

42
2ej



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO
FACULTAD DE CIENCIAS

**ESTUDIO FITOQUIMICO DE
ZALUZANIA TRILOBA**

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE :
B I O L O G O
P R E S E N T A :
AGUSTIN CASTRO RAMIREZ

MEXICO, D. F.

1993

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.

CONTENIDO

INTRODUCCION	1
ANTECEDENTES	4
PARTE EXPERIMENTAL	24
RESULTADOS	38
ESPECTROS	54
RESUMEN Y CONCLUSION	75
BIBLIOGRAFIA	78

INTRODUCCION

Desde tiempos muy antiguos el hombre ha observado el comportamiento de la naturaleza, con el fin de obtener una utilidad para su propio beneficio. Este tipo de conocimientos adquiridos empíricamente por nuestros antepasados, entre los cuales podemos mencionar la utilización de las plantas en la medicina tradicional, fue lo que dio la pauta para el desarrollo científico que actualmente constituye la medicina moderna.

En nuestro país, desde la época prehispánica abundan las referencias en códices donde se señala el nombre, uso y propiedades de un gran número de plantas, que eran utilizadas con fines curativos.

México, al igual que Centroamérica y partes de Sudamérica, se considera como una de las zonas florísticas más ricas del mundo, debido a su amplia variedad de condiciones climáticas y fisiográficas. Presenta zonas de clima árido y semiárido separadas unas de otras, así como de numerosas sierras y cadenas montañosas aisladas, que contribuyen a la formación de endemismos^{1,2}

La investigación científica y el aprovechamiento práctico de los conocimientos generados por ella durante las últimas décadas, han transformado a las sociedades humanas y al ambiente de manera notoria y sin precedentes³, sin embargo, el conocimiento de los diversos recursos naturales disponibles en el mundo es sólo parcial, y en el caso particular de la vegetación, conlleva al uso irracional del recurso y a la destrucción del mismo, lo que ha generado un grave desequilibrio ecológico⁴, que sólo se ha considerado recientemente.

Actualmente en México hay un gran número de especies de plantas en peligro de extinción por la depredación irracional de bosques, selvas, etc. Este desequilibrio ecológico generado por el hombre, debe ser evitado y solucionado por él mismo.

Una alternativa para resolver este problema sería la realización de estudios fitoquímicos sistemáticos de géneros de plantas, buscando con el aislamiento y caracterización de los productos naturales, la clasificación quimiotaxonómica de las plantas que nos permita un conocimiento más completo sobre ellas, ya que las estructuras de las sustancias de origen vegetal se encuentran frecuentemente relacionadas con la individualidad genética de las plantas^{5,6} y, puede servir de apoyo a la taxonomía morfológica.

Los estudios realizados sobre el reino vegetal, y en particular sobre los metabolitos secundarios, se enfocaron hacia la obtención de nuevos compuestos químicos, además, en las últimas décadas se han descubierto en ellos propiedades tan interesantes, que muchos investigadores en diversas partes del mundo, se han interesado en aquellos compuestos que presentan actividad biológica, entre las que pueden citarse, la actividad citostática⁷, antileucémica⁸, anticancerígena⁹, antimicrobial¹⁰, antihelmíntica¹¹, etc.

Teniendo en mente todas estas consideraciones se efectuó el estudio fitoquímico de *Zaluzania triloba*, con el objetivo de contribuir al conocimiento químico de la flora mexicana y, en particular, del género *Zaluzania*.

ANTECEDENTES

FAMILIA ASTERACEAE (COMPOSITAE)

Se ha observado que la cubierta vegetal de México es una de las más variadas de la Tierra, pues en su territorio están representados prácticamente todos los grandes biomas que se han descrito en la superficie de nuestro planeta.

Las plantas se han clasificado en diversas familias, una de las cuales es la familia de las compuestas.

Es la más vasta dentro de las fanerógamas, se encuentra más diversificada y mejor representada en el Norte y Centro de la República Mexicana. Esto se debe principalmente a factores ecológicos, pues el clima húmedo y caliente es el menos favorable para este grupo de plantas que alcanzan su máxima representación en sitios secos y en lugares frescos de las regiones montañosas. En México, la tribu Heliantheae forma el grupo dominante de la familia, prevaleciendo en zonas de clima templado y cálido¹². La familia de las compuestas esta constituida por hierbas, arbustos y árboles, con hojas alternas y opuestas, simples o divididas en forma diversa, sin estípulas, Las flores son hermafroditas, unisexuales o estériles, actinomorfas, con cáliz ausente o sustituido por el papus o vilano que sirve para la diseminación de los frutos. Las flores se encuentran en cabezuelas o capítulos. Estas poseen un involucre formado por brácteas, en receptáculo plano, convexo, o globoso sobre el que se encuentran implantadas las flores, protegidas por brácteas, llamadas páleas. Las cabezuelas pueden ser homógamas o heterógamas¹³.

La familia de las Compuestas está formada por 13 tribus, en donde cada una de éstas presenta diferentes subtribus, y de las cuales algunas no presentan grupos sino que se deriva inmediatamente el género.

TRIBUS DE LA FAMILIA DE LAS COMPUESTAS

VERNONIEAE	SENECIONEAE
EUPATORIEAE	CALENDULEAE
ASTEREAE	ARCTOTIDEAE
INULEAE	CYNAREAE
HELIANTHEAE	MUTISIEAE
HELENIEAE	CICHORIEAE
ANTHEMIDEAE	

SUBTRIBUS DE LA TRIBU HELIANTHEAE

MELAMPODIINAS Less	BAHIINAE Rydb
ZINIINAS B. Y B.	MEDIINAE B. y H.
ECLIPTINAE Less	GALIN SOGINAE H. y H.
VERBESININAE B. Y H.	NEUROLAENINAE (Rydb) Stuess
HELIANTHINAE Dumort	ENGEL MANIINAE Stuessy
GAILLARDIINAE Less	AMBROSIINAE Less
COREOPSISINAE Less	MILLERIINAE B. y H.
FITCHIINAE	

La subtribu Neurolaeninae (Rydb) Stuess no presenta grupos, pero sí nueve géneros, uno de los cuales es *Zaluzania* Pers, el cual contiene 12 especies.

Zaluzania Pers (COMPUESTAS)

Cabezuelas heterógamas, umbeladas, amarillas, agrupadas en el extremo de las ramas. Flores periféricas femeninas, uniseriadas, con las lígulas cortas, las flores del disco hermafroditas, tubulosas, 5-dentadas. Involucro anchamente acampanulado,

formado de varias series de brácteas membranosas en el margen, receptáculo cónico, anteras con la base obtusa. Plantas herbáceas perennes o subarborescentes, con las hojas alternas enteras o lobuladas

Zaluzania es un género pequeño confinado a México, con un sólo taxón disyunto conocido solamente en los alrededores de Quito, Ecuador¹⁴.

DISTRIBUCION DE LAS ESPECIES DEL GENERO *ZALUZANIA*

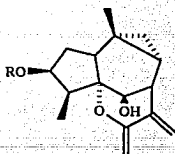
ESPECIE	MEXICO	ECUADOR
<i>Z. triloba</i>	*	
<i>Z. discoidea</i>	*	
<i>Z. megacephala</i> var. <i>megacephala</i>	*	
var. <i>coahuilensis</i>	*	
<i>Z. mollissima</i>	*	
<i>Z. subcordada</i>	*	
<i>Z. augusta</i> var. <i>augusta</i>	*	
var. <i>rzedowski</i>	*	
<i>Z. pringlei</i>	*	
<i>Z. montagnifolia</i>	*	
<i>Z. sodiroi</i>		*

De los once taxa sólo se ha descrito el estudio químico de cuatro especies¹⁵, que se encuentran resumidas en la tabla 1. Por lo que el estudio químico del género aún está incompleto.

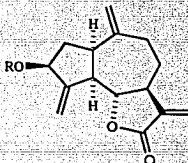
TABLA I

LACTONAS SESQUITERPENICAS DE ESPECIES DE *Zaluzania*

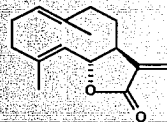
ESPECIE	zaluzanina				Costu- nólida	Ciclocos- tunólida	Epituli- pinólida	Lactona Dehidro- costus	Ivalina
	A	B	C	D					
	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)	(9)
<i>Z. triloba</i>			*	*				*	*
<i>Z. augusta</i>	*	*							
<i>Z. montagnifolia</i>	*	*			*	*			
<i>Z. pringlei</i>							*		



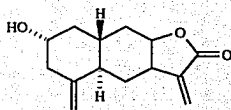
(1) R = H zaluzanina A
(2) R = Ac zaluzanina B



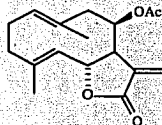
(3) R = H zaluzanina C
(4) R = Ac zaluzanina D



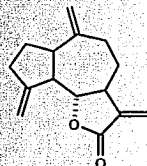
(5) costunólida



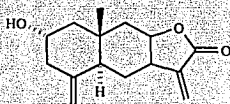
(6) ciclocostunólida



(7) epitulipinólida



(8) lactona
dehidrocostus



(9) ivalina

Zaluzania triloba (comúnmente llamada hierba amargosa) se encuentra en altitudes de 1500 a 2800 m; es una especie simpátrica con *Z. augusta* y *Z. mollissima* se encuentra asociada con *Larrea tridentata* y especies de *Acacia*, *Flourensia*, *Latropha*, *Opuntia*, *Verbesina* y *Viguiera*.

Esta especie ha sido considerada con varios nombres por diferentes autores:

Arthemis triloba Ort

Arthemis sinuata Lavalley y Lexarza

Acmella trilobata Spreng

Ailotheca parthenioides D.C.

Zaluzania robinsonii W. M. Sharp

Zaluzania parthenioides (D. C.) Rzedowski

Zaluzania triloba (Ort) Pers

Los tres últimos nombres fueron motivo de discusión porque se consideraron de especies diferentes, Sharp (1935) separó *Z. robinsonii* de *Z. triloba* en base a la pubescencia recta, hojas pronunciadamente divididas, diámetro de la cabeza y estriaciones del tallo. Rzedowski (1968) después de un estudio detallado de las características morfológicas comprobó que representan a la misma especie¹⁶, sin embargo, aceptó la especie de Sharp, pero propuso que era sinónimo con *Z. parthenioides* (D. C.) Pers.

Más tarde, basado en un estudio con material de herbario y en un extenso trabajo de campo sobre *Z. triloba*, Jhon Olsen (1979) concluye que es este último el nombre correcto para la especie, ya que los caracteres usados para separar estos taxa son completamente intermedios, trabajando con la misma población, las plantas que se desarrollan en el sol presentan características atribuidas a *Z. triloba*, mientras que las plantas que se desarrollan en la sombra pueden presentar características atribuidas a *Z. parthenioides*¹⁴.

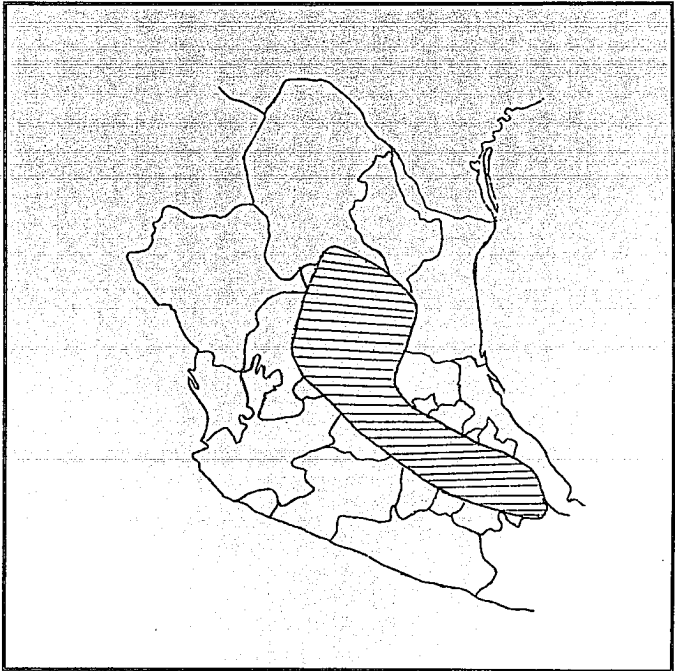
Zaluzania triloba (Ort.) Pers.

Hierba perenne de hasta 1 m de altura, uno o varios tallos leñosos, usualmente estriados. Raíces sin tubérculos suculentos. Hojas trilobuladas, altamente divididas, las hojas superiores miden de 1.8 a 3.0 cm de longitud y 1.4 a 2.1 cm de ancho, las hojas inferiores miden de 6.3 a 7.5 cm de longitud y 4.2 a 5.5 cm de ancho, los pecíolos superiores miden 1.5 cm de largo. Las cabezuelas miden de 0.8 a 1.4 cm de diámetro (incluyendo los rayos). Involucro 2-series, las brácteas lanceoladas. Las páleas oblanceoladas en el contorno, trífida. De 8 a 10 rayos florales, lígulas amarillas, 3 lóbulos. Las flores del disco son cerca de 75, amarillas, la corola mide 1.8 a 2.2 mm de longitud y 1.3 a 1.6 mm de ancho.

Esta especie forma parte de la medicina tradicional mexicana, en algunas regiones del país es utilizada la parte aérea de la planta en forma de té para aliviar males estomacales¹⁷. Se distribuye en casi toda la Meseta Central, desde el Sur de Coahuila hasta Puebla y Veracruz (equema 1).

ESQUEMA 1

DISTRIBUCION DE *Zaluzania triloba*



CLASIFICACION BOTANICA DE *Z. triloba*

REINO	VEGETAL
DIVISION	ESPERMATHOPHYTA
SUBDIVISION	ANGIOSPERMA
CLASE	DICOTILEDONEAE
ORDEN	ASTERALES
FAMILIA	ASTERACEAE
TRIBU	HELIANTHEAE
SUBTRIBU	NEUROLAENINAE
GENERO	<i>Zaluzania</i>
ESPECIE	<i>Z. triloba</i>

La especie *Z. triloba* fue estudiada químicamente por primera vez en 1967 por Romo de Vivar et al., quienes lograron aislar de la parte aérea de la planta y caracterizar dos guayanólidas^{18,19} zaluzanina C (3) y zaluzanina D (4). También aislaron la eudesmanólida ivalina (9), este último compuesto fue aislado por Herz²⁰ en 1962 de *Iva imbricata* Walt e *I. microcephala* Nutt. El aislamiento de ivalina de las especies de *Zaluzania* sugiere una interrelación entre los géneros *Zaluzania* e *Iva*.

En 1971 nuevamente Romo de Vivar y colaboradores estudiaron *Z. triloba* y lograron aislar de la raíz de esta planta la lactona dehidrocostus (8)²¹.

En el presente trabajo se aislaron terpenos, flavonoides y monosacáridos, por lo que a continuación se hará la descripción de las características químicas de estos compuestos orgánicos.

TERPENOS

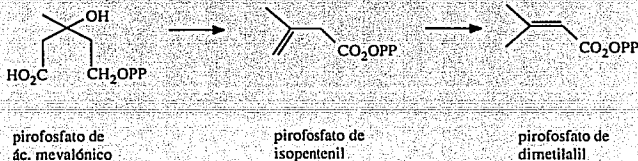
Los terpenos son metabolitos secundarios de los más ampliamente distribuidos e importantes que producen las plantas. Estos compuestos han enriquecido

singularmente la química orgánica por su variedad estructural, así como por sus propiedades químicas y características espectrales, además, en años recientes, los terpenos han revelado un papel biológico creciente e importante de algunos de sus miembros, tales como inhibición de la germinación²², actividad antitumoral²³, etc.

Por otro lado los terpenos son compuestos que Ruzicka^{24,25} supuso se derivaban de la unión "cabeza-cola" de moléculas de isopreno (2-metil-1,3-butadieno).



En la actualidad se sabe que en la naturaleza, los terpenos no se forman realmente a partir del isopreno, y que es el pirofosfato del ácido mevalónico²⁶ su verdadero precursor, el cual da origen a pirofosfatos de isopentenil y dimetilalil.



Los terpenos se clasifican²⁷ de acuerdo con el número de unidades de isopreno que contenga su molécula (esquema 2).

ESQUEMA 2

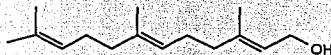
CLASE	No. DE UNIDADES	No. DE ATOMOS CARBONO
MONOTERPENOS	2	10
SESQUITERPENOS	3	15
DITERPENOS	4	20
SESTETERPENOS	5	25
TRITERPENOS	6	30
TETRATERPENOS	8	40
POLITERPENOS	n	Xn

Los diferentes tipos de terpenos mencionados anteriormente son metabolitos secundarios de plantas con excepción del grupo de sesteterpenos, debido a que estas sustancias se les ha encontrado en el insecto parásito *Ceroplastes albolineatus*²⁸.

SESQUITERPENOS

Los sesquiterpenos son productos naturales con 15 átomos de carbono formados por la unión de tres unidades de isopreno

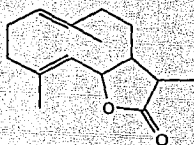
El sesquiterpeno más sencillo y al que se le considera precursor de los demás sesquiterpenos es el farnesol (10), sustancia con olor agradable que aunque no se encuentra en numerosas plantas, en aquellas que lo presentan está en pequeñas cantidades²⁹.



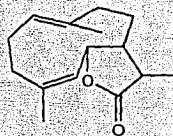
Las germacranólidas son el primer tipo de lactonas sesquiterpénicas que se forman a partir de la ciclización del pirofosfato de trans-farnesilo (esquema 3).

Estas sustancias son las más ampliamente distribuidas y más numerosas. Se puede entender el gran número de posibilidades tomando en cuenta la esteoquímica de las dobles ligaduras C-4 y C-1, C-10, lo que da cuatro diferentes tipos de compuestos.

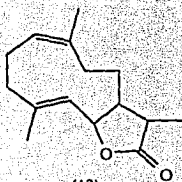
Si pensamos que en cada uno de los cuatro grupos se puede tener la lactona cerrada hacia C-6 ó C-8, tendremos ocho estructuras base, y si además pueden existir distintas funciones en cada uno de los quince carbonos, se tienen por lo tanto múltiples posibilidades estructurales.



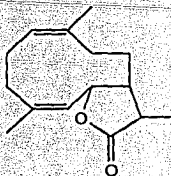
(11)



(12)



(13)



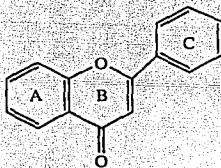
(14)

- | | |
|------------------------------|-------------------------------------------|
| 11.- GERMACRANOLIDAS | Ambas ligaduras trans. |
| 12.- HELIANGOLIDAS | Doble ligadura C-1, C-10 trans y C-4 cis. |
| 13.- MELAMPOLIDAS | Doble ligadura C-1, C-10 cis y C-4 trans. |
| 14.- CIS,CIS-GERMACRANOLIDAS | Ambas dobles ligaduras cis. |

FLAVONOIDES

Los flavonoides se encuentran distribuidos en casi todo el reino vegetal, presentándose en casi todos los órganos de las plantas, pero particularmente en hojas y flores³⁰.

Los flavonoides son compuestos heterocíclicos que tienen como núcleo base la 2-fenil-4-benzopirona (15).

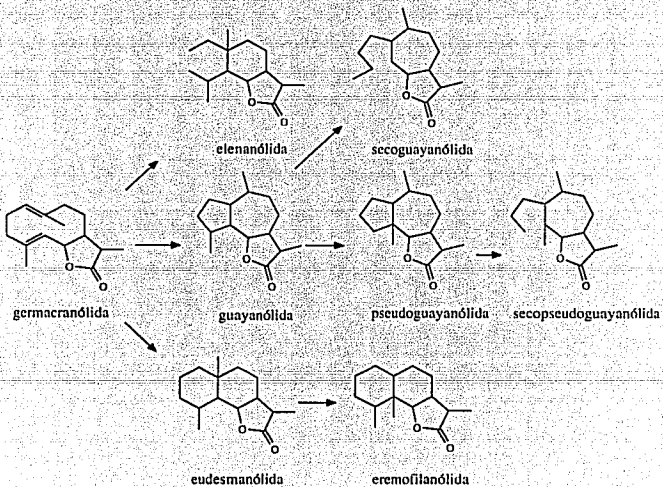


(15)

Los flavonoides están biogénicamente formados por una cadena de seis átomos de carbono, originada por la unión "cabeza-cola" de tres unidades de malonil-CoA (16) y de p-cumaril-CoA (17) derivado del ácido shikímico (18), formando el intermediario (19) que da origen al par isomérico chalcona (20)-flavanona (21), el cual puede sufrir posteriores transformaciones tales como transposiciones, alquilaciones y ciclizaciones, que son las que determinan la amplia diversidad estructural de los cientos de flavonoides conocidos hasta el presente³¹ (esquema 4).

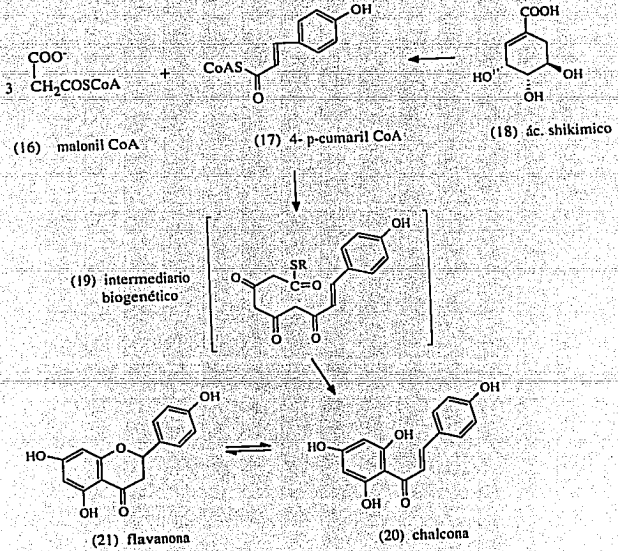
ESQUEMA 3

RELACIONES BIOGENÉTICAS ENTRE LAS DIFERENTES ESTRUCTURAS DE LACTONAS SESQUITERPÉNICAS



ESQUEMA 4

BIOSINTESIS DE FLAVONOIDES

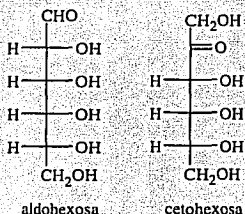


Probablemente el primer dato de actividad fisiológica descrita para los flavonoides fue el de Koike³² en 1931, en el que mostró evidencia experimental de que estos compuestos presentan actividad diurética. Otras actividades biológicas de los flavonoides son antidiarreica³³, antimicrobiana¹⁰, etc..

CARBOHIDRATOS

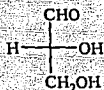
Los carbohidratos son polihidroaldehydos, polihidroicetonas o compuestos que por hidrólisis, se convierten en aquéllos. Un carbohidrato que no es hidrolizable a compuestos más simples se denomina MONOSACARIDO. Un carbohidrato que por hidrólisis da dos moléculas de monosacárido se llama disacárido, mientras que el que da muchas moléculas de monosacárido por hidrólisis se conoce como polisacárido.

Un monosacárido se puede clasificar en diferentes formas : si contiene un grupo aldehído, es una aldosa; si contiene una función cetona, es una cetosa. Según el número de átomos de carbono que contenga, el monosacárido se conoce como triosa, tetrosa, pentosa, hexosa, y así sucesivamente. Una aldohexosa, por ejemplo, es un monosacárido de seis carbonos con un grupo aldehído, mientras que una cetohexosa tiene seis átomos de carbono con un grupo cetónico. La mayoría de los monosacáridos naturales son pentosas o hexosas, activos ópticamente (con excepción de la cetotriosa).

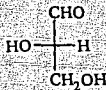


Los diferentes tipos de azúcares son moléculas quirales que existen como estereoisómeros, guardan una relación enantiomérica o diastereomérica entre sí. Si son enantiómeros, un miembro del par gira el plano de la luz polarizada hacia la derecha (+), mientras que el otro lo hace hacia la izquierda (-).

Los monosacáridos se relacionan con un compuesto de referencia, el gliceraldehído, que tiene una forma D y una L. Sin embargo, como poseen dos o más centros quirales, los prefijos D y L se emplean para referirse a la configuración del carbono quiral más distante del átomo de carbono carbonílico.

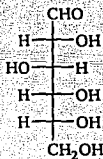


D-gliceraldehído

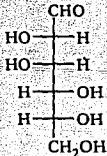


L-gliceraldehído

Cuando dos azúcares difieren solamente en la configuración de un átomo asimétrico, reciben el nombre de epímeros entre sí. La D-glucosa y la D-manosa son epímeros con respecto al átomo de carbono 2.



D-glucosa



D-manosa

Los monosacáridos con cinco o más átomos de carbono en su esqueleto habitualmente en disolución se encuentran en forma cíclica o anular en equilibrio con la forma lineal, en las estructuras cíclicas el grupo carbonilo no se halla en forma libre, sino

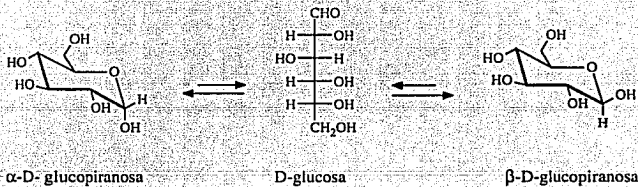
que ha formado un enlace covalente con uno de los grupos oxhidrilo situados a lo largo de la cadena.

Las dos formas anulares de la D-glucosa presentan propiedades diferentes. Si la D-glucosa se cristaliza de disolución acuosa, se obtiene la llamada α -D-glucopiranososa cuya rotación específica es $[\alpha]_D^{20} = +112.2^\circ$. Si la glucosa se cristaliza de piridina se obtiene β -D-glucopiranososa, cuya $[\alpha]_D^{20} = +18.7^\circ$. Las dos formas tienen idéntica composición química. A partir de varias consideraciones químicas se ha deducido que los dos isómeros α y β de la D-glucosa presentan la estructura base de un heterociclo de seis miembros nombrado pirano por lo que estas estructuras reciben el nombre de piranosas.



Cuando se disuelve en agua la α -D-glucopiranososa, su rotación específica varía gradualmente con el tiempo y alcanza un valor estable de 52.7° , cuando se trata de modo análogo la β -D-glucopiranososa, alcanza en último término el mismo valor. Este cambio, que se llama mutarrotación, consiste de una mezcla en equilibrio que está constituida por aproximadamente 36 % de α -D-glucopiranososa, 63.5 % de β -D-glucopiranososa y 0.5 % del compuesto de cadena lineal. Por lo tanto, los isómeros α y β de la glucopiranososa son interconvertibles en disolución acuosa.

La formación de anillos de piranososa es el resultado de una reacción general entre aldehídos y alcoholes para formar los derivados llamados hemiacetales, en los cuales el átomo de carbono del carbonilo se ha transformado en asimétrico y, por ello, pueden existir los hemiacetales en dos formas estereoisómeras.

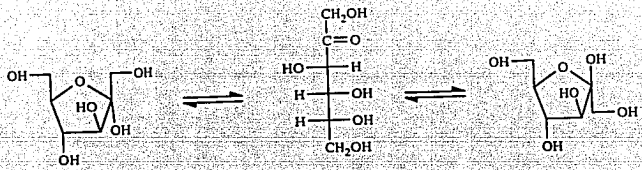


La D-glucopiranososa es un hemiacetal intramolecular, en el que el grupo oxhídrico libre del átomo de carbono 5 de la D-glucosa ha reaccionado con el átomo de carbono 1 de tipo aldehídico, determinando que éste se convierta en asimétrico. Por tanto, las dos formas diastereoisoméricas de la D-glucopiranososa difieren entre sí en la configuración alrededor del átomo de carbono hemiacetalítico, nombrado anomérico.

Las aldohexosas pueden existir también, en formas cíclicas de anillos de cinco miembros, debido a que tales anillos se parecen al furano, reciben el nombre de furanosas.



Las cetohexofuranosas aparecen también en formas anoméricas α y β , el grupo oxhídrico del átomo de carbono 5 reacciona con el grupo carbonilo (átomo de carbono 2) y forman un anillo de tetrahidrofuranosa conteniendo un enlace hemiacetalítico, por ejemplo, la D-fructosa forma dos furanosas, la α -D fructofuranosa y la β -D-fructofuranosa³⁴.



α -D-fructofuranosa

D- fructosa

β -D-fructofuranosa

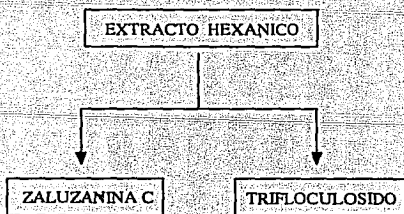
PARTE EXPERIMENTAL

La pureza de los productos y el desarrollo de las reacciones se siguió por cromatografía de capa fina usando cromatofolios de gel de sílice Merck F-254 y como revelador sulfato cérico al 1 % en H_2SO_4 2N. Para las cromatografías en columna se utilizó gel de sílice para cromatografía en capa Kieselgel-G. Los puntos de fusión fueron determinados en un aparato Fisher Jones y no se corrigieron. La rotación óptica se determinó en un polarímetro digital Perkin-Elmer modelo 241. Los espectros de IR se determinaron en un espectrofotómetro Perkin-Elmer modelo 2883 o en un Nicolet FTS-5X. Los espectros de masas se obtuvieron en un aparato Hewlett Packard 5985-B, mediante la técnica de impacto electrónico (EMIE), a 70 eV. Los espectros de RMN de 1H se realizaron en un aparato Varian FT-80 A, Varian Gemini-200 A y Varian XR-300 A. Los espectros de ^{13}C se determinaron en los aparatos Varian Gemini-200 a 50.3 MHz y Varian XR-300 a 75.4 MHz. Los desplazamientos químicos se dan en ppm, en unidades δ , con respecto al TMS. Los valores de las constantes de acoplamiento están dados en Hz. De acuerdo al tipo de señal, los símbolos empleados en la descripción de ellas son : s = singulete, sa = singulete ancho, d = doblete, dd = doblete de dobletes, t = triplete, tt = triplete de tripletes y m = multiplete.

La planta *Zaluzania triloba* (Ort.) Pers, se recolectó 3 Km adelante de Actopan Hidalgo, sobre la Carretera Federal 85, y la identificó la Bióloga Bertha Sánchez.

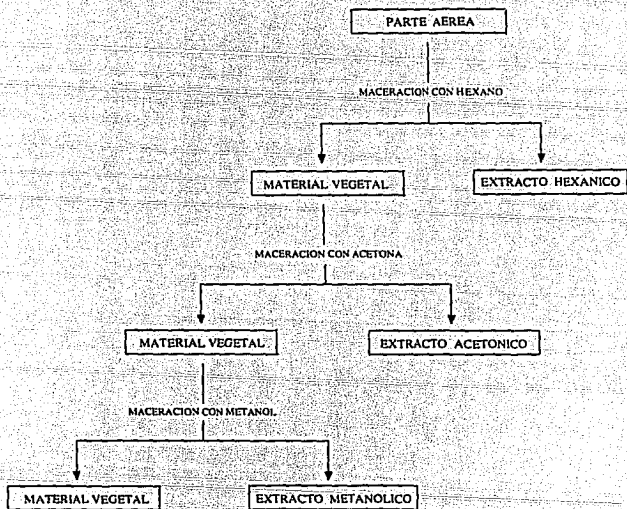
El material vegetal se dejó secar a temperatura ambiente, el peso de la parte aérea de la planta seca y molida fue de 925.3 g, esta cantidad se sometió a un proceso de maceración con hexano en una columna de vidrio, después se eliminó el disolvente y se obtuvieron 17.5 g de extracto hexánico. Se efectuó una maceración con acetona, se eliminó el disolvente obteniéndose 49.19 g de extracto. Por último, el material vegetal se maceró con metanol, se obtuvieron 78.03 g de extracto (esquema 5).

El extracto de hexano (17.5 g) se purificó por cromatografía en columna, eluida con hexano al 100 %, la polaridad del eluyente se aumentó gradualmente con AcOEt hasta llegar al 100 % de este último.



De las fracciones 57 a 61 eluidas con hexano-AcOEt (7:3) se obtuvo un sólido blanco (425.8 mg), el cual se purificó por recristalización con hexano-AcOEt, p.f. 90-2 °C. Se identificó como zaluzanina C (3).

ESQUEMA 5



EXTRACCION DE LA PARTE AEREA DE *Zuluzaia triloba*

EM m/z (abundancia relativa) : 246 $[M]^+$ (8.7), 288 $[M-H_2O]^+$ (8.7), 213 $[228-CH_3]^+$ (5.0).

IR ($CHCl_3$) $\nu_{\text{máx. cm}^{-1}}$: 3596 (oxhídrido), 1761 (carbonilo de γ -lactona), 1639 y 906 (dobles ligaduras).

RMN de 1H ($CDCl_3$), δ : 6.15 (1H, d , $J=3.0$ Hz, H-13a), 5.50 (1H, t , $J=1.0$ Hz, H-15b), 5.45 (1H, t , $J=1.0$ Hz, H-15a), 5.35 (1H, d , $J=3.0$ Hz, H-13b), 5.00 (1H, s , H-14a), 4.90 (1H, s , H-14b), 4.50 (1H, ll , $J=1.0, 8.0$ Hz, H-3), 4.10 (1H, t , $J=9.0$ Hz, H-6).

Las fracciones 55 a 56, 62 a 69 y aguas madres de zaluzanina C se reunieron y purificaron por cromatografía en columna, eluyendo con hexano-AcOEt (13:7); se obtuvo zaluzanina C (90.1 mg). Las fracciones 6 a 13 mostraron, por cromatografía en capa fina, estar formadas por una mezcla de dos compuestos, estos fueron separados por cromatografía en placa preparativa de gel de sílice. Se eluyó cuatro veces con hexano-AcOEt (13:7); el compuesto más polar fue zaluzanina C (52.9 mg), el compuesto menos polar fue un aceite (42.1 mg) identificado como trifloculósido (22).

EM m/z (abundancia relativa) : 248 $[M]^+$ (0.3), 230 $[M-H_2O]^+$ (2.5), 215 $[230-CH_3]^+$ (0.3).

IR ($CHCl_3$) $\nu_{\text{máx. cm}^{-1}}$: 3601 (oxhídrido), 1760 (carbonilo de γ -lactona), 1662 y 901 (dobles ligaduras).

RMN de 1H ($CHCl_3$), δ : 6.15 (1H, d , $J=3.0$ Hz, H-13a), 5.42 (1H, d , $J=3.0$ Hz, H-13b), 5.13 (1H, sa , H-15-a), 4.95 (1H, sa , H-15-b), 4.0 (1H, t , $J=9.0$ Hz, H-6), 3.15 (1H, m , H-7), 1.2 (3H, s , H-14).



De las fracciones 22 a 30 eluidas con hexano-AcOEt (17:3), se obtuvieron por recrystalizaciones sucesivas con hexano-AcOEt, 5.64 g de zaluzanina C (3) y el residuo remanente (358.2 mg) quedó formado por la mezcla de zaluzanina C (3) y trifloculósido (22).

Las fracciones 35 a 42 eluidas con hexano-AcOEt (17:3) se purificaron por cromatografía en columna, de los eluatos hexano-Me₂CO (4:1), se obtuvo por recrystalizaciones sucesivas con hexano-AcOEt, un sólido amarillo (64.1 mg), p.f. 95-8 °C, que se identificó como jaceidina (23).

EM m/z (abundancia relativa) : 360 [M]⁺ (100), 345 [M-CH₃]⁺ (64.2), 317 [345-CO]⁺ (42.5).

IR (CHCl₃) ν máx.cm⁻¹: 3507 (oxhidrilo), 1657 (carbonilo de γ-pirona).

RMN de ¹H (CDCl₃), δ : 10.75 (1H, s, C5-OH), 8.7 (1H, señal ancha, OH), 7.7 (1H, d, J= 2.0 Hz, H-2'), 7.57 (1H, dd, J= 2.0, 9.0 Hz, H-6'), 6.95 (1H, d, J= 9.0 Hz, H-5'), 6.5 (1H, s, H-8), 3.96 (3H, s, OMe), 3.94 (3H, s, OMe), 3.85 (3H, s, OMe).

De las fracciones 90 a 103 eluyendo con hexano-AcOEt (13:7), después de sucesivas cromatografías en columna, se aisló un sólido amarillo (9.2 mg) p.f. 123-7 °C, que fue identificado como axillarina (24).

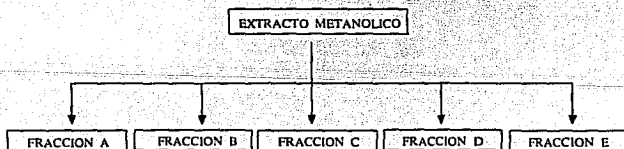
EM m/z (abundancia relativa) : 346 [M]⁺ (100), 331 [M-CH₃]⁺ (34.2), 328 [M-H₂O]⁺ (15.0), 313 [328-CH₃]⁺ (8.7).

IR (Nujol) $\nu_{\text{máx}}$ cm⁻¹ : 3406 (oxhídrico), 1650 (carbonilo de γ -pirona).

RMN de ¹H (CDCl₃), δ : 10.8 (1H, s, C₅-OH), 8.75 (1H, señal ancha, OH), 7.65 (1H, d, J= 2.0 Hz, H-2'), 7.55 (1H, dd, J= 2.0, 8.0 Hz, H-6'), 6.95 (1H, d, J= 8.0 Hz, H-5'), 6.5 (1H, s, H-8), 3.94 (3H, s, OMe), 3.85 (3H, s, OMe).

Las fracciones 104 a 114 eluyendo con hexano-AcOEt (2:3) se reunieron con las aguas madres de axillarina, se obtuvieron después de sucesivas cromatografías en columna, 11 mg de axillarina (24).

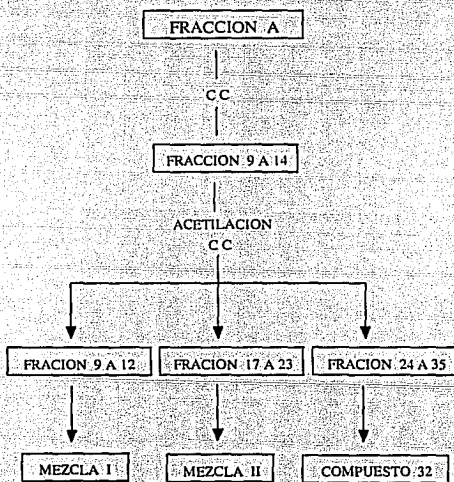
El extracto de metanol (78.03 g) se purificó por cromatografía en columna, eluyéndose con CHCl₃-MeOH (4:1), la polaridad del eluyente se aumentó gradualmente con MeOH hasta llegar al 100 % de este último.



El análisis por cromatografía de capa fina de las fracciones obtenidas indicó que algunas de ellas contenían compuestos en común, por lo que cuando fue necesario se reunieron, estas fracciones son : 6, 7 a 18, 19 a 23, 24 a 27 y 28 a 50, que se denominaron A, B, C, D y E, respectivamente. De estas fracciones se obtuvieron dos compuestos puros y varias mezclas complejas que se nombraron como I, II, III, IV, V, VI y VII. Todos estos

compuestos se determinaron por su análisis espectroscópico de IR, EM, RMN de ^1H y RMN de ^{13}C y se describen más adelante.

La fracción A (861.2 mg) se analizó por cromatografía en columna, eluyendo con $\text{CH}_2\text{Cl}_2\text{-MeOH}$ (4:1), de esta cromatografía se reunieron las fracciones 9 a 14 por mostrar el mismo R_f y se acetilaron.



ACETILACION DE LAS FRACCIONES 9 A 14

Las fracciones 9 a 14 (253.8 mg) se acetilaron con 2 ml de anhídrido acético y 2 ml de piridina, dejándose a temperatura ambiente, el curso de la reacción se siguió por cromatografía en capa fina. Una vez concluida la reacción se agregó agua. La mezcla de

acetilación se extrajo con AcOEt, la fase orgánica se lavó con una solución acuosa de ácido clorhídrico al 10 %, con una solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio, con agua, se secó con sulfato de sodio anhidro y se concentró. La mezcla se purificó por cromatografía en columna, eluyendo con hexano-AcOEt (7:3) y se reunieron las fracciones 9 a 12, 17 a 23 y 24 a 35. De las fracciones 9 a 12 se obtuvieron 31.1 mg de un líquido aceitoso al que se le llamó mezcla I, que está formada por: α -D-fructofuranosa peracetilada (25), β -D-fructofuranosa peracetilada (26), α -D-glucopiranososa peracetilada (27), β -D-glucopiranososa peracetilada (28) y D-fructosa peracetilada (29). La mezcla I presentó las siguientes características espectroscópicas.

EM m/z (abundancia relativa) : 331 [M-AcO]⁺ (1.2), 317 [M-CH₂OAc]⁺ (3.6), 289 [331-CH₂CO]⁺ (1.2), 275 [317-CH₂CO]⁺ (18.3), 43 [C₂H₃O]⁺ (100)

IR (CHCl₃) ν máx. cm⁻¹ : 1750 (carbonilo de acetato).

Las fracciones 17 a 23 (44.3 mg) por cromatografía en columna, eluyendo con hexano-AcOEt (3:2), dieron varias fracciones, al reunir las que tenían el mismo R_f se obtuvieron 16.2 mg de la mezcla II, aceite, constituida por α -D-fructofuranosa (30) y β -D-fructofuranosa (31) y cuya espectroscopía es la siguiente :

EM m/z (abundancia relativa) : 275 [M-CH₂OAc]⁺ (2.3), 233 [275-CH₂CO]⁺ (1.2), 215 [275-AcOH]⁺ (5.0), 43 [C₂H₃O]⁺ (100).

IR (película) ν máx. cm⁻¹ : 1744 (carbonilo de acetato), 3460 (oxhidrilo).

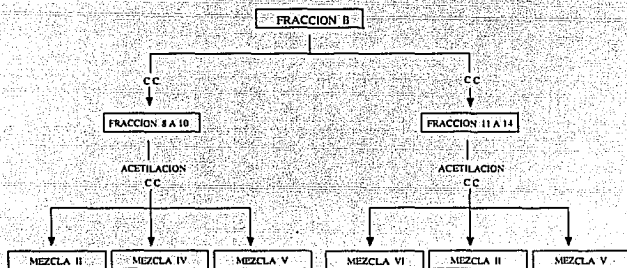
De las fracciones 24 a 35 por cromatografía en columna, eluyendo con hexano-AcOEt (3:2), se aisló un sólido blanco (11.8 mg), p.f. 124-26 °C, que cristalizó con hexano-AcOEt, fue identificado como β -D-fructopiranososa tetracetilada (32).

EM m/z (abundancia relativa) : 331 [M]⁺ (0.1), 275 [M-CH₂OAc]⁺ (1.0), 216 [275-AcO]⁺ (0.1), 157 [216-AcO]⁺ (0.4), 43 [C₂H₃O]⁺ (100).

IR (CHCl₃) v máx. cm⁻¹ : 1745 (carbonilo de acetato), 3500 (oxhidrilo).

[α]_D = -82.33° (CHCl₃).

La fracción B (7 a 18 de la cromatografía original), se purificó por cromatografía en columna, eluyendo con CH₂Cl₂-MeOH (4:1) y se obtuvieron las fracciones 8 a 10 y 11 a 14 por mostrar el mismo R_f al ser analizadas por cromatografía en capa fina. Estas fracciones fueron acetiladas.



ACETILACION DE LAS FRACCIONES 8 A 10

Las fracciones 8 a 10 (10.8296 g) se acetilaron con 5 ml de anhídrido acético y 5 ml de piridina. La mezcla de reacción se trabajó de la manera descrita anteriormente y el residuo se purificó por cromatografía en columna eluyendo con hexano-AcOEt (3:2) y se obtuvieron tres residuos :

El primero (20 mg) contiene a los compuestos de la mezcla II. El segundo, un aceite, se denominó mezcla IV (120.5 mg) que está formada por los compuestos 25 a 28, y presenta la siguiente espectroscopía :

EMIQ m/z (abundancia relativa) : 389 [M-1]⁺ (0.1), 331 [M+1-AcOH]⁺ (100), 317 [M-CH₂OAc]⁺ (11.5), 275 [M+1-CH₂OAc-CH₃CO]⁺ (57.6), 211 [M+1-3AcOH]⁺ (65.5)

IR (película) $\nu_{\text{máx}}$, cm⁻¹ : 1750 (carbonilo de acetato).

El tercer residuo, se denominó mezcla V (41.2 mg), un sólido blanco, p.f. 123-25 °C, el cual cristalizó con hexano-AcOEt y corresponde a los compuestos 30 a 32, sus datos espectroscópicos son :

EM m/z (abundancia relativa) : 275 [M-CH₂OAc]⁺ (0.1), 233 [275-CH₂CO]⁺ (0.1), 215 [275-AcOH]⁺ (0.1), 43 [C₂H₃O]⁺ (100)

IR (CHCl₃) $\nu_{\text{máx}}$, cm⁻¹ : 1745 (carbonato de acetato), 3572 (oxhidrilo).

ACETILACION DE LAS FRACCIONES 11 A 14

Las fracciones 11 a 14 (5.8772 g) se acetilaron de la manera ya descrita con 5 ml de anhídrido acético y 5 ml de piridina. El residuo de acetilación se purificó por cromatografía en columna eluida con hexano-AcOEt (3:2), se obtuvieron tres mezclas :

La primera, mezcla VI (322.6 mg) fue un sólido blanco, p.f. 130-32 °C, que cristalizó con hexano-AcOEt, contiene los compuestos 27 y 28.

EM m/z (abundancia relativa) : 331 [M-AcO]⁺ (0.1), 317 [M-CH₂OAc]⁺ (0.1), 43 [C₂H₃O]⁺ (100).

IR (película) $\nu_{\text{máx}}$, cm⁻¹ : 1745 (carbonilo de acetato).

La segunda, correspondió a la mezcla II (119.7 mg) y la tercera, presentó los mismos compuestos que la mezcla V (56.0 mg).

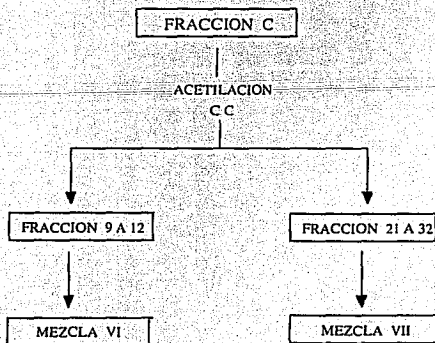
Las fracciones C, D y E no se recromatografiaron, sino que se acetilaron directamente.

ACETILACION DE LA FRACION C (19 A 23)

La fracción C (6.3454 g) se acetiló con 5 ml de anhídrido acético y 5 ml de piridina. Una vez concluida la reacción la mezcla se purificó por cromatografía en columna eluyendo con hexano-AcOEt (7:3), se obtuvieron las fracciones 9 a 12, y 21 a 32, de las primeras se obtuvo la mezcla VI (174.9 mg) y de las fracciones 21 a 32 la mezcla VII (63.3 mg) formada por los compuestos 30, 31 y α -D-glucopiranos tetraacetilada (33), sus datos espectroscópicos son los siguientes :

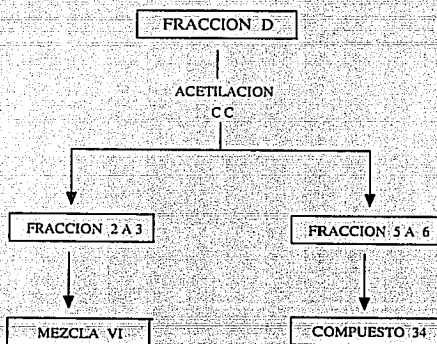
EM m/z (abundancia relativa) : 331 $[M-HO]^+$ (0.1), 275 $[M-CH_2OAc]^+$ (1.2), 215 $[275-AcOH]^+$ (1.5), 43 $[C_2H_3O]^+$ (100).

IR (CH_3Cl) ν max, cm^{-1} : 1750 (carbonilo de acetato), 3400 (alcohol).



ACETILACION DE LA FRACCION D (24 A 27)

La fracción D (4.1590 g) se acetiló con 5 ml de anhídrido acético y 5 ml de piridina de la forma mencionada con anterioridad. La mezcla de acetilación se purificó por cromatografía en columna eluyendo con hexano-AcOEt (7:3). Se obtuvieron las fracciones 2 y 3 (32.9 mg de la mezcla VI.) y las fracciones 5 y 6 que es un sólido blanco (305.6 mg), p.f. 84-6 °C, se identificó como sacarosa peracetilada (34), la cual cristalizó en metanol.

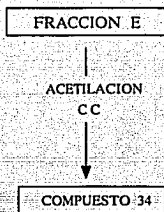


EM m/z (abundancia relativa) : 331 [M-AcO]⁺ (13.7), 211 [331-3AcOH]⁺ (11.0), 43 [C₂H₃O]⁺ (100).

IR (CHCl₃) ν máx. cm⁻¹ : 1748 (carbonilo de acetato).

ACETILACION DE LA FRACCION E (28 A 50)

La fracción E (13.0241 g) se acetiló de la manera usual con 5 ml de anhídrido acético y 5 ml de piridina. La mezcla de acetilación se purificó por cromatografía en columna eluída con hexano-AcOEt (7:3), se obtuvieron 286.3 mg del compuesto 34.



ACETILACION DE LA MEZCLA II

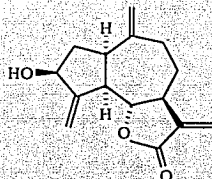
La mezcla II (20 mg) se acetiló con 0.2 ml de anhídrido acético y 0.2 ml de piridina. La mezcla de acetilación se purificó por cromatografía en columna eluyendo con hexano-AcOEt (7:3). Se obtuvo un aceite, mezcla III (9.1 mg).

ACETILACION DE LA MEZCLA VII

La mezcla VII (11.7 mg) se acetiló con 0.2 ml de anhídrido acético y 0.2 ml de piridina. El residuo de acetilación se purificó por cromatografía en columna eluyendo con hexano-AcOEt (7:3). Se obtuvo un aceite, mezcla IV (3.1 mg).

RESULTADOS

Del extracto hexánico se aislaron dos compuestos, el más polar es un sólido blanco cristalino de p.f. 90-2 °C que en EM presenta un ión molecular de m/z 246 concordante con una fórmula molecular $C_{15}H_{18}O_3$. En RMN de 1H (espectro 1) presenta dos dobletes en 6.15 y 5.35 ($J=3$ Hz) ppm asignados a los protones de un metileno exocíclico conjugado con una γ -lactona, esta función se comprueba por las bandas en 1761 y 1639 cm^{-1} presentes en su espectro de IR (espectro 2). También en el espectro de RMN de 1H se observan un par de señales anchas parcialmente sobrepuestas en 5.45 y 5.50 ($J=1$ Hz) ppm se asignan a los protones de un metileno exocíclico unido a C-4 que presentan interacción alílica con H-5 y H-3. este último proton da lugar a un triplete de tripletes en 4.5 ($J=1,8$ Hz) ppm. El desplazamiento químico de la señal de H-3 es concordante con su posición alílica y el efecto paramagnético ocasionado por el grupo oxhídrido unido a C-3. La función alcohol se comprueba por la banda en 3596 cm^{-1} presente en el espectro de IR. En el mismo espectro de RMN de 1H se observan dos singuletes en 5.0 y 4.9 ppm, que por su desplazamiento se asignan a los protones de un tercer metileno vinílico exocíclico el cual se encuentra unido a C-10. También se observa una señal triple en 4.1 ($J=9$ Hz) ppm que se asigna al proton del cierre lactónico (H-6). La multiplicidad y constante de acoplamiento indican que H-6 se encuentra interaccionando con dos protones, H-5 y H-7 de manera *anti*. Por otra parte, las constantes de acoplamiento de los protones 13 ($J=3$ Hz) inducen a suponer un cierre lactónico *trans*¹⁹. Después de realizar una comparación con una muestra original y con los datos espectroscópicos descritos en la literatura^{17,18}, se identificó como zaluzanina C (3).



zaluzanina C

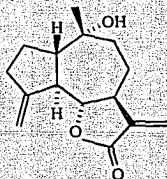
La zaluzanina C es una guaianólida que se utiliza como marcador quimiotaxonómico del género *Zaluzania*, además, presenta una alta actividad biológica, sus propiedades se han puesto de manifiesto en varios trabajos descritos en la literatura. Domínguez, X. (1975)¹⁷ y Yabuta, G. (1978)¹⁵ han descrito propiedades citotóxicas de esta guaianólida.

Recientemente se realizó en el Departamento de Bioquímica, Facultad de Química, un estudio con zaluzanina C para conocer su capacidad de inhibición de la fotosíntesis, ya que las sustancias que presentan esta actividad, como los herbicidas, son las más estudiadas por diferentes razones, una de ellas es su baja toxicidad en mamíferos. Se estudió el efecto de la zaluzanina C sobre el transporte de electrones que intervienen en la fotosíntesis y los resultados indican que es un típico inhibidor de esta función, en donde participan dos eventos acoplados, el fotosistema II y el fotosistema I que forman en serie un reductor fuerte más electronegativo, comparado con el NADP^+ y por lo tanto, capaz de reducirlo a $\text{NADPH} + \text{H}^+$. Este evento ocurre en la reacción de Hill³⁵.

Para conocer el sitio de inhibición de zaluzanina C, los fotosistemas I y II fueron medidos en presencia de esta sustancia, la actividad del fotosistema I con 2,3,5,6-tetrametil-p-fenilndiamina (DAD) no fue afectada por zaluzanina C, sin embargo, se inhibió el desacoplamiento del transporte de electrones del fotosistema II.

Para determinar el sitio de inhibición del transporte de electrones entre H_2O y plastoquinona (Q_n), el flujo de electrones fue medido de difenilcarbazida (DCP) a diclorofenol-indofenol (DCIP), los resultados muestran que en este espacio el transporte de electrones no fue afectado por la zaluzanina C y, además indican que inhibe la reacción de Hill al intervenir en la ruta de H_2O a P 680, por lo tanto, inhibe la síntesis de ATP y en consecuencia afecta la evolución del oxígeno³⁶.

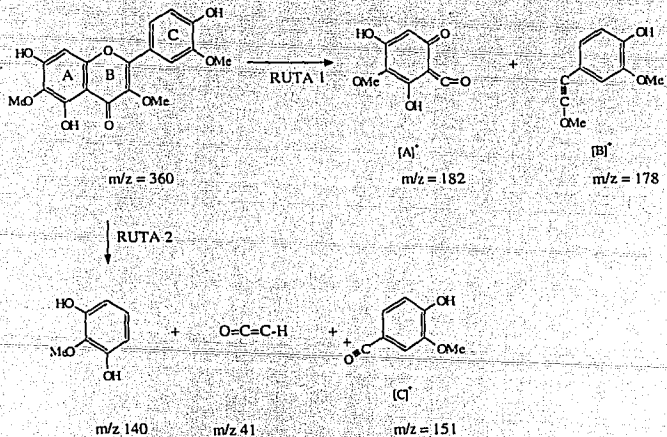
El compuesto menos polar obtenido del extracto hexánico presenta una consistencia de aceite y corresponde a otra guayanólida. En espectroscopía de masas presenta un ión molecular m/z 248 que corresponde a una fórmula de $C_{15}H_{20}O_3$. En el espectro de RMN de 1H (espectro 3) se observan un par de dobletes en 6.15 y 5.42 ($J=3$ Hz) ppm que se asignan a los protones del metileno exocíclico de la γ -lactona- α,β -no saturada, misma que se detectó en el espectro de IR (espectro 4) por la banda intensa en 1760 cm^{-1} . También en el espectro de RMN de 1H se observan un par de singuletes anchos en 5.13 y 4.95 ppm que se asignan a los protones del metileno vinílico unido a C-4. Por su parte, H-6 da lugar a una señal triple en 4.0 ($J=9$ Hz) ppm y al igual que en zaluzanina C se propone una orientación β para este hidrógeno con una relación *anti* con H-5 y H-7. En el mismo espectro se observa un singulete en 1.2 ppm que integra para tres protones, se asigna al metilo unido a C-10 y por su desplazamiento se infiere que se encuentra gem a una función oxigenada. Al realizar la comparación de los datos espectroscópicos con los descritos en la literatura³⁷ este compuesto se identificó como trifloculósido (22).



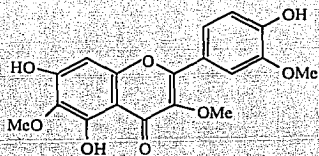
trifloculósido

Del extracto de acéona, además de obtener las dos guayanólidas antes mencionadas, se obtuvieron dos flavonas. La primera de ellas fue un sólido amarillo de p.f. 95-8 °C. El espectro de RMN de ^1H (espectro 5) presenta un singulete en 10.75 ppm y una señal ancha en 8.7 ppm que se asignan a los protones de grupos fenoles, esto se corrobora en el espectro de IR (espectro 6) que presenta la banda típica del grupo oxhídrico en 3507 cm^{-1} , también se observa en 1657 cm^{-1} la banda que caracteriza al carbonilo de γ -pirona. En RMN de ^1H presenta una señal doble de doble en 7.57 ($J=2.9, 9\text{ Hz}$) ppm que se asigna a H-6' el cual se encuentra interaccionando con H-2' y H-5', estos últimos protones dieron lugar a dos dobletes en 7.7 ($J=2\text{ Hz}$) y 6.95 ($J=9\text{ Hz}$) ppm, respectivamente. Asimismo, se observa un singulete en 6.5 ppm, señal asignada a H-8 del anillo A. Finalmente, se observan tres singuletes en 3.96, 3.94 y 3.85 ppm que integran cada uno para tres protones y se asignan a metilos de grupos metóxilos. En espectrometría de masas mostró un ión molecular de $m/z\ 360$ concordante con una fórmula molecular de $\text{C}_{18}\text{H}_{16}\text{O}_8$. Por su patrón de fragmentación se logró asignar gran parte de la estructura molecular, ya que presenta fragmentación típica de compuestos flavonoides tales como la reacción Retro Diels Alder³⁸. Así, el ión $m/z\ 182$ se asigna al fragmento [A]⁺ lo que induce a suponer la presencia de dos grupos oxhídrico y un metóxilo como sustituyentes, esto se corrobora con el ión $m/z\ 167$ que corresponde a la pérdida de un grupo CH_3 . Por otra parte, el ión $m/z\ 178$ se asigna al fragmento [B]⁺ y debido a la pérdida de un metilo

se observa el ión m/z 163 que sugiere la presencia de dos grupos metóxilos y un oxihídrido en este fragmento. Finalmente, el fragmento $[C]^+$ con m/z 151 presenta un metóxilo, lo cual se corrobora con la pérdida de quince unidades dando origen al ión m/z 136.

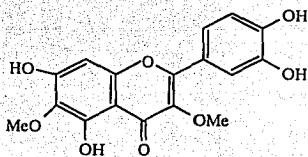


Después de realizar una comparación de datos espectroscópicos con los descritos en la literatura^{38,39}, así como con una muestra original el compuesto se identificó como jaceidina (23).



jaceidina

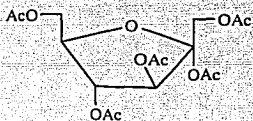
El siguiente compuesto obtenido del extracto de acetona fue otra flavona, sólido amarillo de p.f. 123-27 °C. El espectro de RMN de ^1H (espectro 7) de este compuesto es muy similar al de jaceidina, presentando básicamente como única diferencia dos singuletes en la zona de grupos metóxilo; uno en 3.94 y otro en 3.85 ppm, ésto se corrobora en espectrometría de masas donde el ión molecular de m/z 346 es concordante con una fórmula molecular de $\text{C}_{17}\text{H}_{14}\text{O}_8$. En IR (espectro 8) presenta en 1650 cm^{-1} la banda asignada al carbonilo de una γ -pirona y en 3406 cm^{-1} se observa la señal de grupos fenoles, lo antes mencionado, junto con la comparación con datos descritos en la literatura^{40,41}, así como con una muestra original permiten identificar a este compuesto como axillarina (24).



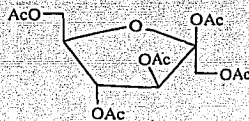
axillarina

Del extracto metanólico, después de ser fraccionado por cromatografía en columna se obtuvieron algunos residuos cuya purificación no se logró por las técnicas usuales, y como resultado de su análisis de IR que mostró la presencia de funciones alcohol y ausencia de funciones carbonilo, se acetilaron algunos residuos y posteriormente se purificaron. Se obtuvieron dos compuestos puros que son: β -D-fructopiranososa tetracetilada (32) y la sacarosa (34) totalmente acetilada, además, varias mezclas complejas cuyos componentes se lograron identificar. Las mezclas se denominaron como I, II, III, IV, V, VI y VII.

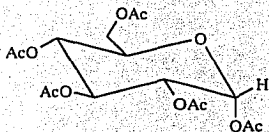
La mezcla I, un aceite, esta constituido por los siguientes monosacáridos peracetilados: α -D-fructofuranosa (25)⁴², β -D-fructofuranosa (26)⁴², α -D-glucopiranososa (27)⁴³, β -D-glucopiranososa (28)⁴³ y D-fructosa (29)⁴⁴.



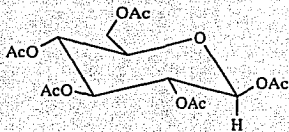
(25)



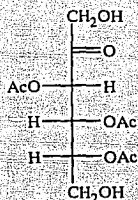
(26)



(27)



(28)



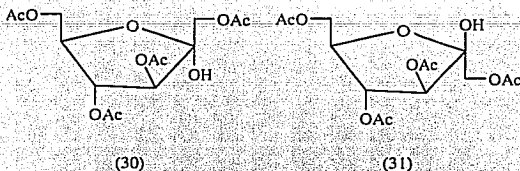
(29)

La presencia del compuesto 25 se deduce a partir del espectro de RMN de ^{13}C (espectro 9, tabla 3) donde se observan todas las señales de los carbonos de este compuesto, además, en el espectro de RMN de ^1H (espectro 10, tabla 1) se observan dos dobletes en 4.62 y 4.35 ($J=12$ Hz) ppm que se asignan a los protones unidos a C-1, también se observan dos dobletes de dobletes en 4.4 ($J=3.4, 12$ Hz) y 4.17 ($J=5.5, 12$ Hz) ppm que son asignados a los protones de C-6. Asimismo, presenta un doblete en 5.85 ($J=3.7$ Hz) ppm que se atribuye a H-3, este a su vez interacciona con H-4 que da lugar a una señal doble de doble en 5.15 ($J=4, 6$ Hz) ppm.

Las señales de los compuestos 26, 27 y 28 en RMN de ^1H (espectro 10, tabla 1) presentan desplazamientos químicos semejantes por lo que se superponen entre sí, sin embargo, se observan claramente dos dobletes en 6.33 ($J=3.9$ Hz) y 5.72 ($J=8$ Hz) ppm que corresponden a los protones anoméricos de los compuestos 27 y 28. A pesar de lo complejo del espectro, a partir de las constantes de acoplamiento de las señales antes mencionadas se deduce para el compuesto 27 una interacción *ecuatorial-axial* de H-1 con H-2, lo que indica que es la α -D-glucopiranososa y para el compuesto 28 un acoplamiento *axial-axial* que corresponde a la β -D-glucopiranososa. Por otra parte, en el espectro de RMN de ^{13}C se observan todas las señales correspondientes a los carbonos de estos compuestos.

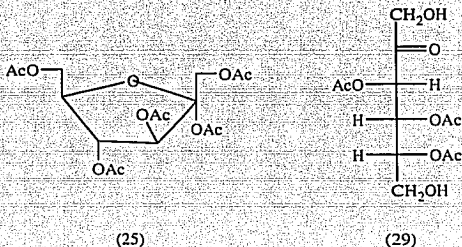
El quinto componente de esta mezcla fue la D-fructosa (29) y se logró deducir su presencia porque en RMN de ^1H (espectro 10, tabla 1) se observan dos dobletes en 4.9 y 4.7 ($J=17.4$ Hz) ppm que se asignan a los protones unidos a C-1, también se observan dos dobletes de dobletes en 4.3 ($J=3, 12.6$ Hz) 4.12 ($J=4.8, 12.6$ Hz) ppm asignados a H-6' y H-6'', un doblete en 5.5 ($J=2$ Hz) ppm se asigna a H-3 que interactúa con H-4 el cual da lugar a un doblete de dobletes en 5.7 ($J=2, 9$ Hz). Las constantes de acoplamiento indican una interacción *anti* con H-3 y *syn* con H-5.

La mezcla II, en forma de aceite, esta formada por compuestos que se encuentran tetracetilados y estos son: α -D-fructofuranosa (30)⁴⁵ y β -D-fructofuranosa (31)⁴⁵, que presentan el alcohol libre en el carbono anomérico (C-2). La presencia de esta función se deduce del espectro de IR porque se observa en 3460 cm^{-1} la banda característica de oxhidrilo y, en 1740 cm^{-1} presenta una banda para éster. Por otra parte, la espectroscopía de RMN de ^1H (espectro 11, tabla 2) de la mezcla es compleja, sin embargo, se observan claramente un par de dobletes en 5.32 ($J=2.5$ Hz) y 5.38 ($J=5$ Hz) ppm que se asignan al hidrógeno 3 de cada una de las dos formas anoméricas. El espectro de RMN de ^{13}C (espectro 12, tabla 4) presenta las señales que caracterizan a este par de compuestos.

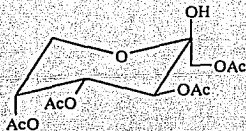


Con el objeto de corroborar que la función alcohol se encuentra en el carbono anomérico, esta mezcla se acetiló transformándose en los compuestos 25 y 29 (espectros

13 y 14, tablas 1 y 3) los cuales no pudieron ser separados. La formación de estos compuestos confirma que el oxhidrilo libre se encontraba unido a C-2.



Como se mencionó anteriormente, además de las mezclas se obtuvo β -D-fructopiranososa tetracetilada (32)⁴². Este compuesto fue un sólido blanco de p.f. 124-26 °C $[\alpha]_D = -82.3^\circ$. Su espectro de IR presenta en 1745 cm^{-1} la banda del carbonilo de acetato y en 3500 cm^{-1} la banda de oxhidrilo. En RMN de ^1H (espectro 15, tabla 2) se observa un sistema AB en 4.19 ($J=11.7\text{ Hz}$) ppm que se asigna a los protones del metileno de C-1, el cual es observado como un triplete en el espectro de RMN de ^{13}C . Los hidrógenos de C-6 se observan como dobletes de dobletes en 4.2 ($J=0.8, 15\text{ Hz}$) y 3.8 ($J=1.7, 15\text{ Hz}$) ppm, las constantes de acoplamiento sugieren una interacción *ecuatorial-ecuatorial* y *axial-ecuatorial* con H-5. En el espectro de RMN de ^{13}C (espectro 16, tabla 4) presenta en 96.2 ppm una señal simple asignada al carbono hemiacetálico.

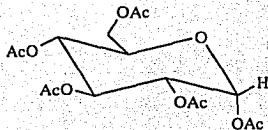


(32)

Con respecto a la mezcla III, sus datos espectroscópicos permiten deducir que está formada por los compuestos 5 y 9, mismos que se obtuvieron al acetilar la mezcla II. Por otra parte, las mezclas IV, V y VI fueron analizadas usando IR, EM, RMN de ^1H y RMN de ^{13}C . Estos datos indican que la mezcla IV está formada por los compuestos 25 a 28. La mezcla V está formada por los residuos 7 a 9. La mezcla VI por los monosacáridos 27 y 28.

Todos estos carbohidratos fueron identificados comparando los datos de RMN de ^1H y RMN de ^{13}C con los anteriormente descritos.

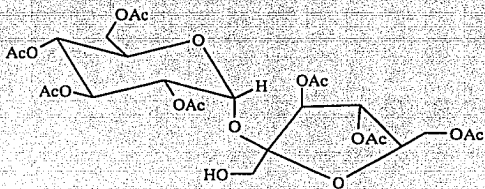
La mezcla VII, aceite, está constituida por los siguientes monosacáridos tetracetilados: 30, 31 y α -D-glucopiranos (33)⁴². Este último compuesto presenta en RMN de ^1H (espectro 17, tabla 2) una señal doble de doble en 4.9 ($J=3.4, 10$ Hz) ppm que se asigna a H-2 que presenta una interacción *axial-ecuatorial* con H-1 y *axial-axial* con H-3.



(33)

De manera similar a la mezcla 1 el espectro de RMN de ^1H de ésta fue complejo, pero en el espectro de RMN de ^{13}C (espectro 18, tabla 4) se lograron asignar todas las señales de los compuestos que la conforman, lo anterior se confirmó al llevar a cabo la acetilación de esta mezcla dando lugar a la formación de los compuestos 25 a 28.

Finalmente, el segundo compuesto que se obtuvo puro fue la sacarosa (34)⁴⁵ en su forma peracetilada, sólido blanco de p.f. 84-6 °C. Tanto su RMN de ^1H como su RMN de ^{13}C mostraron las señales que caracterizan a este compuesto (espectros 19 y 20, tablas 2 y 4)



(34)

TABLA No. 1

DATOS DE RMN DE ¹H DE LOS COMPUESTOS 25 A 29

H	25	26	27	28	29
1	4.62 d (12)	4.1-4.5 m	6.33 d (3.9)	5.72 d (8.0)	4.9 d (17.4)
2			5.1-5.3 m	5.1-5.3 m	
3	5.85 d (3.76)	5.85 d (3.76)			5.5 d (2.0)
4	5.15 dd (4.0, 6.0)	5.5-5.65 m	5.1-5.3	5.1-5.3	5.7 dd (2.0, 9.0)
5	4.1-4.5 m	4.1-4.5 m	4.1-4.5 m	3.85 m	5.1-5.3 m
6	4.4 dd (3.4, 12.0)	4.1-4.5 m	4.1-4.5 m	4.1-4.5 m	4.3 dd (3.0, 12.6)
1'	4.35 d (12.0)	4.1-4.5 m			4.7 d (17.4)
6'	4.17 dd (5.5, 12.0)	4.1-4.5 m	4.1-4.5 m	4.1-4.5 m	4.12 dd (4.8, 12.6)
AcO	2.0 a 2.25	2.0 a 2.25	2.0 a 2.25	2.0 a 2.25	2.0 a 2.25

Espectros obtenidos a 200 MHz usando CDCl₃ como disolvente y TMS como referencia interna.

TABLA No. 2

DATOS DE RMN DE ¹H DE LOS COMPUESTOS 30 A 34

H	30	31	32	33	34	
1	4.1-4.6 m	4.1-4.6 m	4.25 d (11.7)	5.42 d (3.4)	5.7 d (3.7)	4.1-4.4 m
2				4.9 dd (3.4, 10.0)	4.87 dd (3.7, 9.6)	
3	5.32 d (2.5)	5.38 d (5.0)	5.3-5.4 m	5.5 dd (9.6, 10.0)	5.1 dd (3.7, 9.6)	5.45 d (5.8)
4	4.98 dd (2.5, 3.2)	5.32 dd (5.0, 5.7)	5.3-5.4 m	4.0-4.5 m	5.4 t (8.8)	5.38 t (5.8)
5	4.1-4.6 m	4.1-4.6 m	5.3-5.4 m	4.0-4.5 m	4.1-4.6 m	4.1-4.6 m
6	4.1-4.6 m	4.1-4.6 m	4.2 dd (0.8, 15.0)	4.0-4.5 m	4.1-4.6 m	4.1-4.6 m
1'	4.1-4.6 m	4.1-4.6 m	4.03 d (11.7)	4.0-4.5 m		
6'	4.1-4.6 m	4.1-4.6 m	3.8 dd (1.7, 15.0)	4.0-4.5 m	4.1-4.6 m	4.1-4.6 m
AcO	1.74 s 1.68 s 1.66 s 1.64 s	2.21 s 2.16 s 2.10 s 2.08 s	1.74 s 1.68 s 1.64 s	2.0-2.1 m	2.0-2.5 m	2.0-2.5 m

Espectros obtenidos a 200 MHz usando CDCl₃ como disolvente y TMS como referencia interna.

TABLA No. 3

DATOS DE RMN DE ^{13}C DE LOS COMPUESTOS 25 A 29

C	25	26	27	28	29
1	61.9 t	64.0 t	89.0 d	91.7 d	61.9 t
2	105.0 s	108 s	69.2 d	70.2 d	198.0 s
3	80.6 d	80.6 d	67.9 d	72.9 d	80.6 d
4	78.4 d	75.7 d	67.9 d	67.7 d	78.4 d
5	76.1 d	75.5 d	68.9 d	62.7 d	76.1 d
6	62.9 t	63.7 t	61.4 t	61.4 t	62.9 t

Espectros obtenidos a 50 MHz usando CDCl_3 como disolvente y TMS como referencia interna.

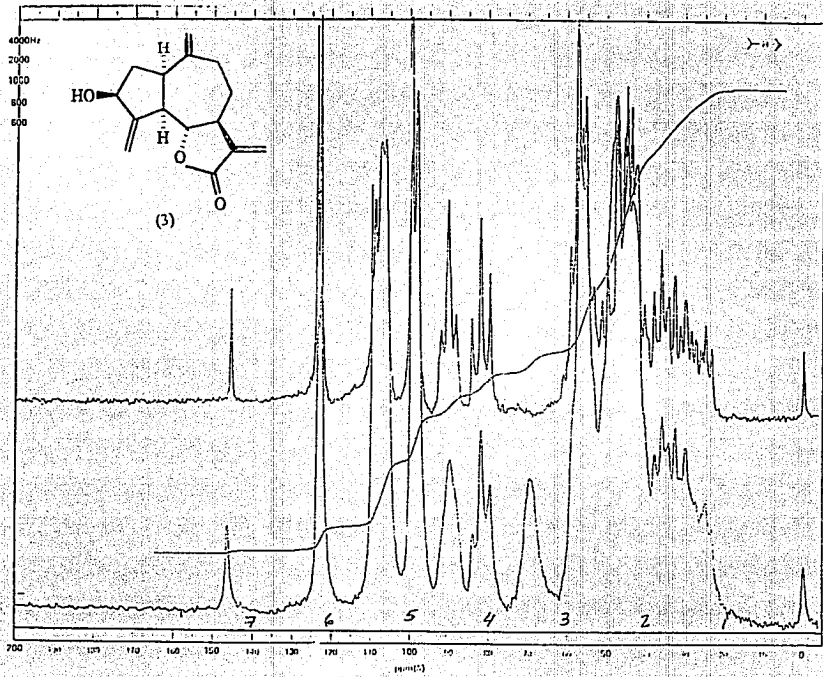
TABLA No. 4

DATOS DE RMN DE ^{13}C DE LOS COMPUESTOS 30 A 34

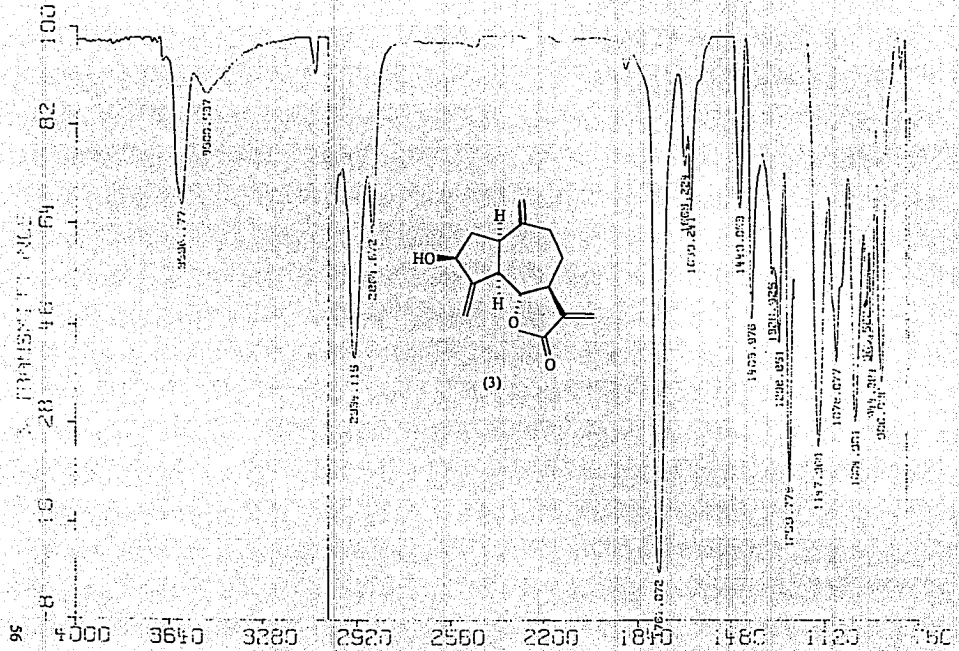
C	30	31	32	33	34	
1	65.3 t	64.6 t	66.5 t	90.0 d	89.9 d	63.6 t
2	103.8 s	101.5 t	96.2 s	71.0 d	69.6 d	103.0 s
3	80.3 d	79.0 d	68.2 d	68.4 d	70.2 d	79.0 d
4	80.2 d	76.5 d	68.0 d	69.8 d	68.4 d	75.6 d
5	77.7 d	76.1 d	69.0 d	67.1 d	68.1 d	74.9 d
6	63.3 t	64.4 t	61.7 t	61.9 t	61.7 t	62.8 t

Espectros obtenidos a 50 MHz usando CDCl_3 como disolvente y TMS como referencia interna.

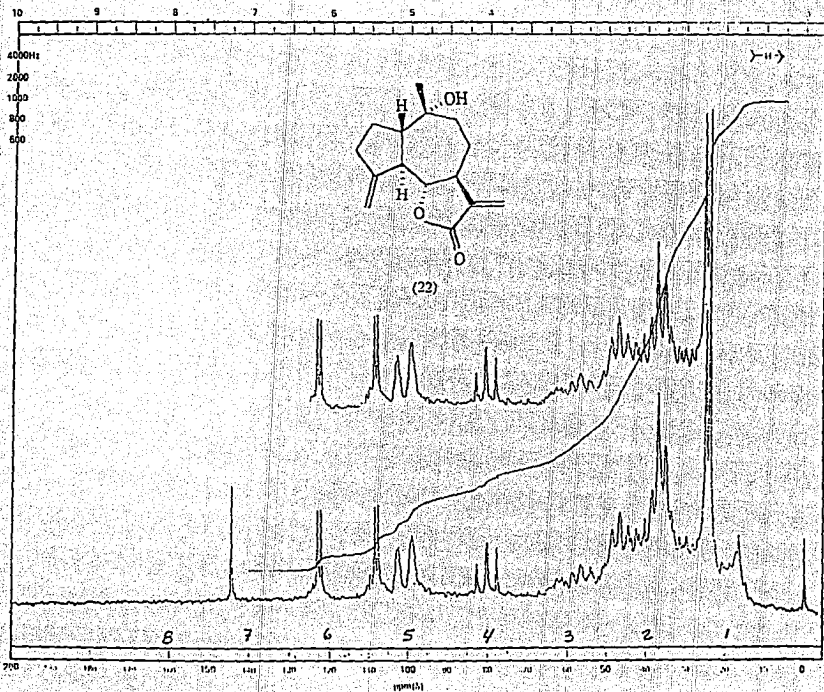
ESPECTROS



Espectro 1

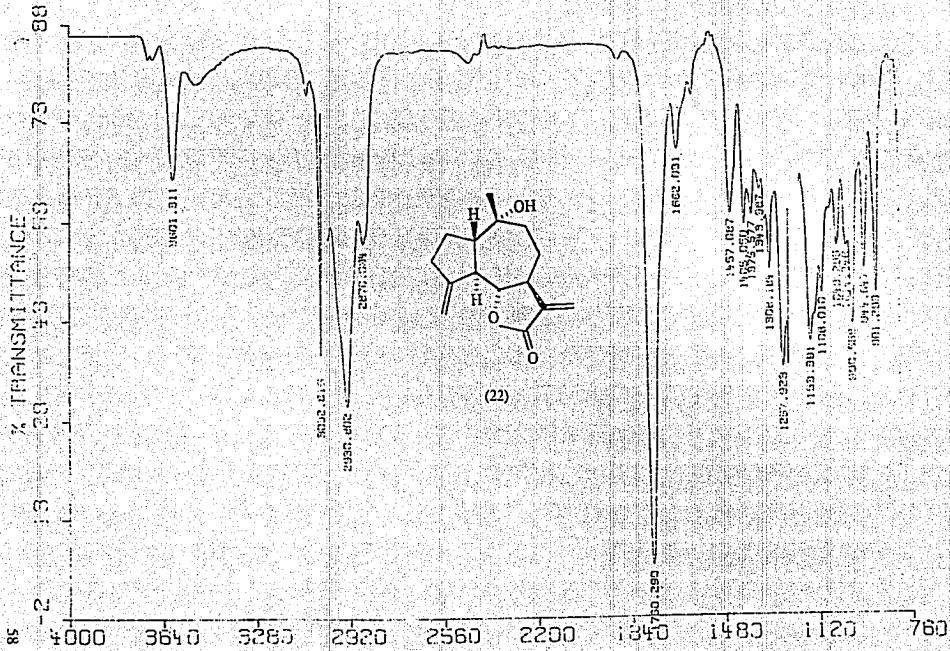


Espectro 2

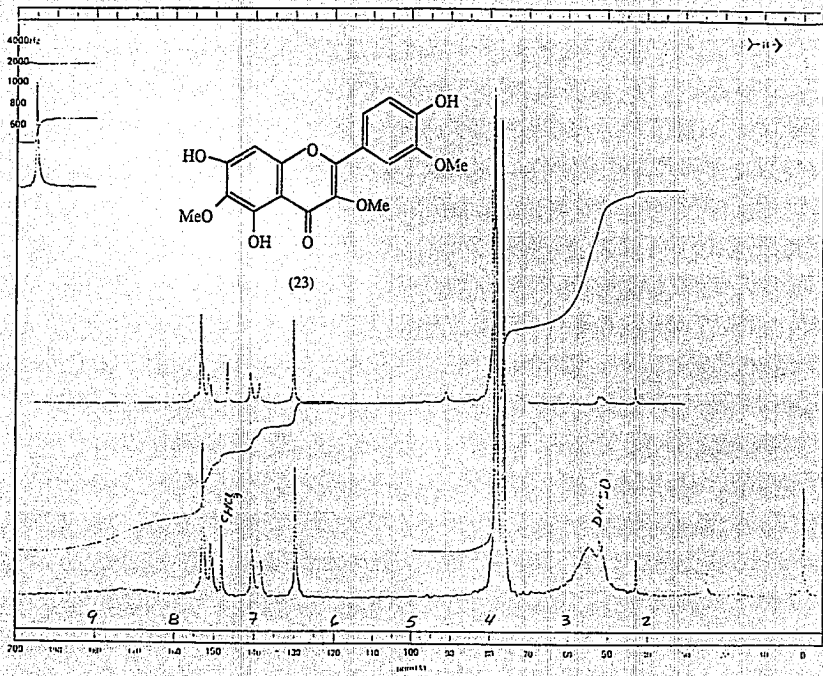


57

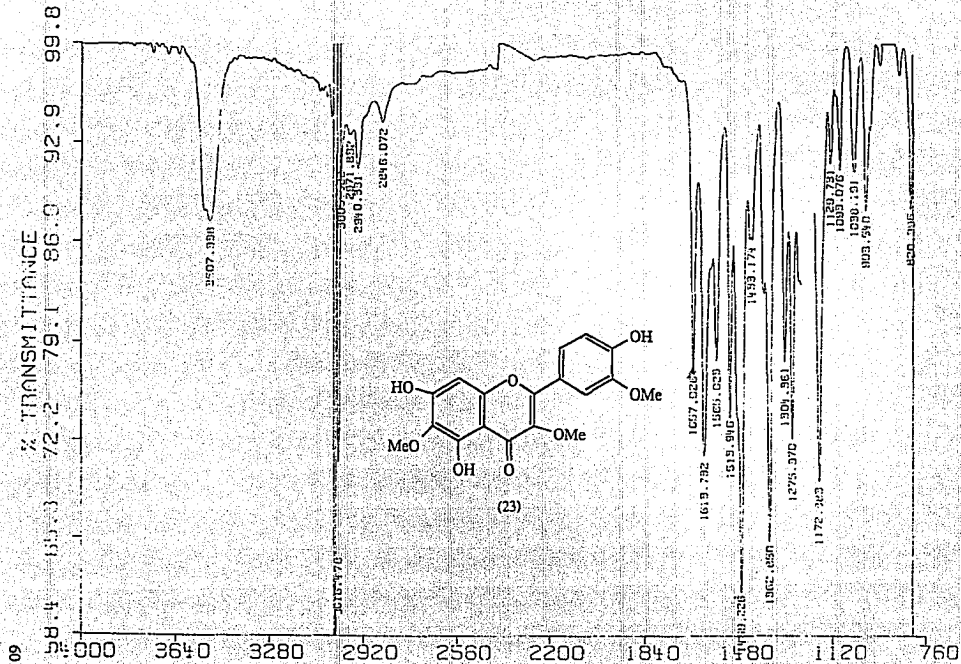
Espectro 3



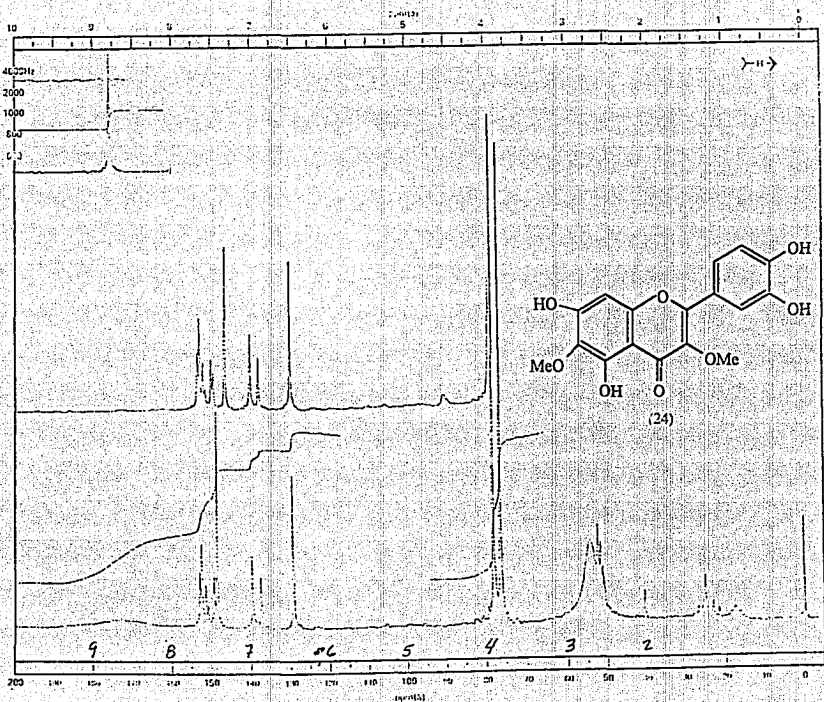
Espectro 4



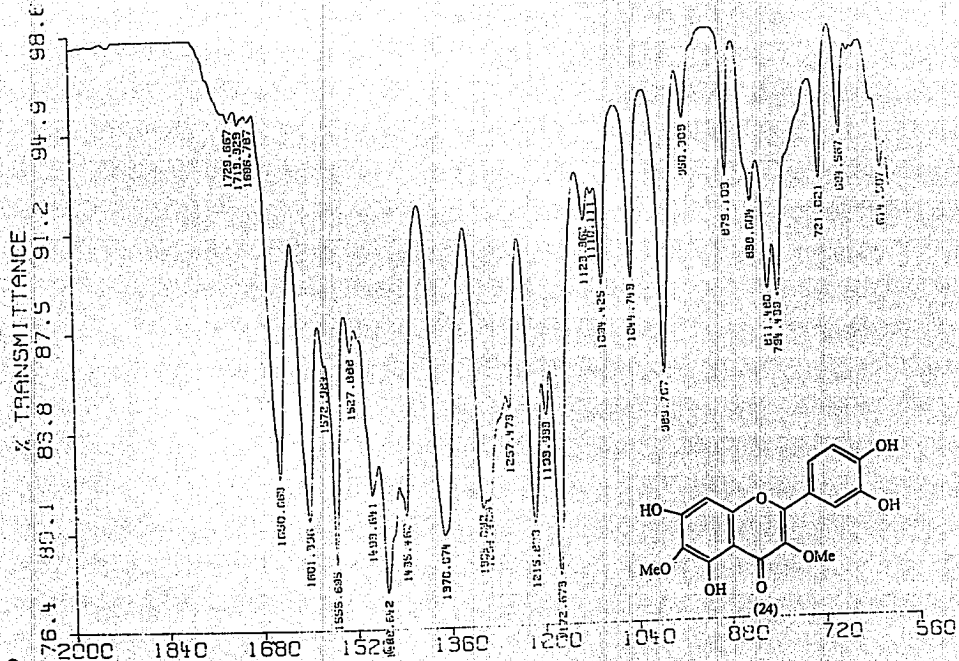
Espectro 5



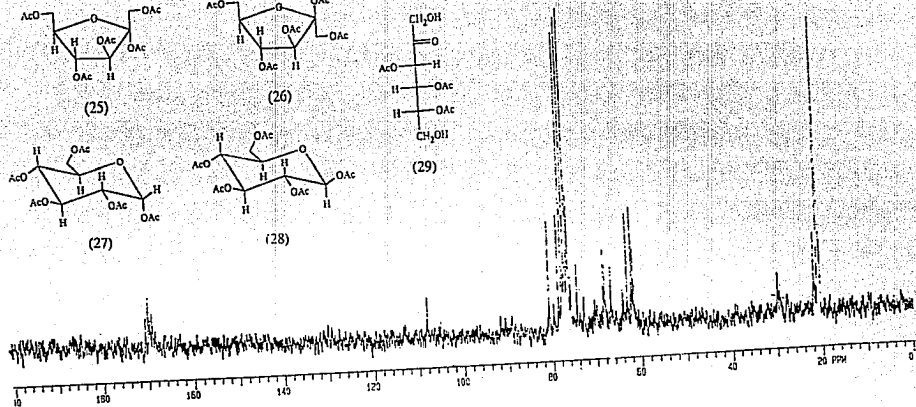
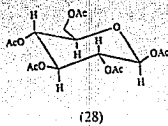
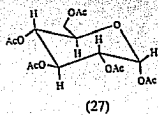
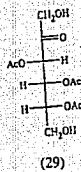
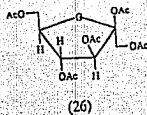
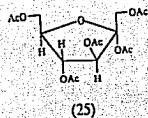
Espectro 6

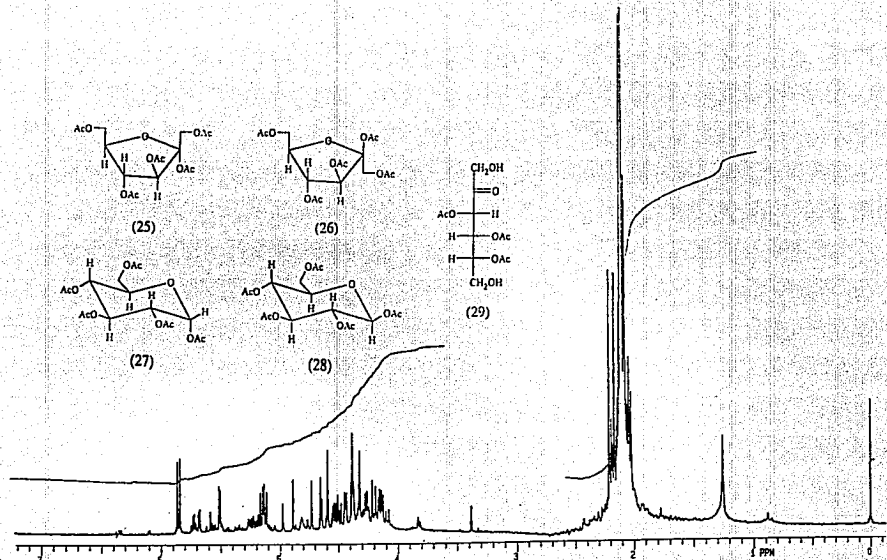


Espectro 7

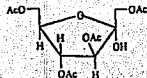


Espectro 8

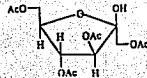




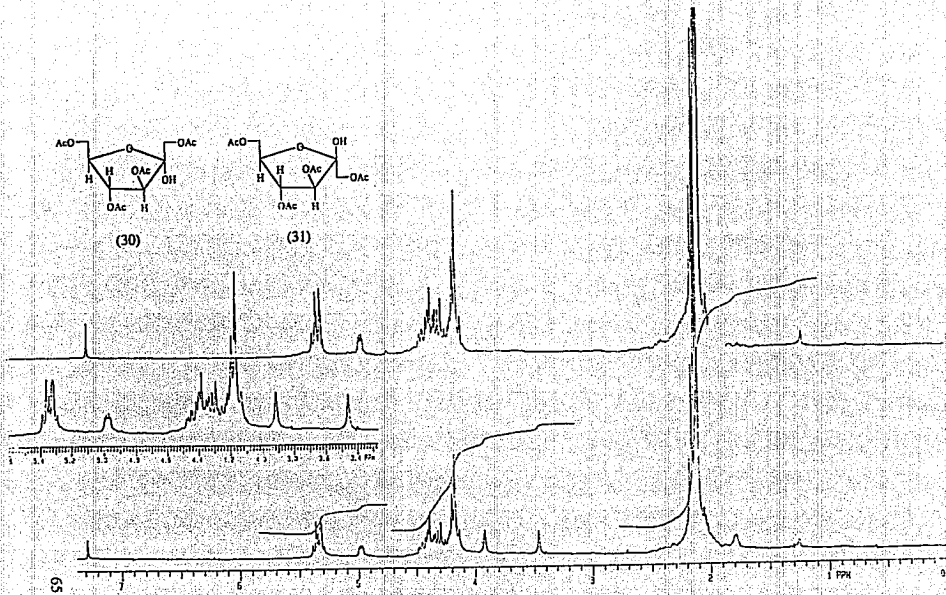
Espectro 10



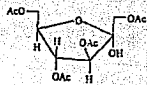
(30)



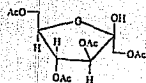
(31)



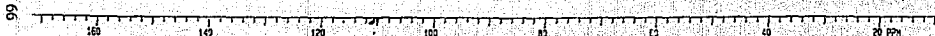
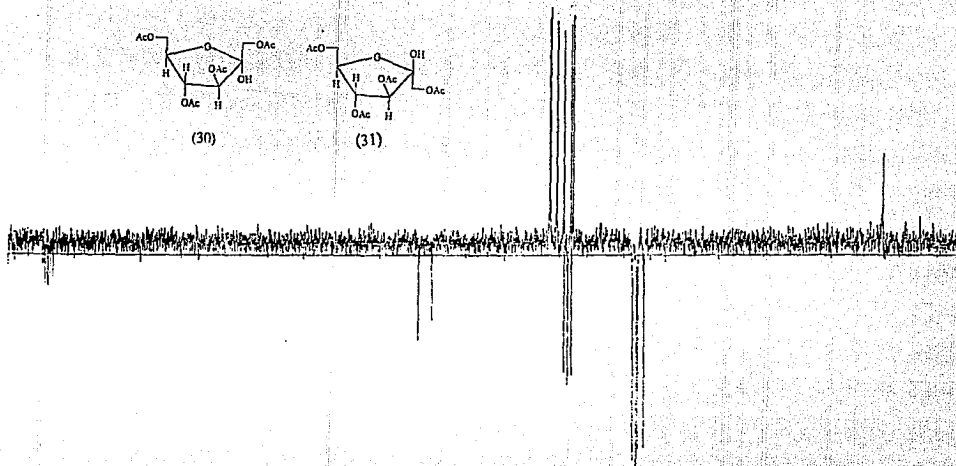
Espectro 11



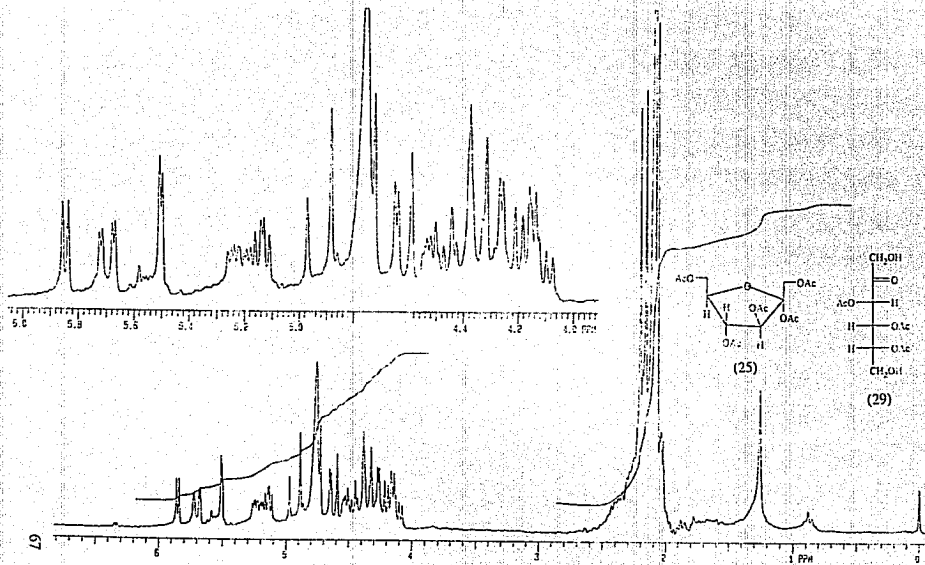
(30)



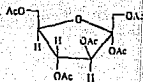
(31)



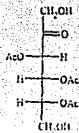
Espectro 12



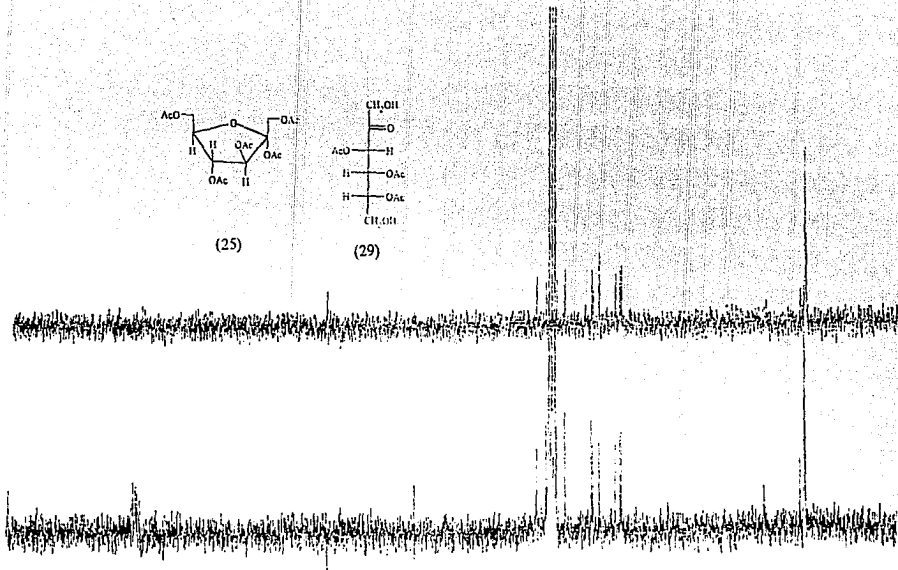
Espectro 13



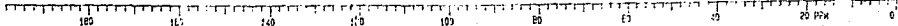
(25)



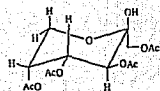
(29)



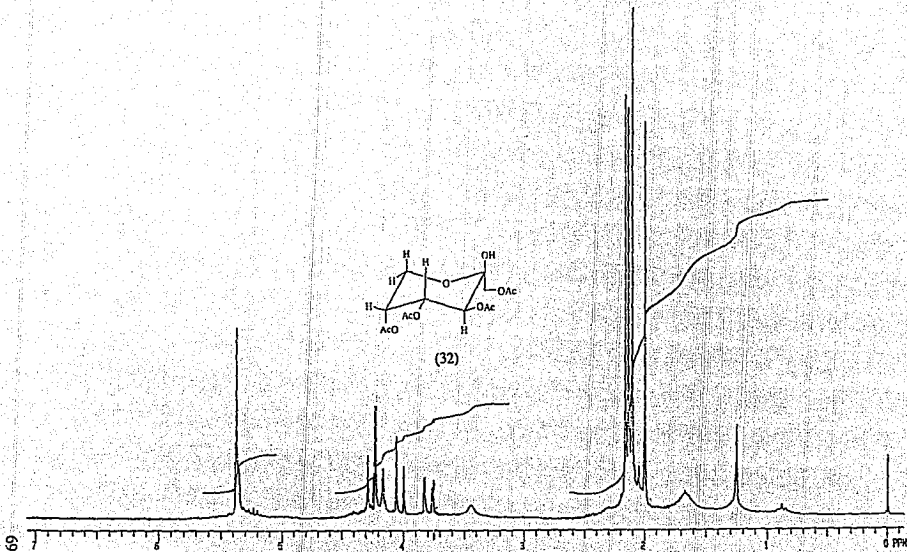
89



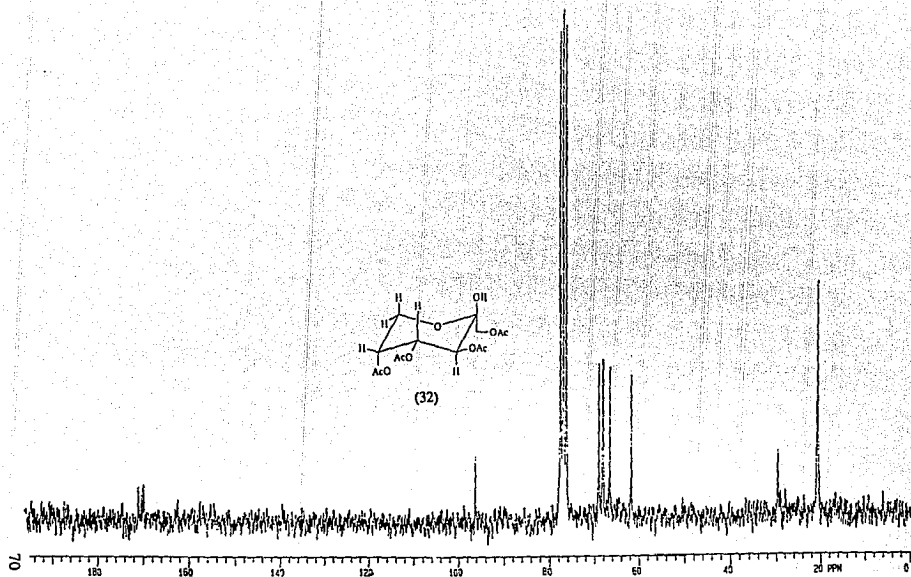
Espectro 14



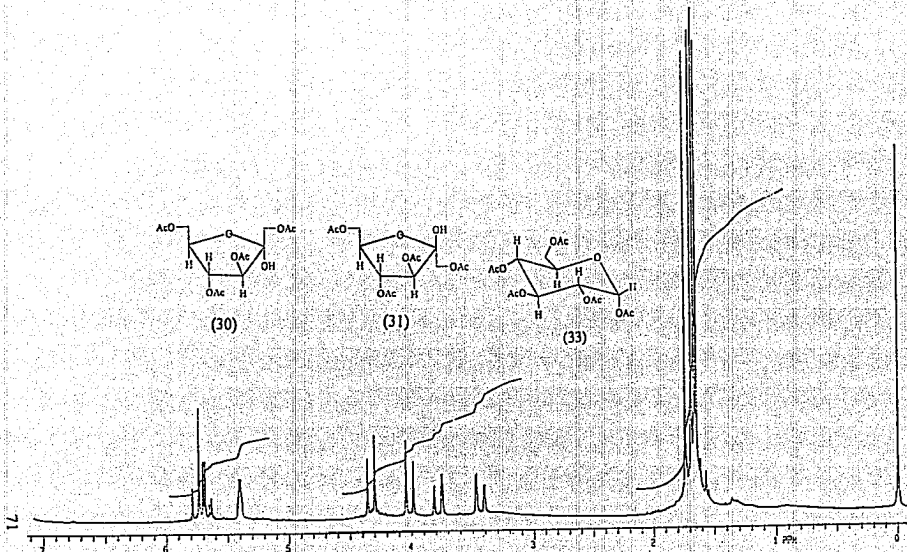
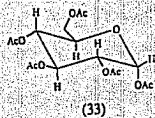
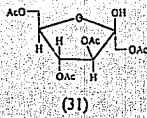
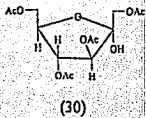
(32)



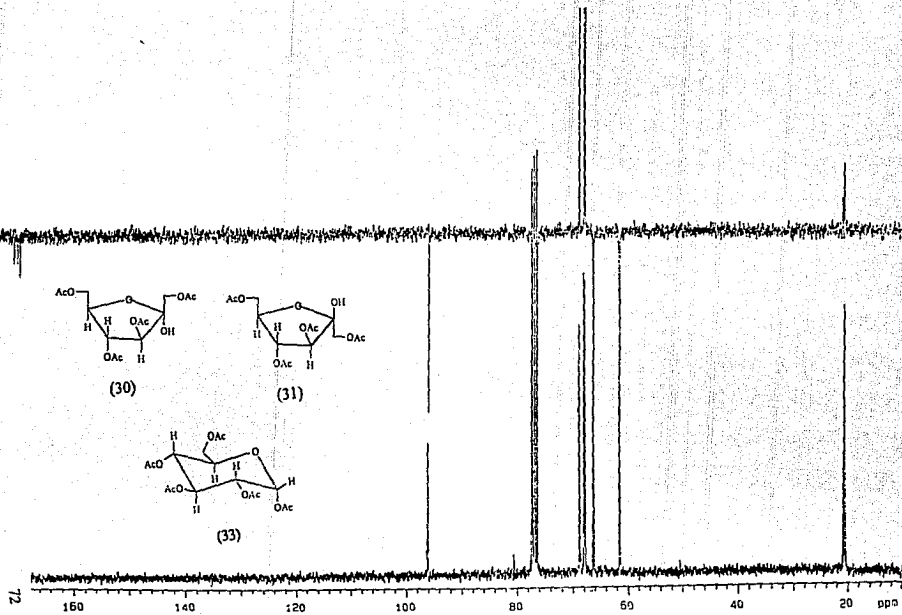
Espectro 15



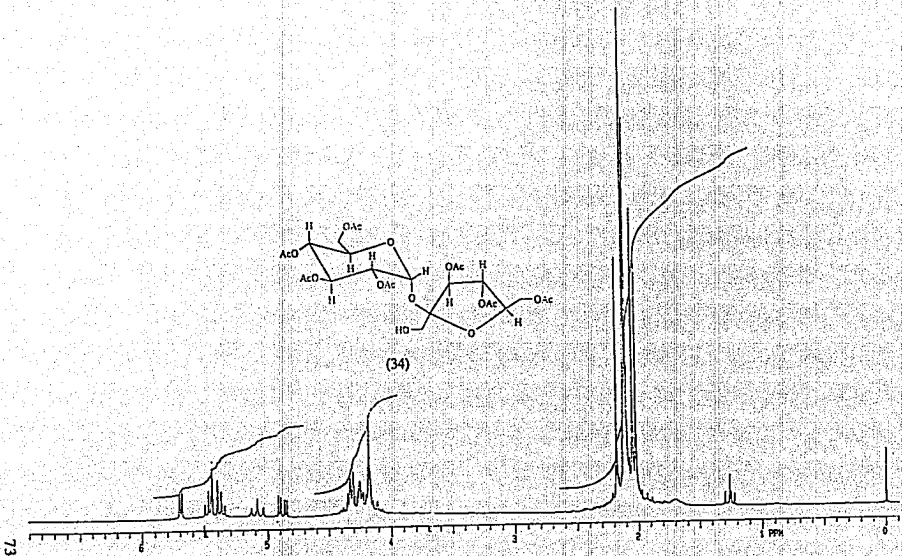
Espectro 16



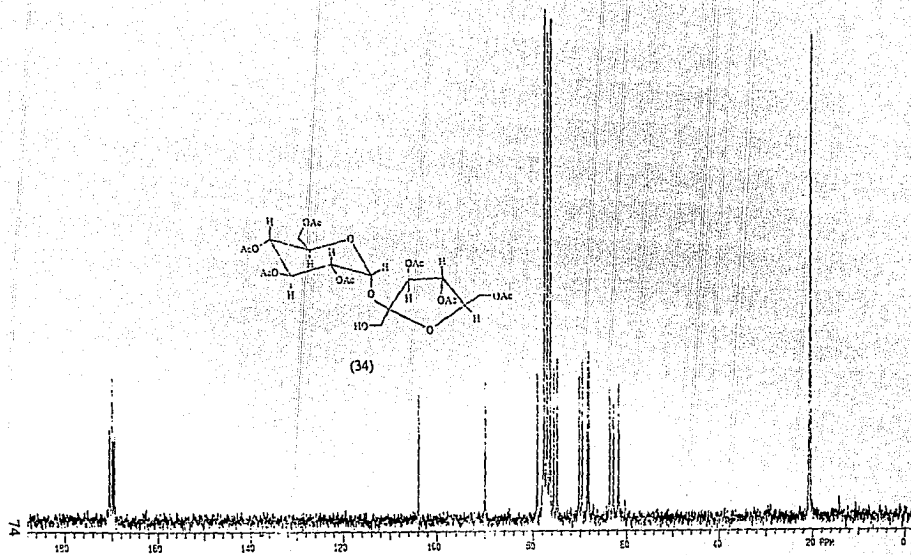
Espectro 17



Espectro 18



Espectro 19



Espectro 20

RESUMEN Y CONCLUSION

De la especie *Z. triloba* (sinónimos: *Z. parthenioides* y *Z. robinsonii*) recolectada 3 Km adelante de Actopan Hidalgo, sobre la Carretera Federal 85, se obtuvieron tres extractos que se purificaron por cromatografía en columna. Del extracto hexánico se aislaron dos guayanólidas, zaluzanina C (3) y trifloculósido (22). En el extracto de acetona se encontraron nuevamente las dos guayanólidas, además dos compuestos flavonoides jaceidina (23) y axillarina (24).

Los compuestos zaluzanina C (3), jaceidina (23) y axillarina (24) se identificaron comparando sus datos físicos y espectroscópicos con los descritos en la literatura así como por comparación con una muestra original de dichos compuestos. La guayanólida trifloculósido (22) se identificó por comparación de sus constantes físicas y datos espectroscópicos con los descritos en la literatura.

Por otra parte, el extracto metanólico dió como resultado después del análisis por cromatografía en columna, varias mezclas complejas, por lo que cuando fue necesario se acetilaron y esto permitió la identificación de varios carbohidratos:

α -D-fructofuranosa-(5 Ac)	(25)
β -D-fructofuranosa-(5 Ac)	(26)
α -D-glucopiranos-(5 Ac)	(27)
β -D-glucopiranos-(5 Ac)	(28)
D-fructosa-(5 Ac)	(29)
α -D-fructofuranosa-(4 Ac)	(30)
β -D-fructofuranosa-(4 Ac)	(31)
β -D-fructopiranos-(4 Ac)	(32)
α -D-glucopiranos-(4 Ac)	(33)
sacarosa-(8 Ac)	(34)

La identificación de todos los carbohidratos antes mencionados se realizó a través del análisis de sus datos espectroscópicos y comparación de los mismos con los descritos en la literatura.

Por último el objetivo de este trabajo se cumplió porque hasta este momento, en las especies de este género estudiadas químicamente, los compuestos trifloculósido, jaceidina, axillarina y los carbohidratos obtenidos en la presente investigación no se han descrito como componentes de dicho género, por lo que con ello se logra contribuir al conocimiento de la flora mexicana.

BIBLIOGRAFIA

- 1.- Rzedowski, J., Vegetación de México, Ed. Limusa, México, (1983).
- 2.- O' Gorman, H., Plantas y Flores de México, Dirección General de Publicaciones U.N.A.M., México, (1963).
- 3.- Pérez Tamayo, R., Como Acercarse a la Ciencia, Conaculta, Limusa y Gobierno de Querétaro (1989)
- 4.- Declaración de Vancouver, Simposio sobre Ciencia y Cultura para el Siglo XXI : Agenda para la supervivencia UNESCO-CANADA, Ciencia y Desarrollo, Vol. XVI, Núm. 92, 80 (1990).
- 5.- González, A., Lora Tamayo M., Transformaciones Biogenéticas y Síntesis de Terpenoides, Ed. Litografía Romerosa (1981).
- 6.- Yoshioka, H., T. J. Mabry & B. N. Timmerman, Sesquiterpene Lactone, Tokio (1973).
- 7.- González, A., V. Darias, G. Alonso, J. N. Boada & M. Feria, Cytostatic Activity of Sesquiterpene Lactones from Compositae of the Canary Islands, Planta Médica 33, 356-359 (1978).
- 8.- Joland, S. D., R. M. Wiedhopf & J. R. Cole, Tumor Inhibitory Agent from *Zaluzania robinsonii* (Compositae), J. Pharmaceutical Sciences 63, 1321-1322 (1974).
- 9.- Rudali, G., Recherches Surkl'action Radioprotectrice de la Geranyl-Hydroquinone, Compte Rendu des Seance de la Societe de Biologie 160, 1365-1370 (1966).
- 10.- Hufford, D. Ch. & W. Lasswell, Antimicrobial Activities of Constituents of *Uvaria chamae*, Lloydia 41, 156-160 (1978).
- 11.- Ratnagiriswaran, A. N., K. B. Shedra & Venka Toraman, The Antihelminthic Constituent of the Leaves of *Calycopteris florifunda*, Biochem. J. 28, 1964 (1934).
- 12.- Rodríguez, E., Sesquiterpene Lactones: Chemotaxonomy, Biological Activity and Isolation, Rev. Latinoamer. Quím. 8, 56 (1977).
- 13.- Sánchez, S. O., La Flora del Valle de México, Ed. Herrero, México (1972).

- 14.- Olsen, J. S., Systematics of *Zaluzania*, *Rhodora* **81**, 449-501 (1979).
- 15.- Yabuta, G., et al , Sesquiterpene Lactones from the Genus *Zaluzania*, *Rev. Latinoamer. Quím.* **9**, 83-85 (1978).
- 16.- Rzedowski, J., *Atlothea* D.C. y *Tonalanthus*, *Brittonia* **20**, 166-168 (1968).
- 17.- Domínguez, X., J. Marroquín & E. Cárdenas, Isolation of zaluzanin C a Cytotoxic Sesquiterpene Lactone from *Z. parthenioides*, *Planta Médica* **28**, 89-91 (1975).
- 18.- Romo de Vivar, A., A. Cabrera, A. Ortega & J. Romo, Constituents of *Zaluzania* species II. Structures of zaluzanin C and D, *Tetrahedron* **23**, 3903-3907 (1967).
- 19.- J. Romo, y C. López. Determinación de la Estereoquímica de los Sustituyentes en la Posición 1 de Algunos Guayanólidos, *Bol. Inst. Quím, Univ. Nac. Auton. Méx.* **21**, 82-91 (1969).
- 20.- Herz, W. and G. Högenaver, Ivalin, a New Sesquiterpene Lactone, *J. Org. Chem.* **27**, 905 (1962).
- 21.- Romo de Vivar, A., A. González, Isolation of Deshidrocostus Lactone. Preparation of Sesquiterpene Lactone Epiroepoxides, *Rev. Latinoamer. Quím.* **2**, 142-144 (1971).
- 22.- Muller, C. H., Recent Advances in Phytochemistry. *Phytochem.* **3**, 105 (1970).
- 23.- Fujita, E. et al , Antitumor Activity of the Isodon Diterpenoids Structural Requirements for the Activity, *Experientia* **32**, 203 (1976).
- 24.- Ruzicka, L., History of the Isoprene Rule and the Biogenesis of Terpenic Compounds, *Experientia* **9**, 357 (1953).
- 25.- Ruzicka, L., History of the Isoprene Rule, *Proc. Chem. Soc.* **341**, (1959).
- 26.- Allinger, N., et al, *Organic Chemistry*, Worth Publishers, Inc. (1971).
- 27.- Geissman, T. A. & Crout, D., *Organic Chemistry of Secondary Plant Metabolism*, Freeman, Cooper Company (1969).
- 28.- Ríos, T. & F. Colunga, Three New Alcohols from Insect Wax. Ceroplastol I, II and Albolineol, *Chem and Ind* **1184** (1965).

- 29.- Romo de Vivar, A., *Productos Naturales de la Flora Mexicana*, Ed. Limusa, México (1985).
- 30.- Harborne, J. B., *Comparative Biochemistry of the Flavonoids*, Academic Press Inc. London LTD (1967).
- 31.- Swain, T., Harborn, J., and Van Sumere, Ch., *Recent Advances in Phytochemistry, Biochemistry of Plant Phenolics*, Plenum Press, New York, USA 12, 221-248 (1977).
- 32.- Koike, H., *Pharmacological Investigation on the Flavone Compounds Particularly on their Diuretic Action*, *Folia Pharmacol. Japan* 12, 89-101 (1931).
Chem. Abs. 25, 3395 (1931).
- 33.- Lau, C. A. & H. Chan, *Flavonoids from Comptonia peregrina*, *Phytochem.* 12, 1829 (1973).
- 34.- Lehninger, A., *Biochemistry*, Worth. Publishers, INC. New York (1970).
- 35.- Fujita, T. *The Extrathermodynamic Structure-Activity in Biological Correlations. The Hansch approach*, *Advances in chemistry series* 114. Am. Chem. Soc. p.119 (1972).
- 36.- B. Lotina-Hennsen, et al. *Inhibition of Oxygen Evolution by Zaluzein* C. J. Chem Ecology 18, 1891-1900 (1992).
- 37.- Bohlman, F. und Ch. Zdero, *Inhaltsstoffe aus Vernonia-Arten*, *Phytochem.* 16, 778-779 (1977).
- 38.- Bowie, J. H. & D. W. Cameron, *Electron Impact Studies*, *Aust. J. Chem.* 19, 1627-35 (1966).
- 39.- Batterham, T. J. & R. J. Highet, *Nuclear Magnetic Resonance Spectra of flavonoids*, *Aust. J. Chem.* 17, 428-39 (1964).
- 40.- Taylor, A. O. & E. Wong, *Quercetagenin 3,6-dimethyl Ether*, *Tetrahedron Letters* 41, 3675-78 (1965).

- 41.- Rodríguez, E. et al. Methoxylated Flavonoids from Artemisia *Phytochem* **11**, 3509-14 (1972).
- 42.- Erbing, B. & B. Lindberg, Synthesis of Some Furanosidic D-Fructose Derivatives, *Acta Chemica Scandinavica*, **B 30**, 12-14 (1976).
- 43.- Lemieux, R.V. & J.D. Stevens, Substitutional and Configurational Effects on Chemical Shift in Pyranoid Carbohydrate Derivatives, *Canad. J. Chem.* **43**, 2059-70 (1965).
- 44.- Angyal, S. & G. Bethell, Conformational Analysis in Carbohydrates Chemistry III. The ^{13}C N.M.R. Spectra of the Hexuloses, *Aust. J. Chem.* **29**, 1249-65 (1976).
- 45.- Lemieux, R. V. & Nagarajan, R. The Configuration and Conformation of "di-D-fructose anhydride I", *Canad. J. Chem.* **42**, 1270-78 (1964).