



**UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTONOMA DE MEXICO**

**FACULTAD DE QUIMICA
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO**

**"ALGUNAS TRANSFORMACIONES QUIMICAS
DE LA ARGENTATINA A"**

T E S I S

Para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS QUIMICAS

(QUIMICA ORGANICA)

que presenta:

Q.F.B. GEORGINA E. ESPINOSA PEREZ



México, D. F.

1993

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



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

INTRODUCCION	1
DISCUSION	10
PARTE EXPERIMENTAL	48
CONCLUSIONES	62
BIBLIOGRAFIA	64

RESUMEN

En el presente trabajo se describe la separación de la argentatína A (1) e isoargentatína A (2) a partir de la resina de desecho del proceso de industrialización del guayule, utilizando arcilla bentonítica siendo este método rápido y de bajo costo y la purificación de estos productos mediante sucesivas cristalizaciones

Se presenta la obtención a través de reacciones sencillas y clásicas de 2-hidroximetilen-isoargentatína A (14), [2,3d] isoxazol-isoargentatína A (15), [2,3d] pirazol-isoargentatína A (16), 16, 25-diacetato de argentatína A (17), 16-acetato de argentatína A (18), 3,16,25-triacetato-2-en-argentatína A (19), 2-Iodo-16,25-diacetato de argentatína A (20), oxima de argentatína A (21), oxima de isoargentatína A (22), 16-trifluoroacetato lactama de argentatína A (23), Lactama de argentatína A (24), Lactona de argentatína A-16-ona (25), Lactona de argentatína A (26) y 8,9-dihidroxi-isoargentatína A (27).

Se dan a conocer los resultados de actividad antimicrobiana y los resultados preliminares de toxicidad para la argentatína A. Así como la afinidad que presenta la oxima de argentatína A (21), el 16,25-diacetato de argentatína A (17) y la argentatína A (1) a receptores hormonales en tumores de mama estrógeno dependientes.

INTRODUCCION

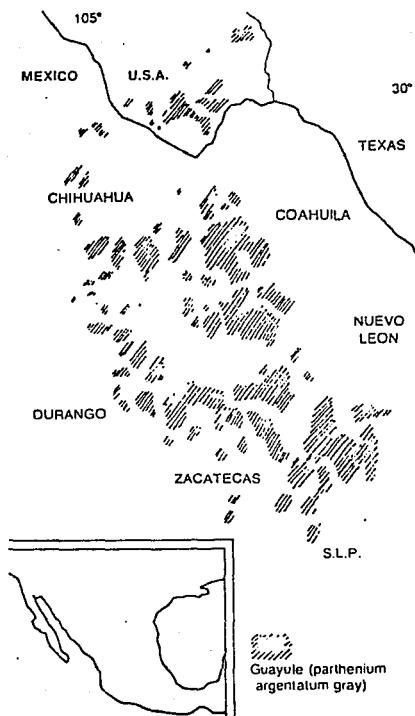
El *Parthenium argentatum* (Gray) es un arbusto que crece en las zonas áridas del Norte del País y que tiene como nombre vulgar el de guayule, vocablo que literalmente significa "planta que contiene hule".

El guayule ha sido explotado comercialmente por su contenido de hule natural desde los inicios de este siglo¹, realizándose esta explotación con relativo éxito ya que durante más de cien años ha competido infructuosamente frente a la *Hevea brasiliensis*, que es el productor por excelencia de hule natural². Sin embargo las plantaciones de *Hevea* necesitan áreas de cultivo con abundancia de agua, lo que es una limitante para su expansión y es en este contexto que el cultivo del guayule ha recibido nuevo impulso, ya que él crece en forma natural en zonas semidesérticas al noreste de México y al sur de Texas (figura 1). Siendo así que la expectativa de producción de hule a partir de *P. argentatum* en los Estados Unidos, es de miles de toneladas para el año 2000³.

En nuestro País los estudios sobre el guayule, se iniciaron en forma sistemática a partir de 1970, los cuales condujeron a dos hechos importantes: la creación de una planta piloto, que inicia sus operaciones en marzo de 1976², la cual cierra sus operaciones en 1981 por la crisis financiera que sufría el país y la realización de una Conferencia Internacional sobre guayule realizada en Agosto de 1977⁴.

Una posibilidad de hacer económicamente más atractiva la explotación del guayule como productor de hule, es la de dar alguna utilidad a los diferentes compuestos, que se obtienen como material de desecho, durante el proceso de extracción del hule y al cual se le conoce comunmente como "la resina".

FIGURA 1. Habitat natural del guayule



La resina es una mezcla de compuestos, dentro de los que destacan terpenos, compuestos aromáticos y ácidos grasos. Su composición se puede observar en el cuadro 1.

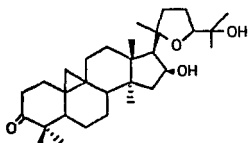
CUADRO 1. *Composición de la resina del guayule*

COMPUESTO	% en peso
terpenos, sesquiterpenos	2.0
guayulina A	10.0
guayulina B	3.0
guayulina C	1.0
guayulina D	<0.5
argentatina A	14.0
argentatina B	6.0
argentatina C	no se determino
argentatina D	4.0
glucósidos	no se determino
otros fitosteroles y triterpenos	no se determino
ácidos grasos triglicéridos	18.0

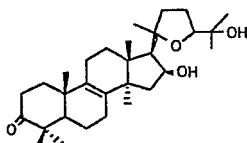
De acuerdo con nuestras investigaciones los triterpenos más abundantes y estables en la resina son los triterpenos llamados Argentatinas A (1), isoargentatina A(2) , Argentatina B(3) , isoargentatina B (4)⁶⁻⁸, (fig. 2).

Teniendo en cuenta que por cada kilogramo de hule se obtiene un kilogramo de resina⁵, resulta entonces que se podría contar con cantidades industriales de sustancias con estructuras estables, bien definidas y con una pureza enantiomérica 100%.

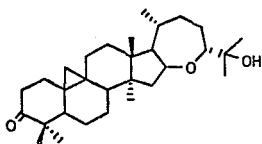
FIGURA 2. estructura de la *Argentatina A* (1), *isoargentatina A* (2), *argentatina B* (3) e *isoargentatina B* (4).



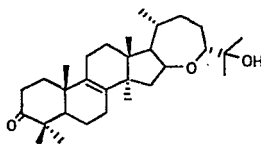
Argentatina A (1)



isoargentatina A (2)



Argentatina B (3)



isoargentatina B (4)

Si bien la presencia de compuestos triterpénicos se puede considerar normal en diferentes plantas, su utilización como posibles fármacos no ha sido muy exploradas. Entre los pocos triterpenos para los que se ha publicado presentan actividad biológica se pueden mencionar a las cucurbitacinas que han sido propuestas para la cura de células cancerosas ⁹ y a la sal sódica de la carbenoxolona (5) la cual es un ácido triterpénico utilizado en el tratamiento de úlceras gástricas ¹⁰.

Otros ejemplos son los factores A 25822 A (6) y A 2582 B (7) que son utilizados como antimicóticos ¹¹ y al derivado TOX (10) que se ha propuesto para el control de la fertilidad ¹².

Por otro lado, se conoce que un gran número de productos farmacéuticos comerciales tienen como ingrediente activo, derivados esteroideos que presentan dentro de su estructura un sistema heterocíclico, se tienen por ejemplo: algunos N-cloro-aza esteroides (8, 9) que potencialmente se pueden utilizar como agentes antihormonales¹³, algunos antiinflamatorios como derivados del 4 pregno [3,2-c] pirazol¹⁴ (11), o algunos anabólicos como son la lactona (13)¹⁵ y algunos 2-halo-esteroides (12)¹⁶, que si bien éstos últimos no son derivados heterocíclicos, pueden ser precursores para formarlos.

FIGURA 3. Ejemplos de derivados triterpénicos y esteroidales con actividad biológica.

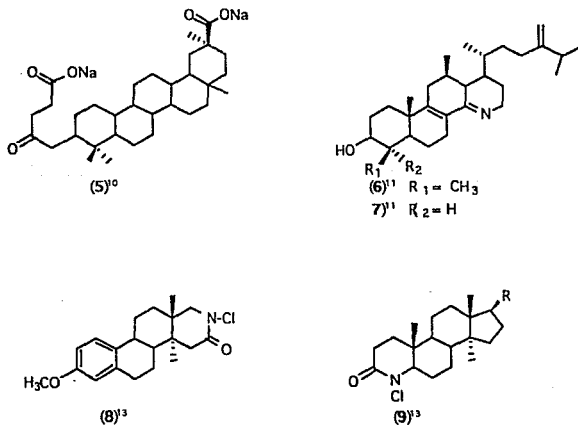
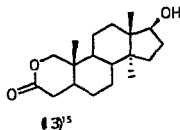
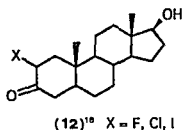
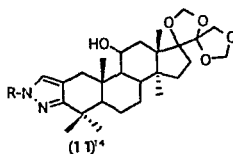
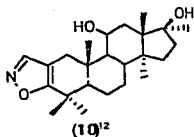


FIGURA 3 (cont.). Ejemplos de derivados triterpénicos y esteroidales con actividad biológica.



Esta información nos motivó para realizar un estudio en el cual se plantea la transformación química de los triterpenos argentatina A (1) e isoargentatina A (2), en algunos derivados o precursores de derivados heterocíclicos, los cuales tendrían el potencial suficiente para ser utilizados como fármacos, lo que redundaría en hacer más atractiva la explotación del guayule, no solo como productor de hule sino también como proveedor de sustancias precursoras de fármacos.

Los derivados que se obtuvieron en el presente trabajo fueron:

*[2,3d]-isoxazol-isoargentatina A (15)

*[2,3d]-pirazol-isoargentatina A (16)

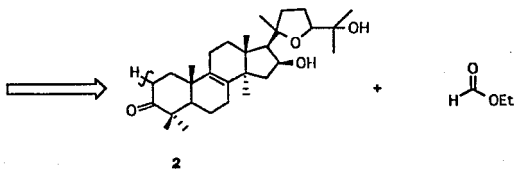
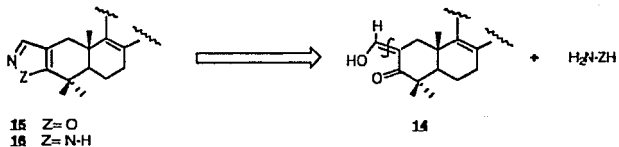
*2-iodo-16,25-diacetato-argentatina A (20)

*Lactama de argentatina A (24)

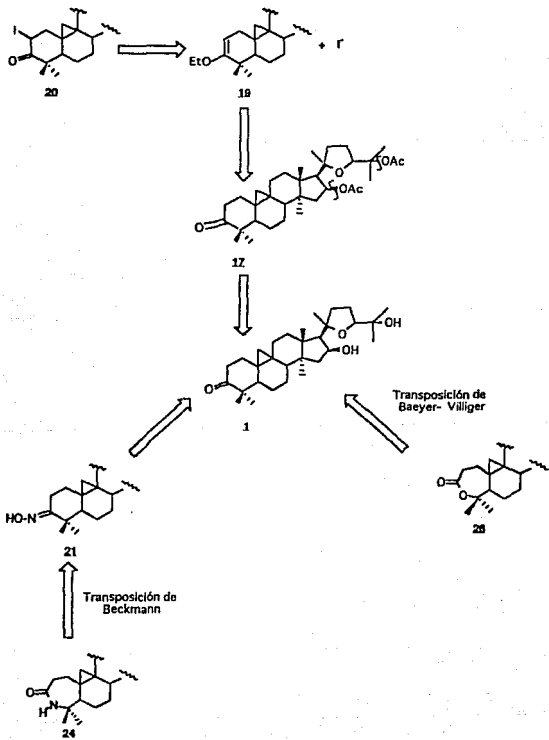
*Lactona de argentatina A (26)

El análisis retrosintético que se planteó para la obtención de estos derivados se presenta en los esquemas 1 y 2.

Esquema 1.- Análisis retrosintético para la obtención de (15) y (16)



Esquema 2.- Análisis retrosintético para la obtención de (20), (24) y (26)



Como se puede observar, la presencia del grupo carbonilo en C-3 fue crucial, ya que en base a él se planteo la obtención de los derivados.

Otros derivados que se obtuvieron en el transcurso del trabajo fueron :

- * 2-hidroximetilen-isoargentatina A (14)
- * 16, 25 - diacetato-argentatina (17)
- * 16 - acetato-argentatina A (18)
- * 3, 16, 25 - triacetato-2-en-argentatina A (22)
- * oxima de argentatina A (22)
- * oxima de isoargentatina A (23)
- * 16-trifluoroacetato de argentatina A (22)
- * Lactona de argentatina A-16-ona (25)
- * 8, 9 - dihidroxi-isoargentatina A (27)

los cuales en algunos casos, fueron obtenidos en forma no prevista como es 25 y 27, evento que en la sección de discusión se analizará

DISCUSION

La discusión de los resultados obtenidos en el presente trabajo se presentan de la siguiente manera:

PARTE I.- Obtención y purificación de la Argentatina A (1) e isoargentatina A (2)

PARTE II.- Obtención de derivados de Argentatina A e isoargentatina A

II.1.- [2,3d] isoxazol (15) y [2,3d] Pirazol (16) isoargentatina A.

II.2.- 2-iodo-16, 25-diacetoxi-argentatina A (20).

II.3.- Lactama de argentatina A (24)

II.4.- Lactona de argentatina A-16-ona (25), Lactona de argentatina A (26), 8,9-dihidroxi-isoargentatina A (27)

PARTE III.- Pruebas biológicas.

PARTE 1.- *Obtención y purificación de la argentatina A (1) e isoargentatina A (2).*

Como se mencionó anteriormente, los triterpenos argentatina A (1) e isoargentatina A (2), se encuentran presentes en la mezcla de productos de desecho llamada "resina". Para el aislamiento de estos productos se planeó una técnica que fuera sencilla y a la vez de bajo costo.

La forma en que se procedió fue la de disolver la resina en hexano y pasarla a través de una columna empacada con tonsil, el cual es una arcilla bentonítica obtenida de las minas del estado de Puebla y de bajo costo. El eluyente utilizado fue una mezcla de hexano:acetato de etilo de polaridad creciente.

De las fracciones eluidas con hexano:acetato de etilo (8:2) se aisló un sólido cristalino con punto de fusión de 168-169 °C, del cual mediante cristalizaciones sucesivas se obtuvieron dos productos que presentan el mismo r.f. 0.16 (hexano:acetato de etilo 2:1). Lo que en más de una ocasión nos hizo suponer que se trataba del mismo producto, sin embargo estos productos presentaban una diferencia en puntos de fusión.

El primer producto es blanco amorfo con p.f. de 175-176°C (1), y el segundo producto, blanco cristalino, con p.f. 181-182 °C (2).

Estos productos presentan espectros prácticamente idénticos tanto en infrarrojo, donde se observan bandas correspondientes a grupos hidroxilo y cetona, como en espectrometría de masas, donde ambos presentan un peso molecular de 472 y patrón de fragmentación semejante, por lo que estas técnicas no nos permitieron distinguirlos.

En el espectro de RMN¹H de 1 se observan dos dobletes a 0.6 ppm y a 0.82 ppm, ambos con J= 5.4 Hz, que nos sugieren la presencia de un anillo de ciclopropano, señales que se encuentran ausentes en el caso de la isoargentatina A. Así mismo se observan siete grupos metilos como singuletes en el intervalo de 0.9 a 1.46 ppm .

Por otro lado en el espectro de (2) se observan también siete singuletes, solo que en este caso el desplazado a 1.14 ppm integra para seis hidrógenos, lo que nos da un total de 8 metilos en la molécula.

El compuesto 1 se identificó como argentatina A¹⁷ y el compuesto 2 como isoargentatina A o incalinina ya que fue aislado por primera vez *Parthenium incanum*¹⁸. La comparación de desplazamientos químicos para 1 y 2 en RMN¹H, se presentan en la tabla 1.

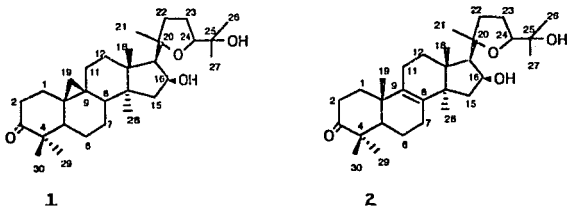


TABLA 1. Desplazamientos químicos de RMN¹H en (ppm), (300 MHz, CDCl₃) de 1 y 2

ATOMO	1	2
H-19	0.6 , d, J=5.4 Hz, 1H	----
H-19'	0.82 , d, J=5.4 Hz, 1H	----
-CH ₃	0.90, s, 3H	0.88, s, 3H
-CH ₃	1.05, s, 3H	1.07, s, 3H
-CH ₃	1.10, s, 3H	1.10, s, 3H
-CH ₃	1.14, s, 3H	1.11, s, 3H
-CH ₃	1.16, s, 3H	1.14, s, 6H

TABLA 1 (cont.).- Desplazamientos químicos de RMN¹H en (ppm),(300 MHz, CDCl₃) de 1 y 2

ATOMO	1	2
-CH ₃	1.18, s, 3H	
-CH ₃	1.46, s, 3H	1.24, s, 3H
-CH ₃	---	1.32, s, 3H
H-24	3.84, t, J=6 Hz	3.82, t, J=7.54 Hz
H-16	4.6, m	4.65, m

Como se puede observar a través de RMN¹H es prácticamente imposible distinguir la presencia de isoargentatina A en una pretendida muestra de argentatina A pura, por lo que para corroborar la pureza de estos compuestos se requirió de hacer uso de otra técnica, tal como RMN¹³C.

En el espectro de RMN¹³C de la argentatina A (1), se observan las señales características para los carbonos unidos a hidroxilos como C-16 y C-25 a 75.16 y 70.71 ppm respectivamente y señales características para carbonos unidos a oxígenos de eter, como son C-20 y C-24 que presentan un desplazamiento a 86.95 y 84.52 ppm respectivamente, así como una señal en 217.55 ppm correspondiente a la cetona presente en C-3.

Estos desplazamientos son muy semejante a los observados para los carbonos C-16, C-25, C-20, C-24 y C-3 de la isoargentatina A(2) más sin embargo en el espectro de esta última, se observan señales a 133.17 y 134.59 ppm correspondientes a C-8 y C-9 respectivamente, distinguiéndose así sin lugar a dudas la presencia de la isoargentatina A (2).

Una comparación de los desplazamientos químicos de RMN¹³C de los dos isómeros se puede ver en la tabla 2

Tabla 2. Desplazamientos químicos de RMN¹³C en (ppm) (300MHz, CDCl₃) de (1) y (2)

ATOMO	1	2
C-1	33.12	35.83
C-2	37.29	37.49
C-3	217.55	217.5
C-4	50.19	48.44
C-5	47.75	51.15
C-6	21.36	19.28
C-7	25.93	23.92
C-8	48.51	134.59
C-9	20.68	133.17
C-10	26.12	31.48
C-11	26.14	25.91
C-12	33.32	34.48
C-13	46.36	47.31
C-14	46.56	47.54
C-15	48.46	41.16
C-16	75.16	73.46
C-17	55.62	54.50
C-18	22.12	25.18
C-19	30.08	26.16
C-20	86.95	86.66
C-21	25.41	26.01
C-22	37.40	43.50
C-23	23.65	20.68
C-24	84.52	84.22
C-25	70.71	70.61
C-26	27.34	27.30
C-27	26.54	26.06
C-28	20.34	18.38
C-29	20.76	18.79
C-30	20.95	21.23

La argentatina A (1), ha sido aislada previamente de *Parthenium argentatum*, pero no como un producto puro sino dentro de una mezcla binaria de argentatina A-isoargentatina A la cual al ser analizada por resonancia magnética nuclear bidimensional carbono-carbono, Komoroski⁹ y colaboradores lograron asignar sin lugar a dudas los desplazamientos de las señales para cada uno de los carbonos de los isómeros, los cuales concuerdan con los obtenidos en este trabajo.

Como se puede apreciar la RMN¹³C, es el mejor método para cerciorarse de la pureza de cada isómero, sin embargo esto requiere que cada lote que se purificará necesariamente fuera analizado por esta técnica, lo que implica un alto costo.

Una vía alterna que se propuso para comprobar la pureza de los productos fue por determinación de punto de fusión, aunque, esta opción no resultó lo bien que esperábamos, ya que a pesar de llegar al punto de fusión de la argentatina A ó isoargentatina A, en algunos casos el producto obtenido seguía siendo mezcla de los dos isómeros.

Es por ello que en algunas reacciones se utilizó argentatina A pura, en otras isoargentatina A pura y en otras reacciones mezclas de argentatina A e isoargentatina A.

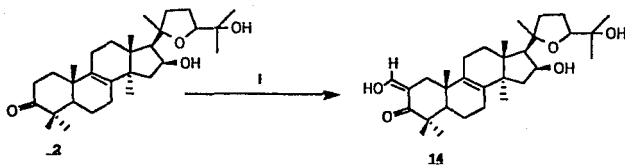
**PARTE 2.- Obtención de derivados de Argentina A
e isoargentatina A**

II.1.- [2,3d] isoxazol (15) y [2,3d] pirazol (16) isoargentatina A.

Uno de los métodos para obtener isoxazoles y pirazoles es a través de la condensación cíclica de derivados 1,3 dicarbonílicos con hidroxilamina o con hidrazina respectivamente, este método fue propuesto por primera vez por Claisen^{20,21}, siendo actualmente uno de los más utilizados por la relativa sencillez de su realización.

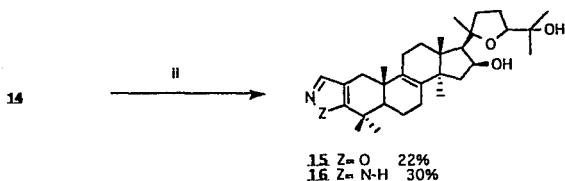
El isoxazol (15) y pirazol (16) derivados de isoargentatina A (2), fueron obtenidos por esta ruta (esquema 3), condensando al 2-hidroximetileno-isoargentatina A (14), con clorhidrato de hidroxilamina para obtener al isoxazol 15 ó con hidrato de hidrazina para obtener al pirazol 16.

Esquema 3.- Obtención del [2,3d] isoxazol (15) y [2,3d] pirazol (16) isoargentatina A



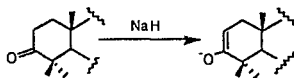
i) formiato de etilo, NaH, atmósfera de N₂, t.a., 24 hrs

Esquema 3 (cont.).-Obtención del [2,3d] isoxazol (15) y [2,3d] pirazol (16) isoargentatina A

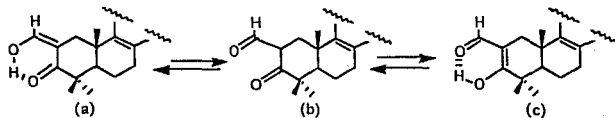


ii) i)lorhidrato de hidroxilamina, ác. acético glacial, reflujo, 2 hrs para obtener a (15)
 hidrato de hidrazina, ác. acético glacial, t.a, la reacción es instantánea, para obtener a (16)

La ruta propuesta para la obtención de 15 y 16 se basa en la naturaleza ácida de los hidrógenos α al carbonilo, que reaccionarán con NaH, para generar así al correspondiente enolato:



Como la formación del enolato solo puede ser hacia C-2 la condensación con formiato de etilo generó al 2-hidroximetilen de isoargentatina A (14), el cual existe como la siguiente mezcla tautomérica:



que en medio ácido los tautómeros (a) y (c) se encuentran en equilibrio dinámico con (b)^{22,23}.

Las evidencias espectrales son consistentes con la estructura propuesta para el 2-hidroximetileno (3), ya que las bandas de absorción en infrarrojo a 1690, 1632 y 1581 cm^{-1} indican la presencia de un carbonilo $\alpha\beta$ insaturado, el cual fue confirmado por el espectro de ultravioleta donde se observa una absorción a λ máxima de 289 nm característico del grupo hidroximetileno, conjugado con un grupo carbonilo²⁴.

En el espectro de RMN^1H (tabla 3), se observa una señal simple a 8.65 ppm asignada al protón vinílico del grupo hidroximetileno, y en el espectro de RMN^{13}C (tabla 4), se observan como señales importantes las asignadas a los carbonos C-3, C-3' y C-2 cuyos desplazamientos son a 190.0, 188.0 y 119.5 ppm respectivamente.

El espectro de masas mostró un fragmento a 482 (m/z), que corresponde a M^+-18 , así como el pico a 143 m/z característico de los derivados de la Argemone A²⁵.

TABLA 3. Desplazamientos químicos de RMN^1H en (ppm), (300 MHz, CDCl_3) para 2, 14, 15 y 16

ATOMO	2	14	15	16
H-16	4.6	4.62	4.75	4.65
H-24	3.84	3.82	3.8.	3.85
H-1'	---	8.66	---	---
H-3'	---	---	8.9	7.25
NH	---	---	---	4.8

TABLA 4. Desplazamientos químicos de RMN^{13}C en (ppm), (300 MHz, CDCl_3) para **2**, **14** y **16**

ATOMO	2	14	16
C-2	37.49	119.5	112.8
C-3	217.5	190.0	133.54
C-8	134.59	135.5	134.88
C-9	133.17	133.5	132.62
C-16	73.46	73.0	73.69
C-20	70.61	70.5	70.73
C-24	84.27	84.0	84.31
C-25	86.66	87.0	86.85
C-1'	---	188	---
C-3'	---	---	133.57

El [2,3d] isoxazol-argentatina A (**15**), se obtuvo con un rendimiento del 22%, al hacer reaccionar a **3** con clorhidrato de hidroxilamina, en ácido acético glacial a reflujo durante 2 hrs. La purificación de **15** se realizó mediante cromatografía en columna usando gel de sílice como soporte y mezclas de hexano:acetato de etilo en polaridad creciente como eluyente. El espectro de RMN^1H de **15** (tabla 3), muestra la señal correspondiente para el protón del isoxazol a 8.25 ppm como un singulete. Los espectros de infrarrojo y espectrometría de masas están de acuerdo con la estructura propuesta.

El [2,3d] pirazol-argentatina A (**16**), se obtuvo a través de la condensación de **14** con hidrato de hidracina en presencia de ácido acético glacial, el mecanismo de la reacción es similar para la obtención del [2,3d] isoxazol-argentatina A (**16**), observándose que en esta ocasión la reacción se llevó a cabo de manera instantánea a temperatura ambiente, con un rendimiento de 30%.

La purificación de **16** se realizó mediante una cromatografía en columna empacada con gel de sílice y eluida con acetato de etilo. De

esta condensación se obtuvo un producto blanco cristalino con p.f. 178-180 °C, cuyas señales significativas en RMN¹³C estan en 134.8, 133.57 y 112.8 ppm correspondientes a C-3,C-3' y C-2, y en RMN¹H en 7.25 ppm y 4.84 ppm asignadas a el protón sustituido en C-3' y a el proton sustituido en N-1' del pirazol, respectivamente. En espectrometría de masas se observa el fragmento de 497 (m/z) asignado a M+1, que corresponde a una fórmula molecular de C₃₁H₄₈O₃N₂, la cual esta de acuerdo con la estructura propuesta para **16**.

II.2.- 2-iodo-16,25 diacetato-argentatina A (20).

Las α -iodo cetonas pueden ser preparadas por distintos métodos tales como el tratamiento de la cetona con yodo en presencia de una base fuerte²⁶, por un intercambio con yoduro de sodio de la cloro o bromo cetona²⁷, o por el uso de N-yodo succinimida (en presencia de óxido de plata)²⁸ o cloruro de yodo (I)²⁹ ó acetato de talio (I)-Yodo³⁰ sobre el acetato de enol de la cetona.

Estos métodos involucran diferentes desventajas, tales como condiciones básicas sumamente drásticas que pueden destruir al sustrato³¹, o ser restringida la sustitución por efectos estéricos^{32,33} o simplemente la utilización de reactivos sensibles a la luz no hacen sencilla la alfa-halogenación en cetonas³⁰.

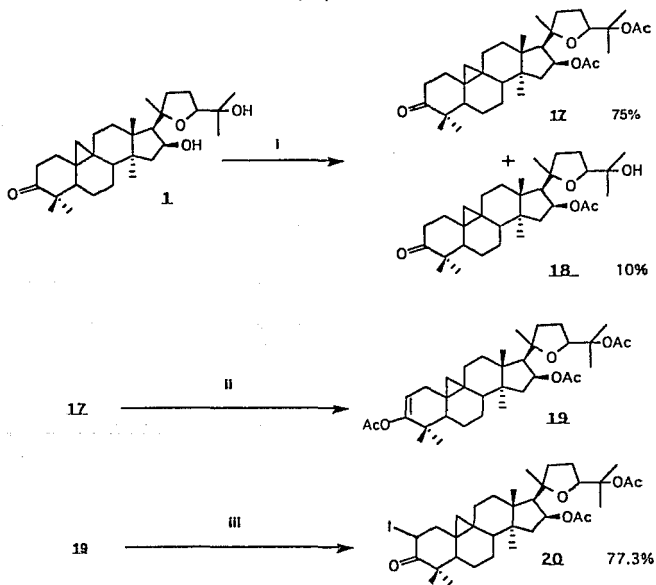
En nuestro caso la obtención, del 2-Yodo-16, 25-diacetato de la argentatina A (20) se realizó vía la iodación del ester de enol correspondiente (19) utilizando acetato de plomo (IV)/NaI y como disolvente metanol³⁴.

Con este método se tiene la ventaja de obtener de manera regioespecífica cetonas alfa-halogenadas con muy buenos rendimientos bajo condiciones suaves de reacción (ya que ésta se lleva a cabo entre temperaturas que fluctúan entre los 0 °C y 25 °C), la fuente del átomo de halógeno puede seleccionarse entre distintos haluros metálicos los cuales no se restringen a halogenuros metálicos de sodio y potasio, sino que también se pueden utilizar halogenuros de calcio y zinc.

El acetato de enol 19, se obtuvo previamente de la reacción del 16,25-diacetato de argentatina A (17) con acetato de isopropenilo. Debido a que esta reacción se lleva a cabo a reflujo y en presencia de ácido sulfúrico se requirió proteger a los alcoholes sustituidos en C-16 y C-25, para evitar posibles deshidrataciones, es por ello que se procedió a acetilar a la argentatina A antes de realizar la reacción de

formación del ester de enol **19**. En el esquema 4, se presenta la ruta que se siguió para la obtención del 2-iodo-16, 25-diacetato de argentatina A (**20**)

ESQUEMA 4.- Obtención del 2-iodo-16,25-diacetato-argentatina A (**20**)



- i) acetato de sodio, anhídrido acético, reflujo 2.5 días
- ii) acetato de isopropenilo, ác. sulfúrico, reflujo 72 hrs, atmósfera de nitrógeno
- iii) I₂ en metanol, tetra-acetato de Pb

De la reacción de acetilación de la argentatina A se obtuvieron dos productos, el 16-acetoxi-argentatina A (18) en forma de aceite amarillo y el 16,25-diacetato-argentatina A (17) como un producto sólido blanco con punto de fusión 199-200 °C y que en espectrometría de masas presenta el fragmento m/z 496, que corresponde a M⁺-HOCOCH₃.

En los espectros de RMN¹H de 17 y 18 se observan los desplazamientos para H-16 y H-24 a campo más bajo, cuando los alcoholes substituidos en C-16 y C-25 estan acetilados, con respecto a los que presentan en la argentatina A (ver tabla 5)

De igual manera se observa en los espectros de RMN¹³C el cambio en los desplazamientos para C-16, C-24 y C-25 en los productos acetilados, estos desplazamientos se presentan en la tabla 6.

Tabla 5. Desplazamientos químicos de RMN¹H en (ppm), (300 MHz, CDCl₃)*, de 1, 17, 18, 19 y 20 [*J (Hz), ** (80 MHz, CDCl₃)]

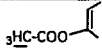
ATOMO	1	17	18	19**	20
H-2	2.7, m	2.7, m	2.72, m	5.25, m	5.31, d J=7.8
H-19	0.76, d J=7.6	0.54, d J=6	0.60, d J=6	0.40, d J=6	0.68, d J=7.8
H-19'	0.82, d J=7.6	0.80, d J=6	0.80, d J=6	0.75, d J=6	0.95, d J=7.8
H-16	4.6, m	5.19, m	5.45, m	5.25, m	5.37, m
H-24	3.84, t, J=7.6	3.66, t, J=7.8	3.70, t, J=8.6	3.60, t, J=8.0	3.76, t, J=7.8
-O-CO - CH ₃	-----	2.00	-----	1.95	2.02
-O-CO - CH ₃	-----	2.02	2.05	2.00	2.04
	-----	-----	-----	2.02	-----

Tabla 6. Desplazamientos químicos de $RMN^{13}C$ en (ppm) (300 MHz, $CDCl_3$), de **1**, **17**, **18** y **20**

ATOMO	1	17	18	20
C-2	37.29	37.42	37.29	48.04
C-3	217.55	202.98	216.149	206.06
C-16	75.16	75.06	75.23	74.947
C-20	86.95	85.07	84.83	85.017
C-24	84.52	81.69	82.52	81.61
C-25	70.71	82.28	70.53	82.28
C ₁₆ -OCOCH ₃	----	170.0	170.69	170.69
C ₂₅ -OCOCH ₃	----	168.0	----	170.23
-OCOCH ₃	----	20.129	20.06	20.06
-OCOCH ₃	----	19.95	---	19.88

A partir del producto diacetilado **18**, se obtuvo al 3,16,25-triacetoxi-2-en-argentatina A (**19**) al reaccionar en presencia de cantidades catalíticas de ácido sulfúrico con acetato de isopropenilo.

La presencia del acetato de enol en la posición C-3 en **19** es evidente por la presencia de la banda a 1758 cm^{-1} en el espectro de IR así como por las señales a 2.15 y 5.25 ppm del espectro de RMN^1H asignadas al metilo del enol ester y al hidrógeno en posición 2 respectivamente (tabla 5)

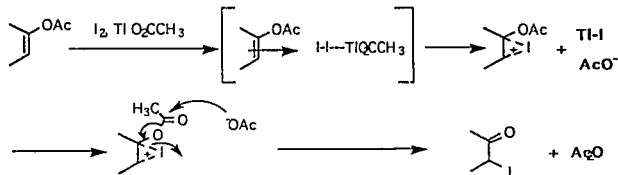
El 2-Iodo-16, 25-diacetato de argentatina A (**20**), como ya se mencionó, fue obtenido cuando se adicionó lentamente a una suspensión de NaI en metanol, acetato de plomo (IV) y el ester de enol (**19**), el tiempo de reacción después de concluida la adición fue de 10 min. A esta mezcla de reacción se le adicionó HCl al 10% y se extrajo con acetato de etilo. **20** se obtuvo por cristalización como un sólido con p.f. de 113-115 °C con rendimiento del 77.3 %.

Los cambios más significativos en los datos experimentales debido a la presencia del Iodo en C-2 son los desplazamientos químicos asignados a H-2 y C-2 en los espectros de RMN^1H y $RMN^{13}C$ respectivamente (tabla 5 y 6).

La presencia de las bandas en 1730 cm^{-1} característica para ester alifático y 1715 cm^{-1} para carbonilo de cetona en el espectro de infrarojo y la presencia de los fragmentos m/z 496 que corresponde a $M^+ - [I + \text{HOAc}]$ y 143 característico para la argentatina A^{25} , apoyan la estructura propuesta para (20).

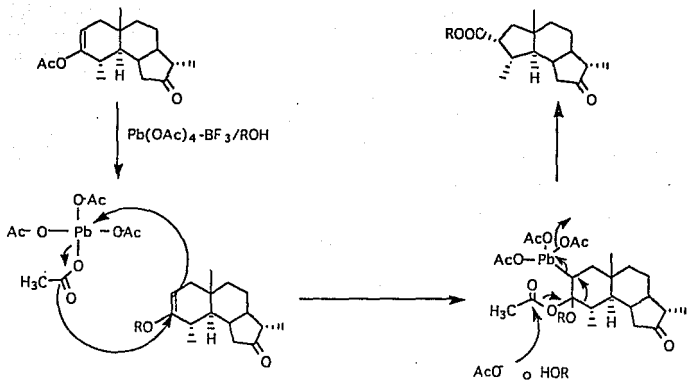
Para el mecanismo de α -iodación de cetonas a partir de su respectivo ester de enol y iodo molecular en presencia de acetato de talio (I)³³ o mercurio (II)³³, se ha propuesto un camino similar al de la reacción de N-iodo-succinimida, con sustratos semejantes propuesto por C. Djerassi y Lenk²⁸ ó al de acetato de talio(I)-iodo para alquenos²⁸.

Este mecanismo se muestra a continuación:

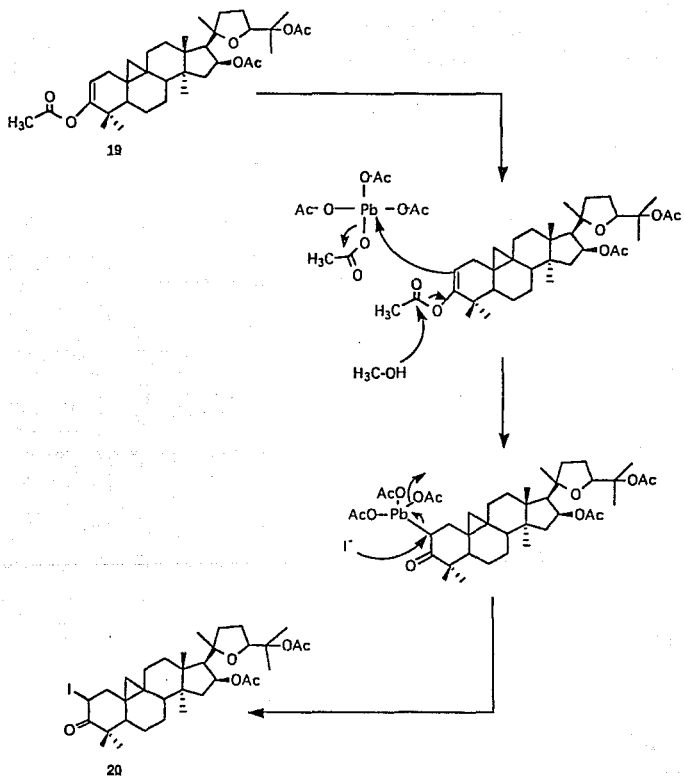


A través de éste método se han obtenido diversas α -iodo cetonas con rendimientos adecuados, pero curiosamente la reacción no procede cuando se utiliza como sustrato el acetato de enol del 5α -colestano-3-ona²⁸, por lo que nos llevó a pensar que tal vez el mecanismo no sea el mismo.

En trabajos previos se ha descrito el uso del acetato de plomo (IV) como promotor de la transposición de Favorskii, en donde a partir de un ester de enol derivado de cetona cíclica se obtiene una contracción del anillo³⁵, el mecanismo propuesto para este tipo de transposición es el siguiente:



Este mecanismo nos sugiere una ruta para la obtención de **20**, la cual se propone sea similar, solo que ahora la contracción del anillo se inhibe por la presencia del ion ioduro, quien se intercambia con el plomo (IV), substituido en C-2. La propuesta de este mecanismo se ilustra en el siguiente esquema:

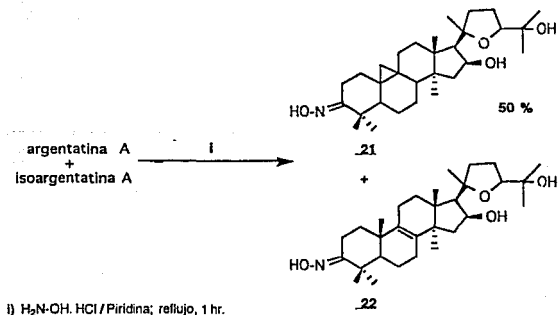


II.3.- Lactama de argentatina A (24)

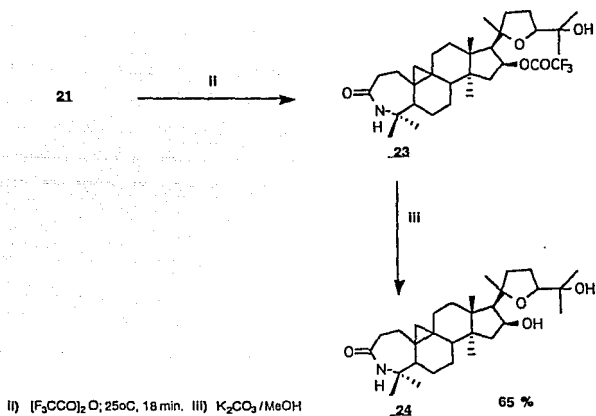
A través de la tranposición de Beckmann, se obtuvo la Lactama de argentatina A (24). Esta tranposición es catalizada por una variedad de ácidos tales como H_2SO_4 , SO_3 , $SOCl_2$, P_2O_5 , PCl_5 , BF_3 entre otros y se lleva acabo principalmente con cetoximas³⁶.

En nuestro caso, 24 se obtuvo siguiendo la secuencias de reacciones que se presentan en el esquema 5 utilizando a la oxima de argentatina A (21) y como catalizador anhídrido trifluoroacético³.

Esquema 5.- Obtención de la lactama de argentatina A (24)



Esquema 5 (cont.)- Obtención de la lactama de argentatina A (24)



Al hacer reaccionar una mezcla de argentatina A e isoargentatina A con clorhidrato de hidroxilamina en presencia de piridina se obtuvo una mezcla de dos productos los cuales se separaron por cromatografía en columna.

De este proceso se aislaron dos productos que se identificarán como oxima de argentatina A (21) con p.f. 213 °C y oxima de isoargentatina A (22) con p.f. 203 °C obteniéndose a la primera en un rendimiento del 50%.

En los espectros de RMN^1H , 21 y 22 no presentan gran diferencia en los desplazamientos de los hidrógenos H-16 y H-24 con

los referentes a los desplazamientos que presentan para la argentatina A e isoargentatina A. En el caso de la oxima de argentatina A (21) se observan los dos dobletes correspondientes a los hidrógenos H-19 y H-19' en 0.5 y 0.65 ppm, señales que están ausentes en (22). La señal del protón de la oxima en ambos productos se encuentra a 5.75 ppm como una señal simple. (ver tabla 7)

En el espectro de RMN¹³C de (21), se observa un cambio significativo para el desplazamiento del carbon C-3 el cual se encuentra ahora a campo más alto por la presencia de la cetoxima, fenómeno que también se observa para la oxima de isoargentatina A (22). (ver tabla 8).

La obtención de la Lactama de la argentatina A (24) como se mencionó anteriormente se logró a través de la transposición de Beckmann que se realiza sobre la oxima de la argentatina A (21), en presencia de anhídrido trifluoroacético, esta reacción es muy sencilla y rápida ya que se lleva a cabo en solo 18 min. a temperatura ambiente, obteniéndose de ésta reacción un sólido blanco, identificado como 23.

En el espectro de RMN¹H de este producto, ya no se observa la señal simple a 5.75 ppm del hidrógeno de la oxima y en cambio se observa una señal ancha en 5.87 ppm asignada al hidrógeno unido al nitrógeno de la lactama. El hidrógeno H-16 se desplazó a 5.65 ppm, evento que se atribuye a la presencia del trifluoroacetato sustituido en C-16. Asimismo en este espectro se observan las señales correspondientes para los metilos y para los hidrógenos H-19 y H-19' del ciclopropano. (ver tabla 7)

Los principales cambios que se observan en el espectro de RMN¹³C de 23, son la presencia de una señal a 177.42 ppm asignada para el carbonilo de la lactama, asimismo se observa como la señal para C-4 se encuentra desplazada a campo más bajo, ya que ahora está unido al nitrógeno de la lactama.

Las señales para C-16 y C-24 y C25 se detectan a 80.08, 82.49 y 70.84 ppm respectivamente, observándose que el carbon C-16 se

encuentra desplazado a campo más bajo con respecto al desplazamiento que presentaba en la oxima 21, debido a la presencia del alcohol acetilado. (ver tabla 8).

Por lo anterior la estructura que se asignó para 23 es la 16-trifluoroacetato-lactama de argentatina A, la cual al ser tratada con carbonato de potasio en metanol, para dar lugar a la lactama de argentatina A (24).

La lactama de argentatina A (24) en sus espectros de RMN¹H y RMN¹³C no presentan básicamente cambio alguno en sus señales, , excepto para el hidrógeno H-16 que ahora se encuentra desplazado a 4.6 ppm en el espectro de RMN¹H y para el carbon C-16 que se encuentra desplazado a 73.5 ppm en el espectro de RMN¹³C. (ver tablas 7 y 8).

Tabla 7.-Desplazamientos químicos de RMN¹H en ppm, (300 MHz,) de 1, 2, 21, 22, 23 y 24

ATOMO	1	2	21	22	23	24
H-19	0.6,J=5.4 Hz,1H	-----	0.5,d ancho, 1H	-----	0.61,1H J=5.8Hz,	0.6,1H J=6.0Hz,
H19'	0.82,J=5.4Hz,1H	-----	0.65,d ancho, 1H	-----	0.68,1H J=5.8Hz	0.82,1H J=6.0Hz,
H-16	3.6, m	3.65, m	4.12, m	4.12, m	5.6, m	4.6, m
H-24	3.84, t, J=6Hz	3.82, t, J=7.54 Hz	3.70, t, J=7.7Hz	3.70, t, J=7.7Hz	3.65, t, J=7.6Hz	3.86, t, J=7.6Hz
N-OH	-----	-----	5.75,s,1 H	5.75,s,1 H	-----	-----
N-H	-----	-----	-----	-----	5.87,s,H	5.87,s,H

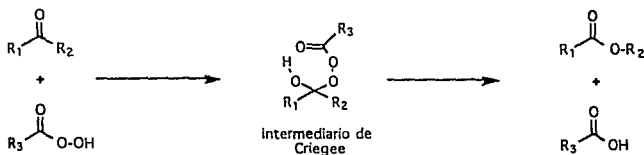
Tabla 8.-Desplazamientos químicos de RMN¹³C en ppm, (300 MHz,) de 1, 2, 21, 22, 23 y 24

ATOMO	1	2	21	22	23	24
C-3	217.55	217.50	163.6	165.30	177.42	177.42
C-4	50.19	48.44	42.4	47.24	57.29	57.29
C-8	48.51	134.59	48.8	133.68	50.19	50.19
C-9	20.68	133.17	19.2	133.68	50.19	50.19
C-16	75.16	73.46	71.2	73.26	80.08	73.5
C-24	84.52	84.22	83.4	83.93	82.49	82.49
C-25	70.71	70.61	69.20	70.34	70.84	70.84

III.4.- Lactona de argentatina A-16-ona (25), Lactona de argentatina A (26), 8,9-dihidroxi-isoargentatina A (27).

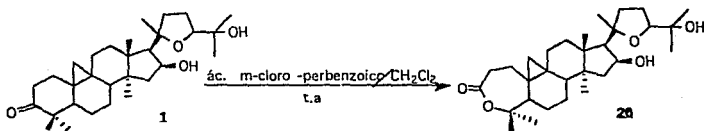
La oxidación de cetonas a ésteres por la acción de perácidos ha recibido considerable atención durante varios años y se le conoce como transposición de Baeyer y Villiger³⁷.

Dentro del mecanismo de esta transposición se ha propuesto la presencia del "intermediario de Criegee", quien da lugar al producto de oxidación³⁸.



Para la argentatina A **1** se propuso la formación de la Lactona de argentatina A (**26**), de acuerdo al esquema 6 :

Esquema 6.- Obtención de la Lactona de la argentatina A (26)



Ya que no se contaba con argentinina A pura, se utilizó una mezcla de argentinina A-isoargentinina A, obteniéndose como resultado de esta reacción una variedad de productos, que se separaron por cromatografía en columna, aislándose como producto mayoritario a un sólido blanco con punto de fusión 192-195 °C [r.f.=0.45 (hexano:acetato de etilo 1:1)].

Este producto presentó en su espectro de RMN¹H dos dobletes a 0.70 y 1.04 ppm correspondientes a los hidrógenos H-19 y H-19' del ciclopropano y siete señales simples asignadas a los siete metilos de la argentinina A. Asimismo se observa un triplete con J=7.2 Hz en 3.81 ppm asignado para H-24 y curiosamente no se observa la señal asignada para H-16.

Mientras que en el espectro de RMN¹³C se observan desplazamientos a 71.36, 83.35, 84.87 y 87.00 ppm asignadas a C-25, C-4, C-24 y C-20 el desplazamiento a campo más bajo de C-4 es por la presencia del oxígeno al que se encuentra unido. Asimismo se observan señales a 175.22 y 217.88 ppm, asignándose la primera al carbonilo del ester (C-3) y la segunda a un nuevo carbonilo el cual se formó por la oxidación del alcohol sustituido en C-16. Por lo que se asignó para este producto la estructura 25.

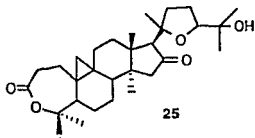


TABLA 9. Desplazamientos químicos de RMN^1H en (ppm), (300 MHz, CDC δ) de 1, 2, 25, 26 y 27

ATOMO	1	2	25	26	27
H-19	0.6, J=5.4, 1H	----	0.7, m, 2H	0.63, J=8.0, 1H	----
H-19'	0.82, J=5.4, 1H	-----		0.70, J=8.0, 1H	-----
-CH ₃	0.90, s, 3H	0.88, s, 3H	1.04, s, 3H	0.90, s, 3H	0.85, s, 3H
-CH ₃	1.05, s, 3H	1.07, s, 3H	1.06, s, 3H	1.16, s, 3H	1.00, s, 3H
-CH ₃	1.10, s, 3H	1.10, s, 3H	1.08, s, 3H	1.26, s, 3H	1.02, s, 3H
-CH ₃	1.14, s, 3H	1.11, s, 3H	1.12, s, 3H	1.28, s, 3H	1.12, s, 3H
-CH ₃	1.16, s, 3H	1.14, s, 6H	1.17, s, 3H	1.40, s, 3H	1.18, s, 3H
-CH ₃	1.18, s, 3H		1.21, s, 3H	1.40, s, 3H	1.24, s, 3H
-CH ₃	1.46, s, 3H	1.24, s, 3H	1.24, s, 3H	1.43, s, 3H	1.25, s, 3H
-CH ₃	-----	1.32, s, 3H	-----	-----	1.31, s, 3H
H-16	4.6, m	4.65, m	4.6, m	4.6, m	4.60, m
H-24	3.84, t, J=6	3.82, t, J=7.54	3.84, t, J=6	3.85, t, J=8	3.78, t, J=8.0

J=(Hz)

TABLA 10. Desplazamientos químicos de $RMN^{13}C$ en (ppm), (300 MHz, CDC δ) de 1, 2, 25, 26 y 27

ATOMO	1	2	25	26	27
C-3	217.55	217.50	175.22	174.00	206.06
C-4	50.19	48.44	83.35	86.40	46.9
C-8	48.51	134.59	49.71	49.3	70.9
C-9	20.68	133.17	22.18	22.4	70.3
C-16	75.16	73.46	271.88	72.16	73.6
C-20	86.95	86.66	87.00	86.70	88.7
C-24	84.52	84.22	84.87	83.90	84.0
C-25	70.71	70.61	70.36	70.20	68.0

Se tienen antecedentes de oxidaciones de alcoholes secundarios por la acción de perácidos y peróxidos en presencia de catalizadores como son $\text{RuCl}_2\text{-(PPh}_3\text{)-tBuOOH}$, dicromato de piridinium- $\text{Me}_3\text{SiOOSi(CH}_3\text{)}_3$, ester de $\text{Cr(IV)-CH}_3\text{COOOH}$ ⁹ y nitróxidos o el clorhidrato de 2,2,6,6-tetrametilpiperidina (TMP.HCl) en presencia de ácido m-cloro-perbenzóico¹⁰, entre otros ejemplos.

En la obtención de **25**, la reacción solo se realizó en presencia de ácido m-cloro-perbenzóico y una posible explicación es que la oxidación se llevó a cabo por la presencia del ácido m-cloro-benzoico que se que se obtiene como subproducto de la oxidación de Baeyer-Villiger.

El mecanismo que se propone es a través de **25a** (esquema 7) que posteriormente en presencia de más perácido da lugar a **25b** (esquema 7), intermediario semejante al intermediario de Criegee, quien por un mecanismo similar al de oxidaciones de alcoholes primarios y secundarios con $\text{CrO}_3\text{-H}_2\text{SO}_4$ dará lugar al producto final **25**.

Para comprobar la participación del ácido m-cloro-benzóico en la formación de **25**, se realizó la reacción en presencia de carbonato de potasio, el que tendría la función de neutralizar al ácido formado. Así se utilizó nuevamente una mezcla de argentatína A-isoargentatína A disuelta en cloruro de metileno, obteniéndose de ella una mezcla de productos que se separaron por cromatografía en columna.

Se aisló como producto mayoritario un sólido blanco con punto de fusión 198-199 °C [r.f.=0.19 (hexano:acetato de etilo 1:1)] que presento en el espectro de RMN^1H siete señales simples para siete metilos así como los dobletes característicos para H-19 y H-19' a 0.63 y 0.70 ppm. (ver tabla 9)

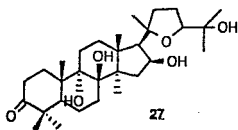
En el espectro de RMN^{13}C , se observó que los desplazamientos para los carbonos C-8, C-9, C-16, C-20, C-24, C-25 eran prácticamente iguales a los que presentaban en la argentatína A (1), sin embargo la

señal de los átomos C-4 y C-3 se modificaron encontrándose ahora a 86.4 y 174.0 ppm, siendo estos desplazamientos acordes para la presencia de un éster cíclico en el anillo A de **1**.(ver tabla 10)

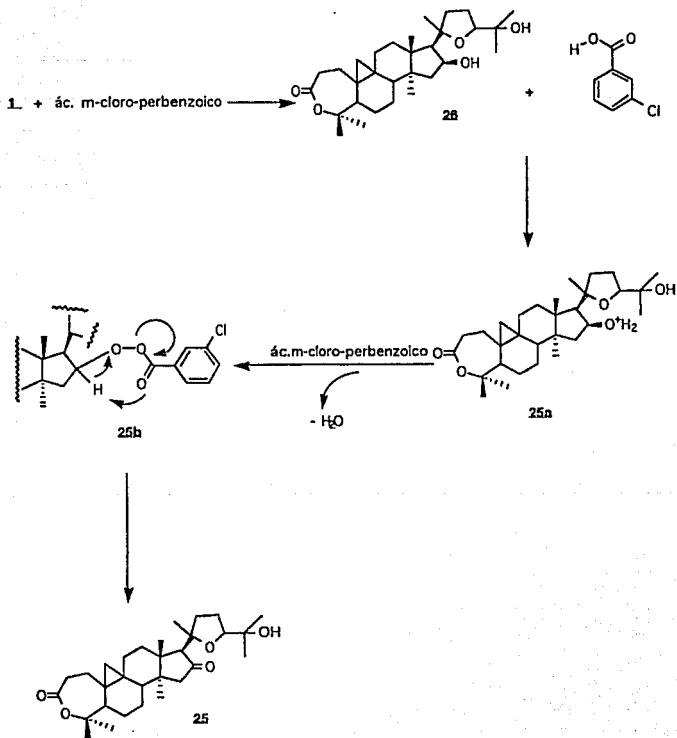
Esto permite concluir que en ausencia de medio ácido no se oxida el alcohol substituido en C-16.

Un producto minoritario fue un sólido blanco con p.f. 179-180 [r.f.=0.40 (hexano:acetato de etilo 1:1)], que presentó en el espectro de RMN¹H ocho señales simples para ocho metilos así como ausencia de las señales típicas para H-19 y H-19'.(tabla 9)

En el espectro de RMN¹³C se observan desplazamientos a 73.6, 88.7, 84.0, 68.0, 46.9 y 206.06 ppm asignados a los carbonos C-16, C-20, C-24 y C-25, C-4 y C-3 respectivamente, así como dos nuevas señales a 70.9 y 70.3 ppm, que se asignaron a los carbonos C-8 y C-9 los cuales están unidos a grupos hidroxilo. La presencia de estos grupos se explica fácilmente al postular como paso intermediario la formación de un epóxido el cual sufre una apertura en sílice⁴¹. De acuerdo con lo anterior se postula la estructura **27** para este producto



Esquema 7



PARTE III.- Pruebas biológicas.

En este trabajo se da a conocer los resultados preliminares de toxicidad y actividad antimicrobiana para la argentatina A (1) y la afinidad a los receptores de los tumores de mama, estrógeno dependientes para la argentatina A (1), la oxima de argentatina A (21) y el 16,25-diacetato de argentatina A (17),

TOXICIDAD

Las pruebas preliminares de toxicidad se realizaron en la Unidad de Pruebas Biológicas, del Instituto de Química, U N A M, por el M. en C. Javier Taboada.

En esta prueba se utilizaron ratones de 25-30 g de peso (CD-1) a los que se le inyectaron de manera interperitoneal 100 mg de (1) por kg de peso. Observándose una supervivencia a los 8 días del 100%, por lo que se puede considerar a la argentatina A como producto no tóxico.

ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA

Se realizaron pruebas de la actividad antimicrobiana de la argentatina A 1, en pruebas *in vitro* contra *Candida albicans*, *Candida stellatoidea*, *Hansenula sp.*, *Torulopsis glabrata*, *Klebsiella pneumoniae* y *Pseudomona aeruginosa*, utilizando el método de cilindro copa que es una variante del método de difusión en agar. Los experimentos se realizaron por triplicado y los resultados se obtuvieron midiendo las zonas de inhibición con calibrador Vernier, promediando las tres lecturas. Para este ensayo se utilizó como sustancias de referencias a el cloranfenicol (como medicamento adecuado para combatir bacterias) y fluconazol (medicamento adecuado para combatir hongos).

Los resultados se observan en las siguientes gráficas (gráficas 1-6), en donde se observa una muy buena actividad contra *Candida albicans* y *Candida stellatoidea*, presentando en el caso de *C. albicans* una actividad mayor que el cloranfenicol que es un antibiótico de amplio espectro.

En el caso de *Hansenulla sp.*, *Klebsiella pneumoniae* y *Pseudomona aeruginosa*, su actividad es aceptable ya que en algunos casos es más potente que el fluconazol, que es el antibiótico utilizado frecuentemente en infecciones por hongos.

Con estos resultados se puede considerar a la argentatina A como un buen candidato a fármaco en el tratamiento de infecciones por bacterias y hongos.

Los ensayos de susceptibilidad microbiológica se realizaron en el Laboratorio de microbiología de la Facultad de Química de la Universidad Autónoma del Estado de México por la Pas. de Q. F. B. Maritza Herrera S.

AFINIDAD A LOS RECEPTORES DE LOS TUMORES DE MAMA DEPENDIENTES DE ESTROGENO.

La formación del complejo hormona-receptor en los tumores hormono-dependientes es fundamental ya que al generarse este complejo se activa la inducción y síntesis de proteínas necesarias para el desarrollo de la célula tumoral.

La administración de sustancias que inhiban la formación de este complejo pueden alterar el contenido hormonal y así inducir en algunos pacientes una regresión en la enfermedad⁴².

A través del ensayo realizado se midió en citosol proveniente de tumor de mama estrógenos dependientes, la capacidad de unión o sea la capacidad de formación hormona-receptor.

Esta prueba consiste en utilizar tres partes iguales de citosol, las cuales se trabajaron de la siguiente manera: la primera parte se utilizó como blanco, la segunda parte se incubó 30 min. con estradiol-³H y la tercera parte se incubó primero con estradiol sin marcar y posteriormente con estradiol marcado.

De estos ensayos se obtiene por diferencias de cuentas por minuto entre la primera y la segunda parte si el tumor es hormono dependiente y con los resultados de la segunda y tercera parte se fijan el 100% y 0% de unión de estradiol-³H.

Posteriormente se hace un nuevo ensayo pero ahora en presencia de las sustancias en estudio, determinándose así el grado de unión que presentan a los receptores de las células, estimado en por ciento de inhibición de la incorporación de estradiol-³H al citosol.

Los resultados obtenidos de este ensayo fueron los siguientes:

tabla 11.-Porcentaje de inhibición de la unión del estradiol-³H al receptor, temperatura: 25 °C, concentración: 0.1 nmol/nl de citosol

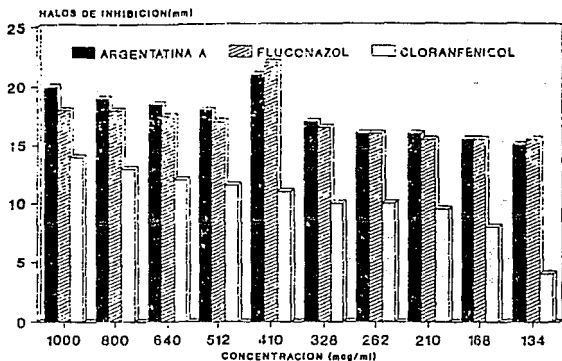
Tiempo (hrs)	(1)	(17)	(21)
0.5	-----	5	-----
3.0	45	50	83

(1) argentatina A, (17) 16,25-diacetato-argentatina A, (21) oxima de argentatina A

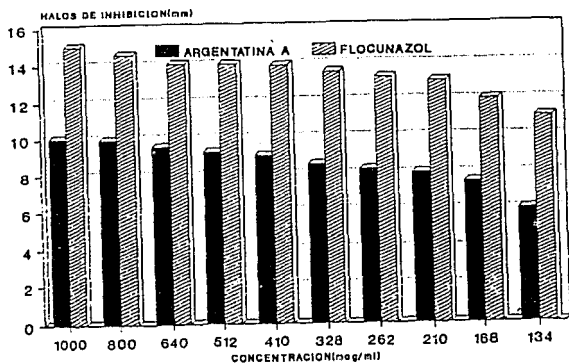
Como se puede observar en estos resultados los tres productos muestran una apreciable inhibición de unión del estradiol al receptor, lo cual nos indica que estan ocupando o modificando de algún modo el sitio activo del receptor para así evitar la formación del complejo hormona-receptor, lo cual repercutirá en el desarrollo de tumores hormono-dependientes. Con estos resultados lo que se pretende mostrar es el uso potencial de estos compuestos en el tratamiento de tumores de mama hormono-dependientes.

Los ensayos de afinidad se realizaron en el Hospital "Dr. Luis Castelazo Ayala", del IMSS, por el I.B. Leobardo Calzada S.

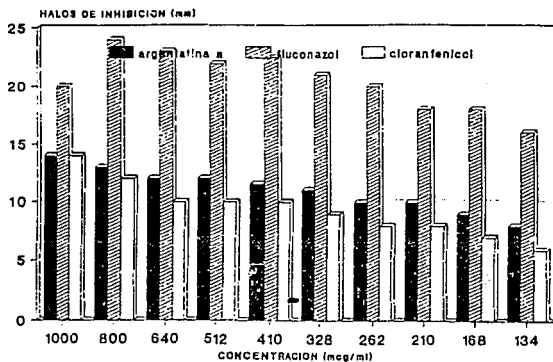
GRAFICA 1 (ARGENTATINA A)
CANDIDA ALBICANS



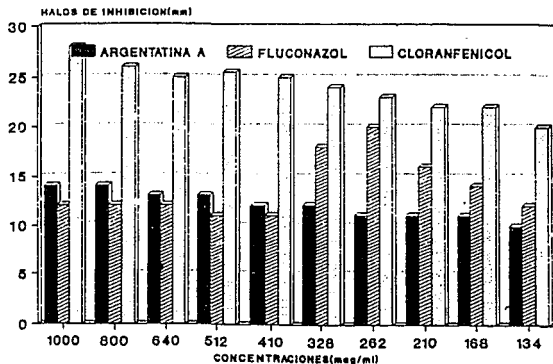
GRAFICA 2 (Argentinina A)
CANDIDA STELLATOIDEA



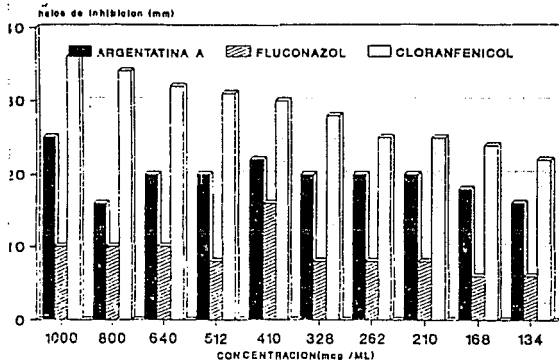
grafica 3 (argentina a)
TORULOPSIS GLABRATA



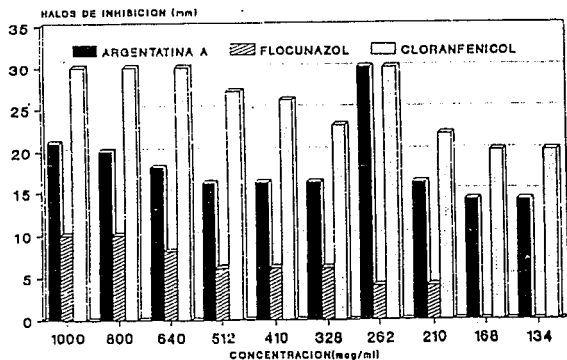
grafica 4 (argentina A)
HANSENULLA



GRAFICA 5 (ARGENTATINA A)
KLEBSIELLA PNEUMONIAE



grafica 6 (argentatina a)
PSEUDOMONA AERUGINOSA



PARTE EXPERIMENTAL

Los puntos de fusión se determinaron en un aparato Fisher-Johnes y no estan corregidos.

Los espectros de infrarrojo (IR) fueron determinados en un espectrómetro Perkin-Elmer Mod 337.

Los espectros de resonancia magnética nuclear de hidrógeno y carbono 13 fueron determinados en un espectrómetro Varian XL-300. Los desplazamientos químicos (δ) estan expresados en ppm usando como referencia al tetrametilsilano (TMS). Las constantes de acoplamiento estan expresadas en Hz. La multiplicidad de las señales se expresa como sigue: (s) señal simple, (d) señal doble, (t) señal triple, (c) cuarteto.

Los espectros de masas (EM) fueron determinadas en un espectrómetro Hewlett-Packard 59858 con sistema acoplado a CG/EM.

La pureza de los productos y el desarrollo de las reacciones se observó por cromatografía en capa fina (c.c.f.) usando como adsorbente Silica-gel F-254 y como reveladores luz ultravioleta y/o una solución de sulfato cérico al 1% en ácido sulfúrico 2N. Para purificaciones por cromatografía en columna se utilizó como adsorbente Silica-gel con tamaño de malla 70-230

La resina es el producto de desecho obtenido durante la extracción a nivel industrial del hule contenido en el *Parthenium argentatum* (Gray). Este material fue donado por la empresa : Complejo Agroindustrial CONASA, ubicada en Saltillo Coahuila.

La arcilla bentonítica utilizada fue Tonsil optimum extra y no fue tratada previamente.

Obtención de Argentatina A (1) e isoargentatina A (2)

A 154.57 g de resina disueltos en hexano, se pasaron a través de una columna empacada con 364.7 g de arcilla bentonítica, eluyendose con una mezcla de hexano: acetato de etilo de polaridad creciente. De la fracción obtenida de hexano: acetato de etilo (9:1) se obtuvo un sólido cristalino blanco con p.f 167-170 °C que se identificó como una mezcla binaria de argentatina B e isoargentatina B al compararse los datos obtenidos por RMN¹H y RMN¹³C con los reportados previamente para estos compuestos•.

De las alícuotas de hexano:acetato de etilo (8:2) se obtuvieron 6 g un producto sólido de color blanco con p.f. 168-169 °C que se identificó como una mezcla binaria de argentatina A e isoargentatina A.

La argentatina A (1) e isoargentatina A (2) fueron separadas y purificadas a partir de su mezcla binaria mediante recristalizaciones sucesivas de hexano:acetato de etilo. La argentatina A (1) se obtuvo con un p.f de 175-176 °C, y a la isoargentatina A (2) con un p.f. de 181-182 °C

Los datos espectroscópicos para la Argentatina A (1) son los siguientes:

RMN¹H (300MHz, CDCl₃) δ (ppm): 0.6 (H-19, d, J=5.4 Hz, 1H), 0.82 (H-19', d, J=5.4Hz, 1H), 0.9 (CH₃, s, 3H), 1.05 (CH₃, s, 3H), 1.1 (CH₃, s, 3H), 1.14 (CH₃, s, 3H), 1.16 (CH₃, s, 3H), 1.18 (CH₃, s, 3H), 1.46 (CH₃, s, 3H), 2.7 (H-2, m, 1H), 3.84 (H-24, t, J=6 Hz, 1H), 4.6 (H-16, m, 1H).

RMN¹³C (300MHz, CDCl₃) δ (ppm): 20.34 (C-28), 20.68 (C-9), 20.76 (C-29), 20.95 (C-30), 21.36 (C-6), 22.12 (C-18), 23.65 (C-23), 25.41 (C-21), 25.93 (C-7), 26.12 (C-10), 26.14 (C-11), 26.54 (C-27), 27.34 (C-26), 30.08 (C-19), 33.12 (C-1), 33.32 (C-12), 37.29 (C-2), 37.40 (C-22), 46.36 (C-13), 46.56 (C-14), 47.75 (C-5), 48.46 (C-15), 48.51 (C-8), 50.19 (C-4), 55.62 (C-17), 70.71 (C-25), 75.16 (C-16), 84.52 (C-24), 86.95 (C-20), 217.55 (C-3).

Los datos espectroscópicos para la isoargentatina A (2) son los siguientes:

RMN^1H (300 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm): 0.88 (CH_3 , s, 3H), 1.07 (CH_3 , s, 3H), 1.1 (CH_3 , s, 3H), 1.11 (CH_3 , s, 3H), 1.14 (2 CH_3 , s, 6H), 1.24 (CH_3 , s, 3H), 1.32 (CH_3 , s, 3H), 3.82 (H-24, t, $J=7.54$ Hz, 1H), 4.65 (H-16, m, 1H).

$RMN^{13}C$ (300 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm): 18.38 (C-28), 18.79 (C-29), 19.28 (C-6), 20.68 (C-23), 21.23 (C-30), 23.92 (C-7), 25.18 (C-18), 25.91 (C-11), 26.01 (C-21), 26.06 (C-27), 26.16 (C-19), 27.30 (C-26), 31.48 (C-10), 34.48 (C-12), 35.83 (C-1), 37.49 (C-2), 41.16 (C-15), 43.50 (C-22), 47.31 (C-13), 47.54 (C-14), 48.44 (C-4), 51.15 (C-5), 54.50 (C-17), 70.61 (C-25), 73.46 (C-16), 84.22 (C-24), 86.66 (C-20), 133.17 (C-9), 134.59 (C-8), 217.50 (C-3).

2-hidroxi metilen de isoargentatina A (14).

A 109.44 mg de NaH se le adicionaron 721.2 mg (0.0015 mol) de isoargentatina A (2) disuelta en benceno y 0.2 ml (0.0025 mol) de formiato de etilo, la reacción se llevo a cabo a t.a. con agitación constante y en atmósfera de N_2 durante 24 hrs. Posteriormente se adiciono metanol para destruir el exceso de hidruro, la solución resultante se diluyó en agua y se extrajo con AcOEt. La fase orgánica se secó con sulfato de sodio anhidro y se concentro a presión reducida. Obteniendo un aceite de color amarillo el cual se purificó por cromatografía en columna empacada con gel de silica y utilizando como eluyente hexano-AcOEt (1:1). De este proceso de purificación se obtuvo un sólido blanco con p.f 161-163 °C, con un rendimiento del 30 %, que se identificó por espectroscopia como (14).

RMN^1H (300 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm): 0.85 (CH_3 , s, 3H), 0.95 (CH_3 , s, 3H), 1.1 (CH_3 , s, 3H), 1.12 (2 CH_3 , s, 6H), 1.18 (CH_3 , s, 3H), 1.20 (CH_3 , s, 3H), 1.30 (CH_3 , s, 3H), 3.82 (H-24, t, $J=7.5$ Hz, 1H), 4.62 (H-16, m, 1H), 8.66 (H vinílico, s, 1H).

RMN¹³C (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 17.00 (C-28), 18.00 (C-29), 18.5 (C-6), 19.5 (C-23), 23.00 (C-30), 23.5 (C-7), 24.00 (C-18), 25.0 (C-11), 24.5 (C-21), 25.0 (C-27), 25.0 (C-19), 27.0 (C-26), 29.0 (C-10), 31.0 (C-12), 36.00 (C-1), 44.75 (C-15), 37.0 (C-22), 47.5 (C-13), 47.5 (C-14), 48.0 (C-4), 49.5 (C-5), 55.5 (C-17), 70.5 (C-25), 73.0 (C-16), 84.0 (C-24), 87.0 (C-20), 119.5 (C-2), 133.5 (C-9), 135.5 (C-8), 188 (C-1'), 190.0 (C-3).

IR (CHCl₃) ν máx, cm⁻¹: 1730, 1699, 1634, 1581

U.V. λ máx. (EtOH): 282, ε: 14 655 l mol⁻¹ cm⁻¹.

E.M. m/z (%): 482.2 (M⁺-18, 0.2), 143 (53.3), 59.1 (100).

[2,3d]-isoxazol de isoargentatina A (15).

A 146.5 mg (0.3 mmol) de 2-hidroximetilen-isoargentatina A (14) se adicionaron 41.86 mg (0.6 mmol) de NH₂-OH.HCl y 7 ml de ác. acético glacial, la mezcla de reacción se mantuvo a reflujo con agitación constante durante 2 hr. Concluido este tiempo se le adicionó agua y se extrajo con AcOEt. Este extracto se lavó con una solución acuosa de NaHCO₃ hasta neutralidad. La fase orgánica se secó con sulfato de sodio anhidro y se evaporó a presión reducida, obteniéndose de este proceso un aceite ambarino el cual se purificó por cromatografía en columna empacada con sílica-gel y eluida con una mezcla de hexano-AcOEt (1:1), obteniéndose con un rendimiento del 22% al producto (15), el cual se identificó por espectroscopía.

RMN¹H (80 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 0.95 (CH₃, s, 3H), 1.15 (CH₃, s, 3H), 1.20 (CH₃, s, 3H), 1.25 (2 CH₃, s, 6H), 1.30 (CH₃, s, 3H), 1.35 (CH₃, s, 3H), 1.45 (CH₃, s, 3H), 3.8 (H-24, t, J=6.4 Hz, 1H), 4.75 (H-16, m, 1H), 8.90 (H vinílico, s, 1H).

IR (CHCl₃) ν máx cm⁻¹: 1637, 1609, 3422 para isoxazol.

EM m/z (%): 498 (M⁺, 0.9), 143 (100), 59 (60).

[2,3d]-pirazol de isoargentatina A (16).

A 125.0 mg (0.25 mmol) de (14) se adicionaron 0.2 ml (6 mmol) de NH₂-NH₂·H₂O y 4 ml de ác. acético glacial, llevándose a cabo la reacción en forma instantánea. De esta reacción se obtuvo una mezcla de productos, los cuales se disolvieron en cloruro de metileno, para lavarse con una solución acuosa de bicarbonato de sodio hasta neutralidad. La fase orgánica se trabajó de la manera usual, el producto de reacción se purificó mediante cromatografía en columna empacada con sílica-gel y eluida con una mezcla de hexano-AcOEt (1:1) obteniéndose con un rendimiento del 30% al producto (16), el cual se identificó por espectroscopía.

RMN¹H (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 0.88 (CH₃, s, 3H), 0.93 (CH₃, s, 3H), 1.10 (CH₃, s, 3H), 1.15 (2 CH₃, s, 6H), 1.22 (CH₃, s, 3H), 1.24 (CH₃, s, 3H), 1.28 (CH₃, s, 3H), 1.30 (CH₃, s, 3H), 3.85 (H-24, t, J=7.9 Hz, 1H), 4.65 (H-16, m, 1H), 4.8 (HN, señal ancha, 1H), 7.25 (H pirazol, s, 1H).

RMN¹³C (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 18.19 (C-28), 19.02 (C-29), 19.05 (C-30), 20.58 (C-6), 20.60 (C-23), 24.03 (C-18), 24.48 (C-7), 25.16 (C-21), 26.04 (C-27), 26.09 (C-19), 26.55 (C-11), 27.35 (C-26), 31.72 (C-10), 33.48 (C-12), 37.61 (C-1), 38.69 (C-22), 43.79 (C-15), 45.22 (C-13), 46.29 (C-14), 46.84 (C-4), 50.02 (C-5), 54.57 (C-17), 70.73 (C-25), 73.69 (C-16), 84.31 (C-24), 86.85 (C-20), 112.80 (C-2), 132.62 (C-9), 133.54 (C-3), 133.57 (C-3'), 134.88 (C-8).

E. M. m/z (%): 497 (M⁺, 2), 354 (2), 339 (2), 311 (5), 143 (100), 59 (20).

**16,25-diacetato de argentatina A (17) y 16-acetato de
argentatina A (18).**

A 850 mg de argentatina A (1) (0.002 mol) se adicionaron 236.7 mg de acetato de sodio anhidro y 1 ml de anhídrido acético. Esta mezcla se calentó hasta obtener una solución clara, manteniéndose a reflujo con agitación constante por 2.5 días. Posteriormente la mezcla de reacción se vertió sobre 50 g de hielo y se agitó durante 1 hr. Pasado este tiempo se extrajo con acetato de etilo, la fase orgánica se secó con sulfato de sodio anhidro y se concentró a presión reducida, obteniéndose así una mezcla de dos productos, los cuales se purificaron por cromatografía en columna empacada con gel de sílice y como eluyente una mezcla de hexano:acetato de etilo 3:1. El producto de menor polaridad [750 mg, 75 %] es un sólido amorfo blanco con p.f. 199- 200 °C, identificado por espectroscopía como el 16,25-diacetato de argentatina A (17).

RMN¹H (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 0.514 (H-19, d, J=5.6 Hz, 1H), 0.804 (d, J=5.6 Hz, 1H), 0.955 (-CH₃, s, 3H), 1.05 (-CH₃, s, 3H), 1.08 (-CH₃, s, 3H), 1.118 (-CH₃, s, 3H), 1.396 (-CH₃, s, 3H), 1.473 (-CH₃, s, 3H), 1.545 (-CH₃, s, 3H), 2.00 (OCOCH₃, s, 3H), 2.019 (OCOCH₃, s, 3H), 3.6 (H-24, t, J=7.8 Hz, 1H), 5.19 (H-16, m, 1H).

RMN¹³C (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 19.959 (C-28), 20.129 (C-30), 20.767 (C-18), 20.805 (C-9), 21.259 (C-6), 21.6434 (C-29), 22.182 (OCOCH₃), 22.574 (OCOCH₃), 22.735 (C-21), 22.950 (C-27), 25.672 (C-23), 26.025 (C-7), 26.486 (C-10), 26.779 (C-11), 28.739 (C-26), 30.453 (C-19), 32.083 (C-12), 33.274 (C-1), 34.958 (C-22), 37.418 (C-2), 45.489 (C-15), 46.581 (C-13), 47.042 (C-14), 47.742 (C-5), 48.388 (C-8) (C-4), 57.021 (C-17), 75.055 (C-16), 81.697 (C-24), 82.289 (C-25), 85.07 (C-20), 168.0 (OCOCH₃), 170.0 (OCOCH₃), 202.98 (C-3).

EM m/z (%): 496 M⁺HOCOCH₃ (0.9), 455 (0.3), 437 (10), 185 (80), 143 (85), 59 (60), 43 (100).

I.R. (CHCl₃) v máx.: 1727.89 (carbonilo de ester), 1703.10 (carbonilo de cetona cíclica de seis miembros) y 124.3 (C-O de acetato).

Del producto de mayor polaridad, se obtuvieron aproximadamente 100 mg (10%) en forma de aceite de color amarillo que fue identificado por espectroscopía como el 16-acetato de argentatina A (18).

RMN¹H (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 0.6 (H-19, d, J=5.8 Hz, 1H), 0.8 (H-19', d, J=5.8 Hz, 1H), 0.96 (CH₃, s, 3H), 1.06 (CH₃, s, 3H), 1.10 (CH₃, s, 3H), 1.15 (CH₃, s, 3H), 1.27 (CH₃, s, 3H), 1.30 (CH₃, s, 3H), 1.40 (CH₃, s, 3H), 2.05 (OCCCH₃, s, 3H), 3.7 (H-24, t, J=8.6, 1H), 5.45 (H-16, m, 1H).

RMN¹³C (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 20.064 (C-28), 20.507 (C-30), 20.676 (C-8), 20.742 (C-9), 21.147 (C-6), 21.537 (C-29), 22.056 (OCCCH₃), 24.546 (C-21), 25.453 (C-26), 25.903 (C-27), 26.209 (C-7), 26.335 (C-23), 28.115 (C-10), 28.336 (C-11), 30.069 (C-19), 32.932 (C-12), 33.180 (C-1), 36.494 (C-22), 37.289 (C-2), 45.263 (C-15), 46.412 (C-13), 46.708 (C-14), 47.583 (C-5), 48.293 (C-8), 50.068 (C-4), 56.641 (C-17), 70.531 (C-25), 75.232 (C-16), 82.524 (C-24), 84.832 (C-20), 170.694 (OCOCH₃), 216.149 (C-3).

3,16,25-triacetato-2 en-argentatina A (19).

A 458 mg (8.2 x 10⁻⁴ mol) de 16,25-diacetato de la argentatina A (17) se le adicionaron 3 ml de acetato de isopropenilo y unas gotas de ácido sulfúrico concentrado. La mezcla se hirvió a reflujo durante 72 hs. en atmósfera de nitrógeno. Transcurrido este tiempo a la mezcla de reacción se le adicionó agua y se extrajo con acetato de etilo, la fase orgánica se trató con una solución saturada de NaHCO₃ hasta neutralidad. Posteriormente se secó con sulfato de sodio anhidro y el disolvente se evaporó a presión reducida. El residuo obtenido se purificó por cromatografía en columna empacada con silica-gel y eluida con mezclas de hexano-acetato de etilo de polaridad creciente,

obteniéndose de esta forma el 3,16,24-triacetato-2-en-argentatina A (19), como un aceite claro el cual fue identificado por espectroscopia.

RMN¹H (80 MHz, CHCl₃) δ: 1.95 (s, 3H, CH₃CO₂), 2.0 (s, 3H, CH₃CO₂), 2.15 (s, 3H, CH₃CO₂), 2.15 (s, 3H, CH₃CO₂), 5.25 (m, 2H, H-2 y H-16).

IR(CHCl₃) ν máx. (cm⁻¹): 1758 (ester vinílico), 1734 (ester alifático), 1645 (C=C).

2-Iodo,16,25-diacetato de la argentatina A (20)

A una solución de NaI (59 mg) en metanol (10 ml) se le adicionó lentamente, con agitación constante y cuidando que la temperatura fluctuara entre 0-25 °C, 250 mg de acetato de plomo(IV) 90% y 233 mg (0.0004 mol) del 3,16,24-triacetato argentatina A (19) previamente obtenido. La agitación se continuo durante 10 min más, pasado este tiempo la mezcla de reacción se vertió en una mezcla de agua-hielo (5 ml) y ácido clorhídrico al 10% (1 ml) y se extrajo con AcOEt. La fase orgánica se lavó con agua hasta neutralidad, se secó con sulfato de sodio anhidro y se concentró a presión reducida, para obtenerse un aceite de color ámbar, del que se cristalizó a partir de cloroformo-hexano, 52 mg (77.3%) del producto (20) como cristales blancos com p.f. de 113-115°C.

RMN¹H (300 MHz, CHCl₃) δ: 0.75 (d, J=7.8, 1H, H-19), 0.9 (d, J=7.8, 1H, H-19'), 0.92 (s, 3H, H-28), 1.12 (s, 3H, H-29), 1.15 (s, 3H, H-30), 1.25 (s, 3H, H-21), 1.35 (s, 3H, H-18), 1.47 (s, 3H, H-26), 1.55 (s, 3H, H-27), 2.026 (s, 3H, OCOCH₃), 2.039 (s, 3H, OCOCH₃), 3.76 (t, J=7.8 Hz, 1H, H-24), 5.31 (d, J=7.8 Hz, 1H, H-2), 5.36 (m, 1H, H-16).

RMN¹³C (300 MHz, CDCl₃) δ: 19.88 (C-28), 20.068 (C-30), 21.105 (C-18), 21.213 (C-9), 21.290 (C-6), 21.613 (C-29), 22.589 (OCOCH₃), 22.689 (OCOCH₃), 22.973 (C-21), 23.442 (C-27), 25.672 (C-23), 25.840 (C-7), 26.948 (C-11), 28.685 (C-10), 29.754 (C-26), 30.061 (C-19), 31.960 (C-12), 34.973 (C-1), 36.003 (C-22), 45.397 (C-15),

46.543 (C-3), 46.966 (C-14), 47.473 (C-5), 48.042 (C-2), 48.626 (C-8), 50.725 (C-4), 56.974 (C-17), 74.948 (C-16), 81.612 (C-24), 82.290 (C-25), 85.018 (C-20), 170.232 (COOCH₃), 170.301 (COOCH₃), 206.063 (C-3).

IR(CHCl₃) ν máx (cm⁻¹): 1730 (éster alifático), 1715 (carbonilo de cetona cíclica).

EM m/z (%): M+ 496 [682-(I+HOAc)](0.8 %), 143 (20%), 71 (88.7%), 43 (100%).

oxima de argentatina A (21) y oxima de isoargentatina (22).

A 222 mg de una mezcla de Argentatina A e isoargentatina A en 0.7 ml de piridina se adicionaron 48.9 mg de clorhidrato de hidroxilamina, manteniendo la reacción con agitación constante y reflujo durante 1 hr. Posteriormente se adiciono tolueno y se evaporó a presión reducida el azeótropo tolueno-piridina. El producto obtenido se disolvió en acetato de etilo y se lavó con una solución de bicarbonato de sodio al 10% hasta neutralidad. La fase orgánica, se secó con sulfato de sodio anhidro y se evaporó el disolvente a presión reducida. De esta reacción se obtuvo una mezcla de dos productos los cuales se purificaron por cromatografía en columna empacada con silica-gel y eluida con una mezcla de hexano-acetato de etilo 1:1. De este proceso se aislaron dos productos los cuales se identificaron como oxima de argentatina A (21) y oxima de isoargentatina A (22).

La oxima de argentatina A (21) se obtuvo con un rendimiento del 50%, en forma de cristales blancos con p.f. 213 °C y fue identificada de acuerdo a la siguiente espectroscopia:

RMN¹H (200 MHz, DMSO-d₆-CDCl₃) δ (ppm): 0.5 (H-19, doblete ancho, 1H), 0.65 (H-19', doblete ancho, 1H), 0.86 (CH₃,s, 3H), 1.03 (CH₃,s, 3H), 1.03 (CH₃,s, 3H), 1.07 (CH₃,s, 3H), 1.1 (CH₃,s, 3H), 1.2 (CH₃,s, 3H), 1.35

(CH₃,s, 3H), 3.7 (H-24, t, J= 7.7 Hz, 1H), 4.12 (H-16,m, 1H), 5.75 (HO-N=s, 1H).

RMN¹³C (200 MHz, DMSO-d₆-CDCl₃) δ (ppm):19.2 (C-9), 19.6 (C-6), 28 (C-28), 22 (C-29), 22 (C-30), 23.4 (C-23), 24 (C-18), 25.2 (C-7), 25.6 (C-10), 25.6 (C-11), 26 (C-21), 26 (C-27), 26.8 (C-26), 29.2 (C-19), 32 (C-2), 32.8 (C-1), 32.8 (C-12), 36 (C-22), 42.4 (C-4), 46 (C-14), 46 (C-13), 47.2 (C-5), 48.4 (C-15), 48.8 (C-8), 55.6 (C-17), 69.2 (C-25), 71.2 (C-16), 83.4 (C-24), 85.6 (C-20), 163.6 (C-3).

E. M. m/z (%): 487 (M⁺, 2), 470 (20), 469 (10), 143 (10), 59 (100)

I. R. (CHCl₃) v máx. (cm⁻¹): 3400, 1620

La oxima de isoargentatina A (22) se obtuvo en forma de cristales blancos y presentó un p.f. 203°C. Su espectroscopía es la siguiente

RMN¹H (200 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 0.76 (CH₃,s, 3H), 0.97 (CH₃,s, 3H), 1.02 (CH₃,s, 3H), 1.06 (CH₃,s, 3H), 1.10 (CH₃,s, 3H), 1.25 (CH₃,s, 3H), 1.35 (CH₃,s, 3H), 3.7 (H-24, t, J= 7.7 Hz, 1H), 4.12 (H-16,m, 1H), 5.75 (HO-N=s, 1H).

RMN¹³C (200 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 17.05 (C-6), 18.17 (C-28), 18.59 (C-23), 20.42 (C-7), 22.97 (C-30), 23.85 (C-16), 24.89 (C-29), 25.73 (C-18), 25.73 (C-21), 25.82 (C-27), 25.94 (C-11), 26.00 (C-19), 26.92 (C-26), 31.26 (C-1), 35.11 (C-2), 36.83 (C-22), 37.33 (C-17), 43.17 (C-14), 44.87 (C-15), 47.243 (C-4), 51.09 (C-5), 54.39 (C-17), 70.34 (C-25), 73.29 (C-16), 83.93 (C-24), 86.42 (C-20), 133.66 (C-9), 133.68 (C-8), 165.30 (C-3).

I. R. (CHCl₃) v máx. (cm⁻¹): 3400, 1625

16-trifluoroacetoxi- lactama de Argentatina A (23).

A 33.2 mg de la oxima de Argentatina A (21) disueltos en CH_2Cl_2 se le adicionaron 0.18 ml de anhídrido trifluoroacético lentamente a 0°C . Concluida la adición se mantuvo la mezcla de reacción con agitación constante a 25°C durante 18 min. Posteriormente se evaporó el anhídrido trifluoroacético, el ácido trifluoroacético obtenido y el CH_2Cl_2 a presión reducida. De esta reacción se obtuvo un producto blanco que se identifico por espectroscopía como el 16-trifluoroacetoxi-lactama de argentatina A (23).

RMN^1H (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 0.61 (H-19, d, $J=5.8$), 0.68 (H-19', d, $J=5.8$), 0.97 (CH_3 , s, 3H), 1.12 (CH_3 , s, 3H), 1.2 (2 CH_3 , s, 6H), 1.27 (CH_3 , s, 3H), 1.3 (CH_3 , s, 3H), 1.34 (CH_3 , s, 3H), 2.5 (H-2, m, 1H), 3.6 (H-24, t, $J=7.6$ Hz, 1H), 5.65 (H-16, m, 1H), 5.87 (HN, s, 1H).

RMN^{13}C (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 20.31 (C-28), 20.91 (C-30), 22.62 (C-9), 24.19 (C-29), 24.77 (C-6), 25.18 (C-23), 25.53 (C-18), 26.14 (C-7), 27.05 (C-21), 27.59 (C-11), 28.10 (C-27), 28.48 (C-10), 30.26 (C-19), 30.33 (C-1), 31.76 (C-26), 32.69 (C-12), 34.98 (C-2), 37.05 (C-22), 44.62 (C-13), 45.99 (C-14), 47.05 (C-5), 48.52 (C-15), 50.19 (C-8), 57.29 (C-4), 57.71 (C-17), 70.84 (C-25), 80.08 (C-16), 82.49 (C-24), 84.64 (C-20), 177.42 (C-3).

I.R. (CHCl_3) ν máx. (cm^{-1}): 3569 y 3392 (NH y OH), 1776 (carbonilo α halogenado), 1643 (carbonilo de lactama).

E.M m/z (%): 584 (M^+ , 0.6), 143 (51), 58 (100)

Lactama de argentatina A (24).

A la 16-trifluoroacetoxi-lactama de argentatina A (23) obtenida anteriormente se le adicionó una solución de carbonato de potasio en metanol y se mantuvo con agitación a la mezcla de reacción durante 5 min. a t.a., posteriormente la solución se filtró y el disolvente se

evaporó a presión reducida. La mezcla de reacción obtenida se purificó por cromatografía en columna empacada con sílica gel y eluida con una mezcla de hexano: acetato de etilo 2:1, obteniéndose por este proceso, un sólido blanco que fue identificado por espectroscopía como la Lactama de argentatína A (24). El rendimiento de la reacción fue del 65 %.

RMN¹H (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 0.61 (H-19, d, J=6), 0.68 (H-19', d, J=6), 0.97 (CH₃, s, 3H), 1.12 (CH₃, s, 3H), 1.2 (2 CH₃, s, 6H), 1.27 (CH₃, s, 3H), 1.3 (CH₃, s, 3H), 1.34 (CH₃, s, 3H), 2.5 (H-2, m, 1H), 3.86 (H-24, t, J=7.6 Hz, 1H), 5.4,6 (H-16, m, 1H), 5.87 (HN, s, 1H).

RMN¹³C (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 20.31 (C-28), 20.91 (C-30), 22.62 (C-9), 24.19 (C-29), 24.77 (C-6), 25.18 (C-23), 25.53 (C-18), 26.14 (C-7), 27.05 (C-21), 27.59 (C-11), 28.10 (C-27), 28.48 (C-10), 30.26 (C-19), 30.33 (C-1), 31.76 (C-26), 32.69 (C-12), 34.98 (C-2), 37.05 (C-22), 44.62 (C-13), 45.99 (C-14), 47.05 (C-5), 48.52 (C-15), 50.19 (C-8), 57.29 (C-4), 57.71 (C-17), 70.84 (C-25), 73.5 (C-16), 82.49 (C-24), 84.64 (C-20), 177.42 (C-3).

Lactona de argentatína A-16-ona (25)

A una mezcla de argentatína A e isoargentatína A (231 mg) disuelta en CH₂Cl₂ se le adicionó ácido m-Cl-perbenzoico (765 mg). La reacción se mantuvo con agitación constante durante 43 hrs. Transcurrido este tiempo se adicionó agua a la mezcla de reacción y se extrajo con cloruro de metileno. La fase orgánica se lavó sucesivamente con agua hasta pH neutro, posteriormente se secó con sulfato de sodio anhidro y se evaporó el disolvente a presión reducida, obteniéndose de aquí una mezcla de productos que se purificarán por cromatografía en columna empacada con sílica-gel y eluida con una mezcla de hexano-AcOEt (1:1), obteniéndose como producto mayoritario, un sólido cristalino blanco, con p.f. de 192-195°C y rf 0.45 (hexano-EtOAc, 1:1), que fue identificado por espectroscopía como la lactona de argentatína A-16-ona (25).

RMN¹H (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 0.7 (H-19 y H19', m, 2H), 1.04 (-CH₃,s, 3H), 1.06(-CH₃,s, 3H), 1.08 (-CH₃,s, 3H), 1.12 (-CH₃,s, 3H), 1.17 (-CH₃,s, 3H), 1.21 (-CH₃,s, 3H), 1.24 (-CH₃,s, 3H), 2.5 (H-2, m, 1H), 2.7 (H-2', m, 1H), 3.81 (H-24, t, J=7.2, 1H).

RMN¹³C (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 19.92 (C-28), 20.08 (C-30), 22.18 (C-9), 23.05 (C-29), 23.92 (C-6), 25.07 (C-18), 25.23 (C-21), 25.69 (C-23), 25.70 (C-7), 26.95 (C-11), 27.50 (C-27), 27.73 (C-10), 29.85 (C-19), 29.90 (C-1), 30.98 (C-16), 32.07 (C-12), 34.97 (C-2), 37.13 (C-22), 41.96 (C-13), 45.40 (C-14), 47.78 (C-5), 49.71 (C-8), 51.37 (C-15), 63.60 (C-17), 71.36 (C-25), 83.35 (C-4), 84.87 (C-24), 87.0 (C-20), 175.22 (C-3), 217.88 (C-16).

E.M. m/z (%): 486 (M⁺,0.4),468 (0.14), 427 (10), 385 (5),143 (50), 59 (100).

Lactona de argentatina A (26) y 8,9-dihidroxi-isoargentatina A (27).

Una mezcla de argentatina A e isoargentatina A (1.13 g) disuelta en CH₂Cl₂ se le adicionó ácido m-Cl-perbenzoico (1.1g) y K₂CO₃ (0.60 g). La mezcla de reacción se mantuvo con agitación constante durante 22 hs. Transcurrido este tiempo se adicionó agua y se extrajo con cloruro de metileno. La fase orgánica se lavó sucesivamente con agua hasta pH neutro, posteriormente se secó con sulfato de sodio anhidro y se concentro a presión reducida. De esta reacción se obtuvo una mezcla de productos la cual fue purificada por cromatografía en columna empacada con sílica-gel y eluida con una mezcla de hexano-AcOEt de polaridad creciente. De esta purificación se obtuvo como producto mayoritario, 250 mg de un solido cristalino blanco, con p.f. de 198-199°C y rf 0.19 (hexano-EtOAc, 1:1), que por espectroscopía se identificó como (26)

RMN¹H (300 MHz, CHCl₃) δ: 0.63 (d, J=8, 1H, H-19), 0.7 (d, J=8, 1H, H-19'), 0.9 (s, 3H, H-28), 1.16 (s, 3H, H-21), 1.26 (s, 3H, H-29), 1.28 (s, 3H, H-30), 1.40 (s, 3H, H-26), 1.43 (s, 3H, H-27), 1.48 (s, 3H, H-18), 3.85 (t, J=8, 1H, H-24), 4.6 (m, 1H, H-16).

RMN¹³C(300 MHz, CDCl₃) δ: 174.0 (C-3), 86.7 (C-20), 86.4 (C-4), 83.9 (C-24), 72.6 (C-16), 70.2 (C-25), 55.0 (C-17), 49.3 (C-8), 48.2 (C-15), 47.9 (C-5), 46.0 (C-14), 45.4 (C-13), 36.7 (C-22), 34.6 (C-2), 32.7 (C-12), 30.5 (C-26), 29.6 (C-1), 29.5 (C-19), 27.0 (C-10), 26.8 (C-27), 26.7 (C-11), 25.7 (C-21), 25.3 (C-7), 24.9 (C-18), 24.8 (C-23), 23.1 (C-6), 22.5 (C-29), 22.4 (C-9), 20.7 (C-30), 20.0 (C-28).

IR(CHCl₃) ν cm⁻¹ 3423, 1702.

El segundo producto purificado, se obtuvo en forma de cristales blancos con p.f. de 179-180° C y rf 0.40 (hexano-EtOAc, 1:1) y fue identificado como (27) por espectroscopia.

RMN¹H (300 MHz, CHCl₃) δ: 0.85 (s, 3H, H-28), 1.00 (s, 3H, H-29), 1.02(s, 3H, H-30), 1.12 (s, 3H, H-19), 1.18 (s, 3H, H-21), 1.24 (s, 3H, H-26), 1.25 (s, 3H, H-27), 1.31 (s, 3H, H-18), 3.78 (t, J=8, 1H, H-24), 4.6 (m, 1H, H-16).

RMN¹³C(300 MHz, CDCl₃) δ: 206.06 (C-3), 88.7 (C-20), 84.0 (C-24), 73.6 (C-16), 70.9 (C-8), 70.3 (C-9), 68.0 (C-25), 53.7 (C-17), 46.9 (C-4), 46.7 (C-15), 43.9 (C-14), 43.8 (C-13), 43.2 (C-5), 38.7 (C-22), 37.7 (C-2), 33.9 (C-12), 33.1 (C-1), 27.4 (C-26), 27.38 (10), 26.6 (C-27), 26.6 (C-21), 25.6 (C-19), 23.7 (C-11), 21.26 (18), 21.1 (C-23), 20.9 (C-29), 19.6 (C-30), 17.5 (C-6), 16.7 (C-28).

CONCLUSIONES

Se llevó a cabo la separación de la mezcla de argentatina A e isoargentatina A a partir de la resina de desecho del proceso de industrialización del guayule, utilizando una columna empacada con tonsil, resultando éste método rápido y de bajo costo.

La purificación de la argentatina A e isoargentatina A, resultó ser muy difícil, más sin embargo se lograron obtener con alto grado de pureza a los productos mediante innumerables procesos de cristalización.

Se logró obtener mediante procesos sencillos y clásicos la 2-hidroximetilen-isoargentatina A (14), [2,3d] isoxazol-isoargentatina A (15), [2,3d] pirazol-isoargentatina A (16), 16-acetato de argentatina A (17), 16,25-diacetato argentatina A (18), 3,16,25-triacetato-2-en-argentatina A (19), 2-I-16,25-diacetato argentatina A (20), oxima de argentatina A (21), oxima de isoargentatina A (22), 16-trifluoroacetato de argentatina A (23), Lactama de argentatina A (24) y la Lactona de argentatina A (26).

Asimismo se caracterizaron a la lactona de argentatina A-16-ona (25) y al 8,9-dihidroxi-isoargentatina A (27), como productos no esperados en la oxidación de Baeyer-Villiger de la mezcla de argentatina A-isoargentatina A.

Se observó la actividad antimicrobiana que presentó *in vitro* la argentatina A frente a *Candida albicans*, *Candida stellaitoidea*, *Hansenulla sp.*, *Torulopsis glabrata*, *Klebsiella pneumoniae* y *Pseudomona aeruginosa*, presentando frente a *Candida albicans*, *Candida stellaitoidea*, una actividad inhibitoria muy buena.

Asimismo, se observó, que la argentatina A, la oxima de argentatina A (21) y el 16,25-diacetato de argentatina A (17), presentan un comportamiento similar a ciertas hormonas esteroidales,

cuando se observó su comportamiento en pruebas de afinidad a receptores hormonales en tumores de mama estrógeno dependientes.

BIBLIOGRAFIA

- 1.- Siddiqui, I. A., Connel, J.L. and Locktow Guayule natural rubber development project second year report 1980. State of California Department of food and agriculture Division of Plant Industry Sacramento Ca. (1981).
- 2.- Campos-López, E., Nevaez-Camacho, E., Ponce-Vélez, M.A. and Angulo-Sánchez, J.L., Chemtec, 9,50 (1979).
- 3.- Watkins, S.F., Fronczek, F.R., Chiani, G. Reynolds, G.W. and Rodriguez, E. Journal of Natural Products, 48, 631, (1985).
- 4.- Proceedings of the International Guayule Conference Held in Saltillo, Coah, August 1977.
- 5.- Schloman, W.W., Hively, R.A., Krishen, A. and Andrew, A.M., J. Agric. Food Chem., 31, 873 (1983).
- 6.- Martínez, M., Flores, G., Romo de Vivar, A., Reynolds, G. and Rodríguez, E., Journal of Natural Products, 49, 1102 (1986).
- 7.- Romo de Vivar, A., Martínez-Vázquez, M., Matsubara, C., Pérez-Sánchez, G. and Joseph-Nathan, P. Phytochemistry, 29, 915 (1990).
- 8.- Mariano Martínez-Vázquez, Olivia Zamorano-Macias y Pedro Joseph-Nathan. "Contribución a la Química de la Argentinina B". Trabajo presentado en el XXV Congreso Nacional de Química Pura y Aplicada, Aguascalientes, Ags. 23-25 Agosto 1989.
- 9.- Gitter, A., Gallily, B. and Lavie, D. Cancer Res., 21, 516 (1961).

- 10.-Kurono, M., Unno, R., Kimura, H., Oka, M., Hasegaioc, K., Ikeda, S., Kuboyama, N., Ho, T., Sawa, K. and Ito, S.Eur. Appl. EP 272, 478(1988); Chem. Abstr., 111, 7648 (1989).
- 11.- Dolle R. E., Allaudeen H. S. and Kruse L., J. Med. Chem., 33, 877,(1990)
- 12.- Birgerson, L. and E.D.B.Johanson, Acta, Endocrinol. (Copenhagen). 103, (Suppl. 256), 145 (1983).
- 13.- Back T. G. and Brunner K., J. Org. Chem., 54, 1904,(1989)
- 14.- a)Hirschmann R., Steinberg N. G., Buchschacher P., Fried J. H., Kent G. J., Tishler M., J. Am. Chem. Soc. 85, 120, (1963); b) idem, 85, 236, (1963); c) idem, 85, 429, (1963)
- 15.-Vanderbilt University School of Med., J. Clin. Endocrinol. Metab. 22, 921, (1962).
- 16.-Searle, J. Med. Pharm. Chem., 5, 1216, (1962).
- 17.-L. Rodriguez-Hann, A. Romo de Vivar, A. Ortega, M. Aguilar, J. Romo, Rev. Latinoamericana de Química, 1, 24 (1970)
- 18.- A. Romo de Vivar, C. Guerrero, G. Wittgree, Rev. Latinoamericana de Química, 1, 39, (1970)
- 19.-R. Komoroski, E. Gregg, J. Shockcor, Magnetic Resonance in Chem., 24, 534, (1986)
- 20.- 17.- D. W. Young (1975) "Heterocyclic Chemistry " (Longman Ed.). London
- 21.- C. K. Bradsher and D. F. Lohr Jr. J. Heterocyclic Chem. 27 (1966)
- 22.- S. Forsen, M. Nilsson, "The Chemistry of the carbonyl group", (J. Zabicky editor), vol. 2, Interscience (1970).

- 23.- Katritzky, Rees, "Comprehensive Heterocyclic Chem.", vol. 3, Pergamon, (1984).
- 24.- J. Edwards, J. Orr, A. Bowers, *J. Am. Chem. Soc.*, **77**, 3378, (1962)
- 25.-a) Martínez, R., Martínez-Vázquez, M. and Zamorano-Macías, O., *Org. Mass Spectrometry*, **25**, 237 (1990). b) Cannon G.W., Santilli A.A. and Shenian P., *J. Am. Chem. Soc.*, 1964 (1959).
- 26.- J. Ringold, G. Stork, *J. Am. Chem. Soc.*, **80**, 250, (1958)
- 27.- P. L. Julian, J. Karpel, *J. Am. Chem. Soc.*, **72**, 362, (1950)
- 28.- C. Djerassi, T. Lenk, *J. Am. Chem. Soc.*, **75**, 3493, (1953), R. Cambie, R. Hayward, J. Roberts, P. Rutledge, *J. Chem. Soc. Perkin I*, 1858, 1864, (1974).
- 29.- C. Djerassi, T. Lenk, *J. Am. Chem. Soc.*, **76**, 1722, (1954), C. Djerassi, J. Gossman, G. Thomas, *J. Am. Chem. Soc.*, **77**, 3826, (1955)
- 30.- O. Halpern, C. Djerassi, *J. Am. Chem. Soc.*, **81**, 439, (1959), T. Perlstein, M. Wall, *J. Org. Chem.*, **25**, 1966, (1960).
- 31.- M. Fieser, L. Fieser, "Reagents for Organic Synthesis", vol 3, Wiley-Interscience, 159, (1972)
- 32.- G. Rosenkranz, O. Mancera, J. Gatica, C. Djerassi, *J. Am. Chem. Soc.*, **72**, 4077, (1950).
- 33.- R. Cambie, R. Hayward, J. Jurlina, P. Rutledge, P. Wood, *J. Chem. Soc. Perkin I*, 126, (1978).
- 34.- Motohashi S. and Sotomi M. *Synthesis*, 1021 (1982).
- 35.- H. Miura, Y. Fujimoto, T. Tatsuno, *Synthesis*, 898, (1979)
- 36.- J. March, "Advanced Organic Chemistry", John Wiley-Sons, N. York, 1985.

- 37.- B. Plesnicar, "Oxidation in Organic Chemistry", (W. S. Trahanovsky ed.) Parte C, cap. III, 211, Academic Press, (1978).
- 38.- G. R. Krow, *Tetrahedron*, **37**, 2697, (1981)
- 39.- E.J. Corey, *Tetrahedron Lett.*, **26**, 5855, (1985).
- 40.- J. Cella, J. McGrath, J. Kelly, O. ElSoukkary, L. Hilpert, *J. Org. Chem.*, **42**, 2077, (1977).
- 41.- M. Martínez, S. Sepúlveda, M. Belmont, M. Rubio, P. J. Nathan, *J. Natural Products* , **55**, 884, 1992
- 42.-a) E. V. Jensen, *Cancer*, **46**, 2759, (1980). b) M. Medina, L. Calzada, R. Torres, A. Zarate, *Arch. Invest. Med.*, **18**, 235, (1987).