

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO  
FACULTAD DE QUIMICA

DETERMINACION DE LA ESTRUCTURA Y  
ESTEREOQUIMICA DE LA EUPARHOMBINA,  
UNA NUEVA HELIANGOLIDA

T E S I S  
QUE PARA OBTENER EL GRADO DE  
*MAESTRO EN CIENCIAS*  
PRESENTA EL QUIMICO  
MARIANO MARTINEZ VAZQUEZ



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.

JURADO ASIGNADO SEGUN EL TEMA

PRESIDENTE	DRA. LYDIA RODRIGUEZ-HANS
VOCAL	DR. EUGENE BRATOEFF
SECRETARIO	DR. ALFREDO ORTEGA HERNANDEZ
SUPLENTE	DR. JOSE ANTONIO NOGUEZ

ESTA TESIS SE REALIZO EN EL INSTITUTO  
DE QUIMICA, BAJO LA DIRECCION DEL DR.  
CARLOS GUERRERO RUIZ.

A mis Padres.

A Po

por su confianza

en mi.

## **INDICE**

**INTRODUCCION**

**GENERALIDADES**

**PARTE TEORICA**

**PARTE EXPERIMENTAL**

**CONCLUSIONES**

**BIBLIOGRAFIA**

## INTRODUCCION.

La finalidad en la investigación sobre productos naturales está sufriendo un cambio. Si bien es cierto que la elucidación de la estructura y estereoquímica de compuestos naturales siempre tendrá gran importancia, - también es cierto que el principal interés en la investigación en productos naturales está cambiando de un carácter puramente químico a aquellos de carácter bioquímico y biológico.

Este cambio de finalidad en la investigación sobre productos naturales es comprensible, si se recuerda que la investigación se ha desarrollado en gran medida analizando plantas y vegetales con propiedades curativas, - alucinógenas o tóxicas.

Por un tiempo, dada la rápida evolución de la química tanto de análisis como de síntesis, se llegó a operar esta finalidad y al parecer la mentalidad de los investigadores era que a mayor número de estructuras determinadas, mayor contribución al proceso de investigación lo que trajo consigo un congestionamiento de información que se tardó en analizar, clasificar y plasmar - en un cuadro real de investigación.

Actualmente la tendencia es conjugar la parte química de la investigación con los aspectos bioquímicos y

biológicos. Claro que el químico no puede contribuir de una manera directa a cada uno de estos aspectos, pero - si puede ayudar a resolverlos haciendo una investigación sistemática, proponiendo rutas biogénéticas y sobre todo no permitiendo que la determinación de la estructura sea en sí mismo la finalidad de la investigación en productos naturales.

## GENERALIDADES.

### QUIMIOTAXONOMIA DEL GENERO EUPATORIUM.

Cronológicamente, la taxonomía o clasificación sistemática de los vegetales fué realizada por la botánica, ciencia que utilizó las características morfológicas para realizar la clasificación del reino vegetal.

Pero al evolucionar la investigación química sobre productos naturales, se obtuvieron datos que le dan al taxonomista nueva arma para confirmar o modificar las clasificaciones del reino vegetal.

Existen, por lo menos, dos formas para relacionar los datos botánicos con los datos químicos, uno es elegir una familia o un género, e investigar que productos se aislan de ellos, el otro es tomar una sola estructura básica y ver su distribución en el reino vegetal. El primero nos indicaría el grado de coincidencia entre la taxonomía botánica y la quimiota<sup>x</sup>onomía, el segundo nos relacionaría rutas biogenéticas iguales o paralelas en diferentes géneros o especies.

Ya que del *Eupatorium rhomboideum* H.B.K. se aisló la euparhombina, nueva germacradienólida cuya estructura y estereoquímica se describe en ésta tesis, se intenta realizar un estudio quimiota<sup>x</sup>onómico del género-

## Eupatorium.

Como se indica en la tabla 1, del género Eupatorium se han aislado lactonas sesquiterpénicas, alcaloides, flavonoides, glicósidos, cromenos y esteroides.

De las 23 especies de Eupatoriums estudiadas, 12- contienen flavonoides, tanto libres como glicósidos. - Esto no es de extrañar ya que los flavonoides son los- compuestos que están extendidos en el reino vegetal y- su estudio se ha incrementado porque algunos de ellos- presentan actividad biológica. (1)

Entre las estructuras de flavonoides que con mayor frecuencia aparecen en el género Eupatorium son las es- tructuras de flavonas y flavonoles, este hecho tiene - valor taxonómico, por ejemplo, si se duda en la clasifi- cación de una planta, la presencia o ausencia de flavo- noides de éste tipo sería un aporte más para decidir - si la planta en estudio pertenece o no pertenece al gé- nero Eupatorium. (tabla 2)

De los demás compuestos aislados, las únicas que- presentan posibilidad de ser explotadas taxonómicamente son las lactonas sesquiterpénicas ya que los demás pro- ductos no son muy abundantes en éste género.

Al analizar la tabla 3 se ve que en las especies-

TABLA 1

<u>Eupato</u> <u>rium</u>	<u>Lactonas</u>	<u>Alcaloi</u> <u>des</u>	<u>Flavonas</u>	<u>Glicó</u> <u>sidos</u>	<u>Crome</u> <u>nos</u>	<u>Estero</u> <u>les</u>
<u>Cunei-</u> <u>folium</u>	<u>Eupacuni</u> <u>na (6)</u>		<u>Hispidu</u> <u>lina</u>	<u>Flavo</u> <u>nol 3</u>		
			<u>Eupafoli</u> <u>na (1)</u>	<u>glicó</u> <u>sidos</u> <u>(7)</u>		
<u>Rotun-</u> <u>difolium</u>	<u>Eupatori</u> <u>na (2)</u>			<u>Flavo</u> <u>nol 3</u>		
	<u>Eupaclo-</u> <u>rina (3)</u>			<u>glicó</u> <u>sidos</u> <u>(7)</u>		
	<u>Bromoace</u> <u>tato de-</u> <u>Eupatori</u> <u>na (4)</u>					
<u>Semise-</u> <u>rratum</u>	<u>Eupase-</u> <u>rrina (5)</u>		<u>Eupatori</u> <u>na (7)</u>			
			<u>Eupafoli</u> <u>na (7)</u>			
			<u>Pectoli-</u> <u>narigeni</u> <u>na (7)</u>			
<u>Canna-</u> <u>binum</u>	<u>Eupatorio</u> <u>picrina</u> <u>(9)</u>					
<u>Ligus-</u> <u>trinum</u>	<u>Ligustri-</u> <u>na (11)</u>		<u>Eupatoli</u> <u>tina</u>			
			<u>Eupaliti</u> <u>na (8)</u>			
<u>Stoechas</u> <u>dosmum</u>		<u>Linde</u> <u>lofina</u>				
		<u>Supini</u> <u>na (10)</u>				

cont. TABLA 1

<u>Eupato- rium</u>	<u>Lactonas</u>	<u>Alcaloi- des</u>	<u>Flavonas</u>	<u>Glicó- sidos</u>	<u>Crome- nos</u>	<u>Estero- les</u>
Azureum						Epi-frie- delinol.  Ac. de - Taraste- rol (12)
Lepto- phyllum				Isorham- netina- 3 glicó- sido (13)		
Ripa- rium					Crome- nos (19) (21)	
Formo- sanum	Eupatoli- da (18)					
Sero- tinum			Flavona O y C-- glicósi- dos (14)			
Odora- tum			Isosaku- ranetina (15)			sistoes- teroles (17)
Perfo- liatum			Flavona Flav- Dehidro-nol 3- flavona glicó- (16) sidos (7)			
Capilli folium				Flavonol 3 glicó- sidos (7)		

cont. TABLA 1

<u>Eupato</u> <u>rium</u>	<u>Lactonas</u>	<u>Alcaloi</u> <u>des</u>	<u>Flavonas</u>	<u>Glicó</u> <u>sidos</u>	<u>Crome</u> <u>nos</u>	<u>Estero</u> <u>les</u>
Hava- nese			Sukurane tina Ac. de - Pulcherryl (20)			
Album				Flavo nol 3 glicó sidos (7)		
Coeles tinum				Flavo nol 3 glicó sidos (7)		
Hyssopi folium				Flavo nol 3 glicó sidos (7)		
Glandu- loseum					Crome nos (21)	
Adeno- phorum					Crome nos (21)	

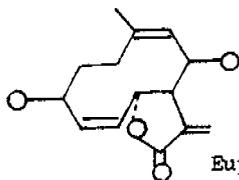
TABLA 2

Eupatorium	Nombre	Tipo de Flavonoide
Odoratum	Sahigenina	Flavona
	Isosakuranetina (15)	Flavona
Capillifolium	metil aromadendrina (7)	Dihidro flavonol
Perfolatium	metil aromadendrina (7)	Dihidro flavonol
Leptophyllum	Isorhamnetina (13)	Flavonol
Cuneifolium	Quercetina 3 $\beta$ galac- tosida	Flavonol
	Kaempfenol 3 $\beta$ gluco- sida (7)	Flavonol
Alba	Quercetina 3 $\beta$ ruti- nosida	Flavonol
	Kaempfenol 3 $\beta$ ruti- nosida	Flavonol
Recurvans	Quercetina 3 $\beta$ ruti- nosida	Flavonol
	Kaempfenol 3 $\beta$ ruti- nosida	Flavonol
Rugasum	Quercetina 3 rutino- sida	Flavonol
	Kaempfenol 3 $\beta$ ruti- nosida	Flavonol
Ligustrimum	Eupalitina	Flavonol
	Eupatolitina (8)	Flavonol
Havenese	Sekuranetina (20)	Flavona

cont. TABLA 2

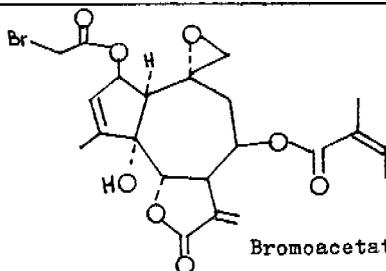
Eupatorium	Nombre	Tipo de Flavonoide
Semiserratum	Eupatorina	Flavona
	Eupatilina	Flavona
	Pectolinarigenina (7)	Flavona
Capillifolium	Quercetina 3 $\beta$ galac tósida	Flavonol
	Kaempfenol 3 $\beta$ glucósi da (7)	Flavonol
C. Perfoliatum	Quercetina 3 $\beta$ galac tósida	Flavonol
	Kaempfenol 3 $\beta$ glucó sida (7)	Flavonol
Cuneifolium	Hispidulina	Flavonol
	Eupafolina (1)	Flavonol

E. Cuneifolium

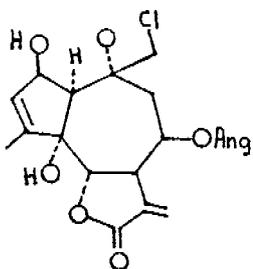


Eupacunina (6)

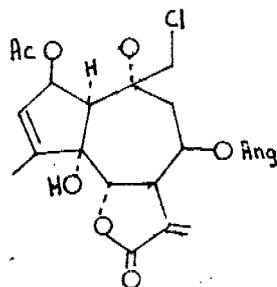
E. Rotundifolium.



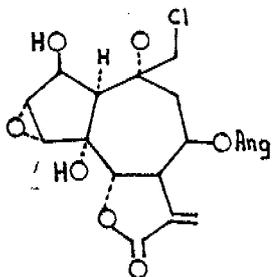
Bromoacetato de Euparotina (4).



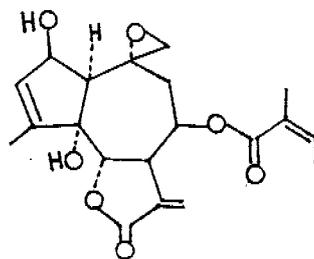
Eupaclorina. (3)



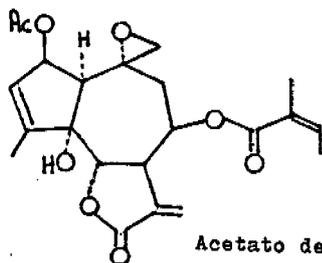
Acetato de Eupaclorina (3)



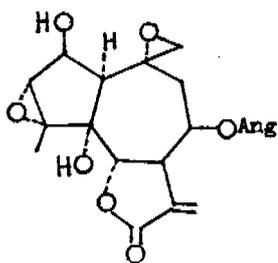
Eupacloroxina (4)



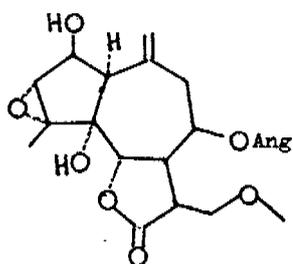
Euparotina (2)



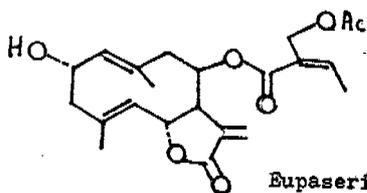
Acetato de Euparotina (2).



Eupatoroxina (4).

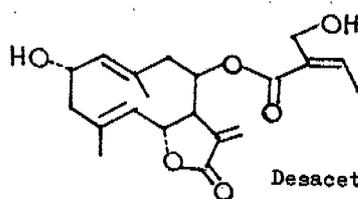


Eupatundina (4).



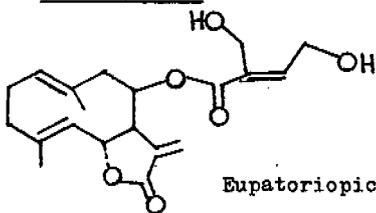
E. Semiserratum.

Eupaserina (5).



Desacetil Eupaserina (5).

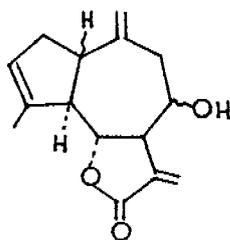
E. Cannabinum



Eupatoriopicrina (9).

---

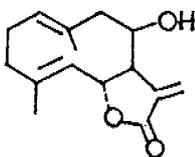
E. Ligustrinum



Ligustrina (11).

---

E. Formosanum



Eupatulida. (18)

de Eupatoriums revisadas aparecen solamente dos esqueletos hidrocarbonados de lactonas sesquiterpénicas, - germacranólidas y guaianólidas. La abundancia de estas dos estructuras de lactonas sesquiterpénicas en el género Eupatorium, como también la presencia de germacranólidas, guaianólidas con eudesmanólidas y elemanólidas en otros géneros,<sup>(43)</sup> apoya la tesis de que las - germacranólidas son metabolitos secundarios intermedios que biogénicamente producirán esqueletos hidrocarbonados de eudesmanos, guaianos y eremofilanos principalmente.<sup>(44)</sup>

## PARTE    TEORICA.

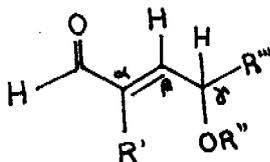
Del *Eupatorium rhomboideum* H.B.K. de la tribu Eupatorieae (familia de las compuestas), se aisló una nueva sustancia a la que se llamó euparhombina.

La euparhombina (1a)  $C_{19}H_{24}O_5$   $[\alpha]_D^{25} -149.6$ , contiene una lactona  $\gamma$  con metileno exocíclico conjugado (IR 1765 y 1665  $cm^{-1}$ ); en RMN se observan los dobletes típicos de los protones del metileno a 6.32 ppm ( $J=2.1$  Hz) y 5.7 ppm ( $J=2$  Hz). La sustancia también tiene un éster metacrílico (IR 1720  $cm^{-1}$ ) cuyo metilo vinílico aparece como singulete ancho a 1.91 ppm. En EM se observa la fragmentación característica de dicho éster - m/e 69 ( $\text{>C}\equiv\text{O}^+$ ) (100 %) y a m/e 246 ( $M^+ - C_4H_6O_2$ ) - (30%). En RMN aparece otro metilo vinílico a 1.74 ppm (singulete ancho).

En base a estos datos se puede proponer una estructura germacranólida para la euparhombina, donde el otro metilo se encuentra oxidado a hidroximetileno (IR -- 3600  $cm^{-1}$ ), el metileno base del alcohol primario es alílico como lo indica el desplazamiento químico de su señal a 4.04 ppm la cual integra para 2 H y se presenta como singulete ancho por interacción homoalílica.

El acetato de la euparhombina (1b) se obtiene con  $Ac_2O$  piridina; el espectro de RMN muestra los protones

del grupo  $-\text{COCH}_3$  como singulete a 2.05 ppm (3H) y el metileno del grupo  $\text{CH}_2-\text{O}-$  base del acetato a 4.5 ppm (2H), singulete ancho por interacción homoalílica. Se comprobó el carácter alílico del grupo oxhidrilo de la euparhombina (1a) al efectuar la oxidación con  $\text{MnO}_2$  obteniéndose el aldehído conjugado (2) (IR  $1690\text{ cm}^{-1}$ ) el espectro de RMN de (2) presenta el protón aldehídico a 9.4 ppm y desaparece la señal debida al grupo  $\text{CH}_2\text{OH}$ . También se observó que un solo doblete se desplazó de 5.3 ppm a 6.3 ppm (1H  $J= 10.5\text{ Hz.}$ ), esta señal se atribuyó a un protón vinílico  $\beta$  al carbonilo que por su multiplicidad debe interaccionar con un solo protón  $\gamma$  al carbonilo y por consiguiente en ésta posición puede haber una función oxigenada (éster o lactona).



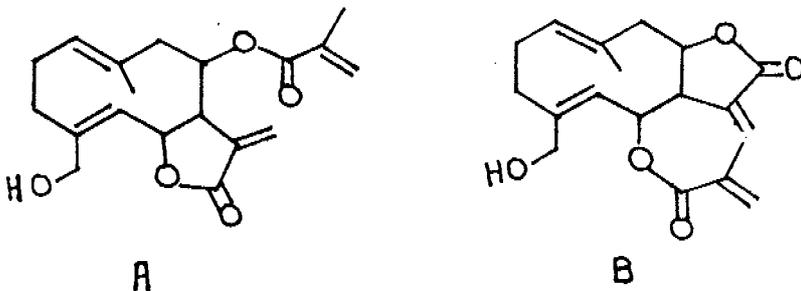
Se propone que el grupo OH este en  $\text{C}_{15}$ , el  $\text{H}_\beta$  sea  $\text{H}_5$  y el  $\text{H}_\gamma$  sea  $\text{H}_6$  en el esqueleto hidrocarbonado de la germacradienólida, ya que por su multiplicidad no es posible otro arreglo estructural.

En el espectro de RMN a 100 MHz. de la euparhombina aparecen dos dobletes a 2.72 ppm (1H  $J= 3\text{ Hz.}$ )

*de dobletes*  
- 15 -

$J = 14$  Hz) y 2.34 ppm (H  $J=3$ ,  $J= 14$  Hz.), que interactúa con un protón que se localizó en 5.2 ppm, ya que al irradiar esa zona el doblete de dobletes se simplificó a doblete ( $J=14$  Hz. ). La única posibilidad de acomodar estas señales en una germacradienólida es proponer un metileno en  $C_9$  y  $H_8$  el protón con el cual está interactuando, dejando una doble ligadura entre  $C_1$  y  $C_{10}$  explicando así la presencia del metilo vinílico a 1.74 ppm.

Con esto se puede proponer la estructura A ó B para la euparhombina



El tratamiento de (1a) con MeONa en MeOH produce el desmetacril aducto (3). El espectro de IR de este producto muestra bandas a  $3660\text{ cm}^{-1}$  (oxhidrilos),  $1770\text{ cm}^{-1}$  (lactona  $\gamma$  saturada) y no mostró la banda de éster. En el espectro de RMN se observó a 3.3 ppm un singulete atribuido al grupo  $-\text{OCH}_3$ , no apareciendo los dobletes -

del metileno exocíclico ni las señales debidas al éster metacrílico. La señal correspondiente a  $H_3$  se observó a 4.2 ppm (m) parcialmente sobrepuesta a la atribuída al metileno de  $C_{15}$ .

La oxidación de (3) con  $MnO_2$  dá el aldehído (4), el espectro de RMN de (4) muestra el protón aldehídico como singulete a 9.5 ppm,  $H_5$  aparece en 6.58 ppm ( $J=10.5$  Hz.),  $H_6$  se observó como doblete de doblete a -- 5.32 ppm ( $J=10.5$  Hz. y 3 Hz.), en 5.14 ppm y 4.6 ppm-- aparecen señales complejas que se atribuyen al protónvinílico  $C_1$  y a la base del oxhidrilo en  $H_8$  respectivamente.

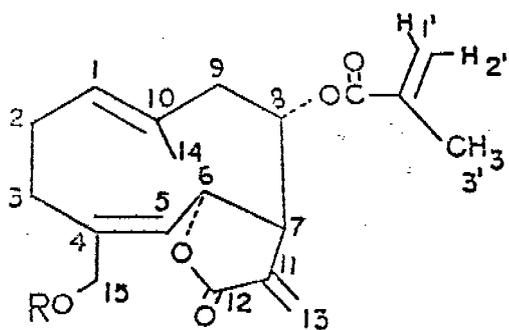
De acuerdo con los datos espectroscópicos del producto de saponificación (3) y con el desplazamiento -- químico de  $H_6$  observado en todos los productos descritos en este trabajo (protón base de lactona alílico),-- se deduce que la lactona se encuentra cerrada a  $C_6$  -- (fórmula A) consecuentemente el grupo éster se encuentra en  $C_8$ .

La estereoquímica de la euparhombina se dedujo a -- partir de los valores de las diferentes constantes de acoplamiento y al uso de reactivos de desplazamiento.-- Se propone que la euparhombina pertenece al grupo de -- las heliangólidas ( $\Delta^{4-5}$  cis, lactona trans) ya que sus

constantes entre  $H_{13}$ ,  $H_{13'}$  y  $H_7$  presentan valores menores de 3 Hz. que son similares en un gran número de lactonas pertenecientes a éste grupo (tablas 4 y 5), además las constantes de acoplamiento  $J_{5-6} = 10.5$  Hz. y  $J_{6-7} = 3$  Hz. en los productos (1a) y (4) equivalen a los valores encontrados en la heliangina, puntaliatrina, elegantina, liscundrina, liscunditrina y provincialina, lactonas que son heliangólidas. Además se acepta que el  $H_7$  es como en todos los sesquiterpenos naturales.

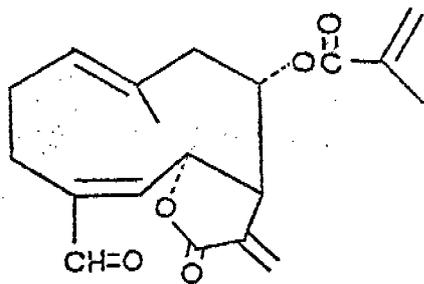
Al correr el espectro de RMN de la euparhombina con 5.8 mg. de  $\text{Pr}(\text{fod})_3$  el espectro mostró que el reactivo se asoció con el grupo OH ya que el metileno de  $\text{C}_{15}$  se desplazó de 4.08 a 2.3 ppm., también se observó un cambio notable para  $H_5$  de 5.46 a 3.65 ppm, indicativo de una relación cis para el  $-\text{CH}_2\text{OH}$  y  $H_5$ .

La configuración absoluta de  $\text{C}_8$  se estableció como S (grupo éster  $\alpha$ ) aplicando el método Horeau<sup>(42)</sup> en el compuesto (4). Solamente si la doble ligadura  $\text{C}_1 - \text{C}_{10}$  posee una configuración trans en el modelo Dreiding de la euparhombina los ángulos dihedros calculados están de acuerdo con las constantes de acoplamiento y con la estereoquímica establecida para  $\text{C}_8$ .

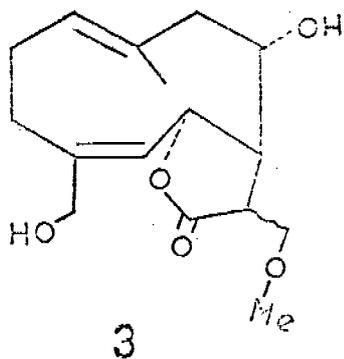


1a, R=H

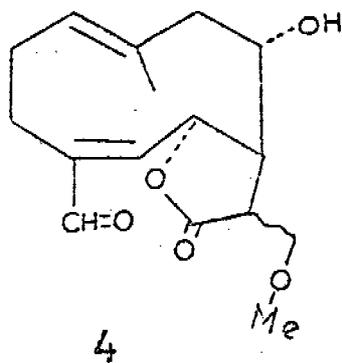
1b, R=Ac



2



3



4

TABLA 4

PARAMETROS SELECTOS DE RMN DE GERMACRANOLIDAS CON  
 $\Delta^{4,5}$  CIS, LACTONAS TRANS (HELIANGOLIDAS).

Compuesto	C <sub>11</sub> -CH <sub>2</sub>	Me en C <sub>4</sub>	H <sub>5</sub>	H <sub>6</sub>	H <sub>7</sub>	H <sub>8</sub>
Metacrila to de Erioflorina. (22)	5.72 d (2.0) 6.20 d (2.0)	1.90 d (1.5)	6.2 dd (1.5,11)	6.2 dd (11, 2)	2.9 m	5.15 m
Erioflorina (23)	5.83 d (2.0) 6.35 d (2.0)	1.84 d (0.5)	5.3 d (11)	6.5 d (1, 11)		
Heliangi- na (24)	5.7 d (2.0) 6.3 d (2.0)	1.9 sa	5.3 d (11)	6.5 d (11)		5.72 m
Melampodi- na (25)	5.60 d (3.0) 6.19 d (3.0)	2.1 sa	5.4 d (10)	5.1 d (10)	2.5 m	3.79 m
Puntalia- trina(26)	6.40 d (2.1) 5.77 d (1.4)		5.6 da (10,0.5)	5.15dd (10,1)	3.1 m	5.26 m
Provincia- lina (27)	6.35 d (2.1) 5.78 d (1.9)		5.2 dd (11,2.4)	5.93dd (11,1.2)	2.9 m	5.3 m
Eleganina	6.37 d (1.7) 5.38 d (1.7)	4.25 s	5.5 da (11.5)	5.4 da (11.5)		5.1 m

cont. TABLA 4

Compuesto	C <sub>11</sub> -CH <sub>2</sub>	Me en C <sub>4</sub>	H <sub>5</sub>	H <sub>6</sub>	H <sub>7</sub>	H <sub>8</sub>
Eupatocumina(30)	6.24 d (2.5) 5.96 d (2.0)	1.8 d (1.5)	4.8 dd (1.5,11)	4.2 dd (2.5,11)	6.7 m	4.36 dd (1.3)
Liatrina	6.3 d (2.3) 5.69 d (2.3)	8.09m	5.65dd (1.5,6.5)	5.88 m	3.4 m	5.22 t
Woodhouseina	6.23 d (2.4) 5.60 d (2.0)	1.7 d (1.5)	5.50 m	5.60 m	4.0 m	

TABLA 5

PARAMETROS SELECTOS DE RMN DE GERMACRANOLIDAS CON  
 $\Delta^{4,5}$ TRANS, LACTONAS TRANS.

Compuesto	C <sub>11</sub> -CH <sub>2</sub> Me en C <sub>4</sub>	H <sub>5</sub>	H <sub>6</sub>	H <sub>7</sub>	H <sub>8</sub>
Eupaserrina (5)	6.30 d (3.5) 5.6 d (3.0)	1.8	5.0 m	5.0 m	3.0m 5.8 m
Desacetil Eupaserrina (5)	6.30 d (3.5) 5.53 d (3.0)		5.0 m	4.9 dd (8.10)	3.0m 5.84 m
Uvedalina (33)	5.71 d (3.1) 6.25 d (3.4)	2.01	5.4 d (8.4)	6.6 dd (1.4)	2.7m (8.4) 5.1 dd (10.3)
Melampodina (34)	6.2 d (3.0) 5.6 d (3.0)	2.1 sa	5.2		2.5 6.2 dd
Chihuahui na (35)	6.3 dd (3.5,1.2) 5.79 dd (3.0,1.0)	1.63 d (1.5)	5.3 dd 10	4.9 dd (8.0,10)	4.92
Eupatorio picrina (36)	6.22 d (3.4) 5.61 d (3.5)	1.8 s	4.8 d (10)	5.25 (8.5)	2.98 5.81 m
Eupatolida (37)	6.37 d (3.5) 5.51 d (3.1)	1.73	4.74 (9.6)	5.24 (8.2)	2.98 4.6

cont. TABLA 5

Compuesto	C <sub>11</sub> -CH <sub>2</sub> Me en C <sub>4</sub>	H <sub>5</sub>	H <sub>6</sub>	H <sub>7</sub>	H <sub>8</sub>
Ac. de O- vatifoli- na (38)	5.52 d (3.0) 6.23 d (3.5)	1.66 d (1.3)	4.78 dq (1.3,10)	5.1 bdd (10,8.5)	2.8 m 5.6 m
Epitulipi nolida (39)	5.59 d (3.0) 6.28 d (3.5)	1.76 d (1.3)	4.78 dq (1.3,10)	5.1 dd (10,8.1)	2.9 m 5.7 m
Tulipino- lida (40)	5.84 dd (1.5,3.0) 6.34 dd (1.5,3.0)	1.71 d (1.5)	5.2-4.8	5.2-4.8	3.0 m 5.2-4.8m
Ovatifoli na (41)	5.52 d (3.0) 6.3 d (3.0)	1.7 d (1.3)	4.73 bd (10.5)	5.14dd (9,10.5)	2.7 m 4.5 m

T A B L A 6

Datos de RMN de euparhombina 1a y compuesto 4

1a				4				
H	$\delta_{\text{CDCl}_3}$	m	$J_s \cdot \text{Hz}$	$\delta$	mult	J	angulo probable	
H-13	6.32	d	$J_{7-13} = 2$	3.85	d, d	$J_{13-13'} = 9.5$ $J_{11-13} = 4.5$		
H-1'	6.06	sext	$J_{2'-4'} = 1$ $J_{2'-3'} = 1.5$					
H-13'	5.74	d	$J_{7-13'} = 2$	3.61	d, d	$J_{11-13'} = 3$		
H-2'	5.56	quint	$J_{3'-4'} = 1.5$					
H-5	5.46	d, a	$J_{5-8} = 11$ $J_{5-13} = 1.3$	6.52	d	$J_{5-8} = 10.5$	150°	
H-6	5.22	m		5.3	d, d	$J_{6-7} = 3$	104°	
H-8	5.22	m		4.16	m			
H-1	5.22	t, a		5.11	t, a			
CH <sub>2</sub> -15	4.08	d		9.41	s			
H-7	2.99	m	$J_{8-7} = 1$ $J_{7-8} = 1.2$				105°	
H-9	2.7	d, d	$J_{9-9'} = 14.5$ $J_{3-9} = 3$				60°	
H-9'	2.36	d, d	$J_{2-9'} = 2.7$				60°	
CH <sub>3</sub> -3'	1.8	d, d						
CH <sub>3</sub> -14	1.75	s, a		1.86	s, a			
			O-Me	3.43	s			

Los espectros se determinaron en un espectrómetro Varian HA 100 MHz. Los valores están dados en ppm (escala  $\delta$ ), usando como indicador interno TMS. Se usó como disolvente CDCl<sub>3</sub>. Las abreviaturas indican lo siguiente: s=singulete, d=doblete, t=triplete, q=cuarteto, m=multiplete, a=ancho. Las constantes de acoplamiento están dadas en Hz.

## ACTIVIDAD BIOLÓGICA.

Para conocer la actividad citotóxica de la euparhombina, se realizaron estudios con diferentes dosis del compuesto sobre el crecimiento de células fibroblásticas L-929 de origen murino y células HEp-2 procedentes de carcinoma laríngeo humano, comparando los resultados producidos por estas sustancias en ambas líneas celulares.

## RESULTADOS Y DISCUSION.

De acuerdo al histograma encontramos (~~ver material y métodos en parte experimental~~) que la euparhombina a dosis de  $1 \mu\text{g/ml}$ . sobre la línea L-929 estimula el crecimiento, (el estudio estadístico de acuerdo a la prueba de  $t$  demuestra que los datos son significativos a nivel de 0.01); en cambio a dosis de  $5 \mu\text{g}$  se produce alrededor del 47 % de inhibición en el crecimiento comparado con el control, aumentando la inhibición a medida que se incrementa la dosis, llegándose a producir la muerte en el 100 % de las células a dosis de  $50 \mu\text{g}$ . En esta línea celular, la dosis efectiva media ( $DE_{50}$ ) es de alrededor  $5 \mu\text{g/ml}$ . Es de suma importancia el incremento celular producido por  $1 \mu\text{g}$  de esta sustancia.

En la línea HE p-2 a dosis de 1.5 y 10  $\mu\text{g/ml}$  de euparhombina, se encontró que no hubo cambios significativos en el crecimiento en relación al control, en cambio a dosis de 50  $\mu\text{g/ml}$  la inhibición del crecimiento llegó a un 71%, lo que significa que la dosis efectiva media ( $\text{DE}_{50}$ ) es mayor de 10 y menor de 50  $\mu\text{g/ml}$ . Por otro lado a la dosis de 50  $\mu\text{g/ml}$  se observó un 38% de células muertas, de lo que se puede deducir que la línea HE p-2 es más resistente a esta substancia que la línea L-929 en la cual se observó toxicidad total a dosis de 50  $\mu\text{g/ml}$ .

La euparhombina a las dosis de 1.5 y 10  $\mu\text{g/ml}$  no tiene efectos tóxicos, ya que el por ciento de células muertas encontradas en ambas líneas son semejantes al control.

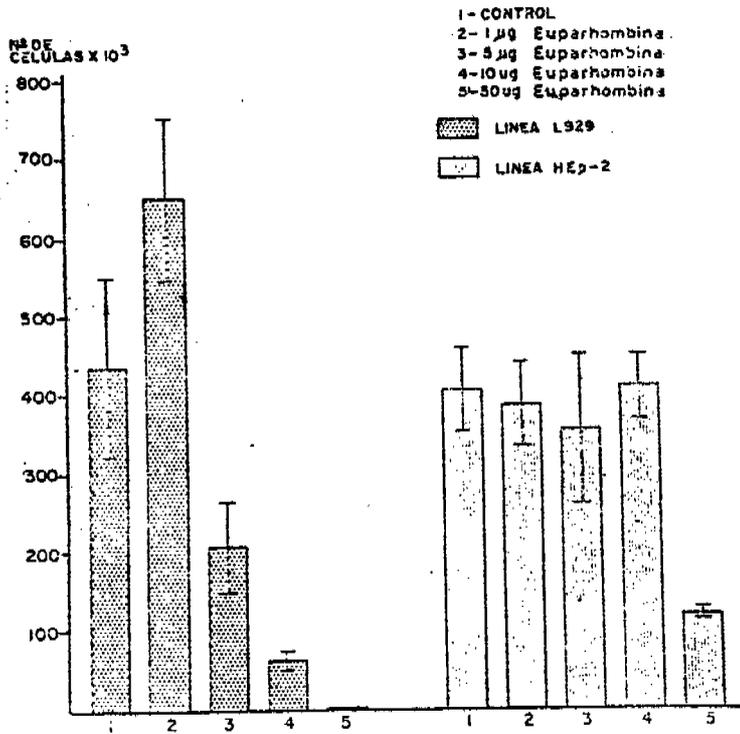
Además se determinó el porcentaje de mitosis en ambas líneas, en la L-929 el porcentaje en presencia de 1  $\mu\text{g/ml}$  fué similar al control, conforme se aumentó la concentración el porcentaje disminuyó (tabla 7). En la línea HE p-2 el porcentaje de mitosis solamente difiere significativamente con respecto del testigo a la concentración de 50  $\mu\text{g/ml}$ .

T A B L A        7

PORCENTAJE DE MITOSIS EN LAS LINEAS L-929 Y HEp-2  
CULTIVADAS EN PRESENCIA DE EUPARHOMBINA  
DURANTE 72 HORAS.

Compuesto	% de mitosis	
	L-929	HEp-2
Propilen Glicol	4.5	2.5
euparhombina 1 $\mu$ g	4.0	2.3
"      5 $\mu$ g	1.5	3.4
"      10 $\mu$ g	0.4	2.8
"      50 $\mu$ g	0.0	0.6

# HISTOGRAMA



PARTE      EXPERIMENTAL.

AISLAMIENTO DE LA EUPARHOMBINA (1a).

El *Eupatorium rhomboideum* H.B.K. fué recolectado en el Km. 40 de la carretera México - Toluca en Agosto de 1975. La cantidad total de planta fué de 2.263 Kg. la cual fué molida después de haberla secado. Poste - riormente se le sometió a una extracción con etanol a temperatura ambiente.

El extracto etanólico se concentro a presión reducida y se le trató con celita, carbón y agua. Después de filtrar, se sometió al filtrado a una extracción con cloroformo.

El extracto cloroformico se concentró a presión reducida hasta sequedad. El extracto (230 g.) fué cromatografiado en una columna preparada con sílice (2 Kg) y eluída con solventes de polaridad creciente (benceno, acetato de etilo y MeOH).

En las fracciones eluídas con benceno-AcOEt 8 : 2 cristalizó de eter isopropílico una substancia con p.f. de 140-141°C a la cual se le llamó euparhombina.

IR      3450  $\text{cm}^{-1}$  banda ancha de -OH  
2950  $\text{cm}^{-1}$  banda intensa de C-H  
1720  $\text{cm}^{-1}$  banda de carbonilo de un éster -  
insaturado.

IR 1720  $\text{cm}^{-1}$  banda de carbonilo de lactona-insaturada.

Análisis Elemental

calculado para $\text{C}_{19}\text{H}_{24}\text{O}_5$	C 68.65% H 7.28%
	O 24.07%
encontrado	C 68.49% h 7.35%
	O 24.16%

Acetato de Euparhombina (lb)

A 300 mg de Euparhombina se le añadieron 3 ml de piridina y 3 ml de anh. acético, la reacción se dejó a temperatura ambiente y se controló por placa. Se paró la reacción con 5 ml de  $\text{H}_2\text{O}$  y se extrajo con 20 ml de cloroformo.

Al extracto cloroformico se le hicieron los siguientes lavados: agua,  $\text{NaHCO}_3$  al 10% y se secó de la manera usual, se concentró a presión reducida.

Se obtuvo una substancia sólida (140mg.) impura / con p.f. 123-126°C la cual se cromatografió en placa de sílice y se eluyó con 5% de AcOEt y 95% de benceno se obtuvieron 55 mg del acetato de euparhombina con p. f. de 126-127°C.

IR  
2940  $\text{cm}^{-1}$  banda media para C-H  
1765  $\text{cm}^{-1}$  banda de carbonilo de lactona  
1755  $\text{cm}^{-1}$  banda de carbonilo del acetato  
1720  $\text{cm}^{-1}$  banda de carbonilo de ester insaturado  
1550  $\text{cm}^{-1}$  banda de doble enlace

### Análisis Elemental

calculado para $C_{21}H_{26}O_6$	C 67.06% H 6.93%
	O 25.66%
encontrado	C 67.36% H 7.00%
	O 25.64%

### ALDEHIDO DE EUPARHOMBINA (2)

Se colocaron 100 mg de Euparhombina con 2 mg de  $MnO_2$  disueltos en 20 ml de cloroformo. Se colocó la reacción a temperatura ambiente con agitación continua, el progreso de la reacción se siguió por cromatografía en placa fina.

Se filtró el  $MnO_2$ , el filtrado se concentró casi a sequedad y al añadir éter isopropílico se obtuvieron cristales, los cuales fueron recristalizados de acetato de éter isopropílico, se obtuvieron 35 mg con p.f. de 130-131°C.

IR

2950  $cm^{-1}$  banda para C-H

1720  $cm^{-1}$  banda para carbonil del éster

1760  $cm^{-1}$  banda para carbonilo de lactona

### METANOLISIS DE la (3)

50 mg de Euparhombina se disolvieron en 10 ml de Me OH y 50 mg de Na se disolvieron en 10 ml de MeOH, se mezclaron las dos soluciones dejando la reacción 30 minutos a reflujo.

Se pasó la solución a través de sílice, se concentró a rotavapor, se extrajo con  $\text{CHCl}_3$ , se filtró a través de celita y se cristalizó de  $\text{CHCl}_3$ -éter isopropílico.

Se obtuvieron 45 mg con p.f. de 161- 164°C

IR  $3450 \text{ cm}^{-1}$  banda ancha de -OH  
 $2940 \text{ cm}^{-1}$  banda media de C-H  
 $1730 \text{ cm}^{-1}$  banda de lactona

Análisis elemental

calculado para $\text{C}_{16}\text{H}_{24}\text{O}_5$	C 64.82%	H 8.18%	O 27.01%
encontrado	C 64.84%	H 8.16%	O 27.00%

#### ALDEHIDO DEL ALCOHOL 3 (4)

90 mg del producto de saponificación y 360 mg de  $\text{MnO}_2$  se disolvieron en 50 ml de  $\text{CHCl}_3$ . Se agitó durante 48 hs. posteriormente el cloroformo fué evaporado - bajo presión reducida y se obtuvo el producto recristalizado de acetona-éter isopropílico, 30 mg del producto oxidado con un p.f. de 134- 135°C.

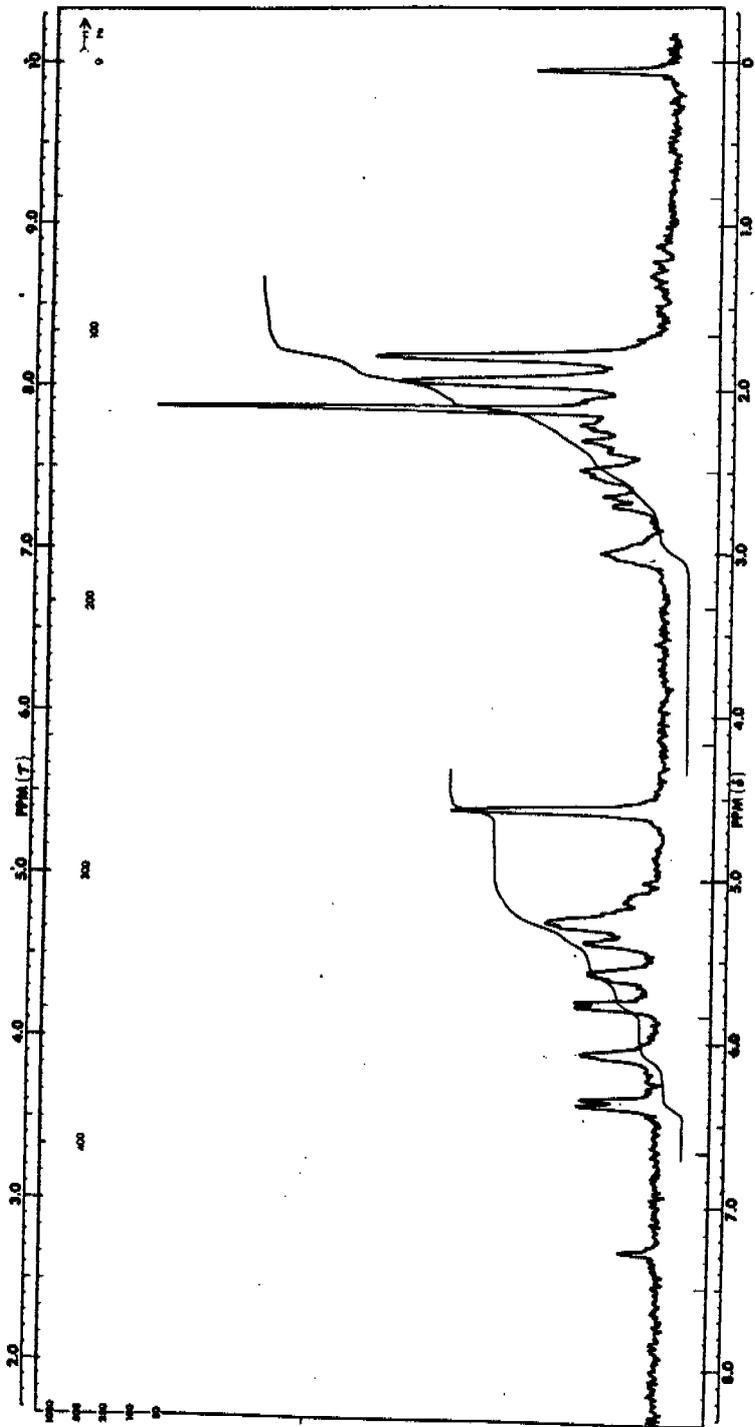
#### ESTEREOQUIMICA DEL $\text{C}_8$ POR EL METODO DE HOREAU EN EL ALCOHOL (3)

360 mg de anh. racémico  $\alpha$ -fenil butírico recién -- destilado y 100 mg del alcohol 3 fueron disueltos en 5 ml de piridina, la reacción se dejó a temperatura ambiente durante 48 hs. Posteriormente se le añadieron -

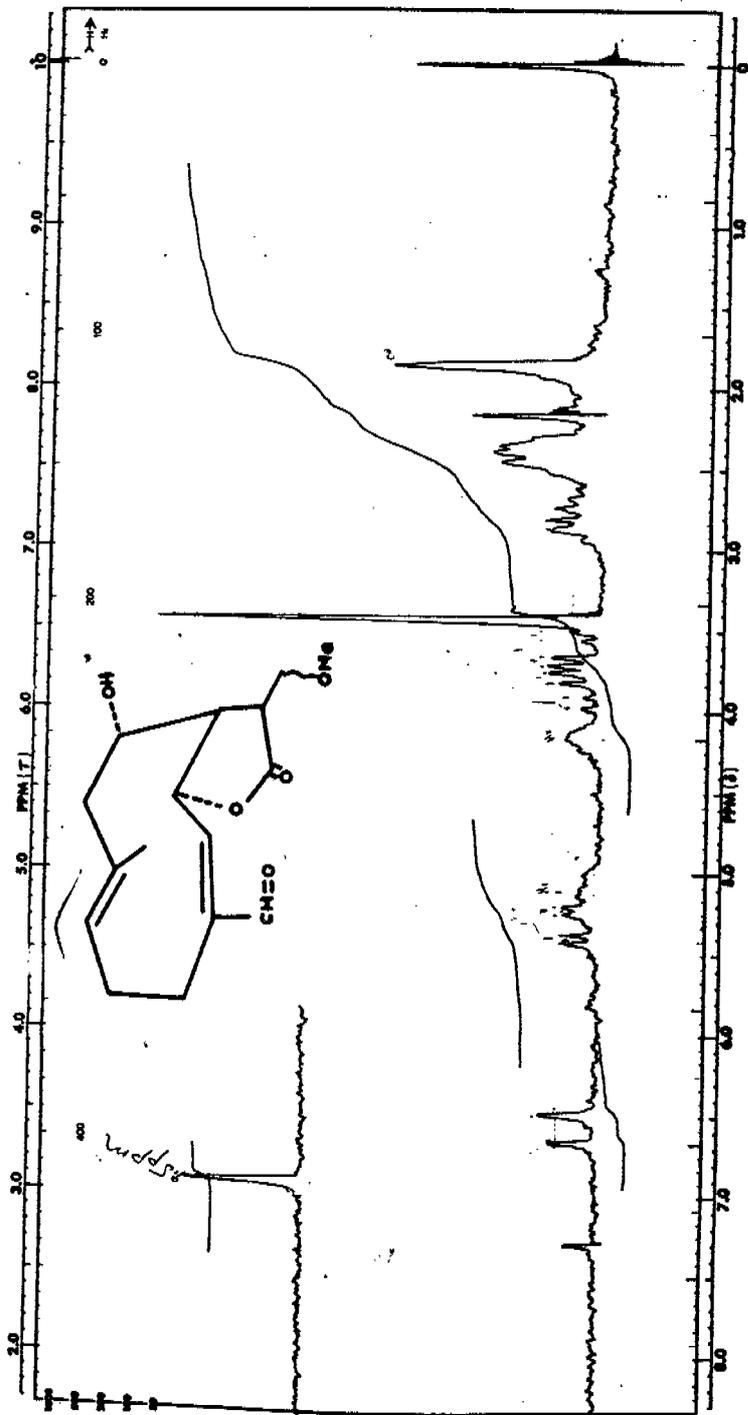
20 ml de agua para hidrolizar el exceso de anh. la solución acuosa fué tratada con acetato de etilo, el extracto de acetato de etilo fué lavado con agua, con -- una solución al 5% de bicarbonato de sodio (3 porciones de 10 ml), de nuevo con agua y finalmente con HCl 3N. la solución de acetato de etilo fué secada de la - manera usual y concentrada.

El extracto obtenido con el bicarbonato de sodio\_ fué lavado con  $\text{CHCl}_3$  antes de ser acidificado con un - exceso de HCl 3N se extrajo nuevamente con cloroformo que se lavó, secó y concentró, el ác.  $\alpha$ fenil butirico obtenido se utilizó para medir su rotación específica

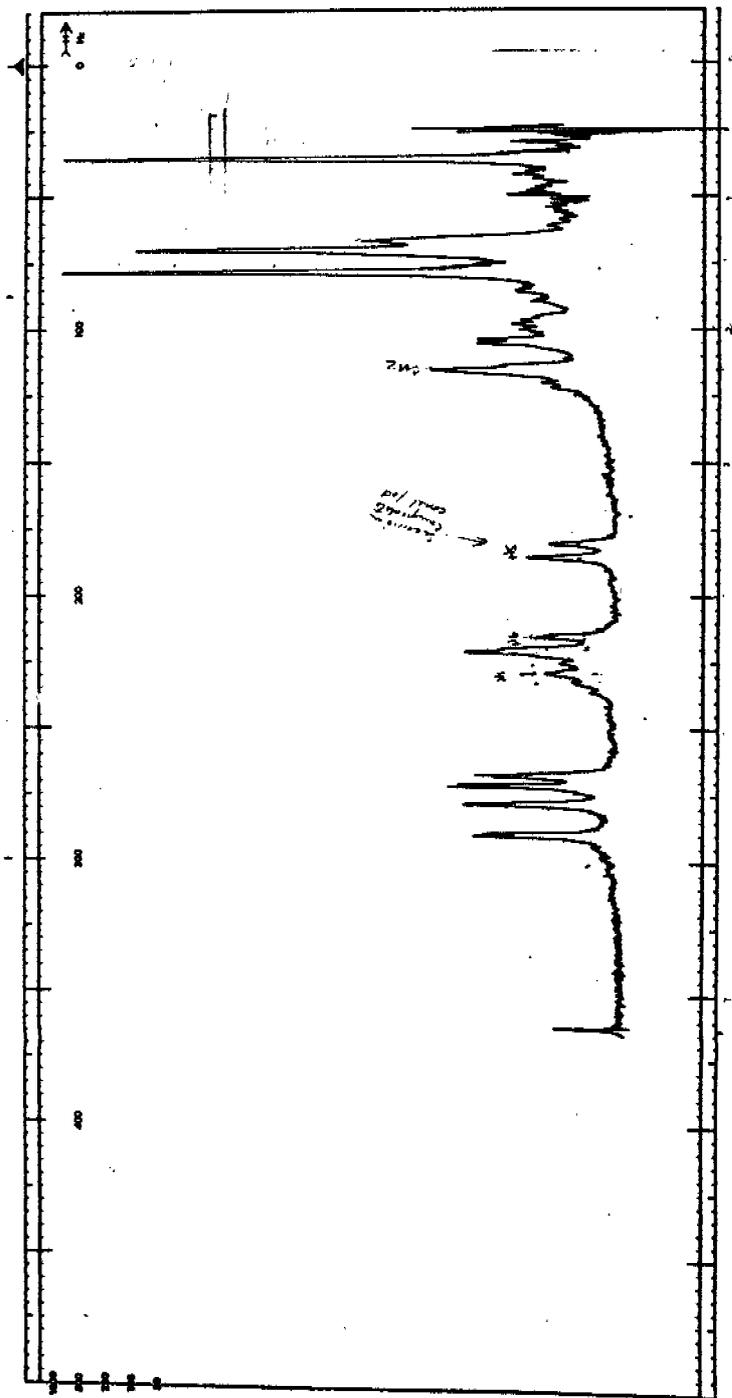
$[\alpha]_D^{28}$  para el ácido -10.6



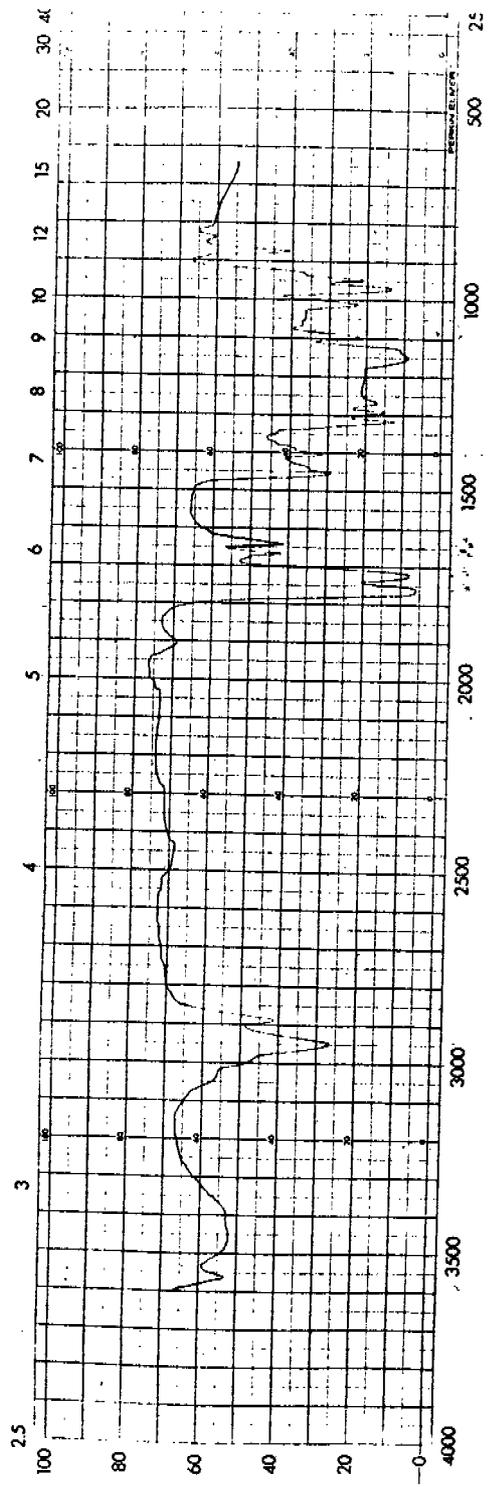
RMN del acetato de Euparrhombina



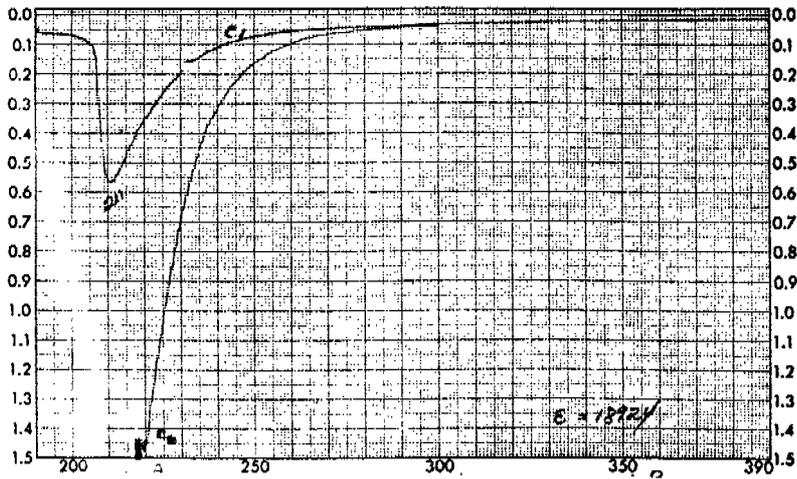
RMN del producto 5



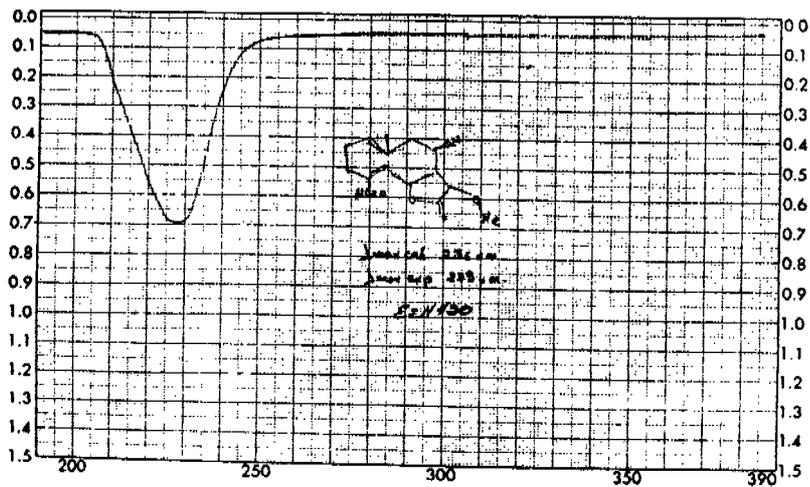
Euparrhombinat-Pr(fod)<sub>3</sub>

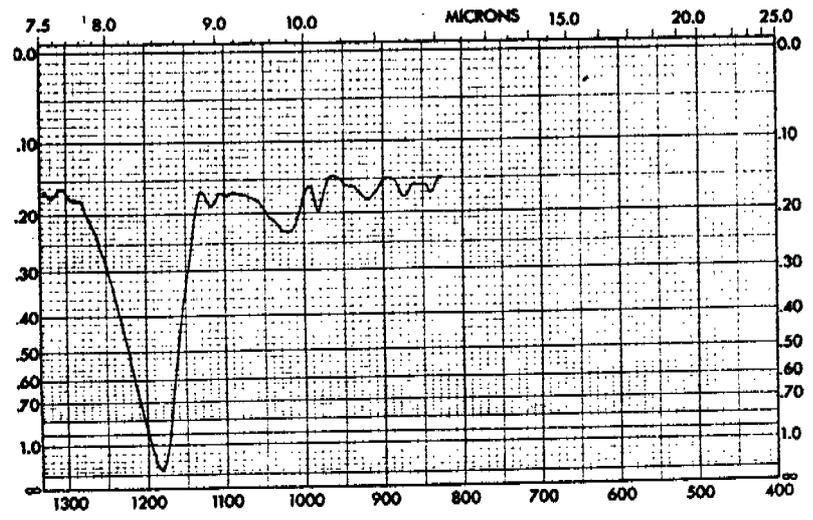
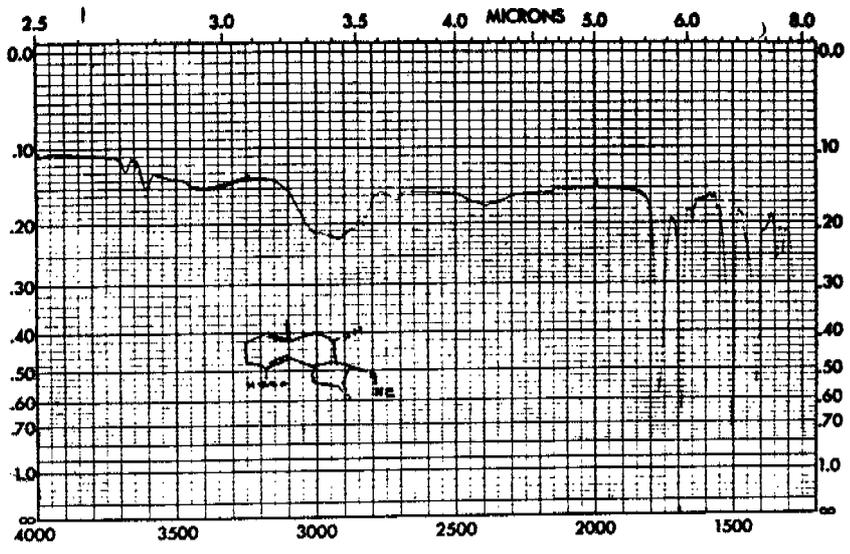


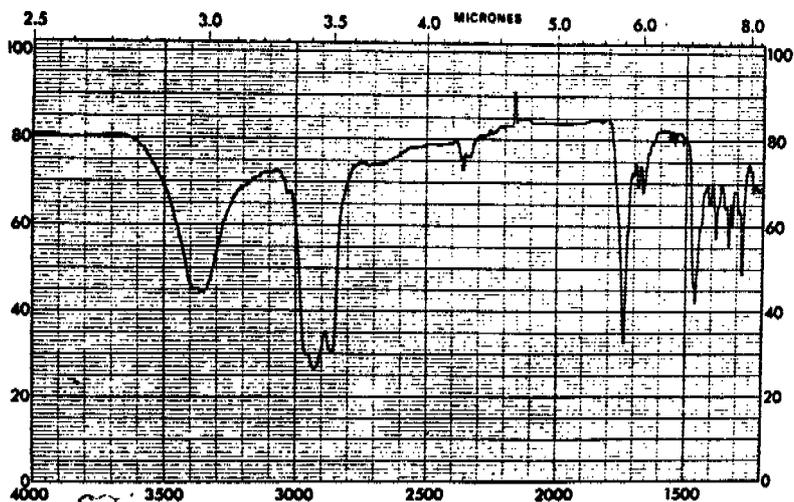
IR de la Euparrhombina



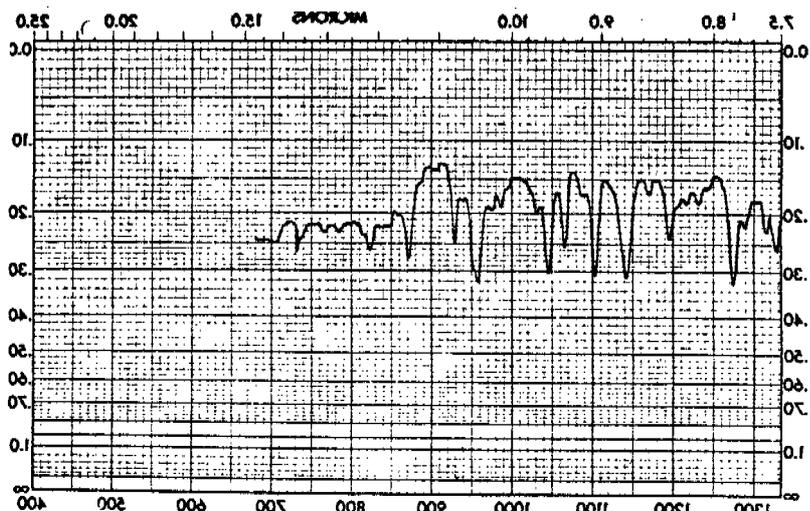
### UV de la Euparrhombinā

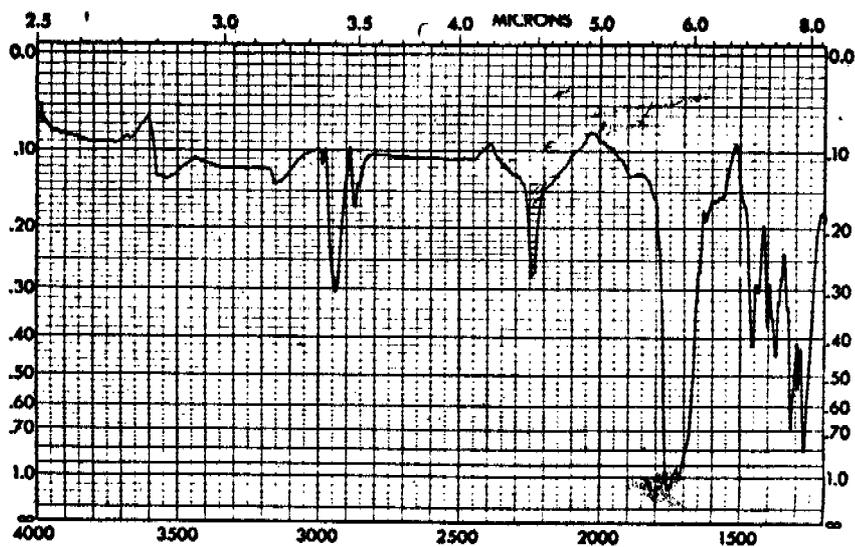




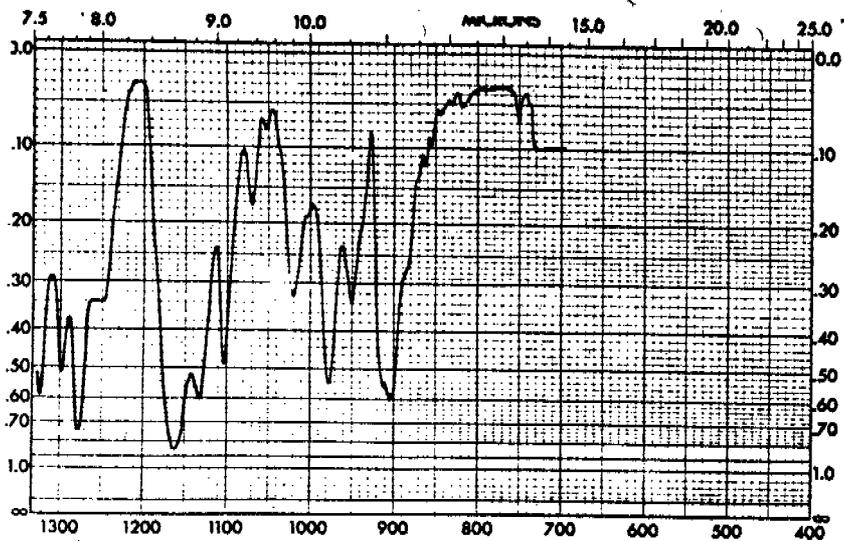


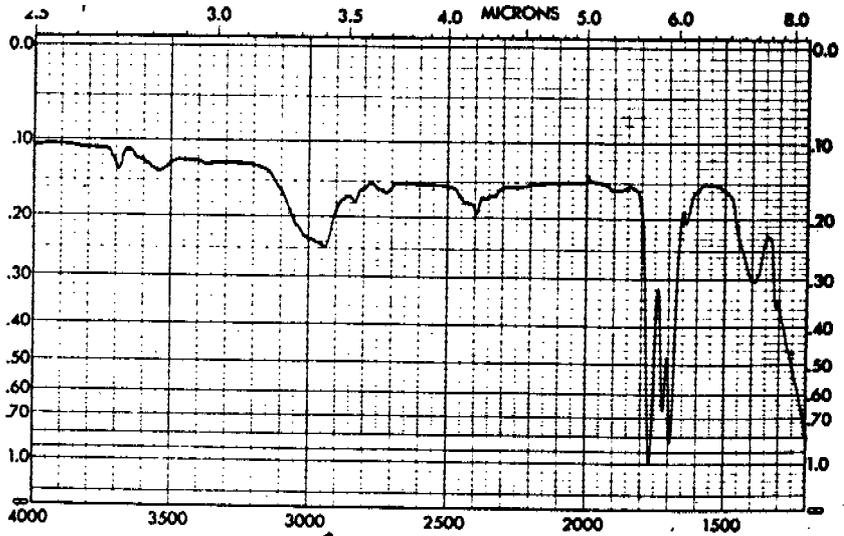
IR del producto de saponinit





IR del acetato de Euparrhombina





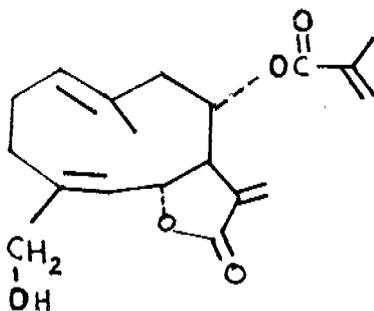
IR del aldehido

de Euparrhombina

## CONCLUSIONES.

El estudio de *Eupatorium rhomboideum* H.B.K. llevó al aislamiento de una nueva lactona sesquiterpénica a la que se le llamó euparrhombina, cuya estructura y estereoquímica fué determinada en base a estudios químicos, espectroscópicos y de análisis elemental.

La estructura y estereoquímica de la euparrhombina es:



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

- 1.- S.M. Kupchan et al  
Tetrahedron 25,1603 (1969)
- 2.- S. Morris Kupchan et al  
J. of the American Chemical Soc. 89, 465 (1967)
- 3.- S. M. Kupchan  
Tetrahedron Letters 3517 (1968)
- 4.- S. M. Kupchan et al  
J. of Organic Chemistry 34, 3876 (1969)
- 5.- S. M. Kupchan et al  
J. of Organic Chemistry 38, 1260 (1973)
- 6.- S. M. Kupchan et al  
J. of the American Chemical Soc. 93, 4914 (1971).
- 7.- H. Wagner et al  
Phytochem. 10, 1504 (1972)
- 8.- L. Quijano et al  
Tetrahedron 26, 2851 (1970)
- 9.- V. Herout et al  
Coll. Czech. Chem. Comm. 27, 2654 (1962)
- 10.- T. Furuya and M. Hikichi  
Phytochem. 12, 225 (1973)
- 11.- J. Romo et al  
Tetrahedron 24, 6087 (1968)

- 12.- X. A. Domínguez et al  
Phytochem. 12, 225 (1973)
- 13.- H. Wagner et al  
Phytochem. 11, 1506 (1972)
- 14.- H. Wagner et al  
Phytochem. 11, 2630 (1972)
- 15.- P. K. Bose et al  
Phytochem. 12, 667 (1973)
- 16.- W. Herz et al  
Phytochem. 11, 2859 (1972)
- 17.- Sunil k. Talapatra et al  
Phytochem. 13, 284 (1974)
- 18.-  
J. pharm. Sci. 61, (1972)
- 19.- D.R. Taylor and J. A. Wright  
Phytochem. 10, 1665 (1971)
- 20.- X. A. Domínguez et al  
Phytochem. 12, 2060 (1973)
- 21.- Thorleif Anthonsen  
A. Chem. Scand. 23, 3605 (1969)
- 22.- P. G. Sammes et al  
Phytochem. 12, 2469 (1973)
- 23.- T. A. Geisman et al  
Phytochem. 8, 2381 (1969)
- 24.- Tetrahecron 22, 3173 (1966)  
H. Marimoto et al

- 25.- N. H. Fischer et al  
J.C.S. Chem. Comm. 137 (1972)
- 26.- W. Herz and I. Wahlberg  
Phytochem. 12, 1421 (1973)
- 27.-  
J. Org. Chem. 33, 2485 (1973)
- 28.- W. Herz et al  
Phytochem. 14, 1561 (1975)
- 29.- W. Herz and P. Sharma  
J. Org. Chem. 40, 3118 (1975)
- 30.- S. M. Kupchan et al  
J. of the American Chemical Soc. <sup>92</sup>4914 (1971)
- 31.- S. M. Kupchan et al  
J. of the American Chemical Soc. <sup>93</sup>4916 (1971)
- 32.- W. Herz and S. V. Bhat  
J. Org. Chem. 37, 906 (1972)
- 33.- W. Herz and S. V. Bhat  
J. Org. Chem. 35, 2605 (1970)
- 25 = 34.- N.H. Fischer et al  
J.C.S. Chem Comm. 137 (1972)
- 35.- J. Mabry et al  
J. Org. Chem. 35, 4264 (1970)
- 36.- F. Sorm et al  
Coll. Czech. Chem. Comm. 37, 2605 (1972).

- 37.- F. Sorm et al  
Coll. Czech. Chem. Comm. 37, 1546 (1972)
- 38.- P. G. Sammes et al  
Phytochem. 12, 2469 (1973)
- 39.- R. W. Doskotch et al  
J. org. Chem. 37, 2740 (1972)
- 40.- P. g. Sammes et al  
Phytochem. 12, 2469 (1973).
- 41.- F. Shafizadeh  
Phytochem. 12, 857 (1973).
- 42.- A. Horeau et H. B. Kagan  
Tetrahedron 20, 2431 (1964).
- 43.- W. Parker and J.S. Roberts  
Quarterly Reviews 21(1967)
- 44.- T.A. Geisman and D.H.G. Crout  
Organis Chemistry of Secondary Plant Metabolism  
Freeman, Cooper & Co.  
Calif. (1969)