

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO
FACULTAD DE QUIMICA



AISLAMIENTO Y ESTUDIO QUIMICO DE UN
DITERPENO DE LA PLANTA PIQUERIA
TRINERVIA CAV.

T E S I S

Que Para Obtener el Título de:
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

P r e s e n t a

MARIO GONZALEZ DE LA PARRA IRIGOYEN

México D. F.

1977



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

...AS Tesis 1977
...BO M-18D
...ECHA _____
...RBC _____
... _____



QUÍMICA

Jurado asignado originalmente según el tema:

Presidente:	Dr. Alfonso Romo de Vivar.
Vocal:	Q. F. B. Ma. Luisa García Padilla.
Secretario:	Dr. Manuel Jimenez Estrada.
1er. Suplente:	Dr. Eugene Bratoeff.
2o. Suplente:	Quim. Arturo Perez Alonso.

Esta tesis se desarrollo en el :

INSTITUTO DE QUIMICA, U. N. A. M.

Asesor del tema:

Dr. Manuel Jimenez Estrada.

A la memoria del Dr. Jesus Romo Armería.

A mis padres con cariño.

A mis hermanos:

Guillermina, Luis Felipe, Alejandro

Jorge y Sergio.

A mis Tios:

Sergio, Francisco y Hedy Yrigoyen.

Al Dr. Manuel Jimenez Estrada con mi agradecimiento por su
valiosa ayuda y apoyo brindados.

Al Dr. Manuel Yudovich Borak con mi aprecio y gran estimación.

A la memoria de mis queridos Abuelos.

A mis amigos:

Amador, Daniel, Eduardo, Julio, Raúl y Alberto.

A mis compañeros de generación y maestría.

AGRDECIMIENTOS.

Se agradece al Dr. Eduardo Diaz y al Ing. Quim. Raymundo - Saucedo la ejecución de los espectros de R. M. P., así como sus valiosos consejos durante el desarrollo de este trabajo.

Al M. en C. Noe Rosas y equipo, el haber hecho los espectros de I. R..

Al Dr. Alfonso Romo de Vivar, a la Maestra Ma. Luisa García-Padilla, al Eugene Bratoeff, al Quim., Arturo Perez Alonso y al Dr. Rafael Castillo Bocanegra, la revisión de esta tesis y sus orientaciones.

A la Dra. Rocio Cruz Vega y a mi hermana Guillermina su valiosa ayuda en la edición de la misma y muy especialmente al Dr. Manuel Jimenez Estrada, por su dirección, apoyo y amistad.

CONTENIDO.

- I. INTRODUCCION.
- II. GENERALIDADES.
- III. PARTE TEORICA.
- IV. PARTE EXPERIMENTAL.
- V. CONCLUSIONES.
- VI. BIBLIOGRAFIA.

I N T R O D U C C I O N

Desde los albores de la humanidad el hombre ha recurrido al reino vegetal para curar sus enfermedades, los testimonios más antiguos como los libros sagrados hindúes, mencionan el uso de los extractos de Rauwolfia, (fuente de alcaloides como la Reserpina), contra varios padecimientos incluyendo: mordeduras de serpiente, hipertensión, insomnio y varios trastornos mentales.

El uso del látex del fruto de Papaver somniferum, del cual se obtiene la morfina, se encuentra descrito por Teofrastos III A.C. y por Dioscórides I D.C.¹

Entre los años de 1800 a 1950, la mayoría de los fármacos derivados de plantas fueron aislados, caracterizados químicamente y algunos se sintetizaron, entre los más importantes podemos citar: morfina; quinina, reserpina, atropina, cocaína, glucósidos de la digital, etc.

En las últimas décadas, con los progresos espectaculares de la química orgánica sintética y la farmacología molecular, los fármacos de origen sintético son los que más se han desarrollado, no obstante, en el presente se está recurriendo intensamente a la búsqueda de fármacos de origen natural, para combatir padecimientos aún no controlados, como el cáncer (en este campo cabe mencionar que se han encontrado productos naturales con significativa actividad anti - tumor, como algunas lactonas sesquiterpénicas), - otras de las muchas razones para volver a las fuentes natu--

rales es la ventaja que tienen muchos productos de la naturaleza, en cuanto a que presentan menos efectos colaterales comparados con sus análogos sintéticos.

Nuestro país tiene una gran tradición en el estudio de plantas medicinales, puesto que nuestras grandes culturas precolombianas se preocuparon por estudiar gran parte de la flora mexicana y su aplicación en medicina, dejando muestras patentes en los grandes jardines botánicos creados por Moctezuma y Netzahualcoyotl y por testimonios escritos como el Códice Badiano escrito por el médico azteca Martín de la Cruz y traducido al latín por Juan Badiano, donde se describen gran cantidad de plantas y su uso medicinal.²

Se considera que existen quinientas mil especies de plantas, de las cuales se estima que se han estudiado fitoquímicamente - alrededor del 10 %, de esta fracción el porcentaje que se ha investigado desde el punto de vista farmacéutico es mucho menor, esto nos da una idea del gran potencial que todavía tiene el reino vegetal como fuente de fármacos, en especial, como todos sabemos México cuenta con una amplia variedad de vegetales, que representa un reto para la investigación química y farmacéutica.

El objetivo de este trabajo, es proponer la estructura de un diterpeno aislado de la planta Piqueria trinervia cav., que será la base de posteriores estudios químico bioológicos.

G E N E R A L I D A D E S

La planta Piqueria trinervia Cav.³ pertenece a la familia - de las Compuestas, se caracteriza por ser herbácea con una altura promedio de 1 m, con ramas opuestas, hojas aovadolanceoladas, dentadas con tres nervaduras muy marcadas y flores en cabezuela, las cuales aparecen de agosto a septiembre.

En nuestro país, se encuentra distribuida en los estados: San Luis Potosí, Hidalgo, Nayarit, Puebla y el Valle de México. Se le conoce con varios nombres vulgares: yerba del tabardillo, yerba de San Nicolás, Yonitzal, Cuapopulchi y Alta reina.

Las propiedades medicinales que se han atribuido a la planta son: antipirético, especialmente en casos de tifo exantemático, contra paludismo y en cálculos biliares, padecimientos en los que se usa el cocimiento de las hojas y se administra por vía oral. En casos de reumatismo se usa la infusión alcohólica en fricciones. La única acción farmacológica comprobada hasta el momento es la de antipirético.

La planta ha sido objeto de estudios de interés: botánico, farmacológico y químico, destacando los estudios químicos, ejemplo de ellos, la tesis de Herminio Farías, escrita en 1886 -- "Ligero Estudio sobre la Yerba del Tabardillo"³ trabajo que reporta que la planta contiene: grasa, sustancia amarilla amorfa y materia colorante amarilla, posteriormente, el Dr. Rfo de la

Loza complementó el análisis anterior incluyendo: ácido tánico, una resina, materias extractivas, materias gomosas, alúmina, -- cal, ácido clorhídrico y un alcaloide.

Recientes estudios⁴, hechos en tres variedades de la planta recolectadas, una, en el Pedregal de San Angel y las otras dos en Atlacomulco (Edo. de México) y Tehuacán (Pue.) encontraron en las tres variedades acetato de carquejilo (1), terpeno de aislado anteriormente como constituyente de *Baccaris genis telloides*, especie perteneciente a las Compuestas, distribuída en el sur de Brasil.

De la variedad del Pedregal de San Angel, se obtuvo el piquerol A (2), de la variedad de Atlacomulco, el piquerol B (3a) y su diacetato (3b) y de la de Tehuacán se aisló el producto (4), que parece ser un artificio formado durante el proceso de aislamiento, este producto se piensa originado del safranal -- (5) o del 4-oxicitral (6). En el presente trabajo se reporta -- un diterpeno del tipo del rosano.

Los diterpenos son, C₂₀ compuestos biogenéticamente deriva dos del pirofosfato de geranilgeranilo⁵, ellos se encuentran -- principalmente distribuídos en: plantas, hongos y resinas de -- árboles. Para su estudio, se clasifican de acuerdo al número -- de ciclos presentes en su estructura en: acíclicos, monocíclicos,

bicíclicos, tricíclicos y tetracíclicos, o basándose en sus relaciones químicas y bioquímicas según la clasificación de Powe^{5,6}. En la actualidad se prefiere usar la última.

Los diterpenos tienen papeles biológicos muy importantes, como el fitol diterpeno acíclico constituyente de la clorofila, también las vitaminas A₁ y A₂ y las cadenas laterales de las vitaminas E y K₁ son diterpenos, así como las giberelinas, que son hormonas endógenas que regulan el crecimiento y floración de las plantas, además los diterpenos se presentan en las resinas de los árboles (principalmente coníferas), proporcionando adherencia a las fibras de madera y cierta protección antibiótica⁷.

Se han encontrado diterpenos con interesantes propiedades farmacológicas como antibióticos y agentes anticancerígenos. Entre los antibióticos tenemos al fungicida LL-Z 1271⁸ de Acrostalagmus LL-Z 1271 (8), que posee actividad in vitro contra gran variedad de hongos patógenos y significativa actividad antibiótica, in vivo probada en ratas. El casbano (9) de Ricinus communis⁹, es un diterpeno monocíclico con actividad fungicida además tiene otras propiedades biológicas notables, como es el inhibir la elongación en las plantas inducida por el ácido giberélico.

Diterpenos, con actividad anticancerígena se pueden citar:

taxodiona (10) y taxodona (11), de taxodium disticham¹⁰, las -
 cuales muestran actividad citotóxica in vitro e in vivo; trito-
 lido (12), triptidolido (13), de Tripterygium wilfordii¹¹, son
 epóxidos con actividad antileucémica, probados in vivo en ratón
 e in vitro contra células de carcinoma humano; Gnididina (14),
 Gniditrina (15), Gnidicina (16) de Gnidia lamprantha,¹² también
 son agentes antileucémicos probados in vivo en ratón. Estudios
 químico farmacológicos, han demostrado que la actividad antitu-
 mor de estas estructuras la confieren los grupos epóxidos y la
 lactona de cinco miembros α,β - no saturada.¹¹

Los diterpenos del tipo del pimarano se caracterizan por -
 tener el esqueleto fundamental tricíclico (17), los más típicos y
 abundantes se han aislado de resinas de coníferas, constituyen-
 do junto con otros diterpenos las llamadas resinas ácidas. Es-
 tas resinas, son fracciones no volátiles de la resina de las co-
 níferas, que están constituidas por ácidos carboxílicos diterpe-
 noicos, principalmente: ácido prodocárpico, ácido abiético y --
 ácido dextropimárico (este último es miembro de la serie del pi-
 marano).⁷

Entre otros diterpenos típicos de la serie, podemos citar:
 pimaradieno (18), sandacopimaradieno (19), ácido sandaracopi-
 márico (21) y darutigenol (22).

La biogénesis de este tipo de diterpenos, ha quedado más o

menos aclarada por las investigaciones hechas sobre la biosíntesis del ácido giberélico¹³ y se propone que es de la siguiente manera (ver fig. 1): el pirofosfato de geranil geranilo, obtenido vía ácido mevalónico sufre una ciclación para dar un derivado bicíclico del tipo del labdano, este intermediario se piensa que se transforma en un ión carbonio terciario, el cual se rearregla principalmente de dos maneras, una para dar el kaureno, el cual es biotransformado al ácido giberélico y del otro rearreglo se obtienen varios tipos de pimaradienos.

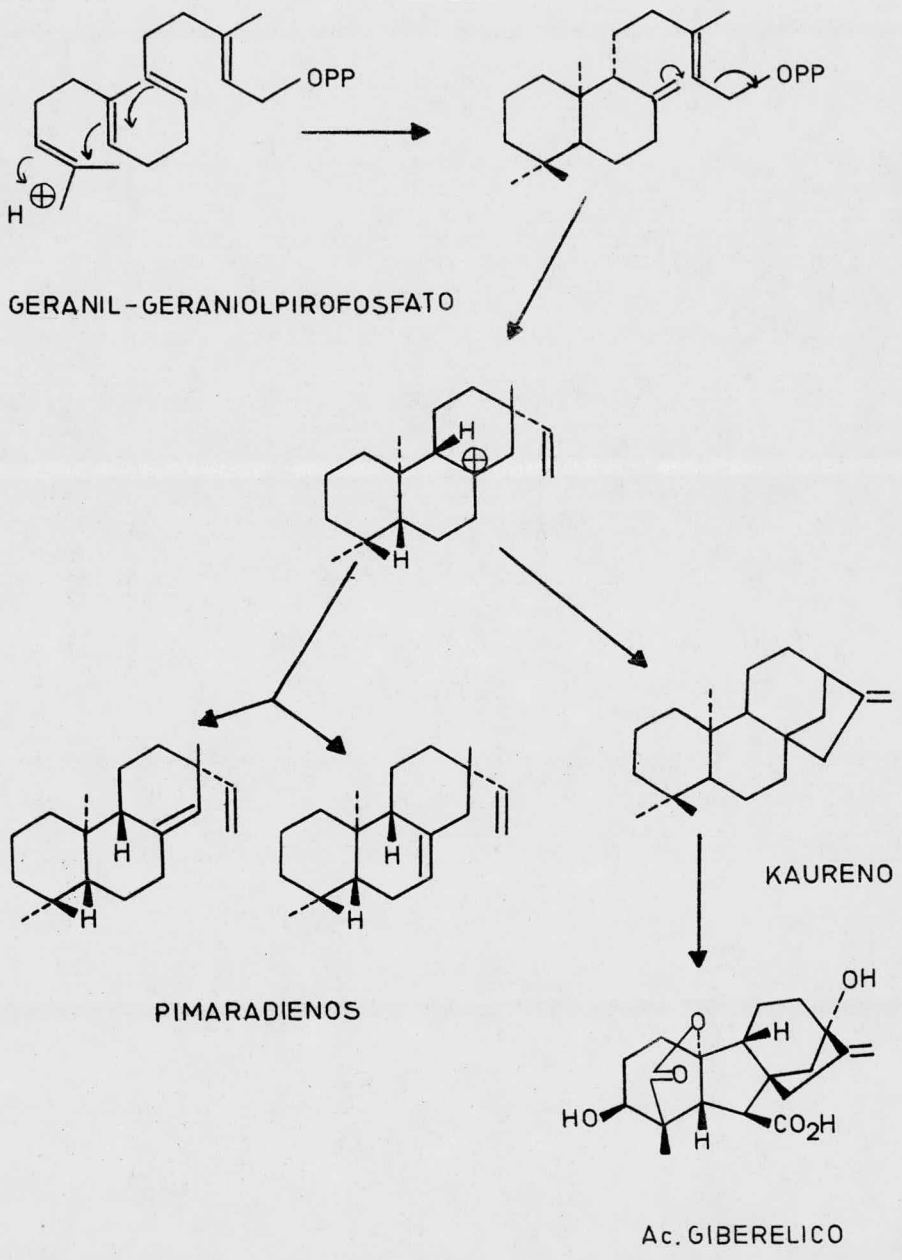
Un subtipo especial del esqueleto del pimarano corresponde al esqueleto del rosano (23),^{6,7} la diferencia entre los dos radica, en que en el rosano, el C₂₀ está soportado sobre el C₉. El rosano se considera dentro de la serie del pimarano porque in vitro se ha obtenido a partir de este,¹⁴ no obstante desde el punto de vista biogénético se considera originario de un intermediario bicíclico del tipo del labdano,⁷ esto está apoyado en los estudios hechos sobre la biosíntesis de la rosenonolactona (24).

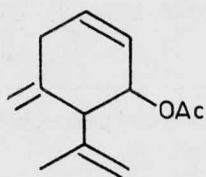
Los diterpenos del tipo del rosano no son tan abundantes como los del pimarano, entre los más típicos podemos citar: la rosenonolactona, rimueno (25), eritroxidiales y eritroxitrioles.⁶

Diterpenos del tipo del pimarano, con interesantes actividades biológicas podemos mencionar: a las momilactonas¹⁵ (26), que

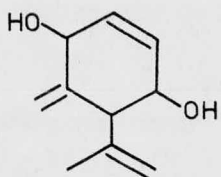
son inhibidores del crecimiento de las plantas; los antibióticos LL-S 491 γ (27) y LL-S 491 β (28) del hongo Aspergillus Chevaleri,¹⁶ tiene acción antibacteriana, contra los microorganismos gram-positivos, también actividad antiviral contra herpes simple y contra el protozoario Tetrahinema pyriformis.

Fig. 1

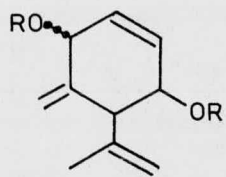




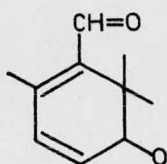
1



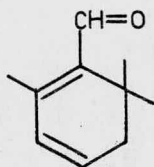
2



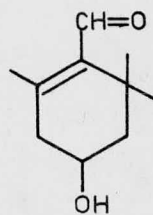
3a R=H
3b R=Ac



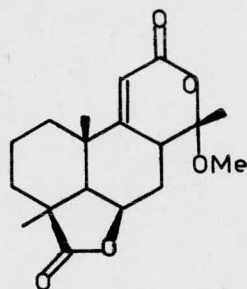
4



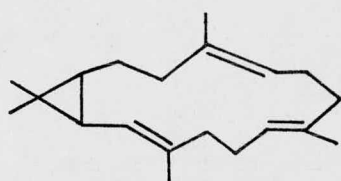
5



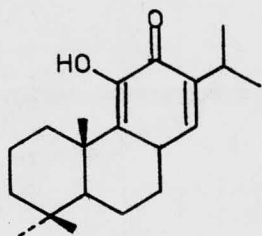
6



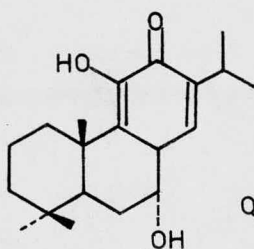
8



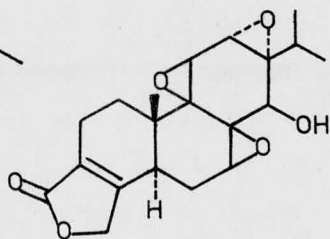
9



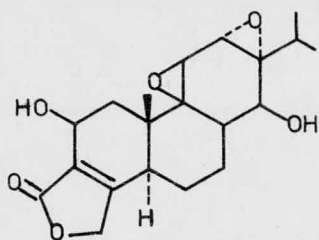
10



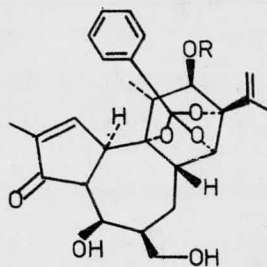
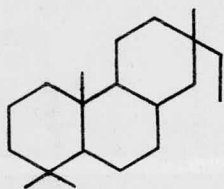
11



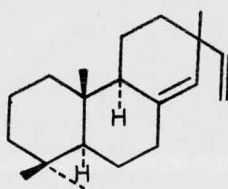
12



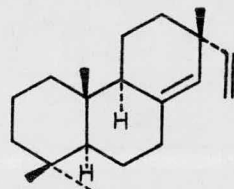
13

14 $R = \text{COCH}^{\dagger} = \text{CHCH}^{\dagger} = \text{CH}(\text{CH}_2)_4 \text{CH}_3$ 15 $R = \text{COCH}^{\dagger} = (\text{CH} = \text{CH})_2 (\text{CH}_2)_2 \text{CH}_3$ 16 $R = \text{COCH} = \text{CHCH} = \text{CH} - \text{C}_6\text{H}_5$ 

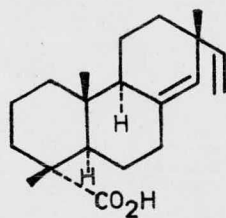
17



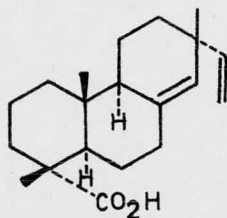
18



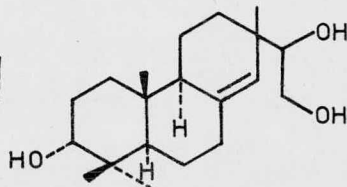
19



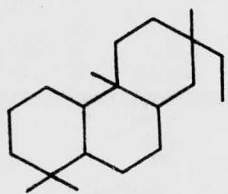
20



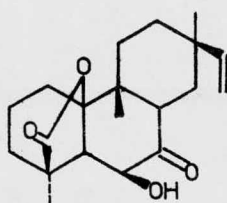
21



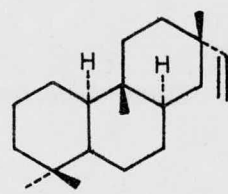
22



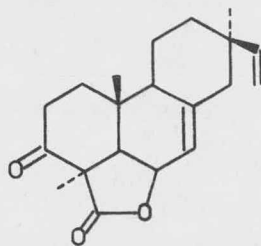
23



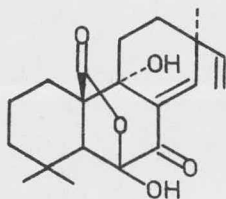
24



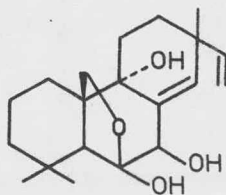
25



26



27



28

P A R T E T E O R I C A +

Del extracto clorofórmico de las flores y hojas de la planta Piqueria trinervia cav. recolectada en el mes de octubre en el cerro del Ajusco, se obtuvo por cristalización directa un producto que analizó para $C_{20}H_{34}O_4$, que se denominó trinervina (I).

Su espectro de IR mostró: una banda intensa en 3400 cm.^{-1} , que se atribuyó a grupos oxhidrilos asociados, en 1615 cm.^{-1} , una banda de intensidad débil que se asignó a una doble ligadura y dos bandas en 1375 y 1360 cm.^{-1} , que se atribuyeron al grupo gem dimetilo.

El espectro de RMP de la trinervina en piridina d 6, presentó las siguientes señales: tres singuletes, que integraron respectivamente para (3H) que se asignaron a tres metilos terciarios, en 0.85, 1.08 y 1.18 ppm respectivamente; una señal en 3.48 ppm con multiplicidad doble de doble con acoplamientos ($J = 6\text{ Hz}$, $J = 9\text{ Hz}$), que integró para un protón, que se atribuyó al hidrógeno base de un alcohol secundario: un singulete en 3.91 ppm, (2H), que se asignó a los dos protones base de un alcohol primario del tipo $\begin{array}{c} | \\ -\text{C} - \text{CH}_2 - \text{OH} \\ | \end{array}$ y una señal compleja en 5.5 ppm que integró para (1H) que correspondió a un protón vinílico.

+ Ver parte experimental para obtener una información más completa de los datos espectroscópicos.

Del análisis de los datos espectroscópicos y de la fórmula mínima de la trinervina se concluyó: que la trinervina es un diterpeno por ser un C_{20} , además existen en su estructura tres metilos terciarios de los cuales dos están en agrupamiento gem, una doble ligadura y varios grupos oxhidrilos.

Con objeto de determinar la cantidad de grupos oxhidrilos y su naturaleza, se hicieron las siguientes reacciones. Primeramente, la trinervina se acetiló, con anhídrido acético y piridina a temperatura ambiente, obteniéndose el correspondiente acetato (Ia), el cual es un aceite homogéneo. En el espectro de IR, se observó una acetilación completa, por la ausencia de las bandas características de oxhidrilos y por la presencia de las dos bandas intensas propias de los acetatos en 1740 cm.^{-1} y 1240 cm.^{-1} . El espectro de RMP presentó: tres singuletes que integraron un conjunto para (12H), en 1.93, 2.04 y 2.06 ppm, -- que se asignaron a cuatro metilos de acetatos; esto implica que el producto (Ia), es un tetra acetato, también presentó un sistema AB con desplazamientos químicos, para el protón A en 3.86 ppm y para el B en 4.03 ppm, con una constante de acoplamiento ($J_{AB} = 10\text{ Hz}$) que se asignó a los dos hidrógenos base del acetato del alcohol ($-\overset{|}{\underset{|}{\text{C}}}-\text{CH}_2-\text{OH}$); además presenta en 4.51 ppm una señal con multiplicidad doble de doble con constantes de acoplamiento ($J = 3\text{ Hz}$, $J = 9\text{ Hz}$), que se atribuyó a un protón base de un acetato de alcohol secundario; por el patrón de multiplicidad, dicho hidrógeno debe estar acoplado a dos hidrógenos no

equivalentes; el valor de sus constantes de acoplamiento sugiere que pertenece a un sistema del tipo del ciclohexano;¹⁷ de esta manera la constante de acoplamiento ($J = 9 \text{ Hz}$), se explicaría por la conformación del protón base del acetato con los hidrógenos del metileno vecino y la constante ($J = 3 \text{ Hz}$), se obtendría mediante la conformación axial ecuatorial con el otro hidrógeno del metileno, como se muestra en la figura 1.

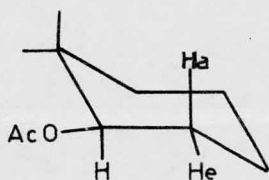


Fig. 1

La trinervina se metiló mediante el método de Hakomori,¹⁸ obteniéndose el metoxiderivado (Ib), que también resultó ser un aceite; en el espectro de IR se observó una metilación total por la carencia de las bandas de grupos oxhidrilos y por la banda intensa en 1370 cm.^{-1} que se atribuyó a los metilos de los metoxilos y los metilos terciarios. El espectro de PMP del metoxiderivado, mostró cuatro singuletes en 3.23, 3.3, 3.33 y 3.45 ppm que integraron para (3H) cada uno, que se asignaron a cuatro metilos de éteres metílicos; lo que confirmó junto con la obtención del tetracetato la presencia de cuatro grupos oxhidrilos en la trinervina, de los cuales se han identificado: un alcohol primario ($\text{---}\overset{\text{I}}{\text{C}}\text{---CH}_2\text{---OH}$) y un secundario (el oxhidrilo correspondiente al acetato mostrado en la figura 1).

Para identificar los otros dos grupos oxhidrilos se ejecutaron los siguientes pasos. En principio, la trinervina se trató con acetona y unas gotas de ácido clorhídrico a temperatura ambiente, y se obtuvo el monoacetónido (II), que analizó para $C_{23}H_{38}O_4$, su espectro de IR, presentó bandas de absorción de oxhidrilos asociados en 3420 cm.^{-1} , y dos bandas simétricas muy intensas en 1380 y 1370 cm.^{-1} que se asignaron a los metilos gem. El espectro de RMP del producto (II), mostró: dos singuletes en 1.31 y 1.43 ppm , que integraron cada uno (3H), los cuales se asignaron a los protones de los metilos del grupo acetónido; también un singulete en 3.86 ppm , que integró para (2H) que se atribuyó a los dos hidrógenos base del alcohol $(-\overset{|}{\underset{|}{\text{C}}}-\text{CH}_2-\text{OH})$. La formación del monoacetónido sugirió la presencia de un diol vecinal, o dos grupos oxhidrilos muy próximos.

El acetónido (II) se acetiló, obteniéndose el acetato (IIa). El espectro de RMP de este compuesto presentó: dos singuletes en 1.31 y 1.36 ppm , que integraron en conjunto para (6H), que se atribuyeron a los hidrógenos de los metilos del grupo acetónido, además de observó un sistema AB con desplazamientos químicos: para el protón A en 3.91 ppm y para B en 4.05 con una constante de acoplamiento $J_{AB} = 10\text{ Hz}$, que se asignó a los dos protones base del acetato del alcohol $(-\overset{|}{\underset{|}{\text{C}}}-\text{CH}_2-\text{OH})$; también una señal en 4.53 ppm con multiplicidad doble de doble con constantes de acoplamiento ($J = 6\text{ Hz}$ y $J = 9\text{ Hz}$), que integró para un protón, que

se asignó al hidrógeno base de un acetato del alcohol secundario (como el que se muestra en la figura 1).

El acetónido (II) se metiló en la forma ya descrita, y se obtuvo el metoxiderivado (IIb). El espectro de RMP presentó: dos singuletes, que integraron cada uno para (3H), en 3.38 y 3.41 ppm, que se asignaron a dos metilos de metoxilos; lo que apoya la apreciación de la formación de un grupo acetónido.

El acetónido (II) se sometió a la oxidación de Sarett, obteniéndose, el producto de oxidación (III), cuyo espectro de IR mostró: una banda de intensidad débil en 2725 cm.^{-1} , una banda intensa en 1720 cm.^{-1} que se asignó a una cetona. El espectro RMP de (III) mostró: un singulete en 9.7 ppm, que integró para un protón que correspondió al hidrógeno de un grupo aldéhido del tipo $\begin{array}{c} | \\ -\text{C} - \text{CH} = \text{O} \end{array}$, resultante de la oxidación del alcohol $\begin{array}{c} | \\ -\text{C} - \text{CH}_2 - \text{OH} \end{array}$; además muestra un sistema ABC, centrado en 4.04 ppm, en el que se distingue una señal doble de doble en 4.25 ppm con constantes de acoplamiento ($J = 6 \text{ Hz}$, $J = 8 \text{ Hz}$), que se atribuyó a uno de los tres protones de este sistema; el cual se explica por los tres hidrógenos base del acetónido, por lo anterior se puede considerar que el grupo acetónido debe estar dispuesto,¹⁹ como se muestra en la Fig. 2.

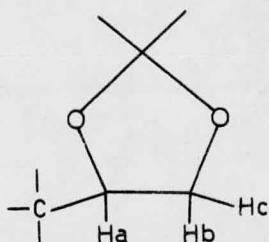


Fig. 2

Del análisis espectroscópico de las reacciones anteriores, se pudo establecer que los cuatro grupos oxhidrilos de la trinervina; dos se encuentran formando un diol vecinal como el que se representa en la Fig. 2, los otros dos, uno es primario - - $\begin{matrix} | \\ -\text{C} - \text{CH}_2 - \text{OH} \\ | \end{matrix}$, y el otro secundario (ver Fig. 1).

Para confirmar la presencia del diol vecinal; la trinervina disuelta en etanol se trató con ácido peryódico a temperatura ambiente y se formó formaldehído el cual fue identificado por su derivado 2-4 dinitrofenilhidrazona, al comparar su punto de fusión con el reportado;²⁵ además se obtuvo el aldehído (IV), cuyo espectro de IR, mostró bandas de absorción para oxhidrilo libre en 3540 cm.^{-1} , para oxhidrilos asociados en 3340 cm.^{-1} , una banda de intensidad débil en 2725 cm.^{-1} y una intensa en 1720 que se atribuyeron a un grupo aldehído. El espectro de RMP, presentó un singlete en 9.45 ppm , que integró para (1H), que se asignó al protón del grupo aldehído del tipo $\begin{matrix} | \\ -\text{C} - \text{CH}=\text{O} \\ | \end{matrix}$, que confirmó junto con la formación de formaldehído la presencia del diol vecinal (Fig. 2); también se observó un singlete en 3.46 ppm , que

integró para (2H), que se atribuyó al alcohol $\begin{array}{c} | \\ -\text{C} - \text{CH}_2 - \text{OH} \\ | \end{array}$ y una señal con multiplicidad doble de doble en 3.18 ppm que integró para (1H) con constantes de acoplamiento ($J = 5 \text{ Hz}$ y $J = 9 \text{ Hz}$), que se asignó al alcohol secundario (Fig. 1).

El aldéhido (IV) se acetiló en la forma usual, y se formó acetato (IVa), su peso molecular obtenido del espectro de masas es $m/e = 390$. El espectro de RMP, mostró: dos singuletes que integraron cada uno para (3H) en 2.01 y 2.03 ppm, que se atribuyeron a dos metilos de acetatos, un singulete en 4.00 ppm que integró para (2H), que correspondió a los dos hidrógenos base del acetato del alcohol $\begin{array}{c} | \\ -\text{C} - \text{CH}_2 - \text{OH} \\ | \end{array}$ y una señal con multiplicidad doble de doble en 4.49 ppm con constantes de acoplamiento ($J = 5 \text{ Hz}$, $J = 9 \text{ Hz}$), que se asignó al protón base del acetato del alcohol secundario (Fig. 1).

Es interesante notar, que en el tratamiento de la trinervina con ácido peryódico, se formó el cetal (V), como resultado de la reacción del aldéhido (IV), con el disolvente empleado; esto apoya la presencia del glicol.

Con fin de conocer, la naturaleza y posición de la insaturación, se hizo el ensayo cualitativo con bromo en tetracloruro de carbono de la trinervina con resultados positivos.

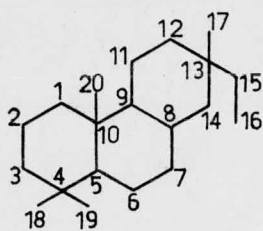
Cuando se realizó la hidrogenación catalítica de la trinervina sobre Pd/C al 10%, se obtuvo el dihidro derivado (VI), en cuyos espectros de IR y RMP, ya no se encuentran ninguna señal característica de doble enlace o protones vinílicos.

El tetracetato de trinervina (Ia) disuelto en cloroformo, — se trató con ácido m-Cl-perbenzoico, y se obtuvo el epóxido (VII) en su espectro de RMP, se observó un triplete en 2.96 ppm que integra para (1H), que se asignó al protón base del epóxido; esto — hace pensar que, el Carbono que soporta al protón vinílico está — unido a un metileno.

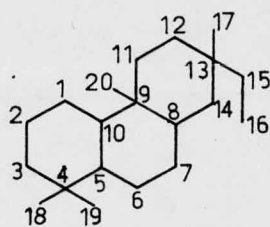
De lo anterior se concluyó, que la trinervina es un diterpeno tricíclico porque el número de insaturaciones calculadas²⁰ a partir del número de átomos de carbono e hidrógeno (fórmula mínima) es — de cuatro, de las cuales, una corresponde a la doble ligadura y — las otras se explican por la presencia de tres ciclos.

Los esqueletos fundamentales de diterpenos tricíclicos encontrados en la naturaleza son los que se muestran en la Fig. 3.⁶

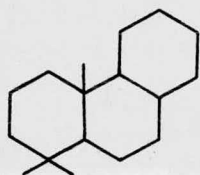
De todos los esqueletos mostrados, los únicos que pueden explicar el diol vecinal (Fig. 2), son el pimarano y rosano. Por los datos discutidos hasta el momento no se puede discriminar a — ninguno de los dos, no obstante es posible fijar la posición de — los oxhidrilos del diol vecinal en C₁₅ y C₁₆, para cualquiera de



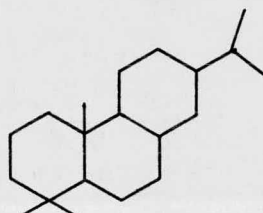
PIMARANO



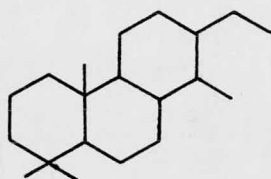
ROSANO



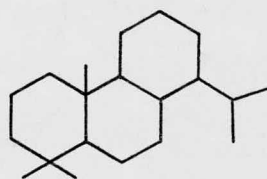
PRODOCARPANO



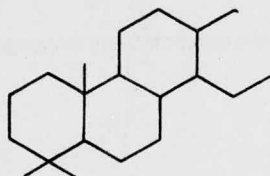
ABIETANO



CASANO



TOTARANO



ISOTACHIONANO

los dos esqueletos. Respecto al alcohol secundario (Fig. 1) - sus posiciones posibles en el esqueleto el pimarano (Fig. 3), serían (C_3 , C_{11} y C_{12}) y para el rosano (C_3 , C_{11} y C_{12}). La posición más factible para los dos esqueletos es en C_3 debido a que los protones de los metilos gemelos se muestran en la mayoría de los espectros de RMP de la trinervina y derivados como no equivalentes, esto se puede explicar por la proximidad de un grupo oxhidrilo a ellos, además por el desplazamiento químico, patrón de multiplicidad y constantes de acoplamiento que muestran los acetatos de dicho alcohol concuerdan con los descripciones para el protón base del acetato del oxhidrilo en esta posición. ²¹

Por otro lado, cuando la trinervina disuelta en metanol se trató con ácido clorhídrico concentrado a reflujo, se obtuvo un producto isómero estructural, que analizó para $C_{20}H_{34}O_4$, el cual se denominó isotrinervina (VIII); su espectro de IR mostró las siguientes bandas de absorción: 3340 cm.^{-1} (oxhidrilos asociados); dos bandas simétricas de intensidad débil en 1380 y 1370 cm.^{-1} , que se atribuyeron al grupo gem dimetilo, además una banda intensa en 1050 cm.^{-1} , que se atribuyó a la vibración C-(de alcoholes o de éteres. El espectro de RMP en $CDCl_3$, presentó: tres singuletes en 0.73, 0.93 y 0.96 ppm, que correspondieron a los tres metilos terciarios. En los espectros de la isotrinervina no se observaron señales de doble liga-

dura, esto sugirió que participó en la formación del isómero.

Como ya se discutió anteriormente, para la fórmula mínima $C_{20}H_{34}O_4$ hay cuatro insaturaciones,²⁰ esto implica, que la isotrinervina tiene una estructura tetracíclica, puesto que ya no existe otro tipo de insaturación.

La isotrinervina, se acetiló en la forma usual y se obtuvo el acetato (VIIIa), en su espectro de RMP se observaron: un singulete en 2.03 ppm que integró para (9H), que se asignaron a tres metilos de acetatos, además presentó una señal que integró para (1H) en 4.5 ppm con multiplicidad doble de doble, con constantes de acoplamiento ($J=6$ Hz, $J=8$ Hz), que correspondió al protón base del acetato del oxhidrilo en C_3 .

Cuando la isotrinervina, se metiló en las condiciones ya descritas, se obtuvo el metoxiderivado (VIIIb), su espectro de RMP mostró: dos singuletes en 3.29 y 3.3 ppm, que integraron en conjunto para (9H), que se asignaron a tres metilos de éteres metílicos, lo que confirmó junto con el triacetato, que en la isotrinervina hay solo tres grupos oxhidrilos, también se observó un triplete en 3.8 ppm que integró para (1H), con constante de acoplamiento ($J=5$ Hz), que se asignó al protón base del éter metílico del oxhidrilo en C_{15} .

De las reacciones anteriores se concluye, que la isotrinervina es un triol, esto nos hace pensar que debió haberse formado un puente etéreo con la participación de la doble ligadura y un oxhidrilo, para poder explicar los cuatro átomos de oxígeno y la estructura tetracíclica.

Cuando la isotrinervina se trató con acetona y gotas de ácido clorhídrico, se obtuvo el monoacetónido (IX), lo cual implica que en la estructura de la isotrinervina: hay un diol vecinal o que dos grupos oxhidrilos están muy próximos, sin ser vecinales. La primera posibilidad se descartó porque cuando la isotrinervina se trató con ácido peroxódico, se obtuvieron resultados negativos: su espectro de IR confirmó la presencia del grupo acetónido, por la observación de dos bandas simétricas intensas en 1380 y 1370 cm^{-1} . En el espectro de RMP se observó un singulete en 1.33 ppm que integró para (6H), que se asignó a los protones del grupo acetónido, también se observó un sistema AB con desplazamiento químico para el protón A en 3.33 ppm y para B en 3.6 ppm con constante de acoplamiento ($J_{AB} = 13 \text{ Hz}$), que se asignó a los protones del metileno base del grupo acetónido, esto sugirió que persiste el alcohol ($-\overset{|}{\text{C}} - \text{CH}_2 - \text{OH}$) y que intervino en la formación del acetónido. Por E.M. se encontró que el peso molecular del monoacetónido es $m/e = 378$.

El monoacetónido (IX) se acetiló en las condiciones usuales

y se obtuvo el acetato (IXa) su espectro de RMP mostró: un sin gulete en 2.0 ppm, que integró para (3H), que correspondió al metilo del acetato, además una señal doble de doble en 4.45 ppm que integró para (1H) con acoplamiento ($J = 6 \text{ Hz}$, $J = 9 \text{ Hz}$), -- que se atribuyó al protón base del acetato del oxhidrilo en C_3 .

El acetónido (IX) se oxidó con el reactivo de Sarett y se formó el producto (IXb) cuyo espectro de IR mostró una banda in tensa en 1700 cm.^{-1} , que correspondió a la cetona derivada del oxhidrilo en C_3 . Su peso molecular obtenido del espectro de -- masas es $m/e = 376$.

De los cuatro grupos oxhidrilos presentes en la trinervina, se han asignado en la isotrinervina los oxhidrilos: en C_3 , C_{15} y el $\begin{array}{c} | \\ -C- \\ | \end{array} - CH_2 - OH$, esto implica que el grupo oxhidrilo en C_{16} -- es el que participó en la formación del puente etéreo.

Se encuentra descrito en la literatura^{22,23} la interacción -- del grupo glicol con la doble ligadura en medio ácido en compues -- tos diterpénicos como el caso del Darutigenol, que se ilustra en la Fig. 4.

Este tipo de adición puede explicar muchos puntos de la iso -- merización de la trinervina: como es la formación de un isómero estructural, también el puente etéreo con la participación de -- los mismos grupos funcionales, además las condiciones de reac --

ción son las mismas al ejemplo dado.

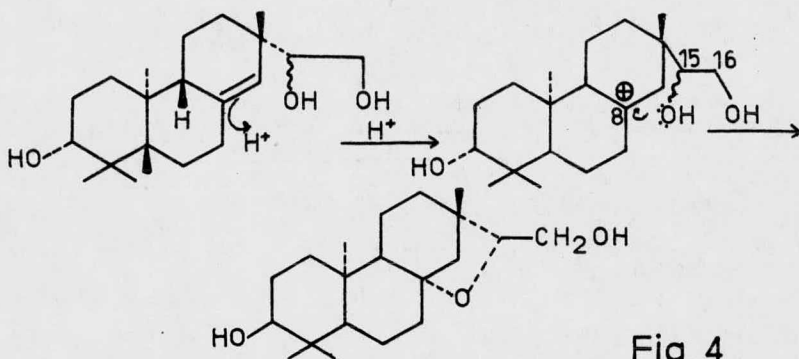


Fig. 4

La diferencia entre la adición del Darutigenol y la trinervina sería que, en la trinervina reaccionarían la doble ligadura -- con el oxhidrilo en C_{16} , mientras que en el ejemplo dado es -- con el oxhidrilo en C_{15} , de esta manera, la doble ligadura en la trinervina tendría que estar en una posición tal que, al generarse el ión carbonio terciario, estuviese lo suficientemente accesible para que el oxhidrilo en C_{16} reaccionara.

Recordando, lo discutido para la doble ligadura, se concluyó que es trisustituída por manifestar un único átomo de hidrógeno vinílico, cuyo carbono base es vecino a un metileno. Si se aplican estos criterios, para localizar la doble ligadura, en esqueleto del pimarano (Fig. 3) podría estar localizada en 5-6, 7-8 y 9-11 y en el rosano en 1-10, 5-6 y 7-8. Volviendo al caso del pimarano, se descartó la posición 5-6 porque el ión

carbónio terciario que se generaría en C_5 , estaría muy lejos - del grupo oxhidrilo en C_{16} , mientras que las posiciones 7-8 y 9-11 generarían por la acción del ácido iones carbonio terciarios en C_8 y C_9 respectivamente, cuya posición resulta accesible para la interacción con dicho oxhidrilo.

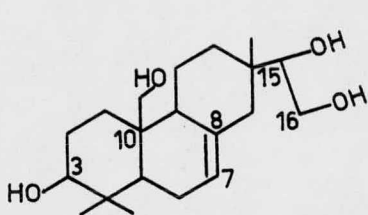
En el esqueleto del rosano, siguiendo el mismo criterio se descartaron las posiciones 1-10 y 5-6 permaneciendo como única alternativa la posición 7-8.

Resumiendo, para el esqueleto del pimarano existen dos posiciones igualmente factibles para la insaturación, en 7-8 y 9-11 y para el rosano sólo 7-8.

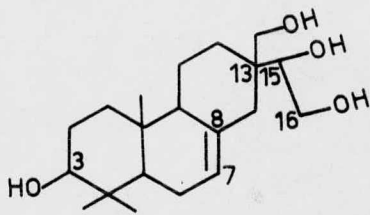
Respecto al carbinol del grupo $\begin{matrix} | \\ -C - CH_2 - OH \\ | \end{matrix}$ en el esqueleto del pimarano sólo podría ocupar dos posiciones: sobre C_{13} y otra sobre C_{10} (Fig. 3); de igual manera para el rosano las posiciones, serían en C_{13} y C_9 .

Del estudio hecho hasta el momento, sin tomar en cuenta -- consideraciones estereoquímicas, se pueden proponer 6 fórmulas posibles para la trinervina, cuatro pertenecientes a la serie del pimarano y dos del tipo del rosano, como se muestra en la Fig. 5.

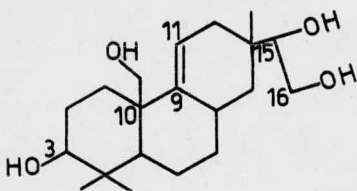
Del mismo modo se pueden pensar en seis estructuras correspondientes para la isotrinervina, como se ilustra en la Fig. 6.



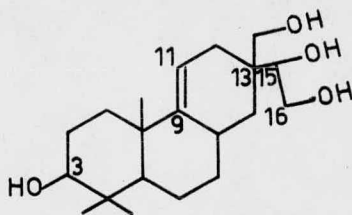
XI



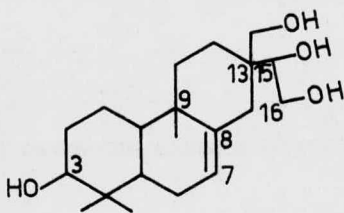
XII



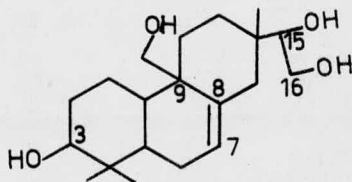
XIII



XIV

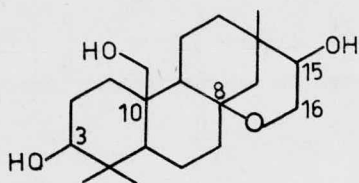


XV

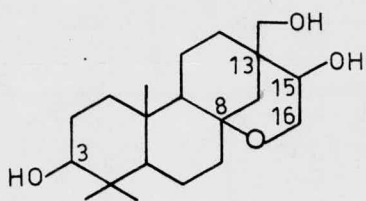


I

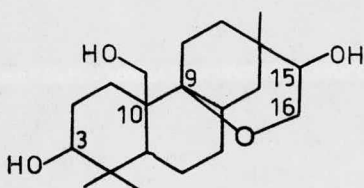
Fig. 5



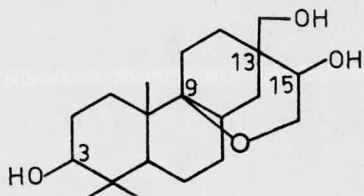
XI a



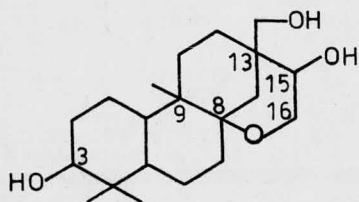
XII a



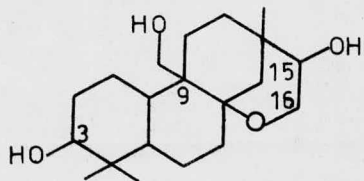
XIII a



XIV a



XV a



VIII

Fig. 6

Cuando la isotrinervina se oxidó con el reactivo de Sarett, se obtuvo una interesante lactona (X), que analizó para - - - $C_{20}H_{30}O_4$, que se confirmó por el peso molecular obtenido del -- espectro de masas $m/e = 332$.

Su espectro de IR presentó: una banda intensa en 1770 cm.^{-1} que se atribuyó al carbonilo de la lactona, otra banda intensa en 1700 cm.^{-1} , que se asignó a la cetona resultante de la oxidación del oxhidrilo en C_3 . En el espectro de RMP, se observó un sistema ABC, en el que se distinguen las señales con multiplicidad doble de doble, para cada protón del sistema: protón A en 3.93 ppm, B 4.38 ppm y C en 4.66 ppm ($J_{AB} = 9\text{ Hz}$, $J_{BC} = 7.5\text{ Hz}$, $J_{AC} = 7\text{ Hz}$), este sistema se explica por el protón base del cierre de la lactona en C_{15} acoplado con los dos protones del metileno en C_{16} , como se ilustra en la Fig. 7.

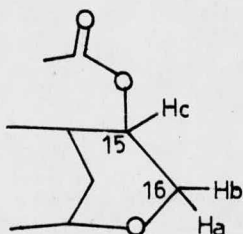


Fig. 7

De lo que se dedujo, que la lactona resultó de la oxidación del alcohol primario ($-\overset{1}{\underset{|}{\text{C}}}-\text{CH}_2-\text{OH}$) a su correspondiente ácido carboxílico, y de la reacción de éste con el oxhidrilo en C_{15} , que por ser secundario se oxida a menor velocidad de reacción.

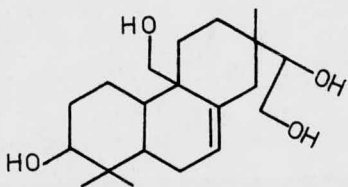
La banda observada en 1770 cm.^{-1} en principio sugirió γ -lactona saturada, sin embargo en ninguna de las estructuras descritas para la isotrinervina (Fig. 6) sería posible la obtención de una lactona así.

Considerando, las fórmulas XIIa, XIVa, XVa (Fig 6), se formarían lactonas saturadas de cuatro miembros, que se descartaron porque su correspondiente banda de absorción para el carbonilo se encontraría desplazada a frecuencias mayores, además una lactona de cuatro miembros sería poco probable que se formase en estas condiciones.

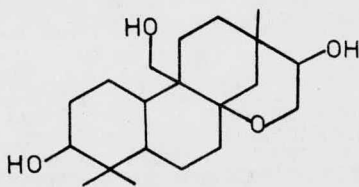
Si pensamos en las estructuras XIa y XIIIa, el ácido carboxílico se generaría sobre C_{10} el cual está muy lejos del grupo oxhidrilo en C_{15} para formar la lactona, lo anterior está apoyado, en el hecho de que al tratar de construir sus modelos moleculares (con ayuda de los modelos Dreiding) no fue posible formar el anillo lactónico.

Por último considerando la fórmula (VIII), el ácido carboxílico, se generaría sobre C_c , el cual está lo suficientemente accesible al grupo oxhidrilo en C_{15} ; de esta manera puede interactuar formando una lactona tricíclica, en la que cada ciclo tiene siete miembros. Al construir su modelo molecular, se observó que el cierre de la lactona está tensionado, esto puede explicar el desplazamiento a frecuencias mayores de lo esperado en el espectro de IR, para el carbonilo de la lactona, lo anterior se apoya en que se encuentran descritas lactonas de seis miembros tricíclicas, que presentan la banda del carbonilo a frecuencias mayores de lo comúnmente observado.²⁴

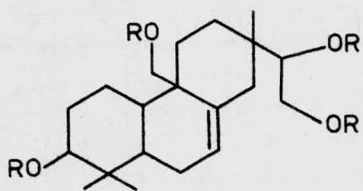
Por consiguiente, se propone la estructura (VIII) para la isotrinervina y la estructura (I) a la trinervina.



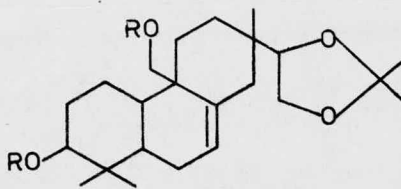
TRINERVINA



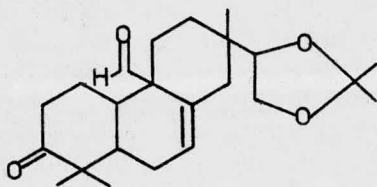
ISOTRINERVINA



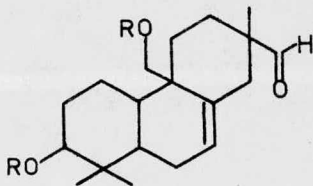
I R=H
Ia R=Ac
Ib R=Me



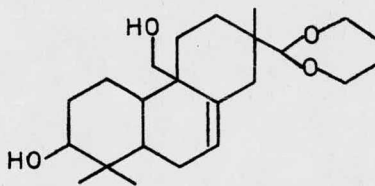
II R=H
IIa R=Ac
IIb R=Me



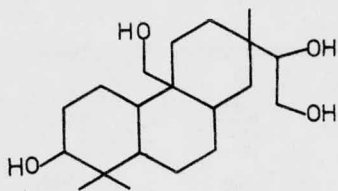
III



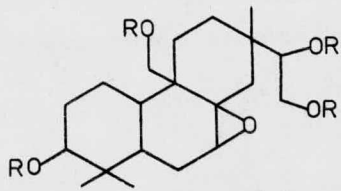
IV R=H
IVa R=Ac



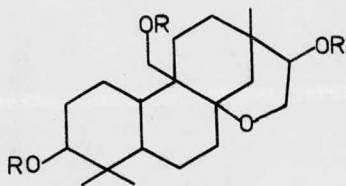
V



VI



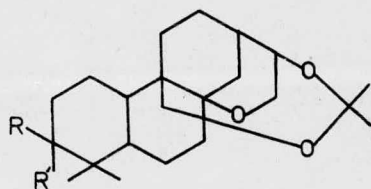
VII R=Ac



VIII R H

VIIIa R Ac

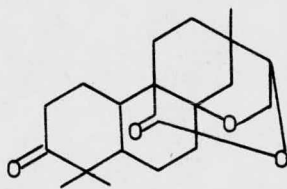
VIIIb R Me



IX R=H, R'=OH

IXa R=H, R'=OAc

IXb R y R'=O



X

P A R T E E X P E R I M E N T A L

Los espectros de RMN fueron hechos, en espectrómetros --- VARIAN A 60, utilizando CDCl_3 , $\text{DMSO} - d_6$, POLYSOL y PIRIDINA- d_6 como disolventes.

Los espectros de masas se hicieron en el espectrómetro de masas HITACHI PERKIN ELMER RMU 6 D.

Los microanálisis se hicieron en Bonn Alemania.

Los espectros de infrarrojo fueron hechos en un espectrofotómetro Perkin-Elmer 337 de doble haz usando como solventes - - Cloroformo y Nujol.

Los puntos de fusión se determinaron en un aparato FISHER - JONES y no están corregidos.

Las comatografías en columna fueron hechas utilizando sílica-gel de 0.2-0.5 mm.

Los desplazamientos químicos están dados en unidades en --- ppm. usando como referencia interna Tetrametil silano. Los desplazamientos de IR están dados en unidades de $\bar{\nu}$ en cm^{-1} .

P A R T E E X P E R I M E N T A L

AISLAMIENTO DE LA TRINERVINA (I)

La planta Piqueria trinervia (8 Kg) fué recolectada en octubre de 1976, en los alrededores de los kilómetros 3-10 de la -- nueva carretera al cerro del Ajusco. Se deshojó y desfloró ob-- teniendo 3 Kg de hojas y flores, las cuales se extrajeron con -- cloroformo (8 l) dos veces, el extracto se concentró hasta una cuarta parte de su volumen original, se dejó 12 hr. en reposo a temperatura ambiente, el producto precipitado se filtró, se lavó con acetona fría y se purificó por recristalización de acetona - metanol. Cristales blancos Pf.= 209-210° C.

También se puede obtener de la fracción más polar del extracto etanólico, cuando se cromatografía en sílica gel eluyendo -- con acetato de etilo.

IR (nujol): 3400 (oxhidrilos asociados), 1615 (doble ligadura), 1380 y 1370 (gen dimetilo).

RMP (piridina - D6): 0.85 (s,3H), 1.08 (s,3H), 1.18(s, 3H), - 3.48 (dd, J=6Hz,J=9Hz,1H), 3.91 (s,2H), 5.5 (m,1H).

ANALISIS ELEMENTAL: Encontrado C 71.06 %, H 10.20 %, O. 19.0

CALCULADO PARA: C₂₀ H₃₄ O₄ : C 70.97 %, H 10.13 %, O. 18.91%

TETRAACETATO DE LA TRINERVINA (Ia)

A la Trinervina (300 mg) disuelta en piridina (3 ml), se le añadió anhídrido acético (3ml), la mezcla se calentó (3h) en el baño de vapor, se vertió en agua, se extrajo con acetato de -- etilo, se lavó la fase orgánica con solución acuosa diluída de ácido clorhídrico, se evaporó el disolvente dejando un residuo

aceitoso. El producto Ia, se purificó por cromatografía en placa fina y resultó ser un aceite.

IR: 1740 (carbonilo del éster), 1370 (metilos), 1240 (C-O del éster).

RMP: 0.83 (s, 3H), 0.93 (s, 3H), 0.95 (s, 3H), 1.93, 2.04, -- 2.06 (s, 12H), sistema AB (3.86 A, 4.03 B, $J_{AB} = 10$ Hz), 4.51 - (dd, 1H, $J = 3$ Hz, $J = 9$ Hz), 5.25 (2H, dd, $J = 3$ Hz, $J = 9$ Hz).

ETER METILICO DE LA TRINERVINA (Ib)

Una solución de Trinervina (250 mg) en N-N dimetil formamida (5 ml), se vertió a una suspensión formada con hidruro de sodio (300 mg) y N-N dimetil formamida (30 ml). La mezcla se mantuvo en la atmósfera de nitrógeno (30 mn), posteriormente se añadió ioduro de metilo (1 ml), la mezcla de reacción se dejó en reposo en la obscuridad (48 h), se destiló el disolvente a sequedad, se extrajo con cloroformo. El extracto cloroformico se lavó con una solución acuosa diluida de $Na_2 S_2 O_3$ y se evaporó el disolvente a sequedad.

El éter metílico (125 mg) resultó ser un aceite que se purificó por cromatografía en placa fina.

IR: 1370 (metilos), 1110 (C-O del éter).

RMP: 0.86 (s, 6H), 0.96 (s, 3H), 3.23 (s, 3H), 3.3 (s, 3H), - 3.33 (s, 3H), 3.45 (s, 3H), 5.4 (m, 1H).

MONOACETONIDO DE LA TRINERVINA (II)

A una solución de trinervina (300 mg) en acetona (100 ml), se le añadieron tres gotas de ácido clorhídrico concentrado, -

se dejó a temperatura ambiente durante 12 h, se vertió a una solución diluída acuosa de NaHCO_3 , se extrajo con acetato de etilo. La fase orgánica se lavó con agua y se evaporó el disolvente dejando un residuo aceitoso, que se cristalizó de hexano-acetona. Por recrystalización en la misma mezcla de disolventes se obtuvo el monoacetónido.

IR: 3420 (oxhidrilos asociados), 1380 y 1370 (gem dimetilos).

RMP: 0.81 (s,3H), 0.88(s,3H), 0.98 (s,3H), 1.31 (s,3H), 1.43 (s,3H), 3.86 (s,2H), 4.2 (dd, 1H, J=6Hz, J=9Hz), 5.5 (m,1H).

<u>ANALISIS ELEMENTAL</u>	ENCONTRADO	C 72.70 %	H 9.99 %	---
0.17.17 %	CALCULADO PARA $\text{C}_{23} \text{H}_{38} \text{O}_4$: C72.97%	H10.12 %	---
0.16.97 %				

DIACETATO DEL MONOACETONIDO (IIa)

Del monoacetónido (80 mg) con piridina (1 ml) y anhídrido acético se obtuvo el correspondiente acetato (75 mg), el cual resultó ser un aceite.

IR: 1735(carbonilo del éster), 1380 y 1370 (gem dimetilo), 1250 (C-O éster).

RMP: 0.86 (s,3H), 0.88 (s, 3H), 0.96 (s,3H), 1.31 (s,3H), 1.36 (s, 3H), 2.05 (s,6H), sistema AB (3.91 A, 4.05 B, $J_{AB}=10$ Hz 4.53 (dd 1H, J= 6Hz, J= 9Hz), 5.5 (m,1H).

ETER METILICO DEL MONOACETONIDO (IIb)

Una solución de monoacetónido (100 mg) en N-N dimetil formamida (3 ml) se vertió a la suspensión formada con hidruro de sodio (100 mg) y N-N dimetil formamida (20 ml) y se añadió ioduro

de metilo (1 ml), manteniéndose las mismas condiciones descritas en la obtención de Ib. El éter metílico obtenido (70 mg) - se purificó por cromatografía en placa fina y resultó ser un aceite.

IR: 1380 1370 (gem dimetilos), 1100 (C=O del éter).

RMP: 0.8 (s, 3H), 0.85 (s, 3H), 0.95 (s, 3H), 1.33 (s, 3H), 1.35 (s, 3H), 3.38 (s, 3H), 3.41 (s, 3H), 4.15 (m, 3H), 4.73 - (dd, 1H, J=4 Hz, J=7 Hz), 5.6 (m, 1H).

DERIVADO OXIDADO DEL MONOACETONIDO (III)

Una solución de monoacetónido (80 mg) en piridina (1 ml), - se vertió a una mezcla formada con Cr O₃ (100 mg) y piridina - (3 ml) en frío se dejó reaccionar 4 h a temperatura ambiente; posteriormente se vertió en agua se extrajo con acetato de etilo, se lavó la fase orgánica con solución acuosa diluida de ácido clorhídrico y con agua, se evaporó el disolvente dejando un residuo aceitoso, el producto (III) (45 mg) se purificó por cromatografía en placa fina.

IR (nujol): 2725 (C-H aldéhido), 1720 (carbonilo de aldéhido), 1700 (carbonilo de cetona), 1380 y 1375 (gem dimetilo).

RMP: 1.03 (s, 3H), 1.06 (s, 3H), 1.11 (s, 3H), 1.35 (s, 6H), 4.04 (m, 3H), 4.25 (dd, J= 6 Hz, J= 8 Hz), 5.65 (m, 1H), 9.7 - (s, 1H).

RUPTURA DEL DIOL SECINAL CON ACIDO PERIODICO

A una solución de Trinervina (300 mg) en etanol (30 ml), se le agregó una solución 0.2 M de H₅ IO₆, se dejó 6 h a tempera-

tura ambiente, se vertió a una solución acuosa saturada de ---
 Na HCO₃, se extrajo con cloroformo, la fase orgánica se lavó --
 con agua, se evaporó el disolvente dejando 280 mg de un resi--
 duo aceitoso, que resultó ser la mezcla del aldéhidó (IV) y el
 cetal (V).

El aldéhidó (IV) (160 mg), se obtuvo por cristalización de
 hexano-acetona y se purificó recristalizándolo de acetona. --
 Cristales blancos pf = 193-194° C.

IR(nujol): 3540 (oxhidrilo libre) 3340 (oxhidrilo asociado)
 2725 (C-H aldéhidó), 1720 (carbonilo aldéhidó), 1380 y 1375 -
 (gem dimetilos).

RMP: 0.73 (s, 3H), 0.86 (s, 3H), 0.96 (s, 3H), 3.18 (dd, 1H,
 J= 5Hz, J=9Hz), 3.45 (s, 2H), 5.5 (m, 1H), 9.45 (s, 1H).

El cetal (V) (100 mg) se purificó por cromatografía en pla-
 ca fina, no cristalizó.

IR: 3400 (oxhidrilo asociado) 1390 y 1380 (gem dimetilos).

RMP: 0.86 (s, 3H), 0.90 (s, 3H), 1.0 (s, 3H), 1.20 (t, 3H, -
 J=7 Hz), 1.22 (t, 3H, J= 7 Hz), 3.3 (m, 4H), 3.46 (s, 2H), 5.4
 (m, 1H).

IDENTIFICACION DEL FORMALDEHIDO

La mezcla de reacción obtenida, se destiló y posteriormente
 se hizo reaccionar con una solución etanólica de 2-4 dinitro -
 fenilhidrazina, se procedió a separar la 2-4 dinitro fenilhi--
 drazona mediante cristalizaciones en cloroformo, hasta obtener
 el punto de fusión reportado para la 2-4 dinitro fenilhidrazone

del formaldehído pf= 160° C.

ACETATO DEL ALDEHIDO (IVa)

El aldehído (IV) (50 mg) se acetiló con piridina (1 ml) y anhídrido acético (1 ml), y se obtuvo el acetato (IVa) (40 mg) que no cristalizó.

IR (nujol): 2710 (C-O del aldehído), 1735 (carbonilo del éster), 1710 (carbonilo del aldehído), 1375 y 1370 (gem dimetilos), 1250 y 1140 (C-O éster).

RMP: 0.76 (s, 3H), 0.88 (s, 3H), 0.96 (s, 3H), 2.01 (s, 3H), 2.03 (s, 3H), 4.00 (s, 2H), 4.49 (dd, 1H, J=6 Hz, J=10 Hz), 5.6 (m, 1H), 9.47 (s, 1H).

EM: m/e : M⁺ = 390.

ENSAYO DE LA TRINERVINA CON BROMO

A una solución de Trinervina (50 mg) en tetracloruro de -- carbono (20 ml), se le añadió bromo (gota a gota), hasta que -- se observó la decoloración del reactivo.

HIDROCENACION DE LA TRINERVINA (VI)

Una solución de Trinervina (200 mg) en metanol (50 ml), se hidrogenó en presencia de Pd/C 10 % (20 mg) hasta que terminó la absorción de hidrógeno, se filtró el catalizador, el disolvente se evaporó a sequedad. El derivado dihidro (VI) (160 mg) se purificó por recristalización de acetona-metanol. Cristales

blancos $\mu\text{f} = 105-107^\circ \text{C}$.

RMP: 1.03 (s, 6H), 1.18 (s, 3H), 3.38 (dd, 1H, $J=8 \text{ Hz}$, $J=10 \text{ Hz}$), 4.04 (m, 5H).

EPOXIDO DEL TETRAACETATO DE LA TRINERVINA (VII)

A una solución del tetraacetato (Ia) (225 mg) en cloroformo (30 ml), se le agregó ácido m-cloro perbenzoico (100 mg), la solución se calentó a reflujo en baño de vapor durante 6 h, después se lavó con una solución acuosa de hidróxido de sodio al 10 % y con agua y se evaporó el disolvente a sequedad. El epóxido (VII) (90 mg) se purificó por cromatografía en placa fina.

IR: 1740 (carbonilo del éster), 1375 (metilos), 1250 (C-O del éster), 1140 (C-O del éster y epóxido).

RMP: 0.83 (s, 6H), 0.93 (s, 3H), 1.98, 2.03, 2.05 (s, 12H), 2.96 (t, 1H), sistema AB (3.96 A, 4.16 B, $J_{AB} = 10 \text{ Hz}$) 5.11 (dd, 1H, $J=3 \text{ Hz}$, $J=9 \text{ Hz}$, 4.45 (m, 3H).

OBTENCION DE LA ISOTRINERVINA (VIII)

A una solución de Trinervina (500 mg) en metanol, (50 ml), se le añadió ácido clorhídrico concentrado (0.5 ml), se calentó a reflujo (6 h) después se vertió a una solución acuosa diluida de NaHCO_3 , se extrajo con acetato de etilo se lavó la fase orgánica con agua, se evaporó el disolvente. La isotrinervina (300 mg), se purificó por recristalización de acetona. Crista--

tales blancos pf= 208-209° C.

IR (nujol): 3340 (xhidrilos asociados, 1350 y 1380 (gem di metilos), 1050 (C-O éter, oxhidrilo).

RMP: (POLYSOL): 0.73 (s, 3H), 0.93 (s, 3H), 0.96 (s, 3H), - 3.61 (m, 6H),

ANALISIS ELEMENTAL. encontrado C 71.14 %, H 10.21 %, O. 18.87%

CALCULADO PARA C₂₀ H₃₄ O₄ : C 70.97 %, H 10.13 %, O 18.91 %.

TRIACETATO DE LA ISOTRINERVINA (VIIIa)

La isotrinervina (50 mg), se acetiló con piridina (1 ml) y anhídrido acético (1 ml). El acetato (VIIIa) obtenido, se purificó recristalizándolo de metanol. Cristales blancos pf=127 - 128° C.

IR: 1730 (carbonilo del éster), 1370 (metilos), 1250 y -- 1035 (C-O del éster).

RMP: 0.86 (s, 3H), 0.9 (s, 3H), 1.03 (s, 3H), 2.03 (s, 9H), 4.03 (m, 5H), 4.45 (dd, 1H, J=6 Hz, J=8 Hz).

ETER METILICO DE LA ISOTRINERVINA (VIIIb)

La isotrinervina (100 mg), se metiló en la forma ya descrita para el éter metílico de la trinervina, con hidruro de sodio (100 mg) y N-N dimetilformamida (15 ml) posteriormente se añadió yoduro de metilo (1 ml). El éter metílico se purificó -

por cromatografía en placa fina. Este producto no cristalizó.

IR: 1375 (metilos), 1100 (C-O del éter).

RMP: 0.81 (s, 3H), 0.96 (s, 3H), 1.01 (s, 3H), 3.28, 3.33
(s, 9H), 3.8 (t, 1H, J=5 Hz).

MONOACETONIDO DE LA ISOTRINERVINA (IX)

A una solución de isotrinervina (200 mg), en acetona --- (50 ml), se le agregaron tres gotas de ácido clorhídrico con--- centrado, la mezcla de reacción se dejó (24 h) a temperatura - ambiente, posteriormente se vertió a una solución acuosa diluf- da de bicarbonato de sodio, se extrajo con acetato de etilo, se lavó la fase orgánica con agua y se evaporó el disolvente dejan- do un residuo aceitoso.

El monoacetónido (IX), se purificó por cristalización de - pentano - acetona. Cristales blancos pf= 109-110° C.

IR: 3450 (oxhidrilos asociados) 1380 y 1370 (gem dimetilos)

RMP: 0.81 (s, 3H), 1.0 (s, 6H), 1.33 (s, 6H), sistema AB -
(3.3A, 3.6B, J_{AB}= 13 Hz).

EM: m/e, M⁺ = 378.

ACETATO DEL MONOACETONIDO DE LA ISOTRINERVINA (IXa)

El monoacetónido (IX) (50 mg), se acetiló con piridina --

(1 ml) y con anhídrido acético (1 ml), se obtuvo el acetato -- (IXa) (40 mg) que no cristalizó.

IR: 1750 (carbonilo del éster), 1375 (metilos), 1250 (C-O del éster).

RMP: 0.86 (s, 3H), 0.88 (s, 3H), 1.01 (s, 3H), 1.3 (s, 6H), 2.0 (s, 3H), sistema AB (3.3A, 3.6B, J_{AB} = 12 Hz), 4.45 (dd, 1H, $J=6$ Hz, $J=9$ Hz).

DERIVADO OXIDADO DEL MONOACETONIDO DE LA ISOTRINERVINA (IXb)

El monoacetónido (IX) (50 mg), se oxidó de la manera descrita en la oxidación del monoacetónido de la trinervina (II), con trióxido de cromo (50 mg), y piridina (3 ml), se obtuvo la cetona (IXb) (40 mg) y se purificó por cristalización de metanol. Cristales blancos $pf=128-130^{\circ}$ C.

IR: 1700 (carbonilo de la cetona), 1380 y 1370 (gem dimetilos), 1220 (C-O del éster).

RMP: 1.08 (s, 6H), 1.18 (s, 3H), 1.31 (s, 6H), sistema AB (3.3A, 3.6B, J_{AB} = 13 Hz).

EM: m/e , M^+ = 376.

LACTONA DE LA ISOTRINERVINA (X)

La isotrinervina (50 mg) se oxidó en la forma ya descrita

en (II) con trióxido de cromo (50 mg) y piridina (3 ml). La lactona (X) (40 mg), se purificó primeramente por cromatografía en placa fina y después por cristalización en metanol. Cristales blancos $pf = 195-197^{\circ} C$.

IR: 1770 (carbonilo de lactona), 1700 (carbonilo de cetona) 1385 y 1370 (gem dimetilos).

RMP: 1.08 (s, 3H), 1.18 (s, 3H), 1.28 (s, 3H), sistema ABC (3.93A, 4.38B, 4.66C, $J_{AB} = 9$ Hz, $J_{BC} = 7.5$ Hz, $J_{AC} = 7$ Hz).

EM: m/e , $M^+ = 332$.

ANALISIS ELEMENTAL encontrado: C 71.86 %, H. 8.21 %, O. 19.52 %
calculado para: $C_{20} H_{30} O_4$, C 72.26 %, H 8.49 %, O 19.25 %.

C O N C L U S I O N E S

Del extracto clorofórmico de la Figuera trinervia cav. se aisló un nuevo diterpeno del tipo del rosano, al cual se le denominó trinervina.

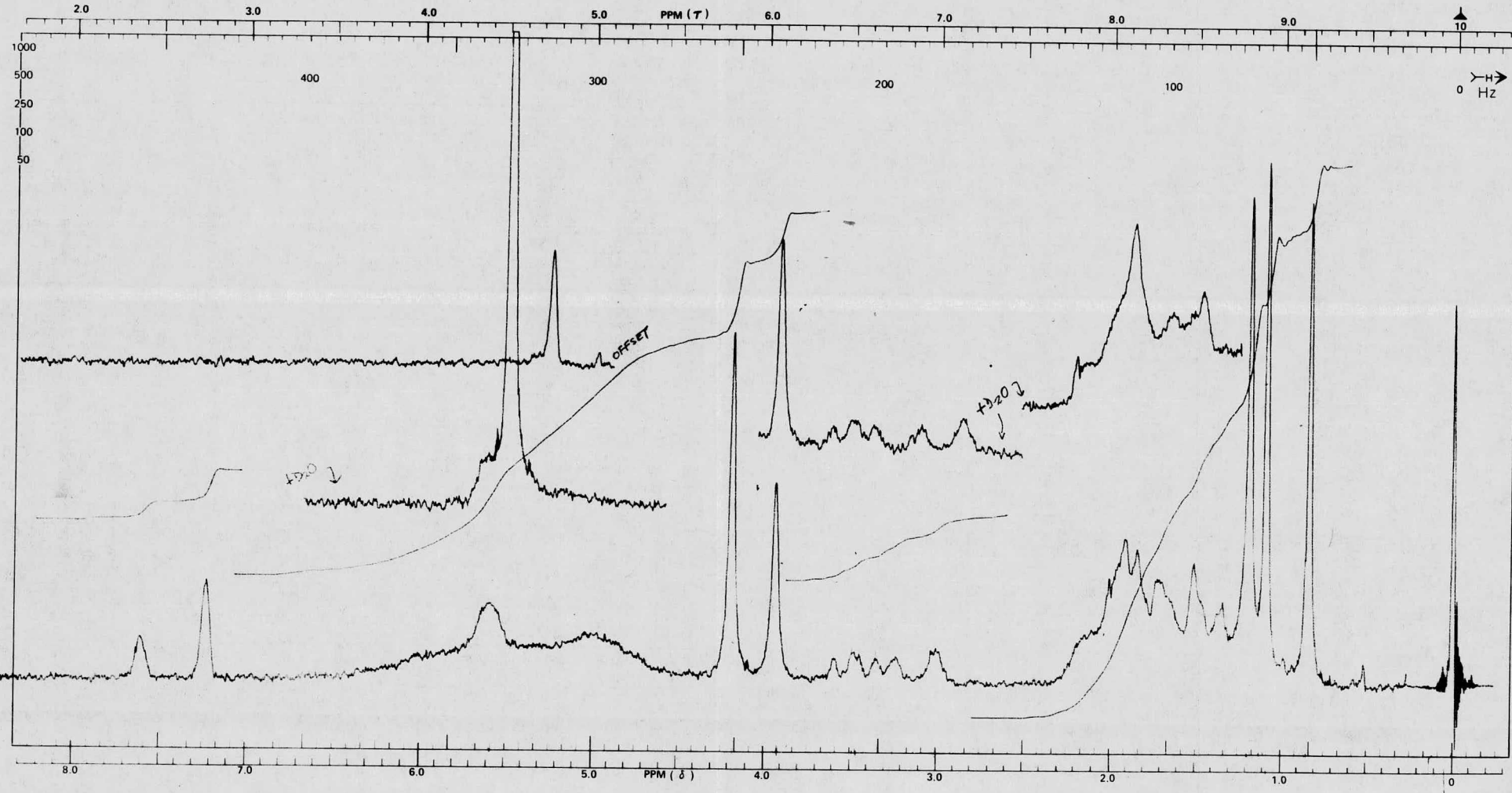
Basándose en el análisis de las propiedades físicas, químicas y datos espectroscópicos del mismo y sus derivados determinados en este trabajo, se propone su estructura.

Queda por establecer su estereoquímica, así como sus propiedades biológicas.

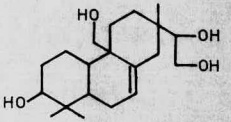
B I B L I O G R A F I A

- 1) AMERICAN CHEMICAL SOCIETY, Ed. 1971, DRUG DISCOVERY SCIENCE AND DEVELOPMENT Frd. Ed.
- 2) LOZOYA X., Ed., 1976, ESTADO ACTUAL DEL CONOCIMIENTO EN PLANTAS MEDICINALES MEXICANAS, 1er. Ed.
- 3) KAPLAN LANGMAN, 1964, A SELECTED GUIDE TO THE LITERATURE ON THE FLOWERING PLANTS OF MEXICO PHYLADELPHIA UNIVERSITY PRESS.
- 4) ROMO J., A. ROMO DE VIVAR, REVISTA LATINOAMERICANA DE QUIMICA 1970, 1, 72.
- 5) NAKANISHI K., 1974, NATURAL PRODUCTS CHEMISTRY, Vol. 1 ACADEMIC PRESS, NEW YORK.
- 6) DEVON T., A. SCOTT, 1972, HANDBOOK OF OCCURRING NATURAL COMPOUNDS, Vol. 2 ACADEMIC PRESS, NEW YORK.
- 7) NEWMAN Ed., 1972, CHEMISTRY OF TERPENES AND TERPENOID, ACADEMIC PRESS, LONDON.
- 8) ELLESTEAD C., R. H. EVANS, J. A. C. S., 1969, 91, 2134.
- 9) SITTON D., CH. WEST, PHYTOCHEMISTRY, 1974, 14, 1921.
- 10) MORRIS S., A. KARIM, J. A. C. S., 1968, 90, 5923.
- 11) MORRIS S., W. COURT, J. A. C. S., 1972, 94, 7194.
- 12) MORRIS S., J. SWEENEY, J. A. C. S., 1975, 97, 672.
- 13) GOODWIN Ed. 1971, ASPECTS OF TERPENOID CHEMISTRY AND BIOCHEMISTRY ACADEMIC PRESS, LONDON.

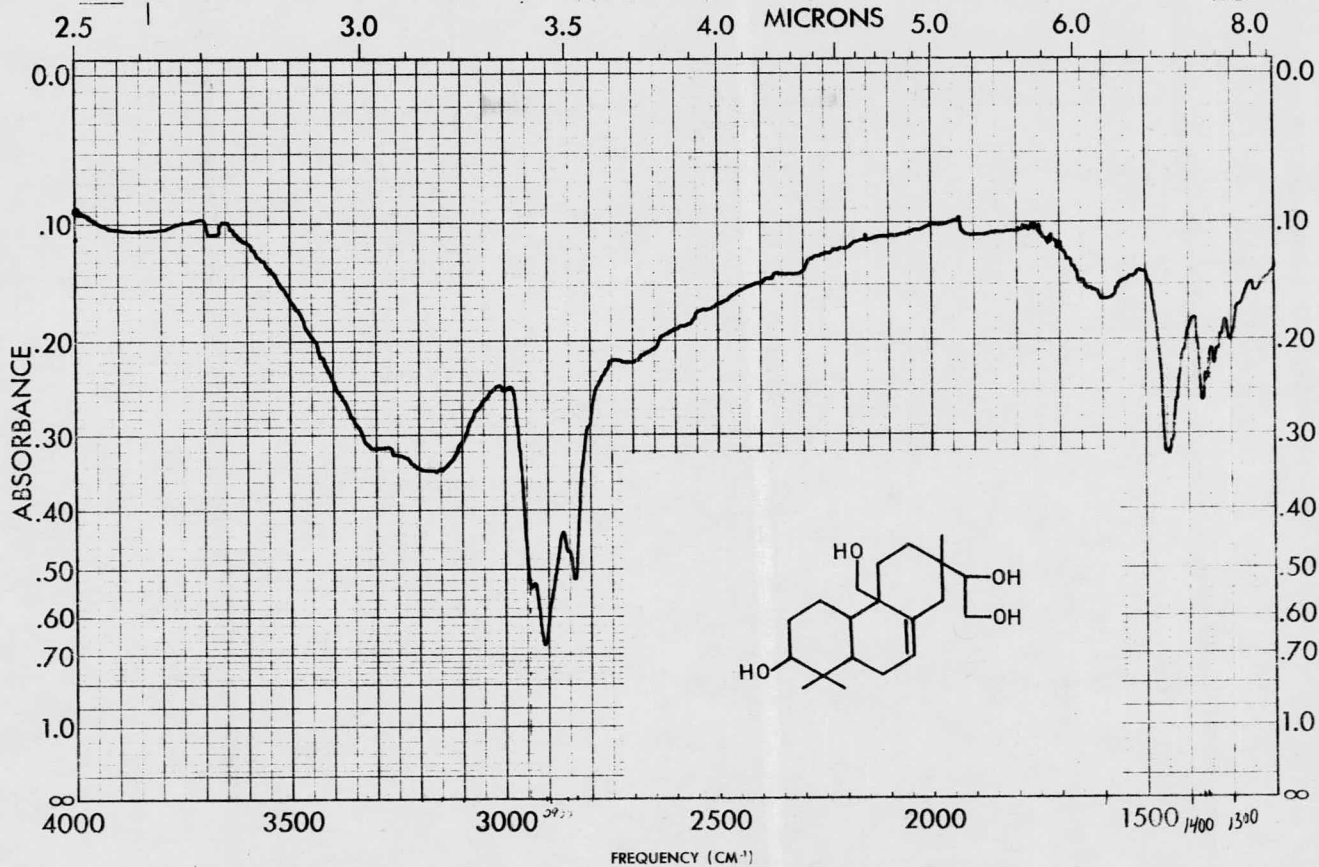
- 14) McCREADIE T., K. OVERTON? J. C. S. (C), 312, 1971.
- 15) KATO T., CH. KABUTO, Tet. lett, 1973, 39, 3861.
- 16) ELLESTEAD G., M. P. KUNSTMAN, J. A. C. S., 1972, 94, 6206.
- 17) NATHAN J. Y DIAZ, 1970, INTRODUCCION A LA RESONANCIA MAGNETICA NUCLEAR, (MEXICO), LIMUSA WILEY.
- 18) HAKOMORI S. , J. BIOCHEMISTRY, 1974, 55, 205.
- 19) CONMOLLY McCRINDLE, Tet. lett., 1964, 2, 1859.
- 20) CLIFFORD J., CRESWELL, 1972, SPECTRAL ANALYSIS OF ORGANIC - COMPOUNDS, BURCESS, PUBLISHING, Co. 2nd. Ed.
- 21) JEFFERIES AND RECTALACK, AUS. J. C., 1968, 1311.
- 22) DIARA, LAZLO, BULL. SOC. CHIM. FR. 1963, 99.
- 23) JOHNSTON J. P., K. H. OVERTON, J. C. S. PERKIN I, 1973, 853.
- 24) WILDER AND WINSTON, J. A. C. S., 1955, 76, 5598.
- 25) SHRINER, FUSON, 1974, IDENTIFICACION SISTEMATICA DE COMPUESTOS ORGANICOS (MEXICO), LIMUSA WILEY.



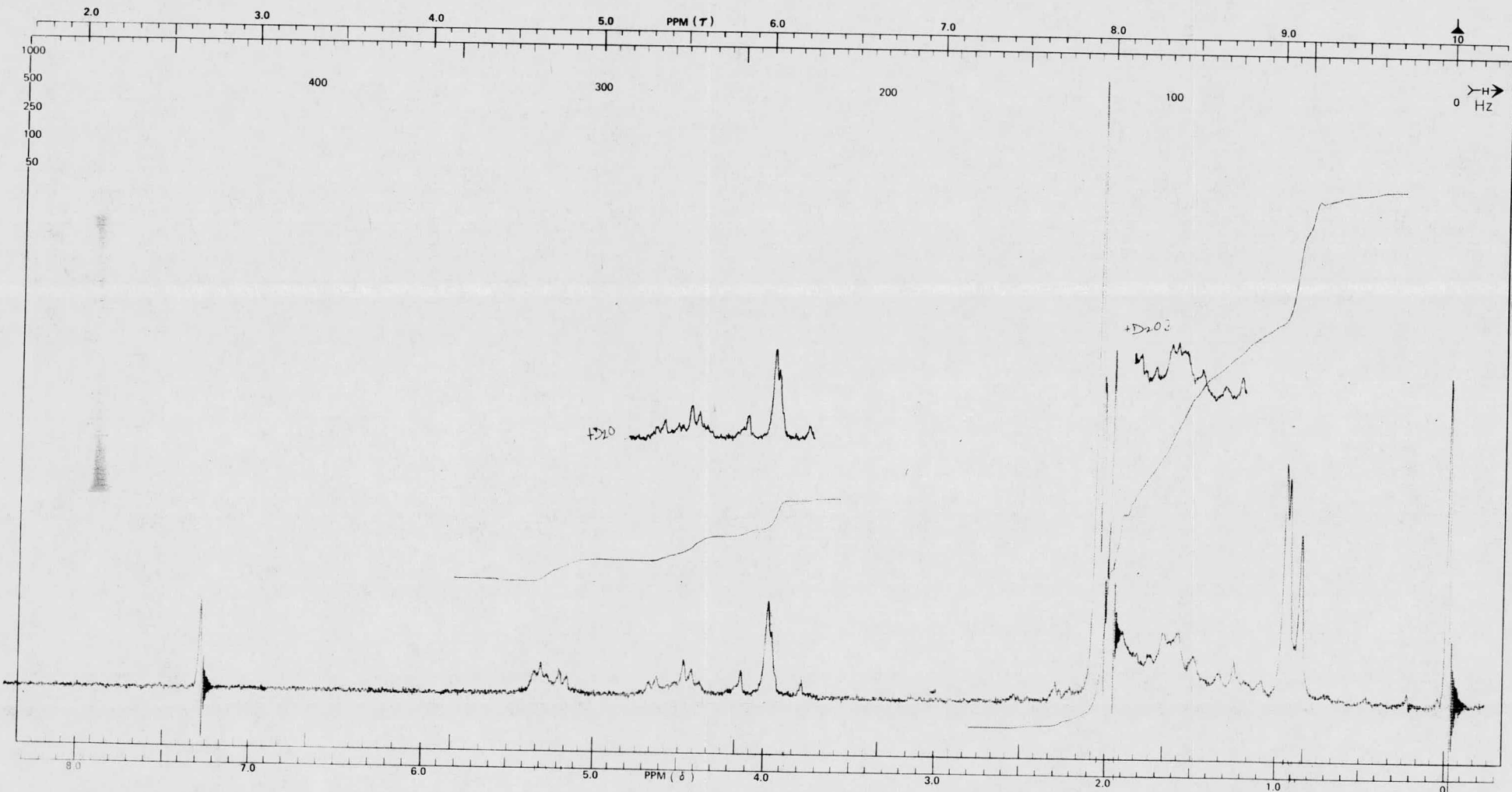
60 MHz NMR
 SPECTRUM NO. _____
 OPERATOR PS DATE 2-1-77
 SAMPLE HFE



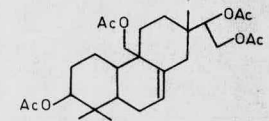
SOLVENT	<u>Py-d6</u>
TEMPERATURE	<u>A</u>
FILTER BANDWIDTH	_____
R.F. FIELD	_____
SWEEP TIME	<u>150</u>
SWEEP WIDTH	<u>500</u>
SWEEP OFFSET	<u>100</u>
SPECTRUM AMP	_____
INTEGRAL AMP	_____
REMARKS	_____



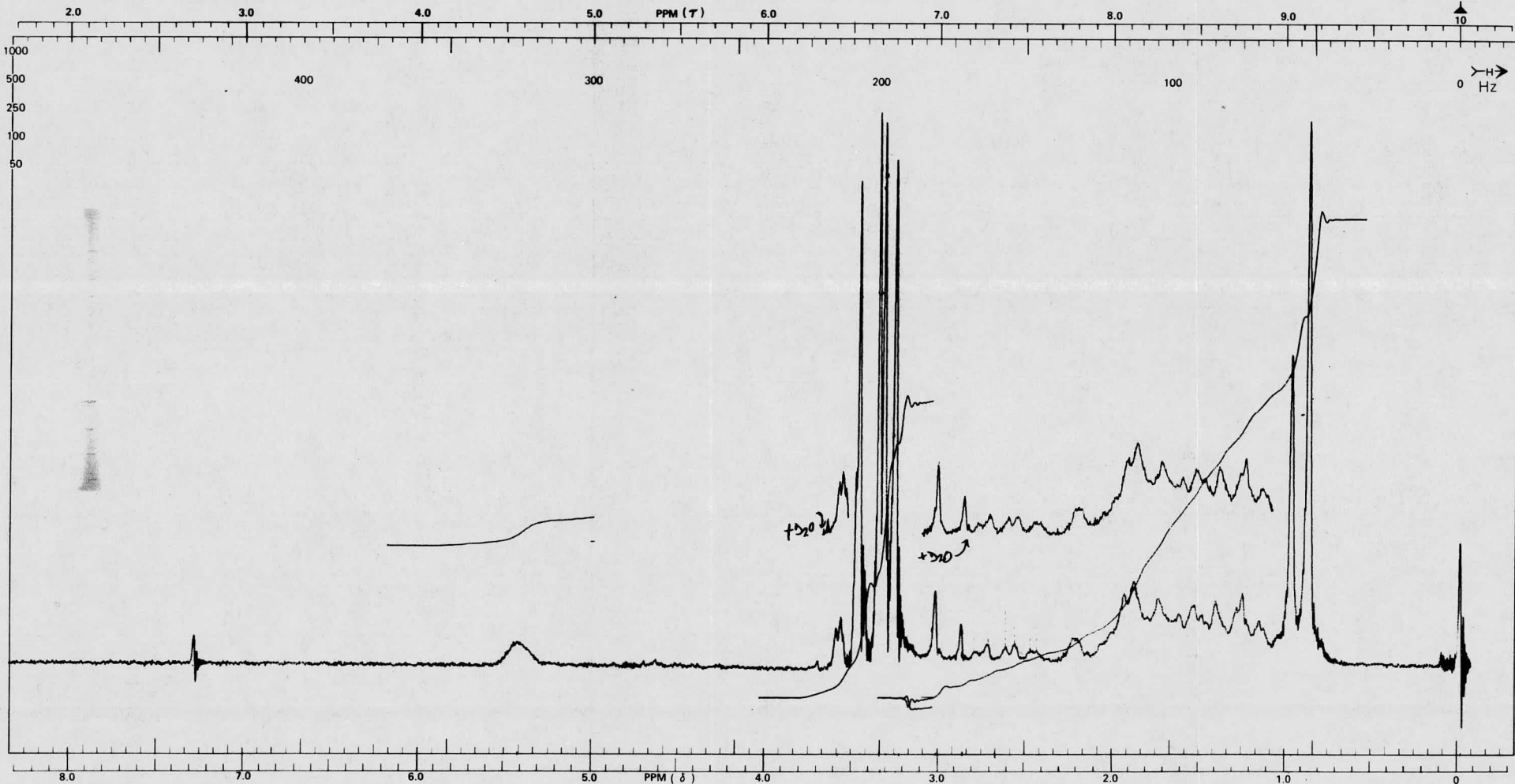
SAMPLE <u>A</u>	CURVE NO. <u>10091</u>	SCAN SPEED <u>Low</u>	OPERATOR <u>...</u>
<u>prod pig detop 210° Mon</u>	CONC. _____	SLIT <u>N</u>	DATE <u>...</u>
ORIGIN <u>MJE</u>	CELL PATH _____	REMARKS _____	
SOLVENT <u>Nude</u>	REFERENCE <u>AIR</u>		



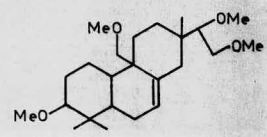
60 MHz NMR
 SPECTRUM NO. 18817
 OPERATOR: HR DATE 27-1-77
 SAMPLE: HR



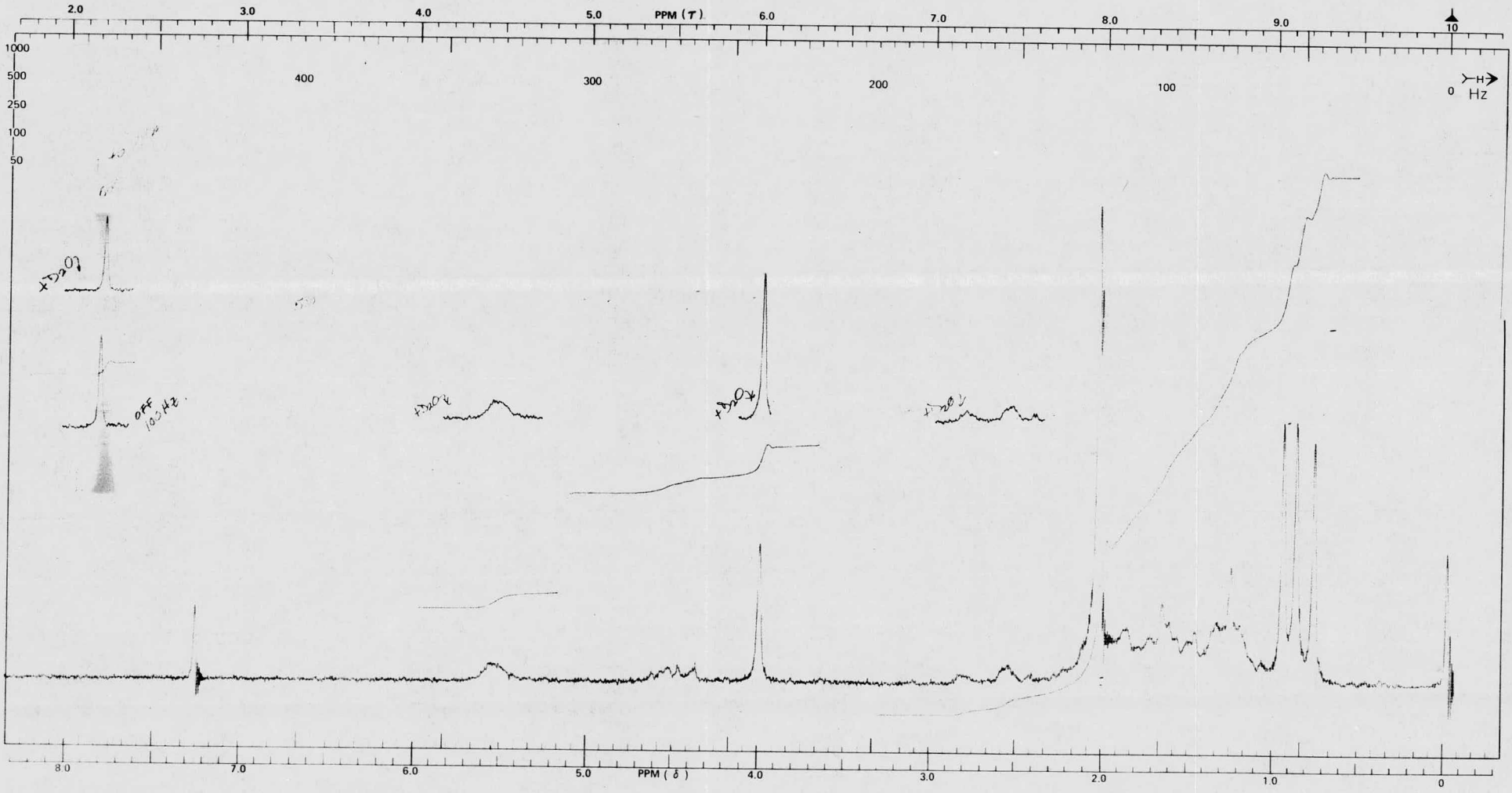
SOLVENT CDCl3
 TEMPERATURE 1 °C
 FILTER BANDWIDTH _____ Hz
 R.F. FIELD _____ mG
 SWEEP TIME 150 sec
 SWEEP WIDTH 500 Hz
 SWEEP OFFSET _____ Hz
 SPECTRUM AMP _____
 INTEGRAL AMP _____
 REMARKS NO OFFSET



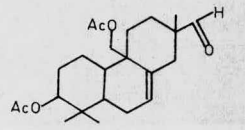
60 MHz NMR
 SPECTRUM NO. 18634
 OPERATOR: JS DATE 10-21-76
 SAMPLE: flour



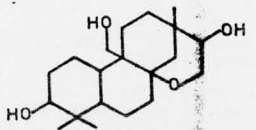
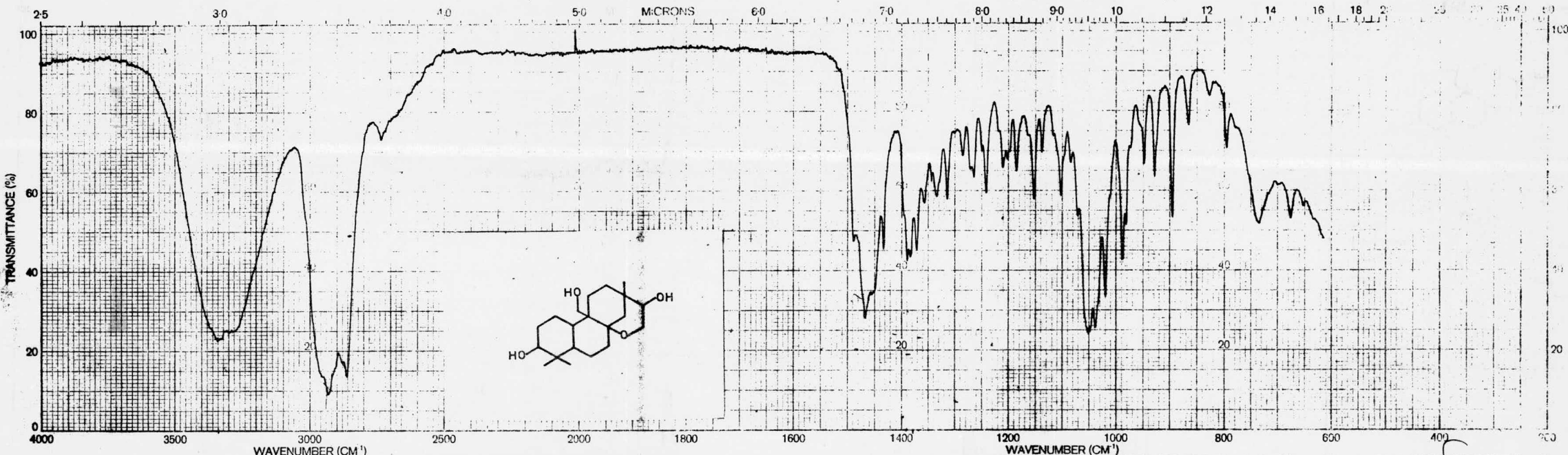
SOLVENT CH₂Cl₂
 TEMPERATURE A
 FILTER BANDWIDTH _____
 R.F. FIELD _____
 SWEEP TIME 250
 SWEEP WIDTH 25,500
 SWEEP OFFSET _____
 SPECTRUM AMP. 16
 INTEGRAL AMP. _____
 REMARKS:



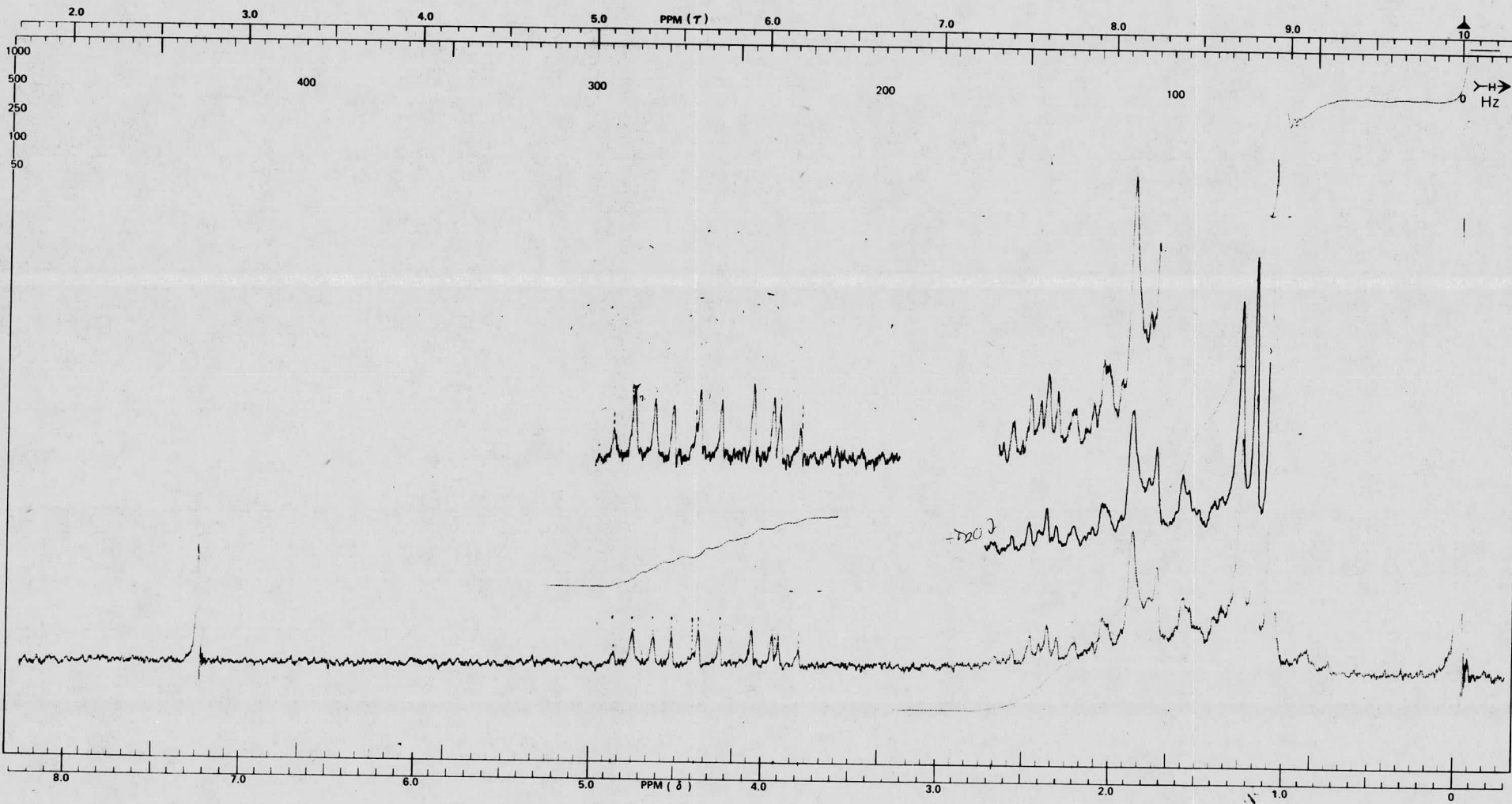
60 MHz NMR
 SPECTRUM NO. 18965
 OPERATOR: AS DATE 10-II-77
 SAMPLE: HE (Yaris)



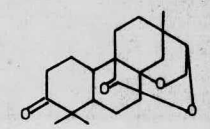
SOLVENT	CDCl ₃	
TEMPERATURE	4	°C
FILTER BANDWIDTH		Hz
R.F. FIELD		mG
SWEEP TIME	250	SEC
SWEEP WIDTH	500	Hz
SWEEP OFFSET		Hz
SPECTRUM AMP		
INTEGRAL AMP	100	
REMARKS		



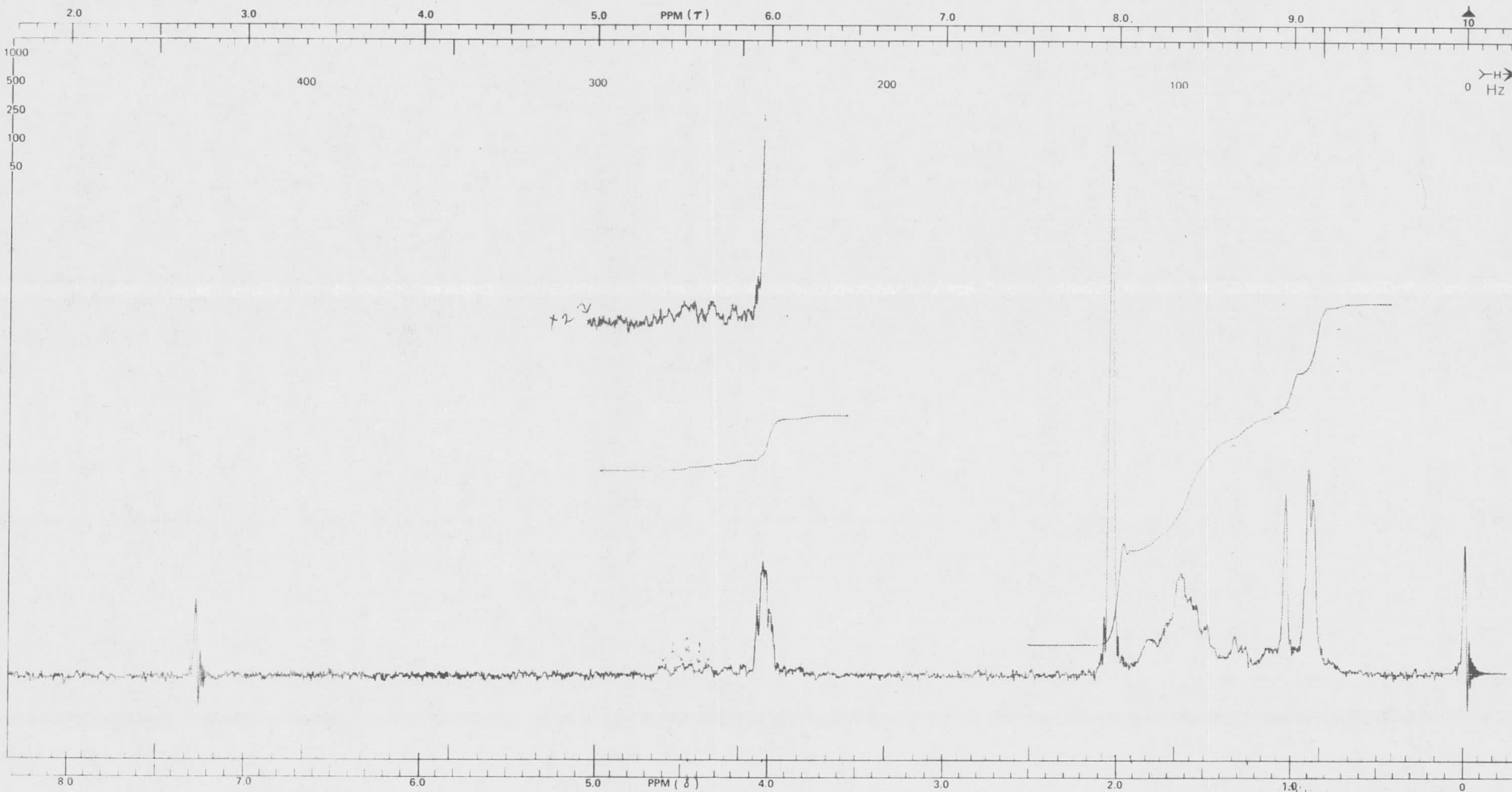
SAMPLE <i>product B</i>	SOLVENT <i>nyal</i>	REMARKS	SCAN MODE <i>M</i>	OPERATOR <i>Jana</i>
			SLIT <i>N</i> TIME CONSTANT	DATE <i>15-11-76</i>
ORIGIN <i>D. M. J...</i>	CONCENTRATION		PERKIN ELMER PART No. 5100 4367	REF No. <i>1233</i>
	CELL PATH			
	REFERENCE <i>oil</i>			



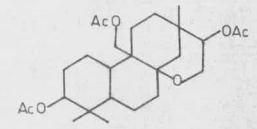
60 MHz NMR
 SPECTRUM NO. 188
 OPERATOR: BSO DATE 3-11-77
 SAMPLE: HJE



SOLVENT	<i>CDCl₃</i>	
TEMPERATURE	<i>A</i>	°C
FILTER BANDWIDTH		Hz
R.F. FIELD	<i>.03</i>	mG
SWEEP TIME	<i>150</i>	SEC
SWEEP WIDTH	<i>500</i>	Hz
SWEEP OFFSET		Hz
SPECTRUM AMP.	<i>63</i>	
INTEGRAL AMP.		
REMARKS	<i>NO OFFSET</i>	



60 MHz NMR
 SPECTRUM NO. 17302
 OPERATOR: BS DATE 18-II-76
 SAMPLE: KFE



SOLVENT: *CDCl₃*
 TEMPERATURE: _____ °C
 FILTER BANDWIDTH: _____ Hz
 R.F. FIELD: _____ mG
 SWEEP TIME: _____ SEC
 SWEEP WIDTH: _____ Hz
 SWEEP OFFSET: _____ Hz
 SPECTRUM AMP: _____
 INTEGRAL AMP: _____
 REMARKS: