

70  
2ep



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA  
DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

" ESTUDIO QUIMICO DE Bahia pringlei "

**T E S I S**

PARA OBTENER EL TITULO DE:

**Q U I M I C O**

**P R E S E N T A :**

**DAVID AARON NIETO ALVAREZ**



MEXICO, D. F.

1991

FALLA DE ORIGEN



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

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

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

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

I	INTRODUCCION
II	GENERALIDADES
III	PARTE EXPERIMENTAL
IV	DISCUSION
V	RESUMEN
VI	ESPECTROS
VII	BIBLIOGRAFIA

## I    I N T R O D U C C I O N

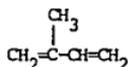
Los seres vivos pueden ser considerados como laboratorios biosintéticos que producen compuestos químicos básicos para la supervivencia de los mismos y que el hombre suele utilizar primordialmente como alimento (hidratos de carbono, proteínas, grasas, etc.). Estos seres también elaboran sustancias cuya importancia para los mismos aun no se ha aclarado y que son nombrados metabolitos secundarios, pero que son de gran valor por poseer actividades específicas como por ejemplo, actividad farmacológica e insecticida entre otras. Junto con lo antes mencionado estos compuestos se utilizan como marcadores taxonómicos (1).

El interés por los constituyentes secundarios de origen vegetal radica, como se mencionó anteriormente, en su importancia quimiotaxonómica y actividad biológica, de ahí que la presente tesis "Estudio Químico de Bahia pringlei", representa una contribución al conocimiento de los productos naturales y en especial a los de la familia Compositae.

## II GENERALIDADES

En el reino vegetal, la familia Compositae es una de las que abarcan un número mayor de especímenes (2) siendo muy frecuente aislar de estos vegetales metabolitos secundarios, como por ejemplo sesquiterpenos y en particular lactonas sesquiterpénicas (3).

Los sesquiterpenos son uno de los diferentes tipos de productos naturales más abundantes en la naturaleza y que tienen la particularidad de estar formados por unidades de isopreno (4) (2-metil-1,3-butadieno), el cual no se encuentra libre en la naturaleza.



Este dieno, constituye la unidad fundamental de los compuestos terpenoides dando lugar a la regla propuesta por Ruzicka (4), en la que se propone que los terpenos están formados por unidades de isopreno las cuales normalmente se unen cabeza-cola. Los terpenos se dividen según las unidades de ensamblaje en:

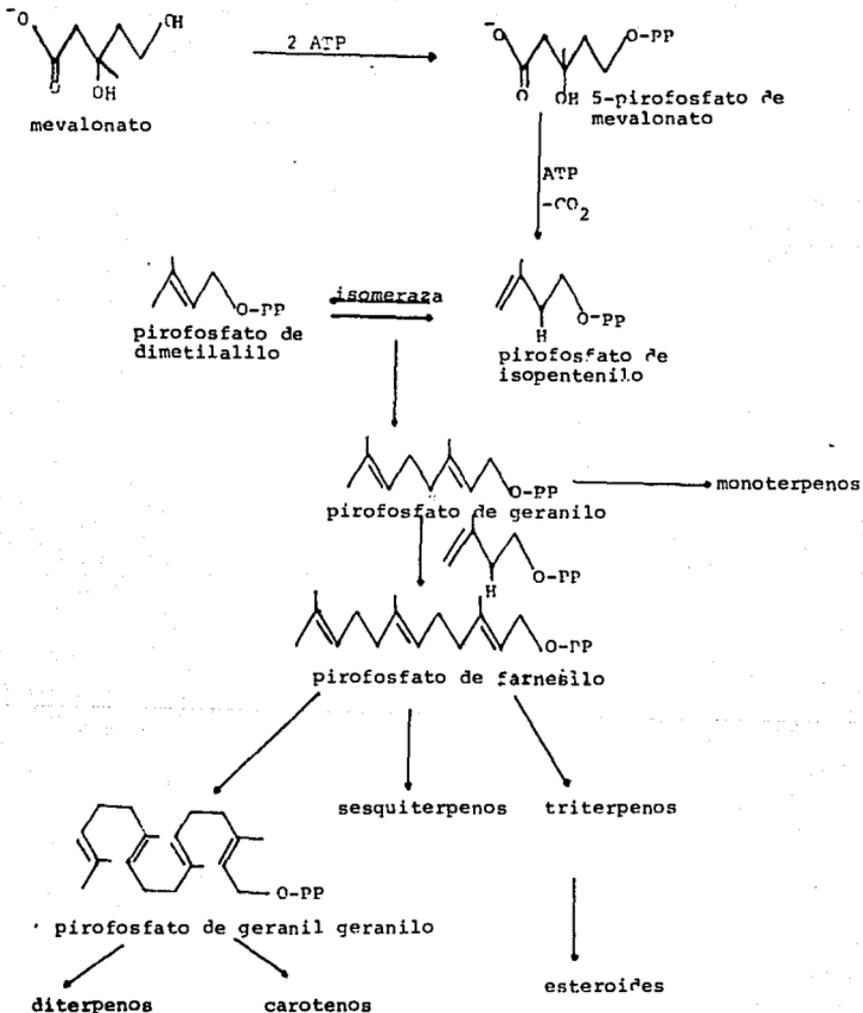
	Unidades de isobreno
monoterpenos	2
sesquiterpenos	3
diterpenos	4
sesteterpenos	5
triterpenos	6
tetraterpenos	8
politerpenos	<8

En la biosíntesis de los terpenos, el ácido mevalónico (ácido-3,5-dihidroxi-3-metilpentanoico) (5,6) es precursor del pirofosfato de farnesilo y éste de las lactonas sesquiterpénicas.

El ácido mevalónico es inicialmente fosforilado por dos moléculas de ATP (trifosfato de adenosina) para dar el 5-pirofosfato del ácido mevalónico, llevándose a cabo posteriormente una descarboxilación y una eliminación propiciada por la fosforilación con ATP del grupo oxhidrilo unido a C-3, obteniéndose así el pirofosfato de isopentenilo.

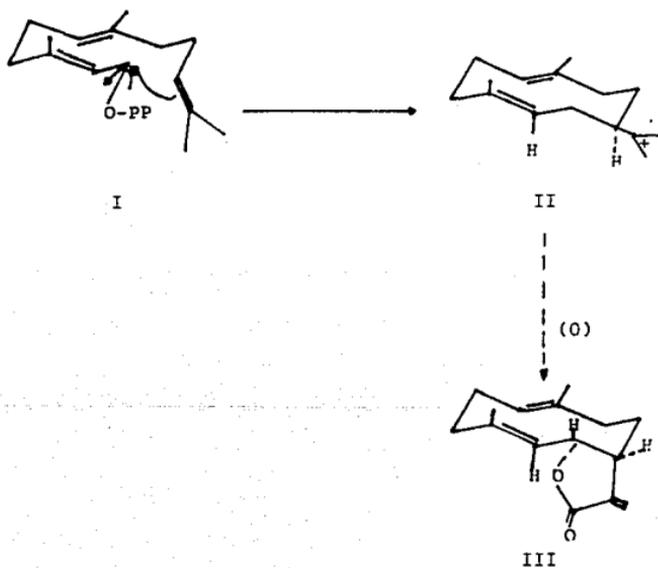
El pirofosfato de isopentenilo es transformado a su isómero pirofosfato de dimetilalilo por la enzima isomeraza. Estos dos isómeros reaccionan (cabeza-cola) para dar el pirofosfato de geranilo, el cual a su vez reacciona con una molécula de pirofosfato de isopentenilo para formar el pirofosfato de farnesilo.

ESQUEMA II

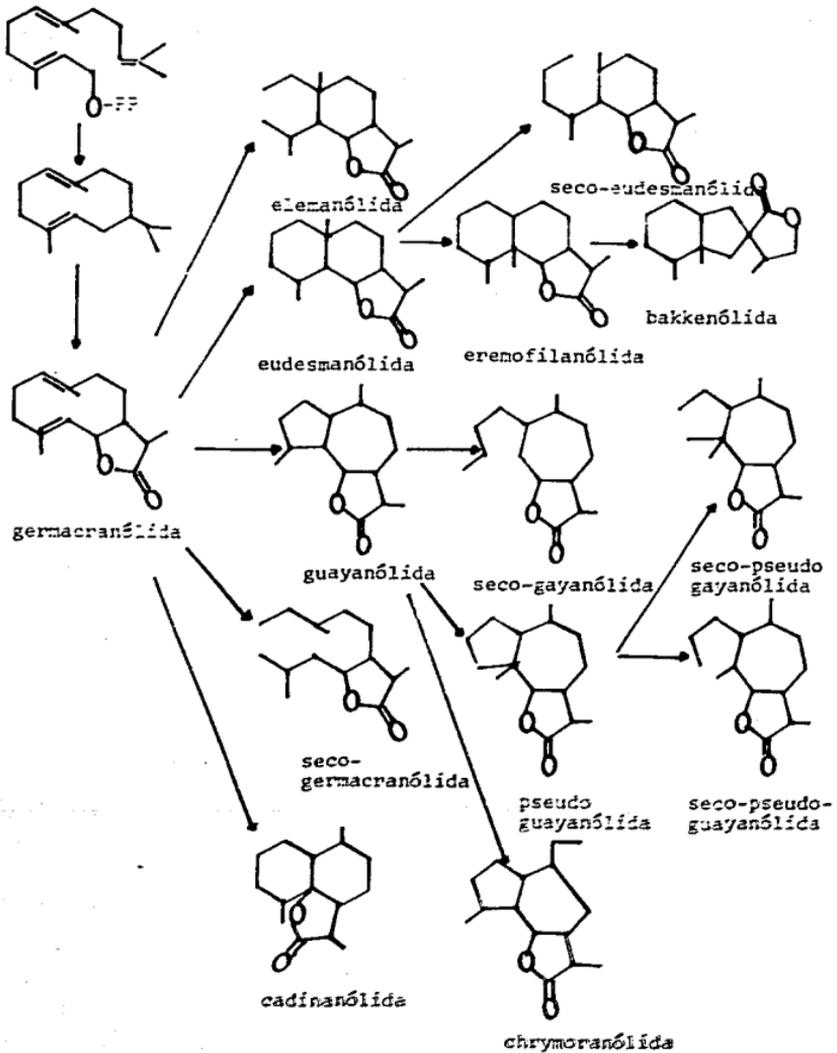


El pirofosfato de *trans*, *trans*-farnesilo (I) (Esquema III) es el precursor biosintético de las lactonas sesquiterpénicas, el cual via la formación del *trans*, *trans*-germacradieno (II) y por modificaciones enzimáticas oxidativas proporciona las germacranólidas representadas en este caso por la costunólida (III). Las germacranólidas a su vez son las precursoras biosintéticas del resto de las lactonas sesquiterpénicas (7) (Esquema IV).

ESQUEMA III



ESQUEMA IV



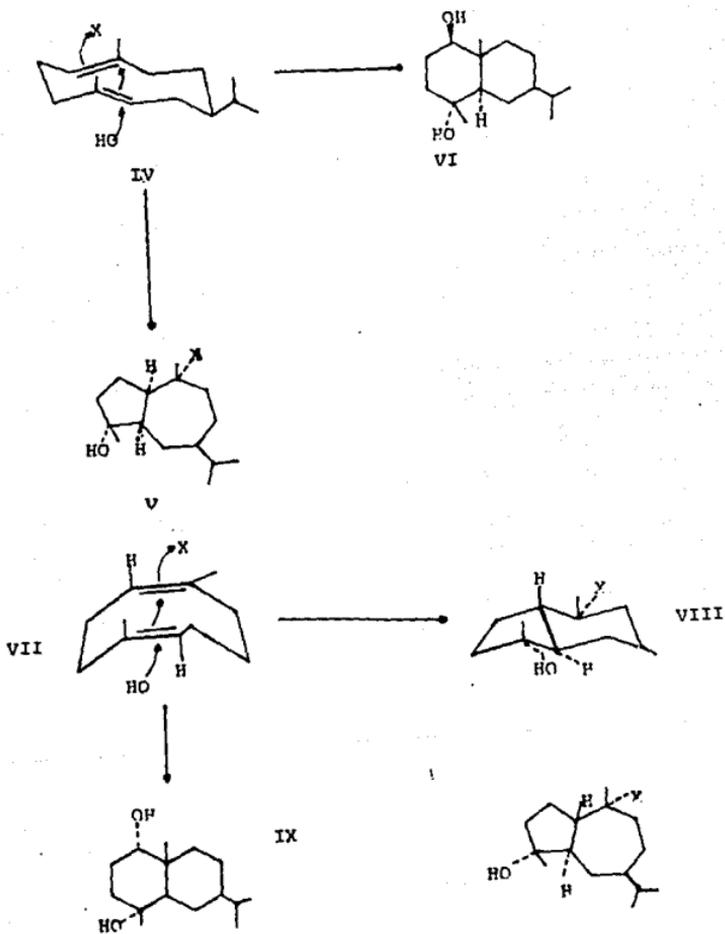
El gemacradieno, dependiendo de su estereoquímica y de la ciclización que sufra, nos puede dar dos guayanólidas diferentes como se muestra en el esquema V (2).

Para la formación del primer tipo de guayano (V) es necesario que el gemacradieno presente las dos dobles ligaduras con configuración trans (IV) (Conformación C). Si la ciclización es anti-Markovnikov se obtendrá un guayano con fusión de anillos cis (V), pero si la ciclización es Markovnikov dará origen a un eudesmano con una orientación  $\beta$  del grupo oxhidrilo en C-1 (VI).

Para la formación del segundo tipo de guayano (VIII), el gemacradieno debe presentar las dos dobles ligaduras con configuración cis (VII). Nuevamente si la ciclización es anti-Markovnikov se obtendrá un guayano con fusión de anillos trans (VIII), por el contrario si la ciclización procede vía Markovnikov dará un eudesmano con el grupo de la posición C-1  $\alpha$  (IX).

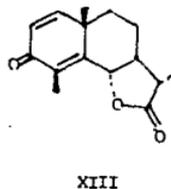
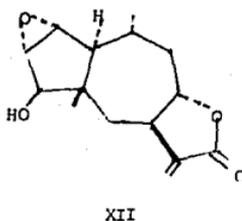
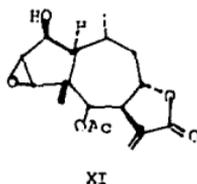
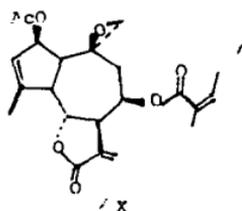
Por otra parte la investigación fitoquímica en torno a las lactonas sesquiterpénicas, metabolitos secundarios característicos de la familia Compositae, se ha incrementado en los últimos años debido a su importancia quimiotaxonomía ya que ayuda a la clasificación botánica

ESQUEMA V



diferenciando tribus, géneros y en algunos casos especies.

Otra importancia de las lactonas sesquiterpénicas es su actividad biológica, ya que algunas poseen acción citotóxica (5) como el acetato de euparotina (X) y la gaillardina (XI). Otras son analgésicos como la anarilina (XII) o amibisidas como la  $\alpha$ -santonina (XIII) (5).



Se ha sugerido que la actividad citotóxica esta relacionada con el metileno exocíclico de la  $\gamma$ -lactona el cual también interviene en el crecimiento de los vegetales. Otras propiedades que presentan las lactonas sesquiterpénicas son: insecticida, dermatítica, alelopática y tóxica (7).

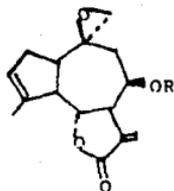
## Revisión del género Bahia

Uno de los géneros que se caracteriza por sintetizar lactonas sesquiterpénicas y en particular guayanólidas es el género Bahia el cual pertenece a la tribu Heliantheae, subtribu Bahinae (8).

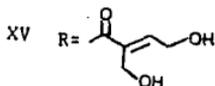
- Este género se encuentra distribuido principalmente desde el centro de la República Mexicana hasta el suroeste de los Estados Unidos, comprende 13 especies y dos variedades de las cuales nueve se han estudiado fitoquímicamente y son:

- 1.- B. pringlei
- 2.- B. absinthifolia var. absinthifolia
- 3.- B. absinthifolia var. dealbata
- 4.- B. oppositifolia
- 5.- B. woodhousei
- 6.- B. dissecta
- 7.- B. schaffneri var. schaffneri
- 8.- B. xilopoda
- 9.- B. ambrosioides

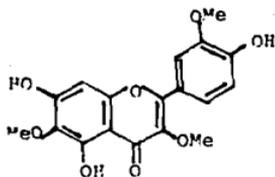
De B. pringlei (9) se aisló bahía I (XIV) y bahía II (XV) encontradas también en B. absinthifolia var. dealbata (10).



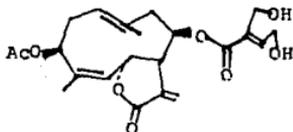
XIV R=H



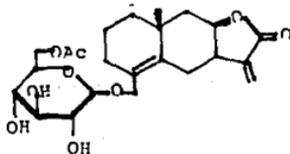
De B. absinthifolia var. absinthifolia (12) se aisló la flavona jaceidina (XVI), la heliangólida eucannabinólida (XVII) y la eudesmanólida absinthifólida (XVIII).



XVI

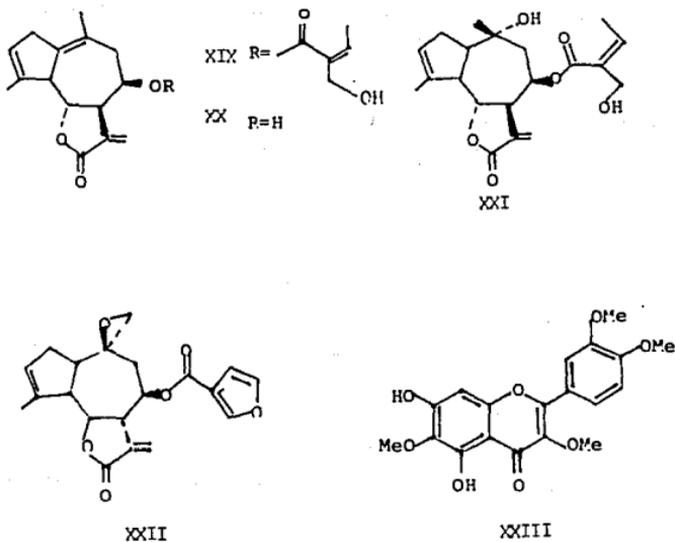


XVII

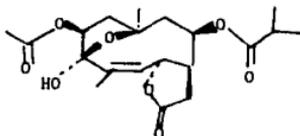


XVIII

De B. oppositifolia (12,13) se han identificado cuatro guayanolidas: bahía III (XIX), dessarracinil bahía III (XX), 1,10-hidrobahía III (XXI) y bahifolina (XXII), aislándose también el flavonol bonanzina (XXIII).

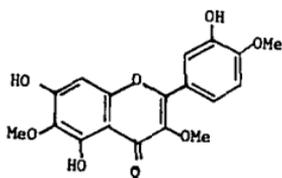


De B. woodhousei (10) se aisló la woodhousina (XXIV) y la flavona jaceidina (XVI) y de B. dissecta no se logró aislar ningún compuesto de interés.

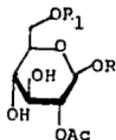


XXIV

De *B. schaffneri* var. *schaffneri* (14) se aisló el  $\psi$ -taraxasterol y dos flavonas: bonanzina (XXIII) y centaурidina (XXV). También se aislaron dos gemacranólidas, eupatólida (XXVI) y eupatoriopícrina (XXVII), y una mezcla de tres triacil- $\beta$ ,D-glucopiranosas (XXVIII).

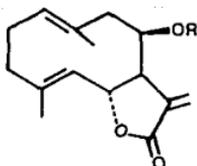


XXV

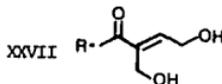


R=i-But P<sub>1</sub>=Tigl  
 R=i-Val R<sub>1</sub>=Tigl  
 R=i-But R<sub>1</sub>=2-Mebut

XXVIII

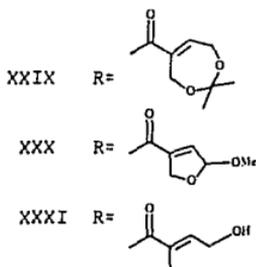
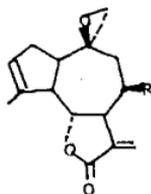


XXVI R=H



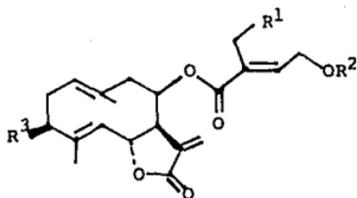
XXVII

De B. xilopoda (15) se aisló mezcla de sitosterol-stigmasterol, dos flavonas: bonanzina (XXIII) y centauridina (XXV), una mezcla de tres triacil- $\beta$ ,D-glucopiranosas (XXVIII), y cinco guayanólidas: bahía I (XIV), bahía II (XV), acetónido de bahía II (XXIX), 19,20-dihidro-19-metoxibahifolina (XXX) y 20-deoxibahía II (XXXI).

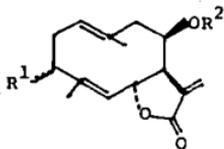


De B. ambrosioides (16) se aislaron las (E,E)-germacranólidas XXXII-XXXV, las heliangólidas XXXVI-XLI, la flavona artemetina XLII, los derivados del kaurano XLIII-XLIV, el derivado del rosano XLV, las umbellíferonas XLVI-XLIX y el ácido ent-kaurenolico L.

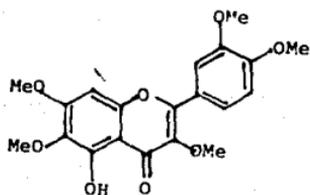
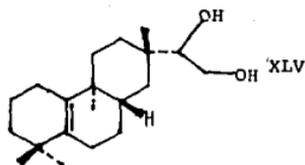
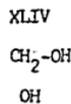
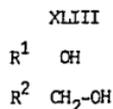
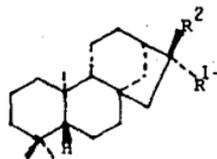
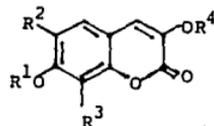
	XXXII	XXXIII	XXXIV	XXXV
R <sup>1</sup>	H	OH	Otigl-5-OH	Otigl
R <sup>2</sup>	H	Ac	H	H
R <sup>3</sup>	H	OH	H	H



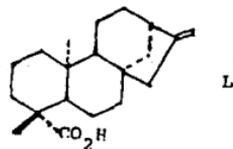
	XXXVI	XXXVII	XXXVIII	XXXIX	XL
R <sup>1</sup>	OAc	OAc	OAc	OAc	OAc
R <sup>2</sup>	Tigl-5-OH	Tigl-4, 5-diOH	Tigl-4, 5-diOH	H	H



	XLVI	XLVII	XLVIII	XLIX
R <sup>1</sup>	H	H	H	CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CHMeCH <sub>2</sub> CH
R <sup>2</sup>	H	H	CH <sub>2</sub> CH=CHMe <sub>2</sub>	H
R <sup>3</sup>	CH <sub>2</sub> CH=CHMe <sub>2</sub>	CH <sub>2</sub> CH=CHMe <sub>2</sub>	H	H
R <sup>4</sup>	H	Me	Me	H



XLII



L

### III      P A R T E      E X P E R I M E N T A L

Extracción de Bahia pringali .

El material vegetal fue recolectado en Pachuca Hidalgo, en 1987 (Voucher MEXU 472864 depositado en el Herbario del Instituto de Biología, UNAM) La parte aérea seca y molida (4 Kg) se extrajo con hexano, cloroformo y metanol obteniéndose 117.5, 119.14 y 42 g, de extracto respectivamente.

El extracto hexánico se purificó por medio de una cromatografía en columna usando como eluyente hexano y aumentando la polaridad con acetato de etilo hasta llegar al 100% de este último

De las fracciones eluidas con hexano al 100% se aisló el 3-metiltri-  
contano como sólido blanco, cristalizó en hexano,

pf	61-63 °C (1.0035 g)
IR	max. 2859.1, 1465.5. 1376.2 $\text{cm}^{-1}$
EM	m/z: 436 $[\text{C}_{31}\text{H}_{64}]^+$ 0.6 %
	57 $[\text{C}_4\text{H}_9]^+$ 100 %

De las fracciones eluidas con hexano-acetato de etilo (95:5) se aisló el  $\psi$ -taraxasteról, sólido blanco de pf 205-208 °C (600.9 mg.) cristalizó en acetato de etilo-hexano.

Las fracciones eluidas con hexano-acetato de etilo (9:1) fueron purificadas por cromatografía en columna eluyendo con hexano-acetato de etilo (95:5). Se aisló una mezcla de sitosterol-stigmasterol, cristaliza en cloroformo-hexano p.f. 134-136 °C (81.4 mg.).

El extracto clorofórmico se purificó por medio de una cromatografía en columna usando como eluyente hexano-acetona de la siguiente manera, fracciones: 1-24 hexano 100 %, 25-48 hexano-acetona (9:1), 49-69 hexano-acetona (17:3), 70-93 hexano-acetona (4:1), 94-107 hexano-acetona (7:3), 108-140 hexano-acetona (13:7), 141-174 hexano-acetona (11:9), 175-202 hexano-acetona (9:11), 203-213 hexano-acetona (3:7), 214-229 acetona 100 %.

De las fracciones 8-26 se aisló una mezcla de sitosterol-stigmasterol, cristalizó en hexano, p.f. 130-135 °C (35mg.).

De las fracciones 82-93 después de ser purificadas por cromatografía en columna eluyendo con cloroformo-acetato

de etilo (4:1) se aisló bahia I, sólido blanco que cristaliza en acetona, p.f. 213-214 °C (5.6 mg).

Las fracciones 97-107 fueron sometidas a sucesivas purificaciones por cromatografía en columna usando como eluyente: hexano-acetato de etilo (4:1) y hexano-acetato de etilo (7:3) y hexano-acetona (7:3). Se obtuvo 20-desoxibahia i compuesto de consistencia aceitosa (560 mg).

$[\alpha]_D$	-13.93 ° (MeOH)		
IRv max:	3469, 1764, 1712, 1654	cm <sup>-1</sup>	
EM m/z:	360 M <sup>+</sup> (C <sub>20</sub> H <sub>24</sub> O <sub>6</sub> )	0.3	%
	243 [M-(C <sub>5</sub> H <sub>9</sub> O <sub>3</sub> )] <sup>+</sup>	17.5	%
	213 [243-CH <sub>2</sub> O] <sup>+</sup>	100	%
	99 [C <sub>5</sub> H <sub>7</sub> O <sub>2</sub> ] <sup>+</sup>	53	%
	71 [C <sub>4</sub> H <sub>7</sub> O] <sup>+</sup>	59	%

Las fracciones 108-113 se purificaron por cromatografía en columna usando como eluyente diclorometano-acetona (9:1) obteniéndose 34 fracciones. De las fracciones 5-11 después de sucesivas cromatografías en columna usando como eluyente hexano-acetato de etilo (2:3), hexano-acetato de etilo (6:4), se aisló un sólido amarillo identificado como jaceidina, cristaliza en hexano-acetona, p.f. 89-93 °C (40 mg). Las fracciones 12-32 se purificaron por cromatografía en columna eluyendo con hexano-acetato de etilo (9:1), se aisló una mezcla de glucopiranasas

II-IV como sólido blanco, cristaliza en hexano-acetona, p.f. 143-144°C (504.3 mg).

Las fracciones 140-159 se decoloraron con carbon activado y acetona, en seguida se purificaron por cromatografía en columna usando como eluyente hexano-acetona (3:2), se aisló bahía II como sólido blanco, cristalizó en acetato de etilo-éter isopropílico p.f. 131-134 °C (16.25 g).

Las fracciones 160-197 presentaron un sólido que se decoloró con carbon activado y metanol, éste fue identificado como  $\beta$ -D-glucosido de  $\beta$ -sitosterol, cristaliza en metanol p.f. 287-293 °C (38.6 mg).

#### Hidrólisis de 20-desoxibahía II.

158 mg. de 20-desoxibahía II y 316 mg. de  $K_2CO_3$  en 15 ml de metanol anhidro se dejaron con agitación constante en atmósfera de argón durante una hora, la reacción se siguió por cromatografía en capa fina. Una vez terminada la reacción el disolvente se eliminó con una corriente de aire. La mezcla de hidrólisis se disolvió en acetato de etilo lavándose con solución acuosa de HCl al 20 % y con solución saturada de  $NaHCO_3$  en  $H_2O$ , posteriormente se seco con  $Na_2SO_4$  anhidro y se concentró. El residuo se purificó por cromatografía en columna eluyendo

con diclorometano-acetato de etilo (4:1) se obtuvo 13-metoxibahia I como sólido blanco, p.f. 110-113 °C (71.3 mg).

IR  $\nu$  max: 3483.4 , 1770.39,  $\text{cm}^{-1}$

EM m/z:	276 [ $\text{M}-\text{H}_2\text{O}$ ] <sup>+</sup>	6.7	%
	231 [ $276-\text{C}_2\text{H}_5\text{O}$ ] <sup>+</sup>	25	%
	201 [ $231-\text{C}_2\text{H}_5\text{O}$ ] <sup>+</sup>	25	%
	45 [ $\text{C}_2\text{H}_5\text{O}$ ] <sup>+</sup>	100	%

#### Acetilación de 13-metoxibahia I.

35 mg de 13-metoxibahia I, 0.5 ml de piridina y 0.5 ml de anhídrido acético se dejaron a temperatura ambiente siguiendo el curso de la reacción por cromatografía en capa fina. Una vez concluida la reacción, se agregó agua y se extrajo con acetato de etilo. La parte orgánica se lavó con una solución diluida de HCl, con solución saturada de  $\text{NaHCO}_3$  en agua. Posteriormente se secó con  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidro y se concentró. El residuo se purificó por cromatografía en columna eluyendo con acetato de etilo-hexano (3:7), se obtuvo el acetato de 13-metoxibahia I, cristaliza en acetona-hexano, p.f. 94-96 °C (6.2 mg).

IR  $\nu$  max: 1772.3, 1740.9  $\text{cm}^{-1}$

EM m/z:	336 [ $\text{M}^+$ ( $\text{C}_{18}\text{H}_{24}\text{O}_6$ ) ]	11.1	%
	276 [ $\text{M}^+-\text{AcOH}$ ] <sup>+</sup>	11.1	%
	231 [ $276-\text{C}_2\text{H}_5\text{O}$ ] <sup>+</sup>	57.5	%
	45 [ $\text{C}_2\text{H}_5\text{O}$ ] <sup>+</sup>	64.8	%

43 [C<sub>2</sub>H<sub>3</sub>O]<sup>+</sup> 100 %

#### Hidrólisis de la bahía II .

154.4 mg de bahía II, 301 mg de K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> y 15 ml de metanol, se dejaron a temperatura ambiente y con agitación cte. por 60 min. .Una vez concluida la reacción ésta, se trabajó de manera idéntica a la señalada para la hidrólisis de 20-deoxibahía II. Se obtuvieron 71.5 mg de 13-metoxibahía I.

#### Acetilación de β-D-glucosido de β-sitosterol

26.2 mg del glucósido en 0.5 ml de piridina y 0.5 ml de anhídrido acético se dejaron a temperatura ambiente siguiendo el curso de la reacción por cromatografía en capa fina, una vez concluida, la mezcla de reacción se trabajó de la manera usual obteniéndose 19.2 mg de glucósido de β-sitosterol peracetilado como sólido blanco, cristaliza en acetato de etilohexano, p.f. 166-168 °C.

### Extracto etanólico.

El residuo etanólico se extrajo con acetato de etilo obteniéndose 42 g. de una goma la cual se purificó por cromatografía en columna eluyéndose de la manera siguiente, fracciones: 1 hexano 100 %, 2-7 hexano-acetato de etilo (4:1), 8-15 hexano-acetato de etilo (3:2), 15-20 acetato de etilo 100 % , 21-28 acetona 100 %.

Las fracciones 1-7 se purificaron por cromatografía en columna eluyendo con hexano-acetato de etilo (49:1) aislandose una mezcla de sitosterol-stigmasterol (67.7 mg).

Las fracciones 8-9 se purificaron por sucesivas cromatografías en columna usando como eluyente hexano-acetato de etilo (17:3) y hexano-acetona (7:3). Se obtuvieron 14.8 mg. de kaempferol como sólido amarillo, p.f. 278-284 °C, cristaliza en acetona-hexano.

De las fracciones 10-11 se obtuvieron 94.5 mg. de quercetina, sólido amarillo, cristaliza en acetona p.f. 223-227 °C. Las aguas madres se purificaron por sucesivas cromatografías en columna eluyendo con hexano-acetona (3:2) y con hexano-acetona (13:7) obteniéndose 18 fracciones. De las fracciones 7-9 se

obtuvieron 11.5 mg. de axillarina, cristaliza en acetona, p.f. 118-122 °C y 213-215 °C. De las fracciones 10-13 se obtuvieron 271.1 mg. de quercetina.

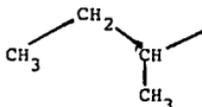
#### IV DISCUSSION

Objetivo: Aislar y elucidar las estructuras de los metabolitos secundarios presentes en Bahia pringlei, mediante técnicas cromatográficas y espectroscópicas así como por reacciones químicas.

La Bahia pringlei fué recolectada en las cercanías de Pachuca Hidalgo en 1987. De la parte aérea seca y molida se obtuvieron tres extractos; hexánico, clorofórmico y metanólico.

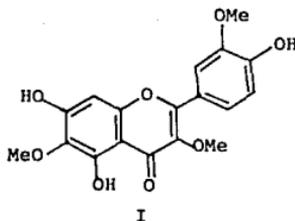
Del extracto hexánico se aisló el triterpeno  $\psi$ -taraxasterol y una mezcla de los esteroides sitosterol-stigmasterol, estos compuestos fueron identificados por medio de sus datos físicos y espectroscópicos. De este mismo extracto se aisló un hidrocarburo de p.f. 61-63 °C, el cual muestra en el espectro de infrarrojo (Espectro 1) bandas características de metilos y metilenos en 1464.5 y 1376.2  $\text{cm}^{-1}$ . Su peso molecular de 436 determinado por espectrometría de masas (Espectro 2) es concordante para una fórmula molecular de  $\text{C}_{31}\text{H}_{64}$ . Este mismo espectro presenta señales correspondientes a una fragmentación típica de

hidrocarburo lineal (17) con una arborecencia, ya que se observa el pico base con una relación  $m/z$  de 57, lo que indica la presencia del siguiente agrupamiento:

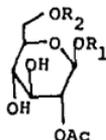


Por lo tanto la estructura de este compuesto corresponde a 3-metiltriacontano.

Con respecto al extracto cloroformico de él se aisló nuevamente la mezcla de sitosterol-stigmasterol y un sólido amarillo de p.f. 89-93 °C que presenta en el espectro de infrarrojo una banda en 1655  $\text{cm}^{-1}$  que corresponde al carbonilo de una  $\gamma$ -pirona. El compuesto se identificó como Jaceidina (I) ya que su espectro de infrarrojo y su  $R_f$  resultaron idénticos con los de una muestra original de dicha sustancia.



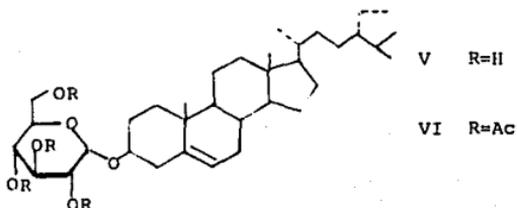
Se aisló también un sólido blanco que posee un p.f. de 143-144 °C, que presenta en el espectro de infrarrojo una banda característica del grupo hidroxilo en 3588 cm<sup>-1</sup> y una banda intensa en 1751 cm<sup>-1</sup> que corresponde a carbonilo. Este sólido fue identificado como la mezcla de las triacil β-D-glucopiranosas II-IV ya que sus datos espectroscópicos y su R<sub>f</sub> resultaron idénticos a los de una muestra original.



R <sub>1</sub> =i-But	R <sub>2</sub> =Tig1	II
R <sub>1</sub> =i-Val	R <sub>2</sub> =Tig1	III
R <sub>1</sub> =i-But	R <sub>2</sub> =2-Mebut	IV

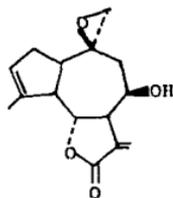
Del mismo extracto se aisló un glucósido en forma de sólido blanco con p.f. de 287-293 °C que presenta en el espectro de infrarrojo (Espectro 3) una banda en 3390 cm<sup>-1</sup> que denota la presencia de grupos hidroxilo, por lo que se sometió a tratamiento con Ac<sub>2</sub>O en piridina bajo condiciones usuales. Se obtuvo el derivado acetilado de p.f. 166-168 °C, el cual presenta en el espectro de infrarrojo (Espectro 4) la banda de absorción del carbonilo del éster en 1755 cm<sup>-1</sup>

El espectro de  $RMN^1H$  (Espectro 5) del derivado acetilado muestra en 2.05, 2.03, 2.0 y 1.98 ppm singletes que integran para tres protones cada uno y que corresponden a cuatro grupos acetato. En 5.0 ppm se observa un multiplete que integra para tres protones que se asocian a hidrógenos gem a funciones oxigenadas, también se observa una señal doble en 4.55 ppm ( $J=8$  Hz) y un multiplete en 4.15 ppm (2H) que junto con las señales antes mencionadas se identifican como las correspondientes a los hidrógenos de una  $\beta$ -D-glucopiranososa teraacetilada (18), así la primera señal corresponde a H-2, H-3 y H-4, la segunda al hidrógeno anomérico y la última a los hidrógenos de C-6. Después de comparar este espectro con el del peracetato del glucósido de sitosterol (VI) se concluyó que se tenía dicho compuesto por lo que el multiplete centrado en 3.5 ppm corresponde al hidrógeno tres del esterol y al hidrógeno cinco del azúcar, y el multiplete centrado en 5.3 ppm pertenece al hidrógeno vinílico. Como resultado de lo anterior se concluye que el producto natural corresponde a  $\beta$ -D-glucosido de  $\beta$ -sitosterol (V) (19).



De este mismo extracto clorofórmico se aislaron dos lactonas sesquiterpénicas del tipo de las guayanólidas. La primera presenta un p.f. de 213-214<sup>0</sup>C y en su espectro de infrarrojo se observan bandas de absorción en 1760 y 3480 cm<sup>-1</sup> características del grupo carbonilo de una  $\gamma$ -lactona- $\alpha,\beta$ -no saturada y de grupo hidroxilo respectivamente.

El compuesto se identificó como bahia I (VII) ya que sus datos espectroscópicos y su R<sub>f</sub> resultaron idénticos a los de una muestra original de dicha sustancia.

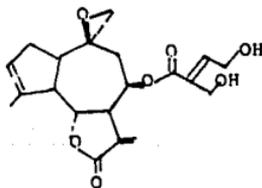


VII

La segunda guayanólida, sólido blanco con p.f. de 131-134<sup>0</sup>C, presenta en el espectro de infrarrojo una banda de absorción en 3440 cm<sup>-1</sup> que corresponde a función alcohol y bandas en 1760 y 1710 cm<sup>-1</sup> características del grupo carbonilo de una  $\gamma$ -lactona- $\alpha,\beta$ -no saturada y de un éster también  $\alpha,\beta$ -no saturado.

En el espectro de RMN<sup>1</sup>H (Espectro 6) se observa un triplete en 4.6 ppm ( $J=9\text{Hz}$ ) correspondiente al cierre lactónico (H-6) ; por su parte H-7 aparece como señal doble de doble de doble ancha ( $J=9,7,3.5\text{ Hz}$ ) y H-13 y H-13' dan lugar a dobletes en 6.25 ppm ( $J=4\text{Hz}$ ) y 5.4 ppm ( $J=3.5\text{Hz}$ ). Un singulete en 4.22 ppm se asigna a los hidrógenos alifáticos base de oxígeno de C-20, el doblete en 4.33 ppm ( $J=6\text{Hz}$ ) a los hidrógenos del metileno de C-19 y por último el triplete en 6.85 ppm se atribuye al proton vinílico de C-18.

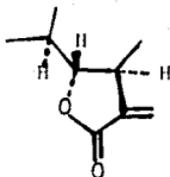
El compuesto se identificó como bahia II (VIII), ya que sus datos espectroscópicos así como su  $R_f$  resultaron idénticos a los de una muestra original de dicha sustancia.



VIII

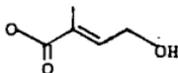
Finalmente del extracto clorofórmico se aisló un nuevo compuesto de consistencia aceitosa con una rotación específica de  $-13.93^{\circ}$ , su peso molecular determinado por espectrometría de masas (Espectro 8) fue de 360 correspondiente a la fórmula molecular  $C_{20}H_{24}O_6$ .

En el espectro de infrarrojo (Espectro 7) muestra bandas en  $1764$  y  $1654\text{ cm}^{-1}$  que corresponden a una  $\delta$ -lactona conjugada, comprobándose la presencia de este cromóforo en espectrometría ultravioleta por el máximo a  $205\text{ nm}$  ( $\epsilon=17628$ ). Los hidrógenos vinílicos del metileno exocíclico de la  $\gamma$ -lactona, se observan en el espectro de RMN<sup>1</sup>H (Espectro 9) como par de dobletes en  $5.5\text{ ppm}$  ( $J=3.5\text{ Hz}$ ) y  $6.3\text{ ppm}$  ( $J=4\text{ Hz}$ ), siendo estas señales típicas de las lactonas sesquiterpénicas como las que son comunes al género Bahia. Así, la señal doble de doble en  $4.55\text{ ppm}$  ( $J=10,9\text{ Hz}$ ) corresponde al cierre lactónico, en este caso H-6 quien estará acoplado únicamente a dos hidrógenos con una posición relativa anti a él. La señal en  $3.2\text{ ppm}$  doble de doble de doble ancha ( $J=9,8,3.5\text{ Hz}$ ) corresponde a H-7, ya que además de estar acoplado a H-6 interacciona con los hidrógenos vinílicos de la  $\gamma$ -lactona, hecho que se manifiesta por las constantes de acoplamiento. Partiendo de los datos anteriores y de que H-7 biogenéticamente es  $\alpha$ , se propone la estructura parcial A.



A

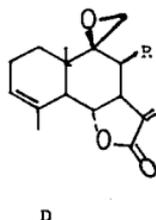
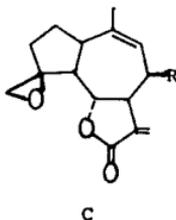
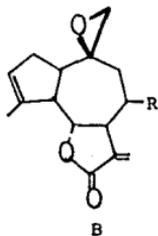
En el espectro de  $\text{RMN}^1\text{H}$  se observan también dos singuletes uno en 1.75 ppm y el otro en 2.7 ppm, la primera señal integra para tres protones y se asigna a un metilo vinflico, la segunda señal que integra para dos protones se esigna al metileno de un epóxido. En este mismo espectro se observan las señales de un éster el cual fué identificado como el  $\gamma$ -hidroxitiglato en base a lo siguiente:



En el espectro de infrarrojo, se observan dos bandas una en 3468 y la otra en  $1712\text{ cm}^{-1}$ , la primera de ellas corresponde a el alcohol y la segunda al carbonilo de éster  $\alpha,\beta$ -no saturado. Así mismo en el espectro de  $\text{RMN}^1\text{H}$  se observa un triplete de cuartetos en 6.7 ppm ( $J=6, 1.5\text{Hz}$ ) que integra para un hidrógeno, dicha señal se asigna a un protón vinflico  $\beta$  al carbonilo. En 4.3 ppm (2H) se observa un doblete de cuartetos ( $J=6, 1.5\text{Hz}$ ) que se asigna a los hidrógenos de un metileno vinflico --

unido a función oxigenada, y en 1.9 ppm (3H, J=1.5Hz) se observa el doblete de un metilo vinílico. Por otra parte en espectrometría de masas se observan los fragmentos de m/z 243, 99, y 71 de los cuales el primero corresponde a la pérdida de ácido 4-hidroxi-2-metil-2-butenoico a partir del ion molecular, el segundo, al fragmento R-CO y el último a la pérdida de CO del fragmento anterior. La configuración E del doble enlace se propone tomando como base el desplazamiento químico del hidrógeno vinílico (6.7 ppm) ya que una configuración opuesta (Z, angelato) daría lugar a una señal a campo más alto (6.2 ppm), como se describe en la literatura (20).

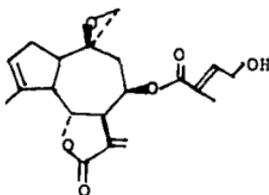
Partiendo de lo antes mencionado y tomando en cuenta la gran variedad de esqueletos carbonados que presentan las lactonas sesquiterpénicas (7), se pueden proponer dos tipos de esqueletos que serían uno de guayanólida y otro de eudesmanólida, dando por consiguiente tres estructuras B, C y D, que presentan al grupo éster (R) unido a C-8, el epóxido en los carbonos 4, 15 o 10, 14 y un doble enlace trisustituido en los carbonos 4, 5 o 9, 10.



De estas estructuras se descartaría la eudesmanólida (D), debido a que en el espectro de  $\text{RMN}^1\text{H}$  no se observa ninguna señal correspondiente a los hidrógenos de metilo angular.

Con respecto a las estructuras B y C, se eliminaría la segunda debido a que el desplazamiento químico de la señal de H-8 se esperaría a campo más bajo como consecuencia de su posición alílica. Otro punto importante sería la multiplicidad de la señal, la cual debería ser un doblete de dobletes y no un multiplete como en realidad se observa en el espectro de resonancia.

De acuerdo con lo anterior, la estructura que se propone para esta nueva lactona es la que se muestra a continuación (IX); la cual con respecto a la asignada a bahía II no presenta grupo oxhidrilo en el carbono 5 del éster, por lo que el nombre de este compuesto será 20-desoxibahía II.



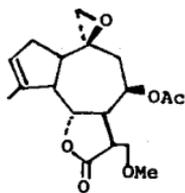
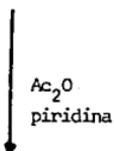
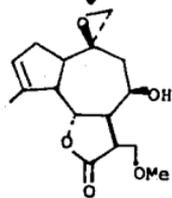
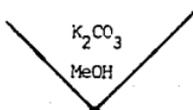
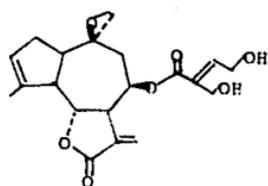
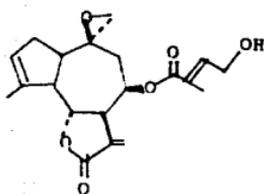
IX

Para verificar la estructura propuesta, el compuesto IX se saponificó obteniendo un sólido blanco de p.f.  $110-112^{\circ}\text{C}$  con peso molecular de 274 determinado por espectrometría de masas (Es-

pectro 10). Este compuesto presenta en el espectro de infrarrojo (Espectro II) una banda ancha en  $3400\text{ cm}^{-1}$  atribuible a grupos hidroxí y banda en  $1180\text{ cm}^{-1}$  que corresponde a un grupo éter, así mismo en su espectro de  $\text{RMN}^1\text{H}$  (Espectro 12) ya no aparecen las señales del grupo éster ni las de los hidrógenos vinílicos de la  $\gamma$ -lactona conjugada, ahora se observa el singulete de un metoxi en 3.35 ppm y los dos hidrógenos de C-13 en 3.75 ppm. Por su parte el hidrógeno 8 al ser gem a función alcohol, su señal se localiza a campo más alto con respecto al compuesto original (4.08 ppm, dda,  $J=7.5, 3.5\text{ Hz}$ ) por lo que se propone que este compuesto corresponde a la 13-metoxibahía I (X).

Con el objeto de establecer unequivocamente tanto la estructura IX como su estereoquímica, también se saponificó la bahía II (VIII), obteniéndose nuevamente 13-metoxibahía I (Esquema I). Ahora bien para obtener un dato más que apoyara el hecho de que ambas reacciones producen el mismo compuesto, tanto el producto de la saponificación de IX como el de la bahía II se acetilaron, obteniéndose en ambos casos el mismo producto que corresponde a 8-O-acetil-13-metoxibahía I (XI) el cual fue identificado a través de sus datos espectroscópicos (Espectro 13-15), de los cuales cabe mencionar que en resonancia se muestra la señal correspondiente al metilo del acetato en 2.14 ppm como singulete y H-8 se encuentra desplazado químicamente como un triplete de dobletes en 5.15 ppm ( $J=4.1, 3\text{ Hz}$ ).

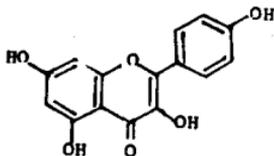
ESQUEMA I



Continuando con la descripción de los metabolitos secundarios aislados de Bahia pringlei, del extracto metanólico se aislaron tres flavonoles. El primero es un sólido que presenta un p.f. de 279-280 °C. En el espectro de infrarrojo se observa una banda en 1685 cm<sup>-1</sup> la cual corresponde al carbonilo de la  $\gamma$ -pirona.

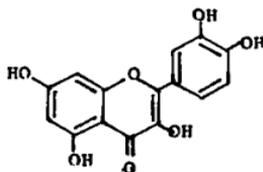
En el espectro de RMN<sup>1</sup>H (Espectro 16) se observa un par de señales dobles que corresponden a un sistema A<sub>2</sub>B<sub>2</sub> (8.5 y 6.9 ppm, J=8 Hz) atribuible a los hidrógenos 3',5' y 2',6' del esqueleto base. Las señales para los protones H-6 y H-8 aparecen como un sistema AB centrado en 6.3 ppm (J=3 Hz).

El flavonol se identificó como Kaempferol (XII) al comparar los datos físicos y espectroscópicos de él así como los de su derivado acetilado con los descritos en la literatura (21,22).



XII

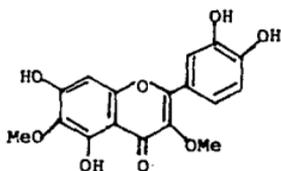
El segundo flavonol es un sólido de p.f. 223-227 °C, presenta un espectro de infrarrojo similar al del kaempferol y en su espectro de RMN<sup>1</sup>H (Espectro 17) se observa el sistema AB correspondiente a H-6 y H-8 en 6.32 ppm (J=2 Hz) , así mismo H-2' da lugar a un doblete en 7.75 ppm (J=2 Hz), H-6' a un doblete de dobletes en 7.62 ppm (J=8.5,2 Hz) y H-5' a un doblete en 6.93 ppm (J=8.5 Hz). Este compuesto fué identificado como quercetina (XIII) después de hacer una comparación de los datos espectroscópicos y p.f. del producto natural y del derivado acetilado con los descritos en la literatura (21,22).



XIII

El tercer flavonol sólido de p.f. 118-122 °C, presentó una espectroscopía muy similar a la de los anteriores flavonoles, siendo sus principales diferencias en el espectro de RMN<sup>1</sup>H (Espectro 18) la ausencia de H-6 y la presencia de dos singuletes en 3.9 y 3.85 ppm que integran cada uno para tres hidrógenos y que fueron asignados a dos grupos metoxilo, uno unido a C-3 y el otro a C-6.

El compuesto fué identificado como axillarina (XIV) al comparar sus datos espectroscópicos con los descritos en la literatura, mismo procedimiento que se realizó con su derivado acetilado (21,22).



XIV

## V RESUMEN

El género Bahia de la tribu Heliantheae subtribu Bahiinae, abarcan 13 especies de las cuales nueve se han estudiado fitoquímicamente, una de ellas es la Bahia pringlei de las que se aislaron dos guayanólidas, bahia I y bahia II. El presente trabajo es una contribución al estudio sistemático del género y comprende una investigación un poco más detallada de B. pringlei; los resultados son los siguientes.

1.- Se aisló 3-metiltriacontano,  $\psi$ -taraxasterol, mezcla de sitosterol-estigmasterol, dos guayanólidas bahia I y bahia II, una mezcla de tres glucopiranosas, glucósido de  $\beta$ -sitosterol y cuatro flavonoles: jaceidina, kaempferól, quercetina y axillarina.

2.-La identificación de estos compuestos se llevó a cabo comparando sus datos espectroscópicos con los descritos en la literatura y para algunos de ellos también se realizó una comparación directa con muestras originales.

3.- Se aisló una nueva lactona sesquiterpénica del tipo de las guayanólidas la cual se nombró 20-desoxihahia II.

4.- La estructura del compuesto se estableció por medio de técnicas espectroscópicas de infrarrojo, resonancia magnética nuclear, ultravioleta y espectrometría de masas.

5.- Este nuevo metabolito secundario se sometió a una saponificación y el producto de reacción se acetilo.

6.- Esta misma secuencia de reacciones se llevo a cabo sobre bahia II.

7.- Como los productos obtenidos a partir de la nueva lactona sesquiterpénica así como los obtenidos de bahia II fueron idénticos, se establece inequívocamente tanto la estructura como la estereoquímica del nuevo metabolito secundario, ( 20-desoxihahia II).

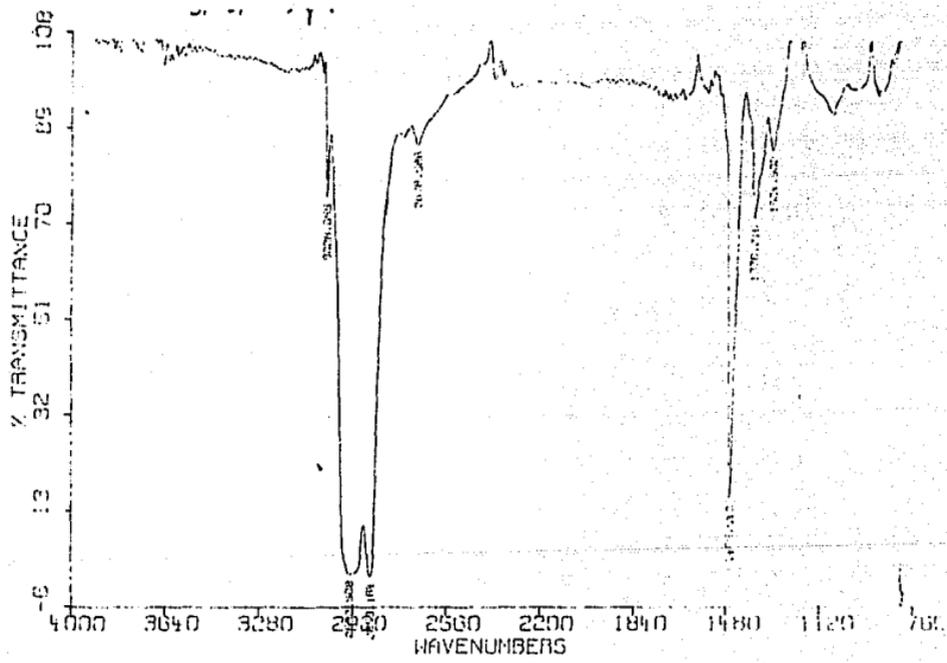
## VII BIBLIOGRAFIA

- (1) Tyler, E.V., Brandy, R.L., Robbers, E.J., Farmacognosia 2da. ed. Ed "El Ateneo" (1979).
- (2) Romo de Vivar, A., Productos Naturales de la Flora Mexicana. Ed. Limusa (1987).
- (3) Romo de Vivar, A., Revista Latinoamericana de México, 8, 63-67 (1977).
- (4) Ruzicka, L.Z., Experienta, 9, 357-96 (1963).
- (5) Domínguez, X.A., Métodos de Investigación Fitoquímica, Ed. Limusa (1973).
- (6) Cane, D.E., Tetrahedron, 36, 1109-59 (1980).
- (7) Fischer, N.H. and Fischer, H.D., The Biogenesis and Chemistry of Sesquiterpen Lactones, Ed. Wien. Sprienger-Verlang. N.Y. (1979).
- (8) Herourt, V, Chemotaxonomy of the Compositae Pharmacognosy and Phytochemistry (Wagner, H. and Hornammer, L. eds.) p.39 Berlin (1979).
- (9) Romo de Vivar, A. and Ortega, A., Canadian Journal Chemistry, 47, 3849--52 (1969).

- (10) Hertz, W. and Bhat, S.V., J. Org. Chem., 37, 906-912, (1972).
- (11) Perez, A.L., Nava, L.M. and Romo de Vivar, A., Phytochemistry, 26, 765-67, (1987).
- (12) Wagner, H.G.M. and Farkas, L., Phytochemistry, 11, 371-75, (1972).
- (13) Nelson, D. and Aspund, R.O., Phytochemistry, 22, 2755-57, (1983).
- (14) Perez, A.L. and Romo de Vivar, A., Phytochemistry, 28, 1639-43, (1989).
- (15) Perez, A.L., Nieto, D.A. and Romo de Vivar, A., Phytochemistry, 29, 901-903, (1990).
- (16) Zdero, C., Bohlmann, E. and Niemeyer, H.M., Phytochemistry, 29, 205-208, (1990).
- (17) Silverstein, R.M. and Basler, G.C., Jhon Wiley Sons, (1974).
- (18) Lemieux, R.U. and Stevens, J.D., Canada J. Chem., 43, 2059, (1965).
- (19) Benegii, N., Journal of the Indian Chemical Society, 57, 417-419, (1980).
- (20) Reaser, R.R., Can. J. Chem., 38, 549, (1960).

- (21) Mabry, T.J., Marklam, K.R. and Thomas, M.B.,  
The Sistematic Identification of Flavonoids,  
Springer. Berlin, (1970).
- (22) Geisman, T.A., The Chemistry of Flavonoid  
Compounds, McMillan, (1962).

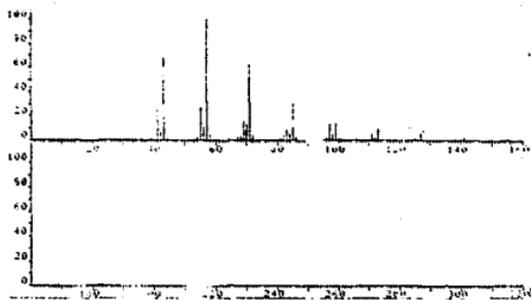
## VI      E S P E C T R O S



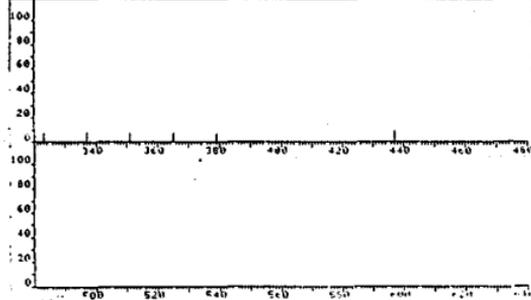
Espectro No. 1

3-metiltriacontano

PHI	5003	SPECTRUM	41	RETENTION TIME	5.5
LAST 41	87.1, 100.0	49.1, 48.5	71.2, 62.1	88.2, 100.0	
LAST 41	161.5, .5	165.5, .5	171.5, .4	434.7, .8	

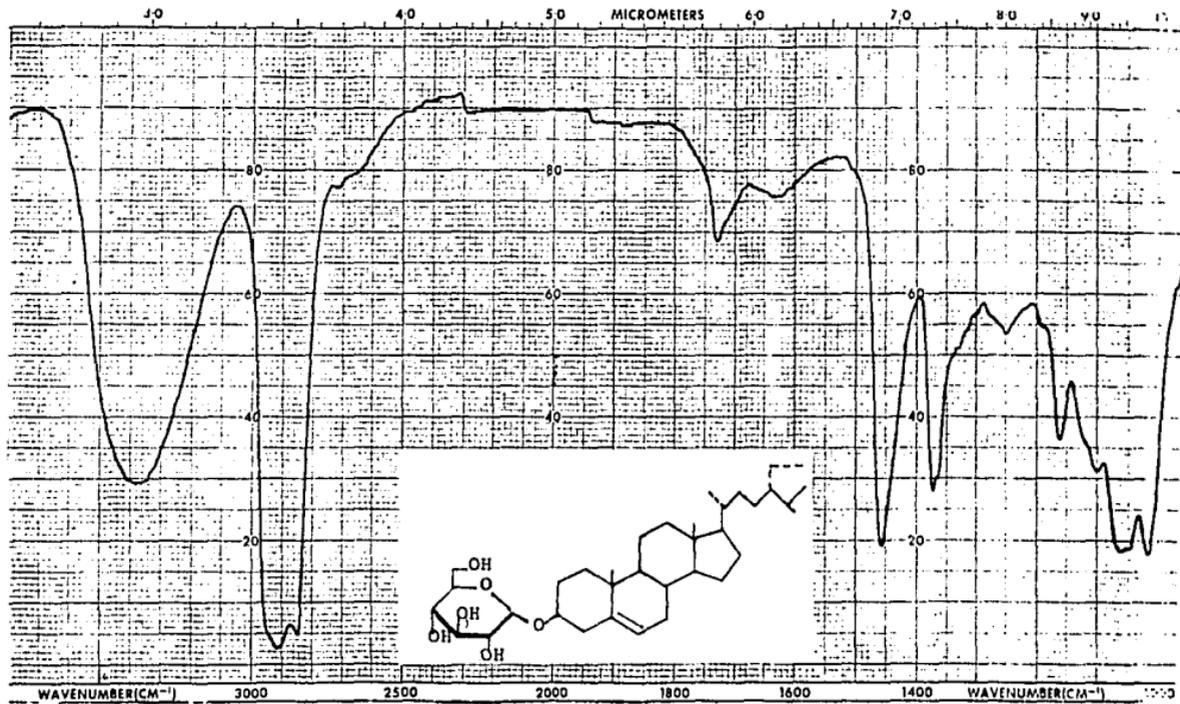


PHI	5003	SPECTRUM	41	RETENTION TIME	5.5
LAST 41	87.1, 100.0	49.1, 48.5	71.2, 62.1	88.2, 100.0	
LAST 41	161.5, .5	165.5, .5	171.5, .4	434.7, .8	



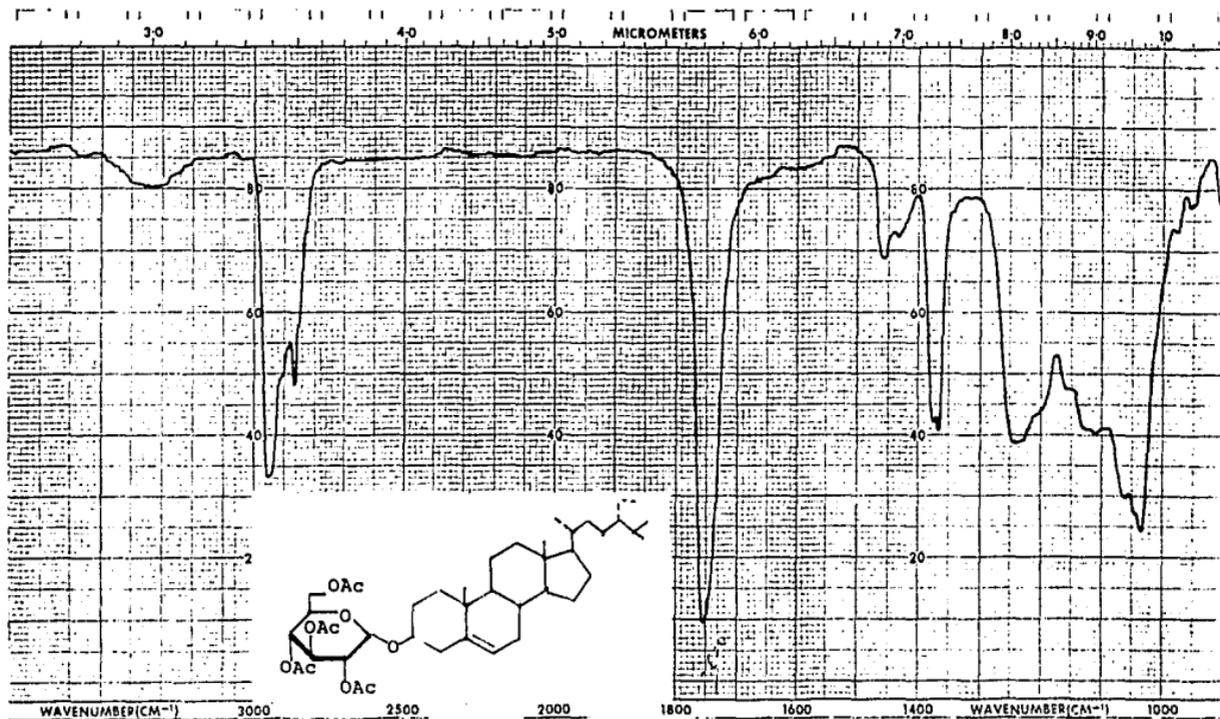
Espectro No. 2

3-metiltriacontano



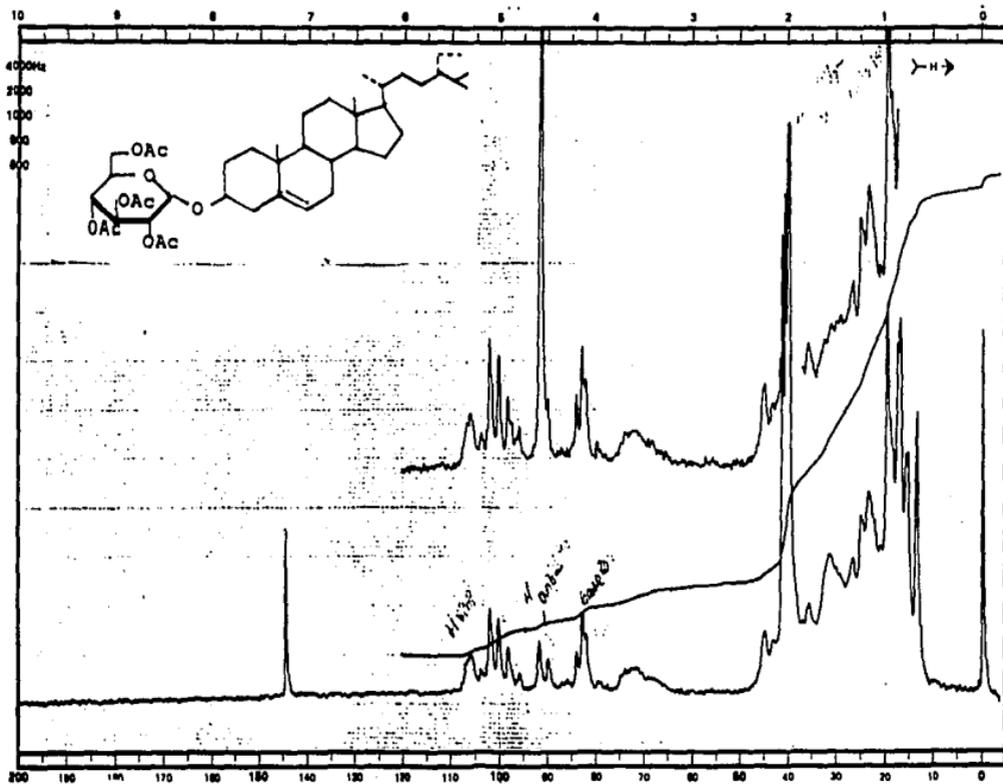
Espectro No. 3

$\beta$ -D-glucósido de  $\beta$ -sitosterol



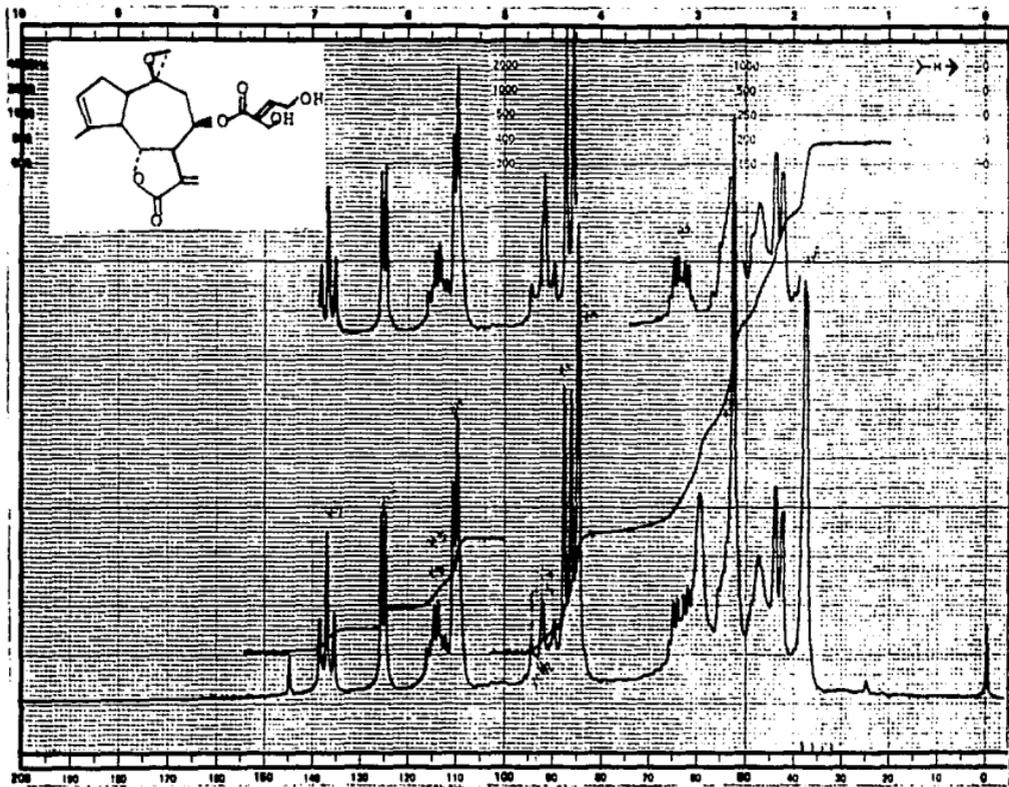
Espectro No. 4

Peracetato del glucósido



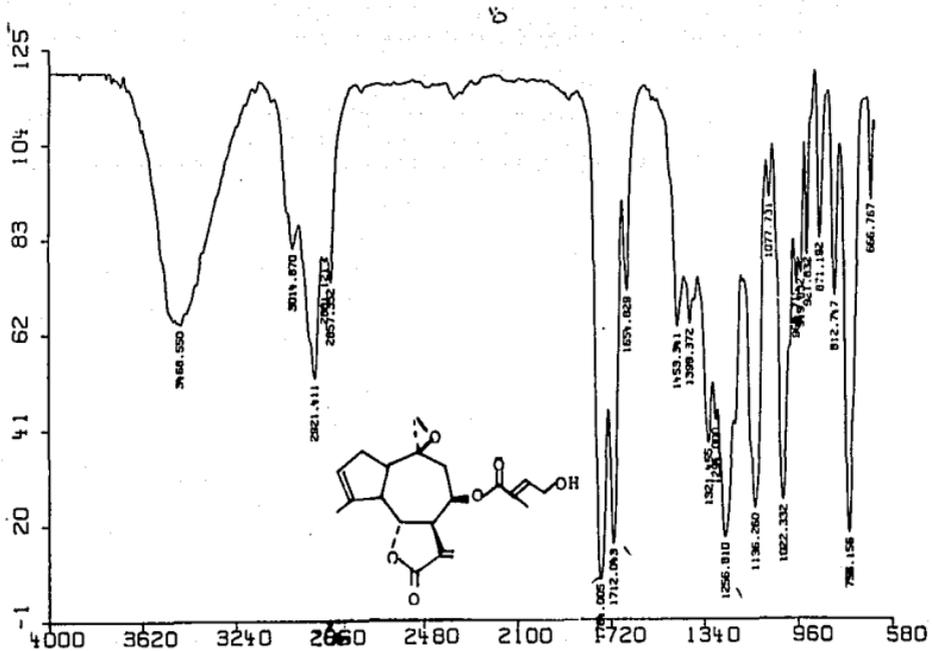
Espectro No. 5

Peracetato del glucósido



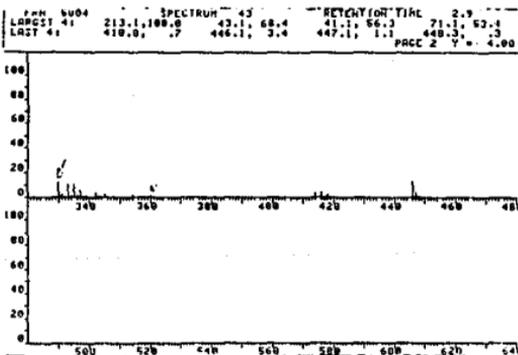
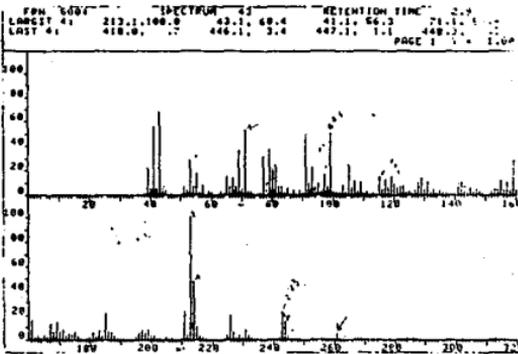
Espectro No. 6

bahía II



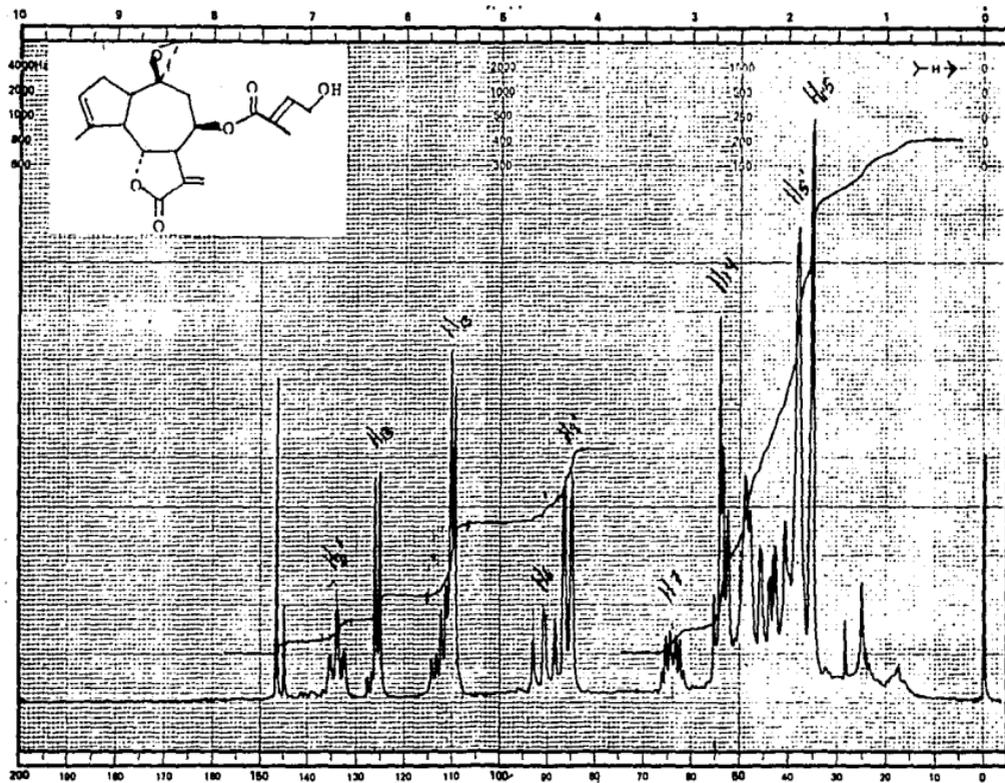
Espectro No. 7

20-desoxybahia II



Espectro No.8

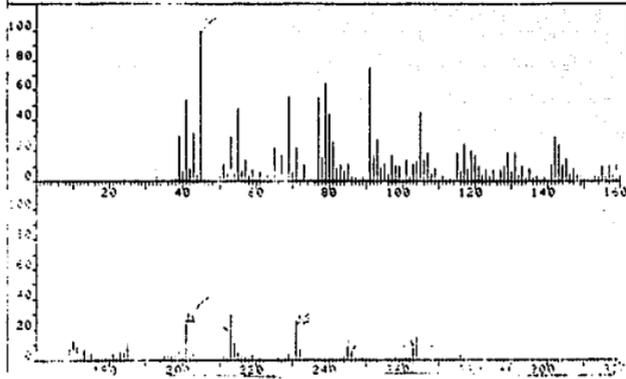
20-desoxibahia II



Espectro No. 9

20-desoxybahaia II

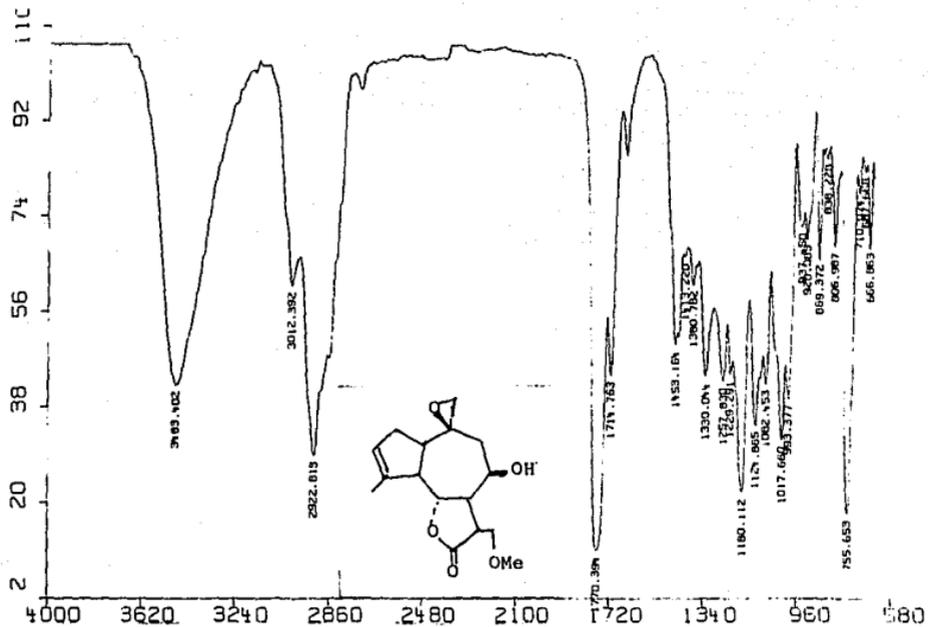
PRN 5174	SPECTRUM		RETENTION TIME	
LAGST 41	15.1, 100.0	31.1, 74.7	79.1, 84.1	69.1, 55.1
LAGT 4:	17.1, 9.2	17.1, .7	27.2, .3	179.1, .1
				SCALE Y = 1.004



Espectro No. 10

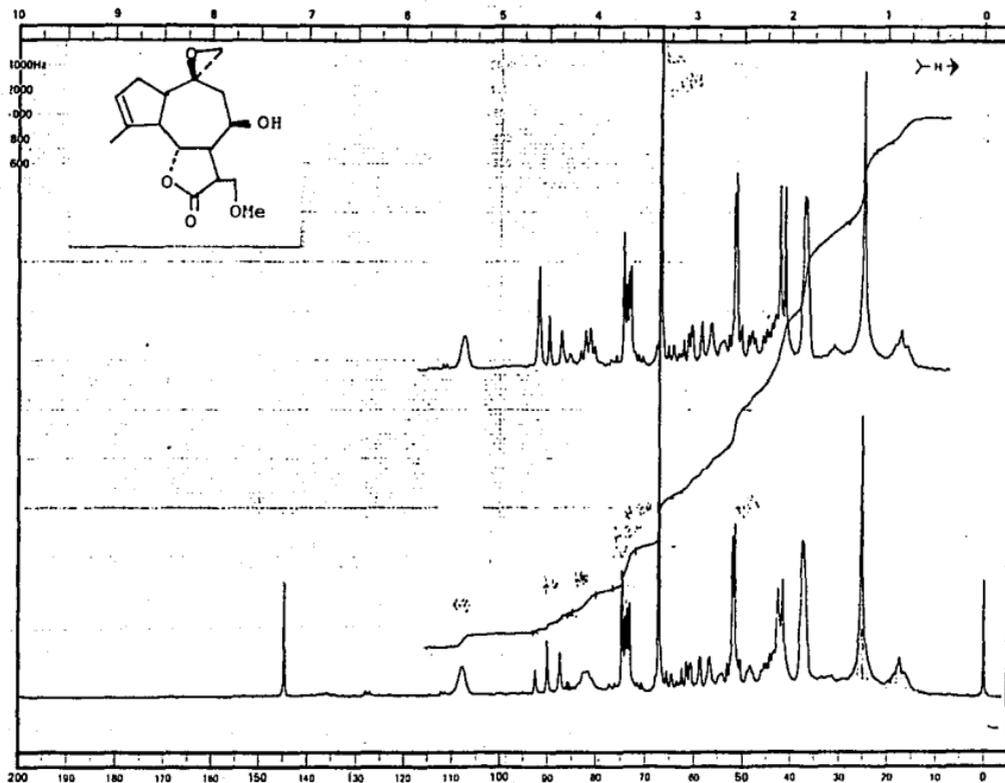
13-metoxibahia I

ESTA TESIS NO DEBE  
SALIR DE LA BIBLIOTECA



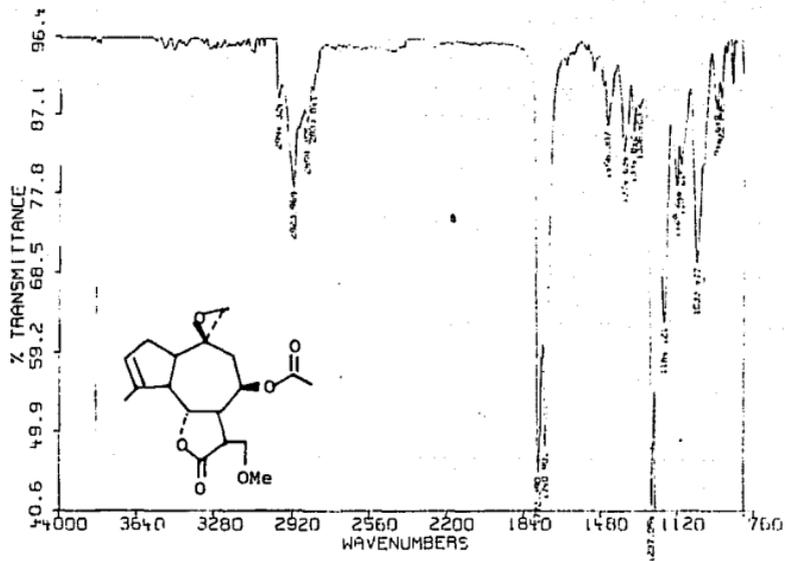
Espectro No. 11

13-metoxibahia I



Espectro No. 12

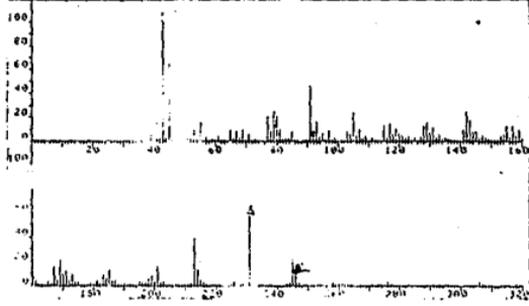
13-metoxibahia I



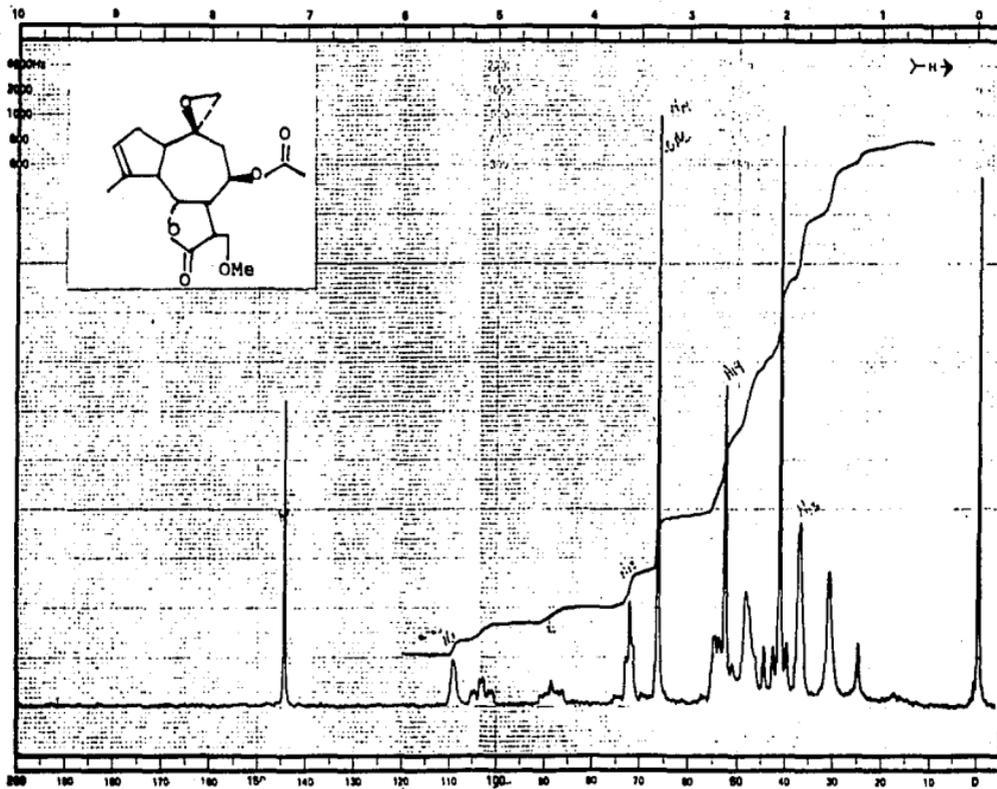
Espectro No. 13

13-metoxibahia I acetilado

PPH 5013	365190H 4	RELEASE TIME	3.2
LRST 41	43.1100.0	231.2	56.8
LRST 42	107.11.5	319.1	.2
			226.2
			.4
			1.00

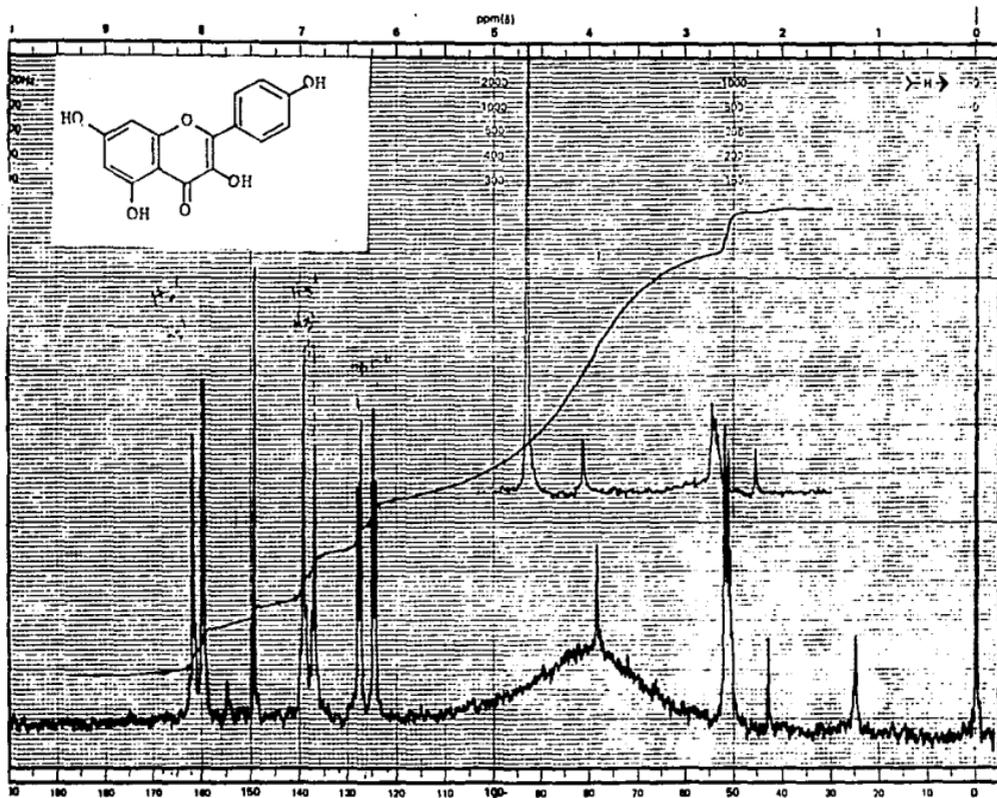


**Espectro No. 14      13-metoxibahia I acetilado**



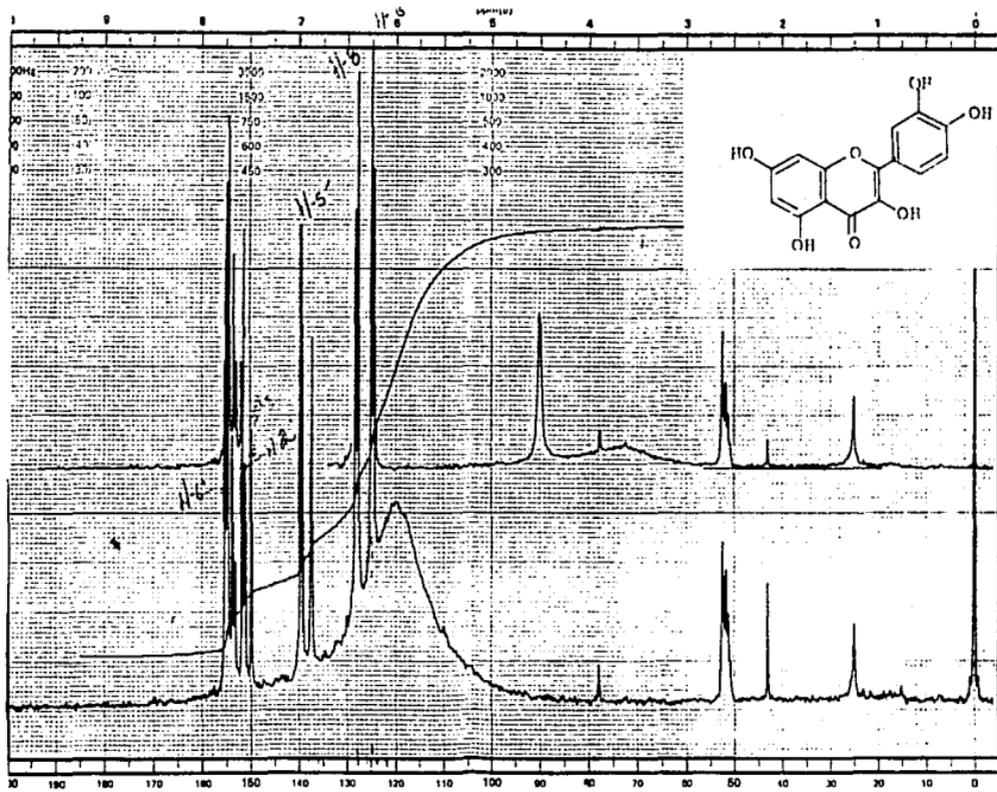
Espectro No. 15

13-metoxibahia I acetilada

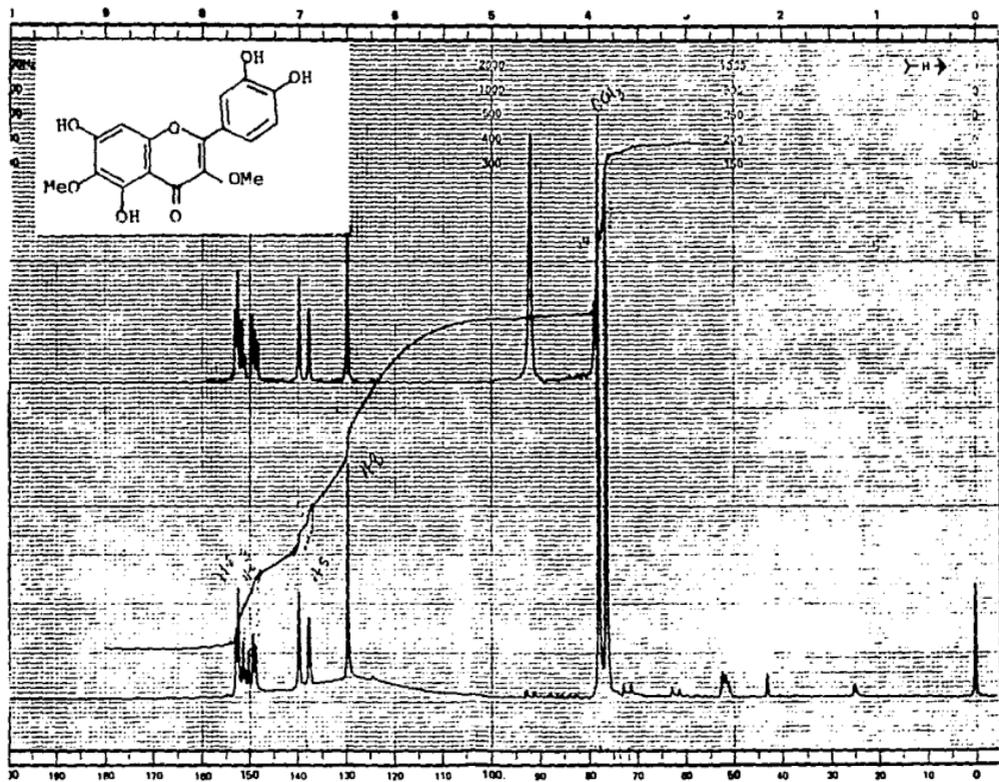


Espectro No. 16,

kaempferol



Espectro No. 17, quercetina



Espectro No. 18,

axillarina