

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO
FACULTAD DE QUIMICA

ESTRUCTURA DE LAS VERAFININAS B Y C,
DOS NUEVAS ELEMENOLIDAS AISLADAS DE
VERBESINA aff. coahuilensis (Gray)

176

T E S I S
Q U E P A R A O B T E N E R
E L T I T U L O D E
Q U I M I C O
P R E S E N T A
A L B A I R I A R T E V I V A R B A L D E R R A M A



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

CLAS. Tesis
ADQ. 1975
FECHA
PROC. M7-770



QUIMICA

ESTA TESIS SE LLEVO A CABO EN EL
INSTITUTO DE QUIMICA DE LA UNIVERSIDAD
NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO BAJO LA -
DIRECCION DEL DR. CARLOS GUERRERO RUIZ
Y DEL DR. ALFONSO ROMO DE VIVAR.

A mis padres

Expreso mi agradecimiento
al Dr. Carlos Guerrero R. y
al Dr. A. Romo de Vivar.

C O N T E N I D O

- I INTRODUCCION
- II GENERALIDADES
- III PARTE TEORICA
- IV PARTE TEORICA
- V PARTE EXPERIMENTAL
- VI BIBLIOGRAFIA

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

La investigación en el campo de los productos naturales se ha incrementado en los últimos tiempos debido - al desarrollo de los métodos espectroscópicos, los cuales han permitido establecer estructuras con mayor precisión y rapidez.

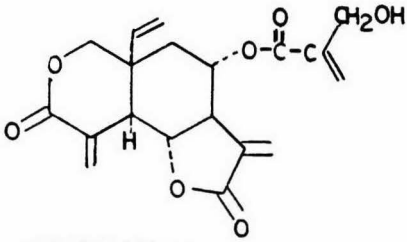
En el Instituto de Química de la UNAM se ha venido estudiando sistemáticamente la composición química de - las plantas que pertenecen a la familia de las compuestas.

De estas se ha aislado un grupo grande y estructuralmente variado de lactonas sesquiterpénicas, algunas de las cuales presentan actividad citotóxica inhibiendo el crecimiento de carcinomas humanos in vitro. Algunas de las lactonas (aisladas en otros centros de investigación) con probada actividad biológica las constituyen, la Vernodalina¹, la Vernomenina², la euparotina³, el acetato de eupaclorina⁴, la -- elefantopina⁵, la Vernomygdina¹, la Gaillardina⁶ y la Mexicana I⁷. Presentan una considerable variedad de esqueletos hidrocarbonados y un gran número de combinaciones de - grupos funcionales, tales como, epóxido, clorhidrina, éster insaturado, lactona insaturada, grupo cetónico insaturado, etc.,. Sin embargo, todas son lactonas con su carbonilo -- conjugado con un metileno exocíclico; este último grupo -- α metilen γ lactona (exometilenbutenólida) es indispensable

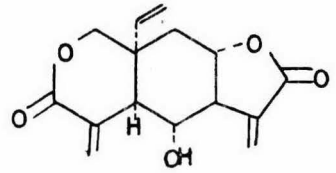
para que la sustancia presente actividad biológica, ya que estos compuestos ejercen su acción⁸, por la alquilación de centros nucleofílicos importantes en los sistemas biológicos mediante una adición de Michael de los grupos SH de las macromoléculas biológicas con el grupo metileno exocíclico adyacente al carbonilo de la lactona.

La presencia⁹ de otros grupos funcionales como éster α, β insaturado, α metileno ó lactona ó cetona α, β insaturada (ciclopentanona conjugada), incrementa considerablemente la citotoxicidad.

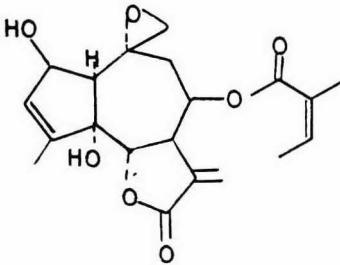
La presente tesis describe el aislamiento de las eleménólidas Verafinina B y Verafinina C; la estructura y estereoquímica de la Verafinina C se determinó por métodos espectroscópicos y químicos, en tanto que solo se pudo establecer una estructura tentativa para la Verafinina B. Ambas fueron aisladas de Verbesina Aff. Coahuilensis (Gray) y presentan citotoxicidad debido a que en su estructura aparecen el grupo exometilenbutenólida y un grupo éster α, β insaturado, factores necesarios para la citotoxicidad en este tipo de sustancias.



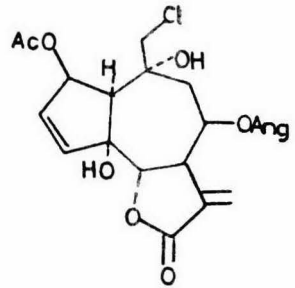
VERNODALINA



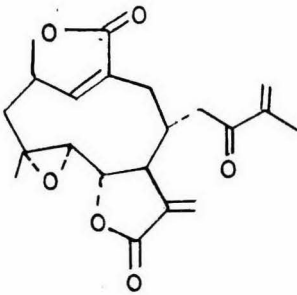
VERNOMENINA



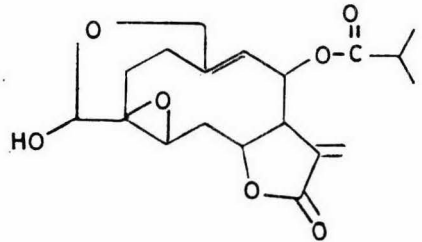
EUPAROTINA



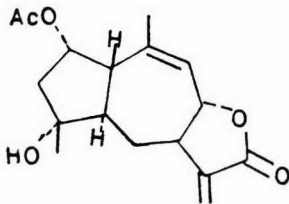
ACETATO DE EUPACLORINA



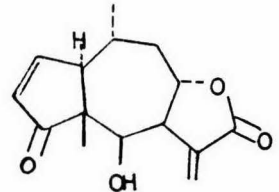
ELEFANTOPINA



VERNOMYDGINA



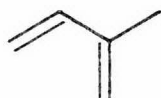
GAILLARDINA



MEXICANINA 1

GENERALIDADES.

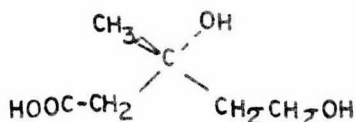
En un gran número de productos naturales el esqueleto hidrocarbonado está dividido en unidades de cinco átomos de carbono con el esqueleto del isopreno¹⁰, tales - compuestos son conocidos como terpenos y fueron los primeros productos naturales en ser reconocidos como construidos con un plan arquitectónico definido.



Isopreno

Si bien, el isopreno ha sido encontrado como producto de la descomposición pirolítica de terpenoides naturales, se sabe¹¹ que no derivan del isopreno, ni es el isopreno un producto natural.

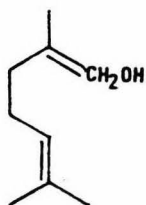
Actualmente la idea que predomina sobre el origen de los terpenos en la naturaleza es que el ácido mevalónico¹¹, un compuesto de seis átomos de carbono derivado de la condensación de tres moléculas de ácido acético es el precursor esencial de los compuestos terpenoides.



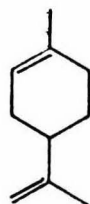
Acido Mevalónico

La biosíntesis¹² de isoprenoides tiene lugar en tres pasos: primero síntesis del mavalonato (5 pirofosfato del ácido mevalónico) seguido de la formación de cadenas de poliisopreno vía derivados fosfatados y, ciclación.

El 5 pirofosfato de ácido mevalónico, producto de la fosforilación del ácido mevalónico es el precursor inmediato de la unidad isoprenica de cinco átomos de carbono (esquema I) que es el agente alquilante activo en la reacción clave de la biosíntesis de terpenoides, ya que al unir se dos residuos de cinco átomos de carbono por medio de la migración de la doble ligadura terminal de la segunda unidad, se formara el pirofosfato de geranilo que es el éster alílico que da origen a los monoterpenos como el geraniol y el limoneno¹³.

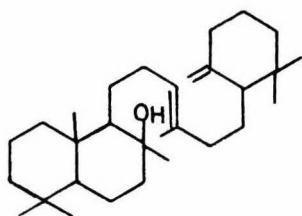


Geraniol

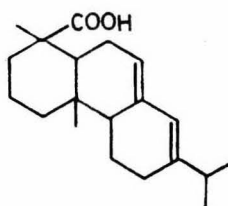


Limoneno

La extensión de la unidad de geranilo por adición de otra unidad de isopentilo da el pirofosfato de farnesilo (esquema I) que da origen a los sesquiterpenos y triterpenos (C_{30}) como la ambreina. Por continuación del proceso se produce un compuesto C_{20} , el pirofosfato de geranil geranilo, precursor de los diterpenos como el ácido abiético.



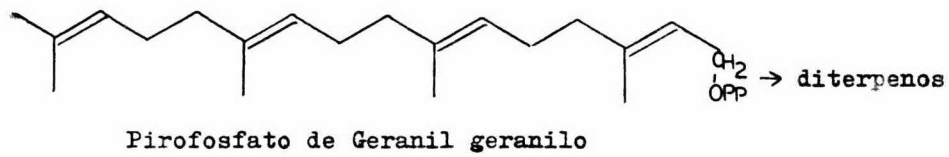
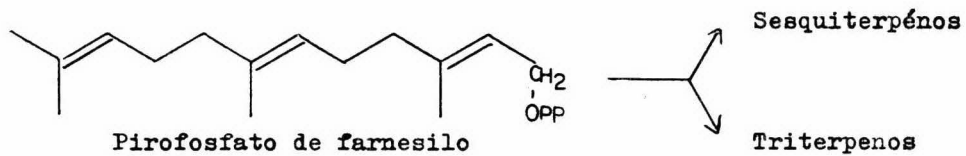
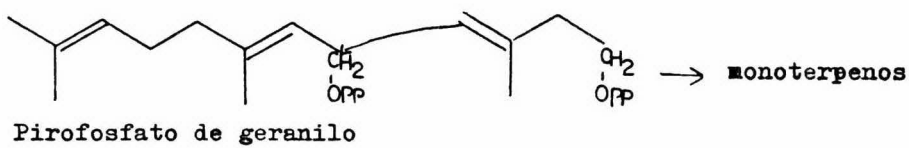
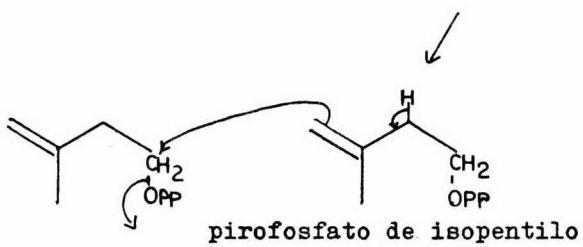
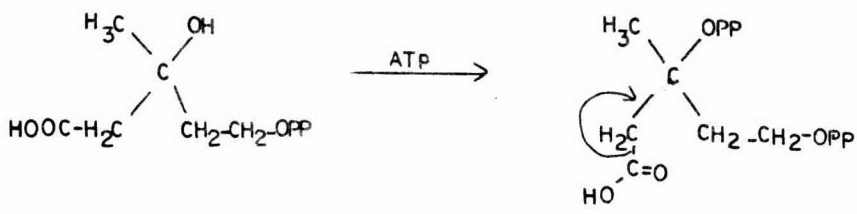
Ambreina



Ácido Abiético

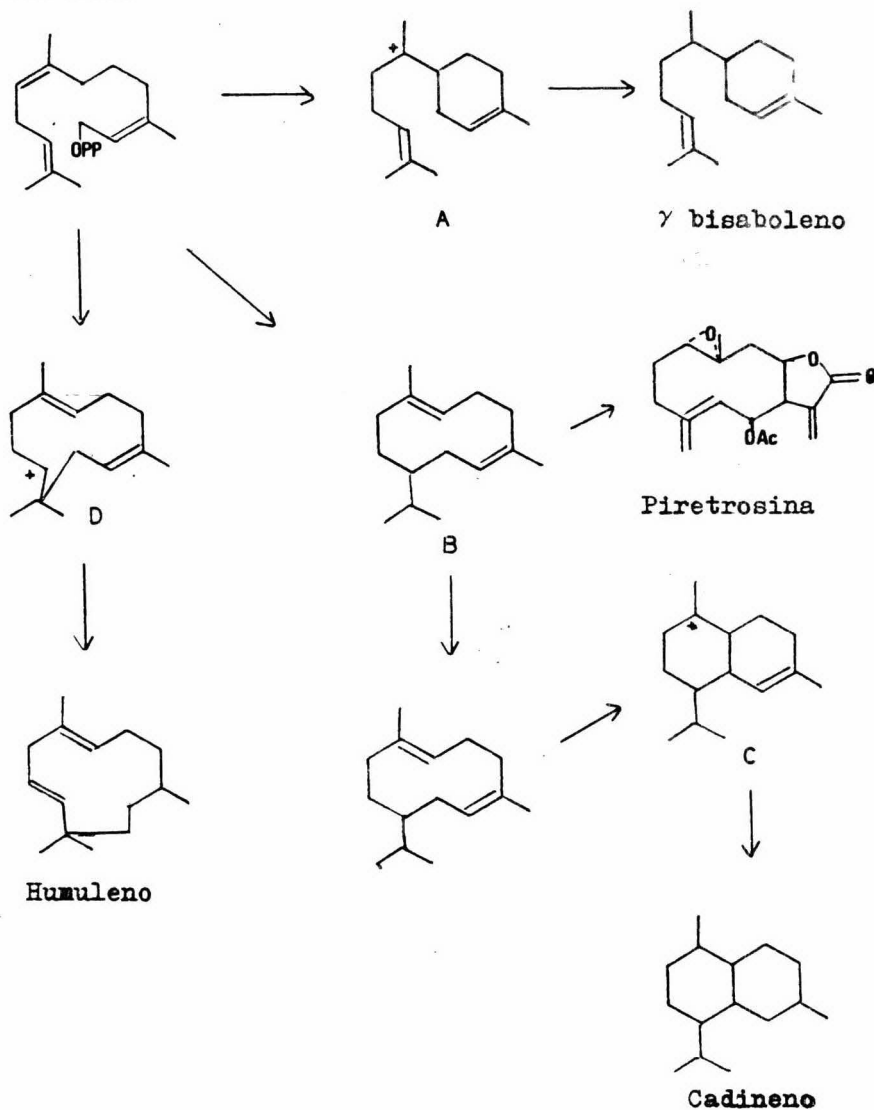
Los pirofosfatos¹² poliisoprenoides pueden descomponerse hidrolíticamente para dar los correspondientes alcoholes primarios y alternativamente generan cationes alfilicos que pueden actuar como agentes alquilantes, ya sea intermolecularmente como se describió antes, ó intramolecularmente, es decir, por ciclación; en el caso del pirofosfato de farnesilo, da origen a diferentes grupos de sesquiterpenos al ciclarse, dependiendo estos de si el precursor es -trans-trans ó trans-cis pirofosfato de farnesilo.

El pirofosfato de trans-cis farnesilo puede ciclarse de diversas maneras: Por medio del intermediario -

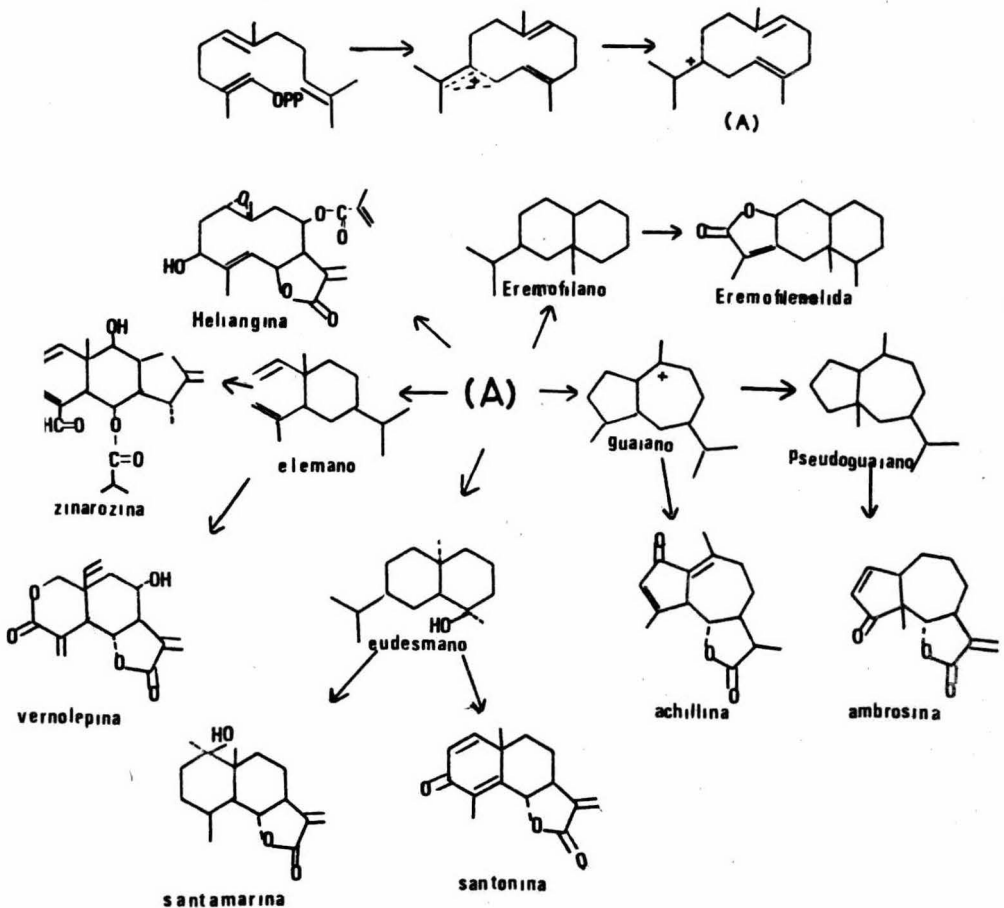


ESQUEMA I

A se forma el γ bisaboleno; del intermediario B, derivan - la piretrosina y otros sesquiterpénos, de este intermediario se forma C, precursor de los sesquiterpénos del tipo cadi \underline{n} e no. Otra forma de ciclación da D, una forma protonada del humuleno.



La ciclación del 2,3 trans pirofosfato de farnesi¹⁴ da origen a los sesquiterpenos de los que se derivan las lactonas sesquiterpénicas. De un intermediario común (A), se derivan las germacranólidas como la Heliangina; eudesmanólidas como la santonina y la santamarina¹⁵; elemolólidas como la Zinarosina¹⁶ y la Vernolepina²; eremofilolólidas como la Eremofilena¹⁷; guaianólidas, ej. la Achillina¹⁸; pseudoguaianólidas como la partenina y la Ambrosina¹⁹; y otros.



P A R T E T E O R I C A .

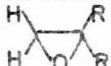
La Verbesina aff. Coahuilensis (Gray), es una -- planta herbacea de la familia de las compuestas, que crece en la sierra de Arteaga en el estado de Coahuila.

Por recromatografía de las fracciones polares de la cromatografía del extracto clorofórmico de la planta, se aisló en las fracciones eluidas con 80% benceno - 20% de acetato de etilo, una substancia cristalina de pf 130-133°C.

$[\alpha]_D = - 37^\circ$ que se nombró Verafinina C. Su fórmula condensada obtenida por análisis elemental es $C_{19}H_{22}O_7$. El espectro de IR (espectro 1) muestra bandas de absorción a: --- 3600 cm^{-1} que corresponde a grupo oxhidrilo; 1765 de lactona α, β insaturada; 1720 que indica la presencia de un éster α, β insaturado y en 1645 y 1655 cm^{-1} de dobles ligaduras olefínicas.

La presencia de los grupos éster α, β insaturado y lactona α, β insaturada se manifiestan en el ultravioleta (espectro 2) por la absorción a 216 nm $\epsilon = 11017.3$.

El espectro de masas de la Verafinina C (espectro 3) muestra el pico base a m/e 69, y otros de menor intensidad a m/e 41, m/e 276 (M - 86) característicos de la fragmentación que sufren los ésteres del ácido metacrílico²⁰.

miento gem ($J = 5$ Hz.) característica de un espiro epóxido ó epóxido disustituido gem²² . En el esqueleto del elemeno, este sistema solo se puede inscribir en los átomos de carbono 3 y 4 como se muestra en 2a (esquema II).

Tambien en RMN se observa en 1.75 ppm un singulete ancho del metilo vinílico del ester²⁰; en 4.05 un doblete de doblete (1H) ($J = 5$, $J = 1.0$ Hz.), y entre 4.7 y 6.7 ppm hay un amontonamiento de señales que integra para diez protones, entre las que debe estar el sistema ABX (C-1, C-2) común en las elemenólidas. En este espectro no aparece la señal correspondiente al metilo sobre C-4 presente en la estructura del elemeno, por lo que se supuso que debe estar oxidado.

La Verafinina C solamente tiene un oxhidrilo, el que se acetiló con anhídrido acético y piridina a temperatura ambiente, obteniéndose el monoacetato (2b esquema II).

En IR (espectro 5) no presenta banda en 3600 cm^{-1} de oxhidrilo, y en el espectro de RMN (espectro 6), aparece el singulete del metilo del acetato en 2.04 ppm; el metilo vinílico del éster en 1.96, el singulete del metilo terciario en 1.5; los dobletes del sistema AB en 2.71 y 3.28 ppm, se sigue observando un doblete de doblete en 4.2 ppm (1H) ($J = 4$, $J = 1.5$ Hz), y un agrupamiento de señales entre 5 y 6.7 ppm (10 H) de protones vinílicos y protones base de

los grupos funcionales lactona, acetato y ester metacrílico.

Como las condiciones de acetilación son suaves, el oxhidrilo de la Verafinina C debe ser primario ó secundario; al efectuar esta reacción se esperaba un corrimiento de la señal en 4.05 ppm que aparece en el espectro de RMN de la Verafinina C, pero al no observarse desplazamiento notable en el espectro del acetato (4.2 ppm), el protón base del oxhidrilo de la sustancia libre debe encontrarse entre las señales de los protones vinílicos.

El espectro de masas del acetato (espectro 7) — presenta los siguientes fragmentos: m/e 43 correspondiente al acilo del acetato²³ ($\text{CH}_3 - \text{C} \equiv \text{O}^+$), m/e 344 (M - 60) de la pérdida de ácido acético; m/e 69 (pico base) del acilo del éster metacrílico, y fragmento m/e 388 (M - 16) que corresponde a la pérdida de oxígeno de epóxido .

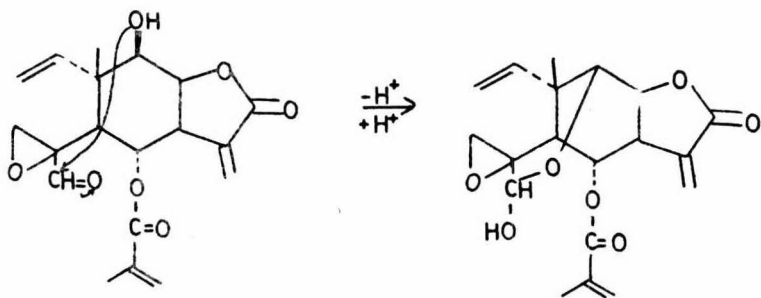
La Verafinina C se sometió a hidrogenación catalítica con óxido de platino en acetato de etilo como disolvente; se obtuvo el derivado hexahidrogenado (3a esquema II) cristalino de fórmula $\text{C}_{19}\text{H}_{28}\text{O}_7$, lo que indica que la Verafinina C absorbió tres moles de hidrógeno, y por lo tanto, tiene tres dobles enlaces.

El espectro de IR (espectro 8) presenta bandas — en 3600 cm^{-1} (oxhidrilo); 1740 (éster) y 1790 cm^{-1} de lac-

tona saturada.

En su espectro de RMN (espectro 9) se observa un triplete en 0.8 ppm (3H) ($J = 7$ Hz) de metilo primario --- (C-2) lo que comprueba el carácter de eleménolida de la --- substancia. Las otras dobles ligaduras que se saturaron --- fueron las del éster metacrílico y el metileno exocíclico de la lactona, cuyos metilos aparecen en el espectro entre 0.9 y 1.3 ppm, ahora ya no aparece señal de metilo vinílico y en el espectro de masas (espectro 10) se observa la fragmentación característica de ésteres del ácido isobutírico¹: m/e 71 ($\text{>C}\equiv\text{O}^+$) (pico base), m/e 43 (>^+), y otros de menor intensidad a m/e 280 ($M - 88$) correspondiente a la pérdida de ácido isobutírico; y m/e 352 ($M - 16$) que corresponde a la pérdida de oxígeno de epóxido.

De acuerdo con la fórmula empírica $C_{19}H_{22}O_7$ de la Verafinina C falta por asignarse una función oxigenada. En el espectro de RMN de la Hexahidro verafinina C se observa una señal simple en 4.8 ppm (1H) que se asignó a la base de un hemiacetal como se puede ver en la formula 2a y sus derivados. Esta hemiacetalización que puede venir de la condensación de un oxhidrilo en C-9 y un aldehído en C-14, ---



explica la ausencia de señal de protón base de alcohol entre 3 y 4 ppm en la RMN de la Verafinina C. La señal en 3.8 ppm fue asignada al protón base del eter en C-9. El grupo hemiacetalico tambien explica la ausencia de la señal en RMN del metilo de C-14 que tiene el elemeno.

Cuando el acetato (2b esquema II) se hidrogena, se obtiene la hexahidroacetil verafinina C (3b esquema II) que muestra la base del acetal en RMN (espectro 11) como un singulete afilado (1H) en 5.75, ademas muestra una señal en 5.32 (d,d) (1H) ($J = 2.5$, $J = 0.5$ Hz) que se asigna a H-6 (base de éster) ; en 4.92 una señal (d,d) ($J = 6$, $J = 11$ Hz) asignada a H-8 (base de lactona¹⁶) y en 3.9 ppm la señal asignada a H-9 (d,d) ($J = 6$, $J = 1$ Hz) (base de éter). Además se observa el metilo del acetato en 2.1 (3H), el sistema AB del epóxido (antes descrito) y las señales de los metilos.

Los experimentos de doble resonancia sobre la --

hexahidroacetil verafinina C, permiten fijar la posición del éter, lactona y metacrilato, que hasta aquí se venían localizando de una manera tentativa.

Al irradiar la señal en 3.9 (base de éter), se simplifica a doblete la de 4.9 ppm (base de lactona) (J₇₋₈ = 10 Hz), lo que indica que están interaccionando el protón base de lactona y el protón base de éter que está localizado sobre C-9; su multiplicidad indica que interacciona con H-8 (J = 6 Hz) pero tiene además un acoplamiento pequeño en M a larga distancia con H-5, hecho que se comprueba al irradiar una señal en 1.57 ppm que se asignó a H-5, ya que H-9 pierde el acoplamiento (4 σ) (J = 1.2 Hz) y la señal se simplifica a doblete (J₈₋₉ = 6 Hz).

De lo anterior se deduce que el éster metacrílico dada la multiplicidad de su base (d,d) solamente puede estar en C-6. Esto también se confirma con la irradiación de H-5 (1.57 ppm), que simplificó a doblete (J = 2 Hz) la señal en 5.32 ppm asignada a la base del éster, o sea que pierde el acoplamiento 5-6.

Al irradiar la zona de 2.97 ppm que corresponde tanto a H-11 como a H-7 cambia en primer término la señal del metilo en C-11 en 1.59 ppm y las señales de H-8 y H-6 se simplifican a dobletes (J₈₋₉ = 6 Hz) para H-8 y (J = 1 Hz) para H-6 respectivamente.

Con los argumentos químicos y espectroscópicos descritos, asignamos a la Verafinina C la estructura 2a (esquema II).

La estereoquímica de la Verafinina C fue deducida del espectro de RMN (espectro 11) de la Hexahidroacetil-Verafinina C (3b esquema II), para la que se estableció la estereoquímica en todos sus centros asimétricos (Tabla I).

La señal en 2.96 ppm muestra un quinteto que corresponde a H-11; el acoplamiento (7 Hz.) sugiere que la relación espacial entre H-7 y H-11 debe ser necesariamente cis. Ahora bien, como H-7 biogenéticamente es α , para llenar el requisito antes mencionado H-11 debe ser alfa también; por lo tanto, el metilo en C-11 tiene orientación β .

Las constantes de acoplamiento tan pequeñas para H-6, sugieren que los hidrógenos vecinos H-5 y H-7 deben encontrarse en una relación espacial cercana a los 90° , y por la rigidez del sistema esto solo se logra colocando el éster isobutírico en la posición α , porque de otra manera los acoplamientos 5-6 ó 6-7 deberían dar valores notablemente más grandes.

La constante de acoplamiento (10 Hz) para un ---

ángulo diedro de 0° que forman H-7 y H-8 indica que ambos hidrógenos son cis; como H-7 por consideraciones biogénicas es α , H-8 debe ser α también, por lo que tanto el enlace C-7 -- C-11, como el oxígeno sobre C-8 tienen orientación β .

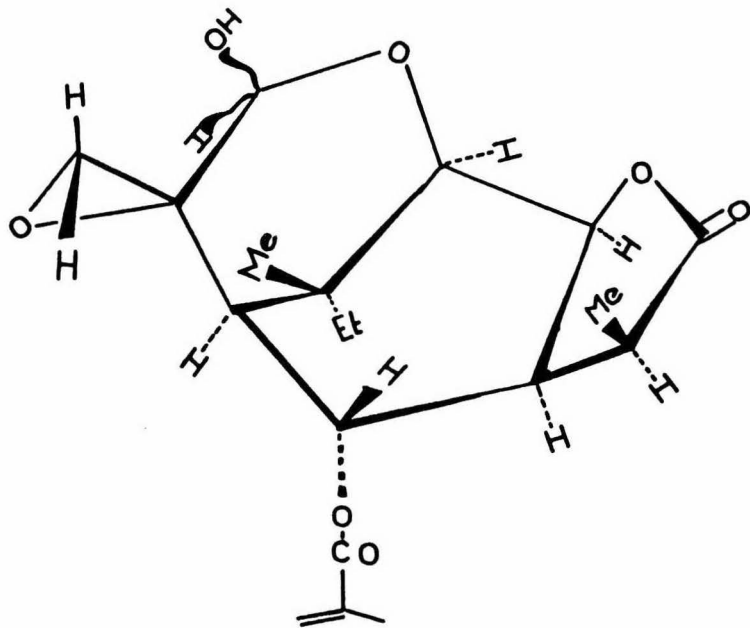
Un dato importante es el acoplamiento 4σ entre H-9 y H-5 el cual se efectúa únicamente cuando ambos protones tienen una geometría en forma de M, la cual es consecuencia de la rigidez del sistema.

Para poder formar el hemiacetal es necesario --- que tanto el oxígeno sobre C-9, como el enlace C-4 --C-5 sean de naturaleza cis; por lo tanto, H-9 y H-5 son de --- configuración α . La estereoquímica de C-5 deducida --- por RMN está de acuerdo con la estereoquímica que se ha -- observado en estos compuestos de origen natural². Este argumento se usó para establecer la estereoquímica en C-10.

T A B L A I

Señales en RMN a 100 MHz para la Hexahidroacetilverafinina C.

	ppm (δ)	multiplicidad	J_s . (Hz)	χ_s .
Hidrógenos en C-1	1.41	cuarteto	7.5	
Hidrógenos en C-2	0.91	t	7.5	
H-3'	2.6	d	$J_{3'-3} = 5.0$	
H-3	3.18	d		
H-5	1.57	ancha m		
H-6	5.32	d,d	$J_{5-6} = 1$ $J_{6-7} = 2$	probable 70° " 105°
H-7	2.92	m		
H-8	4.76	d,d	$J_{7-8} = 10$	0°
H-9	3.9	d,d	$J_{9-5} = 1.3 (4\sigma)$ $J_{8-9} = 6$	40°
H-11	2.96	quintuple	$J_{7-11} = 7$	30°
CH ₃ -C ₁₀	1.23	s		
CH ₃ -C ₁₁	1.59	d	7	
H-14	5.7	s		
O-Ac	1.95	s		
-CH _{ipr}	2.44	heptuple	7	
2CH _{3ipr}	1.12	d		



verafinina C .

Al recromatografiar las fracciones poco polares de la cromatografía original se eluyó, con una mezcla de 97% cloroformo-3% acetona, una sustancia de pf. 137-140°C. que se llamó Verafinina B. Su análisis elemental corresponde a la fórmula $C_{19}H_{20}O_6$ comprobada por espectrometría de masas (M^+ 344). En IR (espectro 12) se observan bandas en: 1765 de lactona α, β insaturada; 1720 que indica la presencia de un éster α, β insaturado y bandas en 1650 y 1670 cm^{-1} de dobles ligaduras.

En el UV (espectro 13) los grupos lactona y éster α, β insaturados se manifiestan por la absorción a $\lambda_{\text{máx}}$ 216 nm. ($\epsilon = 10\ 893$).

En el espectro de masas (espectro 14) se aprecia el pico base a m/e 69 y fragmentos m/e 41 y m/e 258 ($M - 86$) característicos de la fragmentación del éster metacrílico.

El espectro de RMN (espectro 15) muestra las siguientes señales: en 2.0 ppm (3H) un singulete ancho del metilo vinílico del éster metacrílico; en 3.8 ppm un singulete ancho (2H) de oximetileno ($-CH_2-O-$) y señales superpuestas entre 4.5 y 6.8 ppm que integran para 13 protones.

Hasta este punto solamente se puede asegurar acerca de la Verafinina B, que es una lactona sesquiterpénica con un éster metacrílico. Sin embargo, de acuerdo con las

estructuras de la Verafinina y la Verafinina C, se puede pensar que la Verafinina B también pertenece al grupo de las elemenólidas con la distribución de los grupos funcionales como lo muestra la fórmula 4 (esquema II).

Para determinar si las Verafininas B y C tienen actividad biológica se llevaron a cabo las pruebas que se describen a continuación:*

El efecto inhibitor de la división celular de la Verafinina B se estudió en dos líneas celulares: La línea L-929 procedente de tejido conjuntivo murino y la línea -- HEP-2 procedente de carcinoma laríngeo humano; ambas mantenidas en medio basal de Eagle suplementado con 10% de suero de ternera y 100 unidades de penicilina.

Se cultivaron en tubos de Leighton con un inóculo inicial de 30 000 células por ml. incubadas a $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$. en una atmósfera de 95% de aire y 5% de CO_2 durante 72 hrs. al cabo de las cuales fueron contadas con un contador de partículas Modelo B (Hialeah, Flo.).

Se encontró que en la línea L-929 la dosis efecti

* Las pruebas biológicas fueron llevadas a cabo por los doctores: J. Taboada, A. González Diddí y J. Tellez M. en el departamento de biología celular del Centro Médico -- del IMSS.

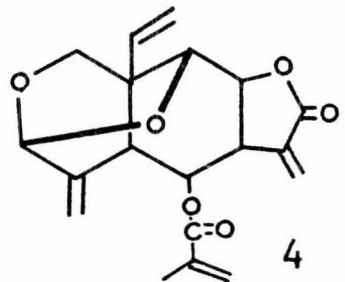
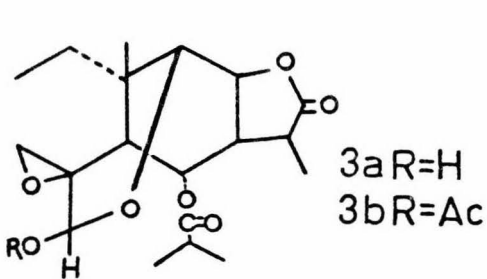
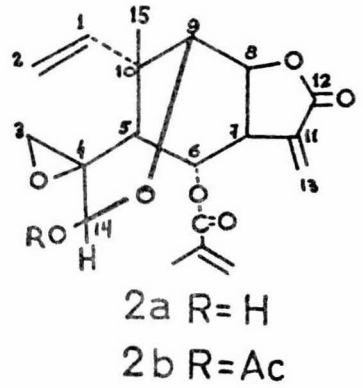
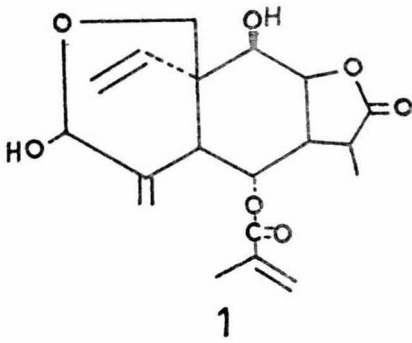
va 50% (ED₅₀), fue \pm 5 mg/ml.

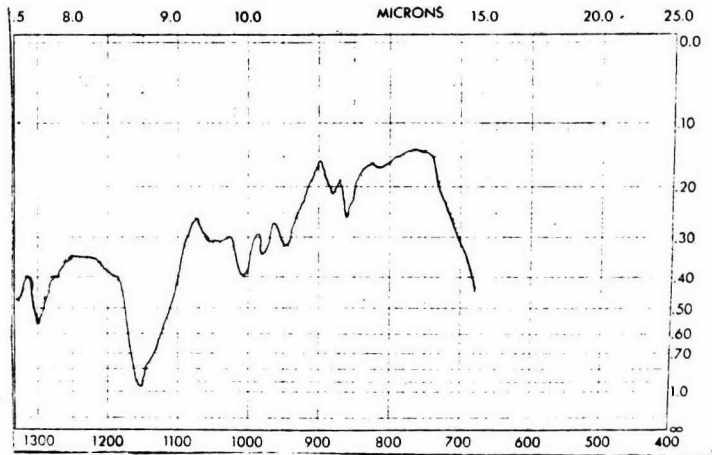
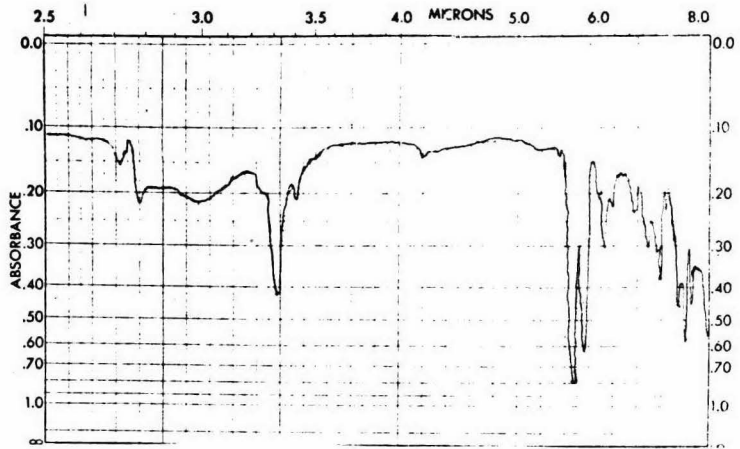
La actividad biológica de la Verafinina C, hasta el momento solo se ha probado en la línea L-929 en las condiciones descritas anteriormente.

Se encontró que a dosis de \pm 1 mg/ml hay incremento en el número de células; y la dosis ED₅₀ es de \pm 5 mg/ml.

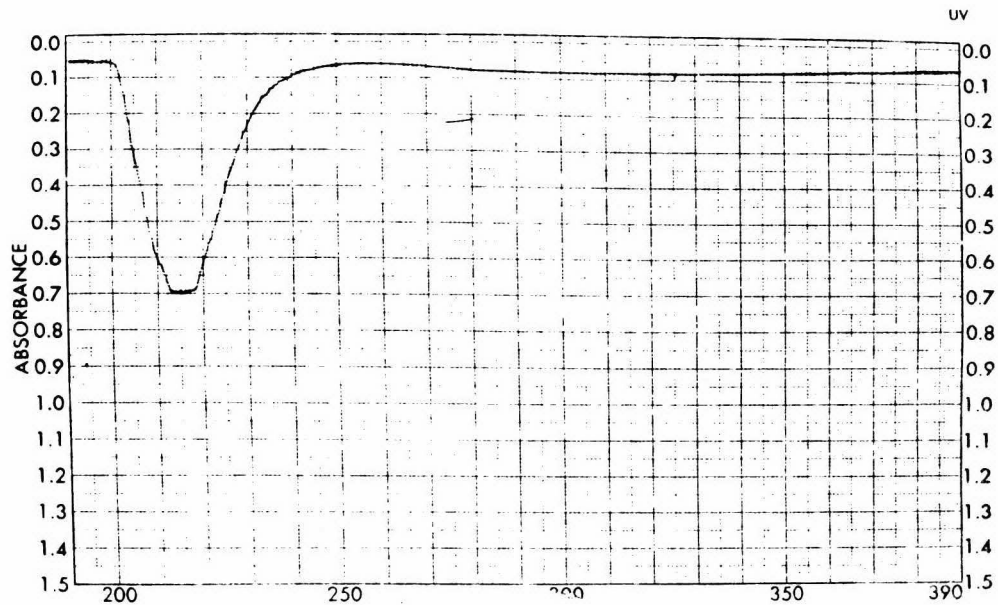
Los resultados de los experimentos descritos anteriormente indican que las Verafininas B y C tienen actividad citotóxica como inhibidores de la división celular en carcinomas. Su estudio continúa en proceso.

esquema II

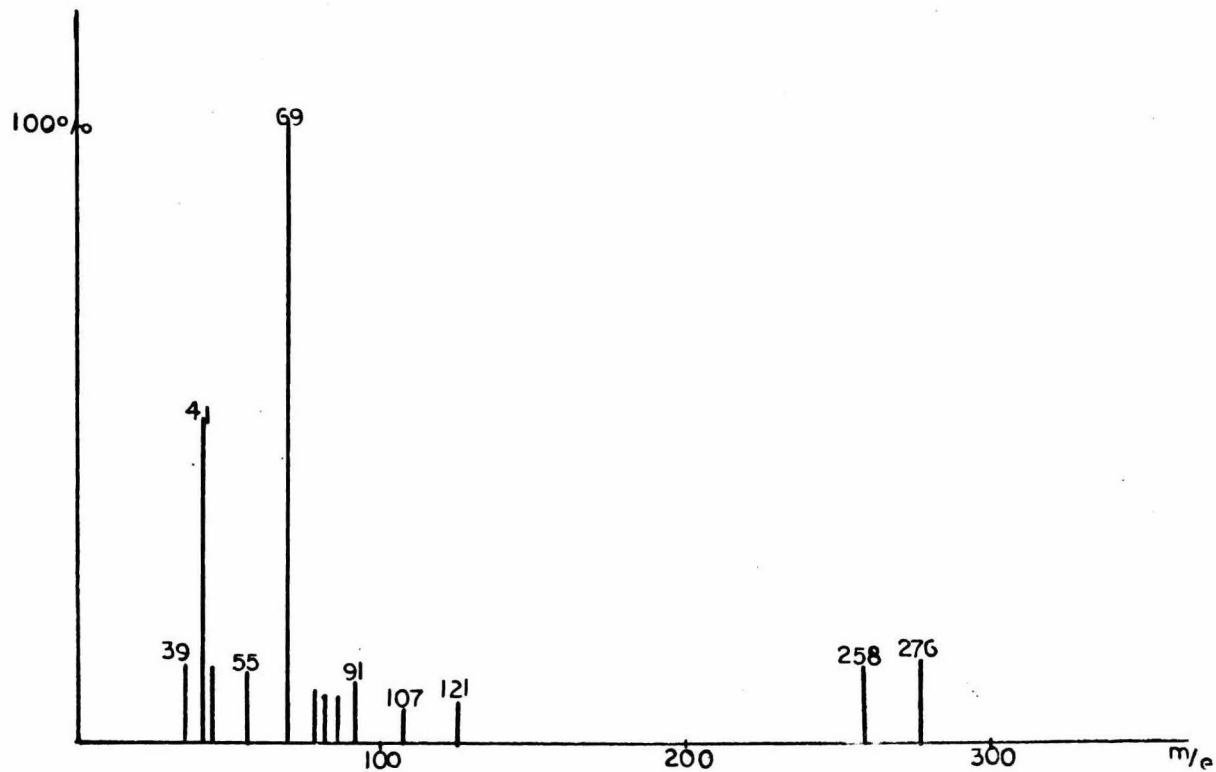




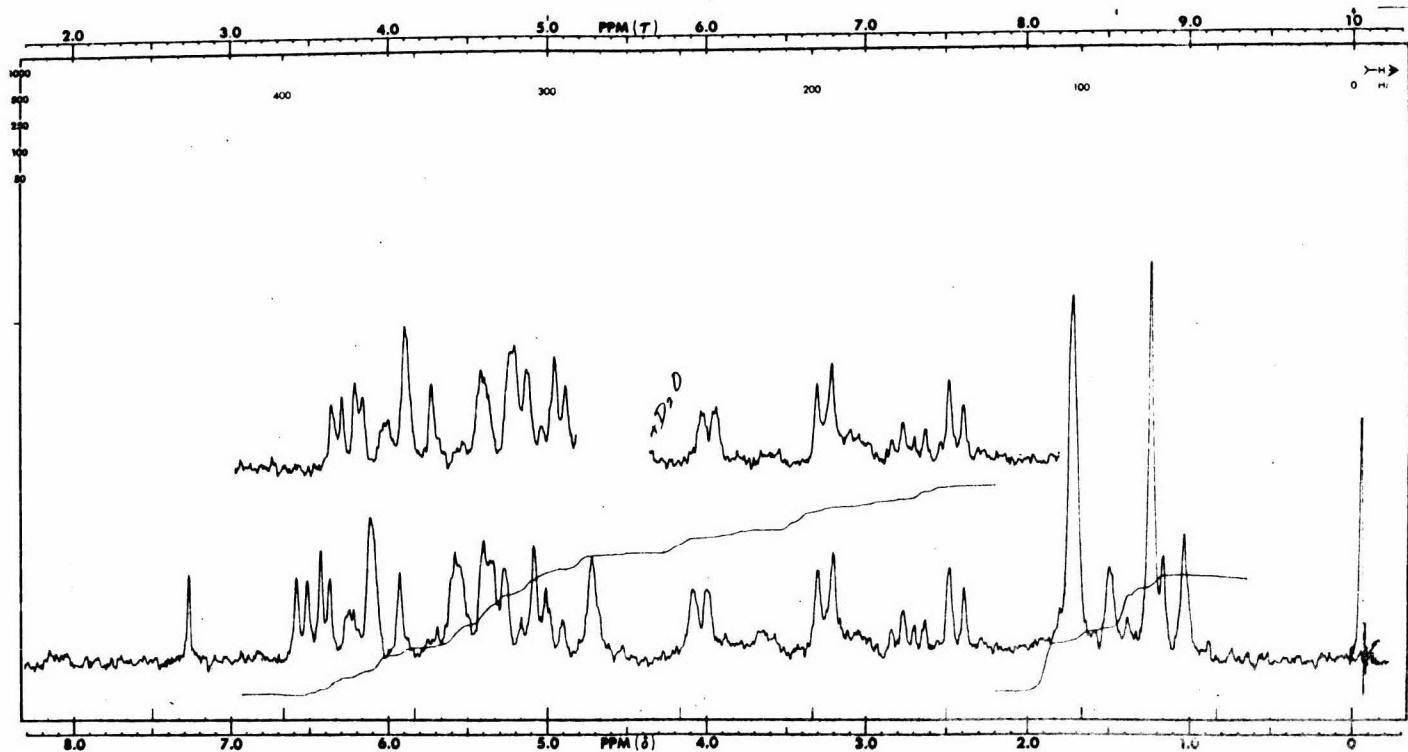
ESPECTRO I



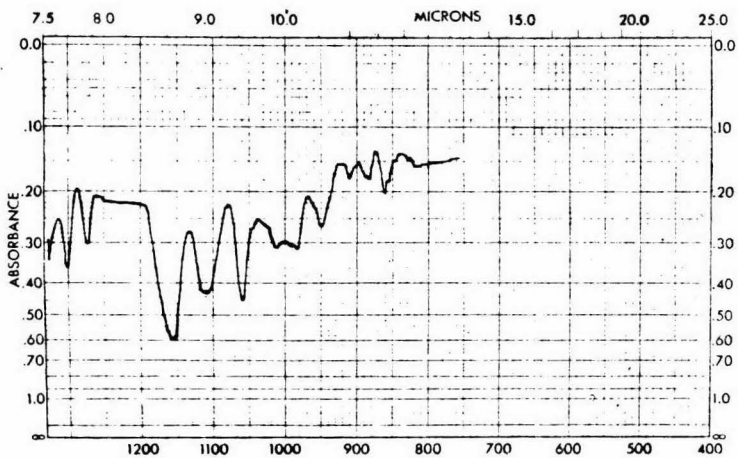
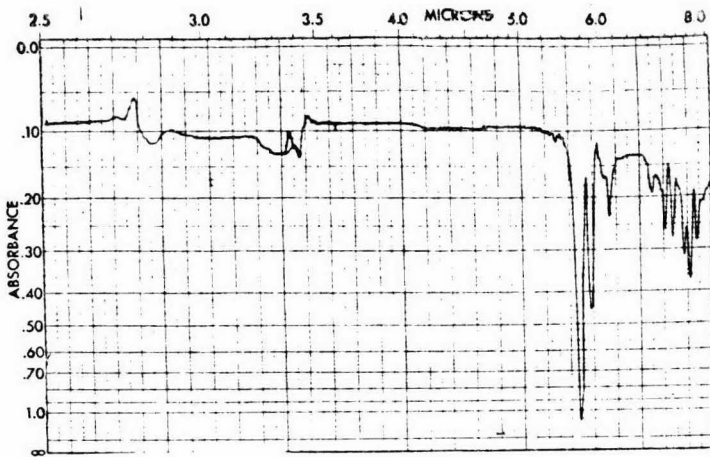
ESPECTRO 2



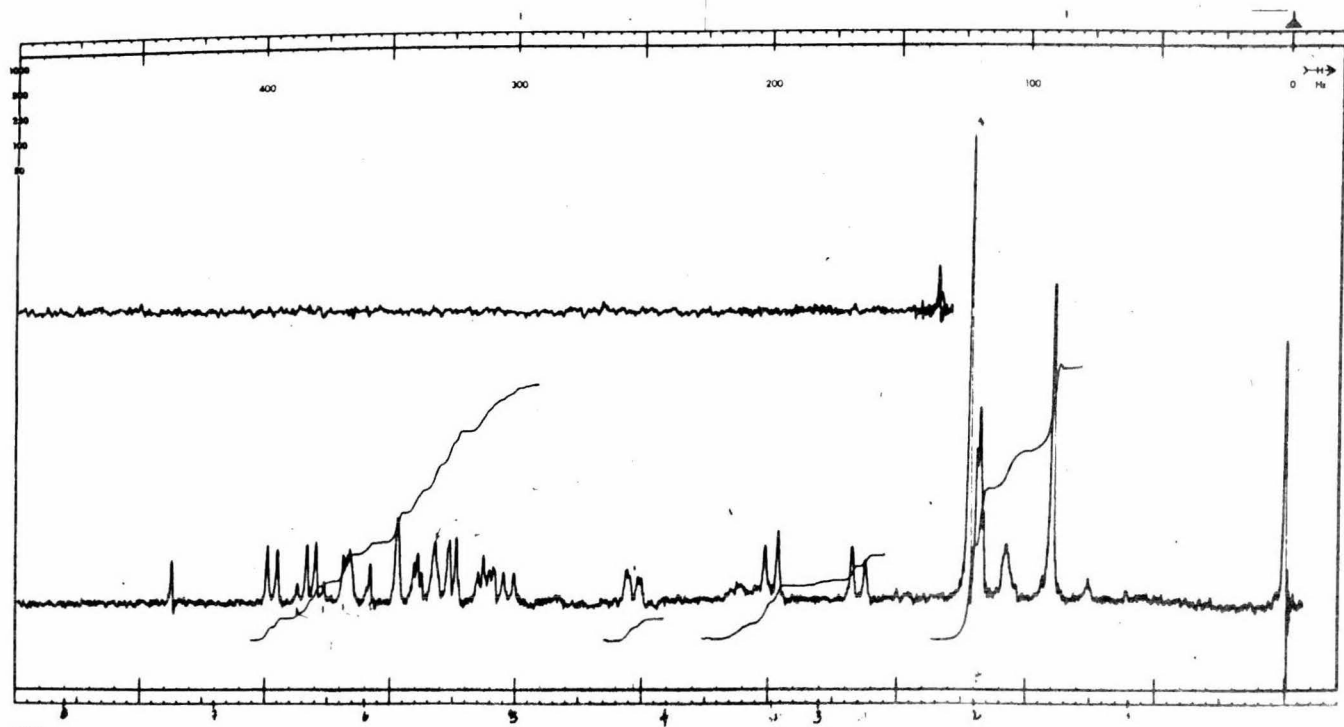
ESPECTRO 3



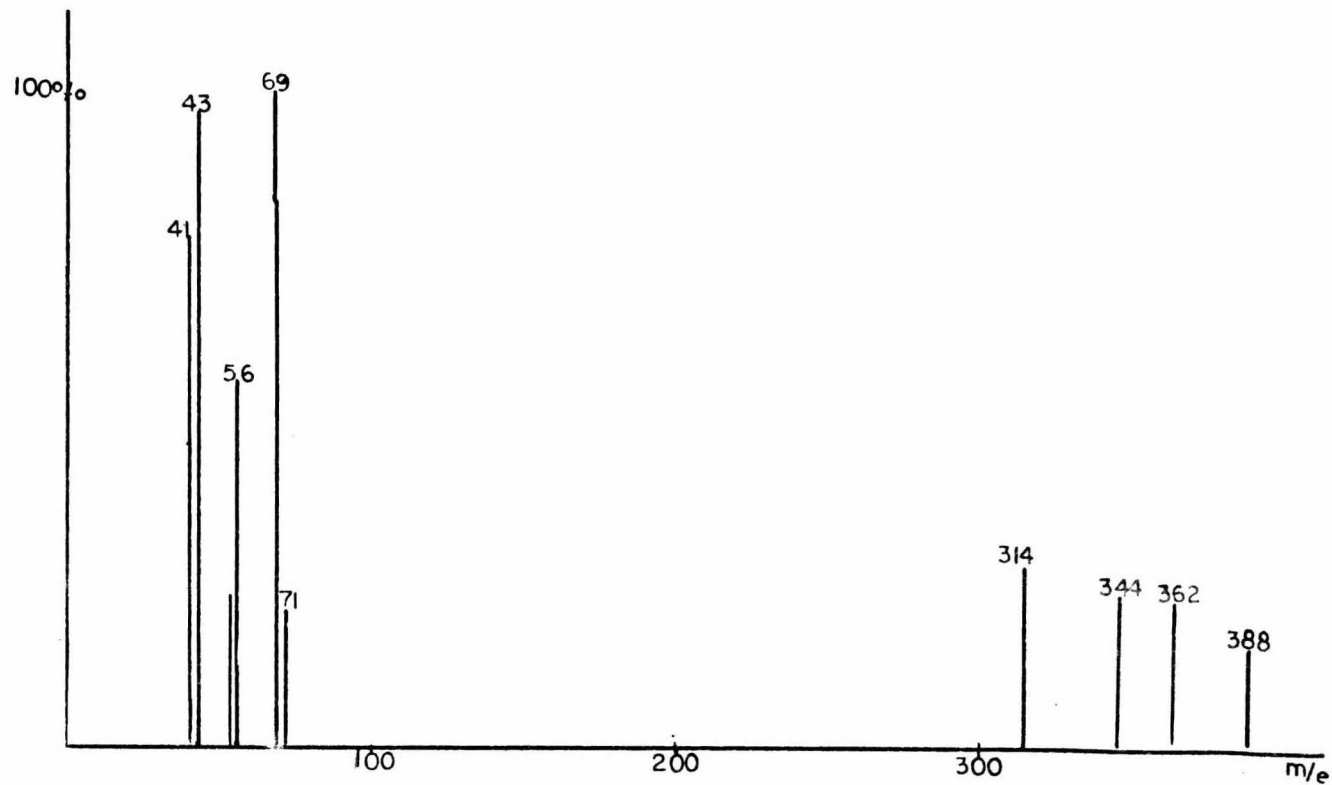
ESPECTRO 4



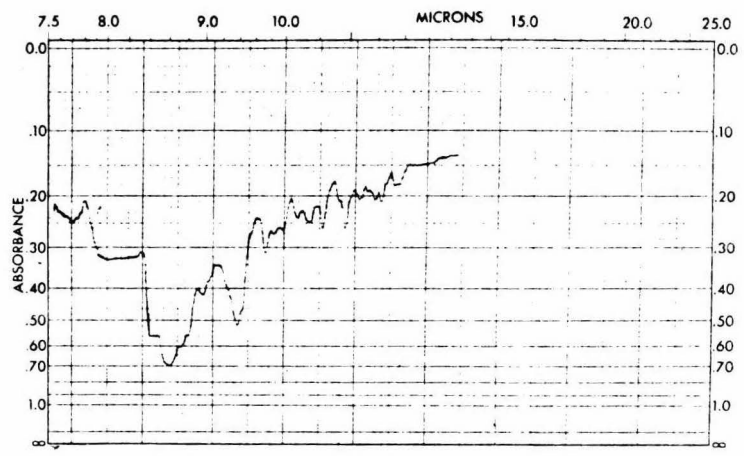
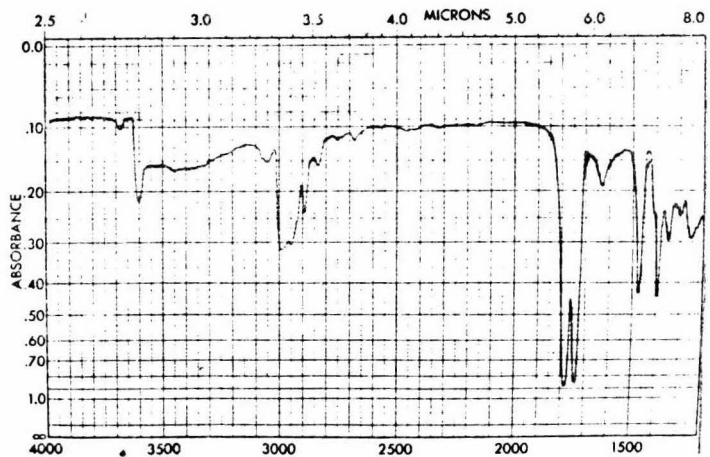
ESPECTRO 5



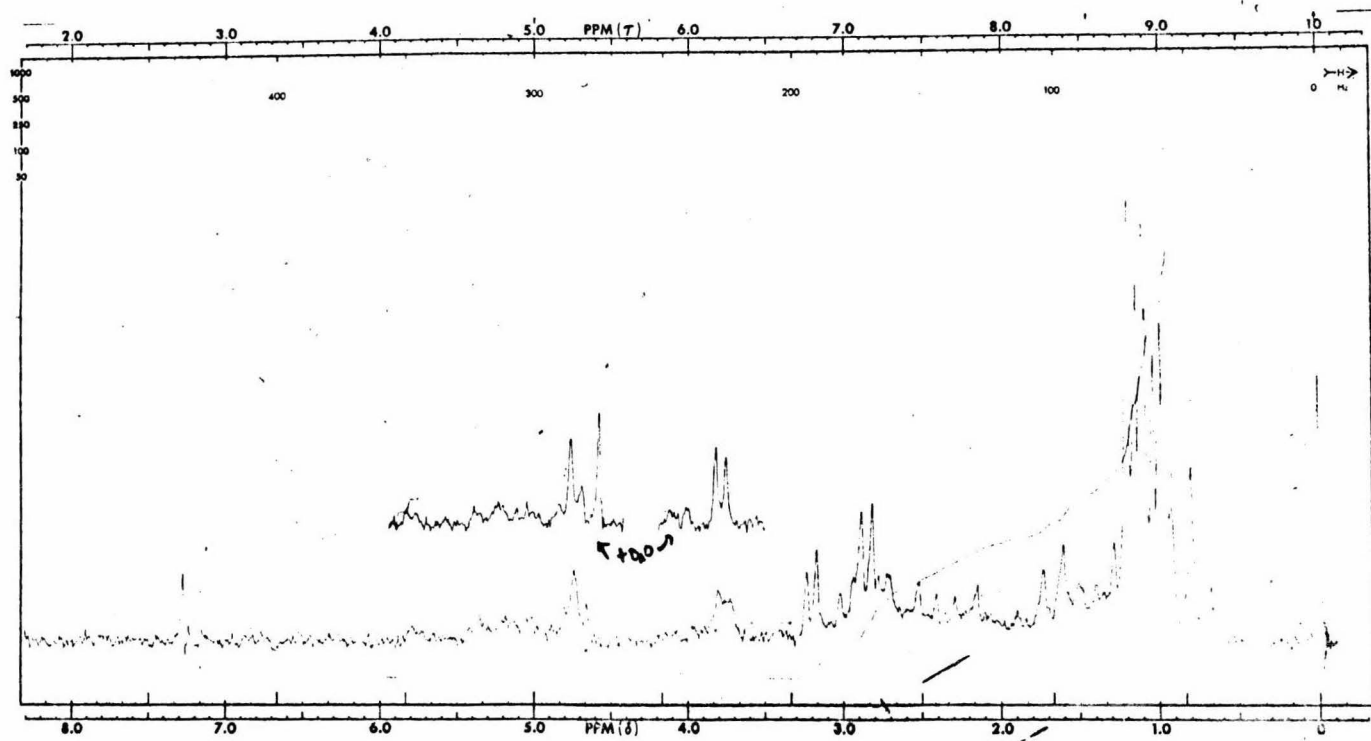
ESPECTRO 6



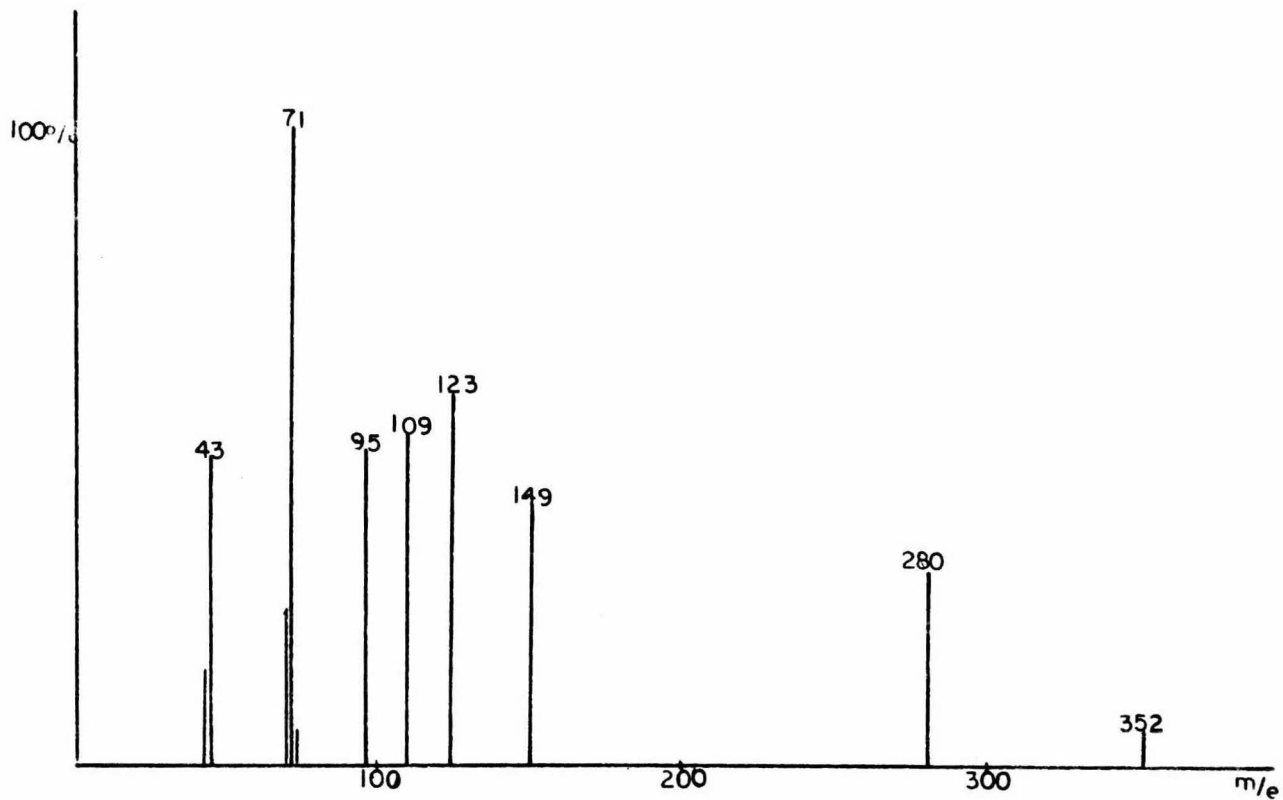
ESPECTRO 7



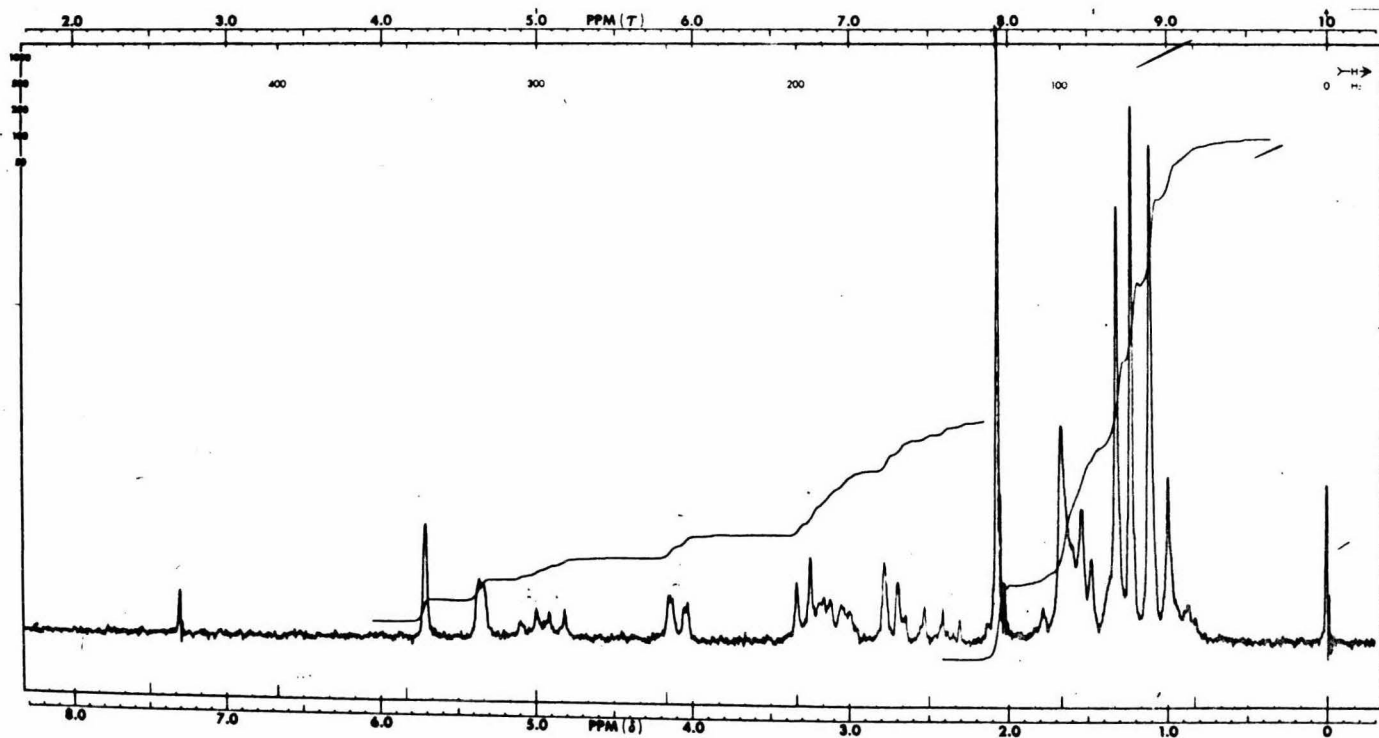
ESPECTRO 8



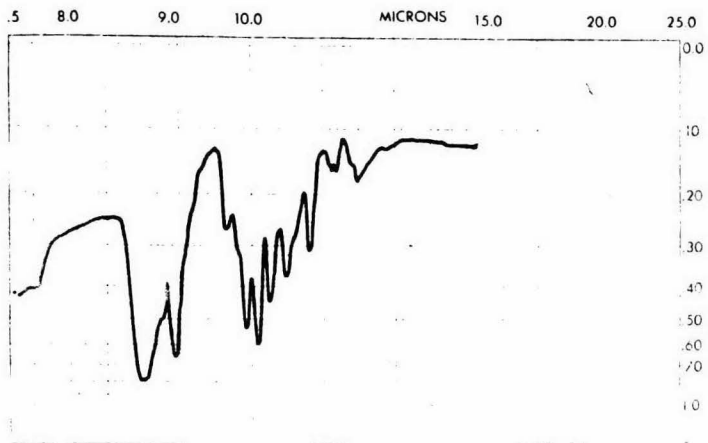
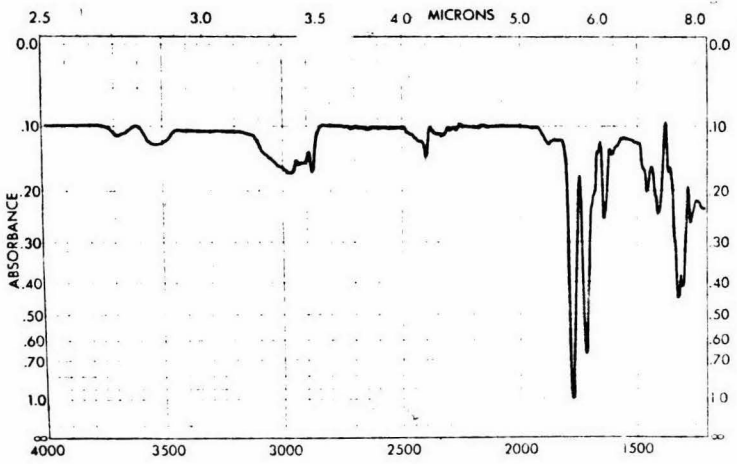
ESPECTRO 9



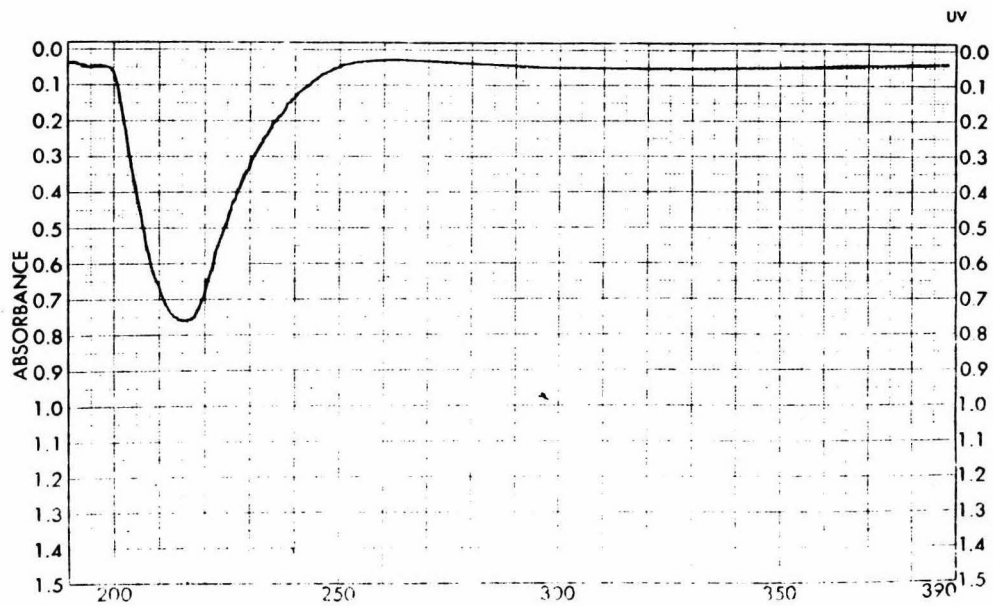
ESPECTRO 10



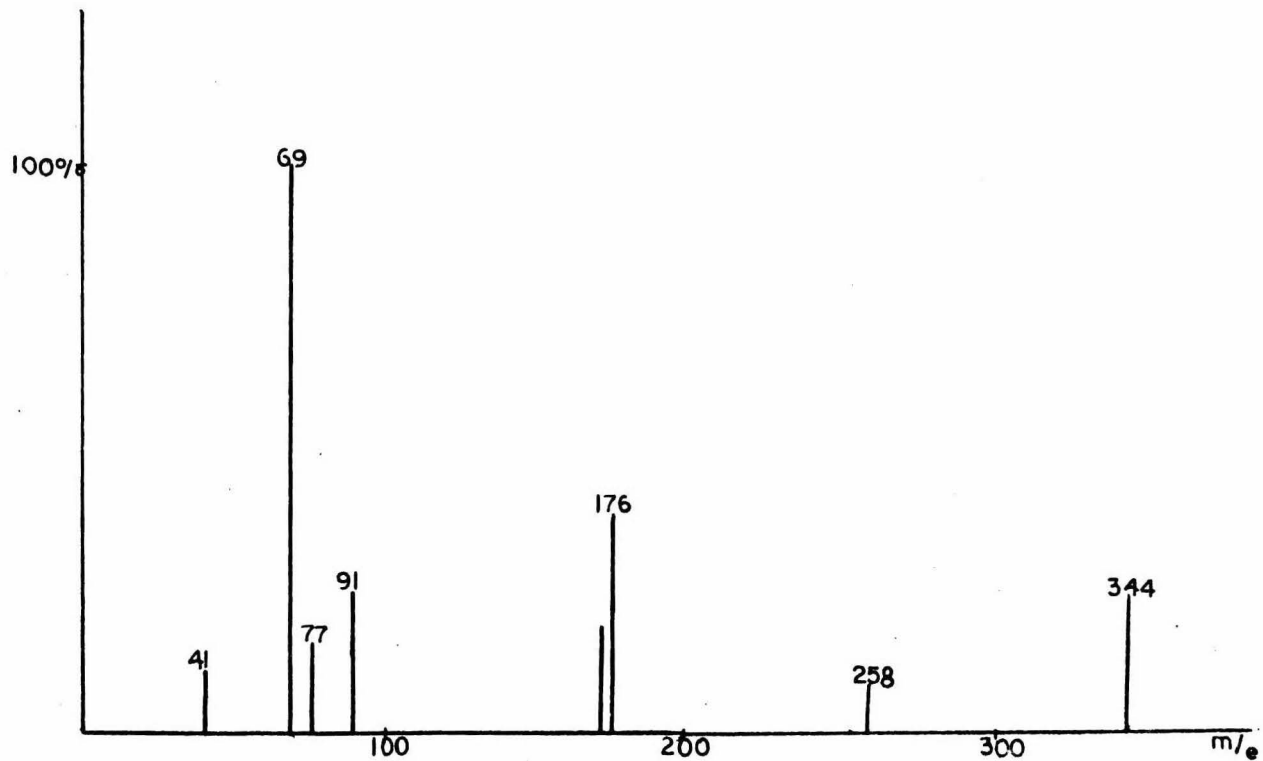
ESPECTRO II



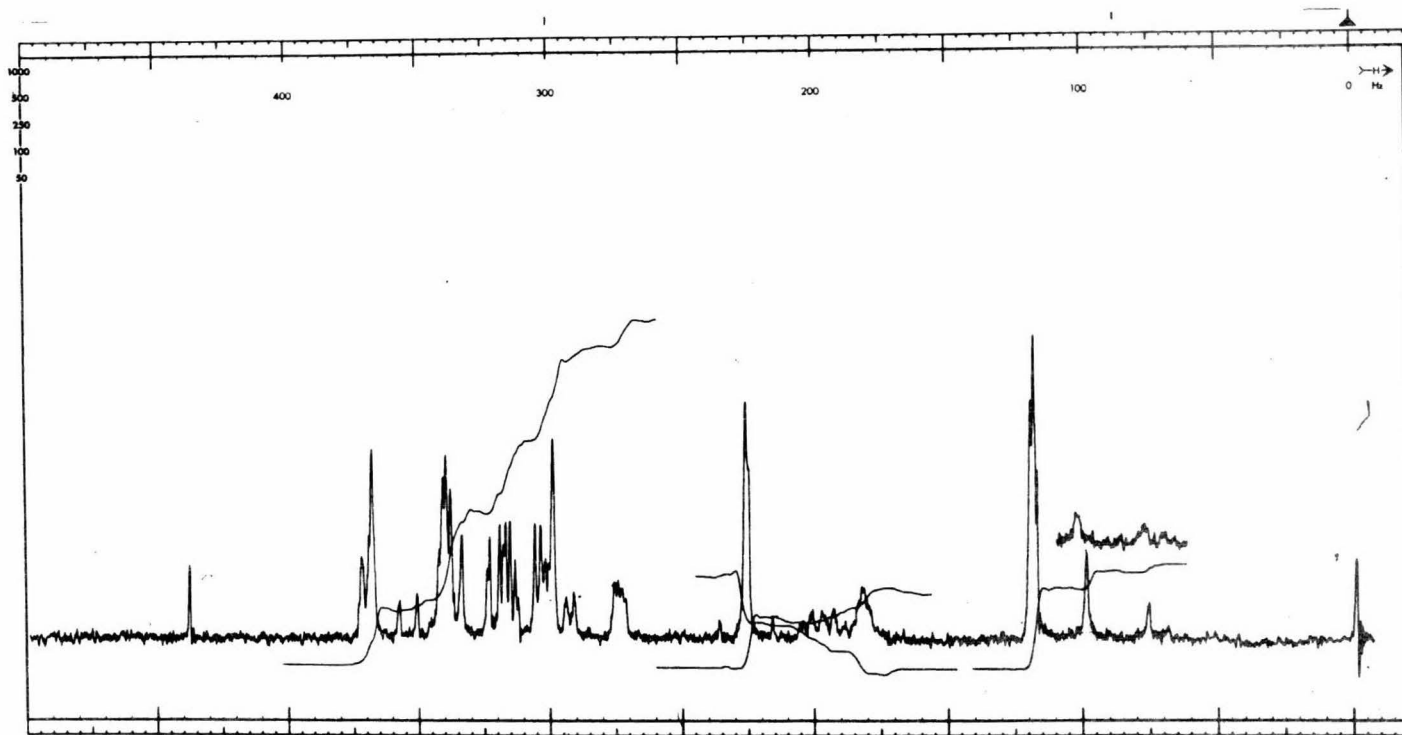
ESPECTRO 12



ESPECTRO 13



ESPECTRO 14



ESPECTRO 15

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

Aislamiento de la Verafinina C.

Continuando con el estudio²¹ de la Verbesina aff. Coahuilensis (Gray), las fracciones polares (29.4 g) de la cromatografía del extracto clorofórmico de la planta se — cromatografiaron en columna montada en sílice en proporción de 1:30, utilizando como eluyentes benceno y acetato de etilo.

De las fracciones eluidas con 80% de benceno-20% de acetato de etilo se aisló una substancia que cristaliza de acetona-éter isopropílico-éter etílico de pf. 130-133°C. a la que se nombró Verafinina C. Si se utilizan cloroformo y acetona como eluyentes, la Verafinina C se aísla con -- una mezcla de 80% cloroformo-20% acetona.

Los puntos de fusión se determinaron en un aparato — Fisher-Jones y no están corregidos. Los microanálisis fueron efectuados por el Dr. Franz Pascher en Bonn, Alemania. Los espectros de UV e IR fueron hechos por el Quím. Noé Rosas determinándose los primeros en etanol al 95% en un espectrofotómetro Perkin-Elmer 202 y los IR en un espectrofotómetro Perkin-Elmer 337 en solución clorofórmica. Los espectros de RMN fueron hechos por el M en C Eduardo Diaz en espectrómetros Varian A-60 y HA-100; los desplazamientos químicos están dados en ppm usando como referencia interna al tetrametilsilano. Los experimentos de irradiación se — efectuaron en un espectrómetro Varian HA-100 con audio osciladores Hewlett-Packard modelos 200 AB y 200 CD. Los espectros de masas fueron hechos por el M en C Eduardo Cortés — en un espectrómetro de masas Hitachi Perkin-Elmer RMU-6D, a 75 ev.

Análisis calculado para $C_{19}H_{22}O_7$: C = 62.97% ;
H = 6.12% ; O = 30.91%. Encontrado: C = 62.43% ; H = 6.10%
O = 30.97%. $\lambda_{\text{máx}} = 216 \text{ nm}$ ($\epsilon = 11017$). $\bar{\nu}_{\text{máx.}}$: 3600 cm^{-1}
(oxhidrilo), 1765 cm^{-1} (lactona α, β insaturada), 1720 cm^{-1}
(éster α, β insaturado), $1645, 1655 \text{ cm}^{-1}$ (dobles ligaduras
olefínicas). Espectro de masas: m/e 69 ($\text{>C} \equiv \text{O}^+$), --
m/e 41 (>>^+), m/e 276 (M - 86) (>C-OH), m/e 258.

Acetato de Verafinina C.

200 mg. de Verafinina C se disolvieron en 2 ml.
de anhídrido acético y 2 ml. de piridina. La reacción se
llevó a cabo a temperatura ambiente durante 6 hrs., des---
pués se adicionó agua y la parte orgánica se extrajo con -
cloroformo, el extracto clorofórmico se lavó con una solu-
ción de ácido clorhídrico al 10%, después con una solución
de bicarbonato de sodio a pH básico, enseguida se lavó con
agua hasta neutralizar; se secó con sulfato de sodio anhi-
dro, se evaporó el disolvente y el residuo cristalizó de
acetona-hexano. pf. $177-178^{\circ}\text{C}$. La muestra analítica se --
preparó por recristalización sucesiva del compuesto en el
mismo sistema de disolventes hasta pf. 178°C . $\bar{\nu}_{\text{máx.}}$: --
 1760 cm^{-1} (lactona γ insaturada), 1720 cm^{-1} (acetato y és-
ter metacrílico), 1640 cm^{-1} (dobles ligaduras). E.M. m/e
 388 (M - 16) (oxígeno de epóxido); m/e 344 (M - 60) ----

$(\text{CH}_3\text{-COOH})$, m/e 69 (ácido del éster metacrílico), m/e 43 -
 $(\text{CH}_3\text{-C}\equiv\text{O}^+)$.

Hexahidro Verafinina C.

100 mg. de Verafinina C se disolvieron en 20 ml. de acetato de etilo y se hidrogenaron catalíticamente con PtO_2 a temperatura y presión ambiente durante una hora, al cabo de la cual la mezcla de reacción se filtró a través de una capa de celita y el filtrado se evaporó a sequedad.

El producto cristalizó de acetona-éter isopropílico con pf. $178\text{-}180^\circ\text{C}$. La muestra analítica se preparó por re---cristalización en el mismo sistema de disolventes hasta -- pf. $185\text{-}188^\circ\text{C}$. Análisis calculado para $\text{C}_{19}\text{H}_{28}\text{O}_7$: C = 61.94% H = 7.66%; O = 30.40%. Encontrado: C = 61.46% ; H = 7.79%; O = 30.02%. $\bar{\nu}_{\text{máx.}}$: 3600 cm^{-1} (oxhidrilo), 1790 cm^{-1} -- (lactona γ saturada), 1740 cm^{-1} (carbonilo del éster). -- Espectro de masas: m/e 352 (M - 16) (oxígeno de épóxido); m/e 280 (M - 88) (isobutOOH); m/e 71, m/e 43 (fragmentos - del éster isobutírico).

Hexahidroacetil Verafinina C.

El acetato de Verafinina C (100 mg.) disuelto en 20 ml. de acetato de etilo, con 20 mg. de PtO_2 como cataliz

zador, se hidrogenó a temperatura y presión ambiente durante media hora. Después se filtró el catalizador a través de una capa de celita, se evaporó el disolvente y se obtuvieron por cristalización de éter isopropílico, cristales blancos de pf. 228-229°C. Análisis calculado para $C_{21}H_{30}O_8$: C = 61.45% ; H = 7.37% ; O = 31.18%. Encontrado: C = 61.48% ; H = 7.40% ; O = 31.14%. $\bar{\nu}_{\text{máx.}}$: 1780 cm^{-1} (lactona γ saturada), 1740 cm^{-1} (isobutirato y acetato). E.M.: m/e 71 -- ($\text{>C}\equiv\text{O}^+$); m/e 43 ($\text{CH}_3\text{-C}\equiv\text{O}^+$).

Aislamiento de la Verafinina B.

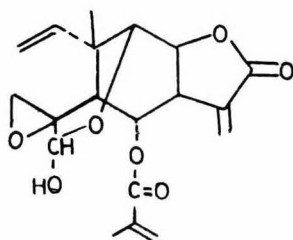
La Verafinina B se aisló de las fracciones poco polares de la cromatografía original. 15.57 g. de extracto se cromatografiaron en columna montada en sílice en proporción 1:30; como eluyente inicial se usó cloroformo. De las fracciones eluidas con 97% cloroformo-3% de acetona, se aisló por cristalización de acetona-éter isopropílico una sustancia de pf. 137-140°C., que se llamó Verafinina B.

La muestra analítica se preparó por cristalización de acetona-éter isopropílico hasta pf. 138-139°C. Análisis calculado para $C_{19}H_{20}O_6$: C = 66.27% ; H = 5.85% ; O = 27.12%. Encontrado: C = 66.23% ; H = 5.91% ; O = 27.56%. $\lambda_{\text{máx.}}$: 216 nm. ($\epsilon = 10893$). $\bar{\nu}_{\text{máx.}}$: 1765 cm^{-1} (lactona α, β insaturada), 1720 cm^{-1} (éster α, β insaturado), 1670 y 1650 cm^{-1} (dobles ligaduras). P.M. por espectrometría de masas: M^+ 344 y picos a m/e 258 ($M - 86$), m/e 69 ($\text{>>C}\equiv\text{O}^+$) y m/e 41.

CONCLUSIONES.

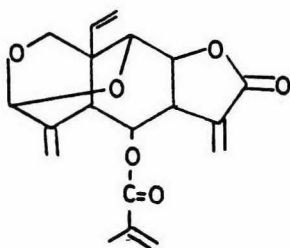
Continuando con el estudio de Verbesina aff. - Coahuilensis (Gray), se aislaron por cromatografía en sílice de las fracciones polares y poco polares de la cromatografía del extracto clorofórmico de la planta, dos nuevas lactonas sesquiterpénicas citotóxicas con esqueleto del elemeno, a las que se llamó Verafinina B y Verafinina C.

La estructura y estereoquímica de la Verafinina C se determinaron por métodos químicos y espectroscópicos, quedando confirmada la siguiente estructura.



La estructura de la Verafinina B no se elucidó por carecer de datos suficientes. Con los datos obtenidos hasta el momento por métodos espectroscópicos, y relacionando este compuesto con los antes encontrados, se propone la siguiente estructura para la Verafinina B, pero su es—

tudio continua en proceso.



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

- 1) S.M. Kupchan, R.J. Hemingway, A. Karim & D. Werner. J. Org. Chem. 34, 12 3908-11 (1969).
- 2) S.M. Kupchan, et al., J. Org. Chem. 34, 12 3903-7 (1969).
- 3) S.M. Kupchan, et al. J. Org. Chem. 34 3876-83 (1969)
- 4) S.M. Kupchan, J.B. Kelsey, M. Maruyama and J.M. Cassady. Tetrahedron letters 31, 3517-20 (1968).
- 5) S.M. Kupchan, et al. J. Org. Chem. 34, 12, 3867 (1969).
- 6) S.M. Kupchan, et al. J. Amer. Chem. Soc. 88, 22 5293 (1966).
- 7) S.M. Kupchan, M.A. Enkin & A.M. Thomas. J. Med. Chem. 14 1147 (1971).
- 8) S.M. Kupchan, et al. Science 168 376 (1970).
- 9) S.M. Kupchan, et al. J. Med. Chem. 16 299 (1973).
- 10) Robinson Robert.
Structural Relation of Natural Products.
oxford (1955).
- 11) Geissman & Crout.
Organic Chemistry of Secondary Plant Metabolism.
Freeman, Cooper Co. Sn Fco. Calif. (1969).
- 12) J.D. Bu' L0ck Phd.
The biosintesis of Natural products.
Mc. Graw Hill Pub. Co.
London (1965).

- 13) Newman A.H.
Chemistry of terpenes and Terpenoids.
Acad. Press. London (1972).
- 14) T.K. Devon & A.I. Scott.
Handbook of naturally occurring compounds.
Vol. II Terpenes
Acad. Press. N.Y. (1972).
- 15) A. Romo de Vivar, Jimenez. Tetrahedron (1965) 1741-5.
- 16) J. Romo, A. Romo de Vivar, A. Ortega, E. Diaz. ---
Rev. Latinoamer. Quim. 2, 24-31 (1971).
- 17) L. Novotny, et al. Tetrahedron (1963) 1101-7.
- 18) Tetrahedron Letters 3, 137 (1963).
- 19) W. Herz, et al. J. Amer. Chem. Soc. 84, 20601 (1962)
- 20) R. Toubiana et A. Gaudemer. Tetrahedron Letters 14, --
1333-6 (1967).
- 21) Martinez V.M.
Aislamiento y estructura del nuevo eleménolido Verafinina.
Tesis Profesional UNAM (1974).
- 22) P. Joseph-Nathan and E. Diaz. Org. Magn. Resonance, 3,
193 (1971).
- 23) Budzikiewicz H. Structure Elucidation of Natural Pro-
ducts by Mass Spectrometry. Holden-Day. N.Y. (1964).
- 24) Silverstein & Baseler.
Spectrometric Identification of Organic Compounds.
John Wiley & Sons Inc. N.Y. (1964).