

UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

«Metabolitos secundarios bioactivos de la flora medicinal iberoamericana: *piper elongatum*, *copaifera paupera*, *crossopetalum tonduzii* y *maytenus cuzcoina*.»

Autor: Benigna Mamani Tincusi
Director: Dr. D. Antonio González González,
Dr. D. Angel Gutiérrez Ravelo, Dra. Dña. Isabel López Bazzocchi,
Dr. D. Ignacio Antonio Jiménez Díaz

Departamento de Química Orgánica

Dr. D. ANTONIO GONZÁLEZ GONZÁLEZ, Dr. D. ANGEL GUTIÉRREZ RAVELO, Dra. Dña. ISABEL LÓPEZ BAZZOCCHI, Dr. D. IGNACIO ANTONIO JIMÉNEZ DÍAZ, como Directores de la presente memoria:

AUTORIZAN: La presentación de la Memoria titulada: “Metabolitos Secundarios Bioactivos de la Flora Medicinal Iberoamericana: *Piper elongatum*, *Copaifera paupera*, *Crossopetalum tonduzii* y *Maytenus cuzcoina*”, realizada por la Licenciada en Química, Dña. Benigna Mamani Tincusi en los laboratorios del Instituto Universitario de Bio-Organica “Antonio González”, durante los cursos 1996-1997 hasta 1998-1999, bajo nuestra dirección, dado que la Memoria reúne la calidad y cantidad de trabajo necesario para constituir la Tesis Doctoral que la citada Licenciada presenta para aspirar al Grado de Doctor en Química.

La Laguna, Marzo de mil novecientos noventa y nueve.

Fdo.: Dr. D. Antonio González González
Profesor Emérito de la Universidad de La
Laguna

Fdo.: Dr. D. Angel Gutiérrez Ravelo
Catedrático de Química Orgánica

Fdo: Dra. Dña Isabel López Bazzocchi
Profesor Titular de Química Orgánica

Fdo: Dr. D. Ignacio Antonio Jiménez Díaz
Profesor Titular de Química Orgánica

Esta Tesis ha sido realizada bajo la dirección de los Dres. D. Antonio González González, D. Angel Gutiérrez Ravelo, Dña. Isabel López Bazzocchi y D. Ignacio Antonio Jiménez Díaz, a quienes expreso mi más sincero agradecimiento.

AGRADECIMIENTOS

A la Dra. Dña. Laila Moujir Moujir del Departamento de Microbiología de la Facultad de Biología de la Universidad de La Laguna, por la inestimable ayuda en la realización de los ensayos para la determinación de las actividades antimicrobiana y citostática

A los Dres. D. Basilio Valladares Hernández, Dña. Zulma Aragón Mamani y D. José Enrique Piñero, del Departamento de Parasitología, Ecología y Genética de la Facultad de Farmacia de la Universidad de La Laguna, por su valiosa ayuda en la realización de ensayos de actividad antileishmania.

A los Dres. D. Francisco Gamarro, D. Santiago Castanys y a José María Pérez-Victoria, del Instituto de Parasitología y Biomedicina “Lopez Neyra” –CSIC– Granada, por su valiosa colaboración en la realización de ensayos de actividad revertidora de multirresistencia a fármacos (MDR) de *Leishmania tropica*.

Al Dr. D. Harukumi Tokuda, del Department of Biochemistry Kyoto Prefectural University of Medicine, Japón, por la realización de ensayos de actividad inhibitoria del virus Epstein-Barr.

Deseo agradecer al Dr. D. Josep Coll y su grupo de investigación del Departamento de Química Orgánica Biológica, Centro de Investigación y Desarrollo – CSIC– Barcelona, por la realización de los ensayos de actividad antialimentaria.

Al Profesor Wu Wenjun del Institute of Entomology North Western Agricultural University Yangling, Shaanxi, China, por la realización de los ensayos de actividad insecticida.

A los Dres. Dña. Dolores García de Grávalos y Dña María Isabel Reymundo, del Instituto BIOMAR S.A., Madrid, por la ayuda prestada en la realización de los ensayos de actividad citostática e inhibitoria de aldosa reductasa.

Al Centro de Investigación y Desarrollo Aplicado S.A.L. de Barcelona por los ensayos de clastogénesis y mutagénesis.

Al Dr. D. Jesús Trujillo Vázquez por la realización de los espectros de dicroísmo circular.

Al Dr. D. José Gavín Sazatornil, por su inestimable colaboración en la realización de esta Memoria.

Al Dr. D. Marcelino Aguilar del Arco, del Departamento de Botánica de la Facultad de Biología de la Universidad de La Laguna, por su valiosa colaboración en el estudio botánico de las especies estudiadas.

Al Profesor Mahabir P. Gupta, del Centro de Investigaciones Farmacognósticas de la Flora Panameña, Facultad de Farmacia de la Universidad de Panamá por su colaboración en la recolección e identificación de la especie *C. tonduzii* objeto de esta Memoria.

A los Licenciados Alfredo Tupayachi y Norma Mamani por su colaboración en la recolección e identificación de las especies (*P. elongatum*, *C. paupera* y *M. cuzcoina*) objeto de esta Memoria.

A Dña. Lucía Cruz Díaz y al Licenciado D. Sergio Suárez Izquierdo por su inestimable ayuda en la realización de esta Memoria .

A los Dres. D. Rafael Estévez Reyes, Dña. Ana Estévez Braun, a los Mg. Dña. Haydée Chávez Orellana, Dña. Wendy Fanny Brito, D. Gonzalo Mena y a los Licenciados, D. Félix Rodríguez Pérez, Dña. Elisa Pérez Sacau y Dña. María Luisa Kennedy Rolón por su amistad, apoyo y comprensión.

A D. Pedro Zuppo, D. Juan Antonio Suárez Gil, Dña. Pastora Izquierdo Herrera, Dña. Ana Delia Casañas González, D. Gregorio Rois Grajal, D. Antonio Díaz Herrera, D. Angel López Ruiz, D. Nicolás Pérez Pérez, Dña. Eva Fátima González Mendoza, Dña

Amalia Siverio Siverio y Manolo de León Santana por su inestimable ayuda en la realización de esta Memoria.

A todo el personal técnico del Instituto Universitario de Bio-Orgánica “Antonio González”, Consejo Superior de Investigaciones Científicas y al resto de los miembros del Centro, no nombrados que contribuyeron de alguna manera en la realización de este trabajo.

Al Ilmo. Sr. Rector Mg. D. Mario Góngora Santa Cruz y a los Profesores. Ing. Dña. Corina Álvarez y Mg. D. Leoncio Solís de la Universidad Nacional de San Antonio Abad de Cusco, Perú por el apoyo moral prestado.

A la Dirección General de Universidades del Gobierno Autónomo de Canarias por la ayuda prestada.

A mis Padres
Y a mi hija Zulma

INDICE

INTRODUCCIÓN	1
OBJETIVOS	23

Capítulo 1

PARTE TEÓRICA	29
ESTUDIO DE LOS COMPUESTOS AISLADOS DE PIPER ELONGATUM	31
ESTUDIO DE LOS COMPUESTOS AISLADOS DE COPAIFERA PAUPERA	51
ESTUDIO DE LOS COMPUESTOS AISLADOS DE MAYTENUS CUZCOINA Y CROSSOPETALUM	
TONDUZII	71
<i>Maytenus cuzcoina</i>	77
<i>Crossopetalum tonduzii</i>	99

Capítulo 2

PARTE EXPERIMENTAL	167
TÉCNICAS EXPERIMENTALES	169
SEPARACIÓN CROMATOGRÁFICA DE LOS COMPUESTOS AISLADOS DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE LA	
PARTE AÉREA DE PIPER ELONGATUM	175
SEPARACIÓN CROMATOGRÁFICA DE LOS COMPUESTOS AISLADOS DE LA RESINA DE COPAIFERA	
PAUPERA	185
SEPARACIÓN CROMATOGRÁFICA DE LOS COMPUESTOS AISLADOS DE LOS FRUTOS DE MAYTENUS CUZCOINA	193
SEPARACIÓN CROMATOGRÁFICA DE LOS COMPUESTOS AISLADOS DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE LA	
PARTE AÉREA DE CROSSOPETALUM TONDUZII	205

Capítulo 3

ESTUDIO DE ACTIVIDADES BIOLÓGICAS	267
ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA	269

ACTIVIDAD CITOTÓXICA	277
ACTIVIDAD INHIBIDORA DEL VIRUS EPSTEIN-BARR	283
ACTIVIDAD REVERTIDORA DE LA MULTIRRESISTENCIA A FÁRMACOS	291
ACTIVIDAD ANTILEISHMANIA	301
ACTIVIDAD INHIBIDORA DE ALDOSA REDUCTASA	311
ACTIVIDAD ANTIALIMENTARIA E INSECTICIDA	317
ÍNDICE DE PRODUCTOS	327
CONCLUSIONES	335

Introducción

APROXIMACIÓN AL DESCUBRIMIENTO DE NUEVAS DROGAS: PERSPECTIVA HISTÓRICA

Las plantas superiores han servido a la humanidad como fuentes de agentes terapéuticos desde los comienzos de la historia. En numerosas ocasiones, la medicina folclórica de diferentes culturas ha proporcionado plantas líderes por sus propiedades medicinales. En las últimas décadas, la investigación química y la purificación de extractos vegetales ha rendido numerosos compuestos puros que han probado ser indispensables en la medicina moderna.

Ejemplo de ello son los alcaloides del **curare**, aislados del extracto crudo y seco de *Chondodendron tomentosum*, el cual causa parálisis y paro cardíaco. Hoy se sabe que el curare es una mezcla de compuestos, pero el principio activo, la tubocurarina, es un antagonista de la acetilcolina que bloquea el receptor colinérgico y por lo tanto las transmisiones nerviosas.

La **fisostigmina**, llamada también eserina, es otra sustancia de origen vegetal, que presenta actividad biológica, es una droga anticolinesterasa y fue descubierta en 1864 como producto del venenoso *Physostigma venenosum* del Oeste de Africa.

Las raíces secas de *Rauwolfia serpentina*, han sido usadas en el Este de la India como planta medicinal para tratar diferentes enfermedades. Hoy día su principio activo la **reserpina**, se usa en la medicina occidental como antihipertensivo y tranquilizante. El aislamiento de este y posteriormente otros alcaloides de esta especie supuso una fuerte revolución en el tratamiento de la hipertensión y las enfermedades mentales.

De la corteza del árbol de la quina, *Cinchona calisaya* o corteza del árbol de la fiebre, se aisló el alcaloide **quinina**, que fue el medicamento más eficaz para prevenir la malaria hasta la II Guerra Mundial. Presenta además otras acciones como: antipirético, tratamiento de arritmias cardíacas, así como propiedades astringentes.

El alcaloide **cocaína** aislado de las hojas del árbol de la coca, *Erythroxylum coca* y otras especies, se comporta fundamentalmente como anestésico local y es ampliamente usada en cirugía ocular y por los dentistas.

Las enfermedades cardiovasculares constituyen uno de los problemas más graves de la medicina moderna; estas enfermedades causan una mortalidad próxima a la causada por el cáncer. En 1785 fue introducida en clínica una planta llamada vulgarmente “dedalera”, la *Digitalis purpurea* para tratar las afecciones cardíacas. De esta y de otra especie de *Digitalis*, la *D. lanata* (la especie

mas utilizada por la industria para la extracción), se identificaron como componentes activos los glicósidos con un núcleo esteroidal, **digoxina** y **digitoxina**.

Cada año unos 1500 Kg de digoxina pura y 200 kg de digitoxina se recetan a miles de pacientes con problemas cardíacos. Hoy se sabe que la *Digitalis* afecta al corazón inhibiendo un enzima la Na^+/K^+ ATPasa, que potencia el transporte de iones sodio y potasio a través de la membrana celular.

De forma similar, otras especies con una extensa historia folclórica han rendido compuestos biológicamente activos. Los opiáceos (**codeína**, **morfina**) constituyen un grupo de alcaloides extraídos del opio, el exudado de *Papaver somniferum*, que presentan propiedades analgésicas, y aún hoy la morfina es el analgésico más efectivo que se conoce en medicina. Actúa en el cerebro y aumenta el umbral del dolor, sin embargo por su falta de especificidad en la acción, hace que presente importantes efectos secundarios.

Los alcaloides del tropano de las Solanáceas (*Hyoscyamus niger* y *Datura metel*) como la **atropina** y la **escopolamina**, son antagonistas de los receptores colinérgicos muscarínicos y poseen numerosas aplicaciones en medicina: en anestesia, en obstrucciones bronquiales a nivel respiratorio, en exámenes oftalmológicos, etc.¹

La mayoría de los productos naturales usados actualmente en Medicina proceden de plantas medicinales usadas tradicionalmente y sólo un porcentaje muy bajo de estas sustancias han sido aisladas a través de estudios fitoquímicos indiscriminados. Como consecuencia del resurgimiento del interés por todo lo natural, hoy gozan de creciente popularidad muchas plantas de la medicina tradicional, muchas de las cuales han sido sometidas a intensas investigaciones fitoquímicas durante los últimos 40 años. En el transcurso de estos estudios se han hecho avances muy significativos respecto a la elucidación estructural, configuración y síntesis de los metabolitos secundarios aislados, muchos de los cuales han sido sometidos a ensayos clínicos.

A este resurgir de la investigación de los productos naturales han contribuido factores como: el recelo suscitado por el uso de drogas sintéticas en medicina, agricultura y veterinaria dado los efectos secundarios que presentan, el interés despertado en el hombre por los movimientos ecologistas hacia la naturaleza que le rodea y sobre todo, debido al desarrollo explosivo de la tecnología que permite el uso de equipos muy sofisticados que facilitan al investigador aislar y analizar un producto, por complejo que sea. Otro aspecto a considerar es la biotecnología mediante

¹ Douglas K. and Manuel F.B., *Human Medicinal Agents from Plants*, 1993, American Chemical Society.

el cultivo “in vitro” de tejidos o células vegetales, lo que ha permitido en ocasiones obtener un compuesto activo difícil de conseguir en las cantidades necesarias directamente de la planta, o por síntesis.

Tabla 1: Ejemplos de drogas derivadas de plantas que se obtienen comercialmente de la planta entera

Compuesto	Fuente botánica	Uso terapéutico
Tubocurarina	<i>Strychnos toxifera</i> Bentham <i>Chondodendron tomentosum</i> Ruiz et Pavon (curare)	Anestésico, relajante muscular
Fisostigmina	<i>Physostigma venenosum</i> Balfour (Calabar bean)	Anticolinesterasa, glaucoma
Reserpina	<i>Rauwolfia serpentina</i> L. Bentham ex Kurz	Antihipertensivo, tranquilizante
Alcaloides Cinchona (quinina, quinidina)	<i>Cinchona</i> spp. (corteza Cinchona)	Antimalarial, antiarítmico
Cocaina	<i>Erythroxylum coca</i> Lamarck (hojas coca)	Anestésico local
Glicósidos cardiotónicos (digoxin, digitoxin)	<i>Digitalis purpurea</i> L., <i>D. lanata</i> Ehrhart (Escrofulariaceae)	Sistema cardiovascular
Alcaloides Opio (codeína, morfina)	<i>Papaver somniferum</i> L.	Analgésico, antitusivo
Alcaloides del tropano (atropina, escopolamina)	<i>Atropa belladonna</i> L., (belladonna), <i>Datura metel</i> L., <i>D. stramonium</i> L. <i>Hyoscyamus niger</i> L.	Anticolinérgico, sedante antiespasmódico, antiemético

Aproximación etnobotánica al descubrimiento de nuevas drogas

Desde su concepción, en 1895 (Harshberger, 1896) el término **etnobotánica** ha sido mas o menos difícil de definir. Es un término amplio referido al estudio de las plantas por el hombre (la

relación entre las plantas y los aborígenes), incluyendo el uso de estas en la alimentación, medicina, materiales de construcción y cualquier otra aplicación económica. Por otro lado, la **etnomedicina** se refiere al uso de las plantas por los nativos como medicina, pero se podría hablar de medicina etnobotánica; mientras que la **medicina tradicional** es la suma total de las prácticas médicas que excluyen la llamada medicina Occidental.

No cabe duda que los estudios etnobotánicos se encuentran hoy en día en boga en todo el mundo. Así, en la India y otras partes de Asia existen numerosos proyectos que ayudan a documentar el conocimiento tradicional de las plantas medicinales. En Africa el conocimiento de la agricultura tradicional se está incorporando a programas de desarrollo rural y en Australia, los métodos tradicionales de la manipulación de la vegetación está recibiendo una considerable atención por la comunidad ecologista. Sin embargo, la mayor parte de la investigación etnobotánica se centra en el continente americano, donde se llevan a cabo mas del 41% de los estudios, lo cual no es sorprendente dada la diversidad biológica y cultural y la fascinación de Europa por el nuevo mundo. Así, de los estudios etnobotánicos que se llevan a cabo en todo el mundo, aproximadamente el 4% se desarrolla en Australia, el 12% en Europa, el 20% en Africa, el 23% en Asia, mientras en América se desarrolla el 42% de la investigación etnobotánica.

A comienzos de esta década, el estudio etnobotánico ha experimentado un importante incremento, lo que se refleja en el número de trabajos publicados en los últimos años. Así, en los últimos tiempos se han iniciado numerosos estudios etnobotánicos que ayudan a identificar nuevos fármacos; la etnobotánica ha vuelto a ser una importante herramienta en su búsqueda y las iniciativas tanto gubernamentales como privadas han ayudado a expandir este interés. Estos proyectos son interdisciplinarios implicando a investigadores de diferentes campos: antropología, botánica, medicina, farmacología y química.

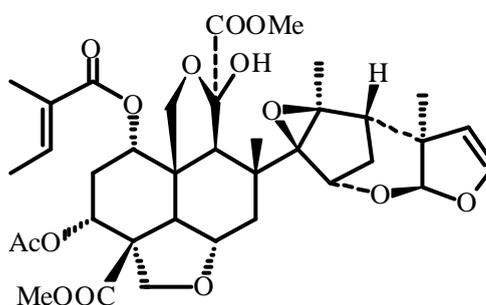
Desde que en 1984, el etnobotánico Paul Cox comienza un programa intensivo para la investigación etnofarmacológica de Samoa en colaboración con el Instituto Nacional del Cáncer (INC), se han analizado numerosas plantas usadas tradicionalmente, no sólo aquellas que son usadas por sus propiedades farmacológicas, sino también aquellas con propiedades nutritivas o insecticidas. Como ejemplos tenemos:

Homalanthus nutans (Euphorbiaceae): usada por los curanderos de Samoa para combatir la fiebre amarilla y de cuyo extracto se aisló un potente antiviral frente al HIV-1, **prostatin**. A

concentraciones no tóxicas este previene la reproducción del virus e incluso previene de sus efectos líticos, lo que lo ha convertido en un excelente candidato para su desarrollo.

Melaleuca alternifolia (Myrtaceae): usada por los aborígenes de Australia para el tratamiento de cortes, heridas y congestión nasal. El aceite posee un amplio espectro de actividad antimicrobiana y se usa ampliamente en cosmética como antiséptico y en terapias alternativas.

Azadirachta indica (Curcubitaceae): usada como insecticida durante siglos en la India y otros países de Asia, y de la cual se ha aislado la **azadiractina**, el antialimentario (fagorepelente o antifeedant) más importante descubierto hasta hoy y que es efectivo frente a 125 especies de insectos y nematodos.



Azadiractina

Citrullus colocynthis (Curcubitaceae): usada en la protección de los cultivos contiene los triterpenos **cucurbitacinas**, repelentes de la mayoría de los insectos.

Acacia ssp (Leguminosae): las semillas eran recolectadas por los aborígenes de las regiones desérticas de Australia y muchas especies mostraron poseer un alto nivel energético, por su contenido en proteínas y grasas.

Lycianthes moziniana (Solanaceae): los frutos eran recolectados y más recientemente cultivados por los habitantes indígenas de México y Oaxaca. Un análisis reciente ha probado que esta especie presenta altos niveles de vitamina C y algo de taninos, ambos con importantes características nutricionales².

Razones para el estudio de plantas usadas en la medicina tradicional

No cabe duda que existe un renovado interés del mundo de la industria farmacéutica y la medicina por las sustancias bioactivas de origen natural. La razón fundamental es que existe la

² Cotton C.M., *Ethnobotany Principles and Applications*, 1997, Editotial John Wiley. Chichester, England.

conciencia de que aproximadamente el 80% de los 5200 millones de habitantes del mundo viven en países poco desarrollados. La OMS estima que el 80% de esta población usa, casi exclusivamente, la medicina tradicional para sus necesidades sanitarias primarias; lo que implica que unos 3300 millones de personas usan plantas medicinales de forma regular. Por lo tanto para esta población, que no puede costearse los medicamentos existentes en el mercado, es necesario realizar un estudio de estas plantas para buscar la máxima seguridad y eficacia y para desarrollar una forma galénica normalizada y estable.

La razón para que se acelere este tipo de estudios, se debe a que si no se realiza el trabajo ahora, quizás sea demasiado tarde en el futuro. El motivo de ello se debe a la aculturación de las tribus indígenas alrededor del mundo, con la pérdida de un legado de difícil sustitución y la acelerada degradación del medio ambiente con la consiguiente pérdida de especies vegetales de incalculable valor. Se estima que solo entre un 5-10% de cada 250.000 especies se han estudiado por su contenido en compuestos bioactivos y dada la alarmante velocidad con que muchas especies están desapareciendo, los interesados en la investigación de plantas medicinales deben acelerar el estudio.

Aproximadamente el 25% de los medicamentos prescritos en USA y Canadá contienen principios activos que derivan de una forma u otra de productos naturales de plantas, muchas de las cuales han sido descubiertas a través del conocimiento popular. Históricamente, el uso etnobotánico ha dado como resultado el descubrimiento de drogas de tres tipos diferentes:

- a) Productos naturales no modificados para los cuales el uso etnobotánico sugirió su eficacia clínica (ej.: digitoxina).
- b) Productos naturales no modificados en los cuales su uso en la medicina popular sugirió solo remotamente su uso (ej.: el antitumoral vincristina) y
- c) Productos naturales modificados o sintéticos basados en productos naturales usados en la medicina folclórica (ej.: aspirina).

La secuencia general de los programas para el descubrimiento de drogas basados en la etnobotánica podemos resumirla en los siguientes apartados:

1. El conocimiento popular orienta sobre la posibilidad de una planta farmacológicamente activa.
2. La planta es usada por los curanderos, quienes comunican este conocimiento a un investigador occidental.
3. Recolección e identificación de la planta.

4. El extracto es ensayado, y el fraccionamiento guiado conduce al aislamiento de una sustancia activa.

5. Determinación estructural.

Existen diferentes sistemas de medicina tradicional. Así, existe información muy antigua sobre la **medicina tradicional China**, la **Ayurvedica** de la India y **Unani** de Pakistan. Las teorías de estos sistemas asiáticos han sido refinados y elaborado durante milenios y su conocimiento se ha extendido a todo el mundo; así, la medicina Ayurvedica existe en todo el mundo y la acupuntura, practicada en la medicina china es aceptada hoy día en biomedicina. Sin embargo, los sistemas terapéuticos usados en Africa se han mantenido mas informales, menos organizados y basados principalmente en tradiciones orales. A pesar de las diferencias entre estas culturas todas tienen aspectos comunes, el más importante de los cuales es el considerar al hombre como parte de la naturaleza y la necesidad de mantener una relación armoniosa con ella para conservar una buena salud.

Muchos de los medicamentos que están en el mercado, provienen de fuentes vegetales utilizadas en la medicina tradicional por culturas indígenas. Estos medicamentos están siendo usados, por la medicina moderna, aunque no necesariamente para los mismos propósitos que en las culturas nativas. Paul Alan Cox clasifica los usos que hacen las poblaciones indígenas de las plantas medicinales con respecto a los usos de las mismas en la farmacopea USA. Existe una diferencia entre los porcentajes de los trastornos tratados en uno y otro caso, ya que no todas las enfermedades occidentales son igualmente reconocidas en la población indígena. Las enfermedades gastro-intestinales, inflamaciones, afecciones dérmicas o ciertas enfermedades víricas son de gran relevancia para los curanderos indígenas, mientras que enfermedades tales como el cáncer o las cardiovasculares son difícilmente diagnosticadas por los curanderos. Hay por lo tanto diferencias importantes en el uso de la información etnobotánica, dada la diferencia de conceptos, en lo que a enfermedades se refiere, entre los nativos y la medicina occidental. A menudo iniciamos nuestros estudios pensando en enfermedades en términos occidentales, sin embargo podremos obtener mejores resultados si procuramos entender la información desde su origen.

Un peligro asociado con el descubrimiento de un nuevo fármaco de origen vegetal es que la especie de la cual se aísla puede verse amenazada de sobre explotación, peligro que se observó cuando el descubrimiento del **taxol**; así mismo, en Brasil, actualmente se encuentran en peligro diversas especies de *Pilocarpus*, pues la **pilocarpina**, usada en el tratamiento del glaucoma, se

extrae de ellas. Afortunadamente, la compañía que ha desarrollado el medicamento, ha empezado recientemente a replantar las especies, por lo que se espera que este problema se resuelva. Otro ejemplo de especie en peligro de extinción es el caso de *Prunus africana*, efectivo en el tratamiento de ciertas patologías de próstata, y autóctono de Camerún, la cual ha desaparecido de sus bosques; este es un ejemplo de un tipo de cultivo sostenible, pero la gente a veces es tan ambiciosa que la corteza es cortada por completo y la planta muere, no produciéndose el proceso lógico de regeneración.

Estrategia general para el descubrimiento de una droga de origen vegetal

Las plantas superiores se caracterizan por su habilidad para producir una vasta diversidad de metabolitos con diferente complejidad tanto química como biológica, los cuales han servido como modelos para el desarrollo de numerosas drogas de extraordinario interés. Sin embargo, aun existe la necesidad de agentes específicos para curar ciertas enfermedades. Así por ej. de 800.000 millones de personas, aproximadamente un quinto de la población mundial sufre enfermedades tropicales, como malaria, esquistosomiasis, tripanosomiasis, lepra, leishmaniasis. Por otro lado, las enfermedades cardíacas, el cáncer, ciertas enfermedades víricas (SIDA), o las infecciones causadas por bacterias resistentes, aun no se tratan de forma adecuada.

Tradicionalmente los esfuerzos para el desarrollo de fármacos clínicamente eficaces ha consistido en uno de los siguientes cinco aproximaciones:

1. Modificaciones químicas de compuestos activos de plantas que tienen una aplicación directa en la medicina, muchos de los cuales se han convertido en líderes o modelos para la semisíntesis o síntesis de nuevas drogas.
2. Síntesis de análogos de agentes ya existentes.
3. Uso de una terapia combinada de agentes ya existentes con otras drogas.
4. Aumento de la liberación del agente sobre la diana.
5. Descubrimiento de nuevos prototipos de agentes farmacéuticos.

A pesar de la importancia de los cuatro primeros apartados para optimizar el uso de los agentes conocidos, existe una necesidad urgente del desarrollo de fármacos totalmente nuevos que no presenten la misma toxicidad, resistencia cruzada o mecanismo de acción que los existentes.

La selección basada en los usos tradicionales es, sin duda, el criterio más popular en la investigación de plantas a la búsqueda de compuestos activos, especialmente en sociedades donde

la medicina tradicional es la principal fuente de tratamiento sanitario. La investigación esta justificada y se persigue un objetivo concreto. Sin embargo, al usar este método debemos tener en cuenta que el uso en la medicina tradicional no necesariamente debe coincidir con el concepto de la medicina moderna, por lo que el extracto seleccionado no debe estudiarse únicamente por la actividad programada por los curanderos, sino por una gama más amplia de modelos biológicos. Así por ej. El estudio de *Rose periwinkle* de Madagascar, popularmente usada para tratar la diabetes mellitus, rindió los conocidos alcaloides de la vinca con potente actividad antitumoral. En la Tabla 2 se presentan como ejemplo 50 fármacos que han derivado del conocimiento popular y aunque existen muchos más (Farnsworth estima que 88), estos son conocidos por los científicos occidentales desde hace muchos años³.

Tabla 2: Ejemplo de 50 fármacos obtenidos de plantas

Fármaco	Uso médico	Especie Vegetal
Ajmalina	Arritmia cardiaca	<i>Rauwolfia spp.</i>
Aspirina	Analgésico, antiinflamatorio	<i>Filipendula ulmaria</i>
Atropina	Dilatador de Pupila	<i>Atropa belladonna</i>
Benzoina	Desinfectante oral	<i>Styrax tonkinensis</i>
Cafeína	Estimulante	<i>Camellia sinensis</i>
Alcanfor	Dolor reumático	<i>Cinnamomum camphora</i>
Cascara	Purgativo	<i>Rhamnus purshiana</i>
Cocaína	Anestésico oftalmológico	<i>Erythoxylum coca</i>
Codeína	Analgésico, antitusivo	<i>Papaver somniferum</i>
Colchicina	Antigotosa	<i>Colchicum autumnale</i>
Demecolcina	Leucemia, linfoma	<i>Colchicum autumnale</i>
Deserpidina	Antihipertensivo	<i>Rauwolfia canescens</i>
Dicumarol	Antitrombótico	<i>Melilotus officinalis</i>
Digoxina	Fibrilación atrial	<i>Digitalis purpurea</i>
Digitoxina	Fibrilación atrial	<i>Digitalis purpurea</i>
Emetina	Disentería amebítica	<i>Psychotria ipecacuanha</i>
Efedrina	Broncodilatador	<i>Ephedra sinica</i>
Eugenol	Dolor dental	<i>Syzygium aromaticum</i>
Gallotanino	Supositorios hemorroidales	<i>Hamamelis virginia</i>
Hiosciamina	Anticolinérgica	<i>Hyoscyamus niger</i>
Ipecacuana	Emética	<i>Psychotria ipecacuanha</i>
Ipratropium	Broncodilatador	<i>Hyoscyamus niger</i>
Morfina	Analgésico	<i>Papaver somniferum</i>
Norcapina	Antitusivo	<i>Papaver somniferum</i>

³ Chadwick, D.J. and Marsh (Editores), *Ethnobotany and the Search for New Drugs discovery.*, 1994, (Ciba Foundation Symposium 185), Chichester, England.

Papaina	Atenuador mucoso	<i>Carica papaya</i>
Papaverina	Antiespasmódico	<i>Papaver somniferum</i>
Fisostigmina	Glaucoma	<i>Physostigma venenosum</i>
Picrotoxina	Antídoto barbitúrico	<i>Anamirta cocculus</i>
Pilocarpina	Glaucoma	<i>Pilocarpus jaborandi</i>
Podofilotoxina	Condiloma	<i>Podophylum peltatum</i>
Proscillaridina	Mal funcionamiento cardíaco	<i>Drimia marítima</i>
Protoveratrina	Antihipertensivo	<i>Veratrum album</i>
Pseudoefedrina	Rinitis	<i>Ephedra sinica</i>
Psoraleno	Vitiligo	<i>Psoralea corylifolia</i>
Quinina	Profilaxis de la malaria	<i>Cinchona pubescens</i>
Quinidina	Arritmia cardíaca	<i>Cinchona pubescens</i>
Rescinnamina	Antihipertensivo	<i>Rauwolfia serpentina</i>
Reserpina	Antihipertensivo	<i>Rauwolfia serpentina</i>
Senosido A,B	Laxante	<i>Cassia angustifolia</i>
Escopolamina	Enfermedad locomotora	<i>Datura stramonium</i>
Estigmasterol	Precursor esteroidal	<i>Physostigma venenosum</i>
Estrofantina	Fallo cardíaco congestivo	<i>Strophanthus gratus</i>
Tubocurarina	Relajante muscular	<i>Chondrodendron tomentosum</i>
Teniposido	Neoplasma de vesícula	<i>Podophylum peltatum</i>
Tetrahydrocannabinol	Antimimético	<i>Cannabis sativa</i>
Teofilina	Diurético, antiasmático	<i>Camellia sinensis</i>
Toxiferina	Relajante quirúrgico	<i>Strychnos guianensis</i>
Vinblastina	Enfermedad de Hodgkins	<i>Catharanthus roseus</i>
Vincristina	Leucemia pediátrica	<i>Catharanthus roseus</i>
Xantotoxina	Vitiligo	<i>Ammi majus</i>

El desarrollo de una droga es un proceso muy complejo y requiere una gran comunicación y coordinación entre las partes implicadas. Es caro, especialmente en las últimas fases clínicas del desarrollo, cuyo estudio requiere cientos de pacientes. Se estima que el desarrollo de una droga cuesta entorno a 34.500 millones de pesetas y requiere entre 7 y 10 años desde que se inician los ensayos preclínicos hasta que se comercializa. Solo uno de cada diez compuestos estudiados en humanos se convierte en un fármaco. A medida que un candidato progresa en su desarrollo aumentan los riesgos de que no sea adecuado bien por una toxicidad inadecuada, falta de eficacia, o incapacidad de presentar ventajas frente a otros competidores.

Por otro lado, la puesta en boga en la industria farmacéutica de ensayos altamente automatizados y sensibles para la evaluación de actividades biológicas y el estudio de mecanismos de acción como la principal estrategia en el descubrimiento de nuevas drogas, ha renovado el interés en el estudio de compuestos bioactivos de fuentes vegetales. Con el avance en los ensayos biológicos, purificación y elucidación estructural somos hoy día capaces de descubrir e identificar

sustancias potencialmente útiles con cantidades relativamente pequeñas. La sensibilidad de los ensayos de rutina y la búsqueda de sustancias con potencia de 1 ng/ml, hace fácil detectar sustancias presentes a una concentración de 0.001% o menos de peso seco en la planta.

El papel del Instituto Nacional del Cáncer de U.S.A. en la búsqueda de nuevas drogas de origen vegetal.

El INC se estableció en 1937 con el fin de proporcionar ayuda y coordinar la investigación relacionada con el cáncer, y tenía como meta el descubrimiento y desarrollo de nuevos agentes con valor quimioterapéutico en la lucha contra esta enfermedad. Hacia 1958 ya estaba implicado en una operación para la investigación y desarrollo de drogas con participación de fuentes académicas y la industria farmacéutica. Durante los primeros años la evaluación de productos naturales se centraba fundamentalmente en los productos de fermentación. Sin embargo, el aislamiento de la **podofilotoxina** (*Podophyllum peltatum* L.) y otros lignanos con actividad *in vivo* frente al sarcoma 37 de ratón y el descubrimiento de **vincristina** y **vinblastina** de *Catharanthus roseus* L., ponen de manifiesto que las plantas eran una importante fuente de nuevos agentes terapéuticos. Con estos antecedentes, se tomó entonces la decisión de explorar plantas a la búsqueda de agentes antitumorales y en 1960 establece una colaboración con el Departamento de Agricultura de los EEUU para la recolección de plantas que serían evaluadas según el programa del CCNSC. Inicialmente, la recolección del material vegetal se hacía en EEUU y México, pero posteriormente se expande a unos 60 países. Por otro lado, para resolver el problema de la epidemia mundial que origina el Sida, desarrolla un programa especial en los años 80.

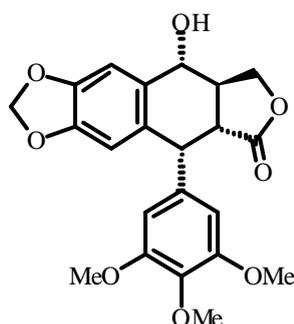
En la actualidad el INC emplea unas 60 líneas cancerígenas humanas y se han ensayado más de 30.000 extractos de plantas, aunque solo un 1% de los mismos ha mostrado un cierto grado de selectividad. Los agentes que exhiben actividad en los ensayos 1º y 2º son seleccionados por un comité (DNC) para los ensayos preclínicos y clínicos.

El lignano **podofilotoxina** posee una de las estructuras más simples que han tenido aplicación clínica y fue aislado de las raíces (rizomas) de varias especies de la mandrágora, *Podophyllum peltatum*, *P. emodii*, *P. hexandrum* (Berberidaceae). Estas plantas poseen una larga historia de su uso medicinal por las culturas de América y Asia, incluyendo el tratamiento de

cáncer de piel. El rizoma de *P. peltatum* es usado también como emético y antihelmíntico por los Indios Americanos. Recientemente, se han desarrollado en agentes clínicamente efectivos dos derivados semisintéticos de la **epodofilotoxina**, el **etopósido** (VP-16-213) que es efectivo en el tratamiento de cáncer de pulmón, testicular, linfomas y leucemias, y **tenipósido** (VM-26) efectivo frente a la leucemia linfocítica, neuroblasto en niños y linfomas de no-Hodgkins.

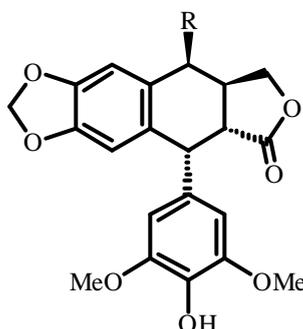
El mecanismo de acción de estos compuestos se basa en el bloqueo de la actividad catalítica de la ADN topoisomera II, ya que estabiliza el complejo enzima-ADN, en el cual el ADN está anclado y enlazado covalentemente al enzima. La topoisomera II tiene un papel clave en la replicación, transcripción y reparación del ADN, y las lesiones en el ADN son la causa de la muerte celular por apoptosis (suicidio).

Se han preparado derivados que implica la sustitución de 4 -azúcar por grupos 4 -arilamino (**1-6**), que resultaron ser entre 5-10 veces más potentes como inhibidores de la topoisomera II "in vitro" y fueron citotóxicos frente a la línea celular KB. Estos nuevos derivados

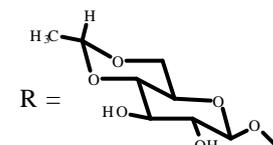


Podofilotoxina

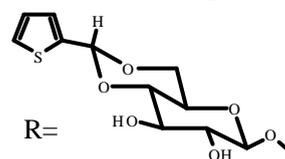
se encuentran en desarrollo para ensayos clínicos.



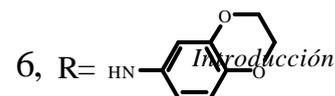
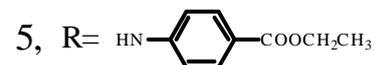
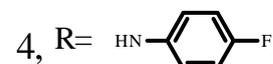
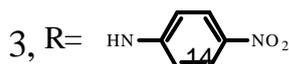
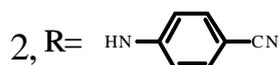
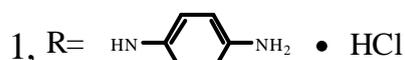
Etopósido



Tenipósido



Los alcaloides **vinblastina** y **vincristina**, aislados de la "perivina" de Madagascar, *Cataranthus roseus* o *Vinca roseus* (Apocianacea), fueron descubiertos hacia 1960. *C. roseus* era usada por diversas culturas como hipotensor, astringente, y emético en la medicina folclórica de Madagascar. Sin embargo, en el Oeste de la India esta especie se ha usado para disminuir los niveles de azúcar en sangre (diabetes) y estos agentes fueron descubiertos durante una investigación

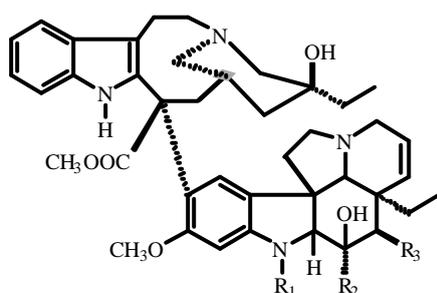


de la planta como fuente de potenciales agentes hipoglucemiantes, sin embargo cuando el extracto se administra por otra vía que no fuera oral se observó leucopenia e inhibición indirecta de la división celular. Estos alcaloides poseen una estructura indólica dimérica de dos partes, una de velbanamina o de epoxivelbanamina (catharanthina) y la otra de vindolina, de naturaleza dihidroindólica.

Hoy día se usan en clínica en combinación con otros agentes en el tratamiento de una variedad de cánceres (mama, melanoma, pulmón). El sulfato de vinblastina se ha utilizado con bastante éxito en el tratamiento de linfoma, enfermedad de Hodgkin, leucemia monocítica, carcinoma de pecho, bronquios y piel. La vincristina se usa principalmente en la leucemia infantil aguda y como paliativo para los casos en que otros tratamientos no funcionan.

Recientemente se ha descubierto un derivado semisintético, la **vinorelbina** que resulta activo en pacientes con cáncer de mama avanzado y cáncer esofágico metastásico y es menos neurotóxico que el resto de los alcaloides de la *Vinca*. La vinorelbina fue investigada en fase II en mujeres con cáncer de mama avanzado y la respuesta total fue del 40-44%, mientras que en los pacientes que no habían recibido quimioterapia fue del 17-36%. Combinado con otros agentes dio resultados de hasta el 50%.

El mecanismo de acción de estos alcaloides es que actúan inhibiendo la polimerización de los microtúbulos, promoviendo así la depolimerización, lo que conduce a la inhibición de la división celular.

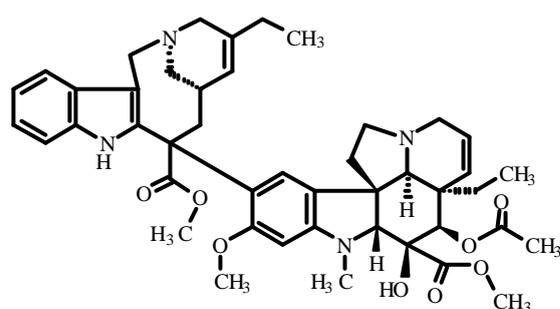


Vinblastina (Velban):

$R_1 = \text{CH}_3$, $R_2 = \text{COOCH}_3$, $R_3 = \text{OAc}$

Vincristina (Oncovin):

$R_1 = \text{CHO}$, $R_2 = \text{COOCH}_3$, $R_3 = \text{OAc}$

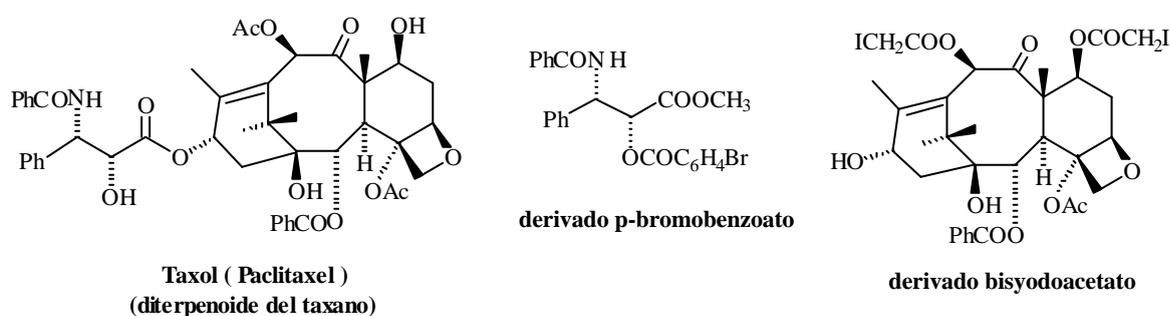


Vinorelbina

Las plantas continúan siendo una fuente de importantes drogas como lo evidencia la reciente aprobación en los Estados Unidos de numerosas drogas derivadas de plantas, así como de compuestos semi-sintéticos y sintéticos obtenidos de metabolitos secundarios aislados de plantas.

Ejemplo de ello es el descubrimiento del **taxol**, un diterpenoide con esqueleto de taxano que ha sido aprobado en Estados Unidos, CEE para el tratamiento de diversos tipos de cánceres. Los estudios químicos iniciales de los constituyentes del “yew” (*Taxus baccata*, *T. cuspidata*), se centraron en un principio en los principios tóxicos, lo que culminó con la elucidación estructural del primer diterpenoide del taxano en los años 60. Es irónico pensar que el “yew”, conocido como el “árbol de la muerte”, se convirtiera en la fuente de unos de los más prometedores e importantes agentes anticancerígenos de los últimos 20 años, no solo por su excelente actividad, sino por su inusual mecanismo de acción.

La elucidación estructural del componente activo, que se llamó taxol (paclitaxel) por su origen botánico y la presencia de grupos hidroxilos, resultó ser un verdadero reto. Los estudios iniciales fueron complicados, debido a la imposibilidad de obtener un espectro de masas y a la imposibilidad de cristalizarlo y realizar un Rayos X. Su estructura fue finalmente resuelta por el Profesor Mansukh Wani, quien vio la posibilidad de fraccionar la molécula, y obtener luego derivados cristalinos de los fragmentos. Las estructuras de estos dos fragmentos fueron determinadas por Rayos X por el Dr. Andrew Mcphail de la Universidad de Duke como el derivado p-bromobenzoato y el bisyodoacetato. Su estructura fue publicada en 1971, y pertenece a la clase de diterpenoides del taxano o taxoides, estructuralmente relacionado con los contituyentes tóxicos del “yew” como la taxina B.

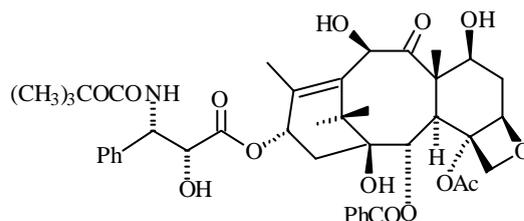


En 1979 Susan Horwitz descubre que el mecanismo de acción del taxol era novedoso, lo que incrementa considerablemente su interés. Actúa uniéndose y promoviendo el ensamblaje de la tubulina en microtubulos estables (estabiliza los microtubulos y evita su despolimerización). El resultado es la inhibición del ciclo celular y en consecuencia el cese de la proliferación celular y por tanto su muerte.

Los ensayos clínicos de fase I se inician en 1983, lo que fue casi desastroso ya que se

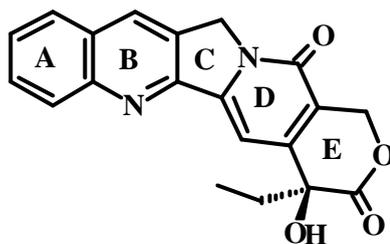
usaban dosis relativamente altas de coadyuvante, lo que produjo numerosas reacciones alérgicas durante esta fase, incluyendo incluso una muerte. Dado sin embargo lo novedoso de su mecanismo de acción, se continúan los estudios y las reacciones alérgicas se eliminaron administrando conjuntamente glucocorticoides y antihistamínicos. Los resultados en los ensayos clínicos demostraron que el taxol era realmente una promesa como agente anticancerígeno. En EEUU el paclitaxel fue aprobado en 1992 para su administración a pacientes con cáncer de ovario metastásico refractario al tratamiento inicial. En 1993, fue asimismo aprobado para el tratamiento de cánceres de mama refractarios o recurrentes tras terapia con antraciclinas. Un año mas tarde fue aprobado su comercialización en la Unión Europea.

Durante los intentos de obtención del taxol a partir de compuestos relacionados se sintetiza un análogo, el **taxotere** (o Docetaxel), el cual presentó incluso mayor actividad que el taxol y se encuentra actualmente en ensayos clínicos en Francia con resultados prometedores frente a algunos tipos de cánceres, básicamente los mismos que en el caso del taxol.



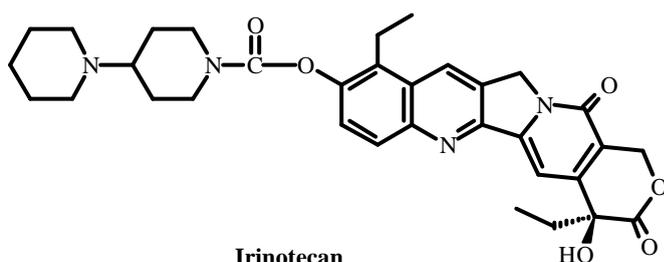
Taxotere (Docetaxol)

Otro ejemplo de sustancia antitumoral de origen vegetal lo encontramos en la **camptotecina** y sus derivados. La potente actividad antitumoral de esta sustancia (aislada de extractos del tronco de *Camptotheca acuminata* Decaisne (Nyssaceaea) un árbol nativo del norte de China, fue descubierta por primera vez de forma casual en 1958. Debido a su actividad frente a la leucemia de ratón L1210, fue de gran interés desde su aislamiento y pasó rápidamente a ensayos clínicos. Sin embargo, estos tuvieron que suspenderse debido a la gran toxicidad que presentaba. El interés por la camptotecina se reanudó en 1985 cuando se publicó su mecanismo de acción, basado en la inhibición de la topoisomerasa I, enzima que tiene un papel clave en la replicación, transcripción y reparación del ADN. Este mecanismo de acción explica no solo su actividad antitumoral, sino los potentes efectos “in vitro” de sus derivados frente a los protozoos *Trypanosoma* y *Plasmodium*, responsables de las enfermedades tripanosomiasis y malaria, respectivamente.

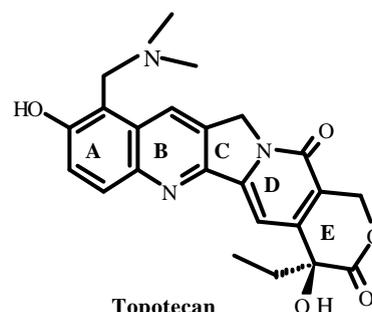


Camptotecina

Dos análogos de la camptotecina, **irinotecan** y **topotecan** han alcanzado el mercado. Ambos son derivados semisintéticos, solubles en agua y con menos toxicidad. Irinotecan tiene licencia en USA y Europa para el tratamiento del cáncer colorectal refractario y se encuentra también en estudio para el tratamiento de otros cánceres como mama, ovario, cervical y gástrico. Por otro lado, topotecan ha sido aprobado recientemente en USA y Europa como terapia alternativa en pacientes con cáncer de ovario avanzado y parece activo también frente a otros cánceres como carcinoma de pulmón y leucemia mielomonocítica.



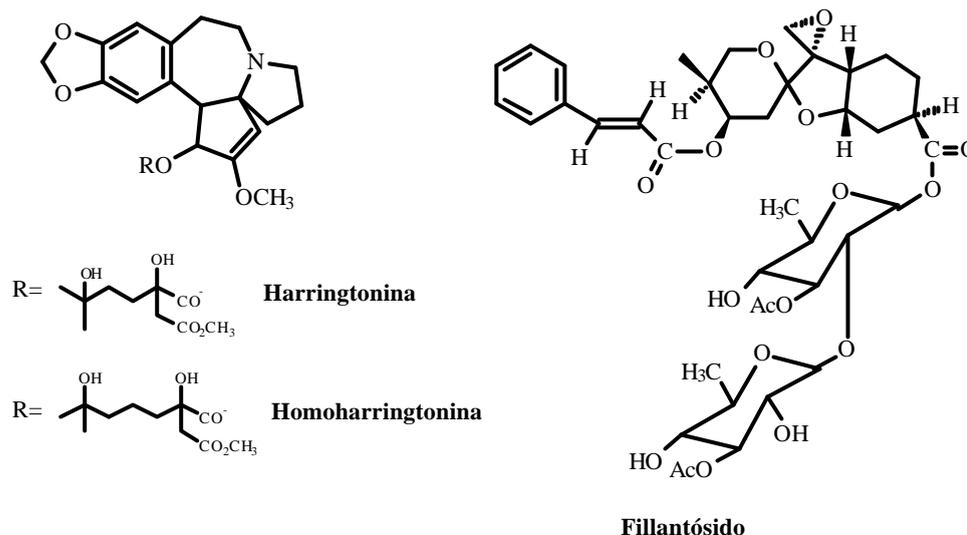
Irinotecan



Topotecan

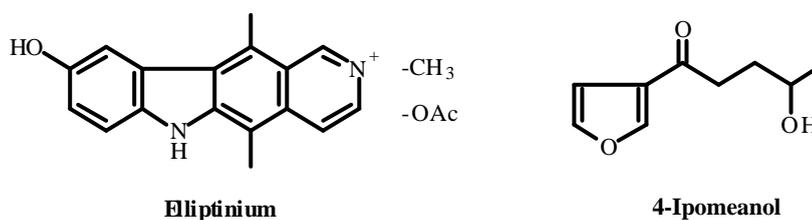
Existen otros muchos derivados de plantas que se encuentran en ensayos clínicos. Así, la **homoharringtonina**, un alcaloide aislado del árbol chino *Cephalotaxus harringtonia*, se encuentra en ensayos clínicos en fase II y III y ha mostrado ser eficaz frente a diversas leucemias (leucemia mieloblástica aguda y eritroleucemia). Homoharringtonina y **harringtonina** se han usado clínicamente en China durante muchos años con buenos resultados.

Filantósido, es un glucósido terpénico con un sistema de espiro éter, aislado del árbol de Centro América, *Phyllanthus acuminatus* que se encuentra en los primeros ensayos clínicos en el Reino Unido. Muestra actividad frente al melanoma B16 y modesta en la leucemia P-388.



Entre los derivados de agentes anticáncerigenos de origen vegetal que han sido sujetos a evaluación clínica en los últimos años se encuentra la **ellipticina** y relacionados. La ellipticina es un alcaloide indólico que se aísla de especies de la familia Apocynaceae, incluyendo *Bleekeria vitensis*, *Ochrosia elliptica* y *Aspidosperma subincanum*. Un alcaloide relacionado con actividad antitumoral es el 9-metoxi-ellipticina, aislado de la corteza de *O. maculata*. El potente análogo **elliptinium**, un derivado semisintético de la ellipticina, se encuentra en ensayos clínicos en Francia desde hace 10 años y resulta eficaz en el tratamiento de cáncer de tiroides y renal y metástasis de huesos resultado del cáncer avanzado de mama.

El **4-ipomeanol** es un derivado furánico neurotóxico producido por la patata dulce (*Ipomoea batatas*) infectada con el hongo *Fusarium solani* y se encuentra en ensayos clínicos en pacientes con cáncer de pulmón ⁴.



Se estima que el 60% de las enfermedades humanas son producidas por virus y las enfermedades virales siguen siendo, hoy día, un problema en todo el mundo, ya que los virus han resistido profilaxis o terapias durante mas tiempo que ninguna otra forma de vida. Esto es debido a la naturaleza del agente infeccioso, el cual depende totalmente de la célula que infecta para su

⁴ Peter A.G.M. De Smet., *The Role of Plant-Derived Drugs and Herbal Medicines in Healthcare. Drugs*, 54/6,

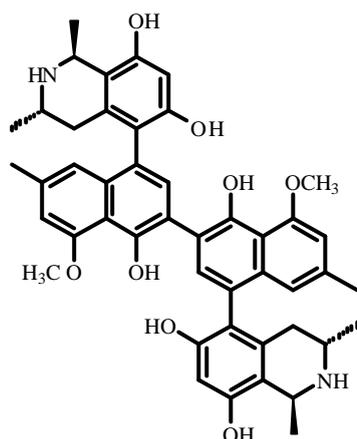
multiplicación y supervivencia. Esta característica ha hecho que el desarrollo de una quimioterapia efectiva para el tratamiento de las infecciones virales sea muy difícil. Como consecuencia hay hasta el momento solo a pocas drogas para la cura de las enfermedades virales, aunque continuamente nuevos agentes son investigados en ensayos clínicos.

Muchos productos naturales inhiben la replicación de virus, sin embargo, ninguno ha mostrado ser clínicamente útil. En contraste con el desarrollo de otro tipo de quimioterapia, el desarrollo de drogas antivirales ha encontrado una serie de problemas, debido por un lado a la interferencia con el metabolismo normal de la célula, originando efectos citotóxicos y por otro, a la variabilidad genética de los virus que producen mutantes resistente a la droga.

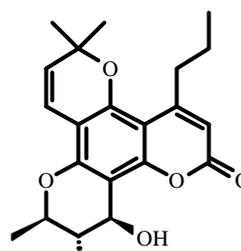
Actualmente son muy pocas las drogas antivirales comercializadas. No obstante, durante los últimos años aparecen con mucha frecuencia en la revistas científicas una relación de productos naturales con actividad antivírica. De ellos, cuatro metabolitos, activos *in vitro* frente al HIV, han sido seleccionados para su desarrollo preclínico.

El alcaloide dimérico (naftalen-tetrahidroisoquinoleínico) **micellamina B** fue aislado de las hojas de *Ancistrocladus korupensis*, recolectada en las regiones de bosque tropical del sur-oeste de Camerun. Michellamine B resultó activo frente al HIV-1 y al HIV-2 y se encuentra en ensayos preclínicos avanzados.

Un descubrimiento interesante en los últimos años es el aislamiento de los calanolides como potentes inhibidores del HIV *in vitro*. **Calanolide A** es una nueva cumarina aislada de las hojas del árbol *Calophyllum lanigerum* Miq. var. *austracariaceum*, recolectada en las regiones de Sarawak, Malaysia. Este agente mostró una potente actividad frente al HIV-1 y numerosas cepas de virus resistentes al AZT, sin embargo, es inactivo frente al HIV-2, por lo que representa una nueva clase farmacológica de no-nucleósidos, específico frente al HIV-1 e inhibidor de la transcriptasa reversa. Se encuentra en los comienzos de los ensayos preclínicos.



Michellamina

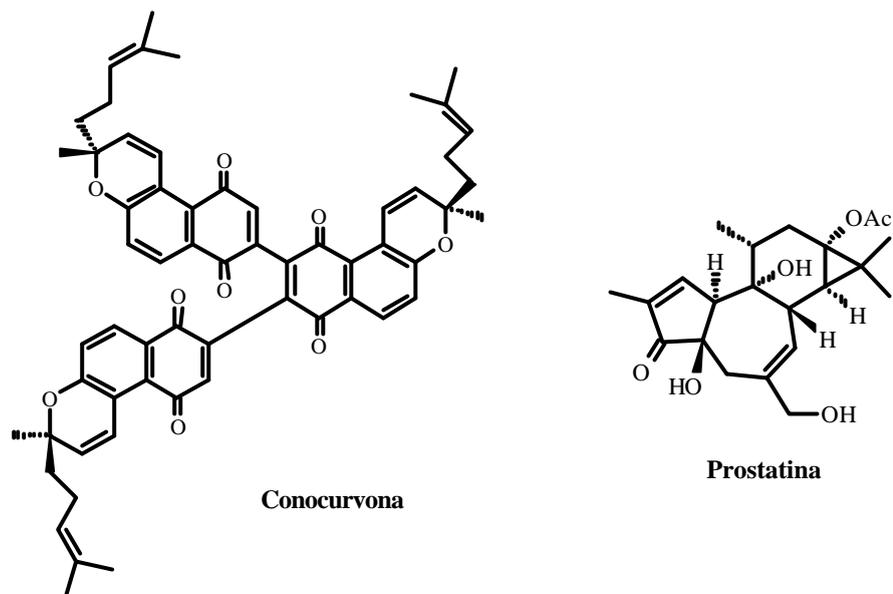


Calanolida A

Conocurvona, es una nueva naftoquinona trimérica, aislada de especies de *Conospermum*, endémicas del Oeste de Australia, de las que no existen referencias de su uso en la medicina tradicional. Conocurvona mostró una potente actividad *in vitro* frente al HIV-1 y se encuentra en los comienzos de los ensayos preclínicos.

La corteza del árbol tropical *Homalanthus nutans* (Euphorbiaceae), es usada en infusiones por los curanderos para combatir la fiebre amarilla, entre otros usos (dolor de espalda, abdominal y diarrea). Del extracto de ésta se aisló **prostatina**, un diterpeno con esqueletode forbol. A concentraciones no citotóxicas se encontró que prostatina inhibía la replicación del HIV en las células diana, los linfocitos y los monocitos. Se continúan los estudios sobre su mecanismo de acción, y desarrollo de la metodología analítica para estudios de toxicología clínica y farmacocinética y está considerado su desarrollo⁵.

⁵ Chu Ch.K. and Cutler H.G., *Natural Products as Antiviral Agents.*, 1991. Plenum Press, New York.



Hoy día, los productos naturales, o bien sus derivados y análogos, representan el 50% de las drogas de uso clínico, constituyendo un 25% del total los productos naturales derivados de plantas superiores.

Desafortunadamente, algunos de los compuestos mas interesantes son difíciles de obtener en cantidad suficiente o bien su actividad está asociada con su toxicidad. Aunque una variedad de compuestos naturales han mostrado actividad en diferentes ensayos, su índice de selectividad no se comparan con sus análogos sintéticos. Sin embargo estos compuestos permiten el estudio de mecanismos de acción, farmacología y toxicidad y sirven como base para la preparación de derivados análogos más potentes y con menor toxicidad.

La Región Inka en Perú cuenta con un amplio potencial en recursos naturales, entre ellos diversas plantas, con actividad terapéutica avalada por una extensa información etnobotánica, son utilizadas por los habitantes de esta región como única solución a sus problemas de salud. Una de las enfermedades endémicas más importante de esta zona es la leishmaniasis, enfermedad producida por parásitos protozoarios del género *Leishmania*, la cual afecta en todo el mundo a más de 14 millones de personas. La leishmaniasis es endémica en muchos países y regiones económicamente pobres de América Central y del Sur, razón por la cual las compañías farmacéuticas han dedicado poco interés en el desarrollo de drogas antileishmania.

Ante este importante problema sanitario, es necesaria la búsqueda de nuevos productos antileishmania, cuya aplicación podría contribuir a la solución de dicho problema. Siguiendo esta línea cabe destacar nuestro interés por el estudio de especies de la familia Piperaceae y Fabaceae, las cuales han sido descritas en Perú por su uso en la medicina popular para el tratamiento de las lesiones producidas por leishmaniasis, enfermedad que hoy en día no posee tratamiento aprobado por la OMS

Dentro del estudio de compuestos biológicamente activos que se desarrolla en nuestro equipo, estamos interesados en plantas de la familia Celastraceae, debido a que ha sido ampliamente usado en la medicina popular. Las plantas de esta familia están sujetas a un continuo y creciente interés dado el gran rango de compuestos bioactivos; así por ejemplo, se han aislado triterpenos quinonas con actividad antimicrobiana y citostática y sesquiterpenos con actividad antifeedant, insecticida, inmunosupresivo, inhibidores del virus Epstein-Barr y revertidores de multiresistencia a drogas usados en el tratamiento del cáncer.

Los estudios de mecanismos de resistencia múltiple a drogas, ó MDR como se describen en la bibliografía inglesa, realizados en células cancerígenas muestran que pueden ser de origen intrínseco o adquirido. Un mecanismo primario de MDR se atribuye a una sobre expresión de la P-glicoproteína (P-gp). Existen sustancias bloqueadoras de canales de calcio, inhibidores de calmodulina y alcaloides indólicos que revierten la MDR al competir con las drogas anticáncerígenas para ligarse al P-gp. Recientemente ha sido publicada la actividad de una serie de sesquiterpenos del tipo dihidro- β -agarofurano; asimismo, en nuestros estudios de diversas especies de los géneros *Maytenus* y *Crossopetalum* de la familia Celastraceae, hemos encontrado alrededor de un centenar

de nuevos sesquiterpenos del mismo tipo, no obstante, su potencial como revertidor de resistencia a drogas está iniciándose en nuestro grupo.

El número de especies de insectos descritas actualmente constituye numéricamente el grupo más importante del reino animal. A esto se añade su gran capacidad de reproducción, su versatilidad ecológica y facilidad de dispersión. Los efectos negativos de los insectos sobre la agricultura son muy importantes llegando a constituir uno de los azotes de la humanidad. Con la utilización de los insecticidas de síntesis pronto aparecieron problemas; uno de los primeros que se observó fue la inducción de resistencia en los insectos, con lo que algunos insecticidas inicialmente muy eficaces acaban por ser prácticamente inocuos sobre determinadas poblaciones de insectos. Otra consecuencia negativa de la aplicación de determinados productos de síntesis poco selectivos, fue la introducción de desequilibrios ecológicos en los ecosistemas agrícolas, y la consiguiente aparición de nuevas plagas. Por otro lado, la utilización no controlada de plaguicidas provoca problemas de contaminación del medio ambiente y la presencia de residuos tóxicos en los vegetales tratados. De ahí la necesidad de buscar insecticidas cada vez más selectivos, menos persistentes y de menor toxicidad en el hombre, entre los que se encuentran las nuevas generaciones de productos biorracionales.

En este sentido, existen numerosos ejemplos del uso de especies de la familia Celastraceae; así tradicionalmente son conocidas en China, las propiedades insecticidas de *Tripterygium wilfordii* Hook, una Celastraceae cuya parte aérea, molida y mezclada con agua se añade sobre las plantas para protegerlas de diversas plagas. La corteza de la raíz de *Celastrus angulatus* Maxim. y de *C. glaucophyllus* Rehd. et Wils han sido usadas por los agricultores para controlar los daños producidos por plagas de insectos; la corteza de la raíz o el extracto etanólico de *C. angulatus* es activo como antifeedant frente a larvas de *Pieris rapae* e inhibe la reproducción de *Sitophilus zeamais*, actuando como antifeedant y veneno estomacal y produciendo un efecto narcótico.

Los objetivos planteados fueron:

- 1. Estudio de los componentes bioactivos de *Piper elongatum* y *Copaifera paupera*, recolectadas en Perú, responsables de su actividad antileishmania según la información etnobotánica, mediante un estudio dirigido por ensayos frente a formas promastigote de *Leishmania*.**

2. Estudio fitoquímico de las fracciones no activas de *Piper elongatum* y *Copaifera paupera*.
3. Estudio de Celastraceas Americanas dentro del proyecto de “Búsqueda de Productos Bioactivos de la Flora Medicinal Iberoamericana”.
4. Estudio fitoquímico de *Crossopetalum tonduzii* recolectada en Panamá y *Maytenus cuzcoina* recolectada en Perú.
5. Estudios de actividad antifeedant de metabolitos con esqueletos conocidos por su actividad.
6. Estudios de la actividad citotóxica y antimicrobiana de los metabolitos aislados.
7. Estudio de la actividad revertidora de la multiresistencia a fármacos de los sesquiterpenos aislados.
8. Estudio de la actividad inhibitoria del virus Epstein-Barr de los metabolitos aislados.
9. Análisis de aquellas cuestiones no previstas que surjan en el desarrollo de este trabajo.

Capítulo 1

Las **Piperáceas** (del latín *Piperaceae* y género *Piper*), del orden de las Piperales, poseen las flores aclamídeas, androceo de 1-10 estambres y gineceo de 1-4 carpelos, generalmente tricarpelar; ovario unilocular, con un rudimento seminal ortótrofo de inserción basal; tejido nutricio con perisperma y endosperma. Son plantas herbáceas o leñosas, con las hojas generalmente esparcidas, flores en densas espigas o en racimos y fruto en drupa o en baya. La mayoría de las especies viven en los países intertropicales. *Piper* (700 especies), *Peperomia* (420 especies).

El género *Piper* pertenece a la familia Piperaceae, y comprende más de 700 especies distribuidas en ambos hemisferios. Son hierbas que crecen rectas, como arbustos o muy rara vez como árboles. Las especies de *Piper* tienen gran interés medicinal, comercial y económico. Económicamente las Piperaceae son importantes por la producción de pimienta en el mercado mundial. Así, el fruto maduro de *Piper nigrum* es la fuente de pimienta blanca; mientras que el fruto inmaduro de la misma especie, es la fuente de la pimienta negra. Una bebida narcótica es producida en Oceanía a partir de raíces de *P. methysticum*. Por otro lado, muchas especies de *Piper* se cultivan como plantas ornamentales por su follaje.

Las especies de *Piper*, ampliamente distribuidas en las regiones tropicales y subtropicales del mundo, son usadas en la medicina con diferentes usos. Así, especies de este género tienen una gran reputación en el sistema de medicina tradicional Ayurvedica de la India por sus propiedades medicinales^{1,2} y en la medicina folklórica de América latina. Los extractos clorofórmicos de los tallos de *P. aborescens* presentaron una importante actividad frente a cultivos celulares KB y P-388³. En Jamaica, de las once especies de *Piper* conocidas, *Piper aduncum* y *P. hispidum* están citadas como remedio para dolores estomacales y como repelentes de insectos⁴. *Piper amalago*, distribuida desde México hasta Brasil, es usada para aliviar dolores de pecho y como agente inflamatorio⁵. La raíz de *P. sylvaticum* es usada como un efectivo antídoto contra la picadura de serpiente y en la medicina popular de la India.

Las raíces y frutos de *P. chaba* poseen numerosas aplicaciones en la medicina; en particular son útiles para tratar el asma, bronquitis, dolor de abdomen, como estimulante y en afecciones

¹ Kirtikar K.R. and Basu B.D., in *Indian Medicinal Plants*, Vol. III. **1933**, 2128.

² *The Wealth of India*. Vol. VIII, Raw Materials. CSIR, New Delhi, **1969**, 83.

³ Geran R.I., Greenberg N.H., Macdonald M.M., Schumacher A.M. and Abbott B.J., *Cancer Chemotherapy Reports*, **1972**, 3, 1 (*Chemical Abstracts*, 78, 23825).

⁴ Asprey G.F. and Thornton P., in *Medicinal Plants of Jamaica*, 17. *West Indies Medicinal Journal*, Kingston, Jamaica, **1954**.

⁵ Dominguez X.A. and Alcorn J.B., *Journal of Ethnopharmacology*, **1985**, 13, 139.

hemorroidales⁶. *P. brachystachyum* presenta propiedades insecticidas⁷, mientras que *P. futukadsura* es una planta medicinal que crece en las Provincias de Fuchien y Taiwan. Los tallos de esta última especie, conocidos como Hay Feng Teng, son ampliamente usados en la medicina China para el tratamiento de asma y artritis; el extracto bencénico de sus hojas ha mostrado poseer actividad antiapetente contra las larvas de *Spodoptera litura*⁸. La pimienta negra del Oeste de Africa (*P. guinense*) es una trepadora cuyos frutos han sido usados como aromatizante, mientras que las hojas, raíces y semillas se han usado internamente como agentes medicinales para el tratamiento de bronquitis, enfermedades gastrointestinales, enfermedades venéreas y reumatismo; las preparaciones obtenidas a partir de las semillas han sido usadas por sus propiedades insecticidas⁹. Un extracto de la pimienta negra mostró carcinogénesis en ratón; la aparición de tumores malignos y tumores múltiples fue mayor en los ratones tratados con pimienta que en aquellos no tratados¹⁰. El extracto de las hojas y tallos de *P. falconeri* han mostrado actividad insecticida frente a *Musca domestica* y *Aedes aegyptii*¹¹, así como el extracto diclorometano de *P. acutisleginum*. Por último el extracto de *P. betle* ha mostrado actividad hipotensiva.

La química de especies de *Piper* ha sido ampliamente investigada y los estudios fitoquímicos han conducido al aislamiento de numerosos compuestos fisiológicamente activos. Los estudios fitoquímicos sobre especies de *Piper* han revelado una amplia variedad de constituyentes, destacando los alcaloides, lignanos, neolignanos y terpenos. Así, de un total de 592 metabolitos aislados, 145 resultaron ser alcaloides, 47 lignanos, 71 neolignanos y 89 terpenos. Recientemente se ha publicado una revisión¹² de los compuestos aislados de especies del género *Piper*, donde se hace énfasis en la actividad biológica presentada por los diferentes metabolitos aislados.

Existen 700 especies, que pertenecen al género *Piper*, distribuidas por todo el mundo y que sólo el 12% de ellas han sido sometidas a estudios fitoquímicos, lo que corresponde a 84 especies. Teniendo en cuenta esto y el interés biológico que presentan los metabolitos aislados de especies de este género, no cabe duda que aún queda mucho por investigar sobre el mismo.

Algunos ejemplos de metabolitos aislados son los siguientes:

⁶ Kirtikar K.R. and Basu B.D., in *Indian Medicinal Plants*, Vol. III. **1933**, 2130.

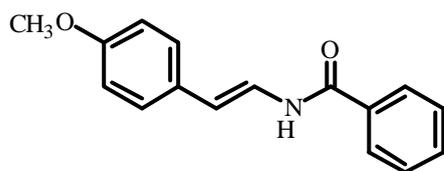
⁷ Jacobson M. and Crosby D.G., *Naturally Occurring Insecticides* (Marcel Dekker), **1971**, 144, 226.

⁸ Matsui K. and Munataka K. *Tetrahedron Letters*, **1975**, 1905.

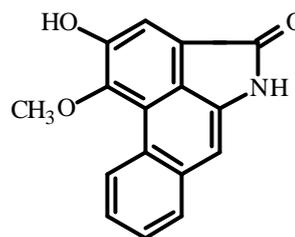
⁹ Irvine F.R., in *Woody Plants of Ghana*. Oxford University Press, London, **1961**, p. 40.

¹⁰ Concon J.M., Newburg D.S. and Swerczek T.W., *Nutrition and Cancer*, **1979**, 1, 22.

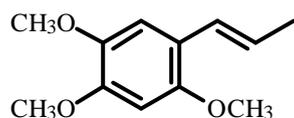
¹¹ Olsen, C.E., Tyagi, O.D., Boll, P.M., Hussaini, F.A., Parmar, V.S., Sharma, N.K., Taneja, P. and Jain, S.C. *Phytochemistry*, **1993**, 33, 518.



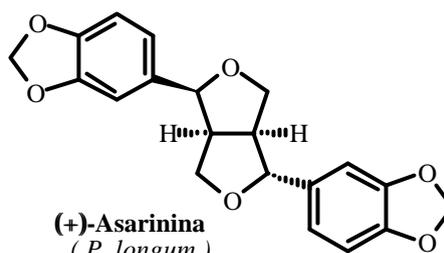
Alatanuda
(*P. guayranum*)



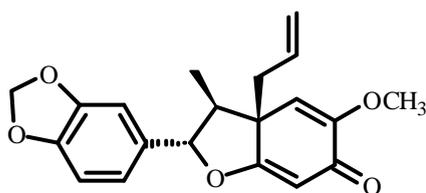
Aristolactama A II
(*P. attenuatum*)



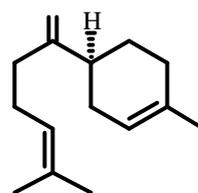
α-Asarona
(*P. sarmentosum*)



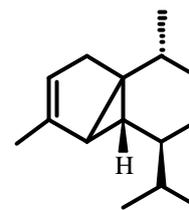
(+)-Asarinina
(*P. longum*)



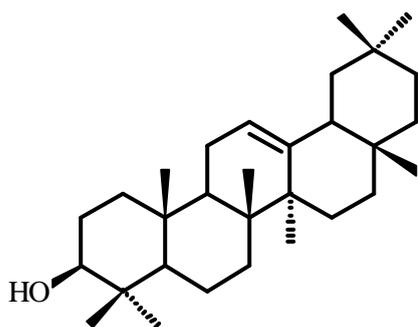
(+)-Burchellin
(*P. puberulum*)



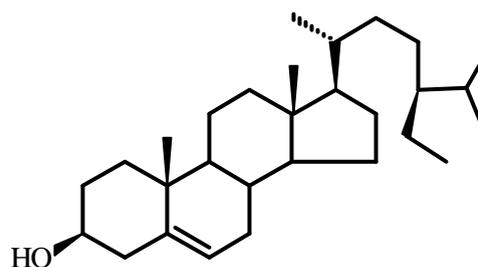
b-Bisaboleno
(*P. nigrum*)



α-Cubebeno
(*P. cubeba*)

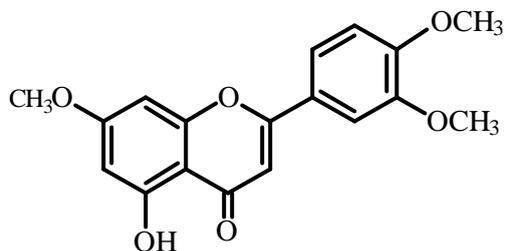


b-Amirina
(*P. amalgo*)

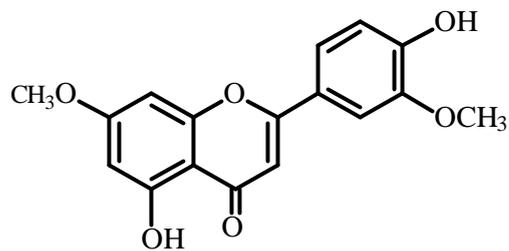


b-Sitosterol

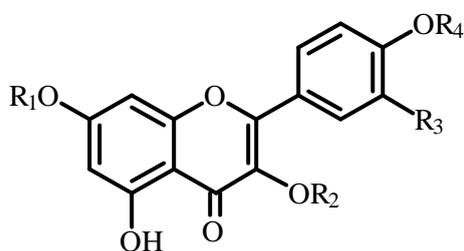
¹² Virinder S.P., Subhash C.J., Kirpal S.B., Rajni J., Poonam T., Amitabh J., OM D.T., Ashok K.P., Jesper W., Carl E.O. and Per M.B., *Phytochemistry*, **1997**, 46, 597-673.



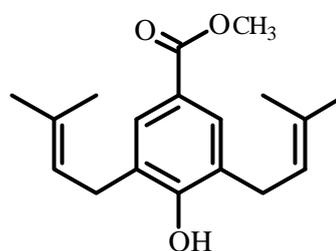
5-Hidroxi-7, 3', 4'-trimetoxiflavona
(*P. peepuloides*)



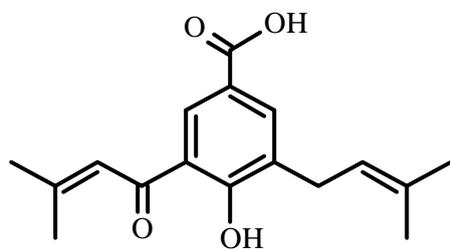
Velutina
(*P. clarkii*)



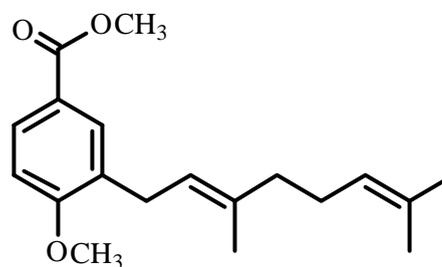
R1=R4=H; R2= b-(D)-Glucósido; R3=OH
Isoquercitrina
(*P. nigrum*)



**4-hidroxi-3, 5-bis-(3-metil-2-butenil)-
benzoato de metilo**
(*P. aduncum*)



**Ácido 4-hidroxi-3-(3-metil-2-butenoil)-
5-(3-metil-2-butenil) benzoico**
(*P. aduncum*)



**3-(3,7-Dimetil-2,6-octadienil)-
4-metoxibenzoato de metilo**
(*P. aduncum*)

Descripción Botánica de *Piper elongatum* var. *mocco-mocco* Trelease

La especie *Piper elongatum* es un arbusto de dos a tres metros de altura, silvestre u ocasionalmente semicultivado en agroclimas que van desde los 1200 a 2900 m s.n.m. Tallos con nudos a menudo hinchados o articulados, por lo que reciben la denominación local de ‘Mocco-mocco’. Hojas enteras, alternas, cortamente pecioladas, oblongo lanceoladas, largamente atenuadas mas que acuminadas, ásperas, penninervadas muy dispersas, pubescencia escabrosa en el haz y densamente hirsutos curvados en las venas de los nervios del envés; con la base asimétrica, ligeramente cordadas; las hojas y la planta en general poseen un claro olor a las Ranales que muestran caracteres poco avanzados dentro de las plantas con flores. Inflorescencias en densas espigas carnosas, cilíndricas, opuestas a las hojas, curvadas o no. Flores inconspicuas sin periantio; androceo de uno a cuatro estambres libres o adnatos a la base del ovario; gineceo con ovario súpero, unilocular tricarpelar. El fruto es una drupa pequeña. Son plantas polinizadas por murciélagos.

Posición Sistemática.- de acuerdo al sistema de A. Cronquist, 1981.

División	Magnoliophyta (=Angiospermas)
Clase	Magnoliopsida (=Dicotiledóneas)
Subclase	Magnoliidae
Orden	Piperales
Familia	Piperaceae
Género	<i>Piper</i>
Especie	<i>Piper elongatum</i>
Variedad	mocco-mocco
Nombre científico	<i>Piper elongatum</i> var. <i>mocco-mocco</i> Trelease
Nombres comunes	“Mocco-mocco”, “Matico”

La parte aérea de *Piper elongatum* fue recolectada en el Valle de Urubamba, Microcuenca de Cusichaca (Cusco, Perú) en el mes de febrero de 1992, un espécimen de esta especie se

encuentra depositado en el Herbario Vargas de la Facultad de Biología de la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco con la asignación CUZ-028801 A. Tupayachi (2103).

460 gramos de la parte aérea de *Piper elongatum* fue finamente molida y extraída en un Soxhlet con etanol, obteniéndose después de la filtración y evaporación del disolvente, 88 g. del extracto, el cual fue sometido a repetidas cromatografías en Sephadex LH-20 y gel de sílice, tal como se indica en la parte experimental de esta Memoria. Se aislaron así, dieciocho metabolitos secundarios, de los cuales doce habían sido descritos previamente, mientras seis resultaron nuevos en la literatura. Los ya descritos resultaron ser: las hidrochalconas 2',6'-dihidroxi-4'-metoxidihidrochalcona y 4,2',6'-trihidroxi-4'-metoxidihidrochalcona (aseboge nina)¹³, las cuales mostraron actividad antileishmania en estudios *in-vitro*; las flavonas apigenina¹⁴ y velutina¹⁵; la flavanona sakuranetina¹⁶; el aromático 2,4,5-trimetoxi-benzaldehído¹⁷; los fenilpropanos, O-metil eugenol¹⁸, α -asarona¹⁹ y 1-(2,4,5-trimetoxifenil)-1,2-dihidroxipropano²⁰; los isoprenil derivados del ácido *p*-hidroxibenzoico, ácido 4-hidroxi-3-(3-metil-2-butenoil)-5-(3-metil-2-butenil)-benzoico y ácido 4-hidroxi-3,5-bis-(3-metil-2-butenil)-benzoico²¹ y el alcaloide con agrupamiento de amida, *trans*-N-ferulato de tiramina²².

¹³ Orjala J., Wright A.D., Behrends H., Folkers G. and Sticher O., *Journal of Natural Products*, **1994**, 57,18.

¹⁴ Baker et al., *Journal Chemical Society*, **1963**, 1477.

¹⁵ Jensen S., Olsen C.E., Tyagi O.D., Boll P.M., Husaini F.A. Gupta S., Bisht K.S. and Parmar V.S. *Phytochemistry*, **1994**, 36, 789.

¹⁶ Dutta C.P. and Som U.K., *Journal of the Indian Chemical Society*, **1978**, 55, 932.

¹⁷ Prasad A. K., Tyagi O. D., Wengel J., Boll P. M., Olsen C. E., Bisht K. S., Singh A., Sarangi A., Kumar R., Jain S. C. and Parmar V. S., *Phytochemistry*, **1995**, 39, 655.

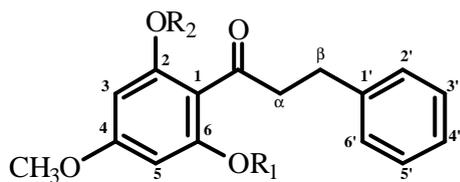
¹⁸ Nam In Back, Kim H., Lee Y.H., Park J.D., Sag K and Kim S., *Planta Médica* **1992**, 58, 566.

¹⁹ Masuda T., Inazumi A., Yamada Y., Padolina W.G., Kikuzaki H. and Nakatani N. *Phytochemistry*, **1991**, 30, 3227.

²⁰ Koul S.K., Taneja S.C., Malhotra, S. and Dhar, K.L. *Phytochemistry*, **1993**, 32, 478.

²¹ Orjala J., Eldermeier C.A.J., Wright, A.D., Rali, T. and Sticher, O., *Planta Médica*, **1993**, 546.

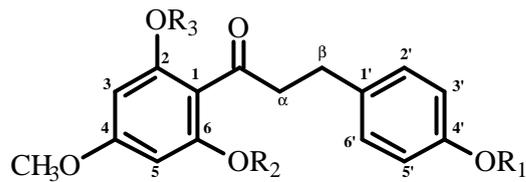
²² Fukuda N., Yonemitsu M. and Kimura T., *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, **1983**, 31, 156.



(10) $R_1=R_2=H$ **2',6'-Dihidroxi-4'-metoxi-dihidrochalcona**

(13) $R_1=Ac, R_2=H$ **6'-Acetoxi-2'-hidroxi-4'-metoxidihidrochalcona**

(14) $R_1=R_2=Ac$ **2',6'-Diacetoxi-4'-metoxi-dihidrochalcona**

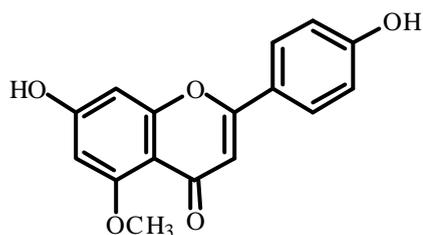


(25) $R_1=R_2=R_3=H$ **2',4,6'-Trihidroxi-4'-metoxi-dihidrochalcona**

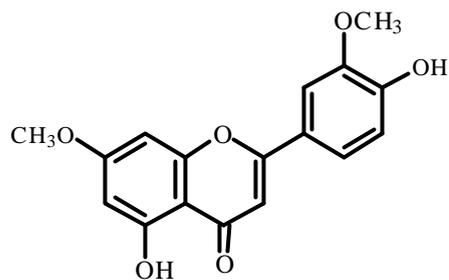
(26) $R_1=Ac, R_2=R_3=H$ **4-Acetoxi-2',6'-dihidroxi-4'-metoxidihidrochalcona**

(27) $R_1=R_2=Ac, R_3=H$ **4,6'-Diacetoxi-2'-hidroxi-4'-metoxidihidrochalcona**

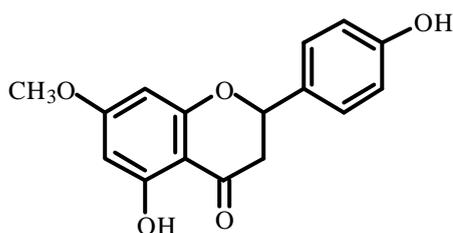
(28) $R_1=R_2=R_3=Ac$ **2',4,6'-Triacetoxi-4'-metoxi-dihidrochalcona**



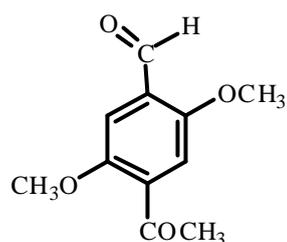
Apigenina



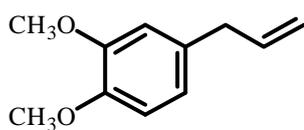
Velutina



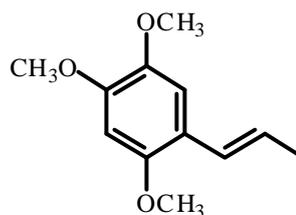
Sakuranetina



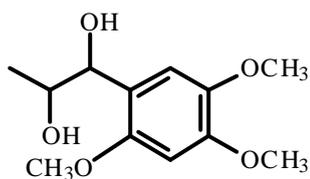
2,4,5-Trimetoxibenzaldehido



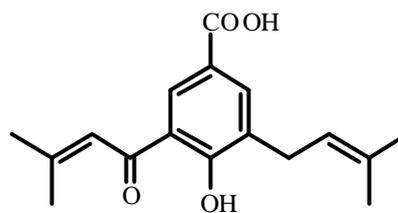
O-Metil eugenol



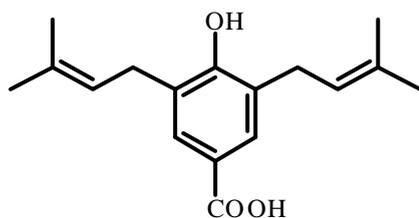
α -Asarona



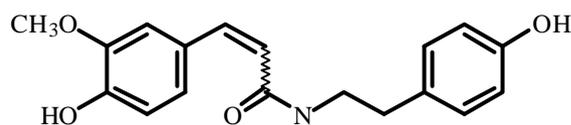
1-(2,4,5-trimetoxifenil)-1,2-Dihidroxiopropano



Ácido 4-hidroxi-3-(3-metil-2-butenoil)-5-(3-metil-2-butenil)-benzoico



Ácido 4-hidroxi-3,5-bis-(3-metil-2-butenil)-benzoico



trans-N-Ferulato de tiramina
cis-N-Ferulato de tiramina

Las dos dihidrochalconas aisladas y sus derivados parcial y totalmente acetilados fueron activos frente a formas promastigotes de *Leishmania in vitro*, estudio que se muestra en la sección de actividades biológicas de esta Memoria. Dado que los datos de RMN ^{13}C de estos compuestos no habían sido publicados, llevamos a cabo las asignaciones de forma inequívoca, datos que se presentan en la siguiente tabla.

Tabla 1: RMN ^{13}C de las dihidrochalconas aisladas de *Piper elongatum* y sus derivados.

Carbono	10	13	14	25	26	27	28
C ₁	141.5 s	140.9 s	141.4 s	134.9 s	148.8 s	149.1 s	137.8 s
C ₂	128.3 s	128.1 s	128.4 s	129.4 s	129.5 s	129.2 s	129.5 s
C ₃	128.5 d	128.5 d	128.5 d	115.5 d	121.4 d	121.6 d	121.7 d
C ₄	125.9 s	126.1 s	126.1 s	132.6 s	139.3 s	138.5 s	136.9 s
C ₅	128.5 d	128.5 d	128.5 d	115.5 d	121.4 d	121.6 d	122.6 d
C ₆	128.3 s	128.1 s	128.4 s	129.4 s	129.5 s	129.2 s	129.5 s
C' ₁	104.7 s	108.2 s	120.6 s	105.5 s	104.8 s	108.3 s	107.0 s
C' ₂	165.5 d	166.5 d	149.4 d	165.6 d	163.3 d	149.1 d	149.2 d
C' ₃	94.3 d	99.2 d	106.7 d	93.3 d	94.4 d	103.2 d	107.0 d
C' ₄	165.5 d	164.8 d	161.2 d	164.9 s	163.3 s	152.4 s	150.2 s
C' ₅	94.3 d	103.1 d	106.7 d	93.3 d	94.4 d	99.3 d	94.4 d
C' ₆		152.4 d	149.4 d	155.8 d	165.6 d	165.0 d	160.3 d
C _a	45.5 t	44.7 t	45.4 t	46.1 t	45.5 t	44.6 t	32.0 t
C _b	30.5 t	29.8 t	29.7 t	30.0 t	29.9 t	29.7 t	29.7 t
C=O	204.5 s	202.6 s	199.2 s	205.4 s	204.3 s	202.4 s	201.0 s
OMe	55.4 c	55.7 c	55.7 c	55.1 c	55.5 c	55.7 c	55.7 c
CH ₃ C <u>OO</u> (R ₁)	---	168.5 s	168.8 s	---	169.9 s	168.5 s	168.2 s
CH ₃ C <u>OO</u> (R ₂)	---	---	168.8 s	---	---	166.6 s	169.3 s
CH ₃ C <u>OO</u> (R ₃)	---	---	---	---	---	---	169.5 s
<u>CH</u> ₃ COO (R ₁)	---	21.4 c	20.8 c	---	21.1 c	21.1 c	21.1 c
<u>CH</u> ₃ COO (R ₂)	---	---	20.8 c	---	---	21.5 c	20.8 c
<u>CH</u> ₃ COO (R ₃)	---	---	---	---	---	---	20.4 c

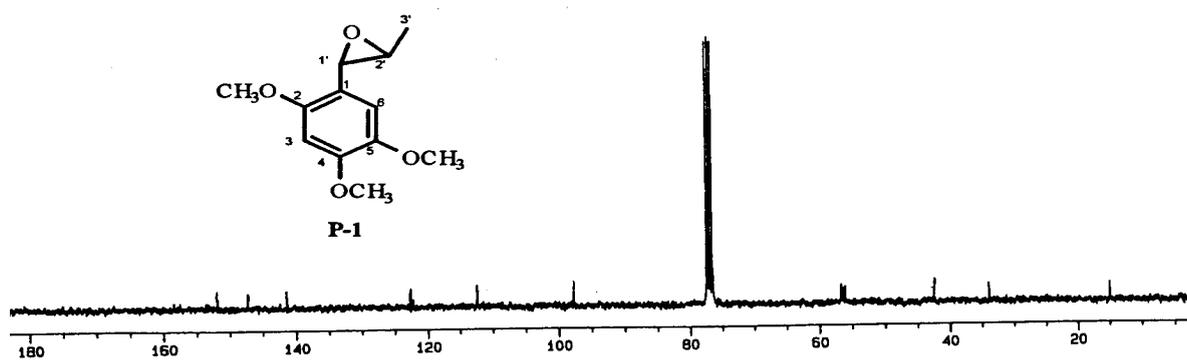
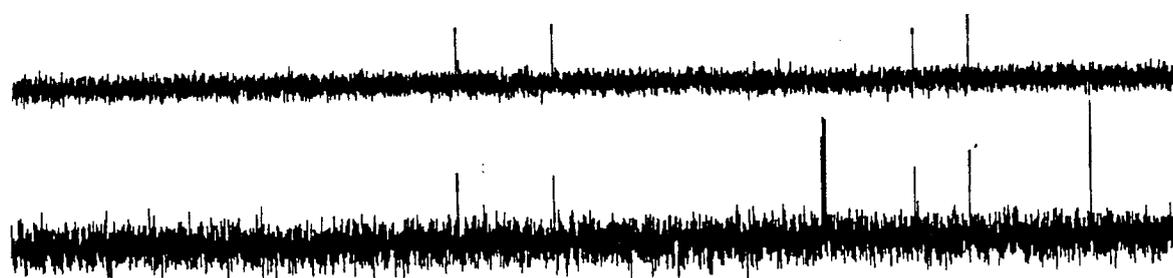
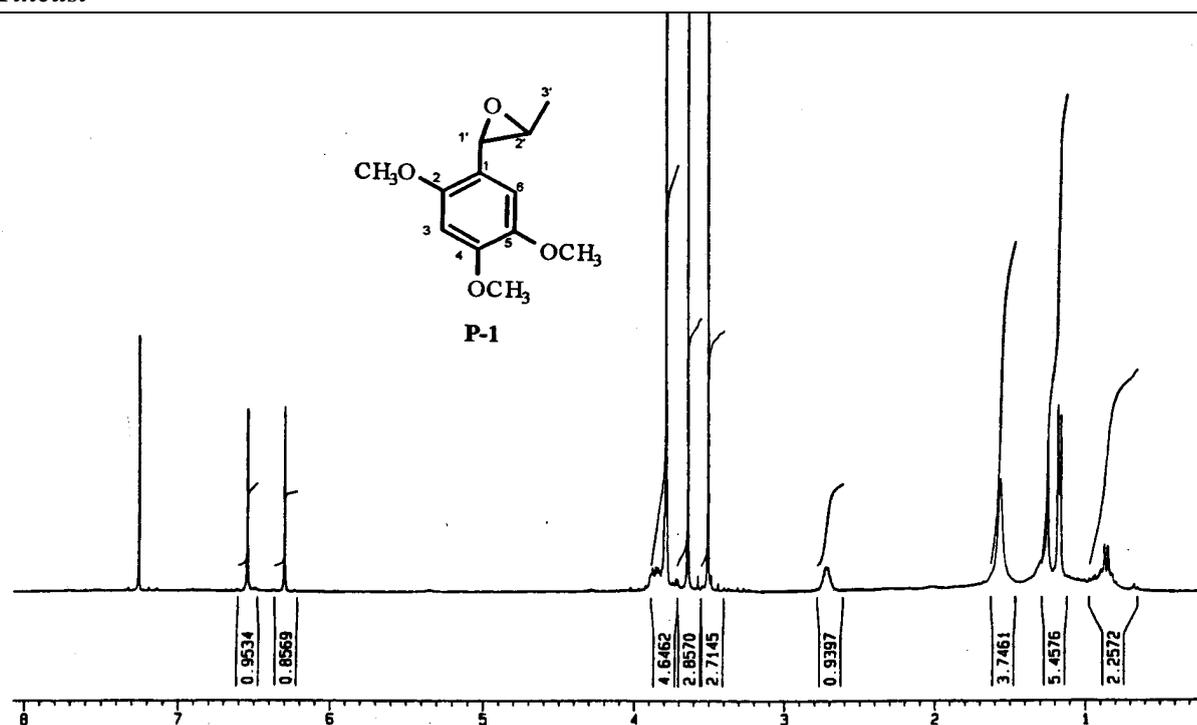
Valores de δ basados en experimentos DEPT y correlaciones bidimensionales ^1H - ^{13}C (HMOC y HMBC).
Disolvente CDCl₃, 400 MHz.

Los metabolitos no descritos previamente resultaron ser los fenilpropanos, **P-1** y **P-2**; los isoprenil derivados del ácido *p*-hidroxibenzoico, **P-3** y **P-4** y el dímero de igual naturaleza **P-5**, para

el que proponemos el nombre de **elongatina** así como un producto con 12 átomos de carbono y anillo de ciclo pentenol **P-6**, tipo de metabolito poco frecuente.

A continuación pasamos a discutir cada uno de los productos nuevos aislados de *Piper elongatum*.

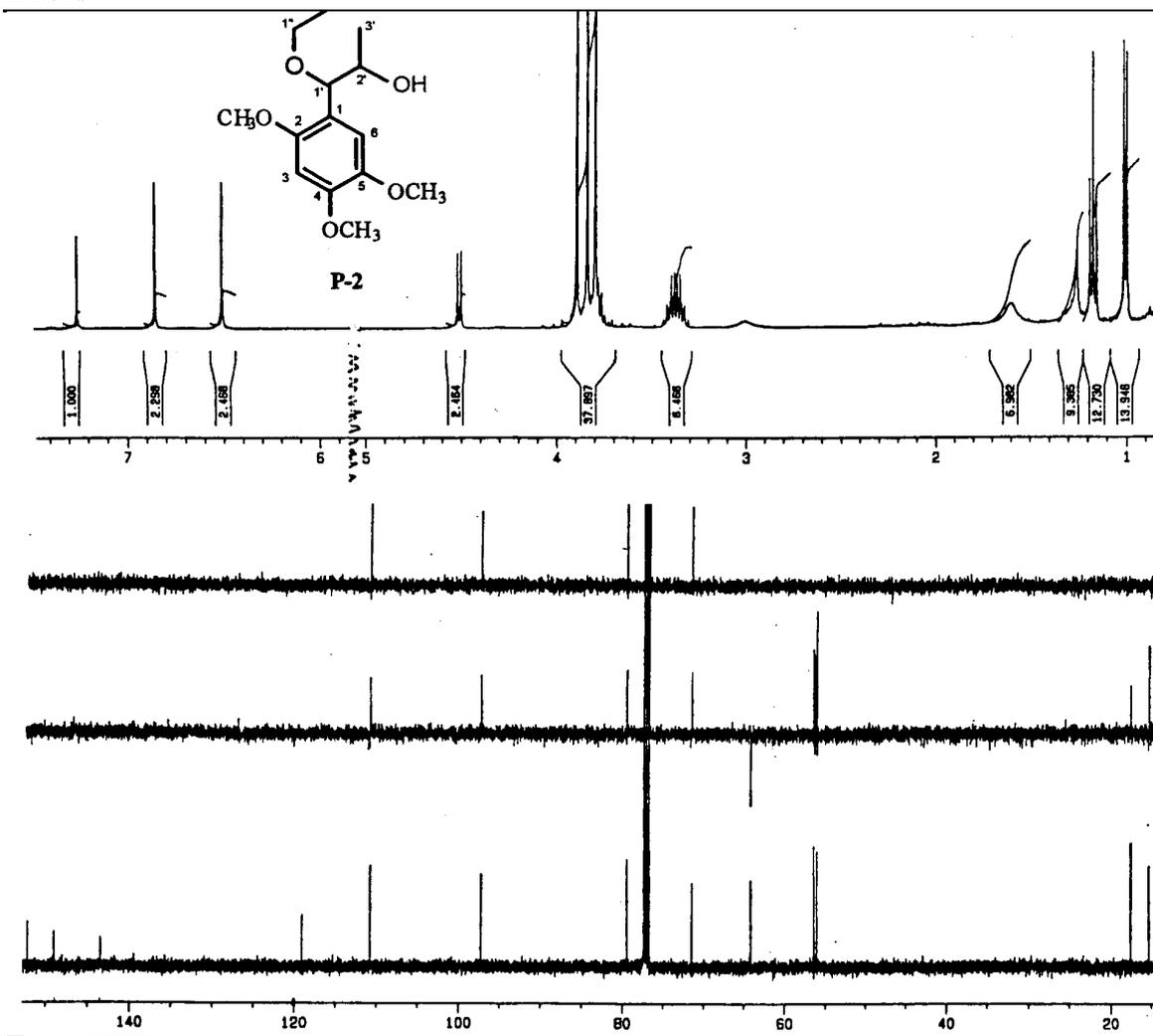
El producto que hemos denominado **P-1** posee una fórmula molecular de $C_{12}H_{16}O_4$, basándonos en su espectro de masas de alta resolución, RMN 1H y ^{13}C . Estos datos junto a la presencia de tres señales en RMN 1H y ^{13}C para tres metoxilos sobre anillo aromático, nos indicó que nuestro producto se trata de un C_6-C_3 fenil propano, con un anillo adicional sólo posible sobre la cadena C_3 . El análisis de los datos obtenidos de RMN 1H nos permitió observar la aparición de un sistema ABX_3 con señales a 0.87 δ para tres protones en forma de doblete ($J=6.6$ Hz), un multiplete situado a 2.72 δ para un protón y un multiplete a 3.81 δ , que fueron asignadas a los protones H-3, H-2 y H-1, respectivamente. Además, se observaron señales para tres metoxilos a 3.79, 3.65 y 3.52 δ y señales para dos protones aromáticos a 6.55 y 6.31 δ como singuletes. Su espectro de RMN ^{13}C mostró señales de doce carbonos y el conjunto de estos datos nos indicó que nuestro producto **P-1** se trataba de un fenil propano que posee un anillo aromático tetrasustituído, con tres grupos metoxilos y una cadena carbonada, quedando los hidrógenos aromáticos en posición para. Del estudio cuidadoso de la forma y desplazamiento de los protones del anillo oxirano, se concluye que la estereoquímica es *trans*, la cual fue confirmada mediante experimento ROESY. Estudios de experimentos bidimensionales homo y heteronucleares nos permitieron establecer la estructura de nuestro compuesto **P-1**.



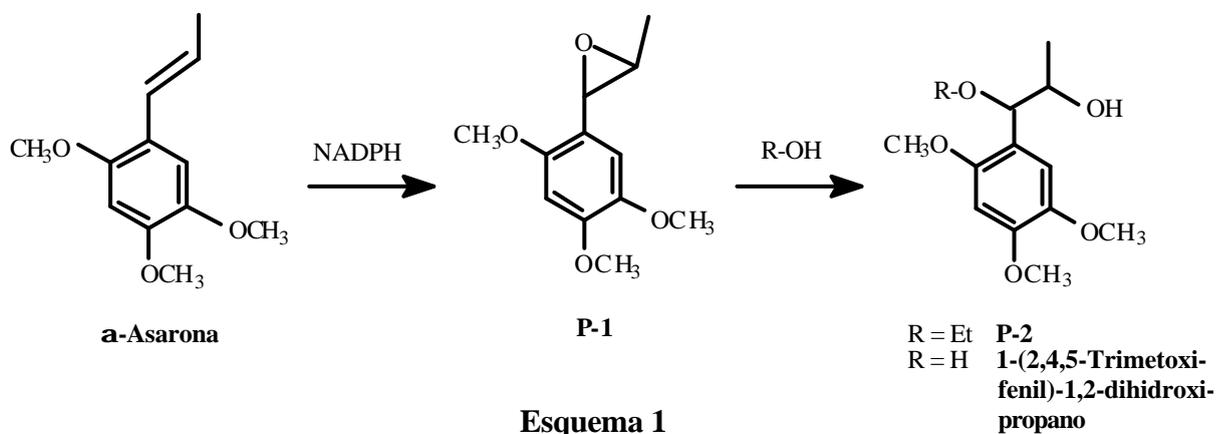
El producto **P-2** presentó una fórmula molecular de $\text{C}_{14}\text{H}_{22}\text{O}_5$ en su espectro de masas de alta resolución. En su espectro de RMN ^1H se observaron señales para dos metilos a 1.00 δ como doblete ($J=6.4$ Hz) y 1.17 δ como triplete ($J=7.0$ Hz); dos multipletes a 3.37 δ , para dos protones,

otro multiplete a 3.79 δ para un protón y un protón doblete a 4.51 δ ($J=7.9$ Hz); así como señales para tres grupos metoxilos a 3.81, 3.84, 3.85 δ y dos protones aromáticos a 6.51 y 6.86 δ , ambos como singletes. Todos estos datos fueron confirmados mediante RMN ^{13}C , el cual presentaba señales para catorce carbonos. El conjunto de estos datos mostraba que nuestro producto **P-2** estaba muy relacionado con el compuesto **P-1**. Experimentos bidimensionales homonucleares (COSY y ROESY) indicaron que nuestro producto se trataba de un fenilpropano con un anillo aromático tetrasustituído en las posiciones 1, 2, 4 y 5 que presentaba un sistema ABX₃ y un agrupamiento etoxido. Experimentos bidimensionales (HMQC y HMBC) nos permitieron fijar la estructura de nuestro compuesto como 1-etoxi-1-(2,4,5-trimetoxi-fenil)-propan-2-ol.

El producto **P-2**, lo podemos considerar como un artefacto formado durante la extracción por la apertura regioselectiva del epóxido de **P-1** por ataque nucleofílico del etanol y catálisis ácida. Permanece desconocida la estereoquímica de los centros quirales C₁ y C₂. De igual manera se puede explicar el aislamiento del producto conocido 1-(2,4,5-trimetoxi-fenil)-propan-1,2-diol.

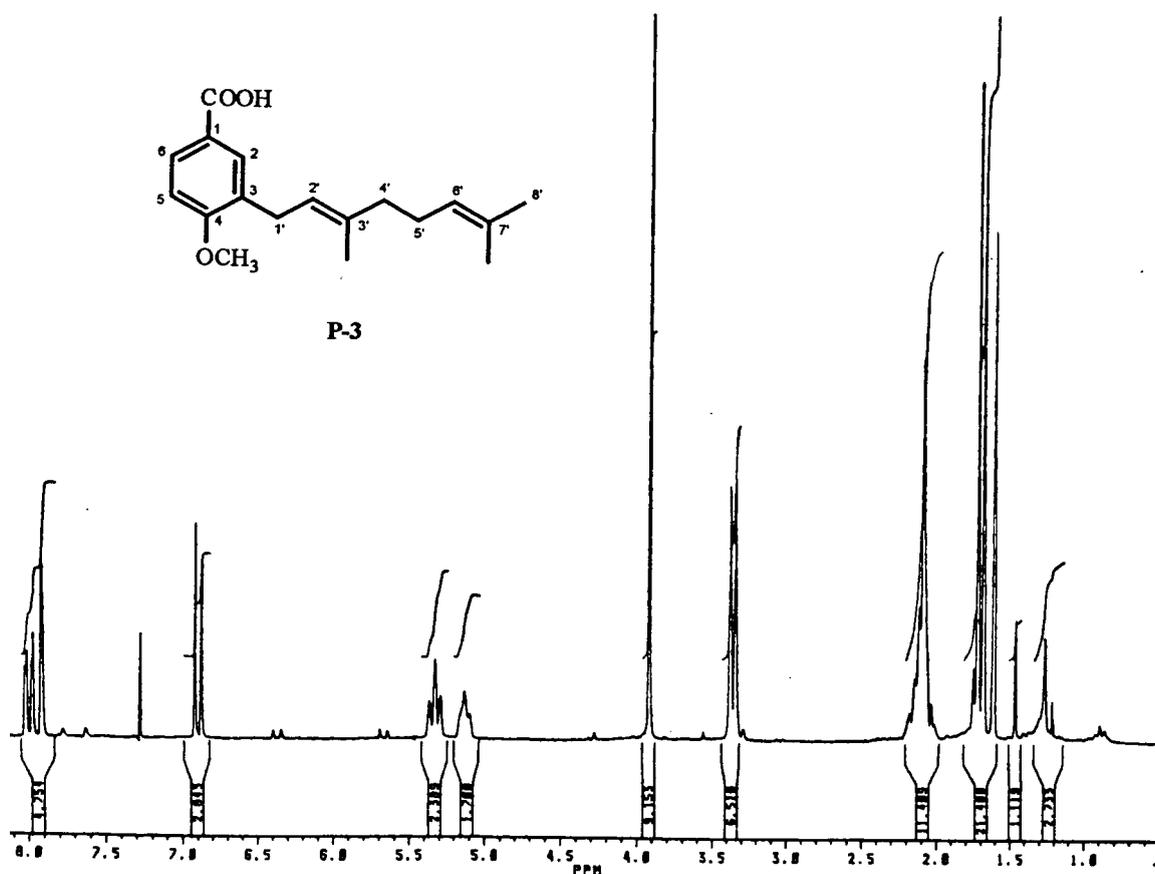


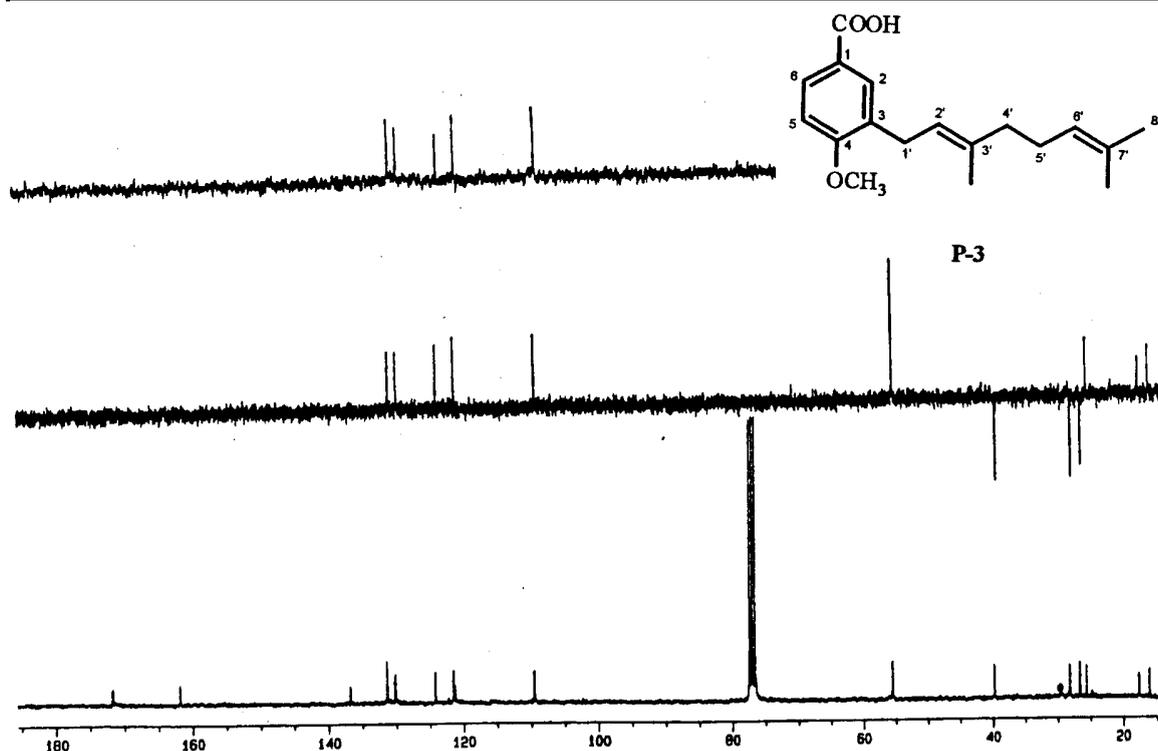
Dado que también se obtuvo de la planta la α -asarona, éste debe ser el precursor biogénico²³ del producto **P-1**, el cual por posterior apertura por diferentes nucleófilos nos conduce a los productos **P-2** y el diol conocido²⁰ (Esquema 1).



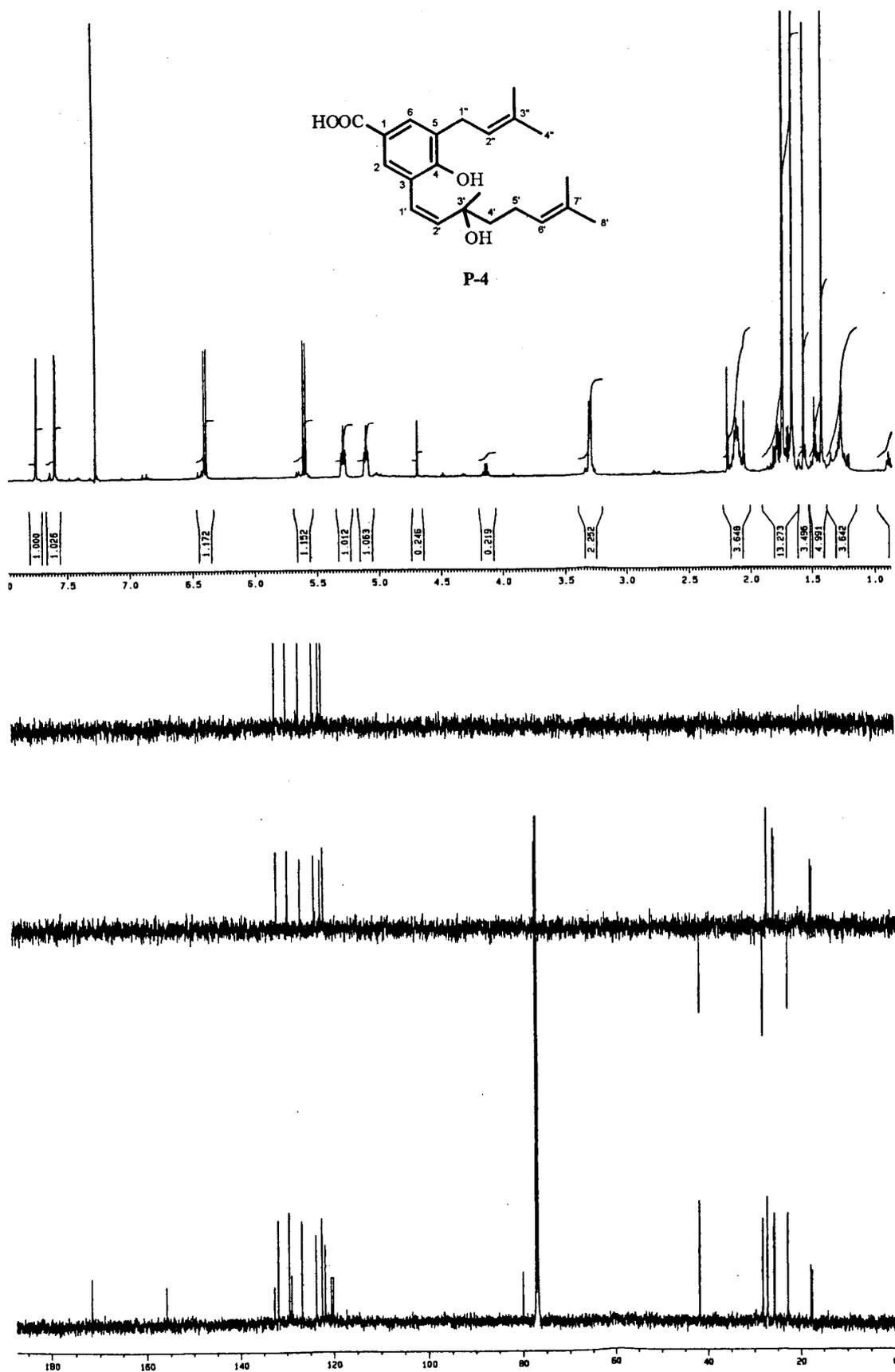
²³ Dewick, P.M. *Medicinal Natural Products. A Biosynthetic Approach*. John Wiley and Sons, England 1997.

El producto que hemos denominado **P-3** presentó una fórmula molecular $C_{18}H_{24}O_3$ en su espectro de masas de alta resolución. En su espectro de IR muestra bandas para un ácido carboxílico (1680 y $3500-2800\text{ cm}^{-1}$). En su espectro RMN ^1H mostró señales para tres metilos como singuletes a 1.60 , 1.67 y $1.71\ \delta$, que por su desplazamiento nos indicaron eran metilos sobre doble enlace; dos multipletes a 2.06 y $2.11\ \delta$ que integran para dos protones cada uno de ellos, un doblete a $3.35\ \delta$ ($J=7.0\ \text{Hz}$) que integra para dos protones, señal para un metoxilo a $3.90\ \delta$, dos protones vinílicos como triplete cada uno de ellos a $5.12\ \delta$ ($J=6.6\ \text{Hz}$) y $5.32\ \delta$ ($J=7.0\ \text{Hz}$) y señales para tres protones aromáticos a $6.88\ \delta$ (1H , d, $J=8.6\ \text{Hz}$), $7.89\ \delta$ (1H , d, $J=1.7\ \text{Hz}$) y 7.97 (1H , dd, $J=1.7, 8.6\ \text{Hz}$). Todos estos datos fueron confirmados por RMN ^{13}C , el cual mostraba señales para 18 carbonos. El conjunto de estos datos y de un estudio cuidadoso de las constantes de acoplamiento, nos indicaron claramente que nuestro compuesto se trata de un derivado del ácido benzoico con un grupo metoxilo y una cadena carbonada monoterpénica derivada del geraniol. El estudio de los datos obtenidos de experimentos bidimensionales nos permitieron establecer la estructura de nuestro producto **P-3** como el ácido 3-(3,7-dimetil-octa-2*E*,6-dienil)-4-metoxi-benzoico.

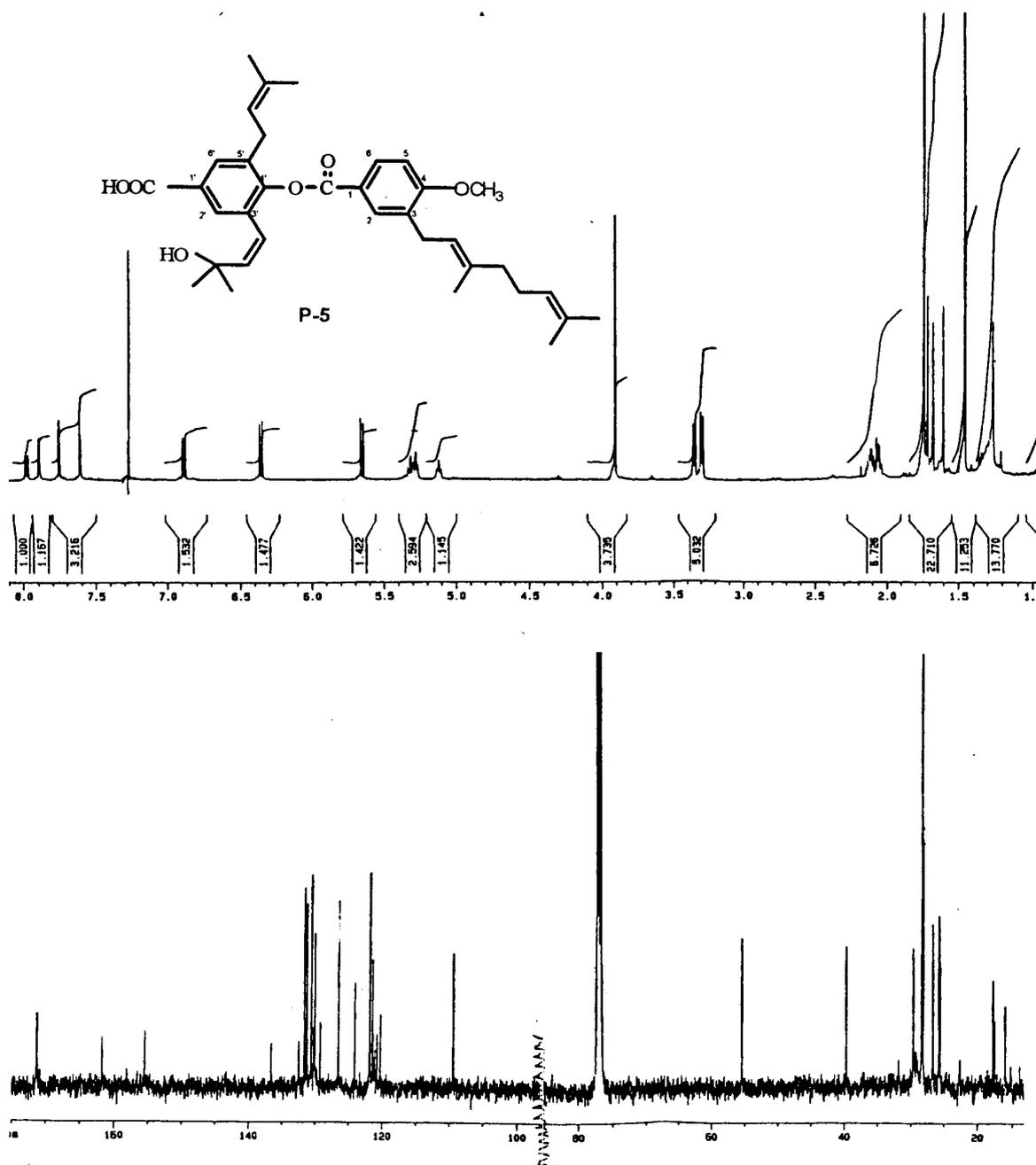




El producto descrito como **P-4** tiene una fórmula molecular de $C_{22}H_{30}O_4$, basándonos en su espectro de masas de alta resolución, RMN 1H y ^{13}C . En su espectro de IR se observan bandas para grupos hidroxilos ($3750, 3350-2000\text{ cm}^{-1}$) y para grupo carboxilo (1714 cm^{-1}). El espectro de protón muestra señales para cinco metilos como singletes, señales para dos multipletes a 1.78 y $2.12\ \delta$ que integran para dos protones cada uno, un doblete que integra para dos protones a $3.30\ \delta$, $J=7.0\text{ Hz}$; dos triplete que están a $5.10\ \delta$, $J=7.2\text{ Hz}$ y $5.29\ \delta$, $J=7.4\text{ Hz}$ que integran para un protón cada uno, dos protones vinílicos como dobletes a $5.60\ \delta$ y $6.39\ \delta$, $J=10.0\text{ Hz}$ y señales para dos protones aromáticos, ambos como doblete a 7.59 y $7.75\ \delta$ ($J=1.9\text{ Hz}$). Todos estos datos fueron confirmados mediante RMN ^{13}C y el conjunto de los mismos nos indicó que nuestro producto se trataba de un derivado del ácido benzoico que presenta un grupo hidroxilo y dos cadenas carbonadas sobre el anillo aromático. Un cuidadoso estudio de las constantes de acoplamiento y experimentos de doble resonancia (COSY, ROESY, HMQC y HMBC), nos permitieron determinar la sustitución de nuestro producto **P-4** y establecer su estructura como ácido 4-hidroxi-3-(3-hidroxi-3,7-dimetil-octa-1,6-dienil)-5-(3-metil-but-2-enil)-benzoico. Como se observa la cadena sobre C_3 corresponde a una unidad de hemiterpeno y la situada sobre C_5 a la del monoterpeno linalol. La estereoquímica en $C_{3'}$ de nuestro producto **P-4**, permanece en estudio.



El producto descrito como **P-5** posee una fórmula molecular de $C_{35}H_{44}O_6$, basándonos en su espectro de masas de alta resolución, RMN 1H y ^{13}C . En su espectro de RMN 1H se observan señales para cinco protones aromáticos entre 6.89–7.97 δ , señales para cinco protones vinílicos entre 5.12–6.36 δ , señal para un grupo metoxilo a 3.92 δ , así como dos dobletes a 3.35 δ ($J=7.3$ Hz) y 3.30 δ , $J=9.2$ Hz, dos multipletes a 2.06 δ y 2.11 δ que integran para dos protones cada uno y señales para siete metilos como singuletes a 1.46 (3H), 1.60 (3H), 1.63 (3H), 1.68 (3H), 1.70 (3H) y 1.73 δ (6H). Estos datos fueron confirmados mediante RMN ^{13}C , el cual mostró señales



para 35 átomos de carbono.

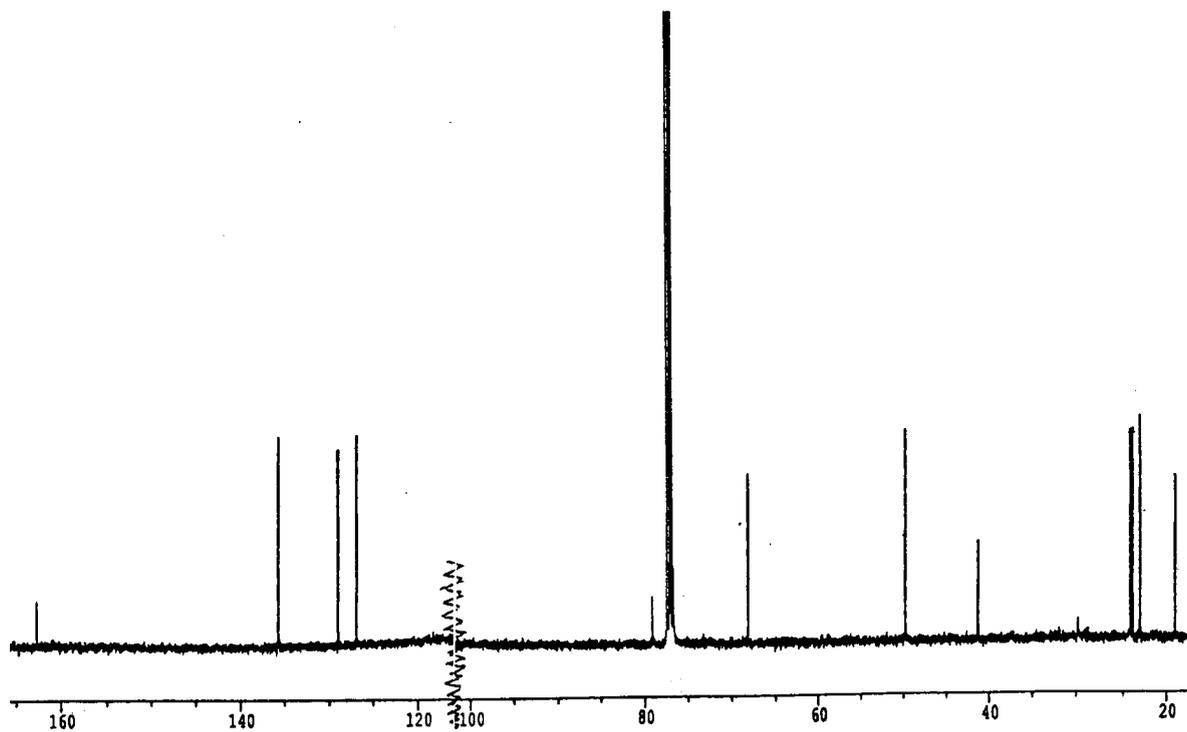
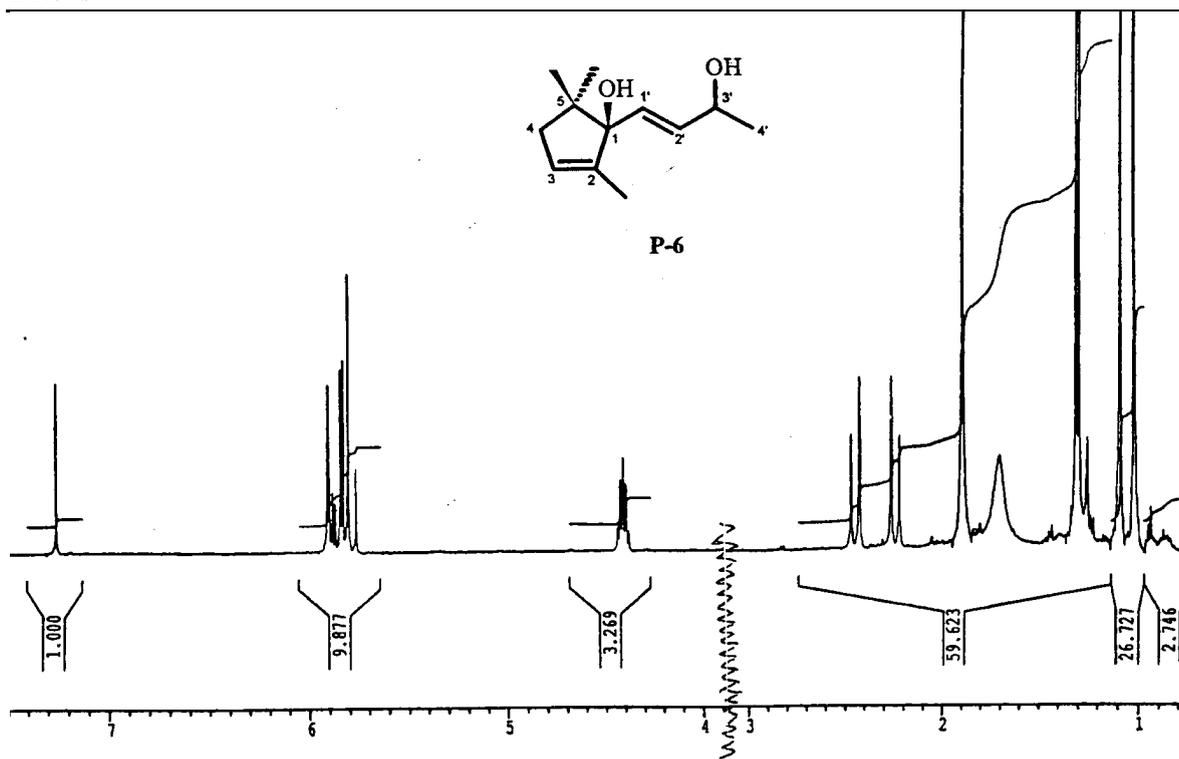
Un análisis cuidadoso de las constantes de acoplamiento y estudio de experimentos bidimensionales homonucleares nos indicaron que nuestro compuesto se trataba de un dímero formada por dos unidades de derivados del ácido benzoico, con una unidad tetrasustituída y la otra trisustituída. Los datos espectroscópicos de **P-5** resultaron estar muy relacionados con los de los productos **P-3** y **P-4**, lo que nos hizo pensar que nuestro dímero estaba formado por dos unidades, una correspondiente a **P-3** y otra correspondiente a **P-4**.

Al objeto de establecer la unión de las dos subunidades del dímero se realizaron experimentos bidimensionales (HMQC, HMBC y ROESY), cuyo estudio cuidadoso nos permitió fijar la estructura mostrada y para la que proponemos el nombre de **elongatina**. Su estructura fue confirmada cuando el producto se trató con anhídrido acético en piridina a temperatura ambiente, permaneciendo el compuesto inalterado; este dato, unido a la presencia de un grupo de hidroxilo en su espectro de infrarrojo, nos confirmó que la molécula posee un grupo hidroxilo terciario y que el punto de unión de las dos unidades es C-1 y C-4'. Al igual que en los compuestos anteriores la estereoquímica del doble enlace sobre la unidad hemiterpénica en C₃ resultó ser *2Z*, mientras que la cadena derivada del geraniol sobre C₃' es *2E*.

El producto que hemos denominado **P-6** presentó una fórmula molecular de C₁₂H₂₀O₂, basándonos en su espectro de masas de alta resolución, RMN ¹H y ¹³C. En su espectro IR se observaron señales para grupos hidroxilos. En su espectro de RMN ¹H se observaron señales para cuatro metilos, tres de ellos como singuletes a 1.01, 1.07 y 1.89 δ y uno como doblete a 1.29 δ, J=6.4 Hz, señales para un metileno como doblete AB a 2.24 y 2.44 δ (2H, J=17.0 Hz, H-4), señal para un alcohol secundario cuyo proton geminal resuena como multiplete a 4.40 δ y señales para tres protones vinílicos a 5.78 δ (1H, d, J=15.7 Hz), 5.85 δ (1H, J=Hz) y 5.90 δ (1H, m). Todos estos datos fueron confirmados mediante RMN ¹³C, donde se observaron señales para doce carbonos. Todos estos datos indicaron que nuestro compuesto posee un esqueleto monocíclico con dos dobles enlaces, uno disustituído y el otro trisustituído, un alcohol primario y un alcohol secundario.

Un estudio minucioso de sus datos espectroscópicos de experimentos bidimensionales (COSY, ROESY, HMQC y HMBC), nos permitieron establecer la estructura de nuestro producto **P-6** como la mostrada. La estereoquímica de los dos carbonos quirales que soportan los alcoholes secundario y terciario está en estudio. Este producto debe provenir de una

estructura sesquiterpénica previa tal como la mostrada como producto P-6 por pérdida oxidativa de un grupo isopropilo en la forma mostrada o por otro tipo de ruta.



Las leguminosae (Fabaceae) es una de las familias botánicas más amplia, después de las Compositae y Orchidaceae. El número de géneros de esta familia oscila entre 590-690, que comprende de 12.000-17.000 especies. Esta familia es además una de las más importantes desde un punto de vista económico, proporcionando un amplio rango de fuentes alimenticias y económicas, fundamentalmente de semillas, piensos y madera en las zonas templadas y tropicales del mundo (Tabla 1).

Tabla 1: Importancia económica de Leguminosas

Plantas alimenticias

Arachis hypogaea L.

Cajanus indicus Spreng.

Canavalia ensiformis (L.) DC.

Ceratonía siliqua L.

Cicer artetinum L.

Dolichos lablab L.

Glycine max (L.) Merr.

Lens culinaris Medicus

Phaseolus aureus Roxb.

Ph. coccineus L.

Ph. lunatus L.

Ph. vulgaris L.

Pisum sativum L.

Stizolobium deeringion Bort.

Vicia faba L.

Vigna unguiculata

Plantas forrageras

Anthyllis vulneraria L.

Lathyrus sativus L.

Lotus corniculatus L.

Lupinus luteus L.

Lespedeza striata Hook. & Arn.

Medicago sativa L.

Melilotus alba L.

Onobrychis viciifolia Scop.

Pisum arvense L.

Trifolium pratense L.

T. repens L.

T. subterraneum L.

Tetragonolobus purpureus Moench

Vicia sativa L.

Plantas usadas por su madera

Acacia melanoxylon R. Br

Albizia lebeck (L) Benth.

Dalbergia latifolia Roxb.

Pericopsis mooniana.

Gleditsia triacanthos L.

Hymenaea courbaril L.

Dalbergia nigra Fr. Allem.

Pterocarpus santalinus L.

Robinia pseudacacia L.

Sophora tetraptera Ait.

Plantas con colorantes y taninos

Acacia catechu Willd.

A. mearnsii De Wild.

A. dealbata Link.

A. pycnantha Benth.

Baphia nitida.

Genista tinctoria L.

Haematoxylon campechianum L.

Indigofera tinctoria L.

Plantas con gomas y resinas

Acacia senegal (L.) Willd.
Astragalus gummifer Labill.
Copaifera demeusi Harms.

Daniella ogea Rolfe.
Hymenaea courbaril L.
Myroxylon balsamum (L.)

Plantas con aceites y aromáticas

Acacia farnesiana (L.) Willd.
Arachis hypogaea L.
Dypterix odorata L.
Glycine max (L.) Merr.

Tamarindus indica L.
Trigonella foenum-graecum L.
Voandzeia subterranea (Aubl.) Willd.

Plantas medicinales

Cassia acutifolia
C. angustifolia
Coronilla emerus L.

Galega officinalis L.
Glycyrrhiza glabra L.
Ononis spinosa L.

Plantas insecticidas

Derris elliptica (Wall.) Thumb.
Lonchocarpus nicou Benth

Pachyrrhizus erosus Urban
Piscidia erythrina L.

Plantas ornamentales

Acacia dealbata Link.
Cercis siliquastrum L.
Colutea arborescens L.
Cytisus scoparius (L.) Link.
Erythrina crista-galli L.
Laburnum anagyroides Med.

Lathyrus odoratus L.
Lupinus polyphyllus Lindley
Mimosa pudica L.
Sophora japonica L.
Wisteria chinensis DC.

Las principales divisiones taxonómicas de esta familia, consideran tres familias separadas: Caesalpiniaceae, Mimosaceae y Fabaceae (Papilionaceae) o como subfamilias incluidas en una única familia: la Leguminosae (Fabaceae): Caesalpinioideae, Mimosoideae y Lotoideae (Papilionoideae, Faboideae y Papilionatae). Las Swartzioideae, es reconocido como una cuarta subfamilia¹.

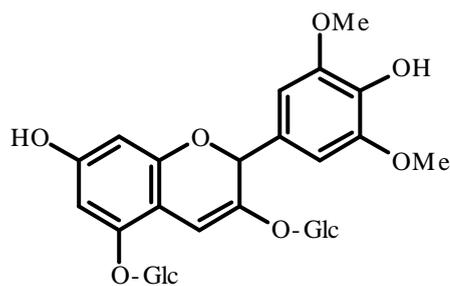
En cuanto a los metabolitos encontrados en especies de esta familia, es particularmente rica en flavonoides. No sólo se han encontrado un gran número de flavonoides con estructuras poco

¹ Harbone, J.B., Boulter, D., and Turner, B.L. (Editores). *Chemotaxonomy of the Leguminosae*, 1971, Academic Press Inc., London.

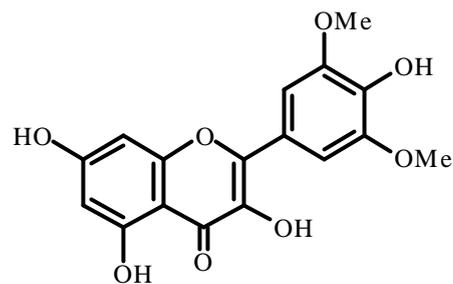
usuales, sino que prácticamente todas las clases de flavonoides se encuentran presentes en esta familia. Un hecho especial de las leguminosas es su habilidad para acumular series de sustancias estructuralmente y biosintéticamente interrelacionadas con diferentes grados de oxidación. Desde el punto de vista quimiotaxonómico, tal riqueza y complejidad en estructuras proporciona valiosos caracteres para clasificaciones sistemáticas.

En las leguminosas encontramos los siguientes tipos de flavonoides: antocianinas (ej. : malvina); flavonoles y flavonasas, siendo particularmente rica esta familia en flavonoles y flavonasas con grupos hidroxilos sustituidos bien por O-metilación, hidroxilos adicionales en el núcleo o ausencia de hidróxilo en posición S, (ej.: siringetina, mearnsetina). Otro grupo lo constituyen las chalconas (ej.: isoliquiritigenina) y auronas, éstas últimas formadas por oxidación y deshidratación enzimática a partir de las chalconas y con un único ejemplo en las Leguminosas: la 6,4'-dihidroxiaurona (hispidol).

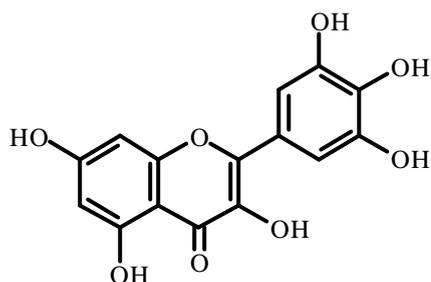
Las leucoantocianidinas son frecuentes en especies arbóreas, pero escasas o no existentes en las herbáceas (ej.: leucofisetinidin).



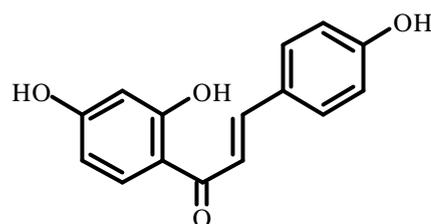
Malvina



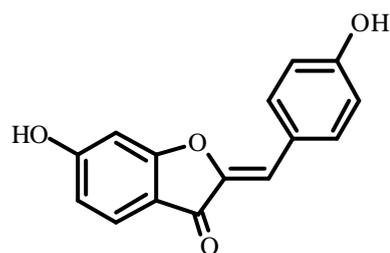
Siringetina



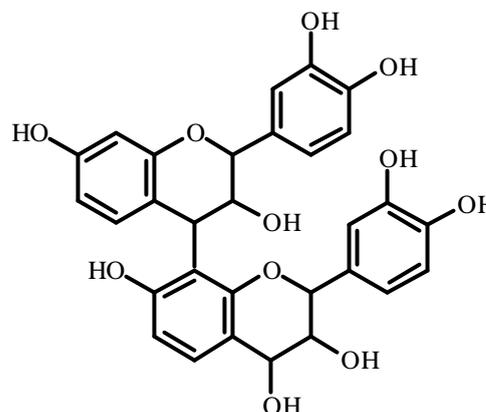
Miricetina



Isoliquiritigenina

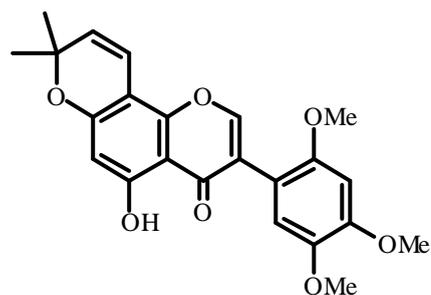


Hispidol

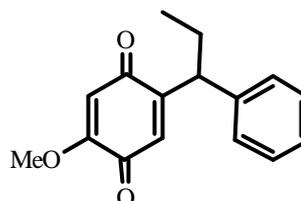


Dímero de leucofisetinidina

Los isoflavonoides son característicos de la subfamilia Lotoideae, mientras que no se encuentran en las otras dos subfamilias. Un ejemplo es el toxicarol, que presenta como característica un isopreno sobre C-8. Los neoflavonoides co-ocurren con los isoflavonas y a esta clase pertenecen quinonas tales como la 4-metoxi-dalbergiona.

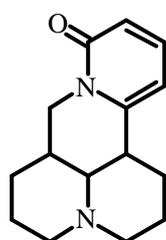


Toxicarol

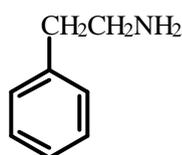


4-Metoxidalbergiona

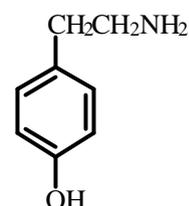
Otro grupo de sustancias encontradas en las Leguminosas son los alcaloides. Los alcaloides quinolidínicos (lupina) se encuentran restringidos a tribus de la subfamilia Lotoideae (ej.: sophoramina). Se encuentran cuatro tipos de alcaloides pirrolicidínicos distribuidos fundamentalmente en el género *Crotalaria*. Los alcaloides derivados de la fenilalanina (fenetilamina) y tirosina (tiramina), por el contrario se encuentran en muchos géneros pertenecientes a las tres subfamilias de Leguminosas. También contienen alcaloides derivados del triptofano (ej.: bufotenina); alcaloides del género *Erythrina*, con características estructurales poco usuales y una restringida distribución dentro de la familia, lo que los hace útiles sistemáticamente (ej.: erisopina); los alcaloides ammodendrina-histrina sólo se encuentran presentes en tres géneros (*Genista*, *Adenocarpus* y *Ammodendron*) (ej.: adenocarpina) y alcaloides de *Erythrophleum* (ej.: smirnovina) son de interés taxonómico.



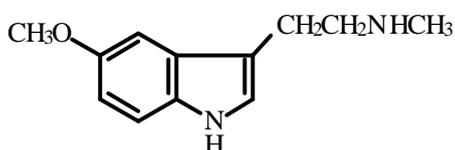
Sophoramina



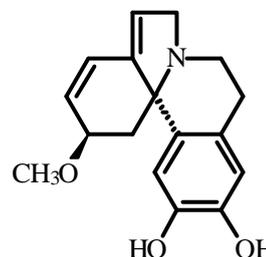
Fenetilamina



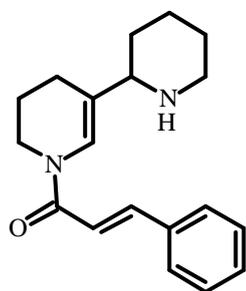
Tiramina



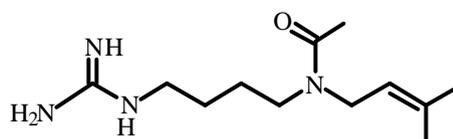
Bufotenina



Erisopina



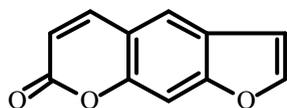
Adenocarpina



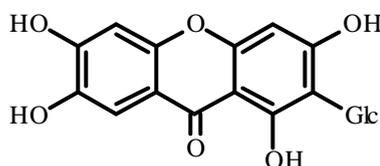
Smirnovina

Otro grupo de metabolitos secundarios presentes en esta familia son las furanocumarinas (ej.: psoraleno), de interés sistemático ya que sugiere una posible conexión con las Rutaceae y la

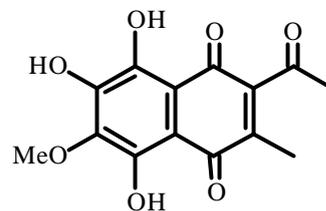
Umbelliferae, las dos únicas familias ricas en esta clase de metabolitos; xantonas (ej.: mangiferina). Las quinonas son poco frecuentes en esta familia y son características del género *Cassia* (ej.: cordeauxiona).



Psoraleno

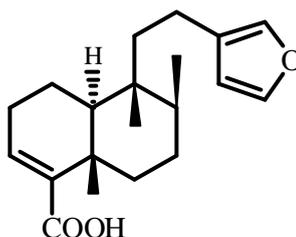


Mangiferina



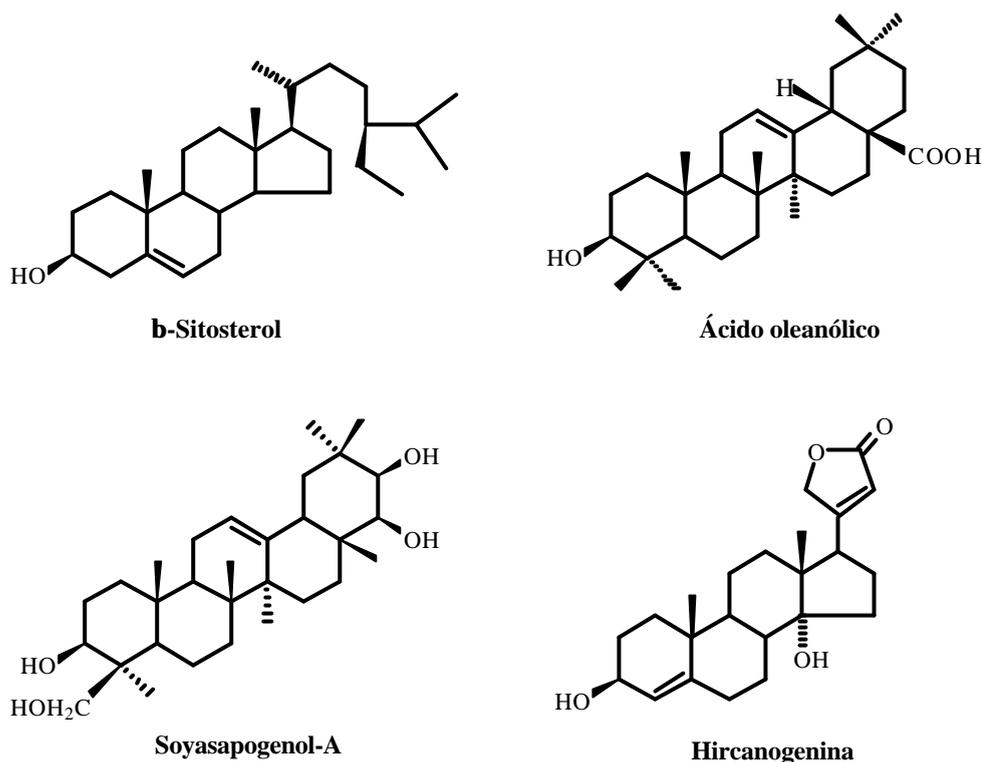
Cordeauxiona

Los diterpenos aislados se encuentran fundamentalmente en la tribu Amherstieae, la mayoría de las cuales poseen un esqueleto de 10α -metil-labdano, aunque diterpenos con la configuración más frecuente (eperuano) también se han aislado como es el caso del ácido (+)-hardwickico aislado de *Copaifera officinalis*.



Ácido (+)-hardwickico

En cuanto al contenido en triterpenoides en las Leguminosas, se encuentran esteroides (ej.: β -sitosterol), triterpenos pentacíclicos (ej.: ácido oleanólico), saponinas y sapogeninas (ej.: soyasapogenol), así como glucósidos cardiotónicos (ej.: hircanogenina). En general las estructuras de estos compuestos se han estudiado por sus propiedades farmacológicas.



Las especies pertenecientes al género *Copaifera* son árboles, arbustos o sub-arbustos; hojas alternas, pari- o imparipinnadas; varios folíolos, opuestos o alternos, en general pelúcido-punteado; estípulas pequeñas, muy caducas; estipelas ausentes; inflorescencias racemosas o paniculadas; brácteas en general pequeñas y caducas; 2 bractéolas, caducas; flores pequeñas; sépalos desiguales, subvalvados; pétalos ausentes; 10-8 estambres, libres, largos y cortos; anteras dorsifijas; ovario sésil o estipitado; de 2-7 óvulos, superpuestos; estilo filiforme, estigma terminal; frutos más o menos estipitados, suborbiculares u oblicuamente elípticos, comprimidos o más o menos dilatados, dehiscentes por dos valvas; 1 semilla, raramente 2, desnuda o más o menos arilada; cotiledones planos².

Este género comprende 30 especies tropical americanas y africanas (4 africanas). *C. officinalis* es una fuente de resinas duras y oleoresinas (“copal”) usadas en la industria maderera (“iron wood”: árbol de hierro) de América Tropical. El bálsamo de copaiba se obtiene por incisión de los troncos de *C. officinalis* o a partir de otras especies tales como *C. multifuga* Hayne de Brasil (“Cubaphyba oil”). Otra especie de *Copaifera*, *C. salikonada* Heckel (Africa Occidental) proporciona un barniz conocido como “bubinga”³.

² Hutchinson J *The Genera of Flowering Plants (Angiospermae)*, 1, 253 **1967**, Oxford at the Clarendon Press.

³ Mabberley, D. J. *The Plant Book*, 144. **1987**. Cambridge University Press.

El denominado aceite de copaiba es una mezcla de oleoresinas que se obtiene de especies del género *Copaifera* perteneciente a la familia Leguminosae (Caesalpinaceae) y habitan en zonas tropicales y neotropicales del mundo.⁴ *Copaifera* es un género anfiatlántico con cuatro especies en el bosque húmedo del oeste africano y veinte viven en ecosistemas de los neotrópicos.⁵ Estos aceites (oleoresinas) se consiguen comercialmente en las zonas tropicales y presentan una característica poco usual, ya que su producción no altera el medio ambiente; por el contrario forma parte de un ciclo de vida y sin lugar a duda es uno de los recursos más fascinantes para el futuro, bien como fuente de energía, como material de partida en síntesis orgánica como sintones quirales y un largo etcétera que se encuentra en desarrollo en este final de milenio.

Los usos del aceite son muy variados, prácticamente todas las etnias que habitan en las zonas tropicales hacen uso extensivo del aceite de *Copaiba*. Así, existe información de sus propiedades como antiséptico, expectorante, diurético y antimicrobiano.^{6,7,8,9,10,11} Los habitantes de la Amazonía brasileña usan la oleoresina de *Copaifera langsdorfi* Desfon para el tratamiento de cáncer, úlceras cutáneas y digestivas, sífilis, bronquitis y diarrea. Un trabajo reciente ha demostrado que el aceite de esta especie posee una potente actividad antitumoral frente al carcinoma IMC en ratas, encontrándose como producto responsable de dicha actividad el diterpeno (-)-kolavenol.¹²

La industria cosmética hace uso de la oleoresina de *Copaiba*, en jabones y espuma de baño, por sus propiedades que le confieren una gran calidad. La perfumería también los usa fundamentalmente como fijador, siendo más apreciados los aceites ricos en cariofileno.^{13,14}

Muchos investigadores han apuntado que, dado que se trata de un recurso renovable y por tanto sin problemas ecológicos, su uso como fuente alternativa de energía, frente a los hidrocarburos derivados del petróleo que son una fuente no renovable en extinción, lo convierten en un recurso

⁴ Lawrence B.M., *Perf. Flauver*, **1980**, 5, 29.

⁵ Leonard, J.Mem. *Cl.Sci.Acad. R.Belgique*, **1957**, 30, 1.

⁶ París, R.R., Moyse, H., *Matiere Medicale*, **1981**, 2, 385 Masson París.

⁷ Basile, A.C., Sertie, J.A.A., Freitas, P.C.A., Zanini A.C., *J.Ethnopharmacol.*, **1988**, 22, 101.

⁸ Casamada, R.S., *Farmacognosia con Farmacodinámica*, **1968**, 554, Científica-Médica. Barcelona.

⁹ Guenther, E., *Essential Oils* **1952**, 5, 203.

¹⁰ Leung, A.Y., *Encyclopedia of Common Natural*, Ingredients used in Foods, Drugs and Cosmetics, **1980**, 47 Yohn Eiley and Sons, New York.

¹¹ Youngken, H.W., *Tratado de Farmacognosia*, **1951**, 556, De. Atlante México D.F.

¹² Ayumi Ohsaki, Ly tong Yan, Shigern Ito, Hajime Edatsugi, Daiji Imata, Yasuo Komoda. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, **1994**, 4, 2889-2892.

¹³ Del Nanzio, M., *J.Aerosol Cosmet.*, **1985**, 7, 41.

¹⁴ Bruneton, J., *Pharmacognosy, Phytochemistry Medicinal Plants*, **1995**, 468, De Lavoisier París.

fascinante de cara al próximo milenio, lo que han demostrado utilizando el aceite de *Copaiba* como carburante en motores diesel y de otros tipos.^{15,16,17}

Se conocen otras muchas propiedades útiles de este fascinante y aún no totalmente estudiado aceite, pues también presenta propiedades como conservante natural, basado en su carácter antiséptico y antimicrobiano, existiendo una patente francesa de esta aplicación¹⁸. Por otro lado, se han estudiado los efectos inhibitorios de las oleoresinas sobre las infecciones asociadas al hongo fitopatógeno *Pestalotia subenticularis*¹⁹.

En estudios realizados por investigadores brasileños y norteamericanos se ha analizado la composición de las oleoresinas y su variación con la intensidad luminosa²⁰ y el desarrollo de las hojas de estos árboles en relación con la composición del aceite y la presencia de microlepidópteros herbívoros^{21,22}.

Del aceite de *Copaiba* se han aislado los siguientes diterpenos: kolavenol, ácido hardwickico, *cis*-kolavenol, ent-neo-4-(18),13-clerodadien-15-ol, ácido copálico, 6,8-(17),13-labdadien-15-ol¹¹, (+)-7 α -acetoxibacchaticuneatina D, (-)-3 β -hidroxi-15,16-dinorlabda-8(17)-eno-13-ona²³, ácido-7 α -acetoxihardwickico²⁴, ácido copaiferólico, ácido-11-hidroxi-labda-8(20),13-dien-15-oico²⁵, ácido-poliáltico, ácido kaur-16-en-19-oico, ácido 1,6- β -kauran-19-oico, ácido eperu-8(17)-en-15,18-dioco²⁶. Por otro lado, se han aislado los sesquiterpenos: α -cubebeno, α -copaeno, cipereno, β -copaeno, cariofileno, β -humuleno, γ -muroleno, α -selineno, β -selineno, γ -cadineno, δ -cadineno^{18,19}; así como el poco usual imino ácido N-metil-*trans*-4-hidroxi-L-pirolina²⁷.

¹⁵ González, S.G., *Rev. Ion*, **1983**, 7(2), 141.

¹⁶ Stachenko, E., Wiane, H., Dassy., S., Martínez, J.T., Chibamoto, T., *J. High. Res. Chromatogr.*, **1995**, 18(1), 54.

¹⁷ Calvin, M., *Science*, **1983**, 219, 24.

¹⁸ Courmontagne, A. French Patent 92-07, 939.

¹⁹ Langenheim, J.H., Susanne, P.A., Nascimento, J.C., *Biochemistry System Ecology*, **1981**, 9, 27-37.

²⁰ Susanne, P.A., Langenheim, J.H. *Biochemistry System Ecology*, **1983**, 11, 361-366.

²¹ Langenheim, J.H., Niacedo, C.A., Ross, M.K., Stubblebine, W.H. *Biochemistry System Ecology*, **1986**, 14, 51-59.

²² Langeheim, J.H., Cowis, C.L., Macedo, C.A., Stubblebine, W.H. *Biochemistry System Ecology*, **1986**, 14, 41-49.

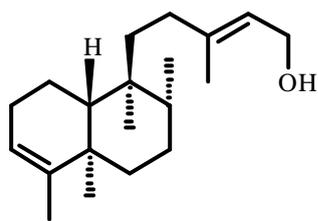
²³ Monti, H., Tiliacos, N., Faure, R. *Phytochemistry*, **1996**, 42, 1653-1656.

²⁴ Spanerello, R.A., Vila, A.J. *Phytochemistry*, **1994**, 35, 537-538.

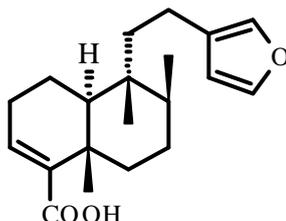
²⁵ Delle Monache, F., D'Albuquerque, I.L., Delle Monache, G., Marini Bettolo, G.B. *Amadi di Chimica*, **1970**, 60, 233-245.

²⁶ Ferrari, M., Pagnoni, M.M., Pelizzoni, F., Lukes, V., Ferrari, G. *Phytochemistry*, **1971**, 10, 905-907.

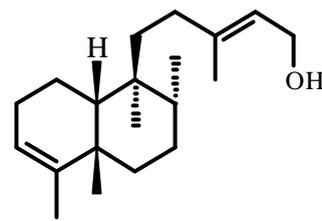
²⁷ Figlinolo, R., Naylor, S., Wang, J., Langeheim, J.H. *Phytochemistry*, **1987**, 26, 3255-3259.



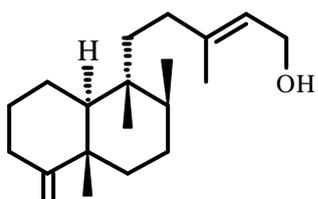
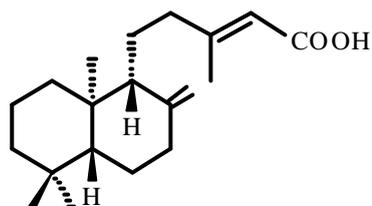
(-) Kolavenol



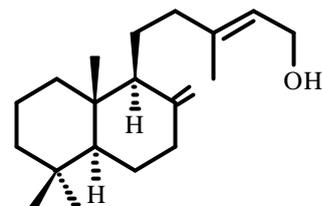
(+) Ácido hardwickico



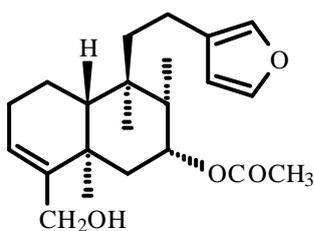
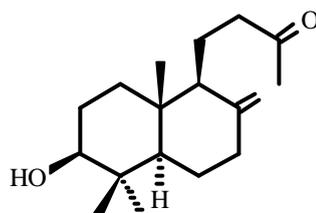
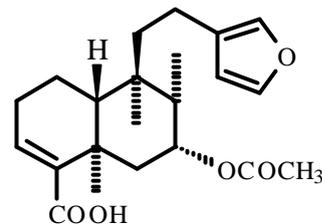
cis-Kolavenol

ent-neo-4-(18),13-
Clerodadien-15ol

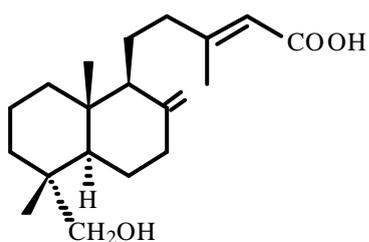
(-) Ácido copálico



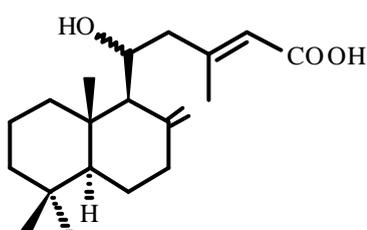
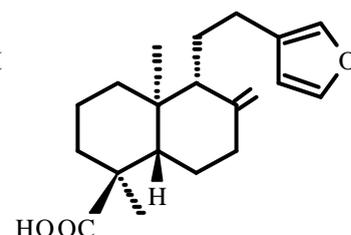
8-(17),13-Labdadien-15-ol

(+) 7 a-Acetoxi-
bacchotricuneatina(-)-3 b-Hidroxi-15, 16-dinor-
labda-8 (17)-en-13-ona

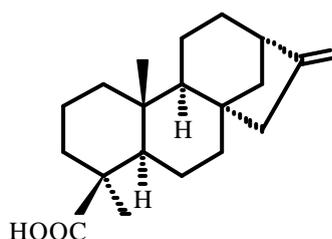
Ácido 7 a-acetoxihardwickico



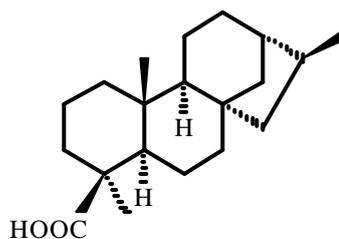
Ácido copaiferólico

Ácido 11-hidroxi-labda-8-
(20)-13-dien-15-oico

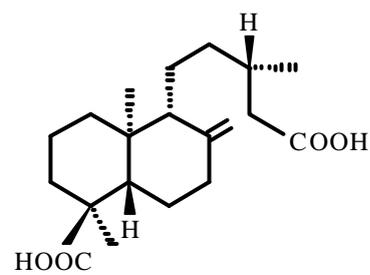
Ácido poliáltico

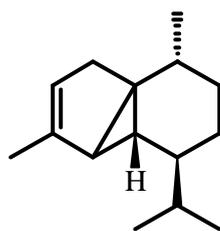
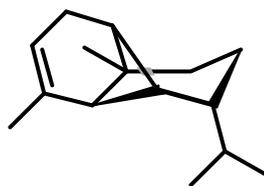
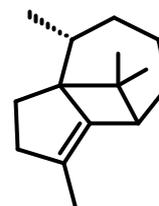
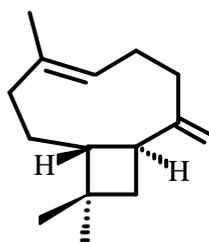
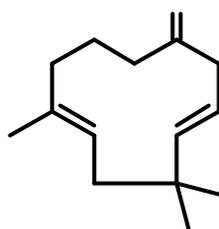
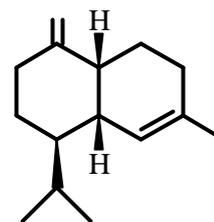
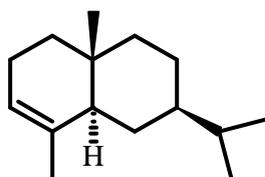
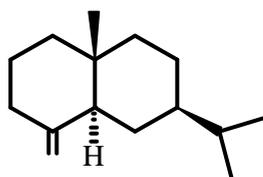
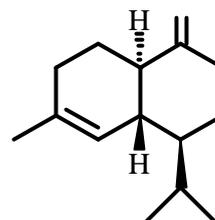
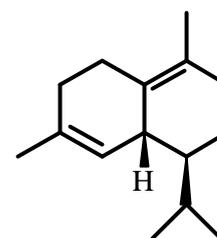


Ácido kaur-16-en-19-oico



Ácido kauran-16 b-19-oico

Ácido eperu-8(17)-
en-15,18-dioico

**a-Cubebeno****a-Copaeno****b-Cipereno****b-Cariofileno****b-Humuleno****a-Muroleno****a-Selineno****b-Selineno****g-Cadineno****d-Cadineno**

Este tipo de oleoresinas resulta realmente útil por su alto contenido en diterpenos y así el denominado “Brasil Copal” es utilizado como prolífero productor de diterpenos usados como sintones quirales en síntesis^{28,29,30}.

²⁸ Nakano T., Djerassi C. *J. Org. Chem.*, **1961**, 26, 167.

²⁹ González Sierra M., Kaufman T., Ruveda E.A. *J Chem Soc. Chem. Comm.*, **1986**, 418.

Descripción Botánica de *Copaifera paupera* (Herzog) Dwyer

La especie de *Copaifera paupera* (Herzog) Dwyer, es un árbol grande de 30 a 35 metros de alto, de Selva Baja y Bosque de Galería, balsamífero, con olor fuerte desagradable. Hojas compuestas pinnadas de foliolos alternos, glabras, subcordadas y pequeñas, verde negruzcas al secar; con nerviaciones reticuladas, intrincadas en el haz y el envés, con estípulas pequeñas y caducas. Flores blancas, pequeñas, sésiles, fraganciosas dispuestas en panículas terminales, con espigas no ramosas en ramas laterales; sépalos cuatro, unidos en la base, imbricados o subvalvados, sin pétalos; androceo de diez estambres libres con anteras versátiles; ovario hirsuto, brevemente estípitado, el estilo filiforme encorvado con estigma truncado o capitado. Fruto en vainas grabras subsésiles, pequeñas, usualmente con una sola semilla oscura con arilo amarillo.naranja. Proporcionan aceite y resina para uso industrial y farmacéutico.

Posición Sistemática:

División	Magnoliophyta (=Angiospermas)
Clase	Magnoliopsida (=Dicotiledóneas)
Subclase	Rosidae
Orden	Fabales
Familia	Caesalpiniaceae
Género	<i>Copaifera</i>
Especie	<i>Copaifera paupera</i>
Nombre científico	<i>Copaifera paupera</i> (Herzog)Dwyer
Nombre común	“Copaiba”, “Copaifera”.

El aceite de *Copaiba* fue obtenido de los árboles de *C. paupera* en el Departamento de Madre de Dios, Provincia de Tambopata, unión de los ríos Latorre y Tambopata (Perú), en el mes de mayo de 1987. La especie se encuentra depositada en el Herbario Vargas de la Facultad de Biología de la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco con la asignación: “CUZ” 026527, Al Gentry & N. Jaramillo (57626).

³⁰ Mischne M.P., González Sierra M., Ruveda E.A., *J.Org.Chem.*, 1984, 49, 2035.

A la búsqueda de productos responsables de la actividad antileishmania del aceite de *Copaifera paupera*, hemos realizado sucesivas cromatografías sobre Sephadex y gel de sílice, tal como se indica en la parte experimental de esta Memoria. Se aislaron así los sesquiterpenos β -bisaboleno³¹ y óxido de cariofileno³²; ocho diterpenos con esqueleto de labdano^{33,34,35,36,37,38} y dos diterpenos con esqueleto de kaureno^{39,40}, todos ellos anteriormente descritos en la bibliografía.

³¹ Gupta, M.P., Arias, T.D., Williams, N.H., Bos, R. And Tattje, D.H.E., *Journal of Natural Products*, **1985**, 48, 330

³² Galal, E.E., Olama, H.Y., Kandil, A. and Girgis, A.N., *J. Drugs. Res.*, **1979**, 11, 9. Egypt.

³³ Nakano, T. and Djerassi, C., *Journal Organic chemistry*, 1961, 26, 167.

³⁴ Hugel, G., Oehlschlager, A.C. and Ourrisson, G., *Tetrahedron*, **1966**, Suppl. 8, Part I, 203.

³⁵ Carman, R.M. and Marty, R.A., *Aust. Journal Chemistry.*, **1966**, 12, 2403.

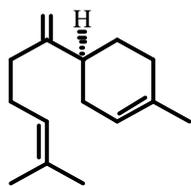
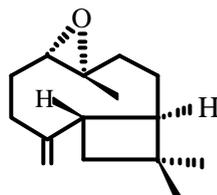
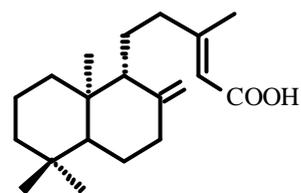
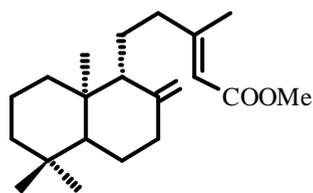
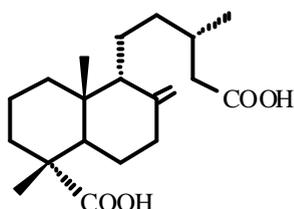
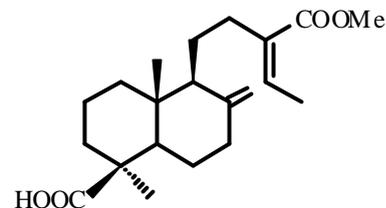
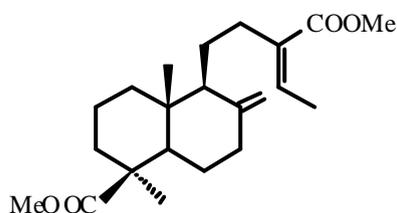
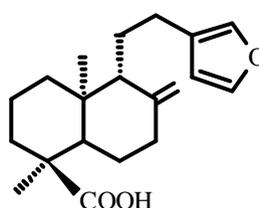
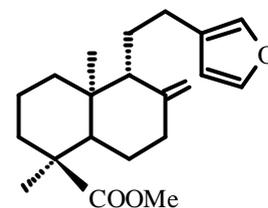
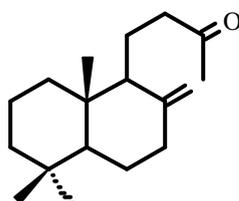
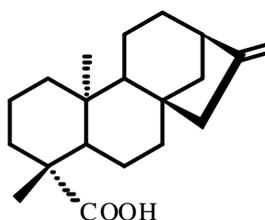
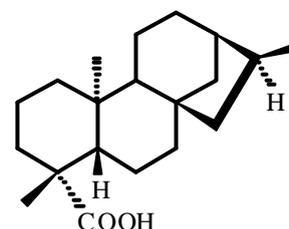
³⁶ Caputo, R. And Mangoni, L., *Phytochemistry*, **1974**, 13, 467.

³⁷ Gopinath, K.W., Govindachari, T.R., Parthasrthi, P.C. and Viswanathan, N., *Helvética Chimica Acta*, **1961**, 44, 1040.

³⁸ Cambie, R.C., Grant, P.K., Huntrakul, C. and Weston, R.J., *Aust. Journal Chemistry*, **1969**, 22, 1691.

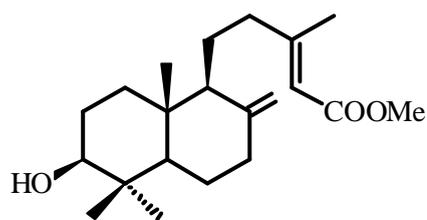
³⁹ Bohlmann, F. and Jakupovic, J., *Phytochemistry*, **1978**, 17, 1677.

⁴⁰ Ferrari, M., Pagnoni, U.M. and Pelizzoni, L.A., *Phytochemistry*, **1971**, 10, 905-907.

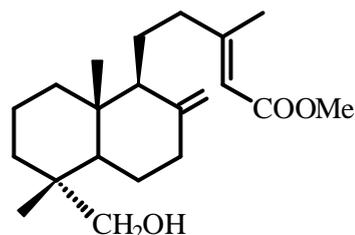
 **β -Bisaboleno****Óxido de cariofileno****Ácido copálico****Metiléster del
(-)-ácido copálico****Ácido (-)-pinifólico****Metiléster del ácido
(+)-agático****Dimetil éster del
ácido (+)-agático****Ácido (-)-poliáltico****Metiléster del ácido
(-)-poliáltico****(+)-14,15-Bisnorlabd-
8(17)-en-13-ona****Ácido (-)-kaurénico****Ácido 16 **b**-kauran-19-oico**

Por otro lado, se aislan cuatro metabolitos no descritos anteriormente, de los cuales dos presentan un esqueleto de labdano (**F-1**, **F-2**), un nuevo dímero (**F-3**) formado por dos subunidades diterpénicas al que hemos denominado **pauperol** y un nuevo farnesano monocíclico al que denominamos **F-4**.

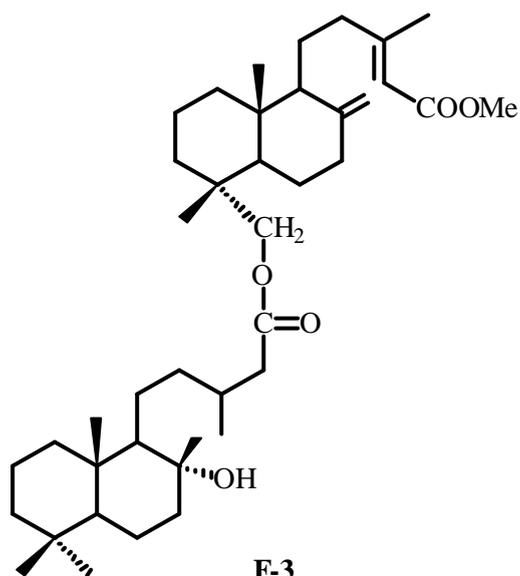
Algunos de estos compuestos fueron ensayados frente a promastigotes de *Leishmania braziliensis*, resultando ser activos el β -bisaboleno y el producto **F-2**.



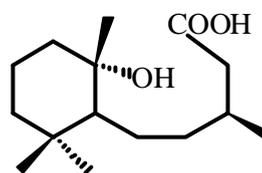
F-1



F-2



F-3



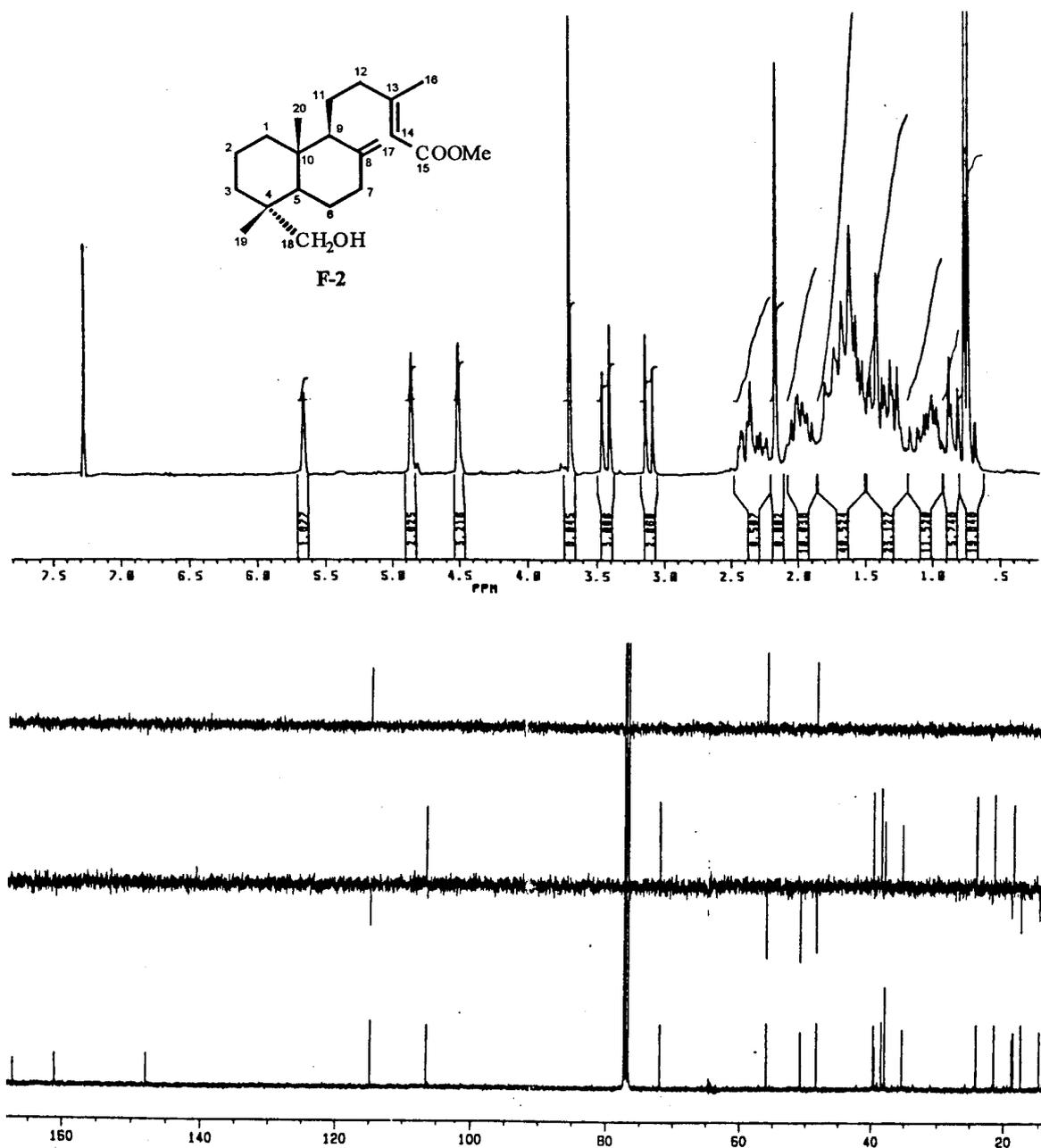
F-4

El producto que hemos denominado **F-1** posee una fórmula molecular $C_{21}H_{34}O_3$ fijada basándonos en datos de masas de alta resolución, RMN 1H y ^{13}C . En su espectro de RMN- 1H presenta señales de metilos como singletes a 0.69, 0.77, 0.99 y 2.16 δ , señal para un protón como doble doblete a 3.25 δ ($J=4.4$ Hz, 11.6 Hz), asignable a un alcohol secundario, un singlete para tres protones a 3.69 δ asignable a un grupo metoxilo y tres señales como singletes a 4.51, 4.86 y 5.64 δ correspondientes a protones vinílicos; datos que fueron confirmados por RMN ^{13}C . El conjunto de los datos espectroscópicos nos indicó que nuestro compuesto se trataba de un diterpeno con esqueleto tipo labdano. Un cuidadoso estudio de experimentos de doble resonancia (COSY, HMQC y HMBC) nos permitieron establecer la estructura de nuestro compuesto **F-1** como: metil éster del ácido 3-hidroxilabda-8(17),13-dien-15-oico, cuyos datos fueron totalmente superponibles con los de un producto sintético ya conocido⁴¹, pero que resultó ser nuevo como natural.

⁴¹ Braun, S. and Breitenbach, H., *Tetrahedron*, **1977**, 33, 145-150.

El producto descrito como **F-2** presenta una fórmula molecular de $C_{21}H_{34}O_3$, basado en sus datos de espectrometría de masas de alta resolución, RMN 1H y ^{13}C . Un estudio de sus datos espectroscópicos nos indicó que presentaba características muy parecidas al del producto que denominamos **F-1**, presentando como diferencia mas reseñable la presencia de un grupo hidroxilo primario y la desaparición del grupo hidroxilo secundario. Experimentos bidimensionales homo y heteronucleares nos permitieron establecer de forma inequívoca la estructura de nuestro compuesto como metil éster del ácido (-)- copaiferólico) cuyos datos fueron totalmente coincidentes a un producto de síntesis⁴², siendo nuevo como natural.

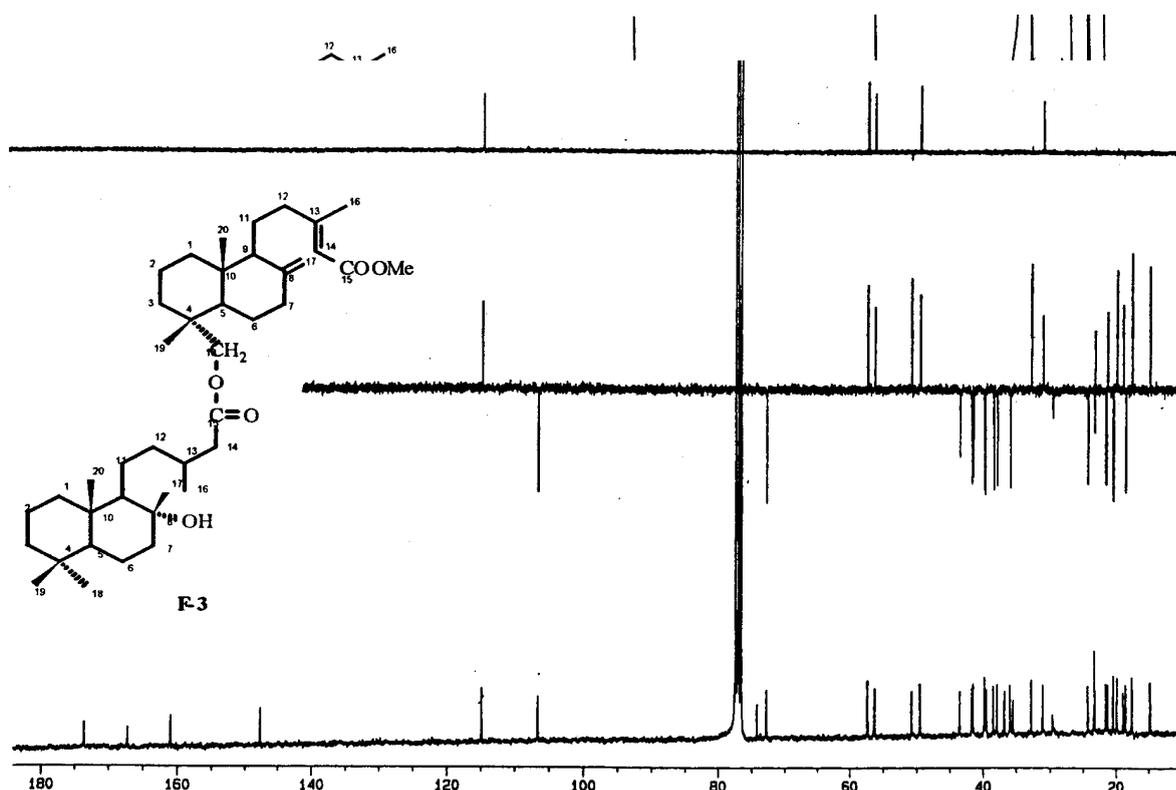
⁴² Zolero, C., Bohlman, F. and Niemeyer, H.M., *Phytochemistry*, **1990**, 29, 1, 326-329.



El producto **F-3** fue aislado como un sólido amorfo incoloro. En su espectro IR se observaron bandas correspondientes a hidroxilo (3500 cm^{-1}) y grupos éster (1750 y 1680 cm^{-1}). Su EM-FAB mostró un ión molecular a 596 m/z , lo que unido al estudio de su espectro de RMN ¹H y ¹³C nos permitió fijar la fórmula molecular $\text{C}_{40}\text{H}_{68}\text{O}_3$ para nuestro producto. En su espectro de RMN ¹H se observaron señales para siete metilos, uno de ellos sobre doble enlace a $2.10\text{ }\delta$, además de señales para un metoxilo a $3.62\text{ }\delta$. Destacan también las señales correspondientes a un agrupamiento hidroximetilénico constituidas por un doblete AB a 3.56 y $3.79\text{ }\delta$ ($J=11.0\text{ Hz}$); señales para dos protones metilénicos a 4.43 y $4.78\text{ }\delta$ como singuletes anchos y señal para un

protón vinílico a 5.58 δ como singulete. Todos estos datos fueron confirmados mediante RMN ^{13}C , el cual mostró señales para 41 carbonos. El conjunto de estos datos, nos llevaron a pensar que nos encontrábamos en presencia de un dímero diterpénico derivado del ácido copaiferólico y el ácido labdanólico.

Un estudio minucioso de experimentos bidimensionales homo (COSY y ROESY) y heteronucleares (HMQC y HMBC), nos permitieron establecer la configuración relativa y nos llevaron a pensar que la unión entre las dos subunidades estaría formada por un puente éster entre el carbono C_{17} de la unidad del derivado del ácido copaiferólico con el carbono carboxílico C_{15} de la subunidad del ácido labdanólico. Todos estos datos están de acuerdo con la estructura propuesta para nuestro producto **F-3**, el cual resultó ser nuevo en la bibliografía química y para el cual proponemos el nombre de **pauperol**.

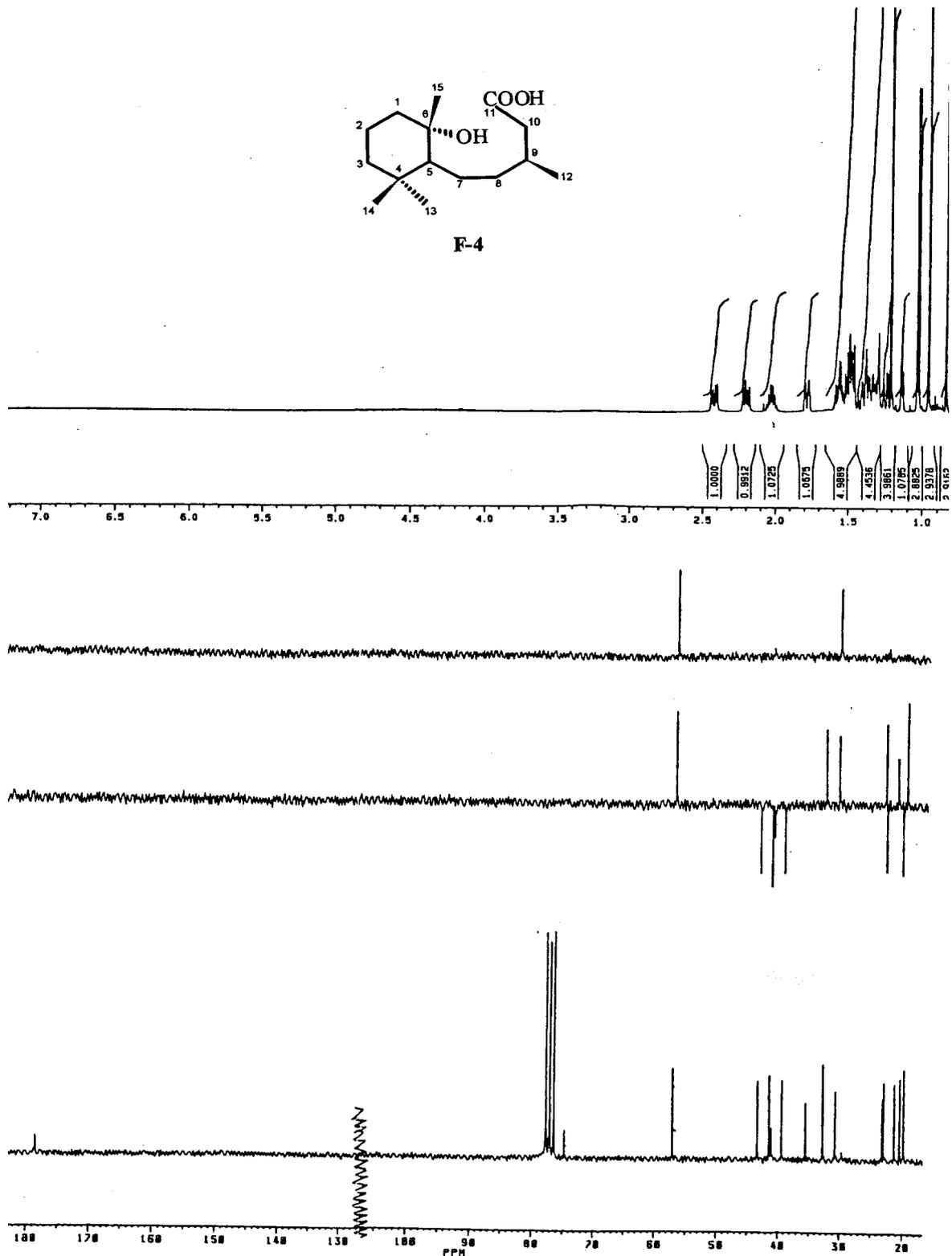


El producto **F-4** posee una fórmula molecular $\text{C}_{15}\text{H}_{28}\text{O}_3$, calculado a partir de su espectro de masas de alta resolución, RMN ^1H y ^{13}C . En su espectro de IR mostró bandas para grupo hidroxilo (3410 cm^{-1}) y grupo ácido (1710 cm^{-1}). Su espectro de RMN ^1H mostró señales para cuatro metilos, tres como singuletes a 0.84, 0.96 y 1.21 δ y uno como doblete a 1.03 δ ($J=6.7\text{ Hz}$), lo que fue confirmado mediante RMN ^{13}C , observándose señales para cuatro cuartetos a 19.8,

21.3, 23.2 y 32.8 δ ; además se observó señal para un ácido carboxílico a 178.5 δ . La presencia de un alcohol terciario fue confirmada cuando el producto **F-4** fue tratado con anhídrido acético en piridina a temperatura ambiente, ya que el compuesto permanece inalterado.

El conjunto de estos datos nos indicó que nuestro producto se trata de un sesquiterpeno monocíclico con esqueleto de ciclofarnesano, que presenta cuatro metilos, un alcohol terciario y un ácido carboxílico. Experimentos bidimensionales, homo y heteronucleares, nos permitieron establecer la estructura de nuestro compuesto como el ácido 3-metil-5-(2,2,6-trimetil-6-hidroxi-1-ciclohexil)-pentanoico. Cuando nos encontrábamos en proceso de redacción de esta Memoria, llegó hasta nosotros una publicación del Profesor Pinto⁴³ sobre *Copaifera cearensis*, en la que da cuenta de un producto cuyos datos espectroscópicos coinciden con los de nuestro producto; pero no dan la configuración absoluta y tampoco aportan la actividad óptica del compuesto. Nos encontramos en vías de determinar la configuración absoluta de este compuesto y para ello nos hemos puesto en contacto con el Profesor anteriormente citado.

⁴³ Braga, F.W., Rezende, C.M., Antunes, O.A.C. and Pinto, A.C., *Phytochemistry*, **1998**, 49, 1, 263-264.



La familia Celastraceae comúnmente conocida como familia agridulce, son plantas leñosas de hojas en general caducas. Un carácter general es el de poseer flores pequeñas poco llamativas, hermafroditas, actinomorfas y unisexuales por aborto; cáliz y corola tetrámeras o pentámeras; ovario de 4 a 5 compartimentos, en cada uno con 1 ó 2 rudimentos seminales generalmente ortótropos; fruto en cápsulas o bayas; semillas rodeadas por lo común de un tejido carnoso, tal vez procedente del tegumento.

Esta familia consta de 55 géneros y 850 especies distribuidas pantrópicamente, pero con un gran número de especies distribuidas en climas cálidos a cálido-templados. *Maytenus* (255 especies), *Eonymus* (200 especies), *Cassine* (40 especies) y *Celastrus* (30 especies) son los géneros más importantes^{1,2}. La familia Hippocrateaceae consta únicamente de dos géneros, *Salacia* (200 especies) e *Hippocratea* (100 especies) con especies extendidas en regiones tropicales.² La posición taxonómica de la familia Hippocrateaceae actualmente está en discusión; algunos taxonomistas combinan Hippocrateaceae con las Celastraceae mientras que otros sostienen que es una familia distinta de Celastraceae. Según Hegnauer la inclusión de Hippocrateaceae dentro de *Celastraceae* está justificado por la existencia de algunas semejanzas quimiotaxonómicas como: dulcitol, poliisopreno y triterpenoquinonas^{3,4}. Existe también un trabajo sobre las relaciones quimiotaxonómicas entre las familias Celastraceae y Lamiaceae⁵.

Las Celastraceas son árboles y arbustos, muchos de los cuales son trepadores (*Salacia*) o sarmentosos (*Hippocratea*). La clasificación botánica ha experimentado cambios debido a hibridación⁶, así el género *Maytenus* actualmente incluye las especies antiguamente incluidas en *Gymnosporia*. Similarmente, algunas especies de *Rhacoma* hoy en día son incluidas en el género *Crossopetalum* y ello ha dado como resultado que muchas especies tengan varios sinónimos. Dos especies endémicas de la Macaronesia, *Maytenus canariensis* (Loes) Kunt et Sund y *Maytenus umbellata* (R Br) Mabb fueron consideradas dentro del género *Catha* Forsk, mientras que hoy se

¹ Heywood, V.H. *Flowering Plants of the World*, Oxford University Press. **1993**. New York.

² Woodland, D. W. *Contemporary Plant Systematics*, Prentice-Hall. **1991**. New Jersey.

³ Robson, N. *Bot. Soc. Brot., Ser.* **1965**, 2 (39), 5.

⁴ Hegnauer, R. *Chemotaxonomie der Pflanzen*, Basel. **1966**. Birkhäuser.

⁵ Ravelo, A.G., Luis, J.G., González, C.M., Ferro, E.A., Bazzocchi, I.L., Jiménez, J., Herrera, J.R., Jiménez, I.A., Aguiar, Z.E. *Rev. Latinoam. Quim.* **1988**, 19, 72.

⁶ Brüning, R., Wagner, H. *Phytochemistry*. **1978**, 17, 1821.

sitúan en *Maytenus* Feuill, dejando *Catha* Forsk como un género de una única especie, es decir, *Catha edulis* (Vahl) Forsk. Existen evidencias quimiotaxonómicas que relacionan estas especies⁷.

Numerosas especies de la familia *Celastraceae* son conocidas por su uso en la medicina folklórica, o en la agricultura, en todo el mundo. Así por ejemplo, *Catha edulis* Forsk (Khat), es un arbusto de hoja perenne que crece a lo largo de la Costa este de Africa y de la península Arábiga. Las hojas y brotes “Khat” son masticadas por sus efectos estimulantes y ello constituye un evento social. Su consumo produce una sensación de bienestar y excitación, sin embargo presenta numerosos efectos secundarios como son insomnio y falta de concentración. El uso abusivo del “Khat”, crea grandes problemas de naturaleza social, salud y económicos⁸. Un importante paso en el estudio de los constituyentes de *Catha edulis* fue el aislamiento de (+)-norseudofedrina (catina) y durante décadas se pensó que éste alcaloide era el responsable de su actividad⁹. Posteriormente se identificó el α -aminopropiofenona ((-)-catinona) como responsable de la acción estimulante del “khat” con parecido químico a la anfetamina^{10,11}.

Otro ejemplo del uso de especies de *Celastraceae* en la cultura tradicional es *Tripterygium wilfordii*, conocida comúnmente en China como Ley Gong Teng. Las raíces molidas de esta especie se han usado en China durante siglos por sus propiedades insecticidas¹². Estudios llevados a cabo para identificar los principios activos de esta y otras especies con propiedades insecticidas, condujeron al aislamiento del alcaloide wilfordina y el triterpeno celastrol¹³.

En 1972, Kupchan y col. aislaron los nuevos diterpenoides triepoxídicos, triptolida, triptiolida y triptonida de las raíces de *T. wilfordii* con una potente actividad antileucémica¹⁴. Recientemente, extractos crudos y extractos refinados (GTW) se están usando en clínica para el tratamiento de la artritis reumatoide, espondolitis anquilosante y diversas afecciones dérmicas^{15,16,17}.

En diversas áreas de la Amazonia (Perú, Ecuador y Colombia) el polvo rojo de la corteza de una planta conocida como “chuchuhuasha” o “chuchuhuasi” es usada por los indígenas como

⁷ González, A.G., Bazzocchi, I.L., Ferro, E.A., Ravelo, A.G., Luis, J.G., Aguilar, M.A. *Biochem. System. Ecol.* **1986**, 14(5), 479.

⁸ Der Krikorian, A. *J. Ethnopharmacol.* **1984**, 12, 115.

⁹ Wolfes, O. *Archive der Pharmazi.* **1930**, 268, 81.

¹⁰ Ripani, L., Schiavone, S., Garofano, L. *Forensic. Sci. Int.* **1996**, 78(1), 39.

¹¹ Ahmed, M.B.; El-Qirbi, A.B. *J. Ethnopharmacol.* **1993**, 39, 213.

¹² Chou, T. Q., Mei, P.F. *J. Physiol.* **1936**, 10, 259.

¹³ Beroza, M. *J. Am. Chem. Soc.* **1953**, 75, 2136.

¹⁴ Kupchan, S.M., Court, W.A.; Dailey, J.R. R.G.; Gilmore, C.J.; Bryan, R.F. *J. Am. Chem. Soc.* **1972.**, 94, 7194.

¹⁵ Chou, W.C., Wu, C.C., Yang, P.C., Lee, Y.T. *Int. J. Cardiol.* **1995**, 49(2), 173.

¹⁶ Juling, G., Shixiang, I., Xichum, H., Shixi, X., Dada, L. *Chin. Med. J.* **1981**, 94, 405.

¹⁷ Xu, W., Zheng, J.; Lu, X., *Int. J. Dermatol.* **1985**, 24, 152.

tónico, para el tratamiento del reumatismo y como afrodisíaco. De forma tópica es usado incluso como antitumoral en el cáncer de piel y para combatir la soriasis¹⁸. Una amplia literatura ha surgido sobre chuchuhuasca y diversas especies del género de *Maytenus* han recibido este nombre (*M. chuchuhuasca*, *M. krukovii*, *M. colassi* y *M. laevis*¹⁹). El estudio de la corteza de estas especies ha demostrado poseer actividad anti-inflamatoria²⁰. Por otro lado *M. ilicifolia* es usada en la cultura Guaraní para el control de la natalidad^{21,22}.

Por otro lado, especies del género *Maytenus* han atraído la atención por sus propiedades antitumorales; así fenol dienas triterpénicas, aisladas de este género han resultado inhibir la síntesis de proteínas y la incorporación de uridina en ADN^{23,24}.

La gran actividad antitumoral de especies de *Maytenus* de Africa (*M. ovata*, *M. buchananii*) condujo al estudio del principio activo maytensina²⁵, compuesto relacionado con las ansamicinas, pero que ha resultado demasiado tóxico. La familia Celastraceae recobra su importancia en los años 70 cuando se aíslan estos maitansinoides con potente actividad antitumoral.

Desde entonces numerosos laboratorios han investigado esta familia, por su amplia distribución botánica, la naturaleza química y complejidad de sus metabolitos y fundamentalmente por las actividades farmacológicas de sus especies.

En el curso de estas investigaciones, se han caracterizado numerosos productos bioactivos. Así, sesquiterpenos poliesterificados (ej. celangulín y angulatina A) y alcaloides sesquiterpénicos (ej. orthosphenina y wilfordina) con propiedades antifeedant e insecticida y recientemente se han descrito propiedades inmunosupresoras y antitumorales para estos metabolitos. Los triepóxidos diterpénicos (ej. triptolida y maytenoquinona) con potente actividad antileucémica e inmunosupresora y triterpenoquinonas, llamadas también celastroloides²⁶ (ej. pristimerina y tingenona) con actividad citostática y antibiótica, se han aislado de especies de esta familia.

¹⁸ González, J.G., Delle Monache, G., Delle Monache, F., Marini-Bettolo, G.B. *J. Ethnopharmacol.* **1982.**, 5, 73.

¹⁹ Colas, R., *Les plantes amazoniennes designées sous le nom de "Chuchuhuasha"*. These Imprimerie André Lesot. **1937**. Paris.

²⁰ Olarte, J.C. *Contribución al estudio de la flora colombiana*, Seminario Latinoamericano de la Química de los Productos Naturales. **1976**, Bogotá.

²¹ Arenas, P., Moreno-Azorero, R. *Econ. Bot.* **1977**, 31, 298.

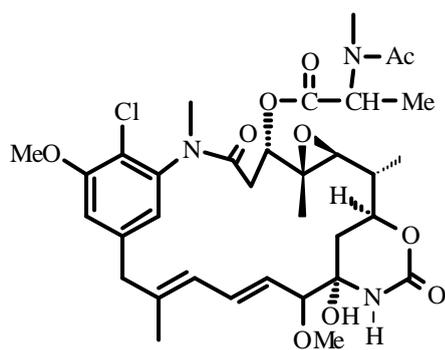
²² Schwartzman, J.B., Krimer, D.B., Moreno Azorero, R. *Revista de la Sociedad Científica del Paraguay.* **1976**, 16, 63.

²³ Melo, A.M., Jardim, M.L., De Santana, C.F., Lacet, Y., Lobo, J., Goncalves de Lima, O., Leoncio A'Albuquerque I. *Rev. Inst. Antibióticos (Recife).* **1974**, 14, 9.

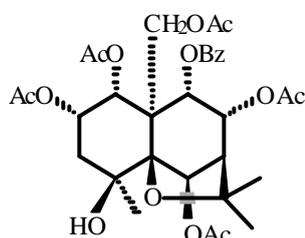
²⁴ Angeletti, P.V., Marini-Bettolo, G.B. *Il Farmaco*, **1974**, 29, 569.

²⁵ Kupchan, S.M., Komoda, Y., Court, W.A., Smith, R.M.; Karim, A., Gilmore, C.J., Haltiwanger, R.C., Bryan, R.F. *J. Am. Chem. Soc.* **1972**, 94(4), 1354.

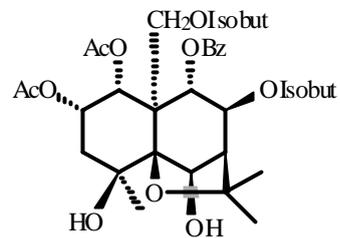
²⁶ Gunatilaka, A.A.L. *Progress in the Chemistry of Organic Natural Products.* **1996**. Springer-Verlag: New York.



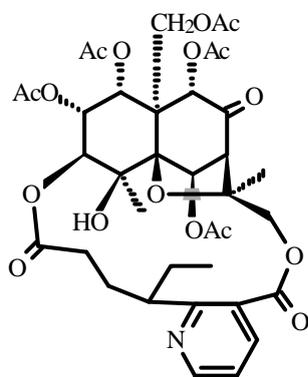
Maytensina



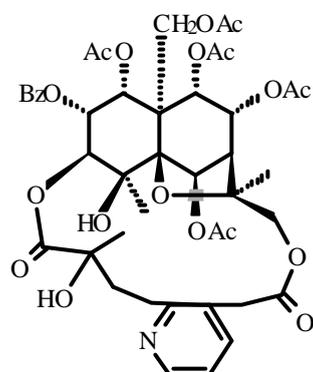
Celangulin



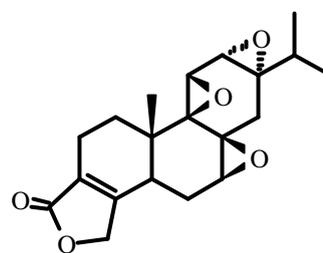
Angulatina A



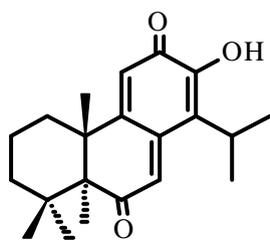
Orthosphenina



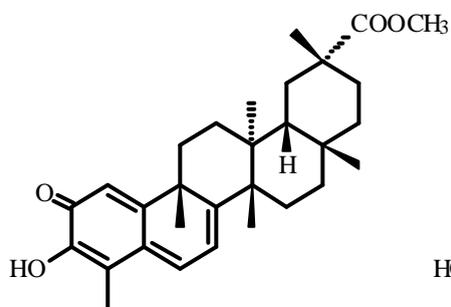
Wilfordina



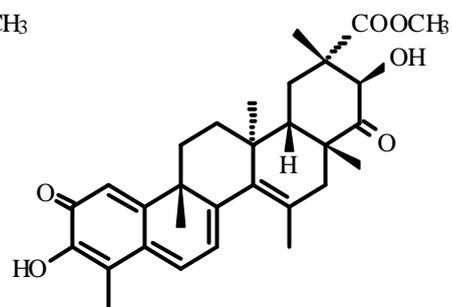
Triptolida



Maytenoquinona



Pristimerina



Netzahualcoyona

Descripción Botánica de *Maytenus cuzcoina* Loesener

El género *Maytenus* fue descrito en una obra prelinnea por Feuillée bajo el nombre de maitén basándose en la especie *Maytenus boaria*. Posteriormente fue Molina en 1782 quien descubrió esta especie, no obstante cometió algunos errores morfológicos lo que motivó que algunos botánicos confundieran su descripción ubicándola en otras familias o creando otros géneros. El género *Maytenus* presenta como caracteres taxonómicos: fruto capsular, dehiscente por 2-3 valvas; inflorescencia normalmente en las axilas de brácteas, en ramitas muy cortadas, generalmente aglomeradas. *Maytenus cuzcoina* Loesener, es un arbusto de ramas decumbentes propio de bosque seco espinoso en valles interandinos, en rangos altitudinales entre 2600 y 3300 m. Hojas enteras, alternas, dísticas, glabras o escasamente pubescentes con pelos simples cortos, de consistencia coriácea, con pecíolo decurrente y estípulas caducas. Inflorescencias en cimas paucifloras o a veces en fascículos terminales o axilares. Flores hermafroditas o unisexuales, actinomorfas, pequeñas, verde amarillentas sostenidas por pedúnculos cortos; sépalos de cuatro a cinco piezas imbricadas, unidos en la base y persistentes en el fruto; pétalos con cuatro o cinco piezas libres algo mayor que los sépalos, alternando con ellos; estambres alternipétalos, con anteras biloculares introrsas con dehiscencia longitudinal o poricida; ovario súpero con dos a cuatro lóculos y uno a dos óvulos de placentación axilar, estilo generalmente reflexas al abrirse; semilla uno, ariladas.

Posición Sistemática:

División	Espermatofita
Subdivisión	Magnoliofitina
Clase	Magnoliatae
Subclase	Rosidae
Superorden	Celastranae
Orden	Celastrales
Familia	Celastraceae
Género	<i>Maytenus</i>
Especie	<i>Maytenus cuzcoina</i>
Nombre científico	<i>Maytenus cuzcoina</i> Loesener

Nombre común Paltay-Paltay

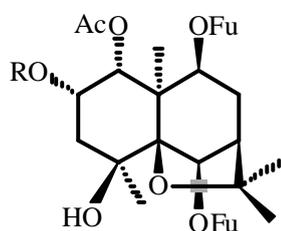
Maytenus cuzcoina, conocido con el nombre común de “paltay.paltay”, fue recolectado en diciembre de 1993 en la comunidad de Huayllabamba-Urquillos a 2970 m. de altitud: Provincia de Urubamba, Cusco (Perú). El espécimen se encuentra depositado como, “CUZ” 02765 A.T.1004(MO) en el Herbario Vargas del Departamento de Botánica de la Facultad de Biología de la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco.

Después de repetidas cromatografías del extracto n-hexano/éter etílico (1:1) de los frutos de *M. cuzcoina*, aislamos diez sesquiterpenos con esqueleto de dihidro- β -agarofurano, denominamos de **M-1** a **M-10**. De los sesquiterpenos aislados, ocho resultaron ser nuevos en la literatura química (**M-1**, **M-2**, **M-3**, **M-4**, **M-5**, **M-6**, **M-7** y **M-8**); mientras que, **M-9** y **M-10**, habían sido descritos anteriormente en la bibliografía; así, los datos espectroscópicos del compuesto **M-9** coincidieron con los de un producto, denominado eumaitenol, aislado de *Maytenus boaria* Mol¹, mientras que el sesquiterpeno macrocíclico **M-10** coincidió con el producto denominado euonimina, aislado de la especie *Euonymus sieboldiana*².

Los sesquiterpenos aislados con esqueleto de dihidro- β -agarofurano, los hemos agrupado para su estudio de acuerdo a la similitud de sus sistemas polihidroxílicos básicos; así, los productos que hemos denominado de **M-1** a **M-6**, presentan un esqueleto de 2 α ,4 β -dihidroxi-celorbicol; las estructuras de **M-7** y **M-8** corresponden a un esqueleto de 3-desoximaytol; **M-9** posee un esqueleto básico de 4 β -dihidroxi-celorbicol, mientras que el sesquiterpeno macrocíclico **M-10** resultó tener un esqueleto de isoeuoniminol.

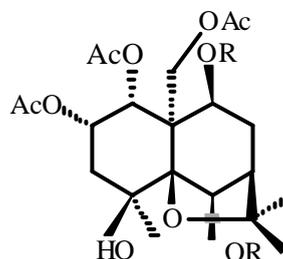
Esqueleto polihidroxílico base de:

2a, 4b-dihidroxi-celorbicol



M-1 R= Fu **M-4** R= Bz
M-2 R= Ac **M-5** R= Pr
M-3 R= H **M-6** R= MeBut

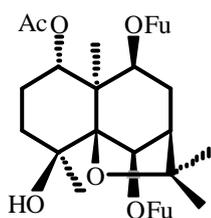
3-deoxi-maytol



M-7 R= Fu
M-8 R= Bz

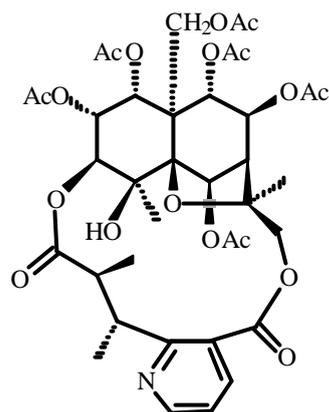
¹ Becerra J., Gaete L., González F., Silva M., Bohlman F. and Jakupovic J. *Nuevos eudesmanos aislados de semillas de Maytenus boaria* Mol. Libro de Resúmenes XVIII Congreso Latinoamericano de Química. 1988, Santiago, Chile.

Esqueleto polihidroxiado base de 4 b-dihidroxi-celorbicol



M-9 (Eumaitenol)

Esqueleto polihidroxiado base de isoeuoniminol



M-10 (Euonimina)

Tabla 1: RMN ¹H de los sesquiterpenos nuevos aislados de *Maytenus cuzcoina*.

	M-1	M-2 ^a	M-3	M-4 ^a	M-5	M-6 ^a	M-7	M-8
H-1	5.49 d (3.5)	5.39 d (3.5)	5.33 d (3.3)	5.53 d (3.6)	5.42 d (3.6)	5.43 d (3.6)	5.53 d (3.4)	5.63 d (3.4)
H-2	5.71 m	5.49 m	4.35 m	5.80 m	5.55 m	5.55 m	5.50 m	5.54 m
H-6	5.68 s	5.63 s	5.63 s	5.71 s	5.65 s	5.65 s	6.18 s	6.29 s
H-7	2.36 t (3.1)	2.32 t (2.9)	2.33 t (3.1)	2.36 t (3.0)	2.34 t (3.2)	2.34 t (3.2)	2.34 t (3.3)	2.38 t (3.1)
H-8	2.17 m, 2.57 m	2.15 m, 2.51 m	2.18 m, 2.52 m	2.24 m, 2.58 m	2.35 m, 2.55 m	2.34 m, 2.52 m	2.14 m, 2.61 m	2.14 m, 2.69 m
H-9	4.95 d (6.8)	4.91 d (6.7)	4.94 d (6.8)	4.95 d (6.8)	4.93 d (6.8)	4.93 d (6.8)	5.36 d (7.2)	5.50 d (7.2)
H-15	1.59 s	1.52 s	1.58 s	1.64 s	1.54 s	1.54 s	4.40,4.96	4.46, 4.99

² Wada H., Shizuri Y., Suguria K., Yamada K. and Hirata Y. *Tetrahedron Letters*, **1971**, 33, 31131-3132.

d_{AB} (12.9) d_{AB} (13.0)Valores de *J* en Hz en paréntesis. Disolvente CDCl₃.^a 400 MHz.Tabla 2: RMN ¹³C de sesquiterpenos nuevos aislados de *Maytenus cuzcoina*

Carbono	M-1	M-2 ^a	M-3	M-4 ^a	M-5	M-6 ^a	M-7	M-8
C-1	70.0 d	70.0 d	72.4 d	70.1 d	70.0 d	69.9 d	68.2 d	68.8 d
C-2	68.8 d	68.6 d	67.8 d	69.4 d	68.3 d	68.2 d	68.0 d	68.0 d
C-3	42.3 t	42.3 t	44.2 t	42.5 t	42.3 t	41.5 t	42.2 t	42.2 t
C-4	69.9 s	69.9 s	70.1 s	70.0 s	69.9 s	69.9 s	69.7 s	69.8 s
C-5	91.6 c	91.2 s	91.5 s	91.3 s	91.2 s	91.2 s	90.9 s	91.0 s
C-6	79.2 d	79.3 d	79.3 d	79.3 d	79.2 d	79.3 d	77.9 d	78.6 d
C-7	48.9 d	48.9 d	48.8 d	48.9 d	48.8 d	48.9 d	48.9 d	49.0 d
C-8	31.1 t	31.2 t	31.1 t	31.2 t	31.1 t	31.3 t	34.5 t	34.6 t
C-9	72.0 d	72.1 d	72.7 d	72.0 d	72.0 d	72.0 d	70.2 d	70.4 d
C-10	51.0 s	51.1 s	51.1 s	51.0 s	51.0 s	51.1 s	54.6 s	54.9 s
C-11	84.7 s	84.6 s	84.3 s	84.8 s	84.6 s	84.7 s	84.5 s	84.6 s
C-12	25.6 c	25.7 c	25.6 c	25.7 c	25.6 c	25.7 c	25.5 c	25.7 c
C-13	29.5 c	29.7 c	29.6 c	29.7 c	29.6 c	29.7 c	29.3 c	29.4 c
C-14	25.5 c	25.1 c	25.4 c	25.4 c	25.0 c	25.1 c	24.7 c	24.7 c
C-15	21.5 c	21.4 c	21.8 c	21.8 c	21.4 c	21.7 c	65.3 t	65.4 t

Valores de δ basados en experimentos DEPT y correlaciones bidimensionales ¹H-¹³C (HMOC y HMBC).Disolvente CDCl₃, 500 MHz.^a 400 MHz

Los sesquiterpenos con esqueleto tipo dihidro- β -agarofurano suelen encontrarse en forma de poliésteres, siendo considerados como indicadores quimiotaxonómicos de las Celastráceas³. Los

³ Brüning, R., Wagner, H.; *Phytochemistry*, **1978**, 17, 1821.

poliésteres agarofuránicos que hemos estudiado hasta ahora y los encontrados en la bibliografía química, poseen grupos ácidos que los esterifican, tales como acético, benzoico, cinámico, 2-metilbutírico, β -furoico y nicotínico y más raramente se han encontrado los ácidos isobutírico⁴, epoxicinámico^{5,6}, hexanoico⁷, n-metil-2-piridin-5-carboxílico⁸, tíglico y angélico⁹.

La elucidación estructural de estos compuestos ha sufrido diversas modificaciones que en general tienden, como veremos, a una mayor economía operativa. Inicialmente los problemas de regio y estereosustitución se resolvían mediante estudios de RMN del producto original y sus derivados obtenidos bien aumentando el número de ésteres o por hidrólisis selectiva; la configuración relativa se determinaba por estudios NOE y sólo unos pocos ejemplos tenían determinada su configuración absoluta mediante el uso de difracción de Rayos X sobre un monocristal con¹⁰ o sin¹¹ átomos pesados, existiendo además contradicciones en las configuraciones absolutas que se han ido solventando¹².

Recientemente, los problemas de regiosustitución se resuelven mediante el uso de técnicas de RMN como HMBC¹³. Las configuraciones relativas de estos sesquiterpenos se ha determinado mediante experimentos NOE o alguna de sus variantes, ROESY^{14,15}.

La configuración absoluta ha sido poco estudiada en estos compuestos y sólo se encuentra en la bibliografía un ejemplo en que se hace uso del dicroísmo circular¹⁶; nosotros hemos determinado la configuración absoluta usando el método de excitón quiralidad¹⁷ de un amplio número de sesquiterpenos, los cuales presentan en la mayoría de los casos grupos cromóforos propios que en nuestro caso son grupos benzoatos, por lo que nos encontramos con productos que, bien naturales o derivados por introducción de nuevos cromóforos, son susceptibles de análisis por técnicas de dicroísmo circular.

⁴ Maotian, W., Hailin, Q., Man, K., Yanzi, L.; *Phytochemistry*, **1991**, 30, 3933.

⁵ Jiménez, M., García, E., Garcina, L., Lira-rocha, A.; *Phytochemistry*, **1988**, 27, 2213.

⁶ Tu, Y. Q., Wang, D.Z., Zhang, H. J., Zhou, L.; *Phytochemistry*, **1991**, 30, 273.

⁷ Takaishi, Y., Tokura, K., Tamai, S., Ujita, K., Nakamo, K., Tomimatsu, T.; *Phytochemistry*, **1991**, 30, 1567.

⁸ Mata, R., Calzada, F.; *J. Nat. Prod.*, **1990**, 53, 1212.

⁹ González, A. G., Jiménez, I. A., Ravelo, A. G., Bazzocchi, I. L.; *J. Nat. Prod.*, **1994**, 57 (8), 1178-1182.

¹⁰ Smith, C. R., Miller, R. W., Weisleder, D., Rohwedder, W. K., Eickman, N., Clardy, J.; *J. Org. Chem.*, **1976**, 41, 3264.

¹¹ Den Hertog, H. J., Kruk, C., Nanavati, D. D., Sukh Dev; *Tetrahedron Letters*, **1974**, 26, 2219.

¹² Lotler, H., Brüning, R., Wagner, H.; *Tetrahedron Letters*, **1978**, 35, 3243.

¹³ Bax, A., Summers, M. F.; *J. Am. Chem. Soc.*, **1996**, 108, 1093.

¹⁴ Bax, A., Davis, D. S.; *J. Mag. Reson.*, **1985**, 63, 207.

¹⁵ Bax, A., Davis, D. S.; *J. Mag. Reson.*, **1985**, 65, 335.

¹⁶ Takaishi, Y., Noguchi, H., Murakami, K., Nakamo, K., Tomimatsu, T.; *Phytochem.*, **1990**, 29, 3869.

¹⁷ Harada, N., Nakanishi, K., *Circular Dichroic Spectroscopy-Exciton Coupling in Org. Stereochemistry*, University Science Books, Mil Valley, C.A. **1983**.

Al producto que hemos denominado **M-1** se le asignó una fórmula molecular de $C_{32}H_{34}O_{13}$, basándonos en los datos de su espectro de masas de alta resolución junto con los de RMN 1H y ^{13}C . En su espectro de IR mostraba bandas indicando la presencia de grupo hidroxilo (3670 cm^{-1}) y grupos éster ($1725, 1720\text{ cm}^{-1}$), quedando claro en el espectro de UV la presencia de grupo cromóforo furoato a 230 nm , lo cual fue confirmado por la pérdida de un fragmento de 112 ($C_4H_3O_2COOH$) en su espectro de masas y señales para nueve protones entre 6.68 y $8.19\ \delta$ en el de RMN 1H , así como doce carbonos aromáticos en su espectro de RMN ^{13}C . La presencia de un singlete que integra para tres protones, confirma la existencia de un grupo acetato, como se comprueba por la pérdida de fragmentos de $60\ m/z$ (CH_3COOH) y $42\ m/z$ ($CH_2=CO$) unidades en el espectro de masas.

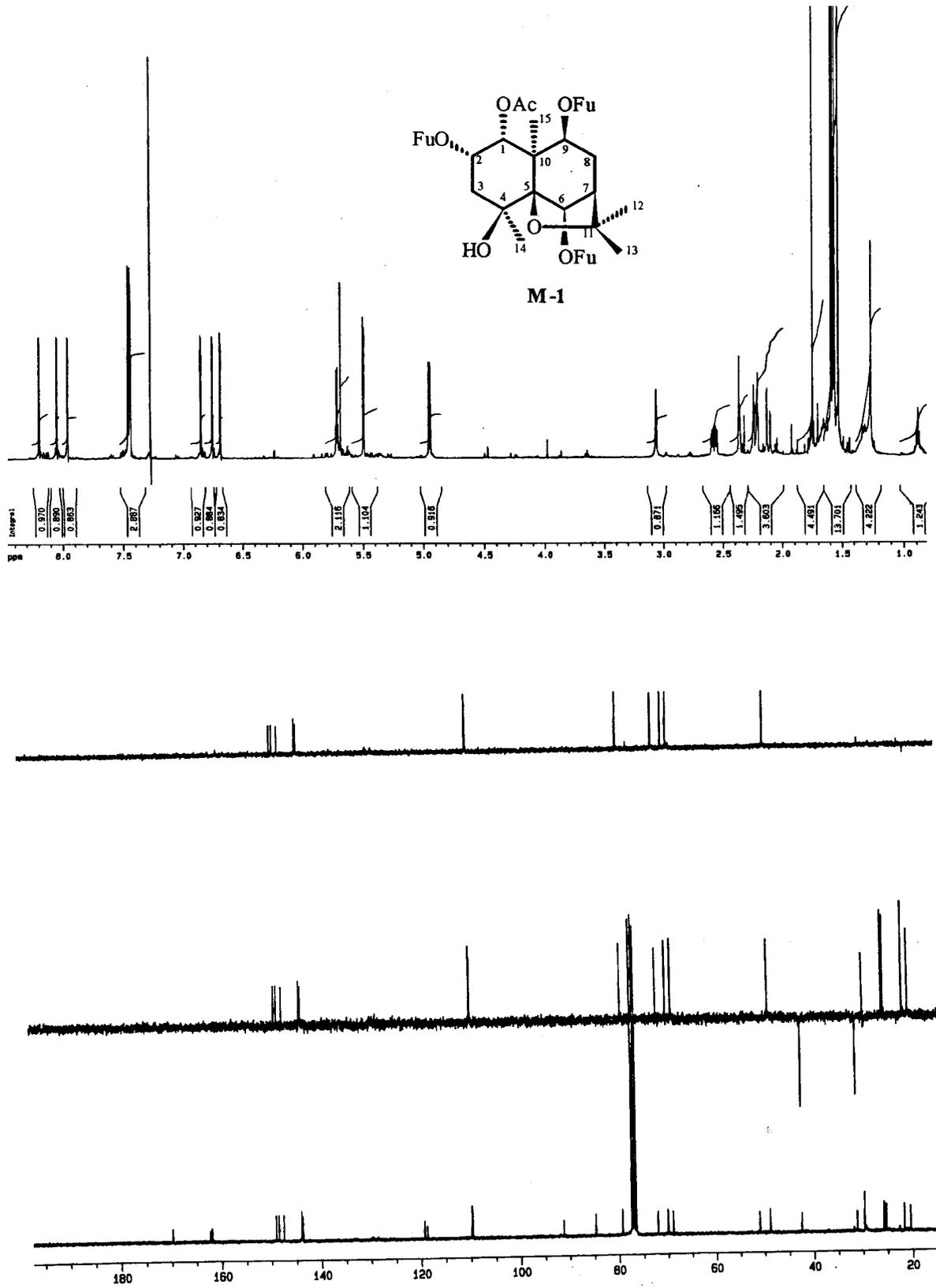
Cuando **M-1** fue tratado con anhídrido acético en piridina a temperatura ambiente, el compuesto permanece inalterado, este dato unido al anteriormente expuesto de la presencia de un grupo hidroxilo en su espectro de IR y de un singlete a $3.06\ \delta$ en su espectro de RMN 1H , que integra para un protón y que se intercambia con agua deuterada, nos confirma que la molécula posee un grupo hidroxílico terciario.

El conjunto de estos datos están de acuerdo con que nuestro compuesto es un sesquiterpeno poliesterificado que posee tres grupos furoatos, un acetato, un grupo hidroxilo terciario y un átomo de oxígeno adicional que debe formar parte de un puente éter; todos estos datos nos permiten establecer que la estructura de nuestro compuesto debe corresponder a un sesquiterpeno poliesterificado del tipo dihidro- β -agarofurano.

En su espectro de RMN 1H (Tabla 1) se observó además la aparición de un sistema ABX_2 , con señales a $5.71\ \delta$ como multiplete y un doblete a $5.49\ \delta$, $J=3.6\text{ Hz}$, que integran para un protón cada uno y un multiplete que integra para dos protones a $2.17\ \delta$, señales que fueron asignadas a los protones H-2, H-1 y H-3, respectivamente; las constantes de acoplamiento de H-2, coincidían con las encontradas para el alato¹⁸, lo que no indicó que dicho protón también se encuentra en la posición β . Un singlete situado a $6.86\ \delta$ fue asignado al protón H-6 y dado que forme un ángulo aproximado de 90° con H-7 debe poseer una estereoquímica α -axial; mientras que un protón como doblete a $4.95\ \delta$ ($J=6.8\text{ Hz}$) fue asignado al protón H-9. Así mismo se observó un metilo terciario como singlete a 1.57 unido a un carbono cuaternario en el espectro de RMN ^{13}C a $69.9\ \delta$

¹⁸ Sugiura K., Shizmi Y., Hirota Y. and Yamada K. *Tetrahedron*, **1982**, 38, 3465.

y tres metilos angulares como singuletes a 1.54, 1.56, 1.59 δ ; datos que fueron confirmados por su espectro de RMN ^{13}C (Tabla 2).



La estereoquímica relativa de **M-1** fue establecida basándose en las constantes de acoplamiento y confirmada mediante un experimento ROESY (Figura 1), en el cual se observó efecto NOE entre H-1 y H-2 y entre los protones H-15 con H-9, H-6 y H-14.

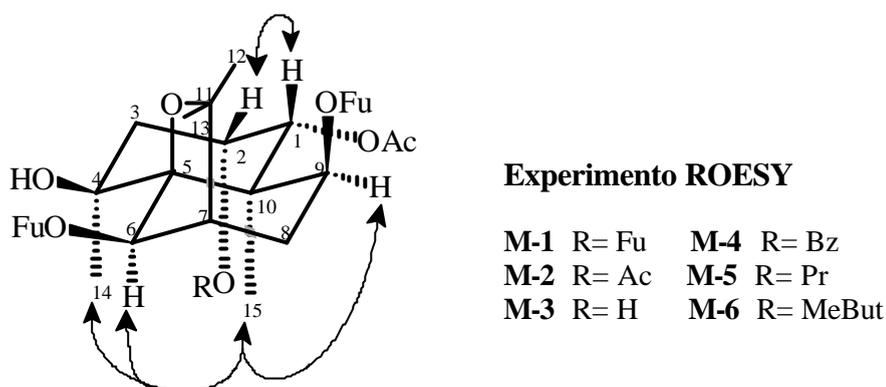


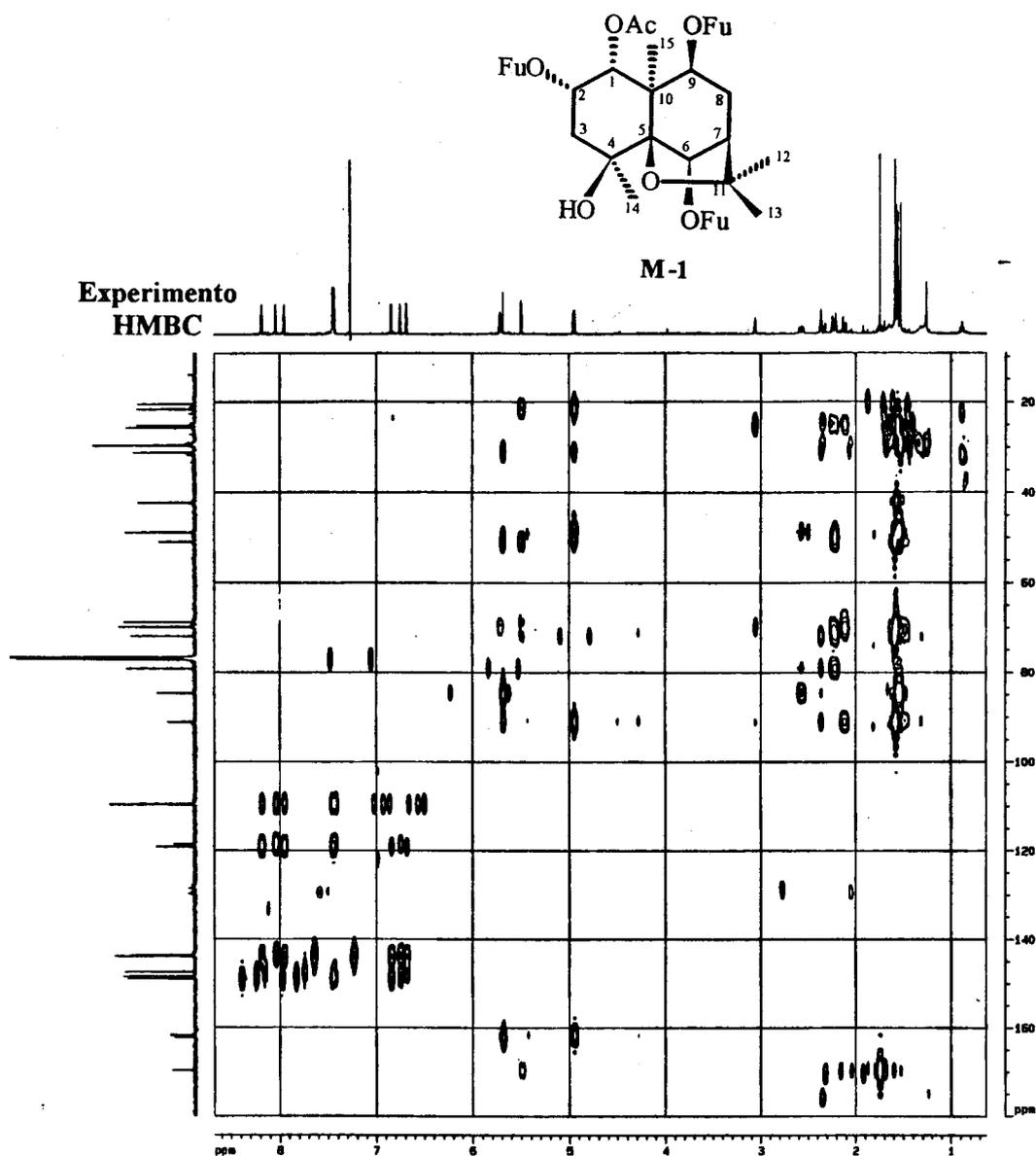
Figura 1

Quedaba por decidir las características de regiosustitución, lo cual se resolvió realizando un experimento HMBC (Tabla 3), en el cual se observó que la señal del C=O del grupo acetato (169.7, s) mostraba correlación a tres enlaces con la señal a 5.49 δ , asignada al protón H-1, quedando así fijados los tres grupos furoatos restantes sobre C-2, C-6 y C-9. Estos datos nos permitieron establecer de forma inequívoca la estructura de nuestro producto **M-1** como 1 α -acetoxi-2 α ,6 β ,9 β -trifuroiloxi-4 β -hidroxi-dihidro- β -agarofurano.

Tabla 3: Acoplamientos ^1H - ^{13}C a tres enlaces (HMBC) del producto M-1

Protones	Carbonos observados
H-1	C-15, C-10*, C-9, CH ₃ -C=O-
H-6	C-11, C-10, C-8, C-5*, C ₅ H ₄ -C=O-
H-9	C-15, C-7, C-1
H-15	C-10*, C-9, C-5
Me-12	C-7, C-11*, C-13
Me-13	C-7, C-11*, C-12
Me-14	C-3, C-4, C-5

* Acoplamientos ^1H - ^{13}C a dos enlaces.

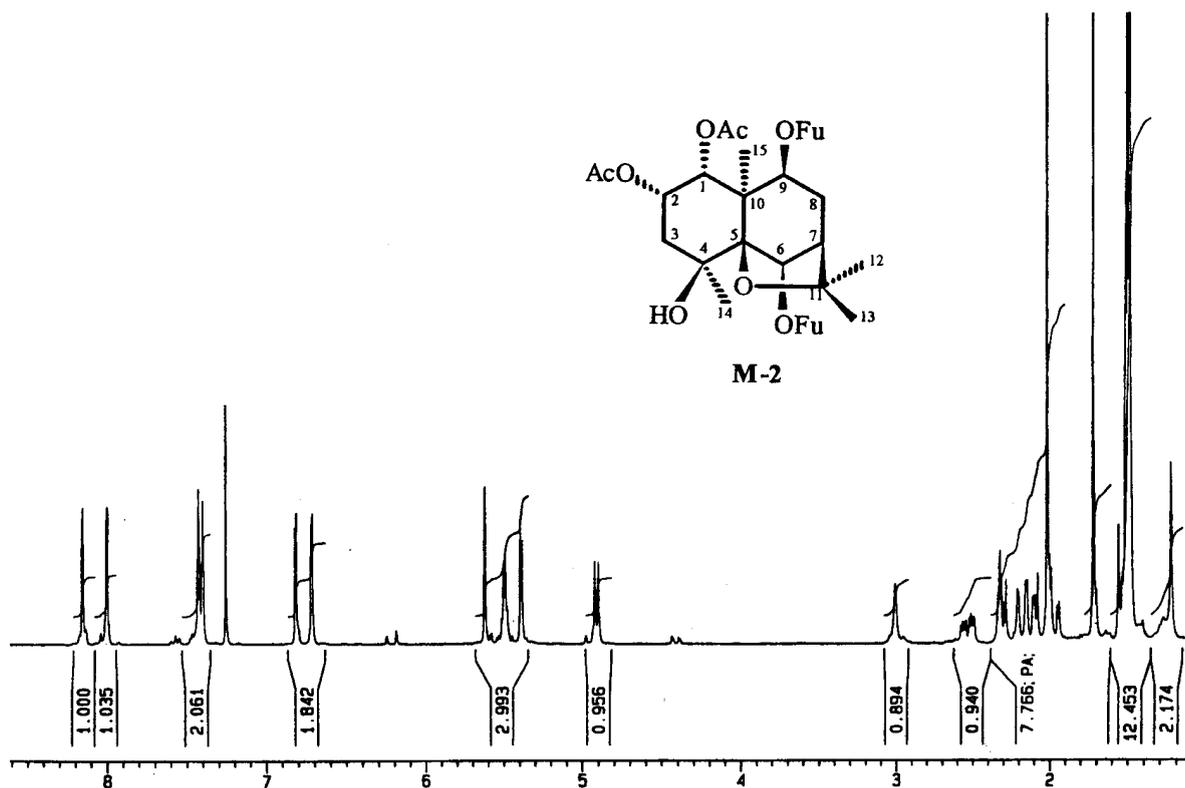


Al compuesto que hemos denominado **M-2** le hemos asignado una fórmula molecular de $C_{29}H_{34}O_{12}$, basándonos en datos de espectrometría de masas de alta resolución, RMN 1H (Tabla 1) y ^{13}C (Tabla 2). En su espectro de IR se observan bandas para un grupo hidroxilo (3550 cm^{-1}) y grupos éster (1747 y 1712 cm^{-1}). En su espectro de UV se observó absorción característica de cromóforo furoato, lo cual se confirmó por la presencia de seis protones aromáticos en su espectro de RMN 1H entre 6.72 y $8.00\ \delta$ y en su RMN ^{13}C por la presencia de dos carboxilos conjugados a 161.9 y $162.2\ \delta$. En su espectro de RMN 1H , también se observaron señales para dos metilos de

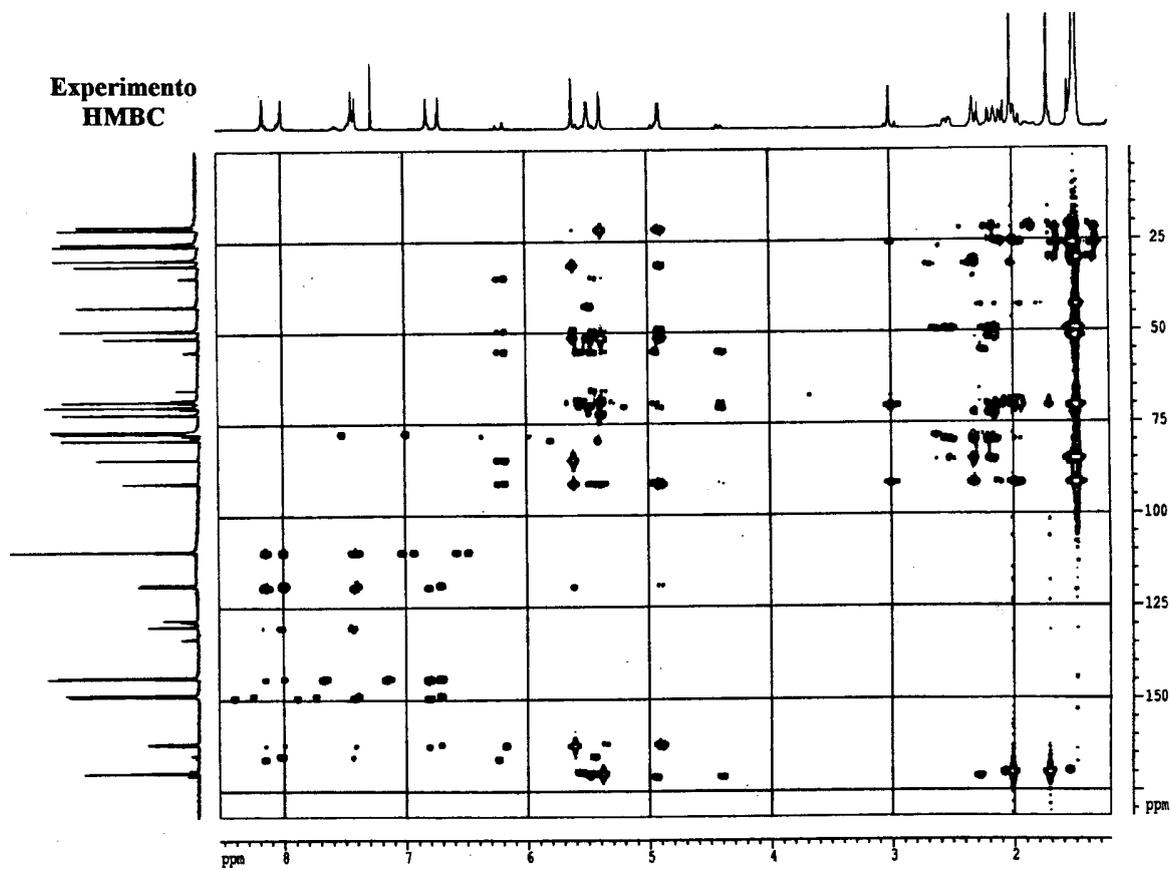
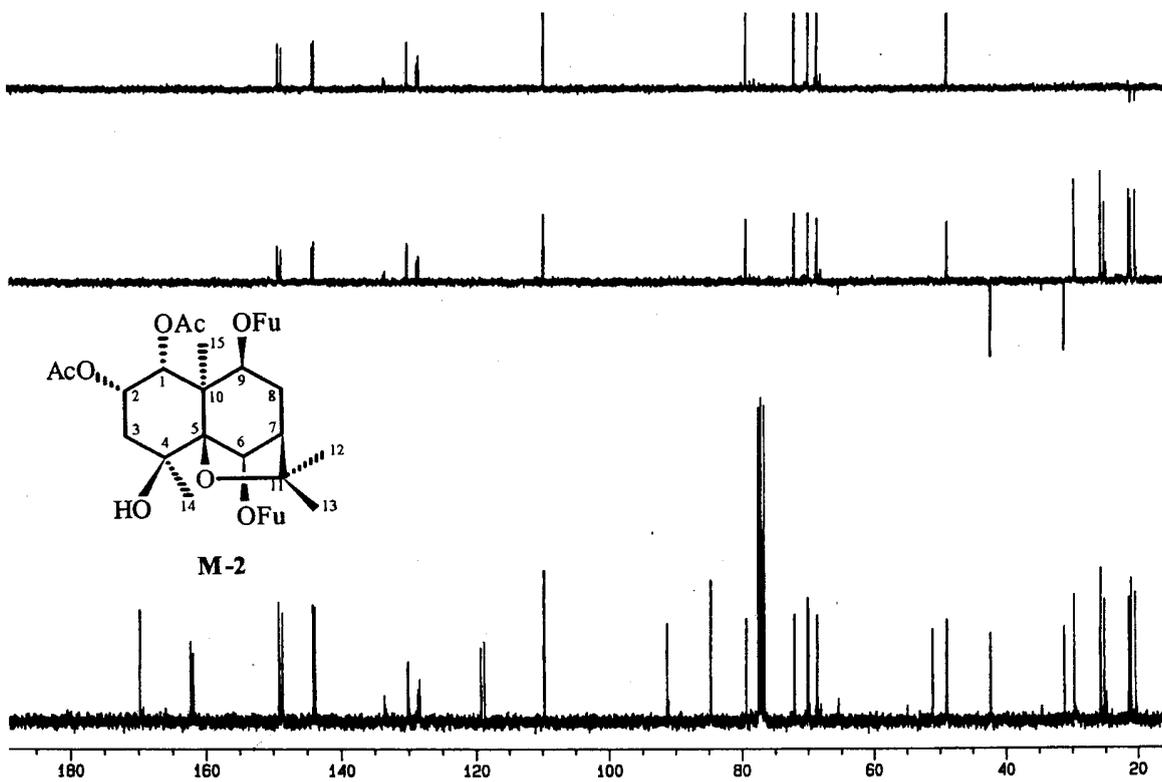
acetato como singletes a 2.02 y 1.73 δ y dos carboxilos a 169.7 δ (2x C=O) en su espectro de RMN ^{13}C .

Tratamiento de **M-2** con anhídrido acético en piridina a temperatura ambiente, rindió el producto inalterado, indicando la presencia de un alcohol terciario. El conjunto de estos datos nos indicaron claramente que nuestro compuesto se trata de un poliéster con esqueleto de dihidro- β -agarofurano, que presenta dos grupos furoatos, dos acetatos y un grupo hidroxilo terciario.

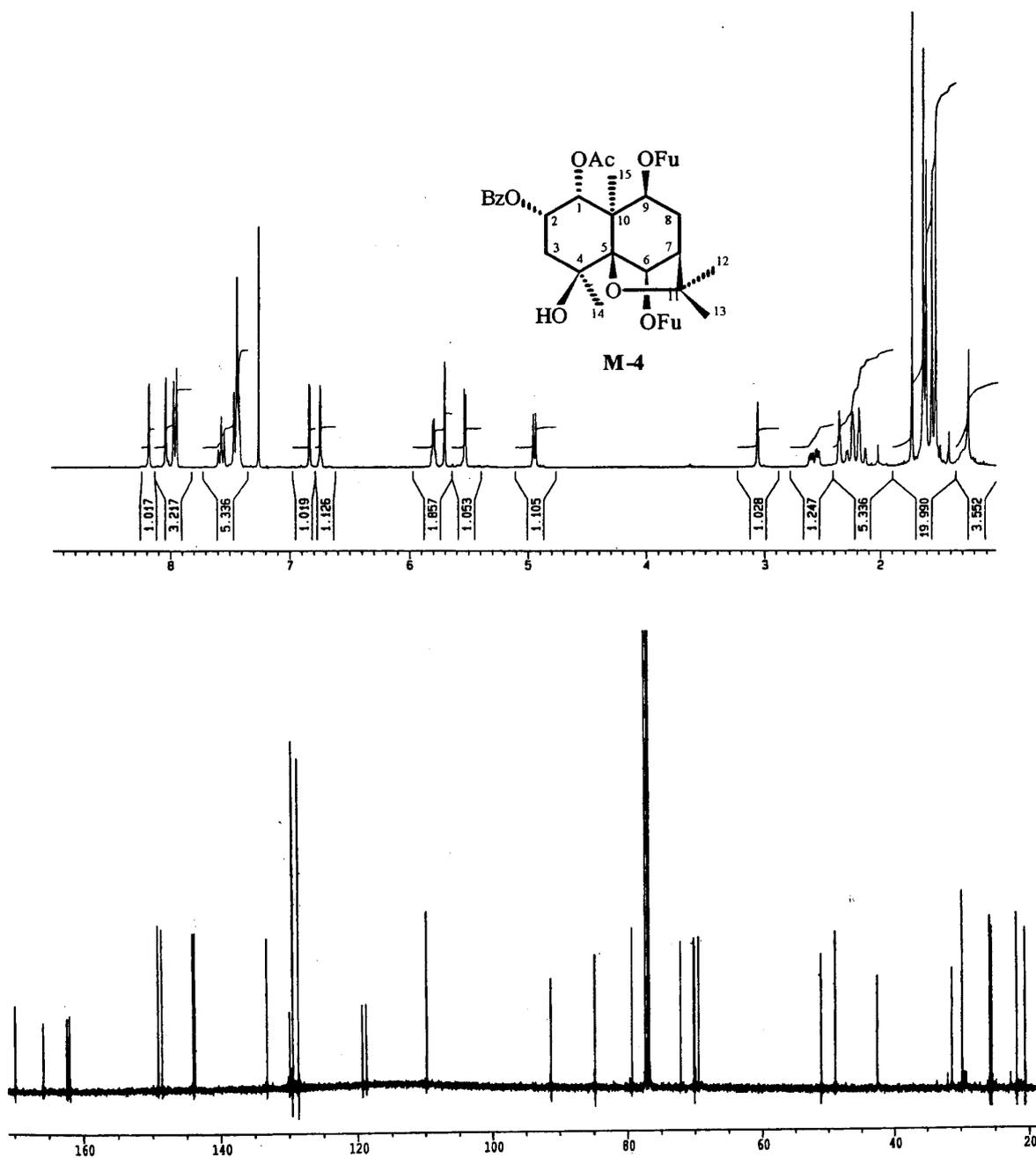
Un cuidadoso estudio de las constantes de acoplamiento¹⁹ (Tabla 1), experimentos de doble resonancia, COSY y un experimento ROESY (Figura 1), nos permitieron determinar como posiciones de sustitución las 1α , 2α , 6β , 9β . Para determinar las características de regiosustitución se realizó un experimento HMBC, el cual nos permitió establecer la posición de los grupos acetatos sobre C-1 y C-2 y los furoatos sobre C-6 y C-9. Todos estos datos están de acuerdo con la estructura propuesta para **M-2** como $1\alpha,2\alpha$ -diacetoxi- $6\beta,9\beta$ -difuroiloxi- 4β -hidroxidihidro- β -agarofurano.



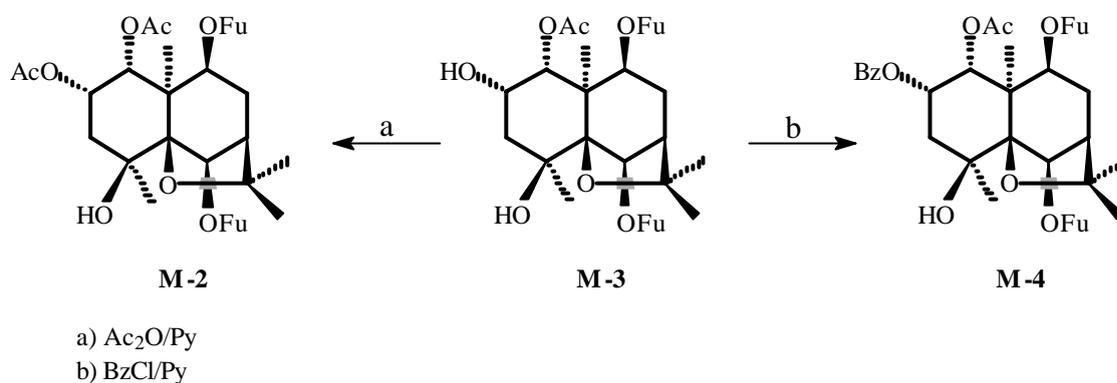
¹⁹ Ueda K., Matayoshi N. and Mori I. *Phytochemistry*, **1993**, 33, 230-232.



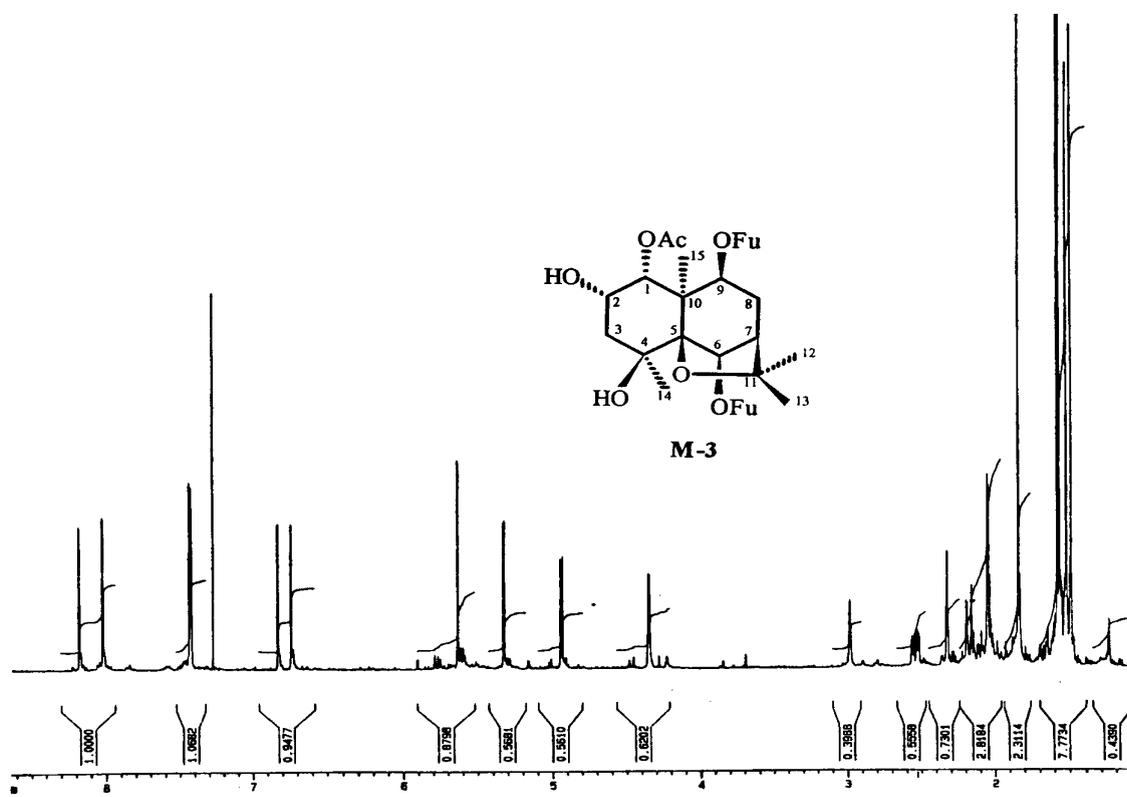
El producto que hemos denominado **M-4** presentó una fórmula molecular de $C_{34}H_{36}O_{12}$, calculada por espectrometría de masas de alta resolución. Un estudio de los datos IR, UV y RMN 1H y ^{13}C (Tablas 1 y 2), así como un experimento ROESY (Figura 1) nos indicó que se trataba de un sesquiterpeno que presenta dos grupos furoatos, un benzoato, un grupo acetato y un alcohol terciario, situados sobre las posiciones $1\alpha, 2\alpha, 4\beta, 6\beta$ y 9β . Todos estos datos junto con un experimento HMBC, nos permitió asignar las posiciones de los distintos grupos sobre la molécula, quedando establecida la estructura del producto **M-4** como 1α -acetoxi- 2α -benzoiloxi- $6\beta, 9\beta$ -difuroiloxi- 4β -hidroxi-dihidro- β -agarofurano.

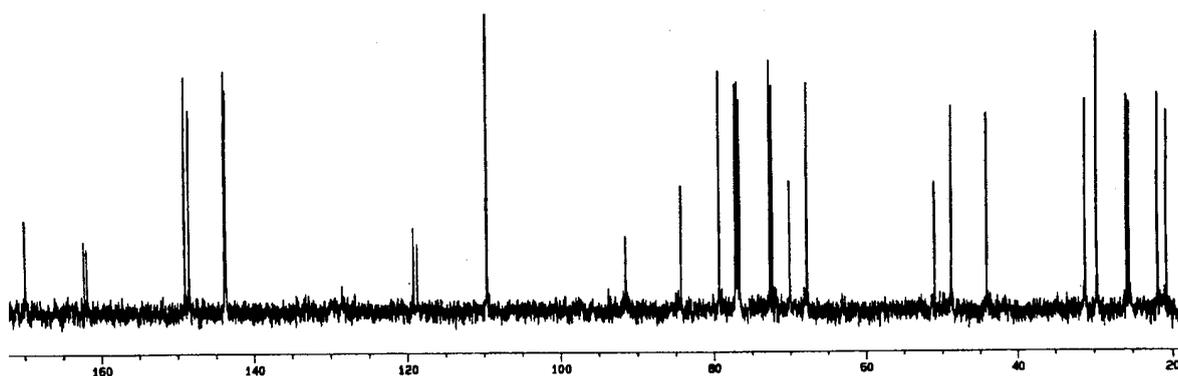
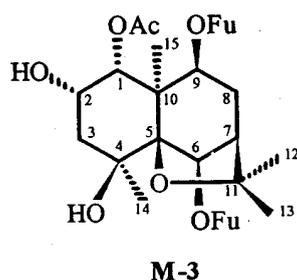


El producto denominado **M-3** presentó una fórmula molecular de $C_{27}H_{32}O_{11}$, determinado a partir de sus datos espectroscópicos de RMN 1H (Tabla 1), ^{13}C (Tabla 2) y espectro de masas. El estudio de sus datos espectroscópicos nos indicó la existencia de dos grupos furoatos, un acetato, un alcohol secundario y un alcohol terciario, sobre un esqueleto sesquiterpénico de dihidro- β -agarofurano. Sus datos espectroscópicos resultaron estar relacionados con los de los productos **M-2** y **M-4**, en los cuales se transformó por acetilación y benzoilación, respectivamente (Esquema 1), quedando fijada la estructura de 1 α -acetoxi-6 β ,9 β -difuroiloxi-2 α ,4 β -dihidroxi-dihidro- β -agarofurano, para el producto **M-3**.



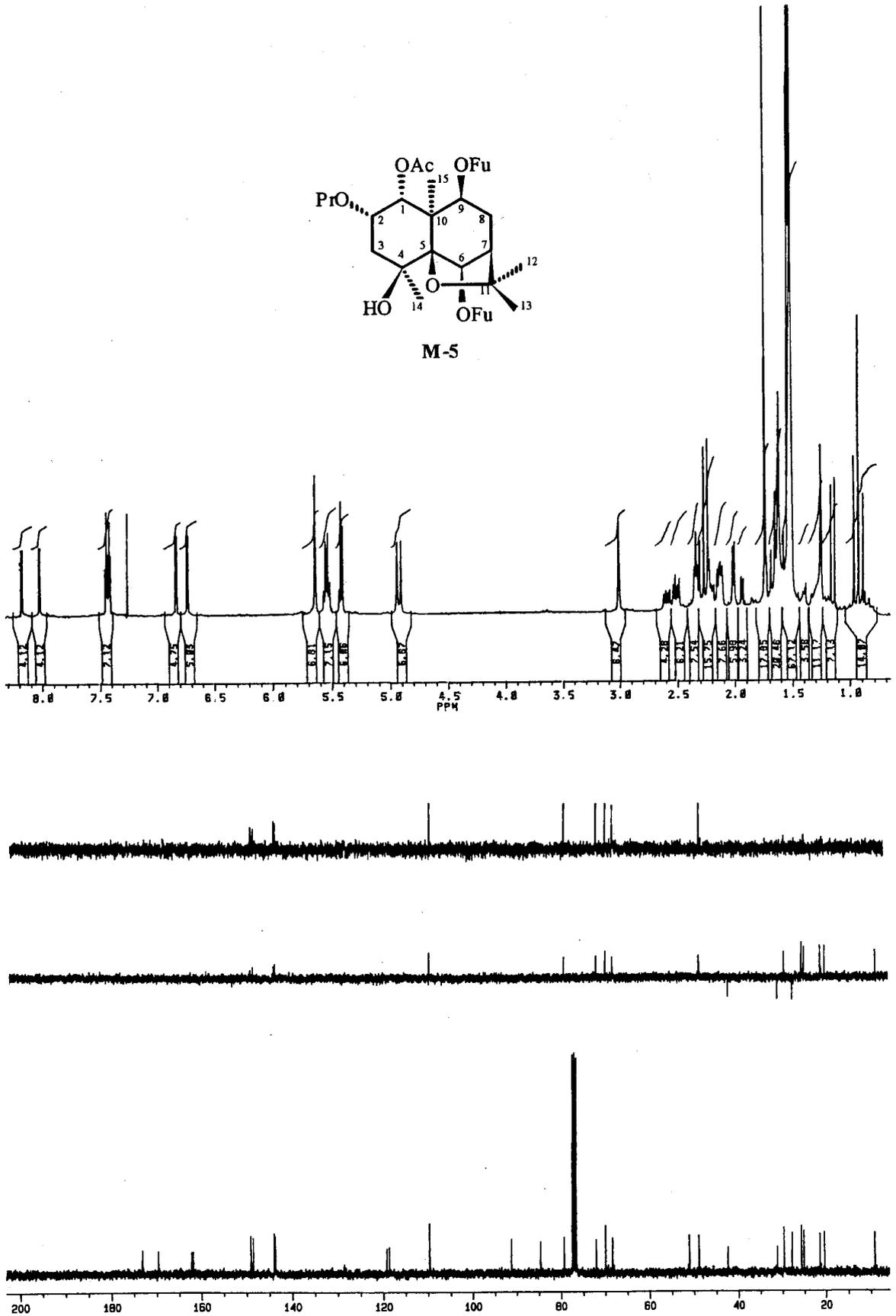
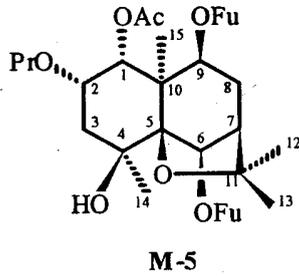
Esquema 1





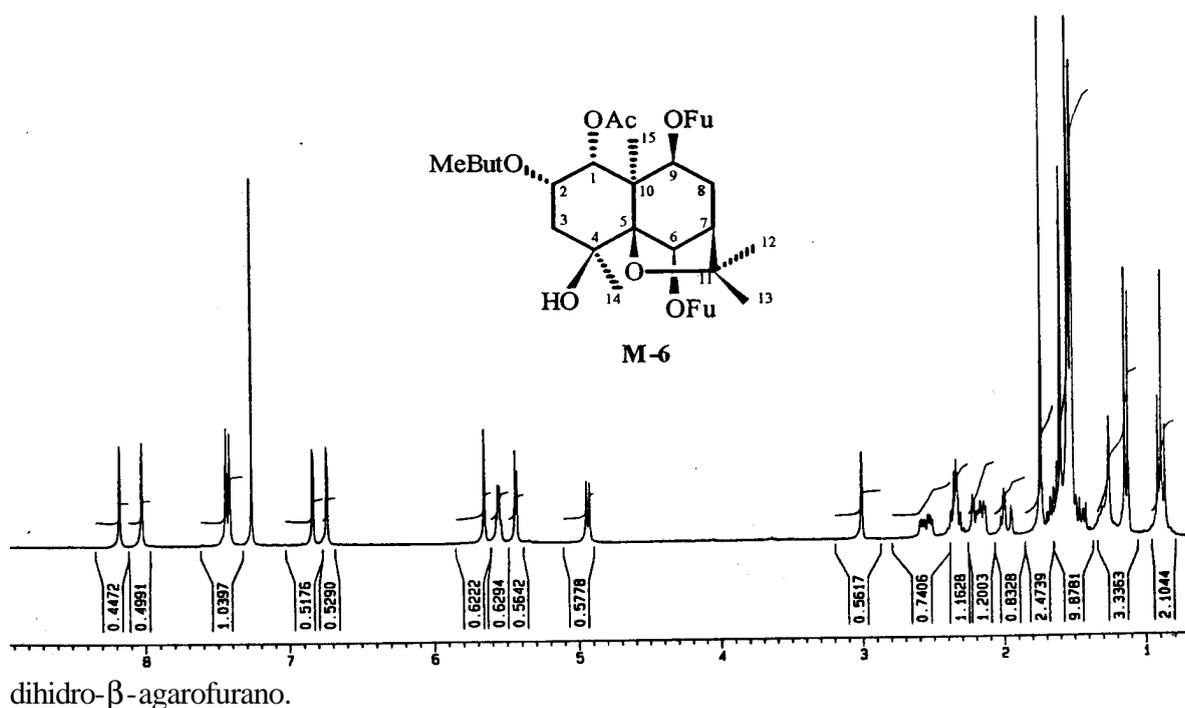
Al producto que hemos denominado **M-5** se le asignó la estructura de 1α -acetoxi- 6β , 9β -difuroiloxi- 2α -propinoiloxi- 4β -hidroxi-dihidro- β -agarofurano, basándonos en sus datos espectroscópicos y en su fórmula molecular, $C_{30}H_{36}O_{12}$ obtenida de su espectro de masas de alta resolución, donde además del ión molecular a $588\ m/z$, se observaron fragmentos que corresponden a pérdidas de 18, 60, 74 y $112\ m/z$, sugiriendo la presencia en la molécula de grupos hidroxilo, acetato, propionato y furoato. Ello fue confirmado al estudiar su espectro de RMN 1H (Tabla 1) donde se observó la presencia de un metilo de acetato como singlete a $1.74\ \delta$; un metilo triplete a $1.13\ \delta$ y un metileno como cuarteto a $2.35\ \delta$ asignables al grupo propionato y la presencia de seis protones aromáticos entre 6.74 y $8.18\ \delta$, lo que estaba de acuerdo con los datos de su espectro de RMN ^{13}C (Tabla 2).

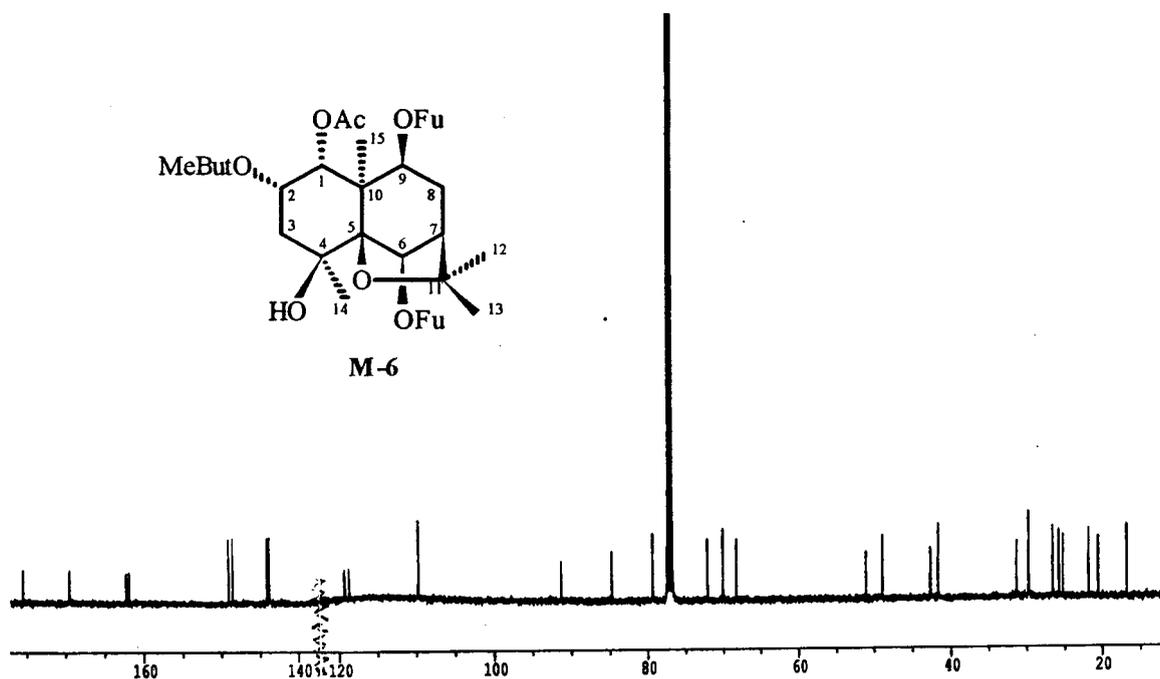
Acetilación de **M-5** en las condiciones habituales rindió un producto inalterado, con lo cual concluimos que nuestro producto posee un alcohol terciario. La estereoquímica relativa de 1α , 2α , 6β y 9β fue establecida mediante un experimento ROESY (Figura 1), mientras que un experimento HMBC nos permitió fijar de forma inequívoca la posición de los distintos ésteres y establecer la estructura de **M-5** como la mostrada.



El producto que hemos denominado **M-6** posee una fórmula molecular de $C_{32}H_{40}O_{12}$, determinada por datos de espectrometría de masas de alta resolución, RMN de 1H y ^{13}C (Tablas 1 y 2). En su espectro de IR se observaron bandas que indicaban la presencia de grupo hidroxilo (3548 cm^{-1}) y grupo éster (1720 cm^{-1}). Un grupo cromóforo furoato da absorción característica en su espectro de UV y su presencia fue confirmada por la pérdida de un fragmento de masas a 112 m/z ($C_5H_4O_3$), así como por la presencia de señales para dicho grupo en sus espectros de RMN 1H y RMN ^{13}C . La presencia de un fragmento a 85 m/z , en su espectro de masas, era indicativo de un agrupamiento 2-metilbutirato, lo cual fue confirmado por las señales en su espectro de RMN 1H de un triplete a $0.88\text{ }\delta$ (3H, $J=7.4\text{ Hz}$) y un doblete a $1.12\text{ }\delta$ (3H, $J=7.0\text{ Hz}$); también se observó un singlete a $1.73\text{ }\delta$, atribuible a un metilo de acetato, lo que se confirmó por la presencia, en su espectro de masas, de pérdidas de 60 (CH_3COOH) y 42 m/z ($CH_2=CO$). Dado que el compuesto permanece inalterado cuando es tratado con anhídrido acético y piridina y que una señal que aparece a $3.00\text{ }\delta$ en su espectro de RMN 1H se intercambia con agua deuterada, se confirma la existencia de un grupo alcohólico terciario.

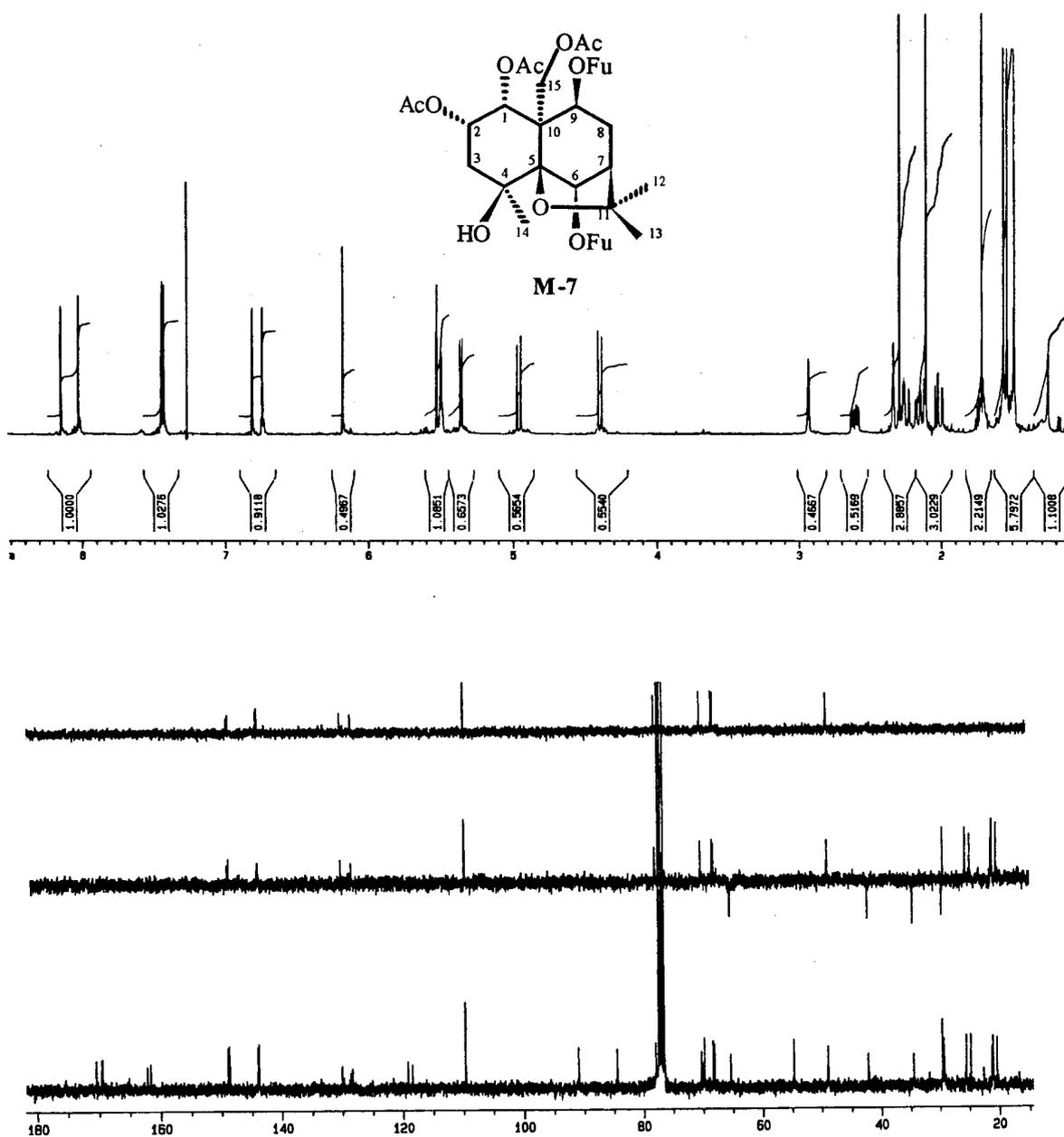
Del conjunto de datos aportados se concluye que nuestra molécula se trata de un sesquiterpeno, que posee un grupo furoato, un acetato, un 2-metilbutirato y un grupo alcohólico terciario. Un estudio de doble resonancia (1H - 1H , 1H - ^{13}C) nos permitió establecer la estructura de nuestro producto **M-6** como, 1α -acetoxi- 6β , 9β -difuroiloxi- 2α -(2)-metilbutirolaxi- 4β -hidroxidihidro- β -agarofurano.



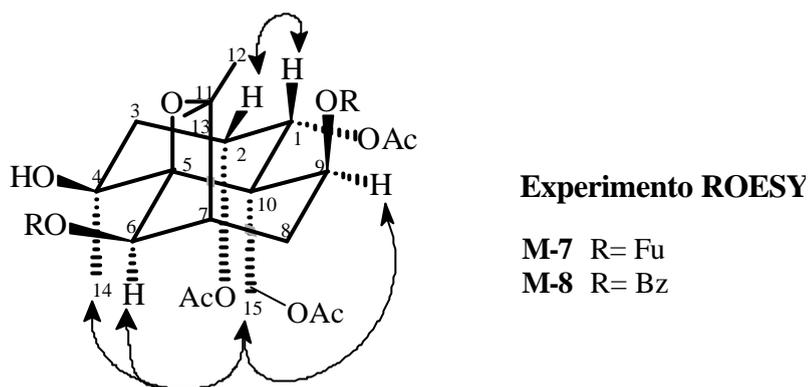


El producto **M-7** presentó una fórmula molecular de $C_{31}H_{36}O_{14}$, obtenida de su espectro de masas de alta resolución. En sus espectros de RMN 1H y ^{13}C (Tablas 1 y 2) presentó características espectroscópicas muy similares a las del producto **M-2**, siendo la diferencia más significativa la presencia de un metilo de acetato adicional a 2.30 δ en su espectro de RMN 1H , que se situó sobre C-15 por la forma y desplazamiento químico de sus protones geminales²⁰, que se observaron como un doblete AB a 4.40, 4.96 δ ($J=12.9$ Hz). Un sistema ABX₂ con señales a 5.53, 5.50 y 2.15 δ y constantes de acoplamiento similares a las encontradas en los derivados del alatol, se asignó a los protones sobre C-1, C-2 y C-3 forman; un singlete a 6.18 δ se asignó al protón H-6, mientras que H-9 se observa como un doblete a 5.36 δ , $J=7.2$ Hz.

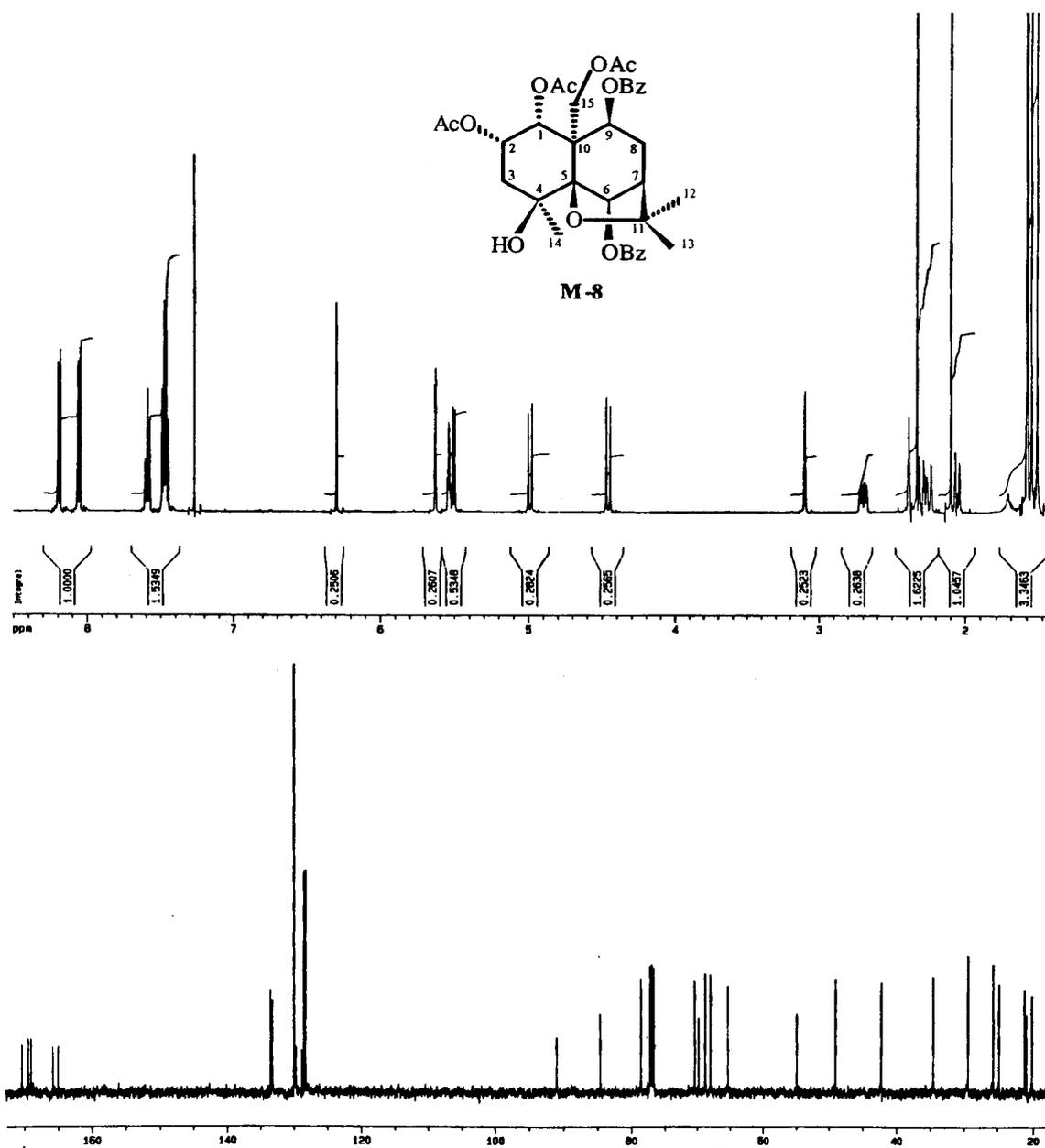
Un experimento ROESY (Figura 2) nos permitió establecer la configuración relativa de nuestro producto, lo que unido a un estudio de doble resonancia heteronuclear (HMQC y HMBC) nos permitió establecer la estructura de 1 α ,2 α ,15-triacetoxi-6 β ,9 β -difuroiloxi-4 β -hidroxi-dihidro- β -agarofurano para nuestro producto **M-7**.



²⁰ Hohmann J., Nagy G. and Dini Z. *Journal of Natural Products*, **1995**, 58, 1192-1199.

**Figura 2**

Al compuesto que hemos denominado **M-8** se le asignó la estructura de 1 α ,2 α ,15-triacetoxi-6 β ,9 β -dibenzoiloxi-4 β -hidroxi-dihidro- β -agarofurano tal como se muestra. Su fórmula molecular fue determinada, mediante espectrometría de masas de alta resolución, como C₃₅H₄₀O₁₂. Sus datos espectroscópicos de IR, UV, RMN ¹H (Tabla 1) y ¹³C (Tabla 2) y experimentos COSY y ROESY (Figura 1), nos indicó la presencia de tres grupos acetatos y dos benzoatos en posiciones C-1 α , C-2 α , C-15 α C-6 β y C-9 β , así como un grupo hidroxilo en posición β sobre C-4. Un experimento heteronuclear ¹H-¹³C a tres enlaces nos permitió fijar la posición de cada uno de los ésteres sobre la molécula y establecer la estructura de nuestro compuesto como la mostrada.



Descripción botánica de *Crossopetalum tonduzii*.

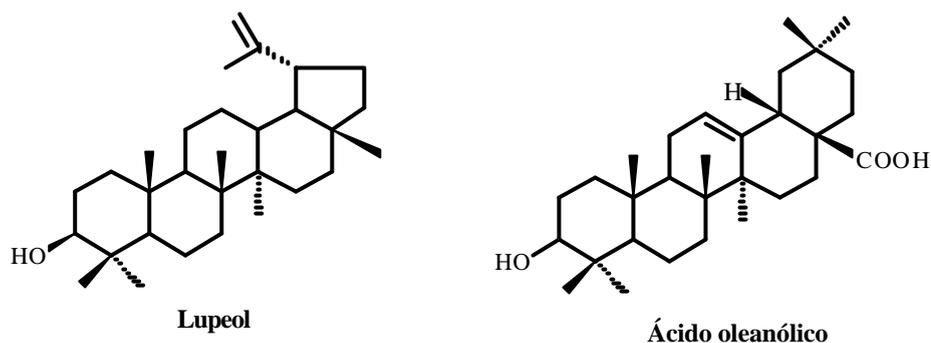
Crossopetalum tonduzii es un árbol de hasta 20 m de altura, hojas elípticas, de ápice obtuso, algo emarginado y base cuneada, márgenes crenado-serrulados en su mitad superior, de 3-9 x 1,5-4,5 cm; con 5-7 pares de venas laterales primarias, algo sobresalientes por el envés y claramente por la haz; peciolo de 1-4 mm de largo. Inflorescencias en dicasios axilares, en general 4-furcados; pedúnculos primarios de 5-8 mm de largo; pedicelos muy cortos, 2-bracteados. Flores con los sépalos de deltoides a redondeados, en dos pares opuestos, de 0,5 mm de largo, cortamente ciliados; pétalos blancos, ovado-oblongos, de 2,5 x 0,5 mm; disco cuadrado, carnosos; flores masculinas con estambres de 1 mm de largo; femeninas con pistilo de 2 mm de largo, estigmas 2-lobados, planos. Fruto en drupa, oblonga o algo obovoide, de 7 x 3 mm. Especie que vive en Costa Rica y Panamá entre 1500-2000 m. Florece en Enero.

Posición Sistemática:

División	Espermatofita
Subdivisión	Magnoliofitina
Clase	Magnoliatae
Subclase	Rosidae
Superorden	Celastranae
Orden	Celastrales
Familia	Celastraceae
Género	<i>Crossopetalum</i>
Especie	<i>Crossopetalum tonduzii</i>
Nombre científico	<i>Crossopetalum tonduzii</i> (Loes) Lund

Las hojas de *C. tonduzii* fueron recolectadas en Boquete, Chiriquí, Panamá en el mes de agosto de 1991. La especie se encuentra depositada en el Herbario de la Universidad de Panamá con la asignación de FLORPAN 882.

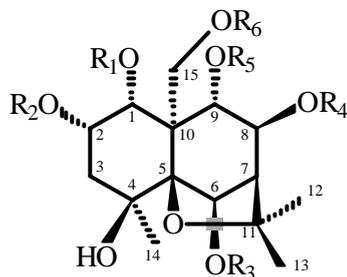
A continuación damos cuenta de los resultados obtenidos en el estudio de *Crossopetalum tonduzii*. Después de repetidas cromatografías del extracto etanólico de la parte aérea, aislamos los metabolitos secundarios con esqueleto triterpénico, ya descritos en la bibliografía, lupeol y ácido oleanólico¹.



Del mismo extracto se aislaron cincuenta y un sesquiterpenos con esqueleto de dihidro- β -agarofurano, que hemos denominado de **T-1** a **T-51**; los cuales resultaron ser nuevos en la literatura química. Los compuestos de **T-1** a **T-44** presentaron un esqueleto polihidroxílico básico de 8-epi-4 β -hidroxialatol; los compuestos **T-45** a **T-47** un esqueleto de 9-epi-4 β -hidroxialatol, el producto **T-48** posee un esqueleto tipo 3,13-dideoxi-evoninol, **T-49** y **T-50** esqueleto de 8-epi-isoalatol y el compuesto **T-51** presentó un nuevo esqueleto que hemos denominado 9-epi-isoalatol.

¹ Ahmad, V.U., Rahman, A., *Handbook of Natural Products Data. Pentacyclic Triterpenoids*, 1994, vol 2, Elsevier, Netherlands.

Productos con esqueleto polihidroxílico base de 8-epi-4b -hidroxialatol

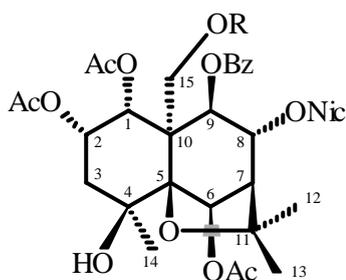


PRODUCT O	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆
T-1	Bz	H	Ac	Ac	Bz	MeBut
T-2	Bz	H	H	Ac	Bz	MeBut
T-3	Ac	H	H	MeBut	Bz	MeBut
T-4	Ac	H	Ac	MeBut	Bz	MeBut
T-5	Ac	Ac	H	MeBut	Bz	MeBut
T-6	Ac	H	Ac	Ac	Bz	MeBut
T-7	Ac	Ac	Ac	Ac	Bz	MeBut
T-8	Ac	H	H	Ac	Bz	MeBut
T-9	Ac	Ac	H	H	Bz	MeBut
T-10	H	Nic	H	Ac	Bz	MeBut
T-11	H	Nic	Ac	Ac	Bz	MeBut
T-12	Ac	Nic	H	Ac	Bz	MeBut
T-13	Nic	Nic	H	Ac	Bz	MeBut
T-14	Nic	H	Ac	Ac	Bz	MeBut
T-15	Nic	H	H	Ac	Bz	MeBut
T-16	Nic	Ac	H	Ac	Bz	MeBut
T-17	Nic	H	H	MeBut	Bz	MeBut
T-18	Nic	Bz	H	MeBut	Bz	MeBut
T-19	Ac	Nic	H	MeBut	Bz	MeBut
T-20	Bz	H	H	MeBut	Bz	MeBut
T-21	Ac	H	H	MeBut	Bz	IsoBut
T-22	Ac	Ac	H	MeBut	Bz	IsoBut
T-23	Ac	H	Ac	MeBut	Bz	IsoBut
T-24	Bz	H	H	MeBut	Bz	IsoBut
T-25	Nic	H	H	MeBut	Bz	IsoBut
T-26	Bz	Nic	H	Ac	Bz	IsoBut
T-27	Bz	Nic	H	Ac	Bz	MeBut
T-28	Bz	Ac	Ac	Nic	Bz	MeBut
T-29	Ac	Ac	H	Ac	Bz	Bz
T-30	Ac	H	Ac	Ac	Bz	Bz
T-31	Ac	H	Ac	Ac	Bz	Bz
T-32	Ac	Ac	H	H	Bz	Bz
T-33	Bz	H	H	Ac	Bz	Ac
T-34	Nic	Bz	H	Ac	Nic	Bz
T-35	Nic	Ac	H	Ac	Bz	Bz
T-36	Nic	Bz	H	Ac	Bz	Bz
T-37	Bz	Nic	H	Ac	Bz	Bz
T-38	Ac	H	H	Nic	Bz	MeBut
T-39	Nic	H	H	Nic	Bz	MeBut
T-40	Ac	Nic	H	Nic	Bz	MeBut
T-41	Ac	Cin	H	H	Bz	MeBut
T-42	Ac	Cin	H	H	Bz	Ac

T-43	Ac	Bz	H	H	Cin	MeBut
T-44	Ac	Bz	H	H	Cin	Ac

Productos con esqueleto polihidroxílico base de:

9-epi-4b -hidroxialatol

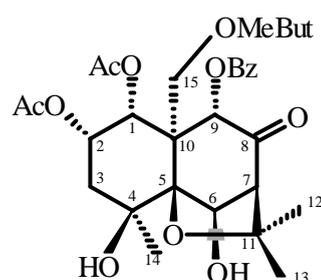


T-45 R = MeBut

T-46 R = IsoBut

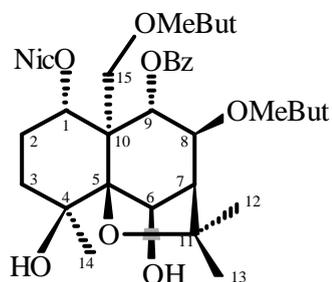
T-47 R = Bz

3,13-dideoxi-evoninol

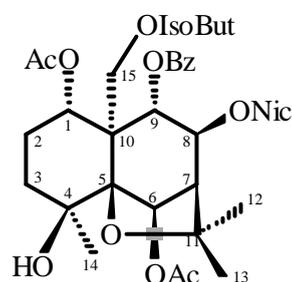


T-48

8-epi-isoalatalol

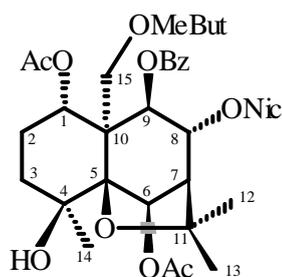


T-49



T-50

9-epi-isoalatalol



T-51

Tabla 1: RMN ¹H de los sesquiterpenos aislados de *Crossopetalum tonduzii* y sus derivados.

Productos	H-1	H-2	H-6	H-7	H-8	H-9	H-15
T-1^a	6.07 d (3.1)	4.0 m	6.92 s	2.40 d (3.2)	6.16 dd (3.2, 9.8)	6.55 d (9.8)	5.47,5.57 d _{AB} (13.6)
1	5.79 d (3.2)	5.47 m	6.53 s	2.54 d (3.3)	5.77 dd (3.3, 9.7)	6.14 d (9.7)	4.84,5.10 d _{AB} (13.2)
2	5.93 d (3.6)	5.72 m	5.56 s	2.56 d (3.2)	5.82 dd (3.2,9.7)	6.20 d (9.7)	4.84,5.10 d _{AB} (13.2)
T-2	5.74 d (3.0)	4.23 m	5.28 d (4.9)	2.59 d (3.2)	5.57 dd (3.2,9.9)	6.14 d (9.9)	4.92,5.18 d _{AB} (13.4)
T-3	5.44 d (3.0)	4.15 m	5.31 d (4.9)	2.59 d (3.2)	5.54 dd (3.2,10.0)	6.09 d (10.0)	5.03,5.47 d _{AB} (13.4)
3	5.49 d (2.8)	4.17 m	6.64 s	2.72 d (3.2)	5.83 dd (3.2,9.8)	6.15 d (9.8)	4.36,5.08 d _{AB} (13.5)
4	5.68*	5.68 m	6.62 s	2.74 d (3.2)	5.92 dd (3.2,9.8)	6.20 d (9.8)	5.69,5.30 d _{AB} (13.1)
5	5.49 d (3.1)	5.37 m	6.51 s	2.50 d (3.3)	5.73 dd (3.3,9.8)	6.09 d (9.8)	4.65,4.94 d _{AB} (13.5)
T-4	5.45 d (2.9)	4.13 m	6.54 s	2.52 d (3.3)	5.69 dd (3.3,9.8)	6.10 d (9.8)	4.82,5.04 d _{AB} (13.2)
T-5	5.50 d (3.1)	5.39 m	5.23 d (5.1)	2.61 d (3.2)	5.59 dd (3.2, 10.0)	6.09 d (9.8)	4.62, 4.94 d _{AB} (13.5)
T-6	5.43 d (3.0)	4.14 m	6.50 s	2.51 d (3.1)	5.71 dd (3.1,9.8)	6.05 d (9.8)	4.79, 5.03 d _{AB} (13.4)
6	5.60 d (3.6)	5.66 m	6.48 s	2.54 d(3.1)	5.79 dd (3.1,9.5)	6.10 d (9.5)	4.65,5.27 d _{AB} (13.2)
T-7	5.46 d (3.3)	5.36 m	6.47 s	2.52 d (3.2)	5.47 dd (3.2,9.8)	6.04 d (9.8)	4.62,4.93 d _{AB} (13.4)
T-8	5.48 d (3.4)	5.39 m	5.20 s	2.61 d (3.2)	5.59 dd (3.2,10.0)	6.05 d (10.0)	4.59,4.93 d _{AB} (13.4)
T-9	5.48 d (3.5)	5.37 m	5.05 d (5.1)	2.61 d (3.3)	4.32 m	5.88 d (9.4 m)	4.66, 4.95 d _{AB} (13.5)
T-10	4.60 m	5.51 m	5.19 s	2.65 d (3.3)	5.71 dd (3.3,9.8)	6.18 d (9.8)	4.62, 5.13 d _{AB} (13.2)

7	5.61 d (3.4)	5.68 m	6.48 s	2.55 d (3.4)	5.77 dd (3.4,9.8)	6.10 d (9.8)	4.60,5.20 d _{AB} (13.2)
Productos	H-1	H-2	H-6	H-7	H-8	H-9	H-15
T-11	4.59 t (4.5)	5.49 m	6.44 s	2.56 d (3.2)	5.86 dd (3.2,9.8)	6.18 d (9.8)	4.65,5.10 d _{AB} (13.2)
8	5.96 d (3.7)	5.80 m	6.53 s	2.57 d (3.0)	5.77 dd (3.0,9.6)	6.19 d (9.6)	4.76,5.33 d _{AB} (12.8)
T-12	5.62*	5.70 m	5.21 s	2.64 d (3.0)	5.62*	6.09 d (9.8)	4.56,5.22 d _{AB} (13.1)
T-13	5.97 d (3.7)	5.76 m	5.25 d (5.1)	2.65 d (3.2)	5.64 dd (3.2,9.8)	6.19 d (9.8)	4.71,5.35 d _{AB} (13.1)
T-14	6.08 d (3.0)	4.20 m	6.91 s	2.44 d (3.3)	6.17 dd (3.3,9.8)	6.55 d (9.8)	5.41,5.71 d _{AB} (13.7)
9	5.81 d (3.5)	5.46 m	6.51 s	2.54 d (3.4)	5.76 dd (3.4,9.7)	6.14 d (9.7)	4.77, 5.07 d _{AB} (13.4)
T-15	5.75 d (2.9)	4.25 m	5.28 d (5.0)	2.61 d (3.1)	5.58 dd (3.1, 9.8)	6.145 d (9.8)	4.89, 5.18 d _{AB} (13.5)
T-16	5.81 d (3.5)	5.48 m	5.23 d (5.2)	2.63 d (3.2)	5.60 dd (3.2, 9.8)	6.15 d (9.8)	4.74, 5.07 d _{AB} (13.3)
T-17	5.71 d (3.1)	4.28 m	5.28 d (4.5)	2.60 d (3.0)	5.56 dd (3.0, 9.9)	6.17 d (9.9)	4.90, 5.20 d _{AB} (13.6)
T-18	5.96 d (3.7)	5.77 m	5.23 d (5.0)	2.63 d (3.3)	5.66 dd (3.3, 9.9)	6.24 d (9.9)	4.70, 5.38 d _{AB} (13.0)
T-19	5.65 d (3.6)	5.70 m	5.17 d (4.1)	2.63 d (2.9)	5.63 dd (2.9, 9.9)	6.14 d (9.9)	4.58, 5.19 d _{AB} (13.0)
T-20	5.76 d (3.2)	4.24 m	5.231 d (4.8)	2.63 d (3.2)	5.58 dd (3.2, 9.9)	6.19 d (9.9)	4.95, 5.18 d _{AB} (13.4)
T-21	5.44 d (2.8)	4.16 m	5.26 d (4.9)	2.58 d (3.3)	5.58 dd (3.3, 9.8)	6.09 d (9.8)	4.80, 4.97 d _{AB} (13.3)
T-22	5.40 d (3.4)	5.39 m	5.20 d (5.2)	2.59 d (3.3)	5.61 dd (3.3, 9.9)	6.08 d (9.9)	4.67, 4.87 d _{AB} (13.8)
T-23	5.42 d (3.0)	4.10 m	6.52 s	2.46 d (3.4)	5.70 dd (3.4, 9.7)	6.04 d (9.7)	4.79, 4.96 d _{AB} (13.5)
T-24	5.76 d (2.9)	4.25 m	5.31 d (4.8)	2.60 d (2.8)	5.61 d (2.8, 9.7)	6.19 d (9.7)	5.01, 5.12 d _{AB} (11.9)
T-25	5.94 d (3.5)	5.77 m	5.25 d (6.0)	2.65 d (3.1)	5.68 dd (3.1, 9.9)	6.19 d (9.9)	4.85, 5.30 d _{AB} (13.1)

T-26	5.76 d (2.9)	4.26 m	5.29 d (5.0)	2.59 d (3.1)	5.61 dd (3.1, 10.0)	6.18 d (10.0)	5.08, 5.10 d _{AB} (13.2)
T-27	5.94 d (3.7)	5.77 m	5.23 d (4.9)	2.65 d (3.3)	5.65 dd (3.3, 9.8)	6.19 d (9.8)	4.79, 5.36 d _{AB} (13.1)
Productos	H-1	H-2	H-6	H-7	H-8	H-9	H-15
T-28	5.94 d (3.4)	5.75 m	6.54 s	2.56 d (3.4)	5.80 dd (3.4, 9.8)	6.19 d (9.8)	4.83, 5.34 d _{AB} (13.1)
T-29	5.55 d (3.4)	5.43 m	5.20 d (5.1)	2.67 d (3.4)	5.74 dd (3.4, 9.8)	6.11 d (9.8)	4.78, 5.28 d _{AB} (13.4)
T-30	5.47 d (3.0)	4.15 m	6.57 s	2.61 d (3.4)	5.78 dd (3.4, 9.7)	6.06 d (9.7)	5.13, 5.18 d _{AB} (13.6)
T-31	4.50 t (4.2)	5.22 m	6.50 s	2.64 d (2.6)	5.90 dd (2.6, 7.3)	6.17 d (7.3)	4.98, 5.06 d _{AB} (13.9)
T-32	5.52 d (3.4)	5.39 m	5.13 m	2.65 d (3.2)	4.39 m	5.93 d (9.4)	4.99, 5.14 d _{AB} (13.4)
T-33	5.81 d (3.0)	4.29 m	5.29 d (5.0)	2.67 d (3.3)	5.77 dd (3.3, 9.8)	6.21 d (9.8)	5.15, 5.48 d _{AB} (13.5)
T-34	6.03 d (3.6)	5.82 m	5.22 d (5.1)	2.70 d (3.2)	5.88 dd (3.2, 9.8)	6.26 d (9.8)	4.93, 5.70 d _{AB} (13.2)
T-35	5.87 d (3.4)	5.53 m	5.23 m	2.69 d (3.1)	5.81 dd (3.1, 9.8)	6.20 d (9.8)	4.96, 5.41 d _{AB} (13.4)
T-36	6.01 d (3.7)	5.79 m	5.24 s	2.69 d (3.3)	5.86 dd (3.3, 9.8)	6.26 d (9.8)	4.96, 5.72 d _{AB} (13.3)
T-37	6.00 d (3.6)	5.82 m	5.23 m	2.68 d (3.2)	5.86 dd (3.2, 9.8)	6.25 d (9.8)	4.99, 5.72 d _{AB} (1302)
T-38	5.52 d (3.0)	4.17 m	5.33 d (4.9)	2.80 d (3.3)	5.73 dd (3.3, 9.8)	6.27 d (9.8)	4.83, 5.07 d _{AB} (13.5)
T-39	5.84 d (3.2)	4.26 m	5.37 d (3.8)	2.82 d (3.1)	5.76 dd (3.1, 9.9)	6.37 d (9.9)	4.98, 5.22 d _{AB} (13.6)
T-40	5.72 sa	5.72 sa	5.32 d (5.2)	2.84 d (3.2)	5.82 dd (3.2, 9.8)	6.32 d (9.8)	4.65, 5.27 d _{AB} (13.2)
T-41	5.57 d (3.6)	5.52 m	5.22 d (5.1)	2.63 d (3.3)	4.36 m	5.93 d (9.4)	4.68, 5.20 d _{AB} (13.4)
T-42	5.55 d (3.5)	5.52 m	5.26 d (5.0)	2.63 d (3.3)	4.36 m	5.94 d (9.4)	4.78, 5.06 d _{AB} (13.3)
T-43	5.48 d (3.5)	5.40 m	5.15 d (5.1)	2.61 d (3.1)	4.29 m	5.85 d (9.4)	4.65, 4.94 d _{AB} (13.5)
T-44	5.46 d (3.5)	5.39 m	5.16 d (5.1)	2.57 d (3.3)	4.26 m	5.86 d (9.4)	4.76, 4.80 d _{AB} (13.5)

T-45	5.99 d (3.6)	5.92 m	6.60 s	2.37 d (3.0)	5.87 d (3.0)	6.37 s	5.15, 5.34 d _{AB} (12.7)
T-46	5.60 m	5.60 m	6.44 s	2.57 d (3.4)	5.60 m	5.93 s	4.86, 5.03 d _{AB} (12.0)
Productos	H-1	H-2	H-6	H-7	H-8	H-9	H-15
T-47	5.71 d (3.6)	5.62 m	6.37 s	2.67 d (3.0)	5.62 m	6.15 s	4.89, 5.61 d _{AB} (12.5)
T-48	5.62 d (3.4)	5.41 m	5.36 d (5.2)	3.20 s		5.95 s	4.73, 4.90 d _{AB} (13.2)
T-49	5.72 dd (4.1, 8.1)		5.24 d (5.1)	2.60 d (3.0)	5.52 dd (3.2, 10.0)	6.19 d (10.0)	4.63, 4.94 d _{AB} (13.0)
T-50	5.60 d (3.6)		6.37 s	2.54 d (3.6)	5.49 dd (3.8, 12.1)	6.00 s	4.50, 4.89 d _{AB} (13.2)
T-51	5.48 dd (3.8, 11.8)		6.32 s	2.53 d (2.9)	5.61 d (3.0)	5.98 s	4.54, 4.81 d _{AB} (12.7)

Valores de J en Hz en paréntesis. Disolvente CDCl₃.

*Señales solapados.

^a C₆D₆.

Tabla 2: RMN ¹³C de los sesquiterpenos aislados de *Crossopetalum tonduzii*.

Carbono	T-1 ^a	T-2	T-3	T-4	T-5	T-6	T-7	T-8
C-1	78.2 d	78.1 d	78.0 d	78.2 d	75.0 d	78.1 d	75.6 d	76.9 d
C-2	67.5 d	67.3 d	75.3 d	67.3 d	67.3 d	67.3 d	67.6 d	67.3 d
C-3	44.4 t	43.1 t	43.0 t	41.5 t	43.7 t	42.0 t	42.0 t	41.6 t
C-4	69.9 s	72.5 s	67.0 s	69.8 s	72.1 s	69.8 s	69.6 s	72.1 s
C-5	93.1 s	92.0 s	92.0 s	92.6 s	91.5 s	92.5 s	92.1 s	91.5 s
C-6	76.0 d	77.3 d	76.9 d	75.8 d	76.8 d	75.8 d	75.4 d	75.3 d
C-7	52.4 d	53.5 d	53.5 d	52.2 d	53.5 d	52.1 d	52.1 d	53.5 d
C-8	74.1 d	74.4 d	72.4 d	73.8 d	73.7 d	74.0 d	73.8 d	74.8 d
C-9	76.0 d	75.4 d	74.1 d	75.1 d	75.0 d	75.7 d	75.3 d	75.1 d
C-10	52.4 s	51.1 s	50.8 s	51.6 s	50.5 s	51.6 s	51.4 s	50.6 s
C-11	83.8 s	84.3 s	84.2 s	84.0 s	84.5 s	84.0 s	84.3 s	84.6 s
C-12	25.5 c	26.3 c	26.3 c	25.8 c	26.2 c	26.5 c	25.7 c	26.2 c
C-13	29.3 c	30.1 c	30.1 c	29.8 c	30.0 c	29.7 c	29.7 c	30.1 c
C-14	25.2 c	24.3 c	24.3 c	25.1 c	24.0 c	25.1 c	24.7 c	24.1 c

C-15	62.5 t	62.1 t	62.0 t	62.0 t	61.6 t	62.0 t	61.7 t	61.7 t
-------------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------

Carbono	T-9	T-10	T-11	T-12	T-13	T-14	T-15	T-16
C-1	78.9 d	46.6 d	77.2 d	75.2 d	75.4 d	75.9 d	77.4 d	75.8 d
C-2	67.5 d	73.2 d	70.0 d	68.8 d	68.9 d	67.0 d	67.3 d	67.5 d
C-3	41.5 t	41.4 t	43.6 t	41.7 t	41.2 t	44.6 t	43.3 t	41.5 t
C-4	67.5 s	72.0 s	71.0 s	71.9 s	71.8 s	7.0 s	72.5 s	72.1 s
C-5	91.5 s	91.5 s	93.4 s	91.5 s	91.4 s	93.1 s	92.0 s	91.5 s
C-6	77.2 d	76.9 d	75.1 d	74.9 d	76.5 d	79.4 d	78.0 d	75.8 d
C-7	55.5 d	53.4 d	53.6 d	53.5 d	53.4 d	52.2 d	53.5 d	53.4 d
C-8	72.2 d	74.0 d	74.2 d	74.2 d	73.9 d	73.9 d	74.2 d	73.9 d
C-9	74.9 d	72.2 d	74.9 d	74.8 d	74.9 d	75.8 d	75.5 d	75.1 d
C-10	50.8 s	81.1 s	83.4 s	50.5 s	50.8 s	52.3 s	51.2 s	50.9 s
C-11	84.6 s	84.3 s	85.6 s	84.8 s	84.9 s	83.8 s	84.5 s	84.8 s
C-12	26.6 c	26.2 c	28.1 c	26.7 c	26.2 c	26.7 c	26.6 c	26.6 c
C-13	30.2 c	30.0 c	31.1 c	29.7 c	30.0 c	29.5 c	30.1 c	30.1 c
C-14	24.0 c	24.4 c	26.6 c	24.4 c	24.4 c	25.4 c	24.2 c	25.2 c
C-15	61.8 t	61.7 t	63.1 t	62.0 t	61.8 t	62.2 t	61.9 t	63.4 t

Carbono	T-17	T-18	T-19	T-20	T-21	T-22	T-23	T-24
C-1	75.3 d	75.0 d	74.9 d	77.2 d	76.9 d	75.1 d	75.6 d	76.9 d
C-2	66.8 d	69.2 d	68.8 d	67.4 d	67.0 d	67.3 d	67.3 d	67.3 d
C-3	43.3 t	41.2 t	41.7 t	43.1 t	42.9 t	41.2 t	43.6 t	42.9 t
C-4	72.6 s	72.0 s	71.9 s	72.5 s	72.4 s	72.1 s	69.7 s	72.4 s
C-5	92.1 s	92.2 s	91.9 s	92.1 s	92.0 s	91.4 s	92.4 s	92.0 s
C-6	79.1 d	77.2 d	77.2 d	78.1 d	78.0 d	76.9 d	78.0 d	78.0 d
C-7	53.6 d	53.5 d	52.2 d	53.7 d				
C-8	72.6 d	73.8 d	73.8 d	74.0 d	74.0 d	73.7 d	73.7 d	73.8 d
C-9	73.9 d	74.8 d	74.8 d	75.2 d	75.4 d	75.0 d	75.5 d	75.2 d
C-10	51.2 s	50.9 s	50.5 s	51.2 s	50.9 s	50.6 s	51.6 s	51.2 s
C-11	84.3 s	84.5 s	84.1 s	84.3 s	84.2 s	84.5 s	83.9 s	84.3 s

C-12	23.3 c	26.2 c	26.7 c	26.3 c	26.3 c	26.3 c	26.1 c	26.3 c
C-13	30.1 c	30.2 c	30.1 c	30.2 c	30.1 c	30.0 c	29.3 c	30.1 c
C-14	24.3 c	24.4 c	24.4 c	24.3 c	24.4 c	24.1 c	25.0 c	24.3 c
C-15	62.0 t	62.5 t	62.0 t	62.1 t	62.1 t	61.7 t	62.0 t	62.0 t

Carbono	T-25	T-26	T-27	T-28	T-29	T-30	T-31	T-32
C-1	75.0 d	75.4 d	74.9 d	75.1 d	75.3 d	76.0 d	76.5 d	77.1 d
C-2	69.2 d	67.3 d	69.1 d	69.5 d	67.3 d	67.3 d	69.7 d	67.5 d
C-3	41.3 t	43.2 t	41.2 t	41.2 t	41.2 t	43.7 t	42.1 t	41.3 t
C-4	72.0 s	72.5 s	71.9 s	69.5 s	72.1 s	69.5 s	71.6 s	72.3 s
C-5	91.5 s	92.1 s	91.4 s	92.1 s	91.4 s	92.3 s	91.9 s	91.4 s
C-6	77.2 d	78.7 d	77.2 d	77.2 d	76.7 d	78.0 d	77.2 d	78.8 d
C-7	53.5 d	53.7 d	53.5 d	53.5 d	53.4 d	52.0 d	52.5 d	55.4 d
C-8	74.1 d	72.5 d	74.1 d	73.7 d	74.2 d	74.2 d	73.9 d	74.7 d
C-9	74.9 d	73.8 d	74.9 d	75.7 d	75.1 d	75.7 d	76.1 d	75.1 d
C-10	50.9 s	51.4 s	50.8 s	51.6 s	50.8 s	52.0 s	52.2 s	50.9 s
C-11	84.9 s	84.5 s	84.8 s	84.6 s	84.6 s	84.0 s	84.0 s	84.6 s
C-12	26.3 c	26.3 c	26.6 c	26.6 c	26.2 c	25.6 c	25.7 c	26.4 c
C-13	30.1 c	30.2 c	30.0 c	29.7 c	29.9 c	29.6 c	29.7 c	30.1 c
C-14	24.5 c	24.3 c	24.3 c	25.1 c	24.4 c	25.3 c	25.2 c	24.2 c
C-15	62.2 t	61.9 t	62.1 t	62.2 t	62.4 t	62.6 t	61.9 t	62.3 t

Carbono	T-33	T-34	T-35	T-36	T-37	T-38	T-39	T-40
C-1	77.3 d	75.4 d	75.9 d	75.6 d	75.1 d	77.2 d	77.2 d	75.6 d
C-2	67.4 d	69.0 d	67.6 d	68.3 d	69.2 d	67.2 d	67.4 d	68.7 d
C-3	43.1 t	42.2 t	41.2 t	41.3 t	41.2 t	43.1 t	43.4 t	41.3 t
C-4	72.6 s	71.9 s	72.2 s	72.0 s	72.0 s	72.5 s	72.5 s	71.9 s
C-5	92.2 s	91.4 s	91.5 s	91.5 s	91.4 s	92.1 s	92.1 s	91.4 s
C-6	78.1 d	77.1 d	77.1 d	76.9 d	77.5 d	78.0 d	78.6 d	76.9 d
C-7	53.6 d	53.5 d	53.6 d	53.5 d	53.6 d	53.5 d	53.5 d	53.4 d
C-8	74.5 d	74.0 d	74.1 d	74.0 d	74.1 d	75.3 d	75.2 d	74.7 d
C-9	75.6 d	75.2 d	75.3 d	75.3 d	74.8 d	75.9 d	75.8 d	74.8 d

C-10	51.5 s	51.1 s	51.2 s	51.1 s	51.1 s	50.9 s	51.3 s	50.7 s
C-11	84.4 s	84.9 s	84.9 s	84.8 s	84.8 s	84.2 s	84.4 s	84.6 s
C-12	26.3 c	26.3 c	26.3 c	26.2 c	26.3 c	26.7 c	26.5 c	26.4 c
C-13	30.1 c	30.0 c	30.0 c	29.6 c	29.6 c	30.1 c	31.9 c	30.0 c
C-14	24.6 c	24.8 c	24.5 c	24.6 c	24.7 c	24.4 c	24.4 c	24.3 c
C-15	62.8 t	62.6 t	62.3 t	62.6 t	62.8 t	62.0 t	62.0 t	61.9 t

Carbono	T-41	T-43	T-45	T-46	T-47	T-48	T-49	T-50
C-1	76.9 d	76.9 d	75.8 d	75.7 d	75.8 d	74.3 d	76.9 d	72.8 d
C-2	67.6 d	67.2 d	68.8 d	67.9 d	68.1 d	67.6 d	72.8 d	23.6 t
C-3	41.5 t	41.4 t	42.1 t	42.0 t	42.1 t	41.0 t	41.0 t	37.9 t
C-4	72.1 s	72.0 s	69.9 s	70.0 s	70.0 s	72.1 s	73.7 s	70.5 s
C-5	91.4 s	91.4 s	91.6 s	91.4 s	91.4 s	92.4 s	91.6 s	91.3 s
C-6	78.8 d	78.9 d	77.3 d	77.2 d	77.6 d	76.1 d	77.2 d	76.1 d
C-7	55.4 d	55.3 d	53.3 d	54.7 d	54.6 d	66.3 d	53.5 d	53.4 d
C-8	74.9 d	74.8 d	71.0 d	70.8 d	70.0 d	198.3 s	74.8 d	77.8 d
C-9	75.0 d	75.1 d	71.3 d	71.2 d	71.0 d	79.3 d	74.8 d	71.1 d
C-10	50.7 s	50.7 s	54.8 s	53.4 s	53.1 s	51.5 s	49.9 s	54.1 s
C-11	84.5 s	84.5 s	83.2 s	83.4 s	8436 s	84.0 s	84.3 s	83.3 s
C-12	26.4 c	26.5 c	25.1 c	25.7 c	25.7 q	25.1 c	26.1 c	25.6 c
C-13	30.1 c	30.1 c	29.1 c	29.3 c	29.3 c	29.6 c	30.1 c	30.9 c
C-14	24.1 c	23.7 c	24.4 c	24.3 c	24.6 c	24.3 c	24.7 c	22.7 c
C-15	61.9 t	61.7 t	65.1 t	65.2 t	65.6 t	61.4 t	61.1 t	64.0 t

Carbono	T-51
C-1	72.8 d
C-2	23.6 t
C-3	37.9 t
C-4	70.5 s
C-5	91.4 s
C-6	76.2 d
C-7	53.4 d
C-8	77.4 d

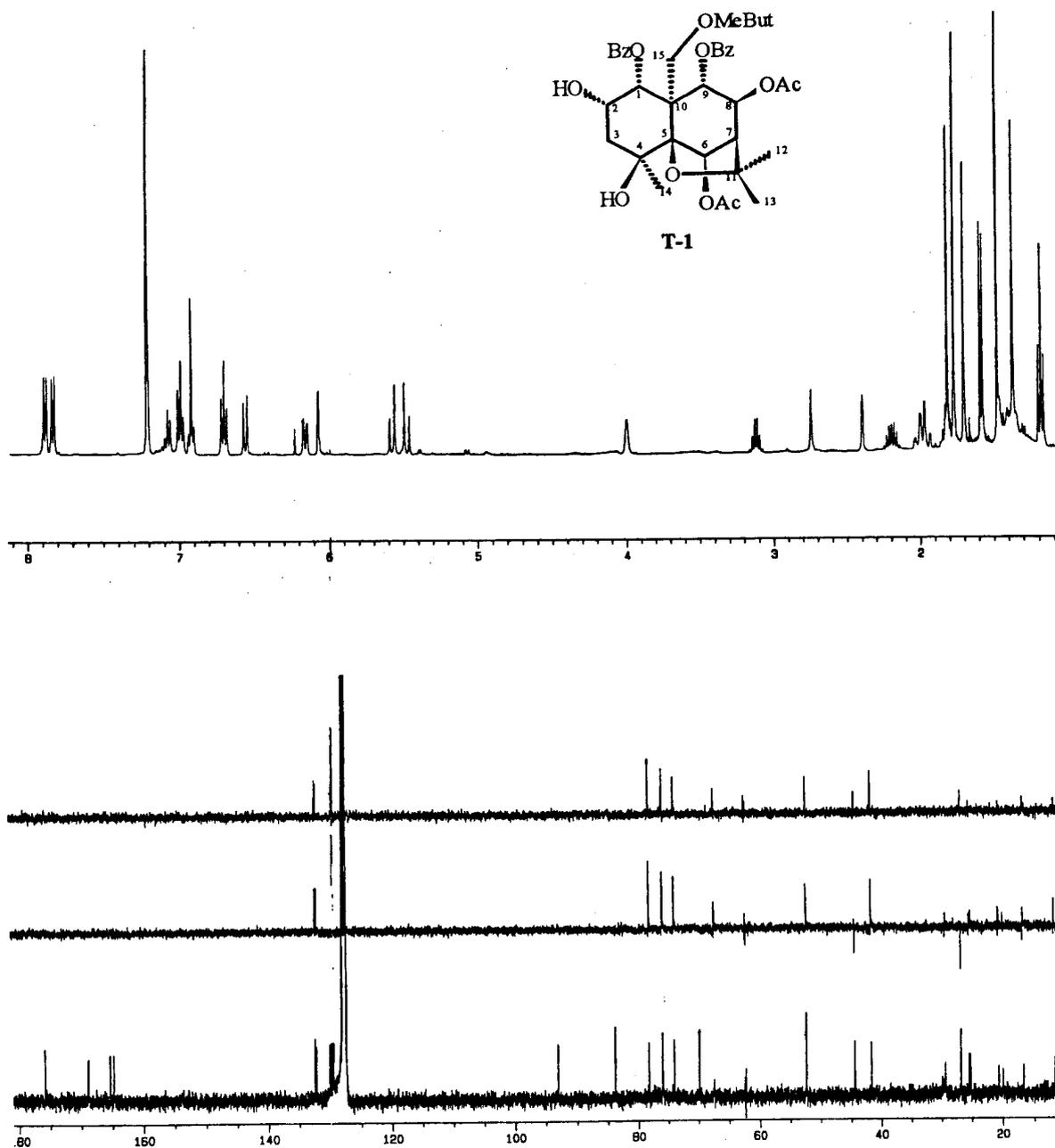
C-9	71.0 d
C-10	54.2 s
C-11	83.2 s
C-12	25.6 c
C-13	29.7 c
C-14	22.8 c
C-15	63.9 t

Datos basados en experimentos DEPT, HMQC y HMBC.

Al producto que hemos denominado **T-1** se le asignó la estructura y configuración absoluta (1R,2S,4S,5S,6R,7R,8S,9S,10S)-6,8-diacetoxi-1,9-dibenzoiloxi-15-(2)-metilbutiroil-oxi-2,4-dihidroxi-dihidro- β -agarofurano tal como se muestra. Su fórmula molecular fue determinada como $C_{38}H_{46}O_{13}$, basándonos en los datos de su espectro de masas de alta resolución. Su espectro de IR mostraba bandas indicando la presencia de grupo hidroxilo (3450 cm^{-1}) y grupos éster (1725 cm^{-1}); en el espectro de masas se observaron pérdidas de 122 m/z (C_6H_5COOH); 60 m/z (CH_3COOH) y 102 m/z (C_4H_9COOH), atribuibles a grupos benzoato, acetato y 2-metilbutirato, respectivamente. En su espectro de RMN 1H también se observaron la presencia de dos singuletes a 1.48 y $1.72\ \delta$ que integran para tres protones cada uno, correspondientes a dos acetatos; señales para un metilbutirato como un triplete a $1.19\ \delta$ (3H, $J=7.4\text{ Hz}$), un doblete a $1.58\ \delta$ (3H, $J=7.0\text{ Hz}$) y dos multipletes a $2.19\ \delta$ (2H) y $3.12\ \delta$ (1H); así, como señales para diez protones aromáticos entre 6.70 y $7.89\ \delta$ correspondientes a dos grupos benzoatos; la presencia de estos ésteres fue confirmado por RMN ^{13}C .

El espectro de RMN 1H (Tabla 1) contiene además señales atribuibles a protones geminales a cuatro grupos ésteres secundarios; un singulete a $6.92\ \delta$ (1H, H-6), un doblete a $6.55\ \delta$ (1H, $J=9.8\text{ Hz}$, H-9), un doble doblete a $6.16\ \delta$ (1H, $J=3.2\text{ Hz}$, 9.8 Hz , H-8) y un doblete a $6.07\ \delta$ (1H, $J=3.1\text{ Hz}$, H-1); un grupo éster primario como doblete AB a 5.47 y $5.57\ \delta$ (2H, $J=13.6\text{ Hz}$, H-15); un grupo hidroxilo secundario como multiplete a $4.0\ \delta$ (1H, H-2); un metilo terciario como singulete a $1.81\ \delta$ (3H, H-14), unido a un carbono que soporta un grupo hidroxilo y dos singuletes a 1.37 y $1.70\ \delta$ que integran para tres protones cada uno (H-12 y H-13 respectivamente). Todos estos datos fueron confirmados mediante su espectro de RMN ^{13}C , donde se observaron además señales para cuatro carbonos cuaternarios a $69.9\ \delta$ (C-4), $93.1\ \delta$ (C-5), $52.4\ \delta$ (C-10) y $83.8\ \delta$ (C-11) (Tabla 2).

Todos estos datos nos permitieron establecer la estructura de nuestro compuesto **T-1**, que corresponde a un sesquiterpeno poliesterificado del tipo dihidro- β -agarofurano, el cual posee dos grupos benzoatos, dos acetatos, un 2-metilbutirato, un grupo hidroxilo secundario y un hidroxilo terciario.



La estereoquímica relativa de **T-1** fue determinada por las constantes de acoplamiento y resultados de un experimento ROESY (Figura 3). Así, el análisis de su espectro de RMN ^1H nos permitió observar la aparición de un sistema ABX_2 (H_1 - H_2 - H_3) y un sistema ABX (H_7 - H_8 - H_9). Las constantes de acoplamiento $J_{1,2}=3.1$ Hz y $J_{8,9}=9.8$ Hz nos indicó una relación *cis* entre H_1 y H_2 y *trans* entre H_8 y H_9 . En el experimento ROESY se observó efecto NOE significativo de H_1 con H_2 y H_9 , de H_15 con H_6 , H_8 y Me-14 y finalmente entre H_9 y Me-12.

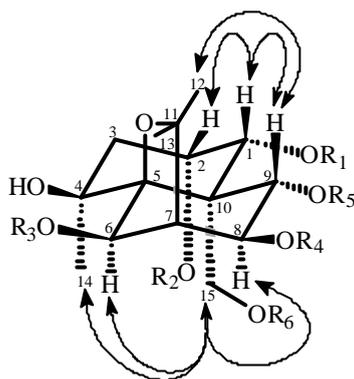
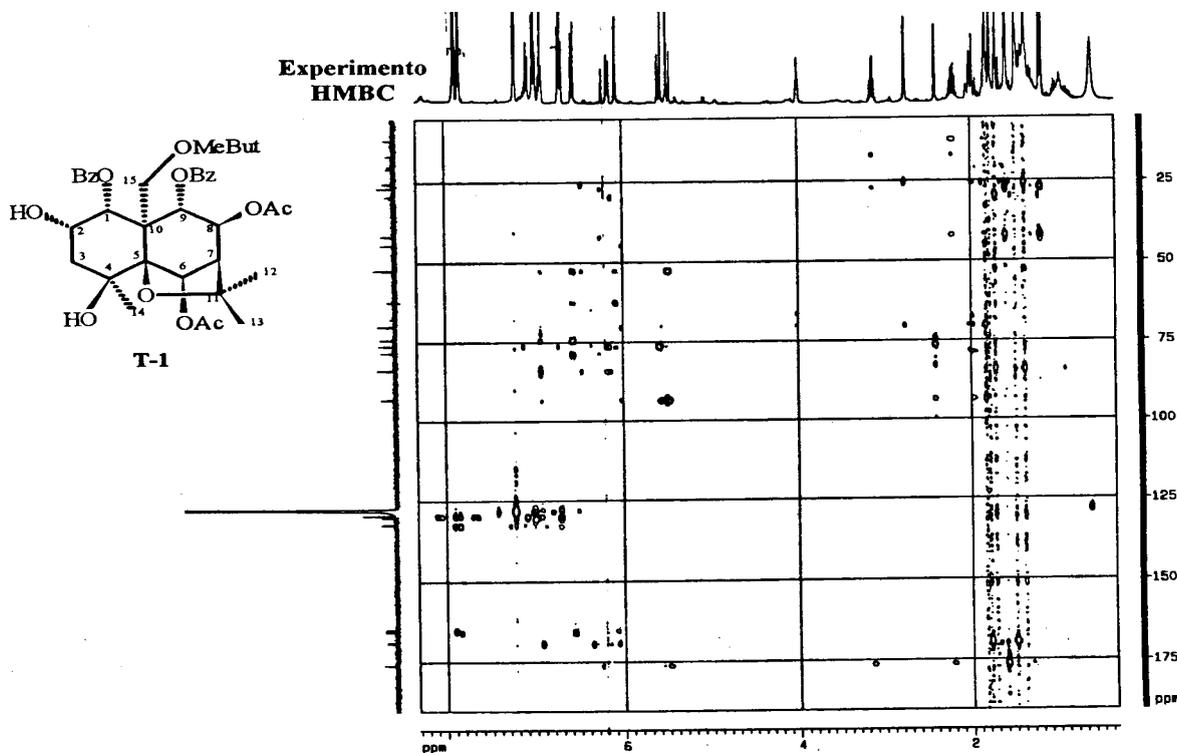
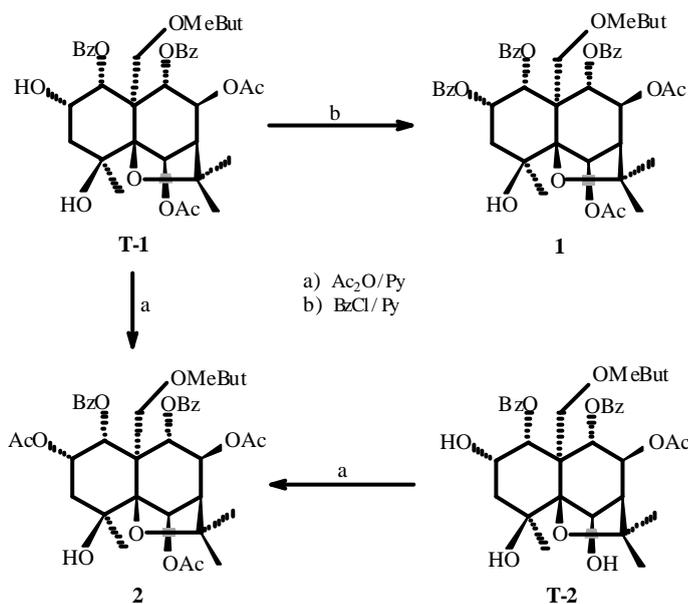


Figura 3. Experimento ROESY de T-1 a T-44

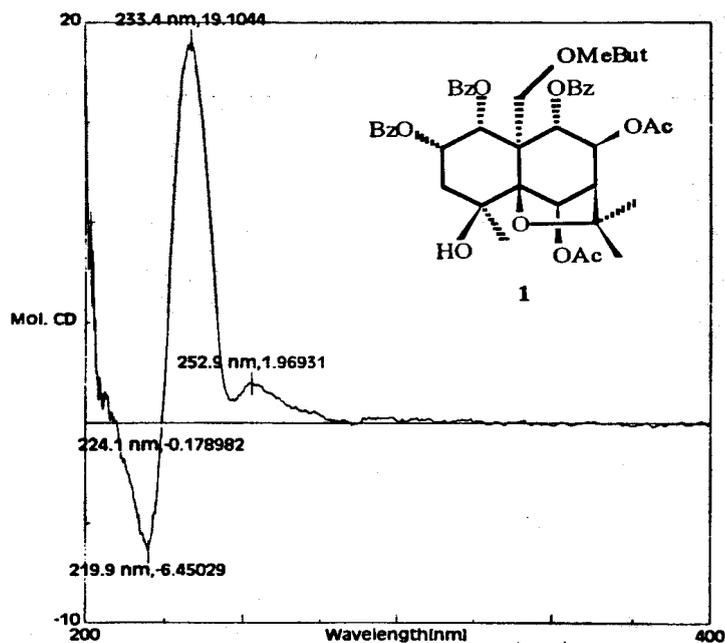
Al objeto de determinar la regiosustitución de nuestro compuesto, se realizó un experimento HMBC, donde se observaron que la señal del grupo carboxílico del 2-metilbutirato a 175.9 δ muestra correlación a tres enlaces con las señales en RMN ^1H a 5.47 y 5.57 δ (H-15), las señales de los grupos carboxílicos de los acetatos a 168.9 y 169.0 δ fueron correlacionados con las señales de 6.16 δ (H-8) y 6.92 δ (H-6) y finalmente las señales de los grupos carboxílicos de los benzoato a 164.8 y 165.4 δ fueron correlacionados con los de los protones a 6.55 δ (H-9) y 6.07 δ (H-1), quedando así establecida la estructura de nuestro compuesto como 6 β ,8 β -diacetoxi-1 α ,9 α -dibenzoiloxi-15-(2)-metilbutiroiloxi-2 α -4 β -dihidroxi-dihidro- β -agarofurano.



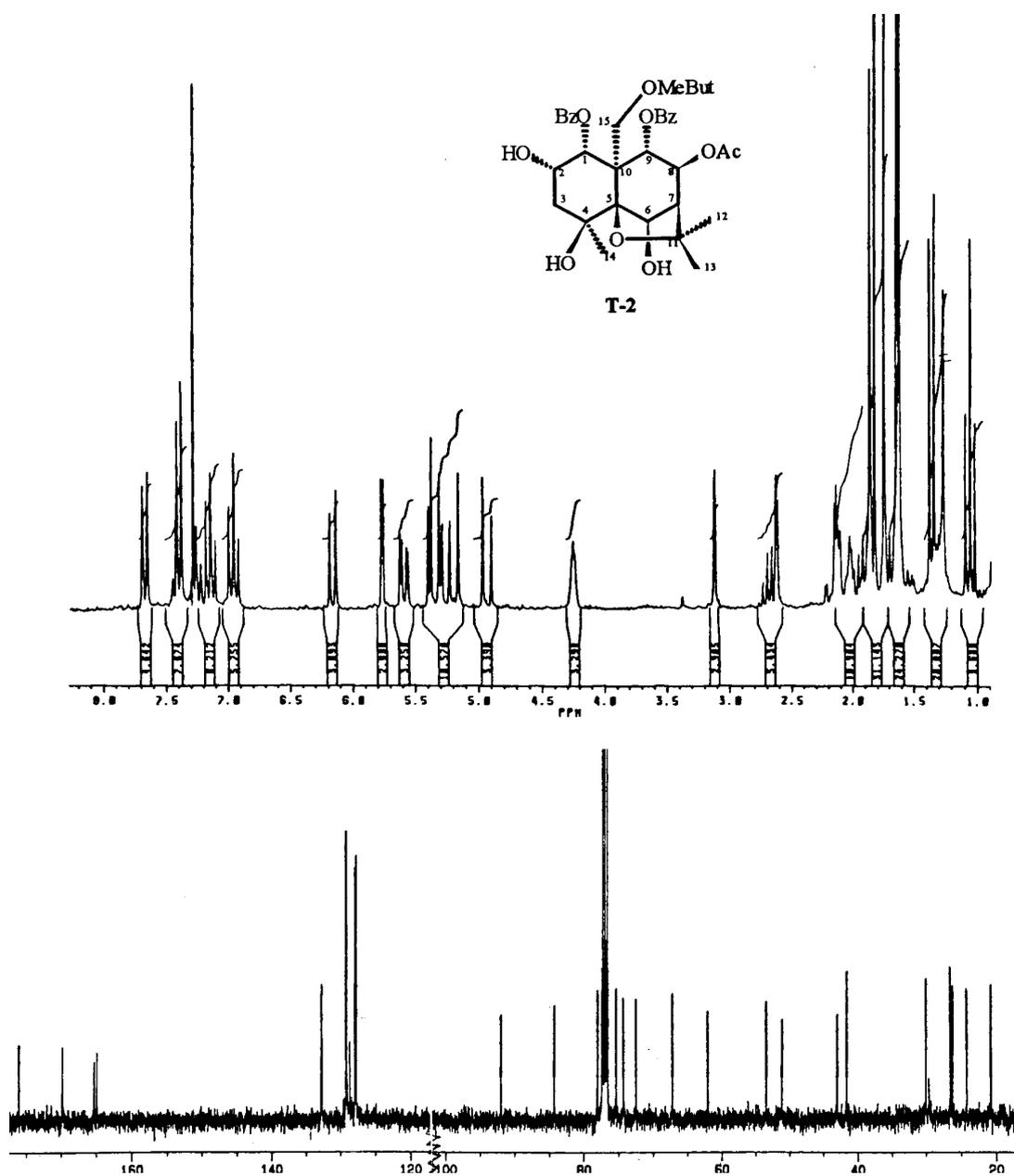
La configuración absoluta de **T-1** fue determinada mediante dicroísmo circular (DC), para lo que fue necesario la introducción de otro grupo cromóforo. Benzoilación de **T-1** en las condiciones habituales rindió el tribenzoato **1** (Esquema 1). Su espectro de DC presenta una curva bisignada, con un primer efecto Cotton positivo a 233.4 nm ($\Delta\epsilon = +19.1$) y un segundo efecto Cotton negativo a 219.9 nm ($\Delta\epsilon = -6.5$), curva que sólo es posible si los tres cromóforos están situados en las posiciones 1α , 2α y 9α en la estructura propuesta, y que está de acuerdo con una configuración absoluta para nuestro producto **T-1** como (1R,2S,4S,5S,6R,7R,8S,9S,10S)-6,8-diacetoxi-1,2,9-tribenzoiloxi-15-(2)-metilbutiroyloxi-4-hidroxi-dihidro- β -agarofurano.



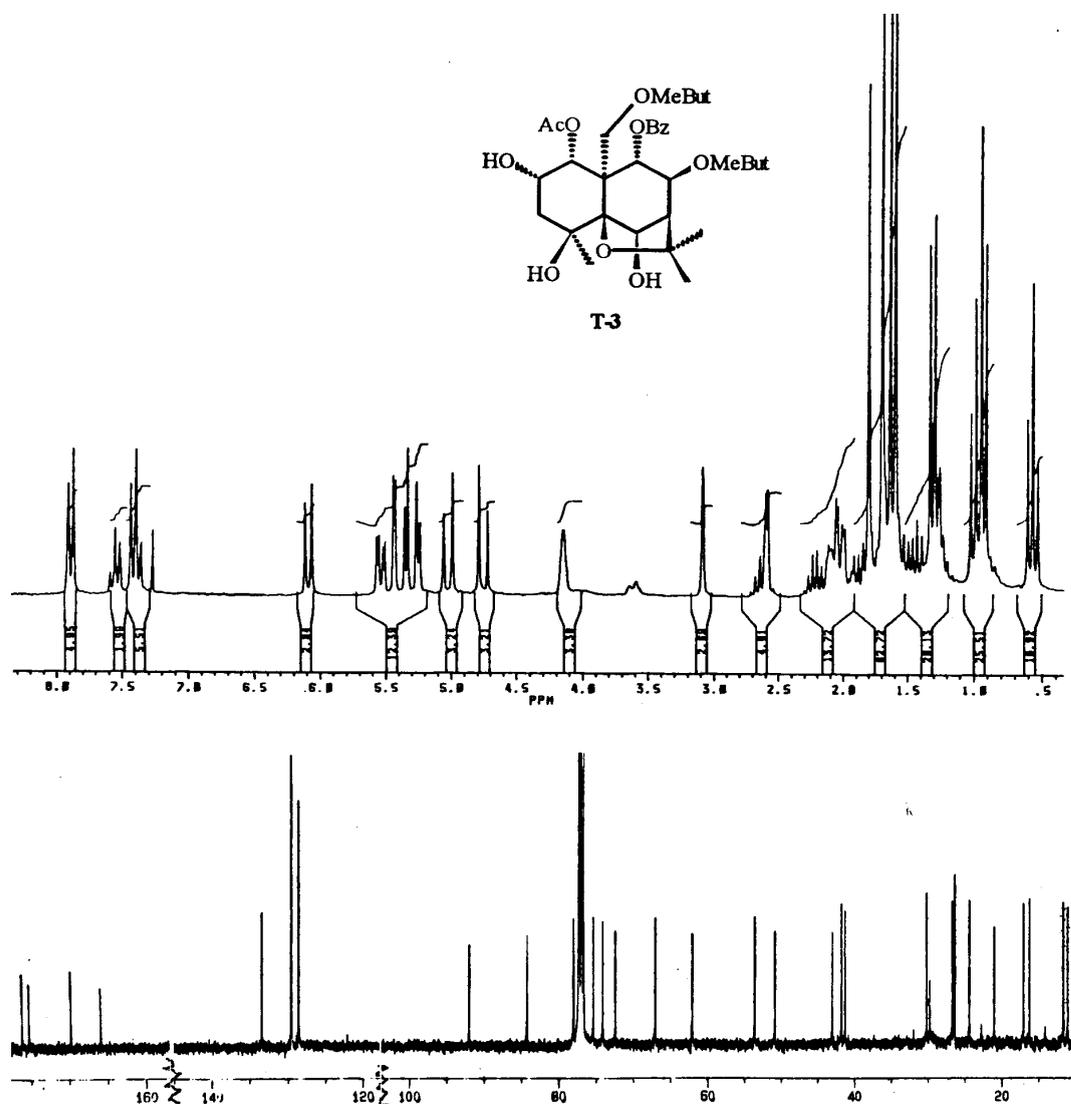
Esquema 1



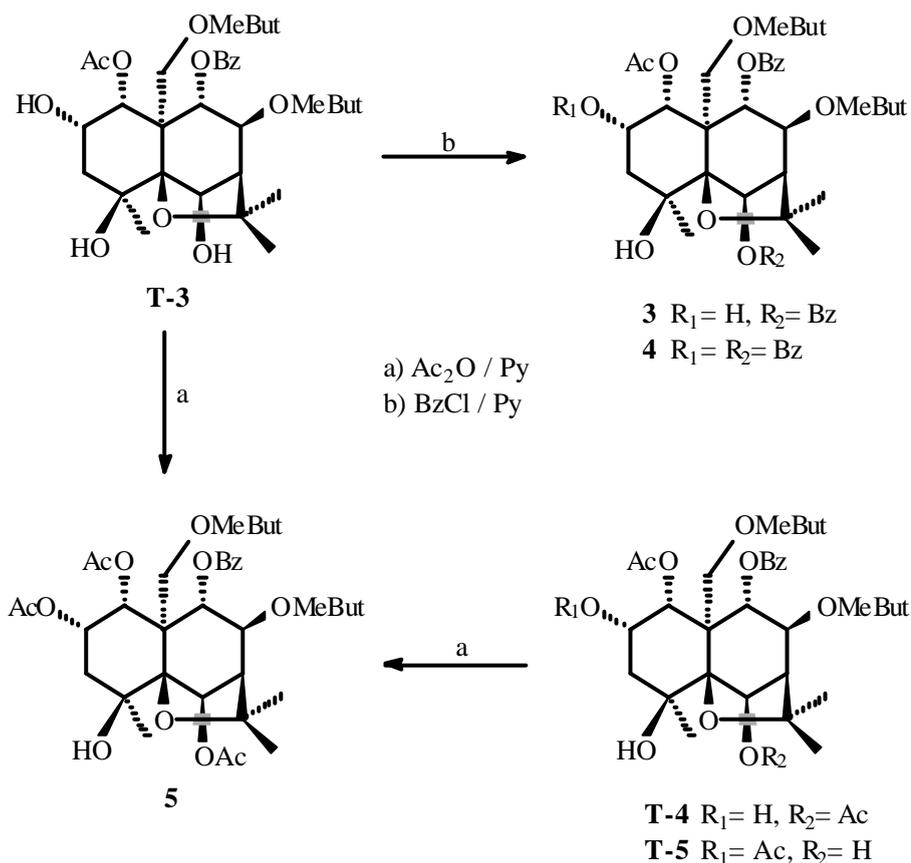
La estructura de **T-2** fue elucidada mediante métodos espectroscópicos, estudios de RMN ^1H y ^{13}C (Tablas 1 y 2), correlaciones bidimensionales ^1H - ^1H (COSY), ^1H , ^{13}C (HMQC y HMBC) y experimento ROESY (Figura 1). La configuración absoluta de **T-2** (1R,2S,4S,5S,6R,7R,8S,9S,10S)-8-acetoxi-1,9-dibenzoiloxi-15-(2)-metilbutiroiloxi-2,4,6-trihidroxi-dihidro- β -agarofurano, fue establecida por correlación química con el producto **T-1**; así, acetilación en las condiciones habituales de **T-1** y **T-2** dieron un mismo triacetato, **2** (Esquema 1) cuya estructura fue establecida como (1R,2S,4S,5S,6R,7R,8S,9S,10S)-2,6,8-triacetoxi-1,9-dibenzoiloxi-15-(2)-metilbutiroiloxi-4-hidroxi-dihidro- β -agarofurano según sus datos espectroscópicos.



El producto que hemos denominado **T-3** le asignamos la estructura de, α -acetoxi- 9α -benzoiloxi- 8β - 15 -di-(2)-metilbutiroiloxi- $2\alpha,4\beta,6\beta$ -trihidroxi-dihidro- β -agarofurano establecida mediante sus datos espectroscópicos. Presentó una fórmula molecular de $C_{34}H_{48}O_{12}$, en su espectro de masas de alta resolución y el estudio de sus datos de IR, UV, RMN 1H y ^{13}C (Tablas 1 y 2) y experimentos bidimensionales homo y heteronucleares nos indicaron que nuestro compuesto se trataba de un sesquiterpeno con esqueleto de dihidro- β -agarofurano, el cual presentaba un grupo acetato, un benzoato, dos 2-metilbutirato, dos grupos hidroxilos secundarios y un grupo hidroxilo terciario, situados en $1\alpha,2\alpha,4\beta,6\beta,9\alpha,15$. Un experimento HMBC nos permitió situar el grupo acetato en C-1, el benzoato en C-9, los grupos 2-metilbutirato en C-8 y C-15, los grupos hidroxilo secundarios en C-2 y C-6 y el grupo hidroxilo terciario en C-4.

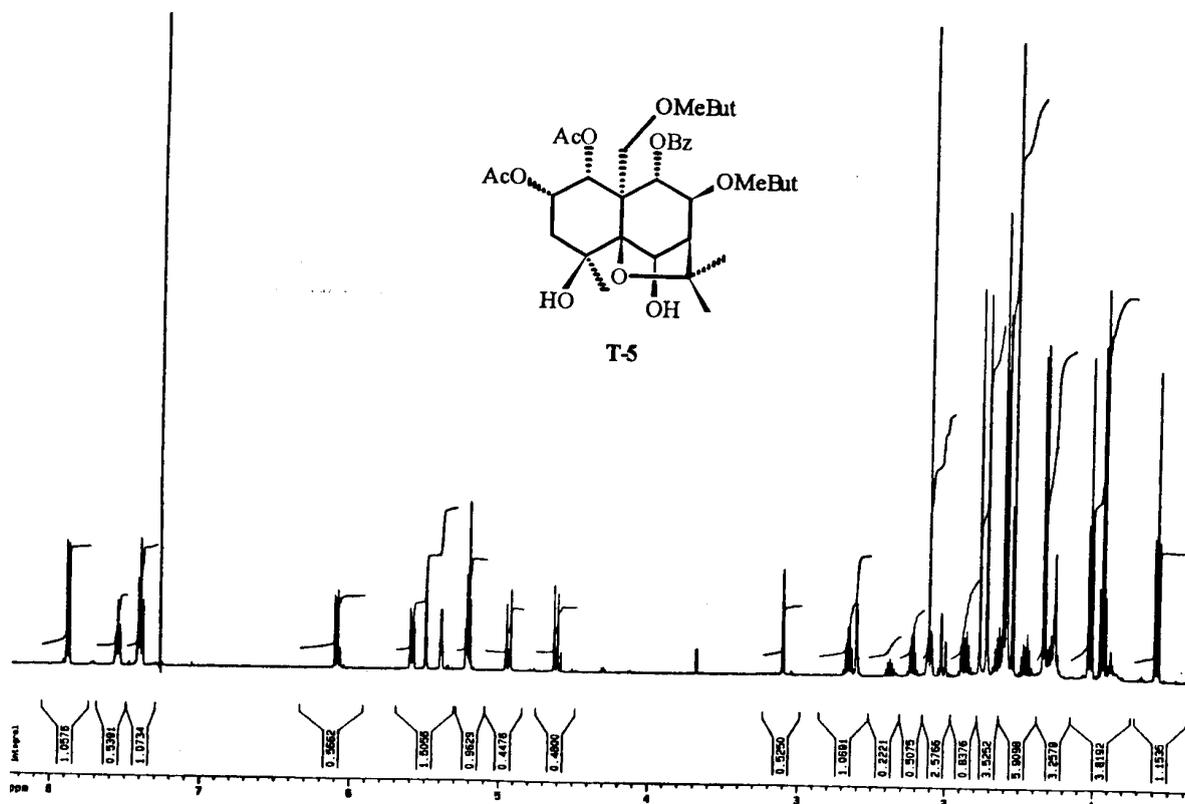
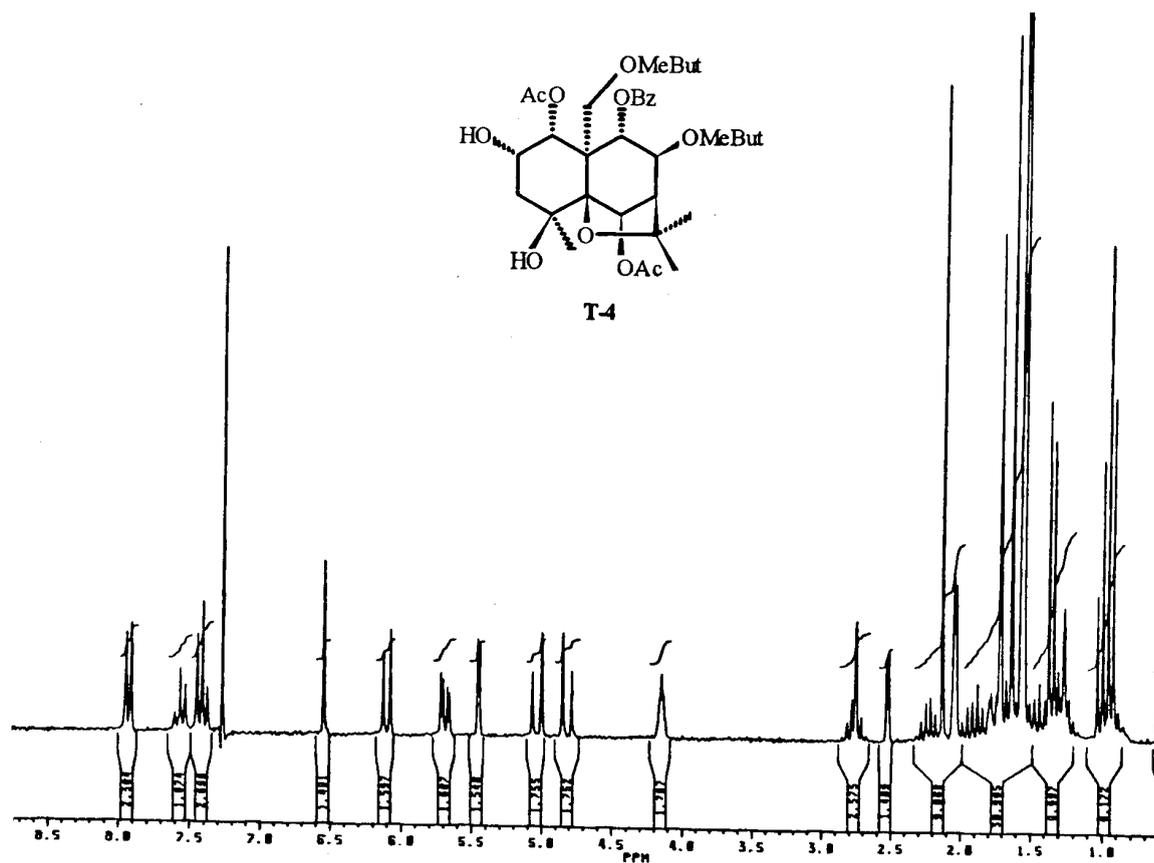


Al objeto de determinar la configuración absoluta, el producto **T-3** fue tratado con cloruro de benzoilo en piridina, obteniéndose los productos **3** y **4** (Esquema 2), cuyas estructuras fueron establecidas basándonos en sus datos espectroscópicos. El análisis de sus curvas de dicroísmo circular no exhibieron curva bisignada, lo que se explica por la cancelación de las interacciones del par 2,6 y 2,9 siendo la interacción del par 6,9 casi coplanar.

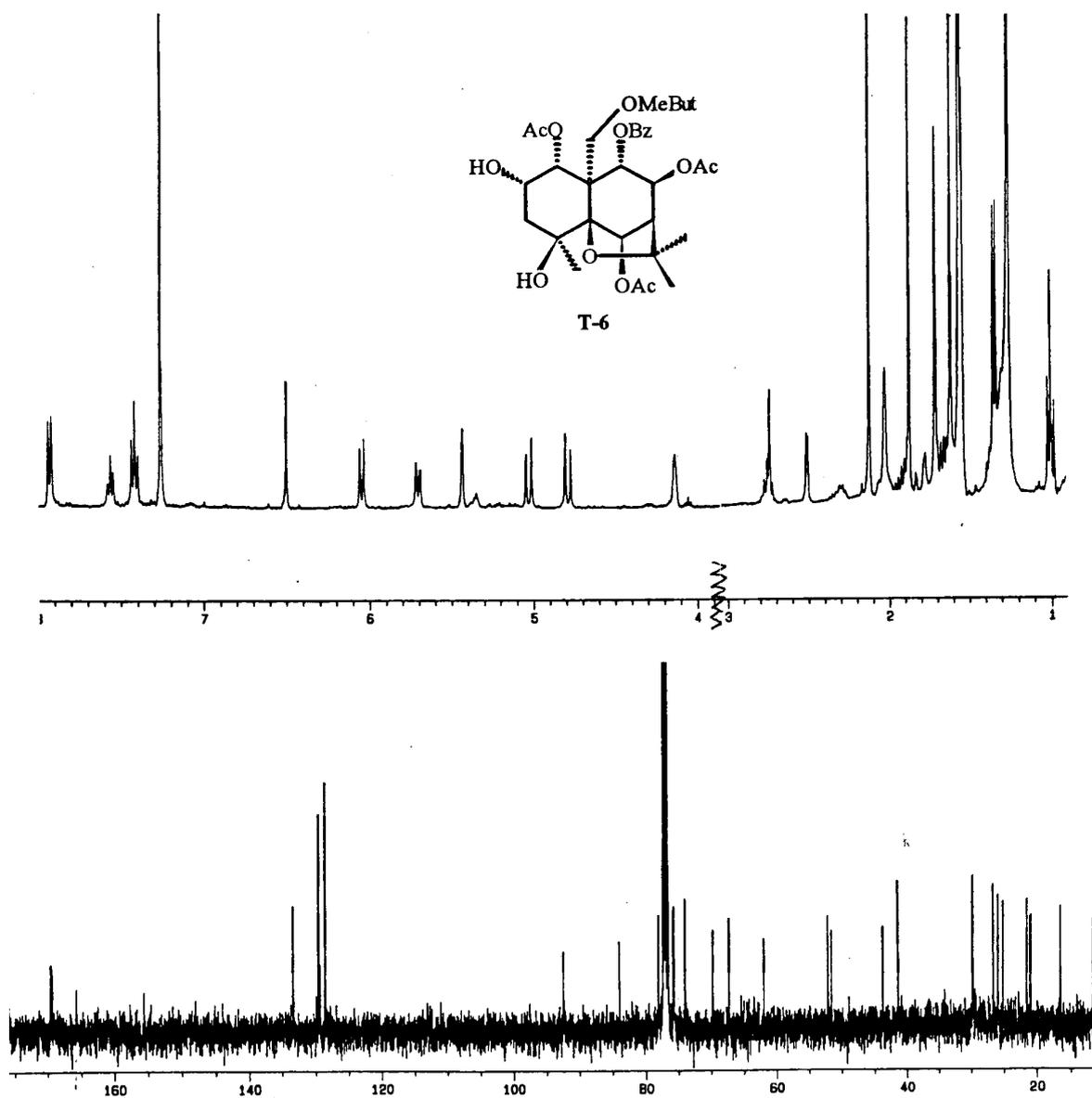


Esquema 2

Las estructuras de los compuestos **T-4** y **T-5** fueron elucidadas mediante métodos espectroscópicos (experimentos mono y bidimensionales) (Tablas 1 y 2, Figura 1) y correlación química con **T-3**. Así, acetilación de **T-3**, **T-4** y **T-5**, en las condiciones habituales, dieron un mismo y único compuesto **5** (Esquema 2), cuyas estructuras fueron establecidas como $1\alpha, 6\beta$ -diacetoxi- 9α -benzoiloxi- 8β -15-di-(2)-metilbutiroiloxi- 4β -hidroxi-dihidro- β -agarofurano y $1\alpha, 2\alpha$ -diacetoxi- 9α -benzoiloxi- 8β -15-di-(2)-metilbutiroilox- $4\beta, 6\beta$ -dihidroxi-dihidro- β -agarofurano para **T-4** y **T-5**, respectivamente, basándonos en sus datos espectroscópicos.

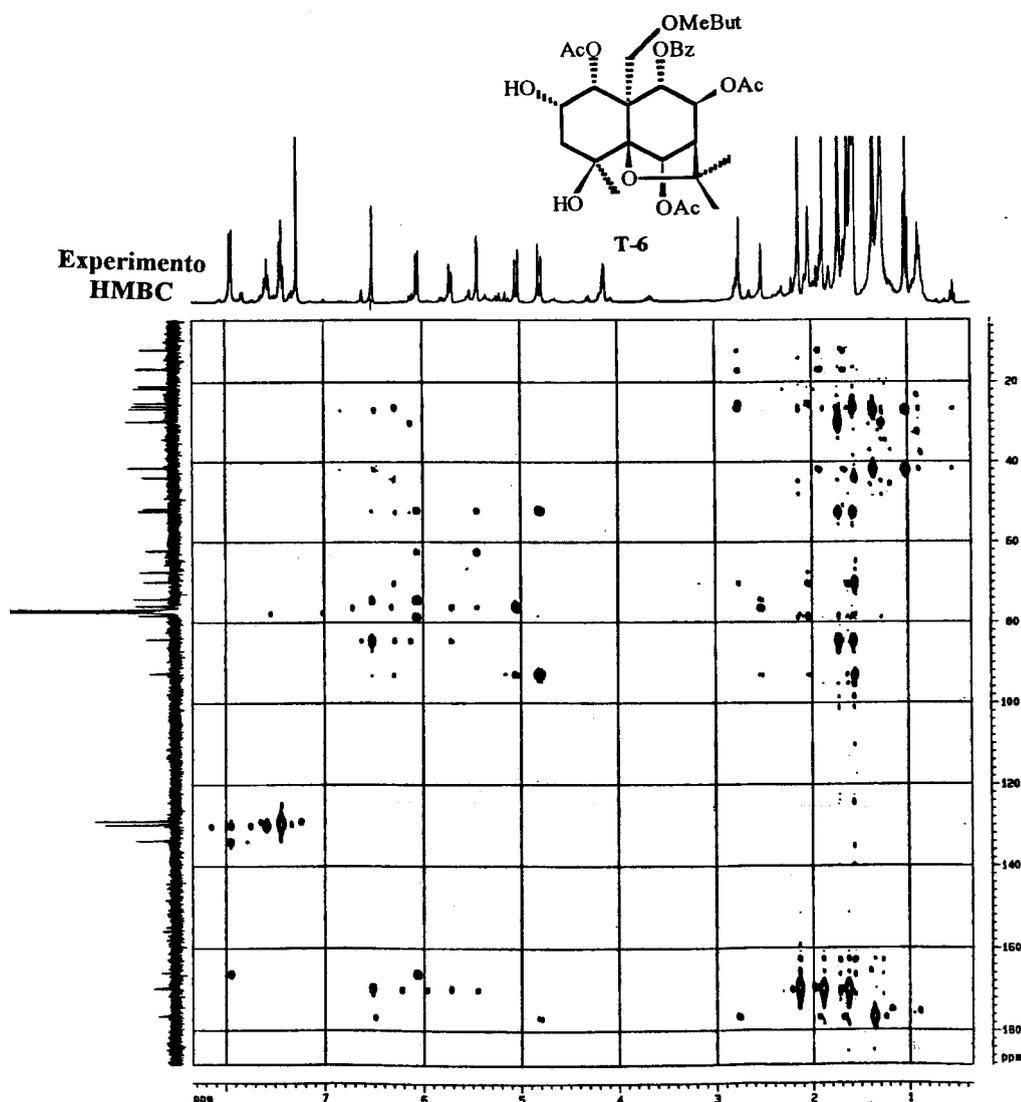


Al producto que hemos denominado **T-6** se le asignó una fórmula molecular de $C_{33}H_{44}O_{13}$, basándonos en los datos de su espectro de masas de alta resolución; en su espectro de IR mostraba bandas indicando la presencia de grupo hidroxilo (3410 cm^{-1}) y grupos éster (1730 cm^{-1}). En el espectro de UV se observaron bandas a 228, 273 nm, características de un grupo cromóforo (benzoato), lo cual fue confirmado por la pérdida de un fragmento de 122 m/z (C_6H_5COOH) en su espectro de masas y señales para cinco protones entre 7.42 y 7.92 δ en RMN 1H (Tabla 1), así como doce carbonos aromáticos en su espectro de RMN ^{13}C (Tabla 2). La presencia de tres singuletes que integran para tres protones cada uno, confirmó la existencia de tres grupos acetatos, como se comprueba por la pérdida de fragmentos de 60 m/z (CH_3COOH) y 42 m/z ($CH_2=CO$) en el espectro de masas.



Todos estos datos nos indican que nuestro compuesto corresponde a un sesquiterpeno poliesterificado que posee un grupo benzoato, tres acetatos y dos grupos hidroxilos, uno secundario y otro terciario. El análisis de las constantes de acoplamiento, unido a los experimentos COSY y ROESY (Figura 1), nos permitieron establecer la estereoquímica relativa de **T-6**.

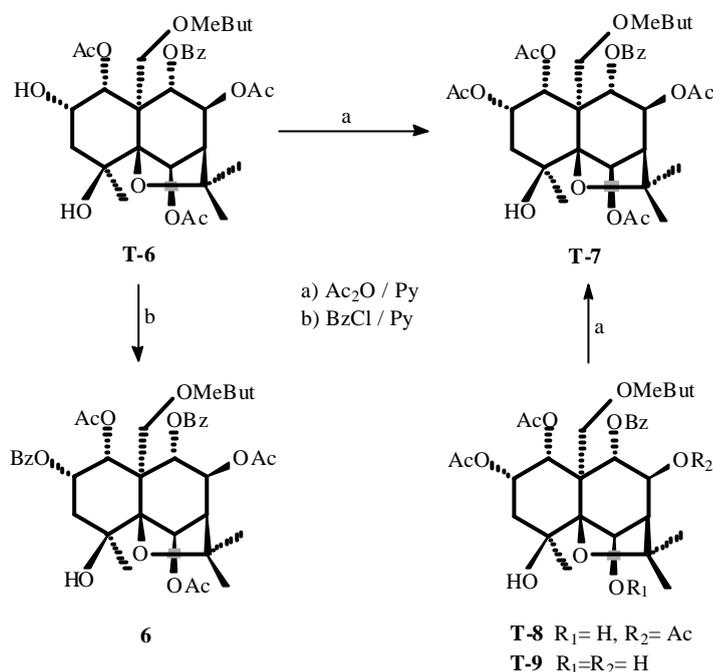
La regiosustitución fue establecida mediante un experimento HMBC, donde se observaron correlaciones heteronucleares entre los grupos carboxilatos de los acetatos con los protones H-1,



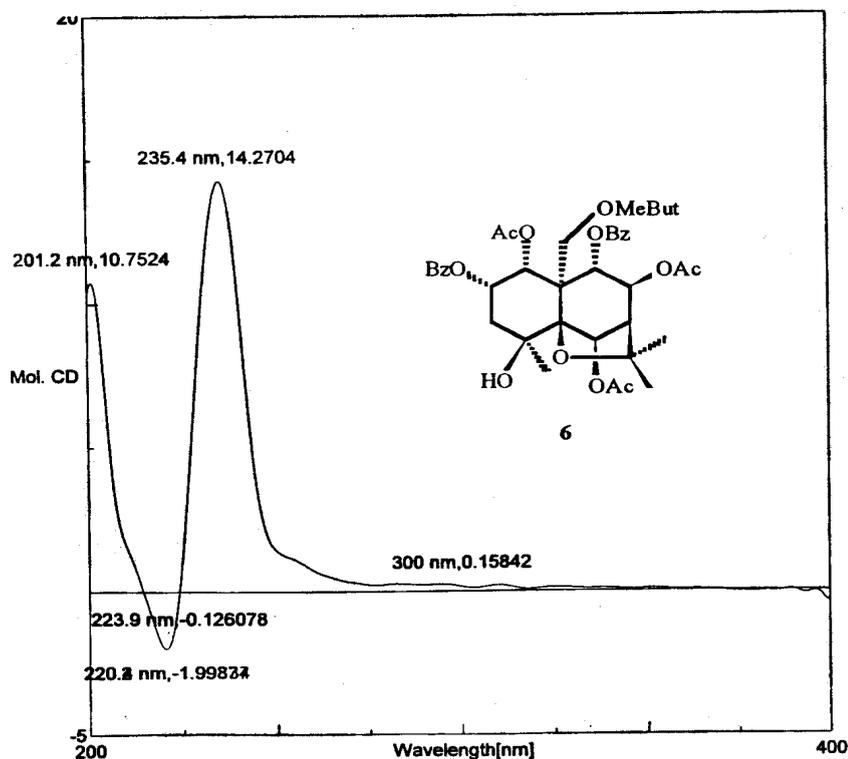
H-6 y H-8, y del carboxilato del grupo benzoato con el protón H-9.

Su configuración absoluta fue determinada mediante dicroísmo circular (DC) para lo que fue necesario la introducción de otro cromóforo; así, benzoilación de **T-6** en las condiciones usuales rindió el producto **6** (Esquema 3), cuya estructura fue establecida por sus datos espectroscópicos. En su espectro de dicroísmo circular, se observó una curva bisignada con un primer efecto Cotton positivo a 235.4 ($\Delta\epsilon = +14.3$) y un segundo efecto Cotton negativo a 220.2 ($\Delta\epsilon = -1.9$), debido al acoplamiento de los dos cromóforos benzoatos en C-2 α y C-9 α , nos permitió establecer de forma inequívoca la configuración absoluta de nuestro producto **6** como (1R,2S,4S,5S,6R,7R,8S,9S,10S)-1,6,8-triacetoxi-2,9-dibenzoiloxi-15-(2)-metilbutiroiloxi-4-

hidroxi-dihidro- β -agarofurano, quedando de esta forma establecida la configuración absoluta del producto **T-6**.

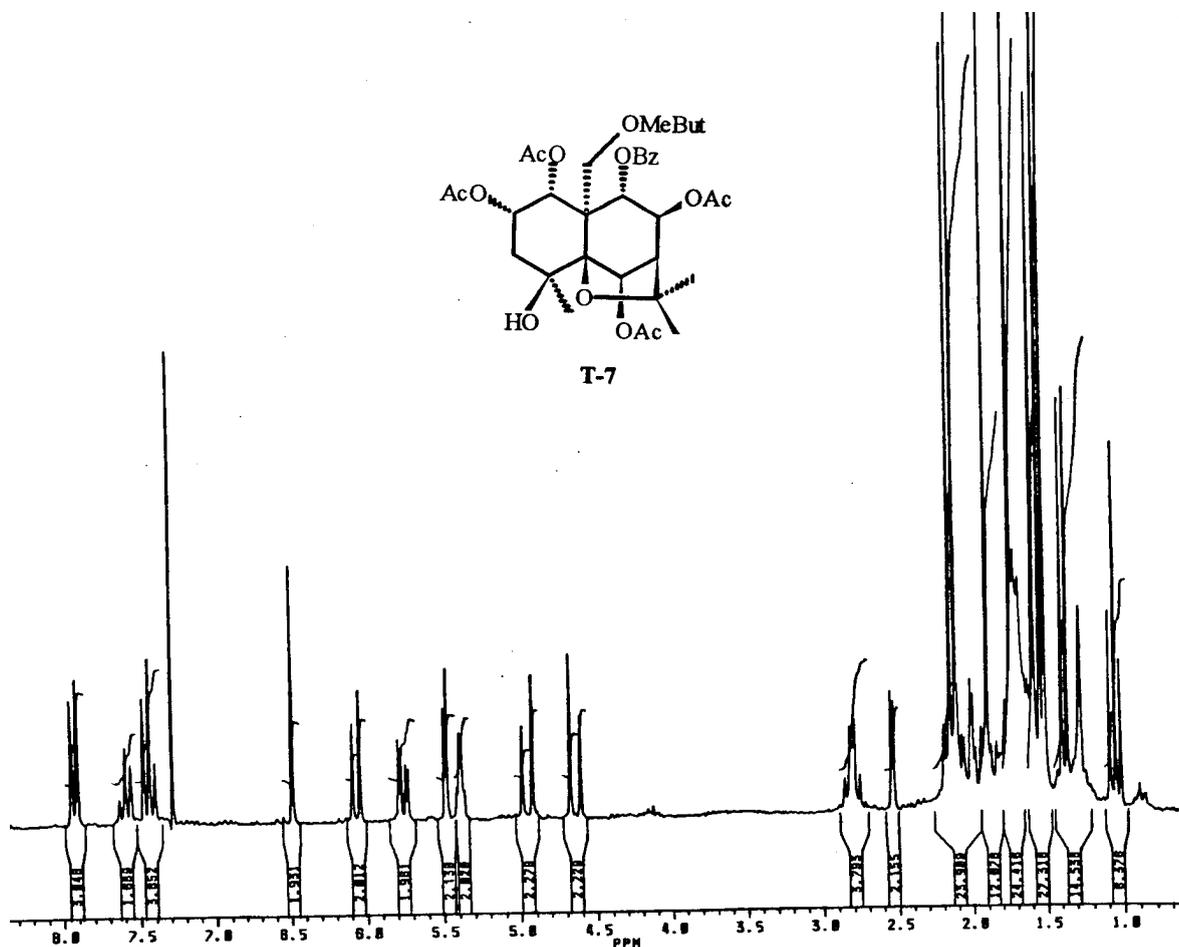


Esquema 3

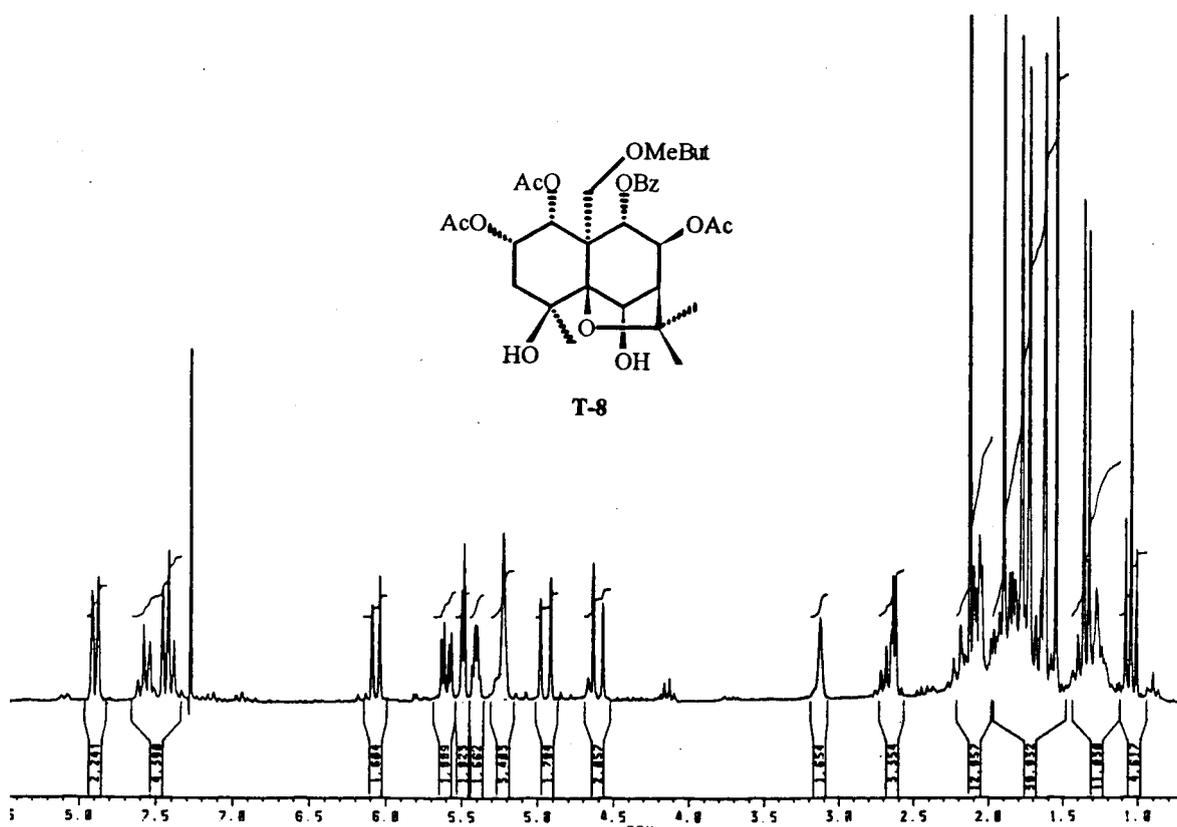


El estudio de los datos espectroscópicos del producto denominado **T-7** nos indicó se trataba de un sesquiterpeno que posee un grupo benzoato, cuatro acetatos, un 2-metilbutirato y un alcohol terciario. Sus datos espectroscópicos (Tablas 1 y 2, Figura 1) nos indicaron que estaba relacionado con el producto **T-6** y así, **T-6** se transformó en **T-7** por acetilación (Esquema 3), esta

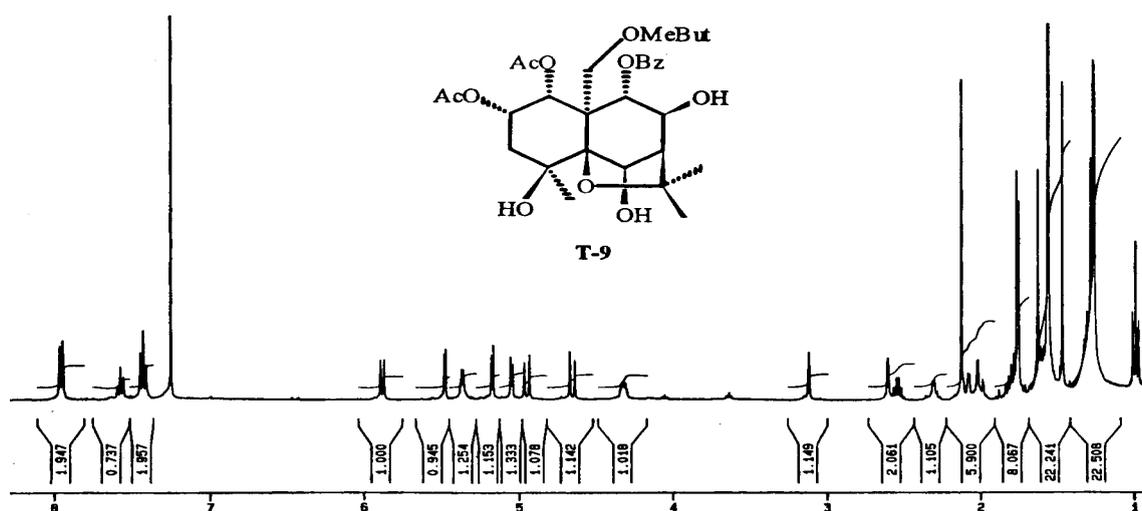
correlación química nos permitió confirmar la estructura de **T-7** y fijar su configuración absoluta como (1R,2S,4S,5S,6R,7R,8S,9S,10S)-1,2,6,8-tetraacetoxi-9-benzoiloxi-15-(2)-metilbutiroiloxi-4-hidroxi-dihidro- β -agarofurano.



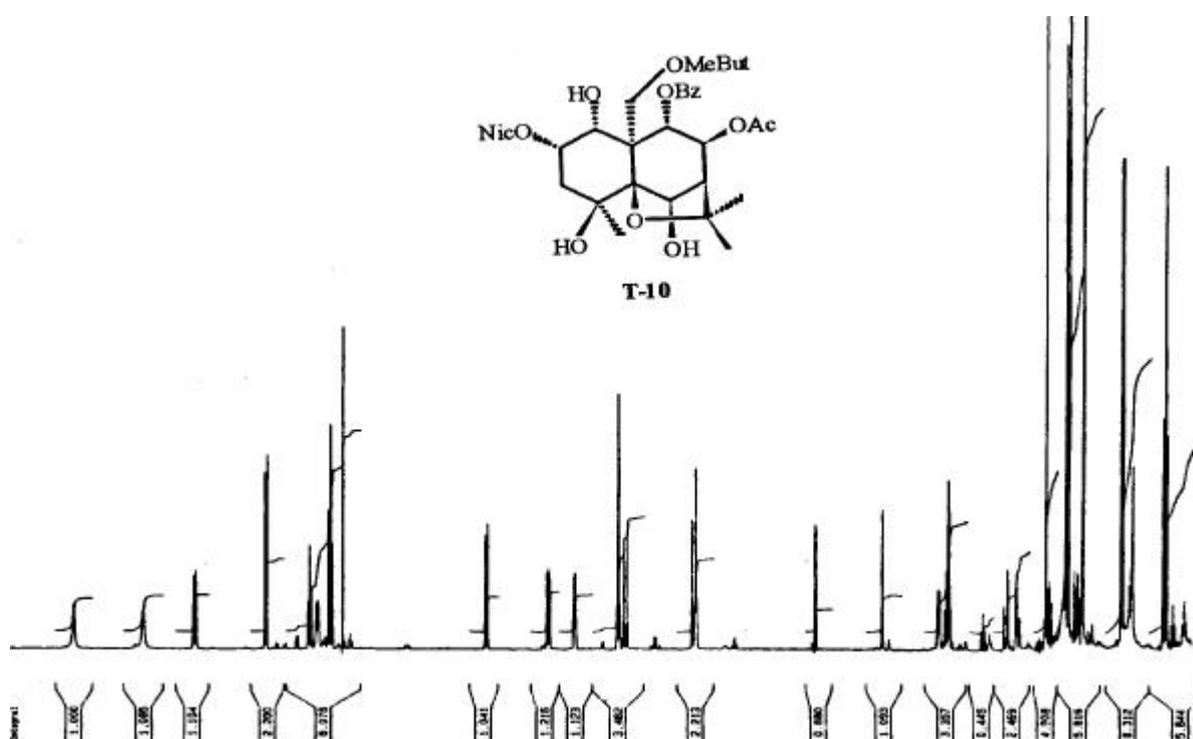
La estructura del producto que hemos denominado **T-8** fue establecida mediante el estudio de sus datos espectroscópicos (Tablas 1 y 2, Figura 1), los cuales nos indicaron que se trataba de un isómero de **T-6**. Acetilación de **T-8** en las condiciones habituales rindió un producto que resultó ser idéntico al producto que hemos denominado **T-7** (Esquema 3). Dicha correlación química nos permitió además de confirmar la estructura de **T-8**, establecer su configuración absoluta como (1R,2S,4S,5S,6R,7R,8S,10S)-1,2,8-triacetoxi-9-benzoiloxi-15-(2)-metilbutiroiloxi-4,6-dihidroxi-dihidro- β -agarofurano.



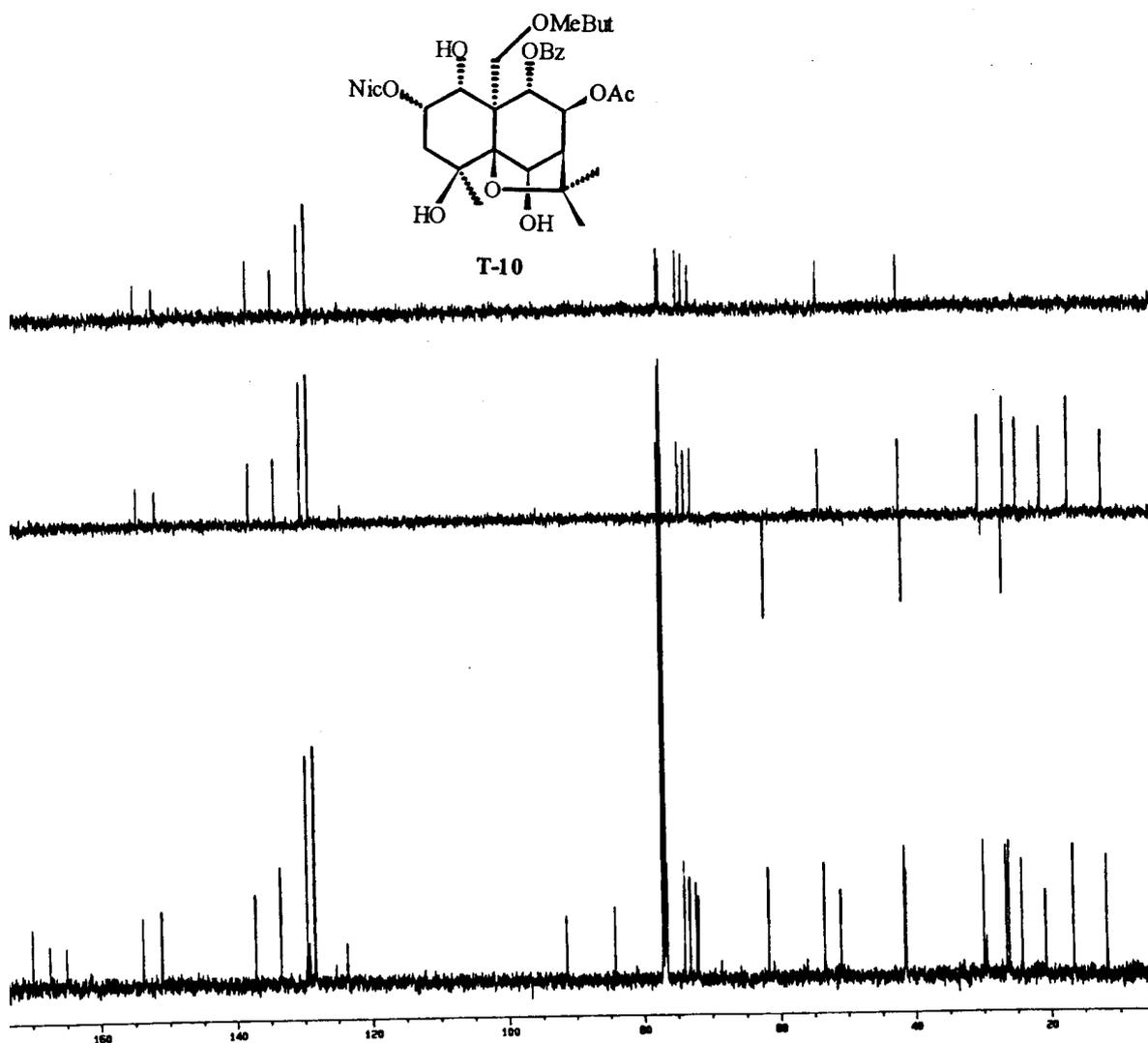
La estructura y configuración absoluta de (1R,2S,4S,5S,6R,8S,9S,10S)-1,2-diacetoxi-9-benzoiloxi-15-(2)-metilbutiroiloxi-4,6,8-trihidroxi-dihidro- β -agarofurano le fue asignada a nuestro producto **T-9**, basándose en sus datos espectroscópicos, cuyo cuidadoso análisis nos indicó que **T-9** se trataba del 6,8-di-deacetil derivado de **T-7**, lo cual se confirmó vía química, ya que la acetilación de **T-9** con anhídrido acético en piridina a temperatura ambiente, rindió un producto cuyos datos espectroscópicos resultaron ser idénticos a **T-7** (Esquema 3).



La estructura y configuración absoluta del compuesto que hemos denominado **T-10**, fue establecida mediante sus datos espectroscópicos tal como se muestra a continuación. Su fórmula molecular $C_{35}H_{43}NO_{12}$ fue asignada basándonos en datos de espectrometría de masas de alta resolución, RMN 1H y ^{13}C ; en su espectro de infrarrojo se observaron bandas para grupo hidroxilo (3424 cm^{-1}) y grupo éster (1731 cm^{-1}). El espectro de masa tiene pérdidas de fragmentos atribuibles a grupo nicotinato, 123 m/z (C_5H_4NCOOH), grupo benzoato de 122 m/z (C_6H_5COOH), grupo 2-metilbutirato de 102 m/z (C_4H_9COOH) y grupo acetato de 60 m/z (CH_3COOH). Todo ello fue confirmado por RMN 1H y ^{13}C , de este modo en su espectro de RMN 1H (Tabla 1) se observaron señales para nueve protones aromáticos entre $7.36\text{--}9.32\text{ }\delta$, pertenecientes a un grupo nicotinato y benzoato; la presencia de un singulete que integra para tres protones a $1.91\text{ }\delta$ para un grupo acetato; un triplete a $1.03\text{ }\delta$ ($J=7.4\text{ Hz}$) y un doblete a $1.34\text{ }\delta$ ($J=7.0\text{ Hz}$) que integran para tres



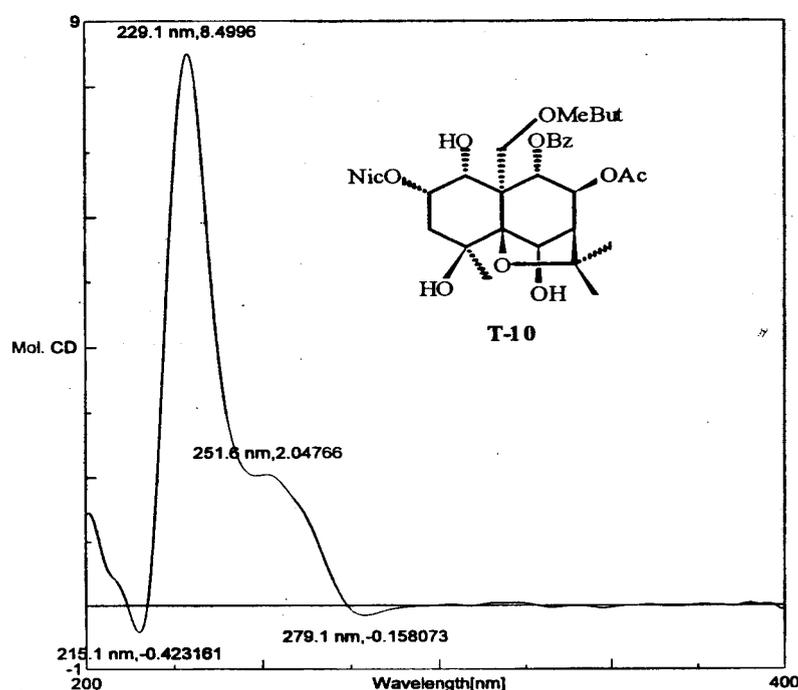
protones cada uno y dos multipletes a 1.88 (1H) y 2.68 (2H), nos confirman la presencia de un grupo 2-metilbutirato. Un estudio minucioso de sus datos espectroscópicos de RMN ^1H y ^{13}C (Tablas 1 y 2) nos indicó que nuestro compuesto se trataba de un sesquiterpeno que presenta un grupo benzoato, un nicotinato, un acetato, un 2-metilbutirato, dos alcoholes secundarios y un alcohol terciario. El estudio de las constantes de acoplamiento y experimentos de doble resonancia COSY y ROESY (Figura 1) nos permitieron determinar como posiciones de sustitución 1α , 2α , 4β , 6β , 8β , 9α y 15.



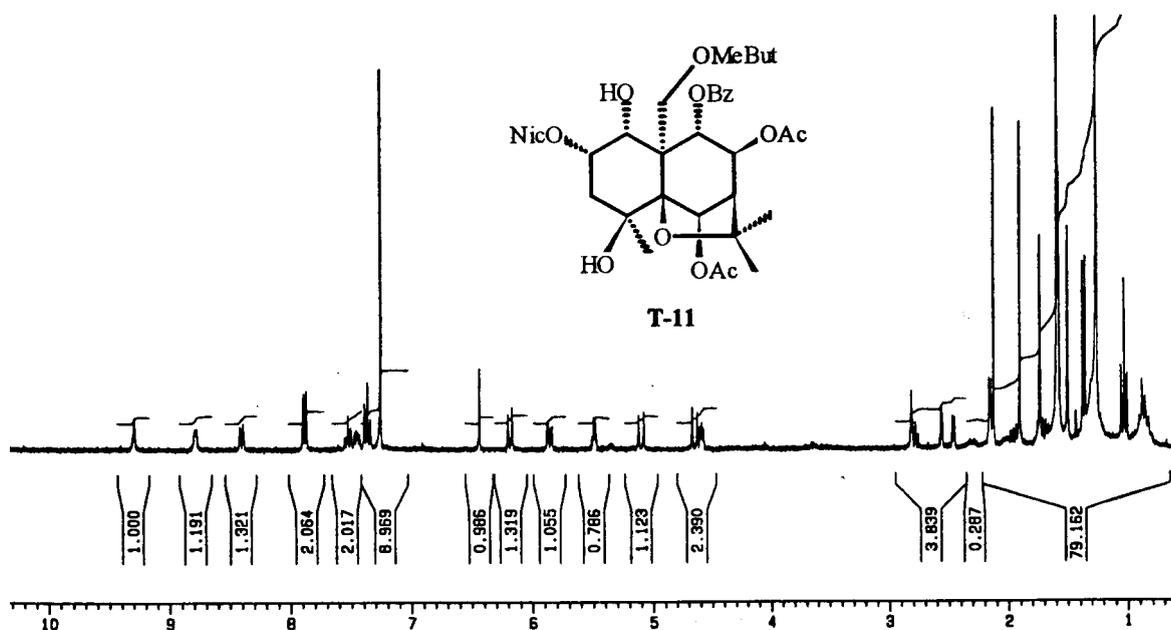
Para determinar las características de regiosustitución se realizó un experimento HMBC, el cual nos permitió establecer la posición del nicotinato sobre C-2, el benzoato sobre C-9, el acetato sobre C-8, el grupo 2-metilbutirato sobre C-15, los grupos hidroxílicos secundarios sobre C-1 y C-

6 y el hidroxilo terciario sobre C-4, habiéndose asignado todos los átomos de carbono mediante experimentos DEPT y HMQC.

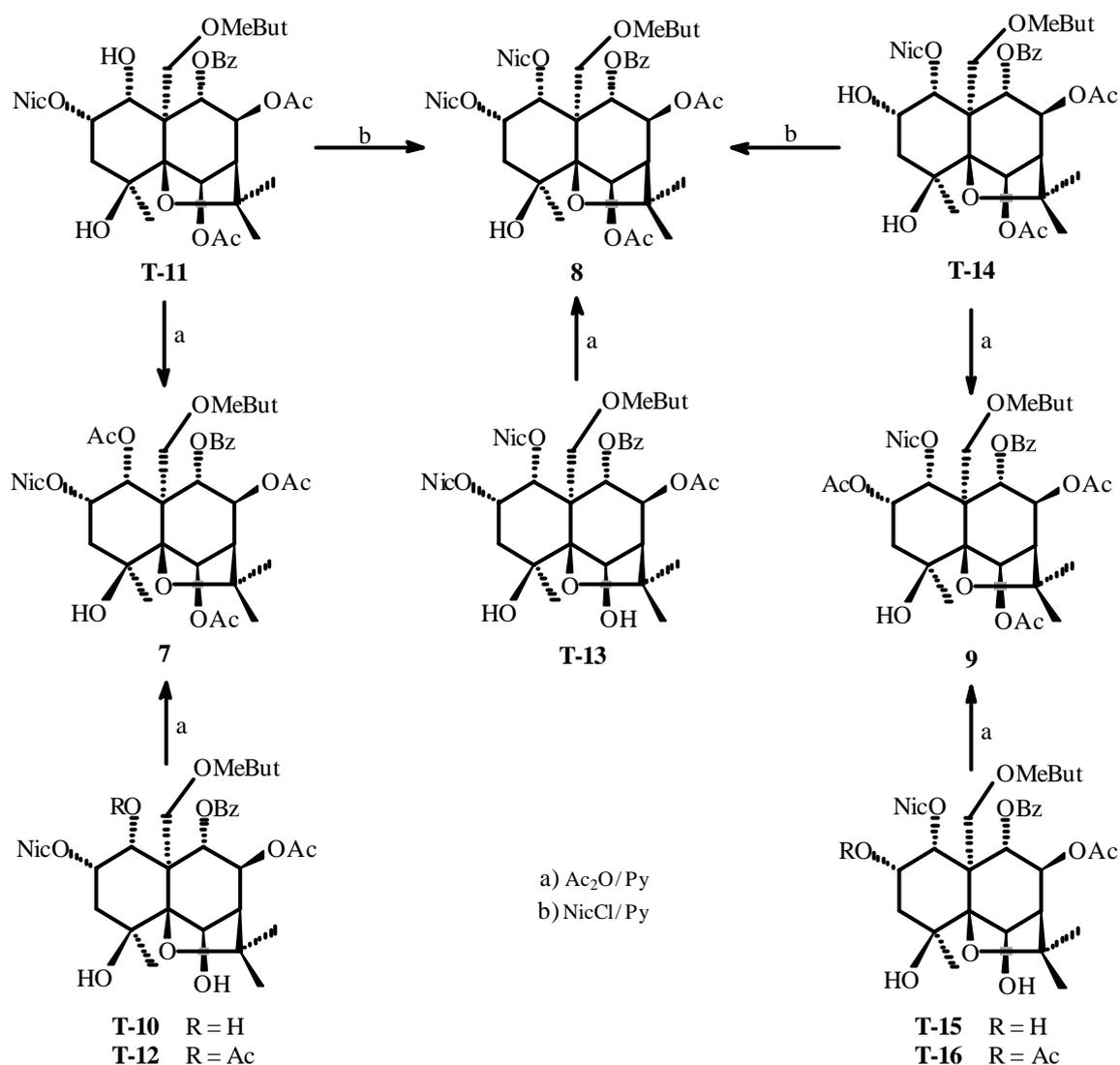
La configuración absoluta de **T-10**, que presenta dos grupos cromóforos, se realizó mediante de su curva de dicroísmo circular, presentando una curva bisignada con un primer efecto Cotton positivo a 229.1 nm ($\Delta\epsilon = +8.5$) y un segundo efecto Cotton negativo a 215.1 nm ($\Delta\epsilon = -0.4$), curva que solo es posible si los dos cromóforos están situados en las posiciones 2α y 9α en la estructura propuesta y de acuerdo con esto la configuración absoluta de nuestro producto es (1R,2S,4S,5S,6R,7R,8S,9S,10S)-8-acetoxi-9-benzoiloxi-15-(2)-metilbutiroiloxi-2-nicotinoiloxi-1,4,6-trihidroxi-dihidro- β -agarofurano.



Al compuesto que hemos denominado **T-11** le hemos asignado una fórmula molecular de $C_{37}H_{45}NO_{13}$, basándonos en datos de espectrometría de masas de alta resolución, RMN 1H y ^{13}C . El estudio de los datos de IR, UV, RMN 1H y ^{13}C (Tablas 1 y 2), así como experimentos bidimensionales homo COSY y ROESY (Figura 1) y heteronucleares (HMQC y HMBC), nos indicó que nuestro compuesto se trataba de un sesquiterpeno poliesterificado que presenta dos grupos acetatos sobre C- 6β y C- 8β , un benzoato en C- 9α , un 2-metilbutirato en C-15, un nicotinato en C- 2α , un alcohol secundario en C- 1α y un alcohol terciario en C- 4β .

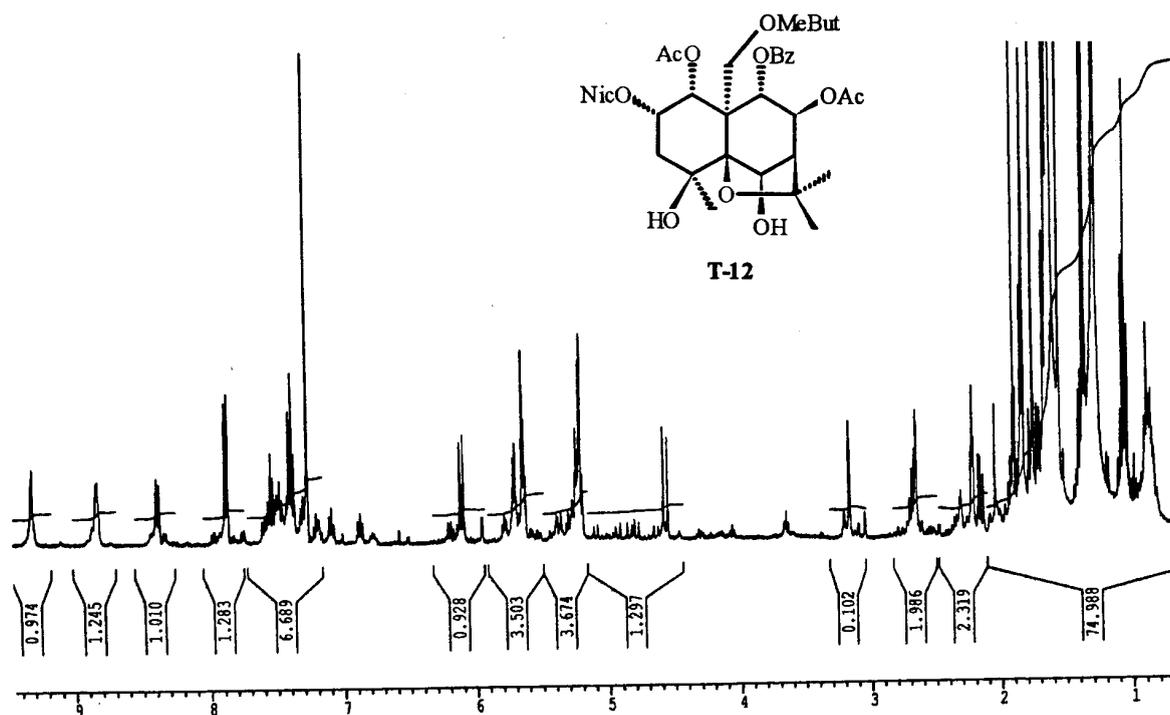


La configuración absoluta de **T-11** como (1R,2S,4S,5S,6R,7R,8S,9S,10S)-6,8-diacetoxi-9-benzoiloxi-15-(2)-metilbutiroiloxi-2-nicotinoiloxi-1,4-dihidroxi-dihidro- β -agarofurano, fue establecida por correlación química con el producto **T-10**, de este modo, acetilación en las condiciones habituales de **T-10** y **T-11** dieron un mismo producto, **7** (Esquema 4), cuya estructura fue establecida por sus datos espectroscópicos y su configuración absoluta fue fijada mediante correlación química.

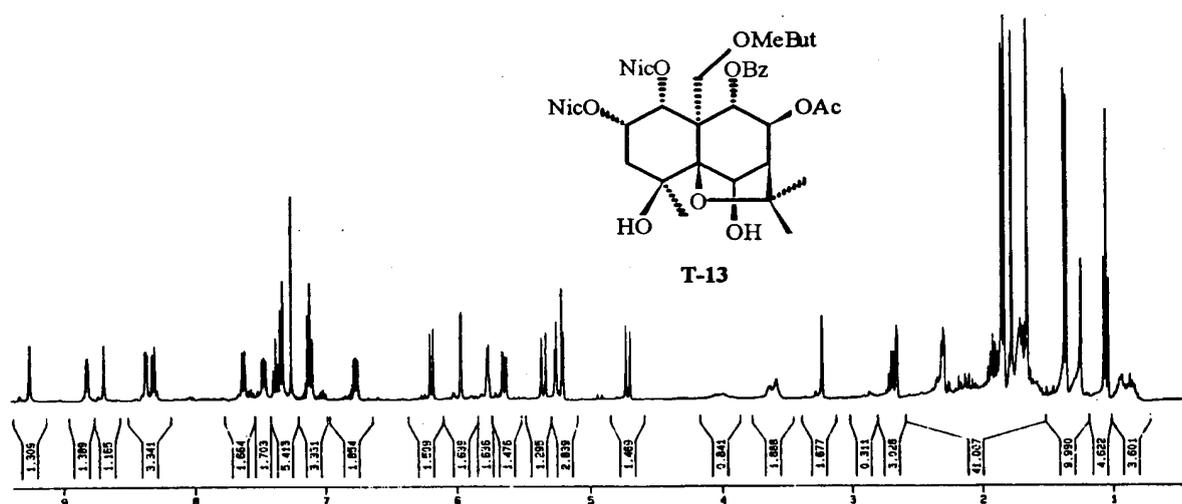


Esquema 4

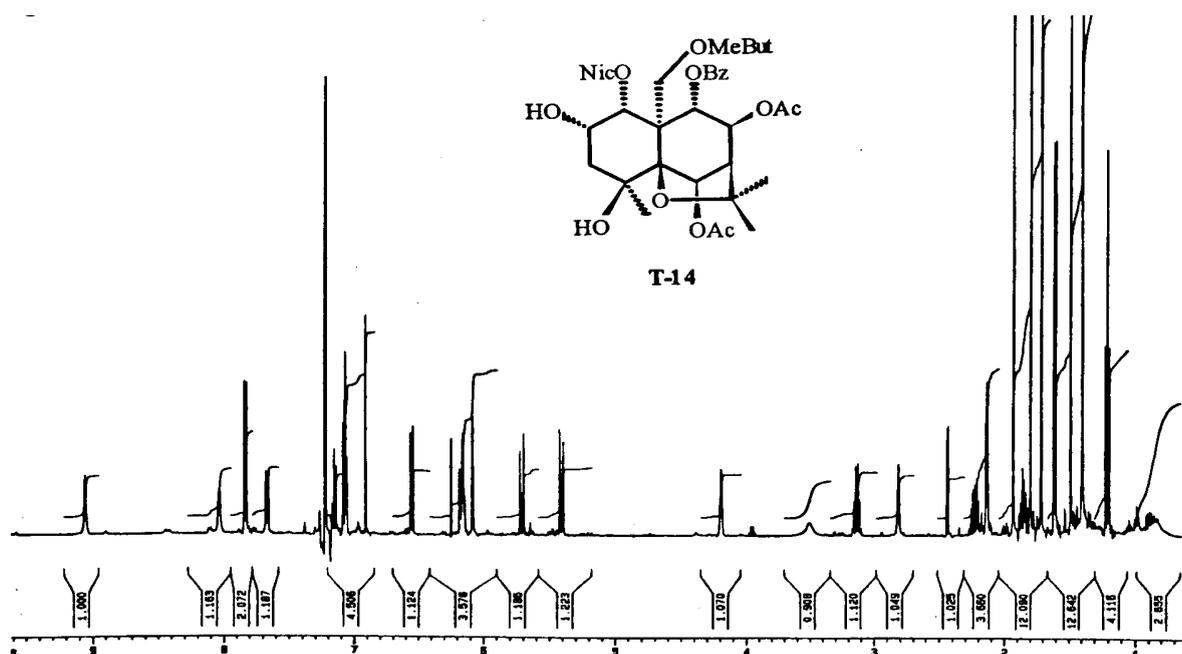
Los datos espectroscópicos del producto que hemos denominado **T-12**, nos indicaron que se trataba de un isómero de **T-11**. Acetilación de **T-12** con anhídrido acético y piridina rindió un producto que resultó ser idéntico al producto que hemos denominado **7** (Esquema 4); dicha correlación nos confirmó la estructura y nos permitió fijar la configuración absoluta de **T-12** como (1R,2S,4S,5S,6R,7R,8S,9S,10S)-1,8-diacetoxi-9-benzoiloxi-15(2)-metilbutiroiloxi-2-nicotinoiloxi-4,6-dihidroxi-dihidro-β-agarofurano.



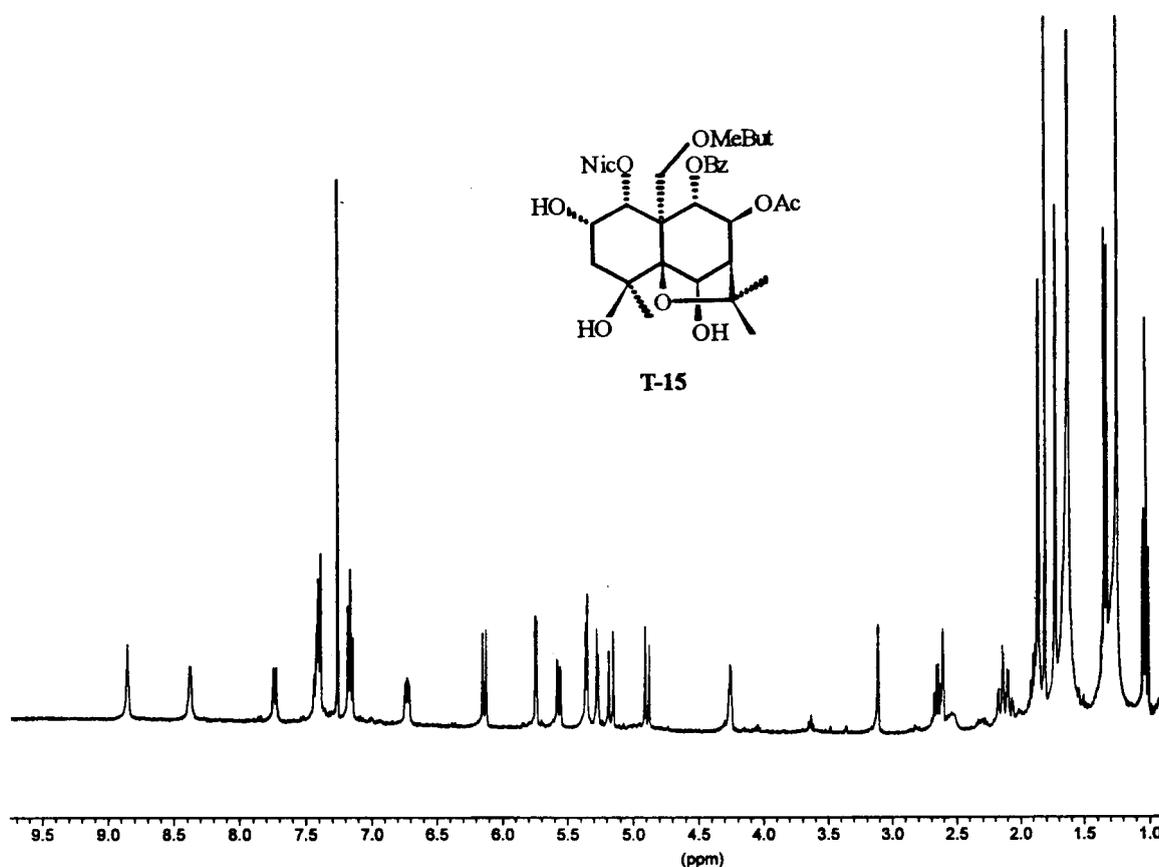
El compuesto que hemos denominado **T-13** presentó una fórmula molecular $C_{41}H_{46}N_2O_{13}$ en su espectro de masa de alta resolución. El conjunto de sus datos espectroscópicos (Tablas 1 y 2, Figura 1) nos indicaban que nuestro producto se trataba de un sesquiterpeno con esqueleto dihidro- β -agarofurano donde se observaba la presencia de un acetato, un benzoato, un 2-metilbutirato, dos nicotinatos, un alcohol secundario y un alcohol terciario. Su configuración relativa y regiosustitución fue resuelta de forma inequívoca mediante experimentos bidimensionales, mientras, su configuración absoluta fue establecida mediante correlación química (Esquema 4) acetilación en las condiciones habituales de **T-13** dio el producto **8**. Quedando fijada la estructura de **T-13** como (1R,2S,4S,5S,6R,7R,8S,9S,10S)-8-Acetoxi-9-benzoiloxi-15-(2)-metilbutiroiloxi-1,2-dinicotinoiloxi-4,6-dihidroxi-dihidro- β -agaro-furano.



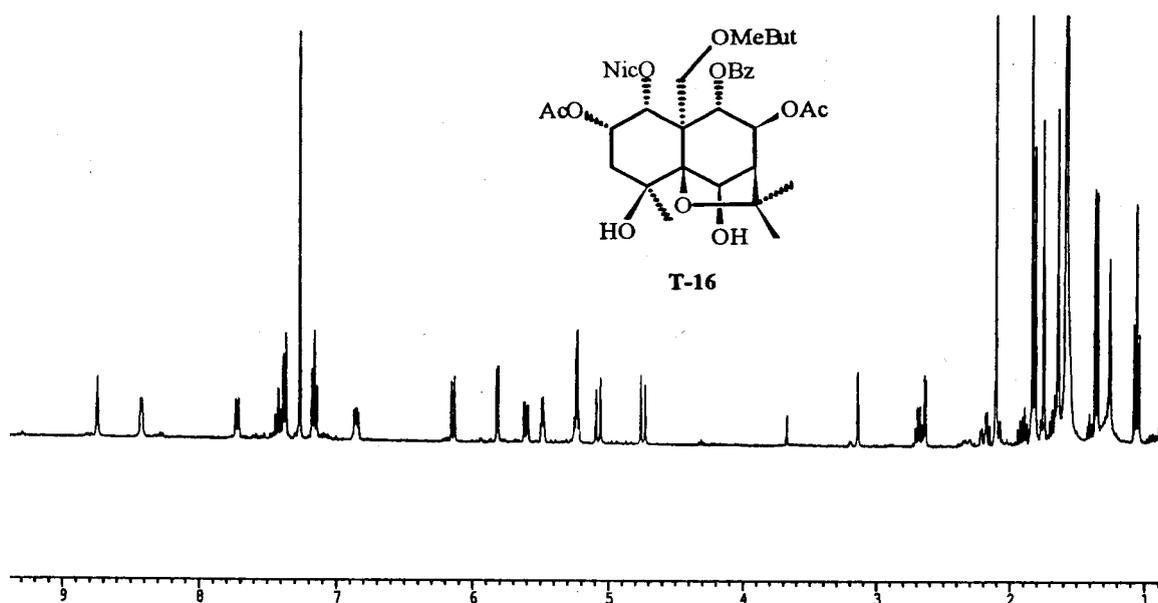
El compuesto que hemos denominado **T-14** presentó una fórmula molecular $\text{C}_{13}\text{H}_{45}\text{NO}_{13}$ basándonos en sus datos de espectrometría de masas de alta resolución, RMN ^1H y ^{13}C . Un estudio de sus datos de IR, UV, RMN ^1H y ^{13}C (Tabla 1 y 2) y experimentos bidimensionales, nos mostró que **T-14** era un regioisómero del producto **T-11**. Al objeto de establecer la regiosustitución de **T-14** se realizó un experimento HMBC, con lo que quedó fijada su estructura. Los productos **T-11** y **T-14** fueron correlacionados químicamente tal como se muestra en el esquema 4; así, tratamiento de **T-11** y **T-14** con cloruro de nicotinoilo en piridina, dio un mismo producto **8**, correlación que nos permitió confirmar la estructura y establecer la configuración absoluta de **T-14** como (1R,2S,4S,5S,6R,7R,8S,9S,10S)-6,8-diacetoxi-9-benzoiloxi-15-(2)-metilbutiroiloxi-1-nicotinoiloxi-2,4-dihidroxi-dihidro- β -agarofurano.



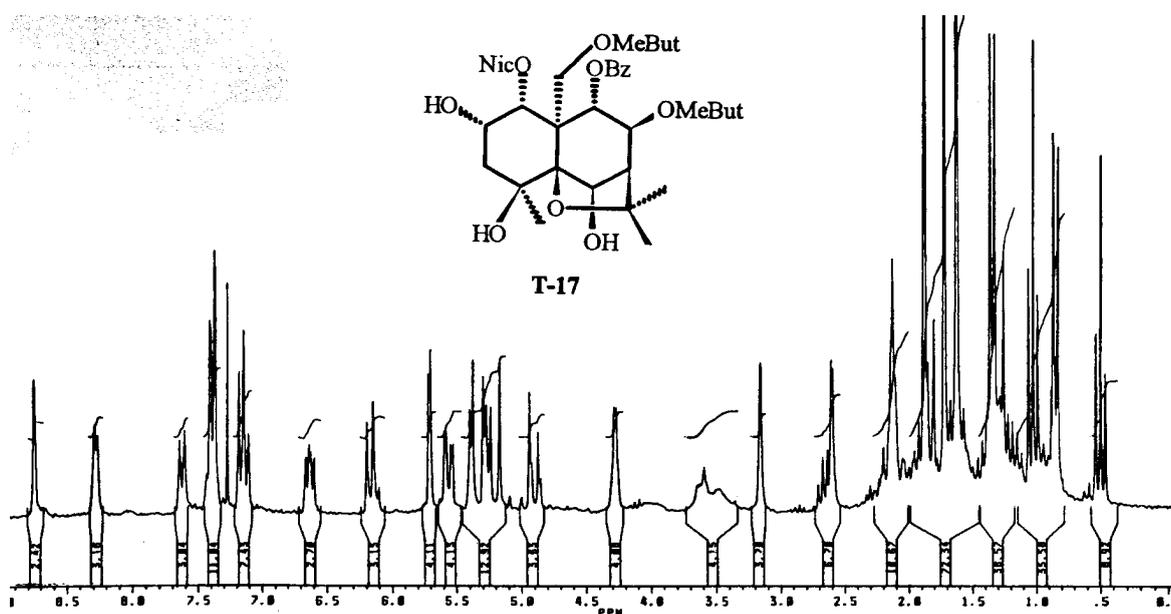
Al compuesto que hemos denominado **T-15** se le asignó una fórmula molecular de $C_{35}H_{43}NO_{12}$ basándonos en sus datos de masas de alta resolución, RMN 1H y ^{13}C . El estudio de sus datos de IR, UV, RMN 1H (Tabla 1) y RMN ^{13}C (Tabla 2) y experimentos bidimensionales nos indicaron que el producto **T-15** se mostraba íntimamente relacionado con **T-14**, resultando ser el 6-deacetil de **T-15**. Acetilación en las condiciones habituales de **T-14** y **T-15** dieron un mismo producto que hemos denominado **9** (Esquema 4), dicha correlación química nos confirmó la estructura y nos permitió determinar la configuración absoluta de **T-15** como (1R,2S,4S,5S,6R,7R,8S,9S,10S)-8-acetoxi-9-benzoil-oxi-15-(2)-metilbutiroiloxi-1-nicotinoiloxi-2,4,6-trihidroxi-dihidro- β -agarofurano.



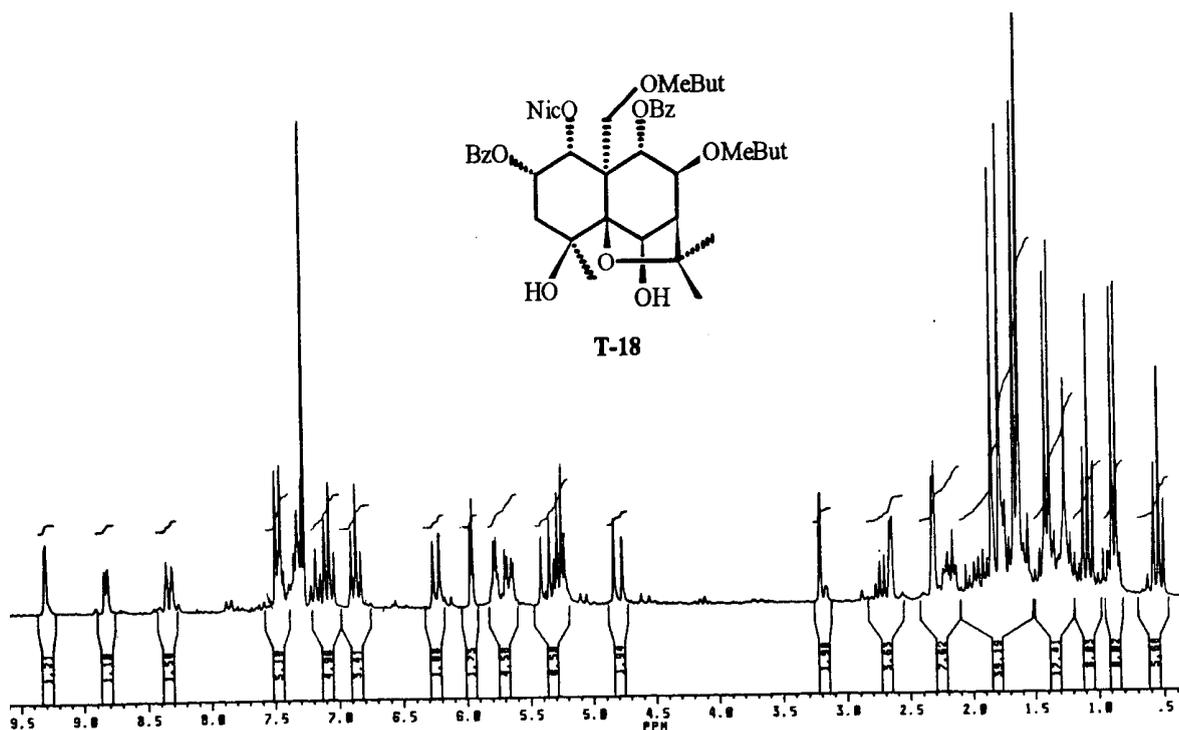
La estructura y configuración absoluta del producto que hemos denominado **T-16** fue establecida basándonos en el estudio de sus datos espectroscópicos, indicándonos que se trataba de un regioisómero de **T-14**. Así, acetilación de **T-16** rindió un producto que resultó ser idéntico al producto que hemos denominado **9**, datos que nos permitieron fijar la estructura de **T-16** como (1R,2S,4S,5S,6R,7R,8S,9S,10S)-2,8-diacetoxi-9-benzoiloxi-15-(2)-metilbutiroiloxi-1-nicotinoiloxi-4,6-dihidroxi-dihidro- β -agarofurano.



El producto **T-17** posee una fórmula molecular $C_{38}H_{49}NO_{12}$, fijada basándonos en sus datos de espectrometría de masas de alta resolución. Su espectro de RMN 1H (Tabla 1) presentó señales para cinco protones aromáticos, asignables a un grupo benzoato, cuatro protones aromáticos para nicotinato, señales para dos grupos 2-metilbutirato; también se observan señales para tres protones geminales a grupo éster secundario, para un grupo éster primario, dos alcoholes secundarios y uno terciario, los cuales fueron confirmados por RMN ^{13}C (Tabla 2). Estos datos y el estudio de experimentos bidimensionales homo y heteronucleares nos permitieron establecer la estructura del producto **T-17** como 9 α -benzoiloxi-8 β ,15-di-(2)-metilbutiroiloxi-1 α -nicotinoiloxi-2 α ,4 β ,6 β -trihidroxidi-hidro- β -agarofurano.

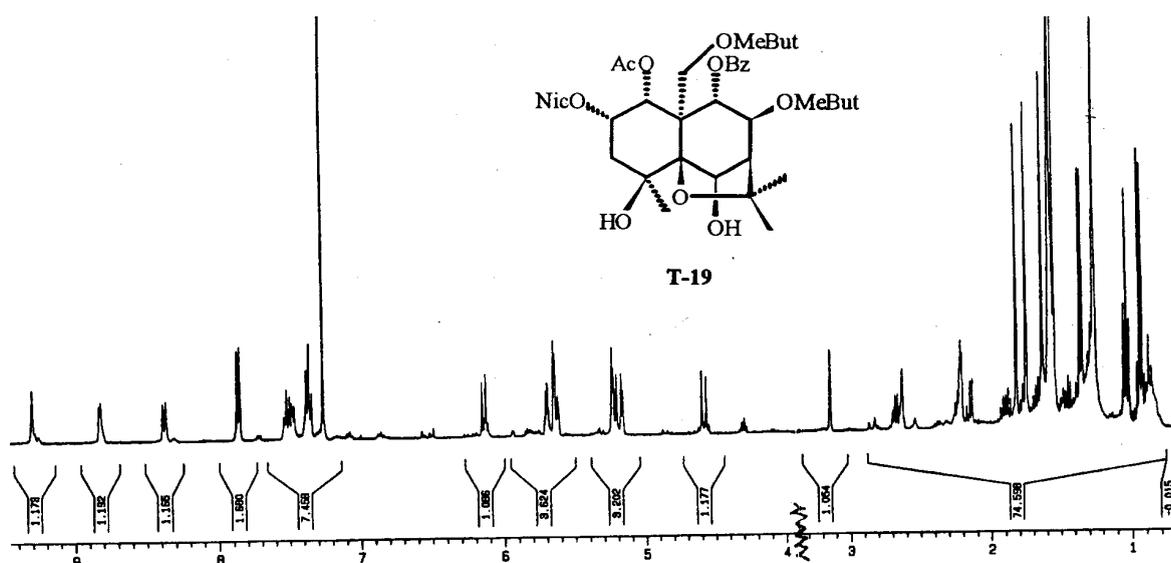


La estructura del compuesto **T-18** fue establecida por sus datos espectroscópicos (Tablas 1 y 2), datos que se mostraban muy similares a los del producto **T-17**, siendo la diferencia más reseñable la presencia de un grupo benzoato adicional en su espectro de RMN ^1H , así como el desplazamiento de su protón geminal a campo bajo. El estudio de las constantes de acoplamiento y un experimento ROESY (Figura 1) nos permitió establecer su estructura como $1\alpha,9\alpha$ -dibenzoiloxi- $8\beta,15$ -di-(2)-metilbutiroiloxi- $4\beta,6\beta$ -dihidroxi-dihidro- β -agarofurano, estructura que fue confirmada

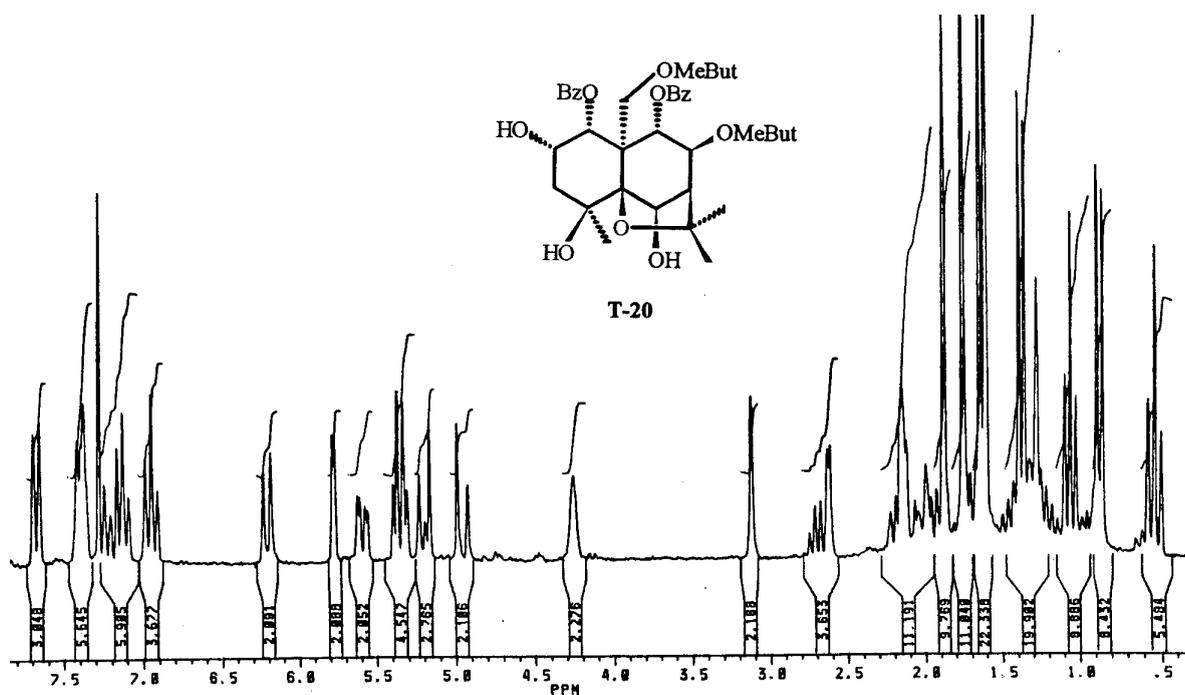


mediante un experimento HMBC.

El estudio de los datos espectroscópicos (Tablas 1 y 2, Figura 1) del producto que hemos denominado **T-19** indicaban que se trataba de un sesquiterpeno que tiene un grupo acetato, un benzoato, dos 2-metilbutirato, un nicotinato, un alcohol secundario y un alcohol terciario, situados en las posiciones C- 1α , C- 2α , C- 4β , C- 6β , C- 8β , C- 9α y C-15. La regiosustitución de la molécula fue resuelta mediante experimentos heteronucleares, quedando fijada así la posición del grupo acetato en C-1, el nicotinato en C-2, los dos 2-metilbutiratos en C-8 y C-15, el benzoato sobre C-9, el alcohol secundario sobre C-6 y el alcohol terciario en C-4, quedando así fijada la estructura de nuestro compuesto **T-19** como 1α -acetoxi- 9α -benzoiloxi- $8\beta,15$ -di-(2)-metilbutiroiloxi- 2α -nicotinoiloxi- $4\beta,6\beta$ -dihidroxi-dihidro- β -agarofurano.

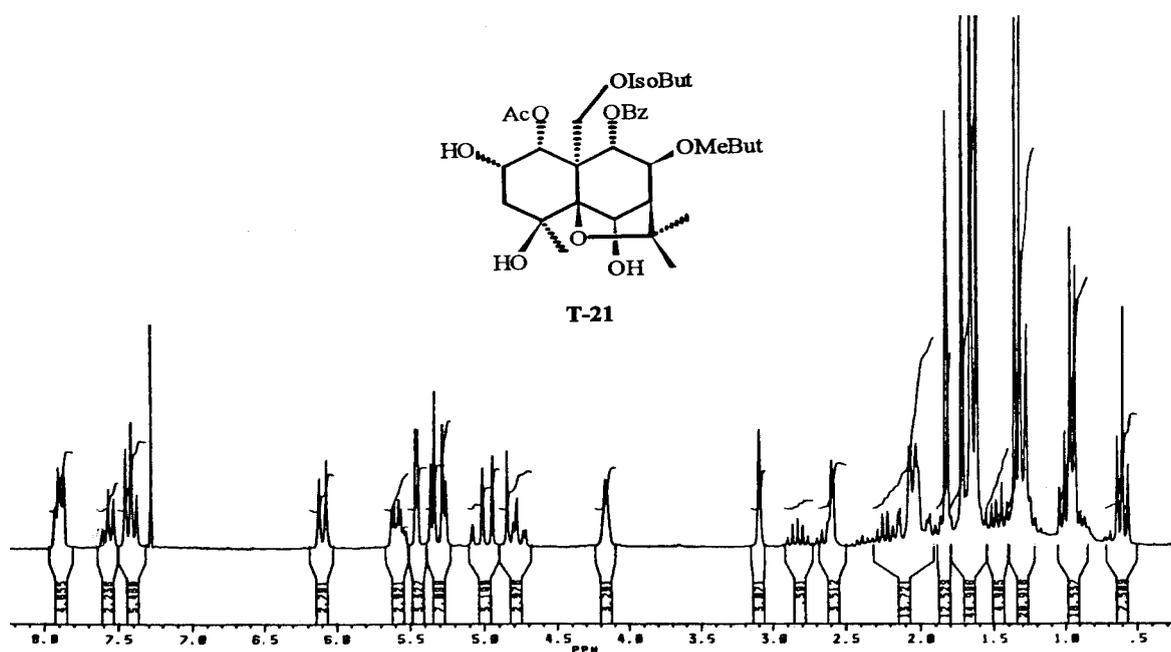


El producto descrito como **T-20** presentaba unas características espectroscópicas muy parecidas al producto que hemos denominado **T-17** y como diferencia más notable en su espectro de RMN ^1H se observó la desaparición de los cuatro protones aromáticos del grupo nicotinato y la aparición de cinco nuevos protones aromáticos asignables a un grupo benzoato. Del conjunto de estos datos y un estudio de un experimento HMBC, que nos permitió establecer la regiosustitución de nuestro producto, quedó establecida la estructura de nuestro compuesto **T-20** como $1\alpha,9\alpha$ -dibenzoiloxi- $8\beta,15$ -di-(2)-metilbutiroiloxi- $2\alpha,4\beta,6\beta$ -trihidroxi-dihidro- β -agarofurano.

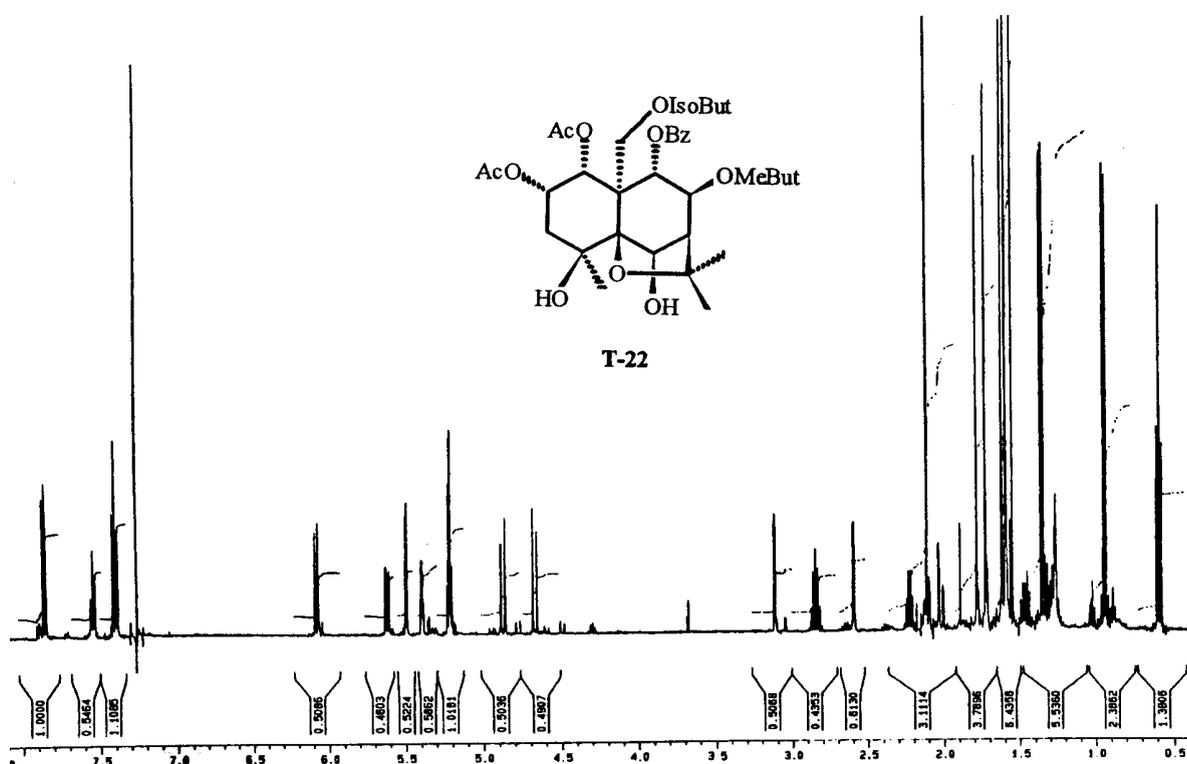


El producto **T-21** presentó una fórmula molecular $C_{33}H_{36}O_{12}$, obtenida a partir de su espectro de masas de alta resolución, RMN 1H y ^{13}C . En su espectro de masas se observaron fragmentos que indicaban la presencia de un grupo acetato a ($M^+ - 60$) m/z así como la de benzoato, 2-metilbutirato e isobutirato con fragmentos a 105 m/z , 85 m/z , 88 m/z , respectivamente, lo que se confirmó por la presencia en su espectro de RMN 1H (Tabla 1) de un singulete a 1.64 δ ; cinco protones aromáticos entre 7.40 y 7.88 δ ; la presencia de dos metilos, uno como triplete a 0.59 δ ($J=7.4$ Hz) y otro como doblete a 0.94 δ ($J=7.3$ Hz) junto a dos multipletes a 2.04 y 1.49 que integra para dos protones y un protón respectivamente, correspondientes a un grupo 2-metilbutirato; así como señales para dos metilos como doblete a 1.32 δ ($J=6.9$ Hz) y un protón multiplete 2.83 δ , que indicaban la presencia de un grupo isobutirato. El estudio de los datos de RMN ^{13}C (Tabla 2) nos confirmó todo lo anterior y además nos indicó que nuestro producto **T-21** presenta dos grupos hidroxílicos secundarios y uno terciario. Un estudio minucioso de las constantes de acoplamiento, junto a experimentos COSY y ROESY (Figura 1), nos permitieron situar como posiciones funcionalizadas C-1 α , C-2 α , C-4 β , C-6 β , C-8 β , C-9 α y C-15.

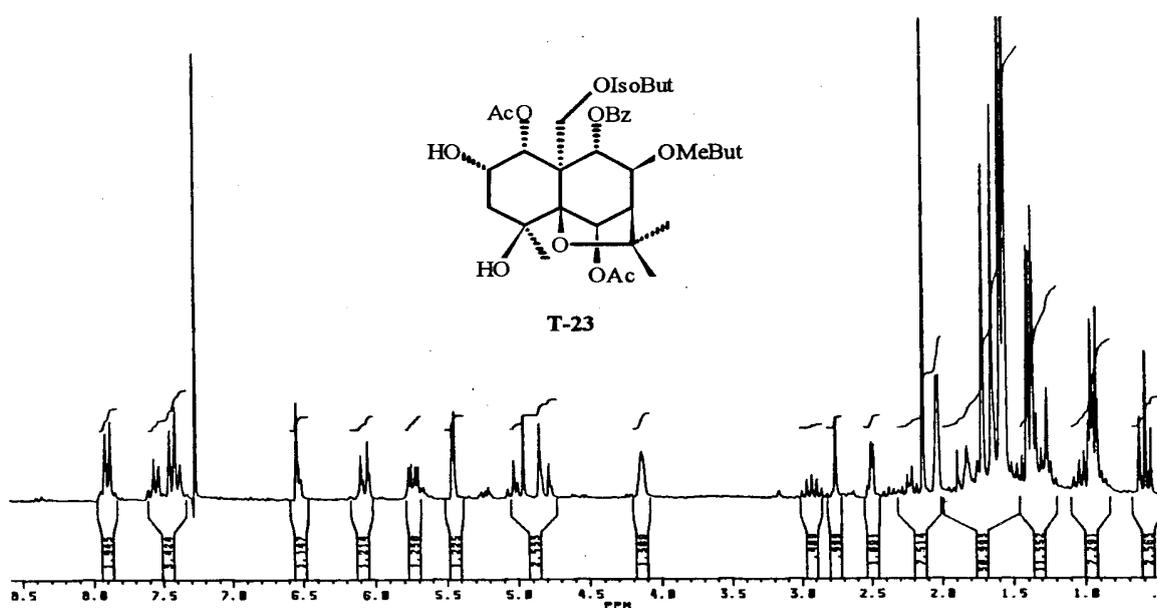
Al objeto de determinar inequívocamente la regiosustitución en nuestro producto, éste fue sometido a un experimento HMBC, el cual nos permitió situar el grupo acetato en la posición C-1, el benzoato sobre C-9, el 2-metilbutirato sobre C-8 y el isobutirato en C-15; quedando así establecida la estructura de nuestro compuesto como 1 α -acetoxi-9 α -benzoiloxi-15-isobutiroidoxi-8 β -(2)-metilbutiroidoxi-2 α ,4 β ,6 β -trihidroxi-dihidro- β -agarofurano.



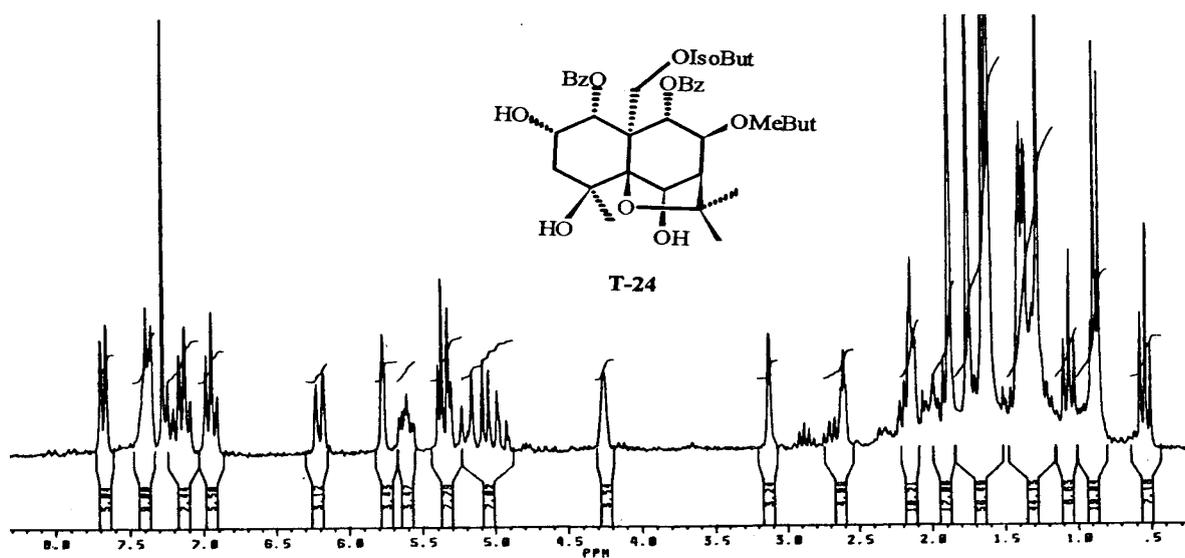
El producto descrito como **T-22** presentó una fórmula molecular de $C_{35}H_{48}O_{13}$, basándonos en sus espectros de masas de alta resolución, RMN 1H y ^{13}C (Tablas 1 y 2). Presentaba unas características espectroscópicas muy parecidas al producto que denominamos **T-21** y como diferencia más destacada tenemos la presencia de un grupo acetato adicional en su espectro de RMN 1H , así como el desplazamiento de su protón geminal; un experimento bidimensional 1H - 1H (COSY) nos permitió situar a dicho grupo acetato sobre C-2. El producto **T-22**, se trataba del 2-acetil derivado de **T-21**, quedando fijada su estructura como 1 α ,2 α -diacetoxi-9 α -benzoiloxi-15-isobutiroiloxi-8 β -(2)-metilbutiroiloxi-4 β ,6 β -dihidroxi-dihidro- β -agarofurano, la cual fue confirmada mediante experimentos bidimensionales.



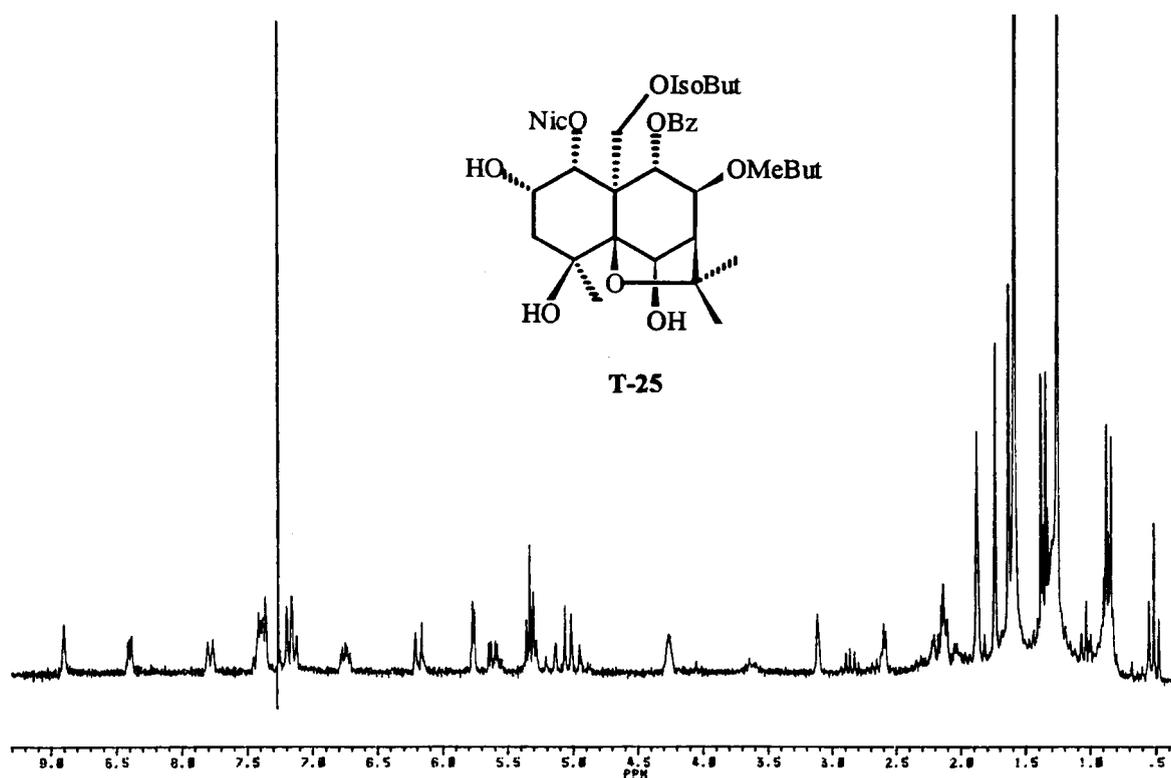
Los datos espectroscópicos del producto que hemos denominado **T-23** nos indicaron que se trataba de un regioisómero de **T-22**. En el estudio de su espectro de RMN 1H se observó como diferencias más significativas el desplazamiento del protón H-6 desde 5.20 δ en **T-22** a 6.52 δ en **T-23** y el desplazamiento del protón H-2 desde 5.39 δ en **T-22** a 4.10 δ en **T-23**, lo que está de acuerdo con la estructura propuesta de 1 α ,6 β -diacetoxi-9 α -benzoiloxi-15-isobutiroiloxi-8 β -(2)-metilbutiroiloxi-2 α ,4 β -dihidroxi-dihidro- β -agarofurano para nuestro compuesto **T-23**. Al objeto de confirmar la estructura se realizaron experimentos mono y bidimensionales, los cuales estaban totalmente de acuerdo con la estructura propuesta.



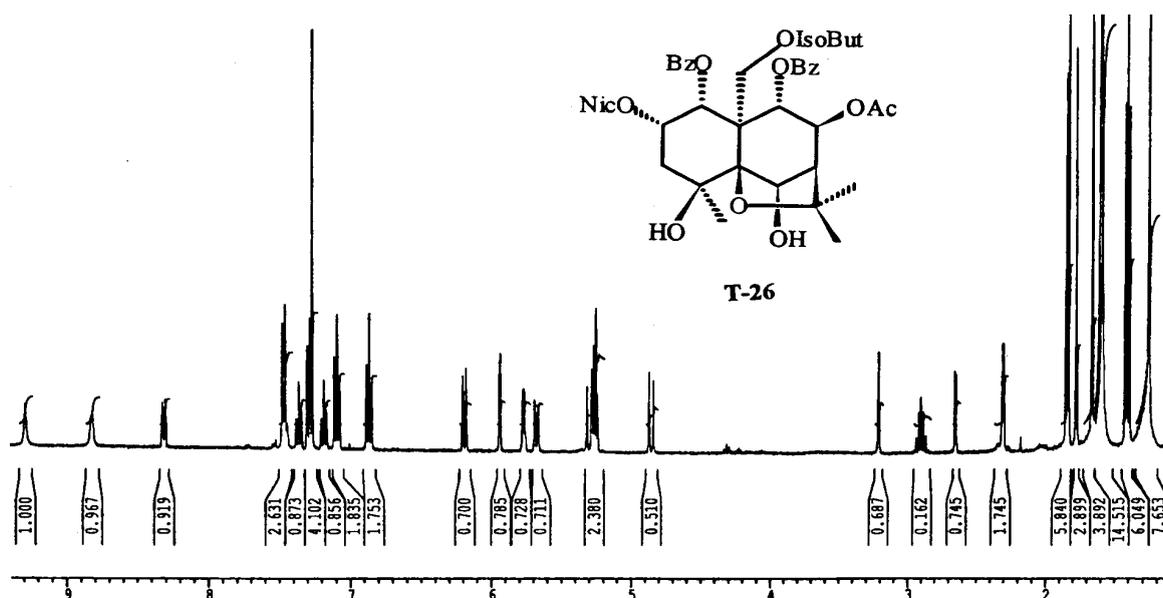
Al producto **T-24** le hemos asignado una fórmula molecular $C_{38}H_{48}O_{12}$ basándonos en sus datos de espectrometría de masas de alta resolución. El estudio de sus espectros de masas, RMN 1H y ^{13}C (Tablas 1 y 2) nos indicaban que nuestro producto se trataba de un sesquiterpeno poliesterificado que presentaba dos benzoatos, un 2-metilbutirato, un isobutirato, dos alcoholes secundarios y un alcohol terciario relacionado con los productos **T-22** y **T-23**. Mientras las características de regiosustitución fueron establecidas mediante un experimento HMBC, la configuración relativa se estableció del estudio de sus constantes de acoplamiento y un experimento ROESY (Figura 1), lo que nos permitió asignar la estructura de 1 α ,9 α -dibenzoiloxi-15-isobutiroiloxi-8 β -(2)-metilbutiroiloxi-2 α ,4 β ,6 β -trihidroxi-dihidro- β -agarofurano para nuestro compuesto **T-24**.



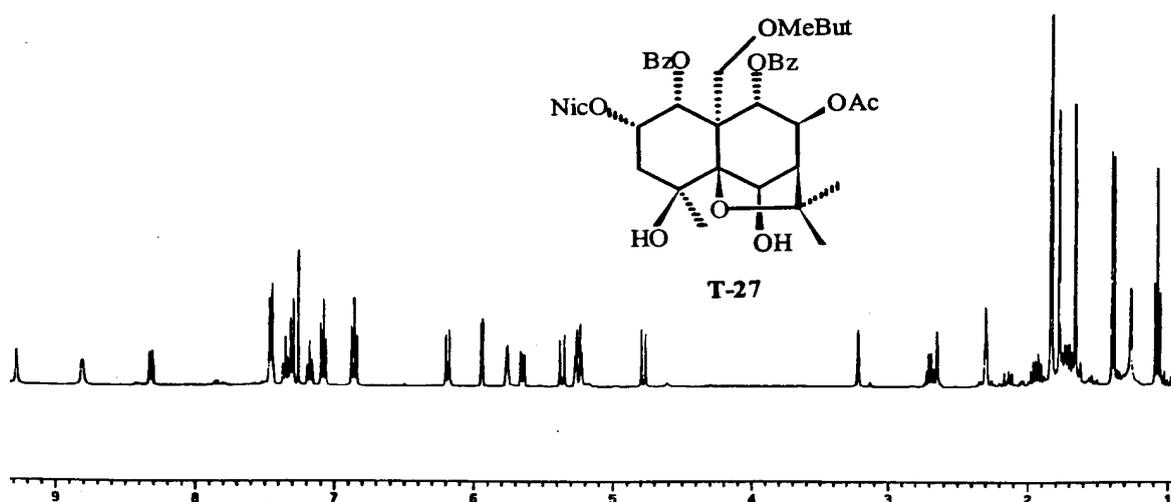
Un cuidadoso estudio de los datos del producto que hemos denominado **T-25**, nos indicó que se trataba de un sesquiterpeno poliesterificado que presentaba un grupo benzoato, un isobutirato, un 2-metilbutirato y un nicotinato. La posición de los ésteres, así como la de los dos alcoholes secundarios y uno terciario, fue determinada mediante un experimento HMBC. El estudio cuidadoso de las constantes de acoplamiento nos permitió establecer la configuración relativa para nuestro compuesto **T-25** como 9α benzoiloxi-15-isobutiroiloxi- 8β -(2)-metilbutiroiloxi- 1α -nicotinoiloxi- $2\alpha,4\beta,6\beta$ -trihidroxi-dihidro- β -agarofurano.



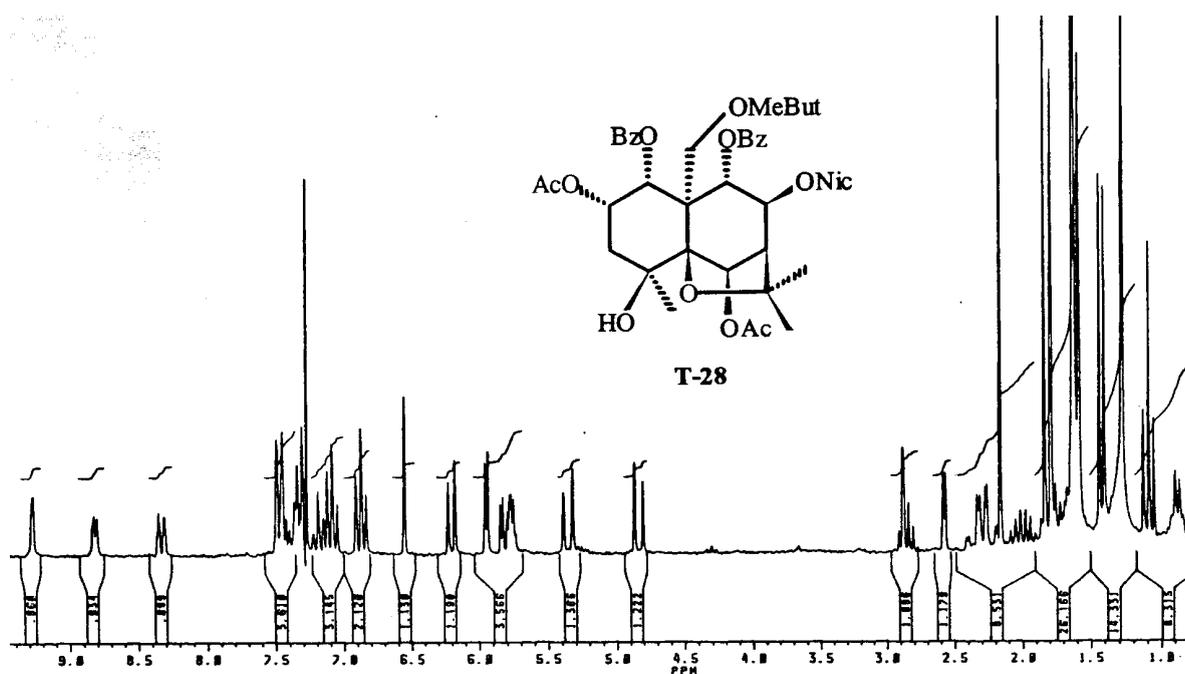
Los datos espectroscópicos del producto que hemos denominado **T-26** se mostraban muy relacionados a los del producto **T-10**, presentando como diferencia más notable la presencia de un grupo benzoato adicional en C-1 con la consecuente desaparición de la señal para un grupo hidroxilo secundario en esta posición, la ausencia de señales para el grupo 2-metilbutirato y la presencia de señales para el isobutirato; su estructura quedó establecida mediante experimentos mono y bidimensionales. Un cuidadoso del experimento HMBC nos permitió fijar la estructura de **T-26** como 8 β -acetoxi-1 α ,9 α -dibenzoiloxi-15-isobutiroiloxi-2 α -nicotinoiloxi-4 β ,6 β -dihidroxi-dihidro- β -agarofurano.



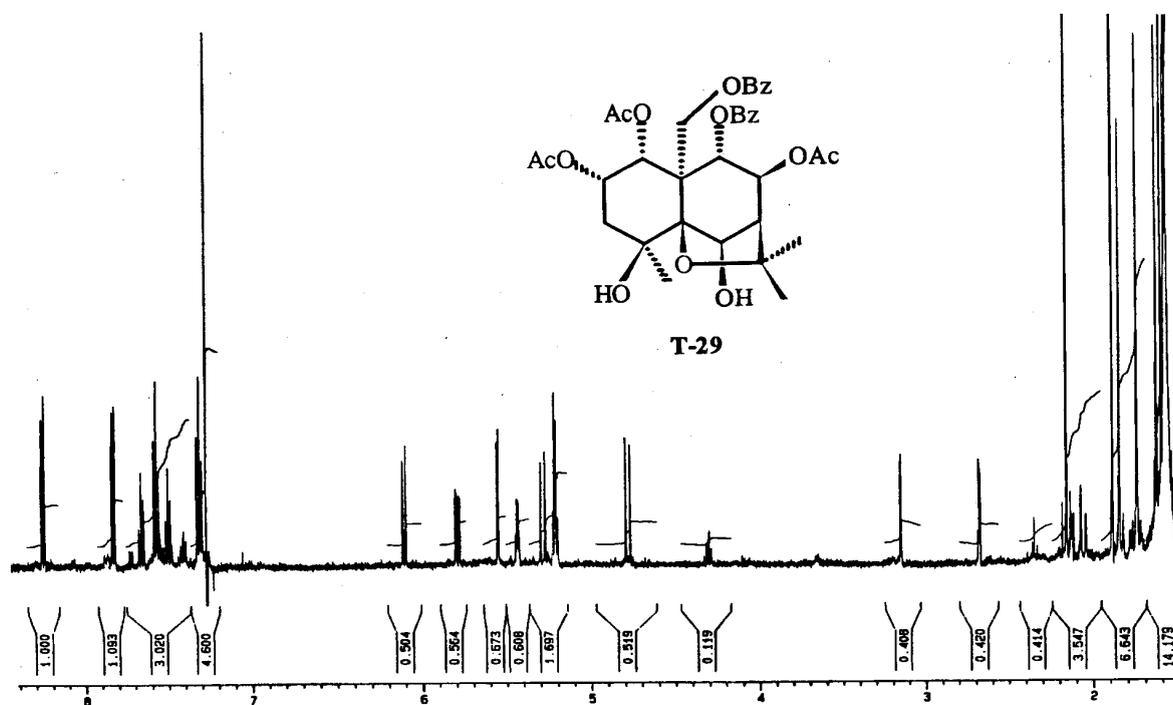
El producto que hemos descrito como **T-27** presenta una fórmula molecular $\text{C}_{42}\text{H}_{47}\text{NO}_{13}$ basándonos en sus espectros de masas de alta resolución RMN ^1H y ^{13}C (Tablas 1 y 2). En su espectro de RMN ^1H presentó señales de un metilo de acetato, catorce protones aromáticos asignables a dos benzoatos y un nicotinato, así como señales atribuibles a un grupo 2-metilbutirato y señales para un alcohol secundario y un alcohol terciario, los cuales fueron confirmados mediante RMN ^{13}C . Los datos de un experimento HMBC nos permitieron situar los benzoatos sobre C-1 y C-9, el nicotinato sobre C-2, el acetato sobre C-8, el metilbutirato en C-15, el alcohol secundario en C-6 y el alcohol terciario sobre C-4. Estos datos y un estudio de las constantes de acoplamiento nos permitieron establecer la estructura de **T-27** como 8 β -acetoxi-1 α ,9 α -dibenzoiloxi-15-(2)-metilbutiroiloxi-2 α -nicotinoiloxi-4 β ,6 β -dihidroxi-dihidro- β -agarofurano.



Un estudio de los datos espectroscópicos del producto descrito como **T-28** (Tablas 1 y 2, Figura 1). nos indicó que presentaba unas características muy parecidas al producto que hemos denominado **T-27** y como diferencia más reseñable se observó la presencia de un grupo acetato adicional en su espectro de RMN ^1H , así como el desplazamiento a campo bajo de su protón geminal H-6 desde 5.27 δ en **T-27**, a 6.54 δ en **T-28**. Las características de regiosustitución de nuestro sesquiterpeno poliesterificado quedó establecida como 2 α ,6 β -diacetoxi-1 α ,9 α -dibenzoiloxi-15-(2)-metilbutiroiloxi-8 β -nicotinoiloxi-4 β -hidroxi-dihidro- β -agarofurano, basándonos en los datos de un experimento HMBC.

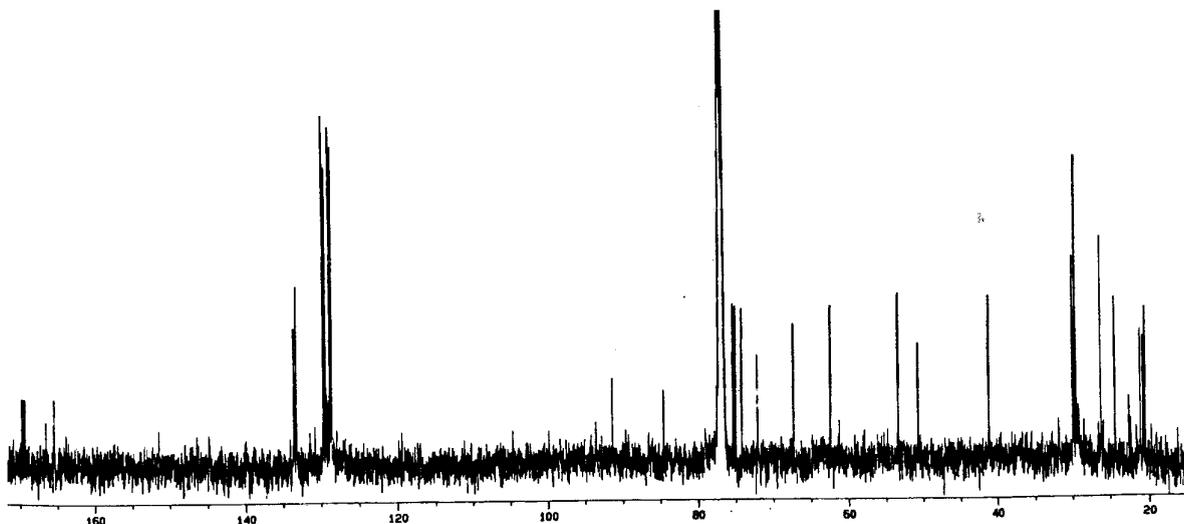


Al compuesto que hemos denominado **T-29** le hemos asignado una fórmula molecular de $C_{35}H_{40}O_{13}$, basándonos en datos de espectrometría de masas de alta resolución, RMN 1H y ^{13}C (Tablas 1 y 2); en su espectro de IR se observaron bandas para un grupo hidroxilo (3352 cm^{-1}) y grupos éster (1741 y 1710 cm^{-1}). En su espectro de UV se observó absorción característica de cromóforo benzoato, lo cual se confirmó por la presencia de diez protones aromáticos en su espectro RMN 1H entre 7.31 y $8.25\ \delta$ y en su RMN ^{13}C , por la presencia de dos carboxilos conjugados a 165.5 y $165.6\ \delta$; también se observó en su RMN 1H , señales para tres metilos de acetato como singuletes a 1.60 , 1.88 y $2.15\ \delta$ y en su espectro de RMN ^{13}C señales para tres carboxilos a 169.4 , 169.5 y $169.8\ \delta$ y señales para un alcohol secundario y otro terciario; el conjunto de estos datos indicaron claramente que nuestro compuesto se trataba de un poliéster sesquiterpénico con esqueleto de dihidro β -agarofurano.

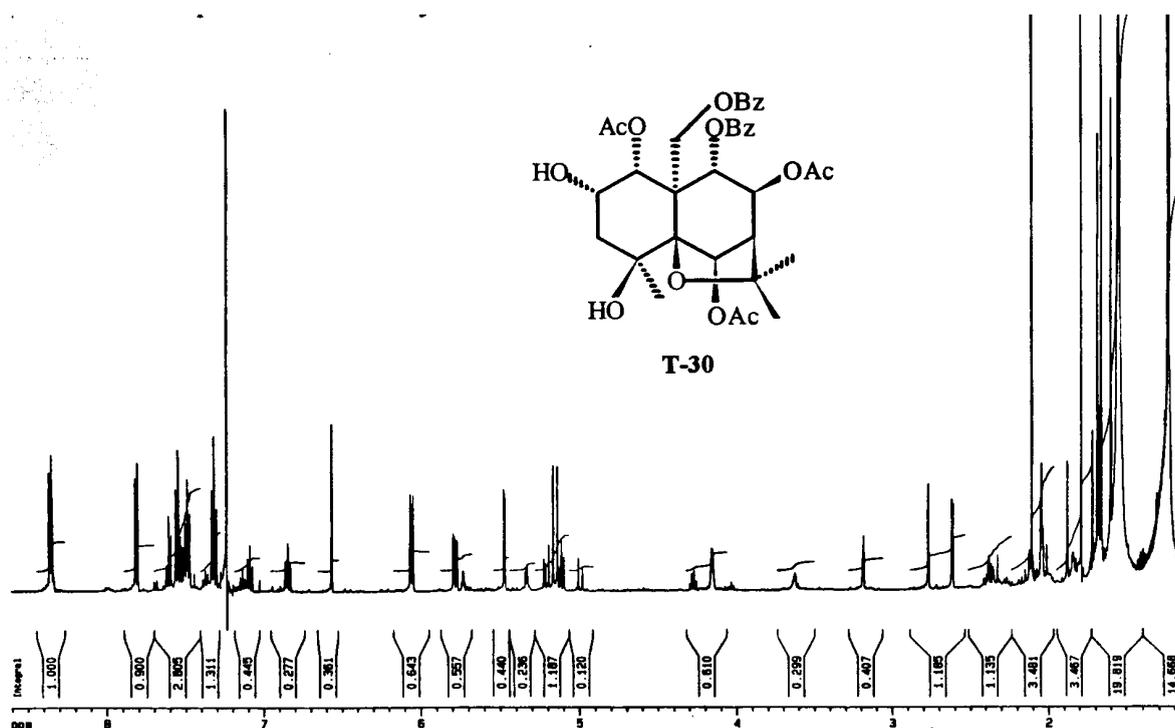


Un cuidadoso estudio de las constantes de acoplamiento y experimentos de doble resonancia, nos permitieron determinar como posiciones de sustitución $1\alpha, 2\alpha, 4\beta, 6\beta, 8\beta, 9\alpha$ y 15 . La presencia de un metilo de acetato a $1.60\ \delta$, debido a la anisotropía magnética generada por el anillo aromático del grupo benzoato es un efecto bien estudiado y frecuentemente observado en este tipo de compuestos cuando los grupos acetato y benzoato, se encuentran sobre C-1 y C-9 o viceversa. Para determinar las características de regiosustitución se realizó un experimento HMBC, el cual nos permitió establecer la posición de los distintos grupos en nuestro producto, quedando así

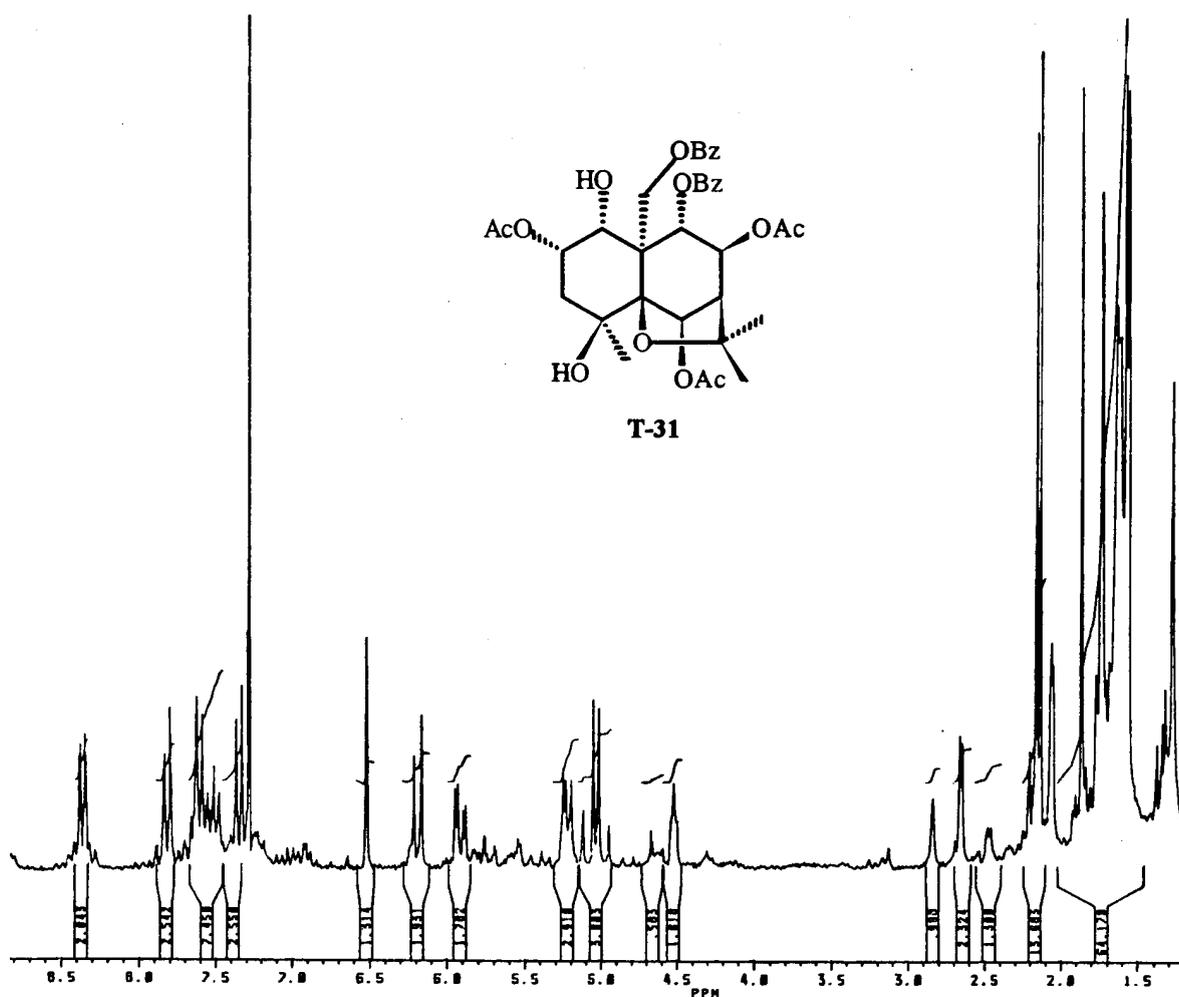
determinada de forma inequívoca la estructura de **T-29** como 1 α ,2 α ,8 β -triacetoxi-9 α ,15-dibenzoiloxi-4 β ,6 β -dihidroxi-dihidro- β -agarofurano.



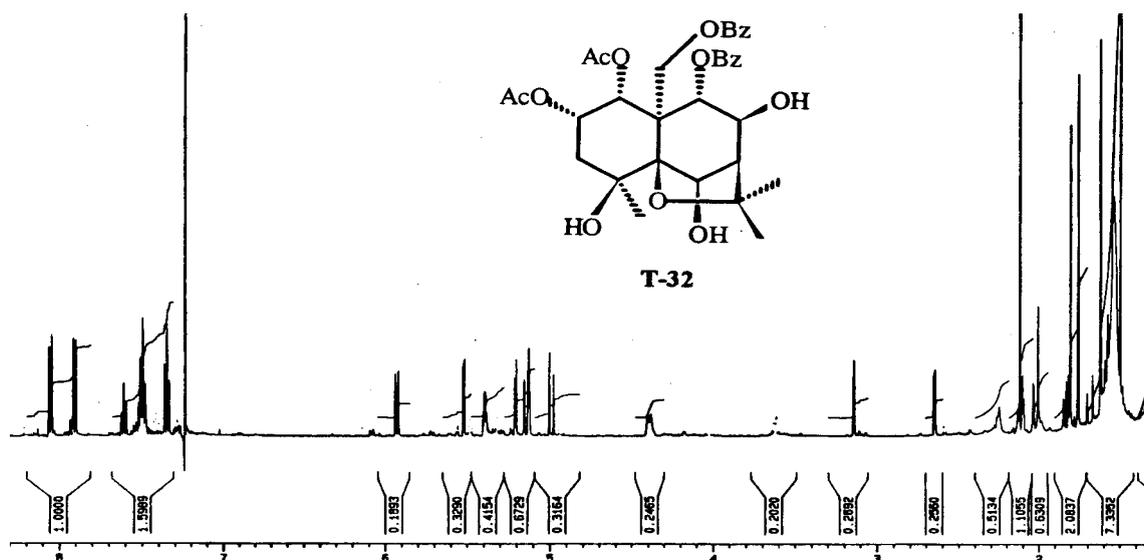
Los productos denominados **T-30** y **T-31** poseen una fórmula molecular de C₃₅H₄₀O₁₃, determinada a partir de sus datos de espectrometría de masas de alta resolución, RMN ¹H, y ¹³C (Tablas 1 y 2). El estudio de sus datos espectroscópicos nos indicó que se trataba de dos sesquiterpenos con dos benzoatos, tres acetatos, un alcohol secundario y un alcohol terciario, presentando como posiciones de sustitución 1 α , 2 α , 4 β , 6 β , 8 β , 9 α y 15. Estos datos nos indicaron claramente que **T-30** y **T-31** son regioisómeros del producto **T-29**. En el estudio del espectro de RMN ¹H de **T-30** se observó como diferencia más significativa con respecto a **T-29**, el desplazamiento del protón H-6 desde 5.22 δ en **T-29**, a 6.57 δ en **T-30** y el desplazamiento del protón H-2 desde 5.43 δ en **T-29**, a 4.15 δ en **T-30**; datos que están de acuerdo con la estructura propuesta de 1 α ,6 β ,8 β -triacetoxi-9 α ,15-dibenzoiloxi-2 α ,4 β -dihidroxi-dihidro- β -agarofurano para nuestro compuesto **T-30** y que fue confirmada mediante estudios de experimentos mono y bidimensionales.



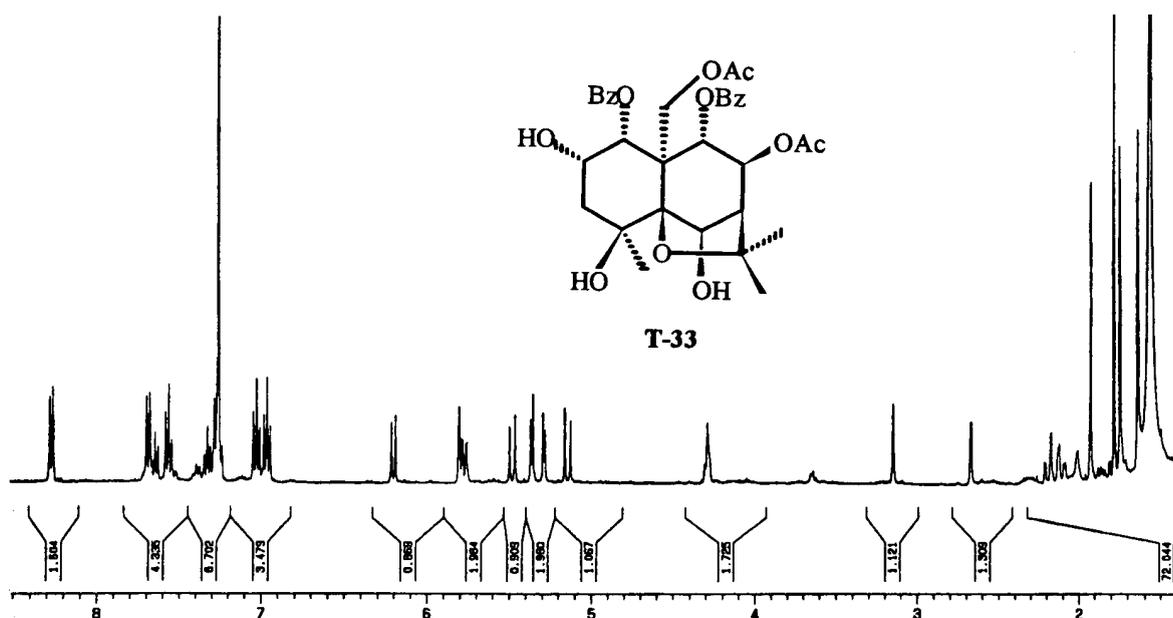
Un estudio comparativo del espectro de RMN ^1H de **T-31** y **T-29**, donde se observó el desplazamiento de H-1 a campo más alto y el desplazamiento del protón H-6 a campo más bajo en el producto **T-31** respecto al de **T-29**, que nos permitió proponer la estructura de nuestro compuesto como 6-acetil-1-deacetil de **T-29**. Un experimento heteronuclear HMBC nos permitió confirmar la estructura de nuestro compuesto como $2\alpha,6\beta,8\beta$ -triacetoxi- $9\alpha,15$ -dibenzoiloxi- $1\alpha,4\beta$ -dihidroxi-dihidro- β -agarofurano.



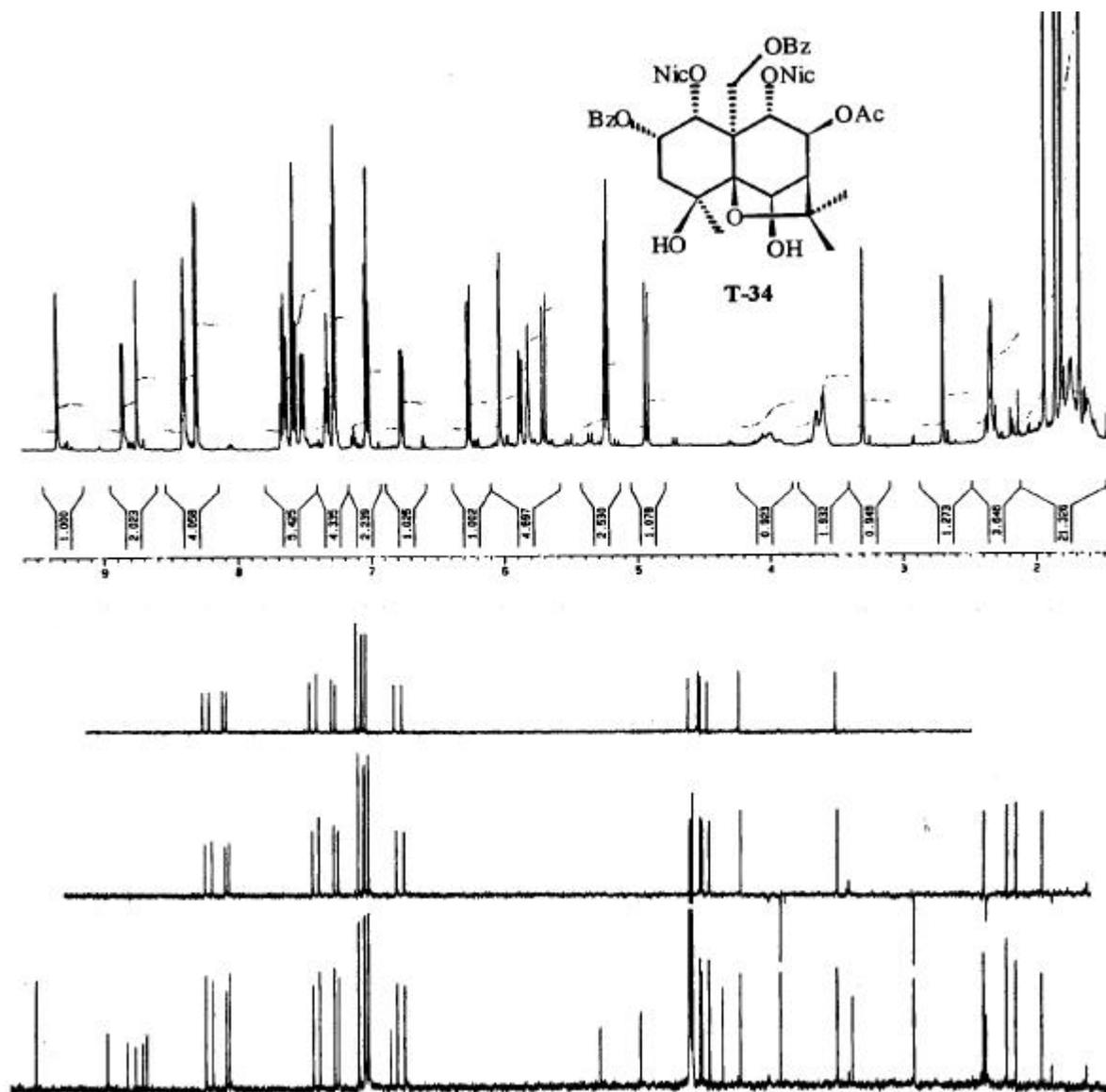
El producto denominado **T-32** posee una fórmula molecular $C_{33}H_{38}O_{12}$, determinada a partir de sus datos espectroscópicos de RMN 1H y espectro de masas de alta resolución. El estudio de sus datos espectroscópicos (Tablas 1 y 2) nos indicó la existencia de dos grupos benzoatos, un acetato, dos alcoholes secundarios y un alcohol terciario. El estudio de sus datos espectroscópicos resultaron estar relacionados con los del producto **T-29**, siendo la diferencia más notable en su espectro de RMN 1H la desaparición de la señal correspondiente a un grupo acetato, así como el desplazamiento de su protón geminal H-8 de 5.74 δ en **T-29** a 4.39 δ en el producto **T-32**, datos que están de acuerdo con una estructura de 8-deacetil de **T-29** para nuestro compuesto **T-32**, estructura que fue confirmada mediante experimentos mono y bidimensionales, concluyendo que su estructura corresponde al 1 α ,2 α -diacetoxi-9 α ,15-dibenzoiloxi-4 β ,6 β ,8 β -trihidroxi-dihidro- β -agarofurano.



El producto descrito como **T-33** presentó una fórmula molecular de $C_{33}H_{38}O_{12}$, basándonos en su espectro de masas de alta resolución, RMN 1H y ^{13}C . El estudio de sus datos espectroscópicos de RMN 1H y ^{13}C (Tablas 1 y 2) nos indicaron que **T-33** era un sesquiterpeno que poseía dos grupos benzoatos, dos acetatos, dos alcoholes secundarios y un alcohol terciario. Un estudio de las constantes de acoplamiento y experimento de doble resonancia nos permitieron fijar como posiciones de sustitución las 1α , 2α , 4β , 6β , 8β , 9α y 15 ; del conjunto de estos datos se dedujo que el producto **T-33** es un regioisómero de **T-32**. Las características de regiosustitución se establecieron mediante un experimento HMBC, quedando así establecida la estructura de nuestro producto como $8\beta,15$ -diacetoxi- $1\alpha,9\alpha$ -dibenzoiloxi- $2\alpha,4\beta,6\beta$ -trihidroxi-dihidro- β -agarofurano.

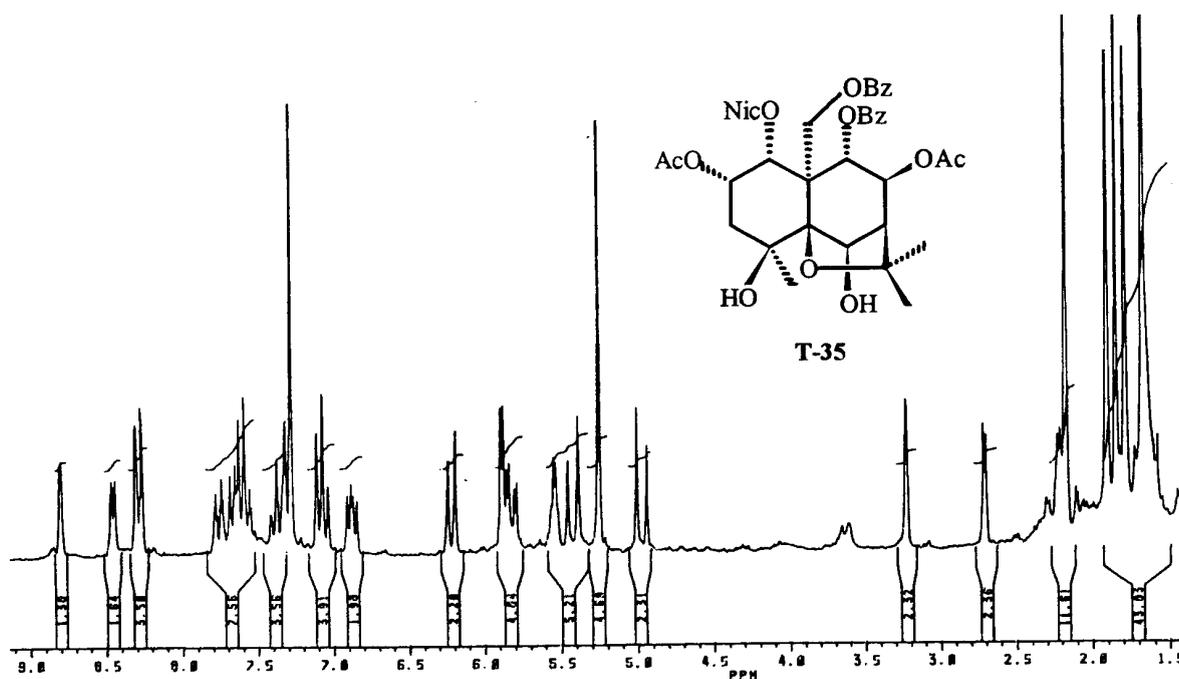


Al compuesto que hemos denominado **T-34** le hemos asignado una fórmula molecular de $C_{43}H_{42}N_2O_{13}$, basándonos en datos de espectrometría de masas de alta resolución, RMN 1H y ^{13}C ;

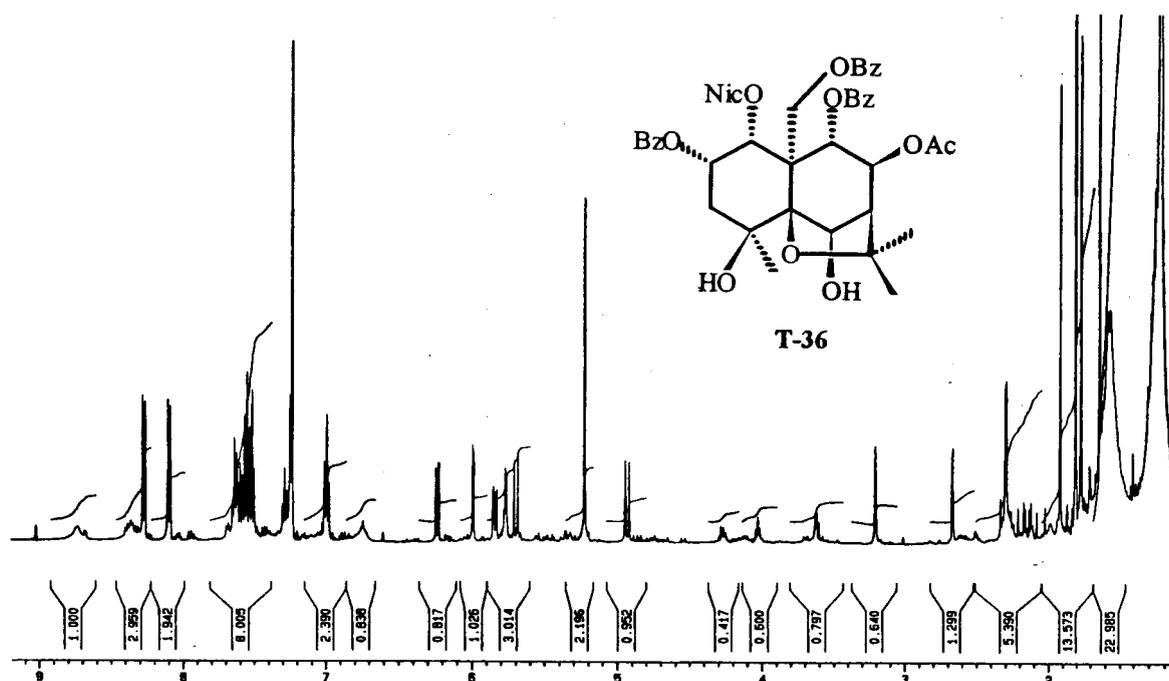


en su espectro de IR se observaron bandas para grupos hidroxilo (3387 cm^{-1}) y grupo éster (1735 cm^{-1}). Sus espectros de RMN ^1H (Tabla 1) y ^{13}C (Tabla 2) nos indicó claramente que nuestro compuesto se trataba de un poliéster sesquiterpénico con esqueleto de dihidro- β -agarofurano, que posee dos grupos benzoatos, dos nicotinatos, un acetato, un alcohol secundario y un alcohol terciario. Las posiciones de sustitución fueron determinadas como $1\alpha, 2\alpha, 4\beta, 6\beta, 8\beta, 9\alpha$ y 15 , basándonos en el estudio de las constantes de acoplamiento y experimentos de doble resonancia; mientras que la regiosustitución fue establecida mediante un experimento HMBC, quedando así fijada la estructura de nuestro compuesto como 8β -acetoxi- $2\alpha, 15$ -dibenzoiloxi- $1\alpha, 9\alpha$ -dinicotinoiloxi- $4\beta, 6\beta$ -dihidroxi-dihidro- β -agarofurano.

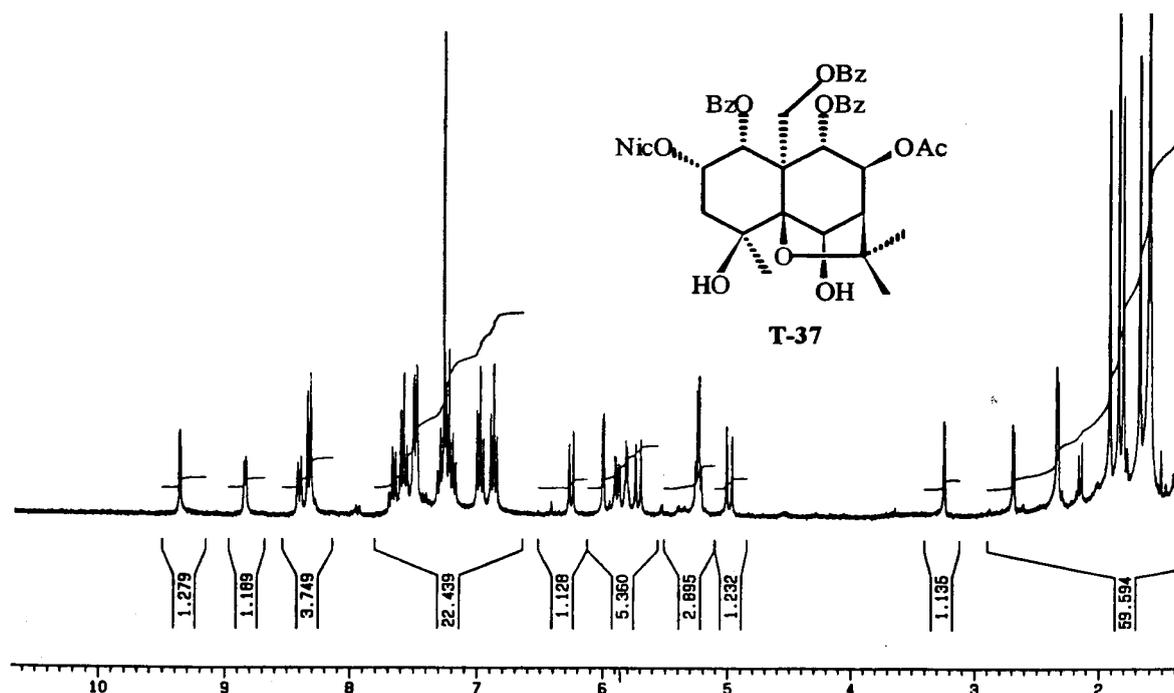
El producto **T-35** posee una fórmula molecular de $\text{C}_{39}\text{H}_{41}\text{NO}_{13}$ fijada basándonos en sus datos de espectroscopía de RMN ^1H , ^{13}C (Tablas 1 y 2) y espectrometría de masas. En su espectro de RMN ^1H se observaron señales asignables a dos grupos acetatos, dos benzoatos, un nicotinato, un alcohol secundario y un alcohol terciario, datos que fueron confirmados mediante RMN ^{13}C . El estudio de sus datos espectroscópicos resultaron ser similares a los del producto **T-29**, siendo la diferencia más significativa en su espectro de RMN ^1H la aparición de señales correspondientes a un grupo nicotinato, así como el desplazamiento del protón geminal H-1 desde $5.55\ \delta$ en **T-29** a $5.87\ \delta$ en **T-35**. Un estudio de correlación a larga distancia ^1H - ^{13}C (HMBC), nos permitió establecer la estructura de $2\alpha, 8\beta$ -diacetoxi- $9\alpha, 15$ -dibenzoiloxi- 1α -nicotinoiloxi- $4\beta, 6\beta$ -dihidroxi-dihidro- β -agarofurano para el producto **T-35**.



Al compuesto denominado como **T-36** le hemos asignado una fórmula molecular de $C_{44}H_{43}NO_{13}$, basándonos en datos de espectrometría de masas de alta resolución, RMN 1H y ^{13}C . El estudio de sus datos espectroscópicos de RMN 1H y ^{13}C (Tablas 1 y 2) nos indicó que se trataba de un sesquiterpeno poliesterificado que posee un grupo acetato, tres benzoatos, un nicotinato, un alcohol secundario y un alcohol terciario; mientras que experimentos bidimensionales homonucleares nos fijaron las posiciones de sustitución C-1 α , C-2 α , C-4 β , C-6 β , C-8 β , C-9 β y C-15. Al objeto de establecer de forma inequívoca la estructura de nuestro compuesto se realizó un experimento HMBC, el cual nos determinó se trataba del 8 β -acetoxi- 2 α ,9 α ,15-tribenzoiloxi-1 α -nicotinoiloxi-4 β ,6 β -dihidroxi-dihidro- β -agarofurano.

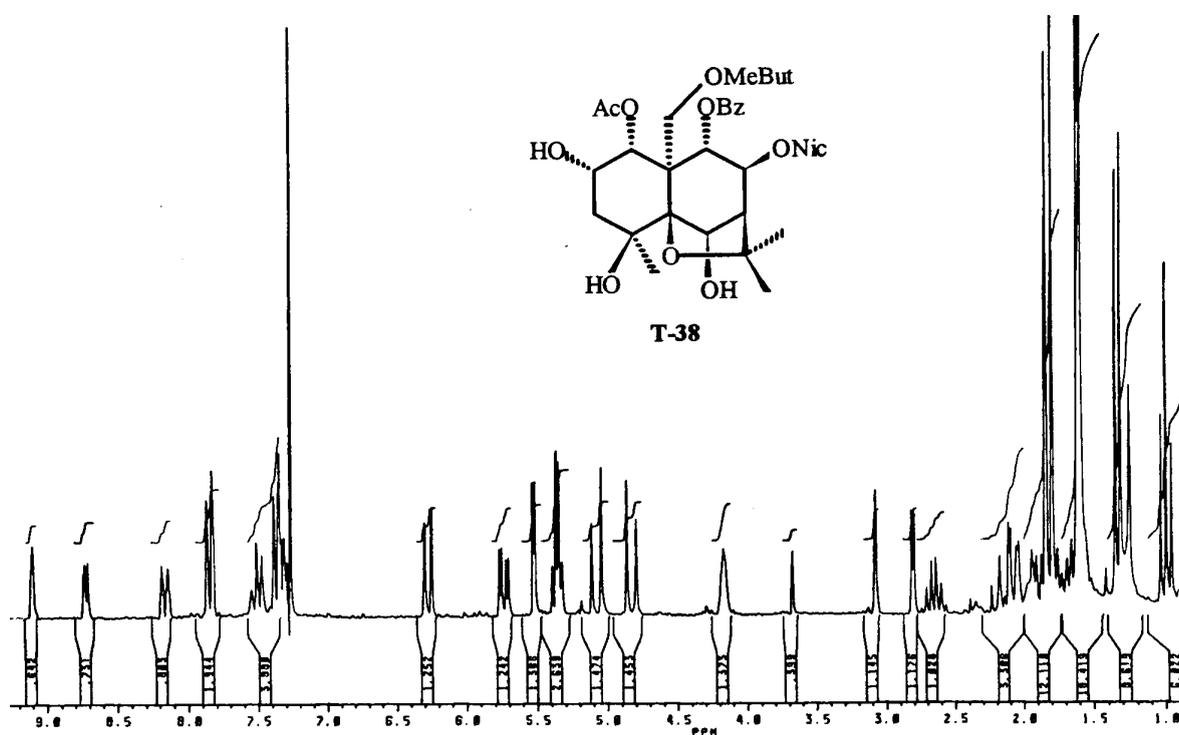


El estudio de los datos espectroscópicos del producto que hemos denominado **T-37** indicó que se trataba de un regioisómero de **T-36**. Así, en un estudio comparativo de sus datos de RMN ^1H , se observó que el desplazamiento del protón geminal H-1 no presentó variación significativa, mientras que el protón geminal H-2 se desplaza desde 5.79δ en **T-36** a 5.82δ en **T-37**, lo cual nos permitió proponer la estructura de nuestro compuesto. Un experimento heteronuclear (HMBC) nos permitió confirmar la estructura de **T-37** como 8α -acetoxi- $1\alpha,9\alpha,15$ -tribenzoiloxi- 2α -nicotinoiloxi-

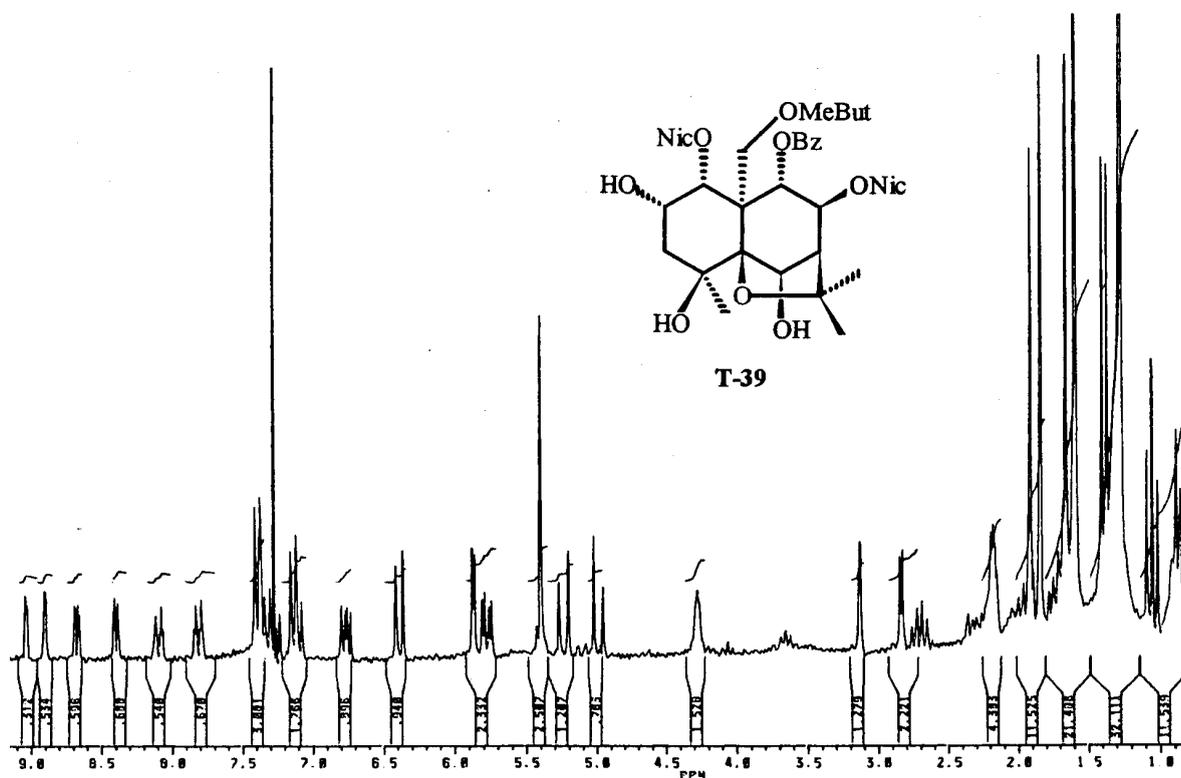


4 β ,6 β -dihidroxi-dihidro- β -agarofurano.

El estudio de los datos espectroscópicos (Tablas 1 y 2) de **T-38** nos indicó la existencia de un grupo acetato, un benzoato, un 2-metilbutirato, un nicotinato, dos alcoholes secundarios y un alcohol terciario, sobre un esqueleto sesquiterpénico. Un experimento ROESY (Figura 1) nos permitió determinar la estereoquímica de los sustituyentes, mientras un experimento HMBC estableció las características de regiosustitución en nuestro producto, quedando así establecida su estructura como 1 α -acetoxi-9 α -benzoiloxi-15-(2)-metilbutiroiloxi-8 β -nicotinoiloxi-2 α ,4 β ,6 β -trihidroxi-dihidro- β -agarofurano.



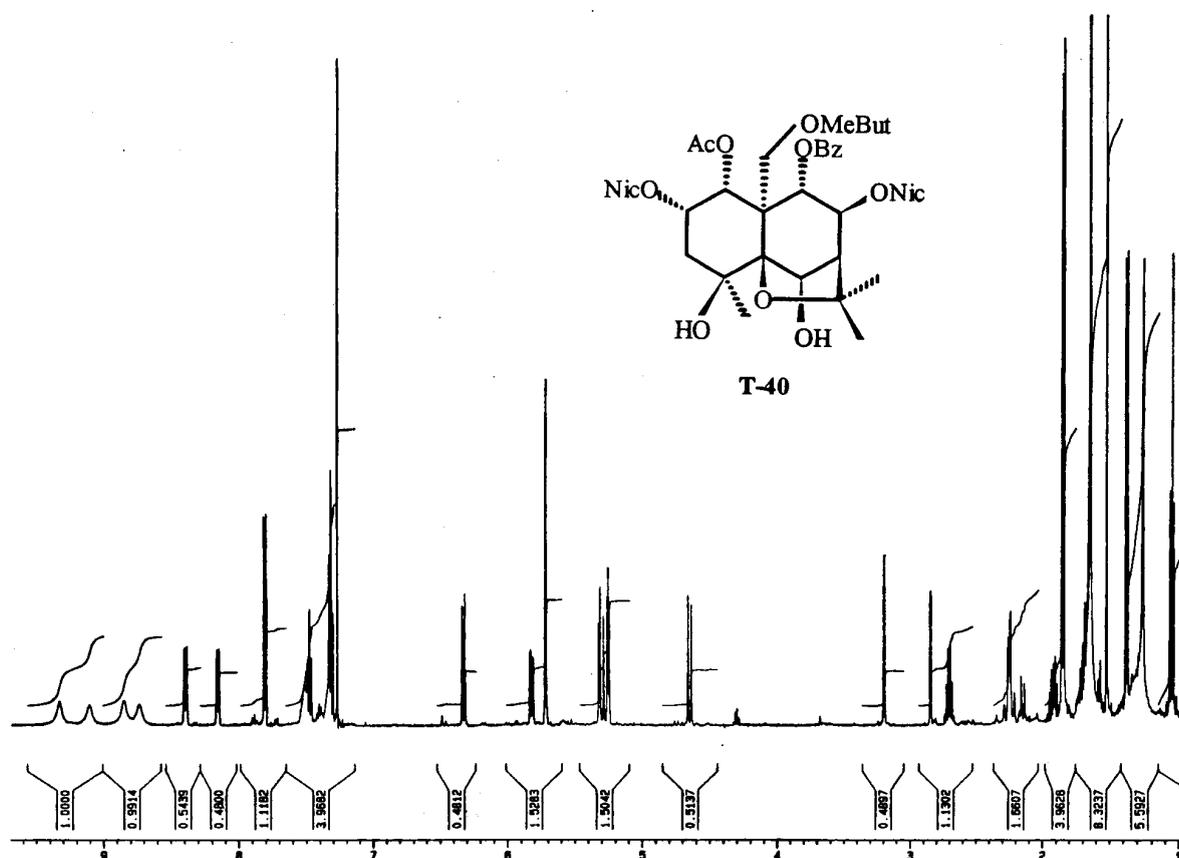
El estudio de los datos espectroscópicos de RMN ^1H (Tabla 1) del producto que hemos denominado **T-39** estaba relacionado con los de **T-17**, observándose como diferencia más notable la desaparición de señales de uno de los grupos 2-metilbutirato y la presencia de cuatro protones aromáticos asignables a un grupo nicotinato. Experimentos bidimensionales ^1H - ^1H nos permitieron establecer la configuración relativa de **T-39** y su estructura fue finalmente establecida como 9 α -benzoiloxi-15-(2)-metilbutiroiloxi-1 α ,8 β -dinicotinoiloxi-2 α ,4 β ,6 β -trihidroxi-dihidro- β -agarofurano, una vez resueltas las características de regiosustitución mediante un experimento HMBC.



El producto que hemos denominado **T-40**, posee una fórmula molecular de $C_{41}H_{46}N_2O_{13}$, obtenida de su espectro de masas de alta resolución. En su espectro de RMN 1H se observaron señales para trece protones aromáticos entre 7.31 y 9.34 δ , asignables a un grupo benzoato y dos nicotinos; señales para un metilo de acetato a 1.52 δ como singulete; señales para dos metilos uno como triplete a 1.06 δ ($J=7.4$ Hz) y otro como doblete a 1.37 δ ($J=7.0$ Hz) junto a dos multipletes a 1.91 (2H) y 2.70 (1H) asignables a un grupo 2-metilbutirato, datos que fueron confirmados mediante RMN ^{13}C (Tabla 2). Sus datos espectroscópicos resultaron estar relacionados con los del producto **T-38**, observándose la aparición de las señales correspondientes a un grupo nicotinato, así como el desplazamiento de la señal correspondiente al protón geminal H-2 desde 4.17 δ en **T-38** a 5.71 δ en **T-40**.

Un cuidadoso estudio de RMN 1H y ^{13}C , COSY y ROESY (Figura 1) nos permitió asignar como posiciones funcionalizadas C-1 α , C-2 α , C-4 β , C-6 β , C-8 β , C-9 α y C-15. Un experimento HMBC estableció que el grupo acetato estaba en C-1, el benzoato en C-9, el 2-metilbutirato en C-15, los nicotinos en C-2 y C-8, el alcohol secundario en C-6 y el alcohol terciario en C-4. Quedó

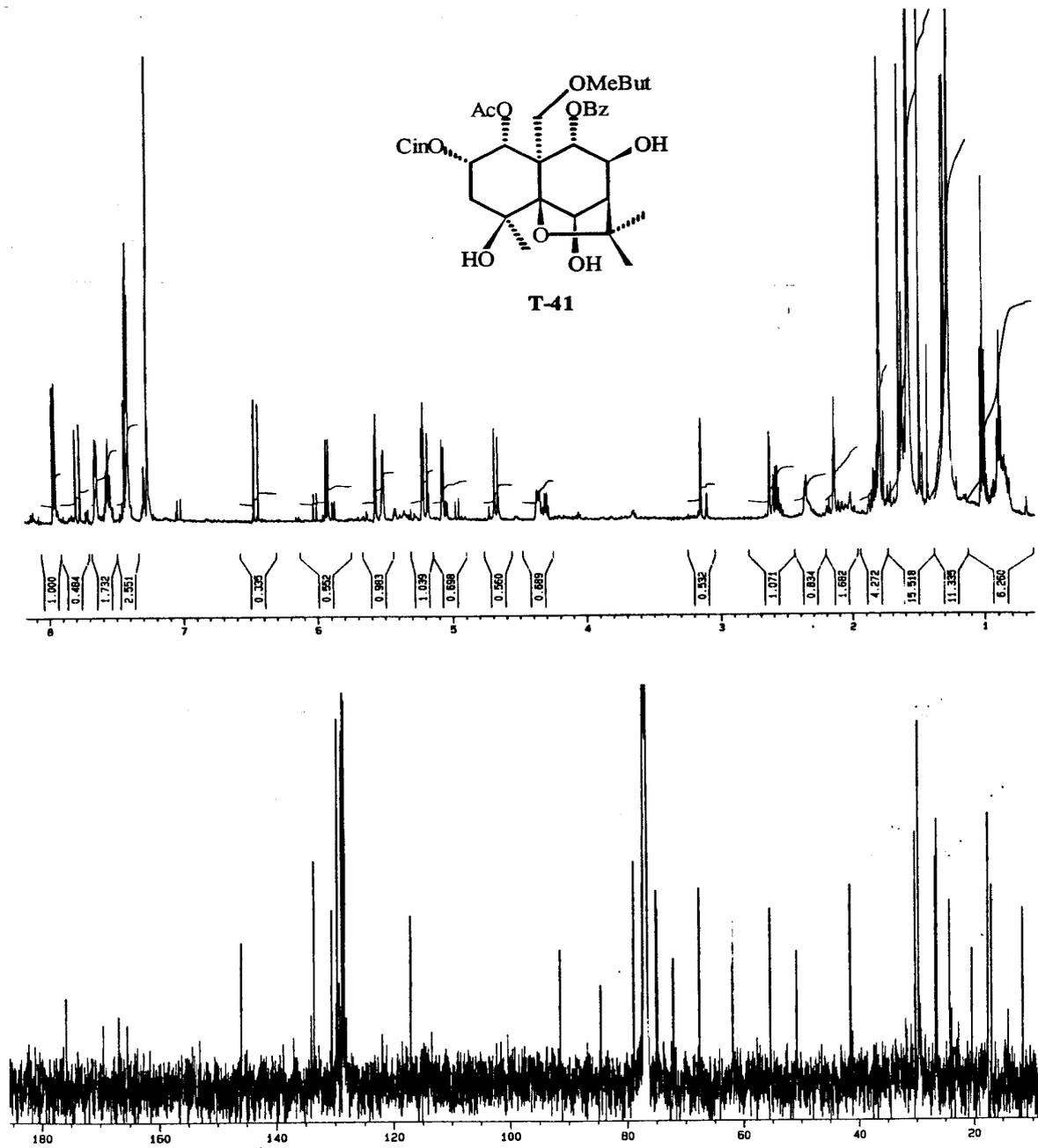
así establecida la estructura de nuestro compuesto **T-40** como 1 α -acetoxi-9 α -benzoiloxi-15-(2)-metilbutiroiloxi-2 α ,8 β -dicotinoiloxi- 4 β ,6 β -di-hidroxi-dihidro- β -agarofurano.

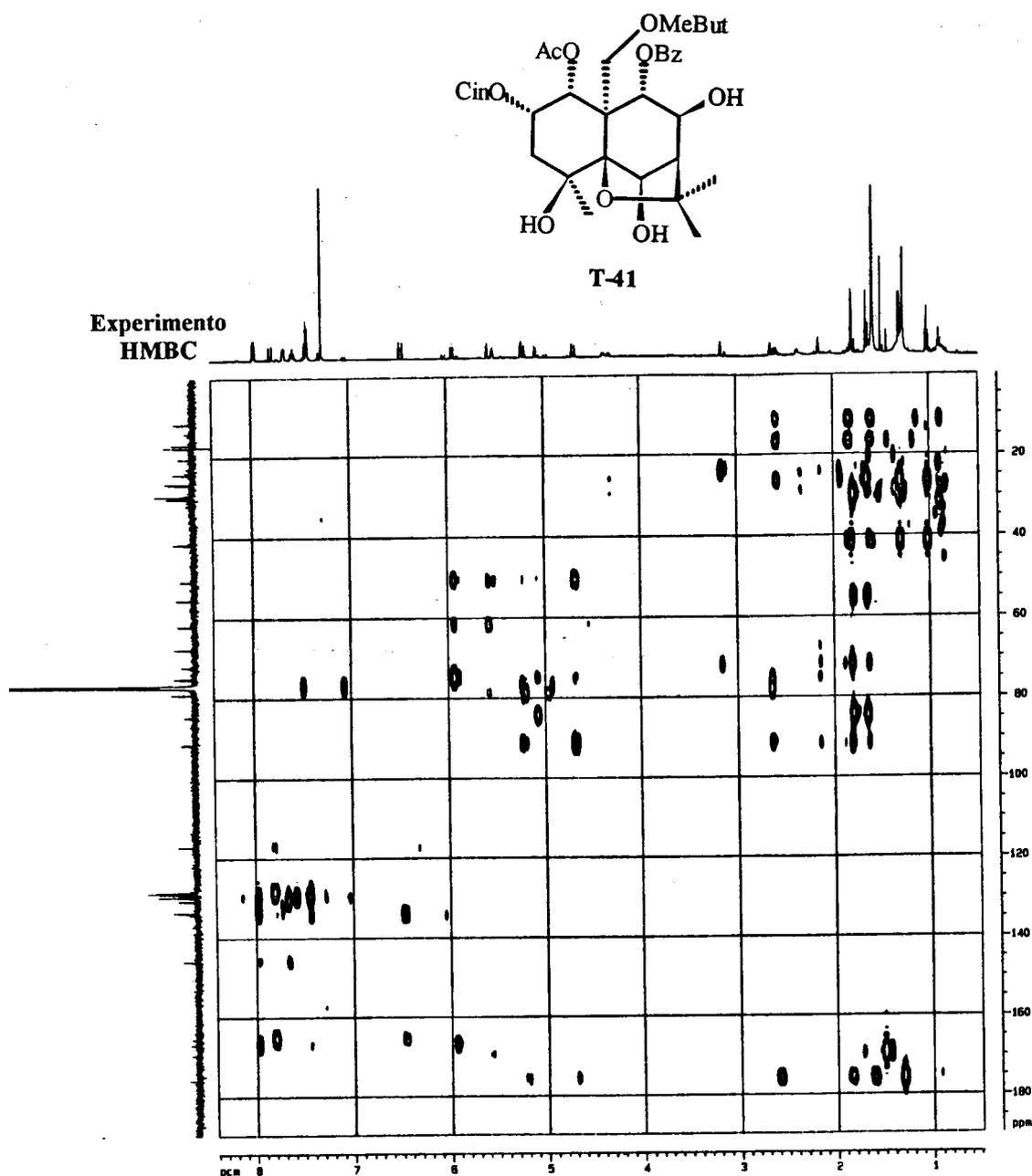


El producto que hemos denominado como **T-41** presentó una fórmula molecular $C_{38}H_{46}O_{12}$, calculada a partir de su espectro de masas de alta resolución y datos espectroscópicos de RMN ¹H y ¹³C (Tablas 1 y 2). En su espectro de IR se observaron bandas para grupo hidroxilo (3435 cm^{-1}) y grupo éster (1728 cm^{-1}). En su espectro de masas se observaron fragmentos que indican la presencia de un grupo acetato (42 m/z), benzoato (105 m/z), cinamato (103 m/z) y 2-metilbutirato (85 m/z). La presencia de estos grupos ésteres se confirmó por la presencia en su espectro de RMN ¹H de un singlete a 1.49 δ correspondiente a un metilo de acetato; la aparición de diez protones aromáticos, entre 7.44 y 7.97 δ ; la presencia de dos dobletes centrados a 6.46 y 7.79 δ , integrando cada uno para un protón ($J=16.1$ Hz), que indicaban la presencia de protones vinílicos en la molécula correspondientes a un *trans* cinamato; señales para dos metilos uno como triplete a 1.01 δ ($J=7.4$ Hz), y otro como doblete a 1.30 δ ($J=7.0$ Hz) y dos multipletes que integran uno para dos protones a 1.80 δ y otro para un protón a 2.59 δ , señales que corresponden a un grupo 2-

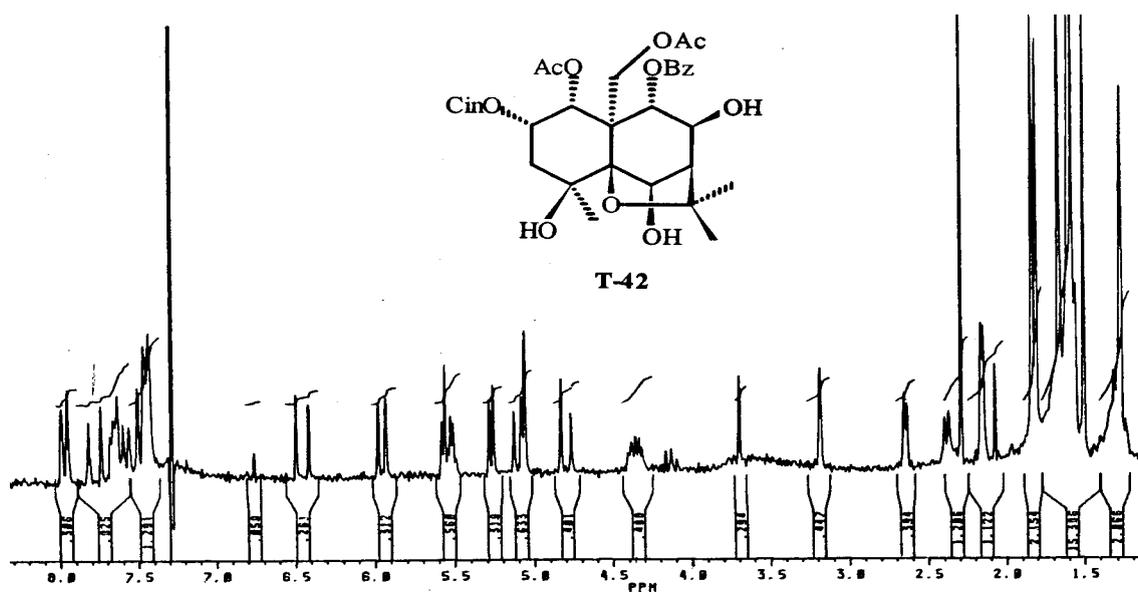
metilbutirato; asimismo se observaron señales para dos alcoholes secundarios y uno terciario; datos que se confirmaron en su espectro de RMN ^{13}C .

Las posiciones de sustitución fueron fijadas mediante el uso de un experimento bidimensional (COSY); la estereoquímica relativa mediante un experimento ROESY (Figura 1); mientras que el estudio de un experimento HMBC nos permitió establecer la regiosustitución, situándose el grupo acetato sobre C-1, el cinamato en C-2, el alcohol terciario sobre C-4, los alcoholes secundarios en C-6 y C-8, el benzoato sobre C-9 y el 2-metilbutirato sobre C-15, quedando así establecida la estructura de nuestro compuesto como 1 α -acetoxi-9 α -benzoiloxi-2 α -cinamoiloxi-15-(2)-metilbutiroiloxi-4 β ,6 β ,8 β -trihidroxi-dihidro- β -agarofurano.

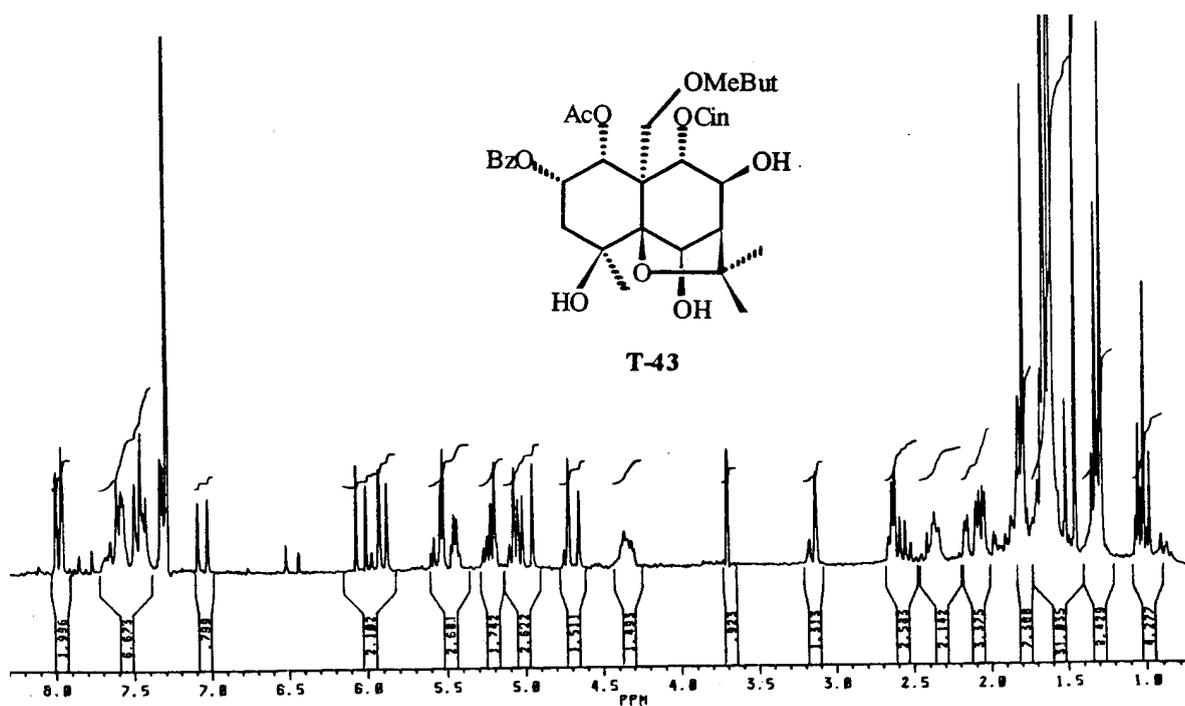




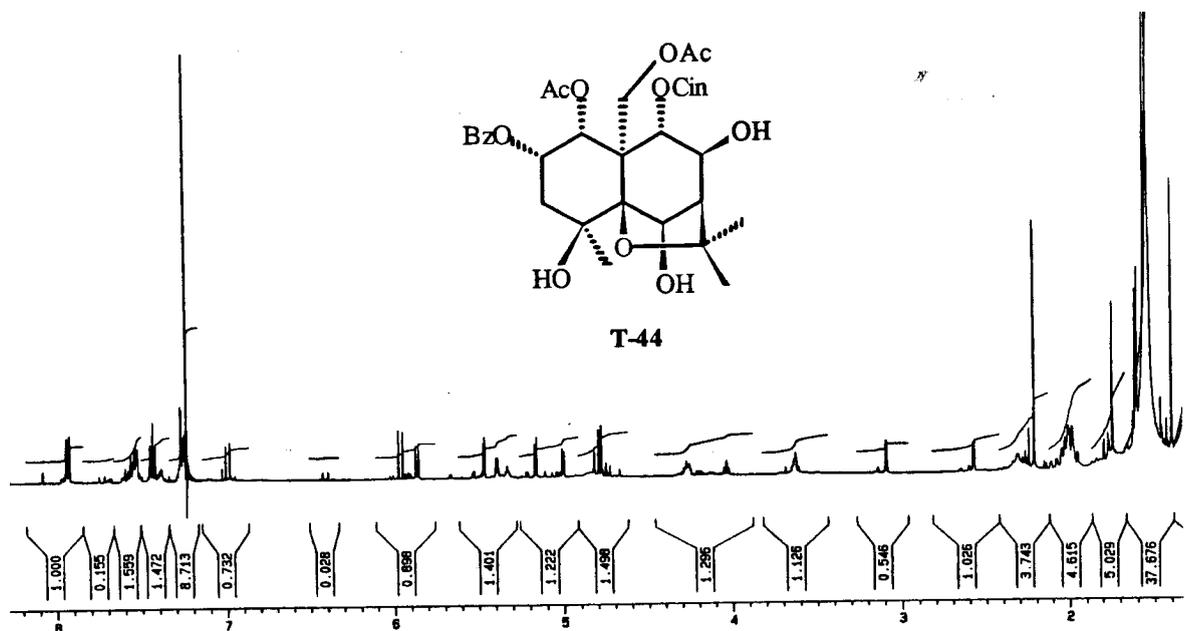
El estudio de los datos espectroscópicos del producto que hemos denominado **T-42** nos indicó que nuestro compuesto se trataba de un sesquiterpeno que posee dos grupos acetatos, un benzoato, un cinamato, dos alcoholes secundarios y uno terciario. Estudio de las constantes de acoplamiento de su espectro de RMN ^1H (Tabla 1) unido a experimentos bidimensionales nos permitieron establecer la estructura de nuestro producto como $1\alpha,15$ -diacetoxi- 9α -benzoiloxi- 2α -cinamoiloxi- $4\beta,6\beta,8\beta$ -trihidroxi-dihidro- β -agarofurano.



El producto descrito como **T-43** presenta una fórmula molecular $C_{38}H_{46}O_{12}$, basándonos en espectros de masas de alta resolución, RMN 1H y ^{13}C . El estudio de sus datos espectroscópicos nos indica la existencia de un grupo acetato, un benzoato, un cinamato, un 2-metilbutirato, un alcohol secundario y un alcohol terciario, datos que muestran que nuestro producto **T-43** es un regioisómero del producto **T-41**. Al objeto de determinar de forma inequívoca su estructura se realizó un experimento HMBC quedando determinada la estructura de nuestro producto **T-43** como 1 α -acetoxi-9 α -benzoiloxi-2 α -cinamoiloxi-15-(2)-metilbutiroiloxi-4 β ,6 β ,8 β -trihidroxi-dihidro- β -agarofurano.



El estudio comparativo de los datos espectroscópicos del producto **T-42** y **T-44** nos indicaron que existía una relación de regioisomería entre ambos; un experimento HMBC nos permitió fijar las características de regiosustitución en **T-44**, quedando así establecida la estructura de nuestro compuesto como $1\alpha,15$ -diacetoxi- 2α -benzoiloxi- 9α -cinamoiloxi- $4\beta,6\beta,8\beta$ -trihidroxi-dihidro- β -agarofurano.



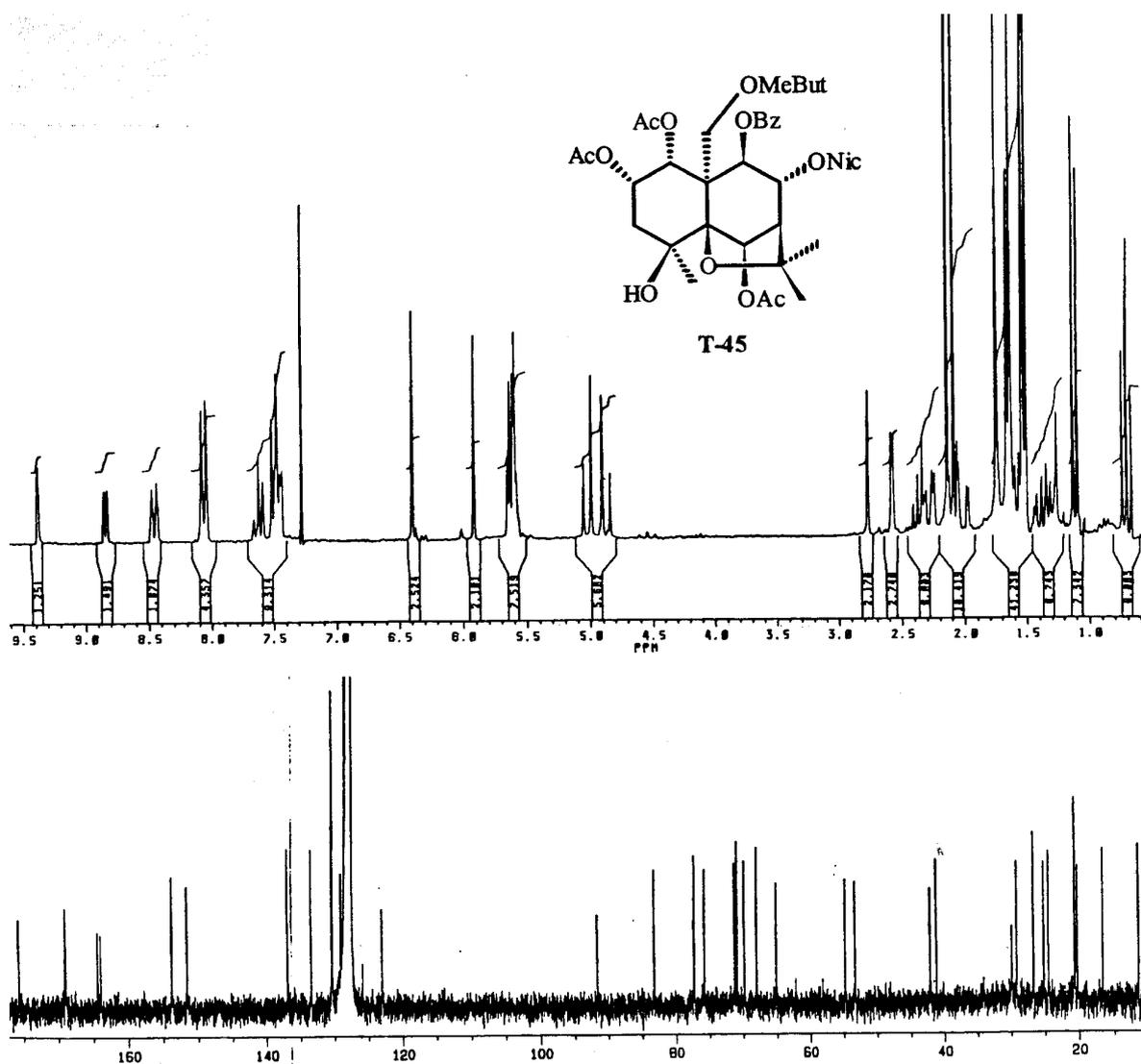
Al producto que hemos denominado **T-45** se le asignó una fórmula molecular $C_{39}H_{47}NO_{14}$, basándonos en los datos de su espectro de masas de alta resolución, junto con los de RMN 1H y

^{13}C (Tablas 1 y 2); en su espectro de IR mostraba bandas indicando la presencia de grupo hidroxilo (3525 cm^{-1}) y grupos éster (1741 , 1728 y 1715 cm^{-1}); en su espectro de masas se observaron fragmentos de 124 m/z atribuibles a un grupo nicotinato, 105 m/z de benzoato, 85 m/z de 2-metilbutirato y 42 m/z de acetato, lo cual fue confirmado mediante sus datos de RMN ^1H y ^{13}C , observándose señales para nueve protones aromáticos correspondientes a un grupo benzoato y nicotinato, la presencia de tres singuletes que integran para tres protones cada uno, confirma la existencia de tres grupos acetatos, mientras que señales correspondientes a dos metilos, uno como doblete y otro como triplete, junto a dos multipletes que integran para dos y un protón, respectivamente, están de acuerdo con la existencia de un grupo 2-metilbutirato.

Cuando **T-45** fue tratado con anhídrido acético en piridina a temperatura ambiente, el compuesto permanece inalterable, esta dato unido al anteriormente expuesto de la presencia de un grupo hidroxilo en su espectro de IR y de un singlete a $2.60\ \delta$ en su espectro de RMN ^1H , que integra para un protón y se intercambia con agua deuterada, nos confirma que nuestro producto posee un grupo hidroxilo terciario. El conjunto de todos estos datos nos indicó que nuestro compuesto se trata de un sesquiterpeno poliesterificado del tipo dihidro- β -agarofurano, que posee tres acetatos, un benzoato, un 2-metilbutirato, un nicotinato, un grupo hidroxilo y un átomo de oxígeno adicional que debe formar parte de un puente éter.

En el análisis de los datos de RMN ^1H se observó la presencia de un sistema ABX (H-7, H-8, H-9) y un sistema ABX₂ (H-1, H-2, H-3) y el estudio de las constantes de acoplamiento de dichos sistemas $J_{1-2} = 3.6\text{ Hz}$ y $J_{8-9} = 0\text{ Hz}$, nos indicó una relación *cis* entre H-1 y H-2, y una relación *trans* diecuatorial entre H-8 y H-9; la constante de acoplamiento $J_{9,8} = 0\text{ Hz}$ es habitual en este tipo de sesquiterpenos en la que los protones H-8 β y H-9 α forman un ángulo aproximado de 90° tal como ocurre en la cathedulina E-2².

² Baxter, R. L.; Crombie, L.; Simmonds D. J.; Whiting D. A., *J. C. S. Perkins Trans I*, **1979**, 2972.



La estereoquímica relativa fue confirmada mediante un experimento ROESY (Figura 2), fijándose como posiciones de sustitución 1α , 2α , 4β , 6β , 8α , 9β y 15. Las características de regiosustitución fueron resueltas mediante la aplicación de un experimento HMBC, el cual nos permitió establecer de forma inequívoca la estructura de nuestro compuesto como $1\alpha, 2\alpha, 6\beta$ -triacetoxi- 9β -benzoiloxi-15-(2)-metilbutiroiloxi- 8α -nicotinoiloxi- 4β -hidroxi-dihidro- β -agarofurano.

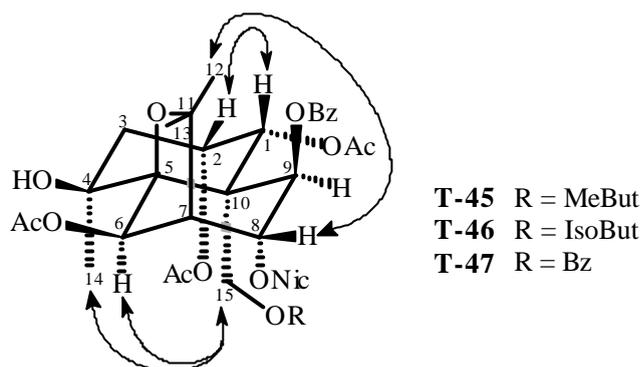
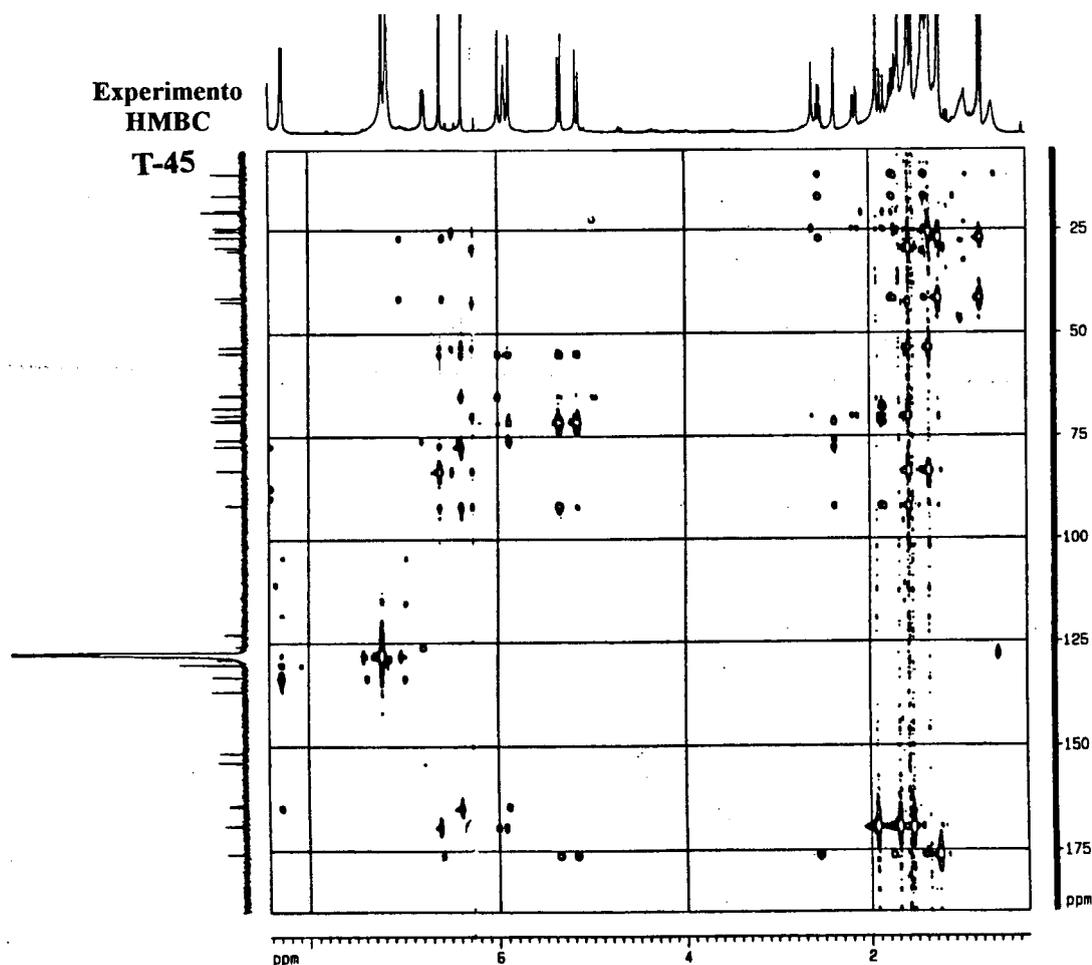
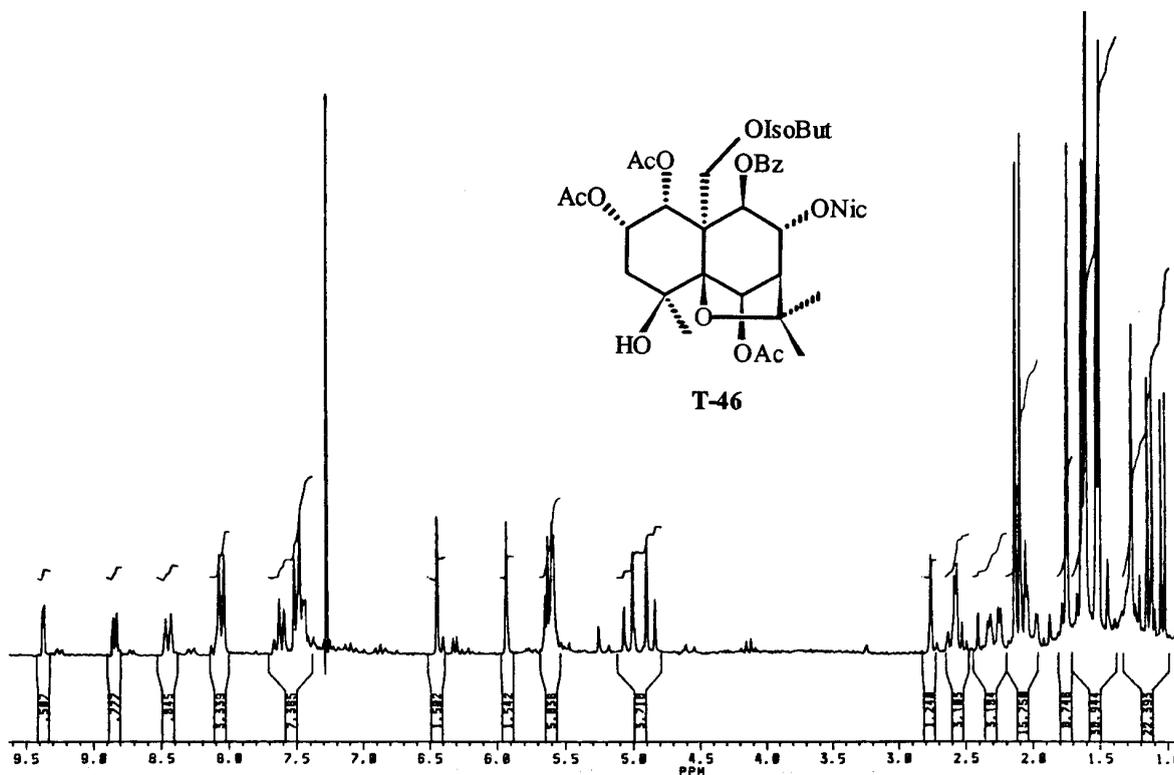


Figura 2. Experimento ROESY

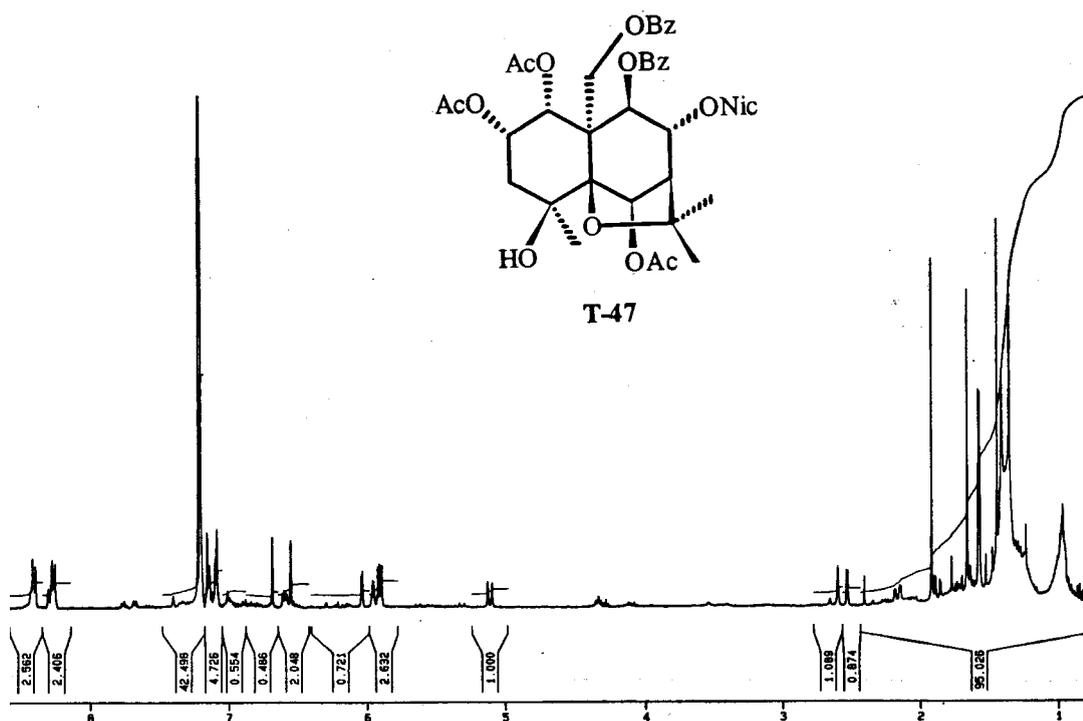


El estudio de los datos espectroscópicos (Tablas 1 y 2, Figura 2) del compuesto que hemos denominado **T-46**, nos indicó que se trataba de un sesquiterpeno poliesterificado que presenta tres acetatos, un benzoato, un nicotinato, un isobutirato y un alcohol terciario. Sus datos resultaron estar relacionados con los del producto **T-45**, siendo la diferencia más notable en su espectro de RMN ^1H la desaparición de las señales correspondientes a un grupo 2-metilbutirato y la aparición de señales para un grupo isobutirato; estos datos y el estudio de un experimento HMBC nos permitió

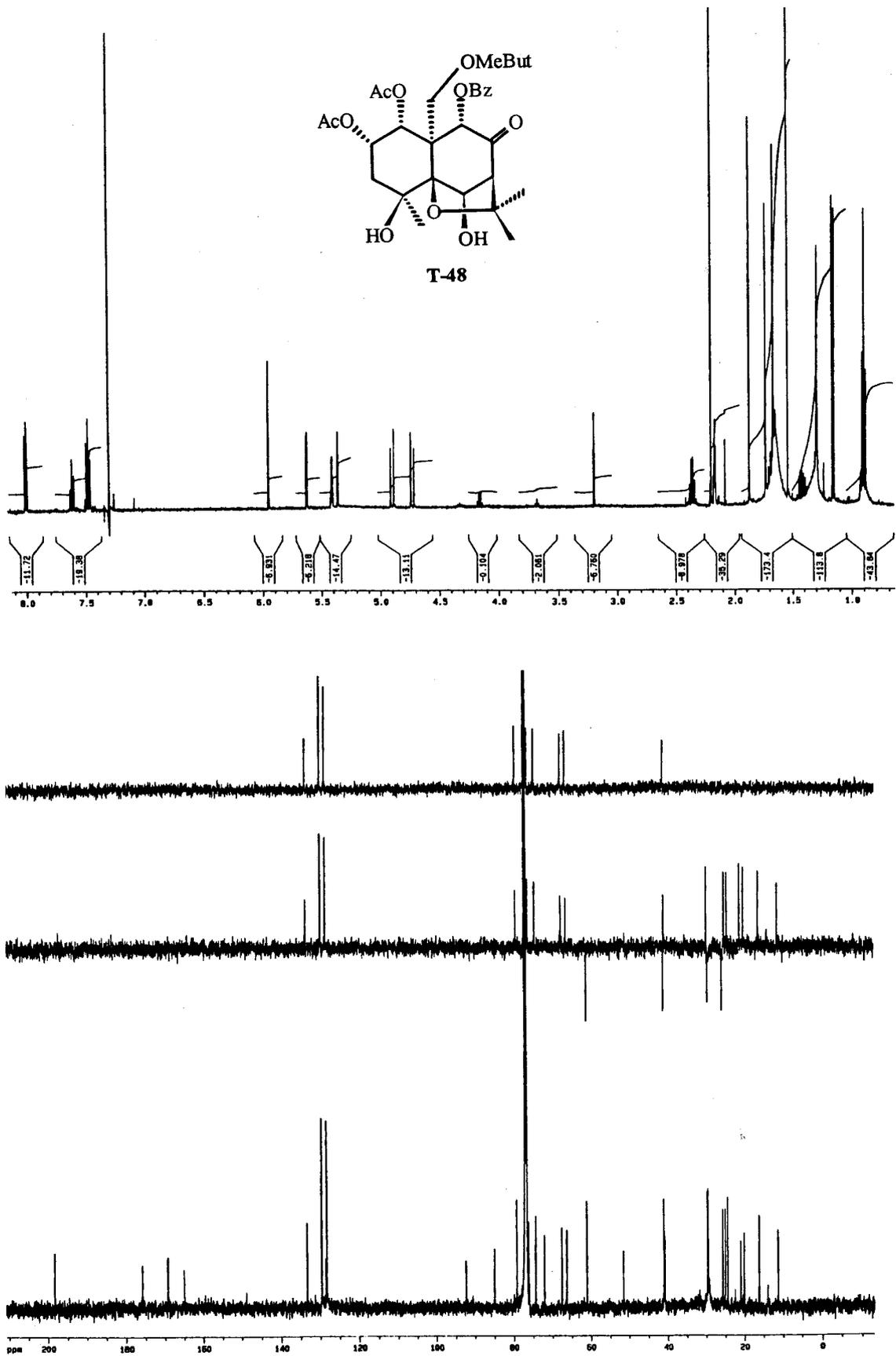
establecer la estructura del producto **T-46** como 1 α ,2 α ,6 β -triacetoxi-9 β -benzoiloxi-15-isobutiroiloxi-8 α -nicotinoiloxi-4 β -hidroxi-dihidro- β -agarofurano.



El producto **T-47** presentó una fórmula molecular de $C_{40}H_{44}NO_{14}$, según sus datos de espectrometría de masas de alta resolución, RMN 1H y ^{13}C (Tablas 1 y 2). Un cuidadoso análisis de sus datos espectroscópicos, no indicó que nuestro producto presentaba unas características muy parecidas a la de los productos **T-45** y **T-46**. Al objeto de confirmar las características de regiosustitución se realizó un experimento HMBC, cuyos datos nos permitieron concluir que nuestro producto **T-47** se trata del 1 α ,2 α ,6 β -triacetoxi-9 β ,15-dibenzoiloxi-4 β -hidroxi-dihidro- β -agarofurano.



El producto que hemos denominado **T-48** presentó una fórmula molecular de $C_{31}H_{40}O_{12}$, basándonos en sus espectros de masas de alta resolución, RMN 1H y ^{13}C (Tablas 1 y 2). Se observaron, en su espectro de IR, bandas de absorción para grupo hidroxilo (3412 cm^{-1}) y grupo éster (1756 cm^{-1}). Cuando el producto fue tratado con anhídrido acético en piridina, éste permaneció inalterado, dato que junto a su espectro de IR y RMN 1H , donde se observa un protón a $3.15\ \delta$, intercambiable con D_2O , nos indicó que nuestra molécula posee un grupo hidroxilo terciario. En su espectro de UV se observó absorción para un cromóforo benzoato, el cual fue confirmado por la existencia de cinco protones entre $7.47\text{--}8.00\ \delta$ y un carboxilo conjugado a $165.0\ \delta$ en sus espectros de RMN 1H y ^{13}C , respectivamente. Otras características destacables en su espectro de RMN 1H fueron la presencia de un sistema AB, asignado a H-1 ($5.62\ \delta$, d, $J = 3.4\text{ Hz}$) y H-2 ($5.41\ \delta$, m), indicándonos que los sustituyentes sobre C-1 y C-2 debían ser axial y ecuatorial respectivamente, dada sus constantes de acoplamiento; también se observó que H-7 ($3.20\ \delta$, s) y H-9 (5.95 , s), por la forma y desplazamiento de sus señales debían estar en posición alfa a un grupo carbonilo; así como se observaron dos señales a 1.54 y $2.20\ \delta$ asignables a metilo de acetato.



La configuración relativa de nuestro producto **T-48**, fue determinada mediante un experimento ROESY (Figura 3) y la posición de los grupos acetato sobre C-1 y C-2, benzoato sobre C-9, 2-metilbutirato sobre C-15 y el grupo carbonilo sobre C-8 fue determinada mediante un experimento HMBC, quedando de esta forma establecida la estructura para nuestro producto como 1 α ,2 α -diacetoxi-9 α -benzoiloxi-15-(2)-metilbutiroiloxi-8-oxo-4 β ,6 β -dihidroxi-dihidro- β -agarofurano.

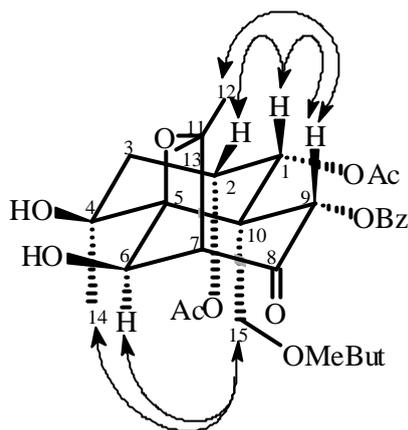
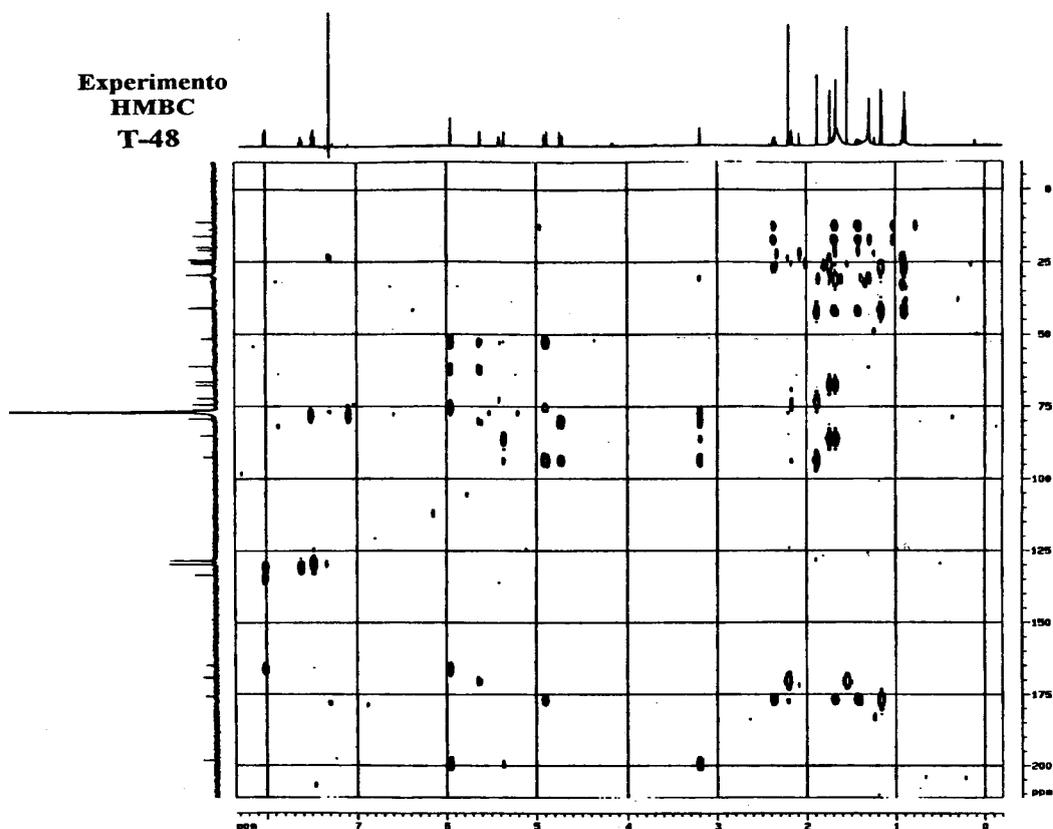
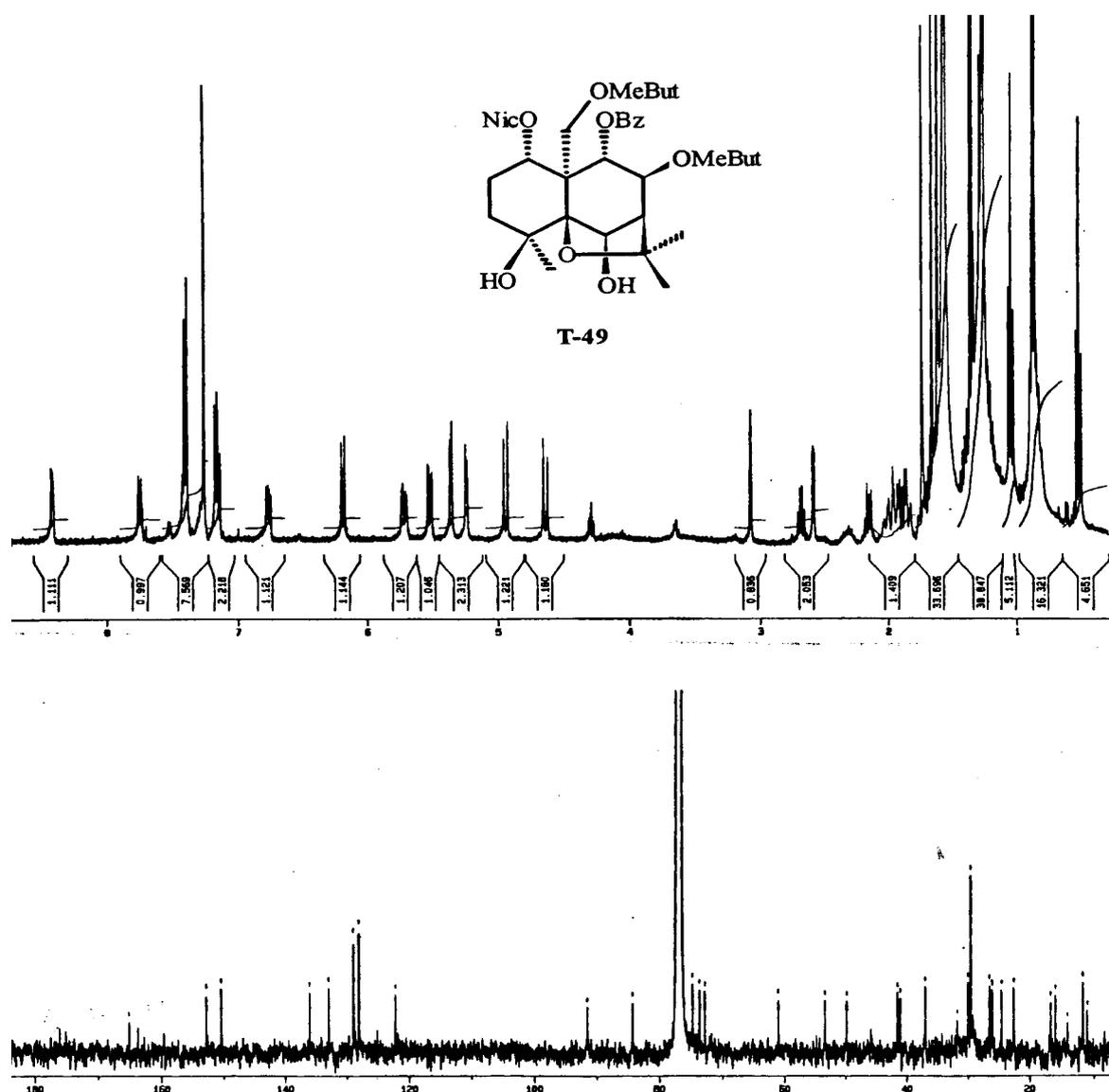


Figura 3. Experimento ROESY de T-48



Al producto **T-49** le hemos asignado una fórmula molecular $C_{38}H_{49}NO_{11}$, basándonos en sus datos de espectrometría de masas de alta resolución. El estudio de su espectro de masas nos indicó la pérdida de fragmentos de $122 m/z$ atribuibles a un grupo benzoato, de $102 m/z$ asignable a un grupo 2-metilbutirato y de $123 m/z$ correspondiente a un grupo nicotinato; lo cual fue confirmado por RMN 1H y ^{13}C . Así, en su espectro de RMN 1H se observaron señales para nueve protones aromáticos entre 6.77 y 8.87δ pertenecientes a un grupo nicotinato y benzoato, y la presencia de señales características de un grupo 2-metilbutirato. Del estudio minucioso de sus datos espectroscópicos de RMN 1H y ^{13}C (Tablas 1 y 2), se dedujo que nuestro producto se trataba de un sesquiterpeno que posee un benzoato, un nicotinato, dos grupos 2-metilbutirato, un alcohol secundario y un alcohol terciario.



El estudio de las constantes de acoplamiento y de experimentos bidimensionales (Figura 4); quedando de esta forma fijada la estructura para nuestro producto **T-49**, como 9 α -benzoiloxi-8 β ,15-di-(2)-metil-butiroiloxi-1 α -nicotinoiloxi-4 β ,6 β -dihidroxi-dihidro- β -agarofurano, en base a los datos del experimento HMBC.

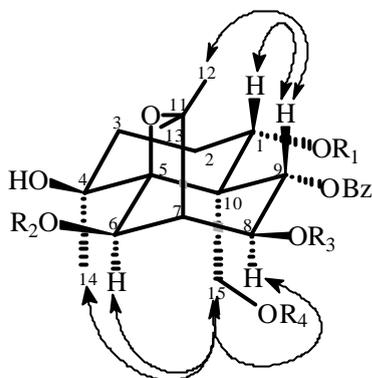
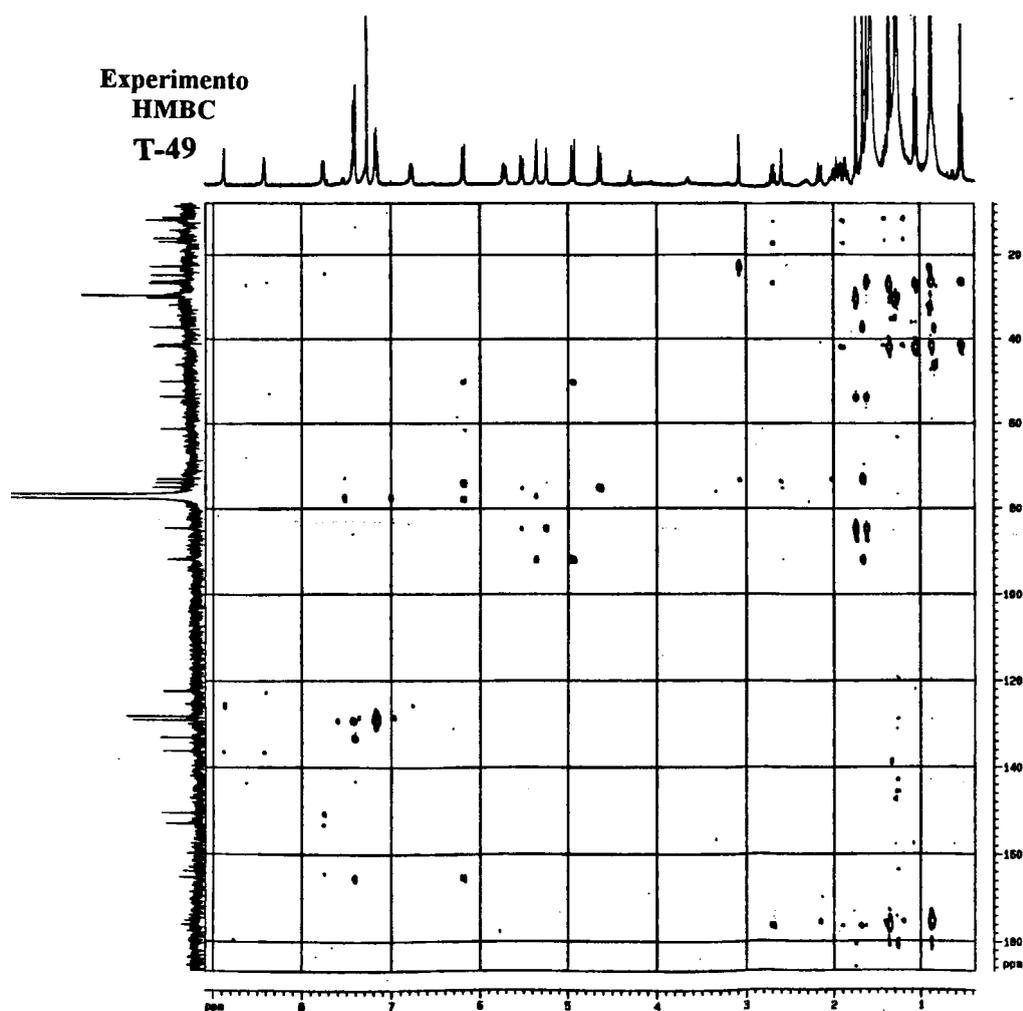
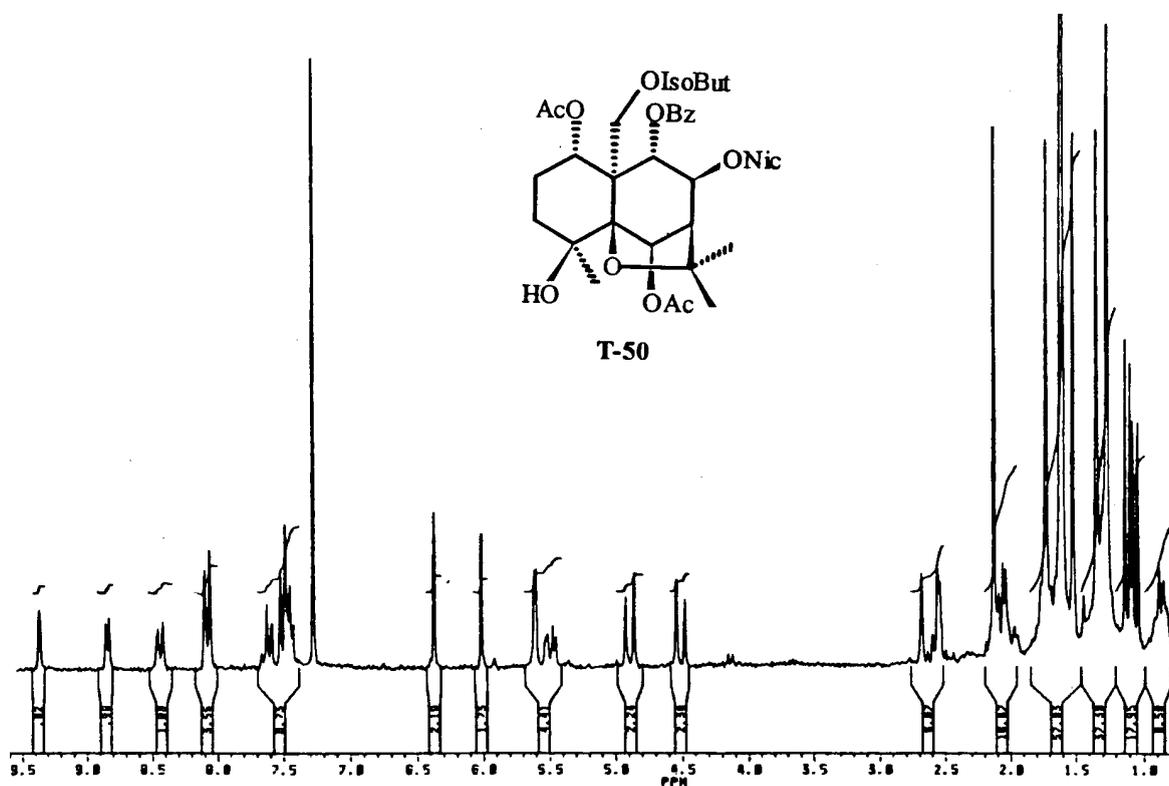


Figura 4. Experimento ROESY de T-49 y T

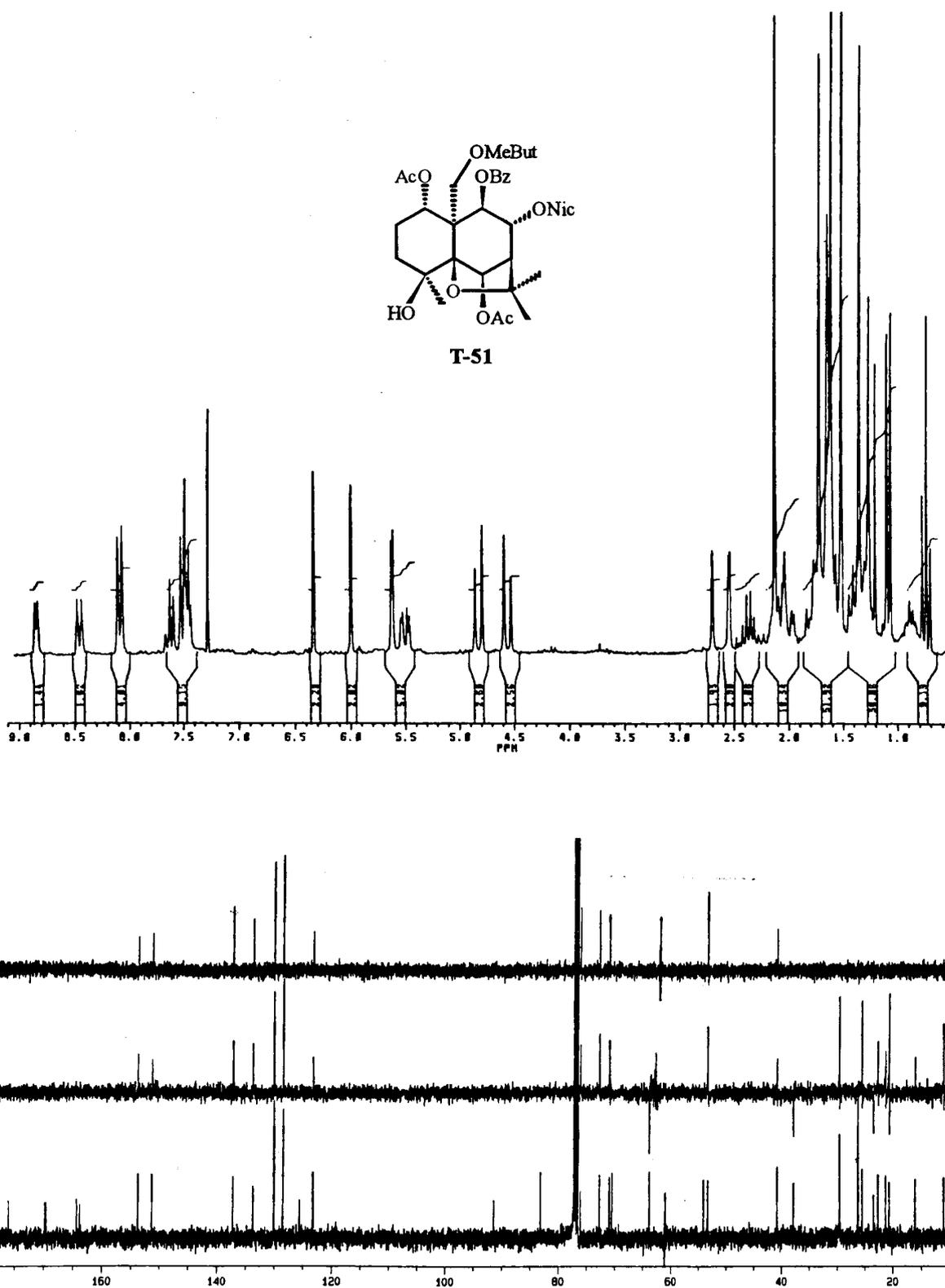


El producto **T-50** posee una fórmula molecular $C_{36}H_{43}NO_{12}$ fijada basándonos en los datos de su espectro de masas de alta resolución, RMN 1H y ^{13}C (Tablas 1 y 2). En su espectro de RMN 1H presenta señales correspondientes a metilos de acetato como singuletes a 1.51 y 2.12 δ , nueve protones aromáticos entre 7.48 y 9.37 δ asignables a grupos benzoato y nicotinato, señales para dos metilos como dobletes a 1.06 δ ($J=6.9$ Hz) y 1.11 δ ($J=6.9$ Hz) y un protón multiplete a 2.05 δ indicó la presencia de un grupo isobutirato, se observaron también señales para seis protones geminales a un grupo éster. Estos datos y el análisis de las constantes de acoplamiento nos permitió establecer la estructura de nuestro producto como $1\alpha,6\beta$ -diacetoxi- 9α -benzoiloxi-15-isobutiroiloxi- 8α -nicotinoiloxi- 4β -hidroxi-dihidro- β -agarofurano, estructura que fue confirmada mediante un experimento HMBC.



Al producto que hemos denominado **T-51** se le asignó la fórmula molecular $C_{37}H_{45}NO_{12}$, basándonos en sus datos de espectrometría de masas de alta resolución, RMN 1H y ^{13}C ; en su espectro de IR se observaron bandas de absorción para grupo hidroxilo (3505 cm^{-1}) y grupos éster (1725 y 1710 cm^{-1}). Su espectro de masas presenta pérdidas de fragmentos atribuibles a grupo acetato (60 m/z), grupo benzoato (122 m/z), grupo 2-metilbutirato (102 m/z) y grupo nicotinato (123 m/z); todos estos datos fueron confirmados mediante RMN 1H y ^{13}C (Tablas 1 y 2).

Dado que el compuesto permanece inalterado cuando es tratado con anhídrido acético en piridina y que la señal que aparece a 2.67 δ en su espectro de RMN ^1H se intercambia con agua deuterada, se confirma la existencia de un alcohol terciario.



Un estudio de doble resonancia ^1H - ^1H (COSY), ^1H - ^{13}C (HMQC) unido a experimentos ROESY (Figura 5) nos permitió situar los acetatos sobre C-1 y C-6, benzoato sobre C-9, nicotinato en C-8, el grupo 2-metilbutirato sobre C-15 y el grupo hidroxilo en C-4.

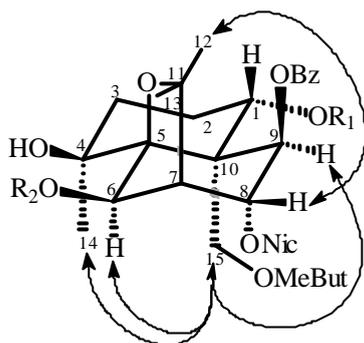
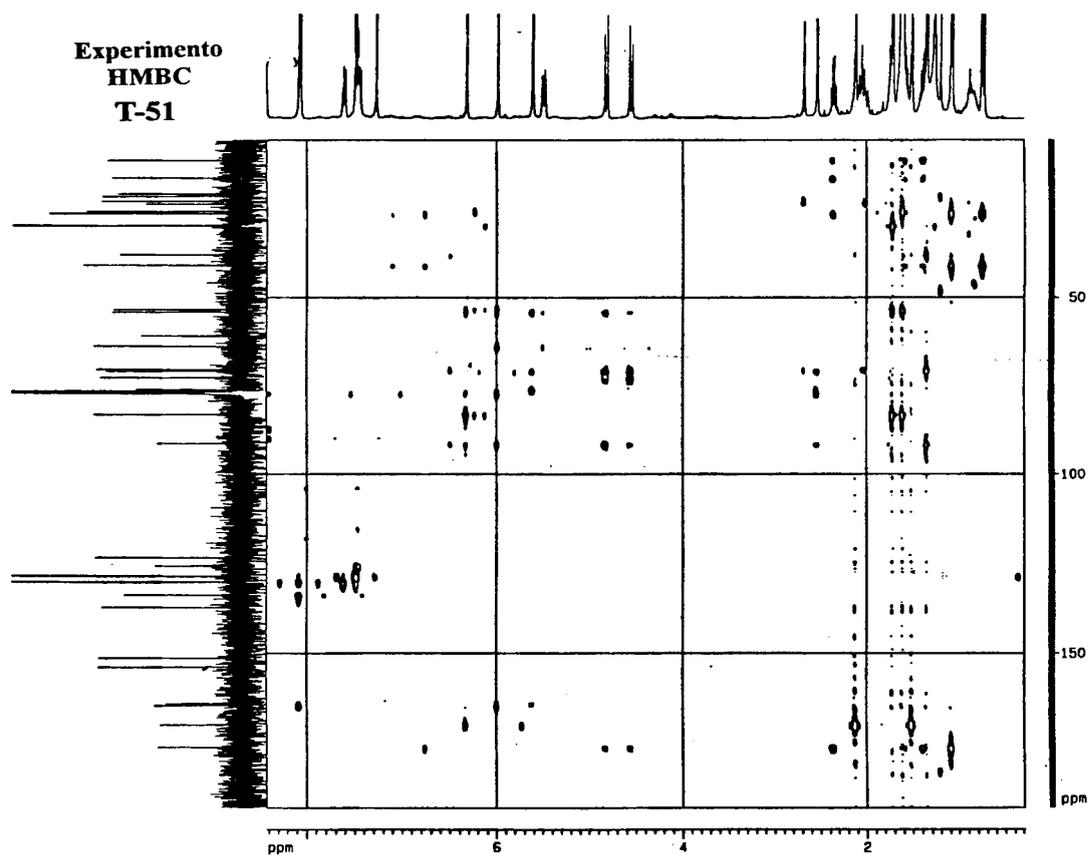


Figura 5. Experimento ROESY de T

Las características de regiosustitución de nuestro producto fueron determinadas mediante un experimento HMBC, quedando establecida la estructura de nuestro compuesto **T-51** como 1 α ,6 β -diacetoxi-9 β -benzoiloxi-15-(2)-metilbutiroiloxi-8 α -nicotinoiloxi-4 β -hidroxi -dihidro- β -agarofurano, el cual presentó un nuevo esqueleto polihidroxfílico base al que hemos denominado 9-epi-isoalatoI.



Capítulo 2

TÉCNICAS EXPERIMENTALES

Resonancia Magnética Nuclear (RMN)

Para la realización de los experimentos de RMN, los productos fueron disueltos en CDCl_3 ó C_6D_6 , según se indica en cada caso. Se utilizó como referencia interna TMS. Los espectros tanto de ^1H , como de ^{13}C , fueron realizados en espectrómetros BRUKER WP.200 (200 MHz), BRUKER AVANCE 300, AMX 400 ó AVANCE 400 MHz y AMX 500. Según las necesidades, se utilizaron programas de COSY¹, DEPT², HMQC³, HMBC⁴ y ROESY⁵, suministrados por la casa BRUKER.

Espectroscopía Ultravioleta

Los espectros UV se efectuaron en espectrofotómetros PERKIN ELMER 550 SE y JASCO V-560, con una celda de cuarzo de 5 mm. Como disolventes se emplearon EtOH y MeOH.

Espectroscopía Infrarroja

Los espectros de IR fueron realizados usando el producto puro en disolución de cloroformo en film sobre pastillas de NaCl 0.2 mm de espesor. Se usaron los espectrofotómetros PERKIN ELMER, modelo 1.600 (FTIR) y BRUKER IFS 55 (FTIR).

Espectrometría de Masas de baja resolución

Los espectros de baja resolución se realizaron en un espectrómetro HEWLETT-PACKARD, modelo 5995 y VG MICROMASS ZAB-2F.

¹ (a) Aue W.P., Bartholdi E., Ernst R.R. *J. Chem. Phys.* **1976**, 64, 2229. (b) Nagayama K. y col. *J. Magn. Reson.* **1980**, 40,321.

² Pegg D.T., Doddrell D.M., Bendall M.R. *J. Chem. Phys.* **1982**, 77, 2745.

³ Muller L. *J. Am. Chem. Soc.* **1979**, 101, 4481.

⁴ (a) Noggle J.H., Schimer R.E. *The Nuclear Overhauser Effect. Chemical Applications*. Academic Press. New York. **1971**, (b) Jeener J., Meier B.H., Bachman P., Ernst R.R. *J. Chem. Phys.* **1979**, 71, 4546.

⁵ Bax A., Davis D.G. *J. Magn. Reson.* **1985**, 63, 207

Espectrometría de Masas de alta resolución

La determinación de fórmulas moleculares de fragmentos y de iones moleculares fueron realizados en un espectrómetro VGMICROMASS ZAB-2F (a potenciales de ionización de 15 ó 70 CV), y FISIONS INSTRUMENTS modelo VG Autospec.

Rotación óptica

La determinación de la actividad óptica se realizó en un polarímetro PERKIN ELMER, modelo 241, usando la línea D del sodio, a 25°C y en disolución de CHCl_3 seco en células de 1 dm. La concentración está expresada en g/100 ml de solución.

Cromatografía en capa fina

Las cromatografías en capa fina fueron realizadas sobre cromatofolios de gel de sílice tipo G, con indicador de luminiscencia a 254 nm, SCHLEICHER & SCHUELL, F-1500/LS 254. Las placas se revelaron con oleum (solución formada por 4% de H_2SO_4 , 80% de CH_3COOH y 16% de H_2O y posterior calentamiento a 120°C durante unos minutos.

Cromatografía en columna

Para las columnas secas y húmedas se empleó gel de sílice 0.063-0.200 mm de diámetro de la casa MERCK.

Las columnas cromatográficas secas fueron montadas de la siguiente manera: se aplicó vacío por el extremo inferior de la columna mientras por el extremo superior se introducía lentamente gel de sílice. Las columnas cromatográficas húmedas se montaron vertiendo la gel suspendida en el disolvente y sometiendo la columna a presión. También para columnas húmedas se usó SEPHADEX LH-20 de la casa PHARMACIA FINE CHEMICALS. Las columnas se montaron de la siguiente forma: durante al menos una noche se dejó la cantidad de SEPHADEX deseada en suspensión con metanol (1 g para 4.1 ml) y se vertió en la columna dejándola reposar. La columna se estabilizó haciendo pasar a través de ella una cantidad de mezcla eluyente de tres veces el volumen muerto de la columna. Las mezclas empleadas como eluyente fueron: *n*-hexano: CHCl_3 :MeOH (50:25:25). La mezcla a cromatografiar se colocó en la parte superior de la columna disuelta en una cantidad de eluyente no superior al 5 % del volumen muerto de la columna.

Cromatografía en capa fina preparativa

Se usaron placas de 1 mm de espesor de la casa SCHLEICHER &SCHUELL, tipo G 1510/LS 254, sembrándose entre 40 y 50 mg de producto en cada una de ellas, y placas de 0.2 mm de espesor de la casa PANREAC del tipo HPTLC 60-200, sembrándose 15 mg en cada una de ellas. La detección de los productos en las placas se hizo con luz ultravioleta o pulverizando uno de los bordes de las mismas con solución de oleum, protegiendo el resto de la placa por medio de una lámina auxiliar de vidrio.

Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC)

Para HPLC se usó una bomba HPLC PUMP LKB, modelo 2248, con un detector 2MD RAPID SPECTRAL LKB, o una bomba WATERS modelo 515 con un detector WATERS modelo 2487, y una columna semipreparativa μ -PorosilTM sílica 125 Å 10 μ m, de 15 cm de longitud y 19 mm de diámetro interno de WATERS, siendo el sistema isocrático de disolventes utilizados n-hexano/acetato de etilo, y a diferentes flujos, según las necesidades.

Obtención de derivados acetilados

El producto se disuelve en piridina (0.5 ml) y a continuación se añadió anhídrido acético (0.5 ml); la reacción se realiza a temperatura ambiente durante un período de 12 a 24 horas, tras las cuales se para la reacción añadiendo etanol (3 x 2 ml) para eliminar el exceso de anhídrido acético y benceno (3 x 2 ml) para eliminar el exceso de piridina. El crudo de reacción se cromatografía usando como eluyente distintas mezclas de disolventes, que se indicarán en cada caso. Cuando las cantidades son mayores, se vierte la mezcla de reacción sobre solución saturada de bicarbonato de sodio, se extrae con éter etílico o acetato de etilo y se elimina la piridina por lavado del extracto con solución saturada de sulfato de cobre.

Obtención de derivados benzoilados

El producto disuelto en piridina fue tratado con cloruro de benzoilo en atmósfera de argón, a 60°C durante 24 horas, usando como sensibilizador DMAP, la reacción fue seguida por cromatografía de capa fina y parada con metanol; tras extracción con acetato de etilo y concentración del crudo de reacción, éste era cromatografiado sobre sílica gel, usando como eluyente diferentes mezclas de disolventes que se indicarán en cada caso.

Obtención de derivados metilados

El producto se disuelve en éter etílico (1 ml) y se añadió 1.5 ml de solución etérea de diazometano, manteniéndose la reacción durante 24 horas. Después de eliminar el disolvente y el diazometano al vacío, la mezcla de reacción se cromatografía sobre gel de sílice, usando como eluyente diferentes mezclas que se indicarán en cada caso.

Obtención de derivados con el ácido nicotínico

A una disolución del producto en CH_2Cl_2 , seco bajo atmósfera de argón a 0°C , se añadieron secuencialmente 3 equivalentes de trietilamina (TEA), 1.5 equivalentes de NicCl y una cantidad catalítica de 4-dimetilaminopiridina (DMAP). Una vez comprobada la finalización de la reacción por CCF, ésta se trató con una dilución acuosa de HCl al 5 %. Las dos fases se decantaron y la acuosa se extrajo con CH_2Cl_2 (3x5 ml). El combinado orgánico se secó sobre MgSO_4 , se filtró, concentró y purificó por capa preparativa

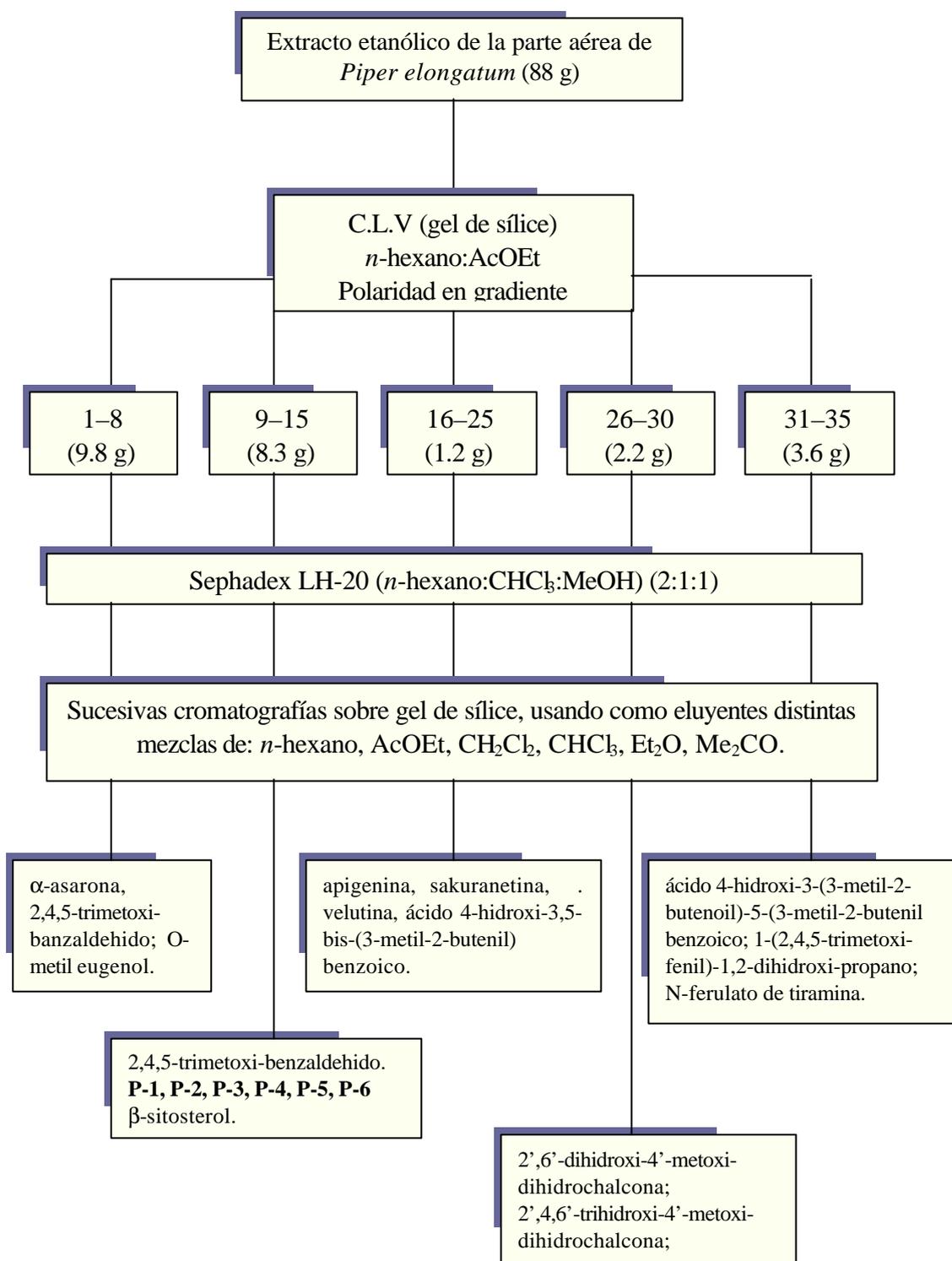
ABREVIATURAS

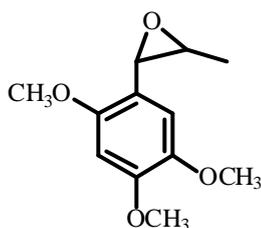
Ac_2O	Anhídrido acético
AcOEt	Acetato de etilo
BzCl	Cloruro de benzoilo
$\text{C}_4\text{H}_8\text{O}_2$	Dioxano
C_6D_6	Benceno deuterado
C_6H_6	Benceno
CH_2Cl_2	Diclorometano
CHCl_3	Cloroformo
DMAP	4-Dimetilaminopiridina
DNM	Daunomicina
Et_2O	Éter etílico
EtOH	Etanol
MDR	Multiresistencia a drogas
Me_2CO	Acetona
MeOH	Metanol
NBD	Dominio de unión de nucleótidos
NBD2	Dominio C-terminal de unión de nucleótidos
NicCl	Cloruro de nicotinoilo
OAc	Acetato
OBz	Benzoato

OCin	Cinamato
OFu	Furoato
OIsoBut	Isobutirato
OMeBut	Metilbutirato
ONic	Nicotinato
Pgp	Glicoproteína P
Py	Piridina

PREPARACIÓN Y SEPARACIÓN CROMATOGRÁFICA DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *Piper elongatum*

460 g de la parte aérea de *Piper elongatum*, finamente dividida fue extraída con etanol en un Soxhlet durante dos días, obteniéndose 88 g de extracto una vez evaporado el disolvente al vacío. El extracto fue fraccionado mediante cromatografía líquida al vacío sobre gel de sílice de capa fina, utilizando como eluyente una mezcla *n*-hexano-acetato de etilo de polaridad en gradiente, de esta manera se recogieron 35 fracciones. Estas fracciones se reunieron adecuadamente y fueron sometidas a sucesivas cromatografías en columnas de Sephadex LH-20, usando como eluyente una mezcla de *n*-hexano:CHCl₃:MeOH (2:1:1), y cromatografías en columna y/o cromatografía de capa fina preparativa, usando como eluyente diferentes mezclas de: AcOEt, *n*-hexano, CH₂Cl₂, Me₂CO, Et₂O, etc.



PRODUCTO P-1: 2-Metil-3-(2,4,5-trimetoxi-fenil)-oxirano.

Se aisló como una laca de color amarillo (3.1 mg).

$[\alpha]_D^{25}$: +2.14° (c 0.28, CHCl₃)

UV I_{max} nm: 291, 268, 231, 222, 204.

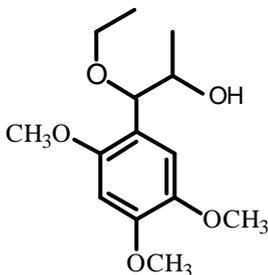
IR n_{ma} cm⁻¹: 2900, 1600, 1450, 1310, 1190, 1030, 850, 810.

RMN ¹H (d, CDCl₃): 0.87 (3H, d, J=6.6 Hz); 2.72 (1H, m); 3.52 (3H, s); 3.65 (3H, s); 3.79 (3H, s); 3.81 (1H, m); 6.31 (1H, s); 6.55 (1H, s).

RMN ¹³C (d, CDCl₃): 15.1 (c); 34.0 (d); 42.5 (d); 56.2 (c); 56.5 (c); 56.8 (c); 97.8 (d); 112.5 (d); 122.2 (s); 142.5 (s); 147.4 (s); 151.9 (s).

EM m/z (%): 224 ([M⁺], 2); 211 (8); 208 (42); 194 (16); 196 (40); 181 (15); 149 (47); 123 (7); 111 (10); 105 (6); 97 (16); 84 (100); 69 (24); 57 (34); 49 (14).

EM de alta Resolución : Calculado para C₁₂H₁₆O₄ 224.10486; observado 224.10509.

PRODUCTO P-2: 1-Etoxi-1-(2,4,5-trimetoxi-fenil) –propan-2-ol (Probable artefacto).

Se obtuvo como una laca aceitosa de color amarillo pálido (5.3 mg).

$[\alpha]_D^{25}$: +4.44° (c 0.04, CHCl₃)

UV I_{max} nm: 333, 291, 231, 207, 202.

IR n_{max} cm⁻¹: 3450, 2890, 1608, 1504, 1450, 1394, 1250, 1200, 1105, 865, 750

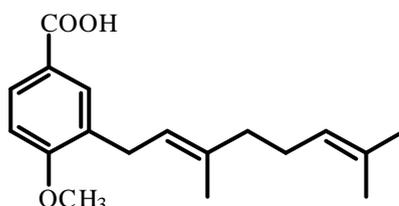
RMN ¹H (d, CDCl₃): 1.00 (3H, d, J=6.4 Hz); 1.17 (3H, t, J=7.0 Hz); 3.03 (1H, s ancho); 3.37 (2H, m); 3.79 (1H, m); 3.81 (3H, s); 3.84 (3H, s); 3.89 (3H, s); 4.51 (1H, d, J=7.9 Hz); 6.51 (1H, s); 6.86 (1H, s).

RMN ¹³C (d, CDCl₃): 15.3 (c); 17.6 (c); 56.1 (c); 56.4 (c); 56.5 (c); 64.1 (t); 71.5 (d); 79.4 (d); 97.3 (d); 110.7 (d); 119.0 (s); 134.4 (s); 148.9 (s); 152.3 (s).

EM m/z (%): 270 ([M⁺], 3); 236 (2); 226 (14); 225 (100); 197 (20); 169 (7); 154 (6); 138 (8); 121 (5); 107 (7); 93 (8); 89 (15); 71 (18); 69 (11); 55 (13).

EM de alta Resolución : Calculado para C₁₄H₂₂O₅ 270.14672; observado 270.15024.

PRODUCTO P-3: Ácido 3-(3,7-dimetil-octa-2E,6-dienil)-4-metoxi-benzoico.



Se aisló como una laca de color amarillo pálido (11.4 mg).

UV I_{max} nm: 252, 229, 205, 204, 202.

IR n_{max} cm⁻¹: 3500, 2910, 2800, 1680, 1600, 1495, 1455, 1255, 1135, 1025, 770.

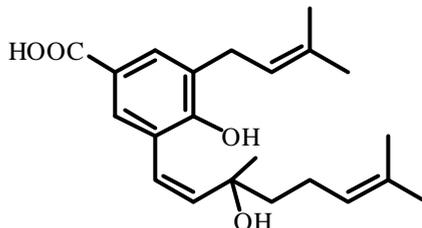
RMN ¹H (d, CDCl₃): 1.60 (3H, s); 1.67 (3H, s); 1.71 (3H, s); 2.06 (2H, m); 2.11 (2H, m); 3.35 (2H, d, J=7.0 Hz); 3.90 (3H, s); 5.12 (1H, t, J=6.6 Hz); 5.32 (1H, t, J=7.0 Hz); 6.88 (1H, d, J=8.6 Hz); 7.89 (1H, d, J=1.7 Hz); 7.97 (1H, dd, J=1.7, 8.6 Hz); 10.5 (1H, s).

RMN ¹³C (d, CDCl₃): 16.1 (c); 17.6 (c); 25.6 (c); 26.7 (t); 28.2 (t); 39.7 (t); 55.5 (c); 109.5 (d); 121.2 (s); 121.5 (d); 124.2 (d); 130.2 (s); 130.3 (d); 131.4 (s); 136.8 (s); 161.8 (s); 171.7 (s).

EM m/z (%): 288 ([M⁺], 17); 257 (14); 245 (6); 219 (12); 201 (12); 175 (54); 165 (38); 135 (11); 123 (100); 91 (15); 69 (71).

EM de alta Resolución : Calculado para C₁₈H₂₄O₃ 288.17255; observado 288.17178.

PRODUCTO P-4: Ácido 4-hidroxi-3-(3-hidroxi-3,7-dimetil-octa-1,6-dienil)-5-(3-metil-but-2-enil)-benzoico.



Se obtuvo como una laca de color amarillo (9.7 mg).

[α]_D²⁵: +39.0° (c 0.01, CHCl₃)

UV I_{max} nm: 240, 237, 202, 201.

IR n_{max} cm⁻¹: 3350, 2905, 2820, 1714, 1452, 1370, 1255, 1140, 855.

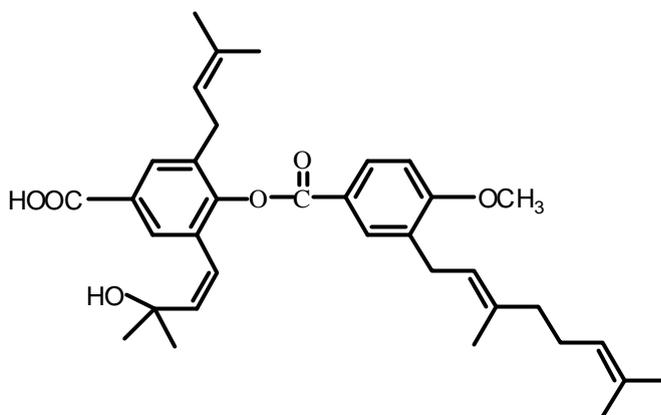
RMN ¹H (d, CDCl₃): 1.42 (3H, s); 1.57 (3H, s); 1.66 (3H, s); 1.74 (6H, s); 1.78 (2H, m); 2.12 (2H, m); 3.30 (2H, d, J=7.0 Hz); 5.10 (1H, t, J=7.2 Hz); 5.29 (1H, t, J=7.4 Hz); 5.60 (1H, d, J=10.0 Hz); 6.39 (1H, d, J=10.0 Hz); 7.59 (1H, d, J=1.9 Hz); 7.75 (1H, d, J=1.9 Hz).

RMN ¹³C (d, CDCl₃): 17.6 (c); 17.9 (c); 22.8 (t); 25.6 (c); 25.8 (c); 27.2 (c); 28.2 (t); 41.9 (t); 80.0 (s); 120.1 (s); 120.6 (s); 121.9 (d); 122.6 (d); 123.8 (d); 126.8 (d); 129.0 (s); 129.5 (d); 131.8 (s); 131.9 (d); 132.7 (s); 155.9 (s); 171.6 (s).

EM m/z (%): 340 ([M⁺-18], 1); 308 (20); 273 (14); 257 (11); 231 (13); 167 (10); 149 (23); 121 (100); 91 (39); 57 (19).

EM de alta Resolución : Calculado para C₂₀H₂₀O₄ 308.14125; observado 308.14693.

PRODUCTO P-5: 4-Metoxi-3-(3,7-dimetil-2E,6-octadienil)-benzoato del ácido 4-hidroxi-3-(3-metil-2-butenil)-5-(3-metil-3-hidroxi-2Z-butenil)-benzoico (Elongatina).



Se aisló como una laca de color amarillo pálido (5.5 mg).

UV I_{max} nm: 244, 225, 217, 203.

IR n_{max} cm⁻¹: 3388, 2925, 2854, 1683, 1604, 1503, 1439, 1411, 1378, 1260, 1124, 1026, 773.

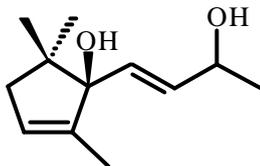
RMN ¹H (d, CDCl₃): 1.46 (3H, s); 1.60 (3H, s); 1.63 (3H, s); 1.68 (3H, s); 1.70 (3H, s); 1.73 (6H, s); 2.06 (2H, m); 2.11 (2H, m); 3.30 (2H, d, J=9.2 Hz); 3.35 (2H, d, J=7.3 Hz); 3.92 (3H, s); 5.12 (1H, t, J=6.8 Hz); 5.28 (1H, t, J=7.5 Hz); 5.33 (1H, t, J=7.5 Hz); 5.66 (1H, d, J=9.8 Hz); 6.36 (1H, d, J=9.8 Hz); 6.89 (1H, d, J=8.5 Hz); 7.61 (1H, d, J=1.8 Hz); 7.52 (1H, s); 7.89 (1H, d, J=1.8 Hz); 7.97 (1H, d, J=8.5 Hz).

RMN ¹³C (d, CDCl₃): 16.0 (c); 17.6 (c); 17.8 (c); 25.6 (c); 25.7 (c); 26.6 (t); 28.1 (2xt); 28.3 (2xc); 39.7 (t); 55.5 (c); 77.2 (s); 109.5 (d); 120.3 (s); 120.8 (s); 121.1 (s); 121.4 (d); 121.8 (d); 121.9 (d, s); 124.2 (d); 126.6 (d); 129.3 (s); 130.1 (d); 130.2 (s); 130.6 (d); 131.3 (d); 131.7 (d); 132.5 (s); 136.7 (s); 155.5 (s); 161.7 (s); 171.3 (2s).

EM m/z (%): 273 (22); 272 (18); 258 ([M⁺ - 45], 19); 257 (100); 231 (13); 202 (21); 165 (21); 148 (25); 123 (10); 109 (12); 97 (19); 83 (20); 57 (36).

EM de alta Resolución :

Calculado para C₁₆H₁₈O₃ 258.12560; observado 258.12714.
Calculado para C₁₆H₁₇O₃ 257.11777; observado 257.12099.

PRODUCTO P-6: 1-(3-hidroxi-2Z-en-butil)-2,5,5-trimetil-2-ciclopentenol.

Se obtuvo como un sólido amorfo incoloro (10.3 mg).

[α]_D²⁵: +132.9° (c 0.34, CHCl₃).

UV I_{max} nm: 237, 236, 202.

IR n_{max} cm⁻¹: 3411, 2958, 2925, 2855, 1652, 1455, 1373, 1260, 1123, 1061, 979, 758.

RMN ¹H (d, CDCl₃): 1.01 (3H, s); 1.07 (3H, s); 1.29 (3H, d, J=6.4 Hz); 1.89 (3H, s); 2.24, 2.44 (2H, d_{AB}, J=17.0 Hz); 4.40 (1H, m); 5.78 (1H, d, J=15.7 Hz); 5.85 (1H, dd, J=5.1; 15.7Hz); 5.90 (1H, m).

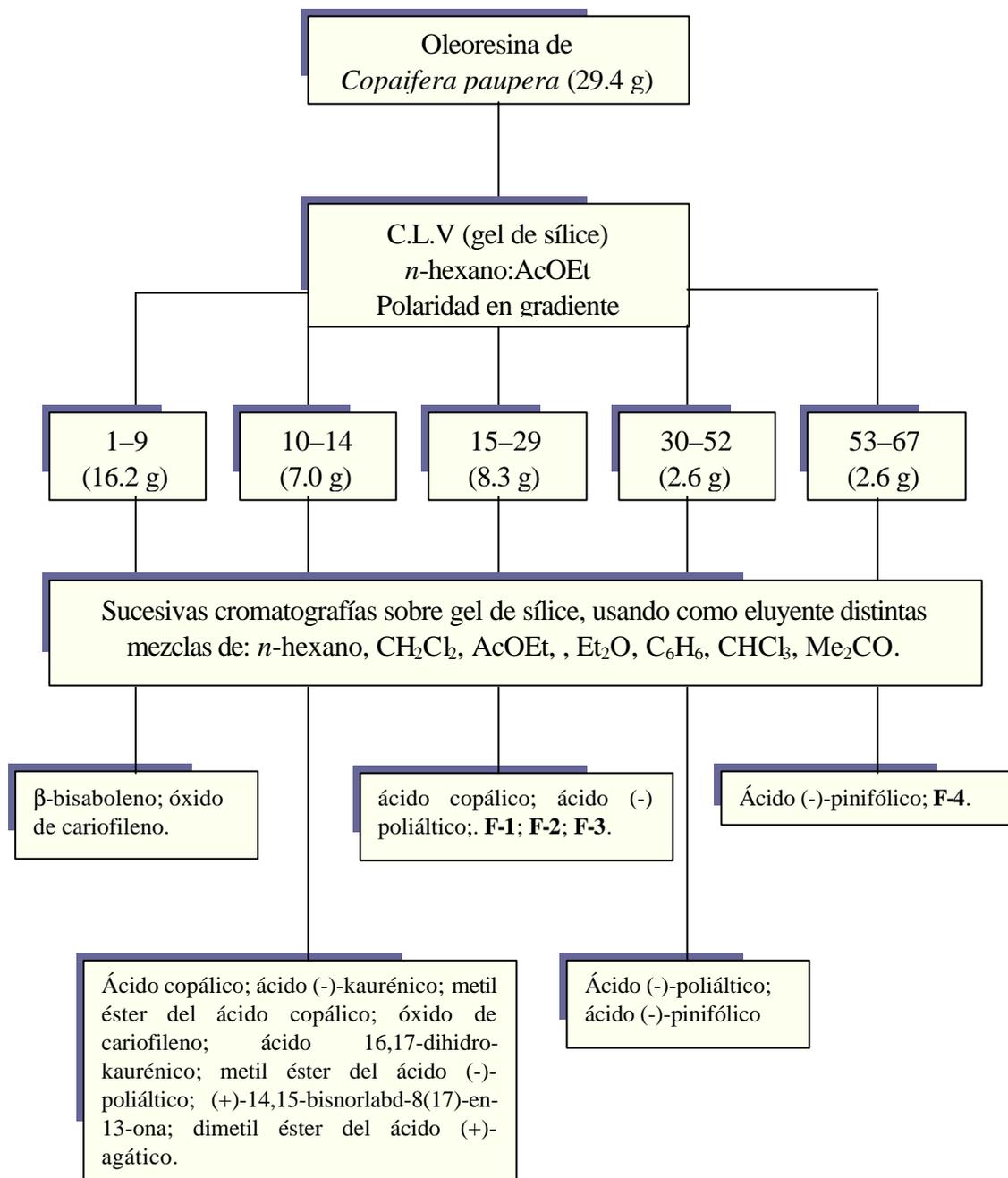
RMN ¹³C (d, CDCl₃): 18.9 (c); 22.8 (c); 23.7 (c); 24.0 (c); 41.1 (s); 41.7 (t); 68.0 (d); 79.0 (s); 126.9 (d); 129.0 (d); 135.7 (d); 162.7 (s).

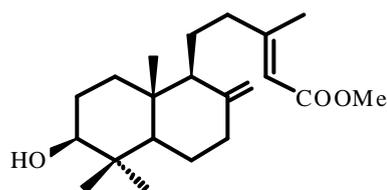
EM m/z (%): 196 ([M⁺], 1); 181 (1); 168 (6); 150 (7); 135 (7); 124 (100); 111 (8); 79 (10); 55 (6).

EM de alta Resolución : Calculado para C₁₂H₂₀O₂ 196.14633; observado 196.14563.

SEPARACIÓN CROMATOGRÁFICA DE LA RESINA DE *Copaifera paupera*

29.4 g. de resina fue fraccionada mediante cromatografía líquida al vacío sobre gel de sílice de capa fina utilizando como eluyente una mezcla de *n*-hexano:acetato de etilo en orden creciente de polaridad, de esta manera se recogieron 67 fracciones. Estas fracciones se reunieron adecuadamente y fueron sometidas a sucesivas cromatografías en columnas de Sephadex LH-20, usando como eluyente una mezcla de *n*-hexano:CHCl₃:MeOH (2;1;1), y cromatografías en columna y/o cromatografía de capa fina preparativa, usando como eluyente diferentes mezclas: AcOEt, *n*-hexano, CH₂Cl₂, Me₂CO, Et₂O, etc.



PRODUCTO F-1: Metil éster del ácido 3-hidroxilabda-8(17)-13-dien-15-oico.

Se aisló como una laca incolora (8.3 mg).

$[\alpha]_D^{25}$: +24.8° (c 0.03, CHCl₃).

UV I_{max} nm: 220, 211, 201.

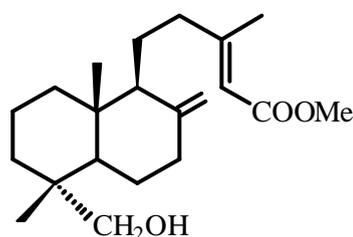
IR n_{max} cm⁻¹: 3450, 2925, 2810, 1715, 1700, 1640, 1455, 1430, 1220, 1145, 1025, 885, 755.

RMN ¹H (d, CDCl₃): 0.69 (3H, s); 0.77 (3H, s); 0.99 (3H, s); 2.16 (3H, s); 2.41 (2H, m); 3.25 (1H, dd, J=4.4, 11.6 Hz); 3.69 (3H, s); 4.51 (1H, s); 4.86 (1H, s); 5.64 (1H, s).

RMN ¹³C (d, CDCl₃): 14.5 (c); 15.4 (c); 18.9 (s); 21.6 (t); 24.0 (t); 27.2 (t); 28.3 (c); 29.7 (t); 37.0 (t); 38.1 (t); 39.7 (t); 50.8 (c); 54.6 (d); 55.8 (d, s); 78.8 (d); 106.8 (t); 115.0 (d); 147.6 (s); 160.9 (s); 167.3 (s).

EM m/z (%): 334 ([M⁺], 4); 319 (3); 301 (149; 285 (5); 273 (6); 260 (11); 241 (5); 227 (4); 203 (21); 187 (9); 175 (17); 159(13); 147 (16); 135 (100); 121 (31); 114 (72); 107 (46); 95 (30); 93 (38); 81 (45); 69 (32); 55 (44).

EM de alta Resolución : Calculado para C₂₁H₃₄O₃ 334.25080, observado 334.24927

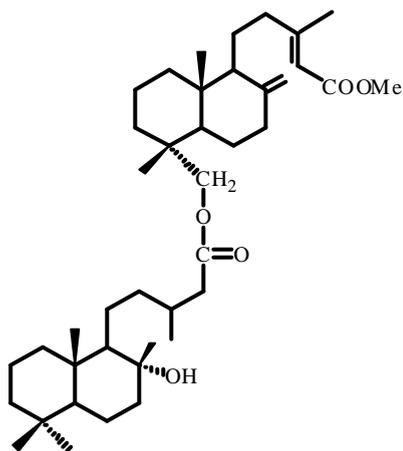
PRODUCTO F-2: Metil éster del ácido ent-labda-8(17),13-dien-18-ol-15 oico.

Se obtuvo como una laca incolora (12.4 mg).

$[\alpha]_D^{25}$: -21.5° (c 0.2, CHCl₃).

UV I_{max} nm: 220, 211, 202.

IR n_{\max} cm^{-1}:	3450, 2950, 1720, 1640, 1435, 1380, 1350, 1220, 1145, 1035, 885.
RMN ^1H (d, CDCl_3):	0.72 (3H, s); 0.75 (3H, s); 2.16 (3H, s); 3.10, 3.42 (2H, d_{AB} , $J=10.8$ Hz); 3.69 (3H, s); 4.50 (1H, s); 4.86 (1H, s); 5.65 (1H, s).
RMN ^{13}C (d, CDCl_3):	14.9 (c); 17.6 (c); 18.6 (t); 18.9 (c); 21.5 (t); 24.1 (t); 35.3 (t); 37.9 (s); 38.0 (t); 38.5 (t); 39.5 (s); 39.7 (t); 48.4 (d); 50.8 (c); 56.0 (d); 72.0 (t); 106.5 (t); 114.7 (d); 148.0 (s); 161.1 (s); 167.3 (s).
EM m/z (%):	334 ($[\text{M}^+]$, 3); 319 (15); 303 (34); 289 (17); 271 (10); 221 (11); 203 (16); 189 (20); 161 (19); 147 (24); 137 (21); 123 (51); 114 (100); 109 (66); 81 (80); 69 (40).
EM de alta Resolución :	Calculado para $\text{C}_{21}\text{H}_{34}\text{O}_3$ 334.25080; observado 334.25065.

PRODUCTO F-3: Pauperol.

Se aisló como un sólido amorfo incoloro (13.2 mg).

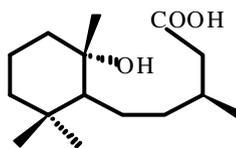
$[\alpha]_{\text{D}}^{25}$:	-7.4° (c 0.1, CHCl_3)
UV I_{\max} nm:	220, 211, 202.
IR n_{\max} cm^{-1}:	3500, 2900, 2850, 1750, 1680, 1450, 1430, 1370, 1215, 1140, 1080, 880, 750.
RMN ^1H (d, CDCl_3):	0.64 (3H, s); 0.74 (3H, s); 0.75 (3H, s); 0.85 (3H, s); 0.90 (3H, d, $J=6.7$ Hz); 1.10 (3H, s); 1.71 (2H, m); 1.89 (3H, m); 2.10 (3H, s); 2.23 (1H, m); 2.30 (2H, m); 3.56, 3.79 (2H, d_{AB} , $J=11.0$ Hz); 3.69 (3H, s); 4.43 (1H, s); 4.78 (1H, s); 5.58 (1H, s).

RMN ^{13}C (d, CDCl_3): 14.8 (c); 17.5 (c); 18.4 (t); 18.8 (c); 19.8 (c); 20.4 (t); 21.2 (c); 21.5 (t); 23.2 (t); 23.3 (c); 24.2 (t); 29.2 (t); 31.0 (d); 32.7 (c); 35.4 (s); 35.9 (t); 36.8 (s); 37.9 (t); 38.4 (t); 39.5 (s); 39.7 (t); 39.8 (t); 41.4 (t); 41.7 (t); 43.4 (t); 49.3 (d); 50.7 (c); 56.1 (d); 57.3 (d); 72.7 (t); 74.1 (s); 106.6 (t); 114.8 (d); 147.6 (s); 161.0 (s); 167.2 (s); 173.7 (s).

EM m/z (%): 596 ($[\text{M}^+ - 44]$, 18); 556 (11); 524 (5); 317 (83); 303 (6); 285 (40); 257 (26); 241 (12); 221 (5); 203 (29); 189 (15); 175 (12); 161 (16); 147 (42); 123 (11); 109 (64); 95 (65); 81 (60); 69 (100); 55 (66).

EM de alta Resolución : Calculado para $\text{C}_{39}\text{H}_{64}\text{O}_4$ 596.48046; observado 596.48215.

PRODUCTO F-4: Ácido-3-metil-5-(2,2,6-trimetil-6-hidroxi-1-ciclohexil)-pentanoico.



Se obtuvo como una laca de color amarillo pálido (10.0 mg).

$[\alpha]_D^{25}$: -2.0° (c 1.0, CHCl_3)

UV λ_{max} nm: 203, 202.

IR ν_{max} cm^{-1} : 3410, 2900, 1710, 1700, 1450, 1380, 1160, 1085, 905, 750.

RMN ^1H (d, CDCl_3): 0.84 (3H, s); 0.96 (3H, s); 1.03 (3H, d, $J=6.7$ Hz); 1.14 (1H, t, $J=4.5$ Hz); 1.21 (3H, s); 1.78 (1H, m); 2.02 (1H, m); 2.20 (1H, m); 2.42 (1H, m).

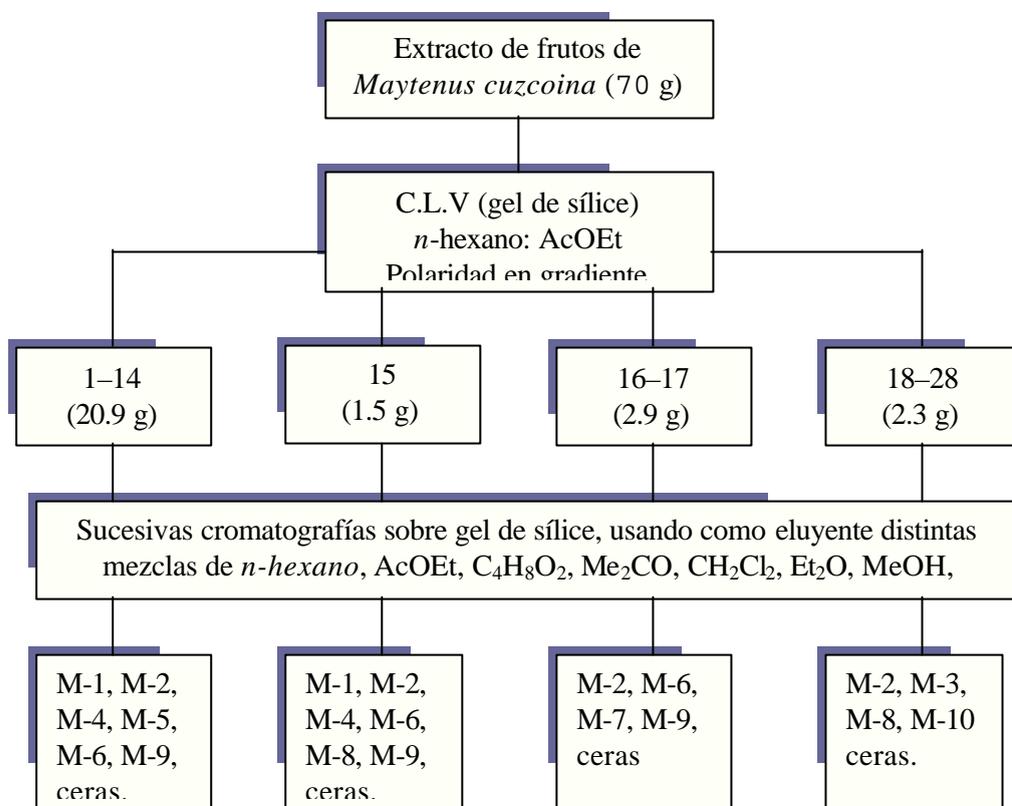
RMN ^{13}C (d, CDCl_3): 19.8 (c); 20.4 (t); 21.3 (c); 23.0 (t); 23.2 (c); 30.7 (d); 32.8 (c); 35.5 (s); 39.4 (t); 41.2 (t); 41.5 (t); 43.4 (t); 57.1 (d); 74.6 (s); 178.5 (s).

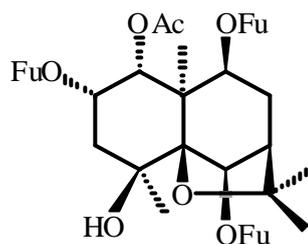
EM m/z (%): 238 ($[\text{M}^+ - 18]$, 21); 223 (72); 195 (8); 182 (38); 137 (7); 123 (100); 112 (24); 109 (72); 95 (65); 81 (67); 69 (72); 55 (44).

EM de alta Resolución : Calculado para $\text{C}_{15}\text{H}_{26}\text{O}_2$ 238.19328, observado 238.19281.

PREPARACIÓN Y SEPARACIÓN CROMATOGRÁFICA DEL EXTRACTO DE FRUTOS DE *Maytenus cuzcoina*

397 g de frutos de *M.cuzcoina* finamente dividido fue extraído con *n*-hexano:EE (1:1) en un Soxhlet durante dos días, obteniéndose 70 g de extracto una vez evaporado el disolvente al vacío. El extracto fue fraccionado mediante cromatografía líquida al vacío sobre gel de sílice de capa fina, utilizando como eluyente una mezcla *n*-hexano-acetato de etilo de polaridad en gradiente, de esta manera se recogieron 28 fracciones. Estas fracciones se reunieron adecuadamente y fueron sometidas a sucesivas cromatografías en columnas de Sephadex LH-20 usando como eluyente una mezcla de *n*-hexano:CHCl₃:MeOH (2:1:1), y cromatografías en columna y/o cromatografía de capa fina preparativa, usando como eluyente diferentes mezclas de: AcOEt, *n*-hexano, CH₂Cl₂, Me₂CO, Et₂O, etc.



PRODUCTO M-1: 1a -Acetoxi-2a,6b,9b -rtifuroiloxi-4b -hidroxi-dihidro-b -agarofurano.

Se obtuvo como una laca incolora (26.8 mg).

$[\alpha]_D^{25}$: +34.10° (c 1.0, CHCl₃)

UV I_{max} nm : 235, 221, 205, 204, 202, 201

IR n_{max} cm⁻¹: 3547, 3431, 3151, 3025, 2963, 2928, 2855, 1721, 1576, 1508, 1309, 1232, 1161, 1077, 1025

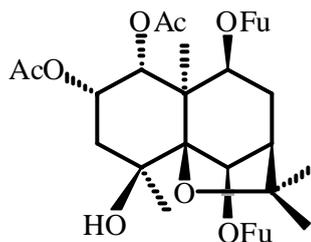
RMN ¹H (d, CDCl₃): 1.54 (3H, s); 1.56 (3H, s); 1.57 (3H, s); 1.59 (3H, s); 1.75 (3H, s); 2.17 (2H, m); 2.36 (1H, t, J=3.1 Hz); 2.57 (2H, m); 3.06 (1H, s ancho); 4.95 (1H, d, J=6.8 Hz); 5.49 (1H, d, J=3.6 Hz); 5.68 (1H, s); 5.71 (1H, m); 6.68 (1H, d, J=2.0Hz); 6.75 (1H, d, J=2.0 Hz); 6.84 (1H, d, J=2.0 Hz); 7.44 (3H, m); 7.95 (1H, s); 8.04 (1H, s); 8.18 (1H, s)

RMN ¹³C (d, CDCl₃): 20.4 (c); 21.5 (c); 25.2 (c); 25.6 (c); 29.5 (c); 31.1 (t); 48.9 (d); 51.0 (s); 68.8 (d); 69.9 (s); 70.0 (d); 72.0 (d); 79.2 (d); 84.7 (s); 91.6 (s); 109.5 (d); 109.7 (d); 109.8 (d); 118.6 (s); 119.2 (2xs); 143.7 (d); 143.8 (2xd); 147.5 (d); 148.5 (d); 149.0 (d); 161.8 (s); 161.9 (s); 162.2 (s); 169.7 (s)

EM m/z (%): 626 ([M⁺], 1); 611 (1); 514 (1); 499 (3); 402 (11); 290 (4); 233 (3); 230 (3); 205 (2); 192 (11); 187 (2); 173 (4); 105 (3); 96 (5); 95 (100); 69 (3); 57 (3); 57 (3)

EM de alta Resolución : Calculado para C₃₂H₃₄O₁₃ 626.19994; observado 626.20728

PRODUCTO M-2:1a,2a -Diacetoxi-6b,9b -difuroiloxi-4b -hidroxi-dihidro-b -agarofurano.



Se aisló como una laca incolora (620.1 mg).

$[\alpha]_D^{25}$: +20.10° (c 2.4, CHCl₃)

UV I_{max} nm: 235, 221, 202.

IR n_{max} cm⁻¹: 3550, 3136, 3029, 2957, 2930, 1747, 1712, 1577, 1507, 1366, 1309, 1243, 1160, 1074, 1027, 983, 874, 761.

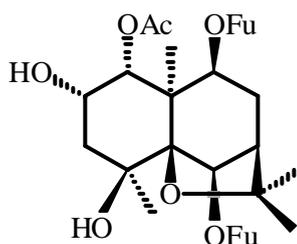
RMN ¹H (d, CDCl₃): 1.49 (3H, s); 1.50 (3H, s); 1.51 (3H, s); 1.52 (3H, s); 1.72 (3H, s); 2.02 (3H, s); 2.15 (2H, m); 2.30 (1H, m); 2.32 (1H, t, J=2.9 Hz); 2.50 (2H, m); 3.00 (1H, s ancho); 4.91 (1H, d, J=6.7 Hz); 5.39 (1H, d, J=3.5 Hz); 5.49 (1H, m); 5.63 (1H, s); 6.72 (1H, d, J=1.8 Hz); 6.82 (1H, d, J=1.8 Hz); 7.41 (1H, d, J=1.7 Hz); 7.43 (1H, d, J=1.7 Hz); 8.00 (1H, s); 8.16 (1H, s).

RMN ¹³C (d, CDCl₃): 20.4 (c); 21.1 (c); 21.4 (c); 25.1 (c); 25.7 (c); 29.7 (c); 31.2 (t); 42.3 (t); 48.9 (d); 51.1 (s); 68.6 (d); 70.0 (s, d); 72.1 (d); 79.3 (d); 84.6 (s); 91.2 (s); 109.7 (d); 109.8 (d); 118.7 (s); 119.3 (s); 143.8 (d); 144.0 (d); 148.6 (d); 149.1 (d); 161.9 (s); 162.2 (s); 169.7 (2 x s).

EM m/z (%): 574 ([M⁺], 1) 559 (1); 514 (1); 470 (2); 447 (5); 402 (13); 290 (5); 233 (5); 192 (14); 173 (6); 105 (17); 95 (100); 83 (3); 57 (2)

EM de alta Resolución: Calculado para C₂₉H₃₄O₁₂ 574.20503; observado 574.20554.

PRODUCTO M-3: 1a-Acetoxi-6b,9b-difuroiloxi-2a,4b-dihidroxi-dihidro-b-agarofurano.



Se obtuvo como una laca incolora (58.0 mg).

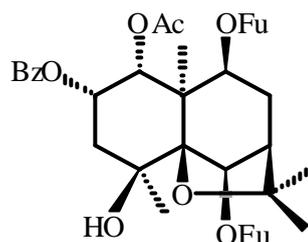
[α]_D²⁵:	+11.20° (c 0.5, CHCl ₃)
UV I_{max} nm :	236, 222, 202
IR n_{max} cm⁻¹:	3520, 3136, 2927, 2855, 1721, 1576, 1508, 1368, 1310, 1238, 1160, 1077, 1023, 983, 874, 762.
RMN ¹H (d, CDCl₃):	1.50 (3H, s); 1.53 (3H, s); 1.56 (3H, s); 1.58 (3H, s); 1.84 (3H, s); 2.18 (2H, m); 2.33 (1H, t, J=3.1 Hz); 2.98 (1H, s); 4.35 (1H, m); 4.94 (1H, d, J=6.8 Hz); 5.33 (1H, d, J=3.3 Hz); 5.63 (1H, s); 6.74 (1H, d, J=1.8 Hz); 6.83 (1H, d, J=1.8 Hz); 7.42 (1H, d, J=1.8 Hz); 7.43 (1H, d, J=1.8 Hz); 8.02 (1H, s); 8.18 (1H, s).
RMN ¹³C (d, CDCl₃):	20.7 (c); 21.8 (c); 25.4 (c); 25.6 (c); 29.6 (c); 31.1 (t); 44.2 (t); 48.8 (d); 51.1 (s); 67.8 (d); 70.1 (s); 72.4 (d); 72.7 (d); 79.3 (d); 84.3 (s); 91.5 (s); 109.6 (d); 109.7 (d); 118.7 (s); 119.2 (s); 143.7 (d); 143.9 (d); 148.5 (d); 149.1 (d); 161.9 (s); 162.2 (s); 169.9 (s).
EM m/z (%):	518 ([M ⁺ -14], 1); 472 (5); 453 (5); 446 (6); 416 (32); 361 (29); 329 (17); 316 (11); 312 (45); 287 (66); 255 (23); 252 (99); 142 (17); 125 (97); 95 (100); 69 (10); 59 (10); 55 (17).
EM de alta Resolución :	Calculado para C ₂₆ H ₃₀ O ₁₁ 518.17881; observado 518.17702.

Acetilación de M-3

5.0 mg de **M-3** se acetilaron de manera usual y tras purificación mediante placa preparativa usando como eluyente *n*-hexano:AcOEt (1:1), rindió 5 mg de un producto cuyos datos físicos y espectroscópicos coincidieron con el producto natural que habíamos denominado **M-2**.

Benzoilación de M-3

5.0 mg del producto **M-3** se benzoilaron, según se indica en Técnicas Generales, tras purificación mediante placa preparativa, usando *n*-hexano:AcOEt (1:1) como eluyente, obtuvimos 4,5 mg de un producto, cuyos datos físicos y espectroscópicos fueron idénticos al producto natural que hemos denominado **M-4**.

PRODUCTO M-4:1a -Acetoxi-2a -benzoiloxi-6b ,9b -difuroiloxi-4b -dihidro-b -agarofurano.

Fue obtenido como una laca de color amarillo pálido (393.3 mg).

[α]_D²⁵: +40.9° (c 0.8, CHCl₃)

UV I_{max} nm : 231, 217, 202.

IR n_{max} cm⁻¹: 3544, 3138, 3025, 2956, 2931, 1747, 1721, 1507, 1395, 1366, 1310, 1274, 1230, 1160, 1107, 1025, 874, 761, 712.

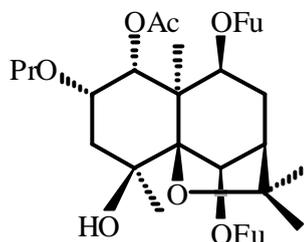
RMN ¹H (d, CDCl₃): 1.53 (3H, s); 1.56 (3H, s); 1.61 (3H, s); 1.64 (3H, s); 1.73 (3H, s); 2.24 (2H, m); 2.36 (1H, t, J=3.0 Hz); 2.58 (2H, m); 3.06 (1H, s); 4.95 (1H, d, J=6.8 Hz); 5.53 (1H, d, J=3.6 Hz); 5.71 (1H, s); 5.80 (1H, m); 6.74 (1H, d, J=2.0 Hz); 6.83 (1H, d, J=1.8 Hz); 7.43 (3H, m); 7.56 (2H, m); 7.94 (1H, d, J=2.0 Hz); 7.96 (1H, d, J=1.8 Hz); 8.10 (1H, s); 8.18 (1H, s).

RMN ¹³C (d, CDCl₃): 20.5 (c); 21.8 (c); 25.4 (c); 25.7 (c); 29.7 (c); 31.2 (t); 42.5 (t); 48.9 (d); 51.0 (s); 69.4 (d); 70.0 (s); 70.1 (d); 72.0 (d); 79.3 (d); 84.8 (s); 91.3 (s); 109.7 (2 x d); 118.7 (s); 119.2 (s); 128.6 (2 x d); 129.5 (d); 129.5 (2 x d); 129.9 (s); 132.2 (d); 143.8 (d); 144.0 (d); 148.6 (d); 149.1 (d); 161.9 (s); 162.3 (s); 165.7 (s); 169.8 (s).

EM m/z (%): 621 ([M⁺-15], 1); 514 (1); 509 (3); 402 (14); 290 (4); 247 (2); 230 (3); 215 (3); 192 (16); 105 (68); 95 (100); 77 (9); 57 (1).

EM de alta Resolución : Calculado para C₃₃H₃₃O₁₂ 621.19720; observado 621.19492.

PRODUCTO M-5: 1a-Acetoxi-6b,9b-difuroiloxi-2a-propioniloxi-4b-hidroxi-dihidro-b-agarofurano



Se obtuvo como una laca de color amarillo pálido (61.1 mg).

[α]_D²⁵: +17.40° (c 1.8, CHCl₃)

UV I_{max} nm : 235, 221, 202.

IR n_{max} cm⁻¹: 3550, 3136, 3032, 2970, 2931, 2877, 1721, 1777, 1508, 1309, 1232, 1160, 1077, 1025, 983, 874, 762.

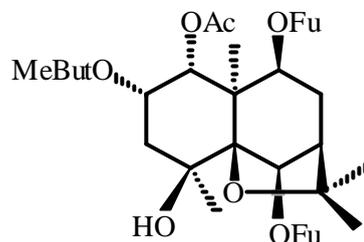
RMN ¹H (d, CDCl₃): 1.13 (3H, t, J=7.6 Hz); 1.51 (3H, s); 1.52 (3H, s); 1.53 (3H, s); 1.54 (3H, s); 1.74 (3H, s); 2.10 (2H, m); 2.35 (2H, m); 2.54 (2H, m); 3.02 (1H, s); 4.93 (1H, d, J=6.8 Hz); 5.42 (1H, d, J=3.6 Hz); 5.50 (1H, m); 5.65 (1H, s); 6.74 (1H, d, J=1.6 Hz); 6.84 (1H, d, J=1.8 Hz); 7.43 (1H, d, J=1.6 Hz); 7.45 (1H, d, J=1.8 Hz); 8.03 (1H, s); 8.18 (1H, s).

RMN ¹³C (d, CDCl₃): 9.02 (c); 20.4 (c); 21.4 (c); 25.0 (c); 25.6 (c); 27.8 (t); 29.6 (c); 31.1 (t); 42.3 (t); 48.8 (d); 51.0 (s); 68.3 (d); 69.9 (s); 70.0 (d); 72.0 (d); 79.2 (d); 84.6 (s); 91.2 (s); 109.6 (d); 109.7 (d); 118.6 (s); 119.2 (s); 143.7 (d); 143.9 (d); 148.5 (d); 149.0 (d); 161.8 (s); 162.2 (s); 169.6 (s); 173.1 (s).

EM m/z (%): 587 ([M⁺-1], 3); 514 (2); 475 (5); 402 (27); 290 (5); 233 (6); 192 (21); 173 (5); 149 (3); 105 (4); 95 (100); 71 (14).

EM de alta Resolución : Calculado para C₃₀H₃₅O₁₂ 587.21285; observado 587.21143.

PRODUCTO M-6: 1a-Acetoxi-6a,9b-difuroiloxi-2a-(2)-metilbutiroiloxi-4b-hidroxi-dihidro-b-agarofurano.



Se obtuvo como una laca de color amarillo pálido (123.4 mg).

$[\alpha]_D^{25}$: +18.30° (c 0.8, CHCl₃).

UV I_{max} nm : 238, 222, 202.

IR n_{max} cm⁻¹: 3548, 3136, 2966, 2931, 1720, 1366, 1308, 1233, 1160, 874, 762.

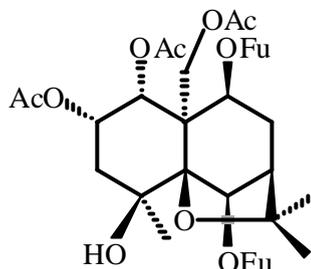
RMN ¹H (d, CDCl₃): 0.88 (3H, t, J=7.4 Hz); 1.12 (3H, d, J=7.0 Hz); 1.50 (3H, s); 1.51 (3H, s); 1.53 (3H, s); 1.54 (3H, s); 1.61 (2H, m); 1.73 (3H, s); 2.06 (2H, m); 2.34 (2H, m); 2.52 (2H, m); 3.00 (1H, s); 4.93 (1H, d, J=6.8 Hz); 5.43 (1H, d, J=3.6 Hz); 5.55 (1H, m); 5.65 (1H, s); 6.74 (1H, d, J=1.7 Hz); 6.83 (1H, d, J=1.7 Hz); 7.42 (1H, d, J=1.7 Hz); 7.44 (1H, d, J=1.7 Hz); 8.02 (1H, s); 8.17 (1H, s).

RMN ¹³C (d, CDCl₃): 11.5 (c); 16.7 (c); 20.4 (c); 21.7 (c); 25.1 (c); 25.7 (c); 26.5 (t); 29.7 (c); 31.3 (t); 41.5 (t); 42.6 (d); 48.9 (d); 51.1 (s); 68.2 (d); 69.9 (d, s); 72.0 (d); 79.3 (d); 84.7 (s); 91.2 (s); 109.7 (d); 109.8 (d); 118.7 (s); 119.3 (s); 143.8 (d); 144.0 (d); 148.6 (d); 149.1 (d); 161.9 (s); 162.3 (s); 169.6 (s); 175.6 (s).

EM m/z (%): 601 ([M⁺ -15], 1); 514 (1); 489 (5); 402 (14); 290 (7); 233 (6); 215 (4); 192 (17); 173 (6); 145 (4); 109 (4); 95 (100); 85 (13); 69 (11); 57 (38).

EM de alta Resolución : Calculado para C₃₁H₃₇O₁₂ 601.22850; observado 601.22971.

PRODUCTO M-7: 1a,2a,15-Triacetoxi-6b, 9b-difuroiloxi-4b-hidroxi-dihidro-b-agarofurano.



Se obtuvo como una laca incolora (54.4 mg).

$[\alpha]_D^{25}$: +23.90° (c 0.8, CHCl₃).

UV I_{max} nm: 234, 220, 203, 202, 201.

IR n_{max} cm⁻¹: 3549, 3145, 2930, 2930, 2856, 1749, 1722, 1576, 1508, 1367, 1309, 1241, 1158, 1076, 1026, 874, 762.

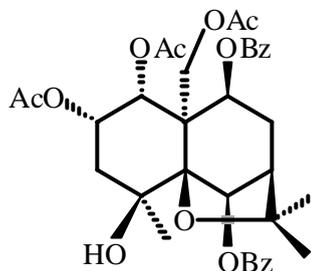
RMN ¹H (d, CDCl₃): 1.49 (3H, s); 1.54 (3H, s); 1.57 (3H, s); 1.72 (3H, s); 2.11 (3H, s); 2.14 (2H, m); 2.30 (3H, s); 2.34 (1H, t, J=3.3 Hz); 2.61 (1H, m); 2.93 (1H, s ancho); 4.40; 4.96 (2H, d_{AB}, J=12.9 Hz); 5.36 (1H, d, J=7.2 Hz); 5.50 (1H, m); 5.53 (1H, d, J=3.4 Hz); 6.18 (1H, s); 6.74 (1H, d, J=1.8 Hz); 6.81 (1H, d, J=1.7 Hz); 7.43 (1H, d, J=1.8 Hz); 7.44 (1H, d, J=1.7 Hz); 8.02 (1H, s); 8.14 (1H, s).

RMN ¹³C (d, CDCl₃): 20.3 (c); 21.0 (c); 21.2 (c); 24.7 (c); 25.5 (c); 29.3 (c); 34.5 (t); 42.2 (t); 48.9 (d); 54.6 (s); 65.3 (t); 68.0 (d); 68.2 (d); 69.7 (s); 70.2 (d); 77.9 (d); 84.5 (s); 90.9 (s); 109.7 (2xd); 128.5 (s); 129.0 (s); 143.8 (d); 143.9 (d); 148.7 (d); 148.9 (d); 161.4 (s); 162.3 (s); 169.3 (s); 169.6 (s); 171.4 (s).

EM m/z (%): 617 ([M⁺ -15], 1); 572 (1); 505 (2); 460 (11); 275 (9); 192 (12); 105 (38); 95 (100); 77 (5); 57 (7).

EM de alta Resolución: Calculado para C₃₀H₃₃O₁₄ 617.18703; observado 617.18915.

PRODUCTO M-8: 1a,2a,15-Triacetoxi-6b,9b-dibenzoiloxi-4b-hidroxi-dihidro-b-agarofurano.



Se obtuvo como una laca incolora (68.2 mg).

[α]_D²⁵: +40.20° (c 0.7, CHCl₃).

UV I_{max} nm : 274, 232, 202.

IR n_{max} cm⁻¹: 3552, 3066, 3029, 2928, 2855, 1750, 1716, 1366, 1275, 1258, 1152, 1096, 1071, 1026, 945, 893, 714.

RMN ¹H (d, CDCl₃): 1.53 (3H, s); 1.57 (3H, s); 1.59 (3H, s); 1.71 (3H, s); 2.10 (3H, s); 2.14 (2H, m); 2.38 (1H, t, J=3.1 Hz); 2.69 (1H, m); 3.09 (1H, s ancho); 4.46; 4.99 (2H, d_{AB}, J=13.0 Hz); 5.54 (1H, m); 5.50 (1H, d, J=7.2 Hz); 5.34 (1H, m); 5.63 (1H, d, J=3.4 Hz); 6.29 (1H, s); 7.46 (4H, m); 7.58 (2H, m); 8.05 (2H, m); 8.19 (2H, m).

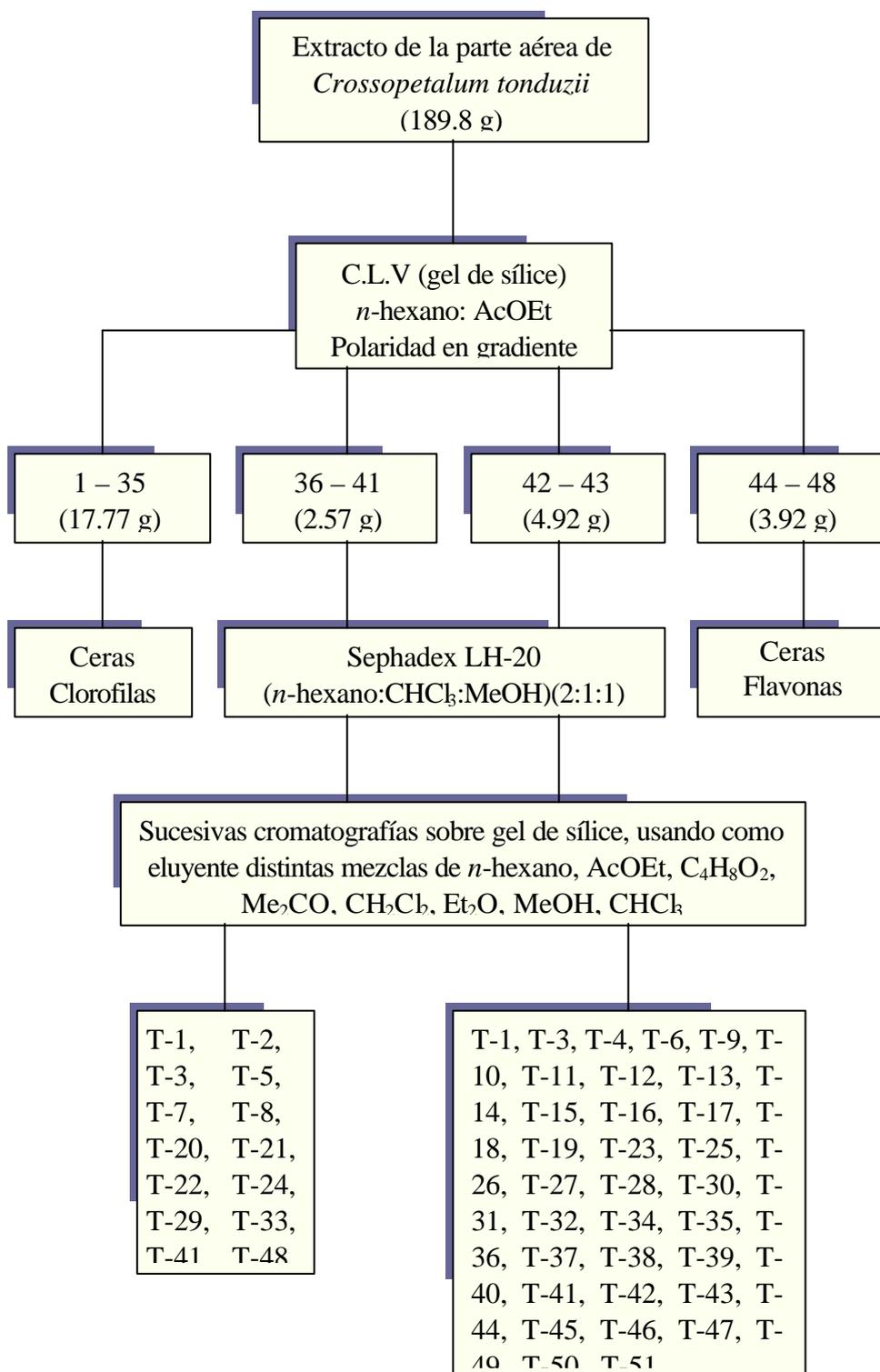
RMN ¹³C (d, CDCl₃): 20.2 (c); 21.0 (c); 21.2 (c); 24.7 (c); 25.7 (c); 29.4 (c); 34.6 (t); 42.2 (t); 49.0 (d); 54.9 (s); 65.4 (t); 68.0 (d); 68.8 (d); 69.8 (s); 70.4 (d); 78.6 (d); 84.6 (s); 91.0 (s); 128.3 (2xd); 128.6 (2 x d); 130.0 (4xd); 133.3 (s); 133.5 (s); 165.1 (s); 165.9 (s); 169.1 (s); 169.5 (s); 170.5 (s).

EM m/z (%): 637 ([M⁺ -15], 2), 592 (1); 515 (4); 470 (15); 275 (7); 202 (5); 122 (3); 105 (100); 83 (2); 77 (11); 57 (5).

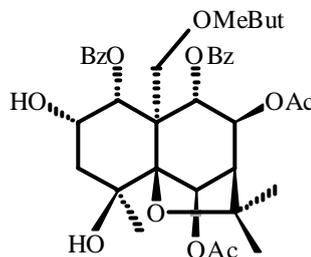
EM de alta Resolución : Calculado para C₃₄H₃₇O₁₂ 637.22850; observado 637.22868.

PREPARACIÓN Y SEPARACIÓN CROMATOGRÁFICA DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE LA PARTE AÉREA DE *Crossopetalum tonduzii*.

1.576 g. de hojas de *Crossopetalum tonduzii* finamente divididas, fueron extraídos con etanol en un Soxhlet durante tres días, obteniéndose 189.8 g de extracto, una vez evaporado el disolvente al vacío. El extracto fue fraccionado mediante cromatografía líquida al vacío sobre gel de sílice de capa fina, utilizándose como eluyente una mezcla de *n*-hexano:acetato de etilo, de polaridad en gradiente. Se recogieron así, 48 fracciones. Estas fracciones se reunieron adecuadamente y fueron sometidas a sucesivas cromatografías en columnas de Sephadex LH-20, usando como eluyente una mezcla de *n*-hexano:CHCl₃:MeOH (2:1:1), y cromatografías en columna y/o cromatografía de capa fina preparativa, usando como eluyentes diferentes mezclas de *n*-hexano, AcOEt, CH₂Cl₂, Me₂CO, C₄H₈O₂, C₆H₆ etc.



PRODUCTO T-1: (1R,2S,4S,5S,6R,7R,8S,9S,10S)-6,8-Diacetoxi-1,9-dibenzoiloxi-15-(2)-metilbutiroiloxi-2,4-dihidroxi-dihidro-b-agarofurano.



Se obtuvo como una laca incolora (11.0 mg).

[α]_D²⁵: +11.4° (c 0.36, CHCl₃).

UV I_{max} nm: 274, 263, 230, 213.

IR n_{max} cm⁻¹: 3450, 2900, 1810, 1729, 1715, 1595, 1442, 1360, 1268, 1225, 1100, 1025, 855, 750, 700.

RMN ¹H (d, CDCl₃): 1.19 (3H, t, J=7.4 Hz); 1.37 (3H, s); 1.48 (3H, s); 1.58 (3H, d, J=7.0 Hz); 1.70 (3H, s); 1.72 (3H, s); 1.81 (3H, s); 2.19 (2H, m); 2.40 (1H, d, J=3.2 Hz); 3.12 (1H, m); 4.0 (1H, m); 5.47, 5.57 (2H, d_{AB}, J=13.6 Hz); 6.07 (1H, d, J=3.1 Hz); 6.16 (1H, dd, J=3.2, 9.8 Hz); 6.55 (1H, d, J=9.8 Hz); 6.70 (2H, m); 6.92 (2H, s, m solapado); 6.99 (2H, m); 7.06 (1H, m); 7.83 (2H, m); 7.89 (2H, m).

RMN ¹³C (d, CDCl₃): 11.6 (c); 16.6 (c); 19.8 (c); 20.6 (c); 25.2 (c); 25.5 (c); 26.8 (t); 29.3 (c); 41.6 (d); 44.4 (t); 52.4 (d, s); 62.5 (t); 67.5 (d); 69.9 (s); 74.1 (d); 76.0 (2xd); 78.2 (d); 83.8 (s); 93.1 (s); 127.5 (d); 127.6 (d); 127.7 (2xd); 127.9 (2xd); 129.5 (d); 129.6 (d); 129.8 (s); 130.1 (s); 132.2 (d); 132.5 (d); 164.8 (s); 165.4 (s); 168.9 (s); 169.0 (s); 175.9 (s).

EM m/z (%): 710 ([M⁺], 2); 695 (25); 473 (20); 632 (100); 588 (83); 546 (23); 530 (15); 510 (22); 486 (15); 202 (11); 105 (100); 77 (11); 43 (19).

EM de alta Resolución : Calculado para C₃₈H₄₆O₁₃ 710.29384; observado 710.2910.

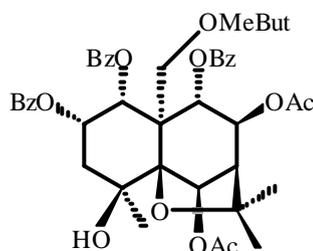
Obtención del derivado benzoilado de T-1

5.0 mg de **T-1** se trataron, según se indica en las técnicas experimentales y tras purificación, mediante placa preparativa, usando *n*-hexano/AcOEt (50:50) como eluyente, obtuvimos 3.2 mg del producto **1**.

Obtención del derivado acetilado de T-1

5.7 mg de **T-1** fueron tratados de la forma habitual con anhídrido acético en piridina durante 24h a temperatura ambiente, obteniéndose 4.0 mg del producto **2**.

PRODUCTO 1: (1R,2S,4S,5S,6R,7R,8S,9S,10S)-6,8-Diacetoxi-1,2,9-tribenzoiloxi-15-(2)-metilbutiroiloxi-4-hidroxi-dihidro-b-agarofurano.



Se obtuvo como una laca incolora (3.2 mg).

$[\alpha]_D^{25}$: +23.9° (c 0.4, CHCl₃).

DC I_{ext} (MeCN) nm: 233.4 ($\Delta\epsilon = + 19.1$); 224.1 ($\Delta\epsilon = 0$); 219.9 ($\Delta\epsilon = - 6.4$).

UV I_{max} nm: 273, 228, 211, 203.

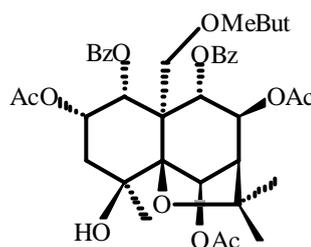
IR n_{max} cm⁻¹: 3556, 3421, 2925, 2840, 1731, 1452, 1376, 1281, 840, 709.

RMN ¹H (d, CDCl₃): 1.08 (3H, t, J=7.4 Hz); 1.41 (3H, d, J=6.9 Hz); 1.53 (3H, s); 1.60 (3H, s); 1.74 (3H, s); 1.83 (3H, s); 1.99 (2H, m); 2.15 (3H, s); 2.54 (1H, d, J=3.3 Hz); 2.86 (1H, m); 4.48 (1H, m); 4.84, 5.10 (2H, d_{AB}, J=13.2 Hz); 5.77 (1H, dd, J=3.3, 9.7 Hz); 5.79 (1H, d, J=3.2 Hz); 6.14 (1H, d, J=9.7 Hz); 6.53 (1H, s); 7.09 (4H, m); 7.32 (3H, m); 7.50 (4H, m); 8.06 (2H, m).

EM m/z (%): 814 ([M⁺], 1); 799 (1); 754 (1); 692 (1); 632 (2); 572 (1); 336 (2); 202 (8); 105 (100); 85 (6); 77 (14); 57 (13).

EM de alta Resolución : Calculado para C₄₁H₅₀O₁₇ 814.30480; observado 814.30486.

PRODUCTO 2: (1R,2S,4S,5S,6R,7R,8S,9S,10S)-2,6,8-Triacetoxi-1,9-dibenzoiloxi-15-(2)-metilbutiroiloxi-4-hidroxi-dihidro-b -agarofurano.



Se obtuvo como una laca incolora (4.0 mg).

[α]_D²⁵: +13.3° (c 0.5, CHCl₃).

UV I_{max} nm: 229, 213, 204

IR n_{max} cm⁻¹: 2959, 2928, 1734, 1451, 1236, 1108, 1039, 708.

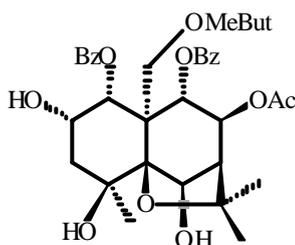
RMN ¹H (d, CDCl₃): 1.08 (3H, t, J=7.2 Hz); 1.40 (3H, d, J=6.9 Hz); 1.57 (3H, s); 1.60 (3H, s); 1.62 (3H, s); 1.74 (3H, s); 1.82 (3H, s); 2.15 (3H, s); 2.20 (2H, m); 2.56 (1H, d, J=3.2 Hz); 2.85 (1H, m); 4.84, 5.10 (2H, d_{AB}, J=13.2 Hz); 5.72 (1H, m); 5.82 (1H; dd, J=3.2, 9.7 Hz); 5.93 (1H, d, J=3.6 Hz); 6.20 (1H, d, J=9.7 Hz); 6.56 (1H, s); 6.93 (2H, m); 7.07 (1H, m); 7.21 (1H, m); 7.34 (1H, m); 7.36 (2H, m); 7.52 (2H, m).

EM m/z (%): 737 ([M⁺ -15], 1); 692 (1); 650 (1); 632 (4); 590 (1); 446 (1); 202 (17); 105 (100); 77 (11); 57 (20).

EM de alta Resolución :

Calculado para C₃₉H₄₅O₁₄ 737.28093; observado 737.27840.

PRODUCTO T-2: (1R,2S,4S,5S,6R,7R,8S,9S,10S)-8-Acetoxi-1,9-dibenzoiloxi-15-(2)-metilbutiroiloxi-2,4,6-trihidroxi-dihidro-b -agarofurano.



Se obtuvo como una laca incolora (30.2 mg).

$[\alpha]_D^{25}$: +5.2° (c 1.49, CHCl₃).

UV I_{max} nm: 274, 260, 229, 212.

IR n_{max} cm⁻¹: 3450, 2950, 2900, 1710, 1725, 1590, 1440, 750, 700.

RMN ¹H (d, CDCl₃): 1.04 (3H, t, J=7.4 Hz); 1.32 (3H, d, J=8.0 Hz); 1.58 (3H, s); 1.68 (3H, s); 1.73 (3H, s); 1.80 (3H, s); 1.89 (2H, m); 2.16 (2H, m); 2.59 (1H, d, J=3.2 Hz); 2.65 (1H, m); 3.12 (1H,s); 4.23 (1H, s); 4.92, 5.18 (2H, d_{AB}, J=13.4 Hz); 5.28 (1H, d, J=4.9 Hz); 5.36 (1H, d, J=4.9 Hz); 5.57 (1H, dd, J=3.2, 9.9 Hz); 5.74 (1H, d, J=3.0 Hz); 6.14 (1H, d, J=9.9 Hz); 7.12 (2H, m); 7.22 (2H, m); 7.38 (2H, m); 7.64 (2H, m).

RMN ¹³C (d, CDCl₃): 11.5 (c); 16.9 (c); 20.7 (c); 24.3 (c); 26.3 (c); 26.6 (t); 30.1 (c); 41.7 (d); 43.1 (t); 51.1 (s); 53.5 (d); 62.1 (t); 67.3 (d); 72.5 (s); 74.4 (d); 75.4 (d); 77.3 (d); 78.1 (d); 84.3 (s); 92.0 (s); 127.8 (2xd); 128.7 (2xd); 129.2 (2xs); 129.2 (2xd); 129.3 (2xd); 132.8 (d); 132.9 (d); 165.0 (s); 165.4 (s); 169.9 (s); 176 (s).

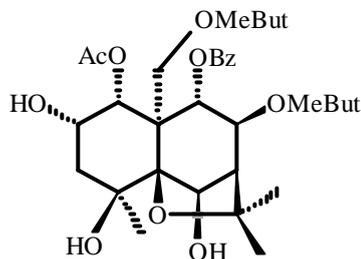
EM m/z (%): 669 ([M⁺ +1], 1); 653 (1); 608 (2); 546 (1); 528 (1); 468 (1); 202 (4); 105 (100); 85 (10); 43 (18).

EM de alta Resolución : Calculado para C₃₆H₄₅O₁₂ 669.29110; observado 669.29282

Obtención del derivado acetilado de T-2

5.5 mg de T-2 fueron tratados de la forma habitual con anhídrido acético en piridina durante 24h. a temperatura ambiente, obteniéndose 3.3 mg del producto 2.

PRODUCTO T-3: 1a-Acetoxi-9a-benzoiloxi-8b,15-di-(2)-metilbutiroiloxi-2a,4b,6b-tri-hidroxi-dihidro-b-agarofurano.



Se obtuvo como una laca incolora (80.5 mg).

$[\alpha]_D^{25}$: +14.1° (c 3.4, CHCl₃).

UV I_{max} nm: 280, 261, 231.

IR n_{max} cm⁻¹: 3450, 2925, 2875, 1742, 1735, 1710, 1596, 1450, 1094, 705.

RMN ¹H (d, CDCl₃): 0.58 (3H, t, J=7.4 Hz); 0.87 (3H, d, J=7.0 Hz); 0.95 (3H, t, J=7.4 Hz); 1.28 (3H, d, J=6.8 Hz); 1.47 (2H, m); 1.59 (3H, s); 1.62 (3H, s); 1.68 (3H, s); 1.74 (3H, s); 1.82 (2H, m); 2.03 (2H, m); 2.21 (1H, m); 2.59 (1H, d, J=3.2 Hz); 2.82 (1H, m); 3.09 (1H, s); 4.15 (1H, m); 5.03, 5.47 (2H, d_{AB}, J=13.4 Hz); 5.25 (1H, d, J=4.9 Hz); 5.31 (1H, d, J=4.9 Hz); 5.44 (1H, d, J=3.0 Hz); 5.54 (1H, dd, J=3.2, 10.0 Hz); 6.09 (1H, d, J=10.0 Hz); 7.40 (2H, m); 7.54 (1H, m); 7.89 (2H, m).

RMN ¹³C (d, CDCl₃): 11.1 (c); 11.7 (c); 16.1 (c); 17.0 (c); 20.9 (c); 24.3 (c); 26.3 (t, c); 26.6 (t); 30.1 (c); 41.2 (d); 41.7 (d); 43.0 (t); 50.8 (s); 53.5 (d); 62.0 (t); 67.0 (s); 72.4 (d); 74.1 (d); 75.3 (d); 76.9 (d); 78.0 (d); 84.2 (s); 92.0 (s); 128.6 (2xd); 129.5 (2xd, s); 133.4 (d); 165.8 (s); 169.7 (s); 175.2 (s); 176.2 (s).

EM m/z (%): 648 ([M⁺], 1); 633 (5); 546 (22); 528 (4); 364 (4); 322 (5); 262 (7); 202 (12); 106 (8); 105 (100); 85 (24); 43 (31).

EM de alta Resolución : Calculado para C₃₄H₄₈O₁₂ 648.31458; observado 648.31410.

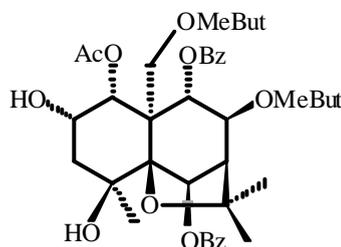
Obtención del derivado benzoilado de T-3

11.1 mg de **T-3** se trataron, según se indica en técnicas experimentales, tras purificación mediante placa preparativa, usando *n*-hexano/AcOEt (50:50) como eluyente, obtuvimos dos derivados: el monobenzoato, **3** (3.5.mg) y el dibenzoato, **4**. (4.6 mg).

Obtención del derivado acetilado de T-3

4.9 mg de **T-3** fueron tratados de la forma habitual con anhídrido acético en piridina durante 24h. a temperatura ambiente, obteniéndose 3.0 mg del producto **5**.

PRODUCTO 3: 1a-Acetoxi-6b,9a-dibenzoiloxi-8b,15-di-(2)-metilbutiroiloxi-2a,4b-dihidroxi-dihidro-b-agarofurano.



Se obtuvo como una laca incolora (3.5 mg).

$[\alpha]_D^{25}$: +31.7° (c 0.34, CHCl₃).

UV I_{max} nm: 273, 260, 230

IR n_{max} cm⁻¹: 3500, 2926, 2840, 1728, 1603, 1453, 1376, 1027, 712.

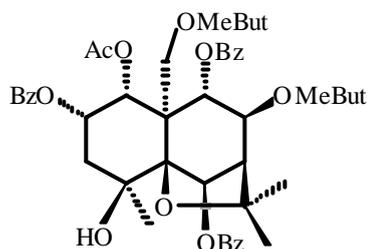
RMN ¹H (d, CDCl₃): 0.58 (3H, t, J=7.6 Hz); 0.95 (3H, d, J=7.0 Hz); 1.02 (3H, t, J=7.5 Hz); 1.40 (3H, d, J=7.0 Hz); 1.57 (3H, s); 1.59 (3H, s); 1.65 (3H, s); 1.74 (5H, s, m, solapados); 1.92 (2H, m); 2.10 (2H, m); 2.22 (1H, m); 2.72 (1H, d, J=3.2 Hz); 2.82 (1H, m); 4.17 (1H, m); 4.36, 5.08 (2H, d_{AB}, J=13.5 Hz); 5.49 (1H, d, J=2.8 Hz); 5.83 (1H, dd, J=3.2, 9.8 Hz); 6.15 (1H, d, J=9.8 Hz); 6.64 (1H, s); 7.42-7.63 (4H, m); 7.95 (2H, m); 8.1

(2H, m); 8.22 (2H, m).

EM m/z (%): 737 ($[M^+ -15]$, 1); 692 (1); 612 (1); 572 (6); 468 (1); 366 (1); 346 (1); 336 (3); 289 (2); 248 (2); 244 (4); 207 (4); 164 (5); 105 (100); 85 (12).

EM de alta Resolución : Calculado para $C_{40}H_{49}O_{13}$ 737.31732; observado 737.31705.

PRODUCTO 4: 1a-Acetoxi-2a,6b,9a-tribenzoiloxi-8b,15-di-(2)-metilbutiroiloxi-4b-hidroxi-dihidro-b-agarofurano.



Se obtuvo como una laca incolora (4.6 mg).

$[\alpha]_D^{25}$: +50.5° (c 0.4, $CHCl_3$).

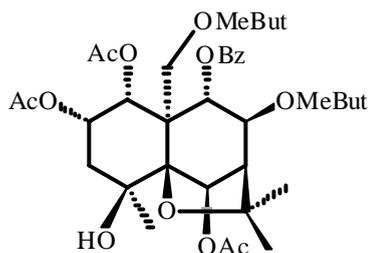
UV I_{max} nm: 279, 260, 231.

IR n_{max} cm^{-1} : 3560, 2926, 2840, 1727, 1602, 1453, 1376, 1105, 712.

RMN 1H (d, $CDCl_3$): 0.58 (3H, t, $J=7.2$ Hz); 0.97 (3H, d, $J=6.7$ Hz); 1.05 (3H, t, $J=7.3$ Hz); 1.43 (3H, d, $J=6.9$ Hz); 1.56 (3H, s); 1.61 (6H, 2 x s); 1.73 (2H, m); 1.78 (3H, s); 1.98 (2H, m); 2.22 (1H, m); 2.26 (1H, m); 2.74 (1H, d, $J=3.2$ Hz); 3.01 (1H, s); 4.69, 5.30 (2H, d_{AB} , $J=13.1$ Hz); 5.67 (1H, m); 5.68 (1H, d, $J=2.5$ Hz); 5.92 (1H, dd, $J=3.2, 9.8$ Hz); 6.20 (1H, d, $J=9.8$ Hz); 6.62 (1H, s); 7.38-7.60 (9H, m); 7.91 (2H, m); 8.12 (2H, m); 8.20 (2H, m).

EM m/z (%): 841 ($[M^+ -15]$, 5); 827 (3); 754 (14); 734 (14); 734 (11); 612 (25); 598 (18); 336 (35); 244 (9); 202 (11); 105 (100); 85 (12).

PRODUCTO 5: 1a,2a,6b-triacetoxi-9a-benzoiloxi-8b,15-di-(2)-metilbutiroiloxi-4b-hidroxi-dihidro-b-agarofurano.



Se obtuvo como una laca incolora (3.0 mg).

$[\alpha]_D^{25}$: +10.4° (c 0.24, CHCl₃).

UV I_{max} nm: 279, 261, 230.

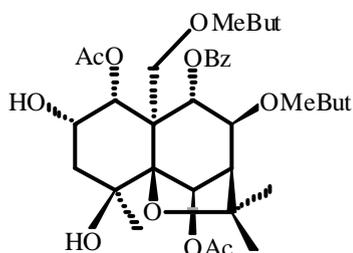
IR n_{max} cm⁻¹: 3563, 2925, 1746, 1602, 1454, 1229, 1094, 712

RMN ¹H (d, CDCl₃): 0.57 (3H, t, J=7.6 Hz); 0.95 (3H, d, J=6.5 Hz); 1.03 (3H, t, J=7.2 Hz); 1.37 (3H, d, J=6.9 Hz); 1.50 (3H, s); 1.54 (3H, s); 1.57 (3H, s); 1.72 (3H, s); 1.86 (2H, m); 1.93 (4H, m); 2.11 (3H, s); 2.14 (3H, s); 2.18 (1H, m); 2.50 (1H, d, J=3.3 Hz); 2.80 (1H, m); 4.65, 4.94 (2H, d_{AB}, J=13.5 Hz); 5.37 (1H, m); 5.49 (1H, d, J=3.1 Hz); 5.73 (1H, dd, J=3.3, 9.8 Hz); 6.09 (1H, d, J=9.8 Hz); 6.51 (1H, s); 7.40 (2H, m); 7.53 (1H, m); 7.90 (2H, m).

EM m/z (%): 717 ([M⁺ -15], 2); 672 (2); 630 (4); 612 (5); 588 (3); 471 (3); 336 (12); 318 (24); 237 (14); 213 (24); 202 (37); 186 (46); 105 (100); 85 (29).

EM de alta Resolución : Calculado para C₃₇H₄₉O₁₄ 717.31223; observado 717.31177.

PRODUCTO T-4: 1a,6b-Diacetoxi-9a-benzoiloxi-8b,15-di-(2)-metilbutiroidoxi-2a,4b-dihidroxi-dihidro-b-agarofurano.



Se obtuvo como una laca incolora (8.5 mg).

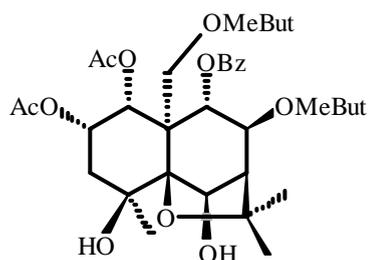
$[\alpha]_D^{25}$: +11.9° (c 0.41, CHCl₃).

UV I_{max} nm:	274, 260, 231.
IR n_{max} cm⁻¹:	3450, 2890, 1725, 1710, 1450, 1355, 1260, 1030, 705.
RMN ¹H (d, CDCl₃):	0.58 (3H, t, J=7.5 Hz); 0.94 (3H, d, J=6.9 Hz); 0.99 (3H, t, J=7.2 Hz); 1.35 (3H, d, J=6.9 Hz); 1.43 (2H, m); 1.56 (3H, s); 1.60 (3H, s); 1.63 (3H, s); 1.71 (3H, s); 1.83 (3H, s); 2.13 (3H, s); 2.17 (2H, m); 2.21 (1H, m); 2.52 (1H, d, J=3.3 Hz); 2.77 (1H, m); 4.13 (1H, m); 4.82, 5.04 (2H, d _{AB} , J=13.4 Hz); 5.45 (1H, d, J=2.9 Hz); 5.69 (1H, dd, J=3.3, 9.8 Hz); 6.10 (1H, d, J=9.8 Hz); 6.54 (1H, s); 7.40 (2H, m); 7.56 (1H, m); 7.93 (2H, m).
RMN ¹³C (d, CDCl₃):	11.1 (c); 11.6 (c); 16.1 (c); 16.5 (c); 20.9 (c); 21.4 (c); 25.1 (c); 25.8 (c); 26.2 (t); 26.6 (t); 29.8 (c); 41.1 (d); 41.4 (d); 43.7 (t); 51.6 (s); 52.2 (d); 62.0 (t); 67.3 (d); 69.8 (s); 73.8 (d); 75.5 (d); 75.8 (d); 78.2 (d); 84.0 (s); 92.6 (s); 128.6 (2xd); 129.5 (s); 129.6 (2xd); 133.4 (d); 165.8 (s); 169.4 (s); 169.6 (s); 175.1 (s); 176.4 (s).
EM m/z (%):	690 ([M ⁺], 1); 675 (6); 630 (10); 612 (11); 510 (14); 336 (12); 202 (25); 105 (100); 85 (23); 57 (46).
EM de alta Resolución :	Calculado para C ₃₆ H ₅₀ O ₁₃ 690.32514; observado 690.32251.

Obtención del derivado acetilado de T-4

2.0 mg de **T-4** fueron tratados de la forma habitual con anhídrido acético en piridina durante 24h a temperatura ambiente, obteniéndose 1.5 mg del producto **5**.

PRODUCTO T-5: 1a,2a-Diacetoxi-9a-benzoiloxi-8b,15-di-(2)-metilbutiroiloxi-4b,6b-dihidroxi-dihidro-b-agarofurano.



Se obtuvo como una laca incolora (11.5 mg).

[α]_D²⁵: +40.0° (c 0.15, CHCl₃).

UV I_{max} nm: 274, 260, 232.

IR n_{max} cm⁻¹: 3405, 2968, 2934, 1736, 1452, 1368, 1275, 1031, 710.

RMN ¹H (d, CDCl₃): 0.58 (3H, t, J=7.4 Hz); 0.94 (3H, d, J=7.0 Hz); 1.03 (3H, t, J=7.4 Hz); 1.33 (3H, d, J=7.0 Hz); 1.54 (3H, s); 1.61 (3H, s); 1.64 (2H, m); 1.66 (3H, s); 1.72 (3H, s); 1.88 (2H, m); 2.02 (2H, m); 2.11 (3H, s); 2.23 (1H, m); 2.61 (1H, d, J=3.2 Hz); 2.66 (1H, m); 3.10 (1H, s); 4.62, 4.94 (2H, d_{AB}, J=13.4 Hz); 5.20 (1H, d, J=5.1 Hz); 5.23 (1H, d, J=5.1 Hz); 5.39 (1H, m); 5.50 (1H, d, J=3.5 Hz); 5.59 (1H, dd, J=3.2, 10.0 Hz); 6.09 (1H, d, J=10.0 Hz); 7.40 (2H, m); 7.56 (1H, m); 7.88 (2H, m).

RMN ¹³C (d, CDCl₃): 11.1 (c); 11.6 (c); 16.1 (c); 16.8 (c); 20.4 (c); 21.1 (c); 24.0 (c); 26.2 (t, c); 26.6 (t); 30.0 (c); 41.1 (d); 41.2 (d); 41.5 (t); 50.5 (s); 53.5 (d); 61.6 (t); 67.3 (d); 72.1 (s); 73.7 (d); 75.0 (2xd); 76.8 (d); 84.5 (s); 91.5 (s); 128.5 (2xd); 129.4 (2xd, s); 133.3 (d); 165.6 (s); 169.4 (s); 169.5 (s); 175.2 (s); 176.1 (s).

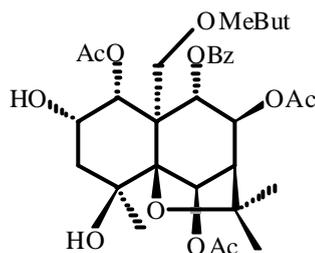
EM m/z (%): 675 ([M⁺ -15], 3); 612 (2); 588 (5); 528 (1); 471 (2); 451 (3); 202 (11); 105 (100); 85 (19); 57 (38).

EM de alta Resolución : Calculado para C₃₅H₄₇O₁₃ 675.30167; observado 675.31145.

Obtención del derivado acetilado de T-5

3.1 mg de T-5 fueron tratados de la forma habitual con anhídrido acético en piridina durante 24h a temperatura ambiente, obteniéndose 2.4 mg del producto 5.

PRODUCTO T-6: (1R,2S,4S,5S,6R,7R,8S,9S,10S)-1,6,8-Triacetoxi-9-benzoiloxi-15-(2)-metilbutiroiloxi-2,4-dihidroxi-dihidro-b -agarofurano.



Se obtuvo como una laca incolora (8.0 mg).

$[\alpha]_D^{25}$: +10.7° (c 0.3, CHCl₃)

UV I_{max} nm: 273, 262, 228, 214.

IR n_{max} cm⁻¹: 3410, 2924, 1730, 1278, 1221, 1091, 712.

RMN ¹H (d, CDCl₃): 1.01 (3H, t, J=7.4 Hz); 1.34 (3H, d, J=7.0 Hz); 1.54 (3H, s); 1.56 (3H, s); 1.62 (3H, s); 1.71 (3H, s); 1.88 (3H, s); 1.90 (2H, m); 2.03 (2H, m); 2.12 (1H, s); 2.51 (1H, d, J=3.1 Hz); 2.76 (1H, m); 2.77 (1H, m); 4.14 (1H, m); 4.79, 5.03 (2H, d_{AB}, J=13.4 Hz); 5.43 (1H, d, J=3.0 Hz); 5.71 (1H, dd, J=3.1, 9.8 Hz); 6.05 (1H, d, J=9.8 Hz); 6.50 (1H, s); 7.42 (2H, m); 7.56 (1H, m); 7.92 (2H, m).

RMN ¹³C (d, CDCl₃): 11.6 (c); 16.5 (c); 20.8 (c); 20.9 (c); 21.4 (c); 25.1 (c); 25.8 (t); 26.5 (c); 29.7 (c); 41.4 (d); 43.7 (t); 51.6 (s); 52.1 (d); 62.0 (t); 67.3 (d); 69.8 (s); 74.0 (d); 75.7 (d); 75.8 (d); 78.1 (d); 84.0 (s); 92.5 (s); 128.6 (2xd); 129.4 (s); 129.6 (2xd); 133.5 (d); 166.1 (s); 169.4 (2xs); 169.6 (s); 176.3 (s).

EM m/z (%): 648 ([M⁺], 1); 633 (2); 588 (3); 570 (4); 528 (2); 510 (3); 336 (9); 279 (3); 244 (4); 202 (17); 149 (27); 123 (8); 119 (6); 111 (13); 109 (11); 105 (100); 99 (22); 95 (16); 85 (18); 57 (82); 43 (19).

EM de alta Resolución : Calculado para C₃₃H₄₄O₃ 648.2782; observado 648.2795.

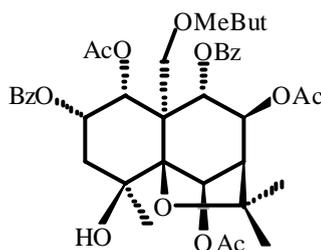
Obtención del derivado benzoylado de T-6

4.0 mg de T-6 se trataron, según se indica en las técnicas experimentales y tras purificación mediante placa preparativa, usando *n*-hexano/AcOEt (50:50) como eluyente, obtuvimos 3.0 mg del producto 6.

Obtención del derivado acetilado de T-6

2.0 mg de **T-6** fueron tratados de la forma habitual con anhídrido acético en piridina durante 24h a temperatura ambiente, obteniéndose 1.5 mg del producto **T-7**.

PRODUCTO 6: (1R,2S,4S,5S,6R,7R,8S,9S,10S)-1,6,8-Triacetoxi-2,9-dibenzoiloxi-15-(2)-metilbutiroiloxi-4-hidroxi-dihidro-b -agarofurano.



Se obtuvo como una laca incolora (3.0 mg).

$[\alpha]_D^{25}$: +33.3° (c 0.1, CHCl₃)

DC I_{ext} (MeCN) nm: 235.4 ($\Delta \epsilon = +14.3$); 220.2 ($\Delta \epsilon = -1.9$).

UV I_{max} nm: 274, 230, 213.

IR n_{max} cm⁻¹: 3411, 2923, 2853, 1728, 1459, 1263, 712.

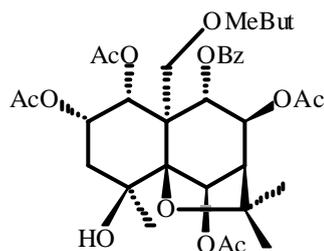
RMN ¹H (d, CDCl₃): 1.03 (3H, t, J=7.4 Hz); 1.37 (3H, d, J=7.0 Hz); 1.51 (3H, s); 1.56 (3H, s); 1.58 (3H, s); 1.65 (2H, m); 1.74 (3H, s); 1.88 (3H, s); 2.15 (3H, s); 2.54 (1H, d, J=3.1 Hz); 2.81 (1H, m); 4.65, 5.27 (2H, d_{AB}, J=13.2 Hz); 5.60 (1H, d, J=3.6 Hz); 5.66 (1H, m); 5.79 (1H, dd, J=3.1, 9.5 Hz); 6.10 (1H, d, J=9.5 Hz); 6.48 (1H, s); 7.38 (2H, m); 7.51 (4H, m); 7.89 (2H, m); 8.08 (2H, m).

EM m/z (%): 737 ([M⁺ -15], 1); 692 (1); 630 (1); 588 (1); 570 (9); 368 (3); 336 (10); 279 (2); 244 (4); 202 (22); 164 (3); 149 (35); 105 (100); 83 (22); 69 (45); 57 (64).

EM de alta
Resolución :

Calculado para C₃₉H₄₅O₁₄ 737.2809; observado 737.2810.

PRODUCTO T-7: (1R,2S,4S,5S,6R,7R,8S,9S,10S)-1,2,6,8-Tetraacetoxi-9-benzoiloxi-15-(2)-metilbutiroiloxi-4-hidroxi-dihidro-b -agarofurano



Se obtuvo como una laca incolora (12.3mg).

$[\alpha]_D^{25}$: +11.8° (c 0.4, CHCl₃)

UV I_{max} nm: 274, 261, 231, 213.

IR_{max} cm⁻¹: 3525, 2890, 1742, 1735, 1725, 1442, 1225, 1030, 750.

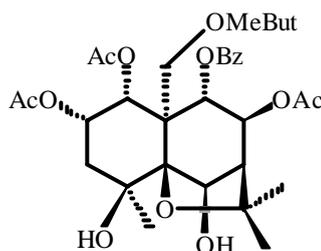
RMN ¹H (d, CDCl₃): 1.03 (3H, t, J=7.4 Hz); 1.36 (3H, d, J=7.0 Hz); 1.49 (3H, s); 1.52 (3H, s); 1.56 (3H, s); 1.67 (2H, m); 1.72 (3H, s); 1.88 (3H, s); 1.95 (2H, m); 2.09 (3H, s); 2.13 (3H, s); 2.52 (1H, d, J=3.2 Hz); 2.79 (1H, m); 4.62, 4.93 (2H, d_{AB}, J=13.4 Hz); 5.36 (1H, m); 5.46 (1H, d, J=3.3 Hz); 5.47 (1H, dd, J=3.2, 9.8 Hz); 6.04 (1H, d, J=9.8 Hz); 6.47 (1H, s); 7.42 (2H, m); 7.56 (1H, m); 7.91 (2H, m).

RMN ¹³C (d, CDCl₃): 11.6 (c); 16.3 (c); 20.5 (c); 20.8 (c); 21.1 (c); 21.4 (c); 24.7 (c); 25.7 (c); 26.6 (t); 29.7 (c); 41.2 (d); 42.0 (t); 51.4 (s); 52.1 (d); 61.7 (t); 67.6 (d); 69.6 (s); 73.8 (d); 75.3 (d); 75.4 (d); 75.6 (d); 84.3 (s); 92.1 (s); 128.6 (2xd); 129.3 (s); 129.6 (2xd); 133.5 (d); 165.6 (s); 169.5 (2xs); 169.7 (2xs); 176.4 (s).

EM m/z (%): 675 ([M⁺ -15], 1); 630 (2); 588 (3); 571 (3); 570 (7); 555 (2); 528 (3); 468 (2); 408 (2); 336 (12); 202 (26); 105 (100); 85 (4); 57 (88).

EM de alta Resolución : Calculado para C₃₄H₄₃O₁₄ 675.2653; observado 675.2671.

PRODUCTO T-8: (1R,2S,4S,5S,6R,7R,8S,9S,10S)-1,2,8-Triacetoxi-9-benzoiloxi-15-(2)-metilbutiroiloxi-4,6-dihidroxi-dihidro-b-agarofurano.



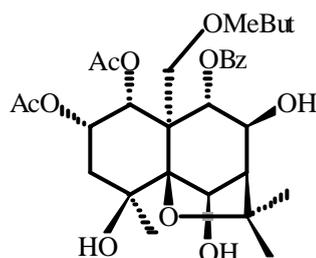
Se obtuvo como una laca incolora (13.0 mg).

- [α]_D²⁵:** +5.4° (c 0.52, CHCl₃)
- UV I_{max} nm:** 274, 261, 212.
- IR n_{max} cm⁻¹:** 3350, 2890, 1740, 1735, 1725, 1595, 1355, 1228, 1030, 756.
- RMN ¹H (d, CDCl₃):** 1.05 (3H, t, J=7.4 Hz); 1.36 (3H, d, J=7.0 Hz); 1.55 (3H, s); 1.64 (3H, s); 1.67 (3H, s); 1.71 (2H, m); 1.74 (3H, s); 1.76 (3H, s); 2.05 (2H, m); 2.11 (3H, s); 2.61 (1H, d, J=3.2 Hz); 2.63 (1H, m); 3.10 (1H, s); 4.59, 4.93 (2H, d_{AB}, J=13.4 Hz); 5.20 (1H, s); 5.39 (1H, m); 5.48 (1H, d, J=3.4 Hz); 5.59 (1H, dd, J=3.2, 10.0 Hz); 6.05 (1H, d, J=10.0 Hz); 7.41 (2H, m); 7.56 (1H, m); 7.88 (2H, m).
- RMN ¹³C (d, CDCl₃):** 11.7 (c); 16.8 (c); 20.4 (c); 20.8 (c); 21.1 (c); 24.1 (c); 26.2 (c); 26.6 (t); 30.1 (c); 41.2 (d); 41.6 (t); 50.6 (s); 53.5 (d); 61.7 (t); 67.3 (d); 72.1 (s); 74.2 (d); 75.1 (d); 75.3 (d); 76.9 (d); 84.6 (s); 91.5 (s).
- EM m/z (%):** 633 ([M⁺ -15], 2); 588 (4); 570 (2); 528 (1); 495 (1); 451 (1); 406 (1); 331 (1); 304 (1); 287 (2); 244 (3); 202 (11); 164 (6); 149 (15); 105 (100); 85 (26); 69 (16); 57 (38).
- EM de alta Resolución :** Calculado para C₃₂H₄₁O₁₃ 633.2547; observado 633.2562.

Obtención del derivado acetilado de T-8

2.6 mg de T-8 fueron tratados de la forma habitual con anhídrido acético en piridina durante 24h a temperatura ambiente, obteniéndose 1.5 mg del producto T-7.

PRODUCTO T-9: (1R,2S,4S,5S,6R,7R,8S,9S,10S)-1,2-Diacetoxi-9-benzoiloxi-15-(2)-metilbutiroiloxi-4,6,8-trihidroxi-dihidro-b -agarofurano.



Se aisló como una laca incolora (3.4 mg).

$[\alpha]_D^{25}$: +5.3° (c 0.19, CHCl_3)

UV_{max} nm: 255, 213.

IR ν_{max} cm^{-1} : 3427, 2926, 2854, 1731, 1368, 1278, 1142, 712.

RMN ^1H (d, CDCl_3): 0.99 (3H, t, $J=7.4$ Hz); 1.31 (3H, d, $J=7.2$ Hz); 1.48 (3H, s); 1.62 (3H, s); 1.75 (3H, s); 1.76 (3H, s); 1.79 (2H, m); 2.05 (2H, m); 2.13 (3H, s); 2.54 (1H, m); 2.61 (1H, d, $J=3.3$ Hz); 3.12 (1H, s); 4.32 (1H, m); 4.66, 4.95 (2H, d_{AB} , $J=13.5$ Hz); 5.05 (1H, d, $J=5.1$ Hz); 5.17 (1H, d, $J=5.1$ Hz); 5.37 (1H, m); 5.48 (1H, d, $J=3.5$ Hz); 5.88 (1H, d, $J=9.4$ Hz); 7.44 (2H, m); 7.57 (1H, m); 7.95 (2H, m).

RMN ^{13}C (d, CDCl_3): 11.7 (c); 16.9 (c); 20.1 (c); 21.1 (c); 24.0 (c); 26.4 (t); 26.6 (c); 30.2 (c); 41.1 (d); 41.5 (t); 50.8 (s); 55.5 (d); 61.8 (t); 67.5 (d, s); 72.2 (d); 74.9 (d); 75.2 (d); 78.9 (d); 84.6 (s); 91.5 (s); 128.7 (2xd); 129.4 (s); 129.7 (2xd); 133.6 (d); 166.9 (s); 169.4 (s); 169.5 (s); 176.1 (s).

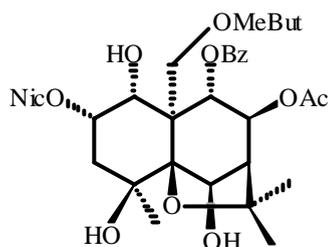
EM m/z (%): 591 ($[\text{M}^+ -15]$, 9); 573 (2); 528 (2); 513 (2); 471 (2); 451 (2); 435 (1); 364 (1); 307 (1); 262 (2); 247 (3); 229 (4); 202 (6); 164 (5); 151 (8); 105 (100); 85 (17); 57 (29)

EM de alta Resolución : Calculado para $\text{C}_{30}\text{H}_{39}\text{O}_{12}$ 591.2442; observado 591.2518.

Obtención del derivado acetilado de T-9

1.0 mg de T-9 fueron tratados de la forma habitual con anhídrido acético en piridina durante 24h a temperatura ambiente, obteniéndose 0.9 mg del producto T-7.

PRODUCTO T-10: (1R,2S,4S,5S,6R,7R,8S,9S,10S)-8-Acetoxy-9-benzoiloxi-15-(2)-metilbutiroiloxi-2-nicotinoiloxi-1,4,6-trihidroxi-dihidro-b -agarofurano.



Se obtuvo como una laca incolora (9.5 mg).

$[\alpha]_D^{25}$: +42.1° (c 1.03, CHCl₃).

DC I_{max} (MeCN) nm: 215.1 ($\Delta\epsilon = -0.4$); 229.1 ($\Delta\epsilon = +8.5$).

UV I_{max} nm: 263, 252, 223, 202.

IR n_{max} cm⁻¹: 3424, 3017, 2924, 2851, 1731, 1592, 1451, 1368, 1275, 1107, 1027, 849, 739, 711.

RMN ¹H (d, CDCl₃): 1.03 (3H, t, J=7.4 Hz); 1.34 (3H, d, J=7.0 Hz); 1.62 (3H, s); 1.67 (1H, m); 1.73 (3H, s); 1.75 (3H, s); 1.88 (1H, m); 1.91 (3H, s); 2.12 (1H, dd, J=3.9, 15.2 Hz); 2.22 (1H, dd, J=3.9, 15.2 Hz); 2.65 (1H, d, J=3.3 Hz); 2.68 (1H, m); 3.16 (1H, s); 4.60 (1H, m); 4.62, 5.13 (2H, d_{AB}; J=13.2 Hz); 5.19 (1H, s); 5.51 (1H, m); 5.71 (1H, dd, J=3.3, 9.8 Hz); 6.18 (1H, d, J=9.8 Hz); 7.36 (2H, m); 7.47 (1H, dd, J=4.9, 8.0 Hz); 7.52 (1H, m); 7.86 (2H, m); 8.41 (1H, d, J=8.0 Hz); 8.80 (1H, d, J=4.9 Hz); 9.32 (1H, s).

RMN ¹³C (d, CDCl₃): 11.7 (c); 16.7 (c); 20.8 (c); 24.4 (c); 26.2 (c); 26.6 (t); 30.0 (c); 41.4 (t); 41.6 (d); 51.1 (s); 53.4 (d); 61.7 (t); 72.0 (s); 72.2 (d); 73.2 (d); 74.0 (d); 76.6 (d); 76.9 (d); 84.3 (s); 91.5 (s); 123.6 (d); 125.3 (s); 128.4 (2xd); 129.3 (s); 129.6 (2xd); 133.4 (d); 137.2 (d); 151.1 (d); 153.8 (d); 165.0 (s); 167.4 (s); 169.8 (s); 176.1 (s).

EM m/z (%): 669 ([M⁺], 1); 654 (1); 609 (3); 484 (3); 304 (3); 262 (4); 244 (6); 216 (10); 164 (12); 124 (25); 105 (100); 85 (14); 57 (33); 43 ().

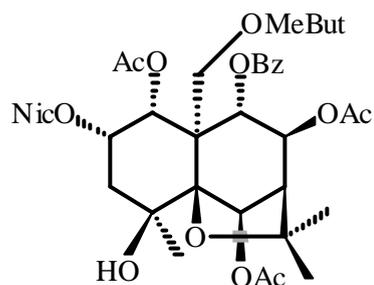
EM de alta
Resolución :

Calculado para C₃₅H₄₃NO₁₂ 669.27853; observado 669.27936.

Obtención del derivado acetilado de T-10

3.8 mg de **T-10** fueron tratados de la forma habitual con anhídrido acético en piridina durante 24h a temperatura ambiente, obteniéndose 2.5 mg del producto **7**.

PRODUCTO 7: (1R,2S,4S,5S,6R,7R,8S,9S,10S)-1,6,8-Triacetoxi-9-benzoiloxi-15-(2)-metilbutiroiloxi-2-nicotinoiloxi-4-hidroxi-dihidro-b -agarofurano.



Se obtuvo como una laca incolora (2.5 mg).

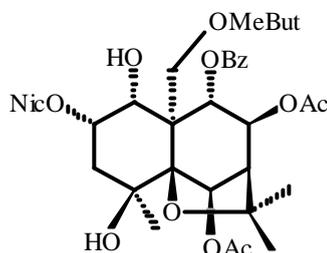
$[\alpha]_D^{25}$: +67.5° (c 0.16, CHCl₃)

UV λ_{max} nm: 264, 225, 210, 202.

IR ν_{max} cm⁻¹: 3429, 2924, 2854, 1731, 1590, 1454, 1369, 1262, 1095, 1039, 961, 801, 759, 712.

RMN ¹H (d, CDCl₃): 1.03 (3H, t, J=7.4 Hz); 1.37 (3H, d, J=7.0); 1.52 (3H, s); 1.55 (3H, s); 1.58 (3H, s); 1.71 (1H, m); 1.75 (3H, s); 1.88 (3H, s); 1.93 (1H, m); 2.13 (3H, s); 2.35 (2H, m); 2.55 (1H, d, J=3.4 Hz); 2.82 (1H, m); 2.85 (1H, s); 4.60, 5.20 (2H, d_{AB}, J=13.2 Hz); 5.61 (1H, d, J=3.4 Hz); 5.68 (1H, m); 5.77 (1H, dd, J=3.4, 9.8 Hz); 6.10 (1H, d, J=9.8 Hz); 6.48 (1H, s); 7.38 (2H, m); 7.47 (1H, dd, J=4.9, 8.0 Hz); 7.54 (1H, m); 7.88 (2H, m); 8.36 (1H, d, J=8.0 Hz); 8.81 (1H, d, J=4.9 Hz); 9.28 (1H, s).

PRODUCTO T-11: (1R,2S,4S,5S,6R,7R,8S,9S,10S)-6,8-Diacetoxi-9-benzoiloxi-15-(2)-metilbutiroiloxi-2-nicotinoiloxi-1,4-dihidroxi-dihidro-b-agarofurano.



Se aisló como laca incolora (5.5 mg).

$[\alpha]_D^{25}$: +43.2° (c 0.19, CHCl₃).

UV I_{max} nm: 258, 223, 208, 202.

IR n_{max} cm⁻¹: 3434, 2925, 2854, 1730, 1592, 1452, 1370, 1277, 1108, 1037, 756.

RMN ¹H (d, CDCl₃): 1.03 (3H, t, J=7.4 Hz); 1.36 (3H, d, J=7.0 Hz); 1.50 (3H, s); 1.58 (3H, s); 1.73 (3H, s); 1.90 (3H, s); 1.92 (2H, m); 2.12 (3H, s); 2.13 (2H, m); 2.46 (1H, d, J=5.8 Hz); 2.56 (1H, d, J=3.2 Hz); 2.80 (1H, m); 2.81 (1H, s); 4.59 (1H, t, J=4.5 Hz); 4.65, 5.10 (2H, d_{AB}, J=13.2 Hz); 5.49 (1H, m); 5.86 (1H, dd, J=3.2, 9.8 Hz); 6.18 (1H, d, J=9.8 Hz); 6.44 (1H, s); 7.37 (2H, m); 7.45 (1H, dd, J=4.0, 7.9 Hz); 7.51 (1H, m); 7.87 (2H, m); 8.40 (1H, d, J=7.9 Hz); 8.79 (1H, d, J=4.0 Hz); 9.30 (1H, s).

RMN ¹³C (d, CDCl₃): 13.1 (c); 17.6 (c); 22.2 (c); 22.8 (c); 26.6 (c); 27.6 (t); 28.1 (c); 31.1 (c); 42.7 (d); 43.6 (t); 53.4 (s); 53.6 (d); 63.1 (t); 71.0 (s); 74.2 (d); 74.9 (d); 75.1 (d); 77.2 (d); 85.6 (s); 93.4 (s); 125.0 (d); 126.8 (s); 129.7 (2xd); 130.8 (s); 131.1 (2xd); 134.9 (d); 138.6 (d); 152.6 (d); 155.2 (d); 164.9 (s); 168.8 (s); 170.7 (s); 171.1 (s); 177.8 (s).

EM m/z (%): 696 ([M⁺ -15], 1); 588 (1); 528 (3); 426 (5); 322 (2); 304 (7); 262 (3); 244 (9); 216 (11); 164 (19); 124 (17); 105 (100); 85 (17); 57 (52).

EM de alta Resolución : Calculado para C₃₆H₄₂NO₁₃ 696.26562; observado 696.26588.

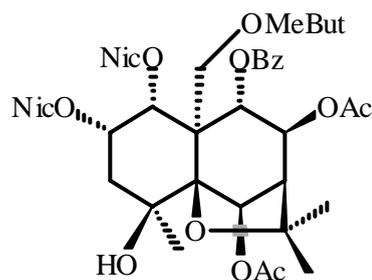
Obtención del derivado acetilado de T-11

2.0 mg de **T-11** fueron tratados de la forma habitual con anhídrido acético en piridina durante 24h a temperatura ambiente, obteniéndose 1.5 mg del producto **7**.

Obtención del derivado de T-11 con el ácido nicotínico

2.5 mg de **T-11** se trataron, según se indican en técnicas experimentales, tras purificación mediante placa preparativa, usando *n*-hexano/AcOEt (50:50) como eluyente, obtuvimos 1.5 mg del producto **8**.

PRODUCTO 8: (1R,2S,4S,5S,6R,7R,8S,9S,10S)-6,8-Diacetoxi-9-benzoiloxi-15-(2)-metilbutiroiloxi-1,2-dinicotinoiloxi-4-hidroxi-dihidro-**b**-agarofurano.



Se obtuvo como una laca incolora (1.5 mg).

$[\alpha]_D^{25}$: +36.3° (c 0.19, CHCl₃)

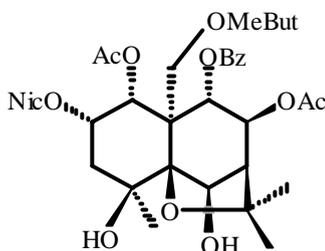
UV λ_{max} nm: 264, 221, 210, 203, 202.

IR ν_{max} cm⁻¹: 3425, 2924, 2853, 1737, 1591, 1462, 1372, 1263, 1237, 1108, 1039, 802, 738, 711.

RMN ¹H (d, CDCl₃): 1.06 (3H, t, J=7.4 Hz); 1.39 (3H, d, J=7.0); 1.60 (3H, s); 1.62 (3H, s); 1.75 (1H, m); 1.80 (3H, s); 1.98 (2H, m); 2.15 (3H, s); 2.28 (2H, m); 2.57 (1H, d, J=3.3 Hz); 2.83 (1H, m); 2.86 (1H, s); 4.76, 5.33 (2H, d_{AB}, J=12.8 Hz); 5.77 (1H, dd, J=3.3, 9.6 Hz); 5.96 (1H, d, J=3.7 Hz); 6.19 (1H, d, J=9.6 Hz); 6.53 (1H, s); 6.77 (1H, dd, J=4.8, 8.0 Hz); 7.14 (2H, m); 7.33 (2H, m); 7.38 (1H, m); 7.47 (1H, dd, J=4.8, 8.0 Hz); 7.62 (1H, d, J=7.9 Hz); 8.32 (1H, d, J=8.0 Hz); 8.38 (1H, d, J=4.8 Hz); 8.71 (1H,

s); 8.82 (1H, d, J=4.8 Hz); 9.24 (1H, s).

PRODUCTO T-12: (1R,2S,4S,5S,6R,7R,8S,9S,10S)-1,8-Diacetoxi-9-benzoiloxi-15-(2)-metilbutiroiloxi-2-nicotinoiloxi-4,6-dihidroxi-dihidro-b-agarofurano.



Se obtuvo como una laca incolora (2.4 mg).

$[\alpha]_D^{25}$: +42.9° (c 0.24, CHCl₃).

UV λ_{max} nm: 264, 255, 224, 203.

IR ν_{max} cm⁻¹: 3396, 2926, 2854, 1732, 1591, 1452, 1369, 1280, 1108, 1034, 757, 711.

RMN ¹H (d, CDCl₃): 1.03 (3H, t, J=7.4 Hz); 1.35 (3H, d, J=7.0 Hz); 1.54 (3H, s); 1.63 (3H, s); 1.73 (2H, m); 1.74 (3H, s); 1.81 (3H, s); 1.89 (3H, s); 2.21 (2H, m); 2.64 (1H, d, J=3.0 Hz); 2.65 (1H, m); 3.15 (1H, s); 4.56, 5.22 (2H, d_{AB}, J=13.1 Hz); 5.21 (1H, s); 5.62 (2H, m); 5.70 (1H, m); 6.09 (1H, d, J=9.8 Hz); 7.38 (2H, m); 7.48 (1H, m); 7.53 (1H, m); 7.86 (2H, m); 8.39 (1H, d, J=...); 8.85 (1H, m); 9.32 (1H, s).

RMN ¹³C (d, CDCl₃): 11.8 (c); 16.8 (c); 20.5 (c); 20.8 (c); 24.4 (c); 26.3 (d); 26.7 (c); 29.7 (c); 41.4 (d); 41.7 (t); 50.5 (s); 53.5 (d); 62.0 (t); 68.8 (d); 71.9 (s); 74.2 (d); 74.8 (d); 74.9 (d); 75.2 (d); 84.8 (s); 91.5 (s); 128.7 (2xd); 129.1 (s); 129.5 (2xd); 133.5 (d); 137.2 (d); 151.0 (d); 154.4 (d); 164.1 (s); 165.6 (s); 169.7 (s); 169.8 (s); 176.0 (s).

EM m/z (%): 711 ([M⁺], 2); 696 (2); 526 (8); 424 (3); 202 (5); 164 (3); 124 (38); 105 (100); 85 (13); 77 (13); 57 (30).

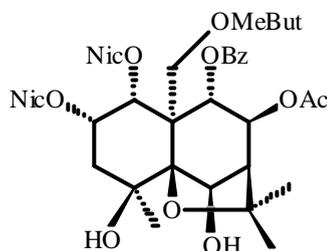
EM de alta Resolución :

Calculado para C₃₇H₄₅NO₁₃ 711.28909; observado 711.29063.

Obtención del derivado acetilado de T-12

1.5 mg de **T-12** fueron tratados de la forma habitual con anhídrido acético en piridina durante 24h a temperatura ambiente, obteniéndose 1.0 mg del producto **7**.

PRODUCTO T-13: (1R,2S,4S,5S,6R,7R,8S,9S,10S)-8-Acetoxi-9-benzoiloxi-15-(2)-metil-butiroiloxi-1,2-dinicotinoiloxi-4,6-dihidroxi-dihidro-b-agarofura- no



Se aisló como una laca incolora (15.5 mg).

[α]_D²⁵: +50.5° (c 1.57, CHCl₃).

UV I_{max} nm: 263, 253, 222, 201.

IR n_{max} cm⁻¹: 3388, 2929, 2360, 1735, 1591, 1287, 1110, 1031, 739, 711.

RMN ¹H (d, CDCl₃): 1.06 (3H, t, J=7.4 Hz); 1.37 (3H, d, J=7.0 Hz); 1.66 (3H, s); 1.77 (3H, s); 1.84 (3H, s); 1.85 (3H, s); 1.91 (2H, m); 2.31 (2H, m); 2.65 (1H, d, J=3.2 Hz); 2.69 (1H, m); 3.23 (1H, s); 4.71, 5.35 (2H, d_{AB}, J=13.1 Hz); 5.20 (1H, d, J=5.1 Hz); 5.25 (1H, d, J=5.1 Hz); 5.64 (1H, dd, J=3.2, 9.8 Hz); 5.76 (1H, m); 5.97 (1H, d, J=3.7 Hz); 6.19 (1H, d, J=9.8 Hz); 6.77 (1H, dd, J=4.8, 7.9 Hz); 7.12 (2H, m); 7.32 (2H, m); 7.38 (1H, m); 7.47 (1H, dd, J=4.8, 8.0 Hz); 7.62 (1H, d, J=7.9 Hz); 8.32 (1H, d, J=8.0 Hz); 8.38 (1H, d, J=4.8 Hz); 8.69 (1H, s); 8.82 (1H, d, J=4.8 Hz); 9.26 (1H, s).

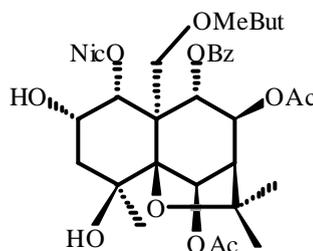
RMN ¹³C (d, CDCl₃): 11.7 (c); 16.7 (c); 20.7 (c); 24.4 (c); 26.2 (c); 26.6 (t); 30.0 (c); 41.2 (t); 41.6 (d); 50.8 (s); 53.4 (d); 61.8 (t); 68.9 (d); 71.8 (s); 73.9 (d); 74.0 (d); 75.4 (d); 76.5 (d); 84.9 (s); 91.4 (s); 122.5 (d); 123.7 (d); 124.6 (s); 124.7 (s); 128.2 (2xd); 128.5 (s); 129.0 (2xd); 133.1 (d); 136.1 (d); 137.0 (d); 150.3 (d); 150.8 (d); 153.0 (d); 154.0 (d); 163.5 (s); 164.2 (s); 165.3 (s); 169.7 (s); 176.0 (s).

EM m/z (%): 774 ([M⁺], 2); 759 (1); 609 (4); 589 (4); 487 (3); 228 (4); 202 (3); 124 (33); 105 (100); 85 (6); 57 (23).

**EM de alta
Resolución :**Calculado para C₄₁H₄₆N₂O₁₃ 774.29999; observado 774.30174.**Obtención del derivado acetilado de T-13**

1.7 mg de **T-13** fueron acetilados de la forma habitual con anhídrido acético en piridina durante 24h a temperatura ambiente, obteniéndose 1.0 mg del producto **8**.

PRODUCTO T-14: (1R,2S,4S,5S,6R,7R,8S,9S,10S)-6,8-Diacetoxi-9-benzoiloxi-15-(2)-metilbutiroiloxi-1-nicotinoiloxi-2,4-dihidroxi-dihidro-b -agarofurano.



Se obtuvo como una laca incolora (10.0 mg).

[α]_D²⁵: +9.6° (c 0.91, CHCl₃).

UV I_{max} nm: 264, 221, 214, 200.

IR n_{max} cm⁻¹: 3524, 3445, 2978, 2924, 1759, 1718, 1452, 1371, 1238, 1109, 1040, 712.

RMN ¹H (d, CDCl₃): 1.20 (3H, t, J=7.4 Hz); 1.40 (3H, s); 1.48 (3H, s); 1.61 (3H, d, J=7.0 Hz); 1.71 (3H, s); 1.80 (3H, s); 1.85 (2H, m); 1.93 (3H, s); 2.22 (2H, m); 2.44 (1H, d, J=3.3 Hz); 2.82 (1H, s); 3.14 (1H, m); 4.20 (1H, m); 5.41, 5.71 (2H, d_{AB}, J=13.7 Hz); 6.08 (1H, d, J=3.0 Hz); 6.17 (1H, dd, J=3.3, 9.8 Hz); 6.55 (1H, d, J=9.8 Hz); 6.91 (1H, s); 7.07 (2H, m); 7.15 (1H, m); 7.67 (1H, d, J=7.9 Hz); 7.84 (2H, m); 8.04 (1H, d, J=3.6 Hz); 9.06 (1H, s).

RMN ¹³C (d, CDCl₃): 11.7 (c); 16.5 (c); 19.9 (c); 20.6 (c); 25.2 (t); 25.4 (c); 26.7 (c); 29.3 (c); 41.6 (d); 44.6 (t); 52.2 (d); 52.3 (s); 62.2 (t); 67.0 (d); 70.0 (s); 73.9 (d); 75.8 (d); 75.9 (d); 79.4 (d); 83.8 (s); 122.3 (d); 125.4 (d); 128.3 (2xd);

129.3 (2xd); 129.5 (s); 133.1 (d); 136.3 (d); 150.3 (d); 152.2 (d); 163.6 (s); 165.5 (s); 168.8 (s); 168.9 (s); 175.9 (s).

EM m/z (%): 696 ($[M^+ -15]$, 1); 486 (1); 426 (4); 304 (5); 262 (4); 244 (7); 234 (3); 216 (11); 164 (17); 124 (19); 123 (12); 106 (18); 105 (100); 85 (16); 77 (14); 57 (30).

EM de alta Resolución : Calculado para $C_{36}H_{42}NO_{13}$ 696.26562; observado 696.26393.

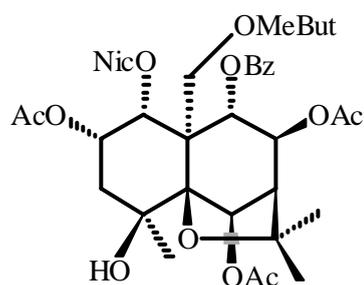
Obtención del derivado de T-14 con el ácido nicotínico

3.8 mg de **T-14** se nicotinó, según se indica en técnicas experimentales, tras purificación mediante placa preparativa, usando *n*-hexano/AcOEt (50:50) como eluyente, obtuvimos 2.0 mg del producto **8**

Obtención del derivado acetilado de T-14

3.5 mg de **T-14** fueron acetilados de la forma habitual con anhídrido acético en piridina durante 24. a temperatura ambiente, obteniéndose 2.5 mg del producto **9**

PRODUCTO 9: (1R,2S,4S,5S,6R,7R,8S,9S,10S)-2,6,8-Triacetoxi-9-benzoiloxi-15-(2)-metilbutiroiloxi-1-nicotinoiloxi-4-hidroxi-dihidro-b -agarofurano.



Se obtuvo como una laca incolora (2.5 mg).

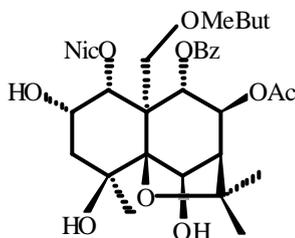
$[\alpha]_D^{25}$: +10.7° (c 0.14, $CHCl_3$)

UV I_{max} nm: 263, 223, 211, 202.

IR n_{max} cm^{-1} : 3423, 2924, 2854, 1740, 1665, 1591, 1452, 1370, 1281, 1233, 1152, 1107, 1039, 962, 757, 711.

RMN ^1H (d, CDCl_3): 1.05 (3H, t, $J=7.4$ Hz); 1.38 (3H, d, $J=7.0$); 1.54 (3H, s); 1.60 (3H, s); 1.75 (3H, s); 1.82 (2H, m); 2.11 (3H, s); 2.17 (3H, s); 2.24 (3H, s); 2.54 (1H, d, $J=3.4$ Hz); 2.81 (1H, s); 2.82 (1H, m); 4.77, 5.07 (2H, d_{AB} , $J=13.4$ Hz); 5.46 (1H, m); 5.76 (1H, dd, $J=3.4, 9.7$ Hz); 5.81 (1H, d, $J=3.5$ Hz); 6.14 (1H, d, $J=9.7$ Hz); 6.51 (1H, s); 6.82 (1H, dd, $J=3.4, 8.1$ Hz); 7.15 (2H, m); 7.40 (3H, m); 7.70 (1H, d, $J=8.1$ Hz); 8.41 (1H, d, $J=3.4$ Hz); 8.74 (1H, s).

PRODUCTO T-15: (1R,2S,4S,5S,6R,7R,8S,9S,10S)-8-Acetoxi-9-benzoiloxi-15-(2)-metil-butiroiloxi-1-nicotinoiloxi-2,4,6-trihidroxi-dihidro-b-agarofurano.



Se aisló como una laca incolora (3.5 mg).

$[\alpha]_D^{25}$: $+3.6^\circ$ (c 0.42, CHCl_3).

UV I_{\max} nm: 227, 223, 202.

IR n_{\max} cm^{-1} : 3391, 2978, 2925, 2852, 1748, 1731, 1593, 1451, 1293, 1111, 1028, 964, 712.

RMN ^1H (d, CDCl_3): 1.03 (3H, t, $J=7.4$ Hz); 1.34 (3H, d, $J=7.0$ Hz); 1.63 (3H, s); 1.73 (3H, s); 1.81 (3H, s); 1.86 (3H, s); 1.95 (2H, m); 2.10 (2H, m); 2.61 (1H, d, $J=3.1$ Hz); 2.64 (1H, m); 3.11 (1H, s); 4.25 (1H, m); 4.89, 5.18 (2H, d_{AB} , $J=13.5$ Hz); 5.28 (1H, d, $J=5.0$ Hz); 5.35 (1H, d, $J=5.0$ Hz); 5.58 (1H, dd, $J=3.1, 9.8$ Hz); 5.75 (1H, d, $J=2.9$ Hz); 6.15 (1H, d, $J=9.8$ Hz); 6.73 (1H, dd, $J=3.4, 8.1$ Hz); 7.17 (2H, m); 7.40 (3H, m); 7.75 (1H, d, $J=8.1$ Hz); 8.39 (1H, d, $J=3.4$ Hz); 8.86 (1H, s).

RMN ^{13}C (d, CDCl_3): 11.7 (c); 16.9 (c); 20.7 (c); 24.2 (c); 26.3 (t); 26.6 (c); 30.1 (c); 41.7 (d); 43.3 (t); 51.2 (s); 53.5 (d); 61.9 (t); 67.3 (d); 72.5 (s); 74.2 (d); 75.5 (d); 77.4 (d); 78.6 (d); 84.5 (s); 92.0 (s); 122.5 (d); 125.1 (s); 128.3

(2xd); 128.8 (s); 129.2 (2xd); 133.2 (d); 136.3 (d); 150.6 (d); 153.1 (d); 163.7 (s); 165.5 (s); 169.8 (s); 176.0 (s).

EM m/z (%): 654 ($[M^+ -15]$, 1); 484 (1); 426 (2); 304 (2); 262 (3); 244 (6); 234 (2); 216 (8); 164 (10); 124 (24); 123 (11); 106 (19); 105 (100); 85 (15); 77 (18); 57 (35).

EM de alta

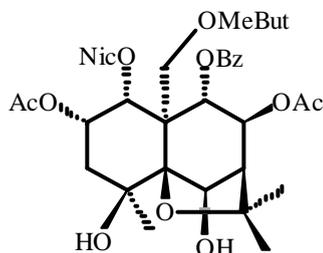
Resolución :

Calculado para $C_{34}H_{40}NO_{12}$ 654.25505, observado 654.25429.

Obtención del derivado acetiladode T-15

2.0 mg de **T-15** fueron tratados de la forma habitual con anhídrido acético en piridina durante 24h a temperatura ambiente, obteniéndose 1.0 mg del producto **9**

PRODUCTO T-16: (1R,2S,4S,5S,6R,7R,8S,9S,10S)-2,8-Diacetoxi-9-benzoiloxi-15-(2)-metilbutiroiloxi-1-nicotinoiloxi-4,6-dihidroxi-dihidro-b-agarofurano.



Se obtuvo como una laca incolora (1.1 mg).

$[\alpha]_D^{25}$: +9.1° (c 0.11, $CHCl_3$).

UV I_{max} nm: 264, 224, 210, 202.

IR n_{max} cm^{-1} : 3387, 2971, 2930, 1739, 1592, 1282, 1231, 1110, 1034, 717.

RMN 1H (d, $CDCl_3$): 1.05 (3H, t, $J=7.0$ Hz); 1.35 (3H, d, $J=7.0$ Hz); 1.66 (3H, s); 1.75 (3H, s); 1.81 (3H, s); 1.83 (3H, s); 1.88 (2H, m); 2.11 (3H, s); 2.14 (2H, m); 2.63 (1H, d, $J=3.2$ Hz); 2.68 (1H, m); 3.14 (1H, s); 4.74; 5.07 (2H, d_{AB} , $J=13.3$ Hz); 5.22 (1H, d, $J=5.2$ Hz); 5.23 (1H, d, $J=5.2$ Hz); 5.48 (1H, m); 5.60 (1H, dd, $J=3.2, 9.8$ Hz); 5.81 (1H, d, $J=3.5$ Hz); 6.15 (1H, d,

J=9.8 Hz); 6.85 (1H, dd, J=3.7, 7.9 Hz); 7.15 (2H, m); 7.39 (3H, m); 7.72 (1H, d, J=7.9 Hz); 8.42 (1H, d, J=3.7 Hz); 8.74 (1H, s).

RMN ^{13}C (d, CDCl_3): 11.7 (c); 16.8 (c); 20.8 (c); 21.0 (c); 25.2 (c); 26.2 (c); 26.6 (t); 30.1 (c); 41.2 (d); 41.5 (t); 50.9 (s); 53.4 (d); 63.4 (t); 67.5 (d); 72.1 (s); 73.9 (d); 75.1 (d); 75.8 (2xd); 84.8 (s); 91.5 (s); 122.6 (d); 125.2 (s); 128.3 (2xd); 129.0 (s); 129.1 (2x10); 133.2 (d); 136.2 (d); 150.4 (d); 153.0 (d); 165.4 (s); 165.8 (s); 169.8 (2xs); 176.2 (s).

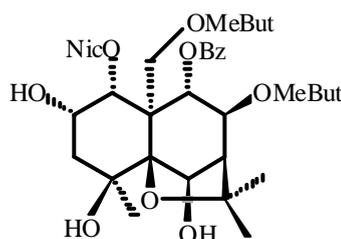
EM m/z (%): 711 ($[\text{M}^+]$, 2); 696 (5); 651 (17); 618 (4); 526 (12); 228 (6); 202 (9); 124 (41); 105 (100); 85 (12); 57 (23).

EM de alta Resolución : Calculado para $\text{C}_{37}\text{H}_{45}\text{NO}_{13}$ 711.28909; observado 711.28728.

Obtención del derivado acetilado de T-16

1.0 mg de **T-16** fueron tratados de la forma habitual con anhídrido acético en piridina durante 24h a temperatura ambiente, obteniéndose 0.9 mg del producto **9**

PRODUCTO T-17: **9a** -Benzoiloxi-**8b**,15-di-(2)-metilbutiroiloxi-**1a** -nicotinoiloxi-**2a**, **6b** -trihidroxi-dihidro-**b** -agarofurano.



Se aisló como una laca incolora (19.0 mg).

$[\alpha]_D^{25}$: +3.6° (c 2.03, CHCl_3).

UV λ_{max} nm: 264, 255, 224, 209, 203.

IR ν_{max} cm^{-1} : 3528, 3420, 3015, 2970, 2934, 2878, 1734, 1594, 1452, 1283, 1110, 1030, 756, 711.

RMN ^1H (d, CDCl_3): 0.49 (3H, t, J=7.5 Hz); 0.84 (3H, d, J=7.1 Hz); 1.02 (3H, t, J=7.5 Hz); 1.23 (2H, m); 1.34 (3H, d, J=7.1 Hz); 1.62 (3H, s); 1.72 (3H, s); 1.87

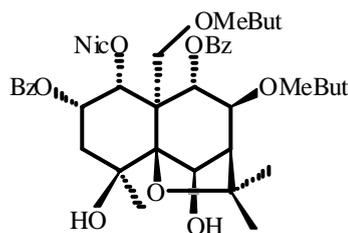
(3H, s); 2.13 (2H, m); 2.60 (1H, d, J=3.0 Hz); 2.64 (1H, m); 3.16 (1H, s); 4.28 (1H, m); 4.90, 5.20 (2H, d_{AB} , J=13.6 Hz); 5.28 (1H, d, J=4.5 Hz); 5.38 (1H, d, J=4.5 Hz); 5.56 (1H, dd, J=3.0, 9.9 Hz); 5.71 (1H, d, J=3.1 Hz); 6.17 (1H, d, J=9.9 Hz); 6.63 (1H, dd, J=3.6, 7.9 Hz); 7.14 (2H, m); 7.39 (3H, m); 7.62 (1H, d, J=7.9 Hz); 8.27 (1H, d, J=3.6 Hz); 8.75 (1H, s).

RMN ^{13}C (d, $CDCl_3$): 11.1 (c); 11.7 (c); 16.1 (c); 16.9 (c); 24.3 (c); 26.2 (t); 26.3 (c); 26.6 (t); 30.1 (c); 41.2 (d); 41.7 (d); 43.3 (t); 51.2 (s); 53.6 (d); 62.0 (t); 66.8 (d); 72.6 (s); 72.6 (d); 73.9 (d); 75.3 (d); 79.1 (d); 84.3 (s); 92.1 (s); 122.5 (d); 125.0 (d); 128.2 (2xd); 129.0 (s); 129.1 (2xd); 133.2 (d); 136.4 (d); 150.3 (d); 152.6 (d); 163.5 (s); 165.6 (s); 175.2 (s); 176.2 (s).

EM m/z (%): 711 ($[M^+]$, 1); 609 (3); 594 (1); 576 (1); 484 (1); 385 (2); 364 (1); 346 (1); 262 (4); 244 (4); 216 (2); 202 (5); 164 (11); 124 (24); 105 (100); 85 (22); 77 (13); 57 (57).

EM de alta Resolución : Calculado para $C_{38}H_{49}NO_{12}$ 711.32548; observado 711.32877.

PRODUCTO T-18: 2a,9a-Dibenzoiloxi-8b,15-di-(2)-metilbutiroiloxi-1a-nicotinoiloxi-4b,6b-dihidroxi-dihidro-b-agarofurano.



Se obtuvo como una laca incolora (4.1 mg).

$[a]_D^{25}$: +55.8° (c 0.4, $CHCl_3$).

UV I_{max} nm: 264, 259, 227, 212, 202.

IR n_{max} cm^{-1} : 3392, 2968, 2930, 1734, 1452, 1283, 1109, 1029, 708.

RMN 1H (d, $CDCl_3$): 0.53 (3H, t, J=7.3 Hz); 0.87 (3H, d, J=6.9 Hz); 1.07 (3H, t, J=7.5 Hz); 1.39 (3H; d, J=7.0 Hz); 1.66 (3H, s); 1.78 (3H, s); 1.84 (3H, s); 1.94 (4H, m); 2.23 (3H, m); 2.64 (1H, d, J=3.3 Hz); 2.70 (1H, m); 3.20 (1H,

s); 4.70, 5.38 (2H, d_{AB} , $J=13.0$ Hz); 5.23 (1H, d, $J=5.0$ Hz); 5.29 (1H, d, $J=5.0$ Hz); 5.66 (1H, dd, $J=3.3, 9.9$ Hz); 5.77 (1H, m); 5.96 (1H, d, $J=3.7$ Hz); 6.24 (1H, d, $J=9.9$ Hz); 6.86 (3H, m); 7.07 (3H, m); 7.30 (3H, m); 7.46 (2H, m); 8.33 (1H, d, $J=8.1$ Hz); 8.84 (1H, d, $J=3.9$ Hz); 9.29 (1H, s).

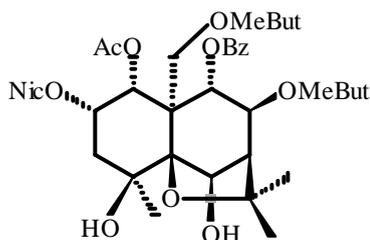
RMN ^{13}C (d, $CDCl_3$): 11.1 (c); 11.9 (c); 16.1 (c); 16.8 (c); 24.4 (c); 26.2 (c); 26.3 (t); 26.7 (t); 30.2 (c); 41.2 (t); 41.3 (d); 41.7 (d); 50.9 (s); 53.6 (d); 62.5 (t); 69.2 (d); 72.0 (s); 73.8 (d); 74.8 (d); 75.0 (d); 77.2 (d); 84.5 (s), 92.2 (s); 123.7 (d); 125.3 (s); 127.8 (2xd); 128.0 (2xd); 128.8 (s); 129.0 (2xd); 129.1 (2xd); 130.1 (s); 132.0 (2xd); 137.1 (d); 151.0 (d); 150.4 (d); 164.2 (s); 164.8 (s); 165.3 (s); 175.3 (s); 176.1 (s).

EM m/z (%): 816 ($[M^+ + 1]$, 5); 784 (4); 755 (3); 738 (3); 543 (6); 351 (6); 242 (16); 230 (11); 215 (10); 212 (13); 176 (16); 154 (28); 136 (27); 124 (23); 105 (100); 85 (6); 57 (38).

EM de alta Resolución :

Calculado para $C_{43}H_{53}NO_{13}$ 815.34929; observado 815.34913

PRODUCTO T-19: 1a -Acetoxi-9a -benzoiloxi-8b ,15-di-(2)-metilbutiroiloxi-2a -nicotinoiloxi-4b ,6b -dihidroxi-dihidro-b -agarofurano.



Se aisló como una laca incolora (2.2 mg).

$[\alpha]_D^{25}$: +60.5 (c 0.19, $CHCl_3$).

UV I_{max} nm: 264, 253, 225, 210, 204.

IR n_{max} cm^{-1} : 3353, 2925, 2898, 1728, 1580, 1450, 1355, 1265, 1135, 1095, 1023, 845, 750, 730, 701.

RMN 1H (d, $CDCl_3$): 0.58 (3H, t, $J=7.4$ Hz); 0.96 (3H, d, $J=6.9$ Hz); 1.03 (3H, t, $J=7.4$ Hz); 1.36 (3H, d, $J=7.0$ Hz); 1.55 (3H, s); 1.64 (3H, s); 1.68 (2H, m); 1.75

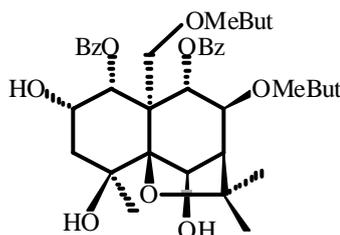
(3H, m); 1.83 (3H, s); 1.87 (2H, m); 2.14 (3H, m); 2.63 (1H, d, J=2.9 Hz); 2.69 (1H, m); 3.15 (1H, s); 4.58, 5.19 (2H; d_{AB} , J=13.0 Hz); 5.17 (1H, d, J=4.1 Hz); 5.23 (1H, d, J=4.1 Hz); 5.63 (1H, dd, J=2.9, 9.9 Hz); 5.65 (1H, d, J=3.6 Hz); 5.70 (1H, m); 6.14 (1H, d, J=9.9 Hz); 7.36 (2H, m); 7.48 (2H, m); 7.86 (2H, m); 8.37 (1H, d, J=8.0 Hz); 8.82 (1H, d, J=3.9 Hz); 9.31 (1H, s).

RMN ^{13}C (d, $CDCl_3$): 11.1 (c); 11.8 (c); 16.1 (c); 16.8 (c); 20.5 (c); 24.4 (c); 26.3 (t); 26.7 (c); 29.7 (t); 30.1 (c); 41.2 (d); 41.4 (d); 41.7 (t); 50.5 (s); 53.6 (d); 62.0 (t); 68.8 (d); 71.9 (s); 73.8 (d); 74.8 (d); 74.9 (d); 77.2 (d); 84.1 (s); 91.9 (s); 123.5 (d); 125.6 (s); 128.6 (2xd); 129.3 (s); 129.5 (2xd); 133.4 (d); 137.1 (d); 151.1 (d); 154.0 (d); 162.2 (s); 164.8 (s); 170.0 (s); 175.6 (s); 176.6 (s).

EM m/z (%): 735 ($[M^+ -18]$, 5); 651 (2); 636 (3); 618 (2); 552 (1); 526 (12); 449 (1); 424 (4); 348 (2); 202 (8); 149 (15); 124 (38); 105 (100); 85 (18); 77 (9); 57 (55).

EM de alta Resolución : Calculado para $C_{39}H_{45}NO_{13}$ 735.28909; observado 735.29459.

PRODUCTO T-20: 1a,9a-Dibenzoiloxi-8b,15-di-(2)-metilbutiroiloxi-2a,4b,6b-trihidroxi-dihidro-b-agarofurano.



Se obtuvo como una laca incolora (8.5 mg).

$[a]_D^{25}$: +13.0° (c 0.27, $CHCl_3$).

UV λ_{max} nm: 275, 230, 202.

IR ν_{max} cm^{-1} : 3445, 2858, 1727, 1715, 1592, 1451, 1443, 1325, 1270, 1135, 1100, 1022, 940, 852, 750, 700.

RMN 1H (d, $CDCl_3$): 0.52 (3H, t, J=7.4 Hz); 0.86 (3H, d, J=6.9 Hz); 1.04 (3H, t, J=7.4 Hz);

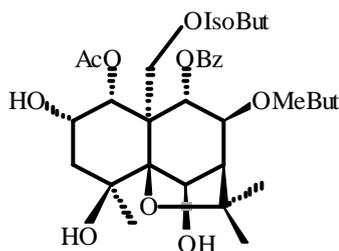
1.30 (1H, m); 1.36 (3H, d, J=6.9 Hz); 1.63 (3H, s); 1.67 (1H, m); 1.73 (3H, s); 1.88 (3H, s); 1.99 (1H, m); 2.13 (3H, m); 2.63 (1H, d, J=3.0 Hz); 2.66 (1H, m); 4.24 (1H, m); 4.95, 5.18 (2H, d_{AB}, J=13.4 Hz); 5.31 (1H, d, J=4.8 Hz); 5.35 (1H, d, J=4.8 Hz); 5.58 (1H, dd, J=3.2, 9.9 Hz); 5.76 (1H, d, J=3.2 Hz); 6.19 (1H, d, J=9.9 Hz); 6.93 (2H, m); 7.11 (2H, m); 7.22 (3H, m); 7.38 (2H, m); 7.66 (1H, m).

RMN ¹³C (d, CDCl₃): 11.1 (c); 11.7 (c); 16.1 (c); 16.9 (c); 24.3 (c); 26.3 (c); 26.7 (t); 29.7 (t); 30.2 (c); 41.2 (d); 41.7 (d); 43.1 (t); 51.2 (s); 53.6 (d); 62.1 (t); 67.4 (d); 72.5 (s); 74.0 (d); 75.2 (d); 77.2 (d); 78.1 (d); 84.3 (s); 92.1 (s); 127.8 (2xd); 127.9 (2xd); 128.7 (s); 129.2 (2xd); 129.3 (s, 2xd) 132.7 (d); 132.9 (d); 164.9 (s); 165.4 (s); 175. (s); 176.1 (s).

EM m/z (%): 696 ([M⁺ -15], 1); 681 (1); 639 (1); 608 (1); 588 (1); 468 (1); 262 (2); 244 (3); 216 (4); 202 (6); 164 (8); 124 (6); 105 (100); 85 (16); 77 (14); 57 (36).

EM de alta Resolución : Calculado para C₃₈H₄₈O₁₂ 696.31458; observado 696.32269.

PRODUCTO T-21: 1a -Acetoxi-9a -benzoiloxi-15-isobutiroiloxi-8b -(2)-metilbutiroiloxi- 2 a,4 b ,6b -trihidroxi-dihidro-b -agarofurano.



Se aisló como una laca incolora (7.1mg)

[a]_D²⁵: +12.2° (c 0.91, CHCl₃).

UV l_{max} nm: 274, 232, 211, 202.

IR n_{max} cm⁻¹: 3450, 2940, 2890, 1725, 1715, 1710, 1700, 1590, 1450, 1265, 1010, 750, 700.

RMN ¹H (d, CDCl₃): 0.59 (3H, t, J=7.4 Hz); 0.94 (3H, d, J=7.3 Hz); 1.32 (6H, d, J=6.9 Hz); 1.49 (2H, m); 1.60 (3H, s); 1.64 (3H, s); 1.68 (3H, s); 1.70 (3H, s); 1.80

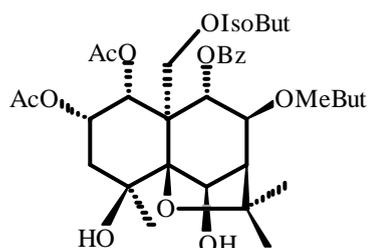
(3H, s); 2.04 (2H, m); 2.21 (1H, m); 2.58 (1H, d, J=3.3 Hz); 2.83 (1H, m); 3.08 (1H, s); 4.16 (1H, m); 4.80, 4.97 (2H, d_{AB} , J=13.3 Hz); 5.26 (1H, d, J=4.9 Hz); 5.33 (1H, d, J=4.9 Hz); 5.44 (1H, d, J=2.8 Hz); 5.58 (1H, dd, J=3.3, 9.8 Hz); 6.09 (1H, d, J=9.8 Hz); 7.40 (2H, m); 7.56 (1H, m); 7.88 (2H, m).

RMN ^{13}C (d, $CDCl_3$): 11.2 (c); 16.1 (c); 19.0 (c); 19.2 (c); 20.9 (c); 20.4 (c); 26.3 (c); 26.4 (t); 30.1 (c); 34.4 (d); 41.2 (d); 42.9 (t); 50.9 (s); 53.6 (d); 62.1 (t); 67.0 (d); 72.4 (s); 74.0 (d); 75.4 (d); 76.9 (d); 78.0 (d); 84.2 (s); 92.0 (s); 128.6 (2xd); 128.7 (s); 129.5 (2xd); 133.4 (d); 165.8 (s); 169.7 (s); 175.3 (s); 176.7 (s).

EM m/z (%): 633 ($[M^+ - 1]$, 1); 619 (2); 574 (2); 546 (2); 532 (3); 514 (1); 472 (1); 439 (1); 411 (1); 350 (1); 322 (2); 307 (1); 280 (1); 262 (3); 247 (4); 229 (3); 202 (11); 164 (11); 105 (100); 85 (22); 77 (9); 71 (14); 57 (77).

EM de alta Resolución : Calculado para $C_{33}H_{45}O_{12}$ 633.29110; observado 633.28758.

PRODUCTO T-22: 1a,2a -Diacetoxi-9a -benzoiloxi-15-isobutiroiloxi-8b -(2)-metilbutiroiloxi-4b ,6b -dihidroxi-dihidro-b -agarofurano.



Se obtuvo como una laca incolora (7.5 mg).

$[\alpha]_D^{25}$: -1.1° (c 0.45, $CHCl_3$).

UV λ_{max} nm: 274, 230, 213, 202.

IR ν_{max} cm^{-1} : 3410, 2977, 2921, 2850, 1760, 1730, 1471, 1451, 1402, 1276, 1235, 1029, 751, 713.

RMN 1H (d, $CDCl_3$): 0.59 (3H, t, J=7.4 Hz); 0.94 (3H, d, J=7.0 Hz); 1.35 (3H, d, J=7.0 Hz); 1.36 (3H, d, J=7.0 Hz); 1.46 (2H, m); 1.54 (3H, s); 1.61 (3H, s); 1.71

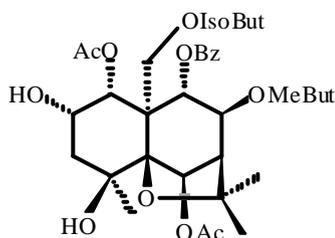
(3H, s); 1.78 (3H, s); 2.06 (2H, m); 2.11 (3H, s); 2.22 (1H, m); 2.59 (1H, d, J=3.3 Hz); 2.84 (1H, m); 3.12 (1H, s); 4.67, 4.87 (2H, d_{AB} , J=13.8 Hz); 5.20 (1H, d, J=5.2 Hz); 5.22 (1H, d, J=5.2 Hz); 5.39 (1H, m); 5.4 (1H, d, J=3.4 Hz); 5.61 (1H, dd, J=3.3, 9.9 Hz); 6.08 (1H, d, J=9.9 Hz); 7.41 (2H, m); 7.55 (1H, m); 7.86 (2H, m).

RMN ^{13}C (d, $CDCl_3$): 11.1 (c); 16.0 (c); 19.0 (c); 19.1 (c); 20.4 (c); 21.0 (c); 24.1 (c); 26.2 (t); 26.3 (c); 30.0 (c); 34.3 (d); 41.1 (d); 41.2 (t); 50.6 (s); 53.5 (d); 61.7 (t); 67.3 (d); 72.1 (s); 73.7 (d); 75.0 (d); 75.1 (d); 76.9 (d); 84.5 (s); 91.4 (s); 128.5 (2xd); 129.4 (2xd, s); 133.4 (d); 165.6 (s); 169.4 (s); 169.5 (s); 175.3 (s); 176.7 (s).

EM m/z (%): 661 ($[M^+ -15]$, 2); 598 (1); 574 (5); 471 (1); 437 (2); 349 (1); 321 (1); 244 (5); 202 (12); 164 (9); 105 (100); 85 (13); 77 (9); 57 (23).

EM de alta Resolución : Calculado para $C_{34}H_{45}O_{13}$ 661.28602; observado 661.28413.

PRODUCTO T-23: 1a,6b -Diacetoxi-9a -benzoiloxi-15-isobutiroidoxi-8b -(2)-metilbutiroiloxi-2a,4b -dihidroxi-dihidro-b -agarofurano.



Se aisló como una laca incolora (3.0 mg).

$[\alpha]_D^{25}$: +8.13° (c 0.16, $CHCl_3$).

UV I_{max} nm: 665, 230, 212, 202.

IR n_{max} cm^{-1} : 3494, 2925, 2854, 1739, 1602, 1463, 1369, 1276, 1226, 1155, 1091, 712.

RMN 1H (d, $CDCl_3$): 0.56 (3H, t, J=7.4 Hz); 0.92 (3H, d, J=7.0 Hz); 1.34 (3H, d, J=6.9 Hz); 1.37 (3H, d, J=6.9 Hz); 1.56 (3H, s); 1.59 (3H, s); 1.62 (3H, s); 1.69 (3H, s); 2.01 (2H, m); 2.10 (3H, m); 2.19 (1H, m); 2.33 (2H, m); 2.46 (1H, d, J=3.4 Hz); 2.72 (1H, s); 2.89 (1H, m); 4.10 (1H, m); 4.79, 4.96

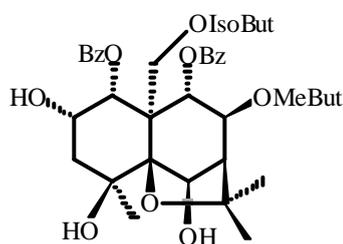
(2H, d_{AB} , $J=13.5$ Hz); 5.42 (1H, d, $J=3.0$ Hz); 5.70 (1H, dd, $J=3.4, 9.7$ Hz); 6.04 (1H, d, $J=9.7$ Hz); 6.52 (1H, s); 7.39 (2H, m); 7.53 (1H, m); 7.88 (2H, m).

RMN ^{13}C (d, $CDCl_3$): 11.1 (c); 16.0 (c); 18.9 (c); 19.0 (c); 20.9 (c); 21.3 (c); 22.6 (c); 25.0 (c); 25.7 (t); 26.1 (c); 29.3 (c); 34.4 (d); 41.1 (d); 43.6 (t); 51.6 (s); 52.2 (d); 62.0 (t); 67.3 (d); 69.7 (s); 73.7 (d); 75.5 (d); 75.6 (d); 78.0 (d); 83.9 (s); 92.4 (s); 128.5 (2xd); 129.4 (s); 129.5 (2xd); 133.4 (d); 165.7 (s); 169.4 (s); 169.6 (s); 174.5 (s); 175.1 (s).

EM m/z (%): 676 ($[M^+]$, 1); 661 (2); 598 (4); 514 (3); 496(8); 336 (9); 244 (8); 202 (21); 164 (11); 105 (100); 85 820); 57 (38).

EM de alta Resolución : Calculado para $C_{35}H_{48}O_{13}$ 676.30949; observado 676.30936.

PRODUCTO T-24: 1a,9a-Dibenzoiloxi-15-isobutiroiloxi-8b -(2)-metilbutiroiloxi-2a,4b, 6b -trihidroxi-dihidro-b -agarofurano.



Se obtuvo como una laca incolora (5.5 mg).

$[a]_D^{25}$: $+1.8^\circ$ (c 0.17, $CHCl_3$).

UV I_{max} nm: 274, 230, 213, 202.

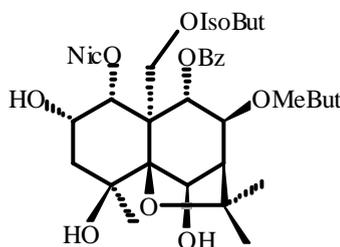
IR ν_{max} cm^{-1} : 3390, 2890, 2810, 1725, 1715, 1440, 1765, 1100, 1020, 699.

RMN 1H (d, $CDCl_3$): 0.53 (3H, t, $J=7.4$ Hz); 0.86 (3H, d, $J=7.0$ Hz); 1.37 (3H, d, $J=7.9$ Hz); 1.39 (3H, d, $J=7.9$ Hz); 1.49 (2H, m); 1.63 (3H, s); 1.74 (3H, s); 1.87 (3H, s); 2.03 (1H, m); 2.14 (2H, m); 2.60 (1H, d, $J=2.8$ Hz); 2.90 (1H, m); 3.12 (1H, s); 4.25 (1H, m); 5.01, 5.12 (2H, d_{AB} , $J=11.9$ Hz); 5.31 (1H, d, $J=4.8$ Hz); 5.38 (1H, d, $J=4.8$ Hz); 5.61 (1H, dd, $J=2.8, 9.7$ Hz); 5.76 (1H, d, $J=2.9$ Hz); 6.19 (1H, d, $J=9.7$ Hz); 6.94 (2H, m); 7.13 (3H, m); 7.37 (3H, m); 7.67 (2H, m).

RMN ^{13}C (d, CDCl_3): 11.1 (c); 16.0 (c); 19.0 (c); 19.2 (c); 24.3 (c); 26.1 (t); 26.3 (c); 30.1 (c); 34.4 (d); 41.2 (d); 42.9 (t); 51.2 (s); 53.7 (d); 62.0 (t); 67.3 (d); 72.4 (s); 73.8 (d); 75.2 (d); 76.9 (d); 78.0 (d); 84.3 (s); 92.0 (s); 127.8 (2xd); 127.9 (2xd); 128.7 (s); 129.1 (2xd, s); 129.2 (2xd); 132.7 (d); 132.8 (d); 164.4 (s); 165.0 (s); 175.1 (s); 176.2 (s).

EM m/z (%): 696 ($[\text{M}^+ - 15]$, 1); 594 (1); 486 (1); 472 (1); 454(1); 385 (1); 384(1); 262 (2); 247 (1); 234(2), 106(8), 105 (100); 85 (10); 57 (21).

PRODUCTO T-25: 9a -Benzoiloxi-15-isobutiroiloxi-8b -(2)-metilbutiroiloxi-1a -nicotinoiloxi-2a ,4b ,6b -trihidroxi-dihidro-b -agarofurano.



Se obtuvo como una laca incolora (2.1 mg).

$[\alpha]_D^{25}$: $+3.8^\circ$ (c 0.21, CHCl_3).

UV λ_{max} nm: 264, 223, 210, 202.

IR ν_{max} cm^{-1} : 3396, 2925, 2854, 1734, 1594, 1463, 1337, 1283, 1110, 1029, 710.

RMN ^1H (d, CDCl_3): 0.51 (3H, t, $J=7.4$ Hz); 0.86 (2H, d, $J=7.0$ Hz); 1.34 (3H, d, $J=6.8$ Hz); 1.36 (3H, d, $J=6.8$ Hz); 1.58 (2H, m); 1.63 (3H, s); 1.73 (3H, s); 1.88 (3H, s); 2.10 (3H, m); 2.59 (1H, d, $J=3.1$ Hz); 2.75 (1H, m); 3.11 (1H, s); 4.26 (1H, m); 5.08, 5.10 (2H, d_{AB} , $J=13.2$ Hz); 5.29 (1H, d, $J=5.0$ Hz); 5.35 (1H, d, $J=5.0$ Hz); 5.61 (1H, dd, $J=3.1, 10.0$ Hz); 5.76 (1H, d, $J=2.9$ Hz); 6.18 (1H, d, $J=10.0$ Hz); 6.75 (1H, dd, $J=4.5, 8.2$ Hz); 7.16

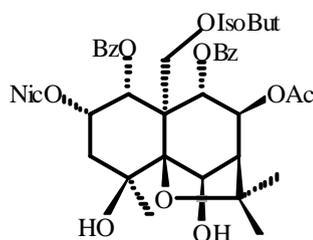
(2H, m); 7.38 (3H, m); 7.78 (1H, d, J=8.2 Hz); 8.39 (1H, d, J=4.5 Hz); 8.90 (1H, s).

RMN ^{13}C (d, CDCl_3): 11.1 (c); 16.1 (c); 19.0 (c); 19.3 (c); 24.3 (c); 26.2 (t); 26.3 (c); 30.2 (c); 34.5 (d); 41.2 (d); 43.2 (t); 51.4 (s); 53.7 (d); 61.9 (t); 67.3 (d); 72.5 (d, s); 73.8 (d); 75.4 (d); 78.7 (d); 84.5 (s); 92.1 (s); 123.1 (d); 124.9 (s); 128.2 (2xd); 129.1 (s); 129.2 (2xd); 133.1 (d); 136.3 (d); 151.0 (d); 153.6 (d); 164.5 (s); 166.8 (s); 175.3 (s); 176.6 (s).

EM m/z (%): 697 ($[\text{M}^+]$, 1); 682 (1); 662 (4); 647 (5); 595 (6); 562 (3); 470 (3); 428 (3); 412 (5); 396 (3); 316 (3); 303 (3); 264 (5); 257 (10); 149 (13); 137 (14); 124 (34); 105 (71); 85 (36); 57 (100).

EM de alta Resolución : Calculado para $\text{C}_{37}\text{H}_{47}\text{NO}_{12}$ 697.30983; observado 697.31335.

PRODUCTO T-26: 8b -Acetoxi-1a ,9a -dibenzoiloxi-15-isobutiroiloxi-2a -nicotinoiloxi-4b , 6b -dihidroxi-dihidro-b -agarofurano.



Se aisló como una laca incolora (1.8 mg).

$[\alpha]_D^{25}$: +59.4° (c 0.18, CHCl_3).

UV I_{max} nm: 264, 227, 209, 201

IR n_{max} cm^{-1} : 3391, 2923, 1736, 1734, 1590, 1288, 1111, 1036, 708.

RMN ^1H (d, CDCl_3): 1.39 (3H, d, J=6.9 Hz); 1.41 (3H, d, J=6.9 Hz); 1.66 (3H, s); 1.78 (3H, s); 1.82 (3H, s); 1.84 (3H, s); 2.30 (2H, m); 2.65 (1H, d, J=3.1 Hz); 2.91 (1H, m); 3.20 (1H, s); 4.85, 5.30 (2H, d_{AB} , J=13.1 Hz); 5.25 (1H, d, J=6.0 Hz); 5.27 (1H, d, J=6.0 Hz); 5.68 (1H, dd, J=3.1, 9.9 Hz); 5.77 (1H, m); 5.94 (1H, d, J=3.5 Hz); 6.19 (1H, d, J=9.9 Hz); 6.86 (2H,

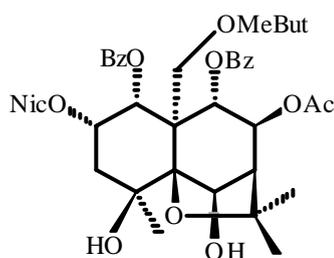
m); 7.09 (2H, m); 7.18 (1H, m); 7.27 (2H, m); 7.36 (1H, dd, J=4.7, 7.9 Hz); 7.46 (3H, m); 8.31 (1H, d, J=7.9 Hz); 8.82 (1H, d, J=4.7 Hz); 9.29 (1H, s).

RMN ^{13}C (d, CDCl_3): 19.1 (2 x c); 20.8 (c); 24.5 (c); 26.3 (c); 30.1 (c); 34.4 (d); 41.3 (t); 50.9 (s); 53.5 (d); 62.2 (t); 69.2 (d); 72.0 (s); 74.1 (d); 74.9 (d); 75.0 (d); 77.2 (d); 84.9 (s); 91.5 (s); 123.7 (d); 125.0 (s); 127.8 (2xd); 128.1 (2xd); 128.3 (s); 128.6 (s); 129.1 (4xd); 137.2 (d); 137.1 (d); 150.9 (d); 154.1 (d); 164.0 (s); 164.8 (s); 165.3 (s); 176.5 (s).

EM m/z (%): 759 ($[\text{M}^+]$, 4); 744 (5); 699 (2); 666 (2); 574 (13); 486 (5); 410 (2); 228 (4); 202 (4); 124 (22); 105 (100); 85 (2); 77 (10); 57 (2).

EM de alta Resolución : Calculado para $\text{C}_{41}\text{H}_{45}\text{NO}_{13}$ 759.28909; observado 759.28578.

PRODUCTO T-27: 8b -Acetoxi-1a ,9a -dibenzoiloxi-15-(2)-metilbutiroiloxi-2a -nicotinoiloxi-4b ,6b -dihidroxi-dihidro-b -agaarofurano.



Se aisló como una laca incolora (17.2 mg).

$[\alpha]_D^{25}$: +59.4° (c 0.17, CHCl_3).

UV I_{max} nm: 264, 227, 211, 202.

IR n_{max} cm^{-1} : 3350, 2890, 2810, 1725, 1715, 1590, 1440, 1265, 1100, 1010, 750, 700.

RMN ^1H (d, CDCl_3): 1.07 (3H, t, J=7.4 Hz); 1.38 (3H, d, J=7.0 Hz); 1.65 (3H, s); 1.77 (3H, s); 1.83 (3H, s); 1.84 (3H, s); 1.94 (2H, m); 2.30 (2H, m); 2.65 (1H, d,

J=3.3 Hz); 2.70 (1H, m); 3.22 (1H, s); 4.79, 5.36 (2H, d_{AB}, J=13.1 Hz); 5.23 (1H, d, J=4.9 Hz); 5.27 (1H, d, J=4.9 Hz); 5.65 (1H, dd, J=3.3, 9.8 Hz); 5.77 (1H, m); 5.94 (1H, d, J=3.7 Hz); 6.19 (1H, d, J=9.8 Hz); 6.86 (2H, m); 7.08 (2H, m); 7.18 (1H, m); 7.31 (3H, m); 7.45 (3H, m); 8.32 (1H, d, J=7.9 Hz); 8.80 (1H, d, J=4.2 Hz); 9.28 (1H, s).

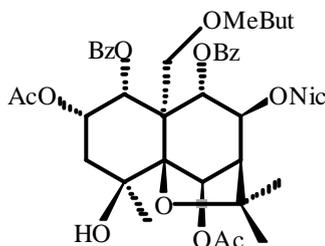
RMN ¹³C (d, CDCl₃): 11.8 (c); 16.7 (c); 20.7 (c); 24.3 (c); 26.2 (t); 26.6 (c); 30.0 (c); 41.2 (t); 41.6 (d); 50.8 (s); 53.5 (d); 62.1 (t); 69.1 (d); 71.9 (s); 74.1 (d); 74.9 (2xd); 77.2 (d); 84.8 (s); 91.4 (s); 123.6 (d); 125.1 (s); 127.7 (2xd); 128.0 (2xd); 128.6 (s); 128.9 (s); 129.0 (4xd); 132.7 (d); 137.1 (d); 150.8 (d); 153.9 (d); 164.1 (s); 164.7 (s); 165.2 (s); 169.8 (s); 176.1 (s).

EM (%): 773 ([M⁺], 9); 758 (8); 713 (3); 698 (3); 680 (3); 588 (13); 486 (5); 410 (3); 228 (6); 202 (7); 124 (34); 105 (100); 85 (12); 57 (22).

EM de alta Resolución :

Calculado para C₄₂H₄₇NO₁₃ 773.30474; observado 773.30553.

PRODUCTO T-28: 2a ,6b -Diacetoxi-1a ,9a ,dibenzoiloxi-15-(2)-metilbutiroiloxi-8b -nicotinoiloxi-4b -hidroxi-dihidro-b -agarofurano.



Se obtuvo como una laca incolora (5.7 mg).

[α]_D²⁵: +38.9° (c 0.28, CHCl₃).

UV I_{max} nm: 264, 227, 211, 201.

IR n_{max} cm⁻¹: 3510, 3425, 2925, 2870, 2800, 1742, 1735, 1710, 1580, 1440, 1355, 1250, 1085, 1032, 750, 705.

RMN ¹H (d, CDCl₃): 1.08 (3H, t, J=7.4 Hz); 1.40 (3H, d, J=7.0 Hz); 1.57 (3H, s); 1.61 (3H, s); 1.78 (3H, s); 1.83 (3H, s); 1.99 (2H, m); 2.17 (3H, s); 2.29 (2H, m); 2.56 (1H, d, J=3.1 Hz); 2.85 (1H, m); 2.86 (1H, s); 4.83, 5.34 (2H, d_{AB}, J=13.1 Hz); 5.75 (1H, m); 5.80 (1H, dd, J=3.4, 9.8 Hz); 6.19 (1H, d,

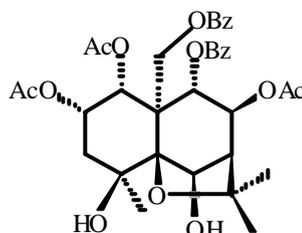
J=9.8 Hz); 6.54 (1H, s); 6.86 (2H, m); 7.09 (4H, m); 7.32 (3H, m); 7.47 (2H, m); 8.32 (1H, m); 8.80 (1H, s); 9.26 (1H, s).

RMN ^{13}C (d, CDCl_3): 11.8 (c); 16.7 (c); 21.4 (c); 21.5 (c); 24.3 (c); 26.2 (t); 26.6 (c); 30.0 (c); 41.3 (t); 41.6 (d); 51.6 (s); 53.5 (d); 62.2 (s); 69.5 (d, s); 73.7 (d); 75.1 (d); 77.2 (d); 84.6 (s); 92.1 (s); 120.2 (s); 123.6 (d); 127.8 (2xd); 128.0 (2xd); 128.7 (s); 128.9 (s); 129.1 (2xd); 129.2 (2xd); 132.7 (d); 132.8 (d); 137.2 (d); 150.9 (d); 154.0 (d); 164.2 (s); 164.8 (s); 165.8 (s); 169.5 (s); 169.7 (s); 176.5 (s).

EM m/z (%): 817 ($[\text{M}^+ + 2]$, 7); 816 (14); 664 (5); 647 (3); 415 (2); 386 (2); 375 (3); 363 (2); 332 (5); 267 (3); 165 (3); 149 (27); 133 (100); 105 (17); 85 (4); 77 (15); 57 (17); 54 (28).

EM de alta Resolución : Calculado para $\text{C}_{44}\text{H}_{51}\text{NO}_{14}$ 817.33096; observado 817.32823.

PRODUCTO T-29: 1a,2a,8b-Triacetoxi-9a,15-dibenzoiloxi-4b,6b-dihidroxi-dihidro-b-agarofurano.



Se aisló como una laca incolora (5.0 mg).

$[\alpha]_D^{25}$: +54.7° (c 0.17, CHCl_3).

UV λ_{max} nm: 274, 230, 202.

IR ν_{max} cm^{-1} : 3352, 2898, 2810, 1741, 1710, 1590, 1440, 1358, 1269, 1224, 1095, 1025, 750, 705.

RMN ^1H (d, CDCl_3): 1.60 (3H, s); 1.63 (3H, s); 1.74 (3H, s); 1.84 (3H, s); 1.88 (3H, s); 2.05 (2H, m); 2.15 (3H, s); 2.67 (1H, d, J=3.4 Hz); 3.15 (1H, s); 4.78, 5.28 (2H, d_{AB} , J=13.4 Hz); 5.20 (1H, d, J=5.1 Hz); 5.22 (1H, d, J=5.1 Hz); 5.43 (1H, m); 5.55 (1H, d, J=3.4 Hz); 5.74 (1H, dd, J=3.4, 9.8 Hz);

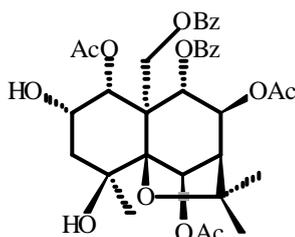
6.11 (1H, d, J=9.8 Hz); 7.31 (2H, m); 7.49 (1H, m); 7.57 (2H, m); 7.65 (2H, m); 7.82 (1H, m); 8.25 (2H, m).

RMN ^{13}C (d, CDCl_3): 20.5 (c); 20.7 (c); 21.1 (c); 24.4 (c); 26.2 (c); 29.9 (c); 41.2 (t); 50.8 (s); 53.4 (d); 62.4 (t); 67.3 (d); 72.1 (s); 74.2 (d); 75.1 (d); 75.3 (d); 76.7 (d); 84.6 (s); 91.4 (s); 128.6 (2xd); 128.9 (2xd); 129.1 (s); 129.3 (s); 129.4 (2xd); 129.7 (2xd); 133.3 (d); 133.6 (d); 165.5 (s); 165.6 (s); 169.4 (s); 169.5 (s); 169.8 (s).

EM m/z (%): 654 ($[\text{M}^+ -14]$, 1); 608 (2); 286 (1); 244 (2); 229 (1); 216 (1), 202 (5); 164 (3); 105 (100); 85 (3); 77 (12); 57 (3).

EM de alta Resolución : Calculado para $\text{C}_{34}\text{H}_{38}\text{O}_{13}$ 654.23124; observado 654.22936.

PRODUCTO T-30: 1a,6b,8b -Triacetoxi-9a,15-dibenzoiloxi-2a,4b -dihidroxi-dihidro-b - agarofurano.



Se obtuvo como una laca incolora (2.2 mg).

$[\alpha]_D^{25}$: +30.0° (c 0.20, CHCl_3).

UV λ_{max} nm: 230, 211, 202.

IR ν_{max} cm^{-1} : 3423, 2926, 1727, 1451, 1370, 1281, 1093, 1042, 712.

RMN ^1H (d, CDCl_3): 1.54 (3H, s); 1.60 (3H, s); 1.66 (3H, s); 1.69 (3H, s); 1.79 (3H, s); 2.11 (3H, s); 2.15 (2H, m); 2.61 (1H, d, J=3.4 Hz); 2.80 (1H, s); 4.15 (1H, m); 5.13, 5.18 (2H, d_{AB} , J=13.6 Hz); 5.47 (1H, d, J=3.0 Hz); 5.78 (1H,

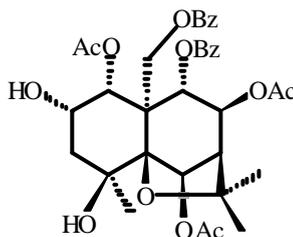
dd, $J=3.4, 9.7$ Hz); 6.06 (1H, d, $J=9.7$ Hz); 6.57 (1H, s); 7.32 (2H, m); 7.49 (2H, m); 7.55 (4H, m); 7.83 (1H, m); 8.36 (1H, m).

RMN ^{13}C (d, CDCl_3): 20.6 (c); 20.9 (c); 21.3 (c); 25.3 (c); 25.6 (c); 29.6 (c); 43.7 (t); 52.0 (d, s); 62.6 (t); 67.3 (d); 69.5 (s); 74.2 (d); 75.7 (d); 76.0 (d); 78.0 (d); 84.0 (s); 92.3 (s); 128.5 (2xd); 128.6 (2xd); 129.2 (s); 129.4 (s); 129.5 (2xd); 129.9 (2xd); 133.3 (d); 133.4 (d); 166.3 (s); 166.8 (s); 169.5 (s); 169.6 (s); 169.8 (s).

EM m/z (%): 653 ($[\text{M}^+ - 15]$, 1); 608 (1); 590 (2); 530 (1); 486 (1); 426 (1); 336 (1); 247 (1); 231 (1); 216 (1); 202 (5); 122 (5); 105 (100); 85 (3); 77 (17); 57 (3).

EM de alta Resolución : Calculado para $\text{C}_{34}\text{H}_{37}\text{O}_{13}$ 653.22342; observado 653.22319.

PRODUCTO T-31: 2a ,6b ,8b -Triacetoxi-9a ,15-dibenzoiloxi-1a ,4b -dihydroxidihidro-b -agarofurano.



Se aisló como una laca incolora (2.0 mg)

$[\alpha]_{\text{D}}^{25}$: +29.0° (c 0.2, CHCl_3).

UV λ_{max} nm: 261, 229, 211, 202.

IR ν_{max} cm^{-1} : 3423, 2926, 1725, 1370, 1281, 1246, 1094, 1037, 711.

RMN ^1H (d, CDCl_3): 1.54 (3H, s); 1.56 (3H, s); 1.73 (3H, s); 1.85 (3H, s); 2.04 (1H, m); 2.11 (3H, s); 2.14 (3H, s); 2.45 (1H, d, $J=3.8$ Hz); 2.64 (1H, d, $J=2.6$ Hz); 2.81 (1H, s); 4.50 (1H, t, $J=4.2$ Hz); 4.98, 5.06 (2H, d_{AB} , $J=13.9$ Hz);

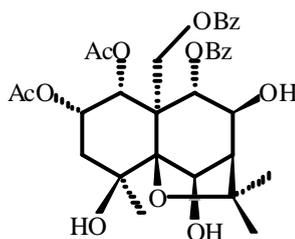
5.22 (1H, m); 5.90 (1H, dd, J=2.6, 7.3 Hz); 6.17 (1H, d, J=7.3 Hz);
6.50 (1H, s); 7.33 (2H, m); 7.55 (4H, m); 7.80 (2H, m); 8.34 (2H, m).

RMN ^{13}C (d, CDCl_3): 20.7 (c); 21.3 (c); 22.7 (c); 25.2 (c); 25.7 (c); 29.7 (c); 42.1 (t); 52.2 (s);
52.5 (d); 61.9 (t); 69.7 (s); 71.6 (d); 73.9 (d); 76.1 (d); 76.5 (d); 77.2
(d); 84.0 (s); 91.9 (s); 128.4 (2xd); 128.7 (2xd); 129.4 (s); 129.6 (s);
129.7 (2xd); 129.9 (2xd); 133.3 (d); 133.4 (d); 166.6 (s); 167.0 (s);
169.5 (s); 169.6 (s); 170.7 (s).

EM m/z (%): 653 ($[\text{M}^+ - 15]$, 1); 590 (1); 548 (1); 530 (3); 488 (1); 426 (1); 304 (1);
262 (1); 244 (3); 202 (4); 164 (6); 122 (5); 105 (100); 77 (16); 57 (3).

EM de alta Resolución : Calculado para $\text{C}_{34}\text{H}_{37}\text{O}_{13}$ 653.22342; observado 653.22388.

PRODUCTO T-32: 1a,2a-Diacetoxi-9a,15-dibenzoiloxi-4b,6b-dihidroxi-dihidro-b - agarofurano.



Se obtuvo como una laca incolora (1.0 mg).

$[\alpha]_D^{25}$: +11.9° (c 0.21, CHCl_3).

UV I_{max} nm: 281, 274, 230, 203.

IR n_{max} cm^{-1} : 3431, 2925, 2853, 1748, 1722, 1602, 1451, 1368, 1282, 1109, 1070,
1045, 758, 712.

RMN ^1H (d, CDCl_3): 1.50 (3H, s); 1.62 (3H, s); 1.76 (3H, s); 1.81 (3H, s); 2.07 (2H, m); 2.12
(3H, s); 2.65 (1H, d, J=3.2 Hz); 3.14 (1H, s); 4.39 (1H, m); 4.99, 5.14

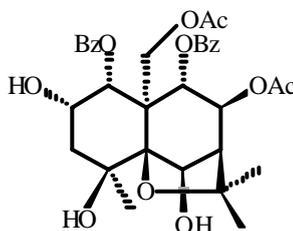
(2H, d_{AB} , $J=13.4$ Hz); 5.18 (1H, m); 5.39 (1H, m); 5.52 (1H, d, $J=3.4$ Hz); 5.93 (1H, d, $J=9.4$ Hz); 7.35 (H, m); 7.50 (H, m); 7.62 (H, m); 7.91 (H, m); 8.06 (H, m).

RMN ^{13}C (d, $CDCl_3$): 20.3 (c); 21.1 (c); 24.2 (c); 26.4 (c); 30.1 (c); 41.3 (t); 50.9 (s); 55.4 (d); 62.3 (t); 67.5 (d); 72.3 (s); 74.7 (d); 75.1 (d); 78.8 (d); 84.6 (s); 91.4 (s); 128.6 (2xd); 128.8 (2xd); 129.2 (2xs); 129.3 (2xd); 129.6 (2xd); 133.4 (d); 133.5 (d); 166.8 (2xs); 169.4 (s); 169.5 (s).

EM m/z (%): 611 ($[M^+ - 15]$, 4); 548 (2); 471 (1); 321 (1); 262 (1); 164 (2); 151 (4); 135 (2); 123 (7); 105 (100); 77 (19); 57 (5).

EM de alta Resolución : Calculado para $C_{32}H_{35}O_{12}$ 611.21285; observado 611.21426.

PRODUCTO T-33: 8b,15-Diacetoxi-1a,9a -dibenzoiloxi-2a,4b,6b -trihidroxi-dihidro-b - agarofurano.



Se aisló como una laca incolora (3.3 mg).

$[a]_D^{25}$: +62.9° (c 0.21, $CHCl_3$).

UV I_{max} nm: 274, 230, 202.

IR n_{max} cm^{-1} : 3450, 2955, 2898, 2440, 1725, 1715, 1700, 1595, 1442, 1355, 1305, 1270, 1250, 1105, 1021, 852, 751, 700.

RMN 1H (d, $CDCl_3$): 1.57 (3H, s); 1.64 (3H, s); 1.75 (3H, s); 1.78 (3H, s); 1.93 (3H, s); 2.15 (2H, m); 2.67 (1H, d, $J=2.9$ Hz); 3.15 (1H, s); 4.29 (1H, m); 5.15, 5.48 (2H, d_{AB} , $J=13.5$ Hz); 5.33 (1H, m); 5.29 (1H, d, $J=5.0$ Hz); 5.36 (1H, d, $J=5.0$ Hz); 5.77 (1H, dd, $J=3.3, 9.8$ Hz); 5.81 (1H, d, $J=3.0$ Hz); 6.21 (1H, d, $J=9.8$ Hz); 6.97 (2H, m); 7.03 (2H, m); 7.31 (1H, m); 7.57 (2H, m); 7.68 (2H, m); 8.27 (1H, m).

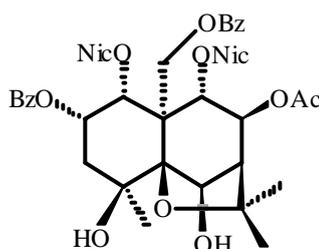
RMN ^{13}C (d, $CDCl_3$): 20.7 (c); 22.7 (c); 24.6 (c); 26.3 (c); 30.1 (c); 43.1 (t); 51.5 (s); 53.6 (d);

62.8 (t); 67.4 (d); 72.6 (s); 74.5 (d); 75.6 (d); 77.3 (d); 78.1 (d); 84.4 (s); 92.2 (s); 128.0 (2xd); 128.9 (2xd); 129.2 (s); 129.3 (2xd); 129.8 (s); 130.3 (2xd); 132.9 (d); 133.5 (d); 161.2 (s); 164.8 (s); 166.7 (s); 170.4 (s).

EM m/z (%): 628 ($[M^+ + 2]$, 4); 561 (6); 545 (4); 475 (12); 446 (1); 413 (1); 361 (2); 316 (8); 287 (16); 213 (13); 198 (26); 161 (7); 141 (13); 122 (6); 105 (100); 94 (24); 77 (16); 57 (13).

EM de alta Resolución : Calculado para $C_{33}H_{40}O_{12}$ 628.25198; observado 628.25284

PRODUCTO T-34: 8b -Acetoxi-2a ,15-dibenzoiloxi-1a ,9a -dinicotinoiloxi-4b ,6b -di-hidroxi-dihidro-b -agarofurano.



Se obtuvo como una laca incolora (21.6 mg).

$[\alpha]_D^{25}$: +60.9° (c 1.83, $CHCl_3$).

UV λ_{max} nm: 264, 225, 209, 202.

IR ν_{max} cm^{-1} : 3387, 2927, 2854, 1735, 1591, 1451, 1272, 1109, 1033, 852, 757, 712.

RMN 1H (d, $CDCl_3$): 1.67 (3H, s); 1.80 (3H, s); 1.85 (3H, s); 1.93 (3H, s); 2.34 (2H, m); 2.70 (1H, d, $J=3.2$ Hz); 3.30 (1H, s); 4.93, 5.70 (2H, d_{AB} , $J=13.2$ Hz); 5.22 (1H, d, $J=5.1$ Hz); 5.25 (1H, d, $J=5.1$ Hz); 5.82 (1H, m); 5.88 (1H, dd, $J=3.2, 9.8$ Hz); 6.03 (1H, d, $J=3.6$ Hz); 6.26 (1H, d, $J=9.8$ Hz); 6.77 (1H, dd, $J=4.8, 8.0$ Hz); 7.03 (2H, m); 7.28 (2H, m); 7.33 (1H, m); 7.51 (1H, dd, $J=4.9, 8.0$ Hz); 7.58 (2H, m); 7.64 (2H, m); 8.31 (2H, m); 2.40 (2H, m); 8.75 (1H, s); 8.85 (1H, d, $J=4.9$ Hz); 9.34 (1H, s).

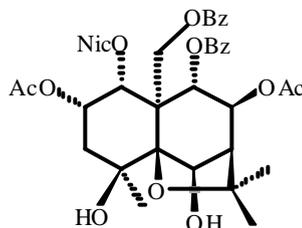
RMN ^{13}C (d, $CDCl_3$): 20.7 (c); 24.8 (c); 26.3 (c); 30.0 (c); 41.2 (t); 51.1 (s); 53.5 (d); 62.6 (t); 69.0 (d); 71.9 (s); 74.0 (d); 75.2 (d); 75.4 (d); 77.1 (d); 84.9 (s); 91.4

(s); 122.5 (d); 123.8 (d); 124.8 (s); 124.9 (s); 128.3 (2xd); 128.4 (s); 128.8 (2xd); 128.9 (2xd); 129.1 (s); 129.9 (2xd); 133.1 (d); 133.7 (d); 136.1 (d); 137.1 (d); 150.4 (d); 150.9 (d); 153.1 (d); 154.1 (d); 163.6 (s); 164.2 (s); 165.3 (s); 166.7 (s); 169.8 (s).

EM m/z (%): 794 (M^+ , 3); 779 (4); 734 (2); 609 (9); 597 (1); 487 (3); 383 (2); 222 (2); 188 (2); 124 (25); 105 (100); 85 (2); 57 (4).

**EM de alta
Resolución :**

**PRODUCTO T-35: 2a,8b -Diacetoxi-9a ,15-dibenzoiloxi-1a -nicotinoiloxi-4b ,6b -di-
hidroxi-dihidro-b -agarofurano.**



Se aisló como una laca incolora (6.8 mg).

$[\alpha]_D^{25}$: +32.0° (c 0.70, $CHCl_3$).

UV λ_{max} nm: 264, 258, 227, 210, 202.

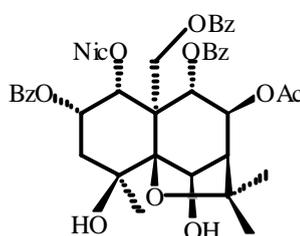
IR ν_{max} cm^{-1} : 3397, 2926, 2854, 1745, 1592, 1451, 1370, 1284, 1108, 1034, 854, 756, 711.

RMN 1H (d, $CDCl_3$): 1.65 (3H, s); 1.77 (3H, s); 1.82 (3H, s); 1.88 (3H, s); 2.15 (3H, s); 2.16 (2H, m); 2.69 (1H, d, $J=3.1$ Hz); 3.21 (1H, s); 4.96, 5.41 (2H, d_{AB} , $J=13.4$ Hz); 5.23 (1H, m); 5.53 (1H, m); 5.81 (1H, dd, $J=3.1, 9.8$ Hz); 5.87 (1H, d, $J=3.4$ Hz); 6.20 (1H, d, $J=9.8$ Hz); 6.86 (1H, dd, $J=4.9, 7.9$ Hz); 7.06 (2H, m); 7.29 (2H, m); 7.36 (1H, m); 7.58 (2H, m); 7.67 (2H, m); 7.75 (1H, d, $J=8.0$ Hz); 8.27 (1H, m); 8.44 (1H, d, $J=4.8$ Hz); 8.78 (1H, s).

RMN ^{13}C (d, $CDCl_3$): 20.7 (c); 21.0 (c); 24.5 (c); 26.3 (c); 30.0 (c); 41.2 (t); 51.2 (s); 53.6 (d); 62.3 (t); 67.6 (d); 72.2 (s); 74.1 (d); 75.3 (d); 75.9 (d); 77.1 (d); 84.9 (s); 91.5 (s); 122.6 (d); 125.1 (d); 128.3 (2xd); 128.6 (s); 129.0 (2xd);

	129.1 (2xd); 129.3 (s); 129.8 (2xd); 133.1 (d); 133.8 (d); 136.2 (d); 150.4 (d); 153.0 (d); 163.5 (s); 165.4 (s); 166.7 (s); 169.3 (s); 169.8 (s).
EM m/z (%) :	731 ($[M^+]$, 1); 716 (2); 671 (5); 546 (8); 424 (1); 124 (18); 106 (21); 105 (100); 85 (2); 77 (14).
EM de alta Resolución :	Calculado para $C_{39}H_{41}NO_{13}$ 731.25779; observado 731.25862.

PRODUCTO T-36: 8b -Acetoxi-2a ,9a ,15-tribenzoiloxi-1a -nicotinoiloxi-4b ,6b -dihidroxi-dihidro-b -agarofurano.



Se obtuvo como una laca incolora (3.5 mg).

[α]_D²⁵: +57.0° (c 0.27, $CHCl_3$).

UV I_{max} nm: 266, 229, 210, 202.

IR n_{max} cm⁻¹: 3410, 2957, 2430, 2850, 1755, 1748, 1718, 1451, 1260, 1115, 1036, 753, 710.

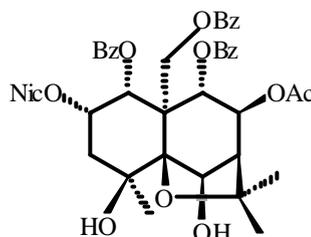
RMN ¹H (d, $CDCl_3$): 1.67 (3H, s); 1.80 (3H, s); 1.84 (3H, s); 1.94 (3H, s); 2.32 (2H, m); 2.69 (1H, d, J=3.3 Hz); 3.22 (1H, s); 4.96, 5.72 (2H, d_{AB}, J=13.3 Hz); 5.24 (1H, s); 5.79 (1H, m); 5.86 (1H, dd, J=3.3, 9.8 Hz); 6.01 (1H, d, J=3.7 Hz); 6.26 (1H, d, J=9.8 Hz); 6.74 (1H, m); 7.02 (2H, m); 7.28 (2H, m); 7.59 (5H, m); 8.11 (1H, m); 8.29 (1H, m); 8.39 (1H, m); 8.76 (1H, s).

RMN ¹³C (d, $CDCl_3$): 20.6 (c); 24.6 (c); 26.2 (c); 29.6 (c); 41.3 (t); 51.1 (s); 53.5 (d); 62.6 (t); 68.3 (d); 72.0 (s); 74.0 (d); 75.3 (d); 75.6 (d); 76.9 (d); 84.8 (s); 91.5 (s); 122.3 (d); 125.0 (d); 128.2 (2xd); 128.5 (s); 128.8 (4xd, s); 129.0 (2xd); 129.2 (s); 129.7 (2xd); 129.8 (2xd); 132.9 (d); 133.6 (2xd); 136.1 (d); 150.4 (d); 154.5 (d); 164.4 (s); 165.4 (2xs); 166.5 (s); 169.7 (s).

EM m/z (%): 778 ($[M^+ -15]$, 1); 733 (1); 700 (1); 608 (3); 228 (4); 202 (3); 124 (9);

105 (100); 85 (2); 77 (11); 57 (7).

PRODUCTO T-37: 8b -Acetoxi-1a ,9a ,15-tribenzoiloxi-2a -nicotinoiloxi-4b ,6b -dihidroxi-dihidro-b -agarofurano.



Se aisló como una laca incolora (6.2 mg).

$[\alpha]_D^{25}$: +59.9° (c 0.76, CHCl₃).

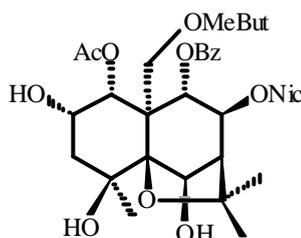
UV I_{max} nm: 265, 255, 228, 209, 202.

IR n_{max} cm⁻¹: 3404, 2925, 2852, 1737, 1719, 1451, 1291, 1263, 1115, 1036, 758, 708.

RMN ¹H (d, CDCl₃): 1.67 (3H, s); 1.80 (3H, s); 1.84 (3H, s); 1.91 (3H, s); 2.15 (2H, m); 2.68 (1H, d, J=3.2 Hz); 3.24 (1H, s); 4.99, 5.72 (2H, d_{AB}, J=13.2 Hz); 5.23 (2H, m); 5.82 (1H, m); 5.86 (1H, dd, J=3.2, 9.8 Hz); 6.00 (1H, d, J=3.6 Hz); 6.25 (1H, d, J=9.8 Hz); 6.87 (2H, m); 6.98 (2H, d); 7.23 (6H, m); 7.48 (2H, m); 7.58 (1H, m); 7.67 (1H, d, J=7.1 Hz); 8.31 (2H, m); 8.38 (1H, dd, J=3.4, 7.1 Hz); 8.84 (1H, d, J=3.4 Hz); 9.36 (1H, s).

RMN ¹³C (d, CDCl₃): 20.6 (c); 24.7 (c); 26.3 (c); 29.6 (c); 41.2 (t); 51.1 (s); 53.6 (d); 62.8 (t); 69.2 (d); 72.0 (s); 74.1 (d); 74.8 (d); 75.1 (d); 77.5 (d); 84.8 (s); 91.4 (s); 123.6 (d); 125.1 (s); 127.8 (2xd); 127.9 (2xd); 128.5 (s); 128.6 (s); 128.8 (2xd); 129.0 (4xd); 129.2 (s); 129.9 (2xd); 132.6 (d); 132.7 (d); 133.6 (d); 137.1 (d); 150.9 (d); 154.0 (d); 164.1 (s); 164.7 (s); 165.2 (s); 166.8 (s); 169.8 (s).

PRODUCTO T-38: 1a -Acetoxi-9a -benzoiloxi-15-(2)-metilbutiroiloxi-8b -nicotinoiloxi- a ,4b ,6b -trihidroxi-dihidro-b -agarofurano. 2



Se obtuvo como una laca incolora (2.0 mg).

$[\alpha]_D^{25}$: +60.5° (c 0.2, CHCl₃).

UV I_{max} nm: 263, 224, 212, 202.

IR n_{max} cm⁻¹: 3397, 2976, 2925, 2853, 1731, 1370, 1292, 1111, 1027, 862, 713.

RMN ¹H (d, CDCl₃): 1.00 (3H, t, J=7.2 Hz); 1.33 (3H, d, J=7.0 Hz); 1.60 (3H, s); 1.61 (3H, s); 1.79 (3H, s); 1.84 (3H, s); 1.86 (2H, m); 2.07 (2H, m); 2.64 (1H, m); 2.80 (1H, d, J=3.3 Hz); 3.07 (1H, s); 4.17 (1H, m); 4.83, 5.07 (2H, d_{AB}, J=13.5 Hz); 5.33 (1H, d, 4.9 Hz); 5.37 (1H, d, J=4.9 Hz); 5.52 (1H, d, J=3.0 Hz); 5.73 (1H, dd, J=3.3, 9.8 Hz); 6.27 (1H, d, J=9.8 Hz); 7.33 (1H, dd, J=3.8, 7.9 Hz); 7.35 (2H, m); 7.49 (1H, m); 7.84 (2H, m); 8.16 (1H, d, J=7.9 Hz); 8.72 (1H, d, J=3.8 Hz); 9.09 (1H, s).

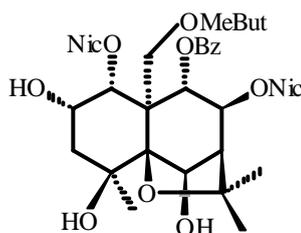
RMN ¹³C (d, CDCl₃): 17.0 (c); 20.8 (c); 24.4 (c); 26.5 (t); 26.7 (c); 29.7 (c); 30.1 (c); 41.7 (d); 43.1 (t); 50.9 (s); 53.5 (d); 62.0 (t); 67.2 (d); 72.5 (s); 75.3 (d); 75.9 (d); 77.2 (d); 78.0 (d); 84.2 (s); 92.1 (s); 123.3 (d); 125.4 (s); 128.6 (2xd); 129.1 (s); 129.5 (2xd); 133.5 (d); 137.0 (d); 151.1 (d); 153.6 (d); 164.1 (s); 165.9 (s); 169.6 (s); 176.1 (s).

EM m/z (%): 669 ([M⁺], 2); 654 (2); 609 (2); 244 (3); 228 (2); 216 (2); 202 (6); 124 (44); 105 (100); 94 (11); 85 (11); 77 (14); 57 (33).

EM de alta
Resolución :

Calculado para C₃₅H₄₃NO₁₂ 669.27853; observado 669.28491.

PRODUCTO T-39: 9a -Benzoiloxi-15-(2)-metilbutiroiloxi-1a ,8b -dnicotinoiloxi-2a ,4b , 6 b -trihidroxi-dihidro-b -agarofurano.



Se aisló como una laca incolora (2.11 mg).

$[\alpha]_D^{25}$: +28.4° (c 0.19, CHCl₃).

UV I_{max} nm: 264, 222, 210, 203.

IR n_{max} cm⁻¹: 3372, 2924, 2852, 1739, 1732, 1592, 1451, 1295, 1110, 1027, 761, 712.

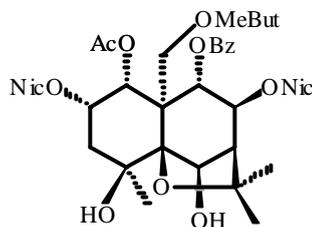
RMN ¹H (d, CDCl₃): 1.04 (3H, t, J=7.4 Hz); 1.37 (3H, d, J=6.9 Hz); 1.64 (3H, s); 1.82 (3H, s); 1.89 (3H, s); 1.96 (2H, m); 2.18 (2H, m); 2.69 (1H, m); 2.82 (1H, d, J=3.1 Hz); 3.11 (1H, s); 4.26 (1H, m); 4.98, 5.22 (2H, d_{AB}, J=13.6 Hz); 5.37 (1H, d, J=3.8 Hz); 5.38 (1H, d, J=3.8 Hz); 5.76 (1H, dd, J=3.1, 9.9 Hz); 5.84 (1H, d, J=3.2 Hz); 6.37 (1H, d, J=9.9 Hz); 6.92 (1H, dd, J=4.9, 8.0 Hz); 7.10 (2H, m); 7.26 (2H, m); 7.35 (2H, m); 7.83 (1H, d, J=8.0 Hz); 8.08 (1H, d, J=7.9 Hz); 8.41 (1H, d, J=4.9 Hz); 8.69 (1H, d, J=5.0 Hz); 8.90 (1H, s); 9.03 (1H, s).

RMN ¹³C (d, CDCl₃): 11.7 (c); 16.9 (c); 24.4 (c); 26.5 (c); 26.7 (t); 31.9 (c); 41.7 (d); 43.4 (t); 51.3 (s); 53.5 (d); 62.0 (t); 67.4 (d); 72.5 (s); 75.2 (d); 75.8 (d); 77.2 (d); 78.6 (d); 84.4 (s); 92.1 (s); 123.4 (d); 123.7 (d); 125.0 (s); 125.2 (s); 128.3 (2x d); 128.6 (s); 129.2 (2xd); 133.2 (d); 136.2 (d); 136.3 (d); 136.9 (d); 150.6 (d); 151.0 (d); 153.1 (d); 153.6 (d); 163.9 (s); 164.1 (s); 165 (s); 176.0 (s).

EM m/z (%): 732 ([M⁺], 1); 717 (1); 631 (1); 609 (2); 571 (7); 444 (4); 315 (1); 300 (1); 286 (9); 272 (3); 256 (7); 228 (2); 202 (3); 142 (15); 124 (47); 105 (100); 91 (32); 85 (9); 77 (23); 57 (62).

EM de alta Resolución: Calculado para C₃₉H₄₄N₂O₁₂ 732.28943; observado 732.27960.

PRODUCTO T-40: **1a** -Acetoxi-9a -benzoiloxi-15-(2)-metilbutiroiloxi-2a ,8b -dinicotinoiloxi-4b ,6b -dihidroxi-dihidro-b -agarofurano.



Se obtuvo como una laca incolora (4.5 mg).

[a]_D²⁵: +70.0° (c 0.49, CHCl₃).

UV I_{max} nm: 264, 223, 219, 204.

IR n_{max} cm⁻¹: 3376, 2926, 2854, 1730, 1591, 1368, 1280, 1108, 1025, 741, 712.

RMN ¹H (d, CDCl₃): 1.06 (3H, t, J=7.4 Hz); 1.37 (3H, d, J=7.0 Hz); 1.52 (3H, s); 1.65 (3H, s); 1.84 (3H, s); 1.86 (3H, s); 1.91 (2H, m); 2.24 (2H, m); 2.70 (1H, m); 2.84 (1H, d, J=3.2 Hz); 3.19 (1H, s); 4.65, 5.27 (2H, d_{AB}, J=13.2 Hz); 5.25 (1H, d, J=5.2 Hz); 5.39 (1H, d, J=5.2 Hz); 5.71 (2H, s ancho), 5.82 (1H, dd, J=3.2, 9.8 Hz); 6.32 (1H, d, J=9.8 Hz); 7.31 (2H, m); 7.51 (3H, m); 7.80 (2H, m); 8.15 (1H, d, J=8.0 Hz); 8.39 (1H, d, J=8.0 Hz); 8.73 (1H, d, J=4.8); 8.84 (1H, d, J=5.0 Hz); 9.11 (1H, s); 9.34 (1H, s).

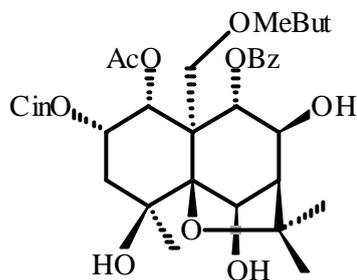
RMN ¹³C (d, CDCl₃): 11.7 (c); 16.8 (c); 20.3 (c); 24.3 (c); 26.4 (c); 26.7 (t); 30.0 (c); 41.3 (t); 41.6 (d); 50.5 (s); 53.4 (d); 61.9 (t); 68.7 (d); 71.9 (s); 74.7 (d); 74.8 (d); 75.6 (d); 76.9 (d); 84.6 (s); 91.4 (s); 123.3 (d); 123.7 (d); 125.1 (s); 125.2 (s); 128.6 (2xd); 128.9 (s); 129.4 (2xd); 133.5 (d); 137.0 (d); 137.2 (d); 151.0 (2xd); 153.6 (d); 154.0 (d); 164.0 (s); 164.3 (s); 165.7 (s); 169.5 (s); 176.0 (s).

EM m/z (%): 774 ([M⁺], 5); 759 (4); 741 (1); 715 (1); 673 (2); 618 (2); 526 (7); 424 (3); 348 (3); 228 (3); 188 (3); 149 (16); 124 (55); 105 (100); 85 (23); 57 (37).

EM de alta Resolución :

Calculado para C₄₁H₄₆N₂O₁₃ 774.29999, observado 774.29417.

**PRODUCTO T-41: 1a -Acetoxi-9a -benzoiloxi-2a -cinamoiloxi-15-(2)-metilbutiroiloxi-
b ,6b ,8b -trihidroxi-dihidro-b -agarofurano.**



Se aisló como una laca incolora (5.5 mg).

$[\alpha]_D^{25}$: +73.3° (c 0.24, CHCl₃).

UV I_{max} nm: 280, 248, 224, 212, 202.

IR n_{max} cm⁻¹: 3435, 2925, 2854, 1728, 1634, 1451, 1367, 1277, 1141, 1045, 766, 711.

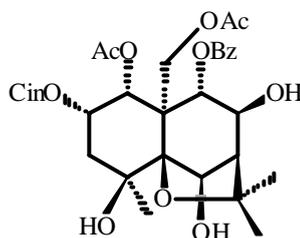
RMN ¹H (d, CDCl₃): 1.01 (3H, t, J=7.4 Hz); 1.30 (3H, d, J=7.0 Hz); 1.49 (3H, s); 1.65 (3H, s); 1.79 (3H, s); 1.80 (3H, s); 1.82 (2H, m); 2.14 (2H, m); 2.58 (1H, m); 2.63 (1H, d, J=3.3 Hz); 3.15 (1H, s); 4.36 (1H, m); 4.68, 5.20 (2H, d_{AB}, J=13.4 Hz); 5.07 (1H, d, J=5.1 Hz); 5.22 (1H, d, J=5.1 Hz); 5.52 (1H, m); 5.57 (1H, d, J=3.6 Hz); 5.93 (1H, d, 9.4 Hz); 6.46 (1H, d, J=16.1 Hz); 7.44 (4H, m); 7.54 (2H, m); 7.66 (2H, m); 7.79 (1H, d, J=16.1 Hz); 7.97 (2H, m).

RMN ¹³C (d, CDCl₃): 11.6 (c); 16.9 (c); 20.3 (c); 24.1 (c); 26.4 (c); 26.6 (t); 30.1 (c); 41.3 (d); 41.5 (t); 50.7 (s); 55.4 (d); 61.9 (t); 67.6 (d); 72.1 (s); 74.9 (d); 75.0 (d); 76.9 (d); 78.8 (d); 84.5 (s); 91.4 (s); 117.0 (d); 128.4 (2xd); 128.6 (2xd); 128.8 (2xd); 129.2 (s); 129.6 (2xd); 129.8 (s); 130.5 (d); 133.5 (d); 145.9 (d); 165.5 (s); 166.9 (s); 169.5 (s); 175.8 (s).

EM m/z (%): 679 ([M⁺ -15], 7); 661 (1); 546 (2); 528 (6); 453 (2); 428 (3); 385 (3); 307 (3); 262 (4); 244 (5); 202 (15); 149 (38); 131 (98); 124 (4); 105 (100); 85 (20); 57 (72).

EM de alta Resolución : Calculado para C₃₇H₄₃O₁₂ 679.27545; observado 679.27463.

PRODUCTO T-42: 1a,15-Diacetoxi-9a -benzoiloxi-2a -cinamoiloxi-4b ,6b ,8b -trihidroxi-dihidro-b -agarofurano.



Se obtuvo como una laca incolora (1.0 mg).

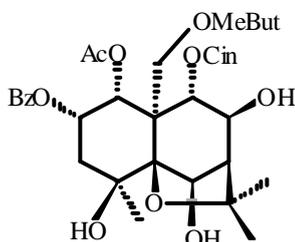
$[\alpha]_D^{25}$: +70.0° (c 0.03, CHCl₃).

UV I_{max} nm: 279, 248, 223, 218, 202.

IR n_{max} cm⁻¹: 3418, 2961, 2925, 2854, 1739, 1635, 1460, 1376, 1261, 1098, 1048, 801,711.

RMN ¹H (d, CDCl₃): 1.49 (3H, s); 1.65 (3H, s); 1.79 (3H, s); 1.82 (3H, s); 2.14 (2H, m); 2.28 (3H, s); 2.63 (1H, d, J=3.3 Hz); 3.17 (1H, s); 4.36 (1H, m); 4.78, 5.06 (2H, d_{AB}, J=13.3 Hz); 5.05 (1H; d, J=5.0 Hz); 5.26 (1H, d, J=5.0 Hz); 5.52 (1H, m); 5.55 (1H, d, J=3.5 Hz); 5.94 (1H, d, J=9.4 Hz); 6.44 (1H, d, J=15.9 Hz); 7.44 (4H, m); 7.62 (4H, m); 7.67 (1H, d, J=15.9 Hz); 7.95 (2H, m).

PRODUCTO T-43: 1a -Acetoxi-2a -benzoiloxi-9a -cinamoiloxi-15-(2)-metilbutiroiloxi-4b , 6b ,8b -trihidroxi-dihidro-b -agarofurano.



Se aisló como una laca incolora (2.0 mg).

$[\alpha]_D^{25}$: +5.3° (c 0.17, CHCl₃).

UV I_{max} nm: 275, 249, 224, 213, 203.

IR n_{max} cm⁻¹: 3423, 2967, 2926, 2854, 1728, 1451, 1366, 1277, 1140, 1045, 711.

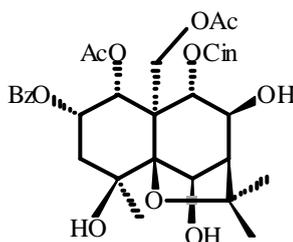
RMN ^1H (d, CDCl_3): 0.99 (3H, t, $J=7.4$ Hz); 1.28 (3H, d, $J=7.0$ Hz); 1.49 (3H, s); 1.58 (3H, s); 1.65 (3H, s); 1.77 (3H, s); 1.80 (2H, m); 2.04 (2H, m); 2.57 (1H, m); 2.61 (1H, d, $J=3.1$ Hz); 3.11 (1H, s); 3.68 (1H, s); 4.29 (1H, m); 4.65, 4.94 (2H, d_{AB} , $J=13.5$ Hz); 5.09 (1H, d, $J=5.1$ Hz); 5.15 (1H, d, $J=5.1$ Hz); 5.40 (1H, m); 5.48 (1H, d, $J=3.5$ Hz); 5.85 (1H, d, $J=9.4$ Hz); 5.99 (1H, d, $J=12.6$ Hz); 7.01 (1H, d, $J=12.6$ Hz); 7.31 (2H, m); 7.44 (3H, m); 7.57 (3H, m); 7.96 (2H, m).

RMN ^{13}C (d, CDCl_3): 11.6 (c); 16.9 (c); 20.3 (c); 23.7 (c); 26.4 (t); 26.5 (c); 30.1 (c); 41.1 (d); 41.4 (t); 50.7 (s); 55.3 (d); 61.7 (t); 67.2 (d); 72.0 (s); 74.8 (d); 75.1 (d); 76.9 (d); 78.9 (d); 84.5 (s); 91.4 (s); 118.5 (d); 128.0 (2xd); 128.4 (s); 128.6 (2xd); 128.8 (s); 129.3 (d); 129.6 (2xd); 129.8 (2xd); 135.5 (d); 144.9 (d); 164.0 (s); 166.9 (s); 169.5 (s); 175.9 (s).

EM m/z (%): 679 ($[\text{M}^+ -15]$, 7); 661 (2); 559 (1); 528 (6); 453 (2); 406 (3); 351 (2); 262 (3); 244 (5); 202 (11); 164 (5); 131 (100); 122 (5); 105 (90); 85 (14); 57 (29).

EM de alta Resolución : Calculado para $\text{C}_{37}\text{H}_{43}\text{O}_{12}$ 679.27545; observado 679.27484.

PRODUCTO T-44: **1a,15-Diacetoxi-2a -benzoiloxi-9a -cinamoiloxi-4b ,6b ,8b -trihidroxi-dihidro-b -agarofurano.**



Se obtuvo como una laca incolora (1.0 mg).

$[\alpha]_{\text{D}}^{25}$: -18.0° (c 0.05, CHCl_3).

UV I_{max} nm: 274, 250, 224, 213, 202.

IR n_{max} cm^{-1} : 3412, 2925, 2853, 1732, 1369, 1278, 1226, 1140, 1048, 758, 713.

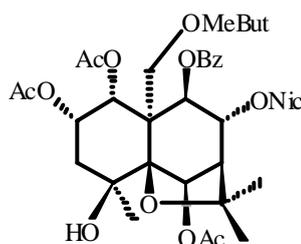
RMN ^1H (d, CDCl_3): 1.40 (3H, s); 1.54 (3H, s); 1.60 (3H, s); 1.61 (3H, s); 1.74 (3H, s); 2.03 (2H, m); 2.57 (1H, d, $J=3.3$ Hz); 3.12 (1H, s); 4.26 (1H, m); 4.76, 4.80

(2H, d_{AB} , $J=13.5$ Hz); 5.00 (1H, d, $J=5.1$ Hz); 5.16 (1H, d, $J=5.1$ Hz); 5.39 (1H, m); 5.46 (1H, d, $J=3.5$ Hz); 5.86 (1H, d, $J=9.4$ Hz); 5.96 (1H, d, $J=12.6$ Hz); 6.99 (1H, d, $J=12.6$ Hz); 7.28 (4H, m); 7.45 (2H, m); 7.53 (2H, m); 7.93 (2H, m).

EM m/z (%): 652 ($[M^{+*}$, 3); 7637 (4); 486 (2); 471 (3); 411 (3); 364 (3); 349 (1); 322 (3); 262 (2); 244 (4); 229(3); 202 (14); 164 (5); 151 (6); 131 (100); 122(3); 105 (74); 85 (4); 77 (13); 57 (11).

EM de alta Resolución : Calculado para $C_{35}H_{40}O_{12}$ 652.25128, observado 652.25584.

PRODUCTO T-45: 1a,2a,6b -Triacetoxi-9b -benzoiloxi-15-(2)-metilbutiroiloxi-8a -nicotinoiloxi-4b -hidroxi-dihidro-b -agarofurano.



Se aisló como una laca incolora (20.2 mg).

$[\alpha]_D^{25}$: -33.1° (c 0.54, $CHCl_3$).

UV λ_{max} nm: 264, 229, 210, 202.

IR ν_{max} cm^{-1} : 3525, 2890, 2810, 1741, 1728, 1715, 1580, 1360, 1255, 1220, 1100, 1020, 750, 700.

RMN- 1H (d, C_6D_6) 0.80 (3H, t, $J=7.4$ Hz); 1.24 (3H, d, $J=7.0$ Hz); 1.35 (3H, s); 1.53 (3H, s); 1.56 (6H, s); 1.67 (3H, s); 1.72 (2H, m); 1.86 (1H, dd, $J=3.1, 12.2$ Hz); 1.91 (3H, s); 2.13 (1H, dd, $J=3.1, 12.2$ Hz); 2.37 (1H, d, $J=3.0$ Hz); 2.53 (1H, m); 2.60 (1H, s); 5.15, 5.34 (2H, d_{AB} , $J=12.7$ Hz); 5.87 (1H, d, $J=3.0$ Hz); 5.92 (1H, m); 5.99 (1H, d, $J=3.6$ Hz); 6.37 (1H, s); 6.60 (1H, s); 6.77 (1H, dd, $J=4.9, 8.0$ Hz); 7.15 (3H, m); 8.27 (2H, m); 8.42 (1H, m); 8.53 (1H, d, $J=4.9$ Hz); 9.86 (1H, s).

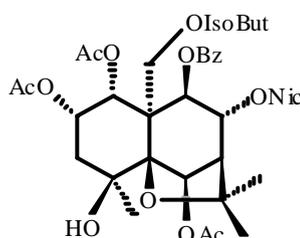
RMN- ^{13}C (d, C_6D_6): 11.3 (c); 16.5 (c); 20.1 (c); 20.5 (2 x c); 24.4 (c); 25.1 (c); 26.6 (t); 29.1 (c); 41.2 (d); 42.1 (t); 53.3 (d); 54.8 (s); 65.1 (t); 68.0 (d); 69.9 (s); 71.0

(d); 71.3 (d); 75.8 (d); 77.3 (d); 83.2 (s); 91.6 (s); 123.0 (d); 125.9 (s); 128.4 (2xd); 129.1 (s); 130.4 (2xd); 133.4 (d); 136.9 (d); 151.6 (d); 153.8 (d); 163.9 (s); 164.4 (s); 169.0 (2xs); 169.1 (s); 175.7 (s).

EM m/z (%): 753 ($[M^+]$, 17); 738 (1); 711 (3); 694 (8); 651 (2); 630 (2); 588 (2); 553 (2); 446 (2); 349 (2); 244 (3); 216 (5); 164 (4); 124 (44); 105 (100); 85 (9); 57 (3).

EM de alta Resolución : Calculado para $C_{39}H_{47}NO_{14}$ 753.29966; observado 753.30135.

PRODUCTO T-46: 1a,2a,6b-Triacetoxi-9b-benzoiloxi-15-isobutiroiloxi-8a-nicotinoiloxi-4b-hidroxi-dihidro-b-agarofurano.



Se obtuvo como una laca incolora (2.7 mg).

$[\alpha]_D^{25}$: -30.8° (c 0.25, $CHCl_3$).

UV λ_{max} nm: 634, 229, 210, 201.

IR ν_{max} cm^{-1} : 3405, 2890, 2800, 1725, 1715, 1710, 1580, 1355, 1255, 1220, 1100, 1010, 705.

RMN 1H (d, $CDCl_3$): 1.03 (3H, d, $J=7.0$ Hz); 1.14 (3H, d, $J=7.0$ Hz); 1.50 (3H, s); 1.60 (3H, s); 1.63 (3H, s); 1.74 (3H, s); 2.00 (1H, dd, $J=3.1, 12.2$ Hz); 2.05 (1H, m); 2.10 (3H, s); 2.13 (3H, s); 2.26 (1H, dd, $J=3.1, 12.2$ Hz); 2.57 (1H, d, $J=3.4$ Hz); 2.76 (1H, s); 4.86, 5.03 (2H, d_{AB} , $J=12.0$ Hz); 5.60 (3H, m); 5.93 (1H, s); 6.44 (1H, s); 7.45 (3H, m); 7.62 (1H, m); 8.05 (2H, m); 8.43 (1H, d, $J=8.1$ Hz); 8.83 (1H, d, $J=4.9$ Hz); 9.38 (1H, s).

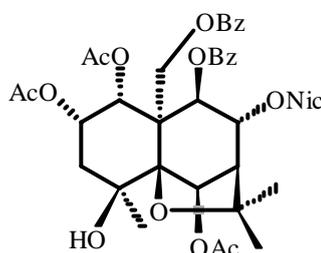
RMN ^{13}C (d, $CDCl_3$): 18.8 (c); 18.9 (c); 20.3 (c); 21.0 (c); 21.4 (c); 24.3 (c); 25.7 (c); 29.3 (c); 34.0 (d); 42.0 (t); 53.4 (s); 54.5 (d); 65.2 (t); 67.9 (d); 70.0 (s); 70.8 (d); 71.2 (d); 75.7 (d); 77.2 (d); 83.4 (s); 91.4 (s); 122.0 (d); 122.3 (s); 128.5 (2xd); 129.0 (s); 130.2 (2xd); 133.8 (d); 137.2 (d); 151.3 (d);

153.8 (d); 164.0 (s); 164.3 (s); 169.7 (2xs); 176.7 (s).

EM m/z (%): 738 ($[M^+ - 1]$, 4); 724 (1); 697 (2); 680 (2); 637 (1); 619 (2); 602 (1); 556 (1); 336 (1); 202 (13); 166 (6); 124 (49); 105 (100); 94 (14); 85 (4); 77 (9); 57 (11).

EM de alta Resolución : Calculado para $C_{38}H_{44}NO_{14}$ 738.27618; observado 738.28258.

PRODUCTO T-47: **1a ,2a ,6b -Triacetoxi-9b ,15-dibenzoiloxi-4b -hidroxi-dihidro-b -agarofurano.**



Se aisló como una laca incolora (1.2 mg).

$[\alpha]_D^{25}$: +6.4° (c 0.14, $CHCl_3$).

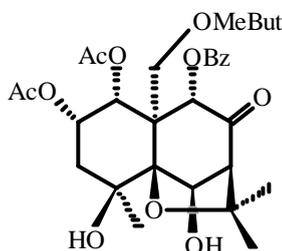
UV λ_{max} nm: 264, 230, 212, 202.

IR ν_{max} cm^{-1} : 3490, 3480, 2855, 2800, 1725, 1710, 1585, 1445, 1655, 1260, 1215, 1100, 1015, 850, 750, 705.

RMN 1H (d, $CDCl_3$): 1.40 (3H, s); 1.58 (3H, s); 1.65 (3H, s); 1.76 (3H, s); 2.05 (3H, s); 2.09 (1H, dd, $J=3.6, 10.7$ Hz); 2.16 (3H, s); 2.17 (1H, dd, $J=3.6, 10.7$ Hz); 2.63 (3H, m); 2.67 (1H, d, $J=3.0$ Hz); 2.80 (1H, s); 4.89, 5.61 (2H, d_{AB} , $J=12.5$ Hz); 6.15 (1H, s); 6.37 (1H, s); 7.28 (2H, m); 7.34 (2H, m); 7.47 (3H, m); 8.08 (4H, m); 8.25 (1H, d, $J=8.0$ Hz); 8.72 (1H, d, $J=4.9$ Hz); 9.23 (1H, s).

RMN ^{13}C (d, $CDCl_3$): 20.3 (c); 21.2 (c); 21.4 (c); 24.6 (c); 25.7 (c); 29.3 (c); 42.1 (t); 53.1 (s); 54.6 (d); 65.6 (t); 68.1 (d); 70.0 (s, d); 71.0 (d); 75.8 (d); 77.6 (d); 84.6 (s); 91.4 (s); 123.0 (d); 126.8 (s); 128.4 (2xd); 128.5 (2xd); 129.1 (s); 129.9 (2xd, s); 130.0 (2xd); 133.3 (d); 134.0 (d); 137.1 (d); 151.2 (d); 155.0 (d); 164.5 (2xs); 166.4 (2xs); 169.0 (2xs); 169.5 (s).

PRODUCTO T-48: 1a ,2a -Diacetoxi-9a -benzoiloxi-15-(2)-metilbutiroiloxi-8-oxo-4b ,6b -dihidroxi-dihidro-b -agarofurano.



Se obtuvo como una laca incolora (5.2 mg).

[α]_D²⁵: +7.7° (c 0.22, CHCl₃).

UV I_{max} nm: 282, 274, 231, 212, 202.

IR n_{max} cm⁻¹: 3412, 2960, 2923, 2851, 1756, 1366, 1277, 1238, 1141, 1026, 710.

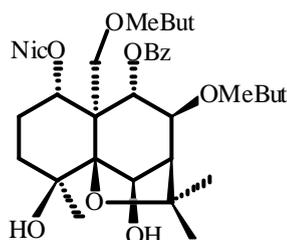
RMN ¹H (d, CDCl₃): 0.90 (3H, t, J=7.4 Hz); 1.16 (3H, d, J=7.1 Hz); 1.32 (2H, m); 1.54 (3H, s); 1.67 (3H, s); 1.73 (3H, s); 1.88 (3H, s); 2.20 (3H, s); 2.36 (1H, m); 3.15 (1H, s); 3.20 (1H, s); 4.73, 4.90 (2H, d_{AB}, J=13.2 Hz); 5.26 (1H, d, J=5.2 Hz); 5.34 (1H, d, J=5.2 Hz); 5.41 (1H, m); 5.62 (1H, d, J=3.4 Hz); 5.95 (1H, s); 7.47 (2H, m); 7.61 (1H, m); 8.00 (2H, m).

RMN ¹³C (d, CDCl₃): 11.3 (c); 16.2 (c); 20.1 (c); 21.0 (c); 25.1 (c); 25.7 (t); 29.6 (c); 40.8 (d); 41.0 (t); 51.5 (s); 61.4 (t); 66.3 (d); 67.6 (d); 72.1 (s); 74.3 (d); 76.1 (d); 79.3 (d); 84.0 (s); 92.4 (s); 128.4 (2xd) 128.6 (s); 129.7 (2xd); 133.4 (d); 165.0 (s); 169.2 (s); 169.3 (s); 175.9 (s); 198.3 (s).

EM m/z (%): 604 ([M⁺], 3); 504 (4); 414 (4); 400 (3); 386 (4); 372 (3); 352 (4); 301 (3); 287 (3); 279 (13); 218 (25); 167 (13); 149 (93); 123 (13); 105 (100); 97 (29); 85 (24); 57 (74).

EM de alta Resolución : Calculado para C₃₁H₄₀O₁₂ 604.25198; observado 604.25005.

PRODUCTO T-49: 9a -Benzoiloxi-8b ,15-di-(2)-metilbutiroiloxi-1a -nicotinoiloxi-4b ,6b -dihidroxi-dihidro-b -agarofurano.



Se aisló como una laca incolora (1.0 mg).

$[\alpha]_D^{25}$: +15.8° (c 0.12, CHCl₃).

UV I_{max} nm: 264, 223, 212, 202.

IR n_{max} cm⁻¹: 3355, 2855, 2800, 1725, 1715, 1710, 1582, 1450, 1440, 1340, 1270, 1172, 1100, 1015, 750, 705.

RMN ¹H (d, CDCl₃): 0.52 (3H, t, J=7.4 Hz); 0.88 (3H, d, J=6.9 Hz); 1.05 (3H, t, J=7.4 Hz); 1.31 (2H, m); 1.36 (3H, d, J=6.9 Hz); 1.62 (3H, s); 1.67 (3H, s); 1.74 (3H, s); 1.91 (2H, m); 2.60 (1H, d, J=3.0 Hz); 2.68 (1H, m); 3.09 (1H, s); 4.63, 4.94 (2H, d_{AB}, J=13.0 Hz); 5.24 (1H, d, J=5.1 Hz); 5.36 (1H, d, J=5.1 Hz); 5.52 (1H, dd, J=3.2, 10.0 Hz); 5.72 (1H, dd, J=4.1, 8.1 Hz); 6.19 (1H, d, J=10.0 Hz); 6.77 (1H, dd, J=4.9, 7.9 Hz); 7.17 (2H, m); 7.40 (3H, m); 7.46 (1H, d, J=7.09 Hz); 8.41 (1H, d, J=4.9 Hz); 8.87 (1H, s).

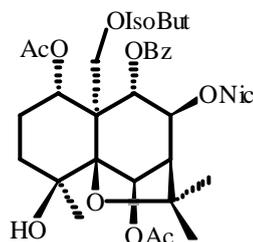
RMN ¹³C (d, CDCl₃): 11.0 (c); 11.6 (c); 16.0 (c); 16.8 (c); 22.6 (c); 24.7 (t); 26.1 (t); 26.2 (c); 26.6 (t); 30.1 (c); 37.1 (t); 41.1 (d); 41.6 (d); 49.9 (s); 53.5 (d); 61.1 (t); 72.8 (s); 73.7 (d); 74.8 (d); 77.2 (d); 84.3 (s); 91.6 (s); 122.3 (d); 125.4 (s); 128.1 (2xd); 129.0 (2xd, s); 133.0 (d); 136.1 (d); 150.5 (d); 152.8 (d); 163.8 (s); 165.2 (s); 175.1 (s); 176.1 (s).

EM m/z (%): 695 ([M⁺], 7); 680 (2); 647 (2); 593 (15); 468 (22); 246 (10); 190 (7); 164 (5); 149 (11); 124 (76); 105 (100); 85 (19); 57 (68).

EM de alta
Resolución :

Calculado para C₃₈H₄₉NO₁₁ 695.33056; observado 695.33235.

PRODUCTO T-50: 1a ,6b -Diacetoxi-9a -benzoiloxi-15-isobutiroiloxi-8a -nicotinoiloxi-4b -hidroxi-dihidro-b -agarofurano.



Se aisló como una laca incolora (1.1 mg).

[α]_D²⁵: -43.0° (c 0.20, CHCl₃).

UV I_{max} nm: 264, 229, 210, 202.

IR n_{max} cm⁻¹: 3500, 3400, 2890, 2800, 1725, 1718, 1710, 1590, 1360, 1210, 1008, 710.

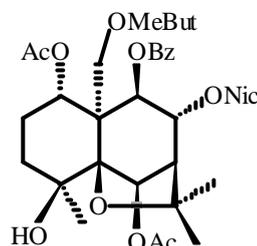
RMN ¹H (d, CDCl₃): 1.06 (3H, d, J=6.9 Hz); 1.11 (3H, d, J=6.9 Hz); 1.34 (3H, s); 1.51 (3H, s); 1.60 (3H, s); 1.72 (3H, s); 2.05 (2H, m); 2.12 (3H, s); 2.54 (2H, d, J=3.6 Hz); 2.60 (1H, s); 4.50, 4.89 (2H, d_{AB}, J=13.2 Hz); 5.49 (1H, dd, J=3.8, 12.1 Hz); 5.60 (1H, d, J=3.6 Hz); 6.00 (1H, s); 6.37 (1H, s); 7.48 (3H, m); 7.62 (1H, m); 8.08 (2H, m); 8.42 (1H, d, J=8.0 Hz); 8.84 (1H, J=4.9 Hz); 9.37 (1H, s).

RMN ¹³C (d, CDCl₃): 18.8 (c); 18.9 (c); 20.7 (c); 21.4 (c); 22.7 (c); 23.6 (t); 25.6 (c); 30.9 (c); 34.0 (d); 37.9 (t); 53.4 (d); 54.1 (s); 64.0 (t); 70.5 (s); 71.1 (d); 72.8 (d); 76.1 (d); 77.3 (d); 83.3 (s); 92.3 (s); 123.4 (d); 125.8 (s); 128.5 (2xd); 128.6 (s); 130.1 (d); 133.8 (d); 137.2 (d); 151.3 (d); 153.8 (d); 163.8 (s); 164.4 (s); 196.6 (2xs); 175.9 (s).

EM m/z (%): 681 ([M⁺], 4); 666 (1); 639 (5); 621 (3); 560 (2); 539 (1); 316 (2); 268 (2); 246 (5); 228 (3); 202 (7); 190 (7); 164 (10); 124 (41); 105 (100); 85 (3); 77 (11); 57 (8).

EM de alta Resolución : Calculado para C₃₆H₄₃NO₁₂ 681.27853; observado 861.28017.

PRODUCTO T-51: 1a,6b-Diacetoxi-9b-benzoiloxi-15-(2)-metilbutiroiloxi-8a-nicotinoiloxi-4b-hidroxi-dihidro-b-agarofurano.



Se obtuvo como una laca incolora (15 mg).

$[\alpha]_D^{25}$: -31.3° (c 0.84, CHCl₃).

UV I_{max} nm: 264, 228, 209, 202.

IR n_{max} cm⁻¹: 3505, 3400, 2855, 2800, 1725, 1710, 1580, 1445, 1355, 1265, 1220, 1100, 1015, 955, 750, 705.

RMN ¹H (d, CDCl₃): 0.74 (3H, t, J=7.4 Hz); 1.07 (3H, d, J=7.0 Hz); 1.34 (3H, s); 1.39 (2H, m); 1.51 (3H, m); 1.60 (3H, s); 1.62 (2H, m); 1.71 (3H, s); 2.06 (2H, m); 2.11 (3H, s); 2.35 (1H, m); 2.53 (1H, d, J=2.9 Hz); 2.67 (1H, s); 4.54, 4.81 (2H, d_{AB}, J=12.7 Hz); 5.48 (1H, dd, J=3.8, 11.8 Hz); 5.61 (1H, d, J=3.0 Hz); 5.98 (1H, s); 6.32 (1H, s); 7.46 (3H, m); 7.60 (1H, m); 8.06 (2H, m); 8.43 (1H, d, J=7.9 Hz); 8.82 (1H, d, J=4.7 Hz); 8.36 (1H, s).

RMN ¹³C (d, CDCl₃): 11.3 (c); 16.2 (c); 20.7 (c); 21.4 (c); 22.8 (c); 23.6 (t); 25.6 (c); 26.3 (t); 29.7 (c); 37.9 (t); 40.9 (d); 53.4 (d); 54.2 (s); 63.9 (t); 70.5 (s); 71.0 (d); 72.8 (d); 76.2 (d); 77.4 (d); 83.2 (s); 91.4 (s); 123.3 (d); 125.7 (s); 128.5 (2xd); 128.6 (s); 130.1 (2xd); 133.8 (d); 137.3 (d); 151.3 (d); 153.8 (d); 163.9 (s); 164.4 (s); 167.7 (s); 169.9 (s); 176.1 (s).

EM m/z (%): 695 ([M⁺], 15); 680 (3); 653 (16); 635 (11); 574 (7); 530 (5); 474 (4); 368 (2); 246 (3); 228 (5); 206 (27); 164 (10); 124 (45); 105 (100); 85 (7); 57 (16).

EM de alta Resolución :

Calculado para C₃₇H₄₅NO₁₂ 695.29418; observado 695.29407.

Capítulo 3

Actualmente muchas enfermedades infecciosas han sido puestas bajo control gracias a la quimioterapia y la profilaxis basada en la vacunación, pero todavía no se ha conseguido la erradicación de un gran número de ellas (causadas por bacterias, virus, hongos y protozoos) que continúan causando epidemias más o menos graves (algunas nuevas, como por ejemplo el SIDA). La razón estriba en parte en la ausencia de vacunas eficaces, debido a que el agente etiológico experimenta cambios genéticos continuos como resultado de la selección natural, mutaciones u otras causas genéticas, y en parte, a la falta de sustancias con un espectro de acción lo suficientemente amplio como para resultar útil en la terapia. Aunque muchas de las enfermedades producidas por bacterias pueden ser controladas con mayor o menor facilidad mediante la terapéutica habitual, no debe olvidarse la existencia de bacterias patógenas y oportunistas que muestran una acusada insensibilidad a la mayor parte de los antibióticos conocidos (por ejemplo, miembros de los géneros *Pseudomonas*, *Salmonella* o *Proteus*), ni el problema que deriva de la continua selección de estirpes resistentes en especies inicialmente sensibles a los antibióticos. Esto explica que las enfermedades infecciosas ocupen el tercer lugar como causa de mortalidad en el hombre después del cáncer y de las enfermedades coronarias. De las consideraciones que anteceden cabe deducir la estricta necesidad de una investigación encaminada a la búsqueda de nuevos compuestos antibacterianos, cuya aplicación podría contribuir a la solución de algunos de los problemas planteados.

En este sentido, en los últimos años ha vuelto a centrarse la atención de un número creciente de investigadores, en la búsqueda de productos naturales a fin de evaluar sus actividades biológicas y ensayar las posibilidades de su aplicación clínica con una u otra finalidad. En esta línea de trabajos destacan los estudios relacionados con los productos naturales aislados de extractos de plantas superiores que prometen ser una importante fuente de sustancias bioactivas. Se estima que en la Tierra existen entre 250.000 y 500.000 especies vegetales y que sólo han sido investigadas menos del cinco por ciento para buscar en ellas principios farmacológicamente activos, de los cuales muy pocos han sido aislados, purificados y estudiados a fin de determinar su estructura química. A la luz de estos hechos, nos pareció interesante evaluar la actividad antimicrobiana de algunos de los productos aislados.

MATERIAL Y MÉTODOS

Microorganismos.-

Para la realización del presente trabajo se han empleado las siguientes estirpes microbianas: *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *S. epidermidis* CECT 232, *S. saprophyticus* CDCT 235, *Bacillus subtilis* CECT 39, *Escherichia coli* CECT 99, *Pseudomonas aeruginosa* AK 958 y la levadura *Candida albicans* UBC 3.

Medios de cultivo.-

Los microorganismos fueron mantenidos en Nutriente Agar (OXOID) a excepción de *C. albicans*, el cual fue mantenido en Agar glucosado Sabouraud (OXOID).

Como medios líquidos se emplearon los siguientes:

- Nutriente Broth (OXOID) que en lo sucesivo será designado como caldo nutritivo.
- Medio YP, compuesto de extracto de levadura (OXOID) al 1 %, peptona (OXOID) al 1 %. Este medio fue esterilizado en autoclave a 121°C durante 20 minutos.
- Medio YPD, compuesto de extracto de levadura (OXOID) al 1 %, peptona (OXOID) al 1 %, glucosa al 2 %. El extracto de levadura y la peptona fueron esterilizados en autoclave a 121 °C durante 20 min y la glucosa, por filtración a través de filtros Millipore de 0.45 µm de diámetro de poro.
- Sabouraud Liquid Medium (OXOID).

Determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI).-

La concentración mínima inhibitoria se determinó según el método de Buttiaux y colaboradores¹: a 3 ml de caldo nutritivo se añadió una alícuota del producto disuelto en dimetilsulfóxido (DMSO) suficiente para alcanzar la concentración deseada en cada caso. La concentración de DMSO no superó en ningún caso la máxima tolerable para cada bacteria².

¹ Buttiaux, R., Beerens, H., Tacquet, A., *Manual de Techniques Bacteriologiques*, 1969, 269, Medicales Flammarion, Paris.

² Moujr, M.L., "Acción antibiótica de netzahualcoyona, una tritepenoquinona aislada de *Schaefferia cuneifolia*", 1988, Tesis Doctoral, Universidad de La Laguna.

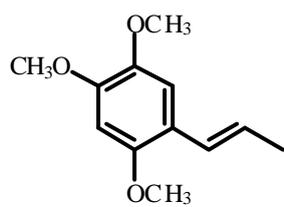
Estos tubos fueron inoculados con 0.1 ml de una suspensión del microorganismo a ensayar preparada a partir de cultivos en YP ó YPD de 20 h en agitación a 37 °C, diluídos previamente de forma que quedara una densidad celular en los medios de 10^5 unidades

viabiles/ml. Tras 18 horas en agitación a 37 °C se determinó el crecimiento mediante recuento de unidades viables en placa.

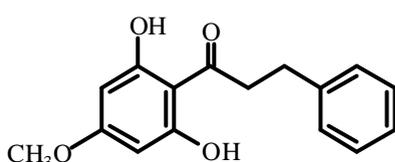
RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Hemos estudiado la actividad antimicrobiana de los siguientes productos:

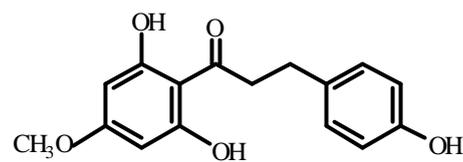
- Productos aislados de *Piper elongatum*



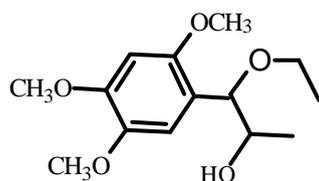
α -Asarona



**2',6'-Dihidroxi-4'
metoxidihidrochalcona
(10)**

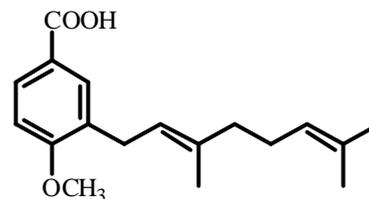


**2',4,6'-Trihidroxi-4'
metoxidihidrochalcona**



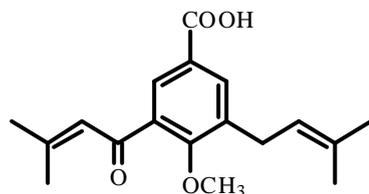
**1-Etoxi-1-(2,4,5-trimetoxi-
fenil)-propan-2-ol**

P-2

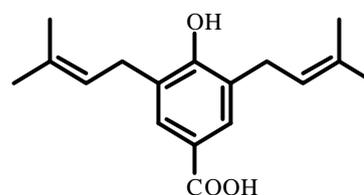


**Ácido 2' E3-(3,7-dimetil-octa-2 E,6
dienil)-4-metoxi-benzoico**

P-3

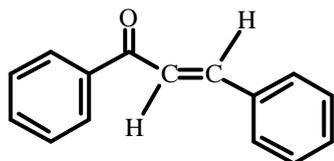
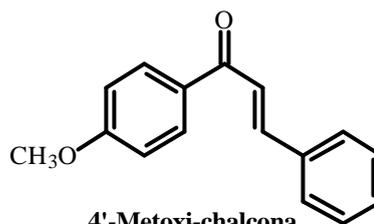


**Ácido 4-hidroxi-3-(3-metil-2-butenil)-
5-(3-metil-2-butenil) benzoico**

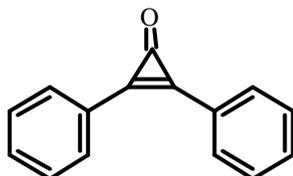


Ácido nevargénico

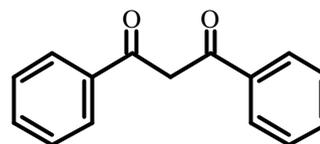
- Productos sintéticos relacionados con el producto (10)

*trans*-Chalcona

4'-Metoxi-chalcona

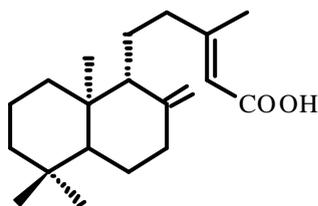
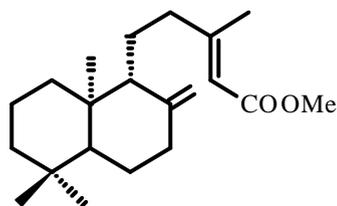
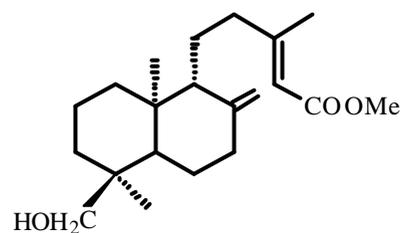
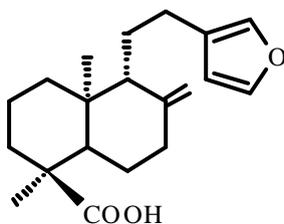


Difenil-ciclopropenona

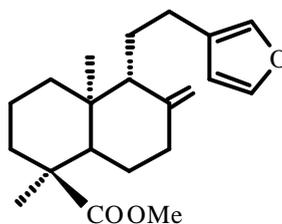
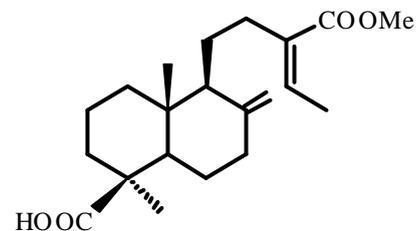


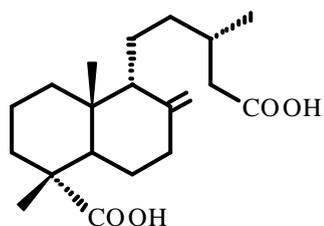
Dibenzoilmetano

- Productos aislados de *Copaifera paupera*

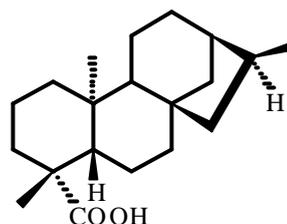
(-) Ácido copálico
(11)Metil éster del
(-) ácido copálicoMetil éster del ácido *ent*-lab-
8(17),13-dien-19-ol-15-oico
F-2

Ácido poliáltico

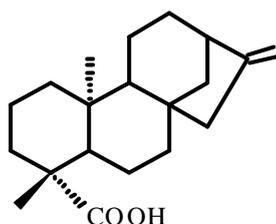
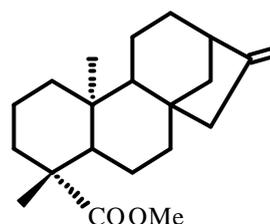
Metil éster del
ácido poliálticoMetil éster del
ácido (+)-agático



(-) Ácido pinifólico

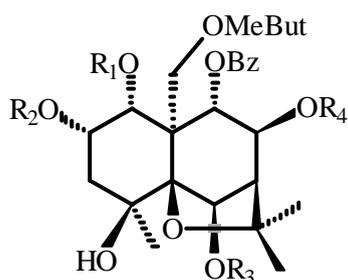


Ácido 16 b-kauran-19-oico

(-) Ácido-kaurénico
(12)

Metil éster del (-) ácido kaurénico

• Productos aislados de *Crossopetalum tonduzii*



Producto	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
T-1	Bz	H	Ac	Ac
T-2	Bz	H	H	Ac
T-3	Ac	H	H	MeBut
T-7	Ac	Ac	Ac	Ac
T-8	Ac	Ac	H	Ac
T-17	Nic	H	H	MeBut

Todos los compuestos ensayados fueron inactivos (CMI > 20 µg/ml) frente a las bacterias *Gram negativas* y la levadura ensayada. Por el contrario, tres de los compuestos resultaron activos frente a tres de las bacterias *Gram positivas* ensayadas (*B. subtilis*, *S. aureus* y *S. epidermidis*). Los resultados se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1: Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) en mg/ml.

Bacteria	10	11	12
<i>B. subtilis</i>	8	5	5-2.5
<i>S. auerus</i>	>60	10-8	8-6
<i>S. epidermidis</i>	>20	5-4	6-4

El cáncer constituye, tras las enfermedades cardiovasculares, la segunda causa de muerte en los países desarrollados. La mayor parte de los organismos multicelulares pueden ser afectados por el cáncer y su existencia se conoce desde hace tiempo. Sin embargo, en el actual Siglo XX, se conocen muchos elementos que fomentan una mayor incidencia del cáncer en la población, como pueden ser, el aumento de las expectativas de vida media debido al progreso terapéutico, o bien, las continuas exposiciones a sustancias contaminantes cada vez más frecuentes en la vida cotidiana.

La gran variedad de cánceres detectados presentan propiedades comunes y definibles. El término médico para designar cáncer o tumor es *neoplasma*, que significa de forma genérica, “un crecimiento autónomo relativo de tejido”. *Tumor* es un término general para indicar una masa celular anormal o crecimiento tisular que no necesariamente tiene que implicar un riesgo para la vida, mientras que un tumor canceroso es un neoplasma maligno de daño potencial. Así, los fármacos anticancerígenos se conocen como fármacos antineoplásicos.

La quimioterapia anticancerígenos, se encuentra más limitada por el tamaño de la masa celular que por la existencia de metástasis, dado que los fármacos antitumorales presentan una gran dificultad para la destrucción de células en un tumor excesivo. Los requerimientos en la obtención de compuestos antineoplásicos eficaces, todavía no han sido bien establecidos ya que la diferenciación entre células normales y tumorales es mínima. No obstante, la quimioterapia anticancerígenos ha sido desarrollada de forma intensa en los últimos veinte años, resultando de este esfuerzo tratamientos para ciertos tumores diseminados que antes eran terminales^{1,2}.

MATERIAL Y MÉTODOS.

Líneas celulares.-

Las células se mantuvieron en fase logarítmica de crecimiento en su medio de Eagles esencial mínimo, con sales de Earle, 2.0 mM de L-glutamine, aminoácidos no esenciales y sin bicarbonato sódico (EMEM/nea), suplementado con 10% de Suero Fetal de Ternera, 10^{-2} M de bicarbonato sódico y 0.1 g/l de penicilina G y sulfato de estreptomicina.

Las líneas celulares usadas fueron:

P-388 (ATCC CCL 46): suspensión de células de un linfóide neoplasma de ratón DBA/z

A-549 (ATCC CCL 185): monocapa de células de carcinoma de pulmón humano

¹ Foye William, O., *Principles of Medicinal Chemistry*, 1980, De. Lea and Febiger, Philadelphia.

² Wilson and Gisvols's *Textbook of Organic Medicinal and Pharmaceutical Chemistry*, 1982, de. J.B. Lippincott Company, Philadelphia.

HT-29 (ATCC HTB-38): monocapa de carcinoma de colon humano

MEL-28 (ATCC HTB-7Z): mocapa de melanoma humano.

Determinación de la actividad citotóxica.-

La actividad citotóxica de los compuestos ensayados se determinó siguiendo una adaptación del método descrito por Bergeson y *col.*³, y usando adriamicina como control positivo. Las células P-388 se incubaron en placas de 12 pocillos (16 mm/pocillo), colocando 1×10^4 células por pocillos en alícuotas de 1 ml de MEN 15 FCS conteniendo la concentración deseada compuesto a ensayar. Después de tres días de incubación a 37 °C, y en atmósfera de 10 % de CO₂ y 98 % de humedad se determinó la CI₅₀ aproximada.

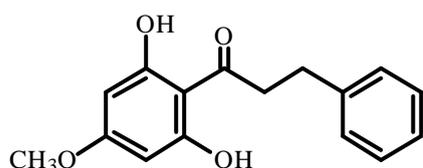
Las líneas celulares A-549, HT-29 y MEL-28 se incubaron a una concentración de 2×10^4 células por pocillo en alícuotas de 1 ml de MEN 10 FCS conteniendo la concentración deseada de compuesto a ensayar. Después de tres días de incubación a 37 °C y atmósfera del 10% de CO₂ y 98% de humedad, las células fueron teñidas con Violeta de Crystal al 0.1%. Paralelamente se realizó un ensayo en blanco para asegurarse que las células se mantienen en fase exponencial de crecimiento.

La CI₅₀ aproximada se determinó por comparación del crecimiento celular en los pocillos conteniendo producto a ensayar y crecimiento en el control. Los valores de CI₅₀ se usaron como parámetro de citotoxicidad.

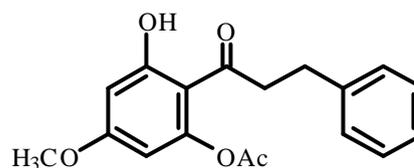
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

Hemos llevado a cabo el estudio de la actividad citotóxica de los siguientes productos:

- Productos aislados de *Piper elongatum*

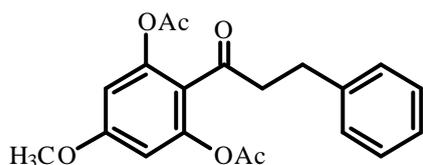


**2',6'-Dihidroxi-4'-metoxi-
dihidrochalcona**
(10)

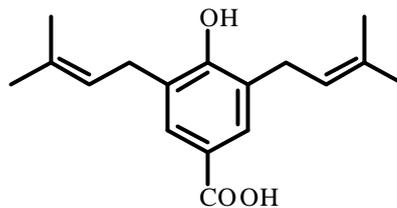


**6'-Acetoxi-2'-hidroxi-4'-
metoxidihidrochalcona**
(13)

³ Bergeron, R.J., Cavanagh, P.F.Jr., Kline, S.J., Hughes Jr.R.G., Elliot, G.T., Porter, C.W., *Biochemical and Biophysical Research Communication*, **1984**, 121, 3, 848.

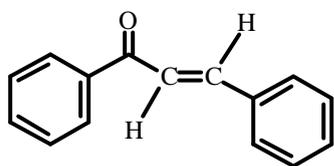


**2',6'-Diacetoxi-4'-metoxi-
dihidrochalcona**
(14)

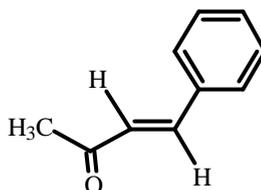


Ácido nevalgénico
(15)

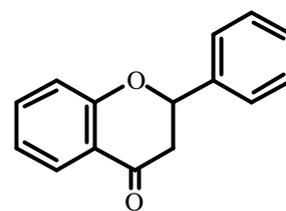
- Productos sintéticos relacionados con el producto (10)



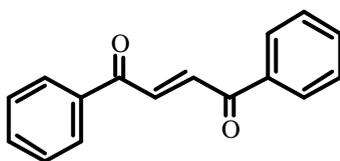
trans-Chalcona
(16)



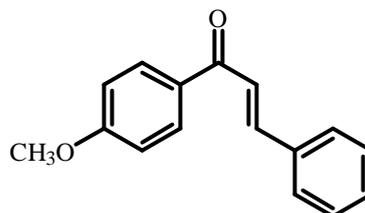
trans-4-Fenil-3-butenona
(17)



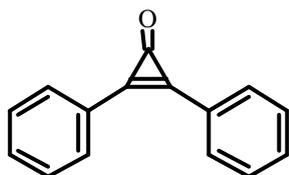
Flavanona
(18)



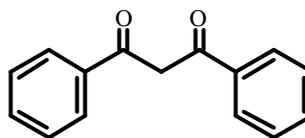
trans-1-2-Dibenzoiletieno
(19)



4'-Metoxichalcona
(20)

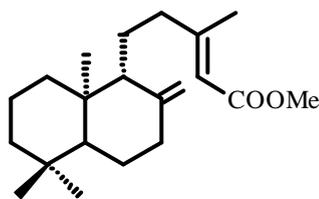


Difenil-ciclopropenona
(21)



Dibenzoilmetano
(22)

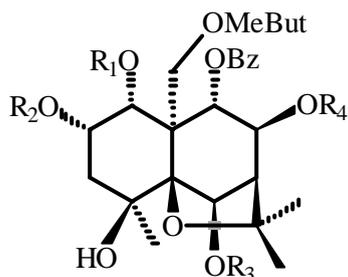
- Producto aislado de *Copaifera paupera*



Metil éster del (-) ácido copálico

(23)

- Productos aislados de *Crossopetalum tonduzii*



Producto	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
T-1	Bz	H	Ac	Ac
T-2	Bz	H	H	Ac
T-3	Ac	H	H	MeBut
T-7	Ac	Ac	Ac	Ac
T-8	Ac	Ac	H	Ac
T-17	Nic	H	H	MeBut

Los resultados obtenidos se muestran en la Tabla 2. Los productos ensayados que no se reflejan en la misma presentaron una $CI_{50} > 10 \mu\text{g/ml}$ frente a las cuatro líneas celulares ensayadas.

Tabla 2. Actividad citotóxica (CI_{50} en mg/ml)

Compuesto	P-388	A-549	HT-29	MEL-28
10	5	5	5	5
13	5	2.5	5	2.5
14	5	2.5	5	2.5
15	5	5	5	5
16	5	1	1	1
17	>10	5	5	5
18	>10	5	5	5
19	1.25	1	1	1
20	5	1	1	2.5
21	1	1	1	1
22	2.5	1	1	1
23	2.5	5	5	10

Tradicionalmente, la medicina ha sido definida como la ciencia de prevenir y curar las enfermedades. La medicina tendría, pues, dos vertientes o apartados: la *medicina preventiva*, que incluiría el conjunto de actuaciones dirigidos específicamente a la prevención de la enfermedad, y la *medicina curativa*, que comprendería el conjunto de actuaciones médicas dirigidas específicamente a la curación de la enfermedad. La medicina preventiva es, pues, una parte de la medicina, comprende todos los esfuerzos organizados de la comunidad para defender y promover la salud de sus ciudadanos.

La prevención del cáncer está siendo ampliamente estudiada con la finalidad de desarrollar estrategias para el control de dicha enfermedad, siendo definida la prevención como el método para el control del cáncer mediante la administración de compuestos naturales o sintéticos capaces de detener o inhibir el inicio del proceso carcinogénico. De este modo, la quimioprevención se presenta como una solución prometedora siendo de particular interés la inhibición de promotores del cáncer en procesos carcinogénicos.

Actualmente, el proceso químico de la carcinogénesis está sustancialmente dividido en tres etapas: iniciación, promoción y progresión. La etapa de iniciación se caracteriza por la activación metabólica de una serie de enzimas que pueden convertirse de precarcinogénicas en carcinogénicas por acción de promotores. La promoción envuelve la proliferación clonal de las células iniciales y convertirlas en células tumorales pre-malignas, con una gran variedad de señales intracelulares las cuales son reversibles. La tercera etapa, progresión, se caracteriza por ser irreversible e inestable, con alteraciones genéticas y biológicas debido a la conversión de los papilomas en carcinomas, con capacidad de invasión y metástasis. La inhibición de tumores en la etapa de promoción es una de las estrategias más prometedoras en la quimioprevención del cáncer¹.

El virus de Epstein-Barr (VEB) es un virus indiscutiblemente oncogénico que ha sido implicado en la etiopatogenia de diversas neoplasias de linfomas B (linfoma de Burkitt, ciertos linfomas de Hodgkin y linfomas inmunoblásticos e inmunodeprimidos), de células epiteliales (carcinoma nasofaríngeo y linfoepiteliomas) y de células de músculo liso (leiomiomas en inmunodeprimidos); así mismo se asocia con la mononucleosis infecciosa.

La infección por VEB tiene tres resultados posibles: replicación en células epiteliales permisivas; infección latente de los linfocitos B en presencia de linfocitos T competentes, o estimulación e inmortalización de las células B. Estas células son semipermissivas para la

¹ Murakami, A., Ohgashi, H. and Koshimizu, K., *Biosci. Biotech. Biochem*, **1996**, 60(1), 1-8.

replicación del VEB. Sin embargo, el VEB es un mitógeno para las células B que estimula el crecimiento, previene la apoptosis (muerte celular programada) e inmortaliza las células. La proliferación continuada de células B junto con otros cofactores, puede conducir a linfoma.

En los últimos años han publicado estudios sobre la actividad de promotores antitumorales que detallan los efectos inhibitorios de numerosos productos naturales, incluyendo flavonoides², esteroides³, triterpenoides⁴, saponinas triterpénicas⁵, quinonas⁶, y sesquiterpenos con esqueleto de dihidro- β -agarofurano^{7,8}, entre otros, sobre la activación del antígeno temprano del Virus Epstein-Barr inducido por el 13-acetato-12-0-tetra-decanoilforbol (TPA) (EBV-EA), que puede ser usado como un primer ensayo a la búsqueda de agentes promotores de antitumorales.

MATERIAL Y MÉTODO

Línea celular.

El genoma VEB portando células de linfoblastoides humano (células Raji derivadas del linfoma de Burkitt) fueron cultivadas en medio RPMI 1640 (Nissui) como se ha descrito anteriormente⁹. La activación espontánea de antígenos tempranos del virus Epstein-Barr (VEB-EA), en la sublínea celular Raji, fue de menos de 0.1 %.

Experimento de inhibición de la formación de antígenos tempranos del VEB.

La inhibición de la activación de los antígenos tempranos del VEB se ensayó usando el método previamente descrito. Las células fueron incubadas durante 48 h a 37 °C en un medio conteniendo ácido n-butírico (4 mM), TPA (32 pmol) y diferentes concentraciones de productos a ensayar. Cultivo se realizaron de la suspensión de células y las células inducidas con VEB fueron teñidas mediante la técnica de inmunofluorescencia indirecta. Cada ensayo se llevó a cabo por triplicado.

² Konoshima, T., Tabasaki, M., Kozuka, M., Inada, A., Nekanishi, T., Tokuda, H. and Matsumoto, T., *Shoyakugaku Sashhi*, **1989**, 43, 135-141.

³ Inada, A., Nakanishi, T., Konoshima, T., Kozuka, M., tokuda, H., Nishino, H. and Iwashima, A., *Shoyakugaku Zasshi*, **1990**, 44, 215-218.

⁴ Diablo, B., Vanhaelen, M., Vanhaelen-Fastré, R., Konoshima, T., Kozuka, M. and Tokuda, H., S., *J. Nat. Prod.*, **1989**, 52, 879-881.

⁵ Tokuda, H., Konoshima, T., Kozuka, M. and Kimura, T.S., *Cancer Lett.*, **1988**, 40, 309-317.

⁶ Konoshima, T., Kozuka, M., Koyama, J., Okatani, T., Tagahara, K. And Tokuda H., *J.Nat. Prod.*, **1989**, 52, 987-995.

⁷ Ujita, K., Takaishi, Y., Tokuda, H., Nishino, H., Iwashina, A. and Fujita, T., *Cáncer Letters*, **1993**, 68, 129-133.

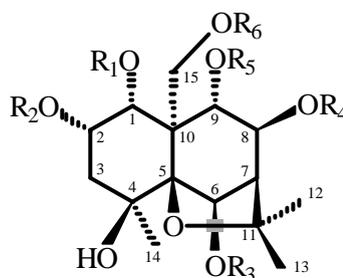
⁸ Ujita, K., Takaishi, Y., Tokuda, H., Nishino, H., Iwashina, A. and Fujita, T., *Cáncer Letters*, **1992**, 65, 19-23.

⁹ Kupchan, S. M., Court, W.A., Dailey, R.G., Gilmore Jr., C.J. and Bryan, R.F., *J.Am.Chem.Soc.*, **1972**, 94, 7194-7195.

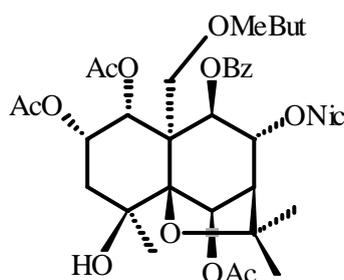
La actividad inhibitoria de los compuestos ensayados fue comparada con la del control (100%) con ácido n-butírico más TPA. En estos experimentos, las actividades fueron normalmente en torno al 40% y estos valores fueron tomados como control positivo (100%). La viabilidad de las células se determinó frente a las células tratadas mediante tinción con Trypan-blue. Para determinar la citotoxicidad se requería mas del 60 % de la viabilidad de las células.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

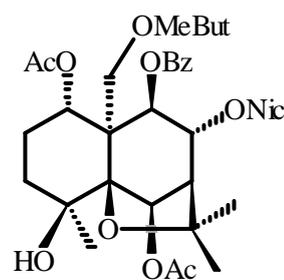
Doce sesquiterpenos aislados, de *Crossopetalum tonduzii* fueron ensayados por su actividad inhibitoria de la activación de VEB-EA inducida por TPA en células Raji, haciendo uso de un sencillo ensayo “*in vitro*”.



Producto	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆
T-1	Bz	H	Ac	Ac	Bz	MeBut
T-2	Bz	H	H	Ac	Bz	MeBut
T-3	Ac	H	H	MeBut	Bz	MeBut
T-5	Ac	Ac	H	MeBut	Bz	MeBut
T-7	Ac	Ac	Ac	Ac	Bz	MeBut
T-8	Ac	H	H	Ac	Bz	MeBut
T-13	Nic	Nic	H	Ac	Bz	MeBut
T-17	Nic	H	H	MeBut	Bz	MeBut
T-27	Bz	Nic	H	Ac	Bz	MeBut
T-34	Nic	Bz	H	Ac	Nic	Bz



T-45



T-51

Los resultados del efecto inhibitorio sobre la producción de antígenos tempranos y la viabilidad de las células Raji se muestran en la siguiente tabla.

Tabla 3: Efecto inhibitorio de los sesquiterpenos sobre la activación del VEB inducido por el TPA

	Concentración (relación en moles/TPA)			
	1000	500	100	10
% control (% viabilidad)				
Control positivo ATF (32 pmol) = 100%				
T-1	0 (70)	25.3	82.4	100
T-2	0 (70)	21.0	79.5	95.0
T-3	0 (70)	18.4	76.0	93.7
T-5	0 (70)	25.4	85.0	100
T-7	0 (70)	22.0	79.2	96.7
T-8	0 (70)	21.8	77.4	94.1
T-13	10.2 (60)	33.3	82.1	100
T-17	5.1 (60)	30.9	85.6	100
T-27	7.2 (60)	33.4	87.1	100
T-34	12.6 (60)	38.0	86.9	100
T-45	0 (70)	23.9	81.3	100
T-51	0 (70)	26.8	86.0	100

Los resultados obtenidos muestran que este tipo de compuestos son realmente prometedores como inhibidores del VEB, virus oncogénico que promueve la aparición de linfoma. Un estudio de la relación estructura-actividad nos permitió determinar que la presencia de grupos hidroxilos en el esqueleto sesquiterpénico de dihidro- β -agarofurano es clave para esta actividad y así los compuestos **T-2**, **T-3**, **T-7** y **T-8** presentan actividad incluso a una concentración de 10 moles/TPA. La presencia del grupo metilbutirato aumentó ligeramente la actividad inhibitoria, mientras que el grupo nicotinato no afecta en dicha actividad.

Las enfermedades producidas por protozoos parásitos son una de las principales causas de mortalidad en el mundo. Uno de los principales problemas en el tratamiento de la leishmaniasis y otras enfermedades parasitarias, es la aparición de mecanismos de resistencia a los fármacos empleados. Dentro de estos mecanismos, recientemente se ha descrito^{1,2,3} uno similar al que presentan las células tumorales multirresistentes, caracterizado por la amplificación y sobreexpresión de un gen homólogo al gen de la multirresistencia a fármacos (MDR), descrito en las células tumorales^{4,5}, que codifica la síntesis de una proteína de alto peso molecular (150-180 kDa) denominada glicoproteína-P⁶, cuya sobreexpresión disminuye la acumulación intracelular del fármaco⁷ a la vez que confiere una resistencia cruzada frente a un gran número de fármacos estructural y funcionalmente distintos al que originó la resistencia.

La glicoproteína-P (Pgp) es un transportador de membrana, perteneciente a la superfamilia ABC (ATP-binding cassette), que suele encontrarse sobreexpresado en células cancerígenas, en protozoos parásitos, en hongos y levaduras patógenas, sometidas a tratamientos prolongados. Expulsa los fármacos citotóxicos usando como fuente de energía la hidrólisis del ATP, confiriendo un fenotipo de multirresistencia a fármacos (MDR). Está compuesta por dos mitades homólogas, cada una formada por 6 segmentos transmembrana, involucrados en el eflujo del fármaco, y un dominio citosólico de unión a nucleótidos (NBD)⁸, responsable de la unión e hidrólisis del ATP, esencial para el funcionamiento de la proteína. Se ha demostrado que la glicoproteína-P purificada presenta una actividad ATPasa⁹ incrementada por los fármacos transportados¹⁰.

Sus sustratos incluyen, entre otros, compuestos como la daunomicina, doxorubicina, actinomicina D, colchicina, vincristina y etopósido, por lo cual su sobreexpresión es capaz de conferir un fenotipo de multirresistencia a fármacos. Existen una serie de compuestos llamados quimiosensibilizadores que interfieren con la función de la bomba y se caracterizan porque son

¹ Ouellette, M., Fase-Fowler, F., Borst, P., *The EMBO J.*, **1990**, 9, 1027-1033.

² Gamarro, F., Chiquero, M.J., Amador, M.V., Légaré, D., Ouellette, M., Castanys, S. *Biochem.Pharmacol.*, **1994**, 47, 1939-1947.

³ Sanchez ,A., Castanys, S., Gamarro, F., *Biochem. Biophys., Res. Commun.*, **1994**, 199, 855-861.

⁴ Roninson, I.B., Chin, J.E., Choi, K., Gros, P., Housman, D.E., Fojo, A., Shen, D.W., Gottesman, M.M., Pastan, I. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1986**, 83: 4538-4542.

⁵ Pastan, I., Gottesman, M.M.. *J. Med.; N. Engl.* **1987**, 316, 1388-1393.

⁶ Gottesman, M.M., Pasta, L., *J. Biol. Chem.*, **1988**, 263, 12163-12166.

⁷ Endicott, J.A., Ling, V. *Annu. Rev. Biochem.*, **1986**, 58, 137-171.

⁸ Gros, P., Croop, J., Housman, D. *Cell*, **1986**, 47, 371-380.

⁹ Hamada, H., Tsurvo, T. *J. Biol. Chem.*, **1988**, 263, 1454-1458.

¹⁰ Surkadi, B., Price, E.M., Boucher, R.C., Germann, U.A., Scarborough, A. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **1992**, 267, 4854-4858.

capaces de revertir el fenotipo de multirresistencia generado por la sobreexpresión de esta proteína. Entre ellos se encuentran antagonistas de calcio como el verapamil (Ver), agentes inmunosupresores como la ciclosporina A (CsA) o el FK506, hormonas esteroideas y anticóaticos.

Debido a que los moduladores hidrofóbicos usados para revertir el fenotipo MDR, como el verapamil y la ciclosporina A, son también transportados, las altas dosis necesarias para una inhibición permanente producen efectos colaterales negativos, por lo que continúa siendo prioritaria la búsqueda de nuevas sustancias revertidoras. Los flavonoides son compuestos naturales que constituyen una nueva clase de moduladores. Revierten el fenotipo MDR en células cancerígenas por inhibición del eflujo de fármaco, no son transportados por la Pgp e inhiben el transporte mediado por ATP en liposomas reconstituidos con la Pgp.

MATERIAL Y MÉTODO

Cultivo de parásitos y experimentos *in vivo*

Se utilizó un clon de cepa LRC de *Leishmania tropica*, obtenido mediante cultivo en agar¹¹. Asimismo una línea de *L. tropica* resistente a DNM (DNM-R150), se mantuvo en presencia de 150 μ M daunomicina (DNM)¹², dicha línea muestra fenotipo MDR similar al descrito en las células tumorales, con resistencia a diferentes fármacos no relacionados entre sí y una sobreexpresión de un transportador similar a la Pgp, involucrado en el flujo de fármacos a través de la membrana. Las células se cultivaron a 28°C en medio RPMI-1640 (GIBCO)¹³, complementado con 20 % de suero bovino fetal inactivado (GIBCO).

Sobreexpresión, purificación de la proteína e interacción de la *Leishmania* NBD2 con los sesquiterpenos

La proteína recombinante Pgp NBD2 de *Leishmania* fue sobreexpresado en células de *E. Coli* M15 [pERP4] y purificado por cromatografía de afinidad¹⁴. Los experimentos de fluorescencia se desarrollaron a 25.0 \pm 0-1°C, usando un espectrofluorómetro SLM-Aminco 8000C con bandas anchas espectrales de 2 y 4 nm para excitación y emisión, respectivamente.

¹¹ Iovannisci, D. M.; Ullman, B., *J. Parasitol.* **1983**, *69*, 633-636.

¹² Chiquero, M. J.; Pérez-Victoria, J. M., O'Valle, F., Gonzalez-Ros, J. M., del Moral, R., Ferragut, J. A., Castanys, S., Gamarro, F., *Biochem. Pharmacol.* **1998**, *55*, 131-139.

¹³ Jackson, P. R., Lawrie, J. M., Stiteler, J. M., Hawkins, D. W., Wohlhieter, J. A., Rowtin, E. D., *Veter. Parasitol.* **1986**, *20*, 195-215.

Se realizaron las mediciones de la longitud de onda dependiendo de la intensidad de extinción de luz usando como referencia Rhodamina B. Las mediciones de todos los espectros se realizaron por el efecto Raman del tampón de fluorescencia y por dilución. Las mediciones de la fluorescencia fueron desarrolladas por dilución de NBD2 (0.2-0.5 μM de concentración final) en 1 ml de disolución tampón (50 mM fosfato potásico, pH 8.5, 1 M NaCl, 20 % w/v glicerol, 0.5 % w/v HECAMEG, 1 mM β -mercaptoetanol, y ajustando la concentración final de imidazol a 10 mM), en presencia de concentraciones creciente de sesquiterpenos en dimetilsulfóxido y analizando la emisión de fluorescencia en el rango de 300-350nm hasta la excitación a 288 nm, para minimizar la interferencia del imidazol¹⁴. La unión de los diferentes compuestos se estudió por el apantallamiento (Quenching) de la emisión de fluorescencia producida por la adición de concentraciones crecientes de sesquiterpenos. Las mediciones (o correcciones) del efecto inerte del filtro y la dilución del dimetilsulfóxido (hasta el 2 % de concentración final) fue determinado bajo las mismas condiciones usando una mezcla de N-acetilriptofanamida y N-acetiltirosinamida en la misma proporción (3:7), como residuos de triptófano y tirosina presentes en NBD2.

RESULTADOS Y DISCUSION

El efecto revertidor *in vivo* de los sesquiterpenos se estudió sobre el crecimiento de parásitos resistentes a la daunomicina, por comparación con la cepa salvaje de parásitos sin droga. Después de 72 h de incubación de los parásitos resistentes en un medio conteniendo 150 μM DNM y 15 μM de sesquiterpenos, **T-1**, **T-2**, **T-3** y **T-51**, se observó una inhibición significativa del crecimiento (más del 75%) (Table 1), comparado con las mismas condiciones sin sesquiterpenos.

El sustituyente sobre el C-2 parece ser importante para la actividad revertidora, ya que la presencia de protones sobre C-2 produce a quimiosensibilización tres veces mayor con respecto a la presencia en dicha posición de un grupo acetato (**T-51** frente a **T-45**). Estos resultados sugieren que el tamaño de los sustituyentes afectan fuertemente a la actividad revertidora de estos compuestos. Por otro lado, los otros tres compuestos activos (**T-1** a **T-3**) tienen en común la presencia de un grupo hidroxilo sobre C-2, con respecto a un grupo acetato (**T-7**, **T-8** y **T-45**), lo que apoya la relevancia de esta posición. Concentraciones más altas de todos los compuestos (30 μM) produce más del 80% de inhibición del crecimiento, con la excepción de **24** (50%), el cual

¹⁴ Pérez-Victoria, J.M., Chiquero, M.J., Conseil, G., Dayan, G., Di Pietro, A., Barron, D., Castanys, S., Gamarro, F.. *Biochemistry* **1999**, 38, 1736-1743.

carece del grupo OMeBut sobre C-15, mostrando que este grupo es esencial para la actividad en este tipo de compuestos.

La presencia de un grupo benzoato sobre C-1 aumenta los efectos citotóxicos de los compuestos como se observó para **T-1** y **T-2**. Estos productos producen en la cepa salvaje de parásitos un 62.9 y 30 % de inhibición del crecimiento, respectivamente a una concentración de 30 μM . Los otros compuestos producen un efecto limitado sobre la cepa salvaje de parásitos (aproximadamente 10 % de inhibición del crecimiento a 15 μM), lo cual podría corresponder a una baja afinidad a otra diana celular. Estos resultados demuestran claramente que los sesquiterpenos, **T-1**, **T-2**, **T-3** y **T-51** a 15 μM y **T-7**, **T-8**, **T-10** y **T-45**, a 30 μM revierten el fenotipo resistente a DNM en *Leishmania*.

A fin de determinar si los sesquiterpenos producen su efecto revertidor, al menos parcialmente, por interacción con la región hidrofóbica del dominio citosólico del transportador Pgp, estudiamos su afinidad a NBD2 purificada de un transportador similar a Pgp de *Leishmania*,^{14,15,16} midiendo el apantallamiento de la fluorescencia intrínseca del NBD2 recombinante. Los diferentes sesquiterpenos exhiben una baja afinidad de enlace por el dominio recombinante (Figura 1), con un apantallamiento de la fluorescencia a 50 μM en el mismo rango, independientemente de la presencia de diferentes sustituyentes en las diferentes posiciones (Tabla 2). Así, mientras **T-45** y **T-51** presentan un apantallamiento similar a 50 μM (31.8 y 34.8, respectivamente), el efecto revertidor *in vivo* de ambos compuestos muestra significantes diferencias a 15 μM , siendo **T-51** unas tres veces más activo como agente revertidor (Tabla 1).

Los resultados obtenidos muestran que la habilidad *in vivo* de los sesquiterpenos dihydro- β -agarofuránicos para inhibir el crecimiento de parásitos resistentes, no está relacionado con la unión al NBD2 citosólico, sugiriendo la unión al dominio de transmembrana del transportador Pgp en *Leishmania*, lo que bloquea la salida de DNM.

Actualmente se están realizando experimentos *in vitro* y *in vivo* en células cancerígenas y parásitos con multirresistencia a fármacos para determinar la diana específica de estos sesquiterpenos y elucidar así su mecanismo de acción.

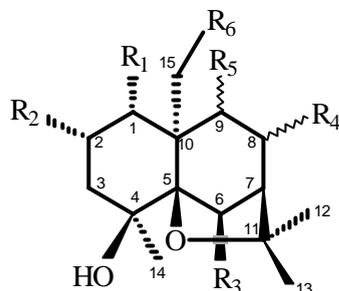
¹⁵ Conseil, G., Baubichon-Cortay, H., Dayan, G., Jault, J. M., Barron, D., Di Pietro, A., *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **1998**, 95, 9831-9836.

¹⁶ Dayan, G., Jault, J. M., Baubichon-Cortay, H., Baggetti, L. G., Renoir, J.M., Baulieu, E. E., Gros, P., Di Pietro, A., *Biochemistry*, **1997**, 36, 15208-15215.

Tabla 1. Efecto de los sesquiterpenos sobre citotoxicidad de DNM en la línea *Leishmania tropica* MDR.

Compuesto	Inhibición del crecimiento ^a (%)			
	15 mM		30 mM	
	W	DNM-R150	W	DNM-R150
T-1	25.5±2.8	77.8±10.1	62.9±8.7	95.4±10.3
T-2	9.8±1.2	90.5±11.8	30.0±4.2	96.0±11.2
T-3	5.3±0.6	83.1±9.2	4.0±0.5	92.6±11.5
T-7	4.9±0.5	40.9±4.9	9.5 ±1.4	86.1±13.8
T-8	7.5±1.0	26.8±3.2	11.1±1.8	91.7±12.1
T-10	9.3±0.8	20.8±7.3	8.4±1.1	88.3±7.9
T-45	7.5±0.9	32.3±4.8	6.2±0.9	82.5±10.7
T-51	6.9±0.7	92.9±10.3	13.8±1.7	96.1±13.4
24	13.5±1.4	16.3±1.9	16.9±2.5	49.8±5.6

^a Cepa salvaje (W) y parásitos MDR (DNM-R150) fueron tratados con 15 y 30 μ M de los sesquiterpenos, en ausencia o presencia de 150 μ M de DNM, respectivamente. Los valores representan el % de inhibición del crecimiento relativo al crecimiento del control en ausencia de agente inhibidor. Los datos mostrados son la media de tres experimentos independientemente \pm S.D.

Tabla 2. Afinidad de enlace de los sesquiterpenos a *Leishmania* NBD2.^a

Compuesto	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆	% Quenching a 50μM ^b
T-1	OBz	OH	OAc	β OAc	α OBz	OMeBut	N.D.
T-2	OBz	OH	OH	β OAc	α OBz	OMeBut	31.4
T-3	OAc	OH	OH	β OMeBut	α OBz	OMeBut	27.5
T-7	OAc	OAc	OAc	β OAc	α OBz	OMeBut	22.8
T-8	OAc	OAc	OH	β OAc	α OBz	OMeBut	30.8
T-10	OH	ONic	OH	β OAc	α OBz	OMeBut	31.1
T-45	OAc	OAc	OAc	α ONic	β OBz	OMeBut	31.8
T-51	OAc	H	OAc	α ONic	β OBz	OMeBut	34.3
24	OAc	H	OAc	β OAc	α OBz	OAc	27.0

^a

El dominio NBD2 fue incubado en las condiciones previamente descritas.

^b

El apantallamiento de la fluorescencia intrínseca se determinó como función de la concentración y el apantallamiento producido a 50μM se determinó gráficamente. N.D., no determinado debido a la alta fluorescencia intrínseca de los compuestos.

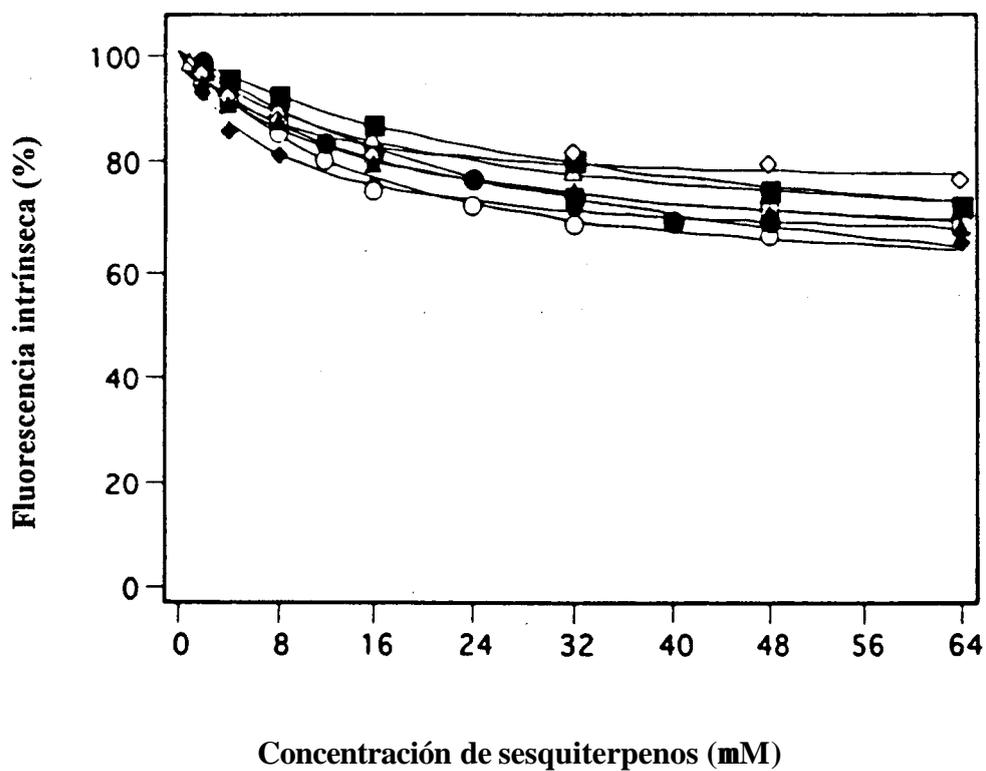


Figura 1. Interacción de *Leishmania* NBD2 recombinante con sesquiterpenos. La fluorescencia intrínseca de NBD2 recombinante se determinó en las condiciones descritas en la parte experimental, en presencia de concentraciones crecientes de los sesquiterpenos: T-2 (◆), T-3 (△), T-7 (◇), T-8 (▲), T-10 (□), T-45 (●), T-51 (○), y 24 (■) disueltos en DMSO.

La leishmaniasis es una de las enfermedades tropicales más ampliamente extendida y de acuerdo con los datos que poseemos origina cada año 2.000.000 de casos nuevos y afecta a más de 270 millones de personas¹. La enfermedad está en etapa de extensión siendo cada vez más frecuente la aparición de nuevos focos que afectan, de forma principal a pacientes inmunodeprimidos, tales como trasplantados o enfermos de hepatitis, sida etc. Esta enfermedad está causada por parásitos del género *Leishmania*, los cuales son protozoos intracelulares pertenecientes a la familia *Tripanosomatidae*².

La lucha contra la leishmaniasis se dirige en tres direcciones:

- a) nivel de vector; tratamiento por insecticidas, obtención de estirpes resistentes y esterilización de machos;
- b) a nivel de reservorio, vacunación de los animales domésticos y
- c) a nivel de pacientes: quimioterapia y vacunación.

Los fármacos de elección para el tratamiento tanto de la forma visceral como cutánea de la enfermedad, son sales de antimonio y sodio (estibogluconato y antimoniato de meglumina). La duración del tratamiento, suele ser muy larga, con efectos secundarios y no es totalmente efectivo. También se usan antibióticos del tipo anfotericina o antifúngicos del tipo ketoconazole bien de forma independiente o asociados.

La leishmaniasis es una enfermedad endémica de zonas tropicales de la región Inka de Perú, donde es tradicionalmente conocido por los habitantes de la región³ el uso de varias especies vegetales para el tratamiento de ésta enfermedad.

Plantas utilizadas para el tratamiento de *Leishmaniasis* en Perú.

Existe una gran variedad de especies usadas para el tratamiento de esta enfermedad, y en diversas formas (infusiones, emplastos, en polvo), entre las que podemos citar:

- *Chenopodium ambrosoides*- infusión de la planta usada para lavados.
- *Nicotiana tabacum*- infusión y emplastos de hojas.
- *Citrus aurantiifolia*- decocción o bien emplasto de hojas y polvo de la cáscara del fruto quemado.

¹ Ashford, R.W.; Desjeux, P.; de Raadt, P. *Parasitol. Today*, **1992**, 8, 104-105.

² Chang, K.P., Fong, D. And Broy, R.S., *Biology of Leishmania and leishmaniasis*. En *Leishmaniasis* (Chang, K.P. and Bray, R.S. ed.), **1985**, 2-27, Elsevier, Amsterdam.

² Lacse, D., Alexiades, M., "*Plantas Medicinales y Salud Indígena*", **1995**, C.B.C., Cusco y FENAMAD.

- *Piper elongatum* y muchas otras especies de *Piper* se aplican sobre las lesiones debidas a la leishmaniasis, en forma de refinado de hojas (emplasto) y además el tratamiento implica una rigurosa dieta.
- *Paullinia bracteosa*- la corteza molida finamente y en forma de emplasto se aplica sobre las lesiones producidas por leishmaniasis cutánea.
- *Copaifera paupera*- la resina del tronco se usa directamente sobre la herida o lesiones.
- *Croton lechleri*- la resina con aplicación directa.
- *Solanum mammosum*- emplasto de frutos.
- *Planatgo major*- emplasto de hojas tiernas.
- *Lonchocarpus spp*- látex de la raíz.
- *Zingiber officinalis*- emplasto de la raíz.
- *Petiveria alliacea*- hojas secas finamente molida (en polvo).

Con estos antecedentes nuestro objetivo principal era la búsqueda de los principios activos de algunas especies usadas para el tratamiento de la leishmaniasis y dado que no existían datos de estudio fitoquímico y actividad antileishmania de *Piper elongatum* y *Copaifera paupera*, se realizó el estudio de ambas especies, mediante fraccionamiento guiado por ensayos antileishmánicos (*in vitro*), permitiéndonos el aislamiento de metabolitos bioactivos frente a promastigotes de *Leishmania braziliensis* (cepa MHOM/PE95/LQ8).

MATERIAL Y MÉTODO.

Procedencia y cultivo del parásito.

Las cepas estudiadas proceden de la Provincia de La Convención en Cusco, Perú y las muestras fueron obtenidas del borde de la lesión ulcerosa de pacientes clínicamente diagnosticados con leishmaniasis.

Los aislados obtenidos se cultivaron en medio agar-sangre USMARU, rico en nutrientes necesarios para el crecimiento de promastigotes de *Leishmania*⁴; las cepas así aisladas se adaptaron y mantuvieron en medio líquido RPMI-1640. Este medio se compuso de RPMI al 0.83

⁴ Evans, D., Handbook on Isolation Characterization and Cryopreservation of *Leishmania*. En Special programme for research and training in tropical diseases. UNDP7WORLD BANK7WHO. 1989, 1-45.

% (p/v, Difco), HEPES al 0.48 % (p/v, Sigma), NaHCO₃ al 0.16 % (p/v, Merck), mezcla de aminoácidos, ácidos orgánicos, azúcares al 1.17 % (p/v) y mezcla de vitaminas al 0.0002 % (p/v), luego se tamponó a pH 7.2 con NaOH al 5 %; posteriormente se añadió al medio suero bovino fetal inactivado hasta una concentración final del 20 % ((v/v), Gibco BRL). El medio se esterilizó por filtración usando filtros de 0.22 µm (Millipore) y se le añadió gentamicina (Gevramicin® 40 mg/ml) esterilizada por filtración, hasta una concentración final de 40 µg/ml, para evitar contaminaciones con bacterias.

El mantenimiento de las formas promastigote de *Leishmania* se realizó mediante resiembras cada 48 o 72 h en 2 ml de medio RPMI e incubados a temperatura de 22 °C.

Ensayos de actividad antileishmania

Los extractos, fracciones o productos a ensayar se encontraban en estado sólido en viales estériles. Para realizar las pruebas estos productos fueron disueltos en dimetilsulfóxido (DMSO) y almacenados a 4°C hasta su utilización.

Los ensayos se realizaron en placas de microtiter estériles de 24 pocillos. En estos pocillos se añadieron 250.000 parásitos, en forma promastigote y procedentes de cultivos en fase logarítmica de crecimiento y la cantidad de producto necesario para lograr la concentración a ensayar. El volumen final por pocillo fue de 500 µl. Los ensayos se repitieron al menos dos veces para verificar los resultados obtenidos.

Se ensayaron distintas concentraciones de los productos y se procedió a contar los parásitos después de 48 y 72 horas, calculando la DI₅₀ (Dosis Inhibitoria 50). Para el cálculo de este parámetro se representa el porcentaje de inhibición del crecimiento frente a la dosis de principio activo, ajustando los puntos que se obtienen mediante una ecuación de tipo logarítmica o lineal.

El recuento se realizó tomando alícuotas de todos los ensayos realizados, los tubos se agitaron vigorosamente para separar bien los parásitos, seguidamente se tomó 10 µl de la muestra en una segunda muestra, al que se añadió una disolución de PBS-Formol, el volumen a añadir dependía de la dilución que se realizaba, que a su vez estaba en función de la cantidad de promastigotes observados al microscopio invertido.

Este recuento se realizó tres veces, expresándose el resultado como la media de dichos recuentos. El porcentaje de inhibición se calculó considerando el número de parásitos de control como el 100 % de crecimiento, o lo que es lo mismo el 0 % de inhibición.

El número de parásitos por mililitros se calcula mediante la ecuación:

$$N_1 = N_0 \times f \times 10 \times 1000$$

N_1 = Número de parásitos por ml.

N_0 = Número de parásitos por $0,1 \text{ mm}^3$ (volumen de cada cuadrado).

f = Dilución de la muestra en PBS y formol.

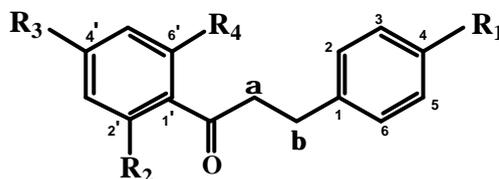
10 = Factor de conversión de $0,1 \text{ mm}^3$ a 1 mm^3 .

1000 = Factor de conversión de mm^3 a ml.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se llevó a cabo el estudio de la actividad antileishmania de los siguientes productos:

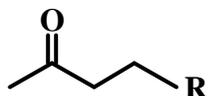
- Productos aislados de *Piper elongatum* y productos de origen sintético relacionados con el 2',6'-dihidroxi-4'-metoxi-dihidrochalcona (**10**)



Producto	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
10	H	OH	OMe	OH
25	OH	OH	OMe	OH
13	H	OH	OMe	OAc
14	H	OAc	OMe	OAc
26	OAc	OH	OMe	OH
27	OAc	OH	OMe	OAc
28	OAc	OAc	OMe	OAc
29	OH	OH	OH	OH
30	OAc	OH	OAc	OAc
31	OAc	OAc	OAc	OAc
32	OH	O-β-D-Glu	OH	OH
33	OAc	O-TetAcO-β-D-Glu	OAc	OAc
34	H	OH	O-β-D-Glu	OH
35	H	OAc	O-TetAcO-β-D-Glu	OAc
36	H	H	H	H
16*	H	H	H	H

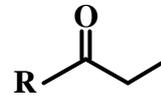
20*	H	H	OMe	H
-----	---	---	-----	---

* α,β -dehidro

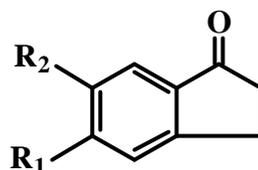


Producto	R
37	C ₆ H ₅
38	p-OCH ₃ C ₆ H ₄
39	p-OHC ₆ H ₄
17*	C ₆ H ₅

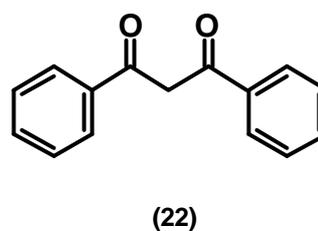
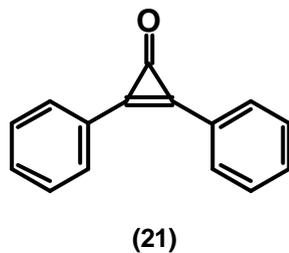
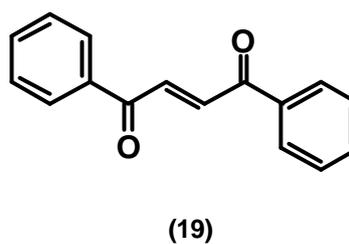
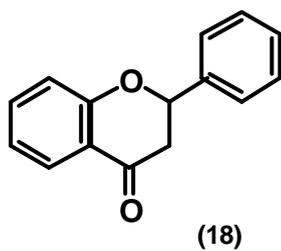
* α,β -dehidro



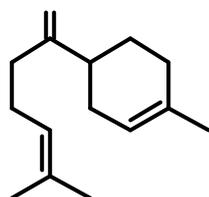
Producto	R
40	C ₆ H ₅
41	2,4-dihidroxi-C ₆ H ₃
42	2,5-dihidroxi-C ₆ H ₃
43	p-OCH ₃ C ₆ H ₄
44	3,5-bistrifluorometil C ₆ H ₃



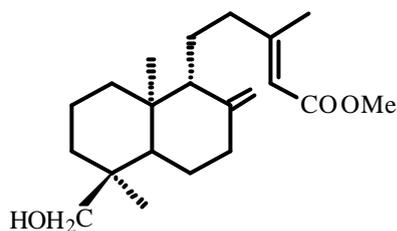
Producto	R ₁	R ₂
45	H	H
46	OCH ₃	H
47	H	OCH ₃
48	OCH ₃	OCH ₃



- Productos aislados de *Copaifera paupera*

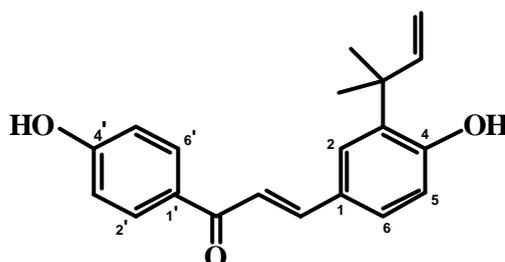


b-Bisaboleno
(49)



Metil éster del ácido *ent*-lab-8(17),13-dien-19-ol-15-oico
(F-2)

El Profesor S. B. Christensen⁵ ha realizado importantes trabajos de investigación en el estudio de las chalconas de la regaliz que inhiben *in vitro* el crecimiento de parásitos pertenecientes a especies de *Leishmania*^{6,7,8} y *Plasmodium*⁹, responsables de las enfermedades leishmaniasis y malaria, respectivamente: *In vivo* la licochalcona A, evita las infecciones de leishmania en ratas y hamster sin mostrar efectos tóxicos ni otros efectos indeseados.



Licochalcona A

Los resultados mostrados anteriormente y los datos que aportamos en esta Tesis han generado el interés por compuestos con esqueleto C₆-C₃-C₆, chalconas, dihidrochalconas y relacionados como potenciales fármacos contra la malaria y la leishmaniasis. La aparición de una amplia resistencia frente a los fármacos de primera línea, ha generado una necesidad acuciante para la búsqueda de nuevos fármacos frente a las citadas enfermedades¹⁰.

⁵ Nielsen, S. F., Kharazmi, A., Christensen, S. B., *Bioorganic Medical Chemistry*, **1998**, 6, 937-945.

⁶ Christensen, S. B., Ming, C., Andersen, L., Hjerne, U., Olsen, C.E., Cornett, C., Theander, T. G., Kharazmi, A., *Planta Medica*, **1994**, 60, 121.

⁷ Chen, M., Christensen, S. B., Blom, J., Lemanich, E., Nadelman, L., Fich, K., Theander, T. G., Kharazmi, A., *Antimicrobial Agents. Chemother*, **1993**, 37, 2250.

⁸ Nielsen, S. F., Chen, M., Theander, T. G., Kharazmi, A., Christensen, S. B., *Bioorg. Med. Chem. Lett*, **1995**, 38, 1470.

⁹ Chen, M., Theander, T.G., Christensen, S.B., Hviid, L., Zhai, L., Kharazmi, A., *Antimicrob. Agents Chemother*, **1994**, 38, 1470.

¹⁰ Murray, M. C., Perkins, M. E. *Ann. Rep. Med. Chem.*, **1996**, 31, 141.

El extracto etanólico de hojas y tallos de *P. elegantum* y la resina de *C. paupera* fueron sometidos a un fraccionamiento cromatográfico guiado por ensayos antileishmania frente a promastigotes de *Leishmania braziliensis*. De la especie *P. elongatum* se aislaron dos productos activos **10** y **25**, y de *C. paupera* se aislaron como productos responsables de la actividad β -bisaboleno (**49**) y metil éster del ácido copaiferólico (**F-2**).

Los productos **10** y **25** fueron identificados con dos dihidrochalconas descritas previamente y ambos habían mostrado actividad antimicrobiana¹¹ y además el producto **25** resultó ser moluscicida.

Al objeto de realizar un estudio más exhaustivo, se prepararon sus derivados, parcial o totalmente acetilados (**13**, **14**, **26**, **27** y **28**). De los resultados obtenidos de este grupo de sustancias se puede concluir que, a medida que aumenta el número de grupos acetatos en la molécula en lugar de grupos fenólicos, aumenta la actividad; así, el compuesto **10** que posee dos grupos hidroxilo, muestra un CI_{50} de 19.1 $\mu\text{g/ml}$, mientras que su diacetato **14**, posee una CI_{50} de 9.3 $\mu\text{g/ml}$, aproximadamente el doble de actividad. Por otro lado, si se compara el compuesto **25** (CI_{50} 37.3 $\mu\text{g/mol}$), que posee tres grupos hidroxilo con su triacetato **28** (CI_{50} 2.4 $\mu\text{g/ml}$), este último es trece veces más potente.

A la vista de estos resultados se decidió analizar una serie de productos relacionados, **20** y **29-36**, todos ellos dihidrochalconas, mientras que la *trans* chalcona (**16**) resultó ser el producto más activo de los presentados en esta Tesis. Otros productos con el sistema aril ó alquil; etilcetona (**37-44**) fueron también ensayados con el deseo de esblecer una relación estructura actividad, $R_1-C_3-R_2$. También se estudiaron las benzo-ciclopentanonas **45-48** con sistema C_6-C_3 y por último los sistemas $C_6-C_3-C_6$ **18**, **21** y **22** y $C_6-C_4-C_6$ **19**.

Tabla 1: Actividad antileishmania *in vitro* frente a promastigotes de *Leishmania braziliensis*

Compuesto	Origen	IC ₅₀ (mg/ml)	IC ₁₀₀ (mg/ml)
10	Natural	19.1	----
25	Natural	37.3	----
13	Derivado	14.87	----
14	Derivado	9.3	----
26	Derivado	11.6	----
27	Derivado	4.08	----
28	Derivado	2.44	----
29	Sintético	----	100
30	Sintético	0.79	----
31	Sintético	1.3	----
32	Sintético	----	100
33	Sintético	4.54	----
34	Sintético	----	100
35	Sintético	3.65	----
36	Sintético	----	100
16*	Sintético	0.32	----
20	Sintético	15.00	10.00
37	Sintético	----	100
38	Sintético	----	100
39	Sintético	----	100
17	Sintético	20.00	25.00
40	Sintético	----	100
41	Sintético	----	100
42	Sintético	----	100
43	Sintético	----	100
44	Sintético	----	100
45	Sintético	----	100
46	Sintético	----	100
47	Sintético	----	100
48	Sintético	----	100
18	Sintético	20.00	25.00
19	Sintético	10.00	15.00
21	Sintético	10.00	15.00
22	Sintético	10.00	15.00
49	Natural	20.00	25.00
F-2	Natural	20.00	25.00
Control		20.00	

*Producto de origen natural

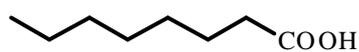
¹¹ Orjala, J.; Wright, A. D.; Behrends, H.; Folkers, G.; Sticher, O.; Hügger, H.; Rali, T., *J.Nat. Prod.* **1994**, 57, 18-26.

Las consecuencias más graves de la diabetes son las complicaciones crónicas: nefropatías, retinopatías, neuropatías, arteriosclerosis y cataratas, que ocurren muchos años después del inicio de la enfermedad. La terapia de la diabetes tiene como objetivo principal el control de la elevación de la concentración de glucosa, bien por la administración oral de agentes hipoglucemiantes, como por la administración de insulina o por una dieta adecuada. Sin embargo, el perfecto control glicémico no se ha conseguido y por tanto, ninguna de estas terapias ha sido capaz de prevenir el desarrollo de las complicaciones crónicas

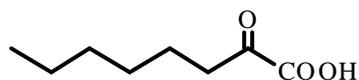
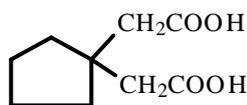
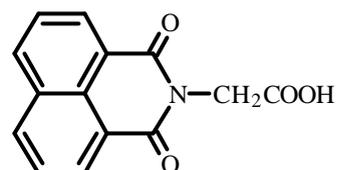
Estas complicaciones están relacionadas con el acúmulo en los tejidos (riñón, retina, nervios, células sanguíneas y cristalino) de polioles procedentes de la reducción de glucosa por la enzima aldosa reductasa, que tiene como cofactor al NADPH. Dicha enzima cataliza la reducción de glucosa a sorbitol y se activa cuando la concentración de glucosa es alta. Una segunda enzima, la sorbitol deshidrogenasa se encarga de la oxidación de sorbitol a fructosa

Muchos han sido los esfuerzos dirigidos a minimizar la incidencia y severidad de estas complicaciones, y en los últimos años ha aparecido una interesante terapia que consiste en el tratamiento con inhibidores de aldosa reductasa. Los primeros recogidos en la literatura fueron una serie de ácidos carboxílicos con una actividad débil. El primero que resultó activo *in vivo* fue la alrestatin, y de él surgieron nuevos inhibidores entre los que destacó la α -tetralonaespirohidantoína ($Z = CH_2$) y varias espirohidantoínas preparadas por reacción de Bucherer-Bergs a partir de cetonas cíclicas de 5 o 6 miembros fusionadas a un anillo bencénico. Los compuestos diseñados por desplazamiento del carbono espiránico de la posición adyacente al anillo bencénico fusionado, y las hidantoínas no espiránicas mostraron baja actividad. Estos resultados sugerían que era necesaria una determinada relación espacial entre el anillo aromático condensado (que podía ser furano o tiofeno entre otros), y el anillo de hidantoína. Por otra parte, se observó que la sustitución en la posición 6 del sistema de cromano o tiocromano, conducía a un importante aumento de actividad *in vivo*. Así surgió el enantiómero S de la 6-fluoro-cromanoespirohidantoína, al que se dio el nombre de sorbinilo.

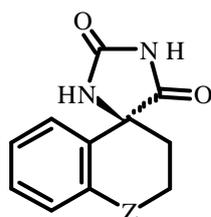
Además de las hidantoínas, otras amidas cíclicas como oxazolidinodionas, tiazolidinodionas y succinimidias, han mostrado actividad inhibitoria frente a esta enzima. En los últimos años los ácidos carboxílicos han evolucionado hacia compuestos más potentes, como el tolrestat, un análogo de alrestatina, y una serie de compuestos heteroaromáticos tales como estatilo, ICI-105,552 y ONO-2235, entre otros.



Ácido octanoico

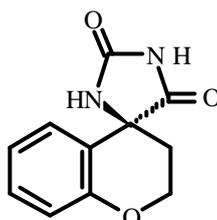
Ácido α -cetonanoicoÁcido tetrametilen-
glutárico

Alrestatina

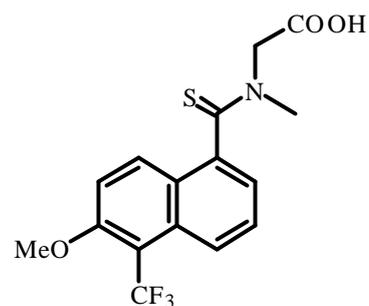


Z= O, S, (CH₂)_n
n= 0,1

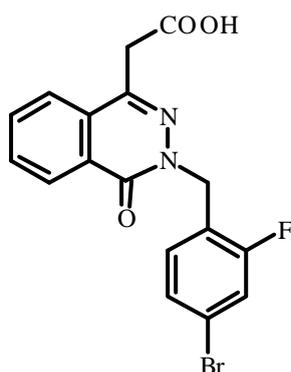
Espirohidantoinas



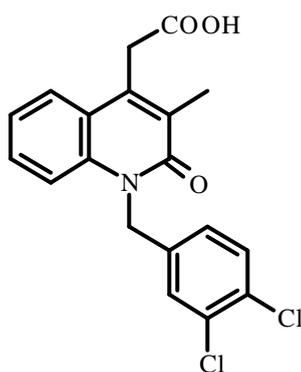
(S) Sorbinilo



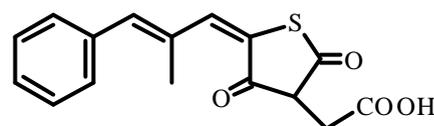
Tolrestat



Estatilo



ICI-105, 552



ONO-2235

Una tercera clase de compuestos son los fenoles, además de ciertos agentes antialérgicos y antiinflamatorios. Dada la variedad estructural de los inhibidores de aldosa reductasa, resulta difícil definir el lugar de unión de dichos inhibidores a la enzima. La información existente revela la presencia de un centro catiónico, formado por aminoácidos básicos protonados, responsable de la unión del cofactor (NADPH) y una región de carácter hidrófobo a la que presumiblemente se una el sustrato.

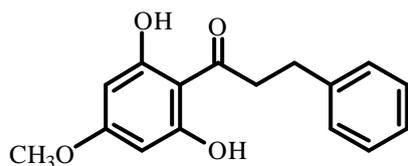
MATERIAL Y MÉTODOS

La purificación del enzima aldosa reductasa recombinante humana usada en el ensayo se basa en el método descrito por Nishimura y *col.*¹ y la actividad inhibitoria *in vitro* se determinó siguiendo el método anterior modificado.

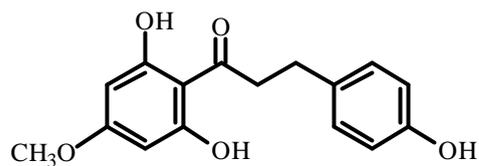
RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los productos ensayados fueron:

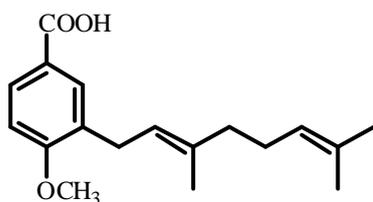
- Productos aislados de *Piper elongatum*



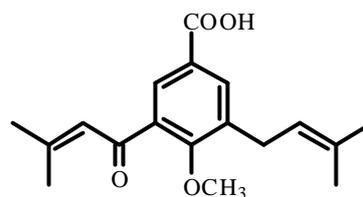
**2', 6'-dihidroxi-4'-metoxi-
dihidrochalcona**
(10)



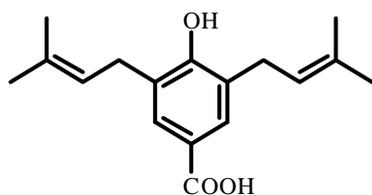
**2',4, 6'-trihidroxi-4'-metoxi
dihidrochalcona**
(25)



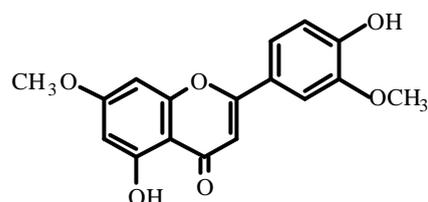
**Ácido 2'E3-(3,7-dimetil-octa-
2E,6-dienil)-4-metoxi-benzoico**
P-3



**Ácido 4-hidroxi-3-(3-metil-2-butenoil)
5-(3-metil-2-butenil) benzoico**



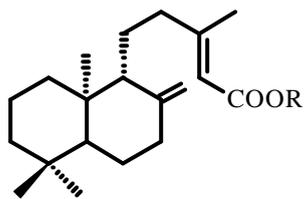
Ácido nevalgénico



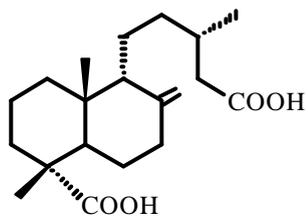
Velutina

- Productos aislados de *Copaifera paupera*

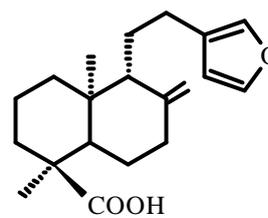
¹ Avendaño López, M., *Introducción a la Química Farmacéutica*, 1994, Interamericana de España, Mc Graw Hill.



(-) Ácido copálico R=H
Metil éster del
(-) ácido copálico R=CH₃



(-)-Ácido pinifólico



Ácido poliáltico

Ninguno de los productos ensayados presentó actividad, excepto (-)-**ácido pinifólico** con una CI₅₀ de 25 µg/ml.

El número de especies de insectos descritas actualmente constituye numéricamente el grupo más importante del reino animal. A esto se le añade su gran capacidad de reproducción, su versatilidad ecológica y facilidad de dispersión. Su incidencia sobre la actividad del hombre es muy importante y desde este punto de vista se acostumbra a clasificar a los insectos en beneficiosos y perjudiciales. Los primeros reportan materias primas, intervienen decisivamente en la polinización de muchas plantas contribuyendo al mantenimiento de los sistemas ecológicos, colaboran activamente en la descomposición de la materia orgánica y además, controlan de forma natural a muchos insectos potencialmente dañinos.

Sin embargo, son importantes también, los efectos perjudiciales que causan al hombre y animales domésticos siendo los agentes causales directos de parasitismos y los transmisores de peligrosas enfermedades. Los efectos negativos de los insectos sobre las plantas cultivadas y productos almacenados son muy importantes y en este sentido constituyen uno de los azotes de la humanidad. Su incidencia como plagas agrícolas da idea del hecho de que más del 90 por 100 del consumo de insecticidas va destinado contra los insectos perjudiciales a la agricultura y productos almacenados.

La utilización de los insecticidas de síntesis ocasionó consecuencias negativas; uno de los primeros que se observó fue la inducción de resistencia en los insectos, con lo que algunos insecticidas inicialmente muy eficaces acabaron por ser prácticamente inocuos sobre determinadas poblaciones de insectos. Otra consecuencia negativa de la aplicación de determinados productos de síntesis poco selectivos, fue la introducción de desequilibrios ecológicos en los ecosistemas agrícolas y la consiguiente aparición de nuevas plagas. Por otro lado, la utilización no controlada de plaguicidas provoca problemas de contaminación del medio ambiente y la presencia de residuos tóxicos en los vegetales tratados. De ahí la necesidad de buscar insecticidas cada vez más selectivos, menos persistentes y de menor toxicidad para el hombre, entre los que se encuentran las nuevas generaciones de productos biorracionales.

Los insecticidas biorracionales¹ presentan una estrategia de investigación basada en el conocimiento de los procesos fisiológicos o mecanismos de comunicación específicos de insectos y en la obtención de agentes capaces de perturbarlos. En la actualidad existen tres tipos fundamentales de estos insecticidas, los análogos de la hormona juvenil, los inhibidores de la formación de la cutícula y de las feromonas; sin embargo, las posibilidades de perturbación de funciones específicas

¹ Bellés, X., **Insecticidas biorracionales**, *Nuevas Tendencias*, 1988, 9, Servicio de Publicaciones C.S.I.C., Madrid.

de insectos van mucho más allá de estos tres tipos, habiéndose obtenido resultados prometedores a través de otras aproximaciones, destacando los antagonistas de la hormona juvenil y otras hormonas endocrinas, así como compuestos de defensa de las plantas contra insectos, entre los que destacan los antialimentarias (antifeedant) y antagonistas de feromonas. Todo ello configura un amplio panorama de alternativas y la estrategia biorracional para el diseño de plaguicidas.

En concreto, los compuestos que pueden actuar como inhibidores de la alimentación constituyen un grupo de sustancias que ha despertado un enorme interés en los últimos diez años, como posible alternativa a los insecticidas de acción directa (organoclorados, organofosforados, carbamatos, piretros).

La inhibición de la alimentación se ha definido con los términos antialimentaria, o disuasorio de la alimentación, deterrente y repelente gustatorio. Dichos inhibidores de la alimentación junto a los reguladores del desarrollo de los insectos (inhibidores de oviposición, hormonas de muda y juveniles y sus antagonistas) feromonas, atrayentes y repelentes, se han descrito como insecticidas de acción indirecta. En cualquier caso pueden constituir una base firme para los programas de control integrado de plagas de insectos. Frente a los antialimentarias sintéticos, organoestánicos, carbamatos y otros empleados desde hace ya algún tiempo en agricultura y que presentan inconvenientes similares a los de los insecticidas clásicos, los productos naturales presentan una alternativa más prometedora a la hora de soslayar los problemas de persistencia y toxicidad inespecífica.

Tradicionalmente son conocidas en China, las propiedades insecticidas de *Tripterygium wilfordii* Hook², una Celastraceae cuya parte aérea, molida y mezclada con agua se añade sobre las plantas para protegerlas de diversas plagas. Recientemente ha comenzado el estudio clínico de esta planta para el tratamiento de artritis reumatoide y espondilitis³. Varios trabajos dan cuenta del aislamiento de alcaloides macrocíclicos y sesquiterpenos poliesterificados a los que responsabilizan de la actividad frente a diferentes insectos, no sólo de esta especie, sino también de otras Celastráceas^{4,5,6,7,8}.

Compuesto	Especie vegetal	Actividad frente a:
-----------	-----------------	---------------------

² Roork, R.C.; *Econ.Bot.*, **1947**, 1, 437.

³ Juling, G., Shixiang, V., Xichum, W., Shixi, X., Deda, L.; *Chin. Med.J.*, **1981**, 94, 405.

⁴ Jacobson, M., Crosby, D.G.; *Naturally Occurring Insecticidal*, **1971**, 225, Marcel Dekker De New York.

⁵ Lin, J.K., Jia, Z.J., Wu, D.G., Zhon, J., Wang, Q.G.; *Phytochemistry*, **1990**, 29, 2503.

⁶ Wang, G.L., Nang, P., Gonz, F.J., Zhu, X.Q.; *Kexue Tongbao*, **1990**, 15, 1156.

⁷ Ke, Z., Nan, U., Lu, L., Wu, D.; *Acta Phytophylacica Sinica*, **1987**, 14 (3), 208-216.

⁸ Shin-Foon, Ch.; *Insecticides of Plant Origin*, capítulo **1989**, 6, 69-77, American Chemical Society De Washington D.C.

Wilfordina	<i>Tripterygium wilfordii</i> ⁹	<i>Bombyx mori</i> , <i>Malacosoma americana</i> , <i>Prodemia eridania</i> , <i>Leptinotarse decemlineata</i> , <i>Plutella maculipneunis</i> , <i>Pieris rapae</i> , <i>Diaphania hyalinata</i> , <i>Pachizanda bipunctalis</i> , <i>Carpocapsa pomonella</i> ,
Extractos que contienen sesquiterpenos poliesterificados.	<i>Autroplenkia populnea</i> ¹⁰	<i>Strongyloides stercolaris</i>
Celangulin	<i>Celastrus angulatus</i> ^{11,12,13}	<i>Aulacophora femoralis chinensis</i> , <i>Colaphellus lowriugi</i> , <i>Polagiodera versicoltra</i> , <i>Althalia flacca</i> , <i>Hymenia recurralis</i> , <i>Pieris rapae</i> , <i>Testacea</i> , <i>Malacosoma neustria</i> , <i>Locustra migratoria</i> , <i>Migratoides manilensis</i> , <i>Spodóptera frugiperda</i> .
Angulatin	<i>Celastrus angulatus</i> ¹⁴	<i>Heliuthis armigera</i> <i>Aphis armigera</i> <i>Aphis gossypii</i> <i>Pieris rapae</i> <i>Brevicoryne brassicae</i>

Los insecticidas naturales presentan la ventaja de que los insectos tienen dificultad en adaptarse a ellos y no están sometidos a la misma presión selectiva como en el caso de los insecticidas convencionales; así el uso de productos naturales puede evitar o retrasar el desarrollo de resistencia en el insecto. La mezcla de insecticidas convencionales, tales como organofosforados y carbamatos a baja concentración, con productos naturales puede servir para incrementar la toxicidad aguda del tratamiento, matando a los insectos más rápidamente. Por otro lado los insecticidas naturales son medianamente selectivos en su acción y muchos de ellos tienen baja toxicidad frente a los enemigos naturales de los insectos que causan plagas.

⁹ Swingle, W.T., Haller, H.L., Siegler, E.H., Swungle, M.C., *Science*, **1941**, 93, 60.

¹⁰ Vichnewki, W., Siva, J., Herz, W.; *Phytochemistry*, **1984**, 23, 1655.

¹¹ Wu, W.J., Cao, G.J.; *Acta Phytophylacica Sinica*, **1985**, 12(1), 57-62.

¹² Ke, Z., Nan., W., Lu, L., Wu, D.; *Acta Phytophylacica Sinica*, **1987**, 14(3), 208-216.

¹³ Wakabayashi, N., Un, W.Y., Waters, R.M., Redern, R.E., Mills Jr., G.D., Demilo, A.B., Lusby, W.R., Andrzejewski, D.; *J. Nat. Prod.*, **1988**, 51, 537.

¹⁴ Maotian, W., Hailin, Q., Man, K., Yanzi, L.; *Phytochemistry*, **1991**, 30, 12, 3931.

En nuestro grupo de trabajo se había llevado a cabo un amplio estudio de la actividad antifeedant de 41 sesquiterpenos con esqueleto de dihidro- β -agarofurano¹⁵, así como 14 compuestos de síntesis relacionados. De los resultados obtenidos se concluyó que estos compuestos representan una nueva familia de compuestos activos con potencial para su uso en la protección de los cultivos.

Con estos antecedentes y dado que poseíamos una amplia variedad de sesquiterpenos decidimos realizar un estudio de la actividad disuasoria de la alimentación así como insecticida de algunos de los metabolitos aislados.

ACTIVIDAD ANTIALIMENTARIA

MATERIAL Y MÉTODOS

Para evaluar la actividad antifeedant se ha usado el “**bioensayo de los discos vegetales**”, usando larvas del Lepidóptero, *Spodoptera littoralis*, en la quinta muda, tal como se describe en material y métodos de este capítulo.

Los insectos usados para el ensayo fueron larvas de *Spodoptera littoralis*, las cuales habían mudado recientemente a la quinta muda y las condiciones de las colonias en el laboratorio fueron de una temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$ y una humedad relativa comprendida entre el 60 y 70 por ciento con una fotofase de 18 horas y una dieta semiartificial.

Los ensayos de actividad antifeedant fueron realizados usando una prueba de elección mediante disco de lechuga, *Lactuca sativa* de 1 cm^2 de área, pesando aproximadamente $33.65 \pm 0.07 \text{ mg}$.

Los compuestos a ensayar fueron uniformemente distribuidos sobre la superficie del disco por aplicación de $10 \mu\text{l}$ de una disolución de los mismos en acetona, con una microjeringa y el disolvente fue posteriormente evaporado; a estos discos se les denomina discos tratados (DT). Los discos control (DC) contenían únicamente acetona, en cada bioensayo se colocaron alternativamente en una placa de Petri de 85 mm de diámetro cuatro DT y cuatro DC y cinco larvas que pesaban entre 40 y 50 mg, manteniéndose en condiciones constantes de $30 \pm 0.5^\circ\text{C}$, 70% de humedad y total oscuridad en una cámara termostática. Cada experimento se repitió seis veces.

¹⁵ González, A.G., Jiménez, I.A., Ravelo, A.G., Coll, J., González, J.A., Lloria, J., *Biochem. Syst. Ecol.* **1997**, 25, 513-519.

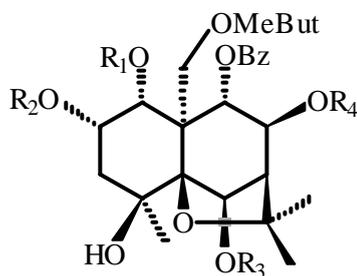
Sistemática para la evaluación de resultados de los ensayos de actividad antialimentaria

Las áreas consumidas en los discos tratados (ACDT) y en los discos control (ACDC) se midieron de forma simultánea a intervalos regulares de 30 min., durante períodos de tiempo comprendidos generalmente entre 4 y 5 horas, para así poder determinar lo que denominamos como “fracción consumida” (FC) de forma tal que $FC = ACDT/ACDC$. Nosotros usamos el FC_{50} que corresponde a la relación existente entre el ACDT y el ACDC, cuando el disco control (DC) ha sido consumido en un 50%; estos valores se obtuvieron por extrapolación de los datos empíricos más próximos.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los productos ensayados por su actividad antialimentaria frente a *Spodoptera littoralis* fueron:

- Productos aislados de *Crossopetalum tonduzii*



Producto	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
T-1	Bz	H	Ac	Ac
T-2	Bz	H	H	Ac
T-3	Ac	H	H	MeBut
T-7	Ac	Ac	Ac	Ac
T-8	Ac	H	H	Ac

Los resultados de los ensayos de actividad antialimentaria se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1: Actividad Antialimentaria frente a *Spodoptera littoralis*.

Compuesto	Dosis (mg/cm ²)	FC ₅₀ ± DME	Nº Réplicas
T-1	10 µg	0.85 ± 0.09	3
T-2	10 µg	0.70 ± 0.15	3
T-3	10 µg	0.53 ± 0.08	3
T-7	10 µg	0.58 ± 0.10	5
T-8	10 µg	0.62 ± 0.05	5

FC₅₀= Relación ACDT/ACDC cuando se ha consumido el 50% del DC.

DME= Desviación media standard

TTA= Acetato de trifenil estaño usado como control.

Estos datos indican que nos encontramos con una familia de productos activos y potencialmente útiles, quedando aún por estudiar algunas variables como son el uso de estas sustancias naturales con antialimentarias sintéticos, dentro de un control integrado de plagas con el objetivo de evitar los problemas de resistencia en los insectos o bien retrasar su aparición.

Otra variable cuyo proyecto está en vías de realización es el conocimiento de los predadores más habituales de *Spodoptera littoralis* en varios ambientes naturales y agrícolas, al objeto de saber si son afectados o no por estos productos.

ACTIVIDAD INSECTICIDA

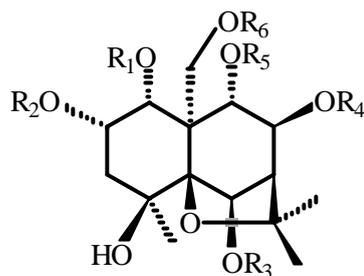
MATERIAL Y MÉTODOS

Hojas de disco de área conocida fueron tratados con cantidades conocidas de las muestras ensayadas disueltas en acetona. Las larvas del quinto estadio de *Mythimna separata* fueron alimentadas con los discos durante 2h, las áreas comidas fueron medidas bajo un microscopio binocular por recuento en celdas de exposición de 1mm. Los discos comidos parcialmente fueron colocados sobre otro círculo de papel milimetrado del mismo tamaño; después de 24 horas el número de larvas inmovilizadas (narcotizadas e inmovilizadas sin respuesta) y de larvas muertas fueron observadas y contadas.¹⁶ La toxicidad fue estimada calculando la media de la dosis de inmovilización (KD₅₀) y la media de la dosis letal (LD₅₀) de las muestras ensayadas.

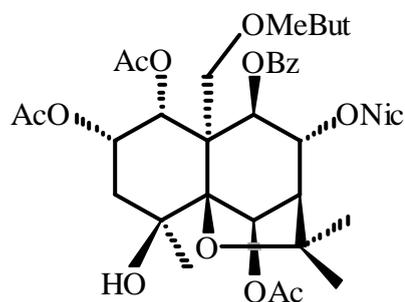
¹⁶ Wu, W.J., Tu, J.Q., Liu, H.X. and Zhu, J.B. *J. Nat. Prod.*, **1992**, 55, 9, 1294-1298.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

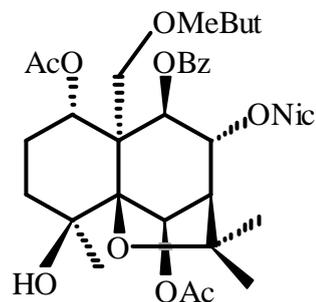
Los compuestos ensayados por su actividad insecticida frente a *Mythimna separata* fueron aislados de *Crossopetalum tonduzii*:



Producto	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆
T-1	Bz	H	Ac	Ac	Bz	MeBut
T-2	Bz	H	H	Ac	Bz	MeBut
T-3	Ac	H	H	MeBut	Bz	MeBut
T-7	Ac	Ac	Ac	Ac	Bz	MeBut
T-17	Nic	H	H	MeBut	Bz	MeBut
T-27	Bz	Nic	H	Ac	Bz	MeBut
T-34	Nic	Bz	H	Ac	Nic	Bz



T-45



T-51

Los resultados obtenidos se muestran en la Tabla 2.

Tabla 2: Actividad insecticida frente a *Mythimna separata*.

Compuesto	Tratados 6 h, KD_{50} (mg/g)	Tratados 48 h, mortalidad (%)
T-1	116.1	12.5
T-2	130.4	10.0
T-3	121.3	17.5
T-7	133.4	82.5
T-17	127.6	10.0
T-27	291.4	2.5
T-34	127.3	52.5
T-45	62.1	35.0
T-51	33.4	55.0

KD_{50} : dosis requerida para inmovilizar el 50% de la población.

Los productos más activos resultaron ser **T-7**, **T-34** y **T-51**, ya que producen una mortalidad superior al 50% en las larvas después de un tratamiento de 48 h. Por otro lado, **T-45**, presentó una importante actividad narcótica, pero las larvas se recuperaban posteriormente y la mortalidad fue inferior al 50%.

Nosotros hemos encontrado productos activos en extractos de especies de México, Chile y Canarias; asimismo, el celangulín aislado anteriormente de *Celastrus angulatus*, especie que crece en China, también ha sido aislado por nosotros de *Maytenus canariensis*. Estos datos parecen indicar que las especies de esta familia botánica se defienden frente a diversos insectos con la producción de este tipo de metabolitos y que la diversidad estructural de ellos debe producirse para defenderse de las diversas especies de insectos; sin embargo requieren más estudios para confirmar estos hechos.

		P.T.	P.E.
<i>Piper elegantum</i>			
P-1:	2-Metil-3-(2,4,5-trimetoxi-fenil)-oxirano.	42	179
P-2:	1-Etoxi-1-(2,4,5-trimetoxi-fenil)-propan-2-ol.	43	43
P-3:	Ácido-3-(3,7-dimetil-octa 2 <i>E</i> ,6-dienil)-4-metoxi-benzoico.	45	180
P-4:	Ácido-4-hidroxi-3-(3-hidroxi-3,7-dimetil-octa-1,6-dienil)-5-(3-metil-but-2-enil)-benzoico.	46	181
P-5:	4-Metoxi-3-(3,7-dimetil-2 <i>E</i> ,6-octadienil)-benzoato del ácido 4-hidroxi-3-(3-metil-2-butenil)-5-(3-metil-3-hidroxi-2 <i>Z</i> -butenil)-benzoico (Elongatina)	48	182
P-6:	1-(3-hidroxi-2 <i>Z</i> -en-butil)-2,5,5-trimetil-2-ciclopentenol.	49	183
<i>Copaifera paupera</i>			
F-1:	Metil éster del ácido 3-hidroxi-labda-8(17),13-dien-15-oico.	66	189
F-2:	Metil-éster del ácido <i>ent</i> -lab-8(17),13-dien-19-ol-15-oico.	67	189
F-3:	Pauperol.	68	190
F-4:	Ácido 3-metil-5-(2,2,6-trimetil-6-hidroxi-1-ciclohexil)-pentanoico.	69	191
<i>Maytenus cuzcoina</i>			
M-1:	1 α -Acetoxi-2 α ,6 β ,9 β -trifuroiloxi-4 β -hidroxi-dihidro- β -agarofurano.	84	197
M-2:	1 α ,2 α -Diacetoxi-6 β ,9 β -difuroiloxi-4 β -hidroxi-dihidro- β -agarofurano.	88	198
M-3:	1 α -Acetoxi-6 β ,9 β -difuroiloxi-2 α ,4 β -dihidroxi-dihidro- β -agarofurano.	92	198
M-4:	1 α -Acetoxi-2 α -benzoiloxi-6 β ,9 β -difuroiloxi-4 β -dihidro- β -agarofurano.	91	200
M-5:	1 α -Acetoxi-6 β ,9 β -difuroiloxi-2 α -propionoiloxi-4 β -hidroxi-dihidro- β -agarofurano	93	201
M-6:	1 α -Acetoxi-6 α ,9 β -difuroiloxi-2 α -(2)-metilbutiroiloxi-4 β -hidroxi-dihidro- β -agarofurano.	95	202
M-7:	1 α ,2 α ,15-Triacetoxi-6 β -furoiloxi-4 β -hidroxi-dihidro- β -agarofurano.	96	203
M-8:	1 α ,2 α ,15-Triacetoxi-6 β ,9 β -dibenzoiloxi-4 β -hidroxi-dihidro- β -agarofurano	98	204
<i>Crossopetalum tonduzii</i>			
T-1:	(1 <i>R</i> ,2 <i>S</i> ,4 <i>S</i> ,5 <i>S</i> ,6 <i>R</i> ,7 <i>R</i> ,8 <i>S</i> ,9 <i>S</i> ,10 <i>S</i>)-6,8-Diacetoxi-1,9-dibenzoiloxi-15-	112	209

	(2)-metilbutiroiloxi-2,4-dihidroxi-dihidro- β -agarofurano.		
1	(1R,2S,4S,5S,6R,7R,8S,9S,10S)-6,8-Diacetoxi-1,2,9-tribenzoiloxi-15-	115	210
	(2)-metilbutiroiloxi-4-hidroxi-dihidro- β -agarofurano.		
2:	(1R,2S,4S,5S,6R,7R,8S,9S,10S)-2,6,8-Triacetoxi-1,9-dibenzoiloxi-15-	116	211
	(2)-metilbutiroiloxi-4-hidroxi-dihidro- β -agarofurano.		
T-2:	(1R,2S,4S,5S,6R,7R,8S,9S,10S)-8-Acetoxi-1,9-dibenzoiloxi-15-(2)-	116	211
	metilbutiroiloxi-2,4,6-trihidroxi-dihidro- β -agarofurano.		
T-3:	1 α -Acetoxi-9 α -benzoiloxi-8 β ,15-di-(2)-metilbutiroiloxi-2 α ,4 β ,6 β -	117	212
	trihidroxi-dihidro- β -agarofurano.		
3:	1 α -Acetoxi-6 β ,9 α -dibenzoiloxi-8 β ,15-di-(2)-metilbutiroiloxi-2 α ,4 β -	118	214
	dihidroxi-dihidro- β -agarofurano.		
4:	1 α -Acetoxi-2 α ,6 β ,9 α -tribenzoiloxi-8 β ,15-di-(2)-metilbutiroiloxi-4 β -	118	214
	hidroxi-dihidro- β -agarofurano.		
5:	1 α ,2 α ,6 β -Triacetoxi-9 α -benzoiloxi-8 β ,15-di-(2)-metilbutiroiloxi-4 β -	118	215
	hidroxi-dihidro- β -agarofurano.		
T-4:	1 α ,6 β -Diacetoxi-9 α -benzoiloxi-8 β ,15-di-(2)-metilbutiroiloxi-2 α ,4 β -	118	216
	dihidroxi-dihidro- β -agarofurano.		
T-5:	1 α ,2 α -Diacetoxi-9 α -benzoiloxi-8 β ,15-di-(2)-metilbutiroiloxi-4 β ,6 β -	118	217
	dihidroxi-dihidro- β -agarofurano.		
T-6:	(1R,2S,4S,5S,6R,7R,8S,9S,10S)-1,6,8-Triacetoxi-9-benzoiloxi-15-(2)-	120	218
	metilbutiroiloxi-2,4-dihidroxi-dihidro- β -agarofurano.		
6:	(1R,2S,4S,5S,6R,7R,8S,9S,10S)-1,6,8-Triacetoxi-2,9-dibenzoiloxi-15-	121	219
	(2)-metilbutiroiloxi-4-hidroxi-dihidro- β -agarofurano.		
T-7:	(1R,2S,4S,5S,6R,7R,8S,9S,10S)-1,2,6,8-Tetraacetoxi-9-benzoiloxi-	123	220
	15-(2)-metilbutiroiloxi-4-hidroxi-dihidro- β -agarofurano.		
T-8:	(1R,2S,4S,5S,6R,7R,8S,9S,10S)-1,2,8-Triacetoxi-9-benzoiloxi-15-(2)-	123	221
	metilbutiroiloxi-4,6-dihidroxi-dihidro- β -agarofurano.		
T-9:	(1R,2S,4S,5S,6R,7R,8S,9S,10S)-1,2-Diacetoxi-9-benzoiloxi-15-(2)-	124	222
	metilbutiroiloxi-4,6,8-trihidroxi-dihidro- β -agarofurano.		
T-10:	(1R,2S,4S,5S,6R,7R,8S,9S,10S)-8-Acetoxi-9-benzoiloxi-15-(2)-	125	223

	metilbutiroiloxi-2-nicotinoiloxi-1,4,6-trihidroxi-dihidro- β -agarofurano.		
7	(1R,2S,4S,5S,6R,7R,8S,9S,10S)-1,6,8-Triacetoxi-9-benzoiloxi-15-(2)-metilbutiroiloxi-2-nicotinoiloxi-4-hidroxi-dihidro- β -agarofurano.	128	224
T-11:	(1R,2S,4S,5S,6R,7R,8S,9S,10S)-6,8-Diacetoxi-9-benzoiloxi-15-(2)-metilbutiroiloxi-2-nicotinoiloxi-1,4-dihidroxi-dihidro- β -agarofurano.	127	225
8	(1R,2S,4S,5S,6R,7R,8S,9S,10S)-6,8-Diacetoxi-9-benzoiloxi-15-(2)-metilbutiroiloxi-1,2-dinicotinoiloxi-4-hidroxi-dihidro- β -agarofurano.	129	226
T-12:	(1R,2S,4S,5S,6R,7R,8S,9S,10S)-1,8-Diacetoxi-9-benzoiloxi-15-(2)-metilbutiroiloxi-2-nicotinoiloxi-4,6-dihidroxi-dihidro- β -agarofurano.	129	227
T-13:	(1R,2S,4S,5S,6R,7R,8S,9S,10S)-8-Acetoxi-9-benzoiloxi-15-(2)-metilbutiroiloxi-1,2-dinicotinoiloxi-4,6-dihidroxi-dihidro- β -agaro furano.	129	228
T-14:	(1R,2S,4S,5S,6R,7R,8S,9S,10S)-6,8-Diacetoxi-9-benzoiloxi-15-(2)-metilbutiroiloxi-1-nicotinoiloxi-2,4-dihidroxi-dihidro- β -agarofurano.	130	229
9	(1R,2S,4S,5S,6R,7R,8S,9S,10S)-2,6,8-Triacetoxi-9-benzoiloxi-15-(2)-metilbutiroiloxi-1-nicotinoiloxi-4-hidroxi-dihidro- β -agarofurano.	131	230
T-15:	(1R,2S,4S,5S,6R,7R,8S,9S,10S)-8-Acetoxi-9-benzoiloxi-15-(2)-metilbutiroiloxi-1-nicotinoiloxi-2,4,6-trihidroxi-dihidro- β -agaro furano.	131	231
T-16:	(1R,2S,4S,5S,6R,7R,8S,9S,10S)-2,8-Diacetoxi-9-benzoiloxi-15-(2)-metilbutiroiloxi-1-nicotinoiloxi-4,6-dihidroxi-dihidro- β -agarofurano.	131	232
T-17:	9 α -Benzoiloxi-8 β ,15-di-(2)-metilbutiroiloxi-1 α -nicotinoiloxi-2 α ,4 β ,6 β -trihidroxi-dihidro- β -agarofurano.	132	233
T-18:	2 α ,9 α -Dibenzoiloxi-8 β ,15-di-(2)-metilbutiroiloxi-1 α -nicotinoiloxi-4 β ,6 β -dihidroxi-dihidro- β -agarofurano.	133	234
T-19:	1 α -Acetoxi-9 α -benzoiloxi-8 β ,15-di-(2)-metilbutiroiloxi-2 α -nicotinoiloxi-4 β ,6 β -dihidroxi-dihidro- β -agarofurano.	133	235
T-20:	1 α ,9 α -Dibenzoiloxi-8 β ,15-di-(2)-metilbutiroiloxi-2 α ,4 β ,6 β -trihidroxi-dihidro- β -agarofurano.	134	236
T-21:	1 α -Acetoxi-9 α -benzoiloxi-15-isobutiroiloxi-8 β -(2)-metilbutiroiloxi-2 α ,4 β ,6 β -trihidroxi-dihidro- β -agarofurano.	135	237
T-22:	1 α ,2 α -Diacetoxi-9 α -benzoiloxi-15-isobutiroiloxi-8 β -(2)-metilbutiroiloxi-4 β ,6 β -dihidroxi-dihidro- β -agarofurano.	136	238

T-23:	1 α ,6 β -Diacetoxi-9 α -benzoiloxi-15-isobutiroiloxi-8 β -(2)- metilbutiroiloxi-2 α ,4 β -dihidroxi-dihidro- β -agarofurano.	136	239
T-24:	1 α ,9 α -Dibenzoiloxi-15-isobutiroiloxi-8 β -(2)-metilbutiroiloxi- 2 α ,4 β ,6 β -trihidroxi-dihidro- β -agarofurano.	137	240
T-25:	9 α -Benzoiloxi-15-isobutiroiloxi-8 β -(2)-metilbutiroiloxi-1 α -nicotinoiloxi- 2 α ,4 β ,6 β -trihidroxi-dihidro- β -agarofurano.	138	241
T-26:	8 β -Acetoxi-1 α ,9 α -dibenzoiloxi-15-isobutiroiloxi-2 α -nicotinoiloxi- 4 β ,6 β -dihidroxi-dihidro- β -agarofurano.	138	242
T-27:	8 β -Acetoxi-1 α ,9 α -dibenzoiloxi-15-(2)-metilbutiroiloxi-2 α -nicorinoiloxi- 4 β ,6 β -dihidroxi-dihidro- β -agarofurano.	139	243
T-28:	2 α ,6 β -Diacetoxi-1 α ,9 α ,dibenzoiloxi-15-(2)-metilbutiroiloxi-8 β - nicotinoiloxi-4 β -hidroxi-dihidro- β -agarofurano.	140	244
T-29:	1 α ,2 α ,8 β -Triacetoxi-9 α ,15-dibenzoiloxi-4 β ,6 β -dihidroxi-dihidro- β - agarofurano.	140	245
T-30:	1 α ,6 β ,8 β -Triacetoxi-9 α ,15-dibenzoiloxi-2 α ,4 β -dihidroxi-dihidro- β - agarofurano.	142	246
T-31:	2 α ,6 β ,8 β -Triacetoxi-9 α ,15-dibenzoiloxi-1 α ,4 β -dihidroxi-dihidro- β - agarofurano.	142	247
T-32:	1 α ,2 α -Diacetoxi-9 α ,15-dibenzoiloxi-4 β ,6 β -dihidroxi-dihidro- β - agarofurano.	143	248
T-33:	8 β ,15-Diacetoxi-1 α ,9 α -dibenzoiloxi-2 α ,4 β ,6 β -trihidroxi-dihidro- β - agarofurano.	144	248
T-34:	8 β -Acetoxi-2 α ,15-dibenzoiloxi-1 α ,9 α -dinicotinoiloxi-4 β ,6 β -dihidroxi- dihidro- β -agarofurano.	145	249
T-35:	2 α ,8 β -Diacetoxi-9 α ,15-dibenzoiloxi-1 α -nicotinoiloxi-4 β ,6 β -dihidroxi- dihidro- β -agarofurano.	146	250
T-36:	8 β -Acetoxi-2 α ,9 α ,15-tribenzoiloxi-1 α -nicotinoiloxi-4 β ,6 β - dihidroxi- dihidro- β -agarofurano.	146	251
T-37:	8 β -Acetoxi-1 α ,9 α ,15-tribenzoiloxi-2 α -nicotinoiloxi-4 β ,6 β - dihidroxi- dihidro- β -agarofurano.	147	252
T-38:	1 α -Acetoxi-9 α -benzoiloxi-15-(2)-metilbutiroiloxi-8 β -nicotinoiloxi- 2 α	148	253

	,4 β ,6 β -trihidroxi-dihidro- β -agarofurano.		
T-39:	9 α -Benzoiloxi-15-(2)-metilbutiroiloxi-1 α ,8 β -dinicotinoiloxi-2 α ,4 β , 6 β -trihidroxi-dihidro- β -agarofurano.	149	254
T-40:	1 α -Acetoxi-9 α -benzoiloxi-15-(2)-metilbutiroiloxi-2 α ,8 β -dinicotinoiloxi- 4 β ,6 β -dihidroxi-dihidro- β -agarofurano.	149	255
T-41:	1 α -Acetoxi-9 α -benzoiloxi-2 α -cinamoiloxi-15-(2)-metilbutiroiloxi- 4 β ,6 β ,8 β -trihidroxi-dihidro- β -agarofurano.	150	256
T-42:	1 α ,15-Diacetoxi-9 α -benzoiloxi-2 α -cinamoiloxi-4 β ,6 β ,8 β -trihidroxi- dihidro- β -agarofurano.	152	257
T-43:	1 α -Acetoxi-2 α -benzoiloxi-9 α -cinamoiloxi-15-(2)-metilbutiroiloxi- 4 β ,6 β ,8 β -trihidroxi-dihidro- β -agarofurano.	153	257
T-44:	1 α ,15-Diacetoxi-2 α -benzoiloxi-9 α -cinamoiloxi-4 β ,6 β ,8 β -trihidroxi- dihidro- β -agarofurano.	154	258
T-45:	1 α ,2 α ,6 β -Triacetoxi-9 β -benzoiloxi-15-(2)-metilbutiroiloxi-8 α - nicotinoiloxi-4 β -hidroxi-dihidro- β -agarofurano.	154	259
T-46:	1 α ,2 α ,6 β -Triacetoxi-9 β -benzoiloxi-15-isobutiroiloxi-8 α -nicotinoiloxi-4 β -hidroxi-dihidro- β -agarofurano.	157	260
T-47:	1 α ,2 α ,6 β -Triacetoxi-9 β ,15-dibenzoiloxi-4 β -hidroxi-dihidro- β - agarofurano.	157	261
T-48:	1 α ,2 α -Diacetoxi-9 α -benzoiloxi-15-(2)-metilbutiroiloxi-8-oxo-4 β ,6 β - dihidroxi-dihidro- β -agarofurano.	158	262
T-49:	9 α -Benzoiloxi-8 β ,15-di-(2)-metilbutiroiloxi-1 α -nicotinoiloxi-4 β ,6 β - dihidroxi-dihidro- β -agarofurano.	161	263
T-50:	1 α ,6 β -Diacetoxi-9 α -benzoiloxi-15-isobutiroiloxi-8 α -nicotinoiloxi- 4 β -hidroxi-dihidro- β -agarofurano.	163	264
T-51:	1 α ,6 β -Diacetoxi-9 β -benzoiloxi-15-(2)-metilbutiroiloxi-8 α -nicotinoiloxi- 4 β -hidroxi-dihidro- β -agarofurano.	163	265

Conclusiones

1. De la parte aérea de *Piper elongatum* se aíslan e identifican mediante estudios espectroscópicos y/o químicos dos productos con esqueleto de dihidrochalcona 2',6'-dihidroxi-4'-metoxidihidrochalcona y 2',4,6'-trihidroxi-4'-metoxidihidrochalcona; asimismo se aíslan dos flavonas: apigenina y velutina y una flavanona sakuranetina, ya aislados de otras piperáceas.
2. De la misma especie se aislaron los ya conocidos derivados de fenilpropanos: α -asarona; O-metil eugenol; 2,4,5-trimetoxibenzaldehído; 1-(2,4,5-trimetoxifenil)-1,2-dihidroxiopropano; ácido 4-hidroxi-3,5-bis-(3-metil-2-butenil)-benzoico; ácido 4-hidroxi-3-(3-metil-2-butenoil)-5-(3-metil-2-butenil)-benzoico y un alcaloide amídico *trans*-N-ferulato de tiramina.
3. Asimismo, se aíslan seis nuevos productos, dos fenilpropanos **P-1** y **P-2**; dos isoprenilfenoles **P-3** y **P-4**; un dímero formado por dos subunidades de derivados del ácido benzoico **P-5**, y un derivado del ciclo penteno **P-6**.
4. De la resina de *Copaifera paupera* se aislaron los compuestos ya descritos en la bibliografía: los sesquiterpenos: β -bisaboleno y óxido de cariofileno; nueve diterpenos con esqueleto labdánico, ácido copálico; metil éster del ácido copálico; ácido (-)-poliáltico; ácido (-)-kaurénico, metil éster del ácido (+)-agático; ácido 16 β -kauran-19-oico; ácido (-) pinifólico; metil éster del ácido (-)-poliáltico; dimetil éster del ácido (+)-agático y (+)-14,15-bisnorlabd-8(17)-en-13-ona.
5. De la misma resina se aisló un nuevo sesquiterpeno **F-4** con esqueleto de **monociclofarnesano**.
6. Asimismo de la resina se aislaron tres nuevos diterpenos: **F-1**, **F-2** con esqueleto labdánico y el dímero **F-3** formado por dos subunidades labdánicas.
7. De los frutos de *Maytenus cuzcoina* se aislaron los sesquiterpenos ya aislados de otras celastráceas: eumaitenol con esqueleto polihidroxílico básico de **4b-hidroxi-celorbicol** y un sesquiterpeno macrocíclico, euonimina con esqueleto polihidroxílico básico de **isoeuoniminol**.
8. De la misma especie se aislaron ocho nuevos sesquiterpenos poliesterificados tipo dihidro β -agarofurano: **M-1** a **M-6** con esqueleto polihidroxílico básico de **2a,4b-dihidroxi-celorbicol**, y **M-7**, **M-8** con esqueleto polihidroxílico básico de **3-deoxi-maytol**.
9. De la parte aérea de *Crossopetalum tonduzii* se aislaron cincuenta y un nuevos sesquiterpenos poliesterificados tipo dihidro- β -agarofurano: **T-1** a **T-44** presentan esqueleto polihidroxílico de **8-epi-4b-hidroxi-alatol**, **T-45** a **T-47** con esqueleto polihidroxílico básico de **9-epi-4b-**

- hidroxialatol**, **T-48** con esqueleto de **3,13-dideoxi-evoninol**, **T-49** y **T-50** con esqueleto de **8-epi-isoalatol** y **T-51** con nuevo esqueleto que hemos denominado **9-epi-isoalatol**.
10. La configuración absoluta de los sesquiterpenos **T-1**, **1**, **2**, **T-2**, **T-6**, **6**, **T-7**, **T-8**, **T-9**, **T-10**, **7**, **T-11**, **8**, **T-12**, **T-13**, **T-14**, **9**, **T-15** y **T-16**, se determinó por estudios de Dicroísmo Circular y aplicación del método de Exitón quiralidad.
 11. De los veintisiete productos ensayados por su actividad antimicrobiana frente a bacterias Gram positivas (*S. aureus* ATCC-6538, *S. epidermidis* CECT232, *S. saprophyticus* CDCT235, *B. subtilis* CECT39) y Gram negativas (*E. coli* CECT99, *P. aeruginosa* AK958) y levadura *C. albicans*, sólo mostraron actividad significativa los productos 2',6'-dihidroxi-4'-metoxidihidrochalcona, (-)-ácido copálico y (-) kaurénico, frente a las bacterias Gram positivas (*B. subtilis*, *S. aureus* y *S. epidermidis*).
 12. Se determinó la actividad citotóxica de doce compuestos frente a las siguientes líneas celulares: P-308 (neoplasma de ratón), A-549 (carcinoma de pulmón humano), HT-29 (carcinoma de colon humano) y MEL (melanoma humano), resultando activos la dihidrochalcona (**10**), sus derivados (**13** y **14**) y los productos relacionados C₆ - C₃ - C₆ (**16** - **22**), así como el fenilpropano (**15**) y metil éster del (-) ácido copálico (**23**).
 13. Se estudió la actividad inhibidora del virus oncogénico Epstein-Barr, que promueve la aparición de linfomas, de doce sesquiterpenos aislados de *C. tonduzii*, diez con esqueleto de 8-epi-4β-hidroxi-alatol (**T-1**, **T-2**, **T-3**, **T-5**, **T-7**, **T-8**, **T-13**, **T-17**, **T-27**, **T-24**), uno con esqueleto de 9-epi-4β-hidroxi-alatol (**T-45**) y el producto **T-51** con esqueleto de 9-epi-isoalatol. Todos ellos se mostraron como prometedores inhibidores de VEB. Se realizaron estudios de la relación estructura-actividad.
 14. Se realizó el estudio de la actividad moduladora de la resistencia a daunomicina en una línea de *Leishmania tropica*, que presenta multirresistencia a drogas, de ocho sesquiterpenos aislados de *C. tonduzii*, los cuales mostraron actividad revertidora *in vivo*.
 15. Se realizó el estudio de actividad antileishmania de cuatro productos naturales, cinco derivados y veintisiete productos sintéticos. Los productos naturales resultaron activos y se realizó un estudio de la relación estructura-actividad. El producto **trans-chalcona** (sintético y de origen natural), resultó ser el más activo frente a formas promastigotes de *Leishmania braziliensis*.
 16. Se estudió la actividad inhibidora de aldosa reductasa de nueve productos, presentando sólo moderada actividad *in vitro* el ácido pinifólico.

17. Se estudió la actividad antialimentaria de cinco sesquiterpenos, aislados de *C tonduzii* frente a *S. litorallis* y la actividad insecticida de nueve de ellos, frente a *Mythimna separata*. Los resultados de la actividad antialimentaria no fueron significativas. Los productos **T-7**, **T-34** y **T-51** resultaron presentar actividad insecticida, con una mortalidad superior al 50% después de un tratamiento de 48 h.