

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

Facultad de Química

AISLAMIENTO Y ESTRUCTURA DEL NUEVO ELEMENOLIDO VERAFININA

211
T E S I S

Que para obtener el título de

Q U I M I C O

p r e s e n t a

MARIANO MARTINEZ VAZQUEZ

México, D. F.

1974



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.

ESTA TESIS SE LLEVO A CABO EN EL INSTITUTO DE
QUIMICA DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO,
BAJO LA DIRECCION DEL DR. CARLOS GUERRERO RUIZ.

CONTENIDO

INTRODUCCION

PARTE TEORICA

PARTE EXPERIMENTAL

CONCLUSIONES

BIBLIOGRAFIA.

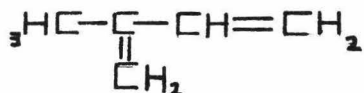
I N T R O D U C C I O N

La investigación en el campo de los productos naturales ha tenido un incremento tan grande y ha generado un conocimiento tan vasto, que ha habido necesidad de la especialización ó sea estudiar una sola familia de plantas.

El estudiar una sola familia de plantas ha traído como consecuencia que se conozcan ciertas sustancias como metabolitos característicos de la familia en estudio. La distribución de los constituyentes químicos característicos hallados en plantas relacionadas o supuestamente relacionadas, es lo que se llama quimiotaxonomía ¹.

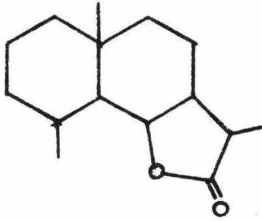
En la familia de las compuestas, uno de los metabolitos ² que se han encontrado con mayor frecuencia son los sesquiterpenos con diversos grupos funcionales como oxhidrilos, ésteres, lactonas, etc.

Los sesquiterpenos son sustancias formadas por tres unidades isoprenicas (15 átomo de C).

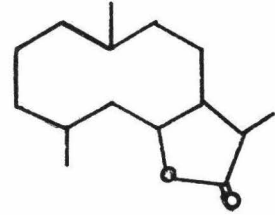


Isopreno.

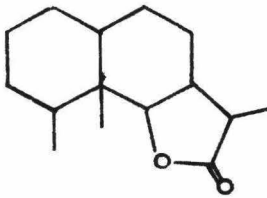
Cuando las tres unidades isoprénicas se unen en forma regular (cabeza-cola) se forma el farnesol, el que puede ciclarse en diversas maneras para dar origen a varios grupos de sesquiterpenos³ entre los que tenemos: eudesm_gnólidos, eremofilamólidos, guayanólidos, drimanólidos, etc.



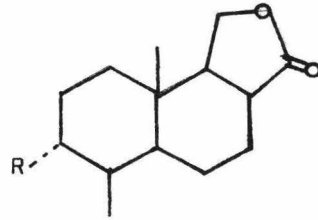
EUDESMANOLIDO



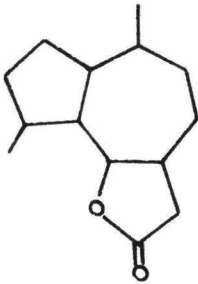
GERMACRANOLIDO



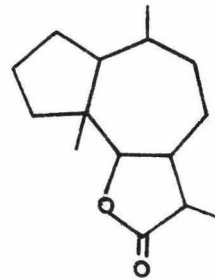
EREMOFILAMANOLIDO



DRIMANOLIDO

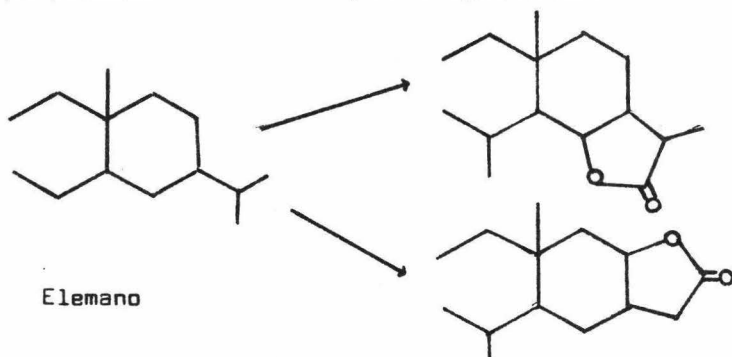


GUAIANOLIDO



PSEUDO-GUAIANOLIDO

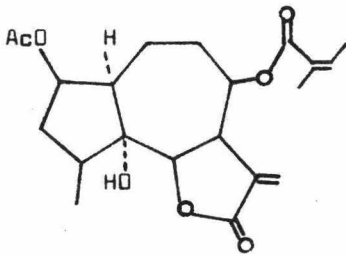
También se puede esperar que un sesquiterpeno puede dar origen a dos lactonas dependiendo hacia - que posición está cerrado, como ejemplo tenemos el elemano.



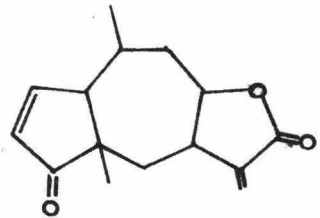
Poco se sabe de la farmacología de la - posible aplicación en medicina de este tipo de productos. - Recientemente se han aplicado como inhibidores de tumores - cancerosos.

Algunas lactonas sesquiterpénicas po--- seen actividad citotóxica⁴ como el acetato de euparotina, - la mexicanina I, la helenalina, la aromaticina; algunas --- otras son analgésicos como la amatalina ó ambicidas² como - la santonina.

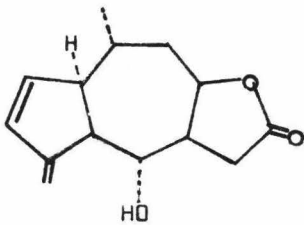
También se ha investigado el efecto de estas sustancias en la fisiología de las plantas.



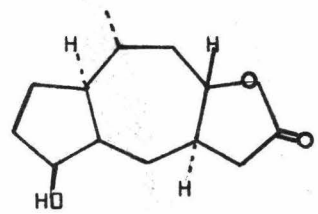
ACETATO DE EUPAROTINA



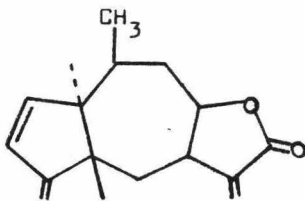
MEXICANINA I



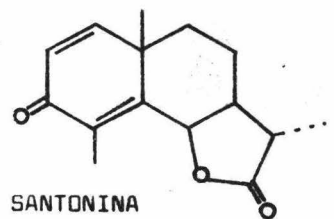
HELENALINA



AROMATICINA

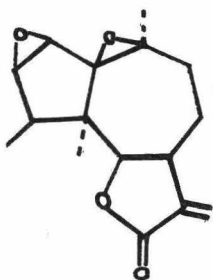


AMATALINA

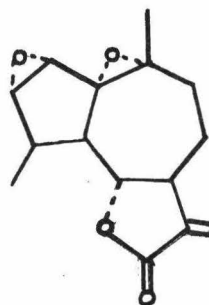


SANTONINA

Se ha reportado⁵ que una mezcla de chry-
sarteminas A y B, aisladas del extracto etanólico del Crhy--
santenum era el principio activo responsable del estímulo -
de crecimiento de las raíces en cortes de plantas de frigo -
"mung"



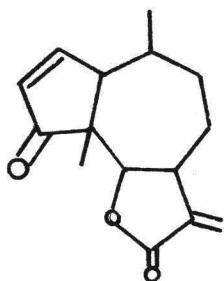
Chrysantemina A.



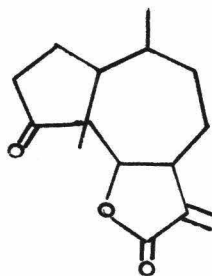
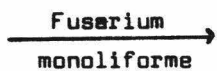
Chrysantemina B.

Se cree que el grupo exometilenbutenóli do es indispensable para la actividad citotóxica así como -- también del crecimiento de los vegetales.

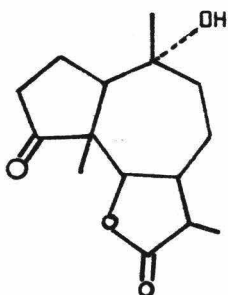
Una innovación en el estudio de estas -- sustancias es el cambio estructural debido a entidades micro biológicas como ejemplo tenemos, la transformación de ambro- cina a franserina. Este paso, se cree se lleva a cabo de --- acuerdo con el siguiente cuadro⁶ para la transformación se - utilizó fusarium moniliforme.



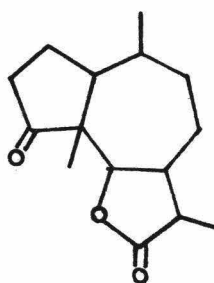
Ambrosina



Damsina



Franserina



dihidro-damsina

PARTE TEORICA

La *Verbesina aff. Coahuilensis* (Gray) - es una planta herbácea de la familia de las Compuestas que se recolectó en la Sierra de Arteaga en el Estado de Coahuila, casi al final del ciclo vital de la planta.

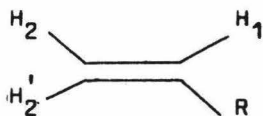
El extracto etanólico cromatografiado en sílice, proporcionó en las fracciones eluidas con la mezcla benceno 80% y acetato de etilo 20%, una sustancia cristalina blanca con p.f. de 145-146⁰C a la cual se le llamó verafinina.

La fórmula condensada que por análisis elemental se obtuvo para la verafinina es C₁₉H₂₄O₇. El espectro (1) de IR muestra bandas en 3600-3500 cm⁻¹ para grupos oxhidrilos, 1790 cm⁻¹ para una lactona gama saturada y 1740 cm⁻¹ para un éster.

Con estos datos se puede decir que la verafinina es un sesquiterpeno (15 átomos de C) y el éster que aparece en el espectro de IR probablemente es de cuatro átomos de C.

El siguiente paso era el determinar que

tipo de esqueleto posee la verafinina; ésto se logró con su espectro de RMN (2), el cual muestra una señal (d,d) centrada en 6.15 ppm ($J_{cis} = 5 \text{ Hz}$, $J_{trns} = 9 \text{ Hz}$) que corresponde al protón H_1 de un sistema ABX⁷ como el que se ilustra enseguida.



La señal de H_1 es muy clara en el espectro a diferencia de las señales de los protones H_2 que aparecen en una señal compleja en la zona de protones vinílicos y no se pueden distinguir. Esto nos indica que la verafinina tiene varias insaturaciones, pero lo significativo es la señal del protón H_1 del sistema ABX.

La doble ligadura terminal es característica de los sesquiterpenos que tienen esqueleto de elemento⁸.

También se ven señales de 4.7 ppm (d,d) que integra para un protón que se asigna a la base de una --

lactona, un doblete a 4.2 (1H) que corresponde al protón -- base de alcohol y un singulete simple ancho centrado en 3.65 ppm que integra para dos protones (C₁₀-CH₂-).

En la zona de los metilos se observa so lamente dos, el primero da una señal doble en .98 ppm (J-7Hz) que integra para tres protones, que se asigna el metilo de - la lactona saturada y el otro es un metilo vinílico que da - señal simple en 1.9 ppm.

El espectro de masas da un pico base de M/e= 69 que corresponde a la fragmentación del éster metacrí lico⁹⁹.

Este dato está de acuerdo con lo espera do para el número de átomos de carbono para el éster que in dicó el análisis elemental, además también está de acuerdo - con la señal del metilo vinílico observado en el espectro -- (2) de RMN de la verafinina.

El espectro de masa nos da también un - pico de 346 que corresponde a M¹-18. La absorción que se --- observa en 218nm (ϵ = 17000) confirma la presencia del meta-- crilato.

Cuando se sometió a hidrogenación la --
verafinina, en acetato de etilo como disolvente y óxido de -
platino como catalizador se obtuvieron dos sustancias que se
aislaron por medio de cromatografía en placa.

El análisis elemental de la sustancia -
más polar dió como fórmula condensada $C_{19}H_{30}O_7$ que es la te-
tra-hidro verafinina.

En el espectro de RMN (3) de la tetra--
hidro verafinina se observa una señal compleja en 5.3 ppm --
que se asigna a protones vinílicos y el protón base del és--
ter, señal (d,d) que integra para un protón en 4.1 ppm asig-
nada a la base de un oxhidrilo, señal que integra para dos -
protones sistema AB y sus dobletes se encuentran en 3.6 ppm -
(J= Hz)^B. Además en .89 ppm, señal triple que inte-
gra para tres protones (J= 7 Hz), señal (d) para seis proto--
nes en 1.1 ppm (J=7 Hz) y señal (d) en 1.2 ppm para tres pro-
tones.

En este espectro se puede ver que el sis-
tema ABX desapareció y que aparece una señal (t) en 1.2 ppm -
que integra para tres protones.

De lo anterior se puede concluir que una de las dobles ligaduras que se saturó fue la que daba señal como sistema ABX.

En la tetra-hidro verafinina ya no hay absorción en UV lo cual indica que el doble enlace del éster se saturó.

Esto se afirma por la nueva señal (d) en el espectro de RMN centrada en 1.1 ppm que integra para seis protones y la desaparición del metilo vinílico en 1.9 ppm.

Al correr el espectro de RMN de la tetra-hidro verafinina a 100 MHz e irradiar la señal de 4.8 ppm base de la lactona, la señal en 4.1 ppm se vuelve singulete, lo que indica que están interaccionando el protón base de alcohol y el protón base de la lactona.

Y por la multiplicidad de la señal de 4.1 ppm (d) se ve que el protón base de alcohol tiene que estar interaccionando solamente con el protón base de la lactona.

De esto se infiere que la única forma en que el grupo oxhidrilo y el cierre de la lactona podrían estar

en la posición 9 y 8 respectivamente.

Del análisis elemental y por los productos de hidrogenación se sabe que hay tres dobles en la estructura hasta el momento se han asignado dos, faltando por encontrar una.

La única manera como se puede colocar este doble enlace en el esqueleto del elemento es en las posiciones 3 y 4.

En RMN la hexo-hidro verafinina presenta las siguientes señales, un doblete de dobletes en ppm - que integra para un protón, el que se asignó a la base del éster, en 4.9 ppm un doblete asignado a la base del alcohol, el sistema AB en 3.6 ppm y señal múltiple en 1.1 ppm asignada a los diversos metilos de la sustancia.

De los espectros de RMN de la verafinina y de la tetra-hidro verafinina se ha llegado a la conclusión de que no hay mas metilos que los discutidos anteriormente, lo que implica que los metilos en las posiciones 4 y 10 en el esqueleto del elemento (1 esquema A) deben de estar oxidados.

Al realizar la esterificación de la verafinina con anhídrido acético y piridina, se obtuvo el acetato que en el espectro de masas dió un pico de 388 que corresponde a $M^+ - 18$.

El pico base en el espectro del acetato fué 69 que corresponde al acilo $\left(\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ -\text{C}-\text{C} \begin{array}{l} \nearrow \text{CH}_2 \\ \searrow \text{CH}_3 \end{array} \end{array} \right)$ del éster metacrílico, le sigue en intensidad el pico de 43 correspondiente al acilo $\left(\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ -\text{C}-\text{CH}_3 \end{array} \right)$ del acetato⁹.

En el espectro de IR del acetato de la verafinina se observan bandas en $3600-3500 \text{ cm}^{-1}$ para grupos oxhidrilo, 1740 cm^{-1} para el metacrilato y el acetato, y en 1790 cm^{-1} para la lactona gama saturada.

En el espectro de RMN del acetato de la verafinina se observa una nueva señal en 2.1 ppm que integra para tres protones y desaparece la señal de 4.1 ppm apareciendo en vez de ella una señal compleja sobrepuesta a los protones vinílicos.

De los espectros anteriores se infiere de que por lo menos hay dos grupos OH, uno de los cuales se

acetila en las condiciones ya fijadas.

Relacionando lo anterior con la fórmula consensada $C_{19}H_{24}O_7$ se ve que no es posible admitir más de dos grupos OH así mismo se ve que falta por asignarse una función oxigenada.

Una posibilidad de estructura con todos los datos anteriores, sería un hemiacetal como el que se muestra en la fig. 2 del esquema A. Esta estructura explica el sistema AB que se muestra en el espectro RMN de la tetra-hidro verafinina (3 esquema A)

Una manera de probar esta estructura era oxidando el grupo OH alílico, esto se logró en óxido de manganeso que es un reactivo selectivo para este tipo de reacciones.¹⁰

El experimento se llevó a cabo con tetra-hidro verafinina disuelta en cloroformo y óxido de manganeso como catalizador, de esta reacción se obtuvo una sustancia cristalina.

El espectro de UV de este producto oxi-

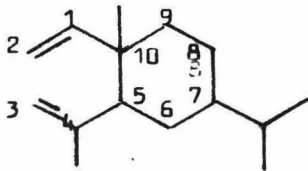
dado (5 esquema A) mostró una absorción en λ máx de 214 nm - ($\epsilon = 9000$) debida al carbonilo conjugado con el doble enlace de C-3, C-4¹¹.

El espectro de masas da $M^+ = 366$, otro pico que se observa es de 71 que corresponde al acilo del éster $\text{-C(=O)-CH}_2\text{-CH(CH}_3\text{)}_2$ isobutírico, otra fragmentación de 348 que es $M^+ - 18$ que corresponde a la pérdida de OH como agua, $M^+ - 88$ que sería la pérdida de OH y éster.

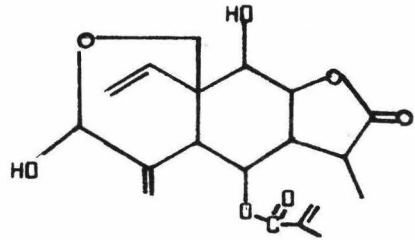
En el espectro de RMN de la dilactona (5 esquema A) tiene las señales más significativas en 3.9 ppm para el sistema AB, esta señal se corrió de 3,56 a 3.9 ppm, lo cual está de acuerdo con lo esperado ya que pasa de base de éter a base de lactona, además los protones vinílicos de C-3 dan señal en 5.1 ppm por interacción con el protón cinco.

De los espectros anteriores se deriva para el producto de oxidación la fórmula 5 del esquema A, la cual comprueba la fórmula propuesta para la verafinina (2 esquema A).

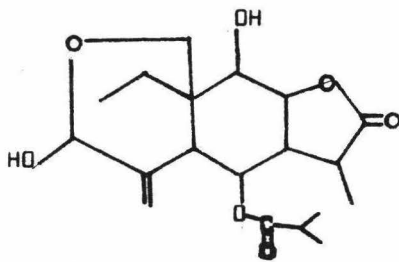
ESQUEMA A



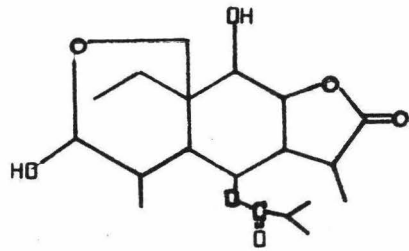
ELEMENO



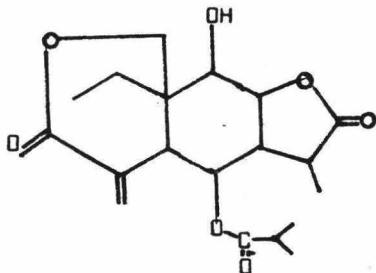
VERAFININA



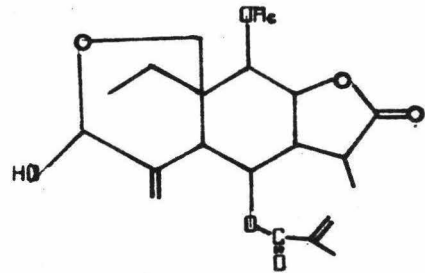
TETRAHIDRO-VERAFININA



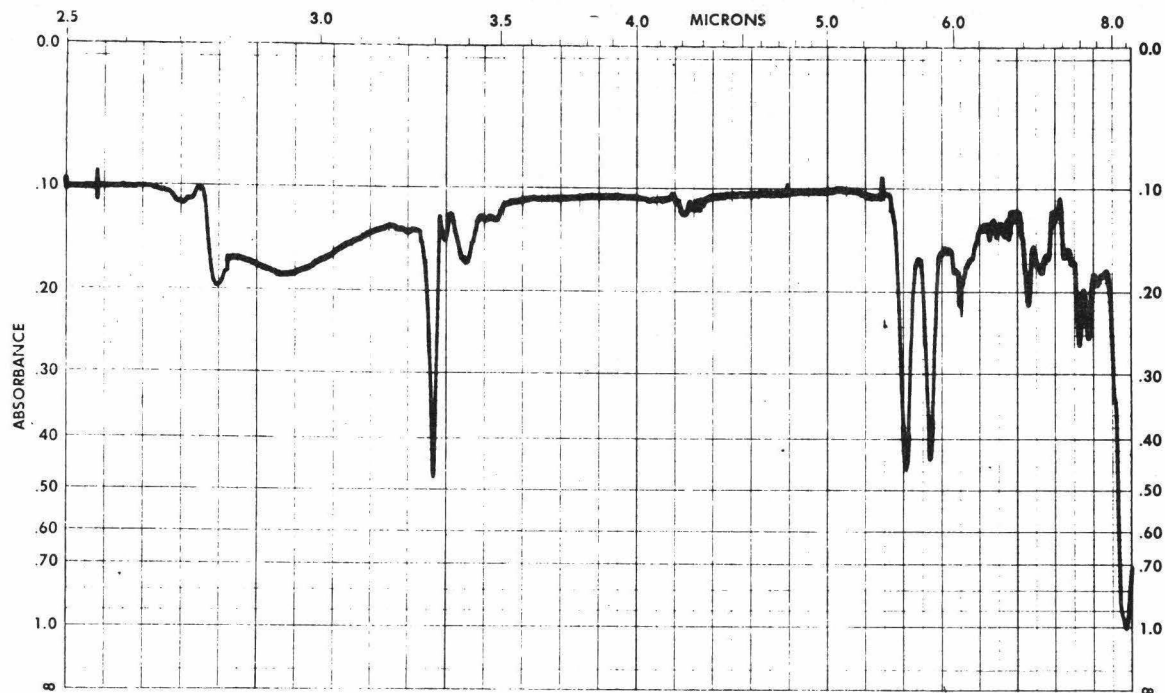
HEXAHIDRO-VERAFININA



DILACTONA

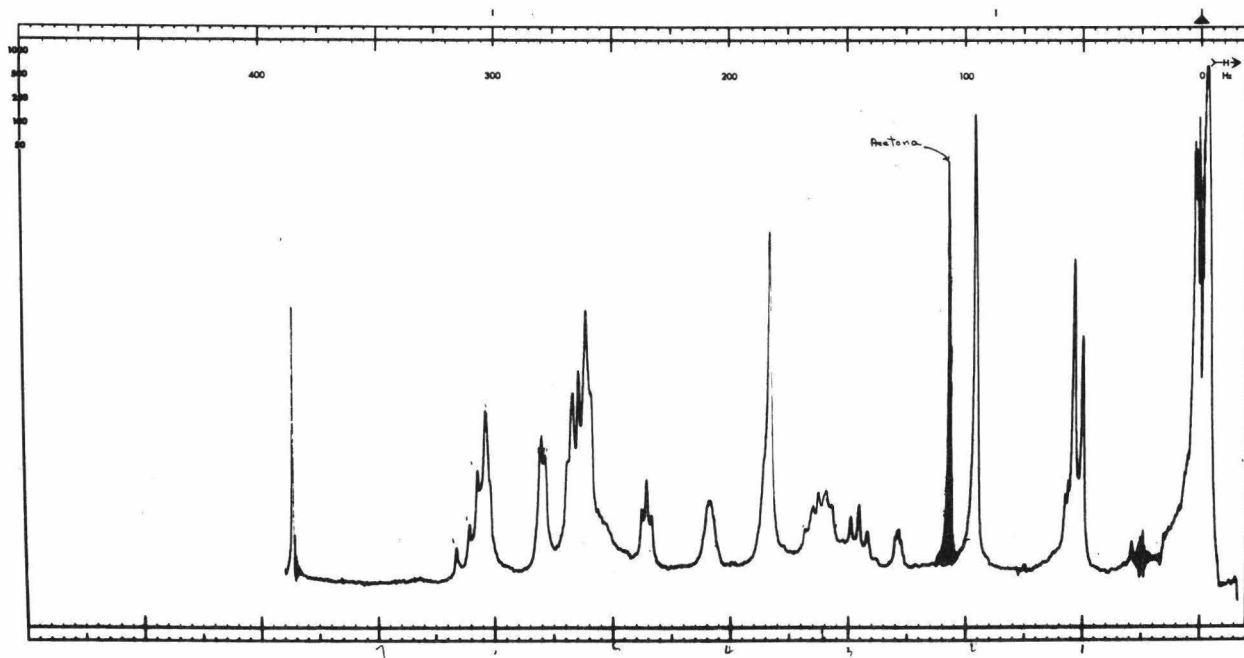


ACETATO DE VERAFININA



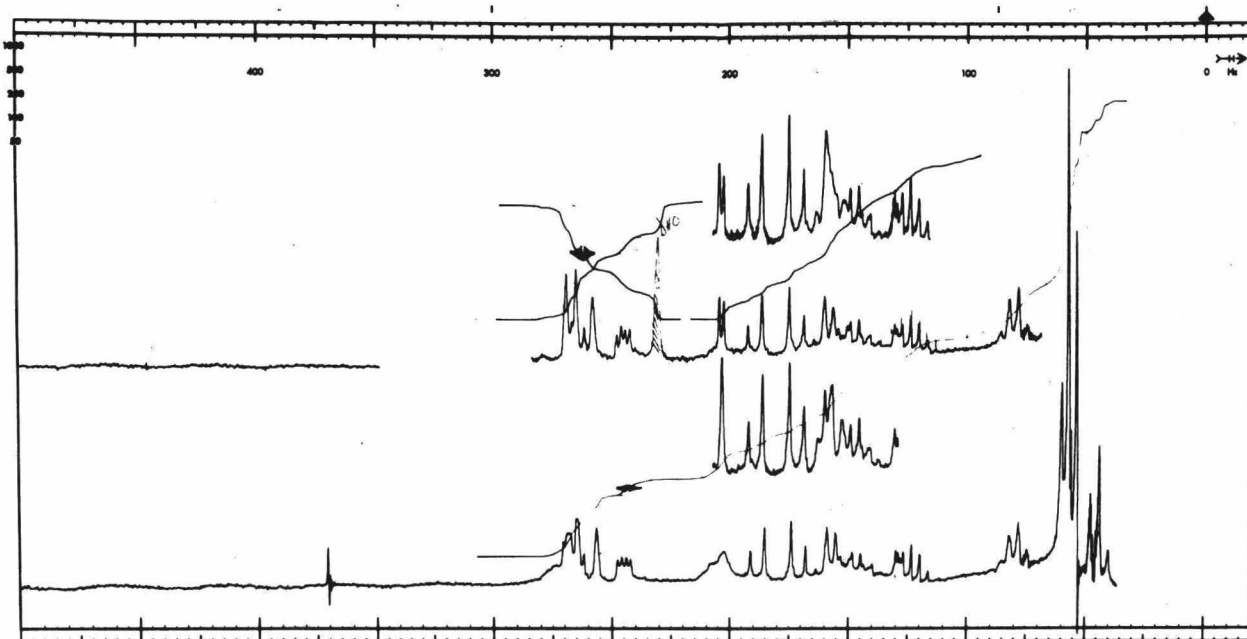
ESPECTRO No. 1

IR DE VERAFININA.



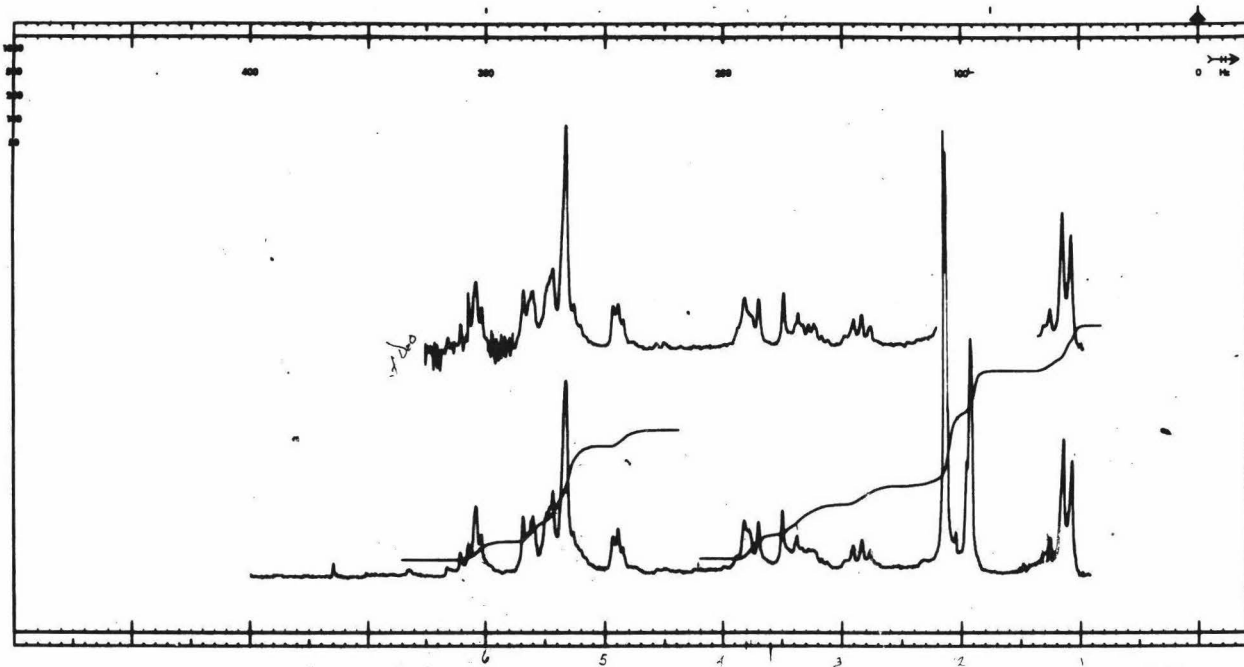
ESPECTRO No. 2

RMN DE VERAFININA.



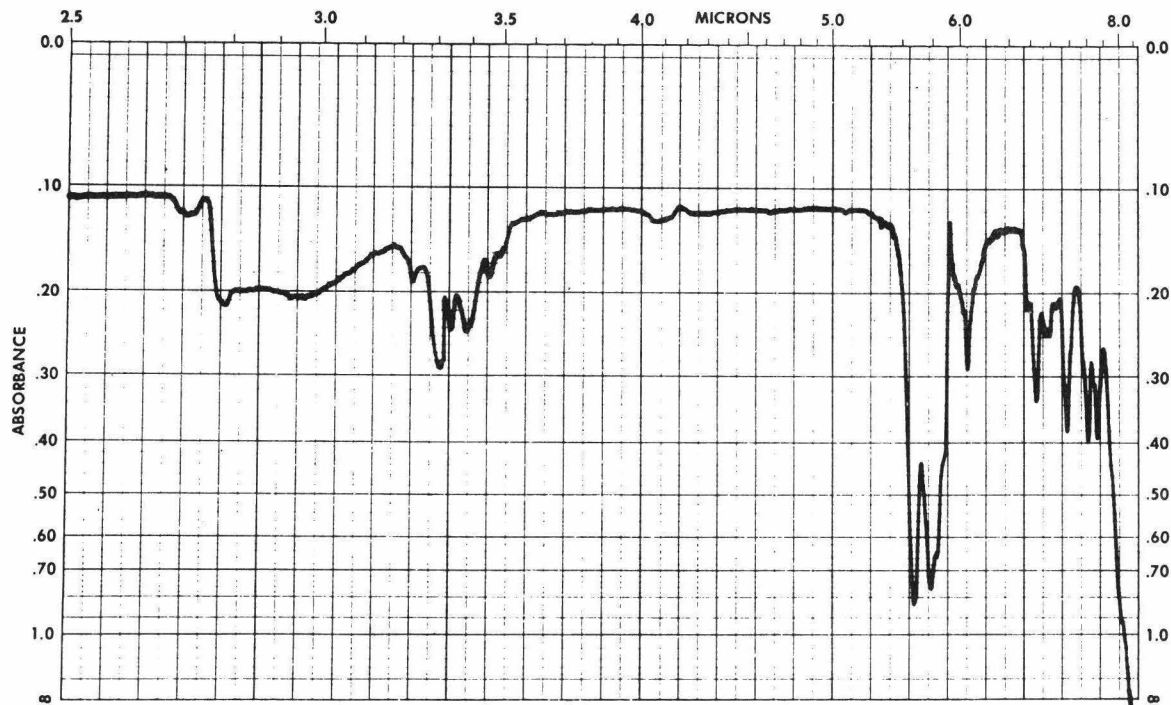
ESPECTRO No. 3

RMN DE TETRAHIDRO-VERAFININA.



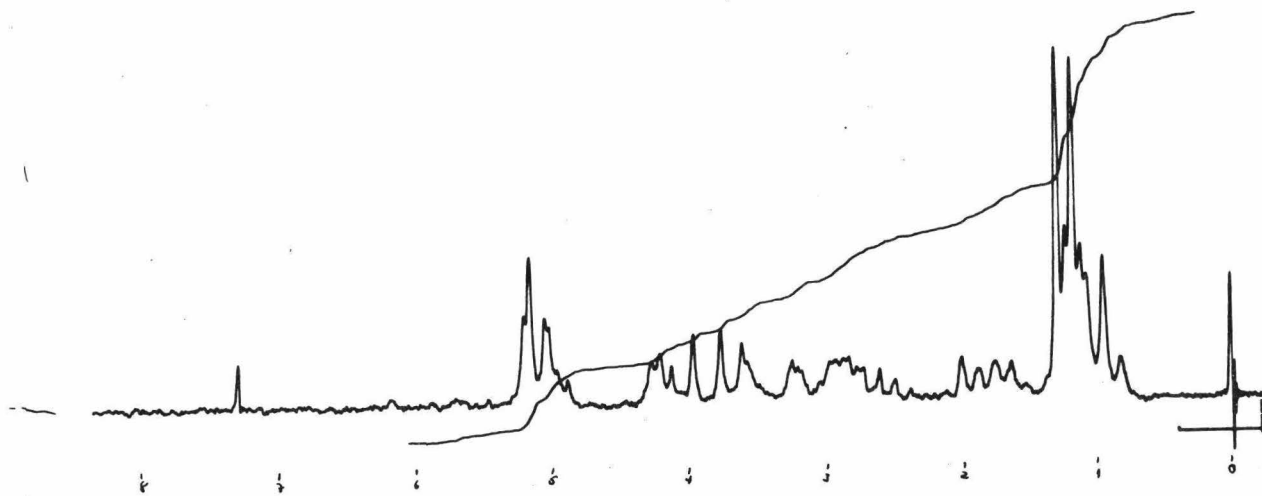
ESPECTRO No. 4

RMN DEL ACETATO DE VERAFININA.

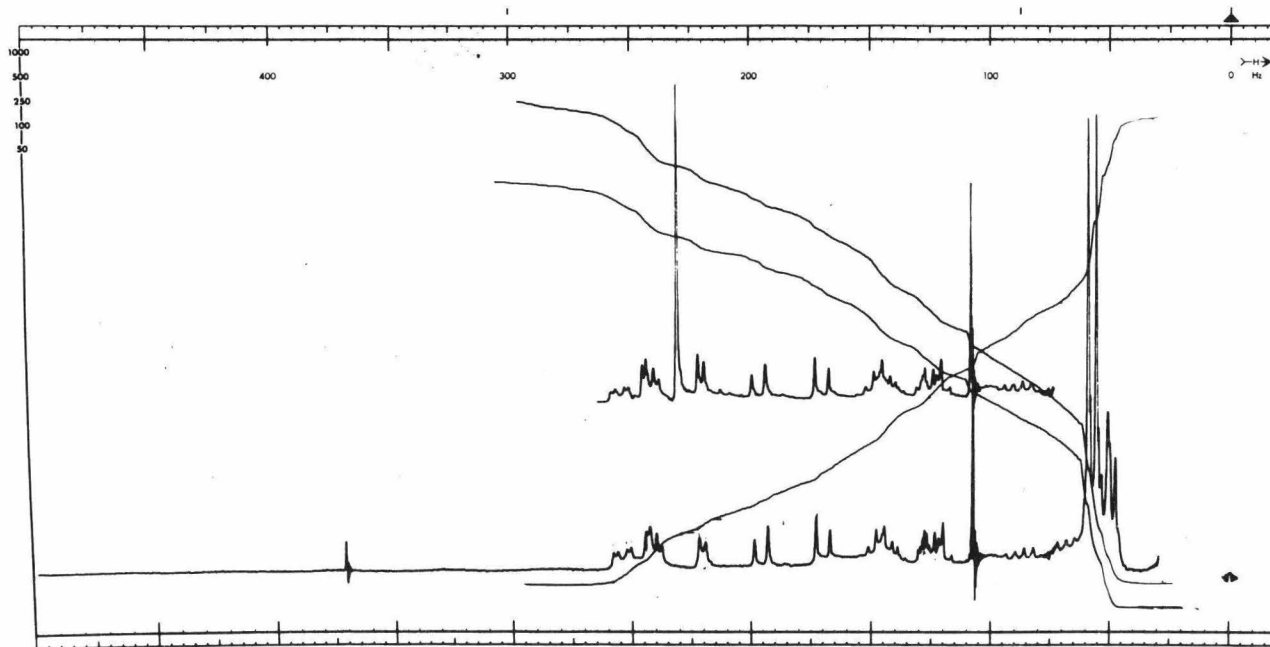


ESPECTRO No. 5

IR DE ACETATO DE VERAFININA.



ESPECTRO No.6
RMN DE LA DILACTONA.



ESPECTRO No.7
RMN DE HEXAHIDRO-VERAFININA.

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

EXTRACCION Y AISLAMIENTO DE LA VERAFININA

La planta *Verbesina* aff. *Coahuilensis* (Gray) se recolectó en la sierra de Arteaga en Coahuila, --- aproximadamente a 10 Km al sur de Saltillo. En el mes de --- octubre, casi al final del ciclo vital de la planta.

El total de hierba recolectada fué de - 7.520 Kg. se secó y se sometió a una extracción a temperatura ambiente durante dos días con metanol, repitiéndose el -- proceso tres veces.

El extracto metanólico se redujo aproximadamente a un tercio de su volumen, a éste se le agregó celita, carbón activado y agua, se agitó y se filtró.

Al filtrado se le sometió a una extracción con cloroformo, este proceso se repitió tres veces. El extracto clorofórmico se secó con sulfato de sodio anhidro - el cual se eliminó posteriormente por filtración y se evaporó a sequedad.

Este extracto presentó cristales, los - cuales se aislaron disolviendo el extracto en acetato de ---

etilo, solvente en el cual los cristales son insolubles. La cantidad aislada fué de 3610 mg. con un p.f. mayor de 300°C. De evidencias espectroscópicas se supone que estos cristales son de un heterósido de la planta, este aspecto no se tratará en este trabajo.

El peso total del extracto fué de 200g. los cuales fueron cromatografiados en columna montada con 3 Kg. de sílice, el solvente en que se empezó a eluir fué 90% de benceno y 10% de acetato de etilo.

En esta mezcla se encontró una substancia cristalina de p.f. 152°C la cual no dió la prueba de esteroides a la que se le sometió (ac. sulfurico, anh. acético.)

Por medio de placa fina y comparando los espectros de IR se logró identificar como Ubicol, mezcla de esteroides que no dan positiva la prueba del ac. sulfúrico y cuyo p.f. es de 154°C.

También en esta mezcla se aislaron dos substancias cristalinas, la primera de p.f. 136°C y la se--

gunda de 216°C. Este aspecto no se desarrollará en este trabajo.

En las fracciones eluidas con 20% de -- acetato de etilo y 80% de benceno se obtuvo una substancia - cristalina blanca de p.f. 148-149°C a la que se le llamó verafinina.

La muestra analítica de la verafinina - se preparó de acetona - éter isoptopílico p.f. 150-151°C

$\lambda_{\text{máx.}}$ 218 nm $\epsilon_{\text{máx.}}$ 17000

$\nu_{\text{máx.}}$ 3500 cm^{-1} 3050 cm^{-1} 1790 cm^{-1}
1740 cm^{-1}

Análisis calculado para $\text{C}_{19}\text{H}_{24}\text{O}_7$

C = 62.62%

H = 6.84%

O = 30.74%

Encontrado

C = 62.44%

H = 6.84%

O = 30.61%

100.81

TETRA Y HEXA HIDRO VERAFININA.

500 mg de verafinina se disolvieron en 100 ml de acetato de etilo y se le agregaron 50 mg de óxido de platino. A la solución se le sometió a hidrogenación a presión y temperatura ambiente durante 6 hs. Entonces se -- filtró el catalizador y se evaporó el solvente, obteniéndose un aceite el cual se sometió a una cromatografía en placa de sílice y eluida en un solvente compuesto de acetona y cloroformo (1:1).

Se lograron aislar dos sustancias, -- siendo la menos polar una sustancia blanca cristalina de p.f. 170-171⁰C la cual resultó ser la tetra- hidro verafini na.

La muestra analítica se preparó de --- éter isopropilico-hexano con p.f. de 176.

✓ máx. 3600 cm⁻¹ 3000 cm⁻¹ 1790 cm⁻¹ 1740 cm⁻¹

Análisis calculado para C₁₉H₂₈O₇ C=61.94% H=7.66% O=30.40%

- 40%

Encontrado: C= 61.71% H= 7.81% O= 30.42%

La segunda substancia aislada correspondió a la hexo-hidro verafinina.

$\nu_{\text{máx.}}$ 3450 cm^{-1} 2980 cm^{-1} 1770 cm^{-1} 1730 cm^{-1} .

Peso molecular esperado para $\text{C}_{19}\text{H}_{30}\text{O}_7$ 370

Peso molecular por espectroscopia de masas $M^+ = 370$

ACETATO DE VERAFININA

Se disolvieron 200 mg de verafinina en 2 ml de piridina y 2 ml de anhídrido acético. La solución se dejó reaccionar durante 12 hs. a temperatura ambiente, después se le adicionó cinco ml de agua, se extrajo la parte orgánica con cloroformo, este se lavó con solución de ácido clorhídrico al 10%, después con solución de Na_2CO_3 al 10%, se secó con sulfato de sodio anh. se evaporó el cloroformo y se cristalizó de éter isopropílico - hexano.

Los cristales que se obtuvieron tienen un p.f. de 136-138°C.

$\lambda_{\text{máx.}}$ 217 nm $\text{máx. } \epsilon = 41520$

$\nu_{\text{máx.}}$ 3600 cm^{-1} 3000 cm^{-1} 1790 cm^{-1}
1740 cm^{-1}

Peso molecular esperado para $C_{21}H_{26}O_7$ 406

OXIDACION DE LA TETRA-HIDRO VERAFININA

200 mg de tetra-hidro verafinina se ---
disolvieron en 100 ml de cloroformo y se le agregaron 4 g de
 MnO_2 , se dejó reaccionar durante 3 hs.

Se filtró el MnO_2 , se evaporó el cloro-
formo y se obtuvo un aceite, el cual fué sometido a una cro-
matografía en placa eluida en benceno-acetato de etilo (2:1)

Se logró aislar una substancia crista--
lina blanca con p.f. $153-154^{\circ}C$, que corresponde a la dilactona
(5 esquema A).

λ máx. 213 nm $\epsilon = 12020$

ν máx. 3600 cm^{-1} 300 cm^{-1} 1795 cm^{-1} 1740 cm^{-1}

Peso molecular esperado para $C_{19}H_{28}O_7$ 366

Peso molecular de la dilactona por espectroscopia de masas -
 $M^+ = 366$.

Los puntos de fusión se determinaron en un aparato Fischer-Jones y no están corregidos, los espectros de UV se determinaron en etanol al 95% en un espectrofotómetro Perkin-Elmer 202, los espectros de IR en espectrofotómetros 21 y 337.

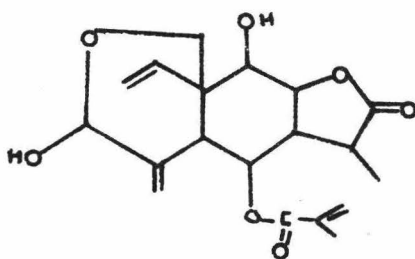
Los espectros de RMN en un espectrofotómetro Varian A-60 y HA-100, los desplazamientos químicos están dados en ppm usando como referencia interna tetra metilsilano. Los espectros de masas en un espectrómetro de masas Hitachi Perkin-Elmer RMU-6D. Las cromatografías se efectuaron en sílica-gel 0.2-0.5 mm y alúmina Alcoa grado F-20 80-200 mallas, la pureza de los productos y desarrollo de las reacciones se siguió a base de cromatoplasmas de sílica-gel F-54; determinando la pureza a base del número de bandas que aparecen al revelar con sulfato cérico al 1% en ácido sulfúrico 2N. En las cromatoplasmas preparativas se reveló una banda lateral y una vez conocida la posición de las bandas horizontales de interés, se retiró el área correspondiente para extraerse.

Los microanálisis fueron efectuados por el Dr. Franz Pascher en Bonn Alemania.

CONCLUSIONES.

En esta Tesis se describe el aislamiento de una lactona sesquiterpénica extraída de la planta "Verbesina aff. Coahuilensis" (Gray), - a la cual se le llamó verafinina.

Además se demuestra por medios químicos y espectroscópicos que el esqueleto de la verafinina corresponde a un elemenolido y la fórmula estructural que se propone para ésta es la siguiente:



BIBLIOGRAFIA

BIBLIOGRAFIA

- 1.- Seikel and Runeckles
Recent Advances in Phytochemistry
Vol 2 Academic Press
N.Y. (1973)
- 2.- Xorge Domínguez
Investigación en Fitoquímica
Limusa Wiley
- 3.- Runeckles and Mabry
Recent Advances in in Phytochemistry
Vol 6 Academic Press
N.Y. (1973)
- 4.- S.M. Kupchan; Enkin M.A. and A.M. Thomas
Journal Medicinal Chemistry, L4, 1147 (1971)
- 5.- J. Romo; A. Romo de Vivar; R. Treviño et al.
Phytochem; 9, 1615 (1970).
- 6.- Comunicación personal del Dr. A. Romo de Vivar.
- 7.- J. Nathan y E. Díaz
Introducción a la Resonancia Magnética Nuclear.
Limusa Wiley
México, (1970).

- 8.- T.K. Devon and A.I. Scott
Handbook of Naturally Occurring Compounds
Vol II Terpenes
Academic Press N.Y. (1972).
- 9.- R.M. Silverstein and G.C. Bassler
Spectrometric Identification of Organic Compounds
John Wiley and Sons Inc.
N.Y. (1964).
- 10.- Padilla J. and Herrán J.
Boletín del Instituto de Química UNAM, 8, 3, (1956).
- 11.- B.M. Kupchan
Journal of American Chemical Society, 3596, (1968).