

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

DIVISION DE ESTUDIOS SUPERIORES



**NUEVOS TERPENOIDES EN COMPUESTAS
MEXICANAS**



INSTITUTO DE QUÍMICA

T E S I S B I B L I O T E C A

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
DOCTOR EN CIENCIAS QUIMICAS
PRESENTA EL QUIMICO**

CARLOS GUERRERO RUIZ

1 9 7 4



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.

**ESTA TESIS SE DESARROLLO EN EL INSTITUTO DE QUIMICA
DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MEXICO BAJO
LA DIRECCION DEL DR. ALFONSO ROMO DE VIVAR.**

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE: Dr. Humberto Estrada Ocampo.

1er. VOCAL: Dr. Alfonso Romo de Vivar.

2o. VOCAL: Dr. Francisco Sánchez-Viesca.

3er. VOCAL: Dra. Lidia Rodríguez-Mann.

SECRETARIO: Dr. Angel Guzmán S.

SUPLENTE: Dr. Alfredo Ortega H.

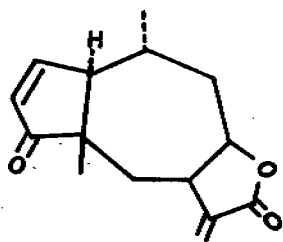
- - - - -

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

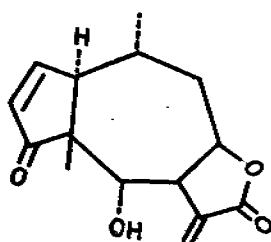
En el Instituto de Química de la UNAM, así como en los centros-- de investigación de diferentes países, se ha venido desarrollando una - investigación sistemática de los componentes químicos de las plantas, - especialmente de las que pertenecen a la familia de las compuestas. Es- tos estudios se han utilizado algunas veces para encontrar o demostrar- afinidad o parentesco entre familias géneros o especies de plantas (qui- mitaxonomía). Por otra parte existe la tendencia actual de enfocar la- atención al estudio de sustancias de origen natural con posible aplica- ción en el campo de la medicina, como agentes inhibidores de tumores - cancerosos.

Se ha encontrado actividad citotóxica en una cantidad considera- ble de las lactonas sesquiterpénicas 1,2 que se han aislado de diferen- tes plantas de la familia de las compuestas.

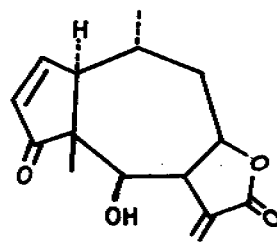
Como ejemplo podemos citar entre otras a las siguientes:



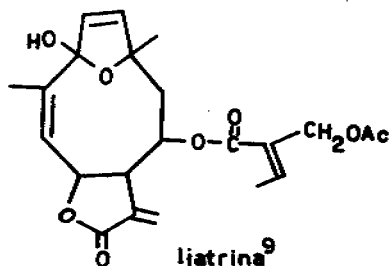
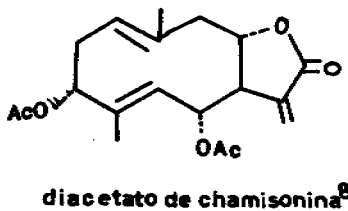
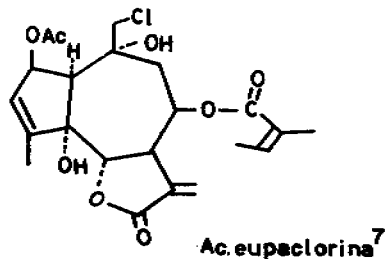
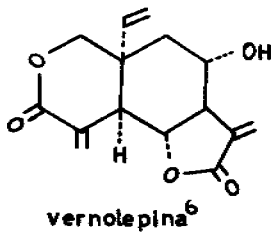
aromaticina³



helenalina⁴



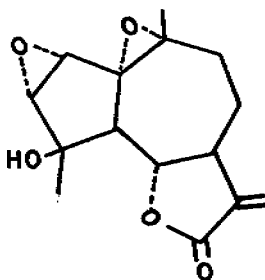
mexicanina⁵



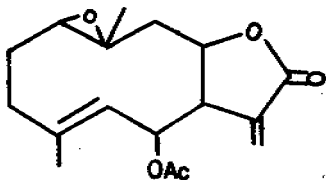
También se sabe que este tipo de compuestos tiene actividad fisiológica en plantas, como lo demuestran los trabajos de T. Osawa et al.¹⁰ entre otros. Osawa encontró que el extracto etanólico del *Chrysanthemum morifolium* estimulaba el crecimiento de raíces en cortes de plantas de frijol "mung". Conociendo este efecto se dió a la tarea de aislar el principio activo, el que resultó ser una mezcla de las chrysarteminas A y B aisladas y caracterizadas por J. Romo et al.¹¹ en 1970. T. Osawa encontró que las chrysarteminas aumentan notablemente en actividad cuando se usan en unión con A1A. Además de las chrysarteminas, también presentan actividad sinérgica del ácido indolacético la heliangina y la pirethrosina.



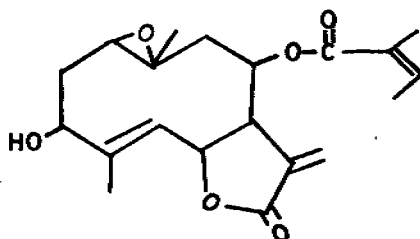
chrisartemina A



chrisartemina B

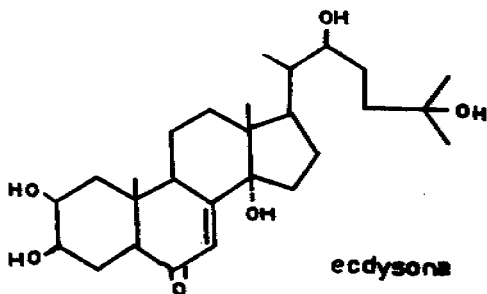
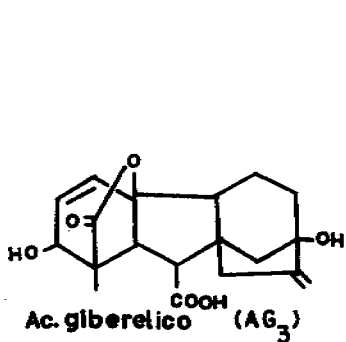


pyrethrosina



heliangina

Por otro lado la actividad fisiológica no es exclusiva de los -- sesquiterpenos, ya que existen un sin número de sustancias activas con más átomos de carbono, como lo son las giberelinas (factores de creci-- miento en las plantas), las hormonas de los insectos como la ecdysona y las hormonas humanas como la progesterona.



En la presente tesis, se discute la forma en que se establecieron la estructura y la estereoquímica de tres sustancias, la viguiesténina, desacetil viguiesténina y bacchofertina. Las dos primeras son sesquiterpenos, y se encontró que tienen una actividad fisiológica marcada como sinérgicos del ácido indol acético en la formación de raíces en cortes de plantas de frijo.¹² También tienen actividad citotóxica a dosis bajas en células de mamífero "in vitro" en cultivo de tejidos, en estos experimentos se utilizaron dos líneas celulares: La línea L-929 - procedente de tejido conjuntivo murino y la otra procedente de un carcinoma laríngeo humano HEP-2.¹³ El estudio de la actividad fisiológica de la bacchofertina que es un diterpeno se encuentra en proceso.

PARTE I

PARTE TEORICA

La Viguiera stenoloba es una planta que pertenece a la familia de las compuestas y crece en el norte del país. En 1972 se estudió por primera vez¹⁴ esta especie, habiéndose recolectado cerca de Matuhuala - S.L.P. y se encontró como su principal componente un diterpeno llamado estenolobina (1), (esquema 1). Esta vez se trabajó la que crece en la sierra de Arteaga en el Estado de Coahuila, aislándose la estenolobina y tres germacranólidos después de cromatografía del extracto etanólico. De los tres germacranólidos se obtiene en mayor proporción la viguiestenina (2a), por esta razón se pudo disponer de la cantidad suficiente para la determinación de su estructura, ya que para llegar a ella se efectuaron varias reacciones químicas además del empleo de las técnicas espectroscópicas como se discute en seguida.

La viguiestenina tiene una fórmula condensada $C_{21}H_{28}O_7$, su $p.f. = 196-197$ y $[\alpha]_D^{25} = -120$, su espectro de infrarojo (espectro # 1), muestra en la región de carbonilos dos bandas intensas, una a 1740 y otra a 1760 cm^{-1} , estas corresponden al carbonilo de un éster o ésteres y al de una lactona γ conjugada respectivamente. Este cromóforo absorbe en el ultravioleta a λ_{max} , 214 nm. (ϵ , 10 000).

El espectro de RMN (tabla 1, espectro #2) de la viguiestenina está de acuerdo con la estructura 2a, puesto que se ven a campo bajo los dobletes característicos¹⁵ de los protones del metileno exocíclico-

conjugado con el carbonilo de la lactona, centrados, a 5.77 y 6.37 constantes de acoplamiento alílica $J = 1$ Hz. ambos. En esta misma región se pueden ver un d,d a 6.2 $J=12$, $J=1.5$, otro d,d a 5.3 $J=12$, $J=1.5$, y dos señales parcialmente sobrepuestas, una centrada en 5.3 y la otra en 5.21 ppm. En la región de metilos se ve el singlete característico del metilo de un acetato en 2.1, en 1.9 el doblete de un metilo vinílico, en 1.5 el singlete de un metilo unido a un átomo de carbono que soporta a un oxígeno y a 1.18 un doblete $J=7$ Hz. que integra para seis protones, este doblete se atribuyó a los metilos de un isobutirato.

Con los datos de IR, RMN y el análisis elemental se puede concluir que los seis átomos de carbono extras a un sesquiterpeno están incluidos en un acetato y en un isobutirato y que este sesquiterpeno tiene el esqueleto del germacrano.

Cuando la viguistenina se hidrogena en presencia de PtO_2 se obtiene el derivado dihidrogenado (3) en el que el metileno exocíclico conjugado con la lactona, se saturó ya que en IR la banda de este carbonilo se corre a 1770 cm^{-1} .

El espectro de masas de (3) revela claramente la presencia de los dos esteres antes mencionados, pues se ven los picos a m/e 43 $(CH_3-C=O^+)$ y a m/a 71 $(\begin{matrix} CH_3 \\ | \\ CH_2-CH-C=O^+ \end{matrix})$ con intensidades relativas de 100 y 50% respectivamente.¹⁶

En el espectro de RMN ya no aparecen los dobletes del metileno exocíclico, y en su lugar aparece el doblete del metilo secundario en

1.1 ppm. $J=7\text{Hz}$. en que se transformó por hidrogenación. Al desaparecer las señales del metileno exocíclico se pudo asignar con mayor facilidad las señales correspondientes a H-1, H-6, H-8 y H-9.

La señal que apareció como doblete de doblete a 5.45 ppm. con -- acoplamiento $J_{8,9} = 12$, y acoplamiento alílico de 1.5 Hz. se asignó al protón vinílico de H-9 ya que cuando la señal doble del metilo en C-10- (1.92 ppm) fué sometida a doble resonancia (espectro No. 3), el doblete de doblete de 5.45 se transformó en doblete ($J = 12\text{ Hz}$) por la pérdida del acoplamiento alílico.

La señal correspondiente a H-8 (base de isobutirato) apareció a 6.05 en forma de doblete de doblete con $J_{8,9} = 12\text{ Hz}$. ésto se confirmó cuando al irradiar la señal correspondiente a H-9 (5.45) se perdió el - acoplamiento de 12Hz. ($J_{8,9}$).

La señal debida a H-6 (base de la lactona) se observa como un -- multirlete centrada a 5.2 y la asignada a H-1 es un doblete de doblete a 5.2 ppm.

Cuando el espectro de RMN de la dihidroviguiestenina (3) se corrió en presencia de 15 y 30 mg de dipivaloíl metanoato de europio, de la sobreposición de varias señales entre 2.7 y 2.9 ppm. se separó un do-
blete de doblete a 3.2 ppm. $J=4.5$, (1H) que se atribuye al protón base-
de un epóxido que interacciona con un metileno vecino.¹⁷

La dihidroviguiestenina (3) se saponificó selectivamente dando -
el compuesto 5, en su espectro de IR aparece la banda del oxidrilo li-

bre a 3600 y la del isobutirato a 1740 cm^{-1} .

En RMN ya no aparece el singulete del metilo del acetato, y el--
doblete de doblete que aparecía en 3 a 5.2 se observa en el espectro de
5 corrido a 4.47 ppm. (base del OH).

La señal correspondiente a H-8 sufrió un desplazamiento paramag-
nético, pues ahora aparece a 6.51 ppm. Este desplazamiento a tan bajo -
campo permite colocar en C-8 al isobutirato, ya que es bien conocido --
que los protones base de esteres se desplazan más que los protones base
de lactonas¹⁸, por consiguiente la lactona está cerrada a C-6. (Señal a
5.12 ppm. Tabla 1). Es menester recalcar que la posición del isobutira-
to y la posición del cierre de la lactona se asignaron en base al des--
plazamiento químico de los protones de sus bases.

La posición de los demás grupos funcionales se confirmó cuando--
la desacetil dihidrovigüesténina (5) se oxidó con reactivo de Jones --
para dar la cetona conjugada 6. El espectro de IR de esta sustancia tie-
ne tres bandas de carbonilo a: 1700 de la cetona conjugada, 1730 del --
isobutirato y 1770 cm^{-1} de la lactona γ saturada. En el UV poseé un má-
ximo de absorción a 224 nm (E, 1585) esta absorción anormal del cromófo-
ro en el U. V. se atribuye a la falta de planaridad¹⁹ entre el carboni-
lo de la cetona y la doble ligadura, ésto se puede constatar cuando se
construye la molécula con modelos Dreiding. Este fenómeno también se po-
ne de manifiesto en el IR (ya que la banda del carbonilo aparece a 1700
y debería aparecer a 1690 cm^{-1}) y en RMN pues el protón de H-9 apare--

ció a 5.5 ppm., valor de desplazamiento muy alto para un protón β a -- una cetona conjugada.

Cuando el compuesto 6 se trató con isopropóxido de aluminio en benceno, se transformó en la cetona conjugada 7. En el IR se observan -- las bandas de la cetona conjugada a 1665 y la del oxidrilo terciario -- producto de la apertura del epóxido a 3665 cm^{-1} . Esta transformación ca -- racterística de cetona con éteres cíclicos en beta²⁰ confirma la posi -- ción relativa de los sustituyentes en los átomos de carbono C-1, 2,3,4, 9 y 10 como se representa en 2a. Los protones de la nueva doble ligadu -- ra se ven como un sistema AB, y los dobletes de éste se encuentran cen -- trados a 6.2 y 6.85 ppm., ambos con $J=17\text{Hz}$ lo que indica que dicha do -- ble ligadura es trans.

La estereoquímica de la viguiestenina (2a) se estableció en to -- dos los centros asimétricos, basados principalmente en los desplazamien -- tos que sufren los hidrogenos que se encuentran orientados del mismo la -- do del oxidrilo de C-1, en el compuesto 5. Cuando el espectro de RMN se -- corre en piridina deuterada y se compara con el espectro de la misma -- substancia en deuterocloroformo (Tabla III) se observó un corrimiento -- notable (0.67ppm.) de la señal de H-8, lo mismo aconteció con H-6 (-0.3- ppm). Los desplazamientos anteriores indican que tanto H-8 como H-6 se -- encuentran del mismo lado. Si asumimos que H-7 es (como en todos los ger -- macranólidos que se conocen y viendo que su constante de acoplamiento -- con H-8 es de 1 Hz (Tabla III) que corresponde a un ángulo diedro de --

105° entonces H-7 y H-8, son trans que el protón de C-8 debe tener - orientación β al igual que el -OH en C-1 y el protón de C-6. Con esto queda establecida la estereoquímica de los grupos funcionales como en 2a, excepto la del epóxido en C-3, C-4.

Se encontró que el epóxido tiene orientación β y por lo tanto el metilo en C-4 es α de acuerdo con los desplazamientos químicos que sufren H-8 y H-6 en la cetona 7 cuando se corre su espectro en piridina (Tabla IV), el que H-8 y H-6 se desplacen tan notablemente (+0.35 y -0.39 respectivamente), indica que están orientados para el mismo lado que el oxhidrilo de C-4, por lo que éste tiene orientación β como H-6 y H-8, con esto queda establecida la estructura y la estereoquímica de la viguiestenina como se ilustra en 2a.

Cuando la desacetilviguistenina (2b) que se aísla en pequeña - proporción de la planta se acetiló con anhídrido acético en piridina, - se transformó en viguiestenina (2a).

Esquema I

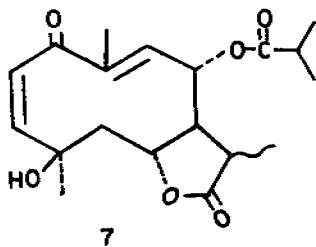
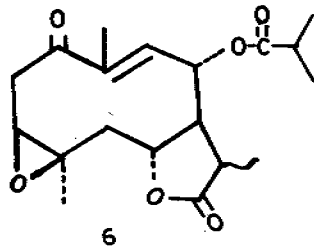
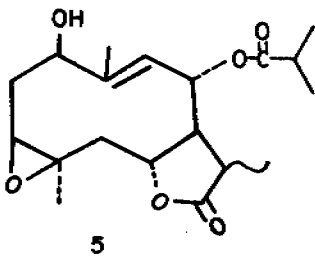
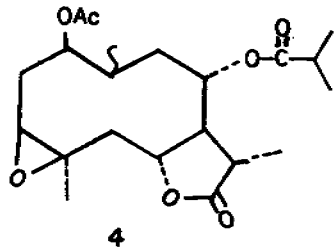
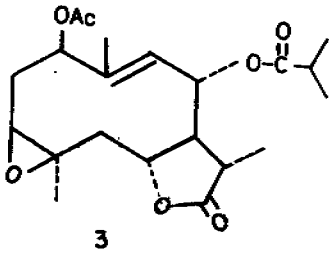
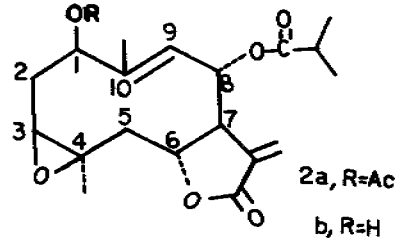
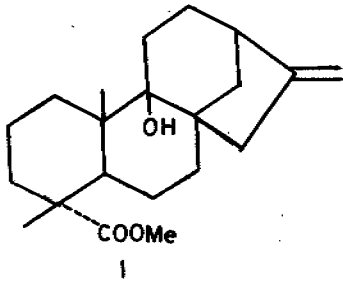


TABLA 1.- Señales en RMN para la vigüestentina y derivados.

Compuesto	H1	H6	H8	H9	C10-Me	C4-Me	H3	Diversos
2a	5.3	5.21 m 6.2 dd J=12 J=1.5	5.3 J=12 J=1.5	1.9 J=1.5	1.52 S	2.8	C11 = CH ₂ 5.77 J=1 6.37 J=1	
2b	4.48 dd	5.18 m 6.62 dd J8,9=12 J8,7=2.5	5.27 dd J8,9=12 Jal=1	1.8 d J=1	1.5 S		C11 = CH ₂ 5.76 d J=2 6.35 d J=2.2	
3	5.2 dd J=2.5 J=5	5.2 ddd J5,6=2.5 J5,6=4 J6,7=1	5.45 dd J8,9=12 Jal=1.5	1.92 d J=1.5	1.49 S	2.9 dd J2,3=4.5 J2,3=10	H ₂ 1.73 -O-Ac 2.12 H ₇ 2.36	
4	4.98	5.2 m	5.1	1.04 d J=7	1.4		-O-Ac 2.08	
5	4.47	5.1 m	6.51 dd J=12 J=1	1.82 d J=1	1.46 S			
6		5.1 ddd J7,8=1	4.92 dd J8,9=11.5 J7,8=1	1.96 d J=1.5	1.4 S		-CH(CH ₃) ₂ 1.13	
7		5.17	5.35	1.97 d J=1	1.5 S		C11-CH ₃ 1.08 H ₂ y H ₃ 8.18, 8.3 d 6.2 J=17 d 6.85 J=17	

Las constantes de acoplamiento están dadas en Hz.

T A B L A II

Espectro de RMN de dihidrovigüestena en
CDCl₃ en presencia de 15 nm de Eu(DPM)₃

H ₁	5.35	d, d	J _{1,2} = 2.5	J _{1,2} = 5
H ₂	2.95			
H _{2'}	1.98	d, d, d	J _{2,2'} = 15.5	J _{2',3} = 10
H ₃	3.23	d, d	J _{2,3} = 4.5	J _{2',3} = 10
H ₅	1.41	d ancho	J _{5,5'} = 15	
H ₆	5.22	d, d, d	J _{5,6} = 2.5; J _{5',6} = 4; J _{6,7} = 1	
H ₇	1.93	d ancho	J _{7,11} = 10; J _{7,8} = 1	
H ₈				
H ₉	5.52	q de d	J _{a1} = 1.5; J _{8,5} = 12	
C ₁₄ -CH ₃	1.59	s		
C ₁₀ -CH ₃	1.94	d	J = 1.5	
C ₁₁ -CH ₃	1.13	d	J = 7.2	

T A B L A III

Espectro de RMN de desacetil viguiestenina
en CDCl_3 y en piridina deuterada

	CDCl_3	pir.	$\Delta\text{pir.}-\text{CDCl}_3$
H ₁	4.52	4.62	-0.1
H ₆	5.2	5.5	-0.3
H ₈	6.67	7.3	-0.67
H ₉	5.3	5.4	-0.1
H ₁₁	6.4	6.5	-0.1
H _{11'}	5.7	5.9	-0.2
C ₄ -CH ₃	1.52	1.83	-0.31
C ₁₀ -CH ₃	1.82	1.72	+0.1
-CH(CH ₃) ₂	1.14	1.10	+0.04

T A B L A IV

Espectro de RMN de la sustancia 7
en CDCl_3 y en piridina

	CDCl_3	J	mult.	pir.	$\Delta\text{pir}/\text{CDCl}_3$
H ₂	6.2		d	6.43	-0.23
H ₃	6.85	J _{2,3} = 17	d	7.15	-0.3
H ₅	2.64	J _{5,5'} = 14	d,d	2.77	-0.13
H _{5'}	1.87		d,d	2.12	-0.25
H ₆	5.16	J _{6,7} = 2 J _{5,6} = 6.7 J _{5',6} = 5.5	d,d,d	5.55	-0.39
H ₇	3.12	J _{7,11} = 9	d ancho	3.36	-0.24
H ₈	5.36	J _{7,8} = 1	d,d	5.71	-0.35
H ₉	6.05	J _{8,9} = 9	q,d	6.2	-0.23
H ₁₁			q,d	3.01	
C ₄ -CH ₃	1.5		s	1.5	0.00
C ₁₀ -CH ₃	1.95	J _{al} = 1.5	d	1.93	+0.02

NOTA : Las constantes de acoplamiento fueron medidas
en un espectro corrido en piridina deuterada.

qd = cuarteto de doblete.

PARTE II

Estructura y Estereoquímica de la bacchofertina:

Diterpeno aislado de *Baccharis conferta* H.B.K. (compositae)

La Baccharis conferta es un arbusto que crece abundantemente en las zonas montañosas y frías que circundan a la ciudad de México: para su estudio se hicieron recolecciones en los parques nacionales Desierto de los Leones, D. F. y Lagunas de Zempóala, Edo. de Morelos. En ambos casos se aisló después de cromatografía del extracto etanólico una sustancia cristalina de fórmula $C_{20}H_{26}O_4$, a la que llamamos bacchofertina cuya estructura queda representada por la (esquema 11). Como se demuestra a continuación.

El espectro de I.R. de la bacchofertina presenta bandas a 3615 - de oxhidrilo libre, en la región de carbonilos, a 1755 de lactona conjugada y a 1670 y 1625 cm^{-1} de dobles ligaduras. El cromóforo formado por el carbonilo de la lactona y una doble ligadura se confirmó por su absorción en el U.V. a 218 nm (ϵ .8677).

De los cuatro átomos de oxígeno que tiene la bacchofertina 3 están formando los grupos funcionales lactona γ y el oxhidrilo (bandas en el I-R.) el otro átomo de oxígeno se encuentra en un anillo furánico -- substituído en la posición 3 ya que en el espectro de RMN se observan las señales características de protones aromáticos de este tipo de anillos a 7.4, 7.26 y 6.3, (espectro 5). También pueden verse un triplete a 7.58, $J=5$ Hz de un protón vinílico que interacciona con los hidrógenos de un metileno, a 4.8 y 4.32 señales dobles de un sistema AB, $J=8$

Hz, la primera tiene un acoplamiento extra en M con uno de los protones de C-6, $J = 1.5$ Hz, y a 4.45 se encuentra una señal múltiple que integra para un protón. En la región de metilos aparecen en 0.89 un singulete y un doblete sobrepuestos de un metilo terciario y un secundario respectivamente.

Cuando la bacchofertina (1a) se acetila con anhídrido acético - piridina se obtiene el acetato 1b. En el espectro de resonancia magnética nuclear de este compuesto se observa que la señal que aparecía a 4.45, ahora se encuentra en 5.0 ppm., lo que permite asignar aquella como la base de oxhidrilo secundario en el espectro de 1a. Por otra parte se puede asegurar que los dobletes del sistema AB en 4.8 y 4.32 corresponden a los protones base de la lactona.

El I.R. del acetato ya no muestra la banda de oxhidrilo libre, pero ahora se ve a 1730 la banda del acetato además de la del carbonilo de la lactona en 1755 cm^{-1} .

Cuando la bacchofertina (1a) se hidrogena en presencia de Pd-C se obtiene un derivado hexahidrogenado (2) que confirma las dos dobles ligaduras del furano y la doble ligadura conjugada con el carbonilo de la lactona, puesto que en RMN no se observan las señales características de los protones aromáticos ni la señal del protón vinílico de C-3. En el I.R. la banda de lactona γ aparece en este caso a 1770 cm^{-1} .

El análisis elemental indica que la bacchofertina es un diterme-

no, y las reacciones químicas y los datos espectroscópicos permiten acomodar a los grupos funcionales en un esqueleto de clerodano (esquema II.) como en 1a. Se confirmó la posición de la doble ligadura (que es -- frecuente en este tipo de compuestos 23,24,25) en C₃ y la del oxhidrilo en C-1 por medio de la reacción de oxidación de 1a, con reactivo de --- Jones que dió el compuesto 4. En la cetona 4 la doble ligadura que estaba conjugada con la lactona está ahora en conjugación contra el carbonilo nuevo, ya que en su espectro de I.R. el carbonilo de la lactona aparece en 1770 y la cetona en 1685 cm⁻¹. En el espectro de RMN se ve que el triplete del protón vinflico de C-3 en 1a, se transformó en un sistema ABX cuyas señales doble de doble se encuentran localizadas a 6.45, J = 5, J = 1.8; 6.1, J = 5, J = 1.3 y 3.13, J = 1.8, J = 1.3 Hz. Esta relación de los protones quedó plenamente establecida ya que cuando se irradió la señal del protón X en 3.13 (espectro #6), las señales en 6.4 y 6.1 se simplificaron a señales dobles J = 5 Hz. En este mismo espectro, se puede observar la señal del protón angular en C-10 como singulete en 2.74 ppm. Por lo tanto el metilo terciario solamente puede estar en la posición 9 y el metilo secundario en C-8 como en el esqueleto del clerodano.

La posición antes señalada para los metilos, quedó confirmada al obtener 1,2 dimetil naftaleno³¹ (4) de la reacción de aromatización con salenio de la bacchofertina (1a).

La esteoquímica de la, se determinó en base al desplazamiento químico que sufren algunas señales al correr el espectro de RMN en piridina deuterada con respecto del corrido en CDCl_3 (espectro #7).

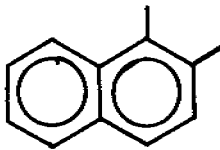
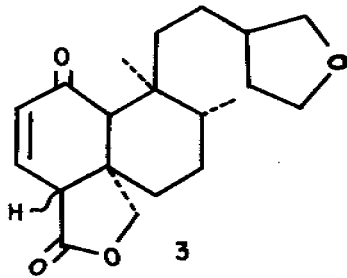
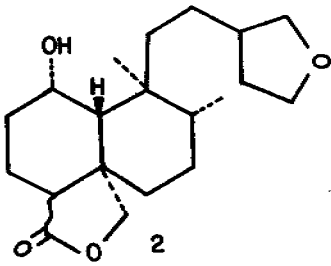
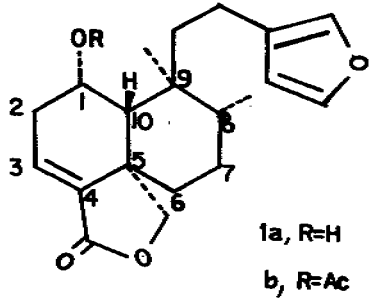
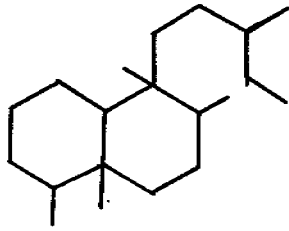
Las señales que cambian de posición son los dobletes del sistema AB formado por el metileno base de la lactona, la señal del protón A -- sufre un desplazamiento de -0.41 y la señal del protón B de -0.21. También la señal simple del metilo angular se desplaza -0.13 ppm. Los corrimientos antes señalados, indican que el metileno base de la lactona, el metilo terciario y el oxhidrilo están del mismo lado. Cuando se construye la estructura de la bacchafertina con modelo Dreiding, se observa que solamente pueden estar cerca el metileno base de la lactona, el metilo angular y el oxhidrilo cuando este último es axial y la fusión de anillos es trans.

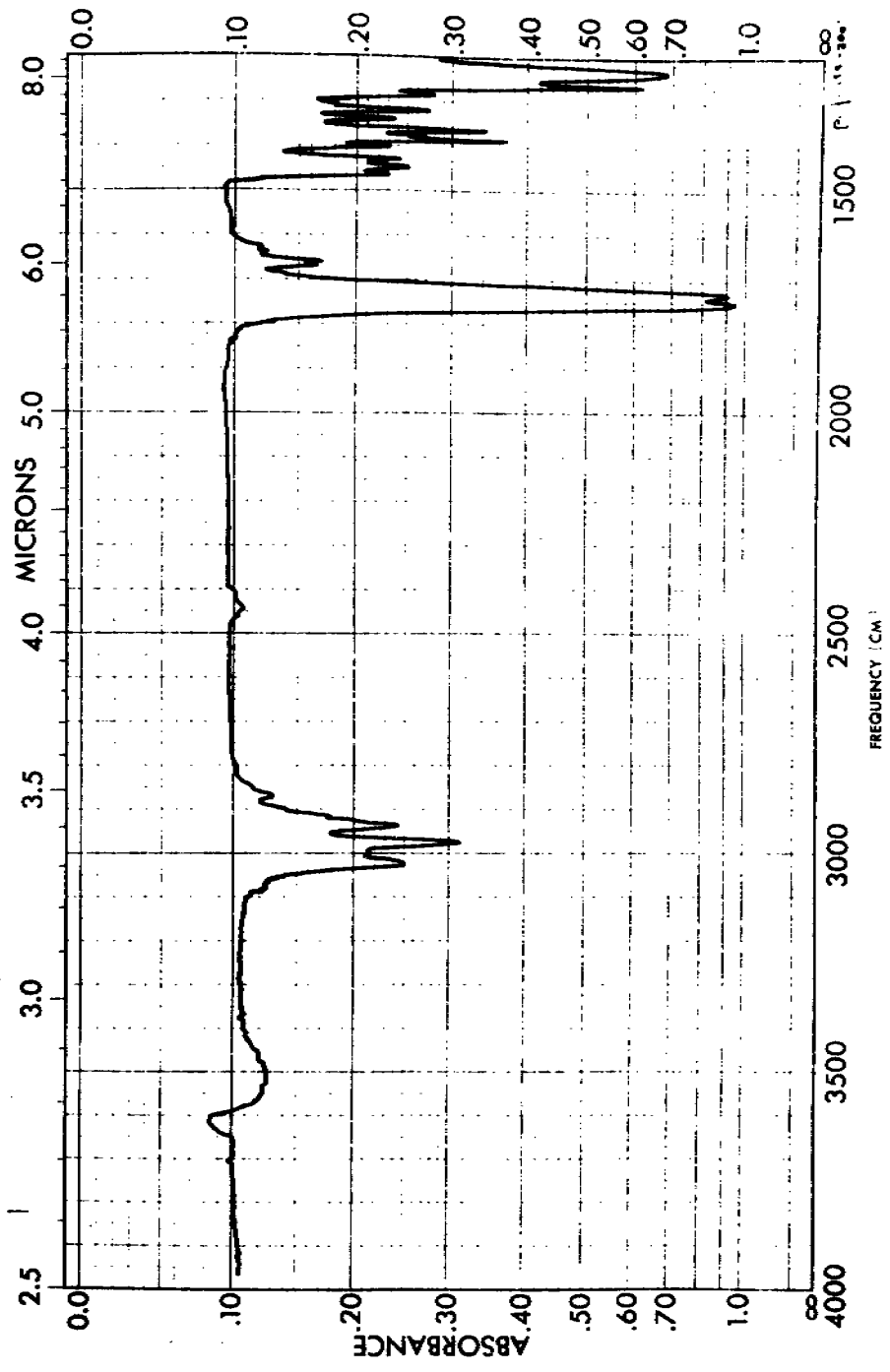
Esta observación está de acuerdo con las constantes de acoplamiento pequeñas que presenta el protón base del oxhidrilo en RMN y que corresponden a un hidrógeno ecuatorial. La esteoquímica más probable para el metilo de 0-8 es la *oc* en similitud con el clerodano y compuestos afines²⁶.

Para diferenciar entre las dos posibles imágenes especulares a las que podría pertenecer la bacchofertina, se determinó la configuración absoluta del átomo de carbono que soporta el oxhidrilo, por el método de Horeau^{27,28}. Tal configuración resultó ser S, ya que el ácido liberado en la reacción de esterificación correspondió al estereoisómero-

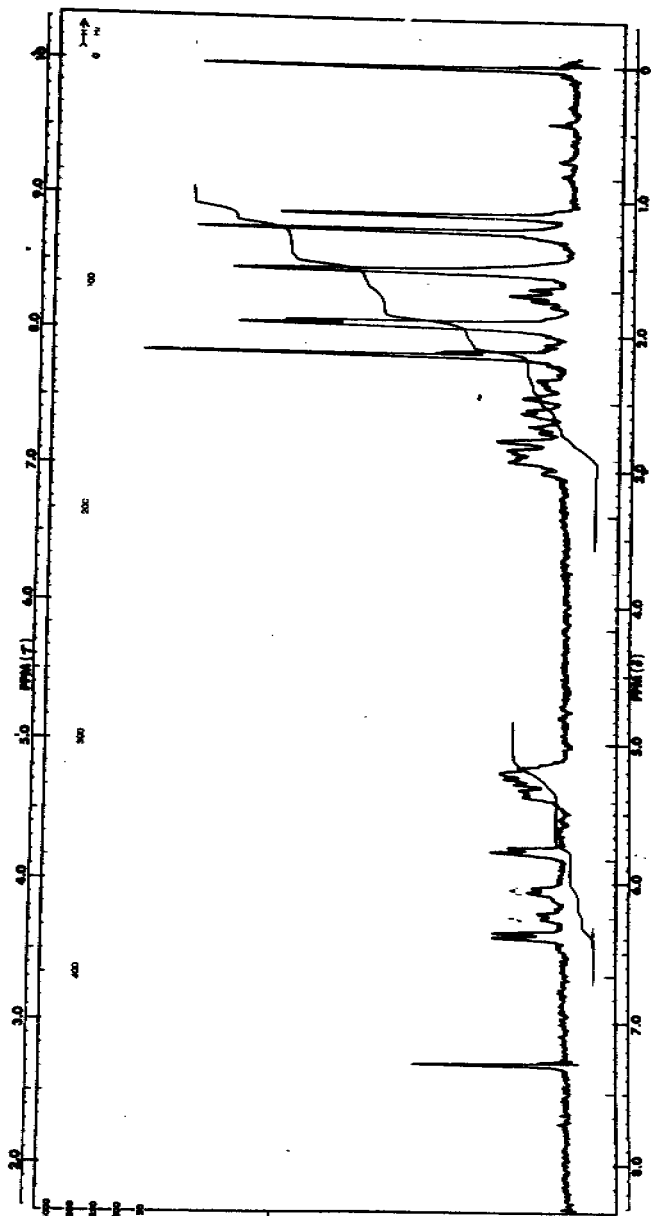
R (signo negativo de la rotación). Por lo tanto la estructura y estereo
química de la bacchofertina queda establecida como en la.

Esquema 2

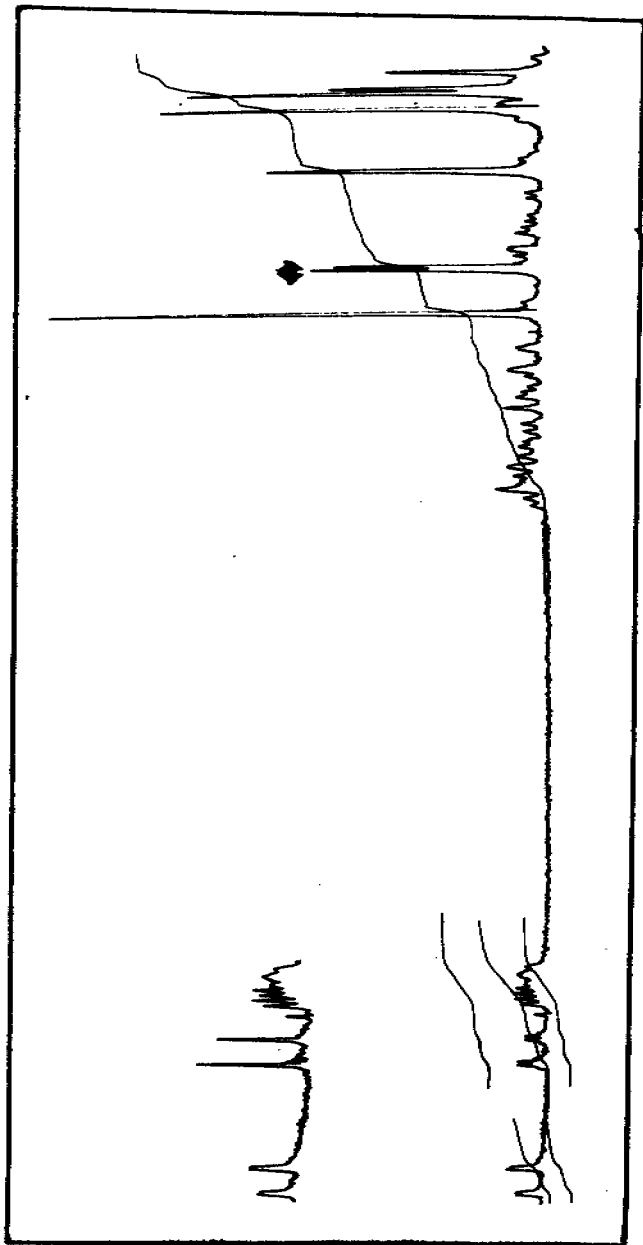




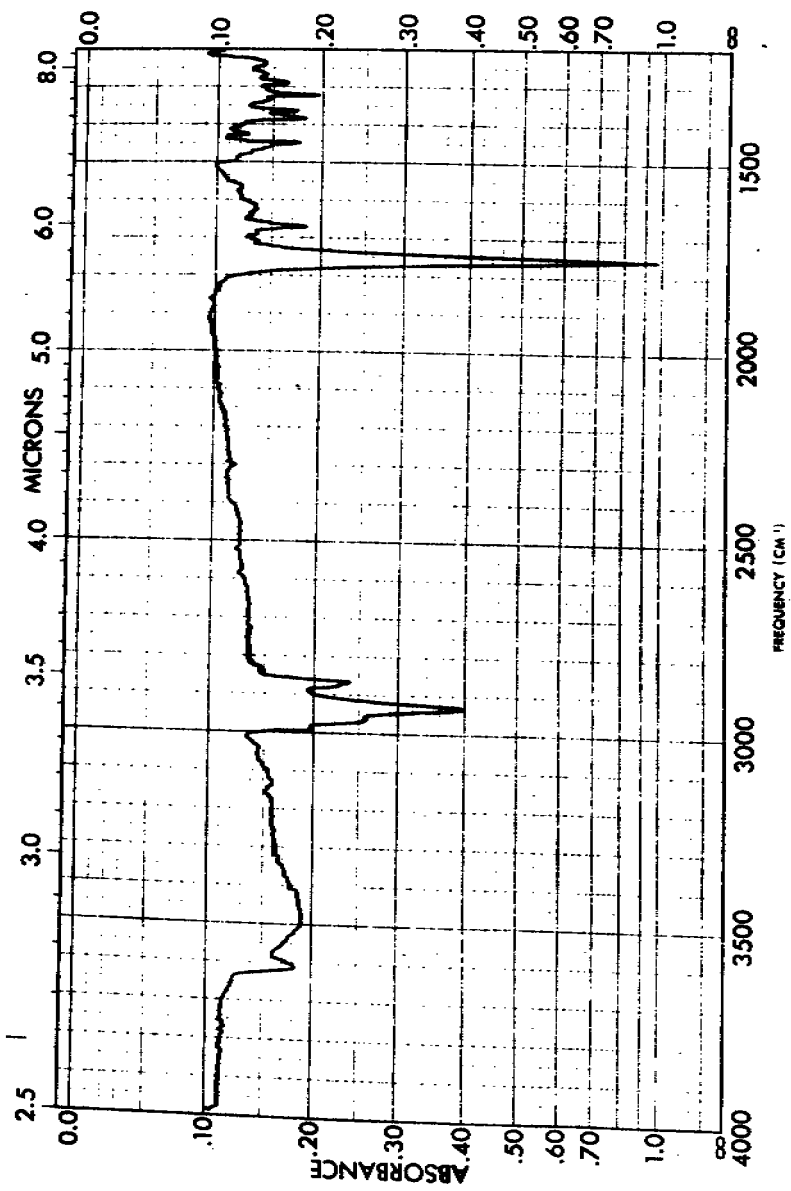
ESPECTRO Nº1



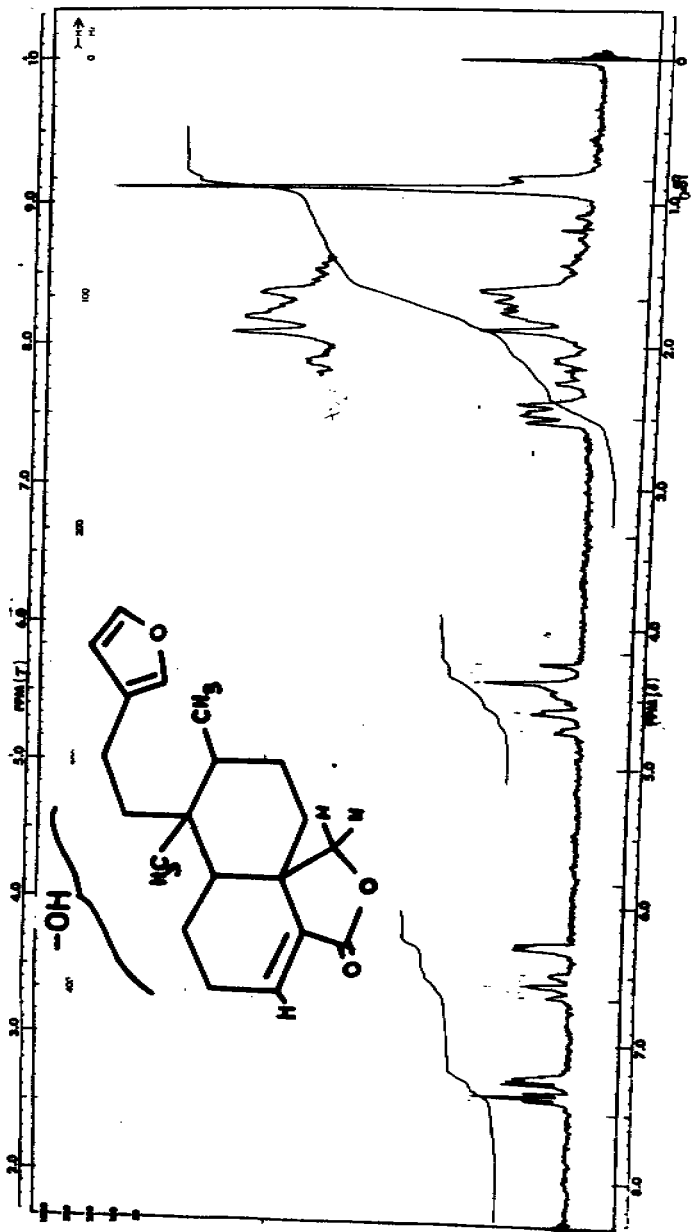
ESPECTRO N°2



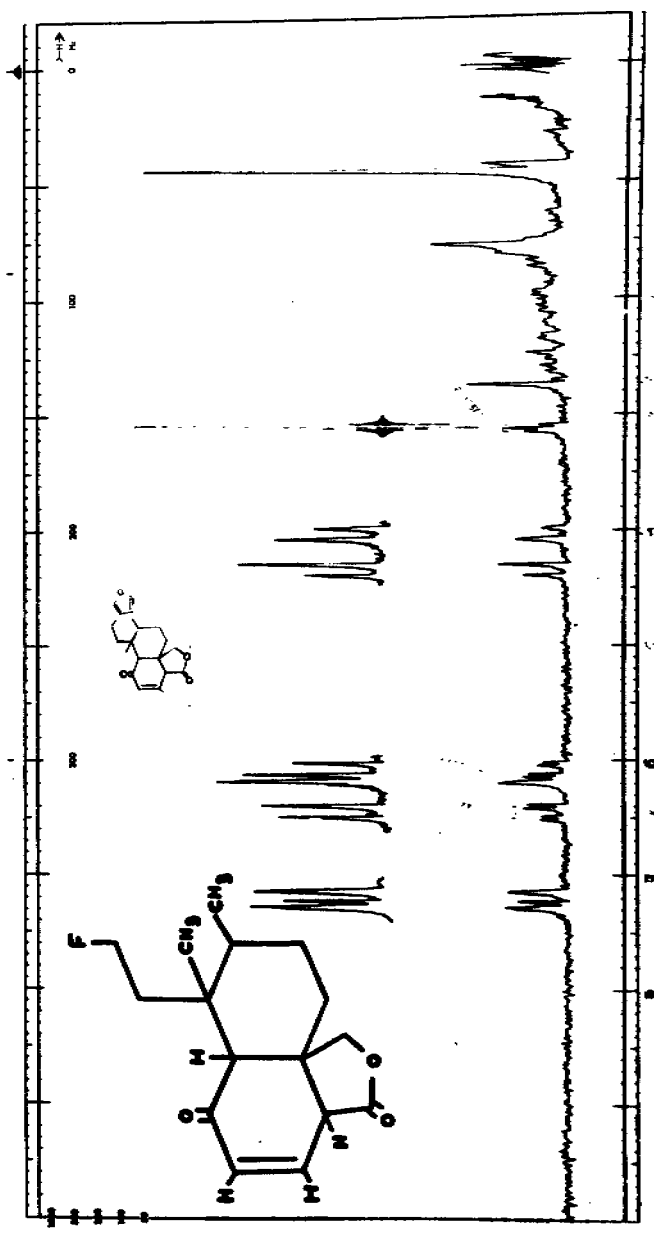
ESPECTRO N°3



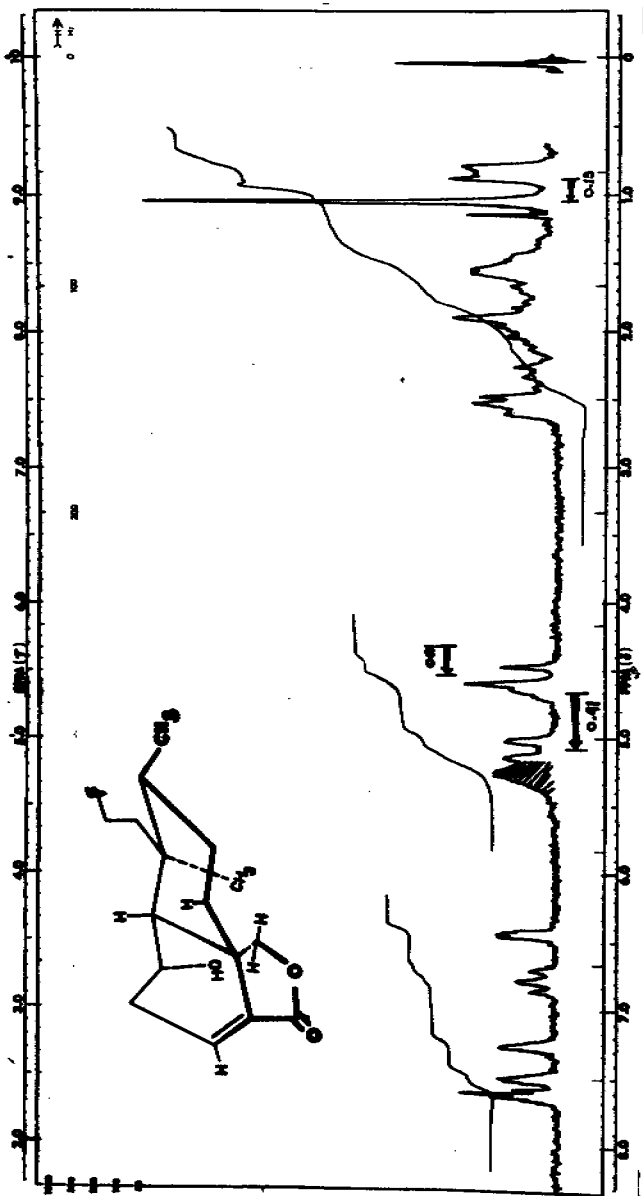
ESPECTRO Nº4



ESPECTRO N° 5



ESPECTRO N°6



ESPECTRO N°7

PARTE EXPERIMENTAL

Aislamiento de viguiestenia (2a) y de desacetil viguiestenia - (2b).

La Viguiera Stenoloba se recolectó en la Sierra de Arteaga en octubre de 1969.

La planta seca y molida (10.9 Kg.) se extrajo dos veces con etanol a temperatura ambiente, durando cada extracción 2 días; los extractos etanólicos se reunieron y se concentraron a la tercera parte de su volumen, se le adicionó al concentrado una solución acuosa de acetato de plomo hasta que no hubo más precipitación; el precipitado se eliminó por filtración al vacío sobre celita, y el filtrado se concentró hasta que apareció una ligera turbidez, se extrajo con cloroformo tres veces y el extracto clorofórmico se secó con Na_2SO_4 anh.

Los espectros de RMN fueron hechos por el M en C. Eduardo Díaz en un espectrómetro Varian A-60A. Los desplazamientos químicos están dados en ppm referidos al tetrametilsilano como referencia interna. Los experimentos de irradiación se efectuaron en un espectrómetro Varian HA-100 con audio osciladores Hewlett-Packard modelos 200 AB y 200 CD. Los espectros de masas fueron hechos por el M en C. Eduardo Cortés en un espectrómetro de masas Hitachi Perkin-Elmer RMU 6D de doble foco, a 75 ev. Los espectros de UV e IR fueron hechos por el Químico Moé Rosas, determinándose los primeros en etanol al 95% en un espectrofotómetro Perkin/Elmer modelo 202 y los en el IR en espectrofotómetros de doble haz Perkin/Elmer modelos 337 ó 521 en solución clorofórmica. Los puntos de fusión se determinaron en un aparato Fisher Jones y no están corregidos. Los microanálisis fueron efectuados por el Dr. Franz Pascher en Bonn, Alemania. Las cromatografías se efectuaron en alúmina Alcoa grado F-20. La pureza de los productos y la comparación de los mismos se siguió a base de cromatoplasmas revelándolas con sulfato cérico al 1% en H_2SO_4 .

y se concentró a sequedad, obteniéndose 205 g de extracto, el que se -
cromatografió en 4 Kg. de alúmina sin lavar. De las fracciones eludi-
das con benceno se obtuvieron 3.07 g de estenolobina (1) p.f. 154-158,
y de las fracciones eluidas con benceno 90-AcOEt 10% se unieron 2.365.g
de vigüesténina, p.f. 182-186.

La muestra analítica de la vigüesténina se preparó de acetona-
eter isopropílico, p.f. 196-198.

λ_{\max} . 214nm, ϵ , 10013; ν_{\max} . 1765, 1740, 1670, 1600 cm^{-1} Anal. calc.
para $\text{C}_{21} \text{H}_{28} \text{O}_7$: C, 64.27; H, 7.19; O, 28.54
Encontrado: C, 64.59; H, 7.09; O, 28.38.

Los aceites que se eluyeron con benceno 90-AcOEt 10% a benceno-
70-AcOEt 30% se reunieron (5g) y se cromatografiaron en alúmina sin la
var. En las fracciones eluidas con benceno 90-AcOEt 10% cristalizó --
una substancia de p.f. 212-214 (70 mg) que correspondió a la desacetil
vigüesténina 2b, ya que por acetilación con Ac₂O en piridina al vapor
por 8 hs. se obtuvo la vigüesténina 2a, como lo indican el p. f. y la
igualdad de los espectros de infrarrojo.

Dihidro vigüesténina (3). 1 g de vigüesténina se disolvió en
25 ml de metanol y 10 ml de ácido acético, a la solución se le adicio-
naron 20 mg. de PtO₂, se sometió a hidrogenación a presión y temperatu
ra ambiente hasta que dejó de absorber hidrógeno, entonces se filtró-
el catalizador en papel; el residuo se disolvió en cloroformo, la solu
ción clorofórmica se lavó con una solución acuosa de NaHCO₃, después -

con agua, se secó con Na_2SO_4 anh. y se filtró, el filtrado se concentró casi a sequedad, se adicionó eter isopropílico y cristalizó la sustancia (700 mg) p.f. 207-209. $\bar{\nu}$ max. 1770, 1740, 1675 cm^{-1} .

La muestra analítica se preparó por cristalización de acetona-eter isopropílico, p.f. 208-209 Anal. calc. para $\text{C}_{21}\text{H}_{30}\text{O}_7$: C, 63.94; H, 7.67; O, 28.39. Encontrado: C, 64.08; H, 7.61), 28.46%.

Tetrahidro viguiestenina (4), 200 mg de viguiestenina se disolvieron en 15 ml de Ac-OH, a la solución se le agregaron 100 mg. de PtO_2 , la mezcla se mantuvo en el aparato de hidrogenación ordinaria durante 5 hs., después de este tiempo se filtró el catalizador, y el filtrado se concentró a sequedad en rotavapor, el aceite resultante se disolvió en cloroformo, la solución cloroformica se lavó con una solución acuosa de NaHCO_3 , después con agua y al último se secó con Na_2SO_4 anh., el sulfato se filtró y el cloroformo se evaporó, quedando un aceite. Este se cromatógrafió en alúmina sin lavar, y de las fracciones eluidas con benceno 85-AcOEt 15% se reunieron 40 mg de la sustancia (4) con p.f. 152-155. La muestra analítica se preparó de acetona-eter isopropílico hasta p.f. 156-158.

$\bar{\nu}$ max. 1775, 1740 cm^{-1} . Anal. calc. $\text{C}_{21}\text{H}_{32}\text{O}_7$: C, 63.61, H, 8.14; O, 28.25.

Encontrado: C, 63.47; H, 8.09; O, 28.16%.

Desacetil dihidro viguiestenina (5), 700 mg del compuesto dihi--

drogenado (3) se disolvieron en 25 ml de MeOH, a esta solución se le --- agregó otra compuesta de 700 mg de K_2CO_3 en la mínima cantidad de agua, la mezcla resultante se dejó a temperatura ambiente durante 3 días, -- después de este tiempo se concentró a rotavapor para eliminar el meta-- nol, se le adicionaron 10 ml de H_2O y se extrajo con cloroformo, la so-- lución cloroformica se secó con Na_2SO_4 anh., se filtró y se evaporó el-- disolvente, al aceite resultante se le adicionó eter isonpropilico cris-- talizando la substancia (245 mg), p.f. 196-198.

La muestra analítica se preparó por cristalización de acetona--- eter isopropilico, p.f. 199-201.

\int max. 3600, 1760, 1725, 1600 cm^{-1} . Anal. calc. para $C_{19}H_{28}O_6$: C, - 64.75; H, 8.01; O, 27.24. Encontrado: C, 64.8 H, 7.91; O, 27.29 %.

Desacetil dihidro dehidro viquiestenina (6). 70 mg de la subs-- tancia (5) se disolvieron en 5 ml de acetona esta solución se enfrió en un baño de hielo, y a la solución fría se le adicionó reactivo de Jones gota a gota hasta que tomó un tono naranja, así, se dejó en reposo 10 - min. en baño de hielo y 10 min. a temperatura ambiente, después de este tiempo se adicionó metanol para eliminar el exceso de reactivo, se con-- centró a rotavapor, se adicionó agua y se extrajo con cloroformo, la so-- lución cloroformica se secó con Na_2SO_4 anh., se eliminó el sulfato de - sodio por filtración, el filtrado se concentró a sequedad y la substan-- cia cristalizó de acetona- eter isopropilico, p. f. 170-175 (60 mg). La

muestra analítica se preparó por cristalización de acetona-eter isopropílico hasta p.f. 199-201. λ_{max} . 219nm, ϵ . 1585; ν_{max} . 1770, 1730, -1700 1650 cm^{-1} . Anal. calc. para $\text{C}_{19}\text{H}_{26}\text{O}_6$: C, 65.12; H, 7.48; 0.27.40.- Encontrado; C, 64.94; H, 7.30; 0.27.64 %.

Cetona (7). 115 mg. de la sustancia (6), se disolvieron en -- 50 ml de benceno, se destilaron 10 ml. de la cabeza de la solución, y se adicionaron 115 mg. de isopropóxido de aluminio, y se mantuvo a reflujo por 2.5 hs. Después de este tiempo se filtró y el filtrado se concentró en rotavapor, el residuo cristalizó de eter etílico- eter isopropílico (80 mg), p.f. 193-195. La muestra analítica se obtuvo por cristalización de acetona-eter isopropílico, p.f. 199-201.

λ_{max} . 217.250 nm; ϵ 7385, 11497; ν_{max} . 1780, 1740 1665 cm^{-1} . Anal. calc. para $\text{C}_{19}\text{H}_{26}\text{O}_6$: C, 65.12; H, 7.48 0.27.40. Encontrado: C, 65.21; H, 7.52, 0.27.61%.

Aislamiento de la bacchofertina (1a). 8 Kg de planta seca se extrajeron dos veces con etanol en frío, los extractos se reunieron y se concentraron a una tercera parte de su volumen original, este volumen se duplicó con agua y se agregó una solución de acetato de plomo hasta que ya no hubo precipitación, el precipitado se filtró sobre celita, y el filtrado se concentró a la mitad del volumen, se extrajo con cloroformo, la solución cromofórmica se secó con Na_2SO_4 anh, y se evaporó a sequedad, quedando 209 g de extracto, el que se cromatografió en una columna de alúmina. De las fracciones eluidas con una mezcla de 70% de benceno-30% de AcOEt se reunieron 5.3 g de la sustancia cristalina p.f. 176-180. λ_{max} . 218 nm, ϵ , 8677; $\bar{\nu}$ max. 3615 (OH), 1755 (lactona-conjugada) 1670, 1625 cm^{-1} (dobles ligaduras).

La muestra analítica se preparó por recristalización de acetona-eter isopropílico. p.f. 183-185. Anal. calc. para $\text{C}_{20}\text{H}_{26}\text{O}_4$: C, 72.70; H, 7.93; O, 19.37. Encontrado: C, 72.67; H, 7.94; O, 19.35 %.

Hexahidro bacchofertina (2). 300 mg. de (1a) se disolvieron en 20 ml. de AcOEt y se agregaron 50 mg. de Pd/C al 5%, la mezcla se sometió a hidrogenación total, cuando ya no se consumió hidrógeno, el catalizador se filtró, el filtrado se concentró. Cristalizó de acetona eter isopropílico (175 mg) p.f. 166-168 max. 3620 (OH), 1770 cm^{-1} (lactona).

La muestra analítica se preparó por recristalización de acetona-eter isopropílico p.f. 166-168. Anal. calc. para $\text{C}_{20}\text{H}_{32}\text{O}_4$: C, 71.39; H, 9.59; O, 19.02. Encontrado: C, 71.26, H, 9.71; O, 19.21%.

Acetato de bacchofertina (1b). A 100 mg de bacchofertina (1a) - se agregaron 1 ml. de piridina y 1 ml de Ac_2O , la solución se calentó - al vapor durante 1 hr, enseguida se adicionaron 5 ml de H_2O , se dejó re- posar 1/2 hr. se extrajo con cloroformo, este se lavó con solución de - HCl al 5%, después con solución de Na_2CO_3 al 5%, y por último con agua a pH neutro, se secó con Na_2SO_4 anh., se evaporó el cloroformo y se --- cristalizó el acetato de acetona-eter isopropílico (65 mg) p.f. 180-181. ν_{max} . : 1730 (acetato); 1755 (lactona conjugada); 1670, 1600 cm^{-1} - (dobles ligaduras).

La muestra analítica se preparó por cristalización de acetona -- -eter isopropílico p.f. 180-181. Anal. calc. para $C_{22}H_{28}O_5$: C, 70.94:- H, 7.58, : 0,21.48. Encontrado; C, 70.81; H, 7.66; 0.21.48%.

Producto de oxidación de la bacchofertina (3). 250 mg. de (1a) se disolvieron en 10 ml de acetona, la solución se enfrió en un baño -- de hielo y se adicionó reactivo de Jones gota a gota hasta que persis-- tió el color naranja, en este punto se dejó la reacción en reposo 5 min. más, se adicionó metanol para eliminar el exceso de reactivo, se concen- tró a seco, se agregó agua y la substancia orgánica se extrajo con clo- roformo, la solución clorofórmica se seco con Na_2SO_4 anh., se evaporó - el disolvente y quedó un aceite que no cristalizó, se cromatógrafió en- alúmina. Con una mezcla de benceno 95% y $AcOEt$ 5% se eluyó la substancia (3) (35 mg) p.f. 157-159 ν_{max} . : 219 cm^{-1} (ϵ , 16219). ν_{max} . 1770 (lacte- na), 1685 (cetona no saturada en anillo de seis miembros) 1600, 1630 -

cm⁻¹ (dobles ligaduras).

La muestra analítica se preparó por recristalización de acetona-
eter isopropílico. p.f. 160-161. Anal. calc. para C₂₀H₂₄O₄: C, 73.14; --
H, 7.37; O, 19.49. Encontrado: C, 73.25; H, 7.58; O, 19.59%.

Determinación de la configuración absoluta de C-1 en la Bacchofertina -
(1a) por el método de Horeau.

El método de Horeau se aplicó siguiendo el procedimiento de tra-
bajos anteriores 29,30. Una solución de 310 mg. de anhídrido fenil bu-
tírico y 105 mg. de bacchofertina (1a) en dos ml de piridina se dejó a
temperatura ambiente y en reposo por una noche como se describe en los
trabajos señalados. Se aislaron 155 mg. del ester de (1a), 265 mg. de -
ácido(fenil butírico $[\alpha]_D^{27} -12$ correspondiente a un 46.8% de rendi-
miento óptico.

Aromatización de bacchofertina (1a). 600 mg de (1a) se mezclaron
con 2 gr. de selenio, se colocó la mezcla en tubo cerrado y se calentó
a 345° durante 3 hrs. El contenido del tubo se lavó con hexano 3 veces,
los lavados se reunieron, se evaporó el disolvente y el aceite que que-
dó se cromatografió en placa de sílice, esta se eluyó con benceno, se -
separó la mancha fluorescente al UV (15 mg) de 1,2 dimetil naftaleno,--
este se comprobó por su espectro de UV³¹.

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

- 1.- S. M. Kupchan, M.A. Eakin, and A.M. Thomas.
J. Med. Chem. 14, 1147, (1971).
- 2.- Kuo-Hsiung Lee, Ronald Meck, Claude Piantadosi
and Eng-Shang Huang.
J. Med. Chem. 16, 299, (1973).
- 3.- J. Romo and P. Joseph-Nathan.
Tetrahedron, 20, 79, (1964).
- 4.- W. Herz, A. Romo de Vivar, J. Romo and N. Viswanathan.
J. Amer. Chem. Soc., 85, 19 (1963).
- 5.- E. Dominguez and J. Romo.
Tetrahedron, 19, 1415 (1963).
- 6.- S.M. Kupchan, R.J. Hermingway, D. Werner, and A. Karim.
J. Org. Chem., 34, 3903, (1969).
- 7.- S.M. Kupchan, J.E. Kelsey, M. Maruyama, J.M. Cassady,
J.C. Hemingway and J.R. Knox.
J. Org. Chem., 34, 3876, (1969).
- 8.- T.A. Gaissman, R.J. Turley and S. Maruyama.
J. Org. Chem., 31, 2269, (1966).
- 9.- S. M. Kupchan, V.H. Davies, T. Fujita, M. R. Cox and
F. Bryan.
J. American Chem. Soc., 93, 4916 (1971).
- 10.- T. Osawa, A. Suzuki and S. Tamura
Agr. Biol. Chem., 35, 1966 (1971).
- 11.- J. Romo, A. Romo de Vivar, R. Treviño. P. Joseph -
Nathan and E. Diaz.
Phytochem., 9, 1615 (1970).
- 12.- J. Taboada, C. Guerrero y A. Ortega.
VI Congreso Nacional de Ciencias Farmacéuticas.
México, Septiembre de 1973.
- 13.- J. Téllez M. González Diddi y J. Taboada.

VI Congreso Nacional de Ciencias Farmacéuticas.
México, Septiembre de 1973.

- 14.- L. A. Cuevas, F. García Jiménez y A. Romo de Vivar
Rev. Latinoamer. Quim., 3, 22, (1972).
- 15.- W. Herz, H. Watanabe, M. Miyazaki and Y. Kishida.
J. Amer. Chem. Soc., 84, 2601 (1962).
- 16.- R. M. Silverstein and G. C. Bassler.
Spectrometric Identification of Organic Compounds.
John Wiley and Sons, Inc. New York (1964).
- 17.- C. C. Hinckley. J. Amer. Chem. Soc., 91, 5160 (1969).
Jeremy K.M. Sanders and Dubley H. Williams.
Chemical Communications, 422 (1970).
- 18.- W. Herz and S. F. Bhat.
J. Org. Chem., 37, 906-12 (1972).
- 19.- Williams y Fleming. Métodos Espectroscópicos de Química Orgánica.
pp 45. Ed. URMO Bilbao, España (1968).
- 20.- A. Romo de Vivar, M. Aguilar, H. Yoshioka, A. Higo, E
Rodríguez, J. A. Mears and T. S. Mabry.
Tetrahedron, 26, 2775-2780 (1970).
- 21.- A. Romo de Vivar, C. Guerrero, E. Díaz and A. Ortega.
Tetrahedron, 26, 1657 (1970).
- 22.- C. Guerrero, A. Ortega, E. Díaz y A. Romo de Vivar
Rev. Latinoamer. Quim. (en prensa).
- 23.- R. Misra, R. C. Pandey and Sukh Dev
Tetrahedron Letters, No 49, pp 3751 (1964).
- 24.- P. R. Jefferies and T. G. Payne.
Tetrahedron Letters No 48, pp 4777 (1967).
- 25.- F. Bohlmann und M. Grenz.
Chem. Ber. 105, 3123 (1972).
- 26.- M. Ferrari, F. Pelizzoni and G. Ferrari.
Phytochem. 10, 3267 (1971).

- 27.- A. Horeau
Tetrahedron Letters, No 15, pp 506 (1961).
- 28.- A. Horeau and H. B. Kagan
Tetrahedron, 20, 2431, (1964).
- 29.- T. J. Mabry, W. Renold, H. E. Miller and H. B. Kagan
J. Org. Chem., 31, 681 (1966).
- 30.- A. Romo de Vivar and A. Ortega
Canad. J. Chem. 47, 2849, (1969).
- 31.- Espectro No 5402. Satdler.