

00573



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

4
2ij

DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO
FACULTAD DE QUIMICA

CONSTITUYENTES MAYORITARIOS DE RAIZ DE BUDDLEJA
B. CORDATA Y B. SESSILIFLORA

T E S I S
PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRO EN CIENCIAS
(QUIMICA ORGANICA)
P R E S E N T A :
Q. DAVID AARON NIETO ALVAREZ

MEXICO, D. F.

1996

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN
FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA
DIRECCIÓN

LIC. ANTONIO DÍAZ GARCÍA
Jefe de la Unidad de Registro e Información.
Ciudad Universitaria
Presente.

Me es grato informarle que el alumno DAVID AARON NIETO ALVAREZ, presentará próximamente su examen para obtener el grado de Maestría en Ciencias Químicas (Química Orgánica) ante el siguiente jurado:

Presidente:	Dra. Lydia Rodríguez Hahn
Primer Vocal	Dr. Eugene Bratoeff Titoff
Secretario:	Dra. Martha Albores Velasco
Primer Suplente:	Dr. Eduardo Díaz Torres
Segundo Suplente:	Dr. Guillermo Delgado Lamas

Sin otro particular de momento, aprovecho la ocasión para enviarle un cordial saludo.

Atentamente
"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"
Ciudad Universitaria, D. F., 21 de febrero de 1996.

DR. ANDONI GARRITZ RUIZ
Director.

C.c.p. Integrantes del Jurado
C.c.p. Coordinador de Área
C.c.p. Departamento de Control Escolar
C.c.p. Interesado
*ggm.

Esta tesis se llevó a cabo en el Instituto de Química de la UNAM, bajo la dirección del Dr. Alfonso Romo de Vivar Romo, con apoyo del proyecto "Estudio químico biológico de algunas especies de plantas mexicanas". (CONACyT No.400361-5-1711N).

A mi esposa y mi hija:

Biol. Patricia G. Vidales Dávila.
Patricia Adriana Nieto Vidales.

A mis padres:

Dr. José Trinidad Nieto y García
Lic. María del Carmen Alvarez Casas (1)

INDICE

I INTRODUCCION

II ANTECEDENTES

II.1 Revisión del género *Buddleja*.

II.2 Biogénesis.

III DISCUSION.

III.1 Discusión de *Buddleja cordata* (Corteza, parte aérea).

III.2 Discusión de *Buddleja cordata* (Corteza de raíz).

III.3 Discusión de *Buddleja sessiliflora* (Corteza de raíz).

IV PARTE EXPERIMENTAL

IV.1 Estudio Químico de *B. cordata* (Corteza, parte aérea)

IV.1.1 Material vegetal

IV.1.2 Extracción.

IV.1.3 Purificación del extracto metanólico.

IV.1.4 Derivados.

IV.1.4-1 Acetilación de O-Metilcatalpol.

IV.1.4-2 Acetilación de Aucubina.

IV.2 Estudio Químico de *B. cordata* (Corteza de raíz).

IV.2.1 Material vegetal.

IV.2.2 Extracción.

IV.2.3 Purificación de extractos (Hexánico y metanólico).

IV.2.4 Derivados.

IV.2.4.1 2,4-Dinitrofenilhidrazona de (+)-ciclocoloronona

IV.3 Estudio Químico de *B. sessiliflora* (Corteza de raíz).

IV.3.1 Material vegetal.

IV.3.2 Extracción.

IV.3.4 Purificación de extractos (Hexánico y metanólico)

V CONCLUSION.

VI BIBLIOGRAFIA.

VII ESPECTROS.

I INTRODUCCION

En los últimos años, se ha manifestado una creciente preocupación en los aspectos ecológicos del planeta debido a la continua destrucción del habitat que provoca cada año la extinción de miles de especies¹, lo cual ha generado un gran interés en los alimentos y drogas naturales.

La existencia de una gran variedad de estos productos desde el té de manzanilla hasta la goma de mascar de ginseng y más recientemente el taxol (diterpeno pseudoalcaloide aislado de *Taxus brevifolia* que es el primero de una nueva clase de agentes anticáncer que estabiliza los microtúbulos)², ha provocado un mayor interés en el estudio de la flora.

Al respecto, México comprende cerca del 12 % de la biota del mundo³ que representa alrededor de 20,000 especies de plantas vasculares. Nuestro país tiene una flora mas vasta que la de la antigua Union Soviética y aproximadamente del mismo orden que los Estados Unidos y Canadá juntos⁴.

La gran variedad biológica de México puede ser ilustrada por una comparación del número estimado de especies que hay en el mundo (Tabla I), con las presentes en el territorio nacional.

TABLA I Numero de especies estimadas en el Mundo y México³.

	Mundo	México	%
PLANTAS	266,000	29,000-34,000	10.9-12.78
Anthophyta	235,000	25,000-30,000	10.6-12.76
Orchidaceae	17,500	935	5.34%
Cactaceae	1,650	900	54.50
Leguminosae	16,400	1,706	10.40
Cycadophyta	100	9	9.0
Coniferophyta	550	80	14.54
Pteridophyta	12,000	900-1000	8.34
Bryophyta	16,600	2,000	12.04

El territorio mexicano y en particular su mitad meridional, es una de las zonas florísticamente más ricas del mundo¹, a la par con Malasia, Sudamérica y ciertas partes de Centroamérica. La razón de la variedad de especies que presenta México reside en su amplia variedad de condiciones climáticas.

El reconocimiento de la herbolaria mexicana relacionada con el descubrimiento de propiedades curativas ha provocado el interés en el estudio fitoquímico y farmacológico de las mismas. M. Martínez⁵ menciona las propiedades curativas de la *Buddleja cordata*, la cual se localiza en Veracruz, Valle de México y varios estados de la mesa central en donde se conoce como tepozán, zayolizcán, cayolizcán o coyolián .

En esta fuente de información se menciona que toma el cocimiento de las hojas, corteza y raíz de este vegetal como diurético, principalmente en caso de hidropesía, y se aplica al exterior para curar heridas y para aliviar dolores reumáticos y "contra el pasmo".

Por su parte Rzedowski⁷, menciona que las hojas de *B. cordata* se utilizan en infusión para evitar el exceso de sudor y como diurético.

El cocimiento de las hojas del tepozán de cerro (*B. sessiliflora*), que se localiza en Zumpango, Teotihuacán, Tlalpan y Amecameca, se emplea para curar úlceras⁷.

Por lo antes mencionado se justifica la realización del estudio químico de las especies de *Buddleja*, en particular *B. cordata* y *B. sessiliflora*, con los siguientes objetivos generales:

- 1.-Recopilación de la información bibliográfica disponible del género *Buddleja*
- 2.-Aislar los metabolitos secundarios presentes en las dos especies por medio de técnicas cromatográficas.
- 3.-Elucidación estructural de metabolitos secundarios nuevos y conocidos por medio de reacciones químicas y técnicas espectroscópicas.

II ANTECEDENTES

II.1 Revisión del género *Buddleja*

El género *Buddleja*, originalmente clasificado dentro de la familia *Loganiaceae* por Leewenberg⁶ y Rzedowski⁷, comprende alrededor de 100 especies.

Hutchinson⁸ y Dahlgren⁹, clasifican el género *Buddleja* como una familia independiente *Buddlejaceae*, involucrada dentro del orden Scrophulariales. Clasificación tomada por Index Kewensis¹⁰.

La ausencia de alcaloides indólicos en el género *Buddleja*, que son comunes en la familia de las *Loganeaceae*, dan un apoyo adicional a la clasificación *Buddlejaceae* como una familia independiente.

Las especies de *Buddleja* son arbustos o árboles que se encuentran en el trópico y subtropical del Norte y Sudamérica, Asia y África¹¹, donde son utilizados en la medicina tradicional.

Distribución de especies del género *Buddleja* en el continente Americano.

B. globosa (El pañil), es un arbusto originario de la parte central de Chile y algunas regiones del sur de Perú y Bolivia. Pérez de Barradas¹² menciona que con el zumo de las hojas curaban las llagas y en infusión, los abscesos hepáticos, las diarreas y las hemoptis.

Del estudio químico de esta especie Trim¹³ aísla el iridoide aucubina (1). Dutt¹⁴ obtiene los iridoides catalpol (2) y α -metil catalpol (3).

Harborne¹⁵ detecta la presencia de los flavonoides luteolina (4) y 6-hydroxyluteolina (5).

Martin¹⁶ identificó de las flores los compuestos flavonoides acetina-7-O-rutinósido (linarina) (6), 7-O-glucósido de apigenina (7), 3-O-rutenósido de quercetina (8), 7-O-glucósido de escuatellarecina (9), y el triterpeno lupeol (10).

López¹⁷ identificó los triterpenos β -amirina (11), acetato de β -amirina (12), glutinol (13), el esteroil elondilasterol (14), el *p*-cumarato de metilo (15) y el éster metílico del ácido ferúlico (16).

Houghton¹⁸ reporta los ésteres fenólicos, docosanoato de *p*-hidroxicinamilo (17) y lignocato de *p*-hidroxicinamilo (18). Posteriormente Houghton y Hikino³⁸, aislaron los compuestos linarina (6), verbaseósido (19), echinacósido (93) y dos iridoides que se les nombró, *p*-metoxicinamoilaucubina (56) y 6-*p*-metoxicinamoilacatalpol (57).

Pardo¹⁹, aisló el verbascósido (3,4-dihidroxi- β -feniletil)O- α -L-ranopiranosil(1-3)- β -D-(4-O-cafeoil)glucopiranososa (19) evaluando la actividad antimicrobiana que presenta .

Se menciona que una decocción de la corteza de raíz de *B. humboldtiana*²¹, originaria del sur de Texas, E.U., se utiliza para curar infecciones urinarias y reumatismo.

La parte aérea de *B. conacea*, especie originaria de Bolivia conocida como "quishura", es usada como remedio para enfermedades venéreas. Kubo²⁰ informa sobre los flavonoles budlenoide A, kaempferol 7-(6"-p-caumaroglucosido) (20) y budlenoide B, 7-(6"-p-caumaroglucósido) de isorhametina (21), presentando ambos compuestos actividad inhibitoria de la enzima tirosinasa .

Las hojas de *B. incana*, que se encuentra en la región central de Ecuador y algunas partes de Bolivia y Chile, nombrada "quishuar", se utilizan para el tratamiento de heridas infectadas¹².

En Brasil, *B. brasiliensis* Jacq. denominada como "barasco", de la cual Teixeira²², dice que flores y hojas se emplean en las afecciones catarrales, sudorífico, dolores de estómago y espalda, presentando también actividad antihemorroide. Por su parte von Reis²³ menciona que las hojas en infusión son usadas contra la hinchazón. Haughton²⁴ comenta que varias especies de Brasil presentan actividad diurética y antihemorroide (*B. stachyoides* Cham. et Schltr, *B. brasiliensis* Willst, *B. brachiata* Cham. et Schltr y *B. elegans* Cham. et Schltr). En Argentina *B. tucumarensis* Griseb, presenta actividad astringente y estimulante²⁴.

En México existen alrededor de 20 especies distribuidas en zonas pantropicales, 5 de las cuales habitan en el Valle de México⁷: *B. cordata* H.B.K., *B. sessiliflora* H.B.K., *B. parviflora* H.B.K., *B. perfoliata* H.B.K. y *B. scoridooides* H.B.K.

B. cordata H.B.K conocida como "tepozán", se localiza principalmente en el Valle de México, Estado de México, Veraacruz, Hidalgo, etc. Sus hojas y corteza de raíz se utilizan como infusión para evitar el exceso de sudor y como diurético^{5,7,25}.

B. sessiliflora H.B.K. ("mispatle" o "lengua de vaca"), distribuida desde Sonora a Coahuila, San Luis Potosí, Valle de México y Oaxaca. El cocimiento de sus hojas se utiliza para curar heridas y úlceras^{5,7,25}.

B. parviflora H.B.K. ("tepozán de cerro") es una especie distribuida en el Valle de México, Estado de México, Sonora, Veracruz y Oaxaca⁷. Se utiliza en el posparto y reumatismo. En el mereado de Sonora, la planta seca con zapote blanco se indica para bajar la presión²⁵.

B. perfoliata H.B.K. ("salvia de bolita"), localizada desde San Luis Potosí, Puebla, Estado de México y Valle de México, se emplea como antisudorífico, diurético y estomacal^{5,7,26}.

B. scoridioides H.B.K. ("escobillas"), se encuentra en el Valle de México, Estado de México, Nuevo León, Nuevo México y Texas. El cocimiento de sus hojas se utiliza contra la indigestión⁷, por otra parte las hojas molidas junto con pencas de nopal se utiliza para las quemaduras²⁵.

El Herbario Medicinal del IMSS²⁵, menciona otras especies de *Buddleja* que son utilizadas en la medicina tradicional mexicana. De las regiones de San Juan Chamula y Oxelme Chiapas, las especies *B. crotonoides* A. Gray ("tzaritzel ok tzelo"), las hojas tiernas y hervidas se utilizan para controlar el vómito. Las hojas hervidas de *B. nitida* Benth ("tzotzil") y *B. skutchii* Morton ("tzelo pat") se utilizan para aliviar el dolor de estómago y curar heridas. De las regiones de Xolutla y Quimixtlán, Puebla, se utilizan las ramas y flores de *B. elliptica* Mart ("chacaneautillo xuitl") junto con la hierba del perro para "lo quemado". De *B. microphylla* H.B.K. ("zampatlé"), las hojas en infusión son utilizadas para las hinchazones en forma de fomentos.

Entre el material herborizado solo existe un ejemplar de *B. americana* L del Pedregal de San Angel, que data de 1865 y no se ha vuelto a coleccionar ninguno en el Valle de México. Es probable que se trate de un error, pues *B. americana* es una especie propia de climas más calurosos y húmedos²⁷, de esta especie Houghton²⁸, aísla el iridoide aucubina 1.

Especies de Asia.

B. davidi Franchet, originaria de China y Japón. Hojas y tronco pulverizado presentan actividad antiséptica, una infusión de las hojas se utiliza contra las úlceras. Del estudio químico de esta especie, Backer²⁹ identifica los flavonoides linarina (6) y acacetina (10). Paris³⁰ aísla el iridoide aucubina (1), por su parte Duft¹⁴ obtiene los iridoides catalpol (2) y o-metil catalpol (3).

Yoshida³¹ aísla cinco sesquiterpenos de las raíces, los cuales nombro budledinas A, B, C, D y D (22-26).

Houghton³² reporta la presencia de coniferaldehído (27) y dos lignanos 28 y 29. Posteriormente Houghton^{33,34}, aísla seis lignanos los cuales los nombró budlenol A, B, C, D, E y F (30-35) y un glucósido de fenilpropanoide, orubancina (36).

Roeder³⁵ obtienen un alcaloide tricíclico piperidínico, nombrado budamina (81).

Ahmad³⁶ reporta la presencia de un glucósido que nombró birinósido I, (37).

Yamamoto³⁷ obtiene de las raíces trece fenil glucósidos (38-50), un glucósido de iridoide (51), y cuatro lignano iridiodes: uno lignan dihidrobenzofurano (52), y tres 2-fenoxy-1,3-propanediol (53-55).

B. japonica Hmsl. es muy similar a otras dos especies, *B. curviflora* Hook. et Arn y *B. lindleyana* Fortune, las cuales son nativas del este de China y Japón. Las hojas y flores presentan actividad anticatarral, contra la malaria y piscicida²⁴. Del estudio químico, Susplugas³⁹ obtienen de las raíces el sesquiterpeno budleina A (22).

Yamamoto⁴⁰ aísla cuatro saponinas triterpénicas tipo oleatano que nombró budlejasaponinas I, II, III y IV (60-63) y saikosaponina a (64).

Miyase⁴¹, obtienen dieciséis acetil glucósidos de iridoides, denominados budlejósidos A₁-A₁₆ (65-80).

B. officinalis Maxim es una especie característica de China y algunas regiones de Malasia nombrada "mí méng húa". La decocción de las hojas es usada contra la gonorrea y la hepatitis. Las flores en vino y miel se utilizan para aclarar trastornos visuales como las cataratas⁴². Del estudio químico de las flores de esta especie Lixin, Xu⁴³, detectaron el flavonoide linarina (6).

Ning^{42b} detecta dos glucósidos triterpénicos a los que nombran, mimengósidos A y B (82-83).

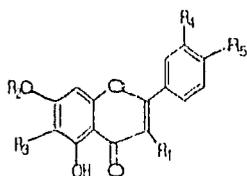
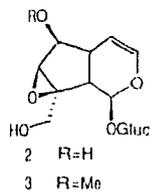
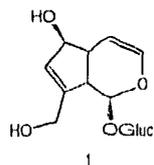
James⁴² menciona que las hojas y raíces de *B. lindleyana* Fort, especie característica de China nombrada "zú yú cáo", se emplea para combatir el asma, catarro, hemoptisis y malaria. En la misma región *B. albiflora* HemsL, se ocupa como espectorante.

B. asiatica (conocida también como *B. neemda*), se localiza en una gran extensión de Asia que abarca desde el norte de la India y Nepal hasta el sur de China, Malasia, Indonesia y Nueva Guinea. En la India son utilizadas las flores para cicatrizar heridas, en China como abortivo y las raíces en infusión contra la malaria. Del estudio químico, Bate-Smith⁴⁴ detecta la presencia del flavonol, kaempferol (92) y dos ácidos ferúlicos 89,90.

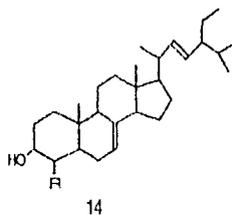
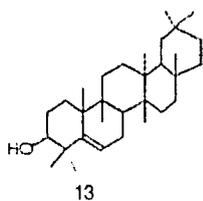
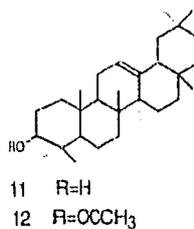
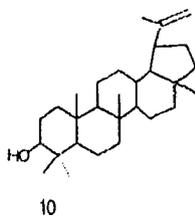
Sharma¹⁵ aisló de las hojas los flavonoides, linarina (6) y quercetina (91). Kapoor¹⁶ obtiene mezcla de sitosterol y estigmasterol (58,59).

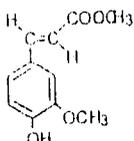
Mukherjee¹⁷ detectó cuatro flavonoides, 5,7-dihidroxi-3,4'-dimetoxi flavona (84), 5-hidroxi-3',4'-dimetoxi-7-o- β -D-glucopiranososa (85), 5-hidroxi-7,3',4'-trimetoxi flavona (86), 5,7,3',4'-tetrametoxi flavona (87). Posteriormente Mukherjee¹⁸ aisló el 5-hidroxi-7,4'-dimetoxi flavona (88).

Una infusión de las hojas de *B. madagascariensis* Lam., originaria de Madagascar nombrada como "seva" o "sevalotsy" es usada para combatir el asma y la bronquitis²⁴. Kapoor¹⁶ aislan una mezcla de sitosterol y estigmasterol (58,59) y dos flavonoides, pectolarigenina (93) y salvigenina (94).

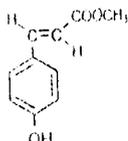


- 4 (R₁,R₂,R₄=H; R₃=rutinosilo; R₅=OCH₃)
 5 (R₁,R₂,R₄=H; R₃=glucosilo; R₅=OH)
 6 (R₁=O-rutinosilo; R₂,R₃=H; R₄,R₅=OH)
 7 (R₁,R₄=H; R₂,R₅=OH; R₃=glucosilo)
 8 (R₁,R₂=H; R₃=glucosilo; R₄,R₅=OH)
 9 (R₁=H; R₂,R₄,R₅=OH; R₃=glucosilo)
 91 (R₁,R₄,R₅=OH; R₂,R₃=H)
 92 (R₁,R₅=OH; R₂,R₃,R₄=H)

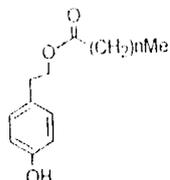




15

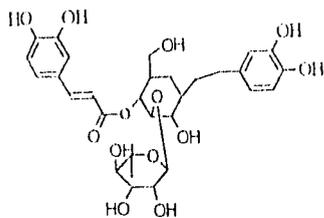


16

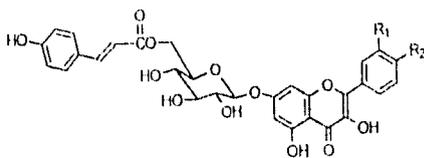


17 n= 22

18 n= 20

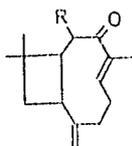


19



20 R₂=OH R₁=H

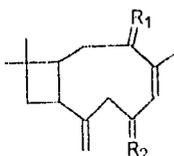
21 R₂=OH R₁=OMe



22 R=OH

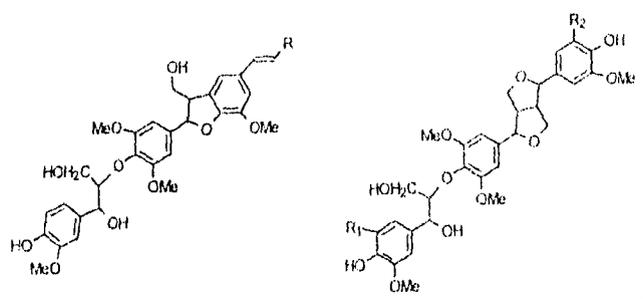
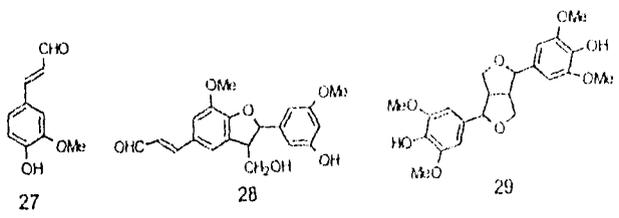
23 R=OOCCH₃

24 R=H

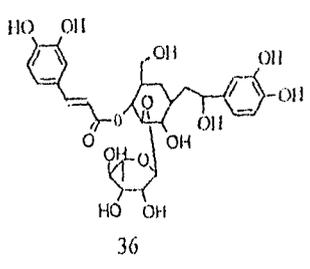


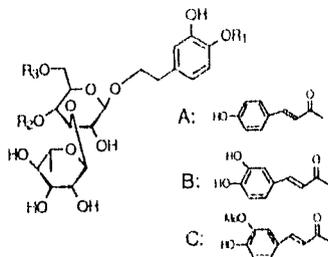
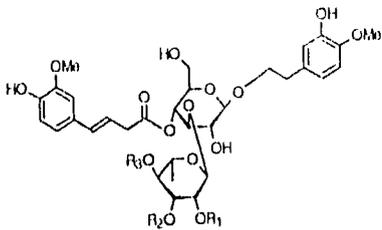
25 R₁=O
R₂=H₂

26 R₁=H₂
R₂=O



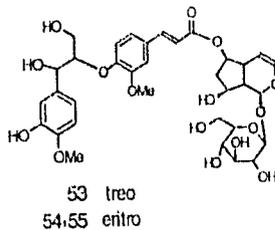
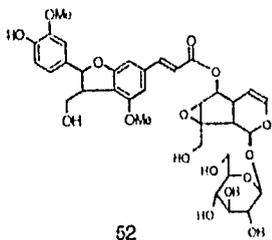
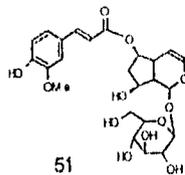
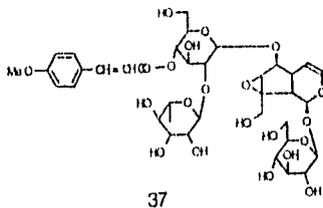
	R		R ₁	R ₂	
30	H	Buddlenol A	H	OMe	Buddlenol C
31	CH ₂ OH	Buddlenol B	33	OMe	OMe
			34	H	H
			35	OMe	H

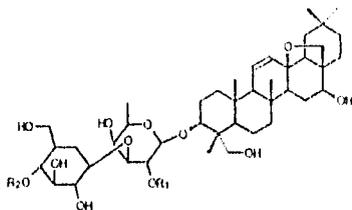
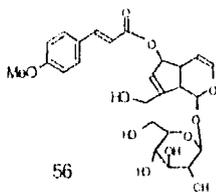
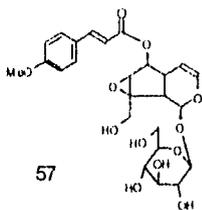




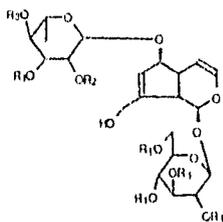
	R ₁	R ₂	R ₃
38	Ac	H	H
39	H	Ac	H
40	H	H	Ac

	R ₁	R ₂	R ₃
41	Me	A	H
42	H	H	C
43	H	B	H
44	H	H	B
45	H	C	H
46	Me	C	H
47	Me	H	C
48	Me	B	B
49	Me	C	arabinosa
50	Me	C	apiosa

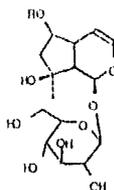




- 60 R₁=Glc; R₂=Pham
- 61 R₁=Glc; R₂=Xyl
- 62 R₁=H; R₂=Xyl
- 63 R₁=Glc; R₂=H
- 64 R₁=H; R₂=H

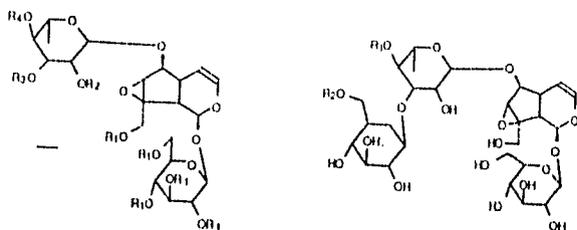


- | | | | |
|----|----------------|----------------|----------------|
| | R ₁ | R ₂ | R ₃ |
| 68 | H | A | D |

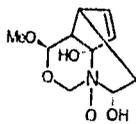


- | | |
|----|---|
| | R |
| 65 | B |
| 66 | G |
| 67 | H |

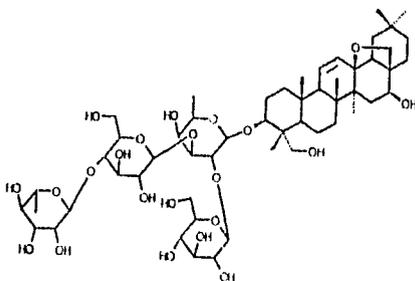
- A: acetyl
- B: vanilloil
- C: trans-p-cumaroil
- D: trans-p-metoxycinnamoil
- E: cis-p-metoxycinnamoil
- F: trans-cafeoil
- G: trans-feruloil
- H: trans-3,4-dimethoxycinnamoil
- I: cis-3,4-dimethoxycinnamoil



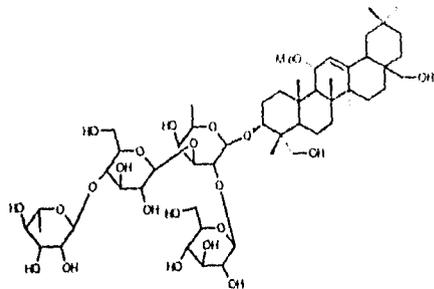
	R1	R2	R3	R4
69	H	H	H	D
70	H	A	H	D
71	H	H	A	D
72	H	H	D	H
73	H	A	D	H
74	H	A	H	E
75	H	H	A	E
76	H	H	H	H
77	H	A	H	H
78	H	H	A	H
79	H	H	A	I
80	H	H	A	G



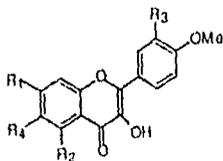
81



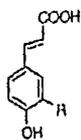
82



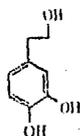
83



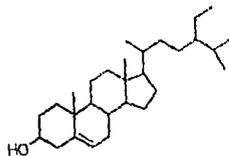
	R1	R2	R3	R4
84	OH	OH	OMe	H
85	O-glu	OH	OMe	H
86	OMe	OH	OMe	H
87	OMe	OMe	OMe	H
88	OH	OMe	H	H
93	OMe	OH	H	H
94	OMe	OH	H	Me



89 R=OH
90 R=OMe



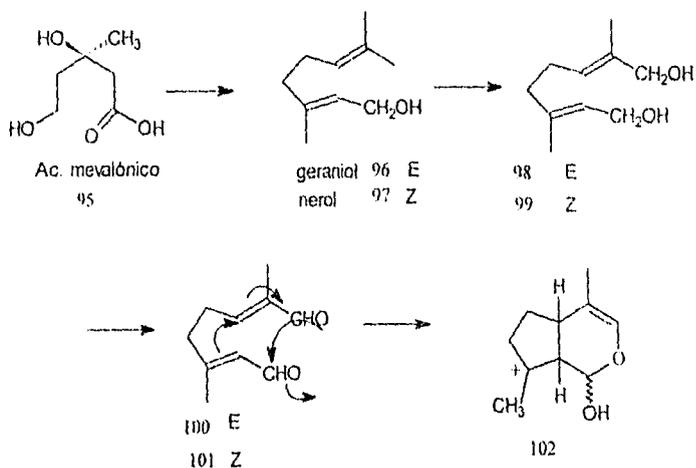
95



58
59 double ligatur a C₂₂C₂₄

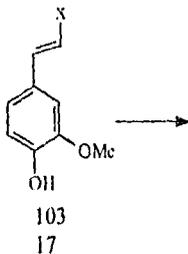
II.2 Biosíntesis.

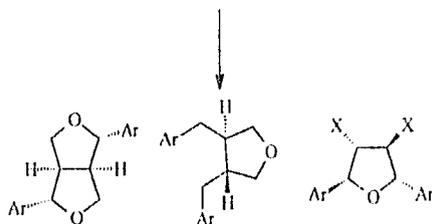
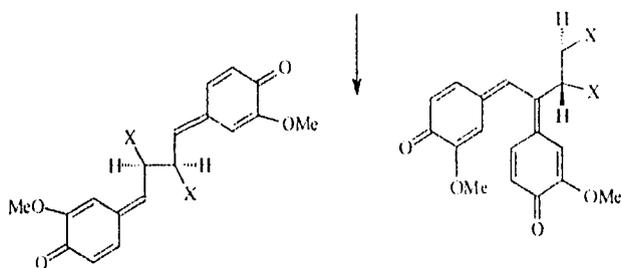
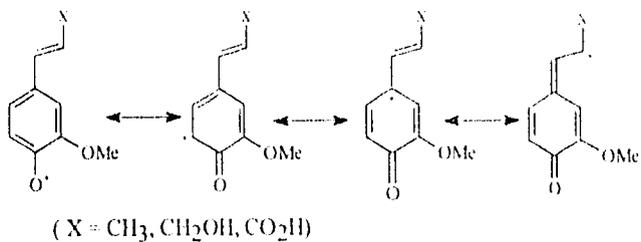
La biosíntesis de los iridoides⁵² parte de la conjugación de dos moléculas de ácido mevalónico (ácido-3,5-dihidroxi-3-metilpentanoico)95, produciendo el geraniol (96) y nerol (97), los cuales son convertidos a los dioles 98 y 99 respectivamente y posteriormente en los dialdehídos 100 y 101 los cuales se ciclizan para dar el compuesto iridoidal 102 (Esquema V).



Esquema V

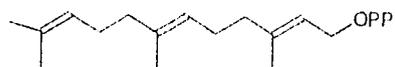
Por otra parte, los lignanos son dímeros del fenilpropanoide, los cuales se derivan del ácido shikímico a través del intermediario 103, que sufre una electro-oxidación de el fenol para dar el radical, seguido por una gran variedad de procesos dependiendo de la regio y estereoquímica de los compuestos iniciales (Esquema VI)⁵³



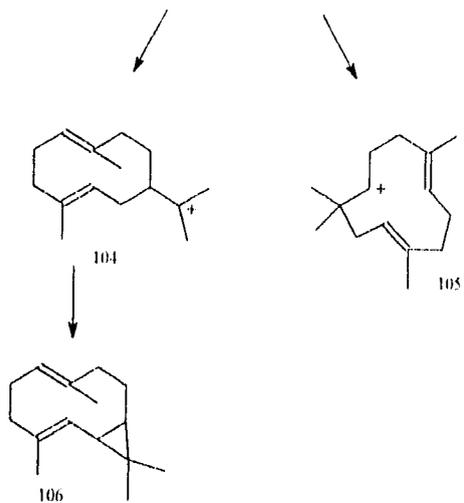


Esquema VI

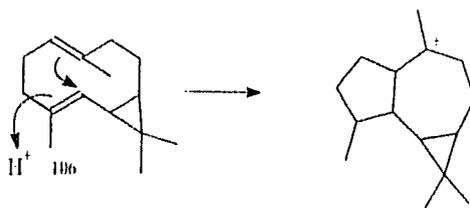
Se conoce que el pirofosfato de famesilo es precursor de los sesquiterpenos y que mediante ciclización intramolecular produce los cationes germaerano (104) y humuleno (105). El catión germaerano es precursor biosintético del bicylogermaerano (106), por medio de una ciclización intramolecular (Esquema VII)⁵⁴.



pirofosfato de farnesilo



Esquema VI



Esquema VII

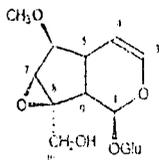
III DISCUSION

III.1 *Buddleja cordata* (corteza parte aérea)

La planta fué recolectada en el Valle de México en Septiembre de 1992. De la parte aérea seca y molida se obtuvo el extracto metanólico que se trabajó por cromatografía en columna, de las fracciones eluidas con $\text{CHCl}_3\text{-MeOH}$ (3:2), se aislaron sólidos de punto de fusión 237-238 °C. Su espectro de masas por impacto electrónico presenta un ión molecular de $m/z=196$ $[\text{M-C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6]^+$ que corresponde a la fórmula molecular $(\text{C}_{16}\text{H}_{24}\text{O}_{10})$.

En su espectro de infrarrojo se observan bandas en 3360 cm^{-1} que denota la presencia de grupos hidroxilo, por lo que se sometió a tratamiento con Ac_2O en piridina bajo condiciones usuales. Se obtuvo el derivado acetilado de p.f. 75-78 ° C el cual presenta en el espectro de RMN¹H cinco singuletes en 1.951, 1.991, 1.996, 2.026 y 2.048 ppm que integran para tres protones cada uno y que corresponden a cinco gpos. acetilo por la banda de absorción en el infrarrojo a 1754.1 cm^{-1} .

El compuesto se identifica como O-metilcatalpol I, por comparación de sus datos espectroscópicos con los reportados en la literatura; así en el espectro de RMN¹H (Espectro 1) la señal que se observa en δ 6.39 como doble de doble ($J=5.9, 1.8\text{ Hz}$) que integra para un protón corresponde al hidrógeno vinílico H-3, y la localizada en δ 4.6 como doble ($J= 7.8\text{ Hz}$) pertenece al proton anomérico. El singulete en δ 3.4 que integra para tres hidrógenos corresponde a protones de metoxilo, por su parte el multiplete centrado entre las señales δ 4.9 y δ 5.2 corresponde a los hidrógenos H-6, H-4 y H-1, así mismo el multiplete centrado entre δ 2.95 y δ 3.3 corresponden a los hidrógenos del azúcar, el cuarteto en δ 2.3 pertenece al H-9 y el multiplete en δ 2.2 corresponde al H-5, las señales que se localizan en δ 3.9 como doble ($J=13\text{ Hz}$) y δ 4.3 como multiplete pertenecen a los hidrógenos del metileno en C-10

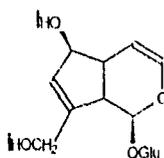


1

De las fracciones eluidas con CHCl_3 -MeOH (1:1) del mismo extracto se obtienen 537.7 mg de sólidos, de punto de fusión de 179-180 °C, los cuales presentan un ión molecular de $m/z=166$ $[\text{M}-\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6]^+$ y que corresponde a la fórmula molecular $\text{C}_{15}\text{H}_{22}\text{O}_9$, determinado por espectrometría de masas por impacto electrónico.

En su espectro de infrarrojo se observan bandas de absorción de grupos hidroxilo en 3300 cm^{-1} por lo que se obtuvo su derivado acetilado de p.f. 123-125 °C que presenta en su espectro de IR la banda de absorción del carbonilo del éster en 1751.95 cm^{-1} y que corresponde a seis grupos acetato los cuales se observan en el espectro de RMN^{11}H del derivado acetilado como singuletes en 2.10 ppm que integra para seis protones y tres singuletes en 2.046, 2.033 y 2.019 ppm que integra en conjunto para doce hidrógenos.

El compuesto se identificó como aneubina **2**, por comparación de sus datos espectroscópicos con los reportados en la literatura; así en el espectro de RMN^{11}H (Espectro 2) las señales que aparecen en δ 6.28 dd ($J=6.3, 1.9\text{ Hz}$) y δ 5.15 dd ($J=6.2, 3.8\text{ Hz}$) corresponde a los hidrógenos vinílicos H-3 y H-4 respectivamente, así mismo el multiplete en δ 5.8 pertenece a H-7, la señal de hidrógeno anomérico se observa en δ 4.82 como doblete ($J=7.4\text{ Hz}$), por su parte la señal correspondiente a los hidrógenos de metileno geminal al oxhidrilo H-10 aparece en δ 4.65 como multiplete.



2

Siguiendo con la descripción de la separación de los constituyentes del extracto, de las fracciones eluidas en CHCl_3 -MeOH (2:3), se aíslan 500 mg de producto cristalino que presentan un pf de 199-200 °C, que muestran en su espectro de infrarrojo bandas de absorción en 3340 cm^{-1} características de grupos hidroxilo, y bandas en 1450 cm^{-1} . El compuesto se identifica como sacarosa por comparación de sus datos físicos y espectroscópicos con los reportados en la literatura.

III.2 *Buddleja cordata* (Corteza de raíz).

La planta fue recolectada en el Valle de México en marzo de 1993. De la corteza de raíz seca y molida se obtuvieron dos extractos, hexánico y metanólico.

III.2.1 Extracto Hexánico .

Se trabajó por cromatografía en columna usando como eluyente hexano y proporciones crecientes de AcOEt obteniendo 75 fracciones las cuales se reunieron de la siguiente manera (Ver parte experimental).

Fracciones	27-30
	31-35
	36-42

De las fracciones 27-30 y después de sucesivas purificaciones por cromatografía, se aislaron sólidos de pf. 151-155 °C, $[\alpha]_D^{25} = +78.46$ (0.00215 g/ml) (MeOH). En su espectro de masas de alta resolución por FAB⁺ (Espectro 3) muestra un ión molecular de $m/z=233$ [M-1]⁺ que corresponde a la fórmula molecular C₁₅H₂₁O₂.

Su espectro en el infrarrojo (Espectro 4) muestra una banda en 3527.96 cm⁻¹ correspondiente al grupo hidroxilo y bandas en 1698.55 y 1636.04 cm⁻¹ que indican la posibilidad de un carbonilo α,β -no saturado en anillo de cinco miembros, comprobándose la presencia del cromóforo por el máximo observado en UV a 245 nm ($\epsilon=3287.36$) y por las señales simples en el espectro de RMN¹³C (Espectro 5) a δ 206.245, δ 144.518 y δ 168.864, la primera señal se atribuye al carbono del carbonilo y las dos siguientes a los carbonos vinílicos α y β del carbonilo.

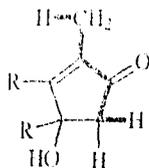
En el espectro de RMN¹³C no solo muestra la presencia de un carbonilo α,β insaturado, sino que confirma la fórmula encontrada por masas de alta resolución, ya que muestra 15 señales.

En su espectro de RMN¹H (Espectro 6) se observan cuatro señales de metilos de los cuales uno es secundario al aparecer como doblete a δ 1.08 d ($J=6.5$ Hz), dos singuletes (posiblemente un gem dimetilo δ 1.24 y δ 1.03) y el cuarto es vinílico [δ 1.78 d ($J=2$ Hz)], existe además un grupo oxhidrilo cuya señal apareció a δ 7.35.

Las señales que se observan en δ 2.49 d(J=18.5 Hz) y δ 2.81 d(J=18.5 Hz) en RMN¹H corresponden a los protones de un metileno aislado como un sistema AB, esto se corrobora por su correlación bidimensional en su espectro de RMN¹H (COSY) (Espectro 10) en el que se observa la interacción de los protones del metileno entre sí.

El desplazamiento químico a bajo campo que presentan, supone la interacción con un grupo electronegativo que en este caso es el grupo hidroxilo. Por otra parte los mismos hidrógenos del metileno presentan en el espectro bidimensional de correlación a larga distancia C-H a dos y tres enlaces (COLOC) (Espectro 9) una interacción a dos enlaces con el carbono del carbonilo, así mismo este carbono (carbono de carbonilo) presenta interacción a tres enlaces con los hidrógenos del metilo vinílico.

Lo descrito anteriormente está de acuerdo con la estructura parcial A



A

Naturaleza de cada uno de los 15 átomos de carbono.

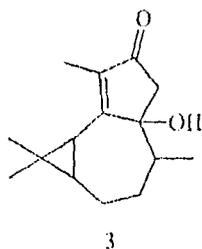
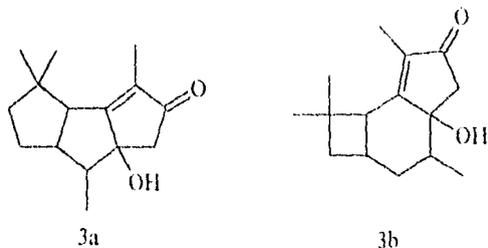
Los experimentos de desacoplamiento electrónico por transferencia de polarización (DEPT) (Espectro 7) (Tabla 1) identifica las señales de los carbonos sp^3 en cuatro metilos, tres metilenos y tres metinos por lo que los cinco restantes en RMN¹³C son totalmente sustituidos. De tal manera que se clasifican los 15 átomos de carbono de la siguiente manera:

	4 metilos
	3 metilenos
	3 metinos
	2 carbonos tetrasustituídos (uno, base de oxígeno)
	2 carbonos vinílicos
	1 carbono de carbonilo
$C_{15}H_{22}O_2$	

Como la fórmula $C_{15}H_{22}O_2$ requiere de cinco insaturaciones dos de las cuales se encuentran involucradas en un sistema de carbonilo α,β insaturado y una en el anillo de cinco miembros debe tratarse de una sustancia tricíclica por lo que al expandir la fórmula parcial A a una que contenga los elementos anteriores y que siga la regla del isopreno se llega a proponer las estructuras 3, 3a y 3b

TIPOS DE CARBONO	δ ppm
C=O	206.245
C=	168.864
C=	144.518
C-O	93.03
CH	45.79
CH ₂	44.973
CH ₂	30.972
CH ₃	28.43
CH	27.126
CH	26.408
CH ₂	25.92
C-	22.591
CH ₃	18.712
CH ₃	17.783
CH ₃	9.65

Tabla I. Valores de RMN ¹³C y clasificación de cada uno de los 15 átomos de carbono de 3 (CDCl₃, TMS; 125 MHz)



Con el objeto de seleccionar la estructura mas probable se estudiaron la correlaciones entre los diferentes protones mediante un espectro bidimensional de RMN^1H (COSY) (Espectro 10 y figura 1)

En el espectro de RMN^1H se identifican las señales de un metileno a δ 2.09 (α) (dt) y δ 0.91 (β) (dt) ambas señales muestran claramente la interacción entre sí (Espectro 10). En el espectro de HMQC (Espectro 8 y figura 2) ambas señales muestran correlación con la señal de metileno en RMN^{13}C δ 25.92 (Tabla 2).

U.F.A.M. Instituto de Química
 Rua: BCH s/n LTEL 13
 500-000

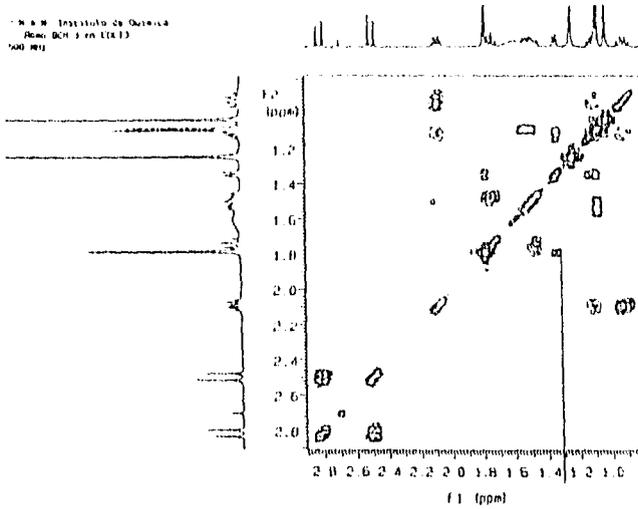


Figura 1

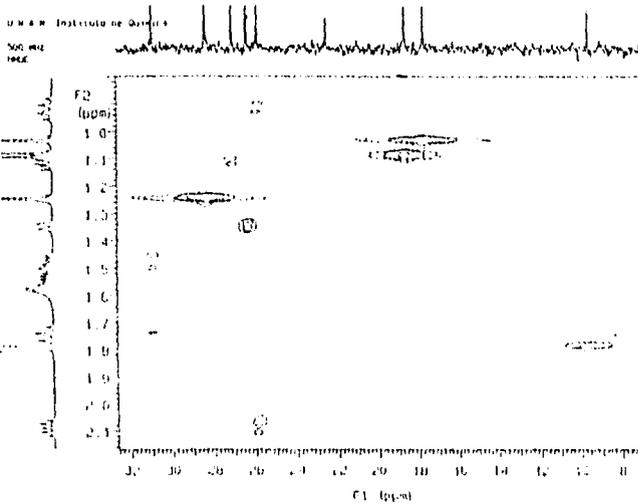
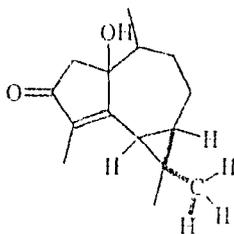


Figura 2

El hidrógeno de metileno H α (δ 2.09) presenta además interacción con la señal a δ 1.49 (m) correspondiente al protón β de otro metileno cuyo protón α se encuentra a δ 1.74 (m) mostrando en el espectro de HMQC (Espectro 8) correlación con una señal a δ 30.97 correspondiente al carbono de metileno. Como la interacción entre dos metilenos solo es posible con la estructura 3 y 3b se descarta la estructura 3b

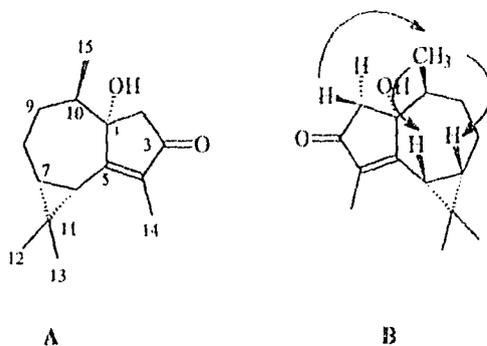
En el espectro COSY también se observó que la señal a δ 0.91 atribuida a hidrógeno de metileno, está acoplada con un metino a δ 1.17 y este a su vez con otro metino a δ 1.37, se observa también el acoplamiento de este protón con los hidrógenos del metilo vinflico a δ 1.7, de tal manera que este acoplamiento lo presentan las estructuras 3 y 3a. Para diferenciar las dos posibilidades hacemos uso de su espectro de correlación bidimensional a 2 y 3 enlaces (HMBC) (Espectro 11), en el que se observa que los protones del metilo gem δ 1.24, se encuentran a tres enlaces de los carbonos de los metinos δ 27.126 y δ 26.408, por lo que la única posibilidad es la estructura 3.



3

En los experimento de NOESY (Espectro 12) se observa que las señal en δ 2.49 d que corresponde a un hidrógeno de metileno C-2, presenta proximidad con la señal en δ 1.08 d que pertenece a los hidrógenos de metilo 15, así mismo esta señal presenta interacción con los protones del ciclopropano (H-6 y H-7), por su parte el proton gem del metileno (C-2) presenta mayor desplazamiento δ 2.81, debido a que el grupo hidroxilo se localiza en el mismo lado del plano.

Lo anteriormente descrito está de acuerdo con la estereoquímica y conformación de los enantiómeros de **3** (figura 3).



3

Figura 3

El compuesto se identifica como 1-hidroxiciclocolorona⁵⁸ por comparación de sus datos físicos y espectroscópicos con los reportados en la literatura, en la que proponen configuración relativa representada por la figura B.

Configuración absoluta

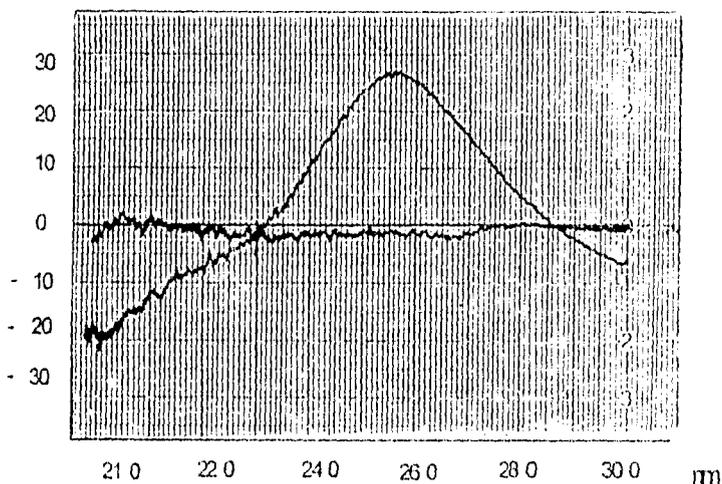
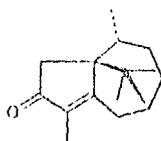


Figura 4 Espectro de DC de 3 en MeOH

Con el propósito de establecer la configuración absoluta de 3, se analizó su espectro de dicroísmo circular (CD) (Figura 4) el cual muestra efecto Cotton positivo ($\Delta\epsilon_{236} +27$).



Ciperotundona

Lo que de acuerdo con la regla del octante "inversa" que siguen todas las ciclopentenonas⁶⁰ (con excepción de la ciperotundona). Esta observación sugiere que el enantiómero correcto es el representado por la estructura 3-B, con configuración 1R, 6R,7S y 10S. Lo anterior está basado en el sistema C=C-C=O representado por los modelos de Dreiding de la molécula (Figura 5).



Figura 5

El resultado de la dispersión rotatoria anómala, puede ser mostrado por la regla de los octantes, la cual indica el signo de un determinado átomo en el punto $P(x,y,z)$.

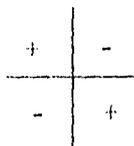
La regla de los octantes indica qué signo de la contribución de un determinado átomo en el punto $p(x,y,z)$ de acuerdo con la distribución rotatoria anómala varían con el producto simple x,y,z de sus coordenadas.

De acuerdo con la figura 6, la molécula α -hidroxicioclohexanona (3), se presenta con las coordenadas definidas para los planos $x-y, x-z$, y $y-z$. El grupo carbonilo está situado en el plano $x-y$ y está bisectado por el plano $y-z$. Con este sistema se puede localizar el átomo o los átomos sustituyentes en uno de los ocho octantes definidos por $\pm x, \pm y$ y $\pm z$.

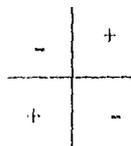
La regla del octante indica que el cuadrante superior derecho e inferior izquierdo tienen contribución al efecto Cotton negativo y el cuadrante superior izquierdo y inferior derecho contribuyen al efecto Cotton positivo (Figura 7)

Para el caso de la regla del octante "inversa" las contribuciones al efecto Cotton positivo está en los cuadrantes superior derecho e inferior izquierdo y las del efecto Cotton negativo el cuadrante superior izquierdo e inferior derecho (Figura 7)

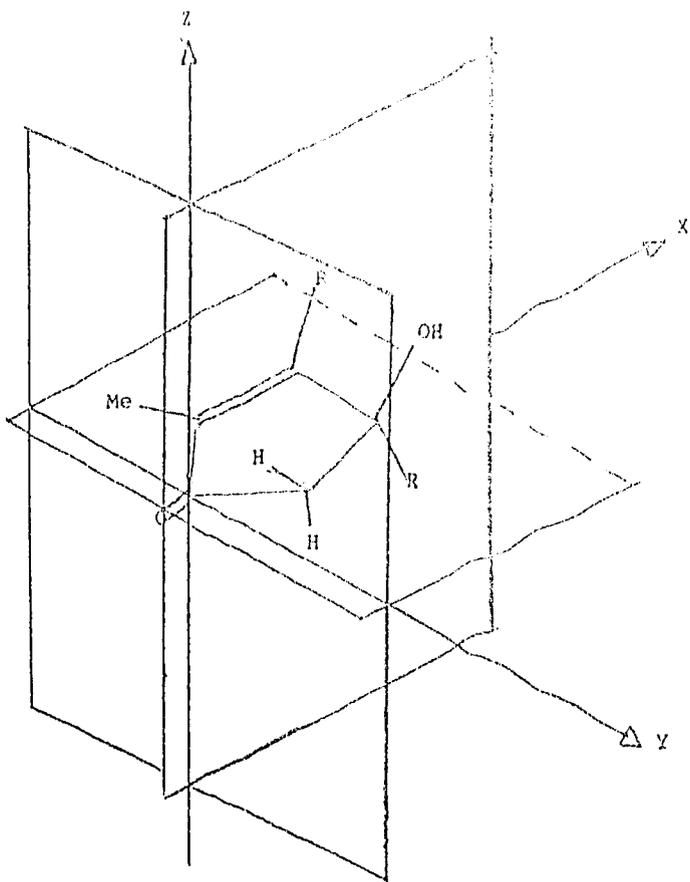
Figura 7 Contribución al efecto Cotton



Regla del octante



Regla del octante "inversa"



6

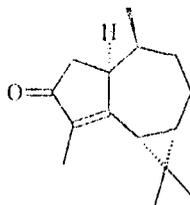
32

De las mismas fracciones 27-30, tomando las que presentan menor polaridad y después de sucesivas purificaciones por cromatografía, se aisló un compuesto de consistencia aceitosa que presenta un ión molecular de m/z -217 $(M-1)^+$ correspondiente a la fórmula molecular $C_{15}H_{25}O$, determinado por espectrometría de masas de alta resolución por FAB⁺ (Espectro 13).

En su espectro de infrarrojo (Espectro 14) muestra bandas en 1694.229 y 1622.29 cm^{-1} que corresponden a un carbonilo α,β -no saturado en un anillo de cinco miembros, comprobándose la presencia de este cromóforo en el espectro de ultravioleta por el máximo observado a 260 nm ($\epsilon=3287.36$), y por las señales observadas en el espectro de RMN¹³C (Espectro 15) en 208.21, 140.32, 176.34 ppm correspondientes a carbonos sp^2 , donde la primera señal pertenece al carbono del carbonilo y las dos siguientes a carbonos vinílicos pertenecientes a la insaturaciones α,β del carbonilo.

En el espectro de RMN¹H (Espectro 16) presenta gran similitud con el del α -hidroxiciclocoloronona (Espectro 6) en el que se observan cuatro señales en δ 1.73 d($J=1.8$ Hz), δ 1.02 s, δ 1.25 s y δ 0.8 d($J=7.0$ Hz) siendo la primera la del metilo vinílico, la segunda y tercer señal a hidrógenos de metilos gem y la última a los protones de metilo secundario.

La diferencia más notable con respecto a la sustancia 3, es la señal del metileno C-2 como un doble de doble en δ 2.5 dd($J=18.4,6.4$ Hz) y un multiplete en δ 2.07 integrando cada una de las señales para un protón, ambos acoplados con un multiplete a δ 2.07. Esta última señal debe corresponder a H-1 que se encuentra en lugar del OH de la estructura 3. De acuerdo con lo antes expuesto a la sustancia menos polar debe corresponder a la estructura 4.



4

Debido a la inestabilidad del compuesto en discusión se preparó su 2,4-dinitrofenilhidrazona, comprobándose la presencia del gp. imino en el espectro de infrarrojo (Espectro 17) por la banda observada en 3307.26 cm^{-1} . En su espectro de masas por impacto electrónico (Espectro 18) presentó un ión molecular de m/z 398 M^+ correspondiente a la fórmula molecular $C_{21}H_{26}N_4O_4$.

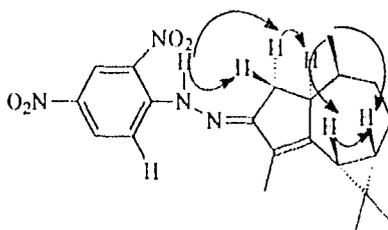
En el espectro de RMN^1H (Espectro 19) se observa una señal en δ 9.13 d($J=2.4$ Hz) que corresponde al H-3' del anillo aromático así mismo las señales en δ 8.28 como doble de doble d($J=9.5, 2.5$ Hz) pertenece al H-5' y en δ 7.98 como doblete d($J=9.6$ Hz) al H-6' además de las señales correspondientes a cuatro metilos: un vinílico, dos gem y un metilo secundario en δ 1.92 d($J=1.5$ Hz), δ 1.02 s, δ 1.25 s y δ 0.8 d($J=6.8$ Hz) respectivamente. Sus desplazamientos químicos en RMN^{13}C (Espectro 20) son localizados por medio de su espectro de correlación heteronuclear C-H a un enlace (HETCOR) (Espectro 21) encontrándose que las señales centradas en δ 9.47, δ 16.63, δ 29.23 y δ 17.67 corresponden a los carbonos de los metilos, donde la primera es del metilo vinílico la segunda y tercera de los metilos gem y la última del metilo doblete.

Asignadas las señales de los carbonos de los metilos se distinguen en el espectro de (APT) (Espectro 22) once señales en la fase positiva, cuatro de las cuales son cuartetos (metilos) y el resto dobletes, tres de estas pertenecen a los carbonos de metino del anillo aromático y las otras tres pertenecen a carbonos de metino con hibridación sp^3 , por su parte en la fase negativa del espectro se observan tres tripletes que corresponden a carbonos de metileno así que las señales localizadas en δ 45.45, δ 32.13 y δ 31.29 corresponden a carbonos de metinos con hibridación sp^3 y las observadas en δ 31.98, δ 31.51 y δ 21.21 son las de carbonos de metilenos.

Localizadas las señales en RMN^{13}C de los carbonos de metinos y metilenos (Tabla 4), se encuentra su desplazamiento químico en su espectro de RMN^1H (Tabla 3) al hacer uso de su espectro de correlación heteronuclear C-H a un enlace (HETCOR) (Espectro 21), encontrándose que el multiplete centrado en δ 1.66m pertenecen a hidrógenos de metileno (δ 21.21 RMN^{13}C), así mismo las señales localizadas en δ 1.65m y δ 1.45 m correlacionan con el carbono de metileno δ 31.98 RMN^{13}C .

El multiplete centrado en δ 3.11 pertenece a hidrógeno de metino cuya señal en RMN^{13}C aparece en δ 45.45, así mismo las señales localizadas en δ 2.82 dd($J=17.4, 6.9$ Hz) y δ 2.30 dd($J=17.4, 2.5$ Hz) corresponden a protones de metileno (δ 31.51 RMN^{13}C) y que junto con la señal anterior forma un sistema ABX el cual es comprobado al observarse en su espectro bidimensional H-H (COSY) (Espectro 23), la correlación entre el hidrógeno de metino δ 3.11m con los protones del

metileno antes mencionado así como con los hidrógenos del metilo vinílico comprobándose la constante de acoplamiento que presenta de 1.5 Hz por su posición alílica, así mismo se observa también en el espectro COSY la correlación entre los hidrógenos del metilo doblete en δ 0.82 d(J=6.8 Hz) con la señal en δ 2.05 qdd(J=8.5,4.2,2.3 Hz) que corresponde a su hidrógeno base.



5

Figura 7

En el espectro de correlación bidimensional H-H (NOESY) (Espectro 24) se observa que H-6, H-7 y H-15 interaccionan entre sí, por lo que se encuentran en el mismo lado de la molécula, por su parte se observa interacción entre H-10 y H-11 quedando en la cara posterior de la molécula, por otra parte la aproximación del hidrógeno de grupo imino con H-2 y la del protón aromático H-6' con los hidrógenos del metilo vinílico indica una conformación E de la imina (Fig 10).

El producto natural (4) se identifica como (+)-ciclocolorenona por comparación de sus datos físicos y espectroscópicos con los reportados en la literatura^{55,56,57}.

C		H	
1	93.030		
2	44.973		
3	206.245	2 α	2.81d(18.5)
4	144.518	2 β	2.49d(18.5)
5	168.864	6	1.35dd(9.2)
6	26.408	7	1.17 m
7	27.126	8 α	2.09dt(15.3)
8	25.92	8 β	0.91dt(15.12)
9	30.972	9 α	1.74m
10	45.79	9 β	1.49m
11	22.591	10	1.54m
12	17.783	12	1.03s
13	28.43	13	1.247s
14	9.65	14	1.78d(2)
15	18.712	15	1.08d(6.5)

TABLA 2

RMN¹³C de 3 (CDCl₃, TMS; 500MHz)

RMN¹H de 3 (CDCl₃, TMS; 125 MHz)

H	4	5
1	2.96m	3.11m
2	2.5dd(18.4,6.4)	2.82dd(17.4,6.9)
2	2.07dd(18.4,2.3)	2.30dd(17.4,2.5)
6	1.48d(8.5)	1.2m
7	1.3m	1.45m
8	2.0m	1.66m
8	1.0m	1.66m
9	1.7m	1.45m
9	1.5m	1.65m
10	1.6m	2.05qdd(8.5,4.2,2.3)
12	1.02s	1.24s
13	1.25s	1.24s
14	1.73d(1.8)	1.92d(1.5)
15	0.8d(7.0)	0.82(6.8)
3'		9.13(2.4)
5'		8.28(9.5,2.5)
6'		7.98(9.6)

Tabla 3. RMN¹H de 4 y 5 (CDCl₃, TMS; 200MHz)

C	4	5
1	29.49	45.45
2	40.16	31.35
3	208.21	161.21
4	140.32	136.74
5	176.34	161.81
6	31.67	31.29
7	32.29	27.66
8	21.11	21.21
9	32.47	31.98
10	42.47	32.13
11	25.93	25.07
12	28.52	16.63
13	16.49	29.23
14	8.19	9.47
15	17.41	17.67
1'		144.91
2'		128.5
3'		123.82
4'		137.08
5'		129.82
6'		116.31

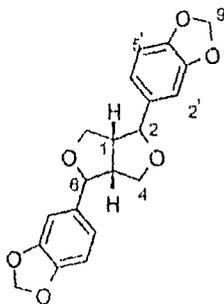
Tabla 4. RMN13C de 4 y 5 (CDCl3, TMS; 50 MHz)

Siguiendo con la descripción del extracto hexánico, de las fracciones 31-35 y después de sucesivas purificaciones las que presentan menor polaridad se aíslan 9.6 mg de un aceite puro el cual se identifica como (+)-ciclocoloronona (5), por comparación de sus datos espectroscópicos con los de una muestra auténtica.

Por su parte las fracciones que presentan mayor polaridad y después de sucesivas purificaciones por cromatografía, se aíslaron 29.5 mg de sólidos de p.f. 128-130 °C, que presenta un ión molecular de m/z : 354 M^+ correspondiente a la fórmula molecular $C_{20}H_{18}O_6$, determinado por espectrometría de masas por impacto electrónico.

En su espectro de infrarrojo se observa en 3005 cm^{-1} una pequeña banda propia de la vibración de estiramiento del enlace Csp^2-H correspondiente a insaturaciones de tipo aromático además de las bandas observadas entre 800 y 1250 cm^{-1} representativas de estiramiento del anillo aromático.

El compuesto se identifica como sesamina (6), por comparación de sus constantes físicas y datos espectroscópicos con los reportados en la literatura⁵⁰, así que en su espectro de RMN^1H (Espectro 25) las señales observadas en δ 6.85d($J=1.5$ Hz) que integra para dos hidrógenos (2H) y δ 6.79 m (4H) corresponden a los hidrógenos del anillo aromático H-2', H-5' y H-6', por su parte el singlete en δ 5.95s (4H) pertenece a los protones de metilo base de cetal H-9. Las señales en δ 3.04m (2H) y δ 4.71d($J=4.4$ hz) (2H) corresponden a los hidrógenos de metino en H-1 y H-2 respectivamente, por su parte los protones de metileno H-4 y H-4' se localizan en δ 3.86 dd($J=9.1, 6.8$ Hz) (2H) y δ 4.24 dd($J=9.1, 3.6$ Hz) (2H).



6

Fracciones **36-42** se purificaron por cromatografía, aislándose 6.5 mg de sólidos con p.f. 139-141 °C los cuales se identificaron como mezcla de β -sitosterol y estigmasterol por comparación de sus datos espectroscópicos con los de una muestra auténtica.

III.2.2 Extracto Metanólico.

De las fracciones eluidas con hexano 100 %, de las que presentan menor polaridad se aislaron 60.4 mg de un aceite puro y posteriormente 36.3 mg de sólidos con p.f. 150-155 °C y que se identificaron como (+)-ciclocalorenona (4) y α -hidroxieciclocalorenona (3) respectivamente los cuales ya se habían aislado en el extracto hexánico y discutido su estructura anteriormente, por lo que se identificaron al comparar sus datos espectroscópicos con los de una muestra auténtica.

Las fracciones de mayor polaridad se aislaron 19.4 mg de sólidos de p.f. 150-151 °C, identificándose como sesamina (6), por comparación de sus datos espectroscópicos con los de una muestra auténtica.

III.3 *Buddleja sessiliflora* (Corteza de raíz).

La planta fué recolectada en Ozumba Edo. de México en Agosto de 1993. De la corteza de la raíz seca y molida se obtuvieron dos extractos, hexánico y metanólico

III.3.1 Extracto Hexánico.

Las fracciones eluidas con Hex-AcOEt (85:15) y despues de sucesivas purificaciones por cromatografía, las que presentan menor polaridad se aislaron 6.1 mg de un aceite puro identificado como (+)-ciclocolorenona (4), por su parte las fracciones que presentan mayor polaridad se aislaron 9 mg de sólidos con p.f. 128-130 °C identificados como sesamina (6), ambos compuestos fueron obtenidos y discutidos anteriormente del extracto hexánico de *Buddleja cordata*, por lo que su identificación fué por comparación de sus datos espectroscópicos con los de muestras auténticas.

III.3.2 Extracto Metanólico.

Las fracciones eluidas con CHCl₃-MeOH (4:1), de las que presentan mayor polaridad, se aíslan 2.6122 g. de sólidos con p.f. 210-230 °C, el compuesto se identifica como O-metil catalpol (1), por su parte las fracciones que presentan mayor polaridad y despues de purificarlas por cromatografía se aislaron 588.1 mg de sólidos que presentan p.f. 175-180 °C, identificándose el compuesto como aucubina (2). Ambos compuestos se aislaron y discutieron sus estructuras del extracto metanólico de *Buddleja cordata* (Parte aerea), por lo que su identificación fué por comparación de sus datos espectroscópicos con los de muestras auténticas

IV PARTE EXPERIMENTAL

MATERIAL Y APARATOS UTILIZADOS

Puntos de fusión: Fueron determinados en un aparato Fisher-Johns y no están corregidos.

Columnas para Cromatografía: Se utilizó como fase estacionaria Gel de Sílice G seg. Stahl para cromatografía en capa fina (Merk) mallas 70-230 ASTM.

Cromatografía en capa fina (CCF): Se utilizaron cromatofolios Alugram Sil G/UV₂₅₄ (Macherey-Nagel Duren MN) y se utilizó como revelador una solución de sulfato cérico en ácido sulfúrico 0.2 N.

Espectros de UV: Se corrieron en un Espectrofotómetro UV-VIS Perkin-Elmer 552.

Rotaciones ópticas: Se determinaron en un polarímetro Digital Jas Co. DIP-360.

Espectro de Dicroísmo Circular (CD): Se realizaron en un Espectrofotómetro JASCO J-500A.

Espectros de IR: Se llevaron a cabo en Espectrofotómetros Perkin-Elmer 283B y Nicolet 55X.

Espectros de RMN¹H y RMN¹³C: Corridos en los Espectrofotómetros Varian Gemini y VXR.

Espectros de masas: Se realizaron en un Espectrómetro Hewlett Packard 598B GC/MS System y un Espectrómetro JEOL JMS-SX102A.

IV.1 ESTUDIO QUÍMICO DE *Buddleja cordata*. PARTE AEREA

IV.1.1 Material vegetal.

La planta se recolectó en **Septiembre de 1992** en el Valle de México. Un ejemplar de referencia se encuentra en el Herbario de la ENEP Iztacala UNAM (Voucher No 25060)

IV.1.2 Extracción.

La parte aérea de la planta seca y molida (608 g), se sometió a extracciones con metanol por tres días (este procedimiento se repitió tres veces). La solución se filtró y concentró al vacío dejando 53 g de extracto, al cual se le realizaron lavados con hexano y n-butanol quedando al final 44.12 g de extracto metanólico

IV.1.3 Purificación.

El extracto metanólico (44.12), se trató por cromatografía en columna, empacada con 900 g de gel de sílice para cromatografía en capa fina (c.c.f.). La elución se comenzó con cloroformo-metanol (9:1), y se fué aumentando la polaridad con metanol hasta el 100 % (se recibieron fracciones de 40 ml), esta se siguió por cromatografía en capa fina.

Las fracciones de menor polaridad se desecharon ya que contenían grasas y ceras

Las fracciones eluidas con cloroformo-metanol (3:2) presentaron sólidos y se trabajaron por separado. Los sólidos presentes se lavaron con AcOEt, se decantaron y cristalizaron de Me₂CO-MeOH, dando 851.1 mg, pf 237-238^o que presentaron un peso molecular de 376 que corresponde a la fórmula molecular C₁₆H₂₄O₁₀, determinado por EM de H₂.

IR ν max = 3360, 2820, 1655, 1470, 1360, 1310 cm⁻¹

El compuesto se identificó como O-metil catalpol (1), por comparación de sus datos físicos y espectroscópicos con los reportados en la literatura ^{14,29,49}.

Las fracciones eluidas con cloroformo-metanol (1:1) presentan sólidos de consistencia aceitosa que una vez lavados con AcOEt-CHCl₃, decantados y cristalizados de CHCl₃-MeOH, pesaron 537.7 mg. Su peso molecular de 340 determinado por EM de IE que corresponde a la fórmula molecular C₁₅H₂₂O₉.

pt 179-180 °C

IR v max=3280, 1650, 1475 cm⁻¹

El compuesto se identificó como aucubina (2), por comparación de sus datos físicos y espectroscópicos con los reportados en la literatura^{14,49}.

Las últimas fracciones eluidas con cloroformo-metanol (1:1) se reunieron con las eluidas de cloroformo-metanol (2:3), obteniéndose 4.49 g. de extracto el cual se trabajó por cromatografía en columna, usando gel de sílice para c.c.f., como fase estacionaria y CHCl₃-MeOH (3:1) como fase móvil, la cual se siguió por cromatografía en capa fina: (se recibieron fracciones de 25 ml) las fracciones más polares se aislaron 462 mg de producto sólido.

pt 189-190 °C

IR v max = 3380, 2900, 1145, 1025 cm⁻¹

El compuesto se identifica como sacarosa por comparación de sus datos físicos y espectroscópicos con los reportados en la literatura⁵¹.

IV.1.4 Derivados.

IV.1.4-1 Acetilación de O-metil catalpol.

A 55 mg del producto se le adicionaron 1ml de piridina y 1ml de anhídrido acético, dejando reaccionar a temperatura ambiente; la reacción se siguió por cromatografía en capa fina y se paró con agua. El producto de reacción se extrajo con AcOEt lavándolo con HCl al 20% hasta pH ácido. Posteriormente con solución saturada

de NaHCO_3 hasta pH neutro y finalmente con agua. Se secó con sulfato de sodio anhidro, se decantó y concentró obteniendo 52.7 mg de extracto.

El producto de acetilación (52.7 mg) se purificó por cromatografía en columna, usando como eluyente AcOEt-Hex (3:1), recibiendo fracciones de 10 ml. Se obtuvieron 52.7 mg de producto sólido puro.

pf 75-78 °C

IR v max= 2892.6, 1754.1, 1653.9, 1368.7 cm^{-1}

IV.1.4-2 Acetilación de aucubina.

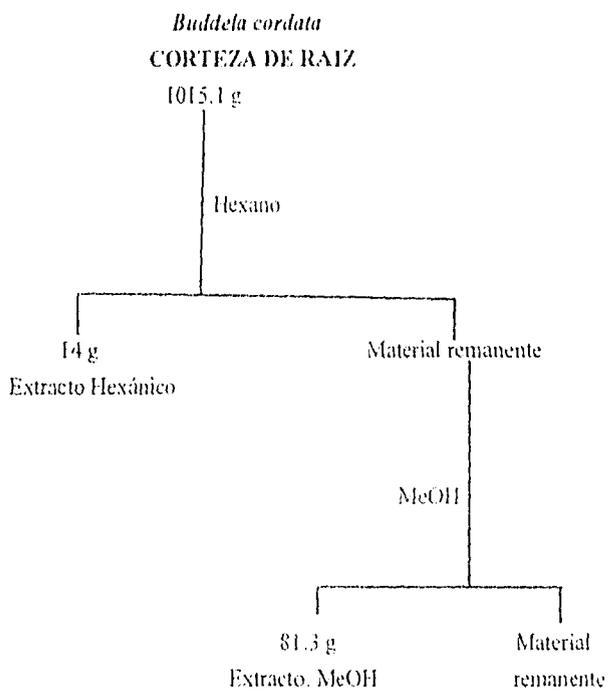
Se acetilaron 53 mg de producto sólido, con 1 ml de piridina y 1 ml de anhídrido acético, a temperatura ambiente. Se siguió el mismo procedimiento que en la acetilación anterior.

El producto de acetilación se purificó por cromatografía en columna, usando como eluyente AcOEt-Hex (1:1), el producto sólido se filtró, obteniendo 46.6 mg de acetato de aucubina.

pf 123-125 °C

IR v max= 2891.1, 1751.9, 1661.2, 1371.6 cm^{-1} .

ESQUEMA I



IV.2 ESTUDIO QUIMICO DE *Buddleja cordata* (CORTEZA DE RAIZ)

IV.2.1 Material vegetal.

La planta se recolectó en el mes de Marzo de 1993 en el Valle de México, en la Ciudad Universitaria de la UNAM. Un ejemplar de referencia se encuentra en el Herbario de la FNEP Iztacala, UNAM (Vaucher No. 25060).

IV.2.2 Extracción.

1015.0 g de corteza de raíz seca y molida se sometieron a extracciones con hexano, durante tres días (proceso que se repitió tres veces) el disolvente se filtró y se concentró al vacío obteniendo 14.0 g de extracto hexánico. Posteriormente se sometió a extracción con metanol durante tres días (proceso que se repitió tres veces), se filtró el disolvente y se concentró obteniendo 81.3 g de extracto metanólico.

A ambos extractos hexánico y metanólico se les realizaron pruebas contra bacterias Gram (+), resultando ser activo el extracto metanólico (Esquema I).

IV.2.3 Purificación de Extractos (Hexánico y Metanólico).

IV.2.3-1 Purificación del Extracto Hexánico (Esquema II).

Extracto hexánico (14 g), se purificó por cromatografía en columna, usando como fase estacionaria 310 g de gel de sílice para placa y como fase móvil hexano, aumentando la polaridad con acetato de etilo hasta el 100 %, la cual se siguió por cromatografía en capa fina (se recibieron fracciones en promedio de 25 ml).

Las fracciones se reunieron tomando en cuenta los constituyentes presentes en cada una quedando de la siguiente manera:

FRACCIONES	POLARIDAD
10-26	Hex-AcOEt 4:1
27-30	4:1
31-35	4:1
36-42	4:1

FRACCIONES 27-30.

El extracto (1.62 g) se purificó por cromatografía en columna usando como fase estacionaria 40 g. de gel de sílice para placa y como fase móvil Hex- AcOEt (4:1), se recibieron fracciones de 10-15 ml.

Las fracciones que presentan menor polaridad (740 mg), se purificaron por cromatografía en columna usando 22 g. de gel de sílice para placa y como eluyente Hex-AcOEt (8:2), (se recibieron fracciones de 5-10 ml.), obteniéndose 300 mg. de un aceite, que se purificó (se divide en dos partes) en placa preparativa (gel de sílice, 2 mm), utilizando como eluyente Hex-AcOEt (7:3), una vez eluida la placa, se observó en UV. Se seleccionó la franja que absorbió a 254 nm y la sílice se lavó con AcOEt, filtró y concentró.

El proceso de purificación por placa preparativa se repitió quedando finalmente 62.9 mg de aceite puro, el cual presenta un peso molecular de 218 g/mol ($C_{15}H_{22}O$) determinado por EM de IE, el compuesto se identificó como (+)-ciclocolorenona^{55,56,57} (3)

UV (MeOH) λ max: 260 nm ($\epsilon=5974$)

$[\alpha]_D^{25} = +14$ (MeOH).

IR ($CHCl_3$) ν max = 2920.57, 1694.229, 1622.29, 1455.97, 1383.55 cm^{-1} .

EIMS 70 eV m/z = 217[M-1]⁺(45.5), 216[M-2]⁺(100), 201[216-CH₃]⁺(10), 176[M-CH₂=CO]⁺(39.5), 175[M-C₃H₇]⁺(23).

RMN¹³C 75 MHz ($CDCl_3$) δ ppm = 29.485(C1), 40.160(C2), 208.20(C3), 176.34(C4), 140.32(C5), 31.674(C6), 32.295(C7), 21.105(C8), 32.467(C9), 42.460(C10), 25.928(C11), 28.517(C12), 16.480(C13), 8.197(C-14), 17.405(C15).

Las fracciones de mayor polaridad presentan productos sólidos, éstos se filtran obteniendo 113.9 mg, de esta cantidad se toman 40 mg, los cuales se purifican por placa preparativa (gel de sílice, 2mm) utilizando como eluyente Hex-AcOEt (7:3). Una vez eluida la placa preparativa el compuesto se identificó por UV la sílice se lavó con AcOEt, filtrándose y concentrando al vacuo, los sólidos presentes cristalizaron en Hex-AcOEt, obteniendo 30 mg de sólidos puros, que presentan un peso molecular de 234 ($C_{15}H_{22}O_2$) determinado por EM de alta resolución por FAB⁺. El compuesto se identifica como 1-hidroxiciclocolorenona⁵⁸ (4)

pf: 151-155 °C

UV(MeOH) λ_{max} : 245 nm ($\epsilon=3287$).

DC (MeOH) ($C = 1.5 \times 10^{-4}$ M) : $\Delta\epsilon_{255 \text{ nm}} = 27$.

$[\alpha]_D^{20} = +78.46$

IR (CHCl₃) ν_{max} : 3527.96, 2980.29, 1698.55, 1636.04, 1457.35, 1388.92 cm⁻¹

EAB-MAS (peg-nba) Observado m/z : 233.1529 , estimado m/z: 233.1542 [M-L.C₁₅H₂₁O₂]⁺(100), 219[M-CH₃]⁺(57).

RMN¹³C 125 MHz (CDCl₃) δ ppm: 93.030(C1), 44.973(C2), 206.245(C3), 144.518(C4), 168.864(C5), 26.408(C6), 27.126(C7), 25.920(C8), 30.972(C9), 45.79(C10), 22.591(C11), 17.783(C12), 28.43(C13), 9.65(C14), 18.712(C15).

FRACCIONES 31-35.

El extracto (1.9 g) se purifican por cromatografía en columna usando como eluyente Hex-AcOEt (8:2), se recibieron fracciones de 10-15 ml .

Las fracciones de menor polaridad (350 mg) se purifican por cromatografía en columna con 15 g de gel de sílice para placa como fase estacionaria y como eluyente Hex-AcOEt (8:2) (se recibieron fracciones de 10 ml), se reúnen las fracciones que presentan compuesto mayoritario quedando 200 mg de extracto el cual se purifica por placa preparativa, utilizando como eluyente Hex-AcOEt (7:3), una vez eluida la placa el compuesto se identificó por UV; la sílice se lava con AcOEt, se filtra y concentra quedando 30 mg, que se trabajan por cromatografía en columna, usando como eluyente Hex-AcOEt (7:3) (se recibieron fracciones de 1 ml), obteniéndose 9.6 mg de aceite puro el cual presenta los mismos datos espectroscópicos que la (+)-ciclocolorenona.

Las fracciones de mayor polaridad presentan sólidos que cristalizados en hexano dan 4 mg, pf: 128- 130 °C. Las aguas madres se reúnen con las fracciones adjuntas, obteniendo 610 mg de extracto que, se purifica por cromatografía en columna, usando como eluyente Hex-AcOEt (7:3) (se reciben fracciones de 5-10 ml), de las cuales se aislaron sólidos que cristalizan de hexano, estos presentan el mismo Rf y pf que los aislados anteriormente, dando 25.6 mg (total 29.6 mg). El compuesto presenta un peso molecular de 354 determinado por EM de IE.

IR (KBr) ν max= 2970, 2841, 1500, 1440, 1250, 1055. 925 cm^{-1}

RMN ^1H 200 MHz (CDCl_3) δ ppm =4.71(d, 2H J=4.4 Hz), 3.04(m, 2H), 3.86(dd, 2H J=9.1, 6,8 Hz), 4.24(dd, 2H J=9.1, 3.6 Hz), 5.95(s, 4H), 6.793(2H), 6.798(2H), 6.84(2H).

El compuesto se identifica como sesamina (5) por comparación de sus datos físicos y espectroscópicos con los reportados en la literatura ⁵⁰.

FRACCIONES 36-42.

Las fracciones que presentan mayor polaridad se reúnen obteniendo 110 mg de extracto que se purificó por placa preparativa (gel de sílice 2 mm), usando como eluyente Hex-AcOEt (7:3), una vez eluida la placa se observó un componente mayoritario por UV, el cuál se aísla lavando la sílice con AcOEt, se filtra y concentra, obteniendo 6.5 mg de sólidos que presentan pf. de 139-141 $^{\circ}\text{C}$, el compuesto se identifica como mezcla de β -sitosterol-estigmasterol (6).

IV.2.3-2 Purificación del extracto metanólico (Esquema III).

El extracto (81.3 g) se purifican por cromatografía en columna, usando como fase estacionaria 1 Kg. de gel de sílice para placa y como fase móvil clorofórmio y cloroformo-metanol (9:1).

Eluyente	Fracciones.
CHCl ₃	1-28.
CHCl ₃ -MeOH (9:1)	30-146.

El extracto de las fracciones 5-11 (5.47 g) se trabajan por cromatografía en columna usando 129.3 g de gel de sílice para placa y Hex-AcOEt (8:2), como eluyente (se reciben fracciones de 15-20 ml).

El extracto de las fracciones que presentan mayor polaridad (148.7 mg) se purificó por placa preparativa, usando como eluyente Hex-AcOEt (7:3), una vez eluida la placa, esta presentó un compuesto mayoritario observado por UV. La sílice se lavó con AcOEt y concentró obteniendo 11.2 mg de sólidos que presentan un pf de 128-130 °C. El compuesto se identificó como sesamina (5) por comparación de sus datos espectroscópicos con los de una muestra original.

Por otra parte el extracto de las fracciones que presentan menor polaridad (2.77 g) se purificaron por cromatografía en columna usando 45 g de gel de sílice para placa y Hex-AcOEt (95:5), como eluyente (se reciben fracciones de 10-15 ml). Se reunieron las que presentan similitud de constituyentes, separándose en fracciones (A) y (B).

Las fracciones que presentan mayor polaridad (B) se reúnen con las aguas madres de sesamina obteniéndose 101.3 mg de extracto el cual se purifica por placa preparativa usando como eluyente Hex-AcOEt (7:3), obteniendo 8.3 mg de sólidos, los cuales fueron identificados como sesamina por comparación de sus datos físicos y espectroscópicos .

Las fracciones que presentan menor polaridad (A) (1.28 g) se purifican por cromatografía en columna con 25.6 g de gel de sílice para placa y como eluyente hexano-acetona (97:3) (se reciben fracciones de 5-10 ml).

De las fracciones que presentan menor polaridad, se aíslan 166.4 mg de aceite impuro que se purifica por placa preparativa, usando como eluyente Hex-AcOEt (7:3), obteniéndose 60.3 mg de aceite puro, el cual se identifica como (+)-ciclocolorenona (3), por comparación de sus datos espectroscópicos con los de una muestra auténtica.

El resto de las fracciones se reúnen, generando 635 mg de residuo el cual se purifica por cromatografía en columna utilizando 20 mg de gel de sílice como fase estacionaria y Hex-AcOEt (85:15) como eluyente (se reciben fracciones de 5-10 ml). Las fracciones de menor polaridad se reúnen dando 41.6 mg de extracto el cual se purifica por cromatografía en columna usando 2 g de gel de sílice para placa como fase estacionaria y Hex-AcOEt (85:15), como fase móvil, aislándose 11.1 mg de un aceite que presenta los mismos datos espectroscópicos que (+)-ciclocoloronona (3). De las fracciones de mayor polaridad se aislaron 36.5 mg de producto sólido que se identificaron como 1-hidroxíciclocoloronona (4), por comparación de sus datos espectroscópicos con los de una muestra original.

IV.2.4 Derivados.

IV.2.4.1. 2,4- Dinitro fenilhidrazona de (+)-ciclocoloronona.

Preparación de hidrazina: a 405.3 mg de 2,4-DHF en 3 ml de agua le añaden 2 ml de ácido sulfúrico concentrado, se agita la solución suavemente hasta disolución, después se agrega 10 ml de etanol.

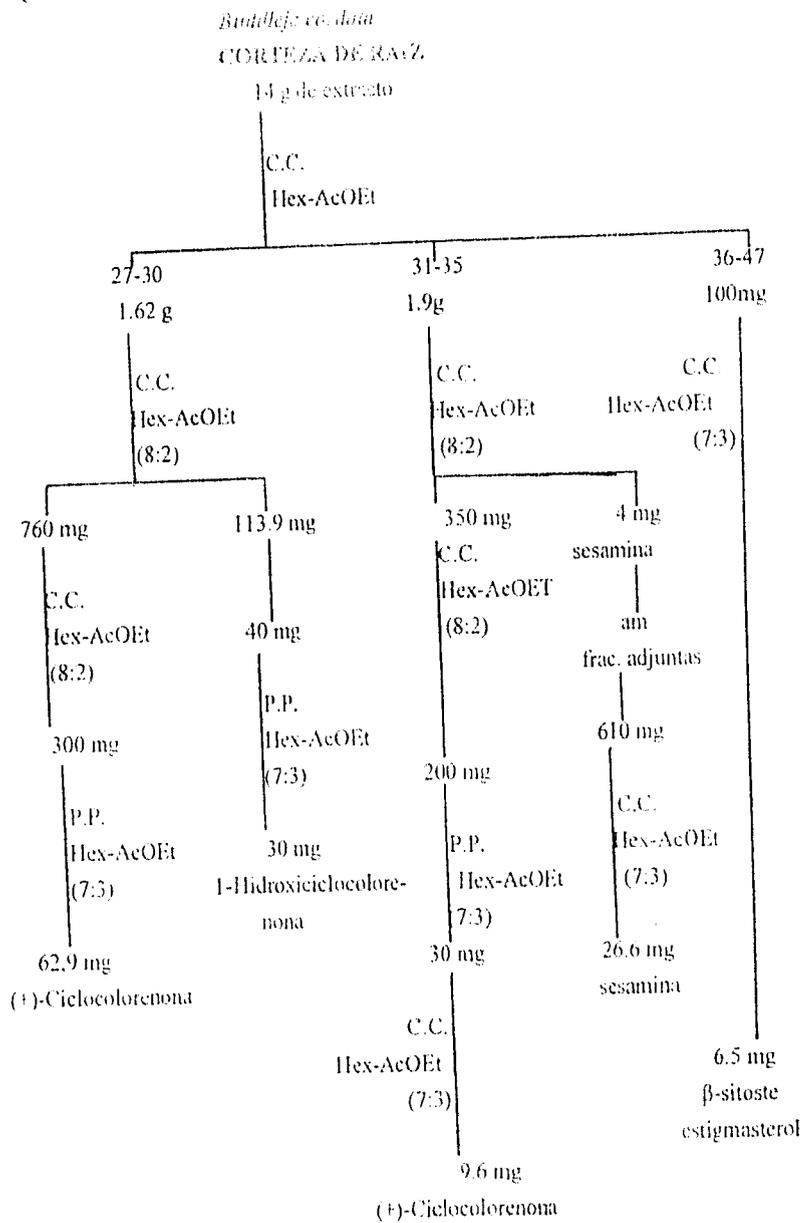
Preparación de la 2,4-Dinitrofenilhidrazona de (+)-Ciclocoloronona. Se toman 51.4 mg de (+)-ciclocoloronona (3) y se disuelven en 0.4 ml de etanol. Posteriormente se le agrega la solución preparada recientemente (3 ml) de 2,4-DHF y se deja reaccionar a temperatura ambiente por 12 hrs. Posteriormente el producto sólido formado se filtra (50 mg) y se purifica por cromatografía en columna usando como eluyente Hex-AcOEt (97:3) (se reciben fracciones de 5ml), de la cual se aislan 18 mg de producto sólido, que presentan un peso molecular de 424 determinado por EM de alta resolución por FAB⁺.
 $m/z = 224/226$ $^{\circ}C$

IR $\nu_{max} = 3307, 1594, 1516, 1334 \text{ cm}^{-1}$

EIMS 70eV m/z 398[M⁺] (90), 383[M-15]⁺ (5.0).

RMN13C 75 MHz (CDCl₃) δ ppm = 45.45(C1), 31.51(C2), 161.21(C3), 136.74(C4), 169.27(C5), 31.29(C6), 27.66(C7), 21.21(C8), 31.38(C9), 31.13(C10), 25.07(C11), 16.63(C12), 29.23(C13), 9.47(C14), 17.69(C15), 144.91(C1'), 128.5(C2'), 123.82(C3'), 137.08(C4'), 29.82(C5'), 116.31(C6')

ESQUEMA F

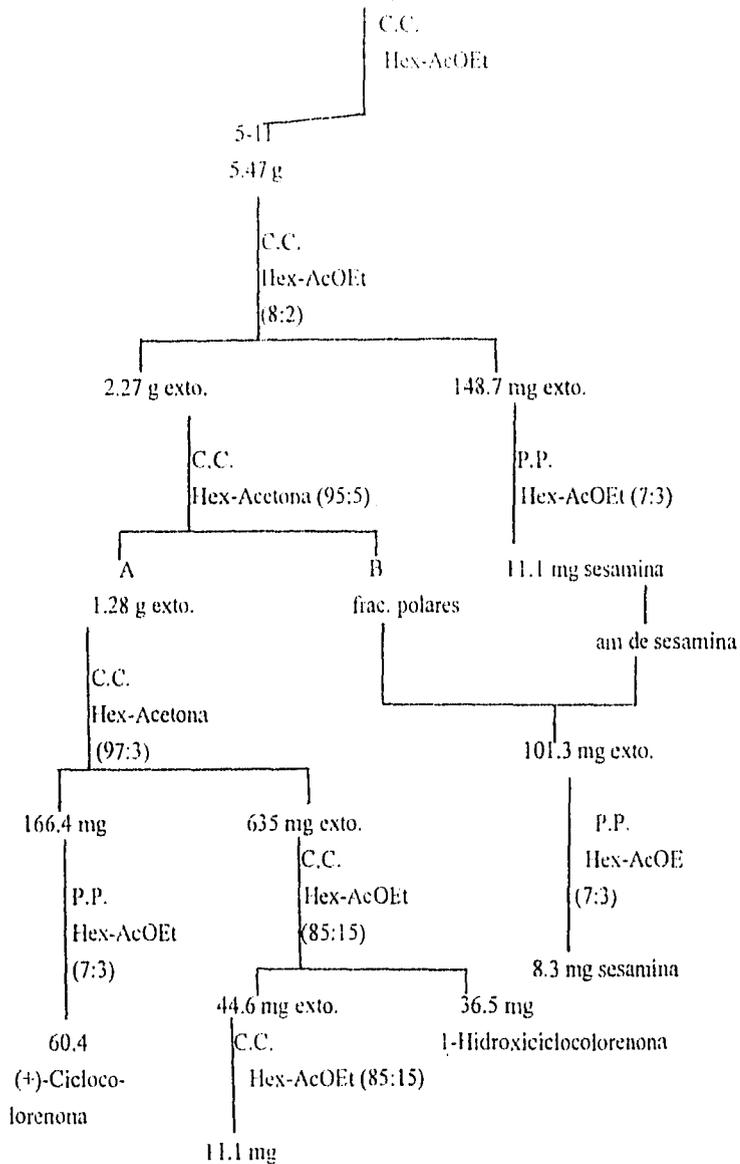


ESQUEMA III

Buddleja cordata

CORTEZA DE RAIZ

81.3 g extracto metanólico



IV.3 ESTUDIO QUIMICO DE *Buddleja sessiliflora*. CORTEZA DE RAIZ.

IV.3.1 Material vegetal.

La planta se recolectó en agosto de 1993 en Ozumba, Estado de México. Un ejemplar de referencia se encuentra en el Herbario de la ENEP Izacala UNAM (Voucher 25064).

IV.3.2. Extracción.

Un lote de 252.55 g de corteza de raíz seca y molida se sometió a extracciones con hexano por tres días (el proceso que se repitió tres veces), se filtró la solución y se concentró obteniéndose 2.01 g de extracto hexánico, el material no disuelto se extrajo con metanol obteniendo 31.7 g de extracta.

IV.3.3. Purificación. (Esquema IV).

IV.3.3-1. Purificación del extracto hexánico.

El extracto (2.01 g) se purificó por cromatografía en columna, usando como fase estacionaria 50 g de gel de sílice para placa y como fase móvil hexano aumentando la polaridad con AcOEt hasta el 100 %, la cual se siguió por cromatografía en placa fina.

Polaridad	Eluyente	Fraciones
100 %	Hex	1
9:1	Hex-AcOEt	2-19
85:15	Hex-AcOEt	20-30
7:3	Hex-AcOEt	31-34
100 %	AcOEt	35-39

Las fracciones se reunieron de acuerdo con la similitud de los constituyentes presentes en cada una de ellas, quedando de la siguiente manera.

21-25

26-29

31-39

FRACCIONES 21-25.

El extracto (25 mg) se purifican por cromatografía en columna, usando como eluyente Hex-AcOEt (4:1) (se reciben fracciones de 1 ml), de las fracciones menos polares se aisló 6.1 mg de aceite que se identifica como (+)-ciclocolorenona (3), por comparación de sus datos espectroscópicos con los de una muestra original.

De las fracciones mas polares se aislaron 2.1 mg de producto sólido, que se identificó como sesamina (5), por comparación de sus datos físicos y espectroscópicos con los de una muestra auténtica.

FRACCIONES 26-29.

Estas fracciones presentan sólidos amorfos (150 mg), que se purifican por placa preparativa usando como eluyente Hex-AcOEt (7:3), una vez eluida la placa se identifica un compuesto mayoritario por UV, se aísla lavando la sílice con AcOEt se filtra y concentra obteniendo 9 mg de producto sólido que presentan el mismo p_f y R_f que los aislados anteriormente, se identifican como sesamina.

IV.3.3-2 Purificación del extracto metanólico.

El extracto se purifica (31.7 g) por cromatografía en columna, usando como fase estacionaria 700g de gel de sílice para placa y como fase móvil cloroformo, aumentando la polaridad con MeOH hasta el 100 % (se recibieron fracciones de 50 ml).

Polaridad	Eluyente	Fracciones
4:1	CHCl ₃ -MeOH	31-49
7:3	CHCl ₃ -MeOH	50-63
1:1	CHCl ₃ -MeOH	64-75
3:7	CHCl ₃ -MeOH	76-79
100 %	MeOH	80-83

FRACCIONES 34-39.

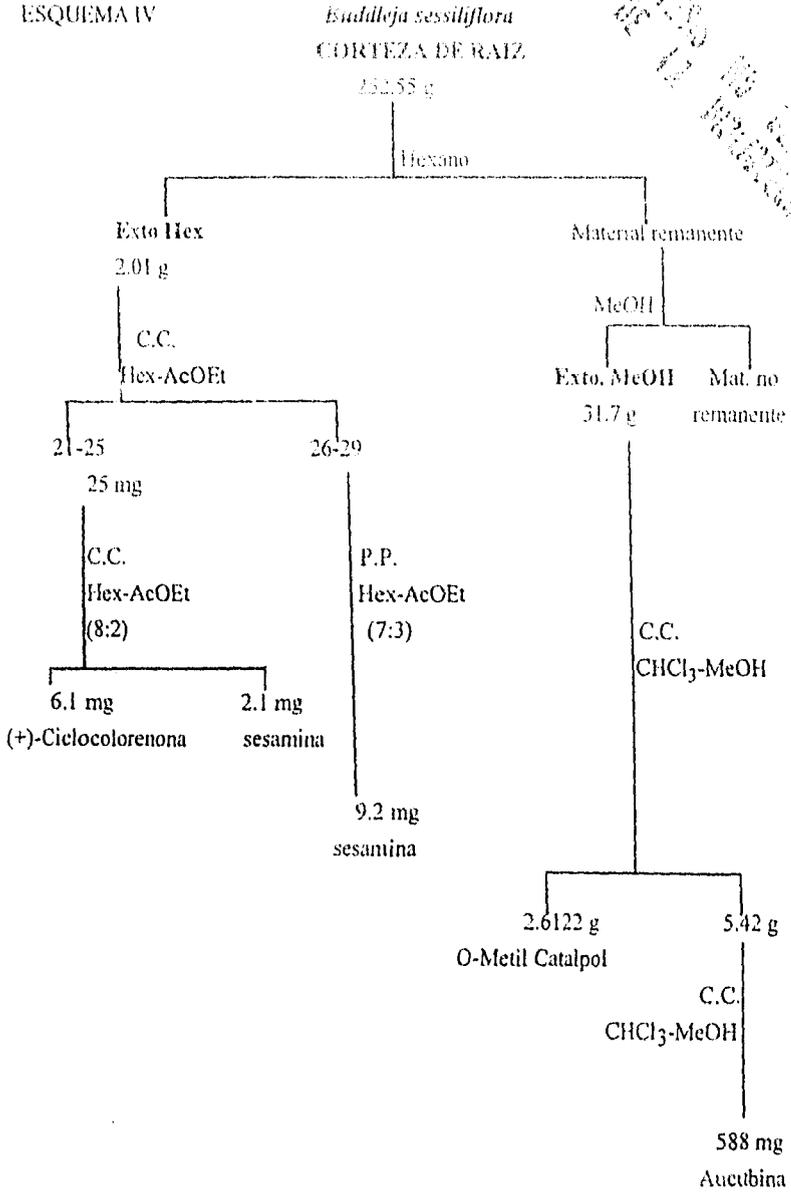
Todas las fracciones presentan producto sólido, se lavaron con AcOH, se decantaron y cristalizaron de acetona-metanol. En total se obtuvieron 2.6122 g de producto sólido, que presentaron un pf de 210-230 °C.

El compuesto se identifica como como O-Metil catalpol (1), por comparación de sus propiedades físicas y espectroscópicas con una muestra auténtica.

FRACCIONES 40-50.

5.42 g de El extracto (5.42 g) se purificaron por cromatografía en columna, usando fase estacionaria 125 g de gel de sílice y como fase móvil cloroformo-metanol (75:25) (se recibieron fracciones de 30-50 ml), de las cuales se aislaron 588.1 mg de producto sólido que cristalizaron de acetona-metanol, con pf de 175-180 °C. El compuesto se identificó como aucubina (2) por comparación de sus datos físicos y espectroscópicos con los de una muestra auténtica..

ESQUEMA IV



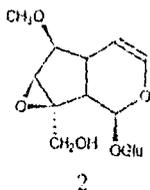
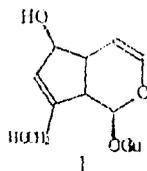
V CONCLUSIONES

El género *Buddleja* comprende cerca de 100 especies, el cual fué originalmente clasificado dentro de la familia *Loganiaceae*, actualmente esta ordenado dentro de una familia independiente *Buddlejaceae*. La ausencia de alcaloides indólicos en el género *Buddleja* que son comunes en *Loganiaceae* da un apoyo a la clasificación *Buddlejaceae* como una familia independiente.

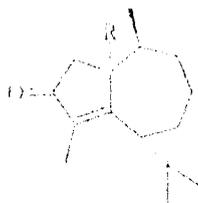
Las especies del género *Buddleja* son arbustos o árboles originarios de zonas templadas y tropicales de América, Asia y África, sus extractos acuosos son usados como antiinflamatorios, diuréticos, antisépticos etc. En México se cuenta con 20 especies distribuidas en zonas pantropicales, 5 de las cuales habitan en el Valle de México, en particular *B. cordata* y *B. sessiliflora* son usadas en la medicina tradicional como diurético, antiséptico y para cicatrizar heridas.

No existen antecedentes de estudios químicos de especies del género *Buddleja* en México, por lo que el presente trabajo es el primero en contribuir al conocimiento de la especie en el territorio nacional.

Del extracto metanólico de las raíces de *B. cordata* y *B. sessiliflora* se aislaron los iridoides aucubina (1) y O-metilcatapol (2), los cuales son comunes dentro del género *Buddleja*, de ambos productos se obtuvo el derivado acetilado, identificándose los compuestos por comparación de sus datos espectroscópicos con los reportados en la literatura. Por otra parte se reporta que el producto de hidrólisis de la aucubina (aucubato) es el que le da la propiedad antiséptica⁷ a la especie.



De los extractos hexánicos de *B. cordata* y *B. sessiliflora* se aisló el sesquiterpeno (+)-ciclocolorenona (4) compuesto que presenta actividad⁵⁹ antimicrobiana y alelopática, por su parte del extracto hexánico de *B. cordata* se aisló α -hidroxyciclocolorenona (3) determinándose su configuración absoluta por dicroísmo circular. Los sesquiterpenos mencionados no se habían reportado dentro del género *Buddleja*.



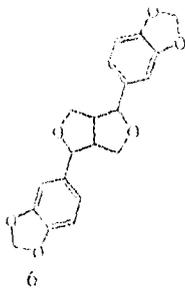
R

H (+)-ciclocolorenona

OH α -hidroxyciclocolorenona.

Los compuestos mencionados se determinaron por sus características espectroscópicas como RMN¹H, RMN¹³C, DEPT, COLOC, HMBC, HMQC, NOESY así como a el derivado 2,4-dinitrofenilhidrazona de la (+)-ciclocolorenona.

De los mismos extractos hexánicos de *B. cordata* y *B. sessiliflora* se aisló el lignano sesamina, sustancia que sirve como sinérgico en los insecticidas del piretro (6), determinando su estructura por comparación de sus datos espectroscópicos con los reportados en la literatura. Finalmente se obtuvieron de estos mismos extractos los esteroides sitosterol-estigmasterol identificándose por comparación de sus espectros con los de una muestra auténtica.



VI BIBLIOGRAFIA

- 1.-Wilson, E. O., La Biodiversidad amenazada. Investigación y Ciencia. 158, 66-71 (1989).
- 2.-Zappalino, G., The col (p-coumaroyl) - esterified and acylated aspects of coumarins. *Volanica* (S.M.C, Suppl. 1) 38, 1-11 (1993).
- 3.-Kamranzadeh, T. *et al.*, Ecological Diversity of Medicinal Origins and Distribution. In: Oxford University Press (1993).
- 4.-Rzedowski, J., *Vegetación de México*, Ed. Limusa (1975).
- 5.-Martínez, M., *Las plantas Medicinales de México*, Ed. Botas (1959).
- 6.-Leeuwenberg, A. J., M. and Leenhouts, P. W., Taxonomy In: *Die Naturlichen Pflanzenfamilien* 2da. edn, 283 (1980).
- 7.-Rzedowski, J., *Flora fanerogámica del Valle de México*, Ed. Jerzy Rzedowski y Graciela C. de Rzedowski, Instituto de Ecología, Centro Regional del Bajío, Patzcuaro, Mich., pag. 212-215 (1985).
- 8.-Hutchinson, J., *The Families of Flowering Plants* 3rd. Ed. Oxford University, pag. 463 (1973).
- 9.-Dahlgren, R., *General Concepts in Botany*, Botanical Classification, *Rev. Latinoamer Quim. Suppl. 1* 10-36 (1989).
- 10.-Index Kewensis. Davis, R. A. et al. *At the Herbarium of the Royal Botanic Gardens Kew.*, Clarendon Press, Oxford (1991).
- 11.-Norman, E. M., *Cop. bot.*, 13 (Fl. Ecuador 16(176): 17 (1988)).
- 12.-Perez de Barradas, J., *Plantas Mágicas Americanas*, Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Instituto "Bernardo de Sahagún" Madrid pag. 147 y 158 (1957).
- 13.-Trim, A.R. and Hill, R. J., The preparation and properties of aucubin, asperuloside and some related glycosides. *Biochemical* 59, 310 (1952).
- 14.-Duff, R.B., Bacon, J. S. D., Maudie, C. M., Farmer, V. C., Russell, J. D. and Forrester, A. R., *Calpocal and Meucalpal: Naturally Occurring Glycosides in Plantago and Buchelia Species*, *Biochemical* 92, 1 (1965).

- 15.-Harbone, J. B. and Williams, C. A., 6-Hydroxyluteolin and scutellarein as phyletic markers in higher plants. *Phytochemistry* 10, 367 (1971).
- 16.-Martín, G., Giráenes, B., Cortez, M., Nuñez, J. and Najardo, J., Estudio Fitoquímico de *Buddleja globosa* Lam. (*Buddlejaceae*). *Rev. Latinoam. Quím.* 10, 19-21 (1979).
- 17.-Lopez, J., Sierra, J., Vegazo, M. E. and Cortez, M., Chemical Constituents of *Buddleja globosa* Lam. *Fitoterapia* 50, 195-198 (1979).
- 18.-Houghton, P. J., Phenolic fatty acid esters from *Buddleja globosa* stem bark. *Phytochemistry* 28, 2693 (1989).
- 19.-Pardo, F., Perich, F., Villarroel, L. and Torres, R., Isolation of verbascoside, an antimicrobial constituents of *Buddleja globosa* leaves. *Journal Ethnophar.* 32, 221 (1993).
- 20.-Kubo, I. and Yokokawa, Y., Two tyrosinase inhibiting flavonol glycosides from *Buddleja coriacea*. *Phytochemistry* 31, 1075 (1992).
- 21.-Burlage, H. M. Index of Plants of Texas With Reputed Medicinal and Poisonous Properties. Burlage Texas (1968).
- 22.-Ferreira da Fonseca, E. Plantas Medicinales Brasileñas, Rio de Janeiro Brazil (1940).
- 23.-Siri von Reis and Frank, J. L. Jr. New Plants Sources for Drugs and Foods from the New York, Botanical Garden Herbarium (1982).
- 24.- Houghton P. J., Ethnopharmacology of some *Buddleja* species. *Journal Ethnopharm.* 11, 293 (1984).
- 25.-Herbario Medicinal del Instituto Mexicano del Seguro Social. Centro Médico Nacional Siglo XXI, Cuahutemoc # 330, Col. Doctores. México, D.F.
- 26.-Linares, E. M., Selección de Plantas Medicinales de México, ed. Limusa (1988).
- 27.-Norman, E. M. The genus *Buddleja* in Nort America. *Gentes Herbarum* 10, 1-116 (1967).
- 28.-Houghton, P. J., Aljancic, I. and Stefanovic, Iridoides from *Buddleja americana*. *CA* 230179z, 118, 599 (1993).
- 29.-Wilson, B. H. R. and Ollis, W. D., The Structures of Buddleoflavonoside (Linarin) and of Buddleoflavonol (Acaectin). *J. Chem. Soc.* 691 (1951).

- 30.-Paris, R. and Chaslot, M., Characterisation et détermination de Pancuboside dans les dicotylédons. *Ann. Pharm. Franc.* **13**, 648 (1955).
- 31.-Yoshida, T., Nobuhara, J., Uchida, M. and Okuda, O., Buddlein A, B and pisinicjal sesquiterpenes from *Buddleja Davidii* Franch. *Tetrahedron Lett.* 3717 (1976).
Yoshida, T., Nabuhara, J. and Uchida, M. *Chem. Pharm Bull.* **26**, 2535 (1978).
- 32.-Houghton P. J., Dragendorff positive lignans from *Buddleja davidii*. *J. Pharm. Pharmacol.* **13** (1982).
- 33.-Houghton P. J., Lignans and neolignans from *Buddleja davidii*. *Phytochemistry* **24**, 819 (1985).
- 34.-Houghton P. J., Phenylpropanoid glycosides in *Buddleja davidii*. *J. of Nat. Prod.* **48**, 1005 (1985).
- 35.-Roeder, E., Wiedentel, H. and Hoening, A., Isolation of a new tricyclic piperidine alkaloid from *Buddleja davidii*. *Planta Med.* (29) 164 (1985).
- 36.-Mansoor, A., Maktoob, A and Gray, M. E., Biridoside, a new iridoid from *Buddleja davidii*. *CA* **117**, 481 (1992).
- 37.-Yamamoto, A., Nitta, S., Miyase, T., Ueno, A. and Wu Li-Jun., Phenylethanoid and lignan iridoid complex glycosides from roots of *Buddleja davidii*. *Phytochemistry* **32**, 421 (1993).
- 38.-Houghton P. J. and Hikino, H., Anti-Hepatotoxic activity of Extracts and Constituents of *Buddleja* Species. *Planta Med.* **44**, 123 (1989).
- 39.-Susplugas, P., Susplugas, C. and Rossi, J. C., Contribution to the study of *Buddleia* from Languedoc-Roussillon. Identification of buddleina, a sesquiterpene from *Buddleia japonica* Hemsl. *Plant. Med. Phytother.* **12**, 148 (1979).
- 40.-Yamamoto, A., Miyase, T., Ueno, A. and Maeda, T., Buddlejasaponins 1-IV, four new oleanane-triterpene saponin from the aerial parts of *Buddleja japonica* Hemsl. *Chem. Pharm. Bull.* **39**, 2764 (1991).
- 41.-Miyase, T., Akahori, C., Kohsaka, H. and Ueno A., Acylated Iridoid Glycosides from *Buddleja japonica* Hemsl. *Chem. Pharm. Bull.* **39**, 2944 (1991).
- 42.-James, A. D. and Edward, S. A. *Medicinal Plants of China*, Vol. 2 Reference Publications, Inc pag 410 (1985).

- 42b.- Ding, N., Yahara, S. and Nohara, I. Structure of Mimengosides A and B, New Triterpenoid Glycosides from *Buddlejae* Flos Produced in China. Chem. Pharm. Bull. **40**, 780 (1992).
- 43.-Xu, L. and Liu, A., Coulometric titration for the determination of buddleoside in *Buddleia officinalis* Maxim. CA **107**, 369 (1987).
- 44.-Bathe-Smith, E. C. The phenolic constituents of plants and their taxonomic significance. J. Linn. Soc. (Botany) **58**, 95 (1962).
- 45.-Sharma, R. C., Zaman, A. and Kidwai, A. R. Chemical examination of *Buddleja asiatica* Lour. J. Ind. Chem. **1**, 366 (1963).
- 46.-Kapoor, V. K., Chawla, A. S., Gupta, Y. C., Passananti, S. and Paternostro, M. P., Constituents of *Buddleia* species leaves. Fitoterapia **52**, 235 (1981).
- 47.-Mukherjee, K. S., Chakraborty, T.P., Chatterjee, T. P. and Bhattacharjee, P., Chemical Examination of *Buddleia neemda*. J. Ind. Chem. Soc. **65**, 881 (1988).
- 48.-Mukherjee, K. S., Chakraborty, T. P., Bhattacharya, D. and Chatterjee, T. P. J., Chemical Examination of *Linnophila rugosa* (Roth) Merril. and *Buddleia neemda* B. Ham. Ind. Chem. Soc. **67**, 89 (1990).
- 49.-El-Naggar, I. J. and Beal, J. L., Iridoids. A review. Nat. Prod. **43**, 657 (1980).
- 50.-Freudenberg, K. und Sinch, S. G., Die Absolute Konfiguration der Gruppe des Sesamins und Pinoresinols. Ber. **94**, 851 (1961).
- 51.-The Sadtler Spectra N.M.R. Vol. 10, esp. # 6242. I.R. Vol. 1 esp. # 563k
- 52.-Dominguez, X. A., Phytochemistry Methods Frontiers. Ed. Xorge A. Dominguez S. Departamento de Química, ITESM. Sucursal de Corcos "J". 64849 Monterren, N. L. México. Nicoletti, M. Rev. Latinoamer. Quím. **Suppl. 1**, 131 (1989).
- 53.-Conn, Erik E., Recent advances in phytochemistry. Vol. 20 The Shikimic Acid Pathway. Plenum Press N.Y. and London.
- 54.-Goodwin, T. W. Aspects of terpenoid chemistry and biochemistry. Academic Press (1970).
- 55.-Mikhailova, O., Konovalova, P., Zakharov, P. and Rybaleko, K. Chem Nat. Compd. **14**, 173 (1978).

56.-Asakawa, Y., Toyota, M., Uemoto, M. and Aratani, T., Sesquiterpenes of six *Porella* species (*Hepaticae*). *Phytochemistry* **15**,1929(1976).

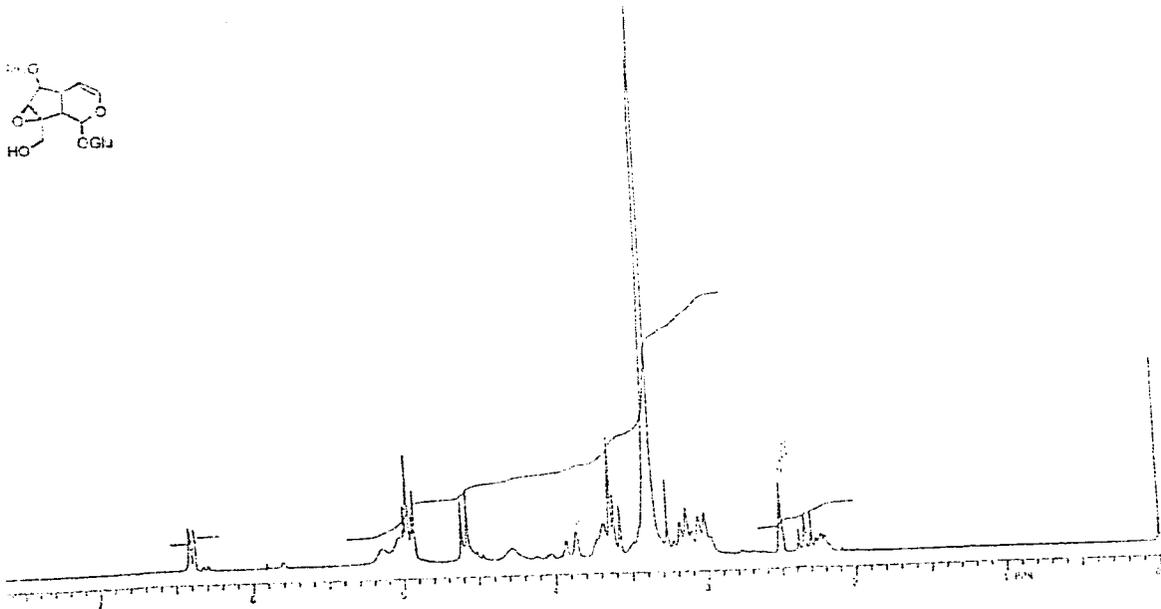
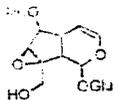
57.-Asakawa, Y. and Aratani, T., Sesquiterpenes of *Porella vernicosa* (*Hepaticae*). *Bull. Soc. Chim. France* 1469(1976).

58.-Asakawa, Y., Toyota, M. and Takemoto, T., Sesquiterpenes from *Porella* species. *Phytochemistry* **17**,457(1978).

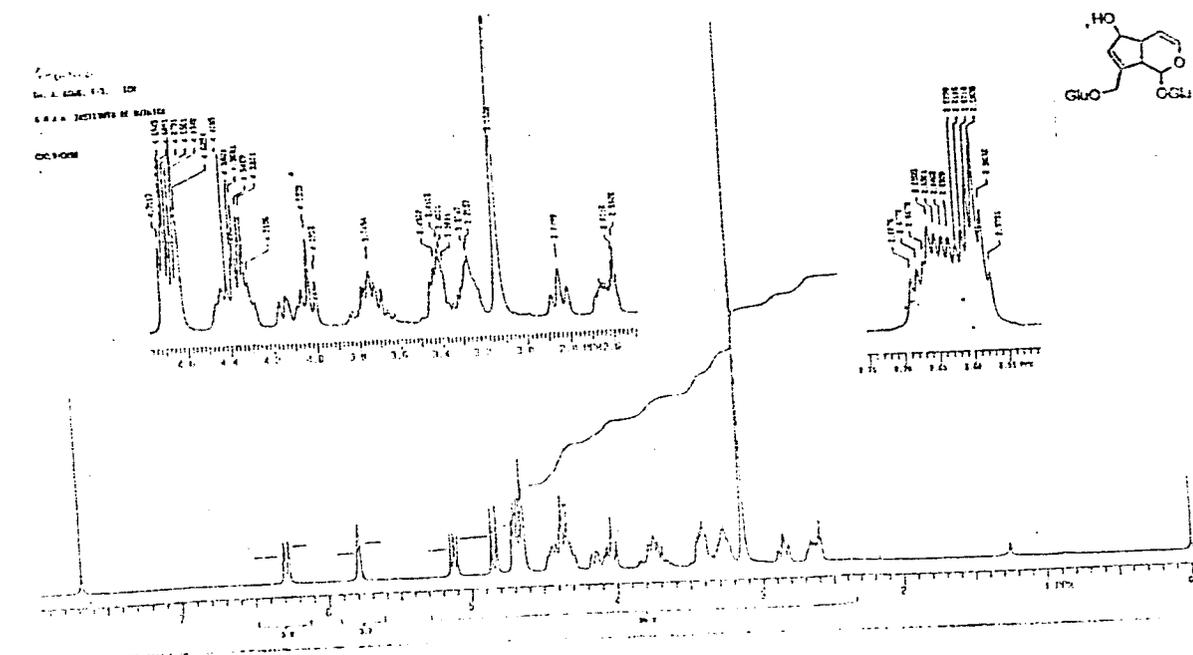
59.-Jacyno, J. M., Montemuro, N., Bates, A. D. and Cutler, H.G. J., Phytotoxic and Antimicrobial Properties of Cyclocolorone from *Magnolia grandiflora* L. *Agric. Food Chem.* **39**, 1116 (1991).

60.-Srnatzke, G. *Optical Rotatory Dispersion and Circular Dichroism in Organic Chemistry*. Heyden and Son LTD. (1967).

VII ESPECTROS



1 Espectro de RMN^1H de O-metilcatalpol



2 Espectro de RMN^1H de Aucubina

[Mass Spectrum]

Date : 0000

Date : 12-Aug-94 15:52

Sample: USM1

File: progmba

Inlet: Direct

Ion Mode: FIB+

Spectrum Type: Regular [FF-Linear]

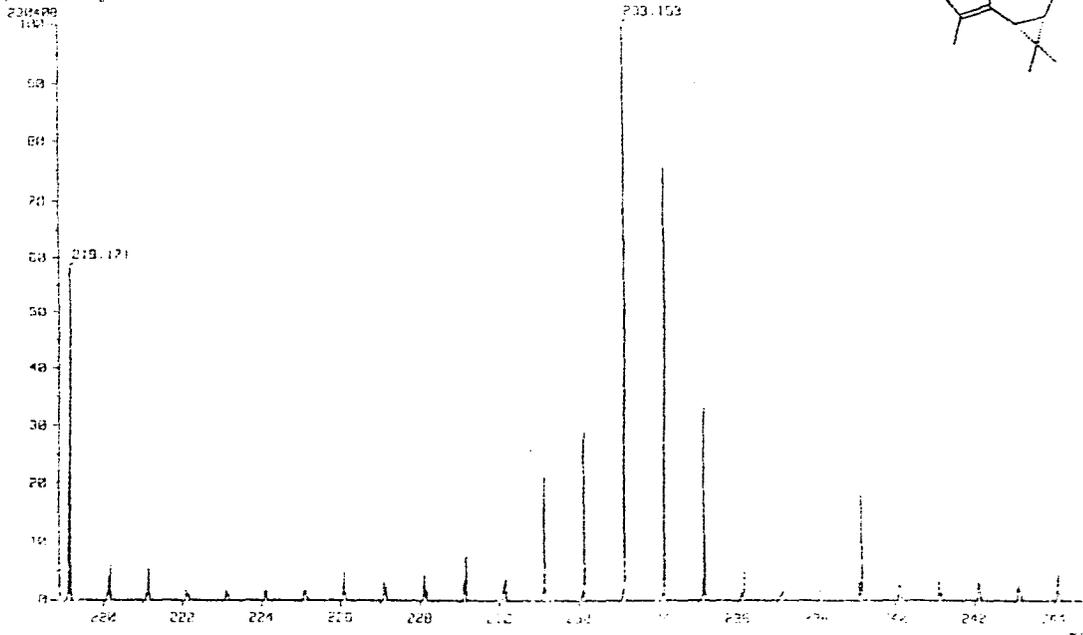
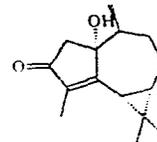
Temp: 82.6 deg.C

RT: 1.22 min Scan#: 15.61

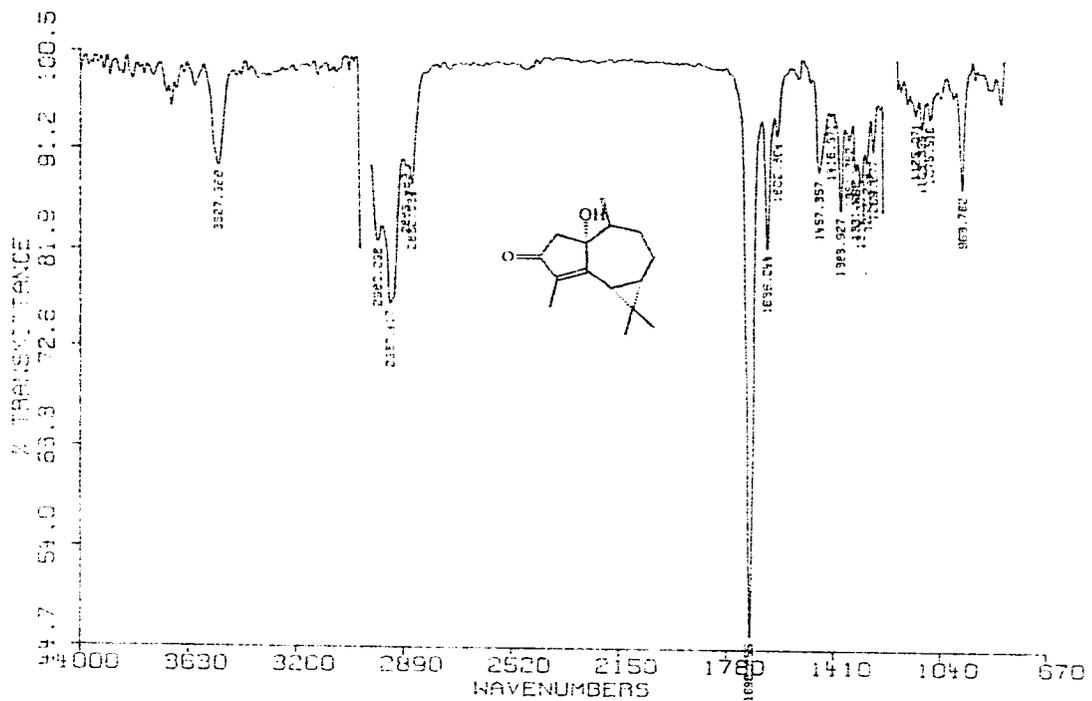
BP: m/z 233.1529 Int.: 18.99

Output m/z range: 219.0000 to 245.0000

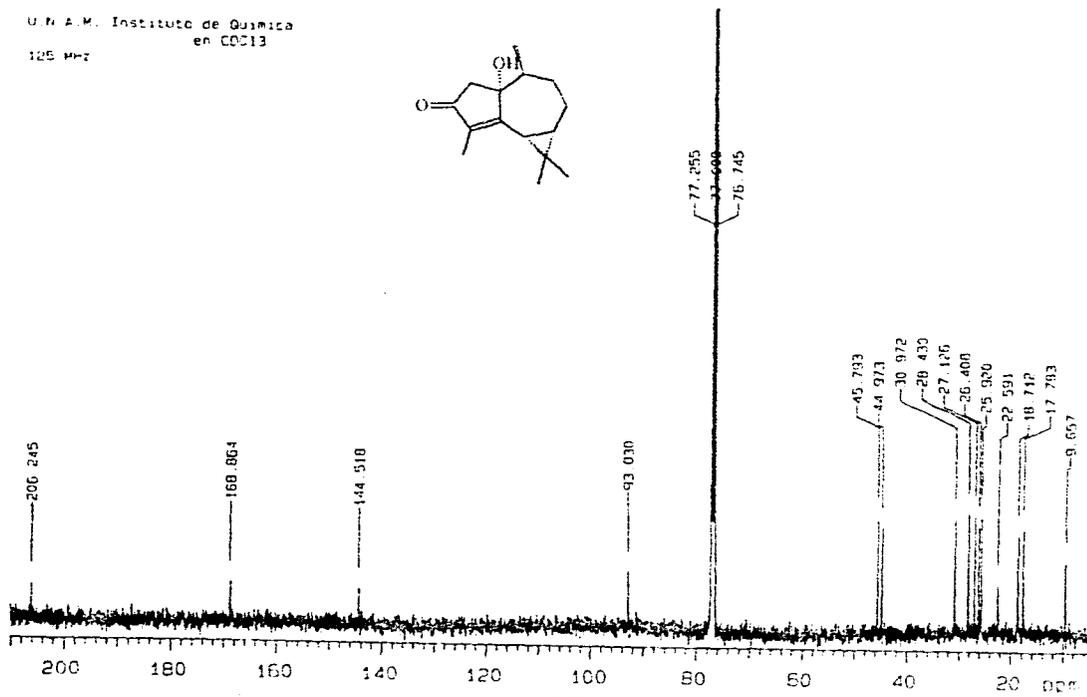
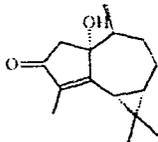
Cut Level: 0.00 %



DR. WILMO BRUNO DISSOLTI, TUBO 3 2217 08/09/93 RVI

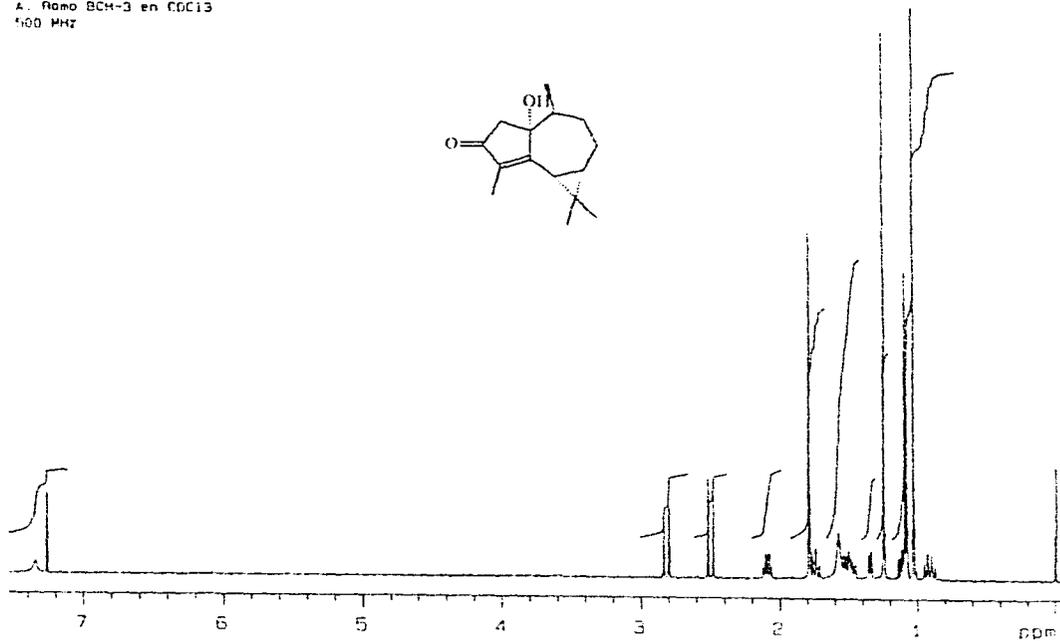
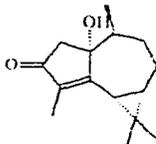


U.N.A.M. Instituto de Química
en CC513
125 MHz



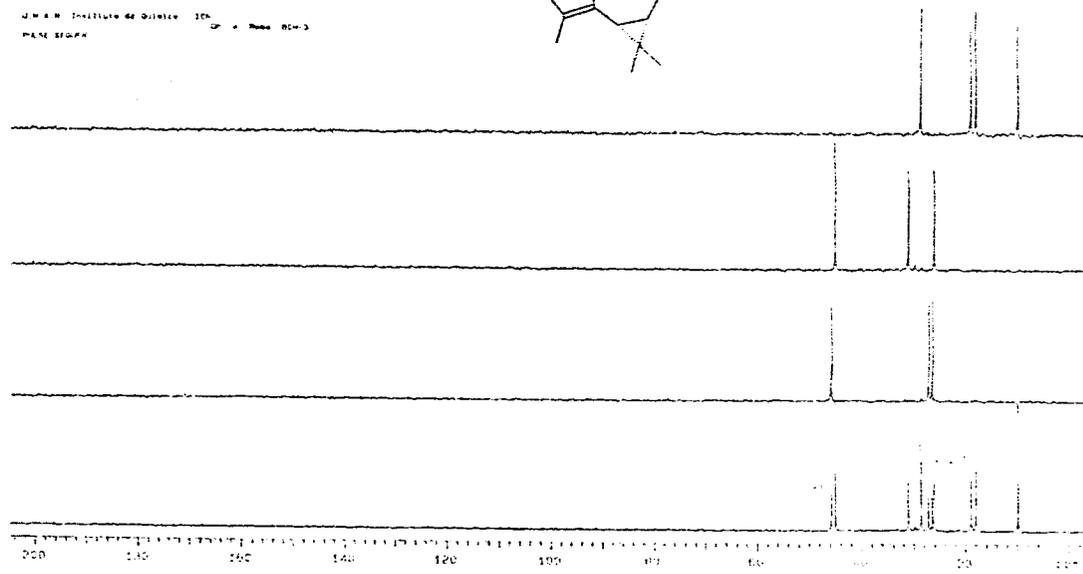
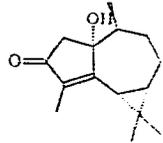
5 Espectro de RMN¹³C de α -hidroxiciclocolorenona

U N A M. Instituto de Quimica
A. Romo BCH-3 en CCl_3
100 MHz

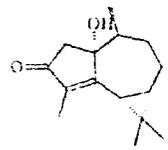
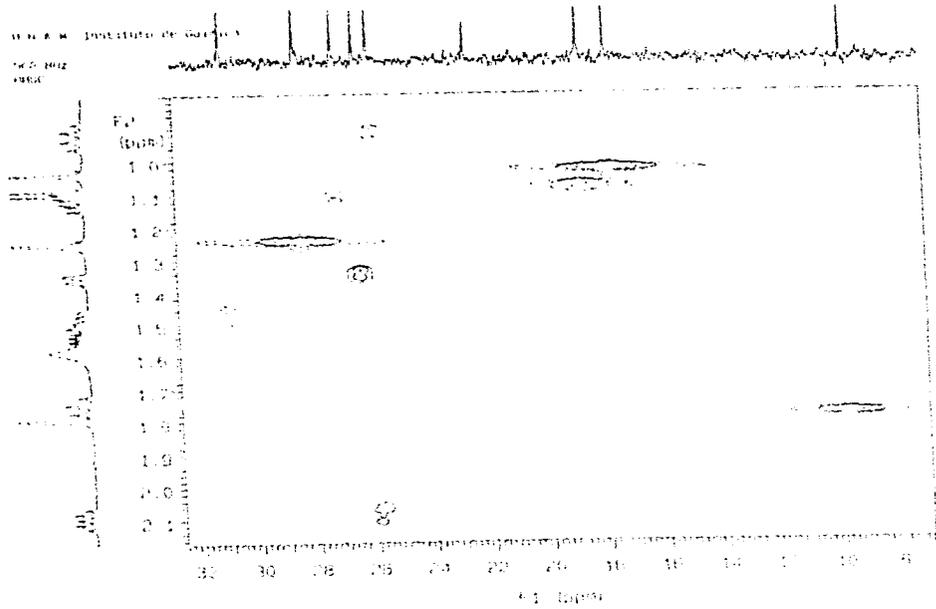


6 Espectro de RMN^1H de α -hidroxiciclocloirenona

J. M. R. Institute de Química ICh.
CP. A. Necochea 824-3
PASE SIGMA



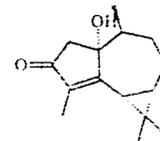
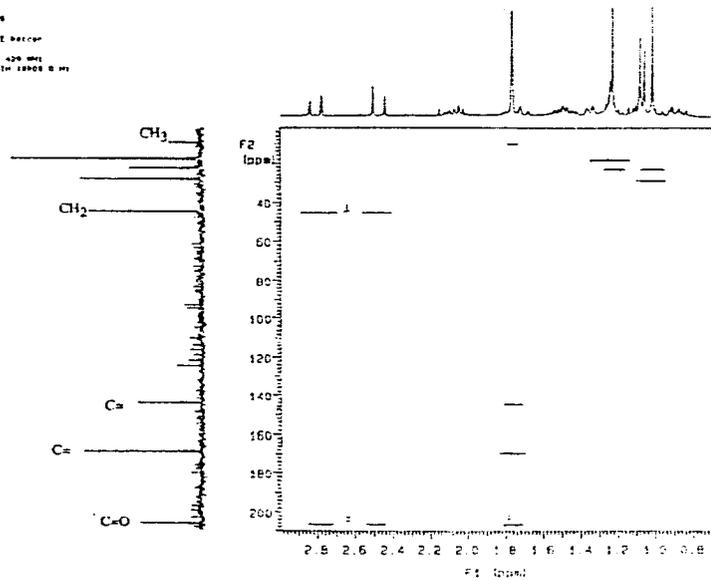
7. Espectro DEPT de α -hidroxiciclocolorona



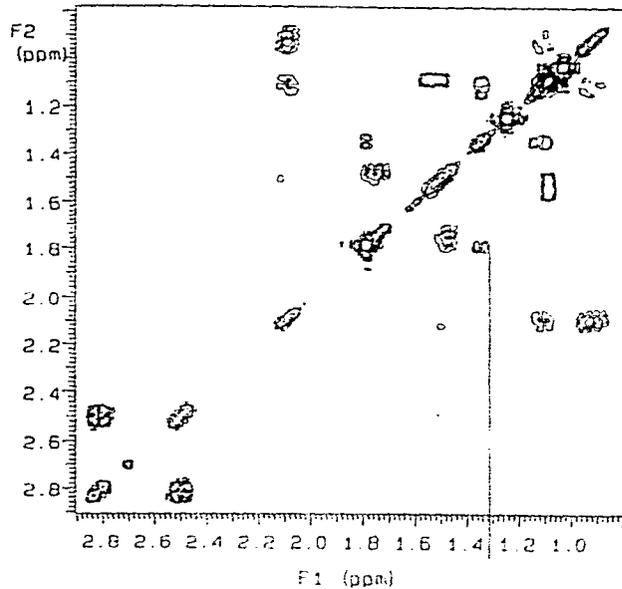
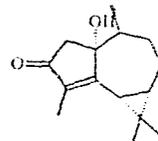
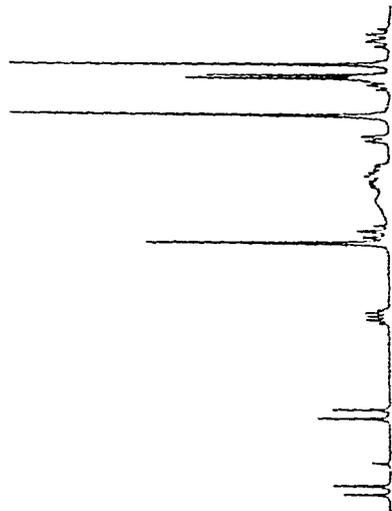
8

Espectro HMQC de α -hidroxiciclohexanona

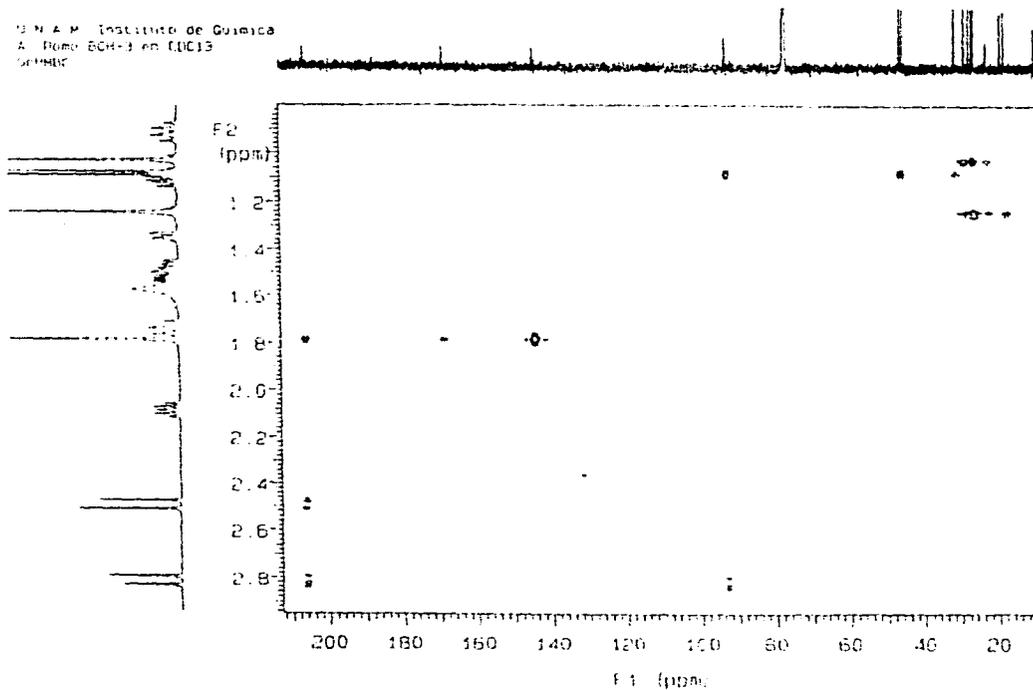
63M-3 1000 P8
 PULSED SPIN ECHO DECOUPLING
 CHANNEL C13
 FREQUENCY 75.426 MHz
 SPECTRAL WIDTH 18000 HZ



U.N.A.M. Instituto de Químico.
A. Romo BCH-3 en CDCl₃
500 MHz

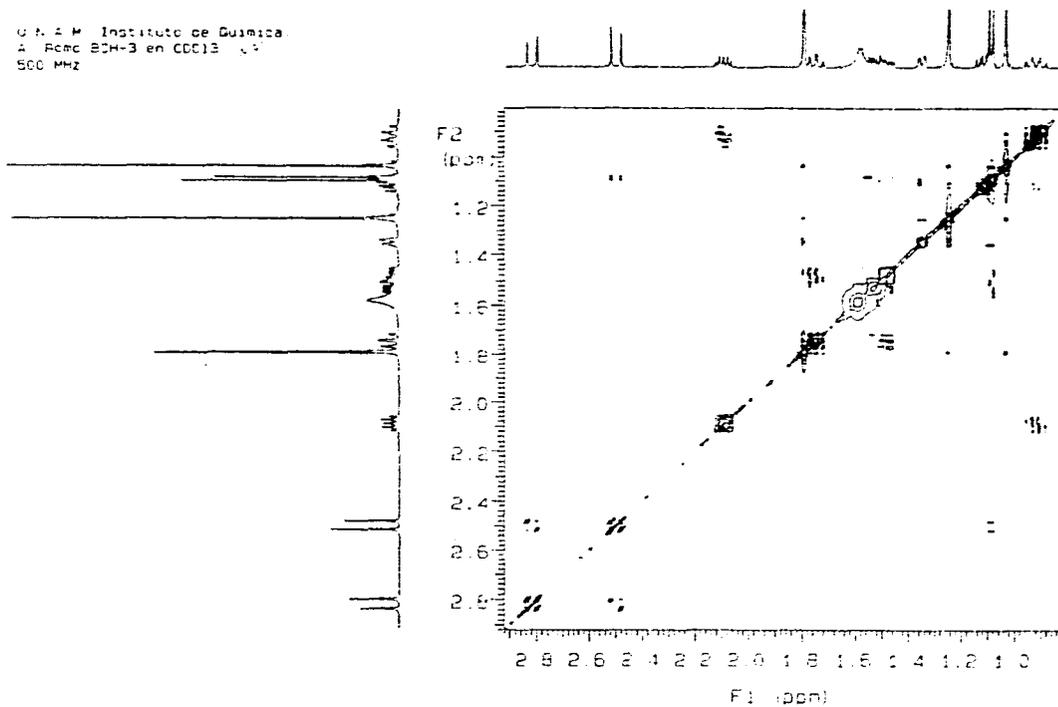


U. N. A. M. Instituto de Química
A. Romo-Bohórquez en (IC) 13
60111111

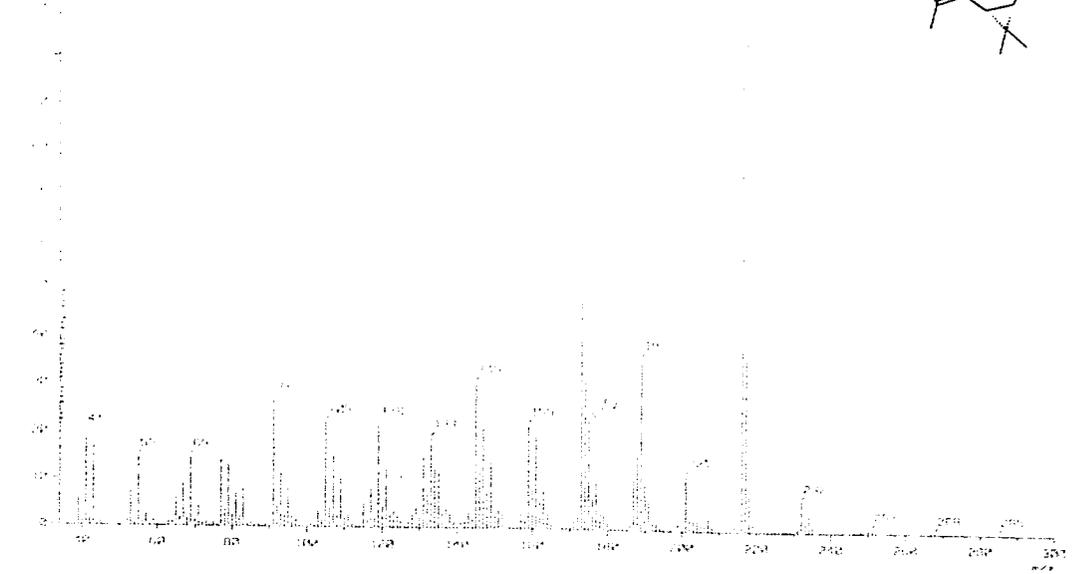
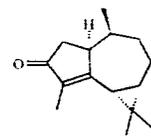


11 Espectro HMBC de α -hidroxiciclocolorona

U. N. A. M. Instituto de Química.
1. Pomo BSH-3 en CDCl₃
500 MHz



1. Mass Spectrum 1
 Date: 10/06/00
 Operator: BSGM
 Name: 1
 Sample: 1
 Method: ESI+
 Instrument: Agilent 1100SLD
 File: 1100SLD1
 Scan: 1000
 Base Peak: 1000



13 Espectro de masas de (+)-ciclocolorenona

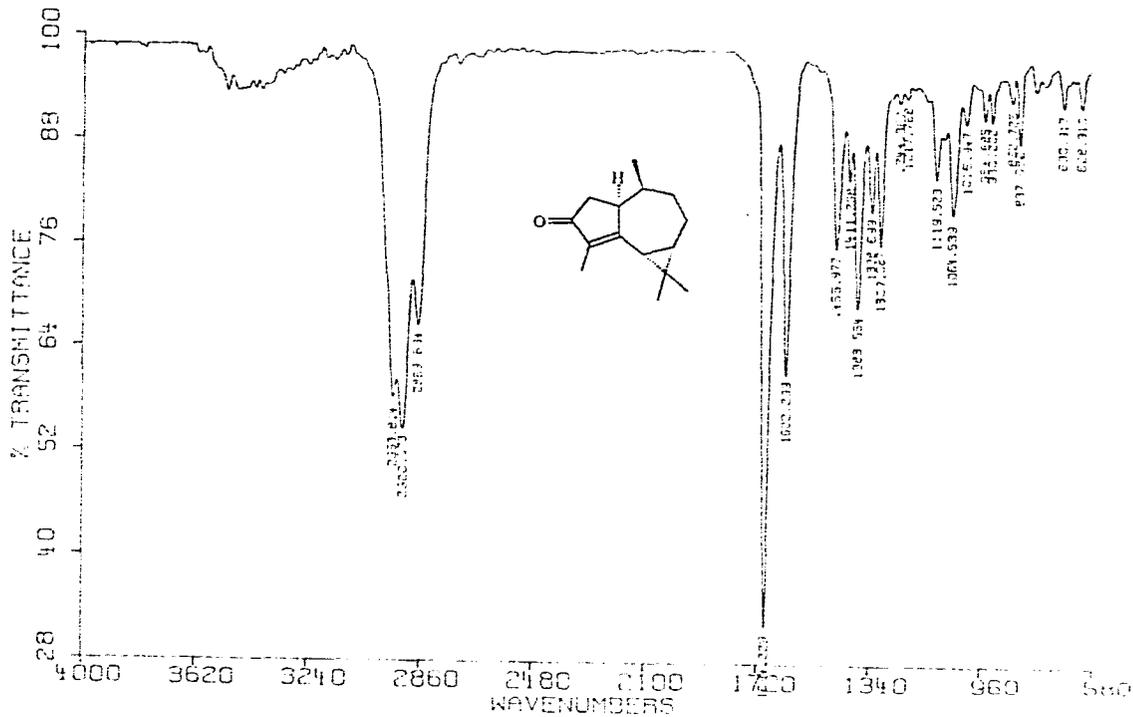
DR. ALBANO

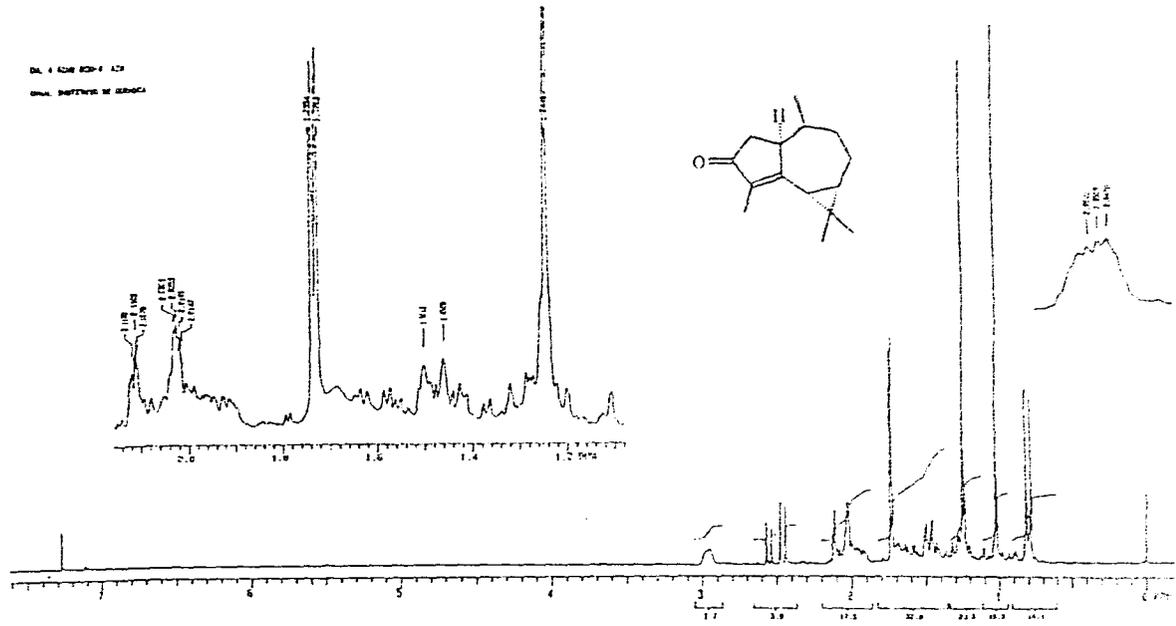
B-08 4

FELICIA O

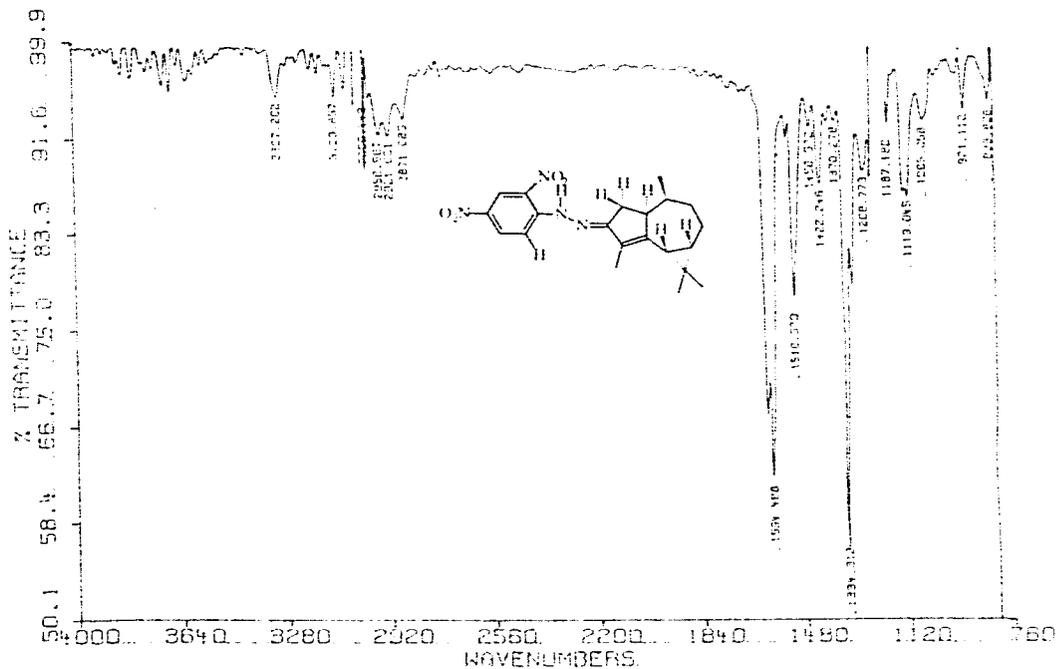
09/09/03

RPM



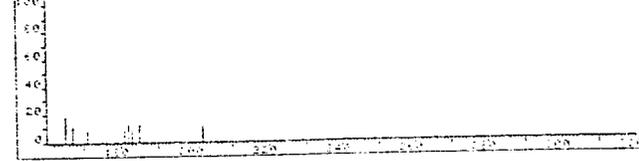
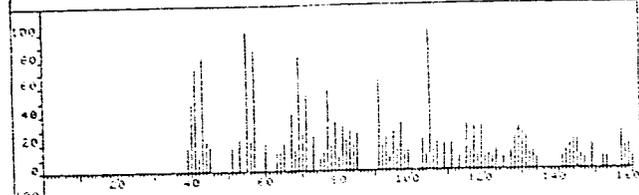


DR.A.ROMO H1D 23/05/94 SGL/CHCL3 RPM

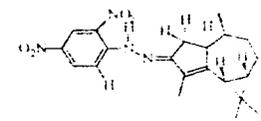
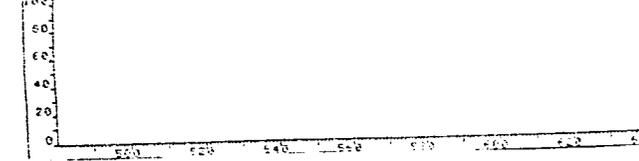
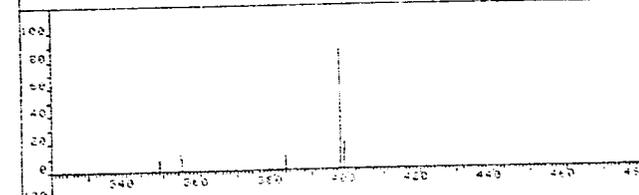


17 espectro IR de 2,4-Dinitrofenilhidrazona de (+)-ciclocolorenona

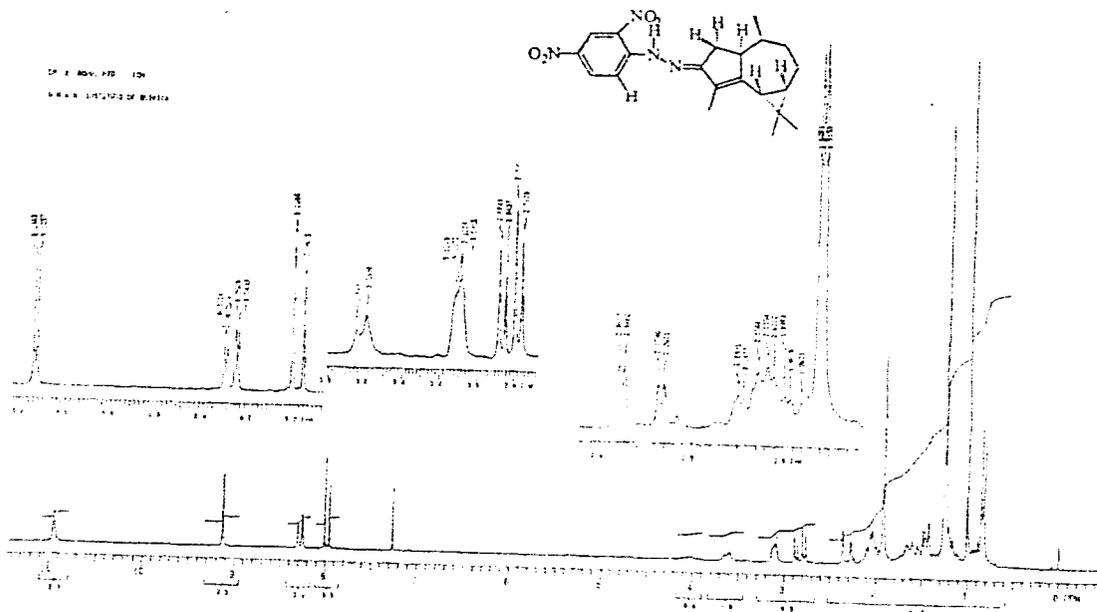
RUN 4012 SPECTRUM 71 RETENTION TIME 4.7
 LARGST 4: 55.1, 100.0 105.1, 35.0 121.2, 89.1 127.1, 86.1
 LAST 4: 155.2, 9.0 157.1, 10.0 166.2, 62.0 172.2, 19.0
 PAGE 1 Y = 1.00

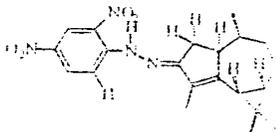
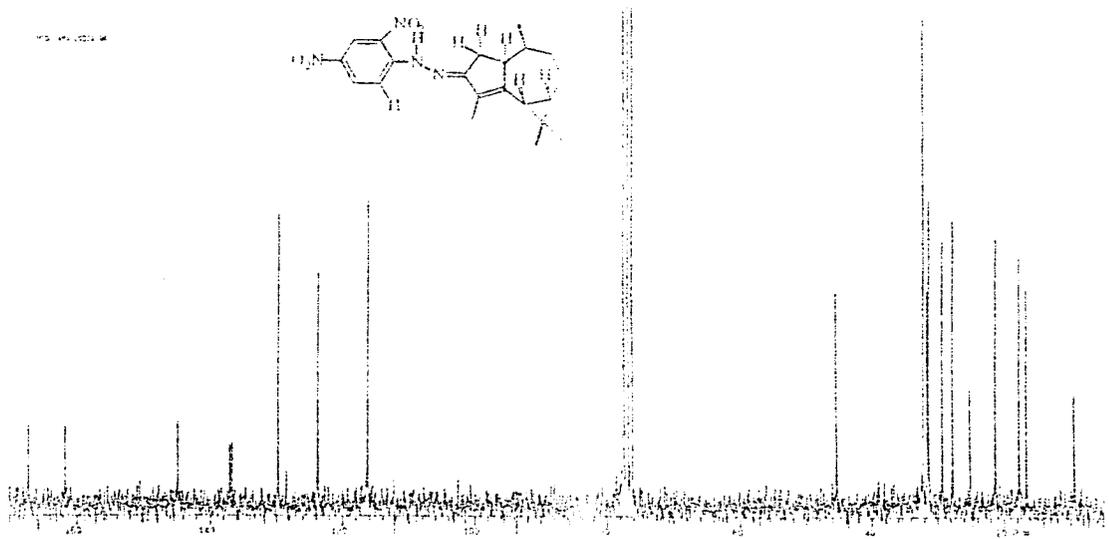


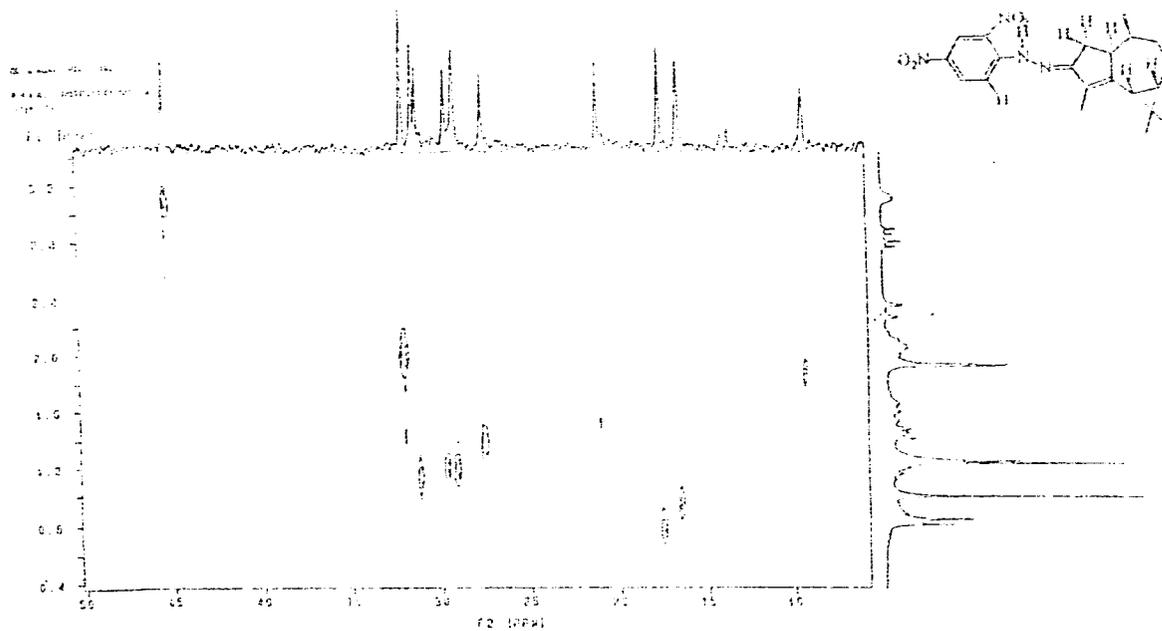
RUN 4012 SPECTRUM 71 RETENTION TIME 4.8
 LARGST 4: 55.1, 100.0 105.1, 35.0 121.2, 89.1 127.1, 86.1
 LAST 4: 155.2, 9.0 157.1, 10.0 166.2, 62.0 172.2, 19.0
 PAGE 2 Y = 1.00

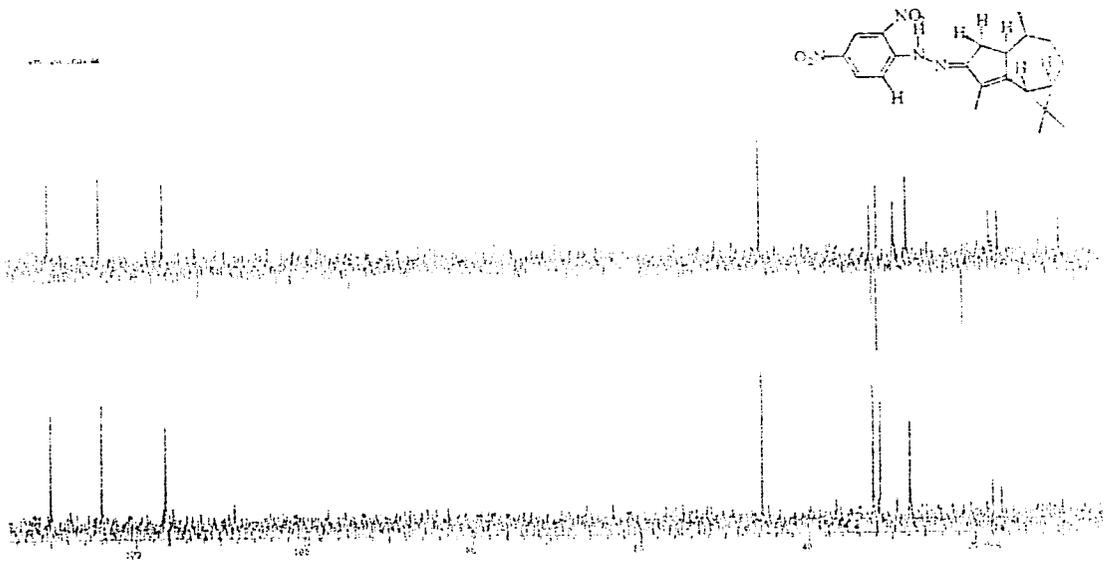


Espectro de masas de 2,4-Dinitrofenilhidrazona de (+)-ciclocolorena

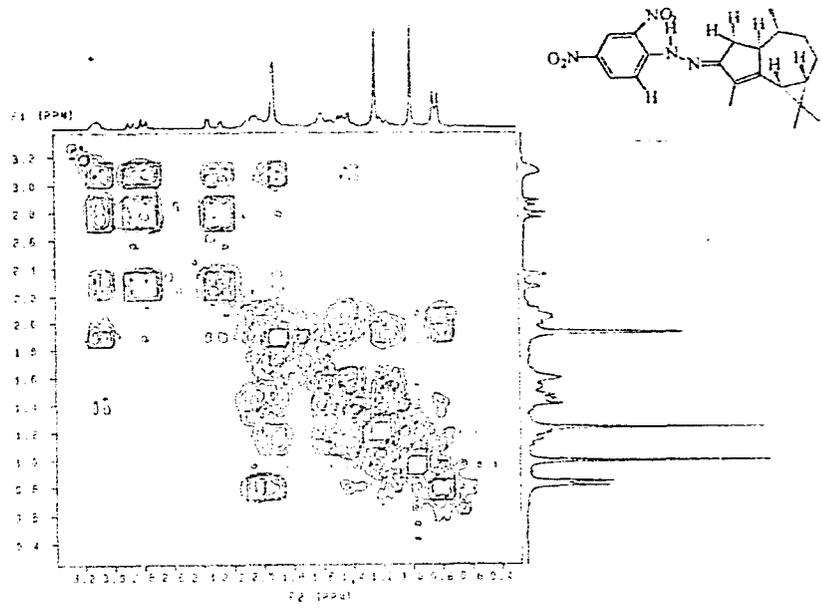








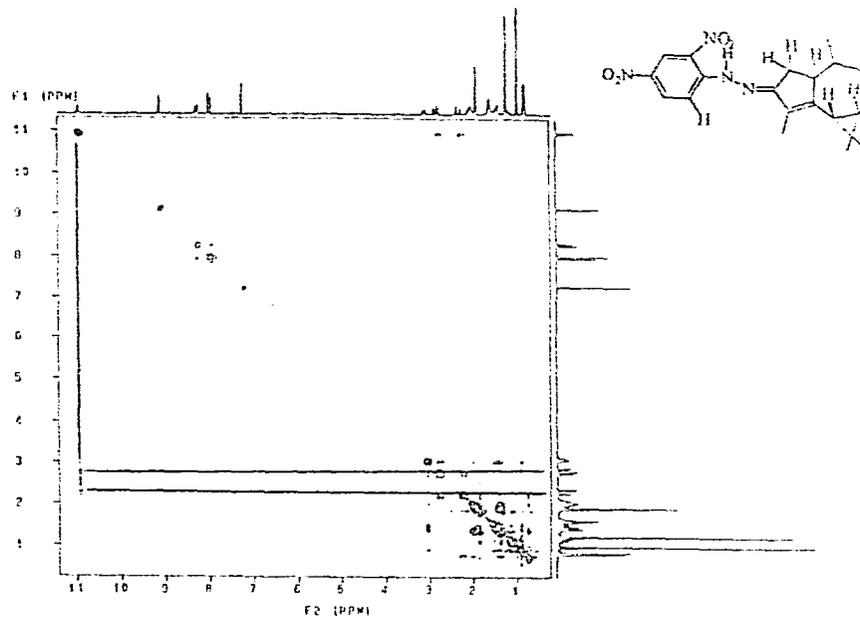
NO. ANALISIS: 06
 FECH. ANALISIS: 2007
 LAB. ANALISIS: 1003
 FECH. RECIBO: 10/03/07
 ANALISIS: 1003/07
 ANALISIS: 1003/07



23 Espectro COSY de 2,4-Dinitrofenilhidrazona de (+)-ciclocoloronona

DA 8. NOV 82. AM
 B. B. B. INSTITUTO DE QUÍMICA
 FÍSICA, RUA STRECHT, 300
 CAIXA DE CORREIO 150
 SÃO CARLOS, SP
 13560-970

PROB. 1D. 1H. 400 MHz
 2D. NOESY. 400 MHz
 TEMPER. 300 K
 10.0000



24 Espectro NOESY de 2,4-Dinitrofenilhidrazona de (+)-ciclocolorenona

