

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO
FACULTAD DE QUIMICA

**Triterpenos tetracíclicos de
Parthenium fruticosum**

295

T E S I S
Q U E P A R A O B T E N E R
E L T I T U L O D E
Q U I M I C O
P R E S E N T A
CECILIA SUGINA MATSUBARA ODA

1 9 7 6



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis 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.

Clas. Tesis
IDU 1976
FECHA 1976
REC. M7
287



QUIMICA

JURADO ASIGNADO ORIGINALMENTE SEGUN EL TEMA .

PRESIDENTE _____

Dr. Alfonso Romo de Vivar.

VOCAL _____

Dr. Alfredo Ortega.

SECRETARIO _____

Dr. José Calderón .

1er. SUPLENTE _____

Dr. Carlos Guerrero.

2do. SUPLENTE _____

Maestro. Jorge Haro C.

Sitio donde se desarrollo el tema: Instituto de Química de la U. N. A. M.

Nombre completo y firma del sustentante: *Cecilia Sugina Matsubara Oda*
Matsubara Oda Cecilia Sugina.

Nombre completo y firma del asesor del tema:

(Alfonso Romo de Vivar)
Dr. Alfonso Romo de Vivar.

A mis padres.

A mis hermanos.

A mis maestros.

A mis amigos.

A mis compañeros
y a todas las personas
que hicieron posible este trabajo.

ESTE TRABAJO SE REALIZO EN EL
INSTITUTO DE QUIMICA DE LA UNI-
VERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE
MEXICO , BAJO LA DIRECCION DEL
DR. ALFONSO ROMO DE VIVAR , A
QUIEN EXPRESO MI MAS PROFUNDO
AGRADECIMIENTO .

CONTENIDO.

I.- INTRODUCCION.

II.- PARTE TEORICA.

III.- PARTE EXPERIMENTAL.

IV.- CONCLUSIONES.

V.- BIBLIOGRAFIA.

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

Los triterpenos son productos naturales ampliamente distribuidos en el reino vegetal. En la literatura química - existen numerosos estudios en los que se describe la determinación de sus estructuras y su comportamiento químico ¹ .

La biosíntesis de los triterpenos se relaciona con la de los esteroides como el Colesterol ² (III).

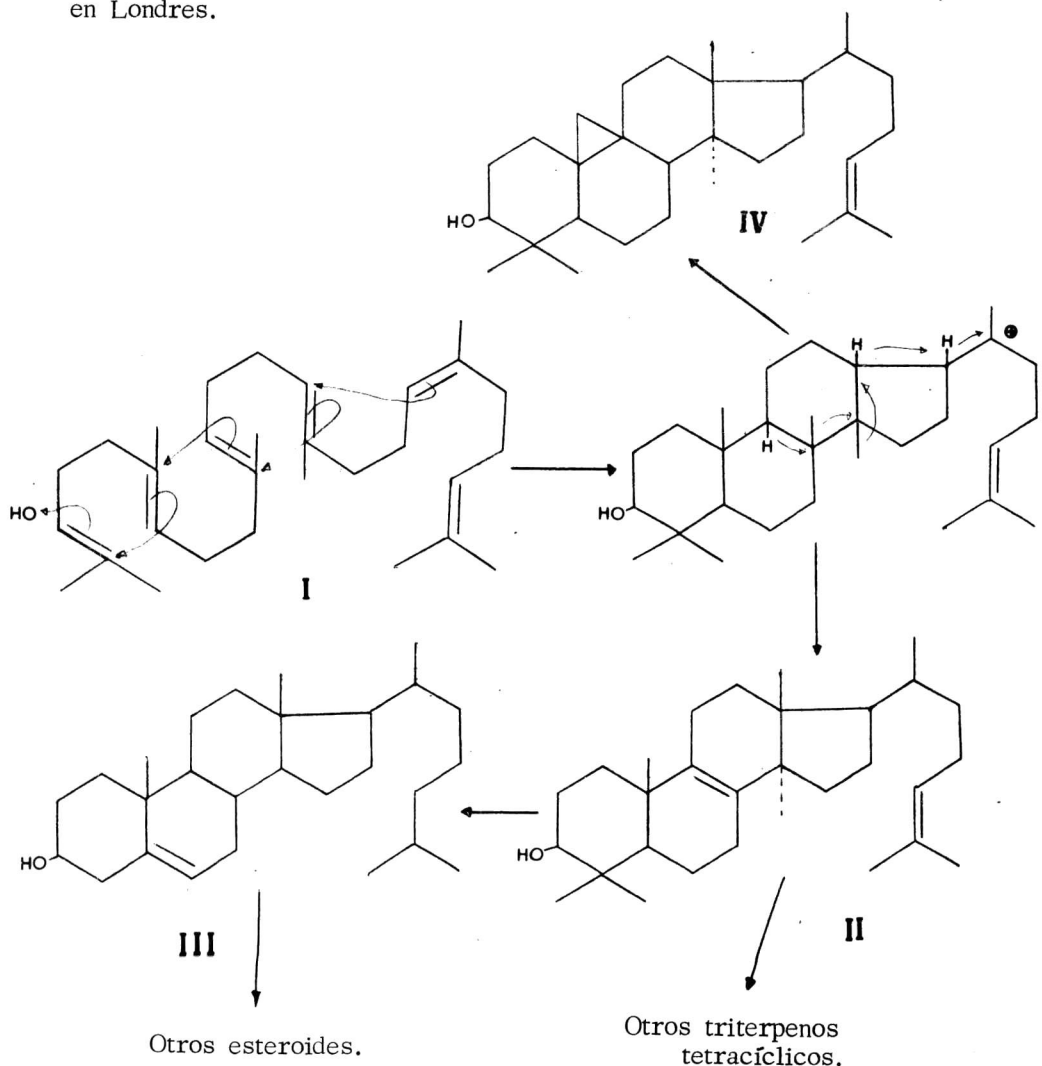
Los trabajos de la escuela de Ruzicka³ y de otros numerosos autores señalan al Escualeno (I) como precursor de los triterpenos , ya que sus ciclizaciones de diversos tipos pueden dar origen a un gran número de triterpenos naturales ² .

El origen genético de los triterpenos¹ puede ser explicado por la acción de enzimas específicas que imponen sobre el precursor acíclico una conformación particular que en la ciclización producen los esqueletos básicos por medio de rearrreglos , degradaciones , oxidaciones y reducciones.

A continuación se presenta la posible ciclización del Escualeno (I) a Lanosterol (II) y la transformación de éste por degradación enzimática a Colesterol⁴ (III) .

La mayoría de los triterpenos tetracíclicos tienen gran similitud estructural⁵ pero difieren en la estereo química de algunos centros asimétricos ; lo que les confiere diferentes propiedades químicas.

El Lanosterol (II), contenido en la fracción insaponificable de la grasa de la lana de borrego , es el triterpeno tetracíclico más antiguamente conocido , fue estudiado por Ruzicka y colaboradores ⁶ y su estructura fue completamente determinada en el período 1949-1954 por Ruzicka y Jeger en Zurich , Barton en Londres y McGhie también en Londres.



El Cicloartenol (IV) fue el primer triterpeno en que se demostró la existencia de un anillo de ciclopropano⁷ , trabajos posteriores han ayudado a elucidar su estructura.

Por estudios recientemente realizados⁸ se ha demostrado que el Lanosterol (II) no es un metabolito normal de plantas superiores y algas , donde probablemente es reemplazado por el Cicloartenol como intermediario principal en la biosíntesis de los esteroides.^{9,10.}

El género Parthenium¹¹ es originario del hemisferio Occidental , todas las especies que lo constituyen son ricas en terpenoides , los que han adquirido gran valor con relación a taxonomía química.

Este género presenta gran uniformidad en cuanto a sus flores pero se caracteriza por una gran diferencia en lo que respecta a su tamaño y forma de vida , por lo que se ha dividido en cuatro secciones que son : a) sección Partheniastrum
b) sección Bolophytum c) sección Argyrochaeta y
d) sección Parthenichaeta .

En un estudio hecho recientemente¹² se ha resumido la composición química de este género y se ha observado que las tres primeras secciones se caracterizan por tener lactonas sesquiterpénicas.

No ocurre así con la sección Parthenichaeta cuyas especies son: Parthenium tomentosum , P. fruticosum , P. schottii , P. lozanium , P. incanum , P. cineraceum , P. argentatum, y P. rollinsianum .

En esta sección , el Parthenium argentatum y el Parthenium rollinsianum no contienen lactonas sesquiterpénicas. El Parthenium argentatum¹³ se caracteriza por la presencia de triterpenos tetracíclicos.

En el Parthenium fruticosum se han encontrado¹⁴ dos nuevas lactonas sesquiterpénicas : la Chiapinina A y la Chiapinina B ; y en el Parthenium schottii cinco pseudoguayanólidas.

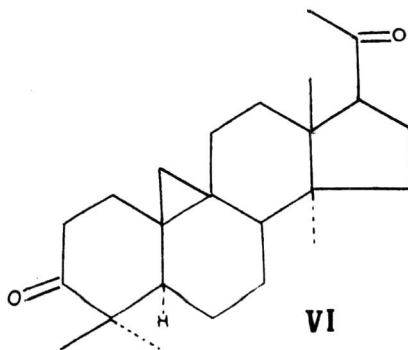
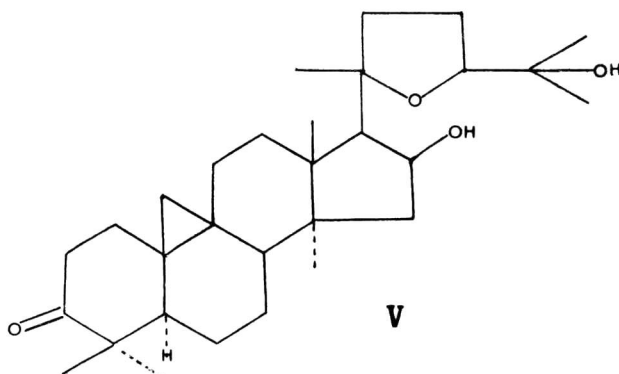
Las especies de la sección Parthenichaeta¹¹ son arbustos ó árboles pequeños , cuya gran mayoría se han encontrado en México. Una interesante característica de esta sección es que sus especies producen flores en el primer año de crecimiento mientras los tallos son aún relativamente herbáceos , después se van endureciendo y engrosando hasta que las plantas adquieren el aspecto de árboles.

Los estudios químicos hechos en esta sección han revelado que se caracterizan por su contenido de triterpenos tetracíclicos.

En el Instituto de Química de la U.N.A.M. en 1970 , se trabajó el Parthenium argentatum Gray¹³ (guayule) del cual se aislaron tres nuevos triterpenos tetracíclicos que contienen un anillo de ciclopropano , a los que se denominó como Argentatinas A , B

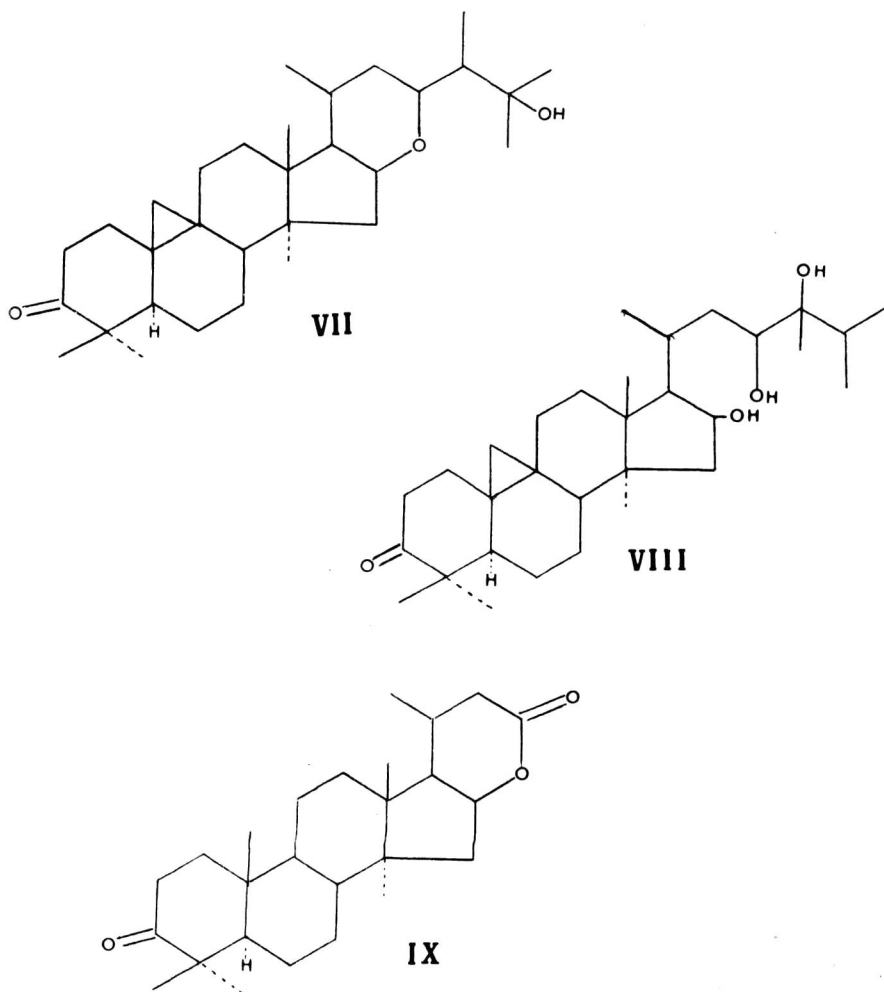
y C .

La Argentatina A (V) $C_{30}H_{48}O_4$ con punto de fusión de 174-175°C. es un triterpeno tetracíclico del tipo del Cicloartenol⁷ (IV) como se demostró por medio de reacciones de oxidación. Se obtuvo la dicetona (VI) a partir de la Argentatina A y se comparó directamente con la dicetona obtenida a partir del Cicloartenol. Al ser exactamente iguales se estableció la estructura y estereoquímica de la Argentatina A .



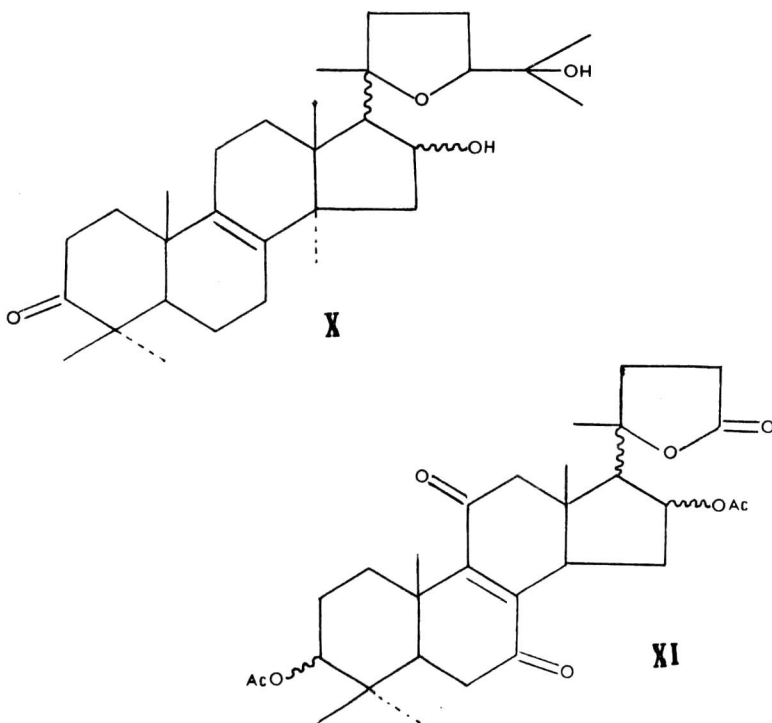
La Argentatina B (VII) $C_{31}H_{50}O_3$ con punto de fusión de 175-176°C. y la Argentatina C (VIII) $C_{31}H_{52}O_4$ con punto de fusión de 174°C. tienen estrecha relación pues de ambas se puede obtener por oxidación la cetolactona (IX) .

Basándose en estudios espectroscópicos , transformaciones químicas y en la íntima relación biogénica que debe existir entre las tres Argentatinas se propusieron sus estructuras numeradas (VII) y (VIII) .



Del Parthenium incanum¹⁵ ó mariola , se aisló en 1970, la Incanilina (X) $C_{30}H_{48}O_4$ con punto de fusión de 183-184°C. un nuevo triterpeno tetracíclico ; este último no tuvo esqueleto del tipo del Cicloartenol (IV) , pues se demostró que su estructura es (X) , es decir de una substancia del tipo del Lanosterol⁶ (II) .

A partir de la Incanilina se obtuvo la dicetolactona (XI) la cual fue comparada directamente con la obtenida a partir de la Argentinina A (V) . Resultaron ser iguales por lo que se determinó casi totalmente la estructura como (X) .



Debido a los antecedentes descritos y con el objeto de ver si otras especies Parthenium de la sección Parthenichaeta contienen triterpenos tetracíclicos , se realizó este trabajo cuyo objetivo fue estudiar Parthenium fruticosum que es una especie de esta sección.

Se encontraron tres triterpenos tetracíclicos , uno se identificó como Incanilina y dos nuevos ; entre estos últimos , uno tiene esqueleto de Cicloartenol (IV) y el otro lo tiene como en el - Lanosterol (II) .

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

El Parthenium fruticosum es una de las especies de este género que alcanza mayores dimensiones.

Al estudiar su madera en busca de triterpenos tetracíclicos se lograron aislar tres de ellos , el más polar $C_{30}H_{48}O_4$ con punto de fusión de 184-185°C. fue identificado como Incanilina (X) por medio de sus constantes físicas y por comparación directa con una muestra auténtica ; para mayor seguridad se prepararon algunos derivados como son los productos de oxidación a dicetona (XII) y dicetolactona (XIII) , ambas sustancias fueron idénticas a muestras auténticas de las sustancias anteriores .

En su espectro de Infrarrojo (Espectro No. 1) , la Incanilina presenta una banda en 1710 cm^{-1} . debida a cetona en anillo de seis miembros y una banda ancha en $3350\text{-}3500\text{ cm}^{-1}$. causada por los oxhidrilos presentes en la molécula.

En su espectro de R.M.N. (Espectro No. 5) aparecen dos señales a campo bajo : una señal se observa en 4.7 ppm. y se debe a la base del alcohol secundario en C_{16} , esta señal desaparece al obtenerse la dicetona y se desplaza a campo más bajo al acetilarse el oxhidrilo; la señal que aparece en 3.8 ppm. se atribuyó a la base del éter del tetrahydrofurano substituído de la cadena lateral , permanece sin desplazarse al acetilar la molécula y desapa-

rece al obtenerse la dicetolactona de la Incanilina . El oxhidrilo terciario de la Incanilina como es de esperarse , no presenta base .

En el espectro de masas (Tabla) de la Incanilina se observa el pico base a m/e 143 (100%) y otros picos que son discutidos al tratar la Fruticina A (XIV).

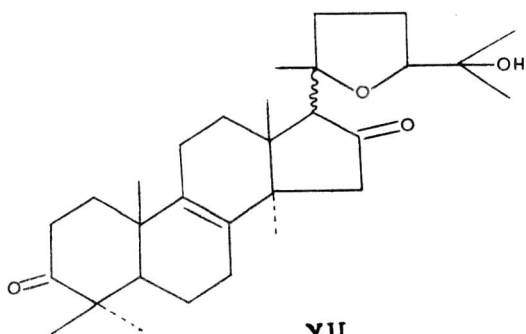
Las otras dos sustancias son triterpenos tetracíclicos no descritos aún en la literatura química.

Uno de ellos es un producto cristalino con punto de fusión de 217-218°C. que analiza para $C_{30}H_{48}O_4$, misma fórmula que presenta la Incanilina , por lo que es un isómero de ella ; no difieren mucho en r.f. debido a lo cual es muy difícil su separación.

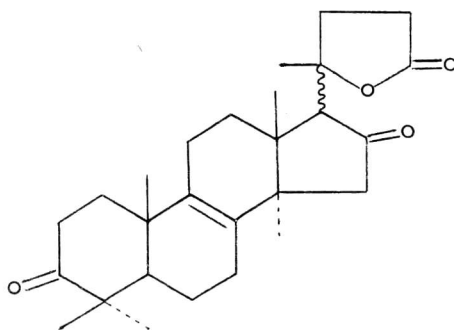
Su espectro de Infrarrojo (Espectro No.2) es muy parecido al de la Incanilina pero existen diferencias en algunos picos debidos a las vibraciones del esqueleto. Se observa una banda ancha en $3400-3500\text{ cm}^{-1}$ originada por la presencia de oxhidrilos en la molécula y un pico agudo en 1710 cm^{-1} causado por la cetona en anillo de seis miembros.

En su espectro de R.M.N. (Espectro No. 6) se observan variaciones con respecto al espectro de la Incanilina , sólo en cuanto a la posición de una señal a bajo campo y la distribución de las señales de los metilos (1.1 a 1.5 ppm.).

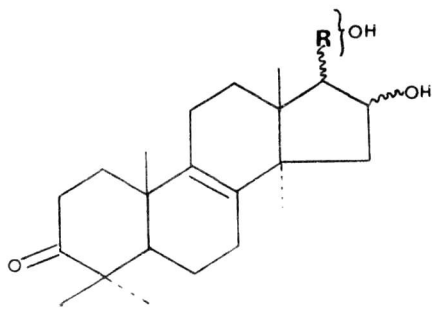
Aparecen también dos señales de bases a campo bajo , una en 4.7 y otra en 3.4 ppm., la primera coincide con la señal que tiene la Incanilina en la misma posición y que se atribuye a la base de oxhi-



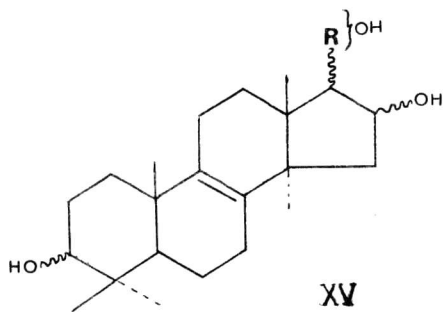
XII



XIII



XIV



XV

drilo en C_{16} .

Su espectro de masas (Tabla) revela una fragmentación bastante parecida a la de la Incanilina pues al igual que ella tiene como pico principal el fragmento m/e 143 (100%) que corresponde a la cadena lateral que contiene al parecer un tetrahidrofurano substituído del tipo de la Incanilina ó del Ocotillo¹⁶, que al fragmentarse produce un ión estable, se observan también otros picos notables como m/e 125, 71, 43, que deben provenir como se encontró en la literatura química¹⁷, de la fragmentación del tetrahidrofurano de la cadena lateral, a semejanza de la fragmentación de la Incanilina. A esta substancia se le llamó Fruticina A (XIV).

Cuando la Fruticina A se reduce con $NaBH_4$, se obtiene una substancia blanca con punto de fusión de 297-299°C. (XV).

En su espectro de Infrarrojo desaparece la señal en 1710 cm^{-1} causada por la vibración del carbonilo en anillo de seis miembros, lo que nos indica la presencia de esta cetona reducible en la molécula.

Originalmente se pensó en la posibilidad de que la única diferencia entre la Incanilina y la Fruticina A, radicara en la estereoquímica de un oxhidrilo en C_{16} , de ser verdad esto, por medio de una oxidación suave se llegaría a la misma dicetona. Se llevó a cabo la oxidación suave, obteniéndose una dicetona con punto de fusión de 192-194°C (XVI) cuyo espectro de Infrarrojo (Espectro No. 4) reveló la existencia de cetona en anillo de seis miembros y --

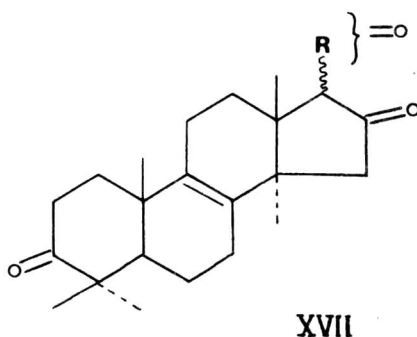
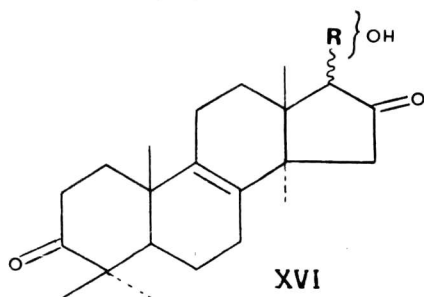
cetona en anillo de cinco miembros (bandas a 1710 y 1730 cm^{-1} respectivamente) . Sin embargo ambas sustancias fueron distintas ya que la dicetona de la Incanilina funde a $160-161^{\circ}\text{C}$. y los espectros de R.M.N. fueron diferentes. De lo anterior se dedujo que la diferencia entre ambas sustancias no es tan simple ; ésta podría deberse a una distinta posición del oxhidrilo en el anillo de cinco miembros, es decir, que en lugar de estar en C_{16} estuviese en C_{15} , esto tampoco resultó ser cierto, puesto que el patrón de fragmentación de la dicetona corresponde precisamente a cetona en C_{16} (pico a m/e 272) con estas consideraciones se llegó a la conclusión de que la desigualdad debe residir en la cadena lateral.

Esto explica algunas diferencias en comportamiento químico con respecto a la Incanilina.

Al hacer una acetilación débil de Fruticina A, se esperaba que la molécula solamente se acetilara en el oxhidrilo secundario de C_{16} como ocurre en la Incanilina , cosa que al parecer no sucedió.

La Fruticina A fue tratada a temperatura ambiente con Piridina y Anhídrido acético y resultó una sustancia cristalina blanca con punto de fusión de $282-284^{\circ}\text{C}$. y peso molecular de 514 (Espectrometría de masas).

En su espectro de Infrarrojo se presentaron un pico en 1710 cm^{-1} y otro en 1740 cm^{-1} debidos acetona en anillo de seis miembros (en C_3) y a carbonilo del acetato , respectivamente.



En el espectro de masas (Tabla) apareció como pico principal el m/e 125 (100%), el segundo pico en intensidad se observa a m/e 185 y ocupó cerca del 95% mientras que en la sustancia original de Fruticina A sin acetilar el pico de m/e 185 era insignificante de 2%. También el pico de fragmentación m/e 43 alcanzó cerca del 90%.

El nuevo pico de 185 m/e nos indicó que la acetilación debió llevarse a cabo en la cadena lateral.

Debido a lo anterior y por las condiciones de reacción suaves empleadas, se puede concluir que la cadena lateral debe comportarse como poseedora de un oxhidrilo secundario.

La Fruticina A al ser tratada en condiciones más drásticas de oxidación, se esperaba que diera lugar a una dicetolactona como sucede en la Incanilina debido a la degradación de parte de su cadena lateral por la presencia del oxhidrilo terciario, resultados que no se obtuvieron, pues se obtuvo una substancia cristalina blanca con punto de fusión de 137-139°C. y peso molecular de 468 (XVII) (Espectrometría de masas).

En su espectro de Infrarrojo en la región de los carbonilos apareció una banda ancha formada probablemente por tres picos: uno nuevo en relación con el espectro de la dicetona a 1700 cm^{-1} y debido aparentemente a una nueva cetona formada; los otros dos picos en 1710 cm^{-1} y en 1730 cm^{-1} (cetona en anillo de seis miembros y cetona en C_{16} respectivamente).

En el espectro de masas (Tabla) el peso molecular de 468 nos indicó que tan sólo se debieron perder cuatro Hidrógenos con respecto a la original Fruticina A de peso molecular 472 y dos Hidrógenos con respecto a su dicetona de peso molecular 470.

Todo esto nos hizo pensar que la oxidación dió lugar a una nueva cetona en la cadena lateral y no a una lactona como sucede en la Incanilina.

Lo anterior reforzaría la hipótesis de que la cadena lateral de Fruticina A debe comportarse como poseedora de un oxhidrilo secundario y no terciario como la Incanilina, ni tampoco primario.

Además en el espectro de masas (Tabla) el pico del - fragmento estable debido a la cadena lateral m/e 143 apareció como 5% , siendo originalmente el pico principal de 100%. Ahora como pico principal apareció el m/e 272 (100%) que también se presentaba en el espectro de su dicetona pero como 30%.

Se observaron nuevos picos de m/e 141, 123 , con dos unidades menos que los fragmentos de la cadena lateral , a diferencia de los espectros del original y sus otros derivados.

Al presentarse el pico del fragmento m/e 141 (33%) y desaparecer el pico m/e 143 (5%) , se corroboró que la oxidación debió llevarse a cabo en la cadena lateral y que ésta se debe comportar químicamente como poseedora de un oxhidrilo secundario.

Sin embargo, no se puede afirmar que en la cadena lateral se encuentre un oxhidrilo secundario , porque según los espectros de masas y consideraciones biogenéticas hacen suponer que la cadena lateral debe ser del tipo de la Incanilina y al situar un oxhidrilo secundario en ella , en el espectro de R.M.N. de la substancia original de Fruticina A debieran aparecer tres bases a campo bajo , pero únicamente aparecen dos.

A la otra substancia encontrada se le denominó Fruticina B (XVIII) $C_{30}H_{48}O_4$ es también un triterpeno tetracíclico isómero de las anteriores substancias.

Forma cristales con punto de fusión de 235-236°C. , tiene exactamente el mismo r.f. que la Fruticina A , y sólo se pueden separar por medio de cromatografía en columna muy lentamente eluída ó por cristalización fraccionada.

Sus cristales son blancos brillantes en forma de escamitas y no en forma de agujas que es como cristaliza la Fruticina A - (estas cristalizaciones son en forma lenta ya que al raspar las paredes del matraz , ambas cristalizan en forma de grumos y aún en mezcla).

El espectro de Infrarrojo de la Fruticina B (Espectro No. 3) es casi igual que el espectro de la Fruticina A aún en los picos debidos a las vibraciones del esqueleto de la molécula . Se observa el pico ancho de 3400-3500 cm^{-1} originado por los alcoholes y el pico en 1710 cm^{-1} causado por la presencia de la cetona en anillo de seis miembros.

Su espectro de masas (Tabla) tiene gran parecido con los espectros de la Incanilina y de la Fruticina A , resultando otra vez como pico principal 143 m/e (100%) perteneciente al fragmento de la cadena lateral.

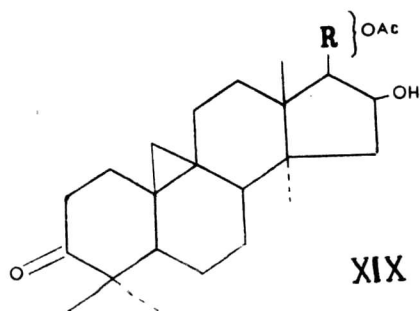
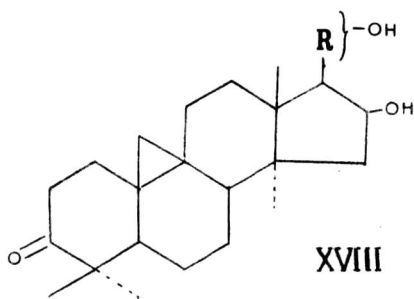
La Fruticina B , tiene un espectro de R.M.N. (Espectro No. 7) bastante semejante al espectro de la Fruticina A exceptuando

la región comprendida entre 1.0 y 1.5 ppm. correspondiente a los metilos y metilenos , y en 0.6 ppm. donde presenta una señal de anillo de tres miembros , señal que no aparece en el espectro de la Fruticina A; de 1.5 a 7.0 ppm. ambos espectros son iguales.

La Fruticina B también presenta las dos señales en 4.7 y 3.4 ppm. Esto último nos indica que esta substancia debe tener una cadena lateral bastante parecida a la Fruticina A .

De ser cierto lo anterior , se esperaba que la Fruticina B se comportara en igual forma que la Fruticina A en cuanto a las reacciones de acetilación y oxidación , resultados que sí coincidieron.

La Fruticina B se acetiló en condiciones suaves y se obtuvo un producto blanco con punto de fusión de 291-294°C. y peso molecular de 514 (XIX) , con un r.f. parecido al producto de la acetilación obtenida a partir de la Fruticina A .



El espectro de R.M.N. de la acetilación de la Fruticina B y el espectro de acetilación de la Fruticina A son iguales de 1.5 a 7 ppm., aparecen a campo bajo dos señales : una en 5.6 y otra en 4.8 ppm.; de esta forma se sigue corroborando la similitud en cuanto a la cadena lateral de las Fruticinas A y B .

En 0.6 ppm. se continúa observando la señal del ciclo de tres carbonos que no aparece en el espectro de la Fruticina A y existe ligera variación en la región comprendida entre 1 y 1.5 ppm. de los metilos y metilenos.

El espectro de Infrarrojo de la acetilación de Fruticina B es muy semejante al de la acetilación de Fruticina A , en 1710 cm^{-1} se observa el pico correspondiente a la cetona en anillo de seis miembros y en 1740 cm^{-1} el pico originado por el acetato.

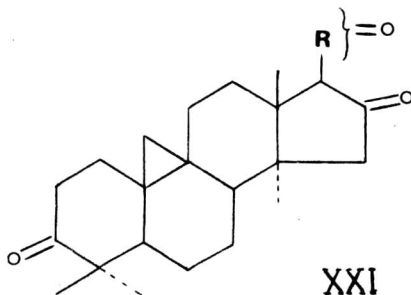
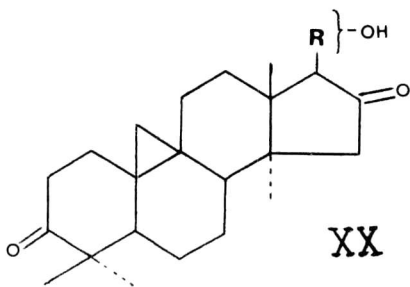
El espectro de masas del acetato de Fruticina B presenta también al igual que el de la Fruticina A , el pico nuevo de 185 m/e y los otros picos como m/e 125 , 43 , etc. que nos indican que la acetilación se debió llevar a cabo en la cadena lateral.

La Fruticina B , se oxidó con reactivo de Jones en baño de hielo y se obtuvo la dicetona (XX) con punto de fusión de 157-159°C. substancia cristalina blanca cuyo espectro de Infrarrojo reveló los picos esperados en 1710 cm^{-1} debido a la cetona en anillo de seis miembros y en 1730 cm^{-1} originado por la presencia de la cetona en C_{16} .

La Fruticina B fue tratada en condiciones más fuertes de

oxidación (XXI) y tampoco se obtuvo la dicetolactona como en la Incanilina , sino que como en el caso de la Fruticina A , en el espectro de Infrarrojo se obtienen los mismos picos en 1700 cm^{-1} : (nueva cetona formada en la cadena lateral) , en 1710 cm^{-1} : (cetona en C_3) y en 1730 cm^{-1} : (cetona en C_{16}).

Por todo lo anterior se dedujo que la Fruticina B , debe tener la misma estructura general que la Fruticina A y que difiere en la formación de un anillo de tres átomos de carbono , que esta diferencia no se encuentra en la cadena lateral sino en el esqueleto de tal manera que no altere mucho su espectro de fragmentación de masas en relación a los espectros de fragmenta-



ción de los esqueletos de Incanilina y Fruticina A .

Investigando en la literatura química se encontró que el esqueleto debe ser del tipo de la Argentatina A¹³ (V) que también se obtuvo del género Parthenium .

Se comparó en forma directa el espectro de la Argentatina A con el espectro de la Fruticina B y se encontró gran similitud en la forma de la señal a 0.6 ppm. causada por la presencia del ciclopropano , hubo diferencias en la región comprendida entre 1.0 y 1.5 ppm., también en la posición de las bases a bajo campo que comprobaron tener exactamente la misma posición de las señales de la Incanilina , ya que ambas sustancias Incanilina y Argentatina A presentan la misma cadena lateral.

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

Aislamiento de Fruticina A , Fruticina B e Incanilina .

La madera molida de Parthenium fruticosum se extrajo tres veces , cada una con 16 litros de cloroformo y 12 horas de reflujo. Se concentraron y se obtuvieron 100 g. de extracto.

Se montó una columna de 11 cm. de diámetro y aproximadamente 1.5 m. de largo con 1.4 Kg. de sílice fina y Benceno.

Se vertió el extracto y se comenzó a eluir con Benceno al 100%.

En las primeras fracciones 12-38 apareció una substancia con punto de fusión de 145-147°C. que no fue triterpeno tetracíclico, que salió muy sucia y en pequeñas cantidades. Se siguió eluyendo la columna hasta que dejó de obtenerse substancia.

(fracciones de 500 ml.).

Se cambió la concentración al 10% Acetato de etilo y 90% Benceno y se continuó eliminando impurezas cada vez en menor cantidad en fracciones de un litro cada una.

Por fin en las fracciones 126-145 , aún conservando la polaridad de 10% Acetato de etilo y 90% Benceno comenzaron a salir cristales de Fruticina A bastantes puros.

En las fracciones 146-156 se obtuvo una mezcla de Fruticina A y Fruticina B , ya que el punto de fusión variaba entre 205-225°C. aunque en la plaquita cromatográfica corrida en 25% Benceno y 75%

Acetato de etilo apareció una sola manchita , debido a que tienen el mismo r.f. .

En las fracciones 157-184 se obtuvo con mayor pureza la Fruticina B .

En las fracciones 185-203 se obtuvo una mezcla de Fruticina B e Incanilina , esto se detecta por variaciones en el punto de fusión de la mezcla y también porque en las plaquitas cromatográficas de sílice corridas en Benceno 25% y Acetato de etilo 75% aparecen ya dos manchitas diferenciables.

La Incanilina es el último triterpeno que se obtiene de la columna, pues apareció en las fracciones 204-247 bastante pura ; curiosamente en las plaquitas cromatográficas de sílice antes mencionadas , la Incanilina se encuentra arriba de las Fruticinas A y B .

Todo este período de elución se hizo sin cambiar la polaridad de Benceno 90% y Acetato de etilo 10% , y en fracciones de un litro .

En forma pura se obtuvieron 1.55 g. de Fruticina A , 740 mg. de Fruticina B y 1.95 g. de Incanilina.

Las mezclas resultantes se reunieron y pesaron 3.5 g. , los cuales se volvieron a fraccionar en otra columna.

(Nota : Al hacer la separación en columnas más delgadas con menor cantidad de extracto se logró una separación más defectuosa , se obtuvieron pequeñas cantidades de Fruticina A pura y

mezcla de Fruticina A con Fruticina B , mezcla de Fruticina B con Incanilina e Incanilina pura ; pero no se logró la difícil separación de Fruticina B , que es la substancia que eluye en forma intermedia con respecto a las otras dos.).

(Importante : Al ir eluyendo con Benceno 90% y Acetato de etilo 10% , la cantidad de cristales obtenida es muy pequeña , pero están muy puros. Si se cambia la polaridad en la columna de la usada , a Benceno 80% y Acetato de etilo 20% , se obtiene una mezcla de las tres substancias.)

La Incanilina (X) de Parthenium fruticosum con punto de fusión de 184-185°C., $C_{30}H_{48}O_4$ y peso molecular 472 ; fue identificada por comparación directa con una muestra auténtica por métodos usuales. ν máxima : 1710 y 3400 cm^{-1} (cetona en anillo de seis miembros y oxhidrilos respectivamente).

La Fruticina A (XIV) con punto de fusión de 217-218°C., $C_{30}H_{48}O_4$ y peso molecular de 472 (Espectrometría de masas) ; ν máxima : 1710 y 3400 cm^{-1} (cetona en anillo de seis miembros y oxhidrilos respectivamente)

Fruticina A

Calculado para $C_{30}H_{48}O_4$			Encontrado		
C	76.22	%	C	76.20	%
H	10.24		H	10.50	
O	13.54		O	13.58	

La Fruticina B (XVIII) con punto de fusión de 235-236°C. y peso molecular de 472 (Espectrometría de masas)
 ν máxima : 1710 y 3400 cm^{-1} (cetona en anillo de seis miembros y oxhidrilos respectivamente).

Calculado para $C_{30}H_{48}O_4$			Encontrado		
C	76.22	%	C	76.00	%
H	10.24		H	10.09	
O	13.54		O	14.04	

Dihidro Fruticina A. - (reducción con NaBH_4) (XV)

A una solución de 100 mg. de Fruticina A en 10 ml. de Metanol se agregaron 100 mg. de NaBH_4 disueltos en 10 ml. de Metanol , se pusieron a reflujo durante 11 horas. (debido a que el producto dihidro tiene un r.f. muy parecido al de la Fruticina A , probablemente no se detectó el tiempo exacto en que se llevó a cabo la reacción) se agregó agua para parar la reacción y se dejó que cristalizaran de agua. Se obtuvieron por recristalización 85 mg. de substancia bastante pura con punto de fusión de $297\text{-}299^\circ\text{C}$. ν máxima : 3400 cm^{-1} (oxhidrilos).

Calculado para $\text{C}_{30}\text{H}_{50}\text{O}_4$		Encontrado	
C	75.90 %	C	75.64 %
H	10.62	H	10.70
O	13.48	O	13.58

Dihidro Fruticina A (reducción con LiAlH_4) (XV)

A una solución de 100 mg. de LiAlH_4 en 10 ml. de Tetrahydro furano anhidro, se le agregó poco a poco una solución de 100 mg. de Fruticina A en 10 ml. de Tetrahydro furano anhidro.

Posteriormente se colocaron a reflujo media hora. Se paró la reacción por adición de etanol y después agua y se esperó a que cristalizaran de agua. Resultaron 80 mg. de producto dihidro de la Fruticina A con punto de fusión de $297\text{-}299^\circ\text{C}$. que fue idéntica a la substancia obtenida usando NaBH_4 .

Dicetona de Fruticina A. (XVI).

Se disolvieron 130 mg. de Fruticina A en acetona suficiente y se enfrió la solución en baño de hielo, se agregó gota a gota reactivo de Jones hasta que persistió el color anaranjado. Se retiró del baño de hielo y se siguió agregando reactivo de Jones a temperatura ambiente. Se siguió la reacción por medio de plaquitas cromatográficas de sílice corridas en Benceno 80% y Acetato de etilo 20%.

Cuando la primera manchita de la reacción fue más intensa en relación con la sustancia original y comenzó a aparecer una manchita superior, se paró la reacción agregando agua.

Se dejó a que cristalizaran de agua. (tardan de dos a tres días a temperatura ambiente porque la evaporación de la Acetona es lenta.).

Se obtuvieron 110 mg. de la mezcla que se colocaron en una placa de sílice grande la cual se corrió dos veces en Benceno 80 % y Acetato de etilo 20%.

Se separó la primera mancha de reacción más intensa detectada por revelado con Sulfato cérico, que resultó ser una sustancia cristalina blanca con punto de fusión de 192-194°C. ν máxima: 1710, 1730 y 3450 cm^{-1} (cetona en anillo de seis miembros, cetona en anillo de cinco miembros en C_{16} y oxhidrilo, respectivamente). El peso molecular fue determinado por espectrometría de masas y fue de 470.

Acetilación de Fruticina A.

Cien miligramos de Fruticina A en una solución de 1 ml. de Piridina y 1 ml. de Anhídrido acético se dejaron en reposo a temperatura ambiente durante tres días, se siguió periódicamente la reacción por medio de plaquitas cromatográficas de sílice corridas en Benceno 80% y Acetato de etilo 20%.

Al conseguir que apareciera con mayor intensidad en la plaquita cromatográfica el primer producto de la reacción, se le agregó agua y se dejó que cristalizaran de agua (2 a 3 días).

Los cristales resultantes se filtraron y se obtuvo una mezcla de 95 mg. que fue puesta en una placa grande de sílice que corrida dos veces en Benceno 80% y Acetato de etilo 20% separó 52 mg. de producto cristalino blanco con punto de fusión de 282-284°C. y peso molecular determinado por espectrometría de masas de 514.

Calculado para $C_{32}H_{50}O_5$		Encontrado	
C	74.67 %	C	74.10 %
H	9.79	H	9.55
O	15.54	O	15.43

ν máxima : 1710 , 1740 y 3450 cm^{-1} (cetona en anillo de seis miembros , acetato y oxhidrilo respectivamente).

Tricetona de Fruticina A . (XVII).

A una solución de 100 mg. de Fruticina A en suficiente Acetona para su completa disolución se agregó gota a gota y a temperatura ambiente , reactivo de Jones hasta que persistió el color naranja ; después se puso con agitación magnética y se siguió agregando reactivo de Jones a fin de mantener la coloración anaranjada.

Se siguió la reacción usando plaquitas cromatográficas de sílice corridas en Benceno 80% y Acetato de etilo 20%.

Cuando se logró obtener con intensidad la segunda manchita superior , se paró la reacción por adición de agua y se esperó a que cristalizara de agua (2 a 3 días) (Estos cristales también se pueden extraer con Cloroformo y hacer los subsecuentes lavados con NaHCO_3 primero , y después agua hasta pH neutro y posterior secado con Na_2SO_4 anhidro, aunque el rendimiento no es el mismo.).

Una vez obtenida la mezcla producto de la reacción se corrió una placa grande de sílice en Benceno 80% y Acetato de etilo 20%, dos veces. Se logró separar una substancia cristalina con punto de fusión de $137-139^\circ\text{C}.$.. Peso molecular determinado por espectrometría de masas de 468.

ν máxima : 1700 , 1710 y 1730 cm^{-1} (nueva cetona formada , cetona en anillo de seis miembros y cetona en anillo de cinco miembros en C_{16} .).

Dicetona de la Fruticina B . (XX).

Se trataron 70 mg. de Fruticina B en las mismas condiciones, antes mencionadas, para obtener la dicetona de la Fruticina A y se obtuvieron 30 mg. de una sustancia cristalina blanca con punto de fusión de 157-159°C. y peso molecular de 470 (Espectrometría de masas).

Picos principales en Infrarrojo : 1710 , 1730 y 3450 cm^{-1} correspondientes a cetona en anillo de seis miembros , cetona en C_{16} y oxhidrilos respectivamente.

Acetilación de Fruticina B (XIX).

85 mg. de Fruticina B se disolvieron en Piridina y Anhídrido acético y se trataron en iguales condiciones usadas para obtener el producto acetilado de Fruticina A .

En este caso resultaron cristales también blancos pero con punto de fusión de 291-294°C.

Calculado para $\text{C}_{32}\text{H}_{50}\text{O}_5$		Encontrado	
C	74.67 %	C	74.39 %
H	9.79	H	9.81
O	15.54	O	15.43

Picos principales en el espectro de Infrarrojo : 1710 , 1740 y 3450 cm^{-1} correspondientes a cetona en anillo de seis miembros, acetato y oxhidrilo ; respectivamente.

Tricetona de Fruticina B. (XXI).

Siguiendo el mismo método empleado en obtener la tricetona de Fruticina A , se trabajaron 60 mg. de Fruticina B que dieron origen a 10 mg. de sustancia blanca con punto de fusión de 137-140°C.

ν máxima : 1700 , 1710 y 1730 cm^{-1} correspondientes a la nueva cetona formada en la cadena lateral , cetona en anillo de seis miembros y cetona en C_{16} .

Para las cromatografías de columna se utilizó Sílica-Gel 60 Merk (70-230 mesh ASTM). Las plaquitas de cromatografía de sílice capa fina y las placas grandes de cromatografía de capa gruesa fueron Sílica-Gel F-254 .

Los puntos de fusión fueron determinados en un aparato Fisher-Johns y no están corregidos.

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

Los espectros de R.M.N. fueron determinados por el Dr. Eduardo Díaz, Ing. Quím. Raymundo Saucedo, Quím. Jaime Escobosa; en el espectrómetro Varian A-60, en solución de deuterio-cloroformo usando tetrametilsilano como referencia interna.

Los espectros de masas fueron determinados por el Dr. Eduardo Cortés, Quím. Rosa Zugazagoitia, Quím. René Miranda y Quím. Elizabeth Real de León. Los espectros de masas se hicieron por Introducción directa en un espectrómetro de masas Hitachi Perkin Elmer RMU 6D.

Los espectros de I. R. se determinaron en espectrofotómetros Perkin-Elmer modelo 337 y modelo 567, en pastilla de KBr y película de cloroformo. Los espectros de U.V. se determinaron en un espectrofotómetro Perkin-Elmer modelo 202. ; por el Quím. Noé Rosas, el Quím. J. Nader, y la Quím. Irma Aguilar A..

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

- 1.- Se aisló Incanilina y dos triterpenos tetracíclicos nuevos.
- 2.- Se demuestra la coexistencia en Parthenium fruticosum de triterpenos tetracíclicos con doble ligadura 8 , 9 y un triterpeno tetracíclico con anillo de ciclopropano.
- 3.- Se demuestra que los triterpenos tetracíclicos - son metabolitos secundarios característicos de la sección Parthenichaeta del género Parthenium.

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

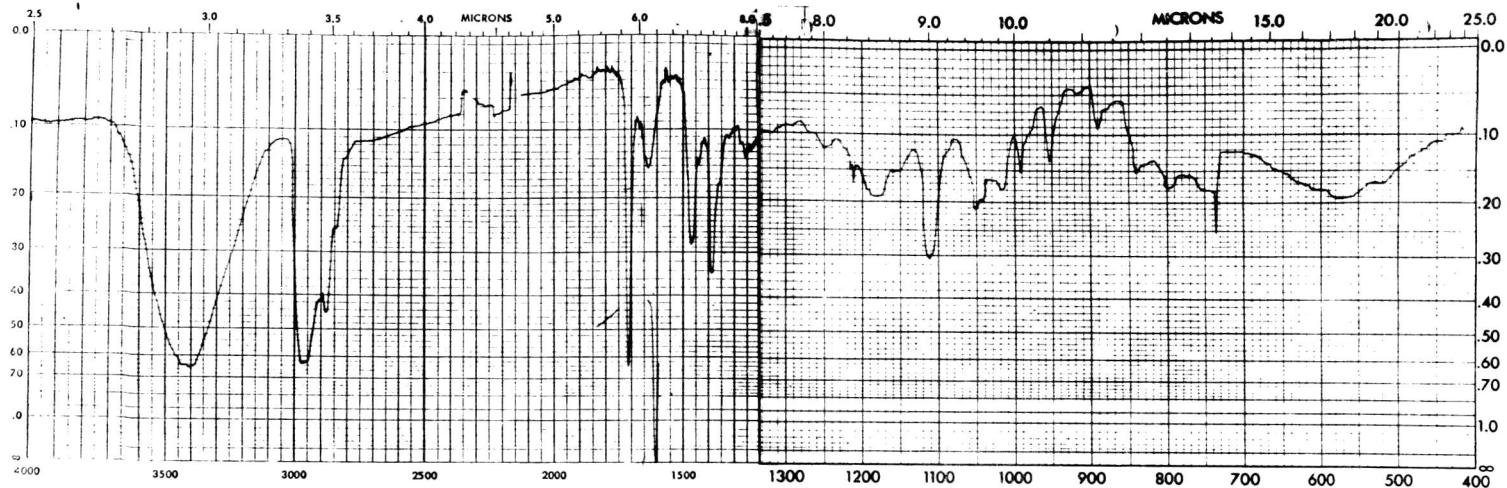
1. - Recent advances in Phytochemistry. Vol. I . Ponsinet, G. , Ourisson, G. and Oehlschlager, A.C. . Systematic aspects of the distribution of di and triterpenes. pag.271 Appleton Century Crofts. , New York . 1968.
2. - Geissman, T.A. and Crout, D.H.G. . Organic Chemistry of secondary plant metabolism. pag. 313 . Freeman , Cooper and Company. U.S.A. . 1969.
3. - Eschenmoser, A. , Ruzicka, L. , Jeger , O. and Arigoni , D. Helv. Chim. Acta, 38 : 1890. 1955.
4. - Ourisson G. , Crabbé P. Les triterpènes tetracycliques. Avant - Propos par Edgar Lederer Herman. pag. 99 . Paris . 1961.
5. - The chemistry of Natural Products. Vol. III . P.de Mayo . The higher terpenoids. pag. 64 . Chap. 2 . The triterpenoids. Interscience Publishers L.T.D. London , U.S.A. . 1959.
6. - Ruzicka , L. , E. Rey , and A.C. Muhr , Helv. Chim. Acta , 27 472 1944 .
7. - Barton, D.H.R. , J. Chem. Soc. , 1951 , 1444.
8. - Recent advances in Phytochemistry. Vol. 6 . Terpenoids: Structure , Biogenesis and Distribution. pag. 97 . Goodwin, T.W.. Recent Developments in the biosynthesis of Plant triterpenes . Academic Press. New York and London. 1973 .
9. - Goad, L.J. and Goodwin , T.W. . 1972 In "Progress in Phytoche-

- mistry" pag. 113 . Wiley (Interscience) New York.
- 10.- Rees H.H. , L.J. Goad and T.W. Goodwin. 1968. a. Biochem. J. 107 : 417 .
 - 11.- Polhamus , R.G., Botany Production and Utilization . World Crops Series. Rubber. pag. 106 . New York . 1962 .
 - 12.- Rodríguez E., Yoshioka H. and Mabry T., Phytochemistry . 10 . 1145 . 1971.
 - 13.- L. Rodríguez Hahn, A. Romo de Vivar , A.Ortega , M.Aguilar y J. Romo. Revista Latinoamericana de Química. (R.Lat. Quim.) 1. pag. 24 . 1970.
 - 14.- Rodríguez, E., Yoshioka, H. and Mabry, T.J. . R. Lat. Quim. 4 . pag. 184 . 1971 .
 - 15.- A. Romo de Vivar , C. Guerrero y G.Wittgreen. R.Lat.Quim. 1 . pag. 39 . 1970 .
 - 16.- Warnhoff, E.W. and Halls C.M.M. . Desert Plant Constituents. II Ocotillo . Canadian J. of Chemistry. 43 . 3311. 1965.
 - 17.- Budzickiewicz, Djerassi and Williams. Structure Elucidations of Natural Products by Mass Spectrometry . Vol. II. Holden-Day.Inc. San Francisco , London , Amsterdam . pag. 270. 1964.

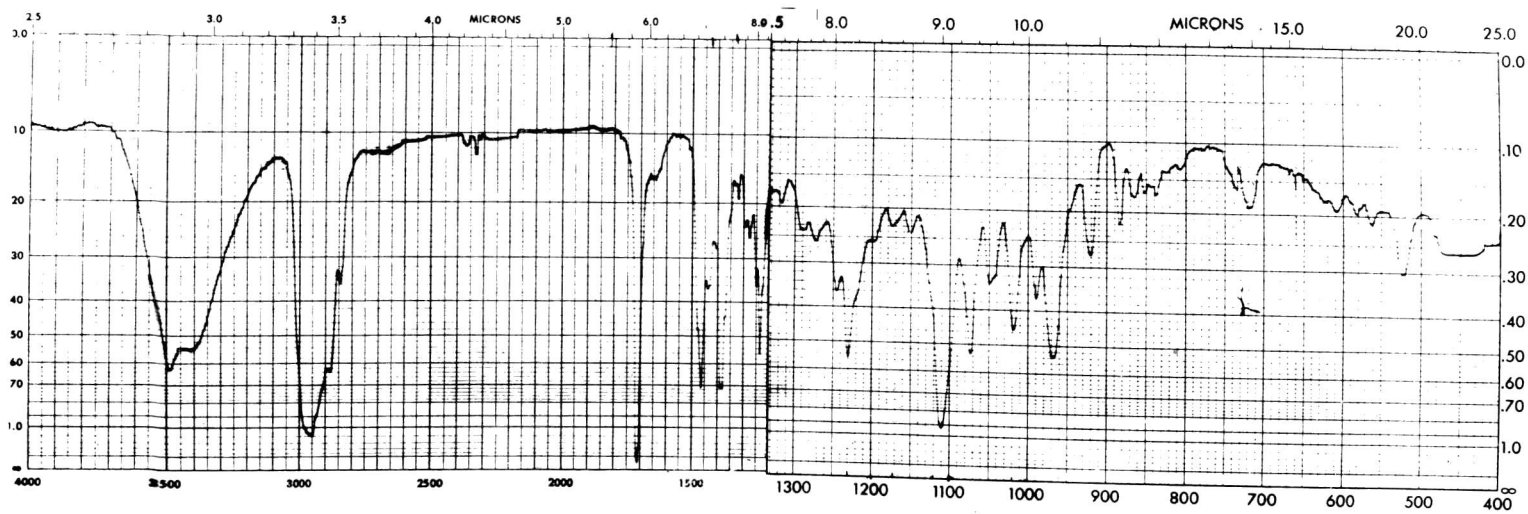
Tabla de Espectrometría de Masas.

Fragmentos principales de los espectros de masas.

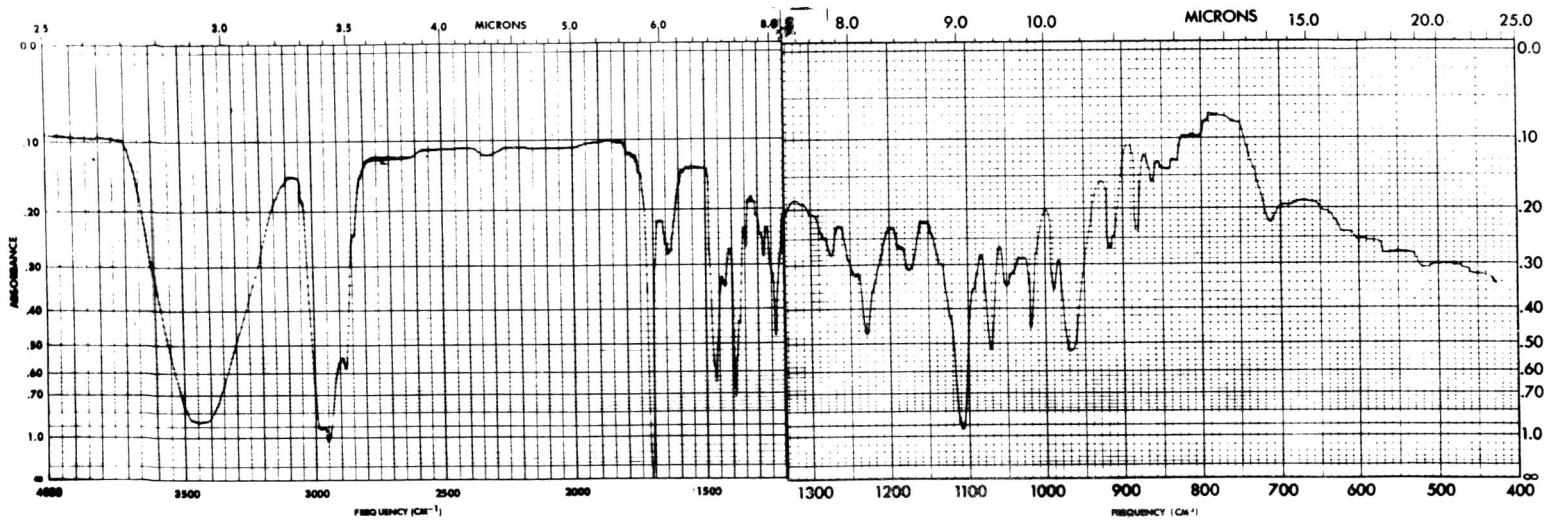
Frag- mento m/e	Inca- nilina %	Fruti- cina A %	Fruti- cina B %	Dicetona Incanilina %	Dicetona Frutic. A %	Tricetona Frutic. A %	Acetato Frutic. A %
43	64	27	71	54	87	47	93
59	28	10	38	64	19	8	9
71	24	14	23	14	42	5	14
81	24	9	11	18	17	15	16
85	22	8	11	53	18	5	8
96	14	7	10	32	9	28	5
108	9	5	5	-	5	-	30
119	11	5	7	28	32	28	13
123	9	-	-	16	14	28	6
125	21	22	23	58	34	14	100
141	-	-	-	16	5	35	-
143	100	100	100	46	100	5	58
185	-	2	-	15	7	-	95
271	21	5	1	79	25	21	5
272	9	-	-	100	33	100	4
273	-	-	-	24	-	41	-
395	-	-	-	-	-	40	-
397	5	-	-	58	5	-	-
412	-	-	-	88	-	-	-



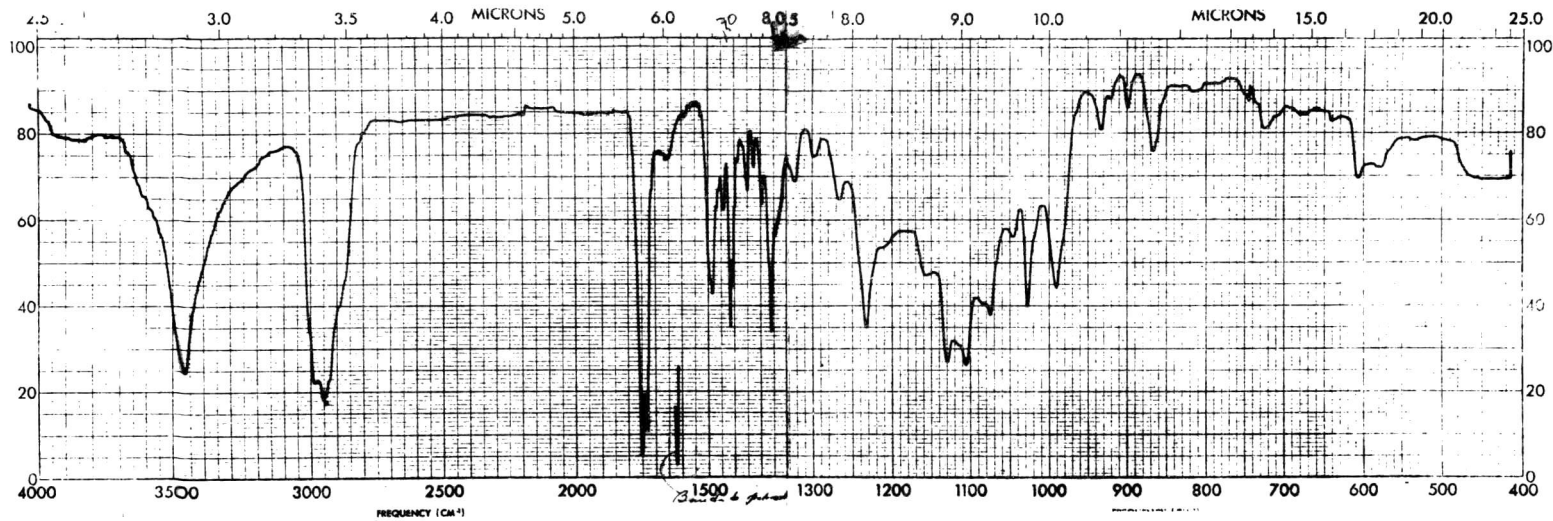
Espectro No. 1 .



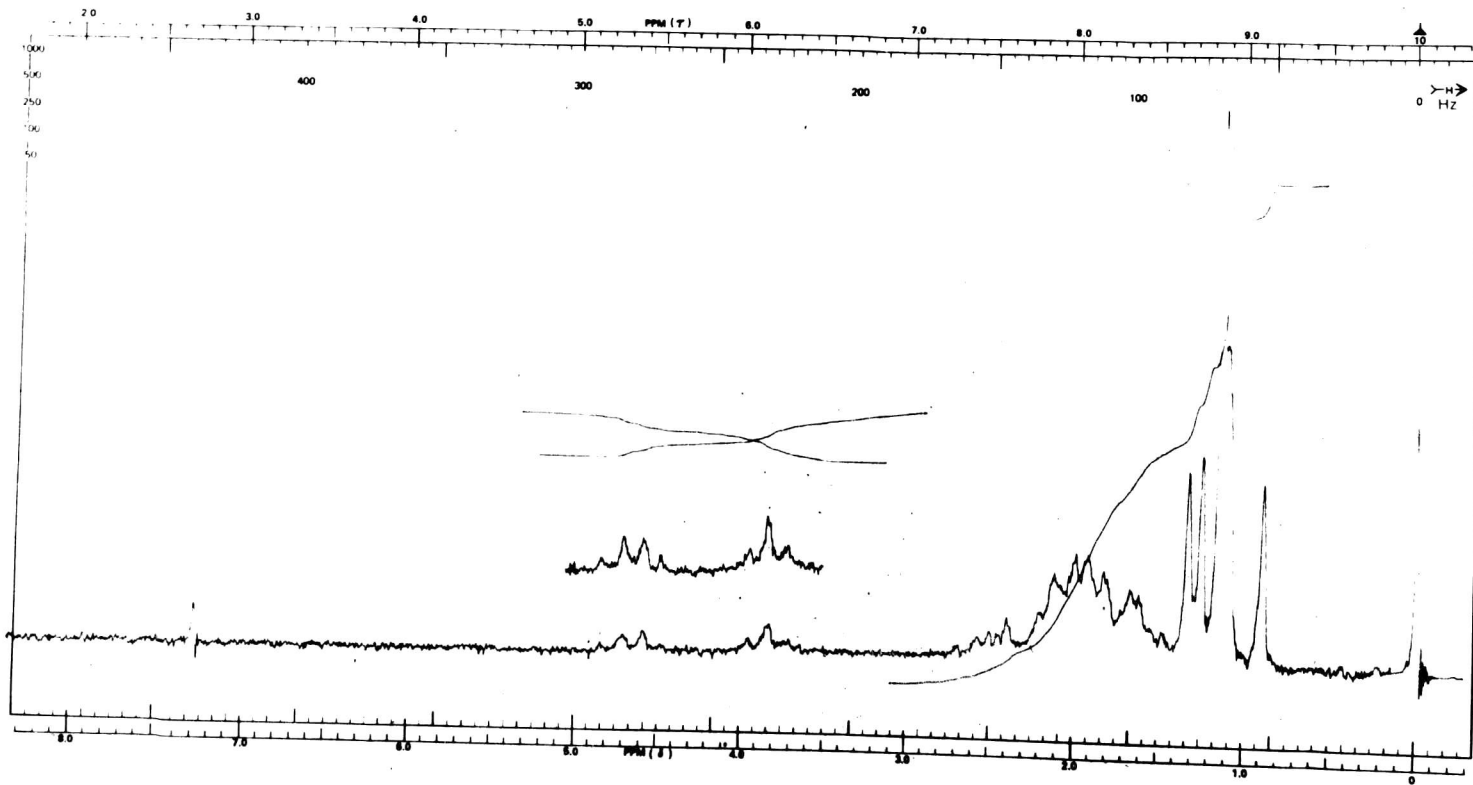
Espectro No. 2 .



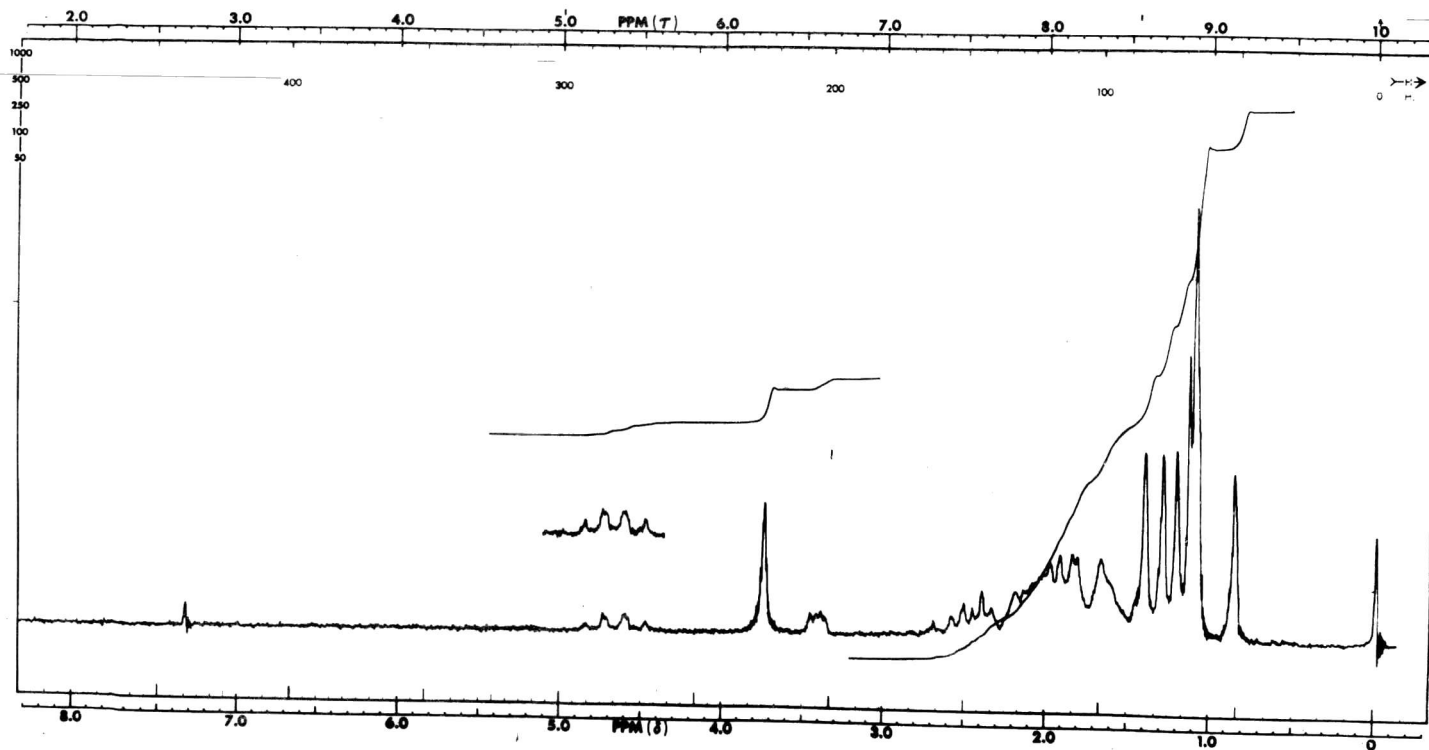
Espectro No. 3 .



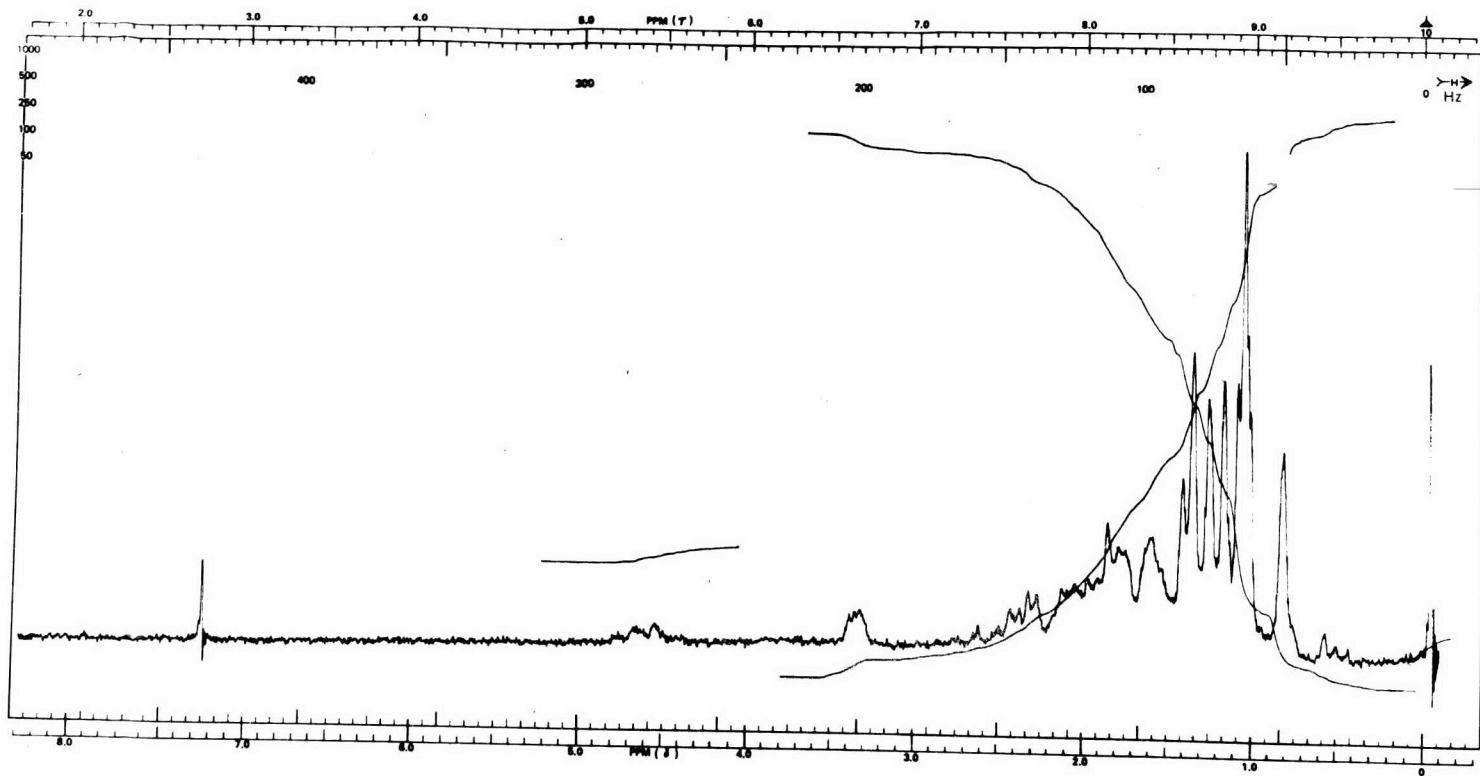
Espectro No. 4 .



Espectro No. 5 .



Espectro No. 6 .



Espectro No. 7 .