

10561

6



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO  
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES  
CUAUTILÁN

REACCIONES DE CICLIZACIÓN *IN VITRO*,  
EN MEDIO ÁCIDO, DE LAS  
GLAUCÓLIDAS D Y E.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE  
MAESTRO EN FÍSICOQUÍMICA  
(MÉTODOS Y METROLOGÍA)

P R E S E N T A

Q.F.B. BENJAMÍN VELASCO BE JARANO

DIRECTOR : DR. MAR/ANO MARTÍNEZ VÁZQUEZ

CUAUTILÁN IZCALLI, ESTADO DE MÉXICO

2002

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTÓNOMA DE  
MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES  
CUAUTITLÁN  
DIRECCIÓN

OFICJO/FES-C/D/1739/XI/2001.

ASUNTO: Designación de Jurado.

BIOL FRANCISCO J. INCERA UGALDE  
JEFE DE LA UNIDAD DE ADMINISTRACIÓN DE POSGRADO  
DE LA DIRECCIÓN GENERAL DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR  
Presente.

La Dirección de esta Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, autoriza al alumno BENJAMÍN VELASCO BEJARANO, con número de expediente 100962007 y número de cuenta 8702009-6, para presentar su examen de grado de la Maestría de Físicoquímica (Métodos y Metrología), con la tesis titulada " REACCIONES DE OXIDACIÓN IN VITRO, EN MEDIO ACIDO DE LAS GLAUCOUDAS DE YE" a quien se le ha designado el siguiente jurado:

Presidente:	DR. ARMANDO CABRERA ORTIZ
Vocal:	DR. ROBERTO MARTÍNEZ
Secretario:	M.C RENE MIRANDA RUVALCABA
Primer Suplente:	DR. RAYMUNDO CRUZ
Segundo Suplente:	DR. JOSÉ GUILLERMO PENIERES CARRILLO

Sin más por el momento, reciba un cordial saludo.

Atentamente  
" POR MI RAZA HABLARA EL ESPÍRITU "  
Cuautitlán Izcalli, Méx., a 5 de noviembre del 2001.

  
DR. JUAN ANTONIO MONTARAZ CRESPO  
DIRECTOR

cc.p. Exp. Alumno  
C.c.p. Archivo  
IAMUSRR/PRN/sgu

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN



FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN  
COORDINACIÓN GENERAL DE ESTUDIOS DE POSGRADO

CARTA DE VOTOS APROBATORIOS

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE  
MÉXICO

Coordinación General de Estudios de Posgrado  
FES-Cuautitlán  
Presente.

Por medio de este conducto nos permitimos comunicar a usted que revisamos la tesis titulada "REACCIONES DE CICLIZACIÓN IN VITRO, EN MEDIO ÁCIDO DE LAS GLAUCOLIDAS D Y E" que presenta el alumno **BENJAMÍN VELASCO BEJARANO** con número de cuenta **8702009-6** y número de expediente **100962007** para obtener el grado de **Maestro en Físicoquímica (Métodos y Metrología)**. Consideramos que dicha tesis reúne los requisitos necesarios para ser discutida en el Examen de Grado correspondiente, otorgamos el voto aprobatorio.

Atentamente  
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPÍRITU"

Cuautitlán Ifcpalli a 25 de Enero del 2002

NOMBRE DE LOS SINODALES

Presidente: DR. ARMANDO CABRERA ORTIZ

Vocal: DR. ROBERTO MARTÍNEZ

Secretario: M.C. RENE MIRANDA RUVALCABA

Primer Suplente: DR. RAYMUNDO CRUZ

Segundo Suplente: DR. JOSÉ GUILLERMO PENIERES CARRILLO

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

---

# ÍNDICE

	Pagina
• RESUMEN	<i>ii</i>
• JURADO ASIGNADO	<i>iii</i>
• AGRADECIMIENTOS	<i>iv</i>
• GLOSARIO	<i>viü</i>
• LISTA DE ESQUEMAS	<i>ix</i>
• LISTA DE ESPECTROS	<i>x</i>
• LISTA DE TABLAS	<i>xí</i>
• LISTA DE GRÁFICOS	<i>xii</i>
• ANTECEDENTES	<b>1</b>
• Quimiotaxonomía del género <i>Vernonieae</i>	<b>2</b>
• Biogénesis	<b>6</b>
• Reacciones de delación en medio ácido	<b>15</b>
• HIPÓTESIS	<b>24</b>
• OBJETIVOS	
• General	<b>24</b>
• Particulares	<b>25</b>
• DISCUSIÓN DE RESULTADOS	<b>26</b>
• Elucidación estructural de los compuestos obtenidos	<b>29</b>
• Determinación estereoquímica del compuesto 56	<b>41</b>
• Mecanismo propuesto para generar el compuesto 56	<b>43</b>
• Elucidación estructural de los compuestos obtenidos a partir de la glaucólida D	<b>49</b>
• Elucidación estructural de los compuestos	

---

obtenidos a partir de la glaucólida E	51
• Elucidación estructural de los compuestos 62 y 63	52
• Evaluación de la actividad antiinflamatoria	54
• Inflamación	58
• Datos de la DE <sub>50</sub> de los compuestos evaluados	61
• Valores en porcentaje de inhibición de los compuestos evaluados	62
• Gráficos de la actividad antiinflamatoria a diferentes dosis	62
• Datos de RMN <sup>1</sup> H de los compuestos obtenidos	65
• Datos de RMN <sup>13</sup> C de los compuestos obtenidos	67
• CONCLUSIONES	68
• REFERENCIAS	69
• METODOLOGÍA	74
• Aislamiento de las glaucólidas D y E	76
• Reacción de la glaucólida D con BF <sub>3</sub> .Et <sub>2</sub> O	76
• Reacción de la glaucólida D con Tonsil Actisil FF	77
• Reacción de la glaucólida E con BF <sub>3</sub> .Et <sub>2</sub> O	78
• Reacción de la glaucólida E con Tonsil Actisil FF	79
• Reacción de hidrogenación de la glaucólida E	80
• Reacción de la glaucólida D con NaBH <sub>4</sub>	80
• Evaluación de la actividad antiinflamatoria	81
• APÉNDICE	83
• ESPECTROS DE RMN <sup>1</sup> H, <sup>13</sup> C Y MASAS DE LOS COMPUESTOS OBTENIDOS	

## • GLOSARIO

AcOEt	acetato de etilo
ccf	cromatografía en capa fina
cm <sup>-1</sup>	número de onda
COSY	correlación espectroscópica homonuclear ( <sup>1</sup> H- <sup>1</sup> H)
s	señal simple
d	señal doble
sa	señal ancha
dd	señal doble de doble
m	señal múltiple
í	señal triple
δ	desplazamiento químico
eV	electrón volts
AcOH	ácido acético
HETCOR	correlación espectroscópica heteronuclear ( <sup>13</sup> C- <sup>1</sup> H)
Hz	hertz
IR	infrarrojo
J	constante de acoplamiento
λ <sub>max</sub>	longitud de onda máxima
m/z	relación masa carga
MeOH	metanol
MHz	megahertz
nm	nanómetro
OH	grupo hidroxilo
OMe	grupo metoxilo
Pf	punto de fusión
PPm	partes por millón
RMN <sup>13</sup> C	resonancia magnética nuclear de carbono 13
RMN <sup>1</sup> H	resonancia magnética nuclear de hidrógeno
TPA	13-acetato de 12-O-tetradecanoilforbol
UV	ultravioleta
GD	glaucólida D
GE	glaucólida E
DE <sub>50</sub>	dosis efectiva 50
NOESY	espectroscopia de efecto nuclear Overhause
TAFF	Tonsil Actisil FF
Et <sub>2</sub> O	eterdietílico
ν <sub>max</sub>	frecuencia máxima
M	ion molecular

---

## • LISTA DE ESQUEMAS

- Esquema 1- Transformaciones químicas de la glaucólida A para generar cadinanólidas e hirsutinólidas.
- Esquema 2- Ruta biogenética del pirofosfato de farnesíio (PPF).
- Esquema 3.- Reacciones de ciclación del pirofosfato de farnesilo para generar inunólida y costunólida.
- Esquema 4- Esqueletos de germacranos.
- Esquema 5.- Relación biogenética entre las estructuras de las germacranólidas y otros sesquiterpenos.
- Esquema 6.- Ruta biogenética propuesta para la formación de sistemas de guayano y eudesmano a partir de un germacrano.
- Esquema 7- Reacción de la lanuginólida (20) con  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ , o  $\text{HCl}_{(g)}$ .
- Esquema 8.- Reacción de la partenólida (22) con  $\text{HCl}_{(g)}$ .
- Esquema 9.- Reacción de la 11,13-dihidropartenólida (24) con  $\text{HCl}_{(g)}$ .
- Esquema 10.- Reacción de la 11,13-dihidropartenólida (24) con  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ .
- Esquema 11.- Reacción de ciclación de la 4a,5p-epoxicostunólida (30) con TAFF.
- Esquema 12.- Mecanismo de reacción sugerido para la formación de una guayanólida a partir de una germacranólida.
- Esquema 13.- Reacción de la lipiferóíida (34) con  $\text{HCl}_{(g)}$ .
- Esquema 14.- Reacción de la lipiferóíida (34) con  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ .
- Esquema 15.- Reacción de la lipiferóíida (34) con  $\text{SOCl}_2$ .
- Esquema 16.- Algunas correlaciones observadas mediante un experimento COSY de 56.
- Esquema 17.- Principales correlaciones determinadas mediante experimentos NOESY de 56.
- Esquema 18.- Mecanismo de reacción propuesto para generar la molécula 56 a partir de la glaucóíida D.
- Esquema 19.- Principales interacciones de la glaucólida D (54) observadas mediante un experimento NOESY.

---

Esquema 20.- Estereoestructura de energía mínima de la glaucólida D determinada por MINDO 3.

Esquema 21.- Estereoestructura de la glaucólida D determinada por difracción de rayos X,

Esquema 22.- Productos obtenidos a partir de la glaucólida D y  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ .

## • LISTA DE ESPECTROS

Espectro 1.- Resonancia magnética nuclear  $^1\text{H}$  de 54.

Espectro 2.- Resonancia magnética nuclear  $^1\text{H}$  de 56.

Espectro 3.- Experimento COSY de 56.

Espectro 4.- Experimento HETCOR de 56.

Espectro 5.- Espectrometría de masas por IE de 56.

Espectro 6.- Experimento NOESY de 56.

Espectro 7.- Resonancia magnética nuclear de  $^{13}\text{C}$  de 56.

Espectro 8.- Resonancia magnética nuclear de  $^1\text{H}$  de 55.

Espectro 9.- Resonancia magnética nuclear de  $^1\text{H}$  de 57.

Espectro 10.- Resonancia magnética nuclear de  $^{13}\text{C}$  de 57.

Espectro 11.- Espectrometría de masas por IE de 57.

Espectro 12.- Resonancia magnética nuclear de  $^1\text{H}$  de 58.

Espectro 13.- Resonancia magnética nuclear de  $^{13}\text{C}$  de 58.

Espectro 14.- Espectrometría de masas por IE de 58.

Espectro 15.- Resonancia magnética nuclear de  $^1\text{H}$  de 59.

Espectro 16.- Resonancia magnética nuclear de  $^{13}\text{C}$  de 59.

Espectro 17.- Espectrometría de masas por IE de 59.

Espectro 18.- Resonancia magnética nuclear de  $^1\text{H}$  de 60.

Espectro 19.- Resonancia magnética nuclear de  $^{13}\text{C}$  de 60.

Espectro 20.- Espectrometría de masas por IE de 60.

Espectro 21.- Experimento COSY de 60.

- 
- Espectro 22.- Experimento HETCOR de 60.
- Espectro 23.- Experimento NOESY de 60.
- Espectro 24.- Resonancia magnética nuclear de  $^1\text{H}$  de 61.
- Espectro 25.- Resonancia magnética nuclear de  $^{13}\text{C}$  de 61.
- Espectro 26.- Espectrometría de masas por IE de 61.
- Espectro 27.- Resonancia magnética nuclear de  $^1\text{H}$  de 62.
- Espectro 28.- Resonancia magnética nuclear de  $^{13}\text{C}$  de 62.
- Espectro 29.- Espectrometría de masas por IE de 62.
- Espectro 30.- Resonancia magnética nuclear de  $^1\text{H}$  de 63.
- Espectro 31.- Resonancia magnética nuclear de  $^{13}\text{C}$  de 63.
- Espectro 32.- Espectrometría de masas por IE de 63.

## • LISTA DE TABLAS

- Tabla 1.- Clasificación de los terpenoides de acuerdo al número de unidades de isopreno.
- Tabla 2.- Productos obtenidos de las reacciones de ciclación.
- Tabla 3.- Datos de RMN  $^1\text{H}$  de 56.
- Tabla 4.- Datos de correlación H-C de la molécula 56.
- Tabla 5.- Datos de distancia y densidad electrónica de lactonas sesquiterpénicas obtenidos mediante MINDO 3.
- Tabla 6.- Datos de densidad electrónica de la lipiferólida obtenidos mediante MINDO 3.
- Tabla 7.- Valores de  $\text{DE}_{50}$  de 54, 55, 56, 62 y 63.
- Tabla 8.- Valores de porcentaje de inhibición del edema de los compuestos **54, 55, 56, 62 y 63**
- Tabla 9.- Datos de RMN  $^1\text{H}$  de 56, 57, 58, 59, 60, 61.
- Tabla 10.- Datos de RMN  $^{13}\text{C}$  de 56, 57, 58, 59, 60, 61.

---

## • LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1- Relación lineal dosis-efecto de los compuestos 54, 55, 56, 62 y 63

Gráfico 2- Efecto antiinflamatorio de los compuestos 54, 55, 56, 62 y 63  
a la dosis de 0.25 mg/oreja.

Gráfico 3.- Efecto antiinflamatorio de los compuestos 54, 55, 56, 62 y 63  
a la dosis de 0.5 mg/oreja.

Gráfico 4.- Efecto antiinflamatorio de los compuestos 54, 55, 56, 62 y 63  
a la dosis de 0.75 mg/oreja.

Gráfico 5.- Efecto antiinflamatorio de los compuestos 54, 55, 56, 62 y 63  
a la dosis de 1.0 mg/oreja.

Gráfico 6.- Dosis efectiva 50 de los compuestos 54, 55, 56, 62 y 63

---

- RESUMEN

En este trabajo se presenta la obtención de lactonas con esqueleto biciclo[6.2.0]decano a partir del tratamiento ácido de las glaucólidas D y E. Estas modificaciones se explican mediante un ataque nucleofílico del doble enlace en C1-C10 dirigido a la posición C4 base de un átomo de oxígeno. Esta propuesta mecanística fue apoyada por estudios teóricos de los factores estereoelectrónicos y de reactividad de las glaucólidas D y E. Así mismo se presentan los resultados de la evaluación antiinflamatoria de las glaucólidas D y E y de algunos de sus derivados.

---

## JURADO ASIGNADO

PRESIDENTE:	Dr. Armando Cabrera Ortíz.
VOCAL:	Dr. Roberto Martínez.
SECRETARIO:	Dr. Rene Miranda Ruvalcaba.
PRIMER SUPLENTE:	Dr. Raymundo Cruz Almanza.
SEGUNDO SUPLENTE:	Dr. Guillermo Penieres Carrillo.

El presente trabajo se realizó en el laboratorio 1-4 del Instituto de Química de la Universidad Nacional Autónoma de México, bajo la dirección del Dr. Mariano Martínez Vázquez, con el apoyo económico del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, proyecto 25494-N, y de la Dirección General de Asuntos del Personal Académico PAPPIT IN-203198.

---

## AGRADECIMIENTOS

- Gracias a mis padres Manuel y Guadalupe, a mis hermanas Luz María , Erika y Sara por creer y confiar en mí siempre.
- Quiero agradecer de una manera muy especial al Dr. Mariano Martínez Vázquez por transmitirme parte de sus conocimientos de manera desinteresada y por darme la oportunidad de crecer académicamente.
- Asimismo, al Dr. Rene Miranda Ruvalcaba por sus atinados consejos y comentarios para este trabajo de Tesis.
- A la Maestra en Ciencias Teresa Ramírez-Apan por su colaboración en las pruebas de evaluación farmacológica. (Laboratorio de Pruebas Biológicas del Instituto de Química de la UNAM).
- Al personal de la Biblioteca del Instituto de Química de la UNAM.
- Al personal del área de cómputo del Instituto de Química de la UNAM y muy particularmente a José David Vázquez Cuevas y a José Trinidad Vivas Cortés por su apoyo.

- 
- A mis compañeros del Laboratorio 1-4 de Productos Naturales, Anita, Ricardo, Florencia, Aída, Mina, Ivette, Rosa.
  - A mis compañeros de maestría: Judith, Lourdes, Eva, Roberto, Bernardo.
  - Muy especialmente agradezco a mis amigos Leonardo, Lolita y Ernestina, Adolfo por su apoyo y paciencia.
  - A mis amigos y compañeros de la sección de Química Orgánica de la FES-Cuautitlán, por su amistad.
  - Al H. Jurado por sus comentarios durante la revisión del presente trabajo y por el tiempo dedicado al mismo Gracias.
  - \*> A la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán-UNAM por brindarme la oportunidad de crecer académicamente y como ser humano.

# *ANTECEDENTES*

- QUIMIOTAXONOMÍA DEL GÉNERO *Vernonieae*.

La tribu *Vernonieae*, fue reconocida por Cassini y delimitada por Leissing [1]. Ésta tiene 1450 especies y alrededor de 70 géneros, siendo 37 monotípicos.

Dentro de ellos el género *Vernonia*, es muy abundante ya que tiene alrededor de 900 a 1000 especies, predominantemente tropicales.

De 400 a 500 especies de *Vernonia* son nativas del Nuevo Mundo, un número similar se encuentra distribuido en África y el sudeste de Asia.

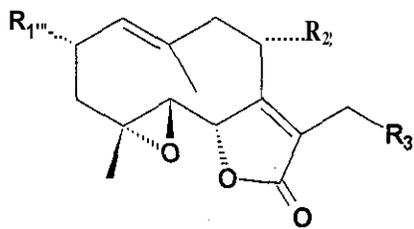
El género *Vernonia* presenta una variedad morfológica impresionante de hojas y tallos, lo que demuestra la gran diversificación que desarrolló este género durante su evolución. Muchas especies son anuales y otras son perennes. Algunos autores han mencionado que para una mejor caracterización del género *Vernonia*, es importante considerar el tipo de inflorescencia, la morfología del polen, el número de cromosomas, así como sus metabolitos secundarios [2-5].

Con base en estas consideraciones, el género *Vernonia* se dividió en dos subgéneros; uno de ellos, el *Orbivestus* comprende a las especies del Viejo Mundo y las del Nuevo mundo quedan incluidas en el subgénero *Vernonia* [6,7].

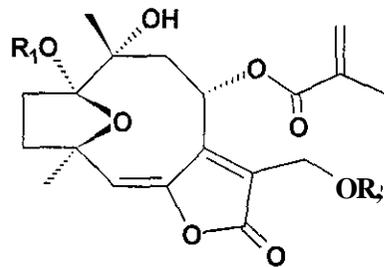
Esta clasificación se confirmó por la morfología del polen, y por estudios quimiosistemáticos y citotaxonómicos. Las *Vernonias* del Nuevo Mundo tienen siete cromosomas, mientras que las del Viejo Mundo nueve y diez.

Mabry [8] propuso que las lactonas sesquiterpénicas tienen un valor taxonómico especial dentro del género *Vernonia*. Tomando en cuenta esta consideración, Robinson delimitó la subtribu *Vernonie* por la distribución de

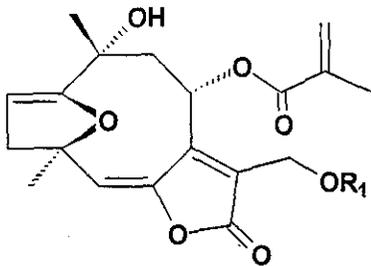
lactonas sesquiterpénicas. Posteriores estudios fitoquímicos de especies de este género, permitieron postular que tanto las glaucólidas (1) como las hirsutinólidas (2, 3 y 4) eran los quimiomarcadores por excelencia para este tipo de especímenes. Por otro lado, se propuso que las glaucólidas son biosintetizadas preferentemente por especies del Nuevo Mundo, aunque en los últimos años ha habido informes del aislamiento de glaucólidas de especies del Viejo Mundo.



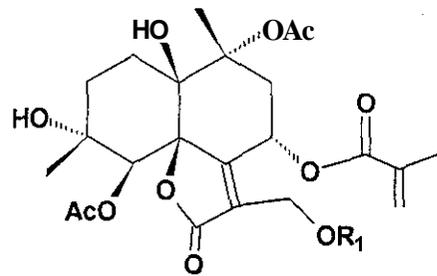
**1**  
**R<sub>1</sub>=Ac**  
**R<sub>2</sub>=Ang, Tig, Sen Epoximet,**  
**R<sub>3</sub>=Ac**



**2 R<sub>1</sub>=R<sub>2</sub>=Et**  
**3 R<sub>1</sub>=H, R<sub>2</sub>=Et**



**4**  
**R<sub>1</sub>=Et**

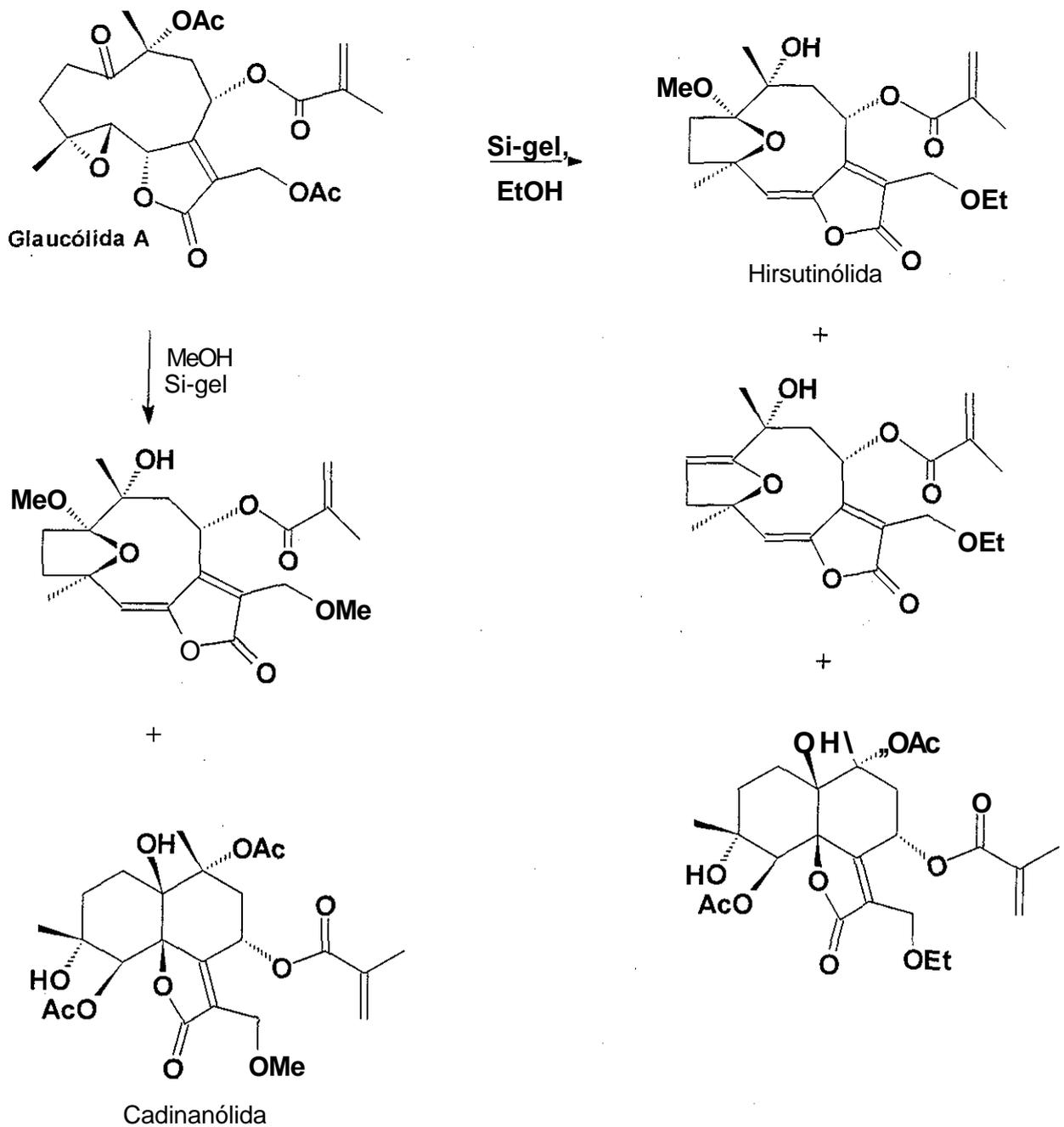


**5**  
**R<sub>1</sub>=Et**

Estudios recientes revelaron que las hirsutinólidas y las cadinanólidas(5) son artefactos producidos durante el proceso experimental de aislamiento de metabolitos secundarios, a partir del espécimen vegetal y no estructuras producidas por la planta.

Algunos autores [9,10] han informado que la glaucólida A produce hirsutinólidas y cadinanólidas en presencia de gel de sílice. Estas transformaciones se realizan bajo condiciones del procedimiento normal de aislamiento de metabolitos secundarios (Esquema 1).

En consecuencia, el empleo de cadinanólidas e hirsutinólidas como marcadores taxonómicos para esta especie no es correcta. De aquí que la determinación de una especie vegetal como perteneciente o no al género *Vernonia*, basada en la presencia de hirsutinólidas, es inadecuada.

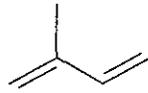


Esquema 1.- Transformaciones químicas de la glaucólida A para generar cadinanólidas e hirsutinólidas.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

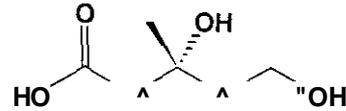
- BIOGÉNESIS

Los terpenoides son una clase de compuestos químicos que teóricamente están constituidos por unidades de isopreno (6). La unidad biogénica equivalente al isopreno es el ácido mevalónico (AMV) (7) [11].



Isopreno

6



Ácido. 3R-Mevalónico

7

La biogénesis del ácido mevalónico inicia al condensarse dos moléculas de acetil coenzima A (Acetil CoA), en la que se involucra la enzima acetil CoA tiasa, generando una estructura con 4 átomos de carbono; posteriormente, esta estructura reacciona con una molécula más de Acetil Co A interviniendo la enzima 3-hidroxi-3-metil-glutaril-CoA (HMG-CoA) sintetasa, produciendo una molécula con 6 átomos de carbono. Esta molécula, posteriormente es reducida vía un tioacetil, produciendo una molécula de ácido mevalónico (AMV). Cabe mencionar que solamente el estereoisómero R del AMV se ve implicado en la biosíntesis de los terpenos.

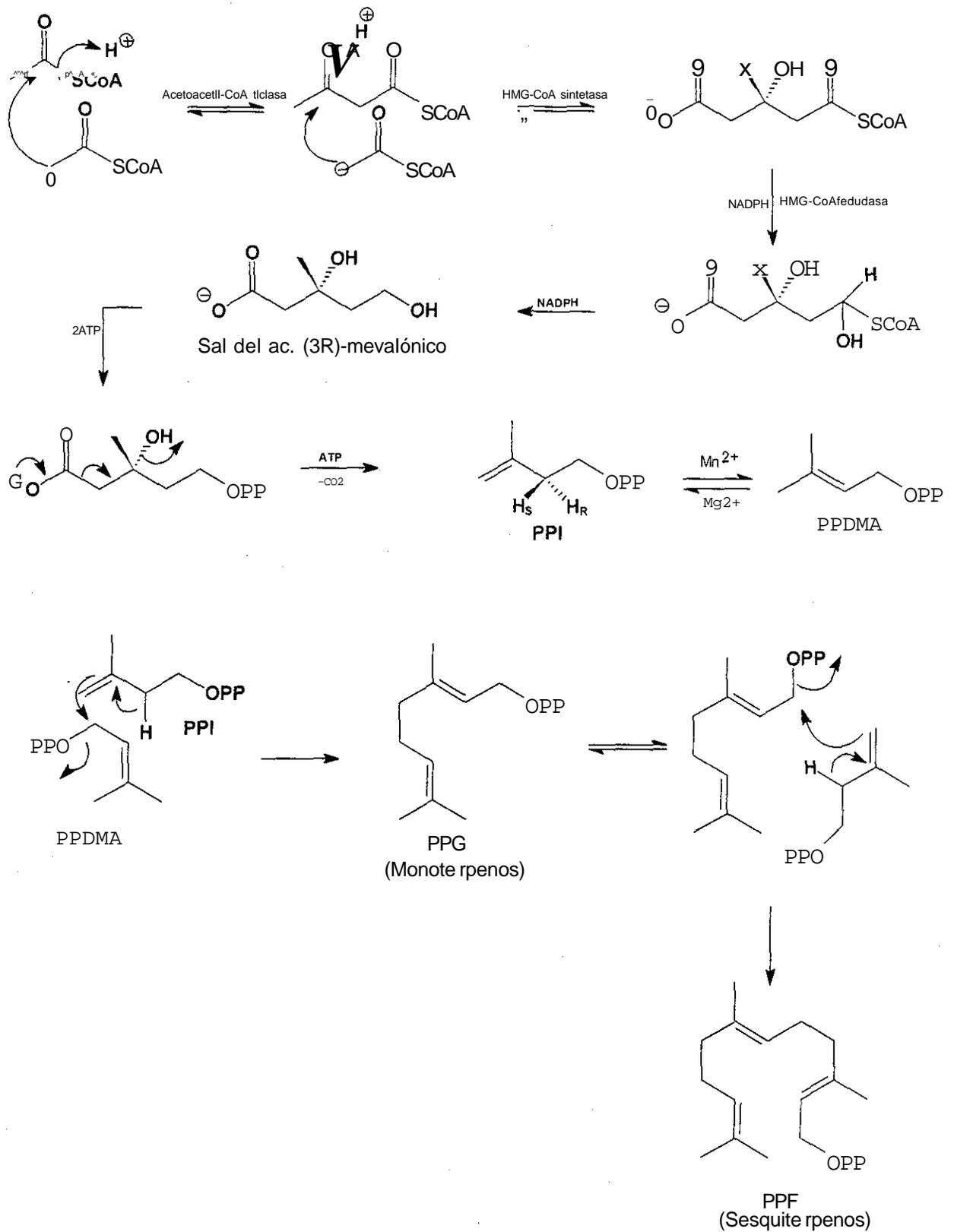
El 3R-AMV es fosforilado, descarboxilado y deshidratado para generar el pirofosfato de isopentenilo (PPI), el cual se isomeriza por medio de la adición y eliminación de un protón del medio para generar el pirofosfato de dimetilalilo (PPDMA). Ambas moléculas están en equilibrio en una relación 7:93 respectivamente, las cuales son conocidas como isopreno activo [12].

Finalmente, el PPI y el PPDMA reaccionan entre sí, generando el pirofosfato de geranilo (PPG), el cual es considerado como el precursor biogénico de los monoterpenos. Por otro lado, la unión de una molécula de PPI a una de PPG da como resultado la formación de una nueva estructura conformada por 15 átomos de carbono, conocida como pirofosfato de farnesilo (PPF), la cual se ha propuesto como el precursor biogénico de los sesquiterpenos (Esquema 2).

La adición de una molécula de PPDMA al pirofosfato de farnesilo (PPF) genera una estructura de 20 carbonos conocida como pirofosfato de geranilgeranilo, considerado precursor de los diterpenos. Por otro lado, la biogénesis de los triterpenos (30 carbonos) contempla la dimerización de PPF de manera cola-cola, produciendo el escualeno, precursor de los triterpenos.

Los terpenos que cuentan con una estructura básica hidrocarbonada de 40 carbonos se denominan tetraterpenos. Se ha propuesto que estas estructuras son biosintetizadas por medio de la condensación de dos unidades del pirofosfato de geranilgeranilo (PPGG).

Considerando que los terpenoídes están formados por la unión química de estructuras de isopreno, se ha establecido una clasificación basada en el número de éstas presentes en su estructura (Tabla 1) [13].



Esquema 2.- Ruta biogénica del pirofosfato de farnesilo (PPF).

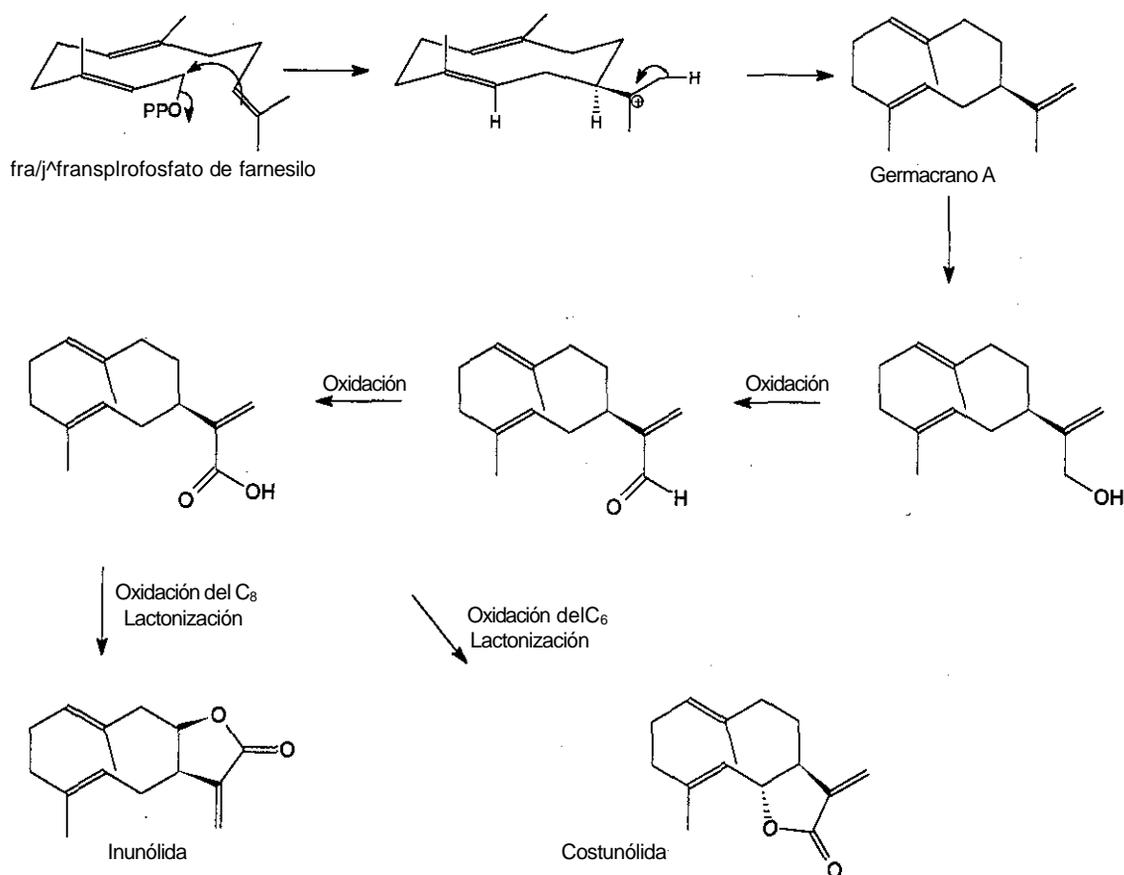
TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

Tabla 1.- Clasificación de los terpenoides de acuerdo al número de unidades de isopreno.

Número de unidades de isopreno.	Número de carbonos.	Nombre o Clase.	Ejemplos
1	5	Hemiterpenos	Ácido angélico, Ácido glicólico.
2	10	Monoterpenos	Mentol, Citral, Carbomentol, Afcanfor.
3	15	Sesquiterpenos	Tropolonas, Germacranólidas, Glucólidas, Lipeferólida, Ácido Abscísico.
4	20	Diterpenos	Giberelinas, Ácido Resínico, Vitamina A, Horminona.
5	25	Sesterterpenos	Ácido Gascárdico, Ofiobolina G, Cerorubenol.
6	30	Triterpenos	Argentatinas, Lanosterol.
8	40	Tetraterpenos	Carotenoides (vg. p-carotenos).
n	n	Políisopreno	Hule natural.

Como se mencionó con anterioridad, el Pirofosfato de farnesilo es el precursor sugerido de los sesquiterpenos; las reacciones de delación que se llevan a cabo en particular sobre la molécula del frans-frans-pirofosfato de farnesilo, conducen a la generación de un número importante de estructuras sesquiterpénicas. Hasta el momento, se han identificado más de 80 estructuras

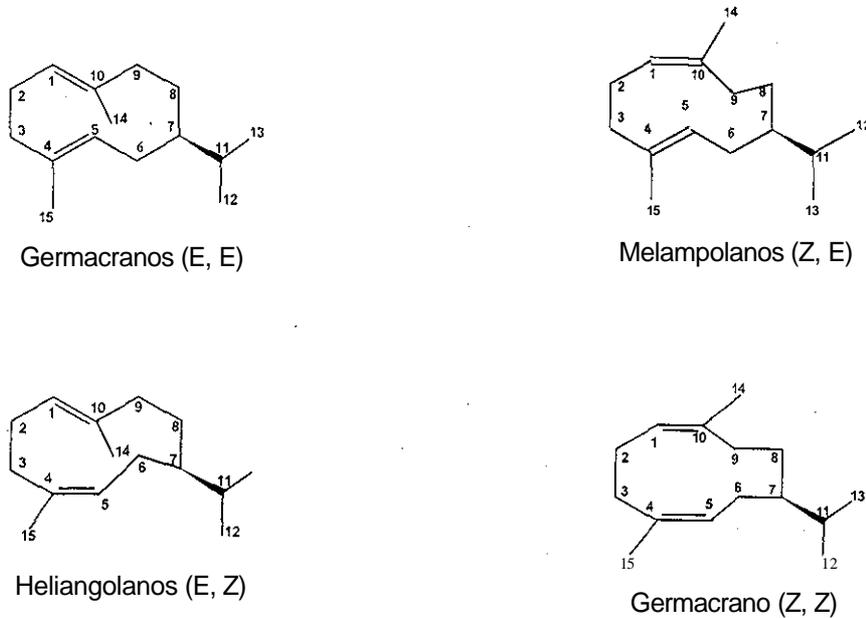
hidrocarbonadas básicas de sesquiterpenos. Una de las reacciones de ciclización importante realizada en la estructura del *trans-trans*-pirofosfato de farnesilo, es aquella que produce los germacranos [14]. En el Esquema 3, se ilustra las reacciones de delación del pirofosfato de farnesilo para generar las germacranólidas inunólida y costunólida.



Esquema 3.- Reacciones de delación del pirofosfato de farnesilo para generar inunólida y costunólida.

La estructura básica de ciclodeca-1,5-dieno que poseen las germacranólidas, condujo a una nueva clasificación, tomando en cuenta la

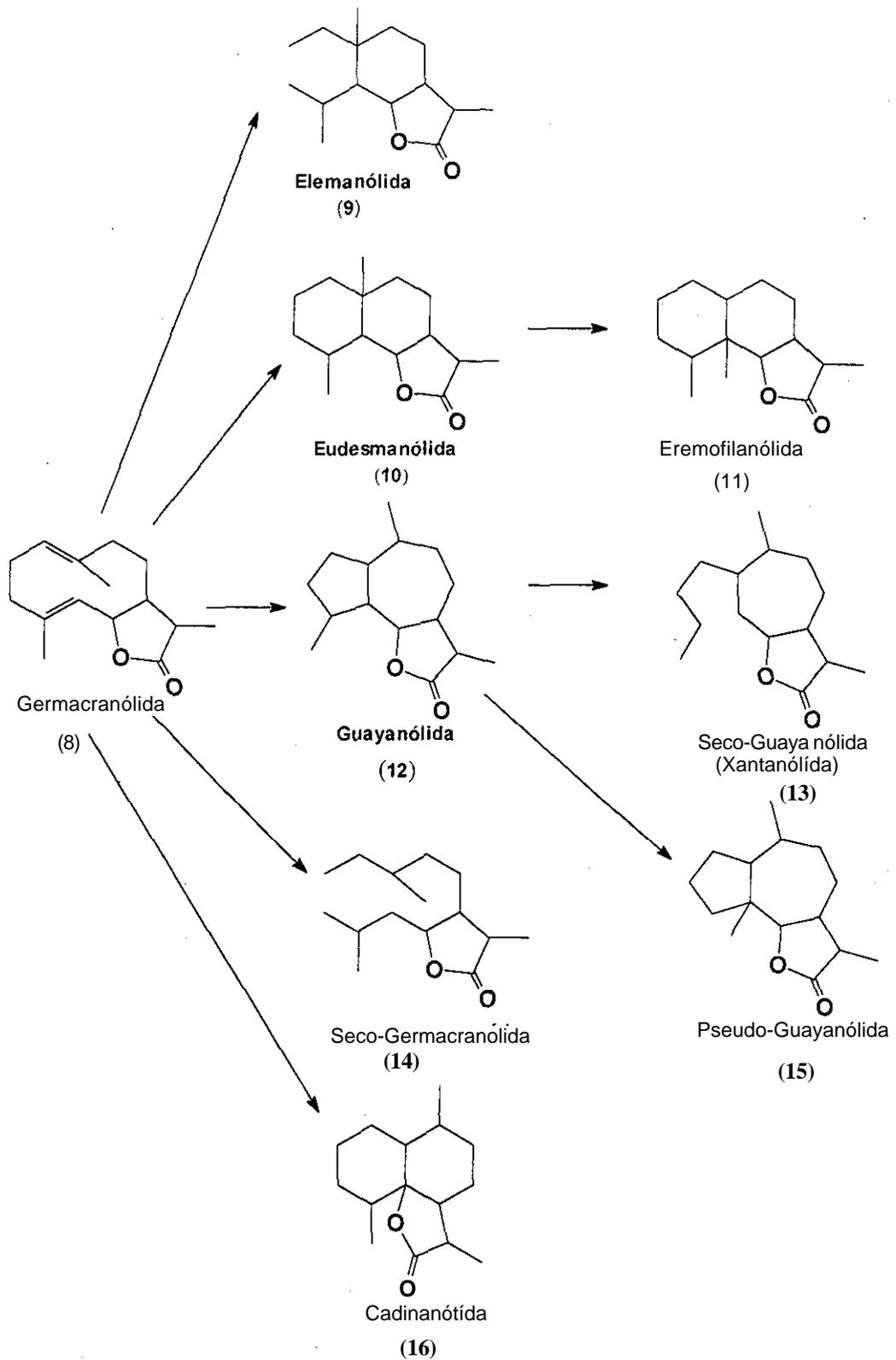
isomería de los dobles enlaces [75]. Así, se tienen los germacranos, los melampolanos, los heliangolanos y los *cis-cis* germacranos (Esquema 4).



Esquema 4.- Esqueletos de germacranos.

Se ha propuesto que los germacranos son los precursores biogénicos de una gran variedad de compuestos como: elemanos, eudesmanos, guáyanos, seco-germacranos, cadinanos, eremofilanos y xantanos, entre otros. A manera de ejemplo, en el Esquema 5 se presenta la estructura y el nombre de algunos compuestos, los cuales se ha propuesto que provienen de la ciclación de la germacranólida 8 [14].

TESIS CON  
 FALLA DE ORIGEN



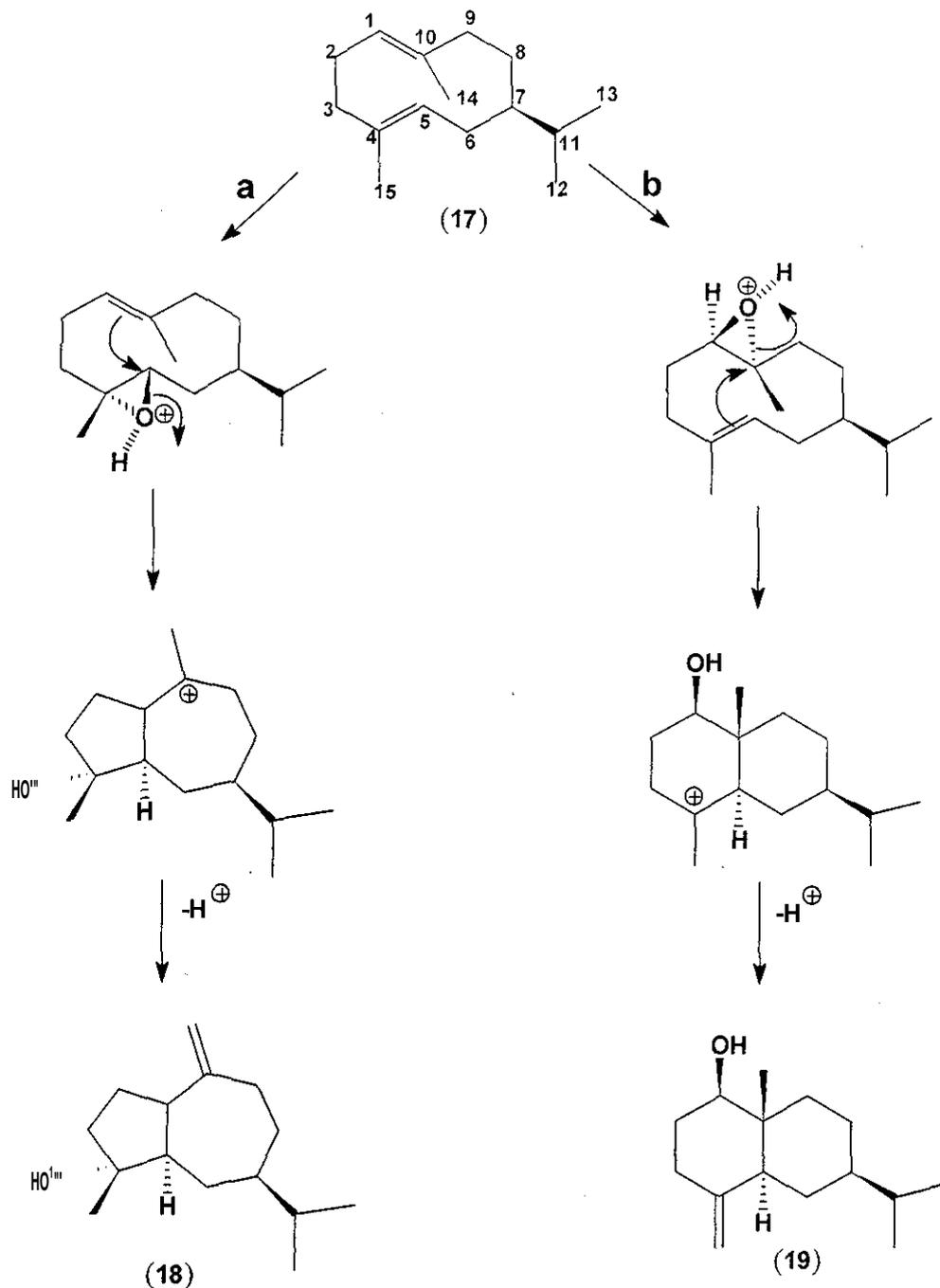
Esquema 5.- Relación biogenética entre la estructura de las germacranólidas y otros sesquiterpenos.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

En el Esquema 6 se presentan, de una manera detallada, las rutas mecanísticas propuestas, por las cuales se generan, a partir de la molécula 17, estructuras de guayano y eudesmano [14,16].

Como parte de estos mecanismos, se propone como primer paso, la epoxidación del doble enlace ubicado entre los átomos de carbono 4-5 de la estructura 17 (ruta a), generando dos átomos de carbono con deficiencia electrónica parcial, la cual incrementa la estereoespecificidad de las posteriores reacciones de ciclación. El ataque nucleofílico lo realiza el doble enlace de las posiciones 1-10 sobre el epóxido en 4-5. El producto de ciclación generado por esta ruta se conoce como guayano (18).

Por otro lado, la ruta b sugiere la epoxidación del doble enlace 1-10 de la estructura 17 para, posteriormente, llevar a cabo una reacción de ciclación intramolecular, dando lugar a una estructura conocida como eudesmano (19) (ciclación 10-5).

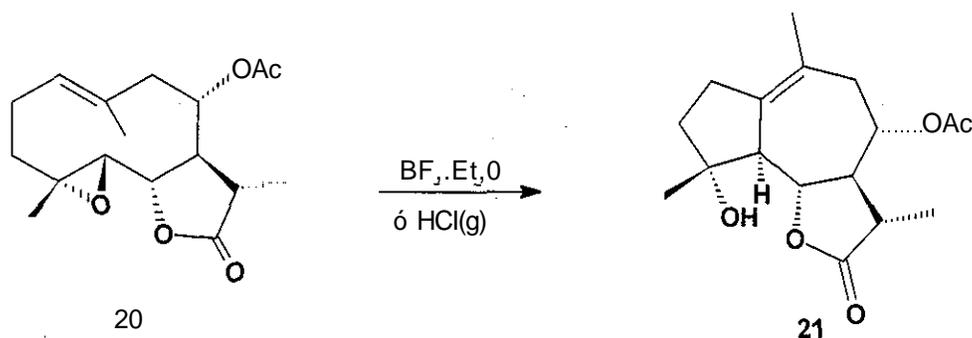


Esquema 6.- Ruta biogenética propuesta para la formación de sistemas de guayano y eudesmano a partir de un germacranolide.

- REACCIONES DE CICLACIÓN EN MEDIO ÁCIDO.

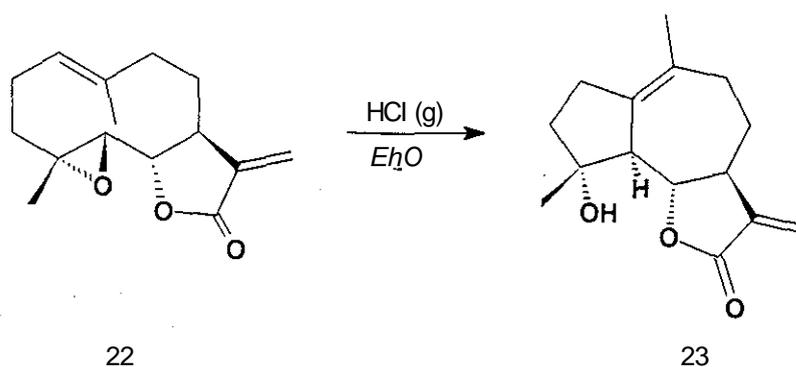
Algunas reacciones de ciclación en medio ácido de compuestos con estructura de epoxigermacranólida, han contribuido a sustentar la propuesta biogenética de la formación de guáyanos y eudesmanos, a partir de este tipo de compuestos. Se han informado la obtención de guayanólidas mediante reacciones de ciclación catalizadas en medio ácido, a partir de germacranólidas con un oxirano en posiciones 4-5 y un doble enlace entre los carbonos 1 y 10.

Por ejemplo, la lanuginólida 20 aislada de *Michelia lanuginosa*, que en presencia de  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$  ó  $\text{HCl}$ , produce la guayanólida 21 con un 40 % de rendimiento (Esquema 7) [17].



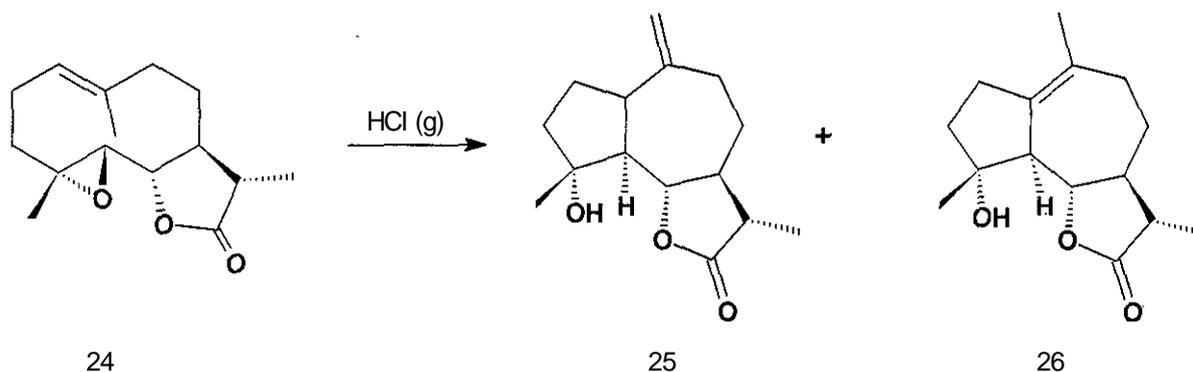
Esquema 7.-Reacción de la lanuginólida(20) con  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$  ó  $\text{HCl(g)}$ .

De manera similar, la partenólida (22) en presencia de  $\text{HCl(g)}$ , generó la guayanólida michelliólida (23) con un rendimiento del 22.6% (Esquema 8) [18,19].



Esquema 8.-Reacción de la partenólida(22) con HCl(g).

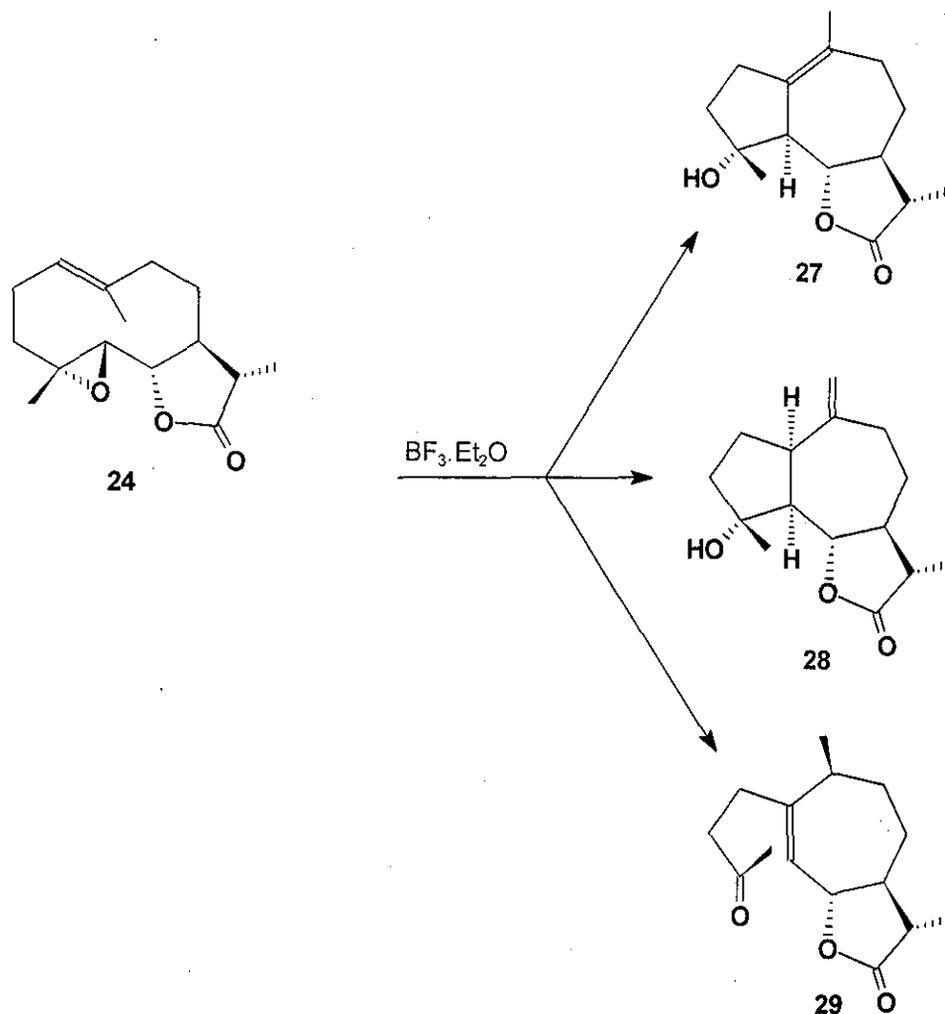
Igual comportamiento mostró la 11,13-dihidropartenólida(24), que al reaccionar con HCl(g) produjo las guayanólidas compresanólida (25) y dihidromicheliólida (26) (Esquema 9) [18].



Esquema 9 .-Reacción de la 11,13-dihidropartenólida(24) con HCl(g).

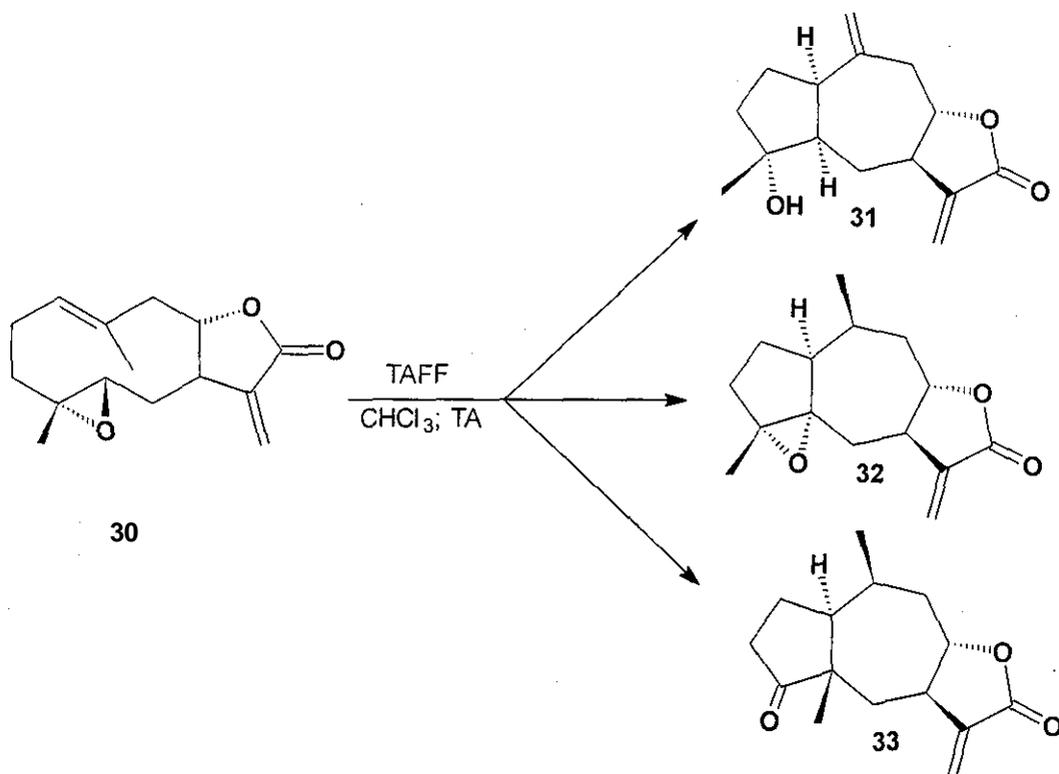
Dado que los productos obtenidos de estas reacciones consistentemente muestran una orientación a en su protón 5, se propone que éstos son generados por el mismo mecanismo, propuesta que se ve apoyada por las siguientes reacciones:

La 11,13-dihidropartenólida (24), al tratarse con  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ , produjo las guayanólidas 27(47%), 28 (3%) y la xantanólida 29 (2%) (Esquema 10). Como era de esperarse, las guayanólidas 27 y 28 muestran una orientación a en el  $\text{H}_5$ [20].



Esquema 10 .- Reacción de la 11,13-dihidropartenólida(24) con  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$

De manera similar, las guayanólidas 31, 32 y la pseudoguayanólida 33 se produjeron a partir de la 4a,5p-epoxiininólida(30), cuando se trató con TAFF (Esquema 11) [21-23].

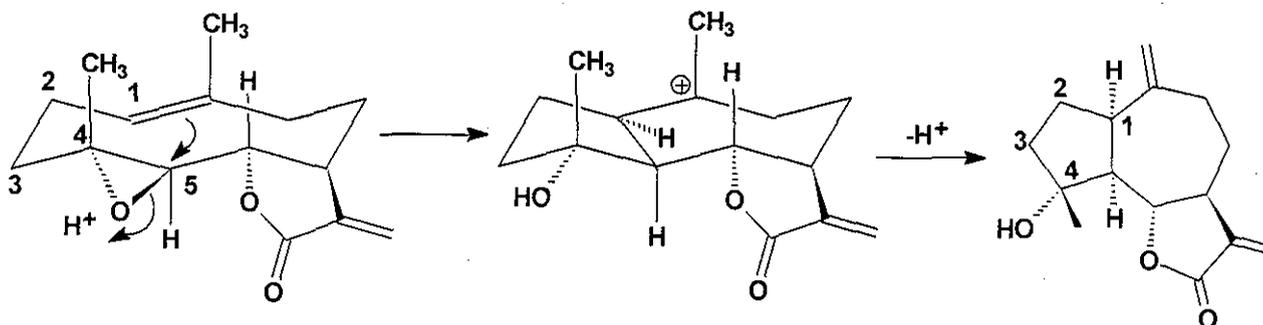


Esquema 11.- Reacción de ciclación de la 4a,5p-epoxiunólida(30) con TAFF.

Como se puede observar, en las reacciones antes descritas la estereoquímica de  $\text{H}_i$  y  $\text{H}_5$  tiene una orientación *a*, este hecho se explica tomando en consideración la estructura del conformero más estable que adopta la epoxigermacranólida que les da origen.

Por estudios criatlográficos, se ha propuesto que la conformación más estable de las epoxigermacranólidas es con los metilos 14 y 15 con orientación *p* casi axial y el doble enlace 1-10 con una orientación cruzada con el epóxido en C4-C5. El mecanismo propuesto para la transformación a guayanólida implica la apertura del epóxido y la migración electrónica del doble enlace C1-C10 a C5, [25-32]. Este mecanismo implica que el protón  $\text{H}_i$  y  $\text{H}_5$  presentan una orientación *a*, mientras

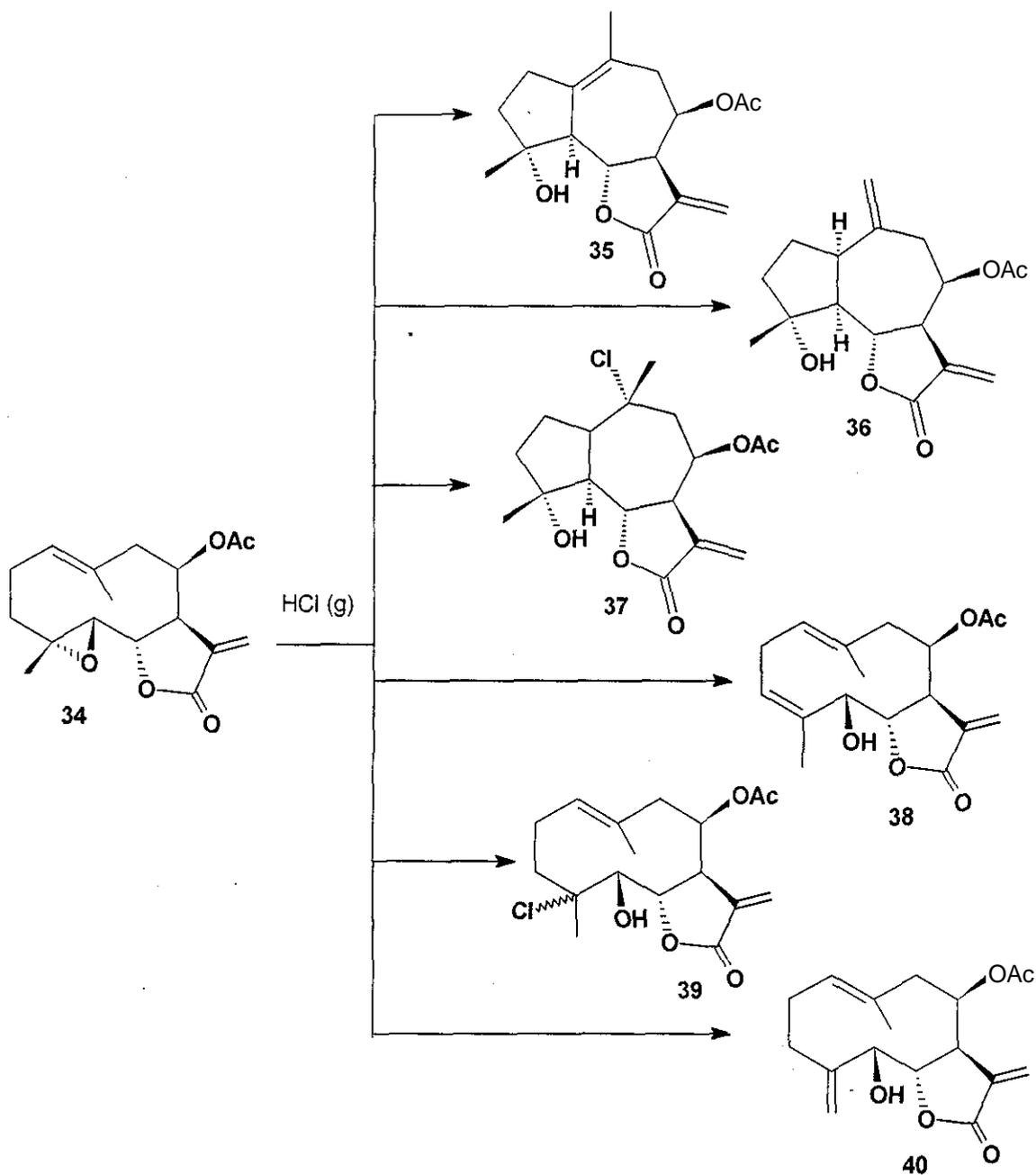
que el metilo 14 y el oxhidrilo en C<sub>4</sub> se encuentran p orientados.



Esquema 12.- Mecanismo de reacción sugerido para ía formación de una guayanólida a partir de una germacranólida.

La sensibilidad de la reacción de ciclación de las 4,5-epoxigermacranólidas a diferentes agentes ácidos se ve ilustrada por la lipiferólida (34), ía cuai produce diferentes productos dependiendo del reactivo ácido que se utilice.

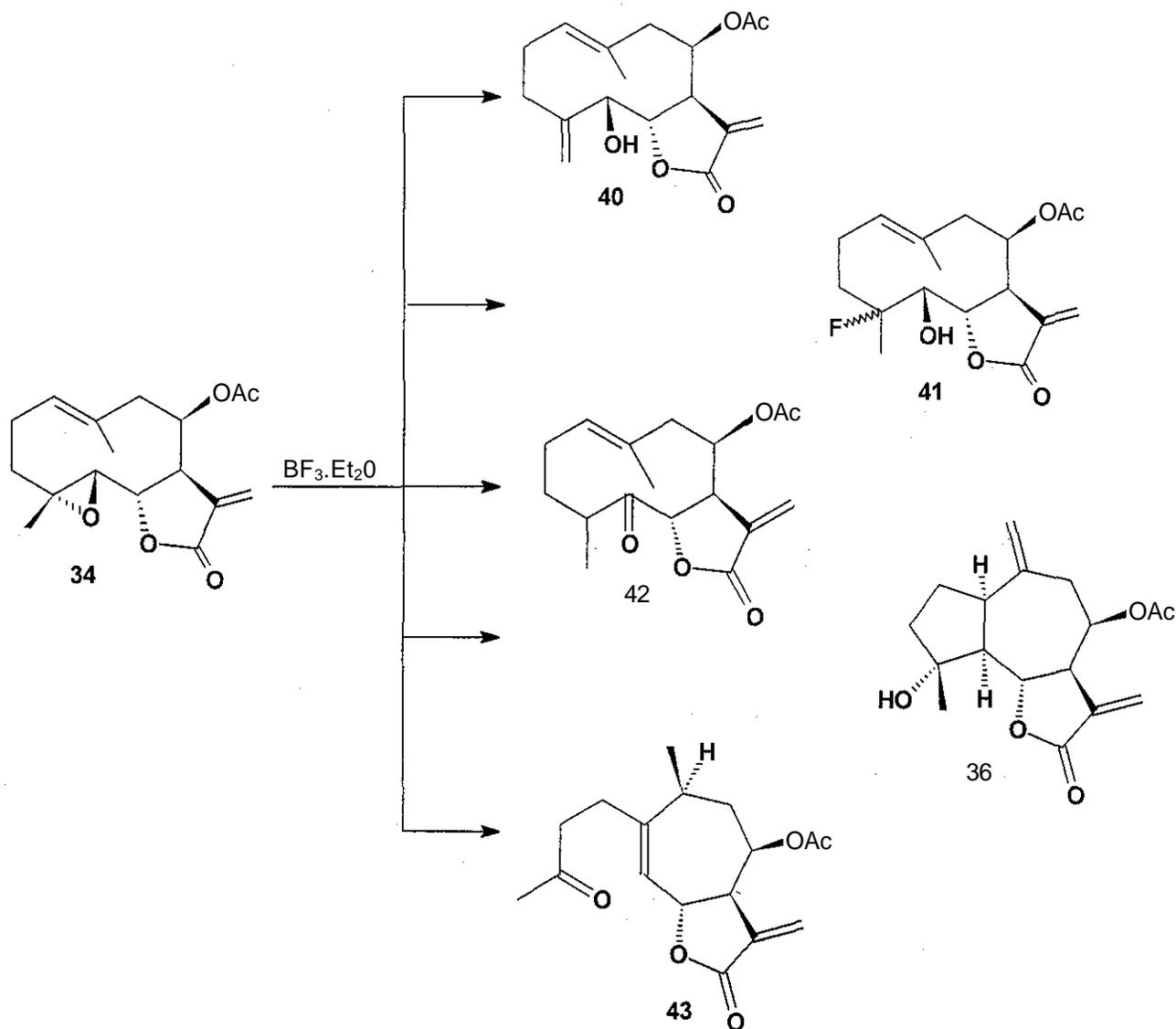
Así aí tratarse la lipiferólida 34 con HCl(g) se producen las esperadas guayanólidas 35, 36 y 37 con la orientación a para el protón 5, así como los productos 38, 39 y 40 generados por la apertura de oxirano en C<sub>4</sub>/C<sub>5</sub>. (Esquema 13) [24].



Esquema 13 .-Reacción de la lipiferólida(34) con HCl(g).

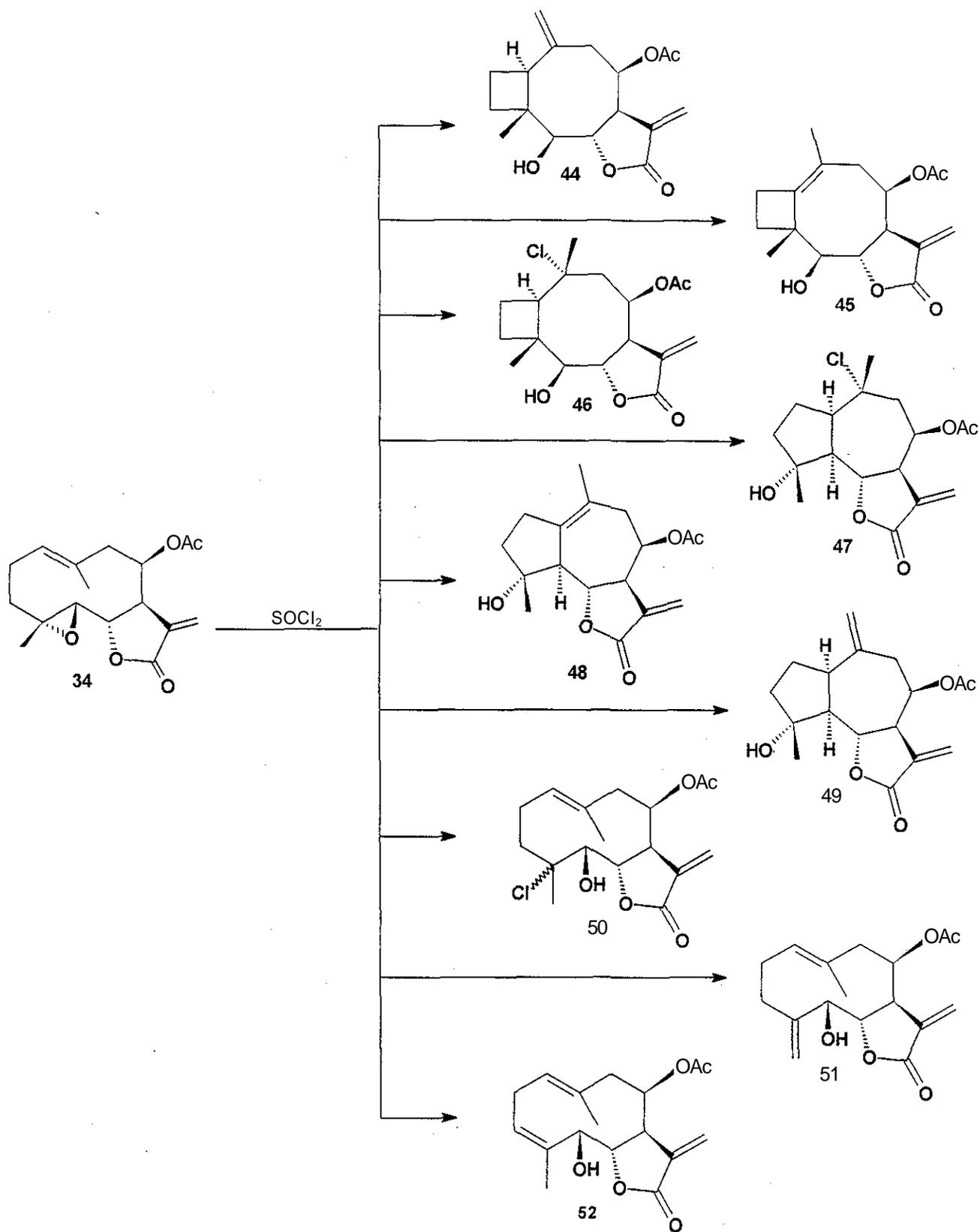
De manera semejante, al ser tratada la lipiferólida (34) con  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ , se aislaron 3 compuestos, los cuales fueron generados a partir de la apertura del epóxido (40,

0.9%; **41**, 69%; **42**, 1.7%), uno de delación intramolecular (**36**, 1.7%) y una xantanólida (**43**, 6.3%) (Esquema 14) [24].



Esquema 14.- Reacción de la tipiferólida(34) con  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ .

Por otro lado al tratarse la lipiferólida (34) con  $\text{SOCl}_2$  se obtienen las esperadas guayanólidas **47** (9%); **48** (68.9%); **49** (9.1%), además de los productos **50**, 8.6%; **51**, 9.8%; **52**, 4.5%; y, de manera novedosa, los compuestos **44** (5.1%); **45** (0.85%); **46** (10.8 %) (Esquema 15) [24].

Esquema 15 .-Reacción de la lipiferólida(34) con  $\text{SOCl}_2$ .

# ***HIPÓTESIS Y OBJETIVOS***

---

- **HIPÓTESIS:**

En la literatura fitoquímica se menciona que las germacranólidas generan, a través de reacciones de ciclación en medio ácido, guayanólidas y biciclo[6.2.0]decanólidas; por lo tanto, las gjaucólidas D y E, con estructura de germacranólida, podrán generar en medio ácido guayanólidas y biciclo[6.2.0]decanólidas.

- **OBJETIVO GENERAL:**

> Llevar a cabo reacciones de ciclación de las gjaucólidas D y E, usando diferentes reactivos con características de ácido de Lewis.

# ***HIPÓTESIS Y OBJETIVOS***

---

- **HIPÓTESIS:**

En la literatura fitoquímica se menciona que las germacranólidas generan, a través de reacciones de ciclación en medio ácido, guayanólidas y biciclo[6.2.0]decanólidas; por lo tanto, las gjaucólidas D y E, con estructura de germacranólida, podrán generar en medio ácido guayanólidas y biciclo[6.2.0]decanólidas.

- **OBJETIVO GENERAL:**

> Llevar a cabo reacciones de ciclación de las gjaucólidas D y E, usando diferentes reactivos con características de ácido de Lewis.

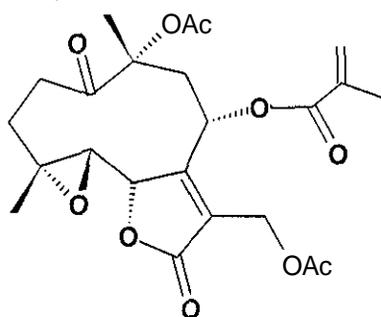
- OBJETIVOS PARTICULARES:

- > Llevar a cabo reacciones de delación de las glaucólidas E y D, usando  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$  y Tonsil Actisil FF, como catalizadores ácidos.
- > Realizar estudios teóricos de las glaucólidas D y E para determinar parámetros estereoeléctricos de las mismas.
- > Evaluar la actividad antiinflamatoria de las glaucólidas E y D, así como algunos derivados, para lo cual se usará el modelo de inflamación inducido por TPA en oreja de ratón.

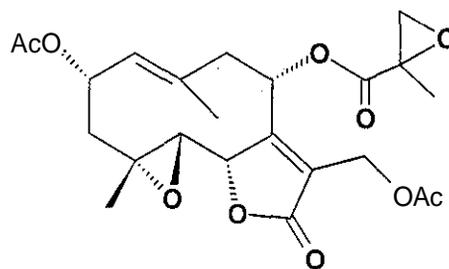
# ***DISCUSIÓN DE RESULTADOS***

---

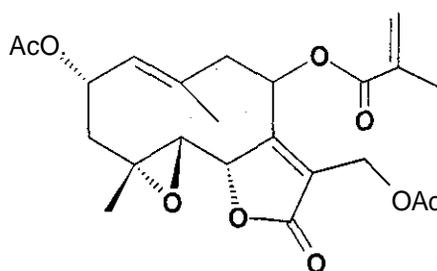
En este trabajo de tesis, se llevaron a cabo reacciones de delación de las glaucólidas D (54) y E (55) aisladas de *Vernonia salicifolia*. Para tal efecto, se usaron dos reactivos con características de acidez de Lewis ( $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$  y Tonsil Actisil FF (TAFF)). A continuación, y de manera resumida, se presentan las reacciones de ciclación efectuadas para cada glaucólida, así como el tipo de reactivo utilizado y el producto obtenido. Es importante señalar que de este espécimen vegetal también se aisló la glaucólida A(53), pero debido a la mínima cantidad aislada, no se llevaron a cabo reacciones con ella.



**53**



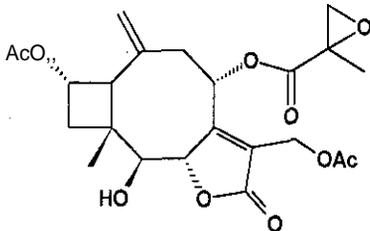
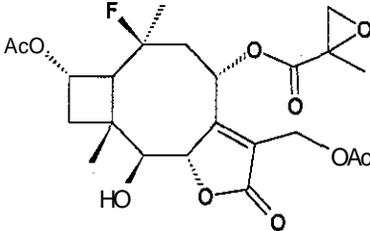
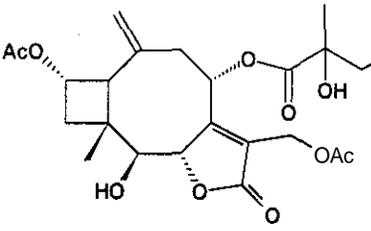
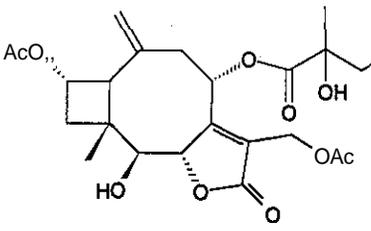
**54**



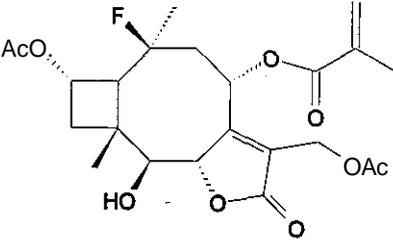
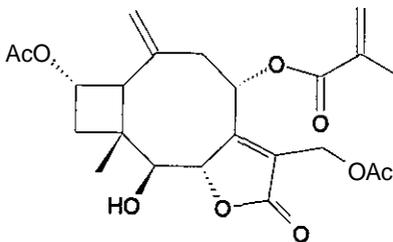
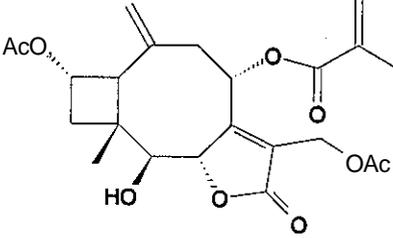
**55**

Los productos obtenidos de las reacciones de delación de las glaucólidas D y E, fueron estructuralmente muy semejantes, todos ellos presentan ía estructura general de un biciclo[6.2.0]decano, la cual se elucidó mediante los datos espectrales de RMN<sup>1</sup>H y RMN<sup>13</sup>C. En la Tabla 2 se muestran las estructuras de los compuestos obtenidos, así como también su peso molecular y el rendimiento de reacción. Cabe señalar que los productos obtenidos fueron los mayoritarios en cada una de las reacciones. El sustrato se recuperó en un 25 a 30 %.

Tabla 2- Productos obtenidos de las reacciones deciclación.

Germacranólida	Reactivo	Compuesto obtenido		
Glaucólida D (54)	BF <sub>3</sub> · Et <sub>2</sub> O	 <p><b>56</b> P.M. 464 8.8 %</p>	 <p><b>57</b> P.M. 484 7.9 %</p>	
		 <p><b>53</b> P.M. 482 8.1 %</p>	 <p><b>59</b> P.M. 524 6.8 %</p>	
	TAFF			

Continuación Tabla 2

Glaucólida E (55)	BF <sub>3</sub> · Et <sub>2</sub> O	 <p>60 P.M. 468 11.6%</p>	 <p>61 P.M. 448 9.3%</p>
	TAFF	 <p>61 P.M. 448 8,7%</p>	

### Elucidación Estructural

La reacción de la glaucólida D con BF<sub>3</sub> · Et<sub>2</sub>O produjo el compuesto 56. La comparación de los espectros de RMN<sup>1</sup>H de la glaucólida D (Espectro 1) y del compuesto 56 (Espectro 2) indican, que esta última presentó una apreciable modificación estructural. En el espectro de masas del compuesto 56 (Espectro 5) se observó el ion molecular a *m/z* 464, que está de acuerdo para una fórmula molecular de C<sub>23</sub>H<sub>28</sub>O<sub>10</sub>. Asimismo se proponen las pérdidas sucesivas de dos moléculas de ácido acético, las cuales producen los fragmentos a *m/z* 404 y *m/z* 344 a partir del ion molecular; de igual manera, se detecta la pérdida de una molécula de ácido epoximetacrílico (*m/z* 242) a partir de *m/z* 344, éste es el pico base del espectro. Por otro lado, en el espectro de RMN<sup>1</sup>H (Espectro 2) del

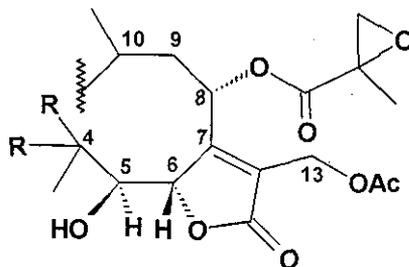
compuesto 56, aparecen las señales debidas a los hidrógenos del grupo metilo de los acetatos en 2.01(3H, s, CH<sub>3</sub>COO), y 2.10 (3H, s, CH<sub>3</sub>COO) ppm, de manera semejante a las que se presentan en el espectro de la gáucólida D. Estas evidencias indican que estos grupos presentes en la gáucólida D no se modificaron durante el proceso de transformación.

También, se observó una señal doble de doble del sistema AB de la posición 13 en 4.82 ppm y 4.94 con J=13Hz, así como una señal doble en 4.98 ppm (J=8.22Hz) que corresponde al protón de la posición 6.

Asimismo, se observaron dos señales, una doble en 2.72 ppm (J=13.8 Hz) y otra doble de doble en 2.84 ppm (J=11.01 y 13.4 Hz), asignadas a los protones de la posición Cg. Todas estas asignaciones fueron corroboradas mediante experimentos de correlación homonuclear. De acuerdo con estos datos, se hace evidente que las posiciones 6, 7, 8, 9 y 13 de la gáucólida D no sufrieron modificación alguna.

Adicionalmente, en el espectro de RMN<sup>1</sup>H se observó un protón con una señal doble a 3.37 ppm, la cual correlacionó mediante un experimento HETCOR (Espectro 4) con la señal a 87.5 ppm en RMN<sup>13</sup>C, estos desplazamientos indican que este átomo de carbono está unido a un grupo hidroxilo. Mediante un experimento COSY (Espectro 3), se observó que el protón unido a este átomo de carbono correlaciona con el protón de la posición 6, por consiguiente es lógico suponer que este átomo de carbono ocupa la posición 5. Un dato adicional es que en el referido experimento COSY no se observa ninguna otra correlación del protón 5 con algún otro protón, por lo que se propone que se

encuentra unido a un átomo de carbono tetrasustituido. Por lo que se sugiere una estructura parcial para la molécula 56.

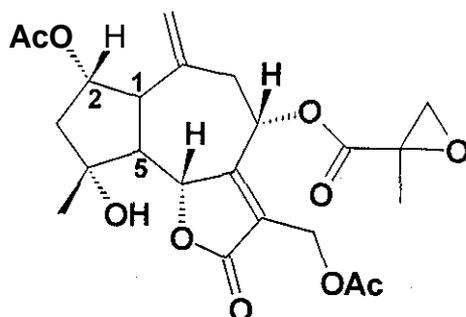


Estructura parcial de la molécula 56.

Por otro lado, los datos de resonancia de hidrógeno evidenciaron la presencia en la molécula 56 una doble ligadura exocíclica [ $=\text{CH}_2$ ,  $8^1\text{H}$ , 5.1 y 5.2 ppm.  $\text{S}^{13}\text{C}$  117 ppm, y  $5^{13}\text{C}$  138 ppm]. Asimismo, en el espectro de  $\text{RMN}^1\text{H}$  se observó una señal simple a 1.14 ppm asignado a un metilo unido a un carbono tetrasustituido. Estos datos indican que la modificación presentada por la glaucólida D involucró el doble enlace C1/C10 y al epóxido en C4/C5.

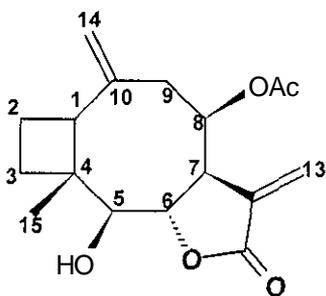
De acuerdo con los antecedentes *{vide supra}* de reacciones de ciclación en medio ácido que involucran epoxigermacranólidas en C4/C5, existen dos posibles rutas de ciclación que generan guayanólidas y eudesmanóiidias. La posibilidad de que la molécula 56 fuese guayanólida como se ilustra en la estructura 56', es fácilmente eliminada, ya que el espectro de  $\text{RMN}^1\text{H}$  del compuesto 56 revela la presencia de señales de cuatro protones unidos a átomos de carbono enlazados a átomos de oxígeno (8: 5.25 ppm, m; 3.37ppm, d,  $J=B.O$  Hz; 4.98 ppm, d,  $J=S.22$  Hz; 5.26 ppm, d,  $J=8.25$  Hz) uno más de los tres que requiere la

guayanólida 56'. Análisis semejante se realizó para descartar la presencia de una estructura de eudesmano.

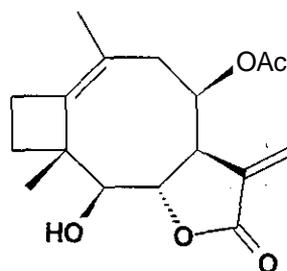


56'

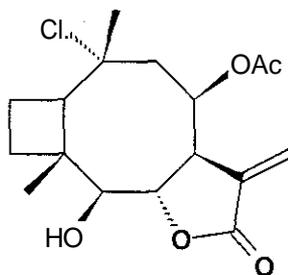
Por otro lado, la reacción de ciclación menos frecuente es la que da lugar a la formación de un anillo de cuatro miembros, como el que se presenta en las moléculas 44, 45 y 46 [24].



44



45



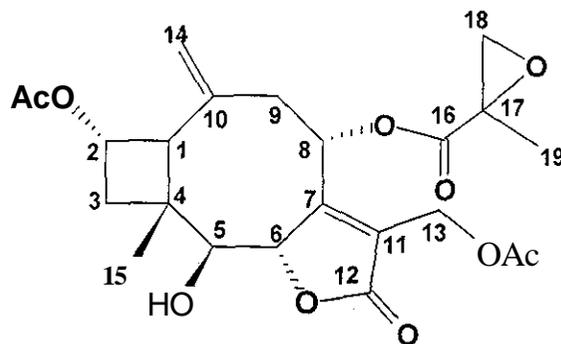
46

Tomando en cuenta este tipo de ciclación, se puede proponer que el producto 56 tuviese un esqueleto de un biciclo[6.2.0]decano.

Esta propuesta se ve apoyada por el hecho de que hasta este punto se han asignado 20 átomos de carbono, 24 átomos de hidrógeno y 10 átomos de oxígeno, quedando por asignar 3 átomos de carbono y 4 átomos de hidrógeno, los cuales quedarían perfectamente asignados para la estructura 56. Los datos espectrales de RMN<sup>1</sup>H y <sup>13</sup>C confirman la estructura de la molécula 56.

Como ya se mencionó, en el espectro de RMN<sup>1</sup>H de la molécula 56 (Espectro 2) se observan cuatro protones unidos a átomos de carbono base átomos de oxígeno que se asignan a H<sub>2</sub> (5:5.25 ppm, m), H<sub>5</sub> (S:3.37ppm, d, J=8.2 Hz), H<sub>6</sub> (5:4.98 ppm, d, J=8.2 Hz) y H<sub>8</sub> (8:5.26 ppm, m).

La asignación de la señal de H<sub>i</sub> se obtuvo mediante un experimento COSY (Espectro 3), el cual mostró una señal doble centrada a S: 2.48 ppm (J=8.5Hz), cuya única correlación fue con la señal asignada a H<sub>2</sub>. Aun más, esta última señal correlacionó también con las señales a 1.90 y 2.28 ppm, asignadas a los protones del metileno en C<sub>3</sub>. También, la señal doble a 2.48 ppm (J=8.5 Hz) asignada a H<sub>i</sub> correlacionó en el espectro HETCOR (Espectro 4) con la señal a 52.8. En la Tabla 3 se muestran los desplazamientos químicos correspondientes de la molécula 56.

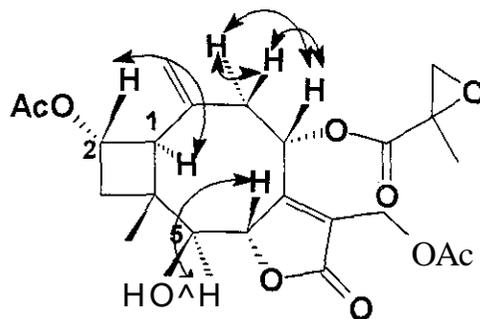


56

Todas estas sugerencias estructurales son corroboradas mediante el experimento COSY en RMN<sup>1</sup>H (Espectro 3). Así, se observa la correlación de H<sub>2</sub> con H<sub>i</sub> y los protones H<sub>3a</sub> y H<sub>3P</sub>. De igual manera se observan las correlaciones entre H<sub>5</sub> y H<sub>e</sub>, como también se observa la correlación entre los protones H<sub>a</sub> y en C<sub>9</sub>, siendo éstas las más importantes (Esquema 16).

Tabla 3: Datos de RMN <sup>1</sup>H de la molécula 56 en CDCl<sub>3</sub>.

Protón	56 Sppm
1	2.48, d, J=8.5 Hz
2	5.25 dd J= 8.0, 8.0 Hz
3	2.28, dd, J=11.6, 8.0 Hz
3	1.90, ddJ= 11.6, 8.0 Hz
5	3.37 d J= 8.0 Hz
6	4.98 d J=8.2Hz
8	5.26 d J= 12.2 Hz
9	2.84 dd J=13.4, 12.2 Hz
9	2.72 dJ= 13.4 Hz
13a	4.82 d J= 13.0 Hz
13b	4.94 dJ= 13.0 Hz
14a	5.17 sa
14b	5.22 sa
15	1.14s
18a	3.10 d J=5.7Hz
18b	2.78 d J= 6.0Hz
19	1.54
AcO	2.01 s
AcO	2.10s



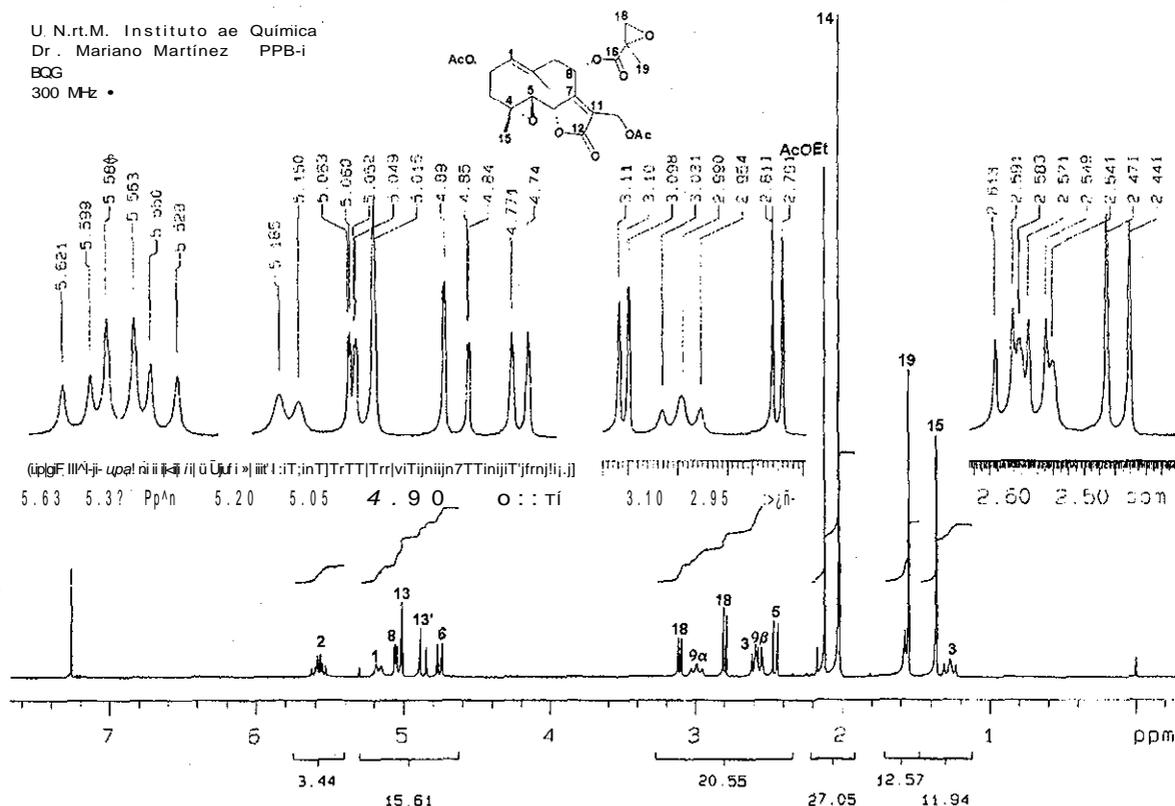
56

Esquema 16.-Algunas correlaciones observadas mediante un experimento COSY de 56.

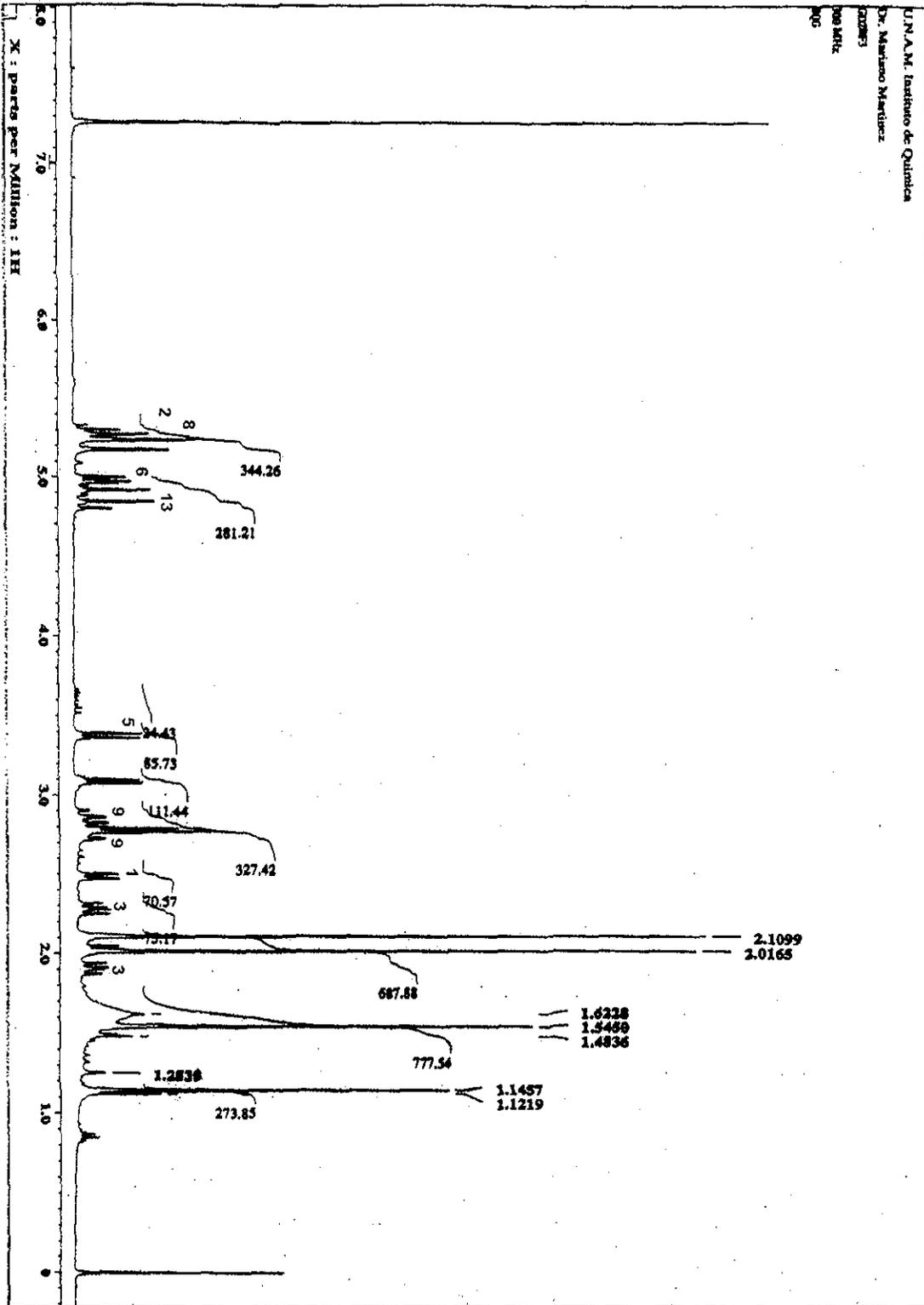
La asignación completa de las señales de RMN<sup>13</sup>C (Tabla 8) se logró mediante los experimentos de correlación heteronuclear (Espectro 4) y DEPT. En el espectro de RMN<sup>13</sup>C, se observaron señales para 4 metilos (8: 16.5, 17.1, 20.7 y 20.9), 5 metilénos (8:40.1, 44.0, 52.9, 56.1,117.0), 5 metinos (8: 52.8, 64.8, 71.0, 84.7 y 87.5) y nueve átomos de carbono saturados (6: 37.6, 53.3, 128.0, 138.0, 162.8, 169.6, 170.2, 170.3 y 170.4), lo cual está en total acuerdo para la estructura y la fórmula molecular mínima C<sub>23</sub>H<sub>28</sub>O<sub>10</sub> propuesta para la molécula 56. Estos datos constituyen una evidencia adicional que sustenta la estructura del compuesto 56. Así, se observan las correlaciones del H1 con la señal del metino a 52.8 ppm y el H-5 con la señal de metino a 87.5 ppm entre otras. Todas las correlaciones observadas para el compuesto 56 se muestran en la Tabla 4.

Tabla 4- Datos de correlación hidrógeno-carbono de la molécula 56.

Relación H/C	Desplazamiento químico en ppm
H-1/C-1	2.48/52.8
H-2/C2	5.25/64.8
H-3p/C-3	2.28/40.1
H-3cc/C3	1.90/40.1
H-5/C5	3.37/87.5
H-6/C-6	4.98/84.7
H-8/C-8	5.26/71.0
H-9p/C-9	2.84/44.0
H9a/C-9	2.72/44.0
H13a/C13	4.82/56.1
H13b/C-13	4.94/56.1
H-14a/C-14	5.17/117.0
H-14b/C-14	5.22/117.0
H-15/C-15	1.14/16.5
H-18a/C-18	3.10/52.9
H-18b/C-18	2.72/52.9
H-19/C-19	1.54/17.1

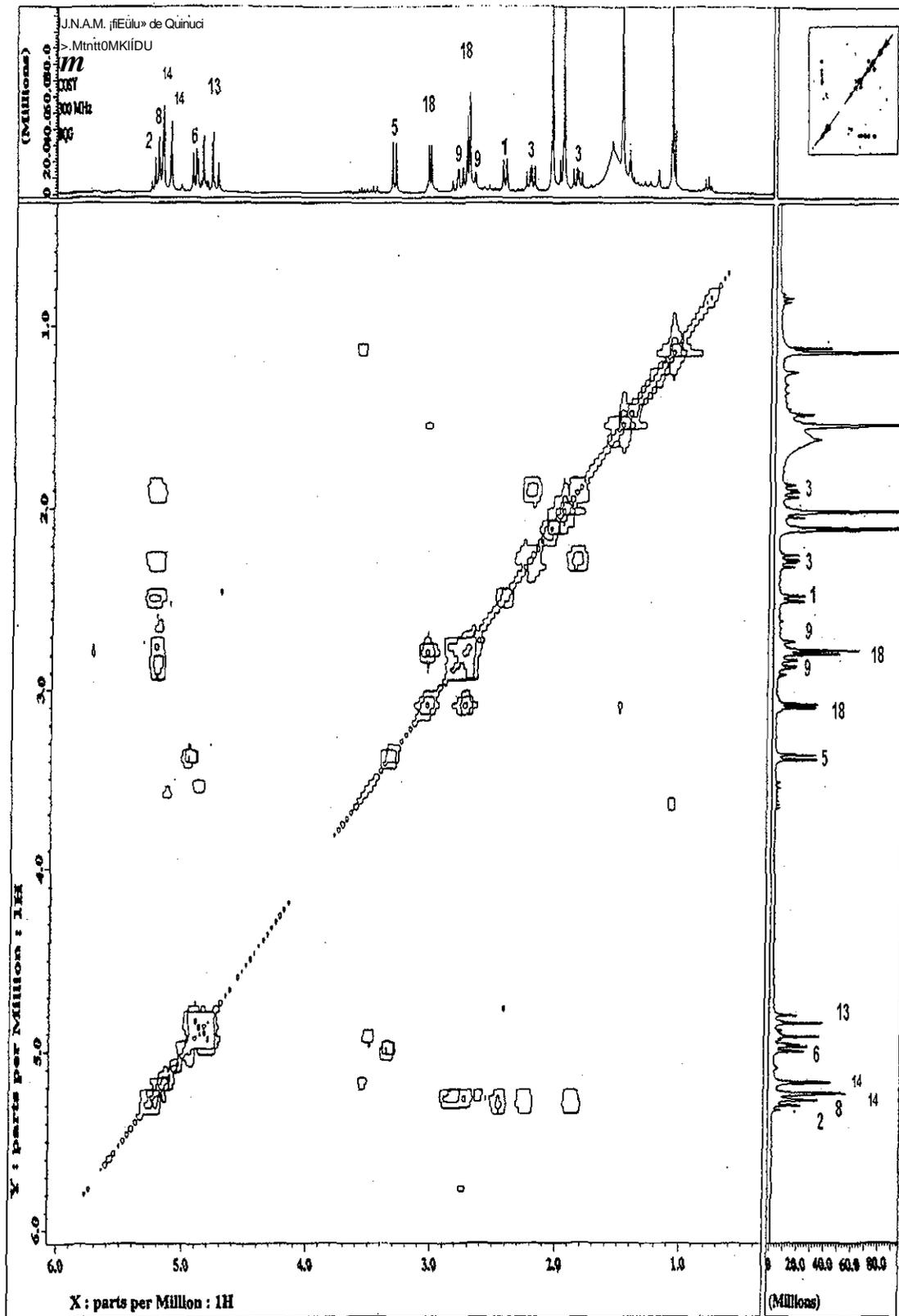


TESIS CON  
 FALLA DE ORIGEN



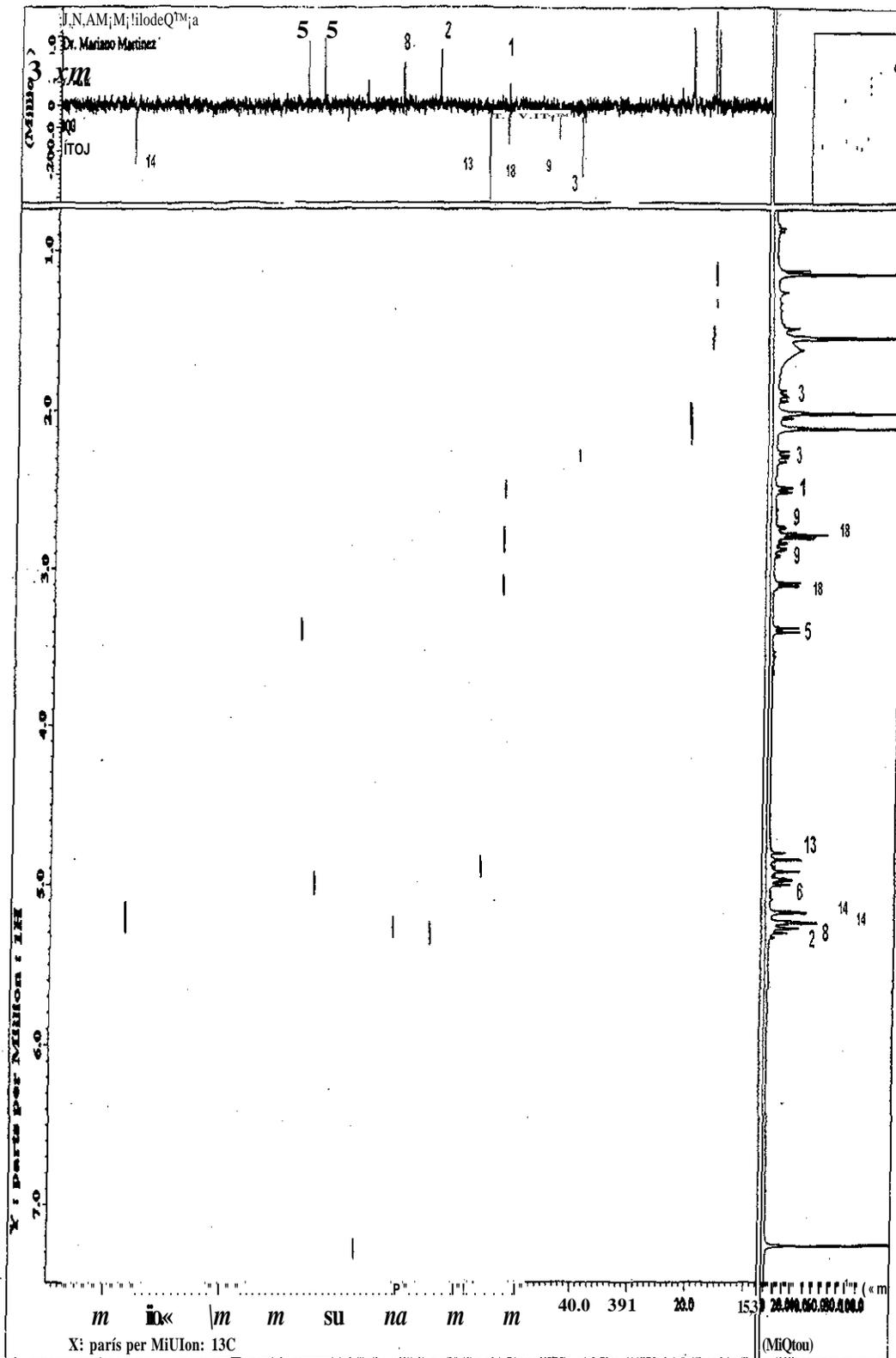
Espectro 2.-RMN<sup>1</sup>H de 56

TESIS CON  
PALLA DE ORIGEN

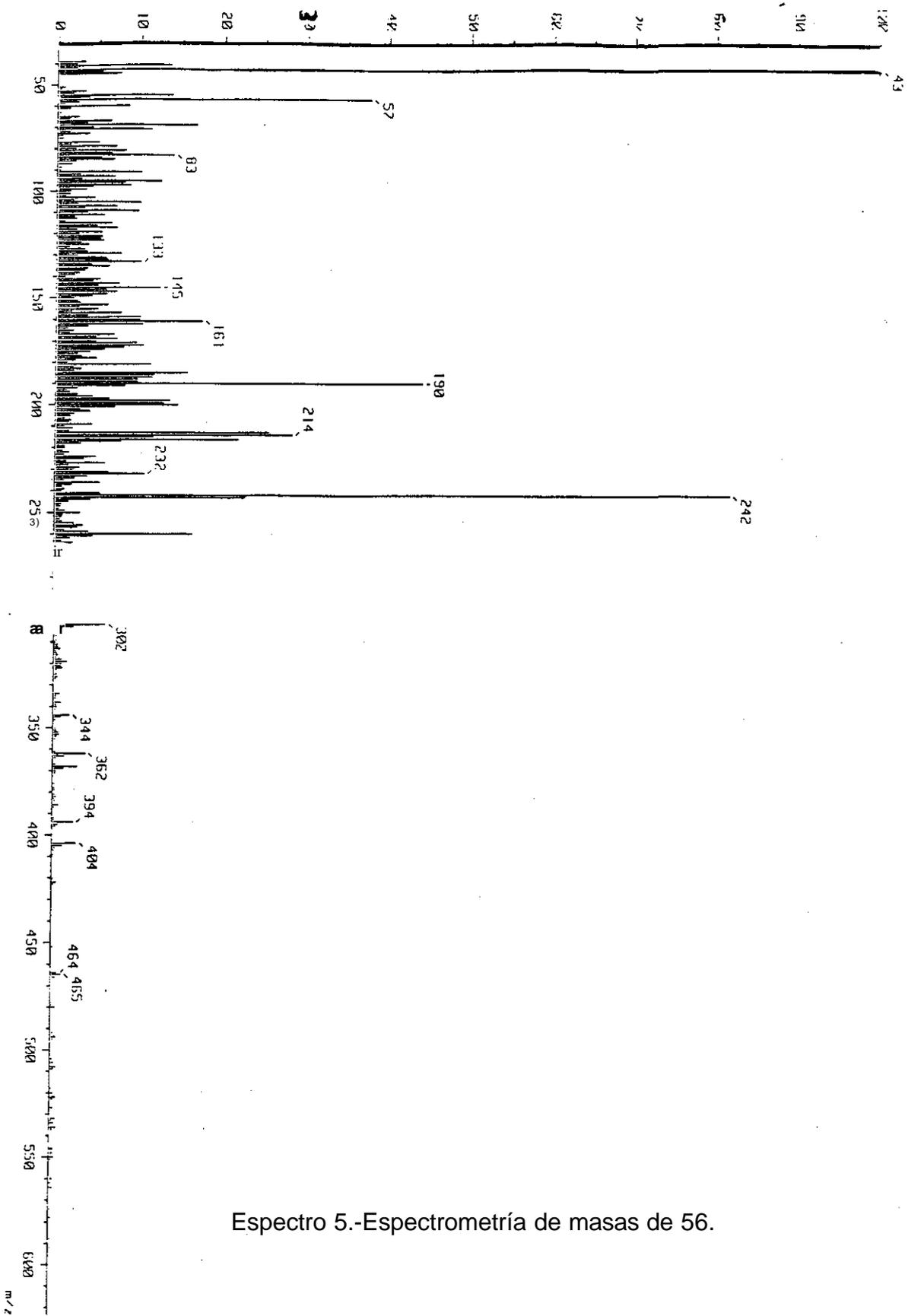


Espectro 3.- Experimento COSY de 56.

TESIS CON  
 FALLA DE ORIGEN



Espectro 4.-Experimento HETCOR de 56.



Espectro 5.-Espectrometría de masas de 56.

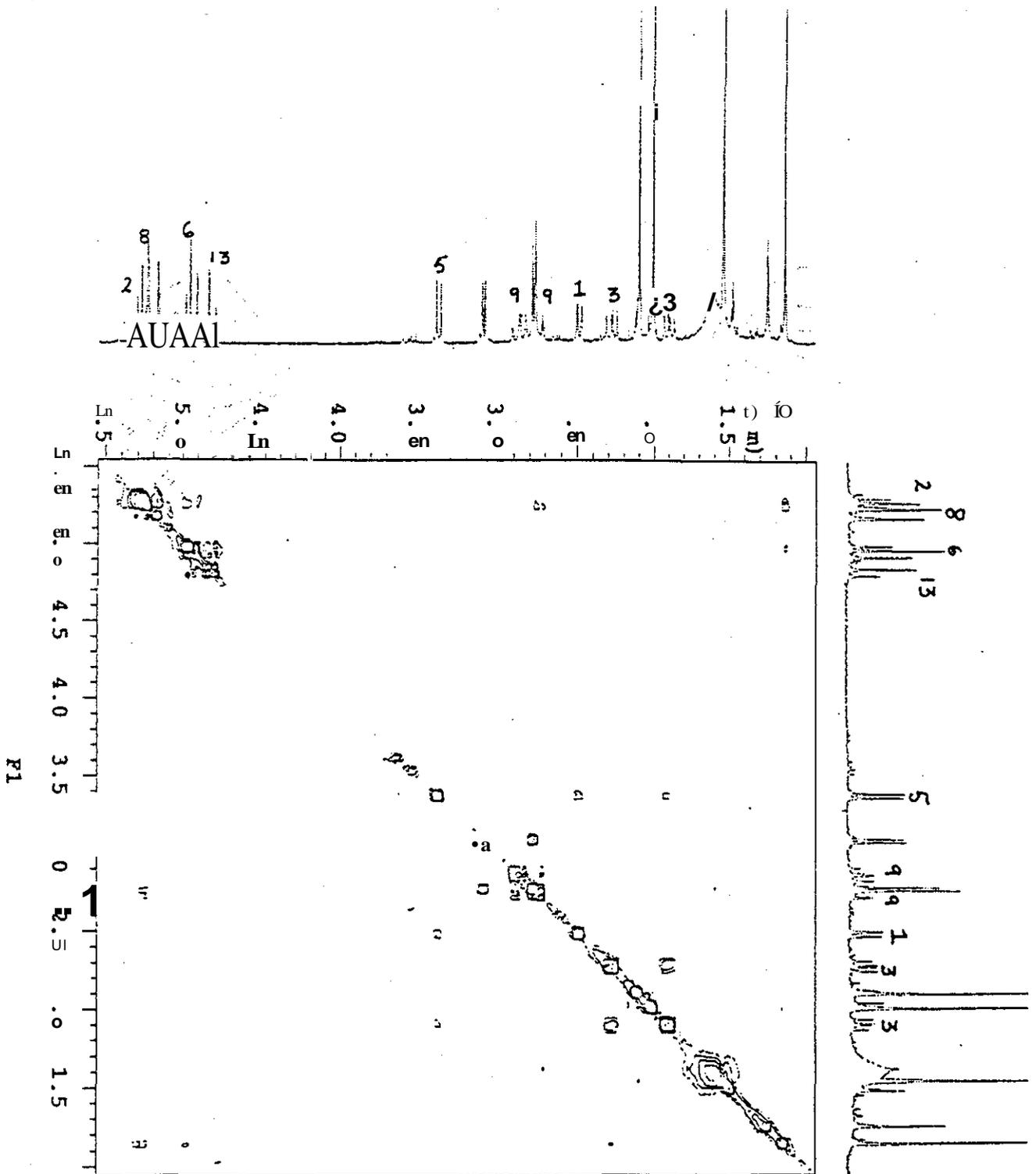
TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

## Determinación estereoquímica del compuesto 56

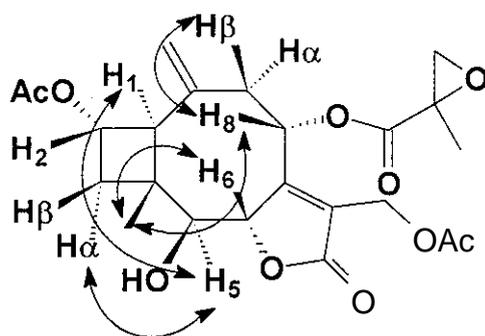
Considerando que los centros de quirales en C<sub>2</sub>, C<sub>6</sub> y C<sub>3</sub> no se modifican en el transcurso de la reacción, entonces se asigna una orientación p a los protones H<sub>2</sub>, H<sub>6</sub> y H<sub>8</sub>, como en la glaucóida D.

Por otro lado, en un experimento NOESY (Espectro 6) se observó la interacción del metilo C<sub>4</sub> con los protones H<sub>6p</sub> y H<sub>8p</sub>, lo cual asegura que el grupo metilo también está orientado en posición p.

Asimismo la estereoquímica a asignada a los protones en C<sub>1</sub> y C<sub>5</sub> se dedujo de los siguientes datos. Primero, debido a que en el espectro NOESY (Espectro 6) no se observó ninguna interacción entre los protones H<sub>1</sub> y H<sub>5</sub> con los protones H<sub>2</sub>, H<sub>6</sub>, H<sub>8</sub>, ni tampoco con los metilos 14 y 15; por lo tanto, se sugiere que H<sub>1</sub> y H<sub>5</sub> se encuentran a orientados (Esquema 17). Segundo, los valores de los ángulos diedros H<sub>1</sub>-C<sub>1</sub>-C<sub>2</sub>-H<sub>2</sub> y H<sub>5</sub>-C<sub>5</sub>-C<sub>6</sub>-H<sub>6</sub>, determinados por medio de mecánica molecular arrojan valores de 147° y 165°, respectivamente. Estos valores expresan la orientación a de H<sub>1</sub> y H<sub>5</sub>. Tercero, por medio de la aplicación del programa ALTONA para PC que usa una ecuación modificada de Karplus, y a partir de las constantes de acoplamiento de H<sup>α</sup> y H<sub>5</sub> se generó un valor de 111° para los ángulos diedros, valor que apoya la orientación estereoquímica propuesta para H<sub>1</sub> y H<sub>5</sub>.



Espectro 6.-Experimento NOESY de 56.

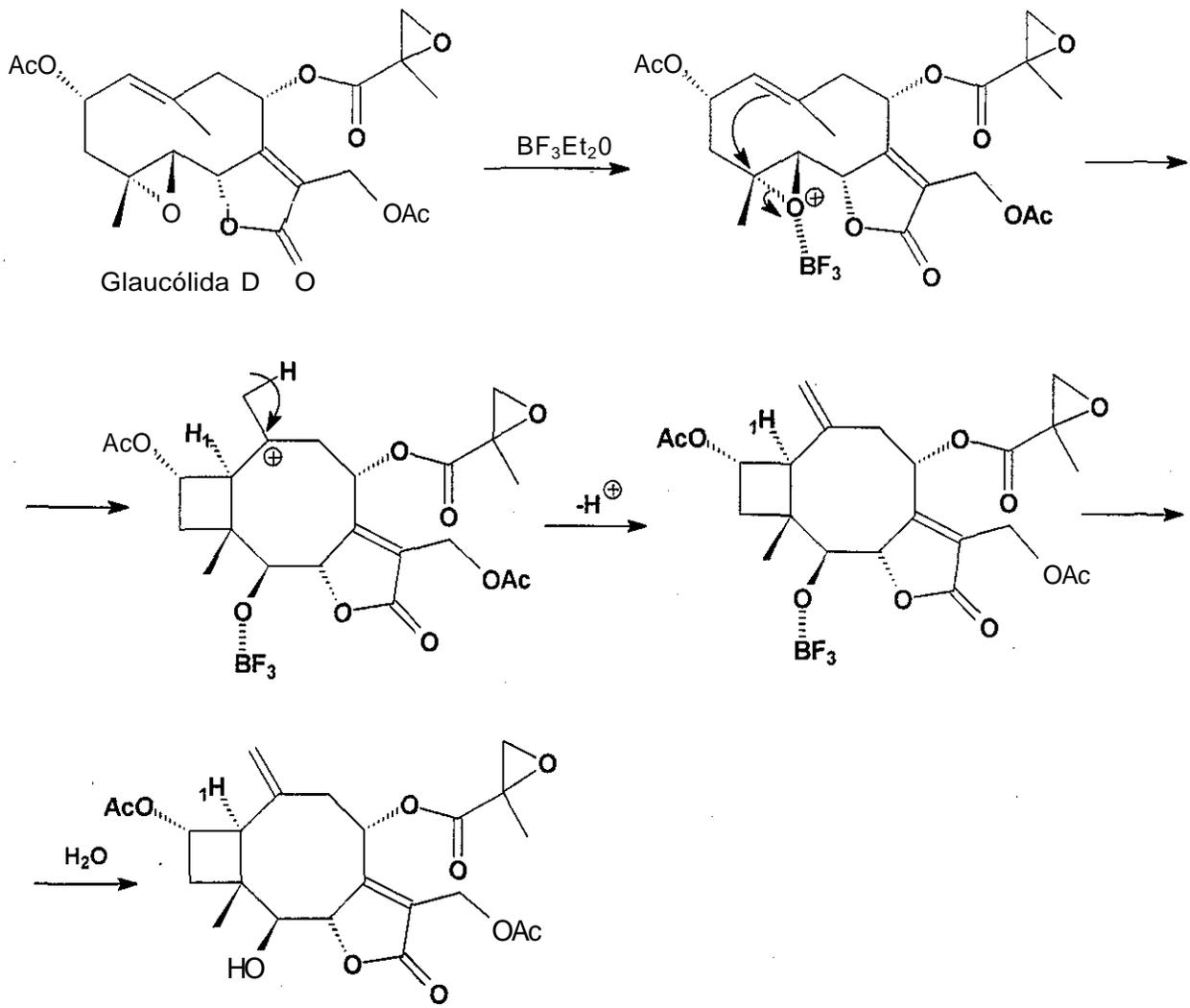


Esquema 17.- Principales correlaciones determinadas mediante experimentos NOESY de 56

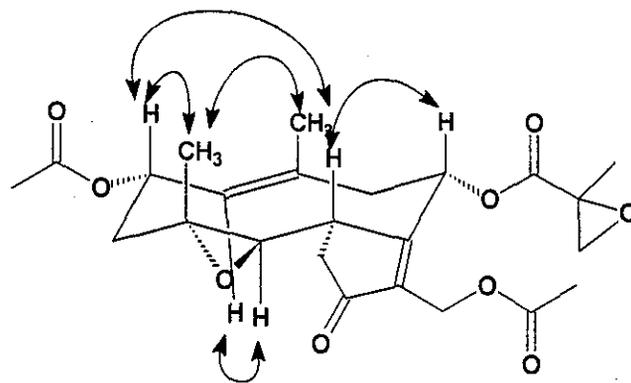
### Mecanismo de reacción propuesto para generar 56

Con anterioridad, se ha descrito el posible mecanismo de ciclación intramolecular de epoxigermacranólidas involucrado en la formación de moléculas que presentan la estructura de un biciclo[6'20]decano (Esquema 15). [24] Este mecanismo sugiere un ataque nucleofílico de la doble ligadura 1-10 sobre el átomo C<sub>4</sub>. Con este mecanismo se propone la formación de la molécula 56 a partir de la glaucólida D.

En el Esquema 18 se presenta una propuesta de mecanismo de reacción para generar el compuesto 56, a partir de la glaucólida D. Los conformeros más estables para la glaucólida D y E se han definido tanto en estado sólido como en solución, mediante técnicas de rayos X, así como por estudios de resonancia protónica. [10] Estos conformeros han sido determinados como aquellos donde los metilos 14 y 15 presentan una orientación p axial y el doble enlace C1/C10 y el epóxido C4/C-5 presentan una disposición espacial cruzada, como en todas las epoxigermacranólidas hasta el momento estudiadas.

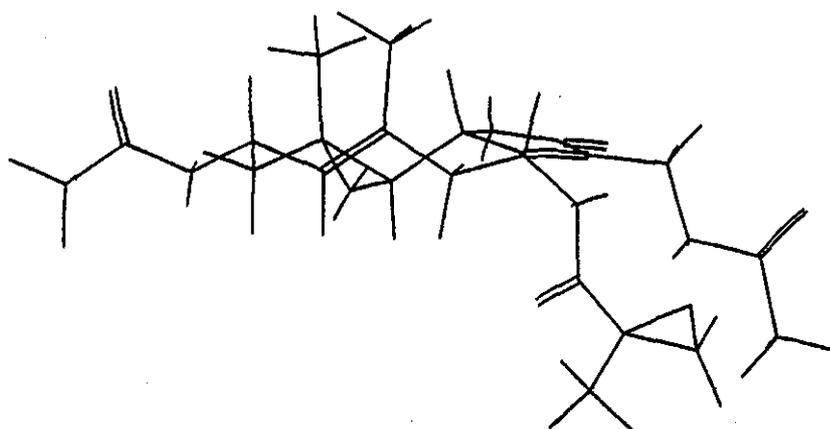


Esquema 18. - Mecanismo de reacción propuesto para obtener la molécula 56 a partir de la glaucólida D.

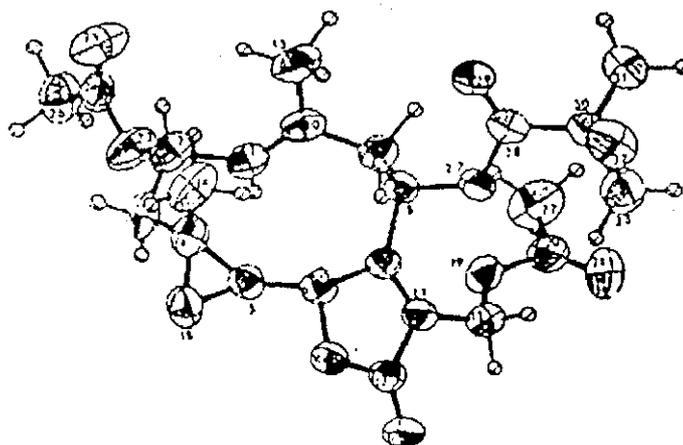


Esquema 19.- Principales interacciones de la glaucólida D (54) observadas mediante experimentos NOESY.

Con el fin de conocer cuáles serían los factores estereoelectrónicos que pudiesen estar involucrados en la formación de estructuras del tipo biciclo[6.2.0]decano, se generó la estructura tridimensional de más baja energía para la glaucólida D (Esquema 20). Esta optimización de la geometría del compuesto, se realizó utilizando el método semiempírico MINDO 3. La estereoestructura resultante fue igual a la determinada por difracción de rayos X (Esquema 21) y por experimentos NOESY.



Esquema 20.-Estereoestructura de energía mínima de la glaucólida D determinada por MINDO 3.



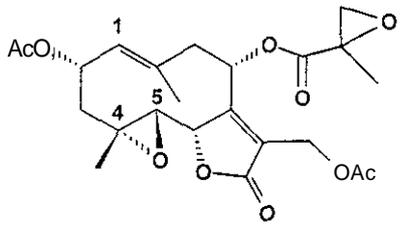
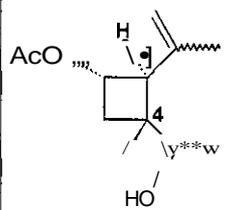
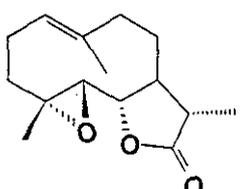
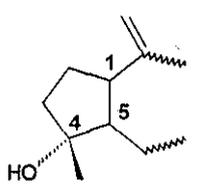
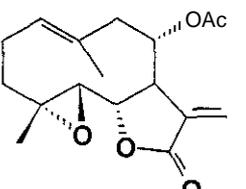
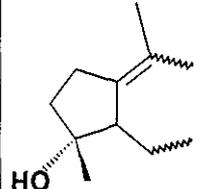
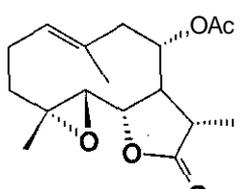
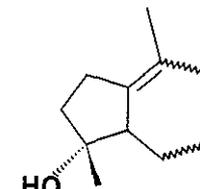
TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

Esquema 21.-Estereoestructura de la glaucólida D determinada por difracción de rayos X.

Posteriormente, se compararon algunos datos de densidad electrónica y distancia interatómica de la glaucólida D con aquellos mostrados por algunas 4,5-epoxigermacranólidas que en medio ácido generaron guayanólidas. Esta comparación se realizó a partir de las estereoestructuras determinadas mediante MINDO 3. En la tabla 5, se presentan los valores de densidad electrónica para los átomos C-i, C<sub>4</sub> y C<sub>g</sub>, así como la distancia interatómica existente entre los átomos C<sub>i</sub> y C<sub>4</sub>, que presentan la glaucólida D, la dihidropartenólida, la 11,13-dehidrolanuginólida y la lanuginólida. En este análisis, se hace énfasis en la densidad electrónica mostrada por los átomos de carbono C<sub>i</sub>, C<sub>4</sub> y C<sub>5</sub>, debido a que éstos son los átomos involucrados en la reacción de ciclación. Como se puede observar, la densidad electrónica de los últimos 3 compuestos, en particular en el átomo de carbono 1, es de -0.030, mientras que en la glaucólida D este valor se incrementa hasta -0.098.

Los valores de distancia calculados para todos los casos estudiados, establecen que la diferencia existente entre los átomos C<sub>1</sub>/C<sub>4</sub> y C<sub>j</sub>/C<sub>s</sub> es mínima, por lo que se pueden considerar equidistantes; por lo tanto, el parámetro a estudiar es la densidad electrónica. Se puede establecer que la mayor densidad de C<sub>i</sub> en la glaucólida D es la responsable de que se obtengan productos con estructura de un biciclo[6.2.0]decano, al dirigir el ataque sobre el átomo C<sub>4</sub> que presenta mayor deficiencia electrónica que C<sub>5</sub>.

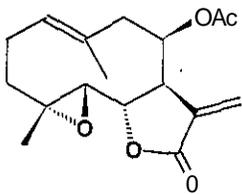
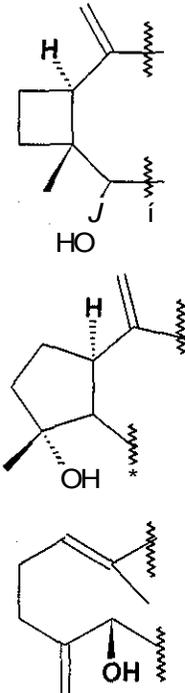
Tabla 5.- Datos de distancia y densidad electrónica de algunas lactonas sesquiterpénicas, obtenidos mediante MINDO 3.

LACTONA SESQUITERPÉNICA	PRODUCTO DE CICLIZACIÓN	DISTANCIA ANTES DE LA CICLIZACIÓN	DENSIDAD ELECTRÓNICA
 <p>glaucólida D</p>		$\wedge-04=2.81866 \text{ A}$ $d-C_g = 2.84469 \text{ A}$	$C^\wedge-0.098976$ $C^\wedge O.22346$ $C_5=0.031766$
 <p>dihidropartenólida</p>		$C_r C_4 = 3.0999 \text{ A}$ $O^\wedge 05 = 3.1618 \text{ A}$	$C^\wedge-0.03001$ $C_4=0.225508$ $C_5=0.212943$
 <p>11,13-deshidrolanuginólida</p>		$Ci-04 = 3.0896 \text{ A}$ $C,-C_5 = 3.1443 \text{ A}$	$C^\wedge-0.030165$ $C_4=0.227323$ $C_5=0.203895$
 <p>lanuginólida</p>		$C-i-C_4 = 3.0896 \text{ A}$ $O^\wedge 05 = 3.14439 \text{ A}$	$Ci=-0.03016$ $C_4=0.227305$ $C_5=0.20380$

Como ya se mencionó con anterioridad, la lipiferólida generó tanto estructuras de guayano como de biciclo[6.2.0]decano.[24] Sin embargo, es

importante resaltar que esta molécula presenta una densidad electrónica menor en el carbono 1 (Tabla 6), en comparación con la presentada por la glaucólida D. Una posible explicación de este comportamiento es suponer que la lipiferólida adopta una serie de equilibrios conformacionales durante la reacción, que conllevan a la formación de 3 tipos diferentes de productos.

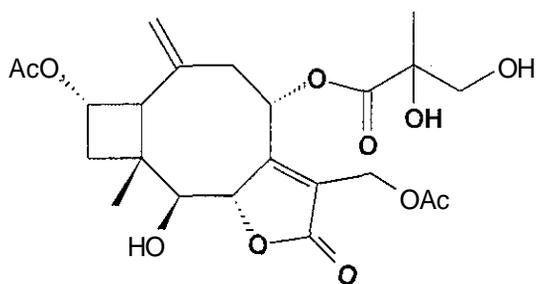
Tabla 6.- Datos de distancia y de densidad electrónica de la lipiferólida obtenidos mediante cálculos de mecánica molecular.

LACTONA SESQUITERPÉNICA	PRODUCTO DE CICLIZACIÓN	DISTANCIANTES DE LA CICLIZACIÓN	DENSIDAD ELECTRÓNICA
 <p>lipiferólida</p>		$C_r C_4 = 3.1036 \text{ \AA}$ $OpCs = 3.1852 \text{ \AA}$	$C_i = -0.028635$ $C_4 = 0.227341$ $C_5 = 0.203687$

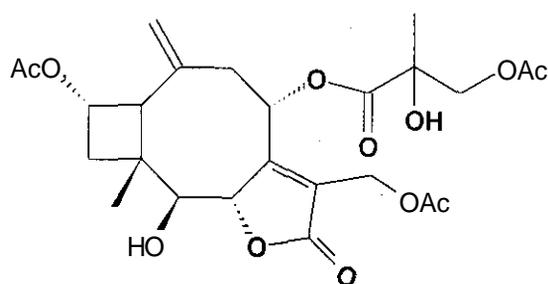
## **Elucidación estructural de los compuestos obtenidos a partir de la glaucólida D**

La comparación de los datos espectrales de RMN<sup>1</sup>H y C<sup>13</sup> de 57 (Espectro 9 y 10) con los de 56 (Espectro 2), indicó que la molécula 57 presenta una estructura muy parecida a 56. La única diferencia entre ellas es que en 57 el átomo de carbono C 14 corresponde a un metilo y no a un metüeno exocíclico como en 56 y presenta una señal doble centrada en 1.33 ppm en RMN<sup>1</sup>H (Espectro 9) con un inusual valor de constante de acoplamiento de 21.3 Hz. Este valor indica que posiblemente el átomo de carbono del metilo se encuentra unido a un átomo de flúor, suposición que se vio corroborada por el espectro de masas de 57, (Espectro 11) donde se observó el ion molecular a 484  $m/z_t$  esto es, veinte unidades más que 56, lo cual sugiere la presencia de un átomo de hidrógeno y otro de flúor en 57. Tomando en cuenta lo anterior, se propone la fórmula para el producto 57. La formación del producto 57 a partir de la glaucólida D, se puede explicar a partir del intermediario postulado en la formación de 56 (Esquema 22).





58

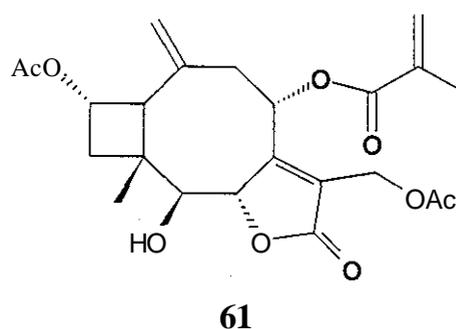
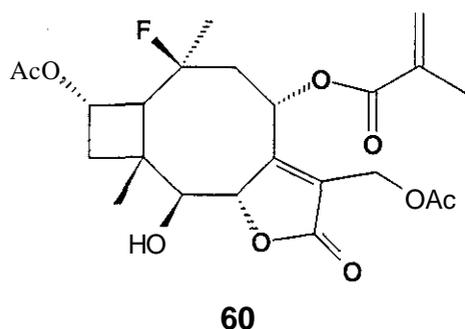


59

### Elucidación estructural de los compuestos obtenidos a partir de la glaucólida E

El compuesto 60 mostró una similitud en su estructura base con el compuesto 57. La presencia de una señal doble en 1.22 ppm, con una  $J=21.3$  Hz, en el espectro de RMN<sup>1</sup>H de 60 (Espectro 18) asignada al metilo de la posición 10, reveló la presencia de un átomo de flúor geminal a este metilo. Otra diferencias son las señales características al sistema de metacrilato (5.65 y 6.10 ppm), que corroboran que esta posición no se ve alterada con respecto a la glaucólida E, así como tampoco el sistema AB de la posición 13 (4.75 y 4.90 ppm).

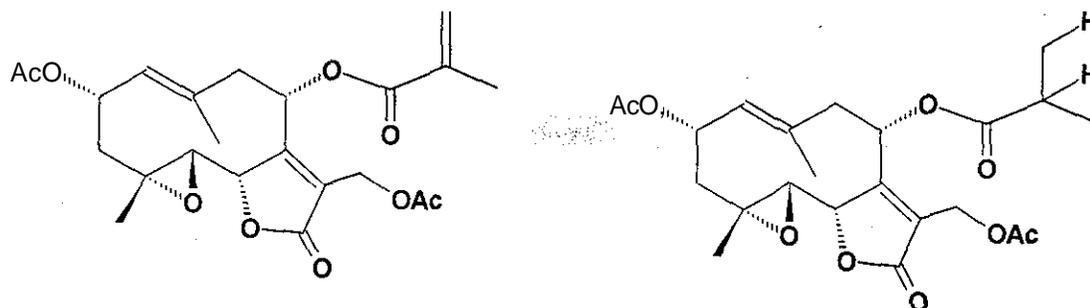
El compuesto 61 es estructuralmente muy semejante a 56. Es conveniente mencionar que 56 proviene de la ciclación de la glaucólida D y 61 de la delación de la glaucólida E, por lo que las señales de la posición 8 presentan desplazamientos diferentes. Adicionalmente, en el espectro de RMN<sup>1</sup>H del compuesto 61 (Espectro 24) se observan las señales debidas a los dos protones vinílicos del metacrúato de la posición 8 a 5.65 y 6.10 ppm, respectivamente, así como el sistema AB de la posición 13, lo cual demuestra que estas funcionalidades no se ven modificadas.



## Evaluación Farmacológica

Como parte de la evaluación sistemática de la actividad antiinflamatoria que se ha realizado sobre algunos metabolitos secundarios en nuestro laboratorio, se ha propuesto llevar a cabo este análisis para las glaucólidas D y E, así como para algunos de sus derivados. Los compuestos 62 y 63 se generaron a partir de las glaucólidas D y E, con fines de evaluación antiinflamatoria. El primero de ellos proviene de la hidrogenación catalítica de la glaucólida E y el segundo de un proceso de reducción de la glaucólida D. La estructura del compuesto 62 se estableció por la comparación de su espectro de RMN<sup>1</sup>H (Espectro 27) con el de la glaucólida E. En el espectro de RMN<sup>1</sup>H de la glaucólida E el protón de la posición 1 genera una señal doble centrada en 5.15 ppm con una  $J= 10.5$  Hz. Una señal semejante en 5.17 ppm con una  $J= 10.5$  Hz aparece en el espectro de RMN<sup>1</sup>H de 62, por lo que se confirma que la doble ligadura presente entre los átomos 1-10 permanece sin alteración. Las señales presentes a los protones vinílicos de la doble ligadura (C<sub>7</sub>-C<sub>8</sub>) localizadas en 5.7 y 6.8 ppm en la glaucólida E, no aparecen en el espectro de RMN<sup>1</sup>H de 62, lo que sugiere que esta doble ligadura se redujo. Lo anterior se confirma al

observarse un doblete a campo alto, asignado al metilo de la posición 18. Asimismo, en el espectro de masas de 62 (Espectro 30), se observó el ion molecular a  $m/z$  450 que está de acuerdo para una fórmula mínima  $C_{23}H_{30}O_9$ . También se observó la pérdida sucesiva de dos moléculas de ácido acético a partir del ion molecular para dar  $m/z$  390 y 330, respectivamente. Las señales asignadas al resto de los protones de la gáucólida E aparecen en el espectro de  $RMN^1H$  de 62

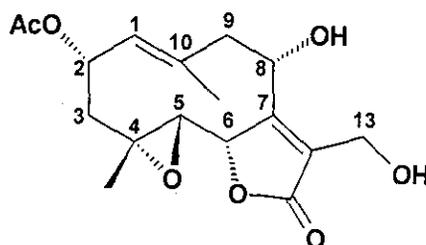


Gáucólida E

62

Por otro lado, el compuesto 63 resultó ser la 8-deseoximetacrilóil-13-desacetil-glaucólida D; esta determinación estructural se basa en los siguientes datos espectroscópicos. El espectro de masas mostró un ion molecular a  $m/z$  380 que está de acuerdo para una fórmula  $C_{19}H_{24}O_8$ . La presencia de grupos hidroxilo en esta molécula se pudo determinar por medio del espectro de IR, donde aparece una banda ancha aproximadamente en  $3294\text{ cm}^{-1}$ ; de igual manera, en este espectro se observan las bandas correspondientes al grupo carbonilo de éster en  $1735\text{ cm}^{-1}$  y una banda en  $1751.3\text{ cm}^{-1}$ , típica del grupo carbonilo de la lactona. De la comparación entre el espectro de  $RMN^1H$  de la gáucólida D y el del producto 63 (Espectro 30), se observa que las señales

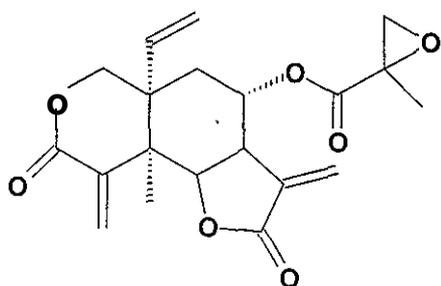
asignadas a los protones 13 y 13' en 63 se desplazan a campo alto. Este desplazamiento claramente indica que en 63 existe un grupo hidroxilo y no un grupo acetato como en la glaucólida D. Asimismo las señales asignadas al residuo de epoximetacrilato en C8 de la glaucólida D no se observan en el espectro de 63. Por el contrario, se observa una señal doble centrada en 4.05 ppm que se asignó al protón unido a C<sub>8</sub> base de hidroxilo. A continuación se presenta la estructura propuesta para 63.



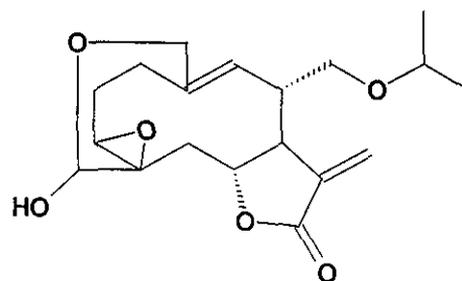
63

### *Evaluación de la Actividad Antünflamatoría*

Los lactonas sesquiterpénicas constituyen un grupo importante de productos naturales. A este tipo de compuestos se le atribuye actividad biológica variada tales como: citostáticas, antihepatotóxicas, alergénicas, espasmolíticas y antiinflamatorias entre otras [18, 32-35]. Anteriormente, se proponía que este tipo de compuestos presentaban actividad biológica cuando contarán con una lactona, además de un doble enlace exocíclico conjugado y que cuando éste se presenta saturado su actividad desaparece[36-3S]. Por ejemplo, la vernoladina(64) y vernomygdina(65) aisladas de *Vernonia amygdalina* Del., presentaron inhibición *in vitro* de células de carcinoma de KB [39].

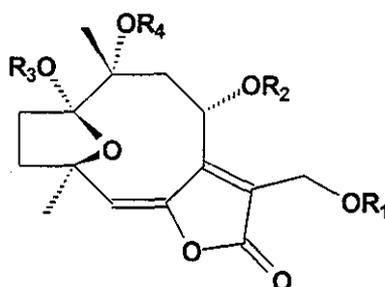


64



65

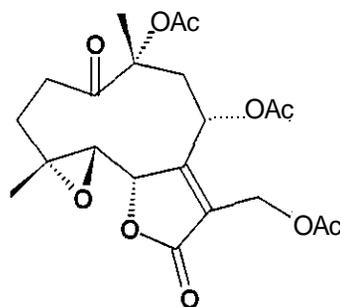
Estudios posteriores han demostrado que la presencia de la lactona con un doble enlace exocíclico, no es un factor determinante para que una lactona sesquiterpénica presente algún tipo de actividad biológica. Lo anterior ha quedado demostrado al probar la actividad citotóxica de algunas hirsutinólidas llamadas fitocarpinas A-F(66-72), sobre células KB humanas de carcinoma nasopharynx 9KB [40]. Estos compuestos presentan una lactona pero no un doble enlace exocíclico, sin embargo mostraron actividad citostática.



Estructura general de las fitocarpinas

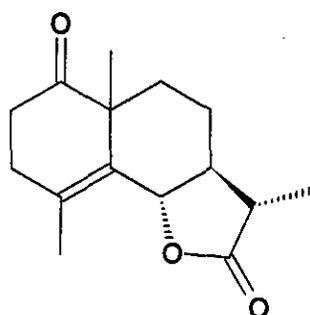
66		R1	R2	R3	R4
67	A	Ac	MeAcr	H	H
68	B	Ac	Tig	H	H
69	C	H	MeAcr	H	H
70	D	Ac	H	H	H
71	E	Ac	MeAcr	Et	H
72	F	Et	MeAcr	H	H

Por otro lado, la glaucólida B(73) aislada de *Vernonia eremophila* Mari fue la responsable de la actividad molusquicida; además, presentó una fuerte actividad antimicrobial sobre *B. cereus* y moderada actividad sobre *S. aureus* [351].

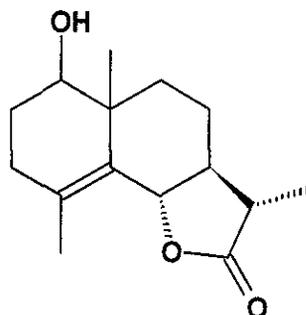


73

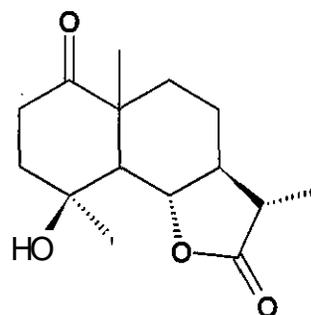
A este respecto, se ha estudiado el efecto que tienen tres lactonas sesquiterpénicas sobre la inhibición del edema inducido por carragenina. M.C. Zafra-Poio y colaboradores[34], informan que barrelierina(74), artemalina(75) y barrelina(76), aisladas de *Artemisa barreüeri* Besser, redujeron el edema inducido por carragenina; en particular, el compuesto 76 fue el que presentó el mayor efecto 33 % a 15 mg/Kg, alrededor del 50 % a 30 mg/Kg y cerca del 80 % con 90 mg/Kg de peso.



74

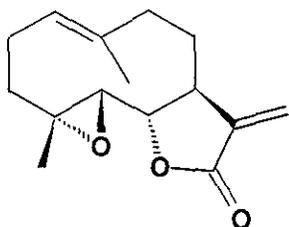


75

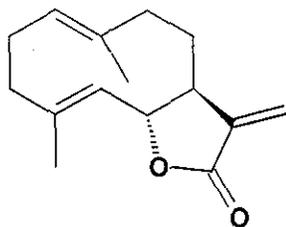


76

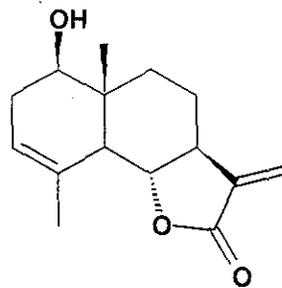
Asimismo, de *Michelia compressa* se aislaron las siguientes lactonas sesquiterpénicas: partenólida (77), costunólida (78), santamarina (79), reinosina (80) las cuales demostraron tener actividad citotóxica [78].



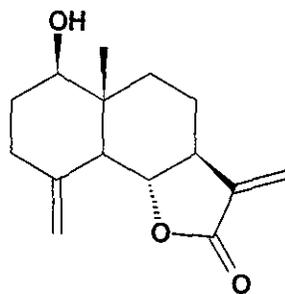
77



78



79



80

Dado que las glaucólidas D y E, así como algunos de sus derivados, presentan gran semejanza estructural con lactonas sesquiterpénicas que han demostrado tener alguna actividad biológica, se propuso llevar a cabo la evaluación del efecto antiinflamatorio de éstas, mediante el modelo de inhibición de la inflamación inducido por TPA (13-acetato de 12-0-tetradecanoilforbol) en oreja de ratón. Es importante recordar que el proceso inflamatorio es un conjunto de mecanismos involucrados en la respuesta del cuerpo frente a una agresión, encaminada a eliminar al agente agresor y reparar el daño. El proceso de

inflamación forma parte del mecanismo de defensa inmune del organismo y como tal, es normal que se presente para beneficio del individuo. Cuando este proceso se prolonga en forma indebida, puede dar lugar a daño tisular y manifestaciones clínicas importantes [41-49]. A su vez, la inflamación se puede dividir en tres fases: aguda, respuesta inmunitaria y crónica. **La inflamación aguda**, constituye la respuesta inicial a la lesión tisular, causada por factores endógenos (fractura de un hueso, necrosis del tejido, etc.) y por factores exógenos, los cuales incluyen varios tipos de daños, tales como daños físicos o mecánicos (quemaduras, cortadura), daños químicos (exposición a sustancias corrosivas), daño biológico (infección por microorganismos) y daño inmunológico (reacciones de hipersensibilidad). **La respuesta inmune**, se origina cuando las células inmunitariamente competentes se activan en respuesta a microorganismos o sustancias antigénicas extrañas, liberadas durante las respuestas aguda o crónica. La falta de una oportuna resolución del proceso inflamatorio por persistencia del antígeno o agente agresor dentro de los tejidos, da lugar a **la inflamación crónica** que llevará irremediablemente al daño permanente de los tejidos, por ejemplo la artritis reumatoide, gota, asma, tuberculosis, linfogranuloma venéreo, etc.

Las características clínicas clásicas que comprende la respuesta inflamatoria son rubor, calor, dolor y pérdida eventual de funciones del área afectada [50].

Los compuestos evaluados fueron 54, 55, 56, 63, 63. Se tomó a la Indometacina (81) como el compuesto antiinflamatorio de referencia (DE<sub>50</sub>=0.20mg). Los compuestos 54, 55, 56, 63, 63 presentaron una relación

lineal dosis-efecto (Gráfico 1). En la Tabla 7, se presentan los valores de  $DE_{50}$  obtenidos de la evaluación antiinflamatoria de los compuestos 54, 55, 56, 62, 63.

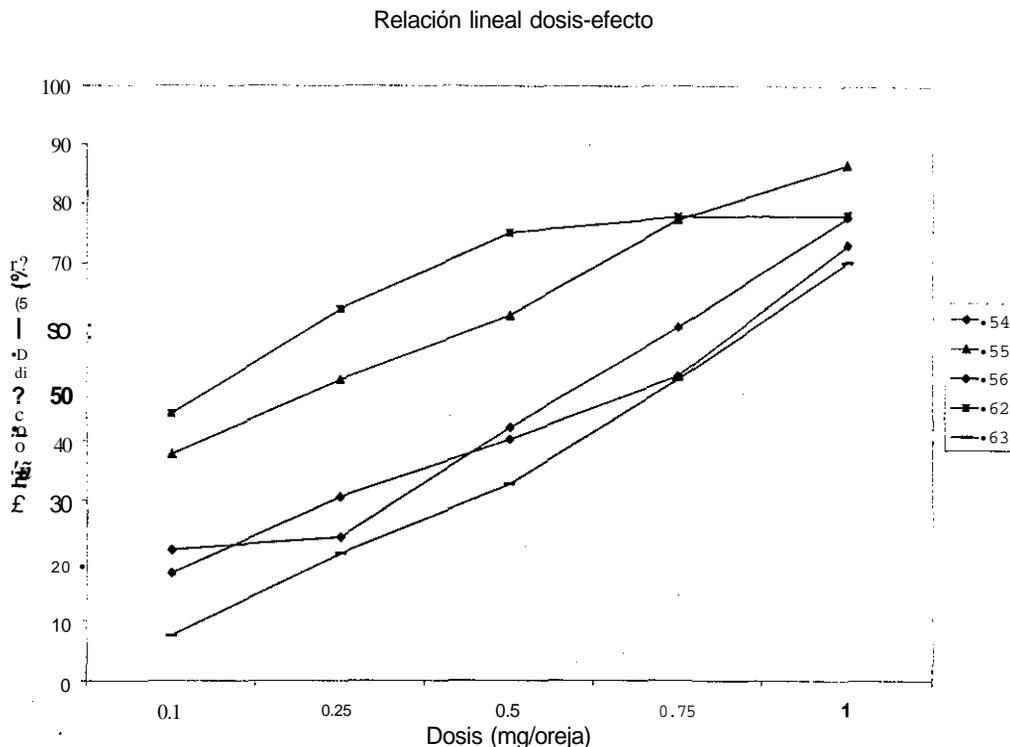


Gráfico 1- Relación lineal dosis-efecto de los compuestos evaluados.

En esta tabla, se puede observar que el compuesto que presenta una  $DE_{50}$  menor, por consiguiente el más potente, es el compuesto 62 (0.12 mg), mientras que el menos potente fue el 54 (0.66 mg). La  $DE_{50}$  para el compuesto 55 fue de 0.21 mg. Si se compara la estructura de 54 con 55 y la dosis efectiva 50, se puede inferir, que el cambio de sustituyente en la posición 8 tiene una influencia significativa sobre el efecto antiinflamatorio. Cabe señalar que para el caso del compuesto 54 (glaucólida D), esta posición se encuentra ocupada por un epoximetacrilato y en el caso de 55 (glaucólida E) por un metacrilato. Es

importante mencionar que estos resultados fueron estadísticamente significativos al someterse a un análisis de *t* de student. Por otro lado, mediante el análisis estadístico [57] y las pruebas de *t* de student y Dunnett, se demostró que no hay diferencia significativa en cuanto al efecto mostrado por los compuestos 55 y 64, a la dosis de 1 mg por oreja. De igual manera, el análisis estadístico mostró que si existe una diferencia significativa sobre el efecto evaluado del compuesto 56, con respecto al de la glaucólida E. De acuerdo con los resultados obtenidos, se propone que el efecto antiinflamatorio de este tipo de moléculas está íntimamente relacionado con el tipo de sustituyente presente en la posición 8 de la estructura general de las glaucólidas. Por medio de un análisis de varianza (ANADEVA), se pudo determinar que existen diferencias significativas en el efecto observado, tanto de las glaucólidas D y E, así como de los derivados.

En la Tabla 8 se presentan los valores de porcentaje de inhibición del edema, así como el error estándar para cada valor a las dosis evaluadas, tanto de las glaucólidas 54 y 55, así como de los compuestos 56, 62 y 63.

Tabla 7.- Datos de DE<sub>50</sub> de los compuestos 54, 55, 56, 63, 63.

PRODUCTO	DOSIS(Mg/oreja)	INHIBICIÓN DE EDEMA(%)	DOSIS EFECTIVA 50 (mg/oreja)
54	0.10	21.77	0.66
	0.25	23.81	
	0.50	42.19	
	0.75	59.18	
	1.0	77.64	
55	0.10	37.74	0.21
	0.25	50.36	
	0.50	61.76	
	0.75	77.20	
	1.0	86.52	
56	0.10	17.9	0.56
	0.25	30.56	
	0.50	40.17	
	0.75	50.95	
	1.0	72.93	
62	0.10	44.6	0.12
	0.25	62.30	
	0.50	75.0	
	0.75	77.7	
	1.0	78.04	
63	0.10	7.48	0.62
	0.25	21.09	
	0.50	32.65	
	0.75	50.34	
	1.0	70.06	
Indometacina	0.05	26.35	0.20
	0.10	34.77	
	0.50	60.53	
	1.0	87.60	

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

Tabla 8.-Valores de porcentaje de inhibición para los compuestos **54**, **55**, **56**, **63**, **63**

Dosis mg/oreja	COMPUESTO				
	54	55	56	63	54
0.1	21.01±4.3*	37.73±4.9*	17.89±3.8*	44.54±3.8*	11.67±2.7*
<b>0.25</b>	23.59±2.9*	50.36±5.8*	30.56±7.7*	62.3±4.7*	32.65±9.1*
<b>0.5</b>	42.14±8.0*	61.75±5.0*	40.17±4.1*	75.12±4.4*	32.46±5.2*
<b>0.75</b>	58.8±8.1*	77.2±4.6*	50.94±4.1*	77.7±4.1*	50.47±3.6*
1.0	57.15±6.5*	86.51±3.8*	72.92±4.07*	78.03±2.26*	71.07±4.44*

\* Error estándar

En los gráficos 2, 3, 4 y 5, que ha continuación se presentan, se muestran los valores de porcentaje de inhibición del edema, que presentaron cada uno de los compuestos evaluados a la dosis de 0.25, 0.55, 0.75 y 1.0 mg/oreja, respectivamente.

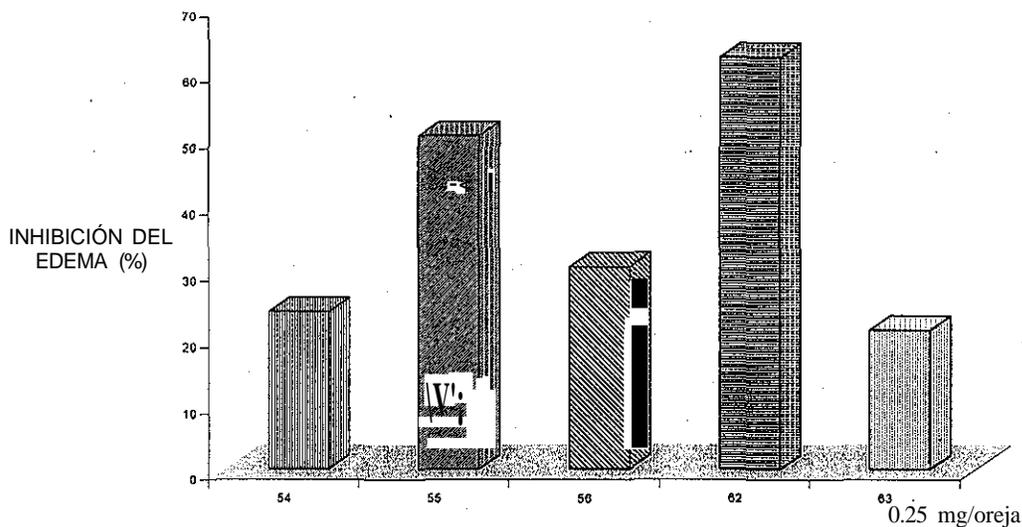


Gráfico 2.- Efecto antiinflamatorio a la dosis de 0.25 mg/oreja de los compuestos evaluados.

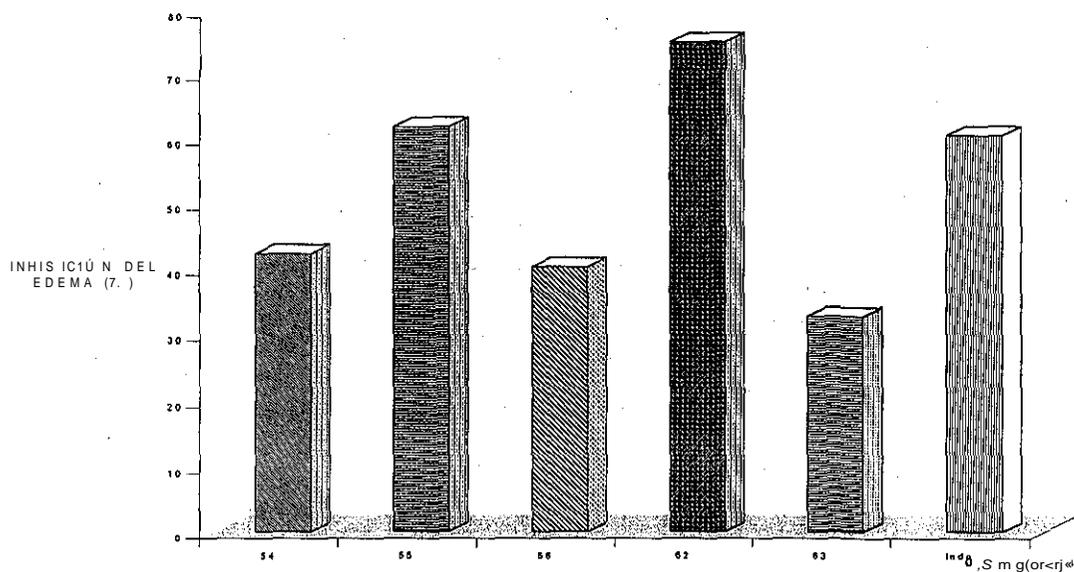


Gráfico 3.- Efecto antiinflamatorio a la dosis de 0.5 mg/oreja de los compuestos evaluados.

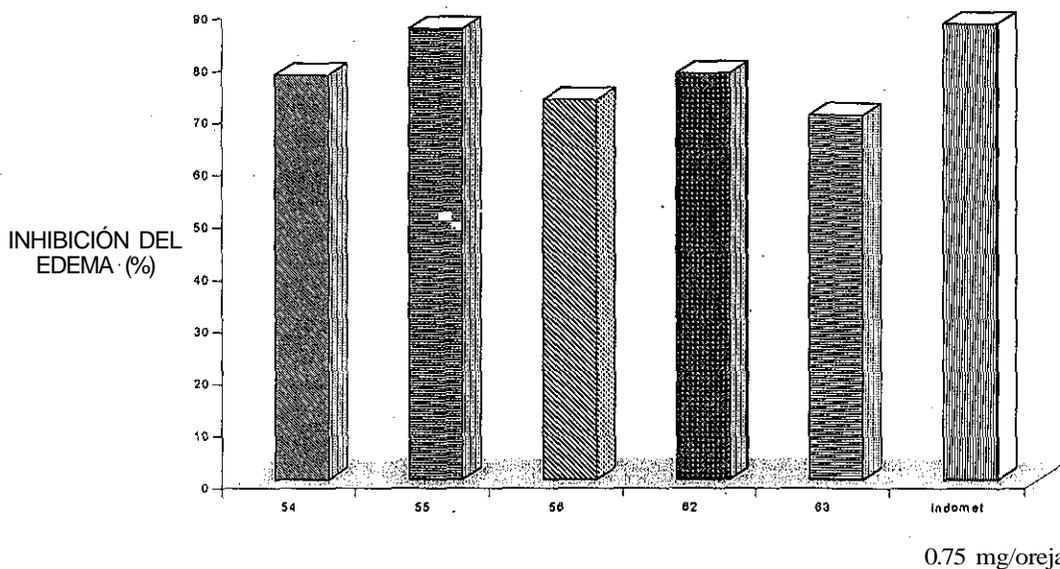


Gráfico 4.- Efecto antiinflamatorio a la dosis de 0.75 mg/oreja de los compuestos evaluados.

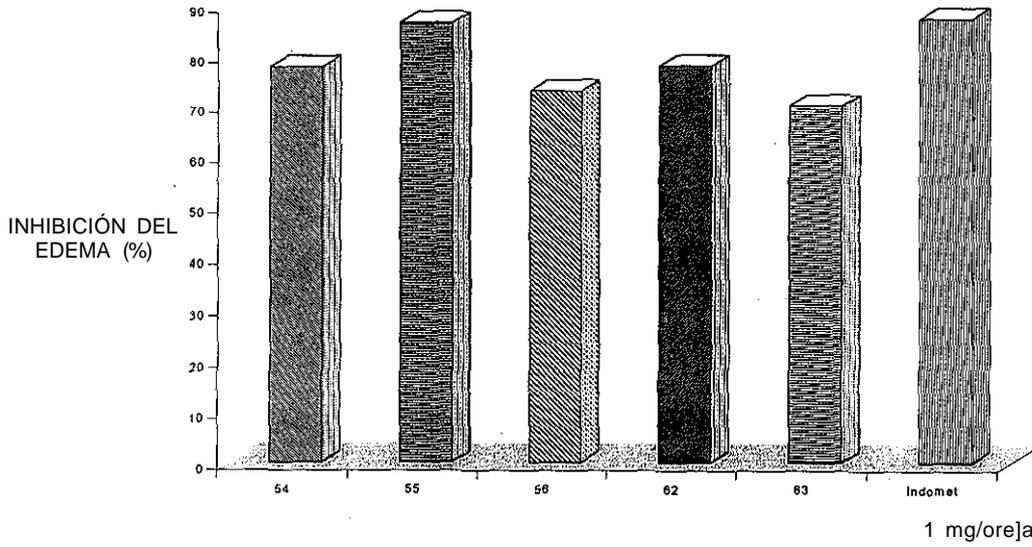


Gráfico 5.- Efecto antünflamatorio a la dosis de 1.0 mg/oreja de los compuestos evaluados.

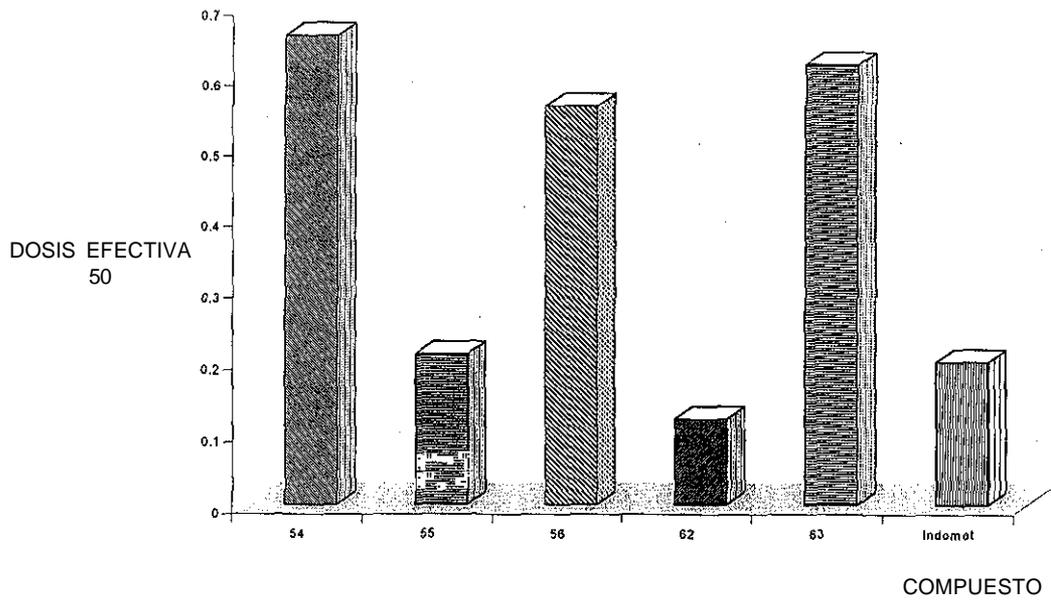


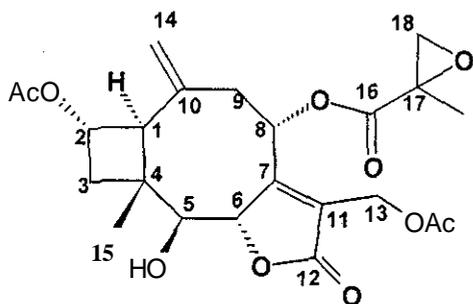
Gráfico 6.- Dosis Efectiva 50 de los compuestos evaluados.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

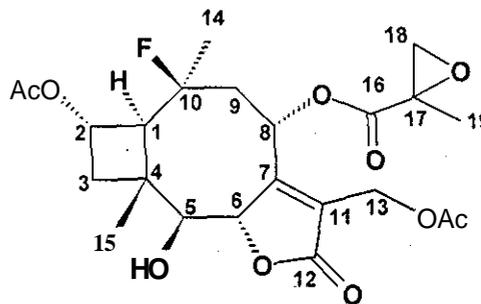
En las tablas 9 y 10 se muestran los datos espectroscópicos obtenidos de Resonancia Magnética Nuclear de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$  respectivamente de todos los compuestos obtenidos de las reacciones de delación.

Tabla 9.- Datos de Resonancia Magnética Nuclear  $^1\text{H}$

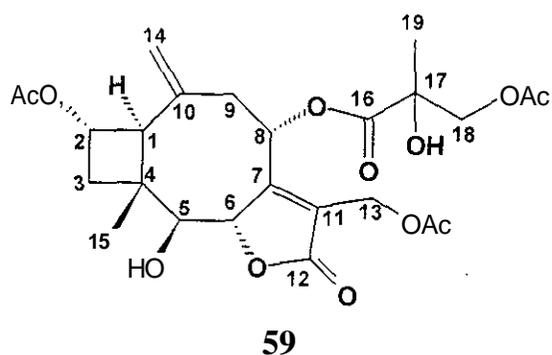
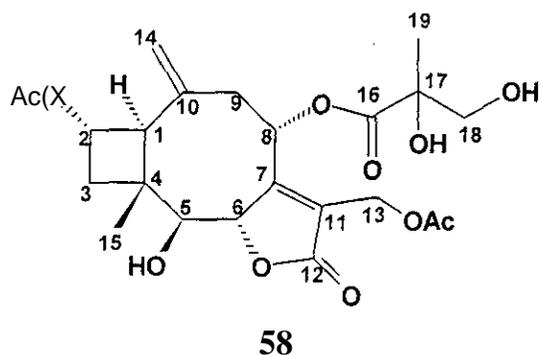
PROTON	COMPUESTO)		
	56	57	58
1	2.48, d, $J=8.5$ Hz	1.90, d, $J=9$ Hz	2.54, $J= 8.4$ Hz
2	5.25 dd $J=8.0, 8.0$ Hz	5.23, d, $J=8.1$ Hz	5.30, d $J=8.4$
3	2.28, dd, $J=11.6, 8.0$ Hz	2.32, sa	2.29,dd $J=7.5, 12$ Hz
3	1.90, dd $J= 11.6,8.0$ Hz	1.81, dd, $\sigma'= 8.4,11.5$ Hz	1.9,dd, $J=8.1,11.7$ Hz
5	3.37, d $J= 8.0$ Hz	3.27, d $J= 8.1$ Hz	3.40, d $J=8.1$ Hz
6	4.98, d $J=8.2$ Hz	5.14, d $J=8.4$ Hz	5.0, d $J=7.8$ Hz
8	5.26, d $J= 12.2$ Hz	5.62, m	5.40, m $J=10.2$ Hz
9	2.84,dd $J=13.4, 12.2$ Hz	2.52, m	3.02, dd, $J=13.2, 11.1$ Hz
9	2.72, d $J=13.4$ Hz	2.45, m	2.73, d, $J=13.5$ Hz
13a	4.82, d $J= 13.0$ Hz	4.76, d $J= 12.9$ Hz	4.88, d, $J=13.8$ Hz
13b	4.94, d $J=13.0$ Hz	4.93, d $J= 12.9$ Hz	5.10, d $J=13.8$ Hz
14a	5.17, sí	1.33, d, $J=21.3$ Hz	5.18, sa
14b	5.22, sa		5.23, sa
15	1.14, s	1.53, s	1.16, s
18a	3.10, d $J= 5.7$ Hz	3.10, d $J= 5.7$ Hz	3.59, d, $J=11.4$ Hz
18b	2.78, d $J= 6.0$ Hz	2.78, d $J= 5.7$ Hz	3.70, d $J=11.4$ Hz
19	1.54, s	1.50, s	1.33 s
AcO	2.01, s	2.01, s	2.01, s
AcO	2.10, s	2.10, s	2.12, s



56



57



Continuación Tabla 9

PROTÓN	COMPUESTO		
	59	60	61
1	2.52, d J=8.4 Hz	2.06, m	2.52, d, J=8.4 Hz
2	5.30, dd, J=8.1Hz	5.27, m	5.25 dd, J=8.1 Hz
3a	1.91, dd J=8.1,11.7Hz	1.81, dd J=8.1, 11.5 Hz	1.88, m
3p	2.30, dd, J=7.5, 11.7 Hz	2.32, dd J=8.1, 11.4HZ	2.28 <sup>^</sup> , <sup>^</sup> =7.8,11.8Hz
5	3.39 d J=8.1 Hz	3.29, dJ= 8.1 Hz	3.35 d, J=8.0 Hz
6	5.01, d J=8.1 Hz	5.23, 6J= 8.1 Hz	5.07, d, J=8.1 Hz
8	5.38, dJ= 10.5 Hz	5.62, d J= 8.4 Hz	5.20, m
9	2.74,d J=12.67Hz	2.42, m	2.87, m
9	2.95, dd J=10.8y 13.5Hz	2.55, d J= 9.6 Hz	
13a	4.77, d J=13.5 Hz	4.75, dJ= 12.6 Hz	4.80, d, J= 12.9 Hz
13b	4.82, d J=13.5Hz	4.90, dJ= 12.6 Hz	4.90 d, J= 12.9 Hz
14-H	5.19, sa	1.34, d, J=21.3Hz	5.17, sa
14-H	5.24, sa		5.26, sa
15	1.17, s	1.49, s	1.17, s
18a	3.36, s	5.65, s	5.66, sa
18b		6.10, s	6.11, sa
19	1.47, s	1.90, s	1.92, s
AcO	2.01, s	2.19, s	1.98, s
AcO	2.12, s	2.06, s	2.02, s

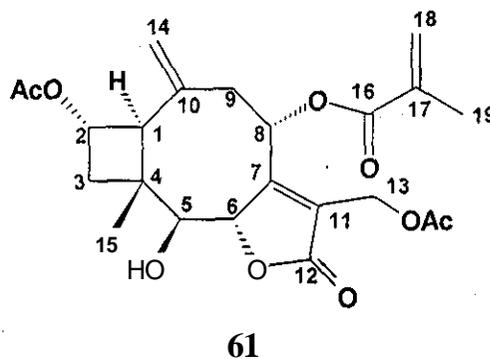
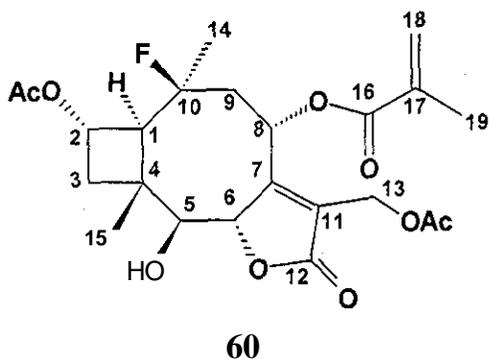


Tabla 10.-Datos de resonancia magnética nuclear de  $^{13}\text{C}$

CARBONO	COMPUESTO			
	56	57	58	59
1	52.8	52.9	52.5	52.7
2	64.8	65.1	65.4	64.9
3	40.1	41.0	40.4	40.4
4	37.6	38.8	37.5	37.7
5	87.5	86.7	87.5	87.6
6	84.7	84.7	84.5	84.7
7	162.8	163.4	161.5	161.6
8	71.0	66.4	71.0	64.9
9	44.0	46.4	42.9	43.6
10	138.0	92.5	138.2	138.0
11	128.0	127.9	128.7	128.6
12	169.6	169.8	170.1	170.2
13	56.1	56.0	56.4	56.1
14	117.0	17.6	116.9	117.0
15	16.5	18.1	16.3	16.3
16	170.3	170.3	170.6	170.2
17	53.3	53.5	75.8	73.9
18	52.9	53.4	68.3	68.9
19	17.1	17.0	16.3	16.4

Continuación Tabla 10

CARBONO	COMPUESTO	
	60	61
1	55.6	52.18
2	65.7	64.7
3	41.1	40.1
4	38.8	37.9
5	86.8	87.6
6	65.7	85.0
7	164.9	164.4
8	84.8	70.7
9	46.6	44.7
10	94.1	138.3
11	128.6	127.1
12	170.3	170.2
13	55.9	56.0
14	25.1	116.8
15	17.5	16.6
16	170.2	169.3
17		
18	126.4	127.1
19	18.1	18.0

# ***CONCLUSIONES***

---

- **CONCLUSIONES**

- > Las glaucóiidas D y E generaron los productos 54, 55, 56, 62 y 63 a partir de reacciones de cicización usando  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$  y TAFF.
- > El mecanismo de reacción propuesto esta de acuerdo con la estructura y estereoquímica de los compuestos obtenidos.
- > En el laboratorio de pruebas biológicas, se determinó la dosis efectiva 50 (DE50) tanto de las glaucóiidas D y E, así como de los compuestos 56, 62 y 63 por medio del modelo de inhibición del edema inducido por TPA en oreja de ratón.
- > Se encontró que los compuestos evaluados presentan una relación lineal dosis-efecto.
- > Por medio del análisis de varianza y de la prueba de Dunnet se determinó que los compuestos 54 y 55 presentan diferencias significativas en la inhibición del edema, asi como también entre 55 y 62.
- > Se observó la selectividad de la reacción de acetilación en el compuesto 59, al usar TAFF y Acetato de Etilo.

# ***REFERENCIAS***

---

## • REFERENCIAS

- 1.- M. Martínez, M. Pineda; *Secondary metabolites from Mexican plants: chemistry and biological properties*, 45, (1996).
- 2.- H.A. Gleason; *Amer. J. Bot.* 10, 187, (1923).
- 3.- A.L. Cabrera; *Darwiniana*, 64, 576, (1944).
- 4.- S.B. Jones, In Heywood V.H.(Editors) *The biology and chemistry of the Compositae*, Academic Press, N.Y, (1977).
- 5.- F., Bohlmann and J. Jakupovic, P1 *Syst. Evol.*, (suppl 4)3.
- 6.- S.B., Jones; *Rhodora*, 83, 59, (1981).
- 7.- C, Zedero, F., Bohlmann, F.D.C., Wasshausen, M.G., Mungat; *Phytochemistry*, 12, 4025, (1991).
- 8.- T.J. Marbry, Z. Adbel-Baset, W.G., Pandolina, S.B., Jones; *Biochem. System. Ecoj.*, 2, 185, (1975).
- 9.- M. Martínez, S. Sepúlveda, M.A. Belmont, M. Rubio, P. Joseph-Nathan; *J. Nat Prod.*, 55, (7), 884, (1992).
- 10.- M., Martínez; *Implicaciones quimi taxonómicas de las transformaciones de glaucólidas en hirsutinólidas y cadinanóidas*, Tesis Doctoral, CINVESTAV, IPN, (1992).
- 11 - P.A., Tavormina, M.H. Gibbs; *J. Am. Chem. Soc*, 78, 6210, (1956)
- 12.- J. Mann, *Secondary metabolism*, Ed. Oxford University, Great Britain, (1980).
- 13.- J.B.-, Harborne; *Phytochemical Methods*, Ed. Chapman and Hall Ltd., (1976).
- 14.- N. H., Fischer, E.J. Oliver, H.D. Fischer; *Prog.chem. org. nat prod.*, Springer-Verlag, New York, vol 38, 1979.
- 15.- N.H., Fischer; *Rev. Latinoamer. Quim.*, 9, 41, (1978)
- 16.- G.H., Neilt, H.A., Stafford; *Recent advances in phytochemistry*, Plenum Press, New York vol 24, Chapter 4.
- 17.- S.H., Talapatra, A., Patra, B. Talapatra; *Chem. Commun.*, 1534, (1970).
- 18.- M., Ogura, G.A., Cordell, N.R., Farnsworth; *Phytochemistry*, 17, 957, (1978).

- 19.-T.R., Govindachari, B.S., Joshi, V.N., Kamat; *Tetrahedron*, 21, 1509, (1965).
- 20.- F.J., Parodi, F.R., Fronczek and N.H. Fischer; *J. Nat Prod*, 52, 554, (1989).
- 21.-A., Ortega, E., Maldonado; *Heterocycies*, 29, 635, (1989).
- 22.- M., Salmón, G., Penieres, R., Miranda, C, Alvarez; *J. Heterocyclic Chem.*, 18, 1475, (1981).
- 23.- M., Jiménez, A., Ortega, A., Navarro, E., Maldonado; *J. Nat. Prod.*, 58, (3), 424, (1995).
- 24.- J.H., Wilton, R.W., Dосkotch; *J. Org. Chem.*, 48, 4251, (1983),
- 25.- N.H., Fischer, Y., Wu-Shih, G., Chiari, F.R., Fronczek, S.F., Watkins; *J. Nat. Products*, 44, 104, (1981).
- 26.- S.K., Talapatra, A., Patra, B., Talapatra; *Phytochemistry*, 12, 1827, (1973).
- 27.- E., Tsankova, S., Cerrini, D., Lamba; *Tetrahedron*, 39, 3397, (1983).
- 28.-A., García-Granados, M. Molina, E., Cabrera; *Tetrahedron*, 42, 81, (1986).
- 29.- M., Yoshihara, C, Yang, C, Zheng; *Chem. Pharm. Bull*, 34, (1), 434, (1986).
- 30.-A.G., González, A., Galindo, H., Mansüla; *Tetrahedron*, 36, 2015, (1980).
- 31.-J.K., Sutherland; *Tetrahedron*, 30, 1651, (1974).
- 32.-R.W., Dосkotch, S.L., Keely Jr.; *Phytochemistry*, 47, 769, (1975).
- 33.-H., Shibuya, Y., Hamamoto, Y., Cai, I., Kitagawa; *Chem. Pharm. Bull*, 35, (2), 924,(1987).
- 34.- M.C., Zafra-Polo, M.A., Blázquez, *Phytotherapy Research*; 5, (2), 91, (1991).
- 35.- M.C.B.V., Alarcón, L.J. Callegari, W. Hertz; *Planta Med.*, 56, 271, (1990).
- 36.- Y.lino, A., Tanaka, K., Yamashita; *Agr. Bio. Chem.*, 36, 2505, (1972).
- 37.- J. L, Hartwell, B.J., Abbott; *Advan. Pharmacol. Chemomether*, 7, 117, (1975).
- 38.- D. Warten, E.L, Gooden, M.J., Jacobson; *J. Pharm. ScL*, 58, 673, (1969).
- 39.- S.M., Kupchan, R.J. Hemngway, A. Karim, D. Warner; *J. Org. Chem*, 34, 3908,(1969).

- 40.- P.L., Cowall, J.M., Cassady, C, Ching-Jer, J.F. Kozlowski; *J. Org. Chem*, 46, 1108,(1981)
- 41.- Rojas,-M, W.J., *Inmunología*, 7<sup>a</sup> , Ed. Corporación para la investigación Biológica LIB, Columbia, 1988.
- 42.- B.G. Katzung, D.E., Furst; *Basic clinical s pharmacology*, 7<sup>th</sup> Ed. Appleto & Lnge, USA, 1998.
- 43.-J.T., Wicher, S.W. Evans; An Overview of the inflamatory response, immunology and medicine, biochemistry of inflammation, Klower Academic Publishers, 1992.
- 44.- Goodman-Gilman A., Limbid, L.E., Goodman & Gilman's, *The pharmacological basis of therapeutics*, 9<sup>th</sup> Ed. McGraw-Hill, New York, 1996.
- 45.- C.P., Page, M.J. Cartis, M.C. Sutter, M.J.A. Walker, *Farmacología Integrada*, Hofman b.b., Harcourt Brace, España, 1998.
- 46.- J.R., Vane, R.M. Botting, *Mechanism ofaction of anti-inflammatory drugs, advances in experimental medicinal and biology, Recent advances in prostaglandin, tromboxane and leucotrieno research.*
- 47.- Minardade la O Arciniega, Tesis de Maestría en Ciencias Químicas (Química Farmacéutica), Facultad de Química UNAM, Octubre de 1999.
- 48.- R.H., Garret, C.M. Grísham; *Biochemistry*, Saenders Collage Publishing; 1995
- 49.- G.L., Zubay, W.W., Pearson, D.E. Vane, *Principies of biochemistry*; 2, Metabolism, W.C.B., USA, 1995.
- 50.- *Recent trends in research on inflammation and teatment of inflammatory diseases* PJB Publicattions Ltd 1991.
- 51.- Daniel Wayne, *Bioestadística, bases para el análisis de las ciencias de la salud*, 3 ed, Ed. LIMUSA, México D.F. 1999, pag. 824-831.
- 52.- D.S. Ramírez, *Actividad biológica y transposiciones de las glaucólidas D y E.*, Tesis de Licenciatura, Universidad Femenina de México, 1993.
- 53.- Deíla L.R., Tubaro A., Sosa S., Becker H., Saar St. Isaac O, *Planta Med.*, 60, 516,(1994).

# ***METODOLOGÍA***

---

- **Materiales y Equipo**

Los espectros de masas fueron determinados en un aparato JEOL JMS-SX102A, mediante la técnica de impacto electrónico a 70 eV.

La espectroscopia de RMN<sup>1</sup>H se realizó en un aparato Varian Gemini XR-300 a 300 MHz, utilizando disolventes deuterados y como referencia interna al tetrametilsilano. Los espectros de RMN<sup>13</sup>C se obtuvieron en un aparato Varian a 75 MHz. Para la elucidación estructural de algunas moléculas se recurrió a experimentos como NOESY, COSY, HETCOR, DEPT.

La espectrofotometría de infrarrojo se obtuvo en un equipo Perkin-Elmer 238-B.

Los puntos de fusión se determinaron en un aparato Fisher-Jones y no están corregidos.

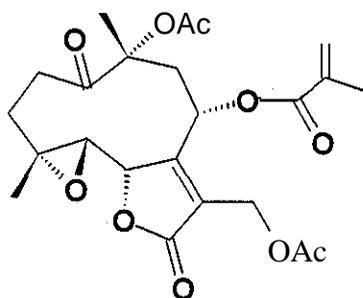
Para las pruebas antiinflamatorias se usaron ratones macho de entre 25 y 30 g de peso. El 13-Acetato de 12-O-tetradecanoílforbol (TPA), fue grado analítico.

- Aislamiento de las glaucólidas D y E de *Vernonia salicifolia*.

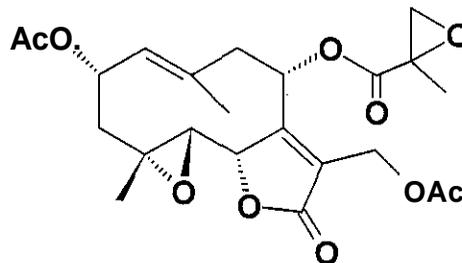
El material vegetal fue recolectado en Valsequillo Puebla, México. La parte aérea seca y molida de la planta (256 g) se extrajo sucesivamente con n-hexano, acetato de etilo y metanol. El extracto de acetato de etilo se concentró a presión reducida, obteniéndose 8.85 g de un polvo verdoso amorfo. Posteriormente, este polvo se fraccionó, utilizando para ello una columna cromatográfica empacada con gel de sílice. Como fase móvil se usó una mezcla de n-hexano-acetato de etilo (3:1). De esta columna se aislaron las glaucólidas A(53) (0.8 g), **D(54)** (2.95 g) y E(55) (1.2 g)[52-53]. La identificación de estos compuestos se logró mediante la comparación de sus datos físicos y espectroscópicos con aquellos publicados, así como por comparación con muestras auténticas.

El extracto metanólico se concentró a presión reducida, obteniéndose un polvo verde (2.3g) por precipitación con punto de fusión de 115-117°C.

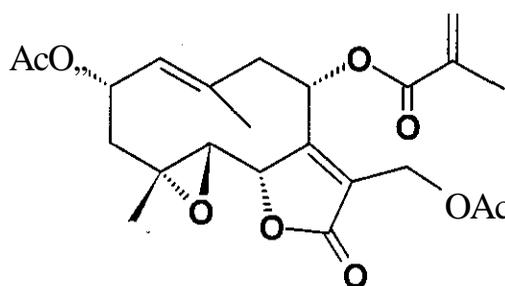
El extracto n-hexánico se purificó en columna obteniéndose un polvo blanco amorfo con punto de fusión de 70-71°C, y fue caracterizado como una cera.



Glaucólida A  
53



Glaucólida D  
54

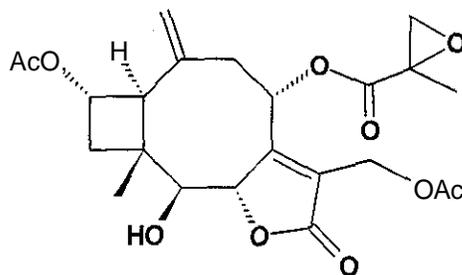


Glaucólida E  
55

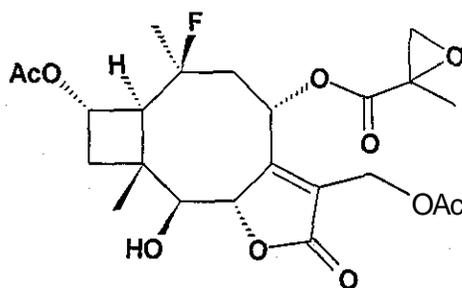
- Reacción de la glaucólida D con Trifluoruro de boro.

En 25 ml de diclorometano anhidro, se disolvieron 601.4 mg (1,3 mmol) de la glaucólida D y se colocaron bajo atmósfera de nitrógeno, a esta disolución se le adicionaron 6 ml de  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$  (47.3 mmol) recién destilado; la mezcla se mantuvo en agitación continua a una temperatura de  $-78^\circ\text{C}$  durante 1 hora. Posteriormente,

alcanzara la temperatura ambiente. El avance de la reacción se siguió por cromatografía en capa fina. Después de hora y media, se agregaron 20 ml de una disolución saturada y fría de bicarbonato de sodio, extrayéndose con acetato de etilo (3 X 10ml). La fase orgánica se secó con Sulfato de sodio anhidro y el disolvente se eliminó a presión reducida. La mezcla de reacción se fraccionó en una columna cromatográfica empacada con geí de sílice (60 mesh), para fo cual se uso una mezcla n-hexano/acetato de etilo (3:1) como fase móvil. De esta reacción se aislaron dos productos: **56** (8.8 %) con un punto de fusión de 217-219°C, y **57** (7.9 %) con punto de fusión 67-70°C.

**56**

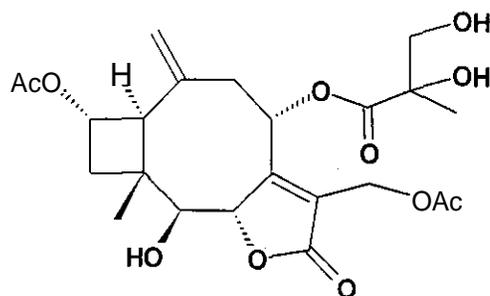
**(56):** EM IE (70 eV),  $m/z(\%ar)$ : 464(0.7) $M^+$ , 404(2.8), 344(2.1), 302(6.3), 242(81.6), 214(28.2), 190(44.3), 43(100); IR ( $CHCl_3$ )  $\nu_{max}$   $cm^{-1}$ : 3461, (hidroxilo), 1764 (lactona), 1740 (éster).

**57**

**(57):** EM IE (70 eV),  $m/z(\%ar)$ : 484(1.4) $M^+$ , 425(0.7), 368(1.4), 322(85.9), 293(4.22), 262(48.59), 43(100); IR ( $CHCl_3$ )  $\nu_{max}$   $cm^{-1}$ : 3460(hidroxilo), 1764(lactona), 1740(éster).

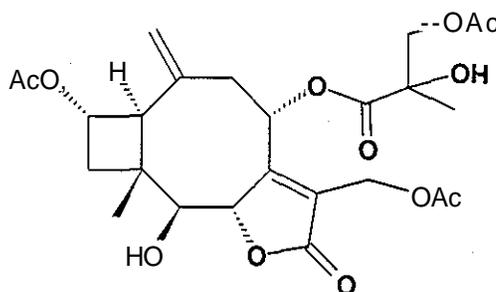
- Reacción de la glaucólida D con Tonsíl Actisil FF (TAFF).

En 25 ml de acetato de etilo anhidro, se disolvieron 408.3 mg de la glaucólida D; posteriormente, se adicionaron 4.6 g de TAFF activado, la mezcla se colocó en agitación continua en condiciones de reflujo durante 30 hrs. El avance de la reacción se siguió por cromatografía en capa fina. Posteriormente, la mezcla se filtró sobre celita. El filtrado se concentró a presión reducida. La mezcla de reacción se separó por cromatografía en columna, empacada con gel de sílice, utilizando una mezcla de n-hexano/acetato de etilo (7:3) como fase móvil. De esta reacción se aislaron los productos **58** y **59** con puntos de fusión de 210-212°C y 225-227°C y un rendimientos de 8.1 % y 6.8 %, para cada uno.



58

(58): EM IE (70 eV)  $m/z$ (%ar): 482(1.40) $M^+$ , 422(0.7), 302(5.6), 242(37.3), 214(15.5), 43(100); IR ( $CHCl_3$ )  $\nu$  max  $cm^{-1}$ : 1743(éster), 1765( $\gamma$ -lactona), 3597(hidroxilo).

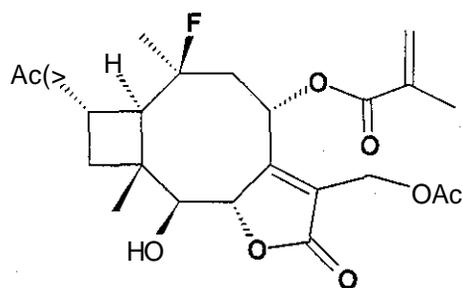


(59)

(59): EM IE (70 eV)  $m/z$  (%ar): 524(4.3)  $M^+$ , 507(0.7), 404(1.41), 302(5.6), 242(5.5), 232(7.8), 214(14.8), 43(100); IR, ( $CHCl_3$ )  $\nu$  max  $cm^{-1}$ : 3595.6, (hidroxilo), 1767, (lactona), 1743.1 (carbonilo de éster).

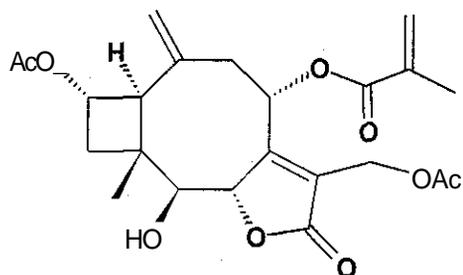
- Reacción de la glaucólida E con trifluoruro de boro.

Se disolvieron 900 mg de la glaucólida E (2mmol) en 25 ml de diclorometano anhidro colocándose en agitación continua a  $-78^\circ C$  y bajo atmósfera de nitrógeno. Posteriormente, se adicionaron 6 ml de  $BF_3 \cdot Et_2O$  (47.3 mmol) recién destilado, dejándose la reacción por espacio de 2 hrs hasta que adquiriera la temperatura ambiental. El avance de la reacción se siguió por cromatografía en capa fina. Posteriormente, se adicionaron al matraz de reacción 20 ml de disolución saturada y fría de bicarbonato de sodio, la mezcla de reacción se extrajo con acetato de etilo (3 x 10ml) luego se secó con Sulfato de sodio anhidro y concentró a presión reducida. La mezcla de reacción se purificó utilizando una columna de cromatografía empacada con gel de sílice y una fase móvil mezcla de n-hexano/acetato de etilo (3:1). De la reacción se aisló el compuesto 60 (11.6 %) con punto de fusión  $179-181^\circ C$ , y 61 (9.3 %) con punto de fusión de  $159-161^\circ C$ .



60

(60): EM IE (70 eV)  $m/z$ (%ar): 468(1.40) $M^+$ , 409(0.7), 348(2.11), 322(100), 302(14), 69(83.8); IR ( $CHCl_3$ )  $\nu$  max  $cm^{-1}$ : 3594.0(hidroxilo), 1763.79( $\gamma$ -lactona), 1738.5(carbonilo de éster).

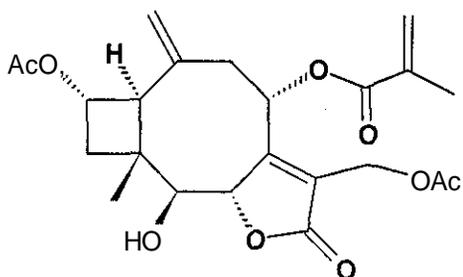


61

(61): EM IE (70 eV),  $m/z$ (%ar): 448(1.1) $M^+$ , 190(39), 69(100), 43(55); IR ( $CHCl_3$ )  $\nu$  max  $cm^{-1}$ : 3594(hidroxilo), 1763(lactona), 1738(carbonilo de éster).

• Reacción de la glaucólida E con TAFF.

A una muestra de 642 mg de la glaucólida E disuelta en 30 ml de acetato de etilo anhidro, se le adicionaron 5.05 g de TAFF activado, esta mezcla se mantuvo en agitación continua con temperatura de reflujo por espacio de 52 hrs. El avance de reacción se siguió por cromatografía en capa fina. Transcurrido este tiempo, la mezcla de reacción se filtró sobre celita, para posteriormente el filtrado ser concentrado a presión reducida. El aceite obtenido se purificó utilizando una columna cromatográfica empacada con gel de sílice. Se utilizó como fase móvil mezcla de n-hexano/acetato de etilo (3:1). De esta reacción se aisló el producto 61 (8.7%) con punto de fusión de 159-161 °C.

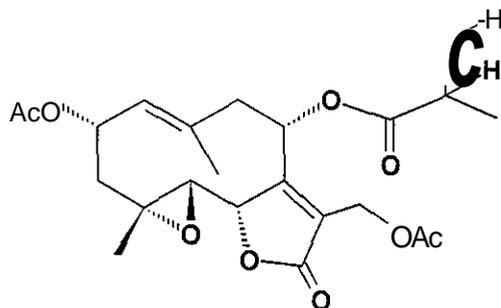


61

(61): EM IE (70 eV),  $m/z(\%ar)$ : 448(1.1) $M^+$ , 190(39), 69(100), 43(55); IR ( $CHCl_3$ )  $v$   $max\text{cm}^{-1}$ : 3594(hidroxilo), 1763( $\gamma$ -lactona), 1738(carbonilo de éster).

- Reacción de hidrogenación de la glaucólida E.

Se disolvieron 700 mg del glaucólida E en 50 ml de acetato de etilo anhidro, además de 103 mg de Pt/C. La mezcla se colocó en el hidrogenador por espacio de 72 hrs; Posteriormente, el disolvente se evaporó a presión reducida y el compuesto obtenido (62) se recrystalizó obteniéndose un polvo blanco (486 mg) con punto de fusión 167-170°C.

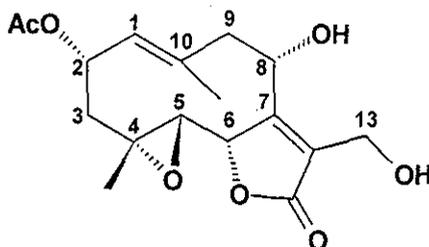


62

(62): RMN<sup>1</sup>H (300 MHz)  $CDCl_3$   $\delta$  (ppm): 1.36 (s, 3H, H-15), 2.01(s, 1H, -H-14), 2.45(d,  $J=9$  Hz, 1H, H-5), 2.58(dd,  $J=7,10$  Hz, 2H, H-3), 2.60(d,  $J=13$  Hz, 1H, H-9), 2.93(dd,  $J=11, 13$ , Hz, 1H, H2-9), 4.75(d,  $J=9$  Hz, 1H, H-6), 5.15(,  $J=10$  Hz, 1H, H-1), 5.02(d,  $J=13$  Hz, 1H, H2-13), 5.56(ddd,  $J=7,10,12$  Hz, 1H, H-2). EM IE (70 eV)  $m/z(\%ar)$ : 450(3.52) $M^+$ , 390(9.15), 331(3.5), 260(7.7), 242(7.7), 43(100). IR ( $CHC_b$ )  $v$   $max\text{cm}^{-1}$ : 3594(hidroxilo), 1763( $\gamma$ -lactona), 1738(carbonilo de éster).

- Reacción de la glaucólida D con Borohidruro de sodio.

Se disolvieron 660 mg de la glaucólida D en tetrahidrofurano (THF) anhidro (25 ml) y se le adiciono Borohidruro de sodio ( $NaBH_4$ ) (37.8 mg) colocándose posteriormente en agitación continua durante una hora y media. Después de este tiempo se adicionaron 20 ml de agua a la mezcla, esta se extrajo con diclorometano (3x1 Oml). La fase orgánica se secó con sulfato de sodio anhidro y se concentró a presión reducida. La mezcla de reacción se fraccionó mediante una columna de cromatografía empacada con gel de sílice (60 mesh), la cual fue eluída con una mezcla de acetato de etilo/n-hexano (2:1). De esta reacción se aisló la 8,13-didesacetilglaucólida D (320 mg) (63) con punto de fusión de 70-75°C.

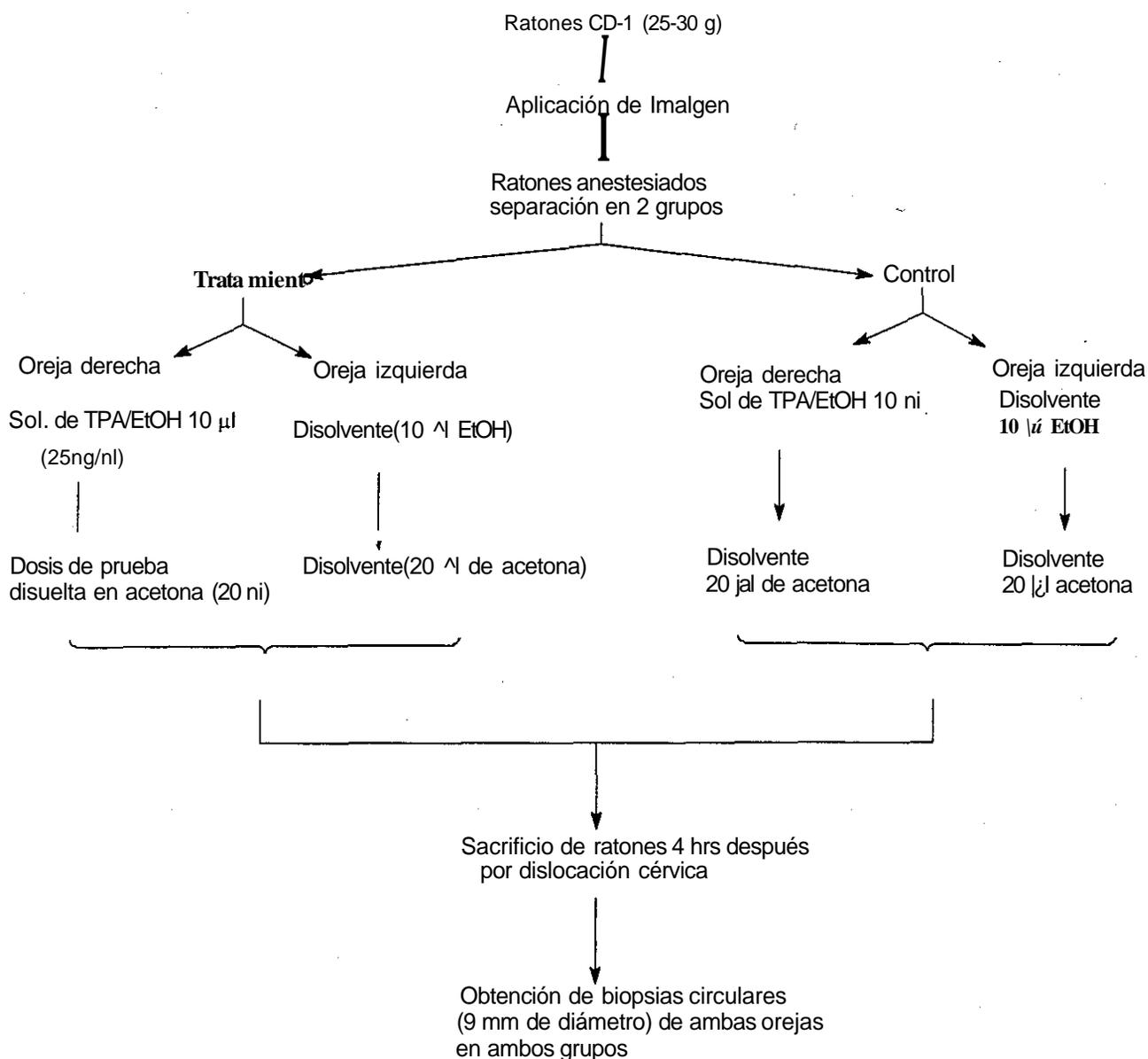


63

(63) RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz)  $\text{CDCl}_3$  6(ppm): 5.1 (d,  $J=10\text{Hz}$ , 1H, H-1), 5.57 (sm, 1H, H-2), 2.57(dd,  $J=2.6\text{Hz}$ , 2H, H-3), 2.46(d,  $J=6\text{Hz}$ , 1H, H-5), 4.63(d,  $J=6\text{Hz}$ , 1H, H-6), 4.29(dd,  $J=6.6\text{Hz}$ , 1H, H-8), 2.81(m, 2H, H-9), 4.5(d,  $J=8.8\text{ Hz}$ , 2H, H-13), 2.0(s, 3H, H-14), 1.4(s, 3H, H-15); EM (IE 70 eV)  $m/z(\%)$ :  $[\text{M}^+]$ 338(0.5), 320  $[\text{M}-18]$ , 43(100); IR ( $\text{CHCl}_3$ )  $\nu$  max ( $\text{cm}^{-1}$ ): 3650 (OH), 1776 (lactona), 1730 (éster);

• Evaluación de la actividad Antiinflamatoria.

La metodología para la inducción de edema en oreja de ratón producido por el 13-acetato de 12-O-tetradecanoilforbol (TPA), fue descrita por Della en 1994.[53] A continuación, se presenta en un diagrama de flujo la metodología seguida para la evaluación antiinflamatoria.



La disolución de TPA, se preparó disolviendo 2.5  $\mu$ g de 13-Acetato de 12-O-tetradecanoilforbol en 10  $\mu$ l de etanol.

El compuesto a evaluar se aplicó 10 minutos después de la inducción de la inflamación por TPA.

Las dosis evaluadas fueron las siguientes: 0.1, 0.25, 0.5, 0.75, 1.0 mg/oreja

La diferencia en peso entre ambas muestras genera una medida de la respuesta del edema.

El porcentaje de inhibición del edema está definido por la siguiente ecuación:

$$\% \text{ de inhibición} = (Cr - Ct) / (Cr \times 100)$$

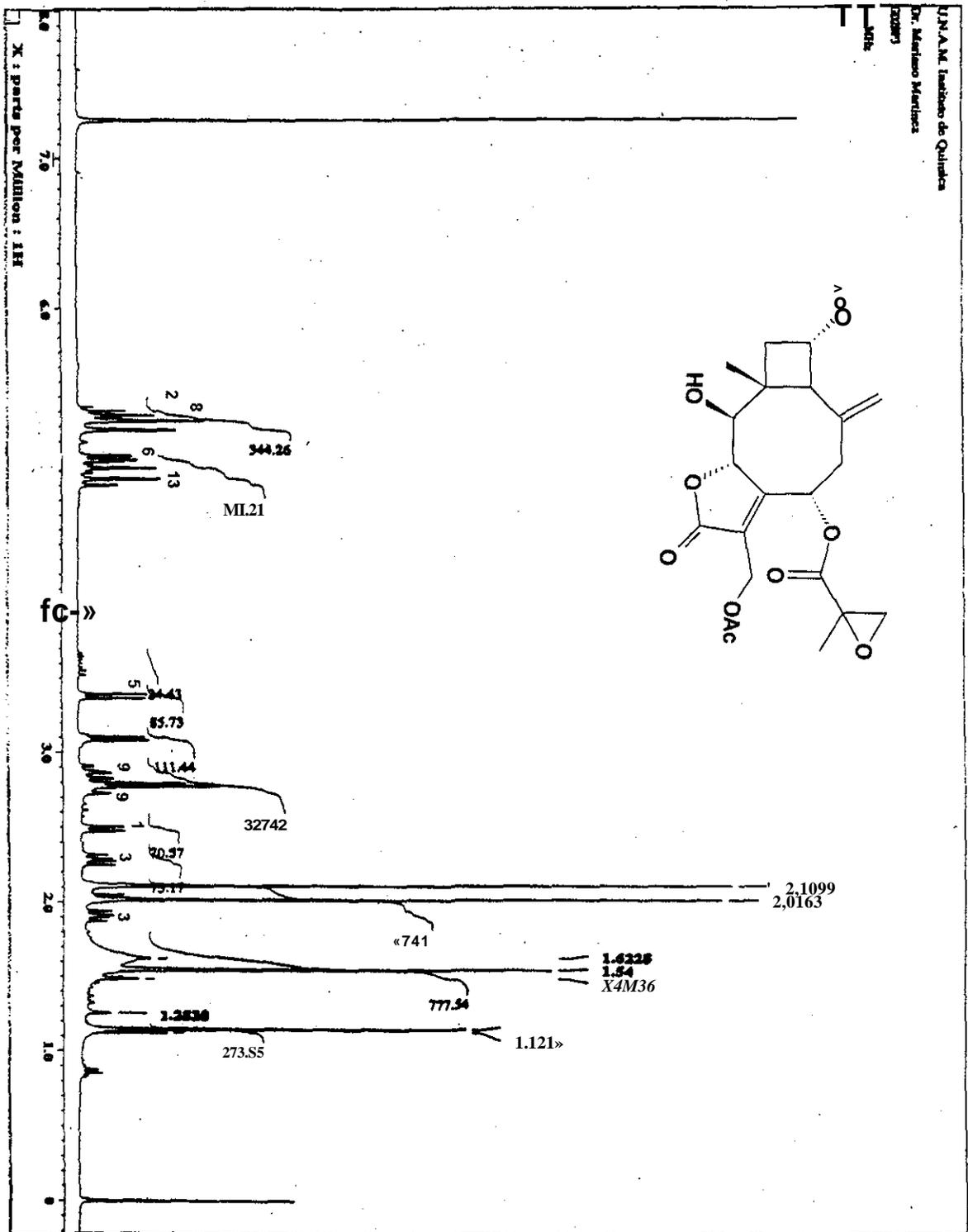
Los datos de inhibición del edema obtenidos se sometieron a un análisis de varianza, seguido por la prueba de Dunnett.

Los valores de dosis efectiva 50 (DE<sub>50</sub>) fueron calculados por medio de un análisis de regresión.

# ***APÉNDICE***

---

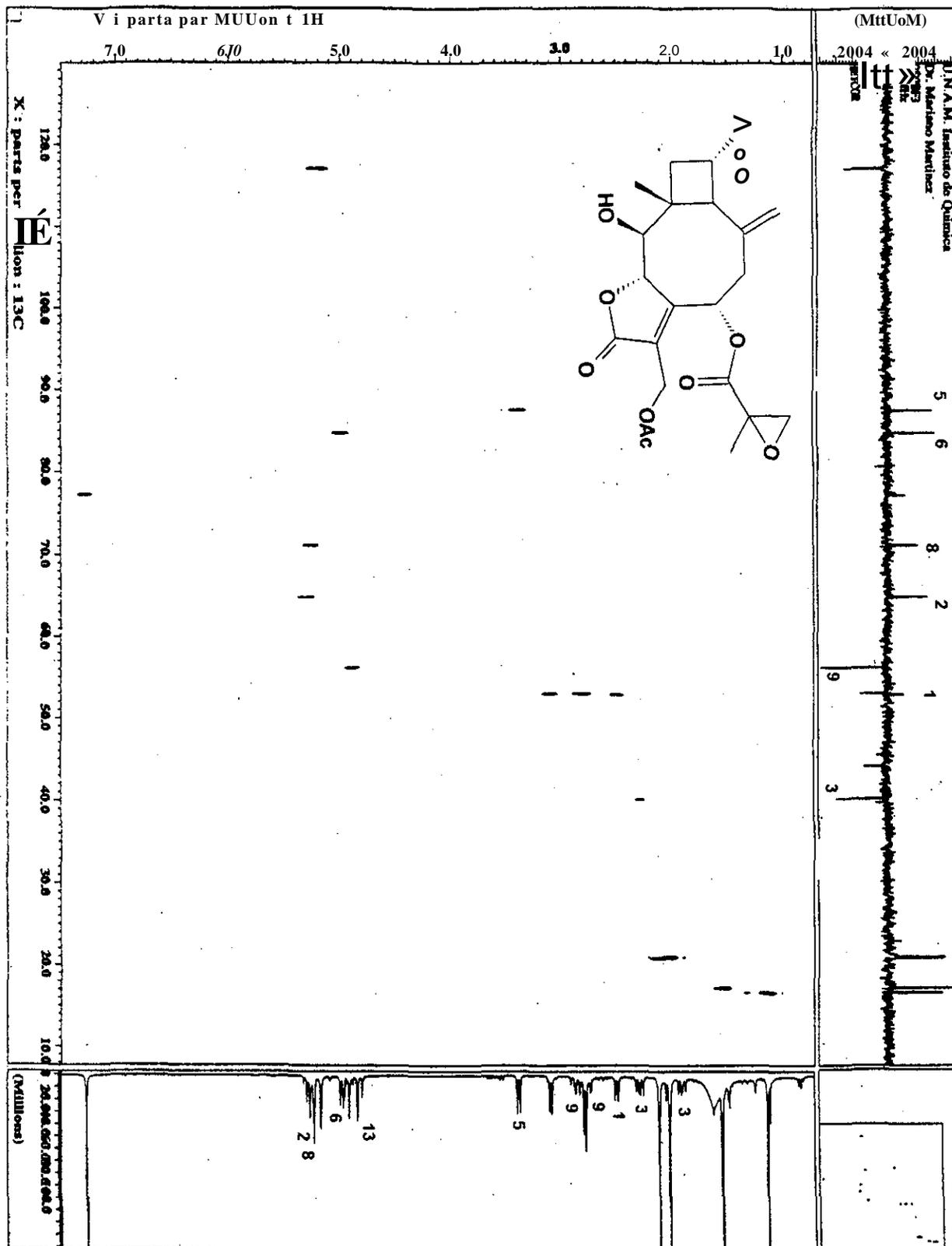




TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

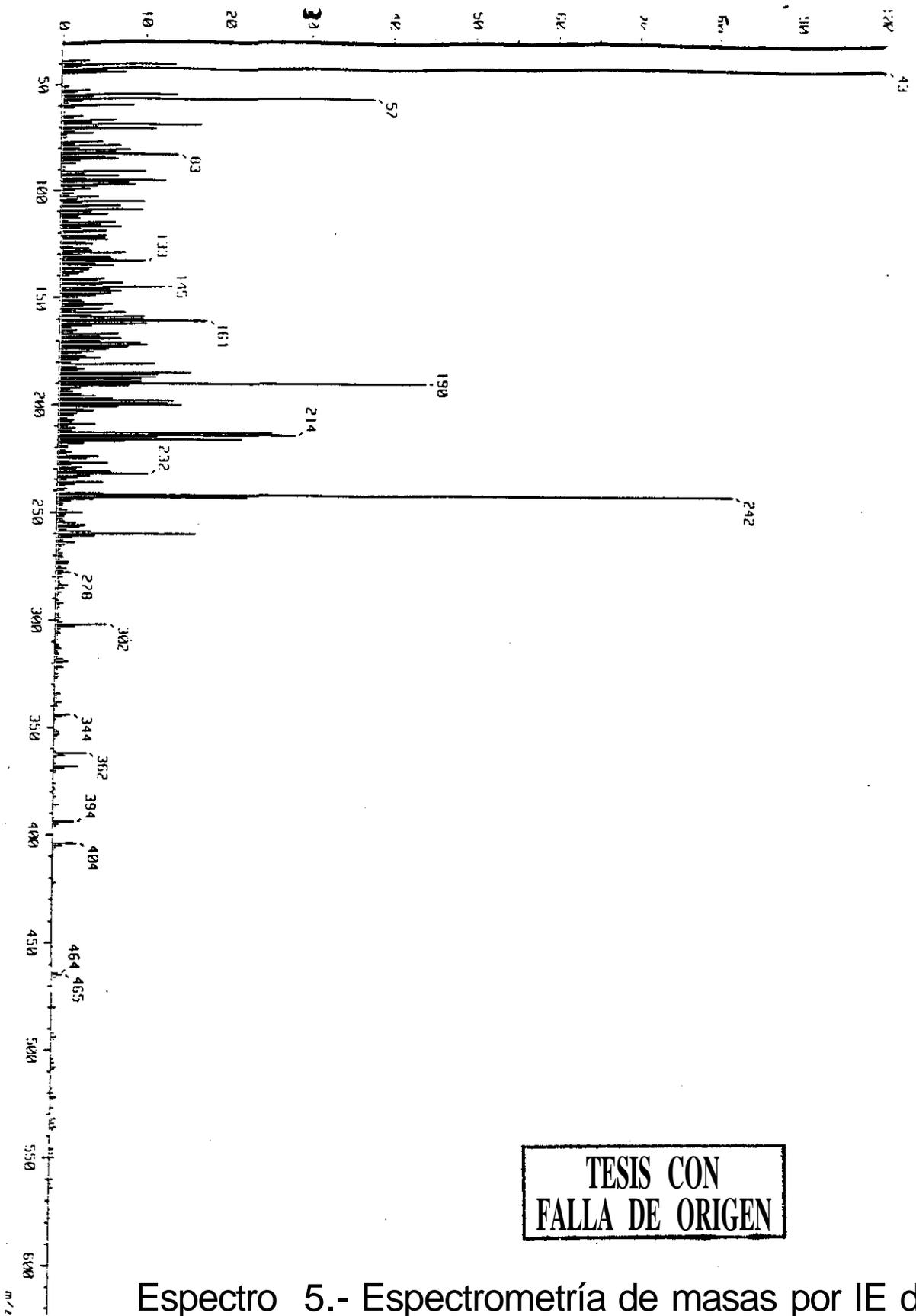
Espectro 2.- Resonancia magnética nuclear  $^1\text{H}$  de 56.





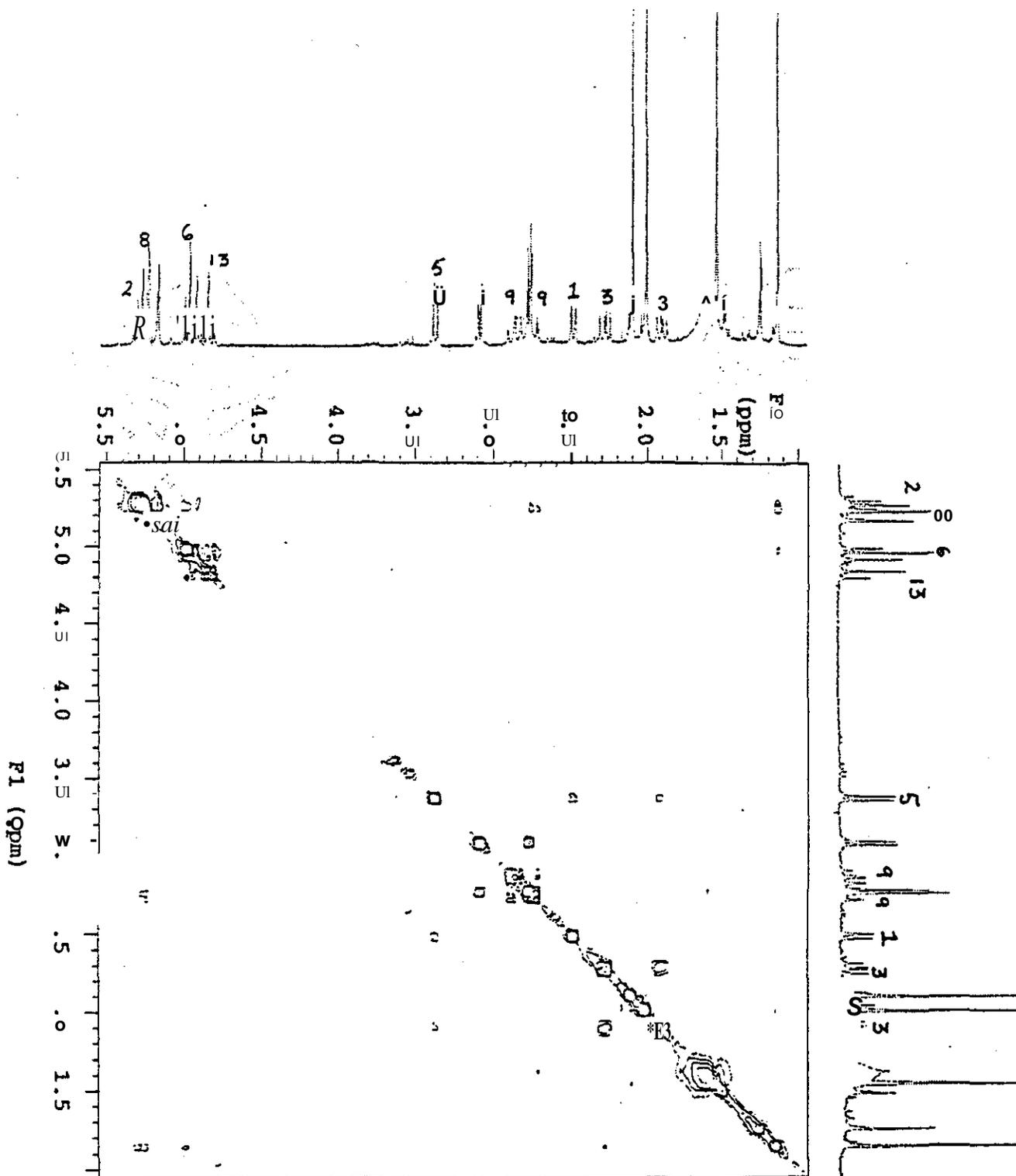
Espectro 4.- Experimento HETCOR de 56.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN



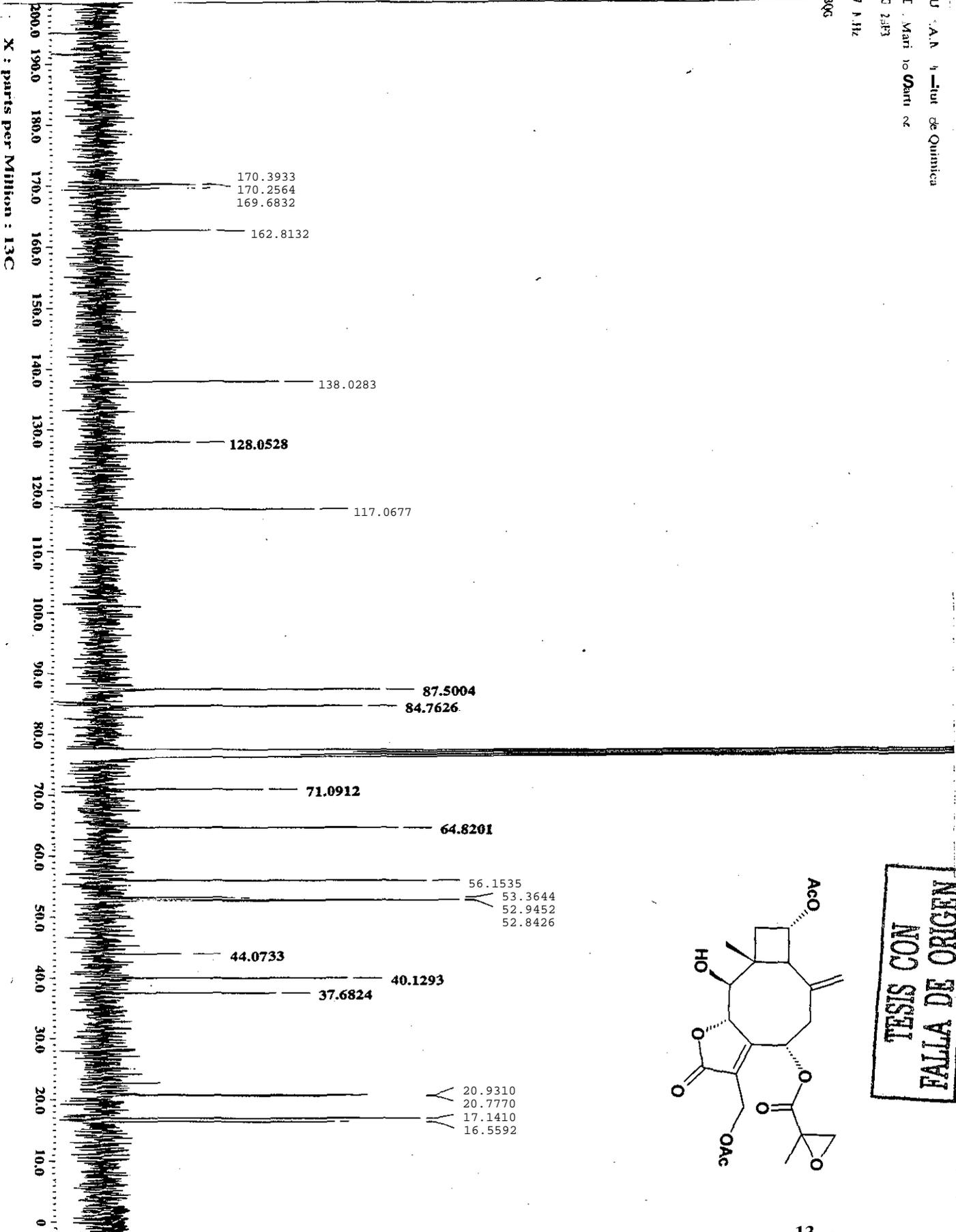
TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

Espectro 5.- Espectrometría de masas por IE de 56.



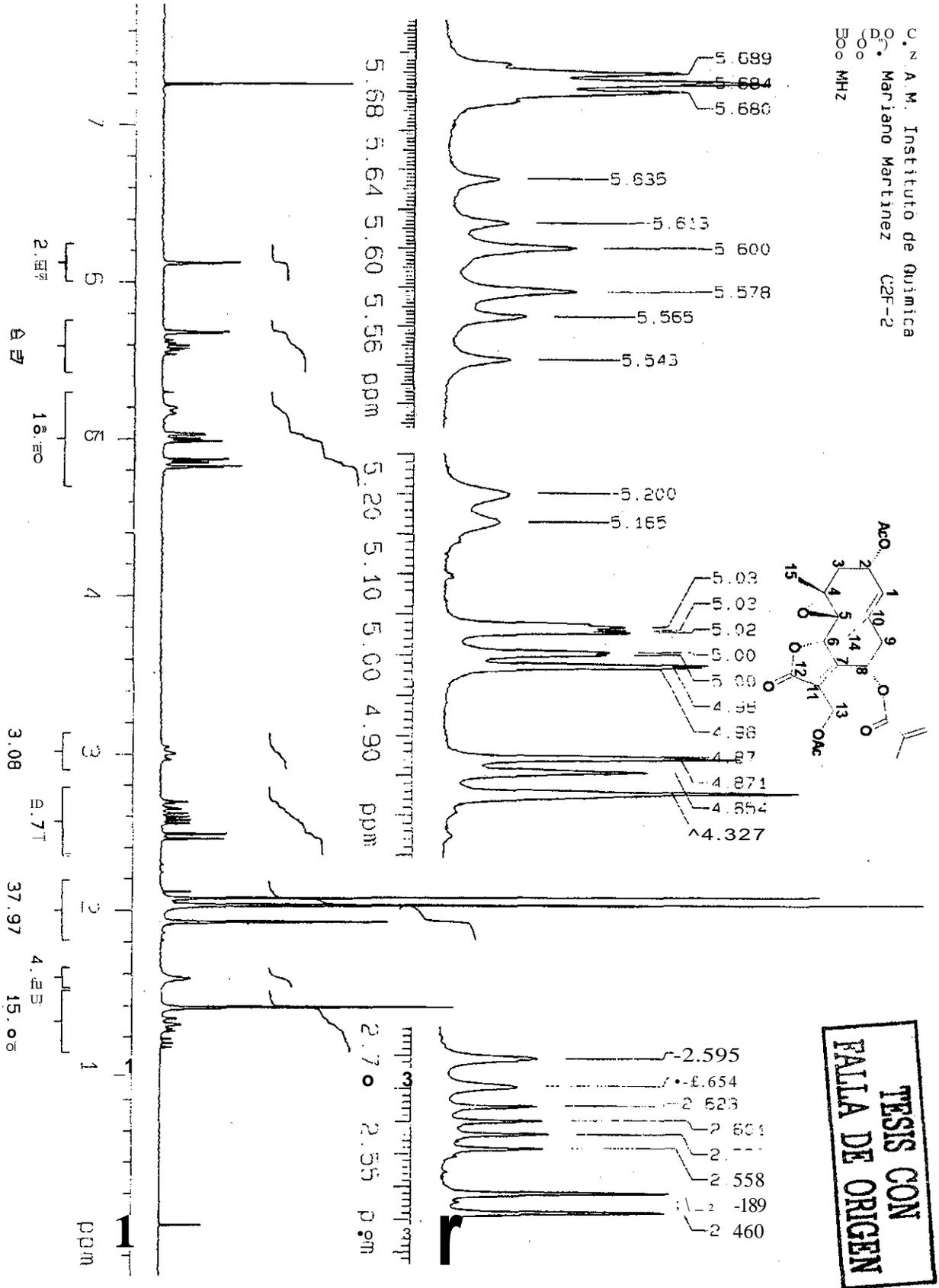
Espectro 6.- Experimento NOESY de 56.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN



TESIS CON  
 FALLA DE ORIGEN

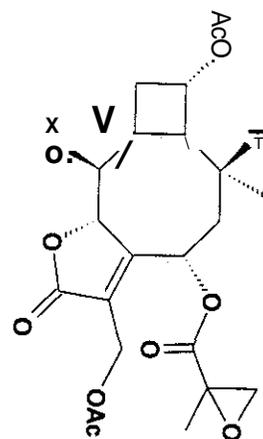
Espectro 7.- Resonancia magnética nuclear de <sup>13</sup>C de 56.



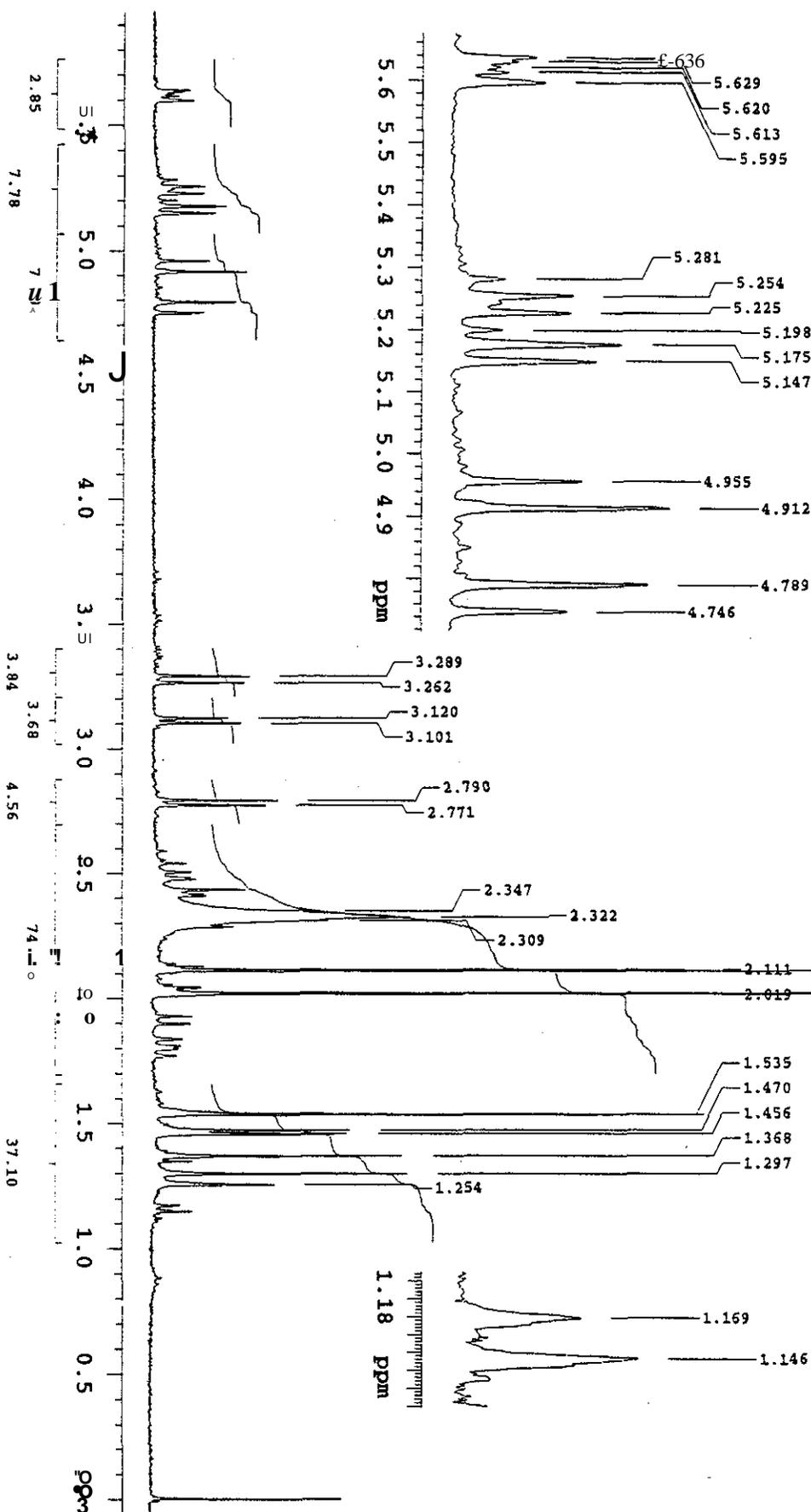
**TESIS CON  
 FALLA DE ORIGEN**

Espectro 8.- Resonancia magnética nuclear de <sup>1</sup>H de 55.

Dr. Mariano-Riz P.D.B.P.3 hr  
 SOLVENT CDCl3  
 OBSERVE H1  
 FREQUENCY 299.877 MHz

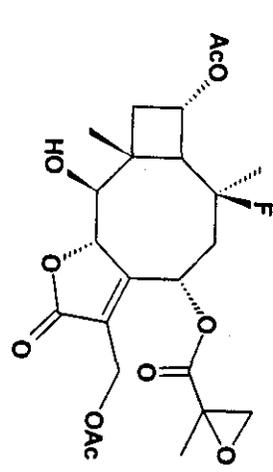
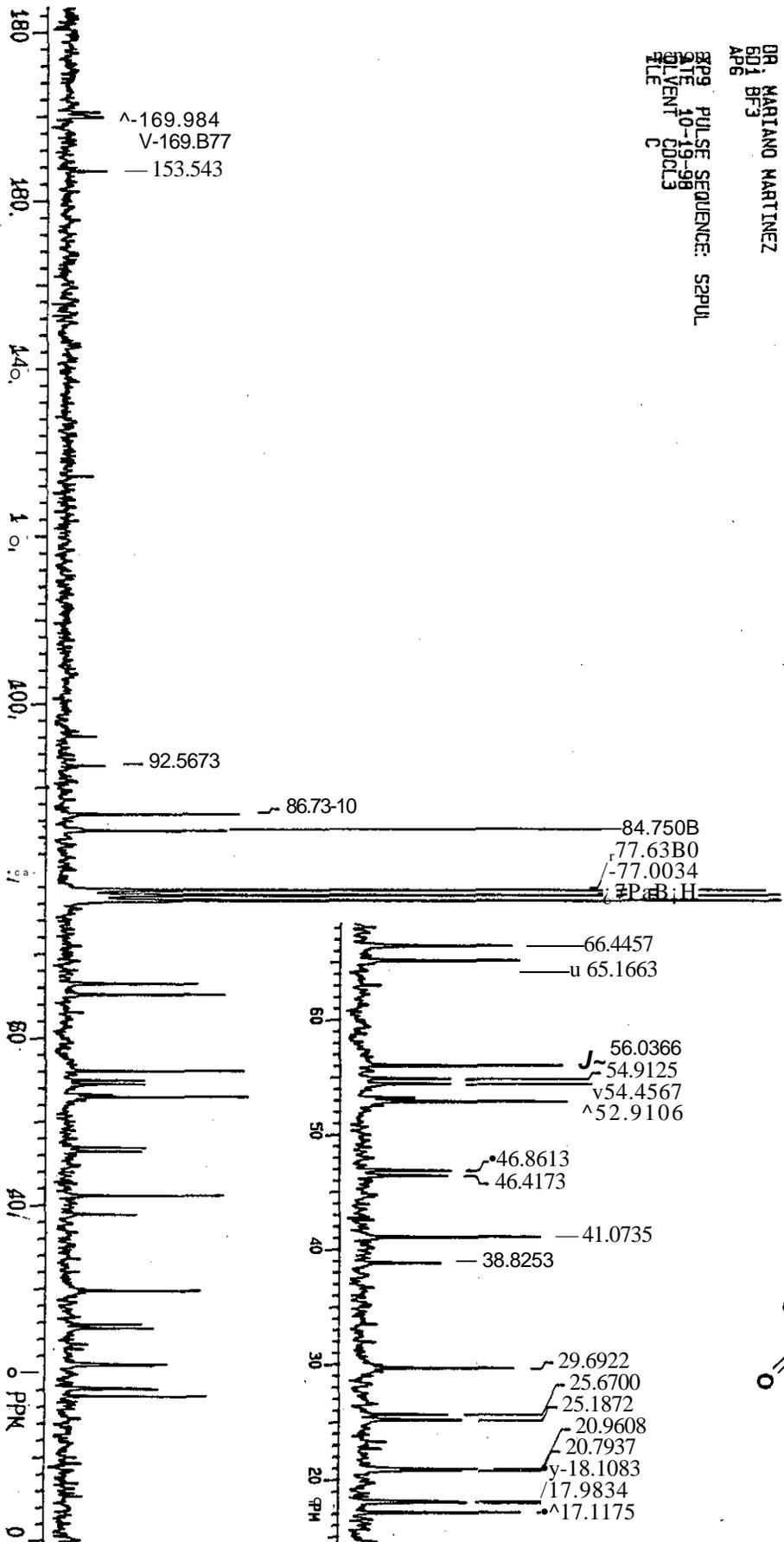


TESIS CON  
 FALLA DE ORIGEN



Espectro 9.- Resonancia magnética nuclear de <sup>1</sup>H de 57.

DR. MARIANO MARTINEZ  
 601 BF3  
 AP6  
 PULSE SEQUENCE: S2PUL  
 DATE: 10-19-98  
 SOLVENT: CDCL3  
 FILE: 57PaB.H

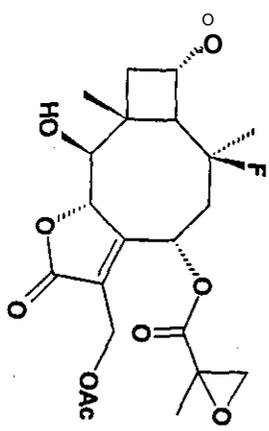
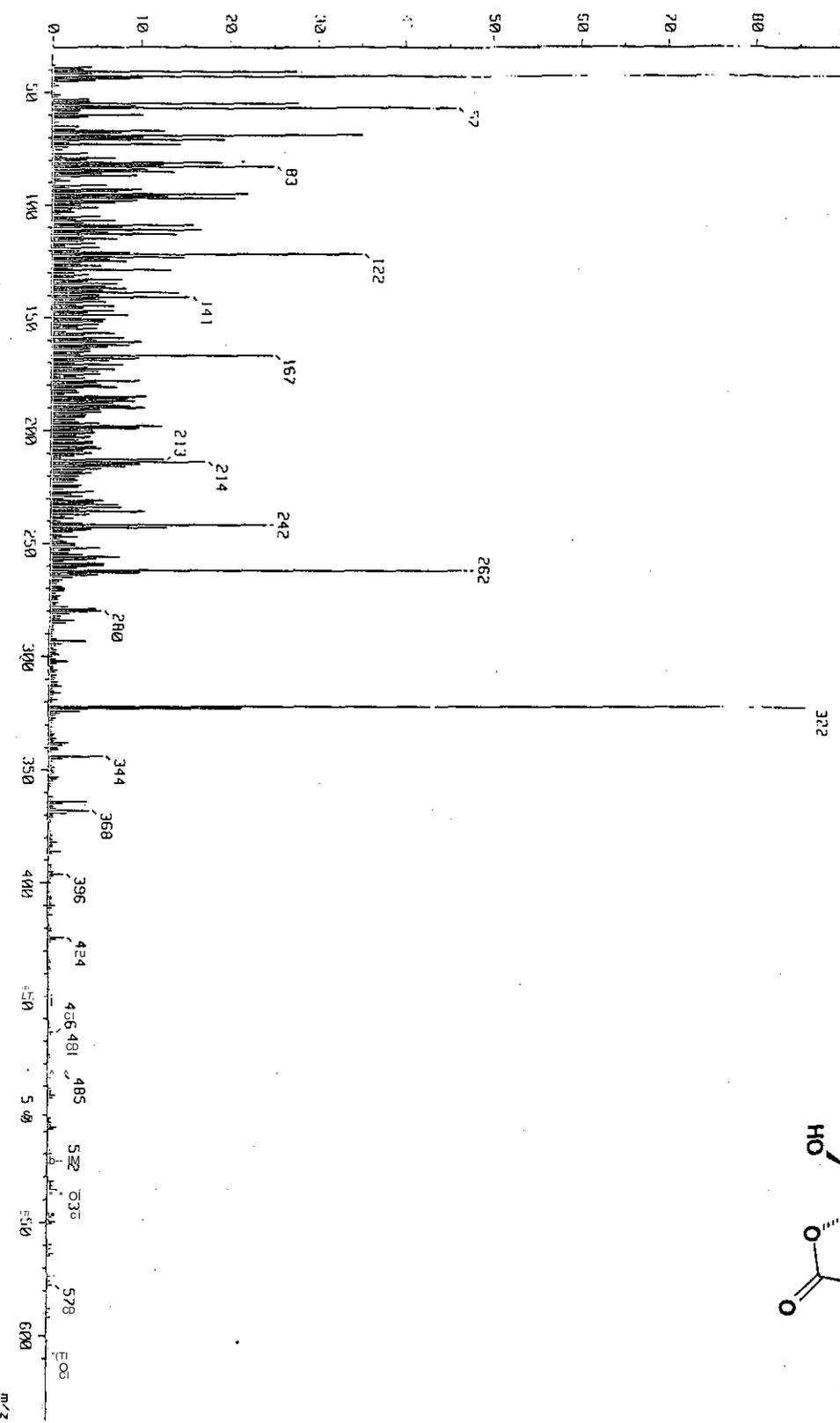


TESIS CON  
 FALLA DE ORIGEN

Espectro 10.- Resonancia magnética nuclear de <sup>13</sup>C de 57.

[ Mass Spectrum ]  
 Date : 12-Jul-98 18:23  
 Sample: 601 #3  
 Note :

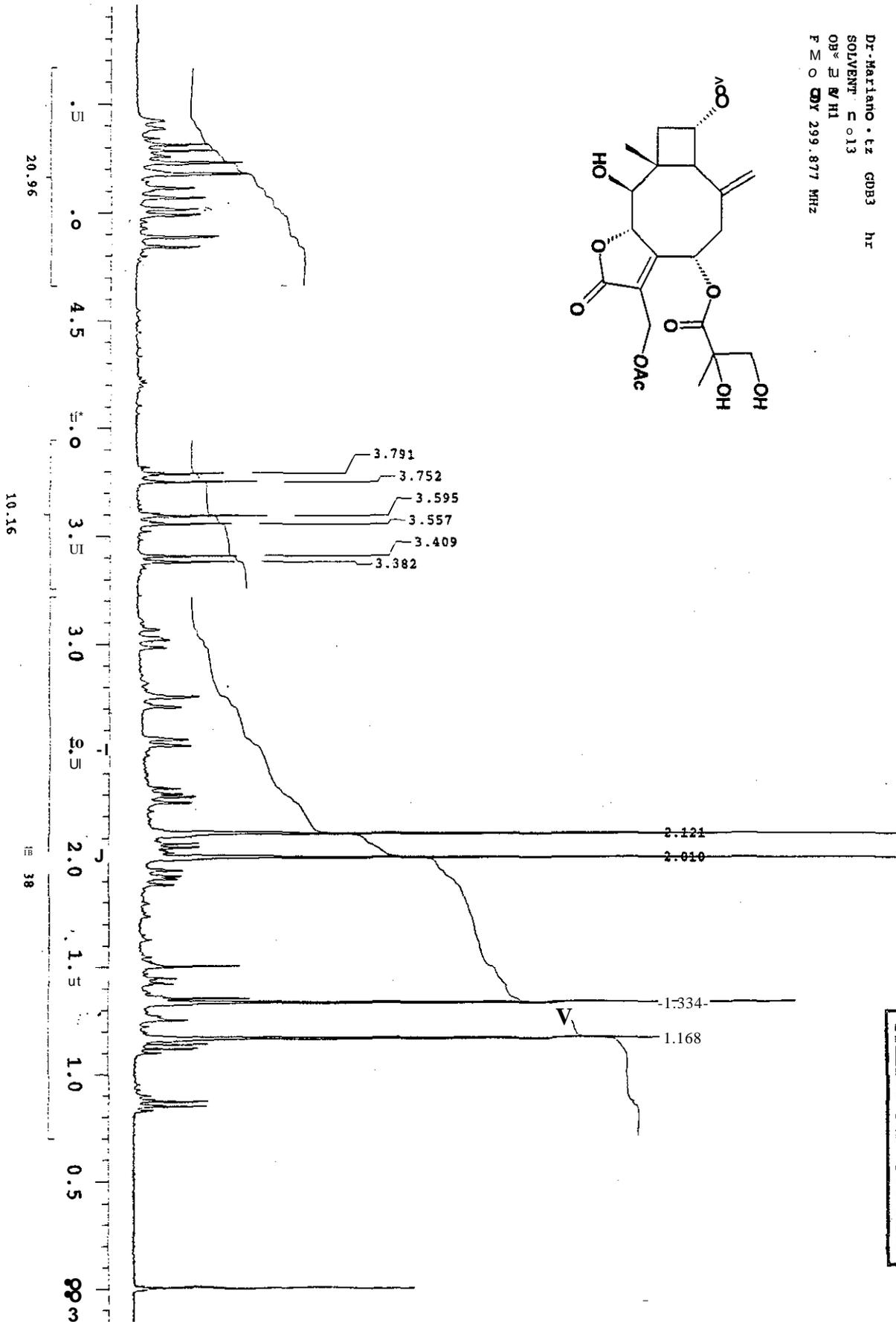
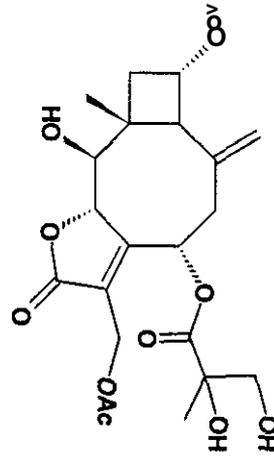
Inlet : Direct Ion Mode : EI+  
 Spec. um. type : Normal Ion (V-L, mass-  
 RT : 1.75 min Search # (S, I, O)  
 BP : m/z 10, 0.0000 Int. : Base Da  
 Output m/z range : 33.0000 to 635.224  
 894014 : 43 Cut Level : 0.00 %  
 100 : Temp : 260.3 deg. C



TESIS CON  
 FALLA DE ORIGEN

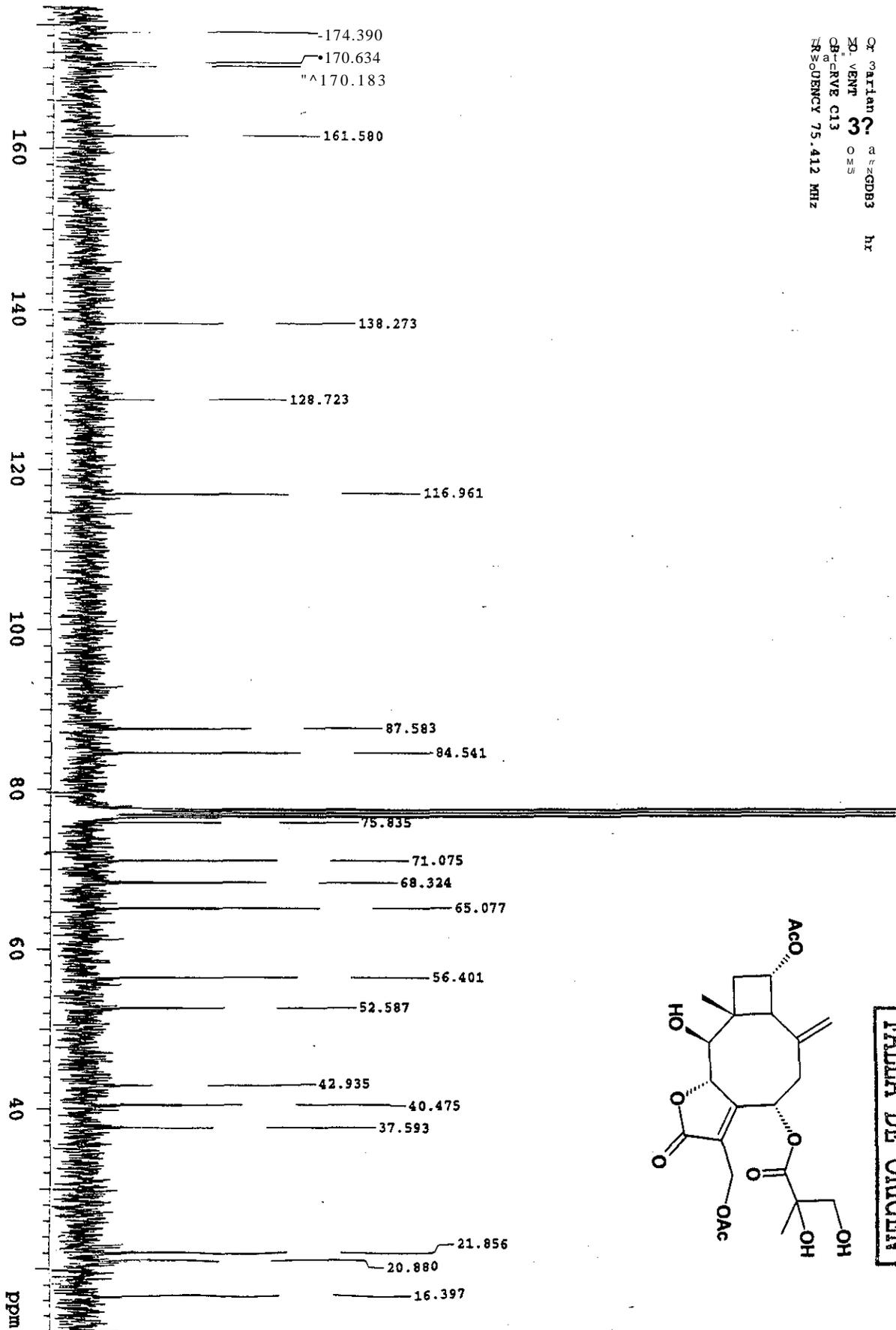
Espectro 11 - Espectrometría de masas por IE de 57.

Dr. Mariano • tz GDB3 hr  
SOLVENT: C 013  
OB: E B/HI  
F 2 O DY 299.877 MHz



TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

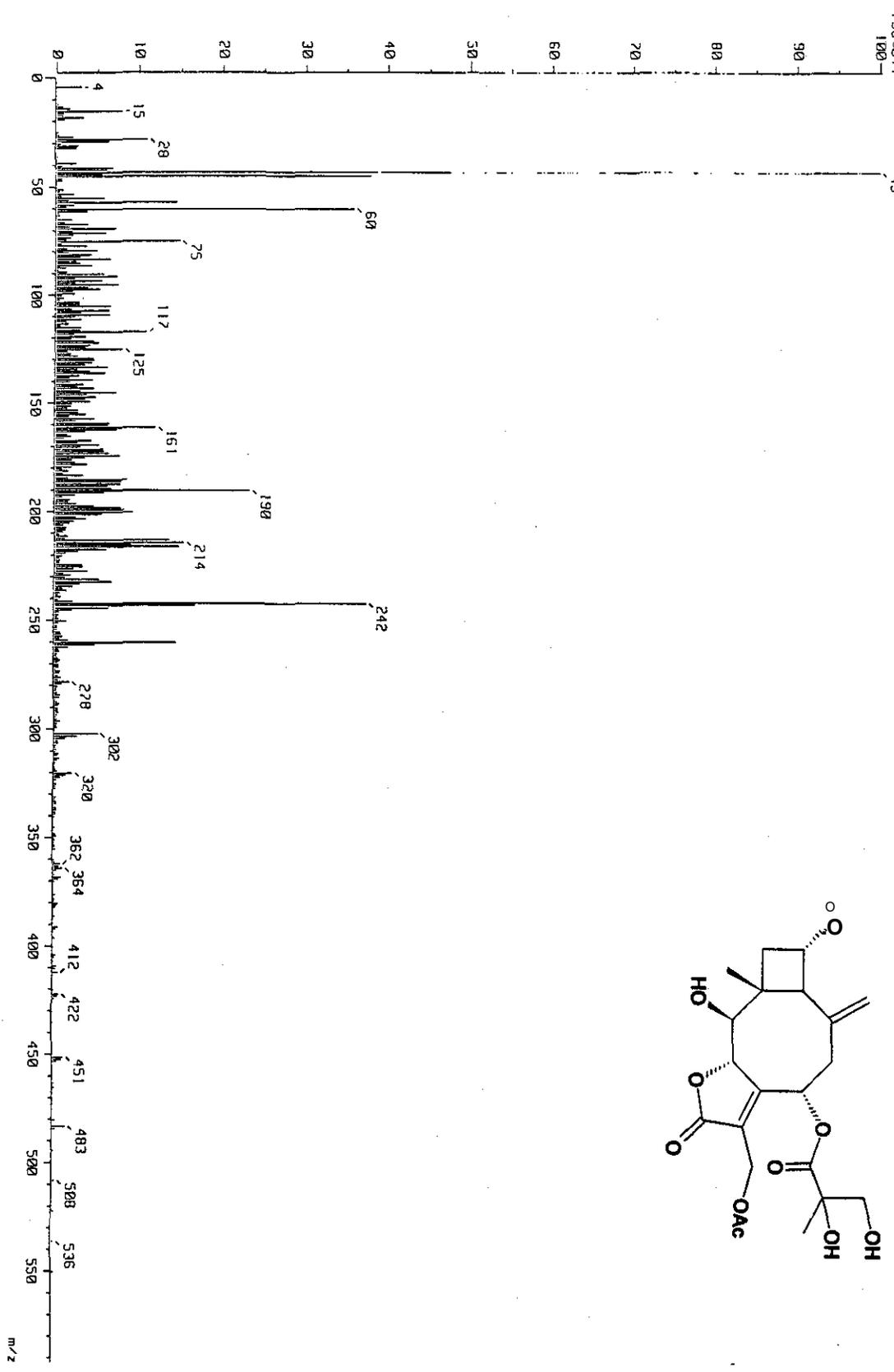
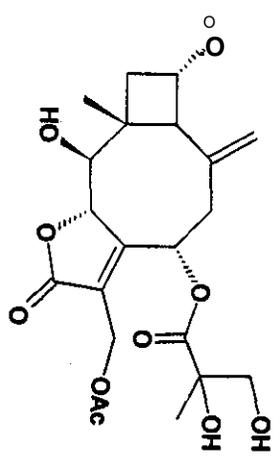
Espectro 12.- Resonancia magnética nuclear de  $^1\text{H}$  de 58.



Espectro 13.- Resonancia magnética nuclear de  $^{13}\text{C}$  de 58, 96

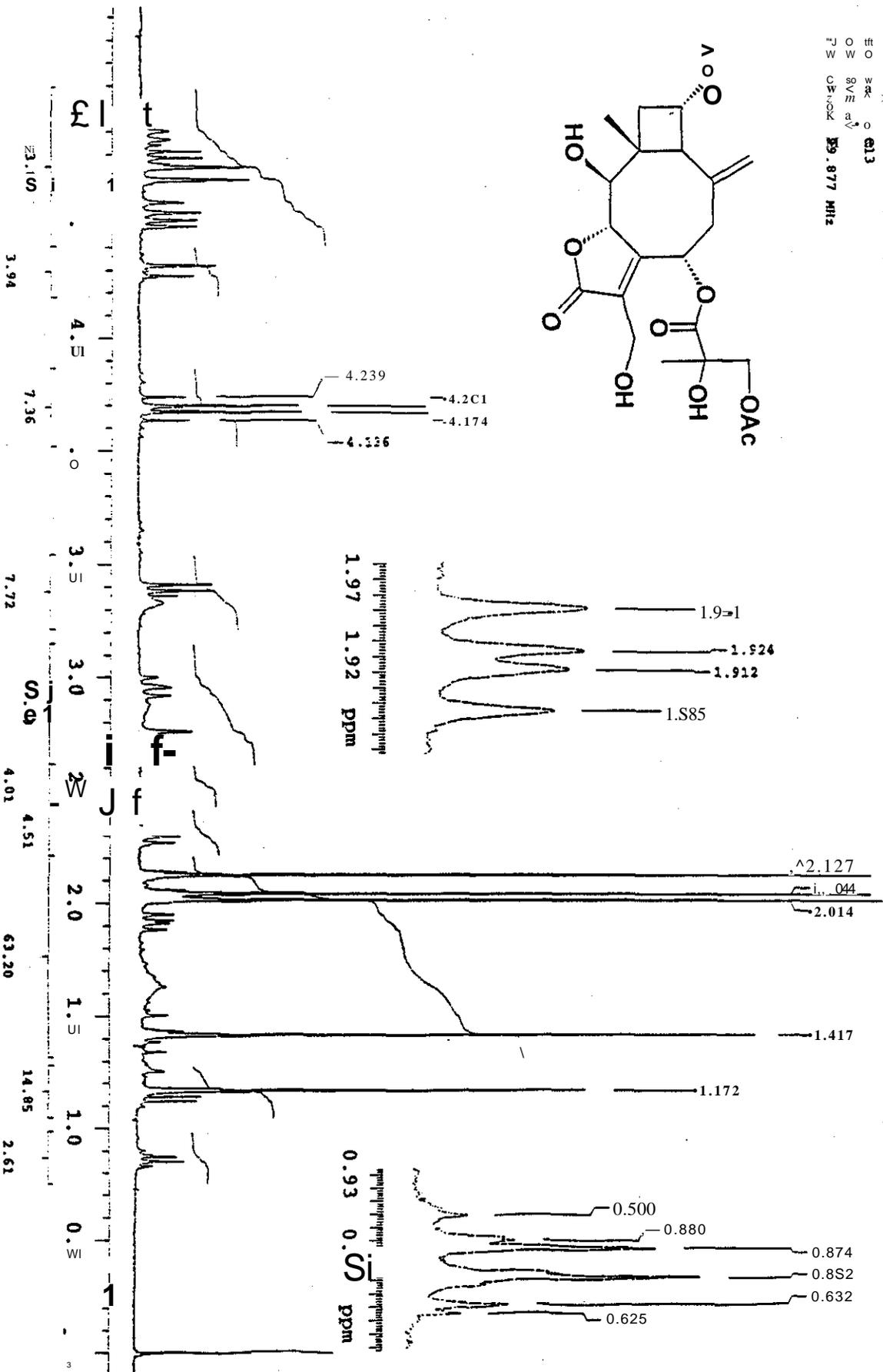
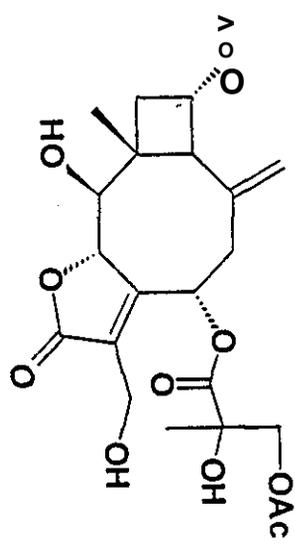
ss Spectrum )  
 : Br-Martinez-Mariano-011 Date : 09-Aug-98 22:53  
 : Le: GDB3

Inlet : Direct Ion Mode : EIT  
 Spect-um Type : Normal Ion [MF-Linear]  
 RI : 5.38 min Scan# : (61,99)-(98,100) Temp : 249.8 deg.C  
 BP : m/z 43.0000 Vol. : 700.46  
 Output m/z range : 0.0000 to 592.2849 Cut Level : 0.00 %  
 7368044



Espectro 14.- Espectrometría de masas por IE de 58.

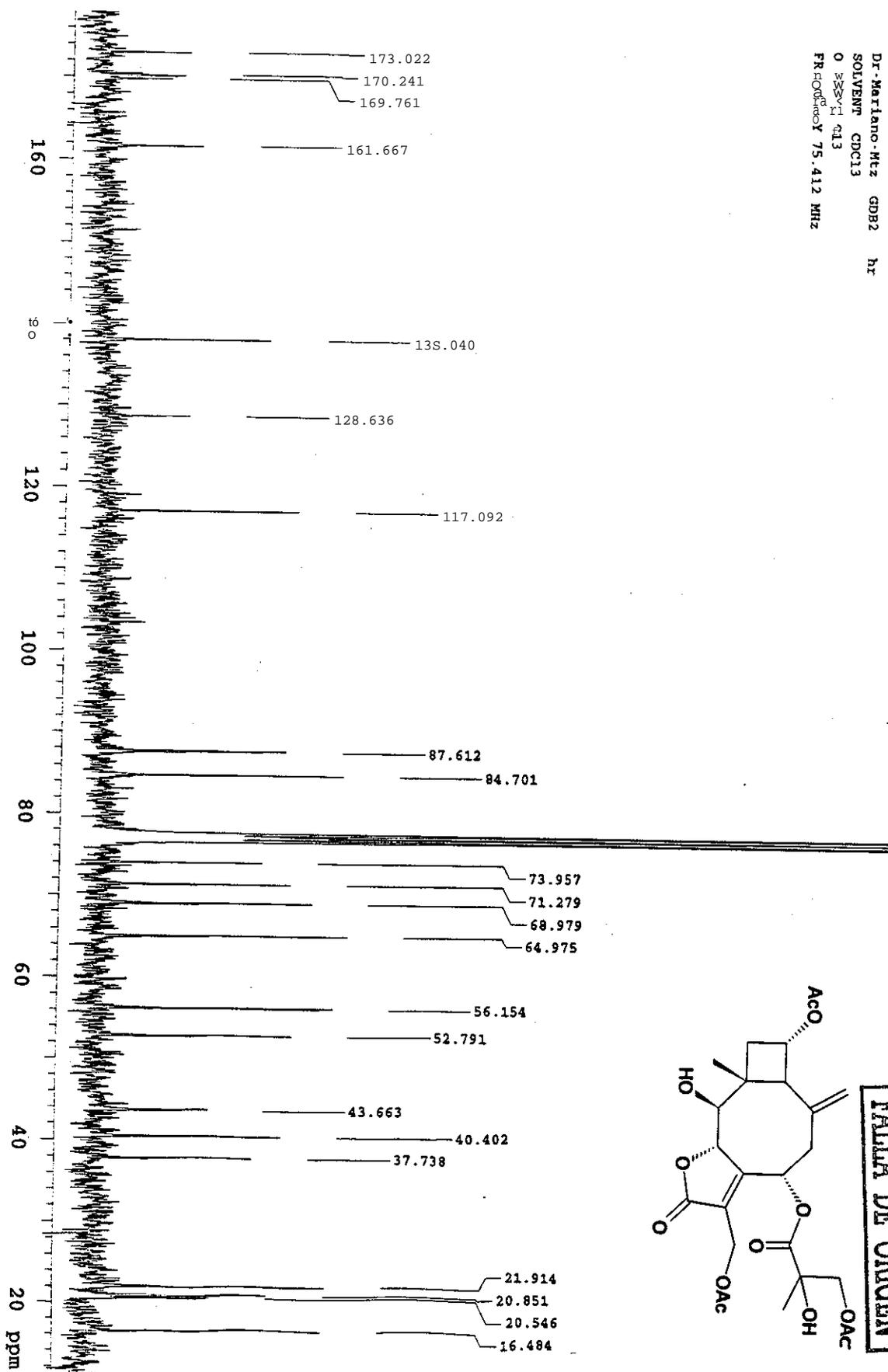
O 1 e-<sup>+</sup> X-ray Mhz QDB2 hr  
 # O Mhz 0 613  
 W WAVE #  
 P W CHANNEL B9. 877 MHz



TESIS CON  
 FALTA DE ORIGEN

Espectro 15.- Resonancia magnética nuclear de <sup>1</sup>H de 59.

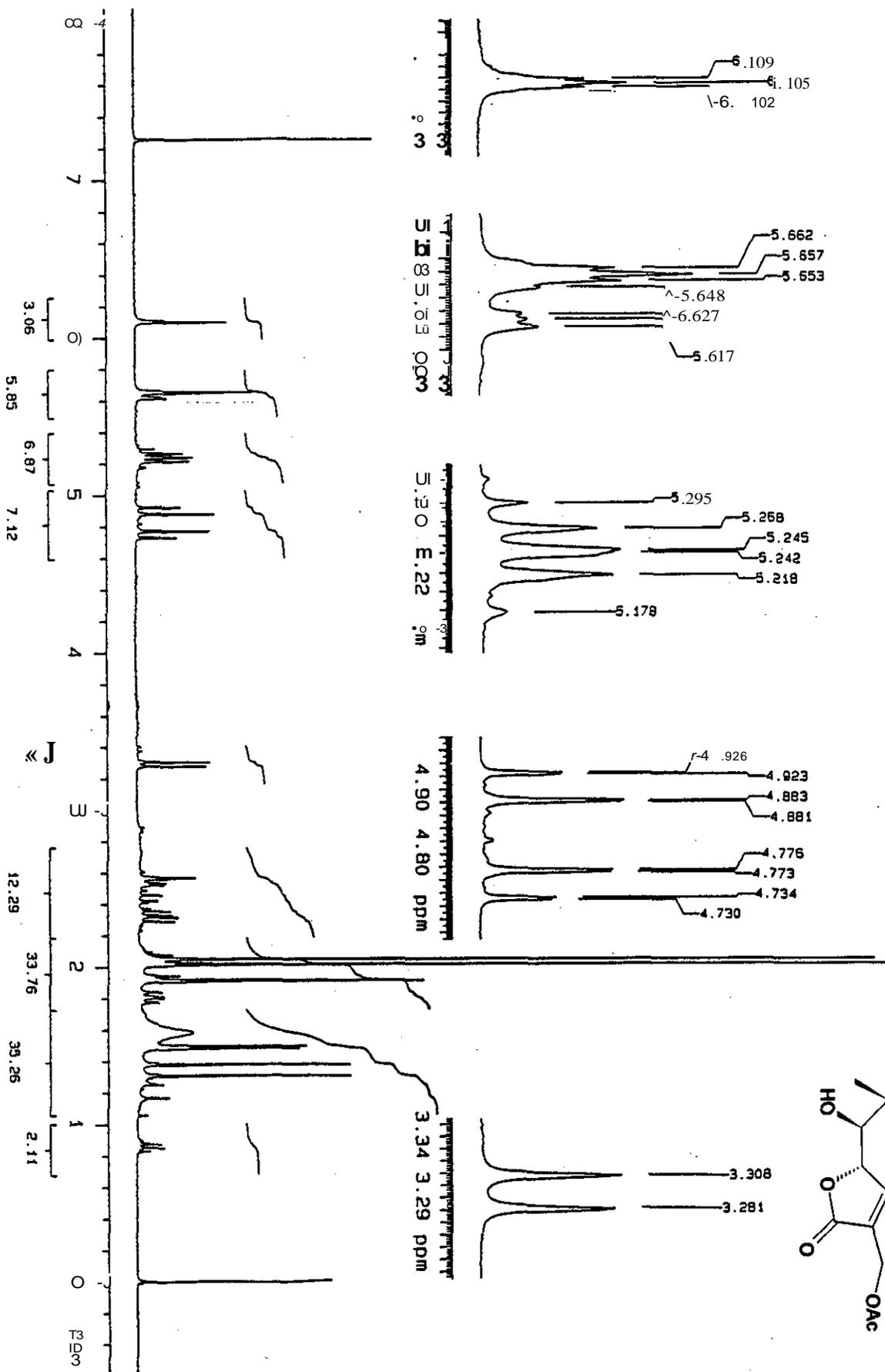
Dr. Mariano-Mtz GDB2 hr  
 SOLVENT CDCl3  
 O 33.71 413  
 FR 0.000000 75.412 MHz



TESIS CON  
 FALTA DE ORIGEN

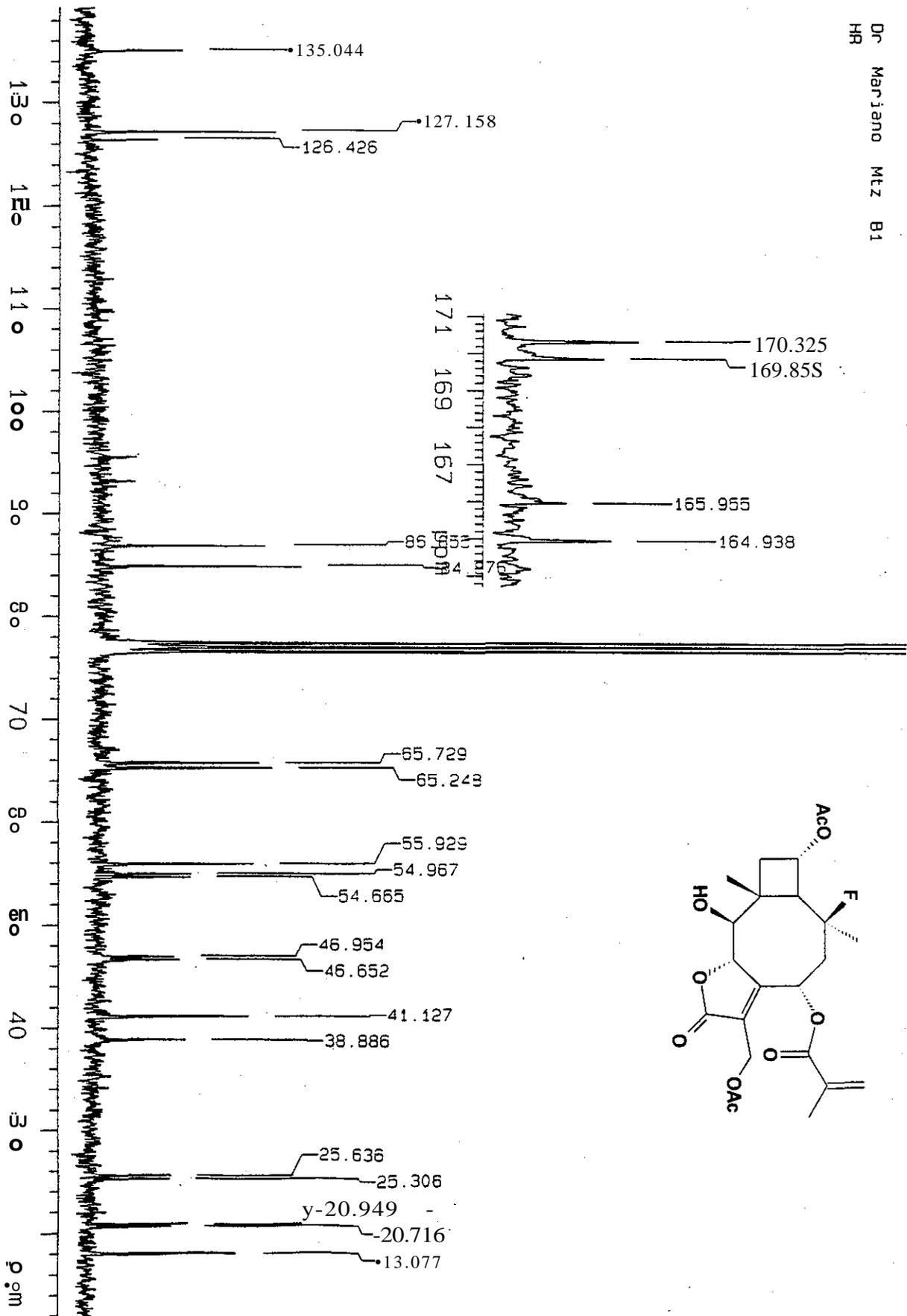
Espectro 16.- Resonancia magnética nuclear de  $^{13}\text{C}$  de 59. 99

Dr. A. M. Lozano de Quintana IG  
 Dr. Mariano Vazquez  
 30 MHz  
 CDCl<sub>3</sub>



TESIS CON  
 FALTA DE ORIGEN

Espectro 18.- Resonancia magnética nuclear de <sup>1</sup>H de 60.

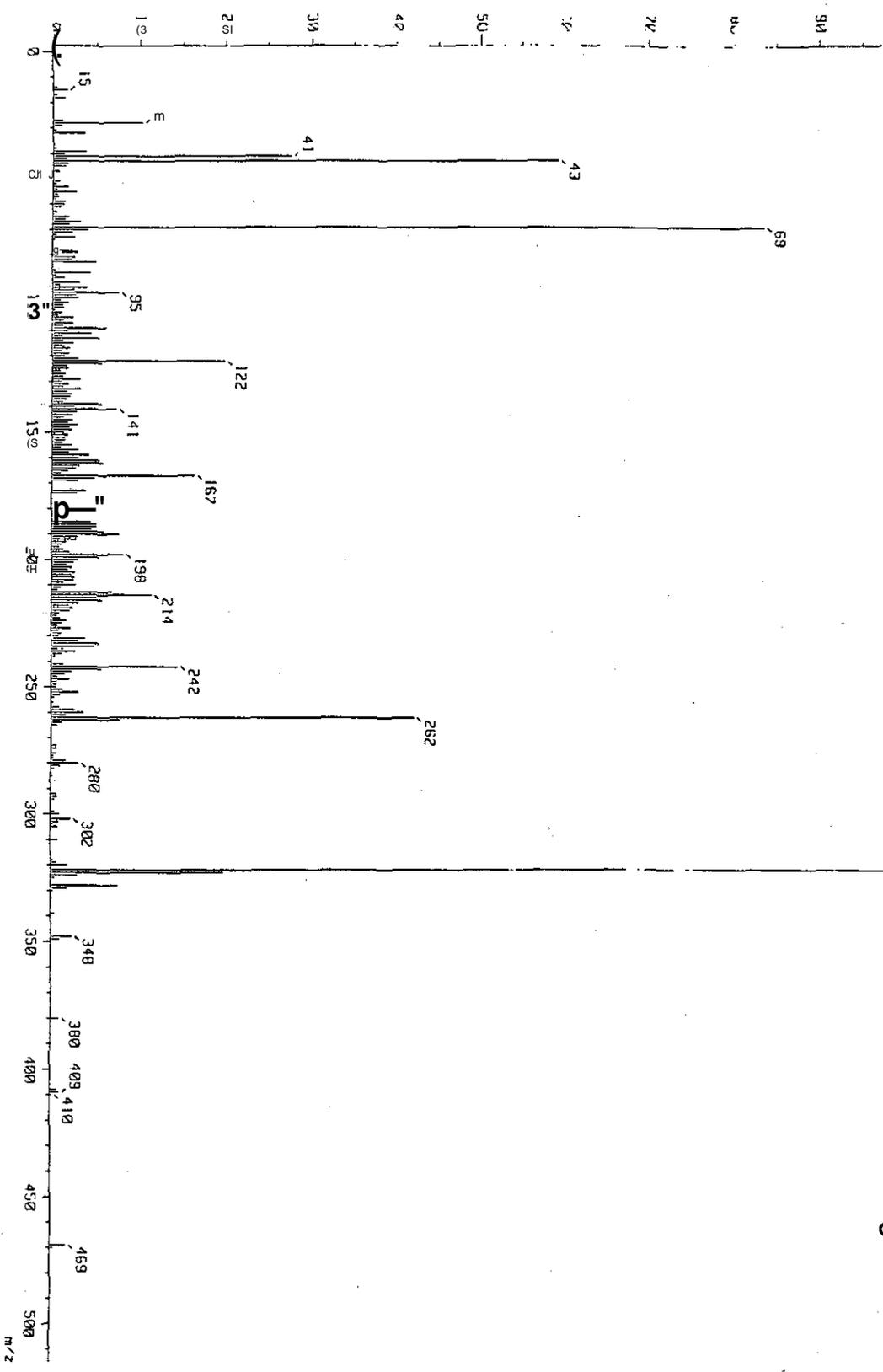
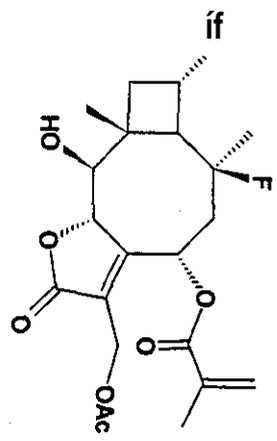


TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

Espectro 19.- Resonancia magnética nuclear de <sup>13</sup> C de 60.

TESIS CON  
FALTA DE ORIGEN

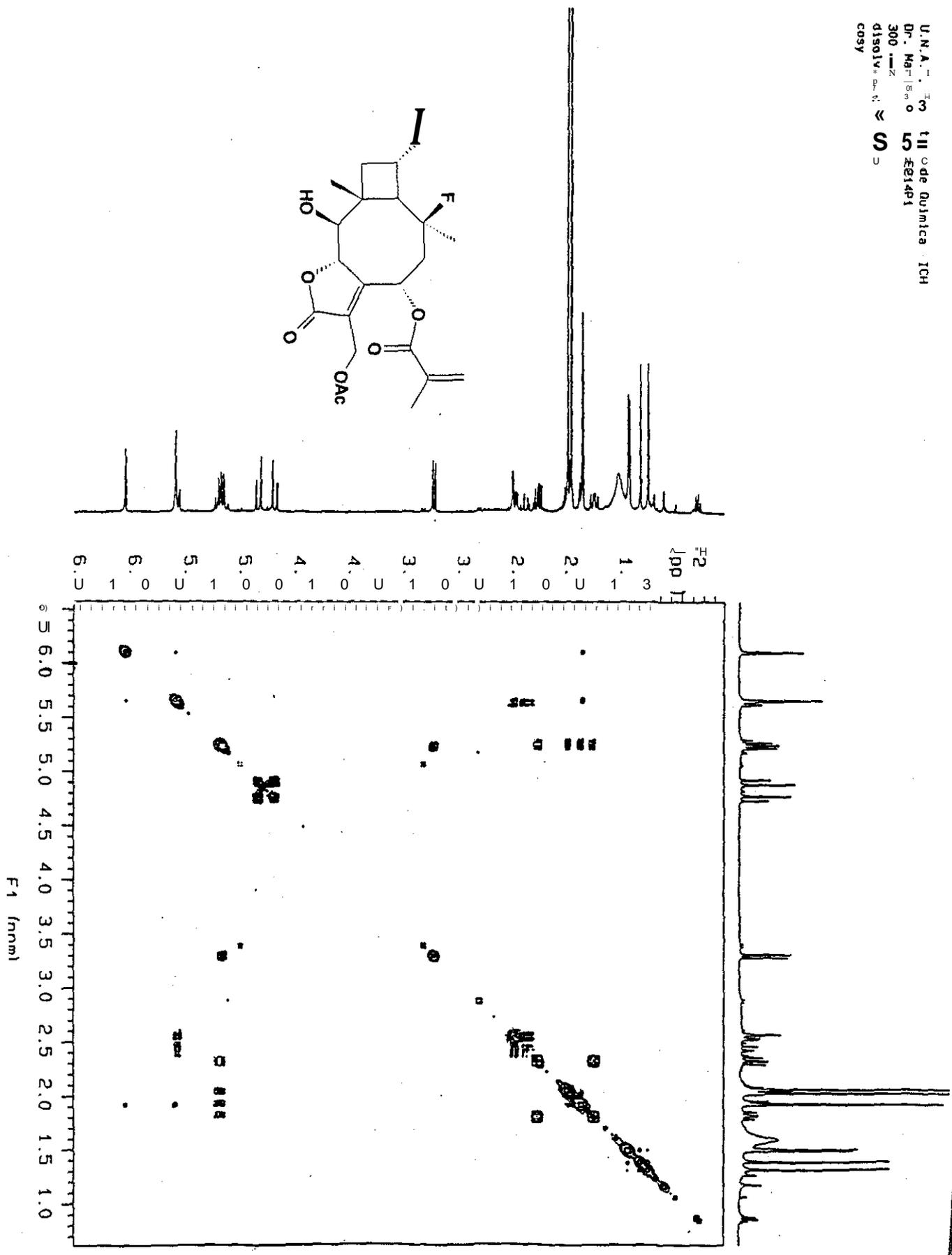
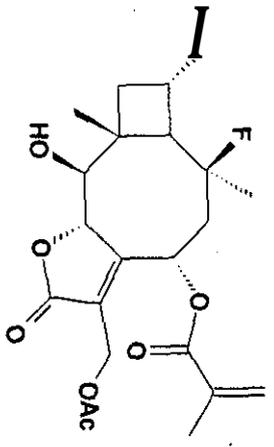
[ Mass Spectrum ]  
Data : Dr-Martinez-Mariano-090 Date : 03-Aug-98 23:55  
Sample: B1  
Note : -  
Ion Mode : EI+  
Electron Type : Normal Ion (W-Linear)  
Scan# : (31,53)-(32,42)  
Temp : 150.0 deg.C  
Int. : 194.26  
Scan Range : 0.0000 to 515.1335  
Cut Level : 0.00 %



Espectro 20.- Espectrometría de masas por IE de 60.

TESIS CON  
FALTA DE ORIGEN

U.N.A.M. - I.T. III O de Quimica ICH  
Dr. Marisol S. Zedler  
300 - Z  
disolvente:  $\approx$   $\text{C}_6\text{D}_6$   
cosy



Espectro 21.- Experimento COSY de 60.

N/A  
Dr. Ma  
Suri M  
Dissolv  
Acetate

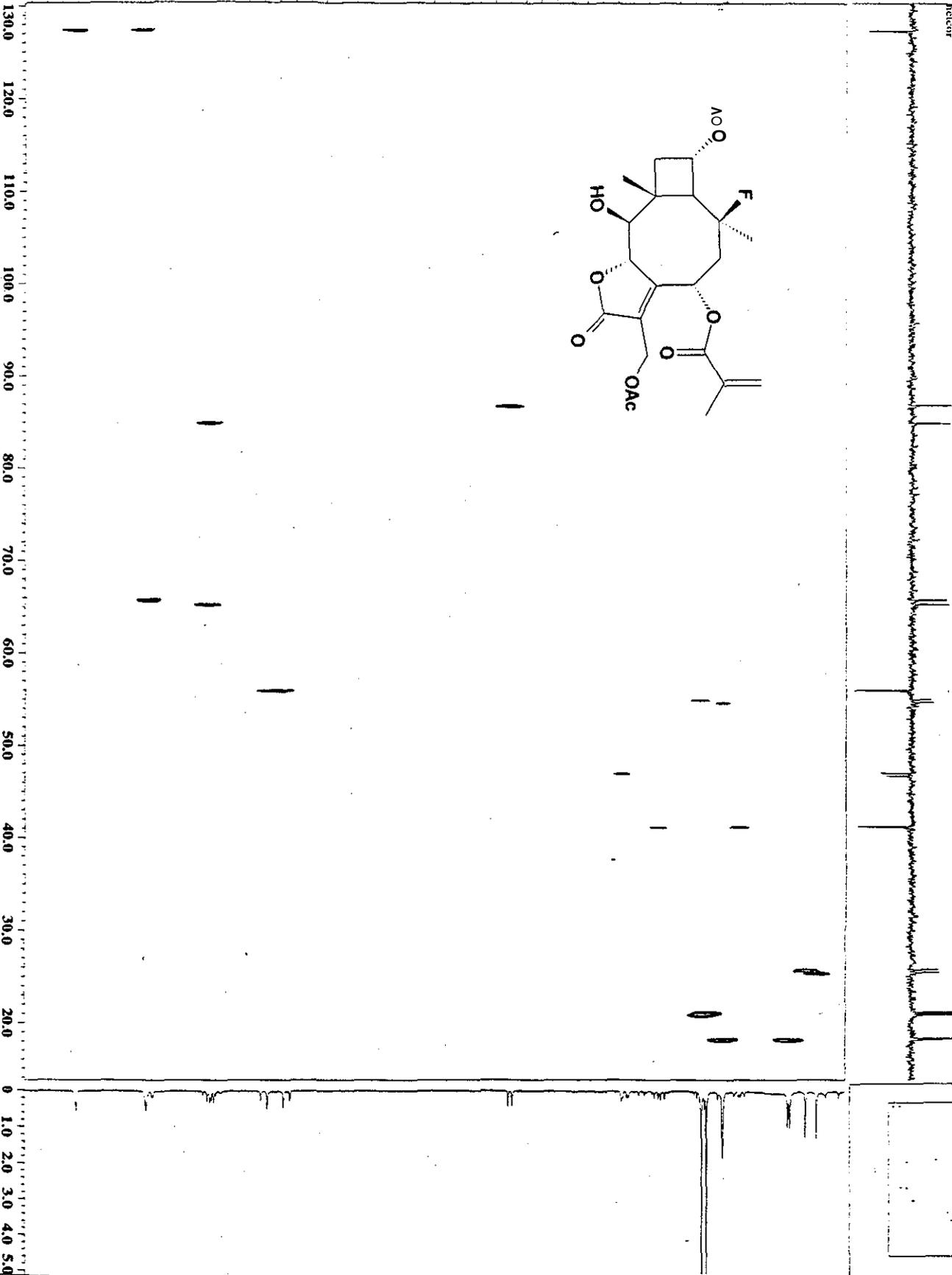
if  
Química 1011  
N

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

(Billions)

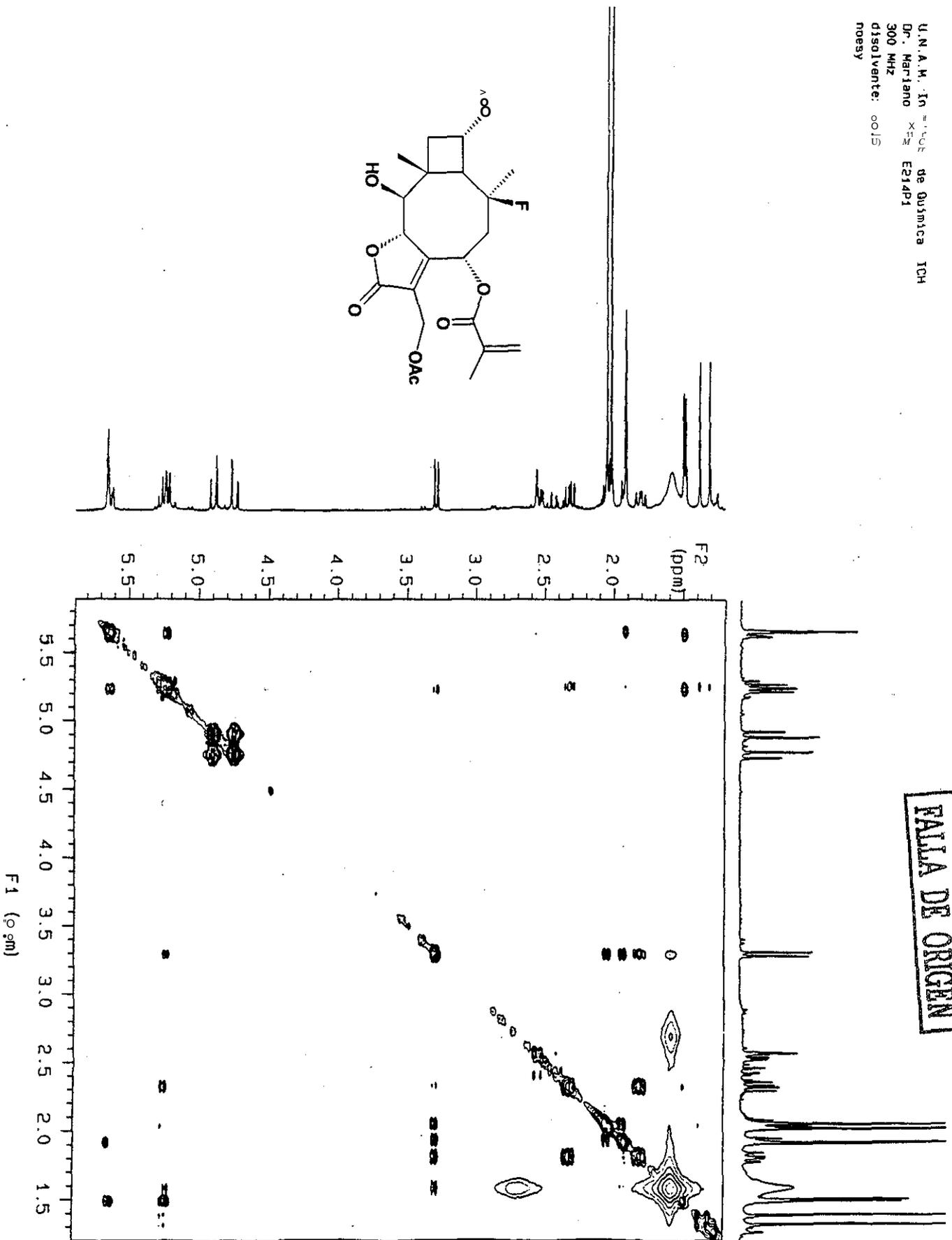
Y : parts per Million : 1H

6.0 5.0 4.0 3.0 2.0 0



Espectro 22.- Experimento HETCOR de 60.

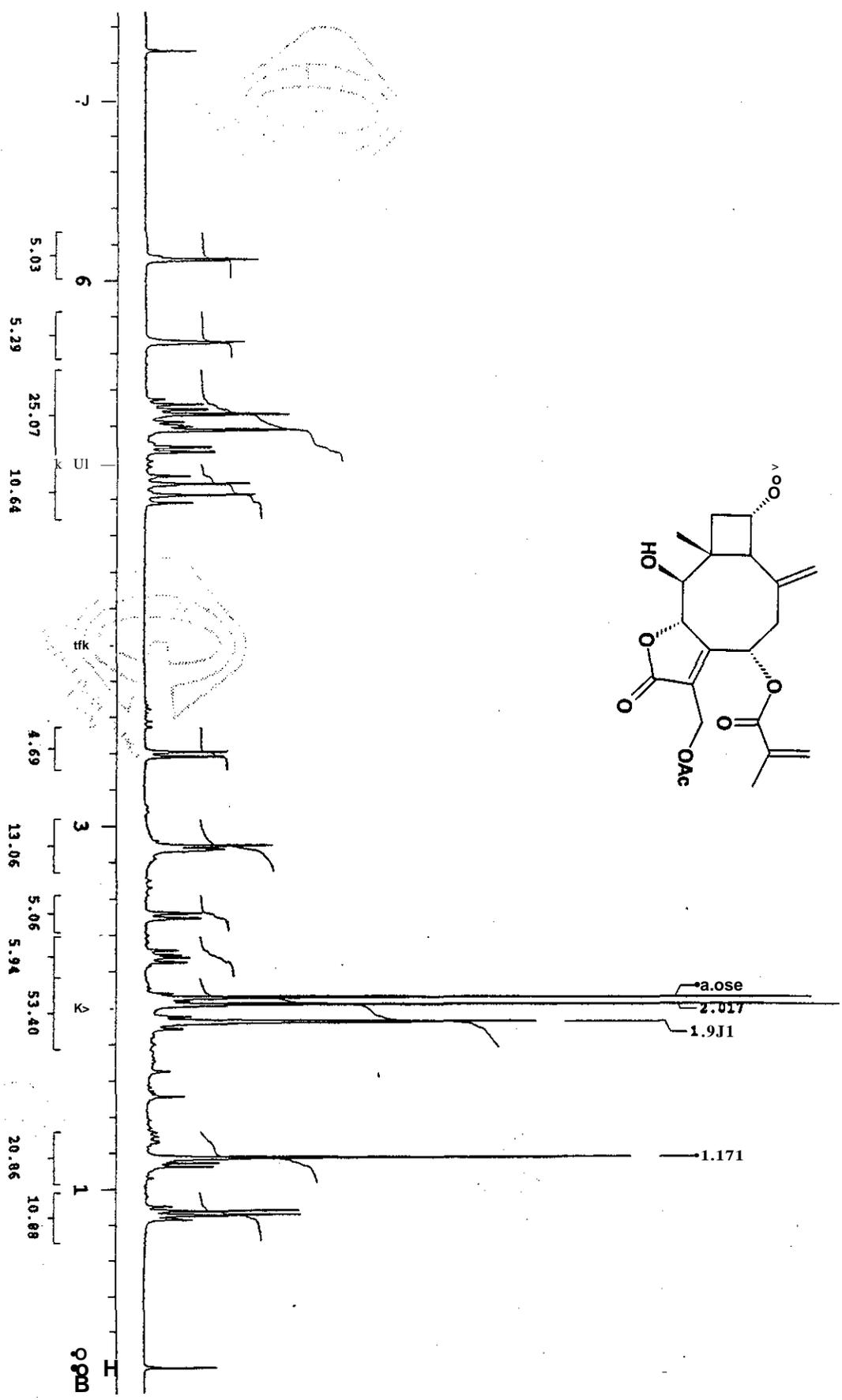
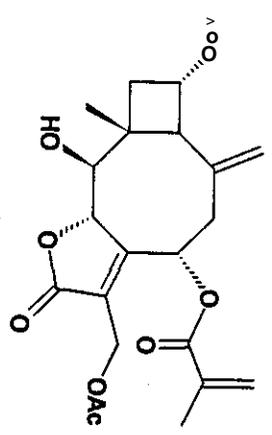
TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN



Espectro 23.- Experimento NOESY de 60.

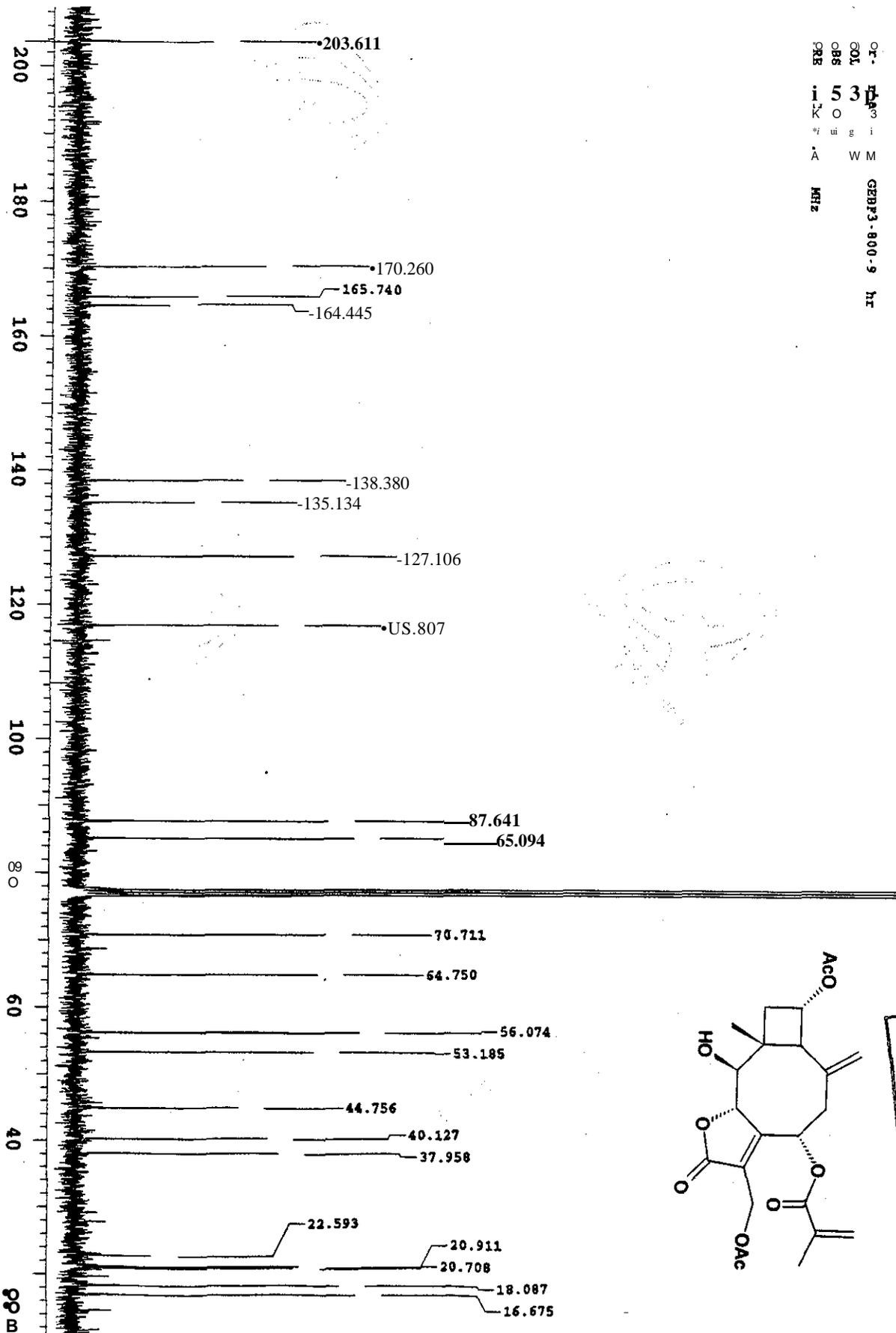
TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

Ch-Maria < tz GEBF3-800-9 hr  
SOVENT CN13  
OSERVE HI  
FREQUENCY 299.877 MHz



Espectro 24.- Resonancia magnética nuclear de <sup>1</sup>H efe 61. 10b

Dr. H. J. ...  
 GOL 3  
 OBS 5  
 QRB K  
 W M  
 GEOP3-900-9 hr  
 MHz



TESIS CON  
 FALTA DE ORIGEN

Espectro 25.- Resonancia magnética nuclear de <sup>13</sup>C de 61.

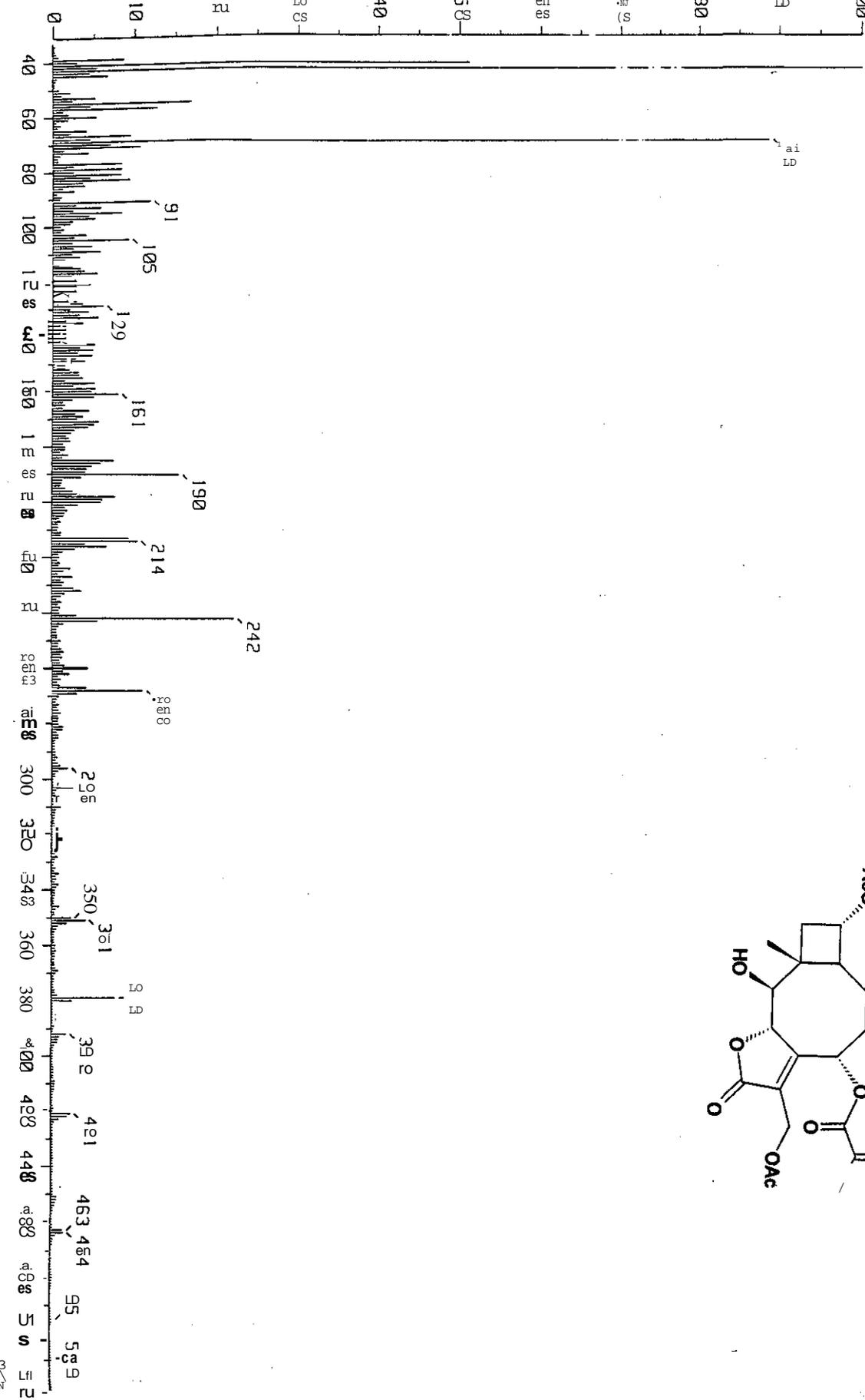
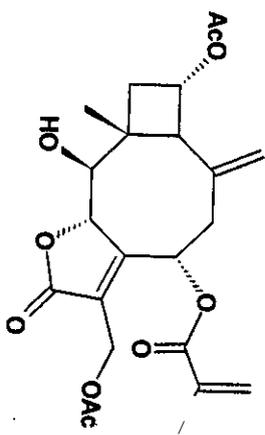
Date : 07-May-97 23:20

Ion Method : EI +

Time : 39.80 min

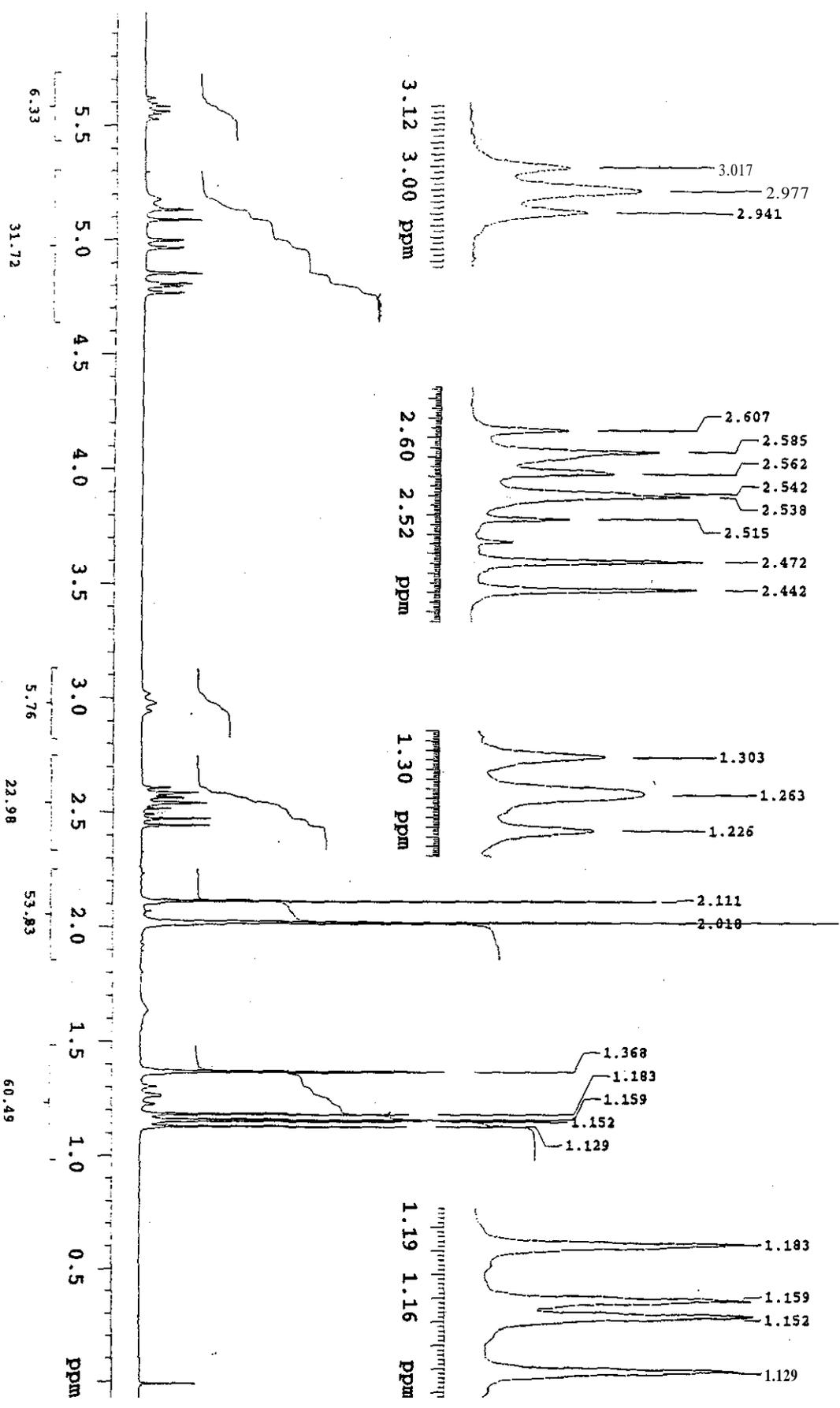
Mass Spectrum  
Sample : F10  
Name : O-Tenano-Martinez-MX9  
Light : 1.8  
Output Type : Solar [MF-Linear]  
Scan# : 291  
m/z : 43  
Output m/z range : 43.0000 to 501.0000  
43

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN



Espectro 26.- Espectrometría de masas por IE de 61.

Ortiz, R. Liano, et al. GE-H hr  
 200 VPM CDCl<sub>3</sub>  
 OS: ASIVE HI  
 FREQUENCY 299.877 MHz



TESIS CON  
 FALTA DE ORIGEN

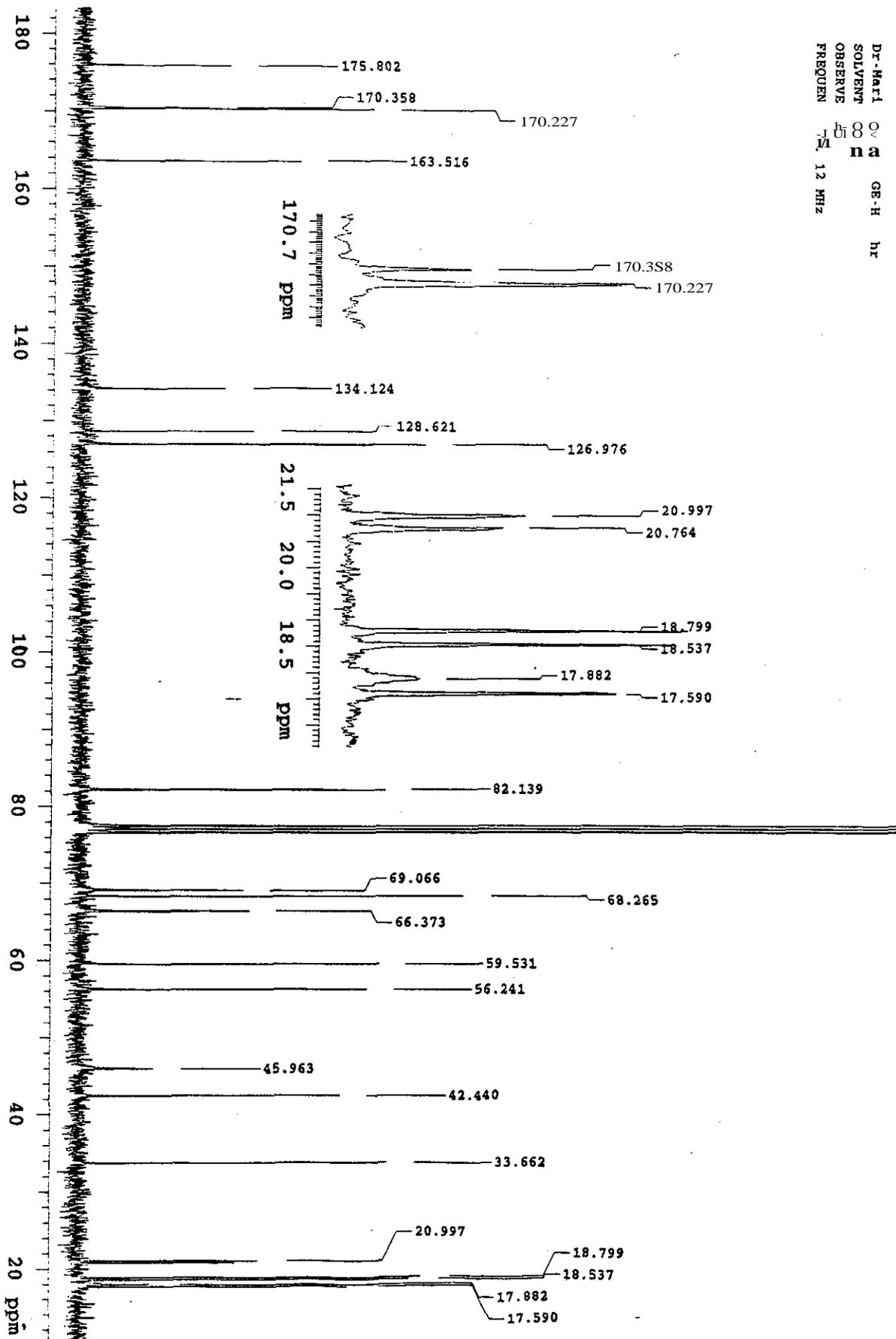
Espectro 27.- Resonancia magnética nuclear de <sup>1</sup>H de 62.

Dr-Mari  
 SOLVENT  
 OBSERVE  
 FRECUEN

00  
 11  
 12

GE-H  
 hr

12 MHz



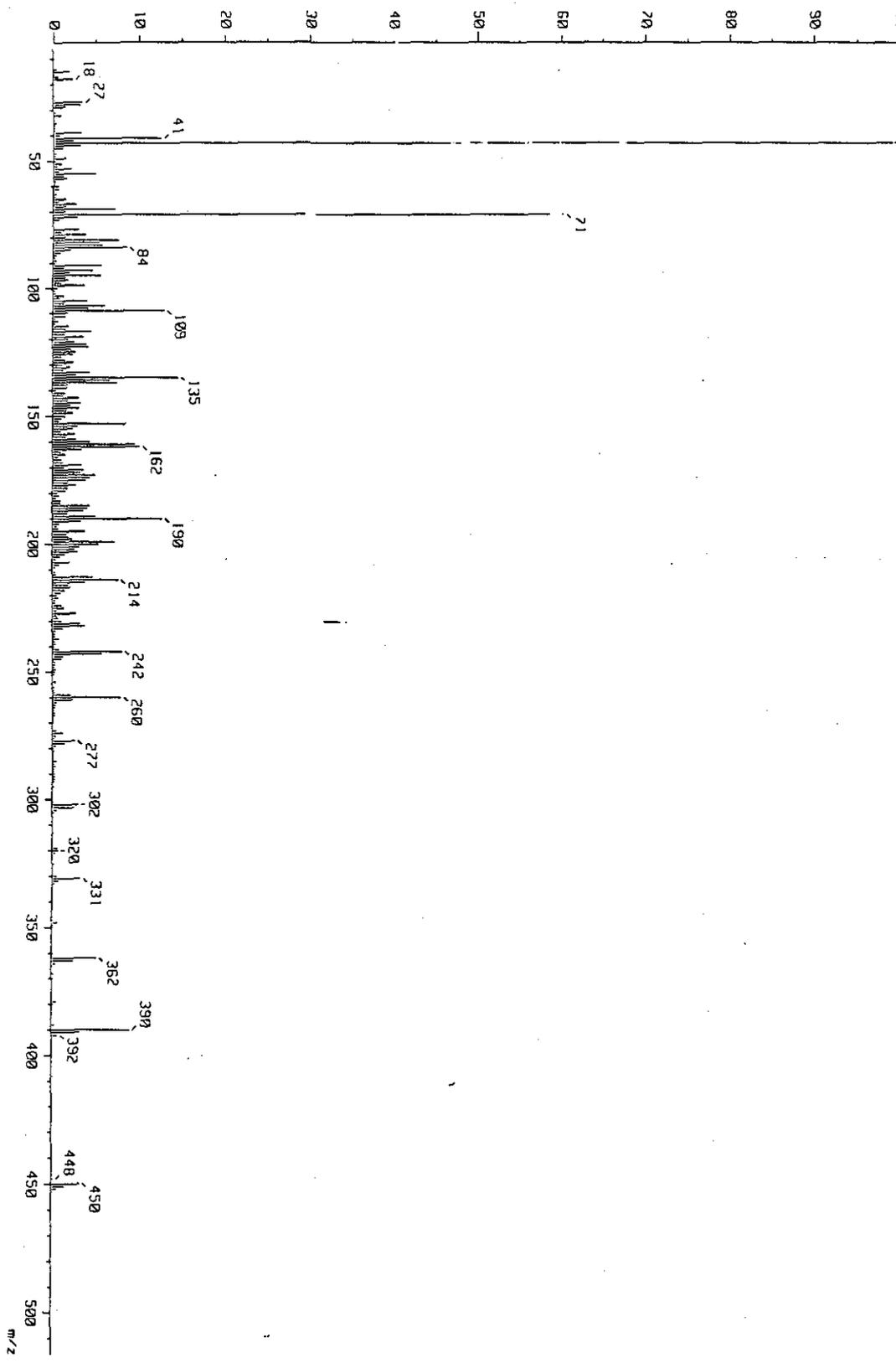
TESIS CON  
 FALLA DE ORIGEN

Espectro 28.- Resonancia magnética nuclear de  $^{13}\text{C}$  de 62.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

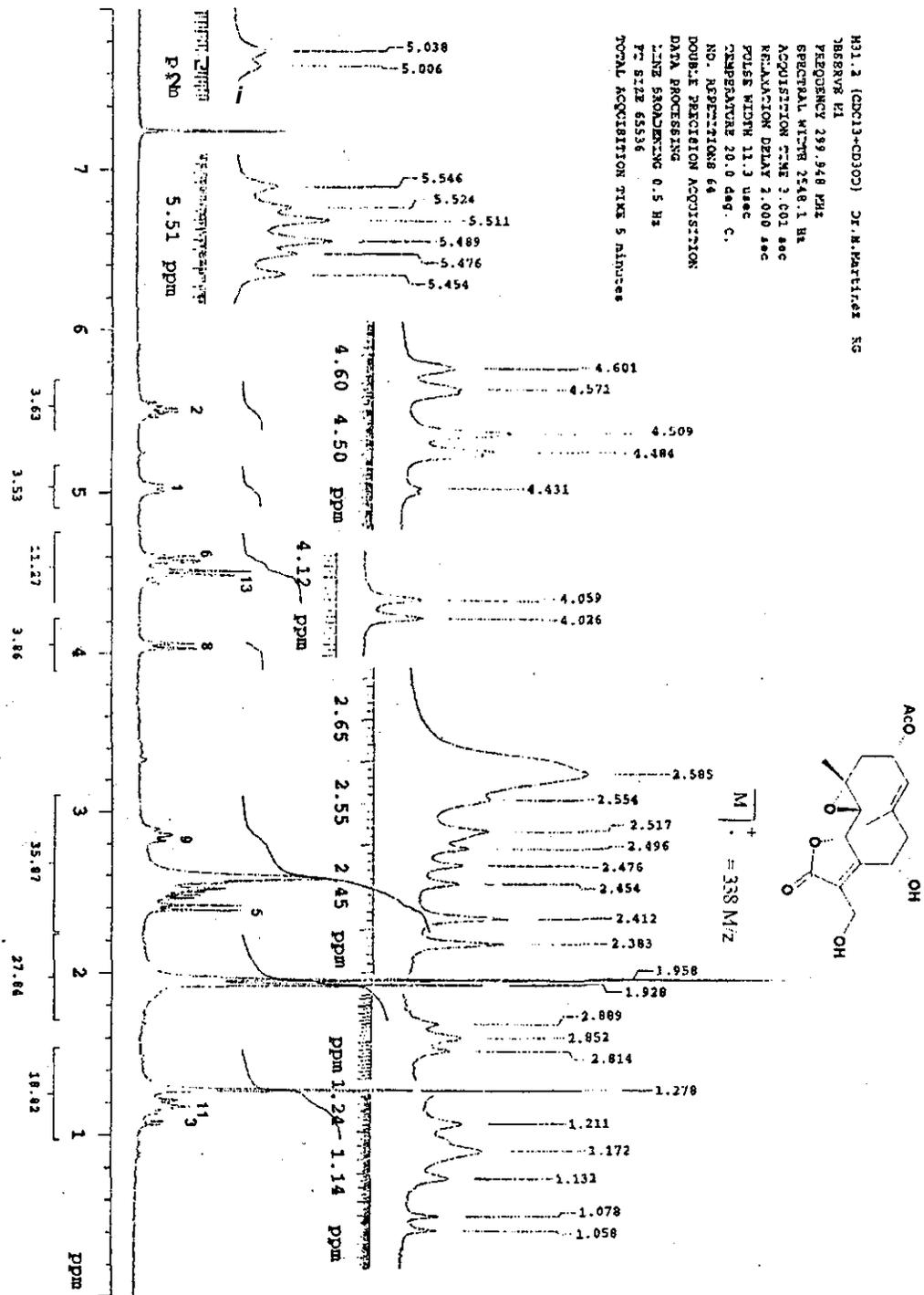
[ Mass Spectrum ]  
Data : Dr-Martinez-Moriano-006 Date : 24-Aug-98 18:25  
Sample: GE-H

Note : -  
Inlet : Direct Ion Mode : EI+  
Spectrum Type : Normal Ion [F-Linear] Temp : 173.4 deg.C  
Scan# : (40,50)  
RT : 1.33 min Int. : 696.48  
BP : m/z 43.0000  
Output m/z range : 5.9347 to 518.3205  
7303280 Cut Level : 0.00 %  
100



Espectro 29.- Espectrometría de masas por IE de 62.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN



Espectro 30.- Resonancia magnética nuclear de <sup>1</sup>H de 63.