

## Modificación química del ácido ambrósico (sesquiterpeno, inhibidor de la germinación) para aumentar su actividad biológica

MANUEL JIMENEZ-ESTRADA\*, MARIO GONZALEZ DE LA PARRA,  
ARTURO NAVARRO y JORGE LUIS CHEVEZ

Instituto de Química  
Universidad Nacional Autónoma de México  
Ciudad Universitaria, Circuito Exterior  
Coyoacán, 04510, México, D.F.

JIMÉNEZ-ESTRADA, M.; M. GONZÁLEZ DE LA PARRA; A. NAVARRO y J. L. CHÉVEZ, 1994. Modificación química del ácido ambrósico (sesquiterpeno, inhibidor de la germinación) para aumentar su actividad biológica. *An. Esc. nac. Cienc. biol.*, Méx. **39**: 125-131.

RESUMEN: El ácido ambrósico (4), sesquiterpeno aislado de plantas del género *Ambrosia* y que presenta actividad inhibitoria del crecimiento, fue transformado al ácido 2,3-dehidroambrósico (7) por tratamiento con fenildisulfuro, seguido por oxidación (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) y pirólisis.

### INTRODUCCIÓN

La familia de las compuestas es una de las más numerosas del reino vegetal, pues se conocen más de 20,000 especies. En México son muy abundantes, dentro de éstas se encuentran las del género *Ambrosia*, se han caracterizado más de 600 lactonas sesquiterpénicas.<sup>1</sup>

Durante las décadas de los años sesenta y setenta se estudiaron con tal intensidad que actualmente se conocen más de 1,500.<sup>2</sup> Aunado al interés de conocer los arreglos estructurales de dichas moléculas, están sus interesantes y variadas propiedades biológicas; por ejemplo, se ha demostrado que algunas presentan acción antitumoral, antimicrobiana, citotóxica, alérgica, antialimentaria de insectos, toxicidad contra vertebrados, algunas son inhibidoras del crecimiento de plantas (fitotoxinas) y otras.<sup>3</sup>

Además, muchos de estos compuestos presentan propiedades alelopáticas, lo que ha motivado a muchos investigadores estudiarlas para su aplicación en el control de insectos o la inhibición del crecimiento de plantas nocivas.

La planta silvestre *Ambrosia peruviana* fue estudiada en 1965 por el doctor J. Romo<sup>4</sup> de donde se aislaron y caracterizaron las lactonas sesquiterpénicas peruvina (1), peruvini-

---

\* Autor a quien debe dirigirse toda correspondencia.

na (2) y cumanina (3). Pero no detectó la presencia en forma natural del ácido ambrósico (4) que posteriormente se aisló y caracterizó de un lote de la misma especie (figura 1). Sin embargo, el doctor Romo y colaboradores<sup>4</sup> describen que por un tratamiento con ácido clorhídrico transformaron la peruvina (1) en el mencionado ácido.

Investigadores japoneses<sup>5</sup> aislaron este ácido y demostraron que es el principio irritante del polen de la *Ambrosia artemisifolia* y confirmaron su estructura por un estudio de difracción de rayos X.<sup>6</sup> Este pseudoguaianoide modificado también tiene efecto inhibitorio sobre la germinación de semillas de arroz y de lechuga.<sup>7</sup>

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Para continuar con los estudios de modificar químicamente los metabolitos secundarios que se aíslan de las plantas mexicanas, con el objeto de aumentar o disminuir sus actividades biológicas, se añadió en el ácido ambrósico, un doble enlace conjugado al grupo carbonilo. Es conocido que algunas lactonas sesquiterpénicas con esta doble ligadura conjugada son más activas.<sup>8</sup>

Para lograr lo anterior, se aisló y purificó el ácido ambrósico (4) de su fuente natural y se sometió a la serie de reacciones representadas en el esquema 1. Primeramente se

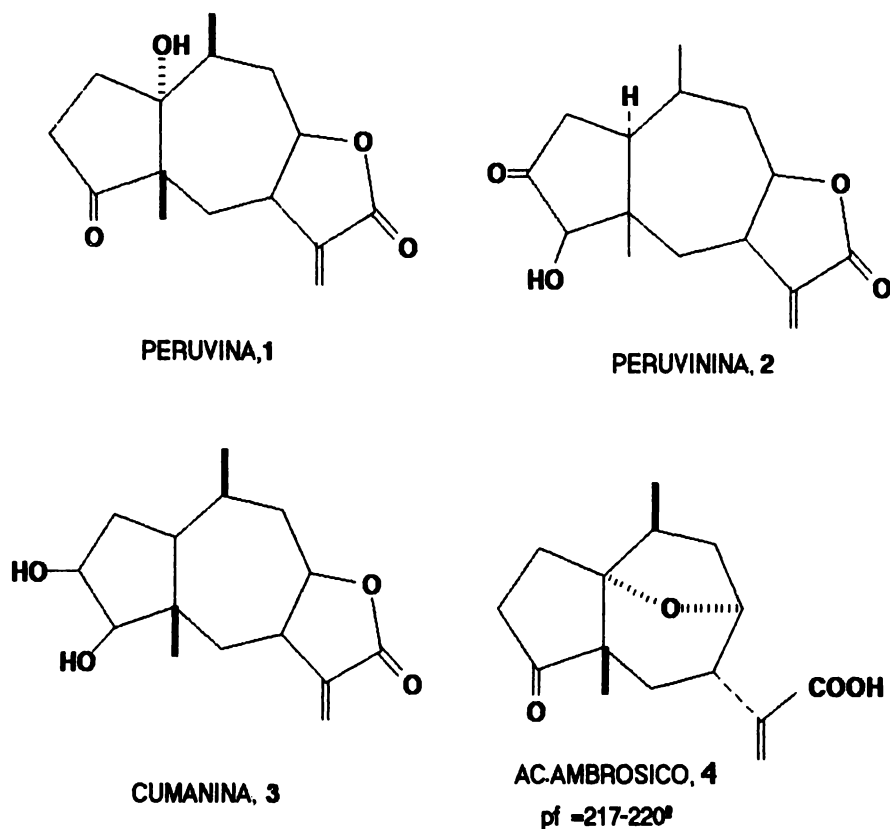
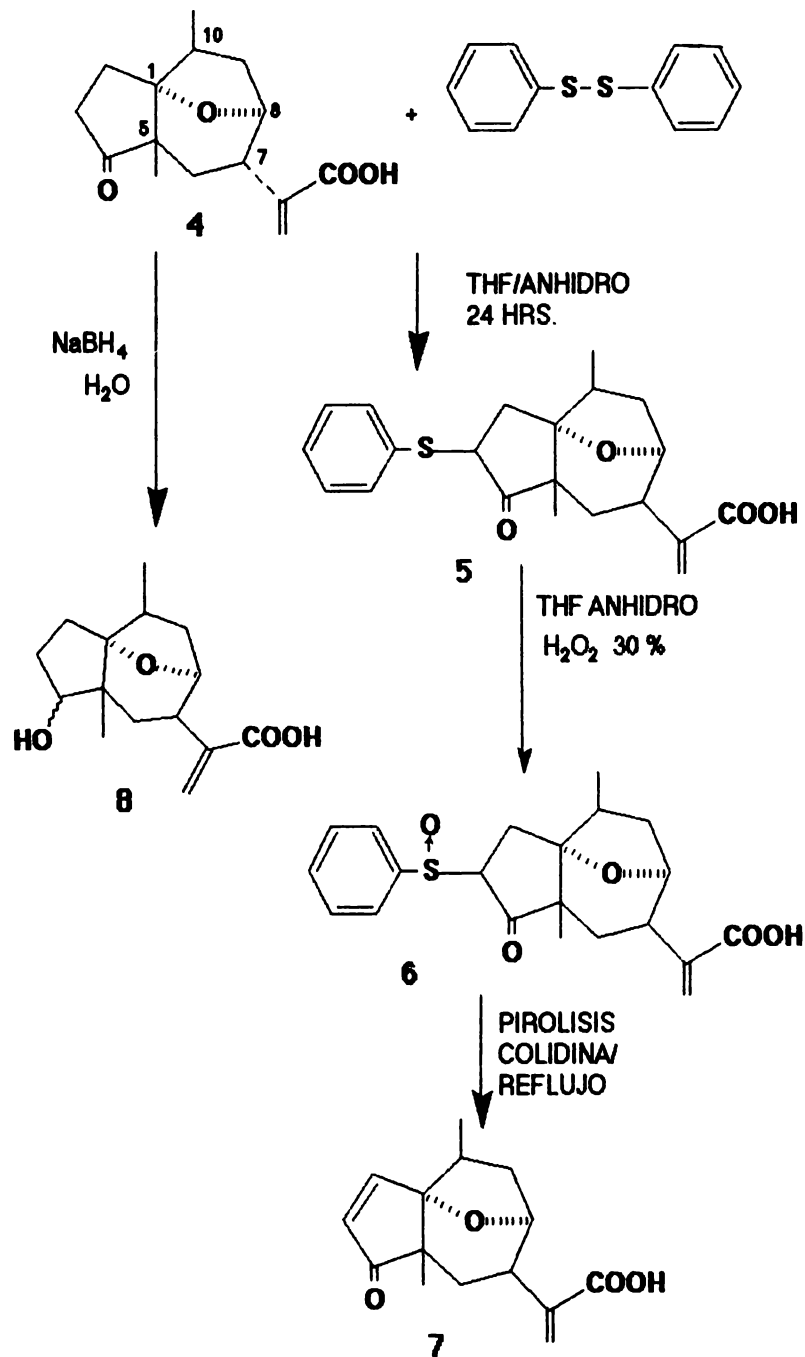


FIGURA 1.



ESQUEMA 1.

obtuvo el sulfuro **5** por adición del disulfuro de benceno en la posición alfa al carbonilo cetónico utilizando como base NaH (ver parte experimental). Este compuesto se oxidó al sulfóxido **6** lo que se logró utilizando agua oxigenada; esto permitió su eliminación por pirólisis (se calentó a reflujo en colidina), obteniéndose así el ácido 1,2-dehidroambrósico (**7**). También se intentó la preparación de **5** empleando diselenuro de benceno, pero no resultó tan favorable como en el caso del disulfuro. Los productos fueron caracterizados por sus datos RMN de  $^1\text{H}$ , IR y EM. Sus características químicas están descritas en la parte experimental.

Los estudios sobre la actividad biológica del ácido ambrósico (**1**) y del ácido dehidroambrósico (**4**) se han iniciado. También se logró hacer la reducción del carbonilo cetónico en C-4 de dicho ácido utilizando  $\text{NaBH}_4$  en agua, se obtuvo **8**, al cual también se le están realizando pruebas biológicas.

#### PARTE EXPERIMENTAL

Los puntos de fusión de los compuestos obtenidos se determinaron en un aparato *Fisher-Johns* y no están corregidos. Los espectros de infrarrojo se obtuvieron en solución de cloroformo y en suspensión de nujol, en un espectrofotómetro *Nicolet FT-5X* y en un *Perkin-Elmer 337*. Los espectros de RMN protónica se realizaron a 80 MHz en un aparato *Varian FT-80A*, en solución de  $\text{CDCl}_3$ . Los desplazamientos están dados en ppm con respecto al TMS. Los valores de  $J$  están dados en Hz. Los espectros de masas se obtuvieron en un aparato *Hewlett-Packard 5985-B*, mediante impacto electrónico.

##### *Aislamiento del ácido ambrósico (4)*

La planta *Ambrosia peruviana*, fue colectada en los alrededores de la Ciudad Universitaria, en México, D.F. Una muestra de 500 g de hoja seca y molida se colocó en una columna de vidrio y se le practicaron tres percolaciones sucesivas con hexano, cloruro de metileno y finalmente con metanol. El extracto metanólico se concentró a un volumen mínimo y se le añadieron tres volúmenes de agua para precipitar ceras y clorofilas; la solución resultante se filtró al vacío por una capa uniforme de celita; se agregó a saturación cloruro de sodio y se extrajo con acetato de etilo. La fase orgánica se concentró a un volumen mínimo, se le hizo una extracción de ácidos con una solución saturada de bicarbonato de sodio. La fase acuosa se acidificó con ácido clorhídrico concentrado hasta  $\text{pH} = 1$ , se extrajo con acetato de etilo, se lavó con agua hasta neutralidad y se secó con sulfato de sodio anhidro. Se eliminó el disolvente y se cristalizó con hexano-acetona, obteniéndose 200 mg del ácido ambrósico **4** en forma de cristales blancos con p.f.  $233^\circ\text{C}$ .

IR  $\text{cm}^{-1}$  ( $\text{CHCl}_3$ ): 3400-2320 (COOH), 1740 (C=O), 1690, 1670 (C=C), 1110 (-C-O-).  $^1\text{H}$ -RMN ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$ , 1.07 (s, 3 H), 1.2 (d, 3 H)  $J=7$  Hz, 2.43 (t, 2H)  $J=5$  Hz, 2.9 (señal ancha, 1H) 4.35 (señal ancha, 1H), 5.63 (s, 1H), 6.40 (s, 1H), 9.2 ppm (señal ancha, 1H, que desaparece con  $\text{D}_2\text{O}$ ).

##### *Aislamiento de cumanina (3)*

La primera fase orgánica obtenida en la técnica anterior se lavó con agua hasta pH neutro, se secó con sulfato de sodio anhidro y se concentró a un volumen mínimo. Al cabo

de unas horas, se formó un precipitado, que se separó por filtración. El filtrado se recristalizó con hexano-acetona y con acetona-éter, obteniéndose la cumanina **3** en forma de cristales blancos con  $pf=75^{\circ}C$ , que se comparó con una muestra auténtica.

IR  $cm^{-1}$  ( $CHCl_3$ ): 3624 (OH), 3528 (OH), 3027 ( $C=CH_2$ ), 1755 ( $C=O$ ), 1650 ( $C=C$ ), 1271 ( $C-O$ ).  $^1H$ -RMN ( $CDCl_3$ ):  $\delta$ , 0.98 (s, 3H), 1.03 (d, 3H)  $J=8$  Hz, 2.8 (señal ancha, 1H) OH, 3.45 (d- 1H)  $J=10$  Hz, 4.12 (m, 1H), 4.65 (m, 1H), 5.58 (d, 1H)  $J=4$  Hz, 6.23 (d, 1H)  $J=4$  Hz.

#### Aislamiento de peruvina (1) y peruvina (2)

Las aguas madres de cristalización del compuesto anterior (4 g) se separaron en una columna cromatográfica utilizando como adsorbente alúmina (30 g de alúmina por g de muestra) y como eluyentes hexano y acetato de etilo. En la fracción 23 con una polaridad de 6:4 (hexano-acetato de etilo) cristalizó un compuesto puro con un  $Rf=0.86$  y un punto de fusión de  $164-5^{\circ}C$  que resultó ser peruvina (1) por comparación con una muestra original.<sup>4a</sup>

IR  $cm^{-1}$  ( $CHCl_3$ ): 3594 (OH), 1748 ( $C=O$ ), 1658 ( $C=C$ ), 1148 ( $O-C=O$ ).  $^1H$ -RMN ( $CDCl_3/DMSO-d_6$ ):  $\delta$ , 1.05 (s, 3H), 1.13 (d, 3H)  $J=8$  Hz, 3.83 (m, 1H), 3.85 (s, 1H) desaparece con  $D_2O$  (OH), 4.93 (m, 1H), 5.55 (d, 1H)  $J=3$  Hz, 6.13 (d, 1H)  $J=3$  Hz. A la misma polaridad que el anterior, en la fracción 26, cristalizó otro compuesto con un  $Rf=0.6$  y un punto de fusión de  $157-8^{\circ}C$ , que resultó ser la peruvina (2), cuyos datos espectroscópicos se compararon con los obtenidos de una muestra original.<sup>4b</sup>  
IR  $cm^{-1}$  (susp. nujol): 3341 (OH), 1750 ( $C=O$ ), 1656 ( $C=C$ ), 1133 ( $O-C=O$ ).  $^1H$ -RMN ( $CDCl_3$ ):  $\delta$ , 0.9 (s, 3H), 1.05 (d, 3H)  $J=7$  Hz, 2.86 (s, 1H) desaparece con  $D_2O$ , 3.3 (m, 1H), 3.93 (s, 1H), 4.75 (m, 1H), 5.63 (d, 1H)  $J=3$  Hz, 6.28 (d, 1H)  $J=3$  Hz.

#### Formación de fenil-tio-éter del ácido ambrósico (5)

Se disolvieron 200 mg de ácido ambrósico en 10 ml de THF anhidro y se le agregó 300 mg de NaH (nujol), el cual fue previamente lavado con hexano en THF anhidro. Esta solución se dejó aproximadamente una hora a temperatura ambiente y se le agregaron 166 mg de difenil-disulfuro en THF anhidro. Se dejó reaccionar por 24 horas; posteriormente se le agregó agua y se aciduló con HCl concentrado, luego se le hizo una extracción con AcOEt, se lavó con agua hasta pH neutro y finalmente se secó con  $Na_2SO_4$  anhidro. Se concentró a volumen mínimo en el rotavapor y se obtuvo un aceite amarillento que por TLC, utilizando AcOEt como eluyente, mostró una mancha amarilla, con un  $Rf=0.6$ , la cual se separó por placa preparativa; y que, según los datos espectroscópicos, resultó ser el feniltioéter del ácido ambrósico (5) con un rendimiento aproximado del 70%.

IR  $cm^{-1}$  ( $CHCl_3$ ): 3400-2350 (COOH), 3006 (C-H aromático), 1749 ( $C=O$ ), 1706 ( $C=O$ ), 1623 ( $C=C$ ), 1528-1475 (núcleo aromático), 1112 ( $C-O-C$ ).  $^1H$ -RMN ( $CDCl_3$ ):  $\delta$ , 1.05 (s, 3H), 1.19 (d, 3H)  $J=7$  Hz, 2.13 (d, 2H)  $J=8$  Hz, 2.9 (señal ancha, 1H), 3.95 (t, 1H)  $J=10$  Hz, 4.35 (señal ancha, 1H), 5.6 (s, 1H), 6.9 (s, 1H), 7.35 (m, 1H), 7.95 (señal ancha, 1H, COOH). EM (70 eV) m/e (% abundancia rel.):  $M^+$  372(70), 230(30), 150(60), 137(100), 123(68), 110(48), 109(50), 91(48), 51(82).

### Preparación del sulfóxido (6)

A una solución del compuesto **5** (100 mg) en THF anhidro se le agregó agua oxigenada al 30% y se dejó reaccionar a temperatura ambiente aproximadamente 24 horas. Por cromatografía en placa se observó un cambio en la coloración de la mancha correspondiente a **5**, perdió el color amarillo al revelar con sulfato cérico. Se eliminó el disolvente, quedó un aceite que se purificó por cromatografía en placa preparativa, quedando 30 mg de 3-fenil-sulfóxido del ácido ambrósico (**6**) (aceite).

IR  $\text{cm}^{-1}$  ( $\text{CHCl}_3$ ): 3000-2500 (COOH), 3030 (C-H aromático), 1748 (C=O), 1696 (C=O), 1624 (C=C), 1473 (núcleo aromático), 1147 (C-O-C), 1043 (S=O).  $^1\text{H-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$ , 1.15 (s, 3H), 1.2 (d, 3H)  $J=8$  Hz, 2.8 (m, 1H)  $J=15$  Hz, 3.67 (m, 1H), 4.3 (señal ancha, 1H), 5.65 (s, 1H), 6.4 (s, 1H), 7.5 (m, 5H), 7.85 (señal ancha, 1H, desaparece con  $\text{D}_2\text{O}$ ). EM (70 eV) m/e (% de abundancia rel.):  $\text{M}^+$  388 (2.8), 370 (10), 342(11), 230(40), 190(31), 110(50), 91(83), 77(100), 41(55).

### Formación del ácido dehidroambrósico (7)

En un tubo de 5 ml se colocaron 25 mg del sulfóxido **6**, al cual se le agregaron 2 ml de colidina. La mezcla de reacción se llevó a temperatura de ebullición y se dejó reaccionar hasta la formación del producto **7** que se detectó por TLC. La colidina se eliminó por destilación de donde se obtuvo en 40% de rendimiento el compuesto **7** de consistencia aceitosa.

IR  $\text{cm}^{-1}$  ( $\text{CHCl}_3$ ): 3300-2400 (COOH), 3031 (C=CH<sub>2</sub>), 3017 (CH=CH), 1725 (C=O), 1696 (C=O), 1624 (C=C), 1147 (C-O-C).  $^1\text{H-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$ , 1.2 (s, 3H), 1.27 (d, 3H)  $J=10$  Hz, 2.99 (señal ancha, 1H), 4.35 (señal ancha, 1H), 5.63 (s, 1H), 6.4 (s, 1H) 6.35 (d, 1H)  $J=7$  Hz, 7.28 (d, 1H)  $J=7$  Hz, 7.7 (señal ancha, 1H, COOH, desaparece con  $\text{D}_2\text{O}$ ). EM (70 eV) m/e (% de abundancia rel.):  $\text{M}^+$  262(11), 234(22), 201(46.9), 190(100), 175(29), 121(71.5), 120(49.4).

### Reducción del ácido ambrósico

A una solución de 100 mg del ácido ambrósico (**4**) en 2 ml de agua destilada se le adicionaron lentamente 300 mg de  $\text{NaBH}_4$ . La mezcla se dejó reaccionar media hora, se le adicionó agua y 5 ml HCl al 10%. Posteriormente se extrajo con AcOEt, se llevó a pH neutro lavando con agua, se secó con  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidro y se concentró a sequedad en el rotavapor de donde se obtuvo el compuesto **8** en forma de un aceite que cristalizó de hexano-acetona, dando un punto de fusión de 185°C.

IR  $\text{cm}^{-1}$  ( $\text{CHCl}_3$ ): 3500-2500 (COOH), 1695 (C=O), 1623 (C=C), 1110 (C-O-C).  $^1\text{H-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$ , 0.95 (s, 3H), 1.2 (d, 3H)  $J=6$  Hz, 3.25 (señal ancha, 1H), 4.38 (señal ancha, 1H), 4.6 (t, 1H)  $J=10$  Hz, 5.25 (señal ancha, 1H, desaparece con  $\text{D}_2\text{O}$  OH), 5.58 (s, 1H), 6.33 (s, 1H). EM (70 eV) m/e (% de abundancia rel.):  $\text{M}^+$  266 (5.1), 248 (8.3), 230 (10.9), 215 (10), 145 (15), 131 (11), 91 (80), 79 (71.4), 41 (100).

### CONCLUSIONES

Se logró introducir una doble ligadura conjugada al grupo carbonilo del anillo de cinco miembros del ácido ambrósico, empleando disulfuro de benceno. Este método se está empleando para modificar otras lactonas sesquiterpénicas.

### SUMMARY

The ambrosic acid (4) from rag weed, a growth inhibitory and irritant sesquiterpene, was treated with phenyldisulfide followed by oxidation ( $H_2O_2$ ), and pirolized to give the 2,3-dehydroambrosic acid (7).

### REFERENCIAS

1. CHEVEZ, J. L., *Sesquiterpenos de Ambrosia peruviana con actividad biológica*, Tesis de licenciatura Q. B., UABJO, Instituto de Química, UNAM, 1991.
2. ROMO DE VIVAR, A., *Ciencia*, 1981, **32**: 163.
3. a) FISCHER, N. H.; WEIDENHAMER, J. D.; RIOPEL, J. L.; QUIJANO, L.; MENELAOU, A., *Phytochemistry*, 1990, **29**: 2479.  
b) RODRIGUEZ, E.; TOWERS, G. H. N., *Phytochemistry*, 1976, **15**: 1573.
4. a) JOSEPH-NATHAN, P.; ROMO, J., *Tetrahedron*, 1966, **22**: 1723.  
b) ROMO, J.; JOSEPH-NATHAN, P.; ROMO DE VIVAR, A., ALVAREZ, C., *Tetrahedron*, 1967, **23**: 529.
5. INAYAMA, S.; OHKURA, T.; KAWAMATA, T.; YANAGITA, M., *Chem. Pharm. Bull.*, 1974, **22**: 1435.
6. INAYAMA, S.; ITAI, A.; IITAKA, Y., *Tetrahedron Lett.*, 1974, 809.
7. WATANABE, S.; KOBAYASHI, A.; YAMASHITA, K., *Agric. Biol. Chem.*, 1981, **12**: 2919.
8. VARGAS, D.; FRONCZEK, F. R.; FISCHER, N. H.; HOSTETTMANN, K., *J. Nat. Products*, 1986, **49**: 133.

Recibido en enero de 1992. Aceptado para su publicación en julio de 1993.