

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

ESCUELA DE GRADUADOS
DIVISION DE QUIMICA

"ESTUDIO Y SINTESIS DE SUBSTANCIAS FLAVO
NOIDES CONTENIDAS EN ALGUNAS PLANTAS
MEXICANAS"

TESIS presentada por
SERGIO ENRIQUE FLORES Y NAVA
para obtener el grado de DOC
TOR EN CIENCIAS, ESPECIALIZA
DO EN QUIMICA.

Ciudad Universitaria

México, D. F.

1959

Dir. Dr. J. Herrera S. 11/10/59



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 desarrolló en el
INSTITUTO DE QUIMICA DE LA UNIVERSIDAD
NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

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

Desde hace algún tiempo varias de las investigaciones del Instituto de Química han estado encaminadas hacia el estudio de plantas mexicanas a las que se les han atribuido propiedades medicinales. Entre ellas - hay varias especies del género Brickelia, conocidas - por el vulgo bajo diversos nombres, tales como atanasia amarga, hierba del becerro, gobernadora, etc.etc., y que se han usado como remedio contra "males del estó mago" (1).

El género Brickelia es exclusivo de América y no se conoce ningún informe acerca de la existencia de al guna variedad en el viejo mundo. Su distribución en el Continente Americano abarca desde la frontera sur - de la Columbia Británica, al oeste de los Estados Unidos, el territorio de la República Mexicana, América - Central y una pequeña zona de Bolivia y del oeste del Brasil (2).

De las 93 especies existentes sólo tres vegetan - en los Estados Unidos (B. condifolia, B. glavarata y - B. difusa), mientras que en México existen 53 especies distribuidas en casi toda la República (3).

El género *Brickelia* se caracteriza por ser plantas semiherbáceas, con hojas de forma diversa según las especies y con flores amarillas o blancas en cabezuelas colgantes en número variable. Crecen en diversas regiones, unas son xerofílicas en diferente grado, pudiendo llegar a ser típicas de regiones desérticas. Otras son ribereñas, pero no se conoce ninguna especie que sea hidrofílica o palustrina (2).

En el presente trabajo se estudiaron cuatro especies: *B. secundiflora* (Lag.) Kuntze; *B. veronicifolia* (H.B.K.) Kuntze y *B. squarrosa* (Cav.) Robinson, procedentes de Puebla, Pue. y la *B. pendula* (Schrad) A.Gray del Distrito Federal.

Al iniciar el estudio sobre estas especies, se tomó como antecedente que en 1894 Río de la Loza (4) reportó haber aislado de la *B. squarrosa*, un glucósido blanco que llamó "Brickelina". De la *B. pendula* se aisló solamente un glucósido amarillo no descrito anteriormente, al que llamamos "Pendulina" y "Penduletina" a su aglucona. De la *B. squarrosa* se aisló también - pendulina y una nueva sustancia flavonoide que llamamos "Atanasina", pero no se encontró el glucósido mencionado por Río de la Loza.

De la *B. veronicifolia* y de la *B. secundiflora* no se obtuvo ninguna sustancia del tipo que nos interesaba.

Agradecemos al Dr. Faustino Miranda del Instituto de Biología, su colaboración en la clasificación botánica, así como en la localización de las plantas estudiadas.

BRICKELLIA PENDULA (Schrad) A. Gray.

Esta especie se recolectó en Contreras, cerca de la Ciudad de México.

Por extracción exhaustiva de la planta seca, con alcohol, se obtuvo una masa verde que por cristalización de metanol, dio una sustancia cristalina de color amarillo que hemos llamado Pendulina (I) y que mostró p.f. 178-179°; $[\alpha]_D^{20}$ -34° (piridina) y con una fórmula empírica $C_{24}H_{26}O_{12}$. El espectro en el infrarrojo dio bandas en 3200 (alcohol asociado); 1660 (carbonilo α - β no saturado); 1600 (anillo aromático), 1300-1800 [estructura compleja (bandas múltiples de intensidad media) debido a la absorción del carbonilo y los metoxilos], 1090 (OH alcohólico) y 838, 794 y 810 cm^{-1} (anillos aromáticos polisustituídos, que corresponden a los grupos oxhidrilo, metoxilo, cetona y benceno); en el ultravioleta mostró máximos a 272 y 332 $m\mu$., con una ϵ de 23,013 y 22,040, respectivamente.

La cromatografía en papel de esta sustancia mostró solamente una mancha, lo cual apoyó la suposición de que se trataba de una sustancia pura.

Por su fórmula empírica, sus constantes físicas y los diferentes colores que produjo con reactivos específicos, hemos llegado a la conclusión de que la sustancia tiene una estructura flavonoide monosustituída con un carbohidrato.

La pendulina es difícil de hidrolizar, pero hidrolizándola prolongadamente con un ácido fuerte, obtuvimos una sustancia nueva que hemos llamado "Penduletina" (II). Su fórmula empírica es $C_{18}H_{16}O_7$, p.f. 216-217°. El espectro en el infrarrojo mostró bandas en 3100 (alcohol), 1660 (carbonilo), 1300-1180 (metoxilo) y 762 cm^{-1} (banda nueva), y en el ultravioleta, λ max. 271, 341 m μ ; ϵ , 19,231; 22,767. La sustancia tiene 3 grupos metoxilos y forma un diacetato $C_{22}H_{20}O_9$, que al saponificarse regenera penduletina (II). Metilando, se obtiene una sustancia pentametoxilada ($C_{20}H_{20}O_7$) (III), mientras que etilando se forma un compuesto (IV), ($C_{20}H_{20}O_7$) que corresponde a un flavonoide monohidroxi, monoetoxi trimetoxilado. La fracción de azúcar fue identificada por cromatografía en papel y por su osazona como glucosa. Del análisis antes y después de la hidrólisis, resulta que la pendulina es un flavonol o flavona trimetoxi-dihidroxi, sustituida con una molécula de glucosa.

Desmetilando los compuestos II, III o IV, se obtuvo un compuesto pentaohidrilado (V) $C_{15}H_{10}O_7$, que por metilación regenera la flavona pentametoxilada (III), demostrando que la desmetilación no produce rearrreglo (5). Para demostrar que la hidrólisis ácida de la pendulina tampoco produce rearrreglo, este compuesto fue metilado, hidrolizado y remetilado, obteniéndose, como esperábamos, el mismo compuesto III.

Cuando este compuesto III se fundió con hidróxido de potasio, se destruyó totalmente, pero por fisión en solución alcalina, resultó posible aislar ácido p-metoxi benzoico. La ozonólisis de III produjo exclusivamente el mismo ácido. Estos hechos demuestran que el anillo bencénico B de la pendulina, contiene solamente como sustituyente, a un oxhidrilo o metoxilo, presente en la posición 4°.

El compuesto V da una serie de reacciones coloridas idénticas a las reportadas por Goldsworthy y Robinson (6) para un flavonol sintético pentaohidrilado en las posiciones 3,4°,5,6,7, cuyo éter pentametílico, se suponía idéntico a la tangeretina aislada por Nelson (7). Recientemente Robinson publicó una nota (8) en la cual prueba que este compuesto sintético es diferente de la tangeretina. Una muestra del éter pentametilado del compuesto sintético de Goldsworthy y Robinson* mostró el mismo espectro en el infrarrojo que nuestro compuesto III y no se abatió el punto de fusión de la mezcla.

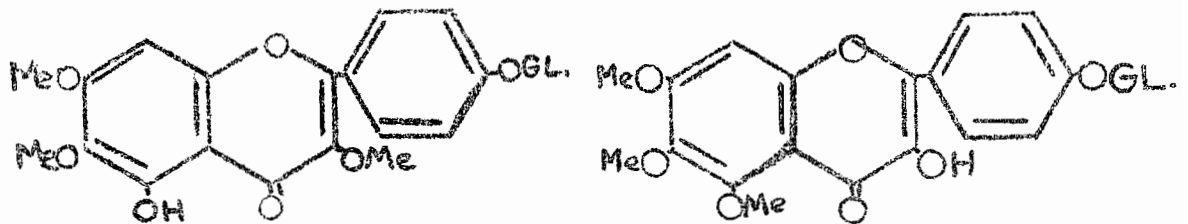
De esta comparación resulta que los cinco grupos metoxilos de la molécula están en las posiciones 3,4°, 5,6 y 7. En la penduletina, tres de los sustituyentes están como metoxilos y dos como oxhidrilos libres.

*—Agradecemos a Sir Robert Robinson el habernos facilitado este compuesto.

Para determinar la posición de la ligadura glucosídica se metiló la pendulina con exceso de diazometano, obteniéndose un compuesto tetrametoxilado $C_{25}H_{28}O_{12}$ (VI) ligeramente más soluble en agua y de un sabor amargo. La hidrólisis ácida de este compuesto, produjo un compuesto VII monhidroxi-tetrametoxilado $C_{19}H_{18}O_7$.

La acetilación de VII produjo el compuesto VIII, que por ozonólisis formó ácido p-acetoxi benzoico, lo cual prueba que en la pendulina (I) la glucosa está ligada al oxhidrilo en la posición 4°.

Por lo tanto sólo hay dos estructuras posibles para la pendulina: deberá ser el glucósido-4° de la dihidroxi-4°,5-trimetoxi-3,6,7-flavona (I) o el glucósido 4° de la dihidroxi-3,4°-trimetoxi-5,6,7-flavona (Ia).



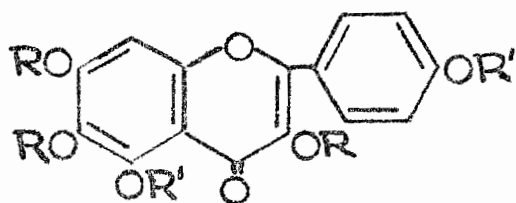
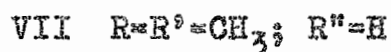
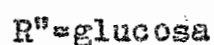
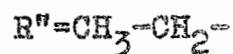
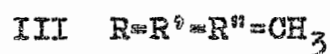
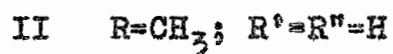
I.

Ia.

Se podría elegir I apoyándose en los siguientes hechos: a) La etilación de la penduletina (II) con sulfato de etilo y álcali, introduce solamente un grupo etilo formando el derivado etilo 4° (IV). Es bien conocido que la etilación de un grupo oxhidrilo en 3, se

efectúa fácilmente en estas condiciones [C_p . la etilación de la quercetina y morina (9)]. Por otra parte, la subsistencia en las mismas condiciones de un grupo oxhidrilo en 5 está bien documentada (9). b) El tratamiento del éter etílico en 4° (IV) con anhídrido acético y acetato de sodio en frío, no produjo acetilación del grupo oxhidrilo libre restante. El grupo oxhidrilo en 3, tomando la quercetina como ejemplo, se acetila fácilmente en estas condiciones, mientras que el oxhidrilo en 5 no resulta afectado (10). c) Finalmente la presencia del sistema hidroxí-5 flavona, está de acuerdo con el hecho de que la prueba de coloración de Wilson sea positiva, mientras que una hidroxí-3 flavona sin el grupo oxhidrilo-5, como la fisetina, da una prueba negativa (11).

Llegamos a la conclusión de que la pendulina y la penduletina están representadas correctamente por I y II, respectivamente.



SINTESES DE PENDULETINA.

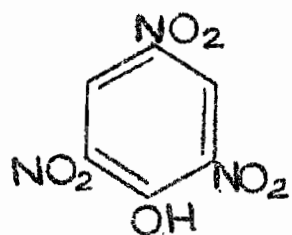
Aunque hay suficiente evidencia en favor de la fórmula anterior para la estructura de penduletina, se consideró necesario efectuar la síntesis total para confirmarla de manera concluyente.

Se llevaron a cabo dos síntesis (a) y (b). La primera tuvo que suspenderse, al no poder lograr obtener uno de los intermediarios.

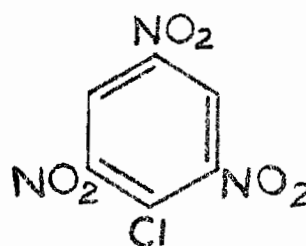
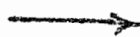
Para la síntesis (a) (ver esquema 1) se partió de ácido pícrico (IX) que se transformó a cloruro de picrilo (X) y éste a su vez a trinitro anisol (XI). Por una reducción catalítica de los grupos nitro de (XI), se obtuvo el triamino anisol (XII) el que por una hidrólisis ácida produjo el metoxi floroglucinol (XIII) (iretol), producto que por su insolubilidad en éter, imposibilitó efectuar la condensación de Hoesch que conduciría a la formación de una acetofenona sustituida, razón por la cual se abandonó esta síntesis.

En la síntesis (b) se siguieron en esencia los pasos ya descritos por Goldsworthy y Robinson en su primer intento de sintetizar tangeretina (6). El producto inicial para la obtención de la cetona (XXI) (esquema 2) fue el veratrol (XIV) que por nitración, produjo nitro-4 veratrol (XV), el que por desmetilación selectiva, dio nitro-4-guayacol (XVI), que por nitración formó el dinitro-4,6-guayacol (XVII), que por una metilación posterior produjo el dinitro-4-6 veratrol (XVIII).

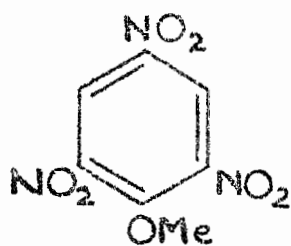
ESQUEMA 1.



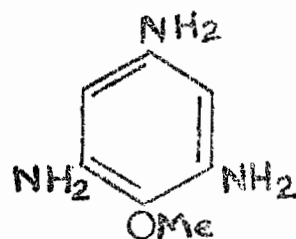
IX.



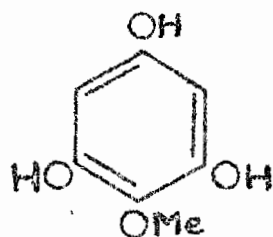
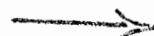
X.



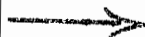
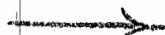
XI.



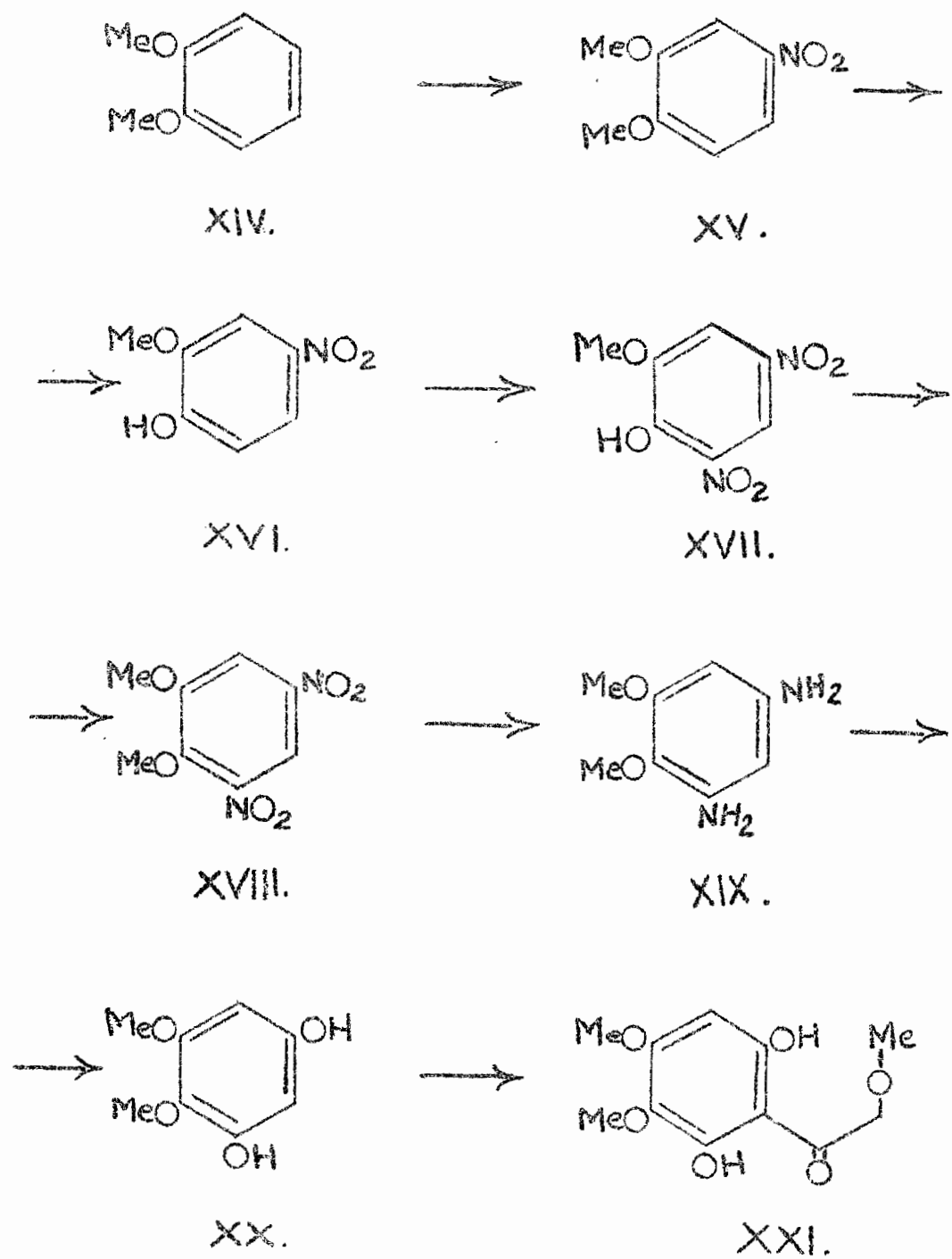
XII.



XIII.



ESQUEMA 2.



Al reducir catalíticamente XVIII se obtuvo el diamino-4,6-veratrol (XIX), que al someterse a hidrólisis formó el dimetoxi-4,5-resorcinol (XX).

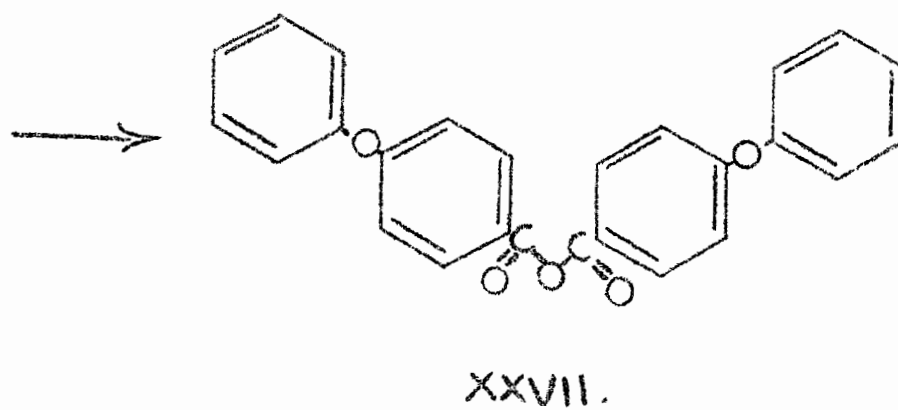
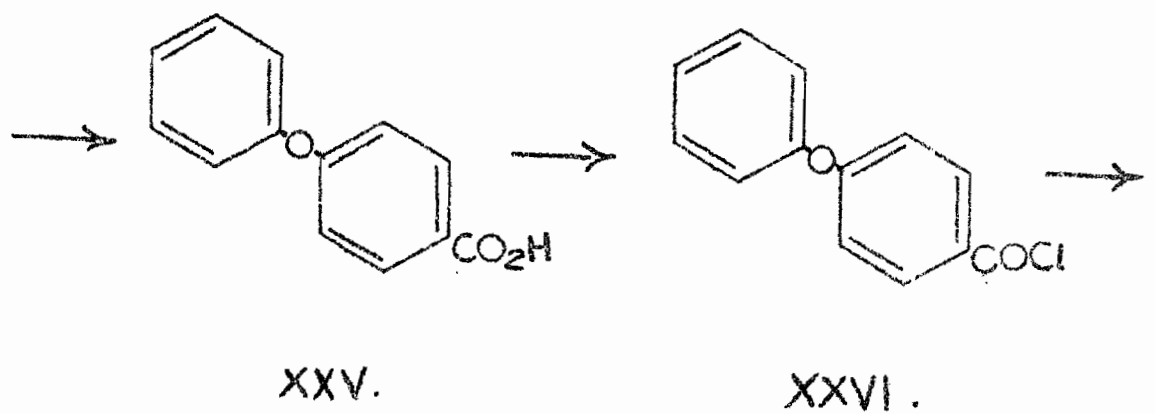
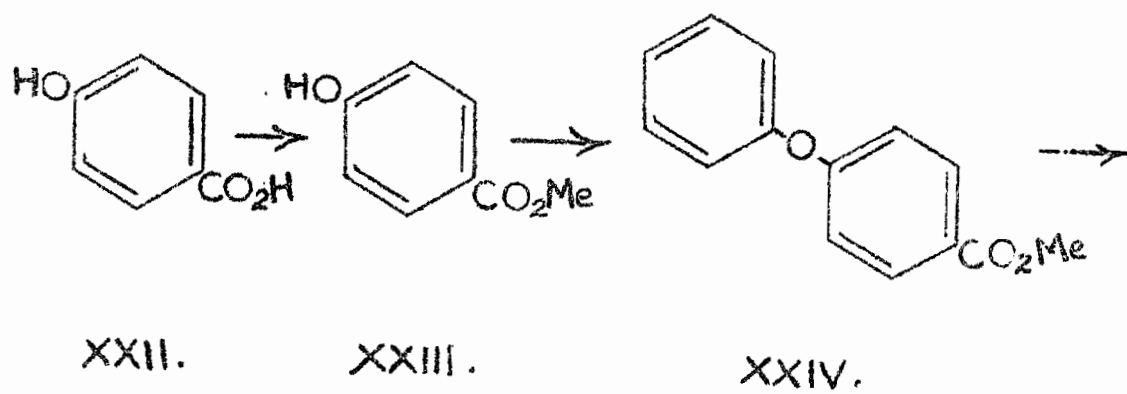
Este último producto (soluble en éter), se condensó con metoxiacetonitrilo, según la reacción de Hoesch, originando la dihidroxi-2,6-trimetoxi-3,4-acetofenona (XXI) de estructura conocida.

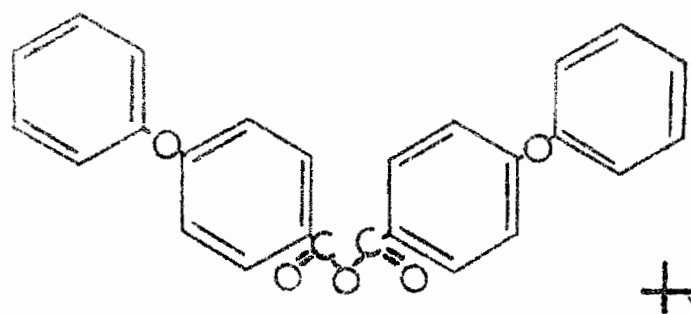
Para la obtención del producto (XXVII) (esquema - 3), se partió del ácido p-hidroxi benzoico (XXII), del que se preparó primero su éster metílico (XXIII) y luego el éter bencílico de dicho éster (XXIV). El siguiente paso consistió en la saponificación del producto anterior obteniéndose el ácido p-benciloxi benzoico (XXV). A partir de este ácido, se preparó el cloruro de acilo (XXVI) y de ahí el anhídrido p-benciloxi benzoico (XXVII).

Por condensación de este anhídrido con la cetona XXI, se formó la hidroxí-5 trimetoxi-3,6,7-benciloxi-4^o-flavona (XXVIII) que fue idéntica al producto obtenido por bencilación de la penduletina. Cuando se hidrolizó XXVIII se obtuvo XXIX que también resultó idéntico con la penduletina natural, lo cual se demostró por comparación de sus espectros en el infrarrojo y por punto de fusión de la mezcla.

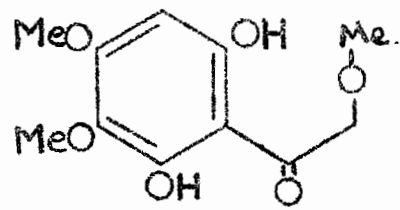
Queda establecido de manera concluyente que la fórmula II (o XXIX), dihidroxí-4^o,5-trimetoxi-3,6,7-flavona, representa la estructura de la penduletina correspondiéndole ser a la pendulina, el glucósido-4^o de la hidroxí-5-trimetoxi-3,6,7-flavona.

ESQUEMA 3.

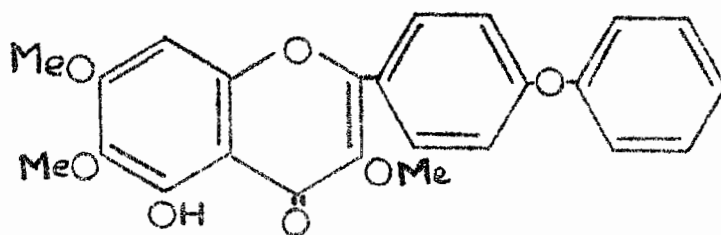
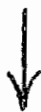




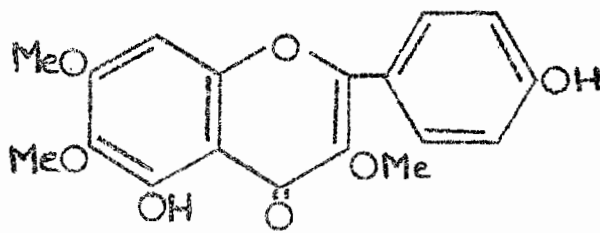
XXVII.



XXI.



XXVIII.



XXIX.

BRICKELIA SQUARROSA (Cav.) Robinson.

Esta especie crece en una zona muy limitada, a la altura del Km. 132, de la carretera México-Puebla y solamente puede cosecharse una vez al año, entre los meses de noviembre a diciembre, por lo que no pueden recolectarse cantidades considerables.

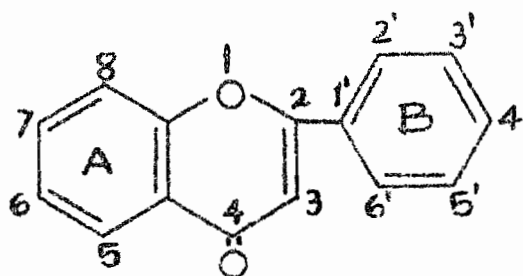
La extracción de la planta se efectuó sucesivamente con hexano, éter y metanol. De los dos primeros extractos no se obtuvieron compuestos cristalinos.

De la fracción metanólica se logró aislar un producto cristalino, que por cristalizaciones fraccionadas, produjo dos sustancias. La primera fue un glucósido que se identificó como pendulina tanto por el espectro en el infrarrojo, punto de fusión de la mezcla y cromatografía en papel, como por la caracterización del producto obtenido por hidrólisis, que resultó ser penduletina.

La segunda sustancia, de color amarillo intenso, que hemos llamado Atanasina (XXX), muestra un punto de fusión de 220-221°, y una fórmula empírica de $C_{20}H_{18}O_8$. El espectro en el infrarrojo muestra bandas en 3200 - (alcohol) 1660 (carbonilo) 1300-1800 cm^{-1} (éteres) y - en el ultravioleta, λ max. 256, 270, 360 $m\mu$; ϵ , 17,845; 18,335; 20,510. Contiene tres agrupamientos metoxilos y dos oxhidrilos y forma un derivado diacetilado con fórmula $C_{24}H_{22}O_{10}$ (XXXI), el que por saponificación genera XXX.

Cromatografiando en papel, usando como disolvente butanol-acético-agua, o reactivo de Forestal (12) (solución de acético-ácido clorhídrico-agua), se obtiene una sola mancha con R_f de 0.91 y 0.61, respectivamente, mostrando que se trata de una sustancia homogénea.

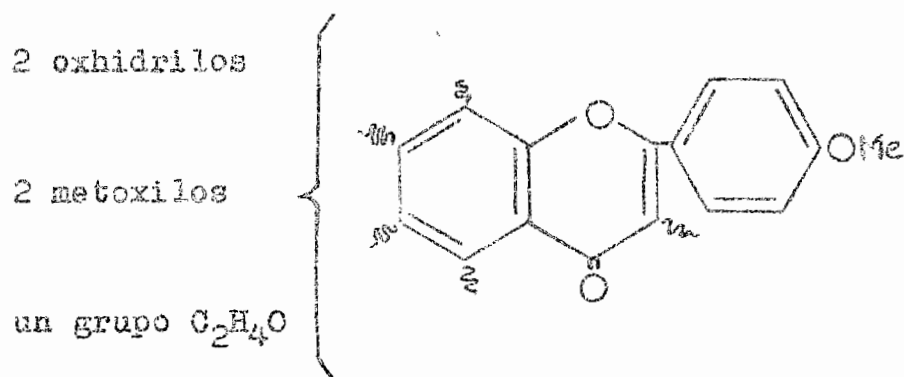
Tanto la fórmula empírica y los espectros en el ultravioleta e infrarrojo, como las reacciones producidas con reactivos específicos, indican la presencia de una estructura flavonoide fundamental:



Comparando las fórmulas empíricas del producto original XXX ($C_{20}H_{18}O_8$) y del producto diacetilado XXXI ($C_{24}H_{20}O_{10}$), se confirma que en XXX, existen 5 sustituyentes, tres de los cuales son metoxilos y los dos restantes se encuentran como oxhidrilos. Por estos datos, se concluye que, en la molécula, existe un oxígeno inerte, que puede encontrarse formando parte de un agrupamiento etéreo.

Cuando se efectúa la ozonólisis de XXX, se obtiene ácido p-metoxi benzoico, demostrando que en el núcleo B, sólo existe un sustituyente metoxilo en posi-

ción 4°. Consecuentemente los demás sustituyentes, deberán hallarse distribuidos en la porción A de la molécula (benzopirone):

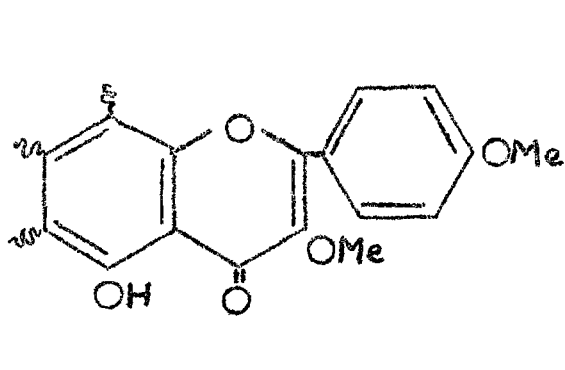


El espectro en el ultravioleta de XXX efectuado - en solución etanólica, saturada con acetato de sodio, no mostró ninguna alteración, mientras que con solución de etóxido de sodio se observó un desplazamiento batocrómico de 15 $m\mu$. en el máximo de 270 $m\mu$.

Este desplazamiento es característico de un grupo metoxilo en posición 3 y un oxhidrilo en posición 5 - (13). Las reacciones de coloración con cloruro férrico también señalan la existencia del mismo tipo de agrupamiento (14). La fluorescencia azul de la atanasina al observarla bajo la luz ultravioleta, indica también la existencia de un grupo metoxilo en posición 3 (15). Al someter la sustancia a una acetilación a temperatura ambiente, se obtiene un derivado monoacetilado XXXIV (10) que da reacciones positivas con cloruro férrico, probando una vez más que en la posición 3 hay un metoxilo y en la 5 un oxhidrilo:

1 oxhidrilo

1 metoxilo

un grupo C_2H_4O 

Cuando la atanasina XXX, se trató con ácido yodhídrico bajo condiciones enérgicas, se obtuvo una flavona pentaoxidrilada (XXXII) $C_{15}H_{10}O_7$, que resultó idéntica a la pentahidroxi-3,4^o,5,6,7-flavona V obtenida - al tratar la penduletina III bajo las mismas condiciones. Como una comprobación de la identidad de los dos compuestos, se preparó el pentacetato (XXXIII) de ambos, resultando idénticos en todas sus constantes físicas. Se puede afirmar que en el curso de esta reacción no se efectúa un rearrreglo de la molécula, apoyándose en el hecho de que cuando se desmetila penduletina en condiciones similares, no se observa rearrreglo alguno. Existe además evidencia en la literatura, de casos similares en sustancias relacionadas (16).

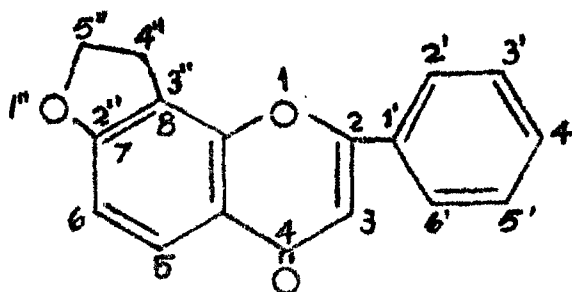
El tratamiento con ácido yodhídrico en esas condiciones, produce una pérdida equivalente a $C_5H_{13}O$ de la molécula original de atanasina. Teniendo en cuenta que por análisis se demostró la presencia de tres metoxilos, la pérdida debió de haber sido de C_7H_9 solamente y por lo tanto hay una pérdida adicional de C_2H_4O . Es

ta pérdida hace pensar en la posibilidad de que exista un anillo furánico unido al núcleo fundamental.

La existencia de tal anillo es posible desde el punto de vista biogénético (17), además de que existen descritas en la literatura dos furoflavonas aisladas de fuentes naturales: la karangina (18) y la ginkgetina (19).

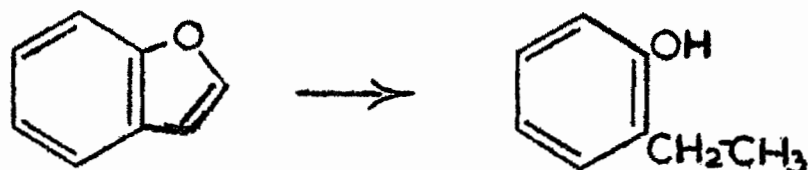
La razón por la que se ha situado el anillo furánico en las posiciones 2'',3'',7,8, se debe a un hecho fundamental:

Por desmetilación se obtuvo un producto cuyas posiciones 5,6,7 se encontraban ocupadas por sustituyentes, mientras que la 8, estaba libre, no quedando más que esta sola posibilidad para la posición del anillo furánico*.



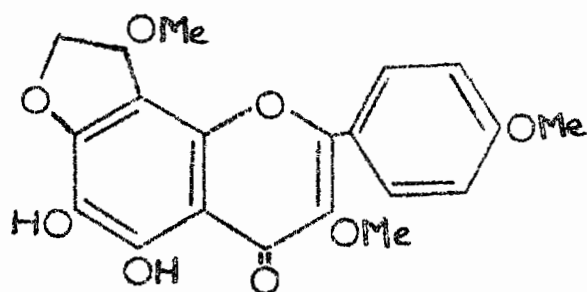
*—En una comunicación personal el profesor A. J. Birch, confirmó la posibilidad de la existencia del anillo furánico en las posiciones indicadas.

El mecanismo de degradación de la atanasina XXX, al tratarla con ácido yodhídrico, parece ser anormal, ya que en la literatura no se reporta ningún caso similar ocurrido en furoflavonas. Sin embargo, Marschalk, (20) ha reportado la fisión del puente etéreo del benzofurano con ácido yodhídrico.

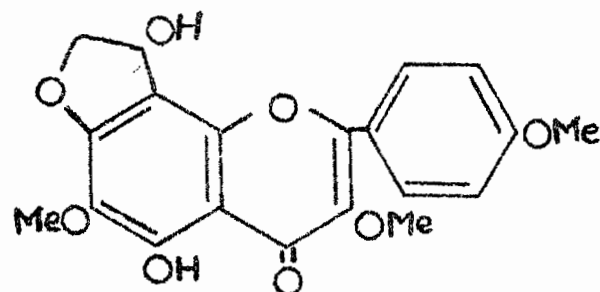


Störner y Kippe (21) reportaron que al tratar el fenil-2 cumarano con ácido yodhídrico (d.l.17) a ebullición, se obtenía fenol como producto principal de reacción, junto con otros compuestos complejos provenientes del resto de la molécula degradada.

En consecuencia, hay dos fórmulas estructurales probables para la atanasina: la dihidroxi-5,6-dimetoxi-3,4^o [metoxi-4^o dihidrofurano-2^o,3^o,7,8 flavona] (XXX) o la fórmula hidroxí-5 trimetoxi-3,4^o,6 [hidroxí-4^o dihidrofurano-2^o,3^o,7,8 flavona] (XXXa).



XXX.



XXXa.

Es más probable la fórmula XXX, porque en las tentativas para efectuar una deshidratación entre las posiciones 4"-5" del núcleo furánico, siempre se recuperó el producto inalterado, hecho que sugiere que el sustituyente en 4" podría ser un metoxilo, ya que si fuera un oxhidrilo, se deshidrataría para dar el derivado furánico correspondiente (22). Además, la acetilación efectuada para obtener el monoacetato XXXIII, con el que se demostró la existencia de un oxhidrilo en 5, ocurre dentro de las condiciones necesarias de esterificación de oxhidrilos fenólicos, indicando la posibilidad de un oxhidrilo en posición 6, mas bien que uno en 4".

PARTE EXPERIMENTAL*

BRICKELIA SECUNDIFLORA.

Esta especie se recolectó en el lugar denominado "Fuerte de Loreto" en las afueras de la Ciudad de Puebla.

Después de secar la planta al sol, se molió obteniéndose 3 Kg. de un polvo que se extrajo cuatro veces con porciones de 8 litros de etanol cada vez; los extractos etanólicos se evaporaron a sequedad, dando una masa verde con alto contenido en ceras y resinas.

La pasta así obtenida se mezcló con arena y se dejó secar, extrayéndose sucesivamente con los siguientes solventes:

Hexano (a), éter (b), acetona (c), etanol (d) y agua (e).

*—Los puntos de fusión están determinados en bloque de Kofler. Las rotaciones se determinaron en solución piridínica en un polarímetro Schmidt-Haensch. Los espectros de absorción en el ultravioleta, se determinaron en solución alcohólica en un espectrofotómetro Beckman DK 2. Los análisis en el infrarrojo, se determinaron en un espectrofotómetro de doble haz Perkin-Elmer, modelo 21 C. Los microanálisis fueron efectuados por el Dr. Franz Pascher de Bonn, Alemania. Cuando se especifica % de oxígeno, se trata de determinaciones directas y no diferencias a 100%.

Fracción de Hexano a.- Solamente contiene ceras y clorofila.

Fracción etérea b.- Se sometió a extracciones sucesivas, según el esquema 4.

Cromatografía 1.- (Ver esquema 4) 0.5 g. de producto se cromatografiaron en 150 g. de "Magnesol"* según técnica descrita por Ice y Wender (23); se eluyó primero con acetona anhidra y luego con acetato de etilo saturado con agua, no lográndose obtener ninguna sustancia flavonoide.

Cromatografía 2.- (Ver esquema 4) Con 100 g. de alúmina Alcoa F-20, se cromatografió 1 g. del producto, obteniéndose solamente aceites incristalizables.

Fracción acetónica c.- Se sometió a una defecación siguiendo los pasos expuestos en el esquema 5.

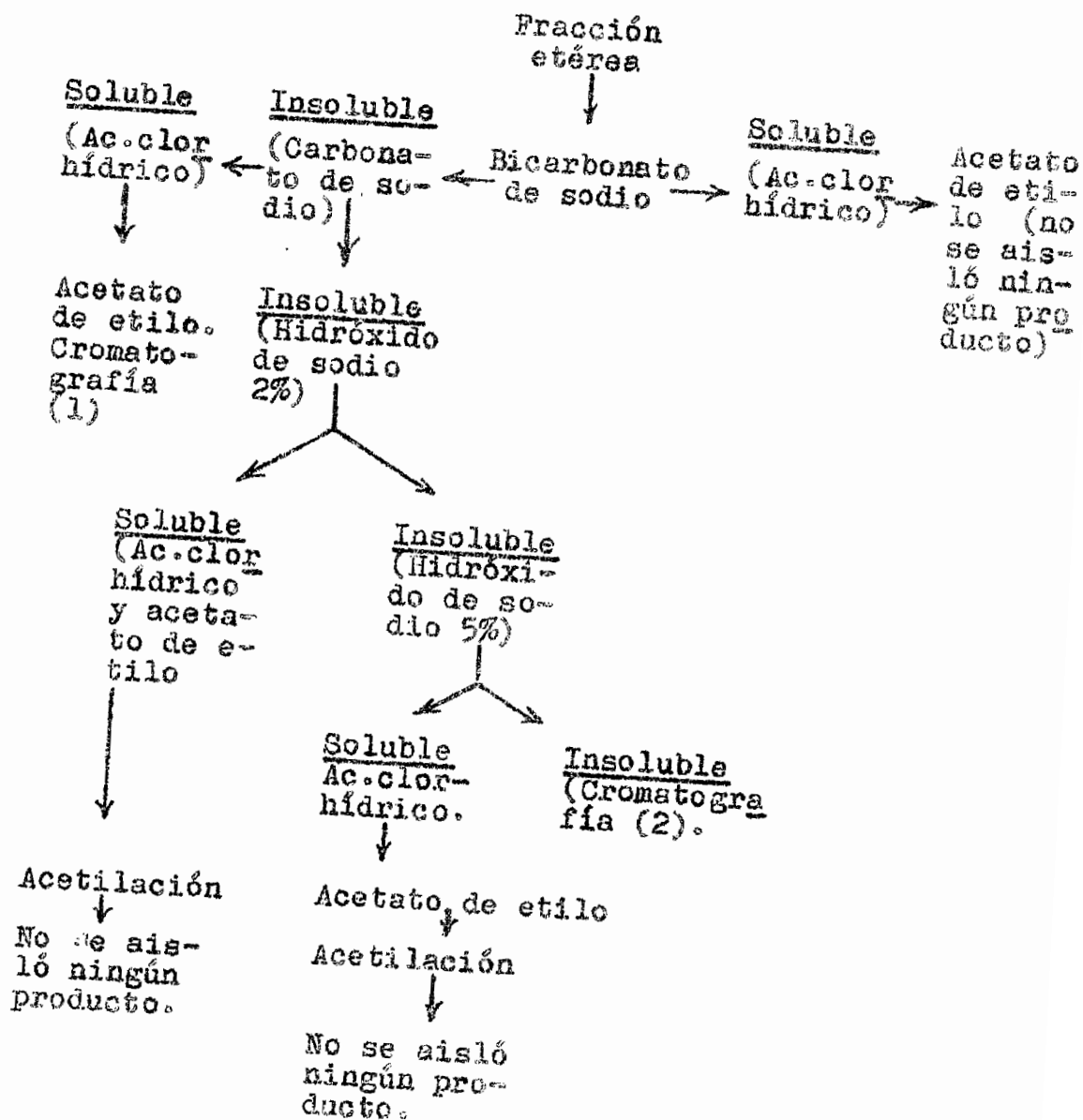
En esta fracción no se logró aislar ningún producto flavonoide.

Fracción de etanol d.- Esta fracción se sometió al mismo proceso que la anterior (fracción c) sin obtener resultados positivos.

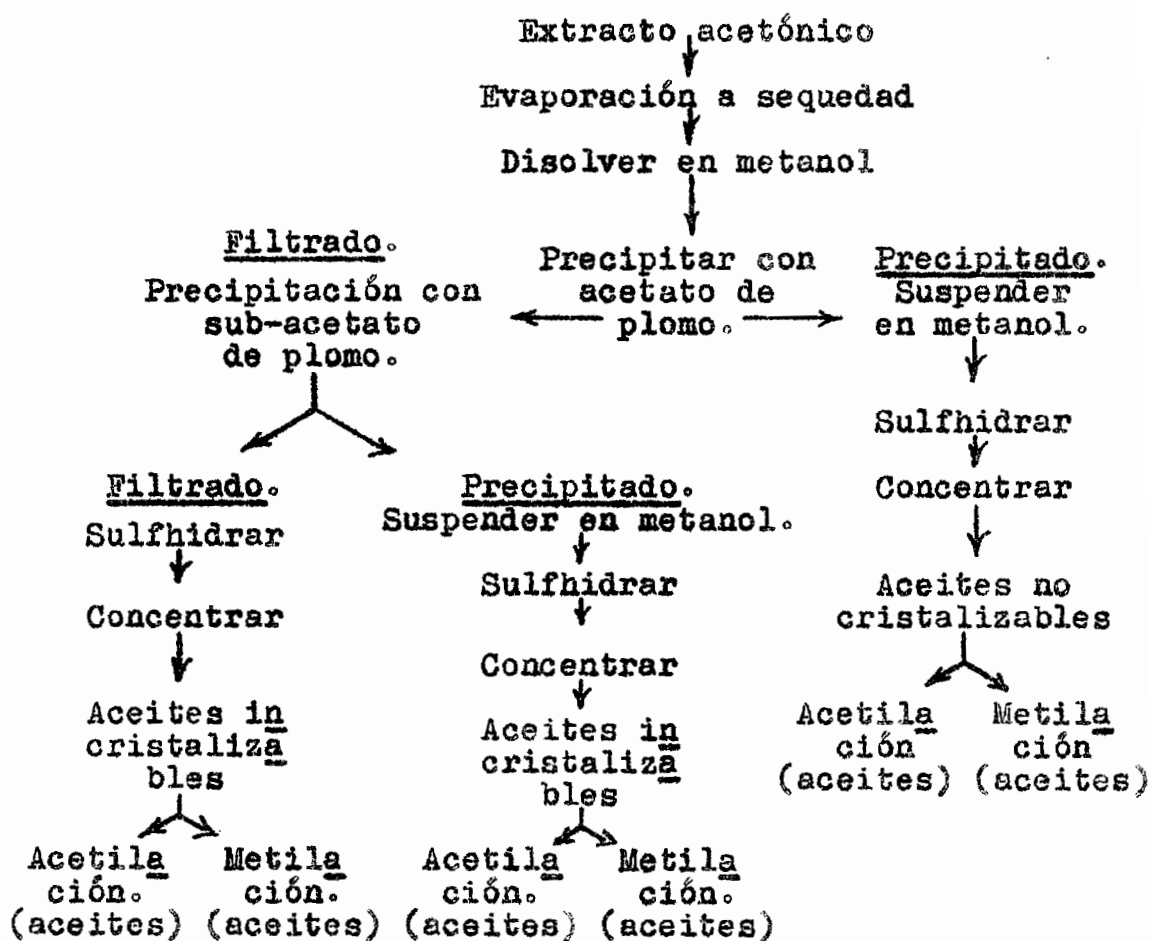
Fracción acuosa e.- Se evaporó a sequedad al vacío (20 mm. Hg.), disolviéndola después en una solución al 15% de ácido clorhídrico (250 ml.) y reflujiendo du-

*—Magnesol es el nombre comercial de un silicato de magnesio hidratado sintético, fabricado por Food Machinery and Chemical Corp. Westvaco Chemical Division. New York.

ESQUEMA 4.



ESQUEMA 5.



rante 2 horas. Se neutralizó (pH 6) ; concentró al vacío hasta un volumen de 100 ml. A esta solución se le hicieron pruebas cualitativas para flavonas, con resultados negativos.

Se concluye que de la planta *Brickellia secundiflora*, no se aísla ningún producto flavonoide.

BRICKELLIA VERONICIFOLIA.

Se recolectó la planta a la altura del kilómetro 20 sobre la carretera México-Puebla.

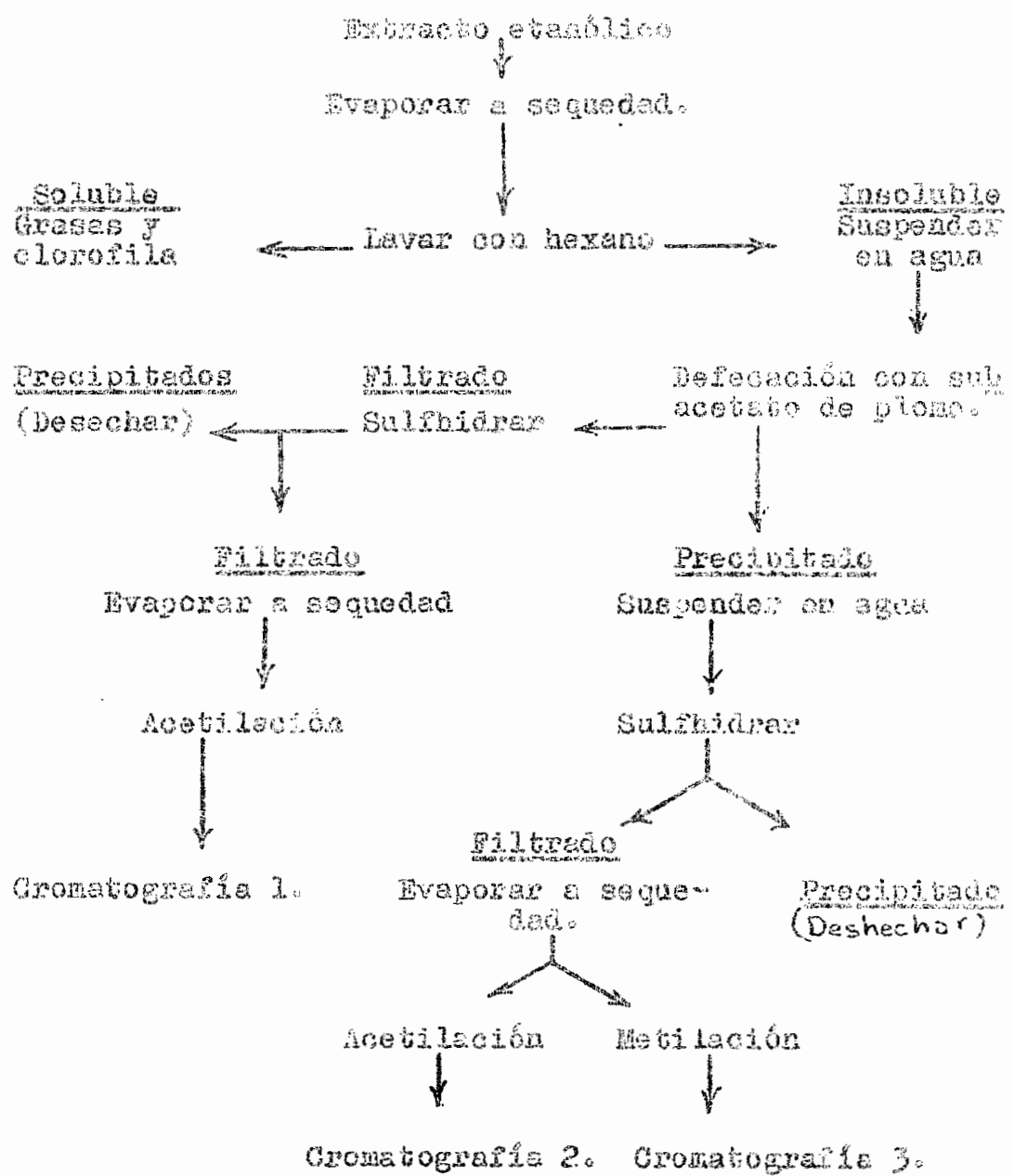
La planta molida y seca (11 Kg.) se extrajo con porciones de 25 litros cada vez. Los extractos etanólicos se evaporaron a seco y el residuo se procesó según el esquema 6.

CROMATOGRAFIA 1.- (ver esquema 6) Se usaron 150 g. de "Magnesol" para cromatografiar 0.7 g. de producto acetilado, eluyendo con acetona anhidra y acetato de etilo saturado con agua. Se obtuvo ningún producto flavonoide.

CROMATOGRAFIA 2.- Se utilizaron 100 g. de alúmina lavada para cromatografiar 2 g. de producto, eluyendo con benceno, éter, cloroformo, acetato de etilo y metanol sin lograr aislar ninguna sustancia cristalina.

CROMATOGRAFIA 3.- El producto metilado (0.6 g.) se cromatografió en 180 g. de "Magnesol" eluyendo con acetona anhidra y acetato de etilo saturado de agua, perc

ESQUEMA 3.



los resultados también fueron negativos.

De la *Brickellia Veronicaifolia* no se aisló ningún flavonoides.

BRICKELLIA PENDULINA.

AISLAMIENTO DE PENDULINA I.- La planta secada al sol (2.8 Kg.) se molió finamente en un molino Mikro-pulverizer y se extrajo con tres porciones de 10 litros de alcohol hirviendo. Se concentraron al vacío los extractos combinados hasta un volumen de 3 litros, obteniéndose una masa verde muy viscosa que se lavó cinco veces con 2 litros de hexano caliente. Quedó como residuo un polvo amarillo que se disolvió en alcohol, se coloró con "Nixite" y recristalizó varias veces, primero de alcohol y después de acetona hexano. Se obtuvieron 30 g. del glucósido pendulina (I) con p.f. 178-179°; $[\alpha]_D^{22}$ -34° (piridina); λ max. 272, 332 m μ ; ϵ , 25,025; 22,040.

Anál. Calc. para $C_{24}H_{26}O_{12}$: C, 56.91; H, 5.17; O, 37.91.

Encontrado: C, 57.13; H, 5.28; O, 37.72.

Calc. para tres metoxilos: 18.4

Encontrado: 17.97

Para probar la pureza del glucósido, se hizo una cromatografía en papel filtro Whatman N° 1 usando n-butanol-ácido acético-agua, 40/10/50 a 23°, durante 8 horas. El papel ya seco se observó bajo luz ultravioleta y natural. Mostró solamente una mancha con un R_f

de 0.76 (24).

HIDROLISIS DE GLUCOSIDO I.- Después de tratar de hidrolizar I con ácido clorhídrico al 5%, se recuperó el glucósido inalterado. Se hidrolizó entonces, disolviendo 0.5 g. del glucósido en 300 ml. de alcohol acuoso (70%), conteniendo 15% de HCl. Se hirvió la mezcla durante 6 horas, se diluyó con 1 litro de agua y se extrajo 4 veces con 200 ml. de acetato de etilo. Los extractos combinados, se secaron con sulfato de sodio y evaporaron hasta sequedad. El residuo se cristalizó de alcohol-agua y después de acetona-agua, produciendo 0.3 g. de una sustancia de color amarillo pálido que hemos llamado penduletina (II), p.f. 216-217°; λ max. 271, 341 m μ ; ϵ , 19,231; 22,767.

Anál. Calc. para $C_{18}H_{16}O_7$: C, 62.79; H, 4.68; O, 32.53.

Encontrado: C, 62.98; H, 4.76; O, 32.53.

Calc. para 3 metoxilos: 27.03

Encontrado: 26.05

IDENTIFICACION DE CARBOHIDRATO.- La fracción acuosa de la hidrólisis ácida, se concentró al vacío hasta un volumen de 500 ml. Después de neutralizar el líquido, dio reacciones positivas con los reactivos de Fehling y Tollens.

Se hizo al mismo tiempo un cromatograma en papel con una pequeña fracción del extracto acuoso y una solución de glucosa auténtica, usando la técnica de Horrocks y Manning (25). Las dos manchas obtenidas fueron idénticas.

La observación microscópica de su osazona (26), - así como el p.f., resultaron idénticos al compararlos con una muestra auténtica de glucosazona.

REACCIONES DE COLOR DE LA PENDULETINA II.- Tratando la solución alcohólica de penduletina con amalgama de sodio, se obtuvo una coloración carmesí. Tratando la solución original con ácido clorhídrico y magnesio, se obtuvo un color rosado (27). Disolviendo penduletina pura en ácido sulfúrico concentrado, la solución dio un color amarillo intenso. Estas reacciones coinciden con las descritas para los flavonoles (28).

DIACETIL PENDULETINA.- Se disolvieron 0.5 g. de penduletina en 60 ml. de anhídrido acético, se agregaron dos gotas de ácido perclórico y se dejó la solución a temperatura ambiente durante 40 minutos. En seguida se diluyó con 500 ml. de agua y se dejó hidrolizar durante 6 horas. Se extrajo la solución con porciones de 3 x 50 ml. de acetato de etilo. Se lavó la capa orgánica con solución acuosa fría de hidróxido de sodio al 3%, después con agua destilada hasta neutralizar y se evaporó hasta sequedad. El residuo cristalizó de acetona-hexano, produciendo 0.4 g. de producto - acetilado, p.f. 157-158°.

Anál. Calc. para $C_{22}H_{20}O_9$: C, 61.68; H, 4.71; O, 33.61.

Encontrado: C, 62.00; H, 4.88; O, 33.27.

Calc. para dos acetilos: 20.00

Encontrado: 21.96

SAPONIFICACION DEL DIACETATO DE PENDULETINA - 8

saponificó 0.1 g. de diacetato durante una hora con solución acuosa de hidróxido de sodio. La solución se trató en la forma usual. El producto (0.07 g.) mostró p.f. 216-217° y el p.f. de la mezcla con II no dio depresión. Los espectros en el infrarrojo también fueron idénticos.

DIMETOXI PENDULETINA III. - Se metilaron con diazometano 0.5 g. de penduletina usando la técnica acostumbrada. Se obtuvieron 0.35 g. de un producto III de color blanco, que después de cristalizar de metanol y posteriormente de acetona-hexano, mostró p.f. 152-153°.

Anál. Calc. para $C_{20}H_{20}O_7$: C, 64.51; H, 5.41; O, 30.08.

Encontrado: C, 64.80; H, 5.22; O, 30.07.

Calc. para 5 metoxilos: 41.60

Encontrado: 40.88

MONOETOXI PENDULETINA IV. - Se disolvieron 0.5 g. de penduletina en 100 ml. de etanol y se agregaron 20 ml. de una solución al 20% de hidróxido de sodio en etanol acuoso al 70%. Después se agregaron lentamente 10 ml. de sulfato de etilo y se hirvió la mezcla durante 30 minutos, al final de los cuales se agregaron 20 ml. adicionales de sulfato de etilo. Se hirvió la solución otras cinco horas, conservándola alcalina constantemente. Después de enfriar, se diluyó con 300 ml. de agua y se extrajo con acetato de etilo. La evaporación del disolvente y la cristalización del residuo de

etanol-agua y acetona hexano, produjo 0.31 g. del compuesto IV con p.f. 166-167°; λ max. 272, 336 m μ ; ϵ , 22,138; 24,711.

<u>Anál.</u> Calc. para $C_{20}H_{20}O_7$:	C, 64.51; H, 5.41; O, 30.08.
Encontrado:	C, 64.79; H, 5.44; O, 29.99.
Calc. para 4 metoxilos (un etoxilo como metoxilo):	33.33
Encontrado:	32.22
Calc. indirectamente para tres metoxilos:	25.00
un etoxilo:	12.10
Encontrado:	24.14
	11.73

La acetilación de IV se hizo en la misma forma que en el caso de la penduletina (II) y el monoacetato mostró un p.f. 149-150°.

DESMETOXI PENDULETINA V. - Desmetilando en la forma usual con ácido yodhídrico al 47% y anhídrido acético, se obtuvo un producto que contiene todavía un metoxilo p.f. 286-289° (desc.)

<u>Anál.</u> Calc. para $C_{16}H_{12}O_7$:	C, 60.76; H, 3.82.
Encontrado:	C, 60.94; H, 4.01.
Calc. para un metoxilo:	9.80
Encontrado:	9.07

Bajo condiciones más enérgicas la desmetilación conduce al flavonol pentaóxhidrilado. A una solución de 0.4 g. de penduletina (II) en 10 ml. de anhídrido propiónico, se agregaron 0.3 g. de fenol y 18 ml. de ácido yodhídrico el 55% recién destilado sobre fósforo rojo. Se hirvió la mezcla durante dos horas, y después

se diluyó con 100 ml. de agua. Se extrajo con éter y acetato de etilo. Se lavaron tres veces las fracciones orgánicas mezcladas, con una solución acuosa de tiosulfato de sodio para eliminar el yodo liberado durante la reacción. Después de secar, evaporar el disolvente y recrystalizar el residuo con acetona hexano, se obtuvieron 0.15 g. del compuesto V. El p.f. no es definido, la sustancia comienza a descomponerse a 290° y se carboniza entre 314° y 320°.

Anál. Calc. para $C_{15}H_{10}O_7$: C, 59.61; H, 3.34; O, 37.06.

Encontrado: C, 59.01; H, 3.59; O, 37.20.

Acetilando este compuesto V, se obtuvo el penta-acetato con p.f. 234-235°.

Metilando con diazometano siguiendo la técnica usual, el compuesto V regenera el III, lo cual prueba que no hay rearreglo durante la desmetilación.

FISION ALCALINA.- Se disolvió 0.5 g. del compuesto III en 50 ml. de etanol y se agregaron 50 ml. de hidróxido de potasio al 20% en agua-alcohol. Se hirvió la mezcla durante 20 hs. y después se concentró, se diluyó con agua y se saturó con dióxido de carbono. Extrayendo con éter, no se obtuvo fracción fenólica. La solución acuosa fue acidulada con ácido clorhídrico y extraída con éter. Las fracciones etéreas fueron evaporadas al vacío y el residuo fue recrystalizado de acetona-agua, obteniéndose 0.05 g. de un ácido con p.f. de 183-184°. El p.f. de la mezcla con una muestra auténtica del ácido p-metoxi benzoico no mostró depre-

sión y los espectros en el infrarrojo fueron idénticos. Una fisión similar con el compuesto IV, produjo un ácido que mostró p.f. 194-195°. El p.f. no se abatió al mezclarlo con una muestra de ácido p-etoxi benzoico y los espectros en el infrarrojo fueron idénticos.

OZONOLISIS DE LA PENDULETINA II.- Una solución de 0.1 g. del acetato de penduletina (II) disuelto en 40 ml. de acetato de etilo anhidro, se ozonizó durante 7 minutos en un ozonizador Welbasch T-23, con un flujo de 0.02 de oxígeno, una presión de 0.6 Kg. x cm.² y 90 voltios. El ozónido se descompuso por hidrogenación catalítica, usando carbón paladizado al 5%. Se absorbieron 150 ml. de hidrógeno. El catalizador se filtró y el residuo, después de eliminar el disolvente, se cristalizó de acetona-benceno y sublimó al alto vacío (0.01 mm. y 125°). Se obtuvieron 0.02 g. de un ácido que mostró p.f. 188-190°. El p.f. de la mezcla con ácido p-acetoxi benzoico no mostró depresión y los espectros en el infrarrojo fueron idénticos.

Este método produce mucho mejores rendimientos que la fisión alcalina y puede usarse ventajosamente en casos similares.

REACCIONES DE COLORACION DEL FLAVONOL PENTAOXI--
DRILADO V.- Con ácido clorhídrico y magnesio se obtuvo un color rosado; con acetato de plomo en solución alcohólica se formó un precipitado anaranjado que pasó a café; con cloruro férrico se obtuvo un verde aceituna oscuro. Estas reacciones fueron idénticas a las repor

tadas por Robinson (6) para la pentahidroxi-3,4^a,5,6,7-flavona.

La posición de los cinco oxhidrilos quedó probada por comparación de la dimetoxipendulicina (III) con la pentametoxi-3,4^a,5,6,7-flavona, que bondadosamente nos suministró Sir Robert Robinson. El p.f. de la mezcla no produjo depresión y los espectros en el infrarrojo fueron idénticos.

METOXI-PENDULINA VI.- Es difícil metilar el glucósido con diazometano en condiciones normales. Para metilarlo, se agregó una solución etérea de diazometano obtenida de 18 g. de nitroso metil urea, a un gramo de pendulina disuelto en metanol y se dejó la solución durante 24 horas. Después de este período se agregó una solución de diazometano recién preparada obtenida de 10 g. de nitroso metil urea y después de 24 horas, se repitió este tratamiento. Después del tercer período de 24 horas, la solución se evaporó al vacío sin aplicar calor. El residuo seco, se disolvió en acetona anhidra y se cromatografió en "Magnesol" (150 g.). La columna se eluyó primero con acetona, después con acetato de etilo saturado con agua y finalmente con etanol acuoso al 50% (23). El producto deseado fue obtenido de este último disolvente después de evaporar hasta sequedad y cristalizar de alcohol-agua y acetona-agua, efectuando todas las operaciones en atmósfera de nitrógeno. Se obtuvo un compuesto VI (0.6 g.) soluble en agua, de sabor amargo y que mostró un p.f. 227-228°

(desc.), λ max. 267 326 m μ ; ϵ , 27,627; 29, 695.

Anál. Calc. para C₂₅H₂₈O₁₂: C, 57.69; H, 5.42; O, 36.89.

Encontrado: C, 57.58; H, 5.63; O, 36.94.

Calc. para 4 metoxilos: 23.85

Encontrado: 23.82

TETRAMETOXI PENDULETINA VII.- Se hirvió bajo reflujo durante 3.5 horas, una solución de 0.8 g. del compuesto VI en 50 ml. de una solución etanólica acuosa al 10% de ácido clorhídrico. Se diluyó con 100 ml. de agua y se extrajo tres veces con 40 ml. de acetato de etilo. Después de las operaciones usuales, el producto cristalizó de etanol-agua, obteniéndose 0.4 g. del compuesto VII, p.f. 253-254°, λ max. 260, 330 m μ , ϵ , 19,630; 26,641.

Anál. Calc. para C₁₉H₁₈O₇: C, 63.68; H, 5.06; O, 31.25.

Encontrado: C, 64.06; H, 4.84; O, 31.21.

Calc. para 4 metoxilos: 34.63

Encontrado: 34.64

METILACION DE VII.- Siguiendo la técnica usual, se metilaron con diazometano en exceso, 0.8 g. del compuesto VII obteniéndose 0.12 g. de un compuesto que resultó ser igual al compuesto III, como se comprobó por p.f. de la mezcla y comparación de los espectros en el infrarrojo.

Acetilando 0.15 g. de VII en la forma anterior, se obtuvo un monoacetato VIII (0.08 g.), p.f. 151-153° (desc.).

OZONOLISIS DEL ACETATO VIII.-Se disolvieron 0.075 g. del monoacetato VIII en acetato de etilo anhidro y se ozonizó durante 3 minutos como en el caso anterior. El ozónido fue hidrogenado con 0.1 g. de paladio en carbón al 5%. Se filtró el catalizador y se evaporó el disolvente. El residuo fue cristalizado de acetona benceno y sublimado al alto vacío (0.01 mm. y 125°). Se obtuvieron 0.013 g. de un producto que fundió a 188-190°. El p.f. no mostró depresión al mezclar la sustancia con una muestra auténtica de ácido p-acetoxibenzoico. Los espectros en el infrarrojo de las dos muestras, fueron idénticos. Por lo tanto, llegamos a la conclusión de que la molécula de glucosa está ligada a la posición 4° de la penduletina (II).

SINTESIS DE PENDULETINA.

La primera síntesis que se intentó fue siguiendo las reacciones del esquema 1.

CLORURO DE PICRILLO X.- Se preparó a partir de 229 g. de ácido pícrico IX, según la técnica descrita por Shirley (29). Se obtuvieron 250 g. del producto X con un p.f. 78-81°.

TRINITO-2,4,6-ANISOL XI, TRIAMINO-2,4,6-ANISOL XII y TRIHIDROXI-2,4,6-ANISOL (INPTOL) XIII.-

Siguiendo la técnica descrita por Damaschroeder (30), se obtuvieron sucesivamente los productos XI, XII y XIII, a partir de 250 g. del producto X. El rendi-

miento obtenido para el iretol (XIII) fue sumamente bajo y no fue posible la obtención de la trihidroxi-2,4,6-dimetoxi-3-aceto-fenona por síntesis de Noesch, por la insolubilidad del iretol en éter absoluto.

Debido a ello, se ensayó la síntesis siguiendo el esquema 2.

NITRO-4-VERATROL XV.- A partir de 20 g. de veratrol (XIV), se obtuvieron 17 g. del producto XV con p. f. 95-96°. Se siguió la técnica descrita por Clark (31).

NITRO-4-GUAYACOL XVI.- Se partió de 15 g. del producto anterior XV, obteniéndose 11 g. del producto XVI con p. f. 103-104°, según el método descrito por Pollicoff y Robinson (32).

DINITRO-4,6-GUAYACOL XVII.- El producto XVII se obtuvo a partir de 10 g. del producto XVI, siguiendo los lineamientos descritos por Chapman, Perkin y Robinson (33).

Se obtuvieron 10.5 g. del producto XVII con p. f. 123-124°.

DINITRO-4,6-VERATROL XVIII.- 10 g. de dinitro-4,6-guayacol (XVII), se trataron con 12 g. de sulfato de metilo y 80 g. de carbonato de potasio anhidro, usando nitrobenzeno como disolvente. La mezcla se hirvió a reflujo durante 3 horas, con agitación continua, se filtró y destiló al vacío (1 mm.). El producto se cristalizó de etanol, obteniéndose 10 g. del producto XVIII.

con p.f. 105-107°.

DIAMINO-4,5-TERATROLO IX. - Se hidrogena en a presión y temperatura ordinarias 10 g. del producto anterior en 500 ml. de etanol de 95° y con 0.5 g. de paladio-carbón al 5% previamente hidrogenado. Se absorbiéron 9 litros de hidrógeno a 20° C. y 785 mm. en 8 horas, al cabo de las cuales, se filtró y evaporó el disolvente en atmósfera de dióxido de carbono. El aceite rojizo obtenido, dio reacción de *m*-diamina con ácido nitroso y coloración púrpura con cloruro férrico. - Cristalizó de alcohol en forma de agujas blancas (6 g.) con p.f. 105-107°.

DIMETOXI-4,5-RESORCINOL XX. - Una solución de 7 g. del producto anterior, 1.5 de cloruro estannoso en 400 ml. de agua, se dividió en 5 partes y se calentó a 120° en tubos cerrados durante 48 horas. Después de este lapso, para eliminar el estaño, se le pasó una corriente de ácido sulfhídrico y se filtró el precipitado; la solución se evaporó bajo atmósfera de dióxido de carbono hasta un volumen de 50 ml. y se extrajo con cloroformo. El extracto se secó con sulfato de sodio y se evaporó a sequedad. El residuo se disolvió en 4 ml. de agua, se decoloró con "Morite", se filtró y de la solución cristalizó por enfriamiento, el producto XX con moléculas de agua de cristalización (p.f. 76-77°). Para obtenerlo anhidro, se dejó en un desecador durante 8 horas, dando 1.25 g. de un producto con p.f. 115-116°.

DIHIDROXI-2,6-DINITROXI-3,4-ACETOFENONA XXI.-

Se preparó a partir de 1.25 g. del producto XX, según el método descrito por Baker y Robinson (34). Se obtuvieron 0.7 g. del producto XXI, con p.f. 129-130°.

ACIDO p-HIDROXI BENZOICO XXII.- (Esquema 3).- Siguiendo la técnica de Horning (35) se preparó el ácido XXII a partir de 100 g. de ácido salicílico. Se obtuvieron 80 g. del producto XXII con p.f. 211-212°.

p-HIDROXI BENZOATO DE METILO XXIII.- A una solución de 300 ml. de metanol absoluto, conteniendo 70 g. del producto anterior, se le añadieron 100 ml. de solución de metóxido de sodio obtenido con 8 g. de sodio metálico. Se le pasó a la mezcla una corriente de ácido clorhídrico gaseoso y seco, hasta que aumentó 5% en peso. Se dejó estar a temperatura ambiente durante 3 horas, al cabo de las cuales se vertió en agua, se extrajo con acetato de etilo y se cristalizó de etanol, obteniéndose 71 g. del producto XXIII con p.f. 131-132°.

p-BENCILOXI BENZOATO DE METILO XXIV.- Siguiendo el método descrito por Cohen y Dudley (36), se obtuvieron 37 g. del producto XXIV (p.f. 99-100°) a partir de 31 g. del p-hidroxi benzoato de metilo (XXIII).

ACIDO p-BENCILOXI-BENZOICO XXV.- Posteriormente se saponificó XXIV hirviéndolo a reflujo durante 3 horas con una solución alcohólica de hidróxido de potasio al 20%. La solución conteniendo la sal de potasio

del producto XXV, se aciduló con ácido clorhídrico, precipitando el ácido XXV. Se filtró y cristalizó de agua-alcóhol, obteniéndose 20 g. del ácido con p. f. 188-190°.

CLORURO DE p-BENCILOXI BENZOILO XXVI.- El producto anterior (20 g.) se disolvió en 100 g. de benceno seco añadiéndole dos equivalentes de cloruro de tionilo y refluja la mezcla hasta disolución total del producto. Se evaporó a sequedad y el residuo se cristalizó de benceno, obteniéndose 16 g. de XXVI con p.f. 104-106°.

ANHIDRIDO p-BENCILOXI BENZOICO XXVII.- 16 g. del producto anterior (XXVI) se añadieron a 18 g. de piridina anhidra, calentando al baño de vapor en un matraz de bola tapado herméticamente durante 15 minutos. Se vació la mezcla sobre 150 g. de hielo que contenían 75 ml. de ácido clorhídrico concentrado. Se filtró y lavó el precipitado, primero con metanol y luego con benceno. Cristalizando el producto de metanol se obtuvo 5 g. de XXVII con p.f. 118-119°.

HIDROXI-5-TRIMETOXI-3,6,7-BENCILOXI-4°-FLAVONA XXVIII.- Se mezclaron íntimamente 0.5 g. de la dihidroxi-2,3-trimetoxi-3,4-acetofenona XXI, 3 g. de XXVII y 1.5 g. de p-benciloxi benzoato de sodio, calentando durante 3 hs. a 180-185° bajo presión reducida (20 mm.). El producto de la reacción se hidrolizó calentando la mezcla en baño de vapor con una solución que contenía

10 ml. de etanol, 2 g. de hidróxido de potasio y 1 ml. de agua. Después de 30 minutos, se diluyó con 100 ml. de agua, y ya fría, se le pasó una corriente de dióxido de carbono. El precipitado se filtró, lavó, secó y cromatografió en magnesol. Se obtuvo una fracción con p.f. 132-134°, que resultó idéntica a la benziloxi-4° penduletina. No se observó abatimiento en el punto de fusión de la mezcla y los espectros en el infrarrojo - fueron iguales.

DIDROXI-4°, 5-TRIMETOXI-3,6,7-FLAVONA XXIX. - Por hidrólisis del producto anterior, con una mezcla de ácido clorhídrico-etanol (1:1) a reflujo durante 14 horas y cromatografiando en magnesol, se obtuvo XXIX que tanto por su punto de fusión, como por su espectro en el infrarrojo, fue idéntico a la penduletina natural.

PLANTAS DE LA SIERRA.

PLANTAS DE LA SIERRA.

La planta seca y el sol se machó hasta la pasta fino, obteniéndose 5 kg. de producto que se extrajeron con etanol 7 veces, con porciones de 10 litros, cada vez. Los extractos etanólicos se evaporaron a sequedad, obteniéndose un residuo que se lavó sucesivamente con hexano (a), éter (b) y metanol (c).

Fracción de hexano (a).- Contenia principalmente grasas y clorofila.

Fracción etérea (b).- Se evaporó a sequedad y 0.5 g. del residuo se cromatografiaron en 20 g. de alúmina ácida lavada con acetato de etilo. Se eluyó con benceno, éter, cloroformo, acetato de etilo y metanol, no pudiendo aislarse de las fracciones, ningún producto cristalino.

Fracción metanólica (c).- Se decoloró con carbón, se concentró y después de dejar el extracto durante 5 días en el refrigerador, se obtuvieron 2.3 g. de un producto sólido, del que por cristalizaciones fraccionadas con metanol, se obtuvieron dos sustancias:

A).- Un glucósido (1.5 g.)

B).- Un flavonoide (0.5 g.)

A).- GLUCOSIDO DE B. SQUARROSA.

REACCIONES COLORIDAS.- Cuando se trató con amalgama de sodio la solución alcohólica del glucósido, se

obtuvo una coloración carmesí, mientras que con ácido clorhídrico-magnésico, fue rosada. Al disolver el glucósido en ácido sulfúrico concentrado se obtuvo un color amarillo intenso (25).

CROMATOGRAFIA EN PAPEL.- Se efectuaron los cromatogramas del glucósido y de pendulina, usando papel Whatman N° 1 y n-butanol-acético-agua 40/10/50 v/v a 27° C., obteniéndose un R_f de 0.82 para ambos productos. Al repetir la experiencia usando reactivo de Forestal (12), que es una mezcla de ácido acético-ácido clorhídrico-agua 30/3/10 v/v, se obtuvo un R_f de 0.93 igual para las dos sustancias.

El punto de fusión de la mezcla no se abatió y sus espectros en el infrarrojo fueron idénticos. Al hidrolizar el glucósido con ácido clorhídrico 2N, se obtuvo glucosa y una porción agluconica, que resultó ser idéntica a la penduletina.

ATANASINA KEY DE B. SQUARROSA.

Los cristales amarillo-intenso de atanasina tuvieron un p.f. de 220-221°; λ max. 258, 270, 360 m μ ; ϵ , 17,845; 18,335; 20,511.

Anál. Calc. para $C_{20}H_{18}O_8$: C, 62.17; H, 4.70; O, 33.13.

Encontrado: C, 62.31; H, 4.70; O, 33.24.

Calc. para 3 metoxilos: 24.09

Encontrado: 25.97

Peso molecular calculado: 386.34

Encontrado (Rast.): 410.00

REACCIONES DE COLORACION.- Disolviendo la atanasina en ácido sulfúrico concentrado se obtuvo un color amarillo intenso; en ácido nítrico fumante, el color fue carmín. La solución alcohólica de atanasina produjo una coloración rosa cuando se trató con ácido clorhídrico-magnesio (26).

Cromatografía en papel.- Se efectuó según las técnicas ya descritas, obteniéndose una sola mancha y R_f de 0.97 cuando se usó n-butanol-acético agua 40/10/50 v/v a 28° C. Con reactivo de Forestal produjo también una sola mancha con R_f de 0.61.

DIACETIL ATANASINA XXXI.- A 0.1 g. de producto XXX se le añadieron 4 ml. de anhídrido acético y una gota de ácido perclórico, dejando estar la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante 20 minutos. Se virtió en agua, filtró y cristalizó de alcohol, obteniéndose 0.09 g. de una sustancia blanca XXXI con p.f. de 184-185°.

Anál. Calc. para $C_{24}H_{22}O_{10}$: C, 61.27; H, 4.72; O, 34.01.

Encontrado: C, 61.31; H, 4.70; O, 33.89.

Calc. para 3 metoxilos: 19.81

Encontrado: 20.85

Calc. para 2 acetilos: 18.30

Encontrado: 21.02

SAPONIFICACION DEL DIACETATO XXXI.- 0.01 g. del producto anterior, se hirvieron a reflujo durante 1 hora con 7 ml. de una solución alcohólica de hidróxido -

de sodio al 10%. Se diluyó con agua y se pasó una corriente de dióxido de carbono. Se filtró el precipitado formado y se cristalizó de alcohol, obteniéndose 0.007 g. de una sustancia amarilla que resultó idéntica con la atanasina por p.f. de la mezcla y espectro en el infrarrojo.

OZONOLISIS DE ATANASINA XXX.- Una solución de 40 ml. de acetato de etilo anhidro conteniendo 0.1 g. de atanasina se ozonizaron durante 10 minutos. El ozónido fue descompuesto por hidrogenación catalítica usando 0.06 g. de paladio-carbón al 10%. Después de filtrar, se cristalizó de metanol el producto, obteniéndose un ácido de p.f. 183-184°, que resultó idéntico con el ácido p-metoxi benzoico, al compararlos por p.f. de la mezcla y espectros en el infrarrojo.

DESMETILACION DE ATANASINA XXX.- Desmetilando con ácido yodhídrico de 47% usando como solvente anhídrido propiónico y fenol, se obtuvo un compuesto que contenía todavía dos metoxilos, p.f. 235-237°.

Anál. Calc. para $C_{19}H_{16}O_8$: C, 61.29; H, 4.33; O, 34.38.

Encontrado: C, 61.53; H, 4.36; O, 34.48.

La desmetilación se verificó en condiciones más enérgicas con 0.2 g. de producto XXX en 10 ml. de anhídrido propiónico, 0.2 g. de fenol y 10 ml. de ácido yodhídrico de 55% de concentración ($d=1.17$), reflujiendo durante 5 horas. Se diluyó con agua y se extrajo con acetato de etilo, lavando la fase orgánica con solución acuosa de bisulfito de sodio al 5%. Después se

secó con sulfato de sodio anhidro y se evaporó el disolvente. El residuo se cristalizó de metanol, obteniéndose unos cristales amarillo-oscuros XXXII cuyo p. f. no era definido, ya que descomponía a los 290° y se carbonizaba entre 320-330°.

PREPARACION DEL PENTA ACETATO XXXIII.- A 15 ml. de anhídrido acético, se le añadió 0.1 g. de XXXII y una gota de ácido perclórico. La mezcla se dejó a temperatura ambiente durante 20 minutos, al cabo de los cuales se vertió en agua. El precipitado se filtró y cristalizó primero de acetona-hexano y luego dos veces de metanol, obteniéndose 0.08 g. del penta-acetato - blanco con p.f. 233-235°.

Anál. Calc. para $C_{25}H_{20}O_{12}$: C, 58.60; H, 3.93; O, 37.47.
 Encontrado: C, 58.35; H, 3.91; O, 37.71.
 Calc. para 5 acetilos: 41.93
 Encontrado: 43.99

MONOACETIL ATANASINA XXXIV.- 0.05 g. de atanasina XXX se añadieron a 3 ml. de anhídrido acético y 0.01 g. de acetato de sodio recientemente fundido. Se dejó a temperatura ambiente durante 8 horas. Al final de este lapso se vertió en agua el producto de reacción y se procesó según técnicas ya descritas, cristalizando de metanol un producto amarillo con p.f. de 197-198° y con cloruro férrico dio una coloración verde clivo. El espectro en el infrarrojo, mostró bandas en 3400 y 1770 cm^{-1} , característica respectivamente de grupos oxhidri_lo y acetato.

DESCRIPCIÓN DE LAS REACCIONES:
siccatores al 100°C . Se prepararon tres
diferentes por el método de síntesis de la atanasina
4',5,6 7-triazolona, 1,2,3,4-tetraoxo, en las que
porciones (0.003 g.) se les añadió una gota de ácido acé-
tico y se observaron bajo luz ultravioleta, se vio
que solamente la hidroxí-3-tetrametoxi-4',5,6,7-clara
na tenía una fluorescencia amarilla intensa, mientras
que las otras dos produjeron una leve fluorescencia
azul (15).

ESPECTRO EN EL ULTRAVIOLETA.- Se preparó una solu-
ción 0.0001 M de atanasina XXX usando como disolvente
etanol absoluto. Tomando 2 ml. de esta solución, se
aforsó a 10 ml. y se tomó el espectro en el ultravioleta
(λ max. 258, 270, 260 m μ). Después, en la misma
celda, se saturó la solución con acetato de sodio pro-
cientemente fundido, no observándose ningún despla-
zamiento de los máximos (13).

A otros 2 ml. de la solución 0.0001 M se le añe-
dieron 2 ml. de una solución 0.01 M de etóxido de so-
dio y se aforsó a 10 ml. Después de 30 minutos, se to-
mó el espectro en el ultravioleta, observándose que el
máximo 270 m μ tenía un desplazamiento batocrómico a
285 m μ ($\Delta \lambda$ de 15 m μ). Después de neutralizar la solu-
ción se tomó otra vez su espectro, observándose los má-
ximos en igual posición que los de la solución neutra
(13).

REACCIONES DE DESHIDRATACION DE ATANASINA I.- Ca-

lentando en baño de vapor 0.01 g. de atanasina con ácido sulfúrico concentrado, durante 20 minutos, se recuperó la sustancia sin alterar. Al calentar 0.01 g. de la sustancia en baño de vapor durante 3 horas con ácido fosfórico siruposo, tampoco se alteró la sustancia.

Disolviendo 0.01 g. de la atanasina en 10 ml. de tetracloro etileno anhidro que contenía 0.5 g. de pentóxido de fósforo e hirviendo la solución a reflujo durante 3 horas, tampoco se observó alteración de la sustancia (22).

CONCLUSIONES

Se estudiaron cuatro especies de plantas del género *Brickelia*, no habiéndose aislado ningún producto flavonoide de *B. veronicifolia* y de la *B. secundiflora*. Sin embargo, de la especie de *B. péndula*, se aisló un glucósido, pendulina, a cuya aglucona se le llamó penduletina. Ambas sustancias no estaban descritas en la literatura, siendo la primera vez que se aislaron de una fuente natural. Sus respectivas estructuras fueron establecidas de manera concluyente, ya que la estructura de la penduletina fue demostrada por síntesis. Se estableció que la pendulina era el glucósido 4° de la dihidroxi-4°,5-trimetoxi-3,6,7-flavona. La penduletina fue la dihidroxi-4°,5-trimetoxi-3,6,7-flavona.

De la *B. squarrosa* se aisló también pendulina y una nueva furo-flavona que tampoco se encontró descrita en la literatura. A esta sustancia se le asignó el nombre de "atanasina" y por una serie de reacciones se concluyó que era la dihidroxi-5,6-dimetoxi-3,4° [metoxi-4° dihidrofurano-2°,3°,7,8 flavona].

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

- 1.- M. Martínez. "Las plantas medicinales de México", p. 43, Ediciones Botas (1939).
- 2.- B. L. Robinson. "Memoirs of the Gray Herbarium of Harvard University", Vol. I, p. 17, Harvard University Press (1917).
- 3.- P. C. Standley. "Trees and Shrubs of Mexico". Contributions of the United States National Herbarium, Vol. 23, parte 5, p. 1472. Washington Government Printing Office (1926).
- 4.- F. Río de la Loza. "Materia Médica Mexicana", parte I, p. 269, México (1894).
- 5.- S. K. Mukerjee y T. R. Seshadri. Chem. and Ind., 271 (1955).
- 6.- L. J. Goldsworthy y R. Robinson, J. Chem. Soc., 46 (1937).
- 7.- E. K. Nelson. J. Am. Chem. Soc., 56, 1392 (1934).
- 8.- L. J. Goldsworthy y R. Robinson, Chem. and Ind., 47 (1957).
- 9.- A. G. Perkin, S. Phipps, J. Chem. Soc., 85, 56 (1904); J. Hersig, Montash., 5, 72 (1884); 9, 537 (1888); A. S. Gomm. M. Nirenstein, J. Am. Chem. Soc., 53, 4408 (1931); A. G. Perkin, J. Chem. Soc., 103, 209 (1913).
- 10.- O. Kubota y A. G. Perkin, J. Chem. Soc., 127, 1889 (1925).
- 11.- C. W. Wilson, J. Am. Chem. Soc., 61, 2303 (1939).
- 12.- E. C. Bate Smith, Sci. Proc. Roy. Dublin Soc., 27, 165 (1957).
- 13.- I. Jurd y R. M. Horowitz, J. Org. Chem., 22, 1618 (1957).

- 14.- L. H. Briggs y R. H. Locker, J.Chem.Soc., 3131 (1951).
- 15.- R. Kuhn e I. Löw, Ber.Dtsch.Chem.Ges. 77, 211 (1944).
- 16.- L. H. Briggs y R. H. Locker, J.Chem.Soc., 2159 (1949); S. Rajagopalan et al., Proc.Ind.Acad.Sc., 23-A, 97 (1946).
- 17.- A. J. Birch "Perspectives in Organic Chemistry", Sir Alexander Todd. p. 134. London (1956).
- 18.- B. L. Manjunath, et al., Ber.Dtsch.Chem.Ges. 72, 93 (1939).
- 19.- A. Kogure y T. Kubota, Chemical Abstracts, 47, 1026 (1953).
- 20.- Ch. Marschalk. Ber.Dtsch.Chem.Ges., 43, 1695 (1910).
- 21.- R. Störmer y O. Kippe, ibid., 36, 3992 (1903).
- 22.- Beilsteins Handbuch der Organischen Chemie XVII, 114, Berlin (1934).
- 23.- C. H. Ice y S. H. Wender, Analyt.Chem., 24, 1616 (1952).
- 24.- T. B. Gage, C. D. Douglas y S. H. Wender, ibid., 23, 1582 (1951).
- 25.- R. H. Horrocks y G. B. Manning, Lancet, 256, 1042 (1949).
- 26.- W. Z. Hassid y R. M. McCready. Ind.Eng.Chem.Analyt. Ed., 14, 683 (1942).
- 27.- W. K. Warburton. Quart.Rev. (London) VII, 70 (1954).
- 28.- T. A. Geissman. "Modern Methoden der Pflanzenanalyse", K. Paech y M. V. Tracey. Vol. III, p. 470 (1955).
- 29.- D. A. Shirley. "Preparations of Organic Intermediates". p. 263, Wiley, New York (1951).

- 30.- R. E. Damschroeder. J. Am. Chem. Soc., 59, 931
(1937).
- 31.- E. P. Clark; ibid., 53, 3431 (1931)
- 32.- F. Pollecoff y R. Robinson, J. Chem. Soc., 113, 645
(1918).
- 33.- E. Chapman, A. G. Perkin y R. Robinson, ibid.,
129, 3015 (1927).
- 34.- W. Baker y R. Robinson, ibid., 131, 152 (1929).
- 35.- E. C. Horning. "Organic Syntheses, Coll." Vol. 2,
p. 341, Wiley, New York (1955).
- 36.- J. B. Cohen y H. W. Dudley, J. Chem. Soc., 97, 1732
(1910).