



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

**FACULTAD DE QUIMICA
DIVISION DE ESTUDIOS SUPERIORES**

**INVESTIGACION FITOQUIMICA DE GECROPIA
OBTUSIFOLIA**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRO EN CIENCIAS QUIMICAS
FARMACIA (SINTESIS DE FARMACOS)

PRESENTA EL QUIMICO FARFACEUTICO BIOLOGO
RAMON MARCOS SOTO HERNANDEZ

MEXICO, D. F.

1978



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.

JURADO ASIGNADO ORIGINALMENTE

PRESIDENTE:	Prof. FRANCISCO GIRAL G.
VOCAL:	Prof. EUGENE BRATOEFF
SECRETARIO:	Prof. OFELIA ESPEJO DE OCHOA
SUPLENTE:	Prof. CARMEN RIVERA DE REYES
SUPLENTE:	Prof. JORGE REYES L.

SITIO DONDE SE DESARROLLO EL TEMA:

**DEPARTAMENTO DE QUIMICA FARMACEUTICA Y PRODUCTOS NATURALES
DIVISION DE ESTUDIOS SUPERIORES FACULTAD DE QUIMICA UNAM**

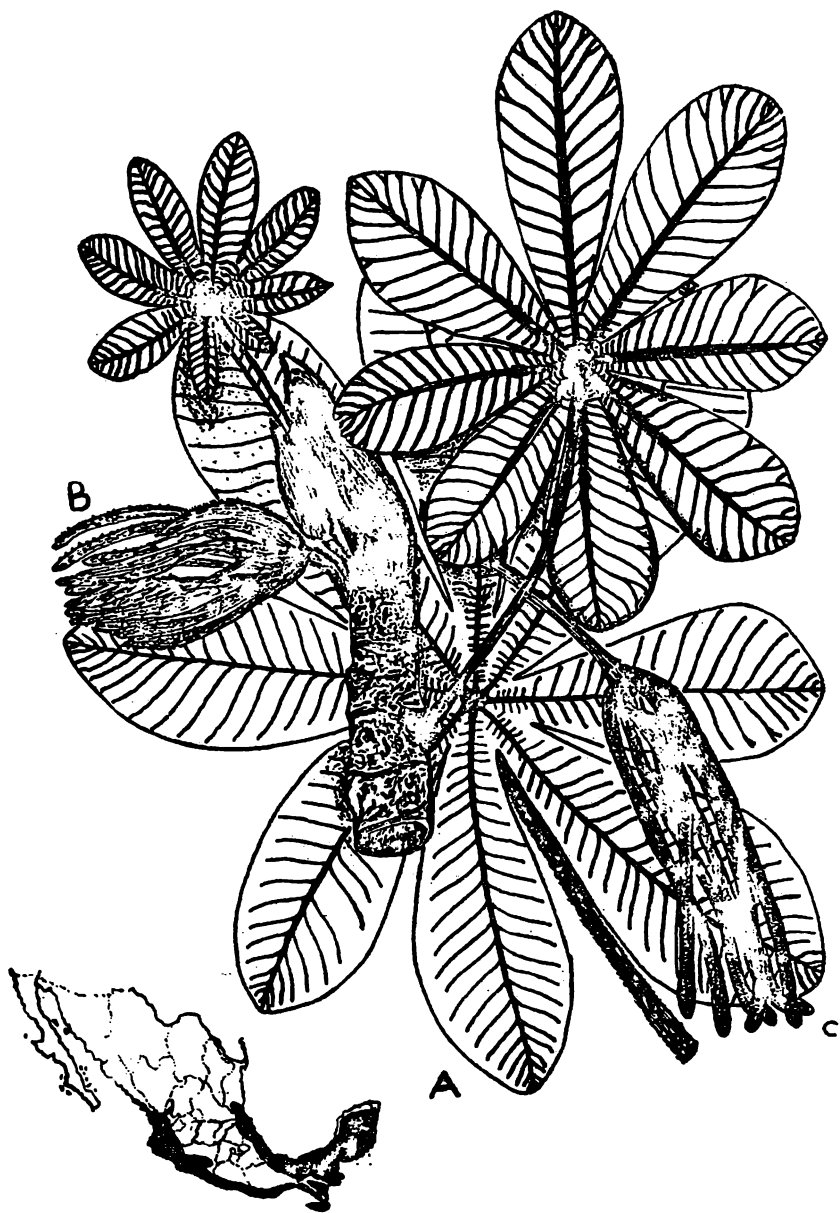
SUSTENTANTE: Q.P.B. RAMON MARCOS SOTO HERNANDEZ

ASESOR DEL TEMA: Dr. JORGE REYES L.

ESTA TESIS SE DESARROLLO BAJO
EL AUSPICIO DE UNA BECA OTOR-
GADA POR EL Sr. JUAN SENOSIAIN
(LABORATORIOS SENOSIAIN) A QUIEN
AGRADEZCO SU AYUDA.

C O N T E N I D O

- I.- INTRODUCCION**
- II.- PARTE EXPERIMENTAL**
- III.- DISCUSION DE RESULTADOS**
- IV.- CONCLUSIONES**
- V.- BIBLIOGRAFIA**



Cecropia obtusifolia. A, hoja; B, rama con inflorescencia masculina;
C, rama con inflorescencia femenina. (x 1/2).

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

Cecropia obtusifolia Bertol. (*Cecropia mexicana* Hemsl.) es una Morácea particularmente abundante en climas tropicales, se distingue a primera vista por sus enormes hojas lobuladas y por estar habitado su tallo por hormigas del género *Azteca*.

La familia de las Moráceas abarca alrededor de 1,400 especies entre árboles y arbustos distribuidos en las zonas templadas del mundo e incluye algunos árboles ornamentales y otros económicamente significativos.

Se conocen al menos 105 especies de *Cecropia* en México, América Central y América del Sur. Todas las especies de *Cecropia* en México y América Central con excepción de *C. sandersoniana*, que Allen describe como especímenes maduros confinados a bosques primarios, están distribuidos comunmente como parte de la sucesión secundaria.

Un examen exhaustivo de la literatura reveló que se han hecho pocas investigaciones químicas y farmacológicas de la planta en estudio, ya que todos los reportes que se han encontrado se refieren a una especie afín: *C. peltata*, cuya distribución en México es muy escasa, mientras que *C. obtusifolia* se encuentra ampliamente distribuida en nuestro país (desde Tamaulipas y San Luis Potosí hasta Yucatán y Quintana Roo en la vertiente del Golfo y desde el sur de Sinaloa hasta Chiapas en la del Pacífico).

Según Peckolt (1) la corteza fresca de *C. adenopus* contiene - ácido resinoso, clorofila, azúcares y cecropina entre otros compó -

-nentes. El supone que la cecropina es un alcaloide que cristaliza en agujas blancas solubles en agua, alcohol, cloroformo, éter, benceno e insoluble en éter de petróleo. Así mismo se ha encontrado que el extracto acuoso de hojas en varias especies de *Cecropia* contiene ambaina, taninos, ceras, grasas, clorofila, etc. Se cree que la ambaina es una saponina que al hidrolizar produce glucosa y ácido ambainico de un color rojo rubí; a pesar de ser una saponina carece del efecto más común que presentan las saponinas que es el de provocar la citolisis de los glóbulos rojos. Se supone que la ambaina tiene propiedades farmacodinámicas bien-marcadas (2) pero no se da a conocer su naturaleza química sólo se menciona que dicho principio no es un alcaloide, que posee función básica y que con ácido sulfúrico precipita en agujas incoloras. En el estudio de Langón (3) se reporta que la ambaina es el principio activo del extracto acuoso de hojas de *Cecropia* y que tiene actividad farmacológica como cardiotónico.

En otros ensayos químicos King y Maddok (4) estudiando las hojas de *C. peltata* aislaron dos sustancias de naturaleza glucosídica una amorfa de p.f. 214-215° y otra cristalina cuyas características no indican.

En el estudio de Nogueira y Correia (5) se indica que las hojas de *C. peltata* contiene una considerable cantidad de compuestos esteroideos. En el extracto etéreo aislaron una sustancia cristalina de p.f. 50-55° que presenta características de un aldehído; en el extracto bencénico aislaron un compuesto que identifican como ácido ursólico, también aislaron sustancias flavonoides tanto libres como

- combinadas en forma de glucósidos.

Por otra parte en la medicina popular se atribuye a determinadas especies de *Cecropia* (principalmente a *C. peltata*) actividades farmacológicas diversas. Por ejemplo se dice que la corteza es astringente, que la raíz se usa como emenagogo, mientras que las hojas se han empleado en infecciones pulmonares agudas, como un antiasmático y como un sedante en afecciones nerviosas(6). La infusión de hojas produce además un estado depresivo, relajamiento muscular y particularmente una disminución del ritmo cardiaco; así mismo se observa un notable efecto diurético. El estudio clínico de Gilbert y Carnot (7) reporta que el extracto acuoso de hojas de *Cecropia* contiene un principio tóxico débil cuya acción principal es sobre el corazón; esta acción a dosis no tóxicas determina un aumento considerable en la amplitud de las contracciones cardiacas, mientras que a mayores dosis se observa una lentitud progresiva de las mismas siguiendo síncope del corazón hasta de tres cuartos de hora sin que sobrevenga la parálisis completa de este órgano, e indican que este principio aumenta notablemente la energía de la contracción ventricular, siendo ésta una excelente condición para sus aplicaciones terapéuticas. Se menciona que las propiedades terapéuticas que presenta este principio hacen que pueda competir y aún sustituir a los digitálicos que comunmente se emplean como cardiotónicos y diuréticos.

La investigación preliminar realizada con *C. obtusifolia* (8) se hizo con el objeto de estudiar la relación simbiótica existente -

entre la planta y las hormigas del género Azteca y al mismo tiempo contribuir a su estudio químico.

En esta etapa de trabajo se prepararon varios extractos tanto del tronco como de la hoja y se ensayaron con las hormigas menci -
nadas en su ambiente natural. Se observó que algunas de las fraccio -
nes aisladas del tronco atraían a las hormigas, mientras que con las
fracciones aisladas de la hoja no se observó una reacción clara.

De esta etapa de trabajo también se aislaron otros compuestos
que se identificaron por métodos espectroscópicos, uno de ellos co -
rresponde al 5-(etoxi)metil furfural aislado como un producto de hi -
drólisis de la hoja; en esta forma también se aislaron glucosa, -
ramnosa y xilosa que se identificaron por cromatografía en capa -
fina y cromatografía G-L .

Los resultados obtenidos de este estudio preliminar dieron la -
pauta para continuar estudiando esta planta; para lo cual la inves -
tigación se dividió en dos partes principales que fueron:

1.- Estudio del Tronco. En este estudio se controlaron mejor las -
condiciones de trabajo para aislar los compuestos responsables de -
la actividad atrayente sobre las hormigas. Los resultados observados
con las fracciones que se probaron indicaron no sólo una respuesta
atrayente sobre las hormigas sino también una respuesta repelente
con varias de ellas. También se llegó a la estructura de algunas de
las fracciones activas (9).

2.- Estudio de la Hoja. Basándose en los reportes encontrados en la
literatura se decidió estudiar por separado la hoja de Cecropia con -

-el objeto de comprobar si esta especie presentaba la misma actividad farmacológica descrita para otras especies afines, es decir como un cardiotónico, además de continuar su estudio químico.

Esta etapa de trabajo es la que se ha desarrollado recientemente y corresponde a la parte experimental de la presente tesis.

La primera prueba farmacológica se hizo con carácter preliminar en el Instituto Mexicano para el Estudio de las Plantas Medicinales (IMEPLAN) bajo la dirección del Dr. X. Lozoya, probándose un extracto alcohólico de la hoja. El extracto se preparó macerando una porción de la hoja (10 g) con etanol, se eliminó el exceso de disolvente y el extracto alcohólico seco se disolvió en agua destilada; en esta forma es como se aplicó al animal de prueba (un gato de 2 Kg de peso) en dosis de 0.5 ml, 1 ml y 2 ml a intervalos de 10-15 minutos cada uno la administración se hizo por vía intravenosa. El resultado mostraba que la presión arterial no cambiaba significativamente, sin embargo la contracción cardíaca aumentaba considerablemente.

Este resultado indicó que el extracto alcohólico podría tener actividad como cardiotónico por lo que se pensó en realizar otra prueba más detallada en donde se afinaran las condiciones del experimento.

En la segunda prueba farmacológica realizada en el mismo sitio se aplicó una cantidad exacta de extracto, además de que se usó como animal de prueba un perro de 9 Kg de peso. Se partió originalmente de 10 g de hoja, al macerar con alcohol se obtuvieron 2 g de extracto del que se tomó una porción de 0.025 g y se disolvió en agua destilada;

la administración del extracto se hizo en forma análoga a la prueba anterior. El resultado observado en esta prueba no indicaba cambios en la contracción cardíaca.

Como los resultados eran muy ambiguos, se realizó una tercera prueba en el Instituto Nacional de Cardiología bajo la dirección de los doctores R. Méndez y G. Pastelin afinándose aún más las condiciones experimentales, no obstante el resultado fue negativo.

De estos resultados se puede pensar que los lotes estudiados de la hoja de *Cecropia* no presentan la actividad farmacológica que se pretendía encontrar en ella. Sin embargo hay que considerar la influencia de factores ecológicos, estado de desarrollo, tiempo de recolección, etc. que determinan en cierta forma el encontrar o no el principio activo buscado.

Por lo que para demostrar finalmente si esta planta presenta o no la actividad farmacológica mencionada habría que estudiar varios lotes colectados en diferentes épocas del año controlando también los demás factores físicos que influyen en la distribución relativa del principio activo presente en la planta.

Paralelamente al estudio farmacológico de la hoja se continua con su estudio químico, en el cual se aislaron varios compuestos a los que se propone su estructura por espectroscopía.

P A R T E E X P E R I M E N T A L

Para aislar los compuestos que se pretendían encontrar en *C. obtusifolia*, la parte experimental de este trabajo se dividió en varias etapas que fueron: extracción, aislamiento, purificación e identificación.

El material de estudio se recolectó en la región de los Tuxtlas Ver., una vez obtenido se separó la hoja de otras partes de la planta se secó a temperatura ambiente y se trituró finamente.

Extracción.- Se partió de un lote de 2 Kg de hoja seca, se extrajo a reflujo con hexano hasta agotar el material soluble, al filtrar se obtuvo un residuo I (peso seco 1,600 g) y un extracto hexánico (peso seco 23g). Con el residuo I se desarrollaron dos procedimientos diferentes: en uno de ellos (procedimiento I) las hojas desengrasadas se sometieron a una hidrólisis ácida con objeto de romper las uniones entre la o las geninas y los azúcares presentes en la hoja (ya se ha mencionado antes, que en otras especies de *Cecropia* se ha reportado la presencia de éste tipo de compuestos por lo que se dirigió el aislamiento en esta forma); en el otro procedimiento (Procedimiento II) se efectuó una extracción y aislamiento de lo que se esperaba fueran glucósidos (10).

Procedimiento I.- 475 g de Residuo I se hidrolizaron con HCl al 10% en metanol durante 6 horas; la mezcla de reacción se enfrió y el residuo resultante se lavó con varias porciones de hidróxido de amonio diluido y agua destilada, se secó completamente y se extrajo en - -

Soxhlet con cloroformo hasta agotar el material soluble. El extracto clorofórmico se evaporó con vacío hasta sequedad (peso seco 5 g). Con este extracto se desarrolló una cromatografía en columna usando gel de sílice G como adsorbente; al principio se eluyó la columna con hexano y gradualmente se aumentó la polaridad hasta eluir con mezclas de benceno-cloroformo 9:1, se colectaron en total 32 fracciones de 100 a 200 ml; el control de las fracciones se hizo por cromatografía en capa fina.

En las primeras fracciones se aisló un sólido blanco que pesó 0.143 g y dio un p.f. 44-46°. Por espectroscopia de IR y cromatografía G-L se encontró que este sólido era una mezcla de compuestos uno de ellos correspondía al estigmasterol.

De las fracciones 15 a 17 se aisló otro sólido que pesó 0.373 g y dio un p.f. 70-71°, al recristalizarlo de etanol el p.f. fue de 73-74°. El análisis por la combinación cromatografía de gases-espectrometría de masas indicaba la presencia de tres compuestos (dos de ellos isómeros).

Las demás fracciones que salieron de la columna se encontraban sumamente mezcladas y en cantidad muy pequeña para poder analizarlas adecuadamente. En el Diagrama 1 se resume el trabajo desarrollado en este procedimiento.

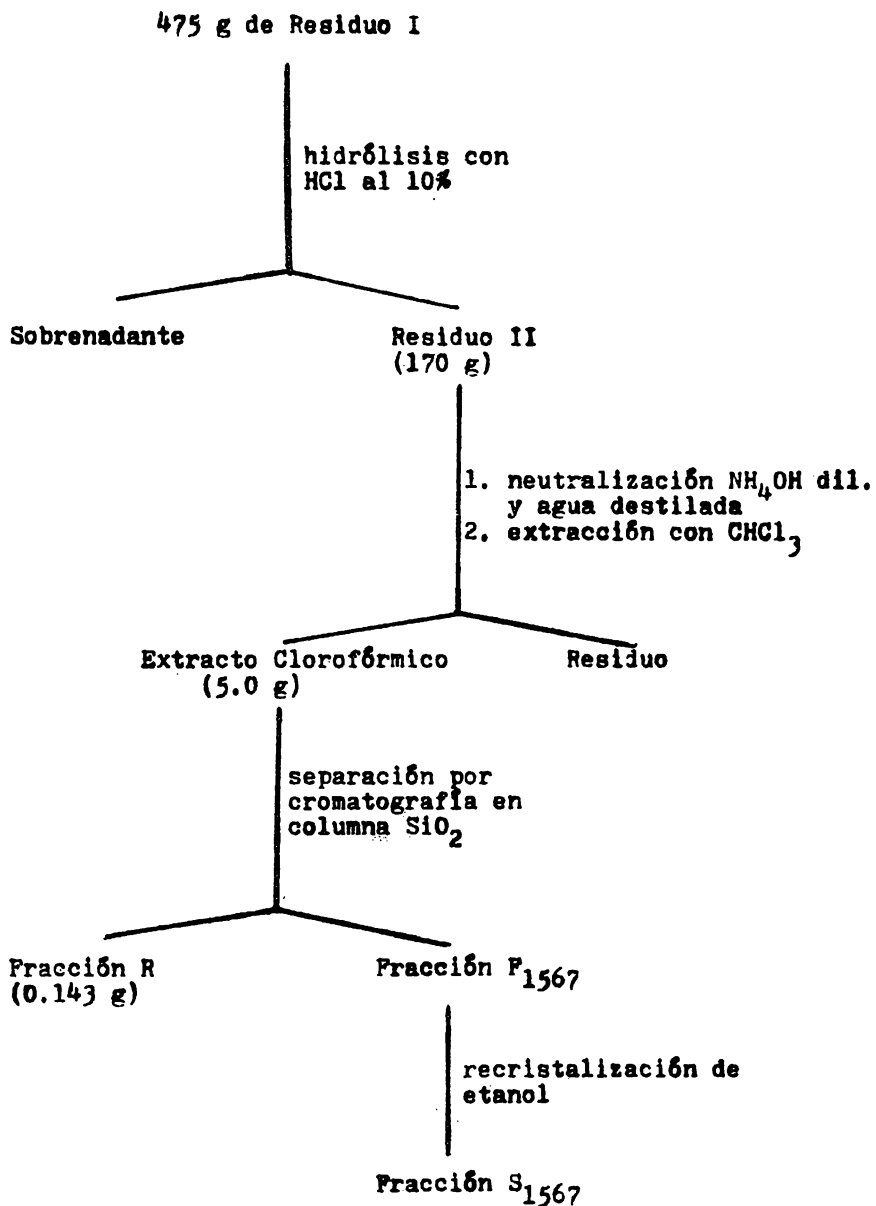


Diagrama 1
(Procedimiento I)

Procedimiento II.- Con la otra porción de la hoja desengrasada se procedió al aislamiento de glucósidos en la siguiente forma: 860 g del Residuo I se extrajeron a reflujo con etanol hasta agotar el material soluble, obteniéndose un residuo y un extracto alcohólico que pesó 104 g.

Para eliminar pigmentos, taninos y otros componentes que interfieren en el aislamiento de los glucósidos se usó el método de Gstiner y Syring (11). Este método tiene la ventaja de que elimina los pigmentos y otros compuestos sin alterar los glucósidos presentes en el extracto. Los principales pasos de este método son:

El extracto alcohólico se disuelve en etanol al 50% (15 ml) y se extrae en 3 porciones de 10 ml cada una de CCl_4 , se agrega 20 ml de sulfato férrico al 10%, la mezcla se conserva a 32-35° con agitación ocasional, después de 5 minutos se agrega 2.0 g de carbonato de calcio en pequeñas porciones y la mezcla se conserva por 30 minutos más a 32-35° (en este momento han precipitado todos los compuestos que se pretenden eliminar). Finalmente la solución se filtra y si es necesario se ajusta a pH 7; el filtrado se extrae con dos porciones de 50 ml cada una de cloroformo-propanol 3:1, la fase inferior se seca con sulfato de sodio anh. y se evapora con vacío.

Después de eliminar los pigmentos y otros materiales se aislaron dos tipos de componentes, que se denominaron fracción FA (soluble en cloroformo) y fracción FB (soluble en alcohol, agua y piridina).

Ambas fracciones dan positiva la prueba de Legal (usada en la identificación cualitativa de glucósidos cardiacos). En el diagrama 2 se resume el Procedimiento II.

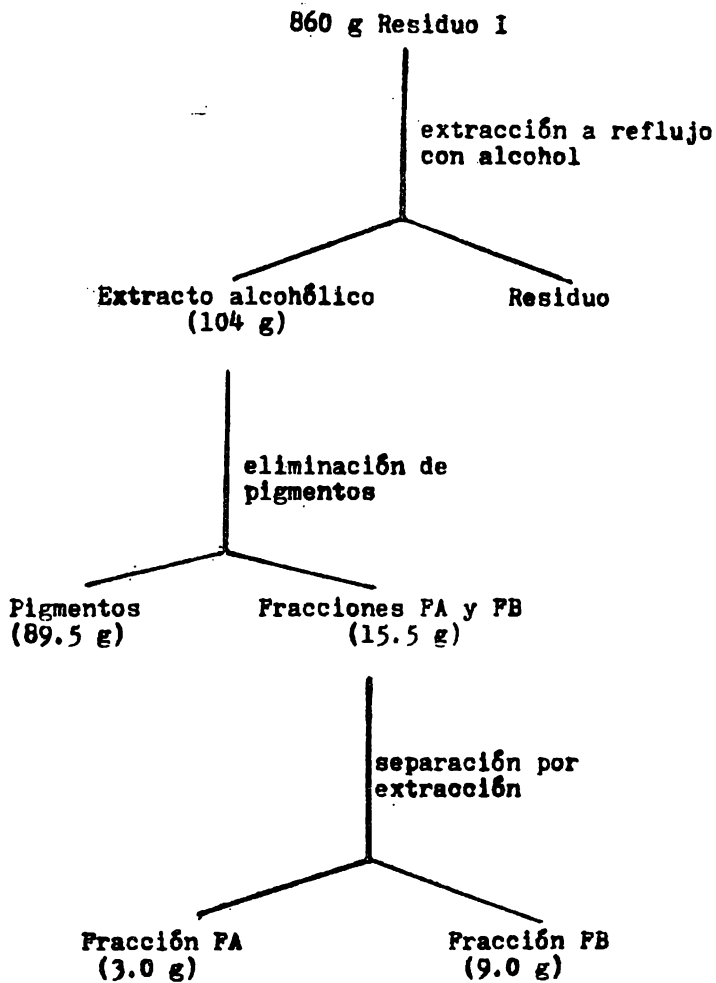


Diagrama 2
(Procedimiento II)

Aisladas estas fracciones se procedió a separarlas por cromatografía en columna y cromatografía en capa preparativa.

Con 2.63 g de la fracción FA se desarrolló una cromatografía en columna usando como adsorbente gel de sílice G y como eluyente una mezcla de benceno-acetato de etilo 75:25; se colectaron once fracciones de 200-300 ml, el control de las mismas se hizo por cromatografía en capa fina y el revelado de los componentes con anisaldehído-ácido sulfúrico (los glucósidos cardiacos dan colores característicos con este revelador).

Por similitud en sus componentes se juntó en una sola las fracciones A, B y C y al evaporar el exceso de disolvente dio un peso seco de 0.328 g, por dos purificaciones más se aisló el componente menos polar de esta fracción (fracción M₃ con un peso seco de 0.014 g).

En la misma forma se juntó en una sola las fracciones D a G - al evaporar el exceso de disolvente dio un peso seco de 0.264 g de otra purificación más se aislaron tres componentes principales siendo la fracción G₂ la más abundante (0.052 g) y la menos mezclada; de esta fracción se hizo análisis por el acoplamiento cromatografía de gases-espectrometría de masas indicando la presencia de dos compuestos. Al colectar la fracción I y evaporar el exceso de disolvente precipitó un sólido blanco que pesó 0.025 g insoluble en la mayoría de los disolventes comunes (sólo era soluble en alcohol, piridina y agua dest.) no fundía abajo de 280^o, sin embargo en la prueba de ignición dejaba un residuo orgánico con un olor de azúcar quemado. El espectro IR indicaba bandas para grupos OH mientras que el - -

-espectro de RMN mostraba una estructura cíclica; por cromatografía en capa fina se observó un solo componente que al revelar con anisaldehído-ácido sulfúrico daba un color violeta. Para facilitar la identificación de este compuesto se preparó un derivado acetilado con el cual cambiaron notablemente algunas de sus propiedades (era soluble en cloroformo y daba un p.f. 148°); el análisis por la combinación cromatografía de gases-espectrometría de masas indicaba parte de un glucósido.

Finalmente por similitud de sus componentes se juntó en una sola las fracciones H a K al evaporar el exceso de disolvente dio un peso seco de 1.23 g. Como se trataba de la fracción más polar que salió de la columna, la separación de sus componentes no era satisfactoria por métodos cromatográficos, por lo que se hidrolizó con HCl al 10% con objeto de separar adecuadamente los componentes presentes en esta fracción (la hidrólisis se hizo en forma análoga al Procedimiento I), al final de la hidrólisis se aislaron dos tipos de componentes principales: fracción ST_1 (con un peso de 0.327 g) y fracción ST_2 (con un peso de 0.042 g).

En el Diagrama 3 se resume el trabajo desarrollado con la fracción FA.

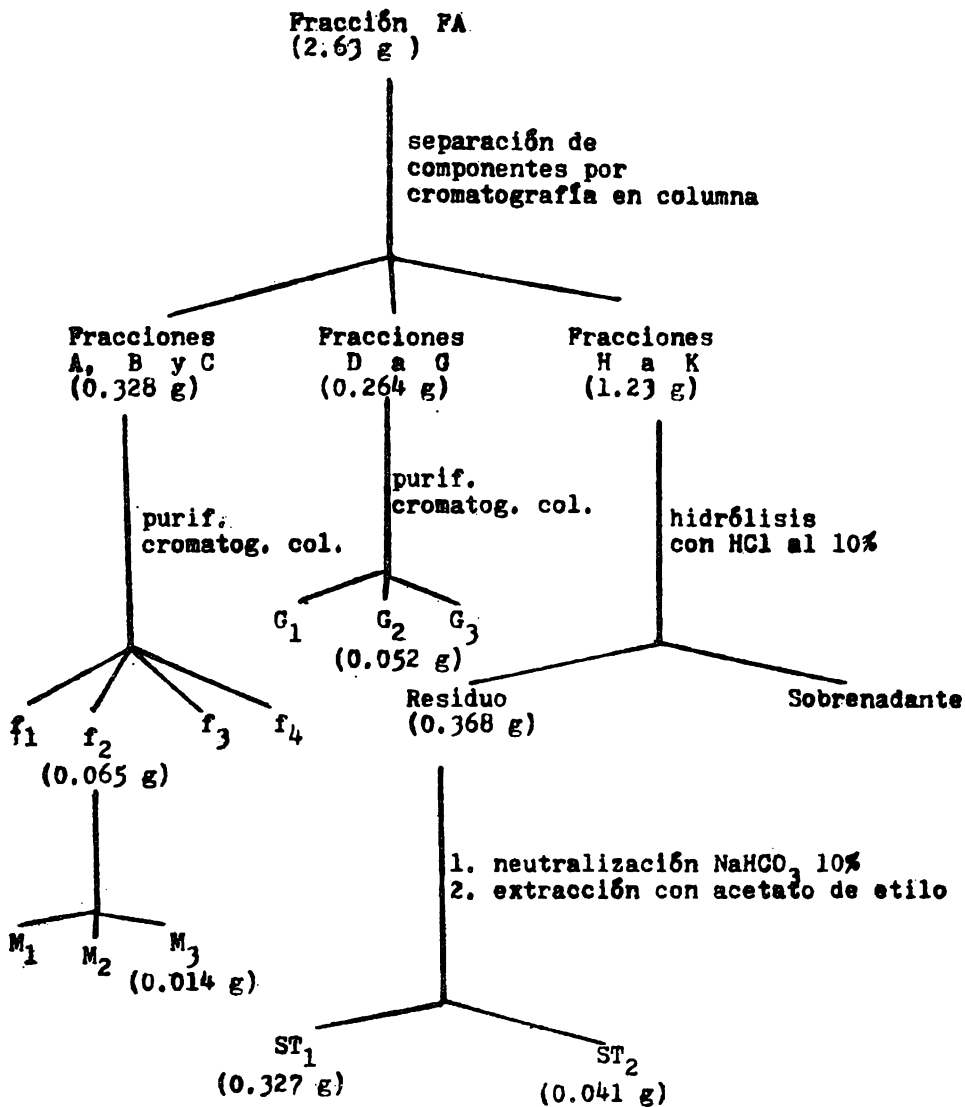


Diagrama 3
(separación de fracción FA)

La porción de la fracción FB (9 g) se extrajo con alcohol caliente, obteniéndose un sólido amorfo de color oscuro insoluble en los disolventes comunes y un extracto alcohólico (7.3 g); este extracto da positiva la prueba de Legal.

Se trató de separar la mezcla de componentes por cristalización, pero la técnica se dificultó por la naturaleza misma del extracto (chicloso).

Con esta observación se trató de separarlos por cromatografía en columna usando adsorbentes tales como gel de sílice G, florisil y alúmina neutra sin embargo la polaridad de los componentes dificultó su separación por esta técnica.

Por cromatografía en capa preparativa y usando como adsorbente kieselgur G e impregnando la placa con ácido bórico 0.02 M se separó el componente menos polar de la mezcla (fracción B₁). De este componente se separaron dos más al extraer con acetato de atilo y metanol (fracción B₁AE-AE con un peso de 0.009 g y fracción B₁AE-MeOH con un peso de 0.020 g). El espectro IR de estos dos componentes indicaba la presencia de grupos OH.

En el Diagrama 4 se resume el trabajo desarrollado con la fracción FB.

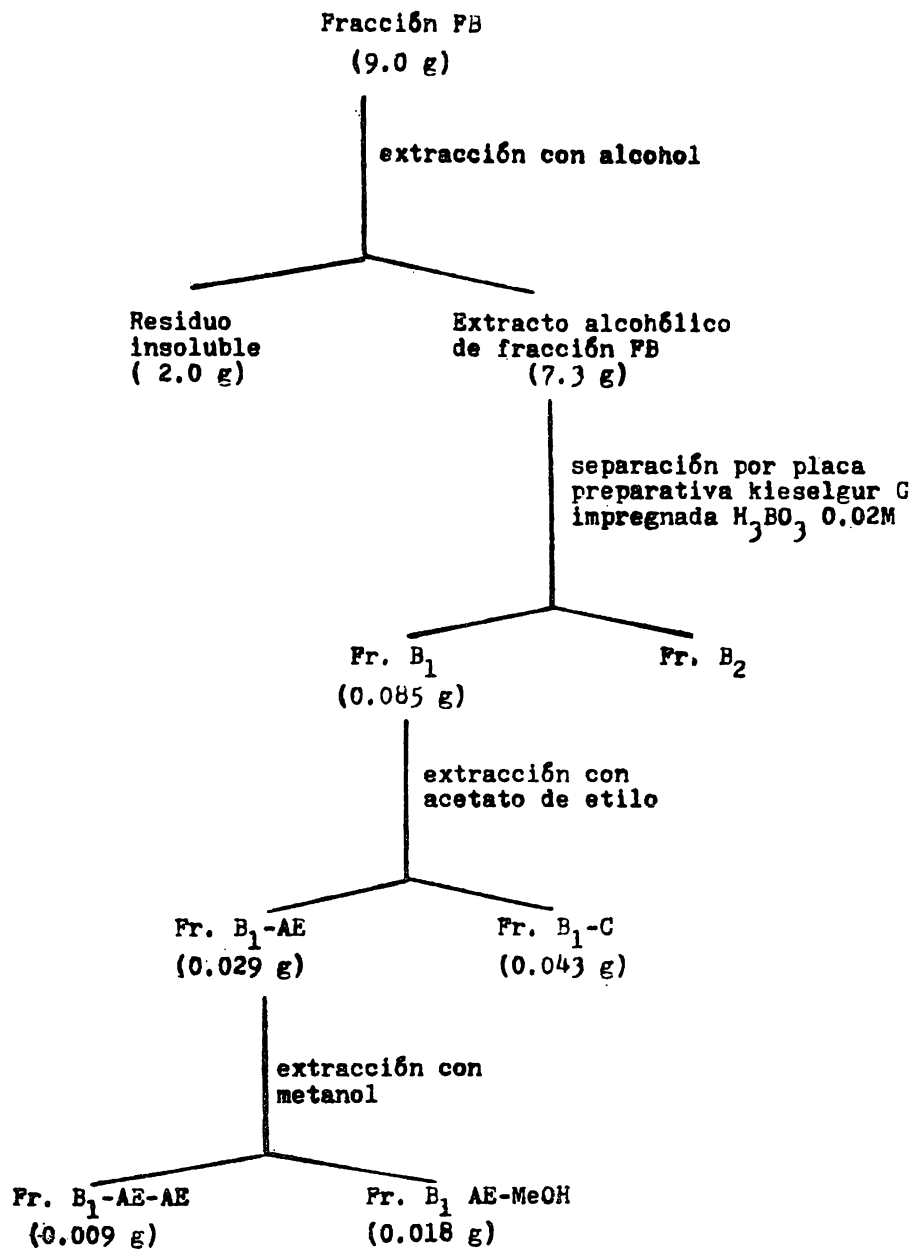


Diagrama 4
(separación de fracción PB)

DISCUSION DE RESULTADOS

De todos los componentes aislados de la hoja de Cecropia, la fracción S_{1567} y la fracción I (como acetato) fueron de las que se completó su análisis por espectroscopía. Los demás componentes no se separaron adecuadamente lo cual dificultó su análisis químico y espectroscópico, por lo que el enfoque de esta sección se dirige a discutir la espectroscopía de S_{1567} y P I .

1. Fracción S_{1567} Esta fracción proviene del Procedimiento I (esquema de hidrólisis) donde se indica la forma en que se llegó a ella.

El espectro IR (fig. 1) dio las siguientes bandas principales:

3020	cm ⁻¹	una banda débil	de	C—C
2910	"	" " " media	"	C—H
2840	"	" " " "	"	C—H
1730	"	" " " "	"	C=O
1650	"	" " " débil	"	C=C
1480	"	" " " "	"	C H ₂
1430	"	" " " "	"	C H ₃
1250	"	" " " "	"	C—O (éster)
1160	"	" " " "	"	C—O (cetona)

El espectro de RMN (fig. 2) indicó la presencia de los siguientes grupos:

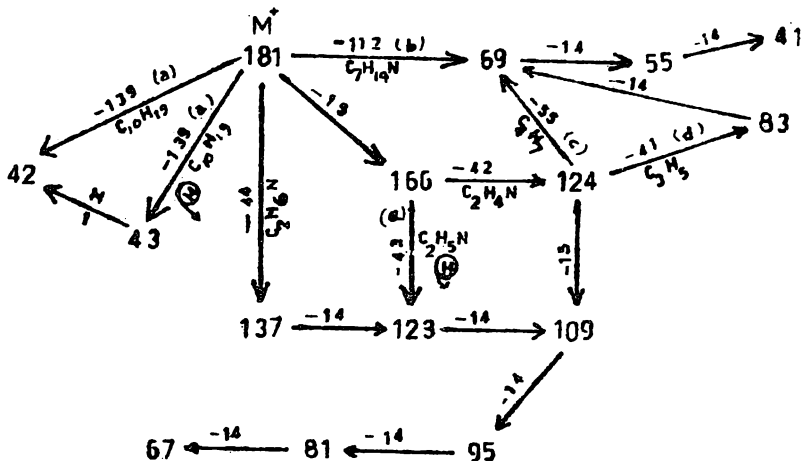
0.9	ppm	señal para	CH ₃
1.3	"	" "	CH ₂ alifáticos y cíclicos
1.68	"	" "	CH ₂ alicíclicos

2,10	ppm	señal para	$\text{CH}_2\text{C}-\text{R}$ O
4,68	"	"	"
			$\text{C}-\text{O}-\text{C}-\text{R}$ O
			H
5,3	"	"	"
			$\text{H}-\text{C}=\text{C}-\text{R}$

Con estos datos se observaron señales que dieron idea de parte de la estructura ya que se observó la presencia de éster(lactona), cetona alifática, así como dobles enlaces.

La fracción se aplicó en la combinación cromatografía G-L/es - pectrometría de masas encontrándose tres componentes con tiempo de retención 76, 104 y 136 y con pesos moleculares de 181, 262 y 262 - respectivamente.

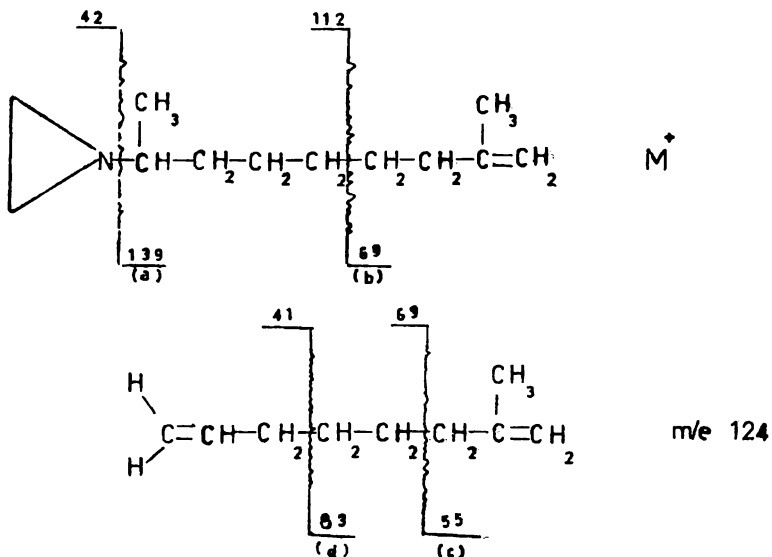
Para el compuesto de peso molecular 181 se hizo la siguiente - interpretación del espectro de masas (fig 4)



⊕ transferencia de un átomo de hidrógeno

De los datos aquí obtenidos, donde es obvia la presencia de un número impar de átomos de nitrógeno, se estudiaron con detalle los espectros de IR y RMN encontrándose por el primero la banda a 1090 cm^{-1} de la unión C N y que debe corresponder a una amina terciaria ya que no existen bandas de N H y tampoco de amida tanto en IR como en RMN.

Sin embargo, en RMN se pueden observar las señales para los protones de la posición vecina a un nitrógeno pero en heterociclo como se puede ver por el desplazamiento químico de los protones a 2.8 ppm . Esta hipótesis se comprueba por el fragmento de $m/e\ 42$ que es típico para el anillo de la aziridina. Continuando con el análisis de la fragmentación se encontró un enlace terminal según el fragmento de $m/e\ 55$ y de esta misma manera se encontró una cadena alifática para finalmente proponer la siguiente estructura:



El resultado obtenido no es, sin embargo, la explicación de todas las bandas de IR ni de las señales de RMN observadas, hasta que se analizarán los espectros en conjunto con el de masas de los componentes de la mezcla marcados como 104 y 136 respectivamente y con un peso molecular de 262 para ambos.

Al principio de esta discusión se mencionó que había una banda de carbonilo a 1730 cm^{-1} que no puede ser de un éster de cadena abierta porque éstos tienen una absorción típica a 1750 cm^{-1} . Como complemento de ésta, se encuentra una banda a 1250 cm^{-1} que es característica para ésteres, lo cual lleva a proponer que el carbonilo debe corresponder a una lactona saturada de 6 miembros.

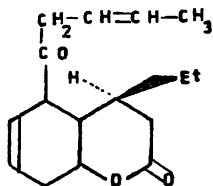
En RMN se encuentran señales para un metileno unido al carbonilo de un éster (2.1 ppm) y un metileno unido al oxígeno alcohólico del éster (4.68 ppm).

Es importante hacer notar que la señal para metilenos (1.3 ppm) es muy grande, lo que hace pensar en un sistema cíclico. También en el espectro de RMN hay señales de protones vinílicos (5.3 ppm). Haciendo un análisis del espectro de masas de uno de los compuestos se puede confirmar que tienen los grupos: lactona, sistema bicíclico y la presencia de dos cadenas laterales. Además de la observación anterior se pueden hacer otras como son las siguientes: al obtener el cromatograma de gases y el espectro de masas de cada pico se observa que tienen el mismo peso molecular, uno de ellos tiene un pico base de 74 mientras que el segundo lo tiene de 88; es fácil de observar que algunos fragmentos coinciden pero los picos tienen diferente intensidad, - -

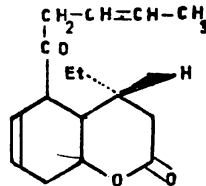
- además hay fragmentos que están presentes en un espectro pero no en el otro.

Todas estas observaciones llevan a proponer la presencia de dos isómeros cuya diferencia es la estereoquímica de una de las cadenas, - esto se discute en base a la fragmentación que presentan cada uno -- de los compuestos.

Las estructuras propuestas son las siguientes:

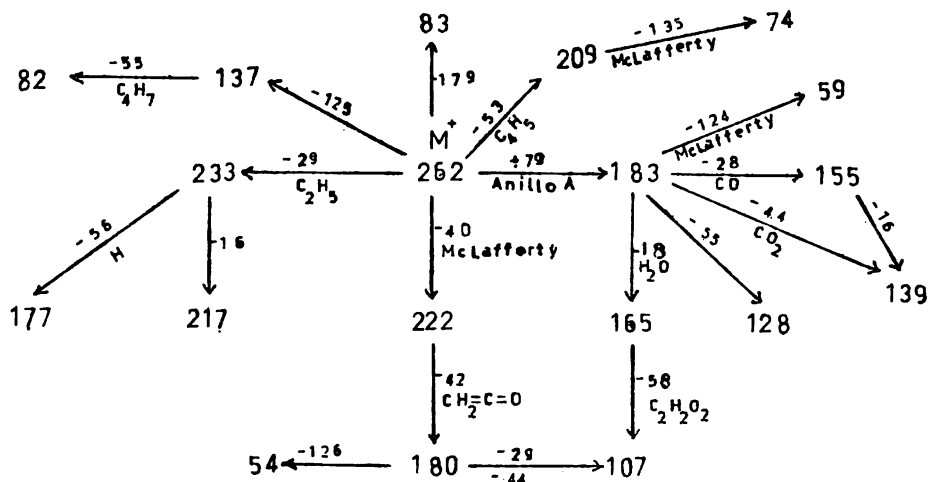


104

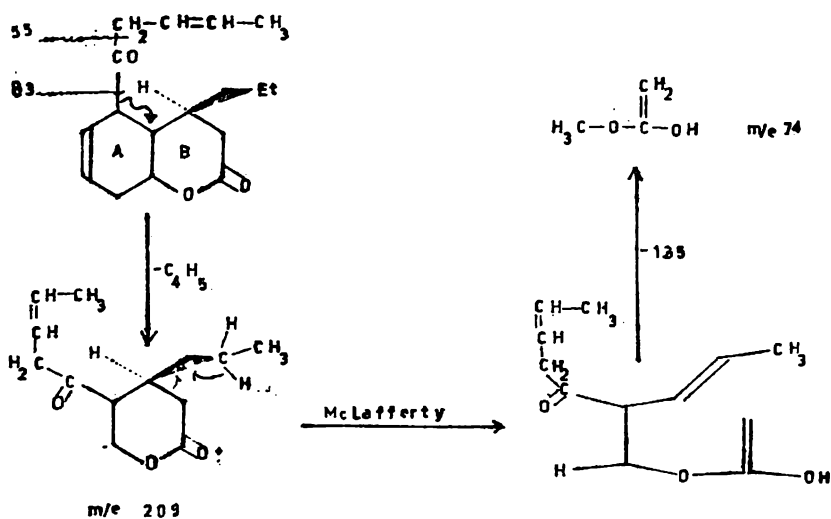


136

Para el compuesto 104 se tiene el siguiente esquema de fragmentación:



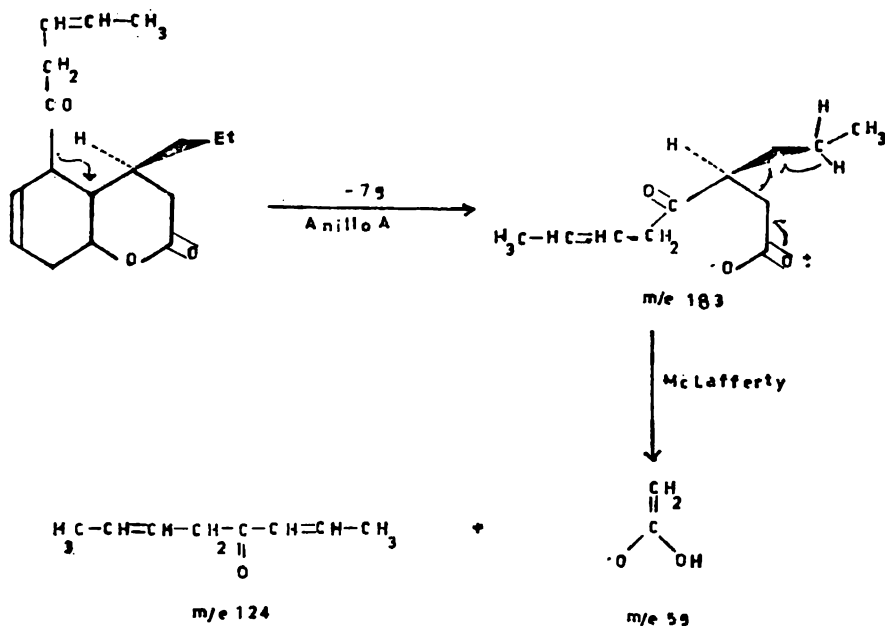
Para este compuesto, la parte principal es como se obtiene el pico base, que ocurre cuando el compuesto original sufre la transposición de la cadena de C_5 al carbono que sirve de puente entre los dos anillos, además de la ruptura del anillo A y produciéndose después una fragmentación según McLafferty. Todo esto es como se describe en el siguiente esquema:



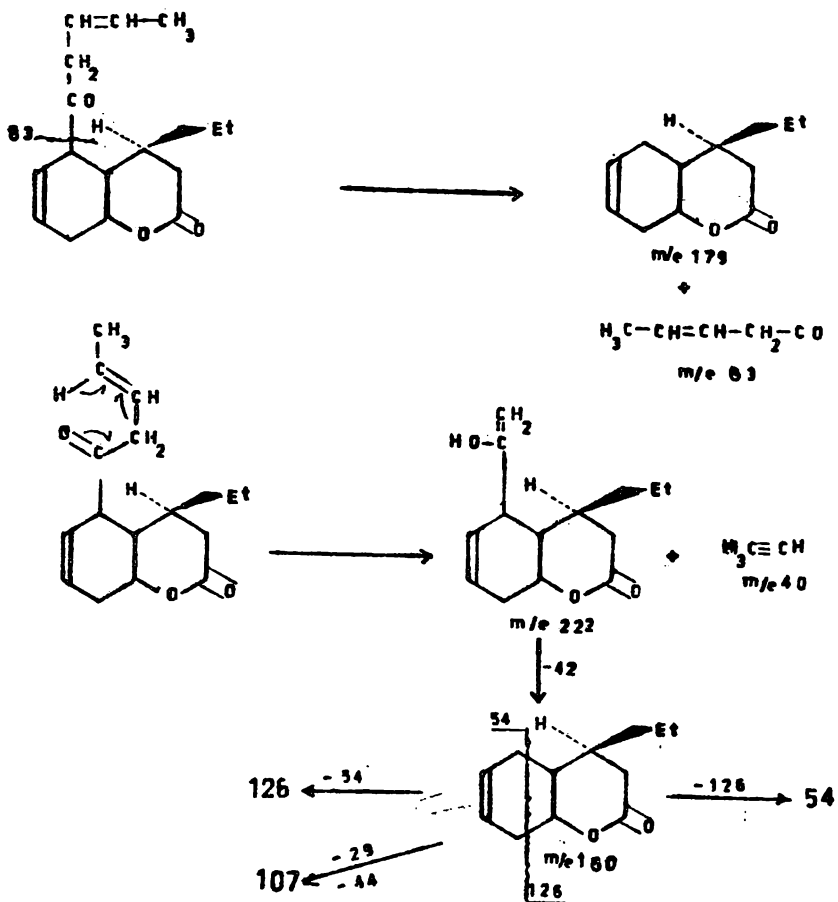
Para obtener el pico base de m/e 74 se requiere la ruptura alílica - la transposición de dos hidrógenos. El McLafferty se favorece debido a que el fragmento inicial de m/e 209 es muy inestable

Como se verá en la fragmentación del otro compuesto es determinante - la posición axial del grupo etilo, ya que de no estar en esa posición no se podría efectuar el McLafferty con el carbonilo de la lactona y por ende tampoco se tendría ese pico base.

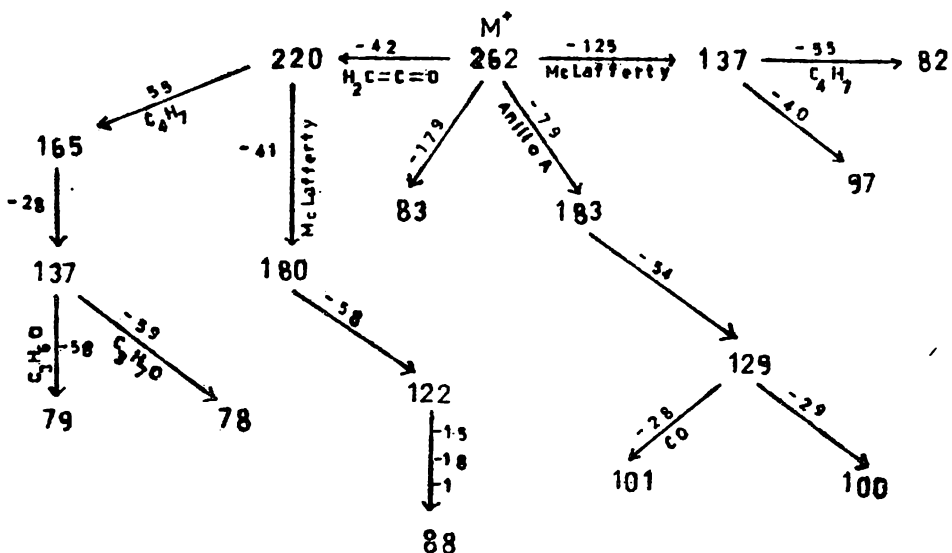
Otra prueba de la posición del etilo en C_{14} , es la presencia del fragmento m/e 59 que se forma a partir del fragmento m/e 183 (el cual proviene del compuesto original perdiendo el anillo A) por pérdida de 124 y esto ocurre porque el etilo está en posición axial; el esquema es como sigue :



La cadena que contiene una cetona y un doble enlace, se observa por la presencia de m/e 83 que se forma a partir del ión molecular y - también se demuestra por la formación del fragmento m/e 180 que proviene del compuesto original en el cual se efectúa un McLafferty y después en el fragmento de m/e 222 resultante hay una pérdida de 42 (cetena) para producir el fragmento de m/e 180 :

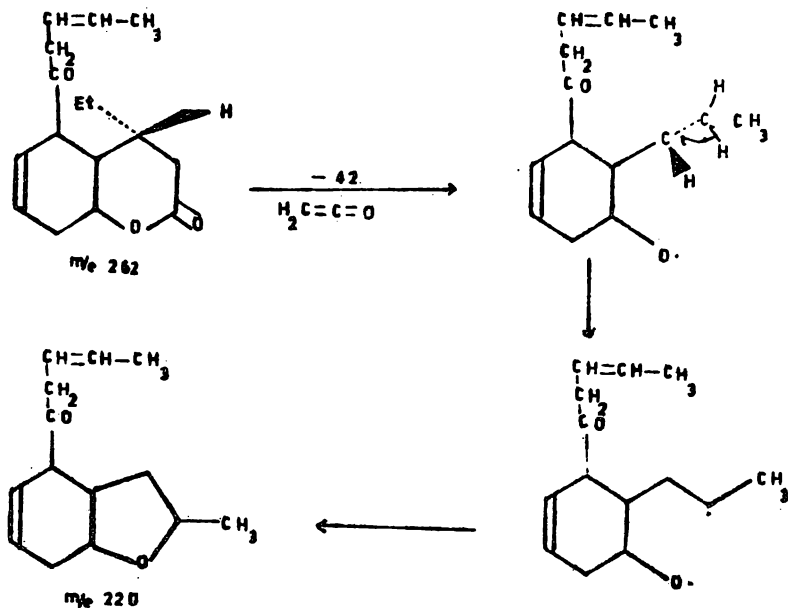


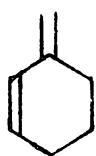
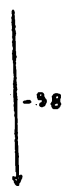
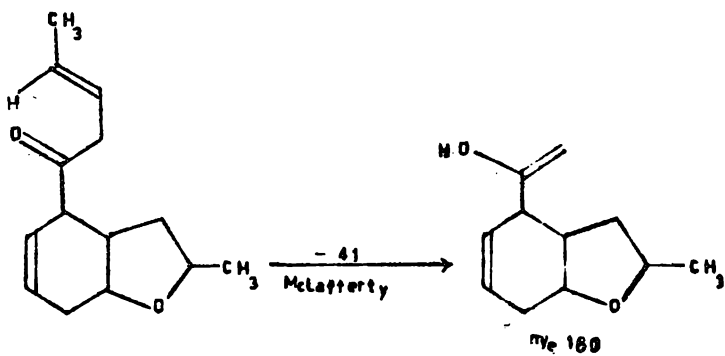
Para el compuesto 136 el ion molecular también es 262 y tiene un pico base de 88. En la estructura propuesta para este compuesto, se vio que la posición del grupo etilo en C_4 es alfa, se ha mencionado esto como definitivo para determinar la fragmentación que lleva a obtener diferentes picos base. En efecto, observando el esquema de fragmentación se encontró la pérdida de 42 a partir del ion molecular, originando el fragmento de 220 de donde por pérdida de 41 - - primero, y de 58 después lleva al fragmento de 122 y a partir de éste se obtiene 88 como pico base del espectro. La fragmentación total de este compuesto es la siguiente, de acuerdo con Seibl (15):



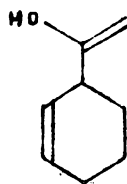
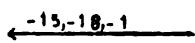
La estructura propuesta del fragmento representante del pico base - explica su estabilidad ya que tiene un sistema diénico conjugado que da una gran estabilidad.

El fragmento de 220 a partir del cual se llega al pico base se puede observar por pérdida de 42 ya que no puede haber McLafferty - entre el carbonilo de la lactona y el etilo que se encuentra como - cadena. Los otros fragmentos se obtienen de la siguiente manera:



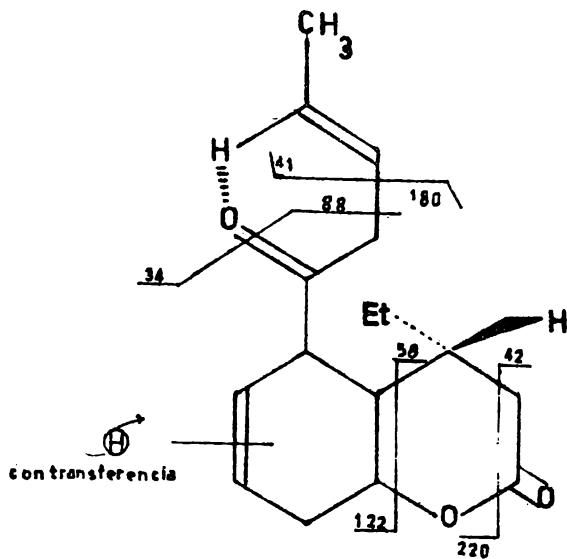


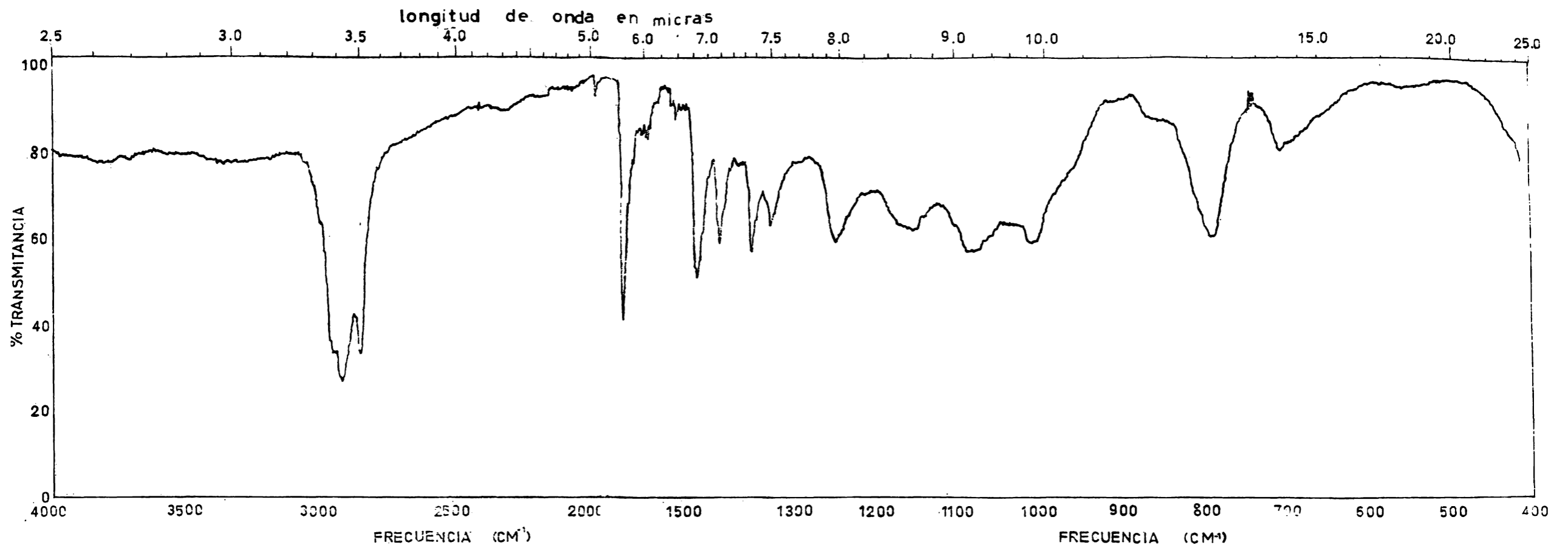
m/e 88
(P.B.)



m/e 122

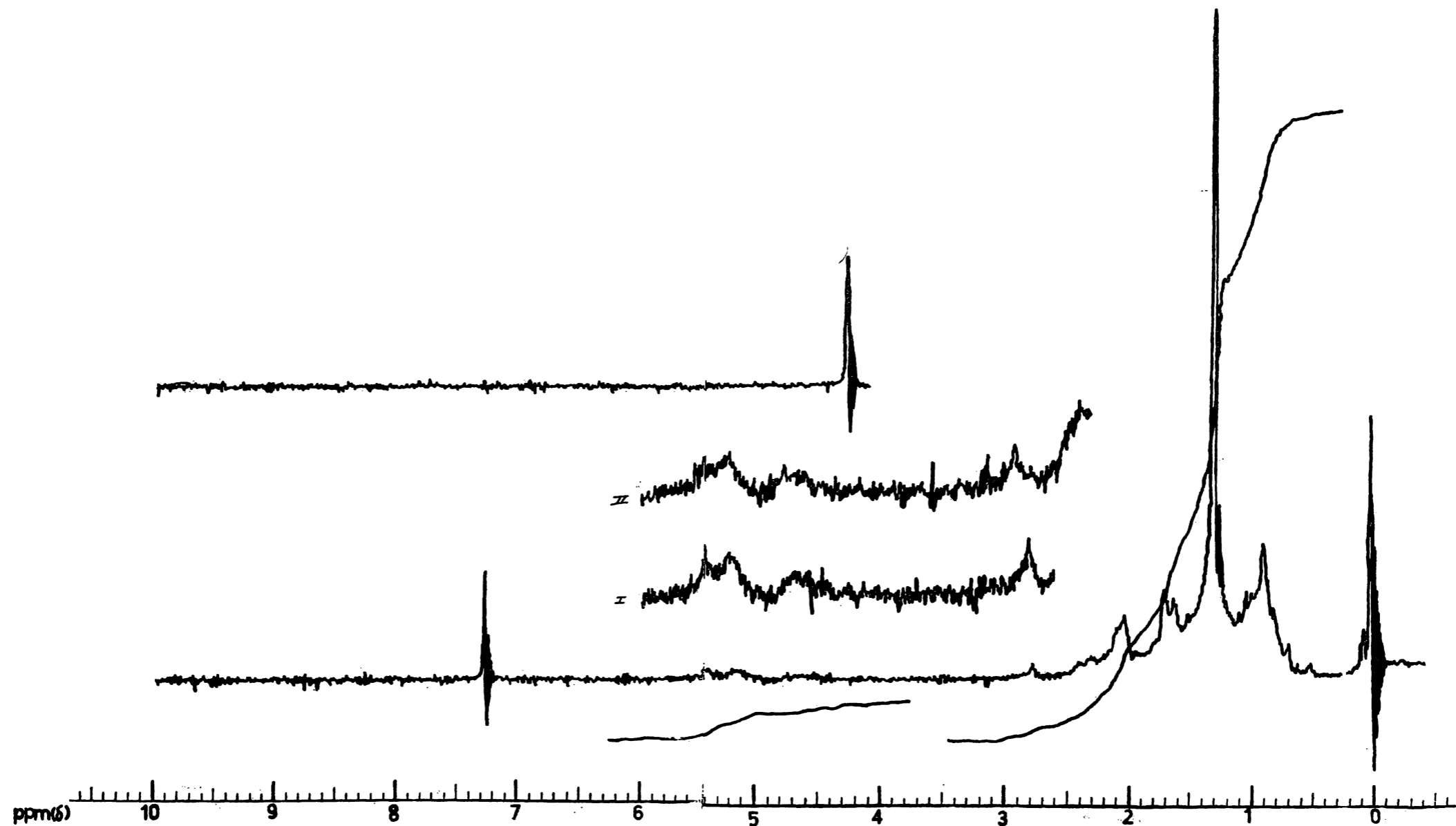
En resumen, el compuesto 136 presenta principalmente las siguientes fragmentaciones:





MUESTRA: 5H567
REFERENCIA: AIRE
VEL DE BARRIDO: LENTO (4000-1400)
RAPIDO (1300-400)
RENDIJA: N
COMENTARIOS: PELICULA

Fig. 1



AMPLITUD 200
 FILTRO .02 seg
 RF .08 mG

TIEMPO DE BARRIDO : 5 min.
 CAMPO DE BARRIDO 10 ppm ó Hz
 FUERA DE CAMPO : - ppm ó Hz

MUESTRA: S-1567
 DISOLVENTE: CDCl_3

OBSERVACIONES :
 I AMPLIFICACION
 II D_2O

Fig.2

CROMATOGRAFO DE GAS-ESPECTROMETRO DE MASAS
PFININGAM MODELO 302

COLUMNA : OV-101 al 1.5%

LONGITUD : 1.80 m.

TEMPERATURA PROGRAMADA: 180-250°C. 4° min.

TEMPERATURA DE INYECTOR: 230°C

GAS ACARREADOR: He

FLUJO : 30 ml/min.

1015 R5 MUESTRA S-1567

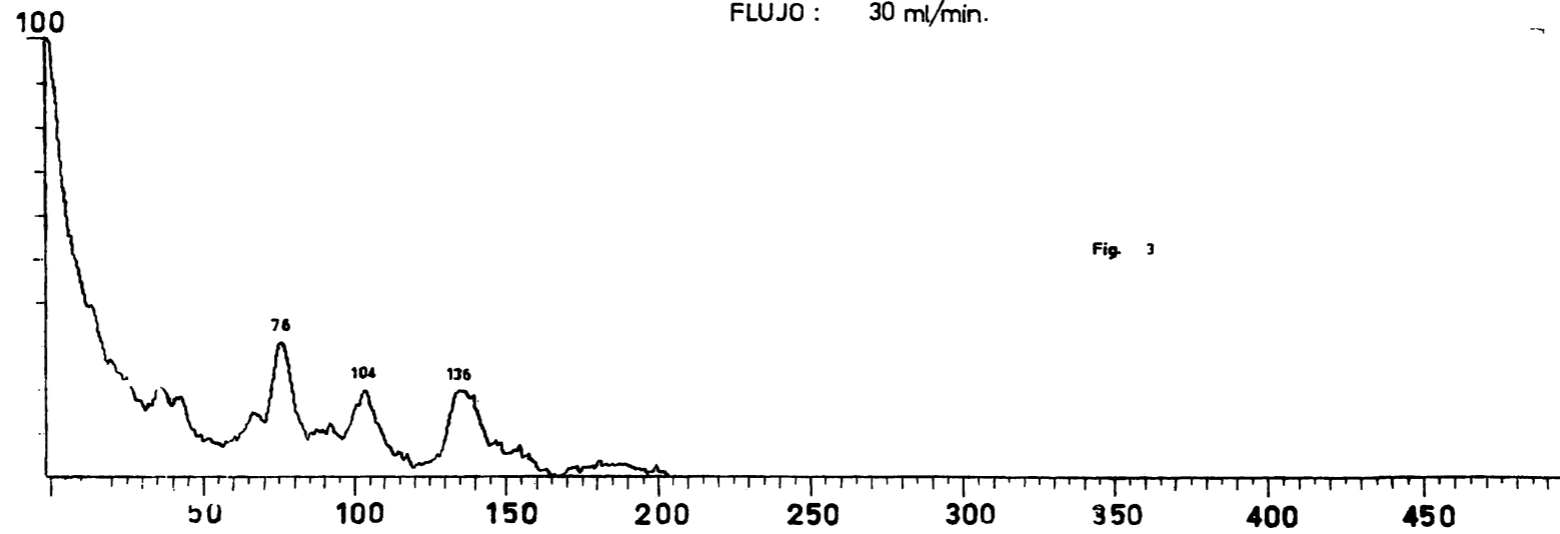
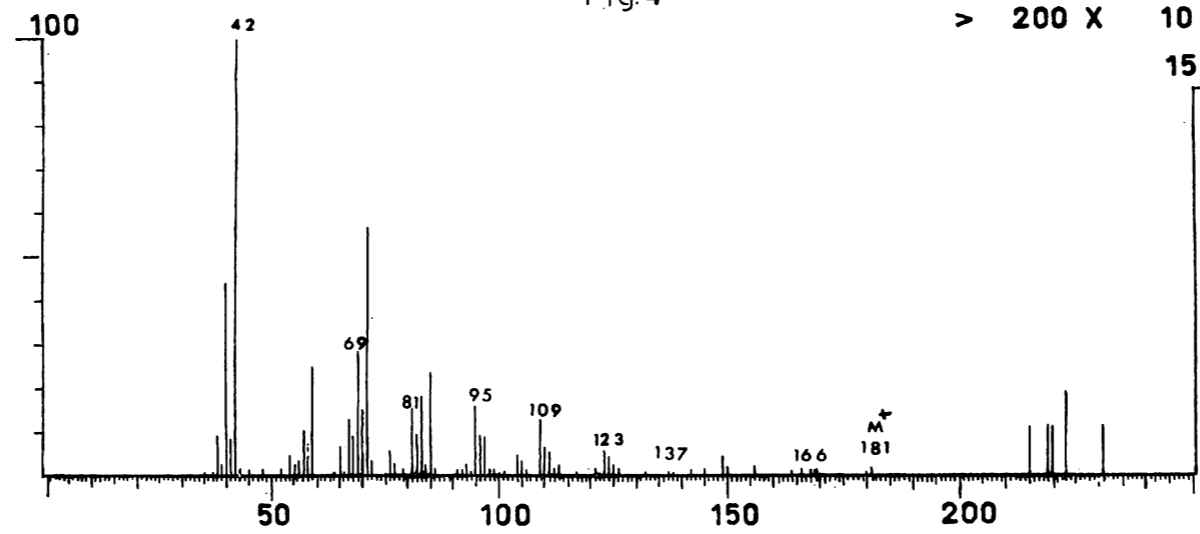


Fig. 3

1015 R5 MUESTRA S-1567
No 76

Fig:4



1015 R5 MUESTRA S-1567

No 104

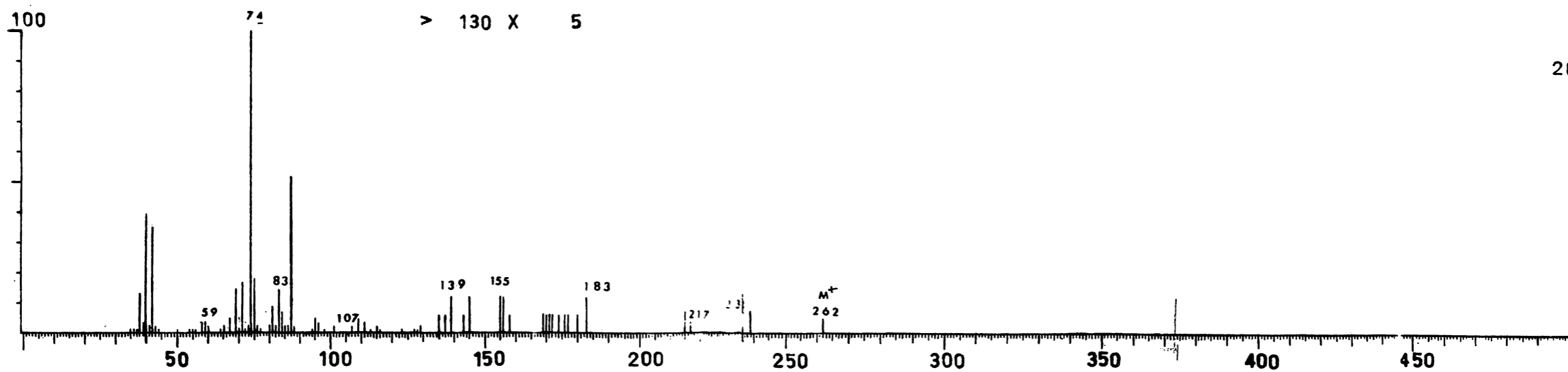


Fig.5

1015 R5 MUESTRA S-1567

Nº 136

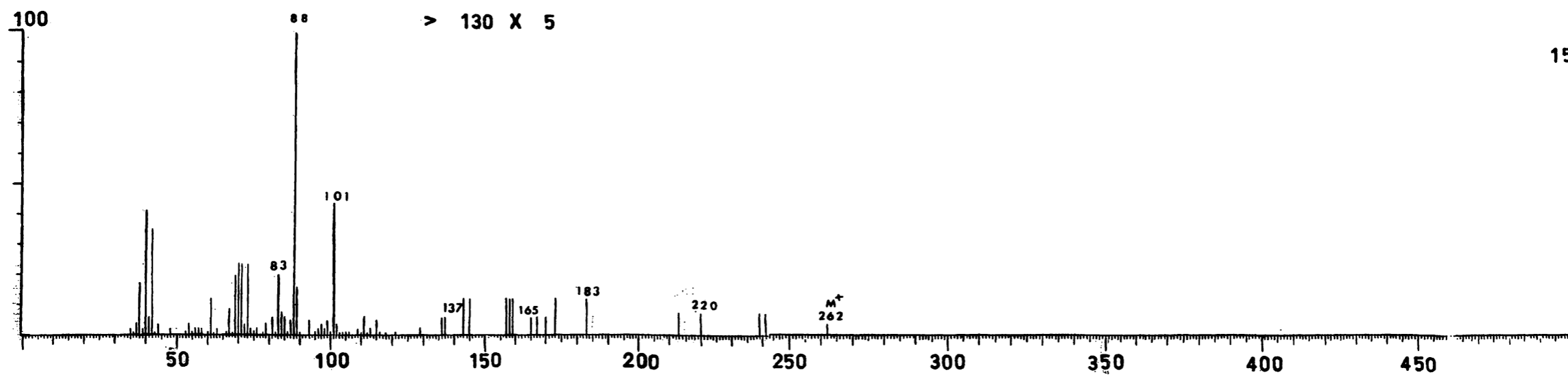


Fig.6

2.- Fracción I (y su derivado acetilado)

Esta fracción proviene del aislamiento de glucósidos (Procedimiento II) donde se indica como se llegó al aislamiento de esta - - fracción.

El espectro IR de ésta fracción mostraba las siguientes bandas - - principales:

3400	cm ⁻¹	banda	m	de	O—H	st.
2940	"	"	s	"	C—H	st.
1485	"	"	w	"	CH ₂	
1460	"	"	w	"	CH ₃	
1070	"	"	w	"	C—OH	
1020	"	"	w	"	C—OH	

En el espectro de RMN se observaron las siguientes señales principales:

1.2	ppm	señal	múltiple	de	CH ₂ ó CH ₃	
4.1	"	"	"	"	CH ₂ OH	
4.8	"	"	"	"	CH—OH	

Con estos datos y los obtenidos en la parte experimental se tenía - idea de una estructura cíclica polihidroxilada. Para completar su - análisis se preparó un derivado acetilado. El espectro IR (fig. 7)- del acetato indicó las siguientes bandas principales:

2840	cm ⁻¹	banda	m	de	C—H	st.
2820	"	"	w	"	C—H	st.
1735	"	"	m	"	C=O	(éster)

1450	cm ⁻¹	banda	w	de	CH ₂
1360	"	"	w	"	CH ₃
1210	"	"	m	"	C—O (éster) asim.
1025	"	"	w	"	C—O (éster) sim.

En el espectro de RMN (fig.8) se observarán las siguientes señales principales:

1.0	ppm	señal	múltiple	de	CH ₂ alifáticos ó cíclicos
2.1	"	"	"	"	CH ₃ del grupo acetilo
4.1	"	"	"	"	<u>CH₂</u> -OCOCH ₃
5.1	"	"	"	"	<u>CH</u> -OCOCH ₃

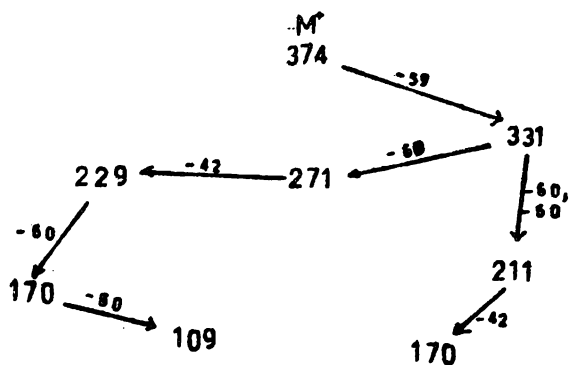
Del espectro IR anterior se observó que el compuesto se acetiló completamente al desaparecer la banda de O H a 3400 cm⁻¹ y aparecer la banda del éster a 1735 cm⁻¹

Del espectro de RMN se observó la presencia de H alfa a grupos alcoholo primarios y secundarios, es decir las señales a 4.1 ppm para CH OCOCH₃ y la de 5.1 ppm para CH OCOCH₃.

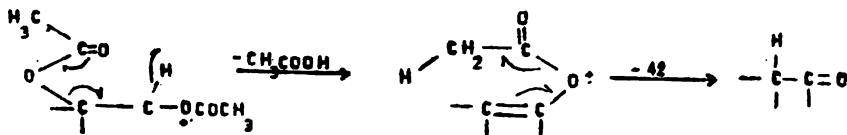
Para comprender mejor toda esta información se analizó la muestra por la combinación cromatografía de gases/espectrometría de masas obteniéndose los siguientes resultados:

El cromatograma de gases (fig.9) indicó la presencia de un componente principal con un tiempo de retención de 13l.

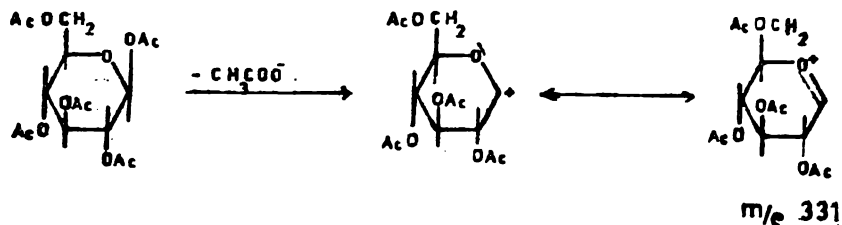
Del espectro de masas (fig. 10), el peso molecular se determinó indirectamente, ya que el ión molecular no es visible y se origina por pérdida de un grupo acetilo. Los principales fragmentos observados para este compuesto fueron:



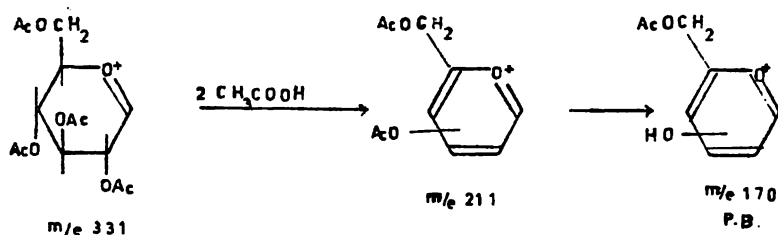
Este modo de fragmentación es parecido al de los poliacetatos de - carbohidratos (17). Se observó que ocurre en forma notable la pérdi da de ácido acético (60 unidades de masa), un proceso bien conocido para la mayoría de los ésteres de ácido acético, y la pérdida de - cetena (42 unidades de masa). Este último proceso se facilita si va precedido por pérdida de ácido acético; el doble enlace resultante tiene un papel importante en la eliminación de cetena:



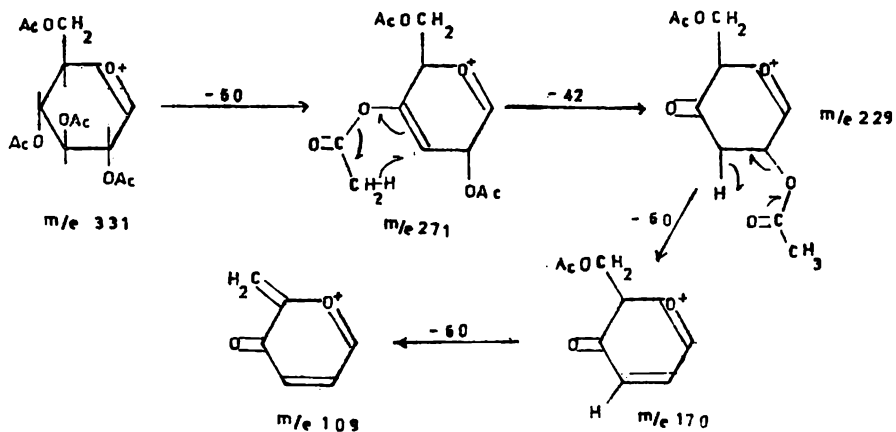
Se observó también que la fragmentación comienza por pérdida de un - grupo acetoxi del ión molecular para dar el fragmento m/e 331



- y a partir del fragmento m/e 331 puede ocurrir la pérdida de dos moléculas de ácido acético para dar origen al pequeño fragmento de m/e 211 (un ión pironio), el siguiente paso (eliminación de cetena) conduce al fragmento de m/e 170 (pico base)

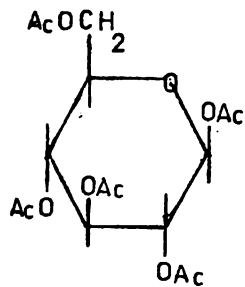


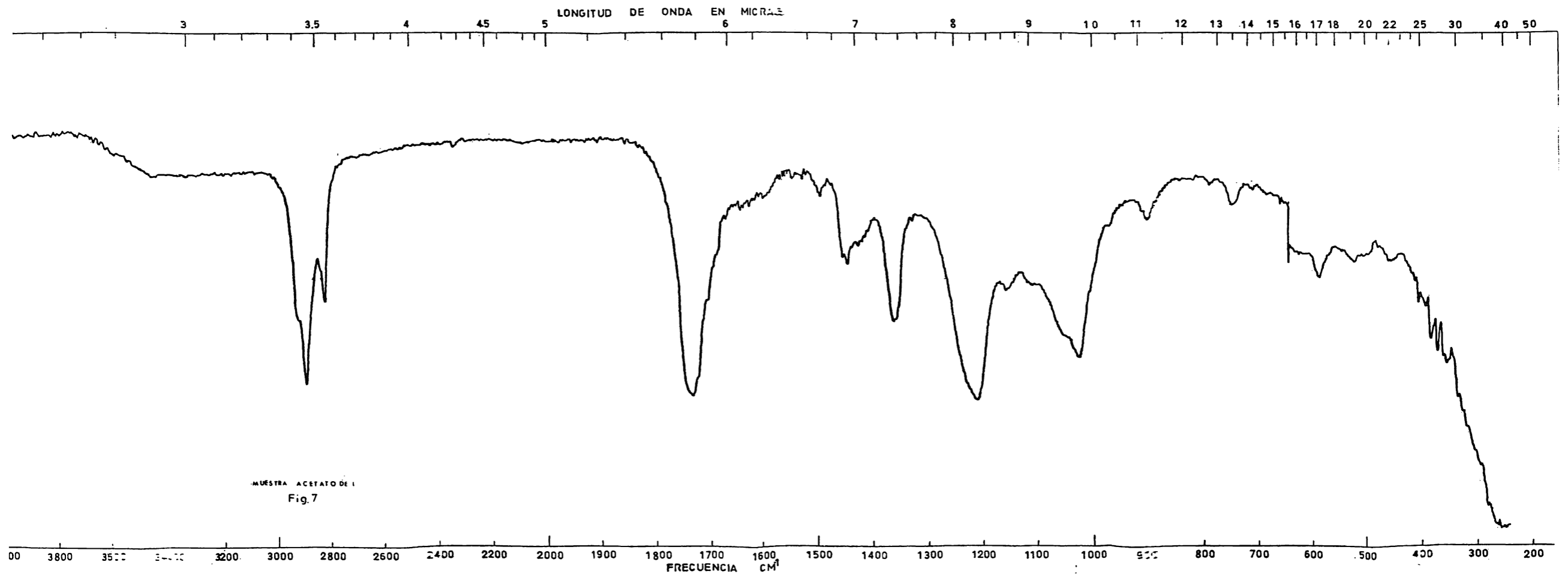
También el fragmento m/e 331 puede perder sólo una molécula de ácido acético para dar origen al fragmento de m/e 271, seguido de pérdida de cetena (fragmento m/e 229) y de dos moléculas de ácido acético (fragmentos m/e 170 y 109)

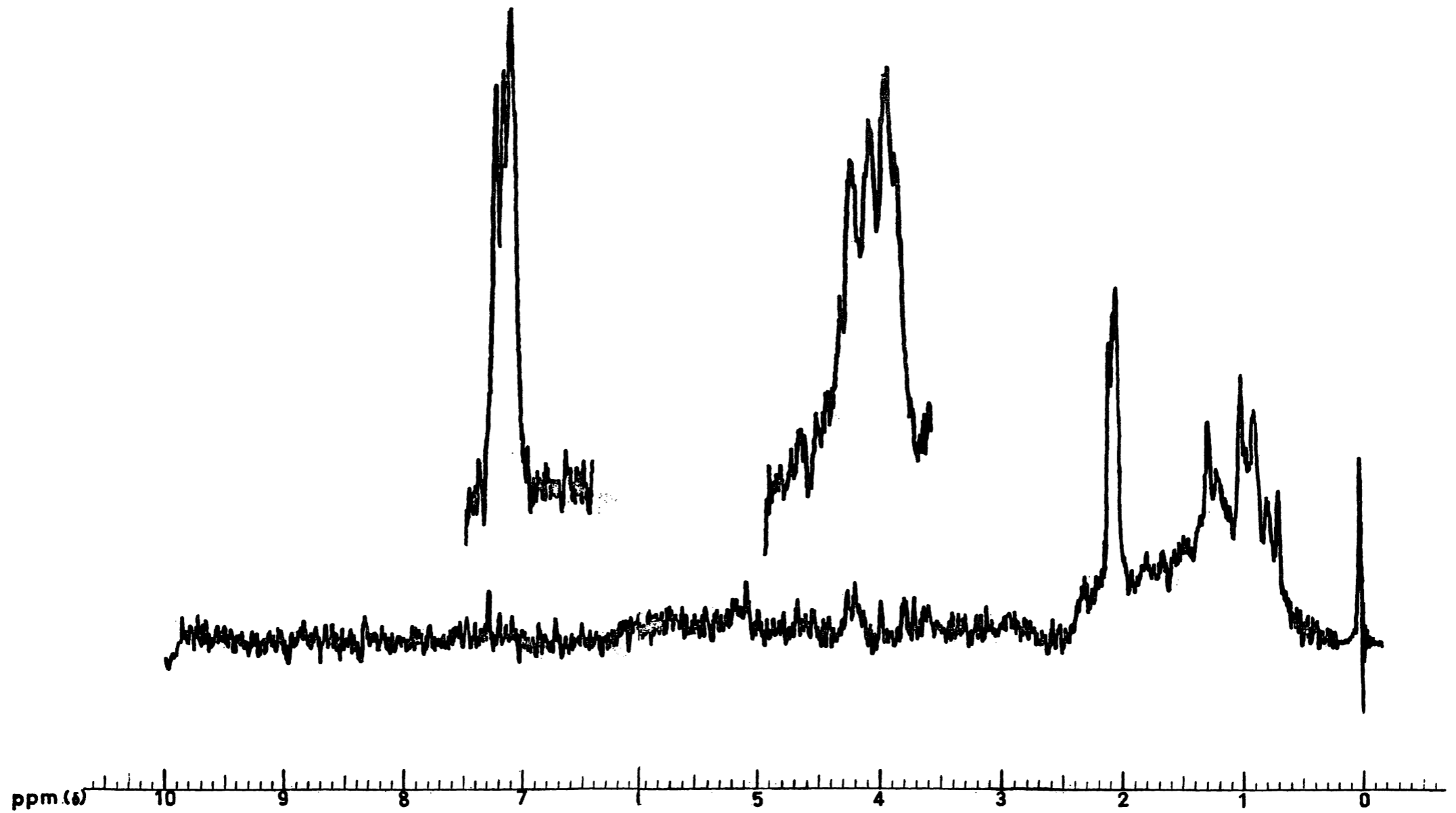


-43-

Con estos datos se tenía una idea más clara de la estructura del -
compuesto, que probablemente corresponda al pentaacetato de una aldo
hexosa.





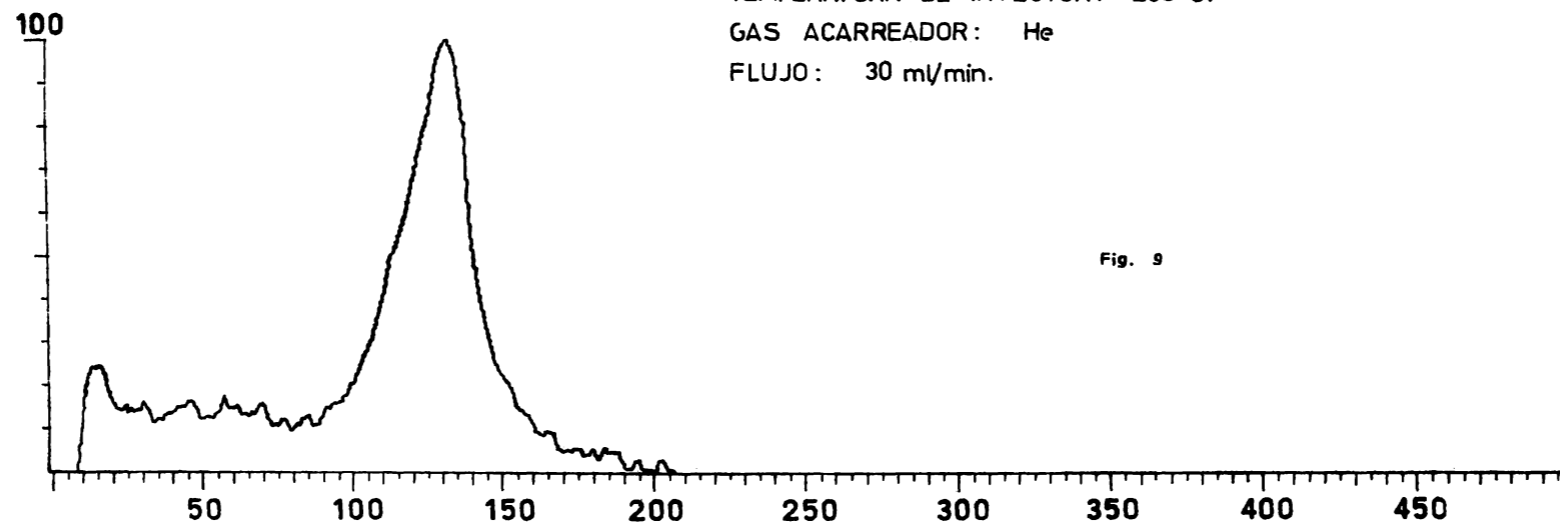


MUESTRA ACETATO DE I

DISOLVENTE CCl_4

Fig. 8

MUESTRA ACETATO DE I



CROMATOGRAFO DE GAS-ESPECTROMETRO DE MASAS
PFININNGAM MODELO 302
COLUMNA : OV-101 al 15%
LONGITUD: 1.80 m.
TEMPERATURA PROGRAMADA : 180-250°C. 4° min.
TEMPERATURA DE INYECTOR: 230°C.
GAS ACARREADOR: He
FLUJO: 30 ml/min.

Fig. 9

MUESTRA ACETATO DE I
No 131

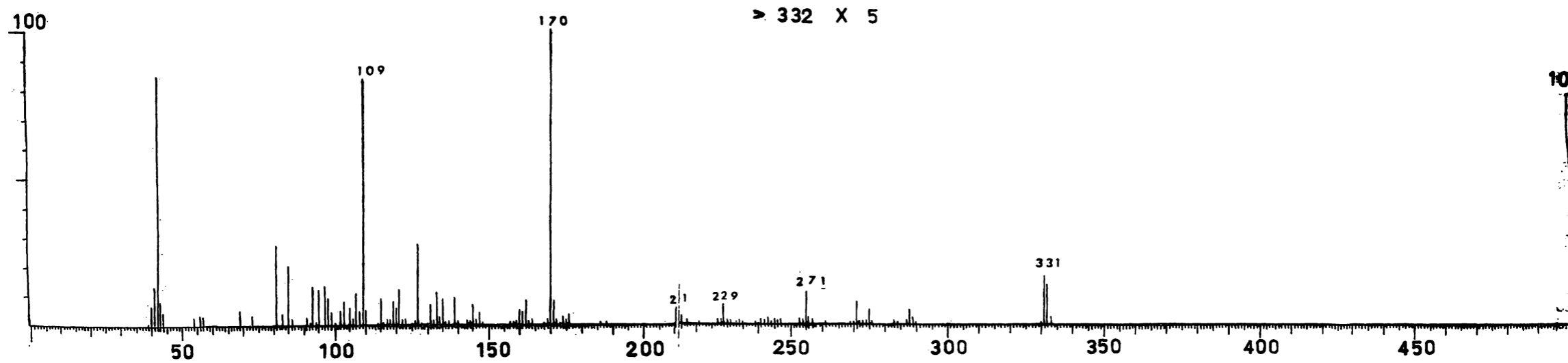
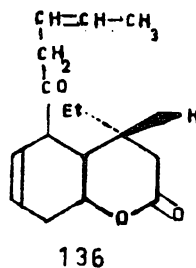
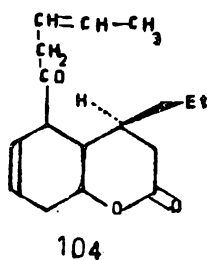
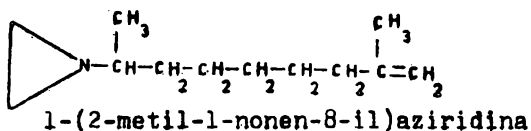


Fig.10

CONCLUSIONES

En la investigación fitoquímica realizada con la hoja de *Cecropia* se encontraron datos que han contribuido a conocer un poco más de esta planta. De esta investigación se concluye que:

- 1.- Los lotes de hoja estudiados no presentan la actividad farmacológica que se buscaba (cardiotónico)
- 2.- Se aisló e identificó por cromatografía G-L estigmasterol.
- 3.- Se aislaron tres compuestos como productos de hidrólisis (dos de ellos isómeros) para los que se proponen las siguientes estructuras:



4-etil-5-(n-3-valeroil)- Δ^6 -hexahidrocumarina

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

- 1.- Peckolt Estudio Químico de la corteza de *C. adenopus*:
aislamiento de Cecropina. Hist. des plant med.
e uteils do Brasil Rio de Janeiro, V, 858 (1893).
- 2.- L.Floriani La corteza y la hoja de *C. adenopus* Mart..
Rev.Cent.Est. Farm. y Bioquím.
Córdoba Argentina 29, 132 (1939).
- 3.- M.Langon Contribución al estudio de la flora americana
Anales de la Facultad de Medicina Montevideo
Uruguay 3, 829 (1918).
- 4.- N.King y H. Haddock Note on the phytochemical investigation
of *C. peltata* J.Am. Pharm. Ass. 48, 129 (1959)
- 5.- P.Nogueira y A.Correia Estudio fitoquímico de cascás de -
C.peltata L. García de Orta 8,615 (1960).
- 6.- R.Grossourdy El médico botánico criollo. 3a. ed. Paris (1864).
- 7.- A.Gilbert y P. Carnot Notes sur l' action therapeutique du -
C.obtusa Bull. Sci. Pharm. 11,200 (1905)
- 8.- M.Soto Contribución al estudio químico de las hojas de
C. obtusifolia. Tesis Facultad de Química UNAM
México,D.F. 1975.
- 9.- G.Flores Aislamiento de tres feromonas de *C.obtusifolia*
Tesis Escuela de Ciencias Químicas Univ.Autónoma
de Puebla, Puebla,Pue. 1977.

- 10.- K.Macek (editor) Pharmaceutical applications of thin layer -
and paper chromatography. Elsevier Pub. Co.
New York 1972.
- 11.- F.Gstiner y. H. Syring Beitrag zur bestimmung der glikoside in -
folia Digitalis. Arch. Pharm. 294, 783 (1961).
- 12.- R.Whistler, M. Wolfson (editores) Methods in carbohydrate -
chemistry, vol. I Academic Press New York 1972.
- 13.- E.Stahl Drug analysis by chromatography microscopy
 (editor) Ann arbor Science Pub. Michigan 1973.
- 14.- P.Clerc, S. Simon Tabellen zur Strukturaufklärung organischer-
Verbindungen mit spektroskopischen Methoden.
Springer-Verlag Berlin 1976.
- 15.- J.Seibl Espectrometría de Masas Editorial Alhambra
 Madrid 1973.
- 16.- H.Budzikiewitz et al Structure elucidation of natural pro -
ducts by Mass Spectrometry. Vol II
Holden-Day San Francisco 1964
- 17.- A.Biemann et al Applications of Mass Spectrometry to -
structure problems XIII; Acetates of pentoses
and hexoses. J.A.C.S. 85, 1763 (1963)

Los espectros de IR y RMN se determinaron en el Departamento de Química Analítica de la División de Estudios Superiores de esta Facultad en las condiciones que los espectros indican.

Aparato IR Perkin Elmer modelo 337

Aparato IR Beckman modelo 4240

Espectrómetro de RMN Varian EM 360

Los cromatogramas de gases y espectros de masas se determinaron en el Departamento de Sanidad Vegetal de la Secretaría de Agricultura en la combinación cromatografía de gases-espectrometría de masas en un aparato Pfinningam modelo 302 columna de vidrio OV-101 al 1.5% .

Los puntos de fusión se determinaron en un aparato Fisher-Jones sin corrección de temperatura.

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Jorge Reyes por su apoyo y estímulo para continuar este -
trabajo.

A la Dra. Carmen Rivera por su asesoría en la elucidación de los
espectros de masas.

A los doctores X. Lozoya, R. Méndez y G. Pastelin por su ayuda en
las pruebas farmacológicas realizadas con la hoja de esta planta.

Al Quím. A. Martínez y Quím. S. Canseco por su ayuda en la realiza-
ción de los cromatogramas de gases y espectros de masas.