

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA



ESTUDIO FITOQUIMICO DE MORTONIA DIFFUSA

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO
P R E S E N T A
MARIA CRISTINA SANCHEZ VELEZ
MEXICO, D. F. 1983



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

CONTENIDO.

	pág.
I. INTRODUCCION	1
II. PARTE TEORICA	9
III. CONCLUSIONES	32
IV. PARTE EXPERIMENTAL	34
V. ESPECTROS	41
VI. BIBLIOGRAFIA	50

INTRODUCCION.

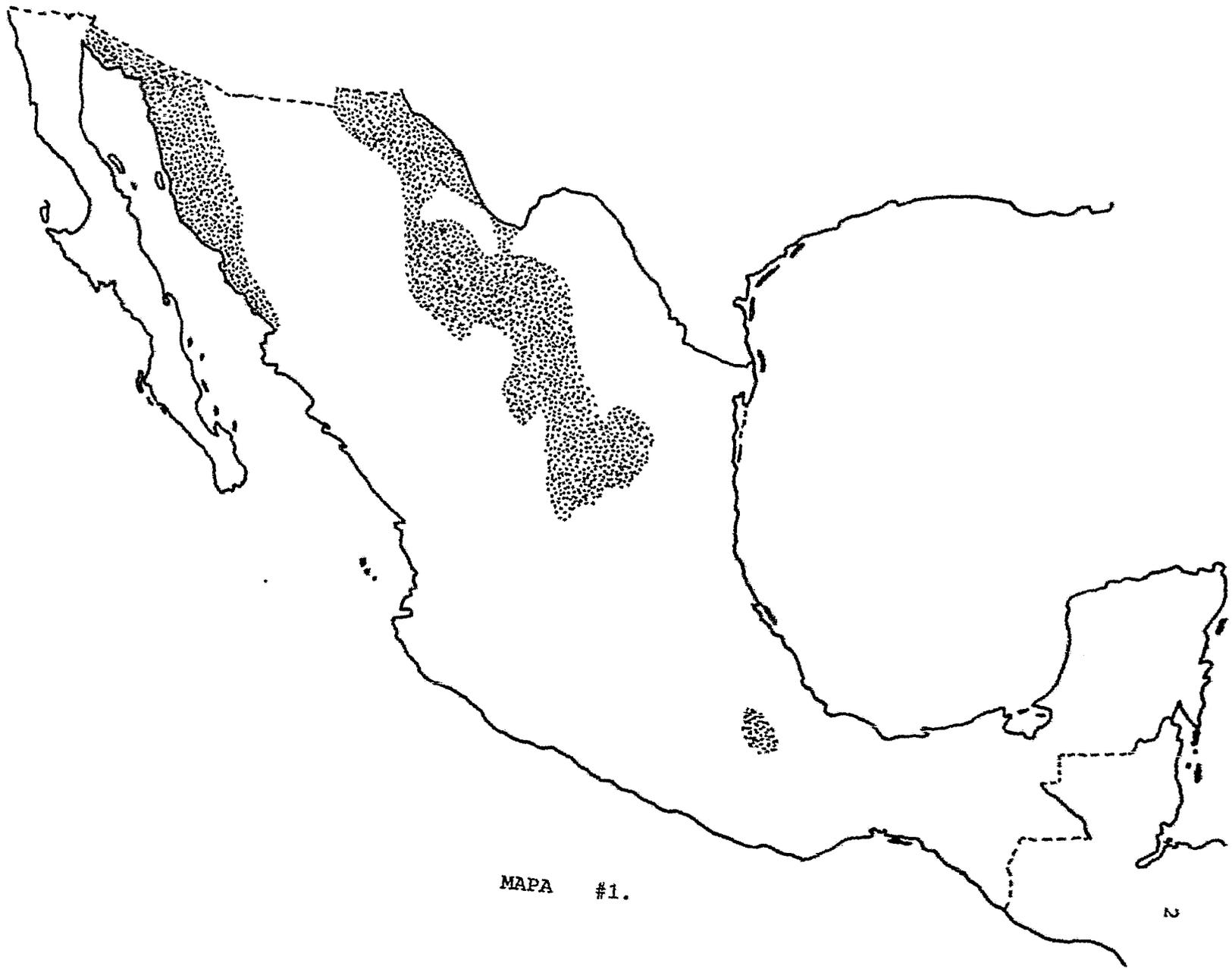
I. INTRODUCCION.

El género *Mortonia* pertenece a la familia *Celastraceae*. Crece en las regiones semidesérticas de México (Mapa #1). Existen en éste país varias especies de éste género, como *M. greggii* (A. Gray) en Coahuila y Nuevo León; *M. palmerii* (Hemsl) en Zacatecas, Coahuila y San Luis Potosí; *M. scabrella* (A.Gray) en Chihuahua y Sonora; *M. hidalgensis* (Standl) en Hidalgo y *M. difflusa* (Rose y Standl) en Puebla.¹

Las características morfológicas del género son: arbustos bajos; hojas alternadas, permanentes, enteras uninervadas, usualmente muy delgadas, la orilla generalmente enrollada hacia abajo; presentan pequeñas hojas blancas que nacen en cimo por arriba de la axila y forman un panículo terminal; 5 estambres, ovario imperfecto, pentacelulado; fruto seco, indehiscente, unicelulado y a partir de una semilla.¹

Las especies pueden diferenciarse según lo muestra el cuadro 1.

La *M. difflusa* es un arbusto de 1-1.15 m de alto ramas café, hojas cortas pecioladas de 1-1.15 cm de lar-



MAPA #1.

Hojas ovales ó suborbiculares

1. *M. scabrela*.

Hojas espatuladas a linear-oblancooladas.

Hojas linear-oblancooladas, escasamente ensanchadas hacia el ápice.

2. *M. palmerii*.

Hojas espatuladas u oblancooladas, más ensanchadas hacia el ápice.

Hojas delgadas, lisas, las orillas delgadas, no enrolladas hacia abajo.

3. *M. greggii*.

Hojas muy gruesas, las orillas engrosadas, enrolladas hacia abajo.

Hojas lisas.

4. *M. diffusa*.

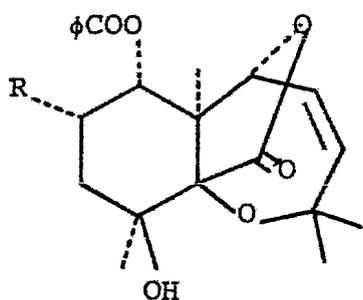
Hojas escabrosas en la superficie superior.

5. *M. hidalgensis*.

go, obtusas ó redondeadas del ápice, puntiagudas, verde brillante; inflorescencia comparativamente larga y flácida; pétalos suborbiculares de 2 mm de largo. Su habitat es ladera caliza con vegetación de matorral alto. Altitud 2250 m. Se encuentra principalmente en la zona de Tehuacán, Puebla¹.

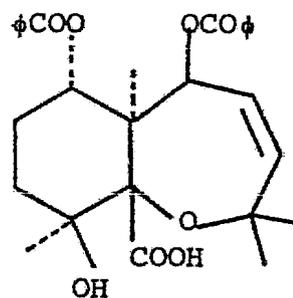
Las especies que se habían estudiado son *M. greggii* y *M. hidalgensis*.

De los primeros estudios de *M. greggii* (1977), se aislaron cuatro compuestos, los que se conocen como --Mortoninas A, B, C y D. Estudios químicos, fotoquímicos y espectroscópicos permitieron establecer las estructuras de estos productos como (1-4) respectivamente².

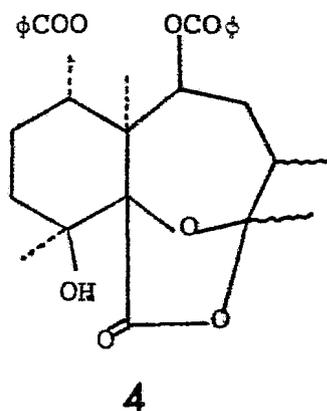


1 R=H

2 R=OAC

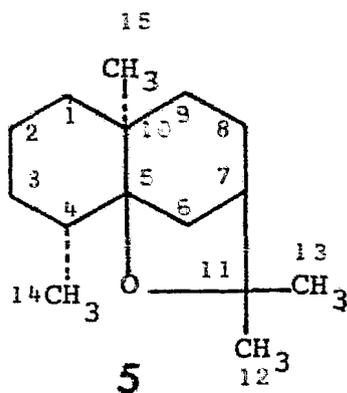


3



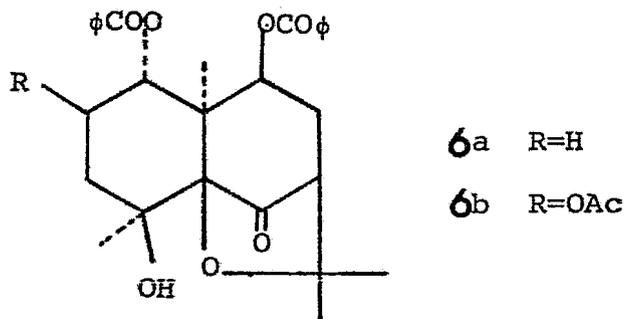
Estos cuatro compuestos constituyen una nueva - clase de sesquiterpenos, ya que contienen un anillo de te trahidro-oxepina en su estructura.³

De varias especies de la familia *Celastraceae* - se han aislado muchos compuestos que muestran un esqueleto de dihidroagarofurano polihidroxilado (5).⁴

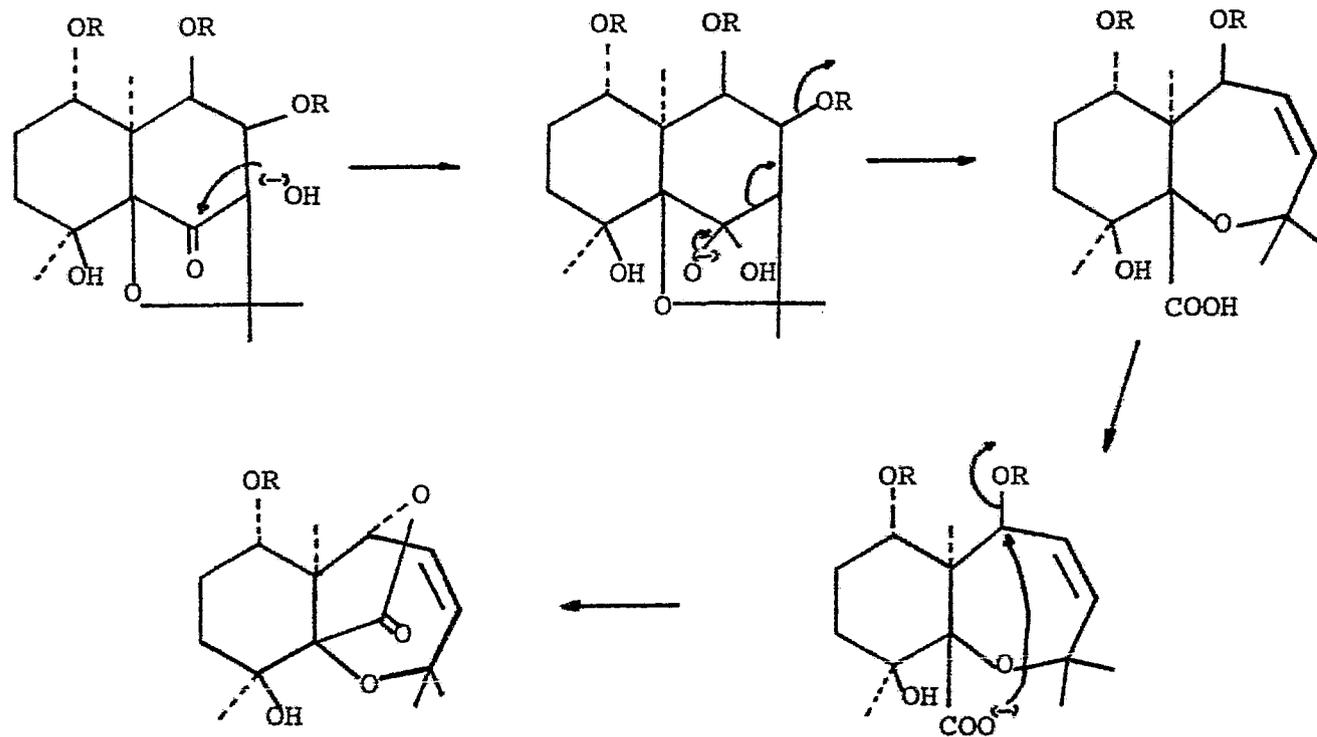


La ruta biogénica propuesta para las mortoninas² consiste en la ruptura oxidativa del anillo B de un precursor cuya estructura presenta un esqueleto de dihidroagarofurano polihidroxiado (Esquema #1).

En estudios posteriores de *M. greggii* (1981), - se aisló un producto nuevo, en cuyo esqueleto el anillo B no ha sufrido ningún cambio, se le llamó mortonol A (6a). Su estructura fué establecida por estudios espectroscópicos y de degradación⁵.



De *M. hidalgensis* se obtuvieron mortoninas A y C con rendimientos de 0.004 y 0.33% respectivamente. De las agua madres de mortonina A se aisló un nuevo compuesto, - que es el 2 β acetoxi mortonol A, y fué llamado Mortonol B (6b)³. Si se observa la ruta biogénica propuesta para -



ESQUEMA #1.

las mortoninas A, B, C y D (Esquema #1), tanto el mortonol A como el B pueden ser precursores biogénicos de estos cuatro compuestos.

En los estudios preliminares de *M. palmerii* se han aislado mortoninas A y C así como otros compuestos -- aún no identificados⁶.

El alto grado de hidroxilación del esqueleto de dihidroagarofurano no es común en sesquiterpenos y constituye una característica de la familia *Celastraceae*⁴. De la misma forma se propone que la presencia de mortoninas A y C puede ser una guía quimiotaxonómica para diferenciar el género *Mortonia* de otros géneros de ésta familia.³

El objetivo del presente trabajo es ampliar y complementar las investigaciones sobre el estudio del género *Mortonia*.

PARTE TEORICA.

II. PARTE TEORICA.

La *Mortonia diffusa*, especie que ocupa el presente estudio, pertenece al género *Mortonia* de la familia *Celastraceae*.

Al cromatografiar el extracto clorofórmico de las hojas secas de la planta, se obtuvieron de las fracciones menos polares (cloroformo-acetona 9:1 y 8:2), dos sustancias, que se identificaron en forma usual, como mortonina A p.f. 196-200°C² (rend. 0.107%) y mortonina C² p.f. 214-216°C (rend. 0.10%).

De la recromatografía en columna de las fracciones eluidas con cloroformo-acetona 2:8, las primeras fracciones constituyen una mezcla de productos que se denominó mezcla I, con p.f. 132-136°C. El espectro de I.R. de ésta mezcla (espectro #1) muestra, por la absorción característica a 3050-3550 cm⁻¹ la posible presencia de grupos alcohol; en 1760 cm⁻¹ se observa una banda que sugiere la presencia de una ciclopentanona; en 1720 cm⁻¹ una banda ancha para carbonilos de éster; a 1600 y 1590 cm⁻¹ se observan señales de insaturaciones aromáticas. Por la amplitud de la señal para alcohol, se supone se trata de una mez-

cla de glicósidos.

La hidrólisis ácida de la mezcla I, permitió obtener una sustancia de p.f. 94-97°C (7), que presenta en su espectro de I.R. (espectro #4) una banda ancha en 3250-3550 cm^{-1} característica de grupo alcohol; en 1760 cm^{-1} - una señal que se atribuye a una posible ciclopentanona. - En 1720 cm^{-1} se observa una señal ancha para carbonilos - de éster y a 1600 y 1590 cm^{-1} señales de dobles ligaduras aromáticas.

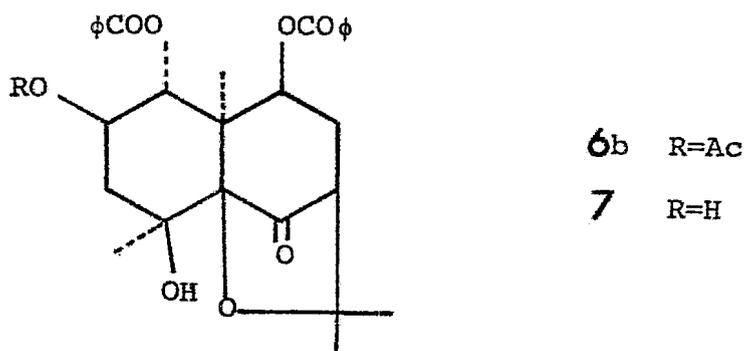
El espectro de RMN^1H de (7) (espectro #5) presenta cuatro singuletes a campo alto: 1.3, 1.4, 1.55 y - 1.75 ppm, que se asignan a metilos sobre C totalmente sustituídos. En 3.75 ppm aparece un multiplete que integra - para un protón.

Las señales que aparecen a 5(dd, $J=6,3$ Hz) y a 5.75 ppm (d, $J=12$ Hz) integran cada una para un protón y - se asignan a protones sobre C que están unidos a un grupo éster. En la región de protones aromáticos (7.15-8ppm) se muestra un multiplete con integración total para 10 H, los cuales en unión con las bandas que en I.R. se obser--van a 1720, 1600 y 1590 cm^{-1} (espectro #4), corresponden a la presencia de dos grupos benzoato.

Estas características espectroscópicas presen--

tan semejanza con las observadas para mortonol B (6b)³, - (Tabla 1), y se propone por analogía con éste compuesto, la estructura (7) para el 2 β desacetil mortonol B, donde el multiplete que en RMN¹H (espectro #5) se observa a 3.75 ppm corresponde al protón en C₂, donde se encuentra un --OH.

Todas las señales restantes se conservan sin alteración como en el mortonol B (6b) (Tabla 1).



La comprobación de ésta estructura se llevó a --cabo mediante la acetilación de (7), obteniéndose como --producto de reacción el mortonol B (6b).

Las fracciones más polares de la recromatogra--fía de las fracciones eluidas con cloroformo-acetona 2:8, son una mezcla de productos que se denominó mezcla II, de

TABLA 1. RMN¹H de MORTONOL B.

Compuesto	H ₁	H ₂	H ₃	H ₉	C ₄ -Me	C ₁₀ -Me	C ₁₁ -(Me) ₂	OH	OAc	H AROM.
Mortonol B	6.0 d	5.2ddd	*	5.0dd	1.75s	1.3s	1.40 s	2.75	1.85	7.25-8.2
(6b)	(11)	(10,11,6)		(2,6)			1.55 s	(1H)		(10H)
2β desacetil										
Mortonol B	5.75d	3.75 m	*	5.0dd	1.75s	1.3s	1.40 s		*	7.15-8.2
(7)	(12)			(3,6)			1.55 s			(10H)

Los espectros fueron corridos en CDCl₃, usando como ref. interna TMS.

Las constantes de acoplamiento en Hz están es paréntesis.

p.f. 134-140°C. El espectro de I.R. de ésta mezcla (espectro #2) muestra, por la absorción característica a 3100-3550 cm^{-1} la posible presencia de grupos alcohol. En 1760 cm^{-1} se observa una señal, que por experiencia se atribuye a una ciclopentanona; en 1750 y 1720 cm^{-1} bandas para carbonilos de éster y en 1600 y 1590 cm^{-1} señales de insaturaciones aromáticas.

La RMN¹H de la mezcla II muestra en 1.25-1.65 ppm singuletes que corresponden a cuatro metilos sobre C totalmente sustituidos; de 1.85-2.15 ppm se pueden observar cuatro singuletes de metilos de acetato; de 3.1-4.6 ppm se observan varias señales que se asignan a posibles protones sobre C que soportan grupos acetato y a posibles protones sobre C que se encuentran unidos a oxhidrilos.

En 5 y 5.7 ppm se observan señales complejas y en la región de protones aromáticos se muestra un multiplete.

Estas características espectroscópicas hicieron suponer que se trataba de una mezcla de glicósidos.

La mezcla II se intentó separar por dos métodos: cromatografía en columna y en capa fina, utilizando sílice como soporte y cloroformo como disolvente principal; - dadas las condiciones ácidas de los métodos de separación

empleados, los grupos acetato presentes en la molécula, - tal vez se transesterificaron, siguiendo el mecanismo propuesto por Fisher⁷ (FIG. 1).

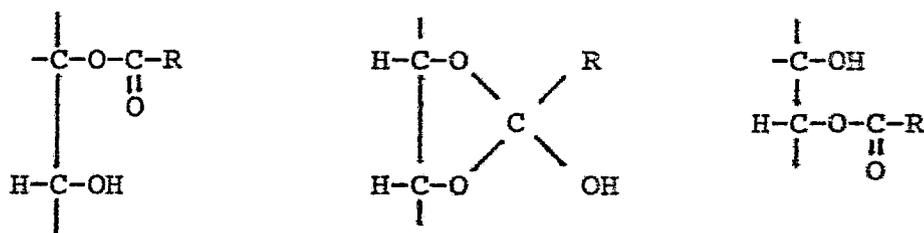


FIGURA 1.

Esta migración también tiene lugar en medio bá-sico.

La posible migración intramolecular de los grupos acetato, puede ser una de las causas que hicieron difícil el aislamiento del producto original.

Al revisar la literatura, uno de los métodos importantes para la determinación de estructuras de glicósi-dos es la formación de derivados metilados y su análisis⁸.

El método más empleado para la permetilación de carbohidratos es con $\text{CH}_3\text{I}/\text{DMSO}/\text{NaH}$ ⁸, por su alto rendi-miento y porque se evita una remetilación del producto. - Sin embargo, cuando se intentó este procedimiento, se ob-tuvieron productos de descomposición de la molécula, debi

do a las condiciones básicas tan drásticas.

Mastronardi y colaboradores⁹, proponen un método para metilación de carbohidratos que contienen sustituyentes lábiles al medio básico, se efectúa con diazometano en diclorometano y etearato de trifluoruro de boro y a 0°C. En éste método, además se evita la migración de grupos acetato. Los resultados de ésta reacción fueron negativos, puesto que se obtuvieron productos de degradación que no se lograron identificar.

Posteriormente se efectuó una reacción de acetilación en condiciones usuales, pero se obtuvo una mezcla de productos difícil de separar.

Por último se intentó una acetilación del producto modificando el procedimiento clásico; la diferencia consiste en utilizar el doble de anhídrido acético para la misma cantidad de piridina y muestra, con un largo tiempo de reacción. Bajo estas condiciones, se obtuvo una mezcla de productos acetilados que se separaron en cromatografía en columna, siendo el producto más abundante un sólido cristalino blanco, con un p.f. 135-140°C (8). El producto (8) muestra todavía la presencia de uno ó varios grupos alcohol, por la banda que aparece en 3530 cm^{-1} en su espectro de I.R. (espectro #6), que al compararla con -

la banda que presenta la muestra original (espectro #2) - en esa región, puede observarse una clara reducción en la señal. En 1760 cm^{-1} se observa una banda para una ciclo--pentanona; en 1750 y 1720 cm^{-1} señales para carbonilos de éster; a 1600 y 1590 cm^{-1} bandas para insaturaciones aromáticas.

En el espectro de RMN^1H de (8) (espectro #7), - se observan cuatro singuletes en 1.3, 1.35, 1.55 y 1.75 - ppm, que se atribuyen a cuatro metilos, los cuales se encuentran sobre C totalmente sustituidos. De 1.85 a 2.05 - ppm se observan varias señales que integran para 21 H, -- que corresponden a 7 Me de acetato.

En 2.7 ppm se observa una señal intercambiable con D_2O que indica la presencia de un grupo oxhidrilo; es to se ve confirmado por la banda que aparece en 3530 cm^{-1} en el espectro de I.R. de (8) (espectro #6).

En 3.35-5.2 ppm se encuentran varias señales - que integran para 16 protones que se asignan a protones - sobre C unidos a grupos éster (acetatos y benzoato), pro tón de la unión glicosídica y protones anoméricos de los azúcares. En 5.9 ppm se observa un doblete $J=10\text{ Hz}$ que in tegra para un protón unido a un C que soporta un grupo és ter.

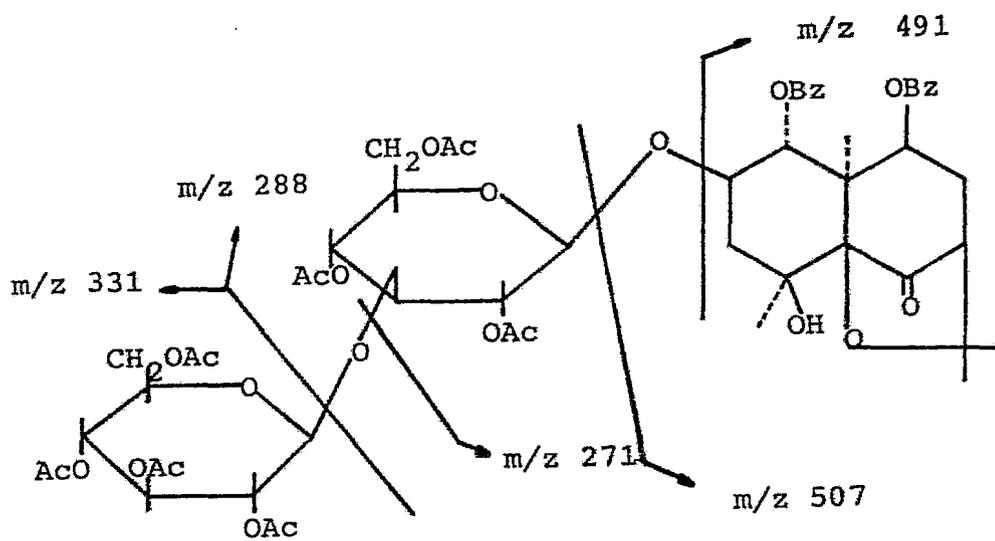
En 7.2-8.5 ppm (región de protones aromáticos), se muestra un multiplete con integración total para 10 -- protones que suponen la presencia de dos grupos benzoato.

Los datos espectroscópicos en conjunto, sugie-- ren la presencia del 2 β desacetil mortonol B (7) (Tabla 1) como aglucón; el resto de los datos supone un disacárido totalmente acetilado.

En E.M. se comprueba la presencia del 2 β desacetil mortonol B por el pico a m/z 507 (1.3%) y la pérdi-- da de dos grupos benzoato en m/z 385 (507-122) y 263 (507-244). En m/z 105.1 se presenta el pico base, que corres-- ponde al acilo del ácido benzoico.

Así mismo se pueden observar picos que corres-- ponden a dos hexosas peracetiladas²⁵, en m/z 331.3 (28.8%) $C_{14}H_{19}O_9$ y en 271 (4.1%) $C_{12}H_{15}O_7$. En m/z 43 (27.1%) se -- presenta el pico del acilo del ácido acético (Esquema #2).

Antiguamente se determinaba la posición de los-- enlaces de oligosacáridos por métodos químicos y degrada-- ciones bioquímicas^{10,11}. Varias investigaciones^{12,13} de-- mostraron la utilidad de RMN¹H para establecer la configu-- ración y conformación de carbohidratos, pero algunas seña-- les de sacáridos en resonancia protónica se encuentran so-- brepuestas¹⁴.



ESQUEMA #2.

Recientemente, se han publicado e interpretado los espectros de RMN¹³C de monosacáridos y de oligosacáridos¹⁴⁻¹⁶. Estas investigaciones muestran que los desplazamientos químicos en ¹³C pueden explicarse en términos de impedimentos estéricos y efectos inductivos.

Tori y colaboradores¹⁷ encontraron que, en glicósidos naturales, los desplazamientos químicos de los C donde se forma la unión glicosídica, son característicos del ambiente estérico del aglucón y del glicósido (desplazamientos por glicosidación). Este hecho es importante para la determinación de la posición de la unión glicosídica en la parte del aglucón, así como la clase y secuencia de azúcares en glicósidos, ya que muchos compuestos de este tipo son inestables a reacciones de hidrólisis ácida.

Los desplazamientos por efecto de glicosidación se derivan como sigue:

$$\text{AGLUCON: } \Delta\delta_A = \delta(\text{R-glicósido}) - \delta(\text{alcohol, R-H})$$

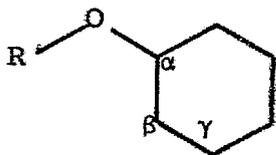
$$\text{SACARIDO: } \Delta\delta_S = \delta(\text{R-glicósido}) - \delta(\text{Me-glucósido})$$

Desplazamiento de la fracción del aglucón $\Delta\delta_A$:^{14,15,17-21}

En general, el carbón que soporta la unión gli-

cosídica (C α) se encuentra desplazado en $\Delta\delta = +7 \pm 0.6$ ppm.

Para el (C β), las señales se encuentran desplazadas en $\Delta\delta = -5$ a -2 ppm y para el (C γ) los desplazamientos son menores de $\Delta\delta = 0.7$ ppm y no son importantes en la determinación estructural.



R= glicósido

Desplazamiento de la fracción glicosídica $\Delta\delta_S: 14, 15, 17-21$

En la mayoría de los casos, para el C en que se efectúa el enlace glicosídico, se espera un desplazamiento a campo bajo en $\Delta\delta = +8$ a $+11$ ppm.

En todos los casos, el desplazamiento asociado al C $_1$ para el anómero α aparece a campo alto y para el anómero β a campo bajo (Tabla 2).

Otro factor que afecta el desplazamiento en ---RMN ^{13}C es la presencia de grupos acetilo. Un acetato, provoca que el carbón carbinílico (C $_1$) se encuentra desplaza

TABLA 2. DIFERENCIAS EN DESPLAZAMIENTOS QUIMICOS
RMN¹³C DE GLUCOSA Y ALGUNOS DERIVADOS.

	C ₁	C ₂	C ₃	C ₄	C ₅	C ₆
αD GLUCOPIRANOSA*	93.3	73.1	74.4	71.2	72.9	62.4
βD GLUCOPIRANOSA*	97.1	75.6	77.3	71.2	77.3	62.4
MeβD GLUCOPIRANOSA*	104.5	74.6	77.3	71.2	77.3	62.4
SAIKOSAPONINA d**	105.8	74.6	78.3	71.5	78.6	62.7
C ₃ ^N -O-ACETIL SAIKO SAPONINA d **	105.9 (+0.1) †	73.4 (-2.2)	79.1 (+0.8)	69.1 (-2.4)	78.3 (-0.3)	62.5 (-0.7)

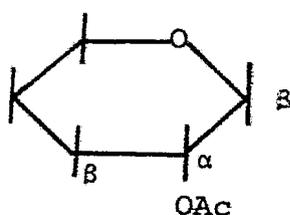
Todos los desplazamientos están dados en ppm utilizando TMS como referencia interna.

* Espectros corridos en MeOH y Benceno¹⁹.

** Espectros corridos en C₅D₅N a 25°C ²⁴.

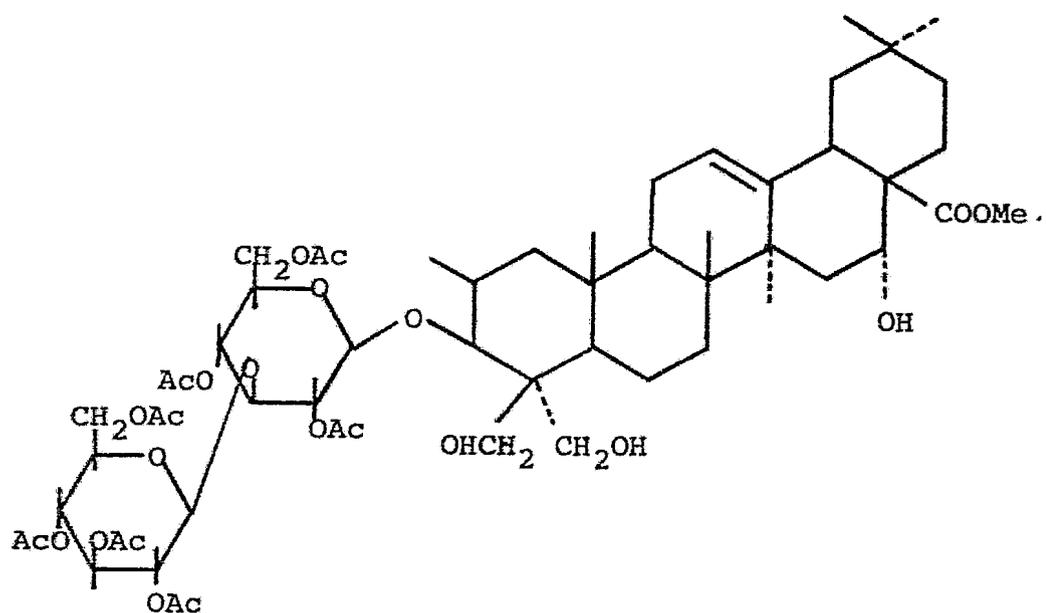
† Δδ entre el producto acetilado y el alcohol correspondiente.

do a campo bajo $\Delta\delta = +2$ ppm, mientras que el (C β) es desplazado a campo alto $\Delta\delta = -3$ ppm^{18,21,23,24} (Tabla 2).



Con base en las características espectroscópicas (espectros #6 y #7 y E.M. correspondientes), se propone la estructura (8) para el producto de acetilación más abundante de la mezcla II.

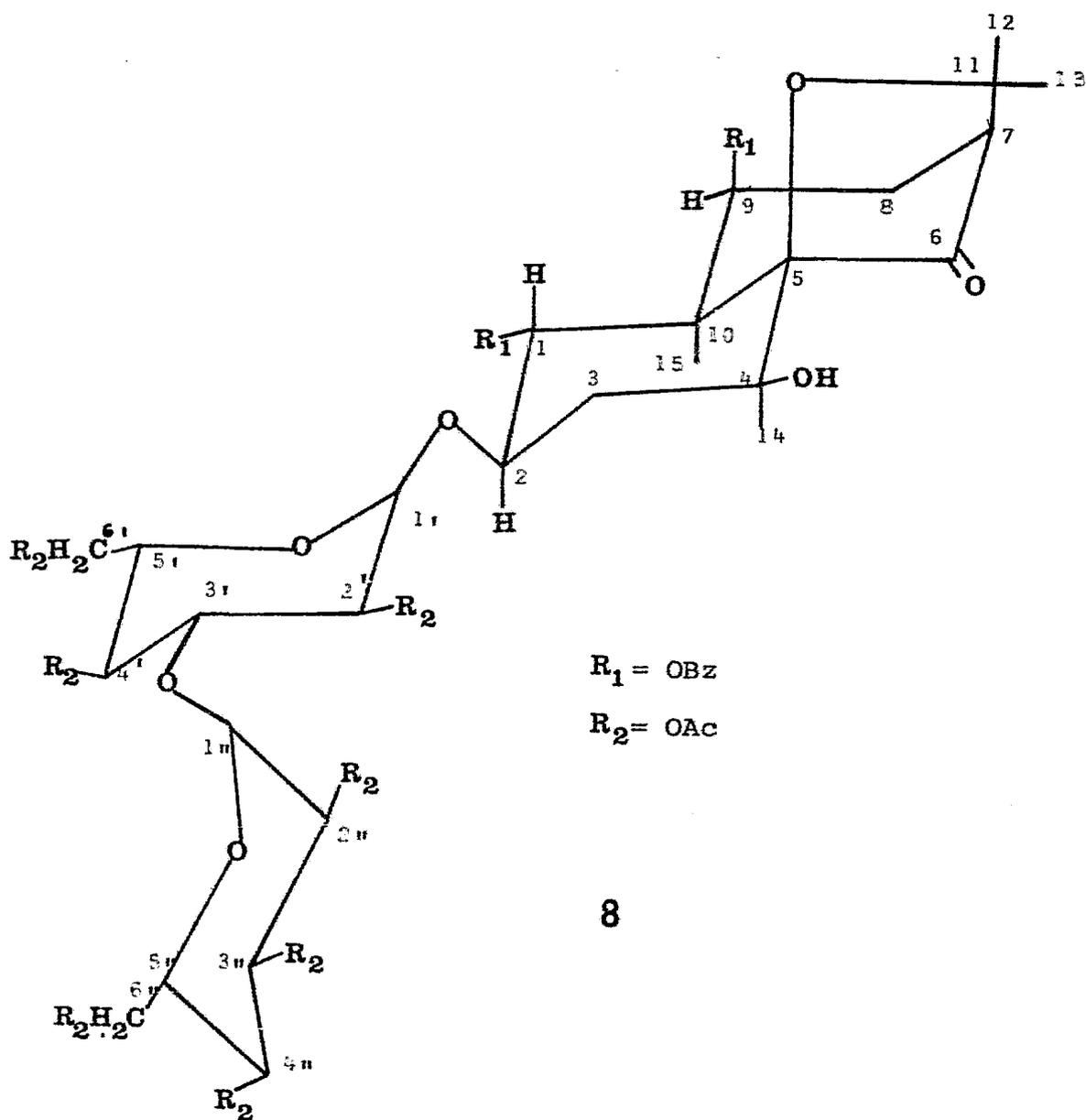
La posición del enlace interglucosídico (β 1-3), así como el tipo de monosacáridos (glucosa) que componen la molécula se determinaron por comparación con los desplazamientos de RMN¹³C de Mortonol B y los de un glicósido natural peracetilado, el 3-O- β laminaribiosil platicodigenina²⁵, (Tabla 3) siendo el producto (8) el 2-O- β |(2, 3,4,6 tetra acetil glucopiranosil) β 1-3 (2,4,6 triacetil glucopiranosil) | desacetil mortonol B.



3-O-β laminaribiosil platicodigenina

TABLA 3. DESPLAZAMIENTOS ¹³C.

CARBON No.	MORTONOL B	(8)	PERACETATO 3-O-β LAM. PLATICODIGENINA.
1	72.08	72.14	-
2	68.99	72.83	-
3	44.37	33.06	-
4	70.95	70.72	-
5	85.77	85.44	-
6	211.04	211.28	-
7	55.34	55.36	-
8	33.14	33.06	-
9	72.23	72.70	-
10	55.84	55.82	-
11	78.55	78.49	-
12	22.24	22.37	-
13	23.63	23.57	-
14	17.88	17.88	-
15	29.62	29.59	-
$\overline{\text{O}}\text{C}\overline{\text{O}}$	165.53	165.62	-
$\text{O}\overline{\text{C}}\text{O}$	164.79	163.91	-
$\text{Me}\overline{\text{C}}\text{O}$	170.21	-	-
$\overline{\text{C}}\text{H}_3\overline{\text{C}}\text{O}$	20.76	-	-
1'	-	99.05	102.4
2'	-	71.69	71.6
3'	-	78.76	78.9
4'	-	68.14	68.8
5'	-	73.01	73.6
6'	-	62.30	62.2
1"	-	100.72	101.1
2"	-	71.69	71.6
3"	-	73.01	73.4
4"	-	68.14	68.8
5"	-	72.14	72.0
6"	-	62.35	62.2



De la Tabla 3, se deduce que la fracción correspondiente al aglucón del producto (8) es 2 β desacetil mortonol B, siendo el C₂ el que soporta la unión glicosídica; es por esto que se explica el desplazamiento a campo bajo del C₂ (C α) y el desplazamiento a campo alto del C₃ (C β), efecto que se presenta en RMN¹³C por glicosidación.

En el caso de la fracción glicosídica, el desplazamiento de C₁ a campo más bajo en el 3-O- β laminariobiosil platicodigenina es debido a la presencia de los sustituyentes en el aglucón. Para el resto de los C no es posible hacer uso de las reglas de desplazamiento para ¹³C, puesto que todos los alcoholes del azúcar están acetilados. Por analogía con el peracetato de 3-O- β laminariobiosil platicodigenina²⁵, se determinó que los monosacáridos presentes en la molécula son glucosas en unión β 1-3.

La hidrólisis ácida del producto (8) permitió el aislamiento del 2 β desacetil mortonol B, comprobándose así la fracción del aglucón de ésta molécula.

Para el producto original que se encuentra en la mezcla II, se propone la estructura (9), con base en las características espectroscópicas que presenta (espectros #2 y #3) las cuales se analizaron con anterioridad (vide supra).

De la Tabla 3, se deduce que la fracción correspondiente al aglucón del producto (8) es 2 β desacetil mortonol B, siendo el C₂ el que soporta la unión glicosídica; es por esto que se explica el desplazamiento a campo bajo del C₂ (C α) y el desplazamiento a campo alto del C₃ (C β), efecto que se presenta en RMN¹³C por glicosidación.

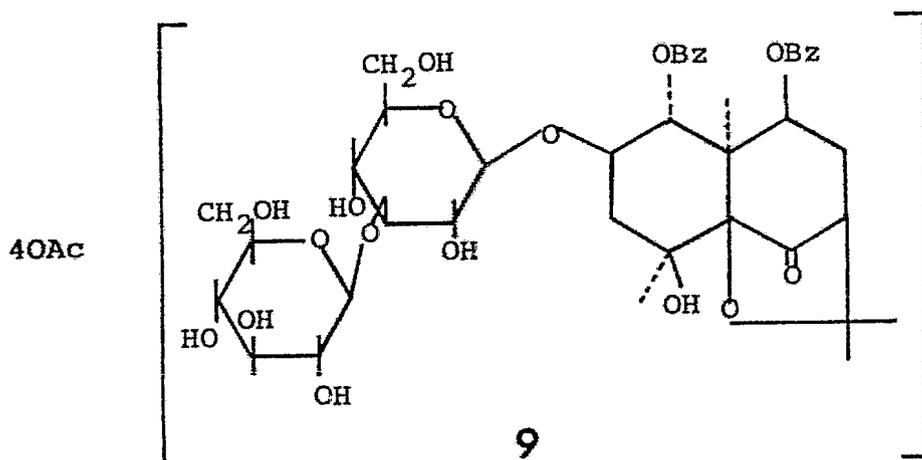
En el caso de la fracción glicosídica, el desplazamiento de C₁ a campo más bajo en el 3-O- β laminariobiosil platicodigenina es debido a la presencia de los sustituyentes en el aglucón. Para el resto de los C no es posible hacer uso de las reglas de desplazamiento para ¹³C, puesto que todos los alcoholes del azúcar están acetilados. Por analogía con el peracetato de 3-O- β laminariobiosil platicodigenina²⁵, se determinó que los monosacáridos presentes en la molécula son glucosas en unión β 1-3.

La hidrólisis ácida del producto (8) permitió el aislamiento del 2 β desacetil mortonol B, comprobándose así la fracción del aglucón de ésta molécula.

Para el producto original que se encuentra en la mezcla II, se propone la estructura (9), con base en las características espectroscópicas que presenta (espectros #2 y #3) las cuales se analizaron con anterioridad (vide supra).

En el espectro de masas de (9) se observa un pico a m/z en 509 (0.65%) que corresponde al fragmento del -disacárido tetra acetilado $C_{20}H_{29}O_{15}$. Así mismo se obser-
van picos a m/z 264 (0.15%) $C_{10}H_{16}O_8$ y 247 (1.78%) -----
 $C_{10}H_{15}O_7$ que corresponden a la fragmentación del disacáridi
do tetraacetilado La presencia del pico a m/z 43 (10.5%)
confirma la presencia del acilo del ácido acético.

De igual modo se presenta un pico en m/z 491 --
(0.18%) correspondiente al fragmento del aglucón y la pér
dida sucesiva de dos grupos benzoato m/z 369 (491-122) y
247 (491-244); el pico base se observa en m/z 105.2 y co-
rresponde al acilo del ácido benzoico.



El producto menos polar de la reacción de acetilación de la mezcla II, es un sólido cristalino, con un p.f. 125-130°C (10); presenta señales espectroscópicas parecidas a las de 2-O-β|(2,3,4,6 tetra acetil glucopiranosil)β1-3(2,4,6 triacetil glucopiranosil)| desacetil mortonol B (8). En el espectro de I.R. de (10) (espectro #8) - se observa una banda en 3500 cm⁻¹ para el oxhidrilo en C₄ en 1740 y 1720 cm⁻¹ señales para carbonilos de éster (acetato y benzoato) y en 1600 y 1590 cm⁻¹ bandas de dobles ligaduras aromáticas correspondientes a los grupos benzoato en C₁ y en C₉.

En el espectro de RMN¹H de (10) (espectro #9) - se observan cuatro singuletes en 1.34, 1.37, 1.45, 1.85 - ppm correspondientes a los metilos en C₁₀, C₁₁(Me)₂ y en C₄ respectivamente. En 1.9 y 2 ppm se observan dos singuletes que integran para 15 H, que se asignan a 5 Me de acetato, uno en C₈ y los cuatro restantes en la fracción correspondiente al monosacárido (glucosa).

De 3.3-4 ppm se observa un multiplete que se asigna al protón sobre el C en que se efectúa la unión glicosídica (H₂), y a los protones del metileno en la glucosa (C₆¹); el multiplete que aparece de 4.35 a 5.15 ppm se asigna a H₂¹, H₃¹, H₄¹, así como también a los protones H₉ y H₈.

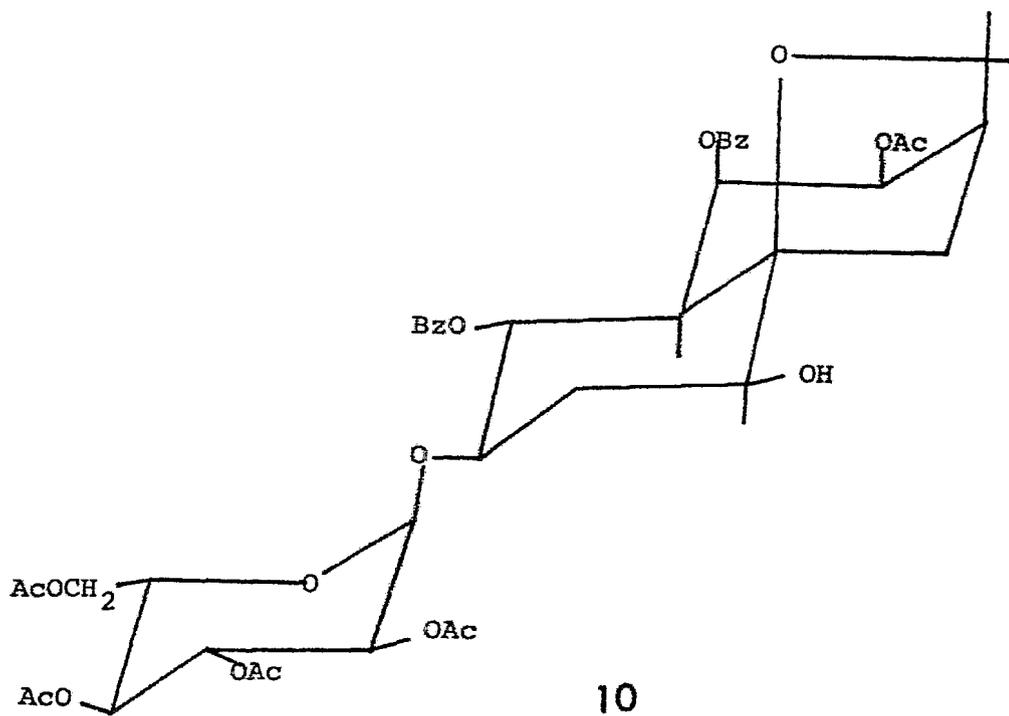
Se observa también el comportamiento típico de H_1 , cuando existe sustituyente en C_2 , un doblete que se observa en 5.76 ppm $J=10$ Hz.

En la región de protones aromáticos se muestra un multiplete con integración total para 10 H, los cuales en unión con las bandas que en I.R. se observan a 1720, - 1600 y 1590 cm^{-1} (espectro #8) confirman la presencia de los grupos benzoato en C_1 y en C_9 .

El espectro de masas de (10), presenta un pico en m/z 535 (2.3%) $C_{31}H_{35}O_8$ correspondiente al aglucón, -- así como un pico a m/z 291 (1.75%) que indica la pérdida de dos grupos benzoato (535-244), un pico en m/z 231(3.7%) (291-60) que indica la pérdida de un grupo acetato; esto se confirma por la presencia del pico base en 105.2 (acilo del ácido benzoico) y un pico en m/z 43.2 (31.4%) del acilo del ácido acético.

Por otra parte, se observa un pico a m/z 331 -- (11%) para $C_{14}H_{19}O_9$ que corresponde al peracetato de glucosa, así como los picos a m/z 271 (2%) y 211 (1.3%) que corresponden a la pérdida sucesiva de dos grupos acetato.

Con base en las características espectroscópicas de (10) se propone la estructura de 2-O- β (2,3,4,6 tetra acetil glucopiranosil) 4 β hidroxil 2 epi Cathedulinol.²⁶



Se descarta la posibilidad de que el acetato -- asignado al C₈ se encuentre en C₆ porque en RMN¹H (espectro #9) no se observa el singulete característico del C unido al grupo éster para ésta posición en 5.5 ppm. Cabe mencionar que bajo las condiciones en que se efectuó la reacción de acetilación, se esterifican oxhidrilos primarios y secundarios, no así los terciarios, como el -OH en C₄. Es por esto que en el espectro de I.R. (espectro #8) se observa una banda para alcohol en 3500 cm⁻¹.

CONCLUSIONES.

III. CONCLUSIONES.

Del estudio fitoquímico de *Mortonia diffusa* -- Rose y Standl se llegó a las siguientes conclusiones:

- 1.- El aislamiento de Mortoninas A y C en ésta especie a poya la teoría de que la presencia de estos compuestos puede ser una guía quimiotaxonómica para diferenciar - el género *Mortonia* de otros géneros de la familia *Celastraceae*.
- 2.- Se aislaron dos nuevos glicósidos, un disacárido: --
 $2-O-\beta[(2,3,4,6 \text{ tetra acetil glucopiranosil})\beta 1-3(2,4,6 \text{ triacetil glucopiranosil})]$ desacetil mortonol B (8) y un monosacárido el $2-O-\beta(2,3,4,6 \text{ tetra acetil glucopiranosil}) 4\beta$ hidroxil 2 epi Cathedulinol²⁵.
- 3.- Se propone la estructura (10) para el $2-O-\beta(2,3,4,6 \text{ tetra acetil glucopiranosil}) 4\beta$ hidroxil 2 epi Cathedulinol, no pudiendo comprobarse por falta de material.

PARTE EXPERIMENTAL.

Los puntos de fusión fueron determinados en un aparato Fisher-Jones y no están corregidos.

Para las cromatografías en columna se utilizó sílica gel 60 Merck (70-230 Mesh ASTM).

La pureza e identificación de los productos, el desarrollo de las reacciones se siguió por cromatografía en capa fina de gel de sílice Merck F-254, usando como revelador sulfato cérico al 1% en ácido sulfúrico 2N.

Los espectros de I.R. fueron corridos en cloroforno, en un espectrofotómetro Perkin-Elmer Mod. 337.

Los espectros de RMN¹H se realizaron en un espectrómetro FT-80 A Varian. Los desplazamientos químicos están dados en ppm referidos al tetrametilsilano (TMS) -- como referencia interna. Los espectros de RMN¹³C se efectuaron en un espectrómetro FT-80 (20.1 MHz), tomando la misma referencia interna.

Los espectros de masas fueron efectuados en un espectrómetro Hitachi Perkin-Elmer 6d de doble foco.

IV. PARTE EXPERIMENTAL.

La *Mortonía difflusa* Rose y Standl se recolectó en Noviembre de 1980, en el estado de Puebla, a 4 Km de Nopala hacia Tepoxtitlán.

Las hojas secas (4.834 Kg) se extrajeron con metanol a reflujo por 48 horas dos veces. Los extractos metanólicos se reunieron y concentraron a vacío. El extracto metanólico se defecó con agua y se extrajo con cloroformo, obteniéndose 458.2 g de extracto clorofórmico crudo.

Una alícuota del extracto clorofórmico crudo (168 g) se cromatografió en columna, eluyéndose con una mezcla de cloroformo-acetona de polaridad ascendente.

En las primeras fracciones eluidas con mezcla cloroformo-acetona (9:1) se obtuvieron 180 mg (rend. de 0.107%) de un producto sólido cristalino blanco con p.f. 196-200°C, que se identificó, por comparación de I.R. y cromatografía en capa fina con muestra auténtica, como Mortonina A.

De las siguientes fracciones eluidas con una mezcla de cloroformo-acetona (8:2), se obtuvieron 168 mg (rend. 0.10%) de un producto sólido de color blanco con

p.f. 214-216°C, que se identificó por comparación de I.R. y cromatografía en capa fina con muestra auténtica, como Mortonina C.

Las fracciones del cromatograma obtenidas con mezcla cloroformo-acetona (2:8) 10.6 g (rend. 6.03%), se recromatografiaron en columna (sílice 30:1) utilizando una mezcla de AcOEt:MeOH:H₂O (16:1:1) como eluyente. De las primeras fracciones se aisló un sólido amorfo amarillento de p.f. 132-136°C que al cromatografiarse en capa fina revela ser una mezcla (Mezcla I). I.R. (espectro #1) v máx.: 3450 (oxhidrilo), 1760 (cetona), 1720 (carbonilos de éster) 1600 y 1590 cm⁻¹ (dobles ligaduras aromáticas).

De las fracciones polares se obtuvieron 2.476 g -- (rend. 0.539%) de un sólido blanco amarillento que en -- cromatografía en capa fina se observa que es una mezcla -- de p.f. 134-140°C (Mezcla II). I.R. (espectro #2) v máx: 3530 (oxhidrilo), 1760 (cetona), 1750 y 1720 (carbonilos de éster) y 1600 y 1590 cm⁻¹ (dobles ligaduras aromáti--cas); RMN¹H (espectro #3) δ: 1.25 (s, Me en C₁₀), 1.4 (s, Me en C₁₁), 1.55 (s, Me en C₁₁), 1.65 (s, Me en C₄), 1.85 (s, Me de acetato), 2 (s, Me de acetato), 2.1 (s, Me de a cetato), 2.15 (s, Me de acetato), 3.1-4.6 (señal compleja bases de acetato y bases de oxhidrilos en el azúcar), 5 -

(señal compleja, H₉), 5.7 (señal compleja, H₁), 7-8 (m, aromáticos). E.M. fragmentos m/z C₂₀H₃₀O₁₅ (509, 1.37%), - C₂₉H₃₀O₇ (491, 0.8%), C₁₀H₁₆O₈ (264, 0.3%), C₁₀H₁₄O₇ (247 1%).

HIDROLISIS DE LA MEZCLA I.

A 500 mg de la mezcla I se le adicionaron 3.6ml de HCl al 18%. La mezcla de reacción se mantuvo por cuatro horas sobre un baño de vapor y 72 horas a temperatura ambiente. Al término de éste tiempo, se extrajo la mezcla de reacción con acetato de etilo, se lavó hasta neutralidad con NaHCO₃ al 10% y con agua destilada. Se secó con Na₂SO₄ anhidro y se concentró a vacío. El producto de reacción (354 mg) se separó por cromatografía en columna (sílice 100:1), eluyéndose con una mezcla de acetato de etilo-hexano (1:1). El producto de reacción, un sólido blanco de p.f. 94-97°C (7) se identificó como 28 desacetil mortonol B; I.R. (espectro #4) v máx: 3450 (oxhidrilo), - 1760 (cetona), 1720 (carbonilos de éster), 1600 y 1590 -- cm⁻¹ (dobles ligaduras aromáticas); RMN¹H (espectro # 5)

δ : 1.3 (s, 3H, Me en C₁₀), 1.4 (s, 3H, Me en C₁₁), 1.55 - (s, 3H, Me en C₁₁), 1.75 (s, 3H, Me en C₄), 2.85 (s, 1H, -OH), 3.75 (m, 1H, H₂), 5 (dd, J=6,3 Hz, 1H, H₉), 5.75 (d, J=10 Hz, 1H, H₁), 7.15-8 (m, 10H, aromáticos). E.M. fragmentos a m/z 508 (M⁺), m/z 386 (M⁺-122), m/z 264 (M⁺-244) m/z 105 (100%).

ACETILACION DE 2 β DESACETIL MORTONOL B (7).

A 13.4 mg de 2 β desacetil mortonol B (7), se le adicionaron 0.13 ml de piridina destilada y 0.13 ml de anhídrido acético destilado. Se dejó por 2 horas a temperatura ambiente. Pasado el tiempo de reacción se añadieron 2 ml de agua destilada fría. Se extrajo con CHCl₃ (3x 10 ml). Se lavó con HCl al 10 %, se neutralizó con NaHCO₃ al 10% y por último se lavó con agua destilada. Se secó con Na₂SO₄ anhidro y se concentró a vacío. El producto de reacción resultante es un sólido blanco p.f. 204-206°C -- que se identificó, por comparación directa (p.f., I.R. y cromatografía en capa fina), como mortonol B.

ACETILACION DE LA MEZCLA II.

A 250 mg de la mezcla II se le adicionaron 3 ml de piridina y 6 ml de anhídrido acético. Se dejó por 11 días a temperatura ambiente. Al finalizar el tiempo de reacción se evaporaron a vacío el anhídrido acético y la piridina. Se añadieron 3 ml de agua destilada y el producto de reacción se trató de la manera citada anteriormente. Se obtuvieron 370 mg de una mezcla de productos acetilados. Estos productos se cromatografiaron en columna (sílice -- 10:1), empleando como eluyente una mezcla de acetato de etilo-hexano (6:4). El producto que se aisló más abundante (133 mg) es un sólido blanco, con p.f. 135-140°C, corresponde al 2-O-β|(2,3,4,6 tetra acetil glucopiranosil) β 1-3(2,4,6 triacetil glucopiranosil)| desacetil mortonol B (8). I.R. (espectro #6) v máx: 3530 (oxhidrilo), 1760 (cetona), 1750 y 1720 (carbonilos de éster), 1600 y 1590 cm^{-1} (dobles ligaduras aromáticas); RMN^1H (espectro #7) δ: 1.33 (s, 3H, Me en C_{10}), 1.35 (s, 3H, Me en C_{11}), 1.55 (s, 3H, Me en C_{11}), 1.75 (s, 3H, Me en C_4), 1.85-2.05 -- (21 H, Me de acetato), 2.7 (señal intercambiable con D_2O , -OH), 3.32-5.2 (señal compleja, 16 H, bases de acetatos del azúcar, H_9 y H_2), 5.9 (d, $J=10$ Hz, 1H, H_1), 7.2-8.5

(m, 10H, aromáticos). RMN¹³C ppm: 211.28 (C₆), 170.33, -- 170.01, 169.92, 169.75, 169.19, 168.89 (ROCOCH₃), 133.03, 132.5 130.76, 130.34, 130.17, 130.05, 129.31, 128.12 (C aromáticos), 100.72 (C₁ⁿ), 99.05 (C₁ⁱ), 85.44 (C₅), 78.76 (C₃ⁱ), 78.49 (C₁₁), 73.0 (C₅ⁱ y C₃ⁿ), 72.83 (C₂), 72.73 (C₉), 72.14 (C₁ y C₅ⁿ), 71.69 (C₂ⁱ y C₂ⁿ), 70.72 (C₄), 68.14 (C₄ⁱ y C₄ⁿ), 62.35 (C₆ⁿ), 62.3 (C₆ⁱ), 55.82 (C₁₀) 55.36 (C₇), 33.06 (C₃ y C₈), 29.59 (C₁₅), 23.57 (C₁₃), 22.35 (C₁₂) 20.42 (H₃COCO-), 17.88 (C₁₄). E.M. fragmentos a m/z 331.3 -- (20.6%) C₁₄H₁₉O₉, 105 (100%) (φ-C≡O⁺), 43 (18.1%) (CH₃C≡O⁺).

El producto de menor polaridad aislado de la -- cromatografía de la acetilación de la mezcla II, es un sólido cristalino blanco (10), p.f. 125-130°C. I.R. (espectro #8) v máx.: 3500 (alcohol), 1740 y 1720 (carbonilos - de éster), 1600 y 1590 cm⁻¹ (dobles ligaduras aromáticas); RMN¹H (espectro #8) δ: 1.34 (s, 3H, Me en C₁₀), 1.37 (s, - 3H, Me en C₁₁), 1.45 (s, 3H, Me en C₁₁), 1.85 (s, 3H, Me en C₄), 1.9-2 (15H, Me de acetato), 3.3-4 (m, bases de acetato en C₆ⁱ y H₂), 4.35-5.15 (m, H₂ⁱ, H₃ⁱ, H₄ⁱ, H₉ y H₈), 5.75 (d, J=10 Hz, 1H, H₁), 7.2-8 (m, 10 H, aromáticos). E.M. - fragmentos a m/z 535 (2.3%) C₃₁H₃₅O₈, 331 (11%) C₁₄H₁₉O₉, 291 (1.95%) (535-244), 231 (3.75%) (291-60); 271 (2%) (231-60), 211 (1.3%) (331-120); 105.2 (100%) (O-C≡O⁺).

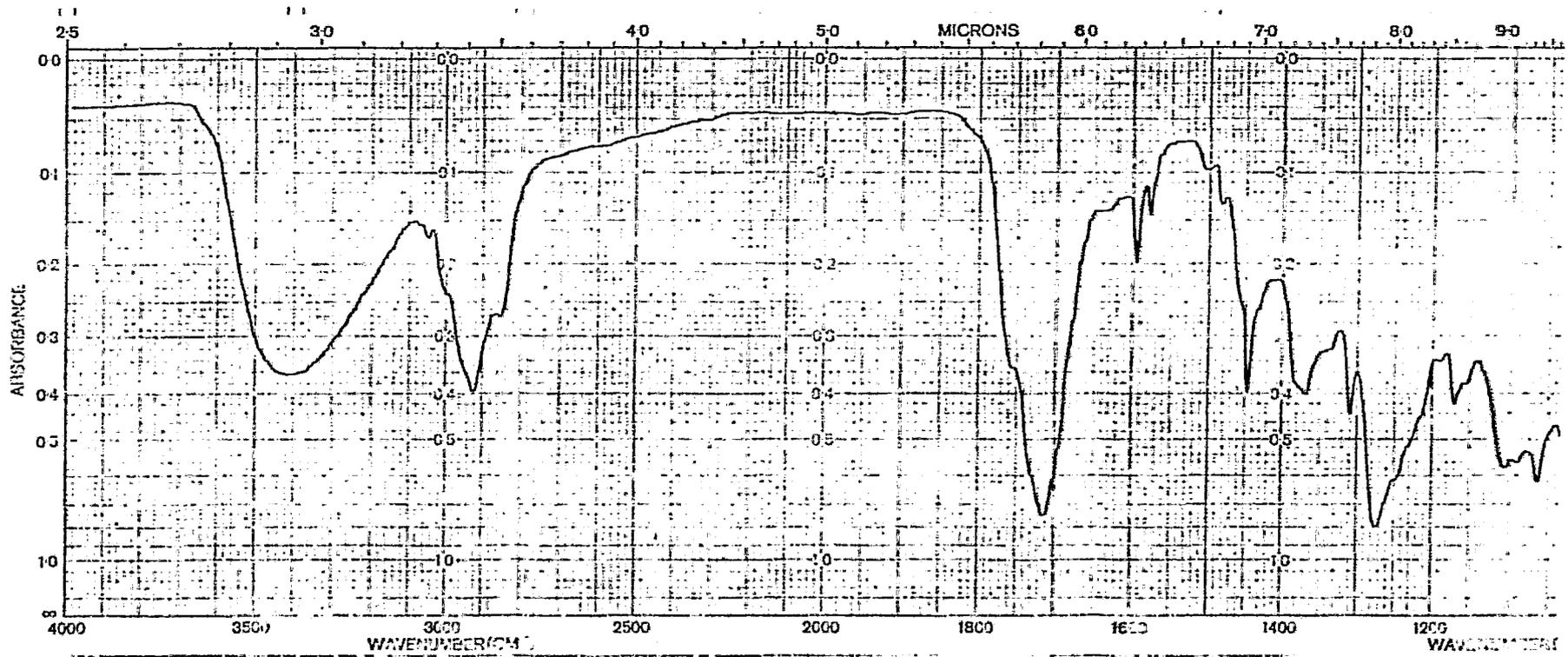
Así mismo, se aislaron otros tres produc-

tos acetilados de caracter glicosídico, que no se lograron identificar por falta de material. Sus puntos de fusión por orden creciente de polaridad son: 129-131°C, -- 92-98°C y 102-110°C.

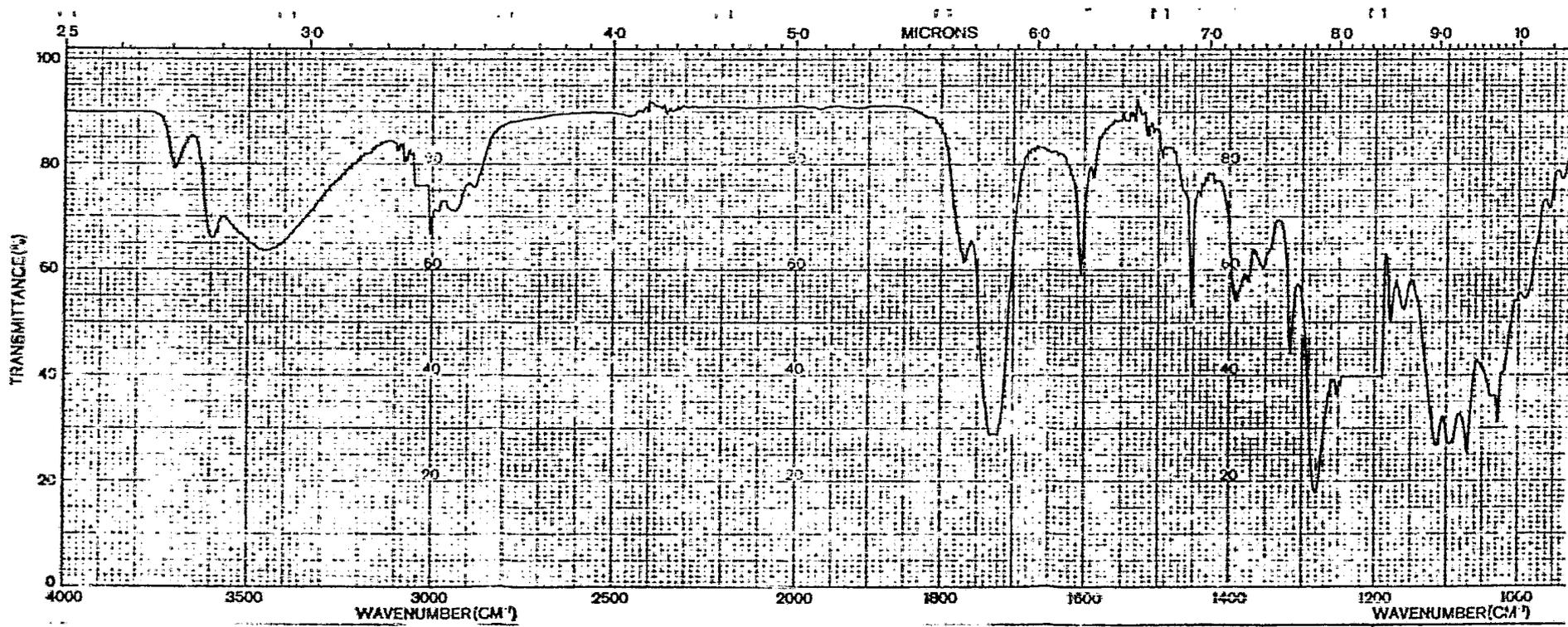
HIDROLISIS DE 2-O- β |(2,3,4,6 tetra acetil glucopiranosil) β 1-3(2,4,6 triacetil glucopiranosil) DESACETIL MORTONOL B.

13 mg del producto (8) se disolvieron en metanol; posteriormente se añadieron 5 ml de una mezcla de 10 ml de agua y 0.2 ml de HCl conc. . Se dejó por 4 horas sobre un baño de vapor. Al término del tiempo de reacción se trabajó de forma usual. Se obtuvieron 8.5 mg que se separaron por cromatografía en capa fina, empleando como eluyentes acetato de etilo-hexano (2:1). El producto aislado mas abundante (3.8 mg), es un sólido blanco de p.f. -- 94-98°C que se identificó, por cromatografía en capa fina I.R. y p.f. con muestra auténtica, como 2 β desacetil mortonol B.

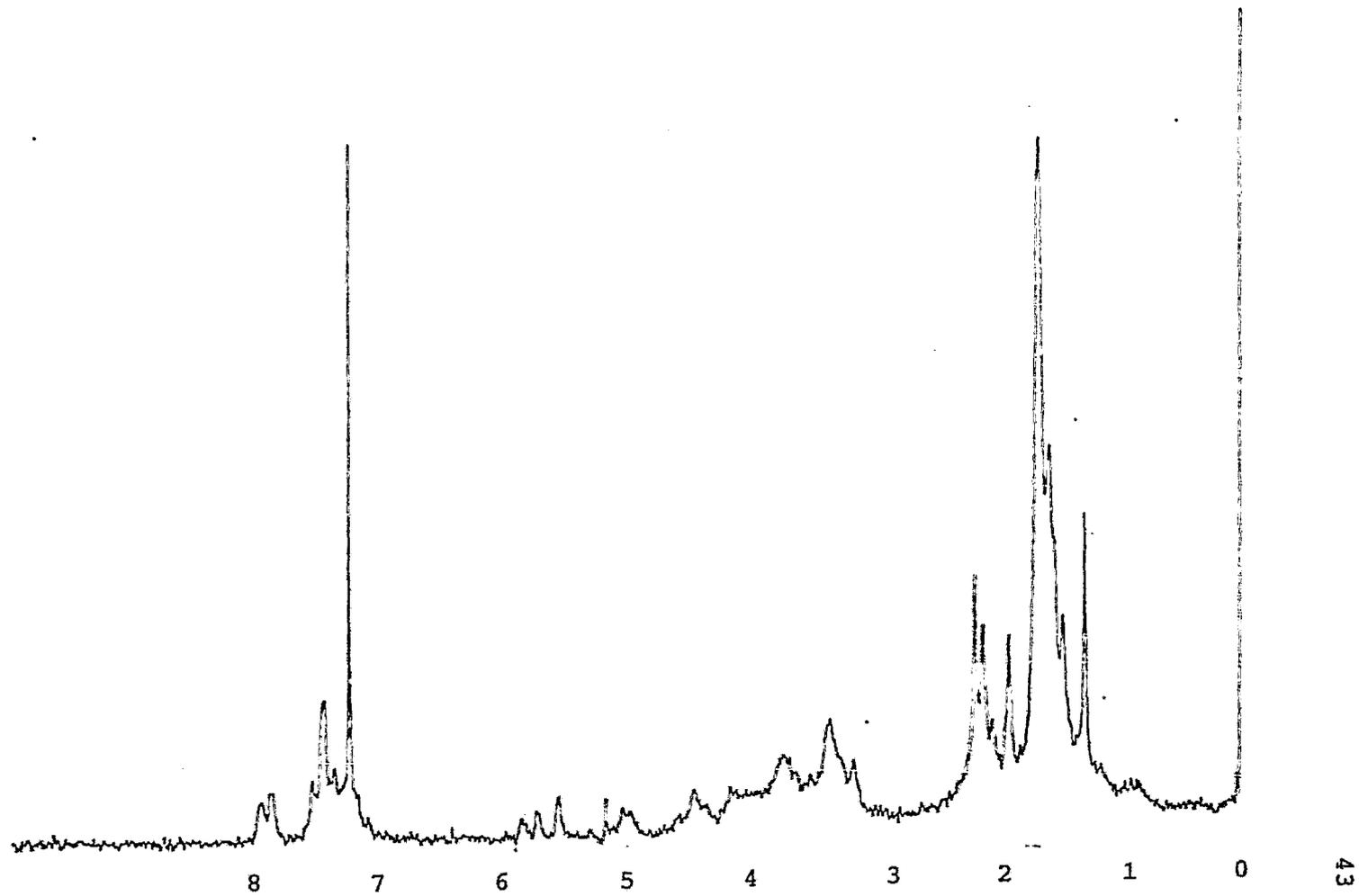
ESPECTROS.



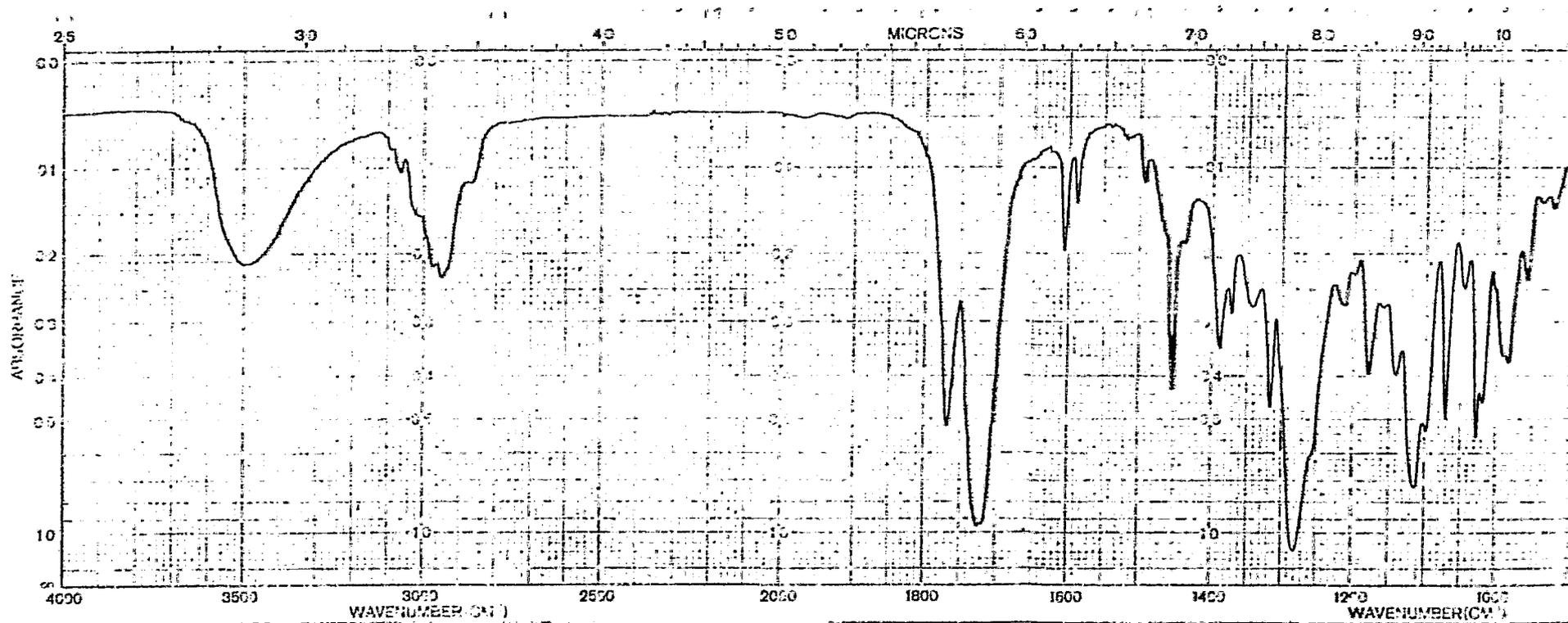
ESPECTRO # 1.



ESPECTRO # 2.

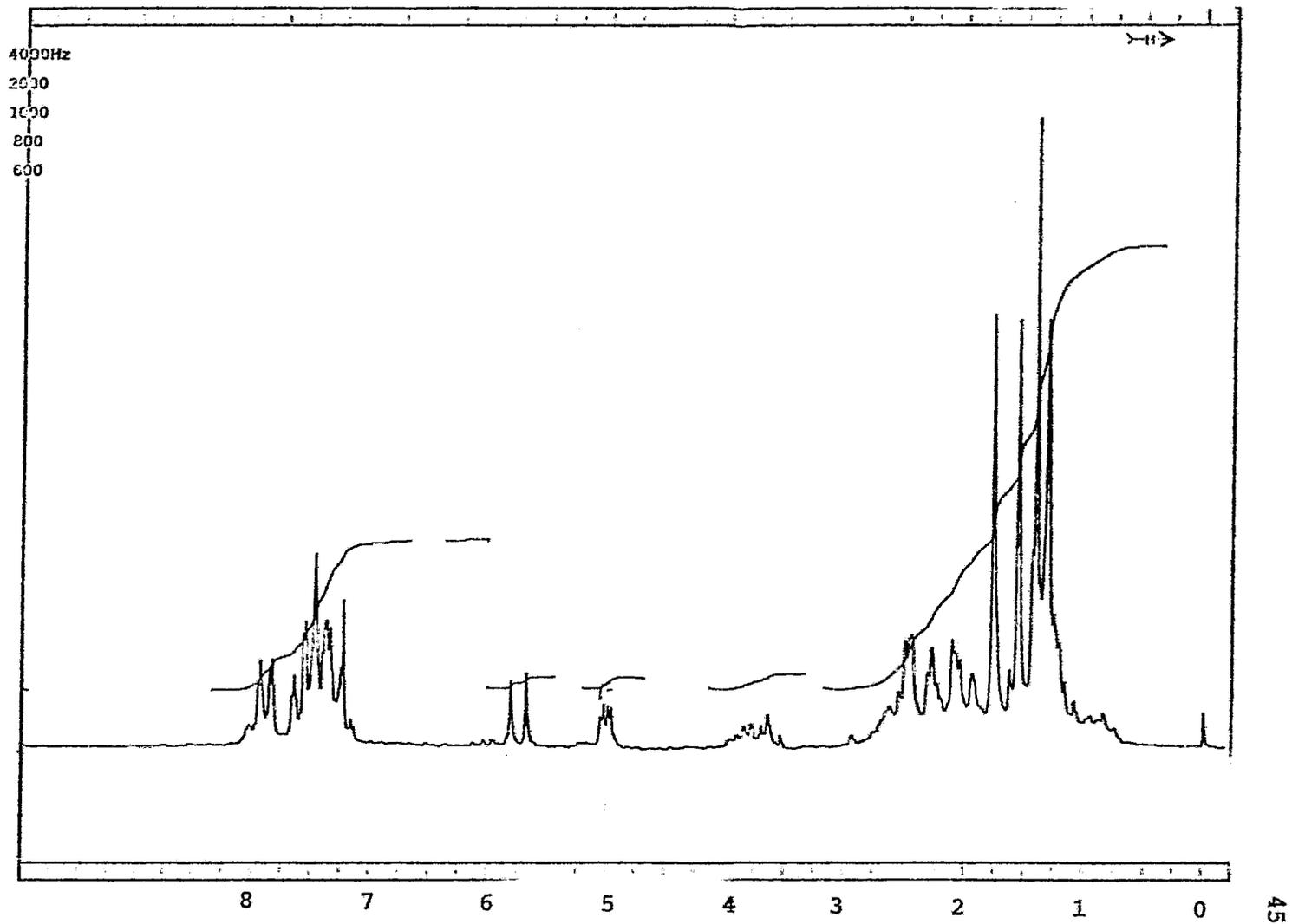


ESPECTRO # 3.

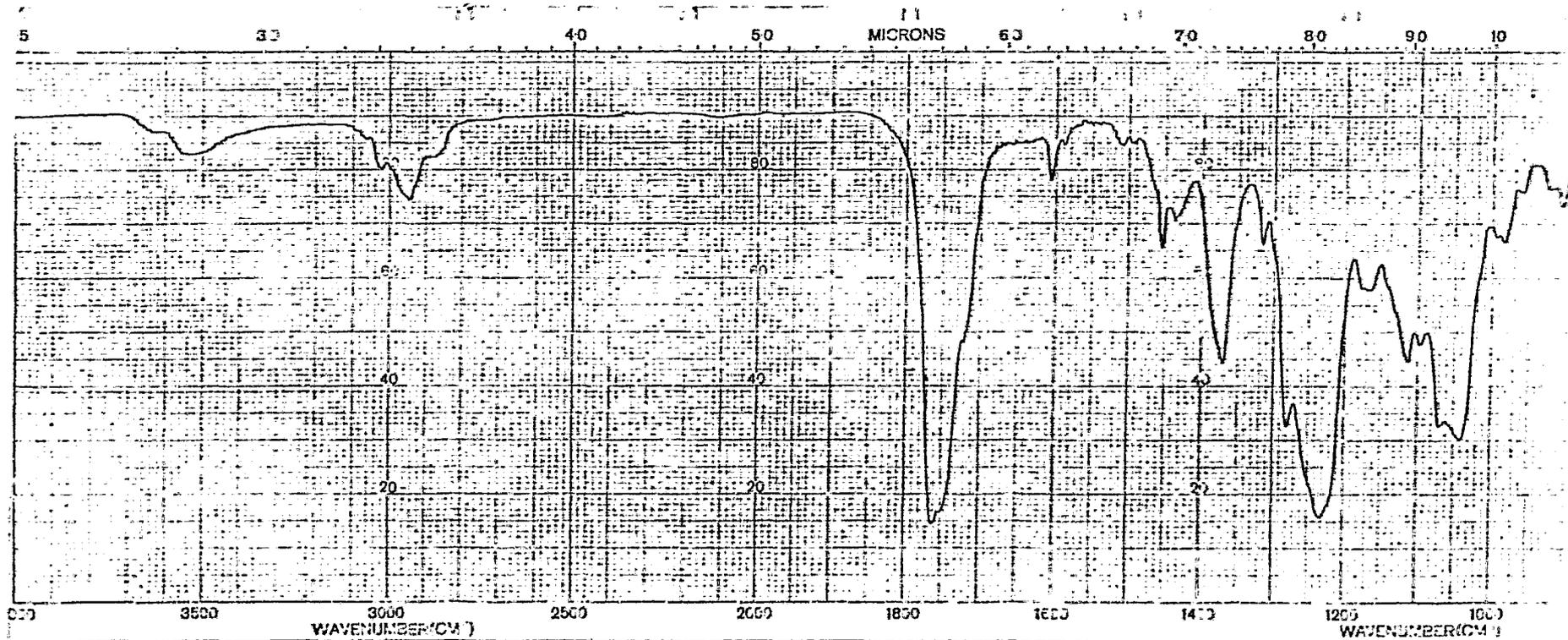


44

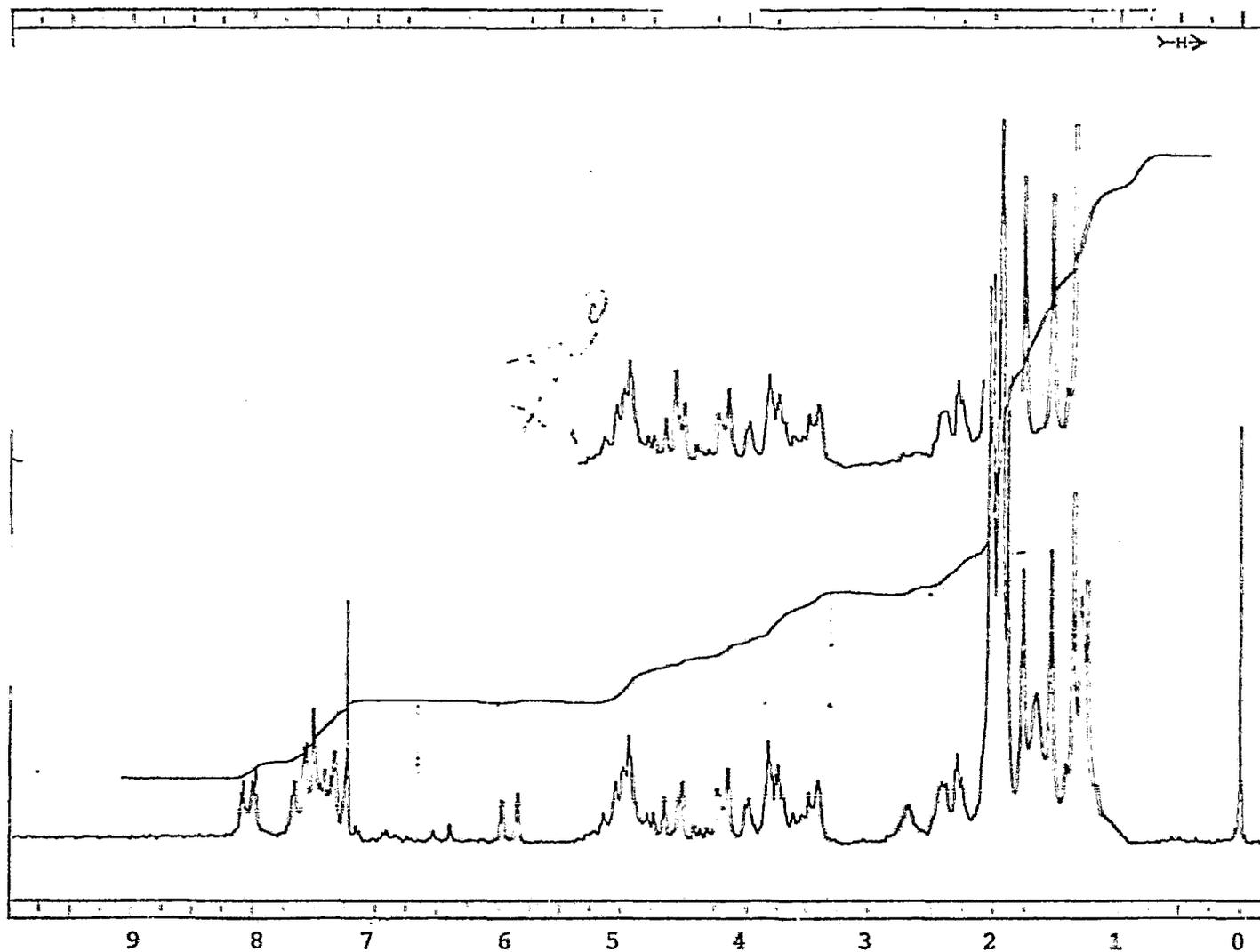
ESPECTRO # 4.



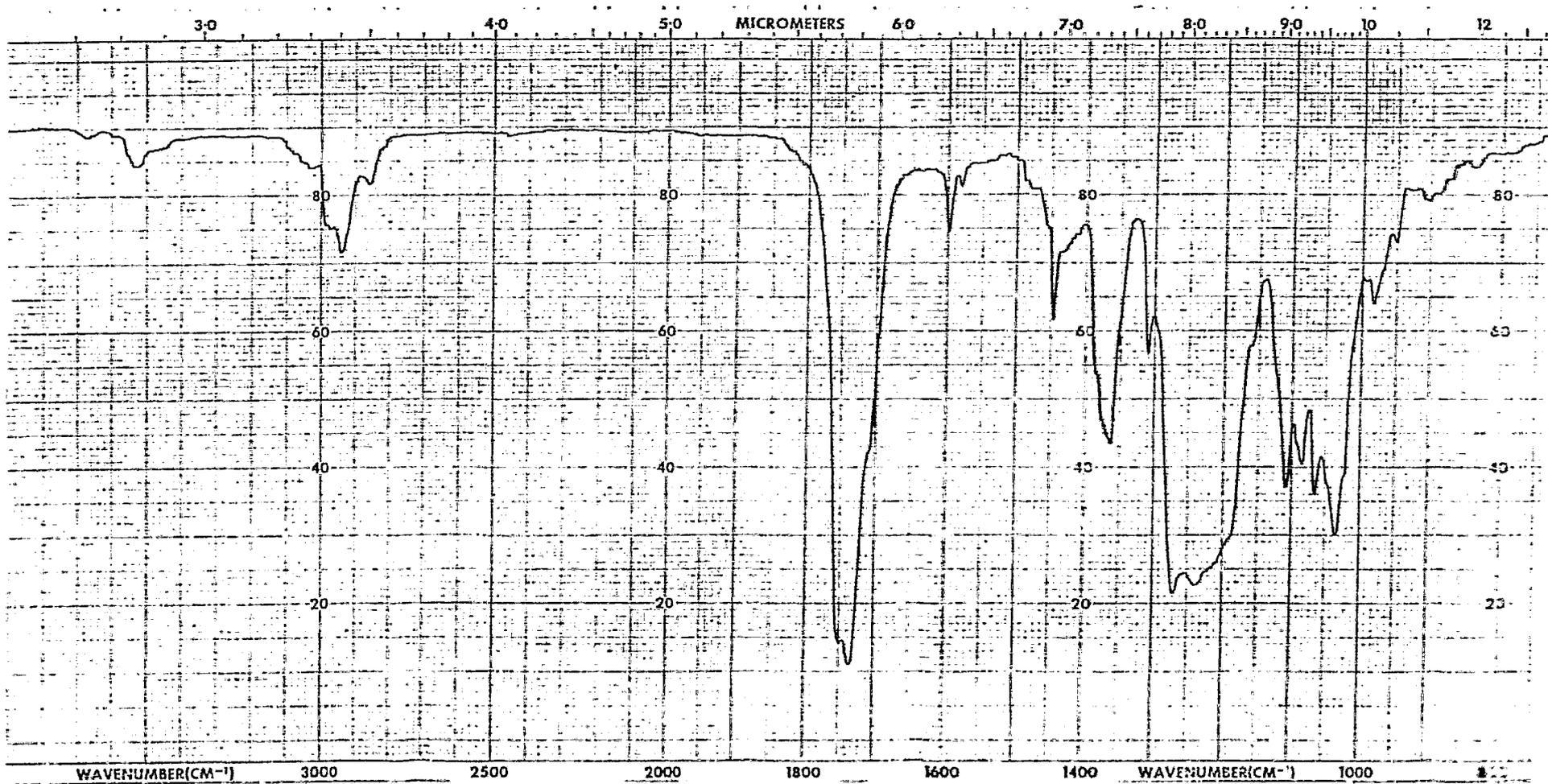
ESPECTRO # 5.



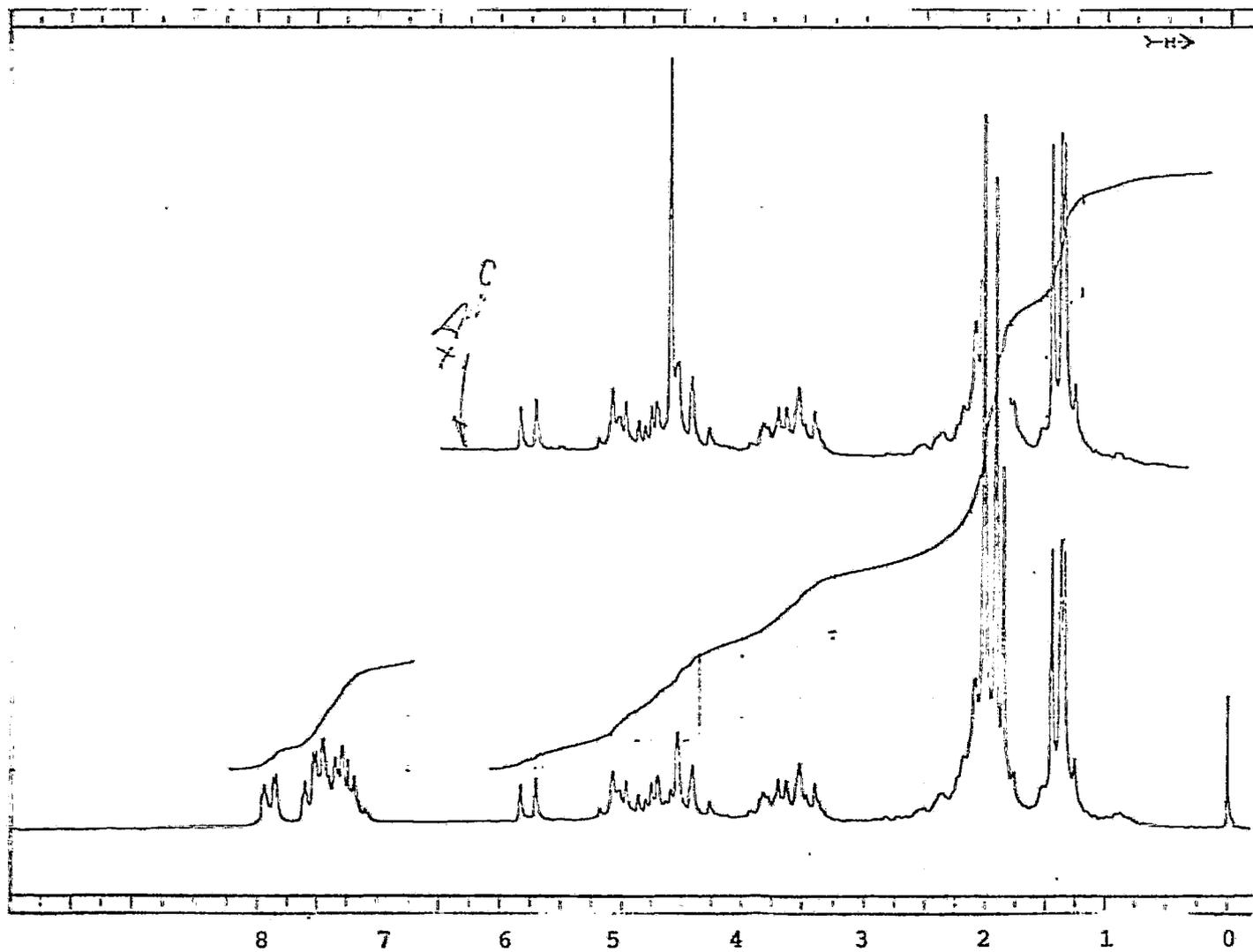
ESPECTRO # 6.



ESPECTRO # 7.



ESPECTRO # 8.



ESPECTRO # 9.

BIBLIOGRAFIA.

VI. BIBLIOGRAFIA.

- 1.- Standley Paul. Trees and shrubs of México. Vol. 23, Part. 3. United States National Herbarium (1923), 683.
- 2.- a) Rodríguez-Hahn L., Jiménez M., Díaz E., Guerrero C., Ortega A., Romo de Vivar A., (1977) *Tetrahedron* 33, 657.
b) Rodríguez-Hahn L., Jiménez M., Mora M., Saucedo R. Díaz E., *Rev. Latinoam. Quím.* 8, 161.
- 3.- Martínez M., Romo de Vivar A., Díaz E., Jiménez M., y Rodríguez-Hahn L., (1982), *Phytochemistry* 21, 1335.
- 4.- Smith R.M., (1977). The Celastraceae Alkaloids in: The Alkaloids (Manske, R.H.F., ed.) Vol. XVI, 215, Ac. -- Press, New York.
- 5.- Rodríguez-Hahn L., Mora M., Jiménez M., Saucedo R., y Díaz E., *Phytochemistry* 20, 2525.
- 6.- Este estudio aún no está terminado.
- 7.- James M., Sugihara. *Advances in Carbohydrate Chemistry* 8, (1953), 1-44.
- 8.- a) Srivastava H.C., Harshe S.N., (1963), *Tetrahedron - Lett.* 27, 1869-1873.
b) Banerji N., (1960), *J. Indian Chem. Soc.* 57, 417-19.

- 9.- Mastronardi I., Flematti O., Deferrari J.O., Gros E.
G. Carbohydrate Res. 3, (1966), 177-183.
- 10.- Hawath W.N. J. Chem. Soc. 8, (1915), 107.
- 11.- Charlson A.J., Gorin P.A.J., and Perlin A.S., Canad.
J. Chem. 34, (1956), 1811.
- 12.- Lemieux R.U and Stevens J.D., Canad. J. Chem. 44, (1966)
249.
- 13.- Jochims J.C., Taigel G., Secliger A., Lutz P. and Dri
esen J., Tetrahedron Lett. (1967), 4363.
- 14.- Dorman D.E., Roberts J.D., J. Amer. Chem. Soc. 93, --
(1970), 1355.
- 15.- Perlin A.S., Casu B. and Koch H.J., Canad. J. Chem. 48,
(1970), 2596.
- 16.- Dorman D.E., and Roberts J.D., J. Amer. Chem. Soc. 93
(1971), 4463.
- 17.- Tori K., Seo S., Yoshimura Y., Arita H., and Tomita -
Y., Tetrahedron Lett. 2, (1977), 179-182.
- 18.- Kasai R., Suzuo M., Asakawa J. and Tanaka O., *ibid.*,
175-178.
- 19.- Usui T., Yamaoka N., Matsuda K., and Tuzimura K., J.-
of Chem. Soc. Perkin I, (1973), 2525-2432.
- 20.- Seo S., Tomita Y., Tori K., and Yoshimura Y., J. of
Am. Chem. Soc. 100:11, (1978), 3331.

- 21.- Ishii H., Tori K., Tozyo T., Yoshimura Y., *Chem. Pharm. Bull.* 26 (1978), 674.
- 22.- Mahato S.B., Sahu N.P., Ganguly A.N., Kasai R., y Tanaka O., *Phytochemistry* 19, (1980), 2017-2020.
- 23.- Ishii H., Seo S., Tori K., Tozyo T., and Yoshimura Y. *Tetrahedron Lett.* 14, (1977), 1227-1230.
- 24.- Yamasaki K., Kasai R., Masaki Y., Okihara M., and Tanaka O., *ibid.*, 1231-1234.
- 25.- Ishii H., Tori K., Tozyo T., Yoshimura Y., *Chem. Pharm. Bull.* 26(2), (1978), 671-673.
- 26.- Brüning R., and Wagner H., *Phytochemistry* 17, (1978) 1821-1858.