

2415

# UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA



## NUEVO DITERPENO AISLADO DE SALVIA MELISSODORA

**T E S I S**

Que para obtener el título de:

**Q U I M I C O**

P r e s e n t a :

**Rubén Luis Gaviño Ramírez**



México, D. F.

1986

EXAMENES PROFESIONALES  
FAC. DE QUIMICA



## **UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso**

### **DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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

## C O N T E N I D O

- I. INTRODUCCION
- II. ANTECEDENTES
- III. PARTE EXPERIMENTAL
  - a) OBTENCION DE COMPUESTOS
  - b) ANÁLISIS
- IV. DISCUSION DE ESPECTROS  
Y RESULTADOS
- V. CONCLUSIONES
- VI. BIBLIOGRAFIA

# INTRODUCCION

## INTRODUCCION

Todos los pueblos primitivos han adquirido información sobre las propiedades medicinales de un gran número de plantas propias de su medio ambiente.

Estos conocimientos generalmente los han acumulado determinados individuos, quienes los transmitieron de generación en generación.

Los conocimientos sobre las plantas medicinales en América fueron transmitidos por los aborígenes a misioneros y viajeros españoles, quienes los inmortalizaron en diversas obras.

Los vegetales en diversas formas han sido factores decisivos en los fenómenos sociales y económicos determinantes en la evolución de la Humanidad.

El conocimiento y utilización del mundo vegetal es una meta llena de recompensas intelectuales y materiales. La historia de la Química abunda en intentos por separar sustancias puras de las plantas; entre ellos destaca el aislamiento de la sacarosa y la obtención del primer alcaloide: la morfina. Los productos naturales siempre han significado una alternativa muy importante en la búsqueda de sustancias con actividad terapéutica, que presenten un mayor efecto o bien una menor toxicidad, que ciertos fármacos ya empleados.

Numerosos estudios concluyen que una familia de plantas medicinales, la Familia Labiatae, en una considerable fuente de sustancias farmacológicas, que a nivel experimental han demostrado sus propiedades y su potencial aplicación terapéutica. <sup>1, 2</sup>

Las principales propiedades que presentan los productos naturales de esta familia de plantas son: antivirales, antibacterianas, cloréticas, espasmolíticas o carminativas. Los compuestos diterpénicos poseen actividad virostática y antibacteriana; compuestos del tipo triterpénico, como el ácido ursólico y su correspondiente acetato, presentan un notable efecto sobre el metabolismo de lípidos en la arteroesclerosis inducida. <sup>2, 3</sup>

Los datos anteriores llevan a destacar la gran importancia que tiene la Familia Labiatae en el campo científico. A esta familia pertenecen las salvia herbáceas, existiendo en México más de cien especies, muchas de las cuales son conocidas con el nombre común de chía. <sup>3, 4</sup>

En virtud de ello se realizó el estudio de *Salvia Melissodora*; (planta de tallos cuadrangulares, de hojas cordadas, dentadas, acuminadas o redondeadas en la base, las flores crecen en racimos terminales y poseen corolas muy llamativas); con el fin de determinar sus principales metabolitos secundarios, posibles responsables de propiedades medicinales. En diversas especies de *Salvias* se han encontrado metabolitos secundarios del grupo de los triterpénos pentacíclicos, así como flavonas, sesquiterpenos, diterpenos y monoterpenos.

En general, la selección de fuentes potenciales de medicamentos se realiza con base en numerosos criterios, entre los cuales, por su importancia y posible implantación en nuestro país, cabe mencionar los siguientes:

a) La selección de plantas de reconocido uso popular, incluyendo aquellas consideradas en estudios etnobotánicos. En México aproximadamente el diez por ciento de las plantas son consideradas medicinales, por lo que ameritan ser investigadas químicamente.

b) El mundo marino constituye una inmensa fuente potencial de productos naturales para uso farmacológico.

En la actualidad se están realizando diversas investigaciones acerca del uso de recursos naturales como agentes terapéuticos. Sin embargo, la existencia de bibliografía referente al uso de plantas medicinales mexicanas, es limitada.<sup>5</sup>

Es evidente la importancia del estudio químico de la cubierta vegetal de nuestro país, ya que constituye una aportación al desarrollo de moléculas con interés biológico y farmacológico. El presente trabajo pretende ser una contribución a este fin.

**A N T E C E D E N T E S**



## ANTECEDENTES

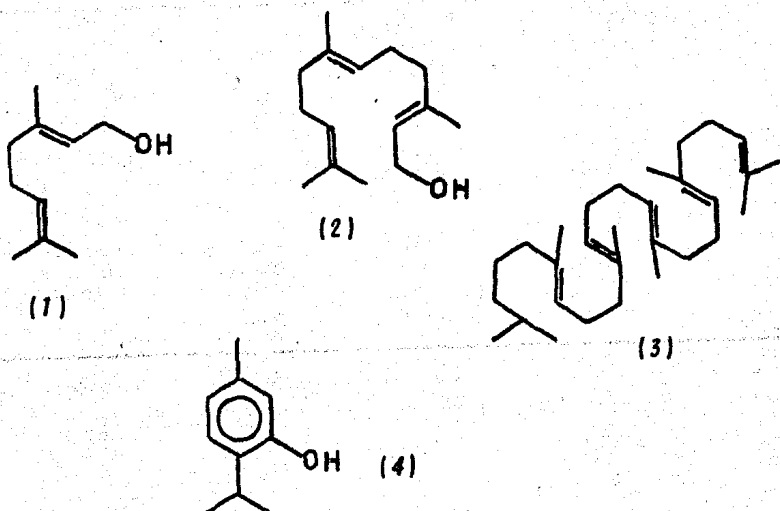
La clasificación de los productos naturales cubre casi todos los tipos de moléculas orgánicas que se incluyen en alguno de los siguientes esquemas:

### 1.1 Basado en Estructura Química. <sup>6</sup>

Esta es una clasificación formal basada en el esqueleto de la molécula, así:

- i) compuestos alifáticos de cadena abierta o compuestos grasos; ej. ácidos grasos, algunos aminoácidos, etc.
- ii) compuestos alicíclicos o cicloalifáticos; ej, terpenos, esteroides, algunos alcaloides, etc.
- iii) compuestos aromáticos o bencenoides; ej. fenoles, quinonas, etc.
- iv) compuestos heterocíclicos; ej. alcaloides, flavonoides, bases de ácidos nucleicos, etc.

Esta es una clasificación muy superficial, es obvio que muchos productos naturales guardan una relación muy estrecha entre ellos y pertenecen a más de una de las anteriores subdivisiones. Por ejemplo, geranilo (1), farnesol (2) y escualeno (3) pertenecen a la clase i) y timol (4) a la clase iii), pero por consideraciones biogénéticas, estos compuestos son considerados terpenos y esteroides pertenecientes a la clase ii).

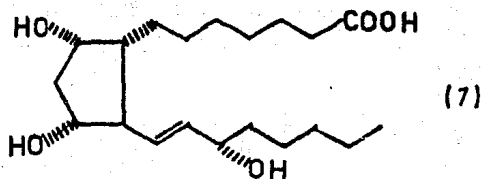
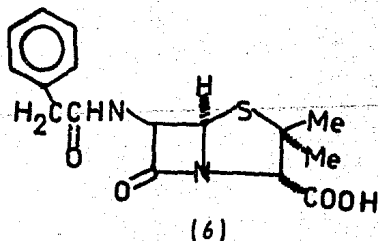
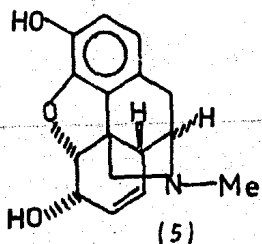


### 1,2 Basado en Actividad Fisiológica. <sup>6</sup>

Los descubrimientos de la actividad de la morfina (5), penicilina (6) y prostaglandinas (7) resultantes de su investigación, ha motivado frecuentemente el interés en productos naturales enfocado a intentar aislar y aclarar el factor con actividad fisiológica, ya sea de origen animal o vegetal.

Actualmente cerca de la mitad de los medicamentos de uso general son productos naturales, como los alcaloides y los antibióticos o compuestos sintéticos análogos, por lo que una clasificación que represente la actividad fisiológica es empleada frecuentemente; como ejemplo de ello tenemos a las hormonas, vitaminas, antibióticos y micotoxinas.

Aunque compuestos que pertenecen a cada grupo tienen estructuras diversas y orígenes biosintéticos distintos, ocasionalmente se encuentran correlaciones muy cercanas por actividad semejante.<sup>2</sup>



### 1.3 Clasificación Basada en Taxonomía

Esta clasificación está basada en estudios morfológicos comparativos de plantas. En animales y ciertos microorganismos, los metabolitos finales son excretados de sus cuerpos, mientras que en las plantas estos metabolitos son depositados en sus tejidos.

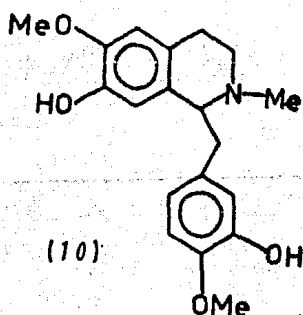
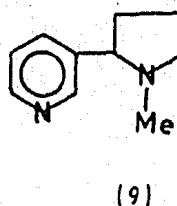
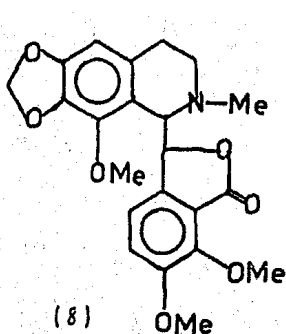
Aunque se creyó que algunos metabolitos eran específicos de ciertas plantas, ahora se sabe que

están extensamente distribuidos en el Reino Vegetal, tales como alcaloides o sustancias isoprénicas que han sido aisladas de familias, géneros, especies o tribus muy variadas de plantas.

Hasta una especie singular contiene numerosas variaciones en la estructura de sustancias relacionadas. Por ejemplo, el opio aislado de *Papaver somniferum* contiene veinte ó más alcaloides semejantes a la morfina (5), codeína (8) y nicotina (9), los cuales son biosintetizados en la planta del derivado de 1-bencilisoquinolina (10), por reacciones de oxidación acoplada, así los alcaloides que tienen una estructura similar serán constituyentes de este género de plantas y son designados como alcaloides del opio.

El conocimiento sobre los constituyentes de las plantas se ha extendido ampliamente en los años recientes gracias a los avances en los métodos de aislamiento y microcaracterización. Este es un nuevo campo llamado Quimiotaxonomía.

No obstante, el número de compuestos conocidos de cada planta es limitado, ya que todavía no han sido aislados completamente. Sin duda, un estudio concienzudo y laborioso principia para una gran cantidad de material botánico que conducirá a aclarar el panorama de estos metabolitos, por lo que el conocimiento organizado de los componentes de las plantas apoyado en la Taxonomía es un área importante y activa.



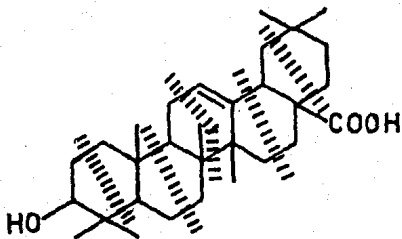
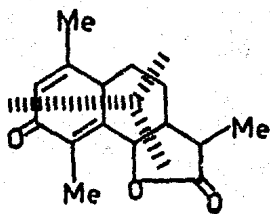
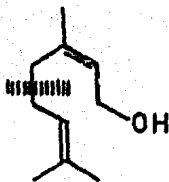
#### 1.4 Clasificación Basada en Biogénesis. <sup>6</sup>

Los componentes de todas las plantas y animales son biosintetizados por reacciones enzimáticas.

La mayor fuente de carbono es, por lo general, la glucosa, la cual es fotosintetizada por las plantas verdes (organismos autótrofos) o bien, obtenida del medio ambiente por los animales (organismos heterótrofos).

Gracias al avance paulatino de la Bioquímica se clarificó plenamente la interrelación enzima-reacción de metabolitos primarios (como en azúcares, aminoácidos y ácidos grasos) y los biopolímeros (como lípidos, proteínas y ácidos nucleicos).

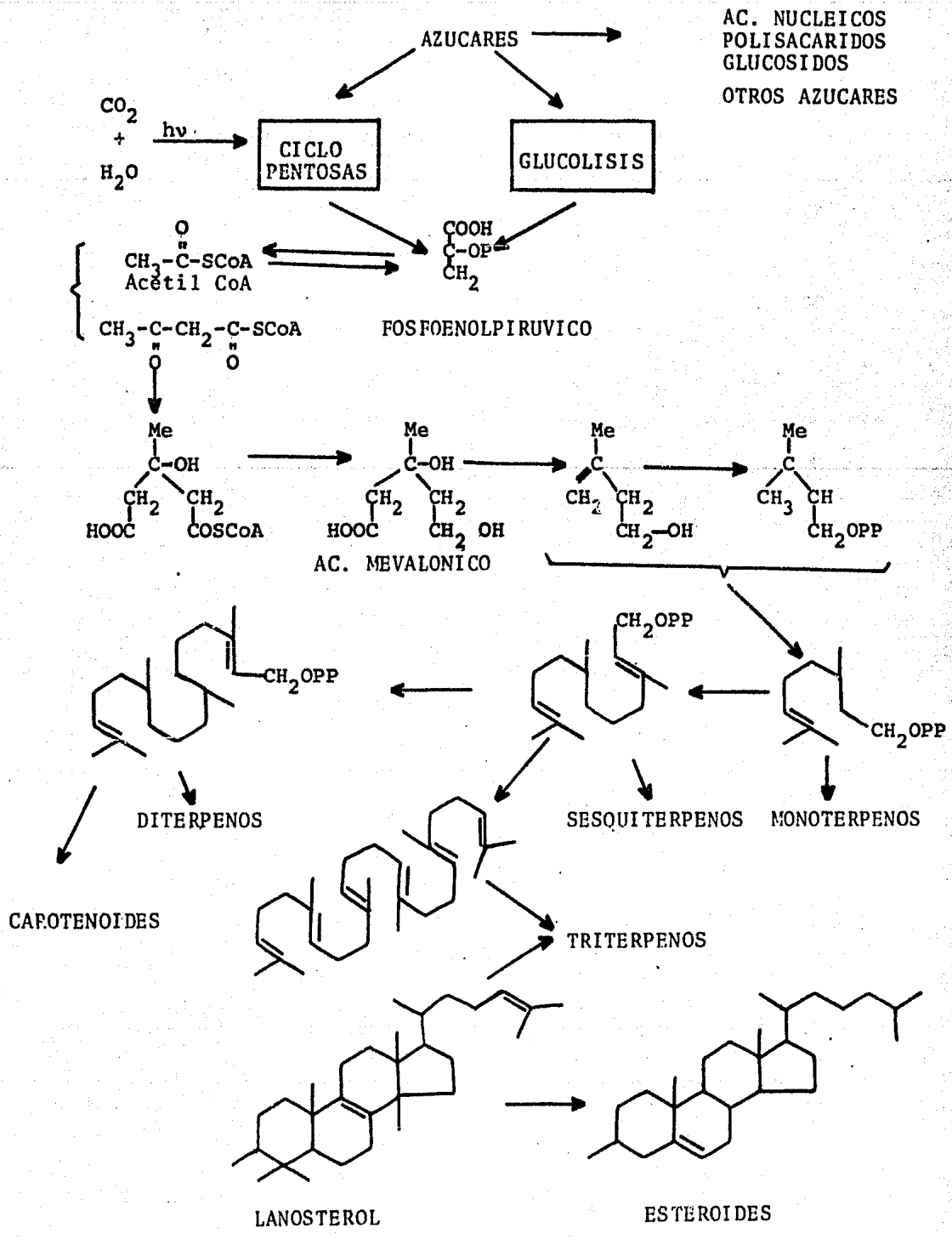
A partir de la acumulación del conocimiento en la Química de los productos naturales, algunos Químicos Orgánicos se lanzaron en busca de las teorías apropiadas de las rutas biogénicas de productos naturales en organismos vivos, basados en regulación estructural. El ejemplo más notable fue "la regla del isopreno" propuesta por Ruzicka.<sup>7</sup> El hizo notar que todos los terpenos están constituidos por unidades isoprenicas.



La biosíntesis de muchos metabolitos secundarios ha sido extensamente examinada con el uso de precursores etiquetados isotópicamente. La regla del isopreno de Ruzicka fue verificada experimentalmente mediante el uso de  $^{14}\text{C}$ -acetato y la secuencia ACETATO -----> ESCUALENO -----> LANOSTEROL -----> COLESTEROL, pudo ser establecida.

El descubrimiento de la participación del ácido mevalónico en la biosíntesis de compuestos esteroideos ha sido empleada en la elucidación de la estructura de compuestos terpenoides de toda clase. El ácido mevalónico es un derivado de la condensación de tres moléculas de ácido acético, siendo así, precursor de los compuestos terpenoides, dando la unidad isoprenica por pérdida simultanea de agua y dióxido de carbono.

El isopreno (2-metil 1,3-butadieno), nunca ha sido encontrado en la naturaleza en forma libre, pero el ácido mevalónico es un producto natural con estructura de isoprenoide. Como producto de descomposición pirolítica el isopreno ha sido encontrado en muchos terpenos. La biosíntesis de ácido mevalónico y subsecuentes conversiones a mono-, sesqui-, di- y triterpenos con algunos compuestos relacionados se puede explicar así:

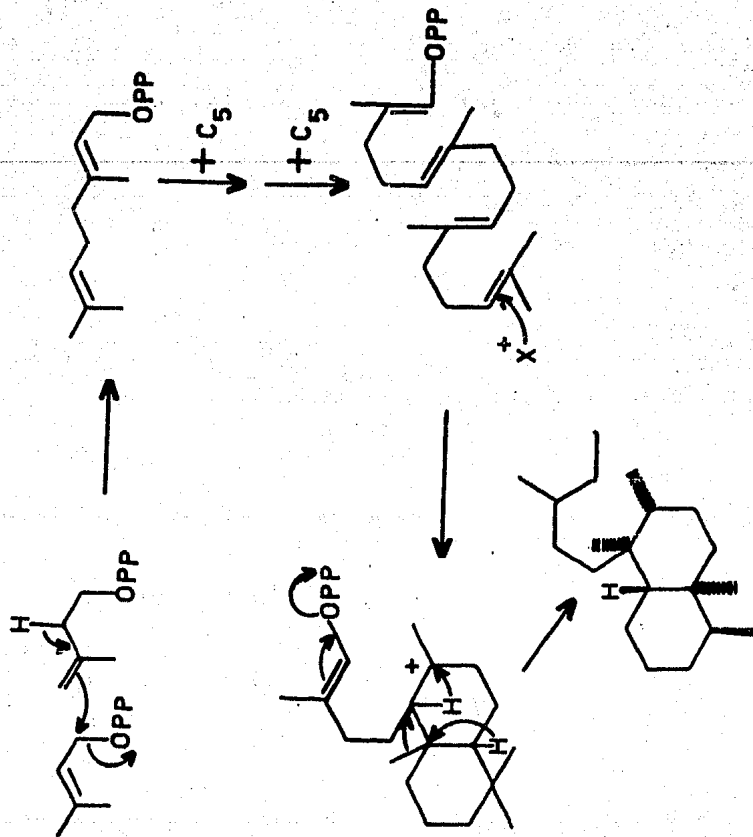




Dentro del campo de los productos naturales se encuentra un grupo de compuestos conocidos como terpenos.<sup>8</sup> Estos se encuentran ampliamente distribuidos en el Reino Vegetal y Animal en una gran variedad de formas.

La mayoría de los terpenos se encuentran libres en los tejidos de las plantas, en otras ocasiones se encuentran como glucósidos, como ésteres de ácidos orgánicos ó formando parte de proteínas; presentan estructuras cíclicas ó acíclicas y dependiendo del estado de oxidación en que se encuentren poseen grupos funcionales del tipo lactónico, ácido, aldehídico, cetónico, etc.<sup>10</sup>

En la química de los terpenos un grupo importante es el que se refiere a los diterpenos, sustancias de veinte átomos de carbono, derivadas del pirofosfato de geranilgeranilo. A pesar de la variedad de estructuras, es posible clasificar las sustancias diterpénicas sobre claros principios biogénéticos.<sup>11</sup>



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

- a) OBTENCION DE COMPUESTOS**
- b) ANALISIS**

## a) OBTENCION DE COMPUESTOS

La planta *Salvia Melissodora* fue recolectada en junio de 1985 en Tenancingo, Estado de México.

Se secaron al aire 2.7 Kg de la planta y se sometieron durante cuator días a extracción con acetato de etilo a temperatura ambiente, obteniéndose después de la evaporación del disolvente 110 g de extracto total.

Se cromatografiaron 85 g de extracto en una columna de vidrio empacada con 1 Kg de Sílica-gel desactivada con 10% de agua. La columna se eluyó inicialmente con hexano 100%, aumentando la polaridad con mezclas de hexano-acetato de etilo, llegando a acetato de etilo 100% y terminando de eluir con acetato de etilo-metanol 25%.

Las fracciones fueron cromatografiadas en capa fina y reunidas en cuatro fracciones numeradas I, II, III y IV; trabajandose de la siguiente manera: <sup>12</sup>

1) De la fracción I (2.5 g), obteniéndose al eluir con hexano 100% hasta hexano-acetato de etilo 25% y que es la menos polar, se obtuvieron únicamente ceras e hidrocarburos, las cuales no se analizaron.

2) De la fracción II (11.6 g), obtenida al eluir con hexano-acetato de etilo 50%, cristalizó una mezcla de compuestos. Se percolaron a través de carbón

activado 500 mg de la muestra y se recristalizó de hexano-acetato de etilo. Se determinó espectros-cópicamente que se trataba de una mezcla de ácidos triterpénicos los cuales se metilaron con diazometano y se intentó analizar con ayuda de la técnica Cromatografía de gases- Espectrometría de masas, lo cual no fue posible. (ácido ursólico y ácido oleanólico).

3) De la fracción III (19.6 g), obtenida al eluir con hexano-acetato de etilo 80%, cristalizó el compuesto "A". La muestra para los análisis espectros-cópicos se obtuvo por recristalizaciones sucesivas de metano-hexano (6 g) p. f. 195-196 °C.

-E.M.:  $M^+$  de m/z 346 (5.2%), m/z 98 (92.7%), m/z 79 (78%), m/z 91 (100%), m/z 233 (50%) y m/z 328 (7.3%).

-I.R.  $\nu_{max}$ : 3490  $cm^{-1}$  (grupo hidroxilo), 1760  $cm^{-1}$  y 1735  $cm^{-1}$  (carbonilo de éster), 1655  $cm^{-1}$  (doble ligadura) y 1035  $cm^{-1}$  (uniones C-O).

-R.M.N. (80 MHz): 6.66 ppm (dd,  $H_3$   $J=7, 2$  Hz), 4.06 ppm (m,  $H_7$ ), 5.85 ppm (m,  $H_{14}$ ), 4.74 ppm ( $H_{16}$ ), 1.04 ppm (d,  $H_{17}$   $J=7$  Hz), 3.88 ppm (dd,  $H_{19}$   $J=7, 2$  Hz), 5.36 ppm (d,  $H_{19}$   $J=7$  Hz), 1.92 ppm ( $H_{20}$ ) y 3.26 ppm (-OH).

4) De la fracción IV (150 mg), obtenida al eluir con acetato de etilo-metanol 25%, se separó una mezcla, la cual se recromatografió en una columna de vidrio empacada con 200 g de Sílica-gel eluida con la mezcla benceno-acetona 25%, obteniéndose 85 mg de cristales blancos que fueron purificados por recristalizaciones sucesivas con acetona-hexano, sustancia que demostró por sus propiedades espectroscópicas ser un nuevo diterpeno. Compuesto "B" p.f. 185-186 °C.

-E.M.:  $(M + 1)^+$  de 351 (8.4%), m/z 297 (100%), m/z 315 (37%), m/z 333 (25%) y m/z 313 (23%). Ionización Química.

-I.R.  $\nu_{\max}$ : 3400  $\text{cm}^{-1}$  (grupo hidroxilo), 1750  $\text{cm}^{-1}$  (carbonilo de éster), 1660  $\text{cm}^{-1}$  (doble ligadura) y 1050-950  $\text{cm}^{-1}$  (uniones C-O).

-R.M.N. (80 MHz): 6.66 ppm (dd,  $H_3$  J=7, 2 Hz), 4.04 ppm (m,  $H_7$ ), 5.55 ppm (t,  $H_{14}$  J=7 Hz), 4.14 ppm (d,  $H_{15}$  J=3 Hz), 4.11 ppm (s,  $H_{16}$ ), 1.03 ppm (d,  $H_{17}$  J=7 Hz), 3.86 ppm (dd,  $H_{19}$  J=7, 2 Hz), 5.32 ppm (d,  $H_{19}$ , J=7 Hz), 0.86 ppm (s,  $H_{20}$ ) y 2.82 ppm (-OH).

A los compuestos descritos anteriormente se les hicieron las siguientes transformaciones químicas:

#### Oxidación del Compuesto "A"

Se disolvió del Compuesto "A" 100 mg en la menor cantidad de acetona posible en un matraz de 25 ml,

el cual se mantuvo en un baño de hielo con agitación constante, adicionando gota a gota reactivo de Jones, siguiendo el curso de la reacción por cromatografía en capa fina [CCF]. Al término de la reacción, se agregaron unas gotas de alcohol isopropílico. La fase orgánica se extrajo con acetato de etilo, se lavó con solución saturada de  $\text{NaHCO}_3$ , con agua hasta pH neutro y por último se secó sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidro; concentrándose posteriormente. El Compuesto "C" se cristalizó de acetato de etilo-hexano. p.f. 197-198 °C.

- E.M.:  $M^+$  de m/z 344 (20%), m/z 91 (100%), m/z 201 (40%), m/z 41 (38%) y m/z 120 (30%).
- I.R.  $\nu_{\text{max}}$ : 1750  $\text{cm}^{-1}$  (carbonilo de éster), 1710  $\text{cm}^{-1}$  (cetona cíclica saturada), 1640  $\text{cm}^{-1}$  (doble ligadura) y 2960  $\text{cm}^{-1}$  (uniones C-H).
- R.M.N. (80 MHz): 6.84 ppm (dd,  $\text{H}_3$  J=7, 2 Hz), 5.89 ppm (m,  $\text{H}_{14}$ ), 4.77 ppm (s,  $\text{H}_{16}$ ), 1.01 ppm (d,  $\text{H}_{17}$  J=7 Hz), 3.95 ppm (m,  $\text{H}_{19}$ ) y 0.7 ppm (s,  $\text{H}_{20}$ ).

#### Acetilación del Compuesto "B"

Se preparó el derivado acetilado del Compuesto "B" disolviendo 15 mg en 0.5 ml de piridina y se dejaron reaccionar con 1.2 ml de anhídrido acético con agitación constante durante 12 horas; el curso de la reacción se siguió por CCF.

Se evaporó el disolvente al vacío y posteriormente se extrajo el producto con acetato de etilo, la fase orgánica se lavó con 10 ml de solución de HCl al 10%, con solución saturada de  $\text{NaHCO}_3$ , con agua hasta pH neutro y por último se secó sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidro.

Se purificó por cromatografía en columna empacada con 25 g de Sílica-gel y eluida con hexano-acetato de etilo (3:1). Por recristalizaciones sucesivas de acetato de etilo-hexano se obtuvieron 8mg del Compuesto "D". p.f. 240-242 °C.

-E.M.:  $M^+$  de m/z 434 (0.4%), m/z 43 (100%), m/z 374 (47%) y m/z 416 (26%).

-I.R.:  $\nu_{\text{max}}$ :  $3440 \text{ cm}^{-1}$  (grupo hidroxilo),  $2920 \text{ cm}^{-1}$  (uniones C-H),  $1750 \text{ cm}^{-1}$  (carbonilo de éster),  $1725 \text{ cm}^{-1}$  (carbonilo de acetato),  $1650 \text{ cm}^{-1}$  (doble ligadura) y  $1040 \text{ cm}^{-1}$  (uniones C-O).

-R.M.N. [80 MHz]: 6.66 ppm (dd,  $H_3$  J=7, 2 Hz), 4.06 ppm (m,  $H_7$ ), 5.50 ppm (t,  $H_{14}$  J=7 Hz), 4.64 ppm (d,  $H_{15}$  J=3 Hz), 4.65 ppm (s,  $H_{16}$ ), 1.03 ppm (d,  $H_{17}$  J=7 Hz), 3.86 ppm (dd,  $H_{19}$  J=7 Hz), 0.86 ppm (s,  $H_{20}$ ) y 2.05 ppm (s,  $O=C-CH_3$ ).



### Oxidación del Compuesto "B"

Se disolvieron 35 mg del compuesto "B" en cloroformo y se agregaron 250 mg de dióxido de manganeso ( $MnO_2$ ) en un matraz de 50 ml durante 5 horas con agitación constante, siguiendo el curso de la reacción por CCF. El producto se filtró a través de celita, el disolvente se evaporó, recristalizando de cloruro de metileno-hexano 28 mg del Compuesto "E" p.f. 198-200 °C.

- E.M.:  $M^+$  de  $m/z$  330 (38%),  $m/z$  81 (100%),  $m/z$  233 (66%) y  $m/z$  91 (45%).
- I.R.  $\nu_{max}$ :  $3420\text{ cm}^{-1}$  (grupo hidroxilo),  $2950\text{ cm}^{-1}$  (uniones C-H),  $1740\text{ cm}^{-1}$  (carbonilo de éster),  $1655\text{ cm}^{-1}$  (doble ligadura),  $1570\text{ cm}^{-1}$ ,  $1500\text{ cm}^{-1}$  y  $1430\text{ cm}^{-1}$  (anillo aromático de cinco miembros),  $880\text{ cm}^{-1}$  y  $780\text{ cm}^{-1}$  (bandas de anillo furano).
- R.M.N. (80 MHz): 6.68 ppm (dd,  $H_3$   $J=7$ , 2 Hz), 4.02 ppm (m,  $H_7$ ), 6.23 (m,  $H_{14}$ ), 7.34 ppm (t,  $H_{15}$ ), 7.19 ppm (m,  $H_{16}$ ), 1.06 ppm (d,  $H_{17}$   $J=7$  Hz), 3.86 ppm (dd,  $H_{19}$   $J=7$ , 2 Hz), 5.27 (d,  $H_{19}$ ,  $J=7$  Hz) y 0.87 ppm (s,  $H_{20}$ ).

### Reducción del Compuesto "A" DIBAL-H (1).

Se disolvieron 250 mg del Compuesto "A" en tetrahidrofurano anhidro (2.5 ml) y se agregaron 2 ml de hidruro de isobutil aluminio (DIBAL-H) 0.8 M., en

atmósfera de argón, manteniendo la reacción en el intervalo de temperatura de  $-35$  a  $-25$  °C, con agitación constante durante 3 horas. Después de este tiempo se dejó que la reacción alcanzara la temperatura ambiente para agregar 10 ml de ácido sulfúrico al 10%.

El producto se extrajo de la mezcla de reacción con acetato de etilo, el extracto fue lavado con solución saturada de  $\text{NaHCO}_3$ , con agua hasta pH neutro y por último se secó sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidro, concentrándose posteriormente. El producto se purificó por cromatografía en columna con la mezcla de elución hexano-acetato de etilo (7:3). El Compuesto "E" se recristalizó de cloruro de metileno-hexano. p. f. 198-200 °C.

Los resultados de los análisis espectroscópicos de este compuesto coinciden totalmente con los obtenidos via oxidación del compuesto "B".

#### Reducción del Compuesto "A" DIBAL-H (2).

Se disolvieron 250 mg del Compuesto "A" en tetrahidrofurano anhidro (2.5 ml) y se hizo reaccionar con un exceso de hidruro de isobutil aluminio (DIBAL-H) 0.8 M. (7.5 ml), en atmósfera de argón, manteniendo la reacción en el intervalo de temperatura de  $-35$  a  $-25$  °C, con agitación constante durante 3 horas. Después de este tiempo se dejó que la reacción alcanzara la temperatura ambiente para agregar 10 ml de ácido sulfúrico al 15%.

El producto se extrajo de la mezcla de reacción con acetato de etilo, se lavó el extracto con solución saturada de  $\text{NaHCO}_3$ , con agua hasta pH neutro y por último se secó sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidro, concentrándose posteriormente.

Esta mezcla de reacción se disolvió en cloroformo y se agregaron 50 mg de dióxido de manganeso ( $\text{MnO}_2$ ) en un matraz de 50 ml durante 5 horas con agitación constante, siguiendo el curso de la reacción por CCF. El producto se filtró a través de celita, se evaporó el disolvente y se purificó la muestra por cromatografía en columna con 150 g de Sílica-gel con la mezcla de elución hexano-acetato de etilo (8:2), obteniendo finalmente el Compuesto "G" en forma de un aceite.

- E.M.:  $M^+$  de  $m/z$  316 [10%],  $m/z$  81 [100%],  $m/z$  95 [50%],  $m/z$  91 [41%] y  $m/z$  41 [34%].
- I.R.  $\nu_{\text{max}}$ :  $3610 \text{ cm}^{-1}$  [grupo hidroxilo],  $2991 \text{ cm}^{-1}$  [uniones C-H],  $1466 \text{ cm}^{-1}$  y  $1502 \text{ cm}^{-1}$  [anillo aromático cinco miembros],  $1677 \text{ cm}^{-1}$  [doble ligadura],  $1160 \text{ cm}^{-1}$  [enlace tipo eter],  $897 \text{ cm}^{-1}$  y  $874 \text{ cm}^{-1}$  [anillo aromático furano].
- R.M.N. (80 MHz): 4.39 ppm (d,  $H_3$   $J=4$  Hz), 4.02 ppm (m,  $H_7$ ), 6.20 ppm (m,  $H_{14}$ ), 7.30 ppm (m,  $H_{15}$ ), 7.15 ppm (m,  $H_{16}$ ), 1.84 ppm (d,  $H_{17}$   $J=7$  Hz), 4.60 ppm (d,  $H_{19\text{endo}}$   $J=8$  Hz), 3.45 ppm (d,  $H_{19\text{exo}}$   $J=8$  Hz), 1.14 ppm (s,  $H_{20}$ ), 4.8 ppm (s,  $H_{18}$ ) y 4.65 ppm (s,  $H_{18}$ ).

## B) ANALISIS

El espécimen analizado fue clasificado por el Dr. T. P. Ramamoorthy, del Instituto de Biología de la U.N.A.M. El espécimen se encuentra depositado en el Herbario Nacional.

Los puntos de fusión se determinaron en un aparato Fischer-Jones y no están corregidos.

Las cromatografías en columna se efectuaron en Sílica-gel 60 Merck (35-70 y 70-230 mesh ATSM).

La pureza de los productos y el desarrollo de las reacciones se siguió por cromatografía en capa fina (CCF) de Sílica-gel Merck F-254, usando como revelador sulfato céntrico al 1% en ácido sulfúrico 2N.

Los espectros de Masas se determinaron en un espectrómetro Hewlett Packard 5985-B.

Los espectros de Infrarrojo se determinaron en soluciones de cloroformo o en pastillas de bromuro de potasio.

Los espectros de Resonancia Magnética Nuclear  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$  se determinaron en un espectrómetro Varian FT-80A. Los desplazamientos químicos están dados en ppm referidas al tetrametilsilano (TMS) como referencia interna.

Se agradecen los espectros de Infrarrojo, así como las determinaciones de Polarimetría al Quím. René Villena Tribe y los espectros de Masas al I. Q. Luis Velasco Ibarra y al Quím. Humberto Bojórquez Leyva.

**DISCUSION DE ESPECTROS**

**Y**

**RESULTADOS**

## DISCUSION DE ESPECTROS Y RESULTADOS

De la fracción III obtenida por elución con hexano-acetato de etilo 80%, se aisló una sustancia sólida con esqueleto de diterpeno. Su estructura se elucidó en base a las siguientes evidencias espectroscópicas:

El Compuesto "A" es una sustancia sólida cristalina p. f. 195-196 °C,  $[\alpha]_D^{25} = -119.5$

En el espectro de Masas (espectro 1), el ión molecular  $M^+$  se encuentra en  $m/z$  346, que está de acuerdo para la fórmula condensada  $C_{20}H_{26}O_5$ .

Presenta el pico base en  $m/z$  91 y como picos de mayor abundancia a  $m/z$  98,  $m/z$  79,  $m/z$  233 y  $m/z$   $\{328 M^+ - (H_2O)\}$ .

El espectro de Infrarrojo (I.R., espectro 2), presenta una banda ancha en  $3490\text{ cm}^{-1}$  correspondiente a grupo hidroxilo (-OH), las señales intensas en  $1760\text{ cm}^{-1}$  y  $1735\text{ cm}^{-1}$  se deben a carbonilo de  $\gamma$ -lactonas  $\alpha$ - $\beta$  insaturadas exocíclica y endocíclica (-C=O). La banda débil en  $1655$ - $1635\text{ cm}^{-1}$  se atribuye a doble ligadura (-C=C-). La banda de mediana intensidad en  $1035\text{ cm}^{-1}$  se debe a estiramiento de grupo hidroxilo (-C-O-).

En el espectro de Resonancia Magnética Nuclear  $^1\text{H}$  (R.M.N., espectro 3), se observa una señal en 3.26 ppm que desaparece al equilibrarse la muestra con agua deuterada, lo que sugiere la presencia de un protón de grupo hidroxilo. En 6.66 ppm ( $J=7$ , 2 Hz), aparece una señal doble de doble que corresponde al protón vinílico  $\text{H}_3$ . El desplazamiento de esta señal a campo bajo se debe a la posición  $\beta$  que guarda el protón en relación a un carbonilo  $\alpha$ - $\beta$  insaturado.

La señal múltiple en 5.85 ppm corresponde al protón vinílico  $\text{H}_{14}$ , en posición  $\alpha$  de una  $\gamma$ -lactona  $\alpha$ - $\beta$  insaturada. La señal doble en 5.36 ppm ( $J=7$  Hz) y la señal doble de doble en 3.88 ppm ( $J=7$ , 2 Hz) es la parte AB de un sistema ABX,  $\text{H}_{19-19}$ . La señal doble es debida al acoplamiento geminal  $\text{H}_{19-19}$ , y la posición a campo alto es a consecuencia de la proximidad del grupo hidroxilo  $\alpha$  axial. La señal doble de doble se debe al acoplamiento a larga distancia con el protón  $\text{H}_6$   $\beta$  axial.

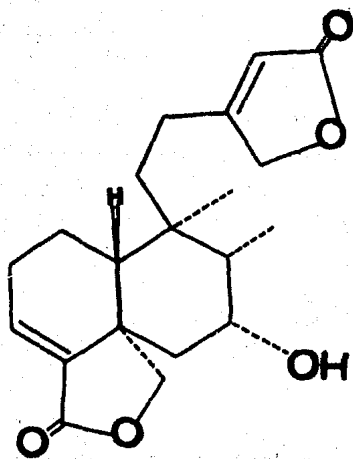
La señal centrada en 4.74 ppm, que integra para dos protones, corresponde al metileno base oxigenada de una  $\gamma$ -lactona  $\alpha$ - $\beta$  insaturada endocíclica,  $\text{H}_{16}$ , mostrando acoplamiento alílico con  $\text{H}_{14}$  ( $J=2$  Hz).

La señal múltiple corresponde al protón  $\text{H}_7$  base de una función oxigenada. En la región de campo alto entre 2.7 y 1.3 ppm se observa una serie de señales con perfil atribuible a un diterpeno de la serie clerodano.

La señal centrada en 1.04 ppm ( $J=7$  Hz), que integra para tres protones corresponde a un metilo sobre un metino,  $H_{17}$ ; y el singulete que aparece en 0.92 ppm, que integra para tres protones corresponde a un metilo sobre un carbono totalmente sustituido.

Este compuesto se encontró publicado en la literatura y los datos espectroscópicos concuerdan con los obtenidos en este trabajo. <sup>13, 14</sup>

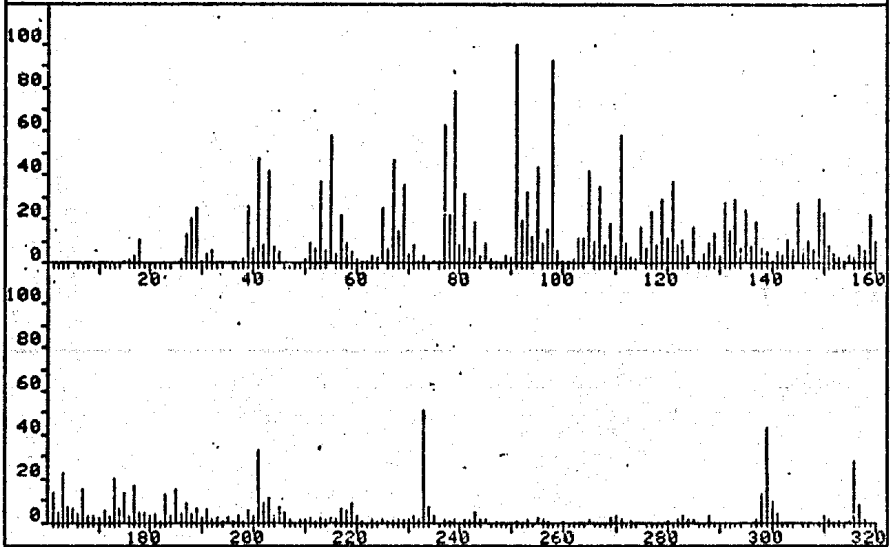
Por las anteriores evidencias espectroscópicas se concluyó que el Compuesto "A" es un diterpeno de la serie 'ent-clerodano'. <sup>15, 16, 17</sup>



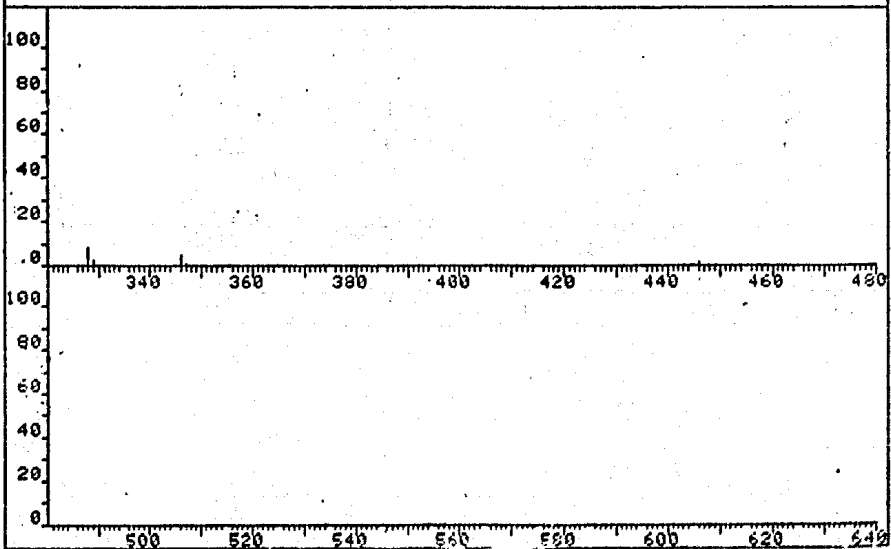


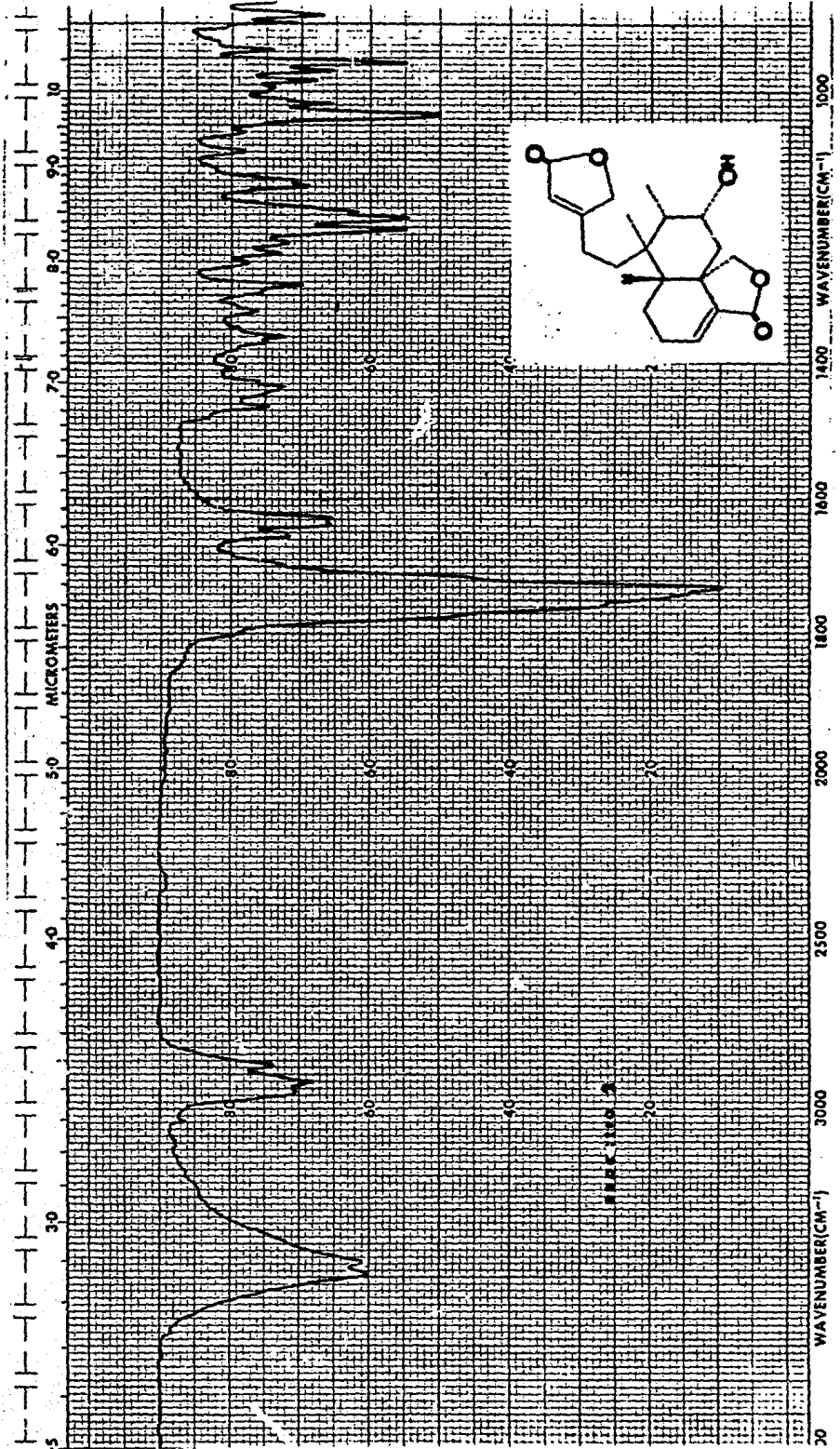
aspectro 1

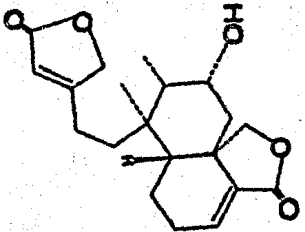
FRN 5030	SPECTRUM 124	RETENTION TIME 5.2
LARGST 4: 91.2, 100.0	98.1, 92.7	79.1, 78.0 77.1, 62.8
LAST 4: 329.3, 2.2	346.3, 5.2	347.3, 1.1 446.3, 1.9
		PAGE 1 Y = 1.00



FRN 5030	SPECTRUM 124	RETENTION TIME 5.2
LARGST 4: 91.2, 100.0	98.1, 92.7	79.1, 78.0 77.1, 62.8
LAST 4: 329.3, 2.2	346.3, 5.2	347.3, 1.1 446.3, 1.9
		PAGE 2 Y = 1.00





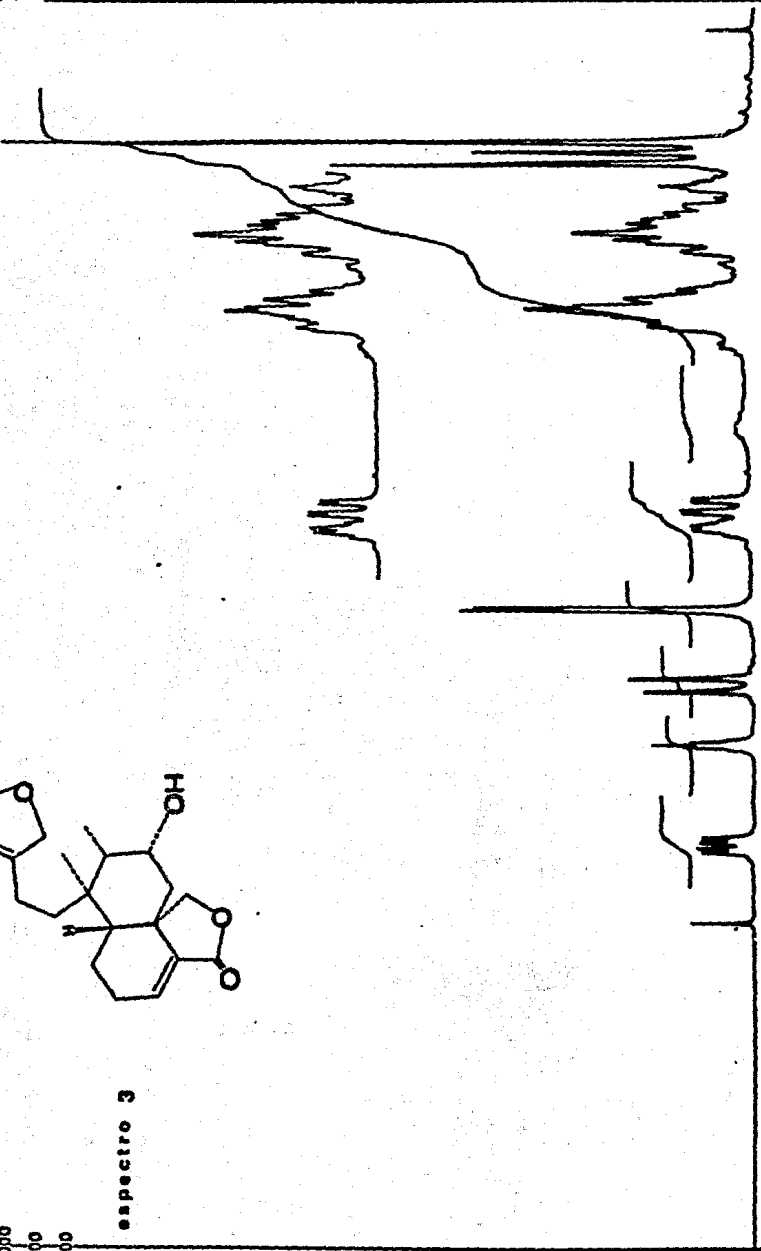


espectro 3

4000Hz  
2000  
1000  
800  
600

A  
λ

ppm



Para comprobar la función del Compuesto "A" se hizo reaccionar con Reactivo de Jones, obteniéndose el Compuesto "C" p. f. 202-203 °C.

En el espectro de Masas el ión molecular se encuentra en  $m/z$  344 que esta de acuerdo para la fórmula condensada  $C_{20}H_{24}O_5$ . Presenta el pico base en  $m/z$  91 y como picos de mayor abundancia a  $m/z$  201 y  $m/z$  120.

El espectro de I.R. (espectro 4), presenta una señal nueva en  $1710\text{ cm}^{-1}$  a causa de la cetona cíclica saturada y la desaparición de la banda ancha en  $3300\text{-}3600\text{ cm}^{-1}$  característica de grupo hidroxilo.

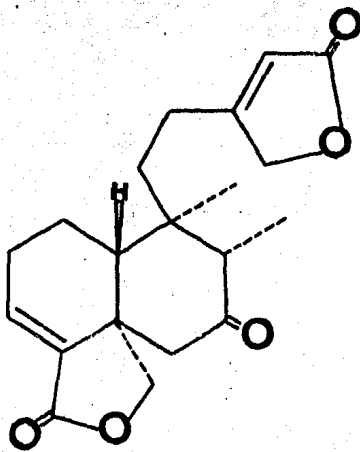
En  $1775\text{ cm}^{-1}$  y  $1750\text{ cm}^{-1}$  se observan las bandas de los carbonilos de  $\gamma$ -lactonas  $\alpha$ - $\beta$  insaturadas endocíclica y exocíclica. En  $1640\text{ cm}^{-1}$  la banda de doble ligadura ( $-\overset{\text{O}}{\underset{\text{O}}{\text{C}}}=\overset{\text{O}}{\underset{\text{O}}{\text{C}}}-$ ) y en  $2960\text{ cm}^{-1}$  la banda de estiramiento entre las uniones carbono-hidrógeno ( $-\overset{\text{O}}{\underset{\text{O}}{\text{C}}}-\overset{\text{O}}{\underset{\text{O}}{\text{C}}}-\text{H}$ ).

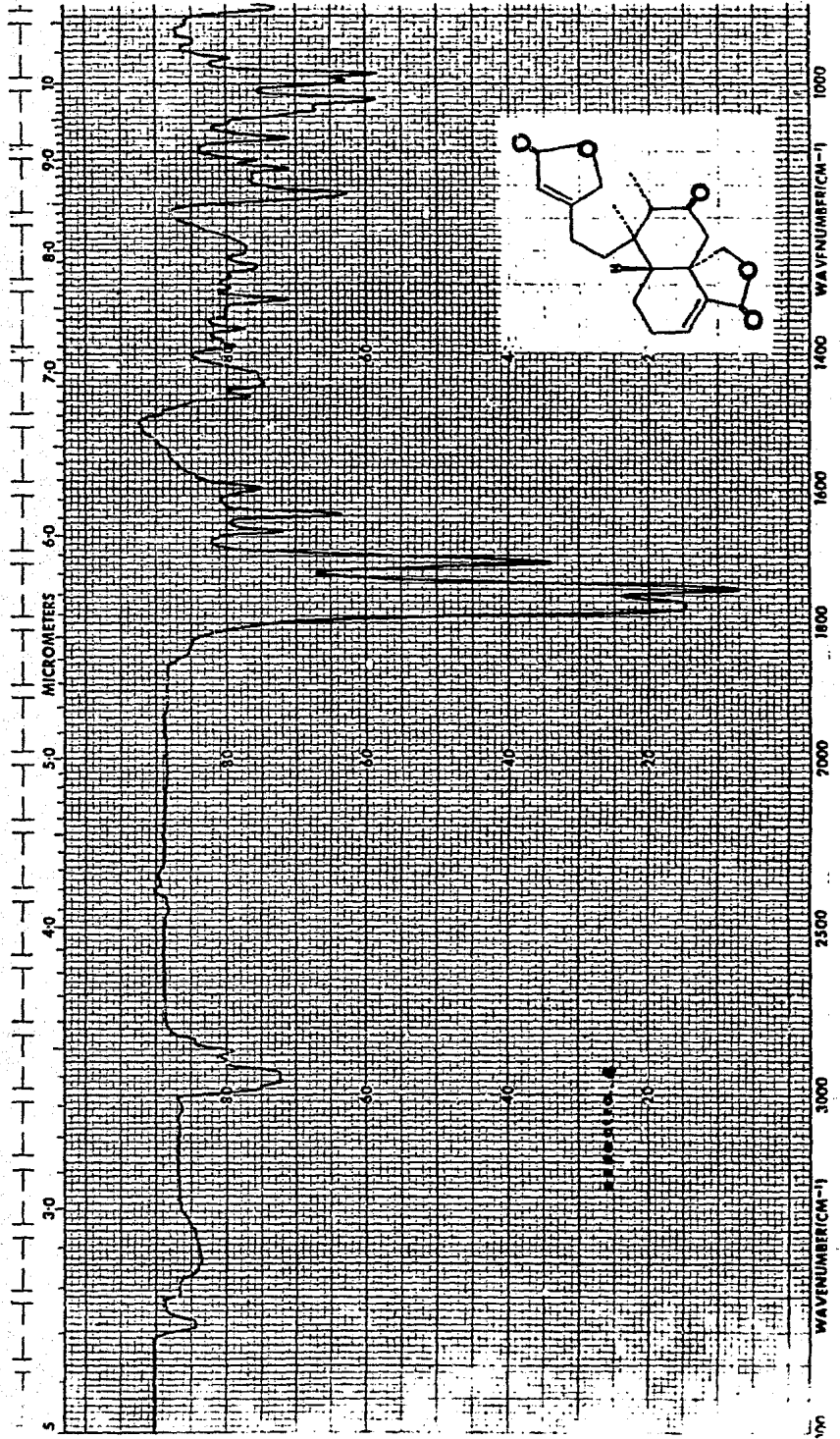
En el espectro de R.M.N. (espectro 5), la señal múltiple que correspondía al protón  $H_7$  base de una función oxigenada en 4.06 ppm, ya no aparece, así como la señal que desaparecía al equilibrarse la muestra con agua deuterada antes de la oxidación.

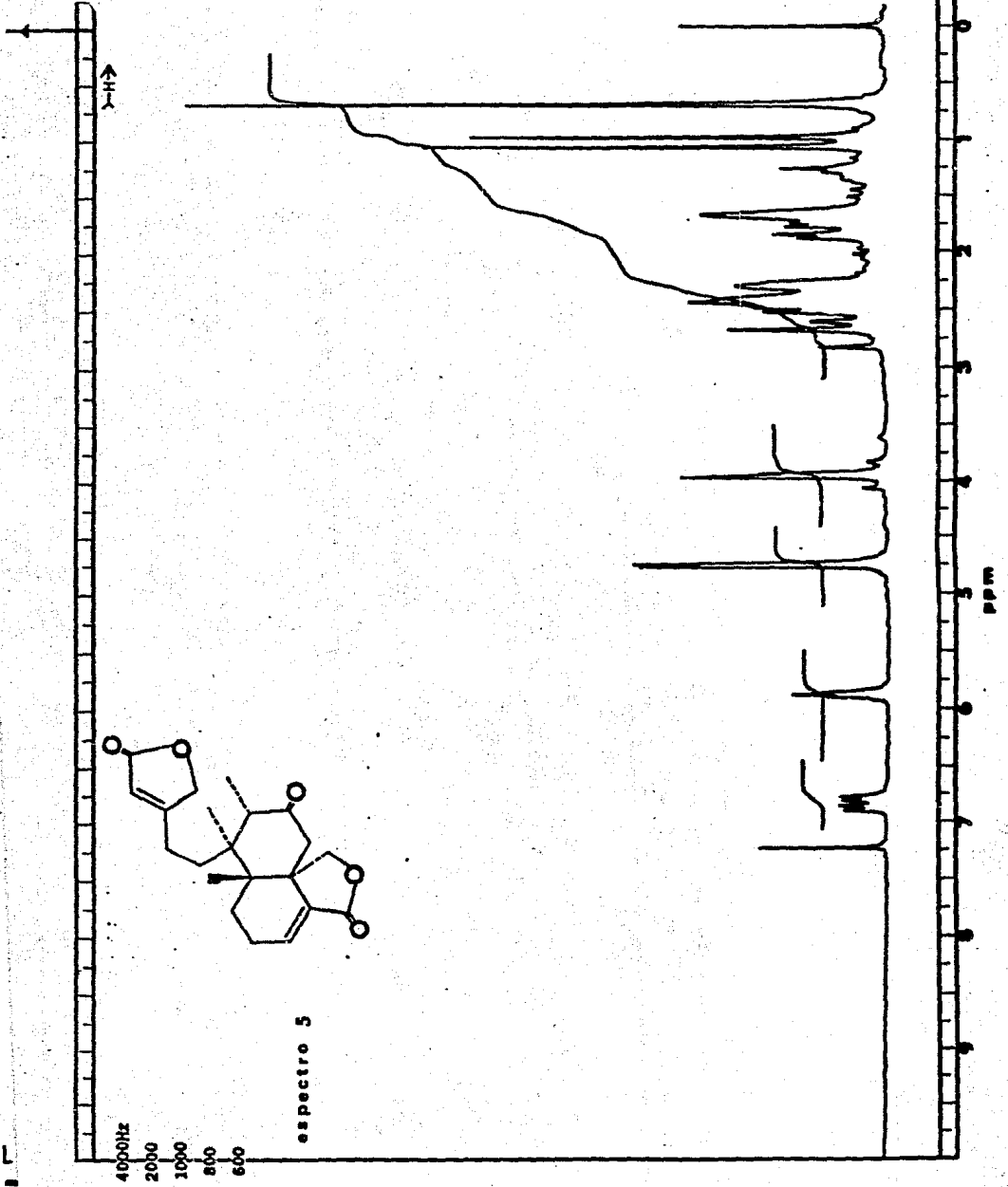
La señal doble de  $H_{19}$  que se encontraba a campo bajo a consecuencia de la desprotección del grupo hidroxilo  $\alpha$  axial, aparece ahora, con la señal doble de doble de  $H_{19}$ , formando la parte AB de un sistema ABX centrado en 3.95 ppm.

El singulete del metilo  $H_{20}$  se encuentra desplazado a campo alto en 0.7 ppm, observándose un  $\Delta\delta$  de 0.22 ppm en relación al desplazamiento del Compuesto "A" por no existir la desprotección del grupo hidroxilo a axial.

El perfil de señales que corresponden al esqueleto del crelodano aparecen en una zona más amplia, entre 2.85 y 1.15 ppm, debido al cono de desprotección del grupo cetona.







La fracción IV fue recromatografiada en columna con la mezcla de elución benceno-acetona 15% de la cual se aisló una sustancia cristalina. Su estructura de elucidó en base a las siguientes evidencias espectroscópicas, resultando ser un nuevo diterpeno.

Sustancia sólida cristalina p.f. 185-186°C.

$$[\alpha]_D^{25} = -126.5$$

La espectrometría de Masas por ionización química (espectro 6) muestra un ión ( $M^+ + 1$ ) de  $m/z$  351 que está de acuerdo para la fórmula condensada  $C_{20}H_{30}O_5$ , presenta el pico base en  $m/z$  en 297 y como picos de mayor abundancia a  $m/z$  315,  $m/z$  333 y  $m/z$  235.

El espectro de I.R. (espectro 7), presenta una banda muy ancha en  $3400\text{ cm}^{-1}$  a causa de las vibraciones de estiramiento de grupo hidroxilo. La banda intensa en  $1750\text{ cm}^{-1}$  es de grupo carbonilo de  $\gamma$ -lactona  $\alpha$ - $\beta$  insaturada exocíclica. La banda débil en  $1660\text{ cm}^{-1}$  se atribuye a doble ligadura ( $-\overset{|}{C}=\overset{|}{C}-$ ). En la región de  $1050\text{ cm}^{-1}$  a  $950\text{ cm}^{-1}$  se tienen las bandas de estiramiento carbono-oxígeno de grupo hidroxilo ( $-\overset{|}{C}-O-$ ).

En el espectro de R.M.N. (espectro 8), se observa una señal muy ancha centrada en 2.82 ppm, que desaparece al equilibrarse la muestra con agua deuterada, lo que indica la presencia de grupo hidroxilo.

En 6.66 ppm ( $J=7$ , 2 Hz), aparece una señal doble de doble que corresponde al protón vinílico  $H_3$ .

El desplazamiento de esta señal a campo bajo se debe a la posición  $\beta$  que guarda el protón en relación



a un carbonilo de un  $\gamma$ -lactona  $\alpha$ - $\beta$  insaturada.

En 5.55 ppm ( $J=7$  Hz) aparece una señal triple del protón vinílico  $H_{14}$ , acoplado con un metileno.

La señal doble en 5.32 ppm ( $J=7$  Hz) y la señal doble de doble en 3.86 ppm ( $J=7, 2$  Hz) son la parte AB de un sistema ABX  $H_{19-19'}$ . La señal doble se debe al acoplamiento geminal  $H_{19-19'}$ , la proximidad de un grupo hidroxilo  $\alpha$  axial origina la posición a campo bajo de esta señal. La señal doble de doble se debe al acoplamiento a larga distancia con el protón  $H_6$   $\beta$  axial.

En 4.14 ppm y 4.11 ppm se observan una señal doble y una señal simple de bases oxigenadas.

La señal doble ( $J=7$  Hz) se debe al acoplamiento vecinal del metileno  $H_{15}$  con un metino.

La señal simple ancha se debe a un metileno  $H_{16}$  sin protones vecinos.

Se infiere la presencia de un protón entre las señales anteriormente descritas por el número de protones que representa la integral, por el desplazamiento químico corresponde a una base oxigenada  $H_7$ .

La señal doble centrada en 1.03 ppm ( $J=7$  Hz) que integra para tres protones corresponde a un metilo sobre un metino,  $H_{17}$ ; y la señal simple en 0.86 ppm que integra para tres protones se debe a un metilo sobre un carbono totalmente sustituido  $H_{20}$ .

La técnica más empleada para la simplificación de una parte del espectro de R.M.N. y que nos permite saber que núcleos están acoplados entre sí, para confirmar la continuidad de los átomos de hidrógeno en una molécula, es la llamada Doble Resonancia Magnética Nuclear.

El experimento consiste en introducir simultáneamente dos campos de radiofrecuencia a diferentes frecuencias. Uno es para observar la resonancia de los núcleos y el otro es para perturbar el sistema de spin. En un sistema de dos núcleos acoplados, si se irradia con un campo de radiofrecuencia, a la frecuencia de resonancia de uno de ellos, la señal para el otro núcleo se simplificará, perdiendo así la constante de acoplamiento.

Así, al irradiar la señal en 5.55 ppm  $H_{14}$  (espectro 9), los protones  $H_{15}$  pierden la constante de acoplamiento ( $J=7$  Hz), apareciendo ahora como una señal simple sobrepuesta con la señal simple de  $H_{16}$ .

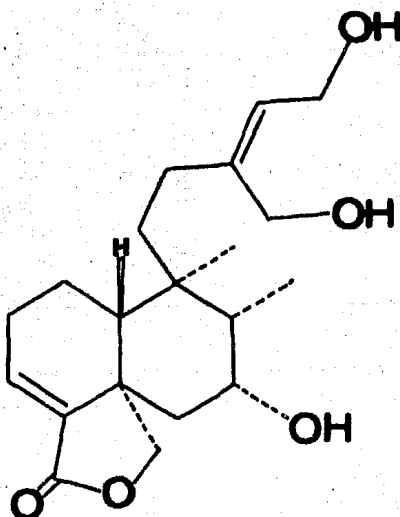
Por la cercanía de posición, la señal doble en 5.32 ppm  $H_{19}$  se ve perturbada, originando que la constante de acoplamiento geminal con  $H_{19}$ , disminuya su valor.

Al repetir el experimento de Doble R.M.N., irradiando ahora la posición en 3.96 ppm y perturbando a los protones  $H_7$ ,  $H_{19}$ ,  $H_{15}$  y  $H_{16}$ , encontramos una simplificación en las señales de  $H_{19}$  y  $H_{14}$  apareciendo las dos como señales simples en 5.3 ppm y 5.55 ppm respectivamente.

El número de grupos hidroxilo se comprobó agregando a la muestra en el tubo de resonancia el reactivo específico Isocianato de tricloroaceto (ITA), formando "in situ" los uretanos correspondientes que aparecen en 9.37 ppm y 9.6 ppm obteniéndose así el Compuesto "F" (espectro 10).

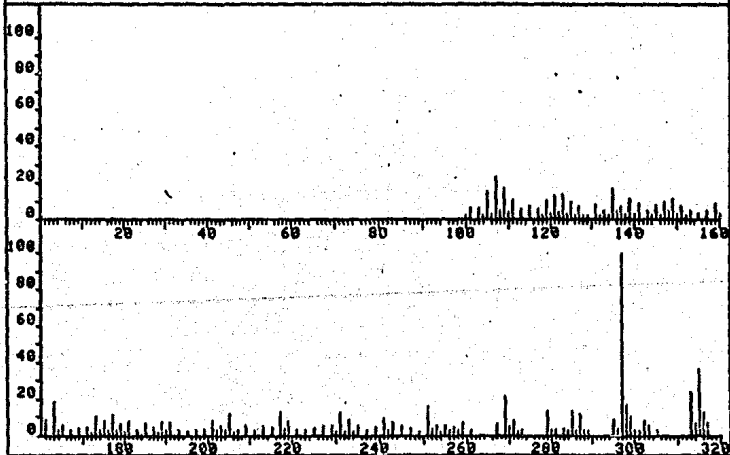
La integración de las señales representa tres protones intercambiados, por lo que se concluye la presencia de tres grupos hidroxilo.

Las señales de los protones de las bases oxigenadas de los grupos hidroxilo se encuentran a campo bajo en relación a su posición original a causa de la formación de los uretanos. (ver Tabla 1). ver esquema 2.

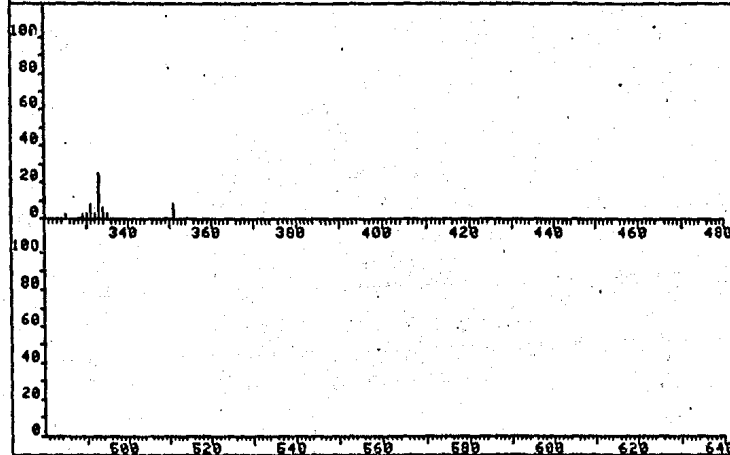


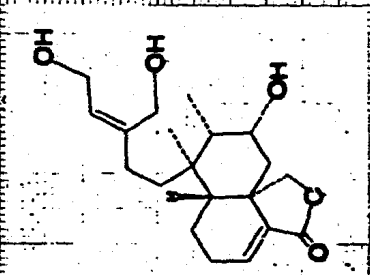
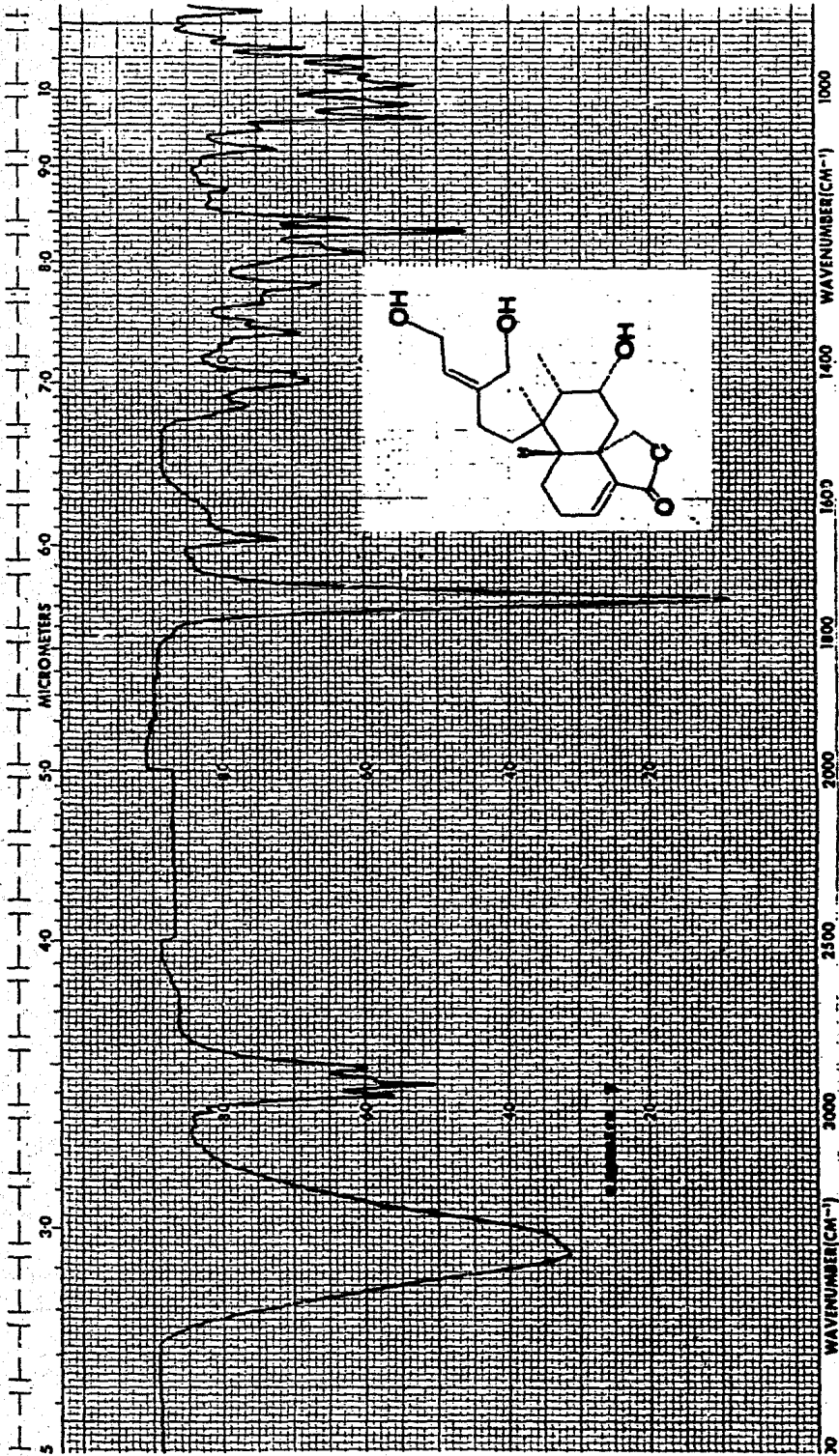
espectro 6

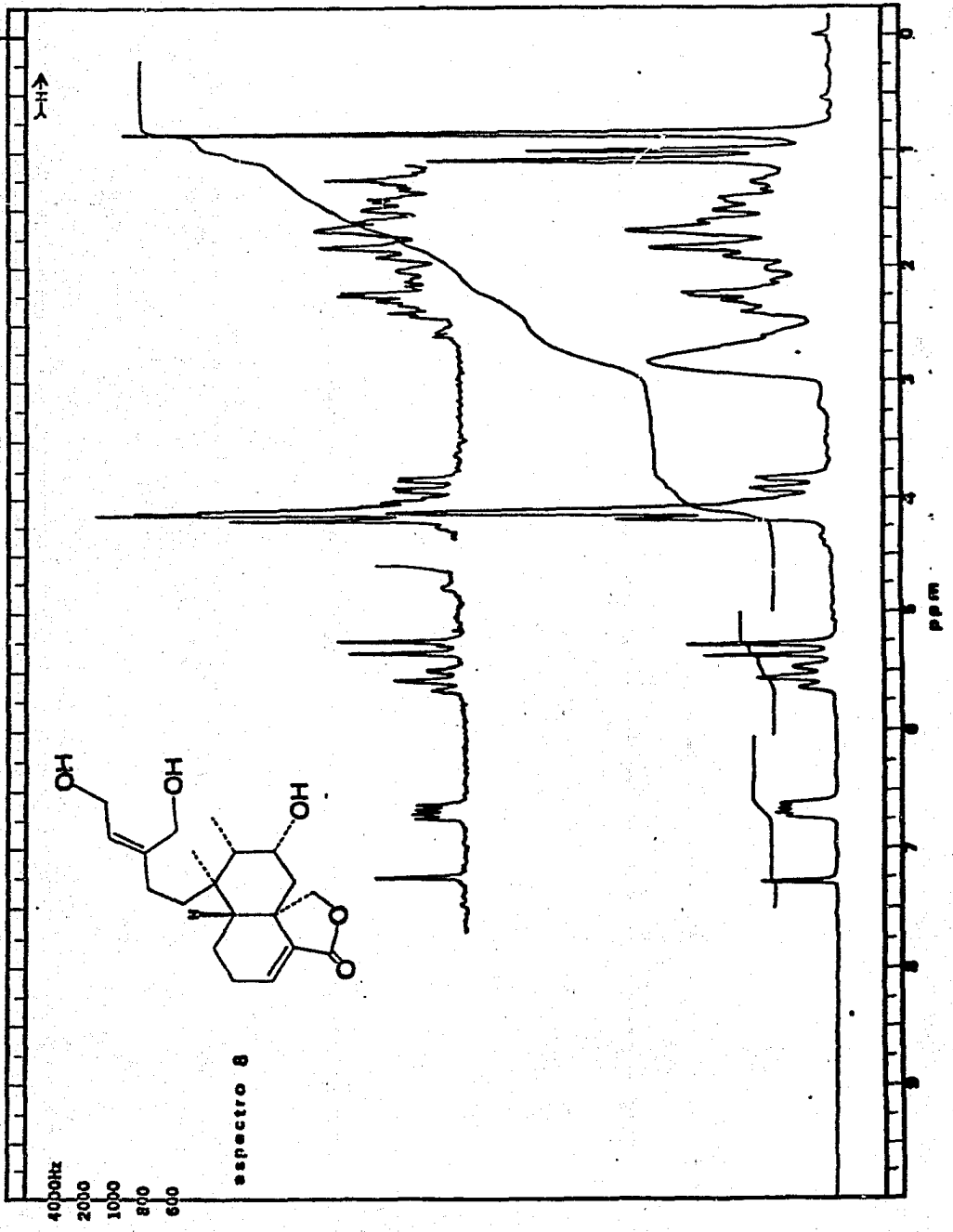
FRN 6236	SPECTRUM 97	RETENTION TIME 3.6
LARGST 4:	297.2, 100.0    315.3, 37.1	333.3, 25.1    313.2, 23.7
LAST 4:	333.3, 25.1    334.2, 6.6	335.3, 3.3    351.3, 8.4
		PAGE 1 Y = 1.00

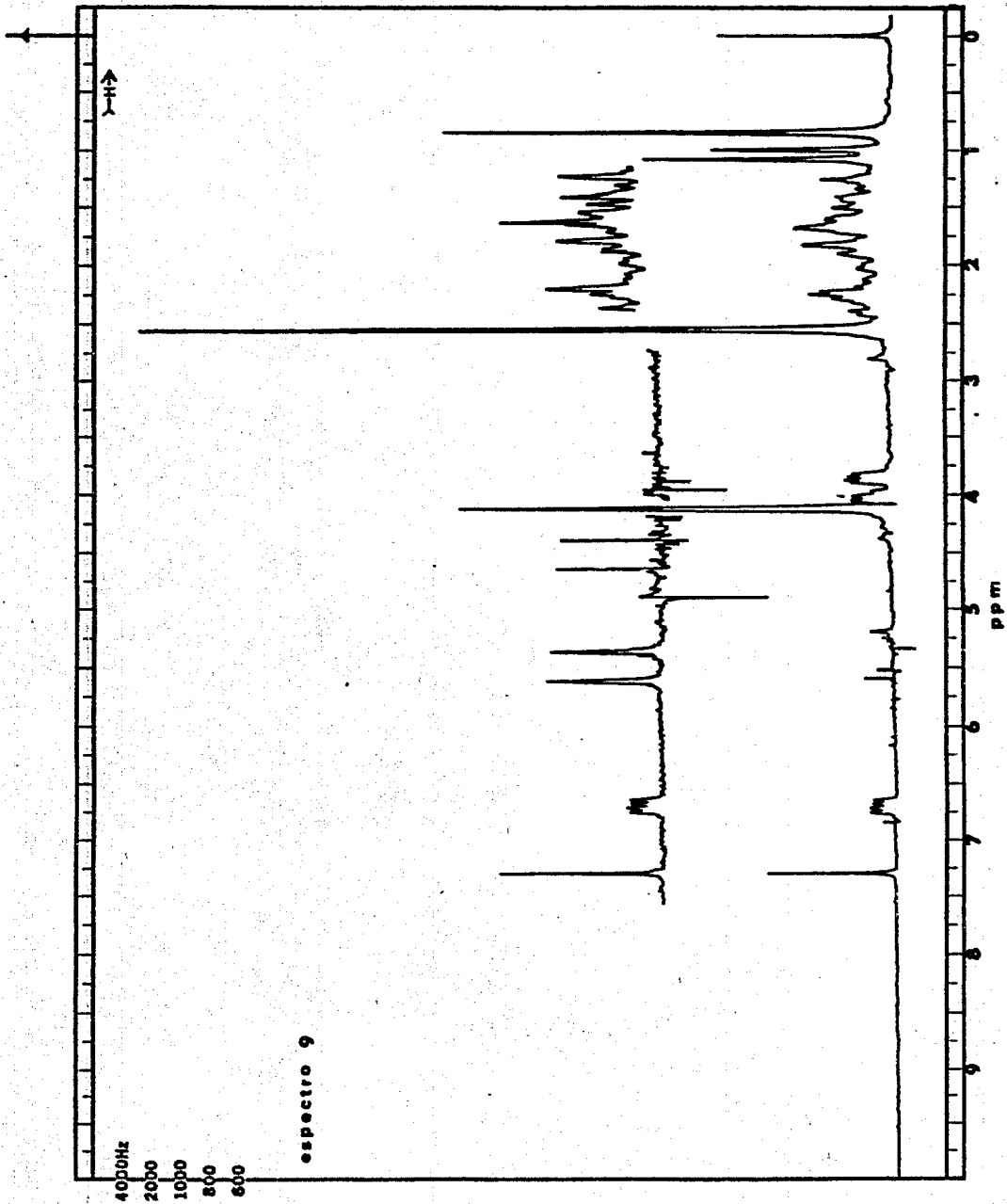


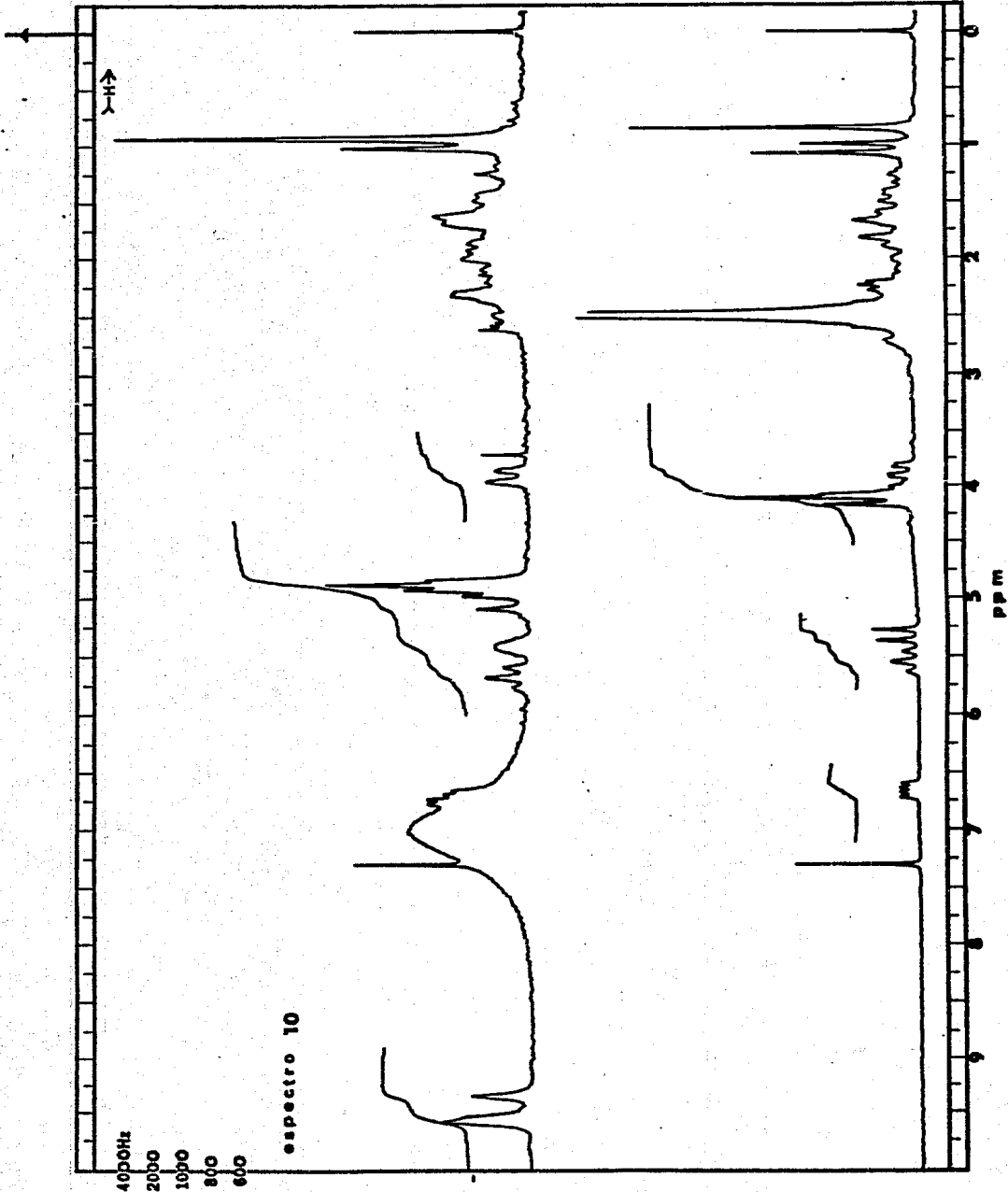
FRN 6236	SPECTRUM 97	RETENTION TIME 3.6
LARGST 4:	297.2, 100.0    315.3, 37.1	333.3, 25.1    313.2, 23.7
LAST 4:	333.3, 25.1    334.2, 6.6	335.3, 3.3    351.3, 8.4
		PAGE 2 Y = 1.00











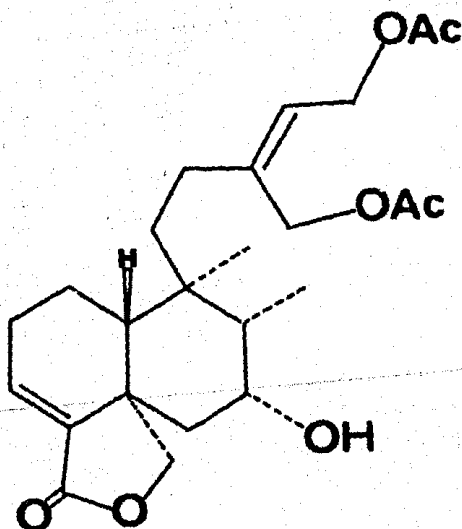


Se preparó el derivado acetilado del Compuesto "B" con anhídrido acético en piridina obteniéndose el Compuesto "D" p. f. 240-242 °C. En el espectro de Masas el ión molecular se encuentra en  $m/z$  434, que esta de acuerdo para la fórmula condensada  $C_{24}H_{34}O_7$  con un incremento de masa de  $C_4H_4O_2$ . El pico base  $m/z$  43 proviene de grupos acetilos y las fragmentaciones importantes por su abundancia son  $m/z$   $\{M^+ - (H_2O)\}$  y  $m/z$  374  $\{M^+ - (C_2H_4O)\}$ .

El espectro de I.R. (espectro 11), presenta una disminución en la banda de absorción en  $3440\text{ cm}^{-1}$  correspondiente a vibración de estiramiento de grupo hidroxilo. En  $2920\text{ cm}^{-1}$  aparece la banda de metilos y metilenos saturados, la banda intensa en  $1750\text{ cm}^{-1}$  es del grupo carbonilo de  $\gamma$ -lactona  $\alpha$ - $\beta$  insaturada exocíclica.

La banda en  $1725\text{ cm}^{-1}$  se debe a carbonilo de acetato, la banda en  $1650\text{ cm}^{-1}$  es de doble ligadura  $C=C$  y la banda en  $1040\text{ cm}^{-1}$  corresponde a estiramiento  $C-O$  de grupo hidroxilo.

El espectro de R.M.N. (espectro 12), presenta en 2.05 ppm un singulete que integra para seis protones, el cual, por desplazamiento químico corresponde a dos grupos metilo de acetato. Los protones de las bases oxigenadas respectivas  $H_{15}$  y  $H_{16}$ , se ven desplazadas a campo bajo en 4.64 ppm en relación a su posición antes de acetilar el Compuesto "B". Disminuye la altura relativa de la señal en 1.65 ppm al equilibrarse la muestra con agua deuterada, lo que indica la presencia de grupo hidroxilo en la molécula.



El producto de oxidación del Compuesto "B" con  $\text{MnO}_2$  dio origen al compuesto "E" p.f. 198-200 °C  $[\alpha]_D^{25} = -50$  19, 20, 21

El espectro de masas (espectro 13) muestra un ión molecular  $\text{M}^+$  en  $m/z$  330 que concuerda para la fórmula condensada  $\text{C}_{20}\text{H}_{26}\text{O}_4$ . Presenta un pico base de  $m/z$  81 que proviene de  $\{\text{M}^+ - (\text{C}_5\text{H}_5\text{O})\}$  y la fragmentación  $m/z$  233  $\{\text{M}^+ - (\text{C}_6\text{H}_7\text{O})\}$ .

El espectro de I.R. (espectro 14) presenta una banda en  $3420 \text{ cm}^{-1}$  correspondiente a la vibración de estiramiento de grupo hidroxilo. En  $2950 \text{ cm}^{-1}$  aparece la banda de metilos y metilenos. En  $1740 \text{ cm}^{-1}$  la banda intensa corresponde a grupo carbonilo de  $\gamma$ -lactona  $\alpha$ - $\beta$  insaturada exocíclica.

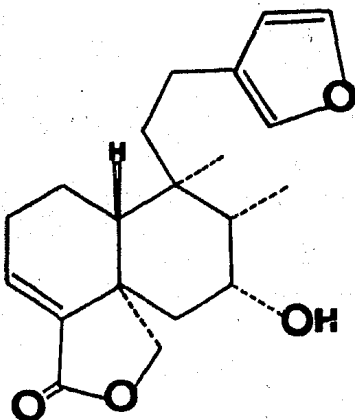
La banda en  $1655\text{ cm}^{-1}$  se debe a doble ligadura C=C. Las bandas en  $1570\text{ cm}^{-1}$ ,  $1500\text{ cm}^{-1}$  y  $1430\text{ cm}^{-1}$  son características del patrón de absorción de un anillo aromático de cinco miembros.

Las bandas en  $880\text{ cm}^{-1}$  y  $780\text{ cm}^{-1}$  son típicas de anillo aromático furano.

El espectro de R.M.N. (espectro 15) presenta en la zona de protones aromáticos un sistema característico de un furano  $\beta$ -sustituido; protones  $\alpha$  en 7.34 ppm y 7.19 ppm y protón  $\beta$  en 6.23 ppm.

No se observa la señal doble en 4.14 ppm ni la señal simple en 4.11 ppm que correspondían a los protones de los metilenos bases oxigenadas antes de la oxidación del Compuesto "E". El tamaño relativo de la señal en 1.7 ppm decrece al equilibrarse la muestra con agua deuterada, lo que indica la presencia de grupo hidroxilo.

Fue posible obtener este compuesto gracias a que la doble ligadura entre  $C_{13}$  y  $C_{14}$  es "cis".<sup>22</sup>

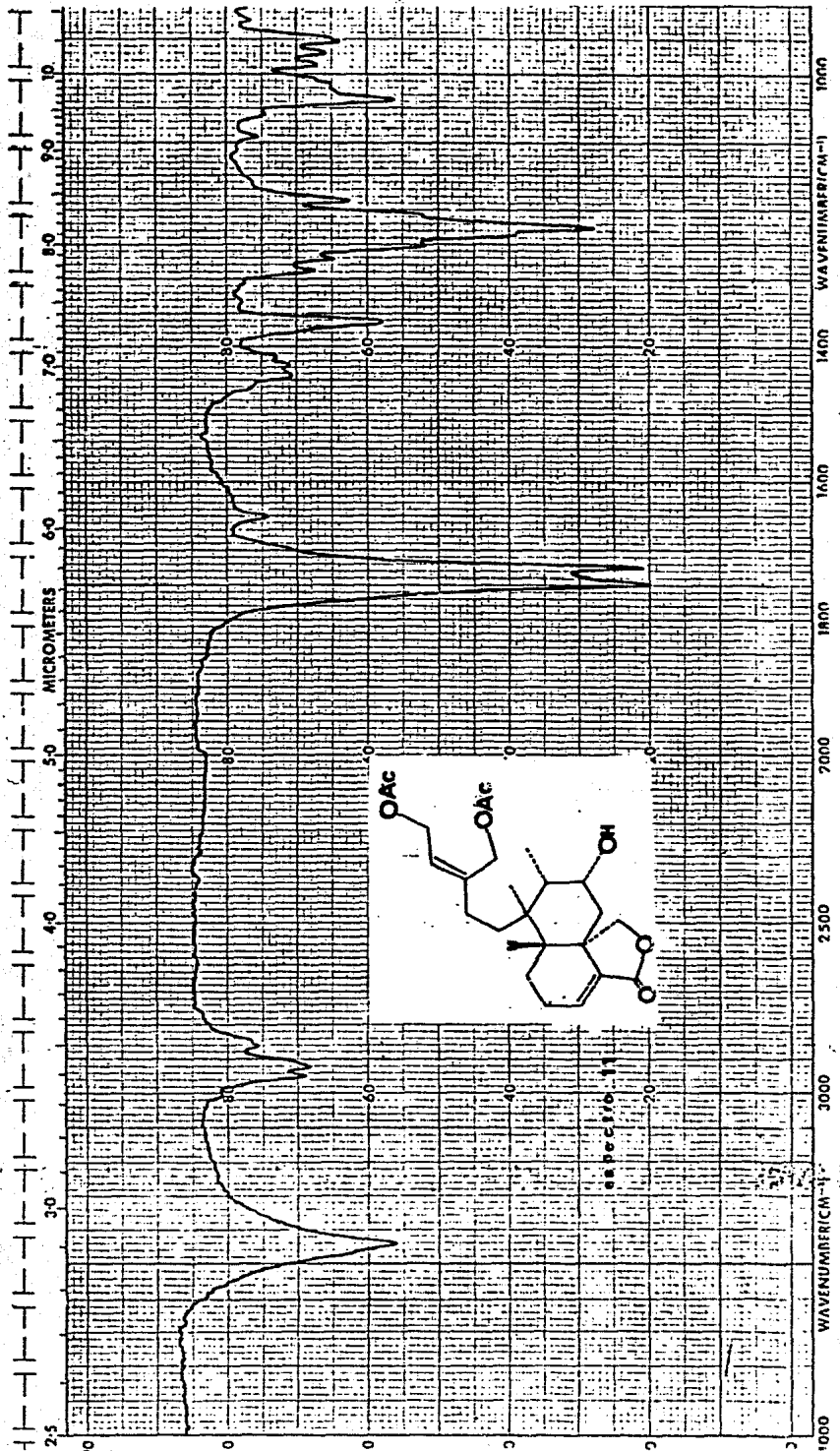


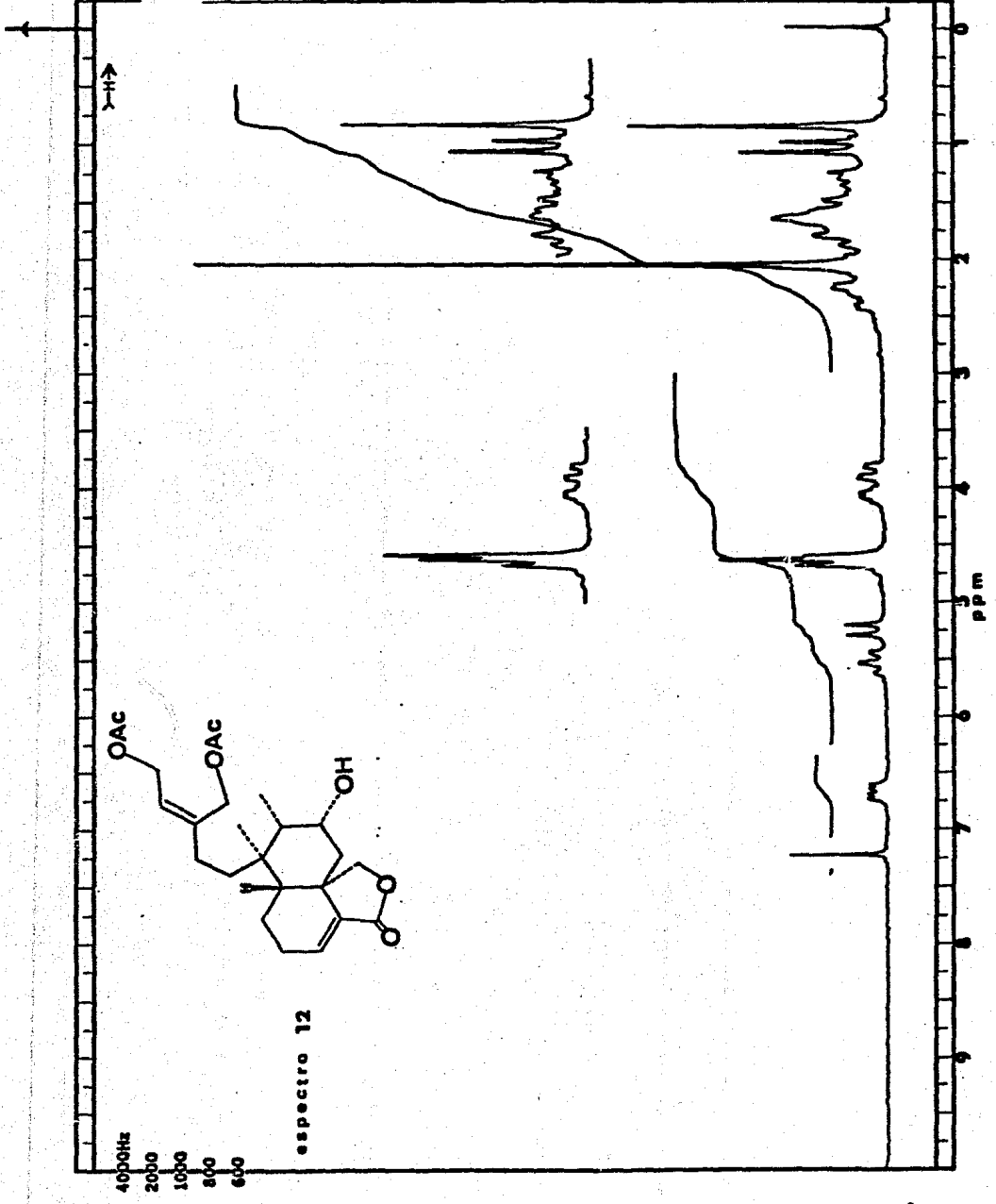
T A B L A

1

## C O M P U E S T O S

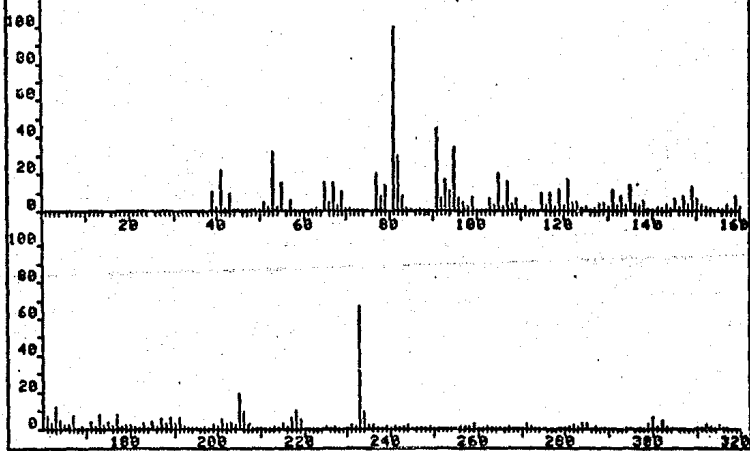
	"A"	"B"	"C"	"D"	"E"	"F"	"G"
H <sub>3</sub>	6.66 dd (7,2)	6.66 dd (7,2)	6.84 dd (7,2)	6.66 dd (7,2)	6.68 dd (7,2)	6.75 dd (7,2)	4.39 d (4)
H <sub>7</sub>	4.06 m	4.04 m		4.06 m	4.09 m	5.42 m	4.02 m
H <sub>14</sub>	5.85 m	5.55 m	5.89 m	5.50 t (7)	6.23 m	5.68 t (7)	6.20 m
H <sub>15</sub>			4.14 d (7)	4.64 d (7)	7.34 m	4.90 d (7)	7.30 m
H <sub>16</sub>	4.74 d (2)	4.11 d (2)	4.77 d (2)	4.65 s	7.19 m	4.80 s	7.15 m
H <sub>17</sub>	1.04 d (7)	1.03 d (7)	1.01 d (7)	1.03 d (7)	1.06 d (7)	0.99 d (7)	1.04 d (7)
H <sub>19</sub>	3.88 dd (7,2)	3.86 dd (7,2)	3.95 m	3.86 dd (7,2)	3.86 dd (7,2)	3.90 dd (7,2)	3.45 d (8)
	5.36 d (7)	5.32 d (7)		5.25 d (7)	5.27 d (7)	5.02 d (7)	4.60 d (8)
H <sub>20</sub>	0.92 s	0.86 s	0.70 s	0.86 s	0.87 s	0.96 s	1.14 s
	3.26 -OH	2.82 -OH		2.05 s O=C-CH <sub>3</sub>		9.37 9.60 -NH	4.65 H <sub>18</sub> 4.80 H <sub>18</sub>



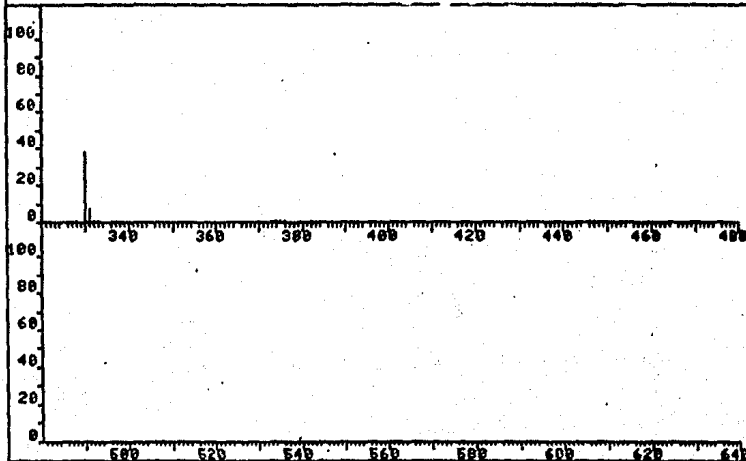


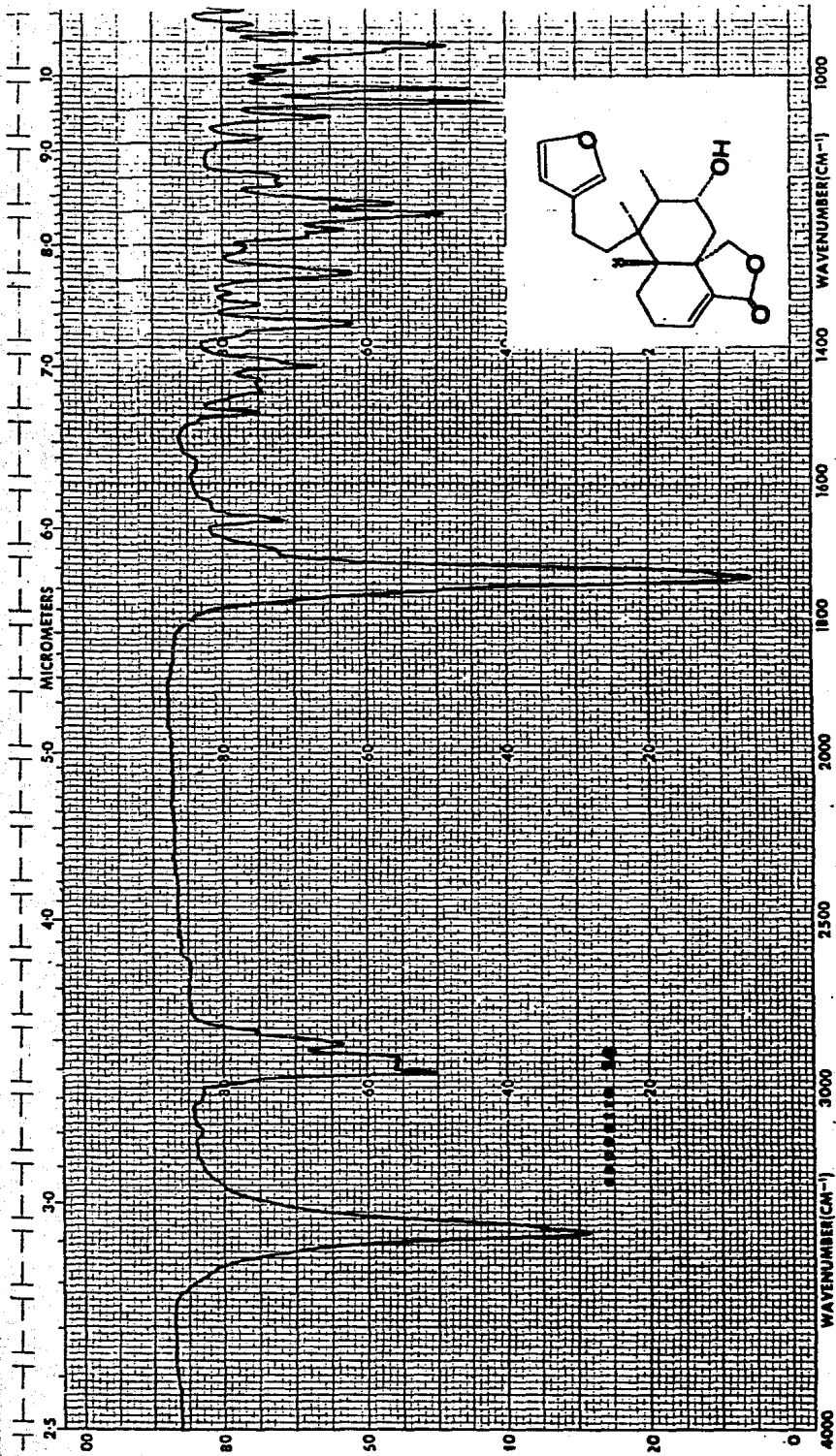
espectro 13

PKN 6366	SPECTRUM 79		RETENTION TIME 3.6	
LARGST 4:	81.1, 100.0	233.2, 66.3	91.1, 45.4	338.2, 37.7
LAST 4:	382.3, .5	383.4, .2	446.1, .8	447.1, .2
			PAGE 1	Y = 1.00

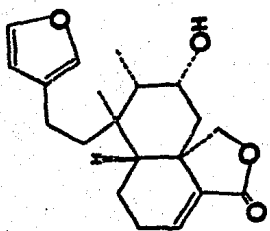


PKN 6366	SPECTRUM 79		RETENTION TIME 3.6	
LARGST 4:	81.1, 100.0	233.2, 66.3	91.1, 45.4	338.2, 37.7
LAST 4:	382.3, .5	383.4, .2	446.1, .8	447.1, .2
			PAGE 2	Y = 1.00







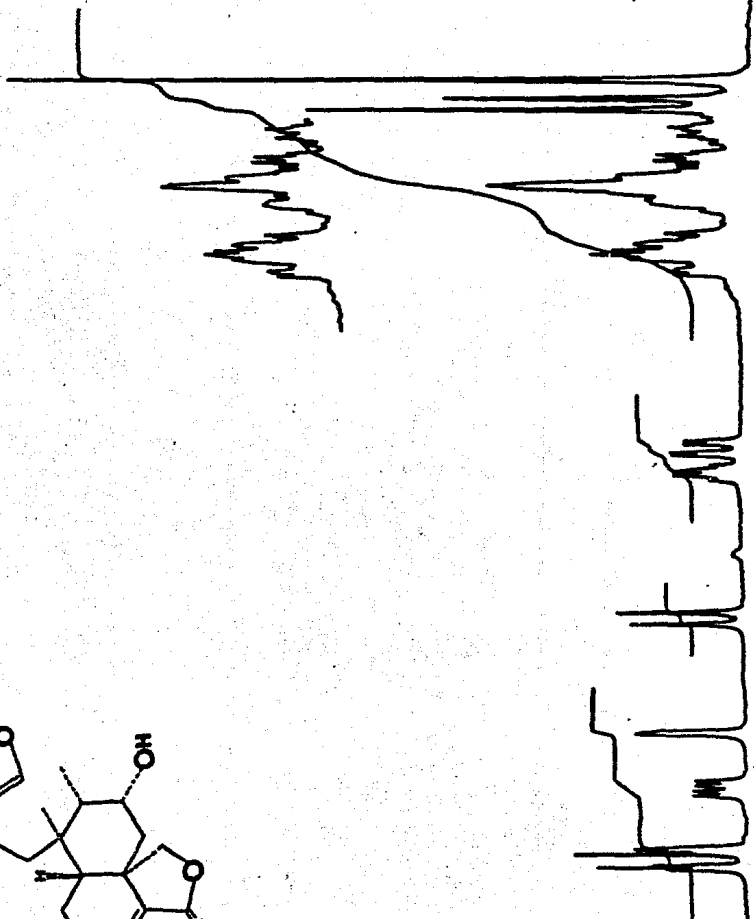


espectro 15

4000Hz  
2000  
1000  
800  
600

↑  
cm<sup>-1</sup>

ppm



Para obtener una información más completa de la estructura propuesta para el Compuesto "B", se determinaron los desplazamientos químicos de los núcleos de carbono que forman la estructura de esta molécula mediante el espectro de R.M.N. - $^{13}\text{C}$ , ya que esta técnica incorporada a la Química Orgánica como una herramienta de investigación analítica práctica, ofrece un mayor poder de resolución que la obtenida en la R.M.N. - $^1\text{H}$ .

Otra de las ventajas de esta técnica es la de poder observar los desplazamientos de los núcleos de carbono que no están unidos a átomos de hidrógeno (p. ej., carbonilos, nitrilos, ... etc.)

Mientras los espectros de R.M.N. - $^1\text{H}$  presentan numerosos sistemas de spin, lo que conduce al ensanchamiento de las señales de resonancia para la mayoría de los protones, en la R.M.N. - $^{13}\text{C}$  esta situación se controla, ya que el acoplamiento spin-spin se puede evitar.

El isótopo  $^{13}\text{C}$  tiene un spin nuclear de  $1/2$  (al igual que el hidrógeno); sin embargo la abundancia natural del  $^{13}\text{C}$  (1.1%) es lo suficientemente baja como para que las interacciones spin-spin sean poco probable en compuestos no enriquecidos, pero aún lo suficientemente grande como para que se considere útil para R.M.N. - $^{13}\text{C}$ . La resonancia de los núcleos carbonados de los compuestos orgánicos se presenta en una zona de desplazamiento químico de 600 ppm de amplitud, frente a menos de 20 ppm para los núcleos protónicos.<sup>23</sup>

Los valores de desplazamiento químico asignados a los diferentes núcleos carbonados del Compuesto "B", fueron determinados en base al desacoplamiento de hidrógeno (C-H), así se pudo determinar que la molécula cuenta con veinte átomos de carbono, de los cuales quince se localizan en posición de átomos de carbono con hibridación  $sp^3$  y cinco en posición de átomos de carbono con hibridación  $sp^2$ .

Las constantes de acoplamiento no se pueden determinar en experimentos de R.M.N.- $^{13}C$  cuando se usa el desacoplamiento protónico total de banda ancha entre (C-H). En el experimento de alta resolución de R.M.N.- $^{13}C$ , con desacoplamiento protónico parcial, es posible observar el acoplamiento residual  $^{13}C-^1H$  a un enlace de distancia.

Así, las señales cuadruples en 12.06 ppm y 19.03 ppm se deben a metilos. En la zona de bases oxigenadas tenemos cuatro señales: dos de ellas se asignan a carbonos secundarios que sostienen un grupo hidroxilo siendo señales triples en 57 ppm y 58.59 ppm; la señal doble en 70.67 ppm se debe a un carbono terciario que sostiene un grupo hidroxilo y la señal triple en 71.96 ppm se debe a un carbono unido a la base de un éster.

Por ser el Compuesto "B" poco soluble en cloroformo, fue necesario disolverlo en dimetilsulfóxido (DMSO), disolvente que presenta siete señales en su espectro de R.M.N.- $^{13}\text{C}$ . Se hizo una expansión en la zona de 0-50 ppm para apreciar el acoplamiento residual de las señales de los carbonos comprendidos en ésta zona y así poder asignarlos.

Se encontraron cinco señales: una señal triple que se atribuye a un carbono con dos átomos de hidrógeno, metileno; dos señales dobles debidas a carbonos con un átomo de hidrógeno, metinos y dos señales simples de carbonos completamente sustituidos.

En la zona de carbonos vinílicos aparecen cuatro señales, dos de ellas son doble en 126.24 ppm y 134.79 ppm de carbonos con un átomo de hidrógeno  $\text{*}\underset{|}{\text{C}}\text{-H}$  y dos señales simples en 138.97 ppm y 140.85 ppm de carbonos completamente sustituidos  $\text{*}\underset{|}{\text{C}}\text{-}\underset{|}{\text{C}}\text{-}$ .

En 169.09 ppm aparece una señal simple en el intervalo comprendido para carbonilos de éster.

Estos desplazamientos químicos se compararon con los valores publicados en la literatura de moléculas similares. (espectro 16) <sup>24</sup>

Los desplazamientos químicos del Compuesto "B" se enlistan en la tabla 2.

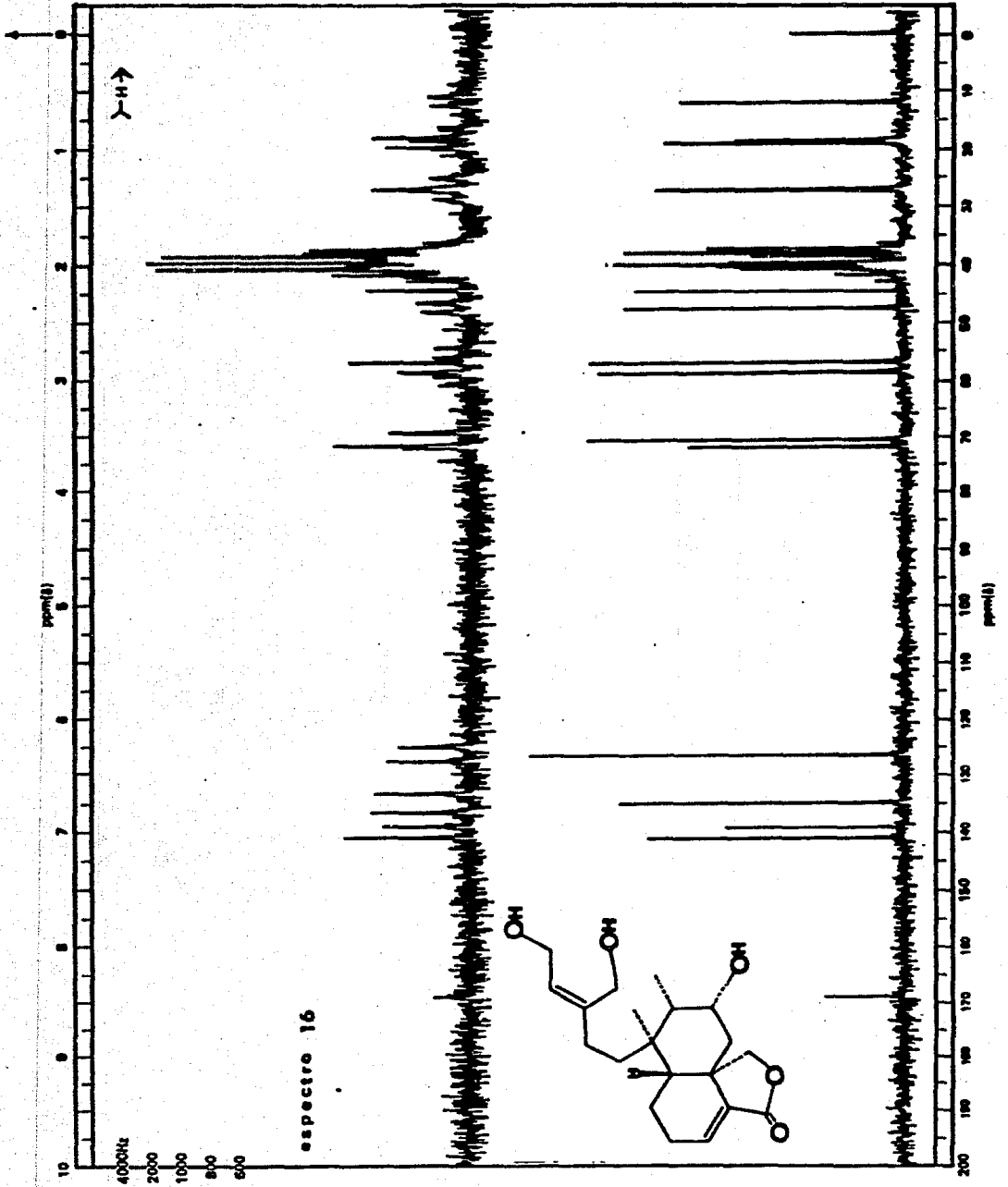
## T A B L A

2

ATOMO DE CARBONO	ppm	ATOMO DE CARBONO	ppm	ATOMO DE CARBONO	ppm
1	18.60 (t)	8	39.38 (d)	15	58.59 (t)
2*	27.15 (t)	9	37.35 (s)	16	57.00 (t)
3	134.79 (d)	10	47.62 (d)	17	12.06 (c)
4	140.85 (s)	11	38.05 (t)	18	169.09 (s)
5	44.58 (s)	12*	27.27 (t)	19	71.96 (t)
6	40.30 (t)	13	138.97 (s)	20	19.03 (c)
7	70.67 (d)	14	126.24 (d)		

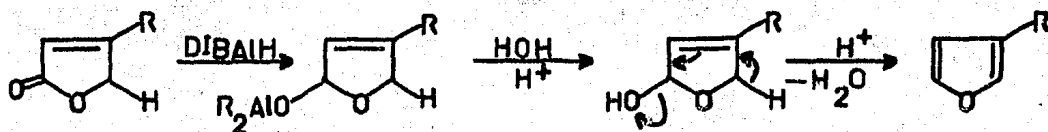
\*: Estos valores pueden intercambiarse.

El espectro se determinó en solución de Dimetilsulfóxido, (DMSO).



### Reducción del Compuesto "A" DIBAL-H (1).

Publicaciones consultadas indican que  $\gamma$ -lactonas  $\alpha$ - $\beta$  insaturadas pueden ser reducidas con hidruro de isobutil aluminio (DIBAL-H) al furano  $\beta$ -sustituido correspondiente. 27, 28, 29



Se ha encontrado que la relación molar apropiada para reducir el anillo de una lactona a furano es 1.2 : 1 (DIBAL-H - SUSTRATO), siempre y cuando no existan otros grupos carbonilos o hidroxilo en la molécula que disminuirían el rendimiento de la reacción.

Por tener la molécula que se hizo reaccionar un grupo hidroxilo, la relación DIBAL-H - SUSTRATO fue 2.2 : 1.

El producto de reducción del Compuesto "A" con DIBAL-H dio origen al Compuesto "E", Este compuesto se sintetizó anteriormente via oxidación del Compuesto "B". Los resultados de las constantes físicas y de los análisis espectroscópicos resultaron ser los mismos. (espectros 13, 14, 15] ver tabla 1, ver esquema 1.

#### Reducción del Compuesto "A" DIBAL-H (2).

Una nueva reducción del Compuesto "A" dio origen al Compuesto "G".

El espectro de Masas (espectro 17), muestra el ion molecular en  $m/z$  316, que está de acuerdo para la fórmula condensada  $C_{20}H_{28}O_3$ . Presenta el pico base en  $m/z$  81 ( $M^+ - (C_5H_5O)$ ), y como picos de mayor abundancia a  $m/z$  91,  $m/z$  95 y  $m/z$  41.

El espectro de I.R. (espectro 18) presenta una banda en  $3610\text{ cm}^{-1}$  debida a la vibración de estiramiento de grupo hidroxilo. Las bandas en  $3005\text{ cm}^{-1}$ ,  $2991\text{ cm}^{-1}$  y  $2877\text{ cm}^{-1}$  son vibraciones carbono-hidrógeno.

La banda en  $1677\text{ cm}^{-1}$  corresponde a la vibración C=C de un alqueno disustituido. En  $1160\text{ cm}^{-1}$  se encuentra la banda de un enlace tipo eter. Las bandas en  $1466\text{ cm}^{-1}$  y  $1502\text{ cm}^{-1}$  son características de un anillo aromático de cinco miembros. Las bandas en  $897\text{ cm}^{-1}$  y  $874\text{ cm}^{-1}$  son típicas de anillo aromático furano.



El espectro de R.M.N. (espectro 19) presenta en la zona de protones aromáticos el sistema característico de un furano  $\beta$ -sustituido, con protones  $\alpha$  en 7.3 ppm y 7.15 ppm ( $H_{15}$  y  $H_{16}$ ) y protón  $\beta$  en 6.2 ppm ( $H_{14}$ ). En 5.8 ppm y 5.65 ppm se encuentran dos señales simples que corresponden a protones vinílicos de un metileno terminal.

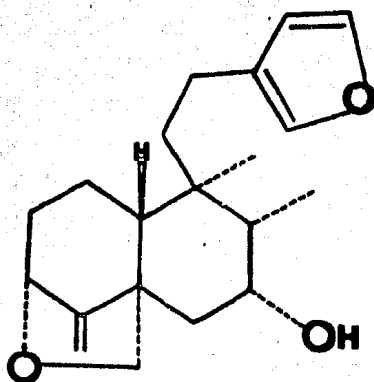
La señal doble centrada en 4.6 ppm,  $H_{18}$  endo, desprotegido por el grupo hidroxilo y la señal doble centrada en 3.45 ppm,  $H_{18}$  exo, con un ligero acoplamiento a larga distancia con el protón  $H_{10}$ , forman la parte AB ( $J=8$  Hz) de un sistema ABX.

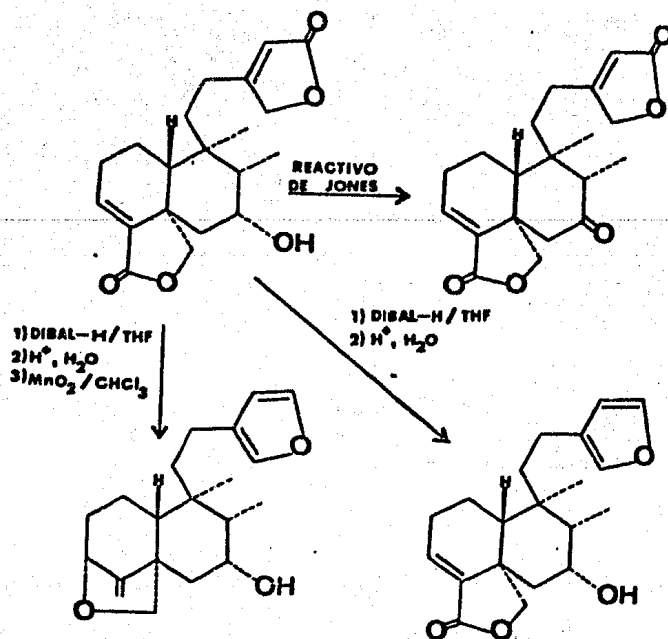
En 4.38 ppm se encuentra una señal doble ( $J=4$  Hz)  $H_3$ , con acoplamiento vecinal con un protón  $H_2$ .

La señal simple en 1.14 ppm que integra para tres protones es de un metilo sobre un carbono totalmente sustituido y la señal doble en 1.04 ppm ( $J=7$  Hz) que integra para tres protones es de un metilo sobre un metino.

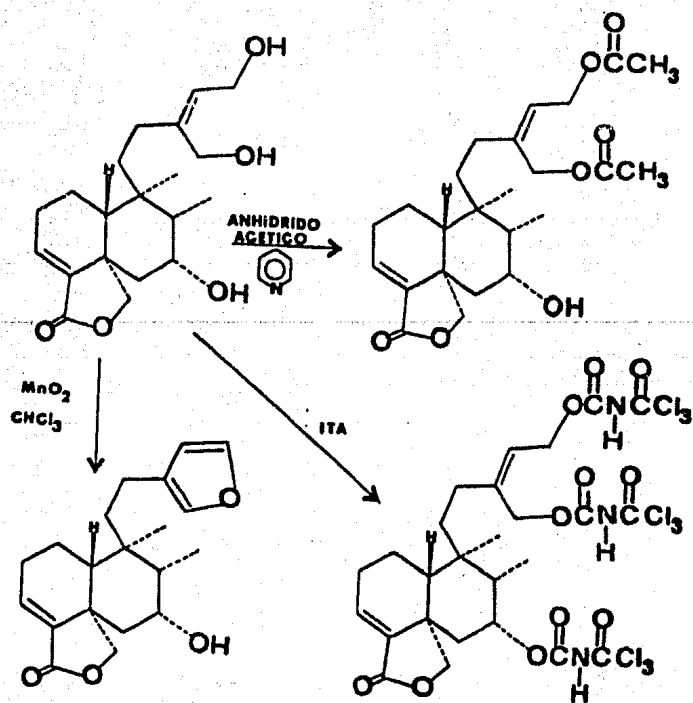
Al equilibrarse la muestra con agua deutérada, la altura relativa de la señal en 1.25 ppm disminuye debido a la presencia de un grupo hidroxilo.

Al efectuar el experimento de Doble R.M.N. irradiando el protón  $H_{18}$  endo en 4.6 ppm la señal en 3.45 ppm del protón  $H_{18}$  exo se simplifica dando una señal simple, al desaparecer el acoplamiento geminal entre los protones  $H_{18}$ - $H_{18}$ , (espectro 19).



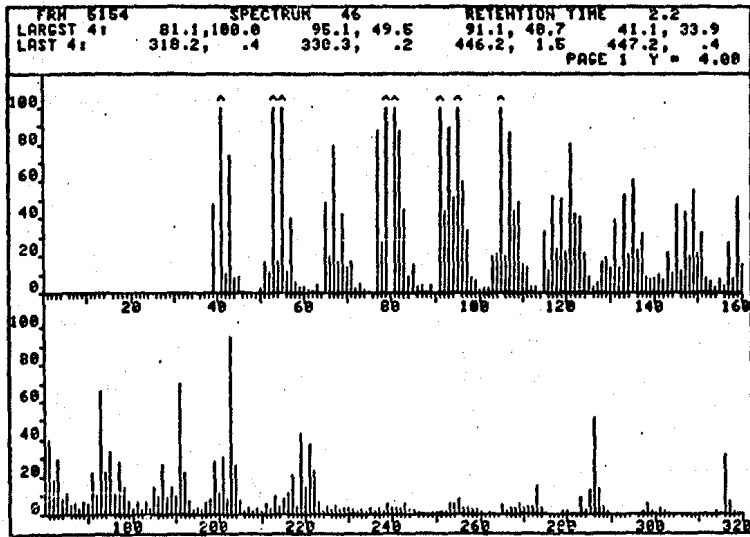
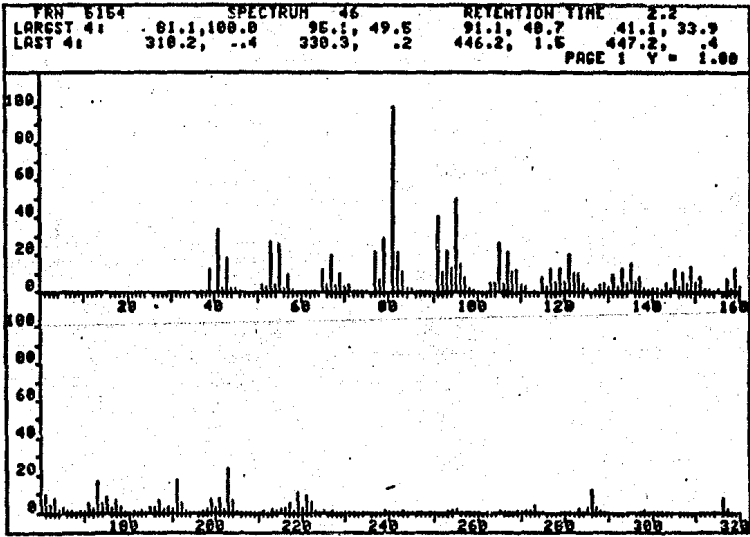


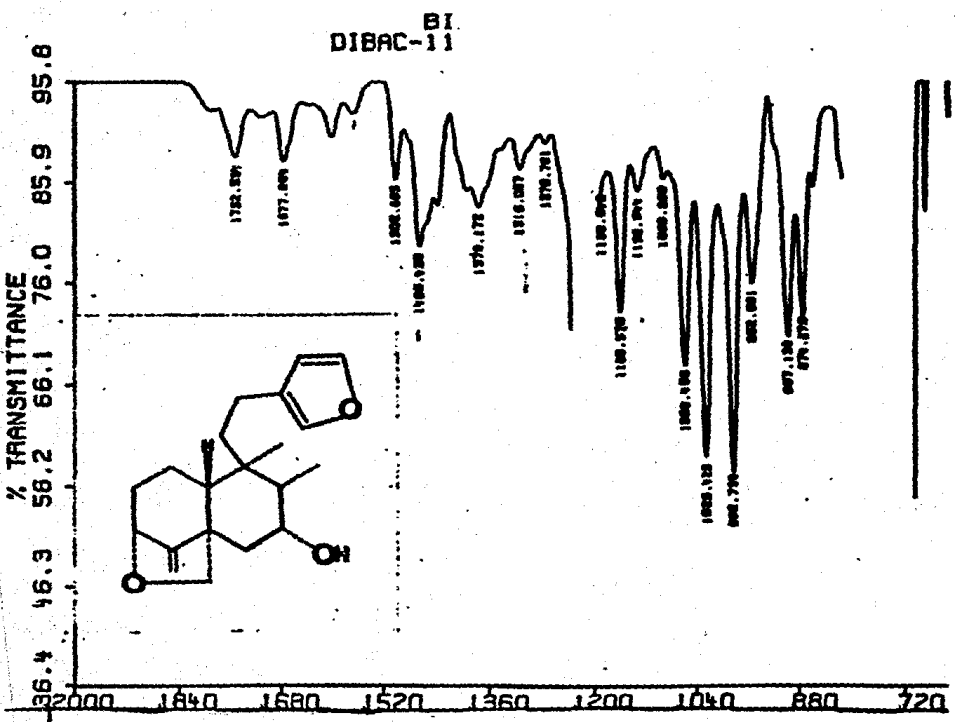
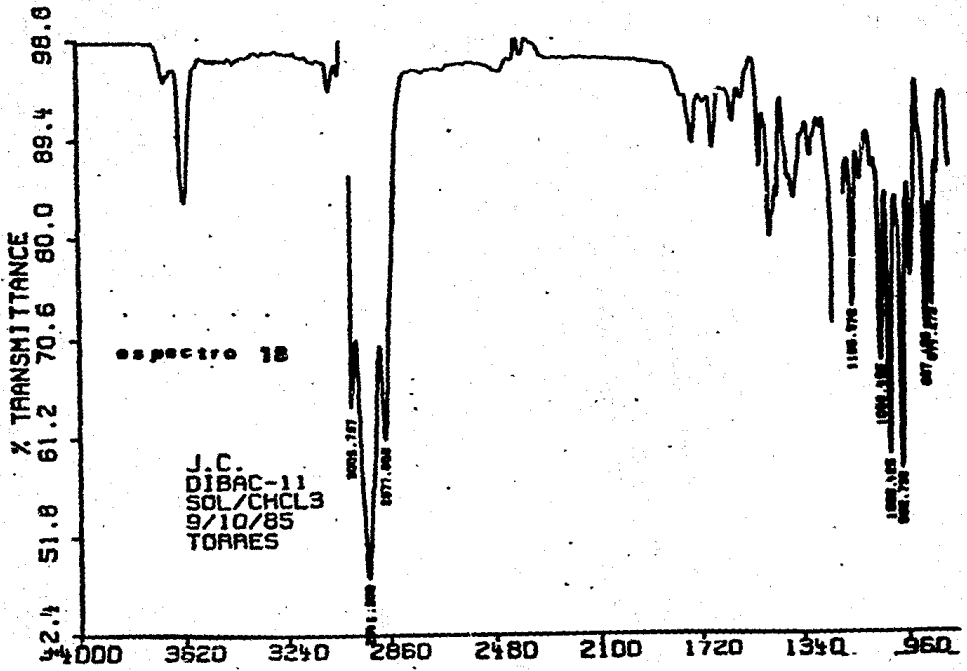
ESQUEMA 1

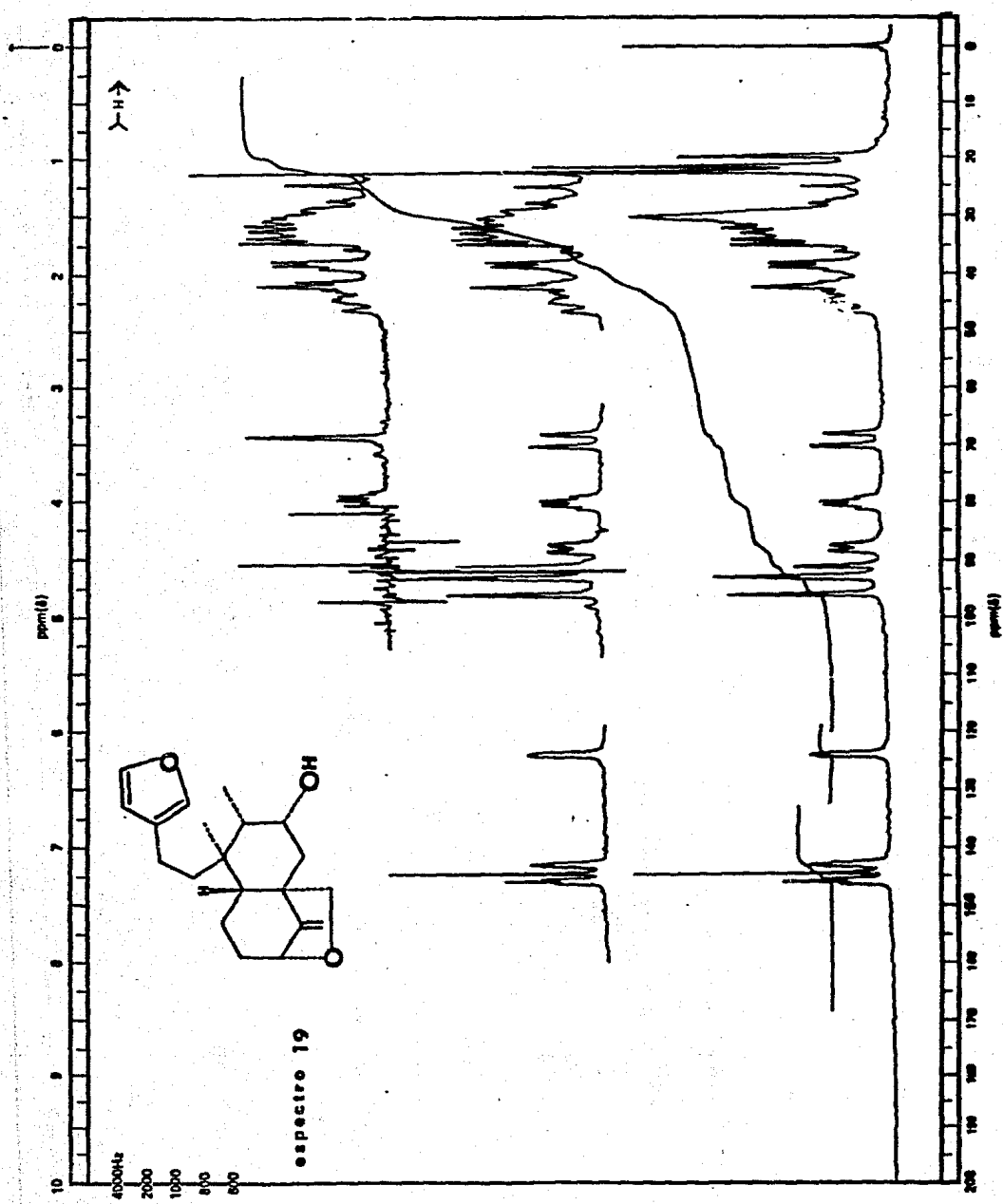


ESQUEMA 2

espectro 17







## CONCLUSIONES



## CONCLUSIONES

El análisis fitoquímico de *Salvia Melissodora* tuvo como resultado el aislamiento de dos diterpenos con esqueleto de clerodano.

El compuesto "A" fue aislado en grandes cantidades, por lo que será posible hacer pruebas de actividad biológica para verificar si posee actividad anti-alimentaria.<sup>30</sup> (antifeeding)

El compuesto "B" fue un nuevo diterpeno con esqueleto de clerodano, posible precursor del compuesto "A".

Las estructuras de estos compuestos se elucidaron en base a sus constantes físicas, algunas transformaciones químicas y la información proporcionada por técnicas espectroscópicas; determinándose su estereoquímica por medio de la correlación con las estructuras de compuestos ya conocidos.

En un estudio previo de *Salvia Melissodora* se aisló ácido melissodórico, diterpeno que se esperaba encontrar en esta ocasión nuevamente, lo cual no sucedió; probablemente por ser poblaciones diferentes de plantas.<sup>31</sup>

El producto de reacción, compuesto "E", se obtuvo por dos caminos distintos: oxidación del compuesto "B" y reducción del compuesto "A", correlacionando así la estereoquímica de estos precursores.

BIBLIOGRAFIA

## BIBLIOGRAFIA

1. Martínez, M., *Las Plantas Medicinales de México*, 4a ed., Ediciones Botas (1959).
2. Kozolkovas, A., *Compendio Esencial De Química Farmacéutica*, Editorial Reverté. España (1979).
3. O'Gorman, H., *Clasificación Botánica de Plantas Mexicanas*. Difusión Cultural Universitaria, U.N.A.M. (1970).
4. Herz, W., *Chemistry in Botanical Classification*. Nobel Symposia, 153 (1973).
5. Lozoya, X., *Flora Medicinal de México*. División de Biología Experimental. I.M.S.S. (1982).
6. Nakanishi, K., *Natural Products Chemistry Vol I*. Academic Press, Inc. (1977).
7. Ruzicka, L., *Experientia*, 9, 357 (1953).
8. Newman, A., *Chemistry of Terpenes and Terpenoids*. Academic Press (1972).
9. Goodman, L. S., *The Pharmacological Bases of Therapeutics*, 6a ed., MacMillan Publishing Co. (1968).
10. Geissman, T. A., *Organic Chemistry of Secondary Plant Metabolism*. Freeman, Cooper and Co. San Francisco, Cal. (1969).

11. Benfeld, P., *Biogenesis of Natural Compounds*.  
A Pergamon Press Book (1963).
12. Domínguez, X. A., *Métodos de Investigación Fitoquímica*, Ed. Limusa, México (1973)-
13. Herz, W., Pilotti, A. M., Söderholm, A. C., Shuhama, I. K. and Vich Newski, W. *J. Org. Chem.*, 42, 3913 (1977).
14. Wagner, H., Sectz, R. and Lotter, H. *J. Org. Chem.* 43, 3339 (1978).
15. Martínez-Ripoll, F. and Fayos, J. *J.C.S. Perkin I.* 1186-1190 (1980).
16. Rogers, D., Unal, G., Williams, J. and Ley, S. V. *J.C.S. Chem. Comm.* pag. 97 (1979).
17. Eliel, E. L., *Elementos de Estereoquímica*.  
Ed. Limusa-Wiley. México, (1970).
18. *La Química Contemporánea*. 3, Cap. 9 *Coordinación de la Investigación Científica*, U.N.A.M. México (1984).
19. Tonn, C. E., Gianello, J. C. y Giordano, O. S. *Anales Asoc. Quím. Arg.*, 67, 1-8 (1979).
20. Tonn, C. E., Gianello, J. C. y Giordano, O. S. *Anales Asoc. Quím. Arg.*, 68, 237-241 (1980).
21. Tonn, C. E. and Giordano, O. S. *Chem. Abs.* 93, 128732 (1980).

22. Bildet, D., Durgeat, M., Heitz, S., Brouard, J. P. et Ahond, A. *Tetrahedron Letters*, 32, 2773-2776 (1976).
23. *Carbon-13 NMR Spectroscopy*, Stothers, J. B. Cap 1 y 8. Academic Press, Inc. (1972).
24. Luteijn, J. M., van Veldhuizen, A. and de Groot, A. *Org. Mag. Res.*, 19, 2 pag. 95 (1982).
25. Fieser, L. and Fieser, M. *Reagents for Organic Synthesis*, Vol I pag. 200 John Wiley (1967).
26. Moore, R. E., Dietrich, R. F., Higa, T. and Scheuer, P. J. *J. Org. Chem.*, 40, 543 (1975).
27. Pelletier, S. W., Djarmati, Z. and Yang, T. C. *Tetrahedron*, 31, 1659 (1975).
28. Grieco, P. A., Pogonowski, C. S. and Burke, S. *J. Org. Chem.* 40, 542 (1975).
29. Minato, H and Nagasaki, T. *Chem. Comm.* 16, 377-379 (1965).
30. Wagner, R. *Rev. Lat. Quím.* 8, 16 (1977).
31. Rodríguez-Hahn, L., Martínez, G y Romo, J. *Rev. Lat. Quím.* pag 93-100 (1973).