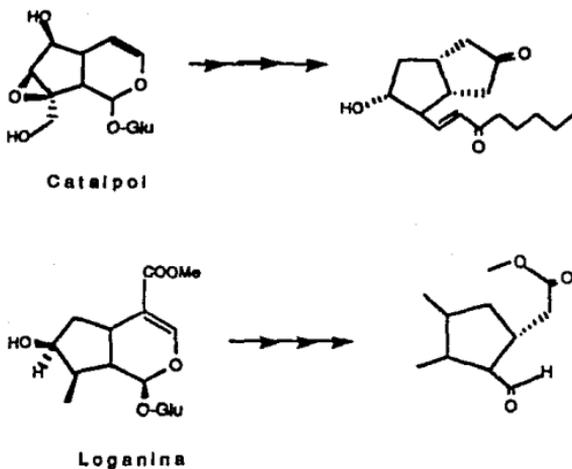
El esquema V muestra como se han utilizado los iridoides (aucubina, esperulósido, catalpól, loganina) para preparar prostanoïdes o derivados.



Aucubina

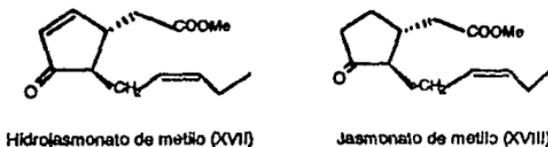


Asperulósido



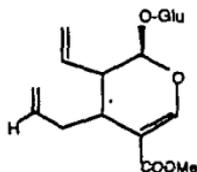
Esquema V.

Otro campo de aplicación del iridoide glucosídico aucubina, es en la preparación de un intermediario quiral que se utiliza como materia prima en la síntesis de dehidrojasmonato de metilo XVII y jasmonato de metilo XVIII (esquema VI), ambos se han identificado como feromonas de atracción sexual en insectos o como promotores de la senescencia en algunas plantas y ambos se utilizan en la industria de la perfumería⁽⁴⁹⁾.

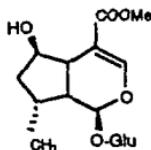


Esquema VI.

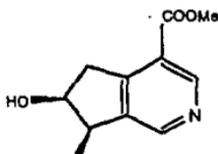
Pero no son éstos los únicos casos donde se han utilizado los iridoides como materias primas; otros ejemplos de su empleo es en la síntesis de alcaloides indólicos, donde la secologanina XIX es el compuesto de partida⁽⁵⁰⁾; otro es el pentemonósido XX para obtener alcaloides



Secologanina (XIX)



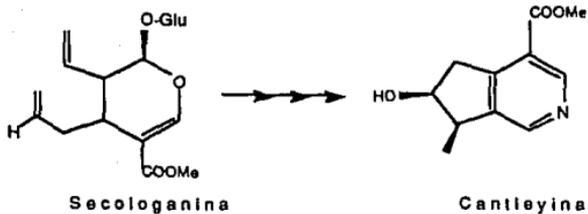
Pentemonósido (XX)



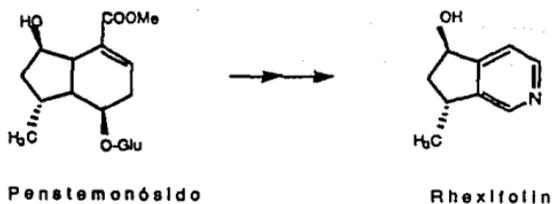
Cantleyina (XXI)

monoterpénicos derivados de la piridina⁽⁵¹⁾ y la loganina XVIII para preparar Cantleyina XXI⁽⁵²⁾.

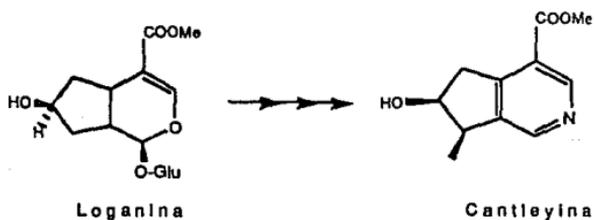
Los iridoides también han servido como fuentes de intermediarios ópticamente activos, para sintetizar compuestos emparentados a los iridoides⁽⁵⁴⁾, ver esquemas VII, VIII y IX, o bien, para realizar correlaciones con el fin de determinar la estereoquímica de otros iridoides⁽⁵³⁾ (esquema X).



Esquema VII.

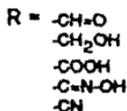
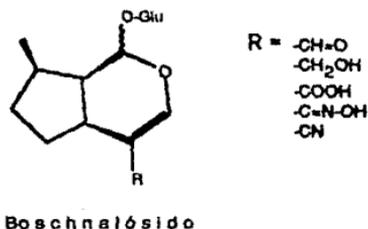


Esquema VIII.



Esquema IX.

(esquema XII), así como también algunas reacciones químicas sobre esos grupos funcionales



Esquema XII.

En ambos estudios se trató de optimizar los métodos de separación y purificación del boschnalósido y su aglucón, puesto que para la utilización de estos productos en síntesis es necesario contar con cantidades apropiadas.

IIa.- ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE IRIDOIDES.

La exposición de este tópico se presentará en tres partes:

Primera.- Plantas usadas en medicina tradicional que contienen Iridoides.

Segunda.- Papel que desempeñan los Iridoides en algunos procesos biológicos y

Tercera.- Propiedades farmacológicas de los compuestos tipo Iridoide.

Se han escrito varios trabajos en los cuales se discute ampliamente estos temas, por lo que aquí únicamente se presentará un resumen del contenido de estos trabajos, también se mencionarán algunas recomendaciones para el estudio de este grupo de productos naturales para su utilización en diferentes campos.

Primera: Plantas que contienen Iridoides usadas en Medicina Tradicional.

Wagner and Wolff⁽²⁾, al referirse a los trabajos sobre Iridoides y secoiridoides anteriores a 1977 mencionan que son los Ingredientes activos de un gran número de plantas usadas en la medicina popular que se utilizaban como tónicos amargos, sedantes ligeros, febrifugos contra la tos, remedios para curar heridas y otras

enfermedades de la piel, y por sus efectos hipotensivos*. Otros estudios sobre actividad de Iridoides son los de Hansel⁽⁵⁵⁾, Hegnauer⁽⁵⁶⁾, Buchbever⁽⁹⁾, Swiatek⁽⁵⁷⁾ Bobbitt y Segebarth⁽⁶⁾. En este último se señala que la actividad encontrada a la planta no se puede atribuir únicamente a los Iridoides.

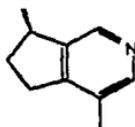
Las Investigaciones referente a los efectos fisiológicos de estas moléculas realizados en los últimos años han aclarado bastante la confusión que existía anteriormente.

Segunda: Papel que desempeñan los Iridoides en los Procesos Biológicos.

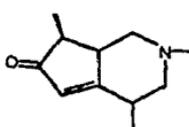
Algunos de los monoterpenos metilciclopentanoides del tipo de la nepetolactona (esquema XI) tienen fuerte actividad biológica, las propiedades más notables son las siguientes: Actúan como repelentes y atrayentes de insectos; atrayentes de gatos y perros; como defensa de artrópodos⁽¹⁾. Más información respecto a los aspectos biológicos de estos monoterpenos se pueden encontrar en los artículos de Martin-Smith y Khatoun⁽⁵⁸⁾, Hegnauer⁽⁵⁶⁾, Martin-Smith y Sneider⁽⁵⁹⁾, Cavill⁽⁶⁰⁾ y Waller⁽⁶¹⁾.

Tercera: Propiedades Farmacológicas de Iridoides.

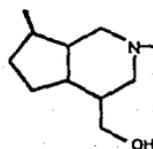
En el trabajo de Cordell⁽³⁸⁾ sobre alcaloides monoterpénicos se dan a conocer las propiedades farmacológicas de los siguientes alcaloides: Actinidina, tecomina y tecostatina, gentianina, gentianidina (esquema XIII), presentando una amplia gama de aplicaciones: Hipoglucémicos, hiperglucémicos, hipotensivos, antiinflamatorios y como sedantes.



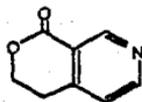
Actinidina



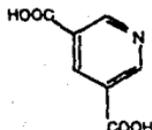
Tecomina



Tecostatina



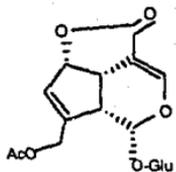
Gentianidina



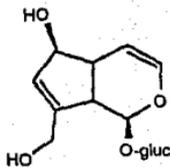
Gentianina

Esquema XIII.

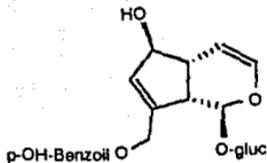
En el libro de Wagner y Wolff⁽⁶²⁾ se dan a conocer las propiedades farmacológicas de algunos iridoides, entre los que destacan por sus propiedades antimicrobianas los iridoides glucosídicos: aucubina, agnósido y asperulósido (esquema XIV), y de los no glucosídicos: plumerina, isoplumerina, fulvoplumerina, ácido genípico, ácido genípfico (esquema XV).



Asperulósido

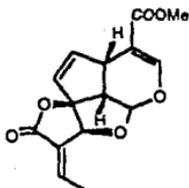


Aucubina

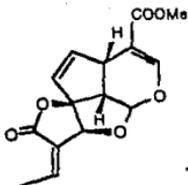


Agnosido

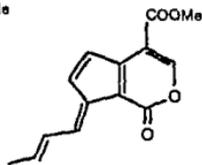
Esquema XIV.



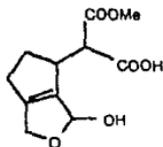
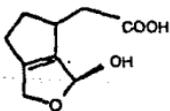
Plumierina



Isoplumericina



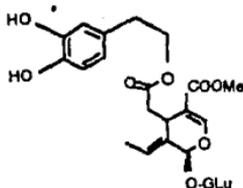
Fulvoplumerin



Acido genípico

Esquema XV.

También se dice en el libro de Wagner y Wolff que el secoiridoide oleurepina se ha utilizado como hipotensivo.

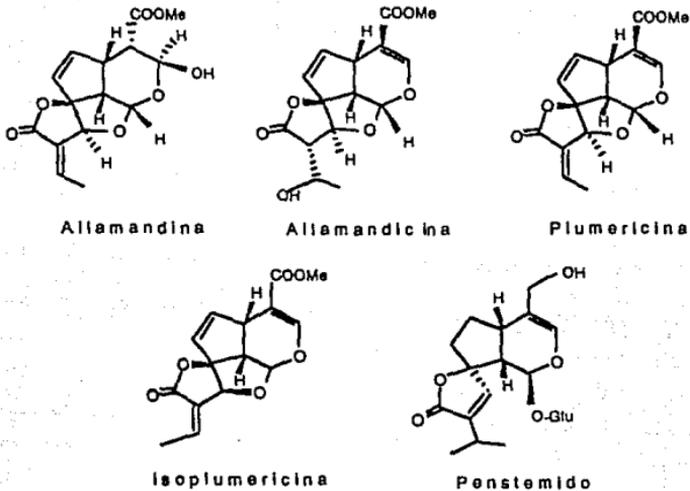


Olurepina (XXII)

El harpagósido tiene propiedades analgésicas y antiflogísticas, el gentiopicrósido III (ver pag.3), y algunos secoiridoides se han empleado como tónicos amargos; Como sedantes ligeros los valeropatriates. Los Iridoides no glucosídicos; allamandina, allamandicina, plumericina e isoplumericina y el penstemido son activos contra la leucemia (esquema XVI).

En la revisión de Plouvier, V.⁽⁸⁾ Se habla de las propiedades farmacológicas de algunos iridoides desde que se aislaron por primera vez; también enumera otra serie de estudios de actividad biológica, destacan en este artículo las propiedades antimicrobianas e insecticidas de estas sustancias.

Cassady y Douros⁽⁶³⁾ analizan las propiedades antitumorales de los iridoides y destacan que los sistemas que presentan esta actividad contienen una lactona no saturada allamandina, allamandicina, plumericina, isoplumericina y penstemido, y señalan que por la falta de material no se ha hecho su evaluación sistemática y extensiva.



Esquema XVI.

Recientemente se han encontrado nuevas aplicaciones a los monoterpenos ciclopentanoides tal como lo muestra el trabajo de Stermitz⁽⁵⁾. Señala que los estudios están enfocados a la actividad de los aglucones relativa a la de los iridoides glucosídicos. El problema que se plantea en estas investigaciones es el de obtener al aglucón ya que sólo en algunas ocasiones se obtiene directamente de las plantas y la relación aglucón-iridoide no se conoce, sumado al hecho de que los aglucones se decomponen fácilmente. Se reporta que los aglucones de varios Iridoides presentan actividad antimicrobiana, contra la leucemia y propiedades antioxidantes. De su intervención en procesos biológicos, se dice que actúan como defensa de lepidópteros⁽⁶⁴⁾. En México se encontró en una de las revisiones, ya citadas, que varias especies de *Tecoma* se han

utilizado para el control de la diabetes. En la revisión que hace Lozoya⁽⁶⁵⁾ sobre medicina tradicional en México, se encuentra que las familias de plantas que más se usan son las siguientes: Labiadas, compuestas y umbelíferas, no teniéndose datos de escrofulariáceas, sin embargo se sabe que este tipo de plantas poseen actividad antimicrobiana, diurética, espasmódica y carminativa⁽⁶⁶⁾.

IVa. PREPARACION DE ALCALOIDES MONOTERPENICOS.

Ya se ha discutido sobre el estudio fitoquímico de iridoides, su importancia en los procesos biológicos en que se encuentran involucrados, por sus efectos fisiológicos, su utilización como fuente de intermediarios ópticamente activos. Sabemos por estos trabajos que son moléculas inestables, por lo tanto, difíciles de trabajar y salvo algunas excepciones que no son muchas se les encuentra en pequeñas cantidades en sus fuentes naturales, únicamente se les ha encontrado en vegetales.

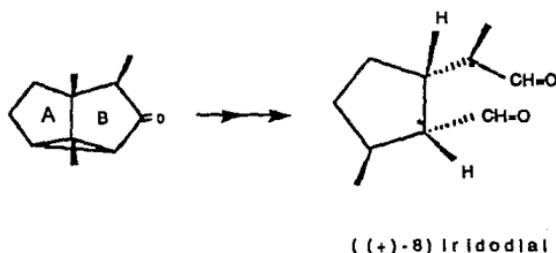
Como aglucones sólo se conocen unos cuantos y éstos, junto con los glucosados y nuevos iridoides se les han encontrado interesantes propiedades lo que da como resultado que se renueve el interés por estudiarlos.

Por la amplia gama de aplicaciones que tienen y que pueden tener, es conocido que en algunas ocasiones no se hacen investigaciones referentes a la potenciación de su actividad o de ésta misma por no contar con la cantidad suficiente de material. En cuanto a su utilización en síntesis, los iridoides se encuentran involucrados en la síntesis de prostaglandinas, jasmonato de metilo, de algunos alcaloides monoterpénicos y en la preparación de moléculas con estructura similar; la utilización en síntesis de otros iridoides dependerá de su disponibilidad.

Es evidente en los puntos señalados anteriormente que es necesario encontrar métodos que permitan obtener cantidades adecuadas de iridoides ya sea mejorando las técnicas para su extracción o diseñando nuevas rutas de síntesis. Algunos grupos de investigación se han impuesto la tarea de llevar a cabo este propósito. Enseguida se presentaran las aproximaciones

más importantes en este campo, de una manera no exhaustiva las estrategias para preparar ciclopentano-piranos con mayor profundidad las síntesis diseñadas para alcaloides monoterpénicos relacionadas con la actinidina.

Ciclopentano-piranos: Se han diseñado algunas estrategias para la síntesis total de los ciclopentano-piranos. Una de ellas se basa en la preparación del Intermediario biosintético de los Iridoides glucosídicos llamado Iridodial⁽⁶⁷⁾ (esquema XVII).



Esquema XVII.

El Iridodial se ha encontrado en hormigas⁽⁶⁸⁾ y otros insectos⁽⁶⁹⁾. Otros estudios que dan una revisión completa a la síntesis de ciclopentanoides son el de Demuth y Schaffer⁽⁷⁰⁾ donde se muestra la síntesis total de la boschnialactona, alidolicolactona, irido e Isoiridomyrmecin, y el aglucón de la loganina acetilado.

En 1986 Trost⁽⁷¹⁾ preparó la (+) loganina a partir del secoiridoide crysomelidial, en este artículo se pueden encontrar varias citas bibliográficas respecto a la síntesis total de ciclopentanoides y compuestos relacionados⁽⁴⁾.

Otra alternativa recomendable y conveniente para obtener ciclopentano-piranos es a partir de los productos naturales, y vía modificaciones, llegar al objetivo deseado⁽¹⁷⁾. Ambos

estrategias se han utilizado⁽⁷²⁾.

Para hacer uso de la segunda aproximación es necesario que la materia prima cumple las siguientes características:

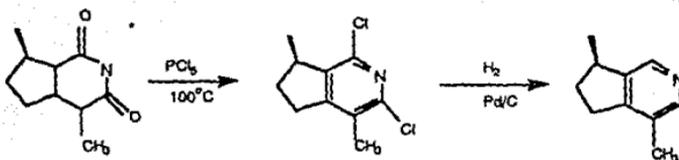
- a.- Estereoquímica bien definida
- b.- Aislarse en cantidades adecuadas (5-10%).
- c.- Alto grado de pureza.
- d.- Fácil de obtener y también de purificar.
- e.- La molécula sea estable.

En nuestro trabajo hacemos uso de la segunda estrategia.

Preparación de Alcaloides Monoterpénicos derivados de la Actinidina.

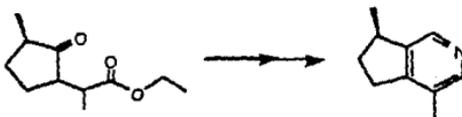
Se han realizado síntesis tanto parciales como totales de este tipo de alcaloides. Las síntesis parciales se basan en el uso de iridoídeos glucosídicos (aglucción) y de otros productos naturales (β -Carvona). A continuación se mostrarán las síntesis conocidas para este grupo de alcaloides. Se conocen seis métodos para preparar actinidina el principal miembro de esta serie y dos para sus análogos.

La actinidina es un componente natural de *Actinidina polygama*⁽⁷³⁾ y de *Valeriana officinalis*⁽⁷⁴⁾. La primera síntesis de la actinidina fue hecha por Sakan⁽⁷³⁾ y ha recibido especial atención puesto que es uno de los raros alcaloides monoterpénicos que se conocen, se ha reportado que es un potente atractor de "felinos" y está estructuralmente relacionado a los principales alcaloides de la planta medicinal *Valeriana officinalis*⁽⁷⁵⁾. La síntesis de actinidina a partir de la imida del ácido nepetálico hecha por Sakan⁽⁷³⁾ consiste en las siguiente secuencia de reacciones (esquema XVIII).



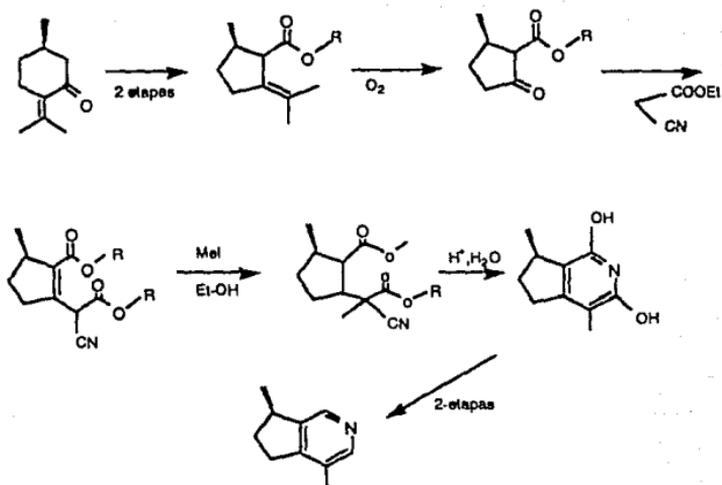
Esquema XVIII.

En otra síntesis, también realizada por Sakan⁽⁷⁶⁾, utilizó el (3-metil-2-oxo-ciclopentil)propionato de etilo como lo muestra el esquema XIX.



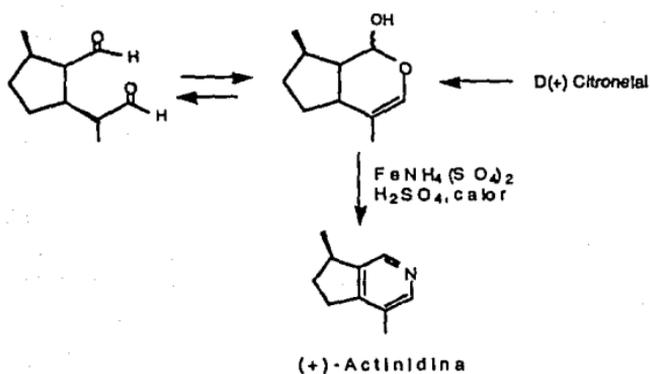
Esquema XIX.

En la tercera síntesis también realizada por Sakan⁽⁷⁷⁾, se determina la estructura absoluta de la actinidina. En este caso se obtuvo el enantiómero (+) del producto natural (-) actinidina utilizando (+)-pulegona como se puede ver en el esquema XX. En este mismo trabajo se prepara el ciano derivado de la actinidina y la síntesis consta de siete pasos.



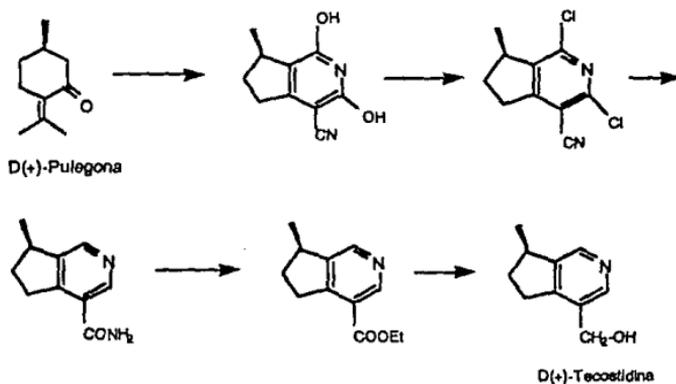
Esquema XX.

Cavin y Zeltin⁽⁷⁸⁾ realizaron la síntesis de (+)- Actinidina y de sus derivados a partir del irododial que se obtuvo de D(+)-citronelal (esquema XXI).



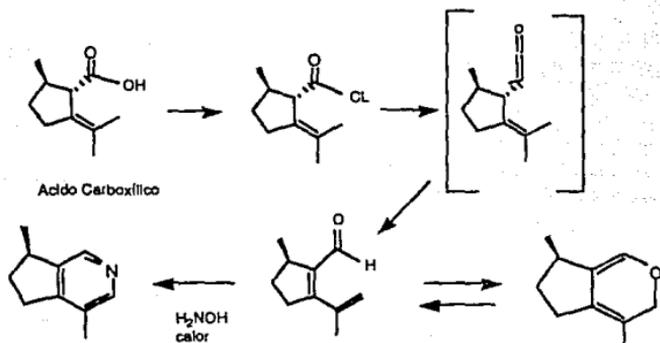
Esquema XXI.

En este mismo artículo se prepara la D(+)-tecostidina⁽⁷⁹⁾ y otros alcaloides relacionados (esquema XXII).



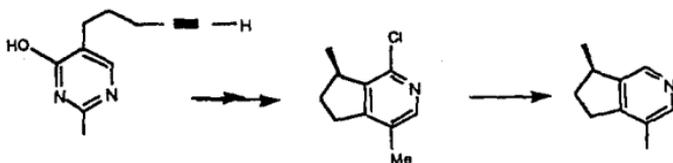
Esquema XXII.

En 1976 Wuest y Col.⁽⁸⁰⁾ reportan una síntesis más de (+)-actinidina; en este caso ellos parten del ácido (1S,5R)-5-metil-2-(1-metiletilideno)ciclopentano-1-carboxílico derivado de (+)-pulegona; como se muestra en la siguiente esquema XXIII.



Esquema XXIII.

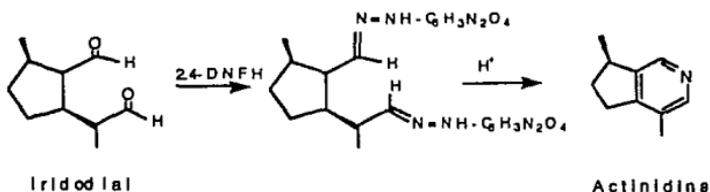
El último informe que se conoce de la síntesis de la actinidina es el de Davies et al.⁽⁸¹⁾ y es una ciclo adición térmica intramolecular de la pirimidina sustituida que se muestra en el esquema XXIV.



Esquema XXIV.

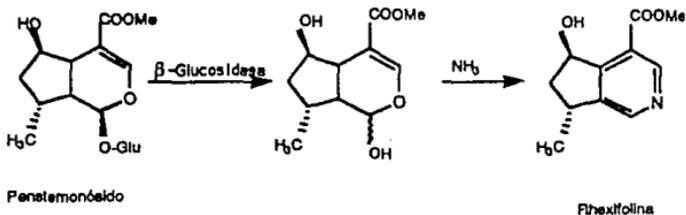
De los dos métodos para obtener alcaloides emparentados con la actinidina, uno ya se discutió

(síntesis a partir de Iridodial). El segundo también de Cavill⁽⁸²⁾ que utiliza como materia prima Iridodial y se obtienen aquí-piridinas y 2,3-dihidropiridinas, se basa en la reacción de aldehídos con 2,4-dinitrofenilhidrazina, seguida por el cierre del anillo catalizado por ácido (esquema XXV).



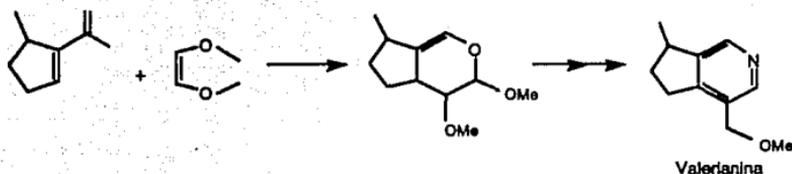
Esquema XXV.

Otros alcaloides monoterpénicos que se han sintetizado son la cantleyina XXI⁽⁸³⁾ a partir de la loganina y amonaco, otro es la rhexifolina⁽⁸⁴⁾ la cual se preparó a partir del penstemonósido⁽⁸⁵⁾ según la siguiente secuencia de reacciones (esquema XXVI).



Esquema XXVI.

La valerianina⁽⁴⁾ aislada de *Valeriana officinalis* se prepara por una ruta en la cual se utiliza una reacción de Diels-Alder⁽⁸⁶⁾.



Esquema XXVII.

De los métodos presentados para la preparación de alcaloides monoterpénicos, uno es una síntesis total y los otros son parciales y utilizan como materias primas productos naturales ; (+)-pulegona; (+)-Iridodial, que se obtuvo de (+)-citronelal; loganina y penstemonósido.

Después de haber revisado las estrategias para la síntesis de ciclopentano-piranos y alcaloides monoterpénicos, se puede observar que la utilización de intermediarios ópticamente activos (quirones), predomina sobre la síntesis química total, esto es en gran parte debido a que éstos presentan ya un arreglo espacial definido, comparado con la síntesis asimétrica, en la cual, para obtener un alto grado de inducción asimétrica es necesario tener en cuenta procesos tales como control regio y estereoquímico, además de resolución de intermediarios racémicos.

En adición a los factores mencionados se tienen el de los rendimientos que se obtienen en dichas síntesis (generalmente bajos). Ahora bien para utilizar un quirón es necesario contar con cantidades adecuadas de éste, además de los requisitos ya mencionados.

Como ya habíamos dicho al principio de la presentación de este punto se hacía necesario mejorar las técnicas de extracción de iridoides o bien diseñar rutas sintéticas adecuadas para su preparación dada su importancia químico-biológica.

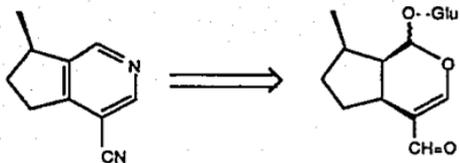
Por otra parte, las investigaciones realizadas por el Dr. Jiménez y Col. sobre iridoides ha permitido conocer la química de estos metabolitos.

En consecuencia, este trabajo ha permitido obtener cantidades adecuadas de estos monoterpenos para e iniciar la búsqueda de intermediarios sintéticos con estereoquímica fija, así como también de realizar modificaciones estructurales.

OBJETIVO

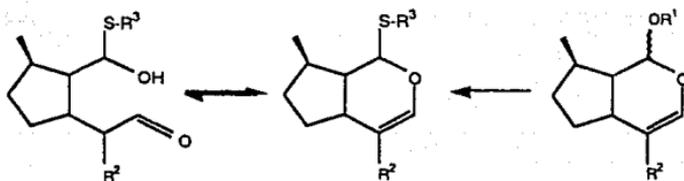
De las plantas que contienen Iridoides, se encontró que el *Penstemon rosseus* (Schophulariaceae) (Sweet) G. produce boschnalósido y su aglucón con buenos rendimientos, (0.5% de c/u), por lo que decidimos utilizarlos como materia prima para realizar nuestros ensayos sintéticos que son el propósito de este trabajo.

Los puntos que nos fijamos fueron los de obtener los intermediarios sintéticos con átomos de carbono quirales, utilizar estos intermediarios para la síntesis de análogos estructurales y diseñar una metodología que nos permitiera utilizar los metabolitos secundarios de las plantas que se estudian en nuestro laboratorio. Las moléculas objetivo son en primer lugar un intermediario que nos permita obtener alcaloides derivados de la actinidina (4-R-6,7-dihidro-7(R)-metil-5(H)-2-piridina), y en segundo lugar un acetal mixto que nos permitirá obtener posteriormente compuestos dicarbonílicos 1,5 que contenga un anillo de ciclopentano con estereoquímica fija (esquema XXVIII).



Intermediario de Síntesis
derivados de la R(+)-Actinidina

Boschnalósido



$R^3 = - Bu$
 $= - CH_3$
 $= - Me$

$R^1 = - Glu$
 $= - H$
 $= - Me$
 $R^2 = - CHO$

Esquema XXVIII.

PARTE EXPERIMENTAL.

El desarrollo de las reacciones y la pureza de los productos se siguió por cromatografía en capa fina en cromatoplaques de gel de sílice 60 Merck F254 de 0.25 mm de espesor, utilizando como reveladores: luz ultravioleta, una solución de sulfato cérico al 1% en ácido sulfúrico 2N y para alcaloides reactivo de Dragendorff^(17a). La purificación de los iridoides y de los alcaloides se llevó a cabo por cromatografía en columna normal, "flash", semiliquida y en cromatografía en capa fina preparativa. Para columna se utilizó gel de sílice Merck 60(70-230 mallas) y gel de sílice para CCF, para cromatografía en capa fina preparativa se utilizaron cromatoplaques Merck de gel de sílice 60F254 de 20 X 20 cm de 2 mm de espesor.

Los puntos de fusión se determinaron en un aparato Fisher-Johns y no fueron corregidos.

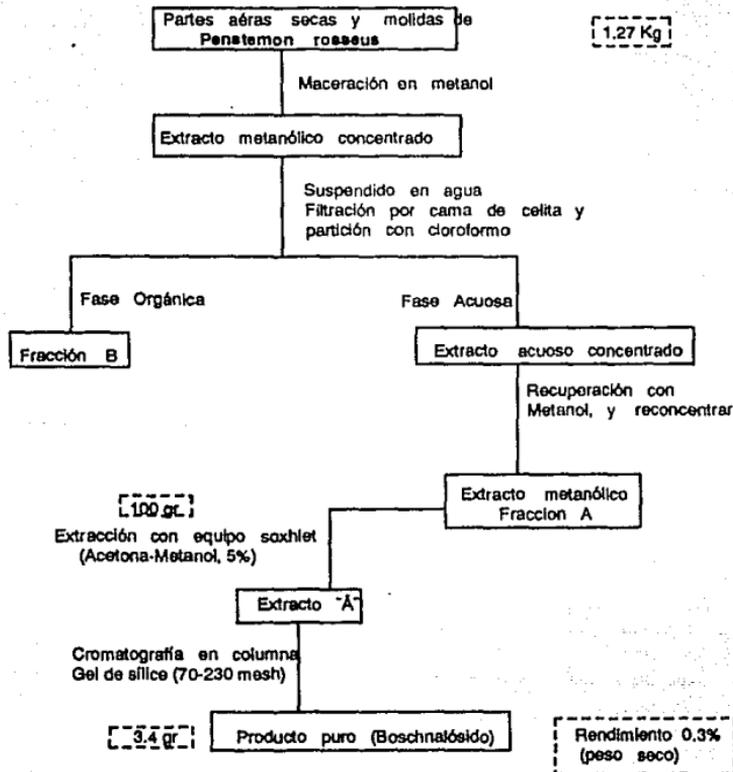
Los espectros de RMN de H^1 se registraron en un aparato Varian FT-80A que opera a 80 MHz, empleando como disolvente cloroformo deuterado ($CDCl_3$) y dimetil sulfoxido (DMSO) y como referencia interna TMS. Los desplazamientos químicos se dan en ppm (δ) en relación al TMS. Las abreviaturas usadas para denotar la multiplicidad de las señales son las siguientes: (s), señal simple, (d), señal doble, (t), señal triple, (c), señal cuádruple, (a) señal ancha y (m), señal múltiple.

Los espectros de absorción en el infrarojo (IR) se determinaron en un espectrofotómetro Nicolet modelo Ft-55X y en un Perkin Elmer 283, empleando las técnicas de pastilla en KBr, solución en cloroformo ($CHCl_3$) y película.

Los espectros de masas se registraron en un espectrómetro de masas Hewlett-Packard 5985B.

OBTENCION DEL BOSCHNALOSIDO 1a.

A partir de su fuente natural según el procedimiento descrito por Meléndez^(17b). La ruta de separación y aislamiento del boschnalósido (Iridoide glucosídico) se describe en el siguiente esquema:

Diagrama de Separación del Boschnalósido de *Penstemon roseus*.

Esquema XIX.

El diagrama anterior se modificó a partir de la fracción A y B en lo referente a la separación cromatográfica.

PROCEDIMIENTO.

En las varias ocasiones que se obtuvo materia prima para realizar los ensayos sintéticos se siguió básicamente el mismo método y los rendimientos no variaron, a continuación se describe el procedimiento para aislar el boschnalósido 1 a.

Se pusieron a macerar en una columna de vidrio 1.268 Kg de las partes aéreas de la planta (*Penstemon rosseus*) durante 24 Hrs. con 2 l de metanol. Posteriormente se concentró el extracto metanólico hasta un volumen mínimo (50 ml); después se suspendió en 500 ml de agua por una noche; y se filtró utilizando una cama de celita. Al extracto metanol-agua se le hicieron varias particiones con cloruro de metileno hasta separar completamente los componentes menos polares. La fase acuosa se evaporó a sequedad, para evaporar el agua se utilizó un recipiente pyrex, el cual se colocó en un baño de vapor. Una vez que se evaporó toda el agua quedo un residuo pastoso que se disolvió totalmente en metanol. Al concentrar esta solución quedo un aceite viscoso (fracción A) que se colocó en el cartucho de un equipo de extracción continua (soxhlet). Se hicieron varias extracciones con una mezcla de disolventes (acetona-metanol 5%) hasta agotamiento, los lavados se reunieron y concentraron, obteniendose un aceite color café oscuro. Extracto "A", el cual se cromatografió en columna semilíquida⁽⁸⁷⁾.

CROMATOGRAFIA EN COLUMNA SEMILIQUIDA.

La columna de vidrio empacada con gel de sílice para cromatografía en capa fina, se eluyó primero con acetato de etilo y, posteriormente se aumentó la polaridad con metanol; el producto empezó a eluir en una mezcla de acetato de etilo-metanol (9:1); la cantidad de boschnalósido que se obtuvo por este procedimiento fué de 3-4 g. dando un porcentaje de 0.3 al 0.4% en peso seco de la planta. ESPECTRO No 1.

Por otro lado, la parte orgánica (CH_2Cl_2) obtenida de la partición con metanol, contenía una mezcla de aglucón libre 2a y metoxilado 4, éste último en mayor cantidad. Los intentos de purificación por cromatografía no fueron exitosos, por tanto se decidió usar la mezcla para los ensayos sintéticos.

OBTENCION DE LOS DERIVADOS: NITRILO DEL TETRAACETATO DEL BOSCHNALOSIDO 3a, DEL NITRILO DEL BOSCHNNALOSIDO 3b, Y DEL NITRILO DE SU AGLUCON 3c.

PREPARACION DE 3a.

Para obtener 3a se siguieron tres procedimientos (A, B y C). En el procedimiento A se utilizó como materia prima el boschnalósido puro. En el B y C se partió del extracto metanólico que se obtuvo al macerar las partes aéreas secas y molidas del *Penstemon rosseus* con metanol (esquema de la página 35).

En los tres procedimientos empleados para obtener el Intermediario 3a, el boschnalósido y el extracto metanólico se sometieron a una serie de reacciones en cadena las cuales consistieron en una acetilación, formación de una oxima y deshidratación de la misma.

PROCEDIMIENTO A

REACCION DE ACETILACION DEL BOSCHNALOSIDO 1a.

En un matraz de 100 ml se disolvieron 400 mg (1.16 mmol) de boschnalósido 1a en 8 ml de piridina; a esta mezcla se le agregaron 8 ml de anhídrido acético, se agitó y calentó a reflujo por una hora, se dejó reposar 24 horas a temperatura ambiente, la mezcla de reacción se vertió sobre 50 ml de hielo-agua, formándose un sólido blanco 2b, el cual se filtró y lavó con ácido clorhídrico diluido, seguido de varios lavados con agua fría, obteniéndose 550 mg de un sólido blanco, el rendimiento teórico es de 593 mg.

Las constantes físicas y espectroscópicas del derivado acetilado se compararon con muestras auténticas⁽¹⁷⁾. 1b. ESPECTRO No 2.

REACCION DE FORMACION DE LA OXIMA DEL BOSCHNALOSIDO.

El producto de reacción de acetilación de 1a, se colocó en un matraz de 100 ml y se mezcló

con 400 mg (4.7 mmol) de clorhidrato de hidroxilamina disuelto en una mezcla de 20 ml de etanol y 2 ml de piridina. Esta disolución se puso a reflujo durante 60 min; al finalizar la reacción se evaporó el disolvente totalmente; el residuo se extrajo varias veces con cloroformo; los extractos cloroformicos se reunieron y concentraron para obtener un aceite de color amarillo. Con el fin de obtener los datos espectroscópicos de la oxima, 50 mg del aceite amarillo se purificaron por cromatografía en capa fina preparativa. Los datos espectroscópicos de la oxima 1c, se compararon con una muestra original. ESPECTRO No 3.

Rendimiento teórico 600 mg (100%); reacción cuantitativa.

REACCION DE DESHIDRATACION DE LA OXIMA 1c.

600 mg de acetato de sodio (7.3 mol) y 20 ml de anhídrido acético se pusieron en un matraz de 250 ml Claisen de tres bocas se calentaron a ebullición, y sin interrumpir el calentamiento se adicionó gota a gota la oxima 1c previamente disuelta en una mezcla que consiste en 8 ml de ácido acético y 20 ml anhídrido acético, se continuó con el calentamiento por una hora. Después de ese tiempo el ácido y anhídrido acético se destilaron a presión reducida hasta su eliminación. Al residuo se le añadieron 100 ml de agua en hielo; se dejó en reposo por 12 Hrs., con agitación ocasional. El sólido formado se filtró y lavó con agua varias veces, obteniéndose 500 mg, se determinaron las constantes físicas de 3a, las cuales se compararon con las de una muestra auténtica. ESPECTRO No 4.

Rendimiento teórico 509 mg; obtenido 500 mg.

PROCEDIMIENTO B

En este procedimiento el extracto metanólico utilizado fue el de ambos procesos de extracción (diagramas de la pag 35 y de la 42). La secuencia de reacciones se llevo a cabo varias veces y los rendimientos obtenidos fueron esencialmente los mismos 10-15% en peso seco del extracto.

En un matraz bola de 250 ml equipado con un refrigerante se pusieron 47 g del extracto metanólico que contenía al boschnalósido y 35 ml de piridina. A esta solución se le adicionó poco a poco 45 ml de anhídrido acético. Una vez terminada la adición del anhídrido acético se procedió a realizar la reacción de formación de la oxima agregando 16 g de clorhidrato de hidroxilamina disuelta en 250 ml de etanol y 25 ml de piridina, la mezcla se puso a reflujo por 60 min y al finalizar la reacción se evaporó completamente el disolvente por destilación al vacío.

La oxima 1 c obtenida anteriormente se disolvió sin purificar en una mezcla de ácido y anhídrido acético (1:2), la solución anterior se puso en un embudo de adición. Por otra parte en un matraz bola de dos bocas se pusieron 15-20 g de acetato de sodio anhidro disueltos en 150 ml de anhídrido acético esta mezcla se calentó a reflujo. A esta disolución se le agregó lentamente y con agitación la solución que contiene la oxima, una vez terminada la adición se dejó a reflujo por una hora. Finalmente se destilaron los disolventes quedando únicamente la mezcla de reacción que contenía a 3a.

La mezcla de la reacción anterior se separó por cromatografía de columna semilíquida⁽⁸⁷⁾ de la siguiente manera: Se montó una columna y se eluyó con una mezcla de hexano-Acetato de etilo 9:1 separándose los productos menos polares. Se aumentó la polaridad (8:2); en las fracciones 30-50 se obtuvo 3a, el cual cristalizó in situ. Se juntaron las fracciones 30 a 40 y se recrystalizaron de acetona obteniéndose 7 g (12% a partir del extracto metanólico) de un sólido blanco con constantes físicas y espectroscópicas que corresponden a este compuesto.

PROCEDIMIENTO C

Reacciones en serie.

En un matraz bola (500ml), equipado con refrigerante, mantilla de calentamiento y agitador magnético, se colocaron 10 g de clorhidrato de hidroxilamina disueltos en una mezcla de 100 ml de etanol y 5 ml de piridina, y 15 g del extracto metanólico (boschnalósido, por CCF); ésta solución se puso a reflujo durante 1 Hr. Al finalizar la reacción se evaporó el disolvente por

destilación al vacío, ésta mezcla se acetiló con otra que se preparo mezclando 30 ml de ácido acético y 15 ml de anhídrido acético; la adición se hizo poco a poco, (reacción exotérmica). Esta mezcla se calentó a ebullición y lentamente se le adicionaron 5 g de acetato de sodio anhidro disueltos en anhídrido acético, posteriormente se agregaron 5 gr más de acetato de sodio anhidro, la mezcla se calentó por una hora más. Se evaporaron los disolventes a presión reducida, después de evaporar completamente los disolventes se agregó agua formándose un sólido amarillo chiclosa, el cual se purificó por cromatografía de columna semilíquida utilizando gel de sílice como adsorbente, al ser eluida con una mezcla de Hexano-Acetato de etilo (8:2). Se obtuvieron 2 gr del compuesto 3a puro.

PREPARACION DE 3b A PARTIR DE 3a.

Se disolvieron 0.625 g de 3a en 50 ml de etanol. A ésta disolución se le burbujó amoníaco varias veces y se dejó en reposo por una hora; posteriormente se evaporó el etanol hasta la precipitación de un sólido blanco que es producto recuperado. Este se volvió a someter a reacción hasta conversión total, quedando en solución 3b. La disolución alcohólica se concentró y se recrystalizó con metanol. El compuesto 3b es un sólido café claro (0.400 mg) con punto de fusión 149-150 C, Rf=0.75, (Acetato de Etilo/Metanol, 7:3); que presenta los siguientes datos espectroscópicos:

I.R. (Sus, Nujol); $\nu_{\text{máx}} = 3200-3400, 2925, 2870, 2200, 1630, 1450 \text{ cm}^{-1}$.

R.M.N ^1H ; $\delta = 0.95 \text{ (d, 8Hz) 3H}$; 5.60 (2s) 1H ; 6.95 (2s) 1H ; más glucosa.

ESPECTRO No 7.

PREPARACION DE 3c.

En un matraz de 50 ml se pusieron 250 mg del compuesto 3b disueltos en 25 ml de agua, a esta solución se le agregaron 5 ml de ácido clorhídrico al 5%, y se puso a reflujo por 1 Hr, pesado este tiempo la mezcla de reacción se neutralizó (pH=7) con una solución de bicarbonato

de sodio al 5% y se le hicieron dos extracciones con dicloro metano, empleando volúmenes de 25 ml, los extractos orgánicos se secaron con sulfato de sodio anhidro y concentraron en un rotaevaporador, finalmente se obtuvo un aceite viscoso de color café claro 3c, que presentó los siguientes datos espectroscópicos.

R.M.N ^1H ; δ = 1.04 y 1.05 (d,a)3H; 5.24 y 5.15 (d,4Hz)1H; 6.9 (d)1H, más señales de ciclopentano, ESPECTRO 8.

OBTENCION Y PREPARACION DEL AGLUCON DEL BOSCHNALOSIDO

2a

El aglucón del boschnalósido se obtuvo por dos rutas: I) Vía la hidrólisis del producto metoxilado 4, y II) Por extracción con CH_2Cl_2 .

RUTA I): SEPARACION DEL AGLUCON METOXILADO DEL BOSCHNALOSIDO 4.

En una columna de vidrio se pusieron a macerar 1.268 Kg de la planta *Penstemon roseus* con 2l de metanol por doce horas. Se concentró el extracto metanólico hasta el mínimo volumen 50 ml; después se suspendió en 250 ml de agua por una noche; se filtró utilizando una cama de celita. Al filtrado se le hicieron varias extracciones con dicloro metano. La parte orgánica se concentró obteniéndose 30 g de una mezcla de 4, 2a y otros componentes. Esta mezcla se separó por cromatografía en columna relámpago obteniéndose 1 g de 2a y 4 (3.3%), donde 4 es el componente mayoritario (CCF). ESPECTRO No 5.

Esta mezcla, así se utilizó para llevar a cabo la hidrólisis en medio ácido y obtener el aglucón libre.

HIDROLISIS DE 4. En un matraz bola de 50 ml se pusieron 100 mg de 4 y 2a con unas gotas de ácido clorhídrico al 10%. Se colocó a reflujo por 30 min. observándose por cromatografía

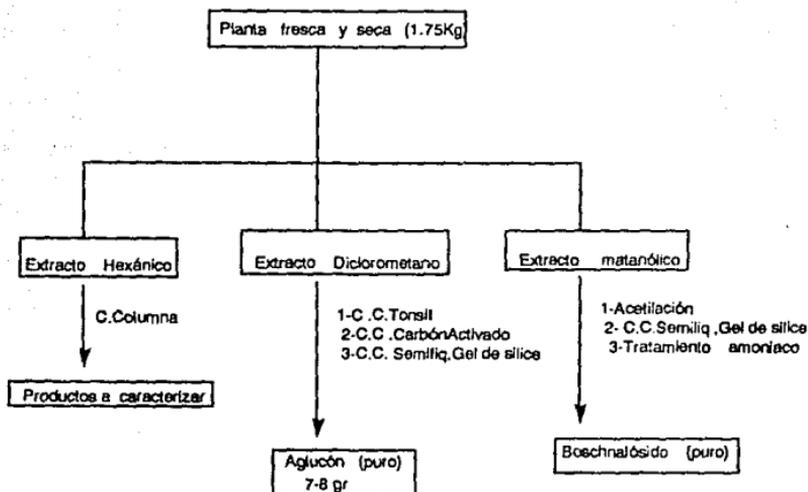
en capa fina la formación de 2a y trazas de recuperado, la mezcla se neutralizó, el producto se extrajo con diclorometano, secándose con sulfato de sodio anhidro, se concentro quedando un aceite ligeramente colorido.

RUTA I I): EXTRACCIÓN DEL AGLUCON DEL BOSCHNALSÍDO.

En una columna de vidrio se pusieron 1.755 Kg de la planta (recién colectada, de plantas jóvenes y en floración), y se hizo una primera extracción con hexano y posteriormente con cloruro de metileno. El extracto de diclorometano se concentró y se obtuvieron 24 g de extracto. El extracto anterior se sometió a una cromatografía en columna semiliquida, empezándose a eluir con hexano hasta la fracción catorce. Después se aumentó la polaridad hexano-Acetato de Etilo (9:1) hasta la fracción cuarenta y siete en la cual aparece mezclado 2a y 4. Se cambió la polaridad a 8:2 y se reunieron las fracciones 47-62 las cuales contienen el aglucón libre con clorofilas. Para separar éstas se pasó por una columna empacada con tonsil lavándose primero con hexano y después con acetato de etilo. En éste último eluye el aglucón que se purifica con carbón activado. Obteniéndose 5.35 g (0.3%) de un aceite color café claro. Las constantes espectroscópicas se compararon con las de una muestra auténtica. ESPECTRO No 6.

Se continuó la extracción y se obtuvo el extracto metanólico el cual se acetiló para obtener 1b el cual se separó por cromatografía en columna semiliquida; después se realizó la hidrólisis de los acetatos con amoníaco obteniéndose 1a en forma pura (CCF), ver acetilación del boschnalsido.

DIAGRAMA DE SEPARACION DEL BOSCHNALSIDO Y SU AGLUCON..



Esquema XXX.

PREPARACION DE LOS ALCALOIDES MONOTERPENICOS

REACCIONES DE OBTENCION DE 5.

Preparación de 5a, (4-ciano-6,7-dihidro-7(R)-metil-5(H)-2-piridina) con $\text{Fe}(\text{NH}_4)(\text{SO}_4)_2$.

En un matraz bola de dos boces de 50 ml provisto de agitador magnético, mantilla de calentamiento y refrigerante, se pusieron 200 mg (0.39 mmol) de 3a suspendidos en 6 ml de ácido sulfúrico (30%) y clarificándose con etanol (95%). A esta mezcla se le adicionó gota

agota una disolución de sulfato férrico amoniacal ($\text{FeNH}_4(\text{SO}_4)_2$), la cual se preparó mezclando 1.2 g de $\text{FeNH}_4(\text{SO}_4)_2$ más 15 ml de agua. La mezcla de reacción se agitó y calentó a reflujo por una hora. Una vez terminada la reacción se enfrió y alcalinizó con hidróxido de amonio; se destiló parte del disolvente guardándose el destilado. Este se saturó con cloruro de sodio y se le hizo una extracción con éter. El extracto etéreo se secó con sulfato de sodio anhidro y se evaporó el disolvente quedando finalmente una aceite café claro (25 mg), al revelar con reactivo de Drangendorff dió prueba positiva para alcaloides (mancha de color amarillanaranja).

Rendimiento teórico 56 mg, se obtuvieron 25 mg, que corresponden al 44 %. Por otra, al residuo de la destilación también se le hizo una extracción en éter, este se reunió con el extracto del destilado; el aceite café claro presentaba una mezcla de alcaloides: Dos mayoritariamente (CCF). Se separaron por cromatografía en capa fina preparativa, el menos polar ($r_f=0.6$, Hexano-Acetato de Etilo, 7:3), presentó los siguientes datos espectroscópicos:

RMN¹H CDC1₃ $\delta = 8.54(\text{s})1\text{H}; 8.65(\text{s})1\text{H}; 1.3(\text{d}, J=8\text{Hz})3\text{H}; 8-3.5(\text{m})\text{SH}$.

Al residuo también se le hizo una extracción con Acetato de Etilo, este extracto se secó, concentró y agregó metanol, formándose unos cristales café oscuro. Las constantes físicas y espectroscópicas concuerdan con el producto desacetilado 3 b.

Preparación de 5a con $\text{Cu}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2$.

Las condiciones de reacción son las mismas que en la reacción con el alumbre de hierro. La mezcla de reacción se trabajó de igual manera y los productos que se obtuvieron fueron 5a y 3 b. El rendimiento de alcaloide fué del 20 %. ESPECTRO No 9.

Preparación de R(+)-Boschniaquina 5b, (4-formil-6,7-dihidro-7(R)-metil-5(H)-2-piridina) y Acido(R)-Boschniaquinico 5c, (4-carboxi-6,7-dihidro-7(R)-metil-5(H)-2-piridina).

El compuesto 5b se preparó tanto con sulfato férrico amoniacal, sulfato ferroso amoniacal y sulfato cúprico amoniacal. Siguiendo el procedimiento ya descrito siendo el mismo para las tres sales; las cantidades que se emplearon fueron las mismas y los rendimientos fueron parecidos 50 % de una mezcla de alcaloides y 20 % alcaloide puro.

En un matraz bola de 100 ml de dos bocas con equipo de agitación y calentamiento se pusieron 600 mg de aglucón del boschniaquinósido 2a con 15 ml de ácido sulfúrico al 30% y 25 ml de etanol. A esta disolución se le agregó la sal férrica, ferroso o cúprica (3g) disueltos en 45 ml de agua. Esta mezcla se calentó a reflujo por 6 horas. Pasado este tiempo se enfrió y alcalinizó con hidróxido de amonio hasta pH= 12, enseguida se le hizo una extracción con diclorometano se secó y concentró, se obtuvieron 500 mg de una aceite café que en cromatografía en capa fina, mostró dos componentes principales que tienen los siguientes $r_{f1} = 0.75$ y $r_{f2} = 0.5$ (Hexano-Acetato de Etilo, 6:4), al revelar con reactivo de Dragendorff dan prueba positiva para alcaloides (mancha amarilla-naranja).

La mezcla de alcaloides se separó por cromatografía en capa fina preparativa. Los datos espectroscópicos para el componente menos polar 5b ($r_f = 0.75$), son los siguientes: ESPECTRO No 10.

IR (CHCl₃) $\gamma_{máx}$: 2962, 2871, 1700, 1654, 1599, 1456 m^{-1}

RMN ¹H (CDCl₃) δ : 1.4(S)1H; 8.75(S)1H; 8.55(S)1H; 1.3(S)3H.

El componente más polar ($r_{f2} = 0.5$) 5c no se obtuvo en cantidad suficiente, para su análisis individual siempre estuvo mezclado con 5b. ESPECTRO No 11.

Preparación de 6a. Procedimiento General: Se puso en un matraz bola de 100 ml con un tubo de adición de gases, 500 mg de aglucón disueltos en 25 ml de cloroformo. Esta disolución se enfrió y se le adicionó 0.5 ml del tlo. A esta mezcla se le burbujeó cloruro de hidrógeno anhidro hasta saturación por 5 min. (color rojo). Se dejó una hora con agitación a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se trabajó de la siguiente manera: primero se lavó varias veces con agua fría y después con una solución acuosa de hidróxido de potasio al 10 %; la parte cloroformica se secó con carbonato de potasio y se evaporó el disolvente a presión reducida.

Cuando se utilizó butilítol se obtuvo una mezcla de productos, detectándose por cromatografía en capa fina tres productos (mezcla eluyente Hexano-Acetilo 8.5:1.5). De esta mezcla se separó por cromatografía en capa fina el compuesto más abundante que es un aceite café 6 y que presentó los siguientes datos espectroscópicos: ESPECTRO No 12.

IR (CHCl₃) γ máx: 2956, 2868, 2711, 1670, 1556, 1460 cm⁻¹.

RMN ¹H (CDC13) δ : 9.2 (d) 1H; 7.15 (s) 1H; 3.65 (d) 1H; 2.6 (t) 3H; 1.5 (m) 4H; 0.9-

(m) 3H; 1,25 (m) 3H; 2.4-2.8 (m) 5H.

EM m/z : 41.1 (100), 55.1 (47.9), 81.2 (39.4), 79.2 (35.7), 254.2 (4.6), 255.2 (1.2) %.

DISCUSION DE RESULTADOS.

La siguiente discusión consta de tres partes:

I.- Obtención de la materia prima.

II.- Preparación de los Intermedarios.

III.- Síntesis de alcaloides y ciclopentano 1,5-dicarbonílico activo.

I.- OBTENCIÓN DE LA MATERIA PRIMA

Boschnalósido 1a. Este se aisló siguiendo el procedimiento descrito por Meléndez que consta de las siguientes etapas: Maceración con metanol, concentración y suspensión en agua, filtración por celita, y partición con cloruro de metileno-agua. El extracto acuoso se concentró y recuperó con metanol, a éste se le hizo una extracción y finalmente se purificó por cromatografía en columna. El rendimiento en peso seco de las plantas de 0,3-0,4 %. El extracto orgánico se guardó para posterior purificación.

La molécula 1a se obtuvo por este procedimiento en varias ocasiones con el fin de tener la suficiente materia prima para llevar a cabo las reacciones propuestas.

La estructura del boschnalósido está bien establecida⁽⁸⁸⁾. Las características físicas y espectroscópicas del producto obtenido coinciden con los datos descritos en la literatura citada.

Los rendimientos en las varias ocasiones que se obtuvo materia prima no fueron constantes; esto se explica en base a los estudios hechos con *Verbena officinalis* en los que comprobaron que la formación de los precursores de iridoides es muy eficiente en raíces jóvenes, decrecen en el periodo de floración y decaen totalmente después de esta última etapa. Teniendo estos datos como antecedentes se procedió a coleccionar un lote de plantas (*Penstemon roseus*) al inicio del verano, mayo-junio, y se trabajó con el material fresco. Los rendimientos del aglucón aumentaron considerablemente de 1 g a 5 g de producto a partir de 1 Kg de la planta al igual

que el boschnalósido. En otros experimentos se trabajó el *Penstemon rosseus* ya secó y después de seis meses. El rendimiento del aglicón disminuyó considerablemente. Estos resultados concuerdan con los reportes en la literatura sobre la colecta y manera de trabajar las plantas que contienen Iridoídes⁽¹⁶⁾.

Una vez establecidas las condiciones para la colecta de *Penstemon rosseus*, el procedimiento seguido para aislar los componentes de la planta fué básicamente el ya reseñado⁽¹⁷⁾, lográndose modificar los ya descritos⁽⁸⁹⁾ para obtener el boschnalósido. Este se optimizó mejorando los rendimientos, así como, se abarataron costos, a la vez que se disminuyó el tiempo de trabajo.

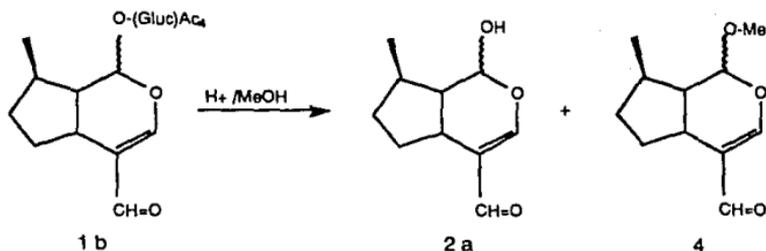
En la obtención del boschnalósido una de las etapas limitantes del proceso es la separación cromatográfica cuando se utiliza la cromatografía en columna normal⁽⁹⁰⁾ usándose como adsorbente gel de sílice. Por ello utilizamos una técnica cromatográfica llamada cromatografía en columna semilíquida⁽⁸⁷⁾, esta separación disminuye el tiempo de trabajo a la vez que permite tener un producto puro con un buen rendimiento. (0.5 %).

Otra modificación consistió en acetilar el extracto metanólico que se obtiene al inicio del proceso de separación. Esta reacción tuvo la finalidad de preparar el derivado acetilado del boschnalósido, que es menos polar que los carbohidratos que lo acompañan al boschnalósido del polaridad semejante. Una vez que se obtuvo 1 b se separó de la mezcla de reacción por cromatografía en columna semilíquida. Se caracterizó y sus constantes tanto físicas como espectroscópicas se compararon con una muestra auténtica. (ESPECTRO No 2). El compuesto 1 b se hizo reaccionar con amoníaco (NH₃) en etanol. El producto resultante fué 1 a puro, (ESPECTRO No 1). Las reacciones tanto de acetilación como de hidrólisis básica de los acetatos son cuantitativas, por lo que no se altera el rendimiento obtenido en la primera modificación, evitándose de esta manera varios pasos a los métodos ya señalados.

Haciendo un resumen del método desarrollado: Maceración con metanol, concentración del disolvente, reacción de acetilación, separación por cromatografía en columna semilíquida y

finalmente reacción de hidrólisis con amoníaco para obtener 1a, reduciendo de nueve etapas a cinco el proceso de separación. Este procedimiento nos permitió al mismo tiempo obtener el aglucón del boschnalósido. De acuerdo al esquema XXIX parte experimental, el aglucón del boschnalósido (2a), se obtenía directamente de la planta mezclado con el aglucón metoxilado (fracción B), la mezcla de aglucones se separó por cromatografía en columna relémpago⁽⁹¹⁾ los rendimientos son muy bajos (0.1 %).

Cuando se hizo la hidrólisis ácida en metanol de 1 b, produjo la mezcla de aglucón libre y metoxilado, el segundo en mayor cantidad, ocurriendo una reacción de transacetalización.



XXXI.

De la mezcla que se obtiene del extracto de la fracción B de cloroformo ó dicloro metano contiene 2a y 4, por lo tanto el segundo es un artefacto y se formó al suspender el extracto metanólico en agua (pH=6.0) esquema página 35.

En cuanto a los bajos rendimientos de aglucón obtenido en las extracciones con dicloro metano, debemos considerar que se trabajó con las partes aéreas secas y molidas.

El aglucón del boschnalósido es un aceite volátil por lo que es factible que durante el secado de la planta éste se pierda en una cantidad significativa, esto sumado a la inestabilidad del aglucón explica los bajos rendimientos. Se desconoce hasta la fecha lo referente a la proporción

aglucón vs. glucósido presente en la planta ⁽⁵⁾. Decidimos por lo tanto coleccionar el material al inicio del verano (cuando empieza a crecer la planta) y trabajar con el material fresco inmediatamente después de coleccionarlo. Este se molió y pesó, después se colocó en una columna de vidrio donde se percoló con hexano con el fin de eliminar los compuestos poco polares (clorofilas, carotenos, triterpenos, flavonas, etc.), después se maceró con dicloro metano y, finalmente con metanol. El extracto de cloruro de metileno contenía el aglucón y no así el aglucón metoxilado. Se procedió a purificar el aglucón; para tal fin se paso este extracto por una columna de tonsil y después se separó por cromatografía en columna semilíquida, quedando el aglucón contaminado con una mezcla de sustancias coloridas, las cuales se eliminaron por tratamiento con carbón activado (esquema XXX), quedando finalmente el aglucón con rendimientos del 0.5 % en peso de la planta. Las constantes físicas y espectroscópicas del producto coinciden con las descritas en la literatura.

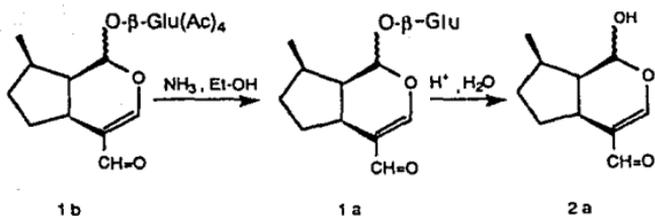
Otro experimento que se realizó, la planta se secó y guardó por seis meses. Después de este tiempo se trabajó de la misma manera encontrándose muy poco aglucón libre, el aglucón metoxilado no se detectó por cromatografía en capa fina.

II. PREPARACION DE LOS INTERMEDIARIOS 2a y 3a, 3b, 3c.

OBTENCION DEL AGLUCON DEL BOSCHNALOSIDO (2a).

El compuesto 2a (aglucón del boschnalósido), además de obtenerlo a partir de la extracción con dicloro metano y posterior purificación, también se obtuvo por hidrólisis ácida del boschnalósido puro ó de supollacetato por la ruta descrita en el esquema XXXII. Esta se realizó en medio ácido y se utilizó agua como disolvente para favorecer la formación del aglucón correspondiente.

Las constantes espectroscópicas coinciden con las reportadas para esta molécula⁽⁹⁵⁾. (ESPECTRO No. 6)

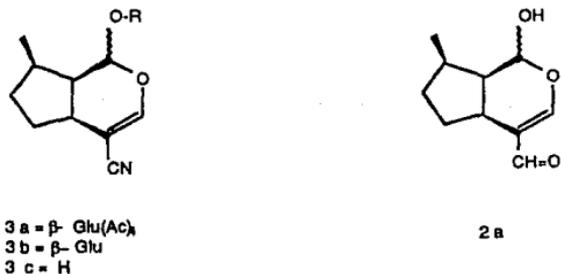


Esquema XXXII.

Esta forma de obtener el compuesto 2a únicamente se utilizó cuando no se disponía de material fresco.

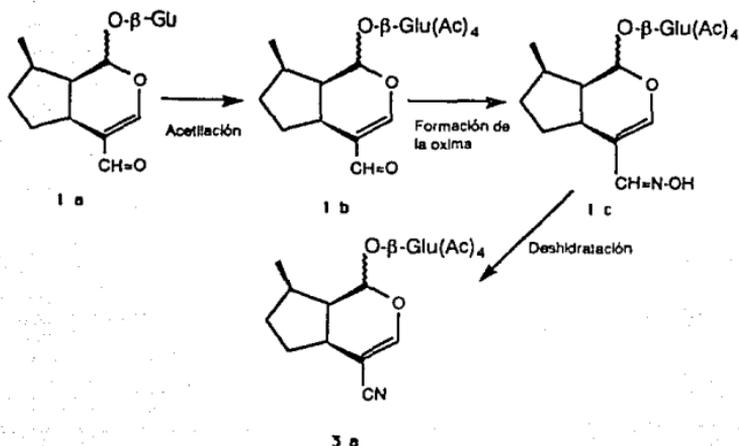
OBTENCION DE 3a, b y c.

Para llegar a nuestras moléculas objetivo alcaloides monoterpénicos, es indispensable preparar los Intermediarios 3a, b, c y 2a (esquema XXXIII).



Esquema XXXIII.

PREPARACION DEL COMPUESTO 3a. La molécula 3a se obtuvo por medio de la siguiente secuencia de reacciones:



Esquema XXXIV.

La reacción de acetilación se realizó con la finalidad principal de facilitar el manejo del producto en reacciones posteriores favoreciendo sobre todo la solubilidad en disolventes poco polares y evitar a la vez su descomposición⁽⁹²⁾.

La formación de la oxima 1c se hizo con el propósito de formar el nitrilo que se deriva de esta vía su deshidratación para formar 3a, que es el intermediario de la síntesis de los alcaloides relacionados con la actinidina (ver síntesis de alcaloides)⁽⁹³⁾.

Los productos de la secuencia de reacciones desde 1a hasta 3a, teniendo como intermediarios los a 1b y 1c, tienen constantes físicas y espectroscópicas que concuerdan completamente con los reportados, (ESPECTROS Nos 2, 3).

Para evitar algunos pasos de separación y purificación decidimos utilizar el extracto metanólico crudo que contenía al boschnalósido 1a mezclado con azúcares, fenil propanoides

y otros compuestos, directamente se le hicieron las reacciones de acetilación, formación y deshidratación de la oxima, el producto de estas reacciones 3a es mucho menos polar y no es soluble en metanol, por lo que se puede separar de los otros componentes. Todo lo anterior se hizo a partir del extracto metanólico sin purificar, y se realizó de dos maneras:

Primero se llevo a cabo cada una de las reacciones utilizando el producto resultante en el siguiente paso, al final de las reacciones el producto cristaliza, quedando parte en las aguas madres, estas se concentran y someten a una cromatografía en columna semiliquida de la cuál se obtiene 3a puro.

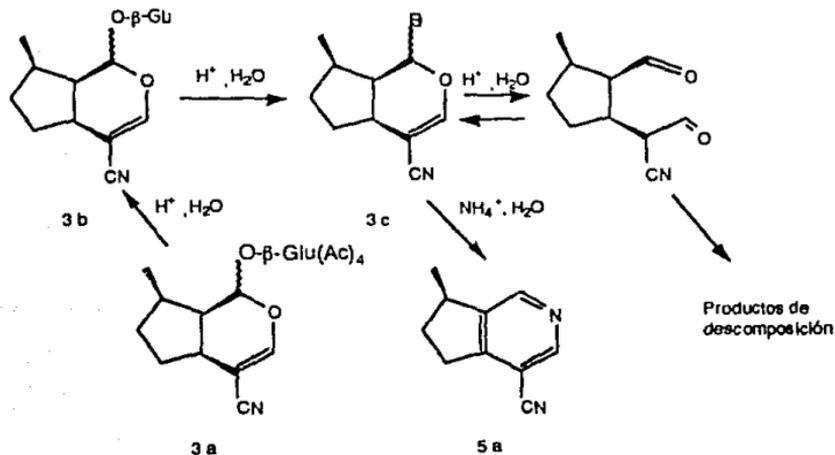
En el segundo se realizó la secuencia de reacciones en un sólo matraz y con la adición de los reactivos necesarios para cada una de las reacciones involucradas de la siguiente manera: En la reacción de acetilación se utilizó como disolvente piridina y reactivo anhídrido acético que al acetilar forma ácido acético, en la segunda reacción la formación de la oxima; el disolvente es etanol/piridina y reactivo clorhidrato de hidroxilamina. Para deshidratar ésta se requiere acetato de sodio anhídrido en ácido acético glacial el cual ya se encuentra en la mezcla de reacción. Al final queda 3a, (ESPECTRO No. 4), el resto del producto se sometió a una purificación por cromatografía en columna semiliquida 11 % de 3a a partir del extracto metanólico crudo (46 g). Por la estequiometría de la reacción se deduce que la cantidad de boschnalósido en el extracto fué de 3.4 (7.4 % a partir del extracto crudo). De las dos formas de preparar 3a, elegimos la segunda ya que ésta presentaba la ventaja de disminuir el tiempo de trabajo de las reacciones. En cuanto a los rendimientos son del mismo orden.

PREPARACION DEL COMPUESTO 3b. Cuando 3a se disolvió en una solución de etanol-ácido sulfúrico acuoso al 30% y se agregó el alumbre de fierro o cobre ($Fe(NH_4)(SO_4)_2$, $Cu(NH_4)_2SO_4$) ocurre la reacción de hidrólisis de los acetatos de la glucosa y se obtuvo 3b. Lo mismo ocurrió cuando 3a, se disolvió en etanol/ácido sulfúrico acuoso al 30% y se burbujeó a esta, amoniaco. En la literatura, se describe que el pentaacetato de la aucubina se hidroliza en medio ácido dando el correspondiente iridoide desacetilado (94). De acuerdo a lo anterior

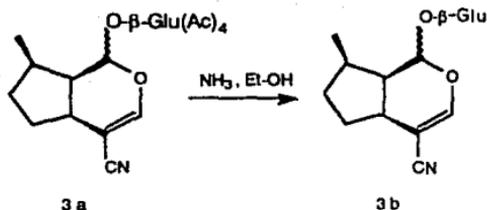
otrolote de **3a** se disolvió en etanol y se le burbujeó NH_3 , se obtuvo **3b** con buenos rendimientos.

La hidrólisis con amoníaco no se sabe que se utilice en forma sistemática para desacetillar iridoides. Esta ofrece ventajas sobre la hidrólisis ácida puesto que en condiciones ácidas el iridoide glucosídico si no se cuidan las condiciones de reacción se descompone fácilmente⁽¹⁶⁾. La reacción con amoníaco es cuantitativa. En el caso de las sales de amonio además del producto de desacetilación se producen alcaloides que nos indican apertura del anillo del pirano, bajo las condiciones empleadas. Según la siguiente secuencia de reacciones (esquema XXXV).

Hidrólisis Ácida.



Hidrólisis Alcalina.



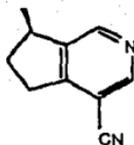
Esquema XXXV.

El compuesto 3 b tiene un punto de fusión de 148-150°C y constantes espectroscópicas idénticas a las descritas ⁽¹⁷⁾, (ESPECTRO No. 7).

PREPARACION DEL COMPUESTO 3c. La molécula 3c se preparó sometiendo 3b a una hidrólisis ácida. Se utilizó ácido clorhídrico al 5 %, la reacción se llevó a cabo en agua como disolvente y al producto se extrajo del medio de reacción con cloruro de metileno, se lavó con agua. Se evaporó el disolvente quedando un aceite café claro el cual presenta los siguientes datos espectroscópicos a 1.04 y 1.05 ppm singlete ancho y señal doble para metileno de la posición ocho (cis y trans), a 5.25 y 5.15 doblete con una J=4 Hz, que integra para un protón que corresponde al hidrógeno de la posición uno del pirano, a 6.9 ppm un singlete ancho que se atribuye al protón de la posición tres. Estos datos concuerdan con la estructura 3c propuesta para este compuesto. (ESPECTRO No. 8).

III SINTESIS DE LOS ALCALOIDES MANOTERPENICOS 5 a, 5 b y 5 c Y OBTENCION DEL TIOCETAL MIX TO 6 A PARTIR DEL AGLUCON 2a.

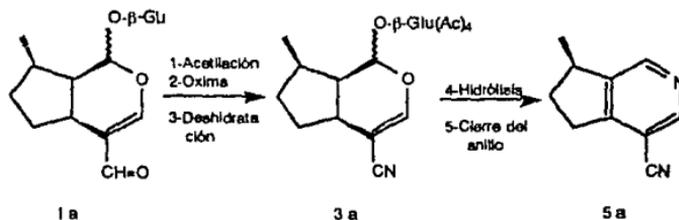
La primera molécula objetivo es el alcaloide 4-clavo-6,7-dihidro-7(R)-metil-5(H)-2-piridina 5a.



5 a

Este compuesto ha sido sintetizado a partir de R(+)-pulegona, siendo esta una síntesis lineal que consta de siete etapas, por esta misma ruta también se pueden obtener la R(+)-boschniaquina, ácido-R(+)-boschniaquinico así como su éster, y la R(+)-tecostidina. (pág 27, esquema 12).

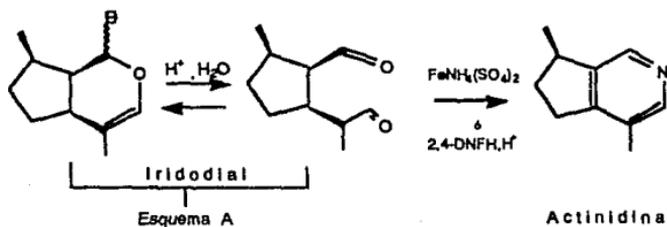
Para llegar a 5a se propuso la siguiente ruta sintética que acorta de siete a cinco el número de pasos necesarios para su síntesis:



Esquema XXXVI.

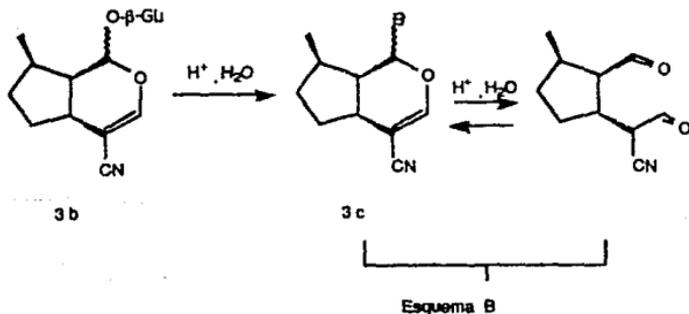
En las cuatro primeras etapas los rendimientos de cada uno de ellos son estequiométricamente cuantitativos. El paso cinco de apertura y cierre del anillo da un rendimiento del 20%, siendo esta la reacción determinante de la síntesis. Se tiene el antecedente de que el intercambio del átomo de oxígeno por nitrógeno (apertura y posterior cierre del anillo), se hizo sobre el iridodial de dos maneras; en la primera se utilizó sulfato férrico amoniacal y ácido sulfúrico seguido de calentamiento. En la segunda se empleó 2,4 - dinitro fenilhidrazina y tratamiento

ácido(HCl), como se muestra en el (esquema XXXVII).



Esquema XXXVII.

En ambos métodos las condiciones ácidas de la reacción dan lugar a la apertura del hemiacetal (ecuación "A", esquema XXXVII), en presencia de sales de amonio y calor ocurre el cierre y deshidratación para formar el anillo piridínico. En nuestro caso consideramos que se debe establecer un equilibrio similar (ecuación "B", esquema XXXVIII), el cual nos lleva a 5a.

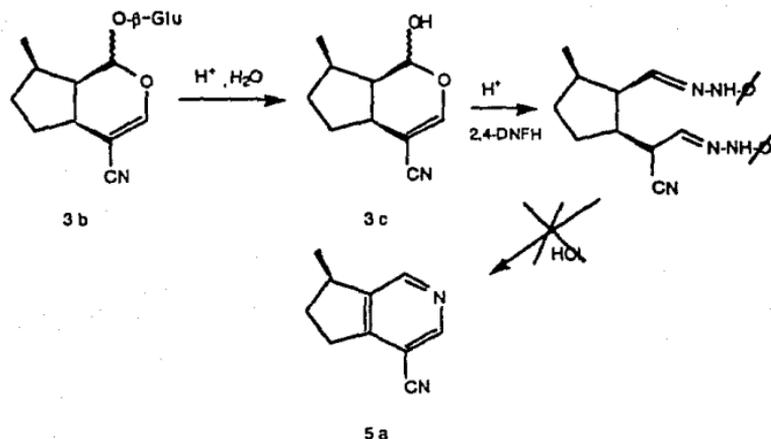


Esquema XXXVIII.

El compuesto **5a** se preparó en cinco pasos, es pertinente aclarar que las etapas 4 y 5 (esquema XXXVI), se hicieron en el mismo matr  z de la siguiente manera **3a** se disolvió en EtOH/H₂SO₄ diluido (30%, acuoso) llevándose a cabo la hidrólisis (esquema B), sin aislar se los intermediarios se añadieron las sales férricas de amonio (Fe(NH₄(SO₄)₂) . También se probaron las sales ferrosas de amonio (Fe(NH₄)₂SO₄) y las sales correspondientes de cobre (Cu(NH₄)₂(SO₄)₂ y CuNH₄SO₄) cabe mencionar que con las sales de cobre el trabajo de la reacción se facilita.

La mezcla de reacción se calentó, y neutralizó con hidróxido de amonio el producto se extrajo con dicloro metano, obteniéndose **5a** mezclado con otros compuestos de los cuales se separó por cromatografía en capafina, una vez puro se le hizo prueba para alcaloides y la di  positiva. Presentó los siguientes datos espectroscópicos a 8.54 y 8.6 dos singletes de anillo piridínico a 1.3 una señal doble con una J=8 Hz del metilo de las posición 7 y en 0.8-3.5 ppm señal múltiple del anillo de ciclopentano. Los cuales estan de acuerdo con los reportados para esta molécula⁽⁹⁶⁾. (ESPECTRO No. 9)

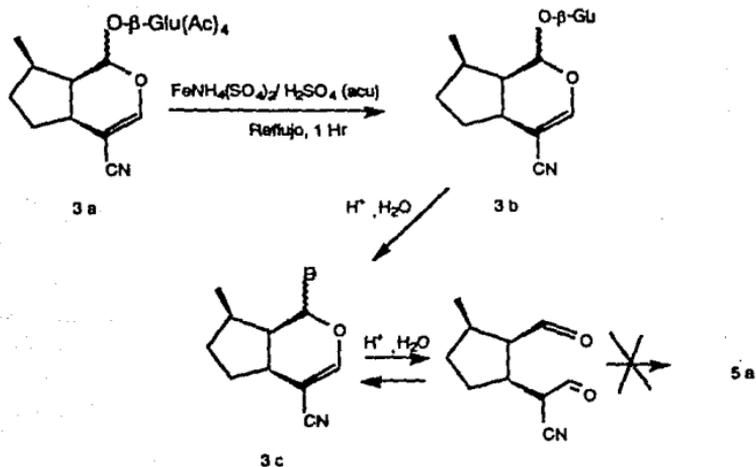
Otro intento que se hizo para preparar **5a** fue formar las 2,4-Dinitrofenilhidrazonas a partir de **3b** y luego se trataron con HCl en caliente, pero se obtuvo una mezcla de productos, de la cual no fue posible aislar un compuesto estable, ni el producto esperado (esquema XXXIX).



Esquema XXXIX.

El rendimiento de la reacción con sales amoniacales de hierro y cobre fue del 50% de producto crudo una vez purificado el alcaloide 5a, se obtuvo el siguiente rendimiento, 20 mg que corresponden a un 20% del teórico, con las cuatro sales utilizadas se obtuvieron resultados semejantes.

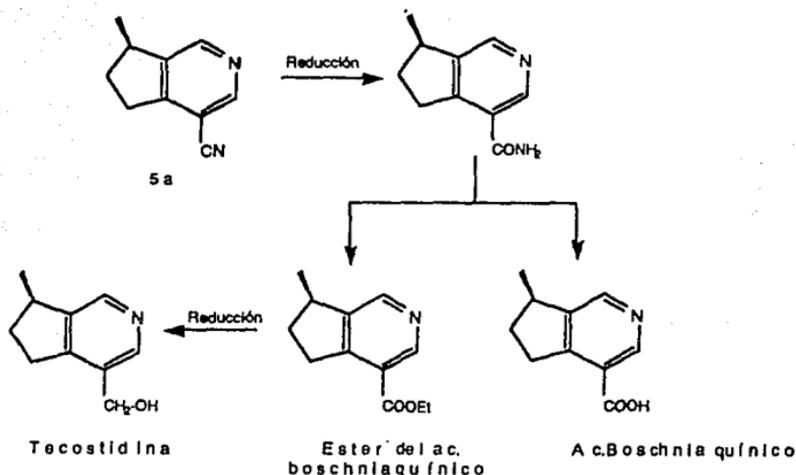
Por otro lado debemos comentar que partiendo de 3a, si no se deja el tiempo suficiente con las sales de hierro y cobre unicamente se lleva a cabo la reacción de hidrólisis de los acetatos y no se favorece la tras-acetalización (apertura del anillo de pirano) no ocurriendo el intercambio de oxígeno por nitrógeno ni la aromatización como se representa en el esquema XL, el proceso se detiene en el primer paso, obteniéndose el compuesto 3b en mayor proporción con un 82% de rendimiento.



Esquema XL.

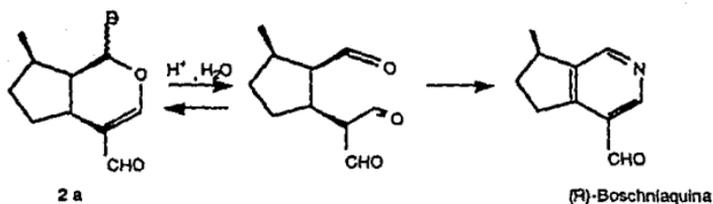
PREPARACION DE 5b ,(4-formil-6,7-dihidro-7(R)-metil-5(H)-2-piridina)

Una vez que se obtuvo 5a , se pensó preparar los derivados que se describen en el siguiente esquema:



Esquema XLI.

Los bajos rendimientos que se obtienen del alcaloide 5a impidió la obtención de los alcaloides del esquema XLI a partir de éste. Entonces se hizo reaccionar el aglucón del boschnalósido con las sales amoniacales de fierro y cobre en las mismas condiciones que se utilizaron para 5a, en este caso se obtuvo la (R)-Boschniaquina 5b, (esquema XLII) con buenos rendimientos (80%), la cual posteriormente se utilizó para preparar los compuestos del esquema XLI. El compuesto 2a se disolvió en etanol, se trató con las sales de amonio de fierro y cobre en medio ácido H_2SO_4 (30%, acuoso), posterior neutralización y extracción con diclorometano. Se obtuvo un aceite color café claro que presenta los siguientes datos espectroscópicos: Infrarojo $\nu_{\text{máx}}$ 2742, 1700, 1580 cm^{-1} debido al grupo aldehído conjugado con un anillo de piridina y un espectro de RMN ^1H , un singulete a 11.4ppm de un grupo aldehído a 8.75 y 8.55 dos singuletes, 1.3 doblete ancho debido al metilo de la posición siete a 0.8-3.5 múltiplete de los protones del anillo de ciclopentano. Estos datos están de acuerdo con los reportados para la boschniaquina (97).

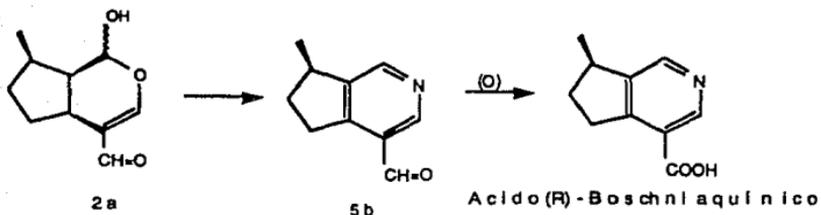


Esquema XLII.

Al analizar la reacción con el aglicón 2a el cuál presenta el mismo arreglo espacial que el boschnalósido, la estereoquímica del C-8 se mantiene. A partir de la boschniaquina se puede llegar tanto al éster como al ácido boschniaquínico, así como también a la tecostidina en dos y un paso respectivamente, reduciéndose el número de pasos de ocho y nueve que se necesitan para prepararla a partir de la R(+)-pulegona (esquemas XXII, XLI y XLII).

PREPARACION DEL ALCALOIDE 5c (4-carboxi-6,7-dihidro-7(R)-metil)-5(H)-2-piridina).

Cuando la molécula 5b se deja en contacto con el aire ocurre la reacción de oxidación al ácido boschniaquínico, inclusive al trabajar la reacción ocurre la oxidación obteniéndose la mezcla de los productos 5b y 5c (esquema XLIII), que no se separaron, pero esta mezcla se evidenció en los espectros de IR y RMN (espectros). El producto 5c también se detectó en el proceso de separación del alcaloide 5a (esquema XXXVI).

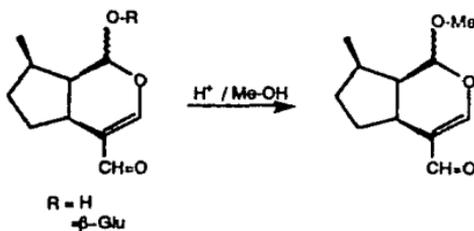


Esquema XLIII.

Se hicieron varios intentos de reducción del grupo aldehído del aglucón del boschnialósido IIa por medio de la reacción de Huang-Minton al metilo, pero se tuvieron resultados negativos. Esta describe que por esta reacción el alcaloide 5b (esquema XI) se reduce el carbonilo obteniéndose el alcaloide actinidina.

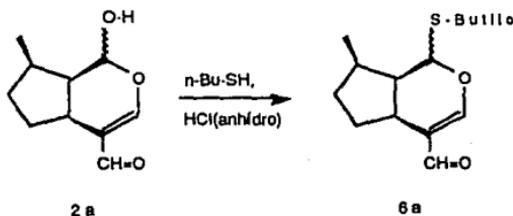
LA SEGUNDA MOLECULA OBJETIVO ES EL TIOACETAL MIXTO (VI) A PARTIR DEL AGLUCON (IIa).

Al tratar el boschnialósido ó su aglucón con ácido diluido en presencia de metanol ocurría una trasacetilización (formación de un acetal).



Esquema XLIV.

El hidrógeno de posición uno no es activo (ácido); para activarlo y obtener un carbanión que nos permitirá obtener posteriormente compuestos dicarbonílicos 1,5 que contengan un anillo de ciclopentano con estereoquímica fija en la posición 3,4 del carbonilo como se describe en el esquema XLV. Para ello se pensó en cambiar el átomo de oxígeno por azufre, como es sabido e un acetal mixto (tioacetal) le confiere acidez al protón que se encuentra en él (C-1) (98). Se procedió a preparar el tioacetal mixto, esto se logró cuando se utilizó el aglucón del boschnalósido con butiltiol en presencia de cloruro de hidrógeno (anhidro), se obtuvo una mezcla de productos. La mezcla se separó por cromatografía en capa fina obteniéndose el producto deseado, el cual presenta las siguientes constantes espectroscópicas. En IR, 2711 y 1670 las bandas características del grupo aldehído α, β no saturado. En el espectro de RMN, aparece a 9.25 ppm señal del hidrógeno del aldehído, a 7.15 la del protón del C-3, 3.65 señal doble del hidrógeno del C-1, además de las señales del n-butilo y del ciclopentano. El espectro de masas presenta un pico en $m/z = 254$ que se debe al peso molecular del tioacetal mixto, además tiene un pico en $m/z = 181$ debido al esqueleto base de los iridoides, también aparecen los fragmentos de la cadena alifática.

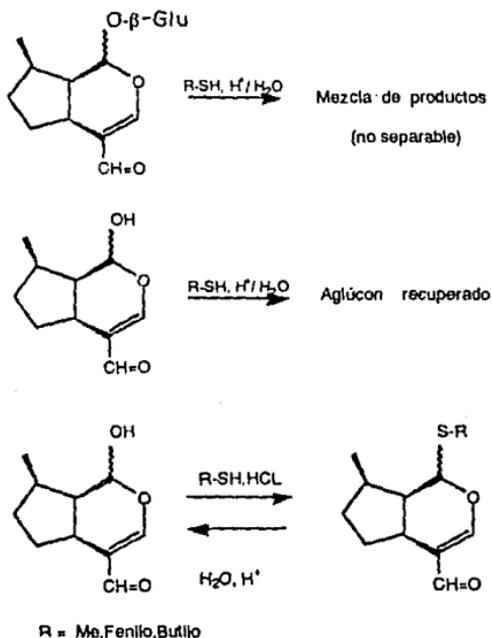


Esquema XLV.

Otros ensayos para preparar los tioacetales 6 consistieron en tratar al boschnalósido y su aglucón en ácido clorhídrico diluido y utilizando como nucleófilos tiofenol, metiltiol y butiltiol

obteniéndose resultados negativos. Esto se debe a que probablemente si se forme el acetal mixto, pero este se descompone en presencia de agua y ácido, para dar otra vez el aglucón, y en el caso del bochnalósidoproductos de descomposición que no se identificaron. En el esquema XLVI se muestran los resultados obtenidos.

En ausencia de agua el equilibrio se favorece a la derecha. Se continua con este trabajo, para preparar los tioacetales mixtos y si es necesario los sulfóxidos para llegar a la C-alkilación.



Esquema XLVI.

CONCLUSIONES

1. Se logró mejorar las condiciones de aislamiento y purificación del boschnalósido y su aglucón por los siguientes procedimientos:
 - a).- Boschnalósido via su derivado acetilado.
 - b).- Aglucón del boschnalósido por extracción con diclorometano.Permitió reducir el número de pasos para la obtención de estas moléculas.
2. En el presente trabajo se reportan dos derivados nuevos , uno del boschnalósido y otro de su aglucón 3c y 6.
3. Los rendimientos en las reacciones de obtención de 3b y 3c se mejoraron.
4. Se prepararon por una nueva ruta sintética tres alcaloides derivados de la actinidina 5a, 5b y 5c.

BIBLIOGRAFIA

- 1.- Hosler, D. H. and Mikita, M. A. *J. Chem. Educ.* (1987), 64:4,326-332.
- 2.- Wagner, H;(Ed). "New Natural Products and Plant Drugs with Farmacological Biological or therapeutical Activity ". Springer-Verlag. 137-176, Berling, (1977).
- 3.- L.M. and Eisner, T. *Ann. Rev. Entomol.* (1962), 7, 107.
- 4.- Wagner, H., and Hörhemmer, L. (Ed) "Pharmacognosy and Phytochemistry". Spring-Verlag. Berlin (1977).
- 5.- Cutler, H.G. (Ed). "Biologically Active Natural Products (Potencial use in Agriculture)". American Chemical Society; Washington, D.C. (1988).
- 6.- Bobbit, J.M. and Segebarth K.P. in "Cyclopentanoid Terpene Derivatives". Merceel Dekker (1969), chapter I.
- 7.- Kromeyer, A. *Arch. Pharmaz.* (1862), 110,27.
- 8.- Plovier, V. and Favre-Bouvin, J. *Phytochemistry.* (1971), 10, 1697.
- 9.- Buchbaver, G. *Oester Apoth. Ztg.* (1974), 28: 10, 173.
- 10.- Sticher, O. and Junod-Busch, V. *Pharm. Acta. Helv.* (1975), 50:5, 27.
- 11.- Jensen, S.R. Nielsen, B.J. and Dahlegren, R. *Bot Notiser.* (1975), 128, 148.
- 12.- Van Der Sluis, W.G., and Labadie, R.P. *Pharmaceutick Weekblad.* (1978), 113,21.
- 13.- Johodar, L. *Farm. Obzor.*, (1978), 47:8, 353.

- 14.- Inouye, H. Veda, S. Vesato, S. and Kohayashi, K. *Chem. Pharm. Bull.* (1978), 26: 11, 3384.
- 15.- El-Naggar, L.J. Beal, J.L. *J. Nat. Prod.* (1980), 43, 649-707.
- 16.- Nicoletti, M. *Rev. Latinoamer. Quím. Suppl 1.* (1989), 131-159.
- 17a.- Kirchner, J.G. Edmon S Perry (Ed). "THIN LAYER CHROMATOGRAPHY" *TECHNIQUES OF CHEMISTRY*. Second Edition. Vol XIV, Chapter VII, pp 193-264, John Wiley & Sons, (1978), USA.
- 17b.- Meléndez, M. (1984). "Estudio Químico del Boschnalósido", tesis de licenciatura, trabajo no publicado; Q.F.B., Instituto de Química de la UNAM.
- 18.- Bianco, A. *et al. Tetrahedron* (1977), 33, 847-850.
- 19.- Briggs, L.H. *et al. Tetrahedron letters.* (1963), 69, 74.
- 20.- Harborne, J. B. "Phytochemical Methods". Second edition. Chapman and Hall, London, N.Y. USA (1984).
- 21.- Damtof, T.S. Godthjaelpsen, L. Jensen, S. R. and Nielsen, B.J. *Phytochemistry.* (1983), 22, 2614.
- 22.- Bianco, A. *et al. Gazz. Chim. Ital.* (1983), 113, 829.
- 23.- Bianco, A. Passacantilli, P., Nicoletti, M. and Dalma, R. A. *Tetrahedron.* (1981), 38, 359.
- 24.- Wagner, H. *Revista. Latinoamer. de Quím.* (1977), 8, 16-25.
- 25.- Méndez Larios I. "Las Scrophulariaceae de Oaxaca, sus géneros y lista de especies", tesis de licenciatura, trabajo no publicado, biólogo, Fac. de Ciencias. UNAM. México, 1990.
- 26.- Kooiman, P. "The occurrence of iridoid glycosides in the Scrophulariaceae". *Acta. Bot.*

- Neerl. Vol. 19(3), 329-340 (1970).
- 27.- Jiménez, M.E. Lira Rocha, A. and Dfáz, R. J. *Nat. Prod.* (1987), 50:2, 331-332.
- 28.- Dfáz, Tagle R. "Otros componentes de *Penstemon atrophoreus*" Tesis de licenciatura, trabajo no publicado, U.N.A.M., Q.F.B. (1989).
- 29.- Jiménez, M.E. Ordaz, G.J. and Lira-Rocha, A. *Spectros. Int. J.* (1988), 6,167-172.
- 30.- Ordaz, J. G. F. (1989). "Estudio fitoquímico de la *Lamourouxia multifida* H. B. K. Tesis de licenciatura. Trabajo no publicado, Univ. Aut. de Puebla 1989.
- 31.- Jiménez, M. E. *et al. Acta Crist.* (1989), 45, 1054-1057.
- 32.- Soriano-García. *et al. Acta Crystallographic.* (1986), Section C, C42, 1025.
- 33.- Ramírez, M.B. (1989). "Oxidaciones del aglucón del boschnalósido". Tesis de licenciatura. Trabajo no publicado, Univ. Aut. de Tlaxcala.
- 34.- C. A. 56,737 h (1962).
- 35.- Djerassi, C., *et al. Tetrahedron.* (1962), 18, 183.
- 36.- C. A. 57, 233 g (1962).
- 37.- Djerassi, C. *et al. Chem. Ind. (London)*, (1961), 210.
- 38.- Cordell, G. A. in "The Alkaloids". Academic Press. N.Y. ; Vol. 16, 437.
- 39.- Hanessian, S. "Total Synthesis of Natural Products the Chiron Approach". Pergamon Press. (1984), Canada.
- 40.- Bonini, C. and Difabio, R. J. *Org. Chem.* (1982), 47, 1343-1345.

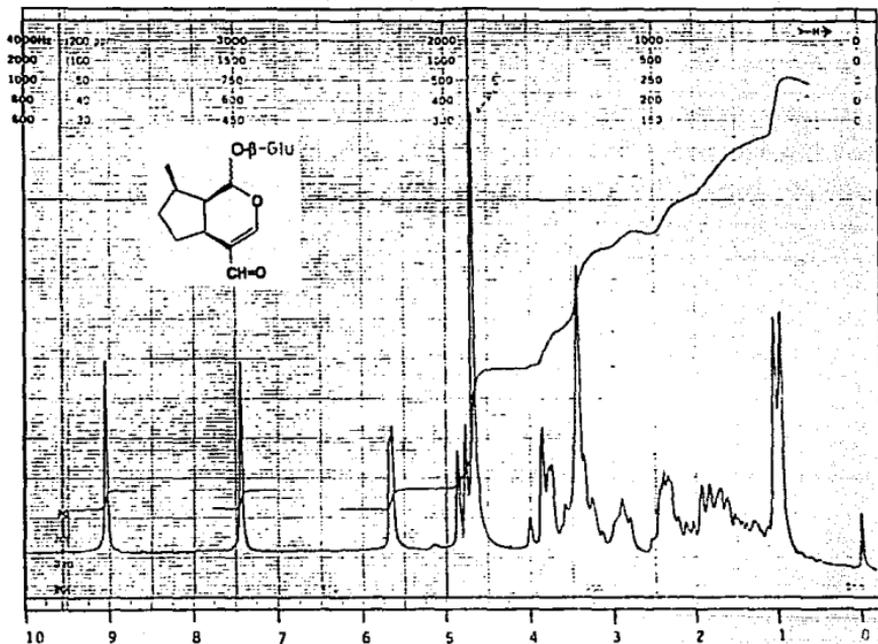
- 41.- Berkowitz, W. F. Choudhry, S. C. and Hrabec, J. A. *J. Org. Chem.* (1982), 47, 824-829.
- 42.- Weingens, K. *et al. Liebigs. Ann. Chem.* (1987), 361-366.
- 43.- Berkowitz, W. F. Arafat, A.F. *J. Org. Chem.* (1988), 53, 1100-1102.
- 44.- Bernini, R. Darvini, E. Iavarone, C. and Trogolo, C. *J. Org. Chem.* y referencias citadas.
- 45.- Bonaides, F. Gubhiotti, A. and Bonini, C. *Gazz. Chim. Ital.* (1985).
- 46.- Horton, E.W. "Prostaglandins" Springer-Verleg. N.Y. Heidelberg Berlín. (1972).
- 47.- Davies, S. G. *Chem Ind.*, (1986), 506-509.
- 48.- Baxter, A.D. and Stanley, M. R. *Chem. Ind.* (1986), 510-517.
- 49.- Davini, E. Iavarone, C. and Trogolo, C. *Heterocycles.* (1978), 27, 5761 y referencias citadas.
- 50.- Lane, C. F. *Synthesis.* (1975), 135.
- 51.- Stermitz, R. *et al. J. Nat. Prod.* (1984), 47:5, 854-857.
- 52.- Sevenet, t. *et al. Bull. Soc. Chim. Fr.* (1970), 3120.
- 53.- Weigens, K. *et al. Angew. Che. Int. Ed. Engl.* (1980), 19,628.
- 54.- Simon, A. J. (Ed). "The total synthesis of Natural Products". John Wiley. New York (1981).
Canadá.
- 55.- Hänsel, R. *Plant Med. Suppl.* Scharatz E. (Ed). Stuttgart Hippokates 1966, pp 61-77, *Deut Apoth Z.* 106, 1761, 1767 (1966).
- 56.- Hagnauer, R. *Pharm. Acta. Helv.* (1966), 41, 577-587.
- 57.- Swiatek, L. *Fam. Pol.* (1975), 31,409-414.

- 58.- Martin-Smith, and Khattoon, M. "Biological Activity of the Terpenoides and their Derivatives". In; *Progress in Drug Research*. Jucker, E. (eds). Basel-Stuttgart. Birkhauser (1969), Vol. VIII, pp 11-100.
- 60.- Cavill, G.W.K. "Insect Terpenoides and Nepetalactone" In; *Cyclopentanoid Terpene derivatives*. Bettersby, A. R. Tyler, W. I. (eds), New York. Dekker (1969), pp 203-238.
- 61.- Waller, G. R. "Metabolism of Plant Terpenoides". In; *Progress in the Chemistry of Fats and other Lipids*". Holman, R. T. (eds) Oxford-London. Pergamon Press. (1970), Vol. X. pp 151-238.
- 62.- Wagner, H. and Wolff, (eds) "New Natural Products and Plant Drugs With Pharmacological Biological Activity", Springer-Verlag. Berlin-Heidelberg-N.Y. (1977).
- 63.- Cassady, J. M. and Douros, J. D. "Anticancer Agents Based on Natural Products Models" Academic Press (1980) pp 201-204.
- 64.- Gardner, R. F. *et al.* *J. Chem. Ecol.* (1988), 14,2, 435-441.
- 65.- Lozoya, X. *Economical and Medicinal Plant Research.* (1990), 4,71-93.
- 66.- Díaz, J. L. "Índice y sinonimia de las Plantas Medicinales de México". *Monografías científicas I, II*. Ed. Inst Mexicana para el estudio de las plantas. A. C. (1976).
- 67.- Demuth, M. Ritterskamp, P. and Schaffner, K. *J. Org. Chem.* (1984), 49:7, 1155-1158.
- 68.- Abou-Donia, S. A. Fish L. J. and Patinden, G. *Tetrahedron Lett.* (1971), 4037.
- 70.- Demuth, M. and Schaffner, K. *Angew Chem. Int. Ed. Engl.* (1982), 21, 820-836.
- 71.- Trust, T. B. M. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* (1986), 25, 1-20.
- 72.- Trust, B. M. *Chem. Soc. Rev.* (1982), 11,141.

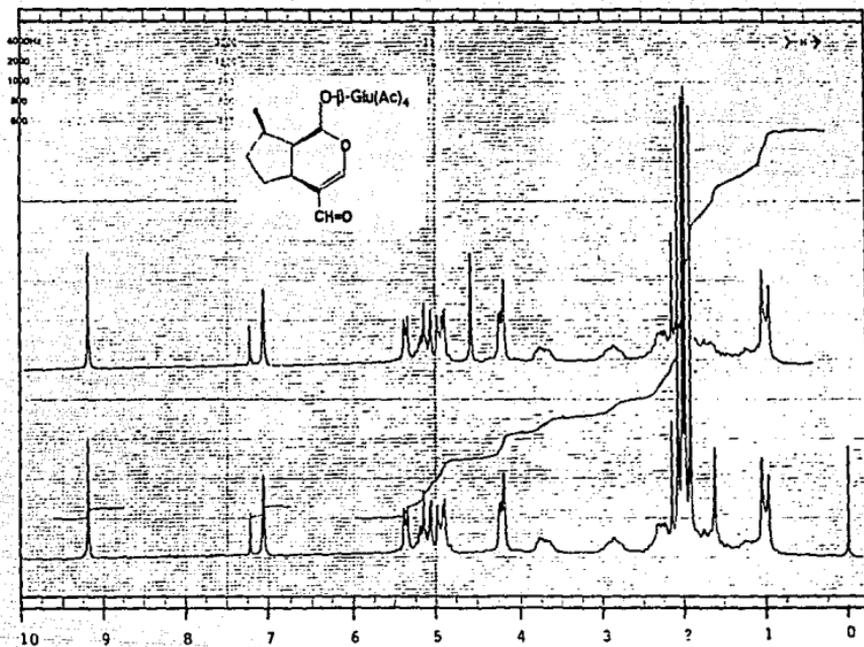
- 73.- Sakan, T. *et al.* *Bull Chem. Soc. Jpn.* (1959), 32, 315.
- 74.- Johnson, R. R. and Waller, G. R. *Phytochemistry*, (1971), 10, 3334.
- 75.- Bouveault, M. L. *Bull Soc. Chem. Fr.* (1910), 7,350.
- 76.- Sakan, T. *et al.* *Bull. Chem. Jpn.* (1954), 32,1155.
- 77.- Sakan, T. *et al.* *Bull. Chem. Soc. Jpn.* (1959), 33,712-713.
- 78.- Cavill, G. W. K. and Zettlin, A. *Aust. J. Chem.* (1967), 20, 349-357.
- 79.- Djarassi, C. *et al.* *J. Org. Chem.* (1961), 26, 1192.
- 80.- Wuest, J. D. Madonik, A. M. and Gordon, D.C. *J. Org. Chem.* (1977), 42, 2111.
- 81.- Davies, L. B. Greeberg, S. G. and Sammes, P. G. (1981). *J. Chem. Soc. Perkin I.* 1909-1912.
- 82.- Cavill, G. W. K. Ford, D. L. and Solomon, D. H., *Aust. J. Chem.* 1960. 469-472..
- 83.- Stermitz, R. P. Harris, G. H. *Tetrahedron Lett.* (1985), 26, 5251.
- 84.- Roby, M. R. and Stermitz, F. R. *J. Nat. Prod.* (1984), 47, 846-853.
- 85.- Roby, M. R. and Stermitz, F. R. *J. Nat. Prod.* (1984), 47:5, 854-857.
- 86.- Petersen, F. U. and Hüper, F. *Angew. Chem. Int. Ed.* (1970), 9,891.
- 87.- Coll, J. C. *et al.* *Austr. J. Chem.* (1977), 30, 1305.
- 88.- Murai, F. and Tagawa, M. *Chem. Pharm. Bull.* (1980), 28, 1730-1735.
- 89.- Murai, F. and Tagawa, M. *Planta Médica.* (1982), 46, 45-47.
- 90.- Loev, B. and Goodman, M. N. *Chem. Ind. (London)*, (1967),2026.

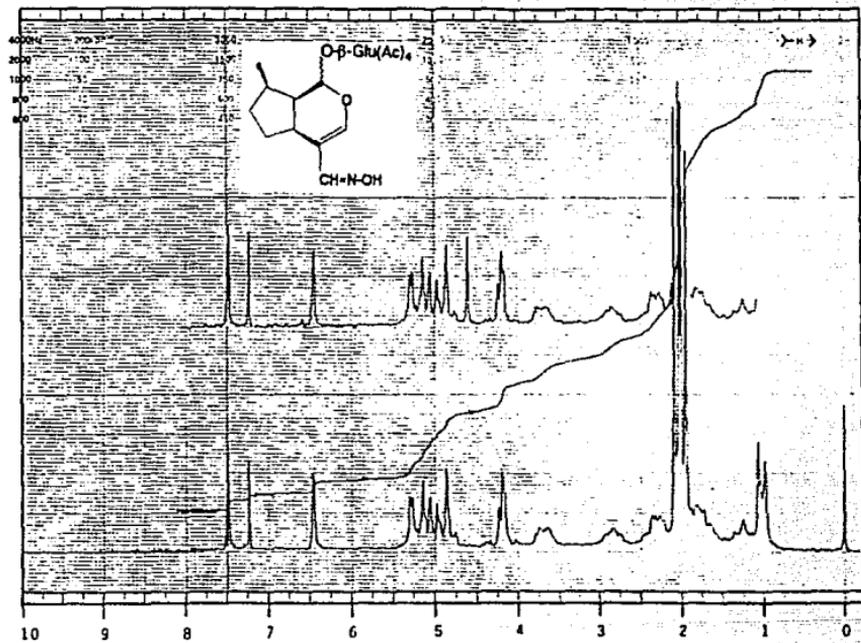
- 91.- Still, W. C. Khan, M. and Mitra, A. J. *Org. Chem.* (1978), 43, 2923.
- 92.- Ozaki, Y. *et al. Helvetica. Chimica. Acta.* (1979), 62, Fasc 8, Nr. 275, 2708-2711.
- 93.- Pelletier, S.W. "ALCALOIDS. Chemical and Biological Perspectives " Vol III, John Wiley & Sons, (1985), USA.
- 94.- Bianco, A. *et al. Tetrahedron.* (1985), 38, 359.
- 95.- Comunicación personal.
- 96.- Ayerst, G.G. and Schofield, K. J. *Chem. Soc.* (1985), 1097.
- 97.- Sakan, T. *et al. Tetrahedron.* (1967), 23, 4635-4652.
- 98.- Trost, M.B. and Miller, C.H. J. *Amer. Chem. Soc.* (1975), 62:64, 7182-7183.

ESPECTROS

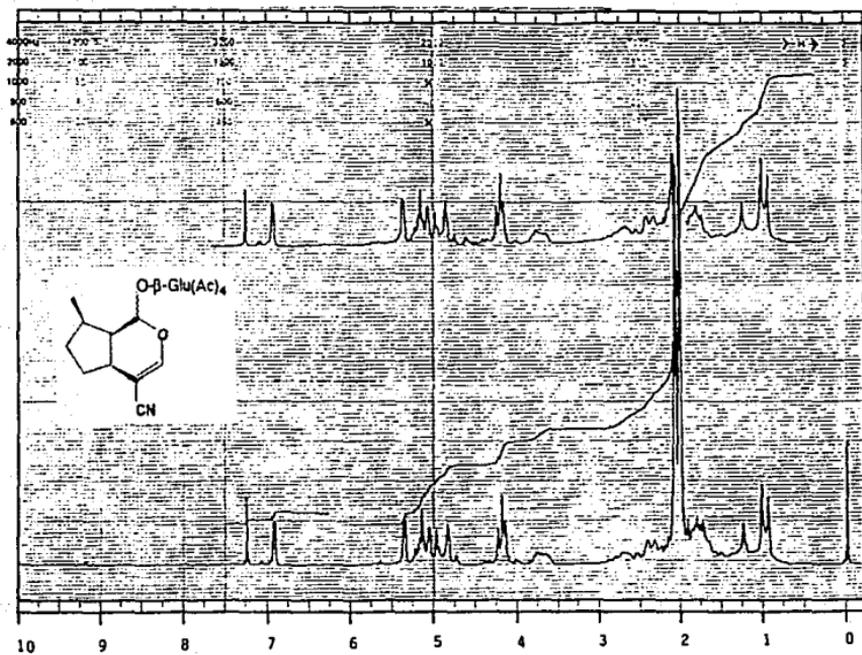


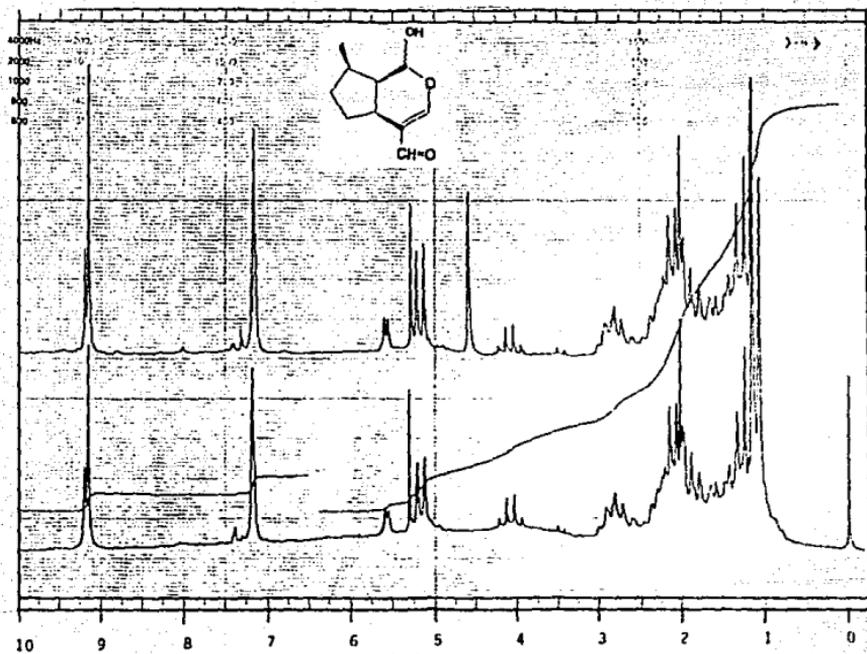
ESPECTRO I, (Ia) BOSCHNALOSIDO

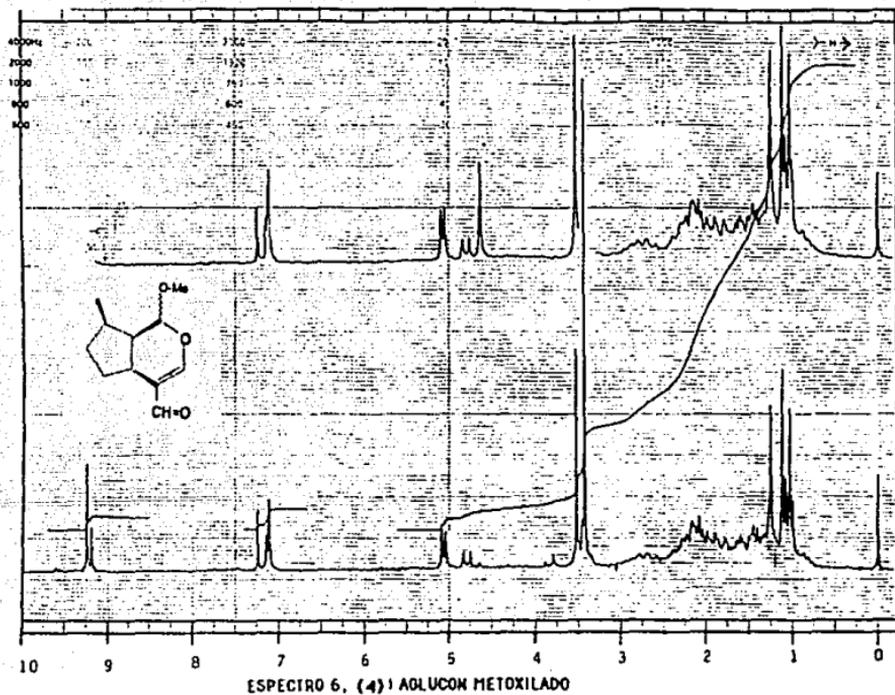


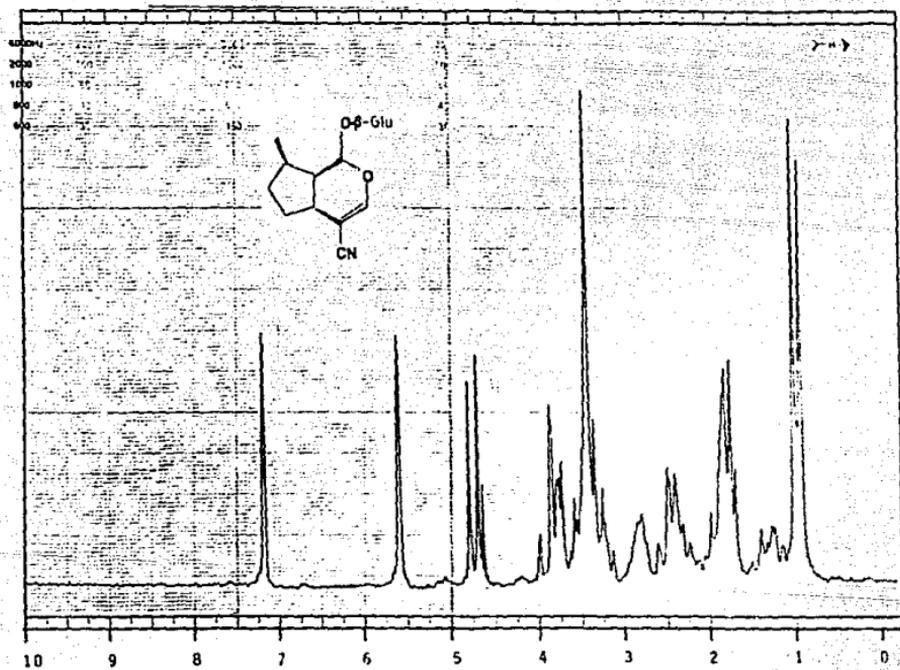


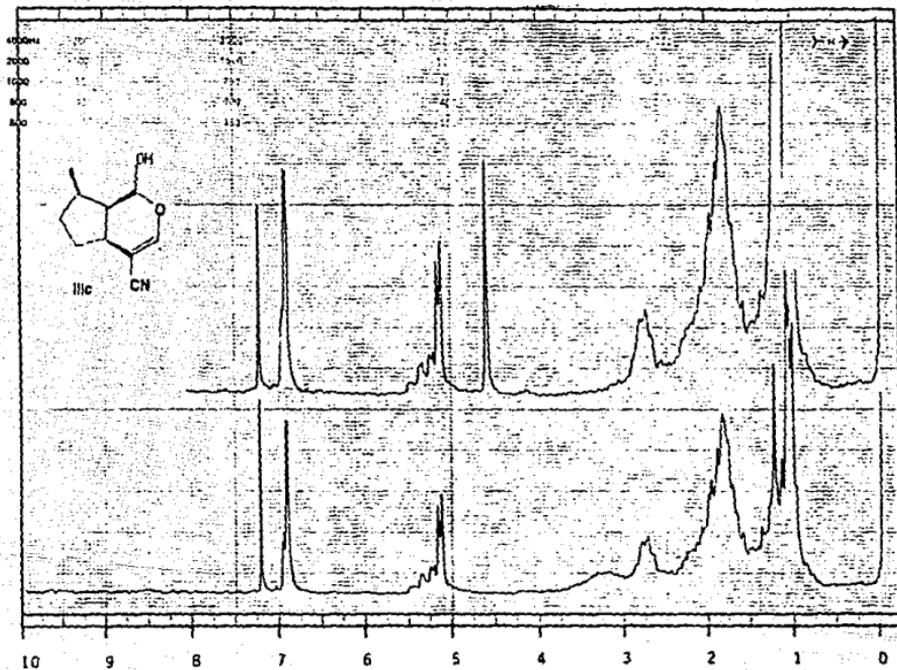
ESPECTRO 3. (1c) OXIMA DEL BOSCHNALIOSIDO

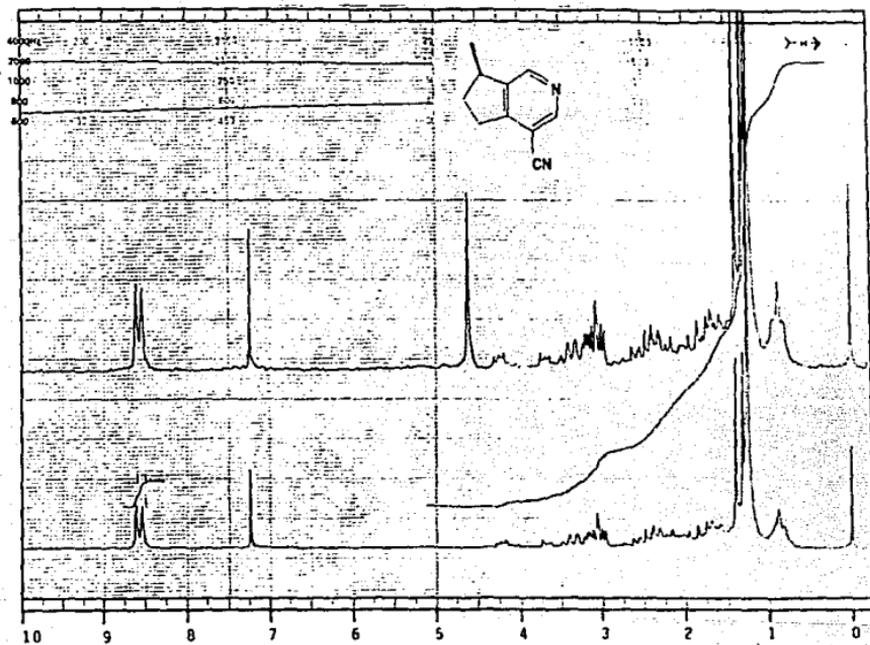




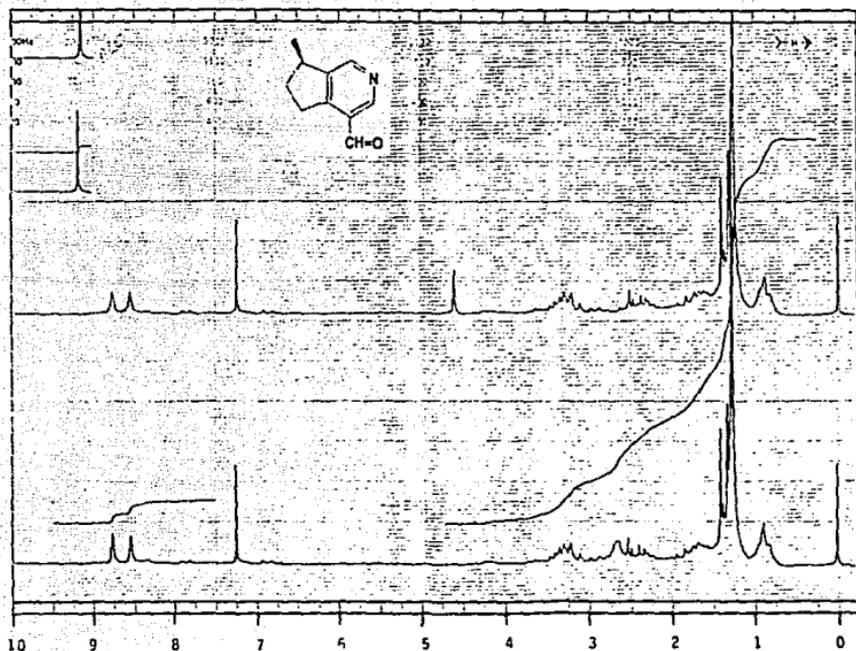




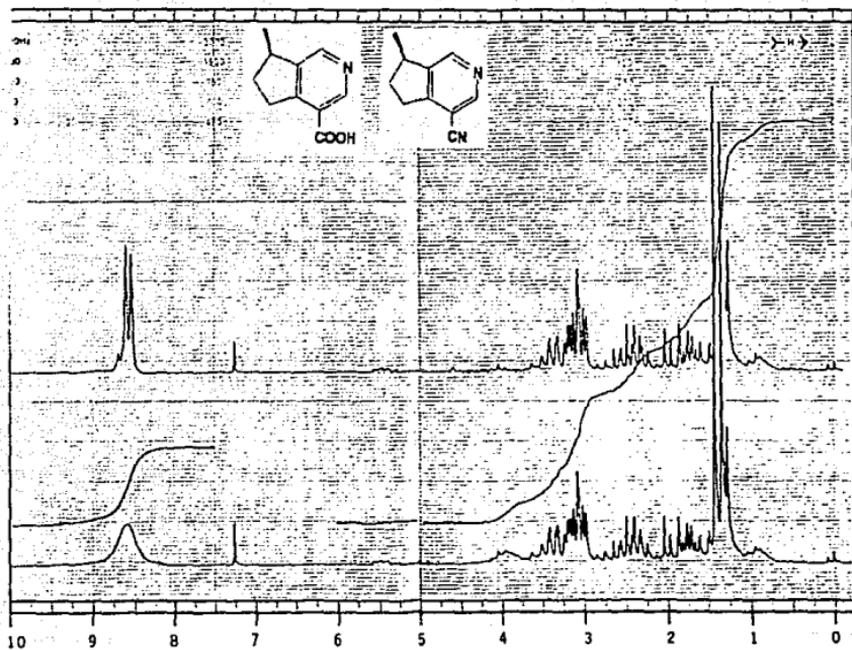




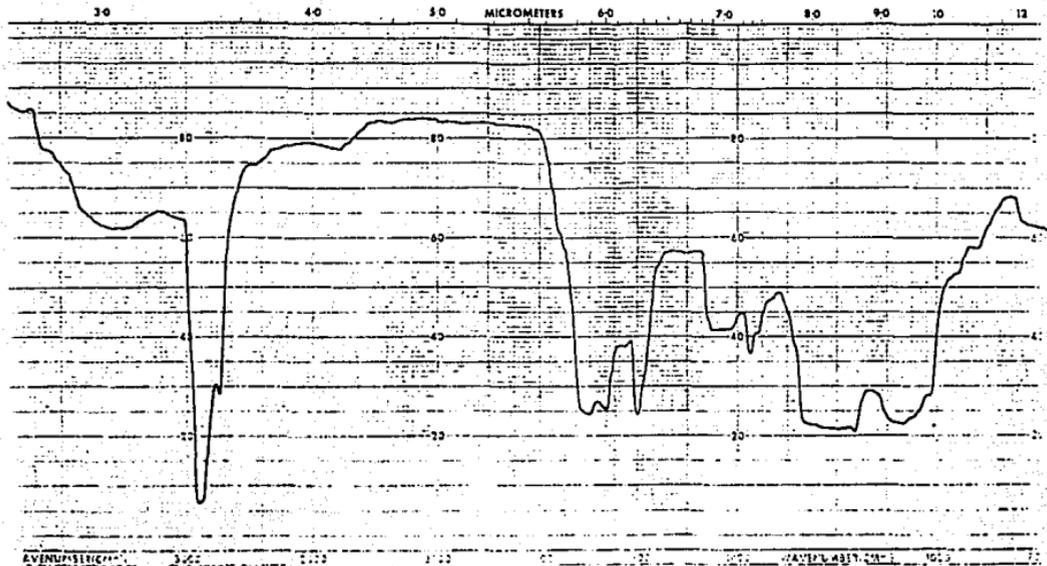
ESPECTRO 9, (5a) 4-ciano-6,7-dihidro-7(R)-metil-5(H)-2-piridina



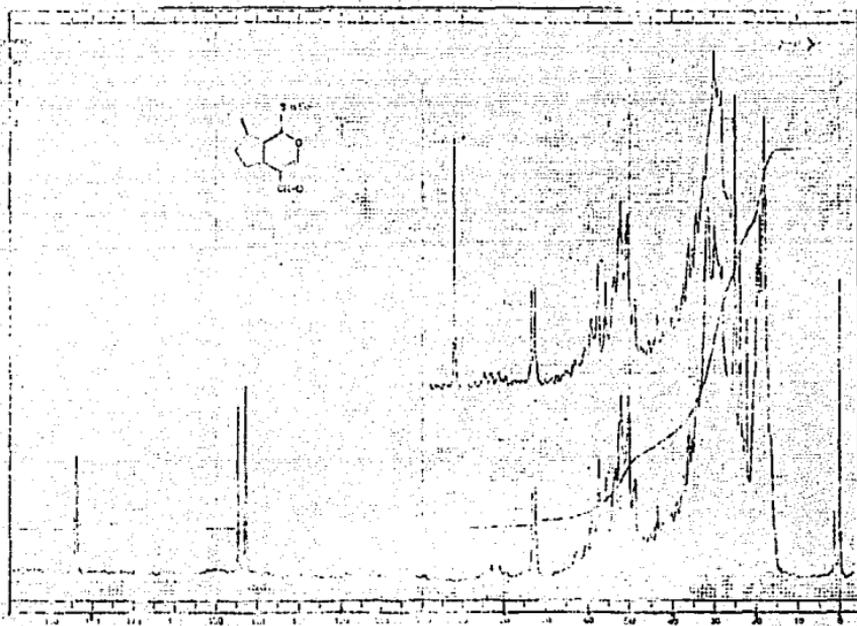
ESPECTRO 10. (5b) 4-formil-6,7-dihidro-7(R)-metil-5(H)-2-piridina



ESPECTRO 11a, (5b y 5c), 4-formil-6,7-dihidro-7(R)-metil-5(H)-2-piridina, 4-carboxil-6,7-dihidro-7(R)-metil-5(H)-2-piridina



ESPECTRO 11b. (5b y 5c). 4-formil-6,7-dihidro-7(R)-metil-5(H)-2-
piridina,4-carboxil-6,7-dihidro-7(R)-metil-5(H)-2-piridina



ESPECTRO 12. (6) TIOACETAL(MIXTO) DEL AGLUCON