



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

Facultad de Química

ESTUDIO QUIMICO
DEL BOSCHNALOSIDO

T E S I S

Que para obtener el título de

QUIMICO FARMACELITICO BIOLOGO

PRESENTA:

Guillermo Meléndez Fernández



1989

EXAMENES PROFESIONALES
FACULTAD DE QUIMICA

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



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 está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

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

INDICE

Introducción.

Objetivo.

Marco Teórico.

1.0.- Propiedades Biológicas Generales de los Terpenoides.

2.0.- Monoterpenos.

2.1.- Actividad Biológica de Monoterpenos Normales.

2.2.- Monoterpenos Ciclopentanoideos.

2.2.1.- Clasificación.

2.2.2.- Actividad Biológica.

3.0.- Iridooides como Intermediarios en la síntesis, de Prostaglandinas.

4.0.- Antecedentes del Boschnalósido.

Desarrollo Experimental.

1.0.- Aislamiento del Compuesto 1a.

2.0.- Acetilación del Compuesto 1a.

3.0.- Reducción del Compuesto 1b.

4.0.- Formación de la Oxima.

5.0.- Formación de la Fenilhidrazona.

6.0.- Reacción de Diels-Alder.

7.0.- Reacción de Adición Nucleofílica.

8.0.- Reacción de Hidrólisis.

8.1.- Medio Básico.

8.2.- Medio Acido.

9.0.- Formación de Derivados Seguidos de Hidrólisis.

9.1.- Del Producto Reducido.

9.2.- Del Nitrilo.

Discusión de Resultados.

Conclusión.

Espectros.

Bibliografía.

INTRODUCCION

El desarrollo excepcional de la química orgánica y de las ciencias biomédicas y médicas en las últimas cuatro décadas, dió origen a un gran número de medicamentos útiles para el tratamiento de la mayoría de las enfermedades que aquejan al hombre.

Muchos de estos medicamentos han tenido su origen en las investigaciones llevadas a cabo por la industria químico-farmacéutica y principalmente en las instituciones de educación superior. Los estudios realizados en estos centros sientan las bases de la investigación, debido a la enorme cantidad de conocimientos que se desarrollan y que hacen posible la búsqueda de nuevas sustancias con actividad biológica y que permiten que éstos fructifiquen en el descubrimiento y desarrollo de nuevos fármacos.

Si bien las instituciones de enseñanza no disponen de las facilidades para la investigación que predominan en la industria privada si cuentan algunas de ellas con una sólida infraestructura científica que puede dar al proceso un enfoque más racional y creativo y así aportar verdaderas innovaciones en este campo.

Es conveniente hacer mención de que en dichas instituciones académicas los investigadores han generado un número apreciable de sustancias originales y potencialmente útiles, sin embargo la mayoría de ellas no han sido sometidas a un análisis biológico formal, dando como resultado una gran cantidad de sustancias sin ninguna utilidad, lo cual podría traducirse en un ineficaz uso de los recursos, tanto humanos como económicos. En un país como en el que vivimos, el futuro de éste, está precisamente en dichas instituciones educativas, de ahí que se haga imprescindible dar una utilidad real a los recursos humanos y materiales que-

de ellas se desprenden.

En este trabajo se pretende continuar con el estudio de los productos naturales conocidos como monoterpenos ciclopentanoídes ó iridoídes, los cuales han sido objeto de intensos estudios algunos años atrás, debido a su variedad y tipos de actividades biológicas que presentan.

Dichas características son una de las razones principales que nos motivaron para continuar el estudio de este tipo de productos naturales.

En este trabajo se describen las etapas principales para llevar a cabo el estudio químico de un producto natural, como lo es el Boschnalósido, (iridoíde glicosídico aislado de, *Penstemon rosseus*).

Se describen los métodos y técnicas utilizadas en la separación y purificación de las sustancias en estudio, así como los métodos de identificación y asignación estructural.

OBJETIVO

El estudio del comportamiento químico del Boschnalósido (iridoide glicosídico), con la finalidad de obtener derivados con actividad biológica - potencial o de utilizarlos como intermediarios en la síntesis de productos con actividad biológica comprobada.

MARCO TEORICO

1.0.- PROPIEDADES BIOLOGICAS GENERALES DE LOS TERPENOIDES.

Se conocen actualmente un buen número de monoterpenos, diterpenos y sesquiterpenos de origen natural. La mayoría de estos compuestos son predominantemente productos del metabolismo secundario de las plantas, aunque se pueden presentar en algunos animales y microorganismos. La variedad de estos productos es sumamente grande, ya que las plantas tienen la habilidad de producir un número casi infinito de variaciones sobre una estructura particular simple, como en el caso de la unidad -- isoprenoide C_5 . En este grupo de terpenoides se encuentran incluidos, aceites esenciales, resinas, esteroides, carotenoides, gomas, alcaloides, vitaminas, etc.

Un resumen general de la clase de terpenoides de importancia se encuentra en la tabla No. 1¹.

Tabla No. 1.

TIPOS DE COMPUESTOS TERPENOIDES		
TIPO	NUMERO DE UNIDADES DE ISOPRENO	EJEMPLOS DE ESTOS COMPUESTOS
HEMITERPENOS	1	Combinados con otro tipo de compuestos, Cumarinas, Quinonas, etc.
MONOTERPENOS	2	Aceites Esenciales, -- Irídoles.
SESQUITERPENOS	3	Aceites Esenciales y -- Principios amargos.
DITERPENOS	4	Resinas, Fitol, vitamina-A, Giberelinas.
TRITERPENOS	6	Esteroles, Esteroides, Saponinas.
TETRATERPENOS	8	Carotenoides.
POLITERPENOS	n	Gomas, Gutapercha.

Los datos conocidos sobre actividad biológica de estos compuestos abarcan solamente unos cientos de estas sustancias naturales, sin embargo recientemente una buena cantidad de productos naturales han sido aislados con la ayuda de nuevas y modernas técnicas.

Las propiedades biológicas y farmacológicas de los terpenoides descritos en la literatura dan un gran espectro de efectos, sin embargo desde el punto de vista médico este espectro es sumamente limitado, ya que muy pocos de estos compuestos naturales llegan a tener un uso clínico.

Las propiedades biológicas más importantes conocidas actualmente de dichos terpenoides se describen en la tabla No. 2¹.

Tabla No. 2.

PROPIEDADES BIOLÓGICAS DE LOS TERPENOIDES			
ACTIVIDAD	MONOTERPENOS	SESQUITERPENOS	DITERPENOS
Anestésico.	+	--	--
Anaigético.	+	+	--
Analgésico.	--	+	--
Antihelmíntico.	+	+	--
Antisarrético.	--	+	--
Antibiótico (antiviral, antibacteriano, antifúngal).	+	+	+
Antieptéptico.	--	+	--
Antihistamínico.	+	--	--
Antiinflamatorio.	+	+	--
Antirreumático.	+	--	--
Antitumoral (anticancerígeno, anticarcinogénico, citotóxico).	+	+	+
Colerético, colágeno.	--	+	--
Diurético.	+	--	--
Espectoraute.	+	--	+
Hipotensivo.	+	+	+
Insecticida.	+	--	+
Hormona Juvenil.	--	+	--
Orgenoléptico (olor, sabor).	+	+	+
Fito-hormona (regulador del crecimiento).	--	+	+
Purgante.	+	--	+
Sedante.	+	+	--
Espesificante.	+	+	--
Tóxico.	--	+	+
Vitamina.	--	--	+

Las aplicaciones más importantes de estos productos a nivel terapéutico se resumen en la tabla No. 3¹.

Tabla No. 3.

USOS CLINICOS IMPORTANTES DE LOS TERPENOIDES			
APLICACION	MONOTERPENOS	SESQUITERPENOS	DITERPENOS
Agentes Analépticos.	--	+	--
Antibióticos.	--	+	--
Antihelmínticos.	+	+	--
Desinfectantes	+	--	--
Irritantes.	+	--	--
Sedantes.	+	--	--
Vitaminas.	--	--	+

Algunos de estos compuestos son importantes por sus aplicaciones clínicas y sus potenciales aplicaciones, algunos otros de estos terpenoides a menudo tienen un gran interés industrial, sin olvidar que muchas de las plantas, las cuales contienen mono, di y sesquiterpenos tienen y han tenido un uso para la cura de enfermedades en la medicina tradicional de algunos pueblos.

En este trabajo el interés principal está enfocado a una clase de terpenoides denominados "Monoterpenos" y particularmente a los "Monoterpenos Ciclopentanoides o Iridoides".

2.0.- MONOTERPENOS.

Los monoterpenos son predominantemente productos del metabolismo secundario de las plantas, aunque se presentan también en algunos animales y microorganismos.

Estos terpenoides son aislados como componentes mayoritarios de los --- aceites obtenidos por extracción con disolventes.

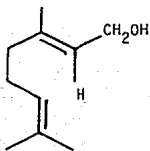
Los monoterpenos ciclopentanoides están presentes normalmente en tejidos de plantas como β - glicósidos (iridoides y compuestos relacionados).

De acuerdo con Devon y Scott (1972), existen cerca de 15 esqueletos --- principales y menos de 15 con esqueleto común como el de los monoterpenos. De esta manera los monoterpenos están clasificados en dos grupos - principales:

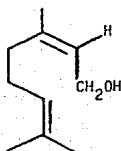
- a).- Monoterpenos Normales.
 - b).- Monoterpenos Ciclopentanoides.
- a).- MONOTERPENOS NORMALES.

Los monoterpenos normales están subdivididos en tres grupos: 1.- acíclicos, 2.- monocíclicos, 3.- bicíclicos., y unidos a ellos existen hidrocarburos, aldehídos, alcoholes, cetonas, oxidos y otros grupos.

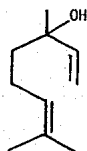
a.1.- Monoterpenos Normales Acíclicos.



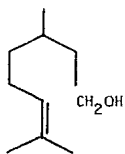
Geraniol



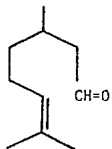
Nerol



Linalol

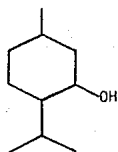


Citronelol

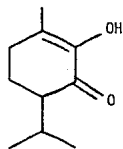


Citronelal

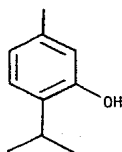
a.2.-Monoterpenos Normales Monocíclicos.



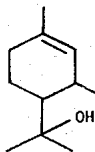
Mentol



Diosfenol



Timol



α -Terpineol

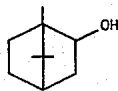
a.3.-Monoterpenos Normales Bicíclicos.



α Pineno



β Pineno



Borneol

2.1.- ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE LOS MONOTERPENOS NORMALES.

Lo monoterpenos normales son los componentes mayoritarios de los aceites esenciales, cuya actividad biológica farmacológica y terapéutica es muy conocida.

Estas sustancias se utilizan como estimulantes, expectorantes, estomáquicos, carminativos, diuréticos, antisépticos y desinfectantes.

Sin embargo los usos más comunes de los productos con aceites esenciales son: como saborizantes en alimentos, en farmacia como enmascarante de sabores, en el mejoramiento de cierto tipo de sabores.

Tienen también un amplio uso en cosmetología, se utilizan asimismo como antimicrobianos e insecticidas, en pesticidas en agricultura y en horticultura ¹.

En la mayoría de los casos la actividad de los aceites esenciales es producida por la parte monoterpénica completa.

Algunos monoterpenos simples se encuentran como componentes de ciertos fármacos, utilizados principalmente para combatir infecciones del tracto urinario y bronquial y en la asepsia de quemaduras ¹.

La actividad antiséptica de algunos de estos aceites esenciales excede con mucho a otros antisépticos como el fenol.

El timol por ejemplo es 20 veces más efectivo que el fenol.

El timol y el carvacol son utilizados actualmente incorporados a pastas dentales por su acción antiséptica y rubefaciente.

2.2.- MONOTERPENOS CICLOPENTANOIDES Y DERIVADOS.

Recientemente los compuestos conocidos como monoterpenos ciclopentanoides o iridooides han sido objeto de intenso estudio debido a sus actividades biológicas.

Estos monoterpenos poseen una estructura intermedia entre los terpenos y los alcaloides². Los iridooides se caracterizan por tener un sistema anular de ciclopentano y un pirano.

El término iridoide fué sugerido por los Sres. Brigg, Cain, Le Quesne y Shoolery³, debido a que el esqueleto básico de estos monoterpenos heterocíclicos corresponde al del iridooidal, el cual presenta un grupo enol-hemiacetal que es característico de estos compuestos, antes de esta denominación se les nombraba Pseudo-Indikans, por la coloración que presentaban al hidrolizarse por medios ácidos, pero como no incluían a --- otros compuestos que caen dentro de esta clasificación se optó por el nombre actual.

Esta clase de sustancias fueron descritas por Cavill⁴, como componentes de insectos como en el caso de la hormiga australiana Iridomyrmex detectus. Sin embargo no todos los productos naturales que se pueden derivar del esqueleto iridooidal pueden ser caracterizados como tales.

Estos terpenoides monoterpénicos están clasificados según Sticher⁵, de la manera como se muestra en el diagrama No.1.

De los 5 grupos sólo los β -D-glicósidos y los iridooides no glicosídicos del grupo II, son clasificados como iridooides reales. Los secoiridooides se clasifican en otro grupo porque no presentan el anillo de ciclopentano. Los otros grupos están clasificados como iridooides no reales.

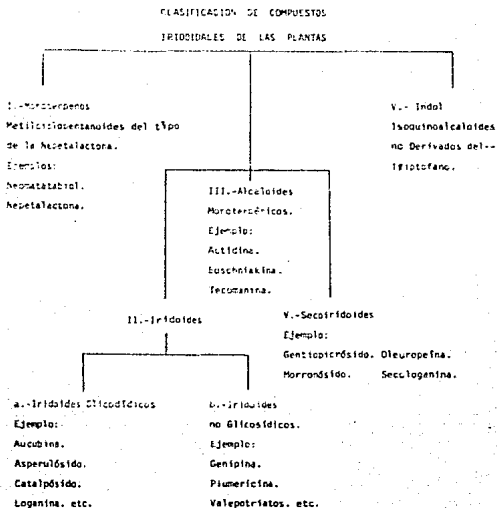
Los monoterpenos del grupo I, metilciclopentanoides del tipo de la Nepetalactona son normalmente volátiles y ocurren en aceites esenciales-

además muchas de las secreciones defensivas conocidas de los insectos - por ejemplo Iridomyrmecina, Iridoidal, Dolicolial etc, se encuentran -- también en esta categoría ⁶.

El grupo III incluye alcaloides monoterpénicos y el grupo V del tipo de los alcaloides de la isoquinolina.

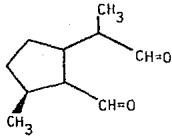
Diagrama No. 1.

2.2.1.-

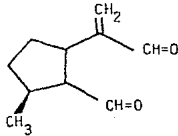


I.- Monoterpenos Metilciclopentanoides,

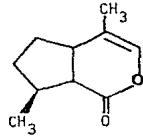
Del Tipo de las Nepetalactonas. (Iridoides Simples).



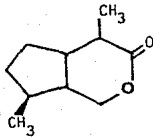
Iridodial



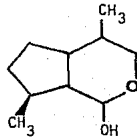
Dolicodial



Nepetalactona

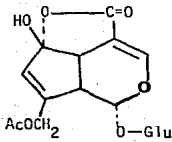


Iridomirmecina

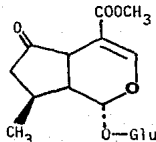


Neomatatabiol

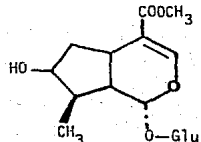
II.- Iridoides Glicosídicos.



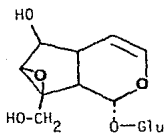
Asperulósido



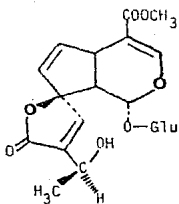
Verbenalina



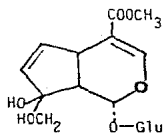
Loganina



Catalpol

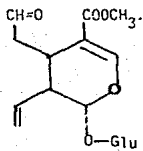


Plumierido

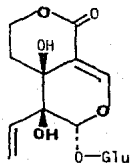


Monotropafina

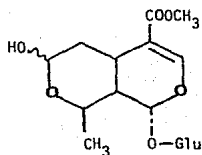
IV.- Secoiridoides Glicosídicos.



Secologanina



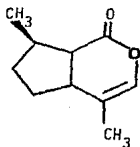
Swertiamarina



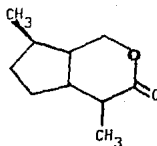
Morronefido

2.2.2.- ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE LOS MONOTERPENOS CICLOPENTANOIDES O IRIDOIDES.

a).- Monoterpenos Ciclopentanoides del Tipo de la Nepetalactona. Muchos de los iridoideos que pertenecen a este grupo tienen una poderosa acción como repelentes de insectos y defensa contra artrópodos. Esto sugiere que dichos compuestos son una protección de la planta contra los insectos fitófagos, igualmente estos iridoideos actúan como atrayentes de felinos⁷. Sin embargo muchos de ellos normalmente no tienen actividad farmacológica sobre mamíferos y no son clínicamente utilizados^{1, 8}.



Nepetalactona



Iridomyrmecina

b).- Iridoideos y Secoiridoideos.

Los iridoideos y los secoiridoideos habían sido hasta hace poco una clase poco importante de compuestos fisiológicamente activos.

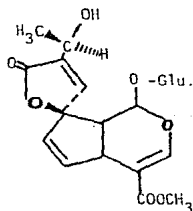
Sin embargo el uso constante de las plantas con este tipo de compuestos en la medicina tradicional de algunos pueblos^{10, 11} y los nuevos descubrimientos promovieron el resurgimiento del estudio de estos compuestos. LOS IRIDOIDEOS COMO INHIBIDORES DEL CRECIMIENTO DE OTRAS PLANTAS.

El Plumierido aislado de *Plumeria obtusifolia* (Apocynaceae), inhibe el crecimiento y desarrollo de cierto tipo de plantas¹⁰.

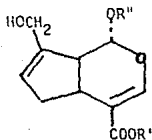
Esto se demostró en un bioensayo llevado a cabo con plantas del guisante así como ciertas variedades de maíz y arroz.

La acción inhibitoria de este tipo de iridooides glicosídicos se debe a que contrarresta los efectos de las giberilinas las cuales inducen el crecimiento. De igual manera los iridooides glicosídicos Genipósido y ácido Geniposídico aislados de *Carrya elliptica*, mostraron actividad como inhibidores del crecimiento de embriones de trigo y segmentos del tallo de guisantes.

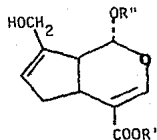
El Genipósido, el ácido Geniposídico y sus aglucones son los responsables de dicha actividad ⁹.



Plumierido



1.-Genipósido

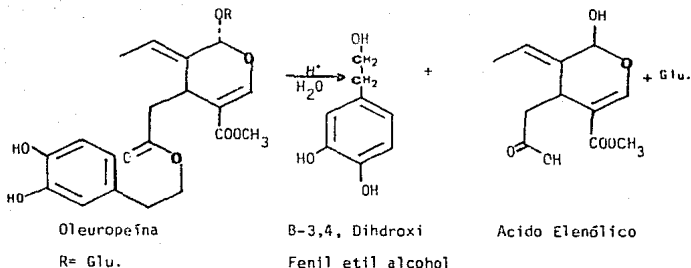


2.-Acido Geniposídico

R' = Me, R'' = Glu. R' = H, R'' = Glu.

EFFECTOS HIPOTENSIVOS DE LOS IRIDOIDES.

La Oleuropefina aislada de las hojas del árbol de olivo, es de interés por sus efectos hipotensivos ¹. Datos clínicos empíricos acerca de sus efectos curativos en el caso de enfermedades de tipo hipertensivo se conocen desde 1950. Uno de los productos de hidrólisis de la Oleuropefina con ácido fosfórico es, el ácido Elenólico, el cual se conoce por ser un agente hipotensivo. Además por investigaciones llevadas a cabo se demostró que la Oleuropefina tiene una acción hipotensiva así como de dilatador coronario, acción antiarrítmica y espasmolítica.



PROPIEDADES ANALGESICAS Y ANTIFLOGISTICAS DE LOS IRIDOIDES.

El iridoide glicosídico llamado Harpagósido fué primeramente investigado y aislado de las raíces de *Harpagophitum procumbens*, una planta sudáfricana. En un estudio acerca de esta planta y de sus constituyentes se describen los estudios de toxicidad aguda, pruebas farmacológicas y clínicas del extracto total ¹.

En un estudio comparativo posterior se describen las propiedades mencionadas para el iridoide glicosídico que se encuentra en mayor proporción así como para su aglucón y para el extracto crudo.

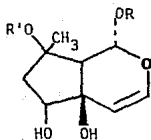
Probándose los efectos antiflogísticos, analgésicos y espasmolíticos, dichos efectos fueron comparados con los efectos producidos por la Fenilbutazona. Los datos de tal estudio se muestran en la tabla No. 4.

Como se muestra en la tabla, por ejemplo cuando se induce artritis en la rata con Formalina, tanto el aglucón del Harpagósido como el extracto crudo mostraron actividad comparable a la de la Fenilbutazona, no así el glicósido que no mostró ninguna actividad. De la misma manera en el granuloma inducido por aceite de croton, el Harpagósido en forma de glicósido y su aglucón mostraron actividad similar a la de la Fenilbuta

zona aunque el efecto analgésico comparable con el de la Fenilbutazona-
 fué obtenido con el glicósido del Harpagósido.

Tabla No. 4.

INVESTIGACION FARMACOLOGICA DEL HARPAGOSIDO			
ENSAYO	GLICOSIDO HARPAGOSIDO	AGLUCON DEL HARPAGOSIDO	EXTRACTO ACUOSO
Edema (en rata)	--	--	--
Granuloma (producido por aceite de croton).	+	+	No investigado.
Artritis (inducida por formalina).	--	+	+
Efectos analgésicos.			
Prueba de oreja de conejo.	+	--	--
Contracción del ileón en cerdo de Guinea. (in vitro).	--	No investigado.	No investigado.



- 1.- Harpágido. R' = H, R = Glu.
- 2.- Harpagósido. R' = Trans-Cinamoil,
R = Glu.
- 3.- Aglúcon del Harpagósido.
R' = Trans-Cinamoil, R = H.

ACTIVIDAD PURGANTE Y LAXANTE DE LOS IRIDOIDES.

El fruto de *Gardenia jasminoides* llamado Shan Zhi-zi, ha sido utilizado
 como uno de los componentes principales de varias preparaciones en la -
 medicina tradicional china, por su acción antiflogística, diurética, se-
 dante y hemostática. Recientemente varios iridoides glicosídicos como -

el Genipósido, Gardenósido, Genipin- γ - gentobiósido, Shanzhisido y el éster metílico del Diacetil Asperulósido han sido reportados como constituyentes de esta planta ¹¹.

Se demostró posteriormente que el Genipósido, el iridoide principal del fruto de *Gardenia spp* (Zhi-zi), muestra actividad purgante.

En el mismo estudio llevado a cabo en ratones se determinó la DE_{50} , de acuerdo con el procedimiento experimental descrito en la bibliografía citada. Los resultados experimentales se muestran en la siguiente tabla. Tabla No. 5.

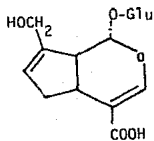
ACTIVIDAD PURGANTE DE IRIDOIDES GLICOSIDICOS		
Compuestos Iridoidales	Dosis Efectiva 50% DE_{50} g/kg.	Tiempo de aparición de la Diarrea. hr.
Genipósido.	0.30	3
Acido Geniposáico.	> 0.60	5
Éster metílico del ácido diacetil asperulósido.	0.53	>6
Asperulósido.	0.24	>6
Acido diacetil asperulósido.	> 0.60	--
Panchósido.	0.30	>6
Gardenósido.	1.20	3
Monotropéina.	> 0.50	>6
Plumbírido.	0.12	1
Aucubina.	0.39	>6
Catalpa.	0.34	>6
Catalpósido.	0.30	>6
Verbenalíen.	0.11	1
Loganina.	0.54	4
Decallogonina.	0.60	3
Deoxigenipósido.	> 1.20	4

Se probaron varios iridoideos glicosídicos y se encontró que algunos de ellos son más activos que otros, difiriendo considerablemente en el tiempo de aparición de la diarrea, la actividad biológica fué comparada con los compuestos purgantes de Senna y Riubarbo.

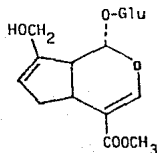
Se encontró también que el Genipósido provoca diarrea en ratones después de la administración oral pero no después de la administración parenteral (Yamuchi, 1976) ¹². El mecanismo de acción del Genipósido es debido a que éste acelera la acción propulsora a lo largo del intestino.

Después de administrar una dosis por vía oral, el aglucón del Genipósido, la Genipina, fué detectado en casi todos los segmentos del tracto gastro intestinal, especialmente en el cecum y colon.

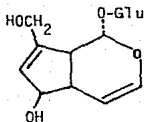
De acuerdo con ello se concluyó que el aglucón del Genipósido es el producto activo al igual que en el caso de los otros iridoideos probados.



Acido Geniposídico



Genipósido

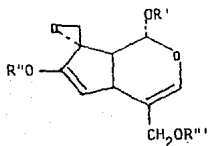


Aucubina

ACTIVIDAD COMO SEDANTES.

Los iridoideos no glicosídicos denominados "Valepatriatos", aislados de las raíces de Valeriana wallichii y otras plantas de las Valerianaceas -

son utilizados como agentes terapéuticos. En Alemania por ejemplo, existe un fármaco llamado "Valmane", el cual se utiliza como agente sedante débil. Entre estos Valepotriatos se encuentran los iridoideos Valtratum- y Dihidrovaltratum. Los estudios de los efectos de estas sustancias sobre el sistema nervioso central, solamente pueden ser realizados en clínicas especializadas.



Valtratum.

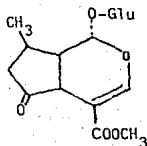
R'=R''= COCH₂CH(CH₃)₂

R'''= Ac.

Dihidrovaltratum.

Ciclopentano saturado.

Otros efectos encontrados que son importantes de estos monoterpenos son por ejemplo: la Vervenalina que tiene baja toxicidad y posee actividad sobre el útero similar al Ergot y es, débilmente parasimpaticomimético.



Vervenalina

ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE LOS IRIDOIDEOS.

Existen muchos trabajos sobre la actividad antimicrobiana de algunos iridoideos, la cual no es análoga a las actividades bacteriostáticas y -

fungicidas de ciertos aceites esenciales como los monoterpenos normales. En las pruebas biológicas llevadas a cabo, se demostró que el efecto de los iridoides glicosídicos aparece sólo bajo condiciones externas especiales (presencia de β -glucosidasa en el medio de cultivo).

El glicósido iridoideal Aucubina, aislada de Aucuba japónica, mostró actividad antimicrobiana contra Staphylococcus aureus en presencia de -- β -glucosidasa (efecto similar de 600 U.I. de penicilina) ^{14, 15}.

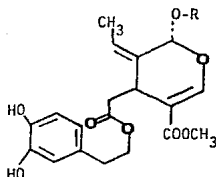
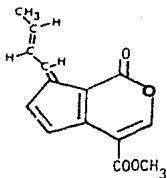
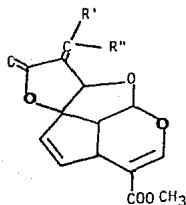
Se ha demostrado que el aglucón de la Aucubina, la Aucubigenina es la forma activa, al igual que 20 tipos más de aglucones iridoideales obtenidos por tratamiento con β -glucosidasa. Los resultados obtenidos sugieren la posibilidad del papel que juegan estos iridoides como defensa -- contra organismos patógenos de las plantas.

El Galiosido y el Gardenósido son dos iridoides, los cuales son isómeros que difieren en la posición 8, que producen aglucones comparativamente más estables al ser tratados con β -glucosidasa. El aglucón del Galiosido mostró actividad contra Staphylococcus aureus y Klebsiella pneumoniae, pero el aglucón del Gardenósido no, ésto sugiere que sus actividades dependen de las diferencias estructurales.

La Plumericina, Isoplumericina y Fulvoplumericina inhiben el crecimiento de un buen número de bacterias Gram-positivas y Gram-negativas y hongos, y junto con las bacterias Gram-positivas inhiben también el crecimiento de varios tipos de Mycobacterium tuberculosis.

La Oleuropeína, aislada de las hojas del árbol de olivo, muestra actividad antimicrobiana y dicha actividad se debe a dos de sus productos de hidrólisis que son: El aglucón de la Oleuropeína y el ácido Elenólico, los cuales inhiben el crecimiento de cuatro especies de bacterias ácido-lácticas. En conclusión, la actividad antimicrobiana de los iridoides-

glicosídicos es debida a compuestos no glicosídicos, que en este caso son los aglucones.



1.- Plumericina Fulvoplumericina

R' = H, R'' = CH₃.

2.- Isoplumericina.

R' = CH₃, R'' = H.

1.- Oluropefna, R =

Glu. Aglucon, R = H.

ACTIVIDAD ANTITUMORAL DE LOS IRIDOIDES.

Una lactona con estructura iridoidal llamada Allamandina, aislada de -- Allamanda cathartica ¹⁷, se encontró que posee actividad antileucémica. La Allamandina fué aislada junto con otros iridoideos, la Allamandicina y la Plumiericina e Isoplumiericina.

Se encontró que la Allamandina muestra una significativa actividad en vivo contra Leukemia P-388 en ratones e in-vitro con células derivadas del carcinoma humano de la Nasopharynx (KB).

En trabajos más recientes se describe un estudio comparativo entre varios iridoideos glicosídicos y sus aglucones ¹⁸, en el cual se plantea que la estructura hemiacetálica de ciertos aglucones es fundamental para que tales compuestos exhiban actividad antimicrobiana, de igual manera esta propiedad está estrechamente relacionada con la capacidad de es

tos mismos aglucones de actuar como agentes antitumorales. Tal estudio se realizó con los compuestos presumiblemente más activos, contra Leukemia P-388 inducida experimentalmente en ratones. La actividad antitumoral de los iridoides glicosídicos y sus aglucones contra Leukemia P-388 se resumen en la tabla No. 5.

Tabla No. 5.

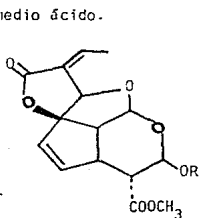
ACTIVIDAD ANTITUMORAL DE ALGUNOS IRIDOIDES GLICOSÍDICOS Y SUS AGLUCONES						
COMPUESTO	GLICOSÍDICO		AGLUCÓN			
	T/C %		T/C %			
	(mg/Kg)		(mg/Kg)			
	100	300	10	50	100	200
Aucubina.	103	100	103	117	130	147
					162	33
Scandiósido (éster metílico).	103	91	109	131	160	44
					158	53
Gentipósido.	96	96	96	106	117	90
Logenina.	100	100	100	126	129	65
Swerósido.	103	97	103	134	44	33
Gardenósido.	106	103	97	122	122	122
Gentioferósido.	108	116	110	55		

T/C % = Máximo total/Control.

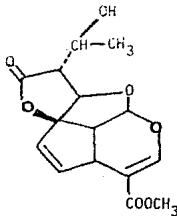
Ninguno de los glicósidos mostró actividad significativa, pero casi todos los aglucones mostraron actividad antitumoral.

El aglucón de la Aucubina y del éster metílico del Scandiósido (SMEH), mostraron mayor actividad. Se probó también el efecto del SMEH sobre el carcinoma de Ehrlich Ascites Meth A y el sarcoma 180 y L 1210 ya que -- El aglucón es el más estable, se encontró que dicho aglucón es moderadamente activo contra Leukemia L 1210.

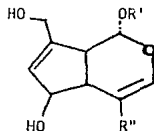
Contra el carcinoma de Ehrlich Ascites es marcadamente más activo, al igual que para el sarcoma 180. Finalmente es importante hacer notar que los iridoideos glicosídicos no muestran actividad antimicrobiana o antitumoral por sí mismos sino después de una hidrólisis enzimática o en un medio ácido.



Allamandina.
R=H.



Allamandicina.



Aucubina
R'=Glu. R''=H
Scandiosido (SMEH).
R'=H, R''=COOCH₃

Para concluir, en la mayoría de los casos citados se nota claramente -- que la actividad biológica de los iridoideos es debida principalmente a los aglucones de dichos iridoideos. Tales aglucones pueden existir en la planta o pueden ser obtenidos por tratamiento de los glicósidos.

Existen en la literatura estudios relacionados con la obtención de dichos iridoideos ¹⁹, en la mayoría de los casos estos aglucones son obtenidos por tratamientos enzimáticos y por hidrólisis en medio ácido.

Sin embargo el tratamiento en un medio ácido en algunos casos produce - en la molécula un rearrreglo estructural ^{20,21}, lo cual puede causar la modificación de la actividad biológica, pero esto no está confirmado.

No obstante existen estudios con aglucones obtenidos por tratamientos - en medio ácido, observandose que conservan su actividad ^{10,16}.

3.0.- IRIDOIDES COMO INTERMEDIARIOS EN LA SINTESIS DE PROSTAGLANDINAS

Las Prostaglandinas constituyen una familia de derivados de los ácidos grasos que poseen una gran variedad de potentes actividades biológicas de naturaleza hormonal.

Existen también muchas clases de prostaglandinas que actúan como reguladoras del metabolismo, de cierto número de tejidos y por caminos diversos, en el plasma seminal humano existen al menos 14 Prostaglandinas, se han encontrado en otros tejidos y se han preparado sintéticamente -- otras más en el laboratorio.

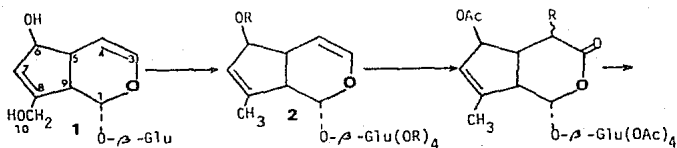
En el campo de la síntesis de Prostaglandinas, una de las metas principales es la de obtener productos enantioméricamente puros, sin la utilización de métodos caros en su separación. Con estos fines se han hecho muchos intentos, utilizando como materia prima productos naturales ópticamente puros. En particular con los iridoides glicosídicos (eg. Aucubina, Asperulósido) que indudablemente poseen una estructura adecuada para la elaboración de prostaglandinas naturales o modificadas.

Por ejemplo, la Aucubina se decidió utilizarla como materia prima con el fin de obtener la 11-deoxi-11metil prostaglandina o análogos a ésta no solamente porque su estructura está estrechamente relacionada con la estructura de la Aucubina, sino porque éstos representan una clase de prostanoïdes sintéticos de importancia biológica.

En el esquema siguiente se resumen las etapas más importantes en la conversión de la Aucubina en un nuevo intermediario quiral, para la síntesis de una prostaglandina (11-dideoxi-11metil prostaglandina) por oxidación del doble enlace ^{22,23}.

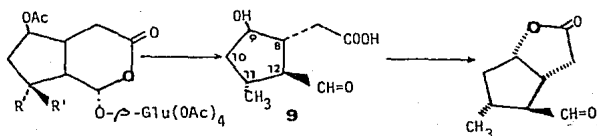
Para mayores detalles consultar la bibliografía correspondiente.

Esquema No.1.



Aucubina.3.- R=H, 4.R=Ac.

5. R = Br, 6.-= R= H.

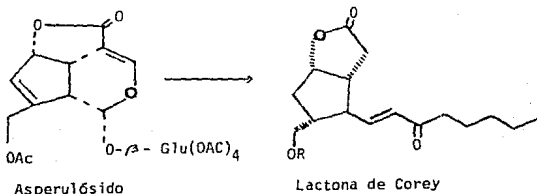
7.- = R= CH_3 , R' = H.8.- = R= H, R' = CH_3 .

Lactona de Corey

Otro glicósido iridoideal utilizado como materia prima para la obtención de prostanoideos intermedios, en la obtención de protaglandinas, es el Asperulósido (iridoide glicosídico)^{24,25}. Este ha sido convertido en un prostanoides intermedio ópticamente activo, por dos rutas: La ruta oxidativa y la ruta reductora. La ruta oxidativa se hace con la oxidación del grupo enol-éter a la lactona con I_2/PDC , seguida por una reducción in-situ de la lactona con tiosulfato, la hidrólisis y descarboxilación, para después dar el 11-homólogo del aldehído, la lactona de Corey. Alternativamente el tetrahidro Asperulósido se convierte al acetal tetracíclico por tratamiento ácido. Por una ruptura selectiva con Cloruro de Acetilo/ TiCl_4 , a un hemiacetal el cual por la reacción de Wadsworth-Emmons, seguida de oxidación y descarboxilación, da el mismo

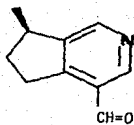
intermediario preparado en la primera ruta.

Las prostaglandinas difieren entre sí respecto a su actividad biológica aunque comparten actividades biológicas comunes, todo esto pone de manifiesto la importancia de estos productos (prostaglandinas) y de los productos utilizados en su preparación.

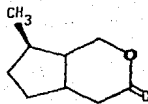


5.0.- ANTECEDENTES SOBRE EL BOSCHNALOSIDO.

El boschnalósido aislado de *Boschniaka rossica*, Huft. (Orobanchaceae) no ha sido probado biológicamente como tal, sin embargo esta planta se ha utilizado en la medicina tradicional China como tónico, remedio para daños renales y resfriados, así como atrayente de felinos. Se sabe que estas actividades se deben principalmente a otros productos -- con estructura iridoidal, como son la Boschniakina y la Boschnialactona, sin embargo no se puede descartar al boschnalósido como participe de estas actividades.



Boschniakina



Boschnialactona

PARTE EXPERIMENTAL

Las constantes físicas y espectroscópicas se determinaron en los siguientes aparatos:

- a).- Los puntos de fusión se determinaron en un aparato Fisher-Jones y no se encuentran corregidos.
- b).- Los espectros de Infrarrojo (I.R.), se determinaron en un espectro fotómetro Perkin-Elmer 283 B y un Perkin-Elmer 681; las unidades - están dadas en cm^{-1} . Las determinaciones fueron realizadas por el Quím. Villena Iribe René y el Quím. Torres Hernández Misael.
- c).- Los espectros de Resonancia Magnética Nuclear de Hidrógeno (RMN^1H), fueron efectuados por el Quím. Cárdenas Pérez Jorge y el Quím. Gaviño Ramírez Ruben, en un aparato Varian F T-80 A de 80 MHz., se empleó como referencia interna el Tetrametil Silano (TMS), los desplazamientos químicos se indican en ppm. (δ).
- d).- Los espectros de Espectroscopía de Masas (E.M.) fueron determinados por el I.Q. Velasco Ibarra Luis y el Quím. Del Río Portilla José - Federico, en un espectrofotómetro Hewlett-Packard 5985, por Ionización Química o Impacto Electrónico.

El desarrollo de las reacciones y la pureza de los productos se determinaron mediante cromatografías de Sílica Gel Merck F-254, empleando como revelador lámpara de U.V. y/o solución de Sulfato Cérico al 1 %.

Para las cromatografías en columna se empleó Sílica-Gel 60 Merck de malla, 35-70 mesh y de malla 70-230 mesh.

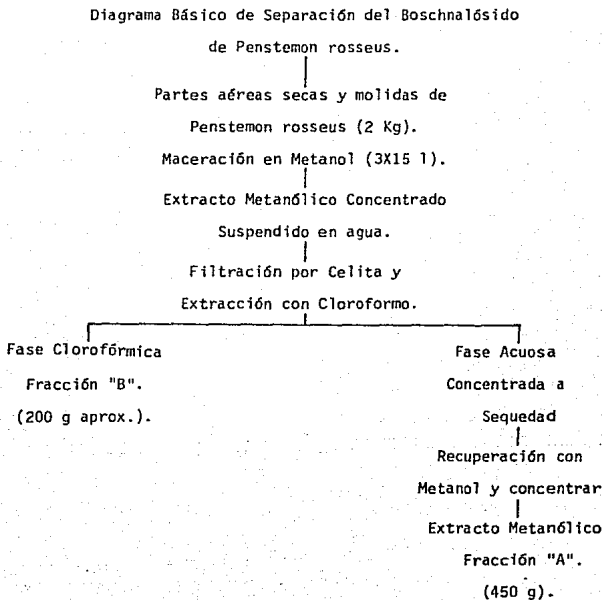
En las señales de $\text{R.M.N.}^1\text{H}$, se reporta el desplazamiento químico y entre paréntesis el tipo de señal (s, singulete, d, doblete, etc.), después se indica subrayando para cuantos protones integra la señal.

1.0.- METODOS DE AISLAMIENTO Y PURIFICACION.

Se trabajó con las partes aéreas secas y molidas de Penstemon rosseus (Schrophulariaceae) (Sweet) G. Dicha planta fué identificada por - comparación con una muestra existente en el herbario (registro No. 3452 31), MEXU (Instituto de Biología de la U.N.A.M.).

La ruta básica de separación y aislamiento del producto (Boschnalósido-Iridoide glicosídico), se describe en el esquema No. 1.

Esquema No. 1.



Del extracto "A" se efectuaron varios intentos de separación haciendo uso de la cromatografía en columna. Las variantes que se introdujeron se deben únicamente al material de empaque de cada columna.

1.1.- METODO DE CARBON ACTIVADO.

Este método se utilizó como tratamiento previo en la purificación, (Método ya descrito) 27,28.

Una muestra del extracto "A" (5 g), se suspendió en agua y se colocó en una columna de carbón activado previamente lavado.

A la columna con la muestra se le hicieron varios lavados sucesivos con agua, eliminando así los azúcares libres, los minerales y sustancias fenólicas, quedando adsorbidos los iridoides glicosídicos y compuestos relacionados en el carbón activado, aluyendo después con fracciones crecientes de agua/metanol. Se evaporaron las fracciones, por cromatografía en capa fina se observó que la separación esperada no se llevó a cabo, por lo que se reunieron las fracciones en las cuales se detectó el producto y se concentró, recuperándose el extracto "A" casi cuantitativamente.

1.2.- CROMATOGRAFIA EN COLUMNA.

Este método se llevó a cabo directamente con el extracto metanólico "A", sin ningún tratamiento previo, tomando muestras de aproximadamente 5 g, para cada caso.

1.2.1.- COLUMNA EMPACADA CON CELITA.

Se adsorbió una muestra del extracto metanólico "A" (5 g), en 10 g, de celita y se colocó en una columna empacada con 200 g, de celita en hexano y se eluyó con mezclas de polaridad creciente desde hexano hasta metanol, obteniéndose un producto sólido amarillento el cual por cromatografía se identificó como Boschnalósido (100 g), con rendimientos

muy bajos insuficientes para nuestros propósitos.

1.2.2.- COLUMNIA EMPACADA CON ESPUMA FLEXIBLE DE POLIURETANO.

(Previamente Tratado).

Método ya descrito y utilizado en la separación y purificación de otros productos naturales con buenos resultados ²⁹.

Se adsorbió una muestra del extracto metanólico "A" (5 g), en 5 g, de poliuretano previamente tratado, se colocó en una columna empacada con 100 g, del mismo material y se eluyó con fracciones de polaridad creciente desde hexano hasta metanol.

Se obtuvo un aceite color amarillo claro, que por cromatografía en capa fina se observó que se trataba de una mezcla de productos, lo cual no permitió la cristalización del producto deseado, haciéndose necesaria una separación posterior en cromatografía en capa fina preparativa, después de ella se obtuvo el producto puro, (50 mg).

1.3.0.- TRATAMIENTO PREVIO DE SEPARACION.

1.3.1.- METODO DE PRECIPITACIONES SUCESIVAS.

Se tomó una muestra del extracto metanólico "A" (5 g), y se sometió a precipitaciones sucesivas con acetona, seguidas por filtración y concentración del extracto por evaporación, repitiéndose la operación varias veces, eliminando con ello una buena cantidad de azúcares libres principalmente y otros productos, el método se desechó por impráctico.

1.3.2.- UTILIZACION DE UN APARATO SOXHLET.

Una muestra del extracto metanólico "A" (100 g), se colocó en un aparato Soxhlet de extracción continua, y se extrajo con una mezcla de disolventes (acetona/metanol 5%), hasta agotamiento.

Los extractos se reunieron, se concentraron por destilación de los disolventes y se obtuvo un aceite color café oscuro (25 g), Extracto "C".

Se tomó una muestra del extracto "C" (12 g), y se cromatografió en una columna empacada con 400 g de Silica Gel (70-230 mesh), en acetato de etilo y se eluyó con fracciones de polaridad creciente.

El producto (Boschnalósido), se separó en forma de un sólido puro (2.3g, aproximadamente).

Todo el extracto metanólico "A", se sometió a este procedimiento, obteniéndose de 9.5-10.0 g, de producto total puro.

El diagrama No. 1, se complementa de la siguiente manera, como se muestra en el diagrama No. 2.

Diagrama No. 2.

Diagrama Complementario en la Purificación

del Boschnalósido

Del diagrama No.1.

Extracto Metanólico

Fracción "A".

Aparato Soxhlet

Extracción con Acetona/Metanol 5 %.

Extracto "C".

Cromatografía en Columna

Silica Gel (70-230 mesh).

Producto Puro (Boschnalósido).

(c/100 g de "A" da 2.3 g de producto).

2.0.- ESTUDIO QUÍMICO.

El producto puro aislado (Boschnalósido), es un sólido cristalino de color blanco, con p.f. = 97-99 °C, R.f. = 0.50 (Acetato de etilo/Metanol 8:2); soluble en agua, metanol, etanol, DFA, DMSO, poco soluble en acetato de etilo y cloroformo; insoluble en acetona y hexano.

En U.V. $\lambda_{\text{máx.}}$ = 249 nm; $\log \epsilon = 4.3$ (MeOH). En I.R. (Nujol) $\nu_{\text{máx.}}$ = 3500 - 3300, 3010, 2720, 1670, 1630, 1215, 1070 cm^{-1} . En R.M.N. ^1H (D_2O) $\delta = 1.00$ (d, J = 6Hz.) 3H; 2.5-1.2 (m) 6H; 2.9 (m) 1H; 3.45 (m) 4H; 3.85 (m) 2H; -- 4.80 (d, J = 7Hz.) 1H; 5.65 (d, J = 2Hz.) 1H; 7.45 (d, J = 1Hz.) 1H; 9.05 (s) - 1H. Para E.M. = 345 (0.5), 165 (35.7), 183 (100).

$[\alpha]_{\text{D}} = -138.5$ ° (MeOH) (c=3.18). Su estructura tridimensional se determinó por Rayos X ²⁷(Compuesto 1a).

2.1.- ACETILACION DEL COMPUESTO 1a.

Se disolvió el Boschnalósido puro (100 mg), en Piridina (2 ml), se añadió Anhídrido Acético (2 ml), la mezcla se calentó durante 1 h, y se dejó reposar 24 h, a temperatura ambiente, la mezcla se vertió sobre -- agua (150 ml), formándose un sólido color blanco el cual se filtró y se lavó repetidas veces con agua, se secó y se obtuvo un sólido color blanco (170 mg). El cual tiene un p.f. = 139-141 °C, y presenta en I.R. (CHCl_3) $\nu_{\text{máx.}}$ = 2720, 1747, 1670, 1625, 1371 cm^{-1} . En R.M.N. ^1H (CDCl_3) $\delta = 1.00$ (d, J = 6Hz.) 3H; 1.92, 1.98, 2.02, 2.06, 4(s) 12H; 5.36 (d, J = 3Hz.) 1H; - 7.06 (d, J = 1Hz.) 1H; 9.18 (s) 1H. En E.M. = 513 (0.4), 331(100), 165 (16.9). Compuesto 1b.

2.2.- REDUCCION DEL COMPUESTO 1b.

Se disolvió el compuesto 1b (100 mg), en metanol calentando ligeramente, se añadió una cantidad equivalente de NaBH_4 (100 mg), se dejó -- reaccionar a temperatura ambiente y con agitación continua.

Se controló el curso de la reacción por cromatografía en capa fina, hasta completarse la reacción, finalizada ésta se añadió una solución diluida de HCl (10%), se extrajo con acetato de etilo (15 ml X 3), se secó con Na_2SO_4 anhidro. El disolvente se evaporó quedando un residuo con apariencia de aceite de color amarillo (140 mg), el cual se purificó -- por cromatografía en capa delgada preparativa. Se obtuvo el producto reducido que cristalizó de metanol en un sólido de color blanco (110 mg). El producto tiene un p.f. = 140-143 °C. Presenta en I.R. (CHCl_3) ν máx. = 3511, 1753, 1669, 1371 cm^{-1} . En R.M.N. ^1H (CDCl_3) δ = 1.00 (d, J= 7Hz.) - 3H; 2.00, 2.02, 2.03, 2.08, 4(s) 12H; 3.95 (d, J= 10Hz.) 2H; 5.22 (d, J= 3Hz.) 1H; 6.25 (s) 1H. En E.M. = 331 (66.3), 167 (45.4). Compuesto IIb.

2.3.- FORMACION DE LA OXIMA A PARTIR DEL COMPUESTO Ib.

Se puso a reflujo una mezcla del compuesto Ib (100 mg), Clorhidrato de Hidroxilamina (100 mg) en etanol (5 ml) y piridina (0.5 ml), durante 15-60 minutos. El curso de la reacción se siguió por cromatografía en capa delgada, al finalizar la reacción el disolvente se evaporó totalmente, al residuo se le adicionó cloroformo (5 ml), se concentró - dando un aceite color amarillo que se purificó por cromatografía en capa delgada preparativa, obteniéndose un aceite color amarillo claro, el cual presenta en I.R. (CHCl_3) ν máx. = 3584, 1755, 1640, 1371 cm^{-1} . En R.M.N. ^1H (CDCl_3) δ = 1.00 (d, J= 6Hz.) 3H; 1.92-2.08 (4s) 12H; 5.28 -- (d, J= 4Hz.) 1H; 6.45 (s) 1H; 7.5 (s) 1H. y para E.M. = 527 (0.2), 331 (24.0), 180 (13.0). Compuesto IIIb.

2.4.- FORMACION DE LA FENILHIDRAZONA A PARTIR DEL COMPUESTO Ib.

Se preparó una solución de Fenilhidrazina (40 mg) y acetato de -- sodio (60 mg), en Metanol (5 ml). Se adicionó una solución del compuesto Ib (100 mg), en metanol (5 ml), al matraz que contiene la solución -

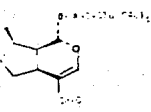

de Fenilhidrazina, se agitó vigorosamente hasta la aparición de un sólido color café claro el cual se filtró, se lavó con agua y se secó al vacío. El sólido obtenido tiene un p.f. = 132-135 °C, muestra en I.R. -- (CHCl₃)_v máx. = 1755, 1638, 1601, 1370 cm⁻¹. En R.M.N.¹H (CDC₃) δ = 1.01 (d, J = 6Hz.) 3H; 1.97, 2.00, 2.01, 2.10, 4(s) 12H; 6.45 (s) 1H; 7.25-7.50 (m) 5H. En E.M. = 602 (1.5), 331 (13.0), 225 (0.7). Compuesto IV.

2.5.- REACCION DE DIELS-ALDER.

Método Básico.

Se disolvió el compuesto Ib (100 mg), en xileno (5 ml), se añadió gota a gota acroleína (2 ml), se calentó a reflujo. El curso de la reacción se siguió por cromatografía en capa delgada, durante varios días - sin observar cambio alguno, se recuperó el producto y se sometió a la misma reacción con algunas variantes, como se muestra en la siguiente - tabla.

Tabla No. 1.

POSICIONES DE DIELS-ALDER DEL 100-45 1027					
ESPECIMEN ACETILADO	REACTIVOS	DISOLVENTE			REACCION
HETEROCICLO	DIENOFILO	1	2	U.V.	
	Acroleína. CH ₂ =CH-C=O	Xileno	Benceno	U.V.	--
	Acritonitrilo. CH ₂ =CH-CN	Xileno	Benceno	U.V.	--
	Anhidrido Maléico. 	Tolueno	Benceno	--	--
	Acritonitrilo CH ₂ =CH-CN	Acritonitrilo		--	--

2.6.- REACCIONES DE CONDENZACION.

Método Básico.

Se disolvieron 100 mg de el compuesto Ia puro, en metanol (5 ml), se añadió Fenil acetnitrilo (0.1 ml), a esta mezcla se le adicionó gota a gota una solución de KOH al 20 % en metanol, con agitación constante durante toda la reacción. El curso de la reacción se siguió por cromatografía en capa delgada. Al completarse la reacción se añadió HCl al 10 % en metanol, hasta pH neutro. Se evaporó el disolvente, se añadió metanol (2 ml), se filtró y se concentró el disolvente, el producto se purificó por cromatografía en capa delgada preparativa, dando como resultado un aceite color amarillo el cual en I.R. (CHCl_3) muestra: ν máx. = 3688, 2255, 1729, 1666, 1626, 1603 cm^{-1} . En R.M.N. ^1H ($\text{CDCl}_3 + \text{DMSO}$) δ = 1.00 (d, J= 2Hz.) $\underline{3\text{H}}$; 1.10 (d, J= 2Hz.) $\underline{3\text{H}}$; 3.45 (m) $\underline{3\text{H}}$; 3.70 (s) $\underline{3\text{H}}$; 4.95 (d, J= 2Hz.) $\underline{1\text{H}}$; 5.05 (d, J= 2Hz.) $\underline{1\text{H}}$; 7.35 (m) $\underline{5\text{H}}$; 9.25 (d, J= 2Hz.) $\underline{1\text{H}}$. Las variables introducidas al método se muestran en la tabla No. 2.

2.7.- REACCIONES DE HIDROLISIS.

2.7.1.- HIDROLISIS BASICA.

Se disolvió el compuesto Ia (100 mg), en metanol (5 ml), se añadió gota a gota una solución de KOH al 20 % en metanol, (100 mg aproximadamente de KOH) con agitación constante.

El curso de la reacción se siguió por cromatografía en capa delgada. Terminada la reacción, el exceso de base se neutralizó con HCl diluido al 10 % o con Amberlita ácida hasta pH neutro.

La solución se filtró y se concentró el disolvente, dando un aceite color café el cual se purificó por cromatografía en capa delgada preparativa, obteniéndose un aceite color amarillo (48 mg).

Este aceite presenta en I.R. (CHCl_3) ν máx. = 3500, 2736, 1719, 1670, 1628, cm^{-1} . En R.M.N. ^1H (CDCl_3) δ = 1.02 (d, J= 2Hz.) 3H; 1.10 (d, J= 2Hz.) 3H; 3.48 (d, J= 6Hz.) 3H; 4.78 (d, J= 5Hz.) 1H; 5.05 (d, J= 6Hz.) 1H; 7.13 (d, J= 2Hz.) 1H; 9.22 (d, J= 4Hz.) 1H. En E.M. = 212 (0.3), 181 (0.3), 196 -- (0.2), 165 (10.0). Compuestos Vb y Vib.

2.7.2.- HIDROLISIS ACIDA.

Se siguió el método descrito para la hidrólisis básica del compuesto Ia, utilizando HCl hasta pH=3. El exceso de ácido se neutralizó al finalizar la reacción con una solución de KOH al 20 % y/o Amberlita-básica. El producto obtenido, un aceite color café, se purificó por cromatografía en capa delgada preparativa, obteniéndose un aceite color -- amarillo (50 mg), el cual presenta en I.R. (CHCl_3) ν máx. = 3500, 1710, - 1675, 1630 cm^{-1} . En R.M.N. ^1H (CDCl_3) δ = 1.03 (d, J= 2Hz.) 3H; 1.08 (d, J= 2Hz.) 3H; 3.43 (m) 3H; 4.75 (d, J= 4Hz.) 1H; 5.05 (q) 1H; 7.15 (d, J= 2Hz) 1H; 7.5 (d, J= 2Hz.) 1H; 9.20 (d, J= 3Hz.) 1H. En E.M. = 212 (5.5), 181 -- (0.3), 196 (11.0), 165 (8.0). Compuestos Vb y Vib.

2.7.3.- PRODUCTO DE OXIDACION DEL COMPUESTO Vb.

Por cromatografía en capa delgada se detectó la presencia del producto de oxidación del grupo aldehídico del compuesto Vb, que es a su vez uno de los productos de la hidrólisis básica e igualmente de la hidrólisis ácida. El producto oxidado de Vb, es un aceite color café obscuro que presenta en su espectro de I.R. (Nujol) ν máx. = 3500-3200, 1740, - 1670 cm^{-1} . En R.M.N. ^1H (CDCl_3 + DMSO) δ = 1.00 (d, J= 2Hz.) 3H; 3.48 (m) - 3H; 4.65 (d, J= 6Hz.) 1H; 4.97 (d, J= 4Hz.) 1H; 7.5 (d, J= 2Hz.) 1H. Compuesto Vib.

2.7.4.- METILACION DEL COMPUESTO VIB.

El producto Vib, que es el producto de oxidación de Vb, se metiló

con Diazometano y se trató de la manera usual, obteniéndose un aceite - color amarillo, que se purificó por cromatografía en capa delgada prepa- rativa, obteniéndose un aceite color amarillo claro (20 mg).

Tal producto presentó en I.R. (CHCl_3) ν máx. = 1700, 1630 cm^{-1} .

En R.M.N.¹H (CDCl_3) δ = 1.02 (d, J= 2Hz.) 3H; 1.10 (d, J= 2Hz.) 3H; 3.48- (d, J= 8Hz.) 3H; 3.70 (s) 3H; 4.62 (d, J= 4Hz.) 1H; 4.92 (d, J= 5Hz.) 1H; - 7.37 (m) 1H. Compuesto VIC.

Tabla No.2.


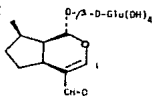
REACCIONES DE CONDENSACION DEL BOSCHALOSIDIO			
BOSCHALOSIDIO	REACTIVOS	DISOLVENTE	RESULTADOS
	$\text{C}_6\text{H}_5\text{-CH}_2\text{-CH/KOH.}$	Metanol	1.- En los casos de reacciones en metanol se obtienen: Vb + Vlb.
	"	Agua	
	$\text{C}_6\text{H}_5\text{-CH}_2\text{-CH/NaOEt.}$	Metanol	
	$\text{C}_6\text{H}_5\text{-CH}_2\text{-CH/KOH.}$	Metanol (Reflujo).	2.- En los casos de reacciones en DFA o DMSO se obtienen: Va + Via.
	$\text{C}_6\text{H}_5\text{-CH}_2\text{-CH/NaOEt.}$	DFA (Reflujo).	
	$\text{C}_6\text{H}_5\text{-CH}_2\text{-CH/NaH.}$	DMSO (Reflujo).	3.- En los casos de reacciones en agua se obtienen: No determinadas.
	"	Metanol	
	$\text{CH}_3\text{-CH/KOH.}$	Agua	
	"	Metanol (Reflujo)	
	XCN/KOH	Metanol	No determinadas.
"	Agua		
$\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-NO}_2/\text{NaH.}$	Metanol		

Tabla No. 3.

REACCIONES DE HIDROLISIS DEL BOSCHNALOSIDO			
BOSCHNALOSIDO	REACTIVOS	DISOLVENTE	RESULTADOS
 <p style="text-align: center;">D-β-D-Glu(OH)₄</p> <p style="text-align: center;">1</p> <p style="text-align: center;">C=O</p>	a).-Base. xOH. K ₂ CO ₃ .	Metanol.	1.- En los casos de reacciones en metanol, se obtienen: Yb + Vlb.
	xOH. K ₂ CO ₃ .	Agua.	
	b).-Acido. HCl pH = 3. -	Metanol. Agua.	

2.7.4.- HIDROLISIS BASICA EN MEDIO ACUOSO.

Se disolvió el compuesto Ia (100 mg), en agua (3 ml), y se trató de manera similar a la ya descrita (ver hidrólisis básica de Ia, en metanol). El producto aislado, que es un aceite color amarillo, presenta en I.R. (película) ν máx. = 3399-3223, 2756, 1707, 1575, 1371 cm^{-1} .

En R.M.N. ¹H (CDCl₃ + DMSO) δ = 1.00 (d, J = 6Hz.) 3H; 8.35 (s) 2H; 9.30 --- (d, J = 4Hz.) 1H. Con estructura no determinada.

2.8.0.- HIDROLISIS DEL PRODUCTO DE REDUCCION.

Se disolvió el compuesto IIa (100 mg), en metanol (5 ml), y se sometió a hidrólisis en un medio básico de la manera ya mencionada, el producto reducido se recuperó sin modificación, se acetiló de la manera

usual y se obtuvo un sólido color blanco con p.f. = 119-121 °C, que en su espectro de I.R. (CHCl_3) ν máx. = 1755, 1670, 1370 cm^{-1} .

Muestra en R.M.N.¹H (CDCl_3) δ = 1.00 (d, J = 6Hz.) 3H; 2.07-1.97 (5 s) 15H; 4.20 (m) 2H; 5.15 (m) 1H; 6.25 (s) 1H. Y en E.M. = 331 (20.8), 209.0 (0.3). Compuesto Ic.

2.9.0.- OBTENCION DEL NITRILO.

2.9.1.- METODO DE OBTENCION.³⁰

Una mezcla de acetato de sodio (150 mg), y anhídrido acético (5 ml), se colocó en un matraz de dos bocas, la mezcla se calentó en un baño de agua a reflujo. Sin interrumpir el calentamiento se adicionó gota a gota por un embudo de separación una solución del compuesto IIib - (100 mg), en ácido acético glacial (2 ml) y anhídrido acético (4 ml), a la mezcla que se encuentra en el primer matraz. Al finalizar la adición de la solución se continuó el calentamiento alrededor de una hora.

Después de este tiempo, el exceso de anhídrido y ácido acético se destiló bajo presión reducida. Al residuo se le añade agua (100 ml) y se agita ocasionalmente durante 1-2 h, se deja reposar toda la noche, el sólido formado se filtra, se lava con agua y se seca al vacío. El producto, un sólido color crema, tiene un p.f. = 185-187 °C. Muestra en I.R. (CHCl_3) ν máx. = 2213, 1756, 1636, 1369 cm^{-1} . En R.M.N.¹H (CDCl_3) δ = 1.00- (d, J = 6Hz.) 3H; 1.98-2.1 (4 s) 12H; 5.35 (d, J = 2Hz.) 1H; 6.92 (d, J = 2Hz) 1H. Y en E.M. = 331.0 (14.7), 162.0 (10.0). Compuesto VII.

2.9.2.- HIDROLISIS BASICA DEL NITRILO.

Se disolvió el compuesto VII (100 mg), en metanol (3 ml) y se siguió el procedimiento ya descrito anteriormente (ver hidrólisis básica de Ia). Se obtuvo un aceite color amarillo, el cual se purificó por cromatografía en capa delgada preparativa, obteniéndose un aceite color --

amarillo que muestra en I.R. (película) ν máx. = 3466-3243, 2206, 1632-
 cm^{-1} . En R.M.N.- ^1H ($\text{CDCl}_3 + \text{DMSO}$) δ = 1.00 (d, J= 6Hz.) 3H; 3.37 (d, J= 4
Hz.) 3H; 4.6 (d, J= 10Hz.) 1H; 5.45 (d, J= 2Hz.) 1H; 7.0 (d, J= 1Hz.) 1H.
2.9.3.- HIDROLISIS ACIDA DEL NITRILLO.

Se disolvió el compuesto VII (100 mg), en metanol (3 ml), y se -
siguió el procedimiento descrito para la hidrólisis en medio ácido del
compuesto Ia, obteniéndose un aceite color amarillo, que presenta en -
I.R. (película) ν máx. = 3461-3377, 2210, 1730, 1632 cm^{-1} .
En R.M.N.- ^1H ($\text{CDCl}_3 + \text{DMSO}$) δ = 1.00 (d, J= 2Hz.) 3H; 4.6 (s) 1H; 5.4 (s)
1H. Y en E.M. = 162.0 (37.0), 181.0 (10.0).

DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Dado el interés que actualmente tienen los productos naturales por sí mismos y por su posible conversión a compuestos útiles, los cuales pueden ser empleados en diferentes campos, se continúa ahora con el estudio de un miembro de una familia de plantas (Schrophulariaceae), que se haya distribuida ampliamente en toda la República Mexicana, particularmente en el género *Penstemon*.

La especie que nos ocupa *Penstemon rosseus* contiene una serie de compuestos de interés por sus potenciales aplicaciones.

Uno de los compuestos principales y más abundantes de dicha planta es un iridoide glicosídico denominado Boschnalósido, el cual es el objeto de nuestro estudio, desde un punto de vista de su comportamiento químico.

El estudio del comportamiento químico de cualquier producto natural, como es el caso el Boschnalósido, trae consigo un problema fundamental como lo es el de su aislamiento y purificación, con el fin de obtenerlo en una cantidad adecuada y suficiente para realizar su estudio químico.

El Boschnalósido es un producto natural aislado y caracterizado anteriormente como constituyente de *Leucocarpus perfoliatus* (Schrophulariaceae)³¹ de *Boschniaka rossica* (Orobanchaceae)^{32,33}, y aquí en nuestro país de *Penstemon rosseus* (Schrophulariaceae)³⁴.

En este trabajo se describen algunas modificaciones que se introdujeron en los métodos descritos para la separación del Boschnalósido, con el objeto de mejorar los rendimientos, así como el de disminuir costos tanto de materiales adsorbentes como de disolventes, disminuyendo además el tiempo de su obtención.

Se recolectó un lote de planta (*Penstemon rosseus*) en la carretera pano-

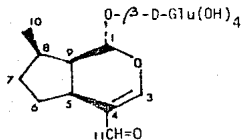
-rámica del Cerro del Ajusco D.F. México, la cual fué identificada por comparación con una muestra existente en el herbario MEXU (Instituto de Biología de la U.N.A.M.), (registro No. 345231).

Para la separación del Boschnalósido, se trabajó con las partes aéreas secas y molidas de la planta. Los métodos alternos mencionados (ver parte experimental) que se siguieron como lo son el uso de celita, y la espuma flexible de poliuretano como materiales adsorbentes en columnas -- cromatográficas no fueron satisfactorios para nuestros propósitos, no obstante esto no significa que tales métodos sean ineficaces, ya que se han utilizado con buenos resultados en otros trabajos ²⁹.

En la ruta básica de separación y purificación del Boschnalósido desarrollada, una de las etapas determinantes del proceso es la eliminación principalmente de una gran cantidad de carbohidratos, los cuales son poco útiles para nuestros objetivos. Esto se logró del extracto metanólico, efectuando una extracción prolongada del extracto metanólico, en un aparato soxhlet, seguida de separación de sus componentes en columna -- cromatográfica utilizando Sílica Gel (SiO_2). Esta separación es más rápida y más efectiva disminuyendo de esta manera costos y tiempos.

Se obtuvo por el método descrito una cantidad suficiente de producto puro que permitió llevar a cabo el estudio químico.

La estructura del compuesto en estudio está perfectamente establecida -- 31,34. Las características físicas y espectroscópicas del producto obtenido coinciden con los datos descritos en la literatura citada, por -- ello se puede asegurar que el producto aislado es el Boschnalósido (iridoide glicosídico), cuya estructura fué confirmada por rayos X^{27} y es -- la siguiente:



Boschnalósido (I a).

El derivado acetilado se obtuvo con la finalidad principal de facilitar el manejo del producto en reacciones posteriores, favoreciendo sobre to do la solubilidad en disolventes poco polares.

El derivado acetilado (Ib), es un producto sólido cristalino, en su espectro de I.R. ya no muestra la banda intensa y ancha de $3500-3200\text{ cm}^{-1}$ característica de los grupos hidroxilo, presenta además dos bandas uncorrespondiente al éster en 1747 cm^{-1} y otra al metilo adyacente al carbonilo en 1371 cm^{-1} .

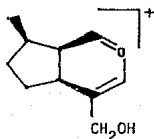
En R.M.N.¹H el producto acetilado presenta cuatro bandas adicionales entre 2.06-1.92 ppm 4(s) 12H, que se atribuyen a los protones de los metilos de los grupos funcionales acetato, desaparecen así mismo las señales de los protones de los carbonos unidos al oxígeno de la glucosa.

El espectro de masas (E.M.) del derivado acetilado, tiene un ión molecular de $m/z = 513 (M+1)^+$ (Ionización Química), confirmando con ello la estructura propuesta para Ib.

Se realizó igualmente la reducción del derivado acetilado (Ib), con NaBH_4 (MeOH). El producto obtenido que es un sólido color blanco, presenta en su espectro de I.R. una banda ancha en 3511 cm^{-1} adjudicable al grupo hidroxilo unido al carbono en posición 11, se observa la desaparición de las bandas debidas al grupo carbonílico (aldehído α,β insatura-

-do), en 2720 y 1670 cm^{-1} y la señal del sistema éter insaturado se des-
plaza a 1669 cm^{-1} .

En el espectro de R.M.N. ^1H , el producto reducido no presenta la señal -
característica del protón aldehídico y el protón vinílico se desplaza -
a campo alto 6.25 ppm. Aparece una señal doble en 3.95 ppm ($d, J = 10\text{Hz.}$)
2H; que se atribuye a los protones presentes en el carbono en posición-
11. Por medio del espectro de masas (E.M.), se confirmó la presencia --
del producto reducido, ya que presenta un pico en $m/z = 331$ que corres-
ponde a la fracción de la glucosa acetilada y otra fracción que corres-
ponde a $m/z = 167$ que se explica por un fragmento del tipo de:



$m/z = 167$

$\text{C}_{10}\text{H}_{15}\text{O}_2$

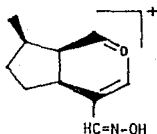
El sistema aldehídico de la molécula no es un sistema común, como puede
observarse en su espectro de I.R. ($-\text{O}-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}=\text{O}$, 2720, 1670 cm^{-1}).

La formación de los derivados como la oxima y la fenilhidrazona corres-
pondientes del Boschnalósido demuestran que puede sufrir este tipo de -
reacciones. Las estructuras propuestas para los derivados obtenidos es-
tan apoyadas por sus características espectroscópicas.

Así la oxima del Boschnalósido acetilado presenta en su espectro de I.R.
una banda ancha intensa en 3584 cm^{-1} atribuible al grupo hidroxilo de -
 $\text{R}=\text{N}-\text{OH}$, las bandas características del grupo carbonílico (aldehído α, β -
insaturado) no aparecen y la banda que nos indica la presencia del do--

ble enlace del sistema éter insaturado se desplaza a 1640 cm^{-1} .

El espectro de R.M.N.¹H de la oxima del Boschnalósido muestra la desaparición de las señales correspondientes al aldehído α,β insaturado, sin embargo aparecen en 7.50 ppm una señal adicional, debida al protón unido al carbono en posición 11, el protón vinflico se desplaza a campo alto a 6.45 ppm. El espectro de masas (E.M.) del derivado (oxima) proporcionó datos adicionales para establecer la estructura del compuesto, el cual presenta un pico en $m/z = 527$ que corresponde al peso molecular de la oxima del Boschnalósido, presenta además un pico en $m/z = 331$ correspondiente a la fracción de la glucosa acetilada y un pico con $m/z = 180$ que se debe a un fragmento del tipo siguiente:



$m/z = 180$

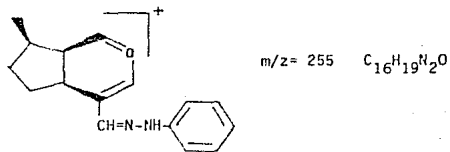
$C_{10}H_{14}O_2N$

Dando como resultado un derivado con la fórmula sugerida de IIIB.

La fenilhidrazona del Boschnalósido, es un sólido café claro, presenta en su espectro de I.R. la señal típica de los grupos éster de los acetos en 1755 cm^{-1} .

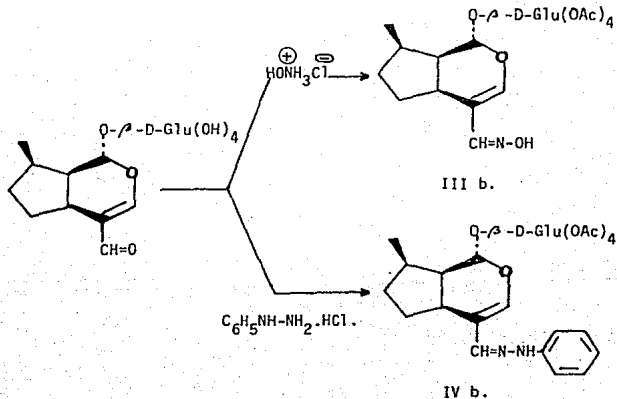
Las señales correspondientes al carbonilo del aldehído no aparecen, -- tiene una señal adicional en 1602 cm^{-1} debida al grupo R=N=N-R, de la fenilhidrazona. En el espectro de R.M.N.¹H se aprecia una señal múltiple de 7.25-7.50 ppm atribuible a los protones del anillo aromático. El protón vinflico se nota desplazado a campo alto en 6.40 ppm.

El espectro de masas, muestra un pico en $m/z = 602 (M+1)^+$ que corresponde al peso molecular del derivado, asimismo aparece un pico en $m/z = 225$ que se explica por una fracción como la siguiente:

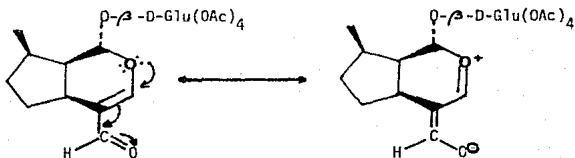


Confirmando así la estructura propuesta IVb.

Resumiendo tenemos:



La estructura del grupo aldehídico α,β insaturado presente en la molécula del Boschnalósido, nos sugirió la posibilidad de someter a la molécula a una de las reacciones de estos compuestos, como lo son las reacciones de ciclo adición (Diels-Alder), en las cuales los compuestos carbonílicos α,β insaturados actúan como dienófilos, pero que también pueden actuar como heterodiéneos³⁵. De esta manera se intentó hacer reaccionar al Boschnalósido con dienófilos comunes como la acroleína, acrilonitrilo, anhídrido maléico, etc. Desafortunadamente en ninguno de los casos ensayados (ver parte experimental) se obtuvo un resultado positivo. La dificultad para que este tipo de reacciones se lleve a cabo puede deberse a que la molécula está estabilizada por resonancia, de la manera como se muestra en la siguiente figura:



Otra de las reacciones de aldehídos y cetonas son las adiciones nucleofílicas con la formación de un doble enlace carbono-carbono.

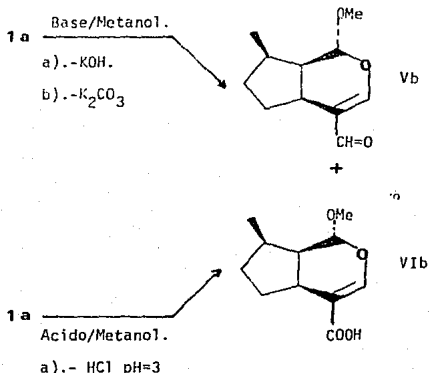
En un primer intento se trató de hacer reaccionar al Boschnalósido (Ia) con fenilacetnitrilo en medio básico (ver parte experimental).

De la reacción se obtuvo una mezcla de compuestos de difícil separación la cual, con base en un estudio de los datos de I.R. y R.M.N.¹H, podemos suponer que se trata de una mezcla de Vb + VIb.

Esta deducción se vio apoyada por los resultados que se describen posteriormente. De acuerdo con lo anterior, se trató de introducir una serie

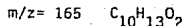
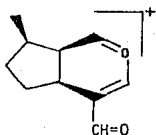
de modificaciones en las condiciones de reacción de adición en estudio, sin embargo en la mayoría de los casos se obtuvo la mezcla de productos similar a la ya descrita.

Por lo anterior se decidió someter a la molécula (1a) a hidrólisis tanto en medio básico como en medio ácido, con el fin de verificar lo antes expuesto. La siguiente figura nos muestra los resultados obtenidos:



De acuerdo a lo anterior, de la hidrólisis en medio básico se obtuvo un aceite color amarillo de R_f = 0.62 (estructura Vb), que en I.R., muestra las bandas características del grupo aldehído α, β no saturado en 2736 y 1670 cm⁻¹. A 1628 cm⁻¹ aparece la banda debida al doble enlace entre los carbonos C₃-C₄. En el espectro de R.M.N.-H, aparecen dos señales dobles en 1.02 (d, J= 2Hz.) 3H; y en 1.10 (d, J= 2Hz.) 3H; que indican la presencia de grupos metilo secundarios en posición 8, de una mezcla de dos isómeros en esa posición, se observa también una señal doble en 3.5 ppm (d, J= 8Hz.) 3H; debida a los protones del grupo metoxilo en la posi

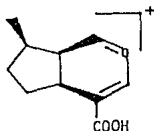
ción 1. En 4.78 y 5.05 ppm aparecen dos dobletes atribuidos a los protones hemiacetálicos en posición espacial diferente pertenecientes a los isómeros. En 7.13 (d, J= 2Hz.) 1H; se nota la señal perteneciente al protón vinílico. Finalmente en 9.22 (d, J= 4Hz.) 1H; aparece la señal perteneciente al protón carbonílico del aldehído. En el espectro de masas, -- existe un pico en m/z= 165 que se explica por una fracción como la siguiente:



Por lo que se propone la estructura (Vb) para este aceite.

En la hidrólisis en medio ácido se obtuvo igualmente un aceite color amarillo, que en su espectro de I.R., se aprecia la presencia de las señales características del grupo aldehídico α, β no saturado en 2736 y 1675- cm^{-1} . En 1630 cm^{-1} se nota también la señal debida al doble enlace en -- los carbonos C_3-C_4 , presenta además una señal en 1719 cm^{-1} que junto con la señal ancha en 3500 cm^{-1} indican la presencia de un grupo carboxílico (ácido), hecho que se evidencia apenas en el espectro de I.R. del producto obtenido en la hidrólisis básica. En R.M.N.¹H aparecen básicamente -- las mismas señales que para el producto de la hidrólisis en medio básico, con la aparición de una señal adicional en 7.13 ppm (d, J= 2Hz.) 1H; atribuida al protón del ácido carboxílico. El espectro de masas presenta un pico en m/z= 212 que se debe al peso molecular del compuesto carboxílico Vb, además tiene un pico en m/z=181 debido a una fracción como la si---

-guiente:

 $m/z = 181$ $C_{10}H_{13}O_3$

Además de los picos correspondientes al producto Vb.

Por lo que podemos decir que tanto los productos de la hidrólisis básica así como los productos de la hidrólisis ácida son los mismos, con la diferencia en que en la reacción de hidrólisis ácida, la oxidación del compuesto aldehídico se hace más evidente.

La pérdida de la glucosa del Boschnalósido, por el tratamiento en medio básico y en medio ácido y su consecuente conversión al aglucón correspondiente, favorecen la oxidación del grupo aldehídico de Vb, al ácido correspondiente obteniéndose como producto final en ambas reacciones el producto Vlb, hecho que se apoya por los datos espectroscópicos del producto final, el cual en su espectro de I.R. presenta una banda ancha de $3500-3200\text{cm}^{-1}$, que indican la presencia de un grupo hidroxilo, esta banda junto con la banda en 1740cm^{-1} indican la existencia de un ácido carboxílico, en 1640cm^{-1} se observa la banda atribuible a la doble ligadura entre C_3-C_4 . En R.M.N. ^1H presenta en 3.48 ppm (t) 3H ; una señal triple que corresponde a los protones del metoxilo en la posición 1, muestra también las señales de los protones hemiacetálicos en posición 1, de los dos isómeros. En $7.5\text{ ppm (d, J= 2Hz.)}$ 1H ; aparece la señal atribuible al protón del grupo carboxílico.

El ácido carboxílico final se metiló obteniéndose un producto (aceite color amarillo) el cual, en su espectro de I.R. ya no muestra la banda de

bida a los grupos hidroxilo y sí presenta la banda correspondiente al grupo carboxílico en 1700 cm^{-1} , igualmente presenta una banda en 1630 cm^{-1} , atribuida a la doble ligadura del sistema éter insaturado.

En el espectro de R.M.N.- ^1H aparecen básicamente las mismas señales que se describen para el producto sin metilar Vib. a excepción de una señal adicional en 3.70 ppm que se atribuye a los protones del metilo del éster metílico formado.

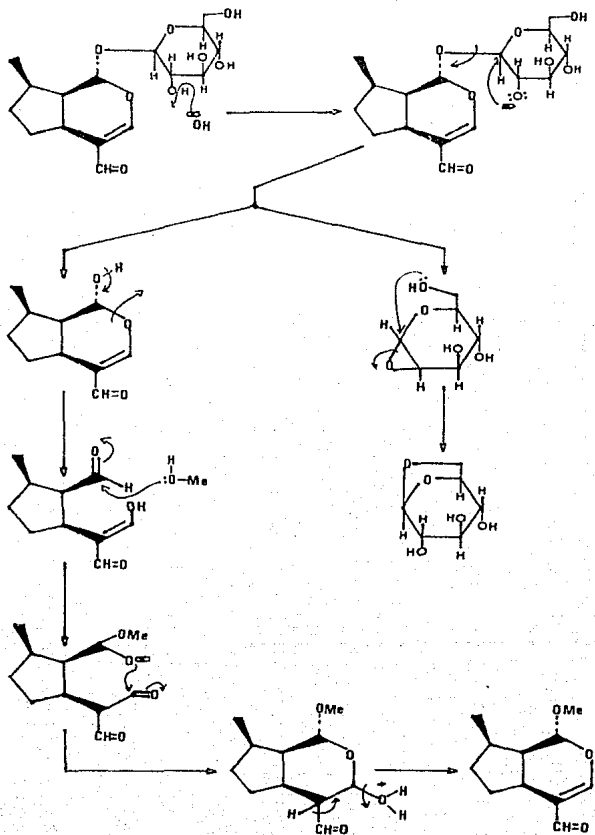
Para la reacción de hidrólisis en medio básico se propone un mecanismo de reacción, basado en un mecanismo de doble inversión descrito en la literatura ³⁵, dicho mecanismo se describe en la siguiente página.

Se decidió también someter al Boschmalósido a hidrólisis básica en medio acuoso, con el fin de determinar el papel del disolvente en la reacción. La estructura del producto obtenido no ha sido determinada aún, solamente está claro que en la hidrólisis en medio básico acuoso el anillo de ciclopentano no se ve afectado, mientras que el resto de la molécula sí se afecta como lo demuestran sus datos espectroscópicos.

El producto obtenido en su espectro de I.R. muestra una banda ancha en 3398 cm^{-1} , debida a la presencia de grupos hidroxilo, tiene también dos bandas en 2756 y 1670 cm^{-1} que indican la presencia de un grupo aldehídico, no saturado, las bandas en 1707 y 3398 cm^{-1} muestran la existencia de un grupo carboxílico en la molécula.

En R.M.N.- ^1H se nota claramente que el anillo de ciclopentano no se modifica por la reacción en medio acuoso, ya que las señales permanecen sin alteración apreciable, aparece una señal en 9.3 ppm debida al protón aldehídico. Finalmente en 8.33 ppm una señal simple, por los datos anteriores nos es difícil proponer una estructura.

MACANISMO DE DOBLE INVERSION PROPUESTO PARA LA HIDROLISIS EN MEDIO BASICO DEL BOSCHNALSIDO.



De acuerdo con los resultados obtenidos en las reacciones de adición nucleofílica así como en las reacciones de hidrólisis en medio básico se sugirió que el grupo aldehídico en la molécula del Boschnalósido tiene un papel determinante para que las reacciones mencionadas se llevaran a cabo de la manera descrita.

Para confirmar tal suposición, se prepararon dos productos derivados -- del Boschnalósido, donde se modifica específicamente el grupo aldehídico, sometiendo dichos derivados a las reacciones de hidrólisis en las mismas condiciones en que se efectuaron las reacciones de hidrólisis -- del Boschnalósido.

Uno de los derivados sometidos a hidrólisis básica fué el producto reducido (IIa), el cual después de la reacción de hidrólisis no sufrió modificación, comprobando este hecho por medio de cromatografía en capa delgada, así como por sus características espectroscópicas.

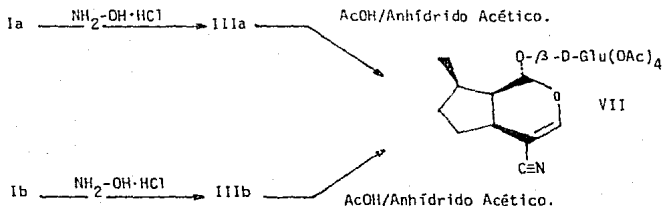
Para verificar la presencia del producto reducido después de la reacción se llevó a cabo la acetilación del producto de reacción de hidrólisis, obteniéndose el penta-acetato, confirmando con ello que el producto reducido no sufrió ninguna modificación.

El otro derivado del Boschnalósido que se preparó, fué el derivado con el grupo nitrilo en posición 4.

Este derivado se obtuvo a partir del Boschnalósido no acetilado (Ia), y del Boschnalósido acetilado (Ib).

Como se muestra en la figura de la siguiente página.

OBTENCION DEL NITRILO

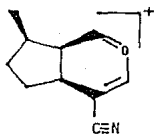


Como se observa en ambos casos se obtuvo el mismo producto (VII). La estructura VII se confirmó por espectroscopía, el producto en su espectro de I.R. no muestra la banda ancha en 3500 cm^{-1} debida a los grupos hidroxilo. Presenta una banda en 2213 cm^{-1} atribuible al grupo nitrilo ($R-C\equiv N$), en 1756 cm^{-1} aparece una señal intensa del grupo éster perteneciente a los grupos acetato y en 1636 cm^{-1} se observa la señal perteneciente a la doble ligadura del sistema éter insaturado. Finalmente en 1369 cm^{-1} se observa la señal perteneciente al metilo del carbono carbonílico de los grupos acetato.

El espectro de R.M.N.-H, muestra una señal en 1.00 ppm ($d, J= 6\text{ Hz}$), $3H$, debida al metilo secundario en posición 8, se observan las señales características de los protones pertenecientes a los grupos acetato en 1.98-2.14 ppm. En 6.92 ppm aparece la señal del protón vinylico desplazado a campo alto. El espectro de masas (E.M.) del producto obtenido aportó más datos para establecer la estructura del compuesto.

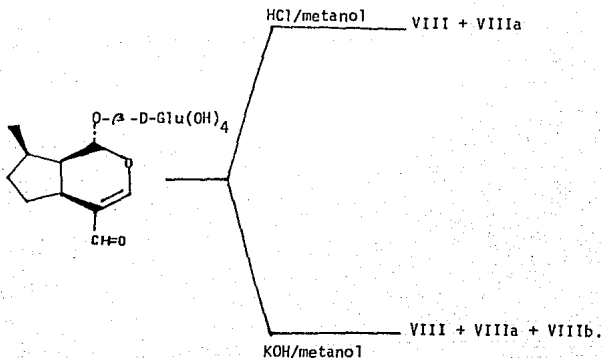
Este presenta un pico en $m/z = 331$ que corresponde a la fracción de la glucosa acetilada.

La fracción que corresponde a $m/z = 162$, se explica con un fragmento del siguiente tipo:

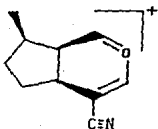


$m/z = 162.$ $C_{10}H_{18}ON.$

De acuerdo con las evidencias anteriores se estableció la estructura -- VII, para ambos casos. El producto obtenido (VII), fué sometido a una reacción de hidrólisis tanto en medio básico, como en medio ácido, en las condiciones ya mencionadas, obteniéndose una mezcla de productos de difícil separación, como se muestra en la siguiente figura.



Las estructuras de los productos de ambas reacciones de hidrólisis se sugirieron de acuerdo con los datos espectroscópicos correspondientes. Por ejemplo, para la reacción de hidrólisis en medio básico de VII, el espectro de I.R. del producto obtenido muestra una banda ancha en 3466-3243 cm^{-1} , debida a los grupos hidroxilo, tiene una banda en 2206 cm^{-1} , atribuida a el grupo nitrilo en posición 4, presenta además una banda-- en 1632 cm^{-1} que pertenece al doble enlace entre los carbonos C_3 - C_4 . Desaparecen las bandas debidas a los grupos acetato en 1756 y 1369 cm^{-1} , del compuesto original. El espectro de R.M.N.¹H, muestra la desaparición de las señales caracterfsticas de los protones de los grupos acetato y la aparición de una señal doble en 4.6 ppm debida al protón anomérico del carbohidrato. Aparece igualmente un doblete en 3.30 ppm atribuido a un grupo metoxilo (-OMe) en la posición 1. De la misma manera el espectro de masas, muestra un pico en $m/z = 162$ - que corresponde a la fracción:



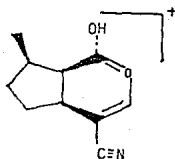
$m/z = 162$

$\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{ON}^+$

Y un pico en $m/z = 193$ $\text{C}_{11}\text{H}_{15}\text{O}_2\text{N}$, que corresponde a la fracción del producto metoxilado en posición 1.

Un proceso similar sucede con el producto de la hidrólisis ácida, como se pudo comprobar con los datos espectroscópicos del producto de reacción, con la diferencia que en el espectro de masas además de los picos mencionados para el producto de hidrólisis básica, se observa un pico -

adicional en $m/z = 179$ que se explica por una fracción como la siguiente.



$m/z = 179$

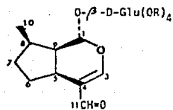
$C_{10}H_{13}O_2N$

De acuerdo con lo anterior se pudieron sugerir las estructuras VIII, -- VIIIa, y VIIIb, para los productos de hidrólisis.

Por lo anterior se puede establecer que en la molécula del Boschnalósido la presencia de dobles o triples ligaduras, favorece la hidrólisis - en medio básico, lo cual permite obtener el aglucon del Boschnalósido.

Como se ha establecido recientemente, tales aglucones son los responsables de las actividades biológicas de los compuestos iridoidales.

Se continúa con los estudios de este compuesto, con el fin de probar -- sus posibles acciones como antimicrobianos, antitumoral u otros.

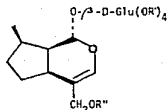


I.a).- Boschnalósido

R = H.

I.b).- Boschnalósido Acetilado.

R = Ac.



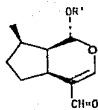
II.a).- Boschnalósido Reducido.

R' = H, R'' = H.

II.b).- Boschnalósido Acet.Red.

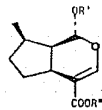
R' = Ac, R'' = H.

II.c).- R' = Ac, R'' = Ac.



V.a).- R = H.

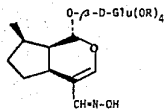
b).- R = Me.



VI.a).- R = H, R' = H.

b).- R = Me, R' = H.

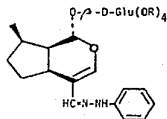
c).- R = Me, R' = Me.



III.a).- Oxima del Boschnalósido.

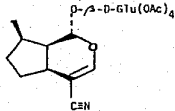
R = H.

b).- R = Ac.

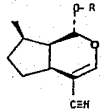


IV.a).- Fenilhidrazona del
Boschnalósido.

R = H.



VII.



VIII.

R = -D-Glu.

VIIIa.

R = -OMe.

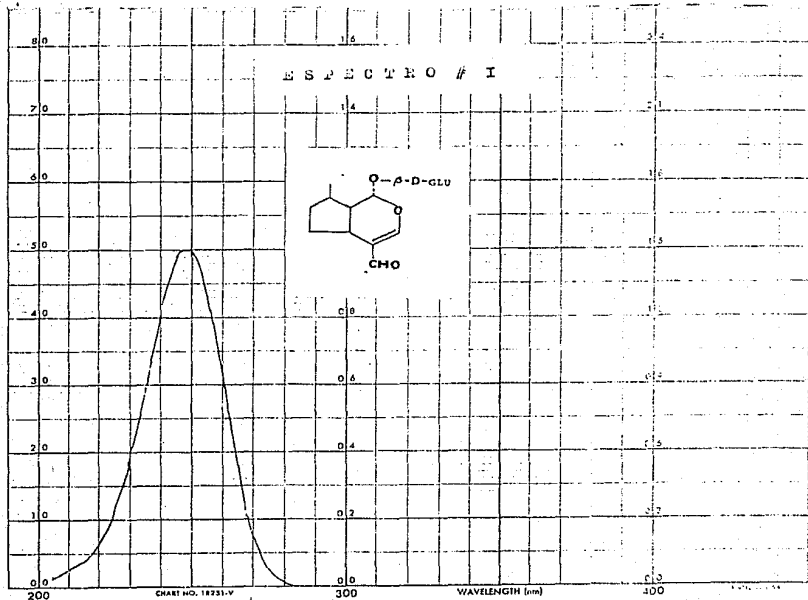
VIIIb.

R = -OH.

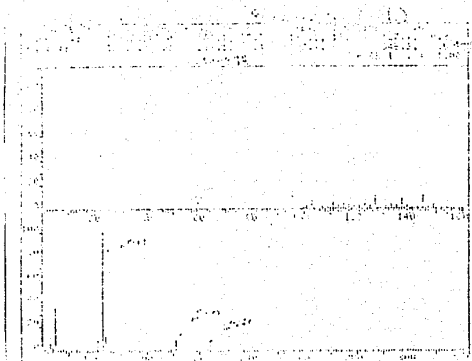
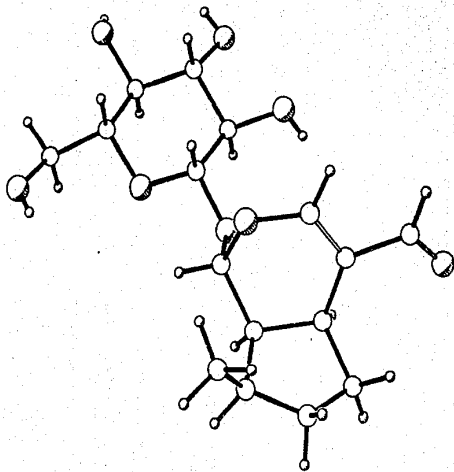
CONCLUSIONES

- 1.- Se desarrolló un método de separación y purificación del Boschnalósido, rápido y sencillo.
- 2.- Se aisló de la planta *Penstemon rosseus* el Boschnalósido (Iridoideglicosídico), en una cantidad suficiente para llevar a cabo su estudio químico.
- 3.- El estudio químico del Boschnalósido, enfocado principalmente al -- grupo funcional carbonílico, permitió establecer que este grupo aldehídico, tiene un papel director en la reacción de hidrólisis básica.
- 4.- Se obtuvieron 7 derivados del Boschnalósido, especialmente un nuevo glicósido con el grupo nitrilo en posición 4.
Se obtuvo además el aglucón del Boschnalósido, que de acuerdo con los datos descritos en la primera sección del presente trabajo, puede tener un importante uso biológico potencial, resta por ello comprobar la actividad biológica, lo cual ya se está realizando.

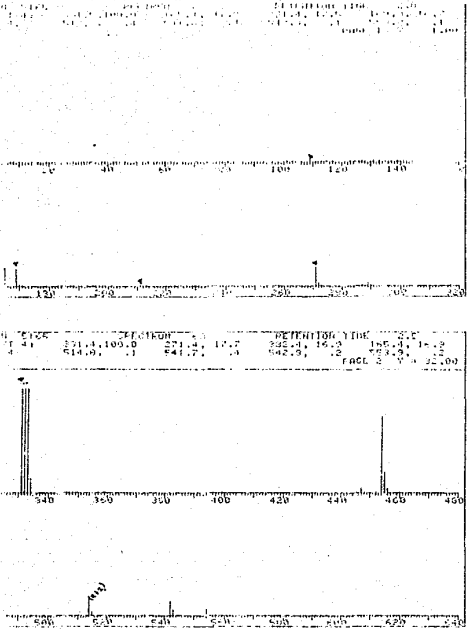
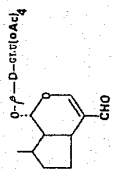
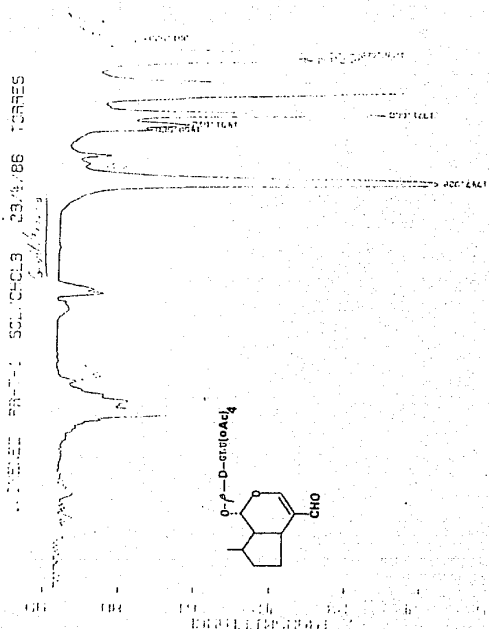
ESPECTROS



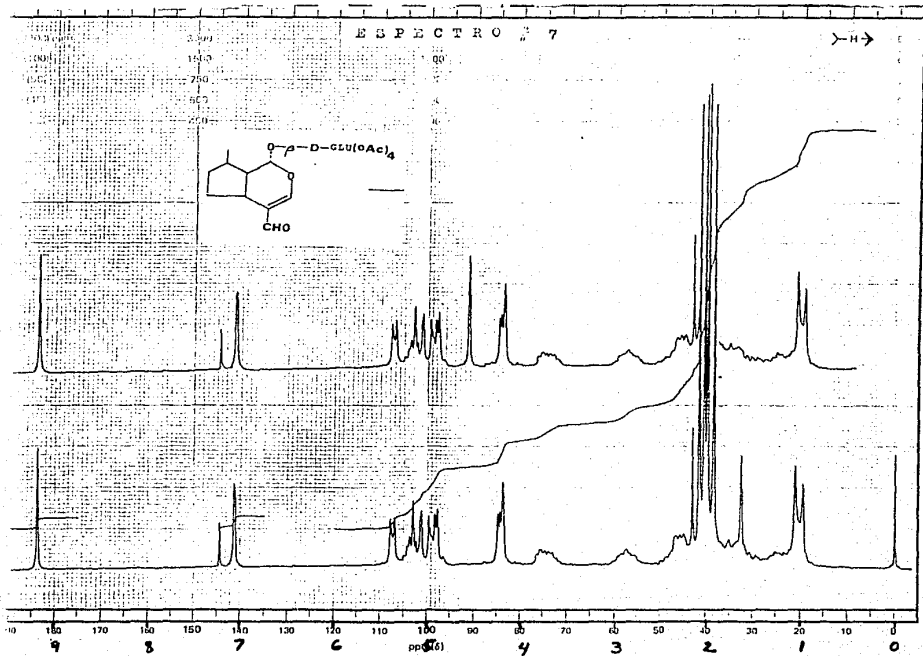
E S P E C T R O # 4

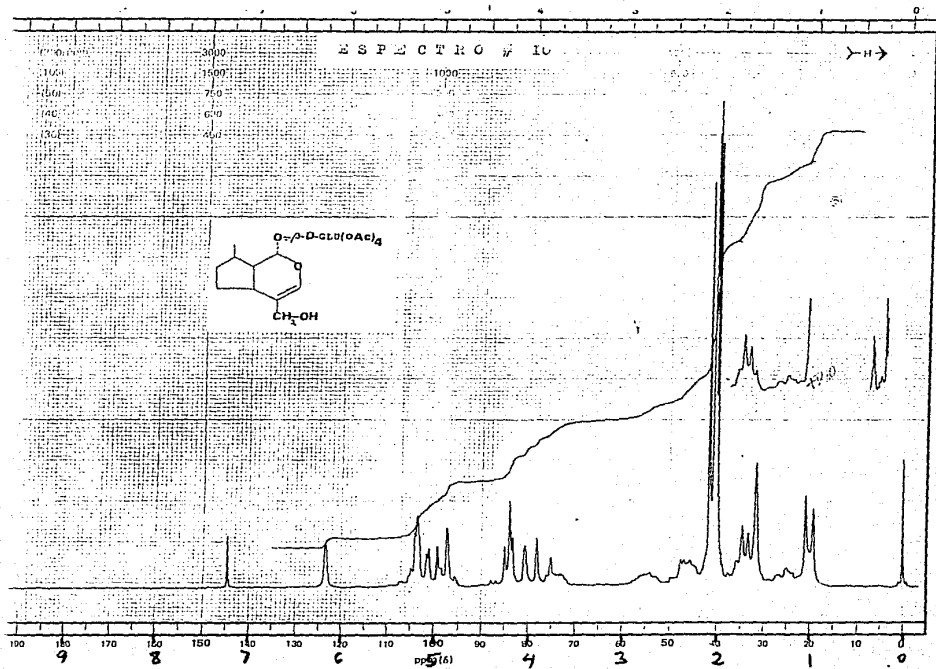


0211 091 0481 0032 0352 0252 0125 0152 0221



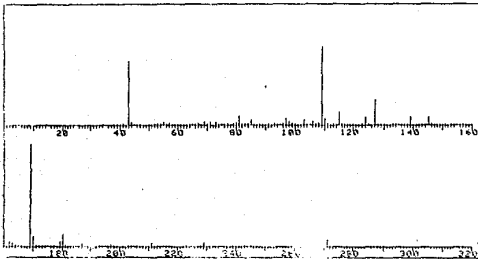
ESPECTRUM # 5 y # 6



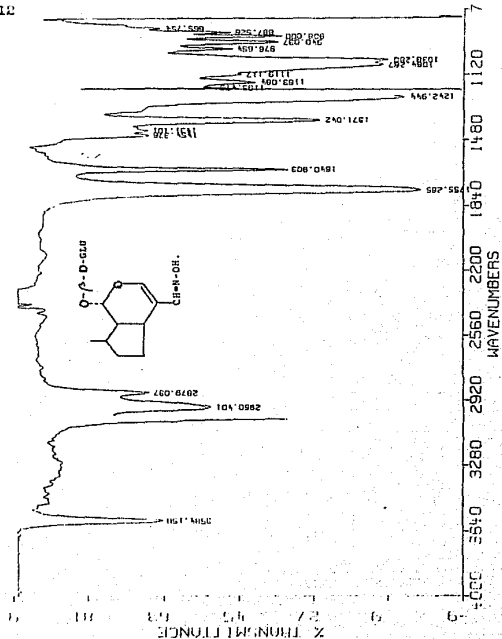
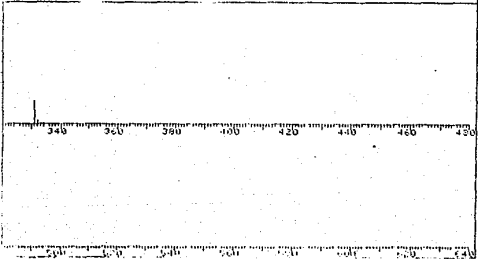


ESPECTROS # II J # 12

PH 6136 SPECTRUM 4J RETENTION TIME 2.9
 DET 4: 169.1, 100.0 103.1, 76.3 43.1, 62.1 127.2, 25.0
 T 4: 446.2, .0 462.6, .0 527.3, .2 528.3, .0
 PAGE 1 Y = 1.00

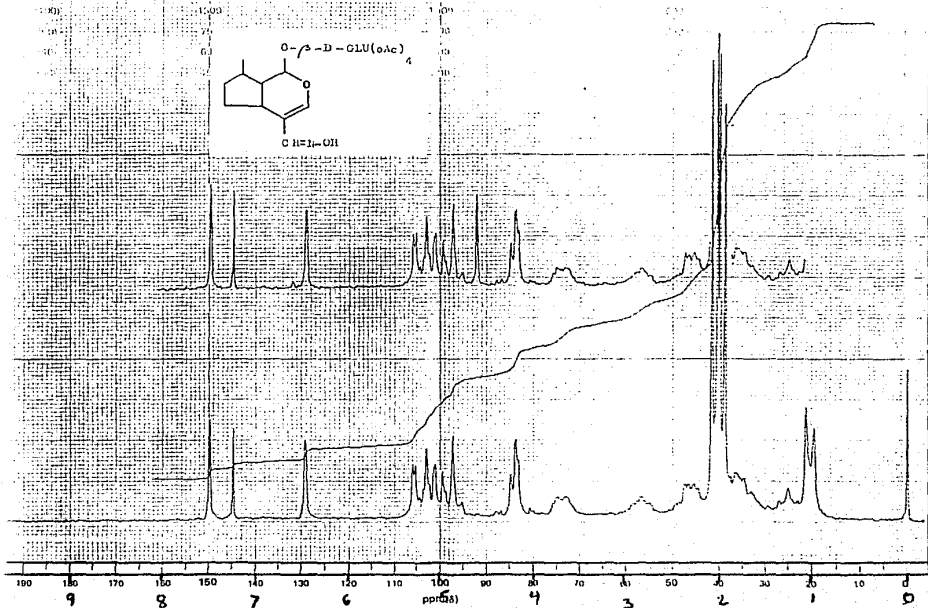
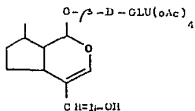


PH 6136 SPECTRUM 4J RETENTION TIME 2.9
 DET 4: 169.1, 100.0 103.1, 76.3 43.1, 62.1 127.2, 25.0
 T 4: 446.2, .0 462.6, .0 527.3, .2 528.3, .0
 PAGE 2 Y = 1.00

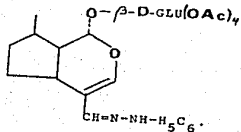


S P E C T R O # 13

→



ESPECIALLY I4



150

300

450

600

750

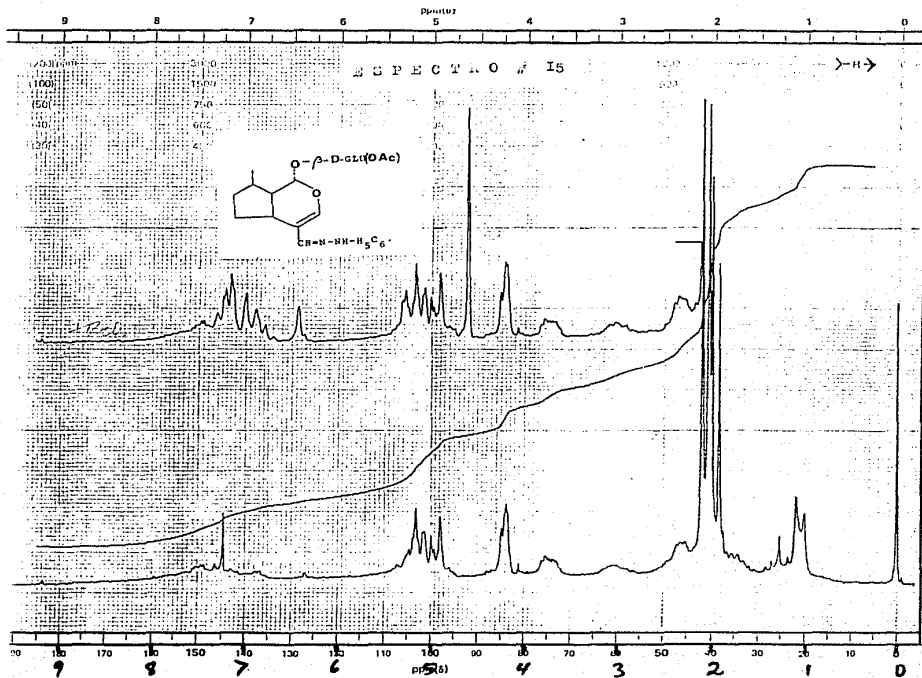
900

1050

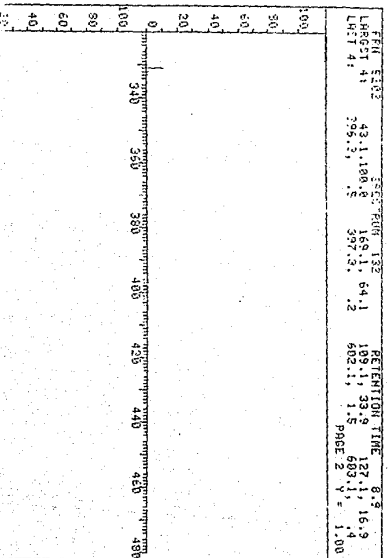
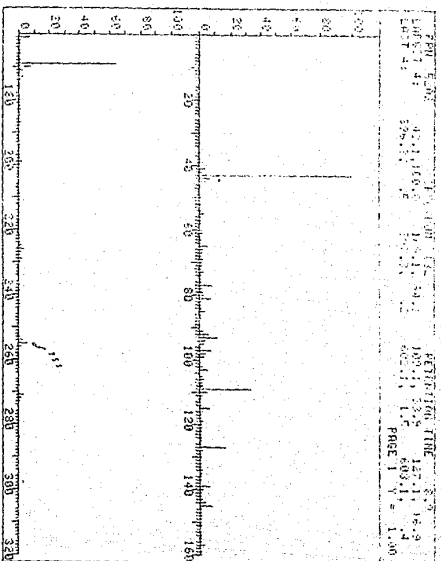
1200

1350

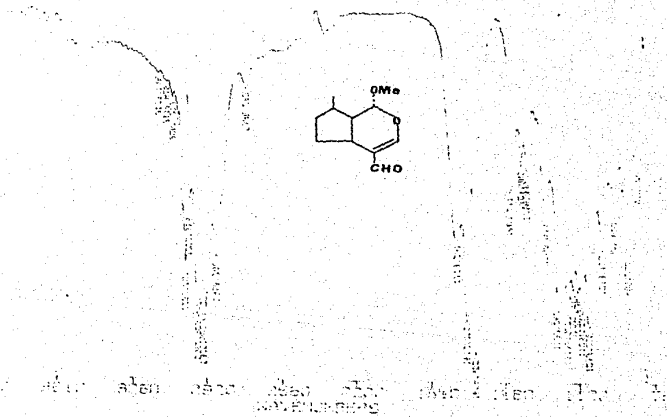
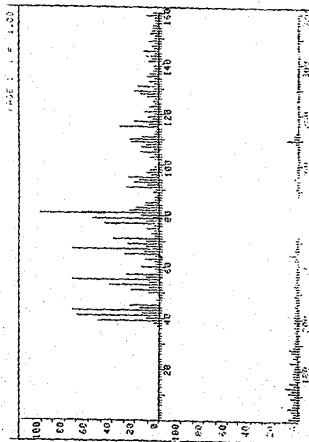
1500

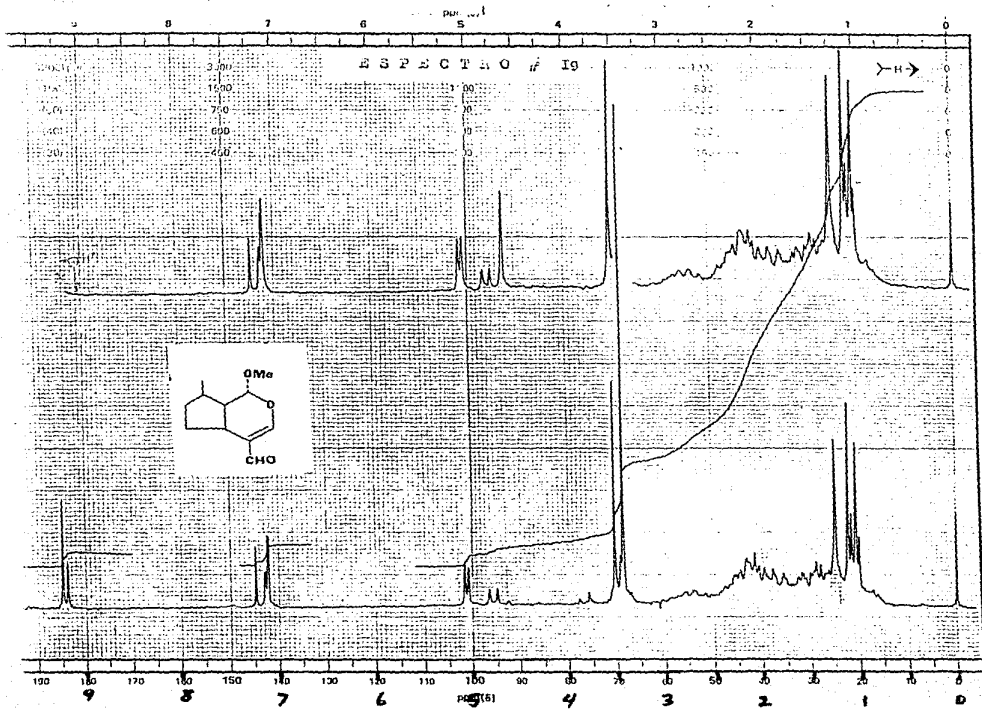


16
 7
 8
 9
 10
 11
 12
 13
 14
 15
 16

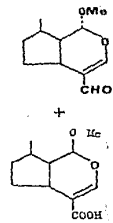
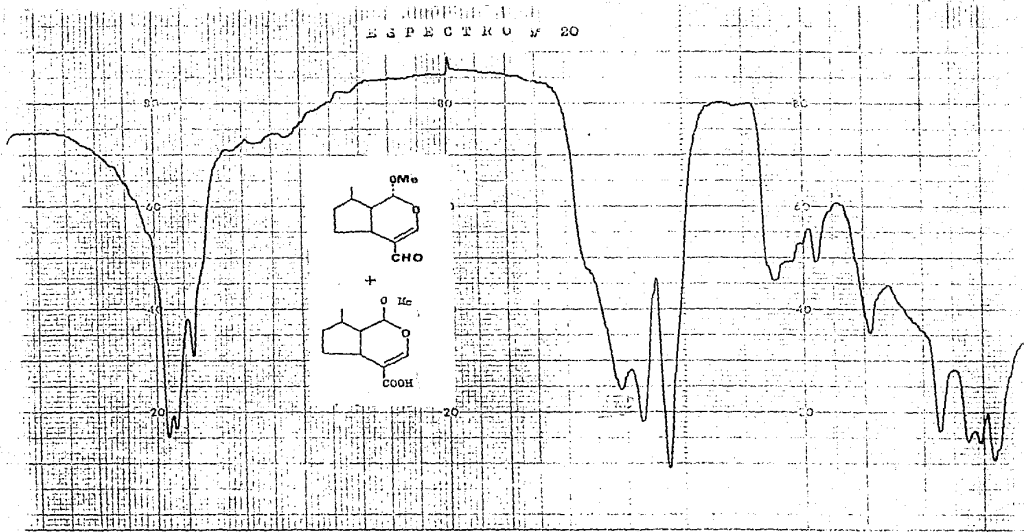


ESPECTROS # 17 y # 18

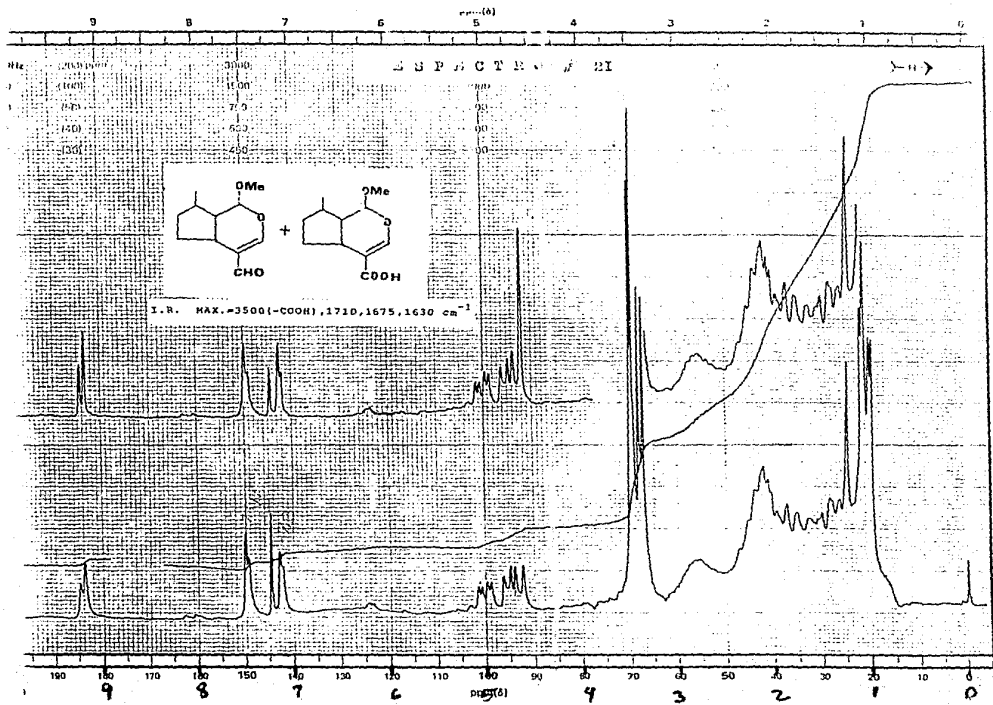




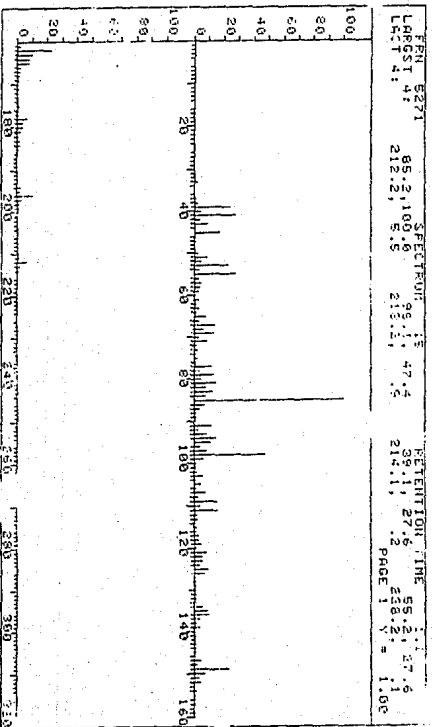
SPECTRUM 20



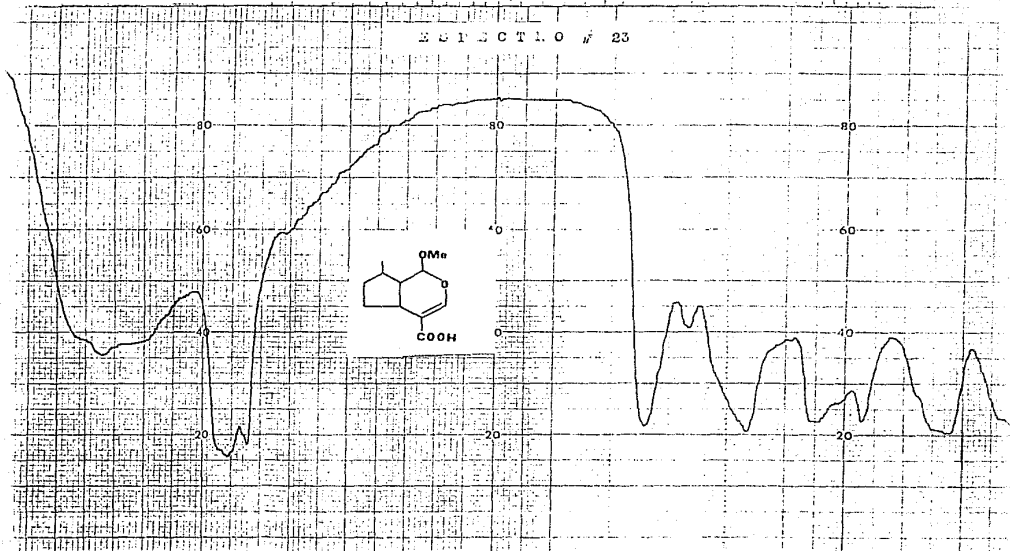
WAVENUMBER (CM ⁻¹)	3000	2500	2000	1800	1600	1400	WAVENUMBER (CM ⁻¹)
REMARKS	Valt 105 			SOLVENT <u>CHCl₃</u> CONCENTRATION <u>Sol.</u> CELL PATH <u>NaCl</u> REFERENCE <u>CHCl₃</u>	ABBEISSA EXP. SCAN HIGH SP. F. LOW SP. F.	1 1 1 1	RUN TIME <u>10 min</u> ELECTRONIC <u>1</u> SENT PROGRAM <u>N</u>



E S P E C T R O # 22



EXPERCTIO # 23



AVENUMBER(CM⁻¹) 3000 2500 2000 1800 1600 1400 WAVENUMBER(CM⁻¹)

3000
3000-1700/1600
D.C.

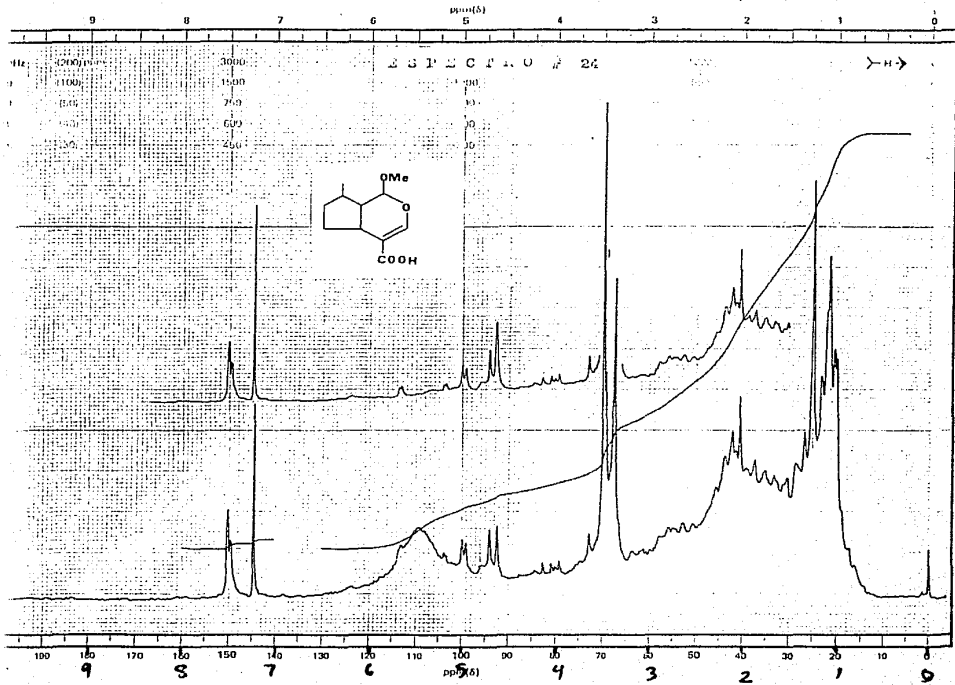
REMARKS

SOLVENT
CONCENTRATION
CELL PATH
REFERENCE

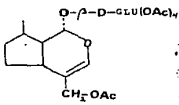
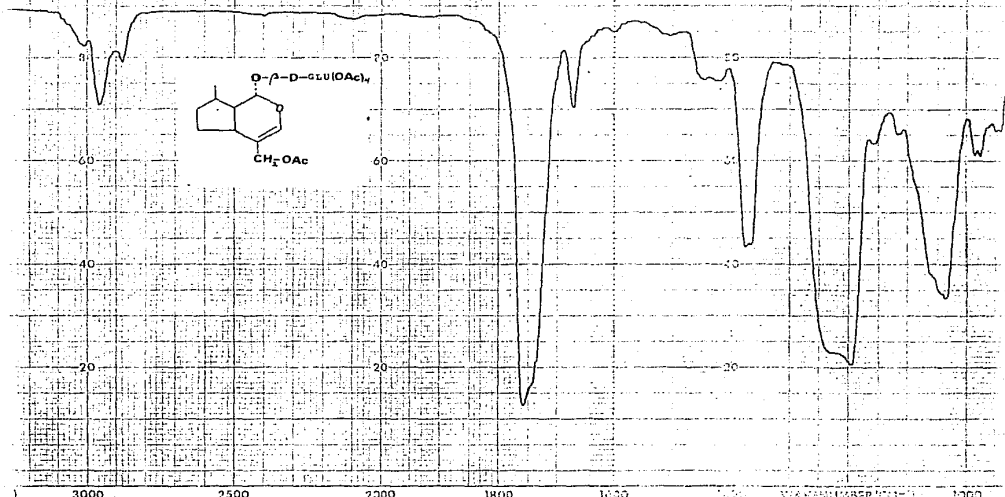
REP. SCAN
HIGH LEVEL
LOW LEVEL

ABSCISSA
EXPANSION
SUPPRESSION
TIME DRIVE

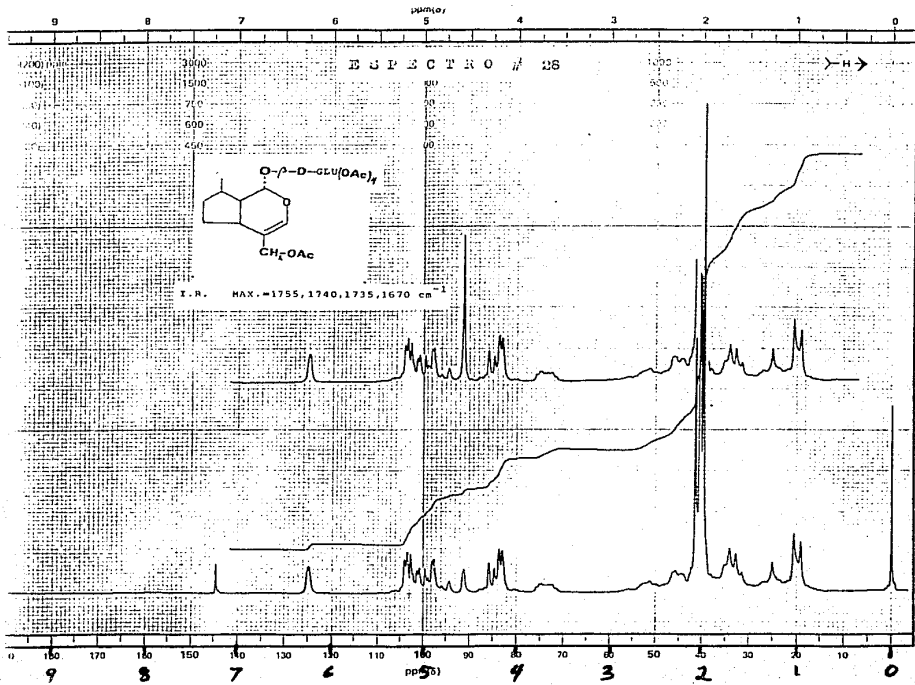
SCAN TIME
RESPONSE
SLIT PROGRAM



SPECTRO # 27

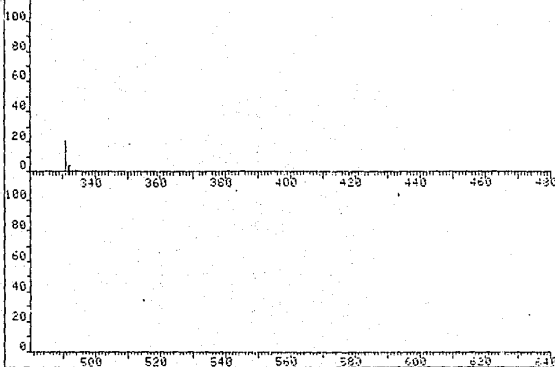


REMARKS 967 P. ...	SOLVENT CONCENTRATION CELL PATH REFERENCE	REP. SCAN HIGH ENER. LOW ENER.	SCISSA	SCAN # 15 RESPONSE SUN PROGRAM	FRAM. SINGL PRE 44
--------------------------	--	--------------------------------------	----------------------	--------------------------------------	--------------------------



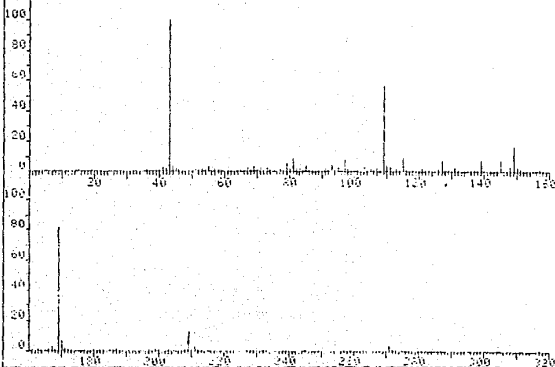
FRN	5464	SPECTRUM	88	RETENTION TIME	4.7
LARGST 4:	43.1, 100.0	169.1, 81.4	195.1, 57.6	331.3, 20.8	
LAST 4:	331.3, 20.8	332.2, 4.1	333.3, .7	334.2, .1	

PAGE 2 Y = 1.00

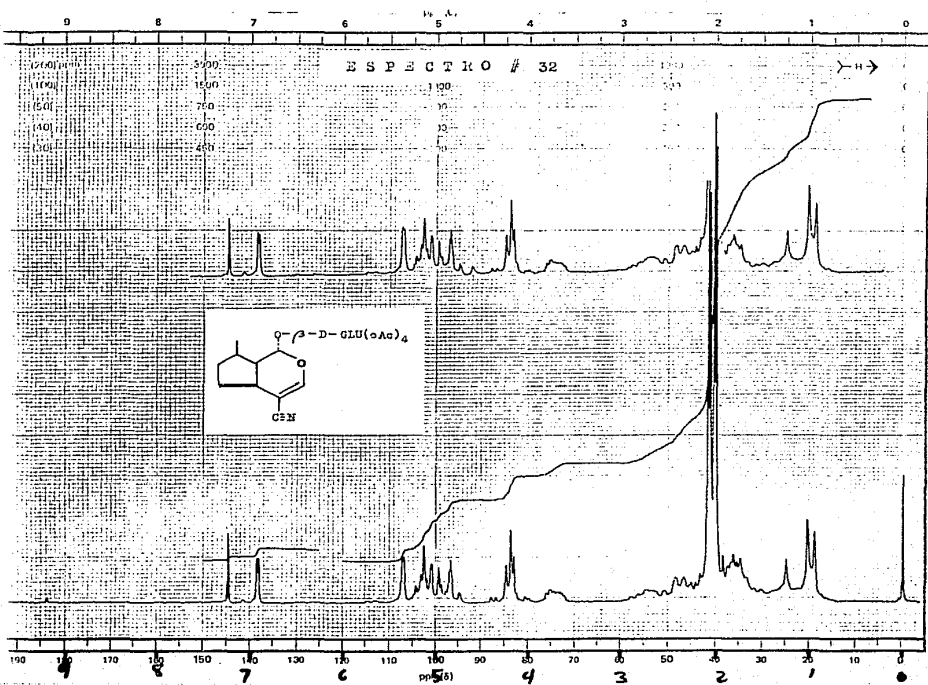


FRN	5464	SPECTRUM	88	RETENTION TIME	4.7
LARGST 4:	43.1, 100.0	169.1, 81.4	195.1, 57.6	331.3, 20.8	
LAST 4:	331.3, 20.8	332.2, 4.1	333.3, .7	334.2, .1	

PAGE 1 Y = 1.00

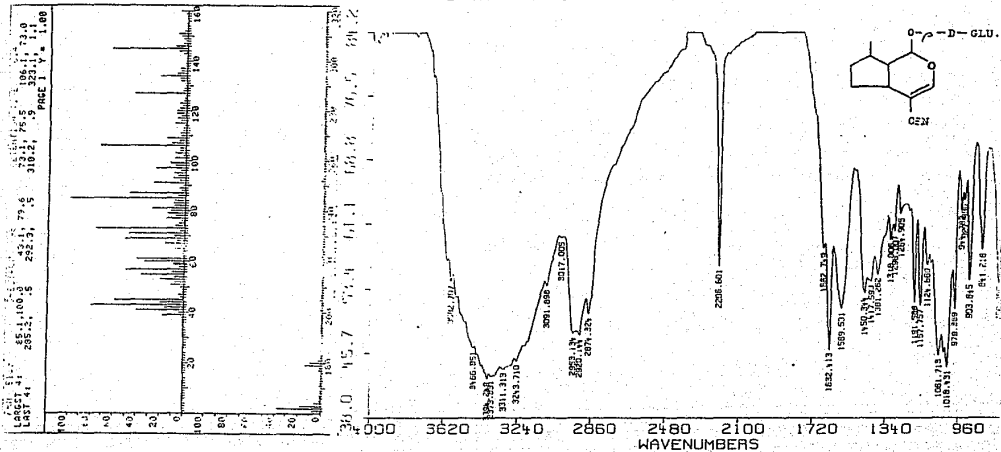


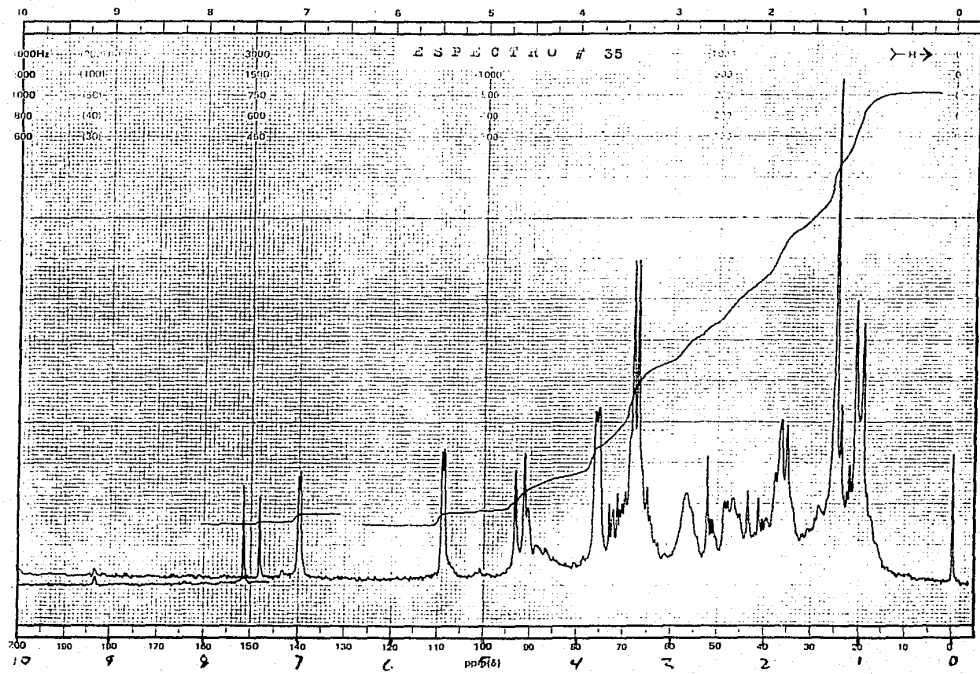
M. J. P. B. C. I. O. N. 20



ELECTRO # 33 Y # 34

DR. M. JIMENEZ GMF-BOSCH-CN-HB PELLICULA 8/02/88





BIBLIOGRAFIA

- 1.- Sticher, O, "Plant Mono-Di and Sesquiterpenoids with Pharmacological or Therapeutical Activity" in H. Wagner, P. Wolff (eds), "New Natural Products and Plant Drugs with Pharmacological Biological or Therapeutical Activity" Springer-Verlag, Berlin, 1977, pp. 137-176.
- 2.- Waller, G. R, "Metabolism of Plant Terpenoids in: Progress in Chemistry of Fats and other Lipids. Holman, R.T. (eds). Pergamon Press, -- 1970, Vol. X, pp. 151-238.
- 3.- Briggs, L.H., Cain, E.F., Le Quesne, P.W., Shoolery, J.W. Tetrahedron Letters, 69 74, 1963.
- 4.- Cavill, G.W.K, Ford, D.L., Locsley, H.L. J.Chem. 9, 288-293, 1956.
- 5.- Sticher, O., Juned Busch, V. Pharma Acta Helvetica, Vol. 50, 127-144, 1975.
- 6.- Plouvier, V., Faure-Bonvin, J. Phytochemistry, 10, 1697-1722, 1971.
- 7.- Regnier, F.E., Waller G.R., Eisenbraun, E.J., Auda, H. Phytochemistry Vol. 7, 221-230, 1968.
- 8.- Hegnauer, R. Pharma Acta Helvetica, Vol. 41, 577-587, 1966.
- 9.- Cameron, D.W., Feutrili, G.I., Perlmutter, P., Sasse, J.M. Phytochemistry, Vol. 23, No. 3, 533-535., 1984.
- 10.-Adam. G., Khoi, N.H., Bergener, Chr., Lien, N.T. Phytochemistry. Vol. 18, 1399-1400. 1979.
- 11.-Inouye, H., Takeda, Y., Uobe, K., Yamauchi, K., Yabouchi, H., Kuwano S. Planta Médica, Vol. 25. 285-288 1974.
- 12.-Yamauchi, K., Sakuragi, R., Kuwano, S., Inouye. H. Planta Médica Vol. 25, 219- 225, 1974.
- 13.-Inouye, H., Ueda, S., Uesatu, S., Shingu, T., Thies, P.W. Tetrahedron 30, 2317-2325. 1974.

- 14.- Ishiguro, K., Yamaki, M., Takagi, S. Journal of Natural Products, -
Vol. 46, No. 4, 532-536, 1983.
- 15.- Sticher, O., Pharma Acta Helvetica, 44, 453, 1969.
- 16.- Rombouts, J.E., Links, J. Experientia. 15, 78-80, 1956.
- 17.- Kupchan, S.M., Dessertine, A.L., Blaylock, B.T., Bryan, R.F. Jour-
nal Organic Chemistry. Vol. 39, No.7, 2477-2482, 1974.
- 18.- Isiguro, K., Yamaki, M., Takagi, S., Ikeda, Y., Kawakami, K., Ito,
K., Rose, T. Chem. Pharm. Bull. 34(6), 2375-2379, 1986.
- 19.- Miyagoshi, M., Amagaya, S., Ogiwara, Y. Planta Médica. 462-464,
1987.
- 20.- Bianco, A., Guiso, M., Iavarone, C., Passacantilli, P. and Trogolo.
Tetrahedron Vol. 40, No.7, 1191-1193, 1984.
- 21.- Bianco, A., Passacantilli, P. Gazzetta Chimica Italiana, 13, 108 -
1980.
- 22.- Bonini, C., Di Fabio, R. Journal Organic Chemistry. 47, 1345-1347,-
1982.
- 23.- Bonadies, F., Gubbiotti, A, and Bonini, C. Gazzetta Chimica Italia-
na, 115, 45-48, 1985.
- 24.- Berkowitz, W.F., Choudhry, S.C., and Arabie, J.A. Journal Organic-
Chemistry, 47, 824-829, 1982.
- 25.- Berkowitz, W.F., Choudhry, S.C. Tetrahedron Letters. 22, 1075-1076
1981.
- 26.- Murai, F., and Tagawa, M. Chem. Pharm. Bull. 28(6) 1730-1735, 1980.
- 27.- Lira, R.A., Jiménez, E.M., Moreno, C. Informe del Servicio Social -
Universidad Autónoma Metropolitana, Xochimilco, 1983.
- 28.- Sticher, O., Juned Busch, V. Pharma Acta Helvetica. 50, 127-144, 1975.

- 29.- Padilla, O., Ma.E., "Empleo de la Espuma de Poliuretano en la separación de los Componentes Químicos de la Planta Castilleja Teniflora". Benth. (Tesis). Universidad Veracruzana, 1986.
- 30.- Clarke, H.T. and Nagy, S.M., *Organic Synthesis*, John Willey (eds). Collective Vol. 3, 690-692, 1955.
- 31.- Ozaki, Y., Johne, S. and Hesse, M. *Helvetica Chimica Acta*, 62, 27-08, 1979.
- 32.- Murai, F. and Tagawa, M. *Planta Médica* 46, 45-47, 1982.
- 33.- Konishi, T. and Shoji, J. *Chemical Pharmaceutical Bulletin*, 29, -2807, 1981.
- 34.- Lira, R.A., Días, R., Jiménez, E.M., *Journal Natural Products*, Vol. 50, No. 2 331-332, 1986.
- 35.- Ballou, C. E., *Advances in Carbohydrate Chemistry*, Alkali-Sensitive Glycosides. Vol. 9, 59, 1954.
- 36.- Barton, D., David Ellis, W. *Comprehensive Organic Chemistry. The Synthesis and Reactions of Organic Compounds*. Vol. 1, 993-994.
- 37.- Silverstein, R., Bassler, C., Morrill, T. *Identificación Espectrométrica de Compuestos Orgánicos*. 1a. Edición. 1980.
- 38.- Furniss, B.S., Hannaford, A.J., Rogers, V., Smith, W.G., Tatchel, A. R. Vogel's *Textbook of Practical Organic Chemistry*, 4a. Ed. 1978.
- 39.- Fieser, F.L., Fieser, M. *Reagents for Organic Synthesis*. John Wiley and Sons. inc. 1961.
- 40.- March, J., *Advanced Organic Chemistry, Reactions, Mechanisms, and Structure*. Mc Graw-Hill. 1968.