

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO
FACULTAD DE QUIMICA**

**PRODUCTOS NATURALES DE
MONTANOA TOMENTOSA**



**INSTITUTO DE QUÍMICA
BIBLIOTECA**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADEMICO DE :
DOCTOR EN CIENCIAS QUIMICAS
PRESENTA LA QUIMICO
YOLANDA CABALLERO ARROYO**

México, D. F.

1971



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.

ESTA TESIS SE DESARROLLO EN EL INSTITUTO DE
QUIMICA DE LA U.N.A.M. CON UNA BECA OTORGADA POR
LA DIRECCION GENERAL DEL PROFESORADO Y POR EL INSTI
TUTO NACIONAL DE LA INVESTIGACION CIENTIFICA.

EL TEMA DE TESIS FUE DESARROLLADO BAJO LA
DIRECCION DEL Dr. FERNANDO WALLS ARMIJO, A QUIEN
MANIFIESTO MI SINCERA GRATITUD.

AGRADEZCO AL Dr. FEDERICO GARCIA JIMENEZ
LA ACERTADA AYUDA QUE ME PROPORCIONO EN ALGUNAS
ETAPAS DEL TRABAJO.

AL Dr. HUMBERTO ESTRADA OCAMPO
MI RECONOCIMIENTO POR SU AYUDA
Y ESTIMULO.

A MIS PADRES

A MIS HERMANOS

A HECTOR

INTRODUCCION

Existe en México un arbusto conocido con el nombre de Zoapatle, nombre que deriva del náhuatl cihuapatli de cihuatl, mujer y patli medicina o remedio; o sea medicina para mujer, del que desde tiempos precortesianos se ha utilizado la infusión de las hojas o de las flores por sus propiedades ocitósicas que son citadas ya por Fray Bernardino de Sahagún.¹

Esta tradición ha atraído a numerosos investigadores a estudiar la planta² con el propósito de aislar el principio activo; sin embargo, los resultados al respecto no han sido muy satisfactorios.

Hasta la fecha no se encontraba estudiada la raíz, por lo que el presente trabajo se encaminó al aislamiento y determinación de la estructura de los componentes de esta parte de la planta, que fue recolectada en los alrededores de la Ciudad Universitaria en diferentes épocas del año, encontrándose que la composición variaba de acuerdo con la época de recolección.

De los componentes de la planta, los que resultaron de mayor interés para el estudio químico estructural fueron diterpenos, ninguno de estos compuestos mostró actividad ocitósica* ni tampoco se encontró actividad en los extractos orgánicos. Los componentes aislados tienen un interés especial por su relación con hormonas del crecimiento de las plantas.³

* Se agradece al Dr. Saúl Villa del Departamento de Biología Molecular del Centro de Investigación y Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional, la investigación farmacológica de este producto.

PARTE TEORICA

El primer extracto de raíz de Zoapatle (*Montanoa tomentosa* Cerv.)^{*} se obtuvo de una cosecha de junio usando etanol como disolvente. Por cromatografía en sílice de parte del residuo obtenido, se aisló un ácido *1a* que presentó p.f. 180°; EM, Fig. 1; M^+ 302; $[\alpha]_D^{20}$ 110.0°. Analiza para $C_{20}H_{30}O_2$.

El examen espectroscópico y químico indicó la presencia de una doble ligadura, la naturaleza de ésta se hizo evidente por una banda en su espectro en el IR a 750 cm^{-1} , Fig. 2 y cuatro señales debidas a un sistema AB en el espectro de rmn, Fig. 3. Estos datos corresponden a una unión olefínica disustituida y unida a dos átomos de carbono terciarios. El espectro de rmn indicó también la presencia de tres grupos metilo unidos a carbonos terciarios cuyas posiciones fueron 0.68, 1.0 y 1.23.**

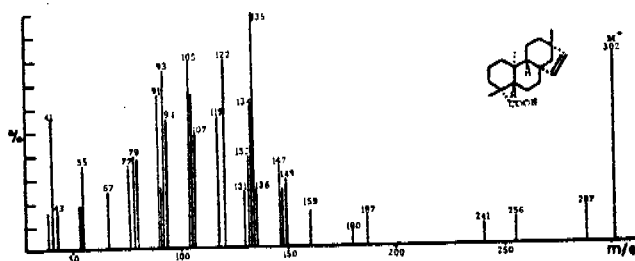


Fig. 1

* Se agradece al Dr. Teófilo Herrera del Instituto de Biología de la UNAM, la clasificación de la planta.

** Ver nota en la página 24

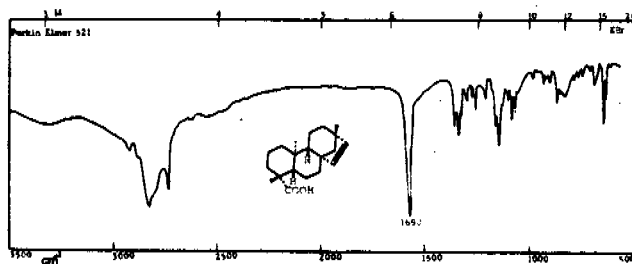


Fig. 2

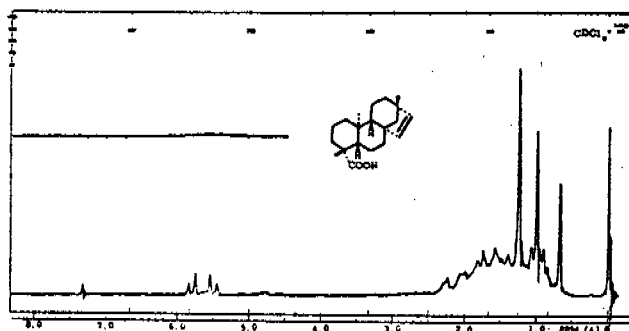


Fig. 3

El ácido aislado de la planta se trató con una solución etérea de diazometano obteniéndose el éster metílico, 1b, que presentó p.f. 108-110°; el espectro en el IR, Fig. 4, mostró señales a 3020, 1715 y 750 cm^{-1} ; en el espectro de rnm, Fig. 5, se apreciaron los protones olefínicos que dieron origen a cuatro señales centradas a 5.45 y 5.73 ($J = 5.5$); EM, Fig. 6; M^+ 316; PM calculado para $\text{C}_{21}\text{H}_{32}\text{O}_2$ 316.47.

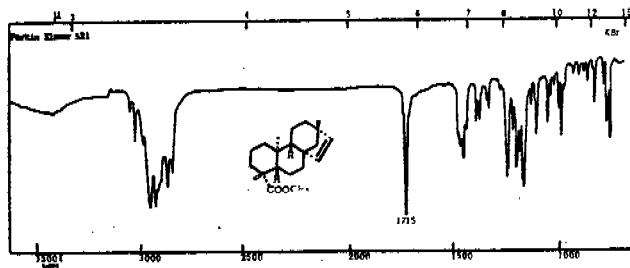


Fig. 4

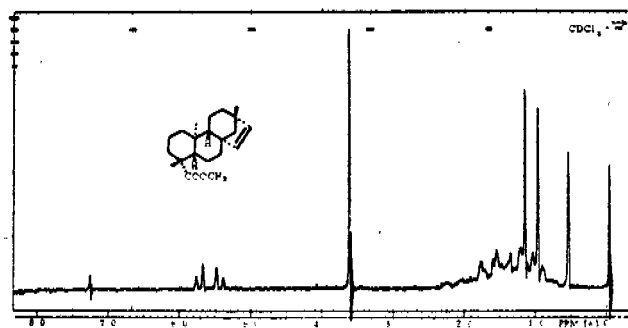


Fig. 5

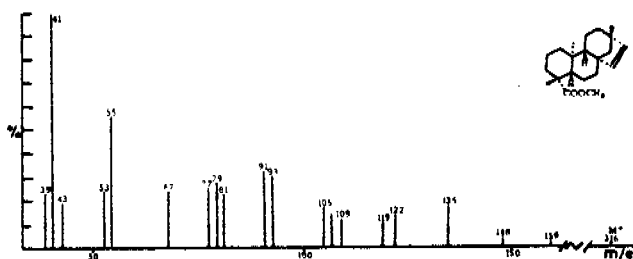


Fig. 6

La reducción con LiAlH_4 tanto del ácido **1a** como del éster **1b** llevó a la obtención de un alcohol, **1c**, de PM 288, EM, Fig. 7, con un pico prominente a m/e 257; en los espectros de IR, Fig. 8 y rmn , Fig. 9, se apreciaron

nuevamente la doble unión cis disubstituida; así como una banda en 3625 en el IR debido al oxidrilo no asociado.

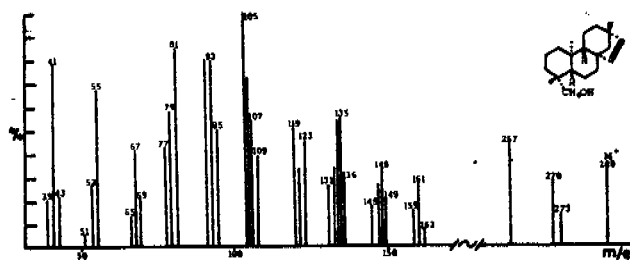


Fig. 7

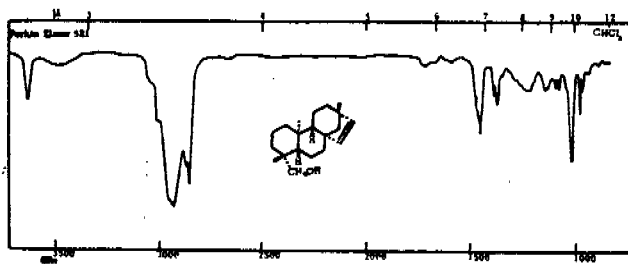


Fig. 8

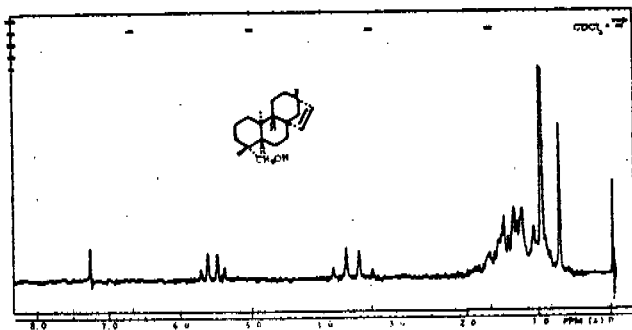


Fig. 9

Usando anhídrido acético y acetato de sodio se obtuvo, a partir del alcohol, 1c, el acetato 1d.

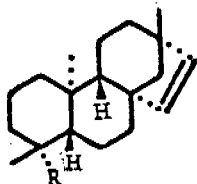
Por hidrogenación catalítica del ácido aislado de la planta se obtuvo otro ácido 2 sin señales de protones olefínicos en el espectro de rnm, y con un PM de 304.

Los desplazamientos de las señales en rnm del ácido y sus derivados se indican en la Tabla I.

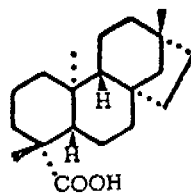
TABLA I

Compuesto	Metilos terciarios	Metilo de éster	Metileno vecino a oxígeno (sistema AB)	Protones olefínicos (sistema AB)
2	0.87, 0.95, 1.30	-	-	-
1a	0.68, 1.0, 1.23	-	-	5.45 y 5.74
1b	0.56, 0.98, 1.16	3.31	-	5.45 y 5.73
1c	0.73, 0.97, 0.99	-	3.42 y 3.80	5.44 y 5.67
1d	0.77, 0.91, 0.97	1.95	3.75 y 4.20	5.40 y 5.62

Las propiedades físicas y los datos espectroscópicos de los derivados del ácido 1a, coincidieron con los descritos para el Monoginol y sus derivados;⁴ en esta forma se logró establecer la estructura y configuración del ácido aislado del Zoapatle al cual se le dio el nombre de Monoginoico.



- 1a R=COOH
 1b R=COOCH₃
 1c R=CH₂OH
 1d R=CH₂OAc

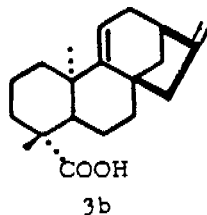
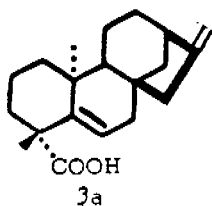


Por cromatografía en alúmina de otra parte del extracto etanólico se obtuvieron productos poco polares cuyo estudio no se continuó. Los problemas encontrados en la purificación de otras fracciones más polares llevaron a hacer una extracción selectiva.

En el mes de agosto se colectó y extrajo nuevamente raíz de Zoapatle usando benceno como disolvente. El residuo se disolvió en éter, se alcalinizó y se extrajo en forma continua⁵ separándose así las fracciones neutra y ácida; de esta última se aisló ácido monoginoico y otro ácido que presentó p.f. 154 - 156°; EM, Fig. 10; M⁺ 300. El espectro en el IR, Fig. 11, presentó una banda en 875 y otra más pequeña en 800 cm⁻¹ atribuibles a un metileno exocíclico y a una doble ligadura trisubstituida, respectivamente.

En el espectro de rmn, Fig. 12, se observó una señal doble formada por señales anchas y centrada a 4.83 que comprobó la presencia de metileno exocíclico; se encontró además una señal triple centrada a 5.25, que integró para un protón y que comprobó la presencia de una doble ligadura trisubstituida; a 1.01 y 1.23 se encontraron dos señales simples que correspondían a dos metilos terciarios.

Tomando en cuenta la estructura del ácido aislado anteriormente y con los datos espectroscópicos de que se disponía, se supusieron las dos estructuras siguientes para el ácido dienoico.



El ácido 3b se encontró descrito por Brieskorn con el nombre de Kaura-(9(11).16)-dien 19-oico⁶ y por comparación directa* resultó idéntico al aislado del Zoapatle.



Fig. 10

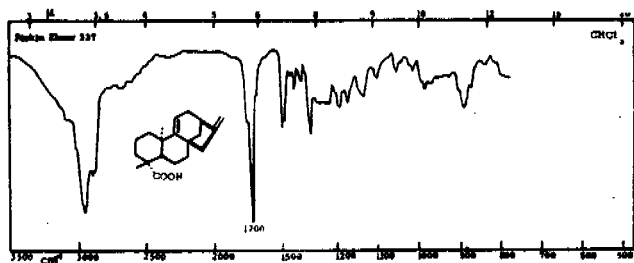


Fig. 11

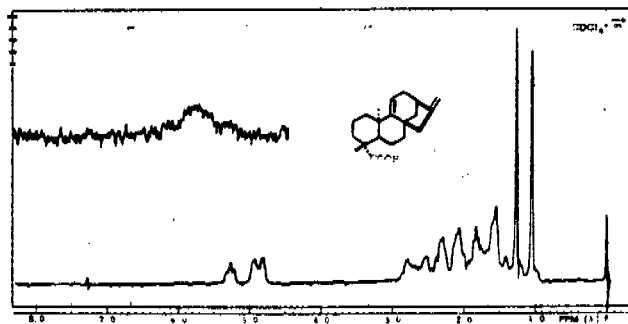


Fig. 12

* Se agradece al Dr. C. H. Brieskorn de la Universidad de Würzburg el envío de una muestra de dicho ácido.

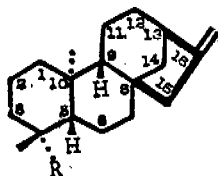
En la misma fracción ácida se aisló un producto que por sus espectros de IR y rmn parecía ácido alifático; el espectro de masas mostró que era una mezcla de ácidos palmítico (PM 256) y esteárico (PM 284), que ya no fueron separados.

Con objeto de tener más ácido 3b, se hizo una nueva recolección de raíz en el mes de marzo, habiéndose hecho la extracción con hexano. Por extracción continua en medio básico se separó la fracción neutra; acidulando el medio y extrayendo otra vez en forma continua se aisló la fracción ácida.

Por cromatografía de la fracción ácida, empleando sílice como adsorbente, se obtuvo un producto cristalino que por PM, R_f y p.f., parecía ácido monoginoico, pero cuyo espectro de rmn indicaba que era mezcla de ácidos monoginoico, 1a, y kaurenoico⁷ 4a en proporción de 70% y 30%, no habiéndose encontrado ácido dienoico.

Se iniciaron los intentos de separación por cromatografía en columna, cromatografía preparativa en capa delgada de sílice y en otros intentos sílice impregnada con nitrato de plata,⁸ sublimación, cristalización fraccionada triangular,⁹ sin que ninguno de ellos hubiera dado resultado.

Se intentó la separación por formación de derivados, con tal fin se prepararon ésteres metílicos, alcoholes, p-nitrobenzoatos de los alcoholes. Finalmente se logró separar la mezcla de los alcoholes empleando placas preparativas de sílice impregnada con nitrato de plata. Los alcoholes separados se identificaron como Monoginol, 1c, y kaurenol¹⁰ 4b, con lo cual se comprobó que los ácidos presentes en la mezcla aislada originalmente de la planta eran el monoginoico y el kaurenoico.



4a R = COOH
 4b R = CH₂OH
 Kaureno = 4c R = H

La fracción neutra del extracto hexánico se cromatografió en alúmina ; de algunas fracciones eluidas con benceno se obtuvo monoginol 2c. De otras fracciones, también eluidas con benceno, se obtuvo un producto sólido con las siguientes características : p.f. 168-169°, $[\alpha]$ -26.4 ; EM, Fig. 13 ; M⁺ 300. Analiza para C₂₀H₃₀O₂.

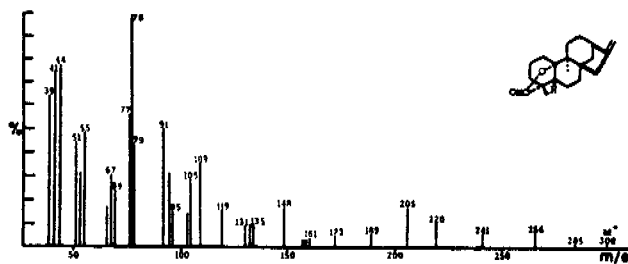


Fig. 13

El espectro en el IR, Fig. 14, mostró bandas a 3010 y 1665 cm⁻¹ originadas por una insaturación, una banda a 880 cm⁻¹ que sugiere metileno exocíclico, una banda en 1765 cm⁻¹ que corresponde a una lactona de cinco miembros.¹¹ A esta nueva lactona se le dio el nombre de Zoapatlina.

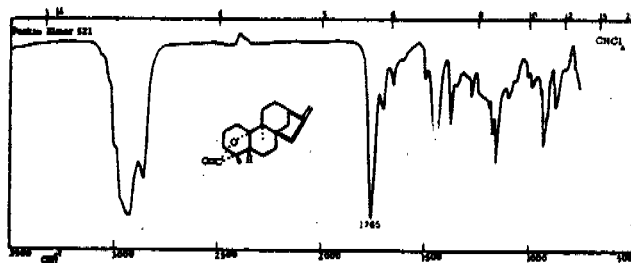


Fig. 14

El espectro de ^{13}C NMR, Fig. 15, confirmó la presencia de metileno exocíclico por una señal ancha a 4.8 que integró para dos protones, además se apreciaron dos metilos cuaternarios a 1.04 y 1.14.

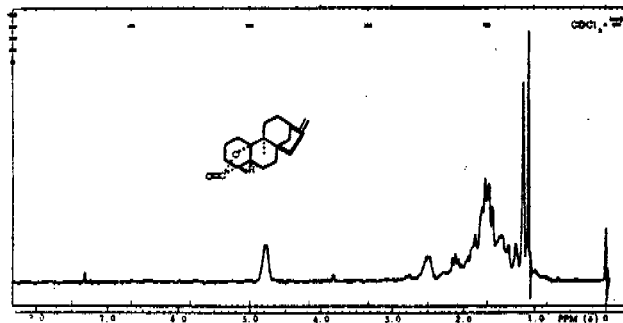


Fig. 15

Con objeto de determinar el tamaño del anillo al que se encontraba unido el metileno exocíclico se llevó a cabo una oxidación con $\text{OsO}_4\text{-H}_2\text{O}_2$ ¹³ para obtener un glicol que por oxidación posterior con HIO_4 proporcionara una cetolactona; al llevar a cabo la primera reacción se obtuvo una mezcla de la cual se pudo aislar una cetolactona; ésta presentó en el espectro en el IR, Fig. 16, una banda a 1740 junto con otra a 1765. Con estos datos se pudo concluir que el anillo al que estaba unido el metileno exocíclico era de cinco miembros.

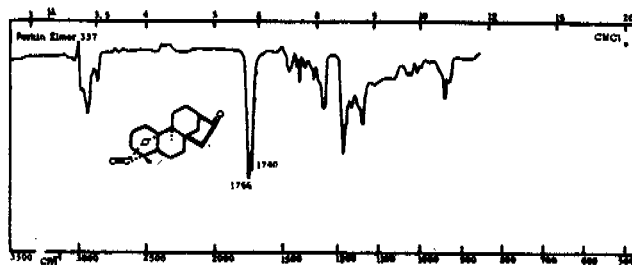


Fig. 16

El espectro de masas, Fig. 17, indicó que esta cetolactona tenía como PM 302, que era el peso esperado para la norcetona de la Zoapatlina. La rma de este producto, Fig. 18, ya no presentó señales de protones olefínicos y presentó dos señales de metilos terciarios a 1.08 y 1.25

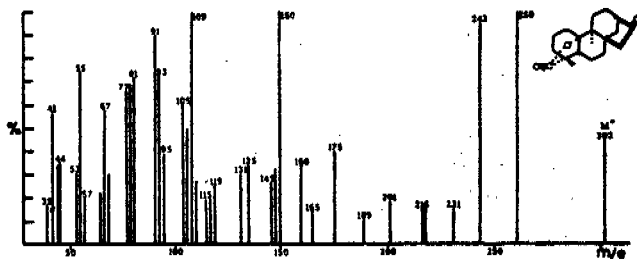
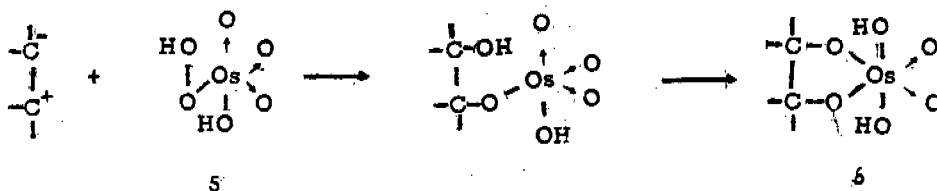


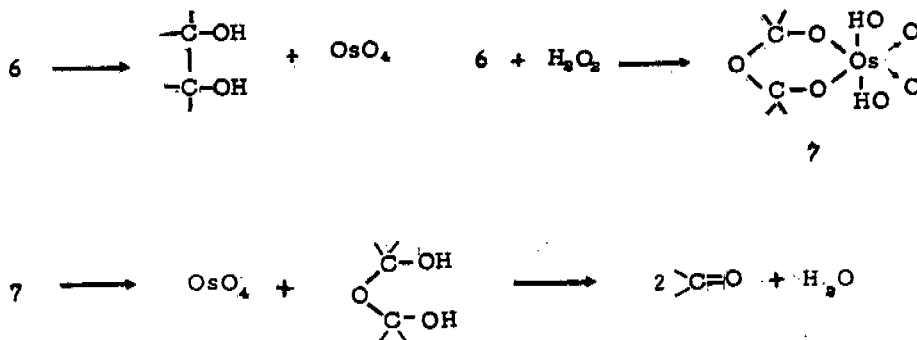
Fig. 17

Estos datos correspondían a los que se esperaba obtener para la cetolactona que se formara por el tratamiento sucesivo OsO_4 - H_2O_2 y HIO_4 . En la literatura se encontraron antecedentes de esta reacción al estudiarse la hidroxidación de olefinas.¹³ Se sabe que el tetróxido de osmio forma con el agua un ácido débil, el H_2OsO_5 , siendo probable que en presencia de H_2O_2 , que es un ácido más fuerte que el agua, se forme el ácido peroxidósomico $\text{H}_2\text{Os}_2\text{O}_8$, el cual es muy inestable en solución acuosa, pero en alcohol terbutílico su estabilidad

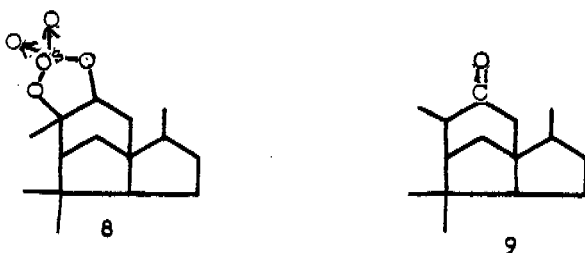
aumenta. Milas, en el trabajo citado, establece que el ácido peroxiósmico forma con la olefina un complejo, 6, el cual en presencia de agua se descompone dando el glicol y regenerando el tetróxido de osmio.



En ausencia de agua y en presencia de peróxido de hidrógeno el intermedio se oxida produciéndose la ruptura de la unión carbono-carbono y la formación de otro complejo, 7, cuya descomposición lleva a la obtención de compuestos carbonílicos.



En experimentos realizados en este laboratorio también se obtuvieron derivados carbonílicos a partir de ésteres ósmicos. Por pirólisis del éster del cedreno 8 se obtuvo cedrenona 9 y por pirólisis del éster del trans-estilbeno se obtuvo benzaldehído.



En el caso de la Zoapatlina se pudo comprobar que mediante la reacción $\text{OsO}_4\text{-H}_2\text{O}_2$ se había obtenido la norcetona correspondiente ya que al hacer reaccionar con HIO_4 la fracción más polar de la mezcla de reacción se obtuvo una cetona idéntica a la referida.

En el espectro de rnm de la Zoapatlina no se encontró ninguna señal que indicara protón unido a un carbono que al mismo tiempo soportara a un oxígeno lactónico, excluyéndose de este modo una lactona con inserción del puente de oxígeno sobre carbono primario o secundario.

Se intentó formar la Zoapatlina por lactonización del ácido 3b en presencia de trifluoruro de boro y también en presencia de HCl al 10%,¹⁴ el curso de ambas reacciones se siguió por cromatografía en capa delgada de sílice, sin que en ningún caso se lograra detectar la formación de la lactona. Sin embargo, el estudio de los espectros de masas del ácido, Fig. 12, y de la lactona, Fig. 15, revela que tienen fragmentos de igual masa/carga como se indica en la Tabla II.

T A B L A II

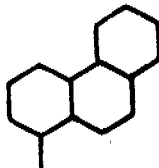
Comparación de la relación de los fragmentos que se obtienen por espectrometría de masas de la Zoapatlina y el ácido 3b.

	m/e	285	241	220	173	161	160	159	157	149	148	146	121	120	118	103	93	92
Acido	%	76	4	6	10	9	4	21	18	2	6	28	11	7	9	7	45	30
Lactona		5	6	14	5	5	3	4	4	5	18	10	10	9	6	5	32	14

Los datos anteriores sugieren que existe una relación entre ambos compuestos.

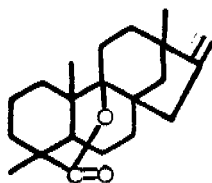
Para establecer el esqueleto básico de la lactona se efectuó una reac-ción de aromatización con la cual se logró obtener una mezcla de productos fluo-rescentes a la luz ultra violeta, que se separaron por cromatografía en capa del-gada. Una de las fracciones obtenidas mostró en el UV un espectro que corres-pondió al 1-metil fenantreno*¹⁵ El espectro de masas de esa fracción dio como PM 192 que corresponde también al peso del 1-metil fenantreno, se observó sin embargo, que tenía cantidades menores de homólogos superiores ($M^+ + 14$, $M^+ + 28$, $M^+ + 42$).

Con esta reacción se pudo establecer la posición de 15 de los 20 át-omos de carbono de la molécula.



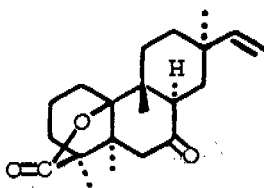
Tomando en consideración que en el espectro en el IR de la lactona no existen señales debidas a la presencia de metilos gem, con los datos obtenidos de la aromatización y considerando la estructura de los diterpenos encontrados en la planta se pensó que la Zoapatlina podía tener la siguiente estructura

* Se agradece al Dr. J. Ulrich del Centro de Estudios Nucleares de Grenoble el envío de la Tesis del Dr. Kim Persaud sobre el estudio de alquíl fenantrenos, y al Dr. K. D. Barthe de la Universidad de Leeds una muestra de 1-me til fenantreno.



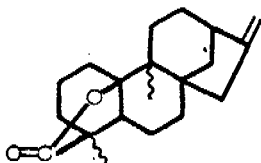
Sin embargo, la banda a 1765 cm^{-1} en el espectro en el IR y la construcción de la molécula con modelos a escala no apoyaba esta estructura.

Se consideró entonces una estructura con la lactona cerrada en la posición 10, para tal estructura tenía que postularse una migración del metilo que por consideraciones biogénéticas debía estar en esa posición.¹⁶ En diterpenos pocas lactonas se conocen que estén cerradas en la posición 10, siendo el más importante y el más estudiado el caso de la Rosenonolactona 10.¹⁷

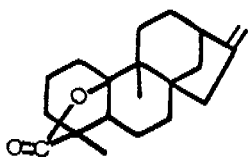


10

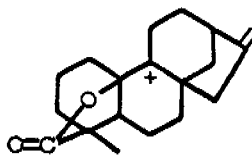
Por lo tanto la estructura que correspondería a la zospatlina sería



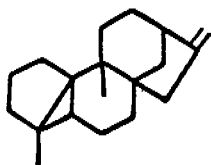
Analizando nuevamente la fragmentación en los espectros de masas del ácido Kaura-(9(11),16)-dien-19-oico y de la lactona se puede suponer que la pérdida de un metilo y de una molécula de CO_2 daría origen al fragmento de m/e 241 en ambos compuestos, proponiéndose como mecanismo de fragmentación para la lactona el siguiente



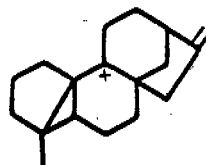
m/e 300



m/e 285

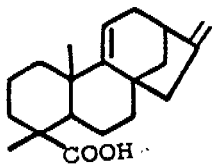


m/e 256

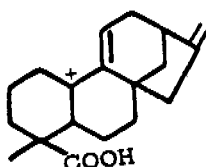


m/e 241

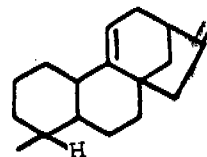
En el caso del ácido se puede proponer el siguiente mecanismo



m/e 300



m/e 285



m/e 241

Es decir, los datos del espectro de masas de la lactona están de acuerdo con la estructura propuesta.

Para la determinación de la estereoquímica de la molécula fue decisivo

el estudio de las curvas de DC y DOR.

La curva de DOR* de la norcetonona, Fig. 19, mostró una fuerte absorción entre 309 y 320 $m\mu$ debida a la transición $n \rightarrow \pi$ del grupo carbonilo mostrando un efecto de Cotton positivo. A 227.5 $m\mu$ se pudo apreciar el primer extremo de la absorción del grupo lactona que ocurre entre 225 y 230 $m\mu$ a esta banda le correspondió un efecto de Cotton negativo incompleto, cuyo significado se explicará más adelante en relación con la curva de DOR de la lactona original.

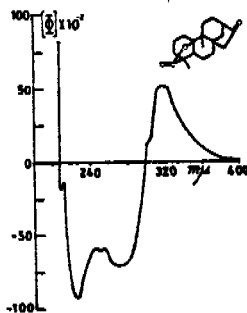
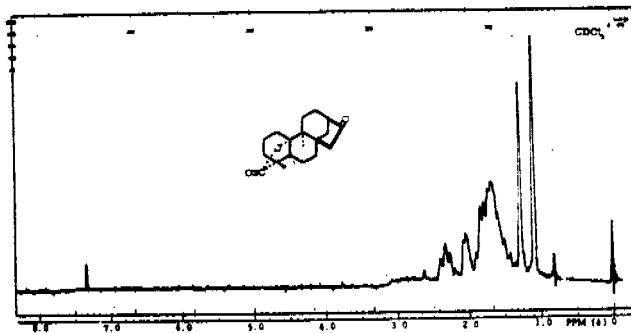
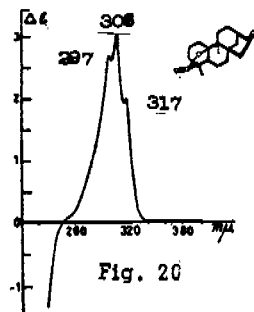


Fig. 19

En el espectro de DC** se observó un efecto de Cotton positivo como era de esperarse de acuerdo con el espectro de DOR. La forma y posición de las bandas de absorción en el espectro de DC, Fig. 20, permitieron establecer la estereoquímica de la unión de los anillos C y D así como la configuración alfa del sustituyente en el carbono 9 por comparación con la curva de DC de la norcetonona del filocladeno.¹⁸

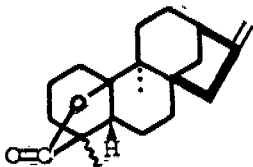
* Se agradece al Dr. J. Calderón del Departamento de Bioquímica de la Facultad de Medicina de la UNAM, la determinación de las curvas de DOR.

** Se agradece al Dr. Guy Ourisson de la Universidad de Estrasburgo la determinación de esta curva.



Esta estructura permitió deducir que la configuración del grupo metilo antes de la migración debió ser alfa. Esto establece el esqueleto del Kaureno 4c. para el precursor de la lactona.

Se pudo entonces asignar, en términos de la regla biogénica del isopreno para los diterpenos tetracíclicos¹⁹ la siguiente configuración parcial para la lactona



En esta fórmula sólo quedaba por establecer la configuración del anillo lactónico, siendo las dos posibles orientaciones la alfa 11 y la beta 12.



El primer intento para relacionar la estereoquímica de una lactona con el signo de su rotación óptica fue hecho por Hudson.²⁰ Hasta la fecha se han estudiado un buen número de lactonas y se ha podido predecir en base a la regla de los sectores²¹ el signo del efecto de Cotton.

La dispersión óptica rotatoria se ha aplicado también en el estudio de la Rosenonolactona 10 y compuestos derivados del esqueleto del Rosano.²²

Se ha sugerido²³ que el factor fundamental que determina el efecto de Cotton de una lactona es la quiralidad del anillo mismo y que las partes más remotas tienen una contribución muy baja en la rotación.

El análisis de la lactona con la configuración alfa 11 basado en la regla de los sectores, aporta los siguientes datos, Fig. 21:

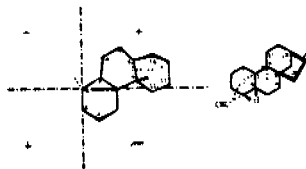


Fig. 21

Los sustituyentes en los carbonos 3, 4 y 10 no contribuyen por estar sobre los planos que bisectan los octantes. El efecto del sustituyente en 5 cancela aproximadamente el efecto del metilo en 4; la misma cancelación de efectos se produce con el sustituyente en 6 y el metilo en 9.

El efecto de los sustituyentes en los carbonos 1 y 2, que se encuentran en sector negativo, es el más importante. Por lo tanto para la lactona con configuración alfa se esperaría un efecto de Cotton negativo.

El análisis de la lactona con la configuración beta, Fig. 22, aportó los siguientes datos :

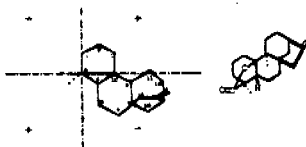


Fig. 22

Los sustituyentes en los carbonos 3, 4 y 10 no contribuyen por estar sobre los planos que bisectan a los octantes. La contribución del sustituyente en carbono 2, que cae en sector positivo, anula el efecto del sustituyente del carbono 6 que cae en sector negativo. La contribución más fuerte la dan los sustituyentes en 1 y en 2; ambos caen en sector positivo por lo que el efecto de Cotton esperado para la lactona de configuración beta será positivo.

A pesar de tener ya la curva de DOR de la cetolactona, para evitar posibles interferencias con otros cromóforos se hizo la curva de DOR de la lactona originalmente aislada de la planta, Fig. 23, encontrándose a 226 m μ una fuerte

absorción debida al grupo lactona y que presentó efecto de Cotton negativo.

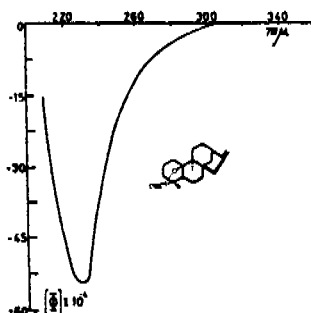
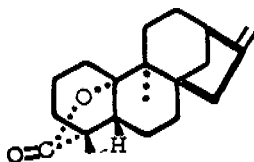


Fig. 23

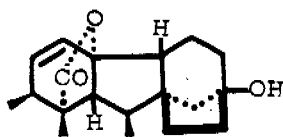
Con los datos anteriores se pudo establecer la configuración alfa para el grupo lactónico y por lo tanto la configuración absoluta de la Zoapatlina 13



13

Este compuesto tiene un gran interés tanto desde el punto de vista biogénico como desde el punto de vista bioquímico funcional de la planta, ya que es posible que constituya un intermediario en la biosíntesis de las Giberelinas.²⁴ Estas actúan como hormonas naturales y regulan el crecimiento y desarrollo de las plantas.²⁵

El ácido Giberélico 10 difiere de los otros diterpenos tetracíclicos por poseer un anillo B de cinco miembros; sin embargo, se ha podido demostrar que los diterpenos tetracíclicos Kaureno²⁶ y ácido kaurenico²⁷ actúan como precursores biogénicos del ácido giberélico 10.



10.

PARTE EXPERIMENTAL*

* Los puntos de fusión se determinaron en un bloque de Kofler. Cuando se purificaron los compuestos por cromatografía en columna, al decir sílice, se entiende como gel de sílice Grace Davison grado 922; cuando se dice alúmina se debe entender alúmina Alcoa F-20 de 80-200 mallas. Para cromatoplasmas o cromatoplasmas preparativas, cuando se dice sílice se refiere a la gel de sílice G Merck de 10-40 micras o alúmina G Merck. Las cromatoplasmas se revelaron con yodo o con sulfato cérico al 1% en H_2SO_4 2N o con los dos reactivos uno después del otro. Para las cromatoplasmas preparativas se reveló una orilla con los reactivos antes enumerados, y se eluyeron las zonas correspondientes a las manchas que aparecen.

Las determinaciones de resonancia magnética nuclear fueron efectuadas por los químicos Eduardo Díaz, María Cristina Rock y Leovigildo Quijano en aparatos Varian A-60A y HA-100, utilizando tetrametilsilano como referencia interna. Los valores de las señales están dados en ppm (δ).

Los espectros de masas los determinaron los químicos Eduardo Cortés y Manuel Jiménez en el aparato Hitachi Perkin-Elmer RMU-6D.

Los químicos Rosario Villamar, Héctor Barrios y Noé Rosas determinaron los espectros en el ultravioleta en EtOH, en espectrofotómetros Perkin-Elmer modelos 450 ó 202 y los espectros en el infrarrojo, en espectrofotómetros Perkin-Elmer 521, 337 ó 21. Los valores de los máximos están dados en cm^{-1} . Los microanálisis los efectuó el Dr. Franz Pascher en Bonn, Alemania. Cuando se usa la expresión "Analiza para $C_xH_yO_z$, etc." implica haber obtenido resultados congruentes. Los dibujos fueron hechos por el químico Carlos Aguilar.

Los disolventes están especificados por medio de letras de acuerdo con lo siguiente: B, benceno; MeOH, metanol; AcOH, ácido acético; AEt, acetato de etilo; H, hexano.

La raíz de Zoapatle se recolectó en junio en los alrededores de la Ciudad Universitaria. Después de molida se extrajo calentando a reflujo con etanol; se hicieron tres extracciones que reunidas y por evaporación del disolvente dieron 160 g de un residuo café.

Aislamiento del ácido monoginoico 1a. El extracto etanólico de la raíz se calentó con benceno, la parte soluble se cromatografió en sílice. De varias fracciones eluidas con benceno cristalizó el ácido monoginoico que fue purificado por cristalización de acetona-hexano y presentó p.f. 180°; $[\alpha]_D^{20}$ -10.0; IR, Fig. 2, 3030 (insaturación), 2500-2800 (oxhidrilo del carboxilo), 1690 (carbonilo), 750 (doble ligadura disubstituida cis); rmn, Fig. 3, señales simples de metilos terciarios a 0.68, 1.0, 1.23; sistema AB con dos grupos de señales dobles centradas en 5.45 y 5.74 ($J = 5.5$) y una señal fuera de campo que integra para un protón; EM, Fig. 1, M^+ 302. Analiza para $C_{20}H_{30}O_2$. PM calculado 302.44.

Ester del ácido monoginoico 1b. El ácido monoginoico se esterificó añadiendo 200 mg a una solución etérea de diazo metano, el exceso de éste se destruyó con ácido acético, el éter se eliminó al baño de vapor y el ácido acético a 90° y a presión reducida. El sólido obtenido se recrystalizó de metanol y presentó p.f. 108-110°. IR, Fig. 4 (insaturación), 1715 (carbonilo), 750 (doble ligadura disubstituida cis); rmn, Fig. 5, tres señales simples de metilos terciarios a 0.56, 0.98, 1.16; metilo de metoxilo a 3.31, sistema AB con dos grupos de señales centradas a 5.45 y 5.73 ($J = 5.5$); EM, Fig. 6; M^+ 316. PM calculado para $C_{20}H_{32}O_2$ 316.47.

Monoginol 1c. El ácido monoginoico (604 mg) se disolvió en tetrahi
drofurano (THF), se añadieron 228 mg de LiAlH_4 , la mezcla reaccionante se ca
lentó a reflujo durante 20 horas. El exceso de hidruro se descompuso añadien
do n ml de agua, enseguida n ml de NaOH al 15% y finalmente 3n ml de agua,
donde n es el número de gramos de hidruro usado en la reducción²⁶; se evaporó
el THF y se extrajo con acetato de etilo; por evaporación del disolvente se obtu
vo un sólido blanco que fue purificado por cromatografía en capa delgada de sílice
y que presentó p.f. 118-120°; IR, Fig. 8, 3625 (oxhidrilo no asociado), 3010
(insaturación), 750 (doble ligadura disubstituida cis); rmn, Fig. 9; tres metilos
cuaternarios a 0.73, 0.97, 0.99, se apreció también un sistema AB originado
por la doble ligadura y formado por dos grupos de señales dobles centradas a 5.44
y 5.67 ($J = 5.5$) y otro sistema AB originado por el metileno vecino al grupo oxhi
drilo con sus señales centradas a 3.42 y 3.80 ($J = 11$); EM, Fig. 7; M^+ 288.
PM calculado para $\text{C}_{20}\text{H}_{32}\text{O}$ 288.46.

El monoginol se obtuvo también por reducción del éster empleando las
mismas condiciones que para la reducción del ácido.

Acetato de monoginol 1d. El monoginol (100 mg) se mezcló con 100 mg
de acetato de sodio anhidro y se agregaron 40 mg de anhídrido acético; se dejó
reaccionar 90 minutos en el baño de vapor; el exceso de anhídrido acético se eli
minó a 90° y a presión reducida; el residuo se extrajo con agua y acetato de eti
lo; por evaporación de éste se obtuvo un sólido que se purificó por cromatografía
en capa delgada de sílice obteniéndose un producto cristalino de p.f. 70-72°; el
IR mostró bandas a 1725 (carbonilo); la rmn presentó señales en 0.77, 0.91 y
0.97 debidas a tres metilos terciarios; una señal simple en 1.95 debida al meti
lo del acetato; sistema AB de los protones vinílicos con 2 grupos de señales do

bles centradas a 5.40 y 5.62 ($J = 5.5$) y el sistema AB del acetato del alcohol primario con señales centradas en 3.75 y 4.20 ($J = 11$). El PM encontrado por EM fue de 330. PM calculado para $C_{22}H_{34}O_2$ 330.49.

Acido dihidromonoginoico 2. El ácido monoginoico (200 mg) se disolvió en acetato de etilo, se añadieron 50 mg de PtO_2 y se hidrogenó durante 3 horas, después de filtrar y evaporar el disolvente se obtuvo un sólido blanco que fue purificado por cristalización de benceno-metanol; los cristales obtenidos mostraron un punto de fusión de $176-177^\circ$; el espectro en el IR mostró bandas en 3470 (oxhidrilo no asociado), 1690 (carbonilo del carboxilo); la rnm mostró 3 señales de metilos terciarios en 0.87, 0.95 y 1.30.

Aislamiento del ácido kaura-9(11-16)dien-19-oico 3b. En el mes de agosto de 1968 se colectaron 10 kilos de raíz, después de molida se extrajo calentando a reflujo con benceno; se hicieron tres extracciones que reunidas y por evaporación del disolvente dieron 135 g de un residuo café. El residuo se disolvió en éter y se extrajo en forma continua en medio básico. Por evaporación del éter se obtuvo la fracción neutra. La fase acuosa se aciduló con ácido clorhídrico, se agregó éter y se extrajo nuevamente en forma continua; por evaporación del éter se obtuvieron 25 g de fracción ácida. Esta fracción se cromatografió en 500 g de sílice, iniciando la elución con una mezcla de hexano 50 benceno 50, en las primeras fracciones se obtuvo ácido monoginoico; en las fracciones subsiguientes se obtuvo mezcla de ácido monoginoico 1a y ácido Kaura-9(11).16) dien-19-oico, 3b, este último se obtuvo en estado puro por cristalizaciones sucesivas de benceno metanol presentando p.f. $154-156^\circ$ el espectro en el IR, Fig. 11, presentó bandas en 875 (metileno exocíclico) y en 800 (doble ligadura tri--

substituida); en el espectro de rmn, Fig. 12, se localizaron señales debidas a dos metilos terciarios a 1.01 y 1.23, una señal doble a 4.83 (metileno exocíclico) y una señal a 5.25 (doble ligadura trisubstituida), EM, Fig. 10, M^+ 300. PM calculado para $C_{20}H_{28}O_2$ 300.42.

Extracción de ácido kaurenoico 4a. En el mes de marzo de 1969 se recolectaron 7 kilos de raíz, se extrajeron con hexano y se procedió como en la extracción anterior obteniéndose 35 g de fracción neutra y 130 g de fracción ácida. Por cristalización de la fracción ácida con benceno-metanol se obtuvieron cristales que por rmn mostraron ser mezcla de ácidos monoginoico (70%) y kaurenoico (30%). Se hizo una cristalización fraccionada triangular empleando cloroformo-hexano como disolvente sin haber logrado la separación.

Esterificación de la mezcla de ácido monoginoico 1a y kaurenoico 4a. La mezcla de ácidos (1.2 g) se esterificó con una solución etérea de diazometano, el exceso de éste se descompuso con ácido acético; en la solución se formó un producto cristalino que fue identificado como el éster del ácido monoginoico 1b; de las aguas madres cristalizó una mezcla de los ésteres esperados, la cual no pudo separarse.

Obtención de los alcoholes monoginol y kaurenol. La mezcla de ácidos 1a y 4a (1.2 g) se disolvió en THF, se agregaron 240 mg de $LiAlH_4$ y se calentó a reflujo durante 15 horas, después de destruido el exceso de hidruro con una solución saturada de sulfato de sodio se evaporó el THF, separándose los alcoholes obtenidos por extracción con acetato de etilo.

150 mg de la mezcla de alcoholes se aplicaron en una cromatoplaque preparativa de sílice impregnada con 20% de nitrato de plata, desarrollando con benceno 95-acetato de etilo 5, dejando secar la placa y volviendo a desarrollarla en

la misma mezcla de disolventes, en esta forma se lograron separar el monoginol, 2c, y el kaurenol 4b, de p.f. 138-140°, IR, Fig. 24; rmn, Fig. 25; EM, Fig. 26; M⁺ 288. PM calculado para C₂₀H₃₂O 288.46.

Aislamiento de monoginol 1c. De la recolección hecha en el mes de marzo se obtuvieron 35 g de fracción neutra que se purificó por cromatografía en 700 g de alúmina. De algunas fracciones eluidas con benceno se obtuvo monoginol que fue purificado por cristalizaciones sucesivas de cloroformo-metanol. Fue identificado como monoginol pues sus datos físicos y espectroscópicos coincidieron con los del alcohol obtenido por reducción del ácido monoginoico.

Aislamiento de Zoapatlina 11. De la misma fracción neutra de donde se obtuvo monoginol, y eluyendo también con benceno, se aisló zoapatlina; se purificó por recristalización de benceno-hexano, seguida de cromatografía en capa delgada de sílice y cristalizando nuevamente de acetona-hexano. En total se lograron obtener 150 g de producto puro que presentó p.f. 168-169°, $[\alpha]_D^{20}$ -26.4; el espectro en el IR, Fig. 14, presentó bandas a 3010 y 1665 (insaturación), 880 (metileno exocíclico), 1765 (carbonilo de lactona de cinco miembros); en el espectro de rmn, Fig. 15, se localizaron señales en 4.8 (metileno exocíclico) y dos señales a 1.04 y 1.14 originadas por dos metilos cuaternarios. El espectro de masas dio un PM de 300, Fig. 13, y el análisis del producto dio como fórmula C₂₀H₃₀O₂.

Norcetona de la Zoapatlina. 100 mg de Zoapatlina se suspendieron en acetona destilada de P₂O₅, se agregaron 15 gotas de catalizador OsO₄ en alcohol terbutílico y 2.5 ml de H₂O₂ al 30%, se dejó reaccionar 72 horas a temperatura ambiente después de las cuales se filtró sobre celita y se lavó con

acetona. El residuo obtenido por evaporación del disolvente se purificó por cromatografía en capa delgada de sílice desarrollando con benceno 95- acetato de etilo 5, dejando secar la placa y volviendo a desarrollarla con la misma mezcla de disolventes; después de revelada mostró dos franjas, la menos polar que fue identificada como la norcetona de la Zoapatlina, cuyo p.f. fue 178-180°.

El espectro en el IR, Fig. 16, presentó bandas en 1765 (carbonilo de lactona de cinco miembros), 1740 (carbonilo de cetona de cinco miembros); en τ cm, Fig. 18, se localizaron dos señales de metilos cuaternarios en 1.08 y 1.25. EM, Fig. 17, M^+ 302. PM calculado para $C_{19}H_{26}O_3$.

La fracción más polar de la cromatografía en capa delgada se sometió a una oxidación con HIO_4 , dejando la reacción 4 días a temperatura ambiente; después de este tiempo se extrajo con acetato de etilo, por evaporación del disolvente se obtuvo un aceite ligeramente rojizo que fue también purificado por cromatografía en capa delgada, se eluyeron dos franjas, la menos polar que se identificó como norcetona de la Zoapatlina, la más polar se recuperó y se sometió a una aromatización.

Aromatización de Zoapatlina. El producto polar recuperado de la oxidación con HIO_4 (6 mg) se mezcló con 600 mg de polvo de zinc, la mezcla reaccionante se colocó en un tubo de paredes gruesas, de 12 mm de diámetro y se cerró a la flama calentando después en un horno a 320° durante 24 horas; la mezcla de reacción se extrajo con cloroformo, se filtró a través de celita siendo la solución clorofórmica fluorescente a la luz ultravioleta. El producto se aplicó en cromatografía en capa delgada de sílice y se observaron tres franjas, todas ellas fluorescentes. Una de ellas fue identificada espectroscópicamente

mente como 1-metil fenantreno por sus espectros en el UV que mostró máximos de absorción en 213, 255, 277, 288, 300, 320, 325, 336, 361 y 380 m μ y por su espectro de masas que presentó un ión molecular a masa/carga 192.

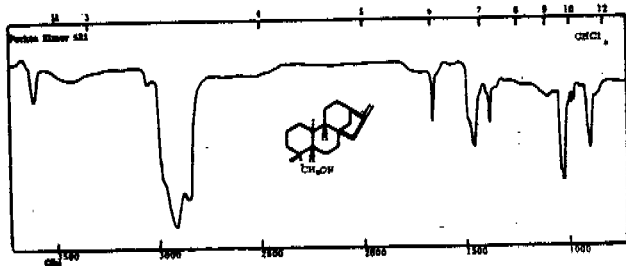


Fig. 24

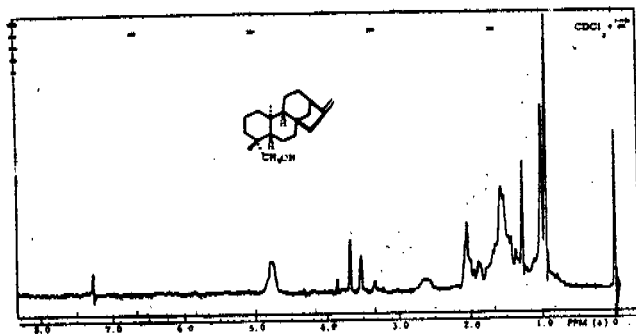


Fig. 25

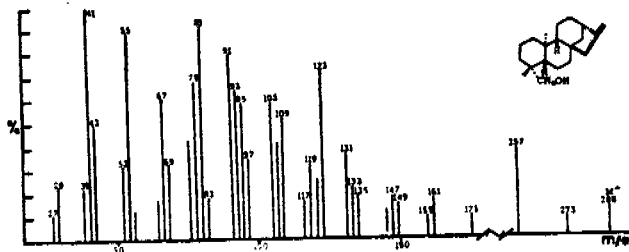


Fig. 26

CONCLUSIONES

El estudio de los productos naturales de Montanoa tomentosa Cerv. llevó al aislamiento de diterpenos tetracíclicos como productos de mayor interés químico estructural.

Se aisló el ácido monoginoico, producto no descrito anteriormente en la literatura.

Además se aislaron el monoginol, el ácido Kaura-(9(11),16) dien-19-oico y el ácido Kaura-16-en-19-oico que se encontraron descritos en la literatura.

Se aisló una nueva lactona diterpénica tetracíclica a la que se le dio el nombre de Zoapatlina cuya estructura y configuración absoluta fue determinada en base a estudios químicos y espectroscópicos.

Esta lactona tiene un gran interés biogénético ya que es posible que constituya un intermediario en la biosíntesis de las Giberelinas.

BIBLIOGRAFIA

- 1.- Historia General de las Cosas de Nueva España de Fray Bernardino de Sahagún. Tomo III, libro undécimo. Ed. Porrúa, México, D. F. (1956).
- 2.- F. Cota. Monografía Mexicana. Folletín de los Anales del Instituto Médico Nacional, 23 (1897).
 A. Reza. Ibid., 43 (1897).
 P. García Peña. Ibid., 71 (1897).
 G. G. Colín, J. Amer. Pharm. Assoc., 18, 896 (1929). cf. Chem. Abstr., 23, 5510^s (1929); R. Terrés, Rev. Sudamericana Endocrinol. Inmunol. Quimioterap., 14, 323 (1931); cf. Chem. Abstr., 25, 4623¹ (1931).
 J. Berlín. Tesis profesional. Escuela Nacional de Ciencias Químicas (1944).
 C. Hidalgo Chávez. Bol. Inst. de Estudios Médicos y Biológicos, V (1947).
- 3.- B. E. Cross, R. H. B. Galt., A. R. Hanson, J. Chem. Soc., 295 (1964);
 J. R. Hanson y A. F. White, Chem. Comm., 410 (1969).
- 4.- J. R. Hanson, Tetrahedron, 23, 793 (1967).
 A. H. Kapadi y S. Dev., Tetrahedron Letters, 2751 (1964).
 R. D. H. Murray y R. McCrindle, Chem. and Ind., 500 (1964).
 A. H. Kapadi y S. Dev., Tetrahedron Letters, 1171 (1964).
- 5.- A. Sandoval, Bol. Inst. Quím. Univ. Nacl. Autón., XV, 25 (1963).
- 6.- C. H. Brieskorn y E. Pöhlmann, Chem. Ber., 102, 2621 (1969).
- 7.- J. R. Cannon, P. W. Chow, P. R. Jefferies, G. V. Meehan, Aust. J. Chem., 19, 861 (1966).
- 8.- A. S. Gupta y S. Dev., J. Chromatogr., 12 (2), 189 (1963). cf. Chem. Abstr., 60, 2333g (1964).

- 9.- A. Weisberger, Technique of Organic Chemistry, Vol. III, p. 425, New York, Interscience Pub. (1950).
- 10.- R. H. B. Calt y J. R. Hanson, Chem.and Ind., 837 (1964).
- 11.- K. Nakanishi, Infrared Absorption Spectroscopy, Holden Day, Inc., San Francisco (1962).
- 12.- R. Daniels y F. L. Fischer, J.Org.Chem., 28, 320 (1963).
- 13.- N. A. Milas, J. H. Trepagnier, J. T. Nolan, Jr.; M. I. Iliopoulos. J.Amer. Chem.Soc., 81, 4730 (1959).
- 14.- J. Cason y K. L. Rinehart, Jr., J.Org.Chem., 20, 1591 (1955).
- 15.- K. Persaud. Chem.Abstr., 65, 16919b (1966).
- 16.- L. Ruzicka. Experientia, IX, 357 (1953).
- 17.- B. Achilladellis y J. R. Hanson, Chem.Comm., 488 (1969).
M. R. Cox, G. A. Ellestad, A. J. Hannaford, I. R. Wallwork, W. B. Whalley, J.Chem.Soc., 7257 (1965).
- 18.- A. I. Scott, F. McCapra, F. Comer, S. A. Sutherland y D. W. Young, Tetrahedron, 20, 1339 (1964).
- 19.- Wenkert E., Chem.and Ind., 282 (1955).
- 20.- C. S. Hudson, J.Amer.Chem.Soc., 61, 1525 (1939).
- 21.- J. P. Jenninegs, W. Klyne y P. M. Scopes. J.Chem.Soc., 7211 (1965).
- 22.- C. G. de Grazia, W. Klyne, P. M. Scopes, D. R. Sparrow y W. B. Walley. J.Chem.Soc. (C), 896 (1966).
- 23.- A. F. Beecham. Tetrahedron Letters, 3591 (1968).
- 24.- J. E. Grabe, O. T. Dennis, C. D. Upper, C. A. West. J.Biol.Chem., 240, 1847 (1965).

- 25.- F. Grover. Quart.Rev., 15, 56 (1961).
- 26.- A. J. Verbiscar, G. Cragg, T. A. Geissman y B. O. Phinney. Phytochemistry, 6, 807 (1967).
- 27.- M. Katsumi, B. O. Phinney, P. R. Jefferies y C. A. Henrick. Science, 144, 849 (1964); T. A. Geissman, A. J. Verbiscar, B. O. Phinney y G. Cragg. Phytochemistry, 5, 933 (1966).
- 28.- R. L. Hinman. J.Amer.Chem.Soc., 78, 1645 (1956).