

207
207.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
ZARAGOZA

TRANSFORMACIONES QUIMICAS DE
ASCLEPINAS.

T E S I S

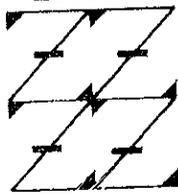
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

P R E S E N T A :

HUMBERTO ISAAC VALLE ALDAY

UNAM
FES
ZARAGOZA



LO ELEGANO EJE
DE NUESTRA REFLEXIÓN

MEXICO, D. F.,

1998

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN .

2520/18



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

SITIO DONDE SE DESARROLLO EL TEMA:

*LABORATORIO 2-8 DEL INSTITUTO DE QUÍMICA,
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO, BAJO LA
ASESORÍA DE LA DRA. LYDIA RODRÍGUEZ HAHN † Y EL M.
EN C. JORGE RICARDO CÁRDENAS PÉREZ.*

*ESTE TRABAJO FUE SOPORTADO ECONÓMICAMENTE POR EL
SISTEMA NACIONAL DE INVESTIGADORES (SNI)*

*AGRADECIENDO A RUBÉN GAVIÑO, LUIS VELASCO Y ROCIO
PATIÑO POR LA REALIZACIÓN DE LOS ESPECTROS*

GRACIAS:

*A TODAS LAS PERSONAS QUE ME BRINDARON APOYO Y
CONFIANZA PARA SIEMPRE SALIR ADELANTE.*

A MIS PADRES Y HERMANOS:

POR SOPORTAR MIS ESTUDIOS DURANTE MUCHO TIEMPO

A MIS MAESTROS Y AMIGOS DE LA CARRERA

*POR DARMER LAS ENSEÑANZAS Y CONSEJOS QUE HOY SE
REFLEJAN EN ESTE TRABAJO*

*A MIS COMPAÑEROS DEL INSTITUTO (ROSA, IRMA,
AGUSTÍN, NIEVES):*

*POR QUE SIEMPRE ME APOYARON CUANDO MÁS LOS
NECESITE*

CON DEDICATORIA ESPECIAL:

*A LA DRA. LYDIA RODRÍGUEZ HAHNÉ, AL M. EN C. JORGE
RICARDO CÁRDENAS PÉREZ, Y POR SUPUESTO, A TI*

♥IMELDA

**TRANSFORMACIONES
QUÍMICAS DE ASCLEPINAS**

1.-	Introducción	1
2.-	Fundamentación Teórica	3
2.1.-	Oxidación por Brominólisis de Derivados Estanilados	7
2.2.-	Oxidación con Ácido 2-Yodoxibenzóico en DMSO	9
2.3.-	Síntesis de Derivados Tiazolínicos	11
3.-	Planteamiento del Problema	13
4.-	Objetivos	14
4.1.-	Objetivo General	14
4.2.-	Objetivos Parciales	14
5.-	Hipótesis	15
6.-	Material, Equipo y Reactivos	16
7.-	Parte Experimental y Resultados	18
7.1.-	Aislamiento y Purificación de Asclepinas	20
7.2.-	Preparación del Ácido 2-Yodoxibenzóico (IBX)	22
7.3.-	Transformaciones Químicas del Gomfósido	23
7.3.1)	Reacción por Brominólisis del Derivado Estanilado	23
7.3.2)	Acetilación del GOxSnI	25
7.3.3)	Reacción con IBX en DMSO	26
7.4.-	Transformaciones Químicas del Afrósido	27
7.4.1	Reacción por Brominólisis del Derivado Estanilado	27
7.4.2)	Reacción con IBX en DMSO	27
7.5.-	Transformaciones Químicas de la Calactina	28
7.5.1)	Reacción por Brominólisis del Derivado Estanilado	28
7.5.2)	Reacción con IBX en DMSO	28
8.-	Discusión de Resultados	29

9.- Conclusiones	48
10.- Propuestas, Recomendaciones	50
11.- Bibliografía	51
12.- Anexo	53

INTRODUCCIÓN

Las plantas de la familia *Asclepiadaceae* están ampliamente distribuidas geográficamente, sobre todo, en Cento y Norteamérica¹. El estudio fitoquímico de esta familia está bien documentado, y es de suma importancia debido a la gran cantidad de metabolitos que se aíslan de los distintos géneros².

Estos metabolitos han mostrado tener diversa actividad biológica. En particular, los géneros *Asclepias* y *Calotropis* sobresalen por la gran cantidad de productos con actividad cardiotónica (glicósidos cardiacos ó cardenólidos)^{3,4}. Desafortunadamente, la actividad cardiotónica de estos metabolitos es tóxica⁵, y un ejemplo claro de ello se observa en la naturaleza, al proveer a la mariposa monarca (*Danaus plexippus*) de un mecanismo de defensa en contra de algunos depredadores^{1,2,3}.

Esto es, la mariposa monarca se alimenta de las plantas pertenecientes a esta familia, almacena los glicósidos contenidos en la planta y cuando un depredador (pájaros principalmente), ingiere alguna mariposa, este se intoxica o muere. Posteriormente, en caso de sobrevivir, el depredador ignorará totalmente a la mariposa⁴.

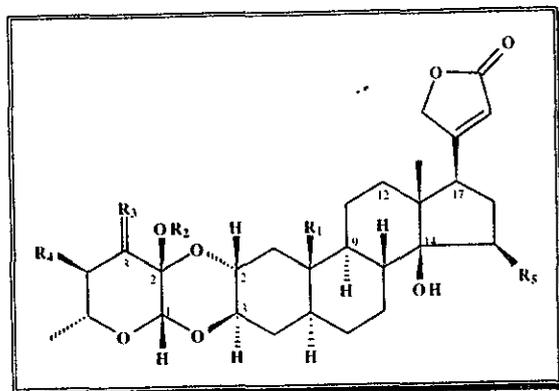
Pero no todos los metabolitos tienen actividad tóxica. Existen algunos metabolitos, por ejemplo, la labriformina³, que ha mostrado cierta actividad antitumoral. Desafortunadamente, la pequeña cantidad de labriformina que se aísla del látex de las plantas de la familia *Asclepiadaceae* (por ejemplo, *A. glaucescens*), han prolongado el estudio de la determinación de la actividad biológica^{3,6}.

Es por ello que surge la necesidad de emplear la Síntesis Orgánica y obtener estos productos en el laboratorio, a partir de metabolitos aislados de la misma familia (*Asclepiadaceae*) y con un esqueleto carbonado similar al de la labriformina, a los cuales se les realizan *Transformaciones Químicas* sucesivas para obtener el producto deseado. Así, extrapolando resultados a la labriformina, se logrará determinar la actividad biológica y demostrar su uso terapéutico o su toxicidad.

Los metabolitos empleados para dichas transformaciones, que se aíslan en cantidad suficiente de *Asclepias linaria*², son conocidos como **asclepinas**¹, del que destacan el Gomfósido, el Afrósido y la Calactina².

FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA

Las **asclepinas** (*tabla A*) son glicósidos cardiacos (cardenólidos) pertenecientes a un grupo de derivados esteroidales de 23 átomos de carbono. La mayoría de estos productos son aislados de la familia *Asclepiadaceae* y están formados por un azúcar y una aglicona. Las asclepinas más importantes aisladas de esta familia, se muestran en la *tabla A*. Las características importantes de la estructura de la aglicona (o genina) son, en general, la presencia de una γ -lactona (β -butenólida) α,β -insaturada unida al carbono C-17 del esqueleto esteroideal y un grupo oxhidrilo terciario en el carbono C-14. Algunas geninas son portadoras de un grupo aldehído en el carbono C-19¹. La mayoría de los glicósidos tienen el azúcar unido en las posiciones 2α y 3β de la aglicona, formando un hemiacetal y un acetal respectivamente, lo que los hace muy resistentes a la hidrólisis ácida^{1,7}.



	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅
GOMFOSIDO <i>i</i>	Me	H	β -OH α -H	H	H
AFROSIDO <i>ii</i>	Me	H	β -OH α -H	H	OH
CALACTINA <i>iii</i>	CHO	H	β -OH α -H	H	H
CALOTROPINA <i>iv</i>	CHO	H	α -OH β -H	H	H
CALOTOXINA <i>v</i>	CHO	H	β -OH, α -H	OH	H
ASCLEPINA <i>vi</i>	CHO	H	α -OAc, β -H	H	H
PROCEROSIDO <i>vii</i>	CHO	H	β -OH α -H	H	OH

TABLA A Algunas asclepinas aisladas de la familia *Asclepiadaceae*^{1,2,4,5}

El azúcar presente en algunas asclepinas (tal como el Gomfósido *I*, el Afrósido *II* y la Calactina *III*) es una 4,6- β -D-didesoxihexosulosa^{5,7}, lo que es importante en las transformaciones debido al grupo funcional 2',3'-diol (*Figura 1*)

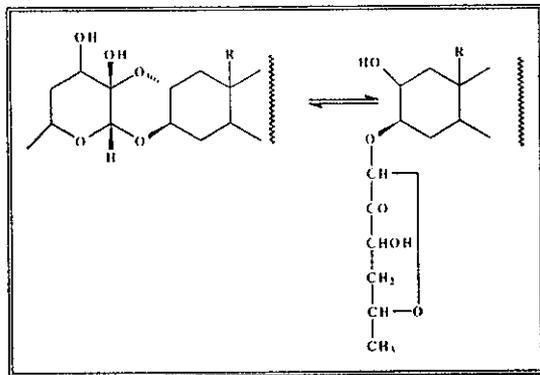


Figura 1 Azúcar presente en algunas asclepinas⁸

La estructura de algunas asclepinas, así como la estructura del azúcar fue determinada por Reichstein⁸ en Suiza, y la estereoquímica del azúcar fue determinada por Cheung⁷ en Australia. La 4,6-dideoxihexosulosa muestra las siguientes características⁵ (*Figura 2*):

- La quiralidad del carbono C-5' es *R*
- El grupo 3'-hidroxilo es *axial*
- Los grupos hidroxilo 2'- y 3'- son *cis*
- La fusión de los anillos es *cis*

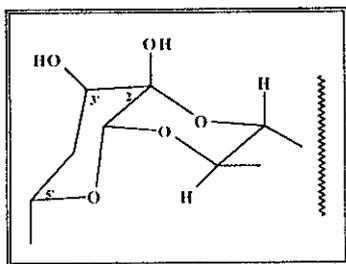


Figura 2 Estereoquímica de la 4,6-dideoxihexosulosa⁵

Se ha observado que la actividad biológica de estos glicósidos es tóxica^{1,9}. Algunos insectos se alimentan de estas plantas, utilizándolas como defensa contra los depredadores. Es de gran interés el caso de la mariposa monarca (*Danaus plexippus*), que desde larva y durante todo su desarrollo, ingiere las aselepinas, almacenándolas en su cuerpo¹. La mariposa monarca, debido a sus colores llamativos, es distinguida por algunos depredadores como los pájaros, pero como la ingestión de dos o más especímenes causa vómito o hasta la muerte, posteriormente hacen caso omiso de ella.

La familia *Asclepiadaceae* agrupa aproximadamente 2500 especies en 200 géneros. A diferencia de otras familias (por ejemplo, *Angiospermas*), en esta familia abundan los glicósidos¹. Se han aislado de 12 géneros y se cree que existen en algunos otros. En particular, los géneros *Calotropis* y *Asclepias*, tienen amplia distribución en México y son los más estudiados¹. Entre las especies de *Asclepias* más estudiadas se pueden mencionar:

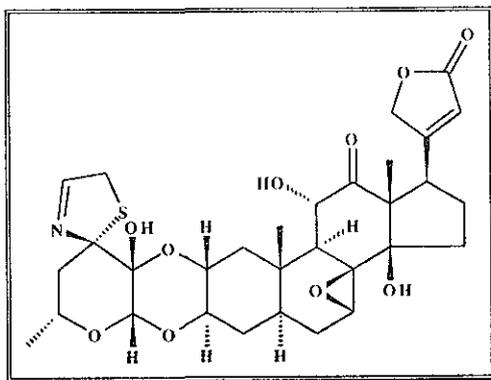
<i>A. syriaca</i> ^{7,10}	<i>A. subulata</i> ⁹	<i>A. curossavica</i> ²
<i>A. fruticosa</i> ¹	<i>A. speciosa</i> ⁷	<i>A. glaucescens</i> ³
<i>A. linaria</i> ²	<i>A. eriocarpa</i> ⁶	<i>A. humistrata</i> ⁷

En algunos países como Costa Rica, México o la India, se han utilizado varias especies de *Asclepias* en preparados medicinales para el tratamiento del cáncer³, tumores o verrugas, así como vomitivos o en el tratamiento de la bronquitis¹.

En la actualidad, el estudio fitoquímico es de gran importancia en la búsqueda de productos con actividad farmacológica. Principalmente las sustancias con actividad antineoplásica han sido evaluadas en grandes centros de investigación, por su trascendencia terapéutica.

En especial, la labriformina **IX**, es un producto natural aislado de algunas especies de la familia *Asclepiadaceae* (como por ejemplo, *Asclepias glaucescens*)³, cuya actividad bioló-

gica ha sido estudiada parcialmente en el National Institute Cancer Research (NICR), en Estados Unidos, mostrando cierta actividad antitumoral (antineoplásica) muy interesante



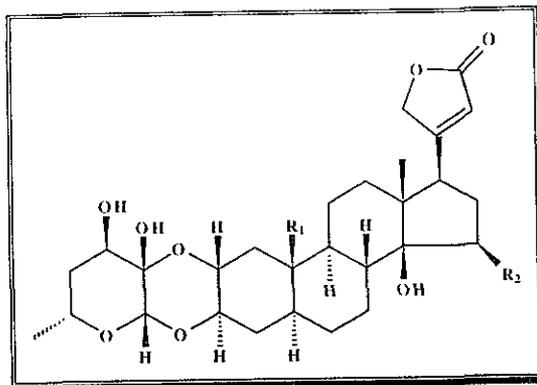
LABRIFORMINA IX

La dificultad que se presenta para lograr determinar la actividad biológica, es la cantidad tan pequeña de labriformina que se puede obtener del látex de la planta *A glaucescens*³.

Pero las asclepinas, que se aíslan en mayor proporción^{1,2}, presentan un esqueleto carbonado similar al de la labriformina. Por tanto, se pueden realizar transformaciones químicas en las asclepinas (Gomfósido *I*, Afrósido *II* y Calactina *III*), y evaluar la actividad biológica, extrapolando los resultados a la labriformina.

Las transformaciones químicas a realizar en las asclepinas son:

- La oxidación del grupo 1,2-diol para obtener la correspondiente hidroxicetona.
- La formación del anillo tiazolínico (tiazolidina) en el carbono 3', mediante reacción del carbonilo de la hidroxicetona y el derivado apropiado de cisteína.



	R ₁	R ₂
Gomfósido <i>I</i>	Me	H
Afrósido <i>II</i>	Me	OH
Calactina <i>III</i>	CHO	H

La oxidación de 1,2-dioles a α -hidroxicetonas representa una transformación que siempre tiene que superar el problema de la oxidación del enlace C-C del glicol^{11,12}. La oxidación en las asclepinas (Gomfósido *I*, Afrósido *II*, Calactina *III*) se puede llevar a cabo adecuadamente, gracias a las técnicas actuales conocidas para este tipo de síntesis, que evitan la fragmentación del diol y además son regioespecíficas. La oxidación por brominólisis de derivados estanilados¹² y la oxidación con el ácido 2-yodoxidibenzóico (IBX)¹¹, forman hidroxicetonas a partir de 1,2-dioles sin romper el enlace C-C del glicol.

2.1.- Oxidación por Brominólisis de Derivados Estanilados

La reacción de 1,2-dioles con óxido de di-*n*-butilestaño (dibutilestaño) en suspensión en benceno, con eliminación azeotrópica de agua, es regioespecífica, y la formación del estanilderivado es eficiente^{12,13,14}. Se ha observado que en disolventes no polares, puede existir como dímero aumentando la selectividad. La reacción de brominólisis se lleva a cabo a temperatura ambiente a la velocidad de una titulación, obteniendo resultados satisfactorios del cetoalcohol¹² (Figura 3)

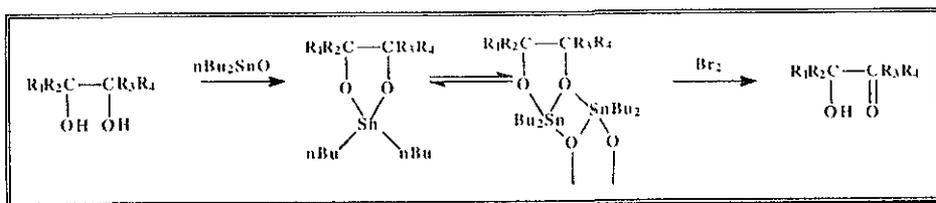


Figura 3 Oxidación de 1,2-dioles a hidroxicetonas por el método de $n\text{Bu}_2\text{SnO}/\text{Br}_2$ ¹²

Los derivados de azúcares, son buenos modelos para evaluar el alcance del método en presencia de una variedad de grupos protegidos, porque da la tranquilidad de discriminación entre posibles productos de oxidación isoméricos¹². Por ejemplo, se ha descrito que el método de brominólisis de derivados estanilados, oxida uniformemente azúcares con un rendimiento elevado (87%)¹² (Tabla B).

1,2-DIOL	HIDROXICETONA	RENDIMIENTO (%)
		87 ¹²
		77-87
		48
		72

Tabla B Rendimientos descritos para la formación de hidroxicetonas a partir de 1,2-dioles con $n\text{Bu}_2\text{SnO}/\text{Br}_2$ ¹²

Durante la brominólisis se presentan algunas complicaciones, como es el aumento de la acidez en el medio de reacción debido a la formación de HBr, provocando una ruptura de los enlaces Sn-O (cetálicos) y la formación de material de desecho, que puede atacar a la materia prima (diol), así como a la cetona quelatada¹².

Para evitar este problema, es recomendable agregar tamiz molecular de 4Å o un equivalente de metóxido de tributilestaño durante la adición del bromo. Los rendimientos son significativamente altos con el segundo caso, pero la introducción al medio de reacción de derivados estanilados hace muy difícil su eliminación¹².

El mecanismo de reacción (*Figura 4*) propuesto para la oxidación de 1,2-dioles a hidroxi-cetonas, a partir de la formación del derivado estanilado y posterior brominólisis, se muestra a continuación¹⁵.

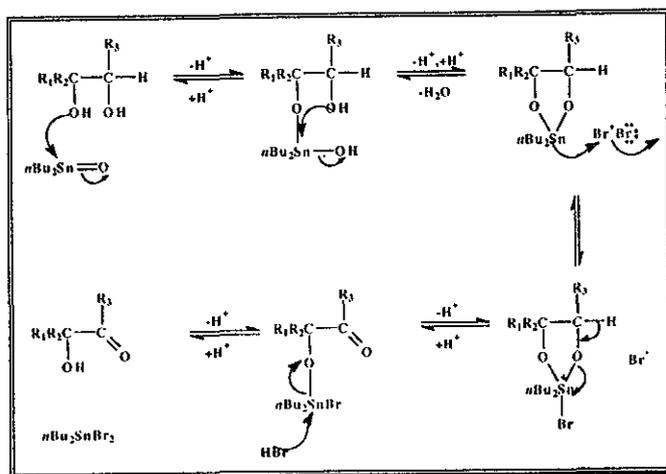
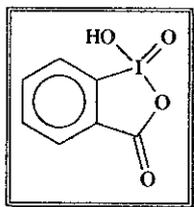


Figura 4 Mecanismo de reacción propuesto para la oxidación por $n\text{Bu}_3\text{SnO}/\text{Br}_2$ ¹⁵

2.2.- Oxidación con Ácido 2-Yodoxibenzoico en DMSO

Otro método descrito para la oxidación de 1,2-dioles es el caso del ácido 2-yodoxibenzoico¹¹ (IBX X), que pertenece al grupo de los peryoditanos; estos son agentes suaves y

selectivos para la oxidación de alcoholes¹⁶. Estos compuestos fueron preparados en 1893 por Meyer y Hartmann¹⁷.



IBX X

<i>1,2-DIOL</i>	<i>HIDROXICETONA</i>	<i>RENDIMIENTO (%)</i>
		98
		85
		85
		93

TABLA C Rendimiento descrito para la formación de hidroxicetonas a partir de 1,2-dioles con IBX/DMSO¹⁷

La oxidación con IBX se lleva a cabo en solución de sulfóxido de dimetilo a temperatura ambiente (pocas veces, a otra temperatura). El IBX es estable a la humedad y la oxidación puede llevarse a cabo en un matraz abierto, sin necesidad de condiciones tales como atmósfera inerte o disolventes secos¹¹.

Durante algún tiempo, el IBX había sido utilizado para la preparación del peryodinano de Dess-Martin, un eficaz oxidante. Por sí solo, el IBX nunca se había usado como agente oxidante¹¹.

El IBX ha mostrado gran selectividad y se han obtenido hidroxicetonas a partir de 1,2-dioles con un rendimiento de hasta 98%¹¹ (Tabla C). El mecanismo de reacción para la obtención de hidroxicetonas por este procedimiento no se ha descrito.

2.3.- Síntesis de Derivados Tiazolínicos

Las primeras síntesis de derivados de tiazol se llevaron a cabo a fines del siglo XIX, por Hantzsch, Hubacher, Traumann, Miolatti, Tcherniac y Gabriel¹⁸. En la literatura están descritos varios métodos para la síntesis de derivados de tiazol¹⁹, que pueden clasificarse según los sintones mostrados en la tabla D.

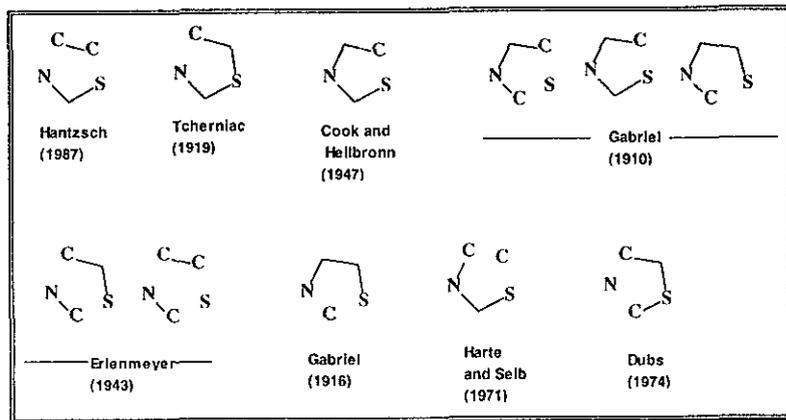


TABLA D Sintones que ejemplifican la síntesis de derivados de tiazol¹⁸

En la formación del anillo tiazolínico (Gabriel 1916), la β -mercaptoalquilamina sirve como la materia prima, y el formiato de etilo es el reactivo que proporciona el carbono de la posición 2- del anillo. Esta síntesis constituye la ruta más importante para la preparación de muchas tiazolidinas¹⁸.

El método más usado para la síntesis de tiazolidinas y sus homólogos, es el que involucra la reacción de compuestos carbonílicos con α -aminotioles y sus derivados²¹ (figura 5). Aldehídos, cetonas y otros derivados, tales como acetales o tioacetales, reaccionan con cisteína y sus derivados, para formar tiazolidinas^{19,20}.

Por ejemplo, en la figura 5, el clorhidrato de tiazolidina, se obtiene en alto rendimiento por la reacción de clorhidrato de cisteamina con formaldehído acuoso a temperatura ambiente. En esta reacción, la etilenimina y el sulfuro de hidrógeno pueden sustituir al amino tiol²⁰.

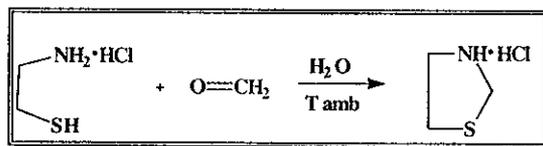


Figura 5 Síntesis de tiazolidinas

El mecanismo de reacción (Figura 6) para la formación de la tiazolidina, a partir de la síntesis de Gabriel (reacción de carbonilo con derivado de cisteína), se describe a continuación.

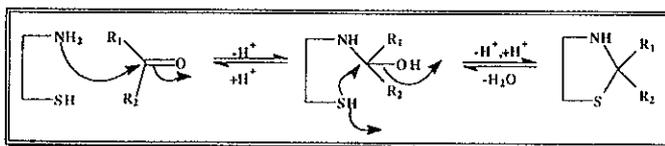


Figura 6 Mecanismo de reacción para la formación de tiazolidinas

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Se ha observado que algunos productos naturales que presentan en su estructura derivados del tiazol (tiazolinas, tiazolidinas), presentan actividad biológica interesante^{3,18}. Por ejemplo, en un estudio realizado en el National Institute Cancer Research (NICR), en Estados Unidos (no reportado), la labriformina³, producto aislado de *A. glaucescens* mostró actividad biológica muy importante (antitumoral). Desafortunadamente, debido a las cantidades tan pequeñas que se aíslan del látex de la planta, este estudio ha quedado pendiente.

En base a la estructura de las asclepinas (en particular, Gomfósido *I*, Afrósido *II* y Calactina *III*), se planteó que, si la actividad biológica de la labriformina está determinada por la presencia de la tiazolina en la posición 3', entonces es posible la transformación química de las asclepinas para obtener el derivado 3'-tiazolidina y evaluar así dicha actividad. Pero esta actividad probablemente se deba a los sustituyentes presentes en el anillo B (grupo epóxido) o anillo C (grupo hidroxiketona), o también, al conjunto de los tres grupos funcionales diferentes (tiazolina, epóxido e hidroxiketona).

Estas asclepinas muestran en su estructura un grupo 1,2-diol (posición 2' y 3', excepto el Afrósido *II* que tiene dos grupos 1,2-diol), lo que hace posible teóricamente, la oxidación del alcohol secundario (3'-hidroxilo), formando la hidroxiketona correspondiente (3'-ceto). Posteriormente, se puede realizar la formación de la 3'-tiazolidina, por reacción del derivado de la cisteína (clorhidrato del éster etílico).

Estas transformaciones químicas son posibles, pues se han descrito métodos suaves y regioespecíficos (por ejemplo, IBX), favoreciendo la síntesis, pues las asclepinas son muy sensibles a condiciones extremas de pH.

4.1.- Objetivo General

Realizar transformaciones químicas en las asclepinas correspondientes (Gomfósido, Afrósido y Calactina), aisladas de *A. linaria*, para obtener el derivado 3'-tiazolidina, realizando inicialmente la oxidación con el ácido 2-yodoxibenzóico (IBX) o mediante la brominólisis de derivados estanilados. Posteriormente realizar la formación de la 3'-tiazolidina con reacción del clorhidrato del éster etílico de cisteína (Gabriel).

4.2.-- Objetivos Parciales

Realizar la síntesis del derivado 3'-ceto en las asclepinas correspondientes (Gomfósido *I*, Afrósido *II* y Calactina *III*), empleando la oxidación con ácido 2-yodoxibenzóico en sulfóxido de dimetilo a temperatura ambiente.

Realizar la síntesis del derivado 3'-ceto en las asclepinas correspondientes (Gomfósido *I*, Afrósido *II* y Calactina *III*), empleando la oxidación por brominólisis de derivados estanilados, formado por reacción del óxido de dibutilestano y el diol correspondiente en benceno.

Realizar la síntesis del derivado 3'-tiazolidina en las asclepinas correspondientes y oxidadas, empleando la condensación del clorhidrato del éster etílico de la cisteína con el derivado 3'-ceto en etanol.

HIPÓTESIS

La parte del azúcar (4,6-didesoxihexosulosa) presente en algunas asclepinas (productos naturales aislados de *Asclepias linaria*), tiene en su estructura un 1,2-diol, lo cual favorece la síntesis del derivado 3'-tiazolidina mediante una serie de transformaciones químicas.

Por tanto, al realizar en estas asclepinas (Gomfósido *I*, Afrósido *II* y Calactina *III*) la oxidación del 2',3'-diol por el método del ácido 2-yodoxibenzóico en sulfóxido de dimetilo, y/o por el método de brominólisis del estanilderivado formado a partir del óxido de dibutil-estaño, se obtendrá el derivado 3'-ceto de asclepinas.

La condensación del clorhidrato del éster etílico de la cisteína con el producto oxidado (3'-ceto) en etanol, dará lugar a la formación del derivado 3'-tiazolidina.

MATERIAL, EQUIPO Y REACTIVOS

6.- Material

Matraz Erlenmeyer 5, 25, 50, 125, 250 ml, PYREX
Matraz bola 25, 50 mL, junta 14/20, ALDRICH
Matraz bola 100, 250, 500 mL, junta 24/40, PYREX
Columnas para cromatografía, varias dimensiones
Equipo Dean-Stark, junta 14/20, ALDRICH
Refrigerante, junta 14/20, ALDRICH
Embudo de separación 125mL, PYREX
Embudo Hirsh
Embudo de vidrio de tallo corto, PYREX
Pipeta graduada 1, 5, 10 mL, KIMAX
Anillo de fierro
Soporte universal
Pinzas de tres dedos con nuez
Cromatoplacas, ALUGRAM SIL G/UV₂₅₄ para ccf
Barra magnética
Placas preparativas 20x20cm, MERCK SIL 60 G/UV₂₅₄
Pipeta Pasteur
Embudo de aspersion
Cámara de elución
Cubreobjetos
Viales

Equipo

Reóstato, STAICO ENERGY
Canastilla, GLASS COL
Agitador magnético, CMS
Recirculador y enfriador de agua, POLISTAT COLE PARMER
Rotavapor, BÜCHI 011, con baño de agua, BÜCHI 461

Polarímetro JASCO DIP-360

Espectrofotómetro UV/Vis SHIMADZU 160-U

Espectrofotómetro FT-IR NICOLET MAGNA 750

Espectrómetro de Resonancia Magnética Nuclear, VARIAN UNITY-300

Espectrómetro de Masas, HEWLETT-PACKARD 5985B

Fisher-Johns

Termómetro, CORNING PS-16

Balanza semianalítica, SARTORIUS

Reactivos

Ácido 2-yodóxibenzóico (preparado según Dess-Martin^{11,22} y/o Katritsky²³)

Ácido 2-yodobenzóico, ALDRICH

Ácido sulfúrico, JT BAKER

Bromato de potasio, ALDRICH

Hipoclorito de sodio comercial al 5%

Bromo, ALDRICH

Óxido de dibutilestaño, ALDRICH

Tamiz molecular de 4Å

Clorhidrato del éster etílico de cisteína, ALDRICH

Cloruro de calcio

Sulfato de sodio

Sílica gel malla 60 para cromatografía en columna al vacío²⁴

Sílica gel malla 230-400 para cromatografía en columna relámpago²⁵

Celita

Sulfóxido de dimetilo, ALDRICH

Benceno, ALDRICH

Acetona

Cloruro de metileno

Metanol

Etanol

Acetato de etilo

Agua

PARTE EXPERIMENTAL Y RESULTADOS

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

Los resultados de Rotación Específica $[\alpha]_D^{20}$ se obtuvieron en un polarímetro JASCO DIP-360, a 20°C.

Los espectros de Ultravioleta (UV) se determinaron en un espectrofotómetro UV/Vis SHIMADZU 160-U, utilizando metanol como disolvente, y las unidades de longitud de onda máxima están dadas en nm y en seguida entre paréntesis se da el valor del coeficiente de extinción (ϵ).

Los espectros de Infrarrojo (IR) fueron determinados en un espectrofotómetro FT-IR NICOLET MAGNA 750, en solución (CHCl_3), pastilla (KBr) o suspensión (Nujol). Las longitudes de onda de absorción de las bandas características se dan en cm^{-1} .

Los espectros de Resonancia Magnética Nuclear de Hidrógeno (RMN^1H , 300MHz) y de Carbono (RMN^{13}C , 75MHz) se determinaron en un espectrómetro VARIAN UNITY, utilizando como disolvente CDCl_3 ó $\text{CDCl}_3\text{-DMSO}_{d_6}$. Los desplazamientos químicos (δ) están expresados en ppm, usando como referencia tetrametilsilano (TMS). Las constantes de acoplamiento (J) están expresadas en Hz. La multiplicidad de las señales se reportan de la siguiente manera: s=singulete, d=doblete, dd=doblete de doblete, t=triplete, c=cuarteto, q=quinteto, m=multiplote.

Los espectros de Masas (EM) se determinaron en un espectrómetro HEWLETT-PACKARD 5985B.

La pureza de los productos y el curso de las reacciones se observó por cromatografía en capa fina (ccf) usando como adsorbente sílica gel 60 F₂₅₄, y como revelador luz ultravioleta y sulfato cérico al 1 % en ácido sulfúrico 2N.

Los productos finales se purificaron por cromatografía en columna, utilizando sílica gel Merck 60 para columna al vacío²⁴ y malla 230-400 para columna relámpago²⁵, y con cromatoplasmas de capa fina preparativa (cpp) de sílica gel Merck 60 F₂₅₄ de 20x20.

7.1.- Aislamiento y Purificación de Asclepinas

La planta *A linaria* fue recolectada en 1995, en el Estado de San Luis Potosí (municipio de Salinas), en México. Las partes aéreas de la planta (secas, 1.5 Kg), fueron extraídas con MeOH (20 L) a temperatura ambiente durante siete días. El disolvente se evaporó a vacío (presión reducida), obteniendo 300 g de extracto, al cual se le hicieron particiones con MeOH-agua (4:1) y benceno-hexano (1.1). La parte polar se concentró y se extrajo con CH₂Cl₂ y AcOEt.

Del extracto de AcOEt se obtuvieron aproximadamente 3 g de un producto cristalino (mezcla en ccf). Sucesivas cromatografías en columna a vacío (malla 60), usando CH₂Cl₂ como eluyente y aumentando la polaridad con MeOH, lograron separar parcialmente a los productos, observándose en ccf sólo dos de ellos principalmente.

Mediante cromatografía en columna relámpago (malla 230-400), empleando los mismos eluyentes, se lograron purificar estos dos productos.

De las fracciones eluidas con MeOH al 1.0% en CH₂Cl₂ se obtuvo un sólido blanco cristalino (600 mg) con *mp* de 235-239°C y que corresponde al Gomfósido *I*, de acuerdo a las siguientes características espectroscópicas:

IR(nujol) λ_{\max} cm⁻¹ = 3510(-OH), 1780 y 1714(β-butenólida), 1616(doble ligadura).
[espectro 1A, pag 54]

RMN¹H (CDCl₃-DMSO_{d6}) δ(ppm)= 5.84(s,1H,H-22), 4.74(s,1H,H-1'), 5.04(dd, J=18 y 1.5Hz, H-21a) y 4.82(dd, J=18 y 1.5Hz, H-21b), 3.63(t,1H,H-3'), 1.21(d,3H,J=6.26Hz, H-6'), 0.87 (s,6H,H-18 y H-19). [espectro 1B, pag 55]

De las fracciones eluidas con MeOH al 2% en CH_2Cl_2 , se aisló un sólido blanco cristalino (400 mg) con pf de 255-260°C y que corresponde al Afrósido **II**, de acuerdo a las siguientes características espectroscópicas:

IR(nujol) λ_{max} cm^{-1} = 3454(-OH), 1772 y 1727(β -butenólida), 1632(doble ligadura).

$\text{RMN}^1\text{H}(\text{CDCl}_3\text{-DMSO}d_6)$ $\delta(\text{ppm})$ = 5.84(s,1H,H-22), 4.78(s,1H,H-1'), 5.09(dd,1H,J=18 y 1.5Hz, H-21a) y 4.83(dd,1H,J=18 y 1.5Hz, H-21b), 1.26(d,3H,J=6.15Hz,H-6'), 0.94(s,3H,H-18), 0.89(s,3H,H-19). [espectro 1C, pag 56]

Por otra parte, en un estudio realizado¹ en *A linaria* recolectada en el Estado de México (municipio de Texcoco), y tratada bajo las mismas condiciones, se aislaron en su gran mayoría (a partir de partes aéreas 1.8 Kg y se obtienen 318 g del extracto metanólico), Gomfósido **I** (700 mg), con las características espectroscópicas antes mencionadas. El eluyente fue el mismo (MeOH al 1.0% en CH_2Cl_2).

Mientras que, la elución con MeOH al 2% en CH_2Cl_2 , mostró un producto blanco cristalino (900 mg), cuyo pf fue de 257-261°C, y que corresponde a la Calactina **III**, en base a los datos espectroscópicos siguientes:

IR(nujol) λ_{max} cm^{-1} = 3432(-OH), 2720(-HC=O), 1770 y 1727(β -butenólida), 1631(doble ligadura).

$\text{RMN}^1\text{H}(\text{CDCl}_3\text{-DMSO}d_6)$ $\delta(\text{ppm})$ = 10.0(s,1H,H-19), 5.87(s,1H,H-22), 4.74(s,1H,H-1'), 5.08(dd,1H,J=18Hz y 1.5Hz, H-21a) y 4.88(dd,1H,J=18Hz y 1.5Hz, H-21b), 1.24(d,3H,J=6.10Hz,H-6'), 0.85(s,3H,H-18). [espectro 1D, pag 57]

7.2.- Preparación del Ácido 2-Yodoxibenzóico (IBX)^{11,22,23}

El bromato de potasio (890mg, 5.3mmol) se adicionó lentamente y por un lapso de 0.5 h aproximadamente, a una mezcla agitada vigorosamente de ácido 2-yodobenzóico (1g, 4.4mmol) y 8.2mL de H₂SO₄ 0.73M, colocada en un baño a 55°C. La mezcla se agitó por 3.5 h, sin que la temperatura sobrepasara los 65°C. La mezcla se enfrió en un baño de hielo y el producto formado se filtró a vacío, se lavó con agua hasta pH neutro, y luego se lavó con acetona y etanol sucesivamente. El producto obtenido, pf 265-268°C, amarillo pálido, correspondió al ácido 2-yodosobenzóico, y que muestra la siguiente característica espectroscópica.

$$\text{IR}(\text{nujol}) \lambda_{\text{max}} \text{ cm}^{-1} = 1611(\text{IOC}=\text{O})^{26,27}.$$

El producto obtenido (ácido 2-yodosobenzóico), se disolvió en una solución de hipoclorito de sodio comercial al 5% (10mL), y se agitó durante 1 h. Luego se enfrió en un baño de hielo, se agregó gota a gota H₂SO₄ concentrado (0.5mL), y el sólido formado se filtró a vacío, lavando con agua hasta pH neutro. Posteriormente se lavó con acetona y después con etanol, obteniendo un producto con pf 235-236°C, y rendimiento de 89%, que correspondió al ácido 2-yodoxibenzóico (pf lit 232-233°C), y que muestra las siguientes características espectroscópicas:

$$\text{IR}(\text{nujol}) \lambda_{\text{max}} \text{ cm}^{-1} = 1639(\text{IOC}=\text{O})^{26,27}.$$

$$\text{RMN}^1\text{H}(\text{DMSO}_{d_6}) \delta(\text{ppm}) = 8.14(\text{d}, 1\text{H},), 8.03(\text{d}, 1\text{H},), 7.99(\text{t}, 1\text{H}), 7.84(\text{t}, 1\text{H},)^{26,27}.$$

7.3.- Transformaciones Químicas del Gomfósido

7.3.1) Reacción por Brominólisis del Derivado Estanilado

El Gomfósido *I* (100mg, 0.193mmol) y el óxido de dibutilestaño (52.2mg, 0.210mmol), fueron colocados en benceno (25mL) y refluídos durante 24 h, acondicionado con un equipo Dean-Stark, para remover el agua formada. El benceno se evaporó en un rotavapor al vacío, hasta obtener un volumen aproximado de 5mL. Se agregó tamiz molecular de 4Å (1g) y CH₂Cl₂ (2mL). Una solución de bromo (bromo -320mg, 2mmol- en 5mL de CH₂Cl₂) fue agregada gota a gota a la velocidad de una titulación, a la solución del derivado estaniado agitada vigorosamente. El volumen agregado de la solución de bromo fue de 0.8mL (bromo 51.2mg, 0.32mmol).

La mezcla de reacción se filtro a través de algodón, lavando con una mezcla de CH₂Cl₂ - MeOH, y evaporando hasta sequedad. El residuo se cromatografió en columna relámpago (sílica gel malla 230-400), usando CH₂Cl₂ como eluyente y aumentando la polaridad con MeOH.

La elución con 0.5% de MeOH en CH₂Cl₂ mostró un producto blanco cristalino, soluble en CH₂Cl₂ y que se recristalizó de hexano-AcOEt, pf 188-192°C, con un rendimiento de 83%, y que mostró las siguientes características espectroscópicas:

$$[\alpha]_{D}^{20} = -35^{\circ}$$

$$UV(CHCl_3) \lambda_{max} \text{ nm } (\epsilon) = 218 (13229)$$

$$IR(CHCl_3) \lambda_{max} \text{ cm}^{-1} = 3460(-OH), 1771 \text{ y } 1745(\beta\text{-butenólida}), 1622(\text{doble ligadura}).$$

[espectro 2A, pag 58]

RMN¹H(CDCl₃) δ(ppm)= 5.87(s,1H,H-22), 4.89(s,1H,H-1'), 4.96(dd,1H,J=18.3 y J=1.5,H-21a), 4.78(dd,1H,J=18.3 y J=1.5,H-21b), 4.48(dq,1H,H-5'), 3.79(s,3H,H-OMe), 3.57(ddd,1H,H-2), 3.25(ddd,1H,H-3), 2.76(dd,1H,H-17), 1.40(d,3H,J=6.3,H-6'), 0.87(s,3H,H-18), 0.80(s,3H,H-19). [espectro 2B, pag 59]

EM(FAB⁺) m/z (% abundancia relativa)= 549(M⁺+1)(17), 159(100), 99(44), 136(25), 41(12), 355(10), 531(5), 245(2). [espectro 2G, pag 64]

HRMS (Espectrometría de Masas de Alta Resolución)=Calculado C₃₀H₄₅O₉ (549.3064); Observado C₃₀H₄₅O₉ (549.3046).

Nombre asignado: **Ester metílico del ácido gomfosídico (GOxSn1)⁸**

Una segunda reacción fue realizada bajo las mismas condiciones, excepto que se agregó 2mL de MeOH¹³ durante el reflujo y, a partir de la brominólisis, no se empleó nada de MeOH. El eluyente en este caso fue CH₂Cl₂ y se aumentó la polaridad con acetona.

La elución con 2% de acetona en CH₂Cl₂ mostró un producto blanco cristalino, insoluble en CH₂Cl₂, pero soluble en CH₂Cl₂-MeOH y que se recristalizó de AcOEt-MeOH, pf 295-299°C, un rendimiento de 87%, y que muestra las siguientes características espectroscópicas:

$$[\alpha]_{D}^{20} = +45^{\circ}$$

$$UV(CHCl_3-MeOH 1:1) \lambda_{max} \text{ nm } (\epsilon) = 217.5 (14073)$$

IR(nujol) $\lambda_{max} \text{ cm}^{-1} = 3457(-OH), 1774 \text{ y } 1741(\beta\text{-butenólida}), 1623(\text{doble ligadura})$. [espectro 3A, pag 65]

RMN¹H(CDCl₃-DMSO-*d*₆) δ(ppm)= 5.78(s,1H,H-22), 5.04(s,1H,H-1'), 4.94(dd,1H,J=18.3 y J=1.5,H-21a), 4.76(dd,1H,J=18.3 y J=1.5,H-21b), 4.85(td,1H,H-2), 4.10(dq,1H,H-5'), 3.53(td,1H,H-3), 2.70(dd,1H,H-17), 1.21(d,3H,J=6.0,H-6'), 0.84(s,3H,H-18), 0.79(s,3H,H-19). [espectro 3B, pag 66]

EM(EI⁺) m/z (% abundancia relativa)= 516(M⁺)(9), 44(100), 355(39), 373(28), 239(16), 313(14), 498(5), 407(4), 470(3) [espectro 3G, pag 71]

HRMS (Espectroscopia de Masas de Alta Resolución)=Calculado C₂₉H₄₁O₈ (517.2801); Observado C₂₉H₄₁O₈ (517.2816)

Nombre asignado: **2'-gomfosólida (GOxSn2)**

7.3.2) Acetilación del GOxSn1

El producto GOxSn1 (20mg,0.036mmol), se agregó a una solución vigorosamente agitada de piridina (0.5mL) y anhídrido acético (0.5mL), a temperatura ambiente y bajo condiciones anhidras.

A las 24 h de reacción, la cef mostraba un solo producto (menos polar que la materia prima) La mezcla de reacción se llevó a sequedad al vacío, se agregó agua y se agitó durante 10 min Posteriormente se extrajo con AcOEt, lavando con HCl al 10%, con NaHCO₃ al 10% y con salmuera, sucesivamente hasta pH neutro. La fase orgánica se secó sobre CaCl₂, se filtró y se llevó a sequedad, purificando el producto obtenido por cromatografía. El eluyente empleado fue hexano y aumentando la polaridad con AcOEt

De la elución al 15% de AcOEt en hexano de esta cromatografía, se obtuvo un producto puro que cristalizó de hexano- CH₂Cl₂, con pf de 169-175°C y con un rendimiento de 85%, cuyas características espectroscópicas se muestran a continuación

$$[\alpha]_D^{20} = -60^\circ$$

$$\text{UV}(\text{CHCl}_3) \lambda_{\text{max}} \text{ nm } (\epsilon) = 217.5(13877)$$

$$\text{IR}(\text{CHCl}_3) \lambda_{\text{max}} \text{ cm}^{-1} = 1743(\beta\text{-butenólida}), 1622(\text{doble ligadura}).$$

$\text{RMN}^1\text{H}(\text{CDCl}_3) \delta(\text{ppm}) = 5.88(\text{s}, 1\text{H}, \text{H}-22), 5.12(\text{s}, 1\text{H}, \text{H}-1'), 5.01(\text{dd}, 1\text{H}, J=18 \text{ y } J=1.5, \text{H}-21\text{a}), 4.82(\text{dd}, 1\text{H}, J=18 \text{ y } J=1.5, \text{H}-21\text{b}), 4.88(\text{m}, 1\text{H}, \text{H}-2), 4.30(\text{dq}, 1\text{H}, \text{H}-5'), 3.73(\text{s}, 3\text{H}, \text{H}-\text{OMe}), 3.61(\text{ddd}, 1\text{H}, \text{H}-3), 2.76(\text{dd}, 1\text{H}, \text{H}-17), 2.10(\text{s}, 3\text{H}, \text{CH}_3 \text{ del } \text{AcO}-3'), 2.04(\text{s}, 3\text{H}, \text{CH}_3 \text{ del } \text{AcO}-2), 1.32(\text{d}, 3\text{H}, J=6.2, \text{H}-6'), 0.86(\text{s}, 3\text{H}, \text{H}-18), 0.85(\text{s}, 3\text{H}, \text{H}-19).$
 [espectro 4A. pag72]

$\text{EM}(\text{FAB}^+) \text{ m/z } (\% \text{ abundancia relativa}) = 633(\text{M}^++1)(15)$ que corresponde con una fórmula molecular de $\text{C}_{34}\text{H}_{48}\text{O}_{11}$, 201(100), 135(40), 355(4), 220(2), 523(2), 432(1). [espectro 4E. pag 76]

Nombre asignado. **Diacetato del éster metílico del ácido gomfosídico (GOxAcO)**

7.3.3) Reacción con IBX en DMSO

El IBX (39mg, 0.103mmol), se disolvió en 1mL de DMSO. Posteriormente se agregó el Gomfósido I (50mg, 0.096mmol) agitando la mezcla de reacción durante 24 h a temperatura ambiente. En ccf, se observaron dos productos: la materia prima sin reaccionar y un producto menos polar que ésta. Se agregó agua y se filtró a vacío, agregando CH_2Cl_2 para disolver la fase orgánica. El CH_2Cl_2 se eliminó con ligero calentamiento y la fase acuosa se extrajo con AcOEt, lavando con NaHCO_3 y con salmuera hasta pH neutro. La fase orgánica se secó con CaCl_2 , se filtró y se evaporó a sequedad al vacío.

El sólido obtenido se cromatografió en columna relámpago, eluyendo con CH_2Cl_2 y aumentando la polaridad con acetona. Al eluir con 3% de acetona en CH_2Cl_2 , se observó un

producto puro en ccf, que recristalizó de AcOEt-MeOH, obteniendo un sólido blanco cristalino con pf de 296-299°C y un rendimiento de 90%, y cuyas características espectroscópicas son idénticas al producto obtenido en la segunda reacción del Gomfósido y la brominólisis de derivados estanilados (GOxSn_2).

7.4.- Transformaciones Químicas del Afrósido

7.4.1 Reacción por Brominólisis del Derivado Estanilado

El Afrósido **II** (100mg, 0.188mmol) y el óxido de dibutilestaño (102mg, 0.412mmol), fue tratado bajo las mismas condiciones que la primera reacción del Gomfósido y la brominólisis de derivados estanilados. El volumen agregado de la solución de bromo (bromo 70mg, 0.437mmol en 5mL de CH_2Cl_2) fue de 2.1mL (bromo 30mg, 0.187mmol).

Los productos obtenidos durante la cromatografía relámpago en columna no se lograron purificar aún usando posteriormente cromatografía en placa preparativa o con una nueva columna relámpago.

7.4.2) Reacción con IBX en DMSO

La metodología fue similar a la reacción del Gomfósido y el IBX, excepto que la cantidad de IBX empleada fue de 76mg (0.2mmol), agregando 50mg (0.093mmol) de Afrósido.

Al igual que en la reacción con el derivado de estaño y posterior brominólisis, los productos obtenidos no se lograron purificar mediante cromatografía relámpago ni por placa preparativa.

7.5.- Transformaciones Químicas de la Calactina

7.5.1) Reacción por Brominólisis del Derivado Estanilado

La Calactina *III* (100mg, 0.108mmol) y el óxido de dibutilestaño (51mg, 0.206mmol), fueron tratados de igual modo que el Afrósido y la brominólisis de derivados estanilados. El volumen agregado de la solución de bromo (bromo 106mg, 0.647mmol en 5mL de CH₂Cl₂) fue de 2.8mL (bromo 59.3mg, 0,358mmol).

Al igual que la reacción con el Afrósido, en ccf se observaban al menos 4 productos. La mezcla de reacción no se logró purificar, aún y cuando se uso placa preparativa y realizando una nueva columna relámpago con mezcla de diferente eluyentes (CH₂Cl₂-AcOEt, CH₂Cl₂-acetona, hexano-AcOEt).

7.5.2) Reacción con IBX en DMSO

La metodología fue similar a la de la reacción del Afrósido y el IBX, excepto que la cantidad de IBX fue de 38mg (0.1mmol) y 50mg (0.094mmol) de Calactina.

Los resultados no fueron satisfactorios, como en el caso de la reacción de la Calactina y la brominólisis de derivados estanilados o la reacción del Afrósido y el IBX. No se logró aislar producto alguno, aún empleando diversas mezclas de disolventes para eluir la columna relámpago.

DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Las asclepinas empleadas para las transformaciones químicas fueron aisladas de la planta *Asclepias linaria*, que se recolectó, por primera instancia en el municipio de Salinas, en el estado de San Luis Potosí (México) en 1995, de la cual se aisló Gomfósido *I* (0.7 g) y Afrósido *II* (0.4 g). Mientras que, de la recolección de la planta *A. linaria*¹ en el municipio de Texcoco, en el estado de México (México), se aisló Gomfósido *I* (0.6 g) y Calactina *III* (0.9 g).

El aislamiento de estas asclepinas, fue realizado en base al procedimiento mostrado en el cuadro siguiente¹.

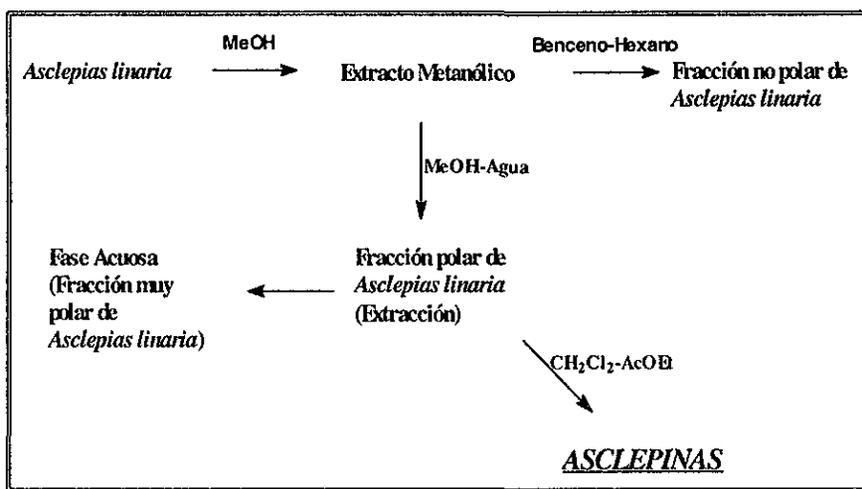


Figura 7 Aislamiento de algunas asclepinas de *A. linaria*¹

Una vez aisladas y purificadas estas asclepinas (Gomfósido *I*, Afrósido *II* y Calactina *III*), se llevaron a cabo las transformaciones químicas, iniciando con el Gomfósido *I*, debido a que presenta una estructura similar a la labriformina.

Para la reacción del Gomfósido *I* y $n\text{Bu}_2\text{SnO}$, se colocaron en benceno y se refluyeron durante 24 h, equipado con un sistema Dean-Stark. Al inicio del reflujo, la mezcla era tur-

bia, mientras que a las 18-24 h, todo estaba disuelto debido a la formación del derivado estanilado¹² (Figura 8).

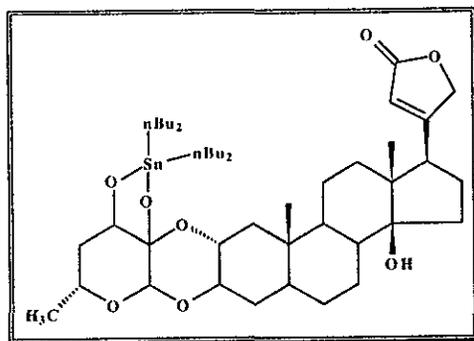


Figura 8 Formación del derivado estanilado

La característica del derivado estanilado (formación del estanilcetal), es que es un intermediario soluble en benceno¹³.

Se agregó tamiz molecular de 4Å y 5mL de CH₂Cl₂. La mezcla fue agitada vigorosamente y posteriormente se agregó el bromo (en CH₂Cl₂), gota a gota, observando la decoloración. Al momento en que se agregó el volumen calculado estequiométricamente, se formó un producto cristalino en la mezcla de reacción. La ccf de la mezcla mostraba la presencia de únicamente dos productos. Uno de ellos, el Gomfósido sin reaccionar, y el otro producto era menos polar que el mismo Gomfósido. La mezcla se filtró usando mezcla de CH₂Cl₂ - MeOH para disolver el producto. Se eliminó el benceno llevando a sequedad al vacío y posteriormente se cromatografió en columna relámpago.

La elución con MeOH al 0.5% en CH₂Cl₂, mostró en ccf un producto puro, que al recristalizar (hexano-AcOEt) se obtuvo un producto blanco cristalino, soluble en CH₂Cl₂ y cuyo pf fue de 187-193°C.

El espectro de IR [*espectro 2A, pag 58*] muestra bandas en 3460cm^{-1} , debido a grupos oxhidrilos; además, bandas en 1771cm^{-1} y 1745cm^{-1} (β -butenólida), así como en 1622cm^{-1} (doble ligadura), que corresponden a la γ -lactona α,β -insaturada.

El espectro de RMN¹H (CDCl₃) [*espectro 2B, pag59*], muestra un singulete en 5.87ppm, que se asigna al protón H-22. Se observa el sistema AB de los protones diastereotópicos de la γ -lactona en 4.96ppm ($J=18\text{Hz}$ y 1.5Hz , H-21a) y en 4.78ppm ($J=18\text{Hz}$ y 1.5Hz , H-21b). Estos datos (IR y RMN) indican que la lactona α,β -insaturada no sufrió cambio alguno.

En 0.87ppm se observa un singulete que integra para tres protones, asignado al metilo H-18. Se observa otro singulete (3H) en 0.80ppm que se debe a los protones H-19. En 2.76ppm se observa una señal que, comparando con el Gomfósido, indican que se debe al protón H-17. Esto indica que la aglicona, en general, no sufrió ningún cambio, por lo que, la transformación ocurrió en la parte glicosídica del Gomfósido.

La señal singulete del protón H-1' (4.89ppm), se observa desplazada ligeramente a campo bajo con respecto al Gomfósido (4.74ppm). En 3.57 se observa una señal que se debe al protón H-2, desplazado a campo alto con respecto al Gomfósido (4.01ppm). También se asigna la señal que aparece en 3.25ppm del protón H-3, desplazada a campo alto con respecto al Gomfósido (4.02ppm). Una nueva señal (singulete) aparece en 3.79ppm, que integra para tres protones, y que según el desplazamiento²⁸, indica un grupo metilo asociado a una base oxigenada (grupo metoxilo: -OMe), que no se observaba en la materia prima. Además desaparece la señal asignada al protón H-3', que en el Gomfósido aparecía en 3.63ppm. Estos datos indican que efectivamente, ocurrió alguna transformación en el carbono C-3' (*Tabla E*).

En el espectro de correlación heteronuclear ¹H,¹³C a larga distancia (2-3 ligaduras) [*espectro 2F, pag 63*], se observa que los protones del grupo -OMe (que integra para 3H, 3.79ppm) correlaciona a larga distancia con el carbono C-23 (171.8ppm) lo que según esto, indica que este grupo -OMe reaccionó en la lactona α,β -insaturada. Esto es imposible, pues

analizando el espectro de IR [espectro 2A, pag 58], RMN¹H [espectro 2B, pag 59] y el de RMN¹³C [espectro 2C, pag 60 y *Tabla F*], las señales de la lactona permanecen sin cambio. En el espectro de IR se observa sin alteración la β -butenólida, característico para estos productos. En el espectro de RMN¹H, el protón H-22 y el sistema AB (protones H-21a y H-21b), no sufren cambio. En la tabla de RMN¹³C, los carbonos C-20, C-21, C-22 y C-23, no varían mucho su desplazamiento químico con respecto al Gomfósido.

TABLA E RMN¹H para el Gomfósido y los productos obtenidos en las *Transformaciones Químicas*

PROTÓN	GOMFÓSIDO	3'-DEHIDRO GOMFÓSIDO *	GOxSn1	GOxSn2	GOxAcO
1'	4.74	4.65	4.89	5.04	5.12
3'	3.63	-	-	-	-
5'	4.20	3.70	4.48	4.10	4.30
6'	1.21	1.41	1.40	1.21	1.32
2	4.01		3.57	4.85	4.88
3	4.02		3.25	3.53	3.61
4			2.34, 2.12	2.29, 2.10	
17	2.79	2.70	2.76	2.70	2.76
18	0.87	0.87	0.87	0.84	0.86
19	0.87	0.87	0.80	0.79	0.85
21	5.04, 4.82	5.0, 4.8	4.96, 4.78	4.94, 4.76	5.01, 4.82
22	5.84	5.85	5.87	5.78	5.88
-OMe			3.79		3.73
CH ₃ de AcO-3'					2.10
CH ₃ de AcO-2					2.04

* Producto oxidado en 3' (hidroxicetona), aislado naturalmente de la familia *Asclepiadaceae*

Esta correlación hace suponer que existen dos señales con ese desplazamiento químico en RMN¹³C (171.8ppm). La señal corresponde para los carbonos C-23 y C-3'; esta última debido a que no se observa en el espectro la base oxigenada correspondiente en la zona de carbonos sp³.

TABLA F RMN¹³C para el Gomfósido y los productos obtenidos en las Transformaciones Químicas

Nº CARBONO	GOMFÓSIDO	3º DEHIDRO GOMFÓSIDO*	G0xSn1	G0xSn2	G0xAcO
1'	94.1	97.3	109.7	102.4	104.6
2'	90.1	91.3	171.8	170.6	170.3
3'	70.4	202.0	85.3	86.1	89.4
4'	39.2	45.0	40.1	43.2	39.5
5'	65.7	67.8	76.2	72.3	75.7
6'	20.5	21.3	21.9	19.6	22.2
1	41.8	42.0	44.2	41.7	42.4
2	68.9	69.6	70.3	73.2	72.6
3	72.0	72.8	86.6	77.2	78.2
4	31.8	32.1	33.0	29.5	32.3
5	44.4	44.8	44.1	43.4	43.5
6	27.4	27.9	27.6	26.8	27.5
7	27.0	27.3	27.2	26.4	27.0
8	40.1	40.6	41.0	39.5	40.8
9	49.3	49.8	49.6	48.2	49.4
10	37.4	38.1	36.8	36.5	37.1
11	20.9	21.3	21.2	20.4	21.1
12	39.2	39.7	39.7	38.3	37.9
13	49.3	49.8	49.5	48.8	49.4
14	84.3	84.9	84.4	83.1	85.3
15	32.3	32.5	33.5	31.6	32.9
16	26.4	27.0	26.8	25.9	26.7
17	50.4	50.9	50.7	49.8	50.6
18	15.4	15.7	15.7	15.0	15.6
19	13.4	13.6	13.1	12.6	12.7
20	174.8	176.1	174.4	174.9	174.4
21	73.1	74.0	73.4	72.5	73.3
22	116.9	117.2	117.6	116.1	117.6
23	174.1	175.8	171.8	173.2	169.7
-OMe	-		52.6		52.4
CH ₃ de-AcO-C2	-				20.8
CH ₃ de-AcO-C3'	-				21.3
CO de AcO-2	-				169.7
CO de AcO-3'	-				174.3

* Producto oxidado en 3' (hidroxicetona), aislado naturalmente de la familia *Asclepiadaceae*

Datos bibliográficos importantes indican que la apertura del azúcar en el carbono C-2' en productos similares al Gomfósido, fue descrita por Reichstein en 1969⁸, empleando ácido bórico. Según lo anterior, se puede proponer que el producto obtenido tiene la siguiente estructura (*Figura 9*):

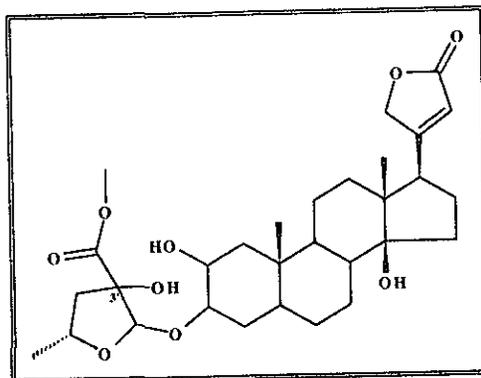


Figura 9 Producto formado en la primera reacción del Gomfósido y el $n\text{-Bu}_2\text{SnO}/\text{Br}_2$ (GOxSn1)

En base al mismo planteamiento que mostró Reichstein, el mecanismo de reacción propuesto para la obtención de este producto, considerando en primera instancia que el producto fue oxidado, se muestra a continuación (*Figura 10*).

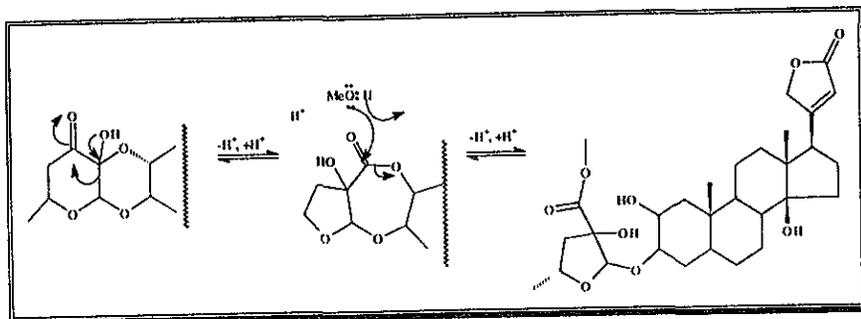


Figura 10 Mecanismo de reacción propuesto para la formación del GOxSn1

Según el mecanismo de reacción, el MeOH agregado durante la disolución del producto cristalino, tiene mucho que ver con la formación de este producto. Se cree que el producto oxidado ya se había formado, pero por la presencia del medio ácido (HBr) y la presencia de MeOH, tiene lugar la metanólisis de la lactona de 7 miembros para la formación del éster metílico.

La base más importante para determinar que efectivamente se formó el producto cuya estructura se describió anteriormente, se puede observar en el espectro de masas [*espectro 2G, pag 64*]. El ion molecular $[M^+ + 1]$ correspondiente al producto es de 549. La fragmentación de la molécula es congruente con la estructura (*Figura 11*); así, los fragmentos que se observan en $159m/z^8$ (100%) y $99m/z^8$ (45%), confirman la estructura propuesta, pues corresponden a la fracción del azúcar.

La espectrometría de masas de alta resolución (HRMS), indica que el peso molecular real es de 549.3046 (calculado 549.3064), que corresponde con una fórmula molecular de $C_{30}H_{44}O_9$. El espectro UV muestra absorción a 218nm ($\epsilon=13229$), característico de la lactona α,β -insaturada. La rotación específica ($[\alpha]^{20}_D$) es de -35° .

El nombre trivial dado a esta estructura es **éster metílico del ácido gomfosídico**, debido a que Reichstein había logrado obtener un producto similar con anterioridad, pero a partir de la Calactina (denominado éster metílico del ácido calactínico⁸).

Como se mencionó anteriormente, el MeOH tuvo mucho que ver en la formación de este producto, por lo que se realizó una nueva reacción con el Gomfósido y el derivado estaniado con posterior brominólisis.

Las condiciones de trabajo fueron las mismas que la reacción anterior, excepto que:

- 1.- Durante el reflujo se agregaron 2mL de MeOH (formación de un derivado $nBuSn$ -MeOH más soluble)¹³.

2.- Al momento en que se formó el producto cristalino, se disolvió con CH_2Cl_2 - acetona.

3.- Al momento de realizar la cromatografía, se aumentó la polaridad con acetona.

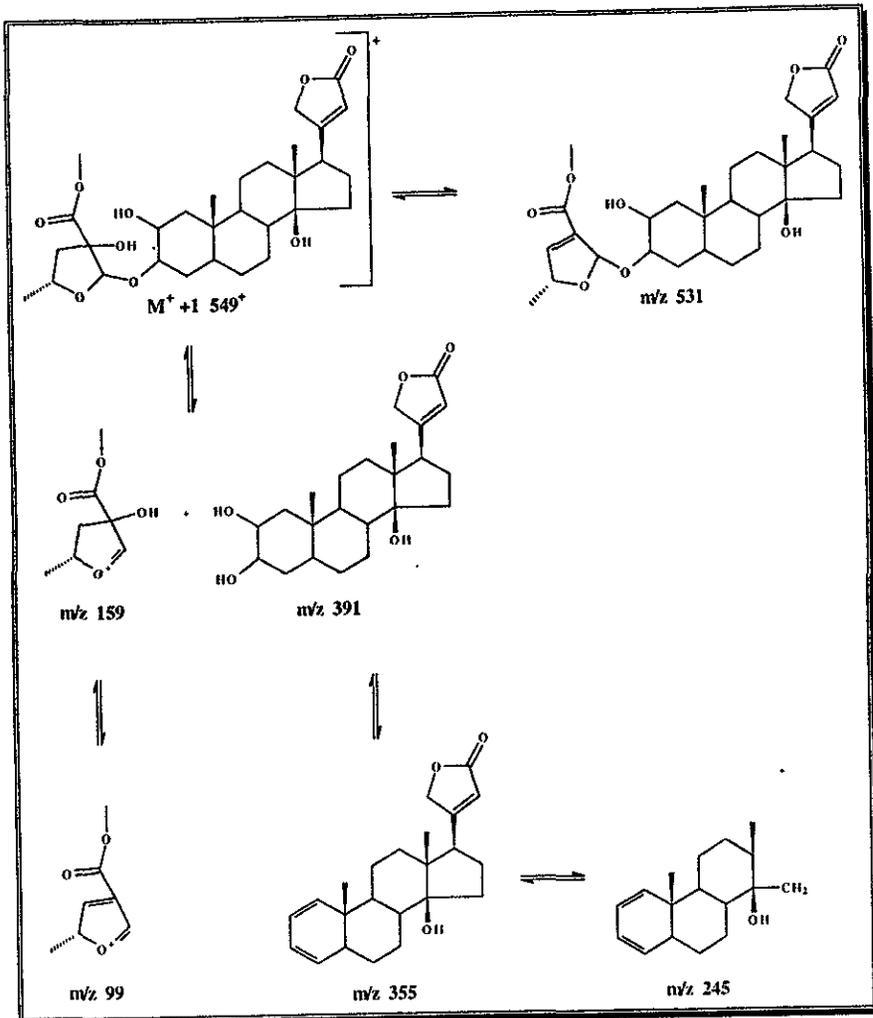


Figura 11 Fragmentación propuesta para GOxSn1 en EM

Al eluir con acetona al 1.5% en CH_2Cl_2 , se obtuvo un producto que en ccf, mostraba el mismo R_f que GOxSnI , lo que hizo suponer que se había formado lo mismo. El producto se recrystalizó en CH_2Cl_2 -hexano, obteniendo un producto blanco cristalino con pf de 295-300°C (muy diferente al GOxSnI). Este producto no era soluble en CH_2Cl_2 , como era el caso del GOxSnI . Se evitó completamente el uso del MeOH.

En el espectro de IR [*espectro 3A, pag 65*] se observan bandas en 3457cm^{-1} , que se deben a los grupos oxhidrilo. En 1774cm^{-1} y 1741cm^{-1} , se observan bandas debidas a la β -butenólida. Además, en 1623cm^{-1} está la banda que corresponde a la doble ligadura, que asociado a la β -butenólida, muestran la presencia de la γ -lactona α,β -insaturada.

En el espectro de RMN^1H [*espectro 3B, pag 66*] se observa una señal (singulete) en 5.78ppm, que corresponde al protón H-22; se observa la parte AB de la lactona, que es la parte AB de un sistema ABX en 4.94ppm ($J=18\text{Hz}$ y 1.5Hz , H-21a) y 4.76ppm ($J=18\text{Hz}$ y 1.5Hz , H-21b). Una señal se observa en 2.70, que se debe al protón H-17. Se observan dos singuletes que integran para tres protones cada uno: los protones del metilo 18 (0.84ppm) y los del metilo 19 (0.79ppm). Esto indica que, al igual que la primera reacción, la aglicona no sufrió cambio alguno.

Un singulete se observa en 5.04ppm que, asignado al protón H-1', está desplazado a campo bajo con respecto al Gomfósido (4.74ppm) y al GOxSnI (4.89ppm). El protón H-2 (4.85ppm), se desplaza a campo bajo, con respecto al Gomfósido (4.01ppm), y no a campo alto como en GOxSnI (3.57ppm). El protón H-3 permanece casi constante (3.53ppm), con respecto a GOxSnI (*Tabla E*). A diferencia de la reacción de formación de GOxSnI , no se observa el metoxilo ni el protón H-3'. Esto hace indicar que efectivamente se formó un producto de oxidación, sin tener más datos precisos.

La espectrometría de masas muestra que el producto de la segunda reacción tiene un M^+ de 516, que concuerda con la masa molecular esperada del producto oxidado en el carbono 3' (formación del carbonilo).

En el espectro de RMN^{13}C [espectro 3C, pag 67 y **Tabla F**], se observa que el producto obtenido en esta segunda reacción es diferente al esperado. El carbono C-2' tiene un desplazamiento de 170.6ppm, lo que indica que corresponde a un carbonilo de éster (R-COO-R) y no a un carbonilo cetónico (R-CO-R)²⁹.

En el espectro de correlación heteronuclear $^1\text{H}, ^{13}\text{C}$ a larga distancia (2 y 3 ligaduras) [espectro 3F, pag 70], se observa que el carbono C-2' (170.6ppm) correlaciona a larga distancia (3 ligaduras), con el protón H-4'b, lo que indica reacción en la parte glicosídica de la molécula.

En base a los datos espectroscópicos mencionados anteriormente, así como a los antecedentes de que el producto oxidado se puede abrir en posición C-2', y con respecto a la reacción GOxSnI , se planteó que el producto obtenido presenta la siguiente estructura (**Figura 12**):

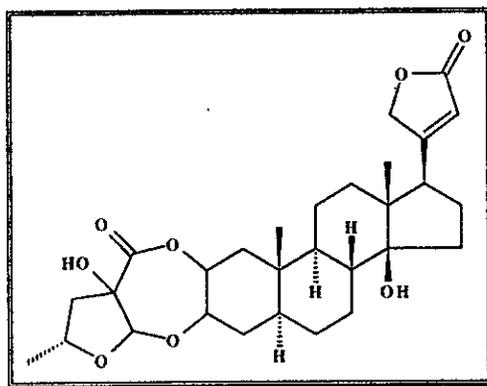


Figura 12 Producto formado en la segunda reacción del Gomfósido y el $n\text{Bu}_3\text{SnO}/\text{Br}_2$ (GOxSn2)

El mecanismo de reacción propuesto para la formación de este producto, se muestra a continuación (**Figura 13**).

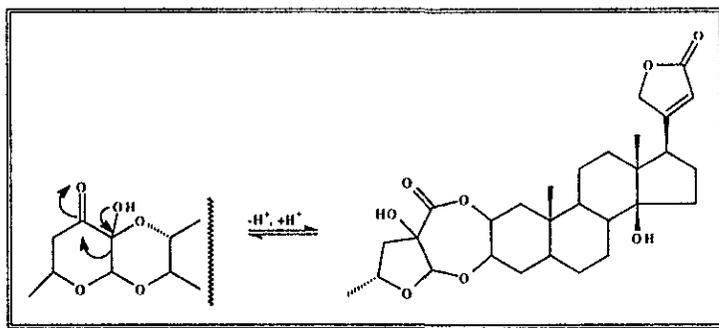


Figura 13 Mecanismo de reacción propuesto para la formación del GOxSn2

Nuevamente, la espectrometría de masas [*espectro 3G, pag 71*] permite determinar que la estructura propuesta corresponde al producto obtenido. Esto se observa en los fragmentos 44m/z (100%) y 373m/z (30%), que corresponden a la pérdida de CO₂ y de la parte glucosídica, respectivamente, como se muestra a continuación (*Figura 14*).

La espectrometría de masas de alta resolución (HRMS) mostró un peso molecular real de 517.2816 (calculado 517.2801), correspondiente a una fórmula molecular de C₂₉H₄₀O₈. El espectro de UV muestra absorción a 217.5nm ($\epsilon=14073$), y la rotación específica ($[\alpha]^{20}_D$), fue de -45°, asignando el nombre a este producto como 2'-gomfosólida.

El estudio que hubiera permitido reconfirmar la estructura así como la estereoquímica relativa, es el estudio de difracción de rayos X de monocristales. Desgraciadamente, probando con diferentes sistemas de disolventes, este producto no formaba cristales adecuados para dicha técnica.

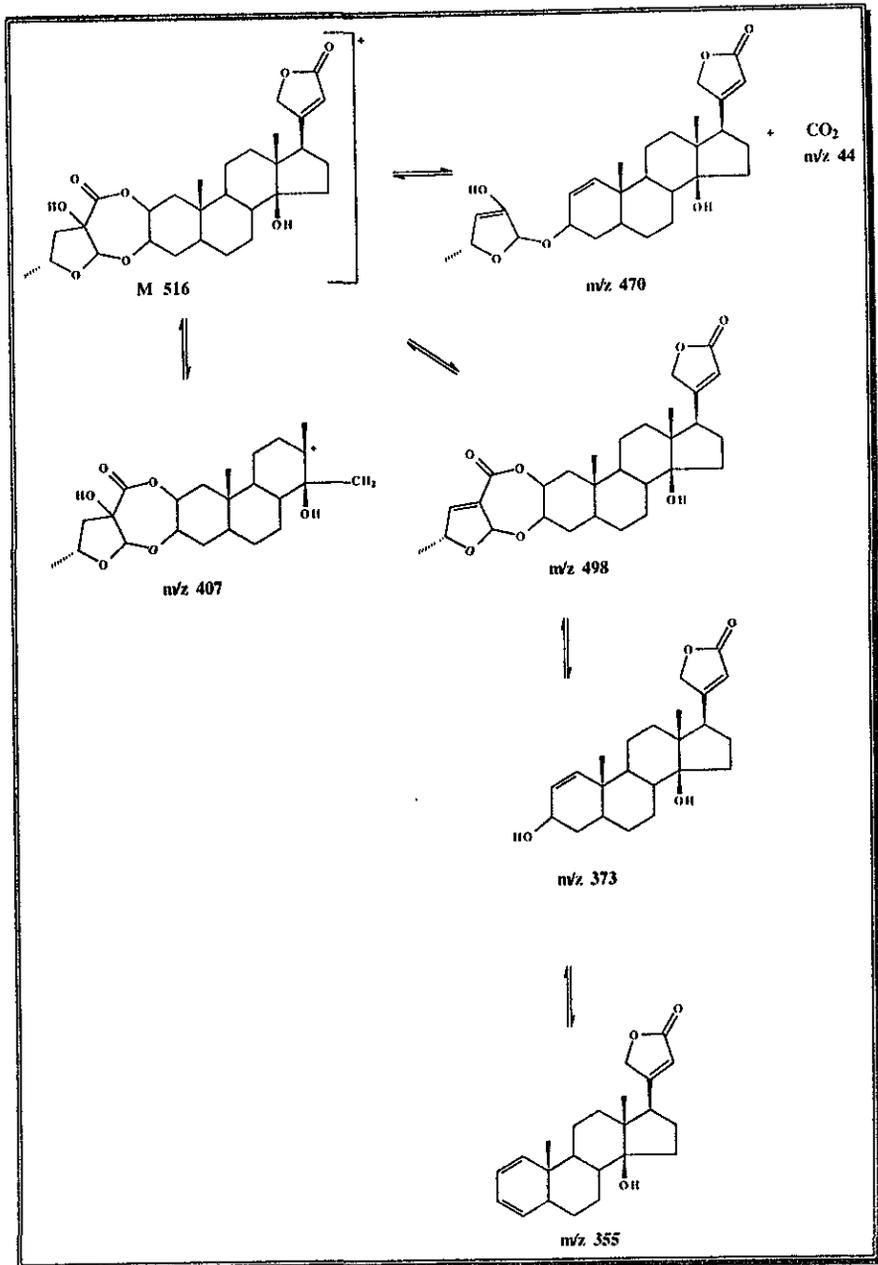


Figura 14 Fragmentación propuesta para GOxSn2 en EM

Para demostrar químicamente la formación del producto propuesto para GOxSn1, se realizó la acetilación del mismo, empleando anhídrido acético y piridina. Una mezcla de GOxSn1, anhídrido acético y piridina fue agitada durante un día a temperatura ambiente en condiciones anhidras. Posteriormente se observó en ccf la presencia de un producto menos polar que la materia prima. Se agregó agua y se evaporó a sequedad. Se realizaron extracciones con AcOEt, lavando con agua, con NaHCO₃ y con salmuera, sucesivamente hasta pH neutro. El producto obtenido se cromatografió en columna relámpago, eluyendo con hexano y aumentando la polaridad con AcOEt.

Al eluir al 15% de AcOEt en hexano, se observó la presencia de un producto que recristalizó de hexano, con *pf* fue de 169-175°C y que muestra las siguientes características espectroscópicas:

En el espectro IR, a diferencia del producto inicial (GOxSn1), no existe la presencia de grupos oxhidrilos. Se observa en 1743cm⁻¹ una banda muy intensa que indica la presencia de grupos carbonilos (C=O), que debido a la gran cantidad de estos grupos, no se aprecia la señal en 1761cm⁻¹ (aproximadamente) debido a la γ -lactona α,β -insaturadas. En 1622cm⁻¹, se observa la banda de la doble ligadura.

En RMN¹H [espectro 4A, pag72], se observa el singulete característico en 5.88ppm, que se debe al protón H-22, y la parte AB de la γ -lactona α,β -insaturada en 5.01ppm (*J*=18Hz y 1.5Hz, H-21a) y en 4.82ppm (*J*=18Hz y 1.5Hz, H-21b), lo que indica que la lactona no se afectó.

Aparece un singulete en 5.12ppm, debido al protón H-1' (1H), así como un singulete que se debe a los protones del metilo -OMe (3.73ppm). Se observan dos señales nuevas, que integran cada una para tres protones (3H). Ambos, por el desplazamiento químico²⁸, indican que se trata del metilo del grupo acetato. Una de estas señales esta en 2.10ppm (protones del metilo del acetato en el carbono C-3', AcO-C3'), y la otra en 2.04ppm (protones del metilo del acetato en el carbono C-2, AcO-C2); esto indica que al parecer, entraron dos grupos

acetato. El protón del carbono C-2, se ve desplazado a campo bajo (4.88ppm), debido al efecto que ejerce el grupo -AcO. De acuerdo a ello, se planteó la estructura siguiente para el producto obtenido (*Figura 15*).

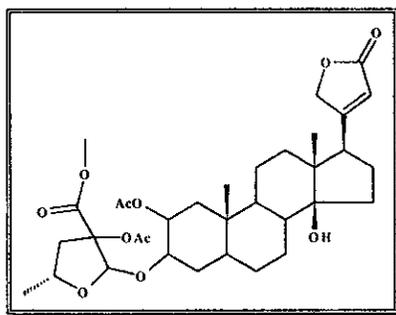


Figura 15 Acetilación de GOxSn1

Según el espectro de masas [*espectro 4E, pag 76*], el ion molecular corresponde a la presencia de dos nuevos grupos en la molécula (acetato) ($M^+ + 1 = 633$), y de acuerdo a las fragmentaciones, los grupos acetato están presentes en las posiciones anteriormente dichas (sobre el carbono C-3' y C-2). Esto se puede observar en la figura **16**, donde el fragmento más abundante (100%) se encuentra en $201^8(m/z)$ (azúcar y un grupo acetato, además de un grupo carbometoxi). Es obvio, pues debido al impedimento estérico que tiene el grupo -OH en la posición C-14, hace menos posible la formación del acetato.

La rotación específica ($[\alpha]^{20}_D$) es de -60° , y su espectroscopia en UV indica una absorción a 217.5nm ($\epsilon=13877$).

Después de realizar las transformaciones químicas con el Gomfósido, se llevó a cabo la reacción con el IBX en DMSO, para lo cual fue necesario preparar este reactivo. (*ver parte experimental*).

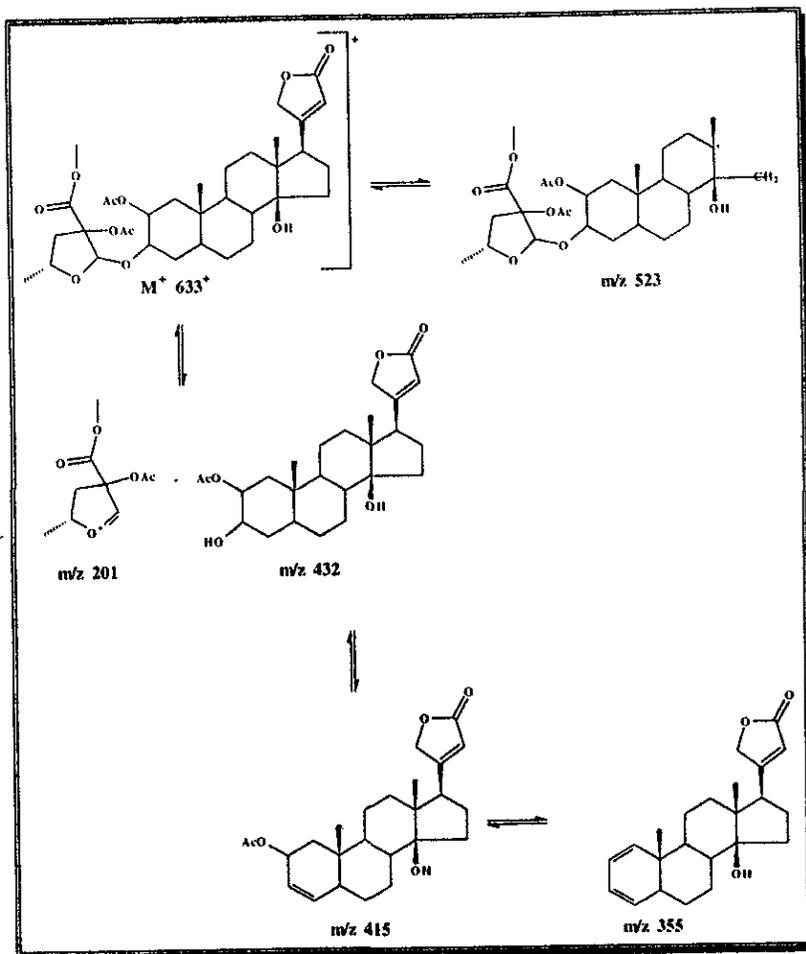


Figura 16 Fragmentación propuesta para GOxAcO en EM

Una vez obtenido el reactivo de IBX, se realizó la reacción de éste con Gomfósido. En la mezcla de reacción se observó, en ccf, la presencia de sólo dos productos. Uno de ellos, el Gomfósido sin reaccionar, y el otro, comparado con GOxSn1 y GOxSn2, tenía el mismo R_f .

La reacción se finalizó agregando agua y filtrando el sólido formado (IBS). La solución fue extraída con AcOEt, lavando con NaHCO_3 y luego con salmuera, hasta pH neutro. La fase orgánica se secó y se filtró, llevando a sequedad y realizando la ccf, que indicaba la misma situación (dos productos).

Se observó que la cantidad obtenida del producto era muy escasa en relación con la cantidad de materia prima colocada. Se realizó una ccf al sólido obtenido durante la filtración, observando que parte del producto estaba presente. Para ello, se disolvió ese producto con CH_2Cl_2 -MeOH, y se reunió con el producto obtenido de la fase orgánica. El producto obtenido se evaporó a sequedad y se cromatógrafió en columna relámpago, eluyendo con CH_2Cl_2 y aumentando la polaridad con acetona.

La fracción eluida al 3% de acetona en CH_2Cl_2 , indicó en ccf, la presencia de un producto, cuyo R_f es similar al de la reacción con $n\text{Bu}_2\text{SnO}$ (GOxSn1 y GOxSn2). El producto, recrystalizado de AcOEt-MeOH, tiene un pf de 297-300°C, y en IR y RMN¹H, es idéntico al producto GOxSn2 (2'-gomfosólida).

Para determinar si la elución con acetona había tenido algo que ver en la formación de este producto (formación de una lactona de 7 miembros, como en la reacción con Gomfósido y $n\text{Bu}_2\text{SnO}$), se realizó una nueva reacción bajo las mismas condiciones, sólo que ahora el eluyente en la columna relámpago fue CH_2Cl_2 y aumentando la polaridad con MeOH, para obtener el producto abierto en el carbono C-2' como en GOxSn1.

El producto obtenido fue el mismo que la reacción anterior (usando CH_2Cl_2 -acetona), por lo que se demostró que, en esta reacción, nada tuvo que ver el MeOH.

Posterior a las transformaciones del Gomfósido, se llevaron a cabo las reacciones con el Afrósido. Las condiciones iniciales de trabajo fueron las mismas que se emplearon para el Gomfósido. Para la brominólisis, la solución de bromo fue agregado gota a gota con una pipeta graduada hasta el volumen calculado estequiométricamente. A diferencia del Gomfósido, no se observó producto cristalino en el medio de reacción, por lo que se decidió agregar un ligero exceso de bromo. En ccf, se observaron al menos dos productos: la materia prima y un producto menos polar. Se filtró la mezcla de reacción, se evaporó a sequedad y el residuo se cromatógrafió en columna relámpago (sílica gel 230-400). Después de eluir por completo la columna se observó por ccf que ninguna de estas fracciones estaba pura, es

decar, había presentes más de dos productos en cada fracción eluida y que no sería fácil separar.

Se realizó una cromatografía para purificar alguna de estas fracciones que contenían una cantidad de producto apreciable y que el R_f era similar a los productos obtenidos en la reacción anterior (Gomfósido- $n\text{Bu}_2\text{SnO}$). La cromatografía en columna relámpago nuevamente falló en el intento por separar los productos. Se utilizó la cromatografía en placa preparativa (cpp), pero desafortunadamente y observando el espectro de RMN^1H , no se obtuvieron resultados satisfactorios.

Se realizó una nueva reacción con el Afrósido y el $n\text{B}_2\text{uSnO}$. Ahora durante el reflujo se agregó una cantidad catalítica (5 mg) de ácido *p*-toluensulfónico (TSOH). La técnica se modificó y posterior a la brominólisis, se realizaron extracciones para eliminar el bromo que hubiera quedado. Se lavó con agua destilada, con $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$, nuevamente con agua y por último con salmuera, hasta pH neutro. La fase orgánica se seco y se evaporó. La ccf mostraba al menos tres productos.

Se realizó la columna relámpago, observando al finalizar la elución que ninguna de las fracciones se purificó. Se eluyó mediante diferentes sistemas ($\text{CH}_2\text{Cl}_2\text{-MeOH}$, acetona- CH_2Cl_2 , AcOEt -hexano, acetona-hexano), pero ninguno funcionó adecuadamente. La cpp no ayudó en mucho, pues aún estaban presentes varios productos. La RMN^1H también mostró que no era un solo producto el que se había obtenido.

En algunas fracciones tanto de la reacción anterior, como de esta última (con el Afrósido), se observó un producto de color café (aceitoso), que en ccf era no polar, y que no apareció en ningún momento durante la reacción con Gomfósido. En IR, este producto indica la presencia de cadenas de metilenos y metilos (2930cm^{-1}), debidos al derivado estanilado.

Posteriormente, se llevó a cabo la reacción entre el IBX y el Afrósido. En este caso, sucedió algo similar que en la reacción anterior con Afrósido; esto es, la ccf mostró la presen-

cia de tres productos. Uno de ellos se trata de la materia prima sin reaccionar, mientras que los otros, son productos menos polares que la misma.

Se realizaron extracciones con AcOEt, lavando después con NaHCO₃ y con salmuera hasta pH neutro. La fase orgánica se secó y se filtró, llevando después a sequedad. El sólido obtenido se cromatografió en columna relámpago, usando como eluyente CH₂Cl₂ y aumentando la polaridad con MeOH. Después de eluir completamente la columna, se observó que, similar a lo que sucedió con la reacción Afrósido-*n*Bu₂SnO, no hubo una separación eficiente, por lo que se realizó una nueva cromatografía en columna con un eluyente diferente (hexano-AcOEt).

La RMN¹H y el IR de las fracciones más "puras", indican productos que son muy difícil de determinar de que se tratan, por lo que se realizó una nueva reacción entre el Afrósido y el IBX, ahora modificando las condiciones. Se trabajó en condiciones anhidras y se calentó la mezcla de reacción hasta aproximadamente 60°C. Estas condiciones no ayudaron en mucho, pues los resultados obtenidos fueron semejantes a los ya descritos.

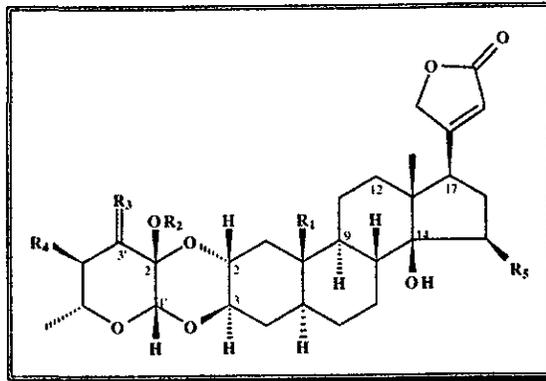
Debido a que con el Afrósido no se habían obtenido buenos resultados, se realizaron las transformaciones con Calactina, primero con la brominólisis de derivados estanilados, y posteriormente con el IBX en DMSO. En pocas palabras, las condiciones para ambas técnicas fueron similares a las realizadas con el Afrósido y el Gomfósido, obteniendo resultados poco satisfactorios en los casos de reacción con la Calactina. En ningún momento se logró aislar un producto puro que pudiera ser analizado espectroscópicamente.

A pesar de todos estos intentos de oxidación y en base a los resultados poco satisfactorios, aún no se demuestra el porqué en el caso del Gomfósido existe la presencia de productos completamente separable, mientras que para el Afrósido y la Calactina, nunca se logró purificar algún producto. No se puede determinar si este comportamiento se deba a la diferencia de un simple grupo funcional en toda la estructura esteroidal, pues se ha obser-

vado que algunos productos de tipo esteroidal cambian por completo su comportamiento químico y físico con el simple hecho de modificar un simple grupo de su estructura.

Es importante mencionar que los productos que se planteó obtener se han aislado naturalmente de la familia *Asclepiadaceae*^{2,3,6,7}. Esto es, los productos de oxidación (3'-ceto) del Gomfósido, del Afrósido y de la Calactina, así como los derivados de tiazolina (3'-tiazolidina y 3'-tiazolina) de la Calactina, se han identificado, pero de igual modo que la labriformina, las cantidades tan pequeñas de estos productos que se aíslan de la familia *Asclepiadaceae*, no favorecen mucho al planteamiento propuesto en este trabajo.

A continuación se mencionan los nombres comunes dados a estos productos naturales.



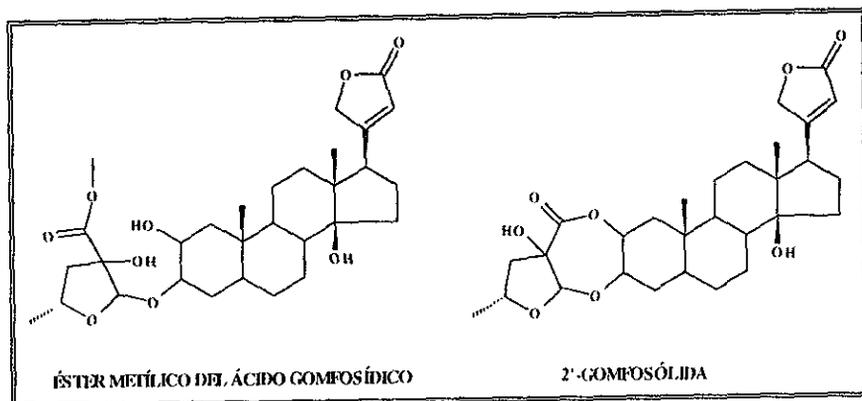
	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅
3'-DIDEHIDROGOMFOSIDO XI	Me	H	O	H	H
3'-DIDEHIDROAFROSIDO XII	Me	H	O	H	OH
USCHARIDINA XIII	CHO	H	O	H	H
VORUSCHARINA XIV	CHO	H		H	H
USCHARINA XV	CHO	H		H	H

TABLA G Productos naturales aislados de la familia *Asclepiadaceae*

CONCLUSIONES

En base a los objetivos planteados para las transformaciones químicas de las asclepinas y de acuerdo a los resultados obtenidos, se puede concluir que estos objetivos no se cubrieron en su totalidad. Esto es, a pesar de realizar varias reacciones con los métodos IBX/DMSO y $n\text{Bu}_2\text{SnO}/\text{Br}_2$, no se logró sintetizar el producto deseado 3'-ceto en las asclepinas (Gomfósido, Afrósido y Calactina), y por consiguiente, no se obtuvo la 3'-tiazolidina en estas asclepinas.

Sin embargo, se sintetizaron dos productos que no se han descrito en la literatura, denominados éster metílico del ácido gomfósido (por reacción con $n\text{Bu}_2\text{SnO}/\text{Br}_2$) y 2'-gomfosólida (por ambos métodos), a partir del Gomfósido.



Es importante remarcar que la estructura del azúcar, así como la aglicona jugaron un papel importante en estas transformaciones químicas.

Es decir, la transformación que sufrió el Gomfósido en el azúcar provocó una contracción (anillo de 5 miembros) y una expansión (lactona de 7 miembros) en los anillos, obteniendo el producto 2'-gomfosólida. De igual modo, se obtuvo un producto con apertura en el carbono hemiacetalico en posición 2'.

En el otro caso, debido a la aglicona, se logró obtener productos puros y aislable en las reacciones con el Gomfósido, pero con la Calactina y el Afrósido, esto no fue posible.

PROPUESTAS, RECOMENDACIONES

Pese a que los métodos de oxidación (por brominólisis de derivados estanilados o por IBX en sulfóxido de dimetilo) no resultaron satisfactorios, se puede continuar el proyecto de oxidación de las asclepinas, empleando algún agente oxidante mucho más suave. También es necesario seguir con el estudio fitoquímico de alguna otra especie de la familia *Asclepiadaceae*, para lograr aislar mayor cantidad de productos (tales como el 3'-dehidrogomfósido *XI*, el 3'-dehidroafrósido *XII* o la uscharidina *XIII*), y así evitar el paso de la síntesis de la hidroxicetona.

Además de ello, es importante analizar detenidamente que fue lo que en realidad sucedió con los productos obtenidos, pues como ya se mencionó, sólo en las reacciones del Gomfósido se logró aislar productos puros, mientras que con el Afrósido y la Calactina, nunca sucedió así.

Es importante determinar la actividad biológica de los productos obtenidos por la reacción con el Gomfósido (GOxSn1 y GOxSn2), para demostrar así su uso terapéutico o su toxicidad (insecticida, plaguicida, etc). Esto debido a que son dos productos nuevos y que no están descritos en la literatura.

BIBLIOGRAFÍA

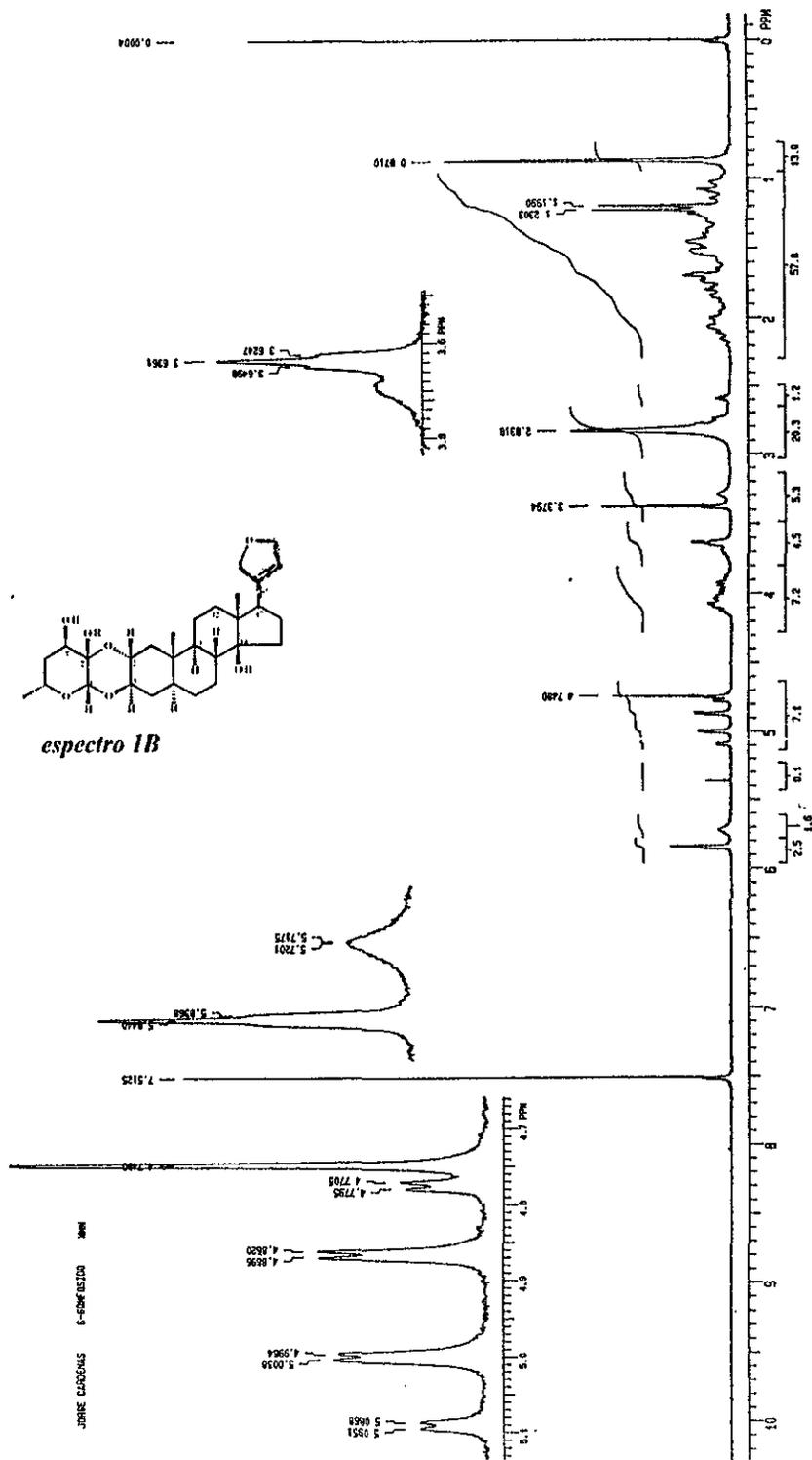
- 1- Fonseca Gonzalez, G. V. *Estudio Fitoquímico de Asclepias glaucescens y Asclepias linaria*. Tesis. UNAM: México. 1989.
- 2- Fonseca, G. Rodríguez-Hahn, L. Tablero, M. Rodríguez, A. Arreguín, B. *J Nat Prod*. 1991.50.860.
- 3- Rodríguez-Hahn, L. y Fonseca, G. *Phytochemisry*. 1991.30.3941.
- 4- Cheung, H. T. A. Chiu, F. C. K. Watson, T. R. Wells, R. J. *J Chem Soc. Perkin Trans*. 1983.1.2827.
- 5- Cheung, H. T. A. Watson, T. R. *J Chem Soc. Perkin Trans*. 1980.1.2162.
- 6- Cheung, H. T. A. Watson, T. R. *J Chem Soc. Perkin Trans*. 1980.1.2169.
- 7- Cheung, H. T. A. Watson, T. R. *J Chem Soc. Perkin Trans*. 1986.1.61.
- 8- Brüschweiler, F. Stöckel, K. Reichstein, T. *Helv Chim Acta*. 1969.52.2276. *Trans*. 1983.1.2827.
- 9- Jolad, S. D. Bates, R. B. Cole, J. R. Hoffmann, J. J. Siahaan, T. J. Timmermann, B. N. *Phytochemistry*. 1986.25.2581.
- 10- Brown, P. Von Euw, J. Reichstein, J. Stöckel, K. Watson, T. R. *Helv Chin Acta*. 62.1979.412-42.
- 11- Frigerio, M. Santagostino, M. *Tetrahedron Lett*. 1994.35.8019.
- 12- David, S. Thieffry, A. *J Chem Soc. Perkin Trans*. 1979.1.1568
- 13- David, S. Hanessian, S. *Tetrahedron*. 1985.41.643.
- 14- Roelens, S. *J Org Chem*. 1996.61.5257.
- 15- Pereyre, M. Quintard, J. P. Rahm, A. *Tin in Organic Synthesis*. Great Britain: Brutterworth & Co. 1987.278-81.
- 16- Dess, D. B. Martin, J. C. *J Org Chem*. 1983.48.4155.
- 17- Plumb, J. B. Harper, D. J. *Chem Eng News*. 1990.3
- 18- Vernin, G. *General Synthetic Methods for Thiazole and Thiazolium Salts*. En: Metzger, J. V. *Thiazole and Its Derivates*. Vol. I. U.S.A.: Interscience. 1979.166-9.
- 19- Elder-Field, R. E. *Heterocyclic Compounds*. Vol. V. U.S.A.: John Wiley & Sons. 1957.676-722.

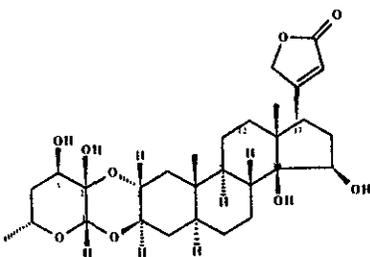
- 20- Metzger, J. V. *Thiazoles and Their Benzo Derivatives*. En: Katritzky, A. R. Rees, C. W. *Comprehensive Heterocyclic Chemistry*. Vol VI. U.S.A.:Pergamon.1984. 308-9,320.
- 21- Seebach, D. Jeanguenat, A. Schmidt, J. Maetzke, T. *Chimia*.1989.43.314.
- 22- Dess, D. B. Martin, J. C. *J Am Chem Soc*.1991.113.7277.
- 23- Katritzky, A. R. Duell, B. L. Gallos, J. K. *Org Magn Reson*.1989.27.1007.
- 24- Coll, R. M. *J Nat Prod*.1986.49.934.
- 25- Still, W. C. Kahn, M. Mitra, A. *J Org Chem*.1978.43.2923.
- 26- Bell, R. Morgan, K. *J Chem Soc*.1960.1209.
- 27- Katritsky, A. R. Savage, G. P. Gallos, J. K. Dupon-Durst, H. *J Chem Soc. Perkin Trans 2*.1990.1515.
- 28- Pretsch, T. Clerc, J. Seibl, J. Simon, W. *Tablas para la Elucidación Estructural de Compuestos Orgánicos por Métodos Espectroscópicos*.2da.ed.México:Alhambra.1998.
- 29- Joseph-Nathan, P. Díaz, E. *Introducción a la RMN*.México:Limusa.1970.

ANEXO

Espectros

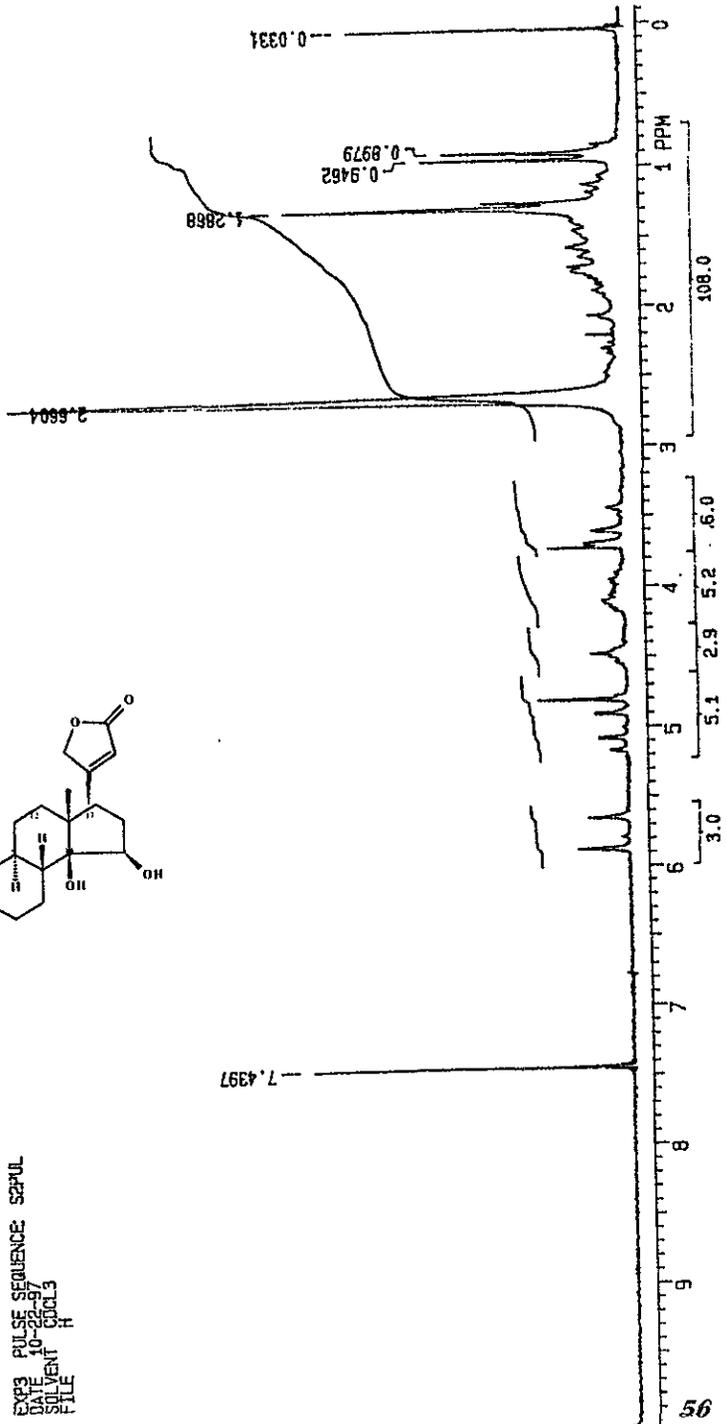
Espectro 1A	Infrarrojo Gomfósido
Espectro 1B	RMN ¹ H Gomfósido
Espectro 1C	RMN ¹ H Afrósido
Espectro 1D	RMN ¹ H Calactina
Espectro 2A	Infrarrojo GOxSn1
Espectro 2B	RMN ¹ H GOxSn1
Espectro 2C	RMN ¹³ C Y DEPT GOxSn1
Espectro 2D	Correlación ¹ H, ¹ H GOxSn1
Espectro 2E	Correlación heteronuclear ¹ H, ¹³ C GOxSn1
Espectro 2F	Correlación heteronuclear ¹ H, ¹³ C a larga distancia GOxSn1
Espectro 2G	EM GOxSn1
Espectro 3A	Infrarrojo GOxSn2
Espectro 3B	RMN ¹ H GOxSn2
Espectro 3C	RMN ¹³ C Y DEPT GOxSn2
Espectro 3D	Correlación ¹ H, ¹ H GOxSn2
Espectro 3E	Correlación heteronuclear ¹ H, ¹³ C GOxSn2
Espectro 3F	Correlación heteronuclear ¹ H, ¹³ C a larga distancia GOxSn2
Espectro 3G	EM GOxSn2
Espectro 4A	RMN ¹ H GOxAcO
Espectro 4B	RMN ¹³ C Y DEPT GOxAcO
Espectro 4C	Correlación ¹ H, ¹ H GOxAcO
Espectro 4D	Correlación heteronuclear ¹ H, ¹³ C GOxAcO
Espectro 4E	EM GOxAcO

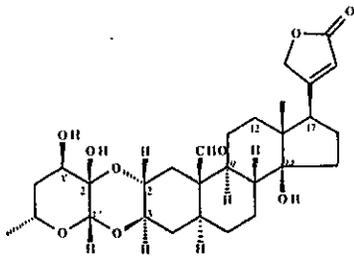




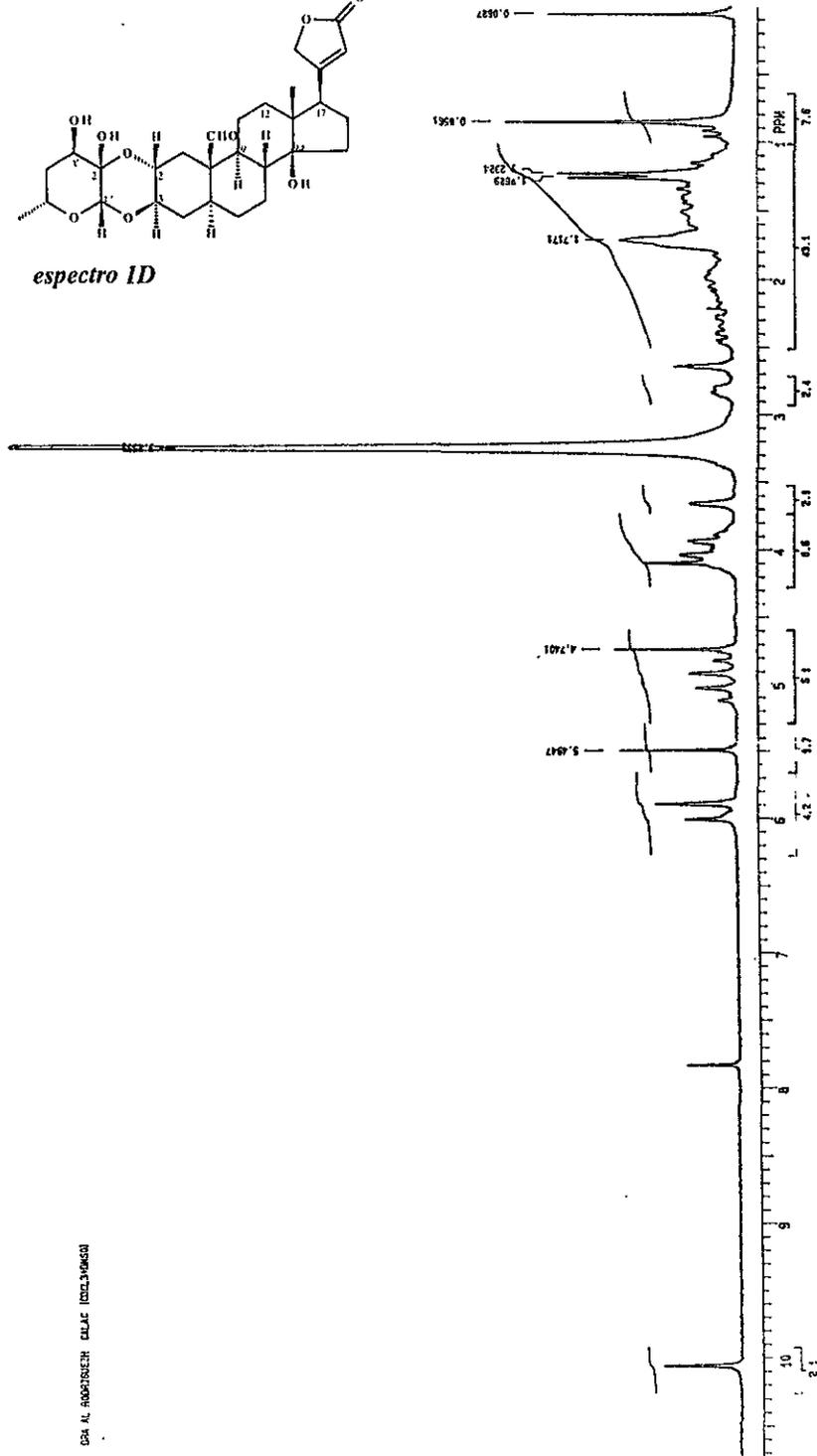
espectro 1C

DRA. LYDIA RODRIGUEZ AFROSIDO
 EXP3 PULSE SEQUENCE SZPUL
 DATE 10-22-97
 SOLVENT CDCl3
 FILE H

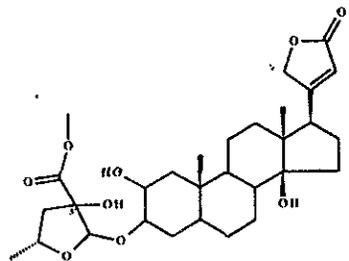
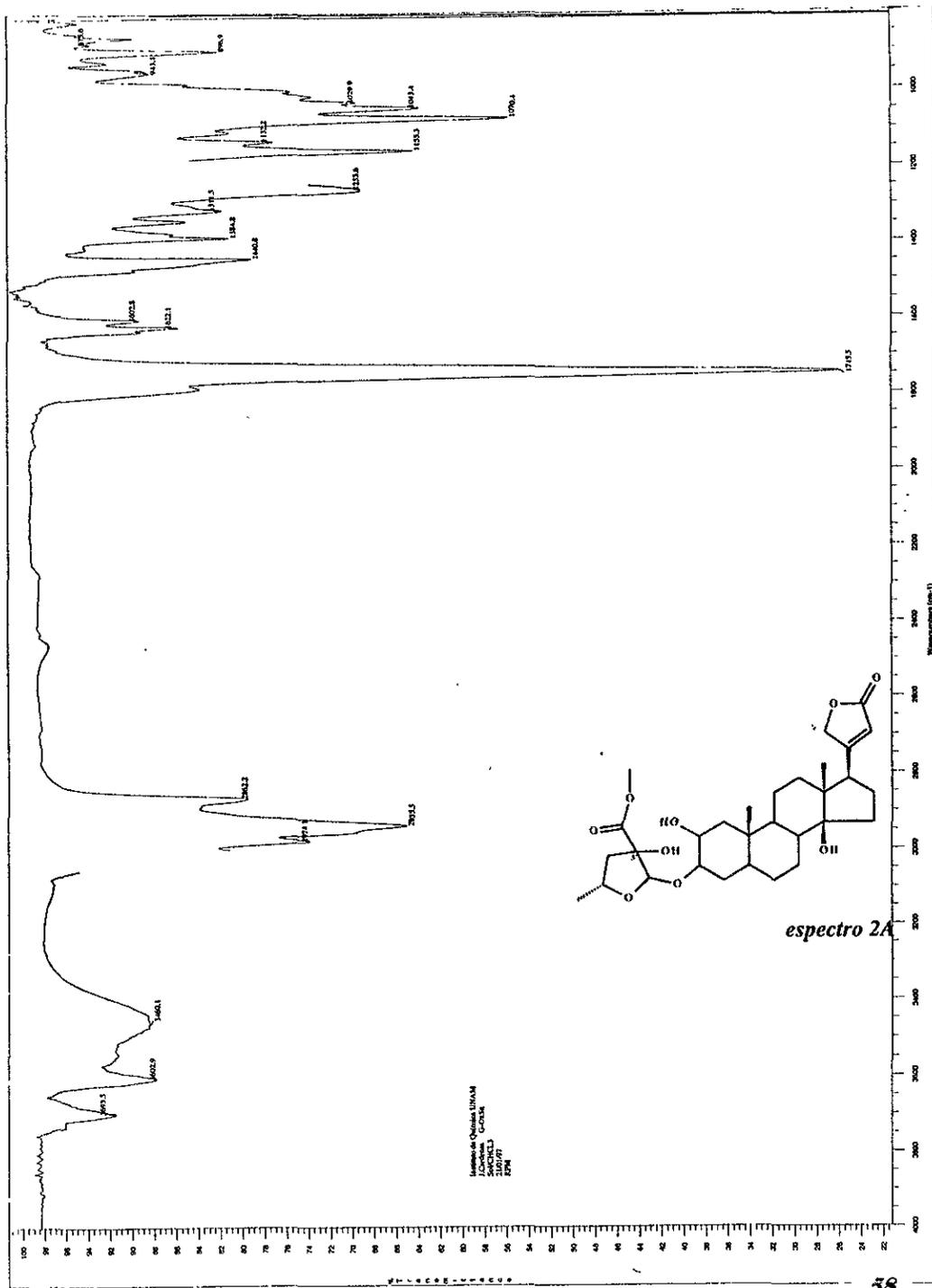




espectro ID

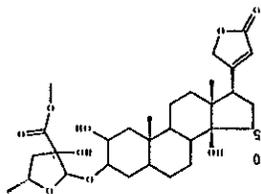


DR. AL. RODRIGUEZ GILJA (10/23/2018)



espectro 2A

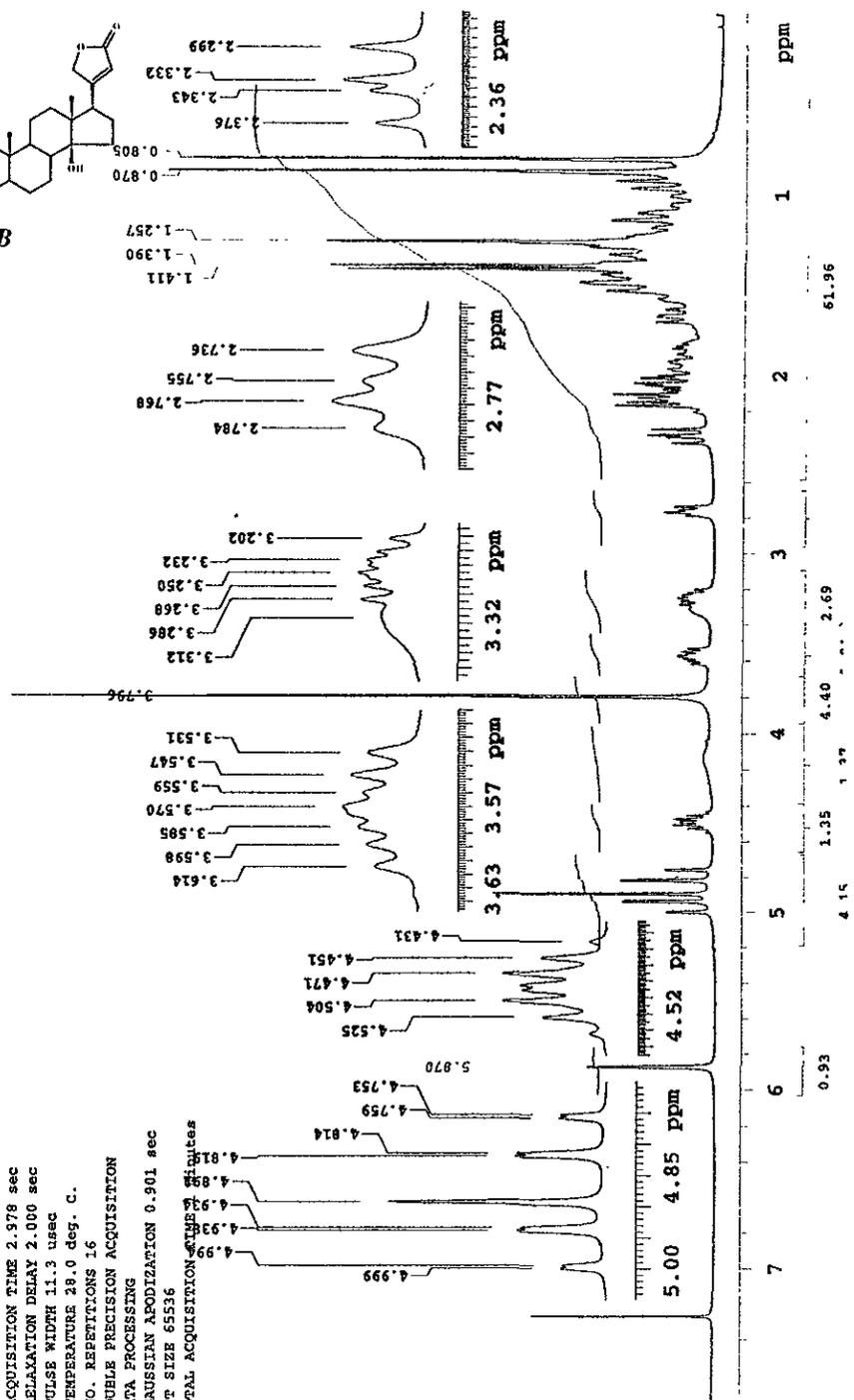
Instituto de Química UNAM
Laboratorio de Espectroscopía
20000 México, D.F.
1987

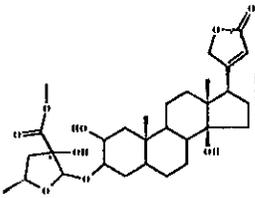


espectro 2B

Gox1 Cardenas RG
 OBSERVE HI
 FREQUENCY 299.948 MHz
 SPECTRAL WIDTH 2579.0 Hz
 ACQUISITION TIME 2.378 sec
 RELAXATION DELAY 2.000 sec
 PULSE WIDTH 11.3 usec
 TEMPERATURE 28.0 deg. C.
 NO. REPEATITIONS 16

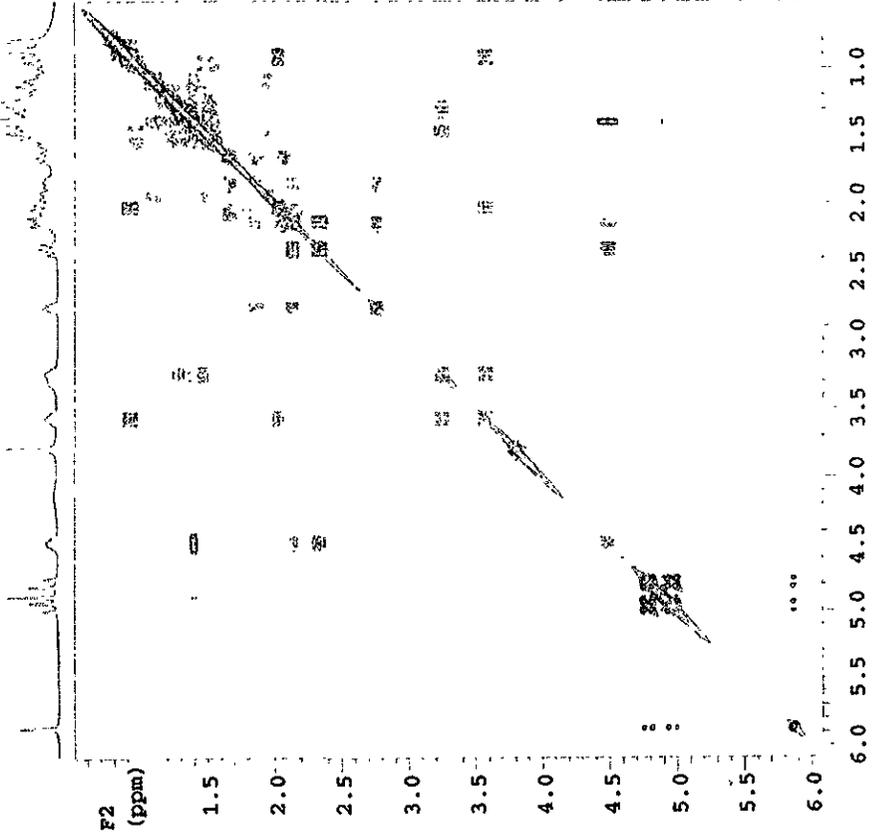
DOUBLE PRECISION ACQUISITION
 DATA PROCESSING
 GAUSSIAN APODIZATION 0.901 sec
 FT SIZE 65536
 TOTAL ACQUISITION TIME 6.41 minutes

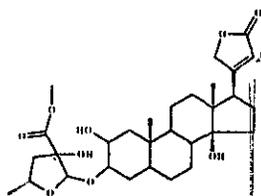




espectro 2D

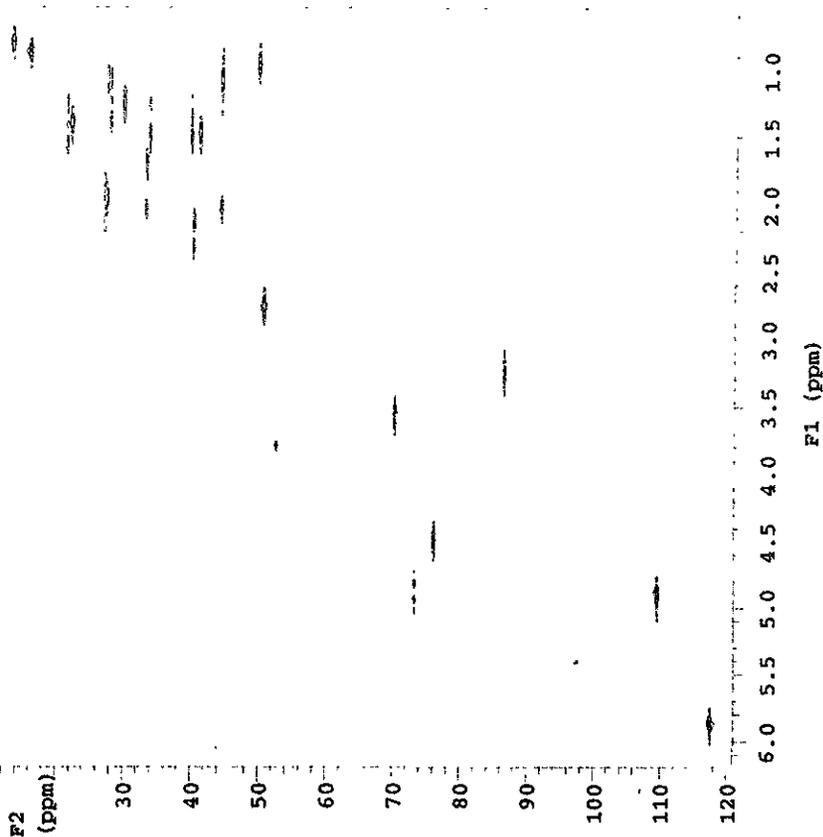
GOX1 Cardenas RG
 PULSE SEQUENCE relayh
 OBSERVE H1
 FREQUENCY 299.948 MHz
 SPECTRAL WIDTH 2579.0 Hz
 2D SPECTRAL WIDTH 2579.0 Hz
 ACQUISITION TIME 0.397 sec
 RELAXATION DELAY 1.000 sec
 PULSE WIDTH 22.7 usec
 FIRST PULSE WIDTH 22.7 usec
 TEMPERATURE 28.0 deg. C.
 NO. REPETITIONS 0
 NO. INCREMENTS 256
 DOUBLE PRECISION ACQUISITION
 DATA PROCESSING
 SINE BELL 0.197 sec
 FT SIZE 2048
 F1 DATA PROCESSING
 SINE BELL 0.049 sec
 FT SIZE 2048
 TOTAL ACQUISITION TIME 14 minutes

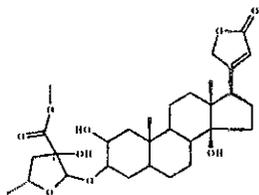




espectro 2E

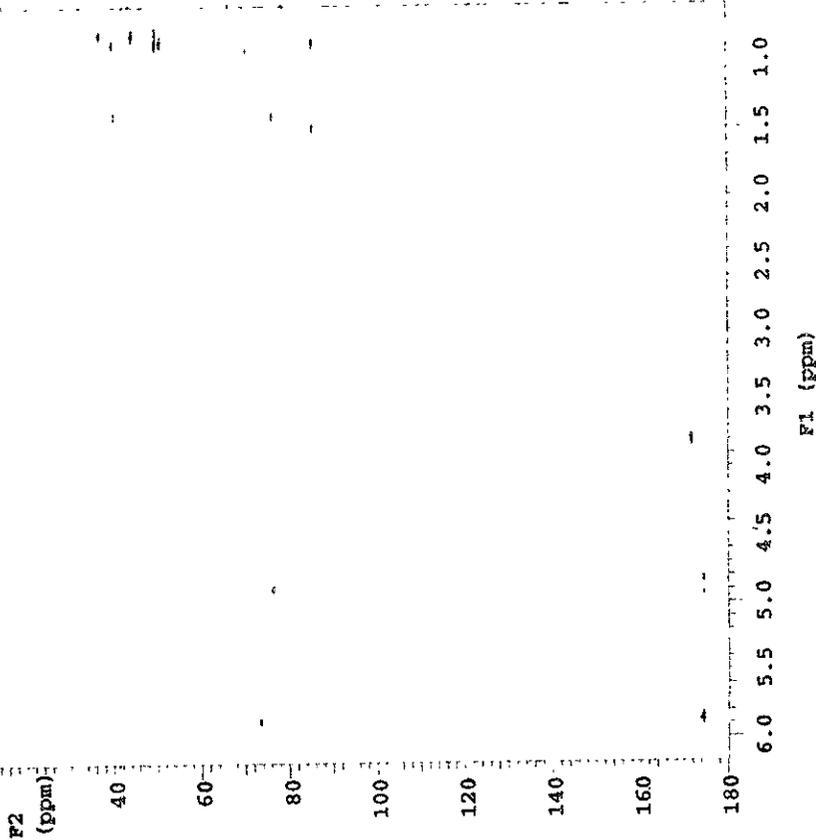
Co11 Cardenas RC
 PULSE SEQUENCE hetcor
 OBSERVE C13
 FREQUENCY 75.427 MHz
 SPECTRAL WIDTH 10381.5 Hz
 2D SPECTRAL WIDTH 2579.0 Hz
 ACQUISITION TIME 0.099 sec
 RELAXATION DELAY 1.040 sec
 PULSE WIDTH 7.7 usec
 TEMPERATURE 28.0 deg. C.
 NO. REPETITIONS 0
 NO. INCREMENTS 256
 DECOUPLE H1
 HIGH POWER 38
 DECOUPLER GATED ON DURING ACQUISITION
 DECOUPLER GATED OFF DURING DELAY
 WALTZ16 MODULATED
 DOUBLE PRECISION ACQUISITION
 DATA PROCESSING
 GAUSSIAN APODIZATION 0.046 sec
 FT SIZE 2048
 F1 DATA PROCESSING
 GAUSSIAN APODIZATION 0.081 sec
 FT SIZE 2048
 TOTAL ACQUISITION TIME 13 minutes



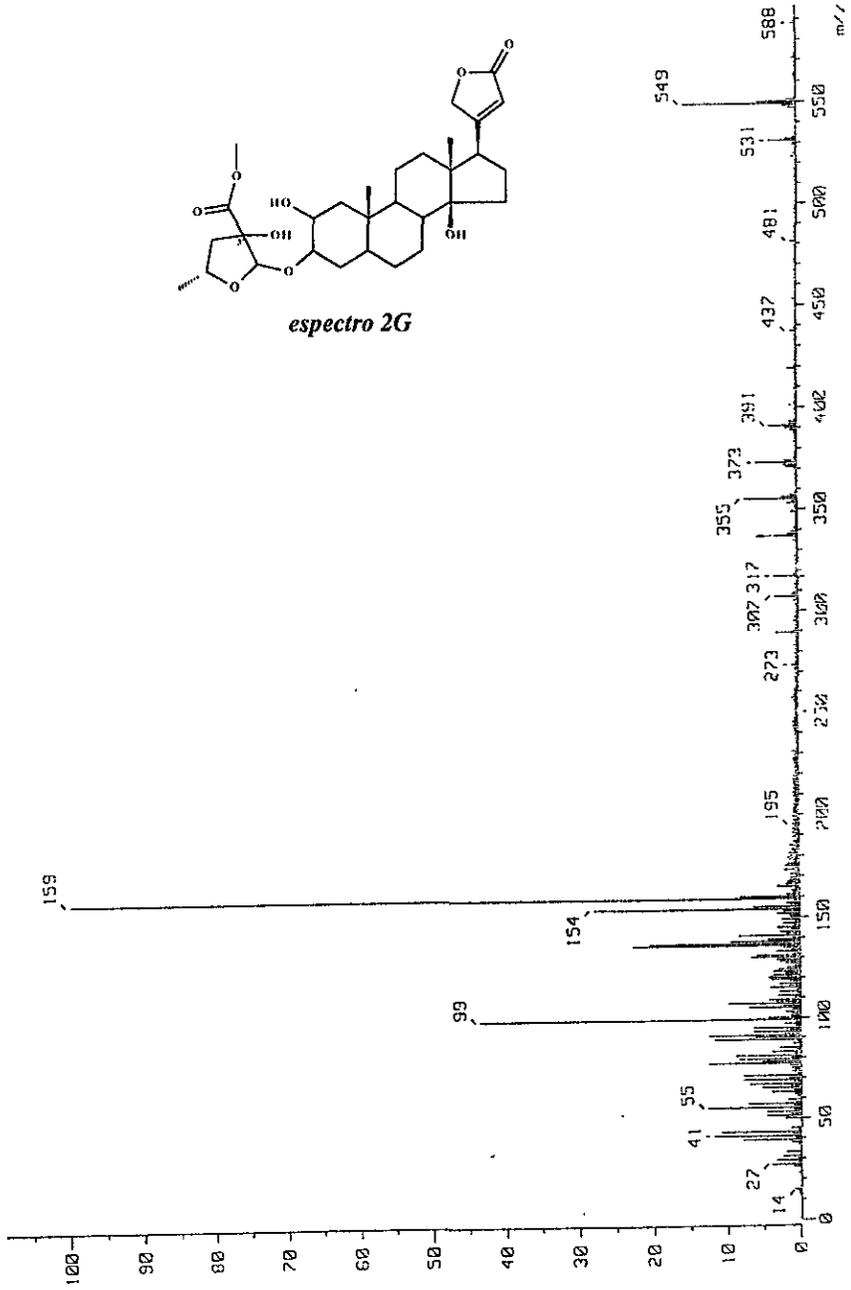
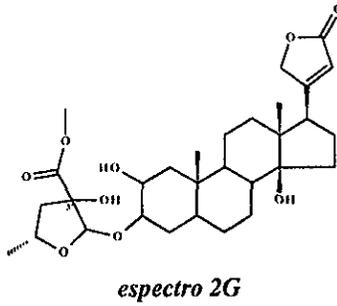


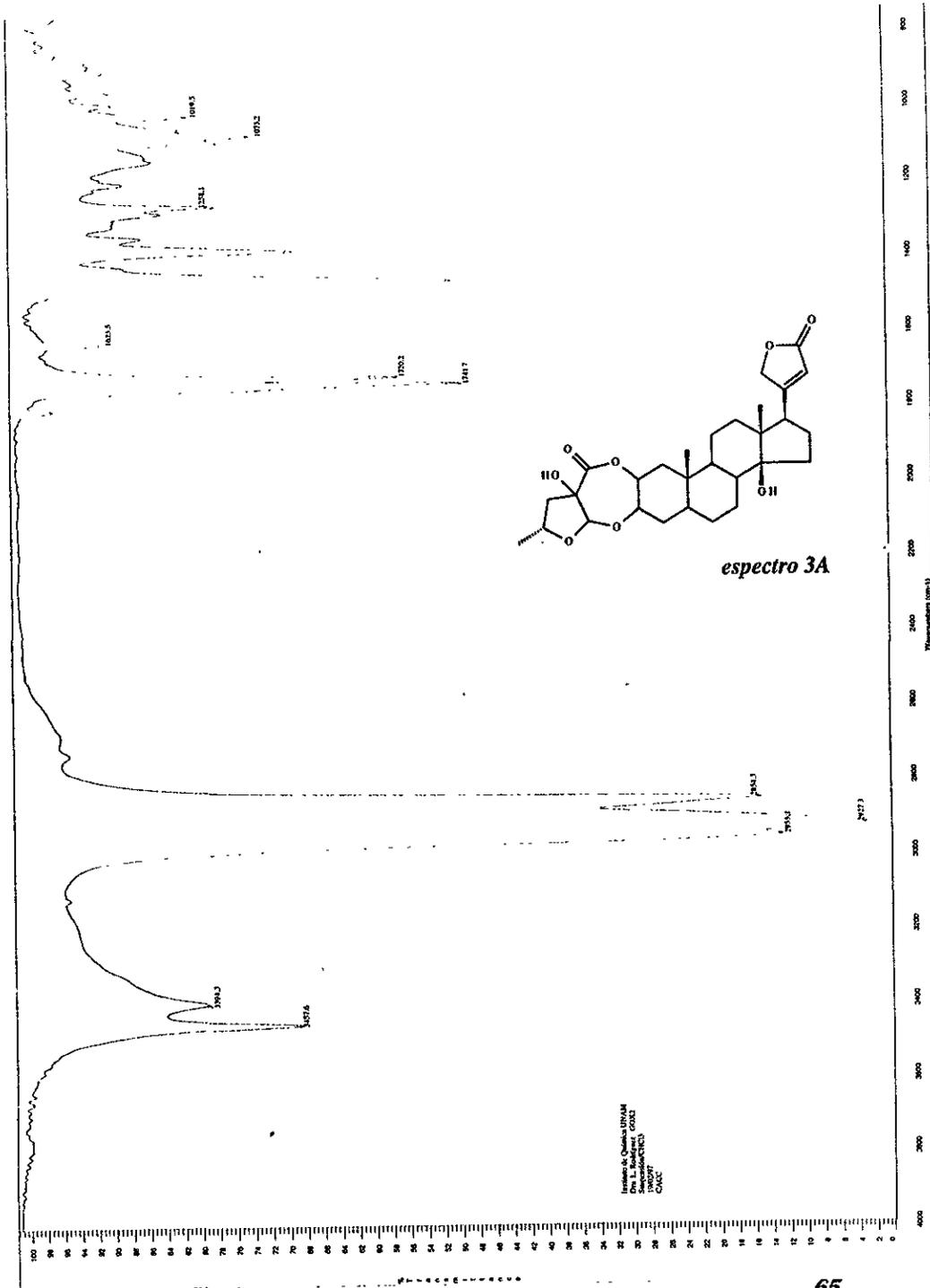
espectro 2F

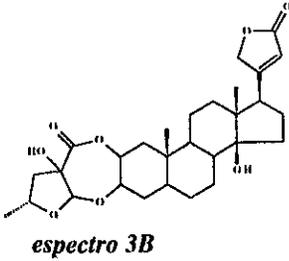
Oxyl Cardenas RG
 PULSE SEQUENCE lrbtccor
 OBSERVE C13
 FREQUENCY 75.429 MHz
 SPECTRAL WIDTH 14508.5 Hz
 2D SPECTRAL WIDTH 2579.0 Hz
 ACQUISITION TIME 0.071 sec
 RELAXATION DELAY 1.000 sec
 PULSE WIDTH 7.7 usec
 TEMPERATURE 28.0 deg. C.
 NO. REPEATITIONS 160
 NO. INCREMENTS 256
 DECOUPLE H1
 HIGH POWER 38
 DECOUPLER GATED ON DURING ACQUISITION
 DECOUPLER GATED OFF DURING DELAY
 WALTZ16 MODULATED
 DOUBLE PRECISION ACQUISITION
 DATA PROCESSING
 GAUSSIAN APODIZATION 0.038 sec
 FT SIZE 2048
 FT DATA PROCESSING
 GAUSSIAN APODIZATION 0.066 sec
 FT SIZE 2048
 TOTAL ACQUISITION TIME 13.5 hours



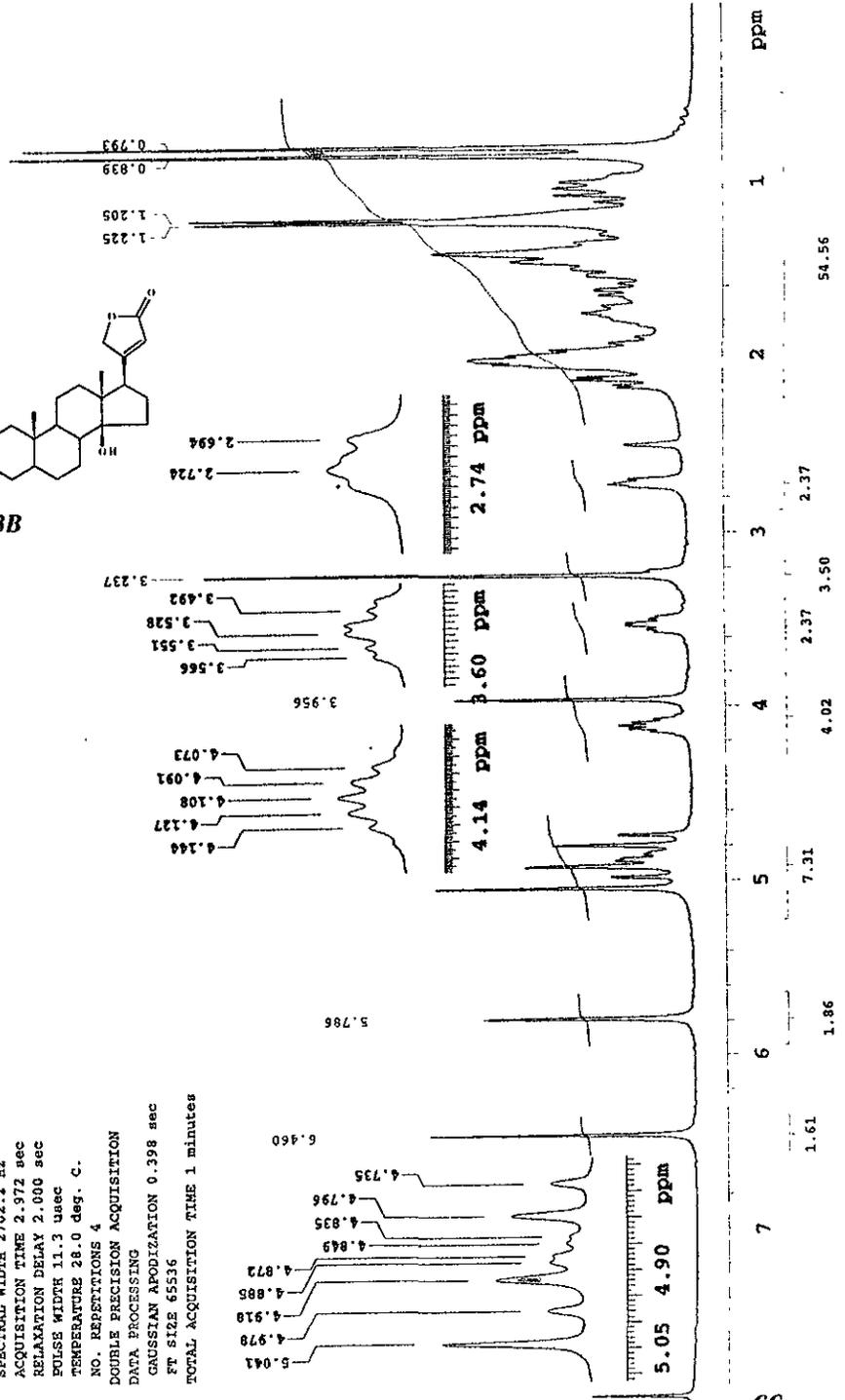
[Mass Spectrum]
 Date : 18-Oct-20 19:27
 Data : G-OxSn
 Sample: Br-Jorge-C
 Note : *
 Inlet : Direct Ion Mode : FFI+
 Spectrum Type : Regular [M-Linear]
 RI : 1.20 min Scan# : (7,0)
 BP : m/z 159.0000 Int. : 76.41
 Output m/z range : 0.0000 to 556.7940
 872679

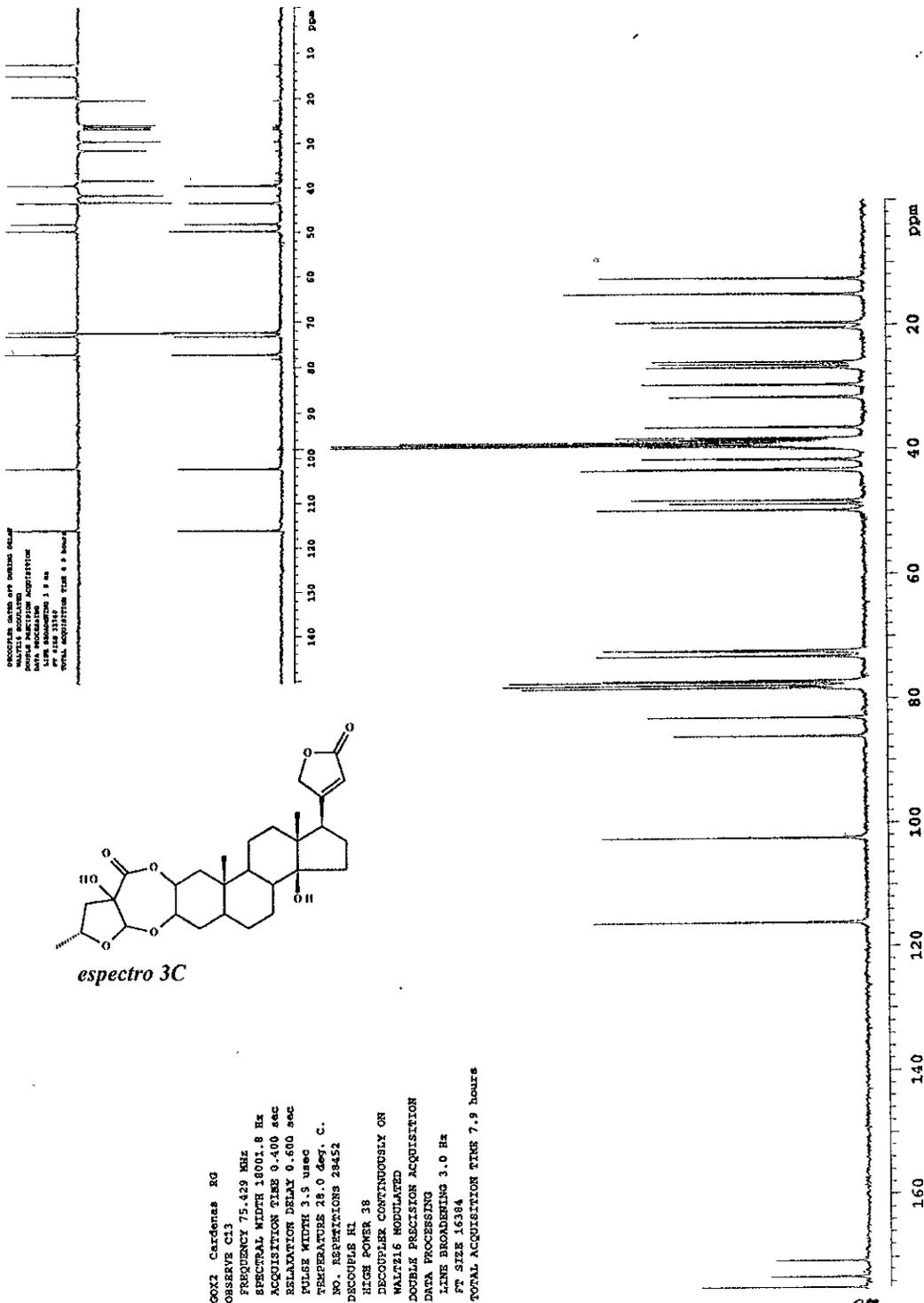


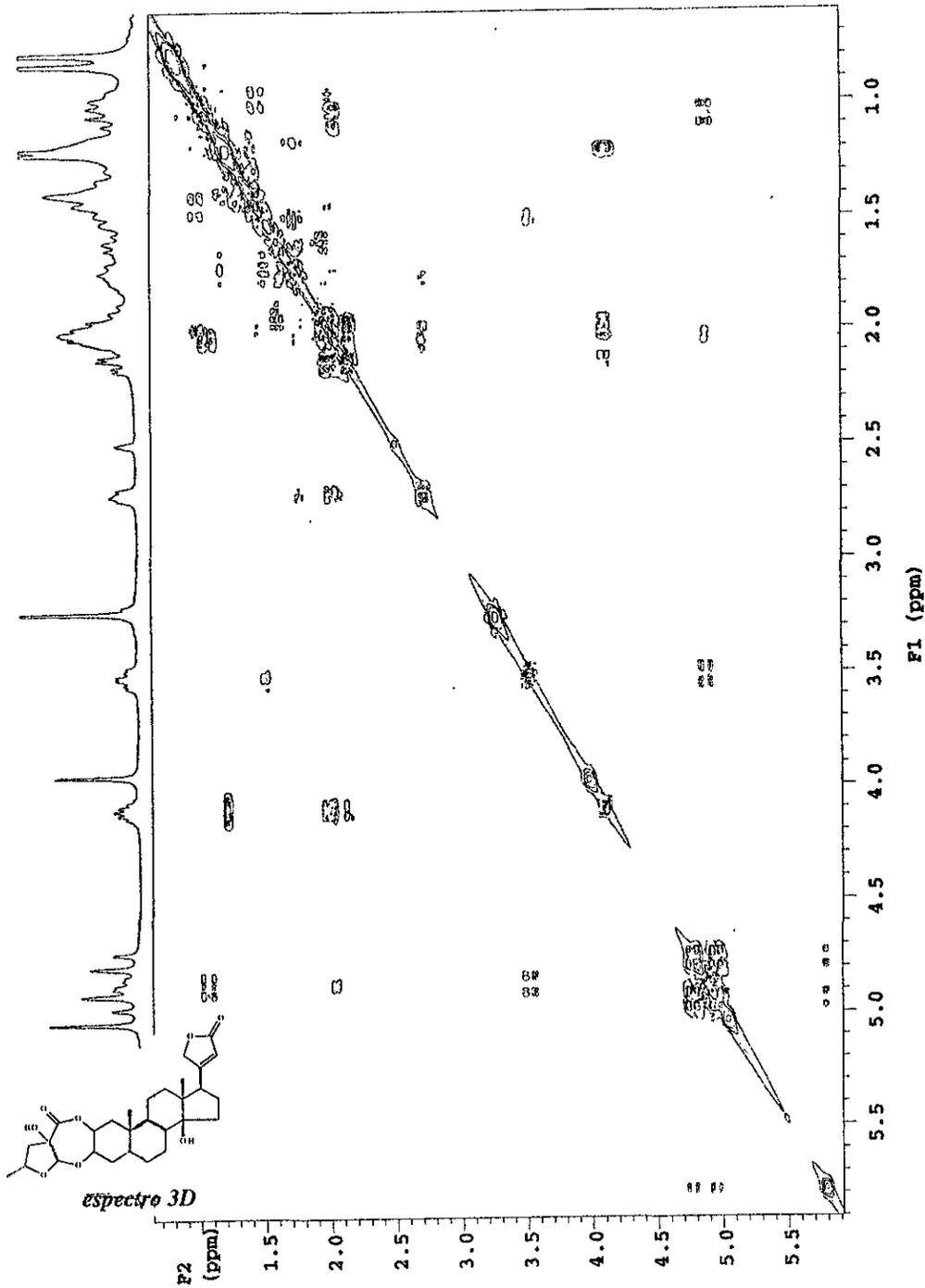


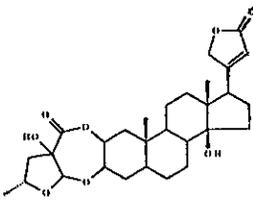


GOX2 Cardenas RG
 OBSERVE H1
 FREQUENCY 299.949 MHz
 SPECTRAL WIDTH 2702.2 Hz
 ACQUISITION TIME 2.972 sec
 RELAXATION DELAY 2.000 sec
 PULSE WIDTH 11.3 usec
 TEMPERATURE 28.0 deg. C.
 NO. REPEATITIONS 4
 DOUBLE PRECISION ACQUISITION
 DATA PROCESSING
 GAUSSIAN APODIZATION 0.398 sec
 FT SIZE 6536
 TOTAL ACQUISITION TIME 1 minutes



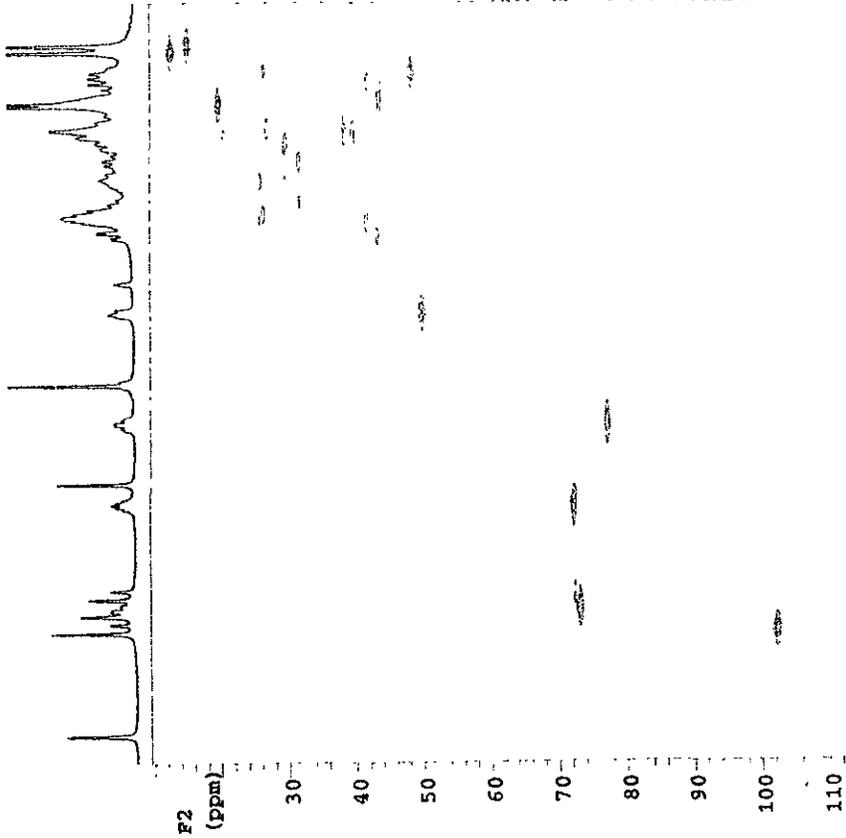




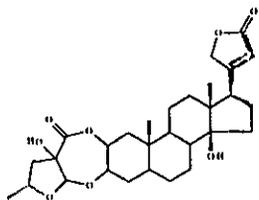


spectro 3E

RELAXATION DELAY 1.500 sec.
 PULSE WIDTH 7.7 usec
 TEMPERATURE 28.0 deg. C.
 NO. REPEATITIONS 0
 NO. INCREMENTS 128
 DECOUPLE H1
 HIGH POWER 38
 DECOUPLER GATED ON DURING ACQUISITION
 DECOUPLER GATED OFF DURING DELAY
 WALTZ16 MODULATED
 DOUBLE PRECISION ACQUISITION
 DATA PROCESSING
 GAUSSIAN APODIZATION 0.029 sec.
 FT SIZE 2048
 F1 DATA PROCESSING
 GAUSSIAN APODIZATION 0.048 sec
 FT SIZE 2048
 TOTAL ACQUISITION TIME 7 minutes

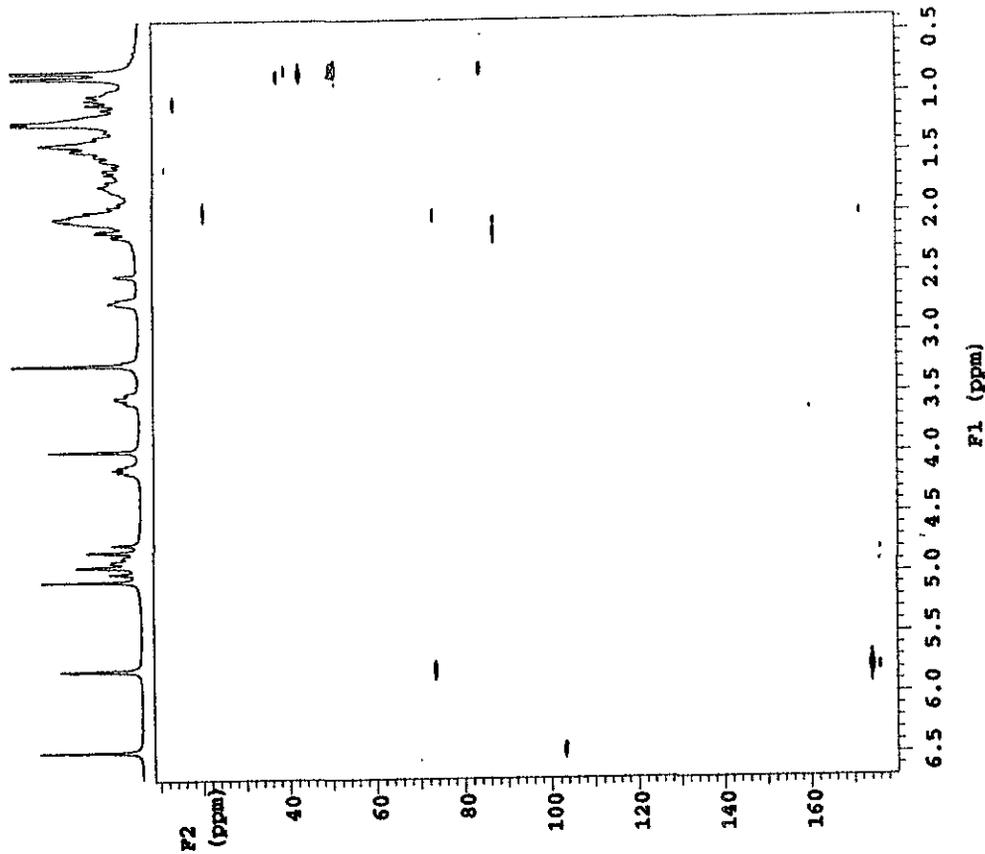


5.5 5.0 4.5 4.0 3.5 3.0 2.5 2.0 1.5 1.0 0.5

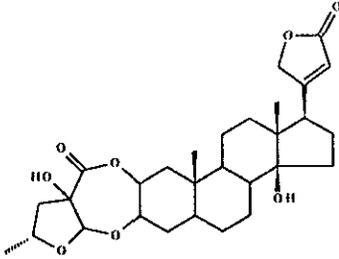


espectro 3F

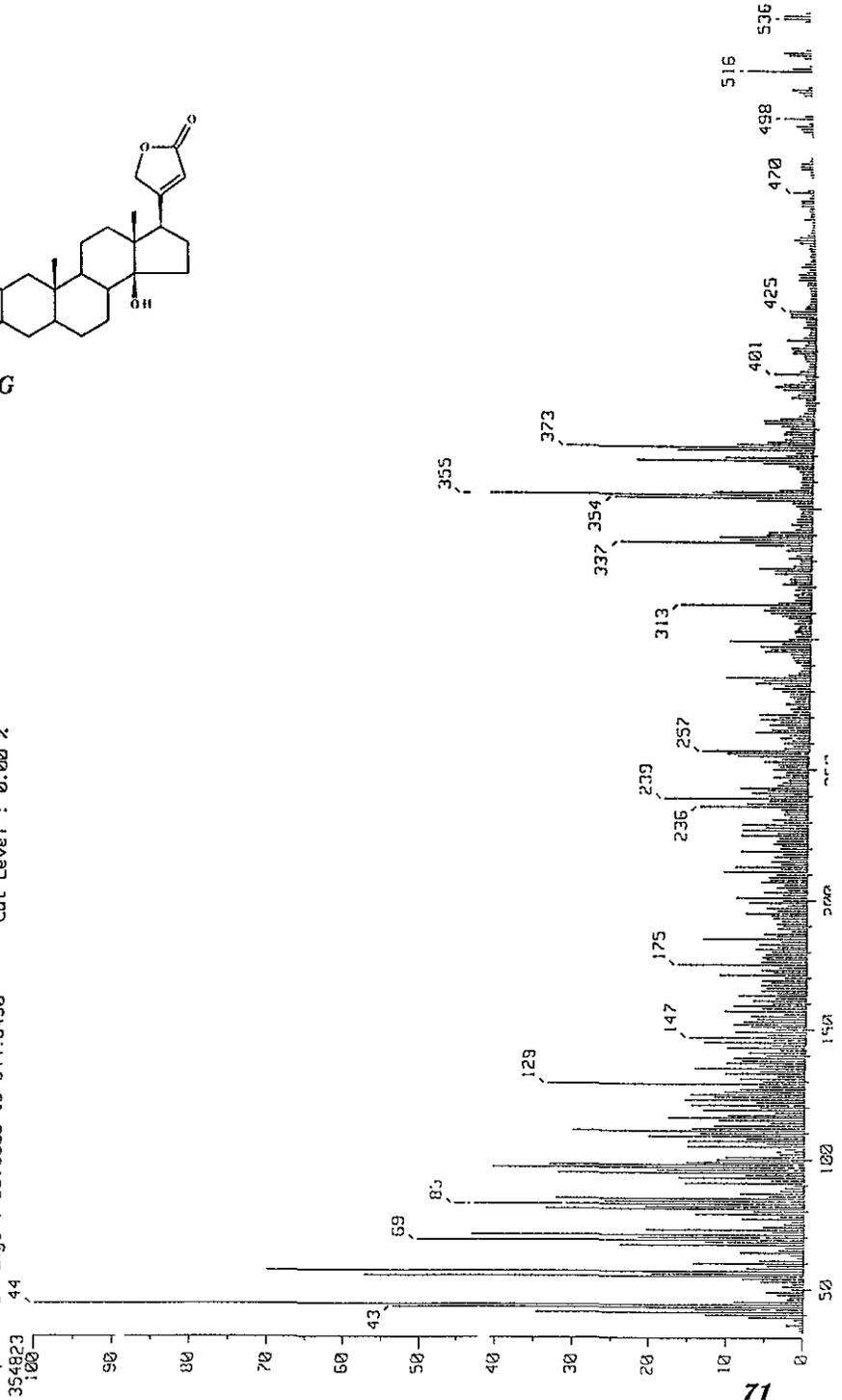
0002 Cardenas RG
 PULSE SEQUENCE 1rbetcor
 OBSERVE C13
 FREQUENCY 75.429 MHz
 SPECTRAL WIDTH 18001.8 Hz
 2D SPECTRAL WIDTH 3702.2 Hz
 ACQUISITION TIME 0.057 sec
 RELAXATION DELAY 2.500 sec
 PULSE WIDTH 7.7 usec
 TEMPERATURE 28.0 deg. C.
 NO. REPEATITIONS 360
 NO. INCREMENTS 128
 DECOUPLE H1
 HIGH POWER 38
 DECOUPLER GATED ON DURING ACQUISITION
 DECOUPLER GATED OFF DURING DELAY
 WALTZ16 MODULATED
 DOUBLE PRECISION ACQUISITION
 DATA PROCESSING
 GAUSSIAN APODIZATION 0.028 sec
 FT SIZE 2048
 F1 DATA PROCESSING
 GAUSSIAN APODIZATION 0.037 sec
 FT SIZE 2048
 TOTAL ACQUISITION TIME 24.0 hours

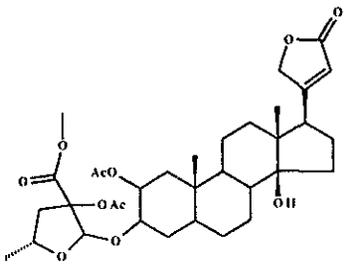


[Mass Spectrum]
 Data : Rodriguez-L
 Sample: GOx2
 Note : Dra-Lydia-Rodriguez-RX505
 Inlet : Reserv.
 Ion Mode : EI+
 Spectrum Type : Regular [MF-Linear]
 R^x : 4.53 min Scan# : (121,136)
 BP : m/z 44.0000 Int. : 33.84
 Output m/z range : 33.0000 to 544.6490
 354823 44 Cut Level : 0.00 %
 100



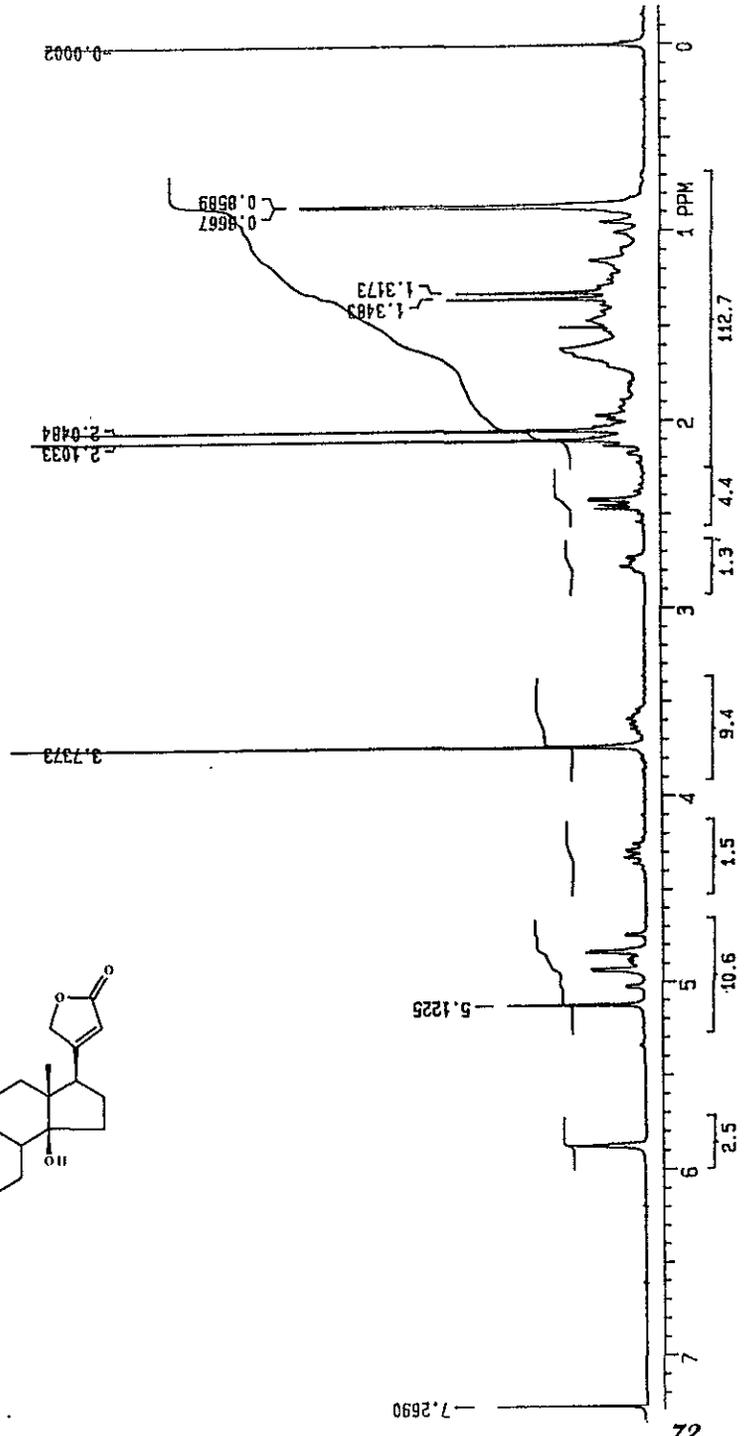
espectro 3G

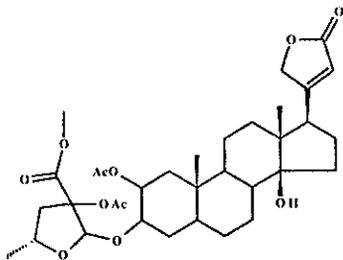




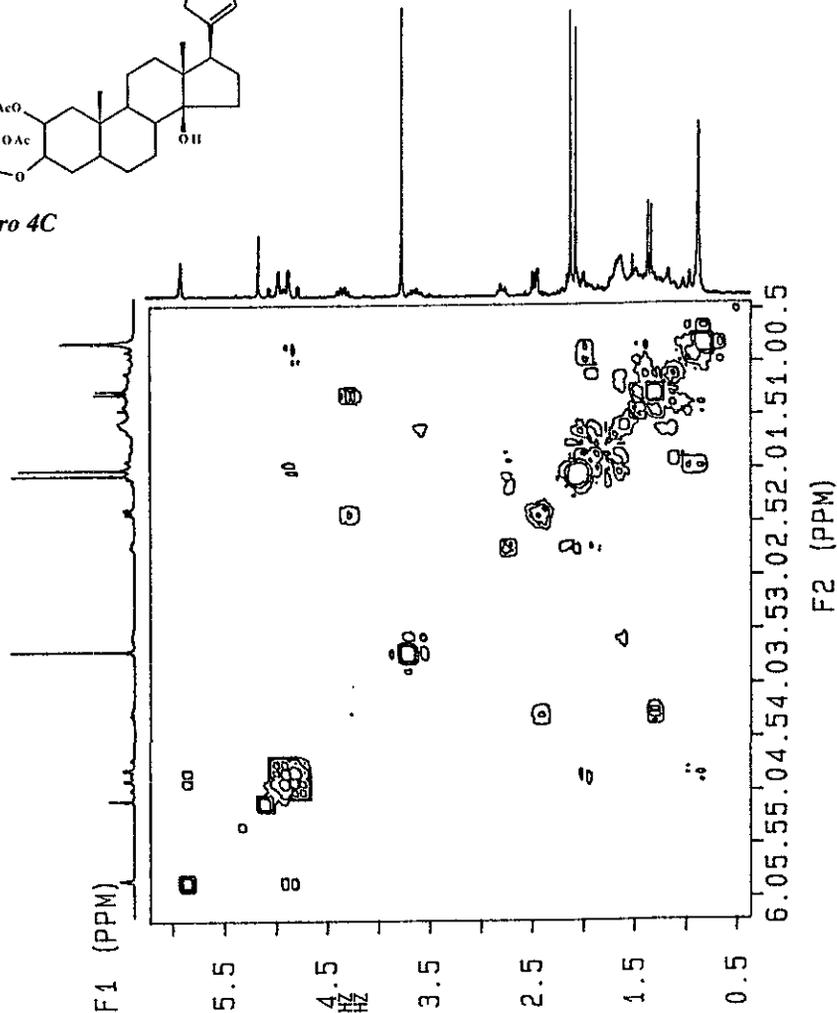
espectro 4A

DHA. LYDIA R. BOXACO

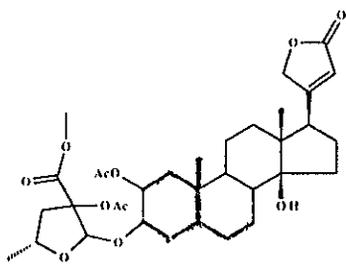




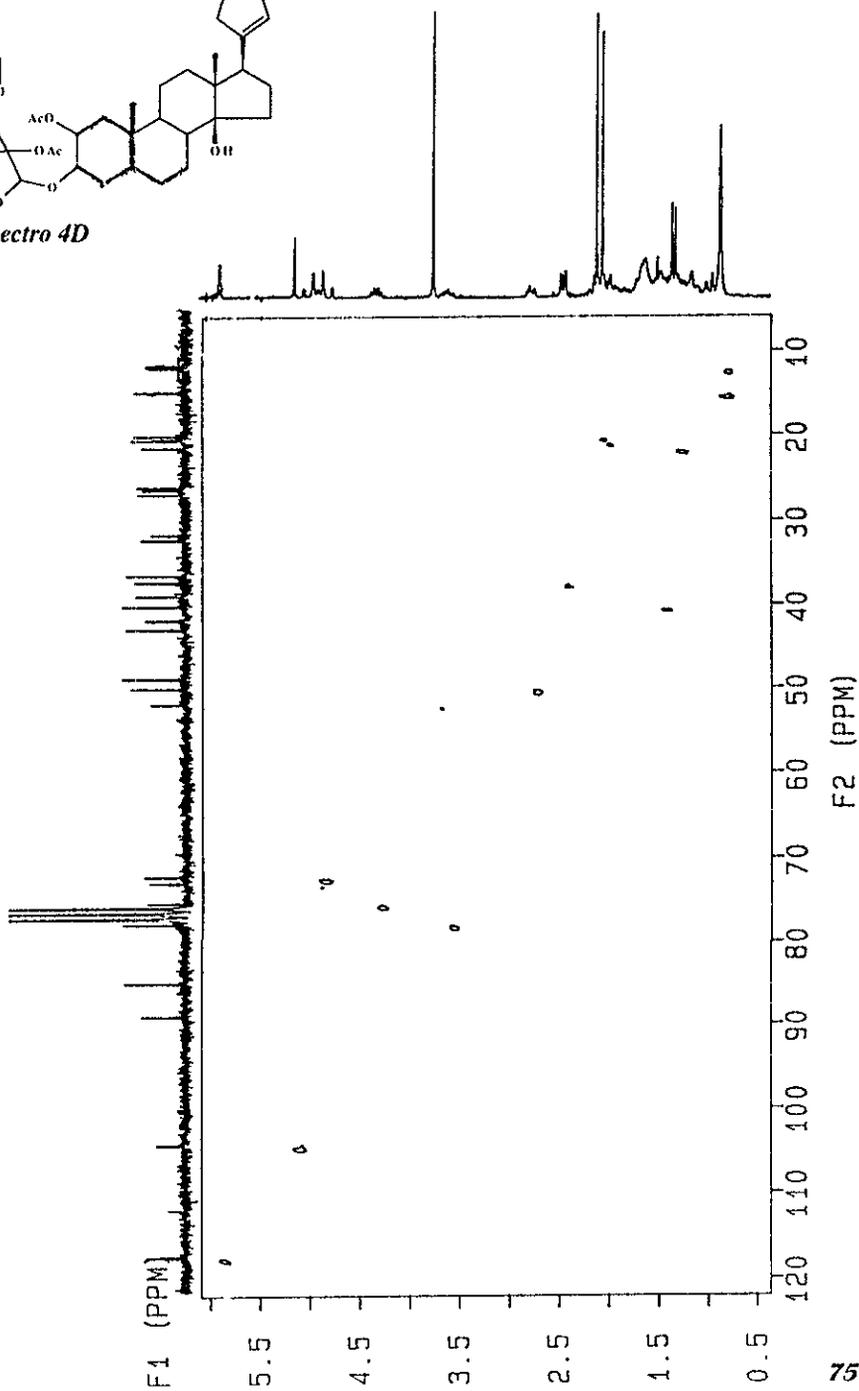
espectro 4C

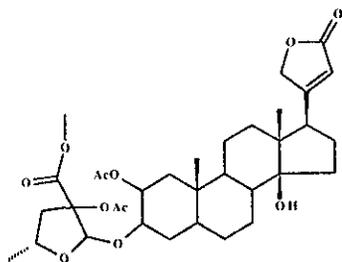


DRA LYOTA B. SOYACD HR
 EXP. NO. 08-03-97
 SOLVENT CUSY3
 FILE CUSY
 CUSY PULSE SEQUENCE
 OBSERVE PRO 100 975 MHz
 NO. OF SCANS 160
 NO. OF SPECTRAL WIDTH (F2) 1530.7 Hz
 NO. OF SPECTRAL WIDTH (F1) 1530.7 Hz
 SOLV. ACQUIS. DELAY 1.00 SEC
 PULSE WIDTH 9.00 DEGREES
 F1 F2 90 DEGREES
 AMBIENT TEMPERATURE
 NO. REPEATITIONS 164
 NO. INCREMENTS 160
 DATA PROCESSING
 PSEUDO-ECHO SHAPED
 FT SIZE 512 X 512
 TOTAL TIME 3 HOURS 34.5 MINUTES



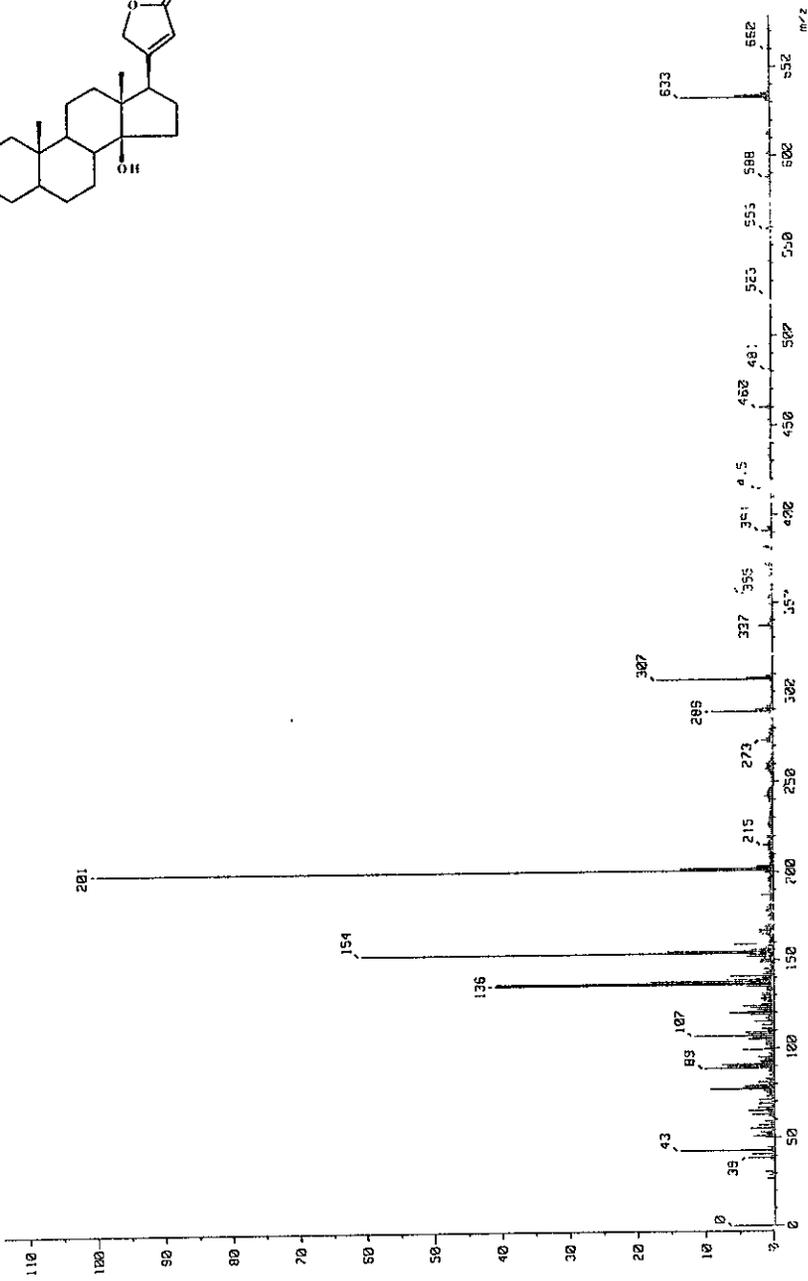
espectro 4D





espectro 4E

[Mass Spectrum]
 Date : 05-Oct-97 00:38
 Data : D-Cardenas001
 Sample: COXGc0
 Note : Humberto-y
 Inlet : Direct
 Ion Mode : FAB+
 Spectrum Type : Normal Ion (F-L-Linear)
 Scan# : (2,9)
 Temp 147.9 deg.C
 RT : 0.62 min
 Int. : 399.99
 m/z 201.2000
 Output m/z range : 0.0000 to 682.1958
 4780202
 Cut Level : 0.00 %



PARA ALGUIEN MUY ESPECIAL:

Por la paciencia, conocimientos, enseñanzas y consejos brindados durante el tiempo que la conocí. Desafortunadamente, se adelantó a nuestro destino final, sin poder brindar aún más de ese talento que llevaba en su persona.

Quisiera que pudiera estar en estos momentos (al menos en alma), para que compartiera conmigo los logros que gracias a usted he conseguido.

Esté donde esté, nunca voy a olvidarla y siempre recordaré ese optimismo y fortaleza que siempre mostró.

En todos los aspectos:



Gracias Dra. Lydia Rodríguez Hahn

Porque personas como usted son muy difícil de encontrar en este mundo, con esa alegría de vivir y de ver las cosas de una manera más positiva.

Por haberme brindado su amistad, así como sus consejos y su sabiduría, por la que estaré eternamente agradecido.

Por apoyarme siempre, tanto en lo personal, como en lo profesional.

Por todo ello:

Gracias M en C Jorge Ricardo Cárdenas Pérez

Por haberme dado comprensión, cariño, amistad y miles de cosas que es imposible mencionar en este agradecimiento.

Porque siempre estuviste conmigo en los momentos más difíciles para apoyarme y darme fuerzas de vivir.

Por tantos momentos felices que hemos pasado (y seguiremos pasando) juntos, sin olvidar los pequeños momentos de tristeza.

Porque no puedo expresar tan fácil lo que siento por ti.

Gracias Imelda