



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
ZARAGOZA

FALLA DE ORIGEN

Estudio de RMN-13C en lactonas sesquiterpénicas con
esqueleto de Eudesmano y sus derivados, aislados
de Artemisia Ludoviciana

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
LICENCIATURA EN LA CARRERA DE:

QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

SUSTENTA:

JOSE NORIEGA GALICIA

DIRECTOR:

M. EN C. ALEJANDRO RUIZ CANCINO

FES
ZARAGOZA



EL HUMANO EJE
DE NUESTRA REFLEXION

MEXICO, D.F. 1995



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.

A mi madre con cariño, a mi padre con admiración porque durante toda mi vida me han brindado su cariño y apoyo incondicional.

A mis hermanos y familiares por su gran apoyo.

A los amigos, compañeros y maestros que me han acompañado durante toda la carrera.

EL PRESENTE TRABAJO FUE PRESENTADO EN EL TERCER
CONGRESO LATINOAMERICANO DE FITOQUINICA. 10 DE OCTUBRE
DE 1993. CELAYA GUANAJUATO, MEXICO.

Se agradece al Dr. Guillermo Delgado
Lamas y al personal Técnico-académico
del Instituto de Química de la UNAM por
las facilidades brindadas en la
realización del presente trabajo.

LOS RESULTADOS DE ESTA TESIS CONFORMARAN LA SIGUIENTE
PUBLICACION CIENTIFICA.

MORIEGA, G. J., RUIZ-CANCINO, A., CANO A. E. AND DELGADO, G.,
CARBON-13 SPECTRA OF SOME EUDESMANOLIDES. *MAGN. RESON. CHEM.*
(1995).

Indice

Glosario	1A
RESUMEN	1
INTRODUCCION	3
ANTECEDENTES	5
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	17
OBJETIVOS	17
HIPOTESIS	17
PARTE EXPERIMENTAL	19
DISCUSION DE RESULTADOS	38
- Apertura del epóxido de la <i>Ludovicina A</i>	39
- Explicación de la formación de la <i>Tuberiferina y Ludovicina B</i>	45
- Formación del compuesto diacetilado de la <i>Armefolina</i>	48
- Formación de la <i>3,4-epoxisantamarina</i>	51
- Formación de la <i>3α-hidroxi-reynosina</i>	52
- Espirocompuestos de las lactonas sesquiterpénicas (1, 3, 4, 5 y 10)	55
- Explicación de la formación de los espirocompuestos	64
Tabla 1. Desplazamientos químicos de las sustancias 1, 3, 5, 7, 8, y 9; comparados con el carbinol de la 10-metil-trans decalina y reynosina.	69
Tabla 2. Datos de ^{13}C , de las sustancias 1, 3, 5, 7, 8 y 9; comparados con la <i>Arbusculina</i> y <i>reynosina</i> .	71
Tabla 3. Comparación de los valores de desplazamiento del C-1, C-9 y C-14, de la sustancia 6, 10, compuestos 16 y 49.	72
Tabla 4. Datos de ^{13}C (C-3 y C-4) de las sustancias 7, 50 y 51.	73
Tabla 5. Datos de ^{13}C , de los compuestos 5 y 6 comparados con las sustancias 52 y 53.	74
Tabla 6. Datos de ^{13}C , de las sustancias 3, 9 y 10 corroborados con la <i>reynosina</i> (17).	76
Tabla 7. Desplazamientos químicos de ^{13}C de los compuestos 1, 8	

y de los epóxidos de esteroides (54 y 55).	77
Tabla 8. Datos de RMN- ¹³ C, de las sustancias 2, 4 y de los compuestos 56-58.	78
Tabla 9. Datos de ¹³ C, de las sustancias 1, 3, 5-10; de la <i>Arbusculina</i> (16) y 59.	79
Tabla 10. Datos de ¹³ C, de los compuestos 1, 2, 4-8 comparados con las sustancias 60, 61 y <i>arbusculina</i> (16).	81
Tabla 11. Desplazamientos químicos de ¹³ C, del C-5 en las sustancias 2, 4, 7-10; así también los compuestos 48 y 17.	82
Tabla 12. Desplazamientos químicos de ¹³ C, de las sustancias 1 a 10 y los compuestos 16 y 17.	84
Tabla 13. Datos de desplazamiento químico del C-10 de las sustancias 11 a 15, así como la <i>Arbusculina</i> y <i>Reynosina</i> .	88
Tabla 14. Datos de ¹³ C, de los espirocompuestos 12 a 15 y de las sustancias 16, 17, y 49; así como del carbinol de la 10-metil- <i>trans</i> decalina (46 y 47).	90
Tabla 15. Desplazamiento de ¹³ C del espirocompuesto 11 y sustancia 62 de los C-1, C-2 y C-3.	93
Tabla 16. Desplazamiento químico de ¹³ C del espirocompuesto 12, comparados con las sustancias 63 y 64.	94
Tabla 17. Datos de ¹³ C del espirocompuesto 13 y de epóxidos esteroidales (epímeros 54 y 55).	95
Tabla 18. Datos de ¹³ C de los espirocompuestos 11 y 13, así como de la sustancia 52.	97
TABLAS DE RESULTADOS	98
CONCLUSIONES	106
APENDICE DE FIGURAS DE ESPECTROS DE RMN- ¹ H y ¹³ C	108
<i>Ludovicina A</i> (1).	109
<i>Tuberiferina</i> (2).	113
<i>Ludovicina B</i> (3).	119
<i>Arglanina</i> (4).	124
<i>Armefolina</i> (5).	127
Diacetato de la <i>Armefolina</i> (6).	132

<i>Santamarina</i> (7).	136
Epóxido de la <i>Santamarina</i> (8).	140
3 α -hidroxi-reynosina (9).	145
Diacetato de la 3 α -hidroxi-reynosina (10).	147
β -Pirazolina de la <i>Argianina</i> (11).	152
β -Pirazolina de la <i>Armefolina</i> (12).	158
β -Pirazolina de la <i>Ludovicina A</i> (13).	164
β -Pirazolina de la <i>Ludovicina B</i> (14).	169
β -Pirazolina de la 3 α -hidroxi-reynosina (15).	173
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	178

Glosario
Notaciones empleadas
Abreviaturas y símbolos

RMN- ¹ H	Resonancia Magnética Nuclear de Hidrógeno. ***
RMN- ¹³ C	Resonancia Magnética Nuclear de Carbono 13.
COSY	Correlación Espectroscópica (RMN- ¹ H) Bidimensional.
J	Constante de acoplamiento.
δ	Desplazamiento químico.
s	Singlete.
d	Doblete.
t	Triplete.
dc	Doble de cuarteto.
s.a.	Singlete amplio.
m	Multiplete.
obs.	Señal oscurecida.
W _{1/2}	Amplitud de la señal a la mitad de su altura.
IR	Espectroscopia en Infrarrojo.
Ω	Número de insaturaciones.
CDCl ₃	Cloroformo deuterado
D ₂ O	Agua deuterada
ν	Número de onda.
E.M.	Espectrometría de masas.
m/z	Relación masa-carga.
M ⁺	Ión molecular.
AMCPB	Acido m-cloro perbenzoico.
HOMO	Orbital molecular ocupado de mayor energía.
LUMO	Orbital molecular desocupado de menor energía.
TMS	Tetra-metil-silano.
CCF	Cromatografía de capa fina.
Py	Piridina.
CH ₃	Metilo.

CH₂ Metileno.
CH Metinos.
*** Lectura de los datos de RMN-¹H δ (multiplicidad, integral;
constante de acoplamiento).

RESUMEN

RESUMEN

En el presente trabajo se describe el estudio de Resonancia Magnética Nuclear de carbono 13 (RMN-¹³C) en lactonas sesquiterpénicas con esqueleto de eudesmano aisladas e identificadas de *Artemisia ludoviciana* ssp *mexicana*, así como algunos de sus derivados.

Las lactonas sesquiterpénicas: Ludovicina A(1), Arglanina (4), Arnefolina (5), Santamarina (7) y 3 α -hidroxil-reynosina (9), y los derivados obtenidos de transformaciones químicas como: Tuberiferina (2), Ludovicina B(3), diacetato de Arnefolina (6), epóxido de Santamarina (8), diacetato de 3 α -hidroxil-reynosina (10); y los espirocompuestos de las eudesmanólidas 1, 3, 4, 5 y 10, fueron purificadas por técnicas de cristalización y cromatografía.

Sus estructuras moleculares fueron elucidadas por medio de la espectroscopia de IR, RMN-¹³C y ¹H (en CDCl₃ y D₂O), y mediante experimentos auxiliares como APT, DEPT, COSY (H-H), doble resonancia y la espectrometría de masas.

Se concluye que los rasgos característicos de los desplazamientos químicos de ¹³C están determinados por los factores estéricos, electrónicos y de la funcionalidad de estas estructuras.

INTRODUCCION

INTRODUCCION

La gran acumulación de los resultados de los avances en el quehacer científico en cualquier campo de la ciencia, no son fáciles de congregar y su sistematización es cada vez más difícil. Una de las ciencias que ha tenido y tiene un desarrollo impresionante es la Química, en particular la Química de los Productos Naturales, donde mucho de los progresos en esta investigación se debe al desarrollo de los instrumentos y métodos analíticos de separación, como la cromatografía en capa fina y líquida de alta resolución, así como los continuos cambios de innovación en estos instrumentos¹. Otra técnica novedosa muy utilizada por los químicos en las dos últimas décadas, es la espectroscopia, la cual ha sido una herramienta indispensable en la elucidación de las estructuras moleculares de compuestos orgánicos (por ejemplo: Productos Naturales ó Metabolitos Secundarios)².

Asimismo en estas décadas y actualmente ha tomado un gran auge la investigación de las plantas medicinales. La evaluación farmacológica de los constituyentes químicos aislados de este tipo de plantas representa una etapa más difícil, por que implica formar equipos de investigación multidisciplinaria. En general se puede señalar que el estudio, además de su aislamiento, los metabolitos secundarios han despertado un gran interés por sus propiedades químicas, biológicas y como marcadores taxonomicos³.

Uno de estos tipos de metabolitos secundarios son las lactonas sesquiterpénicas con esqueleto de eudesmano, que presentan datos de RMN-¹³C limitados, por lo que en el presente trabajo se realizó el estudio espectroscópico de eudesmanólidas y de algunos de sus derivados, obtenidos por transformaciones químicas; de donde se obtuvo como resultado los rasgos característicos de la técnica de ¹³C, factores estéricos y electrónicos, que influyen en el desplazamiento químico y por ende en las determinaciones moleculares. De manera adicional se describen los desplazamientos y acoplamientos en RMN-¹H, así como la multiplicidad mostrada en estos tipos de sustancias para confirmar las estructuras correspondientes.

•••••

ANTECEDENTES

ANTECEDENTES.

Los productos naturales son sustancias que tradicionalmente son parte de la química orgánica. Como tal, son reconocidos como sustancias de peso molecular limitado con una gran variedad estructural. Sin embargo la definición de un producto natural, es el de una sustancia que parece no tener una función explícita en los organismos que la producen⁴.

De acuerdo a la incertidumbre de la función de un metabolito secundario, algunos investigadores sugieren mediante una serie de hipótesis; la función principal de éstos. Entre las que sobresalen las siguientes: "Los metabolitos secundarios son desechos o productos de detoxificación". Así también, proveen "un depósito de una variedad no funcional de la cual nuevos procesos funcionales pueden emerger" en un tiempo futuro. Otra función es la medida de la capacidad del organismo de sobrevivir, la habilidad de sintetizar el arreglo de un metabolito secundario; el cual pueda repeler o atraer organismos^{4,5}.

De la gran variedad de metabolitos secundarios aislados, un gran número de éstos han sido caracterizados a partir de plantas medicinales, donde sobresalen los acetilenos (18-21), las cumarinas (22-23), los flavonoides (24-25) y los terpenos (26-30) (esquema 1); obtenidos de numerosos estudios químicos del género *Artemisia*⁽¹⁾, miembro de la tribu

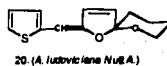
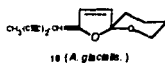
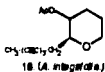
(1)

Diferentes especies de *Artemisia* que se encuentran en México.

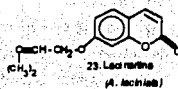
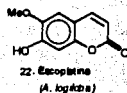
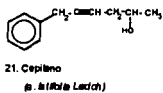
1. <i>Artemisia absinthium</i> L	Michoacán
2. <i>Artemisia alba</i> Wooter	Coahuila
3. <i>Artemisia dracunculoides</i>	Chihuahua, Baja California
4. <i>Artemisia filifolia</i> Torr	Chihuahua
5. <i>Artemisia frigida</i> Willd	Nuevo Leon
6. <i>Artemisia franservides</i> Greene	Sonora, Chihuahua
7. <i>Artemisia grapholoides</i>	Chihuahua
8. <i>Artemisia heterophylla</i>	Baja California
9. <i>Artemisia klotzschiana</i>	Hidalgo
10. <i>Artemisia ludoviciana</i> spp <i>alba</i>	Baja California
11. <i>Artemisia ludoviciana</i> spp <i>mexicana</i>	Milpa Alta (México, D.F.)
12. <i>Artemisia mexicana</i> Var. <i>angustifolia</i>	Hidalgo
13. <i>Artemisia palmeri</i> (A. Gray)	Baja California
14. <i>Artemisia redolens</i> Gray	Chihuahua
15. <i>Artemisia tridentata</i> Nutt.	B. California Norte
16. <i>Artemisia tridentata</i> <i>angustifolia</i> Gray	B. California Norte.

Esquema 1. Principales metabolitos secundarios del género *Artemisia*

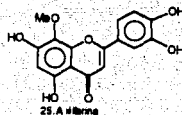
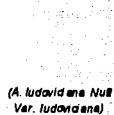
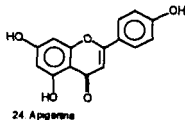
Acetilenos



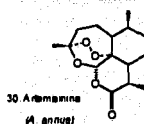
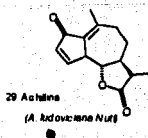
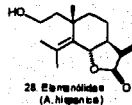
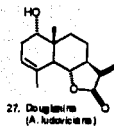
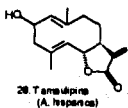
Coumarinas



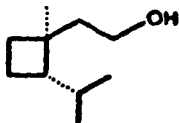
Flavonoides



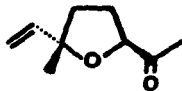
Terpenos



Anthemideae de la familia de las *Compositae (Asteraceae)*. De estos metabolitos secundarios^[2] destacan los terpenos que constituyen el principal grupo, como los monoterpenos y lactonas sesquiterpénicas; los monoterpenos tienen como característica principal su olor fuerte (son los principales componentes de los aceites esenciales), muchos de los cuales exhiben un esqueleto irregular de carbono (de 10 átomos de carbono). Algunos de estos monoterpenos son mostrados en la figura 1.



Fragranol
(*A. fragranol*)



Arbusculona
(*A. arbuscula*)

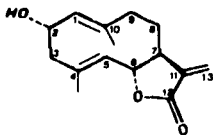
Figura 1

Las lactonas sesquiterpénicas aisladas del género *Artemisia* tienen diferentes esqueletos. Tales como las germacrólidas, las eudesmanólidas, las guayanólidas y otras sustancias de menor interés.

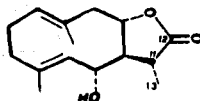
Las germacrólidas biogenéticamente derivan del pirofosfato de farnesilo, por una ciclización y sucesivas oxidaciones. Muchas de estas sustancias presentan dos enlaces dobles endocíclicos en Δ^4 y Δ^{10} con una disposición *trans* germacrano-12,6-olida (32) y la germacrano-12,8-olida (33); así como se indica en la figura 2.

[2]

La *Artemisia ludoviciana* es definida desde el punto de vista morfológico como exclusivamente hierbas o especies de arbustos. En México existe una gran variedad de especies de *Artemisia*, entre éstas la *Artemisia ludoviciana* ssp *mexicana* es un vegetal apreciado en la medicina tradicional; se le conoce comúnmente como estafiate, estayete, Iztáhyatl o sal amarga.



Tamaulipina (32)
(*A. hispanica*)

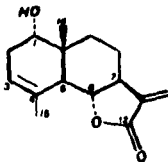


Isobachonalida (32a)
(*A. Bachanorum* Krash)

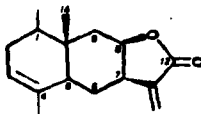
Figura 2.

Otra característica de estas germacrólidas es que presentan un grupo α -metileno ó α -metilo a la γ -lactona.

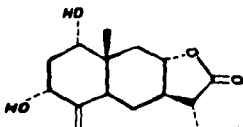
En las eudesmanólidas como su nombre lo indica tienen esqueleto de eudesmano que biogénicamente son derivadas del germacrano, por una ciclización, para generar el anillo de seis miembros, a través de la adición electrofílica entre los alquenos de los carbonos 4-5 y 1-10. En donde el esqueleto bicíclico de ninguna forma permite la posibilidad de un isómero geométrico por dobles enlaces, por lo que solo se conoce una forma estereoquímica. Así también, las eudesmanólidas son el segundo grupo más grande de lactonas sesquiterpénicas las cuales presentan dos tipos de anillo lactónico, con una fusión *trans*; que corresponden a el eudesmano-12,6-ólidas (33) y el eudesmano-12,8-ólida (34) que posee una fusión *cis*, ambos tipos de sustancias pueden contener un α -metileno ó α -metilo en la γ -lactona como se muestra en la figura 3.



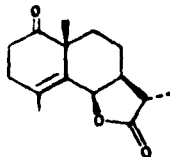
Ludalvina (33)
(A. ludoviciana Nutt ssp
albula (Woot) Kcd)



Evangustina (34)
(A. pectinatapall)



Ashurbina (34a)
(A. ashurbajevii Wink)



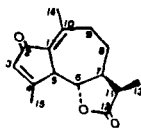
Deoxisantonina (35)
(A. tournefortiana)

Figura 3.

Sin embargo en excepciones muy especiales presentan una fusión *cis* de la lactona, como por ejemplo deoxisantonina (35) aislada de *A. tournefortiana*.

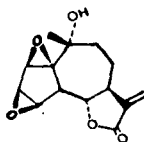
Las guayanólidas, así como las eudesmanólidas son derivadas del germacrano. Para el caso de los guayanos presentan por lo general un anillo lactónico con una fusión *trans* en los C-6 y C-7 (36 y 37), así como en el C-7 y C-8 (38) menos frecuente (figura 4).

La configuración *trans* entre los C-1 y C-5 es muy poco común. Por otra parte, las guayanólidas constituyen el grupo más numeroso de los Informados para *Artemisia* ssp; por lo que se encuentra comunmente en todas las especies del género.



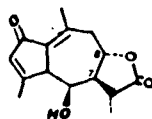
Achillina (36)

(*A. ludoviciana*
Nutt. var. *ludoviciana*)



Crisartemina (37)

(*A. ludoviciana*
Nutt. var. *ludoviciana*)



Carmenina (38)

(*A. lanata* Willd)

Figura 4

Otro grupo pequeño de lactonas sesquiterpénicas aisladas de *Artemisia* ssp que no pertenecen a ninguno de los tres grupos anteriores, son compuestos donde en algunos casos son derivados de cetonas oxidadas; o por la apertura de uno ó dobles enlaces (seco-derivados) y en otros algún tipo de arreglo del esqueleto. Estos seco-derivados son muy escasos, entre estos, están las seco-eudesmanólidas como la umbellifolida de *Artemisia umbrelliformis* (39), seco-guayanólidas identificadas como L-319 de *A. anomala* (40), así también, la psilostachlina de *A. vulgaris* la cual es seco-pseudoguayanólida.

Otro de estos esqueletos es la elemanólida considerada como seco-eudesmanólida.

También existen otros compuestos probablemente derivados por la fragmentación del enlace C-2 y C-3 de una eudesmanólida.

Una de estas eudesmanólidas (41) está representada en la figura 5, aislada de *A. hispanica*. Otro interesante ejemplo es la eremophilae conocida como el L-339 (42) derivado de *A. pectinata* y *A. laciniata*, que han sido establecidas únicamente para estas especies.

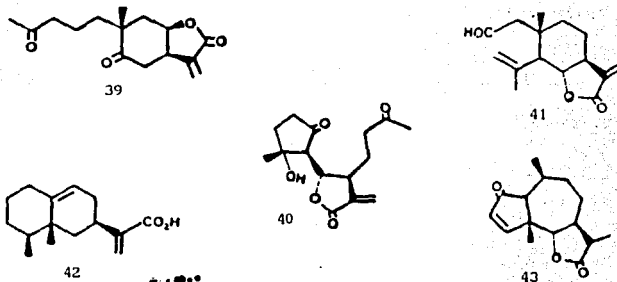


Figura 5

Por otro lado, sólo una pseudoguayanólida se ha informado en el género *Artemisia*; no obstante su estructura no está bien definida, debido a que contiene diversas ambigüedades estereoquímicas y es precisamente la artesovina (43) aislada de *A. szowitziana*⁵.

Las lactonas sesquiterpénicas^[3] constituyen un grupo numéricamente importante de sustancias, sus estructuras son variadas pero todas se relacionan con el producto de ciclización del pirofosfato de farnesilo (2E, 6E FPP) que es un catión ciclo decadienilo (1)^{6, 8}.

Así la estructura final del producto bicíclico, depende de la conformación inicial adoptada por el macrociclo (IIa, IIb) y de la posición de los dobles enlaces que permiten diversas ciclizaciones electrofílicas intramoleculares: La enzima implicada en la reacción

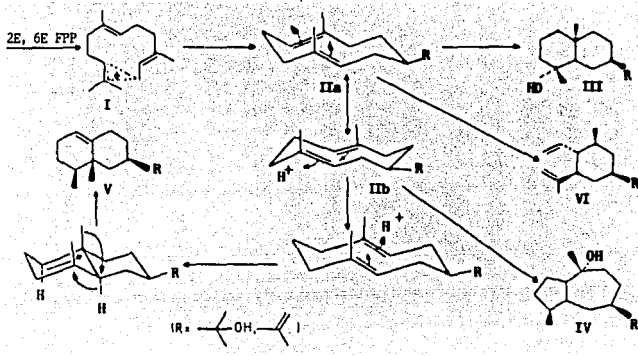
[3]

El interés terapéutico de las lactonas sesquiterpénicas no es despreciable especialmente como citotóxico y anti-tumorales; por lo que estas sustancias han suscitado muchos trabajos químicos y biológicos.

Numerosas lactonas sesquiterpénicas muestran tanto in vitro como in vivo propiedades antimicrobianas, antihelmináticas, antiinflamatorias y antimaláricas.

actúa como generadora para el precursor acíclico y condiciona la estereoespecificidad del proceso⁸ (esquema 2).

Esquema 2. Ruta biogénica de sesquiterpenos.



Los esqueletos de eudesmano, guayano y eremofilanos (III-V) son biogénicamente derivados de un precursor germacrano por una ciclización olefinica. Por otro lado, las elemanólidas prácticamente resultan de transposiciones a través de una reacción de Cope a partir de un germacrano como precursor (VI)⁶.

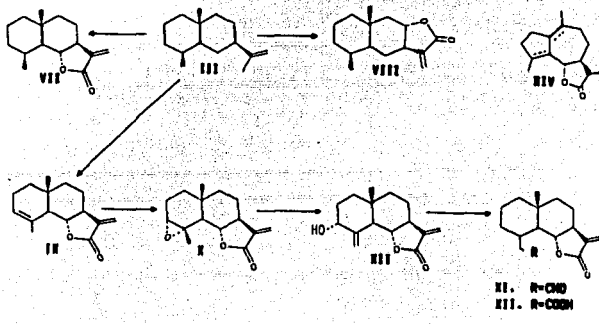
Las variaciones secundarias⁽⁴⁾ son numerosas, dándose:

[4]

Las lactonas sesquiterpénicas son muy reactivas por la α -metileno- γ -lactona frente a tioles y aminas y sobre la enona se adicionan de acuerdo a una reacción tipo Michael a numerosas enzimas necesarias para las funciones metabólicas vitales, las cuales se bloquean. Aunado a esta funcionalidad las moléculas activas poseen grupos funcionales reactivos: epóxidos, ésteres o cetonas insaturadas; que actúan por aguilación de los centros nucleofílicos de las moléculas biológicas.

- sobre la cadena isopropilidénica, que puede ser el origen de γ -lactona ciclizada en 6 ó en 8 en *cis* ó *trans* (VII-VIII) (esquema 3).
- sobre los metilos vinílicos (IX), generalmente funcionalizados: epóxidos (X), aldehídos (XI), alcoholes (XII) y ácidos carboxílicos (XIII).
- sobre las dos insaturaciones Δ^{1-10} y Δ^{4-5} (XIV); reducidas u oxidadas⁸.

Esquema 3. Funcionalización en lactonas sesquiterpénicas.



Por otra parte, el desarrollo de la investigación de plantas medicinales, se debe a la evolución de los instrumentos y métodos analíticos empleados. En un principio la técnica de cromatografía fue muy útil en la separación de productos naturales, comenzando por la cromatografía en capa fina (actualmente se utiliza para el seguimiento del desarrollo cromatográfico, en cromatografías preparativas entre otros usos); que posteriormente fue sustituida por la cromatografía de alta resolución, que presenta constantes cambios innovadores como la

cromatografía líquida de alta resolución y la cromatografía de gases acoplada a masas. Otras técnicas desarrolladas que se usan en la elucidación de estructuras orgánicas son la RMN- ^{13}C e ^1H , la espectrometría de masas; las cuales comenzaron a ser ampliamente aplicadas para el análisis de productos naturales, no obstante los avances electrónicos de esta técnica son innovados constantemente.¹

La RMN de ^{13}C y de ^1H son técnicas que se utilizan en la determinación de la estructura molecular orgánica, los desplazamientos químicos de ^{13}C y ^1H son datos útiles en la determinación de las unidades estructurales; además proveen información acerca del ambiente químico que rodea a los átomos en cuestión, así como la estructura de los grupos adyacentes a cada átomo.⁹

La espectroscopia de RMN- ^{13}C ha tenido un enorme desarrollo, aumentando su resolución mediante la técnica de pulsación con transformadas de Fourier, que permiten manipular al espín nuclear a diferentes relajaciones o experimentos de doble resonancia; así como efectuar mediciones del desplazamiento químico de otros núcleos diferentes a ^1H y ^{13}C , tales como Boro, Nitrógeno y Fósforo entre otros. Por otro lado, la espectroscopia bidimensional permite conocer los acoplamientos ^1H - ^1H (COSY), su conectividad ^{13}C - ^1H (HECTCOR), y la interacción heteronuclear ^{13}C - ^1H a largo alcance (COLOC)¹⁰.

Otras técnicas útiles y aplicables en la asignación de los desplazamientos de RMN- ^{13}C son: DEPT (Distortionless Enhancement by Polarization Transfer) y APT (Attached Proton Test).

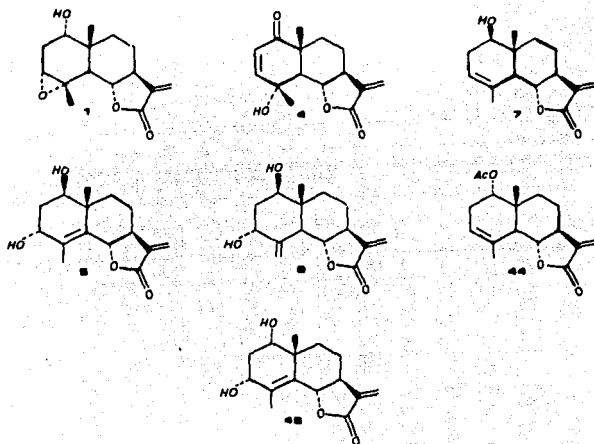
Estos métodos espectroscópicos son utilizados para una gran diversidad de análisis de compuestos orgánicos (productos naturales y compuestos heteronucleares)¹¹.

Por otra parte, actualmente el número de lactonas sesquiterpénicas conocidas es de alrededor de 2800¹² y los estudios sistematizados de resonancia magnética nuclear de carbono-13 son escasos.

Recientemente se realizó el análisis fitoquímico de *Artemisia ludoviciana*³, y algunos metabolitos secundarios que se aislaron y

caracterizaron son las siguientes eudesmanólidas^[5], Ludovicina A (1), Arglanina (4), Arnefolina (5), Santamarina (7), 3 α -hidroxil-reynosina (9), Acetato de douglanina (44), y 1 α ,3 α -dihidroxi-Arbusculina (45), (Figura 6).

Figura 6. Eudesmanólidas aisladas de Artemisia ludoviciana ssp mexicana.



[5]

Cabe señalar que en la referencia 7 se informan las pruebas in vitro con cepas de *Plasmodium falciparum* resistente a la Cloroquina.

Sustancias activas	CI50	Valores dados en μ /ml.
Ludovicina A (1)	5.02	4.1
Santamarina (7)	2.53	4.27
Arnefolina (5)	3.58	3.35
Arglanina (4)	0.39	0.79

El valor CI50 para Artemisinina es 4 μ /ml contra *Plasmodium falciparum*.⁷

**PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA
OBJETIVOS E HIPOTESIS**

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA
OBJETIVOS E HIPOTESIS

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

En la actualidad los datos de RMN-¹³C informados en la literatura son escasos para las lactonas con esqueleto de eudesmano, por lo que en el presente trabajo se hicieron los estudios de RMN-¹³C de las sustancias 1, 4, 5, 7, 9 y de algunos de sus derivados que no están descritos en la literatura; esto es con la finalidad de acrecentar la información sobre este tipo de compuestos, así como explicar y discutir los cambios en los desplazamientos químicos en los diferentes carbonos.

OBJETIVOS

El presente trabajo tiene como objetivos :

- Realizar las transformaciones químicas de algunas eudesmanólicas.
- Llevar a cabo la purificación y elucidación estructural de los productos de transformación utilizando técnicas de cristalización, cromatografía, espectroscopia y espectrometría.
- Discutir y analizar los datos obtenidos de RMN-¹³C de las eudesmanólicas y algunos de sus derivados.

HIPOTESIS

A partir de las eudesmanólicas: Ludovicina A (1), Arglanina (4), Armefolina (5), Santamarina (7), y 3 α -hidroxi-reynosina (9), cuyas estructuras se encuentran bien establecidas, se llevarán a cabo en los grupos funcionales originales de éstas, una serie de transformaciones químicas para obtener los productos deseados, a los cuales se les determinará los experimentos de RMN-¹³C, para analizar los efectos que modifiquen el desplazamiento químico en los diferentes átomos de carbono de la molécula, con respecto a la sustancia original.

PARTE EXPERIMENTAL

En un estudio fitoquímico de *Artemisia ludoviciana* ssp *mexicana*, que se realizó recientemente, se aislaron y caracterizaron algunas sustancias tales como: las lactonas sesquiterpénicas con esqueleto de eudesmano; Ludovicina A, Argianina, Arnefolina, Santamarina, y 3 α -hidroxil-reynosina.

A partir de estas cinco eudesmanólidas se realizaron transformaciones químicas, para determinar mediante resonancia magnética nuclear de ^{13}C , las modificaciones en los desplazamientos químicos de los átomos de carbono que cambiaron su funcionalidad.

Los disolventes: hexano, cloroformo, acetato de etilo, acetona empleados en los procedimientos de las transformaciones químicas fueron purificados por medio de la destilación fraccionada. Asimismo los reactivos utilizados en las reacciones químicas fueron grado analítico.

Las propiedades fisicoquímicas de las sustancias y sus derivados, tales como: punto de fusión, ^[6] infrarojo, espectrometría de masas y resonancia magnética nuclear de ^1H y ^{13}C , se determinaron en los siguientes equipos: Fisher-Johns, Espectrómetro de infrarojo Perkin Elmer modelo 283, 281 y Nicolet FTIR modelo 5sx, Espectrómetro de masas Hawlet-Packard 5985 GC/MS 70 eV, Espectrómetro de RMN Varian FT 80 A y Varian VxR-3005 (de 200 y 300 MHz para ^1H y de 50 y 75 MHz para ^{13}C), balanza analítica Ohaus.

A continuación se describen los procedimientos experimentales realizados en el presente trabajo.

Apertura del 3,4-epóxido de la ludovicina A(1). La ludovicina A impura se procedió a purificarla, mediante una cristalización por par de disolventes (hexano:acetato de etilo); verificándose su pureza por cromatografía en capa fina (CCF, este procedimiento fue el que se

[6]

Los puntos de fusión determinados no fueron corregidos.

utilizó para todas las sustancias). El sólido obtenido presentó un punto de fusión 189-192°C, soluble en cloroformo, acetato de etilo e insoluble en hexano.

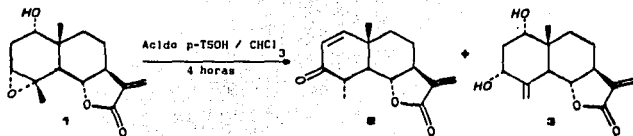
Una vez purificada la Ludovicina A, se pesaron 185 mg de ésta, y se hicieron reaccionar con 24.7 mg de ácido p-toluensulfónico en 12 ml de cloroformo (esquema 4)¹³⁻¹⁵. La reacción se realizó con agitación magnética a temperatura ambiente durante 10 horas. El curso de la reacción se siguió por CCF, al término de ésta se adicionó 3 ml de agua.

Posteriormente se realizó la separación del producto de la mezcla de reacción para lo cual se llevaron a cabo 5 extracciones (líq-líq); con 3ml de cloroformo cada una, después a la fase orgánica se lavó con dos volúmenes de 5ml de bicarbonato de sodio (10% p/v); en seguida a la fase orgánica se le eliminó las trazas de humedad con sulfato de sodio anhidro; el cual se separó por filtración a gravedad.

El producto de reacción fue concentrado; y analizado por CCF la cual indicaba la presencia de dos sustancias, por lo que se procedió a la separación por cromatografía en columna abierta (CCA), y presenta las siguientes características: 2 cm de diámetro y 20 cm de empaque, éste último fue sílica gel GF-254 para CCF. En la parte inferior se colocó algodón desengrasado y después de haber adicionado el extracto se agregó sulfato de sodio anhidro. El sistema de elución fue hexano:acetato de etilo (8:2), y se obtuvieron 95 fracciones.

De las fracciones 20-30 y 46-71 se aisló la Tuberiferina (2) y ludovicina B (3) respectivamente.

Esquema 4. Apertura del epóxido de la Ludovicina A.



Tuberiferina (2). Es un sólido, blanco, soluble en acetato de etilo, cloroformo e insoluble en hexano, presenta un punto de fusión de 145-147°C; el rendimiento que se obtuvo fue de 10.81% (20mg).

Sus propiedades espectrométricas y espectroscópicas son las siguientes:

I.R. $\nu_{\text{max}}^{\text{CHCl}_3}$ (cm^{-1}) (espectro 6) 1768.4, 1675.5, 1457.4, 1408.04, 1308.6, 1246.6, 1136.7, 1045.9, 996.4, 966.04.

E.M. m/z (%) 248 (M^+ , 1.2), 232 (2.1), 218 (2.1), 189 (48.0), 148 (32.5), 108 (18.0), 93 (31.0), 76 (76.0), 51 (26.0), 40 (15.0).

RMN- ^1H δ (300 MHz, CDCl_3 + D_2O , TMS), (espectro 7): 6.71 (d, H-1; $J=9\text{Hz}$), 5.91 (d, H-2; $J=9\text{Hz}$), 2.62 (dc, H-4; $J=7.4\text{Hz}$), 2.1 (dd, H-5; $J=10.7\text{Hz}$), 3.98 (t, H-6; $J=10\text{Hz}$), 2.58 (obs; H-7), 2.13 (obs; H-8 α), 1.79 (ddd, H-8 β ; $J=10.3\text{Hz}$), 1.75 (obs; H-9 β), 1.68 (dd, H-9 α ; $J=10.3\text{Hz}$), 6.12 (d, H-13a; $J=3\text{Hz}$), 5.43 (d, H-13b; $J=3\text{Hz}$), 1.17 (s, H-14), 1.40 (d, H-15; $J=4\text{Hz}$).

RMN-¹³C δ (75 MHz, CDCl₃, TMS), (espectro 9): C-1 (157.82), C-2 (126.81), C-3 (200.44), C-4 (42.09), C-5 (52.27), C-6 (82.0), C-7 (50.21), C-8 (21.23), C-9 (37.23), C-10 (38.52), C-11 (138.32), C-12 (170.12), C-13 (117.48), C-14 (19.32), C-15 (14.84).

Ludovicina B (3). Esta sustancia se obtuvo en un 34.97% (64.7 mg), la cual es un sólido, blanco, con un punto de fusión 148-150°C; soluble en acetato de etilo, cloroformo e insoluble en hexano.

Sus propiedades espectrométricas y espectroscópicas se detallan a continuación.

I.R. $\nu_{\text{max}}^{\text{CHCl}_3}$ (cm⁻¹) (espectro 13) 1768.4, 1675.5, 1460.1, 1409.2, 1381.7, 1136.4, 1044.4, 996.4, 965.3, 919.8.

E.M. m/z (%) 264 (M⁺, 1.4), 249 (0.9), 228 (42.5), 183 (23.0), 157 (35.0), 127 (19.5), 119 (56.9), 91 (100.0), 77 (62.1), 65 (35.0).

RMN-¹H δ (200 MHz, CDCl₃ + D₂O, TMS), (espectro 14): 3.40 (t, H-1, J=2.5Hz), 1.98 (ddd, H-2β, J=15.3Hz), 2.11 (m, H-2α), 4.42 (t, H-3, J=3Hz), 3.15 (dt, H-5, J=12, 1.5Hz), 4.04 (t, H-6, J=12Hz), 2.63 (dddd, H-7, J=12, 3Hz), 2.16 (m, H-8α), 1.58 (ddd, H-8β, J=12, 3Hz), 1.37 (m, H-9β), 2.24 (dd, H-9α, J=15, 3Hz), 6.1 (d, H-13a, J=3Hz), 5.47 (d, H-13b, J=3Hz), 0.78 (s, H-14), 5.20 (S.a; H-15, W_{1/2}=1.5Hz), 5.08 (S.a; H-15', W_{1/2}=1.5Hz).

RMN-¹³C δ (75 MHz, CDCl₃, TMS) (espectro 16): C-1 (74.34), C-2 (32.61), C-3 (75.46), C-4 (145.26), C-5 (42.82), C-6 (79.96), C-7 (49.57), C-8 (21.25), C-9 (33.93), C-10 (43.50), C-11 (139.03), C-12 (170.79), C-13 (117.19), C-14 (17.65), C-15 (113.02).

Diacetato de la Arnefolina (6). La arnefolina se purificó mediante cristalización por par de disolventes (acetato de etilo:éter isopropílico), corroborándose su pureza por CCF. Es un sólido

soluble en acetato de etilo, cloroformo, e insoluble en hexano; con un punto de fusión 188°C.

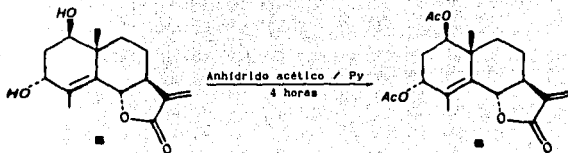
La reacción de acetilación (esquema 5)¹⁵⁻¹⁶ se realizó de la siguiente manera: en un matraz erlenmeyer, se pusieron a reaccionar 40.6 mg de Arnefolina con 2 ml de anhídrido acético y 0.5 ml de piridina a temperatura ambiente con agitación magnética. El desarrollo de la reacción se siguió por CCF, y después de 4 horas se procedió a detenerse ésta, con la adición de lg. de hielo.

Posteriormente se realizó la separación con cinco extracciones (líq-líq) de cloroformo de 3 ml cada una. La fase orgánica se trató con una solución de ácido clorhídrico (al 10% v/v) y con una solución saturada de bicarbonato de sodio, se desecó con sulfato de sodio anhidro y se filtró a gravedad.

El producto de reacción se concentró y se cristalizó por par de disolventes hexano:acetato de etilo, se filtró a vacío; lavándose con hexano y éter isopropílico.

El producto obtenido es un sólido, soluble en acetato de etilo, cloroformo e insoluble en hexano y éter isopropílico; con un punto de fusión 175-177°C. El rendimiento fue de 75.64% (30.7mg).

Esquema 5. Reacción de acetilación del diol 5.



A continuación se enuncian las propiedades espectrométricas y espectroscópicas del compuesto acetilado.

I.R. $\nu_{\text{max}}^{\text{CHCl}_3}$ (cm^{-1}) (espectro 28) 1770.5, 1732.9, 1443.4, 1371.9, 1244.04, 1136.7, 1034.3, 979.8, 944.4, 864.2.

E.M. m/z (%) 289-AcEOT (M^+ , 0.5), 246 (100.0), 213 (12.5), 185 (12.0), 135 (12.5), 107 (22.0), 91 (18.0), 79 (10.0), 53 (7.5), 43 (73.0).

RMN- ^1H δ (300 MHz, CDCl_3 , TMS). (espectro 29): 5.03 (dd, H-1, $J=12,6\text{Hz}$), 1.88 (ddd, H-2 β , $J=12,2\text{Hz}$), 1.95 (OBS, H-2 α), 5.19 (m, H-3), 4.56 (dt, H-6, $J=12,2\text{Hz}$), 2.73 (dddd, H-7, $J=12,6,3\text{Hz}$), 2.15 (obs, H-8 α), 1.62 (dddd, H-8 β , $J=12,3\text{Hz}$), 1.93 (obs, H-9 β), 1.47 (ddd, H-9 α , $J=12,3\text{Hz}$), 6.11 (d, H-13a, $J=3\text{Hz}$), 5.52 (d, H-13b, $J=3\text{Hz}$), 1.18 (s, H-14), 1.93 (d, H-15, $J=1.5\text{Hz}$), 2.13 (s, H-16), 2.08 (s, H-17).

RMN- ^{13}C δ (75 MHz, CDCl_3 , TMS) (espectro 30): C-1 (72.75), C-2 (37.59), C-3 (74.96), C-4 (135.25), C-5 (124.45), C-6 (81.98), C-7 (49.09), C-8 (22.71), C-9 (29.97), C-10 (41.32), C-12 (170.79), C-13 (119.09), C-14 (17.25), C-15 (18.55), C-16 (170.25), C-17 (169.53), C-18 (21.25), C-19 (21.20).

Epoxidación de la Santamarina (8). Inicialmente se purificó la Santamarina, mediante una cristalización por par de disolventes (cloroformo:hexano) y por CCF se corroboró su pureza. Esta sustancia es un sólido, soluble en acetato de etilo, cloroformo, insoluble en hexano, éter isopropílico; y presenta un punto de fusión de 139-141°C. Una vez purificada la sustancia anterior, se procedió a la formación del oxirano, donde 61.1 mg de Santamarina reaccionaron con 114.5 mg de ácido m-cloro perbenzoico en un matraz erlenmeyer con 10 ml de cloroformo (esquema 6)¹⁷⁻¹⁹, y agitación magnética a temperatura constante de 0°C; durante 2.5 horas.

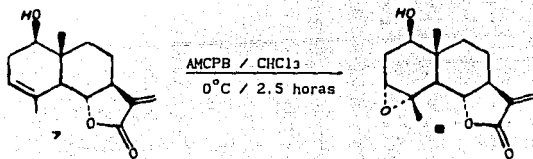
El curso de la reacción se siguió por CCF, una vez que finalizó ésta; se adicionó 1g de hielo.

Posteriormente se realizó la separación del producto de la mezcla

de reacción con cinco extracciones de 3 ml de cloroformo cada una. A la fase orgánica se adicionaron tres volúmenes de 5 ml de una solución saturada de bisulfito de sodio, así también se lavó tres veces con 5 ml de bicarbonato de sodio (al 10% p/v); absorbiéndose la humedad con sulfato de sodio anhidro, en seguida se eliminó éste por filtración a gravedad; y el producto se cristalizó por par de disolventes (cloroformo:hexano).

El compuesto obtenido fue un sólido, blanco, soluble en cloroformo, acetato de etilo e insoluble en hexano y éter isopropílico; presenta un punto de fusión de 207-209°C; y el rendimiento fue de 43.53% (26.6mg).

Esquema 6. Epoxidación de la Santamarina.



A continuación se enuncian sus propiedades espectroscópicas y espectrométricas.

I.R. $\nu_{\text{max}}^{\text{CHCl}_3}$ (cm^{-1}) (espectro 37) 3618.01, 1767.1, 1460.6, 1408.3, 1385.5, 1240.04, 1133.2, 1088.69, 1043.7, 1002.3.

E.M. m/z (%) 264 (M^+ ; 3.6), 223 (57.5), 189 (69.0), 161 (100.0), 133 (25.0), 105 (37.5), 91 (68.5), 67 (35.0), 53 (59.0), 43 (100.0).

RMN- ^1H δ (200 MHz, CDCl_3 , TMS) (espectro 38): 3.46 (dd, H-1, $J=12, 3\text{Hz}$), 3.04 (d, H-3, $J=3\text{Hz}$), 1.92 (d, H-5, $J=12\text{Hz}$), 3.93 (dd, H-6, $J=12\text{Hz}$), 2.50 (obs, H-7), 1.64 (ddd, H-8 β , $J=12, 3\text{Hz}$), 2.08 (m, H-8 α), 1.93 (m, H-9 β), 1.26 (m, H-9 α), 6.10 (d, H-13a, $J=3\text{Hz}$), 5.44 (d, H-13b, $J=3\text{Hz}$), 0.92 (s, H-14), 1.50 (s, H-15).

RMN- ^{13}C δ (75 MHz, CDCl_3 , TMS) (espectro 39): C-1 (73.68), C-2 (31.02), C-3 (60.80), C-4 (57.36), C-5 (52.57), C-6 (80.68), C-7 (50.48), C-8 (21.06), C-9 (34.21), C-10 (40.23), C-11 (138.52), C-12 (170.26), C-13 (117.34), C-14 (11.77), C-15 (21.61).

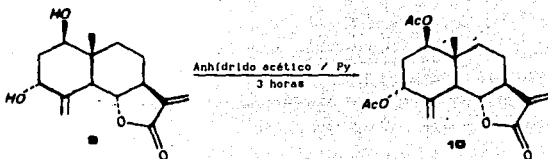
Diacetato de la 3 α -hidroxi-reynosina (10). Antes de realizar la reacción de acetilación la 3 α -hidroxi-reynosina se purificó mediante cristalización por par de disolventes (hexano:acetato de etilo); corroborándose su pureza por CCF. Esta sustancia es un sólido blanco, soluble en acetato de etilo, cloroformo e insoluble en hexano. La cual presentó un punto de fusión de 237°C.

Posteriormente en un matraz erlenmeyer, se adicionaron 26.9 mg de la 3 α -hidroxi-reynosina con 2 ml de anhídrido acético y 0.5 ml de piridina (esquema 7)¹⁵. La reacción se llevó a cabo a temperatura ambiente con agitación magnética. El avance de la reacción se determinó por CCF, y después de 3 horas se adicionó de 1 g de hielo.

El producto se aisló con cinco extracciones (líq-líq), de 3 ml de cloroformo cada una; posteriormente a la fase orgánica se agregó una solución de ácido clorhídrico (10% v/v) para eliminar la piridina y a esta misma fase se adicionó una solución saturada de bicarbonato de sodio, secándose con sulfato de sodio anhidro y posteriormente la eliminación del desecante se realizó por filtración a gravedad.

El producto de reacción en cloroformo se concentró, obteniéndose una sustancia soluble en cloroformo, acetato de etilo, parcialmente soluble en hexano e insoluble en éter isopropílico. Con un rendimiento de 88.84% (23.9 mg).

Esquema 7. Reacción de acetilación de 3 α -hidroxi-reynosina.



A continuación se enuncian las propiedades espectroscópicas y espectrométricas.

I.R. $\nu_{\text{max}}^{\text{CHCl}_3}$ (cm^{-1}) (espectro 44) 1767.5, 1732.4, 1441.7, 1373.1, 1136.2, 1056.3, 1021.8, 966.9, 941.5.

E.M. m/z (%) 228-AcOEt (M^+ ; 6.0), 208 (6.0), 183 (5.0), 120 (8.0), 105 (22.0), 91 (15.0), 88 (9.0), 87 (12.0), 70 (13.0), 43 (100.0).

RMN- ^1H δ (300 MHz, CDCl_3 , TMS) (espectro 45): 5.12 (dd, H-1, $J=12,6\text{Hz}$), 1.85 (dd, H-2 β , $J=12,3\text{Hz}$), 2.07 (obs; H-2 α), 5.48 (t, H-3, $J=3\text{Hz}$), 2.72 (d, H-5, $J=12\text{Hz}$), 4.02 (t, H-6,

J=12Hz), 2.61 (dddd, H-7, J=12,6,3Hz), 2.07 (obs; H-8 α), 1.48 (dddd, H-8 β , J=12,3Hz), 1.79 (m, H-9 β), 1.62 (ddd, H-9 α , J=12,3Hz), 6.10 (d, H-13a, J=3Hz), 5.46 (d, H-13b, J=3Hz), 0.92 (s, H-14), 5.35 (s.a; H-15, $W_{1/2}$ =3Hz), 5.16 (d, H-15', J=1.5Hz), 2.12 (s, H-16), 2.08 (s, H-17).

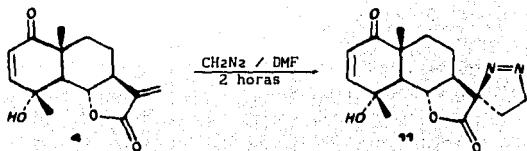
RMN-¹³C δ (75 MHz, CDCl₃, TMS) (espectro 46): C-1 (73.75), C-2 (32.80), C-3 (75.29), C-4 (139.33), C-5 (48.54), C-6 (78.67), C-7 (49.42), C-8 (21.29), C-9 (35.09), C-10 (41.94), C-11 (138.73), C-12 (170.16), C-13 (117.34), C-14 (12.12), C-15 (116.59), C-16 (169.62), C-17 (169.68), C-18 (21.42), C-19 (21.05).

β -Pirazolina de la Arglanina (11). Este compuesto es un sólido, blanco cristalino, soluble en cloroformo, acetato de etilo e insoluble en hexano; con un punto de fusión 191-193°C. Una vez purificada esta sustancia se pesaron 57 mg de Arglanina y se pasó a un matraz erlenmeyer, disolviéndose en 5 ml de dimetilformamida y se adicionó diazometano^[7] en éter etílico lentamente hasta terminar la reacción (esquema 8)²⁰; ésta tuvo una duración de 2 horas, el curso de la reacción fue determinado por CCF. La mezcla de reacción se concentró y cristalizó a temperatura ambiente, el residuo se filtró a vacío y se lavó con hexano frío. Obteniéndose un sólido blanco, con un punto de fusión 105-107°C; soluble en cloroformo, acetato de etilo e insoluble en hexano frío. Y un rendimiento de 76.31% (43.5 mg).

[7]

Preparación de diazometano. El diazometano se preparó en un equipo expreso para el caso. Se pesaron 11 g de reactivo diazald (N-metil-N-nitroso-p-toluen sulfonamida) disolviéndose en 100 ml de éter etílico anhidro en un matraz erlenmeyer, posteriormente se colocó esta solución en un embudo de adición, y se agregó lentamente a un matraz balón que contiene una mezcla compuesta por 5 g de hidróxido de sodio, éter etílico, agua y etanol (10:10:30). Simultáneamente se colectó el diazometano en éter etílico un matraz balón sumergido en hielo.

Esquema 8. Formación del espirocompuesto, a partir de la Arglanina.



Sus propiedades espectroscópicas y espectrométricas se describen a continuación.

I.R. $\nu_{\text{max}}^{\text{CHCl}_3}$ (cm^{-1}) (espectro 49) 3595, 1778, 1382, 1130, 1085, 1038, 978, 882.

E.M. m/z (%) 276 (M^+ ; 2.7), 247 (27.5), 215 (28.0), 186 (17.0), 133 (41.0), 105 (42.5), 91 (66.3), 69 (25.0), 53 (33.0), 39 (39.5).

RMN- ^1H δ (200 MHz, CDCl_3 , TMS) (espectro 50): 5.94 (d, H-2, $J=10\text{Hz}$), 6.65 (d, H-3, $J=10\text{Hz}$), 2.53 (d, H-5, $J=12\text{Hz}$), 5.39 (t, H-6, $J=12\text{Hz}$), 2.25 (m, H-7), 2.08 (m, H-8 β), 1.6 (obs; H-8 α), 1.6 (obs; H-9 α), 1.6 (obs; H-9 β), 2.22 (m, H-13a), 1.60 (m, H-13b), 1.28 (s, H-14), 1.58 (s, H-15), 4.75 (t, H-16a, b, $J=8\text{Hz}$).

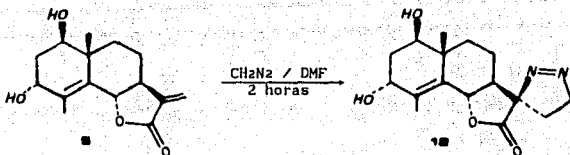
RMN- ^{13}C δ (75 MHz, CDCl_3 , TMS) (espectro 52): C-1 (201.31), C-2 (125.65), C-3 (151.71), C-4 (70.19), C-5 (55.20), C-6 (79.69), C-7 (54.16), C-8 (18.25), C-9 (33.97), C-10 (46.29).

C-11 (97.39), C-12 (172.25), C-13 (22.43), C-14 (19.61), C-15 (23.94), C-16 (78.28).

β -Pirazolina de la Arnefolina (12). 51.8 mg de esta sustancia, la cual fue purificada por técnicas convencionales, se disolvió en 5 ml de dimetilformamida en un matraz erlenmeyer, adicionando diazometano en éter etílico lentamente durante 2 horas (esquema 9); el desarrollo de la reacción se realizó por CCF.

El producto de la reacción se concentró y cristalizó a temperatura ambiente, el residuo se filtró a vacío y se lavó con hexano frío. Este es un sólido blanco, con un punto de fusión de 170-172°C, soluble en cloroformo, acetato de etilo. El rendimiento de la reacción fue de 72.77% (32.7 mg).

Esquema 9. Obtención de la β -pirazolina de la Arnefolina.



A continuación se reseñan las propiedades espectroscópicas y espectrométricas.

I.R. $\nu_{\text{max}}^{\text{CHCl}_3}$ (cm^{-1}) (espectro 55) 3560, 1762, 1445, 1378, 1334, 1270, 1115, 1095, 1012, 987.

E.M. m/z (%) 278 (M^+ ; 9.0), 245 (48.0), 203 (13.0), 178 (28.0), 135 (35.0), 107 (80.5), 91 (100.0), 77 (63.0), 57 (18.0), 43 (79.6).

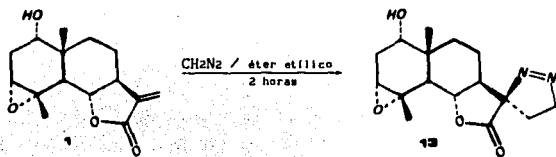
RMN- ^1H δ (300 MHz, CDCl_3 , TMS) (espectro 56): 3.83 (dd, H-1, $J=12,6\text{Hz}$), 1.91 (dd, H-2 α , $J=6,3\text{Hz}$), 1.93 (dd, H-2 β , $J=12,3\text{Hz}$), 4.07 (s.a; H-3, $W_{1/2}=9\text{Hz}$), 5.77 (dt, H-6, $J=12,1.5\text{Hz}$), 2.38 (ddd, H-7, $J=12,3\text{Hz}$), 2.22 (m, H-8 α), 1.68 (dddd, H-8 β , $J=12,3\text{Hz}$), 1.48 (obs, H-9 β), 1.30 (ddd, H-9 α , $J=12,3\text{Hz}$), 2.14 (dt, H-13a, $J=10,3\text{Hz}$), 1.55 (m, H-13b), 1.16 (s, H-14), 2.09 (s, H-15), 4.72 (t, H-16a, b, $J=10\text{Hz}$).

RMN- ^{13}C δ (75 MHz, CDCl_3 , TMS) (espectro 58): C-1 (71.59), C-2 (35.95), C-3 (72.51), C-4 (133.34), C-5 (127.26), C-6 (82.30), C-7 (54.38), C-8 (19.07), C-9 (37.76), C-10 (42.51), C-11 (97.60), C-12 (172.45), C-13 (22.71), C-14 (17.16), C-15 (18.11), C-16 (78.11).

β -Pirazolina de la Ludovicina A (13). A la ludovicina A impura, se le procedió a purificar mediante una cristalización por par de disolventes (hexano:acetato de etilo), comprobando su pureza por CCF; este compuesto es un sólido blanco en forma de agujas que posee un punto de fusión 189-192°C, soluble en acetato de etilo, cloroformo e insoluble en hexano. Después de purificar se hicieron reaccionar 26.3 mg de Ludovicina A con la adición de diazometano en éter etílico durante 2 horas (esquema 10). El curso de la reacción se siguió por CCF.

La mezcla del producto de reacción se concentró y cristalizó por par de disolventes (acetato de etilo:hexano), el cual se filtró a vacío y lavó con hexano frío; y se obtuvo con un rendimiento de 68.06% (17.9mg).

Esquema 10. Formación del espirocompuesto 13 a partir de la Ludovicina A.



Sus propiedades espectrométricas y espectroscópicas se detallan a continuación.

I.R. $\nu_{\text{max}}^{\text{CHCl}_3}$ (cm^{-1}) (espectro 61) 3503.2, 1779.3, 1450.4, 1385.8, 1279.3, 1128.9, 1112.3, 1077.4, 981.1

E.M. m/z (%) 278 (M^+ , 3.5), 223 (32.3), 175 (79.0), 171(60.0), 133 (67.0), 105 (57.0), 91 (94.0), 89 (90.0), 67 (78.0), 55 (72.0).

RMN- ^1H δ (200 MHz, CDCl_3 , TMS) (espectro 62): 3.24 (dd, H-1, $J=10,5\text{Hz}$), 2.26 (obs; H-2 β), 2.32 (obs; H-2 α), 3.09 (s.a; H-3, $W_{1/2}=6\text{Hz}$), 2.42 (d, H-5, $J=12\text{Hz}$), 5.19 (dd, H-6, $J=12\text{Hz}$), 2.22 (obs; H-7), 1.89 (ddd, H-8 β , $J=12,5\text{Hz}$), 1.49 (obs; H-8 α), 1.5 (obs; H-9 β), 1.32 (dc, H-9 α , $J=12,4,2\text{Hz}$), 2.22 (obs; H-13a), 1.55 (obs; H-13b), 0.95 (s, H-14), 1.61 (s, H-15), 4.73 (t, H-16a, b, $J=9\text{Hz}$).

RMN-¹³C δ (75 MHz, CDCl₃, TMS) (espectro. 63): C-1 (73.19), C-2 (29.08), C-3 (60.80), C-4 (58.99), C-5 (46.14), C-6 (80.82), C-7 (55.17), C-8 (18.18), C-9 (33.10), C-10 (40.08), C-11 (97.80), C-12 (172.80), C-13 (22.19), C-14 (17.92), C-15 (18.11), C-16 (78.09).

β-Pirazolina de la Ludovicina B (14). La Ludovicina B fue obtenida de la reacción de hidrólisis ácida de la Ludovicina A. La Ludovicina B es un sólido blanco, soluble en acetato de etilo, cloroformo e insoluble en hexano; presentó un punto de fusión 148-150°C. Una vez purificada la sustancia descrita anteriormente, se procedió a la formación del espirocompuesto, esto es, en un matraz erlenmeyer, se hicieron reaccionar 23.4 mg de Ludovicina B con diazometano en éter etílico (esquema 11); el cual fue adicionado gradualmente hasta el término de la reacción.

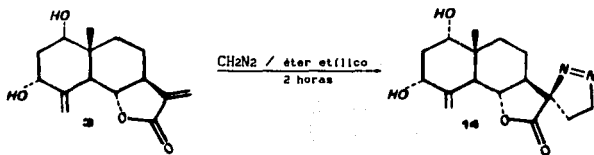
La terminación de la reacción se comprobó por CCF y el producto de ésta se concentró y cristalizó por par de disolventes (hexano:acetato de etilo), éste se filtró a vacío y se lavó con hexano frío. Esta sustancia es un sólido blanco que presentó un punto de fusión 138-140°C, soluble en acetato de etilo, cloroformo e insoluble en hexano frío; con un rendimiento de 51.28% (12.0 mg).

Sus propiedades espectrométricas y espectroscópicas son las siguientes.

I.R. $\nu_{\text{max}}^{\text{CHCl}_3}$ (cm⁻¹) (espectro 66) 3398.9, 1776.4, 1429.7, 1128.3, 1065.9, 1020.0, 9983.0, 907.8, 851.8.

E.M. m/z (%) 278 (M⁺; 4.5), 260 (29.0), 227 (37.0), 213 (24.0), 181 (31.0), 145 (38.0), 119 (32.0), 105 (85.0), 91 (77.0), 79 (94.0).

Esquema 11. Formación del espirocompuesto 14, a partir de la Ludovicina B.



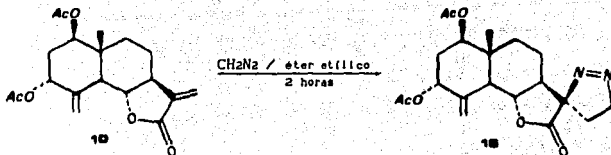
RMN- ^1H δ (200 MHz, CDCl_3 , TMS) (espectro 67): 2.47 (dd, H-1, $J=2\text{Hz}$), 2.13 (obs; H-2 α), 1.64 (obs; H-2 β), 4.41 (s.a; H-3, $W^{1/2}=8\text{Hz}$), 3.12 (dt, H-5, $J=12, 1.5\text{Hz}$), 5.26 (dd, H-6, $J=12\text{Hz}$), 2.31 (ddd, H-7, $J=12, 4\text{Hz}$), 1.52 (m, H-8 α), 2.22 (obs; H-8 β), 1.36 (dc, H-9 α , $J=12, 4\text{Hz}$), 2.02 (obs; H-9 β), 2.20 (m, H-13a), 1.62 (m, H-13b), 0.83 (s, H-14), 5.26 (obs; H-15), 5.20 (d, H-15', $J=2\text{Hz}$), 4.71 (dd, H-16a, b, $J=8\text{Hz}$).

RMN- ^{13}C δ (75 MHz, CDCl_3 , TMS) (espectro 68): C-1 (74.52), C-2 (32.73), C-3 (75.44), C-4 (145.34), C-5 (43.54), C-6 (79.72), C-7 (54.25), C-8 (18.38), C-9 (33.94), C-10 (42.88), C-11 (98.38), C-12 (173.33), C-13 (22.39), C-14 (17.52), C-15 (113.38), C-16 (78.03).

β -Pirazolina del diacetilado de la 3 α -hidroxi-reynosina (15). El diacetilado de la 3 α -hidroxi-reynosina se obtuvo de una reacción que fue realizada anteriormente (esquema 7), es una sustancia aceitosa,

de color café, soluble en acetato de etilo, cloroformo e insoluble en hexano. Después de purificar la sustancia se hicieron reaccionar en un matraz erlenmeyer 23.9 mg del compuesto diacetilado de la 3 α -hidroxi-reynosina con diazometano en éter etílico, el cual se adicionó gradualmente hasta el término de la reacción (esquema 12), la mezcla del producto se concentró y cristalizó por par de disolventes (Hexano:acetato de etilo), se filtró a vacío y se lavó con hexano frío. Esta sustancia es un sólido, blanco, soluble en acetato de etilo, cloroformo e insoluble en hexano frío; con un punto de fusión 172-174°C. El rendimiento obtenido fue de 50.60% (12.1 mg).

Esquema 12. Formación de la β -pirazolina 15, a partir del diacetilado 10.



A continuación se enuncian sus propiedades espectroscópicas y espectrométricas.

I.R. $\nu_{\text{max}}^{\text{CHCl}_3}$ (cm^{-1}) (espectro 70) 1787.8, 1732.4, 1377.1, 1247.5, 1133.7, 1019.8, 966.3, 936.3, 750.4.

E.M. m/z (%) 302-AcOH-N₂ (M⁺, 0.7), 287 (0.9), 261 (0.7), 242 (16.0), 227 (20.3), 197 (10.0), 169 (9.0), 131 (14.0), 119 (21.9), 105 (24.4).

RMN-¹H δ (200 MHz, CDCl₃, TMS) (espectro 71): 5.12 (dd, H-1, J=12,3Hz), 1.84 (dd, H-2 β , J=12,3Hz), 2.04 (obs; H-2 α), 5.51 (d, H-3, J=3Hz), 2.69 (dt, H-5, J=12Hz), 5.23 (dd, H-6, J=12Hz), 2.29 (ddd, H-7, J=12,4Hz), 1.48 (m, H-8 β), 1.84 (m, H-8 α), 1.51 (m, H-9 β), 1.33 (dd, H-9 α , J=12.4Hz), 2.16 (m, H-13a), 1.58 (m, H-13b), 0.97 (s, H-14), 5.42 (d, H-15, J=1Hz), 5.27 (d, H-15', 1.5Hz), 4.72 (t, H-16a, b, J=7Hz), 2.08 (s, H-AcO), 2.05 (s, H-AcO).

RMN-¹³C δ (75 MHz, CDCl₃, TMS) (espectro 73): C-1 (73.78), C-2 (32.75), C-3 (75.18), C-4 (139.29), C-5 (48.56), C-6 (78.54), C-7 (53.99), C-8 (18.41), C-9 (35.18), C-10 (41.95), C-11 (98.16), C-12 (172.85), C-13 (22.43), C-14 (11.97), C-15 (116.74), C-16 (78.10), C-17 (170.82), C-18 (169.75), C-19 (21.44), C-20 (21.07).

DISCUSION DE RESULTADOS

DISCUSION DE RESULTADOS.

Las propiedades espectroscópicas de las eudesmanólidas obtenidas de *Artemisia ludoviciana* y algunos de sus derivados se muestran en la tablas IV, V y VI.

La asignación de los valores de los desplazamientos químicos de las señales de hidrógeno en la mayoría de los casos, se hizo con ayuda de la correlación homonuclear espectroscópica H-H (COSY); en otros se realizaron experimentos de doble resonancia y espectros de RMN-¹H equilibrados con D₂O. Además se determinó la funcionalidad de los compuestos por sus propiedades espectroscópicas (IR) y espectrométricas (masas), para la elucidación de las estructuras moleculares.

Las sustancias 1, 4, 5, 7 y 9 se tuvieron como materia prima por lo que se procedió a la purificación y determinación nuevamente de sus propiedades espectroscópicas (RMN-¹H) con equipos de mayor sensibilidad con respecto a sus determinaciones previas, así como los espectros de infrarrojo y espectrometría de masas; de igual manera fueron estudiados los derivados 2, 3, 6, 8, 10-15 obtenidos por diveras transformaciones químicas, informándose en el presente trabajo la asignación de todos los núcleos de hidrógeno detalladamente y las reacciones que se realizaron.

Apertura del epóxido de la Ludovicina A. La Ludovicina A (1) es un sólido blanco, que en su espectro de IR muestra en 3532.3 cm⁻¹ una banda que indica la presencia de hidroxilo; y otra en 1797.9 cm⁻¹ de carbonilo de una γ -lactona de cinco átomos. Mientras que en su espectro de masas por impacto electrónico presenta un ión molecular m/z 264 (1.4%), que corresponde a una fórmula molecular C₁₅H₂₀O₄ ($\Omega=6$).

En su espectro de RMN-¹H (200 MHz) en CDCl₃ + D₂O (espectro 1) se observan en δ 6.08 y δ 5.4 dos señales de hidrógenos geminales, que corresponden al H-13a (d, 1H; 3Hz) y H-13b (d, 1H; 3Hz).

La variación de desplazamiento en estos hidrógenos es debido a que H-13a es desprotegido por el efecto de anisotropía generado por la cercanía del carbonilo. También se visualiza una señal centrada en δ

3.93 (dd, 1H; 12Hz) del H-6, con una disposición *trans*-axial con el H-5 y H-7.

Una señal en δ 3.2 (s.a.; 1H; $W_{1/2}$ =9Hz) pertenece al H-1 geminal a hidroxilo. Cuando se equilibra con D_2O (espectro 2); aparece una señal simplificada como triplete para H-1 (t, 1H; 2Hz). Otra señal en δ 3.03 (s.a.; 1H, 6Hz) se asignó al H-3 geminal a epóxido y se acopla con los hidrógenos del C-2 como se muestra en el espectro COSY (espectro 5).

Dos señales singletes que integran para tres hidrógenos son asignados a los Me-14 y Me-15, con δ 0.85 y de δ 1.49 (s, 3H) respectivamente; en donde el H-15 es geminal al oxirano por lo que se desplaza a campo bajo.

Por último, dos hidrógenos ubicados en el intervalo de δ 2.39 a δ 2.68, que por medio del espectro COSY, se asignó al H-5 (d, 1H; 12Hz) y H-7 (d, 1H; 12,3Hz) centrados en δ 2.42 y δ 2.49 respectivamente. Los datos descritos anteriormente confirman la estructura de la Ludovicina A (1)²¹ (figura 7).

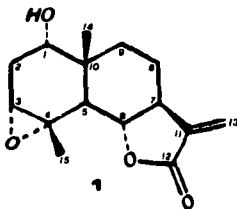


Figura 7.

A la ludovicina A (1) se le realizó la apertura del oxirano de manera regioselectiva con ácido *p*-toluensulfónico. Cuando no se observó materia prima por CCF, se procedió a parar la reacción y los

productos obtenidos fueron dos, los cuales se separaron por cromatografía en columna.

En las fracciones 10-20 se obtuvo un sólido blanco, que en su espectro de masas por impacto electrónico muestra un ión molecular m/z 248 (1.2%); para una fórmula molecular $C_{15}H_{18}O_3$ ($\Omega=7$). En su espectro IR presenta bandas en 1768.4 cm^{-1} y 1675.5 cm^{-1} para una α -metileno- γ -lactona y de un carbonilo α,β insaturado respectivamente, esto último fue confirmado en su espectro de RMN- 1H (200 MHz) en $CDCl_3$ (espectro 6). De los datos obtenidos de este espectro de (RMN- 1H) se propone una estructura parcial para el anillo A, mostrado en la figura 8; observándose un sistema AB en δ 6.71 (d,1H;9Hz) y en δ 5.91 (d,1H;9Hz), estas señales son asignados al H-1 y H-2 donde el desplazamiento químico a campo más bajo corresponde a Ha, por el efecto de anisotropía que ejerce el carbonilo.

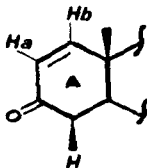


Figura 8.

También se observa un par de dobles en δ 6.12 y δ 5.43 proporcionados por el H-13a (d,1H;3Hz) y el H-13b (d,1H;3Hz). Por otra parte, una señal centrada en δ 2.62 (dc,1H;6,4Hz) se asignó al H-4 el cual muestra en su espectro COSY (espectro 12) una correlación con el H-5 ($J=7$ Hz) y con H-15 en δ 1.4 (d,3H;4Hz); en base a estas características se deduce que el H-4 posee una orientación β -axial.

Así por la multiplicidad mostrada de H-4 y su desplazamiento químico, indica que es vecinal a un carbonilo; lo cual permite establecer que los hidrógenos del sistema AB corresponde a los H-1 y H-2, de acuerdo a la estructura ilustrada en la figura 8.

Otra señal triple se observa en δ 3.98 ($t, 1H; 10Hz$) que indica la presencia de una lactona cerrada al C-6 por la interacción *trans*-diaxial con los H-5 y H-7; y se observan en δ 2.1 ($dd, 1H; 7, 10Hz$) y δ 2.58 ($obs, 1H$) respectivamente, estos son confirmados por la correlación homonuclear (H-H, COSY).

Mientras que, una señal singlete se contempla en δ 1.18 ($s, 3H$) que corresponde al H-14 de metilo. Asimismo la señal en δ 1.79 ($ddd, 1H; 10, 3Hz$) se asignó al H-8 con disposición β -axial; acoplada de manera antiperiplanar con el H-9 α en un δ 1.68 ($dd, 1H; 10, 3Hz$) y con el H-7.

También dos señales oscurecidas son asignadas al H-8 α ecuatorial en δ 2.13 ($obs, 1H$) y H-9 β ecuatorial en δ 1.75 ($obs, 1H$). La variación de desplazamiento químico de los hidrógenos en los C-8 y C-9, es debido a que son adyacentes a centros estereogénicos, de ahí su carácter diasterotópico.

Los desplazamientos químicos anteriormente discutidos nos confirman que estas señales, están de acuerdo a la estructura de una α -metileno- γ -lactona; informada en la literatura como **Tuberiferina**²² (2), previamente aislada de *Sonchus tuberosus* suent; (figura 9).

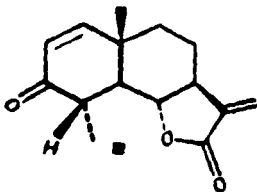


Figura 9

En las últimas fracciones 36-71 se obtuvo un sólido blanco que en su espectro de IR se observan dos bandas características de hidroxilo en 3597.4 cm^{-1} , y de α -metileno- γ -lactona en 1768.4 cm^{-1} . Mientras que en su espectro de masas por impacto electrónico presenta un ión molecular m/z 264 (15.3%) para una fórmula $\text{C}_{15}\text{H}_{20}\text{O}_4$ ($n=6$).

Ahora bien, en su espectro de RMN- ^1H (200 MHz) en CDCl_3 (espectro 13 y 14) se advierten dos señales en δ 6.1 (d, 1H; 3Hz) y en δ 5.47 (d, 1H; 3Hz) para los H-13a y H-13b del metileno exocíclico de la γ -lactona. También se observan dos señales con un δ 5.2 (s.a; 1H, $W_1/2=3\text{Hz}$) y en δ 5.08 (s.a; 1H, $W_1/2=3\text{Hz}$) que son adjudicadas al metileno exocíclico (H-15a y H-15b); la variación de desplazamiento químico de H-15a a campo bajo es generado por el efecto estérico del hidroxilo localizado sobre el C-3. Una señal triple centrada en δ 4.04 (t, 1H; 12Hz) que corresponde al H-6 con una estereoquímica antiperiplanar con el H-5 y H-7; que aunada a la señal en δ 0.78 (s, 3H) indica la presencia de un metilo (H-14); lo anterior prueba que la sustancia en discusión es una eudesmanólida.

La señal de los hidrógenos H-15 a y b se confirma por las señales del H-3 en δ 4.42 (t, 1H; 3Hz) y H-5 en δ 3.15 (dt, 1H; 12, 1.5Hz) por el acoplamiento alílico; además el H-3 se desplaza a campo bajo por ser también geminal a hidroxilo. La disposición del H-3 β ecuatorial se corrobora por su constante de acoplamiento con los H-2 α ecuatorial en δ 2.11 (m, 1H) y de H-2 β axial en δ 1.98 (ddd, 1H; 15, 3Hz). Mientras que el H-5 se desprotege por el efecto inductivo del metileno exocíclico (C-4 y C-15), presentando un acoplamiento alílico con los H-15 a y b ($J=1.5\text{Hz}$); y una interacción *trans*-axial con el H-6 ($J=12\text{Hz}$). Otra señal en δ 3.4 (t, 1H; 3Hz) geminal a hidroxilo se asignó al H-1, este hidrógeno muestra en su espectro COSY (espectro 18) una interacción con los H-2 α y H-2 β ; su constante de acoplamiento establece una disposición α -axial.

Por otro lado, se observa una señal en δ 2.63 (dddd, 1H; 12, 3Hz) de un sistema ABX (figura 10) que se asignó al H-7; el cual se acopla de manera antiperiplanar con el H-6 y H-8 β axial, y de manera alílica con

los H-13.

Señales adicionales se localizan en δ 1.58 (*ddd*, 1H; 12,3Hz) y δ 2.16 (*m*, 1H), de los H-8 β axial y H-8 α ecuatorial respectivamente; que en su espectro COSY muestran interacciones con los H-9 β ecuatorial y H-9 α axial, en δ 1.37 (*m*, 1H) y δ 2.24 (*dd*, 1H; 15,3Hz).

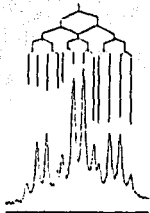


Figura 10.

Por los argumentos anteriores se establece que la sustancia corresponde a la Ludovicina B (3)²¹, aislada de *Artemisia ludoviciana* ssp *mexicana* (figura 11).

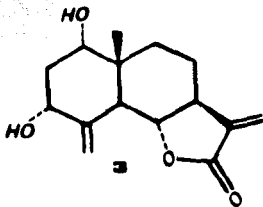


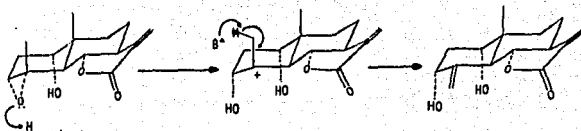
Figura 11

Explicación de formación de la Tuberiferina y Ludovicina B. Los productos obtenidos de la reacción de Ludovicina A (1) con ácido p-toluensulfónico en cloroformo fueron dos; la Tuberiferina (2) y Ludovicina B (3). A continuación se detalla el mecanismo de la formación, para los productos 2 y 3.

La Ludovicina A en medio ácido sufre la apertura del oxirano regioselectivamente generándose el carbocatión más estable sobre el C-4; posteriormente el p-toluensulfonato abstrae un protón del metilo (C-15) para estabilizar la carga del carbocatión con la formación del metileno exocíclico (C-4 y C-15) de la Ludovicina B (esquema 13).

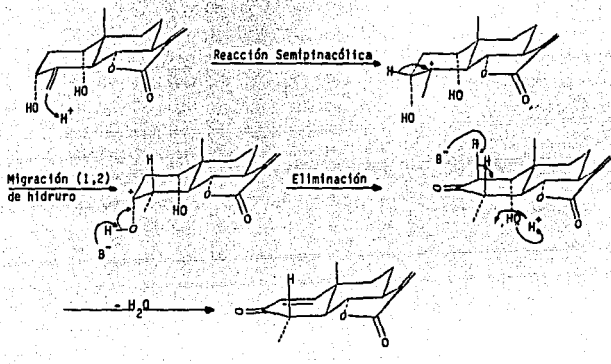
Posteriormente, el medio ácido ocasiona una reacción semipinacólica como se describe^{15,20-21} a continuación: primeramente se protona el metileno exocíclico, generando el metilo (C-15) y un carbocatión sobre el C-4, y la generación del carbonilo en el C-3 se lleva a cabo por la migración [1,2] de hidruro. La formación de la Tuberiferina se favorece

Esquema 13. Mecanismo de reacción propuesto para la obtención de la Ludovicina B



por la disposición α -axial del hidroxilo sobre el C-1 esto es: la base conjugada abstrae al hidrógeno ubicado sobre el C-2, generando un carbanión que con la protonación del hidroxilo; se realiza una reacción de eliminación (esquema 14).

Esquema 14. Mecanismo de reacción para la obtención de la Tuberiferina



Por otra parte, la **Arnefolina** (5) muestra en su espectro de masas por impacto electrónico un ión molecular m/z 264 (27.5%); para una fórmula molecular $C_{15}H_{20}O_4$ ($\Omega=6$). Los datos de IR indican la presencia de alcohol en 3612.5 cm^{-1} , y de carbonilo de una α -metileno- γ -lactona en 1767.2 cm^{-1} . Por lo que en su espectro de RMN- 1H (200 MHz) en $CDCl_3$ (espectro 23, 24), se distinguen dos señales en δ 6.22 (d,1H;3Hz) y en δ 5.53 (d,1H;3Hz) característico de los H-13a y H-13b de una α -metileno- γ -lactona. Una señal centrada en δ 4.58 (dt,1H;12,1.5Hz) se

asignó al H-6¹⁸¹; la multiplicidad indica acoplamiento alílico con el metilo vinílico localizado sobre el C-4 en δ 2.06 (d, 1H; 1.5), y otra señal de un metilo unido a un carbono cuaternario (Me-C₁₀) en δ 1.09 (s, 3H).

Así también, se observan dos señales geminales a hidroxilo en δ 3.86 (dd, 1H; 12,3 Hz) y en δ 4.05 (s.a; 1H; $W_{1/2}$ =8Hz); sus constantes de acoplamiento establecen una orientación α -axial y β -ecuatorial; de acuerdo a estas características las señales corresponden a H-1 y H-3 respectivamente.

Por otro lado, en el intervalo de δ 2.0 a 2.23 y entre δ 1.3 a 1.72 se muestran señales cuyas integrales indican la presencia de cuatro hidrógenos; al equilibrarse con D₂O se visualizan las señales en δ 1.64 (dddd, 1H; 12,3 Hz), δ 2.12 (m, 1H), δ 1.41 (ddd, 1H; 12,3 Hz) y en δ 2.17 (s.a; 1H, $W_{1/2}$ =6 Hz); que corresponden a hidrógenos diastereotópicos, y se asignaron al H-8 β axial, H-8 α ecuatorial, H-9 α axial y H-9 β ecuatorial respectivamente. A su vez estos interactúan entre sí, como se observa en su correlación homonuclear H-H (COSY) (espectro 27). Con las constantes descritas se reafirma la estructura de la Arnefolina (5)²² (Figura 12).

181

Las interacciones del H-6 son corroboradas en su espectro COSY de esta sustancia (espectro 27).

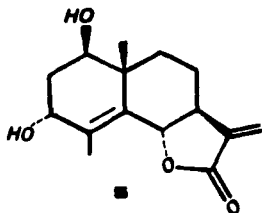


Figura 12.

Formación del compuesto diacetilado de la Arnefolina. La sustancia 5 se hizo reaccionar con anhídrido acético en piridina, con la finalidad de obtener el compuesto diacetilado 6. El producto de reacción obtenido fue un sólo compuesto (6) donde su aspecto físico, es el de un sólido blanco; que en su espectro de masas por impacto electrónico se observa un ión molecular m/z 289 (0.5%) para una fórmula condensada $C_{19}H_{24}O_6$ ($\Omega=8$), con una pérdida de 59 u.m que presuntamente corresponden a un ión acetato. En su espectro de IR presenta una banda de absorción con un número de onda de 1770.5 cm^{-1} para carbonilo, y en 1722.9 cm^{-1} una banda ancha para carbonilo de éster (acetato).

El espectro 29 de RMN- ^1H (300 MHz) en CDCl_3 de la sustancia 6 se manifiestan señales correspondientes a un metilo unido a carbono cuaternario en δ 1.18 (s, 3H), y un metilo vinílico en 1.93 (d, 3H; 1.5Hz) que se asignaron a los Me-C_{10} y Me-C_4 respectivamente. Los desplazamientos químicos de estos carbonos a campo bajo ratifica la cercanía del grupo acetato, comparado con el diol 5.

Una señal centrada con un δ 4.56 (dt, 1H; 12, 1.5Hz) pertenece al H-6, que interactúa con H-7 en δ 2.73 (dddd, 1H; 12, 6, 3Hz) de manera trans-axial y alílica al H-15 ($J=1.5\text{Hz}$). Otras señales que se evidencian son: las de los hidrógenos geminales a acetatos en δ 5.03 (dd, 1H; 12, 6Hz) asignada al H-1 que se acopla de forma anti con H-2 β axial ($J=12\text{Hz}$) y H-3 en δ 5.19 (m, 1H) con disposición β -ecuatorial.

Por otra parte, las dos señales en δ 6.11 (*d, 1H; 3Hz*) y δ 5.52 (*d, 1H; 3Hz*) corresponden a los hidrógenos vinílicos H-13a y H-13 respectivamente. Otras dos señales intercambiables son características de los metilos en los acetatos centrados en δ 2.13 (*s, 3H*) y δ 2.08 (*s, 3H*). Las siguientes señales en δ 2.15 (*obs, 1H*); δ 1.62 (*dddd, 1H; 12, 3Hz*); δ 1.93 (*obs, 1H*) y δ 1.47 (*ddd, 1H, 12, 3Hz*) pertenecen a hidrógenos con centros estereogénicos adyacentes, y son asignados a los H-8 α , H-8 β , H-9 β y H-9 α respectivamente. La integración de los datos^[9] descritos anteriormente establece la estructura de la **Arnefolina diacetilada (6)** (figura 13).

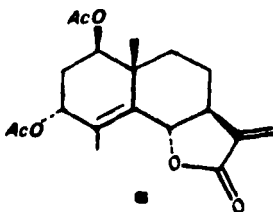


Figura 13.

Por otra parte la **Santamarina (7)** al igual que todas las sustancias naturales que se mencionan en el presente trabajo se aisló recientemente, de *Artemisia ludoviciana* ssp *mexicana*. Esta sustancia fue sometida nuevamente a un proceso de purificación por cristalización; y posteriormente se procedió a determinar sus

[9]

Los datos asignados de hidrógeno fueron también obtenidos con la ayuda de una doble resonancia.

propiedades espectrométricas y espectroscópicas las cuales se describen a continuación (sobre todo estas últimas con equipos de mayor sensibilidad).

El espectro de masas para la sustancia 7, manifiesta un ión molecular a m/z 248 (55.7%) para una fórmula condensada $C_{15}H_{20}O_3$ ($n=6$). Mientras que los datos de IR son para carbinol en 3600 cm^{-1} y γ -lactona en 1768 cm^{-1} .

La información que da el espectro 33 de RMN- ^1H en CDCl_3 es la siguiente: se advierte una señal centrada en δ 3.95 (dd, 1H; 12Hz) que se asignó al H-6.

También presenta dos señales en δ 0.88 (s, 3H) y δ 1.83 (s, a. 1H; $W_{1/2}=7\text{Hz}$) que pertenecen a metilos ubicados en carbonos sp^3 y sp^2 respectivamente. La señal de un hidrógeno vinílico en δ 5.35 (s, a. 1H; $W_{1/2}=10\text{Hz}$), se asignó al H-3, y otra señal centrada en un δ 2.37 (m, 1H) le corresponde al H-5. La señal de este núcleo se detecta cuando se equilibra con D_2O (espectro 34). Por los datos hasta ahora discutidos se deduce que la ubicación del doble enlace está sobre el C-3 y C-4.

Asimismo se observa una señal en δ 2.5 (dddd, 1H; 12.6, 3Hz) cuando se equilibra con D_2O la cual se asignó al H-7 con un acoplamiento *trans*-diaxial con H-6 y H-8 β axial; y alílico a los H-13a en δ 6.08 (d, 1H; 3Hz) y H-13b en δ 5.42 (d, 1H; 3Hz).

La señal centrada en δ 3.68 (dd, 1H; 12Hz) para un hidrógeno geminal a hidroxilo, se asignó al H-1 y conforme a su constante de acoplamiento se deduce que posee una orientación α -axial; y además está relacionada con la señal múltiple ubicada en un intervalo de δ 2.06 a 2.1 correspondiente a los hidrógenos del C-2. Por último, dos hidrógenos con un δ 1.67 (dddd, 1H; 12, 3Hz) y δ 1.33 (ddd, 1H; 12, 3Hz) son para el H-8 β axial y H-9 α axial; que se acoplan de manera antiperiplanar con los H-7 y H-9 α axial y *trans*-axial con H-8 β axial respectivamente.

La integración de los datos analizados anteriormente están de acuerdo con los informados con la literatura para la *Santamarina* (7)²⁶, eudesmanólida aislada de la *Ambrosia confertiflora* (figura 14).

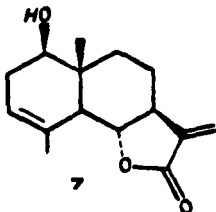


Figura 14.

Formación de la 3,4-epoxisantamarina. A partir de la sustancia 7 se procedió a la formación del oxirano, haciendo reaccionar la eudesmanólida correspondiente con AMCPB.

El producto de reacción obtenido, es un sólido blanco que presenta en su espectro de IR una banda ancha en 3618.1cm^{-1} (hidroxilo) y en 1767.1cm^{-1} (carbonilo de γ -lactona).

El espectro de masas por impacto electrónico corrobora la presencia del oxirano, al presentar la adición de 16 uma, con respecto a la Santamarina, con un ión molecular m/z 264 (3.6%) para una fórmula condensada $\text{C}_{15}\text{H}_{20}\text{O}_4$ ($\Omega=6$).

Por otra parte, en su espectro de RMN- ^1H (200 MHz) en CDCl_3 (espectros 38-39) se distingue una señal en δ 3.93 (dd, 1H; 12Hz) para H-6. Dos señales de metilo en δ 0.92 (s, 3H) y δ 1.5 (s, 1H) sobre carbonos cuaternarios sp^3 para los H-14 y H-15. Una señal centrada en δ 1.92 (d, 1H; 12Hz) se asignó al H-5, otra señal característica con δ 3.04 (d, 1H; 3Hz) pertenece al H-3 geminal al epóxido, que de acuerdo a su constante de acoplamiento se deduce que el H-3 posee una orientación β -ecuatorial. Dos señales en δ 6.1 (d, 1H; 3Hz) y δ 5.44 (d, 1H; 3Hz) corresponden a los H-13a y H-13b.

Por otro lado, en δ 3.46 (dd, 1H; 12,6Hz); se define una señal para el H-1 geminal a hidroxilo con una orientación α -axial, disposición determinada por su constante de acoplamiento. Una señal centrada en δ

1.62 (ddd, 1H; 12, 3Hz) se asignó al H-8 β axial espectro RMN- 1 H en D $_2$ O (espectro 39). A campo alto se visualiza otra señal que pertenece al H-9 α axial centrada en δ 1.26 (m, 1H). La discusión anterior permite establecer que la sustancia en cuestión es la 3,4-epoxi-Santamarina (8)²⁶; aislada previamente de *Ambrosia confertiflora* (figura 15).

La sustancia 9, es un compuesto aislado recientemente de un estudio de *Artemisia ludoviciana* ssp *ludoviciana*, que corresponde a la 3 α -hidroxi-reynosina⁽¹⁰⁾ (9) (figura 16)²⁶.

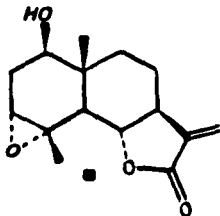


Figura 15.

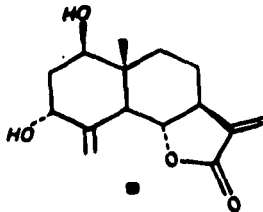


Figura 16.

Diacetato de la 3 α -hidroxi-reynosina. El compuesto 9 utilizado como materia prima fue sometido a un proceso de purificación por cristalización, haciéndose reaccionar éste para obtener el producto diacetilado (10) mediante la técnica convencional de acetilación.

[10]

Los estudios espectroscópicos (RMN- 1 H, 13 C) fueron realizados en un trabajo reciente.

La presencia del compuesto diacetilado se corroboró con las siguientes propiedades físicas: su espectro de IR muestra una banda en 1782.4 cm^{-1} para carbonilo de α -metileno γ -lactona, y en 1731.7 cm^{-1} una banda que se debe a la presencia de un carbonilo de acetato. En su espectro de masas por impacto electrónico se corrobora la formación del el compuesto diacetilado, al observarse un ión molecular m/z 230 (6.0%), con una pérdida de 59 una por cada acetato para una fórmula molecular $\text{C}_{19}\text{H}_{24}\text{O}_6$ ($\Omega=6$).

Ahora bien, en su espectro de RMN- ^1H (300 MHz) en CDCl_3 (espectro 45) se visualizan dos señales en δ 6.1 (d, 1H; 3Hz) y δ 5.46 (d, 1H; 3Hz) para los H-13a y H-13b. Una señal centrada en δ 4.02 (t, 1H; 12Hz), se asignó al H-6 con una orientación β -axial y una interacción *trans*-diaxial con las señales de H-5 y H-7 en δ 2.72 (d, 1H; 12Hz) y δ 2.61 (dddd, 1H; 12, 6Hz) respectivamente; el acoplamiento de estos hidrógenos es corroborado por su espectro COSY (espectro 48). Así también presenta dos señales en δ 5.35 (s, a; 1H, 3Hz) y δ 5.16 (d, 1H; 1.5Hz) que corresponde a H-15a y H-15b. Una señal de hidrógeno geminal a acetato, a campo bajo en δ 5.47 (t, 1H; 3Hz) se asignó al H-3.

Este hidrógeno tiene una interacción alílica con H-15 además con los hidrógenos que están en la posición 2 como se observa en su espectro COSY; por lo tanto la señal δ 5.12 (dd, 1H; 12, 6Hz) se asignó a H-1 que se acopla con el H-2 β axial en δ 1.85 (dd, 1H; 12, 3Hz), ver espectro COSY.

Dos señales intercambiables que indican la presencia de metilos en δ 2.12 (s, 3H) y 2.08 (s, 3H) se asignaron a los H-16 y H-17 de acetatos.

Otra señal centrada en δ 0.92 (s, 3H) corresponde a los H-14 (Me-C $_{10}$).

Por otro lado, la señal en δ 1.48 (dddd, 1H; 12, 3Hz) pertenece al H-8 con una orientación β -axial y presenta en su espectro COSY interacciones con los H-7 y H-9 α y geminal con el H-8 α ecuatorial.

Mientras el H-9 con disposición α -axial muestra una señal en δ 1.62 (ddd, 1H; 12, 3Hz), con un acoplamiento geminal al H-9 β ecuatorial y *trans*-axial con el H-8 β axial; confirmado por su espectro COSY. Los

desplazamientos químicos anteriormente discutidos nos confirman que estas señales están de acuerdo al producto **Diacetilado de la 3 α -hidroxi-reynosina (10)**; (figura 17).

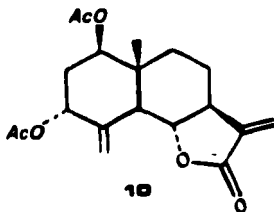


Figura 17.

Argianina (4). Esta es una sustancia aislada recientemente de *Artemisia ludoviciana*, fue utilizada como materia prima para realizar reacciones químicas por lo que se procedió a su purificación mediante la técnica de cristalización, y sus propiedades espectroscópicas y espectrométricas, se determinaron con equipos de mayor resolución tal como se describe a continuación.

La sustancia **4** es un sólido blanco que en su espectro de IR se observa una banda de absorción con una frecuencia de 3571.6 cm^{-1} de un hidroxilo y en 1774.8 cm^{-1} , una banda fina de un carbonilo de una α -metilen- γ -lactona, así como una banda de absorción en 1683.4 cm^{-1} de una cetona α,β insaturada. Mientras que en su espectro de masas por impacto electrónico se observa un ión molecular m/z 262 (11.7%) que corresponde a una fórmula molecular $C_{15}H_{18}O_4$ ($\Omega=6$).

Ahora bien, en su espectro de RMN^1H (200 MHz) en $CDCl_3$ (espectro 19) se observa una señal en δ 4.17 (t, 1H; 10Hz) que se asignó al H-6, el cual se acopla de manera antiperiplanar con el H-5 en una posición α -axial en δ 2.59 (d, 1H; 10Hz) y el H-7 en δ 2.62 (obs, 1H). El

acoplamiento de estos hidrógenos se verificó por su espectro COSY (espectro 22).

También presenta dos señales para un sistema AB en δ 6.63 ($d, 1H; 10Hz$) y δ 5.92 ($d, 1H; 10Hz$) que corresponden a los H-2 y H-3 respectivamente. Otras dos señales en δ 6.18 ($d, 1H; 3Hz$) y 5.52 ($d, 1H; 3Hz$) se asignaron a los H-13a y H-13b. Una señal centrada en δ 1.59 ($s, 3H$) de un metilo correspondiente al H-15, desplazado a campo bajo por ser geminal a hidroxilo. Así también, se observa una señal de un metilo (Me-14) ubicado sobre el carbono 10 en un δ 1.22 ($s, 3H$) que se encuentra desprotegido por el efecto de anisotropía del carbonilo vecinal.

La señal observada en δ 2.18 ($dt, 1H; 9, 3Hz$) que corresponde al H-8 α -ecuatorial, se acopla al H-8 β axial en δ 1.68 ($m, 1H$), H-9 β ecuatorial en δ 2.09 ($dd, 1H; 9, 3Hz$) y H-9 α axial en δ 1.6 ($obs, 1H$). La variación del desplazamiento químico de estos hidrógenos es debido a que son vecinales a centros quirales. La integración de los datos anteriormente descritos establecen que se trata de una eudesmanólida, en particular de la Arglanina (4)²¹ (figura 18).

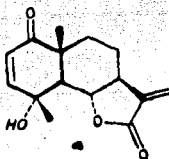
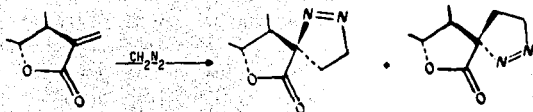


Figura 18.

A continuación se describen 5 reacciones entre las eudesmanólidas 1,3,4,5,10 y el diazometano, donde se espera que se cumpla el siguiente esquema de reacción²⁰. En el esquema 15 se indican los diferentes estereoisómeros que se podrían formar.

Esquema 15. Estereoisómeros que se pueden formar entre el metileno exocíclico de la γ -lactona y el diazometano.



La sustancia 4 se hizo reaccionar con diazometano en éter etílico, y se obtuvo un solo compuesto. El producto de reacción es un sólido blanco, los datos de IR en 3595 cm^{-1} indican la presencia de hidroxilo en 1780 cm^{-1} para lactona de cinco miembros, y en 1680 cm^{-1} para carbonilo de cetona α,β insaturada. En su espectro de masas por impacto electrónico se observa un ión molecular en m/z 276 (2.7%) para una fórmula molecular $\text{C}_{16}\text{H}_{20}\text{O}_4\text{N}_2$ ($\Omega=7$), con una pérdida de 28 uma que presumiblemente se debe a la presencia de nitrógeno en la molécula.

Por otra parte, en su espectro de RMN- ^1H (200 MHz) en CDCl_3 (espectro 50, 51) aparecen dos señales para un sistema AB en δ 6.65 (d, 1H; 10Hz) y δ 5.94 (d, 1H; 10Hz) que se asignaron a H-2 y H-3. Una señal centrada en δ 1.58 (s, 3H) corresponde al H-15 de un metilo geminal a hidroxilo. Cabe señalar que no se observa en este espectro el sistema ABX que forman H-7 con H-6 y H-13; lo cual supone que el diazometano se adicionó al doble enlace exocíclico formándose la pirazolina.

También presenta una señal en δ 5.39 (t, 1H; 12Hz) a campo bajo del H-6 con una orientación β -axial, y un acoplamiento que indica la fusión *trans* de la γ -lactona con los H-5 en δ 2.53 (d, 1H; 12Hz) y H-7 δ 2.2 (m, 1H); las interacciones entre estos hidrógenos se confirma en su

espectro COSY (espectro 54). El desplazamiento químico a campo bajo del H-6, con respecto a los desplazamientos químicos característicos de las α -metileno- γ -lactonas es originado por el efecto de anisotropía del azocompuesto (-N=N-) por la orientación β del mismo.

Otras señales que confirman la presencia de la pirazolina, es la observada a campo bajo en δ 4.75 (t, 2H, 8Hz) de un metileno sp^3 que corresponden al H-16a y H-16b; que interactúan con las señales en δ 2.22 (m, 1H) y δ 1.6 (m, 1H) asignados a los hidrógenos diastereotópicos H-13a y H-13b, la interacción de estos hidrógenos se confirma en el espectro COSY. La diferencia en sus desplazamientos químicos de los CH₂-13 y CH₂-16, es precisamente que este último está unido al grupo diazo que provoca la desprotección por el efecto inductivo que genera. Los hidrógenos de los metileno anteriores presentan diversos desplazamientos químicos debido a que el CH₂-13 está adyacente a un centro estereogénico, además poseen ambientes químicos diferentes esto es, el H-13a aparece a campo más bajo que el H-13b por el efecto de anisotropía que ejerce el carbonilo vecinal (C-12); mientras el H-13a está libre de este efecto. Las señales de los H-16a y H-16b a campo bajo es causado por el efecto de anisotropía que provoca el grupo funcional diazo, ambos hidrógenos tienen la misma señal en su espectro; esto se debe a que son simétricos e interactúan exclusivamente con los H-13a y H-13b.

Por otro lado, se observa una señal compleja en un intervalo de δ 1.5 a 1.7 (obs, 3H) que integra para tres hidrógenos y supuestamente corresponden a los H-8 α ecuatorial, H-9 β axial y H-9 β ecuatorial. Una señal con un δ 2.08 (m, 1H) se asignó al H-8 β axial así como la señal centrada en δ 1.28 (s, 3H) corresponde al metilo localizado en el C-10.

La integración de los datos descritos establece la estructura de una pirazolina, que corresponde a la β -pirazolina de la Arglanina (II) (figura 19).

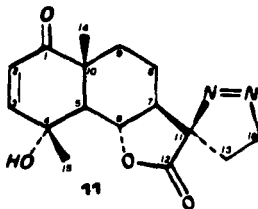


Figura 19

De la **Arnefolina (5)** se obtuvo la pirazolina **12**, las constantes físicas se describen a continuación: En el espectro de IR aparece una banda de absorción en 3560 cm^{-1} para hidroxilo y una banda intensa en 1785 cm^{-1} de carbonilo, que debido al valor del número de onda indica que en la posición α posee un grupo voluminoso. Mientras que en su espectro de masas por impacto electrónico posee un ión molecular en m/z 278 (9.0%) para una fórmula molecular de $\text{C}_{16}\text{H}_{22}\text{O}_4\text{N}_2$ ($\Omega=6$), con una pérdida de 28 una que probablemente son de nitrógeno molecular. Ahora bien, en el compuesto **12** se observa en su espectro de RMN- ^1H (300 MHz) en CDCl_3 (espectro 56, 57) una señal en δ 4.72 ($t, 2\text{H}; 10\text{Hz}$) que se asignó al H-16a y H-16b de un metileno sp^3 ; los cuales presentan en su espectro COSY (espectro 60) interacciones con los H-13a en un δ 2.14 ($dt, 1\text{H}; 12, 3\text{Hz}$) y con el H-13b en δ 1.55 ($m, 1\text{H}$).

Otra señal que se visualiza a campo bajo en δ 5.77 ($dt, 1\text{H}; 12, 1.5\text{Hz}$) se asignó al H-6 con una orientación β -axial, el cual interacciona de forma *trans*-axial con el H-7 en δ 2.38 ($ddd, 1\text{H}; 12, 3\text{Hz}$); y de acuerdo a la forma de la señal (H-6) y al desplazamiento químico se deduce que es adyacente a un carbono sp^2 con la misma orientación del azocompuesto, esto confirma la orientación β de la pirazolina.

También presenta dos señales de metilos centrados en el δ 1.16 ($s, 3\text{H}$) del C_{10} -Me y de un metilo vinílico en δ 2.09 ($s, 3\text{H}$) localizado

en el C-4.

Por otro lado, la señal de un hidrógeno geminal a hidroxilo en δ 3.83 (*dd*, 1H; 12,6Hz) se asignó al H-1: que conforme a su constante de acoplamiento presenta una orientación α -axial, éste interactúa de manera antiperiplanar con el H-2 β -axial en δ 1.93 (*dd*, 1H; 12,3Hz) y con H-2 α ecuatorial en δ 1.91 (*dd*, 1H; 6,3Hz). Otra señal en δ 4.07 (*s.a*; 1H; $W_1/2=9$ Hz) pertenece a H-3 y se acopla con los hidrógenos del C-2 como se ilustra en su espectro COSY; que de acuerdo a su constante de acoplamiento el H-3 presenta una orientación α -ecuatorial.

Así también, se observan dos señales en δ 2.22 (*m*, 1H) y en δ 1.68 (*dddd*, 1H; 12,3Hz) asignados a los H-8 α ecuatorial y al H-8 β axial, éste último se acopla de manera *trans*-diaxial con el H-7 y el H-9 α axial centrado en δ 1.3 (*ddd*, 1H; 12,3Hz), así como el H-9 β ecuatorial que se localiza en δ 1.48 (*obs*, 1H). Por los argumentos anteriores se establece que la sustancia corresponde a la β -pirazolina de la Arnefolina (12) (figura 20).

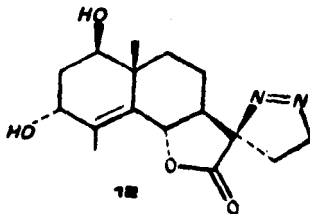


Figura 20.

A partir de la Ludovicina A se obtuvo el espirocompuesto correspondiente, los datos de IR son similares a la sustancia 12 lo que presupone que posee los mismos grupos funcionales.

El espectro de masas por impacto electrónico indica la presencia de un ión molecular m/z 278 (3.5%) para una fórmula molecular $C_{16}H_{22}O_4N_2$

($\Omega=6$); también se detecta una pérdida de 28 uma que se debe a la presencia de nitrógeno en su molécula. Por otra parte, en su espectro de RMN- ^1H (200 MHz) en CDCl_3 (espectro 62) se observa una señal δ 4.73 (t, 2H; 9Hz) para los H-16a y H-16b, éstos en su espectro COSY (espectro 65) presentan una correlación con los H-13a y H-13b en δ 2.22 (obs, 1H) y δ 1.55 (obs, 1H) respectivamente. Una señal centrada a campo bajo en δ 5.19 (dd, 1H; 12Hz) se asignó al H-6, acoplado con el H-5 en δ 2.42 (d, 1H; 12, 1.5Hz) y el H-7 en δ 2.22 (obs, 1H). El desplazamiento químico de H-6 es análogo a las sustancias 11, 12; por lo que se deduce que la pirazolina posee una orientación β .

Dos señales de metilos que se observan en δ 0.93 (s, 3H) y δ 1.61 (s, 3H) son para el Me-C₁₀ y Me-C₄ respectivamente.

Asimismo, una señal en δ 3.24 (dd, 1H; 10, 5Hz) característica de un hidrógeno geminal a hidroxilo; corresponde al H-1 con una disposición β -ecuatorial que interacciona con los hidrógenos del C-2 en el intervalo de δ 2.26 a 2.31 (obs, 2H), corroborada por su espectro COSY.

Otra señal en δ 3.09 (s.a; 1H; $W_{1/2}=6\text{Hz}$) es proporcionada por el H-3 geminal a un epóxido. La señal en δ 1.89 (ddd, 1H; 12, 5Hz) se asignó al H-8 β con una orientación *trans*-diaxial, que interacciona con el H-9 α axial en δ 1.32 (dc, 1H; 12, 4, 2Hz) y el H-7. Dos señales en δ 1.49 (obs, 1H) y δ 1.55 (obs, 1H) son asignados a los H-8 α ecuatorial y H-9 β ecuatorial respectivamente. De acuerdo a las características anteriores se establece que la sustancia corresponde a la β -pirazolina de la Ludovicina A (13) (figura 21).

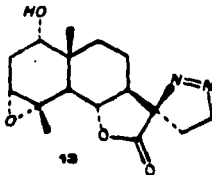


Figura 21.

La sustancia 3 fue utilizada como materia prima y sometida a una transformación química con diazometano para obtener el espirocompuesto respectivo, determinándose en su espectro IR una banda ancha de absorción en 3398 cm^{-1} de hidroxilo y una banda intensa en 1776 cm^{-1} de un carbonilo de una γ -lactona. Su espectro de masas por impacto electrónico se observa un un ión molecular m/z 278 (4.5%) para una fórmula molecular $\text{C}_{16}\text{H}_{22}\text{O}_4\text{N}_2$ ($\Omega=6$), con una pérdida de 28 uma debido a la presencia de nitrógeno en su molécula. Ahora bien, el espectro ^1H RMN (200 MHz) CDCl_3 para este compuesto, aparece una señal a campo bajo en δ 5.26 (*dd*, 1H; 12Hz) para el H-6 que interactúa con los núcleos de hidrógeno en δ 3.12 (*dt*, 1H; 12, 1.5Hz) del H-5 y en δ 2.31 (*ddd*, 1H; 12, 4Hz) para el H-7. El desplazamiento químico de H-6 da evidencia que la pirazolina posee una orientación β . Por otra parte, se observa una señal centrada en δ 4.41 (*s*, 1H, $W_{1/2}=8\text{Hz}$) que se asignó al H-3 en una orientación β -ecuatorial; además interactúa con las señales en δ 2.13 (*obs*, 1H) y δ 1.64 (*obs*, 1H) de los H-2 α ecuatorial y el H-2 β -axial corroborado en su espectro COSY (espectro 69).

La señal en δ 2.47 (*dd*, 1H; 2Hz) pertenece al H-1 con una orientación β -ecuatorial; acoplado con los hidrógenos del C-2. También se observan dos señales de hidrógenos vinílicos en δ 5.26 (*obs*, 1H) y en δ 5.2 (*dd*, 1H; 2Hz) que fueron asignados al H-15a y H-15b. Otra señal centrada en δ 0.83 (*s*, 3H) se asignó al metilo sobre el C-10.

Por otro lado, la señal a campo bajo en δ 4.71 (*dd*, 2H; 8Hz) corresponden a los H-16a y H-16b que interactúan con los H-13a y H-13b en δ 2.2 (*m*, 1H) y δ 1.62 (*m*, 1H). Dos señales con un δ 2.02 (*obs*, 1H) y en δ 1.36 (*dc*, 1H; 12, 4, 2Hz) corresponden al H-9 β ecuatorial y al H-9 α axial que interactúan de manera antiperiplanar con el H-8 β axial en δ 2.22 (*obs*, 1H) y con el H-8 α ecuatorial en δ 1.52 (*m*, 1H).

Con base a los datos anteriormente descritos se establece la estructura de una pirazolina, que corresponde a la β -pirazolina de la Ludovicina B^[11] (14) figura 22.

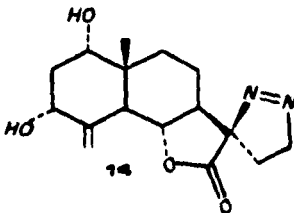


Figura 22.

La sustancia 10, fue objeto de una reacción química con diazometano para formar el compuesto 15, éste es un sólido blanco que presenta en IR, bandas características para carbonilo de γ -lactona en 1787 cm^{-1} y de carbonilo de éster en 1732 cm^{-1} , asimismo tiene un ión molecular de $m/z\ 302$ (AcOH, N_2) para una fórmula parcial $\text{C}_{18}\text{H}_{22}\text{O}_4$, lo que indica, que presumiblemente tuvo pérdida de 88 uma, este valor sugiere 28 uma para nitrógeno del azocompuesto y 60 uma por la eliminación de ácido acético, debida a una transposición de McLafferty^[12], para una

[11]

Cabe mencionar que los resultados obtenidos para los compuestos 13 y 14 fueron confirmados por una doble resonancia.

[12]

Seibi, J; Espectrometría de masas. 1a ed. Editorial Alhambra, España pág. 82 (1972).

fórmula molecular $C_{20}H_{26}O_6N_2$ ($N=8$). El espectro de RMN- 1H (200 MHz) en $CDCl_3$ (espectro 71, 72) de este compuesto tiene una señal en δ 5.23 ($dd, 1H; 12Hz$) que se asignó al H-6 con una orientación β -axial, y se correlaciona con las señales en δ 2.69 ($dt, 1H; 12, 1Hz$) y 2.29 ($ddd, 1H; 12, 4Hz$) que corresponden a los H-5 y H-7 respectivamente.

Asimismo dos señales en δ 5.4 ($d, 1H; 1Hz$) y δ 5.27 ($d, 1H; 1.5Hz$) corresponden a los H-15a y H-15b, estos hidrógenos además presentan un acoplamiento alílico con el H-5 indicado en su COSY (espectro 74).

Una señal centrada en δ 0.97 ($s, 3H$) se asignó al H-14. Así también, presenta la señal en δ 5.12 ($dd, 1H; 12, 4Hz$) de hidrógeno geminal a acetato (H-1); con orientación α -axial. Este hidrógeno interactúa de forma *trans*-axial con los núcleos en δ 1.87 ($dd, 1H; 12, 4Hz$) y δ 2.04 ($obs, 1H$), que pertenecen a los H-2 β axial y H-2 α ecuatorial.

El H-3 está centrado en δ 5.51 ($dd, 1H; 3Hz$) con una orientación β -ecuatorial, e interactúa con los hidrógenos del C-2.

Por otro lado, se observa una señal en δ 4.72 ($t, 2H; 7Hz$) que se asignó a los H-16a y H-16b. Los H-13a y H-13b aparecen en δ 2.16 ($m, 1H$) y δ 1.58 ($m, 1H$) respectivamente. Las señales de los metilos de acetato son intercambiables y están ubicadas en δ 2.08 ($s, 3H$) y δ 2.05 ($s, 1H$).

Por último, se observan dos señales en δ 1.51 ($m, 1H$) y δ 1.33 ($dd, 1H; 12, 4Hz$) que corresponden a los H-9 β ecuatorial y al H-9 α axial.

El H-9 α axial se acopla de forma *trans*-axial con el H-8 β axial centrado en δ 1.48 ($m, 1H$) y con el H-8 α -ecuatorial en δ 1.84 ($m, 1H$). La integración de los datos descritos establece la estructura de una pirazolina, que corresponde a la β -pirazolina del diacetilado de la 3 α -hidroximi-reynosina (15)^[13] (figura 23).

[13]

Cabe mencionar que la multiplicidad de algunas señales de hidrógeno fueron determinadas con ayuda del espectro 73 de RMN- 1H en D_2O .

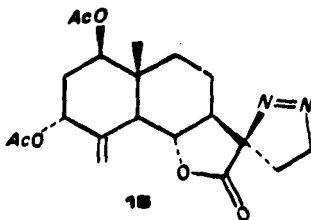
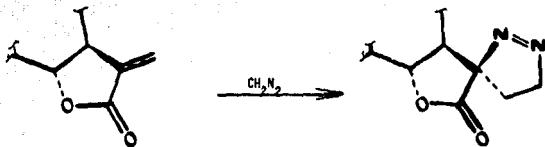


Figura 23.

Explicación de la formación de las pirazolinas. Como se mencionó anteriormente al ser tratadas las eudesmanólicas 1,3,4,5 y 10 (α -metileno- γ -lactonas) con diazometano, se obtuvieron las β -pirazolinas de los productos 11-15; así como se indica en el esquema 16.

Esquema 16. Obtención de la β -pirazolina.

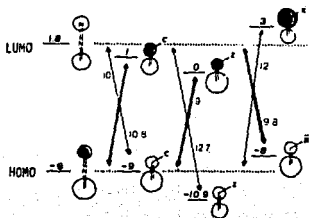


Se sabe que el diazometano (dipolo) reacciona con olefinas (dipolarófilos), llevándose a cabo reacciones de cicloadición 1,3-dipolares.

Para este caso el dipolarófilo es el doble enlace exocíclico de la

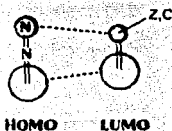
lactona, en el cual se considera que tiene un grupo electroattractor (carbonilo). El mecanismo de la transformación se explica con base a las energías de los orbitales frontera HOMO y LUMO del dipolo y del dipolarófilo, como se ilustra en el esquema 17.

Esquema 17. Diagrama energético de los orbitales frontera HOMO, LUMO.



La diferencia de energía más pequeña es entre el LUMO (dipolarófilo) menos el HOMO (dipolo)=9eV; siendo la reacción controlada por el HOMO del dipolo. También la regioselectividad de la reacción está controlada por el HOMO del dipolo; y al tamaño de los orbitales frontera. Esquema 18.

Esquema 18. Interacción HOMO, LUMO.



Z : Grupo electroattractor
C : Conjugación adicional

También se podría explicar la formación de la pirazolina β a través de un mecanismo diradical²⁰. Cabe señalar que en estas reacciones realizadas sólo se obtuvo el estereoisómero β ; donde quizá probablemente el tipo de esqueleto influye en la especificidad de la reacción, ya que se tiene conocimiento⁷ de haber obtenido los dos estereoisómeros cuando el tipo de esqueleto fue guayano.

Por otro lado, los desplazamientos químicos de ^{13}C de las α -metileno- γ -lactonas descritas en el presente trabajo están dadas en la tabla IV y V página 102-3; e incluyen los datos para la **Arbusculina** (16)²⁸ y **Reynosina** (17)²⁸ que se tomaron como referencia para la asignación de las señales de los carbonos (metilo, metileno, metino) y determinadas por el experimento DEPT^[14]. El número total de carbonos de la molécula se prescribió por su espectro de desacoplamiento total de hidrógeno y en algunos casos también se obtuvieron los espectros APT^[15], los cuales ayudaron a resolver la presencia de metilo-metino, metileno-carbonos cuaternarios.

Las señales de los hidrógenos en la mayoría de los casos se hizo con ayuda de la correlación homonuclear espectroscópica (H-H COSY) y en otros se realizaron experimentos de doble resonancia.

Así también, se llevaron a cabo la comparación en desplazamientos químicos con algunos compuestos estructuralmente similares, que ayudaron a la asignación de cada una de las señales. A continuación se

[14]

DEPT. (Distortionless Enhancement by Polarization Transfer) Distorsión reducida por una transferencia de polarización. Es un método que permite seleccionar una multiplicidad clara y mejorada; con baja sensibilidad para las constantes de acoplamiento individual de C-H, generando los subespectros CH, CH₂ y CH₃.

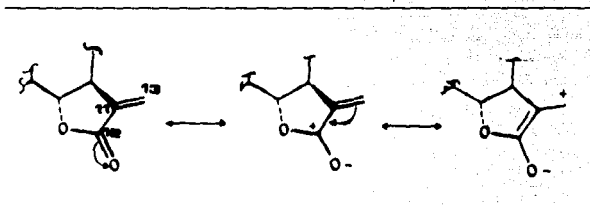
[15]

APT. (Attached Proton Test) Prueba de un protón unido, permite reconocer directamente el metilo, metileno, metino y carbono cuaternario en RMN- ^{13}C ; sin problema de una multiplicidad cruzada.

realiza una discusión detallada de los factores que afectan la variación de los desplazamientos químicos en los espectros de ^{13}C de las sustancias 1 a 15.

Ahora bien, en los espectros de RMN- ^{13}C de las sustancias 1 a 10 se observan señales entre 169.5-170.9, 137.4-139.6 y 116.4-119 ppm (tabla IV y V, página 102-3) que corresponden a carbonos sp^2 ; para un sistema de un carbonilo α,β -insaturado¹¹. La diferencia de sus valores se debe a los efectos de resonancia que generan una protección sobre el C-11 (por la densidad de electrones sobre el enlace π de este carbono) y de protección en el C-12 y C-13^{11,29}, por lo tanto los valores antes señalados se asignan a los C-12, C-11 y C-13 respectivamente (esquema 19).

Esquema 19. Ilustración del efecto de resonancia en un sistema α,β insaturado.



La presencia del metileno exocíclico (C-13) se confirmó por las señales que forman los H-7 y H-13 de un sistema ABX a campo bajo con una constante de acoplamiento pequeña ($J=3\text{Hz}$), como se observa en sus espectros de RMN- ^1H .

Cabe mencionar que este tipo de señales son características para la α -metileno- γ -lactona.

Otra señal singular de estos compuestos es la que se observa entre 78.6 a 82.4 ppm para un carbono sp^3 (metino). El desplazamiento químico a campo bajo es originado, por soportar a un oxígeno (efecto electronegativo)^{11,30}, correspondiendo esta señal al C-6. La evidencia del hidrógeno geminal a este carbono se establece por su espectro de RMN-¹H. Para las sustancias 1-4, 7-10 como un triplete con una constante de acoplamiento *trans*-diaxial ($J=10\text{Hz}$) y para los compuestos 4 y 5 como una señal doble.

Por otra parte, los valores entre 49.0-51.0 ppm y de 21.0-22.9 ppm son asignados a los carbonos 7 y 8 respectivamente para las sustancias que se indican en la tabla IV.

El desplazamiento químico a campo bajo del C-7, se debe a que éste es vecinal al C-11 (sp^2) y también a un C-6 que es base de un oxígeno, y al efecto inductivo del C-8¹¹.

La señal de un metileno (sp^3) que pertenece al C-8 en los compuestos 1 a 10 es comparada con la *Arbusculina* (16) y *Reynosina* (17).

Mientras el C-10 (carbono cuaternario) su señal se observa entre 38.5-46.2 ppm; en donde su valor más alto o bajo a este intervalo dependerá del sustituyente en el C-1 o en el cambio de hibridación en los carbonos 1 y 5. El desplazamiento químico de estos valores es generado por el efecto inductivo del sustituyente vecinal a este carbono.

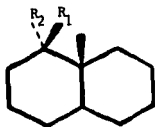
En el intervalo 71.4-75.4 ppm (espectros de ¹³C, 3-4, 16-17, 25-26, 35-36, 40-41) se observan dos señales para las sustancias 3, 5 y 9 mientras que para los compuestos 1, 7 y 8 aparece solo una; que corresponden al C-1 y C-3 por sostener un grupo hidroxilo, excepto para este último carbono en los compuestos 1, 7, y 8.

La presencia del grupo hidroxilo o acetato en el C-1, desprotege a los carbonos vecinales α, β ¹¹ (efecto inductivo); mientras que los γ y δ (tres y cuatro enlaces) son protegidos^{31,32} (figura 33). La asignación de estos valores para el C-1 y C-3, también fueron comparados con la *reynosina*²⁸ y el carbinol de la

10-metil-*trans*-decalina³¹, observándose similitud en los desplazamientos químicos (tabla 1).

Tabla 1. Desplazamientos químicos de las sustancias 1, 3, 5, 7, 8 y 9; comparados con el carbinol de la 10-metil-*trans*-decalina y reynosina.

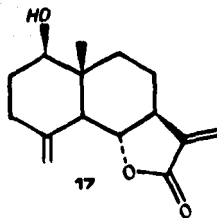
Sustancia	1	3	5	7	8	9	17	46	47
C-1	73.2	74.3	71.4	75.3	73.6	72.2	78.1	79.6	75.2
C-2	—	75.4	72.2	—	—	—	—	—	72.1



carbinol de la 10-metil-*trans*-decalina

46. R₁=OH, R₂=H

47. R₁=H, R₂=OH

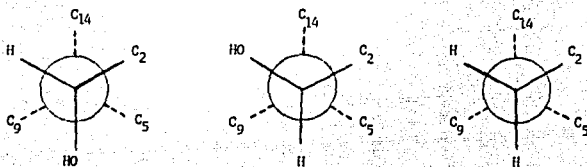


Reynosina (17)

En el esquema 24 se muestran las diferentes proyecciones de Newman para los tres estereoisómeros de la 10-metil-*trans*-decalina; dos de estos carbinoles (46 y 47) están diferenciados por la orientación del hidroxilo. Cuando el grupo funcional es β -ecuatorial causa un efecto de protección sobre el C-14 y C-9, por otro lado cuando es α -axial el C-9 y C-5 son protegidos.

En la reynosina se observa que el hidroxilo β sobre el C-1 genera un efecto de protección γ -gauche sobre C-9 y C-14 -6.0 y -7.0 ppm respectivamente, comparados con los datos de la arbusculina.

Esquema 24. Proyecciones de Newman del Carbinol de la 10-metil *trans*-decalina.



	46.	47.	48.
C-1	42.1	79.6	75.2
C-2	45.8	44.2	37.5
C-9	42.1	37.3	34.8
C-14	15.7	9.8	16.1

Asimismo, las sustancias 5,7,8 y 9 con el hidroxilo geminal sobre el C-1 producen un efecto de protección γ -gauche en los C-9 y C-14 de -3.0 a -6.0 ppm y de -2.0 a -7.0 respectivamente; por lo que se corrobora que el sustituyente tiene una orientación β (tabla 2).

Tabla 2. Datos de ^{13}C , de las sustancias 1,3,5,7,8 y 9; comparados con la arbusculina y reynosina²⁸.

Sustancia	1	3	5	7	8	9	16	17
C-1	73.2	74.3	71.4	75.2	73.6	72.2	40.9	78.1
C-5	46.1	42.8	126.9	51.1	48.5	47.3	57.8	53.0
C-9	33.1	33.9	37.9	34.2	35.0	35.6	40.0	39.6
C-14	18.1	17.6	17.6	11.0	11.7	10.7	19.7	11.7

Mientras que, en los compuestos 1,3; el hidroxilo sobre el C-1 genera un efecto de protección a campo alto --11.0 a --15,0 ppm y de --7.0 ppm para los C-5 y C-9; lo cual sugiere que es α -axial.

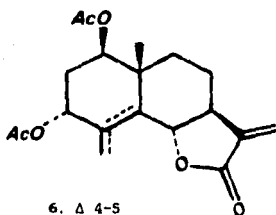
Por otro lado, los compuestos 6 y 10 muestran dos señales en su espectro de RMN- ^{13}C (ver espectro 30-32, 46-47) entre 72.7 a 73.7 ppm y de 74.9 a 75.2 ppm; análogos a los C-1 y C-3 con sustituyentes acetatos.

De la misma forma que las sustancias 3, 5 y 9 los C-1 y C-3 de los compuestos 6 y 10 son desprotegidos por un efecto inductivo; así como se observa en la tabla IV (página 102). Los desplazamientos químicos de estos carbonos son comparados con la señal que presenta el acetato de la reynosina (49)²⁸ sobre el C-1, el cual es similar como se muestra en la tabla 3.

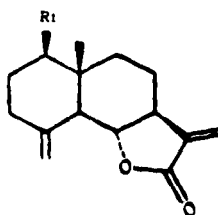
La orientación del sustituyente acetato en los compuestos 6 y 10 es determinado de la misma manera que las sustancias 3, 5 y 9, en donde el acetato sobre el C-1 tiene una orientación β -ecuatorial debido a que este sustituyente protege a los C-9 y C-14, cuyos valores se comparan con el compuesto 49, presentando desplazamientos idénticos del C-1 (tabla 3).

Tabla 3. Comparación de los valores de desplazamiento del C-1, C-9 y C-14, de la sustancia 6, 10 y compuestos 16 y 49.

Sustancia	6	10	49	16
C-1	72.7	73.7	79.1	40.9
C-3	74.9	75.2	35.2	42.8
C-9	29.2	35.0	33.1	40.0
C-14	17.2	12.1	12.7	19.7



6. Δ 4-5
10. Δ 4-15



49. R1= AcO

La confirmación de la orientación β -ecuatorial del sustituyente en el C-1, en los compuestos 5-10 se corroboró por las constantes de acoplamiento de 10 a 12 Hz entre el H-1 α axial y el H-2 β axial del C-2 en sus espectros de RMN-¹H (espectros 23, 33, 38, 39).

Asimismo la orientación α -axial del hidroxilo sobre el C-1, de los compuestos 1 y 3 se ratifica por la constante de acoplamiento que existe entre los núcleos de H-1 y H-2 en los espectros de RMN-¹H (ver espectro 1 y 14),

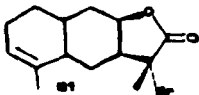
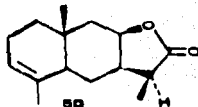
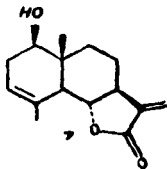
Por otra parte, para las sustancias 3, 5, 6, 9 y 10 en sus espectros de RMN- ^{13}C se observa una señal en el intervalo de 72.2 a 75.4 ppm; que se asignó al C-3 que soporta a un hidroxilo como se discutió anteriormente para el C-1. Su orientación se confirmó por la señal ubicada entre 4.05 a 4.3 ppm de su espectro de RMN- ^1H (ver espectro 14, 23 y 42), $J=4$, 2.5 Hz.

Para los compuestos 3, 5-7, 9 y 10 se detectan a en sus espectros de RMN- ^{13}C (ver espectro 16-17, 25-26, 30-32, 35-36, 39, 43, 46-47) a campo bajo dos señales en el intervalo de -111.2 a 126.9 y -133.6 a 146.0 ppm que pertenecen a carbonos sp^2 de metilenos 29 y metinos.

En la sustancia 7 se asignó la señal de un metino en 121.1 ppm y de un carbono cuaternario sp^2 en 133.7 ppm que corresponden a los C-3 y C-4 28 de un doble enlace endocíclico. Los desplazamientos químicos de estos carbonos se compararon con los compuestos 50 y 51 32 (tabla 4).

Tabla 4. Datos de ^{13}C (C-3 y C-4) de las sustancias 7, 50 y 51.

Sustancia	7	50	51
C-3	121.2	122.7	122.3
C-4	133.7	132.5	133.0

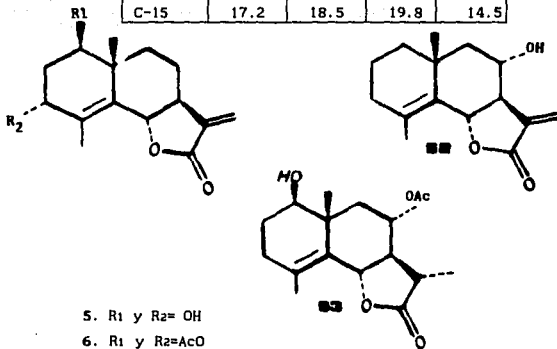


En los compuestos 5 y 6 también se observan en su espectro de RMN- ^{13}C (espectros 25-26, 30-32) dos señales a campo bajo en 126.9 a 124.4 ppm y de 133.6 a 135.2 ppm; asignadas a los C-4 y C-5 que forman el doble enlace endocíclico.

Estos datos de desplazamiento químico de las sustancias 5 y 6 fueron confirmados mediante la comparación con las sustancias informadas en la literatura³, como se ilustra en la tabla 5.

Tabla 5. Datos de ^{13}C , de los compuestos 5 y 6 comparados con las sustancias 52 y 53.

Sustancia	5	6	52	53
C-4	126.9	124.4	127.9	125.1
C-5	133.6	135.2	128.1	133.9
C-15	17.2	18.5	19.8	14.5



La evidencia del doble enlace endocíclico entre los C-4 y C-5 se manifiesta también por la forma de la señal para el H-6 como un doblete formado por la interacción de éste con el H-7.

En los espectros 16, 17, 43, 46 y 47 de RMN-¹³C para las sustancias 3, 9 y 10 aparecen dos señales -146.05 a 139.3 y -116.5 a 111.2 ppm; pertenecientes a los C-4 y C-15 (sp²).

Los desplazamientos químicos de la sustancia 9⁽¹⁶⁾ se determinaron por medio de la técnica de desacoplamiento parcial de hidrógeno (espectro 43a), en donde se observa una señal singulete en 146.06 ppm que se asignó al C-4 y la señal triplete en 111.2, pertenece a un metileno exocíclico que corresponde al C-15.

Mientras que para la sustancia 10 los desplazamientos químicos en 139.3 y 116.5 ppm (espectro 46 y 47) se asignaron a los C-4 y C-15 respectivamente.

Por otra parte la sustancia 3 posee para los C-4 y C-15 desplazamientos químicos en 145.2 y 113.02 ppm (espectro 16 y 17) similares para las sustancias 9 y 10.

Los desplazamientos químicos de los C-4 y C-15 de las sustancias 3, 9 y 10 fueron cotejados con los de la reynosina (tabla 6); que están de acuerdo a las estructuras de las sustancias anteriormente descritas.

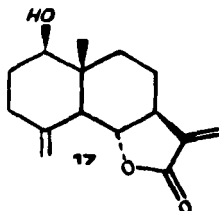
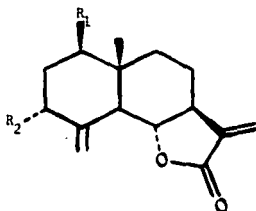
Por otro lado, la presencia del metileno exocíclico de las sustancias citadas anteriormente, se confirma por las señales que aparecen en los espectros de RMN-¹H (espectros 14, 42 y 45) en - 4.98 a 5.3 ppm con una constante de acoplamiento de 1.5 a 3.0 Hz. Datos adicionales que ayudan a corroborar este planteamiento es la forma de la señal (triplete) del H-3 y su constante de acoplamiento en este mismo experimento.

(16)

Cabe señalar que la asignación de cada uno de los carbonos de esta sustancia (9) ya fueron descritos previamente.

Tabla 6. Datos de ^{13}C , de las sustancias 3, 9 y 10; corroborados con la reynosina (17).

Sustancia	3	9	10	17
C-4	145.2	146.05	139.3	142.4
C-15	113.02	111.2	116.5	110.5



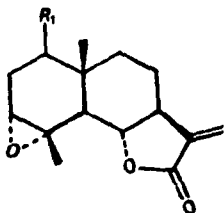
3. R₁ = α -OH, R₂ = α -OH
 9. R₁ = β -OH, R₂ = α -OH
 10. R₁ = β -AcO, R₂ = α -AcO

Las sustancias 1 y 8 en sus espectros de RMN- ^{13}C (espectro 3-4, 40-41) se observan dos señales con un desplazamiento químico de 60.8 y 58.0 ppm; que son asignadas a un metino y carbono cuaternario C-3 y C-4, los cuales son base de oxirano.

La asignación a campo alto del C-4 se debe a la densidad electrónica aportada por los sustituyentes geminales (oxirano y metilo) y carbonos vecinos que genera un efecto de protección, mientras el C-3 es ligeramente desprotegido por sostener al epóxido. Los datos anteriores fueron comparados con los desplazamientos químicos de los esteroides indicados en la tabla 7³³.

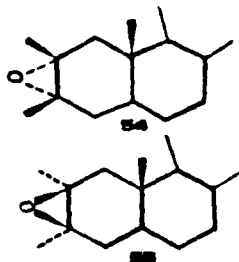
Tabla 7. Desplazamientos químicos de ^{13}C de los compuestos 1, 8 y de los epóxidos de esteroides (54 y 55).

Sustancias	1	8	54	55
C-1	73.2	73.6	39.1	38.8
C-2	29.1	31.0	58.3	60.1
C-3	60.8	60.8	57.2	57.2
C-4	58.0	57.3	34.2	33.7



1. R₁ = α -OH

8. R₁ = β -OH

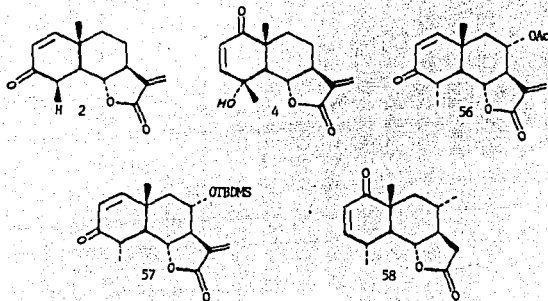


La orientación α del oxirano en los compuestos 1 y 8 se establece por la constante de acoplamiento ($J=2$ a 3 Hz)^{21,26} entre el H-3 y los H-2.

Las sustancias 2 y 4 muestran en los espectros de RMN- ^{13}C (espectro 9-11, 20-21) tres señales a campo bajo para carbonos sp^2 , en los intervalos: 157.8 a 151.6, 126.8 a 125.6 y 201.4 a 200.4 ppm; asignados a un sistema de carbonilo α,β -insaturado^{26,29}, correspondientes a los C-1, C-2 y C-3 del compuesto 2; y C-3, C-2 y C-1 para la sustancia 4. Los desplazamientos químicos anteriores fueron comparados con los desplazamientos de los compuestos 56-58³ (tabla 8).

Tabla 8. Datos de RMN-¹³C, de las sustancias 2, 4 y de los compuestos 56-58^J.

Sustancias	2	4	56	57	58
C-1	157.8	201.4	156.4	157.3	201.1
C-2	126.8	125.6	127.06	126.7	125.3
C-3	200.4	151.6	200.04	200.4	154.03
C-4	42.09	70.07	42.03	42.07	33.13



La presencia de la enona en las sustancias 2 y 4 se ratifica por el sistema AB formados por los H-1, H-2; y H-2, H-3 respectivamente ilustrados en los espectros 7 y 19 de RMN-¹H^{21,24,34,35}.

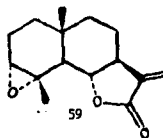
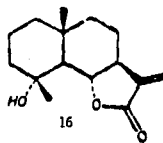
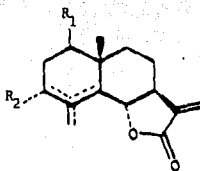
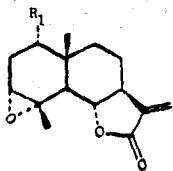
Asimismo la sustancia 2 y 4 en sus espectros de ¹³C, las señales en 42.09 y 70.07 ppm son para el C-4 respectivamente¹¹. El desplazamiento químico de este carbono se comparó con el C-4 de la arbusculina.

En los espectros 3, 16, 25, 30, 35, 40, 43, 46 de RMN-¹³C de las sustancias 1, 3, 5-10 se observa una señal en un intervalo de 29.1 a

38.4 ppm, para metileno (sp^3) que se asignó al C-2. Este carbono es vecinal a carbonos que poseen grupos funcional tales como: hidroxilo, acetato, oxirano y carbonos sp^2 , los cuales generan un efecto inductivo débil de desprotección ($- +10.0$ a $+19.0$ ppm)^{28,31}. Estos desplazamientos químicos fueron comparados con la arbusculina (16) y el compuesto 59²⁸ (tabla 9).

Tabla 9. Datos de ^{13}C , de las sustancias 1, 3, 5-10; de la arbusculina (16) y 59.

Susts.	1	3	5	6	7	8	9	10	16	59
C-1	73.2	74.2	71.4	72.7	75.3	73.6	72.2	73.2	40.9	34.6
C-2	29.1	32.6	35.9	37.5	32.7	31.0	38.4	32.8	19.4	21.0
C-3	60.8	75.4	72.7	74.9	121.2	60.8	72.7	75.2	42.8	60.1



1. $R_1 = \alpha\text{-OH}$ 3. $R_1 = \alpha\text{-OH}, R_2 = \alpha\text{-OH} \Delta 4-15$
 8. $R_1 = \beta\text{-OH}$ 5. $R_1 = \beta\text{-OH}, R_2 = \alpha\text{-OH} \Delta 4-5$
 6. $R_1 = \beta\text{-AcO}, R_2 = \alpha\text{-AcO} \Delta 4-5$
 7. $R_1 = \beta\text{-OH}, R_2 = H \Delta 3-4$
 9. $R_1 = \beta\text{-OH}, R_2 = \alpha\text{-OH} \Delta 4-15$
 10. $R_1 = \beta\text{-AcO}, R_2 = \alpha\text{-AcO} \Delta 4-15$

Mientras que para los compuestos 5-10; se advierte un desplazamiento químico ligeramente a campo bajo del C-2 - +10.2 a 18.4 ppm; cuando el grupo hidroxilo y acetato sobre el C-1 y C-3 tienen una orientación β y α ^[17] respectivamente.

También en los compuestos 1 y 3 los C-1 y C-2 presentan una ligera protección - -8.1 a - -11.6 ppm, cuando tienen un grupo funcional, hidroxilo u oxirano, con una orientación α .

En las sustancias 1, 2, 4-8; sus espectros de RMN-¹³C (3, 9, 21, 25, 30, 35 y 40) presentan una señal entre 14.8 a 23.7 ppm, asignada al C-15 de un metilo. Este carbono, se cotejó con los compuestos 60, 61³ y arbusculina²⁸ (tabla 10).

Por otra parte, en las sustancias 5, 6 y 7; sus espectros de RMN-¹³C tienen una señal para el C-15 que sufre una protección de - -7.0, -6.0, y -1.0 ppm respectivamente; con respecto a la arbusculina. El desplazamiento químico a campo alto para este núcleo, se origina por el efecto de anisotropía de los carbonos vinílicos. Los datos anteriores se confirman con el compuesto 60, 61 y arbusculina (tabla 10).

Mientras que en la sustancia 2 el C-15, se detecta en 16.8 ppm con una diferencia de protección - - 10.0 ppm con respecto a la arbusculina²⁸, originado por el efecto de anisotropía, del carbonilo en la posición 3.

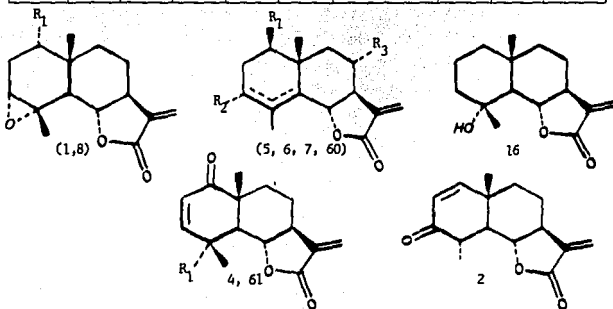
Las sustancias 1, 4 y 8 presentan una señal en su espectro de ¹³C entre 22.3 a 23.7; para el C-15. La protección del metilo se ocasiona por el efecto inductivo de un sustituyente vecinal más electronegativo que el carbono.

[17]

Cabe señalar que el efecto inductivo de un sustituyente α -vecinal, con una orientación β -ecuatorial es más desprotegido; que el de un sustituyente con una posición α -axial.

Tabla 10. Datos de ^{13}C , de los compuestos 1, 2, 4-8 comparados con sustancias 60, 61 y arbusculina (16).

Susts.	1	2	4	5	6	7	8	16	60	61
C-15	22.3	14.8	23.7	17.2	18.5	23.3	21.6	24.5	19.8	20.06



1. $\text{R}_1 = \alpha\text{-OH}$ 4. $\text{R}_1 = \alpha\text{-OH}$ 5. $\text{R}_1 = \beta\text{-OH}, \text{R}_2 = \alpha\text{-OH}, \text{R}_3 = \text{H} \Delta 4\text{-5}$
 8. $\text{R}_1 = \beta\text{-OH}$ 61. $\text{R}_1 = \alpha\text{-Me}$ 6. $\text{R}_1 = \beta\text{-AcO}, \text{R}_2 = \alpha\text{-AcO}, \text{R}_3 = \text{H} \Delta 4\text{-5}$
 7. $\text{R}_1 = \beta\text{-OH}, \text{R}_2 = \text{H}, \text{R}_3 = \text{H} \Delta 3\text{-4}$
 60. $\text{R}_1 = \text{H}, \text{R}_2 = \text{H}, \text{R}_3 = \alpha\text{-OH} \Delta 3\text{-4}$

Los valores de desplazamiento químico para el C-15, en las sustancias 1, 4 y 8 son corroborados con la arbusculina (16). La evidencia del metilo ubicado en el C-4 en los compuestos 1, 4, 7 y 8 se confirman en los espectros de $\text{RMN-}^1\text{H}$ (espectro 1, 19, 33 y 38), por la señal singlete (s) entre 1.49 a 1.83 ppm^{21,26}; y una señal doble para este carbono en el compuesto 2 en 1.41 ppm^{22,35}, y en los compuestos 5

y 6 presentan una señal doble (espectro 25 y 29) más desplazadas a campo bajo (2.06 y 1.93 ppm, de metilo vinílico).

Por otra parte, en los compuestos 2, 4, 7 y 8 en sus espectros de RMN-¹³C (espectro 9, 20, 35 y 40) se detecta una señal en el intervalo de 51.1 a 54.9 ppm, que se atribuye al C-5 de metino.

El desplazamiento químico de este carbono se cotejó con la sustancia 48³¹ (tabla 11), en donde se determinó que en los compuestos 2, 7 y 8 tienen una variación de desprotección - +7.0 a +8.0 ppm; originado por el efecto inductivo de los sustituyentes vecinales.

En el compuesto 4, la señal de su C-5 también existe una diferencia de desprotección - +9.0 ppm con respecto a la sustancia 48³¹ (tabla 11); la señal del C-5 a campo bajo se debe a el efecto de protección del sustituyente (hidroxilo) sobre el C-4.

Tabla 11. Desplazamientos químicos de ¹³C, del C-5 en las sustancias 2, 4, 7, 8, 9 y 10; así también los compuestos 48 y 17.

Sustancias	2	4	7	8	9	10	17	48
C-5	52.2	54.9	51.1	52.5	47.3	48.5	53.0	45.8

Para las sustancias 7 y 8, la presencia de un metino (C-5) se confirma por la señal doble en el espectro de hidrógeno entre 1.92 y 2.37 ppm (espectro 33 y 38);

Así también, en el compuesto 2 aparece una señal en 2.1 ppm como doble de doble correspondiente al H-5 (espectro 7)^{33,34}, mientras que para este mismo núcleo en la sustancia 4 (espectro 19) se detecta como un doble en 2.59 ppm.

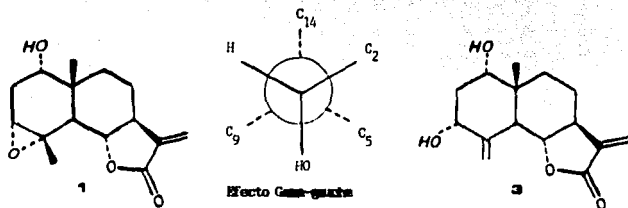
Por otro lado, los compuestos 9 y 10 en su espectro de RMN-¹³C (ver espectro 43 y 46) muestran una señal en 47.3 y 48.5 ppm para metino; asignado al C-5.

La protección de este carbono es ocasionado por el efecto de anisotropía, causado por un doble enlace del metileno exocíclico (C-4 y C-15). Esta señal en los compuestos 9 y 10 se corroboró con la reynosina.

La señal del metino (C-5) en estas sustancias se visualizan como un doble por el acoplamiento con el H-6 en 2.72 ppm (espectro 42 y 45).

Las sustancias 1,3 muestran en su espectro de RMN-¹³C (espectro 3 y 16) una señal para los C-5 y C-9 en 46.1 y 42.8 ppm respectivamente; donde el hidroxilo α-axial sobre el C-1 ejerce un efecto de protección γ-gauche sobre éstos, como se ilustra en el esquema 20.

Esquema 20. Efecto γ-gauche en 1 y 3.



En las sustancias 1 a 10, sus espectros de RMN-¹³C, tienen una señal en el intervalo de 29.9 a 37.9 ppm, que se asignó al C-9 y otra señal entre 10.7 a 19.3 ppm; corresponde al C-14.

El desplazamiento químico de estos carbonos dependen de la orientación del grupo funcional sobre el C-1.

Por otra parte, el C-9 en los compuestos 5 a 10 se contempla una diferencia de protección --2.1 a -10.1 ppm con respecto a la arbusculina (tabla 12).

Tabla 12. Desplazamientos químicos de ^{13}C , de las sustancias 1 a 10 y los compuestos 16 y 17.

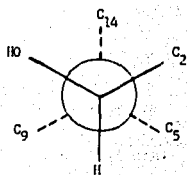
Sustancias	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	16	17
C-9	33.1	37.2	33.9	33.9	37.9	29.9	34.2	34.2	35.6	35.0	40.0	33.6
C-14	18.1	19.3	17.6	19.7	17.6	17.1	11.0	11.7	10.7	12.1	19.7	11.7

El desplazamiento químico del C-9 en estas sustancias, a campo alto, es causada por el efecto γ -gauche del sustituyente (hidroxilo, acetato) con orientación β -ecuatorial en el C-1 (esquema 21). Este efecto lo presenta la reynosina que sirve de referencia.

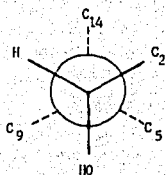
Así también, en las sustancias 1,3 se pueden ver en su espectro de RMN- ^{13}C (espectro 3 y 16) una señal a campo alto con un desplazamiento químico de 33.1 y 33.9 ppm asignada al C-9 como se detalla en la tabla 12. Estas moléculas (1,3) muestran una variación de protección - 7.0 ppm comparado con la arbusculina, al igual que 5 a 10; la protección de los compuestos 1, 3 es debido al efecto γ -gauche del grupo hidroxilo con una orientación α -axial sobre el C-1, y en las sustancias 2 y 4, el C-9 le corresponde los valores de 37.2 y 33.9 ppm respectivamente (tabla 12), la protección en estos núcleos se origina por la densidad electrónica aportada por el efecto inductivo de los carbonos adyacentes³⁰.

Esquema 21. Ilustración del efecto γ -gauche.

Efecto γ -gauche



Compuestos 1, 3



Efecto γ -gauche
Compuestos 5-10

La certidumbre del metileno en la posición 9 de los compuestos 1 a 10 se manifiesta en los espectros de RMN- ^1H entre los intervalos de desplazamiento químico 1.2 a 1.68 ppm como *ddd* y otra en 1.37 a 2.6 ppm como un *dd* que corresponden a los H-9 α axial y H-9 β ecuatorial respectivamente.

En los espectros de RMN- ^{13}C (espectro 25, 30, 35, 40, 43 y 46) de las sustancias 5 a 10 se aprecia una señal a campo alto con respecto a la arbusculina entre 10.7 a 17.6 ppm; asignada al C-14 (tabla 12). La protección del C-14 se debe a un efecto γ -gauche que provoca el hidroxilo sobre el C-1 con orientación β -ecuatorial (esquema 21), y los compuestos 1 a 4 sus C-14 son protegidos por un efecto inductivo generado por el hidroxilo α -axial sobre el C-1, compuesto 1 y 3, y en las sustancias 2 y 4, por el carbonilo ubicado en la posición 1 (tabla 12).

La señal del H-14 (metilo) en las sustancias 1 a 10 se advierte en sus espectros de RMN- ^1H , como un singulete (*s*) a campo alto entre 0.85

a 1.18 ppm.

Otras señales características para las sustancias 6 y 10 que se visualizan en su espectro de RMN-¹³C (espectro 30 y 46), son precisamente las que corresponden a grupos funcionales acetato; las dos señales con desplazamiento entre 21.05 a 21.42 ppm son asignadas a los metilos (C-18 y C-19), y los que se ubican entre 169.5 a 170.2 ppm corresponden a los carbonilos (C-16 y C-17), estas cuatro señales son intercambiables (tabla IV). Las señales de estos metilos (C-18 y C-19) son confirmadas en los espectros 29 y 45 de RMN-¹H en 2.08 a 2.13 ppm, como singuletes.

Por otra parte, en las sustancias 11 a 15, en sus espectros de RMN-¹³C (52, 58, 63, 68 y 73) aparece una señal característica, para el carbono de una γ -lactona cerrada al C-6, a campo bajo entre 78.5 a 82.3 ppm para un metino que se asigna al C-6, la desprotección de éste, es originado por el efecto electronegativo ^{11,30} del oxígeno ubicado en este carbono (tabla V). La seguridad de la existencia del metino CH-6 es corroborada por sus espectros de RMN-¹H (espectro 50, 56, 62, 67 y 71) en donde se ve una señal dd en el intervalo de 5.19 a 5.7 ppm.

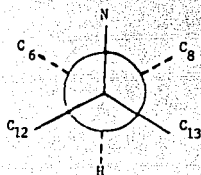
Cabe mencionar que la señal de CH-6 de estas sustancias (11 a 15) está más desprotegida, con respecto al de las α -metilen γ -lactonas (1 a 10) como se indica en la tabla VI; con una variación - +1.2 ppm, esta desprotección es inducida por el efecto de anisotropía del diazocompuesto (-N=N-). Lo anterior confirma que la pirazolina tiene una orientación β .

Otras de las señales en RMN-¹³C de este tipo de sustancias se contemplan entre 53.5 a 55.1 ppm; que se deben a la presencia de un metino (C-7). Este C-7 para los compuestos 11 a 15 poseen una ligera desprotección de - +4.0 a +6.5 ppm con respecto a la arbusculina y reynosina; provocado por el efecto inductivo de los C-6 y C-11 que tienen grupos funcionales más electronegativos que el carbono. La evidencia del CH-7 se corrobora en sus espectros de RMN-¹H (espectro 50, 56, 62, 67 y 71), con desplazamientos químicos entre 2.2 a 2.38 ppm; cuya multiplicidad que presenta se debe a una interacción *trans*-diaxial

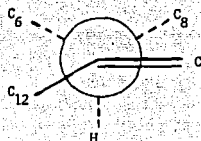
con los H-8 β y H-6.

Tambi3n se observa una se1al en estos compuestos en ^{13}C en el intervalo de 18.2 a 19.07 ppm; que se asign3 al C-8). La se1al de este carbono en los espirocompuestos se compar3 con la arbusculina y reynosina; en donde el C-8 de los espirocompuestos tienen mayor protecci3n a diferencia del C-8 de las α -metilen- γ -lactonas (- 2.0 ppm). La raz3n de este desplazamiento es debido a que el grupo funcional del espirocompuesto (-N=N-) en el C-11, ejercen un efecto de protecci3n γ -gauche sobre el C-8 (esquema 22).

Esquema 22. Efecto γ -gauche en los espirocompuesto y eudesman3lidas.



Espirocompuestos



**Ausencia del efecto γ -gauche
Eudesman3lidas**

La certeza del CH $_2$ -8 se manifiesta en RMN- ^1H entre 1.67 a 2.2 ppm y de 1.45 a 2.2 ppm cuyos desplazamientos qu3micos corresponden a los H-8 β y H-8 α respectivamente.

Para los espirocompuestos 12 a 15 la se1al en sus espectros 58, 63, 69, 73 de RMN- ^{13}C entre 41.9 a 43.08 ppm; es debida a un carbono cuaternario (C-10). Mientras que en el compuesto 11, la se1al del C-10

tiene una diferencia de desprotección - +3.3 ppm con respecto a la reynosina tabla 13.

Tabla 13. Datos de desplazamiento químico del C-10 de las sustancias 11 a 15, así como la arbusculina y reynosina.

Sustancias	11	12	13	14	15	16	17
C-10	46.2	42.5	40.08	42.8	41.9	37.5	43.0

En esta tabla se observa que los datos del C-10 son desplazados a campo bajo en comparación con la arbusculina (- +4.5 a +5.5 ppm). La causa de este desplazamiento es originado por el efecto inductivo del grupo funcional que está ubicado en el C-1. Mientras que, en el compuesto 11 el C-10 está más desplazado a campo bajo que en los otros espirocompuestos; por que su C-1 es vecinal a un carbonilo.

Ahora bien, las señales que están comprendidas entre los intervalos 97.3 a 98.3 ppm y 172.2 a 173.3 ppm en los espectros 52, 58, 63, 68, 73 de RMN-¹³C de los espirocompuestos 11 a 15 pertenecen a los C-11 y C-12 respectivamente. La variación del desplazamiento químico en el C-11 de los espirocompuestos y las α -metileno- γ -lactonas es por el cambio de hibridación en éste, de sp^2 a sp^3 .

Las señales de los carbonos C-13 y C-16 de las pirazolininas se observan entre los intervalos de 22.1 a 22.4 y 78.03 a 78.2 ppm respectivamente.

La evidencia de los metilenos CH₂-13 y CH₂-16 en estos compuestos, se establece también en RMN-¹H (espectros: 50, 56, 62, 67 y 71) donde estos metilenos aparecen entre los intervalos de desplazamiento químico

1.5 a 2.2 y 4.73 ± 0.2 ppm.

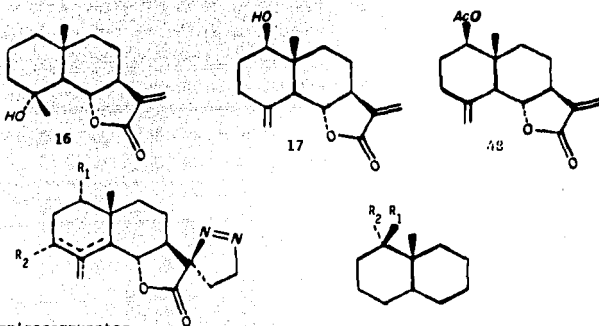
Por otra parte, en las sustancias 12 a 15 se observan dos señales de metinos en sus espectros de RMN-¹³C entre 71.5 a 75.4 ppm; que son asignados al C-1 y C-3 y poseen funcionalidades diversas esto es, los compuestos 12 a 14 tienen un hidroxilo y la sustancia 15 un acetato.

La sustitución del grupo hidroxilo o acetato sobre el C-1 de estos compuestos generan un efecto de desprotección a los carbonos α, β mediante un efecto inductivo¹¹, mientras que la posición γ se protege por un efecto γ -gauche³¹. Estos desplazamientos están de acuerdo para la reynosina y el carbinol de la 10-metil-trans-decalina (46 y 47)³¹ (tabla 14). De acuerdo a lo que se indicó anteriormente se deduce que la sustancia 12, el grupo hidroxilo sobre el C-1 tiene una orientación β -ecuatorial; y ejerce un efecto γ -gauche a los C-9 y C-14, con una variación en desplazamiento químico de -2.3 y -2.5 ppm respectivamente con referencia a la arbusculina. Este mismo efecto se observa en el compuesto 15, en el C-9 y C-14, cuando sobre el C-1 posee un acetato y además éste, tiene una orientación β -ecuatorial; con una variación en los desplazamientos químicos de -5.0 y -8.0 ppm.

Cabe señalar que el efecto de protección es más pronunciado a campo alto cuando es acetato, por ser más voluminoso, ya que el efecto γ -gauche está relacionado con el volumen del sustituyente.

Tabla 14. Datos de ^{13}C , de espirocompuestos 12 a 15 y de las sustancias 16, 17 y 49; así como del carbinol de la 10-metil trans-decalina (46 y 47).

Sustancias	12	13	14	15	16	17	46	47	48
C-1	71.5	73.1	74.5	75.7	40.9	78.1	79.6	75.2	79.1
C-3	72.5	60.8	75.4	75.1	42.8	35.7	24.4	20.4	35.2
C-5	127.2	46.1	43.5	48.5	57.8	53.0	44.2	37.5	52.9
C-9	37.7	33.1	33.9	35.1	40.0	33.6	37.3	34.8	33.1
C-14	17.1	17.9	17.5	11.9	19.7	11.7	12.7	9.8	16.1



Espirocompuestos

12. $\text{R}_1 = \beta\text{-OH}$, $\text{R}_2 = \alpha\text{-OH}$ Δ 4-5

13. $\text{R}_1 = \alpha\text{-OH}$, $\text{R}_2 = \alpha\text{-oxo}$ (3-4)

14. $\text{R}_1 = \alpha\text{-OH}$, $\text{R}_2 = \alpha\text{-OH}$ Δ 4-15

15. $\text{R}_1 = \beta\text{-AcO}$, $\text{R}_2 = \alpha\text{-AcO}$ Δ 4-15

carbinol 10-metil-trans-decalina

46. $\text{R}_1 = \text{OH}$ $\text{R}_2 = \text{H}$

47. $\text{R}_1 = \text{H}$ $\text{R}_2 = \text{OH}$

Por otra parte, los espirocompuestos **13** y **14** con un sustituyente hidroxilo α -axial sobre el C-1 provoca el efecto γ -gauche a los C-5 y C-9; con una diferencia del desplazamiento químico entre -14.5 a -11.1 ppm y de -7.5 ppm a campo alto con respecto a la arbusculina.

En el espirocompuesto **12-15**, la orientación del grupo funcional sobre el C-1 queda manifestada por la forma y la constante de acoplamiento del hidrógeno geminal (espectro 56, 62, 67, 71 de RMN-¹H).

Los espectros de RMN-¹³C de las sustancias **12**, **14** y **15** se visualizan una señal con un desplazamiento químico entre 72.5 y 75.4 ppm, que se asignó al C-3; para un metino que sostiene a un hidroxilo (**12** y **14**) y de un acetato (**15**). La señal de su hidrógeno como un doble de doble (espectros 56, 67 y 71) geminal a un hidroxilo está localizada en 4.07, 4.41 y 5.5 ppm respectivamente con una constante de acoplamiento de 9.0 y 8.0 Hz. Esta evidencia confirma la orientación α -axial del hidroxilo en esta posición²¹.

En las pirazolinas **13**, **14** y **15** se observa una señal en ¹³C en 46.1, 43.5 y 48.5 ppm de metinos asignados al C-5, con una variación de protección -11.5 y -14.3 ppm con respecto a la arbusculina; para las sustancias **13** y **14**; mientras que con la reynosina el efecto de protección es menor (-7.1 a 10.1 ppm).

El desplazamiento químico a campo alto del C-5 en los compuestos **13** y **14** es originado por un efecto γ -gauche del hidroxilo α -axial en el C-1. Asimismo en el compuesto **15**, el C-5 presenta una diferencia de protección (-9.3 ppm) con respecto a la arbusculina; mientras que en la reynosina se observa una señal semejante para el C-5, con un ambiente químico similar y ligeramente desprotegido (-+5.0 ppm).

El desplazamiento químico a campo bajo del C-5 en el compuesto **15** es debido a su posición vecinal a un doble enlace.

La presencia del CH-5 en las pirazolinas **14** y **15** se presenta como una señal doblete a campo bajo en (3.12 y 2.67 ppm) RMN-¹H, y para las sustancias **11** y **13** aparece en 2.53 y 2.42 ppm en ese mismo experimento (espectros 50, 62, 67 y 71).

En los espirocompuestos **12** a **15** se visualiza una señal en sus

espectros de RMN-¹³C (58, 63, 68 y 73) en un intervalo de 33.1 a 37.7 ppm para un metileno que corresponde al C-9, el cual presenta un efecto de protección, - 2.3 y -4.8 ppm, con respecto a 16.

El desplazamiento químico a campo alto del C-9 en las sustancias 12 y 15, es debido al efecto de protección γ -gauche causado por el grupo hidroxilo o acetato sobre el C-1 con orientación β -ecuatorial.

Asimismo, en las sustancias 11, 13 y 14, la señal en 33.1 y 33.9 ppm pertenece al C-9, en donde su desplazamiento químico está a campo alto con respecto a 12 y 15 (-4.0 y -2.0 ppm), con una variación de -6.9 y -6.0 ppm en referencia a 16.

Los espirocompuestos 12 a 15 presentan en sus espectros de RMN-¹³C entre 11.9 a 17.9 ppm; las señales para metilo ubicado en el C-10, experimentando para la 12 y 14 una variación de -2.0 ppm comparados con la arbusculina; mientras que con la reynosina se observa una desprotección de +6.0 ppm, por lo que se deduce que el hidroxilo sobre el C-1 no ejerce un efecto de protección sobre este carbono, y para la pirazolina, 11 la señal del metilo sobre el C-10, está centrada en 19.6 ppm, por el efecto anisotrópico que sufre, debido a la presencia del carbonilo en la posición 1.

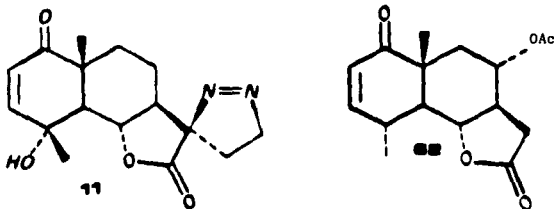
La certidumbre del metilo en el C-10 de los compuestos 11 a 15 se manifiesta por la señal singulete a campo alto en los espectros de RMN-¹H en un intervalo entre 0.83 a 1.16 ppm.

Por otra parte, la sustancia 11 presenta en su espectro de RMN-¹³C (espectro 52) tres señales desplazadas a campo bajo en 201.3, 125.6 y 151.7 ppm; las cuales corresponden a carbonos sp² de un carbonilo α , β insaturado (C-1, C-2 y C-3). La variación del desplazamiento químico en estos carbonos, es debido a la resonancia del sistema; generando una protección sobre el C-2 y una desprotección en los C-1 y C-3^{11,29}.

Estos valores de desplazamientos químicos son comparados con la sustancia 62³² (tabla 15).

Tabla 15. Desplazamientos de ^{13}C del espirocompuesto 11 y sustancia 62 de los C-1, C-2 y C-3.

Compuestos	11	62
C-1	201.3	201.1
C-2	126.6	125.3
C-3	151.7	154.09



En el espirocompuesto 11 aparece otra señal en su espectro de RMN- ^{13}C en 70.1 ppm; que corresponde a un carbono sp^3 (cuaternario, C-4), que tiene un grupo hidroxilo geminal a un metilo (C-15). El desplazamiento químico de esta señal es - 8.0 ppm con respecto al C-1 de la reynosina (tabla V).

La protección de este carbono se ocasiona por el efecto inductivo del metilo (C-15) y carbonos adyacentes.

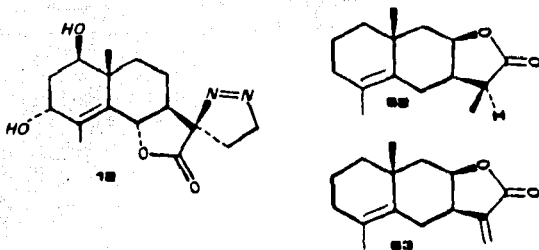
Otras señales singulares en los espirocompuestos 14 y 15, es la que se observa en sus espectros de RMN- ^{13}C (espectro 68 y 73) a campo bajo en un intervalo de 145.3 a 139.2 ppm, y de 113.0 a 116.7 ppm; las cuales corresponden a carbonos sp^2 (C-4 y C-15) que forma un metileno

exocíclico. Los desplazamientos químicos de estos carbonos son corroborados con el metileno exocíclico aislado que tiene la reynosina (tabla V). La presencia de este metileno se confirma por las señales que se observan en sus espectros de RMN-¹H entre 5.41 a 5.26 ppm y en 5.28 a 5.2 ppm.

Por otra parte, en el espirocompuesto 12, su espectro de RMN-¹³C (espectro 58) tiene dos señales a campo bajo en 133.3 y 127.2 ppm, que corresponden a los C-4 y C-5 respectivamente. Los cuales forman la olefina endocíclica de la pirazolina, que fue corroborada con los compuestos 63 y 64³² (tabla 16).

Tabla 16. Desplazamiento químico de ¹³C del espirocompuesto 12, comparados con las sustancias 63 y 64.

Sustancias	12	63	64
C-4	133.3	131.1	130.2
C-5	127.2	128.4	128.6

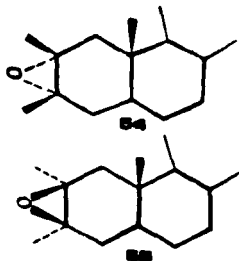
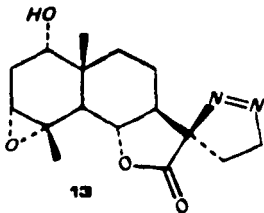


En el espectro de ^{13}C de la sustancia 13 (espectro 63) se observan dos señales en 60.8 y 58.9 ppm, asignadas a carbonos sp^3 de metino y carbono cuaternario; pertenecientes a los C-3 y C-4 que conforman al oxirano. El desplazamiento químico del C-3 está a campo bajo comparado con la señal que presenta el carbono de la arbusculina y se desprotege por el efecto inductivo generado por el oxígeno del epóxido.

Mientras el C-4 muestra una señal a campo alto. Las señales de estos carbonos fueron comparadas con los desplazamientos químicos de algunos epóxidos esteroidales³³ (tabla 17).

Tabla 17. Datos de ^{13}C del espirocompuesto 13 y de epóxidos esteroidales (epímeros 54 y 55).

Sustancias	13	54	55
C-2	29.08	58.3	60.1
C-3	60.8	57.2	57.2
C-4	58.9	34.2	33.7



De acuerdo a la anterior es evidente que entre los C-3 y C-4 del espirocompuesto 13 se ubica el oxirano con una orientación α^{21} ; el cual tiene desplazamientos químicos similares con respecto a el epóxido 54.

Por otra parte, en los espirocompuestos 11 a 13 se observa una señal en sus espectro (52, 58 y 63) de RMN- ^{13}C entre 18.1 a 23.7 ppm; para el metilo C-4.

Los desplazamientos químicos 23.9 y 22.1 ppm del C-15 en los compuestos 11 y 13 respectivamente, tienen una variación de $\sim +3.5$ a 1.0 ppm comparado con el compuesto 61³ (tabla 18). La desprotección que presentan estos carbonos de las sustancias en cuestion, es debido al efecto inductivo generado por un grupo hidroxilo geminal a este metilo.

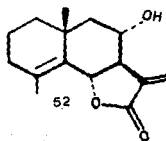
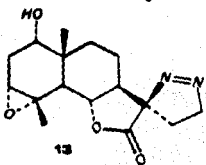
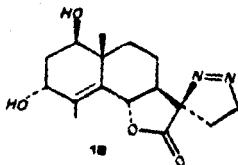
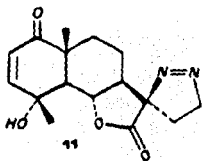
Mientras que en el compuesto 13 el C-15 se desprotege por el efecto inductivo causado por el oxirano. Los valores de los desplazamientos químicos fueron comparados con la arbusculina.

Asimismo la sustancia 12 presenta una señal en 18.1 ppm para el C-15 (~ -2.5 ppm) este desplazamiento es originado por el efecto de anisotropía de la olefina endocíclica ubicada entre C-4 y C-5, la cual provoca un desplazamiento químico a campo alto con respecto a la sustancia 61³ (tabla 18).

La certidumbre del Me-C₄ (H-15) en las sustancias 11, 12, 13 se corrobora en RMN- ^1H por el desplazamiento químico presentado en δ 1.60 ppm como una señal singulete.

Tabla 18. Datos de ^{13}C de los espirocompuestos 11 y 13, así como la sustancia 52.

Compuestos	11	12	13	52
C-15	23.9	18.1	22.9	19.8



TABLAS DE RESULTADOS.

Tabla I. Rendimientos y puntos de fusión de lactonas sesquiterpénicas.

Compuesto	Rendimiento	Punto de fusión
1. Ludovicina A	----*	189 - 192°C
2. Tubarferina	10.81%	145 - 147°C
3. Ludovicina B	34.97%	148 - 150°C
4. Argianina	----*	191 - 193°C
5. Arnefolina	----*	188°C
6. Diacetato de la Arnefolina	75.61%	175 - 177°C
7. Santamarina	----*	139 - 141°C
8. Epóxido de la Santamarina	43.53%	207 - 209°C
9. 3-hidroxi-reynosina	----*	237°C
10. Diacetato de 3-hidroxi-reynosina	76.31%	Acete
11. Pirazolina de la Argianina	72.77%	106 - 107°C
12. Pirazolina de la Arnefolina	68.08%	170 - 172°C
13. Pirazolina de la Ludovicina A	51.28%	151 - 152°C
14. Pirazolina de la Ludovicina B	60.60%	139 - 140°C
15. Pirazolina del diacetato de la 3-hidroxi-reynosina	60.00%	172 - 174°C

* Nota. Los rendimientos de estas sustancias fueron reportados anteriormente.

Tabla II. Datos de infrarrojo en lactonas sesquiterpénicas.

Sustancias	cm ⁻¹			
	1. Ludovicina A	3532.38	1797.99	—
2. Tuberiferina	—	1768.41	1675.54	1246.66
3. Ludovicina B	3597.49	1765.41	—	1263.63
4. Arglenina	3571.64	1774.86	1633.44	—
5. Armetolina	3612.55	1767.23	—	1241.97
6. Diacetato de la Armetolina	—	1770.52	1732.96	1244.05
7. Santamarina	3600.00	1768.00	—	—
8. Epóxido de la Santamarina	3618.01	1767.17	—	1240.04
9. 3 α -hidroxi-reynosina	3607.00	1767.00	—	—
10. Diacetato de 3 α -hidroxi-reynosina	—	1782.40	1731.72	—
11. Pirazolina de la Arglenina	3595.00	1780.00	—	1445.00
12. Pirazolina de la Armetolina	3580.00	1785.00	—	1420.00
13. Pirazolina de la Ludovicina A	3503.2	1779.3	—	1450.4
14. Pirazolina de la Ludovicina B	3398.90	1776.60	—	1429.70
15. Pirazolina del diacetato de la 3 α -hidroxi-reynosina	—	1787.80	1732.40	1442.70

Tabla III. Datos de espectrometría de masas por impacto electrónico.

	Sustancia	m/z (% Abundancia relativa)								
1.	264 (M ⁺ ; 1.4)	250 (1.8)	223 (19.0)	190 (22.5)	161 (60.0)	147 (85.9)	117 (27.5)	105 (57.5)	91 (100.0)	53 (68.5)
2.	246 (M ⁺ ; 1.2)	246 (0.9)	228 (42.5)	183 (23.0)	157 (35.0)	127 (19.5)	119 (56.9)	91 (100.0)	77 (62.1)	65 (33.0)
3.	264 (M ⁺ ; 15.3)	232 (2.1)	218 (81.0)	189 (48.0)	148 (32.5)	108 (18.0)	93 (31.0)	76 (76.0)	51 (26.0)	40 (15.0)
4.	262 (M ⁺ ; 11.7)	247 (100.0)	229 (32.1)	183 (13.0)	147 (13.0)	119 (21.0)	98 (41.0)	77 (62.1)	55 (29.0)	43 (26.0)
5.	264 (M ⁺ ; 27.5)	246 (100.0)	231 (69.5)	203 (22.3)	163 (39.0)	147 (40.0)	117 (41.0)	93 (48.0)	67 (52.5)	41 (55.0)
6.	289-Acetol (M ⁺ ; 0.5)	246 (100.0)	213 (12.5)	185 (12.0)	135 (12.5)	107 (22.0)	91 (18.0)	79 (10.0)	53 (7.5)	43 (73.0)
7.	246 (M ⁺ ; 55.7)	152 (59.0)	119 (28.0)	108 (100.0)	95 (42.0)	91 (70.0)	72 (52.0)	53 (61.0)	43 (55.0)	39 (43.0)
8.	264 (M ⁺ ; 3.6)	223 (57.5)	189 (68.0)	161 (100.0)	133 (25.0)	105 (37.5)	91 (68.5)	67 (35.0)	53 (59.0)	43 (100.0)
9.	246 (M ⁺ ; 24.3)	228 (16.0)	165 (53.0)	147 (30.0)	131 (33.0)	119 (34.0)	105 (50.0)	96 (76.0)	55 (73.0)	53 (100.0)
10.	228-Acetol (M ⁺ ; 6.0)	228 (6.0)	183 (5.0)	120 (8.0)	105 (22.0)	91 (15.0)	88 (9.0)	87 (12.0)	70 (13.0)	43 (100.0)
11.	276 (M ⁺ ; 2.7)	247 (27.5)	215 (28.0)	186 (17.0)	133 (41.0)	105 (42.5)	91 (66.3)	69 (25.0)	53 (33.0)	39 (39.5)
12.	278 (M ⁺ ; 9.0)	245 (48.0)	203 (13.0)	178 (28.0)	135 (35.0)	107 (80.5)	91 (100.0)	77 (63.0)	57 (18.0)	43 (79.6)
13.	278 (M ⁺ ; 3.5)	223 (32.3)	175 (79.0)	171 (80.0)	133 (67.0)	105 (57.0)	91 (94.0)	89 (90.0)	67 (78.0)	55 (72.0)
14.	278 (M ⁺ ; 4.5)	260 (29.0)	227 (37.0)	213 (24.0)	181 (31.0)	145 (38.0)	119 (57.0)	105 (85.0)	91 (77.0)	79 (94.0)
15.	302-AcOH, N ₂ ⁺ (M ⁺ ; 0.7)	287 (0.9)	261 (0.7)	242 (16.0)	227 (20.3)	197 (10.0)	169 (9.0)	131 (14.0)	119 (21)	105 (24)

Tabla IV. Datos de RMN-¹³C de lactonas sesquiterpénicas con esqueleto de Eudesmano
(75 MHz, CDCl₃, TMS).

	1	2	3	4	5	6	7	8	9 ^a	10	16	17
C-1	73.26	157.82	74.34	201.44	71.47	72.75	75.23	73.68	72.29	73.75	40.90	78.10
C-2	29.11	126.81	32.61	125.64	35.91	37.59	32.77	31.02	38.45	32.80	19.40	31.30
C-3	60.85	200.44	75.46	151.64	72.77	74.96	121.28	60.80	72.71	75.29	42.80	35.70
C-4	58.00	42.09	145.26	70.07	133.67	135.25	133.78	57.36	146.05	139.83	71.50	142.40
C-5	46.10	52.27	42.82	54.93	126.98	124.45	51.14	52.57	47.35	48.54	57.80	53.00
C-6	80.57	82.00	79.95	79.67	82.42	81.98	81.52	80.68	79.57	78.67	81.30	79.60
C-7	50.83	50.21	49.57	49.62	49.32	49.09	51.02	50.48	49.64	49.42	50.70	49.60
C-8	21.02	21.23	21.25	21.10	22.88	22.71	21.18	21.06	21.42	21.29	21.90	21.50
C-9	33.13	37.23	33.93	33.92	37.94	29.97	34.24	34.21	35.68	35.09	40.00	33.60
C-10	40.12	38.52	43.50	46.24	42.49	41.32	40.82	40.23	43.29	41.94	37.50	43.00
C-11	138.56	138.32	138.08	137.48	138.51	138.19	139.22	138.52	139.63	138.73	138.30	138.10
C-12	170.38	170.12	170.79	169.52	169.96	170.79	170.96	170.26	170.59	170.16	169.60	170.50
C-13	117.21	117.48	117.19	118.67	118.93	119.09	116.86	117.34	116.47	117.34	117.50	117.90
C-14	18.15	19.32	17.65	19.72	17.67	17.25	11.05	11.77	10.77	12.12	19.70	11.70
C-15	22.31	14.84	113.02	23.78	17.24	18.55	23.35	21.61	111.23	116.59	24.50	110.50
C ₁₆ =O						170.25				169.62		
C ₁₇ =O						169.53				169.68		
C ₁₈ -Me						21.25				21.42		
C ₁₉ -Me						21.20				21.05		

* El espectro de ¹³C fue obtenido en equipo de 20 Mhz

Tabla V. Datos de RMN¹³C de espirocompuestos derivados de Eudemanóides (75 MHz, CDCl₃, TMS).

	11	12	13	14	15	16	17
C-1	201.31	71.59	73.19	74.52	73.76	40.90	78.10
C-2	129.65	39.69	29.09	32.75	32.75	19.40	31.30
C-3	151.71	72.51	60.60	75.44	75.19	42.80	36.70
C-4	70.19	133.34	59.69	145.34	139.29	71.90	142.40
C-5	55.20	127.29	49.14	43.54	49.59	57.90	59.00
C-6	79.69	62.30	60.69	79.72	78.54	61.30	79.60
C-7	54.16	54.39	55.17	54.25	53.69	50.70	49.60
C-8	19.25	19.07	19.19	19.39	19.41	21.90	21.50
C-9	33.97	37.79	39.10	35.94	36.19	40.00	35.60
C-10	49.29	42.51	40.09	42.99	41.99	37.50	43.00
C-11	87.59	87.60	97.60	89.39	89.19	139.30	136.10
C-12	172.25	172.45	172.90	173.35	172.99	169.60	170.90
C-13	22.43	22.71	22.19	22.39	22.43	117.90	117.90
C-14	19.91	17.19	17.69	17.69	11.97	19.70	11.70
C-15	23.94	19.11	22.19	113.39	116.74	24.90	110.90
C-16	79.29	79.11	79.09	79.09	79.10		
C ₁₇ =O					170.92		
C ₁₈ =O					199.75		
C ₁₉ -Me					21.44		
C ₂₀ -Me					21.07		

Tabla VI. Datos de RMN-¹H en lactonas sesquiterpénicas con esqueleto de Eudesmano (200 MHz, CDCl₃, TMS).

	1a	2	3	4	5	6 _a	7	8	9 _a	10	11	12 _a	13	14	15	
H 1	3.20 t	6.71 d	3.40 t		3.05 dd	5.03 dd	3.09 dd	3.45 dd	3.92 dd	5.12 dd		3.83 dd	3.74 dd	2.47 dd	5.12 dd	
H 2 ^a	2.22 m	5.91 d	1.99 ddd	5.92 d	1.82 dd	1.89 ddd				1.85 dd	6.05 d	1.80 dd	2.26 cbs	1.84 cbs	1.88 dd	
H 2 _b	2.22 m		2.11 m		1.94 cbs	1.85 cbs				2.07 cbs		1.91 dd	2.31 cbs	2.13 cbs	2.04 cbs	
H 3	3.03 aa		4.42 t	6.63 d	4.05 aa	5.19 m		5.35 aa	3.04 d	4.32 t	5.47 t	5.94 d	4.07 aa	3.08 aa	4.41 aa	5.51 dd
H 4		2.62 dc														
H 5	2.42 d	2.10 dd	3.15 d	2.58 d			2.37 m	1.82 d	2.72 d	2.72 d	2.53 d		2.42 d	3.12 d	2.89 d	
H 6	3.90 dd	3.99 t	4.04 t	4.17 t	4.58 d	4.56 d	3.85 dd	3.89 dd	3.99 t	4.02 t	5.39 dd	5.77 dd	5.19 dd	5.25 dd	5.23 dd	
H 7	2.49 ddd	2.59 cbs	2.62 dddd	2.82 cbs	2.67 dddd	2.73 dddd	2.50 dddd	2.50 cbs	2.50 m	2.61 dddd	2.25 m	2.38 ddd	2.22 cbs	2.31 ddd	2.29 ddd	
H 8 ^a	1.62 dd	1.79 ddd	1.59 ddd	1.89 m	1.84 dddd	1.62 dddd	1.67 dddd	1.81 ddd		1.48 dddd	2.09 m	1.88 dddd	1.89 ddd	2.22 cbs	1.69 m	
H 8 _b	2.05 m	2.13 cbs	2.16 m	2.18 d	2.12 m	2.15 cbs	2.43 cbs	2.08 m		2.07 cbs	1.80 cbs	2.22 m	1.49 cbs	1.52 m	1.84 m	
H 9 ^a	1.92 dd	1.75 cbs	1.57 dd	2.09 dd	2.17 aa	1.89 cbs	1.89 cbs	1.89 ddd		1.79 m	1.60 cbs	1.48 cbs	1.56 cbs	2.02 cbs	1.51 m	
H 9 _b	1.30 m	1.89 dd	2.28 dd	1.80 cbs	1.41 ddd	1.47 ddd	1.30 ddd	1.28 m		1.62 ddd	1.80 cbs	1.30 ddd	1.38 dc	1.38 dc	1.39 dd	
H 12 ^a	6.09 d	6.12 d	6.11 d	6.18 d	6.22 d	6.11 d	6.09 d	6.11 d	6.08 d	6.11 d	2.22 m	2.14 d	2.22 cbs	2.30 m	2.16 m	
H 12 _b	5.40 d	5.43 d	5.47 d	5.52 d	5.52 d	5.42 d	5.44 d	5.39 d	5.44 d	1.80 m	1.56 m	1.56 cbs	1.62 m	1.58 m		
H 14	0.85 s	1.17 s	0.79 s	1.22 s	1.09 s	1.18 s	0.89 s	0.82 s	0.76 s	0.82 s	1.29 s	1.16 s	0.95 s	0.83 s	0.97 s	
H 15	1.49 s	1.49 s	5.20 aa	1.59 s	2.05 d	1.89 d	1.89 aa	1.49 s	4.89 aa	5.35 aa	1.59 s	2.09 s	1.61 s	5.28 cbs	5.41 d	
H 17			5.09 aa						5.14 aa	5.16 d				5.20 d	5.28 d	
H 18 ^a											4.75 t	4.72 t	4.73 t	4.71 t	4.72 t	
H 18 ^b											4.75 t	4.72 t	4.73 t	4.71 t	4.72 t	
HA ₁						2.13 s				2.12 s					2.08 s	
HA ₂						2.08 s				2.08 s					2.08 s	

^a El espectro de ¹H fue obtenido en equipo de 300 MHz

^b El espectro de ¹H fue obtenido en equipo de 89 MHz

Continuación de la Tabla VI. Datos de constantes de RMN-¹H en lactonas sesquiterpénicas.

J(Hz) 1. H-1, H-2 α = 2; H-3= W_{1/2}= 6; H-5, H-6= 12; H-7, H-8 β = H-8 β , H-9= 12; H-7, H-13a= H-13b, H-7= 3. 2. H-1, H-2= 9; H-4, H-5= 7; H-5, H-6= H-6, H-7= 10; H-13a, H-7= H-7, H-13b= 3; H-15, H-4= 4. 3. H-1, H-2 α = H-1, H-2 β = 2.5; H-2 α , H-2 β = 15; H-5, H-6= H-6, H-7= H-7, H-8 β = 12; H-15, H-15'= W_{1/2}= 1.5. 4. H-2, H-3= 10; H-5, H-6= H-6, H-7= 10; H-7, H-8 β = 9; H-13a, b, H-7= 3. 5. H-1, H-2 β = 12; H-3= W_{1/2}= 8; H-6, H-7= H-7, H-8 β = H-8 β , H-9 α = 12, H-13a, b, H-7= 3; H-15, H-6= 1.5. 6. H-1, H-2 β = 12; H-6, H-7= H-7, H-8 β = 12; H-9 α , H-9 β = H-9 α , H-8 β = 12; H-13a, b, H-7= 3; H-15, H-6= 1.5. 7. H-1, H-2 β = 12; H-3= W_{1/2}= 8; H-6, H-7= H-7, H-8 β = 12; H-7, H-13a, b= 3; H-8 β , H-9 α = 12; H-15= W_{1/2}= 7. 8. H-1, H-2 β = 12; H-1, H-2 α = 6; H-3, H-2 α = 3; H-5, H-6= H-6, H-7= 12; H-8 β , H-7= H-8 β , H-9 α = 12; H-13a, b, H-7= 3; 9. H-1, H-2 α = 5; H-1, H-2 β = 11; H-3 β , H-2 α = H-3 β , H-2 β = 4; H-5, H-6= 12; H-15= W_{1/2}= 4; H-15'= W_{1/2}= 3. 10. H-1, H-2 β = 12; H-1, H-2 α = 6; H-2 β , H-3= 3; H-2 α , H-3= 3; H-5, H-6= H-6, H-7= H-7, H-8 β = 12; H-7, H-8 α = 6; H-9 α , H-8 β = 12; H-8 β , H-8 α = 12; H-9 α , H-9 β = 12; H-15', H-5= 1.5. 11. H-2, H-3= 10; H-5, H-6= 12; H-13a, H-16= H-16', H-13b= 8; H-16a, H-16b'= 10. 12. H-1, H-2 β = 12; H-1, H-2 α = 6; H-3= W_{1/2}= 9; H-6, H-7= 12; H-8 β , H-7= H-8 β , H-9 α = 12; H-13a, H-16a= H-13b, H-16b= 10; H-16a, H-16b= 10. 13. H-1, H-2 α = 10; H-13= W_{1/2}= 6; H-15, H-6= 12; H-8 β , H-7= H-8 β , H-9 α = 12; H-16a, H-13a= H-16b, H-13b= 9. 14. H-1, H-2 α = H-1, H-2 β = 2; H-3= W_{1/2}= 8; H-5, H-6= H-6, H-7= 12; H-9 α , H-8 β = 12; H-15', H-5= 2; H-16a, H-13a= H-16b, H-13b= 8. 15. H-1, H-2 β = 12; H-3, H-2 α = H-2 β , H-3= 3; H-5, H-6= H-6, H-7= 12; H-9 α , H-8 β = 12; H-15, H-3= 1; H-15', H-5= 1.5; H-16a, H-13a= H-16b, H-13b= 7.

CONCLUSIONES

CONCLUSIONES.

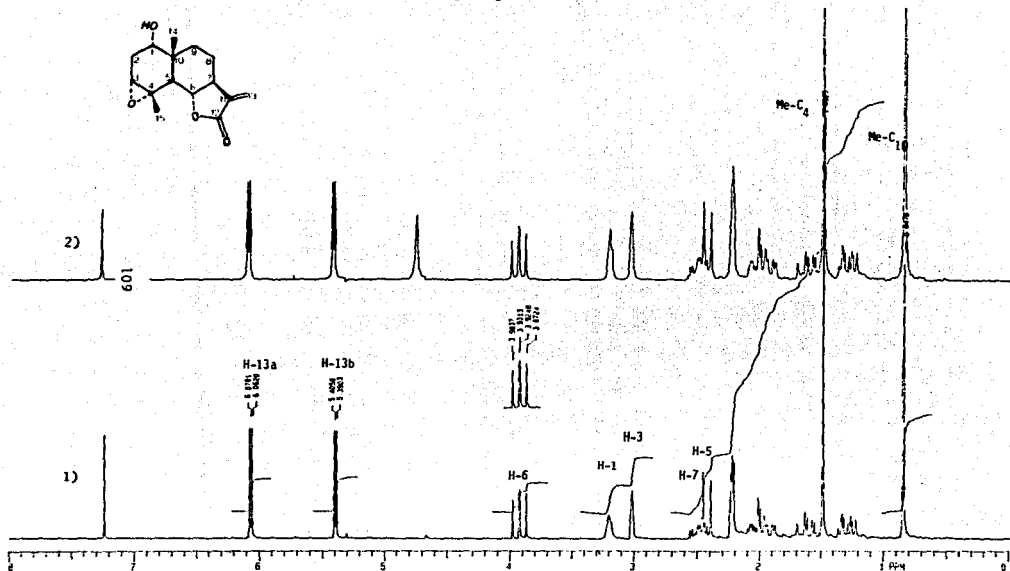
Se analizaron las propiedades espectroscópicas de 15 sustancias, diez de éstas fueron obtenidos por reacciones convencionales y purificadas por técnicas de cristalización y cromatografía; los cuales son: Tuberiferina (2), Ludovicina B (3), Diacetato de Arnefolina (6), Epóxido de Santamarina (8), Diacetato de la 3 α -hidroxireynosina (10), así como las pirazolinas de la Arglanina (11), Arnefolina (12), Ludovicina A (13), Ludovicina B (14) y Diacetato de la 3 α -hidroxireynosina (15).

De esta misma manera, se analizó la materia prima de las cuales se derivaron los productos anteriores; confirmándose las propiedades espectroscópicas ya establecidas.

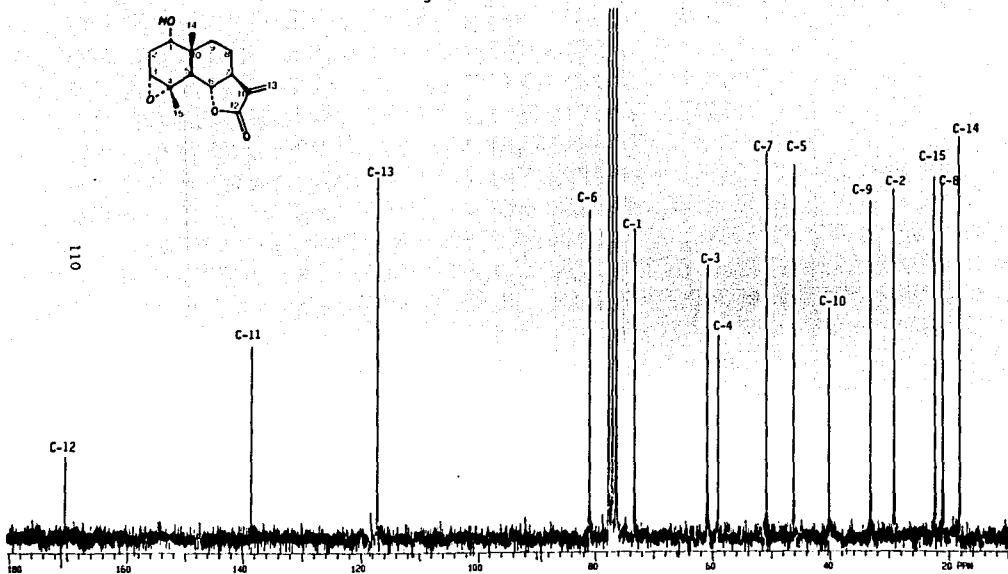
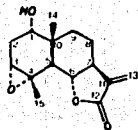
Los desplazamientos químicos de cada uno de los carbonos de las sustancias analizadas en el presente trabajo, además de los compuestos que se utilizaron como materia prima, fueron comparados con la arbusculina y reynosina. Los grupos funcionales así como su posición, orientación espacial y densidad electrónica son los principales factores determinantes en el desplazamiento químico de los carbonos de estas sustancias. Lo cual confirman que la hipótesis propuesta es correcta, por lo tanto los objetivos inicialmente planteados fueron cumplidos satisfactoriamente.

APENDICE DE FIGURAS DE ESPECTROS DE RMN-¹H Y ¹³C.

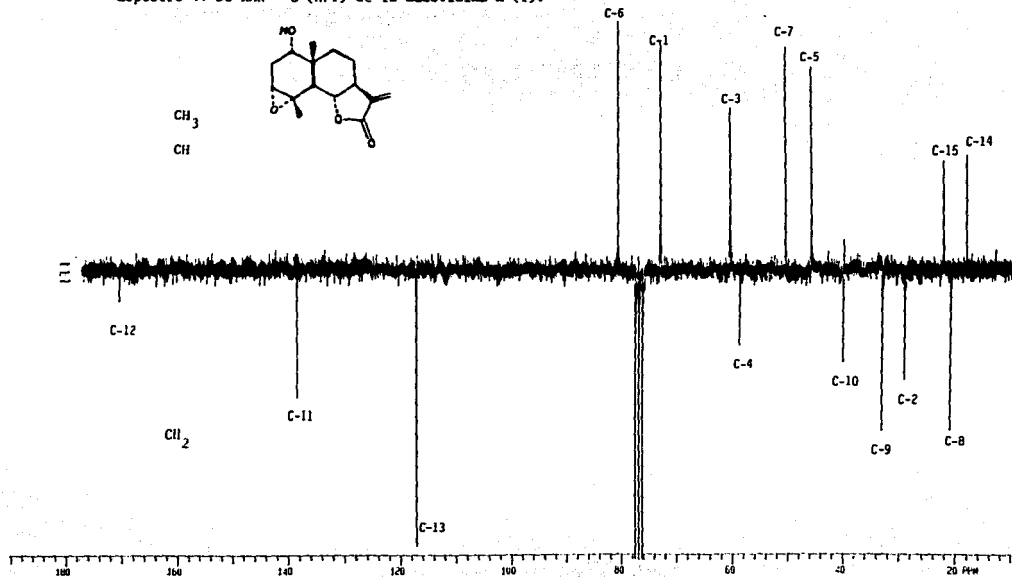
Espectro 1 y 2. De RMN-¹H (200 MHz, CDCl₃ + D₂O; TMS) de 1a Ludovictina A (1).



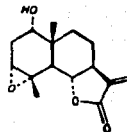
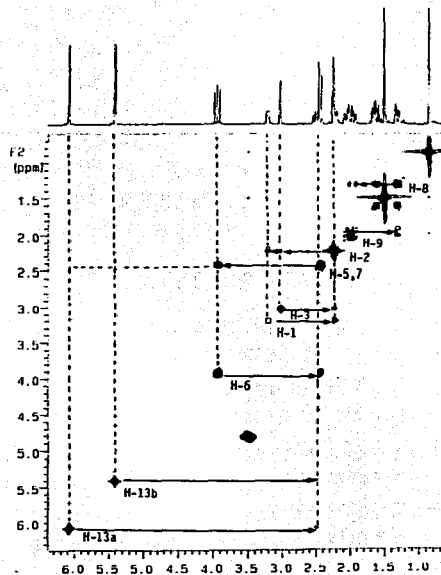
Espectro 3. De RMN-¹³C (75 MHz, CDCl₃; TMS) de la Ludovicina A (1).



Espectro 4. De RMN-¹³C (APT) de la Ludovicina A (1).

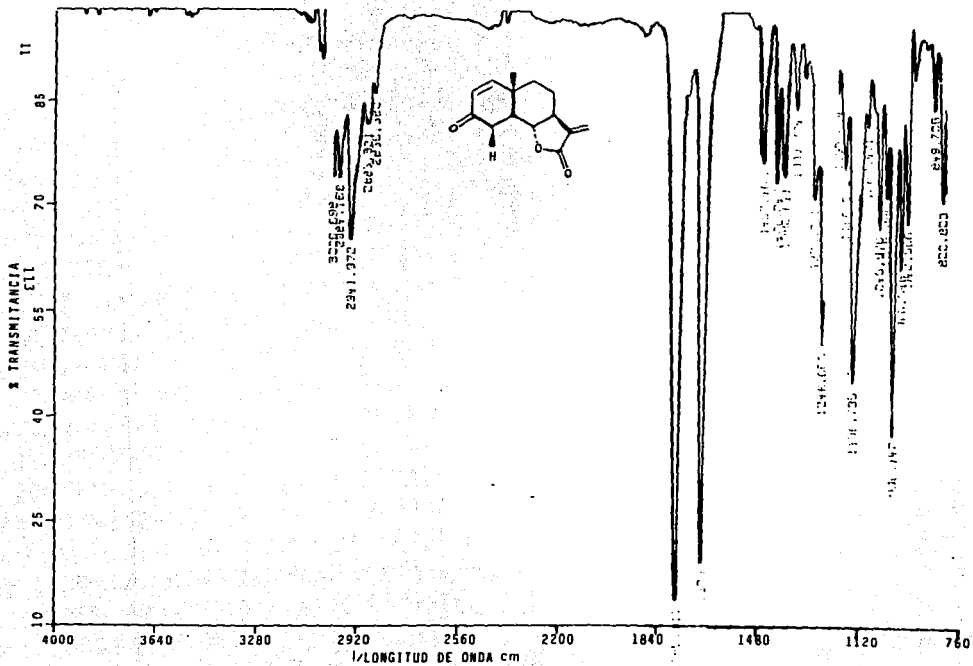


Espectro 5. COSY de la Ludovicina A (1).

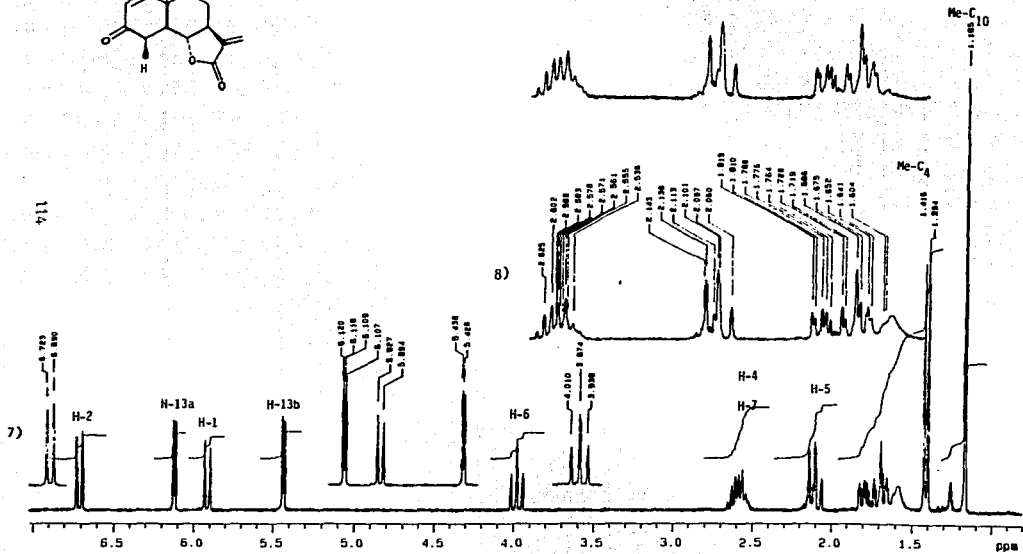
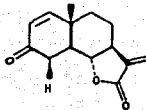


En el presente espectro se observan los diversos núcleos de hidrógeno, los cuales aparecen en la diagonal de izquierda a derecha. Esto es, los hidrógenos H-13a, H-13b, H-6 interactúan con H-7; entre otras señales.

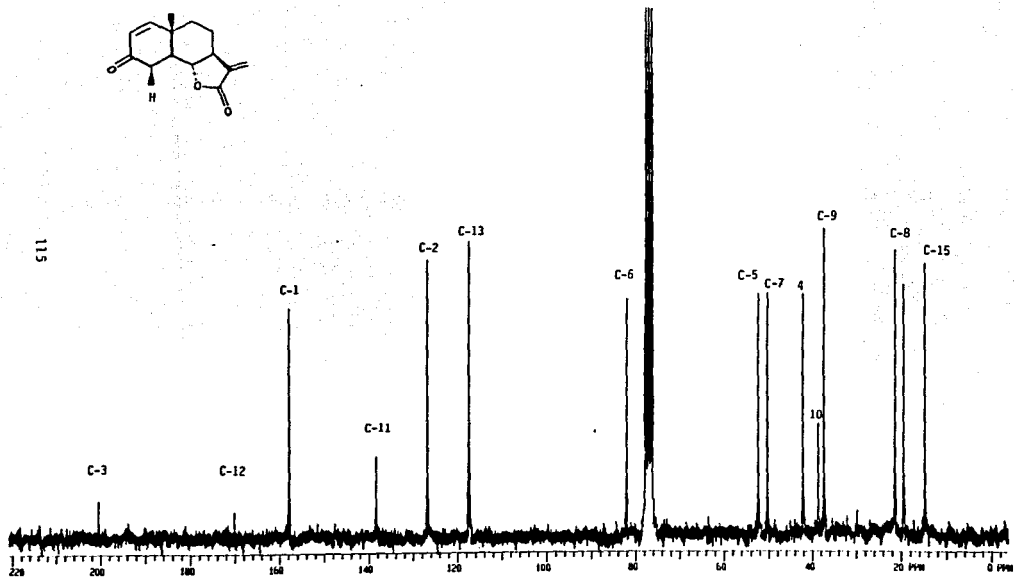
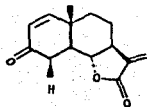
Espectro 6. De IR (CHCl_3) de la Tuberiferina (2).



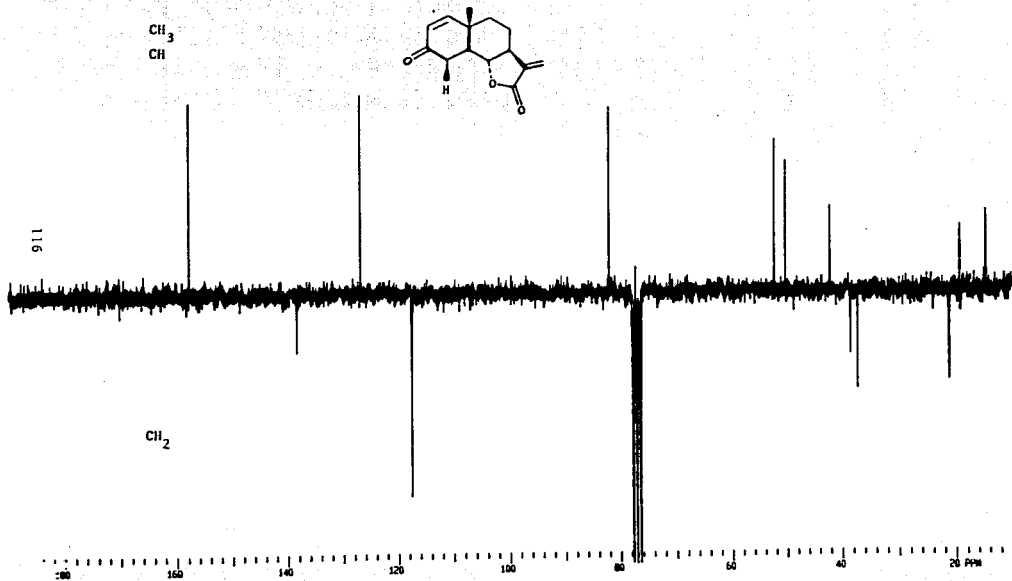
Espectro 7 y 8. De RMN-¹H (200 MHz, CDCl₃ + D₂O; TMS) de la Tuberiferina (2).



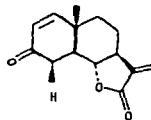
Espectro 9. De RMN-¹³C (75 MHz, CDCl₃; TMS) de la Tuberiferina (2).



Espectro 10. De RMN- ^{13}C (APT) de la Tuberiferias (2).



Espectro 11. De RMN-¹³C (DEPT) de la Tuberiferina (2).



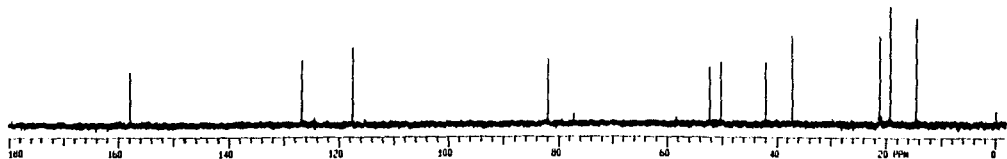
Metilos



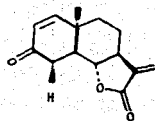
Metilenos



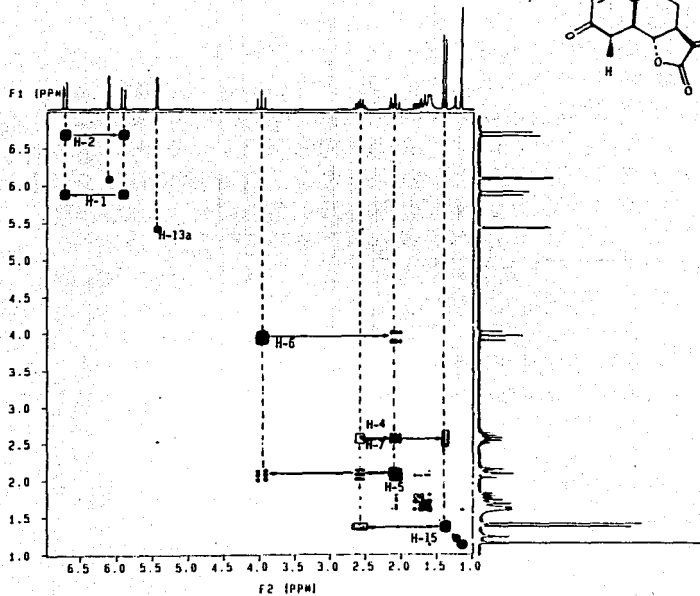
Metinos



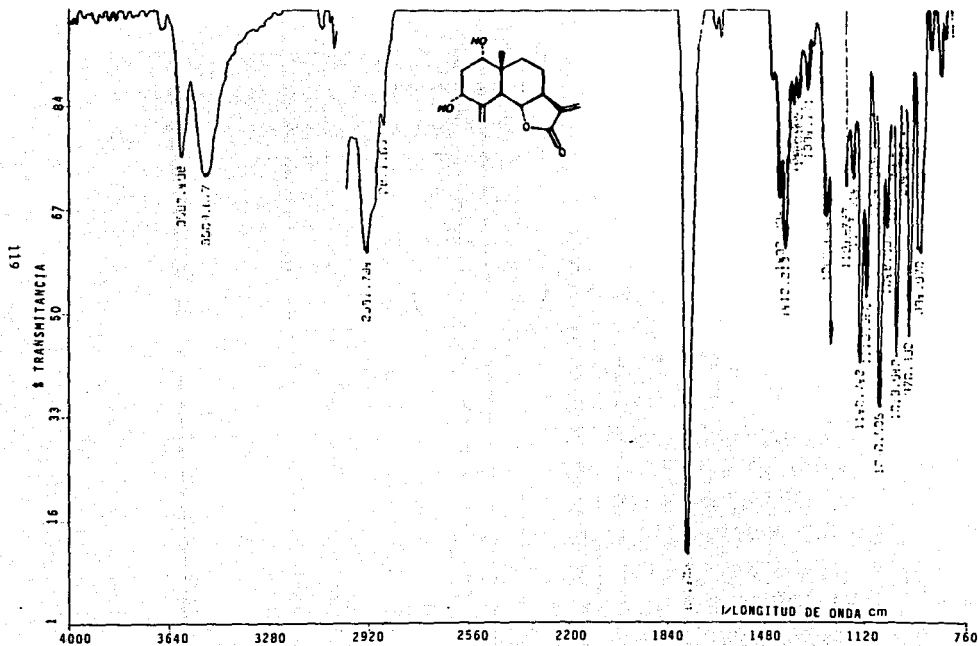
Espectro 12. COSY de la Tuberiferina (2).



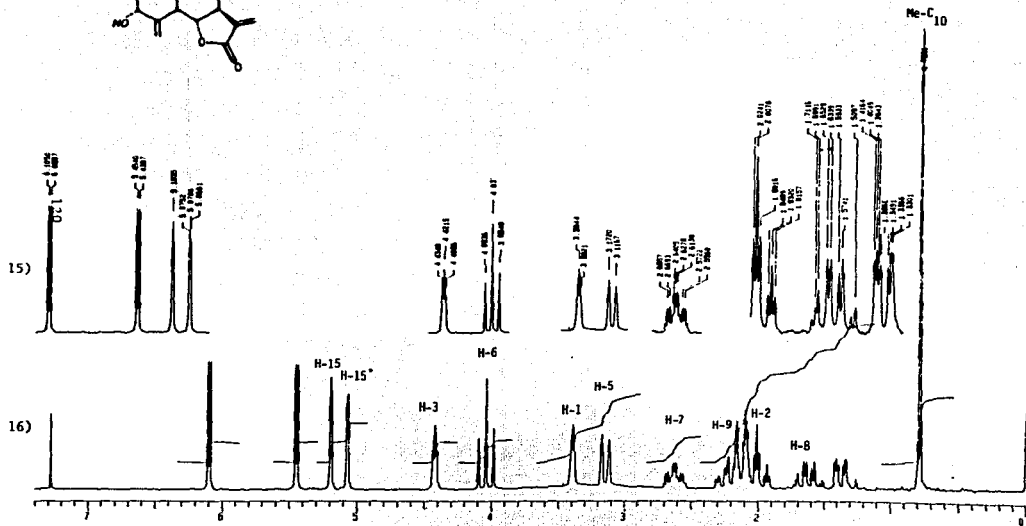
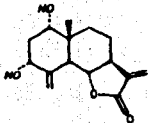
811



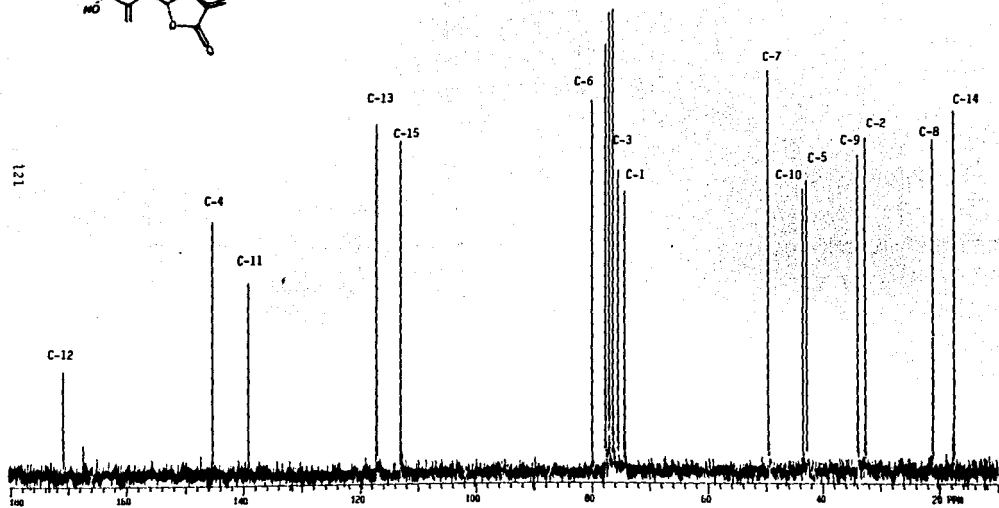
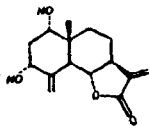
Espectro 13. De IR (CHCl_3) de la Ludovicina B (3).



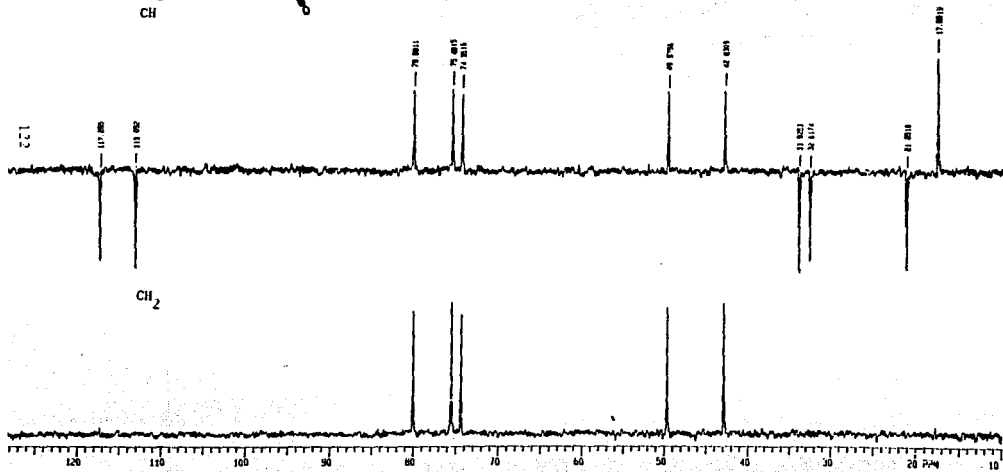
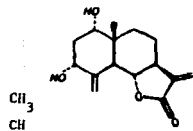
Espectro 14 y 15. De RMN-¹H (200MHz, CDCl₃ + D₂O; TMS) de la Ludovicina B (3).



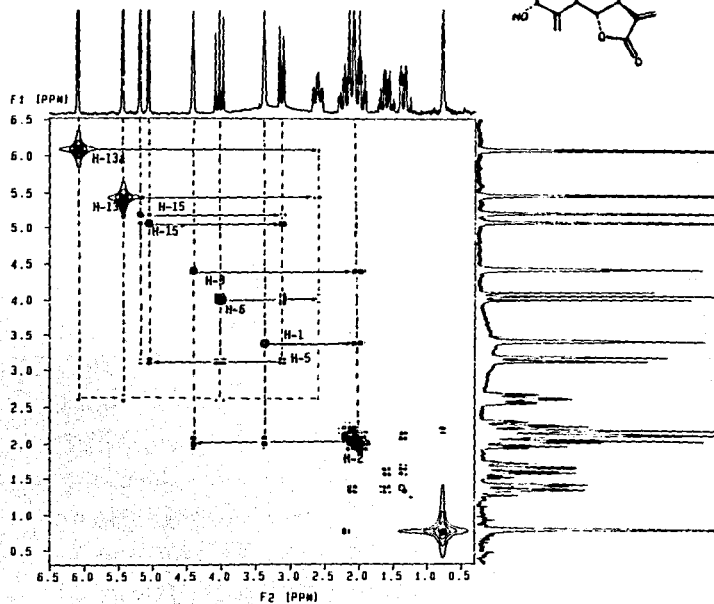
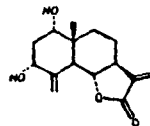
Espectro 16. De RMN-¹³C (75 MHz, CDCl₃; TMS) de la Ludovicina B (3).



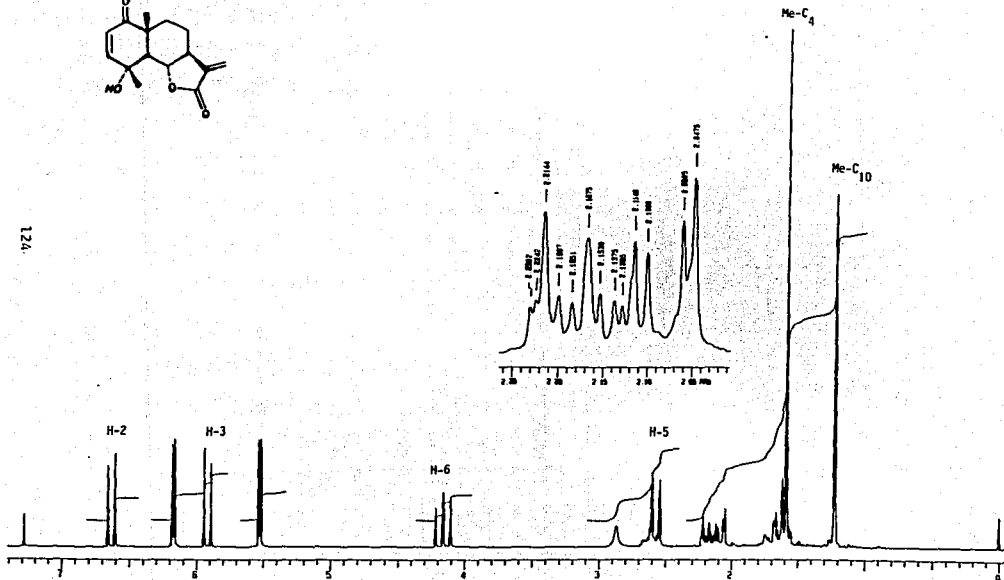
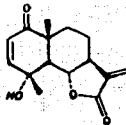
Espectro 17. De RMN-¹³C (APT) de la Ludovicina B (3).



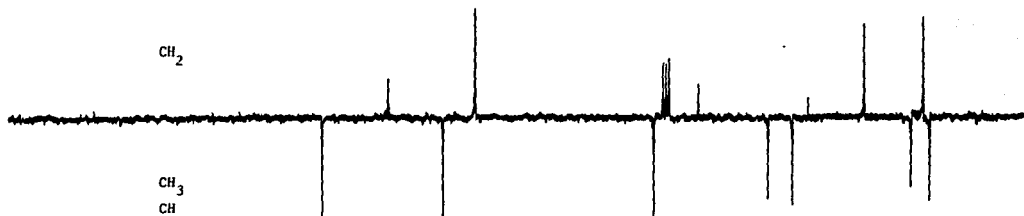
Espectro 18. COSY de la Ludovicina B (3).



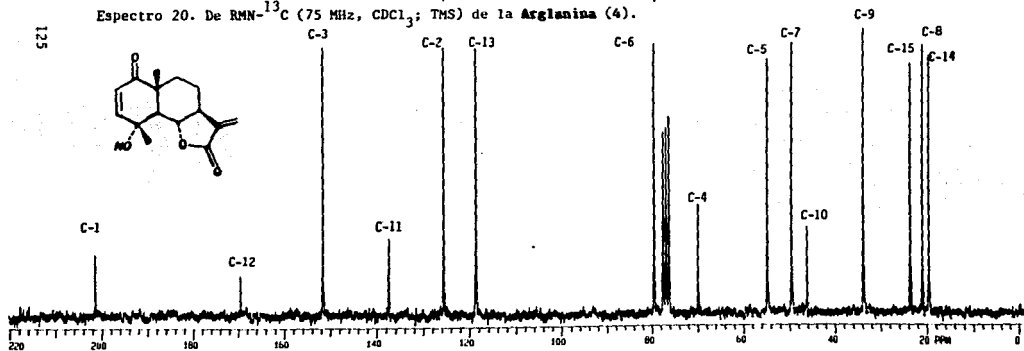
Espectro 19. De RMN-¹H (200 MHz, CDCl₃; TMS) de la Arglanina (4).



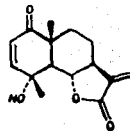
Espectro 21. De RMN-¹³C (APT) de la Arglanina (4).



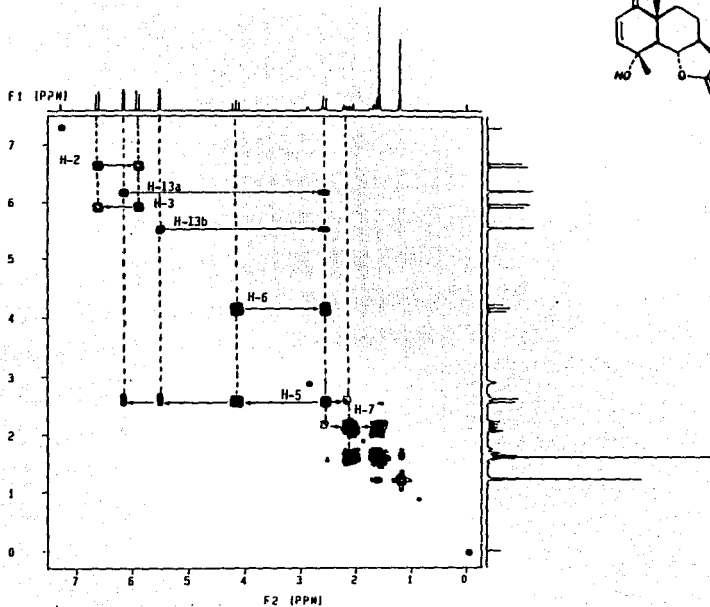
Espectro 20. De RMN-¹³C (75 MHz, CDCl₃; TMS) de la Arglanina (4).



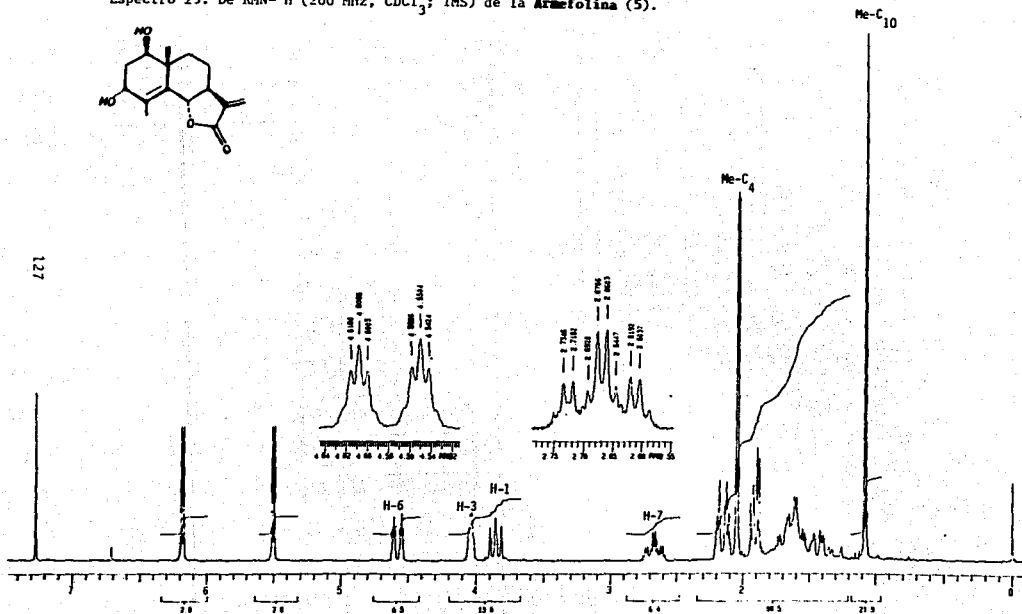
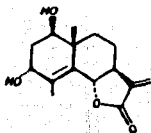
Espectro 22. COSY de la Arglanina (4).



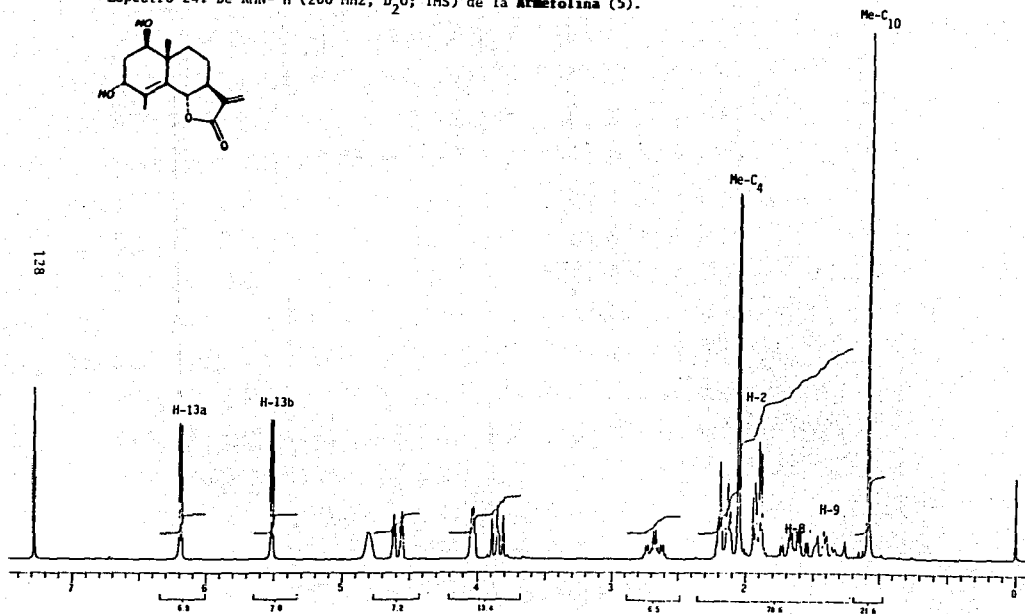
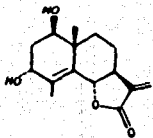
126



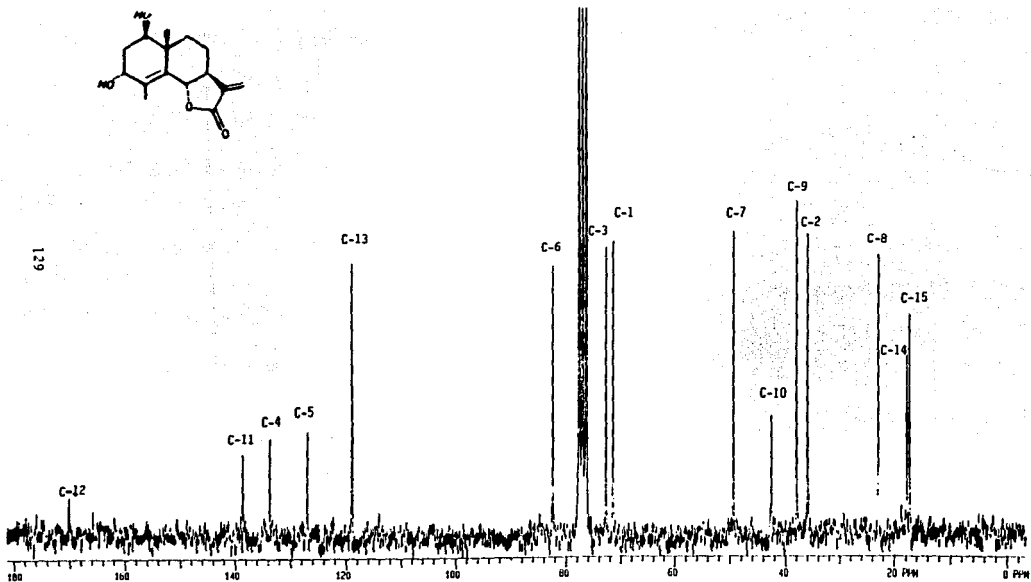
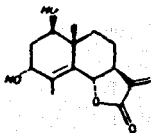
Espectro 23. De RMN-¹H (200 MHz, CDCl₃; TMS) de la **Arnefolina** (5).



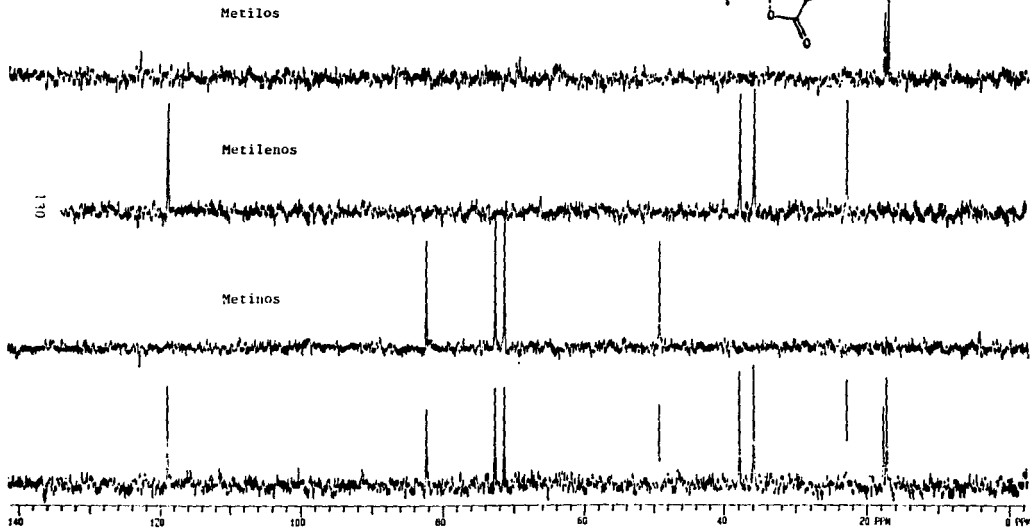
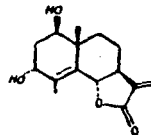
Espectro 24. De RMN-¹H (200 MHz, D₂O; TMS) de la **Arnefolina** (5).



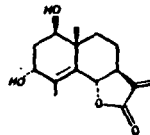
Espectro 25. De RMN- ^{13}C (75 MHz, CDCl_3 ; TMS) de la **Arnefolina** (5).



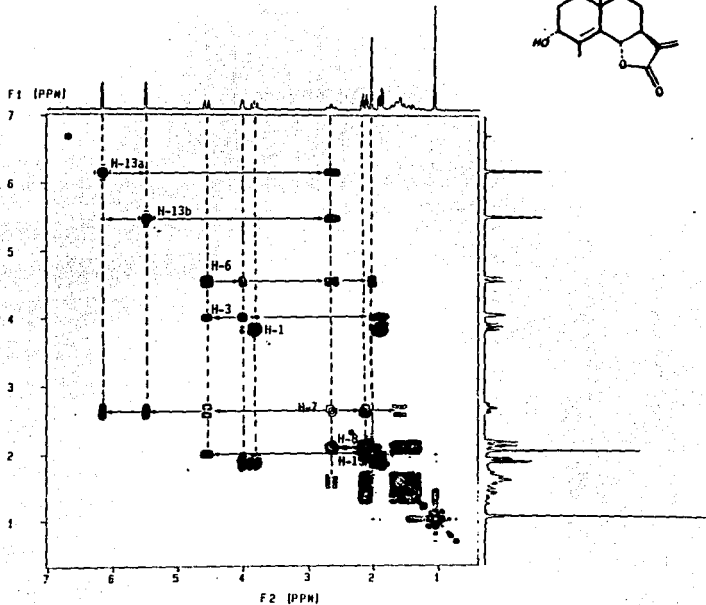
Espectro 26. De RMN-¹³C (DEPT) de la *Arnefolina* (5).



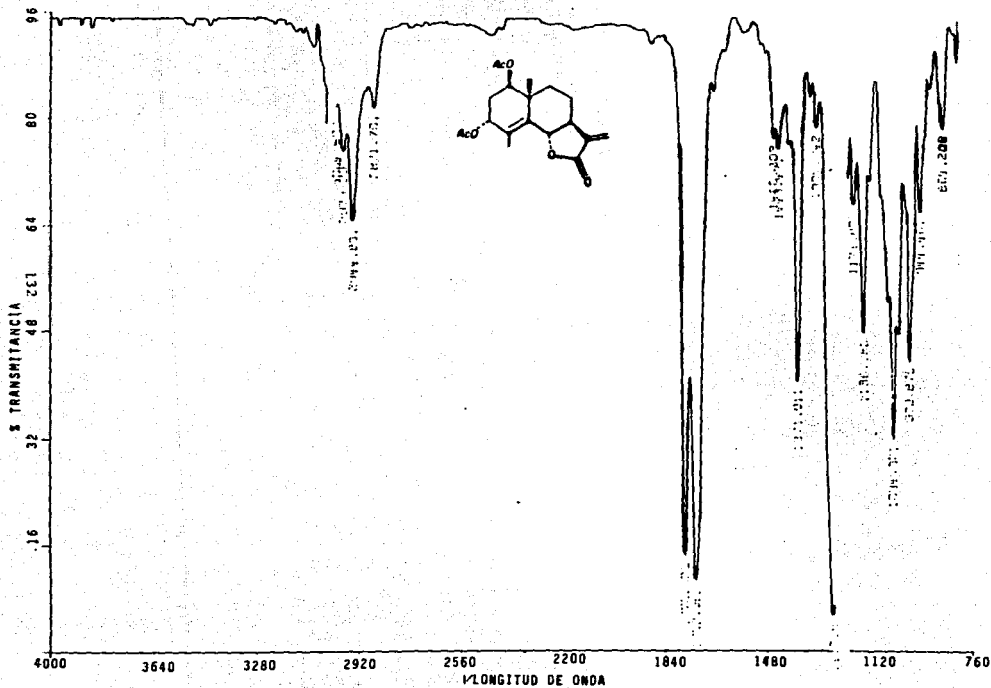
Espectro 27. COSY de la Arnefolina (5).



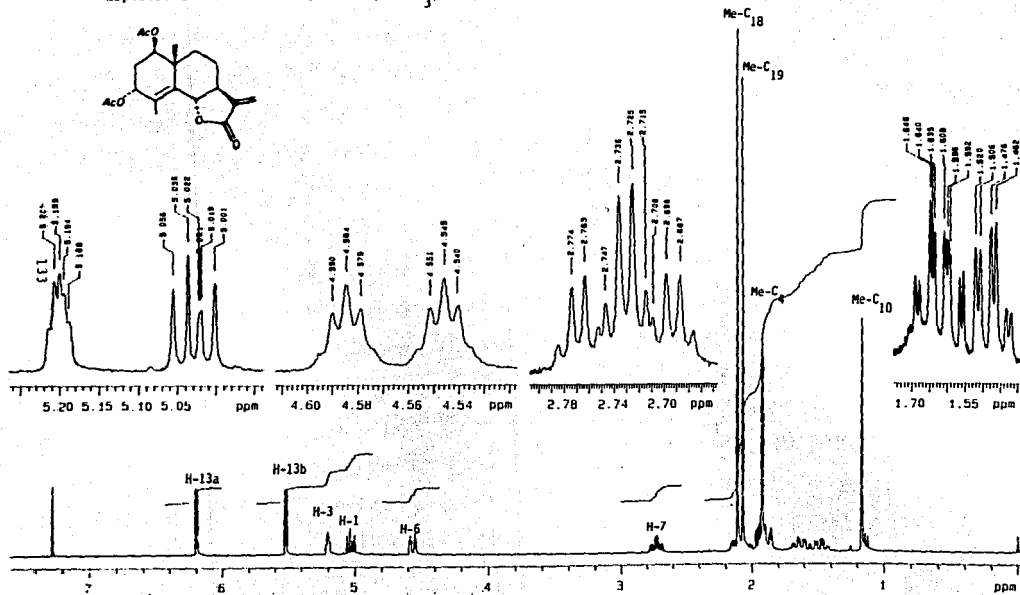
131



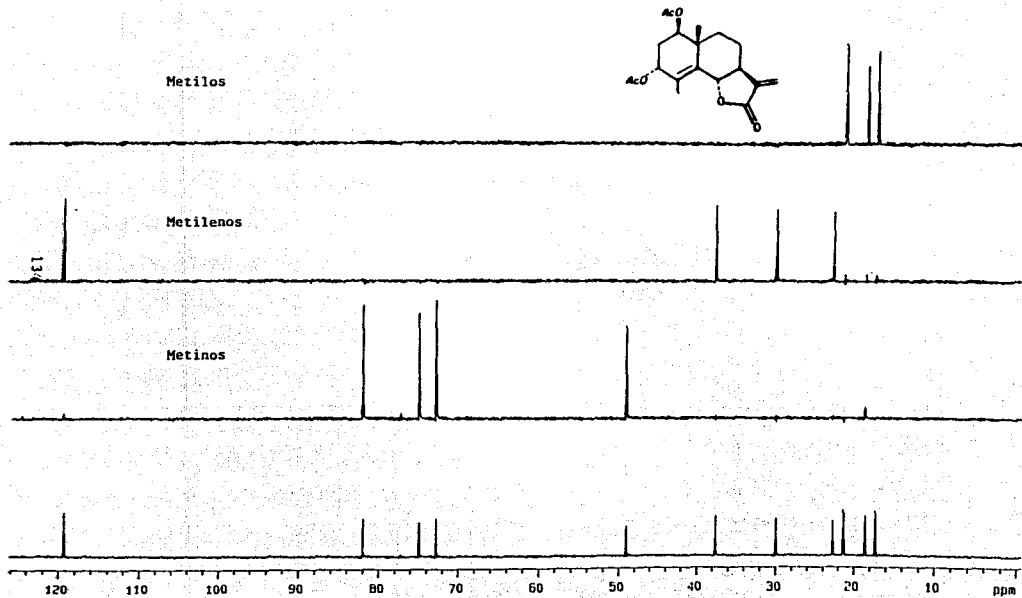
Espectro 28. De IR (CCl₃) del Liacetato de la Arnefolina (6).



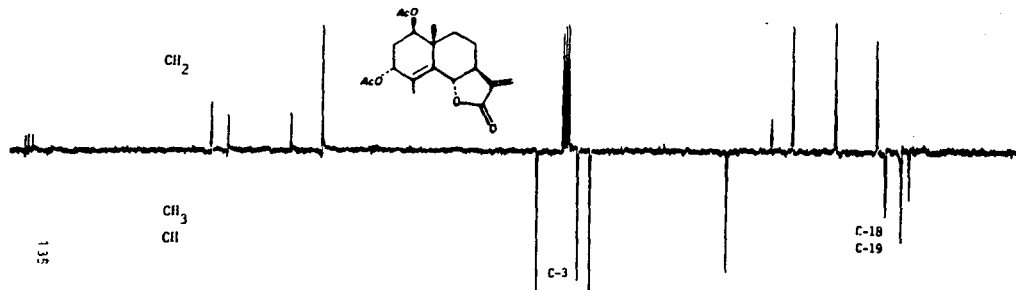
Espectro 29. De RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃; TMS) del Diacetato de la Arnefolina (6).



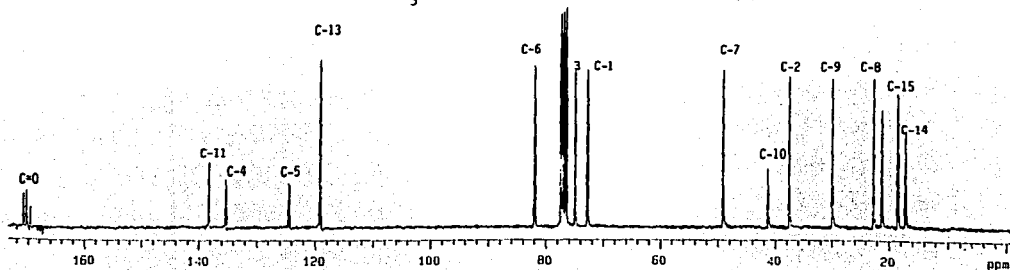
Espectro 31. De RMN-¹³C (DEPT) del Diacetato de la Arnefolina (6).



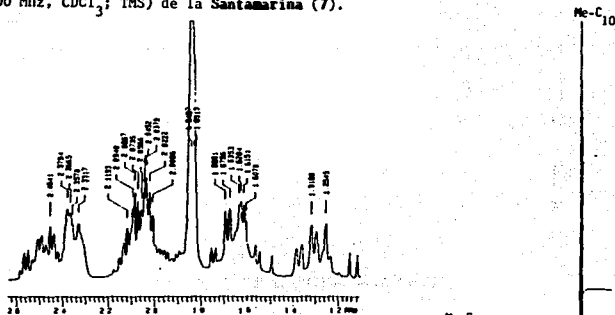
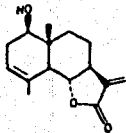
Espectro 32. De RMN-¹³C (APT) del Diacetato de la Arnefolina (6).



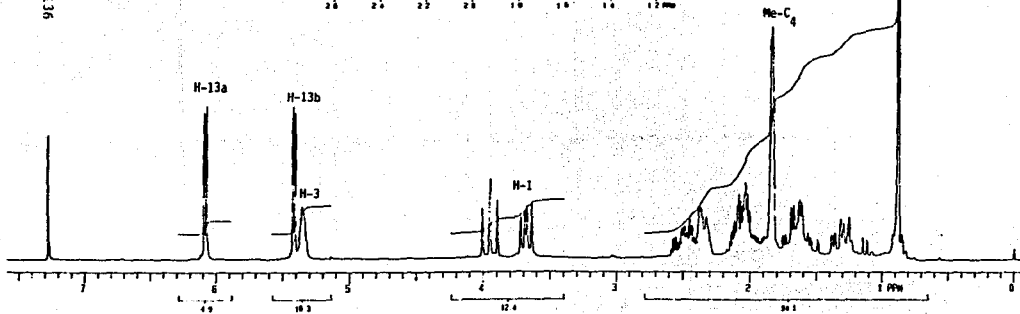
Espectro 30. De RMN-¹³C (75 MHz, CDCl₃; TMS) del Diacetato de la Arnefolina (6).



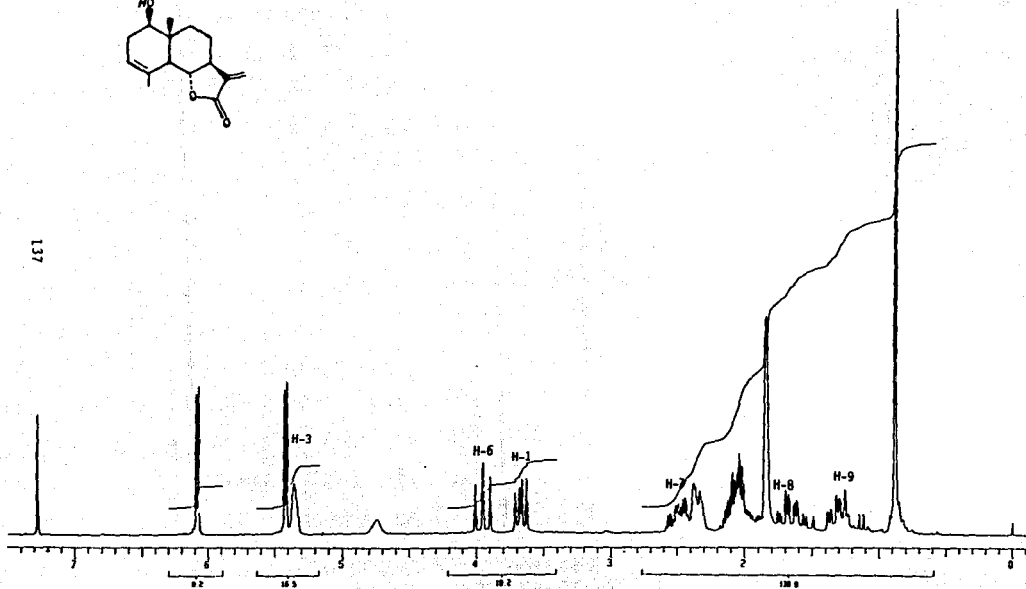
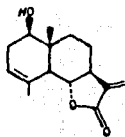
Espectro 33. De RMN-¹H (200 MHz, CDCl₃; TMS) de la Santamarina (7).



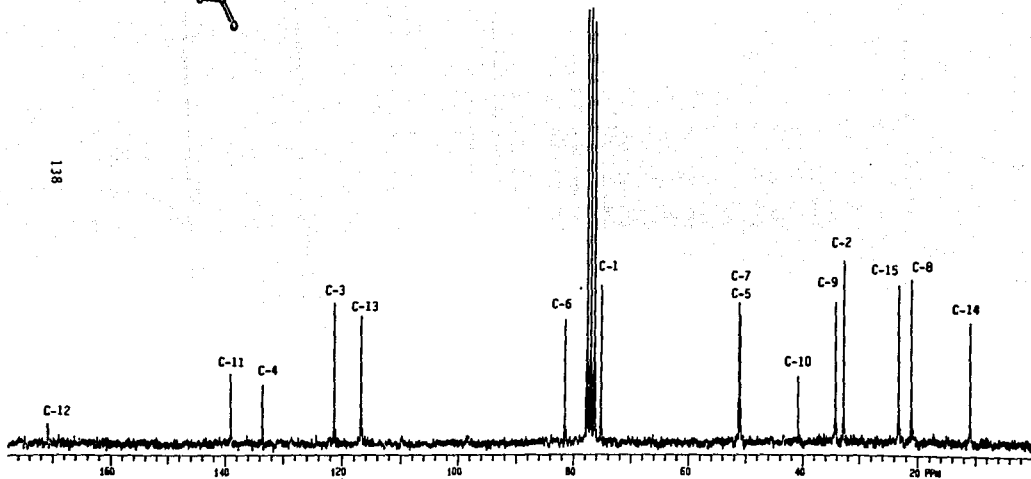
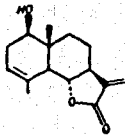
136



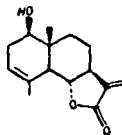
Espectro 34. De RMN-¹H (200 MHz, D₂O; TMS) de la Santamarina (7).



Espectro 35. De RMN-¹³C (75 MHz, CDCl₃; TMS) de la Santamarina (7).



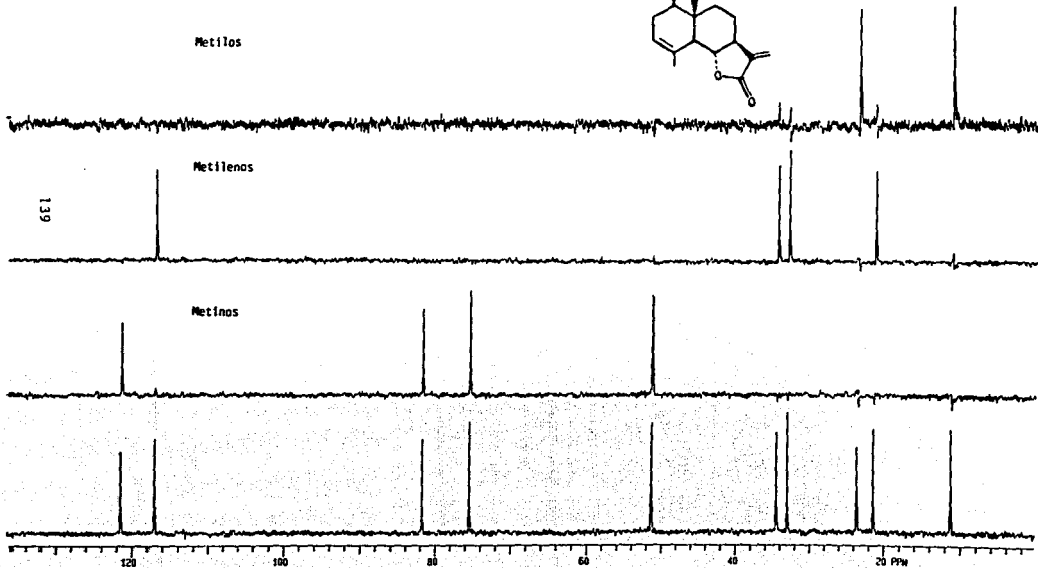
Espectro 36. De RMN-¹³C (DEPT) de la Santamarina (7).



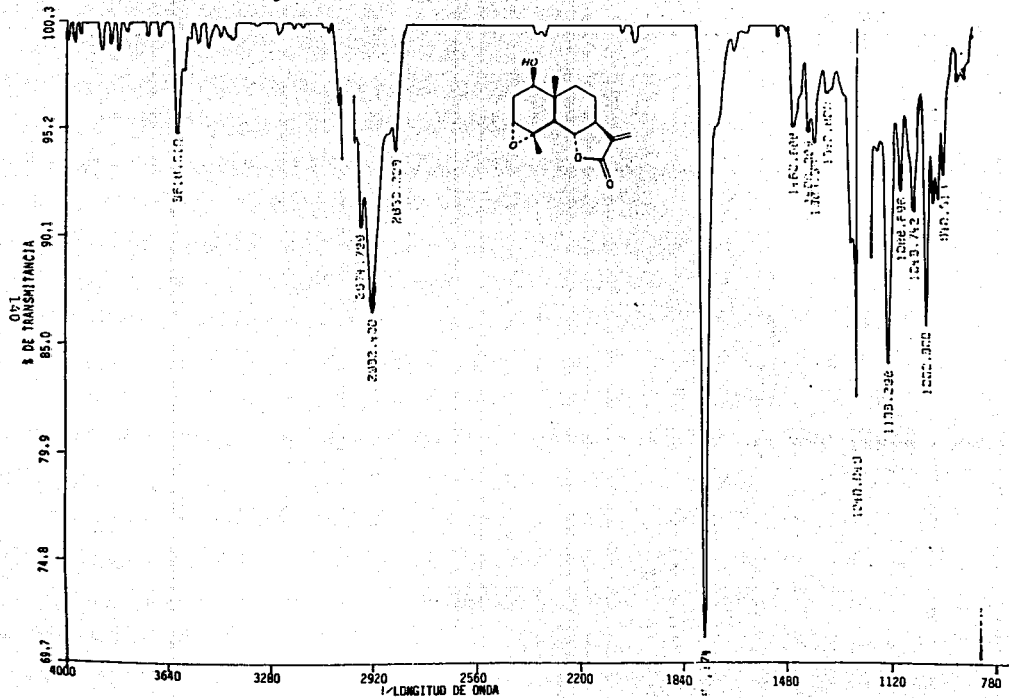
Metilos

Metilenos

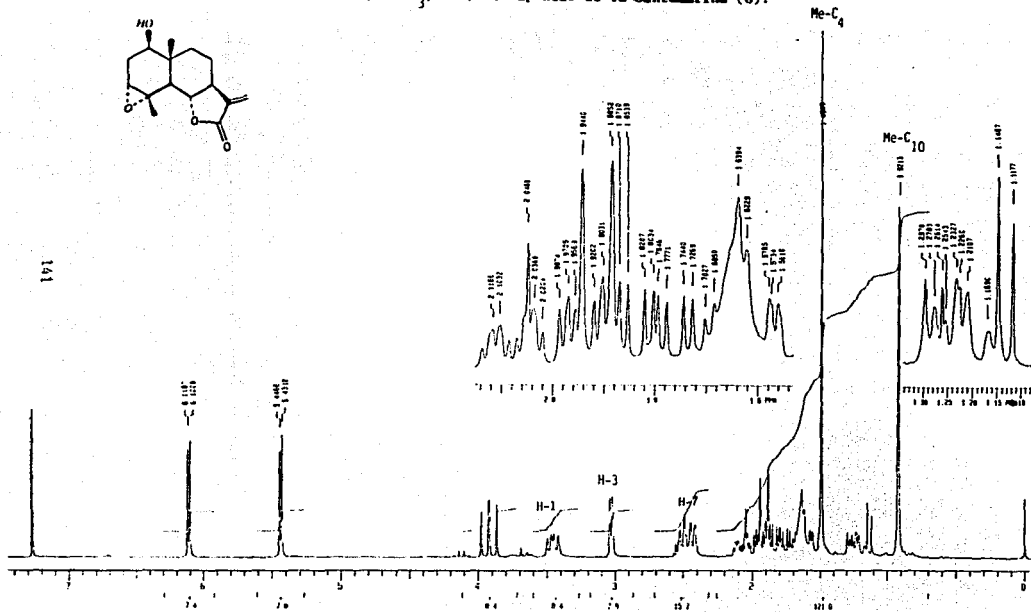
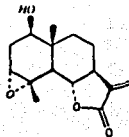
Metinos



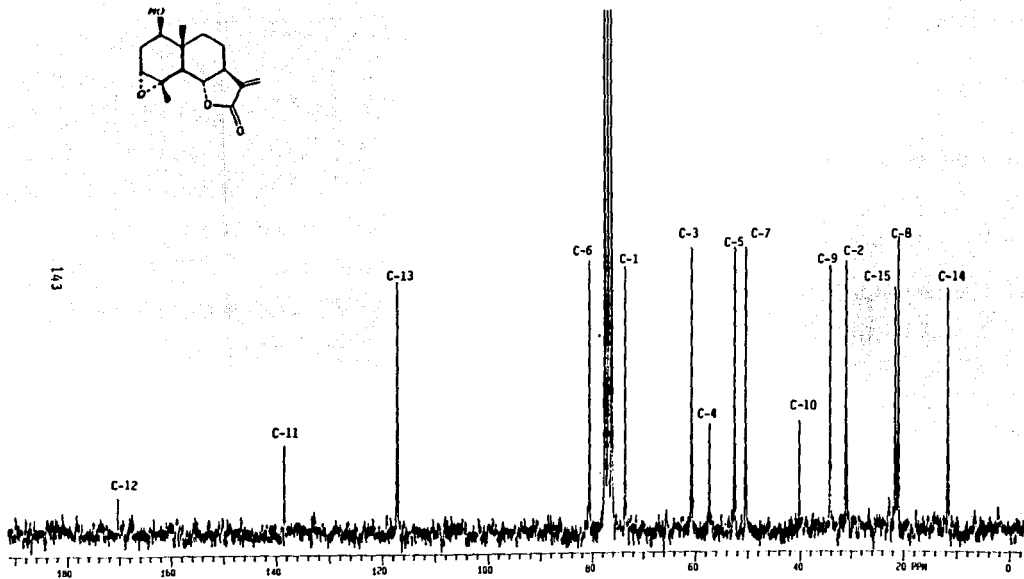
Espectro 37. De IR (CHCl_3) del Epóxido de la Santamarina (8).



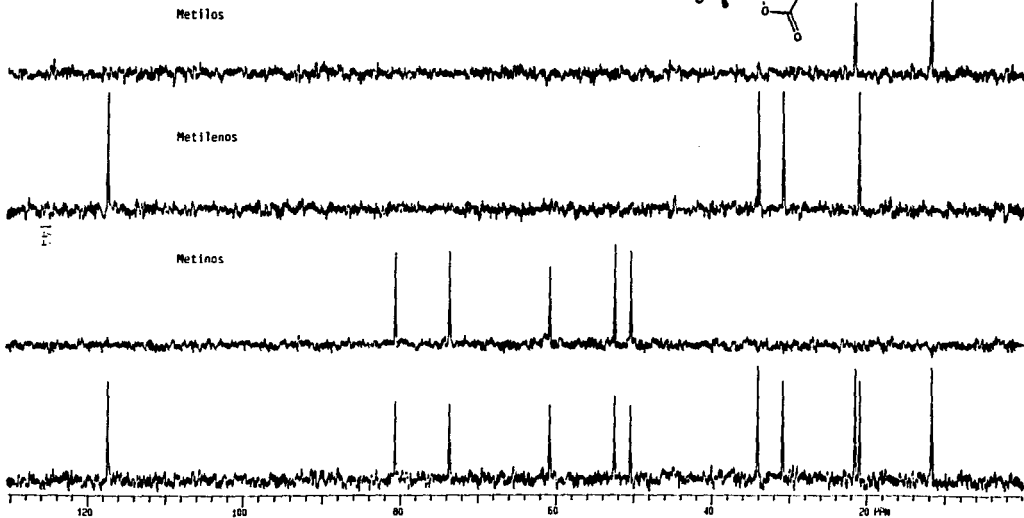
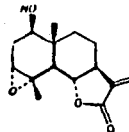
Espectro 38. De $\text{KMn-}^1\text{H}$ (200 MHz, CDCl_3 ; TMS) del Epóxido de la Santamarina (8).



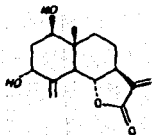
Espectro 40. De RMN-¹³C (75 MHz, CDCl₃; TMS) del Epóxido de la Santamarina (8).



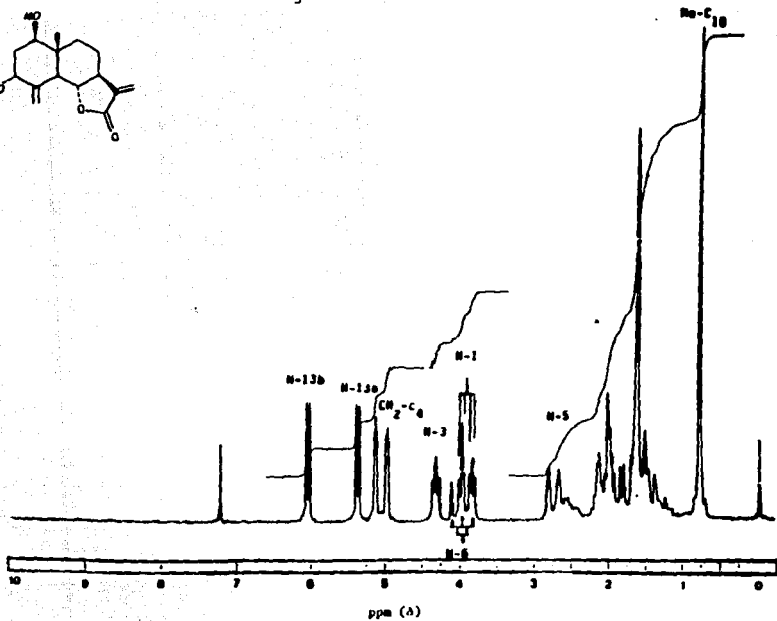
Espectro 41. De RMN-¹³C (DEPT) del Epóxido de la Santamarina (8).



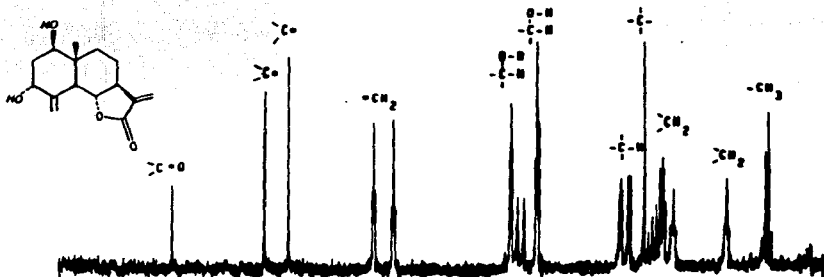
Espectro 42. De RMN-¹H (80 MHz, CDCl₃; TMS) de la 3 α -hidroxi-reynosina (9).



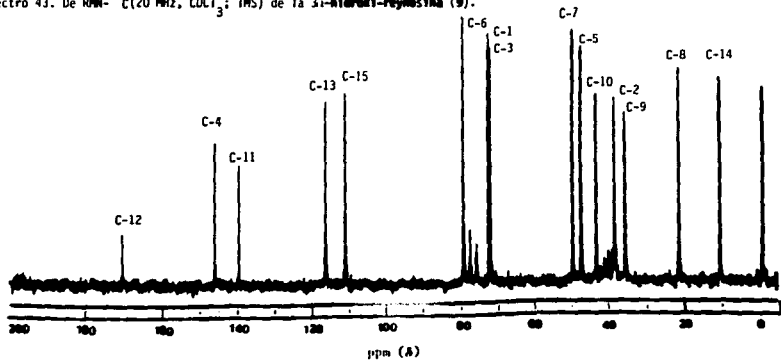
145



Espectro 43a. De RMN- ^{13}C (Desacoplamiento parcial de ^{13}C) de la 3 α -hidroxil-reynosina (9).

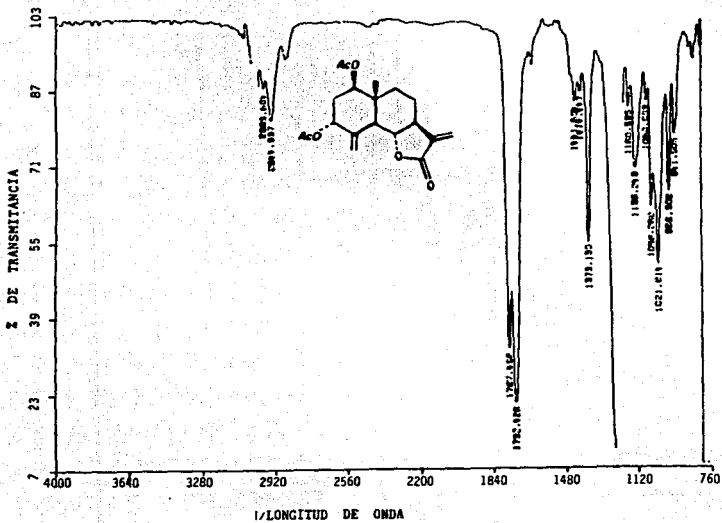


Espectro 43. De RMN- ^{13}C (20 MHz, CDCl_3 ; TMS) de la 3 α -hidroxil-reynosina (9).

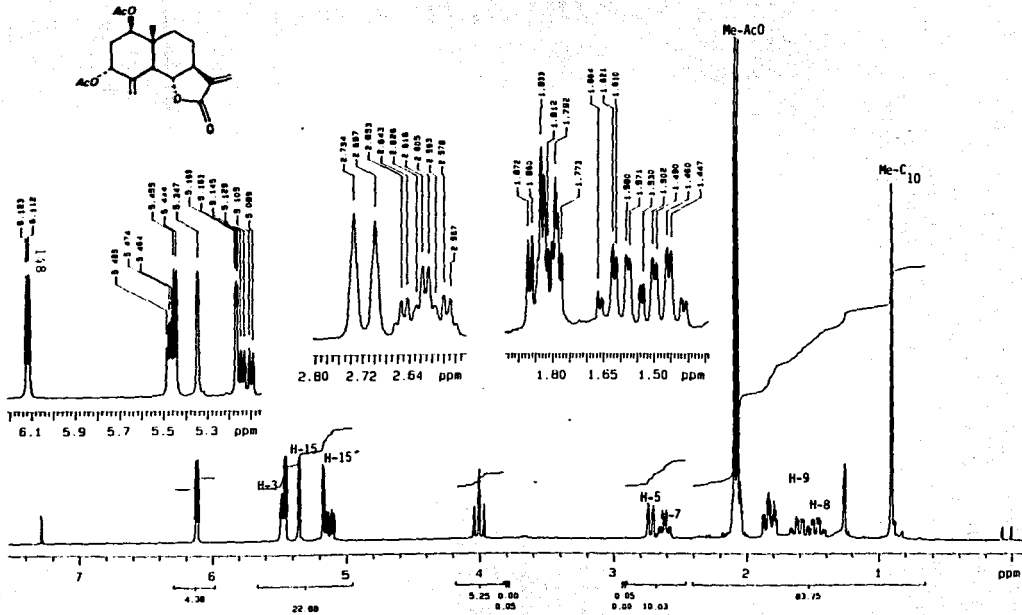


Espectro 44. De IR (CHCl_3) del Diacetato de la 3-hidroxi-reynosina (10).

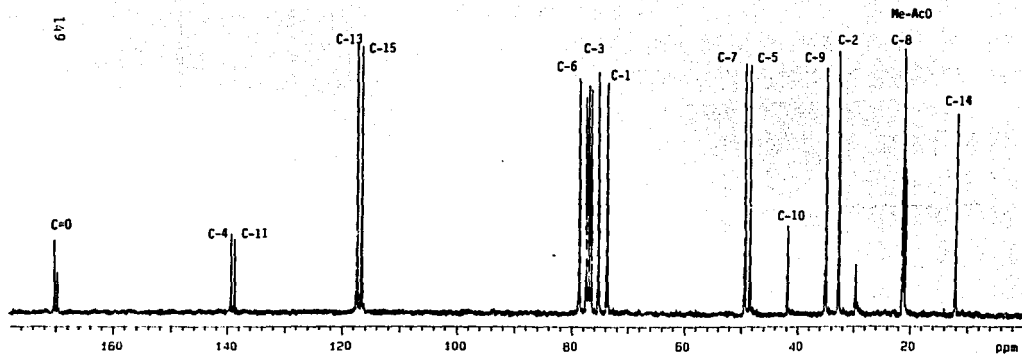
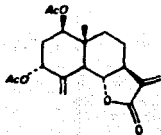
147



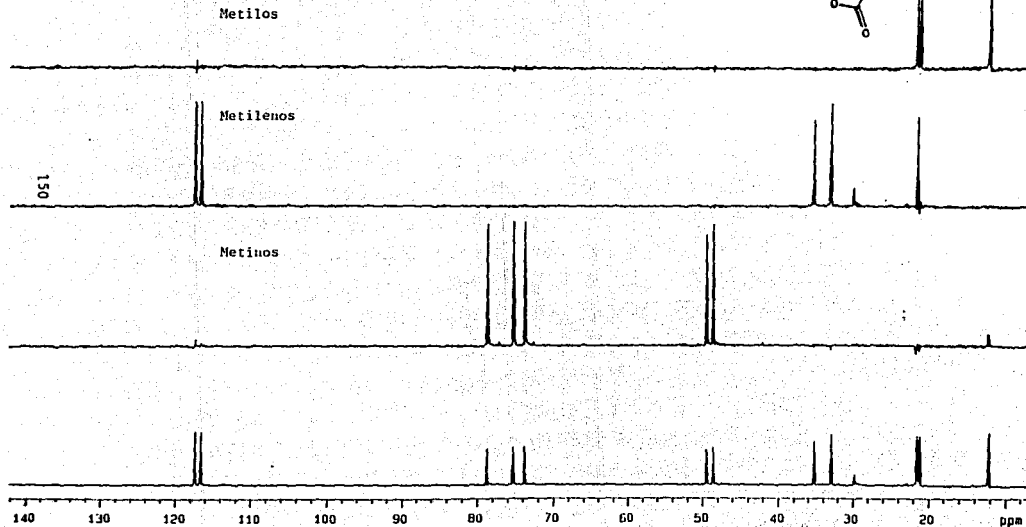
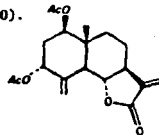
Espectro 45. De RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃; TMS) del Diacetato de la 3 α -hidroxi-reynosina (10).



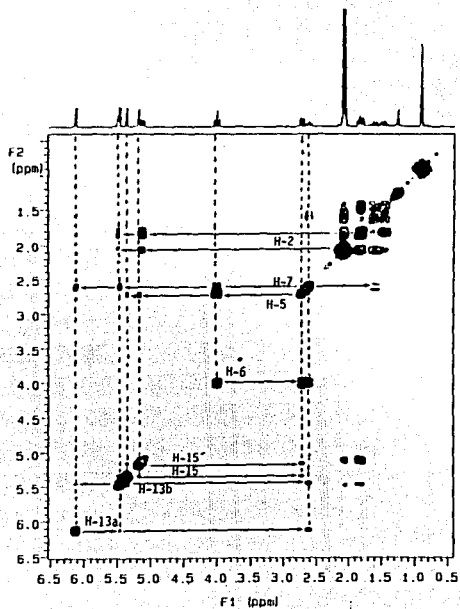
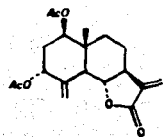
Espectro 46. De RMN- ^{13}C (75 MHz, CDCl_3 ; TMS) del **Diacetato de la 3-hidroxi-reynosina (10)**.



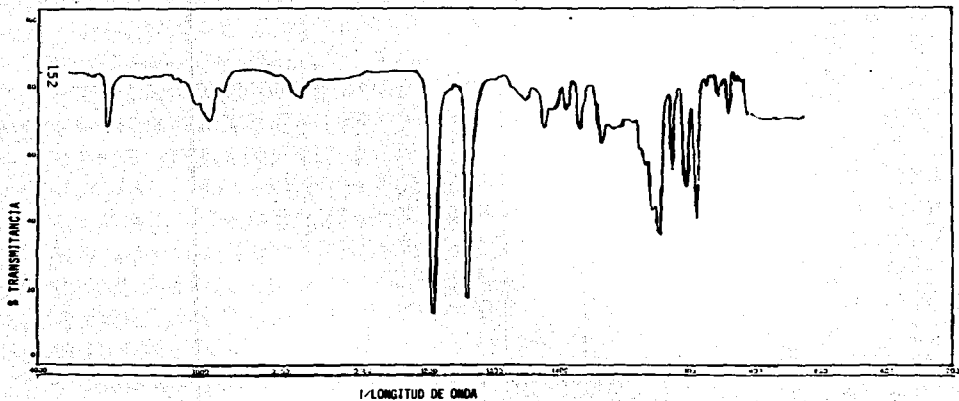
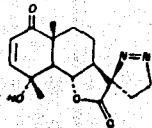
Espectro 47. De RMN-¹³C (DEPT) del Diacetato de la 3 α -hidroxi-reynosina (10).



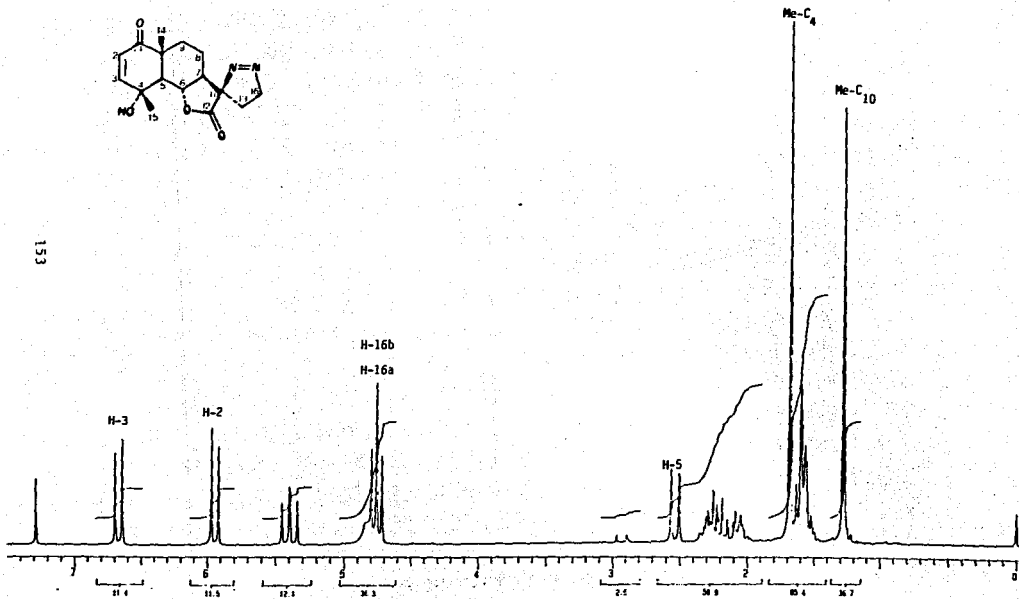
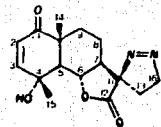
Espectro 48. COSY del Diacetato de la 3-hidroxi-reynosina (10).



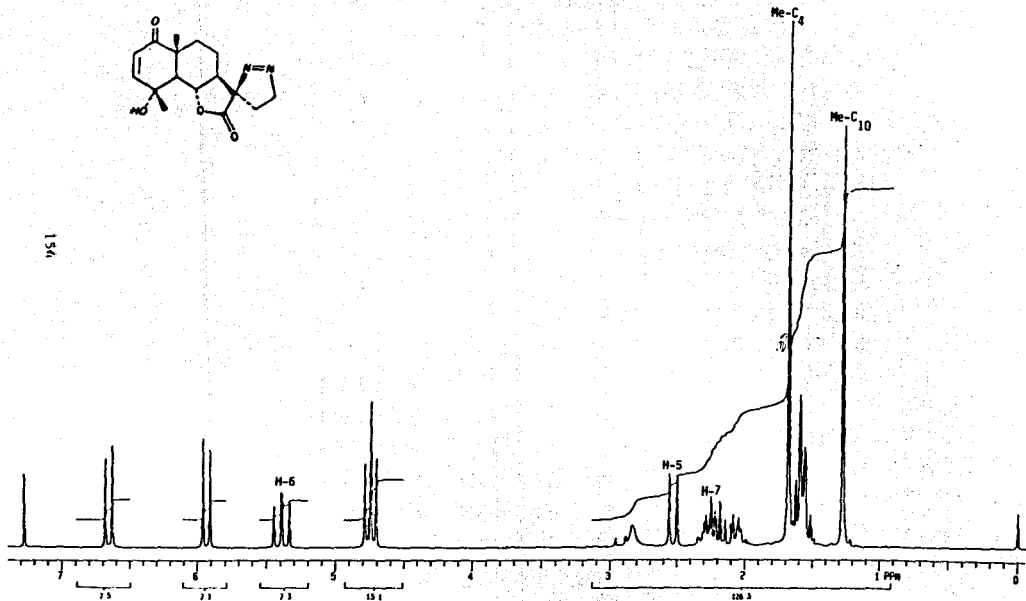
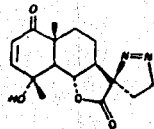
Espectro 49. De IR (CHCl_3) de la Pirazolina de la Arglanina (11).



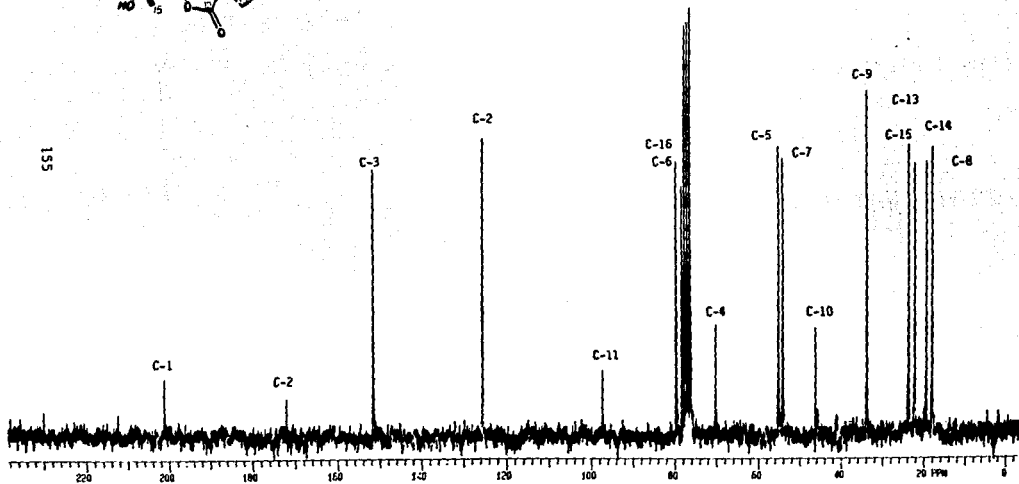
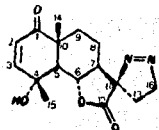
Espectro 50. De RMN-¹H (200 MHz, CDCl₃; TMS) de la Pirazolina de la Arglanina (11).



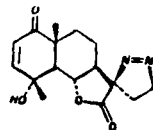
Espectro 51. De RMN-¹H (200 MHz, D₂O; TMS) de la Pirazolina de la Argemone (11).



Espectro 52. De RMN-¹³C (75 MHz, CDCl₃; TMS) de la Pirazolina de la Arglanina (11).



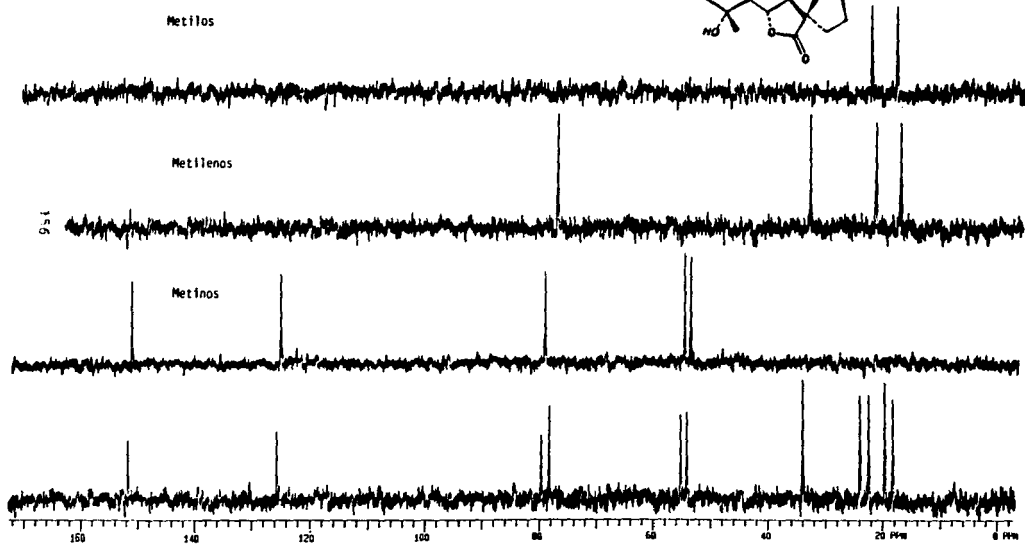
Espectro 53. De RMN-¹³C (DEPT) de la Pirazolina de la Arglanina (11).



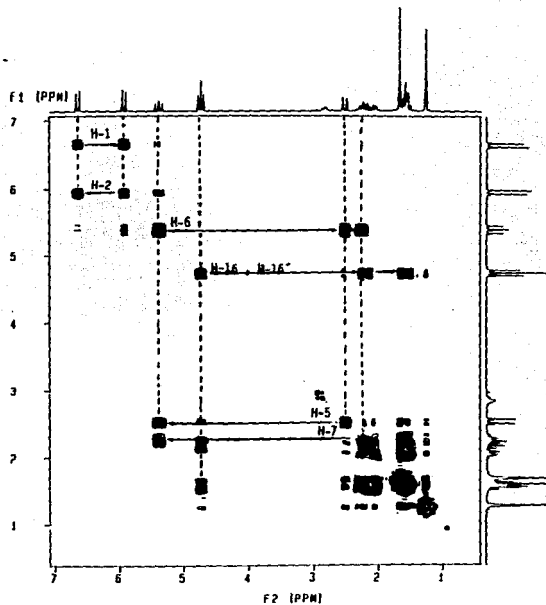
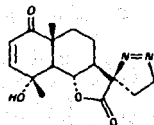
Metilos

Metilenos

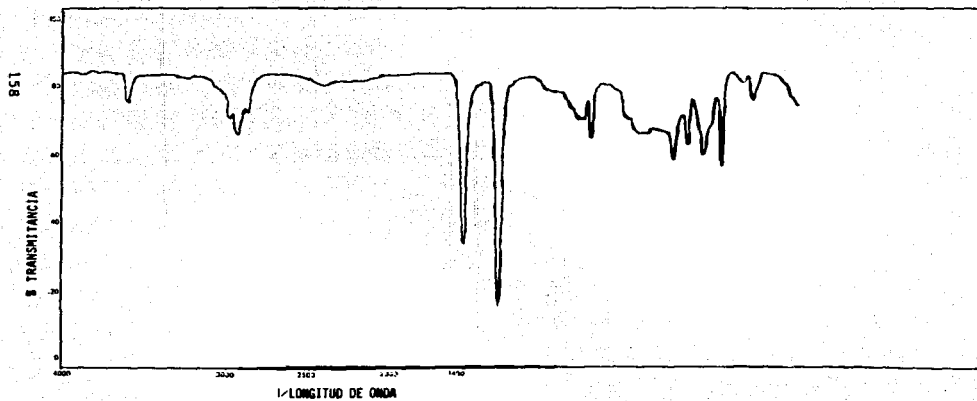
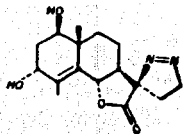
Metinos



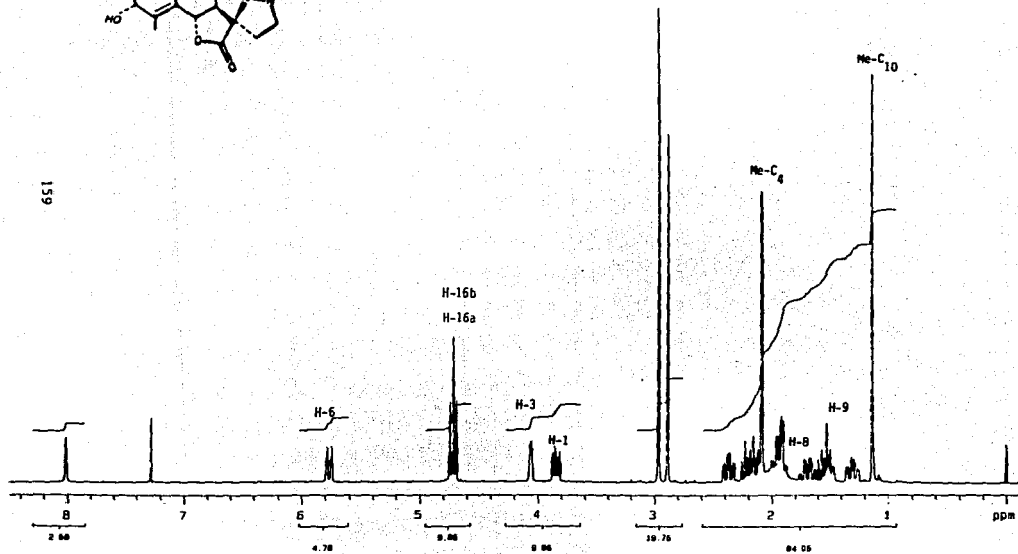
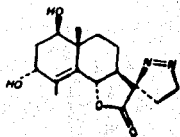
Espectro 54. COSY de la Pirazolina de la Arglanina (11).



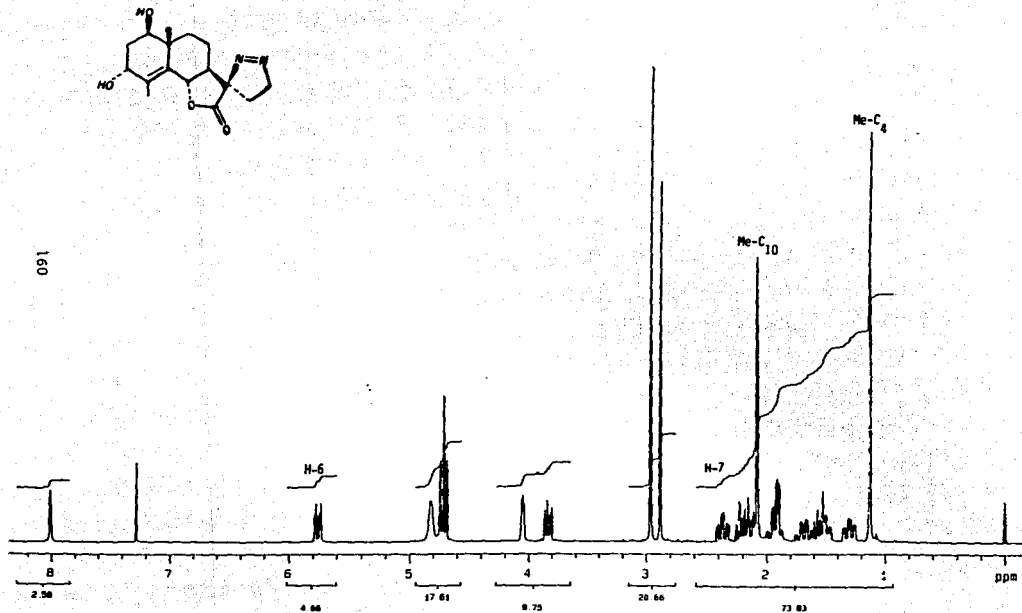
Espectro 55. De IR (CHCl_3) de la Pirazolina de Arnefolina (12).



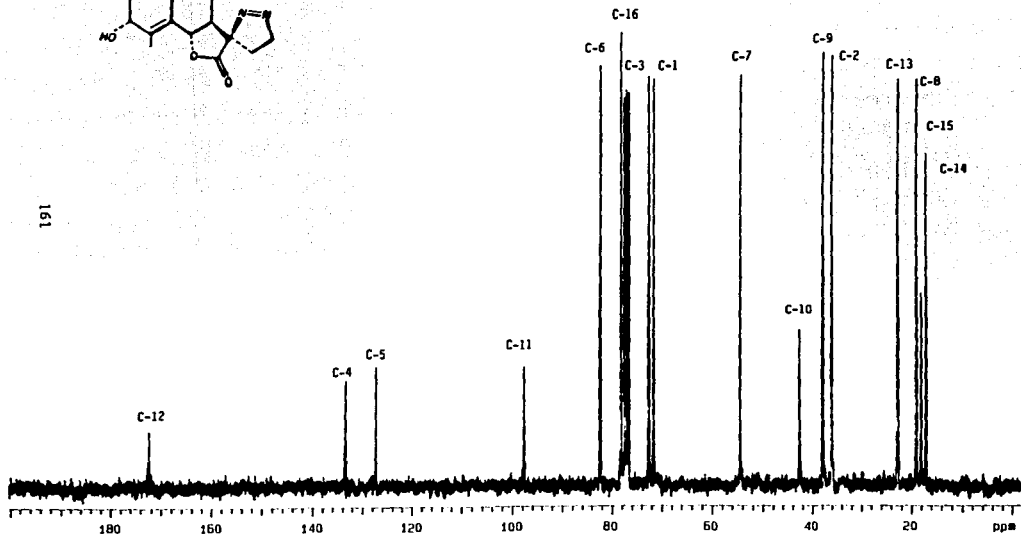
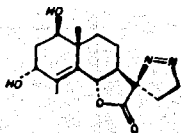
Espectro 56. De RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃; TMS) de la Pirazolina de Arnefolina (12).



Espectro 57. De RMN-¹H (300 MHz, D₂O; TMS) de la Pirazolina de Armefolina (12).

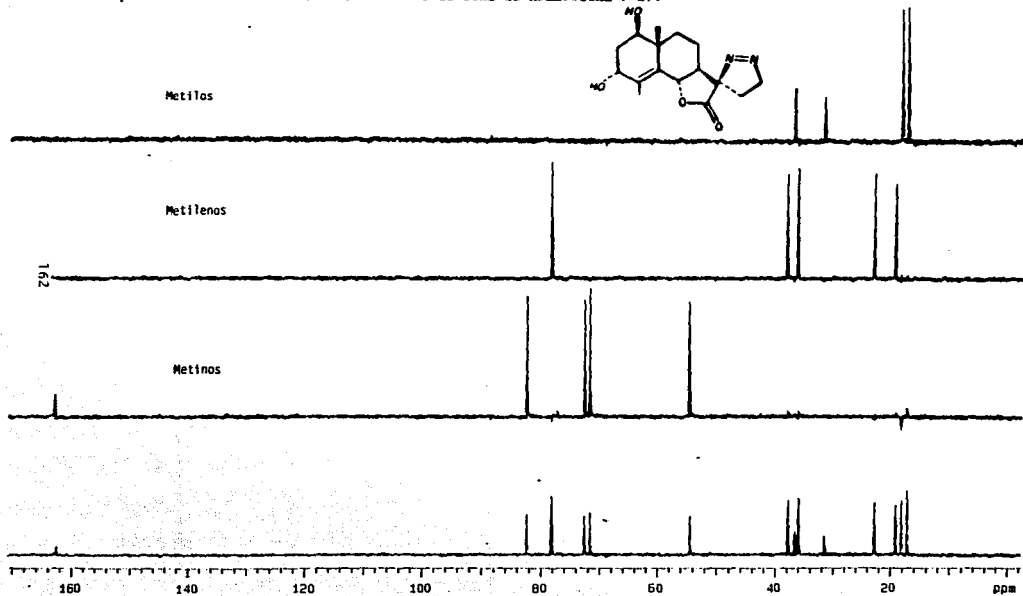
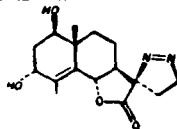


Espectro 58. De RMN-¹³C (75 MHz, CDCl₃; TMS) de la Pirazolina de Arnefolina (12).

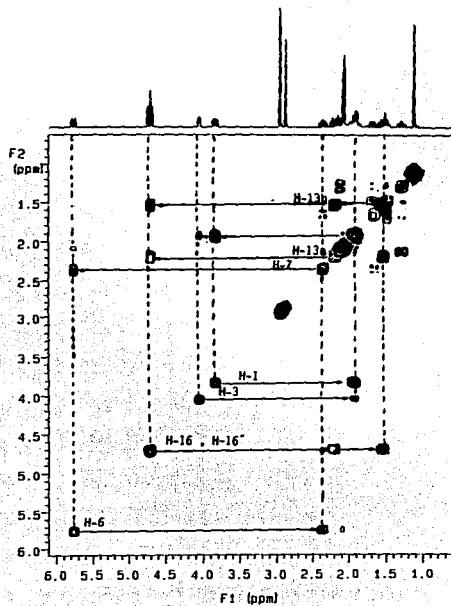
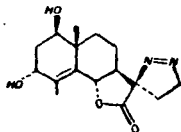


161

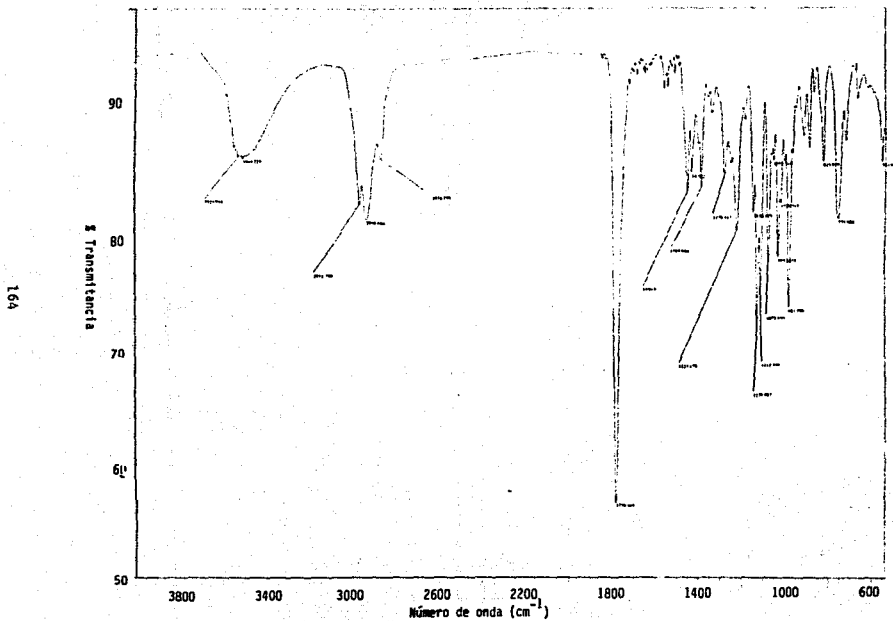
Espectro 59. De RMN-¹³C (DEPT) de la Pirazolina de Arnefolina (12).



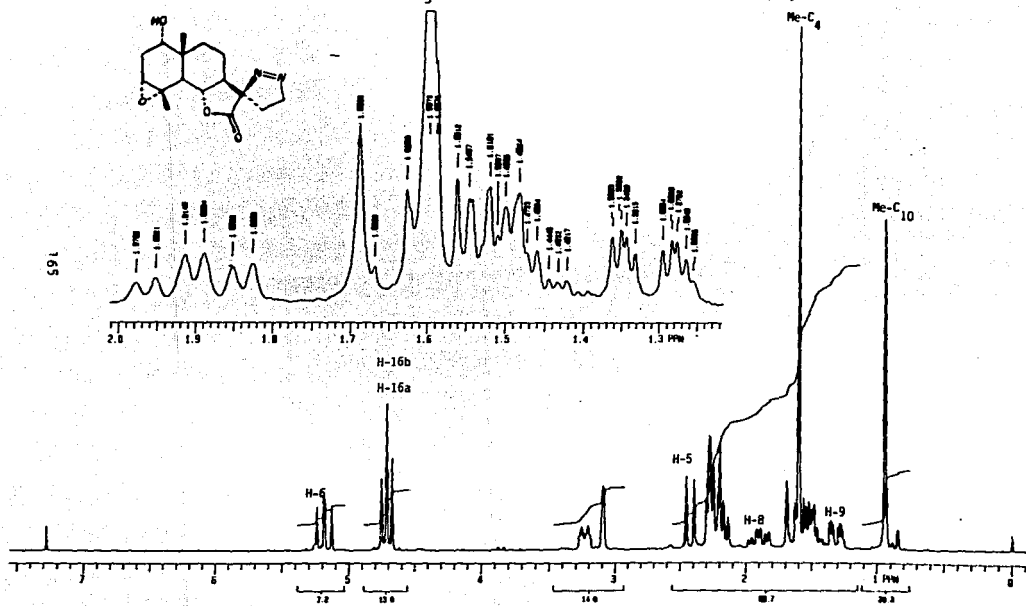
Espectro 60. COSY de la Pirazolina de Arnefolina (12).



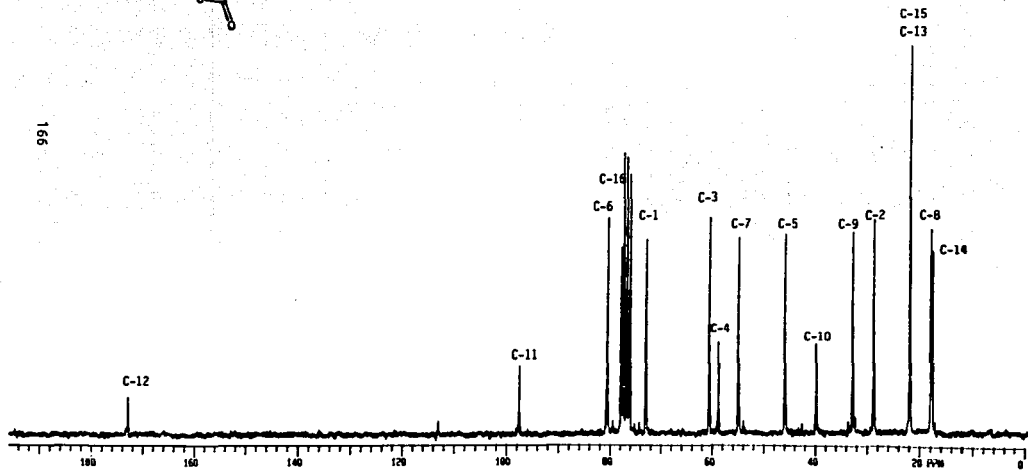
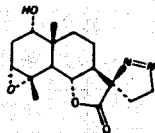
Espectro 61. De IR (CHCl_3) de la Pirazolina de Ludovicina A (13).



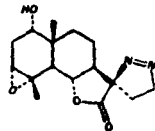
Espectro 62. De RMN-¹H (200 MHz, CDCl₃; TMS) de la Pirazolina de Ludovicina A (13).



Espectro 63. De RMN-¹³C (75 MHz, CDCl₃; TMS) de la Pirazolina de Ludovicina A (13).



Espectro 64. De RMN-¹³C (DEPT) de la Pirazolina de Ludovicina A (13).



Metilos

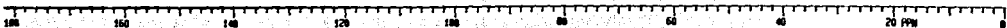


Metilenos

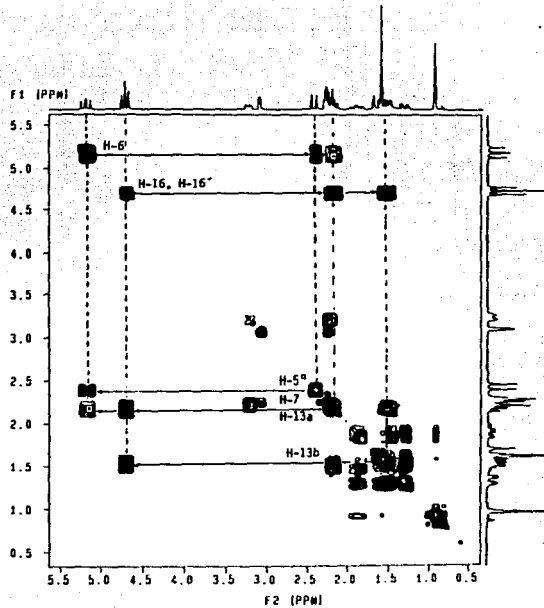
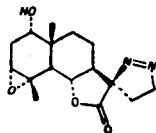
167



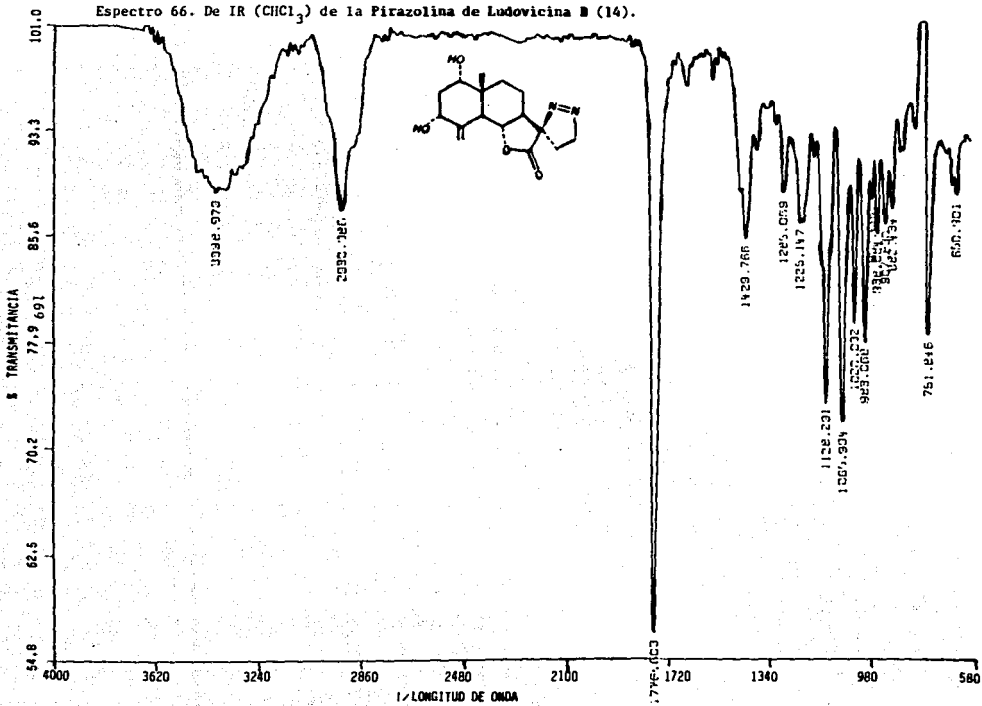
Metinos



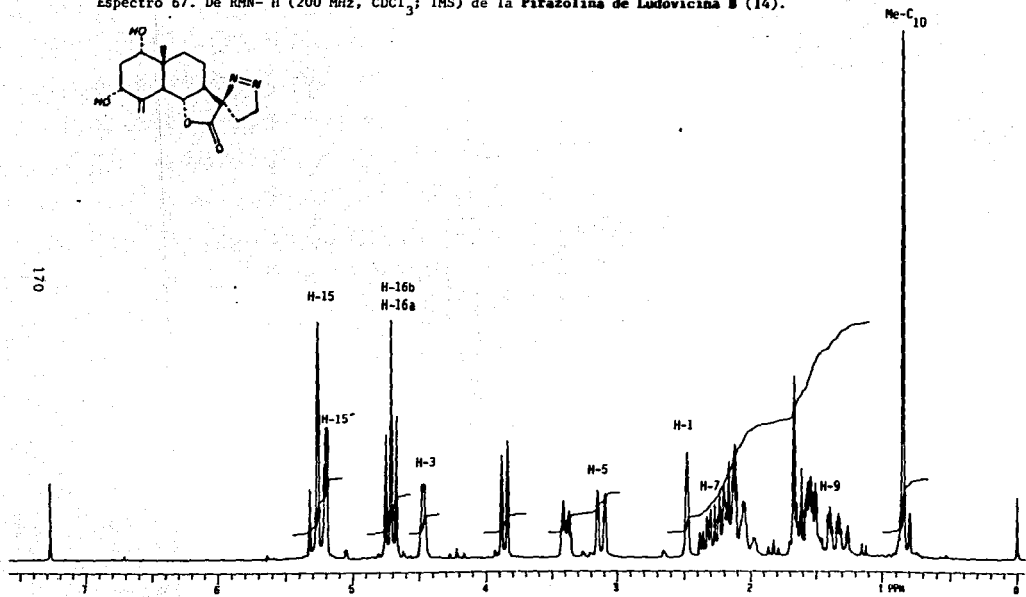
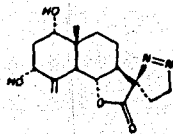
Espectro 65. COSY de la Pirazolina de Ludovicina A (13).



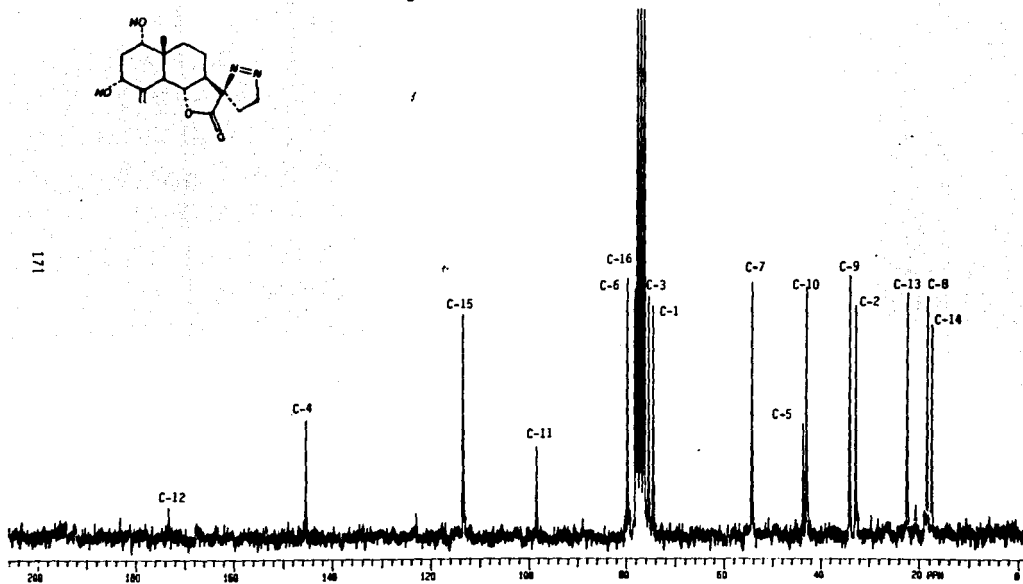
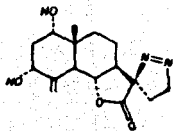
Espectro 66. De IR (CHCl₃) de la Pirazolina de Ludovicina B (14).



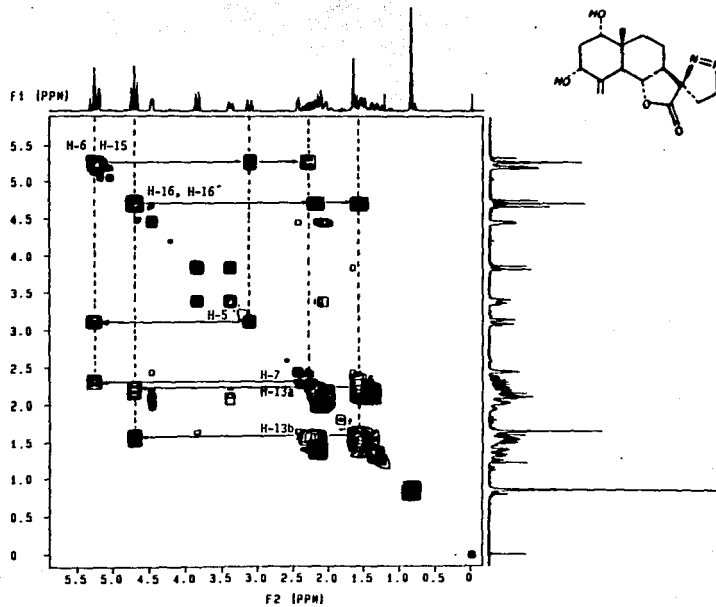
Espectro 67. De RMN-¹H (200 MHz, CDCl₃; TMS) de la Pirazolina de Ludovicina B (14).



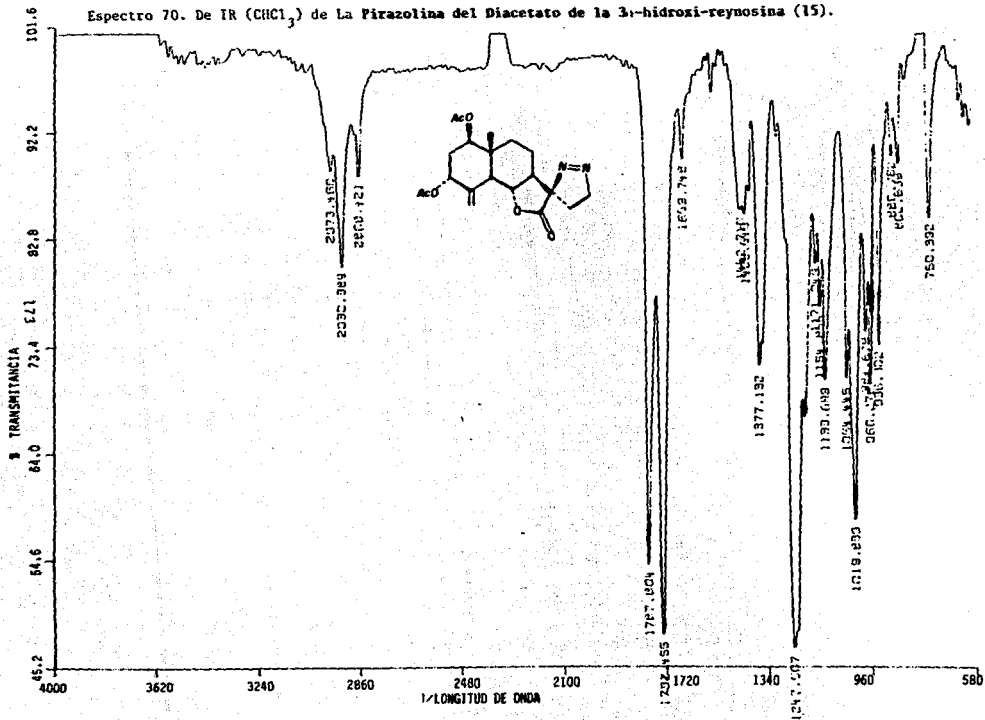
Espectro 68. De RMN-¹³C (75 MHz, CDCl₃; TMS) de la Pirazolina de Ludovicina B (14).



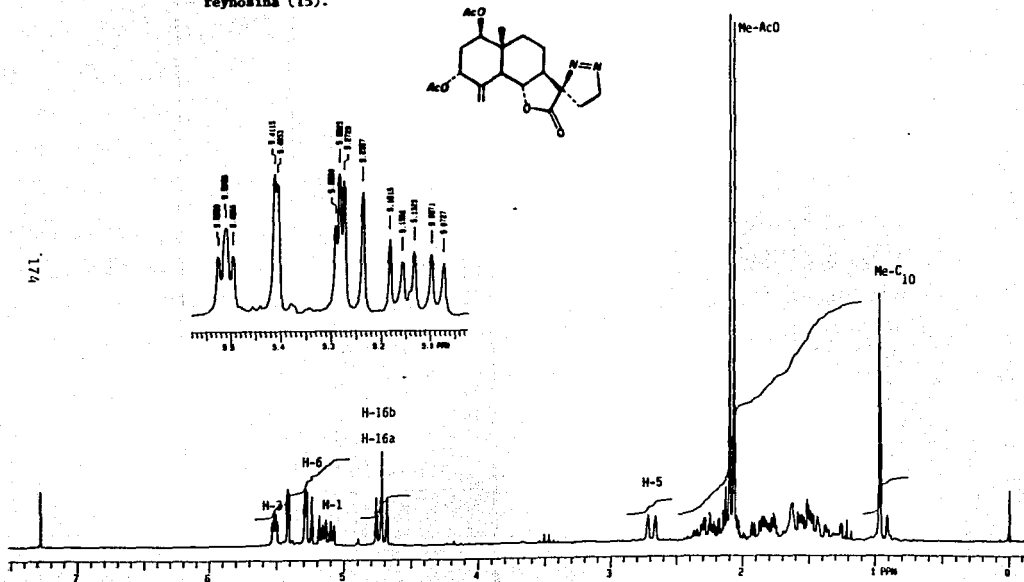
Espectro 69. COSY de la Pirazolina de Ludovicina B (14).



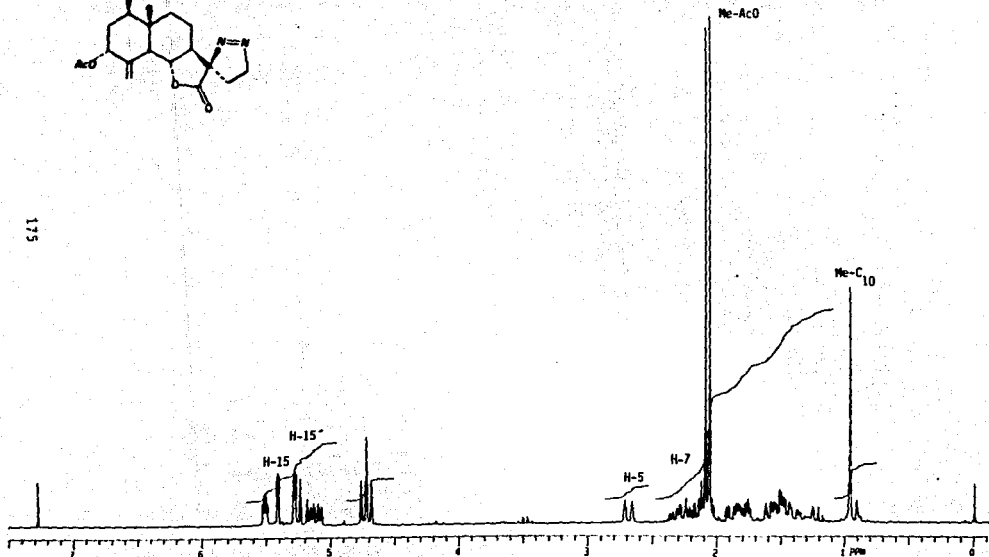
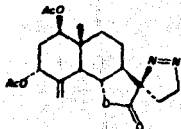
Espectro 70. De IR (CHCl₃) de La Pirazolina del Diacetato de la 3-hidroxi-reynosina (15).



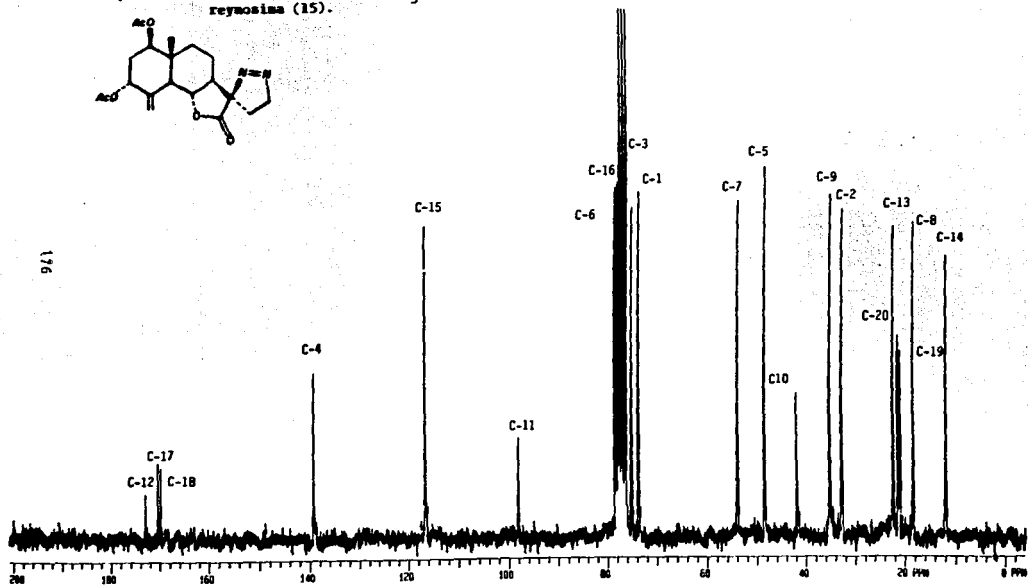
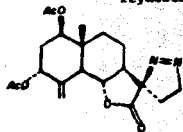
Espectro 71. De RMN-¹H (200 MHz, CDCl₃; TMS) de la Pirazolina del Diacetato de la 3-hidroxi-reynosina (15).



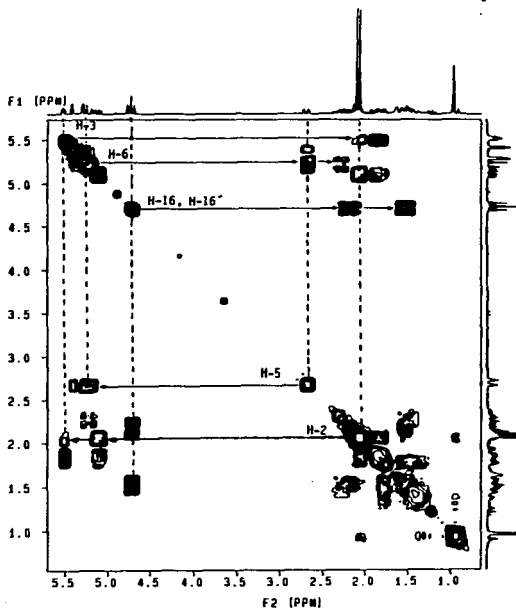
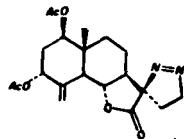
Espectro 72. De RMN-¹H (200 MHz, D₂O; TMS) de la Pirazolina del Diacetato de la 3.-hidroxi-reynosina (15).



Espectro 73. De RMN-¹³C (75 MHz, CDCl₃; TMS) de la Pirazolina del Diacetato de la 3- hidroxireynosina (15).



Espectro 74. COSY de la Pirazolina del Diacetato de la 3-hidroxi-reynosina (15).



REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Varro. E. T. Medicinal Plant Research: 1953-1987; *Planta Medica* **54**, 95 (1988).
2. Dostovalova V. I; etal. Prediction of the carbon -13 NMR chemical shifts of polysubstituted benzene with homogeneous substituents; *Magnetic Resonance in Chemistry*, **29**, 830-33 (1991).
3. Marco J. A. and Carda M; ¹³C NMR Spectra of eudesmanolides; *Magnetic Resonance in Chemistry*, **25**, 628-34 (1987).
4. Dudley H. W; Stone J. M; Hauck R; P. and Shirley K. R. Why are secondary metabolites (natural products) Biosynthesized? *Journal of Natural Products*, **52**, 1189-1209 (1989).
5. Nahrstedt A. The significance of secondary metabolites for interactions between plants and insects. *Planta Medica*, **55**, 33-38 (1989).
6. Marco J. A; Barbera O. Natural products from genus *Artemisia* L. *Studies in natural products chemistry*, **7**, 201 (1990).
7. Ruiz C. A. Análisis fitoquímico de *Artemisia Ludoviciana* en busca de sustancias con propiedades antimaláricas. Tesis M. en C. (Química orgánica) U.A. del Edo. de Morelos, Cuernavaca Mor, (1990).
8. Bruneton J. Elementos de fitoquímica y de farmacognosia. Ed. Acribsa, S. A. España 284-90 (1991).
9. Soulder S; Welch S. A very brief, rapid, simple and unified method for estimating carbon -13 NMR chemical shifts. *J. Chem. Educ.* **64**, 915 (1987).
10. Akkit J. N. NMR and chemistry. An introduction to modern NMR spectroscopy. 3a ed. Edit. Chapman and Hall. London (1992).
11. Bretmaier E. Voelter W. Carbon-13 NMR spectroscopy. 3a ed; editorial VCH. 111, 192-94, 209-13, 215-19 (1990).
12. Fraga B. M. Natural sesquiterpenoides. *Nat. Prod. Report*, **7** (1990).

13. Fiesser and Flessner. Reagents for organic synthesis. 1, 796; John Wiley and sons ; New York 1967.
14. Durts T; Kasma E. C. and Charlton J. L. Stereoselectivity in the Diels-Alder Reaction of phenyl and Oxy-substituted α -quinodimethanes *J. Org. Chem.* **50**, 4829 (1985).
15. March J. Advanced Organic Chemistry. Reactions, mechanisms and structure. 2a ed; McGraw-Hill. New York. 318, 347, 362, 750-52, 969-71, 983-84. (1977)
16. Fersht and Jencko. Reactions of Nucleophilic Reagents with Acylating agents of Extreme Reactivity. Correlation of β values Attacking and Leaving group variation *J. Am. Chem. Soc.* **92**, 5442 (1970).
17. Emons and Pagano. Peroxy Trifluoroacetic Acid. IV. The epoxidation of olefins *J. Am. Chem. Soc.* **77**, 89 (1955).
18. Ogata and Tabushi. Kinetics of the epoxidation of substituted α -methylstilbenes *J. Am. Chem. Soc.* **83**, 3440 (1961).
19. Danishefsky S; etal. The total synthesis of *dl*- Vernolepin and *dl*- Vernomenin. Formation of epoxy aldehyde 43. *J. Am. Chem. Soc.* **99**, 6068 (1977).
20. Serajul H. M., Concertedness of 1,3 dipolar cycloadditions. *J. Chem. Educ.* **61**, 490 (1984).
21. Lee K. H. and Geissman T. A. Sesquiterpene lactones of *Artemisia* constituents of *A. Ludoviciana* ssp *mexicana*. *Phytochemistry*, **9**; 403-8 (1970).
22. Bermejo J. B; Bretón J. L; Fajardo M; and González A. G. Terpenoids from the *Sonchus tuberosus* svent. *Tetrahedron letters* **36**, 3475-76. (1967).
23. Howells and Warren. Carbonium Ion Rearrangement. Competitive migration of the electronically contrasted groups methyl and diphenyl phosphinyl. *J. Chem Soc. Perkin Trans. 2*, 1645 (1973).
24. Mc Call Townsend and Bonner. *J. Am. Chem. Soc.* **97**, 2743 (1975).
25. Mata R; Delgado G. and Romo de Vivar A. Sesquiterpene lactones of *Artemisia mexicana* var. *angustifolia*. *Phytochemistry* **23**, 1665

- (1984).
26. Yoshioka H; Renold W; Fischer N. H; Higo A. and Malory T. J. Sesquiterpene lactones from *Ambrosia confertiflora* (Compositae). *Phytochemistry*, **9**; 823-32 (1970).
 27. Ruiz C. A; Cano F. A; and Delgado G. L. Sesquiterpene lactones and flavonoids from *Artemisia ludoviciana* ssp. *mexicana*. *Phytochemistry*, **33**; 1113-15 (1993).
 28. Da Silva A. J. R; Garcia M; Baker P. M. and Rabi A. ¹³C NMR Spectra of natural products. *Organic Magnetic Resonance* **26**, 234-35 (1985).
 29. Levy G. C. and Nelson G. Resonancia Magnética Nuclear de ¹³C para químicos orgánicos. Ed. Ballesteria S. A. 69-91 (1976).
 30. Wehrli F. W; Wirtlin T. Interpretation of Carbon-13 NMR spectra 22-39 (1978).
 31. Grover S. H. and Stothers. ¹³C NMR Studies. 38. Examination of the long range shielding effects of the hydroxyl group in alicyclic systems. *Can. J. Chem.* **52**, 870 (1970).
 32. Marco J. A. and Carda M. ¹³C NMR spectra of eudesmanolides. II. Eudesman-12,8-olides.
 33. Tori K. and Komeno T. Carbon-13 NMR spectra of steroidal epoxides. *Tetrahedron letters* **13**, 1157-68 (1974).
 34. Bohlman F. and Zdero C. Sesquiterpene lactone from *Brachylaena* species. *Phytochemistry* **21**; 647-51 (1982).
 35. Bohlman F; Singh P; and Jakupovic J. New germacrolides and other sesquiterpene lactones from *Dicoma* species. *Phytochemistry* **21**, 2029-33 (1982).
 36. Nathan P-J. Introducción a la Resonancia Magnética Nuclear. Ed. Limusa-Wilay. México 1970.
 37. Nakanishi K. Infrared absorption spectroscopy. 2a edición. Ed. Holden-day, Inc. San Francisco USA. 1977.
 38. Creswell C. J. Spectral Analysis of organic compounds. An Introduction Programed Text; 2a edición. Ed. Burgess Publishing Company. USA 1970.

39. Silverstein R. M. Spectrometric Identification of Organic Compounds. Ed. John-Wiley and Sons, Inc. Canada 1991.