

00570 2  
209

# UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA



TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

## ESTUDIO FITOQUIMICO DE *Wigandia kunthii* (HIDROPHYLLACEAE). DETERMINACION DE LA ESTEREOQUIMICA Y CONFORMACION DEL WIGANDOL Y WIGANDIONA

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS QUIMICAS  
(QUIMICA FARMACEUTICA)

P R E S E N T A

Q.F.B. GUILLERMINA CECILIA GARCIA PEREZ

ASESOR: DR. LEOVIGILDO QUIJANO



Universidad Nacional  
Autónoma de México



## **UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso**

### **DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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

## INDICE

<b>TABLA DE ABREVIATURAS</b>	i
<b>1.- RESUMEN</b>	ii
<b>2.- INTRODUCCION</b>	1
<b>3.- GENERALIDADES</b>	2
3.1- Antecedentes Químicos de la Familia Hydrophyllaceae	2
3.2.- Antecedentes del Género <i>Wigandia</i>	4
<b>4.- DISCUSION Y RESULTADOS</b>	19
4.1- Estudio Fitoquímico de <i>Wigandia kunthii</i>	19
4.2.- Determinación de la Estereoquímica y la Conformación del Wigandol.	29
4.3.- Determinación de la Estereoquímica y la Conformación de la Wigandiona.	38
4.4.- Consideraciones Biogénicas	42
<b>5.- CONCLUSIONES</b>	46
<b>6.- MATERIALES Y METODOS</b>	47
<b>7.- ESPECTROS</b>	60
<b>8.- BIBLIOGRAFIA</b>	72

## LISTA DE ABREVIATURAS

UV	Ultravioleta
IR	Infrarojo
RMN <sup>1</sup> H	Resonancia Magnética Nuclear de Hidrógeno
RMN <sup>13</sup> C	Resonancia Magnética Nuclear de Carbono 13
s	señal simple
d	señal doble
da	señal doble ancha
dd	señal doble de dobles
t	señal triple
ta	señal triple ancha
td	señal triple de dobles
Me	Metilo
Ger	Geranilo
Ac <sub>2</sub> O	Anhídrido acético
EP	Eter de petróleo
AcOEt	Acetato de Etilo
DCM.	Diclorometano
Me <sub>2</sub> CO.	Acetona
C <sub>6</sub> D <sub>6</sub>	Benceno Deuterado
CDCl <sub>3</sub>	Cloroformo Deuterado
DMSO-d <sub>6</sub>	Dimetil sulfóxido deuterado
D <sub>2</sub> O	Agua deuterada (Oxido de deuterio)
pf	Punto de Fusión
λ	Longitud de onda máxima
M <sup>+</sup>	Ión molecular
J	Constante de Acoplamiento
ppm	Partes por millón
Hz	Herz
m/z	masa/carga

## RESUMEN

Del estudio químico de *Wigandia kunthii*, se aislaron 13 compuestos, cuyas estructuras fueron identificadas y establecidas mediante el uso de técnicas espectroscópicas, espectrométricas, así como por análisis de difracción de Rayos X.

De la planta fresca se aislaron tres flavonoides 5,4'-dihidroxi-6,7-dimetoxiflavonona (5)<sup>2</sup>, 5,4'-dihidroxi-6,7-dimetoxiflavona (Cirsimaritina G) (7)<sup>3</sup> y 5,4'-dihidroxi-7-metoxiflavona (Genwanina) (6)<sup>3</sup> y además dos terpenoides, el benzociclododecadieno denominado Wigandol (2)<sup>1</sup> y la 2-geranil-6-metoxibenzoquinona (1), la cual no se encuentra descrita en la literatura.

De la planta seca, además del ubiquesteroide  $\beta$ -sitosterol (13) se aislaron 5 flavonoides 7,4'-dimetoxi-5-hidroxiflavona (8)<sup>4</sup>, 5,3,3'-trihidroxi-4,7-dimetoxiflavona (9)<sup>4</sup>, 5,4'-dihidroxi-6,7-dimetoxiflavonona (5)<sup>2</sup>, Cirsimaritina G (7)<sup>3</sup>, Genwanina (6)<sup>3</sup> y seis compuestos de naturaleza terpénica; el ácido 3-farnesil-4-metoxibenzoico (12)<sup>5</sup>, el cromeno derivado de farnesilhidroquinona (Dictiochromenol) (11)<sup>6</sup>, farnesilhidroquinona (10)<sup>1</sup>, Wigandol (2)<sup>1</sup>, como también dos nuevos productos no descritos en bibliografía, el ácido 3-geranil-4-metoxibenzoico (3) y un nuevo benzociclododecadieno (quinona) que se nombró Wigandiona (4).

Se estableció también, la conformación y la estereoquímica de los dobles enlaces del ciclododecadieno en el Wigandol (2), cuya estructura quedó establecida como (Z,E)-1-Acetoxi-5,8,9,12-tetrahidro-4-hidroxi-6,10-dimetilbenzociclododeceno, por análisis de difracción de Rayos X y la Wigandiona (4) como (Z,E)-5,8,9,12-tetrahidro-6,10-dimetilbenzociclododeceno-1,4-diona. Además se realizaron algunas reacciones características del 1,5-ciclododecadieno, así como el análisis espectroscópico por RMN <sup>1</sup>H de los productos y la confirmación de la estereoquímica del producto de la pirólisis del acetato de Wigandol como un cis-1,2-divinilciclohexano (15) por difracción de Rayos X.

## ABSTRACT

The chemical study of *Wigandia kunthii* afforded thirteen substances, whose structures were identified and established by spectroscopic and spectrometric techniques as well as X Ray Diffraction Analysis.

The fresh plant material afforded three flavonoids; 5,4'-dihydroxy-6,7-dimethoxyflavanone (5)<sup>2</sup>, 5,4'-dihydroxy-6,7-dimethoxyflavone (Cirsimaritine G) (7)<sup>3</sup> and 5,4'-dihydroxy-7-methoxyflavone (Genwanine) (6)<sup>3</sup>, and two terpenoids, the benzocyclodecadiene Wigandol (2)<sup>1</sup> and 2-geranyl-6-methoxy-benzoquinone (1) which is not described in the literature.

The dry plant material afforded in addition to the ubiquitous *b*- Sitosterol, five flavonoids; 7,4'-dimethoxy-5-hydroxyflavone (8)<sup>4</sup>, 5,3,3'-trihydroxy-7,4'-dimethoxyflavone (9)<sup>4</sup>, 5,4'-dihydroxy-6,7-dimethoxyflavanone (5)<sup>2</sup>, Cirsimaritine G (7)<sup>3</sup>, Genwanine (6)<sup>3</sup>, and six terpenoids, 3-farnesyl-4-methoxybenzoic acid (12)<sup>5</sup>, Dyctiochormenol (11)<sup>6</sup>, farnesylhydroquinone (10)<sup>1</sup>, Wigandol (2)<sup>1</sup> as well as two new compounds, 3-geranyl-4-methoxybenzoic acid (3) and a benzocyclodecadien quinone named Wigandione (4).

It was also established, the conformation and stereochemistry of the double bonds of the cyclodecadien in Wigandol (2), whose structure was unambiguously established as (Z,E)-1-Acetoxy-5,8,9,12-tetrahydro-4-hydroxy-6,10-dimethylbenzocyclodecene, by X Ray Diffraction Analysis and Wigandione (4), as (Z,E)-5,8,9,12-tetrahydro-6,10-dimethyl-benzocyclodecene 1,4-dione.

Some characteristic reactions of 1,5-cyclodecadien were carried out as well as spectroscopic analysis of the products by NMR <sup>1</sup>H. Stereochemistry of the Cope product of Wigandol acetate (15), was established as a *cis*-1,2-divinylcyclohexane by X-Ray Diffraction.

## INTRODUCCION

La República Mexicana cuenta con una amplia variedad de recursos naturales, entre los cuales destaca la cubierta vegetal con más de 20,000 especies de plantas vasculares.

La principal razón de la riqueza florística en México, como en Centroamérica y norte de Sudamérica, se debe a su amplia variedad de condiciones climáticas y fisiográficas. Presentando zonas de clima árido y semiárido separadas unas de otras, así como de numerosas sierras y cadenas montañosas aisladas, que contribuyen a la aparición de endemismos. Por tal razón, México, al igual que Centroamérica y partes de Sudamérica se considera entre las zonas florísticas más ricas del mundo<sup>8,9</sup>.

Una parte de la flora mexicana esta constituida por la familia de las Hidrofiláceas (Hydrophyllaceae)<sup>10</sup>, de las cuales algunas especies desde principio de siglo han sido objeto de diversos estudios, tanto químicos como biológicos.

Desde el punto de vista biológico, el interés radica en la actividad farmacológica que presentan muchos compuestos aislados de ciertas especies de esta familia entre las que pueden citarse, la actividad dermatítica<sup>11</sup>, anticancerígena<sup>12,13</sup>, antimutagénica<sup>13</sup>, cardiotónica<sup>14</sup>, analgésica<sup>15</sup>, etc. Algunos compuestos de tipo benzoquinoides aislados de estas plantas, han demostrado que pueden causar cambios conformacionales en la cadena superhélice del ADN, lo cual es de interés por su posible aplicación en Biología Molecular<sup>16</sup>.

Desde el punto de vista químico, las hidrofiláceas son fuente de una amplia variedad de metabolitos secundarios, los cuales permiten comprobar las relaciones fitoquímicas y taxonómicas entre la familia.

De las 5 especies del género *Wigandia*<sup>10</sup>, solo tres se han estudiado químicamente. Por lo cual el estudio y conocimiento sobre la composición química del género es incompleto.

Con el objeto de contribuir a un mejor conocimiento químico de la familia y en particular del género *Wigandia*, en el presente trabajo se llevó a cabo el estudio fitoquímico de *Wigandia kunthii*.

## ANTECEDENTES QUÍMICOS DE LA FAMILIA HYDROPHILLACEAE

La familia Hydrophillaceae se encuentra constituida por 30 géneros:

<i>Aldea</i>	<i>Eutoca</i>	<i>Nemophila</i>
<i>Andropus</i>	<i>Galax</i>	<i>Nyctelea</i>
<i>Ascleia</i>	<i>Hydrolia</i>	<i>Lemonia</i>
<i>Belanthera</i>	<i>Heteryta</i>	<i>Phacelia</i>
<i>Capnurea</i>	<i>Hydrophyllum</i>	<i>Reichelea</i>
<i>Colpothrinax</i>	<i>Heteryta</i>	<i>Sterisia</i>
<i>Cohiba</i>	<i>Hesperis</i>	<i>Stevogtia</i>
<i>Decemium</i>	<i>Hesperochron</i>	<i>Tricardia</i>
<i>Draperia</i>	<i>Macrocaly</i>	<i>Turricula</i>
<i>Ellisia</i>	<i>Nama</i>	<i>Wigandia</i>

Estos agrupan aproximadamente 270 especies que en comparación con Compuestas, Labiadas y Rutaceas, se puede considerar como una familia pequeña.

Con el objeto de tener un conocimiento más amplio de los estudios químicos realizados en esta familia, así como el tipo de metabolitos secundarios que producen, se llevó a cabo la revisión bibliográfica desde 1909 hasta la fecha.

Los resultados de la revisión bibliográfica indican que ésta es una familia poco estudiada químicamente, ya que de los 30 géneros existentes sólo se tiene información química de 8 de ellos: *Ellisia*, *Eriodictyon*, *Hydrophyllum*, *Hesperis*, *Nama*, *Turricula*, *Phacelia* y *Wigandia*. Sin embargo se pudo constatar la relación quimiotaxonómica existente entre los géneros estudiados, ya que se observó cierta homogeneidad en los metabolitos aislados de la familia, encontrándose principalmente flavonoides (tri, tetra, penta, hexaoxigenados) (TABLA I). También se han aislado hidroquinonas y quinonas preniladas conocidas como "phaceloides" (TABLA II), que se han caracterizado como los responsables de la dermatitis<sup>11</sup> que ocasionan estas plantas en el hombre. También



se ha determinado que estos compuestos poseen propiedades antimutagénicas de manera similar a los "urushioles" <sup>16</sup> ( potentes antimutagenicos ) con los que tienen similitud estructural. Esto ha motivado el aumento de estudios químicos de esta familia en los últimos años, ya que estos compuestos se consideran de relevancia en el campo de la Biología Molecular.

Del exudado glandular de algunas de estas plantas también se han aislado ácidos benzoicos y derivados de estos (TABLA III), la mayoría de ellos del género *Eriodictyon*, conocido comúnmente como "yerba santa", nombre que se le da debido a sus propiedades analgésicas<sup>15</sup>.

De *Hesperis matronalis* se han aislado otro tipo de compuestos como los cardenólidos (TABLA IV) utilizados en la estimulación del corazón, por ello conocidos como glicósidos cardiotónicos<sup>14</sup>.

## ANTECEDENTES DEL GENERO WIGANDIA

### CLASIFICACION:

El género *Wigandia* esta constituida por 5 especies<sup>10</sup>, dos de las cuales agrupan 5 variedades.

	var. caracasana
<i>W. urens</i>	var. co-kunthii
	var. caracasana
<i>W. caracasana</i>	var. viscosa
	var. macrophylla
<i>W. kunthii</i>	
<i>W. scorpioides</i>	
<i>W. perviana</i>	

### MORFOLOGIA:

Son plantas perennes de aproximadamente 3 mts de altura, arborecentes, variablemente pubescentes (a menudo con pelos urticantes) y glandulares. Sus hojas se encuentran alternas y pecioladas de 10-60 cm de largo por 5-40 cm de ancho. Presenta inflorescencia terminales paniculadas como también flores dispuestas en cimas tipo escorpioides de color lila.

Esta planta comunmente se conoce como ortiga, ortiga grande, quemadora, suelda con suelda, tabaco cimarrón, tabacon, hoja de San Pablo<sup>10</sup>.

### UBICACION:

Crece en lugares de vegetación secundaria derivada de selvas, en taludes de carretera y en orillas de corrientes de agua. Se encuentra en Centroamérica, parte de Sudamérica y en la República Mexicana en los estados de Hidalgo, Morelos, Oaxaca, Puebla, Veracruz, Chiapas, Sonora, Baja California Norte y en la zona del pedregal de San Angel en el Distrito Federal<sup>9,10</sup>.

## ACTIVIDAD BIOLÓGICA

El género *Wigandia*, como otros de la familia Hydrophyllaceae, es responsable de algunos casos de dermatitis<sup>11</sup> que van de leves a severos.

*Wigandia kunthii* también conocida como Hoja de San Pablo, se ha utilizado como remedio casero contra el reumatismo y la sífilis<sup>10</sup>.

Se ha encontrado que algunas de las sustancias aisladas de *W. caracasana*; como la geranihidroquinona, la quinona A, la quinona B y farnesilhidroquinona mostradas en TABLA II, genericamente conocidos como "phaceloides", poseen propiedades dermatíticas y el potencial dermatológico de los compuestos aislados fue determinado con métodos similares al usado por Baer para la investigación del potencial dermatológico de los catecoles alquilicos<sup>10,23,24</sup>.

El mecanismo por el cual ciertos alérgenos fenólicos actúan como antígeno es debido a que al penetrar a la piel estos compuestos se oxidan, para formar la quinona. Esta es susceptible a una sustitución nucleofílica sobre el anillo, por un grupo amino y/ o sulfhidrilo de una proteína para formar el complejo antígeno-anticuerpo y así desencadenar las reacciones típicas de alergia que consisten en el enrojecimiento de la piel, comezón, inflamación<sup>24</sup>, etc.

En otros estudios efectuados *in vivo* con la geranihidroquinona, aislada de *W. caracasana*, se comprobó que esta es responsable de disminuir los efectos mutagénicos que provocan tres potentes agentes mutagénicos y carcinógenos, como son la luz ultravioleta, el benzo(α)pireno y la aflatoxina B<sub>1</sub>.

Esto se puede explicar debido a que la mayoría de los agentes protectores contra agentes carcinogénicos son antioxidantes, y estas características las poseen la geranihidroquinona así como la prenilhidroquinona y los derivados de ésta<sup>13</sup>.

La importancia biológica de este tipo de metabolitos, radica en que también son responsables del transporte de electrones en reacciones en organismos vivos, es decir que coadyuvan en procesos en cadenas de oxido-reducción, por ejemplo en la respiración, en la que muchas de ellas actúan como coenzimas<sup>27</sup>.

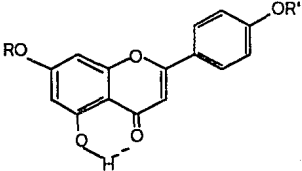
Recientemente se ha demostrado que algunos compuestos de tipo benzoquinoides causan ruptura puntual en sitios específicos en cadenas de ADN, lo cual es de interés por su posible aplicación en Biología Molecular<sup>16</sup>.

## ESTUDIOS QUIMICOS DEL GENERO WIGANDIA

La revisión bibliográfica indica que solo se han realizado tres estudios químicos de *Wigandia*<sup>1,28,29</sup>; en los cuales se reporta el aislamiento de flavonoides así como quinonas e hidroquinonas preniladas mostradas a continuación en las Tablas I y II.

Con el objeto de tener un mejor conocimiento químico de la familia y tomando en consideración los últimos avances en el conocimiento de las propiedades antimutagénicas y antileucémicas<sup>13</sup> de algunos de los metabolitos secundarios aislados de esta familia, se decidió llevar a cabo el estudio químico de *Wigandia kunthii*.

TABLA I.- FLAVONOIDES AISLADOS DE LA FAMILIA HIDROPHILLACEAE.

ESTRUCTURA			ESPECIE	REF
				
a) Crisina	R	R'	<i>Eriodictyon sessifolium</i>	17
	H	H	<i>Phacelia ixoides</i>	18
b) Apigenina	H	Me	<i>Hesperis matronalis</i>	20
			<i>Wigandia urens</i>	28
			<i>W. urens var urens</i>	28
c) Genwanina	Me	H	<i>Hesperis matronalis</i>	20
			<i>W. kunthii</i>	1
			<i>W. urens var urens</i>	28

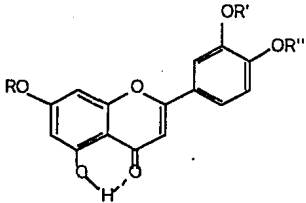
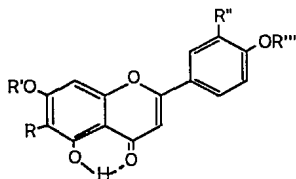
				
a) Eriodiction	R	R'	R'	
	H	H	H	<i>Eriodictyon californicum</i> 15
				<i>E. angustifolium</i> 20

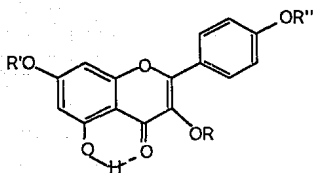
Tabla I.- Continuación

				<i>E. glustifolium</i>	22
b) Homoeriodiction	H	Me	H	<i>E. californicum</i>	15
				<i>E. angustifolium</i>	20
				<i>W. kunthii</i>	28
c) Crisoeridictiol	H	H	Me	<i>E. californicum</i>	22
				<i>E. glustinosum</i>	22
	Me	Me	Me	<i>W. urens var urens</i>	28



	R	R'	R''	R'''		
a) Escutelareina	H	Me	H	H	<i>W. urens var urens</i>	28
b) Cirsimaritina	Me	Me	H	H	<i>E. sessifolium</i>	17
					<i>W. kunthii</i>	1
c) Luteolina	H	Me	Me	Me	<i>Nama. rothrockii</i>	21
					<i>W. urens var urens</i>	28
d) Pectolaringina	Me	Me	Me	Me	<i>E. sessifolium</i>	17
					<i>W. urens var urens</i>	28

Tabla I.- Continuación



	R	R'	R''		
a) Kaemferol	H	H	H	<i>P. tanacetifolia</i>	22
				<i>H. matronalis</i>	19
				<i>Hydrophyllum canadense</i>	22
				<i>W. urens</i>	28
b) Kaemferide	H	H	Me	<i>E. sessifolium</i>	17
c)	H	Me	H	<i>W. urens</i> var <i>caracasana</i>	28
d)	Me	H	Me	<i>W. urens</i>	28
				<i>W. urens</i> var <i>caracasana</i>	28
				<i>P. tanacetifolia</i>	22
				<i>H. matronalis</i>	19
e)	H	Me	Me	<i>W. urens</i> var <i>caracasana</i>	28
				<i>H. canadense</i>	22

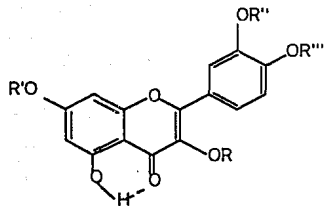
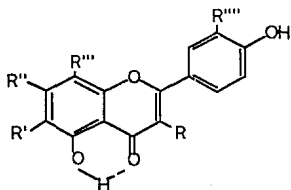


Tabla I.- Continuación

	R	R'	R''	R'''		
a) Quercetina	H	H	H	H	<i>Phacelia tanacetifolia</i>	22
	H	H	Me	H	<i>W. urens var caracasana</i>	22
b) Xanthoeriodol	H	Me	Me	H	<i>E. angustifolium</i>	22
c) Isohamnetina	Me	Me	H	H	<i>W. urens var caracasana</i>	28
d) Eriodonol	H	Me	Me	Me	<i>W. urens var caracasana</i>	28
e) Hesperatina	Me	H	Me	Me	<i>W. urens</i>	28
	Me	Me	Me	Me	<i>E. angustifolium</i>	28



	R	R'	R''	R'''	R''''		
a)	OH	OH	H	H	H	<i>Nama lobii</i>	21
						<i>N. rothrockii</i>	21
b)	H	OGlu	H	Glu	H	<i>N. lobii</i>	21
						<i>N. rothrockii</i>	21
						<i>H. matronalis</i>	19
c)	ORhaOGlu	H	ORha	H	H	<i>N. lobii</i>	21
d)	OGlu	H	H	H	OH	<i>N. rothrockii</i>	21
e)	ORhaOGlu	H	ORha	H	OH	<i>N. matronalis</i>	21



TABLA II.- BENZOQUINONAS E HIDROQUINONAS PRENILADAS  
AISLADAS DE LA FAMILIA HYDROPHILLACEAE

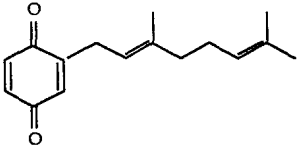
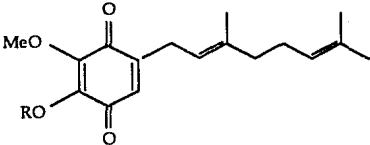
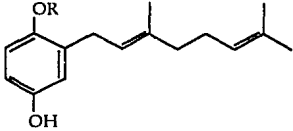
ESTRUCTURA	ESPECIE	REF
	<i>P. ixoides</i>	18
	<i>W. caracasana</i>	29
<p>R Me    Quinona A H     Quinona B</p>		
	<i>P. crenulata</i>	23
<p>R H</p>		

Tabla II.- Continuación

Ac

*P. minor*

24

*P. parry*

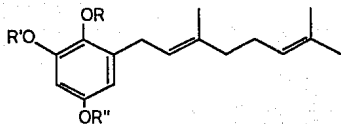
24

*P. ixoides*

18

*W. caracasana*

29



R R' R''

Ac H H

H Ac H

Ac H Me

*P. ixoides*

18

*P. ixoides*

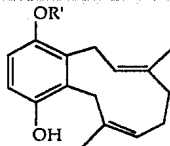
18

*P. parry*

24

*P. ixoides*

18



R

Ac

Me

*W. kunthii*

1

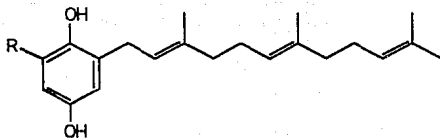
*W. caracasana*

29

*W. caracasana*

29

Tabla II.-Continuación



R

OMe

OH

H

*P. campanularia*

25

*P. pedicellata*

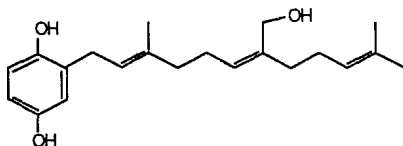
25

*W. kunthii*

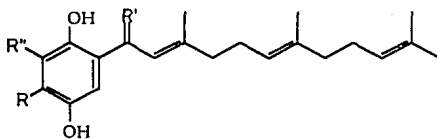
1

*W. caracasana*

29

*Turricula parryi*

26



R

R'

R''

OH

O

H

*P. campanularia*

25

*P. parryi*

24

OH

H,H

H

*P. campanularia*

25

H

O

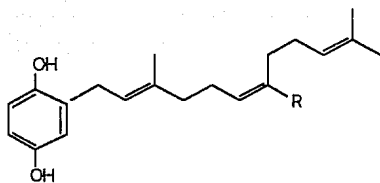
H

*P. minor*

24

Tabla II.- Continuación

		<i>P. parryi</i>	24
		<i>P. campanularia</i>	25
		<i>P. pedicellata</i>	25
H	O	<i>P. campanularia</i>	25



R

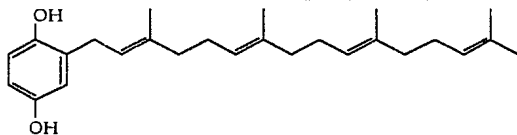
CH<sub>2</sub>-OH*T. parryi*

26

COOH

*T. parryi*

26

*P. minor*

24

*P. parryi*

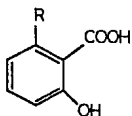
24

TABLA III.- ACIDOS BENZOICOS PRENILADOS AISLADOS  
DE LA FAMILIA HYDROPHILLACEAE

ESTRUCTURA

ESPECIE

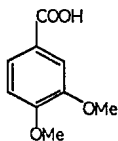
REF



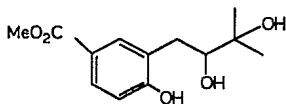
R  
H  
Me

*E. angustifolium*

22

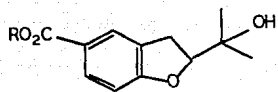
*H. matronalis*

19

*E. sessifolium*

22

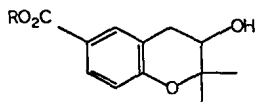
Tabla III.- Continuación



R  
Me  
H

*E. sessifolium*

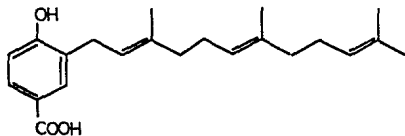
22



R  
Me  
H

*E. sessifolium*

17

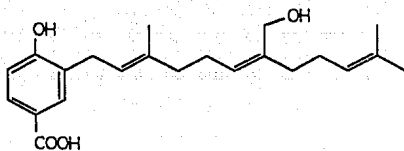
*P. campanularia*

25

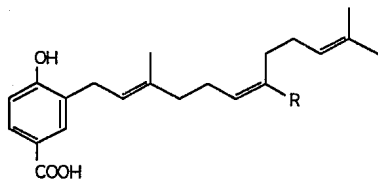
*P. pedicellata*

25

Tabla III.- Continuación

*P. campanularia*

25



R

CH<sub>2</sub>-OH

COOH

CHO

*P. campanularia*

25

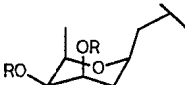
*T. parryi*

26

*T. parryi*

26

TABLA IV.- GLICOSIDOS CARDIOTONICOS AISLADOS  
DE LA FAMILIA HIDROPHILLACEAE

ESTRUCTURA	ESPECIE	REF
<p>R = </p> <p>Digitoxido de Strophanthidina</p>	<i>H. matronalis</i>	14
<p>R = H</p> <p>Strophanthidina</p>	<i>H. matronalis</i>	14



## DISCUSION Y RESULTADOS

La parte aérea de *W. kunthii* se extrajo exhaustivamente con éter de petróleo, diclorometano, acetato de etilo y metanol. Los métodos cromatográficos convencionales descritos en la parte experimental permitieron la resolución de los diferentes extractos en sus constituyentes. El análisis de sus propiedades físicas, químicas, espectroscópicas, espectrométricas, así como también información en la literatura permitió la elucidación de las estructuras de los compuestos aislados.

### ESTUDIO DE LA PLANTA FRESCA

En primer lugar se realizó un estudio preliminar con hojas de la planta fresca lográndose aislar 3 flavonoides: 5,4'-dihidroxi-6,7-dimetoxiflavona (5)<sup>2</sup>, 5,4'-dihidroxi-7-metoxiflavona (Genwanina) (6)<sup>3</sup> y 5,4'-dihidroxi-6,7-dimetoxiflavona (Cirsimaritina G) (7)<sup>3</sup> y dos compuestos de tipo terpenico; el Wigandol (2)<sup>1</sup> aislado anteriormente, además de la 2-geranil-6-metoxi-benzoquinona (1), que resultó ser un compuesto nuevo (Pag 57).

### **2-GERANIL-6-METOXIBENZOQUINONA**

La **2-geranil-6-metoxibenzoquinona (1)**, se aisló de la fracción de éter de petróleo de la cromatografía del extracto de acetato de etilo, como un aceite de color amarillo intenso, cuyas absorciones en el UV en 260, 350 nm y en el IR en 1679, 1650  $\text{cm}^{-1}$ , indican la presencia de grupos carbonilos conjugados característico de una p-benzoquinona<sup>30</sup>. Otras bandas de absorción en el IR en 1602, 1556  $\text{cm}^{-1}$  nos sugieren la presencia de otras insaturaciones.

El espectro de RMN <sup>1</sup>H (ESPECTRO I) permite suponer la presencia de un sustituyente de naturaleza terpenica ya que en el se observa la presencia de hidrógenos

vinílicos, metilenos alílicos y metilos vinílicos.

Una señal triple ancha en 5.15 ppm ( $J=7$  Hz) y una señal múltiple en 5.05 ppm, indican la presencia de dos hidrógenos vinílicos, lo que sugiere la incorporación de dos unidades isoprenicas en la molécula, esto concuerda con la presencia de las señales correspondientes a tres metilos vinílicos en 1.60 (6H) y 1.70 (3H) ppm; entre 2.10-2.15 ppm aparece una señal ancha (múltiple) que integra para 4H que se asignó a los metilenos alílicos, además de una señal doble ancha en 3.10 ppm ( $J=7$  Hz) que corresponde a los hidrogenos del metileno bencílico ( $H-1'$ ), esta última se encuentra acoplada con la señal en 5.15 ppm, la cual se debe asignar por lo tanto a  $H-2'$  del sustituyente terpénico (Fig 1)

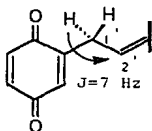


Figura 1

De acuerdo con Bates y Gale<sup>31</sup> un grupo metilo "trans" con respecto a un H vinílico se encuentra desplazado aproximadamente 0.10 ppm a campo alto, con respecto a un metilo análogo con orientación "cis", debido al mayor congestionamiento espacial que ejerce la cadena lateral. (Fig 2)

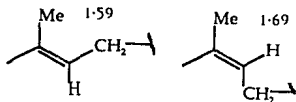


Figura 2

De acuerdo con lo anterior podemos establecer la orientación de los metilos vinílicos en el sustituyente terpénico, de tal manera que la señal simple en 1.60 ppm que integra para 6H, nos sugiere la presencia de dos metilos vinílicos con orientación "trans" con respecto al protón vinílico y la señal simple en 1.70 ppm que integra para 3H la existencia de un solo metilo con orientación "cis", estableciéndose de esta manera

la estereoquímica de la cadena lateral como un sustituyente geranilo. (Figura 3)

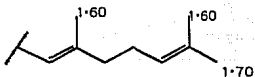


Figura 3

Por otra parte una señal simple aguda en 3.85 ppm que integra para 3H indica la presencia de un grupo metoxilo.

De acuerdo a lo hasta aquí analizado se puede establecer que el anillo p-benzoquinoido se encuentra disustituido por un grupo metoxilo y un grupo geranilo, de acuerdo con las tres posibilidades ilustradas en la Figura 4.

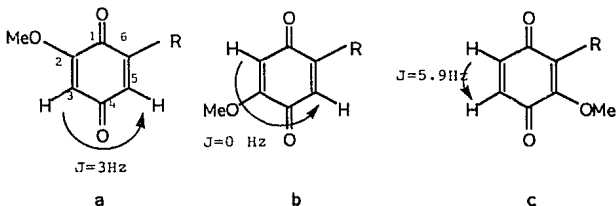


Figura 4

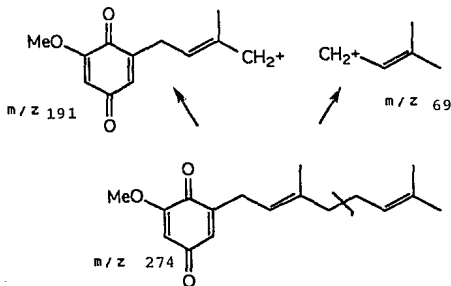
Las señales registradas en la región de los protones vinílicos, fue contundente para determinar la posición relativa de los sustituyentes.

En 5.85 ppm se observó una señal doble que integra para un H con una constante de acoplamiento de 3 Hz y en 6.45 ppm una señal doble de dobles con constantes de acoplamiento de 3 Hz y 1 Hz, que fueron asignadas a H-5 y H-3 respectivamente.

La magnitud de la constante de acoplamiento de 3.0 Hz nos permite sugerir la estructura parcial **a** como la más probable, descartando las posibilidades **b** y **c** (Figura 4), ya que las constantes de acoplamiento esperadas en el caso de estas estructuras son  $J=0.4$  y  $J=5.9$  Hz respectivamente<sup>30</sup>. Mas aún la  $J=1$  Hz en la señal a 6.45 ppm, indica que además existe una interacción a larga distancia de H-3 con los hidrógenos

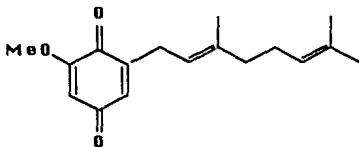
doblemente alílicos pertenecientes al grupo geranilo (H-1') (Figura 1).

El espectro de masas, presentó un ión molecular de  $m/z$  274, que es congruente para una fórmula molecular de  $C_{17}H_{22}O_3$ , además de otros picos significativos a  $m/z$  191, y 69, que son congruentes para la fragmentación del radical isoprénico<sup>32</sup> (ESQUEMA I).



ESQUEMA I

Por lo tanto de acuerdo con todos los datos espectroscópicos anteriores la estructura mas probable para el compuesto **1** corresponde a la 2-geranil-6-metoxibenzoquinona, compuesto aún no descrito en la literatura.



1

De la recromatografía de la fracción de diclorometano de la cromatografía del extracto de acetato de etilo, en las fracciones eluidas con éter de petróleo : acetato de etilo 9:1 se aisló un compuesto cristalino incoloro de  $pf=168^{\circ}$  que fue el compuesto mayoritario de la planta.

Su espectro de RMN  $^1H$  a 80 MHz (ESPECTRO II) nos indicó también la presencia de un compuesto de naturaleza tanto terpenica como aromática. En él se observaron claramente las señales correspondientes a dos metilos vinílicos en 1.60 (s, 3H) y 1.76 (s, 3H), así como un metilo de acetato en 2.0 ppm (s, 3H), y dos protones vinílicos en 5.16 ppm (m, 2H), otras señales indican la presencia de 2 metilenos bencílicos en 3.34 ppm, además de una banda ancha entre 1.75 - 2.30 ppm que se asignó a cuatro protones alílicos y finalmente dos señales dobles de un sistema AB en 6.50 y 6.70 ppm con una constante de acoplamiento de 8 Hz que corresponde a dos hidrogenos aromáticos "orto".

Los datos anteriores sugieren que se trata del Wigandol, un benzociclododecadieno aislado en el estudio anterior de *W. kunthii*.<sup>1</sup> al cual se le había asignado la siguiente estructura (Figura 5).

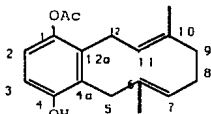


Figura 5

## ESTUDIO DE LA PLANTA SECA

Posteriormente se trabajó con las hojas secas y molidas, de las que se prepararon tres diferentes extractos: éter de petróleo, diclorometano y metanol. De estos se lograron aislar 12 compuestos. El ubiaco  $\beta$ -Sitosterol (13), como también cinco flavonoides: 7,4'-dimetoxi-5-hidroxi-flavona (8)<sup>4</sup>, 3,3',5-trihidroxi-7,4'-dimetoxi-flavona (9)<sup>4</sup>, 5,4'-dihidroxi-6,7-dimetoxi-flavanona (5)<sup>2</sup>, Cirsimaritina G (7)<sup>3</sup> y Genwanina (6)<sup>3</sup> y seis compuestos de naturaleza terpenoide; la farnesilhidroquinona (10)<sup>1,29</sup>, el cromeno 11 derivado de la farnesilhidroquinona (Dictiochromeno)<sup>6</sup>, el ácido 3-farnesil-4-metoxibenzoico (12)<sup>5</sup>, el Wigandol (2) y dos nuevos compuestos, el ácido 3-geranil-4-

metoxibenzoico (3) y un benzociclododecadieno de naturaleza quinoide al que se le dió el nombre de Wigandiona (4) (Pag 57 y 58).

### ACIDO-3-GERANIL-4-METOXIBENZOICO

El ácido 3-geranil-4-metoxibenzoico (3), se aisló del extracto de éter de petróleo, como un compuesto incoloro de consistencia aceitosa. Sus datos espectroscópicos, principalmente de RMN  $^1\text{H}$  indicaron que se trata de un compuesto aromático de tipo benzenoide trisustituido, ya que su espectro de RMN  $^1\text{H}$  (ESPECTRO III), muestra en la región de los aromáticos, las señales para tres protones de un sistema ABX; en 6.80 ppm una señal doble con una constante de acoplamiento de 8 Hz ( $\text{H}_x$ ) que interacciona con una señal doble de dobles en 7.90 ppm ( $\text{H}_b$ ) la cual presenta constantes de acoplamiento de 8.0 Hz y 3.0 Hz; la  $J = 8$  Hz sugiere un acoplamiento "orto" de estos dos hidrógenos, la  $J = 3$  Hz indica que esta señal (7.90 ppm), se encuentra a la vez acoplada con un proton en posición "meta" cuya señal se observa en 7.85 ppm ( $J = 3$  Hz) ( $\text{H}_a$ ). La multiplicidad y los valores de las constantes de acoplamiento observadas en las señales de los protones aromáticos nos permite proponer una sustitución 1-2-4<sup>30</sup> del anillo benzenoide. (Figura 6).

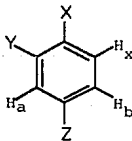


Figura 6

Las otras señales en el espectro sugieren que dos de los sustituyentes deben ser un grupo metoxilo y un sustituyente geranilo ya que se observan una señal simple aguda para tres protones de un grupo metoxilo en 3.85 ppm y como en el caso del compuesto 1, muestra también las señales correspondientes a los protones vinílicos, en 5.10 (m, 1H, H-6) y 5.28 ppm (t,  $J = 8$ Hz, 1H, H-2), como también tres metilos vinílicos en 1.60 (s, 3H), 1.65 (s, 3H) y 1.70 ppm (s, 3H) asociados a el grupo geranilo. La señal

ancha centrada en 2.15 ppm (4H) y una señal doble en 3.30 ppm (2H,  $J = 8\text{Hz}$ ) que deben corresponder a los metilenos alifáticos y el metileno benílico respectivamente.

El tercer sustituyente debe ser un grupo ácido, como lo sugiere la banda ancha en el IR entre  $3030$  y  $2542\text{ cm}^{-1}$  y la banda en  $1725\text{ cm}^{-1}$  características de un ácido, además de la presencia de la señal intercambiable con  $\text{D}_2\text{O}$  en  $7.95\text{ ppm}$  en el espectro de RMN  $^1\text{H}$ .

De acuerdo con los datos de RMN  $^1\text{H}$  descritos se puede proponer las siguientes posibles estructuras mostradas en la Figura 7.

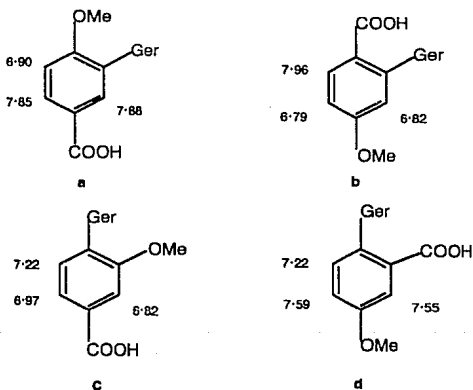
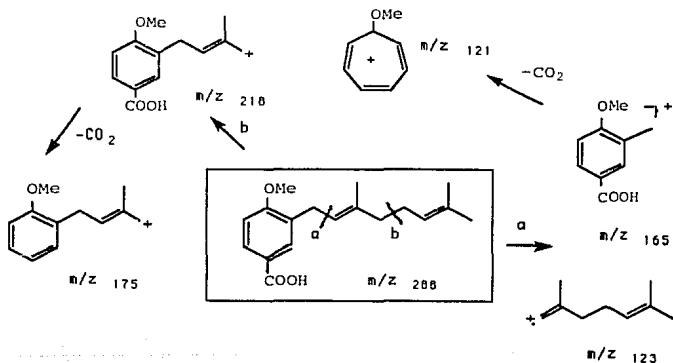


Figura 7

La posición relativa de los sustituyentes fue establecida con base en los desplazamientos químicos observados para los protones aromáticos por lo que se pueden descartar las estructuras b, c y d, (Figura 7) ya que de acuerdo a los valores calculados<sup>30</sup> el ácido 3-geranil-4-metoxibenzoico (3), es el que presenta desplazamientos

químicos congruente con los valores observados .

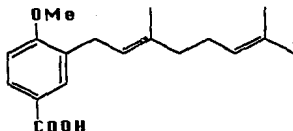
Congruentemente el espectro de masas presenta un ión molecular de  $m/z$  288, que esta de acuerdo para un compuesto de fórmula molecular  $C_{18}H_{24}O_3$ , además de presentar los fragmentos significativos de  $m/z$  218 [ $M-C_5H_9$ ] $^+$  y 175 [ $M-C_5C_9-CO_2$ ] $^+$  . Además de los fragmentos de  $m/z$  165 y 123 provenientes de la ruptura benfílica  $\beta$  ( $C1'-C-2'$ ) para dar lugar a los fragmentos  $C_9H_9O_3$  y  $C_9H_{15}$ . ( ESQUEMA II ).



ESQUEMA II

De acuerdo con los datos espectroscópicos anteriores, la estructura mas probable para el compuesto 3 corresponde al ácido 3-geranyl-4-metoxibenzoico , compuesto que aún no se encuentra descrito en literatura.





3

### WIGANDIONA

La Wigandiona (4) se aisló del extracto de diclorometano como un aceite de color amarillo intenso, cuyo espectro en el IR muestra una banda en  $1650\text{ cm}^{-1}$  que se puede asignar al carbonilo conjugado de una p-benzoquinona. El peso molecular determinado por espectrometría de masas fue 242 el cual es congruente para un compuesto de fórmula molecular de  $\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{O}_2$ , se observa además los fragmentos de  $m/z$  214 y 186 correspondientes a la pérdidas sucesivas de CO y 2CO característico de una p-benzoquinona. Mientras que en el espectro de RMN  $^1\text{H}$  a 300 MHz (ESPECTRO IV), se observan señales que indican la presencia dos protones vinílicos en 5.10 ppm (m, 2H), dos metilos vinílicos en 1.49 y 1.73 ppm, una señal ancha entre 1.88-2.24 ppm la cual se puede asociar a cuatro hidrógenos de características alílicas así como también la presencia de cuatro señales anchas entre 2.9 y 3.7 ppm sugieren la presencia de cuatro hidrógenos doblemente alílicos. Finalmente en la región de bajo campo se observan las señales características de un sistema AB con constantes de acoplamiento de aproximadamente 8 Hz centradas en 6.75 ppm.

Las señales de RMN  $^1\text{H}$  descritas anteriormente, sugieren cierta similitud estructural con el Wigandol (Figura 5), sin embargo a diferencia de éste, tanto el espectro en el IR así como de RMN  $^1\text{H}$  indican la ausencia de los grupos hidroxilo y acetato fenólicos, los cuales pueden estar sustituidos por los grupos carbonilo de una p-benzoquinona 2,3 disustituida.

El espectro de RMN C-13 con desacoplamiento de  $^1\text{H}$  de banda ancha ("BB") (ESPECTRO V), confirmó la presencia de 16 átomos de carbono en la molécula. El grado de protonación de estos fue determinado mediante el experimento de secuencia de pulsos conocido como "APT" ("Attached Proton Test"). Los resultados indican la presencia de dos metilos, cuatro metilenos, cuatro metinos y seis carbonos cuaternarios, incluyendo en estos últimos, dos señales características de carbonilo conjugado.

Las asignaciones de las señales en el espectro de RMN de C-13 se efectuó tomando en consideración los resultados de los experimentos de "APT" y por comparación con los datos reportados en la literatura para sistemas similares como la seriserina (24) <sup>33,34,37,45</sup>, aislada de *Neolitsea sericeae*.

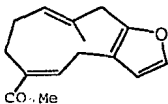


Figura 8

De acuerdo con todos los datos espectroscópicos discutidos anteriormente podemos proponer la siguiente estructura (Figura 9) como la más probable para la Wigandiona, con excepción de la geometría de los dobles enlaces.

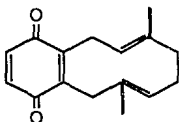


Figura 9

Con el objeto de confirmar la estructura propuesta para la Wigandiona (Figura 9), se llevó a cabo la reducción acetilante de ésta, con el fin de obtener el derivado acetilado del Wigandol (14), cuya estructura había sido establecida anteriormente.

El producto obtenido resultó ser un compuesto cristalino que mostró en el IR las absorciones características de los grupos carbonilo de acetatos fenólicos ( $1765, 1240 \text{ cm}^{-1}$ ). El espectro de masas muestra un ión molecular de  $m/z$  328 congruente para un compuesto de fórmula molecular de  $\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{O}_4$  que está de acuerdo para el acetato del Wigandol (14),

Sin embargo el punto de fusión del compuesto obtenido ( $97-99^\circ$ ) fue diferente al reportado para el derivado acetilado del Wigandol (14) ( $170^\circ$ )<sup>1</sup>. Mas aún el espectro

de RMN  $^1\text{H}$  (ESPECTRO VI) muestra la presencia de una señal simple aguda en 1.06 ppm correspondiente a un metilo terciario y la ausencia de la señal de un metilo vinílico. Este hecho aunado a la presencia de las señales de un sistema ABX y de un metileno terminal en la región a bajo campo, características de un diviniliciclohexano, indica que el producto obtenido debe de ser el compuesto 15, proveniente de la transposición de Cope<sup>41-47</sup> del diacetato formado, debido a que la reacción se efectuó a temperatura elevada. (Figura 10)

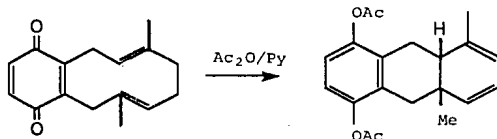


Figura 10

La comparación de los datos espectroscópicos del compuesto obtenido con los datos reportados, así como la comparación directa con una muestra del producto de Cope obtenido a partir de la pirolisis del acetato de Wigandol (14)<sup>1</sup>, fueron idénticas al producto obtenido de la reducción acetilante de la Wigandiona (4), quedando establecida de esta manera la relación estructural entre el Wigandol (2) y la Wigandiona (4).

### DETERMINACION DE LA ESTEREOQUIMICA Y CONFORMACION DEL WIGANDOL

La disposición de nuevo material hizo factible realizar estudios espectroscópicos de RMN  $^1\text{H}$  de alta resolución a 500 y 300 MHz del Wigandol (2), así como los experimentos de RMN de dos dimensiones como la correlación homonuclear H-H (COSY), los cuales permitieron un mejor análisis de las señales.

El espectro de RMN  $^1\text{H}$  del Wigandol a 500 MHz (Tabla 1), determinado en  $\text{CDCl}_3$  (ESPECTRO VII), mostró claramente las señales para los dos protones vinílicos como una señal doble ancha en 5.15 (J=10.6 Hz) y una señal triple ancha en 5.05

( $J = 7.9$  Hz) que se asignaron a H-11 y H-7 respectivamente. Las señales correspondientes a los protones de los metilenos bencílicos (H-5 y H-12) se resolvieron parcialmente y se observan como un sistema AB y la parte AB de un sistema ABX (ligeramente sobrepuestos) con señales centradas en 3.10 (d,  $J = 14.0$  Hz, H-5) y 3.24 (d,  $J = 14.0$  Hz, H-5'), en 3.24 (dd,  $J = 16.6, 11.5$  Hz, H-12) y 3.36 (da,  $J = 16.6$  Hz, H-12'). Las señales correspondientes a los protones de los metilenos alílicos se resuelven como multipletes en 1.69 ppm (ta,  $J = 11.1$  Hz, H-9'), 2.14 ppm (dd,  $J = 11.1, 5.5$  Hz, H-9) además 1.98 ppm (ca,  $J = 11.1$  Hz, H-8') y 2.0 ppm (td,  $J = 11.1, 5.5$  Hz, H-8).

Por otra parte en el espectro determinado en benceno deuterado a 300 MHz las señales correspondientes a los metilenos bencílicos también se resuelven como un sistema AB con señales centradas en 3.24 y 3.65 ppm ( $J = 15.0$  Hz) para H-5 y 5' mientras que los protones H-12 y 12' se observan como la parte AB de un sistema ABX ligeramente mejor resuelto con señales en 3.65 (da,  $J = 16.5$ ) y 3.42 ppm (dd,  $J = 16.5, 12$  Hz) (ESPECTRO VIII).

La adición de una pequeña cantidad (1 gota) de dimetilsulfóxido deuterado a la muestra disuelta en  $C_6D_6$  (ESPECTRO IX), dió por resultado una mejor resolución de las señales de los metilenos bencílicos los cuales se observaron claramente como un quarteto AB en 3.38 y 3.98 ppm ( $J = 13.8$  Hz) para los protones H-5 y H-5', mientras que los protones H-12 y 12' como la parte AB de un sistema ABX, en 3.47 ppm una señal doble de doble con constantes de acoplamiento de 16.5 Hz y 11.7 Hz y en 3.72 una señal doble ancha con una constante de acoplamiento de 16.5 Hz, la multiplicidad de esta señal sugiere que debe existir un ángulo cercano a  $90^\circ$  entre el protón vinílico H-11 y uno de los protones del metileno bencílico H-12 (ESPECTRO IX).

**TABLA 1.-** Desplazamientos químicos y constantes de acoplamiento observados en el Wigandol (2) en diferentes disolventes

	$CDCl_3$ (500MHz)	$C_6D_6$ (300MHz)	$C_6D_6$ +DMSO(300MHz)
H-2	6.6 (d, $J = 8.5$ Hz)	6.70 (d, $J = 8.4$ Hz)	6.9 (d, $J = 8.4$ Hz)
H-3	6.33 (d, $J = 8.5$ Hz)	6.11 (dd, $J = 8.4$ Hz)[	7.19 (d, $J = 8.4$ )
H-5	3.10 (d, $J = 14$ Hz)	3.30 (d, $J = 14.5$ Hz)	3.98 (da, $J = 13.4$ Hz)
H-5'	3.24 (d, $J = 14$ Hz)	3.65 (d, $J = 14.5$ Hz)	3.44 (d, $J = 13.8$ Hz)
H-7	5.05 (t, $J = 7.9$ Hz)	5.1 (t, $J = 8.1$ Hz)	5.17 (t, $J = 8.4$ Hz)
H-8	2.0 (td, $J = 11.1, 5.5$ Hz)	2.13-1.84 (m, 4H)	1.66-2.06 (m, 4H)
H-8'	1.98 (ca, $J = 11.1$ Hz)		

H-9	2.14 (ta, J=11.1, 5.5 Hz)		
H-9	1.69 (ta, J=11.1 Hz)		
H-11	5.15 (da, J=10.6 Hz)	5.39 (da, J=12, 3.0 Hz)	5.47 (dd, J=11.7, 3.3 Hz)
H-12	3.24 (dd, J=16.6, 11.5 Hz)	3.42 (dd, J=16.5, 12 Hz)	3.48 (dd, J=16.5, 11.7 Hz)
H-12'	3.36 (d, J=16.6 Hz)	3.65 (da, J=16.5 Hz)	3.66 (da, J=16.5 Hz)
Me-13	1.51 (s)	1.60 (s)	1.60 (s)
Me-14	1.68 (s)	1.75 (s)	1.80 (s)
OH	4.65 (sa)	4.60 (s)	9.35 (s)
MeCO	2.35 (s)	2.0 (s)	2.0 (s)

Las asignaciones se efectuaron con base a los experimentos de correlación homonuclear bidimensional (H-H) (COSY) (Figura 11).

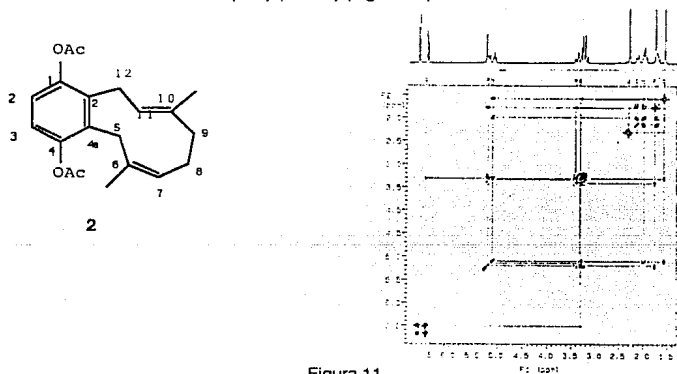


Figura 11

Los espectros de RMN  $^{13}\text{C}$  estuvieron de acuerdo para la estructura **2**, ya que se observaron claramente la señales para 18 átomos de carbono (ESPECTRO X), que corresponden a tres metilos, cuatro metinos, cuatro metilenos y 7 carbonos cuaternarios de acuerdo con los experimentos de "APT".

Todos los datos espectroscópicos discutidos anteriormente están de acuerdo y confirman la estructura propuesta y las asignaciones hechas anteriormente<sup>1</sup>.

Sin embargo aunque la estereoquímica de los dobles enlaces del 1,5-ciclododecadieno no fue establecida por estos métodos, la obtención de cristales apropiados de Wigandol (**2**) nos permitieron realizar un estudio de difracción de Rayos X, y de esta manera establecer la geometría de los dobles enlaces y la posición relativa del grupo acetato.

Los datos obtenidos establecieron la geometría "trans" para el enlace C10-C11 y "cis" para el enlace C6-C7 y una conformación del anillo de diez miembros en el estado sólido en la cual los grupos metilos sobre el C-6 y C-10 se encuentran "anti" y el hidrógeno vinílico sobre el C-11 "syn" con respecto al metilo sobre el C-6 similar a la conformación establecida para la neolinderactona<sup>41</sup> en estudios de RMN <sup>1</sup>H.

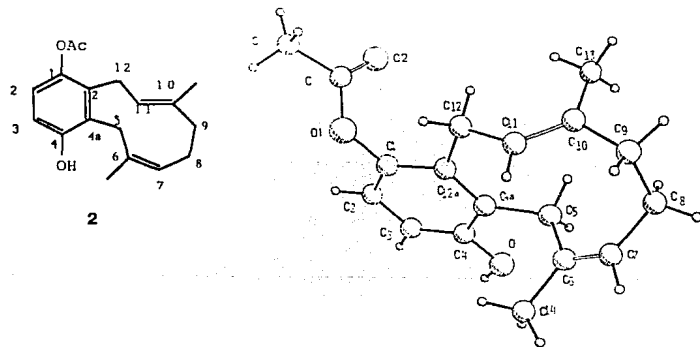


Figura 12

De esta manera quedo establecida la estructura del Wigandol como (Z,E)-1-Acetoxi-5,8,9,12-tetrahidro-4-hidroxi-6,10-dimetil-benzociclododeceno ó bien 1-Acetoxi-4-hidroxi-6,10-dimetil-6 (Z),10 (E)-benzociclododecadieno (**2**).

La estructura del Wigandol así determinada resultaría ser (con la única diferencia en la geometría de un doble enlace), el derivado monoacetilado de un compuesto que ha sido propuesto como el "precursor hipotético" en la ruta biogenética de algunos terpenoides aislados de *Cordia spp*<sup>48-50</sup> y conocidos como Cordiacromos A (**20**), B (**21**) y C (**19**).

La estereoquímica de la fusión de los anillos de la decalina en los Cordiacromos A y B, fue establecida como "cis" mediante la degradación química de sus correspondientes dihidroderivados para la formación del diéster **a** y por comparación de éste con el producto **b** con estereoquímica "trans", obtenido a partir de la degradación del dihidroeudesmol, de estereoquímica conocida así como con el diéster **c** preparado sintéticamente<sup>51</sup> (Figura 13).

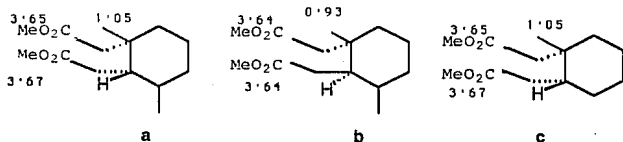


Figura 13

La estereoquímica del Cordiacromo C (19), fue establecida por analogía con los Cordiacromos A (20) y B (21) (FIGURA 14).

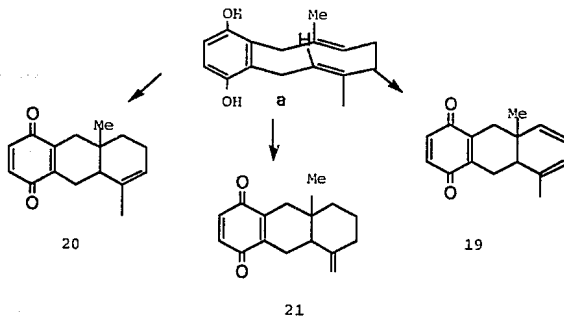


Figura 14

El supuesto precursor biogénico de los Cordiacromos (FIGURA 14a), fue propuesto como un *trans, trans*-benzo-1,5-ciclododecadieno, el cual debe de adoptar una conformación de "bote" y sufrir una ciclización intramolecular catalizada por ácidos para dar lugar a los Cordiacromos A (20) y B (21), con estereoquímica "cis" en la fusión de los anillos ó bien una transposición de Cope que daría lugar al Cordiacromo C 49 (19) como un derivado del *cis*-1,2 divinilciclohexano.

Por otra parte se ha descrito que en general, la reacción de transposición de Cope va por un estado de transición de menor energía de tipo "silla" preferentemente a un estado de transición con conformación en "bote"<sup>52</sup>.

También es conocido que un *trans-trans*-1,5-ciclododecadieno sufre una reacción de Cope para dar derivados del *trans*-1,2-divinilciclohexano<sup>40-41</sup>, contrariamente a la estereoquímica establecida para el Cordiacromo C (19)<sup>49</sup>, mientras que un sistema *cis,trans*-1,5-ciclododecadieno da lugar a derivados del *cis*-1,2-divinilciclohexano, similar a la estereoquímica asignada para el Cordiacromo C (19)<sup>41,42</sup>.

Es importante señalar que la geometría de los dobles enlaces y la conformación del Wigandol (2), establecida por difracción de Rayos X, cumple con los requerimientos tanto estereoquímicos como conformacionales para dar lugar a los derivados similares a los Cordiacromos A (20), B (21) y C (22), con la estereoquímica establecida para estos.

Con el objeto de confirmar de una manera definitiva, la estereoquímica del 1,2-divinilciclohexano obtenido en la transposición de Cope del acetato de Wigandol (14) la cual fue anteriormente propuesta únicamente por similitud con el Cordiacromo C (19), se llevó a cabo la acetilación del Wigandol (2), y la pirólisis del acetato obtenido (14) (Figura 15).

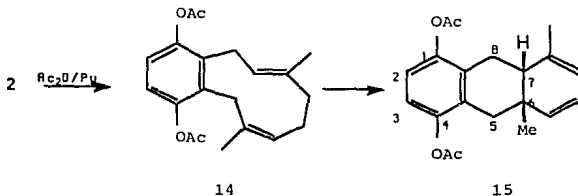
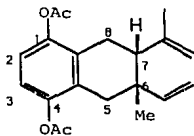


Figura 15



El 1,2-divinilciclohexano obtenido y purificado por cromatografía en placa fina proporcionó cristales adecuados para el Análisis de Difracción de Rayos X. Los resultados obtenidos confirmaron la estereoquímica "cis" propuesta para el derivado obtenido anteriormente<sup>1</sup> y está de acuerdo con la geometría sugerida para el Cordiacromo C (19)<sup>48</sup>, y al producto esperado en la Transposición de Cope de un cis, trans-1,5-ciclodecadieno.



15

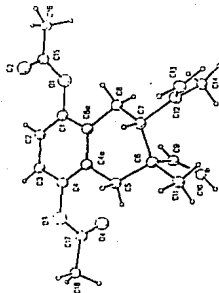


FIGURA 16

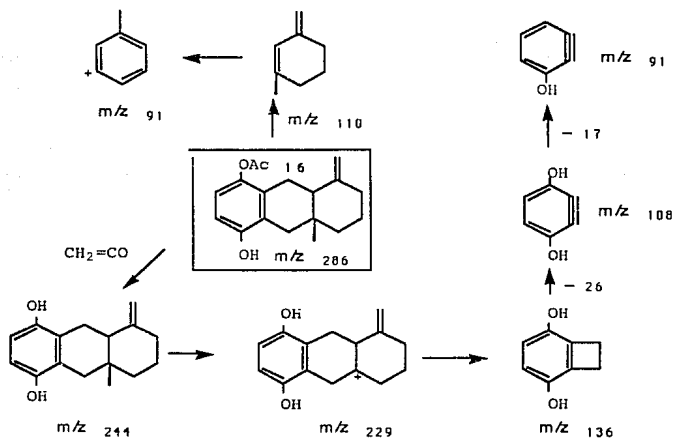
Por otra parte con el objeto de obtener compuestos análogos a los Cordiacromos A (20) y B (21), se llevó a cabo la ciclización biomimética en medio ácido del Wigandol utilizando el cloruro de tionilo, como ácido de Lewis, en diclorometano.

Como productos de reacción se obtuvo una mezcla de isómeros 16, 17 y 18 (Pag 55) que se purificaron por cromatografía en capa fina, impregnada con nitrato de plata

El espectro de RMN <sup>1</sup>H del compuesto 16 a 300 Mhz (ESPECTRO IX), no mostró las señales correspondientes a los metilos vinílicos y en su lugar se observa una señal simple aguda que integra para tres protones correspondiente a un metilo terciario en 1.0 ppm y dos señales simples anchas en 4.42 y 4.68 ppm características de un metileno exocíclico.

El espectro de masas presento el ión molecular correspondiente de m/z 286 congruente a una fórmula molecular C<sub>18</sub>H<sub>22</sub>O<sub>3</sub>. Entre los picos mas abundantes se encuentran los fragmentos de m/z 244, 229 que corresponden a la pérdida sucesiva del ión acilo y el metilo terciario [M-CH<sub>2</sub>CO]<sup>+</sup> y [M-CH<sub>2</sub>CO-Me]<sup>+</sup>. Se observan ademas

otros picos significativos que corresponden los fragmentos de  $m/z$  136, 108, 93, 91 y 43 congruente para la fragmentación de **16** (ESQUEMA III).



ESQUEMA III

A diferencia de **16**, el compuesto **17** muestra en su espectro de RMN  $^1\text{H}$  (ESPECTRO XII), una señal simple ancha para un protón vínlico en 5.26 ppm y las señales para un metilo vínlico en 1.75 ppm (d,  $J=1$  Hz) y el metilo terciario en 1.05 ppm. En el espectro se observa además señales que indican la presencia de pequeñas cantidades del isómero **18** con la doble ligadura tetrasustituida, dos señales dobles en 3.10 y 3.2 ( $J=14$  Hz) correspondiente al protones bencílicos, un metilo vínlico en 1.70 ppm y un metilo terciario en 0.97 ppm.

Los espectros de correlación homonuclear de H-H (COSY) estuvieron de

acuerdo con las estructuras establecidas .

La estereoquímica de la fusión de los anillos en los compuestos **16** y **17** debe ser "cis" de acuerdo a la conformación del Wigandol determinada por Rayos X, además de que la distancia interatómica existente en el C-6 y C-11 es de 3.063 Å, favoreciendo el estado de transición con conformación silla-pseudosilla<sup>52</sup> para la ciclización intramolecular como se muestra en la Figura 17.

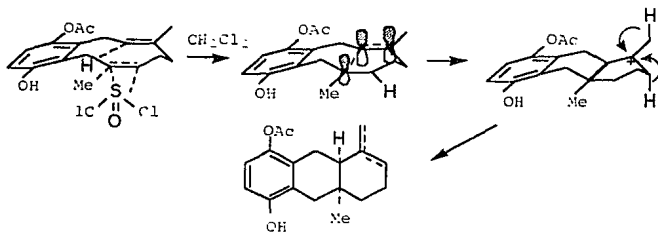


FIGURA 17

Por otra parte los valores de los desplazamientos químicos observados en RMN <sup>1</sup>H para los grupos metilo así como el protón vinílico de **17** fueron similares al Cordiacromo A (**20**) y del metilo terciario y metileno exocíclico de **16** a los del Cordiacromo B (**21**), a los que se le ha asignado una estereoquímica "cis" en la fusión de los anillos. (FIGURA 18).

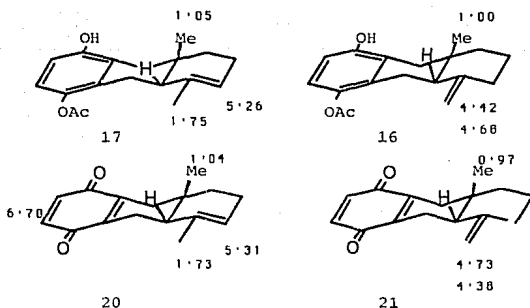


Figura 18

De acuerdo a lo anterior se puede pensar que el precursor hipotético más probable en la ruta biogenética de los Cordiacromos no sea un trans-trans ciclodecadieno (FIGURA 14a), como ha sido propuesto por el Dr. Moir y el Dr. Thompson, sino un cis-trans ciclodecadieno, análogo estructuralmente al Wigandol y a la Wigandiona.

#### DETERMINACION DE LA ESTEREOQUIMICA Y CONFORMACION DE LA WIGANDIONA

Como ya se indicó antes, el espectro de RMN  $^1\text{H}$  de la Wigandiona a temperatura ambiente, presenta señales anchas no resueltas (2.91-3.7 ppm) para los metilenos bencílicos y los protones pertenecientes a los metilenos alílicos (1.88-2.24 ppm), lo cual sugiere que el anillo de diez miembros presentará un alto grado de flexibilidad. Un comportamiento similar se ha observado en otros compuestos que presentan sistemas similares como la isabelina (22)<sup>54</sup>, laurenobiolida (23)<sup>55</sup> y sericenina (24)<sup>56</sup>.

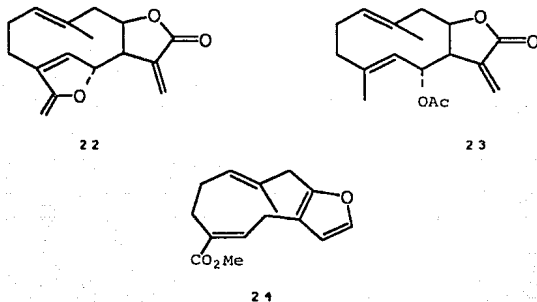


Figura 19

Los estudios de RMN  $^1\text{H}$  a temperatura variable demostraron que la Wigandiona (4), existe en solución como una mezcla de confórmers a temperatura ambiente y a altas temperaturas, debido a una rápida inversión del anillo de 10 miembros, mientras que a bajas temperaturas existe como un solo confórmero<sup>56</sup>.

Congruentemente en el espectro de RMN  $^1\text{H}$  a  $52^\circ$ , se observó solo dos señales anchas (3.10 y 3.20 ppm), para los metilenos bencílicos y una señal ancha en 2.0 ppm, para los protones alílicos, es decir que solo se observan el desplazamiento químico promedio para las señales de dichos protones (Figura 20).

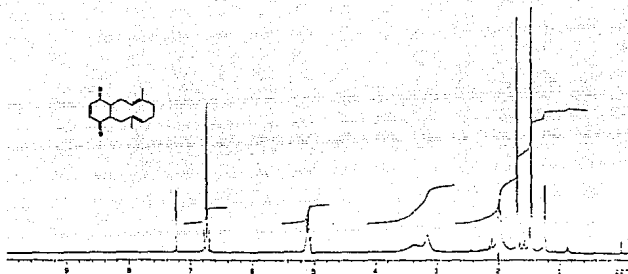


Figura 20

En los espectros determinados a bajas temperaturas es evidente que el anillo de diez miembros tiende a adoptar una forma "rígida"<sup>56</sup>, para dar lugar a un solo conformero como se observa en los diferentes espectros determinados a 0, -20° y -40°.

(FIGURA 21)

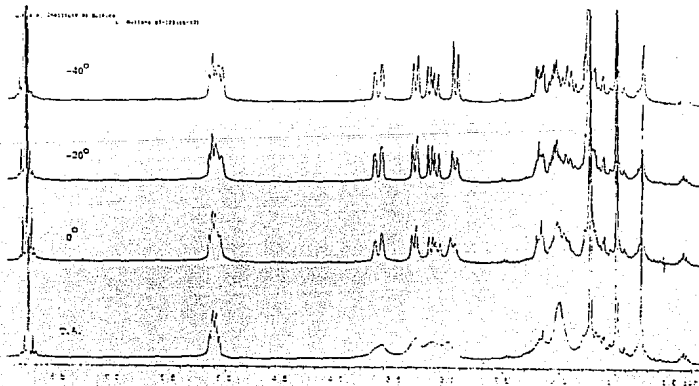


FIGURA 21

Mas aún la comparación de los desplazamientos químicos, multiplicidad y principalmente constantes de acoplamiento de los protones benéficos y alílicos, en el espectro de RMN  $^1\text{H}$  de la Wigandona (4) con el Wigandol, así como la obtención del producto de Cope 15 a partir de la reducción acetilante de la Wigandona, sugiere que ésta, debe de poseer la misma estereoquímica y a bajas temperaturas la misma conformación que el Wigandol (2) (FIGURA 22)

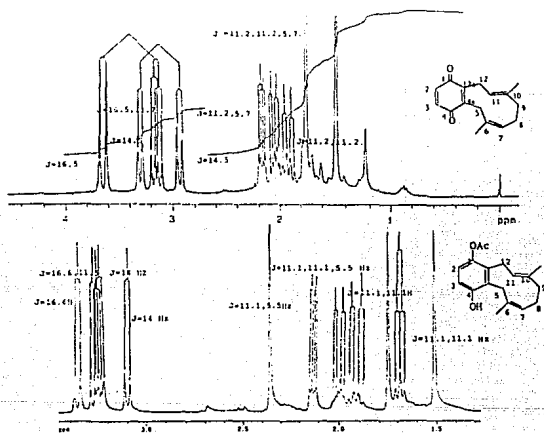
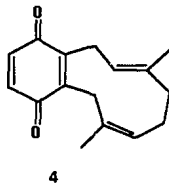
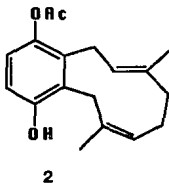


Figura 22

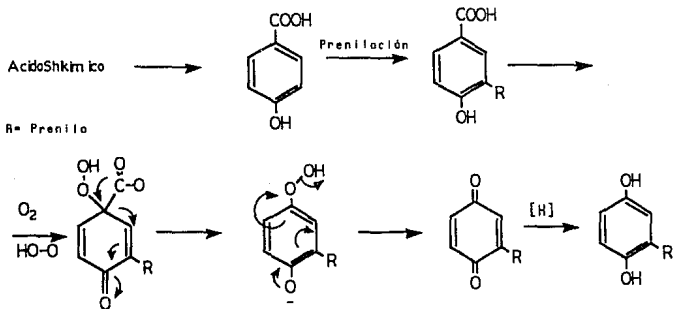


## CONSIDERACIONES BIOGENÉTICAS

En base a los metabolitos secundarios aislados algunos autores han sugerido rutas biogénéticas alternas para las hidroquinonas y quinonas preniladas a partir de la ruta del ácido shikímico<sup>27</sup>, con la única diferencia en la alquilación sobre la hidroquinona.

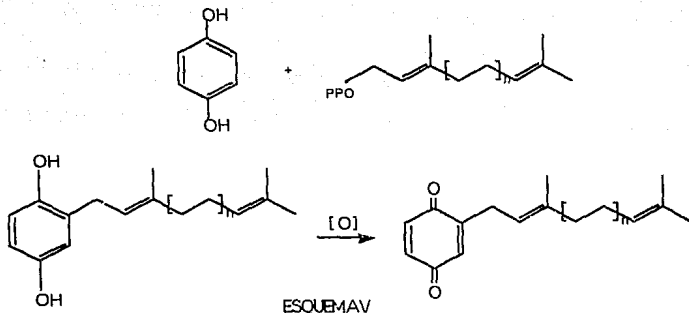
Se ha considerado que la formación de estas alquilhidroquinonas puede realizarse por dos rutas alternas.

a) En la primera ruta, se sugiere que son biosintetizadas mediante una descarboxilación oxidativa del ácido 3-alkil-4-hidrobenzoico para dar lugar a la alquilhidroquinona<sup>54</sup> como se muestra en el Esquema IV.



b) En la segunda ruta alterna, se considera que las hidroquinonas y quinonas preniladas provienen de una sustitución nucleofílica aromática entre el catecol y una cadena alquílica, para dar lugar a la hidroquinona prenilada, como lo sugiere Manners, Moir y Thompson<sup>48</sup>. Esquema V.

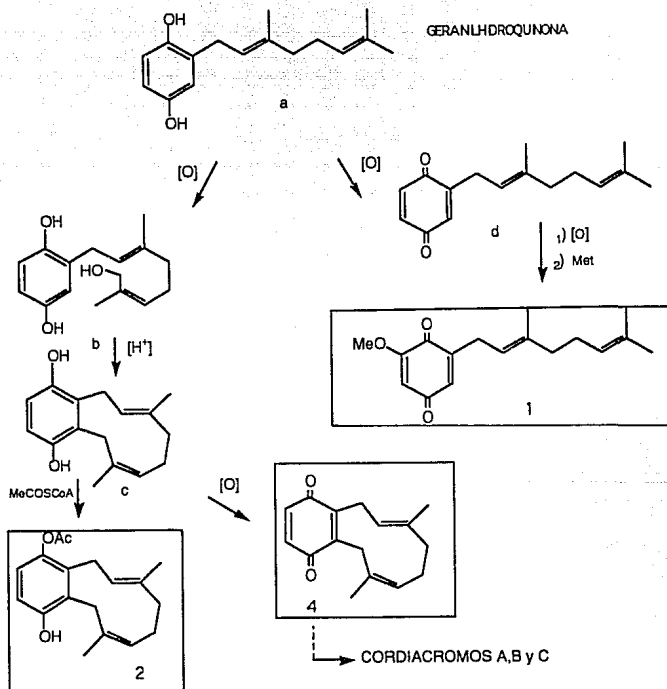




Tomando en consideración la coexistencia de los ácidos 3-geranil-4-metoxibenzoico (3) y 3-farnesil-4-metoxibenzoico (12), con hidroquinonas y quinonas preniladas como la geranilhidroquinona, farnesilhidroquinona y Wigandona (4), se puede sugerir que los metabolitos aislados de esta planta muy probablemente sean biosintetizados en forma similar a la primera ruta biogénica (ESQUEMA IV)

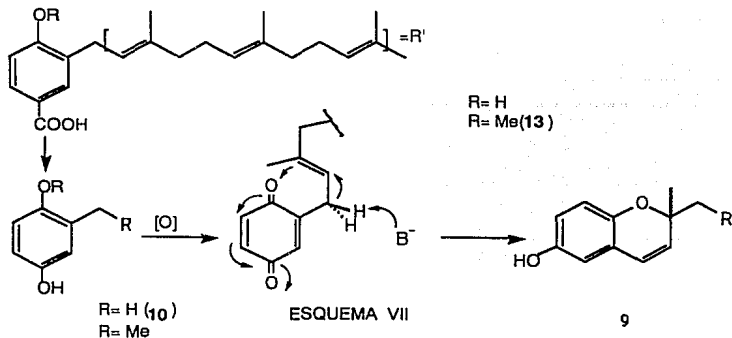
Aunque la geranilhidroquinona, no pudo ser aislado de *W. kunthii*, esta ha sido aislada de *W. caracasana*<sup>29</sup> y puede ser considerada como intermediario importante en la biogénesis de los metabolitos aislados del género. Ya que la geranilhidroquinona (ESQUEMA VI) puede sufrir una oxidación sobre un metilo terminal para formar un intermediario del tipo del allidorol (b), el cual en condiciones ácidas de lugar a una ciclización intramolecular, para formar el cis,trans-ciclododecadieno (c), y este dar lugar a la Wigandona (4) ó en la presencia de una molécula de Acetilcoenzima A, forme al Wigandol (2).

La geranilhidroquinona (a) también puede ser precursor de la 6-metoxi-2-geranilbenzoquinona (1) mediante la oxidación a la geranilbenzoquinona (d) y posteriormente oxidación y metilación.



ESQUEMA VI

Finalmente el ácido 3-farnesil-4-metoxibenzoico (**12**), podría ser precursor del cromeno **11**, mediante una descarboxilación oxidativa para dar lugar a la farnesilhidroquinona (**10**), esta sufrirá una oxidación biológica y formar la farnesilbenzoquinona y en presencia de enzimas básicas, de lugar a una ciclización y formar el cromeno (**11**) (Dictiochromenol) como se muestra en el ESQUEMA VII.



## CONCLUSIONES

1.-

Del estudio químico de *Wigandia kunthii*, se aislaron 13 compuestos. De la planta fresca se aislaron tres flavonoides 5,4'-dihidroxi-6,7-dimetoxiflavanona (5), 5,4'-dihidroxi-6,7-dimetoxiflavona (Cirsimaritina G) (7) y 5,4'-dihidroxi-7-metoxiflavona (Genwanina) (6), Wigandol (2) y un nuevo compuesto terpénico 2-geranil-6-metoxibenzoquinona (1). De la planta seca se aisló  $\beta$ -Sitosterol (13), 7,4'-dimetoxi-5-hidroxi-6,7-dimetoxiflavona (8), 5,3,3'-trihidroxi-4',7-dimetoxiflavona (9), 5,4-dihidroxi-6,7-dimetoxiflavanona (5), Cirsimaritina G (7) y Genwanina (6) y seis compuestos de naturaleza terpénica, el ácido 3-farnesil-4-metoxibenzoico (12), Dictiochromenol (11), farnesilhidroquinona (10), Wigandol (2) y dos compuestos no descritos en la literatura; el ácido 3-geranil-4-metoxibenzoico (3) y la Wigandiona (4); observándose con esto que los metabolitos secundarios aislados de esta planta mantienen cierta relación quimiotaxonómica con las especies estudiadas anteriormente.

2.-

Se estableció la conformación y la estereoquímica de los dobles enlaces del ciclodecadieno en el Wigandol (2), cuya estructura quedó establecida como (Z,E)-1-Acetoxi-5,8,9,12-tetrahidro-4-hidroxi-6,10-dimetilbenzociclodeceno por análisis de Difracción de Rayos X.

3.-

Se estableció la estereoquímica de los dobles enlaces y la conformación en la Wigandiona (4), a bajas temperaturas ( $-40^{\circ}$ ), similar al Wigandol (2).

4.-

Se realizaron algunas reacciones con el Wigandol que es el producto mayoritario de la planta (Ciclización, Acetilación y Pirólisis), para comprobar la presencia del 1,5 ciclodecadieno, realizándose el análisis espectroscópico de los productos por RMN  $^1\text{H}$  a 300 MHz.

5.-

Se estableció la estereoquímica del producto de la pirólisis del Acetato del Wigandol (14) por Difracción de Rayos X, como un derivado del cis-1,2-divinilciclohexano.

## MATERIALES Y METODOS

Los puntos de fusión se determinaron en un aparato Fisher-Jones y no están corregidos.

Para las cromatografías en columna se utilizó Sílica Gel 60 Merck ( 35-70, 70-230 y 230-400 Mallas ASTM ).

La pureza de los productos y su monitoreo, se siguió por cromatografías en capa fina de Gel de Sílice MerckF-254, reveladas con sulfato cérico al 1% en  $H_2SO_4$  2N.

Los espectros de IR se obtuvieron en cloroformo o en película en celdas de KBr y en un espectrofotómetro Perkin-Elmer Modelo 337 o en un Nicolet FT-5X.

Los espectros de UV se determinaron en un espectrofotómetro Perkin-Elmer 552.

Los espectros de RMN se realizaron en aparatos Varian VXR 300S , Gemini 200, Varian FT 80. Los desplazamientos químicos ( $\delta$ ) están dados en ppm., con respecto al TMS. Los valores de la constante de acoplamiento están dados en Hz . La multiplicidad de las señales en los espectros de  $^{13}C$ , se estableció mediante el uso del experimento de pulsos "APT" (Attached Proton Test).

Los espectros de masas se obtuvieron en un aparato HEWLETT PACKARD 5985-B, mediante la técnica de impacto electrónico a 70 eV.

## ESTUDIO FITOQUIMICO DE *WIGANDIA KUNTHII*

*Wigandia kunthii* Choisy, se recolectó en la Ciudad de México, dentro de la Cd Universitaria (UNAM). Un ejemplar fue depositado en el Herbario del Instituto de Biología de la UNAM.

En primer lugar se realizó un estudio preliminar, con la planta fresca (39.5 g) y posteriormente se trabajó con la planta seca y molida.

### ESTUDIO DE LA PLANTA FRESCA:

39.2 gr de hojas de la planta fresca se extrajeron sucesivamente con éter de petróleo, acetato de etilo y metanol. Después de eliminar el disolvente por destilación se obtuvo 2.2 g de residuo de extracto del éter de petróleo, 3.52 g del extracto de acetato de etilo y 1.678 g del extracto de metanol.

De los extractos de éter de petróleo y metanólico se aislaron solamente ceras y parafinas. El extracto de acetato de etilo (3.5 g) se fraccionó en una columna (3.5 cm  $\phi$  x 26 cm de alto), empacada con 34 g de Silica Gel (malla 230-400), eluyendo con éter de petróleo, posteriormente con diclorometano y finalmente con acetato de etilo.

De la fracción de éter de petróleo del extracto de acetato de etilo después de purificar por cromatografía en columna (3.5 cm  $\phi$  x 26 cm de alto) sobre 18 g de silicagel (malla 230-400), de la fracción eluida con éter de petróleo : acetato de etilo 9:1, se obtuvo 22 mg de un aceite de color amarillo intenso, que fue identificado por sus datos espectroscópicos como la 6-metoxi-2-geranilbenzoquinona (1).

La fracción de diclorometano (908 mg), se separó por cromatografía en columna (2 cm  $\phi$  x 30 cm de largo), de Silicagel (10 g, malla 240-400), obteniéndose 30 fracciones. De las fracciones 19-28 (EP : AcOEt, 9:1), se obtuvo un producto cristalino blanco que presentó un  $p_f=163^\circ$  (éter dietílico) y sus datos espectroscópicos corresponden al Wigandol (2)<sup>1</sup> (378.9 mg)

La fracción de acetato de etilo (1.025 gr) se cromatografió en una columna (3.5 cm  $\phi$  x 50 cm de l.) de Silicagel (30 g, malla 240-400), utilizando como eluyentes éter de petróleo, mezclas de éter de petróleo : diclorometano y finalmente diclorometano. Se obtuvieron 56 fracciones de aproximadamente 200 ml.

En las fracciones 13-29 (EP : AcOEt, 9:1) se obtuvo un compuesto cristalino de

color blanco con  $pf=178^0$  sus datos espectroscópicos corresponden a la 5,4'-dihidroxi-6,7- dimetoxiflavanona (5)<sup>2</sup> (56 mg).

De las fracciones 30-34 (EP : AcOEt, 85:15) se obtuvo un compuesto cristalino amarillo que presenta un  $pf= 262-4^0$ ; sus datos espectroscópicos fueron idénticos a los reportados para la 5, 4'- dihidroxi-6, 7-dimetoxiflavona (Cirsimaritina G) (7)<sup>3</sup> (72.3 mg).

Finalmente de la fracción 43 (EP : AcOEt, 8:2) , se obtuvo un compuesto cristalino amarillo con  $pf 282^0$ , sus datos espectroscópicos correspondieron a la 5,4'-dihidroxi-7-metoxiflavona (6)<sup>3</sup> (Genwanina) (43.5 mg).

## ESTUDIO DE LA PLANTA SECA:

164 g de hojas secas y molidas, se colocaron en una columna de vidrio y se extrajeron exhaustivamente con éter de petróleo. Después de eliminar el disolvente por destilación, se obtuvieron 44 g de extracto. Posteriormente se extrajo con diclorometano de la misma forma obteniéndose 55 g de extracto y finalmente con metanol (65 g)

El extracto de éter de petróleo (44 g), se cromatografió en columna (7.5 cm ø x 50 cm de l.) de Silicagel (400 g, Malla 35-70), utilizando como eluyentes éter de petróleo, mezclas de éter de petróleo : diclorometano y diclorometano. Se obtuvieron 129 fracciones de 200 ml aproximadamente.

En las fracciones 42-46 (EP : AcOEt, 9:1) se obtuvo un aceite incoloro que resultó ser un ácido benzoico prenilado, cuya estructura fue establecida como el ácido 3-geranil-4-metoxibenzoico (3) (18.3 mg), en base a sus datos espectroscópicos .

De las fracciones 56-60 (EP : AcOEt, 9:1), se obtuvo 1.089 g de Wigandol (2).

De las fracciones 61-63 (EP : AcOEt, 85:15), se aisló un compuesto blanco amorfo con  $pf=134^0$ , que se identificó como  $\beta$ - sitosterol (13)(44 mg), comparado con una muestra auténtica.

El extracto de cloruro de metileno, (55 g) se cromatografió en una columna ( 2.5 cm ø x 125 cm de l. ) empacada con 246 g de Silicagel (malla 200-325), usando como eluyentes éter de petróleo y mezclas éter de petróleo : diclorometano de polaridad creciente. Se obtuvieron 286 fracciones de aproximadamente 200 ml.

Las fracciones 90-123, se reunieron y se recromatografiaron en columna de Silicagel (60 g, malla 240-400) y de las fracciones 16-17 (EP : AcOEt, 95:5) se obtuvo un aceite de color amarillo intenso que resulto ser la benzoquinona 4 a la cual se le dio el nombre de Wigandiona (124.8 mg). En las fracciones 29-30 (EP : AcOEt, 9:1), se obtuvo  $\beta$  - Sitosterol (13) (28.32 mg) y en las fracciones 38-41 (EP : AcOEt, 85:15), se

obtuvieron cantidades adicionales de Wigandol (2)(106.8mg).

De las fracciones 124-41 (DCM. 100%) de la cromatografía del extracto de diclorometano, después de recromatografiar sobre silicagel se obtuvo en las fracciones 25-32 ( EP : AcOEt, 95:5); el Dictiochromenol (11)<sup>6</sup> (12.7 mg). De las fracciones 50- 58 ( EP : AcOEt 9:1), se obtuvo, un aceite de color amarillo intenso, cuyos datos espectroscópicos corresponden a la farnesilhidroquinona (10)<sup>1</sup> (24 mg) y en las fracciones 59 - 62 (EP : AcOEt 75:15), cristalizó espontáneamente, un producto de  $pf=298^0$  cuyos datos espectroscópicos resultaron ser idénticos a los reportados para la 5-hidroxi-7,4'-dimetoxi flavona (8)<sup>4</sup> (20 mg)

De las fracciones 139-41 (DCM : Me<sub>2</sub>CO, 95:5), del extracto de diclorometano, se obtuvo un compuesto cristalino de color amarillo con  $pf=234^0$  sus datos espectroscópicos correspondieron a 3,3',5'- trihidroxi-4',7'-dimetoxiflavonol (9)<sup>4</sup> (19.4 mg).

De fracción 151 (DCM : Me<sub>2</sub>CO, 9:1), se aisló un compuesto cristalino blanco de un  $pf=262^0$ , sus datos espectroscópicos fueron idénticos a los de la 5,4'-dihidroxi-6,7-dimetoxiflavanona (5)<sup>2</sup> (288,3 mg) .

En la fracción 155 ( DCM : Me<sub>2</sub>CO, 85:15 ), se obtuvo por cristalización ( éter dietílico ), un compuesto sólido amarillo con  $pf = 282^0$ . que se identificó como la 5, 4'-dihidroxi -7-metoxiflavona (6)<sup>3</sup> (248.3 mg) (Genwanina)

En la fracción 166 ( DCM : Me<sub>2</sub>CO, 8:2), se obtuvo 1.18 g de la 5,4'-dihidroxi-6,7-dimetoxiflavona (Cirsimaritina G )(7)<sup>3</sup> (1.18 g)

Las fracciones 179-96 (DCM: Me<sub>2</sub>CO, 8:2) se sometieron a una recromatografía en columna (2 cm  $\times$  x 15 cm de l.) sobre Silicagel (10.6 g Malla 240-400). De las fracciones eluidas con EP : AcOEt 85:15 (50-56), se obtuvo un producto, el cual se purificó por placa preparativa (20cm x 20cm x 1mm) utilizando como sistema eluyente EP : AcOEt9:1, sus datos espectroscópicos fueron idénticos con los del ácido 3-farnesil-4-metoxibenzoico ( 12)<sup>5</sup> (76 mg).

## **DATOS ESPECTROSCOPICOS DE LOS COMPUESTOS NUEVOS:**

### **6-Metoxi-2-geranilbenzoquinona (1).**

C<sub>17</sub> H<sub>22</sub> O<sub>3</sub> Aceite amarillo intenso



UV  $\lambda_{\max}$  (MeOH) nm : 260(  $\epsilon = 11496$ ), 350(  $\epsilon = 9002$ )

IR  $\nu_{\max}$  (CHCl<sub>3</sub>) cm<sup>-1</sup>: 3008, 2972 (C-H), 1679 (CO), 1650 (CO-CH=CH)  
1602, 1456 (-CH=CH-), 1378 (CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>C-).

EMIE 70 eV m/z (Int.rel) : 274 [M]<sup>+</sup> (2), 259 [M-Me]<sup>+</sup> (4), 191[M-83]<sup>+</sup>(25)  
121 [C<sub>8</sub>H<sub>9</sub>O]<sup>+</sup>(17), 119 [C<sub>9</sub>H<sub>11</sub>]<sup>+</sup>(15), 91 [C<sub>7</sub>H<sub>7</sub>]<sup>+</sup>(20),  
69 [C<sub>5</sub>H<sub>9</sub>]<sup>+</sup> (100), 41 [C<sub>3</sub>H<sub>5</sub>]<sup>+</sup> (75).

RMN<sup>1</sup>H (80 MHz) (CDCl<sub>3</sub>) (ESPECTRO I)  $\delta$  : 1.60 (s, 6H, Me-C<sub>9</sub>, Me-C<sub>10</sub>'), 1.70  
(s, 3H, Me-C<sub>7</sub>'), 2.10-2.15 (m, 4H, H-4', H-5'), 3.10  
(d, J=7 Hz, H-1'), 3.85 (s, 3H, OMe), 5.05 (m, 1H,  
H-6'), 5.15 (ta, 1H, H-2'), 5.85 (d, J=3 Hz, 1H, H-5),  
6.45 (dd, J= 3 Hz, J=1 Hz, 1H, H-3).

### Wigandol (2)

C<sub>18</sub>H<sub>22</sub>O<sub>3</sub> Cristales incoloros pf=163<sup>0</sup>

UV  $\lambda_{\max}$  (MeOH) nm : 278 (  $\epsilon = 13,108$ )

IR  $\nu_{\max}$  (CHCl<sub>3</sub>) cm<sup>-1</sup>: 3624 ( OH ), 1725(OCOMe), 1465 ( -CH=CH-),  
1048 ( C-O-C).

EMIE 70 eV m/z (Int.rel) : 286 [ M ]<sup>+</sup> (7), 244 [M-CH<sub>2</sub>-CO]<sup>+</sup> (40),  
123 [C<sub>7</sub>H<sub>7</sub>O<sub>2</sub>]<sup>+</sup> (23), 69 [C<sub>5</sub>H<sub>9</sub>]<sup>+</sup> (54),  
43 [C<sub>3</sub>H<sub>7</sub>]<sup>+</sup> (100).

RMN<sup>1</sup>H (300MHz) (CDCl<sub>3</sub>) (ESPECTRO VIII) : 1.57 (s, 3H, Me-C<sub>10</sub>), 1.75 (s, 3H,  
Me-C<sub>6</sub>), 1.76 (m, 1H, H-9'), 2.02 (m, 2H, H-8, H-8'),  
2.15 (m, 1H, H-9), 2.3 (s, 3H, MeCO), 3.18 (da, 2H,  
J=15.8Hz, H-5, H-5'), 3.26 (da, 2H, J=12, J= 3.0 Hz,  
H-12, H-12'), 5.06 (t, 1H, J=12Hz, J=7.8 Hz, H-7),  
5.15 (da, 1H, J=9, J=3.0Hz, H-11), 5.18 (s, 1H, OH),

6.45 ( d, 1H, J=8Hz, H-3), 6.66( d, 1H, J=8Hz, H-2).

RMN<sup>13</sup>C (75 MHz) (CDCl<sub>3</sub>) (ESPECTRO X) δ : 17.0 (C-13), 20.9 (C-14), 22.38 (C-16), 24.7 (C-8 ó C-9), 27.8 (C-8 ó C-9), 28.4 (C-5 ó C-12), 36.3 (C-5 ó C-12), 113.4 (C-2), 119.9 (C-3), 121.87 (C-7), 122.4 (C-11), 127.39 (C6 ) 131.57 (C-10 ), 131.83 ( C-4a ó C-2a ), 139.20 ( C-4a ó C-12a), 142.71 (C-1), 153.0 (C-4 ), 170.48 (C-16).

#### Acido 4-metoxi-3-geraniibenzoico (3)

C<sub>18</sub>H<sub>24</sub>O<sub>3</sub>

Aceite incoloro

IR  $\nu_{\max}$  (CHCl<sub>3</sub>) cm<sup>-1</sup> : 3030-2542 (COOH), 1725 (CO), 1604, 1502, 1438, 1466, 1406 (-CH=CH-<sub>aromat</sub>), 1293, 1258 (C-O-C) 1181, 1135, 1106 (-CH=CH-<sub>arom</sub>) 1029 (-C-O-C), 941 ( <sub>aromat.trisub</sub>).

EMIE 70 eV (m/z)m (Int.rel): 288 [M]<sup>+</sup> (14), 273 [M-Me]<sup>+</sup> (4), 245 [M-C<sub>3</sub>H<sub>7</sub>]<sup>+</sup> (16), 243 [M-COOH]<sup>+</sup> (3), 165 [C<sub>9</sub>H<sub>9</sub>O<sub>3</sub>]<sup>+</sup> (22), 123 [C<sub>9</sub>H<sub>15</sub>]<sup>+</sup> (58), 108 [C<sub>8</sub>H<sub>11</sub>]<sup>+</sup> (20) 95 [C<sub>7</sub>H<sub>10</sub>]<sup>+</sup> (100), 69 [C<sub>5</sub>H<sub>9</sub>]<sup>+</sup> (62), 55 [C<sub>4</sub>H<sub>7</sub>]<sup>+</sup> (40), 41 [C<sub>3</sub>H<sub>5</sub>]<sup>+</sup> (63).

RMN<sup>1</sup>H (80 MHz) (CDCl<sub>3</sub>) (ESPECTRO II) δ :

1.60 ( s, 3H, Me-C<sub>9</sub>), 1.65 ( s, 3H, Me-C<sub>10</sub>'),  
1.70 ( s, 3H, Me-C<sub>8</sub>'), 2.10-2.20 ( m, 4H, H-4', H-5'),  
3.30 ( d, 2H, J=8 Hz, 2H, H-1')  
3.85 ( s, 3H, MeO), 5.10 ( m, 1H, H-6'),  
5.28 ( t, J=8Hz, 1H, H-2'), 6.80( d, J=8Hz, H-5)  
7.85 ( s, J=3 Hz , H-2), 7.0 ( m, 1H, OH),  
7.95 ( dd, J= 8Hz, J=3Hz, 1H , H-6)

**Wigandlona(4):**C<sub>16</sub>H<sub>18</sub>O<sub>2</sub>

Aceite amarillo intenso

IR  $\nu_{\max}$  (CHCl<sub>3</sub>) cm<sup>-1</sup>: 2928, 2858 (C-H), 1649 (CO), 1586, 1445  
(-CH=CH-), 1288, 1076 (C-O).

EMIE 70 eV m/z (Int.rel) 242 [M]<sup>+</sup> (6), 214 [M-CO]<sup>+</sup> (4), 186 [M-2CO]<sup>+</sup> (6),  
91[C<sub>7</sub>H<sub>8</sub>]<sup>+</sup> (35), 77 [C<sub>8</sub>H<sub>6</sub>]<sup>+</sup> (10), 63 [C<sub>5</sub>H<sub>4</sub>]<sup>+</sup> (10),  
41[C<sub>3</sub>H<sub>4</sub>]<sup>+</sup> (96), 39 (C<sub>3</sub>H<sub>2</sub>)<sup>+</sup> (100)

RMN <sup>1</sup>H (300 MHz)(CDCl<sub>3</sub>) (ESPECTRO IV)  $\delta$ : 1.49 (s, 3H, Me-C<sub>13</sub>), 1.73  
(s, 3H, Me-C<sub>14</sub>), 1.88-2.24 (m, 4H, H-8, H-8', H-9,  
H-9'), 2.91-3.7 (m, 4H, H-5, H-5', H-12, H-12'),  
5.10 (q, 2H, H-7, H-11), 6.75 (AB, 2H, J=8Hz,  
H-2, H-3)

RMN<sup>13</sup>C (75 MHz) (CDCl<sub>3</sub>) (ESPECTRO V)  
16.9 (C-13), 23.5 (C-14), 24.5 (C-9 ó C-8),  
27.3 (C-8 ó C-9), 27.7 (C-5 ó C-12),  
38.1 (C-5 ó C-12), 121.07 (C-7),  
122.7 (C-11), 134 (C-6), 136.1 (C-10),  
136.5 (C-2 ó C-3), 137.7 (C-2 ó C-3),  
143.2 (C-4a ó C-12a), 144.1 (C-4a ó C-12a),  
187.8 (C-1), 188 (C-4).

**CICLIZACION DEL WIGANDOL:**

105.3 mg de Wigandol (2), se disolvieron en 10 ml de diclorometano, se le adicionaron 0.4 ml de cloruro de tionilo y se dejó reaccionar por una hora a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se purificó por cromatografía en columna (30 g, Silicagel Malla 240-400), en la fracción 46 (EP: AcOEt, 1:1) se obtuvo un aceite amarillo (55 mg). Este se purificó por cromatografía en capa fina (20 cm x 10 cm x 1 cm DCM : Me<sub>2</sub>CO 9:1, 2x), de la cual se separaron dos bandas. La banda menos polar correspondió al Producto 17 (15.3 mg) y la menos polar al Producto 16

## PRODUCTO 17

IR  $\nu_{\max}$  (CHCl<sub>3</sub>) cm<sup>-1</sup> : 3454, 3599 (OH), 3079-2869 (C-H), 1753 (CO),  
1593 (C=CH<sub>2</sub>), 1466, 1371 (C=C-), 1061, 1024 (C-O-

EMIE 70 eV (m/z)(Int.rel) :

286 [M]<sup>+</sup> (19), 244 [M-CH<sub>2</sub>CO]<sup>+</sup> (70),  
229 [M-Me-CH<sub>2</sub>CO]<sup>+</sup> (39), 175 [C<sub>10</sub>H<sub>5</sub>O<sub>3</sub>]<sup>+</sup> (14),  
107 [C<sub>8</sub>H<sub>11</sub>]<sup>+</sup> (36), 108 [C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>O<sub>2</sub>]<sup>+</sup> (20),  
136 [C<sub>8</sub>H<sub>8</sub>H<sub>2</sub>]<sup>+</sup> (50), 93 [C<sub>7</sub>H<sub>9</sub>]<sup>+</sup> (42),  
91 [C<sub>7</sub>H<sub>7</sub>]<sup>+</sup> (62), 80 [C<sub>5</sub>H<sub>4</sub>O]<sup>+</sup> (20), 55 [C<sub>4</sub>H<sub>7</sub>]<sup>+</sup> (78),  
43 [C<sub>3</sub>H<sub>7</sub>]<sup>+</sup> (100).

RMN<sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>) (300 MHz) (ESPECTRO XII)  $\delta$  : 1.05 (s, 3H, Me-C<sub>13</sub>),  
1.70 (s, 3H, Me-C<sub>14</sub>), 1.2 (ta, H-7),  
1.89 (ta, 1H, J= 7 Hz, H-11),  
2.08 (m, 2H, H-8, H-8'), 2.33 (d, H-12'),  
2.38 (d, J= 16 Hz, H-5), 2.38 (s, 3H, MeCO),  
2.61 (d, J=16Hz, H-5'), 2.85 (dd, J=17, 6.5 Hz,  
— H-12), 5.12 (s, ancho, 1H, OH),  
5.30 (s, 1 H, H-9), 6.55 (d, J=8 Hz, H-2),  
6.71 (d, J=8Hz, H-3)

RMN<sup>13</sup>C(CDCl<sub>3</sub>)(75 MHz)  $\delta$  :

20.9 (C-14), 22.7 (C-8), 22.9 (C-13),  
25 (C-15), 29.9 (C-12), 30.5 (C-5),  
35.1 (C-7), 42.3 (C-11),  
112.3 (C-2), 118.9(C-3), 120(C-9), 123.9(C-4a),  
128.7 (C-12a), 136.5 (C-10), 141.8 (C-1),  
151.1 (C-4), 170 (C-16).

**PRODUCTO 16**

IR  $\nu_{\max}$  (CHCl<sub>3</sub>) cm<sup>-1</sup>: 3454, 3599 (OH), 3079, 2869 (C-H),  
1753 (CO), 1643 (C=CH<sub>2</sub>), 1465, 1370 (C=C-),  
1334, 1309, 1280 (-C-O-C-).

EMIE 70 eV (m/z)(Int. rel)

286[M]<sup>+</sup> (20) 244 [M-CH<sub>2</sub>CO]<sup>+</sup> (80), 229 [M-CH<sub>2</sub>CO-  
Me]<sup>+</sup> (28), 216[C<sub>13</sub>H<sub>12</sub>O<sub>3</sub>]<sup>+</sup> (6), 176[C<sub>10</sub>H<sub>3</sub>O<sub>3</sub>]<sup>+</sup> (6),  
136 [C<sub>10</sub>H<sub>16</sub>]<sup>+</sup> (55), 108 [C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>O<sub>2</sub>]<sup>+</sup> (45),  
77 [C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>]<sup>+</sup> (56), 43 [CO<sub>3</sub>H]<sup>+</sup> (45), 43 [CH<sub>3</sub>CO]<sup>+</sup> (100).

RMN<sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>) (300 MHz) (ESPECTRO XII)  $\delta$  :

1.0 (s, H, Me-C<sub>13</sub>), 1.46 (m, H-7'), 1.56 (m, 3H, H-  
7, H-8, H-8'), 2.02 (m, 1H, H-9'),  
2.2 (d, J=16 Hz, H-5), 2.3 (m, 1H, H-9),  
2.6 (d, J=16 Hz, H-5')  
2.54 (s, 3H, MeCO), 2.74 (da, 2H, J=9 Hz, H-12,  
H-12'), 4.42 (s, 1H, H-13), 4.68  
(s, 1H, H-13'), 6.56 (d, J=8 Hz, H-2),  
6.66 (d, J=8 Hz, H-3)

RMN<sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>) (50 MHz)  $\delta$  :

20.9 (C-14), 23.9 (C-15), 24.1 (C-8), 27.7 (C-9),  
30.8 (C-5 ó C-12), 34 (C-6), 34.9 (C-12 ó C-5), 37.5  
(C-7), 45.2 (C-11), 107.5 (C-13), 112.2 (C-2),  
118.9 (C-3), 123.4 (C-12a), 128.4 (C-4a),  
142.3 (C-10), 149.2 (C-1), 151 (C-4), 170 (C-16).

## ACETILACION DEL WIGANDOL(2).

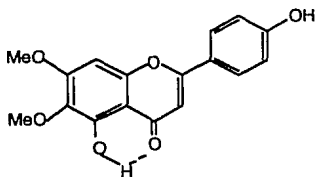
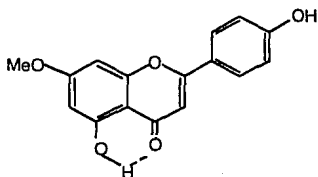
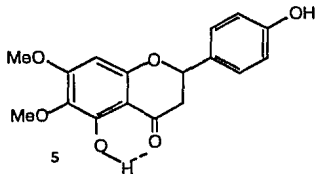
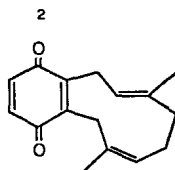
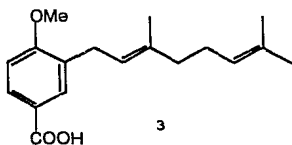
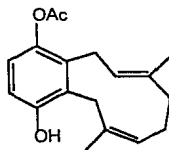
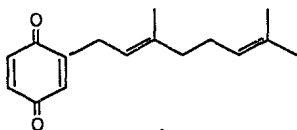
A 142. mg de Wigandol (2), se le adicionó 1 ml de anhídrido acético y 0.5 ml de piridina. Se dejó la reacción a temperatura ambiente y cuando esta se completó (a 3 horas y media), se eliminó el exceso de anhídrido acético y piridina al alto vacío. Posteriormente la mezcla de la reacción se purificó por cromatografía en columna utilizando como sistema eluyente EP : AcOEt 9:1. Se obtuvo el acetato de Wigandol (14) como un sólido cristalino blanco  $pf=141-143^{\circ}$ , cuyos datos espectroscópicos fueron idénticos a los ya reportados<sup>1</sup>.

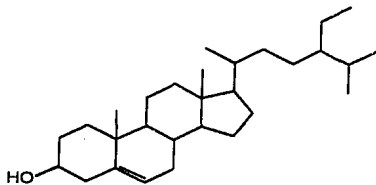
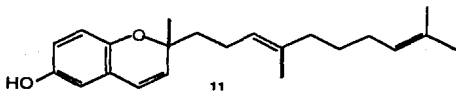
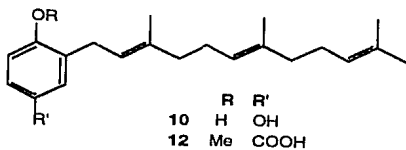
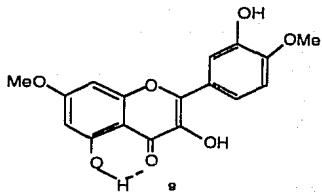
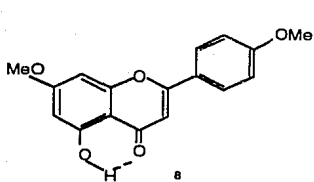
## PIROLISIS DEL ACETATO DE WIGANDOL(2)

130.4 mg de acetato de Wigandol (14), se calentaron en un tubo de sublimación al alto vacío por 40 min, para dar lugar a una mezcla (120.8 mg), la cual fue separada por cromatografía en placa (20 cm x 20 cm x 1 cm), eluida con EP : AcOEt 8:2, 4x. Se obtuvieron 2 compuestos; el primero de ellos, fue un compuesto cristalino de  $pf= 97-99^{\circ}$  que resultó ser el producto de Cope (15), sus datos espectroscópicos fueron idénticos a los reportados anteriormente<sup>1</sup> y el segundo compuesto fue el acetato de Wigandol (14) que no reaccionó.

## REDUCCION ACETILANTE DE WIGANDIONA (8).

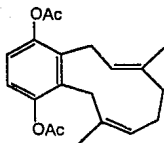
A 62.8 mg de Wigandiona (4), se le adicionaron 0.4 ml de anhídrido acético y 0.5 g de granallas de Zn, con posterior reflujo durante 24 hrs. La mezcla de la reacción se filtró, posteriormente la solución resultante se sometió a alto vacío para eliminar el exceso de anhídrido acético. Finalmente el producto fue purificado por cromatografía en columna, utilizando como eluyente EP : AcOEt 9:1, para dar un compuesto cristalino blanco con  $pf= 97-99^{\circ}$ , cuyos datos espectroscópicos fueron idénticos al producto de pirolisis del acetato del Wigandol (15).

FLAVONOIDES Y TERPENOIDES AISLADOS DE *Wigandia kunthii*  
DERIVADOS Y COMPUESTOS RELACIONADOS

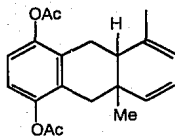


13

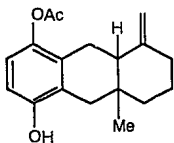




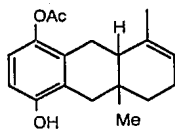
14



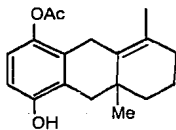
15



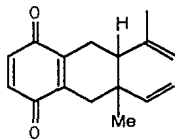
16



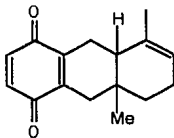
17



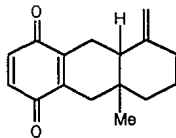
18



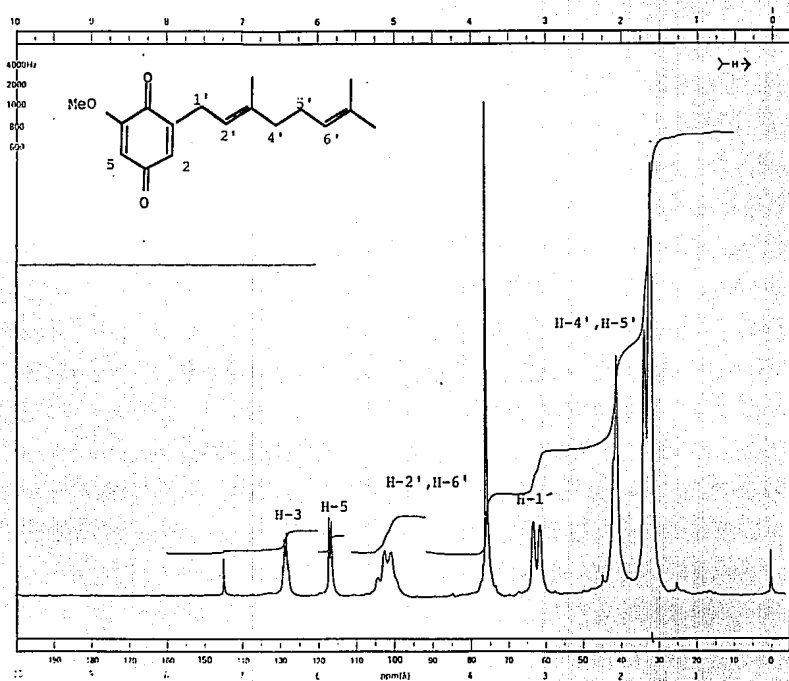
19



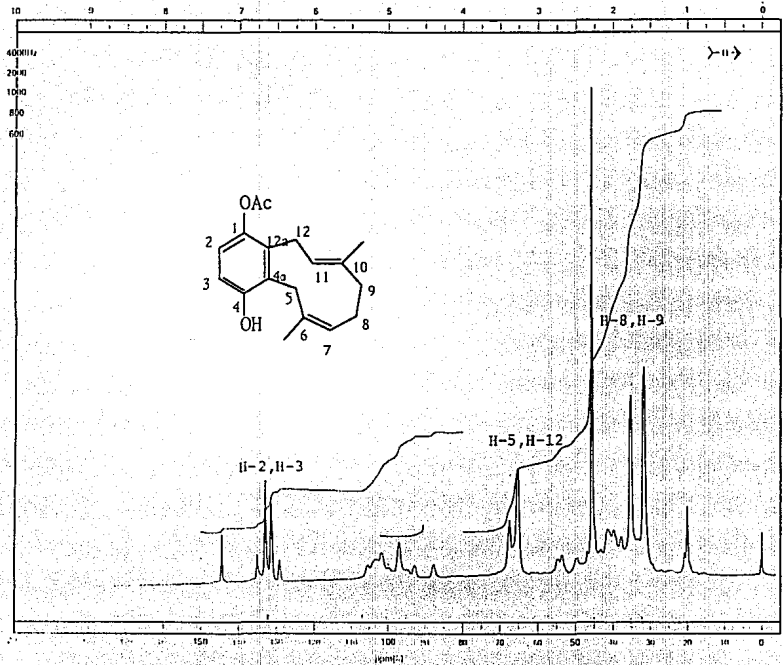
20



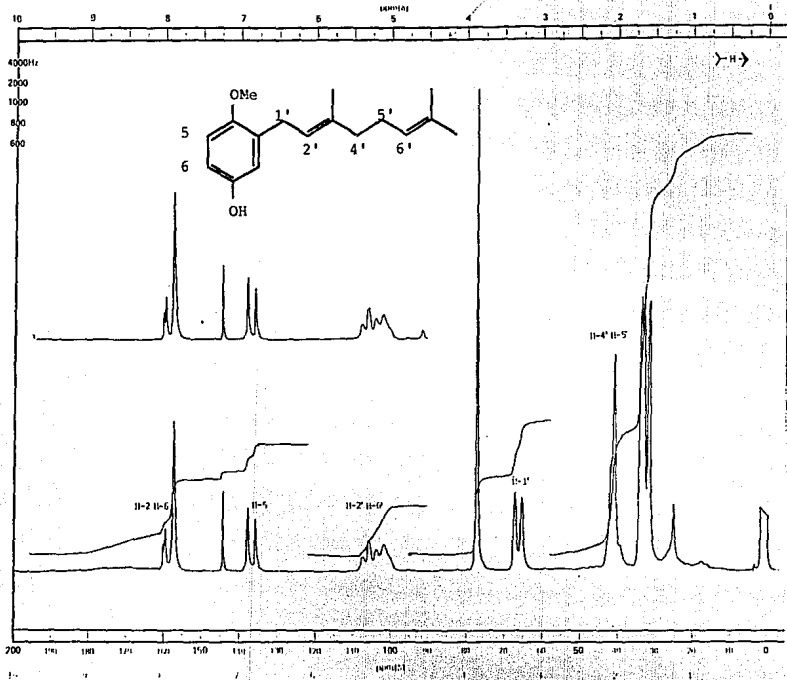
21



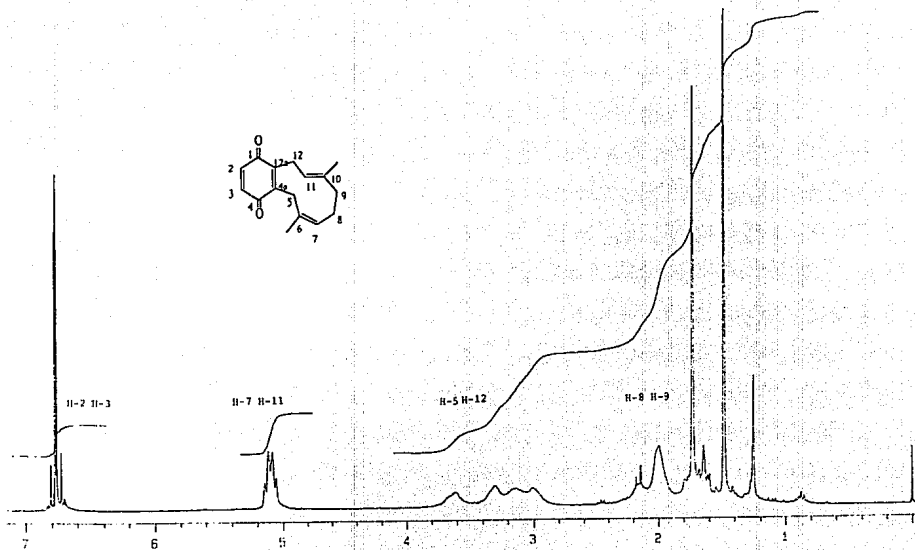
ESPECTRO I.- Espectro de 2-geranil-6-metoxibenzoquinona (1) determinado a 80 MHz en  $\text{CDCl}_3$



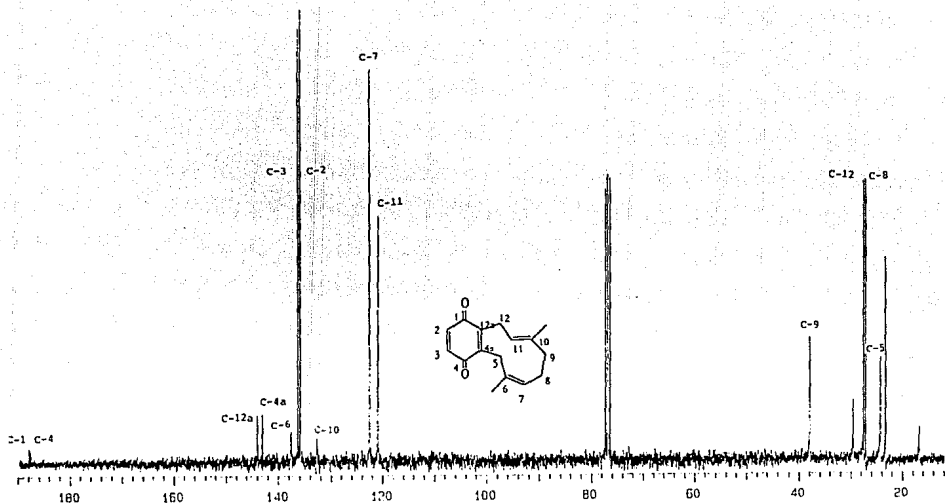
ESPECTRO II.- Espectro del Wiquandol (2) determinado a 80 MHz en  $CDCl_3$



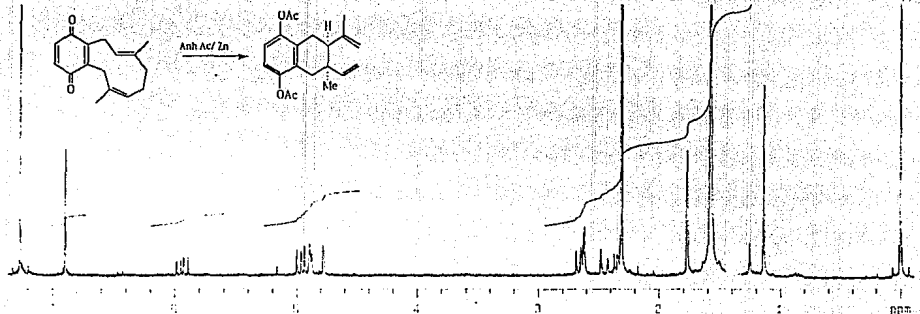
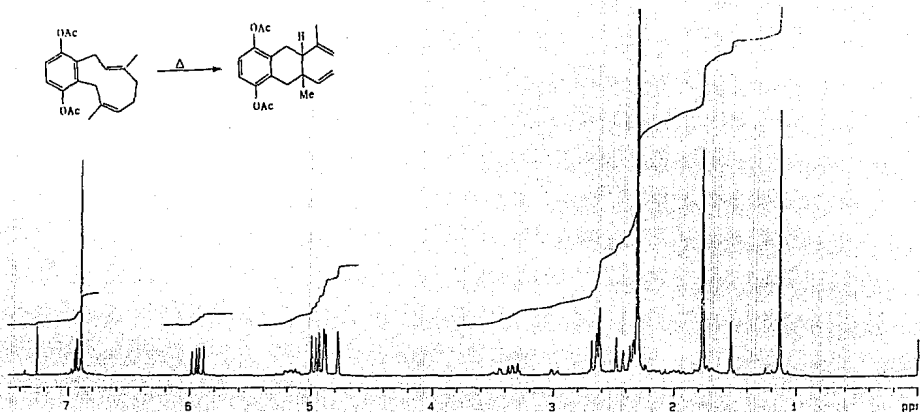
ESPECTRO III.- Espectro del Acido 3 geranyl-4 metoxibenzoico (3) determinado a 80 MHz en  $\text{CDCl}_3$



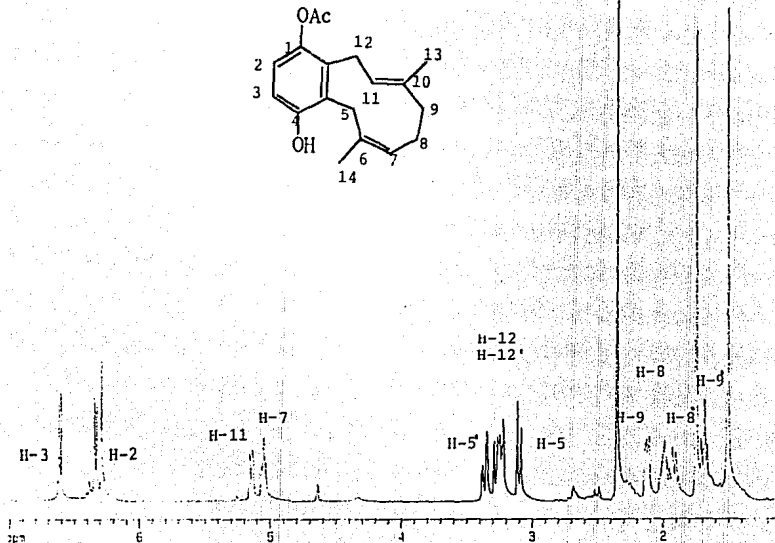
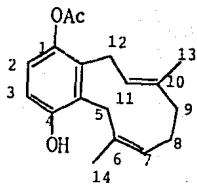
ESPECTRO IV.- Espectro de la Wigandione (4) determinado a 300MHz en CDCl<sub>3</sub>



ESPECTRO V.- Espectro de la Wigandona determinado a 75 MHz en CDCl<sub>3</sub>



ESPECTRO VI.- Espectros del Producto de Cope (15) del Wigandol y el Producto  
 de la Reducción Acetilante de la Wigandiona (4) en 300 MHz en  $\text{CDCl}_3$ .

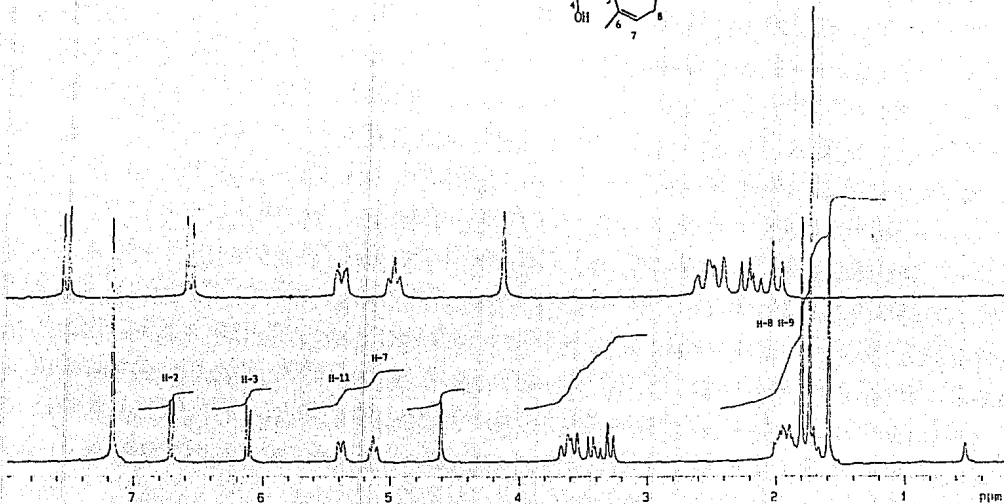
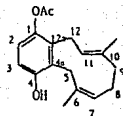


ESPECTRO VII.- Espectro del Wigandol (2) determinado a 500 MHz en  $\text{CDCl}_3$  a  $-40^\circ$ .

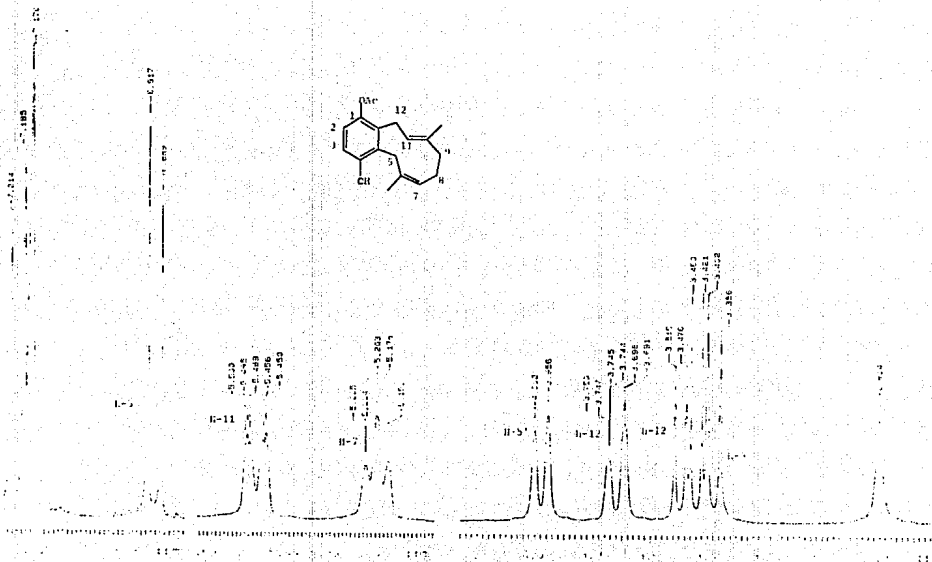
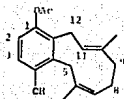


Wigandol Gujano sR

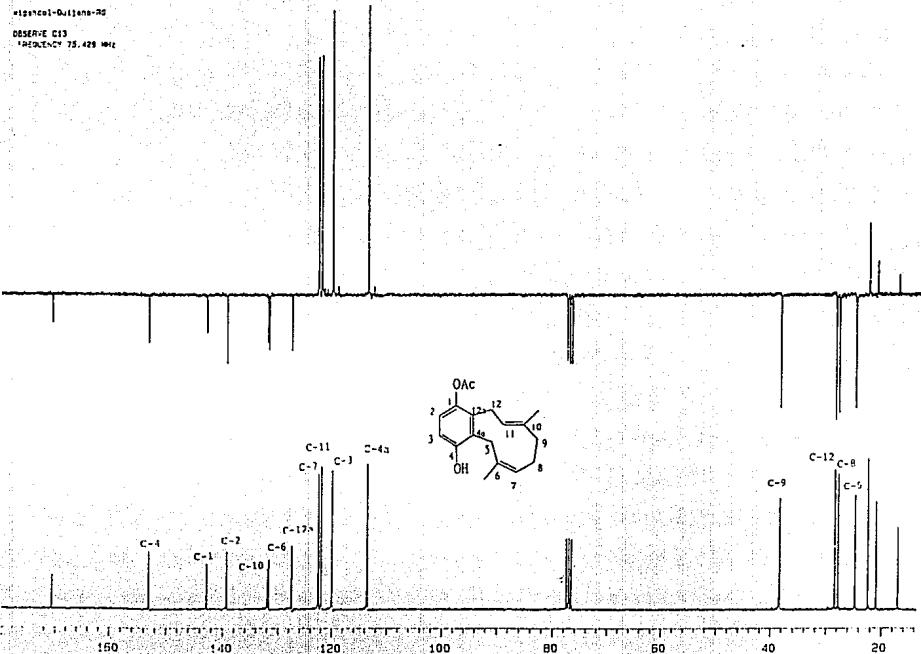
GPS-107 MS  
FREQ: 300.13 MHz  
SOLVENT: CDCl<sub>3</sub> 3000 MHz



ESPECTRO VIII.- Espectro del Wigandol (2) en C<sub>6</sub>D<sub>6</sub> a 300 MHz

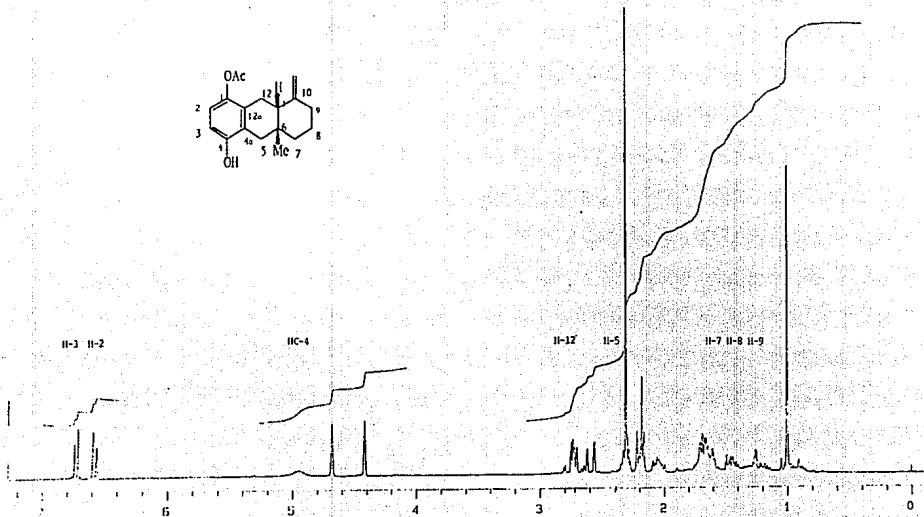
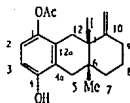


ESPECTRO IX.- Espectro del Wigandol (2) en  $C_6D_6 + DMSO$  a 300 MHz

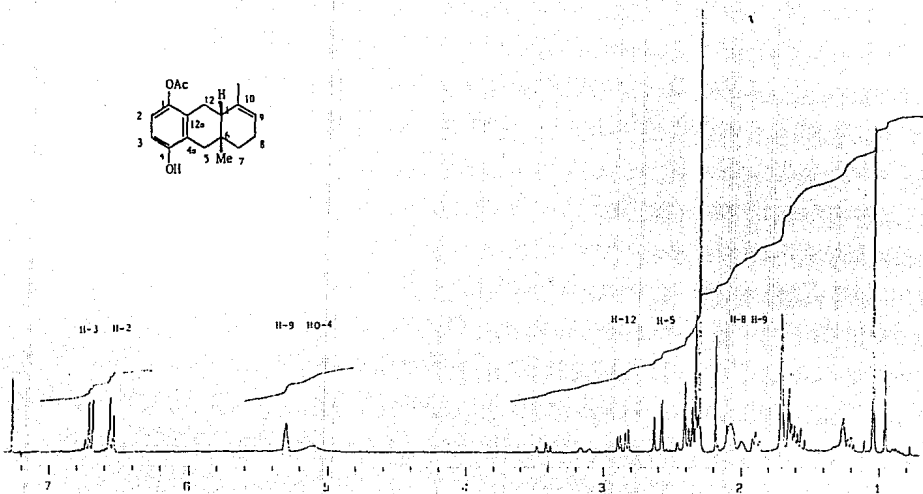
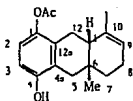


ESPECTRO X.-Espectro del Wigandol determinado a 75 MHz en  $CDCl_3$

ESTA TESIS NO DEBE  
SALIR DE LA BIBLIOTECA



ESPECTRO XI.- Espectro del Producto b (16) determinado a 300MHz en  $CDCl_3$



ESPECTRO XII.-Espectro del Producto a (17) determinado a 300 MHz en  $CDCl_3$

## BIBLIOGRAFIA

- 1.- Gómez, F., Quijano, L. , Calderón, J.S. and Ríos, T. Terpenoids isolated from *Wigandia kunthii*. Phytochemistry 19, 2202-2203, 1980.
- 2.- Wollenweber, E., Dietz, V.H. and Schill, D. A series of novel flavanone from fern exudates Z. Naturforsch 35c, 685-690, 1980.
- 3.- Geissman, T. A. The Chemistry of Flavonoids Compounds. The Macmillan Company . New York. 1962.
- 4.- Harborne, J. B., Mabry, T.J. and Mabry, H. "The Flavonoids". Chapman and Hall. New York. 1975.
- 5.- Maxwell, A. and Rampersad, D. Prenylated 4-hydroxybenzoic acid derived from *Piper marginatum* . J. Nat. Prod. 51, 330-3373, 1980.
- 6.- Maxwell, A. and Rampersad, D. Prenylated 4-hydroxybenzoic acid derived from *Piper spp.* . Hel. Chim. Acta. 1116-1117, 1984.
- 7.- Moir, M. and Thomson, R.H. Terpenoids from Naturally Occurring Quinones. Part XXIII from *Cordia allidora*. J. Chem. Soc. Perkin Trans I 405-410, 1977
- 8.- Rzedowski, J. "Vegetación de Mexico". Editorial Limusa. México D.F. 1978.
- 9.- O'Gorman, H. "Plantas y Flores de México". Dirección General de Publicaciones. UNAM. México D.F. 1963.
- 10.- Nash, L, Dorothy. Flora de Veracruz. Hydrophyllaceae. INIREB. Xalapa, Ver. pp 31-37, 1979.
- 11.- Reynolds, G. , Epstein, W. and Rodríguez E. Unusual contact allergens

- from plants in the Family Hydrophyllaceae. Contact. Dermatitis **14**, 39- 44, 1986.
- 12.- Rudali, G. Recherches sur l'action radioprotectrice de la geranyl- hydroqui none. Compte Rendu des Seance de la Societe de Biologie **160**, 1365-1370 ,1966.
- 13.- Howard, B. and Clarkson, K. Simple prenylated hydroquinone derivatives from the marine urochordate *Aplidium californicum* . Natural anticancer and antimutagenic agents. Tetrahedron Letters **46**, 4449-4452, 1979.
- 14.- Tyfczynska, J. and Borkowski, B. Cardenolides in the seeds of *Hesperis matronalis*. Dissertations Pharm. **17** , 519-526, 1965.
- 15.- Jalle, A. J., Cann, G. and Lawrence G. The antibacterial properties of *Eriodictyon californicum* . Arch. Biochem. Biophys. **32**, 121-123,1951.
- 16.- Wasser, C. , Silva, F. and Rodríguez, E. Uroshiol components as mediators in DNA strand scission. Experientia **46**, 500-502, 1990.
- 17.- Arriaga-Giner, F., Wollenweber, E. and Schober, I. The new benzoic acid derivatives from the glandular excretion of *Eriodictyon sessifolium* (Hydrophyllaceae). Z. Naturforsch **43c**, 337-340, 1980.
- 18.- Reynolds, G. and Rodríguez, E. Prenylated phenols that cause contac dermatitis isolation from trichomes of *Phacelia ixodes*.. Planta Medica **43** ,187-93, 1981.
- 19.- Ellnain, W., Kowalewski, M. Flavonoids in the flowers of *Hesperis matronalis*.. Diss Pharm Pharmacol. **23** , 555-566, 1971.
- 20.- Willard, N., Hadley, J. and Gisvold, O. Phytochemistry study of *Eriodictyon angustifolium*. J. Am. Pharm. Assoc. **33**, 275-276,1944.
- 21.- Bacon, J., Fang, N., Nianbar, F and Mabry, T. Systematics of *Nama*

- (Hydrophyllaceae) flavonoids and phyletic position of Sect. Arachanoidea and Sect. Cinerascentia. Plant. Syst. Evol. **151**, 223-228, 1986.
- 22.- Hegnaver, R. Chemotaxonomic def. Pflanzen. Vol 7. Ed. Birkhausen Verlag Basel, London, 1973, pp 174-239.
- 23.- Reynolds, G. and Rodríguez, E. Geranylhydroquinone: A contact allergen from trichomes of *Phacelia crenulata*. Phytochemistry **8**, 1567-1568, 1979.
- 24.- Reynold, G. and Rodríguez, E. The prenylated hidroquinones. Contact allergens from trichomes of *Phacelia minor* and *P. parryi*. Phytochemistry **20**, 1365-1366, 1981.
- 25.- Reynolds, G. and Rodríguez, E. Dermatotoxic phenolics from glandular trichomes of *Phacelia campanularia* and *P. pedicellata*. Phytochemistry **25**, 1617-1619, 1986.
- 26.- Reynolds, G., Proksch, P., Rodríguez, E. Prenylated phenolics that cause contact dermatitis from glandular trichomes of *Turricula parryi*. Planta Medica **494-499**, 1985.
- 27.- Torsell Kurt B.G. Natural Product Chemistry. John Wiley & Sons Limited. Great Britain. pp 58-100, 1983.
- 28.- Wollenweber, E. Aglycones flavoniques dans L' excretat des feuilles de Polyphenols **13**, 621-623, 1986.
- 29.- Reynolds, G., Gafner, F. and Rodríguez, E. Contac allergens of a urban shrub *Wigandia caracasana*. Contact Dermatitis **21**, 65-68, 1989.
- 30.- Pretsch, E., Clerc, T., Seigl, J. y Simon, W. Tablas para elucidación estructural de compuestos orgánicos por métodos espectroscópicos. Editorial Alhambra Mexicana. 2da Edición. México D.F. 1985.
- 31.- Bates, R. B. and Gale, D. M. Stereochemistry of trisubstituted double bonds in



- terpenoids. J. Am. Chem. Soc. **82**, 5749, 1960.
- 32.- Stone, K.J., Wellbum, A. R., Hemmisnis, F.W. and Pennocks, J. The characterization of ficaprenol-10-11 and 12 from the leaves of *Ficus elastica* (Decorative Rubber Plant) . Biochemistry Journal. **102**, 325-330, 1967.
- 33.- Levy, C.G. and Gordon, N. Resonancia Magnética Nuclear de Carbono 13.. Ediciones Bellaterra S.A. Barcelona, España, 1972
- 34.- Simova, S. D., Bothkova, N. V and Orahuvats, A. J.  $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{-C}$  NMR. Studies of some germacrones and isogermacrones. Organic Magnetic Resonance **33**, 431-432, 1984.
- 35.- Rychlewka, U. Structure of the melampolide sesquiterpene lactone Alloshkuriolide  $\text{C}_{15}\text{H}_{15}\text{O}_4$ . Acta Cryst C **39**, 1303-1305, 1983.
- 36.- Gutierrez, A., Oberti, J. C., Sosa, V. and Herz, W. Melampolides from *Mikania cordifolia*.. Phytochemistry **26**, 2315-2320, 1987.
- 37.- Romo de Vivar, A., Pérez, C. A. and Delgado, G. 11,13 Dehydroeriolin . Schkuhriodin and Schkuriolidin, Germacranolides from *Schkuria species*. Phytochemistry **23**, 2372-2374, 1984.
- 38.- Maldonado, E., Flores, A. and Ortega, A. A germacranolide from *Gochanatia hypoleuca* and its transformation into a melampolide. Phytochemistry **27**, 861-863, 1988.
- 39.- Delgado, G., Hernández, H. and Romo de Vivar, A. Structure of Elemanschkuriolide Melampolide as Possible Biogenetic precursor of  $\text{C}_{14}\text{H}_5$   
J. Org. Chem. **49**, 2994-2996, 1984.
- 40.- Hanke, F. J. and Kubo, I.  $^{13}\text{-CNMR}$ . Resonance of Natural Products J. Nat. Prod. **52**, 1237-1245, 1989.

- 41.- Takeda, K., Horiba, I. and Minnato, H. Cope Rearrangement of some germacrane type furan sesquiterpenes. Part III Rearrangement of cis,trans cyclodeca-1,5-diene derivatives. J. Chem. Soc. (C), 2704-2707, 1970.
- 42.- Takeda, K. Stereospecific Cope rearrangement of the germacrane type sesquiterpene. Tetrahedron **30**, 1525-1534, 1974.
- 43.- Takeda, K. and Horibe, I. Cope rearrangement of some germacrane type furan sesquiterpenes Part V. Preparation and thermal rearrangement of some cis, trans-germacranolides. J. Chem. Soc. Perkin Trans. I 870-76, 1975.
- 44.- Doering, M.V.E. and Roth, W.R. Thermal Rearrangement. Angew. Chem. Inter. **2**, 115-122, 1963.
- 45.- Vogel, E. Valence Isomerization in Compounds with strained Rings, Angew. Chem. Inter. **2**, 1, 1963.
- 46.- Gill, G. B. The Application of the Woodward-Hoffmann Orbital Symmetry Roles to Concerted Organic Reactions. Quart Rev **22**, 386, 1968.
- 47.- Tada, H. and Takeda, K. Structure of the Sesquiterpene Lactone Laurenobiolide. J. C. S. Chem Commun. 1391, 1973.
- 48.- Moir, M. and Thompson, R. H. Naturally Occurring Quinones Part XXII. Terpenoid Quinones in *Cordia spp.* J. Chem. Soc. Perkin Trans. I , 1352-1357, 1973.
- 49.- Manners, G. and Jurd, L. The hydroquinone terpenoids of *Cordia alliodora*. J. Chem. Soc. Perkin. Trans. I, 405-410, 1977.
- 50.- Moir, M. and Thompson, R. H. Naturally Occurring Quinones Part XXIII. Corichomes from *Patagonula amaricana* L. J. Chem. Soc. Perkin Trans. I , 1556-1566, 1973.
- 51.- Takeda, R., Ohta, Y. and Hirose, Y. Sesquiterpenoids constituentes of the

liverwort *Frullania brothers*. Steph. Bull. Chem. Soc. Jpn. **56**, 1120-1124, 1983.

- 52.- Lowry, H. T. and Kathleen, S. R. Mechanism and Theory in Organic Chemistry. 2da Edition. Harper & Row . New York. 1981.
- 53.- Dostkotch, R. W. and El-Ferally, F. The structure of tulipinolide and epitulipinolide cytotoxic sesquiterpenes from *Linodendron tulipifera* L. J. Org. Chem. **35**, 1928-36, 1970.
- 54.- Tori, K., Horibe, H. Y. and Mabry, T.J. Configuration of the Endocyclic Double-bond and Conformation of the Germacranolide Dilactones, Isabelin, Isoisabelin, and Related Germacranolide Monolactone as Studied by Nuclear Overhauser Effect. J. Chem. Soc. (B), 1084, 1971.
- 55.- Tori, K., Horibe, I., Kuryama, K. ,Tada, H. and Takeda, H. Simultaneous Application of the Nuclear Overhauser Effect and an N.m.r. Shift Reagent Conformations of Costunolide and Dydrocostunolide in solution. J. C. S. Chem Commun. 620, 1973.
- 56.- Tori, K., Horibe, I., Minato, H. and Takeda, K. A conformational study of sericenine, a ten membered ring furanosesquiterpene and its derivatives. Tetrahedron Letters **46**, 4355-4358, 1971.
- 57.- Dewick, P. The Biosynthesis of Shikimate Metabolites. Natural Products Reports, 263-289, 1989.
- 58.- Gibson, G. Chemical and Genetic Studies on the Biosynthesis of Ubiquinone by *Echerichia coli*. Biochem. Soc. Trans **1**, 317-326, 1973.
- 59.- Stevens, L. K. and Jurd, L. The Structure and Synthesis of Alliodorin. Tetrahedron **33**, 665-668, 1975.