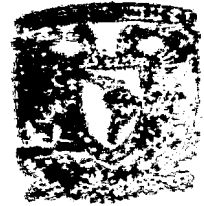




Universidad Nacional Autónoma de México

FACULTAD DE QUIMICA



EXAMENES PROFESIONALES
FAC. DE QUIMICA

"ACCION TOXICOLOGICA DE LA PLANTA DENOMINADA
CON NOMBRE COMUN ACUYO."

T E S I S

Que para obtener el Título de:

QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

P r e s e n t a:

LUISA ANDREA PORTOS PEREZ

México, D. F.

1983



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

1.- INTRODUCCION

El presente trabajo tiene como finalidad, proporcionar una información más amplia y actualizada de las más recientes investigaciones que sobre la toxicología de la planta comunmente llamada "Acuyo" se han hecho hacia el posible efecto toxicológico de la misma.- Además otro propósito es el de contribuir modestamente a la ampliación del conocimiento en la materia, pensando que sobre todo, será de utilidad su aplicación en la industria químico-farmacéutica y la industria alimenticia.

El mundo vegetal, no es solamente una fuente infinita de productos industriales, alimenticios y medicinales; sino también lo es en plantas que se utilizan como condimento, es decir, que estimulan el apetito ejerciendo su acción estimulante sobre las glándulas de secreción interna.

Hay infinidad de vegetales y plantas herbáceas, que encierran en sus diferentes órganos muchas cualidades de las que algunas han sido observadas y puestas en uso desde épocas antiguas, y luego fueron objeto de estudio químico-farmacéutico.

Entre los compuestos vegetales, los principios activos y excitantes de las plantas gracias a las cuales, éstas deben sus propiedades medicinales y de condimento, se encuentran los alcaloides y los glucosidos.

Se hace referencia de condimento, porque esta planta ha sido usada por el pueblo mexicano en medicina popular y sazón de alimentos como: pescado, tamales, carnes y frijoles negros.

En las comunidades tropicales, la dieta siempre ha contenido monótonos productos principales de consumo, tales como: granos o raíces amiláceos. Como consecuencia, no es de sorprender-

se que en los países tropicales el uso de especias llegara a ser muy importante desde una etapa temprana de la historia.

Las especias son materiales comestibles que se consumen no tanto por su valor alimenticio, como por sus cualidades aromáticas y sazonadoras. El sabor y el aroma se debe a aceites esenciales que son sustancias orgánicas de composición variada, que por lo general tienen moléculas relativamente pequueñas que los hacen volátiles. Los aceites esenciales con frecuencia pertenecen al grupo químico de los hidrocarburos llamados terpenos.

Las especias suelen tener, tres funciones en la dieta. En primer lugar, evitan la monotonía; en segundo lugar, disfrazan el sabor desagradable que no es fresca (cuestión im-portante en las regiones tropicales, antes de que existiera la refrigeración); en tercer lugar, aumenta el ritmo de sudoración y por lo tanto, ocasiona refrescamiento del cuerpo (otra cosa importante en las regiones tropicales). Además de estas cualidades, existen otras como por ejemplo se dice que ayudan en los procesos digestivos; también que actúan como conservadoras y que se han utilizado como desodorantes.

Otra de las cualidades de las especias no es propiamente alimenticia, sino de tipo económico pues se ha usado en el intercambio comercial como dinero.

Algunos autores, afirman que esta planta (Acuyo) es el mecaxochitl (flor en forma de cordel), que servía antiguamente a los aztecas para aromatizar el chocolate. En medicina popular las hojas se estiman como estimulantes, analgésicos,

estomáticos, diaforéticos, diuréticos, etc. Se le conoce también como tlanepaqueelite, hierba santa, hojas de anís, momo y x-mak, - cordoncillo, hoja de jute, santa maría, aclipur, Matamoros.

11.- GENERALIDADES.

La utilización de plantas medicinales en la vida de los pueblos se ha basado en la antigua sabiduría. En muchos casos, es sorprendente el "instinto" seguro con que los pueblos primitivos elegían a las plantas eficazmente, para el tratamiento de determinadas enfermedades.

La iniciativa de encontrar una explicación racional a la eficacia de las drogas, se presenta apenas algunos años atrás: esta explicación, se caracteriza por el estudio de la investigación química de las plantas medicinales tomando en cuenta las pruebas farmacológicas para aclarar las preguntas acerca de su eficacia.

Un requisito importante para estas investigaciones, al cual no siempre se le concede una debida atención, es la definición exacta del material de investigación. ¿De qué serviría al investigador aislar una droga de un material eficaz y aclarar hasta lo último su constitución química, si no sabe con absoluta seguridad cuál fue el material que tuvo en sus manos, o si la siguiente prueba o algunas posteriores serán idénticas a la primera droga enviada?. Sólo bajo estos requisitos, son reproducibles los resultados de las investigaciones relacionados con la eficacia de una droga.

Se presenta por lo tanto, la exigencia práctica de caracterizar el material de investigación con la mayor exactitud posible formando de esta manera una base científica para futuras pruebas de pureza e identidad.

Tratándose de droga todavía desconocida, debe asegurarse la procedencia botánica de la droga por medio de investigaciones ana

tómicas comparativas lo más exacto posible con material auténtico de jardines o herbáceos.

La familia de las piperáceas, se ofrece para un estudio comparativo de esta naturaleza, ya que en esta familia con sus propiedades anatómicas específicas, también son consideradas apropiadas para una diferenciación taxonómica de las especies.

Con motivo del aniversario de la muerte de Alexander Von Humboldt (año 1970), el Museo Botánico y el Jardín Botánico en - Berlin Danhle, realizaron una exposición de sus trabajos originales acerca de plantas recopiladas a lo largo de sus viajes por América; mismos que dió a conocer en Europa en el siglo pasado. Entre dichas plantas se encuentra el *Piper auritum* (Acuyo) que sirvió para dar la primera diferenciación anatómica de la especie.

En varias regiones del mundo, la planta es conocida con diferentes nombres. (Standley, 1920): "Momo" (Tabasco); "Xmaeolan" (Yucatán, Maya); "Acuyo" (Veracruz); "hoja de la estrella" (Costa Rica); "hoja de jute", Juniapara (Guatemala); Matorro (Honduras); -- "Momo" (Yucatán).

Las hojas frescas se utilizan en Costa Rica para los dolores de cabeza, y las heridas inflamadas. (Pitier, 1908). En la flora de Cuba (León y Alain, 1951) dicen que las hojas *Piper auritum* son eficaces como diaforéticas, diuréticas y estimulantes; y que se utilizan contra las anginas, erisipela, fiebre, gota y reuma, así como en tumores. También se dice que el dolor de cabeza mejora colocando las hojas frescas, sobre la frente. En Veracruz y en Guatemala, se utilizan las hojas como condimento (Standly y Styermark,-

1952). También se preparan con las hojas, un té refrescante (Blake 1922).

III.- ORIGEN BOTANICO.

Sub-División	Angiospermas
Clase	Dicotyledonea
Familia	Piperácea
Genero	Piper
Especies	Aurítum Sanctum

En México, Acuyo es nombre común a dos especies: *Piper sanctum*, y *piper auritum* H.B.K.

Como pertenece a la clase de las dicotiledoneas, difieren de las monocotilédoneas, no sólo por el número de hojas embrionales sino, además de sus propias hojas con herbadu--
ras reticuladas, por sus flores generalmente penta o tetrá--
mera, por la disposición cíclica de los hacecillos conducto--
res del tallo y por la existencia del cámbium, se clasifi--
can en los siguientes puntos:

- A.- Sin pétalos, o con pétalos libres entre sí... Ar--
quiclamideas.
- B.- Con pétalos concrecentes en mayor o menor exten--
sión... Metaclamideas.

ORDEN PIPERALES.

Flores desnudas o raramente con periantio sencillo. Es
tambres en número muy variable, desde uno o diez. Carpelo -
de I a 4 libres o concrecentes. Flores muy pequeñas, en es-
piga.

Piperáceas.- La mayoría de las piperáceas son arbustos trepadores confinados en los trópicos. Sus flores son hermafroditas o unisexuales, dispuestas en espigas densas; --son desnudas, y están protegidas únicamente por una bráctea. Las masculinas poseen dos ovarios estambres; las femeninas, un ovario unilocular con un sólo óvulo ortátropo; --en las hermafroditas (figura I) los órganos sexuales tienen análoga constitución y guardan proporciones semejantes. El fruto es una baya drupiforme.

Las semillas poseen peri y endopermo, con un embrión muy pequeño, en todos los órganos de estas plantas se hayan células oleíferas. (figura 2).

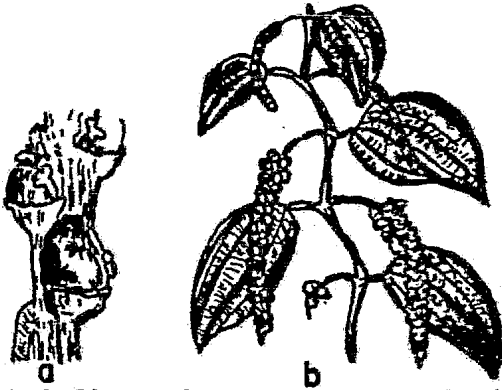


FIGURA 1-Piper nigrum. a, fragmento de una es-
piga con flores hemafroditas, muy
aumentado; b, ramita con infrutes-
cencias.

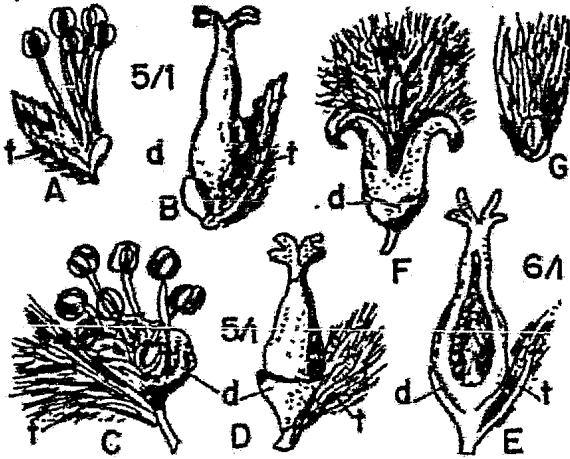


FIGURA 2- A, flor masculina, B, flor femenina de
salix pentandra: t, bráctea d, disco. C-G
popula tremula, C, flor masculina, D,
flor femenina, E, sección longitudinal de
la anterior, t, bractea, d, disco, F, fruto
abierto con la salida de las semillas,
G, semilla en sección longitudinal con
largos pelos.

PIPER auritum H.B.K.- Es una especie de amplia distribución en el trópico americano. Fue descrita originalmente de Veracruz. Al igual que otras especies de este género es muy variable, en especial en la forma y tamaño de la hojas, sin embargo por la presencia de su base desigualmente auriculada sus hojas grandes, penninervias, delgadas (en seco), pubescentes y su peciolo alado es fácilmente reconocible.

Especie típica de la vegetación secundaria (a menudo dominante) en regiones húmedas desde el nivel del mar hasta los dos mil metros.

PIPER Sanctum.- No se debe mantener como especies distintas. Las diferencias que se han propuesto son fundamentalmente en caracteres vegetativos, tales como números de nervios y forma de la base de la hoja. Esas diferencias están basadas en caracteres extremadamente variables y en un mismo ejemplar se pueden ver varios tipos de hojas.

Se caracteriza por sus hojas gruesas, grandes 12-22 cm. de largo por 8-13 cm. de ancho, secándose de color verde claro por su nervadura palmatinervia con sus nervios de igual grosor y amarillentos, su peciolo vaginado casi en su primera mitad y por su inflorescencia de igual tamaño o más grande que las hojas.

IV.- PRUEBAS DE IDENTIFICACION DE LA PLANTA.

Estudio anatómico-histoquímico (realizado en la Universidad libre de Berlín, por la L. Langhamer, en el año de 1970).

Eje de retoño: corte transversal por un internodo. Al aumento con una lupa muestra la disposición del Haz de guía: dentro de un círculo periférico de haces de guías, se encuentran otros haces de guías distribuidos en el centro (figura 3).

El estudio microscópico muestra aisladamente lo siguiente: - la epidermis esta recubierta con una cutícula de mediano grueso - Aisladamente pueden observarse cabellos glandulares bicelulares y cabellos de recubrimiento de células múltiples. - Después de -- cuatro a cinco capas de células parenquimatosas, sigue una zona de paquetes colenquimatosos extendidos tangencialmente (figura - 3.a). Se trata de colenquimas angulares estando extendidas las - células en dirección longitudinal del órgano. - Adosadas al tejido colenquimatoso se encuentran aisladamente células escleroquimas, leñosas con apariencia de fibra (figura 4).

En la corteza parenquimatososa anexa (de cinco a diez rayas - de células) están incrustados idioblastos aislados, de amplia abertura, pero leñosos y manchados. - La endodermis se decarrolla en forma ondulada y sus células tienen un punto caspérico ----- (figura 4.a y 4.b). En la periferia del cilindro central se encuentra un anillo de haces guías, en los cuales se alterna - un grande con uno pequeño. - Ese anillo de haces guías está limitado hacia la parte interna por una vaina escleróquina cerrada (figura 4.a), que se adapta en forma muy ajustada a los haces guías, que resalta entre ellos hacia la periferia del brote de una manera que resulta línea ondulada uniforme de pequeños y grandes arcos. En la médula se encuentran otros haces guías.

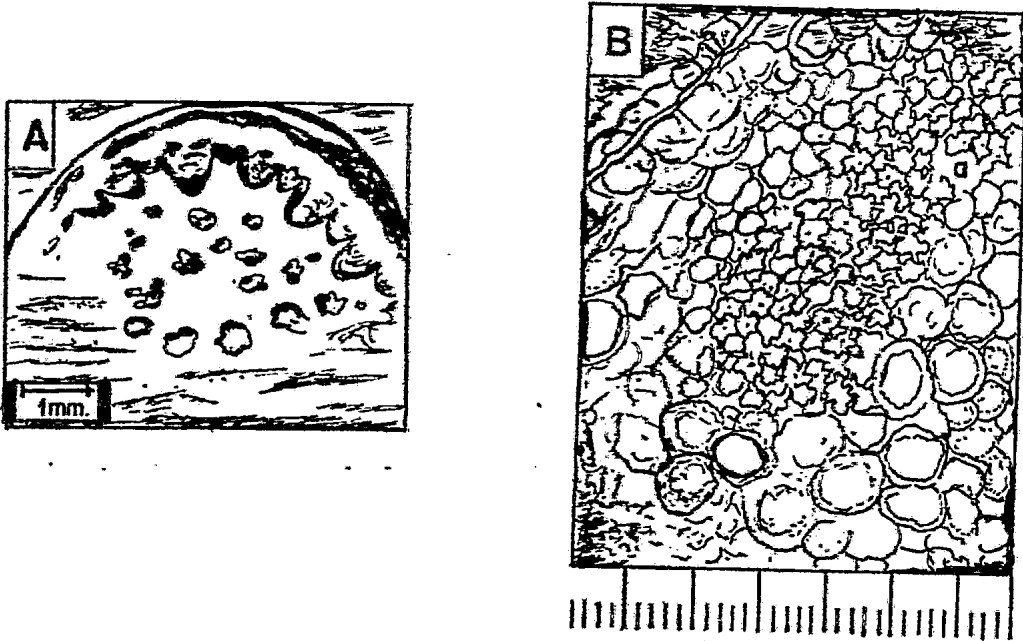


FIGURA 3- Corte transversal (corte efectuado con hoja de rasurar)
Por un internodo abajo de la hoja en la parte inferior
de un retoño.(preparado en solución de clorhidrato).
A Perspectiva.
B Corte con a=Colénquima, b=Idioblasto. Aumento:
1 raya divisoria=10µm.

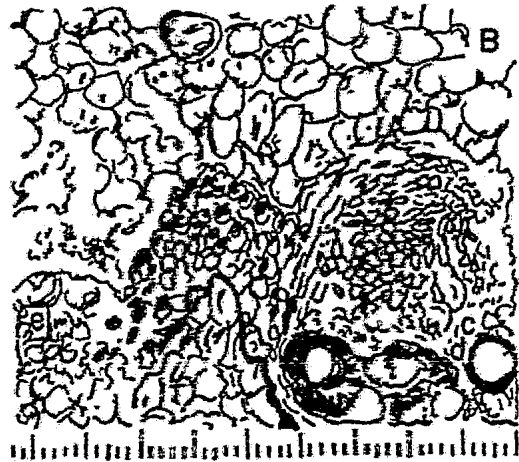
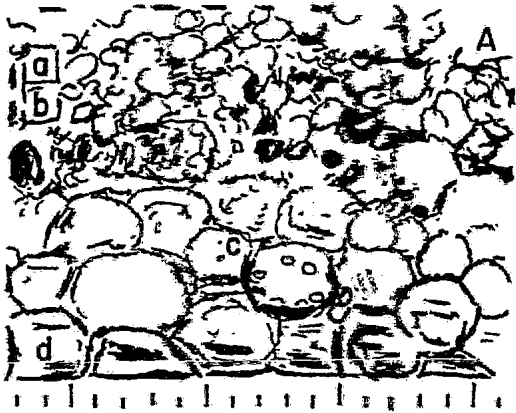


Figura 4. Secciones transversales (hechas con hojas de rasurar) por un internodo abajo de la hoja en la parte inferior de un retoño, preparado con solución de clorhidrato.

A a= colenquima, b=escleroquima, c=ideoblasto, d= parénquima de cortesa.

B b= endodermis, b= floema, c= cambium, d=xilem, e= vaina medular.

C a= endodermis con punto caspárico; Aumento: 1 raya divisoria = 10 μ m.

Estos no están ordenados en círculos sino más o menos en forma de una espiral. Su parte leñosa está casi siempre orientada hacia el centro. Todos los haces guías están construidos colateralmente abiertos su cambio está claramente formado. Algunos haces - guía (lo mayores) tienen además en la periferia la parte fil---trante un pequeño grupo de esclerénquimas leñosas. La médula no tiene cavidades.

Tampoco se encontraron ductos de viscosidad, ni aún en el tallo de la hoja. Las células de excreción se localizaron en los haces guía así como en los tejidos básicos de los brotes. Sus parénquimas, ligeramente engruesadas y con manchas están totalmente rellenas de almidón. Además se encuentran pequeños cristales aislados, o bien, agujas de cristal, varias en una célula, sobre todo en la periferia de los brotes.

La parte inferior de la hoja de las plantas se ha desarrollado como vaina de la hoja estrechamente ajustada, consistiendo la hoja superior de un corto peciolo y el lombo, que se ha desarrollado en punta. La forma básica de la hoja es en forma sesgada de corazón. La hoja está cubierta abundantemente de pelos especialmente en las orillas y en los nervios. Estos pelos de recubrimiento --pelos orgánicos en una sola hilera son de miembros cortos y se adelgazan desde una base más ancha hacia la punta, Su largo varía desde unas cuantas células hasta aproximadamente quince. La base del pelo está engarzada por una corona de células epidérmicas. La cutícula de los pelos está fuertemente rallada longitudi-

nalmente en forma ondulada (figura 5). Además tiene en ambos lados de la hoja pequeños pelos glandulares de dos células - en forma de maza, preferentemente en la parte inferior de la hoja lleva grandes glándulas en forma de perlas unicelulares (figuras 6 y 7) que son visibles macroscópicamente y que se desprenden con facilidad al tocarlas mecánicamente.

La parte superior de la hoja tiene pocas estomasas anocísticas, y la parte inferior abundante, cuyas células de cierre se encuentran fuertemente elevadas sobre la superficie de la hoja y están abovedadas por listones cuticulares.- La hoja está construida en forma de dorsiventral, la hipodermis consiste de una serie de grandes células rectangulares - (figura 5), y la parénquima depalizada de dos hileras de células bastantes cortas.

Abundantes células de excreción mayores que las células vecinas (figura 5), con contenido traslúcido. Cristales en forma de aguja o de bastón, encontrándose conjuntos abundantes. El nervio central de la hoja sobresale fuertemente en el lado inferior y contiene dos haces guías sin cambium. Está rigizado por pocas colénquimas de células pequeñas, y sus parenquimas son ricas en cristalitos.

El brote es largo en forma de rodillo siendo su diámetro aproximadamente de tres mm. Las flores tienen tres estigmas y un depósito de semilla. Sus filamentos están estructurados el endotello tiene forma de estrella, el polen es pequeño y redondo. Entre las flores se encuentran pelos de recubrimiento en forma de un moño con apariencia de pincel. En el tejido básico del eje de la flor se encuentran numerosos-

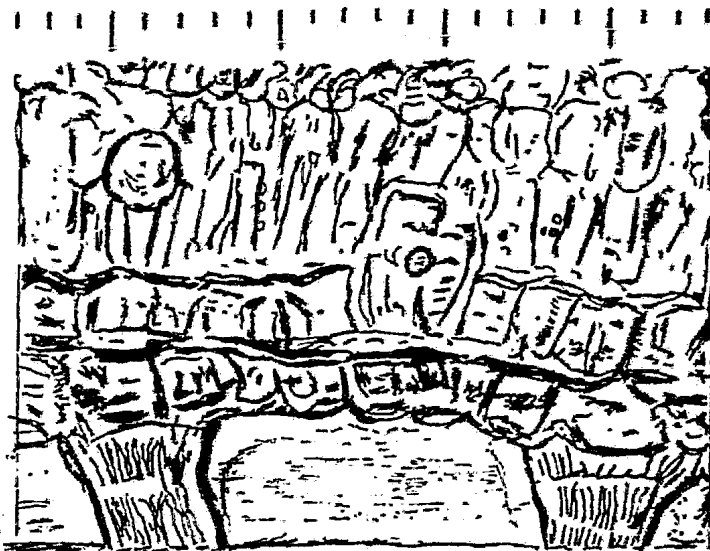


Figura 5. Corte transversal (ejecutado con hoja de rasurar) por la hoja, preparado en solución de clorhidrato
a = hipodermis, b = célula de excreción
Aumento: Traya divisoria = 10 μ m

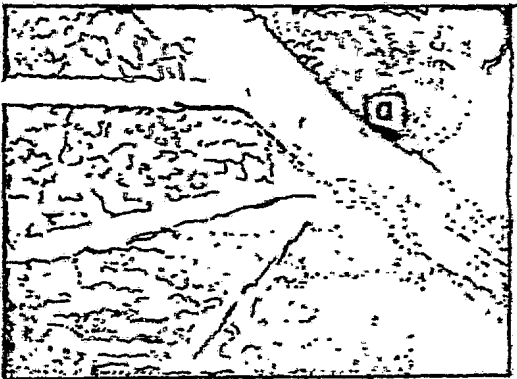


FIGURA 6. Fragmento de hoja
vista desde arriba.
a=Glándula en forma
de perla.



FIGURA 7- Glándula en forma de
perla.
AUMENTO: 1 raya de division=10µm.

crystalitos aislados.

Produjeron una reacción positiva de acuerdo con Wiesner (con ácido clorhídrico-floroglucina) los ejes del brote, los vasos, las células de la esclerénquima de los límites de médula los idioblastos de la corteza, las "células de bastoncillos" unidas a la colénquima así como las células esclerénquimas en la periferia de las partes filtrantes; en el nervio de la hoja solamente vasos.

La cutícula se coloró de rojo con sudglicerina así como las gotas fuera del haz de guía periferia.

El contenido de las células parenquimatosas proporcionó una verificación positiva de almidón con solución de Lugol.

Después del tratamiento con azul de metileno se enriqueció el colorante en las partes filtrantes; no se comprobaron ductos de mucosidades. La reacción de acuerdo con Lindt (con ácido clorhídrico de vainillina) fue negativa en todos los tejidos. La planta, tiene un fuerte olor aromático.

Con ácido sulfúrico concentrado se coloró el contenido-incoloro en la planta fresca de las glándulas de forma de perla inmediatamente de rojo, y posteriormente también el contenido de las pequeñas células de excreción. Una investigación cromatográfica de gas de las excreciones de la glándula en forma de perla que se habían preparado dió por resultado un máximo con el mismo tiempo de retención que el safrol (de acuerdo con Zuñiga, 1956 debe contener el aceite etérico de la planta un elevado porcentaje de safrol). Después del secado (herbarización) quedaron coloreadas las glándulas en for-

ma de perla de color café obscuro. También se observó la indicada coloración negra postmortal citada en la literatura - (Trelease- Yuncker 1950) de los tejidos que con frecuencia - se tiñen de negro.

RESUMEN:

Una minuciosa caracterización anatómica- histoquímica - de *Piper auritum* H.B.K. debió proporcionar la base para futuras comprobaciones de identidad y pureza de esta planta medicinal utilizada en la medicina popular.

La condición, que para determinadas indicaciones solamente podían utilizarse hojas frescas, hace pensar que estas sustancias activas estaban enriquecidas en las fácilmente -- desprendibles glándulas en forma de perla y por lo tanto en la droga solamente estaban contenidas en una medida más escasa que la planta fresca. Además se presentan en las glándulas perlíferas modificaciones químicas postmortales, que se manifiestan por coloración café en las glándulas perlíferas-frescas, se localizan entre otras sustancias el safrol.

La coloración obscura postmortal de los internodos y la reportada terapia de heridas inflamadas con esta planta medicinal hace pensar que debiera comprobarse la presencia de iridoides por medio de investigaciones químicas.

V.- PRINCIPIOS ACTIVOS

Ofelia collera Zuñiga de la Facultad de Química de la UNAM, llegó a la conclusión (año 1956) de que a partir del aislamiento de los componentes de la planta estudiada, se encontraba el safrol en una proporción del 47% al 50%. Siendo este aceite no reportado en ninguna otra familia de las Piperaceas. Otra probabilidad mencionada: "aún cuando no se logró una identificación total del compuesto es que contenga α -terpineno en un porcentaje del 34%".

A su vez, determinó las constantes químicas y físicas del aceite:

D_4^{20}	0.97836 a 0.07036
n_D^{20}	± 0
n_D^{20}	1.5051 a 1.5200
Índice de acidez	0.0
Índice de esteres	0.9
Índice de esteres de acetilar	13.5
Compuestos carbonílicos por absorción con bisulfito de sodio	0.0

Los estudios más recientes (1970-1976 Universidad de Berlín), sobre la planta en cuestión han sido realizados por diferentes investigadores que hicieron su propio análisis y descripción, tanto botánica como química, partiendo de material fresco mandado de México de la provincia de Veracruz por el botánico Gómez Pompa de la Universidad de México. Encontraron los siguientes principios activos.

A.- Piper Sanctum

- 1.- Cinamilida Butenolida
- 5.- -(metoxi)- cinamilidena-4-metoxi-but-3-enolida
- 2.- Una nueva Pirona Kawa
- 5.- metoxi- 5,6 dehidrometisticina
- 3.- 5-acetoxi-6-metoxikawain.

B.- Piper Auritum

- 1.- Alcaloides de tipo aporfina
Cefaradiones A y B

Piper Sanctum.- Cinamilida Butenolida. Aislada por Rudolf Hansel del Instituto de Farmacognosia de la Universidad Libre de Berlín y Andre Pelter Departamento de Química Universidad de Manchester (6 de junio de 1970).

De las raíces del Piper Sanctum se aisló una sustancia para la cual se sugirió la denominación piperolida.- Se determinó la constitución. Se trata de 5-(metoxi)- cinamilidena-4 metoxi -but-3-enolida.

Por lo tanto un representante de un ácido tetrónico sustituido (5-ilideno-0-ácido tetrónico metílico), que se encuentran en las plantas superiores. La piperolida (III) va acompañado de otra sustancia el derivado del bióxido de metileno de III (= MDO-III).

Se quería hacer una diferenciación de los géneros relacionados de Oceanía, ejemplo, Piper methysticum y géneros relacionados que contienen 4-metoxi -6-aril-pirona y las especies de Piper de las Américas que hasta la fecha no habían sido investigadas con la finalidad que desde el punto de vista fitoquímico comparativo pudieran encontrarse una relación con los grupos prehistóricos de O-

ceañia.

Pirona Kawa, 5 Metoxi-5,6-dehidrometisticina, un componente menor del Piper sanctum.- Aislado por Rudolf Hansel, Carola-Baer y Jutta Schulz del Instituto de Farmacología y Fitoquímica de la Universidad Libre de Berlín, D-100 Berlín 33 (Dahlen), Konigin-Luise-Str, 2-4 (30 de Mayo de 1973).

Las raíces leñosas del arbusto mexicano Piper sanctum, contienen pequeñas cantidades de una nueva lactona de tipo Kawa, - con una función adicional de oxígeno como metoxilo en la parte-acetogénina de la molécula.- La estructura se estableció por un estudio de datos espectrales de la sustancia aislada en sí, así como la de aquellas de sus tetrahidroderivados, cis-4, 4,5-dimetoxi-6-(3,4 metilen-dioxistiril)-2 pirona, que se obtuvo por una síntesis con hidroxilación (con óxido de Selenio $O\ SeO_2$) de metisticina en posición c-5, por metilación ($CH_3\ J/AgO$), y dehidrogenación (clorano), resultando ser idéntica al producto natural.

La lactona contenida en la raíz y los brotes de este arbusto puede considerarse como análoga de 5 miembros de la conocida pirona del tipo Kawain-Yangonin, también con efectos farmacológicos parecidos a la pirona Kawa, en donde domina el perfil de efectos de la butenolida del componente anticonvulsivo.

La sustancia dudosa 5b, agujas amarillas (de acetona) y -- con punto de fusión 255-261 °C es un hidrófilo más fuerte comparado con las lactonas principales 6_a y 6_b que aislaron anteriormente, se produce por una separación de columna cromatográfica (gel Sílica, bencol /acetona 9:1) en las fracciones que se desplazan con mayor lentitud.- La fórmula bruta $C_{16}H_{14}O_6$ (M^+ ; me + 302) muestra 6 átomos de oxígeno, que se puedan coordinar fácilmente a un metilendioxigrupo (NMR en DMSO: 2H (s) τ 4.06; IR (KBr): 920, 2780 cm^{-1}), dos metoxigrupos (NMR: 3H (S) τ 6.35 y 3H (S) 6.15 y un anillo de α pirona (IR: I 700 y I 810 cm ; ver⁵). -El espectro de UV es excepción hecha de un desplazamiento batocromico de 9nm. de la banda de ondas largas y de cubrimiento idéntico con el espectro del 5,6- dehidrometisticina sintetizada anteriormente⁶ (5a).- En vista de esto podría tratarse en la -- nueva sustancia de un 5,6- dehidrometisticina con un grupo meto

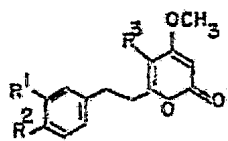
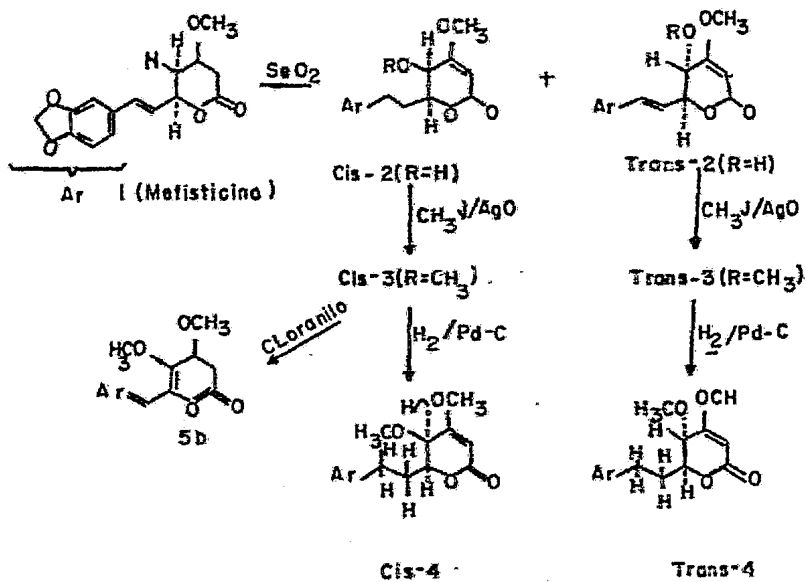
ni adicional en la molécula.- La posición del grupo OCH_3 se obtiene de la comparación de los espectros NMR de 5_a ; el doblete que se presenta en 5_a con la $\tau + 4.42$ (acoplado con $J \sim 3\text{Hz}$ en una de -- por $\tau = 3.75$) está repuesto en 5_b por $\tau = 4.35$, por lo cual de acuerdo con⁷ debe coordinarse la señal con un campo más profundo al protón C-5, y en un campo más elevado al protón C-3 del anillo de pirona.

En concordancia con observaciones anteriores en 4-metoxi-6-estiril-2-pirona es posible obtener la transformación catalítica de 5b (Pd- carbón, H_2) en un tetrahidroderivado, en lo cual absorbe rápidamente la primer mol de H_2 y la segunda con mayor lentitud según Achonbach y col.² observan que nuestro método conduce a mezclas de sustancias difícilmente separables de variables grados de hidratación.

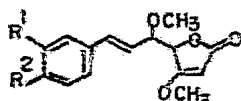
En contra de esto obtenemos siempre el tetrahidro producto, - cuantitativo (comprobado DC) unitario, cristalizable en el cual naturalmente son inevitables las pérdidas por la elaboración de microcantidades. Teóricamente es de esperarse la formación de dos tetrahidroproductos isómeros de acuerdo con la disposición de los sustituyentes en C-5 y C-6 del anillo de dihidropirona. En analogía al método publicado recientemente sobre hidroxilación de 4-metoxi-5,6-dihidropirona por medio de S_2O_2 .

Se sintetizaron con fines comparativos los dos isómeros cis-4 y trans-4. Por comparación los puntos de fusión presentan de acuerdo con lo esperado escasas diferencias, ya que para la representación de las sustancias sintéticas comparativas cis-4 y trans-4 se partió de metisticina natural con C-6 asimétrico (NMR, IR-espectros; DC) las sustancias sintetizadas con el tetrahidroproducto natural se demostró que se forma de manera ampliamente preferida el derivado cis y aun cuando no puedan comprobarse escasas cantidades de trans-unión (comprobada por DC) en las legias madres.

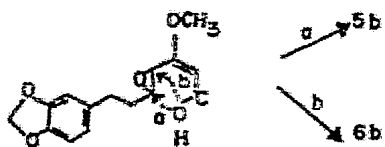
La identidad de estructura del cis-4 natural con el sintetizado 5,6 -cis dihidro-4,5-dimetoxi-6 (3,4-metilendioxfenetil) -2-pirona es demostrativo para la constitución de 5b. Además de esto han sintetizado aún la materia natural del 5b, y ésta se efectuó partiendo de cis-3 por deshidratación por medio cloranil.



	R ¹	R ²	R ³
5a	-OCH ₂ O-	H	
b	-OCH ₂ O-	CH ₃ O	
c	-CH ₃ O	HO	H



	R ¹	R ²
6a	H	H (Piperclida)
b	-OCH ₂ O-	(DIGN-Piperclida)



La nueva lactona Kawa aislada de Piper Sanctum mostró en todas sus propiedades (punto de fusión mezcla-fusión, UV, resonancia magnética nuclear, espectros masivos o cromatografía) concordancia con la 4,5-dimetoxi-6-(3,4-metilendioxiestiril)-2-pirona sintética (=a 5-metoxi-5,6-dehidrometicina). La ilustración muestra los espectros de sobreposición de IR del 5b natural al sintético.

No sabemos que se haya sintetizado hasta la fecha cloranil para la deshidratación de 5,6-dihidro-2-pirona-derivados a 2-pirona. Parece ser que no es utilizable en general, y de acuerdo con experiencias cuando menos no se sustituye el resto de estirilo por un resto de fenitilo₁₀.

Si se compara la construcción de la nueva pirona 5b con el butenolido 6b preponderante cuantitativamente en la planta, presiona la formación de una inmediata preescala de biogénesis conjunta por ejemplo a la formulación como epóxido 7, lo que conduce a una alternancia de los epóxidos después de la deshidratación a ambos tipos de lactona, al tipo de piperolidas² y a la lactona kawa. Debemos hacer notar en este sentido que hace poco tiempo³ pudo aislarse de una planta igual una epoxipiperolida (7,8-epoxi-6a). Este trabajo se formó a partir de resultados experimentales que se encuentran en preparación de G. Beer, Berlin 1974.

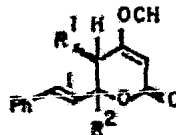
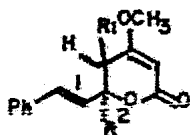
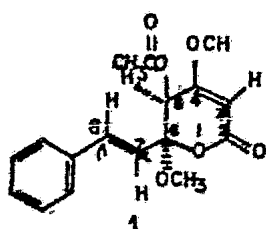
Parte experimental.- Pirona Kawa, 5,6-dehidrometicina, generalidades. Punto de fusión: microscopio Kofler de mesa caliente; - espectros de IR; fotometrospectral Leitz-Tnicam-SP 200 G, KBr Pressingen (aprox. 1.2 mg./150mg.) como medio diluyente (4mg./litros); espectros NMR; aparato Varian modelo s-60 y modelo Varian HA-100, - CD cl₃ 6 DMSO como diluyente, TMS como estándar interno, indicaciones del desplazamiento químico (punto de gravedad) como valores. - Espectros de MS: GH7 Varian MAE, Bremen, con 70 eV y temperatura variable, que siempre fueron indicadas. El MS de alta dilución fue tomada por A. Pelter Doctor en filosofía del Colegio de la Universidad de Swansea. Los análisis C, H se llevaron a cabo en el laboratorio analítico de la empresa Shering AG, Berlín.

REFERENCIA BIBLIOGRAFICAS.

- 1.- R. Hansel und J. Schulz, Chem. Ber 106, 570 (1973).
- 2.- R. Hansel und A. Pelter, Phytochemistry 10, 1627 (1971).
- 3.- A. Pelter und R. Hansel, Z. Naturforsch. 27B, 1186 (1972).
- 4.- Sch. Khezerlu, Neuropharmakologische Untersuchung eines Cinnamyliden-butenolids aus Piper sanctum, Dissertation Univ. Freiburg 1972 (leitung: R. Kretzchmar).
- 5.- L. Chmielewska, J. Cieslak, K. Gorcaynska, B. Kontnik y K. Pitakowska, Tetrahedron 4, 36 (1958); D. Herbst, W. B. Mors, O. E. Gottlieb y H Rimpler, Z. Anal. Chem. 207, 270 (1965).
- 6.- R. Hansel, L. Langhammer y H. Rimpler, Arch. Pharmaz. (Weinheim) 300, 157 (1967).
- 7.- P. Beak y H. Abelson, J. Org. Chem. 27, 3715 (1962).
- 8.- F. Werny y R. Hansel, Naturwissenschaften 50, 355 (1963)
- 9.- H. Achenbach, W. Karl y W. Regel, Chem Ber. 105, 2182 (1972).
- 10.- R. Hansel y J. Schulz, inédito hasta la fecha.

5 acetoxi -6metoxikawain del Piper sanctum y síntesis de ambos diasterómeros. Aislada por Rudolf Hansel, Andrew Pelter, Julita Shulz y Carola Hille del Instituto de Farmacología y fitoquímica de la Universidad Libre de Berlin, D-1000 Berlin 33, Konin-Luise-Str. 2-4 y el Depto. de Química del Colegio Universitario de Swansea, y Singleton Parl, Swansea Sa 28 PP, - Reino Unido (diez de septiembre de 1975).

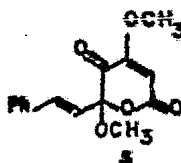
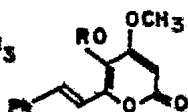
De la raíz de Piper sanctum se aisló otro derivado de Kawaina con la constitución de configuración I. La determinación de la configuración relativa se basó en el comportamiento químico y en los espectros de ambos epímeros 2c y 3c sintetizado. En unión con CD resulta, que I, representa, el enantiómero --- (5s,6s) - (+) con giro a la derecha del sintetizado rel-(5s,6s) - (+) - 5-acetoxi-4,6-dimetoxi-6-trans-esterilo-5,6-dihidro-2H--pirano-2-ona-(2c).



	R ¹	R ²
2 a	OH	H
b	OH	OCH ₃
c	OAc	OCH ₃
d	OAc	H
e	H	H

	R ¹	R ²
3 a	OH	H
b	OH	OCH ₃
c	OAc	OCH ₃
d	OAc	H

4a: R=COCH₃
b: R=H



La fórmula estructural 1 ha sido asignada a un nuevo derivado kawaina. La incógnita de la relativa estereoquímica -- fue solucionada por un estudio de las reacciones químicas y -- los espectros de los diastereoisómeros 2c y 3c sintéticos. La curva CD mostraba que uno era el dextrorotatorio (5s, 6s)- (+) --enantiómero de la sintética rel-(5s,6s) -(+) -5-acetóxi-4,6-dimetoxi-6- trans-esterilo, 5,6-dihidro- 2H-pirana-2Hona-(2c).

Continuando las investigaciones anteriores sobre las materias contenidas en Piper sanctum^{1,2} aislaron del extracto -- de cloruro de metileno una sustancia que se desplaza en gel -- de sílice con comparativamente la misma velocidad en rendi--- miento de 0.15% (relacionados al extracto, es decir, 0.004/ 1000 relacionado a la droga (partes de la raíz). La sustancia $C_{17}H_{18}O_6$ se diluye como la kawaina (2c) en ácido sulfúrico -- concentrado (reacción de goteado) amarillo naranja; también -- en el espectro ultravioleta se muestra una concordancia ---- (1: λ_{max} . 245 nm, $\xi = 28740$; 2e: λ_{max} . 245 nm, $\xi = 25700$, --- mientras que en el espectro IR (KBr) de 1, apenas se encuen-- tran las bandas en 1640 (C=C) y 1720 cm^{-1} fuera de la re--- gión esperada de la 4 -metoxi -5,5 -dihidro-2-pirona hasta la fecha conocida³. Una absorción de estercarbonilo a 1250 cm^{-1} provienen en concordancia con el NMR (CD cd^3 , 3-singulete de protones a $\tau = 8.09$), de un grupo acetilo. Bajo la influen--- cia de alcalis se forman de 1 a varios productos de reacción, entre ellos uno con fluorescencia azul, que en el DC muestra un comportamiento igual al sintetizado 5-hidroxi-4, metoxi -6 -trans-estirilo-2-pirona (4b) con finalidades comparativas. -- De esta manera representa 1 un 5-hidroxi-derivado kawaina.

A diferencia de la kawaina (2e) se presentan en 1 en NMR ambos estiril protones trans- constantes no como partes AB de un sistema ABX sino como un sistema AB sencillo ya que C-6 de la kawaina tiene que cargar un sustituyente, para lo cual solamente interesa el segundo metoxilo (3 -sin guletxde protones con $\tau = 6.65$ adicional a 4-OCH₃ $\tau = 6.22$). Con constitu--- ción de un 5-acetoxi-5-metoxikawaina está el espectro masivo- en concordancia: sobre todo han encontrado para la kawainela-

cis o bien trans (2a, o bien 3a) típicos, fragmentos de la masa 114⁺ provenientes de la descomposición RDA también en 1 como máximo básico que se presenta, pero adicionalmente un fragmento de masa más elevado (m/e = 156) con la diferencia correspondiente a un H₂C = C = O resto.

Una molécula de la constitución indicada tiene dos centros de quiralidad, uno de ellos en cuarto de átomo C, por lo cual se dificulta la determinación de la configuración relativa. Por ejemplo, de la constante de acoplamiento en NMR o químicamente por oxidación de peryodatos después de la transformación al diol. Por lo tanto, hemos sintetizado los 2 posibles epimeros 2c y 3c. Partiendo de las parcialmente sintéticas, accesibles e¹ (6SR) -4,6-dimetoxi-6-trans-estirilo-5,6-dihidro-2h-pirano, 2,5 diona (5) se obtuvieron por lo pronto por reducción de borhidruro de sodio los dos alcoholes epimeros 2b y 3b que es posible separar en gel de silicio. El acetato 2c muestra en DC el mismo comportamiento de curso que la materia natural; además, coinciden los espectros NMR. Aunque los puntos de fusión de la materia natural opticamente activa (1) y del racemato 2c no difiere mucho (1: Schmp. 178-180° c; 2c: Schmp. 153-155° c), no solamente son iguales en su cubrimiento los espectros de superposición Ia de ambas sustancias en la solución (CHCl₃) sino también los datos obtenidos con KBr (ver figura).

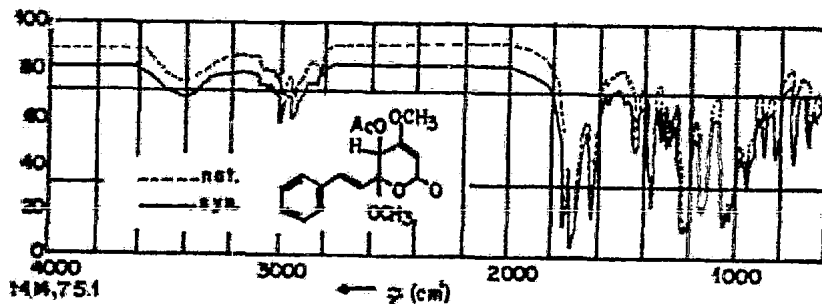
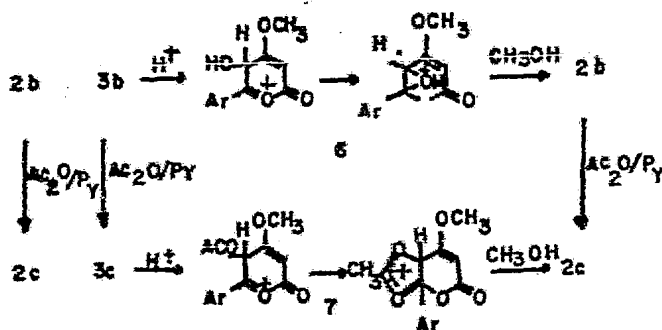


FIGURA : Espectro IR (KBr) del (+)- Natural y del (+)-2c sintético.

1 representa por lo tanto una de las dos formas de enantiómeros de la unión sintetizada (+) -2c.

El problema básico consiste ahora en la subordinación de ambos epímeros sintéticos a las fórmulas 2c y 3c. Catalizado-ácido bajo condiciones benignas (20 minutos a 40° c, con un intercambiador de iones Dowex en metanol) puede epimerizarse 3c prácticamente en forma cuantitativa a 2c, que es estable - bajo estas condiciones, es decir, que no proporciona 3c. En la misma forma se comportan los alcoholes (3b-2b; 2b= 3b). En analogía a una isomerización que se desarrolla en forma parecida en un átomo de C quetalico cuartero en las arboreolas⁵ - parece ser altamente probable que esta epimerización se lleva a cabo en el centro lábil del C-6. Esta epimerización controlada palmariamente cinéticamente se aclara en la forma más sencilla por efectos de grupos adyacentes⁶; los productos intermedios de tipos de iones 6 o bien 7 de oxoniocarbonio reaccionan con metanol bajo formación de productos de reacción trans-diaxiales, y conducen en el caso anterior a epímeros rel-(5s-6s) y que se caracteriza por la trans- constancia de ambas funciones de O.



Puede tomarse en cuenta otros argumentos pero todos ellos descansan sobre la hipótesis que el bloqueado resto de estirilos en C-6 del anillo de pirona estas dispuestos ecuatorialmente. Aunque esta es admisible para kawaina y 5-hidroxi kawaina⁷ no puede excluirse⁸, sin embargo, una modificación de conformación debido a acetilación. No obstante, el presente caso y debido a la sustitución adicional de 6-metoxilo- la disposición-axial de los metoxilos y por lo tanto la ecuatorial de los restos de estirilos es desde un principio muy probable por otro motivo: utilizando modelos de tres factores puede aclararse -- que coinciden todas las características que condicionan el llamado efecto de anomería⁹ en la serie de azúcar con las pironas es decir el grupo electronegativo 6-OCH₃ toma una posición axial en atención al vecino anillo-O.

En caso que las anteriores disertaciones sean correctas, entonces deben estar dispuestas en caso de 2b (y por lo tanto también 2c) el 5-H es casi ecuatorial, en caso de 3b (y por lo tanto de 3c) casi axial en el anillo de pirona. Realmente favorecen esta aparición los valores encontrados cada vez para las sustancias 2a y 3a, cuya conformación y configuración relativa es conocida, como modelo (tabla I).

El grupo 5-hidroxi o bien 5-acetoxi estaría en caso de 2b (o bien 2c) casi axial, en caso de 3b (o bien 3c) casi -ecuatorial.

Por la literatura¹⁰ es conocido que los epímeros con hidroxilo o alcoholilo ecuatorial se adhieren con mayor fuerza - al oxido de aluminio que los de hidróxilo axial; esto conduce-

con relación a los valores R_F al siguiente pronóstico: 3a > 2a, > 3b > 2b y 3c > 2c... La tabla I muestra que siempre es éste el caso.

Tabla I. Constantes de acoplamiento y desplazamiento químico (100 MHz, DMSO, acoplamiento "Spinen") de racem. cis - y trans- kawainol (2a y 3a), cuya conformación y configuración relativas son conocidas⁴ y los valores correspondientes de los pares de epimeros derivados kawain 501. -- Condiciones DC: placas terminadas Merck, tipo T, óxido de aluminio F 254, neutral; ciclohexano/acetato etílico (1:1 v/v); cámara saturada; ascendiente; iterizando (2 veces); comprobación por descarga de fluorescencia de la lámpara de cuarzo para análisis. (UV 254 nm).

Subs- tancia						
2a	4.80	6.03	(m)	1.0	Casi -e	(5S,6S) 20
b	4.80	6.19	(dd)	1.0	casi -e	(5S,6S) 32
c	4.71	4.46	(s)	1.0	casi -e	(5S,6S) 83
3a	4.82	4.87	(m)	0.5	casi -a	(5R,6S) 11
b	4.85	5.64	(s,br)	0.5	casi -a	(5R,6S) 20
c	4.63	4.22	(s)	0.5	casi -a	(5R,6S) 74

Aun otro argumento lo presenta el desarrollo de la reducción por hidruro de boro; 5-2b (25%) + 3b (75%). Se muestra con toda claridad la formación preferente de los epimeros con 5-OH ecuatorial, que es explicable, porque -

el ion BH_4^- - voluminoso, hidratizado, ataca preferentemente por el lado de menor obstrucción (dirigida contrariamente al 6-OCH₃ axial). Esto significa nuevamente una preferencia de los epimeros composición casi de ambas funciones O (3b).

De lo anterior se desprende que a la unión 2c y por lo tanto también a la materia natural 1 le corresponde la configuración relativa con la disposición más trans-constante de ambas funciones O y una conformación con una disposición casi axial - aún de estas dos funciones O. Entonces, se obtiene para 1 la configuración absoluta con ayuda del dicroísmo circular. El DC positivo de la banda R ($\lambda_{m\acute{a}x}$ 253nm; $\Delta\epsilon = +12.28$) puede coordinarse, observando la regla encontrada para tales sistemas y la comparación empírica con kawaina y las pironas a ellas relacionadas¹¹ a la materia natural 1 la configuración (6S), de lo cual, tomando en cuenta la configuración relativa para el centro quiralidad en C-5 continúa la configuración (5S).

La configuración y constitución indicada para 1 pudo demostrarse¹² definitivamente por análisis estructural con rayos X - después de la terminación de nuestras investigaciones.

Parte experimental. acetoxi-6-metoxikawain. Punto de fusión: microscopio Kofler de mesa caliente; espectros IR; Unicam SP200G; espectros UV; Zeiss PMG-II; espectros NMR; Varian S-60 y Varian HA-100, TMS como estándar interno; espectros MS; CH7 - Varian MAT, Bremen y AEIM S9 (70 eV), temperatura de calentamiento siempre indicada; valores de giro; polarímetro de luz eléctrica Perkin- Elmer 141, exactitud de lectura (digital) 0.001°; análisis CH: laboratorio microanalítico J. Beetz, 864 -

Kronach; cromatografía: placas terminadas DG del gel de sílice 60F 254 "Merck", condiciones estándar (véase para esto E. Sthal en cromatografía de capa delgada) Editorial Springer, -- Berlín, Heidelberg, Nueva York, 1967, Segunda edición, p. 85).

BIBLIOGRAFIA

- 1.- R. Hansel J. Schulz y A. Lenschke, Chem. Ber. 107, 3337 - (1974).
- 2.- 2a) R. Hansel y A. Petter, Phytochemistry 10, 1627 (1971--
2b). A. Petter y R. Hansel, Z. Naturforsch. Teil B27, 116 (1972).- 2c) R. Hansel G. Beer y J. Schulz, Chem. Ber. 106, 3119 (1973).
- 3.- R. Hansel, H. Rimpler y L. Langhammer, Z. Analit. Chem. -- 218, 346.
- 4.- 4a) H. Achenbach y G. Wittmann, Tetrahedron Lett. 1970, - 3259 4b) R. Hansel y J. Schulz, Chem. Ber. 106, 570 (1973).
- 5.- A.S.R. Anjaneyulu, K. Jagannohan Rao, V. Kameswara Rau, L. Ramachandra Row, C. Subrahmanyam, A. Pelter y R.S. Ward, - Tetrahedron 31, 1277 (1975).
- 6.- B. Capon, Q. Rev. Chem. Ber. 107, 735 (1964).
- 7.- H. Achenbach und N Theobald, Chem. Ber. 107, 735 (1974).
- 8.- T.J. Danielson, E.M. Hawes y C.A. Bliss, Can J. Chem 40, - 711 (1962).
- 9.- E.L. Eliel, N.L. Allinger, S.J. Angyal y G.A. Morrison, -- Conformational Analysis, capítulo 6, Interscience Publ, -- Nueva York 1965.
- 10.- E.L. Eliel, Stererochemie der Kohlenstoffverbindungen, S. 270, Verlag Chemie Weinhe/Bergstr. 1966; I.T. Edwards y -

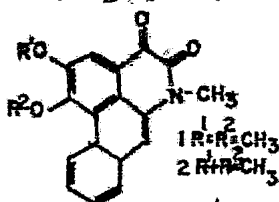
I. Puskas, Can. J. Chem. 40 711 (1962).

11.- G. Snatzke y R. Hansel, Tetrahedron Lett. 1968,1977.

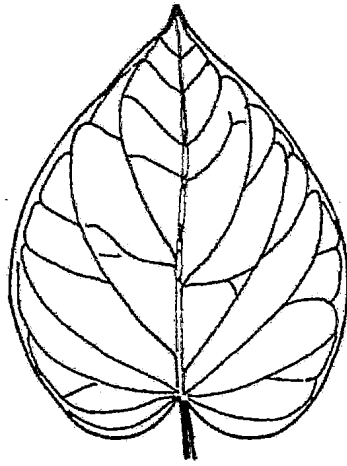
12.- V. Zabel, G. Ruban, C. Hille y R. Hansel, Acta Cris-
talografa, en preparación.

.- Piper auritum aisladas por Rudolf Hansel y Innechiese Lenschke, Instituto de Farmacología y Fitoquímica de la Universidad Libre de - Berlin y Arturo Gómez-Pompa de la UNAM, Ciudad de México.

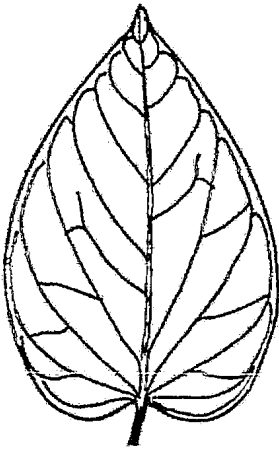
En el curso de los estudios sobre los compuestos aromáticos lipofílicos de algunas especies de Piper de América se fijó la atención a los constituyentes fuertemente fluorescentes presentes en las raíces leñosas de Piper auritum HBK. Supervisado por Tlc, aislado por - columna cromatográfica en gel de sílice y por retromatografía en celi tepoliamida (1:1), cefaradiona A (2) y B (1). Estos compuestos fueron obtenidos en rendimientos muy pequeños 5mg de cefaradiona A de 2.5kg. de material de plantas secado al aire. Estas dos sustancias han sido aisladas recientemente de Stephania cepharantha (menipermaceae) (1).- La identidad se obtuvo por comparación de su IR, UV, NMR y espectro - masivo y por determinación en mp.



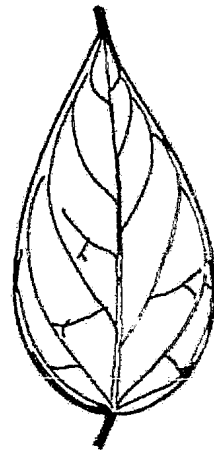
De acuerdo con nuestro conocimiento, esta es la primera vez que se han aislado alcaloides "verdaderos" de especies Piper; hasta la fecha solamente se habían obtenido anidas de tipo piperino. Las cefaradionas A y B pueden considerarse como producto de oxidación de bases de oporfinas correspondientes, y como precursoras biosintéticos de -- las aristolactonas y los ácidos aristolóquicos (1). Entonces, sorprendentemente, el orden piperales comparte una característica hematocónomica de sintetización y acumulación de alcaloides bensyltetrahidroisoquinolinos con los magnoliales, aristoloquiales, y papaverales todas-órdenes que pertenecen a la misma subclase magnolidas. (2).



A



B



C

Variación de Piper. Las hojas A, B, C,

CAPITULO VI

EXTRACCION DE LOS PRINCIPIOS ACTIVOS.

A.- Cinamilida Etenolida.-

5.- (metoxi)- cinamilidena -4-metoxi- but-3- enolida.

Para el aislamiento se extrajo el polvo de la raíz con cloruro de metileno (20 horas, extracción Soxhlet), se expulsó el medio soluble y se absorbió el residuo oscuro con metanol. Después de unos días (guardar en refrigerados a + 20), se separa una pasta de cristales, que consiste de una masa amarilla finamente cristalina (MDO = III), que está impregnada con grandes agujas de cristal de color amarillo claro (piperolida, III). Por selección mecánica y múltiple recristalización de III de metanol y de MDO III de acetona conduce a materias unitarias (prueba DC, - ver la parte de prueba). Obtuvimos un promedio de 0.02% piperolida III y 0.06% MDO - III relacionado a la droga y secado al aire).

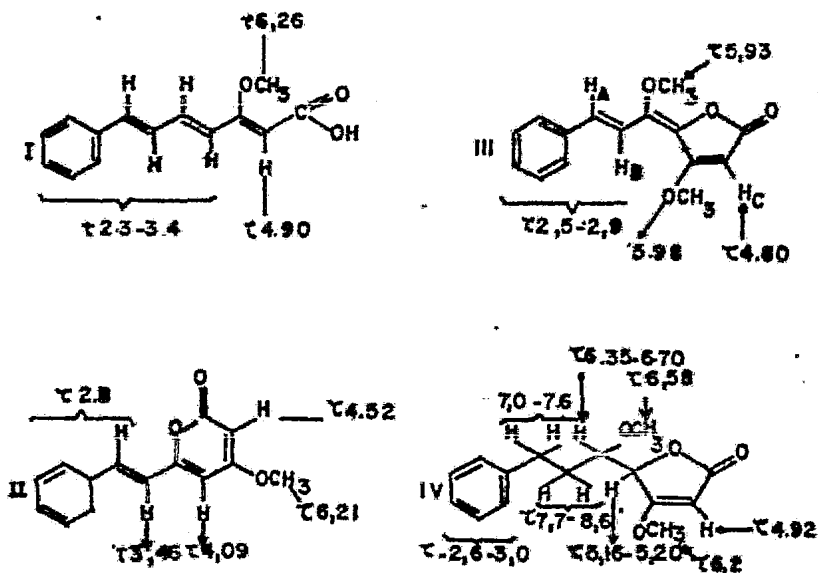


FIGURA:1-Cuadros de formula y desplazamiento químico(ppm,- Escala, espectros de 100 MHz en $CDCl_3$ de piperolida (III) y tetrahidropiperolida (IV). En comparación: Acido kaw a (I) y desmetoxi-yangonina (II).

Piperolida III. - Agujas de cristal amarilla con punto de fusión 110-112° C, que no muestran ninguna actividad óptica - $(\alpha)_D = + 0^\circ$ (metanol; C = 0.2). $C_{15} H_{14} O_4$ (M+, m/e 258; -- enc. C 69.56%, H 5.25%; cál. C 69.75% H 5.46%), de los cuales dos grupos aromáticos ó enólicos OCH_3 (OCH_3 enc. 22.16%, calculado 24.3%; NMR: 60 MC en $CDCl_3$: 5.95 s, 3H y 6.03s, 3H) y un anillo aromático monosustituído (IR: 690 y 760 cm^{-1} ; espectro masivo: m/e 77 y 91). La piperolida no contiene hidrógenos acetables. Es sensible al ataque de ácidos y lejías: Ya en el frío se observan la formación de diversos productos de reacción (prueba DG). Si se trata III con solución de carbonato de potasio ($K_2 CO_3$) saturado en etanol-agua, 1:1, v/v: - 24 horas a 18° y se acidula después de esto hasta obtener un pH = 6, se descompone igualmente en forma cuantitativa: como producto definido de descomposición pudimos obtener después de una separación por columna cromatográfica trans - ácido de canela (punto de fusión 131-133°; ninguna de presión en el punto de fusión mezclado con ácido de canela auténtica).

De acuerdo con estos datos y por motivos biogénéticos pudo tratarse en la piperolida (III) de una combinación relacionada cercanamente con desmetoxiyangonina (= a dehidrokawaina) (II) una materia característica de la droga kawa (de Piper metiscum⁸). Sin embargo, entre I y III se presentan las siguientes llamativas diferencias: la $V_c = 0$ de la α - pirona de tipo yangonino I se encuentra a 1720 cm^{-1} $9a, 10$ mientras que - III presenta una ancha absorción de carbonito entre 1730 y - 1780 cm^{-1} . Entonces: las dos condiciones de éter metílico en

Piperolida III..- Agujas de cristal amarilla con punto de fusión 110-112° C, que no muestran ninguna actividad óptica - $(\alpha)_D^{20} = + 0^\circ$ (metanol; C = 0.2). $C_{15} H_{14} O_4$ (Mt, m/e 258; -- enc. C 69.56%, H 5.25%; cál. C 69.75% H 5.46%), de los cuales dos grupos aromáticos 6 enólicos OCH_3 (OCH_3 enc. 22.16%, calculado 24.0%; NMR: 60 MC en CDC l_3 : 5.95 s, 3H y 6.03s, 3H) y un anillo aromático monosustituído (IR: 690 y 760 cm^{-1} ; espectro masivo: m/e 77 y 91). La piperolida no contiene hidrógenos acetables. Es sensible al ataque de ácidos y lejías: Ya en el frío se observan la formación de diversos productos de reacción (prueba DG). Si se trata III con solución de carbonato de potasio ($K_2 CO_3$) saturado en etanol-agua, 1:1, v/v: - 24 horas a 18° y se acidula después de esto hasta obtener un pH = 6, se descompone igualmente en forma cuantitativa: como producto definido de descomposición pudimos obtener después de una separación por columna cromatográfica trans - ácido de canela (punto de fusión 131-133°; ninguna de presión en el -- punto de fusión mezclado con ácido de canela auténtico).

De acuerdo con estos datos y por motivos biogénéticos pudo tratarse en la piperolida (III) de una combinación relacionada cercanamente con desmetoxiyangonina (= a dehidrokavaina) (II) una materia característica de la droga kawa (de *Piper metiscum*⁸). Sin embargo, entre I y III se presentan las siguientes llamativas diferencias: la $\nu_c = 0$ de la α - pirona de tipo yangonino I se encuentra a 1720 cm^{-1} 9a, 10 mientras que - III presenta una ancha absorción de carbonito entre 1730 y - 1780 cm^{-1} . Entonces: las dos condiciones de éter metílico en

III se saponifican ligeramente alcalina (solución K_2CO_3 , Ver arriba) mientras que la unión de éter anólico que la unión de éter enólico de la 4-metoxi- α -pirona de los tipos I y II son estables bajo estas condiciones. Entonces en el espectro NMR de III faltan para las uniones de los tipos II las señales típicas 4.09 (1H) 4.52 (1H) con pequeño acoplamiento (anólico) ($J \sim 2\text{Hz}$). En el espectro de rayos V V III (ver tabla I) resalta el elevado valor - ϵ (42,000) del máximo - por onda larga por 354 nm en comparación con el valor de - de los máximos a 258 nm. (9,400). En este aspecto se parece III mucho más a los ácidos de cadena abierta del tipo del ácido kawa (i) y de las kavapironas de los tipos II. Cuando III de acuerdo con el espectro U V e IR podría ser un estermetílico del tipo I es poco conveniente que en el espectro de masa apenas si se observe el desplazamiento de un radical OCH_3 . Sobre esto queda por aclarar todavía la diferencia de un equivalente de doble unión entre un estermetílico de I y los valores de los análisis de III: en III debería como en II estar presente un sistema anular eterocíclico, pero en un sistema cromóforo parecido al de la sustancia del modelo I (ver la tabla I).- Partiendo de la suposición que la posición hipocroma de la banda de onda larga en II al contrario de la I descansa sobre la (ya que se encuentra sobre un anillo) forzosa disposición s-eis de dos enlaces dobles configurados 9^b debe postularse una fórmula para III que mantenga la s-transdisposición como en I. Como única posibilidad se presente la formulación III, caracterizada por un anillo de lactona de cinco miembros con un enlace

doble hexocíclico. La posición batocroma de la banda de onda larga: $\Delta \text{ nm I} \rightarrow \text{III} = + 23 \text{ nm}$. Está ahora en concordancia el espectro NMR con la formulación III. El protón Hc (singulete) con $\tau 4.8 \text{ ppm}$ en III tiene su pareja en el protón H¹ de la fórmula I; y ambas fórmulas se encuentran en el mismo ambiente químico. Contrariamente se observa la posición de los protones olefinos H_A y H_B con un campo inesperadamente profundo-abajo de $\tau 2.9$ en la región de los protones aromáticos.

Contrariamente se observa la posición de los protones olefinos H_A H_B con un campo inesperadamente profundo-abajo de $\tau 2.9$ en la región de los protones aromáticos y además con relación a su desplazamiento químico ambos se encuentran estrechamente juntos de manera que pueden negligirse el acoplamiento.

TABLA 1. ESPECTRO UV DE LAS PIPEROLIDAS (III) EN COMPARACION CON EL ESPECTRO DE MATERIAS PIPERACEAS RELACIONADAS CON SISTEMAS CROMOFOROS PARECIDOS.

Substancia	Máx (Etanol),	m μ	Máx(1)/Máx (2)
Ácido Kawa (I)	<u>1</u> : 333	(42800)	4.75
	<u>2</u> : 259	(9000)	
Kawaina (II)	<u>1</u> : 344	(26300)	1.24
	<u>2</u> : 255	(14300)	
	<u>3</u> : 231	(17400)	
Piperólida (III)	<u>1</u> : 354	(42600)	4.54
	<u>2</u> : 258	(9440)	

Metilenoioxipiperólida	<u>1</u> : 376	(29700)	3.55
(MDO-III)	<u>2</u> : 263	(8430)	
Acido de metisticina	<u>1</u> : 350	(44200)	4.35
(MDO-III)	<u>2</u> : 262	(10370)	

La fórmula III todavía insegura con relación a la posición de los grupos de metoxilo puede demostrarse por un cuidadoso análisis de los espectros NMR de los tetrahidroderivados de III (=tetrahidro-III). Se obtiene tetrahidro-III se encuentran a comparación con el espectro de III las siguientes llamativas modificaciones: - (1) uno de los dos singuletes de los protones de metoxilo se desplaza hacia un campo más elevado; (2) el singulete de los protones olefínicos τ 4.79 se convierte en un doblete 4.92 con acoplamiento alílico ($J = 2\text{Hz}$); (3) el grupo de señales (7H) en la región τ 2.5-2.9 se convierte en un singulete (5H); (4) se presentan como nuevas nueve señales para un total de 6 protones τ 5.16-5.20 que ($J_1=2\text{Hz}$) H 16.3 - 6.8m (1H); τ 7.1 -7.5 (2H); τ 7.7 -8.6m (2H). La disposición indicada en la fórmula IV de los datos NMR fue asegurada por experimentos de acoplamiento (Spinet. La radiación con τ 4.92 modifica el cuarteto τ 5.16 a 20 a un doblete ($J = 2\text{Hz}$) todos los otros grupos de señales permanecen sin modificación. La radiación con τ 6.5 desocupa el protón con τ 5.16 que ahora aparece como un singulete ancho en el cual apenas si se puede reconocer (en la punta de desdoblamiento hacia un doblete ($J = 2\text{Hz}$); después se simplifica fuertemente el multiplete con una τ 7.7-8.6, en cambio el multiplete con τ 7.0-7.5 permanece sin ninguna influencia. La radiación con 5.16 hace del doblete τ 4.92 un singulete; al mismo tiempo

se hace invisible junto a la señal metoxi un cuarteto con junto a la señal metoxi un cuarteto con el centro τ 6.5 ($J_1 = 4\text{Hz}$; $J_2 = 10\text{Hz}$). Los fragmentos que se presentan en el espectro masivo de piperolida (III) y de tetrahidropiperolida (IV) están también muy bien unidos a la estructura indicativa (vea el esquema de fragmentación de la figura 2 y 3) y confirma la estructura indicada.

(Sobre espectro masivos de la kawalactonas¹¹).

Metilenoioxipiperolida (MDO-III). Como se indicó al principio, se aisló junto con piperolida III una segunda substancia con características parecidas. A la separación de ambos materiales para uniformidad se demostró que era inútil junto con la técnica DC (véase la parte de experimentación) su comportamiento cromogéneo diferente al rociarse con ácido sulfúrico concentrado: la piperolida se teñía de amarillo y en cambio DOM-III fuertemente rojo pasando paulatinamente a verde olivo.

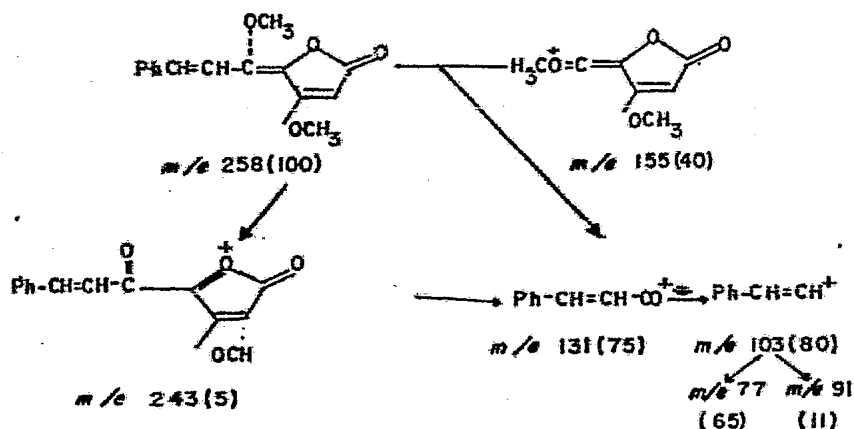


FIGURA 2-Esquema de fragmentación de las piperolidas (III)
(Las cifras entre parentesis=Intensidades relativas)

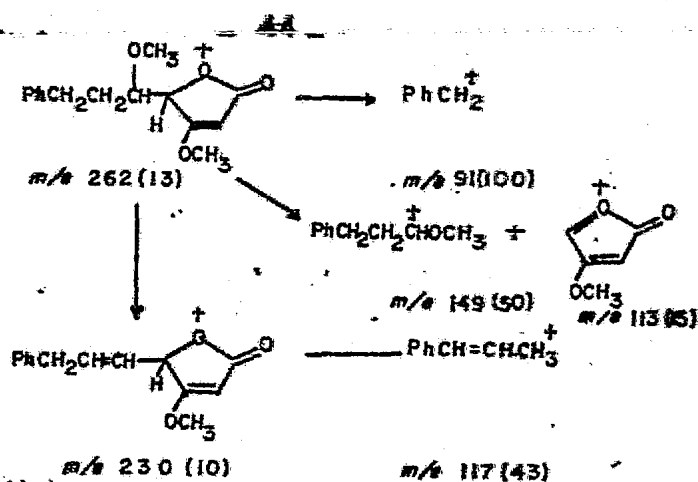


FIGURA 3-Eschema de fragmentación de la tetrahidro-piperidina. (IV)-Las cifras entre parentesis-intensidad relativas.

$\text{C}_{16}\text{H}_{14}\text{O}_6$ (M^+ ; m/e 302; encontrada C 63.77%, H4, 90%, OCH_3 20.09%; calculado C 63.57% H4, 67%, OCH_3 20.5% - IQ (K8r); en los límites entre 1550-1780 cm^{-1} ambas sustancias III y MDO-III son casi de cubrimiento igual; MDO - III presenta bandas adicionales a 982 (s), 1033 (s), 1250 (s) y 2780 (π) centímetros⁻¹ (-O-CH₂-O-) así como 838 (m) cm^{-1} (2H, ar, vecino). UV: ambas bandas se muestran desplazadas como batocromo, las que de onda larga simultáneamente hipo-, y las de onda corta hipercromo (ver tabla I). En NMR (CDCl_3): concordando con III se encuentra en DCM-III los tres singuletes en τ 4.79 (1H) τ 5.94 (3H) y τ 5.99 (3H); discrepando un grupo de señales para 5H (en III, en cambio 7H) en la región 2.8-3.3 ppm y presentándose completamente nuevo un singulete en τ 4.02 (2H). En el espectro masivo llama la atención que el guión molécula es extraordinariamente estable como está completamente dominado con relación a la intensidad relativa (esquema de fragmentación: figura 4).

Si se compran los espectros de las sustancias MDO-III con los de la sustancia III, apenas si pueden interpretarse en forma

diferente que con la hipótesis que MDO-III representa el metileno-bioxiderivado de III. Ambas materias de la raíz de Piper sanctum están por lo tanto entre si en la misma relación como por ejemplo kawaina y metisticina, que se presentan juntos en Piper methisticum.

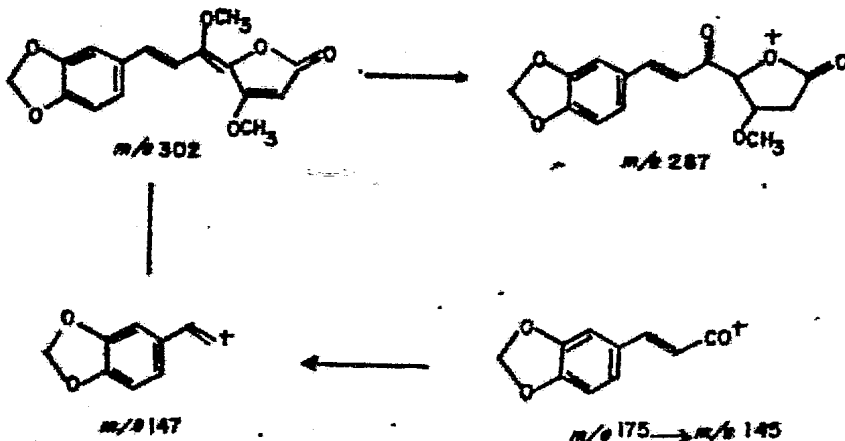


FIGURA 4- Esquema de fragmentación de la metileno-bioxipiperolida (MDO-III). (Nota la molécula-ión es extremadamente estable)

DISCUSION

~~Ambos enlaces aislados del Piper sanctum pueden tomarse químicamente como derivados del ácido tetrónico.~~ Ya se han encontrado muchas veces ácidos tetrónicos substituidos en el reino vegetal y por cierto, en líquenes¹². Desviándose de la muestra constructiva de la tetrónida de líquenes se trata de ambas piperolidas aisladas de P. sanctum de cinamilidas-O-metiltetrónicas. Observando desde el punto de vista biogénético se encuentran en las variantes de piperolidas unos cuerpos¹³ que se presentan en ciertas clases de piper como por ejemplo en P. methisticum y que conduce a las conocidas harpipirona (ver figura 5).

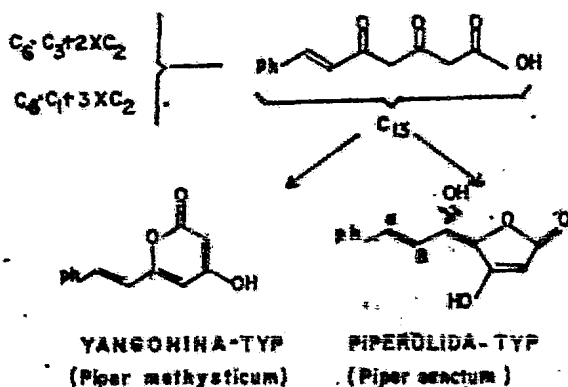


FIGURA 5- Procedencia biosintética conjunta de las materias constitutivas de piper methysticum (tipo yangonina) y de piper sanctum (tipo piperolida).

PARTE EXPERIMENTAL

Generalidades. Los análisis CH se llevaron a cabo en el laboratorio I Betz (Kronach). Las pruebas se secaron previamente a 80° en alto vacío.

Cromatografía de capa delgada. Cuando no se hace mención especial, las condiciones estándar de acuerdo con Stahl, fueron: cámara de artesa con saturación de cámara; placas 20 X 20cm., espesor de la capa 0.2 mm; gel de sílice F WOLFF con indicador de fluorescencia 254 nm (aproximado 0.2%); observación frente a la lámpara de cuarzo para análisis. Punto de fusión llevados a cabo en microscopio kofler de mesa caliente.

Aislamiento de piperolida (III) y metylenedioxi piperolida (MDO-III). Las raíces secadas cuidadosamente al aire de la planta Piper sanctum (recogidas en agosto de 1969 en la provincia de Veracruz) se molieron finalmente (molino de perno de percusión, tamaño del grano aprox. 1 mm) y se extrajeron éter-

te 20 horas en Soxhlet con CH_2Cl_2 . 410g. de polvo de droga rinden después de la expulsión del medio de extracción, 15g. de residuo de extracto. El remanente del extracto se absorbió con \pm 100 ml. Me OH y se puso en el refrigerador a enfriar. Después de algunos días se decantó al precipitado resultante y se liberó de las porciones resinosas por medio de lavado con Me OH. Quedaron 2.1g. de una mezcla de cristales, que claramente estaban formados de dos formas de cristal: Embebidas en una masa básica, finalmente cristalina amarillo huevo, se encontraron masivamente - haces de largas agujas de cristal de color café amarillento (que recuerda la melaza del azúcar de caña. Se escogieron con la pinzeta las partes de cristal más burdas y se recrystalizaron varias veces de Me OH bajo adición de carbón, hasta que se fundieron a $110-112^\circ$ (piperolida, 310 mg.) El remanente amarillo huevo recrystalizado también bajo adición de carbón activo, de acetona hasta el punto de fusión constante de $221-224^\circ$ (MDO-III, 105mg.) El método aislante aquí reproducido es extremadamente rico en -- pérdidas; el contenido real en ambas sustancias en la droga se encuentra importantemente más alto. Sobre el procedimiento de columna cromatográfica para el aislamiento y separación de otras - materias contenidas vamos a informar en otro lugar.

Algunas características de las sustancias III y MDO-III. -

a) Pruebas previas.- Probado DC (placa terminada de gel de sílice Merck 254 condiciones estándar como arriba, medio de ---- fluencia; ciclohexano-acetato de etilo, 1:1 v/v uniformemente, y por cierto III (Rf 100 = 29) y MDO-III (Rf 100 = 25). Colocada -

sobre una placa de rociado se colorearon las agujas de cristal de III de amarillo más profundo, contrariamente a MDO-III que se colorearon rápidamente violeta fuerte y posteriormente verde olivo. La prueba de reducción de acuerdo con Shinoda sobre flavonoides fue negativa. Las sustancias no giran el plano de la luz polarizada; medio de solución Me OH, $c = 0.2\%$, polarímetro de luz eléctrica de precisión de la casa Zeiss (0.005°) = $(\alpha_D) \pm 0^\circ$.

b) Prueba de acetilación.-- Las sustancias III y MDO-III se acetilaron en piridina-anhidro de ácido acético y después de 24 horas se trataron en la forma acostumbrada (se vertieron sobre agua helada, y se reunió el precipitado en un dispositivo de filtración en vacío). Después de DC y punto de fusión de la mezcla se obtuvo de nuevo en cada caso, material inicial sin modificar.

c) Desintegración alcalina.-- Preparación 1. Las sustancias III o bien MDO-III, se pasaron con una mezcla de etanol y solución acuosa KOH al 50% y se diluyó calentandola a 50%. Después de tres días se diluyó la mezcla reactiva en H_2O se aciduló con ácido acético y la solución ácida se agitó con CH_2Cl_2 y se neutralizó, se liberó de agua y se redujo. El remanente no cristaliza. Prueba DC (técnica estándar como antes con ciclohexano-acetato de etilo, 1:1 v/v como medio de fluidez) numerosas manchas quizá de la misma concentración con valores R_f en partes más profundas, en parte más elevadas que el producto inicial.

Preparación 2: como acabamos de describir, pero se agitó-

en cambio, en vez de con. CH_2Cl_2 primero con éter y después con acetato de etilo. No se logró obtener a temperatura ambiente -- productos cristalizables de reacción. Como comprobación utilizamos yangonina = 6-(pmetoxi) -estirilo-4-metoxi-pirona-II en las mismas condiciones de reacción. En concordancia con las indicaciones de la literatura¹, logramos sin esfuerzo aislar de 100mg de yangonina 32 mg de ácido yangona. M.S. III: 258, 227, 215, - 189, 187, 181, 171, 155, 144, 131, 128, 115, 103, 77 69 m/e (60 eV, 28A, 60°, 2.10^{-7} torr). Espectro masivo MDO-III: 302, 271, - 259, 231, 215, 199, 175, 149, 117, 89, 59 m/e (60 eV, 28A, 130° $2.1 10^{-7}$ torr).

Desintegración de piperolida (III) con carbonato de potasio. La sustancia III se diluyó en etanol agua 1:1, v/v. La solución fue adicionada hasta su saturación con $\text{K}_2 \text{CO}_3$ sólida. -- Antes de que permaneciera un asiento en el fondo, se hizo la preparación bifásica. La dejamos 24 horas a temperatura ambiente, -- diluida con $\text{H}_2 \text{O}$ acidulada con $\text{H}_2 \text{SO}_4$ con pH6. De aquí en adelante como de costumbre: agitado con éter, lavado, secado y reducción de la fase de éter. La prueba DC mostró que todavía -- existe material inicial sin modificar junto con las dos nuevas -- sustancias. Se modificó una nueva preparación con relación al -- tiempo de efectividad de la solución $\text{K}_2 \text{CO}_3$: después de tres -- días ya no es demostrable ningún material inicial. Dos preparaciones proporcionaron un remanente de 110 mg., pero que no cristalizaron. Por lo tanto, se decidió a una limpieza de columna -- cromatográfica. Aislamiento de la columna canela. Se eluyó una pequeña columna con 10g de gel de sílice (cargado por Woelm y --

100 mg de producto de desintegración después de adicional ciclohexano-acetato de etilo (7:3, v/v), posteriormente (6:4 v/v) en total 400 ml. Las primeras partes del eluado contenían una sustancia (muy poca) con $R_f <$ al del producto inicial, mientras que -- las siguientes fracciones proporcionaron la cantidad principal de un producto de desintegración con un valor R_f más profundo ($R_f \times 100 = 0.5$ es decir, permanece como al principio; en comparación -- piperolida $R_f \times 100 = 19$; placas terminadas Merck, ciclohexano -- acetato de etilo, 6:4, v/v. Se unieron las fracciones correspon--- dientes unas a otras, se liberó del medio de solución y el remanente de mezclas éter-petrol-éter se cristalizaron. Rendimiento: 16mg. Punto de fusión $131-133^{\circ}$. Los datos espectrales (IR, NMR, -- ms) acusaron la presencia de trans-ácido de canela, ninguna depre-- sión. Concordancia en el espectro UV e IR.

Tetrahidro-piperolida (IV se suspendieron 100 mg de carbón -- catalizador Pd (al 10%) en 50ml de acetato de etilo y se saturaron con H_2 ; se adicionó una solución de 200 mg de piperolida (III) en 100 ml de acetato de etilo. Se absorvieron con mucha rapidez -- dentro de 12 minutos, 47 mililitros de H_2 (aproximado 760 mm. de-- presión y 18°). Después de 15 minutos se suspendió la prueba de -- filtró el catalizador y se expulsó el acetato de etilo. Quedó un aceite amarillento, que no pudo ser llevado a la cristalización.-- Probado DC se trata sin embargo de un material unitario ($R_f \times 100 = 23$; a comparación III: $R_f \times 100 = 25$). Espectro masivo: 262, -- 230, 202, 185, 157, 149, 139, 135, 117, 113, 105, 92, 85, 77, 69, 58, 45, 39, 29, 27, 15, m/e. $C_{15} H_{18} O_4$ (262.3): calculado 68.68% C; 6.92% H; calculado 68.15% C, 92% de H.

MDO-III Prueba de ácido cromatrópico modificado de acuerdo con Eegriwe².

Un mg. MDO-III se calentó lentamente con 3ml de ácido -- fosfórico (d=1.7), el destilado (3 gotas) se captó en recipientes cambiantes y a cada uno se le adicionó 0.5ml de H₂SO₄ al 72% y una punta de espátula de ácido cromatrópico, Después de calentarlo en baño maría se coloró violeta. En comparación; metisticina también positiva, pero piperolida III negativos.

Reconocimiento. El material investigado se reunió en Arroyo Basuras, Santecomapan (60m sobre el nivel del mar en Veracruz y fue determinado por el profesor Dr. A. G. Pompa.

Los ejemplares de prueba de las plantas son guardados en el Instituto para Farmacognosia de la Universidad Libre. Se debe a los señores profrs. Doctor Arturo Gómez Pompa, Instituto de Biología (de la UNAM), México y al Sr. Dr. Rainer Schwarz, y/o Proquina, Orizaba (México) nuestros más sinceros agradecimientos por su ayuda en la recopilación del material botánico auténtico: solamente con la colaboración de ambos colaboradores pudo ser posible la investigación.

Bibliografía.

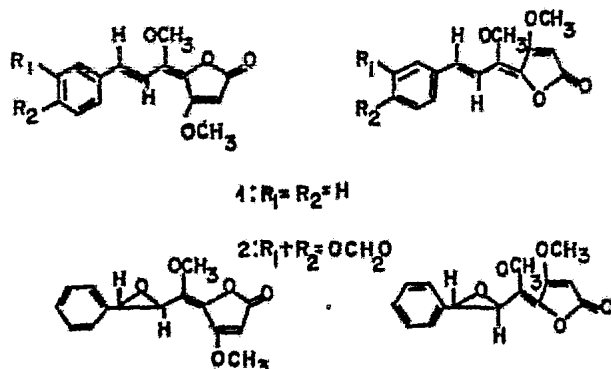
- 1.- E. Winzheimer, Arch. Pharmaz. 246, 338 (1908)
- 2.- D.A. Stam, H. Schmid y J. Buchi, Helv. Chim. Acta 4, 2306 (1958); E. Eegriwe, Z. Anal. Chem. 110, 32 (1937)
- 3.- J. Cryst Mol. Struct (1977) 7, 147-155.

CRISTALES Y ESTRUCTURA MOLECULAR DE LA CINAMILIDINA-BUTENOLIDA
DEL PIPER SANCTUM

Resumen.- Un análisis de rayos X de dos compuestos naturales aislados de Piper se confirmaron la configuración trans. para 5--(8-metoxi) cinamiliden -4 metoxi-but-3-enolide piperolide (I) y (5H) -furanona epoxipiperolide (II). Los grupos de espacio son - Pb-ca $a=44.174$ (3), $b=8.056$ (3), $c=7.515$ (4) Å° para (I) y P_2/c a 11.351 (4), $b=8.292$ (5), $c=14.292$ (2) Å° $c=96.28$ (2) $^\circ$ para (II). Las estructuras se identificaron por métodos directos y refinados por técnicas de mínimos cuadrados a $R=2.8\%$ (I) y $R=7.5\%$ (II). La estereoquímica del doble enlace semicíclico está en favor de los isómeros Z.

Introducción. De las raíces de Piper sanctum, una planta medicinal mexicana, se aislaron tres derivados cinamilideno-buteno- lidos (piperolidos) por Hansel. y Pelter (1971,1972).

La fórmula constitucional los caracterizó como los primeros derivados de ac. tetrónicos de plantas superiores. Por métodos -- químicos y espectroscópicos fue imposible o tener información de definitiva sobre la configuración con respecto al doble enlace semi cíclico. (Fig. 1).



FORMULAS CONSTITUCIONAL: Muestra configuración Cis y Trans. de los derivados.

Estructuras de $C_{15}H_{14}O_4$ y $C_{15}H_{14}O_5$.

Obtención y determinación de la estructura.

Cristales más sencillos adecuados para difracción de rayos x se obtuvieron por recristalización de piperolido (fig. 2,I) de metanol/acetona y epoxipiperolida (fig. 2,II) de metanol, pero para (II) sólo se obtuvieron cristales de pobre calidad. El tercer compuesto siempre fue polimorfo.

Los grupos espaciales se determinaron de Jong-Bouman y fotografías de precisión y las dimensiones celulares se midieron sobre un difractómetro de cuatro círculos por reflexiones axiales de alto índice. Las medidas de intensidad integradas se hicieron con una técnica de 0:2 y método de 5 valores sobre un difractómetro - Siemens. Los datos cristalográficos más importantes están en la tabla 1. Las estructuras se resolvieron por métodos directos para piperólida (I) con el programa MULTAN (Main, 1975) y para epoxipiperolida (II) usando los programas para determinación en fase directa incorporando al sistema de rayos x 72 (Rayos x, 1972). Los parámetros atómicos se refinaron por método de mínimo cuadrado -- con factores anisotrópicos de temperatura para los átomos pesados y factores isotrópicos de temperatura para los átomos de H_2 , usando sólo reflexiones observadas con una intensidad mayor de dos veces la desviación estándar. Las reflexiones no observadas se establecieron al valor de sigma. Todos los átomos de H_2 se determinaron a partir de mapas de diferencias masivas de densidad electrónica. 7 átomos de H_2 de estructura (II) se mantuvieron no refinados en posiciones determinadas debido a las desviaciones irrazonables durante el refinamiento.

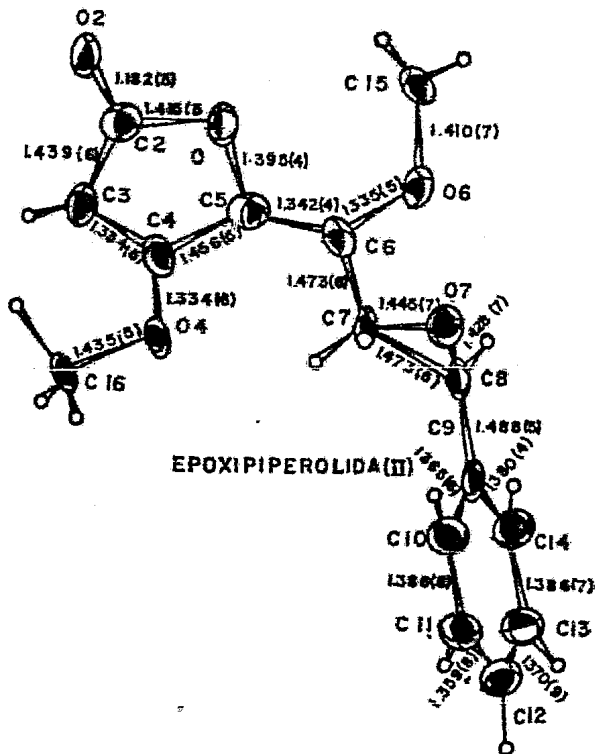
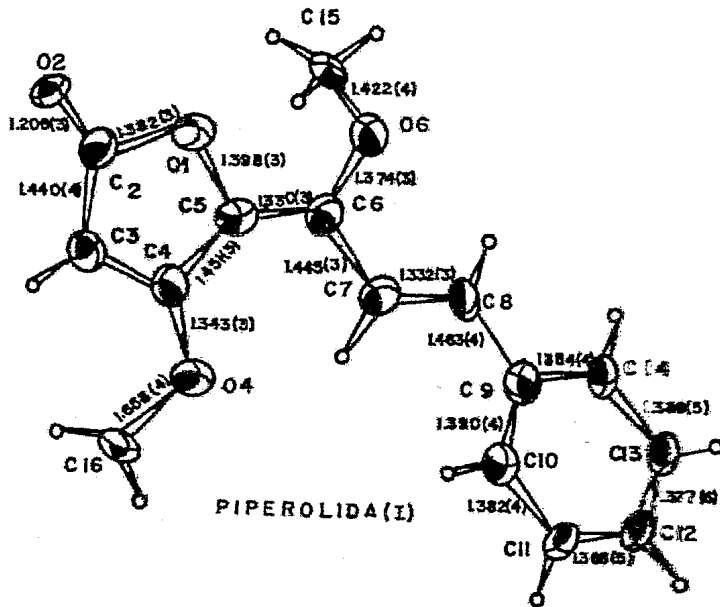


FIGURA:2- Perspectivas y longitudes, de enlace (Å). El tercer átomo de hidrogeno del grupo metilo esta oculto por atomos de c (15)

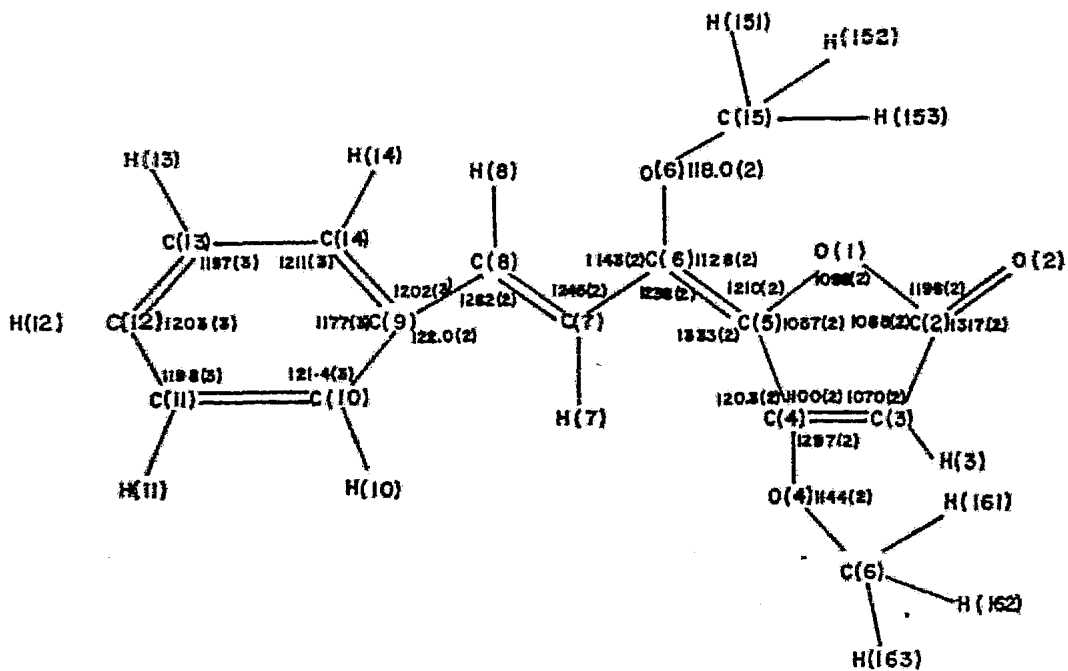


FIGURA 3-Angulos de enlace (grados)

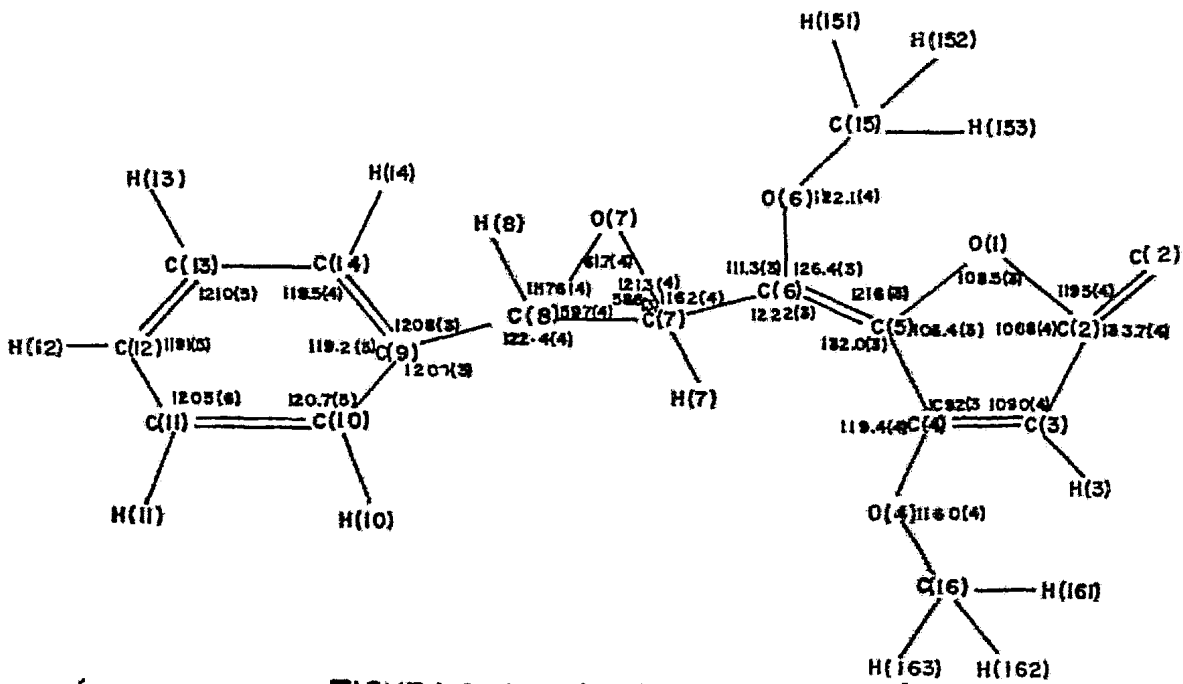


FIGURA4-Angulo de enlace (grados)

Resultados de Cinamiliidina Butenolida del Piper Sanctum.

Las distancias y ángulos de enlace se muestran en las figs. 2,3 y 4 y los parámetros atómicos se dan en lastablas 2 y 3. Las manchas de la fig. 2 (Huttser y Schelle, 1971) muestran la configuración trans de los grupos metoxi con respecto al doble enlace semicíclico. En ésta configuración, las distancias más pequeñas de contacto no enlazado de O (6) son 2.78 Å a C(8), 2.78 Å a O(7), y 2.88 Å a O(1). Los cálculos del modelo (Hecht, 1976) para la configuración C₁₅ mostraron distancias pequeñas adicionales para O(4) de 2.43 Å; la distancia de O(6) a O(1) se incrementaron a 3.76 Å. Por lo tanto se puede concluir que la configuración C₁₅ sería estereoquímicamente menos favorable.

Los anillos finilo y lactona son planares y los ángulos entre sus planos mínimos cuadrados son 22° para piperolidas y 67.8° para apoxipiperólicas, demostrando la influencia del anillo apoxi el cual por si mismo no tiene desviaciones significativas de la conformación usual (Osawa et al., 1973; Internacional tablas, 1965). Entre las moléculas en el cristal no hay distancias de contacto menores que la suma de los correspondientes radios de Vander Waals. Como resultado se puede formular formas de resonancia solamente para piperólicas, con los dobles enlaces conjugados explicando el color amarillo de este compuesto.

Los cálculos se hicieron sobre un CDC Cyber 72, Zentraleinrichtung für Datenverarbeitung, de la Universidad Libre de Berlín.

.- Aislamiento de 5 metoxi- 5,6- dehidroxetisticina (5b natural): La madera de la raíz desmenuzada de *Piper sanctum* - (Mig.) dificultosamente pudo ser extraída hasta su agotamiento con cloruro de metileno; después de eliminar el medio soluble quedaron de 1 kg. de droga 26 g. de extracto en bruto que pudo ser absorbido con aproximadamente 50 ml. de metano.- Para la separación por cristalización de 6a y b se colocaron en el refrigerador por espacio de 10 días. La mezcla de cristales, aproximadamente 30% de extracto bruto, fue separada por medio de filtración, y el filtrado se liberó del medio soluble y se molió con celita en proporción, 1:1. Se colocaron 24 g. de esta molienda en una columna (diámetro 4.5 cm.) que se alimentaron con 400- de gel de sílice (Woelm, tamaño del grano 0.05-0.2 ml), esponjándose en benzal/acetona (9:1). Fue eluída con benzol/acetona (9:1) con una velocidad de goteo de 100 gotas por minuto. Se recolectaron fracciones del eluyente en un tubo de ensayo hasta 12.5 ml., se probaron DC y se unieron correspondientemente. (tabla 1).

Se unieron las fracciones F_5 y F_6 reunidas de varias preparaciones, se liberaron del medio diluyente y se molieron con celita 1:1 ($=F_5, F_6$). Para la separación, fina se pusieron 6 g. de $F_{5,6}$ en una columna (diámetro 2.3 cm.) que se habían cargado con 100 g. de gel de sílice, se humectaron en benzol/acetona (9:1), y se eluyeron en benzol; acetona (9:1). Las fracciones que contenían 5b se redujeron en vacío y se absorbieron en 3-5 ml. de etanol caliente. Las sustancias separadas por cristalización en a-2°C. fueron recristalizadas varias veces de acetona caliente. Por separación 9 mg. de agujas finas, amarillas, punto de fusión 255-261°C (descomposición: velocidad de calentamiento 4°C por mi

nuto; el preparado se aplicó a 245° C.

Fracción (F)	Eluyente (ml.)	Remanente de la eva- poración	Prueba DC (ver texto) $h R_F = R_F \times 100$
1	150	1.6	hR_F 76, hR_F 69; no se investigó más la fracción
2	125	0.6	hR_F 69, hR_F 63 hR_F 60; no se in- vestigó más la fracción.
3	240	4.9	6a, 6b, epoxipiperolid ³ ; Sistosterina
4	38	0.1	6b,7, 8-Dihidro -5a ¹¹
5	125	1.1	6b, 5b, 7, 8 -dihidro -5a ¹¹
6	175	0.5	5b, 7, 8 -dihidro -5a ¹¹ ; hR_F 39 (no se investigó más la sustan- cia).
7	300	0.4	hR_F 39; no se investigó más la fracción.
8	250	0.7	hR_F 37; no se investigó más la fracción.
9	312	0.4	5c
10	195	0.3	hR_F 31; no se investigó más la fracción ¹¹ .

Propiedades de 5b natural: la sustancia fácilmente sublimizable es difícil de diluir en medio de solución hidroxilos y lipófilos soluble en, DMSO caliente y en piridina caliente. Rociándolo con H_2SO_4 (concentrado se colorea la sustancia de café amarillo).

$C_{16}H_{14}O_6$ Gama de la masa mol 302.0790 IR (KBr): s. Figura---
/NMR (DMSO, 60 MHz): $\tau = 6.35$ (s, 5-OCH₃), 6.15 (s, 4-OCH₃) 4.35 (s, OCH₂O), 3.15 (d, J₇, 8=16Hz, 7-H, 2.6 (dJ_{7,8} = 16Hz, 8H), 2.8-3.1 (m. H_{armát.}). UV (metanol): $\lambda_{\text{máx.}} (\epsilon) = 225 (20,550), 255(13,250), 13,250, 370 (21,200)$.-MS, 165° (intensidad relativa >10°): m/e = 303 (18,302 (100, M⁺), 287 (16) 259 (27), 231 (18), 228 (27), 215 (18), 175 (88), 147 (23), 145 (45) 117 (41), 99 (23) 91 (55), 89 (86), 69 (73), 63 (29).

Hidratación del 5b natural.

52 mg. de 5b y 45mg. de catalizador Pd/C prehidratado (al 10%) con 10 ml. de acetato de etilo se agitan en una atmósfera de hidrógeno. Después de tres horas ha terminado la absorción del hidrógeno (9.2ml. H₂, 20°, 751 Torr) (5ml. de H₂ se absorben dentro de 40 minutos, 4.2 ml. de H₂ en las siguientes dos y media horas). Después de filtrar el catalizador y eliminar el medio soluble quedan como remantes 50mg. de aceites amarillentos, que se absorben en 5ml. de éter y que se almacenan 24 horas a una temperatura de -10°C. 16.1mg. de agujas incoloras con punto de fusión de 128°. De los cristales se elaboran espectros, probándose DC la legía madre (cromatografía concis-4 y trans-4, ver tabla 2).

MS 100°C (intensidades relativas): m/e = 306 (20, M⁺), 171 (12), 166 (12), 165 (52), 161 (18), 149 (24), 148 (72), 147 (20), -

139 (22), 136 (36), 135 (100), 131 (18), 128 (24), 127 (10), 122 (12), 119 (14), 115 (12), 113 (64), 105 (14), 104 (12), 113 (10), 91 (28), 89 (24), 85 (34), 84 (12), 79 (14), 78 (12), 77 (41), - 71 (40), 69 (16), 65 (18), 63 (12), 59 (14), 57 (10), 55 (12), - 51 (24). NMR (CDCl₃), 60 MHz: = 7.6-8.3 (m, 7-H), 7.1-7.45 (m, 8-H), 6.55 (s, 5-OCH₃), 6.5 (m, J_{5,6} = 3Hz, 5-H), 6.2 (s, 4-OCH₃), - 5.8 (m, 6-H), 4.76 (d, 3-H, J_{3,5} = 1 Hz), 4.05 (s, OCH₂ O), 3.28 (s, H_{aromát.}). -IR (Kbr): 2 790 (OCHCaromát.), 1710 (Lactón, α , β - insaturado), 1630 cm.⁻¹ (Δ 3).

Cromatografía de capa delgada: condiciones estándar de acuerdo con Stahl; placa determinación DC con gel de sílice F 254 ---- "Merck"; medio fluyente: benzol/acetona (8:2); cámara saturada; i terizando (2x). Cantidad de aplicación: 2 μ g. Valoración: observación a la luz del día (TL) y frente a la lámpara de cuarzo para análisis así como comprobación (TL) después de una aspiración con reactivo (ver tabla 2).

Tabla 2. Valores R_F y comprobación de 5b sintético y natural, y sus derivados.

Substancia	$R_F \times 100$ (nR_F)	TL ^a)	254	350	Reactivo (TL ^a). ^b
1	46	-	oscuro	-	Violeta
cis-4(natural)	49	-	oscuro	-	-
cis-4 (sintético)	49	-	oscuro	-	-
trans-4 (natural) ^{c)}	52	-	oscuro	-	-
trans-4 (sintético)	52	-	oscuro	-	-
7,8-dihidro-5a ¹¹)	49	-	oscuro	-	-
5b (natural)	40	Amarillo	-	Verde-amarillo Fluorescente	-
5b (sintético)	40	Amarillo	-	Verde-amarillo Fluorescente	-
5c	31	Amarillo	-	Amarillo Fluorescente	Verde Claro
6a	57	Amarillo	oscuro	oscuro	--
6b	50	Amarillo	Amarillo	Amarillo	- -

a) TL = Observarse a la luz del día.

b) Anil. 10gms. (5 partes) + ácido ortofosfórico (5 partes) + etanol (90 partes); calentado por espacio por 10 minutos a 120°C.

c) No cristalizados; comprobado en la lejía madre después de la re cristalización de cis-4 natural (véase arriba).

5,6-cis y 5,6-trans-5-hidróximetisticina (cis-2 y trans-2): - 8 grms. 1 (aislado de Piper Methycticum) se colocan con 2 grms. de bióxido de selenio en 50 ml. de dimetilformamida durante 10 minutos bajo magneto. Agitar y hervir bajo reflujo. Y se filtra-- después de enfriarse a temperatura ambiente, adicionando el fil-- trado a 500 ml. de agua y se extrae con acetato de etilo. El ex-- tracto se deja reposar con aproximadamente 20 grms. de sulfato de natrio y 3 grms. de carbón toda la noche, se filtra y se reduce pa-- ra secarse en el evaporador de rotación. El remanente (8 g.) se diluye en 10 ml. de acetato de etilo, se colocan en una columna de gel de sílice (diámetro 5 cm., 400 grms. de gel de sílice) que se recubren con 40 g. de óxido de aluminio neutral, y se eluyen frac-- cionadamente con ciclohexano/acetato de etilo (1:1). Las fraccio-- nes que contienen cis-2 y trans- 2 (para valores R_F ver adelante)- producen al reducirse 1.1 g. de aceite café, que se sigue fracccio-- nando con óxido de aluminio básico (columna diámetro 2 cm., 200 g. óxido de aluminio básico "Merck"; medio de fluencia; 200 ml. de a-- cetato de etilo). Se reúnen en tres fracciones hasta 200 ml. y des-- pués de la prueba DC (óxido de aluminio básico, placas terminadas, para detalles ver¹). Se reúnen en tres fracciones (=F₁, F₁₁, F₁₁₁) que están liberadas del medio diluyente. F₁ = 420 mg. residuo cris-- talino amarillento ($R_F = 11$: DC₁₁); F₁₁=80 mg. mezcla de DC consistente

de sustancias de $R_F = 11$ y $R_F = 4$; DC^1); $F_{111} = 530$ mg. de residuo cristalino amarillento ($R_F = 4$; DC^1).

cis-2: F_1 se disuelve caliente en un poco de metanol se a diciona con 10 ml de éter, se filtra caliente y se deja reposar 24 horas a temperatura del cuarto. 290 mg. cis 2 cristalizan - como agujas incoloras a la temperatura de fusión $175-176^\circ C$.

$C_{15} H_{14} O_6$ (290.3) Ber C 62.06 H 4.86 Gef C 62.15 H 5.17.

MS, $150^\circ C$ (intensidad relativa $> 10\%$): m/e = 290 (22, M^+), 272 (39), 229 (10), 201 (10), 178 (11), 177 (100), 176 (15), - 175 (12), 161 (12), 159 (15), 149 (11), 148 (18), 147 (48), -- 135 (42), 131 (39), 115 (16), 114 (73), 103 (24), 102 (21), 91 (13), 89 (24), 77 (21), 69 (13), NMR ($CDCl_3$, 100 MHz): 6.9 (s, OH), 6.2 (s, OH), 6.2 (s, OCH_3), 5.85 (d, $J_{5,6} = 3$ Hz, 5-H), 4.8 (s, 3-H), 4.08 (s, $OCH_2 O$), 3.2 (m, Haromat), 3, 18 (d, $J_{7,8} = 16$ Hz, 8-H).

3.19 (m, Haromat).- IR (KBr): 3300 (OH, Br.), 1675-1700 (di-hidro-quinona, desdoblada), 1630 (3), 970 (CH = trans-Estirilo), - 935 cm^{-1} ($OCH_2 O$, aromat).

5,6-cis-5-metoximetisticina (cis-3): 100 mg. cis-2 se hier- ven en 10 ml de etilmetilcetona con 0.5 g. de óxido de plata y - 2 ml de yodo metílico agitando por espacio de 1 hora en reflujo. Se filtra caliente y el filtrado se reduce para secarse; el rema- nente se cristaliza de metanol/éter. Rendimiento 80 mg cis-3, -- punto de fusión $165-166^\circ C$ (agujas incoloras),

$C_{16} H_{16} O_6$ (303.3) Ber. C 63.15 H 5.30, Gef. C 63.27 H 5.41

MS, $180^\circ C$ (intensidad relativa $> 10\%$); m/e 304 (11, M^+), - 260 (14). 147 (14), 143 (32), 135 (23), 131 (14), 129 (20), 128

(100), 115 (23), 113 (77), 104 (13), 103 (34), 102 (17), 91 (14), 89 (12), 85 (20), 84 (96), 78 (13), 77 (29), 62 (13), -NMR (CDCl₃, 100 MHz): 6.52 (s, 5-OCH₃), 6.29 (d, J_{5,6} = 3Hz, 5-H), 6.2 (s, 4-OCH₃), 5.12 (dd, J_{5,6} = 3Hz, J_{6,7} = 7Hz, 6-H), 4.76 (s, 3-H), 4.06 (s, OCH₂O), 3.81 (dd, J_{6,7} = 7Hz, J_{7,8} = 16Hz), 3.32 (d, J_{7,8} = 16 Hz, 8-H) 3.13 (m, Haromat) -IR(K Br); 1705(dihidro- α -pirona), 1630 (3) 970 (CH = CH trans- estiril), 935 cm⁻¹ (OCH₂O, aromat). 5,6 trans -5- metoximetisticina (trans -3); en forma análoga se obtienen cis 3 de 100 mg trans-2 70mg trans 3 en agujas - incoloras con punto de fusión 116-117°C.

C₁₆H₁₆O₆ (304.3) Ber C 63.15 H5.30 Gef C63.54 H5.480

MS, 180°C (intensidad relativa >10%). m/e = 304(8, M⁺), 143 (19), 135 (12), 129 (10), 128 (100), 115 (14), 113 (69), 103 (14), 85 (20), 84 (32), 77 (11), -NMR (C D Cl₃, 100 MHz): = 6.5 (s, 5-OCH₃), 6.22 (s, 4-OCH₃) 6.2 (m, J_{5,6} = 7Hz, 5-H), 4.91 (m, J_{5,6} = 7Hz, J_{6,7} = 7Hz, 6-H), 4.8 (s, 3-H), 4.08 (dd, J_{6,7} = 8Hz, J_{7,8} = 16 Hz, 7-H), 4.08 (s, OCH₂O) 3.38 (d, J_{7,8} = 16Hz, 8H) 3.2 (m, Haromat) - IR (H Bs); 1675-1705 (dihidro -2 pirona desdoblada), - 1635 (3) 990 (CH = CH trans-estirilo), (OCH₂O, aromat).

5,6 -cis -5-metoxi- 7,8-dihidrometisticina (cis -4): 100 mg cis 3 se hidrataran con 5 ml de acetato de etilo y 5ml de etanol con 0.1 g. hidratándose con catalizador Pd/c (al 10%).- Después de terminar la toma de hidrógeno (1 mol., 10¹) se filtra el catalizador y el filtrado se reduce por secado.- El remanente se diluye en éter y se guarda 24 horas a 0°C.- Se obtienen 75 mg cis-4 en cristales incoloros con punto de fusión 121 -122°C.

$C_{16}H_{18}O_6$ (306.3) Ber. C62.74 H 5.92 Gef. C63.24 H 5.92 Ms, 165° (intensidad relativa > 10%): m/e = 306 (31, M^{*}), 165 (21), 161 (11), 149 (11), 148 (50), 147 (19), 139 (15), 136 (23), 135 (100), 131 (13), 128 (21), 115 (11), 113 (46), 103 (19), 91 (23), 89(11), 85 (25), 84 (35), 79 (11), 78(12), 77 (40), 71 (11), 69 (13), 65 (13), 63 (12), 51 (23). NMR (CDCl₃ 100 MHz): = 7.4 -8,3 (m, 7-H), 7.1-7.4 (m, 8-H), 6.58 (s, 5-OCH₃), 6.46 -6.5(m, J_{5,6} = 3Hz, 5-H), 6.24 (s, 4 OCH₃), 5.7-5.9 (m, 6-H), 4.8 (s, 3-H), 4.11 (s, OCH₂O) 3.22-3.36 (m. Haromat,)). - IR. (KBr): 2790 (O CH₂O, aromat), 1710 (lactona α, β insaturada), 1630 cm⁻¹ (Δ₃).

5,6 -trans -5 metoxi -7,8. dihidrometisticina (trans-4); en forma análoga a cis -4 se hidratan 100 mg trans -3 a 60 mg trans-4 con punto de fusión 53-55°C (cristales incoloros de éter).

$C_{16}H_{18}O_6$ (306.3) Ber. C 62.74 H 5.92 Gef. C 62.97 H6.19. MS, 60°C (intensidad relativa > 10%); m/e = 306 (28, M^{*}), 171 (10), 165 (10), 161 (11), 148 (34), 139 (49), 136 (42), 135 (100), 128 (15), 113 (40), 91 (10), 85 (17), 77 (21), NMR(CDCl₃, 100MHz) = 7.5-8.2 (m, 7-H), 7.1 (m, 8H), 6,54 (s, 5-) CH₃), 6.34 (d, J_{5,6} = 7Hz, 5-H), 6.24 (s, 4-OCH₃), 5.55-5.78 (m, 6-H), 4.84 (s, 3-H), 4.12 (s, OCH₂O), 3.22 - 3.46 (m, Haromat). -IR (HBr): 2780 (OCH₂O, aromat), 1705 lactona, α, β insaturada, 1635cm⁻¹ (Δ₃).

5 metoxi- 5,6 -dehidrometixticina (5b): 100 mg cis-3 se hierven en 20 ml. xilol con 200 mg cloranil 8 horas bajo reflujo, y el medio soluble se distribuye el vacío y el remanente en una columna de gel de silicio (diámetro 2cm, 75g. de gel de silicio 1 con ciclohexano acetato de etilo (1:1) y se eluye fraccionado.

Después de la prueba DC se unen las fracciones que contienen 5b (Rv, véase tabla 2). El remanente de condensación, de metanol-recristalizado, proporciona 75 mg 5b con punto de fusión^o 255-258^oC (desmenuzado en finas agujas amarillas.- En el punto de fusión de la mezcla, con 5b natural 256-260.5^oC (velocidad de mantenimiento 4^oC por minuto; el preparado se compuso a 245^oC).

$C_{15}H_{14}O_6$ (302.3) Ber. C 63.57 H 4.67 Gef. C 64.19 H 5.05

MS, 165^oC (intensidad relativa >10%); m/e = 303 (23M + 1), - 302 (100, M⁺), 287 (18), 259 (30), 231(16), 228 (31), 215 (23), - 175 (73), 147 (20), 145 (59), 117 (41), 99 (14), 91 (13), 89 (76), 69 (47), 63 (26), NMR (CDCl₃, 100 MHz): = 6.2 (s, 5-OCH₃), 6.1(s, 4-) CH₃), 4.5 (s, 3-H), 4.04 (s,) CH₂O), 3.21 (d, J_{7,8} = 16Hz 7-H), 3.0 (m, Haromat), 2.68 (d, J_{7,8} = 16Hz, 8-H). IR (KBr) ver figura

BIBLIOGRAFIA

1) L. Laughhammer, R. Hansel y A. Gómez-Pompa, Disch. Apothekerztg. 112,592 (1972).

.- Aislamiento 5.- acetoxi -6-metoxikawain.

(5S, 6S) -5-acetoxi-4,6- dimetoxi-6-trans-estirilo-5,6 dihidro -2H pirona 2 ona. (1)

a) Por cromatografía en gel de sílice y recromatografía en placas de capa gruesa.- Los remanentes de extracto elaborado por medios de cloruro de metileno de madera de raíz desmenuzada (26g. de 1 Kg de droga) se cromatografiaron en gel de sílice (400g ---- Woelm, tamaño del grano 0.05-0.2 mm.) (Benzol/acetona, 9:1), como describimos anteriormente.^{2c} Dos residuos de evaporación de la fracción 2, de desplazamiento rápido (Ver ^{2c}, sobre todo tabla 1 del capítulo anterior) 1.8g) se desarrollaron sobre 30 placas de capa gruesa (gel de sílice F. Woelm DG; espesor de la capa 1mm) - con toluol/acetona (9:1); la tira central visible abajo de la lámpara de cuarzo para análisis a 256 nm (máximo de emisión) se extrajo con toluol hirviendo, el extracto filtrado se redujo al vacío y la solución remenente se filtró sobre carbón metanol caliente.- La substancia cristalizada a 2° C se recrystalizó del etanol caliente. La substancia cristalizada a -2° C se recrystalizó del etanol caliente. 19.5 mg de agujas incoloras (0.001% de la droga secada al aire). Punto de fusión 176-178° C.

b) Por cromatografía en carbón activo ¹³: 7.5g de residuos - de extracto (elaborados por medio de cloruro de metileno como en 1 c.^{2c} de 300g de droga) se diluyeron en benzol y se colocaron en

una columna (2 cm Ø) con 70g de mezcla de carbón activo (Bri-llonit N especial de la empresa Degussa) y Celite (1:1). La e-lución se llevó a cabo con bencol (casi 1ml/min). De acuerdo-con la prueba DC (condiciones estándar, gel de sílice, ciclohe-rano/acetato de etilo (3:7) $R_F = 0.48$; comprobación por des-carga fluorescente en luz ultravioleta de onda corta con reac-tivo de Ehrlich fluorescencia amarilla a la luz del día y a--zul en luz ultravioleta de onda larga) conteniendo los prime-ros 100 ml de eluato de toda la substancia 1. La siguiente e-laboración como bajo a 10mg de cristales incoloros con puntos de fusión 178/180°c (0.004% con relación a la droga secada al aire). El procedimiento b) presenta por lo tanto un rendimien-to cuatro veces mayor.

$[\alpha]_D^{20} = 380^\circ$ (C = 0.10; CH Cl₃).- Dicroísmo circular²
(etanol): nm (Δε) = 215 (-3.07), 235 (+9.83) 251 (+12.28).-
UV (metanol): máx (lg ε) = 245nm (4.46).⁻¹ H-NMR (60MHz, -
GD Cl₃): = 8.09 (s, 3H, GC CH₃) 6.65 (s, 3H, 6-OCH₃) 6.22 (s, 3H, 4-OCH₃) 4.65 (s, ligeramente ampliado, 3-H) 4.51 (s, lige-ramente ampliado, 5-H), 4.10 (d, J_{7,8} = 16Hz, 7-H), 2.91 (d, J_{7,8} = 16Hz, 8-H), 2.63 (punto de gravedad m, 5 aromát. H).--
MS (56°c): m/e = 318 (M⁺, 3.6%), 274 (1.7), 258 (2.3), 245 (7.3), 232 (2.0), 215 (6.2), 201 (2.4), 200 (3.5), 185 (1.1), 173 (2.0), 172 (2.0), 171 (2.2), 163 (2.0), 157 (4.1), 156 (23.9), 131 (40.1), 115 (11.7), 114 (100), 103 (18.0) 91 (16.7), 86 (1.5), 85 (0.5), 83 (0.4), 77 (1.2).

C₁₇H₁₈O₆ (318.3) Calculado C 64.14 H 5.79 O 29.17
encontrado C 62.58 H 5.84 O 29.21

calculado masa mol 318.1103 encontrado -----
318.1103 \pm 18

Comportamiento con presencia de Hidróxidos. Se calentó la solución de 1mg 1 en 0.5 ml de KOH metanólico (5% KOH en metanol/agua (8:2) en baño de agua 5 min a 40°C. Después de acidificar con HCl puede inmediatamente -o después de agitarlo con acetato etílico -colocarse sobre la placa DC. Condiciones estándar DC, acetato etílico (puro) como medio de fluencia, comprobado por la fluorescencia azul de la lámpara de cuarzo para análisis (máximo de emisión 366 nm); $R_F = 0.27$; para comparación 4b: $R_F = 0.27$. (En luz ultravioleta de onda corta son visibles estos productos de la desintegración).

Reducción de 6 metoxikawainona (5): separación de los productos de reducción de diastereómeros 2b y 3b: 600 mg racem 6-metoxikawainona³ y 200mg de borhidruro de sodio que se dejaron bajo control constante DC a temperatura ambiente (hasta la desaparición de la sustancia inicial, aproximadamente 2 horas). DC (condiciones estándar acetato etílico; 5: $R_F = 0.39$; 2b: $R_F = 0.25$; 3b: $R_F = 0.18$); Se diluyó con 200 ml de acetato etílico, se trató con 0.1 N HCl, se lavó con solución diluida de carbonato de hidrógeno de sodio y con agua neutra, se secó sobre sulfato de sodio, se expulsó al vacío el medio de solución, se liberó el remanente aceitoso amarillo (600mg) en 3ml de ciclohexano/acetato etílico (1:1) y se cromatografió en gel de sílice (columna 2cm Ø, 30cm. altura de llenado, 20 ml/3 minutos, 20ml fracciones) con el mismo medio de flujo. De acuerdo con DC se unieron los eluados en dos fraccio

nes principales: fracción I (desplazamiento más rápido) se obtuvo después de la expulsión del medio de solución, 100mg, la fracción II 300 mg de residuos sólidos incoloros.

rel-(5S, 6S)- (+) -5- hidroxil-4-, 6- dimetoxi -6- trans -estiril -5,6 -dihidro -2H-pirano -2-ona: la fracción I se cristalizó de éter en agujas incoloras.

Del punto de fusión 130-131°C. -IR (CHCl₃): 3558 (OH), 1705- (pirona-C=O), 1632 (ν C=C), 960 cm⁻¹ (trans-Estirilo). ¹H-NMR (D6) acetona + D₂O, 60 MHz): τ = 6.70 (s, 6-) CH₃), 6.15 (s, 4-OCH₃) 5.95 (s, ligeramente ampliado, 5-H), 4.74 (s, ligeramente ampliado, 3H), 3.80 (d, J = 16Hz, 7-H), 2.98 (d, J = 16Hz, 8-H), 2.75 - - 2.30 (m.5 aromato; H). MS (120°C): m/e = 277 (M⁺ +1; 0.3%), 276 (M⁺, 0.3), 258 (0.2), 245 (0.5), 232 (0.3), 228 (0.2), 227 (0.2), 215 (1.3), 200 (1.3), 185 (0.4), 173 (0.5), 172 (0.4), 171 (0.4), 163 (20), 162 (1.5), 157 (1.5), 148 (2.5), 145 (1.0), 141 (1.2), - 132 (5.0), 131 (65), 129 (2), 128 (4.0), 115 (10), 114 (100), 113 (2), 104 (4), 103 (28), 102 (5), 91 (5), 86 (65), 85 (4), 77 (20), 69 (7), 57 (20), 56 (65).

C₁₅ H₁₆ O₅ (276.2) calculado C 65.21 H 5.84. Encontrado C - 65.24 H 6.02.

Acetato de 2b = rel-(5S, 6S)-(+)-5- acetoxi-4-, 6-dimetoxi - -6trans -estiril -5,6 -dihidro -2H-pirano. 2-ona (2c): 100 mg 2b, 1ml anhídrido acético y 5ml piridina que se prepararon después de 24 horas a temperatura ambiente en la forma acostumbrada. De metanol una sustancia incolora con punto de fusión 153-155°C.

IR (CHCl₃): 1750 (A_o -C- C =O), 1700 (pirona-C =O) NBr -des-

plazada como pieza prensada después de 1720cm^{-1}) ($\nu\text{C} = \text{C}$), 960cm^{-1} (trans-estirilo). $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 60 MHz): $\tau = 8.09$ (s, OAc), 6.65 (s, 6-OCH₃), 6.22 (s, 4-OCH₃), 4.65 (s, ligeramente ampliada, 5-H), 4.10 (d, J=16Hz, 7-H), 2.91 (d, J=16Hz, 8-H), 2.8 - 2.5 (m, 5 aromat H).- MS(150°C), 318 (M^+ , 1%), 274 (1), 245 (5), 232 (3), 230 (2), 228 (2), 215 (8), 201 (5), 200 (4), 185 (1), 180 (3), 131 (50), 128 (10), 115 (12), 114 (100), 103 (22), 91 (10), 86 (16), 85(14), 83 (18), 77 (16).

$\text{C}_{17}\text{H}_{18}\text{O}_6$ (318.3) calculado C 64.14 H 5.70

Encontrado C 64.22 H 5.93

Massa de mol calculada 318.1103 encontrado 318.1103 ± 5 rel-5R, 65) ± 5 hidroxí; -4,6-dimetoxi-6-trans-estirilo, 5,6 dihidro-2H-pirano-2-ona (3b): la fracción II proporciona de éter 70mg de cristales incoloros con punto de fusión $138-139^\circ\text{C}$.- IR(CHCl_3): 3545 -- (OH), 1710 (pirona -C =), 1625 ($\nu\text{C} = \text{C}$) 970cm^{-1} (trans-estirilo) -- $^1\text{H-NMR}$ (D_6) acetona + D_2O , 60 MHz): $\tau = 6.62$ (s, 6-OCH₃), 6.14 (s, 4-OCH₃), 5.48 (s, ligeramente ampliada, 5-H) 4.75 (s, ligeramente ampliada, 3-H), 3.64 (d, J =16Hz, 7-H), 2.96 (d, J=16 Hz, 8-H)^{2.8}, -2.3 (m, 5 aromat, H). -MS (90°C): m/e = 277 (M^+ +1, 0.3%), 276 (M^+ +1, 0.3%), 276 (M^+ m 0.3), 258 (0.01), 245 (0.6), 232 (0.3), 228 (0.3), 227 (0.2), 215 (1.5), 200 (1.0), 185 (0.4), 173 (0.5), 171 (0.5), 163 (15), 162 (3), 157 (1), 148 (3), 145 (1), 141 (1), 132 (5), 131 (50), 115 (10), 114 (100), 104 (7), 103 (20), 91 (7), 86 (50), 77 (13), 68 (5), 57 (20).

$\text{C}_{15}\text{H}_{16}\text{O}_5$ (276.2) Calculado C 65.21 H 5.84

Encontrado C 65.14 H 5.86

Acetato de 3b = re - 5R, 6S) - (+) -5-acetoxi -4,6 -dimetoxi -6 -trans -estirilo -5,6-dihidro -2H pirano -2- ona (3); 100 mg.- 3b, 1ml anhídrido acético y 5 ml. piridina se preparan después de 24 horas a temperatura ambiente en la forma acostumbrada. De metanol 70mg de cristales incoloros con punto de fusión 104-105°C.-MS

IR (CHCl₃): 1750 (AC- C=O), 1700 (pirona -C =O), 1630 (vC =C) 960cm⁻¹(trans estirilo).- ¹H-NMR(CDCl₃, 60 MHz): τ = 7.82 (s, -OAC), 6.60 (s, 6-OCH₃), 6.15 (s, 4-OCH₃), 4.78 (s,s-H), 4.21 (s, 5-H), 4.00 (d, J = 16Hz, 7-H), 3.04 (d, -J = 16 Hz, 8-H), 2.8-2.5- (m, 5 aromat. H).- MS (150°C): m/e= 318 (M⁺, 0.5%), 274 (0.5), 258 (2.5), 252 (3.5), 245 (3), 232 (2), 230 (2), 228 (2), 215 (15), - 200 (5), 185 (3), 173 (2), 171 (3), 165 (25), 163 (6), 157 (8), - 156 (17), 141 (7), 131 (50), 128 (7), 115 (10), 114 (100), 103 - (37), 91 (16), 86 (40), 85 (20), 83 (35), 77 (35).

C₁₇H₁₈O₆ (318.3 Calculada C 64.14 H 5.70

Encontrado C 64.35 H 5.57

Calculado masa mol 318.1103 Encontrado 318.1103 ± 16

Epimerización de 3b y 3c: 100 mg 3c se calentaron en 20 ml. de metanol con adición de 100 mg de intercambiador de iones resina (Dowex, tipo 50WX-4 malla 100-200) durante 20 minutos en baño-maria aproximadamente 40°C. Después de la prueba DC estaba formada después de este tipo 2e sin productos adicionales. La resina - se filtró, y el filtrado se traspasó con agua hasta que se enturbiera y la substancia que se cristalizó a 4°C después del secado- (pistola de secado) se recrystalizó de éter/petroéter. 35 mg de 2e agujas incoloras con punto de fusión 153-155°C que en el punto de fusión mezclado no mostraron depresión con 2c. DC de la adición -

de la reacción (condiciones estándar gel de sílice, ciclohexano/etilacetato (1:1); demostración descarga de fluorescencia): 3e: RF = 0.39; 2G: RF = 0.47; producto de transposición: $R_F = 0.47$.

En forma análoga se aplicaron 10mg 3b.- Desviándose no se cristalizó el producto de reacción sino que simplemente se comprobó de (condiciones como las anteriores). 2b: $R_F = 0.25$; 3b: $R_F = 0.18$; producto de transposición: $R_F = 0.25$. Tanto 2b (10mg) como también 2G (10mg) permanecieron sin cambio bajo las mismas condiciones de investigación.

Comportamiento de 2G con relación al álcali: Se prepararon 120 mg 2e con 10 ml de etanol. KOH (5% en etanol/agua (8:2)). Después de una hora a temperatura ambiente, se aciduló la solución-rojo anaranjada y se agitó con acetato etílico. Los extractos unidos fueron lavados, secados y reducidos. De metanol/éter 60mg de cristales amarillos con punto de fusión 210-213°C, de metanol puro. Punto de fusión 215-217°C. Punto de fusión mezclado sin de presión con 4b- DC (condiciones estándar, gel de sílice 60F 254-placas terminadas, acetato etílico, fluorescencia azul ante la lámpara de rayos ultravioletas de onda larga): 4b: $R_F = 0.27$. -- Producto de transformación de álcali de 2G: $R_F = 0.27$.

Substancia comparativa: 5-hidroxi-4metoxi-6-trans-estirilo-2-pirona. (4b).

a) Cis-5-acetoxikawaina= rel- (5R, 6S) = (+) = 5-acetoxi-4 metoxi-6-trans-estirilo- 5,6-dihidro- 2H-pirano-2- ona (2d): - 500 mg Cis -5 -hidroxikawaina (2a)⁴, 5ml anhídrido acético y 10ml de piridina se dejaron reposar 24 horas a temperatura ambiente, se vertieron sobre hielo y cristalizaron de éter/acetona: 400 mg.

de cristales incoloros con punto de fusión 135-136°C.

IR (KBr): 1735 (OAC), 1695 cm^{-1} (pirona -S =O).- 1H-NMR.

B. Piper auritum. Extracción y aislamiento.- Las hojas leñosas secas (2.5 kg.) fueron extraídas continuamente con cloruro de metileno (aparato soxhlet) durante aproximadamente 70 horas, y el extracto fue concentrado al vacío dejando 50g. de residuo.

El extracto se purificó por cromatografía de columna (usando 4 columnas (4.5 cm. / cada 500 g. de gel de sílice). Se colectaron las fracciones (20 ml de cada una) comenzando con ciclohexano-acetato de etilo (7:3) seguido por mezclas de ciclohexano-acetato de etilo de polaridad incrementada (3:2, 1:1, 2:3, 3:7, 1:4).- Se colectaron, se separaron y se sacaron para proporcionar 1.1g. de residuo café obscuro las fracciones que contenían uno o ambos compuestos fluorescentes (de los eluatos que contenían uno o ambos compuestos fluorescentes (de los eluatos que contenían 60 a 80% de etilacetato). Este material fue disuelto en un volumen mínimo de etilacetato - EtOH (3:2), impregnado en 8.0g de celita, y después de secado se colocó en la parte superior de una columna (2.0 cm) que se llenó con una mezcla de poliamida (45g) y celita (45g).- La columna fue eluada primero con 500 ml de ciclohexano.- Et OH (3:2), después con mezclas de solvente de polaridad incrementada (1:1, 2:3, 3:7, 1:9, 500 ml de cada uno.- Se combinaron las fracciones que mostraban contener un solo compuesto por tlc.- Se eluyó el ciclohexano - EtOH (1:1) defraudada 3 para proporcionar, después de ser evaporado hasta aproximadamente 5ml, 5 mg de agajos amarillos.

jaños. Después de una fracción intermedia (ciclohexano- EtOH, 2:3) conteniendo ambos compuestos fluorescentes, se eluyó la cefaradiona B con ciclohexano- EtOH (3:7).- se evaporó hasta aproximadamente 3-ml., lo cual proporcionó 2 mg. de agujas anaranjadas.

CEFARADIONA B (1). Agujas anaranjadas de moderada solubilidad en CHCl_3 mp 255-262° (Kofler); ms (peso molecular calculado para $\text{C}_{19}\text{H}_{15}\text{NO}_4$, 321. 1001; se encontró 321. 1001) m/e (%) 321 (100), 293 (75), 278 (24), 250 (40), 235 (22), 222 (15), 207 (8), 179 (37), y -150 (17); nmr (δ_c DMSO a los 105°) 6.45 (3H, s, NCH_3), 6.09 (6H, s, 20 CH_2), 2.4-2.7 (1H, s + 2H, m; protones aromáticos), 2.1-2.3 (1H, m, protones aromáticos); 2.21 (1H, s protones aromáticos); ir, v máx (KBr) 1640-1670 cm^{-1} (bandas traslapantes, CO); uv máx (CHCl_3) - (log) 245 (4.60), 304 (4.17) 316 (4.22 y 440nm (4.72).

CEFARADIONA A (2).- Agujas anaranjadas - rojas de moderada solubilidad en CHCl_3 , mp 338-342° (decomp); ms, m/e (%) 305 (N+, 90) --- 278 (22%), 277 (100%), 276 (22), 260 (15), 248 (13), 220 (12), 219 - (18), 192 (20), 191 (21), 190 (21), 164 (20), 163 (30), 150 (14), -138 (18); ir, v máx (KBr) 1667 y 1650 (CO) cm^{-1} ; uv, máx (CHCl_3) (log) 239 (4.51), 278 (3.97), 303 (4.17), 316 (4.22) y 434nm (4.12).

Los autores estan agradecidos con el profesor Dr. H. Itokawa, - Tokyo College of Pharmacy, que llevaron a cabo las comparaciones del espectro ir, con muestras auténticas, y al profesor Dr. A. Petter, U-

niversity College of Swansea, Departamento de Química para medidas de masa exacta y por sus muchos y valiosos consejos. 5 de mayo de 1975.

BIBLIOGRAFIA:

1.- Akasu, M.H, Itokanea y M. Fujita, 1974 Four New Fluorescent Components isolated from the callus tissue of stephania cepharanta.- Tetrahedron Lett. 1974: 3609.

2.- Cronquist, A. 1968. The evolution and classification of flowering plants. Thomas Nelson and sons Limited, Londres, p. 133.

3.- Gomes Pompa, A, 1971. Posible papel de la vegetación secundaria en la evolución de la flora tropical.- Biotronico 3(2): :125.

CAPITULO VII

ACCION TOXICA SOBRE EL ORGANISMO

Aunque el título de esta tesis se refiere a la acción tóxica del Acuyo, es difícil asegurar que ésta exista.- En la actualidad no hay ningún estudio hecho con la suficiente profundidad para poder considerar que haya toxicidad.

Desde épocas muy antiguas, los habitantes de Mesoamérica han usado esta planta en su dieta ingiriéndola en cantidades no determinadas, pero que se presume han sido considerables; sin haberse sabido nunca de algún caso en el cual hubiera causado algún tipo de trastorno.- Por el contrario, las descripciones sobre la medicina popular indican que era usado como estimulante, analgésico, diaforético y diurético: razón por la cual en la cocina prehispánica era utilizado frecuentemente en la elaboración de sus alimentos, ya sea como condimento o como aromatizante.

Hoy en día el uso del Piper Sanctum, Hierba Santa o Acuyo, - como es más conocida en México se sigue usando con frecuencia, especialmente en los estados de Veracruz, Tabasco, Yucatán, Oaxaca y Guerrero. En algunos de estos lugares y en países como Guatemala, Costa Rica, Honduras y otros es usado inclusive a manera de remedio casero contra algunos males como las anginas, erisipela, fiebre, gota, inflamaciones, dolores de cabeza, colocando en este caso las hojas frescas sobre la frente, lo cual tiene su origen en tradiciones muy antiguas.

Por otra parte y desde el punto de vista científico, se han podido obtener compuestos a partir del Acuyo (Piper Sanctum, Pi--

per Auritum) cuyas propiedades y efectos sobre el organismo no se conocen.

De los diferentes compuestos que se han podido extraer -- del Piper Sanctum hasta la fecha ninguno de ellos ha dado muestra alguna toxicidad.

Cada uno de estos compuestos en forma aislada presentan -- la posibilidad de ser usadas en el futuro en la Industria Farmacéutica, en virtud de las propiedades curativas que se atribuyen a esta planta, aunque esto requiere de una exhaustiva investigación sobre sus propiedades, ya que la información disponible acerca del Acuyo es insuficiente, además que ha sido realizada en otro país. Sería por lo tanto deseable que en México, se investigara a fondo lo concerniente al Piper Sanctum, comenzando por confirmar los resultados que se han reportado al respecto.

CAPITULO VIII.

RESUMEN Y CONCLUSIONES.

Aquí en México no se han hecho los suficientes estudios, el único informe de que se dispone, es el ya mencionado trabajo de la Universidad Nacional, que presentó la Química Ofelia Collera como tesis en el año de 1956, en el cual reporta haber aislado el safrol en una proporción de 47 a 50% de este aceite, y la probabilidad de que un 34% más sea α -Terpineno.

Esta abierto el campo para comprobar las investigaciones -- realizadas en Alemania.-- Probablemente pueda usarse el Acuyo (P. Sanctum) en la misma forma o tenga propiedades farmacológicas parecidas al Piper methysticum ya que contiene alguno de los principios activos de ésta.

De acuerdo a la anterior se puede inferir que así como en otros campos de la investigación la inmensa variedad de compuestos naturales, que existen en nuestro medio y de los cuales nuestras instituciones de investigación no tienen referencia acerca de su comportamiento físico, químico, etcétera lo cual sucede en concreto en nuestro caso en el que la información más extensa y precisa, se encuentra fuera de nuestro país.

Se concluye que no se puede precisar con exactitud el efecto toxicológico de esta planta y que a la fecha y de acuerdo a la información encontrada no se han hecho los estudios suficientes para determinar la toxicidad específica en este compuesto; -- ahora bien, partiendo del análisis cualitativo de esta planta podríamos prever en analogía con Piper methysticum alguna toxicidad en el caso de que se ingiriera en abundante cantidad.

Es por ello de la importancia de este estudio bibliográfico; que sea un estímulo para aquellos estudiosos en la materia.

CAPITULO IX

BIBLIOGRAFIA:

- 1.- Enciclopedia de México, tomo I, p. 3.
- 2.- Enciclopedia de México, Tomo VI, p. 1121-1222.
- 3.- Coliera Zuñiga, Ofelia. Estudio de la esencia de Piper Auritum.
Tesis Facultad de Ciencias Químicas, México 1956.
- 4.- Diccionario Botánico.
- 5.- Wilson and Jones. American Drug Index.
- 6.- Diccionario enciclopédico Uteha.
- 7.- Diccionario de Química y Productos Químicos Gessner G. Hawly.
- 8.- Kaplan Langman. Plantas de México. Bibliografía. IDA. Philadelphia of Pennsylvania. Press, 1964. 1 Disp. ilustradas.
- 9.- Gilg Ernst. Farmacología. Materia vegetal y animal. Traduc. y edic. en alemán.
- 10.- Baker, Herbert G. Las plantas y la civilización.
- 11.- Farmacopea mexicana. Año 1826.
- 12.- Martínez Máximo. Las plantas medicas de México, 1959.
- 13.- Martínez Máximo. Las plantas más útiles que existen en la República Mexicana.
- 14.- Hernández Xolocotz; G. Efraín. Apuntes sobre la exploración etno botánica y su metología. Colegio de Postgraduados Escuela Nacional de Agricultura 1971.
- 15.- Treleasee, Wikkian. The Piperaceae of Nothern South A. 1857-1945.
- 16.- Wallis, Thomas Éduard. Manual de farmacognosia.
- 17.- Yowghen, Herbert W. Tratado de farmacognosia.
- 18.- San Martín Casanada. Farmacognosia con farmacodinámica.
- 19.- S. G. Grosan, Helin. Plantas y flores de México.

- 20.- Gómez Pompa, Arturo. Estudio botánico en la flora de Veracruz.
- 21.- Nueva farmacopea. Mexicana de la sociedad farmacéutica. Mexicana. Sexta edic. 1955.
- 22.- Profr. Dr. A. del Pozo y Profr. Dr. E. Gastón de Iriarte. Enciclopedia farmacéutica. Drogas y productos químicos.
- 23.- The merck index of chemical and drug. Seventh edition.
- 24.- Bradacze, H. Hecht H. J. Reinhard R. Crystal and molecular structure of cinnamylidene butenolides from piper sanctum. J. - Cryst. mol 7(3): 145-155 177a.
- 25.- Hansel R. Pelter A. Schulz J. Hille G (GE).
5- Acetoxy 6 metoxykawain from piper. Sanctum, and Synthesis of both diastereoisomers.
Chem Ber 109 (5): 1617-1624 76 17R.
- 26.- Leuschke A. Gómez Pompa. Aporphine - Type Alkaloids from piper-Sanctum.
- 28.- Hansel R.
(GE) Piper Methisticum from drug to pure compound. Arch Pharmacy 302 (12): 8287 69M; R.
- 29.- Beer G. Schulz J (GE) Structure and synthesis of 5 Methoxy 5,6 - Dihidromethysticum a minor component of, Piper sanctum. Chem -- Ber 106 (19): 3119-3125 73, 13R.
- 30.- Schulz J. Leuschke A. (GE) Oxidation of naturally occurring lactones 3 epoxidation of piperolid.
- 31.- Pelter A. Cinnamylidene butenolide from Piper Sanctum.
Phytochem 10 (7): 1927 71 22R.
- 32.- Plant Phenolics of pharmaceutical interest. Phytochem 11(2): 923 72M no. R.

- 33.- The New Encyclopaedia Británica. Vol. 5, p. 734, 1974.
- 34.- Index Merck
- 35.- Gilg-Shurhotf. Curso de botánica general y aplicada. Tercera edición. edit. Labor, S. A. Barcelona, Madrid.

Nota: Al final de cada inciso se presenta bibliografía, así como al final del trabajo.