

Exp. 670

INSTITUTO UNIVERSITARIO DE QUIMICA ORGANICA
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

"ESTUDIO QUIMICO DE CELASTRACEAS
AMERICANAS"

La Laguna, Junio 1985

MEMORIA presentada para aspirar
al grado de Doctor en Química por
ESTEBAN A. FERRO BERTOLOTTI

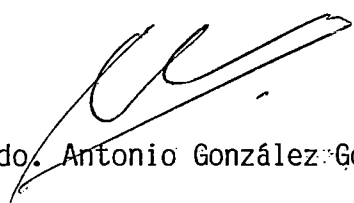


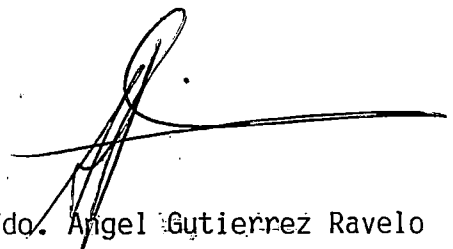
A Norma --

A mis Padres ----

Este ejemplar ha sido revisado por
los Directores



 Fdo. Antonio González González

 Fdo. Ángel Gutiérrez Ravelo

ESTA TESIS SE HA REALIZADO EN EL INSTITUTO
UNIVERSITARIO DE QUIMICA ORGANICA DE LA UNIVER-
SIDAD DE LA LAGUNA DESDE ABRIL DE 1982 HASTA
JUNIO DE 1985 BAJO LA DIRECCION DE LOS PROFESO-
RES Dr. D. ANTONIO GONZALEZ GONZALEZ y Dr. D.
ANGEL GUTIERREZ RAVELO, A QUIENES EXPRESO MI
MAS PROFUNDO AGRADECIMIENTO.

AGRADECIMIENTOS

Al Instituto de Cooperación Iberoamericana por la concesión de una beca durante el tiempo que ocupó la realización de esta Tesis.

A la fundación A.I.E.T.I. por su apoyo financiero.

A UNESCO, particularmente su Oficina Regional para América Latina y el Caribe (Montevideo) por la ayuda inicial concedida dentro del proyecto PAR 81/T01.

A la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Nacional de Asunción por el sostenido apoyo recibido durante la elaboración del presente trabajo.

Al Instituto de Productos Naturales Orgánicos del C.S.I.C. (Tenerife), y particularmente a la Unidad de Hormonas Vegetales, en cuyos laboratorios fue iniciado el trabajo experimental.

Al personal técnico y administrativo del Instituto Universitario de Química Orgánica de la Universidad de La Laguna, y del Instituto de Productos Naturales Orgánicos del C.S.I.C., y de manera especial a los Sres. Juan A. Suarez Gill y Manuel de Leon Santana por su muy valiosa colaboración.

A los compañeros de laboratorio; que con su ayuda material, su constante estímulo y su muy estimable camaradería, han hecho posible la culminación de este trabajo.

A los Profesores Claudio Pavetti e Isabel Zaldivar de la Cátedra de botánica de la Facultad de Ciencias Químicas (UNA) por la recolección e identificación del material vegetal.

Al Profesor Rico (Instituto Rocasolano, C.S.I.C., Madrid) por la realización de espectros de ^{13}C -RMN de 90 MHz, y a los Doctores J. Fayos y A. Perales (Instituto Rocasolano, C.S.I.C., Madrid) por la determinación estructural por R.X. del ácido orthosphénico y la netzahualcoyona.

Al Profesor B.M. Fraga (Instituto de Productos Naturales Orgánicos, C.S.I.C., Tenerife) por la discusión de espectros de ^{13}C -RMN y por los espectros del pristimerineno.

Al Profesor K. Yamada por las muestras de octa acetatos de euonyminol e isoeuonyminol.

Al Profesor Ricardo Perez Afonso por el asesoramiento en cromatografía líquida de alta presión.

Al Profesor Pedro Martín Zarza por la realización del análisis elemental de la horridina.

A las Señoras Dña. Pastora Izquierdo y Dña. Nancy Diaz, quienes con la elaboración de los dibujos y el mecanografiado de los originales han posibilitado la presentación de este trabajo.

I N D I C E

	Pags.
AGRADECIMIENTOS	7
INTRODUCCION	9
OBJETIVOS	24
DESCRIPCION BOTANICA	25

P A R T E T E O R I C A

Estudio de los componentes de la raiz del <i>Maytenus aquifolium</i>	31
Sintesis parcial del acido 3-oxo-20-hidroxi-lup-28-0ico	35
Estudio de los componentes de la corteza de la raiz del <i>Maytenus horrida</i> . Extractos etanolico y cloroformico	42
Etudio de los componentes de la corteza de la raiz de la <i>Orthosphenia mexicana</i> . Extracto etereo.	79
Biogenesis de triterpeno quinonas de Celastraceas y productos relacionados	91

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

Metodos generales	95
Separacion cromatografica de los productos del extracto etanolico de la raiz del <i>M. aquifolium</i>	99

Separacion cromatografica de los productos del extracto etanolico de la raiz del M. horrida	113
Separacion cromatografica de los productos del extracto cloroformico de la raiz del M. horrida	133
Separacion cromatografica de los productos del extracto etereo de la raiz de la O. mexicana	159

DESCRIPCION DE LOS PRODUCTOS:

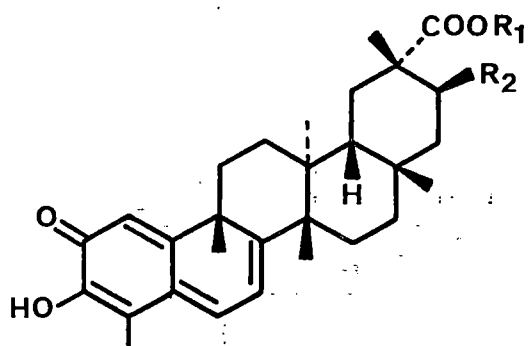
Maytenus aquifolium	102
Sintesis parcial del ac; 3-oxo-20-hidroxi-lup-20-oiço	106
Maytenus horrida extracto etanolico	121
Maytenus horrida extracto cloroformico	143
Orthosphenia mexicana extracto etereo	163
BIBLIOGRAFIA	175
CONCLUSIONES	186
APENDICE	188

I N T R O D U C C I O N

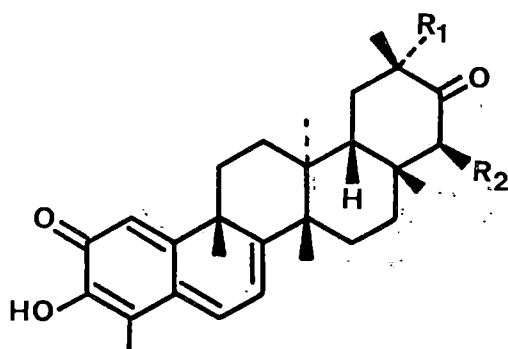
Las especies de la familia Celastraceae, se encuentran distribuidas en las zonas tropicales y cálido templadas del mundo y su estudio botánico ha dado lugar a importantes aportaciones^{1 a 9}, recientemente el Profesor Wagner¹⁰ ha publicado un amplio e interesante resumen sobre aspectos diversos de la citada familia.

Los metabolitos secundarios aislados de estas especies son de naturaleza varia; polifenoles, macrolidas, mono, sesqui, di y triterpenos de varios esqueletos. Entre los triterpenos son notables los pigmentos procedentes de la corteza de la raíz y que químicamente son metilen quinonas, agrupamiento cromofórico que les caracteriza. Ya en trabajos anteriores del Profesor González y col. se ha dado cuenta de la elucidación estructural y estudio químico de nuevas sustancias con este esqueleto básico y en la bibliografía química solo se han descrito unas pocas de estas sustancias que son el celastrol¹¹ 1 y su metil ester de origen natural la pristimerina¹² 2, la 21-hidroxi pristimerina¹³ 3, tingenona¹⁴ 4, 20-hidroxi tingenona¹⁵ 5, 22-hidroxi tingenona¹⁶ 6, iguesterina¹⁷ 7, isoiguesterina¹⁸ 8, el compuesto denominado Salacia quinone methide¹⁹ 9; dispermoquinona²⁰ 10, pristimerineno¹³ 11, e hidroxipristimerineno¹³ 12. Todos ellos se caracterizan por su sensibilidad al tratamiento con ácidos minerales^{21a, 23}, dando reacciones de reagrupamientos que conducen a fenoles, ver esquema I, y por su comportamiento frente a agentes reductores: hidruros metálicos o hidrogenación catalítica en un proceso reversible si se realiza en presencia de oxígeno, ver esquema II.

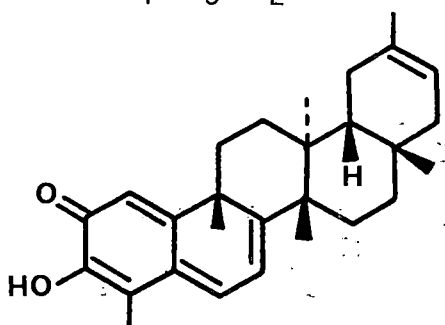
Existen estudios sobre actividad biológica de alguna de estas sustancias^{24 a 27} y del uso que de ellas se hace en la medicina popular^{28 a 30}. Otras sustancias triterpénicas relacionadas químicamente por poseer también



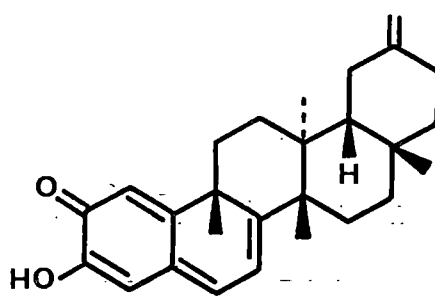
- 1 $R_1=R_2=H$
 2 $R_1=CH_3$; $R_2=H$
 3 $R_1=CH_3$; $R_2=OH$



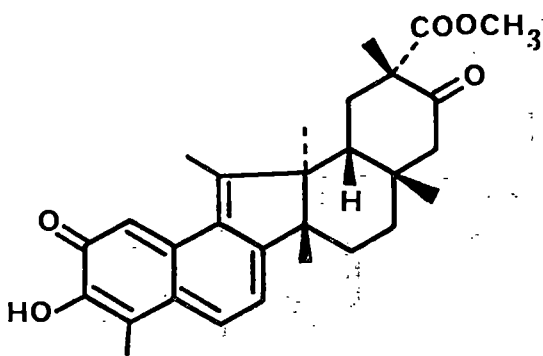
- 4 $R_1=R_2=H$
 5 $R_1=OH$ $R_2=H$
 6 $R_1=H$ $R_2=OH$



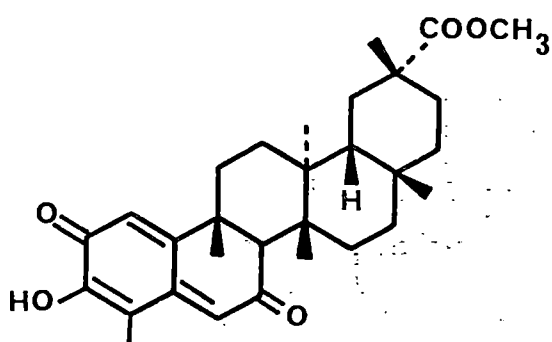
7



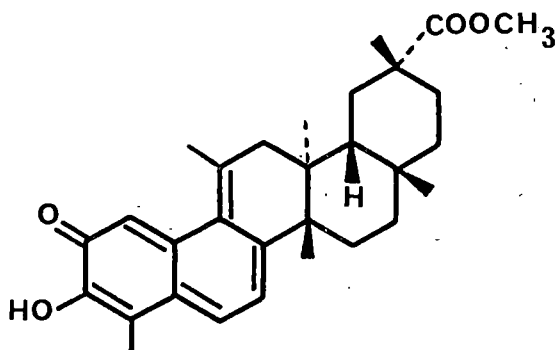
8



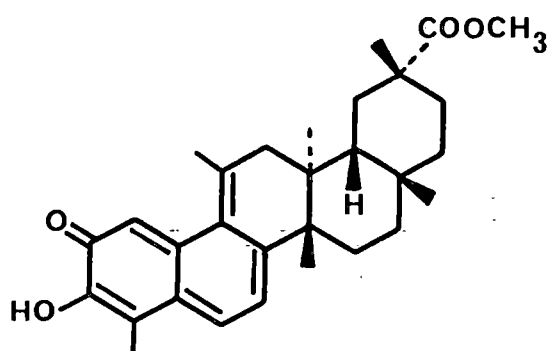
9



10

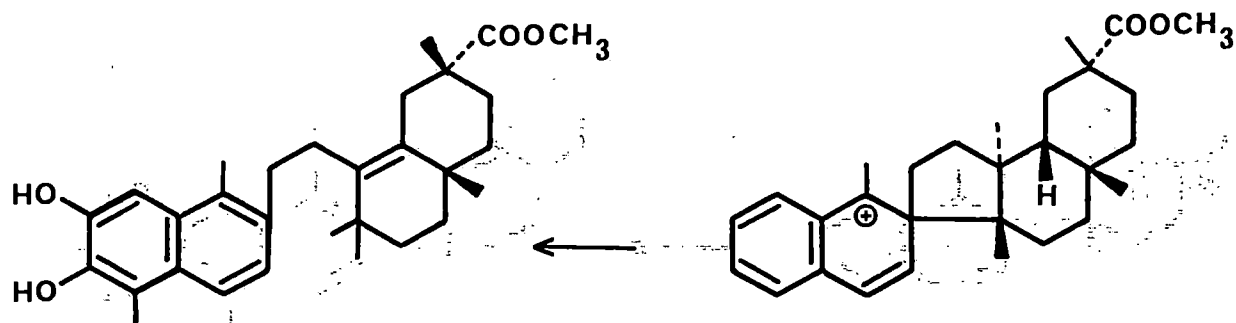


11

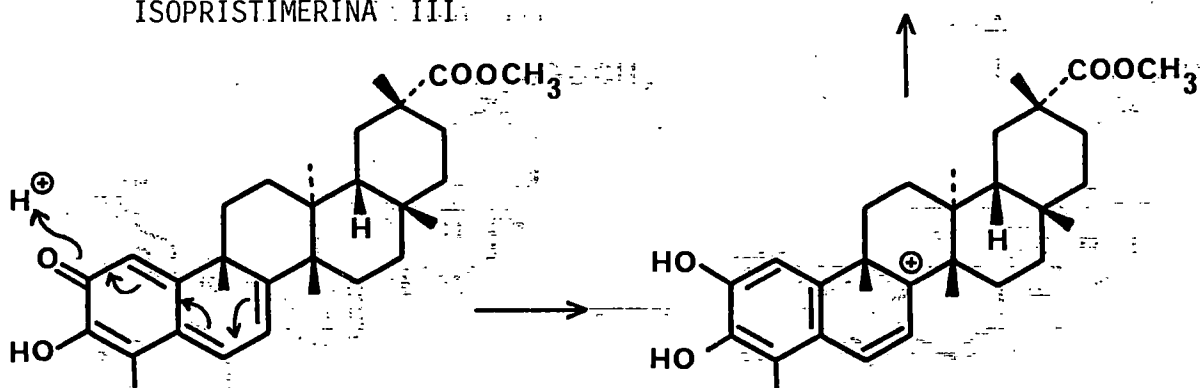


12

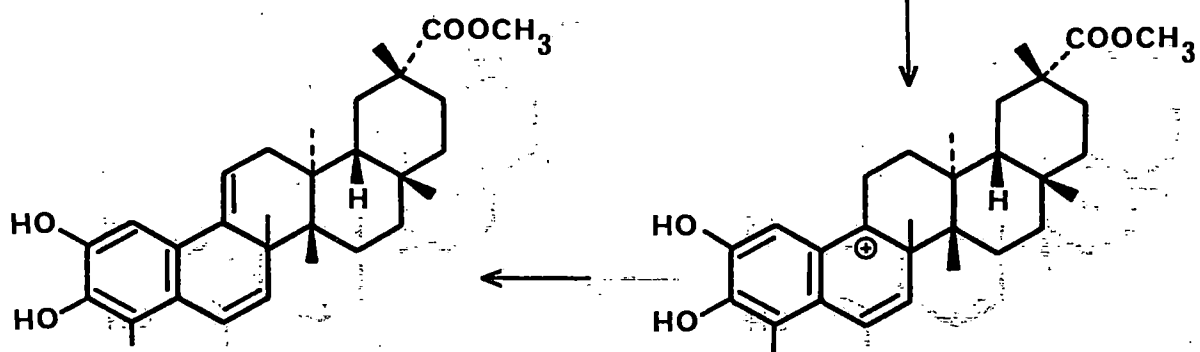
ESQUEMA I



ISOPRISTIMERINA III

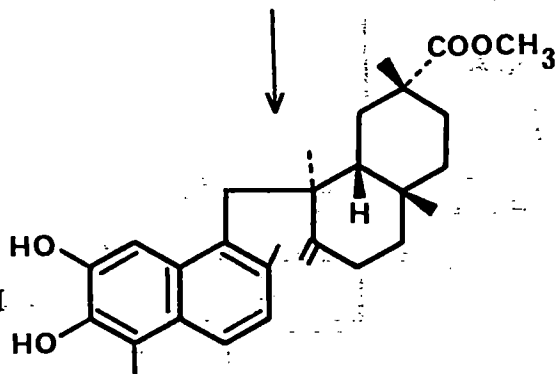


ISOPRISTIMERINA II



ISOPRISTIMERINA III

ISOPRISTIMERINA I



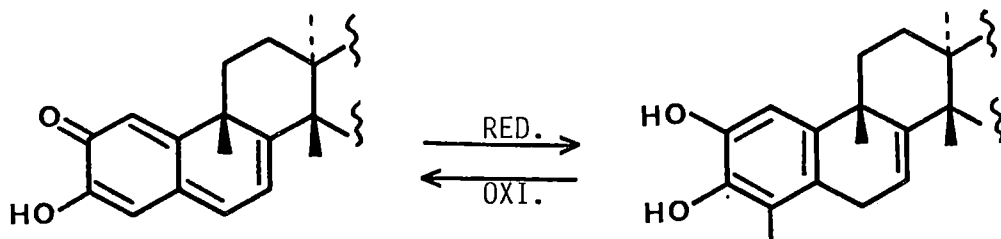
un esqueleto de friedo oleano y que son abundantes en estas especies considerándose como cabeza de serie la friedelina³¹. Se han aislado gran número de ellos que se representan en el esquema III con su cita bibliográfica y representan un posible paso final de la evolución de los triterpenos.

Los esteres de sesquiterpenos con esqueleto de β -agarofurano son, al igual que las quinonas, sustancias con carácter de indicador taxonómico¹⁰, siendo los ácidos que esterifican muy diversos. Existe un subgrupo de estos esteres que se identifican por poseer un anillo macrocíclico, de al menos quince eslabones, uno de cuyos componentes es un diácido derivado de la piridina, que puede ser uno de los siguientes: evónico 13, wilfórdico 14, hidroxilwilfórdico 15, cassínico 16, cathaico 17 y el otro componente un sesquiterpeno. En el esquema IV se muestran los diversos tipos de alcaloides aislados.

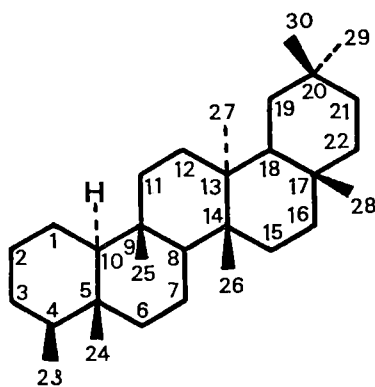
Uno de estos alcaloides la neoevonina fué estudiada por difracción de R.X. en forma de su bromoacetyl derivado⁷⁸ y confirmada así su configuración absoluta, que han usado diversos autores para posteriores trabajos. Los grupos que esterifican al sesquiterpeno pueden ser muy diferentes, ácidos acético, gálico, furoico, benzoico, nicotínico, etc. en cambio el núcleo sesquiterpénico central sólo se ha encontrado con dos posibilidades o totalmente hidroxilados como en el euonyminol, o con un agrupamiento cetónico sobre C-8 como en el evoninol. Las estructuras de estos polioles fue confirmada por difracción de R.X.⁷⁹.

En muchos de los trabajos que permitieron la elucidación estructural de las nuevas sustancias existen importantes pero incompletas aportaciones espectroscópicas siendo particularmente notables los trabajos mixtos químico-espectroscópicos del Profesor K. Yamada⁸⁰ y Profesor L. Crombie^{74a77} entre otros.

ESQUEMA II



ESQUEMA III

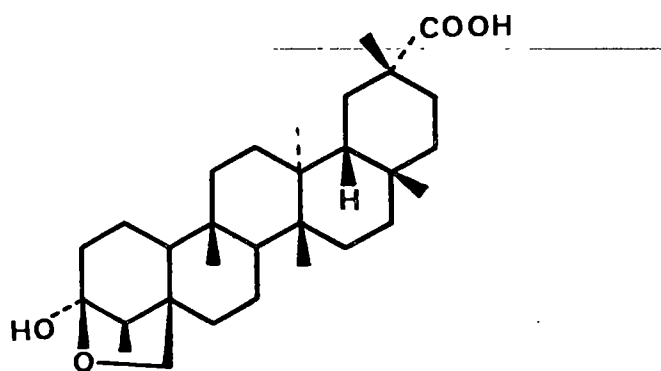


1	3	6	7	8	12	21	22	25	27	28	29	30	24	Ref.
=O														31
β OH														32
H														33
β H														34
OH														35
							β OH							36
							H							36
							=O							37
									-C $\begin{matrix} \text{O} \\ \text{=} \\ \text{H} \end{matrix}$					36
									-C $\begin{matrix} \text{O} \\ \text{=} \\ \text{H} \end{matrix}$					37
=O														36
									β OH					34
									H					34
									β H					34
									OH					34
														34
										-CH ₂ OH				34
														34
									=O	-CH ₂ OH				34

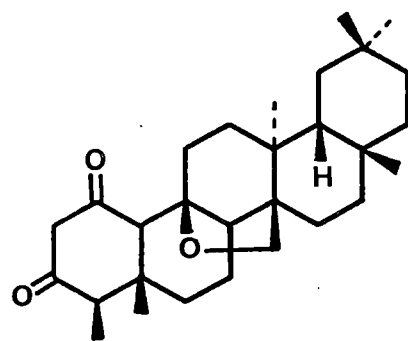
ESQUEMA III (cont.)

1	3	6	7	8	12	21	22	25	27	28	29	30	24	Ref.
	=0						=0	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{C} \\ \backslash \\ \text{H} \end{array}$						34
	=0						$\begin{array}{c} \beta\text{OH} \\ \text{H} \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{C} \\ \backslash \\ \text{H} \end{array}$						34
=0	=0		$\begin{array}{c} \beta\text{H} \\ \text{OH} \end{array}$											38
=0	=0							$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{C} \\ \backslash \\ \text{H} \end{array}$						38
	=0													39
	=0				=0									40
	=0	$\begin{array}{c} \beta\text{OH} \\ \text{H} \end{array}$												41
	=0	$\begin{array}{c} \beta\text{OH} \\ \text{H} \end{array}$			=0									41
	=0	$\begin{array}{c} \beta\text{OH} \\ \text{H} \end{array}$				$\begin{array}{c} \beta\text{OH} \\ \text{H} \end{array}$								41
	=0											$-\text{CH}_2\text{OH}$		42
	=0								$-\text{CH}_2\text{OH}$					42
	=0						=0		$-\text{CH}_2\text{OH}$					43
	=0					$\begin{array}{c} \beta\text{OH} \\ \text{H} \end{array}$			$-\text{CH}_2\text{OH}$					43
	=0											$-\text{CH}_2\text{OH}$	43	
=0	=0											$-\text{COOH}$	44	
=0	=0								$-\text{CH}_2\text{OH}$					44
	=0	$\begin{array}{c} \beta\text{OH} \\ \text{H} \end{array}$							$-\text{CH}_2\text{OH}$					45
	=0	$\begin{array}{c} \beta\text{OH} \\ \text{H} \end{array}$					=0							45
	=0							$-\text{CH}_2\text{OH}$		$-\text{CH}_2\text{OH}$				46
	=0							$-\text{CH}_2\text{OH}$	$-\text{C} \begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{H} \end{array}$					46
	=0			$-\text{OH}$							$-\text{CH}_2\text{OH}$			47
	=0										$-\text{CH}_2\text{OH}$	$-\text{CH}_2\text{OH}$		52

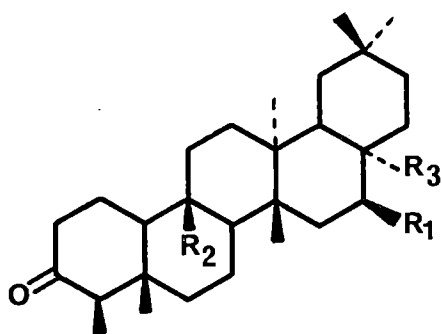
ESQUEMA III (cont.)



Ref. 48

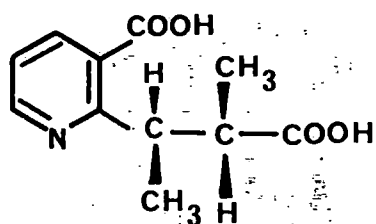


Ref. 49

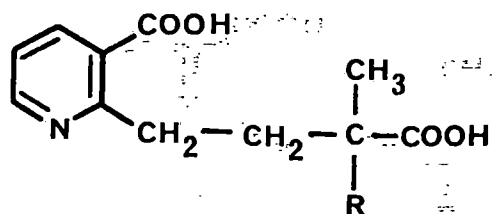


$R_1 = \text{OH}$	$R_2 = \text{CH}_3$	$R_3 = \text{H}$, Ref. 50
$R_1 = \text{OH}$	$R_2 = \text{CH}_2\text{OH}$	$R_3 = \text{H}$, Ref. 50
$R_1 = \text{H}$	$R_2 = \text{CH}_3$	$R_3 = \text{COOH}$, Ref. 53

ESQUEMA IV

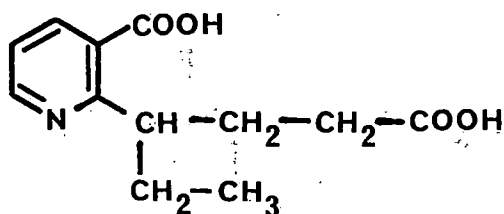


13 Ac. EVONICO

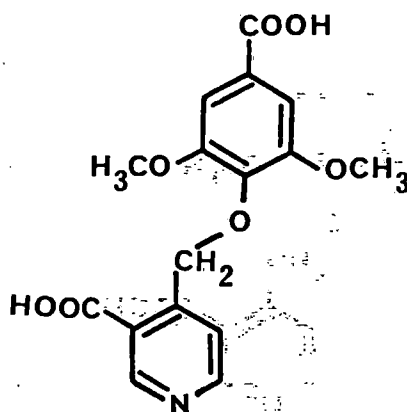


14 R=H Ac. WILFORDICO

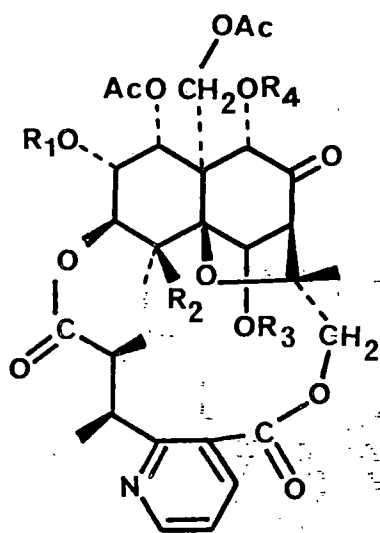
15 R=OH Ac. HIDROXIWILFORDICO



16 Ac. CASSINICO

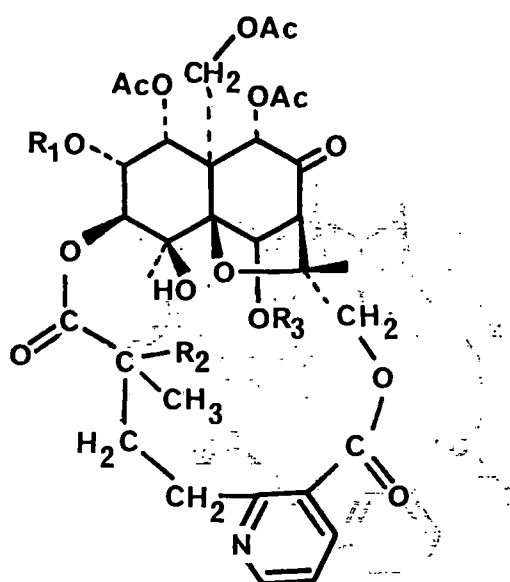


17 Ac. CATHAICO

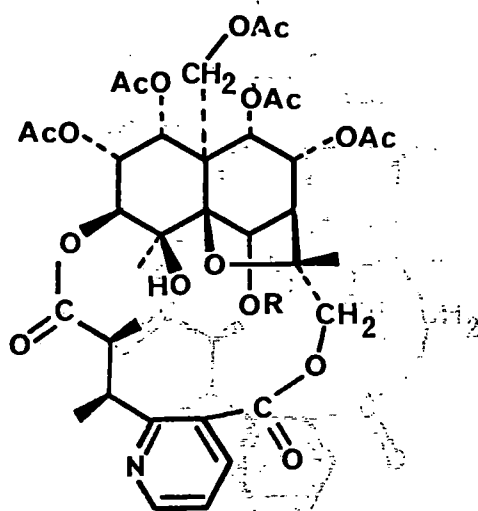


	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	Prod.nº	Ref.
EVONOLINA	Ac	H	Ac	Ac	18	54
EVONINA	Ac	OH	Ac	Ac	19	55.56
NEOEVONINA	Ac	OH	H	Ac	20	57.58
EVOZINA	Ac	OH	H	H	21	59.60
2-DEACETILEVONINA	H	OH	Ac	Ac	22	61
2,6-DIDEACETILEVONINA	H	OH	H	Ac	23	61

ESQUEMA IV (cont.)

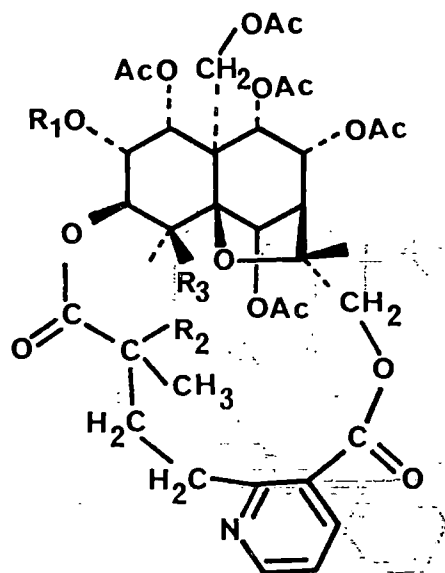


	R ₁	R ₂	R ₃	Prod. nº	Ref.
ISOEUONINA	Ac	H	Ac	24	62.63
ALATAMINA	Bz	OH	Ac	25	64
NEOALATAMINA	Bz	OH	H	26	73

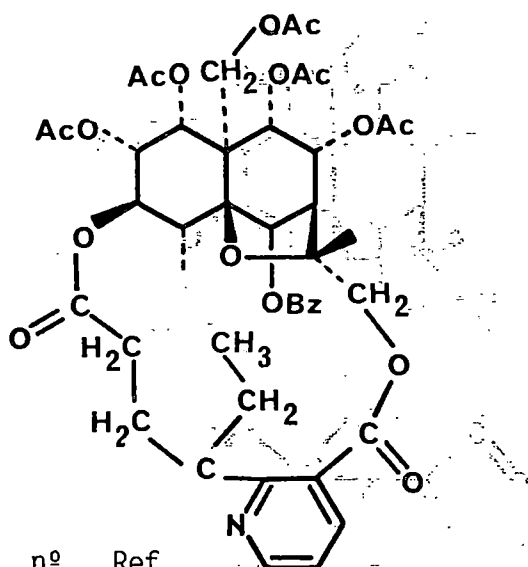


	R	Prod. nº	Ref.
EUONYMINA	R=Ac	27	65
NEOEUONYMINA	R=H	28	66

ESQUEMA IV (cont.)

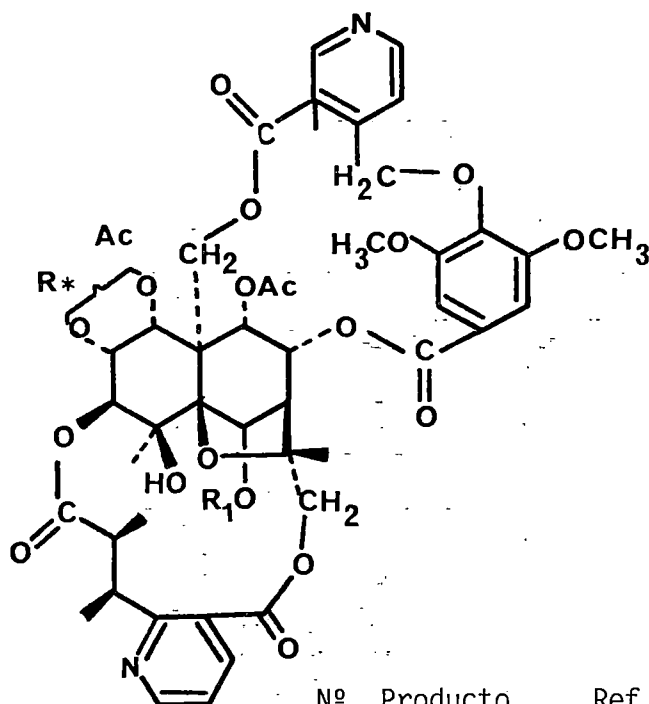


	R ₁	R ₂	R ₃	Prod. nº	Ref.
ALATUSAMINA	Ac	H	H	29	73
ALATUSININA	Ac	OH	OH	30	73
EUONINA	Ac	H	OH	31	63
WILFORDINA	Bz	OH	OH	32	67-68
WILFORINA	Bz	H	OH	33	69
WILFORGINA	Fur	H	OH	34	70
WILFORTRINA	Fur	OH	OH	35	71



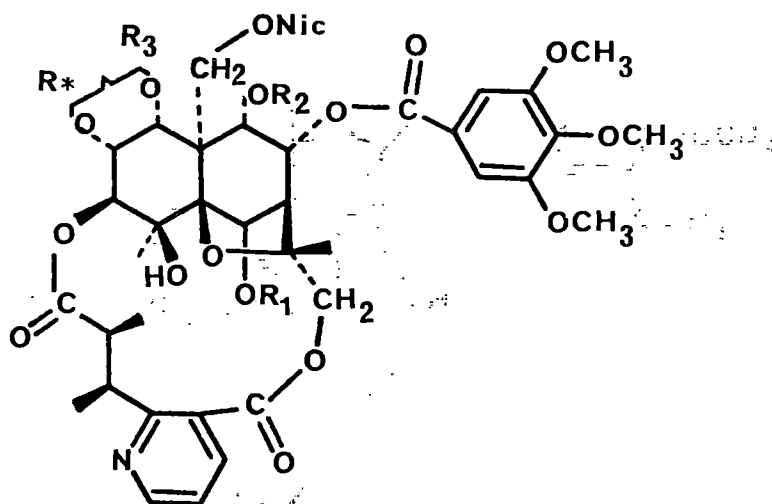
	Prod. nº	Ref.
CASSININA	36	72

ESQUEMA IV (Continuacion)



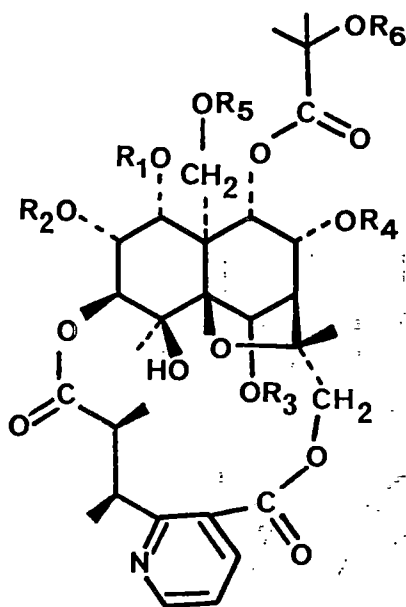
	Nº	Producto	Ref.
CATHEDULIN 3	R ₁ = Ac	37	74
CATHEDULIN 4	R ₁ = H	38	74

R* No identificado.



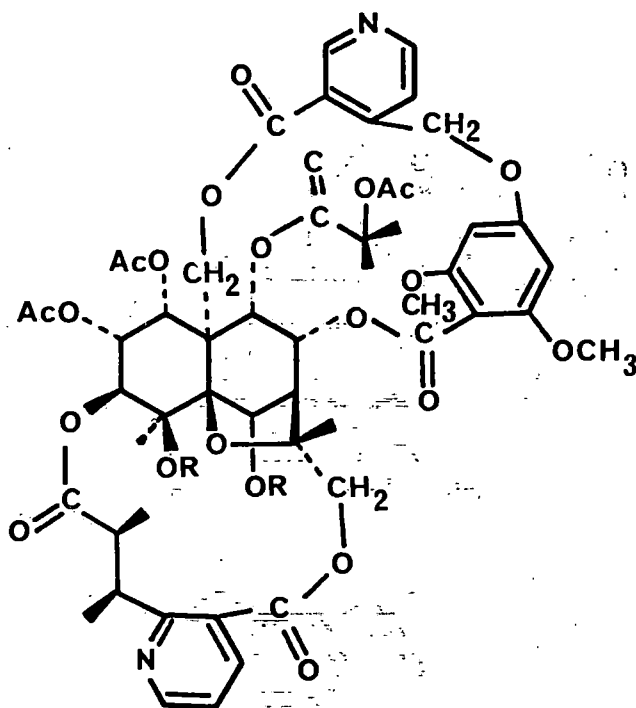
	R ₁	R ₂	R ₃	Nº	Producto	Ref.
CATHEDULIN 5	Ac	Bz	Ac	39		74
CATHEDULIN 6	H	Bz	Ac	40		74

ESQUEMA IV (cont.)

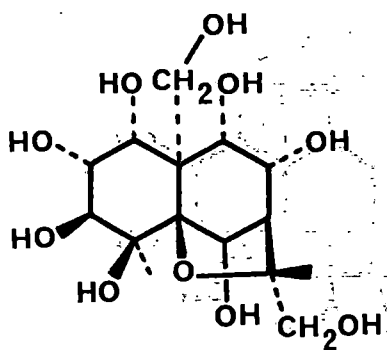


		R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆	Prod. nº	Ref.
CATHEDULIN	K ₁	Ac	Ac	Ac	Ac	Ac	Ac	41	75-76
CATHEDULIN	K ₂	Ac	H	Ac	Ac	Ac	Ac	42	75-76
CATHEDULIN	K ₆	Ac	H	Ac	Ac	H	Ac	43	75-76
CATHEDULIN	K ₁₅	Ac	H	Ac	Ac	H	H	44	75-76
CATHEDULIN	K ₅	Bz	Ac	H	Ga	Nic	Ac	45	77
CATHEDULIN	K ₆	Bz	Ac	Ac	Ga	Nic	Ac	46	77
CATHEDULIN	K ₁₂	Ac	Ac	Ac	Ga	Nic	Ac	47	77

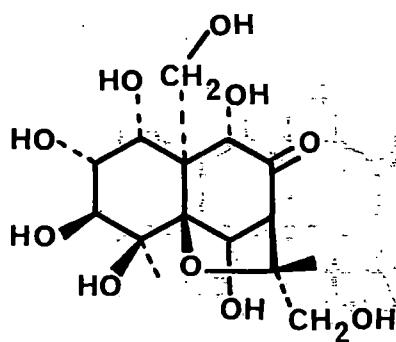
ESQUEMA IV (cont.)



		R	Prod.	Ref.
CATHEDULIN	E ₃	Ac	48	77
CATHEDULIN	E ₄	H	49	77



EUONYMINOL



EVONINOL

Nuestro trabajo, en especies de la familia Celastraceae de origen americano, forma parte de una de las líneas de investigación del Centro, y su desarrollo ha dado lugar a la memoria que ahora presentamos.

Los objetivos de nuestra investigación fueron:

- 1.- Aislar y elucidar estructuralmente los metabolitos secundarios de las especies estudiadas.
- 2.- Analizar las propiedades químicas de los nuevos metabolitos aislados y de sus productos de reacción.
- 3.- Utilizar los resultados obtenidos en nuestros estudios para aportar nuevos datos a las rutas biosintéticas de las sustancias aisladas.
- 4.- Estudiar aquellas cuestiones que surjan en el desarrollo de la investigación.

DESCRIPCION BOTANICA

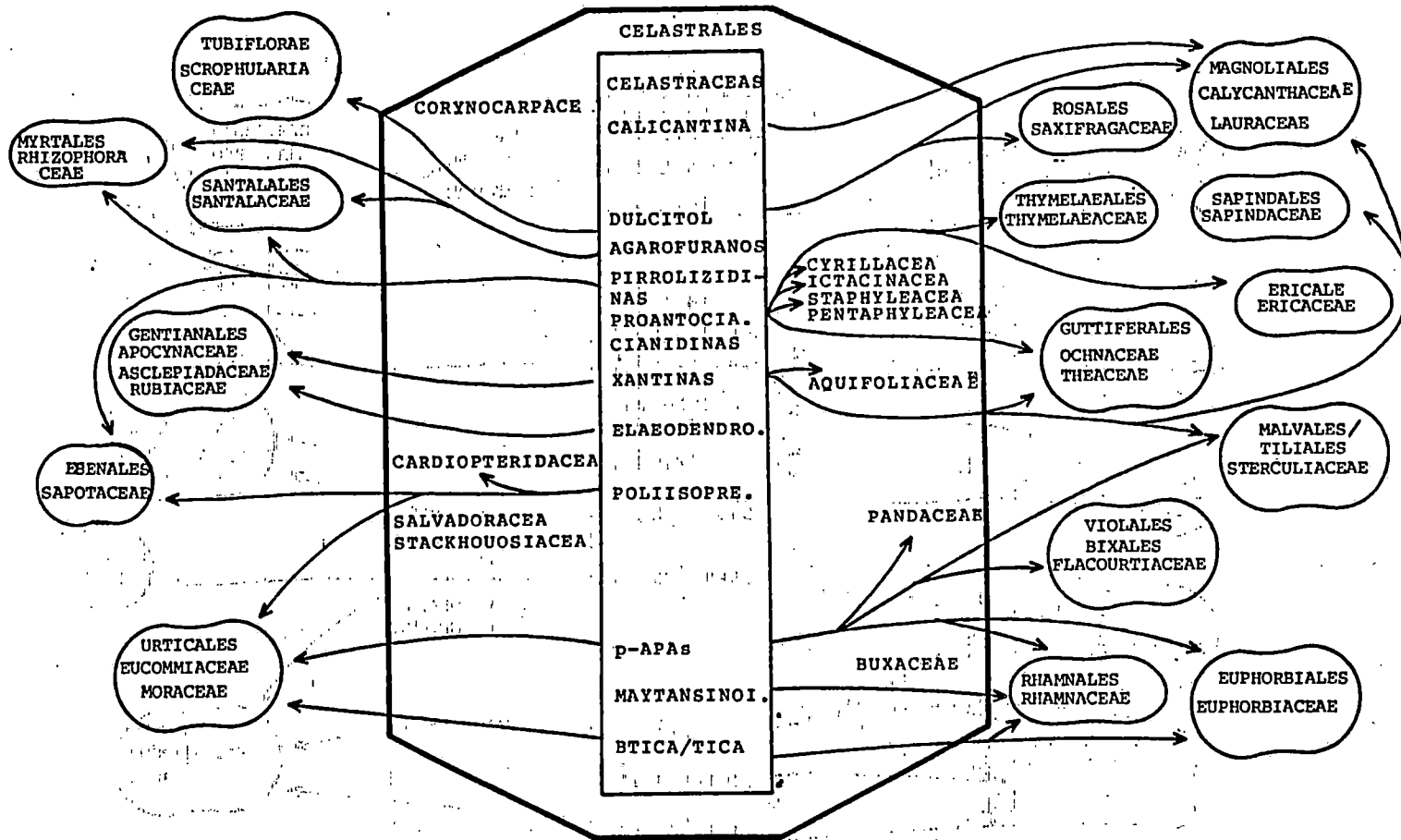
La familia Celastraceae está integrada por más de cuatrocientas especies leñosas ampliamente distribuidas en todos los países templados y cálidos del antiguo y nuevo mundo, presentando desde un punto de vista quimio-taxonómico una amplia relación con otros órdenes y familias dentro del reino vegetal. En el esquema V se representan sus relaciones quimiotaxonómicas¹⁰.

Desde el punto de vista de la sistemática⁸¹ se sitúa la familia Celastraceae dentro de su orden jerárquico de la siguiente forma:

DIVISION: : Spermatophyta
 SUBDIVISION : Magnoliophytina (=angiospermas)
 CLASE : Magnolitaes (= dicotiledoneas)
 SUBCLASE : Rosidae
 SUPERORDEN : Celastranae
 ORDEN : Celastrales
 FAMILIA : Celastraceae

Esta familia de amplia distribución en toda América y con gran variedad de especies, sólo se encuentra representada en Europa por dos géneros *Maytenus* y *Euonymus*⁸². Concretamente en la península Ibérica se encuentran *E. europaeus* L. y *M. senegalensis* Lamk. o *Catha europaea* Boiss⁸², y cuyo estudio fitoquímico preliminar ha sido realizado en la Universidad de Granada por el Profesor M.G. Serranillo y colaboradores⁸³.

En la Macaronesia y concretamente en sus archipiélagos se encuentran dos endemismos, *Maytenus canariensis* Loes⁸⁴ a ⁸⁶ o *Catha cassinoides* W. & B. ya estudiada en este Instituto por el Profesor González^{17,24} y *Maytenus dryandii* localizada en Madeira⁸⁷ y cuyo estudio se lleva a cabo en nuestro Centro⁸⁸.



RELACIONES QUIMIOTAXONOMICAS

ESQUEMA V

- *p-APAs= para-ariloxipeptinalcaloides
- *BTICA = benciltetrahidroisoquinoleinalcaloides
- *TICA = tetrahidroisoquinoleinalcaloides

Prosiguiendo el estudio de Celastraceas nos detenemos en otras especies iberoamericanas: *Maytenus horrida* Reiss. y *Maytenus aquifolium* Mart. de Paraguay y *Orthosphenia mexicana* Standley de México.

Maytenus aquifolium Mart. o *M. acrifolium* Walp.⁸⁹ vulgarmente llamado cangorosa, es un árbol perennifolio de 5 a 6 metros de altura, densamente ramificado, ramas de corteza ligeramente estriada y clara, con estípulas pequeños y persistentes. Hojas alternas, con peciolo cortos, coriáceas, limbo obovado-lanceolado de color oscuro y márgenes dentados con 6-9 espinas pequeñas por lado. Flores pequeñas de pétalo blanquecino. Crece sobre suelos rocosos en laderas y cumbres de cerros bajos, cubiertos de bosque húmedo.

Maytenus horrida Reiss.⁸⁹ es un arbusto perennifolio de 2 a 3 metros de altura, ramas con corteza lisa de color gris. Sus hojas son dísticas, cortamente pecioladas, coriáceas, de márgenes espinosos con 5-7 espinas por lado y limbo oblanceolado de color verde claro. Flores actinomorfas hemafroditas, pequeñas con pétalos de color amarillo verdoso, pedunculadas, agrupadas en las axilas de las hojas. Crece aisladamente o formando grupos, asociadas a cactáceas, en terrenos arcillosos, húmedos o en las orillas de los cursos de agua.

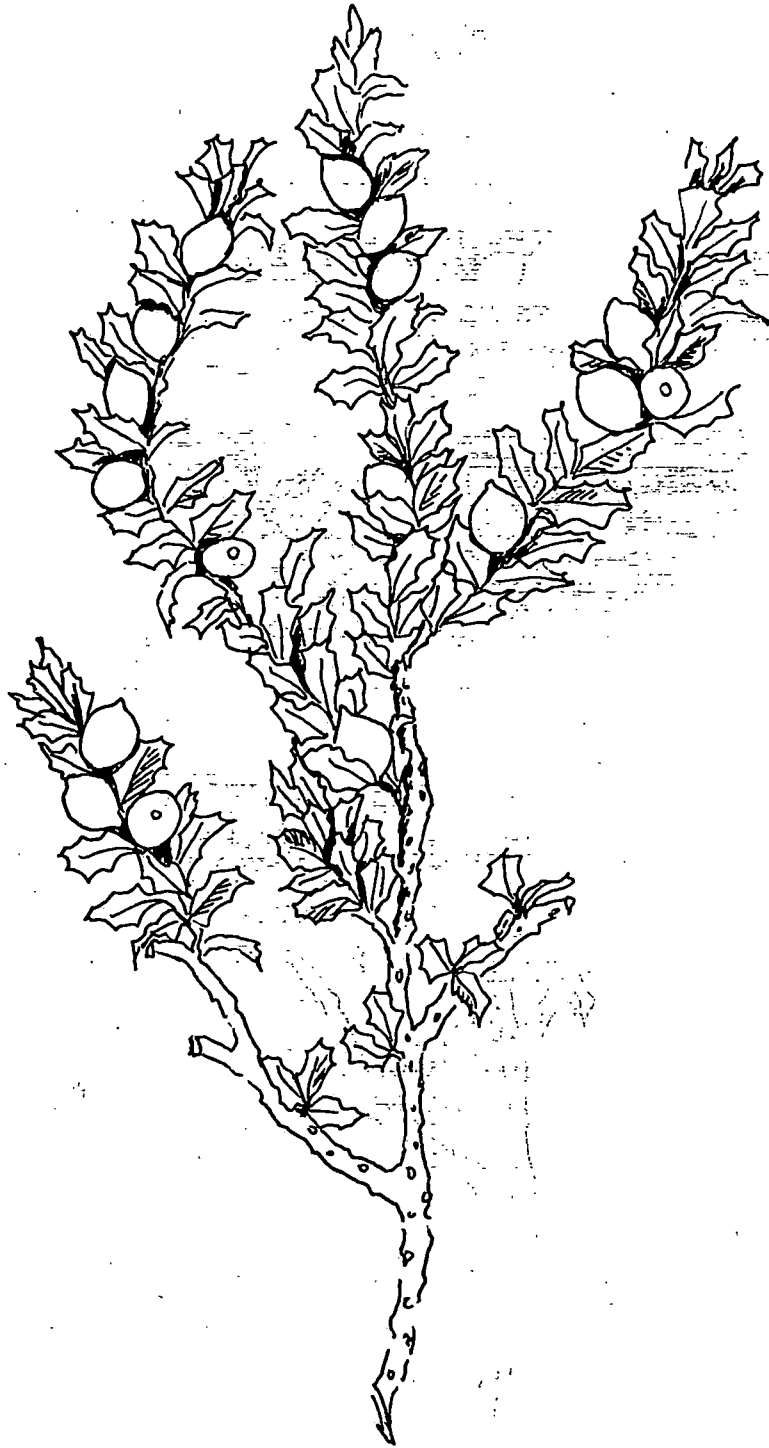
Orthosphenia mexicana Standley⁹⁰ es un arbusto perennifolio, de hasta 1 metro de altura, con ramas ascendentes de corteza estriado-acanalada y color que va del gris al moreno rojizo. Hojas alternas u opuestas agrupadas en los extremos de las ramas, con peciolo cortos, limbo verde glauco oblanceolado u obovado, margen dentado en la mitad superior con 2-5 dientes por lado y epidermis rugosa. Flores polígamo-dioicas, axilares con 5 pétalos amarillo-verdoso. Fruto solitario, capsular, ovoide, indehiscente, pequeño. Crece sobre cerros calizos, particularmente en porciones superiores de abanicos aluviales, alternando con vegetación de *Yucca*, *Agave*, *Larrea*, *Hectia*, etc.



MAYTENUS AQUIFOLIUM MART



MAYTENUS HORRIDA REISS.



ORTHOSPHENIA MEXICANA STANDLEY

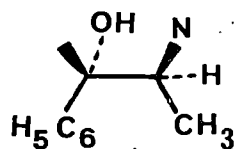
PARTE TEORICA

ESTUDIO DE LOS COMPONENTES DE LA
RAIZ DEL MAYTENUS AQUIFOLIUM M.

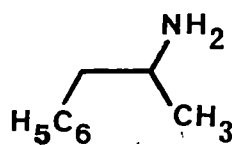
Los extractos de la parte aérea, de especies de la familia Celastraceae suelen ser ricos en triterpenos con diferentes esqueletos y ocasionalmente otras sustancias terpénicas que suelen caracterizar los diferentes géneros.

El *Maytenus aquifolium*, en su parte aérea, se ha usado en el Paraguay para adulterar, la "yerba mate", que es un material granular procedente de la parte aérea de *Ilex paraguayensis*⁹¹ tostado y molido, cuya infusión o maceración forma parte de la idiosincrasia del citado país, y posee alto contenido en cafeína, responsable de su efecto estimulante, por lo que quizás en el *M. aquifolium* pudieran existir sustancias con actividad similar. Resulta por otra parte notable que el árbol *Catha edulis*, Celastraceae, que es cultivado extensamente en el Yemen y el Este del continente africano provea una droga conocida como Khat, chat ó quat⁹².

Hojas frescas o brotes tiernos son masticados usualmente, aunque ocasionalmente se usa en infusiones, o incluso se fuma. La droga actúa como un estimulante y suprime el apetito, su uso es aceptable para los musulmanes ya que además posee implicaciones religiosas. El estudio de sus componentes se ha iniciado recientemente⁷⁴⁻⁷⁷ y se sabe que contiene (+) norseudofedrina que a su vez presenta alguna similitud con la anfetamina,



(+)NORSEUDOEFEDRINA
CATHINA



ANFETAMINA

junto a alcaloides macrocíclicos muy complejos como los ya presentados en la introducción de esta memoria, los compuestos 41 a 47.

Los cultivos de *C. edulis* han desplazado en el Este de Africa al café.

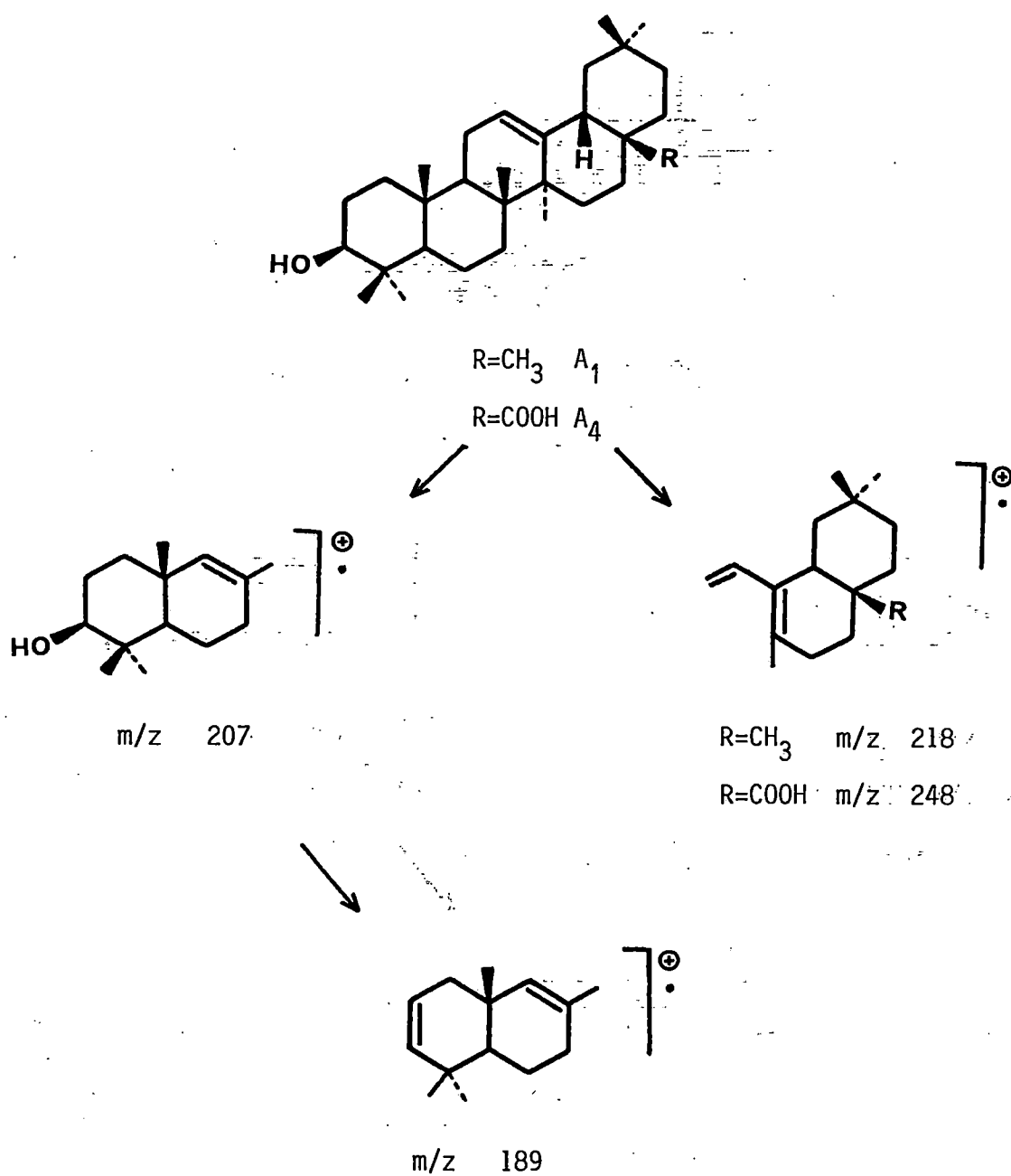
En las raíces de *C. edulis* de origen etíope se han encontrado alcaloides macrocíclicos cathedulinas E_2 , E_3 , E_4 , E_5 y E_6 las quinonas triterpénicas pristimerina, celastrol, iguésterina y tingenona. También se han aislado friedelina y epifriedelinol⁷⁵.

En nuestro estudio del extracto etanólico de la corteza de la raíz del *M. aquifolium* hemos aislado los componentes mayoritarios que a continuación se describen.

El producto que en la cromatografía general hemos denominado A_1 dió positivo el test de Liebermann-Buchard para triterpenos y mostraba un ión molecular a M^+ 426 m/z lo que nos indicaba que nos encontrábamos ante un posible compuesto monohidroxílico, con una sola insaturación, lo que se confirmó en su espectro de 1H -RMN, donde se observa un protón vínflico a 5.14δ , t, que por su forma y posición parecían indicar un Δ^{12} en las series del oleano o ursano. Cuidadoso estudio del espectro de resonancia muestra sólo la presencia de metilos angulares, a 0.81δ (2), 0.83δ , 0.88δ , 0.92δ , 0.97δ , 1.02δ y 1.17δ , también se observa un protón geminal a un hidroxilo como triplete 3.26δ , lo que confirma que es de la serie del oleano.

Cuando A_1 se acetilo de la forma usual se obtuvo un monoacetato en cuyo espectro de resonancia se observaba como datos más sobresalientes el metilo del acetato a 2.02δ y el triplete del protón geminal a 4.54δ .

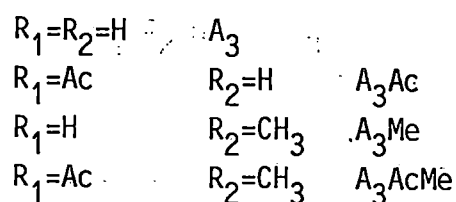
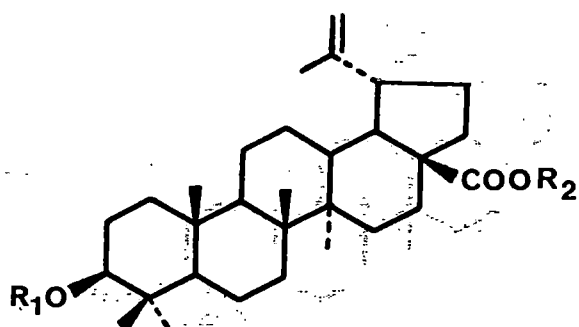
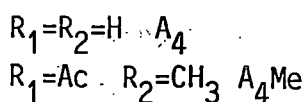
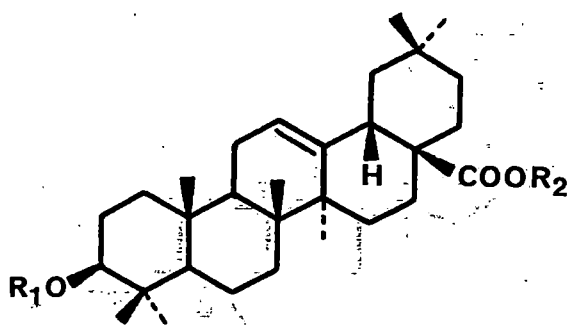
Los datos de la fragmentación de masas de nuestro producto confirmaban que se trataba del 3 β -hidroxi-olean-12-eno; también denominado β -amyrina⁹³.



El estudio de una mezcla de sustancias que era más rica en A_1 que A_2 permitió identificar A_2 como un triterpeno monohidroxiático cuyo sistema isopropilidénico se observaba en H^1 RMN como un doblete ancho a 4.67δ , protones del metileno y metilo sobre doble enlace a 1.69δ , el protón geminal del grupo hidroxilo resonaba a 3.21δ como triplete.

La comparación con una muestra de lupeol nos condujo a identificarlo como tal.

Los productos A_3 y A_4 mostraban una relación importante con los A_1 y A_2 pues sus masas moleculares eran 30 unidades mayores que las de A_1 y A_2 , lo que unido a que en sus espectros de I.R. mostraran bandas correspondientes a la presencia de un grupo ácido hizo pensar que se tratara de los ácidos oleanólico⁹³ y betulínico⁹⁵, lo que se comprobó por el estudio de varios de sus derivados entre ellos sus acetato metil éster.

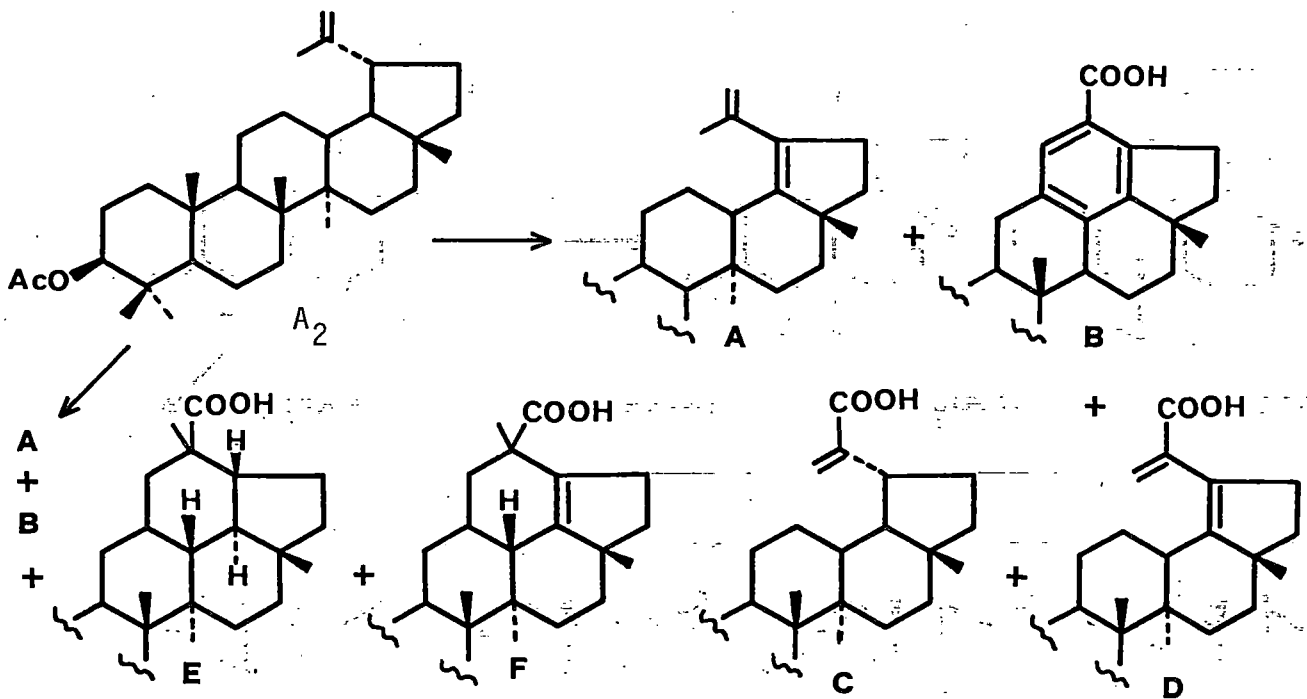
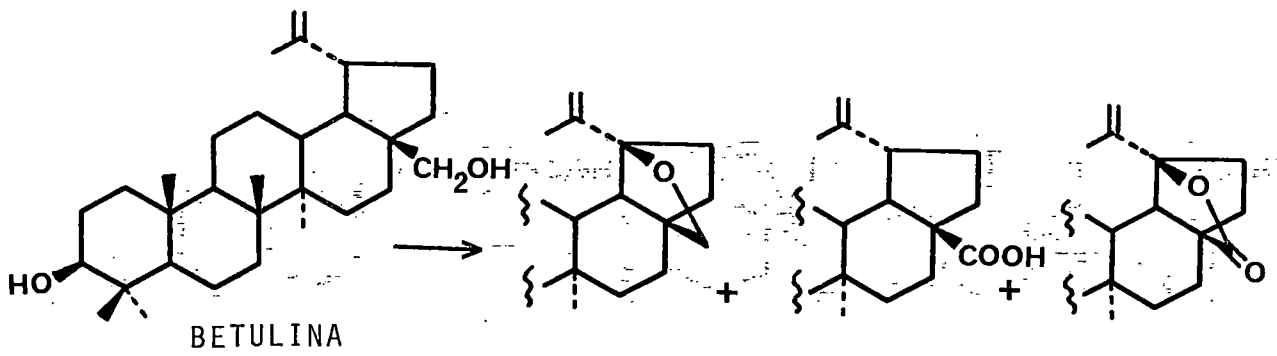
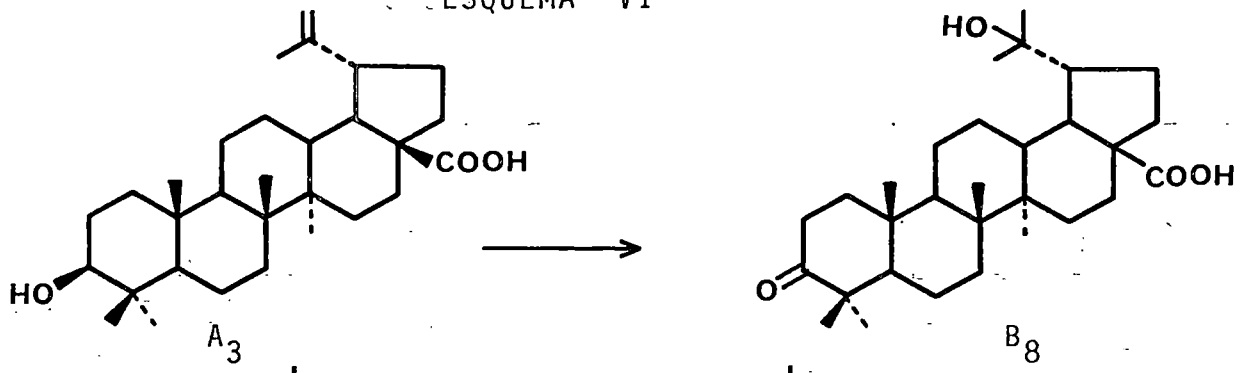


En un trabajo de nuestro laboratorio, se aisló del *Orthopterygium huancuy*, Julianacea (endémica del Perú) un triterpeno no descrito previamente en la bibliografía química⁹⁶, el ácido 3-oxo-20-hidroxi-lupan-28-oico.

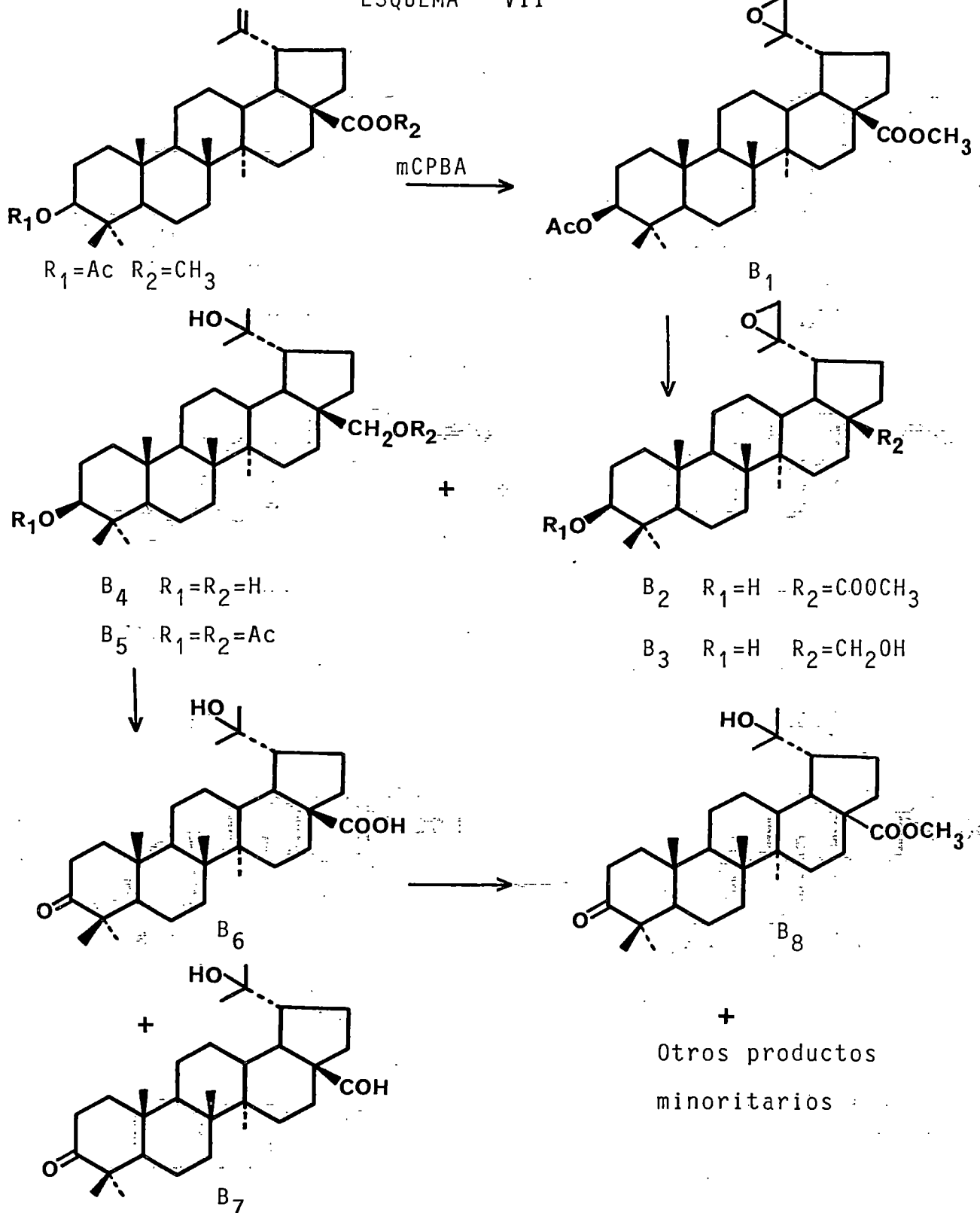
Dado que el triterpeno mayoritario del extracto de las raíces del *M. aquifolium*, era el ácido betulínico, ácido 3 β -hidroxi-lup-20(29)-en-28-oico), nos encontramos con un sustrato apropiado para usar como material de partida en un proceso de síntesis parcial. Así el paso lógico para funcionalizar el C-20 existiendo un doble enlace 20(29) es un problema de transformación de grupos funcional y una hidroxilación Markovnikov⁹⁷ podría resolver esta cuestión, por lo que se pensó que el proceso de oximercuración demercuración podría lograr la funcionalización deseada aún sabiendo que habría reacciones competitivas como se observa en el Esquema VI⁹⁸ a 102, esta reacción se realizó en nuestro caso en diversas condiciones, dando resultados negativos, por lo que se decidió, la transformación funcional por otra metodología.

El primer paso de esta transformación (veáse Esquema VII) debería lograr la formación de un epóxido en posición 20(29) para lo cual contábamos con el inconveniente de que la reacción con perácidos produce el ácido que actuaría como tal para protonar el sistema olefínico, dando lugar al carbocatión sobre C-20 que puede sufrir posteriores reacciones de reagrupamiento como es bien conocido en estos triterpenos¹⁰³. Nosotros realizamos la oxidación del acetato metil éster del ácido betulínico con ácido metacloro perbenzoico en presencia de una dispersión de bicarbonato sódico en CH_2Cl_2 , H_2O con lo que se obtuvo un excelente rendimiento en la epoxidación y se minimizaron otras reacciones, que ocurren en otras condiciones y aun más sa-

ESQUEMA VI



ESQUEMA VII



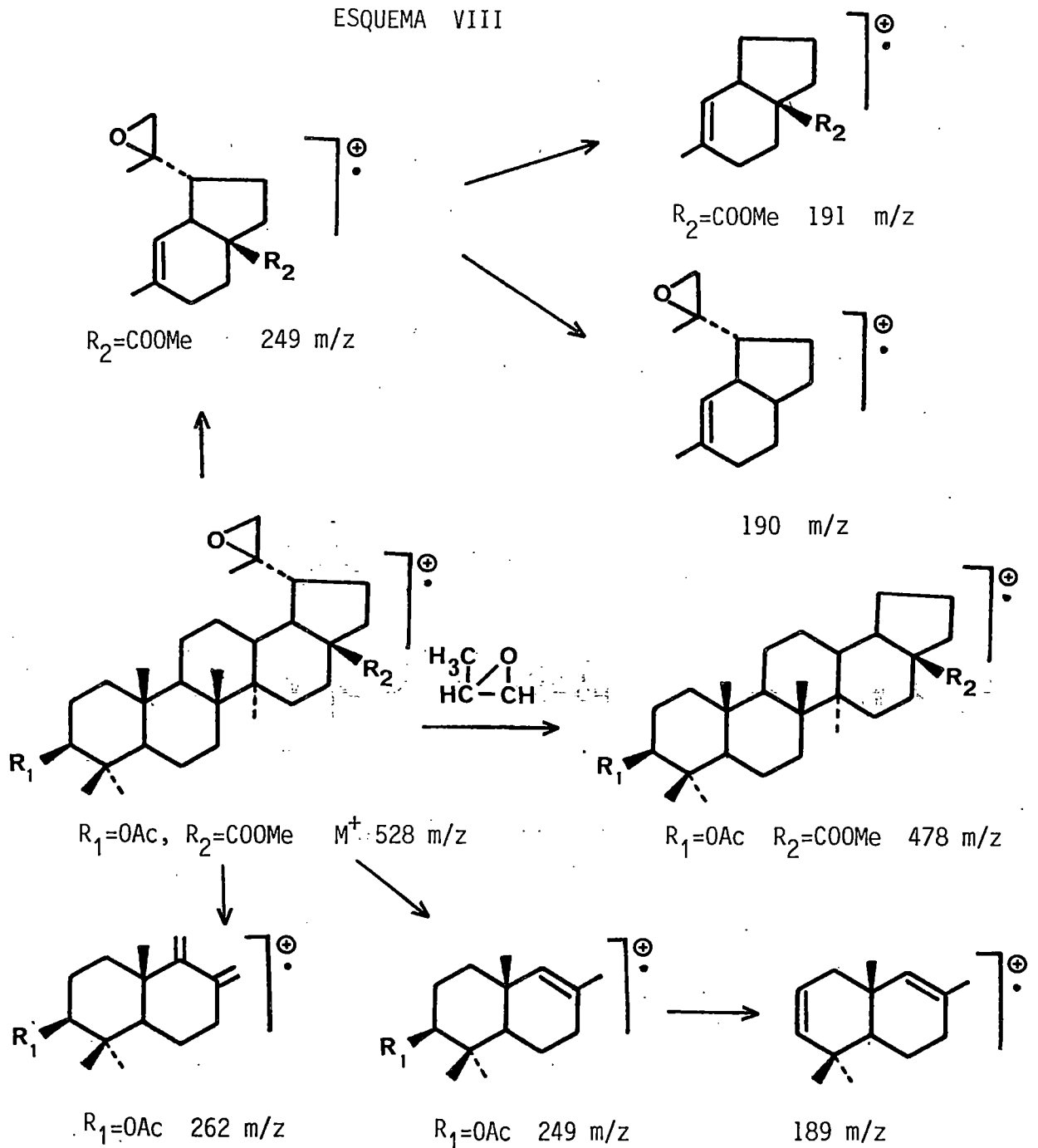
biendo que el AMCPB también se ha utilizado en funcionalizaciones sobre posiciones no activadas en triterpenos¹⁰⁴. El epóxido así formado B₁ muestra los protones del metileno C-29 como un singulete de intensidad dos protones a 2.62δ dato de acuerdo con los esperados para un epóxido de este tipo¹⁰⁵, estando el resto de los datos analíticos y espectroscópicos de acuerdo con la estructura propuesta. Cuando el producto B₁ se trata con AlH₄Li y se varía su concentración y las condiciones de reacción se pueden obtener de forma selectiva cada uno de los compuestos B₂, B₃ y B₄. Los compuestos B₂ y B₃ poseen ambos el agrupamiento óxido-20(29) y en un caso la reducción sólo afectó al ester en posición 3β y no al que se encuentra sobre el carbono 28 lo que está de acuerdo pues esta última posición se encuentra en una zona de la molécula con mayor congestión estérica y a la naturaleza del propio ester. La formación del triol B₄ necesitó de temperatura de calefacción más alta y mayor tiempo de reacción.

En estos compuestos se pueden observar importantes desplazamientos de los metilos que están de acuerdo con los estudios realizados por diversos autores^{106, 107}. Nosotros a continuación oxidamos el producto B₄ con reactivo de Jones obteniéndose el ácido esperado, el cual apareció acompañado de una pequeña cantidad de aldehído y esta mezcla B₆, B₇ se dejó expuesta al aire y se metiló con CH₂N₂ obteniéndose el metil éster del ácido 3-oxo-20-hidroxi-lup-28 oico B₈ acompañado de otro producto que lo impurificaba y cuyos datos de MS indicaban que se trataba de un producto de reacción del agrupamiento carbonílico con diazometano y probable ampliación de ciclo.

En la tabla 1 se dan los valores de los desplazamientos químicos de los metilos en los productos por nosotros estudiados y que presentan des-

plazamientos coherentes con los datos teóricos de la bibliografía.

Como ejemplo de las fragmentaciones características de estos sistemas pentacíclicos¹⁰⁸ se presentan en el esquema VIII sus datos más sobresalientes



T A B L A 1

	23	24	25	26	27	29	30
A ₃ b*	1.07	0.84	1.00	1.07			1.79
A ₃ Ac b	0.95	0.87	0.87	0.99	0.87		1.70
A ₃ Me b	0.99	0.78	0.83	0.99	0.94		1.70
A ₃ AcMe a	0.92	0.84	0.84	0.96	0.84		1.69
B ₁ a	0.94	0.84	0.84	0.84	0.90		1.21
B ₂ a	0.96	0.75	0.82	0.96	0.90		1.22
B ₃ a	0.97	0.75	0.82	1.01	0.97		1.22
B ₄ b	0.99	0.75	0.82	1.04	0.99	1.10	1.23
B ₅ a	0.99	0.84	0.84	1.07	1.12	1.19	1.22
B ₆ a	1.00	0.95	1.01	1.01	1.08	1.16	1.26
B ₈ c	1.02	0.93	0.99	1.07	1.17	1.23	1.26

Los espectros fueron realizados en Cl₃CD como disolvente usando TMS como señal de referencia y los valores se expresan en unidades

a= 60 MHz; b= 90MHz; c= 200 MHz; *espectro realizado usando C₅D₅N

Para el producto 25 la bibliografía a 200 MHz 0.91, 0.99, 1.00, 1.05, 1.11, 1.22, 1.24

Datos de ^{13}C RMN de productos obtenidos en la síntesis del ácido-3-oxo-20-hidroxi-28-oico

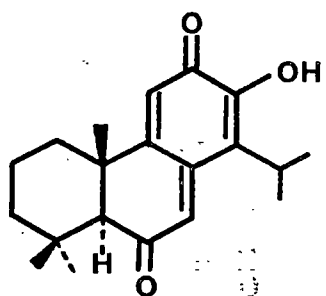
	B_2^a	B_5^b
C ₁	38.73	38.56
C ₂	27.41	23.84
C ₃	78.99	81.09
C ₄	38.87	37.96
C ₅	55.36	55.47
C ₆	18.31	18.35
C ₇	34.35	34.56
C ₈	40.73	41.62
C ₉	50.55	50.35
C ₁₀	37.21	37.16
C ₁₁	20.98	21.46
C ₁₂	26.77	27.41
C ₁₃	38.25	36.79
C ₁₄	42.35	43.56
C ₁₅	29.71	28.37
C ₁₆	32.06	29.10
C ₁₇	56.55	48.05
C ₁₈	50.21	49.02*
C ₁₉	42.72	49.82*
C ₂₀	55.36	73.49
C ₂₁	29.71	30.48
C ₂₂	36.76	34.17
C ₂₃	27.99	28.09
C ₂₄	15.37	16.64
C ₂₅	15.97	16.34
C ₂₆	14.72	15.23
C ₂₇	16.12	16.34
C ₂₈	176.53	63.05
C ₂₉	65.21	24.88
C ₃₀	15.37	31.84
	51.26	

Realizados en CDCl_3 a=90MHz; b=50MHz; *valores intercambiables.

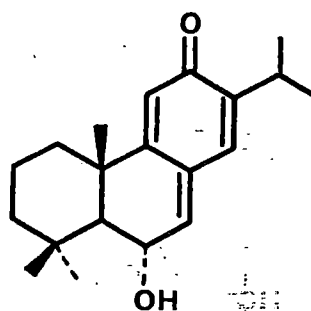
ESTUDIO DE EXTRACTOS DE LA RAIZ DEL
MAYTENUS HORRIDA R.

El *Maytenus horrida* es una especie poco difundida en el Paraguay y su habitat coincide con la zona geográfica menos poblada, el Chaco, por lo que no se poseen demasiados datos de interés sobre su uso popular.

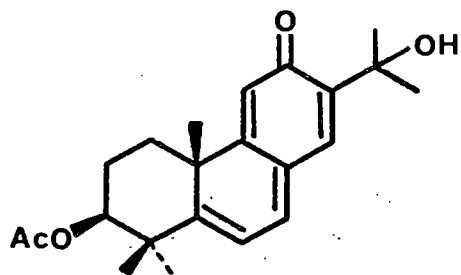
Como ya comentábamos en la introducción de esta memoria, las metilen quinonas son componentes habituales de la corteza de la raíz de las Celastráceas y estos pigmentos, no son demasiado frecuentes en la naturaleza y a continuación les mostramos algunos de ellos de procedencia muy varia siendo notable destacar que los Profesores Delgado M.¹⁰⁹ y Kupchan^{110,111} aislaron de Celastráceas las metilen quinonas mayteno-quinona¹⁰⁹ y taxodiona^{110,111} diterpenos sólo encontrados muy escasamente que poseen una relación importante con los diterpenos aromáticos aislados de Labiadas y Podocarpaceas,



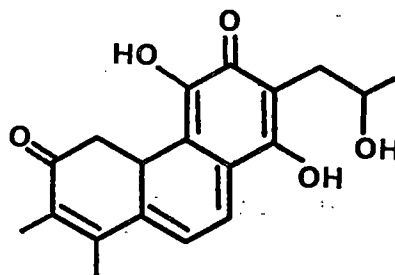
MAYTENOQUINONA



TAXODIONA



3-β-ACETOXIFUERSTION

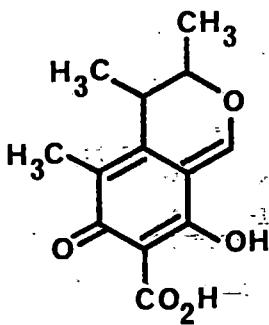


COLEON E

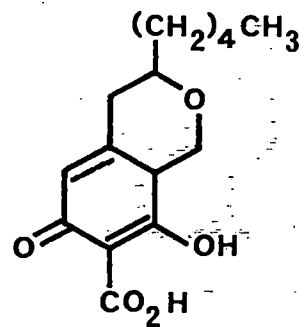
tales como el 3 β acetoxifuerstion¹¹² o el Coleon E.¹¹³.

También hay metabolitos aislados de hongos que elaboran citrinina¹¹⁴, ácido pulvilórico¹¹⁵, purpurogenona¹¹⁶ y fuscina¹¹⁷.

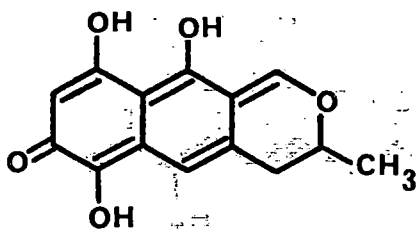
Algunos pigmentos obtenidos de corteza de árboles tales como brazileína y hematoxilina¹¹⁸ y las autocianinas sustancias responsables de diversos colores en las plantas poseen igual agrupamiento.



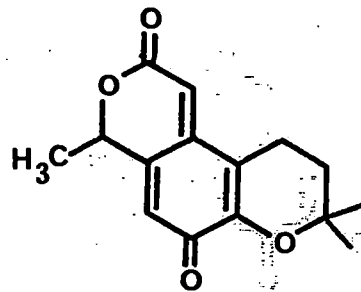
CITRININA



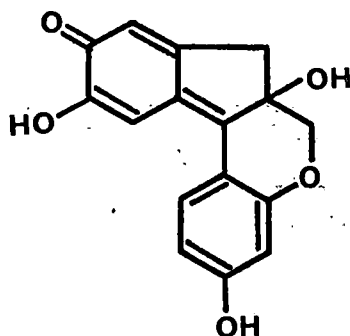
ACIDO PULVILORICO



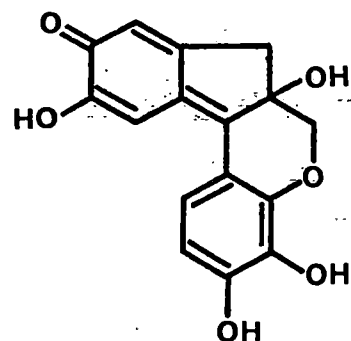
PURPUROGENONA



FUSCINA



BRAZILEINA



HEMATOXILINA

En una revisión bibliográfica¹¹⁹ sólo hemos encontrado descritos como componentes de Celastraceas los triterpenos con esqueletos de:

Lupano

Oleanos Δ^{12} y Δ^{11} - Δ^{13-18}

Friedo-oleano

Taraxerano

En nuestro estudio hemos detectado la presencia de compuestos con esqueletos de

Lupano

Oleano Δ^{12} , Δ^{18} y Δ^{9-11} - Δ^{12}

Friedo oleano

Glutinano

siendo la primera vez que en esta familia se encuentran Δ^{18} oleanos muy abundantes en cambio en Labiadas¹²⁰ y Euphorbiaceas¹²¹ al igual que los glutinanos que son igualmente abundantes en Euphorbiaceas¹²² y Labiadas¹²³, por lo que pensamos que se deben ampliar las relaciones quimiotaxonomicas mostradas en el Esquema V.

Del estudio de los extractos etanólico y clorofórmico de la raíz del *M. horrida* se han aislado los productos que describimos a continuación agrupados por similitud estructural siendo los nombrados con letra H procedentes de extracto etanólico y M del clorofórmico.

M_8 es un producto de naturaleza triterpénica como se muestra tanto en su espectro de 1H RMN donde se observan ocho metilos a 0.70 δ ; 0.84 δ ; 0.85 δ ; 0.93 δ ; 0.98 δ , (2); 1.02 δ y 1.16 δ , la ausencia de protones olefínicos, y un

sistema complejo a 2.25δ que integra para tres protones formados por un triplete y un cuarteto protones alílicos a un grupo carbonilo (1700 cm^{-1} IR), y un ion molecular a M^+ 426 m/z y fragmentos a 302, 273, 205 y 125 m/z indicaban un esqueleto de friedo oleano; consultada la bibliografía resultó ser la friedelina⁴².

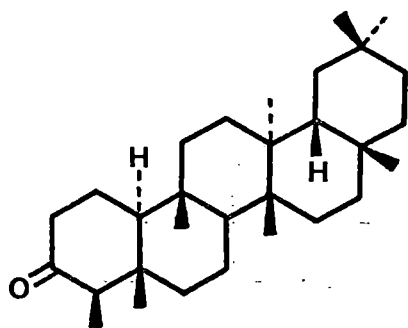
Los productos H_3 , M_7 y H_5 resultaron después de su estudio ser unos triterpenos con esqueleto de friedo-oleano y que en todos los casos mostraban un agrupamiento carbonílico en C-3 y diferentes funcionalidades sobre un mismo carbono pues la oxidación de H_3 conducía a M_7 y la de M_7 a H_5 .

H_3 mostraba la presencia de un agrupamiento CH_2OH , pues en su ^1H RMN se observaba un singulete que integra para dos protones a 3.28δ (3600 cm^{-1} IR), no existiendo otras señales notables en su espectro.

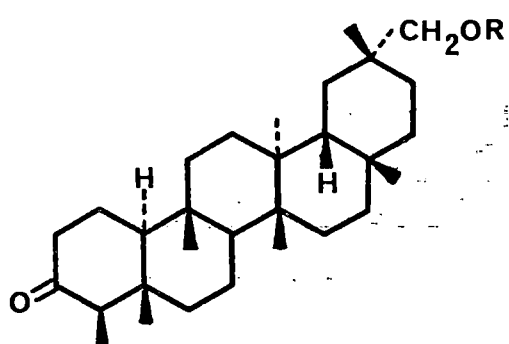
El producto denominado M_7 poseía el agrupamiento aldehído sobre un carbono tetrasustituído pues se observaba el protón aldehídico como singulete a 9.45δ .

H_5 cuando se trataba con CH_2N_2 daba un metil éster cuyos datos espectroscópicos coincidían con los del ácido polipunónico por lo que quedaban fijadas las estructuras de estos tres productos⁴².

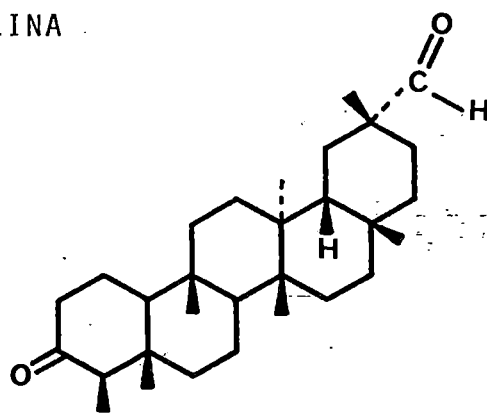
El producto M_{25} se aisló y purificó como metil éster $M_{25}\text{Me}$ de fórmula $\text{C}_{31}\text{H}_{50}\text{O}_6$ y que muestra ausencia de insaturaciones y seis metilos a 0.75δ , 0.79δ , 0.90δ , 1.03δ , 1.22δ y uno de ellos como doblete centrado a 1.15δ . La presencia de un sistema AB 3.83 y 4.23δ , $J=8\text{ Hz}$ y su peso molecular unido a que el producto era capaz de formar un diacetato en el que se observaba la presencia de un OH terciario, y posterior formación de un triacetato sugiere que el grupo alcohólico terciario se encuentra



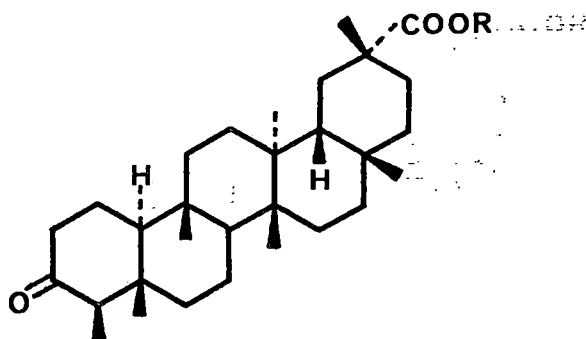
M₈ FRIEDELINA



H₃



M₇



H₅

formando parte de un sistema hemiacetalico como el que existe en los ácidos salaspérmico δ_5 ¹²⁴ y orthosphénico δ_7 ¹²⁵.

Los datos analíticos muestran que nuestro producto debe tratarse de un hidroxil derivado del ácido orthosphénico por lo que se realizó la preparación de derivados al objeto de elucidar su posición y estereoquímica. Cuando el producto $M_{25}Me$ se acetila se observa una notable variación en el desplazamiento de la señal del metilo que aparece como doblete que pasa de 1.15 δ a 0.88 δ una variación de 0.27 δ que se puede explicar en una molécula como la nuestra si el grupo hidroxilo adicional se sitúa en posición 6β por lo que estos dos grupos el metilo 23 e hidroxilo 6 quedan en disposición periplanar lo que está de acuerdo con los datos de la bibliografía¹²⁶. Como dato para corroborar lo anteriormente expuesto se realizaron los espectros de ^{13}C RMN de nuestro producto y comparado con los datos del ácido orthosphénico y sus derivados Tabla 2 y otros friedooleanos¹²⁷⁻¹²⁸ confirma la estructura de este compuesto como la del 6β -hidroxil-orthosphénico nueva sustancia no descrita previamente en la bibliografía química y sustancia que juega un papel importante en la biosíntesis de las triterpenoquinonas y productos relacionados de naturaleza fenólica¹²⁶, como mostramos más adelante en el capítulo que sobre este tema desarrollamos en la parte final de esta memoria.

Dado que es habitual en la espectroscopia de triterpenos usar correlaciones para asignaciones de 1H NMR, hemos usado los datos del Dr. Crawford¹²⁹ obtenidos con experiencias de LIS y las posteriores aportaciones del Profesor Rao¹³⁰ para asignar los metilos en los productos que hemos estudiado, véase Tabla 3.

TABLA 2

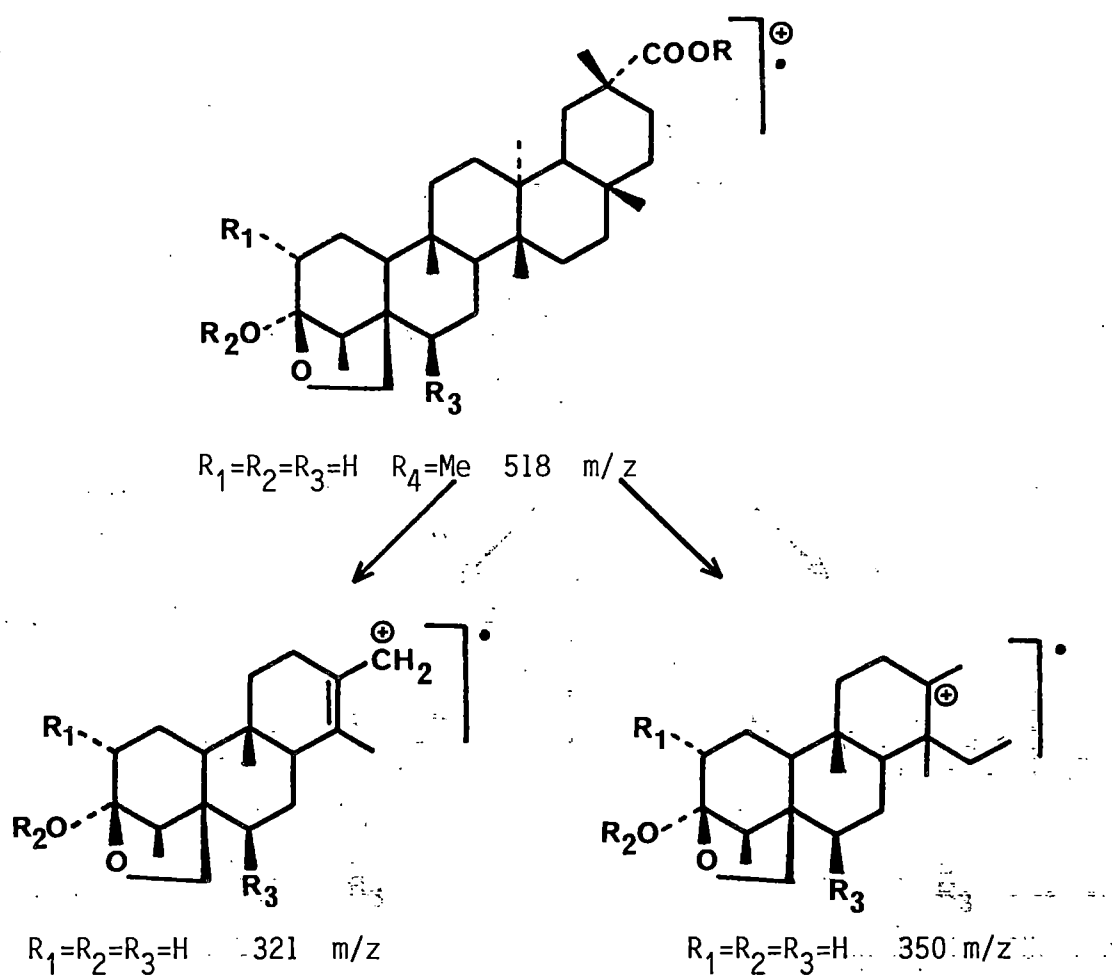
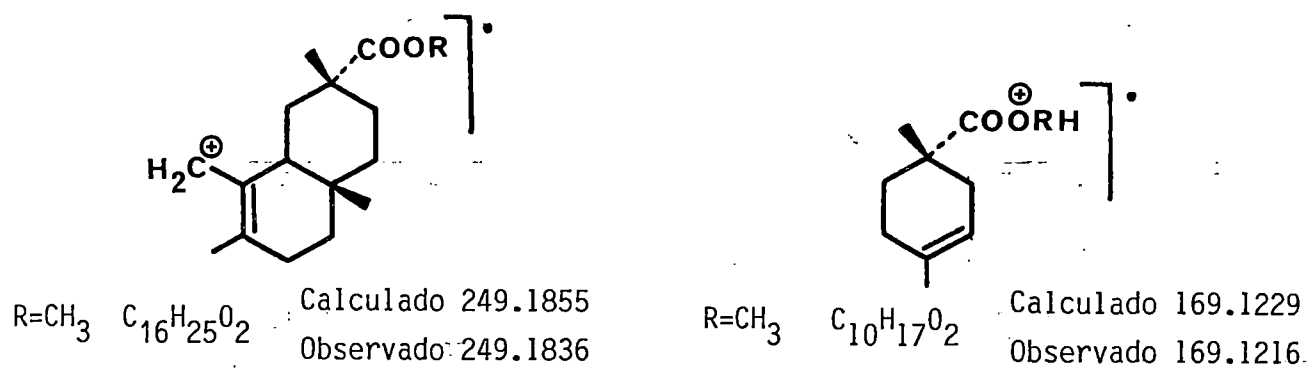
	O ₇ Me	M ₂₅ Me	O ₇ Me2Ac	M ₂₅ Me2Ac	H ₅ Me	H ₃ Ac
C ₁	26.96	26.88	26.09	26.38	22.27	22.43
C ₂	73.37	73.04	71.00	74.25	41.49	41.67
C ₃	107.11	106.50	109.22	105.10	212.58	No registrado
C ₄	45.96	45.87	48.58	46.33	58.22	58.38
C ₅	47.22	52.93	46.33	50.91	42.05	42.02
C ₆	33.80	72.89	33.07	74.93	41.31	41.43
C ₇	19.42	26.88	19.51	25.97	18.21	18.40
C ₈	50.01	46.68	49.98	47.14	53.15	53.48
C ₉	37.20	37.19	37.22	37.08	37.33	37.59
C ₁₀	52.77	53.01	53.17	53.74	59.50	59.62
C ₁₁	34.29	34.16	34.39	34.25	35.53	35.78
C ₁₂	30.55 ⁺	30.57 ⁺	30.53 ⁺	30.58 ⁺	30.27 ⁺	30.73 ⁺
C ₁₃	39.29 [•]	39.11 [•]	39.28 ^{••}	39.35 ^{••}	38.08 [•]	38.41 [•]
C ₁₄	39.24 [•]	39.35 [•]	39.28 [•]	39.21 ^{••}	39.67 [•]	40.04 [•]
C ₁₅	30.17 ⁺	30.16 ⁺	30.09 ⁺	30.00 ⁺	32.83 ⁺	32.77 ⁺
C ₁₆	36.35	36.28	36.30	36.09	35.53	35.97
C ₁₇	30.27	30.30	30.28	30.29	29.53	30.53
C ₁₈	44.67	44.69	44.61	44.58	42.49	42.30
C ₁₉	29.27	29.21	29.21	29.14	38.32	30.19
C ₂₀	40.69	40.71	40.76	40.74	40.47	31.84
C ₂₁	29.32	29.34	29.33	29.28	31.43	28.21
C ₂₂	36.38	36.68	36.78	36.74	38.32	39.21
C ₂₃	7.12	10.10	7.75	8.78	6.78	6.98
C ₂₄	72.37	64.73	74.20	65.71	14.64	14.82
C ₂₅	17.58	17.57	17.64	17.60	17.64	18.04
C ₂₆	16.80	16.68	16.79	16.64	17.64	18.55
C ₂₇	16.37	16.33	16.39	16.39	20.87	20.77
C ₂₈	31.99 ⁰	31.98 ⁰	31.97 ⁰	31.96 ⁰	31.91 ⁰	32.23
C ₂₉	179.26	179.24	179.42	179.44	179.44	75.31
C ₃₀	32.05 ⁰	32.08 ⁰	32.11 ⁰	32.10 ⁰	31.91 ⁰	26.41
	<u>29 COO Me</u> 51.71	<u>29 COO Me</u> 51.74	<u>29 COO Me</u> 51.70	<u>29 COO Me</u> 51.75	<u>29 COO Me</u> 51.67	

TABLA 3

		23 ^d	24	25	26	27	28	30
O ₇ Me	b	0.88		0.77	0.88	1.02	1.13	0.76
O ₇ MeAc	a	0.94		0.83	0.93	1.06	1.17	0.83
O ₇ Me2Ac	a	0.93		0.83	0.92	1.06	1.16	0.83
O ₅ Me	c	0.93		0.80	0.93	1.05	1.16	0.80
Me ₂₅ Me	c	1.15		0.80	0.91	1.03	1.13	0.76
M ₂₅ Me2Ac	c	0.88		0.80	0.94	1.03	1.14	0.78
M ₂₅ Me3Ac	c	0.88		0.81	0.94	1.03	1.14	0.78
H ₃	a	0.84	0.73	0.88	0.93	1.03	1.03	1.03
H ₃ Ac	c	0.84	0.70	0.84	1.00	1.02	1.18	1.00
M ₇	b	0.84	0.70	0.88	0.88	0.97	1.10	0.88
H ₅ Me	c	0.83	0.67	0.81	0.81	1.03	1.14	0.81

a= 60 MHz; b= 90 MHz; c=200 MHz; d= todas las señales de metilos

23 son dobletes.



M_5 mostró ser una sustancia triterpénica que se identificó por sus datos espectrales y comparación con muestras como el 3 β -hidroxi-olean-12-eno, β -amyrina, también aislado del *M. aquifolium*.

El producto M_6 se encontró formando parte de una mezcla con la β -amyrina y mostró un masas con ión molecular (M^+) a 466 m/z y fragmentos característicos de un sistema diénico a 313 y 255 m/z por lo que se identificó como el β -amyradieno (3 β -hidroxi-olean-9(11)-dieno).

El metabolito que en la cromatografía general denominamos M_{11} se trata de un nuevo producto natural cuyos datos más sobresalientes son la existencia de un sistema diénico 9(11)-12 como se comprueba con el espectro U.V. que nuestra señal a 280 nm de acuerdo con la existencia de un sistema homoanular conjugado; los protones sobre C-11 y C-12 resuenan dando un sistema AB característico con desplazamientos a 5.56 y 5.70 δ . Los datos analíticos están de acuerdo con la estructura prevista que resultó ser la correspondiente al producto de oxidación en C-3 del anteriormente descrito M_6 , 3-oxo-olean 9(11)-12 dieno, sintetizado por el Profesor Picard¹³¹.

A continuación se aisló un producto al que denominamos M_{20} que mostraba características de alcohol triterpénico y se purificó en forma de acetato $M_{20}2Ac$ de fórmula $C_{34}H_{54}O_4$, los datos característicos de su 1H RMN, son la existencia del protón geminal a un acetato ecuatorial en posición C-3 como doblete $J=7Hz$ y $J=9Hz$ a 4.46 δ , un protón vinílico como doblete deformado a 5.13 δ $J=3.5Hz$ acoplado con un protón geminal a un grupo acetato axial que resuena a 5.43 δ como un doblete $J=3.5 Hz$ y $J=8.5Hz$, como se demostró por experimentos de doble resonancia donde se mostró la existencia de un sistema AMX. La fragmentación de masas vino a indicar inequívocamente que el compuesto M_{20} se trata de el 3 β ,11 α -dihidroxi-olean-12-eno, que había sido aislado previamente de la Salvia glutinosa¹²³. El estudio espectroscópico se completó

por comparación con los datos de otros productos relacionados como el $3\beta,11\alpha$ dihidroxi-lup-20(29)eno¹³².

El producto que denominamos M_{26} mostraba un ión molecular a 458 m/z y la pérdida de tres moléculas de H_2O 440, 422, 404 y 389 m/z de metilo y agua, esto sufrió confirmación con su 1H RMN en piridina con dos metilos a 0.92 δ y seis singuletes de metilos a 1.15, 1.16, 1.28, 1.31, 1.38 y 1.40 δ y señales para protones geminales a grupos hidroxilo a 3.68 y 4.20 δ como multipletes y un doblete a 5.6 δ de un protón vinílico.

Cuando M_{26} se acetiló en condiciones normales se obtuvieron dos compuestos $M_{26}Ac$ y $M_{26}2Ac$ que continuaban mostrando señal de grupo alcohólico en su espectro de IR por lo que se tomó M_{26} y se dejó acetilando con anhídrido acético en piridina por 6 días obteniéndose una mezcla de tres productos $M_{26}Ac$, $M_{26}2Ac$ y $M_{26}3Ac$, no mostrando este último señales de grupo hidroxílico en su IR, el producto $M_{26}Ac$ fue el más abundante en las dos acetilaciones.

La separación cromatográfica de los productos, nos permitió estudiar cada uno de ellos por separado, al igual que el producto obtenido de calentar M_{26} a 50°C y presión reducida 20 mm en solución de benceno seco hasta sequedad, $M_{26}D$. Los datos analíticos del producto original y sus cuatro derivados muestran que son su monoacetato $M_{26}Ac$, diacetato $M_{26}2Ac$, triacetato $M_{26}3Ac$ y el producto de deshidratación $M_{26}D$.

$M_{26}Ac$ muestra una fórmula de $C_{32}H_{54}O_4$, correspondiente a una masa molecular de 500 m/z exactamente 42 unidades por encima de la correspondiente a M_{26} en su espectro de IR se observan señales a 3590, 3680 cm^{-1} correspondientes a grupos hidroxilos y 1720, 1250 cm^{-1} de éster. En su espectro de 1H RMN

se observan los metilos a 0.77, 0.83(3), 0.91, 1.01, 1.08 y 1.14 δ ; el metilo del acetato a 2.03 δ su protón geminal sobre C-3 como un doble doblete a 4.51 y 4.57 δ J=12 y J=5 Hz, y los geminales a los dos grupos hidroxilos secundarios a 4.29 y 4.33 δ como doblete doblete J=8Hz y J=3.5Hz; del protón axial sobre C-11 como parte de un sistema AMX, a 3.54 y 3.59 δ un doblete doblete J=11Hz y J=5Hz del protón axial sobre C-1, y el protón vinílico sobre C-12 resuena a 5.21 δ como doblete, J=3.5Hz. Todos los datos expuestos fueron refrendados con experimentos de doble resonancia destacando que se determina el desplazamiento del metileno C-2 y su irradiación permitió observar el colapsamiento de los sistemas correspondientes a los protones sobre C-1 y C-3. El comportamiento en espectrometría de masas con inyección directa a 70ev es el correspondiente al compuesto de deshidratación y formación del sistema 9(11)-12 dieno al igual que en el alcohol de procedencia M₂₆ y con fragmentos correspondientes a 482, 329 y 255 m/z que caracterizan al sistema.

Como decíamos anteriormente al calentar nuestro M₂₆ con benceno seco se obtiene un diol M_{26D} de fórmula C₃₀H₄₈O₂ y que presenta en el U.V. una absorción a 283 nm característica de los sistemas diénicos homo anulares. Los datos de ¹H-RMN justifican lo expuesto pues el protón sobre C-11 resuena a 6.50 δ como doblete J=6Hz acoplado con C-12, sistema AB, a 5.45 δ , el anotado desplazamiento del protón sobre C-11, en comparación con los compuestos diénicos por nosotros aislados M₆ y M₁₁ se explica por la gran proximidad y consiguiente influencia del hidroxilo ecuatorial sobre C-1. Los protones geminales a los agrupamientos alcohólicos sobre C₁ y C₃ como ...

doble doblete a 3.26 y 3.32 δ $J=12\text{Hz}$ y $J=43\text{ Hz}$ para H_1 , a 3.81 y 3.86 δ , $J=11.5\text{Hz}$ y $J=4.5\text{Hz}$ para H_3 .

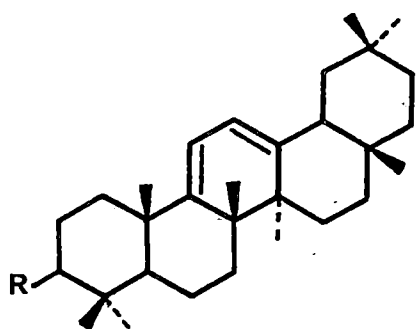
El comportamiento frente a la fragmentación es idéntico al del triol de partida.

Aunque desde los primeros estudios se suponía una estructura de triterpeno del oleano ahora queda la estructura confirmada para M_{26} como la del $1\beta,3\beta,11\alpha$ -trihidroxi-olean-12-eno, producto que no hemos encontrado descrito en la bibliografía química. En la serie del lupano hay un producto aislado recientemente de la *Nepeta handistana*, Labiada, que posee igual tipo de sustituyentes siendo el denominado Nepetidina¹³³ el $1-\beta,3\beta,11\alpha$ -trihidroxi-lup-20(29)eno y también de la misma especie se aísla el $1\beta,11\alpha$ -dihidroxi-lup-20(29)-eno¹³² con un paralelismo en los productos obtenidos por nosotros.

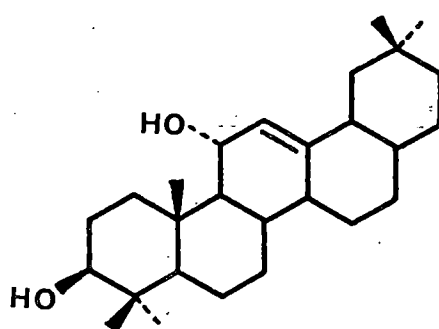
En nuestro producto la deshidratación y formación del doble enlace 9 (11) ocurre con extremada facilidad y en condiciones notables por su suavidad, lo que se explica en función de la ayuda que le presta el hidroxilo sobre C-1 al hidroxilo 11 para formar una molécula de elevada estabilidad por la generación del sistema diénico.

Los autores del trabajo sobre el Nepetidina, Prof. V. Ahmad, observan en fragmentación de masas una deshidratación que explican como la formación de un puente éter entre C-1 y C-11, pues las fragmentaciones a partir del hipotético éter lo justifican.

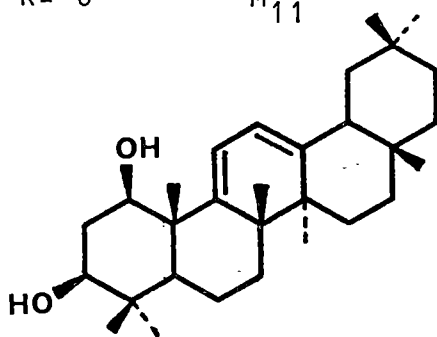
El diacetato $M_{26}2Ac$ muestra un ión molecular a m/z 542 y un tipo de fragmentación acorde con la estructura propuesta, y muestra absorción en el infrarrojo indicativa de la presencia de grupo hidroxilo. Por experimentos de doble irradiación se determina que los grupos acetilados son el 3β y 11α



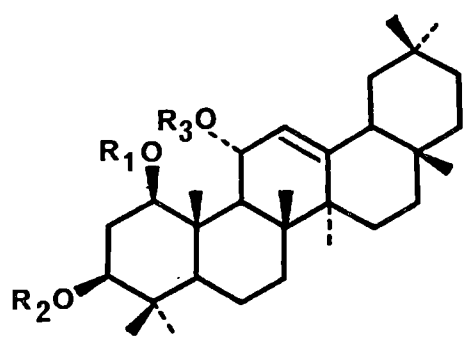
R= H, OH M₆
 R= 0 M₁₁



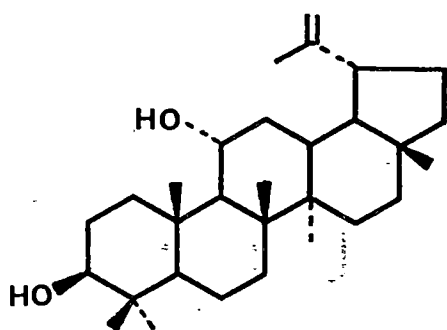
M₂₀



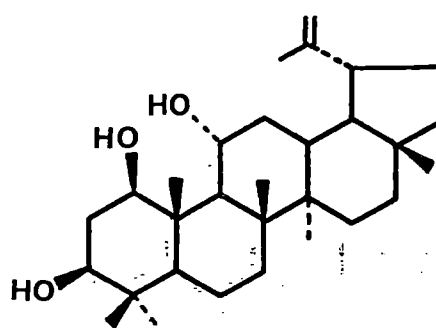
M₂₆^D



R ₁ =R ₂ =R ₃ =H	M ₂₆
R ₁ =H R ₂ =Ac R ₃ =H	M ₂₆ Ac
R ₁ =H R ₂ =Ac R ₃ =Ac	M ₂₆ 2Ac
R ₁ =R ₂ =R ₃ =Ac	M ₂₆ 3Ac



3β,11α-dihidroxi-
 lup-20(29)-eno



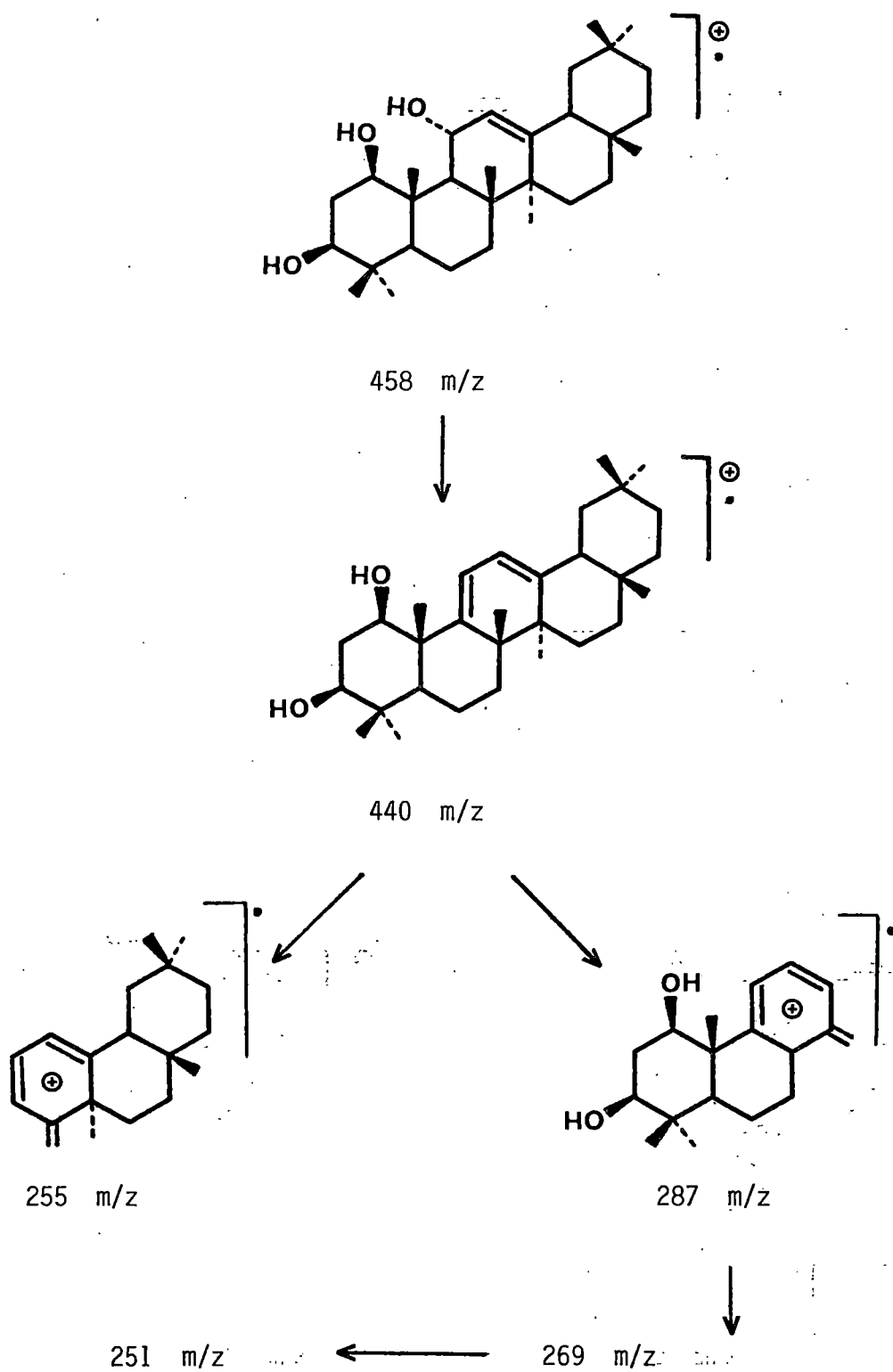
NEPETIDINA

y comprobándose pues los fragmentos correspondientes a los anillos A y B están de acuerdo con estos datos, asignándosele a este $M_{26}2Ac$ la fórmula 1β -hidroxi- 3β lla-diacetoxi-olean-12-eno. Estos datos están de acuerdo con los que obtuvo el Profesor Ahmad¹³³ con el diacetato de nepetidin.

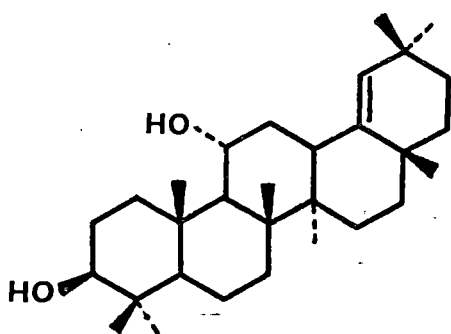
El triacetato $M_{26}3Ac$ se obtuvo por un prolongado tiempo de reacción y no por calentamiento al objeto de evitar o minimizar reacciones no deseadas y de esta forma se obtuvo una pequeña cantidad 1.5mg que fué suficiente para realizar todas las pruebas analíticas y espectroscópicas que permitieran su identificación así los fragmentos característicos en E.M. a 371 y 255 m/z y en su espectro de 1H RMN, tres dobles dobletes a: 4.57 y 4.63 δ , J=12 y J=4 Hz; 4.71 y 4.77 δ , J=11 y J=5Hz; 5.30 y 5.33 δ J=7 y J=4.4 Hz; correspondientes a los protones geminales a los alcoholes 1β , 3β y $11a$ respectivamente y el protón vinílico a 5.5 δ como doblete J=4.4 Hz.

El nepetidin no forma en cambio triacetato y esta diferencia de comportamiento es achacable a que el sistema carbocíclico de los triterpenos del lupano, deja más próximos a los hidroxilos 1β y $11a$ que en el caso de un carbocilo con esqueleto de oleano, que se distorsiona levemente dejando un espacio mayor lo que permite la formación del citado triacetato $M_{20}3Ac$ y en esta línea podría estar el análisis de difracción de RX de los compuestos con esqueleto de Δ^{12} oleano¹³⁴ y lup-20(29)eno¹³⁵ aunque como es habitual resulta difícil el extrapolar conclusiones del estado sólido a una solución.

M_6 fué otro metabolito aislado del *M. horrida* Celastracea y que también fué aislado de una Labiada, la *Salvia broussonetti*¹³⁶ en nuestros laborato-



rios y que presenta una estructura de 3 β ,11 α -dihidroxi-olean-18-eno y que se denominó nivadiol.



M₁₉ NIVADIOL

El metabolito que denominamos M_3 posee una fórmula $C_{30}H_{50}O$ y sus características indican su naturaleza triterpénica con todos los metilos sobre posiciones tetrasustituídas y como aspectos más notables de su 1H RMN el que el protón vinílico resuena a 5.63δ como singulete ancho $w/2 = 10Hz$ y el protón geminal a un grupo alcohólico secundario a 3.46δ como singulete ancho. La comparación con los datos de la bibliografía nos indican que nuestro producto es el 3β -hidroxi-glutin-5-eno glutinol¹³⁷. Los datos de su espectro de ^{13}C RMN se analizan más adelante junto a los de su acetato y otros productos con igual esqueleto; véase Tabla 4.¹⁵⁵ También se preparó su acetato y sus datos analíticos y espectroscópicos son acordes con la estructura mostrada.

El producto H_4 cristaliza de cloroformo metanol como agujas de P.F. 270-272°C y fórmula $C_{30}H_{50}O_2$ y en su espectro de 1H RMN se observa un singulete que integra para dos protones a 3.29δ de un alcohol primario y un multiplete de un protón geminal a un alcohol secundario axial. Los fragmentos producidos en su EM muestran los correspondientes a una ruptura tipo retro-Diels Alder a 152 m/z y 290 m/z, mientras el resto de fragmentos importantes corresponden a las rupturas entre los anillos C y D por los carbonos 13 y 14 al igual que los productos con esqueleto de friedo-oleano, estos datos nos indican un grupo hidroxilo 3β y el grupo alcohólico primario podría estar situado en C_{26} , C_{28} , C_{29} ó C_{30} . Al objeto de resolver esta cuestión se analizaron los espectros de ^{13}C RMN del alcohol H_4 , su acetato H_4Ac y comparado con los datos del 3-oxo-29-hidroxi-friedelano, que posee unos anillos C, D y E con igual disposición estructural observándose después del estudio una identidad de desplazamientos que nos permiten establecer la estructura de nuestro produc-

to H_4 como la de un producto no descrito en la bibliografía química el $3\beta,29$ -dihidroxi-glutin-5-eno.

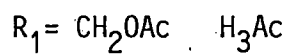
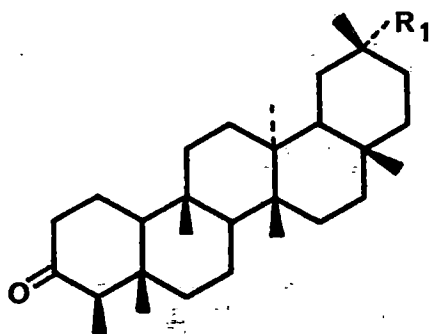
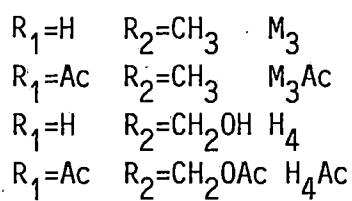
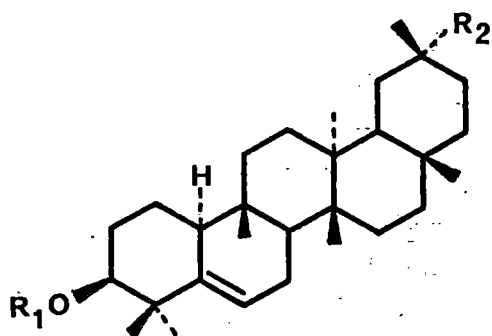
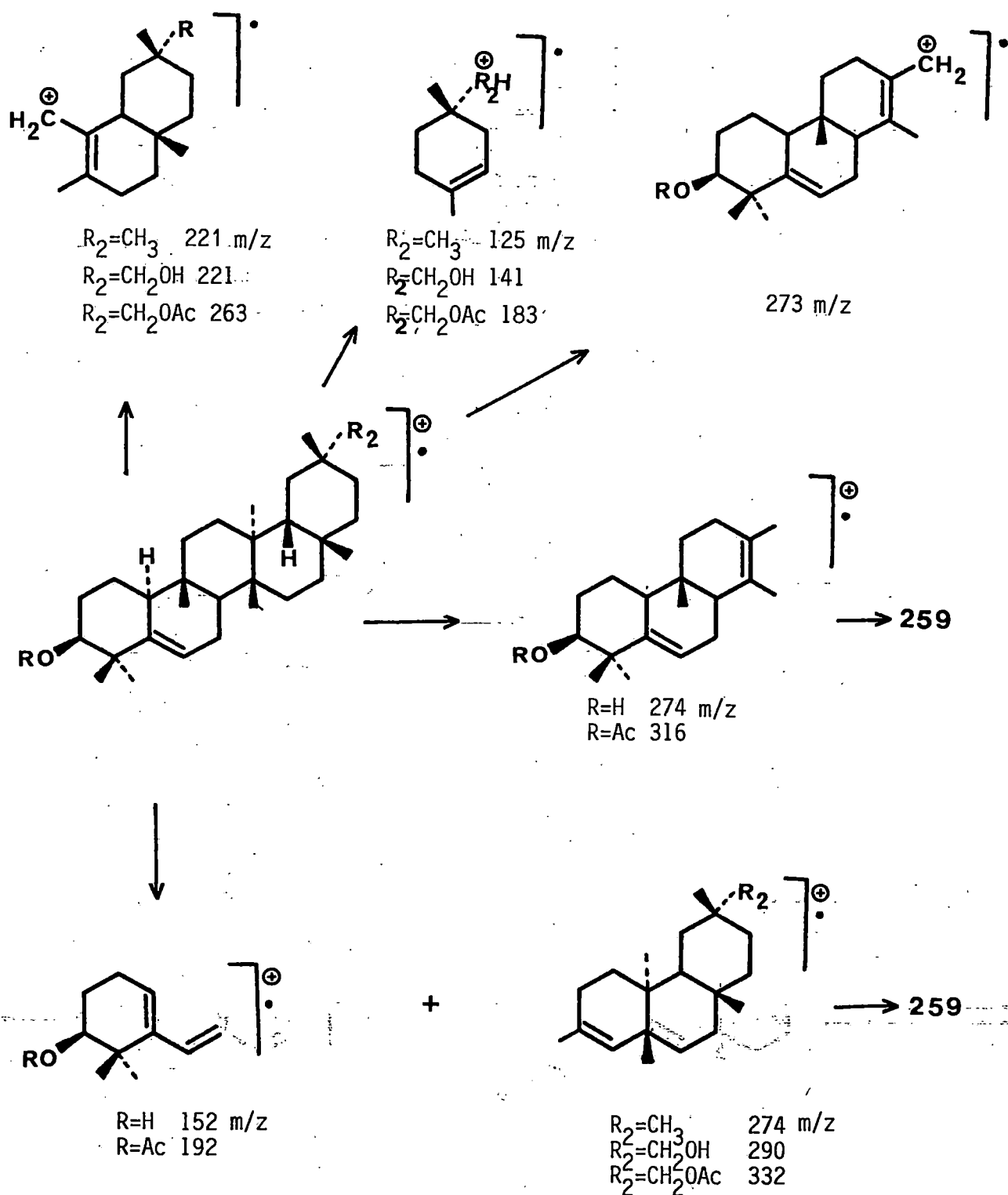


TABLA 4

	M ₃	M ₃ Ac	H ₄	H ₄ Ac	H ₃ Ac
1	18.30	19.03	18.41	19.09	22.43
2	27.93	25.61	28.01	25.66	41.67
3	76.44	78.68	76.51	78.75	no registrado
4	40.90	39.24	41.01	39.31	58.38
5	141.76	142.07	141.83	142.17	42.02
6	122.10	120.14	122.14	120.12	41.43
7	23.74	23.64	23.78	23.66	18.40
8	47.55 ^a	47.51 ^a	48.09 ^a	47.90 ^a	53.48
9	34.94	34.95	35.05	35.02	37.59
10	49.83 ^a	49.98 ^a	49.90 ^a	50.03	59.62
11	33.24	33.27	32.79	32.55	35.78
12	30.45	30.55	30.68	30.71	30.73
13	37.95 ^b	38.03 ^b	37.91 ^b	38.00 ^b	38.41
14	39.40 ^b	39.43 ^b	38.79 ^b	39.70 ^b	40.04
15	34.72	34.75	34.83	34.80	32.77
16	35.19	36.17	36.00	35.98	35.97
17	30.18	30.24	30.78	30.65	30.63
18	43.21	43.27	42.20	42.32	42.30
19	35.19	35.23	29.74	30.04	30.19
20	28.32	28.37	33.35	31.91	31.84
21	32.20	32.18	28.12	28.50	28.21
22	39.05	39.10	39.54	39.15	38.31
23	29.04	29.25	29.13	29.28	6.98
24	25.51	25.16	25.61	25.20	14.82
25	16.26	16.15	12.23	16.09	18.04
26	18.47	18.53	18.21	18.17	18.55
27	19.69	19.67	20.56	20.20	20.77
28	32.46	32.53	32.19	32.17	32.23
29	32.12	32.18	74.64	75.01	75.31
30	34.60	34.66	26.24	26.79	26.41



El metabolito M_{15} muestra un ión molecular a 464 m/z y una fragmentación en EM y un comportamiento espectral en U.V. 420 nm característico del sistema de fenol dienona, esta sustancia resulto ser la pristimerina¹² uno de los componentes mayoritarios de la corteza de la raíz de la *Pristimera indica*¹² (Celástracea).

M_{14} cristalizó de n hexano-acetona, como agujas de color rojo oscuro de P.F. doble y peso molecular de 462 m/z correspondiente a una fórmula de $C_{30}H_{38}O_4$.

El espectro de U.V. muestra absorciones a 230, 256, 290, 325 y 442nm estos datos indican que nuestro producto posee un doble enlace más que la pristimerina ($C_{30}H_{40}O_4$) y que su cromóforo es diferente. El desplazamiento de 420 a 440 n, supone un aumento de la conjugación del sistema metilen quinona con un doble enlace que podría estar en C_9-C_{11} ó C_8-C_{14} . Marini-Bettolo había aislado un producto que denominó pristimerineno cuyos datos analíticos y espectroscopicos eran coincidentes con los nuestros y mostraba diferencias sólo en la fragmentación de masas ó al menos en los datos que los autores publican y que son parciales¹³.

En el espectro de 1H RMN se observa el sistema ABX de los protones de los anillos A y B y el metilo sobre el doble enlace adicional a 1.69 δ .

El estudio de la fragmentación de EM a la luz de las ideas aceptadas de Thomson¹⁵ nos conduce a proponer la estructura mostrada para el producto M_{14} y para el cual proponemos el nombre de Netzahualcoyeno en base a ser el equivalente a la pristimerina en la ruta biosintética que nos introduce en el nuevo esqueleto que representa la Netzahualcoyona O_3 que estudiaremos

más adelante y cuyo RX dió la estructura inequívoca con el doble enlace en C₈-C₁₄.

La comparación del espectro de ¹H RMN del netzahualcoyeno con los que nos suministró el profesor Marini-Bettolo¹³⁸ muestran identidad en los citados datos, por lo que aún insistiendo que los datos de E.M. muestran diferencias pensamos que se debían ampliar los estudios sobre el pristimerineno.

Comparados y analizados los ¹³C RMN del Netzahualcoyeno M₁₄ con los de Netzahualcoyona O₃, Netzahualcoyonal O₄ y Netzahualcoyondiol O₆ muestra que los datos son concordantes con la estructura del nuevo producto M₁₄.
Veáse Tabla 5.

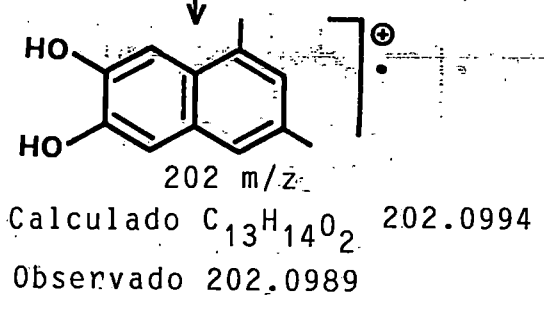
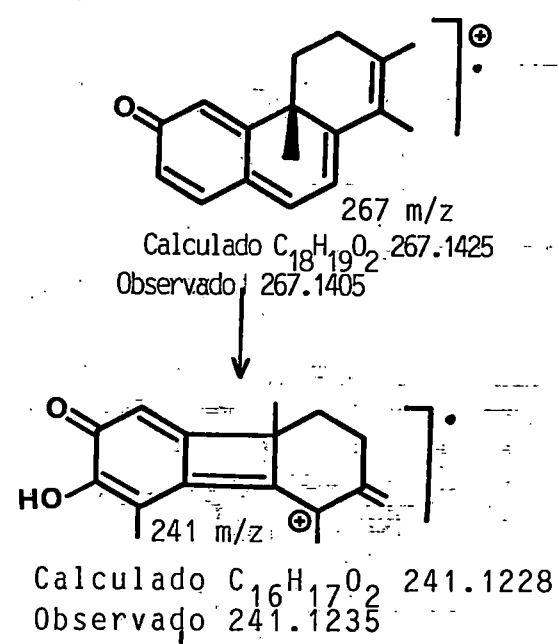
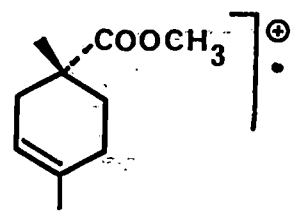
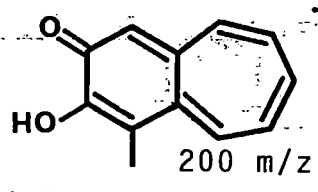
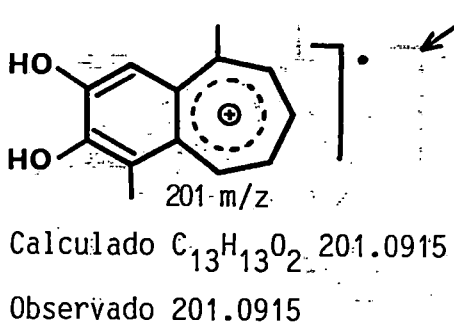
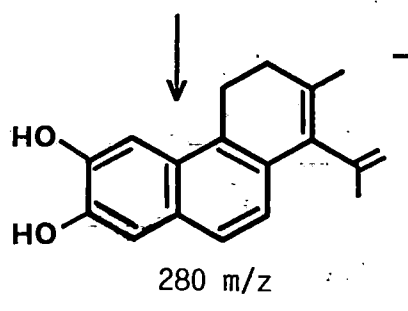
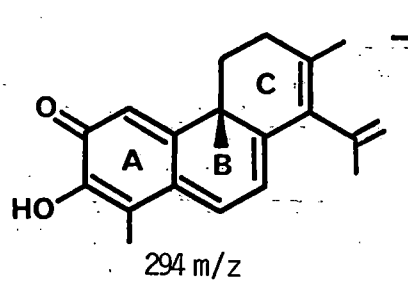
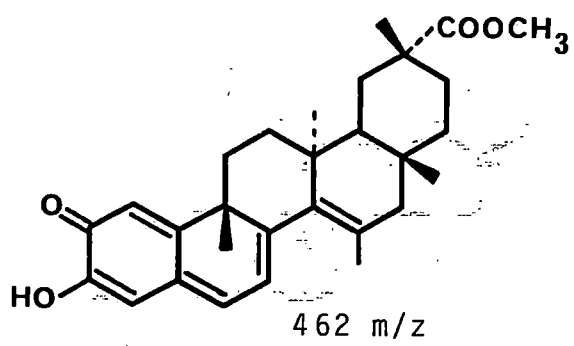
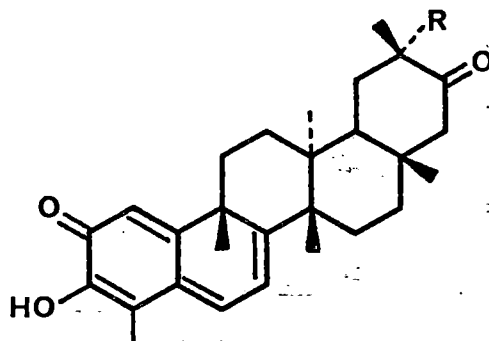


TABLA 5

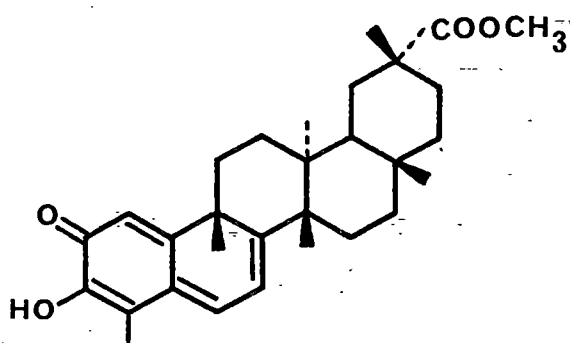
	M ₁₅	O ₁	Iso Igues.	M ₁₆	O ₃	O ₆	O ₄	M ₁₄
1	119.5	120.6	119.6	119.70	122.36	121.68	121.83	121.69
2	178.4	178.3	178.4	178.26	177.75	178.32	178.37	178.14
3	117.1	120.4	117.2	117.18	117.25	116.91	117.03	116.94
4	127.2	127.5	127.5	127.54	128.20	128.12	128.23	128.43
5	146.0	147.0	146.1	146.07	146.34	146.47	146.46	146.96
6	133.8	135.4	134.0	133.65	134.71	134.63	134.84	120.02
7	118.0	118.3	117.9	118.09	120.05	120.25	120.16	158.80
8	164.0	165.0	165.2	164.55	158.00	159.05	159.46	42.73
9	38.4	39.3	31.7	38.05	42.25	42.68	42.78	160.19
10	169.8	172.6	170.3	168.58	159.55	160.16	160.06	34.05
11	28.6	28.7	28.5	28.37	34.24	39.10	34.56	35.74
12	29.6	29.3	29.8	29.80	35.96	35.06	35.94	44.60
13	39.3	39.9	41.4	⁺ 40.52	44.32	44.05	44.58	135.44
14	40.3	43.1	43.0	*42.59	136.01	136.05	135.59	127.68
15	29.8	29.5	30.5	31.96	126.45	126.83	127.94	37.64
16	30.4	32.4	30.6	33.68	37.13	37.67	37.54	43.17
17	44.9	45.3	44.9	44.53	50.34	47.63	48.26	44.05
18	44.2	44.2	45.0	43.40	46.32	39.09	43.63	29.74
19	33.5	33.8	34.0	35.41	38.23	38.16	39.27	33.88
20	30.5	31.0	148	41.75	48.91	44.73	35.41	33.88
21	34.8	34.5	36.1	213.33	74.43	79.65	68.23	36.20
22	36.3	36.3	37.0	52.42	213.8	69.50	43.22	37.91
23	10.2	10.5	10.4	10.18	10.41	10.55	10.53	10.46
25	38.2	38.4	39.0	38.92	28.96	29.66	29.48	29.53
26	21.5	21.5	21.3	21.41	24.25	24.78	24.44	24.08
27	18.3	18.7	19.7	19.57	21.95	21.99	22.07	22.04
28	31.5	31.5	31.2	32.45	13.69	14.22	13.87	19.88
29	178.1	182.5		15.01	175.26	179.25	179.03	179.37
30	30.8	30.7	108.3		22.41	27.25	31.47	31.57
	<u>OMe</u>				<u>OMe</u>	<u>OMe</u>	<u>OMe</u>	<u>OMe</u>
	51.4				52.62	52.44	52.31	51.88

El producto M_{16} es un pigmento fuertemente coloreado y que presenta en su espectro de ^1H RMN el sistema ABX característico de los protones H_1 , H_6 y H_7 de los metilen quinonas y sus desplazamientos químicos a 6.35δ , d ; 6.54δ , singulete ancho; 7.02δ dd, los metilos a 2.21 , 1.49 , 1.33 , 1.04 , $1.03(d)$ y 0.99δ estos datos junto a los obtenidos en el ^{13}C RMN confirman que nuestro pigmento M_{16} es la tingenona¹⁴ sustancia previamente aislada de otras Celastraceas.

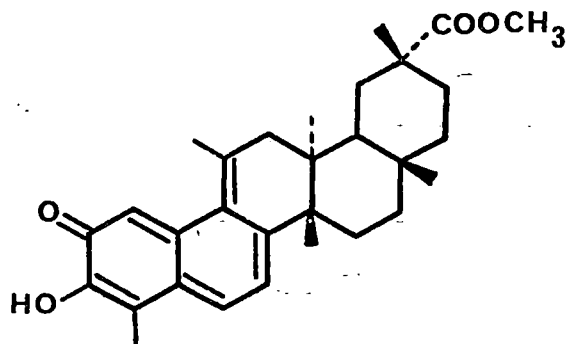
M_{18} se aisló como un polvo rojo cristalino de P.F. $202-204^\circ\text{C}$ y fórmula $\text{C}_{28}\text{O}_4\text{H}_{36}$. En su espectro de ^1H RMN se observa un doble-doblete a 7.00δ un singulete 6.51δ y un doblete a 6.34δ y metilos a 2.19 , 1.45 , $1.34(2)$, 1.09 y 0.86δ dentro del espectro resulta notable al presencia de dos dobles centrados a 1.90 y 2.98δ , que caracterizan al igual que en la tingenona la posición al grupo carbonilo C-21, dato que unido a la existencia en su fórmula de un oxígeno más que en la tingenona sin protón geminal, y la ausencia de un metilo como doblete muestran que nuestro producto se trata de la 20α -hidroxi-tingenona lo que se confirmó al estudiar la bibliografía¹⁵.



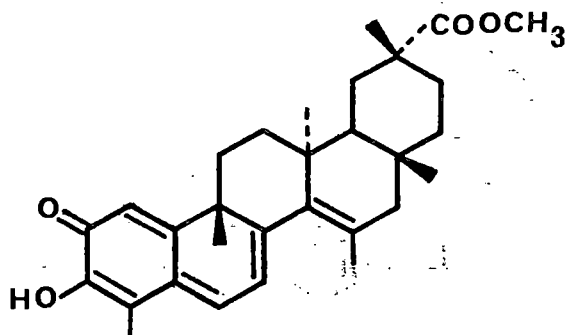
TINGENONA R=H M₁₆
 20 α -HIDROXI-TINGENONA R=OH M₁₈



PRISTIMERINA M₁₅



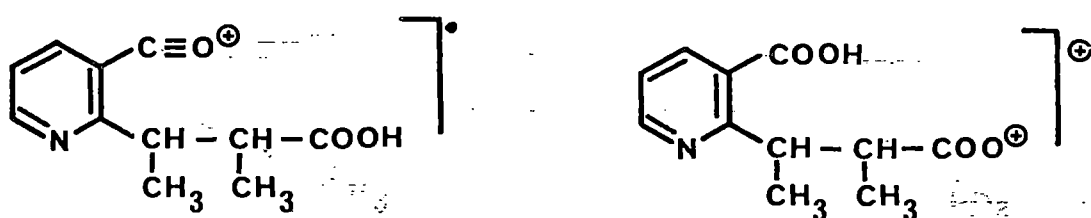
PRISTIMERINENO



NETZAHUALCOYENO M₁₄

El metabolito que hemos denominado H₉, es un alcaloide M⁺ 867 m/z confirmado por su análisis elemental C₄₃O₁₈H₄₉N y que presentaba el aspecto de un polvo casi blanco que no cristalizó en los sistemas de disolventes por nosotros usado.

Su espectro de masas nos dió mucha información pues la presencia de fragmentos a 105m/z sugería la presencia de un agrupamiento benzoato en la molécula, al igual que 43 m/z sugería la de acetato; un grupo de señales entre las que destacaba 206, 178, 160 y 107 entre otros notables conteniendo N indicaban la presencia en la molécula de un resto de evonato^{139,140}.



206 m/z

RESTO DEL ACIDO EVONICO

El elevado peso molecular junto a los datos reseñados y un espectro de ¹H RMN con señales en todo él y donde se observaban claramente la presencia de acetatos, benzoato y evonato nos sugirieron que nos encontrábamos ante un alcaloide macrocíclico formado por un núcleo o corazón de sesquiterpeno tipo

agarofurano poliesterificado sobre el cual a su vez se encuentra un diéster del ácido evónico. Con estas ideas como base y tras su estudio proponemos para el producto H_9 el nombre de "horridina", siguiendo la costumbre en estos alcaloides de Celástraceas de nombrarlos con el nombre de la especie y cuya fórmula, corresponde a la de un producto con nuevo esqueleto y por tanto nuevo en la bibliografía química; el 1, 2, 6, 8, 15 penta acetil; 9 benzoyl 3,10¹-13,7¹ evonil isoeuoniminol, estructura establecida en funciones de los datos que mostramos a continuación.

En su espectro de 1H RMN se observan singuletes para 5 metilos de acetatos, a 1.83, 1.90, 2.16 y 2.35 δ , dos metilos angulares a 1.60 y 1.83 δ y dos metilos como dobletes a 1.21 y 1.40 δ asignables a los metilos sobre C-8¹ y C-9¹ del diácido; estos datos aplicados a la existencia de un núcleo de sesquiterpeno exige que se encuentren funcionalizadas las posiciones 3 y 13 para el anclaje del ácido evónico, por lo que se concluye que los restantes seis esterés deben situarse sobre C-1, C-2, C-6, C-8, C-9 y C-15.

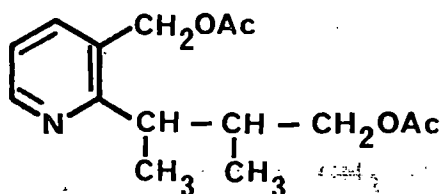
Llegados a este punto de nuestra investigación, había tres cuestiones importantes que resolver para poder establecer de una forma inequívoca la estructura de H_9 (1º) naturaleza del esqueleto del sesquiterpeno; 2º) posiciones de los diferentes ésteres y naturaleza del diácido.

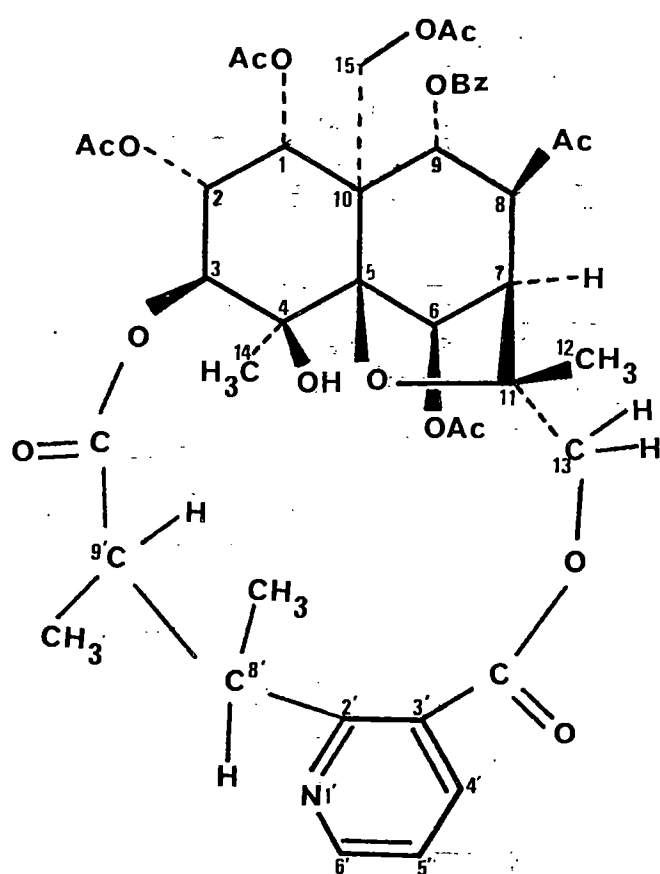
Al objeto de resolver la 1ª cuestión y dada la pequeña cantidad de muestra aislada 40 mg, tomamos 16 mg y los redujimos con exceso de $AlLiH_4$ en una reacción iniciada a 0°C y posteriormente a temperatura ambiente por 24 horas tras lo cual y previo el trabajo habitual en este tipo de reacciones el crudo de reacción fué acetilado con anhídrido acético y piridina inicialmente a temperatura ambiente y posteriormente con calefacción a 70°C du

rante 48 horas, trascurrido el cual se cromatografió obteniéndose dos productos mayoritarios el octa-acetato de isoeuonyminol^{141,142} y el diacetato correspondiente al reducido del ácido evónico mezclado con otros productos de reducción.

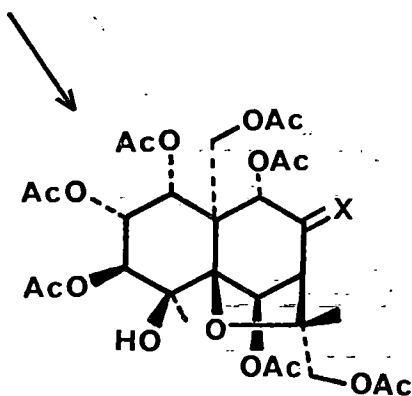
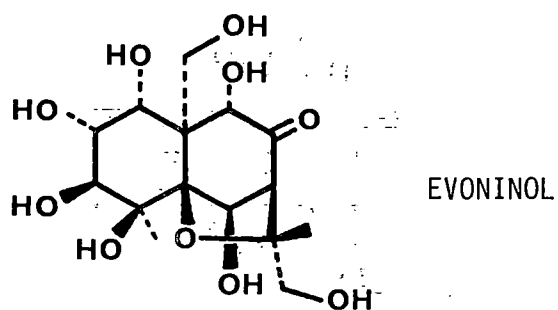
Estas estructuras fueron establecidas basándonos en los siguientes hechos el octa-acetato de isoeuonyminol muestra en su ¹H RMN señales de los ocho metilos de los esteres y a 1.49 y 1.61 δ dos metilos que junto a la señal del protón en C-7, 2.45 δ , permiten diferenciar por los desplazamientos químicos al euonyminol y al isoeuonyminol. Estudiadas las constantes de acoplamiento se observó que los correspondientes a H₇-H₈, H₈-H₉ y H₉-H₈ eran las que estaban de acuerdo con α -H₇, α -H₈ y β -H₉. Comparación con muestra de Octa-acetato de isoeuonyminol suministrado por el Profesor Yamada¹⁴³ y obtenida a partir de evoninol por reducción y separación de los epímeros en C₈, mostró su identidad en todos los aspectos.

El otro producto obtenido de la reducción nos aclaró la naturaleza del diácido¹⁴⁴ que esterificaba al sesquiterpeno al obtenerse un diacetato cuya fórmula es la que se muestra.





HORRIDINA



X = β OAc, α H ISOEUONYMINOL-OCTA-ACETATO

X = α OAc, β H EUONYMINOL-OCTA-ACETATO

El análisis de un espectro protón-protón en dos dimensiones Cosy¹⁴⁵ en condiciones de observar acoplamiento a varios enlaces nos permitió el realizar las asignaciones de los protones tal como se observa a continuación:

H_{4'} 8.04, 8.01, dd J_{4',5'}=7.8Hz J_{4',6'}= 1.8Hz

H_{5'} 7.22, 7.26, dd J_{5',4'}=7.8Hz J_{5',6'}= 4.8Hz

H_{6'} 8.68, 8.70, dd J_{6',5'}=4.8Hz J_{6',4'}= 1.8Hz

H₁ 5.65, d J_{1,2} = 3.0Hz

H₂ 5.26, 5.28, dd, J_{2,1} = 3.0Hz J_{2,3}=3.0Hz

H₃ 4.74, d, J_{3,2} = 3.0Hz.

H₆ 6.75, s. ancho, J_{6,7}= no medible

H₇ 2.69, d, J_{7,8} = 3.0Hz J_{7,6}= no medible

H₈ 5.66, 5.71, dd, J_{8,7} = 3.0Hz, J_{8,9} = 9.7Hz

H₉ 5.92, d, J_{9,8} = 9.7Hz

H₁₃ 3.66, 6.00, dd, AB J= 11.6Hz

H₁₅ 4.64, 4.87, dd, AB, J=13.2Hz

Me-C₈, 2.59, 2.63, c, J=7.2Hz

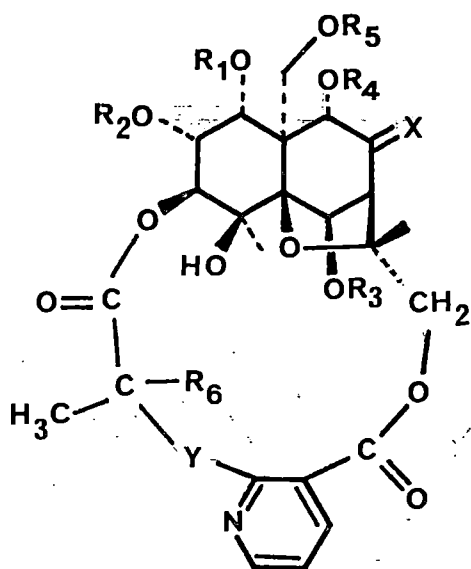
Me-C₉, 4.59, 4.67, c, J=6.9Hz

Disolvente: CDCl₃ . Desplazamientos químicos en δ

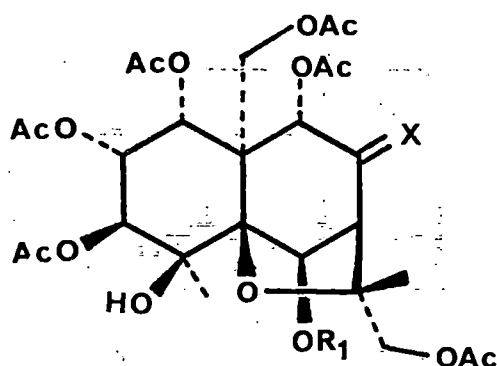
TABLA 6

ISOEUONYMINOL OCTA-ACETATO	5.60 (2.6)	5.27 (2.6)	4.80 (2.6)	6.50	2.45 (3)	5.57 (3.0 y 9.7)	5.69 (9.7)
ISOEUONYMINOL HEPTA ACETATO METIL ESTER	5.58 (3.0)	5.26 (3.0)	4.78 (3.0)	4.63	2.65 (3)	5.38 (3.0 y 9.5)	5.63 (9.5)
EUONYMINOL OCTA-ACETATO	5.60 (3.7)	5.27 (3.7 y 2.5)	4.81 (2.5)	6.76	2.34 (3.9)	5.50 (3.9 y 6.1)	5.34 (6.1)
WILFORDINA	5.75 (3.0)	5.49 (3)	5.08 (3 y 3)	6.84	2.39	5.58 (4 y 6)	5.47 (5)
NEOALATAMINA	5.86 (3)	5.40 (3 y 3)	5.23 (3)	5.40	3.20		5.62
ALATAMINA	5.88 (4)	5.41	5.13	6.76	3.05		5.60
MONOBENZOATO C-1	6.07 (3.5)	5.42 (3.5 y 3)	4.90 (3.0)	6.76	3.07		5.68
MONOBENZOATO C-2	5.85 (3.2)	5.57 (3.2 y 3)	4.95 (3)	6.82	3.07		5.63
MONOBENZOATO C-15	5.78 (3.2)	5.35 (3.2 y 3)	4.75 (3)	6.70	3.19		5.64
HORRIDINA	5.65 (3)	5.27 (3.3)	4.74 (3)	6.75	2.69 (3)	5.69 (3 y 9.7)	5.92 (9.7)

El estudio del Cosy, nos permitió colocar 4 acetatos sobre 1,6,8 y 15 por lo que nos quedaba por asignar un acetato y un benzoato para las posiciones C-2 y C-9, lo que se realizó mediante un estudio de correlación con otros productos conocidos y el octaacetato de Iseuoniminol; lo que nos permitió asignarle a nuestro compuesto la estructura ya mencionada. Véase Tabla 6. desplazamientos químicos en δ , constantes de acoplamiento en (Hz.)



WILFORDINA	$R_1=Ac$ $R_2=Bz$ $R_3=Ac$ $X=\alpha OAc, \alpha H$	$R_4=Ac$ $R_5=Ac$ $R_6=OH$ $Y=(CH_2)_2-$
NEO ALATAMINA	$R_1=Ac$ $R_2=Bz$ $R_3=H$ $X=O$	$R_4=Ac$ $R_5=Ac$ $R_6=OH$ $Y=(CH_2)_2-$
ALATAMINA	$R_1=Ac$ $R_2=Bz$ $R_3=AcX=OAc, \alpha H$	$R_4=Ac$ $R_5=Ac$ $R_6=OH$ $Y=(CH_2)_2-$
MONOBENZOATO C-1	$R_1=Bz$ $R_2=Ac$ $R_3=AcX=O$	$R_4=Ac$ $R_5=Ac$ $R_6=H$ $Y=CH-CH_3$
MONOBENZOATO C-2	$R_1=Ac$ $R_2=Bz$ $R_3=AcX=O$	$R_4=Ac$ $R_5=Ac$ $R_6=H$ $Y=CH-CH_3$
MONOBENZOATO C-15	$R_1=Ac$ $R_2=Ac$ $R_3=AcX=O$	$R_4=Ac$ $R_5=Bz$ $R_6=H$ $Y=CH-CH_3$
HORRIDINA	$R_1=Ac$ $R_2=Ac$ $R_3=AcX=\alpha OAc, \beta H$	$R_4=Bz$ $R_5=Ac$ $R_6=H$ $Y=CH-CH_3$



$X = \beta \text{ OAc}, \alpha \text{ H}$	$R_1 = \text{Ac}$	ISOEUONYMINOL OCTA-ACETATO
$X = \beta \text{ OAc}, \alpha \text{ H}$	$R_1 = \text{Me}$	ISOEUONYMINOL HEPTA-ACETATO METIL ETER
$X = \alpha \text{ OAc}, \beta \text{ H}$	$R_1 = \text{Ac}$	EUONYMINOL OCTA-ACETATO

El análisis de los datos de las constantes de acoplamiento y el estudio de los datos obtenidos por otros autores de difracción de RX, nos han permitido el comprobar que el anillo A es una silla casi sin deformar mientras que en el anillo B el C-9 se encuentra más aplanado que en una silla pero todavía alejado de la conformación sobre.

Experimentos de dos dimensiones ^1H RMN frente a ^{13}C RMN permiten asignar casi la totalidad de la molécula de forma inequívoca, no encontrándose datos anteriores que diferenciasen por ejemplo las posiciones 1, 2, 3, 8 y 9. En la tabla 7 se muestran los datos obtenidos.

TABLA 7

1	72.53	CH ₃ -OCO-	21.63
2	68.74	CH ₃ -OCO-	21.10
3	75.39		
4	70.78		
5	94.65		
6	74.85	CH ₃ -OCO-	20.66
7	49.53		
8	74.66	CH ₃ -OCO-	20.85
9	73.98		
10	51.52		
11	85.81		
12	19.74		
13	60.92		
14	23.96		
15	70.03	CH ₃ -OCO-	21.34
2'	125.19		
3'	129.14		
4'	137.82		
5'	121.18		
6'	151.65		
8'	45.00	CH ₃ -	12.17
9'	36.62	CH ₃ -	9.94

Benzoato 133.84, 129.86(2) y 128.89 (2).

Carbonilos de los ésteres 165.58, 168.53, 168.69, 169.17, 169.80, 169.92, 170.13, 174.11.

ESTUDIO DEL EXTRACTO ETEREO DE LA
RAÍZ DE ORTHOSPHENIA-MEXICANA S.

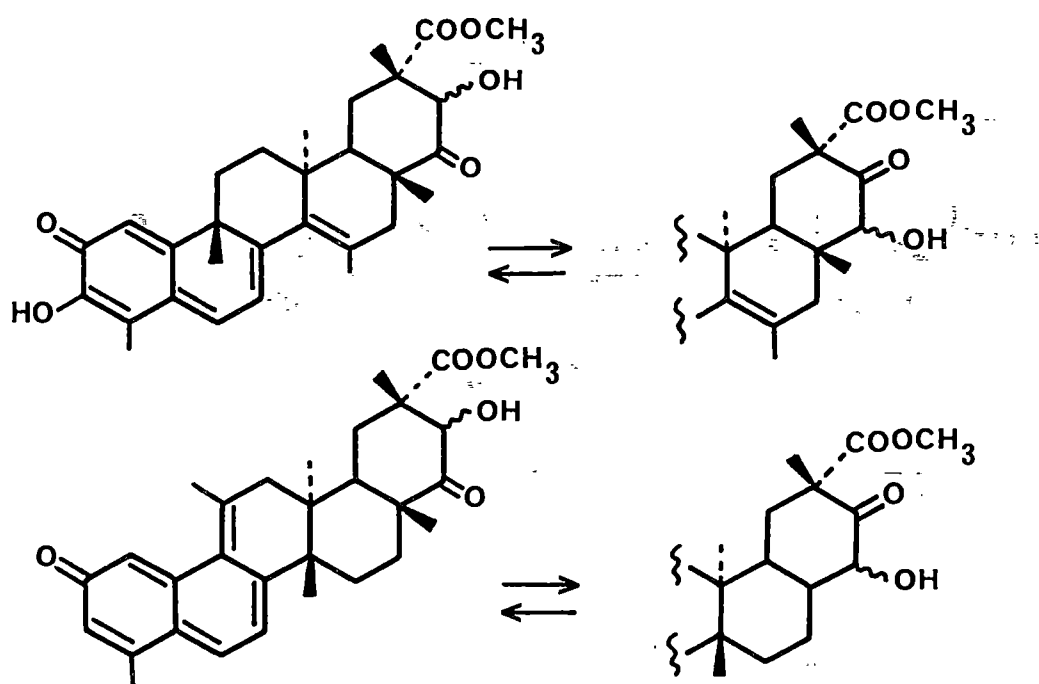
Al igual que los extractos hexánicos de la corteza de la raíz de otras Celastraceas, nuestro bruto de extracción etérea es rico en pigmentos metilén quinónicos. El extracto hexánico de la O. Mexicana fué estudiado por la Dra. C.M. González y sus resultados se recogen en su tesis doctoral¹⁴⁶; leída el pasado Marzo, siendo coincidentes cinco de las sustancias por nosotros aisladas y simultáneamente por la Dra. C.M. González: celastrol, netzahualcoyona, netzahualcoyonol, netzahualcoyondiol y ácido salaspérmico¹⁴⁷ junto a estos productos también aislamos dos compuestos uno de ellos el ácido orthosphenico¹⁴⁸, también aislado del extracto de la parte aérea y del metanólico de la raíz y una nueva quinona nor-triterpénica cuyo estudio al igual que el de los otros productos se aborda a continuación.

32 gramos de extracto de corteza de la raíz, de consistencia siruposa, tras repetidas cromatografías sobre gel de sílice dió lugar al aislamiento de metabolitos que se estudian seguidamente.

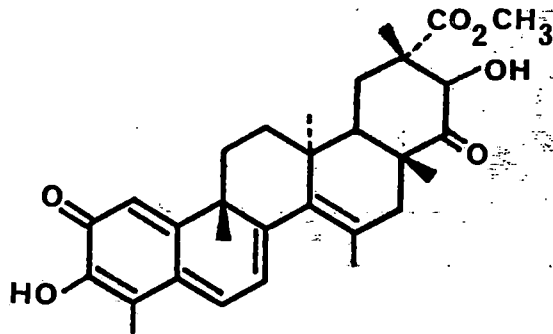
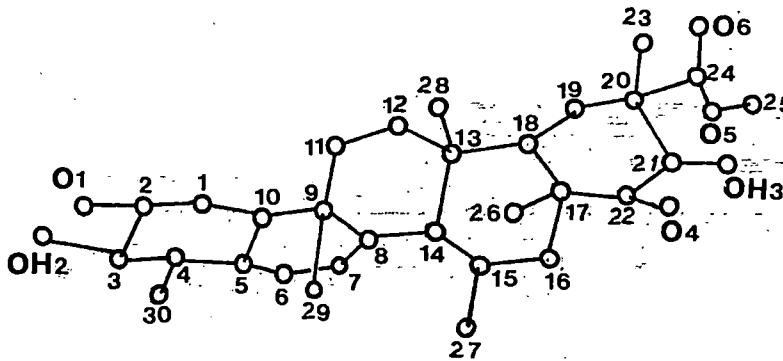
El producto que en la cromatografía se denominó O_1 se trata de un producto de fuerte coloración naranja-rojiza y que presenta características de ácido, por lo que se procedió a su metilación con diazometano y de esta forma se obtuvo un metil derivado de cuyo estudio se dedujo que nuestro producto era el celastrol anteriormente aislado de otras celastraceas¹¹. Véase la pristimerina ya descrita en la pág.

El pigmento que se aisló a continuación O_3 era una sustancia cristalina de fórmula $C_{30}H_{36}O_6$ y cuyo aspecto y datos de RMN nos indicaban la presencia de un sistema metilén quinónico ABX, protones H_1 , H_6 y H_7 a 6,55 δ , s ancho, 6.18 δ d, y 7.15 δ ; datos diferentes por su desplazamiento químico, a los de las quinonas conocidas pero muy parecidos a los que Marini-Bettolo¹³ habían encontrado en sus pristimerineno 11 e hidroxipristimerineno 12 y además los

datos de U.V. en nuestro producto a 257 y 442m nos indican que nuestro cromoforo era distinto al de la pristimerina¹⁴⁹ y estructuras con esqueleto relacionado¹⁷ que muestran una absorción característica a 423 n.m. estos datos indican que el sistema cromofórico debe estar aún más conjugado que en la pristimerina, lo que implicaría un doble enlace adicional, que podría situarse en las posiciones C₉-C₁₁ ó C₁₄-C₁₅ y en ambos casos necesitaría de reagrupamiento de metilo. La presencia de un protón geminal a un grupo alcohólico a 4.99 δ indica que se encuentra en posición alílica a un grupo carbonilo y según los razonamientos biogénéticos¹³ podrían situarse estas funciones sobre el anillo E del sistema pentacíclico. La presencia del grupo éster metílico a 3.78 δ y de un metilo sobre doble enlace a 1.77 δ nos permitieron proponer varias estructuras alternativas para nuestro producto y que se muestran a continuación, en todas ellas el éster se coloca en C-29 por razones de comparación con otras quinonas aisladas de *Cladonia* astraceas



Con el conjunto de estos datos y los obtenidos de los productos de reducción y que analizaremos más adelante, era crucial el decidir cual era nuestro producto, pues aunque el trabajo mencionado de Marini-Betto¹³, mostraba unos productos 11 y 12, con doble enlace adicional sobre C₉-C₁₁ e igual ultravioleta que nuestro producto, basándose en datos espectroscopicos; nos decidió a someter nuestro producto a un estudio de difracción de R.X. el cual nos dió la configuración absoluta de nuestro producto como la del mostrado en la figura y para el cual proponemos el nombre de Netzahualcoyona¹⁴⁶.



03 NETZAHUALCOYONA

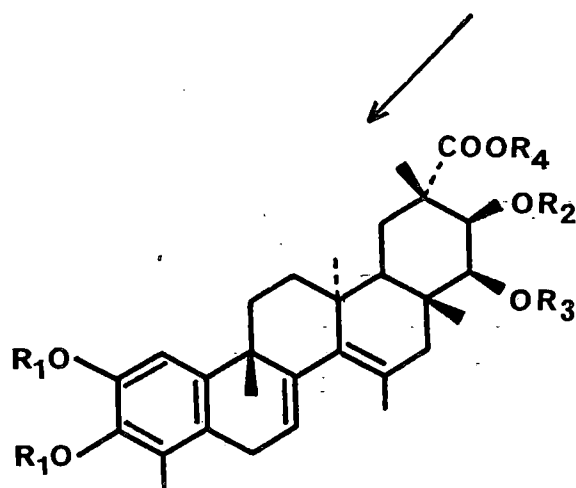
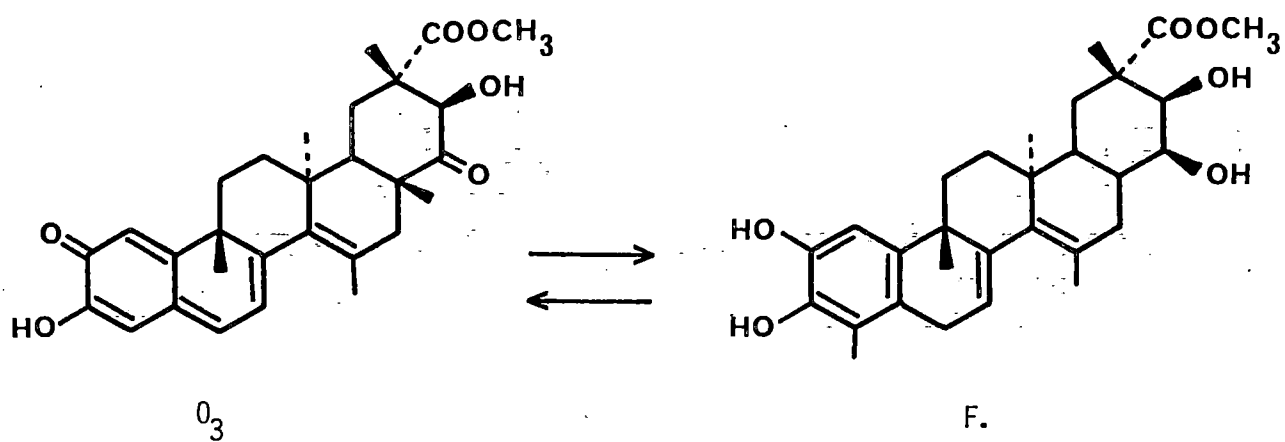
Los resultados de este análisis indican que la Netzahualcoyona presenta un nuevo esqueleto de pristimerina reagrupado con unión *cis* de los anillos D-E; los anillos A y B son planos, mientras los C y E son sillas y el anillo D posee conformación de sobre.

Estos datos fueron corroborados por los datos de ^{13}C -RMN y que se muestran en la tabla 5.

Los datos que aportamos aquí¹⁵¹ sugieren que debieran obtenerse más datos que confirmen o revisen las estructuras de los pristimerinenos aislados por Marini-Bettolo¹³ de una especie del género *Salacia*.

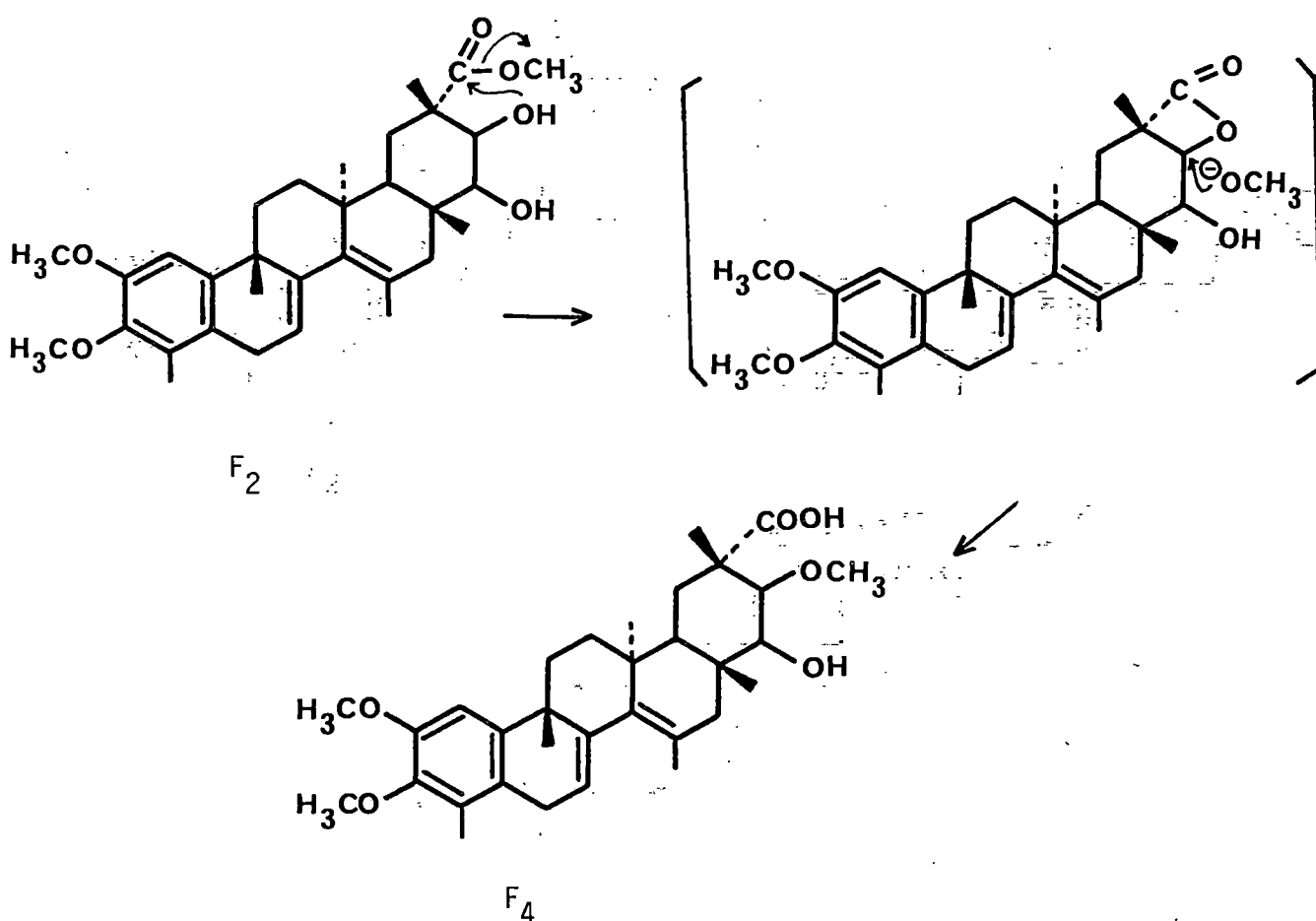
La reducción de O_3 con NaBH_4 en etanol condujo a un compuesto F parte del cual fué acetilado y otra parte tratado con $(\text{CH}_3)_2\text{SO}_4$ obteniéndose los productos mayoritarios F_1 , F_2 , F_3 y F_4 .

El producto primario de la reducción es un fenol F que espontáneamente se reoxida en presencia de aire, dato concordante con los encontrados en trabajos similares¹⁷. La desaparición del sistema metilén quiniónico se observa en los datos espectroscópicos: varios I.R., U.V., y ^1H - y ^1H -RMN, en donde se observan H_1 , H_6 y H_7 a 6.84 δ , s. ancho; 3.38 δ , d; y 5.57 δ , t; los protones 21 y 22 se observan como dos dobletes a 3.56 y 4.44 δ .

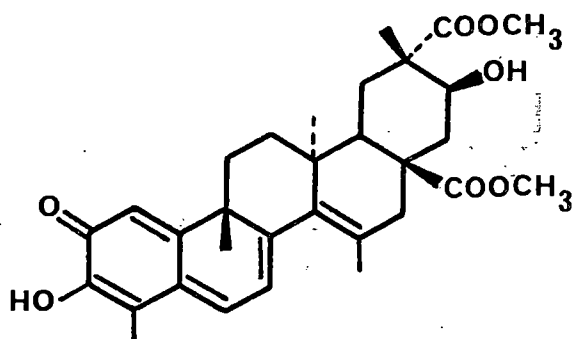


F_1	$R_1=Ac$	$R_2=Ac$	$R_3=H$	$R_4=CH_3$
F_2	$R_1=CH_3$	$R_2=CH_3$	$R_3=H$	$R_4=CH_3$
F_3	$R_1=CH_3$	$R_2=H$	$R_3=H$	$R_4=CH_3$
F_4	$R_1=CH_3$	$R_2=CH_3$	$R_3=H$	$R_4=H$

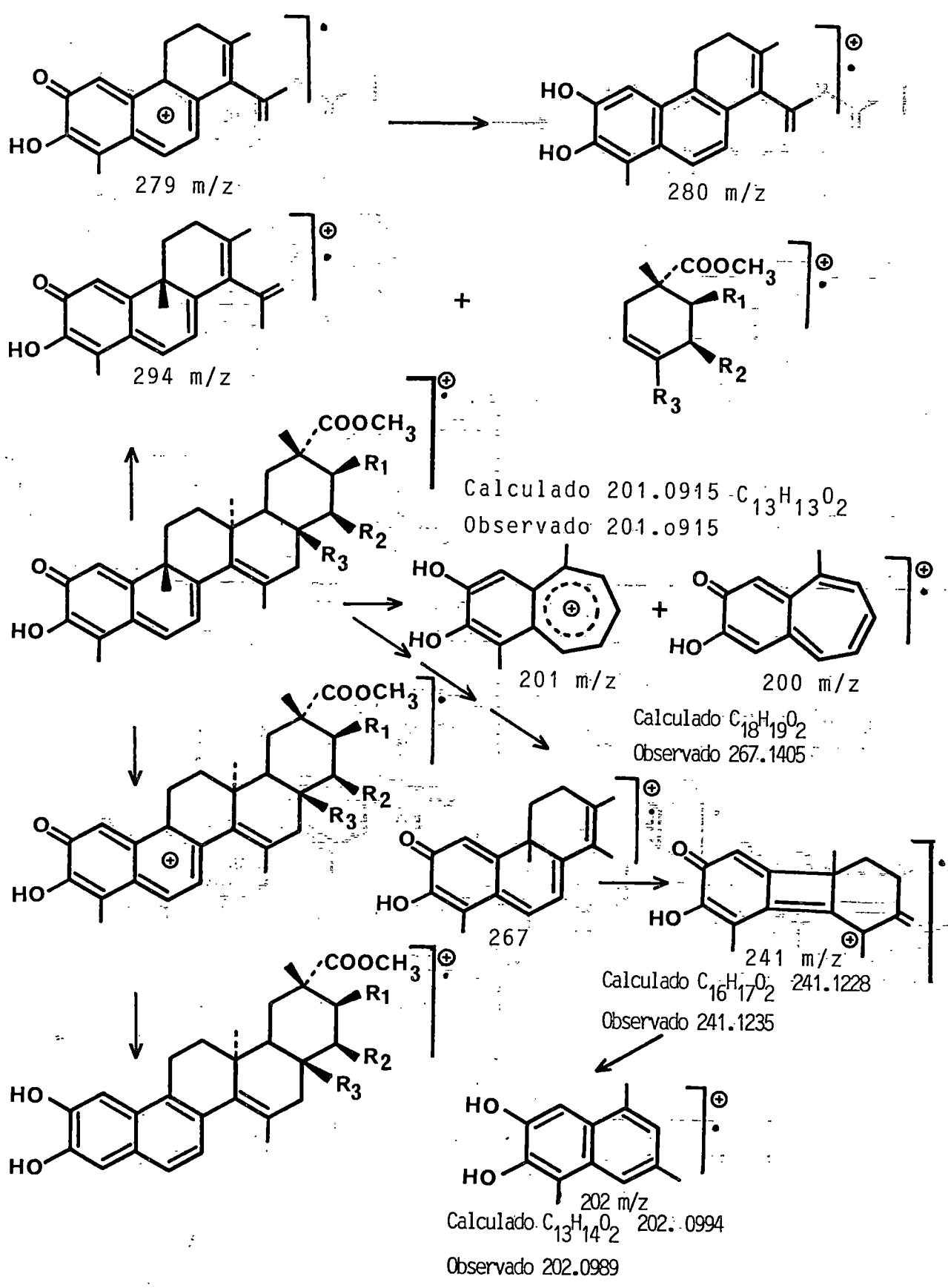
Cuando el fenol F se acetiló en condiciones usuales se obtuvo un triacetato F_1 en el cual el grupo hidroxilo axial sobre el carbono 22 no se esterifica debido a la fuerte interacción 1-3 diaxial con el protón sobre C-18 y el metilo 30. Cuando el fenol F se trata con sulfato de dimetilo en exceso se forman varios productos, F_2 , F_3 y F_4 cuyos datos espectroscopicos y analíticos están de acuerdo con las estructuras propuestas y donde es destacable que el producto F_4 se debe formar vía el producto F_3 por un proceso de transmetilación.

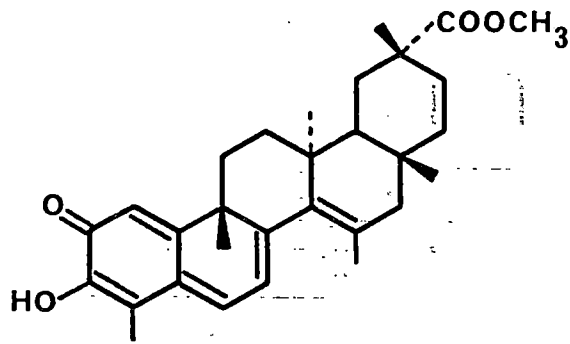


El pigmento O_2 se aisló en forma de polvo amorfo y tiene una fórmula de $C_{31}H_{38}O_7$ y en cuyo espectro de U.V. tiene una banda a 440nm al igual que la Netzahualcoyona, datos estos que unidos a su espectro de $^1\text{HRMN}$ en donde se observa el sistema metilen quinónico H_1, H_6, H_7 a $6.55\delta, s; 7.18\delta, d; 6.21\delta, d$; dos metoxilos a 3.70 y 3.84δ y cinco metilos a $2.23, 1.67, 1.23, 1.07$ y 0.82δ lo que indicaba claramente que dos de los grupos metilos de los nortriterpenos estaban oxidados, descartándose los metilos 23, 25, 26 y 27 de acuerdo con los siguientes datos, los metilos 23 y 26 resuenan en $^1\text{HRMN}$ a 2.23 y 1.67δ , luego su presencia es segura en nuestra molécula, el metilo 25 es necesario que se encuentre sin funcionalizar para poder explicar los fragmentos de masas 201 y 241 m/z y el metilo 27 no está funcionalizado pues si no, no existiría el fragmento de ruptura tipo Retro Diels Alder a 293 m/z por lo que se le asignó funciones $-\text{COOMe}$ a los carbonos, 29 como en las triterpeno quinonas de Celastraceas y la 28 al otro agrupamiento pues no hay datos que indiquen un agrupamiento tipo malónico en la molécula. El grupo hidroxilo adicional en la molécula posee su protón geminal bajo las señales del metóxilo a 3.70δ y por sus datos y comparación con otros 21β -hidroxi-derivados se le asigna dicha posición y se propone el nombre de Netzahualcoyol.

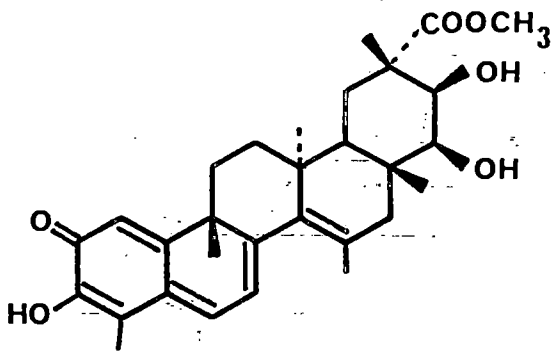


O_2 NETZAHUALCOYOL

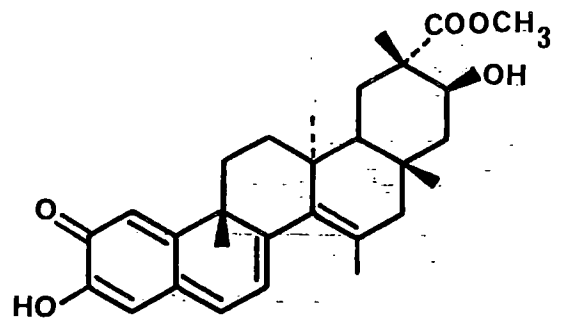




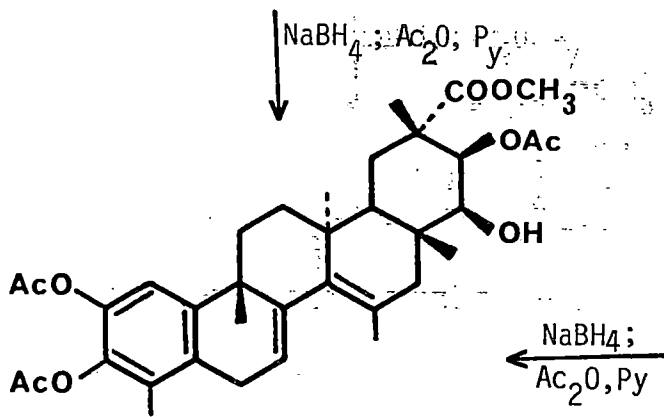
NETZAHUALCOYENO



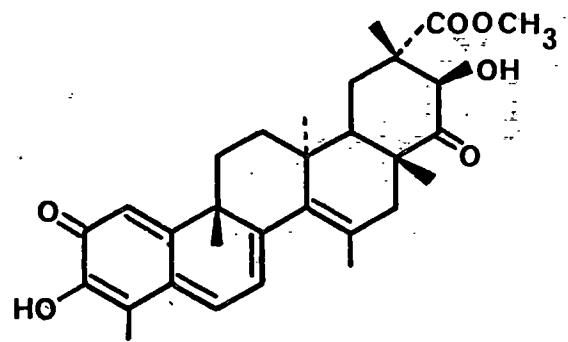
O_6 NETZAHUALCOYONDIOL



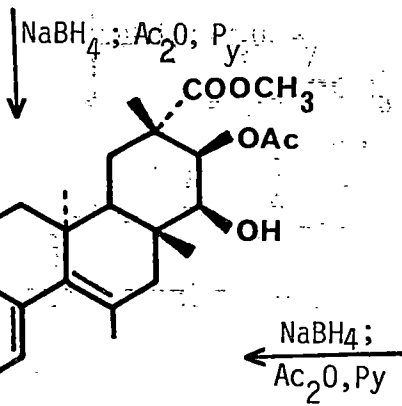
O_4 NETZAHUALCOYONOL



F₁



O_3 NETZAHUALCOYONA

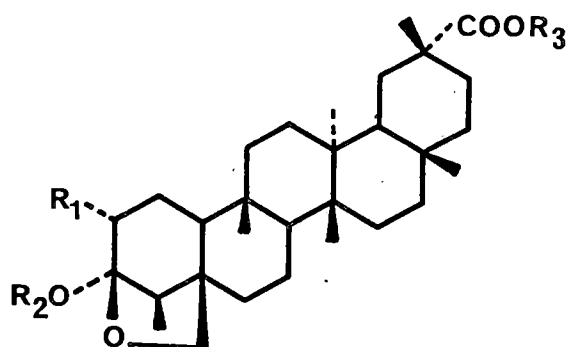
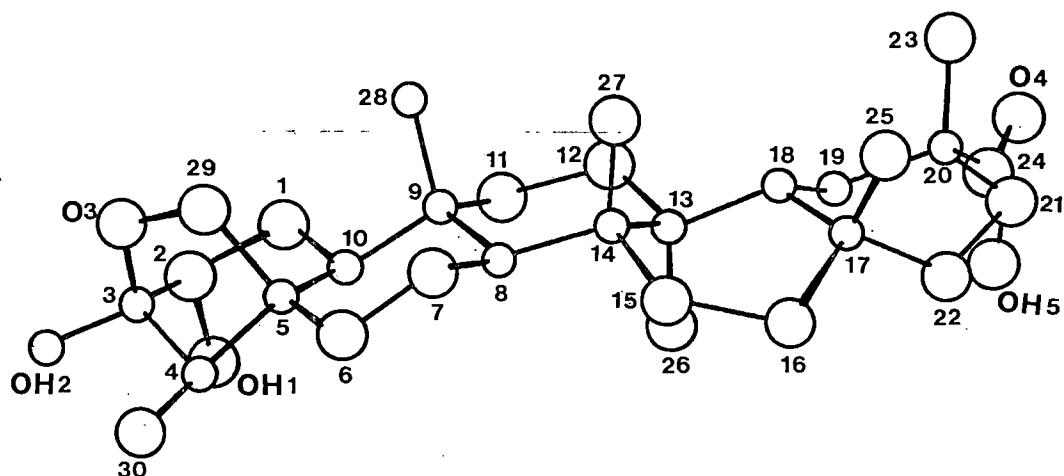


Los productos que hemos denominado en la cromatografía como O_4 y O_6 muestran una estrecha relación con los productos anteriormente estudiados como se observa en sus datos espectroscópicos, y sus espectros de masas nos indican que se trata de un monóxido derivado del Netzahualcoyeno y un dihidrohidroderivado respectivamente así el producto O_6 cuando se reduce con NaBH_4 y se acetila a continuación con anhídrido acético en condiciones usuales se obtiene el mismo producto F_1 que cuando se realiza igual reacción con la Netzahualcoyona O_3 , por lo que la estructura de O_6 queda fijada como la de $21\beta, 22\beta$ -dihidroxi-Netzahualcoyeno. El producto O_4 después de un análisis de sus datos se condujo que se trataba del 21β -hidroxi-Netzahualcoyeno (véase parte experimental y datos comparativos de ^{13}C -NMR) y para el usamos el nombre de Netzahualcoyonol. Tabla 5.

Los productos O_5 y O_7 resultaron ser sustancias muy relacionadas y sus estructuras se fijaron analizando sus datos espectroscópicos así en sus espectros de ^1H NMR se observa en ambos casos dos dobletes de un sistema AB de un metileno unido al oxígeno de un sistema hemiacetalico a 3.58 y 4.16 δ , $J=9\text{Hz}$ en O_5 y 3.74 y 4.22 δ $J=9\text{Hz}$ en O_7 ambas sustancias mostraban características de ácido por lo que fueron tratadas con CH_2N_2 obteniéndose sus correspondientes metil ésteres, consultada la bibliografía química O_5 resultó ser el ácido salaspérmico anteriormente aislado de la Salacia macrospermica⁴⁸. El producto O_7 por sus datos parecía ser un hidroderivado del anterior y la posición de este segundo grupo hidroxilo se fijó en posición 2 α al observar que cuando se trataba a temperatura ambiente con anhídrido acético en piridina por tres horas se obtenía una mezcla 1:1 de un mono y un diacetato y un desplazamiento desde 5.04 δ , singulete ancho del protón geminal al grupo acetato hasta 5.85 δ en el diacetato lo que estaba de acuerdo con la existencia

en nuestra molécula de un sistema vic-diol, que se confirmó pues nuestro producto forma acetónido por tratamiento con acetona en presencia de SO_4Cu , de estos datos y los de otros derivados concluimos que nuestro producto debía tratarse del 2 α -hidroxisalaspérmico y nos quedaba la duda de que el grupo ácido estuviese en 29 ó 30, pues en ambas posiciones se ha encontrado en otros derivados con esqueleto de friedo-oleano⁴² por lo que decidimos realizar su análisis por difracción de RX lo que confirmó que efectivamente nuestro producto era el 2 α hidroxisalaspérmico y para el que proponemos el nombre de ácido Orthosphénico.¹⁴⁶

La benulina¹⁵⁶, el ácido salaspérmico y los aislados por nosotros ácidos orthosphénico y 6 β -hidroxi-orthosphénico son los únicos triterpenos con el poco frecuente agrupamiento hemiacetálico. Los resultados del análisis por difracción de RX muestran que el ácido orthosphénico posee una conformación total en la que los anillos A, B y C son sillas, D y E botes, en donde A y B están más ligeramente distorsionados que C, y D es un bote ligeramente torsionado, mientras que el anillo de cinco miembros está casi exactamente entre una silla y un sobre.



R ₁ =H	R ₂ =H	R ₃ =H	O ₅	Ac. SALASPERMICO
R ₁ =OH	R ₂ =H	R ₃ =H	O ₇	Ac. ORTHOSPHENICO
R ₁ =H	R ₂ =H	R ₃ =CH ₃		
R ₁ =OH	R ₂ =H	R ₃ =CH ₃		
R ₁ =OAc	R ₂ =H	R ₃ =CH ₃		
R ₁ =OAc	R ₂ =Ac	R ₃ =CH ₃		
R ₁ =OAc	R ₂ =H	R ₃ =H		
R ₁ =OAc	R ₂ =Ac	R ₃ =H		
R ₁ = O-CH ₂	$\begin{array}{l} \diagup \\ \text{C=O} \\ \diagdown \end{array}$	R ₃ =CH ₃		
R ₂ = O-CH ₂				

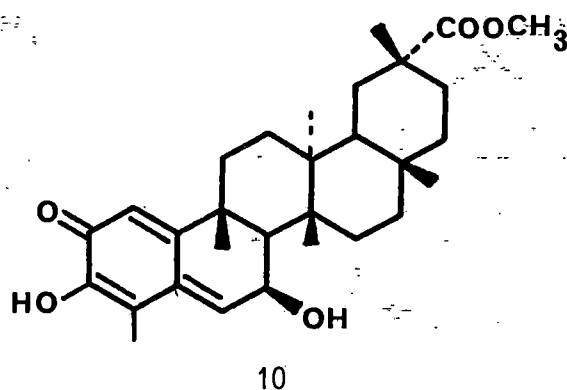
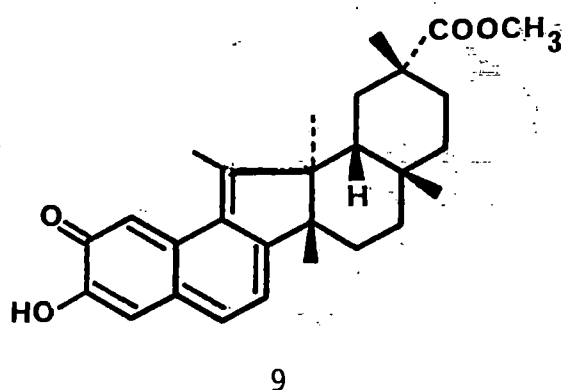
BIOGENESIS DE LAS TRITERPENOQUINONAS DE
CELASTRACEAS Y PRODUCTOS RELACIONADOS

A la luz de los estudios por nosotros realizados nos encontramos en disposición de ampliar las vías propuestas anteriormente, en otras publicaciones¹⁴⁸. Así el ácido polpunónico y la friedelina son los productos básicos de partida en esta ruta y previa oxidación del metilo C-24 a alcohol da lugar a los intermedios ácidos salaspérmico, orthosphénico y 6β-hidroxi orthosphénico, lo que está en la línea de las propuestas de Kutney y col.¹⁵³

En cambio la vía más compleja de Marini-Bettolo¹⁴¹ es menos creíble hasta que no aporten pruebas concluyentes como el aislamiento de alguno de los intermedios que proponen.

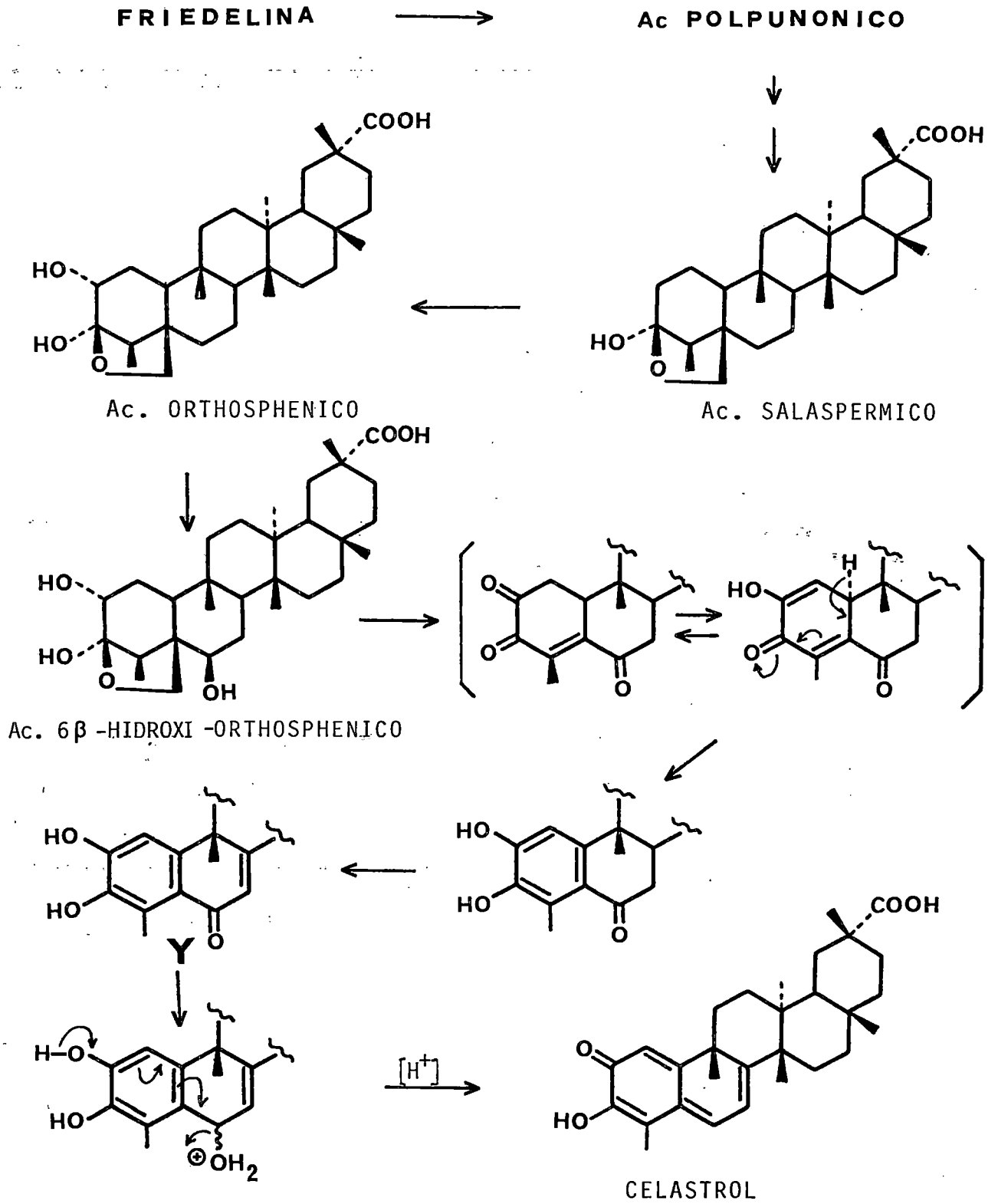
A partir del ácido 6β-hidroxi-orthosphénico, aislado por nosotros, es previsible que un proceso de apertura oxidativa del agrupamiento hemicetálico conduzca a un compuesto con un grupo ácido en C₂₄, cuya descarboxilación y posterior aromatización nos den productos ya aislados de Celastraceas y los cuales hemos detectado en nuestro estudio del *Maytenus horrida*, tal como el **9** estando el resto del proceso de acuerdo con las ideas generalmente aceptadas sobre las posibles transformaciones de estos productos.

Cabe destacar, que los productos Salacia quinone methide **9** y dispersoquinona **10**:



no deben formarse en una ruta general similar a la propuesta y además en el caso de la quinona 9 aislada de una Salacia, un esqueleto como el propuesto por los autores es poco habitual en sustancias pentacíclicas, mientras que la dispermoquinona requeriría una oxidación en posición C-7 en alguna de las etapas intermedias o bien otra ruta alternativa de la cual no se poseen datos.

El producto Y está claramente relacionado con las quinonas y previsiblemente, han de existir unos productos relacionados en las Celastraceas. El producto denominado Zylasterona posee unos anillos A y B como del hipotético Y y se ha aislado también de una Celastracea la Kokona zeylanica¹⁴⁷. Otros productos relacionados aislados de celastraceas presentan esqueleto de Isopristerina III¹⁵⁴, por lo que aunque se pueda pensar que son artefactos de la manipulación de la planta, los autores del trabajo dicen que las quinonas también aisladas de la misma especie no se reagrupan al producto natural en medio ácido.



PARTE EXPERIMENTAL

METODOS -- GENERALES

TECNICAS INSTRUMENTALES

Los puntos de fusión fueron determinados en un aparato tipo Kofler y están sin corregir.

Las actividades ópticas se efectuaron en un polarímetro Perkin-Elmer modelo 141 en cloroformo y en células de 1 cm. Las concentraciones se expresan en mg. de producto por ml. de disolvente.

Los espectros infrarrojos se realizaron en un espectro-fotómetro, modelo 681, de la firma Perkin-Elmer. Se emplearon células de 0.1mm de cloruro sódico y el disolvente utilizado fué cloroformo. También se emplearon pastillas de K Br.

Los espectros en el ultravioleta se efectuaron en un espectrofotómetro Perkin-Elmer modelo 402 y modelo 550 SE, con células de cuarzo de 10 y 5 mm de espesor. Como disolvente se utilizó etanol.

Los espectros de resonancia magnética nuclear de protón fueron realizados en espectrómetros Perkin-Elmer R-12B (60 MHz) y R-32 (90 MHz); Bruker WP-200 SY (200 MHz); Bruker WP-360 SY (360 MHz); y como disolvente cloroformo deuterado mientras no se indique lo contrario.

Los espectros de resonancia magnética nuclear de C^{13} se efectuaron en un espectrometro Bruker WP-200 SY (50 MHz) y Bruker WP-360 SY (90 MHz).

Los desplazamientos químicos se dan en unidades δ . Los acoplamientos se describen como s, singulete; d, doblete; t, triplete; c, cuartete; m, multiplete.

Los espectros de masas se hicieron en un aparato V.G. Micromass LTD-ZAB-2F y/o en un Hewlett-Packard modelo 5930 A, a un potencial de ionización de 70 e.v.

Los análisis elementales se realizaron en un microanalizador Carlo Erba I-102.

Técnicas cromatográficas.

Las cromatografías en capa fina fueron realizadas sobre cromatofolios de gel de sílice con indicador de luminiscencia (254 nm) Schleicher y Schüll, y en algunos casos impregnadas con NO_3Ag al 20%.

Los eluyentes empleados fueron: éter de petróleo, benceno, cloroformo, acetato de etilo, metanol, etanol y mezclas de ellos variando de composición según el problema planteado. Las placas se revelaron por pulverización con "Oleum" (Solución de ácido sulfúrico 4% y ácido acético 80% en agua) y posteriormente calentadas a 120°C .

Para las columnas cromatográficas húmedas se utilizó la técnica de "flash chromatography"⁷¹ que usa columnas de diámetro apropiado según el problema planteado y gel de sílice de poro $< 0.063 \text{ mm}$ que es empaquetada haciéndole pasar una parte de la mezcla eluyente a utilizar mediante presión.

Las columnas cromatográficas secas fueron montadas de la siguiente forma: se hacía el vacío por la parte inferior de la columna y al mismo tiempo por el extremo superior se introducía lentamente gel de sílice 0,2-0'063mm ó 0'5-0'2mm.

La gel de sílice al 20% en nitrato de plata, fué obtenida disolviendo la sal en la mínima cantidad de agua destilada y añadiéndole a la gel en pe-

queñas porciones con vigorosa agitación. La gel se activó posteriormente por calentamiento a 120°C durante 24 horas.

El Cromatotrón es un aparato que usa placas circulares de gel de sílice 60PF₂₅₄ con yeso para cromatografía preparativa, que gira a unas 750 rpm mientras una determinada cantidad de eluyente es añadido al centro de la placa siendo desplazado hacia los bordes arrastrando los productos ayudado por la fuerza centrífuga. Esta cromatografía se realiza en presencia de un gas inerte.

La cromatografía líquida de alta presión, preparativa o analítica en un Waters, inyector U6K, bombas M6000 y detector 440 de U.V. con columnas microporasil.

Técnicas habituales de trabajo

Los derivados acetilados se obtuvieron disolviendo la muestra en piridina y tratándola con anhídrido acético a la temperatura ambiente durante 12 a 24 horas mientras no se indique lo contrario.

En el texto "extraer de la manera usual" significa: (vertido del crudo de reacción sobre agua helada) y extracción con el disolvente que se indica en la parte experimental, generalmente éter etílico o acetato de etilo; lavados sucesivos de la capa orgánica con solución saturada de sulfato de cobre ó solución acuosa de HCl al 5%; solución saturada de NaHCO₃ y/o solución saturada con ClNa, realizándose tres lavados con cada uno de ellos. La capa orgánica así tratada se secaba sobre sulfato de sodio anhidro.

En el texto Be significa benceno; EP éter de petróleo; EE éter etílico, AcEt acetato de etilo, Py piridina, THF Tetrahidrofurano.

Clasificación botánica

La clasificación botánica de la *O. mexicana* fué realizada en el Departamento de Biología del Instituto Tecnológico y de Estudios Superiores de Monterrey (México); encontrándose en el mismo un espécimen de referencia número 7723.

La clasificación botánica del *Maytenus aquifolium* y *Maytenus horrida* fué realizada en la Cátedra de Botánica de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Nacional de Asunción, por los Profesores Claudio Pavetti e Isabel Zaldivar existiendo especímenes de referencia en la citada Cátedra, nº 861 y 1232 respectivamente y en el Departamento de Botánica de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad de La Laguna.

Material Vegetal

La recolección de la *Orthosphenia mexicana* Standley, fué realizada en la primavera de 1981, en las proximidades de Matamoros, Estado de Tamaulipas, al noreste de México.

El *Maytenus aquifolium* Mart. fué colectado en marzo de 1982 en el balneario de la guarnición militar de Paraguarí, cordillera de los Altos, Departamento de Paraguarí, Paraguay.

El *Maytenus horrida* Reiss. Fué recogido en julio de 1983 a orillas del río Verde, Loma Porá, Benjamín Aceval, Bajo Chaco, Paraguay.

MAYTENUS AQUIFOLIUMSeparación cromatográfica de los productos aislados de la corteza de la raíz.

785g. de corteza de raíz de *Maytenus aquifolium* fueron reducidos a polvo en un molino y sometidas a extracción exhaustiva con etanol 95° a reflujo. El extracto resultante, después de filtrar y evaporar a presión reducida la solución etanólica, pesó 127 g. y se mezcló con gel de sílice 0.2-0.5mm. para formar una cabeza que se montó en una columna de gel de sílice 0.2-0.5mm previamente humedecida con E.P., solvente con el que se inicia la elución para continuar con mezclas de E.P. y EtAc de polaridad creciente. Se recogen fracciones de aproximadamente 750 ml que se agrupan de acuerdo a su comportamiento en cromatografía de capa fina y por sus datos preliminares de ¹H-RMN.

Esta cromatografía se resume en la Tabla I.

TABLA I

FRACCIONES	ELUYENTE	OBSERVACIONES
1-17	EP-AcEt 98:2	Escualeno
18-19	EP-AcEt 95:5	Mezcla de ácidos grasos
20-25	EP-AcEt 93:7	A ₁ + A ₂
26-32	EP-AcEt 90:10	A ₂ + β-sitosterol
33-70	EP-AcEt 80:20	A ₃ + A ₄ + ceras
71-116	EP-AcEt 70:30 60:40	A ₅ + mezcla de productos de naturaleza fenólica, en estudio.
117-165	EP-AcEt 50:50 25:75	Mezcla de productos polares no estudiados.

La reunión de las fracciones 20-25 de la cromatografía anterior pesó aproximadamente 1g. Se cromatografió en una columna de gel de sílice 0.2-0.063mm eluida con benceno y su desarrollo se resume en la Tabla II.

TABLA II

FRACCIONES	ELUYENTE	OBSERVACIONES
1-14	Benceno	Ceras
15-29	Benceno	A ₁
30-34	Benceno	A ₁ + A ₂

De las fracciones 15-29 se aísla el producto A₁ (195 mg) como polvo blanco cristalino. Parte del mismo (45 mg) se puso a acetilar con anhídrido acético en piridina a temperatura ambiente y una vez acabada la reacción se extrajo con éter etílico de la manera usual. Tras un percolado en gel de sílice 0.2-0.063mm se aisló el acetato de A₁ (40 mg).

El producto A₂ se identificó a partir de las fracciones 30-34 de la cromatografía anterior.

En las fracciones 33-70 de la cromatografía general (Tabla I) se observa la formación de un precipitado blanco escasamente soluble en EP y en cloroformo. Este precipitado pesó 1.6g y está constituido por A₃. Las aguas-madres de las citadas fracciones se reunieron y con ellas se preparó una cabeza con gel de sílice 0.2-0.063 empleando como eluyente EP-AcEt 75:25 permitió la identificación del producto A₄ de su mezcla con A₃.

36 mg. de A₃ se acetilaron con anhídrido acético en piridina a temperatura ambiente y tras extraerse con éter etílico por los procedimientos usu

les, el crudo de acetilación se purificó por cromatografía en una columna de gel de sílice 0.2-0.063mm eluída con EP-AcEt 5:95 aislándose 35 mg del acetato de A_3 (A_3Ac).

26 mg de A_3 se metilaron con solución etérea de diazometano a 0°C. Una vez concluída la reacción se llevó a sequedad a presión reducida aislándose, tras percolar en gel de sílice 0.2-0.063 mm, 25 mg del ester metílico de A_3 (A_3Me).

20 mg del acetato de A_3 se metilaron con diazometano siguiendo el procedimiento usual dando lugar a 19 mg del acetato metil ester de A_3 (A_3AcMe).

Las fracciones 71-116 de la cromatografía general se caracterizan por ser fuertemente coloreadas y revelar en cromatografía de capa fina la presencia de mezclas muy complejas. Estos productos son escasamente solubles en cloroformo y dan positivo el ensayo de fenoles con cloruro férrico. Después de múltiples intentos sin éxito de resolver las mezclas por cromatografía con gel de sílice se acetiló una porción de la mezcla con anhídrido acético en piridina a temperatura ambiente, extrayéndose luego con AcEt de la forma usual. El crudo de acetilación se cromatografió en gel de sílice 0.2-0.063mm empleando como eluyente una mezcla de Be-AcEt 95:5. Las fracciones que contenían el producto mayoritario de la acetilación fueron reunidas y purificadas por precipitación con E.P., tras lo cual se aisló el producto A_5 como polvo amorfo de color amarillo pálido.

DESCRIPCION DE LOS PRODUCTOS DEL
MAYTENUS AQUIFOLIUM MART.

Producto A₁. 3β-hidroxi-olean-12-eno(β-amyrina).

De este producto se aislaron 195 mg. como polvo blanco cristalino de las fracciones 15-29 de la cromatografía resumida en la Tabla II. Una pequeña fracción del producto disuelto en cloroformo dió positivo el ensayo de Liebermann y Buchard para triterpenos.

IR ν_{\max}	3600, 3000, 2938, 2920, 2845, 1587, 1488, 1376, 1292, 1185, 1160, 963 cm^{-1} .
RMN (90MHz)	0.81(6H, s), 0.83(3H, s), 0.88(3H, s), 0.92(3H, s), 0.97(3H, s), 1.02(3H, s), 1.17(3H, s), 3.21(1H, t, J=7Hz), 5.14(1H, t, deformado, J=3Hz).
EM m/z	426 (M^+), 411, 219, 218, 208, 207, 203, 190, 189, 175, 161, 147, 135, 138, 121, 119, 109, 107, 105.

Acetato de A₁. 3β-acetoxi-olean-12-eno.

45 mg del producto A₁ sometidos a acetilación como se reseñó antes dieron lugar a 40 mg de su derivado acetilado.

IR ν_{\max}	3000, 2950, 2860, 1720, 1370, 1840 cm^{-1} .
RMN (90MHz)	0.80(3H, s), 0.82(3H, s), 0.88(6H, s), 0.90(3H, s), 0.98(3H, s), 1.01(3H, s), 1.10(3H, s), 2.02(3H, s), 4.43(1H, t, J=7Hz), 5.16(1H, t deformado, J=3Hz).
RMN m/z	468 (M^+), 453, 408, 393, 365, 257, 219, 218, 204, 203, 190, 189, 175, 161, 147, 133, 121, 119, 109, 107, 105.

Producto A₂. 3β-hidroxi-lup-20(29)-eno-(Lupeol).

Se obtuvo mezclado con el producto A₁ en las fracciones 30-34 de la cromatografía reseñada en la Tabla II.

IR ν_{\max} 3340, 3020, 2910, 1630, 1450, 1380, 1025 cm^{-1} .
 RMN(90 MHz) 0.76(3H, s), 0.79(3H, s), 0.83(3H, s), 0.96(6H, s), 1.03(3H, s), 1.69(3H, s), 3.21(1H, t), 4.67(2H, d).
 EM m/z 426(M^+), 441, 408, 394, 218, 207, 189, 175, 161, 147, 135, 121, 109, 107.

Producto A₃. Acido-3 β -hidroxi-lup-20(29)en-28-oico (Acido betulínico).

Este producto fue aislado de las fracciones 33-70 de la cromatografía general (Tabla I) como un sólido blanco, abundante (1.6 g) y poco soluble en cloroformo.

IR ν_{\max} 3620-2500, 2940, 2861, 1683, 1461, 1450, 1388, 1375, 1235, 1190, 1132, 1107, 1042, 1031 cm^{-1} .
 RMN(C_5D_5N -90 MHz) 0.84(3H, s), 1.00(3H, s), 1.07(6H, s), 1.21(3H, s), 1.79(3H, s), 3.43(1H, t, $W/2=20\text{Hz}$), 4.79(1H, s ancho), 4.95(1H, s ancho).
 EM m/z 456(M^+), 438, 423, 248, 234, 233, 219, 207, 203, 201, 191, 190, 189, 187, 175, 173, 161, 147, 136, 133, 123, 121, 119, 109, 107, 105.

Calculado para $C_{30}H_{48}O_3$ 456, 3603, observado 456, 3612 (espectrometría de masas de alta resolución).

Acetato de A₃(A₃Ac). Acido-3 β -acetoxi-lup-20(29)-en-28-oico.

La acetilación de 36 mg de A₃ con la metodología usual condujo a la obtención de 35 mg del acetato de A₃(A₃Ac)

IR ν_{\max} 3600 \rightarrow 2500, 2986, 2938, 2860, 1731, 1699, 1635, 1458, 1450, 1385, 1370, 1242, 1190 cm^{-1} .

RMN (90 MHz) 0.87(9H, s), 0.95(3H, s), 0.99(3H, s), 1.70(3H, s), 2.07(3H, s), 3.00(1H, m, $w/2=20\text{Hz}$), 4.51 (1H, t parcialmente solapado con la señal a 4.65), 4.65(1H, s ancho), 4.78(1H, s ancho).

EM m/z 498(M^+), 438, 423, 395, 248, 232, 203, 201, 191, 190, 189, 187, 175, 173, 161, 147, 136, 135, 133, 121, 119, 107, 105.

Calculado para $C_{32}H_{50}O_4$ 498.3709, observado 498.3727 (espectrometría de masas de alta resolución).

Metil ester de A_3 ($A_3\text{Me}$). Metil ester del ácido-3 β -hidroxi-lup-20(29)-en-28-oico.

La metilación de 26 mg de A_3 con diazometano dió lugar a 25 mg del correspondiente metil-éster ($A_3\text{Me}$).

IR(KBr) ν_{\max} 3524, 3450, 2935, 2860, 1711, 1692, 1635, 1460, 1448, 1439, 1381, 1372, 1353, 1317, 1215, 1148 cm^{-1} .

RMN (90 MHz) 0.78(3H, s), 0.83(3H, s), 0.94(3H, s), 0.99(6H, s), 1.70(3H, s), 3.20(1H, m, $w/2=25\text{Hz}$), 3.71(3H, s), 4.67(1H, s ancho), 4.80(1H, s ancho).

EM m/z 470(M^+), 452, 411, 410, 262, 249, 233, 220, 207, 203, 201, 191, 190, 189, 187, 175, 173, 161, 147, 135, 133, 131, 121, 119, 109, 107, 105.

Acetato Metil ester de A₃(A₃AcMe) metil ester del ácido-3 -acetoxi-lup-
20(29)-en-28-oico.

Mediante metilación de 20 mg. de acetato de A₃ con diazometano se aislaron 19 mg. del acetato metil ester del ácido betulínico (A₃AcMe) como un polvo blanco que cristalizó de EP-AcEt P.F.=173-175°C.

IR_νmax 2938, 2860, 1714, 1707, 1443, 1371, 1366, 1258, 1250, 1182,
1148, 1130 cm⁻¹.

RMN (60 MHz) = 0.84(9H, s), 0.92(3H, s), 0.96(3H, s), 1.69(3H, s), 2.03(3H, s), 3.66(3H, s); 4.52(1H, t parcialmente solapado con la señal a 4.61), 4.61 (1H, s-ancho), 4.72(1H, s-ancho).

EM m/z 512(M⁺), 452, 437, 393, 262, 249, 248, 203, 201, 193, 191,
189, 187, 175, 173, 161, 149, 147, 135, 133, 121, 119, 109,
107, 105.

Producto A₄ -ácido-3 -hidroxi-olean-12-en-28-oico (Acido oleanólico).

Este producto fué identificado a partir de las fracciones 33-70 de la cromatografía general (Tabla I) y la preparación de su acetato metil ester permitió su identificación por comparación con una muestra auténtica.

Producto A₅.

Fué aislado, después de acetilar con anhídrido acético en piridina y a temperatura ambiente, una parte alícuota de las fracciones 71-116 de la cromatografía resumida en la Tabla I, como un polvo amorfo de color amarillo pálido.

IR ν_{\max}	3020, 1761, 1598, 1495, 1421, 1414, 1369, 1208, 1144, 1117, 1092, 1075, 1043, 1022 cm^{-1}
RMN (200 MHz)	1.31(3H, s), 1.32(3H, s), 1.76(3H, s), 2.24(3H, s), 2.25(6H, s), 2.26(6H, s), 2.27(3H, s), 2.28(3H, s), 2.33(3H, s), 2.68 (1H, dd, J=4.6Hz); 3.10(1H, m w/2=15.7Hz); 3.16(1H, d, J=4.7Hz), 3.27(1H, m, w/2=12.3Hz), 5.65(1H, d, J=9.9Hz), 5.87 (1H, d, J=4.8Hz), 6.31(1H, d, J=10.0Hz); 6.52(1H, d, J=8.7Hz), 6.70(1H, d, J=2.3Hz), 6.74(2H, m, w/2=12.8Hz), 6.97(7H, m, w/2=287Hz), 7.16(1H, d, J=8.7Hz), 7.21(1H, d, J=8.6Hz), 7.60(1H, d, J=8.6Hz).
UV λ_{\max}	204, 222, 284, 315 nm.
EM m/z	412, 370, 328, 286, 244, 215, 197, 83.

Producto B₁. Metil ester del acido-3 β -acetoxi-lupan-20(29)-oxido-28-oico.

271 mg (0.53 mmol) de A₃AcMe disueltos en 10 ml de CH₂Cl₂ se añadieron a una suspensión compuesta por 160 mg (0.78 mmol) de ácido metacloroperbenzoico, 5g. de NaHCO₃, 10 ml de CH₂Cl₂ y 10 ml. de agua. La mezcla de reacción se mantuvo con agitación a temperatura ambiente durante 30 minutos, se adicionaron 20 ml de solución acuosa al 10% de NaHSO₃ y se extrajo con CH₂Cl₂, lavándose la capa orgánica con solución saturada de NaCl. La mezcla procedente de la reacción fué cromatografiada en gel de sílice 0.2-0.063mm empleando EP-AcEt 90:10 como eluyente, aislándose 200 mg (0.38 mmol; R=71.7%) del epóxido B₁, que cristaliza en la mezcla de elución P.F.= 173-175°C

IR _y _{max}	2938, 2860, 1714, 1592, 1446, 1425, 1385, 1371, 1250, 1184, 1161, 1150, 1130, 1023 cm ⁻¹ .
RMN (60MHz)	0.84(9H, s), 0.90(3H, s), 0.94(3H, s), 1.21(3H, s), 2.01(3H, s), 2.61(2H, s ancho), 3.61(3H, s), 4.47(1H, t deformado; J=6.6Hz).
EM m/z	528(M ⁺), 513, 510, 470, 468, 453, 450, 411, 262, 249, 247, 246, 233, 231, 220, 217, 207, 202, 201, 199, 191, 189, 187, 175, 173, 161, 159, 147, 136, 135, 133, 131, 121, 119, 109, 107, 105.

Calculado para C₃₃H₅₂O₅ 528.3814, observado 528,2779 (espectrometría de masas de alta resolución).

Producto B₂. Metilester del ácido-3β-hidroxi-lupan-20(29)-oxido-28-oico.

39.2 mg (0.0742 mmol) de producto B₁ disueltos en 10 ml de THF se adicionaron a una suspensión de 20 mg (0.53 mmol) de LiAlH₄ en 10 ml de THF seco, enfriada a 0°C, manteniéndose la reacción a esa temperatura durante 10 minutos y a temperatura ambiente durante 90 minutos más. Se eliminó el exceso de hidruro mediante cuidadosa adición de AcEt-Agua, llevándose luego hasta casi sequedad a presión reducida. Se extrajo con AcEt y se lavó la capa orgánica con solución acuosa al 5% de ácido acético y con solución saturada de NaHCO₃. El producto de la reacción se cromatografió en gel de sílice 0.2-0.063 m.m. eluyéndose con EP-AcEt 90:10, aislándose 36 mg (0.074 mmol, R=99,7%) de B₂ que cristalizó en EP-AcEt 90:10. P.F.= 121-123°C.

$IR_{\nu_{\max}}$ 3668, 3385, 3000, 2950, 1704, 1410, 1357, 1210, 1085 cm^{-1} .
 RMN (60 MHz): 0.75(3H, s), 0.82(3H, s), 0.90(3H, s), 0.96(6H, s), 1.22(3H, s), 2.63(2H, s ancho), 3.20(1H, m, w/2= 20Hz), 3.63(3H, s).
 EM m/z 486(M^+), 471, 468, 453, 428, 408, 369, 244, 233, 231, 220, 207, 205, 201, 199, 189, 187, 185, 175, 173, 161, 159, 147, 136, 133, 131, 123, 119, 107, 106.
 ^{13}C -RMN (90MHz) Ver Tabla, página 41.

Producto B₃: 3 β ,28-dihidroxi-lupan-20(29)-óxido.

39 mg (0.0739 mmol) de B₁ disueltos en 10ml. de THF seco se adicionaron a una suspensión de 45.1 mg (1.19mmol) de LiAlH₄ en 10 ml de THF seco a 0°C, 10 minutos después se calentó a reflujo durante 30m. Después de eliminar el exceso de hidruro con AcEt-Agua se extrajo como en el caso anterior, y tras cromatografía en gel de sílice 0.2-0.063 con EP-AcEt 90:10 se aislaron 34 mg (0,074 mmol, R=97.3%) de B₃ que cristalizó en EP-AcEt 90:10. P.F.= 159-162°C.

$IR_{\nu_{\max}}$ 3662, 3599, 2992, 2948, 2860, 1596, 1460, 1449, 1370, 1231, 1021 cm^{-1} .
 RMN (60MHz): 0.75(3H, s), 0.82(3H, s), 0.97(6H, s), 1.01(3H, s), 1.22(3H, s), 2.60(2H, s ancho), 3.30 y 3.75 (2H, d AB, J=11Hz), 3.78 (1H, m, parcialmente solapado con la señal a 3.75).
 EM m/z 458(M^+), 443, 440, 427, 425, 409, 400, 369, 221, 207, 203, 201, 189, 187, 175, 173, 161, 159, 149, 147, 135, 133, 121, 119, 109, 107, 105.

Producto B₄. 3 β , 20, 28-trihidroxi-lupano.

41 mg (0.078 mmol) del producto B₄ disueltos en 20 ml de THF seco se añadieron a una suspensión de 116 mg (3.061 mmol) de LiAlH₄ en THF seco. La reacción se mantiene a temperatura de reflujo durante 3 horas. Después de eliminar el exceso de hidruro se extrajo siguiendo la metodología empleada en las reacciones anteriores y se purificó por cromatografía en gel de sílice empleando como eluyente EP-AcEt 80:20, aislándose 25 mg (0.057 mmol, R= 69.2%) de B₄ que cristaliza en EP-AcEt 80:20. P.F.= 264-267°C.

IR ν_{max} (KBr): 3360, 2950, 2923, 2860, 1457, 1449, 1375, 1353, 1150, 1099, 1041, 1020 cm⁻¹.

RMN (90 MHz) 0.75(3H, s), 0.82(3H, s), 0.99(6H, s), 1.04(3H, s), 1.11(3H, s), 1.23(3H, s), 3.19(1H, m, parcialmente solapado con la señal 3.32), 3.32 y 3.87 (2H, d AB, J=11Hz), 4.15 (1H, s ancho).

EM m/z 442(M⁺-18), 427, 411, 399, 385, 371, 353, 288, 234, 220, 207, 203, 191, 189, 175, 161, 149, 147, 135, 133, 123, 121, 119, 109, 107, 105.

Producto B₅. 3 β , 28-diacetoxi-20-hidroxi-lupano.

23 mg (0.05 mmol) del producto B₄ se acetilaron cuantitativamente con:

anhídrido acético y piridina a temperatura ambiente durante 16 horas. Después de extraer con la metodología usual se aislan, cristalizando en EP-AcEt, 27 mg (0.05 mmol) de B₅. P.F. = 248-249°C.

IR_{max} 3470, 2969, 2866, 1734, 1729, 1450, 1385, 1367, 1240 cm⁻¹

RMN (60-MHz) 0.84(6H, s), 0.99(3H, s), 1.07(3H, s), 1.12(3H, s), 1.19(3H, s), 1.22(3H, s), 2.03(3H, s), 2.05(3H, s), 3.82 y 4.36(2H, d, AB J= 11.4Hz), 4.37(1H, m solapado con la señal a 4.36), 4.62(1H, s ancho).

EM m/z 526(M⁺-H₂O), 511, 484, 451, 423, 262, 249, 229, 216, 215, 203, 201, 189, 187, 175, 173, 161, 159, 147, 145, 136, 135, 133, 121, 119, 107, 105.

¹³C RMN(50MHz) Ver Tabla, pág. 41

Producto B₆. ácido-3-oxo-20-hidroxi-lup-28-oico.

44 mg del producto B₄ se disolvieron en 200 ml de acetona y se añadió reactivo de Jones, recientemente preparado, hasta un ligero exceso de oxidante. La reacción se mantuvo a temperatura ambiente durante 3 horas. Se eliminó el exceso de reactivo con 2-propanol, se filtró y evaporó. Se extrajo con éter etílico de la forma usual y el crudo de reacción se cromatografió en gel de sílice 0.2-0.063 m.m. en cuyo lavado acetónico se aísla B₆ (19 mg) aunque no totalmente puro.

IR_{max} 3700 → 2400, 3595, 3370, 2940, 2862, 1689, 1455, 1448, 1379, 1230 cm⁻¹

RMN (90 MHz) 0.95(3H, s), 1.00(3H, s), 1.01(6H, s), 1.08(3H, s), 1.16(3H, s), 1.26(3H, s), 2.35 — 2.53(2H, m), 9.63(<1H, s ancho).

EM m/z 439($M^+ - CH_3 - H_2O$), 438, 423, 420, 410, 409, 407, 395, 380, 300, 245, 232, 219, 218, 206, 205, 203, 191, 189, 187, 177, 175, 173, 163, 161, 159, 149, 147, 135, 133, 125, 121, 119, 109, 107, 105.

Producto B₈. Metil ester del ácido 3-oxo-20-hidroxi-lup-28-oico.

15mg. (0.032mmol) del producto B₆ se metilaron con solución etérea de diazometano a 0°C, durante 1 hora. El crudo de reacción fué cromatografiado en el cromatotrón empleando EP-AcEt 80:20 como eluyente, aislándose 4 mg del (0.008mmol) producto de metilación B₈. (R=25%)

RMN(200MHz) 0.93(3H, s), 0.99(3H, s), 1.02(3H, s), 1.07(3H, s), 1.12(3H, s), 1.23(3H, s), 1.26(3H, s), 2.16 → 2.52(2H, m), 3.67(3H, s).

EM m/z 468($M^+ - 18$), 453, 409, 408, 393, 369, 348, 277, 262, 249, 248, 238, 217, 204, 203, 189, 187, 175, 149, 135, 133, 125, 121, 119, 109, 107, 95.

Producto B₉.

Cuando la metilación del producto B₆ se hace durante un tiempo superior a 5 días se aisló un producto blanco que cristalizó en éter etílico. P.F.= 212-215°C.

EM m/z 514(M⁺), 499, 482, 455, 454, 427, 426, 395, 367, 355, 319, 279, 259, 247, 234, 233, 221, 219, 205, 203, 201, 189, 187,

175, 173, 167, 161, 159, 147, 146, 145, 143, 131, 125, 121,
119, 107, 105, 105.

SEPARACION CROMATOGRAFICA DE LOS
PRODUCTOS AISLADOS DE LA CORTEZA
DE LA RAIZ DEL MAYTENUS HORRIDA
EXTRACTO ETANOLICO

Los extractos etanólicos obtenidos en frío y en caliente a partir de 2Kg de corteza de la raíz de *Maytenus horrida* se trataron separadamente con cloroformo, formándose sendos precipitados que se separaron por filtración. Las porciones solubles en cloroformo, una vez inspeccionadas por cromatografía de capa fina, reunidas pesaron 44.9 g, constituyendo la parte que se cromatografió.

Este extracto clorofórmico se mezcló con gel de sílice 0.2-0.5mm para hacer una cabeza que se colocó en una columna de nylon flexible de 4 cm \emptyset y 100 cm de alto rellena con gel de sílice 0.2-0.05mm y se eluyó con EP-AcEt 55:45 hasta que esta mezcla alcanzó el fondo de la columna, tras la cual se cerró el extremo abierto de la misma y mediante una jeringuilla se tomaron muestras fraccionando la columna a intervalos regulares para, mediante inspección por cromatografía de capa fina, conocer el desplazamiento de los productos durante la elución. Con estos datos cromatográficos se cortó la columna en tres porciones

1ª porción: Mezcla de aspecto oleoso. Componentes de baja polaridad.

2ª porción: Mezcla de productos estudiados.

3ª porción: Cabeza y componentes de alta polaridad.

Cada una de las porciones se extrajo con AcEt-EtOH para separar los productos por filtración.

La 2ª porción que pesó 9.2g se mezcló con gel de sílice 0.2-0.5mm para formar una cabeza que se cromatografió en una columna empaquetada en seco con gel de sílice 0.2-0.063mm de 3 cm \emptyset y 45cm de largo. Se inició la elución empleando una mezcla de EP-AcEt 85:15, prosiguiéndose con mezclas con

riqueza creciente en AcEt. Se recogieron fracciones de aprox. 25 ml cada una que se agruparon de acuerdo a su comportamiento en cromatografía de columna fina y por sus datos espectroscopicos preliminares.

Esta cromatografía se resume en la Tabla III.

TABLA III

FRACCIONES	ELUYENTE	OBSERVACIONES
1-93	EP-AcEt 85:15	β -sitosterol + mezcla de terpenos minoritarios
94-111	EP-AcEt 85:15	H ₁ , H ₂ , H ₃ , H ₄
112-292	EP-AcEt 83:17	H ₅ , H ₆ + otros triterpenos insaturados + mezcla de compuestos fenolicos.
293-327	EP-AcEt 80:20 70:30	H ₇ + mezcla de compuestos fenolicos.
328-339	EP-AcEt 70:30	H ₈ + mezcla de compuestos fenolicos
340-368	EP-AcEt 60:40 45:55	H ₉ , H ₁₀
369-376	AcEt-Etanol	Productos polares no estudiados.

La reunión de las fracciones 74-111 de la cromatografía general (Tabla III) pesó 1.2g. y con ella se preparó una cabeza en gel de sílice 0.2-0.5mm que fué cromatografiada en una columna "flash" con gel de sílice <0.063mm empleando como eluyente Be:AcEt 92:8 y cuyo desarrollo se resume en la Tabla IV.

TABLA IV

FRACCIONES	ELUYENTE	OBSERVACIONES
1-8	Be-AcEt 92:8	Ceras
9-18	Be-AcEt 92:8	H ₁ + H ₂ + ceras
19-24	Be-AcEt 92:8	Ceras
25-40	Be-AcEt 92:8	H ₃ + H ₄

La reunión de las fracciones 9-18 de la cromatografía anterior (Tabla VI) pesó 280 mg y fué sometida a repetidas cromatografía a fin de eliminar las ceras acompañantes y de resolver la mezcla. Tres repetidas cromatografías en columna de gel de sílice empleando diversos sistemas de elución sólo se consiguieron mezclas de color amarillo pálido enriquecidas en uno y otro componente. Después de repetidos intentos sin éxito de cristalizar los productos H₁ y H₂ se logró separar ambos productos por precipitación fraccionada de mezclas cloroformo-metanol.

La reunión 25-40 de la cromatografía resumida en la Tabla IV, tratada con EP originó un precipitado blanco amorfo que pesó aproximadamente 100 mg y tras su cromatografiado en una columna con sílice gel 0.2-0.063mm empleando para su elución Be-AcEt 95:5. De esta cromatografía se aislaron H₃ (26 mg) y H₄ (21mg) como sólidos blancos cristalinos y 26 mg de una mezcla 3:2 de ambos productos que se empleó para preparar los acetatos H₃Ac y H₄Ac, siendo separados posteriormente por cromatografía en gel de sílice 0.2-0.063 mm con EP-AcEt 95:5 como eluyentes aislándose 9mg de H₄Ac y 15 mg de H₃Ac.

Reunidas las fracciones 112-292 (1.58g) de la cromatografía general

(Tabla III) fueron cromatografiadas en una columna de gel de sílice 0.2-0.063 mm que fué eluída con mezclas de EP y AcEt y cuyo resultado se resume en la Tabla V.

TABLA V

FRACCIONES	ELUYENTE	OBSERVACIONES
1-10	EP-AcEt 85:15	productos de naturaleza fenólica no estudiados.
11-60	EP-AcEt 80:20 75:25	H ₅ , H ₆ + mezclas de triterpenos dihidroxilados + ceras.

La reunión 11-60 de la cromatografía anterior (Tabla V) pesó aproximadamente 1-g. y tras intentar su separación cromatográfica se comprobó que a medida que se eliminaban las ceras acompañantes se disminuía la solubilidad en cloroformo de la mezcla de interés por lo que se decidió acetilar la mezcla en las condiciones habituales. La mezcla procedente de la acetilación se intentó separar cromatográficamente en gel de sílice eluyendo la columna con Be-EtAc 85:15 tal como se resume en la Tabla VI.

TABLA VI

FRACCIONES	ELUYENTE	OBSERVACIONES
1-6	Be-AcEt 85:15	H ₆ Ac + mezclas de triterpenos acetilados.
7-15	Be-AcEt 85:15	mezcla de triterpenos acetilados
16-30	Be-AcEt 85:15	H ₅
31-40	Be-AcEt 85:15	H ₅ + ceras

De las fracciones 16-30 de la cromatografía anterior se aisló el producto H_5 (35 mg) como un sólido blanco cristalino que no se deshidrató al ser tratado con cloruro de tionilo en piridina, ni se acetiló con anhídrido acético en piridina. Sin embargo se metiló cuantitativamente con solución etérea de diazometano para dar el producto H_5Me .

La mezcla de H_6Ac y los triterpenos acetilados procedente de las fracciones 1-6 de la Tabla VI pesó aproximadamente 90 mg y tras cromatografía de la misma, en gel de sílice 0.2-0.063 mm eluída con EP-AcEt 96:4 se observó que en cromatografía de capa fina se revelaba un sólo punto en todas las fracciones recogidas pero al repetir el control analítico a menor polaridad y con múltiples recorridos se apreció que la columna cromatográfica había fraccionado parcialmente la mezcla en cuestión, aislándose como mayoritario el producto H_6 en forma de su derivado acetilado H_6Ac que fué purificado por cristalización fraccionada en cloroformo-metanol. Los restantes productos de la acetilación no se resolvían en cromatografía de capa fina con gel de sílice impregnado con $AgNO_3$ y cristalizaba como una mezcla que resultó irresoluble.

La reunión de las fracciones 293-327 de la cromatografía general (Tabla III) se mezcló con gel de sílice 0.2-0.5mm, para formar una cabeza que fué cromatografiada en una columna de gel de sílice 0.2-0.063 mm que fué eluída con mezclas de EP y AcEt como se resume en la Tabla VII.

TABLA VII

FRACCIONES	ELUYENTE	OBSERVACIONES
1-23	EP-AcEt 85:15	mezcla de productos fenólicos no estudiados.
24-30	EP-AcEt 80:20	H ₇ + productos fenólicos
31-40	EP-AcEt 80:20	H ₇ impuro.

Las reuniones 24-30 y 31-40 de la cromatografía anterior se mostraron como una mezcla compleja, y tras repetidas cromatografías se obtuvo otra mezcla que mediante un análisis preliminar de su espectro de RMN no reveló presencia de grupos acetato, procediéndose a la acetilación de la mezcla para mejorar su separación, percolando a través de gel de sílice 0.2-0.63 mm con EP-AcEt 90:10. Se aislan 4 mg de producto H₇ como su derivado acetilado (H₇ Ac).

De las fracciones 328-339 de la cromatografía general se separa, mediante repetidas cromatografías, una mezcla compleja en la que se destaca un producto más notable. Para efectuar la separación del mismo se optó por acetilar la mezcla por los procedimientos habituales. Tras la extracción usual el crudo de acetilación se montó en una columna con gel de sílice 0.2-0.063 mm que fué eluída con EP-AcEt 80:20 aislándose el producto H₈ en forma de su derivado acetilado H₈Ac (7mg).

Las fracciones 340-368 (1.2g) de la cromatografía general se mezclaron con gel de sílice 0.2-0.5 mm para formar una cabeza que se cromatografió en una columna "flash" de gel de sílice <0.063mm empleando EP-AcEt 60:40 para su

elución.

Los resultados de esta columna se resume en la Tabla VIII.

TABLA VIII

FRACCIONES	ELUYENTE	OBSERVACIONES
1-7	EP-AcEt 60:40	mezcla de compuestos fenólicos
8-13	EP-AcEt 60:40	H ₉ impuro
14-24	EP-AcEt 60:40	impurezas
25-31	EP-AcEt 60:40	H ₁₀ impuro

De la reunión 8-13 de la cromatografía anterior, tras repetidas cromatografías en columnas con gel de sílice 0.2-0.063mm, se separó una mezcla que contiene el producto H₉ acompañada de otros productos minoritarios que lo impurificaban. La polaridad de H₉ en esta mezcla no se vió alterada cuando se trataron con diazometano y anhídrido acético/piridina separadamente. Finalmente el producto H₉ se purificó por cromatografía en cromatotrón, aislándose 40 mg del mismo como sólido blanco que no cristalizó en los diferentes sistemas empleados. En la etapa final de la purificación de H₉ se detectó la presencia de un producto muy minoritario, de polaridad y comportamiento espectroscópico similares a H₉.

Las fracciones 25-31 de la cromatografía resumida en la Tabla VIII fueron acetilados con la técnica usual y tras percolarse repetidamente en gel de sílice 0.2-0.063 mm con EP-AcEt 90:10 se aisló como derivado acetilado H₁₀Ac (9 mg).

El producto H₁₁ se obtuvo como un polvo blanco cristalino que precipitó al enfriarse el extracto etanólico original. Dada la alta polaridad de esta sustancia se preparó, por el procedimiento habitual su derivado acétilado que resultó un sólido blanco cristalino que denominaremos H₁₁Ac.

Del estudio de este extracto concluimos que el empleo de etanol no es el óptimo, para la extracción de quinonas triterpénicas; ya que sólo se aprecian a nivel de trazas y las cantidades extraídas con hexano, éter etílico o cloroformo son notablemente superiores.

DESCRIPCION DE LOS PRODUCTOS DEL

MAYTENUS HORRIDA REISS.

EXTRACTO ETANOLICO

Producto H₁.

Se aisló (5.7mg) de las fracciones 9-18 de la Tabla IV por repetidas cromatografías y precipitación fraccionada en cloroformo-metanol.

IR ν_{\max} 3680, 3470, 3025, 2996, 2945, 2870, 1720, 1710, 1672, 1668, 1638, 1588, 1574, 1458, 1429, 1375, 1304, 1232, 1195, 1136, 1027 cm^{-1} .

RMN (200MHz) 0.59, 0.72, 0.95, 1.03, 1.04, 1.08, 1.15, 1.16, 1.27, 1.44 y 1.51(3H cada uno, s), 2.49(3H, s), 3.32(3H, s), 3.62(3H, s), 4.90(1H, s), 5.95(1H, s), 6.20(1H, s), 6.30(1H, s ancho), 6.94(1H, s).

EM m/z 480, 465, 464, 298, 285, 283, 269, 253, 241, 239, 227, 218, 217, 204, 203, 202, 201, 189, 188, 187, 121, 109, 107, 105, 95, 85, 83.

Metilación de H₁ (H₁Me).

Una muestra que contenía H₁ ligeramente impuro fué metilada con diazometano a 0°C y posteriormente purificada con una columna "flash" en gel de sílice <0.063 mm eluída con BzAcEt=95:5.

RMN (200 MHz) 0.59, 0.72 y 0.94(3H cada uno, s), 1.02(6H, s), 1.08, 1.15, 1.16, 1.27, 1.47 y 1.52(3H cada uno, s), 2.60(3H, s), 3.52, 3.57 y 3.62(3H cada uno, s), 5.80(1H, s), 6.21(2H, s deformado), 6.92(1H, s).

EM m/z 521, 480, 465, 452, 312, 283, 241, 232, 231, 218, 217, 215, 202, 201, 189, 187, 147, 135, 121, 119, 109, 107, 105, 95, 93, 91, 81.

Producto H₂.

Se aisló como un sólido amorfo amarillo pálido (10.3 mg) de las fracciones 9-18 de la Tabla IV.

IR ν_{\max} 3680, 3464, 3020, 3000, 2945, 2868, 1720, 1708, 1662, 1638, 1590, 1459, 1450, 1428, 1372, 1302, 1235, 1196, 1130, 1097, 1063, 1023 cm^{-1} .

RMN(200 MHz) 0.51, 0.60, 0.95, 0.98, 1.03, 1.08, 1.14, 1.15 y 1.17(3H cada uno, s), 1.23(6H, s), 1.27 y 1.40(3H cada uno, s), 2.46(3H, s), 3.55(3H, s), 4.97(1H, s), 5.93 y 6.28(1H cada uno d_{AB} J=64Hz), 6.07(1H, s ancho), 6.20(1H, s).

UV λ_{\max} 205, 225, 252, 297 nm.

EM m/z 480, 465, 464, 450, 414, 386, 322, 279.

Producto H₃-3-oxo-29-hidroxi-friedelano.

Se aisló a partir de las fracciones 25-40 de la Tabla IV como un producto blanco cristalino. P.F.(CHCl₃-CH₃OH)=226-230 °C.

IR ν_{\max} 3610, 3470, 3000, 2930, 2860, 1698, 1446, 1384, 1281, 1107, 1070, 1027 cm^{-1} .

RMN (60 MHz) 0.73, 0.88 y 1.22 (3H cada uno, s), 0.86(3H, d, J=6Hz), 1.03 (9H, s), 2.20-2.42(3H, m), 3.28(2H, s ancho).

Acetato de H₃(H₃Ac) 29-acetoxi-3-oxo-friedelano.

Por acetilación de una mezcla de H₃ y H₄ y posterior separación cromatográfica se aisló H₃Ac (15 mg) como un sólido blanco cristalino. P.F.(CHCl₃-

CH₃OH)= 154-156°C.

IR_{max} 3000, 2930, 2863, 1718, 1702, ~~1450~~, 1388, 1370, 1245, 1070,
1031 cm⁻¹.

RMN (60 MHz) 0.73, 0.88, 0.93 y 1.22(3H, cada uno, s), 0.86(3H, d, J=6Hz),
1.04(9H, s), 2.08(3H, s), 2.20-2.45(3H, m), 3.76(2H, s).

RMN(200MHz) 0.70, 0.84, 1.02 y 1.18(3H cada uno, s), 0.85(3H, d, J=6.5Hz),
1.00(6H, s), 2.05(3H, s), 2.17-2.39(3H, m), 3.72(2H, s).

EM m/z 484(M⁺), 469, 424, 411, 409, 399, 319, 302, 292, 273, 263, 183.

Oxidación de H₃(H₃Ox) 3-oxo-friedelan-29-al.

A 57 mg(0.13 mmol) de H₃ disueltos en 6 ml de CH₂Cl₂ seco se añadieron con agitación 369 mg(0.17 mmol) de clorocromato de piridina. La reacción se mantuvo a temperatura ambiente durante 2 horas, y se detuvo por adición de 50 ml de éter etílico seco. Se filtró por una columna de gel de sílice 0.2-0.5mm y florisil. La mezcla de reacción se purificó cromatográficamente y se cristalizó de CHCl₃-CH₃OH. P.F.= 178-181°C.

IR_{max} 2930, 2862, 2690, 1706, 1697, 1598, 1447, 1385, 1372 cm⁻¹.

RMN (90MHz) 0.70, 0.97, 1.10(3H cada uno, s), 0.85(3H, d, J=7Hz), 0.88
(9H, s), 9.37(1H, s).

EM m/z 440(M⁺), 425, 411, 355, 302, 300, 273, 259, 246, 231, 219, 218,
191, 175, 173, 163, 161, 147, 139, 123, 121, 119.

Producto H₄. 3β-29-dihidroxi-glutin-5-eno.

Se aisló de las fracciones 25-40 resumida en la Tabla IV y cristalizó como agujas blancas de CHCl₃-CH₃OH. P.F.=270-272°C.

IR_ymax 3680, 3615, 3000, 2928, 2860, 1595, 1470, 1780, 1026, 1014 cm⁻¹.

RMN(60-MHz) 0.85(3H, s), 1.02(9H, s), 1.13(6H, s), 1.20(3H, s), 3.29(2H, s), 3.48(1H, t, w/2=3Hz), 5.65(1H, t, J=7.0Hz).

RMN(200MHz) 0.85, 1.00, 1.02, 1.05, 1.13, 1.14, 1.21(3H cada uno, s), 3.27(2H, d, J=3.8Hz), 3.47(1H, s ancho), 5.66(1H, d, J=7.0Hz).

RMN(50Hz) ¹³C Ver Tabla 4, pag. 61.

EM m/z 442(M⁺), 427, 424, 411, 409, 290, 375, 258, 221, 203, 189, 187, 173, 163, 161, 159, 152, 149, 147, 145, 137, 135, 134, 133, 131, 123, 121, 119, 109, 107, 105.

Calculado para C₃₀H₅₀O₂ 442.3811; observado 442.3833 (espectrometría de masas de alta-resolución).

Acetato de H₄(H₄Ac). 3β,29-diacetoxi-glutin-5-eno.

Producto aislado (9 mg) por acetilación en las condiciones usuales de una mezcla de H₃ y H₄ y posterior percolado sobre gel de sílice 0.2-0.063mm con E.P.-AcEt 95:5.

IR_ymax 3020, 2930, 2865, 1718, 1595, 1468, 1380, 1368, 1253, 1030 cm⁻¹.

RMN(200 MHz) 0.83, 0.95, 1.05, 1.10 y 1.18(3H cada uno, s), 1.01(6H, s), 1.99 y 2.06(3H cada uno, s), 3.73(2H, s), 4.67(1H, t, J=2.8Hz), 5.53(1H, d, J=7.0Hz).

RMN (50Hz) ^{13}C Ver tabla 4, pag. 61.

EM m/z 526(M^+), 496, 480, 465, 332, 317, 259, 203, 187, 173, 149, 147, 145, 135, 134, 133, 121, 119, 109, 107, 105.

Producto H_5 . Acido-3-oxo-friedelan-29-oico-(Acido-polpunónico).

Este producto fué aislado como sólido blanco cristalino (55 mg) de las fracciones 16-30 de la cromatografía expuesta en la Tabla VI. P.F. (CHCl_3 - CH_3OH)=236-239°C.

IR ν_{max} 3500, 3400 \rightarrow 2420, 3000, 2950, 2863, 1704, 1692, 1445, 1383 cm^{-1} .

RMN(200MHz) = 0.68(3H, s), 0.83(3H, d, J=6.0Hz), 0.84(6H, s), 0.97, 1.06 y 1.23(3H cada uno, s), 1.85-2.39(3H, m).

EM m/z 456(M^+), 441, 438, 410, 371, 302, 273, 250, 235, 231, 189, 175, 155, 149, 147, 135, 133, 123, 121, 109, 107.

Producto H_5 -Me. Metil ester de ácido-3-oxo-friedelan-29-oico-(Metil ester del ácido-polpunónico).

Fué obtenido (17 mg), por metilación cuantitativa con diazometano de H_5 , como sólido blanco cristalino. P.F. (CHCl_3 - CH_3OH)=213-215°C.

RMN(200MHz) = 0.67, 0.83, 1.04 y 1.14(3H cada uno, s), 0.81(6H, s), 0.83, 0.84 (3H, d, J=6.5Hz), 1.89-2.40(3H, m), 3.61(3H, s).

RMN(50 MHz) ^{13}C Ver tabla 2, pag. 48.

EM m/z 470(M^+), 455, 411, 395, 385, 302, 273, 264, 249, 231, 218, 189, 169, 163, 149, 147, 137, 135, 133, 121, 119, 109, 107.

Calculado para $\text{C}_{31}\text{H}_{50}\text{O}_3$ 470.3760; observado 470.3787 (espectrometría de

masas de alta resolución).

Producto H₆Ac. 3β,11α-diacetoxi-olean-18-eno. (Diacetato de nivadiol).

El producto H₆ fué aislado de las fracciones 1-6 de la cromatografía resumida en la Tabla VI y purificado como su derivado acetilado H₆Ac, del que se obtuvieron los datos analíticos y espectroscopicos, por cristalización fraccionada en CHCl₃-CH₃OH. Fué comparado en cromatografía de capa fina con una muestra auténtica del diacetato de nivadiol empleando diferentes sistemas de elución. P.F. (CHCl₃-CH₃OH)=292°C.

RMN(200 MHz) 0.82, 0.95, 0.96, 1.11 y 1.14(3H cada uno, s), 0.83- 0.90(9H, s), 1.98 y 2.01(3H cada uno, s), 2.84 y 2.92(2H, dd J=6.2 y J=15.5 Hz), 4.46(1H, t, J=5.2Hz), 4.75(1H, s), 5.12(1H, m, w/2=16.6Hz).

EM m/z 526(M⁺), 511, 466, 451, 406, 270, 255, 229, 215, 203, 201, 190, 177, 175, 161, 159, 147, 145, 135, 121, 119, 109, 107, 105.

Producto H₇Ac.

El producto H₇ fué aislado como su derivado acetilado (4 mg) de las fracciones 24-30 y 31-40 de la Tabla VII:

IR) _{max} 3672, 3585, 3010, 2950, 2860, 1717, 1597, 1460, 1371, 1250, 1024 cm⁻¹.

RMN(200 MHz) 0.80 a 0.89(21H, s), 1.99 y 2.03(3H cada uno, s), 4.49(1H, t, J=5Hz), 4.88(1H, d, J=10Hz), 5.19(2H, m, w/2=26Hz).

EM m/z 540, 524, 496, 480, 467, 449, 405, 381, 369, 367, 353, 313, 295, 282, 253, 239, 225, 213, 211, 201, 199, 187, 183, 173, 171, 159

147, 145, 135, 133, 121, 119, 107.

Producto H₈Ac.

El producto H₈ fué aislado como derivado acetilado (7 mg) de las fracciones 328-339 de la cromatografía general.

IR)_{max} 3675, 3600 → 2550, 2970, 2945, 2920, 2846, 1725, 1457, 1450, 1388, 1365, 1246, 1054, 1023 cm⁻¹.

RMN(200 MHz) 0.77, 1.02, 1.05 y 1.12(3H cada uno, s), 0.84(9H, s), 2.03 (6H, s), 2.05 y 2.06(3H cada uno, s), 2.30(2H, t, J=7.4Hz), 3.45(2H, m, w/2=5Hz), 3.69(1H, m), 4.19(3H, m, w/2=15.3Hz), 4.54(1H, dd, J=4.6 y 11.4Hz), 5.32(1H, d, J=3.3Hz), 6.25(1H, d, J=2.7Hz).

EM m/z 482, 437, 422, 407, 325, 324, 309, 285, 273, 269, 255, 239, 217, 171, 159, 95, 69.

Producto H₉Horridina.

Este producto fué aislado (40 mg) como polvo blanco amorfo de las fracciones 8-13 de la Tabla VIII y no cristalizó en las diferentes sistemas de solventes empleados.

IR)_{max} 3675, 2970, 3018, 2965, 1745, 1719, 1598, 1581, 1562, 1450, 1430, 1366, 1314, 1274, 1215, 1176, 1166, 1117, 1105, 1090, 1062 cm⁻¹.

RMN(60 MHz) 1.23 y 1.41(3H cada uno, d, J=6.7Hz), 1.61(3H, s ancho), 1.81 (6H, s), 1.88, 2.16, 2.22 y 2.36(3H cada uno, s), 2.56(1H, s ancho), 2.71(1H, d, J=2.7Hz), 3.70 y 6.02(2H, d_{AB} J=10.7 Hz), 4.55(1H, s ancho), 4.80(3H, m, w/2=8Hz), 5.71(1H, d, J=5.3Hz), 5.76(1H, d, J=2.7Hz), 5.90(1H, s ancho), 6.79(1H, s), 7.31(1H, s ancho), 7.55(3H, s ancho), 8.00(3H, m, w/2=16Hz), 8.74(1H, dd y J=1.3 y 5 Hz).

RMN(200MHz) 1.21(3H, d, J=7.1Hz), 1.40(3H, d, J=6.9Hz), 1.60(3H, s ancho, J=1.0Hz), 1.83(6H, s), 1.90(3H, s), 2.16(3H, s), 2.22(3H, s), 2.35(3H, s), 2.60(1H, c, J=7.1Hz), 2.69(1H, d, J=3.0Hz), 3.66 y 6.00 (2H, de_{AB}, J=11.6Hz), 4.57(1H, s ancho, J=1.0Hz), 4.63 (1H, c, J=6.9Hz), 4.64 y 4.87(2H, d_{AB}, J=13.2Hz), 4.74(1H, d, J=3.04Hz), 5.27(1H, t, J=3.0Hz), 5.65(1H, d, J=3.0Hz), 5.69(1H, dd, J=3.0 y J=9.7Hz), 5.92(1H, d, J=9.7Hz), 6.75(1H, s ancho), 7.25(1H, dd, J=7.8 y J=4.8Hz), 7.44(2H, c, J=7.0Hz), 7.57(1H, c, J=7.0Hz), 7.94(2H, d, J=7.0Hz), 8.03(1H, dd, J=7.8 y J=1.8 Hz), 8.69(1H, dd, J=4.8 y J=1.8Hz).

RMN(50Hz)¹³C ver Tabla 7 , pag. 78.

U.V. λ_{\max} 202, 229, 265 y 280 n.m.

EM m/z 867(M⁺), 852, 839, 824, 808, 794, 781, 764, 748, 736, 635, 634, 436, 305, 288, 280, 279, 262, 253, 247, 245, 241, 238, 236, 233, 231, 220, 218, 213, 206, 204, 192, 178, 161, 160, 150, 134, 132, 107, 105.

Calculado para C₄₃O₁₈NH₄₉: C 59.50%, N 1.61% y H 5.70%, hallado: C 58.76%, N 1.59% y H 5.90%.

Reducción total de H₉.

23.6 mg(0.027 mmol) de H₉ disueltos en 3 ml. de THF seco se agregaron a una suspensión de 40.8 mg (0.75 mmol) de AlLiH₄ en 8 ml de THF y 3 ml de EE secos, enfriada a 0°C, con agitación y en atmósfera de argón. La reacción se mantuvo a esa temperatura durante 30 minutos y a temperatura ambiente du-

rante 30 minutos y a temperatura ambiente durante 7 horas más sin verificar-se cambios en cromatografía de capa fina. Se añadieron 150 mg(2.78 mmol) más de AlLiH_4 y se mantuvo la reacción a temperatura ambiente hasta total consumo del producto de partida (24 horas), verificado por cromatografía de capa fina(Be-AcEt 70:30 y 50:50). Se eliminó el exceso de hidruro por cuidadosa adición de AcEt en baño de hielo y después de evaporara presión reducida se acetiló con anhídrido acético en piridina a temperatura ambiente (24 horas) y a 70°C (48 horas más). Los reactivos se eliminaron por evaporación repetida a presión reducida con THF- CH_3OH -Be y el crudo de acetilación fué sometido a repetidas cromatografías en gel de sílice, aislándose 2 producto mayoritarios R_1 y R_2 .

Producto R_1 .

8.6 mg(0.031 mmol) de este producto fueron aislados del proceso reductivo, ligeramente impurificados.

IR ν_{max} 3625, 2995, 2950, 2920, 2863, 1723, 1687, 1594, 1456, 1428, 1359, 1309, 1228, 1154, 1116 cm^{-1} .

RMN(200 MHz) 1.17(3H, d, $J=4.6\text{Hz}$), 1.36(3H, d, $J=2.8\text{Hz}$), 1.63(2H, m, $w/2=5\text{Hz}$), 1.98 y 2.20(3H cada uno. s) 4.06(4H, m, $w/2=5.2\text{Hz}$), 6.90(3H, s).

EM m/z 220(M^+-59), 205, 189, 177, 165, 161, 149, 145, 115, 105, 81.

Producto R_2 .

Este producto se aisló en las fracciones más polares de la purificación

de la acetilación de los productos procedentes de la reducción total de H_9 .

Se aislaron 4 mg (0.0057 mmol, R=21.1%). El comportamiento cromatográfico en capa fina es idéntico al de una muestra auténtica de octa-acetato de isoeuonyminol.

IR) $_{\text{máx}}$ 3440, 3008, 2947, 2918, 1740, 1420, 1364, 1230, 1148, 1089, 1065, 1038 cm^{-1} .

RMN(200MHz) 1.49(3H, d, J=1.2Hz), 1.61(3H, s), 1.89, 1.98, 2.01, 2.13, 2.14, 2.17 y 2.29(3H, cada uno, s), 2.12(6H, s), 2.45(1H, d, J=2.6Hz), 3.94 y 4.90(2H, d_{AB} , J=11.8Hz), 4.23(1H, d, 1.2Hz), 4.66(2H, dd, J=13.2Hz), 4.80(1H, d, J=2.6Hz), 5.27(1H, t, J=2.6Hz), 5.60(3H, m, $w/2=12\text{Hz}$), 6.50(1H, s).

EM m/z 685(M^+ , 17), 672, 629, 569, 509, 467, 425, 407, 365, 347, 323, 305, 287, 275, 263, 245, 233, 217, 215, 203, 191, 175, 173, 165, 163, 161, 153, 149, 137.

Octa-acetato de isoeuonyminol.

Una muestra de este producto nos fué suministrada por el Prof. K. Yamada.

RMN(200MHz) 1.48(3H, d, J=1Hz), 1.61(3H, s), 1.87, 1.98, 2.01, 2.11, 2.12, 2.17 y 2.29(3H, cada uno, s), 2.14(6H, s), 2.44(1H, d, J=2.8Hz), 3.94 y 4.88 (2H, d_{AB} , J=11.7Hz), 4.20(1H, s ancho), 4.66(2H, dd, J=13.2Hz), 4.79(1H, d, J=2.5Hz), 5.27(1H, dd, J=2.6Hz), 5.61 (3H, m, $w/2=12.9\text{Hz}$), 6.49(1H, s).

Octa-acetato de euonyminol.

Una muestra analítica de este producto nos la facilitó el Prof. K. Yamada.

RMN(200MHz) 1.47(3H, d, J=1.1Hz), 1.56(3H, s), 1.88, 1.98, 2.11, 2.12, 2.13, 2.16, 2.17 y 2.25(3H cada uno, s); 2.32(1H, d, J=3.9Hz), 3.95 y 4.89(2H, d_{AB}, J=11.5Hz), 4.17(1H, s ancho); 4.42 y 5.21(2H, d_{AB}, J=13.3), 4.82(1H, d, J=2.5Hz), 5.27(1H, dd, J=2.5Hz), 5.34(1H, d, J=6.1Hz), 5.48(1H, m, w/2=10Hz), 5.58(1H, d, J=3.7Hz), 6.76(1H, s).

Producto H₁₀Ac.

El producto H₁₀ se aisló como derivado acetilado (9mg) de las fracciones 25-31 de la cromatografía resumida en la Tabla VIII.

IR_{max} 3010, 2950, 2923, 2848, 1750, 1695, 1460, 1374, 1365, 1248, 1215, 1158, 1048, 1035 cm⁻¹.

RMN(200MHz) 0.65 y 0.96(3H cada uno, s); 0.77—0.91(15H, s) 1.98; 2.00 y 2.03(3H cada uno, s); 2.30(2H, t, J=7.5Hz); 3.46(1H, m, w/2=15.6Hz); 4.16(2H, c, J=9.9Hz), 4.56(1H, d, J=7.9Hz), 4.98(1H, m, J=9.4 Hz), 5.21(1H, d, J=9.3Hz); 5.33(1H, d, J=4.9Hz).

EM m/z 540, 410, 397, 396, 394, 381, 287, 275, 255, 239, 229, 187, 174, 147, 135, 110, 109.

Producto H₁₁Dulcitol.

Este producto precipitó del extracto etanólico como un sólido blanco (aproximadamente 1g.), insoluble en CHCl₃ y AcEt y muy escasamente soluble

en etanol.

IR(KBr) ν_{\max} 3900 \rightarrow 2960, 2920, 1735, 1450, 1205, 1100, 1042, 924, 860 cm^{-1} .

Acetilación de H₁₁. Hexaacetato de dulcitol.

El producto H₁₁ se acetiló en las condiciones usuales y después de extraerlo con éter etílico se cristalizó de CHCl_3 , P.F. = 162-164°C.

IR ν_{\max} 3022, 2960, 2920, 2850, 1760 \rightarrow 1722, 1446, 1368, 1250 \rightarrow 1200, 1040, 960 cm^{-1} .

RMN(90MHz) 2.02(6H, s), 2.10(12H, 6), 3.88 y 4.27(2H, dd, AB J=14 y 34Hz), 3.82 y 4.33(2H, dd AB J=14 y 46Hz), 5.33(m) y 5.37(s) integran en conjunto para 4H).

EM m/z 434(M^+), 375, 361, 289, 259, 217, 187, 175, 170, 157, 153, 152, 145, 139, 129, 128, 116, 115, 110, 103.

SÉPARACION CROMATOGRÁFICA DE LOS
PRODUCTOS DE LA RAÍZ DEL
MAYTENUS HORRIDA REISS.
EXTRACTO CLOROFORMICO

4 Kg. de corteza de raíz de *Maytenus hórrida* fueron finamente troceados, y sometidos a extracción con cloroformo a temperatura ambiente y con agitación mecánica, cambiando periódicamente el disolvente hasta total agotamiento. Los extractos reunidos, filtrados y evaporados al vacío pesaron 150 g. De ellos se tomaron 75 g. con los cuales se formó una cabeza con gel de sílice 0,2-0,5 mm., que reducida a polvo se montó en una columna cromatográfica de media presión de 5 cm de ϕ y 25 cm de largo, previamente cargada con gel de sílice <0.063mm.

La elución se realizó con mezclas de polaridad creciente, recogiéndose fracciones de aproximadamente 100 ml. que se agruparon atendiendo al comportamiento demostrado en cromatografía de capa fina y por sus datos espectroscópicos preliminares.

Esta cromatografía se resume en la Tabla IX

TABLA IX.

FRACCIONES	ELUYENTE	OBSERVACIONES
1-23	EP-AcEt 90:10	M ₁ , M ₂ , M ₃ , M ₄ , M ₅ , M ₆ , M ₇ , M ₈
24-26	EP-AcEt 85:15	M ₃ , M ₄ , M ₅ , M ₆ , M ₇ , M ₈ , M ₉ , M ₁₀
27-35	EP-AcEt 85:15	M ₉ , M ₁₀ y mezcla de productos relacionados
36-53	EP-AcEt 85:15	M ₁₁ , M ₁₂ , M ₁₃ , M ₁₄ , M ₁₅
54-75	EP-AcEt 85:15	M ₁₂ , M ₁₃ , M ₁₄ , M ₁₅ , M ₁₆ , M ₁₇ , M ₁₈
76-125	EP-AcEt 80:20	M ₁₂ , M ₁₃ , M ₁₅ , M ₁₆ , M ₁₉ , M ₂₀ , M ₂₁
126-177	EP-AcEt 70:30 60:40	M ₁₆ , M ₂₂ , M ₂₃
178-201	EP-AcEt 30:90 EP-Etanol 56-44	M ₂₂ , M ₂₃ , M ₂₄ , M ₂₅ , M ₂₆
Lavado	Etanol	Productos más polares no estudiados

La reunión de las fracciones 1-23 de la cromatografía general de este extracto (Tabla IX) pesó aproximadamente 2g. y después de mezclarse con gel de sílice 0.2-0.5 mm para confeccionar una cabeza, se eluyó, con mezclas de EP y AcEt en una columna "flash" de gel de sílice <0.063 mm, tal como se resume en la Tabla X

TABLA X

FRACCIONES	ELUYENTE	OBSERVACIONES
1-20	EP-AcEt 98:2	ceras
21-28	EP-AcEt 95:5	M ₁ + M ₂ + M ₃
29-35	EP-AcEt 95:5	M ₃ + terpenos minoritarios
36-47	EP-AcEt 95:5	M ₃ + M ₄
36-47	EP-AcEt 92:8	M ₅ + M ₆
75-83	EP-AcEt 92:8	M ₇ impuro
84-87	EP-AcEt 92:8	M ₈ impuro

Las fracciones 21-28 de la cromatografía anterior fueron cromatografiadas repetidamente en el cromatotrón empleando en la elución mezclas de EP y AcEt, separándose el producto M₁ (11 mg) y una mezcla de M₁, M₂ y M₃ (23 mg) en la que sus componentes fueron reconocidos por sus datos espectroscópicos y comparación con muestras auténticas.

El producto M₃ (63 mg), mayoritario de las fracciones 29-35 cristalizó en el eluyente de la columna, y de las aguas madres mediante acetilación y posterior cromatografía se separó el derivado acetilado M₃Ac (20.7 mg). Por cromatografía en cromatotrón de la reunión 36-47 empleando EP-AcEt 92:8 se

aisló el producto M_4 , así como mayor cantidad del M_3 .

La mezcla constituida por los productos M_5 y M_6 se mostró irresoluble en repetidas cromatografías, y como un sólo producto en cromatografía de capa fina con gel de sílice impregnada con $AgNO_3$. Sus componentes fueron identificados por comparación con muestras auténticas y por sus datos espectroscópicos.

Las fracciones 75-83 fueron purificadas en el cromatotrón por elución con Be-AcEt 95:5 resultando el producto M_7 (8 mg) que resultó ser idéntico al H_3Ox . Obtenido por oxidación parcial del producto H_3 , aislado del extracto etanólico de esta especie.

De la reunión 84-87, tras percolar en gel de sílice 0.2-0.063mm se aisló el producto M_8 (10 mg).

La reunión 24-26 (350 mg) de la cromatografía general se cromatografió en una columna "flash" con gel de sílice <0.063 mm y su desarrollo se resume en la Tabla XI.

TABLA XI

FRACCIONES	ELUYENTE	OBSERVACIONES
1-14	EP-AcEt 95:5	$M_3 + M_4$
15-22	EP-AcEt 95:5	$M_5 + M_6$
23-32	EP-AcEt 95:5	M_7
33-76	EP-AcEt	$M_9 + M_{10}$

En la reunión 23-32 aparecieron cristales aciculares blancos de M_7 que fueron separados de sus aguas madres. Estas expuestas al aire dieron lugar a la transformación del producto mayoritario que contenía en otro más polar que resultó ser idéntico al producto H_5 aislado del extracto etanólico.

La mezcla de los productos M_9 y M_{10} , contenida en las fracciones 33-76 de la cromatografía anterior (Tabla XI), de color amarillo fué sometida a repetidas cromatografías en cromatotrón, lográndose aislar el producto M_9 como pequeños cristales amarillos.

La reunión de las fracciones 36-53 de la cromatografía general (Tabla IX) de color rojo naranja, pesó 5.7g y fué cromatografiada en una columna "flash" con gel de sílice <0.063 mm. La elución se realizó con mezclas Be-AcEt, observando que el orden de elución de los productos coloreados se alteraba al emplear Be en lugar de EP en las cromatografías. Los resultados de la presente cromatografía se resumen en la Tabla XII

TABLA XII

FRACCIONES	ELUYENTE	OBSERVACIONES
1-3	Be-AcEt 95:5	M_{11}
4-10	Be-AcEt 95:5	$M_{12} + M_{13}$
11-20	Be-AcEt 92:8	$M_{12} + M_{13} + M_{14} + M_{15}$
21-27	Be-AcEt 90:10	M_{15}
28-50	Be-AcEt 85:15	M_{15} impuro

El producto M_{11} se aisló como sólido blanco cristalino de las primeras fracciones de la columna anterior.

La mezcla de productos M_{12} y M_{13} se comporta en cromatografía de capa fina como la de los productos H_1 y H_2 aislados del extracto etanólico de esta especie.

Con el fin de aislar el producto M_{14} , se cromatografió la reunión 11-20 (2.1 g) en una columna "flash" con gel de sílice <0.063 mm cuya elución se resume en la Tabla XIII

TABLA XIII

FRACCIONES	ELUYENTE	OBSERVACIONES
1-11	Be-AcEt 94:6	$M_{12} + M_{13}$
12-13	Be-AcEt 94:6	$M_{12} + M_{13} + M_{14}$
14-19	Be-AcEt 94:6	$M_{12} + M_{13} + M_{14} + M_{15}$
20-32	Be-AcEt 90:10	$M_{12} + M_{13} + M_{15}$
33-39	Be-AcEt 80:20	M_{15} Impuro

Tras intentar, sin éxito, el aislamiento del producto M_{14} empleando la cromatografía en cromatotrón a partir de las fracciones 12-13 (300 mg) de la cromatografía preparativa de capa fina mediante múltiples eluciones con EP-AcEt 85:15. La posterior localización visual de los productos, con luz visible y U.V., el raspado de la gel de sílice y su lavado con AcEt permitió aislar M_{14} (40 mg) como polvo naranja rojizo que cristalizó finalmente en EP-acetona. Con este último procedimiento cromatográfico se separaron también mezclas de color amarillo intenso con proporciones variables

de M_{12} y M_{13} .

El producto M_{15} se aisló fácilmente, como un sólido de color rojo-anaranjado, siendo el producto mayoritario (aprox. 2 g) de la cromatografía resumida en la Tabla XIII en cuyas fracciones 33-39 M_{15} se va acompañando por una mezcla compleja de productos cuyo estudio espectroscópico preliminar indica que se trata de triterpenos insaturados de series diversas.

La reunión 54-75 de la cromatografía general pesó aproximadamente 4 g. y fué sometida a cromatografía en una columna "flash" de gel de sílice <0.063 mm de acuerdo con el esquema de elución que se resume a continuación (Tabla XIV).

TABLA XIV

FRACCIONES	ELUYENTE	OBSERVACIONES
1-12	Be-AcEt 95:5	$M_{12} + M_{13} +$ otros productos relacionados
13-22	Be-AcEt 92:8	$M_{12} + M_{13} + M_{14} + M_{15}$
23-40	Be-AcEt 90:10	M_{15} impuro
49-52	Be-AcEt 85:15	$M_{15} + M_{16}$
53-57	Be-AcEt 85:15	M_{16} impuro
58-77	Be-AcEt 70:30 50:50	$M_{16} + M_{17} + M_{18}$

De las fracciones 53-57 de esta cromatografía se aísla tras percolar en gel de sílice 0.2-0.063 mm con Be:AcEt 90:10 el producto M_{16} como un sólido de color naranja-rojizo intenso. Este producto es el mayoritario de

esta cromatografía.

La mezcla contenida en las fracciones 58-77 de la cromatografía anterior fué sometida a repetidos intentos de separación en cromatotrón empleando mezclas de Be-AcEt y EP-AcEt para la elución, tras los que se separaron los productos M_{17} , que se purifica como su derivado acetilado $M_{17}Ac$ (1.9 mg), y M_{18} que se obtiene como polvo rojo cristalino (10.2 mg).

Reunidas las fracciones 76-125 de la cromatografía general (Tabla IX), pesaron aproximadamente 12 g. que tras montarse en una cabeza de gel de sílice 0.2-0.5 mm, se cromatografiaron en una columna con gel de sílice 0.2-0.063 mm cuya elución se resume en la Tabla XV

TABLA XV

FRACCIONES	ELUYENTE	OBSERVACIONES
1-15	Be-AcEt 98:12	$M_{12}+M_{13}+M_{16}$
16-23	Be-AcEt 98:12	Mezclas no estudiadas
24-31	Be-AcEt 98:12	M_{16} impuro
32-43	Be-AcEt 98:12	M_{16}
44-53	Be-AcEt 98:12	M_{16} impuro
54-62	Be-AcEt 80:20 70:30	$M_{19}+M_{20}+M_{21}$

De esta cromatografía se aislan 3.2g del producto M_{16} puro y alrededor de 1.3g ligeramente impurificados, constituyendo el compuesto de naturaleza quinónica más abundante en este extracto.

Los intentos por aislar los componentes de la reunión 54-62 (650 mg)

de la cromatografía anterior no tuvieron éxito por lo que se acetiló dicha mezcla y fué sometida a cromatografía en columna "flash" con gel de sílice <0.063 mm. que fué eluída según se detalla en la Tabla XVI

TABLA XVI

FRACCIONES	ELUYENTE	OBSERVACIONES
1-22	EP-AcEt 95:5	M ₁₉ ⁺ mezcla de acetatos de triterpenos.
23-70	EP-AcEt 95:5	—
71-100	EP-AcEt 90:10	M ₂₀ impuro
101-109	EP-AcEt 85:15	M ₂₁ impuro

La reunión 1-22 de la cromatografía anterior por comparación de sus datos espectroscópicos y comportamiento cromatográfico en capa fina, resultó ser similar a la observada en el estudio del extracto etanólico de esta planta y el producto M₁₉ presente aquí como derivado acetilado coincide con el antes señalado H₆Ac.

El estudio espectroscópico del producto M₂₀ sugirió una acetilación parcial del mismo por lo que parte del producto se sometió a una nueva reacción con anhídrido acético y piridina a 125°C. Una vez completada la reacción se eliminaron los reactivos mediante evaporación a presión reducida con mezclas de metanol y THF. Tras un percolado en gel de sílice 0.2-0.063 mm con EP-AcEt 97:3 se aisló el producto M₂₀ como derivado diacetilado (M₂₀2Ac).

El producto M₂₁ fué identificado por comparación cromatográfica con

el producto H_5 aislado anteriormente del extracto etanólico de esta especie.

Con las fracciones 126-177 de la cromatografía general (Tabla IX) se montaron repetidas cromatografías, tras las cuales se obtuvo una mezcla de los productos M_{22} y M_{23} mayoritarios en esta zona de polaridad. Dicha mezcla sólo fué resuelta parcialmente por cromatografía en cromatotrón y placa fina preparativa, dando lugar a mezclas enriquecidas en uno y otro componente, los ensayos analíticos realizados en cromatografía líquida de alta presión empleando columnas de fase normal y sistemas eluyentes de EP y AcEt no permitieron encontrar condiciones adecuadas para el procedimiento preparativo.

Las fracciones 178-201 de la cromatografía general contenían productos de elevada polaridad, y fueron mezclados con gel de sílice 0.2-0.5mm. para hacer una cabeza que fué cromatografiada en una columna con gel de sílice 0.2-0.063 mm que fué eluída según se indica en la Tabla XVII

TABLA XVII

FRACCIONES	ELUYENTE	OBSERVACIONES
1-39	EP-AcEt 60:40 50:50	$M_{22} + M_{23}$, mezcla de productos relacionados.
40-66	EP-AcEt 40:60	$M_{22} + M_{23} + M_{24}$
67-80	EP-AcEt 25:75	$M_{22} + M_{23} + M_{25} + M_{26}$
81-90	AcEt	mezclas no estudiadas.

La reunión 40-66 de esta cromatografía se puso a metilar con solución etérea de diazometano, no alterándose la polaridad del producto M_{24} , pero facilitó la eliminación cromatográfica de las impurezas que lo acompañaba. Dada la alta polaridad de M_{24} , se sometió a acetilación con anhídrido acético y piridina a temperatura ambiente y posterior extracción con el procedimiento habitual. El crudo de reacción se purificó por cromatografía en cromatotrón con Be y mezcla Be-AcEt 95:5, aislándose el producto M_{24} como su derivado acetilado $M_{24}Ac$ (21 mg).

Tras comprobar espectroscópicamente la ausencia de grupos acetato y metil ester en la reunión 67-80 de la cromatografía resumida en la Tabla se sometió dicha reunión a metilación con diazometano en solución etérea. La mezcla resultante de la metilación fué cromatografiada en cromatotrón empleando por la elución EP-AcEt 25:75. Separándose otra mezcla en la que los componentes mayoritarios son los productos M_{25} y M_{26} . Esta mezcla se intentó purificar por cristalización en mezclas cloroformo-metanol, separándose un producto blanco que resultó ser $M_{25}MC$ (9.5 mg). Las aguas madres dieron lugar al aislamiento de $M_{25}Mc$ y M_{26} por cromatografía en columna "flash" con gel de sílice <0.063 eluída con Be-AcEt 45:55. Dada la alta polaridad de dichos productos fueron sometidos separadamente a acetilación aislándose cromatográficamente sus derivados con diferentes grados de acetilación.

DESCRIPCION DE LOS PRODUCTOS DEL
MAYTENUS HORRIDA REISS.

EXTRACTO CLOROFORMICO

Producto M₁. 3 β -hidroxi-lup-20(29)eno (Lupeol).

Este producto fué aislado (11 mg) a partir de las fracciones 21-28 de la cromatografía resumida en la Tabla X y sus datos espectroscópicos coinciden con el producto aislado del *Maytenus aquifolium* y que denominamos A₂.

Producto M₂. 3 β -hidroxi-olean-18-eno (Germanicol).

Este producto fué reconocido por sus datos espectroscopicos y comparación con muestra auténtica a partir de una mezcla con el producto M₃, contenida en las fracciones 21-28 (Tabla X).

Producto M₃. 3 β -hidroxi-glutin-5-eno (Glutinol).

63 mg de este producto se aislaron de las fracciones 29-35 de la Tabla X como un sólido blanco cristalino. P.F. 208-210°C.

RMN(90 MHz) 0.84, 0.94, 0.98, 1.00, 1.03, 1.08, 1.12 y 1.14 (3H cada uno;

s), 3.46 (1H, s ancho, w/2=7Hz) y 5.63 (1H, s ancho, w/2=10Hz).

RMN(50MHz)¹³C ver Tabla 4, pag. 61.

EM m/z 426(M⁺), 408, 393, 274, 259, 205, 148.

Acetato de M₃ (M₃Ac). 3 β -acetoxi-glutin-5-eno (Acetato de glutinol).

20 mg (0.047 mmol) de M₃ se acetilaron cuantitativamente con la metodología habitual rindiendo 21.8 mg (0.047 mmol) de M₃Ac.

RMN(200 MHz) 0.81, 0.91, 0.95, 0.97, 1.01, 1.03, 1.07 y 1.13 (3H cada una;

S), 1.97(3H, s), 4.67(1H, t, J=2.9Hz), 5.51(1H, d, J=5.1Hz).
 RMN(50MHz) ^{13}C ver Tabla 4, page 61.

EM m/z 468, 453, 408, 393, 274, 259, 245, 205, 203, 189, 187, 173,
 171, 159, 150, 147, 145, 137, 134, 133, 131, 123, 121, 119,
 109, 107.

Producto M_4 .

Este producto fué aislado de las fracciones 36-47 de la cromatografía de la Tabla X/

RMN(60MHz) 0.78, 0.81, 0.90, 1.07, 1.11, 1.15(3H cada uno, s), 0.98(6H, s), 3.31(1H, m, w/2=20 Hz), 5.62(1H, m, w/2= 10Hz).

EM m/z 426(M^+), 408, 393, 274, 231, 218, 207, 203, 187, 173.

Acetato de M_4 ($M_4\text{Ac}$).

20mg(0,047 mmol) de M_4 se acetilaron cuantitativamente originando 21 mg (0.046 mmol) de $M_4\text{Ac}$.

RMN(60MHz) 0.76, 0.80, 0.88, 0.97, 1.06 y 1.10(3H cada uno, s), 1.03 (6H, s), 2.05(3H, s), 4.63(1H, m, w/2=20Hz), 5.61(1H, m, w/2=9.6Hz).

EM m/z 468(M^+), 453, 408, 393, 274, 259, 245, 205, 203, 187, 173, 159, 145, 134, 133, 119.

Oxidación de M_4 ($M_4\text{Ox}$).

35.4(0.083 mmol) de M_4 disueltos en 7 ml de CH_2Cl_2 se oxidaron con

50mg(0.12 mmol) de dicromato de piridina a temperatura ambiente durante 5 horas. Se detuvo la reacción por dilución con éter etílico y se filtró con gel de sílice, recuperándose 32 mg de producto de reacción que se cromatografiaron en una columna de gel de sílice dando lugar a 15 mg(0.035mmol) de M_4Ox .

IR $_{\max}$ 2940, 2920, 2850, 1700, 1594, 1455, 1378, 1360, 1314, 1279 cm^{-1} .

RMN(200MHz) 0.76, 0.77, 0.86; 0.95, 1.06(3H cada uno, s), 1.08(9H, s), 5.62(1H, m, w/2=15Hz).

EM m/z 424(M^+); 409, 274, 259, 237, 219, 218, 205, 204, 203, 202, 189, 177, 175, 163, 161, 159, 147, 135, 133, 121, 119, 109, 107.

Producto M_5 y M_6 . 3 β -hidroxi-olean-12-eno y 3 β -hidroxi-olean-9(10),12-dieno.

Estos productos fueron reconocidos de las fracciones 48-74 de la Tabla X y 15-22 de la Tabla XI; por comparación de sus datos espectroscópicos con las correspondientes muestras auténticas.

Producto M_7 . 3-oxo-friedelan-29-al.

El producto M_7 (26mg) se aisló de las fracciones-83(Tabla X) y 23-32(Tabla XI) y sus datos físicos y espectroscópicos son coincidentes con el producto H_3Ox ya mencionado en el estudio del extracto etanólico de esta especie.

Oxidación y metilación de M₇.

El producto M₇ en solución cloroformica expuesto al aire se oxidó espontáneamente dando lugar a otro producto que por metilación con solución etérea de diazometano se transformó cuantitativamente en otro cuyos comportamientos cromatográficos y espectroscópicos resultaron idénticos a los del producto H₅Me (Metil-ester del ácido polpunónico) también descrito en el estudio del extracto etanólico.

Producto M₈. 3-oxo-friedelano (Friedelina).

10 mg de este producto se aislaron de las fracciones 84-87 de la Tabla X.

IR_{max} 2925, 2860, 1700, 1458, 1448, 1387, 1074 cm⁻¹.

RMN(200-MHz) 0.70, 0.84, 0.92, 1.02 y 1.15(3H cada uno, s), 0.85(3H, d, J=6.7Hz), 0.98(6H, s), 2.16, 2.4(3H, m, w/2=48 Hz).

EM m/z 426(M⁺), 411, 341, 302, 273, 246, 231, 218, 217, 205, 204, 191, 179, 175, 163, 161, 149, 147, 137, 135, 133, 125, 123, 121, 119, 109, 107.

Producto M₉.

Este producto se aisló de las fracciones 33-76(Tabla XI), tras repetidas cromatografías, como cristales laminares pequeños de color amarillo que examinados por cromatografía líquida de alta presión aparecen como un sólo compuesto. P.F.(EP-AcEt 95:5)=154-156°C (descomposición a 160°-170°C).

IR)_{max} 3470, 2990, 2945, 2863, 1718, 1708, 1670, 1636, 1596, 1566,
1458, 1380, 1372, 1310, 1240, 1192, 1137 cm^{-1} .

RMN(200MHz) 0.72, 0.83, 0.93, 0.94, 1.08, 1.15, 1.17, 1.41, 1.56 y 2.07
(3H cada uno, s); 1.04(6H, s); 3.64 y 3.65(3H cada uno, s);
4.83(1H, s intercambiable con D_2O); 5.91 y 6.61(2H, d_{AB} J=
16Hz), 5.99(1H, s), 6.36(1H, s ancho), 6.68(1H, s).

EM m/z 482, 480, 466, 464, 450, 298, 283, 269, 267, 255, 254, 249,
241, 239, 235, 227, 225, 217, 215, 204, 203, 202, 201, 188,
187, 177, 175, 135, 121, 119, 109, 107, 95, 81, 69, 57, 56.

Producto M₁₁: 3-oxo-olean-9(11),12-dieno.

El producto M₁₁ se aisló como cristales oculares blancos de las
fracciones 1-3 de la Tabla XII y se purificó por cristalización en CHCl_3 -
 CH_3OH . P.F. = 192-194°C [α]_D = +362.5 (CHCl_3 , c 0.007).

IR)_{max} 2964, 2940, 2860, 1694, 1459, 1380, 1373, 1357, 1110, 1001,
990, 832 cm^{-1} .

RMN(60MHz) 0.86, 0.88, 0.90, 0.99, 1.07, 1.10, 1.17 y 1.25(3H cada uno, s);
2.45(2H, s ancho), 5.58(1H, d, J=6Hz), 5.64(1H, d, J=6Hz).

UV λ_{max} 201, 281 nm.

EM m/z 422(M⁺), 407, 269, 255, 229, 215, 213, 203, 171, 159, 145,
131, 129, 121, 119, 105, 95, 81, 69.

Calculado para $\text{C}_{30}\text{H}_{46}\text{O}$ 422.3546, observado 442,3548 (espectrometría de
masas de alta resolución).

Productos M₁₂ y M₁₃.

Estos productos fueron aislados de las fracciones 4-10 de la Tabla XIII y se comprobó por su comportamiento cromatográfico y sus datos espectroscópicos que se trataba de los productos H₁ y H₂ previamente descritos en el estudio del extracto etanólico.

Producto M₁₄. Netzahualcoyeno.

40mg de este producto se aislaron por cromatografía en columna y placas preparativas de gel de sílice a partir de las fracciones 12-13 de la Tabla XIII. Se purificó por repetidas cristalizaciones en EP-acetona. P.F.: 150-152 y 176-178°C (doble).

IR ν_{\max} 3385, 2990, 2910, 2850, 1718, 1642, 1586, 1545, 1505, 1450, 1440, 1372, 1284, 1996, 1111 cm⁻¹.

RMN(90 MHz) 0.79, 1.17, 1.18, 1.25, 1.69 y 2.24(3H cada uno, s), 3.52 (1H, s), 3.65(3H, s), 6.14(1H, d, J=6.9Hz), 6.55(1H, s ancho), 7.16(1H, dd, J=6.6Hz).

RMN(50MHz) ver Tabla 5 ; pag. 66.

U.V. λ_{\max} 230, 256, 290, 325, 442 n.m.

EM m/z 462 (M⁺), 447, 403, 387, 294, 281, 279, 267, 258, 241, 227, 201, 168, 135, 121, 109.

Calculado para C₃₀H₃₈O₄ 462,227, observado 462,2797. (espectrometría de masas de alta resolución).

Producto M₁₅. Pristimerina.

Aproximadamente 2 g. de este producto se aislaron de la cromatografía resumida en la Tabla XIII como sólido amorfo de color rojo naranja.

IR(KBr) ν_{\max} 3280, 2930, 2860, 1722, 1630, 1585, 1546, 1509, 1430, 1370, 1280, 1213, 1200, 1182, 1151, 1135, 1092, 1083, 878 cm^{-1} .

RMN (60MHz) 0.53, 0.99, 1.17, 1.25, 1.44 y 2.20(3H cada uno, s), 3.55 (3H, s), 6.4(1H, d, J=7Hz), 6.57(1H, s ancho), 7.05(1H, dd, J=7Hz).

RMN(200 MHz) 0.53, 1.09, 1.17, 1.26, 1.44 y 2.20(3H cada uno, s), 2.37 (1H, d, J=15Hz), 3.55(3H, s), 6.34(1H, d, J=7.1Hz), 6.52 (1H, d, J=1.4Hz), 7.00(1H, dd, J=7.1 y 1.4Hz).

RMN(50MHz) ^{13}C ver Tabla 5, pag. 66.

UV λ_{\max} 205, 221, 246, 253, 420 n.m.

EM m/z 464(M^+), 450, 241, 203, 202, 201, 200.

Producto M₁₆. Tingenona.

M₁₆ fué aislado en gran cantidad de las cromatografías resumidas en las Tablas XIV y XV como un sólido rojo naranja.

IR(KBr) ν_{\max} 3312, 3245, 2985, 2940, 2860, 1696, 1630, 1584, 1545, 1506, 1430, 1370, 1306, 1280, 1222, 1183, 1080, 1037, 1001, 870 cm^{-1} .

RMN(60 MHz) 0.99, 1.04, 1.33, 1.49 y 2.21(3H cada uno, s), 1.03(6H, s), 6.35(1H, d, J=7Hz), 6.54(1H, s ancho), 7.02(1H, dd, J=7Hz).

RMN(200MHz) 0.95, 1.32, 1.48 y 2.20(3H cada uno, s), 0.99(6H, s), 2.46 (1H, m), 2.89(1H, d, J=14.3Hz), 6.35(1H, d, J=7.2Hz), 6.52

(1H, d, J=1.4Hz), 7.01(1H, dd J=7.2 y 1.4Hz).

RMN(50MHz) ^{13}C ver Tabla 5, pag. 66.

U.V. λ_{max} 422, 256, 227, 204 n.m.

EM m/z 420(M^+), 406, 405, 241, 202, 201, 200.

Producto M_{17} .

Es un producto blanco que se encuentra en las fracciones 58-77 de la Tabla XIV acompañado por otros de naturaleza quinónica.

IR ν_{max} 3590, 2998, 2920, 2860, 1710, 1458, 1451, 1375, 1232 cm^{-1} .

RMN(200MHz) 0.87, 1.02, 1.05, 1.09, 1.11, 1.23 y 1.29(3H cada uno, s), 2.38(3H, m), 3.45(1H, s ancho), 3.62(1H, s ancho), 3.97 y 4.32(2H, d_{AB} , J=11.7Hz), 5.62(3H, m, $w/2=7.4\text{Hz}$).

U.V. λ_{max} 205, 220, 232, 241, 253, 280 n.m.

EM m/z 456, 449, 440, 426, 409, 359, 341, 323, 309, 287, 271, 270, 257, 255, 245, 243, 239, 227, 217, 215, 213, 201, 189, 187, 175, 173, 161, 159, 147, 143, 135, 133, 131, 129, 123, 121, 119, 109, 107, 105.

Acetato de M_{17} (M_{17}Ac).

Por acetilación de M_{17} a temperatura ambiente se obtuvo el correspondiente derivado acetilado M_{17}Ac (2 mg).

RMN(200 MHz) 0.88, 0.97, 1.04, 1.07, 1.13(3H cada uno, s), 1.32(6H, s), 2.01 y 2.06(3H cada uno, s), 2.24(3H, m) 4.43 y 4.67(2H, d_{AB} , J=11.3Hz), 4.69(1H, t, J=2.2Hz), 5.61(3H, m, $w/2=10\text{Hz}$).

EM m/z : 482, 467, 464, 451, 443, 422, 407, 383, 323, 307, 275,
257, 275, 243, 227, 213, 201, 189, 187, 175, 161, 147, 147, 134,
134, 123, 121, 109, 107, 105.

Producto M₁₈: 20- α -hidroxi-tingenona.

Se aisló como polvo rojo cristalino mediante sucesivas cromatografías de las fracciones 58-77 de la Tabla XIV. P.F. 202-204°C.

IR_{max} : 3395, 3020, 3004, 2950, 2925, 2864, 1708, 1590, 1512, 1440,
1377, 1286, 1185, 1083 cm⁻¹.

RMN(200MHz) : 0.86, 1.09, 1.45 y 2.19(3H, cada uno, s), 1.34(6H, s) 1.90
y 2.98(2H, d_{AB}, J=14.2Hz), 6.34(1H, d, J=7.2Hz), 6.51(1H,
d, J=1.2Hz), 7.00(1H, dd, J=7.2 y J=1.2Hz).

U.V. λ_{max} : 205, 230, 253, 264, 424 n.m.

EM m/z : 436(M⁺), 422, 421, 418, 403, 395, 267, 253, 241, 239, 227,
225, 215, 213, 201, 149, 135, 133, 121, 119, 107.

Calculado para C₂₈H₃₆O₄ 436.2595, observado 436.2603 (espectrometría de masas de alta resolución).

Producto M₁₉Ac: (Diacetato de nivadiol).

El producto M₁₉ fue identificado a partir de las fracciones 54-62 de la Tabla XV como su derivado diacetilado (M₁₉Ac) por acetilación en las condiciones usuales y por repetidas cromatografías en gel de sílice. Este diacetato resultó idéntico a H₆Ac, obtenido por acetilación de H₆ en el estudio del extracto etanólico.

Producto M₂₀ Ac. 3 β ,11-diacetoxi-olean-12-eno.

El producto M₂₀ fué aislado como su derivado diacetilado tras someter a sucesivas acetilaciones a temperatura ambiente y a 125°C a las fracciones 71-100 de la Tabla XVI. Los datos espectroscópicos corresponden al diacetil derivado M₂₀ Ac.

IR ν_{\max} 3020, 2967, 2945, 2920, 2855, 1715, 1713, 1595, 1450, 1388, 1369, 1255 cm⁻¹.

RMN(200MHz) 0.76, 0.86, 0.89, 1.04 y 1.05(3H cada uno, s), 0.85(9H, s), 1.93 y 2.03(3H cada uno, s), 4.46(1H, dd, J=9.0 y 7.0Hz), 5.13(1H, d, deformado, J=3.5Hz), 5.43(1H, dd, J=3.5 y J=8.5Hz).

EM m/z 526(M⁺), 466, 451, 407, 406, 391, 313, 295, 276, 271, 270, 255, 253, 234, 218, 215, 203, 199, 187, 185, 171, 159, 157, 145, 133, 131, 119, 109, 107, 105.

Para M⁺-60, calculado C₃₂H₅₀O₂ 466.3808, observado 466.3811 (espectrometría de masas de alta resolución).

Producto M₂₁ Acido polpunónico.

Este producto fué reconocido en las fracciones 101-109 de la Tabla XVI, resultando idéntico a H₅ por comparación cromatográfica. Por metilación de M₂₁ con diazometano se obtuvo M₂₁Me idéntico a H₅Me.

Producto M₂₄ Ac.

El producto M₂₄ se aisló y purificó a partir de las fracciones 67-80

de la Tabla XVII como derivado poliacetilado $M_{24}Ac$ (21 mg).

RMN(200-MHz) δ 0.65—0.96(24H), 1.98—2.02(9H, s), 2.26(3H, m), 3.45(1H, m), 3.66(1H, m), 4.14(2H, ddd, $J=12$:2.6 y 4.9Hz), 4.56(1H, d, $J=7.9$ Hz), 4.97(2H, m, $J=8$ Hz), 5.18(1H, t deformado $J=9.4$ Hz), 5.33(2H, t deformado, $J=5.2$ Hz).

EM m/z 524, 464, 422, 405, 353, 322, 301, 279, 203, 187, 167, 161, 159, 153, 149, 147, 135, 123, 121, 110, 107, 105.

Producto $M_{25}Me$. Metil-éster del ácido-6- β -hidroxi-orthosphénico.

El producto M_{25} fué aislado, como el correspondiente metil-éster, la reacción con diazometano, de las fracciones 67-80 de la Tabla XVII.

$M_{25}Me$ es un polvo blanco amorfo de elevada polaridad (9.5 mg).

IR) $_{max}$ 3580, 3920, 3000, 2940, 2860, 1720, 1460, 1373, 1235, 1140, 1085, 1060, 1054 cm^{-1} .

RMN(200-MHz) δ 0.75, 0.79, 0.90, 1.03 y 1.22(3H cada uno, s), 1.15(3H, d, $J=9$ Hz), 3.60(3H, s), 3.83 y 4.23(2H, d_{AB} , $J=8.0$ Hz), 3.81 (2H, m).

RMN(50MHz) ^{13}C : Ver Tabla 2 página 48.

EM m/z 518(M^+), 500, 442, 332, 321, 303, 285, 273, 267, 255, 249, 237, 203, 189, 187, 175, 169, 163, 161, 149, 147, 145, 135, 133, 121, 109, 107, 105, 95.

Calculado para $C_{31}H_{50}O_6$ 518.3605, observado 518.3657 (espectrometría de masas de alta resolución).

Acetilación de $M_{25}Me$.

Una muestra conteniendo $M_{25}Me$ impurificado, fué sometida a acetilación a temperatura ambiente con anhídrido acético en piridina y tras extracción y posterior purificación cromatográfica del crudo de reacción dió lugar a una mezcla de di y tri acetatos de $M_{25}Me$ que denominamos $M_{25}Me2Ac$ y $M_{25}Me3Ac$ respectivamente.

Producto $M_{25}Me2Ac$. Metil ester del ácido $2\alpha,6\beta$ acetoxi-orthosphénico.

Se aísla como producto mayoritario (17.8 mg) de acetilación y cristaliza como agujas incoloras en EP-AcEt. P.F. 224-226°C.

IR)_{max} 3430, 3000, 2940, 2860, 1723, 1458, 1370, 1246, 1139, 1083, 1044, 1032 cm^{-1} .

RMN(200 MHz) 0.78, 0.80, 0.94m 1.03 y 1.14(3H cada una, s), 0.88(1H, d, J=9Hz), 1.99 y 2.08(3H cada uno, s), 2.29(2H, m), 3.42(1H, s ancho), 3.62(3H, s), 3.91 y 4.27(2H, d_{AB}, J=8.5Hz), 4.90(1H, dd, J=5.4 y J=12.0Hz), 4.97(1H, d, J=3.8Hz).

RMN(50MHz) ¹³C Ver Tabla 2 página 48.

EM m/z 602(M⁺), 560, 542, 484, 482, 424, 329, 325, 318, 303, 285, 249, 235, 203, 189, 187, 169, 163, 149, 147, 135, 133, 123, 121, 119, 109, 107.

Para M⁺-42, C₃₃H₅₂O₇ calculado 560.3711, observado 560.3735 (espectrometría de masas de alta resolución).

Producto M₂₅Me3Ac. Metil éster del ácido 2 α ,3 α ,6 β -hidroxi-orthosphénico.

Es el derivado minoritario (7.6 mg) y menos polar de la acetilación.

IR ν_{\max} 3010, 2940, 2865, 1720, 1455, 1367, 1239, 1141, 1043, 1031 cm^{-1} .

RMN(200 MHz): 0.78, 0.81, 0.94, 1.03 y 1.14(3H cada uno, s); 0.88(3H, d, J=9 Hz), 1.96, 1.99 y 2.06(3H cada uno, s); 2.32(2H, m), 3.62(3H, s), 4.11 y 4.37(2H, d_{AB} J=8.6 Hz), 4.93(1H, dd, J=5.4 y J=11.2 Hz), 5.82(1H, d, J=3Hz).

EM m/z 602(M⁺-42), 560, 542, 510, 482, 431, 279, 249, 203, 189, 183, 167, 163, 149, 137, 135, 133, 123, 121, 119, 113, 109.

Para M⁺-42, C₃₅H₅₄O₈ calculado 602.3815; observado 602.3859 (espectrometría de masas de alta resolución).

Producto M₂₆: 1 β ,3 β ,11 α -trihidroxi-olean-12-eno.

Este producto fué aislado a partir de las fracciones 67-80 de la Tabla XVII y no se metiló al ser tratado con diazometano, lo que permitió su separación del producto M₂₅.

RMN C₅D₅N (200MHz) 0.92(6H, s); 1.15, 1.16, 1.28, 1.31, 1.38 y 1.40 (3H, cada uno, s); 3.68(2H, m); 4.28(1H, m); 5.60(1H, d, J=4Hz).

EM m/z 458 (M⁺), 440, 422, 407, 389, 325, 295, 287, 269, 255, 251, 247, 235, 229, 217, 215, 205, 203, 201, 193, 189, 183, 175, 173, 171, 161, 159.

Acetilación de M₂₆.

Cuando el producto M₂₆ se acetiló a temperatura ambiente durante 2.5 horas con anhídrido acético en piridina, se aislaron cromatográficamente dos productos M₂₆Ac y M₂₆2Ac. Extendiendo el tiempo de reacción hasta 6 días, se obtuvo un derivado más, el M₂₆3Ac.

Producto M₂₆Ac. 3β-acetoxi-1β,11α-dihidroxi-olean-12-eno.

9.9 mg de este producto se aislaron como un sólido que cristalizó en EP-AcEt como agujas incoloras. P.F. 222-226°C.

IR_{D_{max}} 3590, 3680, 3018, 2950, 2925, 2850, 1720, 1595, 1452, 1377, 1369, 1250 cm⁻¹.

RMN(200 MHz) 0.77, 0.91, 1.01, 1.08 y 1.14(3H cada uno, s), 0.83(9H, s), 2.03(3H, s), 2.30(1H, m), 3.54 y 3.59(1H, dd, J=11.0 y J=5.0Hz); 4.29 y 4.33(1H, dd, J=8.0 y J=3.5Hz), 4.51 y 4.57(1H, dd, J=12.0 y J=5.0 Hz), 5.21(1H, d, J=3.5Hz).

EM m/z 500 (M⁺), 482, 422, 407, 389, 368, 329, 313, 255, 239, 236, 217, 203, 175, 163, 159, 149, 147, 135, 123, 121, 109, 107.

Calculado para C₃₂H₅₂O₄, 500.3765; observado 500.3855 (espectrometría de masas de alta resolución).

Producto M₂₆2Ac. 3β,11α-diacetoxi-1β-hidroxi-olean-12-eno.

3.5 mg de este producto se aislaron del conjunto de las dos acetilaciones.

IR _D max	3720—>3560, 3010, 2970, 2950, 2925, 2857, 1719, 1596, 1452, 1366, 1255, 1025 cm ⁻¹ .
RMN(200 MHz)	0.76, 0.82, 0.89, 1.01, 1.04 y 1.15(3H cada uno, s); 0.84 (6H, s); 1.92 y 2.03(3H cada uno, s); 2.30(1H, m); 3.64(1H, m w/2=19.7Hz); 4.45 y 4.51(1H, dd, J=12.0 y J=4.0Hz); 5.38 (2H, m, w/2=4.9Hz).
EM m/z	542(M ⁺), 500, 482, 466, 422, 407, 389, 329, 255, 251, 217, 171, 159, 145, 133, 121, 119, 109, 107, 95.

Producto M₂₆-3Ac-1 β ,3 β ,11 α -triacetoxi-olean-12-eno.

Es el producto minoritario (1.5 mg) de acetilación, y sólo se obtuvo cuando ésta se realizó durante 6 días.

IR _D max	3012, 2944, 2910, 2850, 1724, 1598, 1460, 1452, 1369, 1255.
RMN(200 MHz)	0.76, 0.88, 1.01, 1.14(3H cada uno, s); 0.84(9H, s); 1.86, 1.92 y 2.01(3H cada uno, s); 4.57 y 4.63(1H, dd, J=12.0 y J=4.0Hz); 4.71 y 4.77(1H, dd, J=11.0 y J=5.0Hz); 5.30 y 5.33 (1H, dd, J=7.0 y 4.4Hz); 5.50(1H, d, J=4.4Hz).
EM m/z	524(M ⁺ -60), 482, 466, 456, 404, 386, 389, 371, 255, 251, 213, 199, 185, 171, 159, 157, 145, 133, 131, 119, 109, 107, 95.

Para M⁺-60, C₃₄H₅₂O₄ calculado 524.3863, observado 524.3883 (espectrometría de masas de alta resolución).

Producto M₂₆D. 1β,3β-dihidroxi-olean-9(11),12-dieno.

Cuando una muestra de M₂₆ disuelta en benceno seco, fué evaporada a presión reducida (20 mm de Hg) y a 50°C hasta sequedad, se obtuvo una mezcla de productos que tras cromatografiarse en cromatotrón con Be-AcEt 50:50 dió lugar al aislamiento de M₂₆D (7.3 mg), M₂₆ (10.4 mg) y otro producto de polaridad intermedia (4.5 mg) que no fué purificado totalmente.

A continuación se dan los datos del producto M₂₆D.

IR ν_{\max} 3598, 3000, 2963, 2918, 2860, 1459, 1450, 1324, 1237, 1046, 986 cm^{-1} .

RMN(200 MHz) 0.76, 0.82, 0.88, 0.90, 0.96 y 1.14(3H cada uno, s), 0.79 (6H, s), 3.26 y 3.32(1H, dd, J=4.3 y 12.0 Hz), 3.81 y 3.86 (1H, dd, J=4.5 y 11.5Hz), 5.45 y 6.51(1H cada uno, d, J=6.0Hz).

U.V. λ_{\max} 202, 283 nm.

EM m/z 440(M⁺), 422, 407, 404, 389, 287, 269, 255, 251, 235, 171, 159, 149, 145, 133, 121, 119, 109, 107.

Cálculo para C₃₀H₄₈O₂ 440.3654, observado 440.3602 (espectrometría de masas de alta resolución).

SEPARACION = CROMATOGRAFICA DE LOS
PRODUCTOS DE LA RAIZ DE LA
ORTHOSPHENIA MEXICANA STANDLEY.

ORTHOSPHENIA MEXICANA

Separación cromatográfica de los productos aislados de la raíz.

32 gramos de extracto etéreo de raíz, de consistencia siruposa y color anaranjado intenso se mezclaron disueltos en cloroformo con 50 g. de gel de sílice 0.2-0.5mm y secado al aire se colocó en una columna empaquetada con gel de sílice 0.2-0.05mm que se empezó a eluir con E.P. para continuar con mezclas de riqueza creciente en EtAc, recogiendo fracciones de aprox. 250ml. que se agruparon según su comportamiento en cromatografía de capa fina y los datos espectroscópicos preliminares.

El desarrollo de esta cromatografía se resume en la Tabla XVIII.

TABLA XVIII

FRACCIONES	ELUYENTE	OBSERVACIONES
1-42	EP	Escualeno + ceras
43-58	EP-AcEt 95:5	Mezclas de ácidos grasos
59-82	EP-AcEt 90:10	Mezclas de ácidos grasos + β -sitosterol
83-100	EP-AcEt 80:20	Mezcla de ácidos grasos + mezcla de terpenos minoritarios
101-112	EP-AcEt 70:30	$O_1 + O_2 + O_3$
113-131	EP-AcEt 60:40 50:50	$O_2 + O_3 + O_4$
132-139	EP-AcEt 40:60	$O_3 + O_5 + O_6$
140-146	AcEt y Etanol	O_7 + mezcla de productos mas polares

Las fracciones 101-112 de la cromatografía general, tabla resumida antes, una vez llevadas a sequedad pesaron 1.199g. y se recromatografiaron en una columna de gel de sílice <0.063 m.m. empleando la técnica "flash" con una mez-

cla de E.P.-AcEt 60:40 como eluyente. Los resultados de esta cromatografía se resumen en la Tabla XIX.

TABLA XIX

FRACCIONES	ELUYENTE	OBSERVACIONES
1-14	E.P.-AcEt 60:40	O_1 impuro
15-34	E.P.-AcEt 60:40	$O_1 + O_2$
35-48	E.P.-AcEt 60:40	$O_2 + O_3$
49-82	E.P.-AcEt 60:40	O_3 impuro

El producto O_1 procedente de las fracciones 1-14 de la cromatografía resumida en la Tabla XIX se puso a metilar con solución etérea de diazometano a 0°C , siguiéndose el curso de la reacción por cromatografía de capa fina. Una vez concluida la reacción se llevó a sequedad y se percoló sobre gel de sílice 0.2-0.063mm empleando una mezcla de EP:AcEt 90:10 como eluyente, dando lugar al aislamiento de O_1 como éster metílico.

El producto O_2 se aisló como polvo amorfo de color rojo a partir de la reunión de las fracciones 15-34 de la cromatografía anterior (Tabla XIX), tras repetidas cromatografías con gel de sílice 0.2-0.063mm empleando como eluyente mezclas de EP-AcEt 75:25.

El producto O_3 cristalizó en la mezcla de elución como paralelepípedos de color rojo naranja.

La reunión de las fracciones 113-131 de la cromatografía general (Tabla XVII) después de llevada a sequedad, pesó 1.1g. y con ella se preparó una cabeza en gel de sílice 0.2-0.05 que fué cromatografiada en una columna de gel de sílice 0.2-0.063mm, empleando para su elución mezclas de EP y AcEt de polaridad creciente. El desarrollo de esta cromatografía se resume en la Tabla XX.

TABLA XX

FRACCIONES	ELUYENTE	OBSERVACIONES
1-26	E.P.-AcEt 75:25	O ₂ impuro
27-40	E.P.-AcEt 70:30	O ₂ + O ₃
41-62	E.P.-AcEt 70:30	O ₃
63-75	E.P.-AcEt 65:35	O ₃ + O ₄
76-80	E.P.-AcEt 60:40	O ₄ impuro

El producto O₃ cristalizó en la mezcla de elución, en las fracciones 41-62 y 63-75 de la cromatografía precedente.

Para aislar el producto O₄ se reunieron las fracciones 63-75 y 76-80 (Tabla XX) y con ellas se formó una cabeza con gel de sílice 0.2-0.5 que fué cromatografiado en una columna "flash" sobre gel de sílice <0,063mm eluída con Be:AcEt 70:30. Los resultados se resumen en la Tabla XXI.

TABLA XXI

FRACCIONES	ELUYENTE	OBSERVACIONES
1-6	Be-AcEt 70:30	O ₃
9-11	Be-AcEt 70:30	O ₃ + O ₄
12-20	Be-AcEt 70:30	O ₄
21-25	Be-AcEt 70:30	O ₄ impuro

El producto O₄ se aisló como un polvo rojo que no cristalizó, en las diferentes mezclas de solventes empleados.

Las fracciones 132-139 de la cromatografía general (Tabla XVII) se sometieron a una cromatografía "flash" empleando gel de sílice <0.063mm y una mez-

cla de elución de EP-AcEt 50:50, resultando cuanto se resume en la Tabla XXII

TABLA XXII

FRACCIONES	ELUYENTE	OBSERVACIONES
1-20	E.P.-AcEt 50:50	0 ₃
21-24	E.P.-AcEt 50:50	0 ₃ + 0 ₅
25-39	E.P.-AcEt 50:50	0 ₅
40-63	E.P.-AcEt 50:50	0 ₅ + 0 ₆

El producto 0₅ se aisló como polvo rojizo amorfo.

El producto 0₆ cristalizó en el eluyente de la columna. Estos cristales fueron separados de sus aguas madres y luego de ser lavados con E.P. y Cloroformo quedaron incoloros y dada su escasa solubilidad se pusieron a metilar con solución etérea de diazometano a 0°C. Una vez concluída la reacción se llevó a sequedad aislándose el producto 0₆ como su éster metílico.

En las fracciones 140-146 de la cromatografía general (Tabla XVIII) se observa la aparición de cristales de color amarillo pálido muy escasamente soluble en los solventes de uso habitual, cuando el eluyente se evaporó espontáneamente. Los cristales lavados sucesivamente con E.P., cloroformo y AcEt constituyeron el producto 0₇.

DESCRIPCION DE LOS PRODUCTOS DE LA
ORTHOSPHENIA MEXICANA STANDLEY

Producto 0₁-Celastrol.

El producto 0₁ (90 mgrs) fué obtenido de las fracciones 1-14 de la cromatografía que se resume en la Tabla XIX, identificándose como tal mediante metilación con diazometano en las condiciones habituales, obteniéndose el correspondiente metil éster que resultó coincidente en todos sus datos con la Pristimerina cuyos RMN y EM se dan a continuación.

RMN (90 MHz) 0.54(3H, s), 1.11(3H, s), 1.18(3H, s), 1.28(3H, s), 1.46(3H, s), 2.21(3H, s), 3.56(3H, s), 6.36(1H, d, J=7Hz), 6.54(1H, s ancho), 7.03, d, J=7Hz).

EM, m/z 464 (M⁺), 449, 406, 389, 292, 278, 267, 264, 254, 253, 241, 227, 225, 215, 123, 211, 209, 202, 201, 189, 135, 121, 119.

Producto 0₂-Netzahualcoyal.

Este producto fué aislado principalmente de las fracciones 15-34 de la cromatografía reseñada en la Tabla XIX. El producto 0₂ (26 mg) obtenido como polvo amorfo de color rojo no cristalizó con los disolventes empleados usualmente. $[\alpha]_D^{25} = +34,38$ (c. 3; 2, CHCl₃).

IR_{max} (KBr): 3470, 3280, 2920, 2825, 1724, 1698, 1592, 1435, 1372, 1280, 1238, 1204 cm⁻¹.

RMN (60MHz) 0.88(3H, s), 1.13(3H, s), 1.27(3H, s), 1.74(3H, s), 2.29(3H, s), 2.67(1H, s ancho), 2.85(1H, s ancho); 3.75(3H, s), 3.78(1H, señal ancha parcialmente solapada con el singulete a 3.75), 3.88(3H, s), 6.26(1H, d, J=6.5Hz), 6.62(1H, s ancho), 7.22(1H, d, J= 6.5Hz).

RMN (200 MHz) 0.82(3H, s), 1.07(3H, s), 1.23(3H, s), 1.67(3H, s), 2.24 (3H, s); 2.68(3H, m), 3.70(3H, s), 3.73(1H, señal solapada por el singulete a 3.70), 3.84(3H, s), 6.21(1H, d, J=7Hz); 6.55(1H, s ancho), 7.18(1H, d, J=7Hz).

U.V. λ_{\max} 215, 243, 254, 440 nm.

EM m/z 522(M⁺). 508, 507, 490, 475, 462, 446, 429, 369, 347, 333, 321, 319, 294, 279, 267, 241, 227, 215, 202, 201.

Calculado para C₃₁H₃₈O₇ 522,2617, observado 522,2635 (espectrometría de masas de alta resolución).

Producto O₃. Netzahualcoyona.

Este producto fué aislado preferentemente de las fracciones 41-75 de la cromatografía que se resume en la Tabla XX (520 mg) y también en otras cromatografías sucesivas a esta, dada la gran retención de este tipo de productos en las columnas cromatográficas. Esta sustancia cristaliza como pequeños paralepipedos amarillo-naranja. EP-AcEt 30-40%. P.F. 210-212°C.

IR ν_{\max} 3460, 3380, 3000, 2980, 2830, 1720, 1689, 1589, 1545, 1505, 1438, 1375, 1285, 1260, 1128, 1025 cm⁻¹.

RMN (60 MHz) 0.92(3H, s), 1.02(3H, s), 1.29(3H, s), 1.42(3H, s), 1.77(3H, s), 2.24(3H, s), 3.65(1H, s ancho), 3.78(3H, s), 4.99(1H, s ancho); 6.18(1H, d, J=7Hz), 6.55(1H, s ancho), 7.15(1H, d ancho, J=7Hz).

RMN(200 MHz) 0.93(3H, s), 1.02(3H, s), 1.30(3H, s), 1.44(3H, s), 1.78(3H, s), 2.15(1H, d, J=12Hz), 2.27(3H, s), 2.80(1H, d, J=16Hz),

3,70(1H, d, J=4Hz), 3.78(3H, s), 5.00(1H, d, J=4Hz), 6.21(1H, d, J=6.8Hz), 6.57(1H, d, J=1.3Hz), 7.06(1H, s ancho), 7.17(1H, d, J=6.8Hz).

UV λ_{max} . 214, 227, 256, 442 nm.

EM m/z 492 (M^+), 479, 371, 347, 319, 305, 294, 279, 267, 253, 241, 227, 201, 91.

Calculado para $C_{30}H_{36}O_6$ 492.2520, observado 492.2512 (espectrometría de masas de alta resolución). ^{13}C RMN ver Tabla 5 pag.66.

Producto F. Reducción de la Netzahualcoyona.

A una solución de 100 mg. (0.203 mmol) de Netzahualcoyona (O_3) en 20ml de etanol absoluto, se añadió a temperatura ambiente y con agitación, otra de 80 mg. (2.11 mmol) de $NaBH_4$ en 10 ml de etanol absoluto, observándose instantáneamente el cambio de color de naranja a amarillo muy claro, indicativo de la reducción del sistema quinónico.

A la hora y media se paró la reacción, eliminando el etanol al vacío y retomando el crudo de reacción con 100 ml de agua. Se extrajo de la forma habitual con éter etílico, y sometido a purificación por cromatografía en columna, rindió 23 mgrs. (0.046 mmol) del reducido F. (23%).

RMN (acetona d_6) (200 MHz) 1.04(3H, s), 1.40(3H, s), 1.49(3H, s), 1.52(3H, s), 1.90(3H, s), 2.23(3H, s), 3.38(2H, d, J=3.6Hz), 3.56(1H, d, J=3.7Hz), 3.79(3H, s), 4.44(1H, d, J=3.7Hz), 5.58(1H, t, J=3.6Hz), 6.84(1H, s ancho).

EM m/z 496(M^+), 481, 281, 279, 267, 253, 241, 239, 227, 213, 201, 199, 187, 149.

Producto F₁. 2,3,21 Triacetil-dihidronetzahualcoyona.

23 mgrs. (0.046 mmol) del reducido F₁ fueron tratados con anhídrido acético en piridina a temperatura ambiente y extraídos de la manera usual. Una posterior purificación por cromatografía de columna rindió 10 mgrs. (0.016 mmol) del acetato correspondiente F₁ (35%).

IR ν máx. 3680, 3590, 3010, 2920, 2850, 1760, 1725, 1595, 1465, 1428, 1365, 1300, 1180, 1145, 1115, 1075 cm^{-1} .

RMN(200 MHz) 0.88(3H, s), 1.27(3H, s), 1.31(3H, s), 1.45(3H, s), 1.70(3H, s), 2.03(3H, s), 2.07(3H, s), 2.25(3H, s), 2.30(3H, s), 3.28(2H, d, J= 3.5Hz), 3.56(1H, d, J=3.4Hz), 3.64(3H, s), 5.37(1H, t, J=3.5Hz), 5.55(1H, d, J=3.4Hz), 6.92(1H, s ancho).

UV λ máx. 206, 222 nm.

EM m/z 622(M⁺), 607, 580, 565, 545, 538, 513, 281, 279, 269, 253, 239, 227, 201, 187, 149.

Reducción y metilación de Netzahualcoyona:

A una solución de 400 mg (0.806 mmol) de Netzahualcoyona (O₃) en 10 ml de etanol absoluto se agregó, en atmosfera inerte, a temperatura ambiente y con agitación otra de 30 ml de etanol absoluto conteniendo 850 mg de NaBH₄, observándose la instantánea decoloración de la mezcla. A los 30 minutos se llevó a sequedad al vacío a fin de metilar el crudo de reacción sin la previa extracción y purificación. Habiéndose comprobado anteriormente la ineficacia del tratamiento con solución etérea de diazometano en esas condiciones, se procedió a agregar a la mezcla de la reducción 1g. de K₂CO₃, 15 ml. de acetona seca y 1 ml. de dimetil sulfato,

todo con agitación y en atmósfera de argón.

Tras calentar a reflujo durante 1 hora, la reacción continúa a temperatura ambiente durante 15 horas más. Seguidamente se llevó a sequedad a presión reducida, se añadieron 20 ml. de solución acuosa al 5% de NaOH y se extrajo con éter etílico, obteniéndose una mezcla compleja que fué sometida inicialmente a cromatografía en cromatotrón. Tras sucesivas purificaciones cromatográficas se aislan tres productos mayoritarios: 2,3,21 β -O-trimetil-dihidronetzahualcoyona (F₂), 31.2 mg. (0.058mmol, 7.2%), 2,3-O-dimetil-dihidronetzahualcoyona (F₃), 16.5 mg. (0.031 mmol, 3.7%), 2,3,21 β -O-dimetil-29-demetil-dihidronetzahualcoyona (F₄), 8.5 mg. (0.016mmol, 2.0%).

Producto F₂. 2,3,21 β -O-trimetil-dihidronetzahualcoyona.

De este producto se aislaron 31.2mg (0.058 mmol, 7.2%) como polvo blanco amorfo.

IR ν_{\max} 3538, 3000, 2920, 2842, 1726, 1720, 1590, 1483, 1460, 1430, 1370, 1345, 1308, 1245, 1150, 1190 cm^{-1} .

RMN (200 MHz) 0.87(3H, s), 1.22(3H, s), 1.29(3H, s), 1.35(3H, s), 1.70(3H, s), 3.23(2H, d, J=3.5Hz), 3.38(3H, s), 3.60(1H, d, J=3.5Hz), 3.74(3H, s), 3.81(3H, s), 3.93(1H, d, J=3.4Hz), 5.36(1H, t, J=3.5Hz), 6.67(1H, s).

UV λ_{\max} 204, 220, 283, 325 nm.

EM m/z 538(M⁺), 523, 522, 473, 413, 347, 335, 323, 309, 301, 295, 281, 269, 262, 255, 243, 241, 229, 215, 201, 187, 181, 165, 159, 135, 133, 121.

Producto F₃. 2,3-0-dimetil-dihidronetzahualcoyona.

Este producto fué aislado como polvo blanco amorfo, 16.5 mg (0.031mmol, 3,7%).

IR ν_{\max} 3542, 3000, 2921, 2845, 1718, 1710, 1640, 1592, 1484, 1460, 1448, 1430, 1372, 1309, 1273, 1246, 1150, 1082 cm^{-1} .

RMN (200 MHz) 0.92(3H, s), 1.29(3H, s), 1.33(3H, s), 1.38(3H, s), 1.69(3H, s), 2.14(3H, s), 3.23(2H, d, J=3.5 Hz), 3.48(1H, d, J=3.5Hz), 3.69(3H, s), 3.75(3H, s), 3.81(3H, s), 4.16(1H, s ancho), 5.36(1H, t, J=3.5Hz), 6.68(1H, s).

UV λ_{\max} 204, 220, 282, 320 nm.

EM m/z 524(M^+), 509, 494, 491, 307, 281, 269, 255, 241, 229, 215, 201, 165, 119.

Producto F₄. 2,3,21 β -0-dimetil-29-demetil-dihidronetzahualcoyona.

IR ν_{\max} 3536, 2997, 2920, 2846, 1718, 1596, 1485, 1460, 1442, 1371, 1283, 1250, 1230, 1152, 1090 cm^{-1} .

RMN (200 MHz) 0.88(3H, s), 1.24(3H, s), 1.29(3H, s), 1.36(3H, s), 1.72(3H, s), 2.14(3H, s), 3.26(2H, d, J=3.5 Hz), 3.39(3H, s), 3.61(1H, d, J=3.6Hz), 3.69(3H, s), 3.84(3H, s), 3.95(1H, d, J=3.6Hz), 5.37(1H, t, J=3.5Hz), 6.65(1H, s).

UV λ_{\max} 203, 220, 250, 284, 326 nm.

EM m/z 524(M^+), 509, 484, 480, 324, 298, 274, 229, 201, 182, 167.

Producto 0₄. Netzahualcoyonol.

Este producto fué obtenido de las fracciones 63-80 de la cromatografía que se resume en la Tabla XX (33mg), como un polvo amorfo de color rojo-naranja que no cristalizó en los disolventes habituales.

RMN (200 MHz) 0.80(3H, s), 1.19(3H, s), 1.24(3H, s), 1.44(3H, s), 1.68(3H, s), 2.23(3H, s), 3.69(3H, s), centrado a 4.14 y 4.19 (1H, dd, J=6Hz), 6.16(1H, d, J=6.9Hz), 6.54(1H, s, ancho), 7.14(1H, d, J=6,9Hz).

UV max 214, 235, 260, 442 nm.

EM m/z 418(M⁺), 463, 445, 431, 385, 371, 355, 347, 333, 319, 305, 294, 282, 281, 279, 267, 265, 253, 241, 227, 201, 189.

RMN(50 MHz) ¹³C Ver Tabla 5 , pag. 66.

Producto 0₅. Acido salaspérmico.

El producto 0₅ (2.6mg) se aisló de las fracciones 25-39 de la cromatografía resumida en la Tabla XXII, como precipitado blanco cristalino en el eluyente de la columna. Dada su insolubilidad, los cristales se lavaron con E.P. y cloroformo y metilaron con solución etérea de diazometano a 0°C. Después de llevar a sequedad a presión reducida se aisló el producto 0₅ como su éster metílico. P.F. 299-301°C.

RMN (200 MHz) 0.80(6H, s), 0.93(3H, s), 0.93(3H, d, J=7Hz), 1.05(3H, s), 1.16(3H, s), a 3.58 y 4.16(2H, d, J_{AB}=9Hz), 3.62(3H, s).

EM m/z 486(M⁺), 455, 428, 375, 319, 289, 249, 223, 201, 189, 169, 149, 137, 125, 107, 95, 81, 55.

IR_{max} (KBr) 3460, 2925, 2865, 1717, 1700, 1450, 1380, 1385, 1253, 1235, 1190 cm⁻¹.

Producto 0₆. Netzahualcoyondiol.

Este producto fué obtenido de las fracciones de la cromatografía que se resume en la Tabla II (40 mg.) como un sólido de color amarillo-anaranjado que no cristalizó en los disolventes normalmente utilizados.

IR $\nu_{\text{máx}}$	3680, 3590, 3560, 3000, 2920, 2850, 1595, 1505, 1450, 1435, 1285 cm^{-1} .
RMN (200 MHz)	0.82(3H, s), 1.25(3H, s), 1.33(3H, s), 1.38(3H, s), 1.68(3H, s), 2.22(3H, s), 3.49(1H, d, $J=3.3\text{Hz}$), 3.68(3H, s), 4.13(1H, d, $J=3.3\text{Hz}$), 6.12(1H, d, $J=6.9\text{Hz}$), 6.55(1H, s ancho) centrado a 7.12 y 7.16(1H, dd, $J_1=1.1\text{Hz}$ y $J_2=6.9\text{Hz}$).
UV $\lambda_{\text{máx}}$	203, 228, 255 y 440 nm.
EM m/z	494 (M^+), 479, 294, 281, 267, 257, 256, 255, 243, 241, 239, 237, 236, 227, 225, 223, 221, 217, 213, 211, 207, 206, 205, 203, 201, 199, 197, 195, 194, 193, 191, 189.
RMN(50Hz) ^{13}C	Ver Tabla 5 , pag. 66.

Reducción y acetilación de 0₆.

A una solución de 16 mgrs. (0.032 mmol) de 0₆ en 4 ml. de etanol absoluto, se añadió a temperatura ambiente, con agitación y en atmósfera inerte 21 mgrs. (0.56 mmol) de NaBH_4 en 3 ml de etanol absoluto, observándose una rápida decoloración debida a la reducción del sistema quinónico.

A los 20 minutos se detuvo la reacción, eliminando el etanol a presión reducida y extrayendo con acetato de etilo, se obtuvo un crudo de reacción al que se trató con anhídrido acético y piridina con objeto de formar el correspondiente acetato. Tras posterior purificación por cromatografía de columna se obtuvo 1.2 mg (1.9×10^{-3} mmol) de acetato (6%) que según cromatografía en capa fina comparativa y datos espectroscopicos resultó ser idéntico

al acetato del reducido de la Netzahualcoyona, F₁.

Producto 0₇: Acido orthosphénico: (0₇).

El producto 0₇ (115 mg) fué aislado de las fracciones 140-146 de la cromatografía general que se resume en la Tabla XVIII, donde precipitó directamente como cristales blanco amarillento insolubles en los disolventes habituales utilizados. P.F. 298-300 y 330°C (doble).

IR (KBr) ν_{\max} 3520, 2800, 3210, 2980, 2950, 2920, 2900, 2875, 1695, 1450, 1438, 1390, 1240, 1210, 1190, 1145, 1065, 955 cm^{-1} .

RMN (C₅D₅) 90MHz 0.85(3H, s), 0.92(3H, s), 1.15(9H, s ancho), 1.22(3H, s), 3.74(1H, d; J=9Hz), 4.22(1H, d, J=9Hz), 4.35(1H, s ancho parcialmente solapado con el doblete a 4.22).

EM m/z 488 (M⁺), 412, 189, 163, 161, 155, 149, 147, 135, 133, 125, 123, 122, 121, 119, 109.

Calculado para C₃₀H₄₈O₅ 488.3501. observado 488.3525 (espectrometría de masas de alta resolución).

Metilación de 0₇: Metil ester de Ac. orthosphénico: (0₇Me).

20 mg (0.041 mmol) de producto 0₇ fueron metilados con diazometano de la manera habitual obteniendo según datos espectroscopicos el metil ester del producto 0₇, que cristalizó en EP-AcEt 1:1, P.F. 258-260°C.

IR (KBr) ν_{\max} 3495, 3300, 2920, 2860, 1760, 1500, 1375, 1255, 1215, 1185, 1150, 1135, 1060, 1050, 980, 910 cm^{-1} .

RMN (90MHz) 0.82(6H, s), 0.91(3H, d, J=9Hz), 0.93(3H, s), 1.06(3H, s), 1.16(3H, s), 3.57(1H, d, J=9Hz parcialmente solapado con

el singulete a 3.63), 3.63(3H, s), 3.86(1H, s ancho), 4.08(1H, d, J=9Hz).

EM m/z 502(M⁺); 169, 163, 125, 121, 109.

Calculado para C₃₁H₅₀O₅ 502.3658, observado 502.3660 (espectrometría de masas de alta resolución).

RMN(50 Hz) ¹³C Ver Tabla 2 , pag. 48.

Acetato de 0₇ (0₇Ac).

25 mg (0.051 mmol) de 0₇ fué acetilado con anhídrido acético en piridina a temperatura ambiente durante 4 horas rindiendo 12 mgrs (0.023mmol) del monoacetato correspondiente (45%) y 11 mg (0.019 mmol) del diacetato. El monoacetato cristalizó en Cl₃CH con un P.F. 250-252°C y sus datos espectroscópicos son los que siguen:

IR (KBr) ν_{\max} 3650, 3100, 2920, 1740, 1450, 1370 cm⁻¹.

RMN (90 MHz) 0.86(3H, s), entre 0.91(s), 0.95(s) y 0.98(s)(12H), 2.10(3H, s), centrados a 3.64 y 4.12(2H, dd; J_{AB}=9Hz); 5.04(s, ancho).

Em m/z 530(M⁺); 412, 235, 189, 163, 161, 155, 149, 135, 125, 121.

Calculado para C₃₂H₅₀O₆ 530.3607, observado 530.3619 (espectrometría de masas de alta resolución).

El diacetato correspondiente, presentó cristales de P.F. 106-110°C y sus datos espectroscópicos son los que siguen:

IR(KBr) ν_{\max} 3600, 3000, 2920, 2860, 1730, 1450, 1380, 1250, 1230, 1140, cm⁻¹.

RMN (90 MHz) 0.84(3H, d, J=7Hz, 0.86(3H, s), 0.96(s) y 0.98(s)(9H), 1.09(3H, s), 1.99(3H, s), 2.07(3H, s), centrados a 3.74 y 4.27(2H, dd, J_{AB}=9Hz), 5.85(1H, s ancho).

EM m/z 530(M⁺-42), 412, 383, 373, 259, 235, 189, 155, 149, 147,
135, 133, 125, 121.

Calculado para C₃₂H₅₀O₆ 530.3607, observado 530.3589 (espectrometría de masas de alta resolución).

Metilación del monoacetato de O₇ (O₇MeAc).

12 mg. de monoacetato de O₇ (0.023 mmol) fué disuelto en éter etílico y esterificado con diazometano, rindiendo 11 mg (0.020 mmol) del monoacetato del metil orthosphenato (87%) el cual cristalizó en Cl₃CH. P.F. 232-234°C.

IR(KBr) ν_{max} 3420, 2910, 2850, 1740, 1720, 1450, 1380, 1370, 1250, 1220,
1135, 1040 cm⁻¹.

RMN (60-MHz) 0.83(6H, s), 0.93(3H, s), 0.94(3H, d, J=8Hz), 1.06(3H, s),
1.17(3H, s), 2.10(3H, s), 3.62(1H, d, J=9Hz), 3.64(3H, s),
4.10(1H, d, J=9Hz), 5.02(1H, s ancho).

EM m/z 544 (M⁺), 307, 279, 223, 205, 149, 83.

Calculado para C₃₃H₅₂O₆ 544.3764, observado 544.3787 (espectrometría de masas de alta resolución).

Metilación del Diacetato de O₇ (O₇Me₂Ac).

11 mg. (0.019 mmol) de diacetato de O₇, fue metilado en diazometano en las condiciones usuales, rindiendo 10 mg (0.017 mmol) del diacetato del metil orthosphenato (89%), el cual cristalizó en Cl₃CH. P.F. 144-146°C.

IR (KBr) ν_{max} 2910, 1860, 1750, 1730, 1460, 1450, 1380, 1370, 1250, 1220,
1140 cm⁻¹.

RMN (60 Mhz) 0.83(6H, s), 0.92(3H, s), 0.93(3H, s, J=9Hz), 1.06(3H, s),
1.16(3H, s), 1.98(3H, s), 2.07(3H, s), 3.64(3H, s), 3.73
(1H, d, J=11Hz), 4.27(1H, d, J=11Hz).

EM m/z: 586(M⁺); 544, 307, 298, 284, 279, 270, 223, 167.

Calculado para C₃₂H₅₀O₆ (M⁺-42) 544.3764, observado 544.3761 (espectrometría de masas de alta resolución).

RMN(50 Hz)¹³C Ver Tabla 2, pag. 48.

Acetónido del metil ester de O₇.

20 mg (0.040 mmol) de metil ester de O₇ disueltos en acetona seca con sulfato de cobre y a reflujo, rindió 18 mg (0.033 mmol) del acetónido correspondiente (82.5%); que cristalizó en Cl₃CH. P.F. 228-230°C.

IR(KBr) ν_{max} 2910, 2860, 1720, 1380, 1190, 1160, 1110 cm⁻¹.

RMN (90 MHz) 0.86(6H, s), 0.94(3H, d, J=8Hz), 0.96(3H, s), 1.08(3H, s),
1.18(3H, s), 2.76(2H, s), 3.63(1H, d, J=9Hz), 3.66(3H, s),
3.90(1H, s ancho), 4.13(1H, d, J=9Hz).

EM m/z: 502(M⁺-40); 319, 249, 189, 169, 163, 149, 135, 125, 109, 95.

Calculado para C₃₁H₅₀O₅ (M⁺-40) 502.3658, observado 502.3665 (espectrometría de masas de alta resolución).

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

- 1.- Th. Loesener. Celastraceae und Hippocrataceae in die natürlichen pflanzenfamilien; A. Engler y K. Prautl, Eds. 2nd Ed. Vol. 206, p.p 171-198. Verlag-Wilhelm Engelmann, Leipzig (1942)
- 2.- H.L.Li; Woody flora of Taiwan. p. 464, Livingstone. Narberth, Pennsylvania (1963)
- 3.- H. Scholz. Syllabus der-Pflanzenfamilien, A. Engler Ed. Vol. II. p. 292. Geb. Bomtraeger, Berlin (1964).
- 4.- Ding Hou, Flora Malesiana 6, 284 (1962); Ding Hou Flora Malesiana 6, 389 (1964).
- 5.- F. White, Forest Flora of Northern Rhodesia, p. 215 Oxford University Press., Oxford (1962)
- 6.- N.K.B. Robson, Bull. Soc. Brit. 39, 5 (1965).
- 7.- E. Palmer y N. Pitman: Trees of Southern Africa, Vol. II, p. 1271, A.A. Balkema, Cape Town (1972).
- 8.- N.K.B. Robson Celastraceae incl. Hippocrateaceae in Flora Zambesiae (A. W. Exell, A. Fernandes und H. Wilds Eds.) p. 355. Crown Agents, London (1963-1966)
- 9.- L.E. Codd, Bothalia 9, 123 (1966).
- 10.- R. Brüning y H. Wagner; Phytochemistry 17, 1821 (1978).
- 11.- G.B. Marini-Bettolo, Farmaco, Ed. Sci., 29, 551 (1974).
- 12.- P. Martinod, A. Paredes, F. Delle Monache y G.B. Marini-Bettolo. Phytochemistry 15, 562 (1976).
- 13.- F. D. Monache, G.B. Marini-Bettolo y M. Pomponi, J.C.S. Perkin I, 3127 (1979)
- 14.- F.D. Monache, G.B. Marini-Bettolo, O. Gonçalves de Lima, I.L. D'Albuquerque y J.S. de Barros Coelho. Gazz. Chim. Ital. 102, 317 (1972);

- 102, 636 (1972).
- 15.- P.M. Brown, M. Moir, R.H. Thomson, T. King, V. Krishnamoorthi y T.R. Seshardri, J.C.S. Perkin I, 2721 (1973).
- 16.- K. Nakanishi, V.P. Gullo, I. Miura, T.R. Govindachari y N. Viswanathan, J. Am. Chem. Soc. 95, 6473 (1973).
- 17.- A.G. González, C.G. Francisco, R. Freire, R. Hernández, J. A. Salazar y E. Suárez, Phytochemistry 14, 1067 (1974).
- 18.- A.G. Sneden, Journal of Natural Products, 503 (1981).
- 19.- G.C.S. Reddy, K. N. N. Ayengar y S. Rangaswami, Indian J. Chem. 14B, 131 (1976).
- 20.- J. D. Martin, Tetrahedron 29, 2997 (1973).
- 21.- A. W. Johnson, P.F. Juby, T. J. King y S.W. Tam, J. Chem. Soc, 2884 (1963).
- 22.- K. Nakanishi, Y. Takahashi y H. Budziewicz, J. Org. Chem. 30, 1729 (1965).
- 23.- K. Nakanishi, H. Kakisawa y Y. Hirata; J. Am. Chem. Soc. 3169 (1955).
- 24.- A. G. González, V. Darias, J. Boada y G. Alonso. Planta Médica; 282 (1977).
- 25.- A. R. Campanelli, M. D'Alagni y G.B. Marini-Bettolo; Febs. Lett. 256 (1980).
- 26.- E. Schewenk, Forsch, 12, 1143 (1962).
- 27.- Revista de Instituto de Antibióticos, Recife nº2, 37 (1971), Ibid nº2, 61 (1961); Ibid. Nº2, 9 (1974); Ibid. Nº2, 13 (1972); Ibid. NIEZ 17 (1969); Ibid NI 35 (1971).
- 28.- P. Arenas y R. Moreño-Azorero, Rev. Soc. Cientif. Paraguay, XVI, 21 (1976).

- 29.- J.B. Schvartzman, D.B. Krimer y R. Moreno-Azorero, Rev. Soc. Científ. Paraguay, XVI, 63 (1976).
- 30.- J.B. Schvartzman y R. Moreno-Azorero, Rev. Soc. Científ. Paraguay XIV, 69 (1974).
- 31.- N. Sainsbury y B. Webb, Phytochemistry, 11, 3541 (1972).
- 32.- T. Mazaki y M. Aritomi, J. Pharm. Soc. Japan 77, 1353 (1957).
- 33.- H.K. Desai, Ind. J. Chem. 9, 611 (1971).
- 34.- I. L. Courtney y I.S. Shannon, Tetrahedron Letters 13 (1963).
- 35.- I. L. Courtney y R. M. Gascoigne, J. Chem. Soc. 2115 (1956).
- 36.- I. S. Shannon, C.G. Macdonald y I. L. Courtney, Tetrahedron Letters, 173 (1963).
- 37.- N.C. Tewari, K. N. N. Ayengar y S. Rangaswani, J. Chem. Soc. Perkin I, 146 (1974).
- 38.- N.C. Tewari, K.N.N. Ayengar y S. Rangaswari, Curr. Sci. 40, 601 (1971).
- 39.- J. Abraham, J. Trajenek, H.P. Münzing, H.H.S. Fong y N.R. Farnsworth, J. Pharm. Sci. 50, 1085 (1971).
- 40.- F.D. Monache, G.B. Marini-Bettolo, M. Pomponi, J.F. de Mello, T.J. King y R.H. Thomson, J.C.S. Perkin I, 2649 (1979).
- 41.- A. A. Leslie Gunatilaka, N. P. Dhammika Nanayakkara y M. Uvais Sultanbawa, Tetrahedron Letters 1727 (1979).
- 42.- C. Betancor, R. Freire, A.G. González, J.A. Salazar, C. Pascard y T. Prange, Phytochemistry 1989 (1980).
- 43.- A.A. Leslie Gunatilaka, N.P. Dhammika Nanayakkara y M. Uvais Sultanbawa, J.C.S. Chem. Comm. (1979).

- 44.- D. Rogers, L. P. Frederick, S. J. Balawant y N. Viswanathan, J.C.S. Chem. Comm. 1048 (1980).
- 45.- A. A. Leslie Gunatilaka, N. Dhammika Nanayakkara y M. Uvais Sultambawa, Tetrahedron Letters 22, 1425 (1981).
- 46.- G.M. Vijaya Kumar y M. Uvais Sultambawa, Tetrahedron Letters 23, 2031, (1982).
- 47.- G. Weeratunga, V. Kumar, M. U. S. Sultanbawa y S. Balasubramaniam, J.C.S. Perkin I, 2457 (1982).
- 48.- N. I. Vizwanathan, J. C. S. Perkin I, 349 (1979).
- 49.- D. Rogers, D. J. Williams, B. S. Joshi, V. N. Kamat y N. Viswanathan, Tetrahedron Letters 63, (1974).
- 50.- A.S. R. Anjaneyulu y M.N. Rao, Phytochemistry 1163 (1980).
- 51.- H. Nozaki, H. Suzuki, K. H. Lee y T. McPhail; J. Chem. Soc. Chem. Comm. 1048 (1982).
- 52.- R.I. Geran, N.N. Grenberg, M.M. MacDonald, A.M. Schumacher y B.J. Abbot; Cancer Chemother. Rep. Part. 3 (1972).
- 53.- K.H. Lee, H. Nozaki y A.T. McPhail. Tetrahedron Letters 707 (1984).
- 54.- M. Pailer, W. Streicher y J. Leitch, Monatsh; 102, 1873 (1971).
- 55.- M. Pailer y R. Libiseller, Monatsh; 93, 403 (1962).
- 56.- O. Clauder, K. Bőjthe-Horváth y I. Hutás, Herba Hung; 8, 41 (1969); CA 72, 103666(1970).
- 57.- K. Doebel y T. Reichstein, Helv. Chim. Acta 32, 592 (1949).
- 58.- K. Sugiura, Y. Shizuri, H. Wada, K. Yamada y Y. Hirata, Tet. Lett. 2733 (1971).
- 59.- A. Klásek, F. Santavy, A. M. Duffield y T. Reichstein, Helv. Chim. Acta 54, 2144 (1971).

- 60.- A. Klásek, Z. Samek y F. Santavý, Tet. Lett. 941 (1972).
- 61.- L. Crombie, P.J. Ham y D. W. Whiting, Phytochemistry 12, 703 (1973).
- 62.- L. Dúbravková, J. Tomko y L. Dolejs, Phytochemistry 12, 944 (1973).
- 63.- K. Sugiura, K. Yamada y Y. Hirata, Tet. Lett. 113 (1973).
- 64.- Y. Shizuri, K. Yamada y Y. Hirata, Tet. Lett., 741 (1973).
- 65.- H. Wada, Y. Shizuri, K. Yamada y Y. Hirata, Tet. Lett. 2655 (1971).
- 66.- H. Wada, Y. Shizuri, K. Sugiura, K. Yamada y Y. Hirata, Tet. Lett. 3131 (1971).
- 67.- M. Beroza, J. Am. Chem. Soc. 73, 3656 (1951).
- 68.- M. Beroza, J. Am. Chem. Soc. 75, 44 (1953).
- 69.- M. Beroza, J. Am. Chem. Soc. 75, 2136 (1953).
- 70.- M. Beroza, J. Am. Chem. Soc. 74, 1585 (1952).
- 71.- H.J. Lee y G.R. Waller, Phytochemistry 11, 2233 (1972); H. J. Lee, Ph. D. Tesis, Oklahoma State University, Stillwater, 1971; Diss. Abstr. B 564 (1972).
- 72.- H. Wagner, R. Brüning, H. Lotter y A. Jones, Tetrahedron Letters 125 (1977).
- 73.- H. Ishiwata, Y. Shizuri y K. Yamada, Phytochemistry 2839 (1983).
- 74.- R.L. Baxter, L. Crombie, D.J. Simmonds y D.A. Whiting, J.C.S. Chem. Comm. 463 (1976).
- 75.- R.L. Baxter, L. Crombie, D.J. Simmonds, D.A. Whiting, O.J. Braender y K. Szendrei, J.C.S. Perkin I, 2965 (1979).
- 76.- L. Crombie, W. M. L. Crombie, D.A. Whiting y K. Szendrei, J.C.S. Perkin I, 2976 (1979).
- 77.- R.L. Baxter, W. M. L. Crombie, L. Crombie, D.J. Simmonds, D.A. Whiting y K. Szendrei, J.C.S. Perkin I, 2982 (1979).

- 78.- K. Sasaki y Y. Hirata, J.C.J. Perkin I, 1268 (1972).
- 79.- I.Q. Taylor Jr. y W.H. Watson, Acta Cryst. B33, 3176 (1977).
- 80.- Y. Shizuri, H. Wada, K. Sugiura, K. Yamada y Y. Hirata. Tetrahedron 1773 (1973).
- 81.- E. Strasburger, F. Noll, H. Schenack y A.F.W. Schimper, Tratado de Botánica, 6ª Ed. Editorial Marin S.A., Madrid (1974).
- 82.- Flora europea: Ed. T.G. Tutin, V.H. Heywood, N.A. Burges, D.M. Moore, D.H. Valentine, S.M. Walters y D.A. Webb, Cambridge (1972).
- 83.- M.G. Serranillos y F. Zaragoza, Anales Bromatología, 180 (1979)
- 84.- D. Bramwell y Z. Bramwell, Wild Flowers of the Canary Islands. Ed. Cabildo Insular de Tenerife. Islas Canarias, España (1974).
- 85.- L. Ceballos y F. Ortuño, Vegetación forestal de las Canarias occidentales; Instituto forestal de investigaciones y experiencias. Madrid (1951).
- 86.- J. Pitard y L. Proust, Les Iles Canaries, Flores de l'Archipel., Ed. Paul Klineksieck, Librairie des Sciences Naturelles, Paris (1909).
- 87.- Información suministrada por el Departamento de Botánica de la Facultad de Biológicas. Universidad de La Laguna.
- 88.- Comunicación privada de la licenciada Dña. Isabel López Bazzochi.
- 89.- K.F.P. Martius, Flora Brasiliensis XI, 1, p.4, Ibid. XI, 1 p.5 (1840-1906).
- 90.- J. Rzedowsky; Ciencia, México, 16, 139 (1957).
- 91.- E.D. De García Paula; C.A. 58, 9414 (1963).
- 92.- A. Getahun y A.D. Krikorian, Econ. Bot., 27, 353 (1973).

- 93.- B. Tursch, R. Savoie, R. Ottinger, G. Chiurdoglu, *Tetrahedron Letters* 539 (1967).
- 94.- G. Stork, S. Uyeo, T. Wakamatsu, P. Grieco, J. Lapowitz, *J. Am. Chem. Soc.* 93, 4945 (1971).
- 95.- E. Wenkert, G.V. Baddeley, I.R. Burfitt, L.N. Moreno, *Org. Magnetic Resonance*, 11, 337 (1978).
- 96.- A.G. González, J.A. Amaro L., B.M. Fraga, J. Gutierrez L., *Phytochemistry* 1828 (1983).
- 97.- H.C. Brown y P. Geoghegan Jr., *J. Am. Chem. Soc.* 1522 (1967)
- 98.- J.M. Allison, W. Lawrie, J. MacLean, G.R. Taylor, *J. Chem. Soc. C.*, 3353 (1961).
- 99.- J. M. Allison, W. Lawrie, J., J. MacLean, J. M. Beaton. *J. Chem. Soc. C.*, 5224 (1961).
- 100.- S.P. Adhikary, W. Lawrie, J. McLean, *J. Chem. Soc. C.*, 1030 (1970).
- 101.- S.P. Adhikary, W. Lawrie, J. McLean, M.S. Malik, *J. Chem. Soc., C.*, 32, (1971).
- 102.- C. Djerassi, H. Budzikiewicz, J.M. Wilson, *J. Am. Chem. Soc.*, 85, 3688 (1963).
- 103.- P. de Mayo, *Molecular rearrangements*, pag. 813-840, Vol. 2. Interscience Publishers, New York (1963).
- 104.- M. Tori, R. Matsuda y Y. Asakawa, 167, *Chem. Lett.* (1975)
- 105.- F. Bohlman y J. Jakupovic., *Phytochemistry*, 1189 (1979).
- 106.- W.H. Hui y M.M. Li, *Phytochemistry*, 561 (1976).
- 107.- H.T. Cheung y D.G. Williamon, *Tetrahedron* 119 (1969).
- 108.- H. Budzikiewicz, C. Djerassi y D.H. Williams, *Structure elucidation of natural products by mass spectrometry*. Holden Day, Londres 1964.

- 109.-J. D. Martín, *Tetrahedron* 29, 2997 (1973).
- 110.-S.M. Kupchan, A. Karin y C. Marcks; *J. Am. Chem. Soc.*, 90, 5923(1968).
- 111.-S.M.Kupchan, A. Karin y C. Marcks; *J. Org. Chem.* 34, 3915(1969).
- 112.-T. Miyase, P. Rüedi y C.H. Engster; *Helv. Chim. Acta* 2789(1977).
- 113.-P.Rüedi y C.H. Engster; *Helv. Chim. Acta*, 1994(1972).
- 114.-Y.P.Brown, A. Robertson, W.B. Whalley y N.J. Cartwright; *J. Chem.Soc.* 867 (1949).
- 115.-J.F.W. McOmie, M.S.Tute, A.B. Turner y B.K. Bullimore; *Chem. and Ind.*; 1689 (1963).
- 116.-J.C.Roberts y C.W.H. Warren; *J. Chem. Soc.* 2992(1955).
- 117.-D.H.R.Berton y J.B. Hendrickson; *J. Chem. Soc* 1028(1956).
- 118.-R.Robinson, *Bull. Soc. Chim. France*, 125(1958).
- 119.-I.L. Bazzochi; Memoria para grado Licenciatura; Universidad de La Laguna. Fac. Farmacia, Julio 1982.
- 119.-A.G.González; J.L. Bretón y B.M. Fraga; *Anales Quím*, 709(1972).
- 121.-A.G.González; B.M.Fraga, P. González y A.G.Ravelo; *Phytochemistry* 427 (1976).
- 122.-A.S.N. Starrat, *Phytochemistry*, 1341(1966).
- 123.-P.A.H.Taylor, *J. Chem. Soc. C.*; 490 (1967).
- 124.-N.I.Viswanathan, *J.C.S. Perkin I*, 349(1979).
- 125.-A.G.González, B.M.Fraga, P.González, C.M.González, A.G.Ravelo; E.Ferrero, X.A. Domínguez, M.A. Martínez, A. Perales y J. Fayos; *J.Org. Chem.* 48,3759 (1983).
- 126.-A. Patra; A.K.Mukhopadhyay y A.K.Mitra.*Org. Mag. Ressonance* 166 (1981).

- 127.- A. Patra, A.K. Mukhopadhyay y A. K. Mitra; Org. Mag. Ressonance, 166 (1981).
- 128.- P.A. Ramaiah, P.U. Devi, F. Frolow y D. Lavie; Phytochemistry 2251, (1984).
- 129.- M. Crawford, S.W. Hanson y M.E.S. Koker; Tetrahedron Letters 3099 (1975).
- 130.- A.S.R. Anjaneyulu y M.N.Rao; Phytochemistry 1163 (1980).
- 131.- C.W. Picard y F.S. Spring; J. Chem. Soc; 1198 (1940).
- 132.- V.W. Ahmad, S. Bano, W. Voelter y W. Fuchs; Tetrahedron Letters 22, 1715 (1981).
- 133.- U.V. Ahmad, S. Bano, W. Voelter y W. Fuchs; Z. Naturforsch 1675(1982).
- 134.- G.H. Stout y K.L. Stevens; J. Org. Chem. 1259 (1963).
- 135.- S.R. Hall y E.N. Muslen; Acta Cryst 265 (1965).
- 136.- A.G. González, J.L. Bretón y B.M. Fraga; Anal. Quím, 709(1972).
- 137.- A.J. Free, R.W. Read, E. Ritchie y W.C. Taylor; Aust. J. Chem. 695 (1976).
- 138.- Gentileza del Dra. B.M. Fraga.
- 139.- N.K. Hart, S.R. Johns y J.A. Lambertson; Aust. J. Chem. 21, 1321(1968).
- 140.- H. Budzikiewicz, A. Romer y K. Taraz; Z. Naturforsch; 800 (1972).
- 141.- Y. Shizuri; H. Wada, K. Sugiura, K. Yamada y Y. Hirata; Tetrahedron 1773 (1973).
- 142.- Y. Shizuri, H. Wasa, K. Yaurada y Y. Hirata; Tetrahedron 1795 (1973).
- 143.- Estamos muy agradecidos al Profesor Yamada, por su rápida y generosa ayuda en forma de muestras de octaacetato de isoeuonyminol y octaacetato de euonyminol 2 mg. de cada.

- 144.- Q.N. Parter y J. Baldas "Mass Spectrometry of Heterocyclic Compounds"
Wiley-Intersciences, New York (1971).
- 145.- R. Benr y H. Günther; *Angew Chem. Int. Ed. Eng.* 350(1983).
- 146.- C.M. González Gómez. Tesis Doctoral, Facultad de Farmacia, Marzo 1985.
- 147.- G.M. Kamal, B. Gunaheralh y A.A. Leslie-Gunatilaka; *J. Chem. Soc. Perkin I*, 2845 (1983).
- 148.- A.G. González, B.M. Fraga, P. González, C.M. González, A.G. Ravelo, E. Ferro, X.A. Dominguez, M.A. Martínez; A. Perales y Y. Fayos; *J. Org. Chem.* 48, 3759. (1983).
- 149.- R. Harada, H. Kakisawa, S. Kobayashi, M. Musya, K. Nakanishi y Y. Tokohashi; *Tetrahedron Letters*, 603 (1962).
- 150.- El nombre fue elegido a petición del Dr. X.A. Dominguez (Instituto Tecnológico de Monterrey, México) que nos suministró el material vegetal.
- 151.- A.G. González, B.M. Fraga, C.M. González, A.G. Ravelo, E. Ferro, X.A. Dominguez, M.A. Martínez, J. Fayos, A. Perales y M.L. Rodríguez. *Tetrahedron Letters* 3033 (1983).
- 152.- K. Nakanishi, V.P. Gullo, I. Miura, T.R. Gorindachari y N. Viswanathan. *J. Am. Chem. Soc.* 6473(1973).
- 153.- J.P. Kutney, N.M. Boada, P.J. Salisbury, K.L. Stuart, B.R. Warth, P.M. Townsley, W.T. Chalmers, K. Nilson y G.G. Jacoli; *Phytochemistry* 653 (1981).
- 154.- G.M. Kamal, B. Gunaherath y A.A.L. Gunatilaka; *Tetrahedron Letters* 2799 (1983).

155.- Agradecemos al Dr. B. M. Fraga la valiosa discusión sobre el tema.

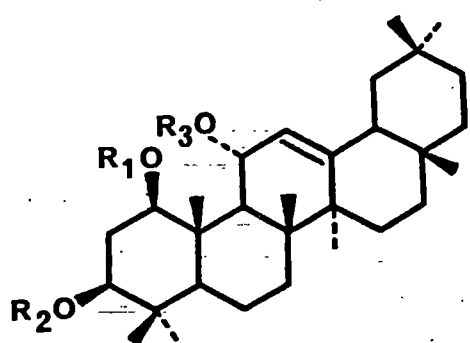
156.- F. Ionescu, S.D. Jolad, J.R. Cole, S.K. Arora, R.B. Bates; *J. Org. Chem.* 42, 1626 (1977).

C O N C L U S I O N E S

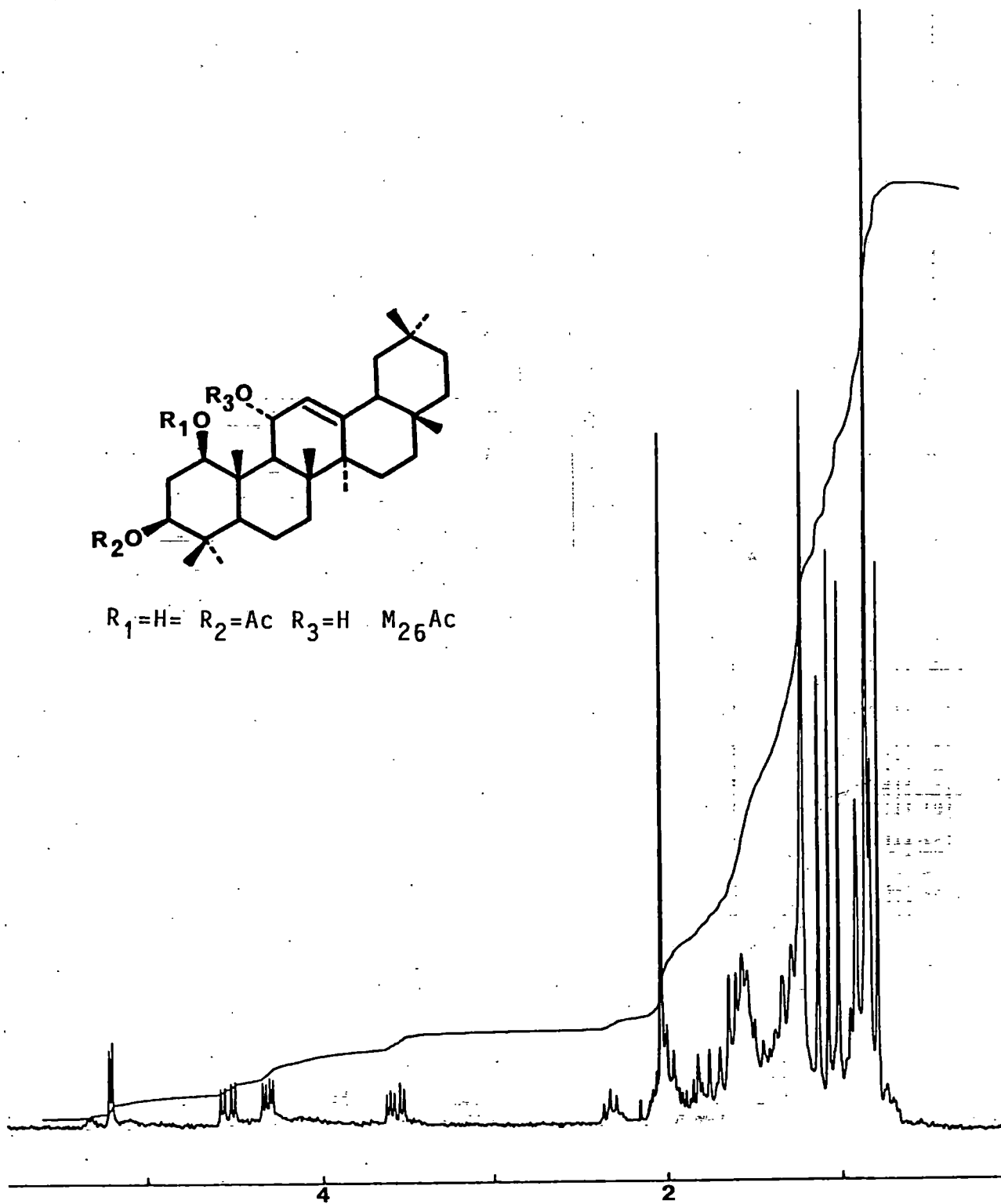
- 1º) Se aislan e identifican β -amyrina, ácido oleanólico, lupeol y ácido betulínico como triterpenos mayoritarios del extracto etanólico de la raíz del *Maytenus aquifolium*.
- 2º) Se realiza la síntesis parcial del nuevo producto aislado anteriormente en nuestro laboratorio, el ácido 3-oxo,20-hidroxi-lup-28-oico, a partir del ácido betulínico.
- 3º) De los extractos de la raíz del *Maytenus horrida* se aislan y establecen las estructuras de los nuevos triterpenos, 1β , 3β , 11α -trihidroxi-olean-12-eno, 3β ,29-dihidroxi-glutin-5-eno y el ácido 6 β -hidroxi-orthosphénico.
- 4º) Se ha aislado una nueva nor-triterpeno quinona, con esqueleto reagrupado de pristimerina y doble enlace adicional al que por ser cabeza del nuevo esqueleto se le denomina Netzahualcoyeno.
- 5º) Se aísla un alcaloide macrocíclico para el que proponemos el nombre de Horridina y que presenta un nuevo esqueleto de isoeuonyminol.
- 6º) Basándonos en datos de resonancia carbono-protón, se asigna por primera vez los valores de C^{13} RMN de este tipo de alcaloides.
- 7º) Se aísla por primera vez de la naturaleza el 3-oxo-olean-9(11),12-dieno.
- 8º) Se aislan e identifican los productos ya conocidos, lupeol, germanicol, 3β -hidroxi-olean-9(11)-12-dieno, nivadiol, friedelina, 3-oxo-friedo-olean-29-ol, 3-oxo-friedo-olean-29-al, ácido-3-oxo-friedo-olean-29-oico (ácido polpunónico), 3β , 11α -dihidroxi-olean-12-eno, β -amyrina, pristimerina, tingenona, 20-hidroxi-tingenona y dulcitol.

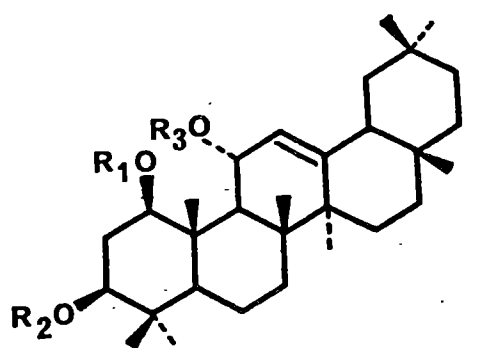
- 9º) Del extracto etereo de la raiz de la *Orthosphenia mexicana* se obtienen las nuevas quinonas con esqueleto de Netzahualcoyeno: Netzahualcoyona, Netzahualcoyonaol, Netzahualcoyondiol y Netzahualcoyol.
- 10º) Un nuevo ácido con agrupamiento hemiacetalico el ácido Orthosphenico.
- 11º) Los ya conocidos celastrol y ácido salaspérmico.
- 12º) A partir de los productos aislados de estas Celastraceas se describe una ruta biosintética y se apoya con estudios de otros autores.
- 13º) Se realiza un estudio espectroscópico de las nuevas sustancias aportándose datos de ^{13}C RMN de productos con esqueleto de glutinano y otros.
- 14º) Se observa una importante relación quimiotaxonómica entre el *M. horrida* Celastracea y algunas Labiadas.

A P E N D I C E

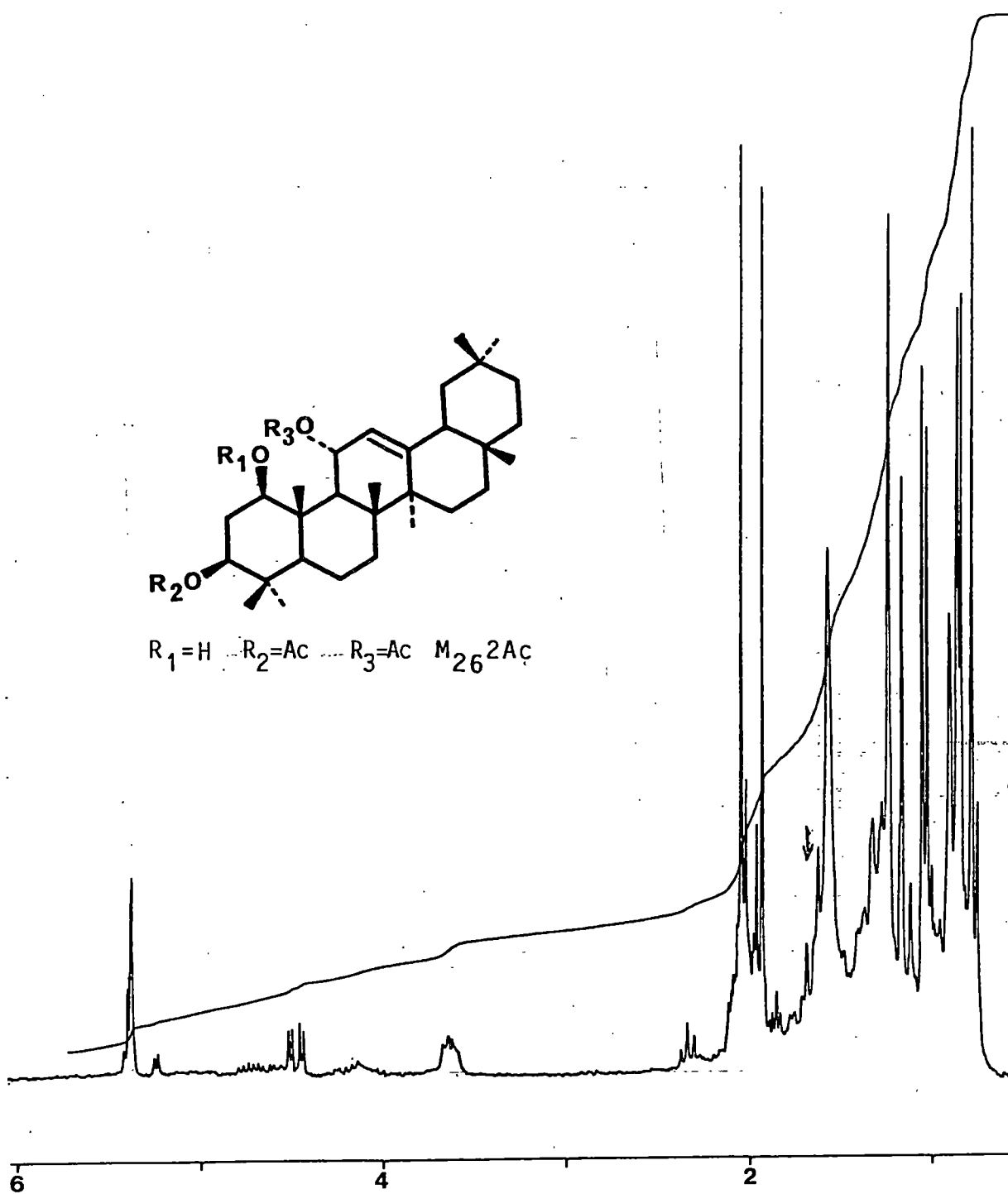


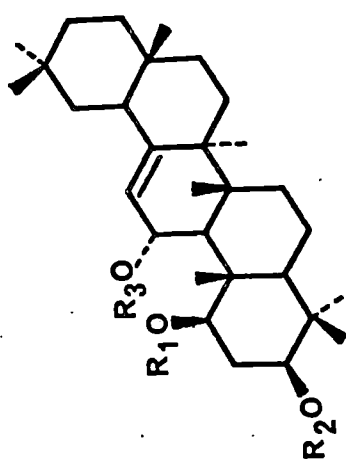
R₁=H= R₂=Ac R₃=H M₂₆Ac



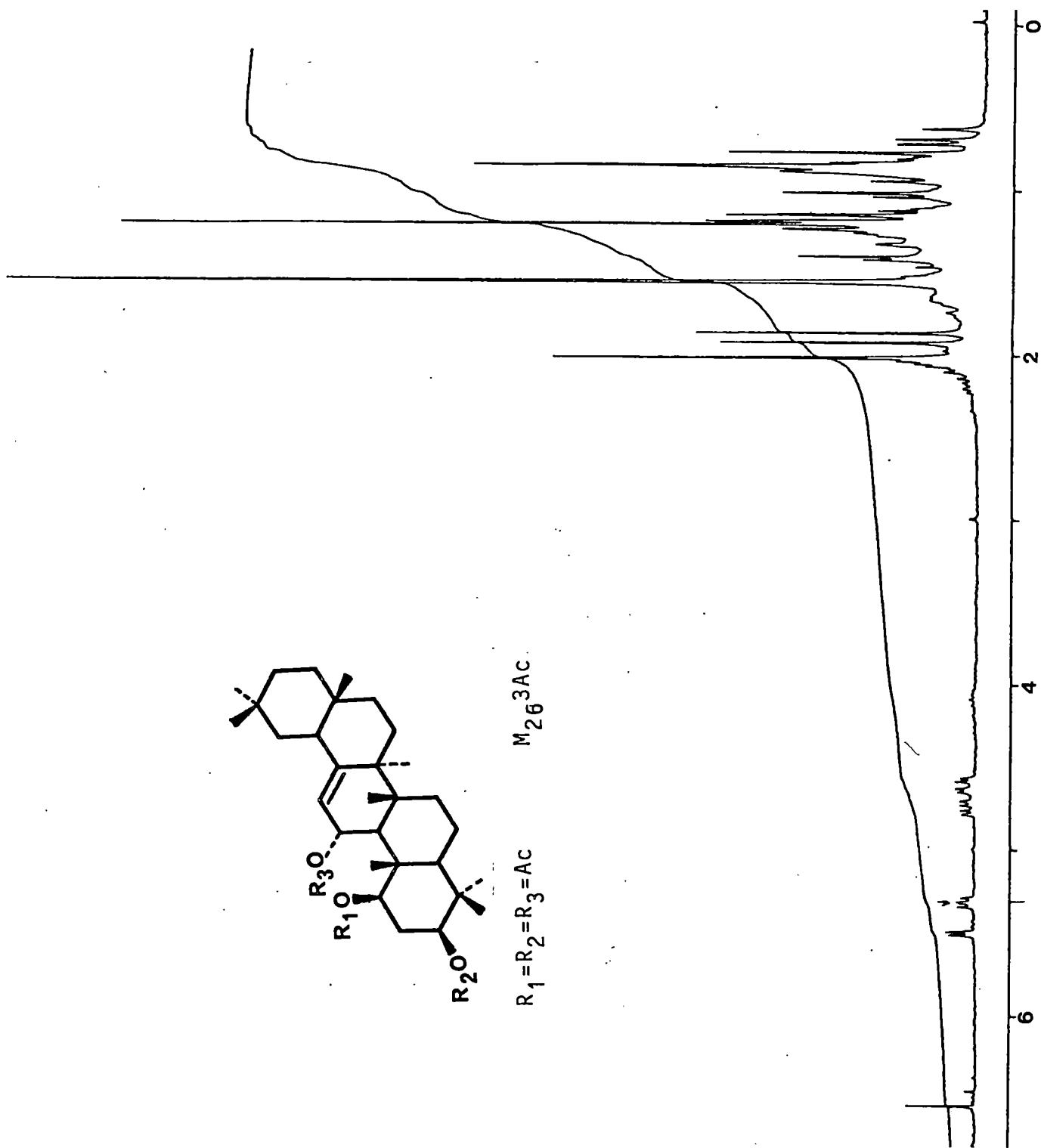


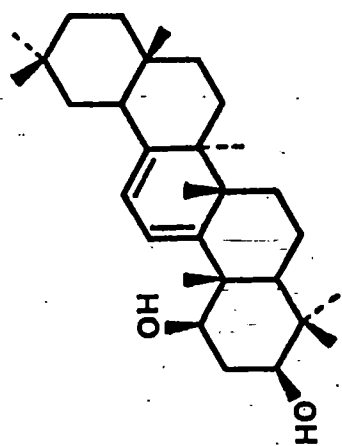
$R_1 = H$ $R_2 = Ac$ $R_3 = Ac$ $M_{26} 2Ac$



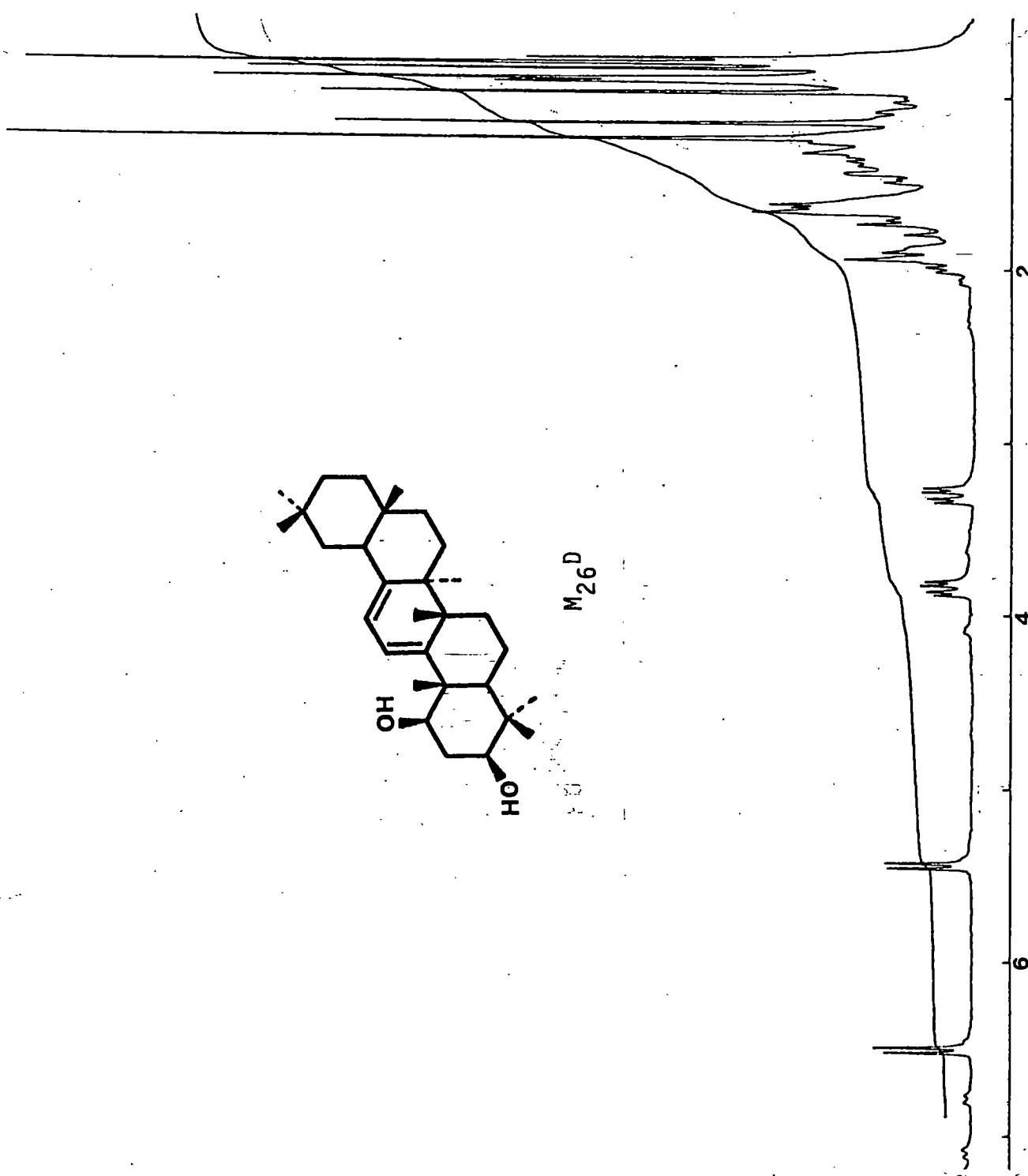


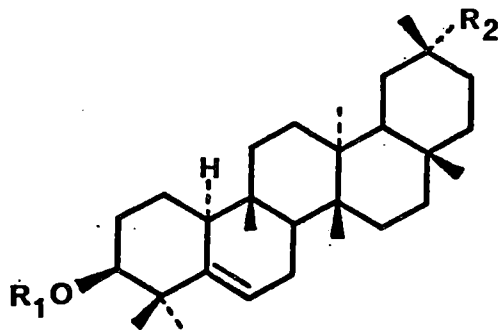
$R_1 = R_2 = R_3 = \text{Ac}$ $M_{26}3\text{Ac}$



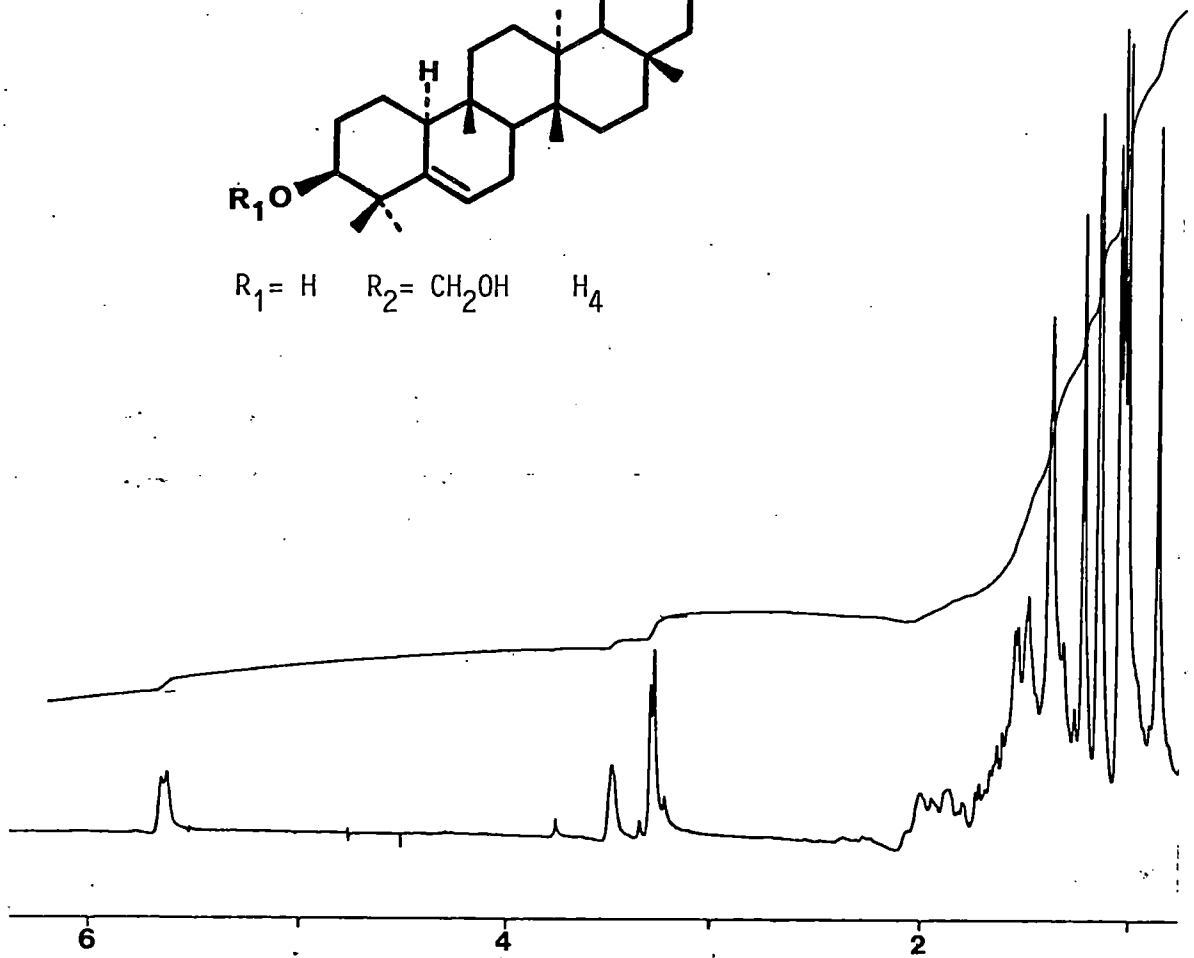


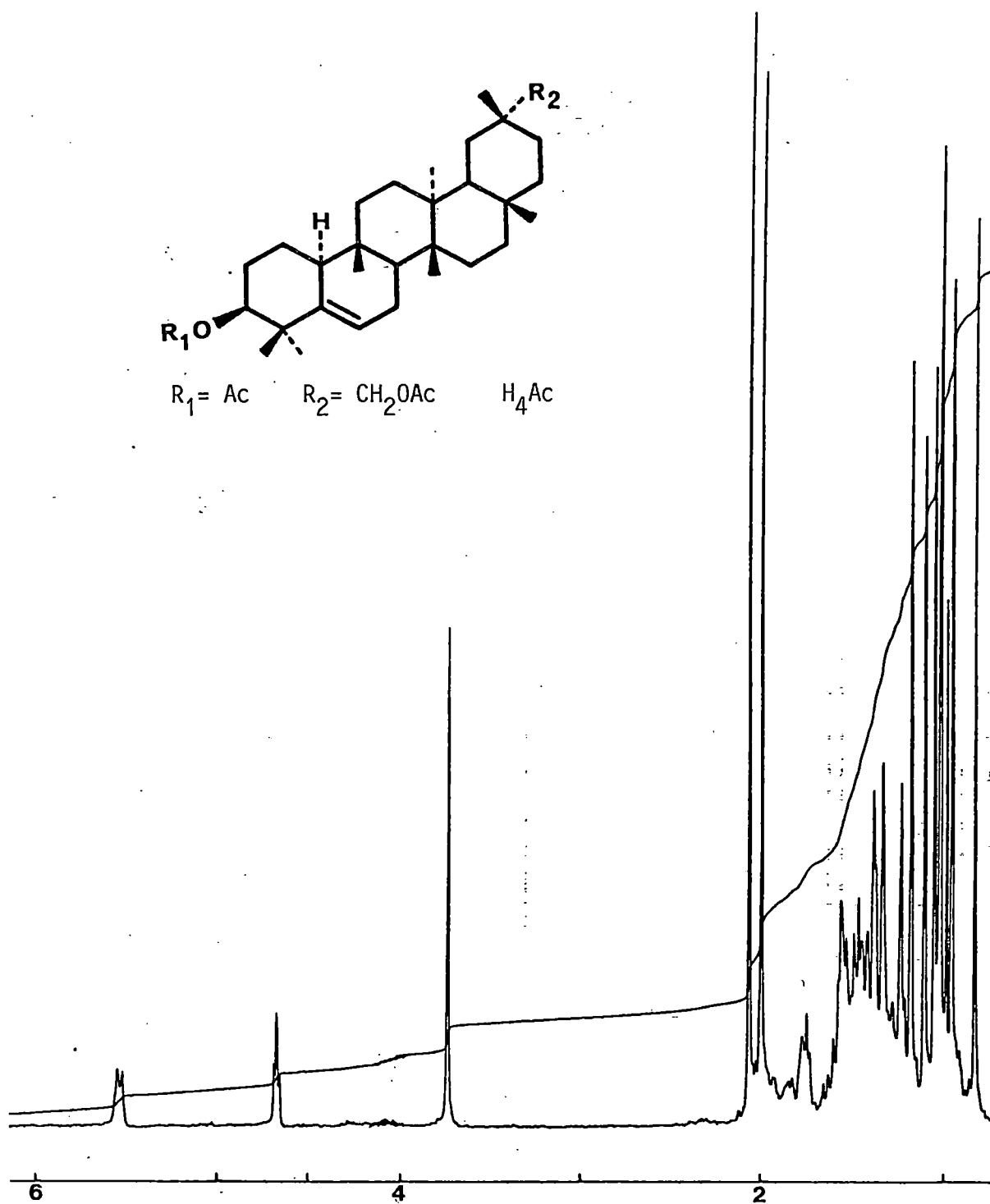
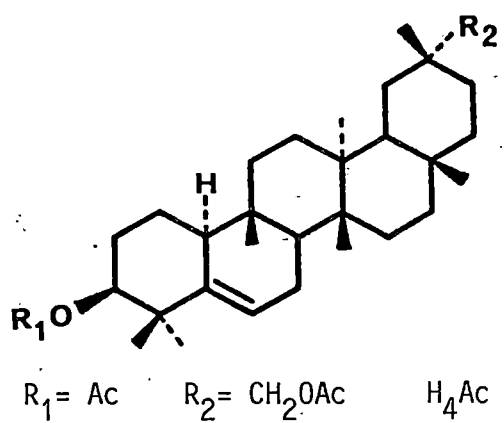
M₂₆D

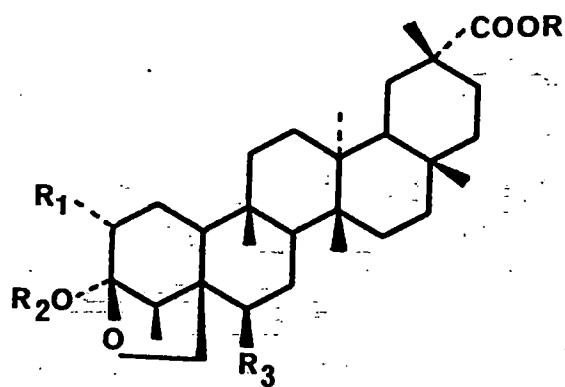




$R_1 = H$ $R_2 = CH_2OH$ H_4

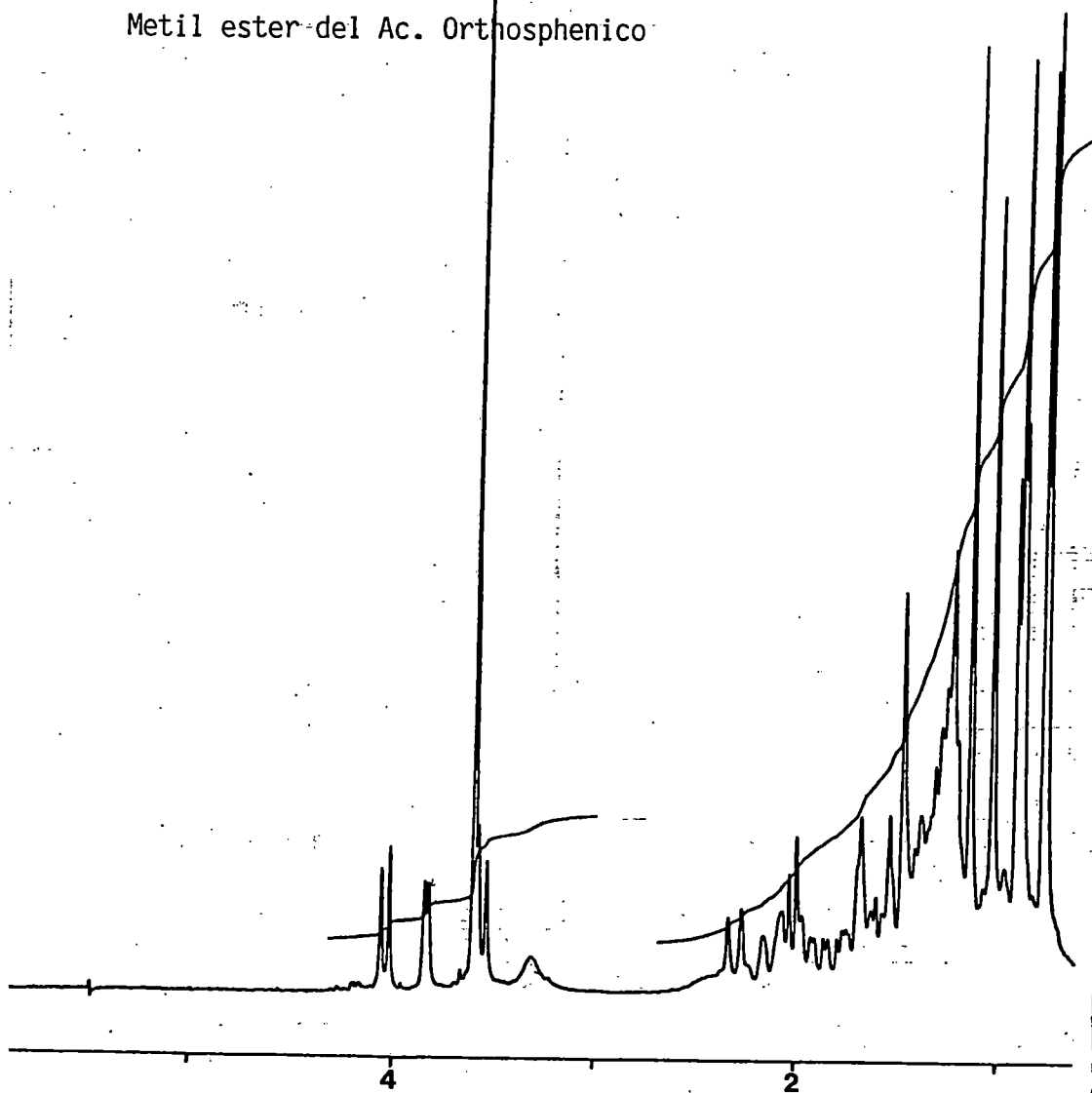


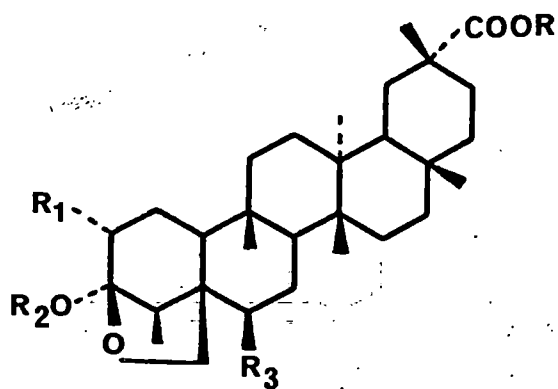




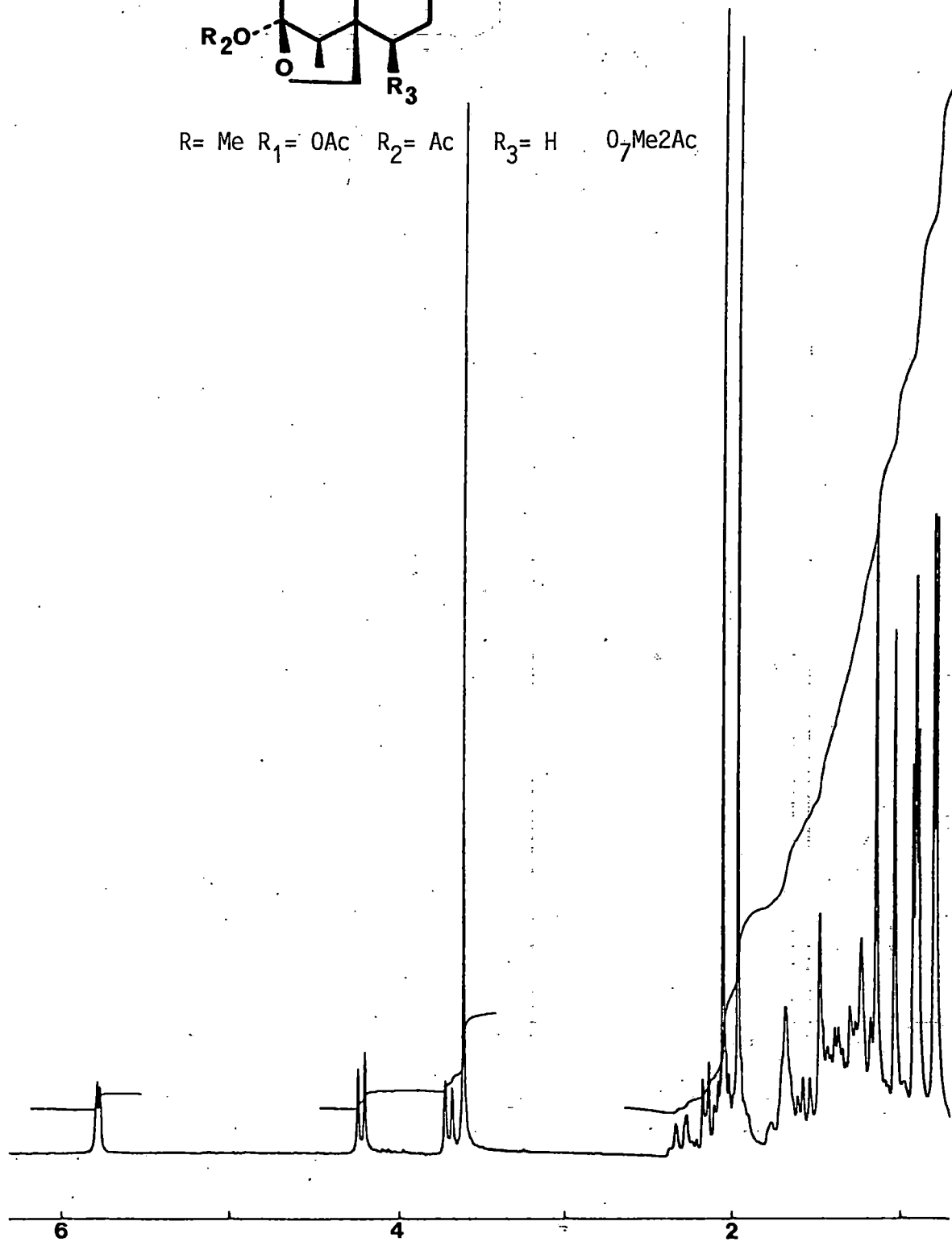
$R = Me$ $R_1 = OH$ $R_2 = H$ $R_3 = H$

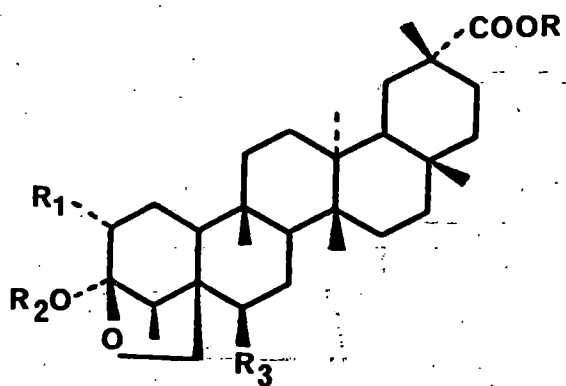
Metil ester del Ac. Orthosphenico



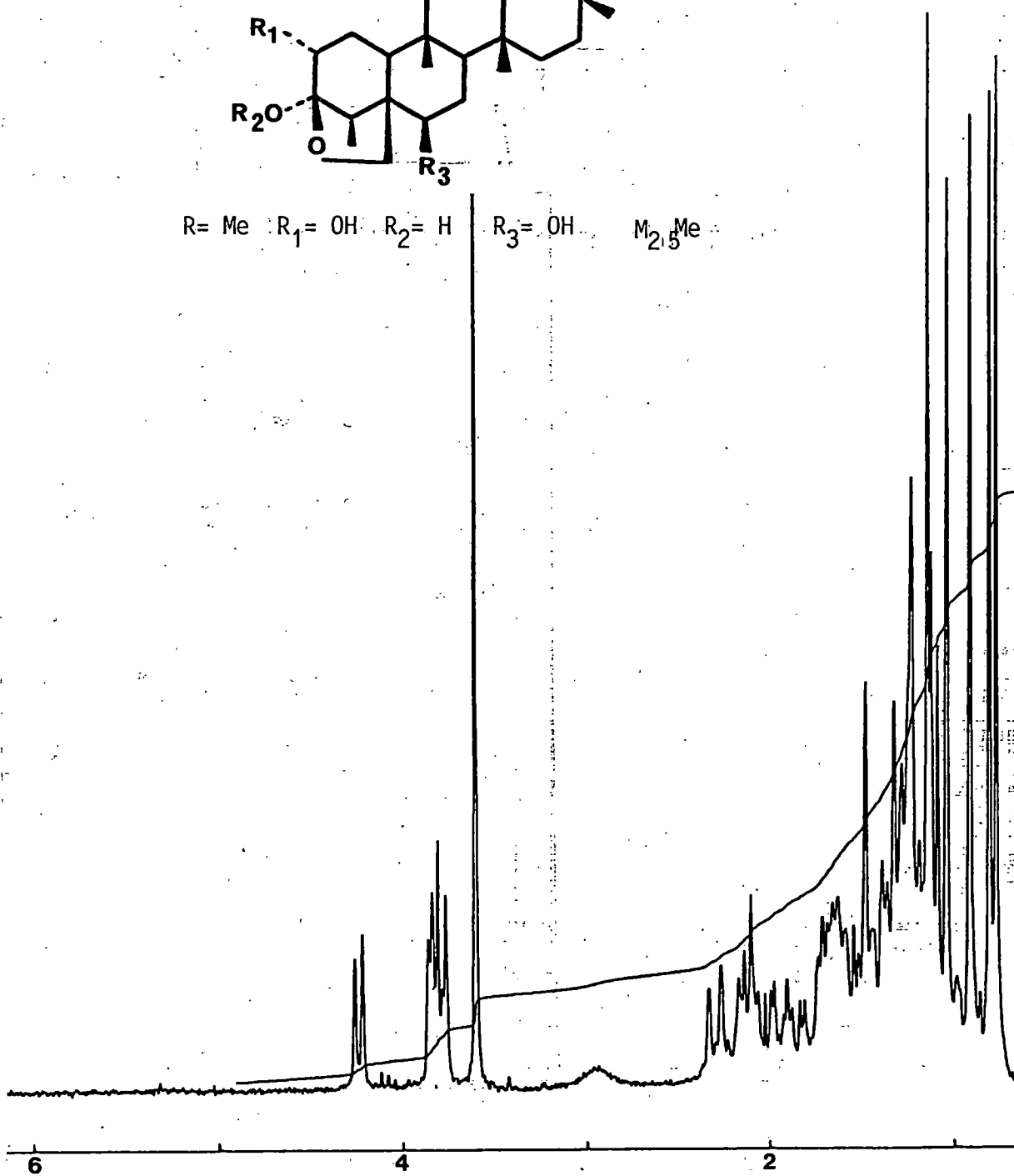


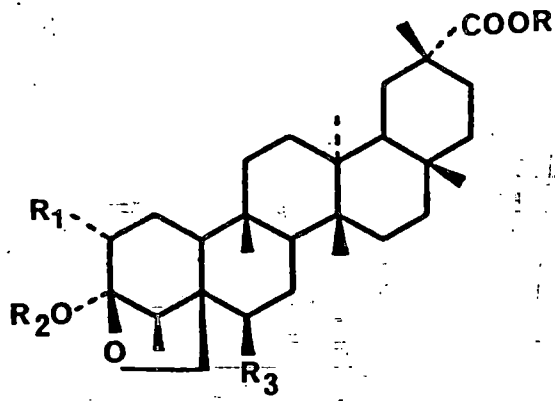
R = Me $R_1 = OAc$ $R_2 = Ac$ $R_3 = H$ O_7Me_2Ac





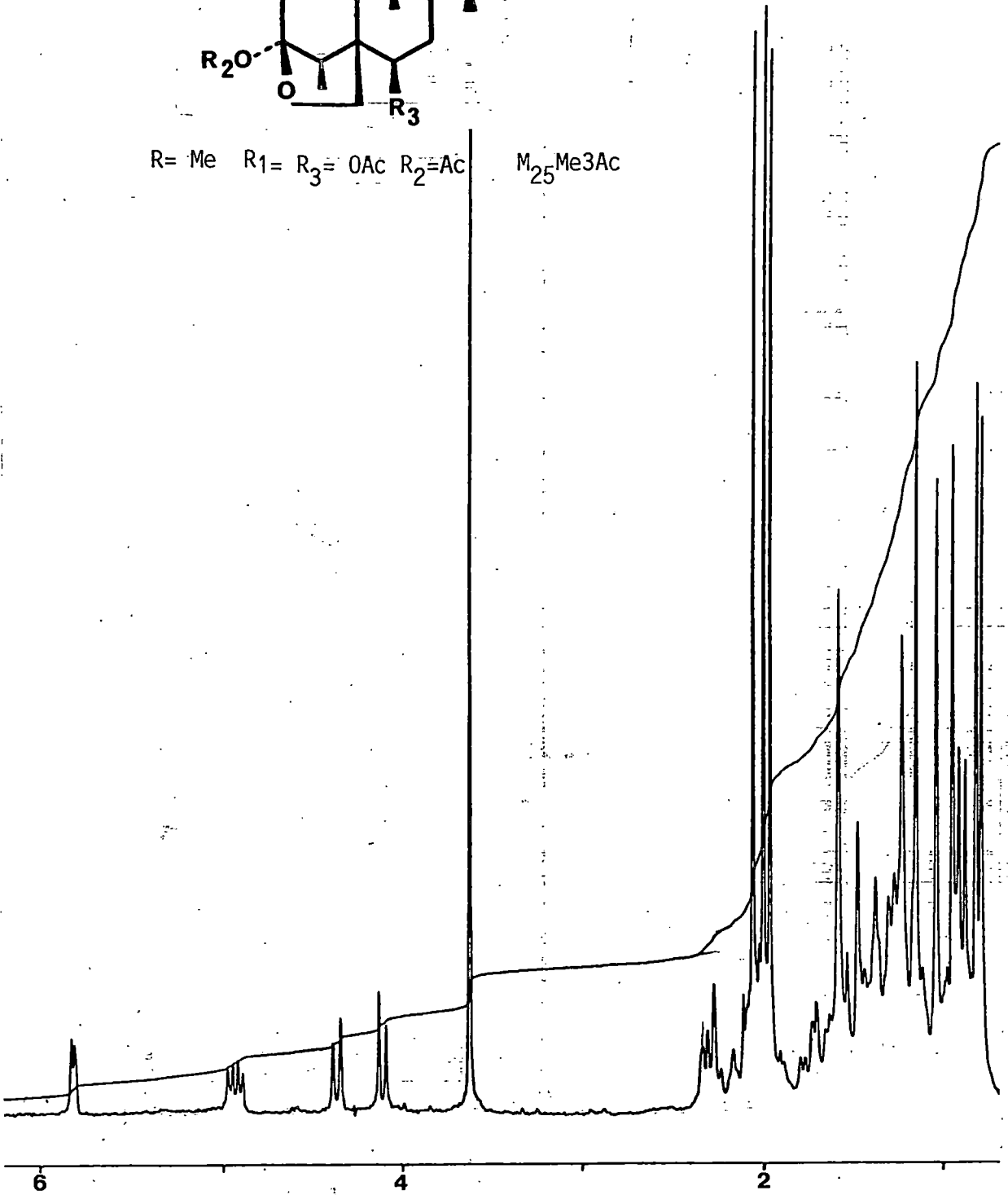
R = Me R₁ = OH R₂ = H R₃ = OH M_{2,5} = Me

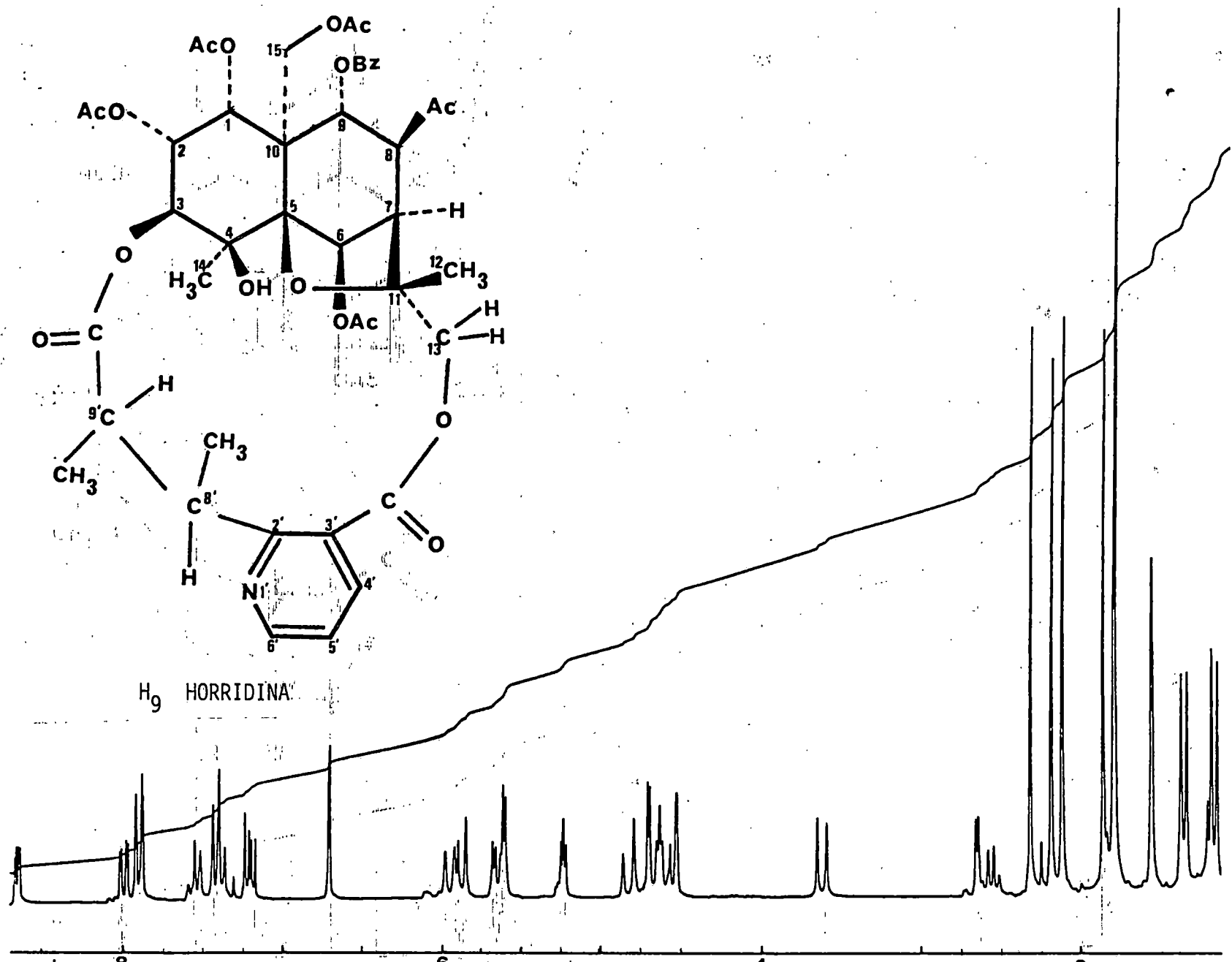




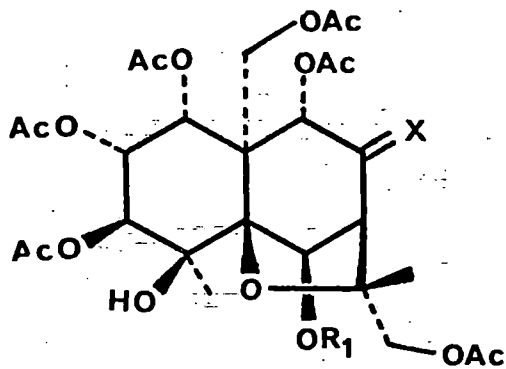
R = Me R₁ = R₃ = OAc R₂ = Ac

M₂₅Me3Ac

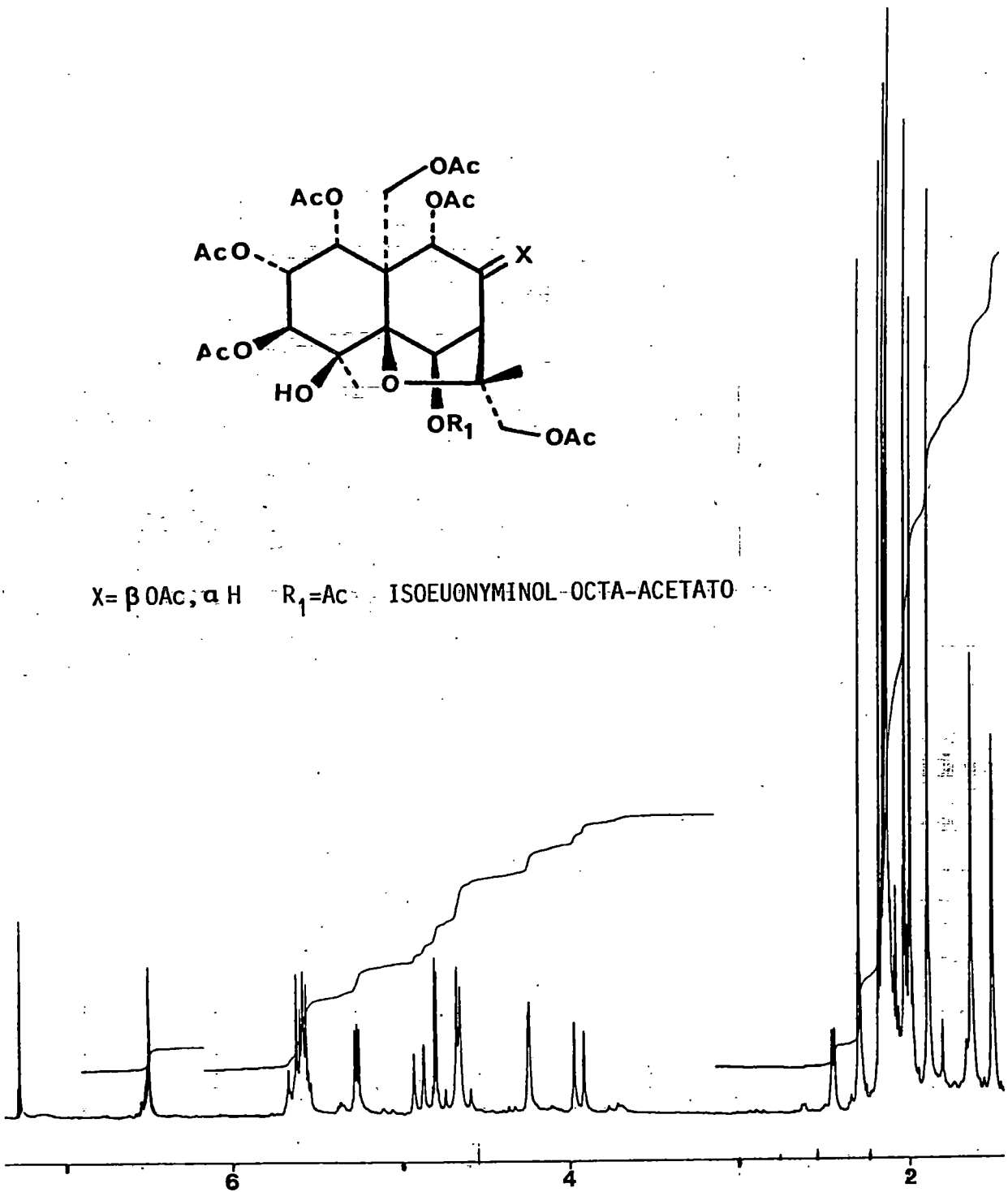


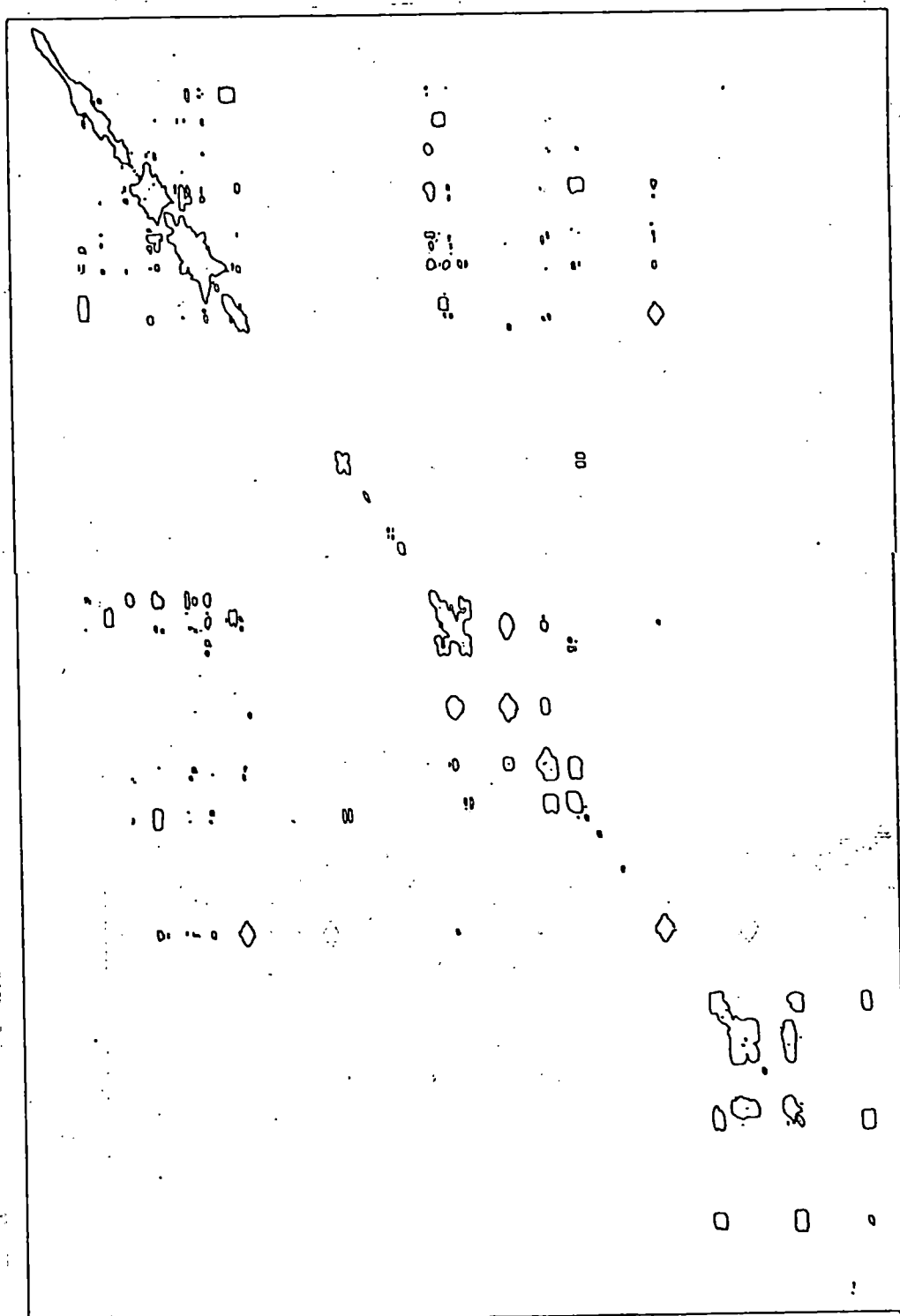


H₉ HORRIDINA

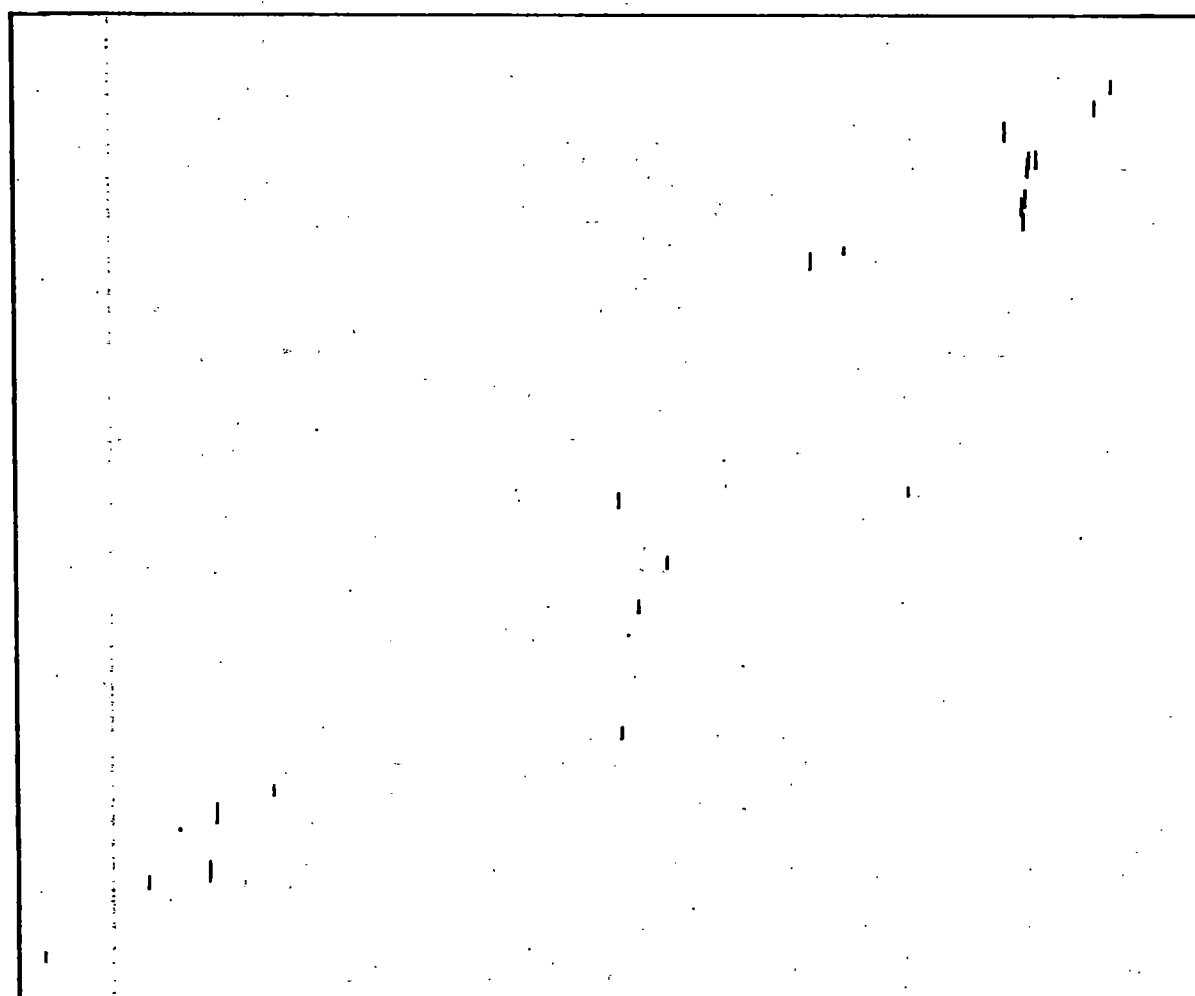


$X = \beta \text{ OAc}, \alpha \text{ H}$ $R_1 = \text{Ac}$ ISOEUONYMINOL-OCTA-ACETATO

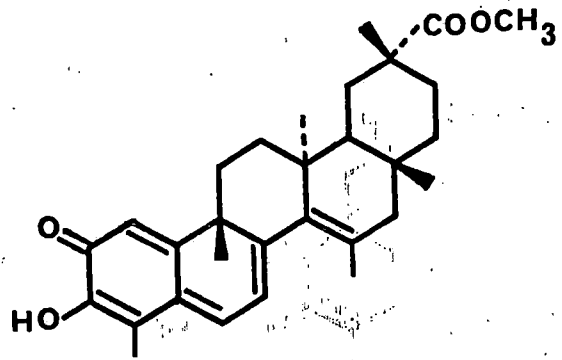




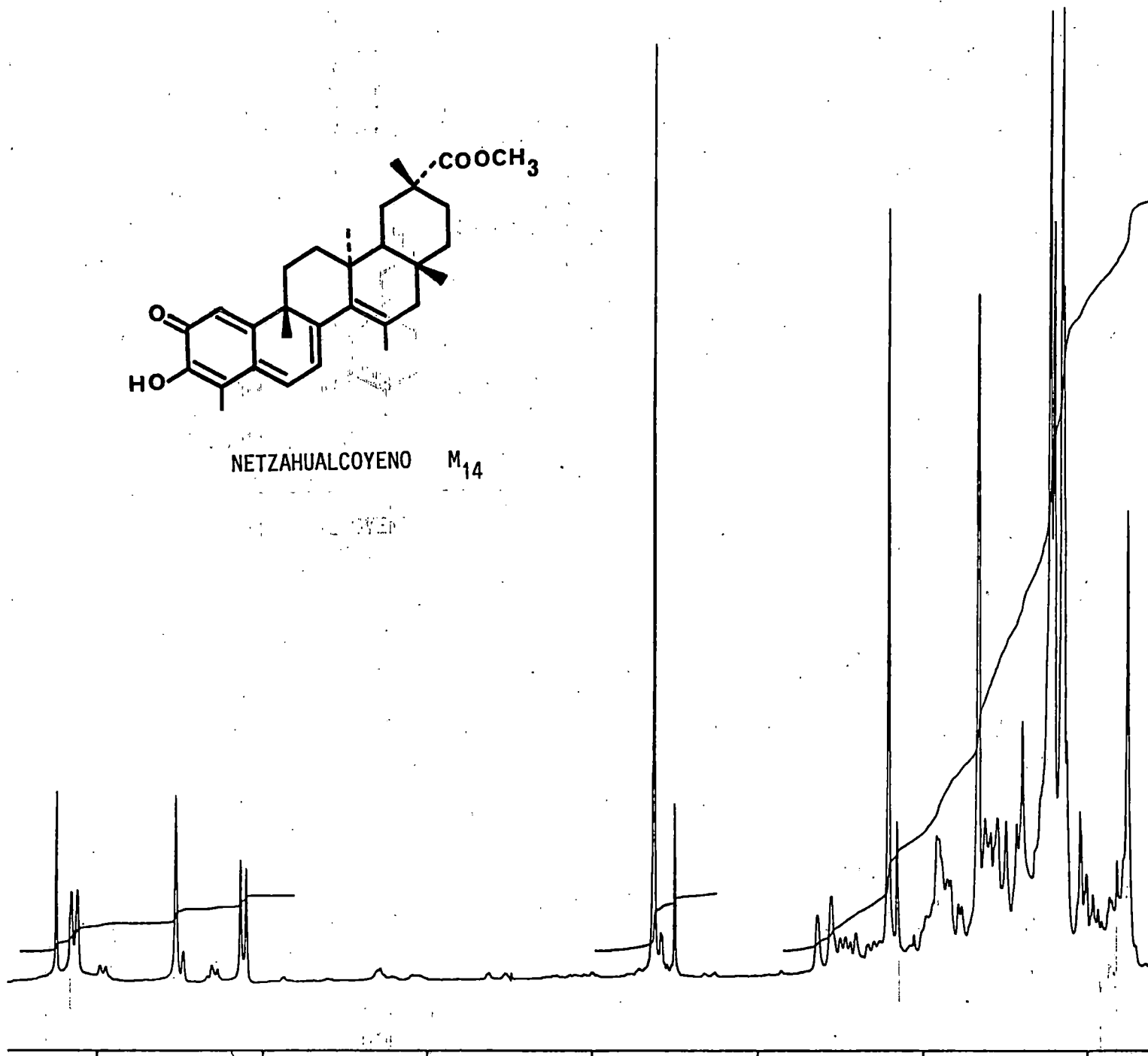
COSY H₉ HORRIDINA

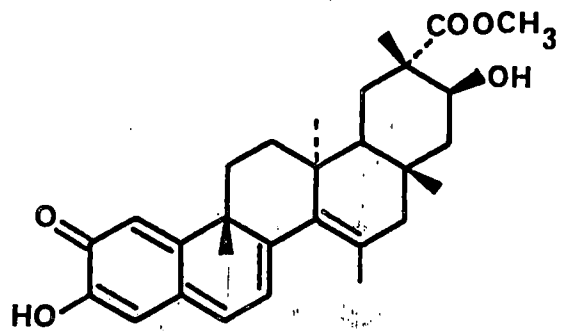


H₉ HORRIDINA

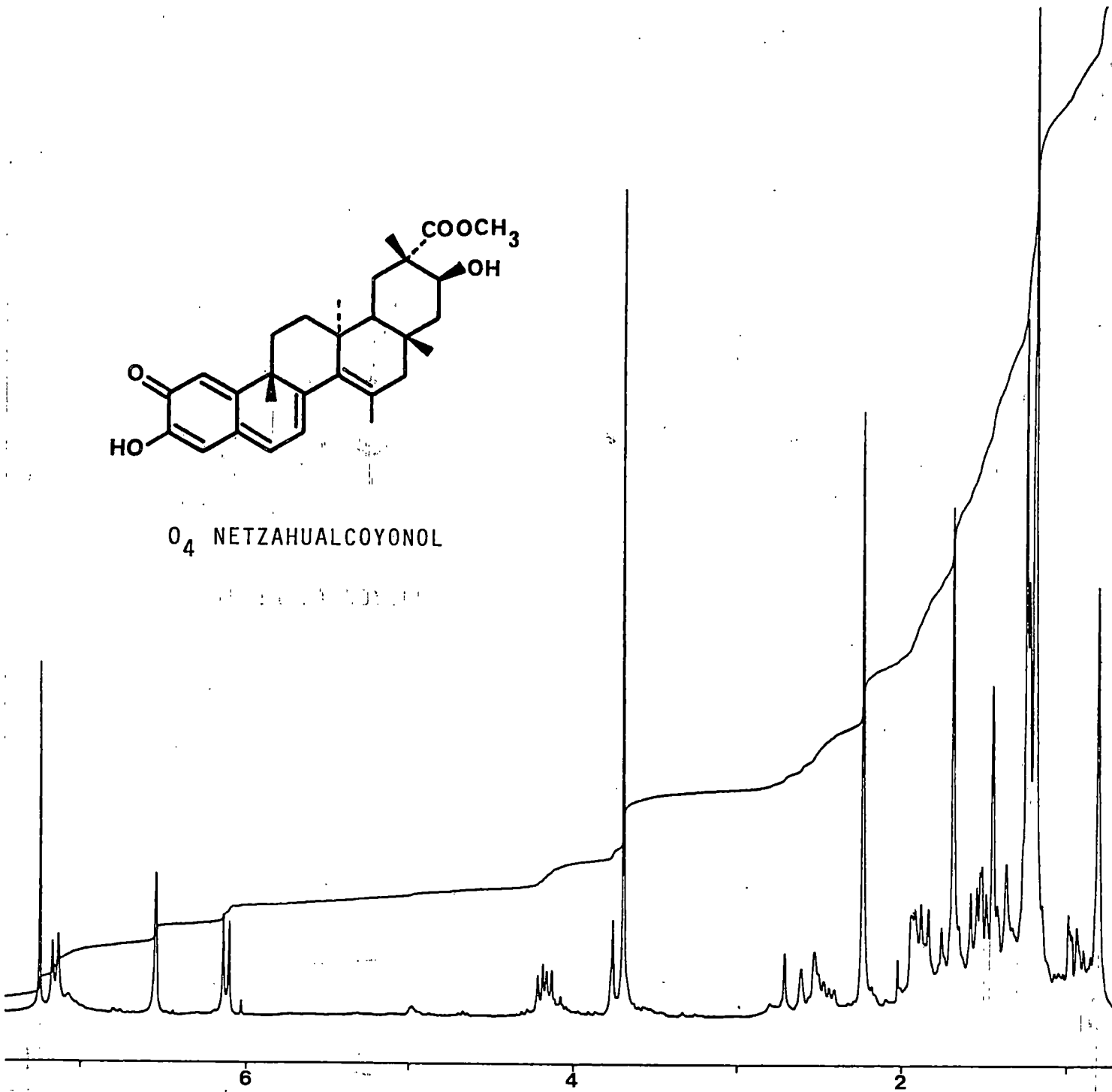


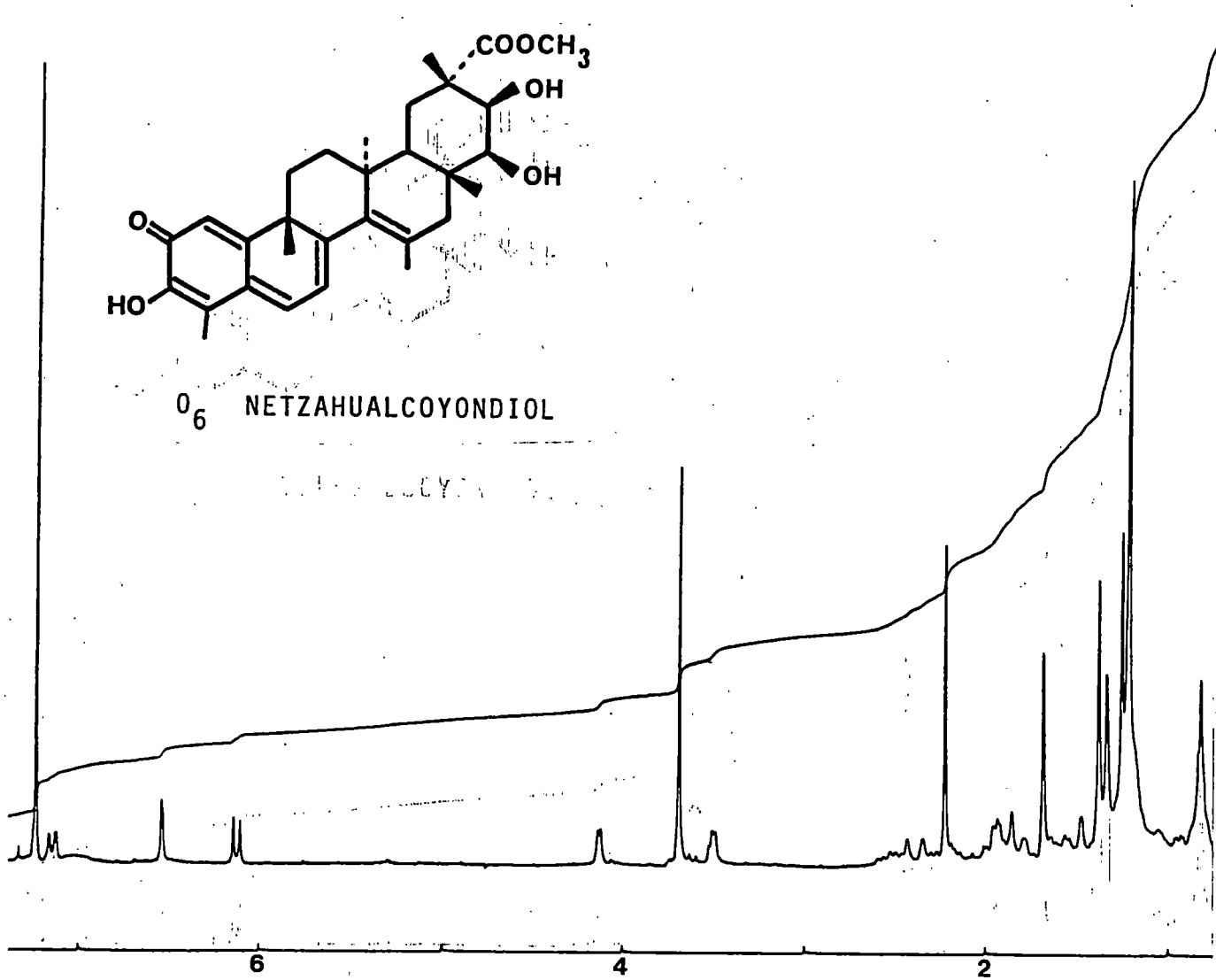
NETZAHUALCOYENO M₁₄

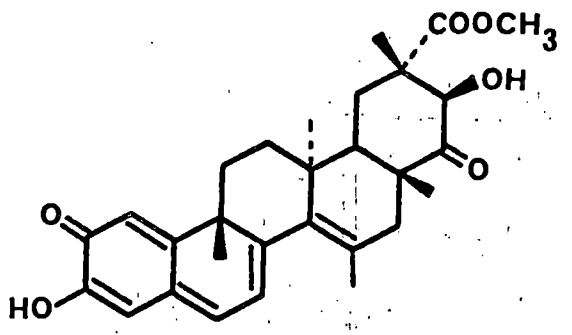




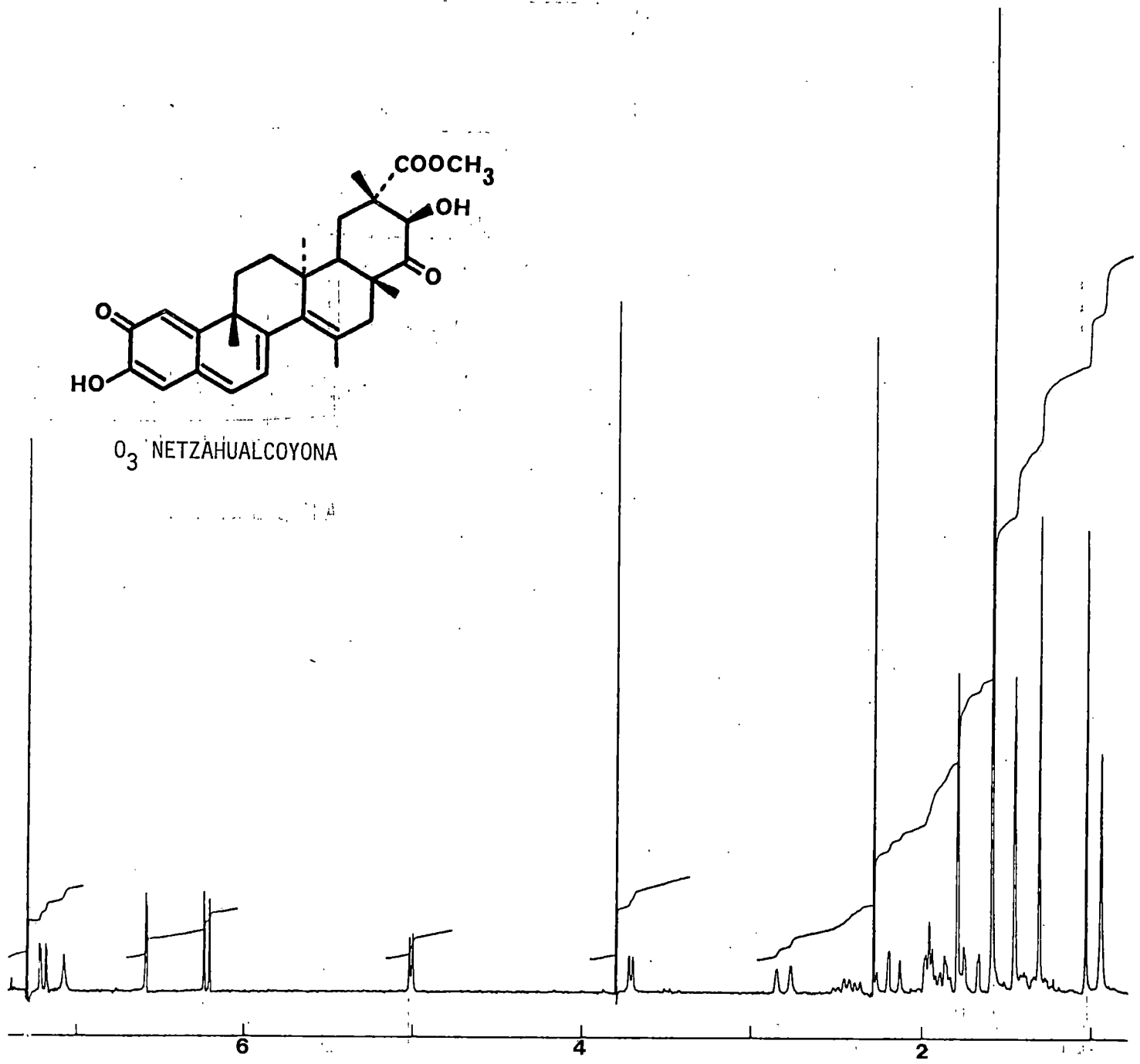
O₄ NETZAHUALCOYONOL

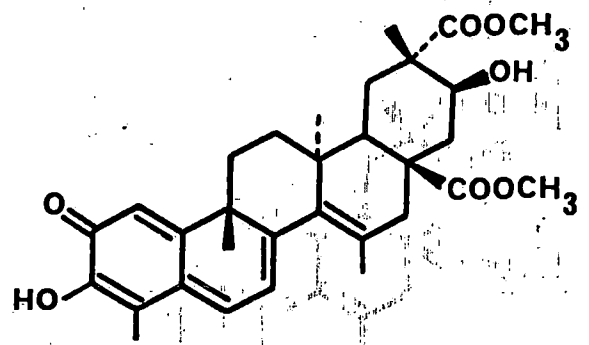




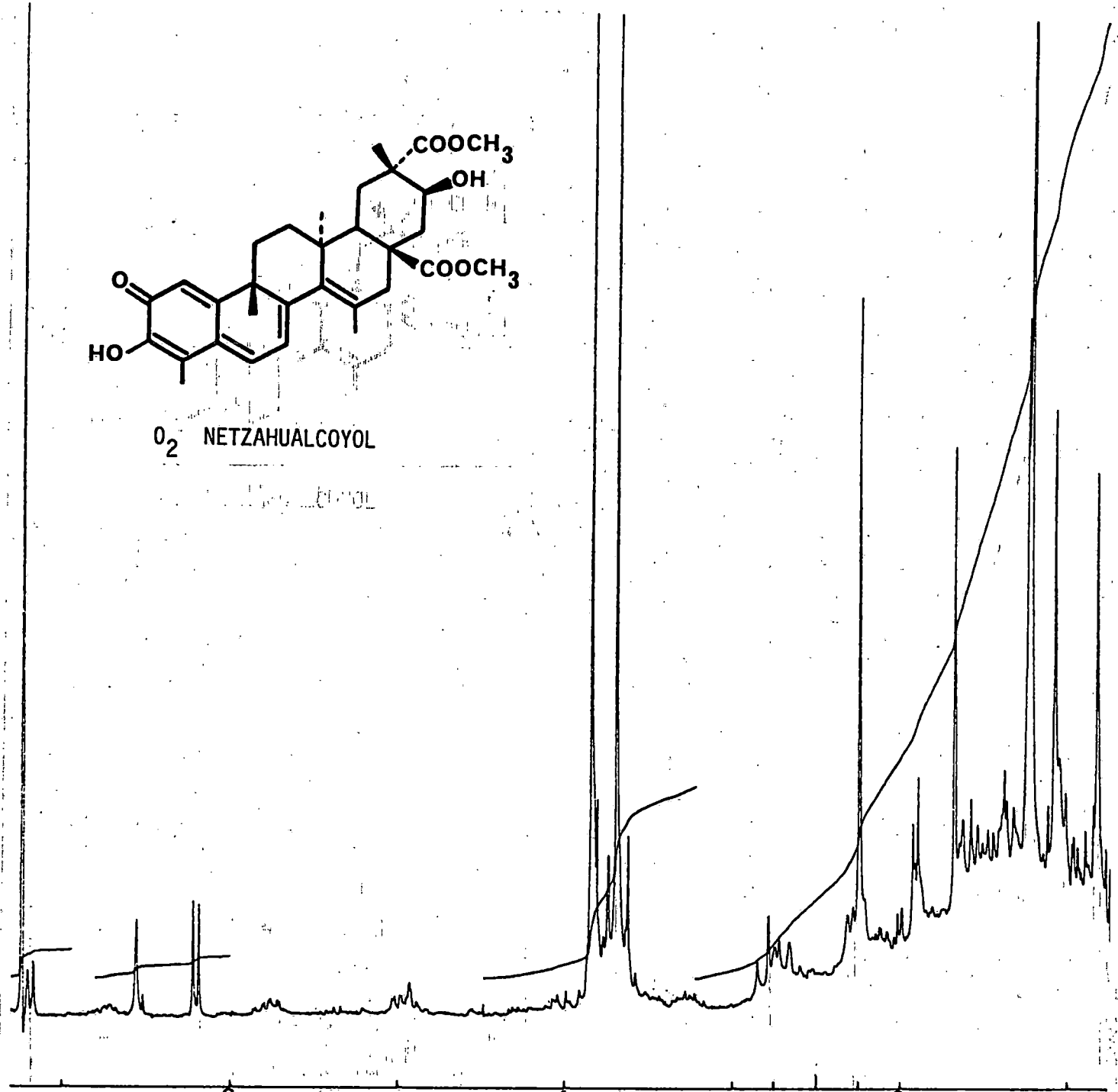


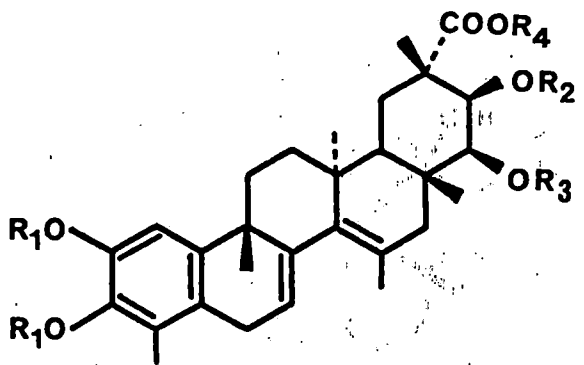
0₃ NETZAHUALCOYONA



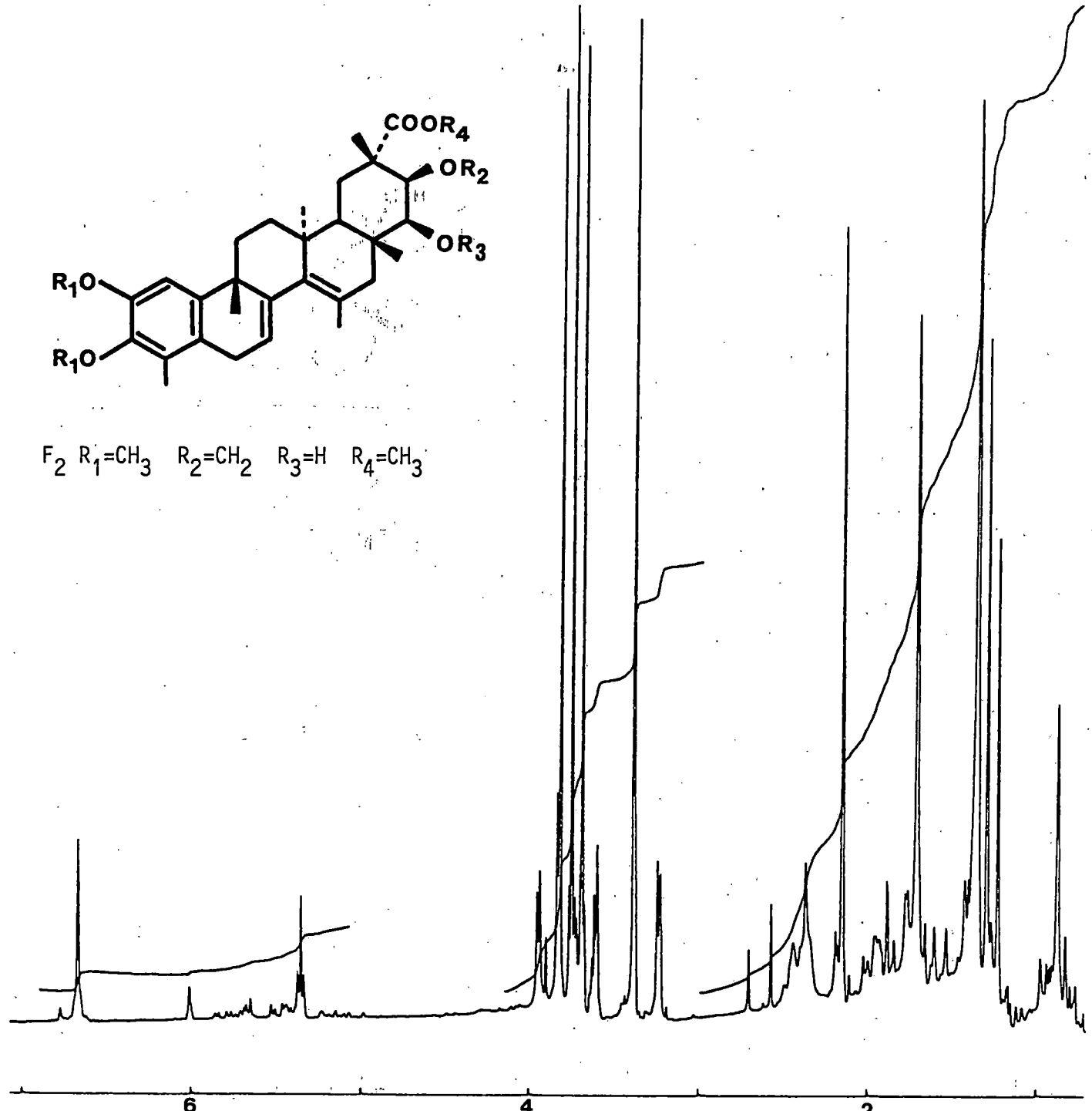


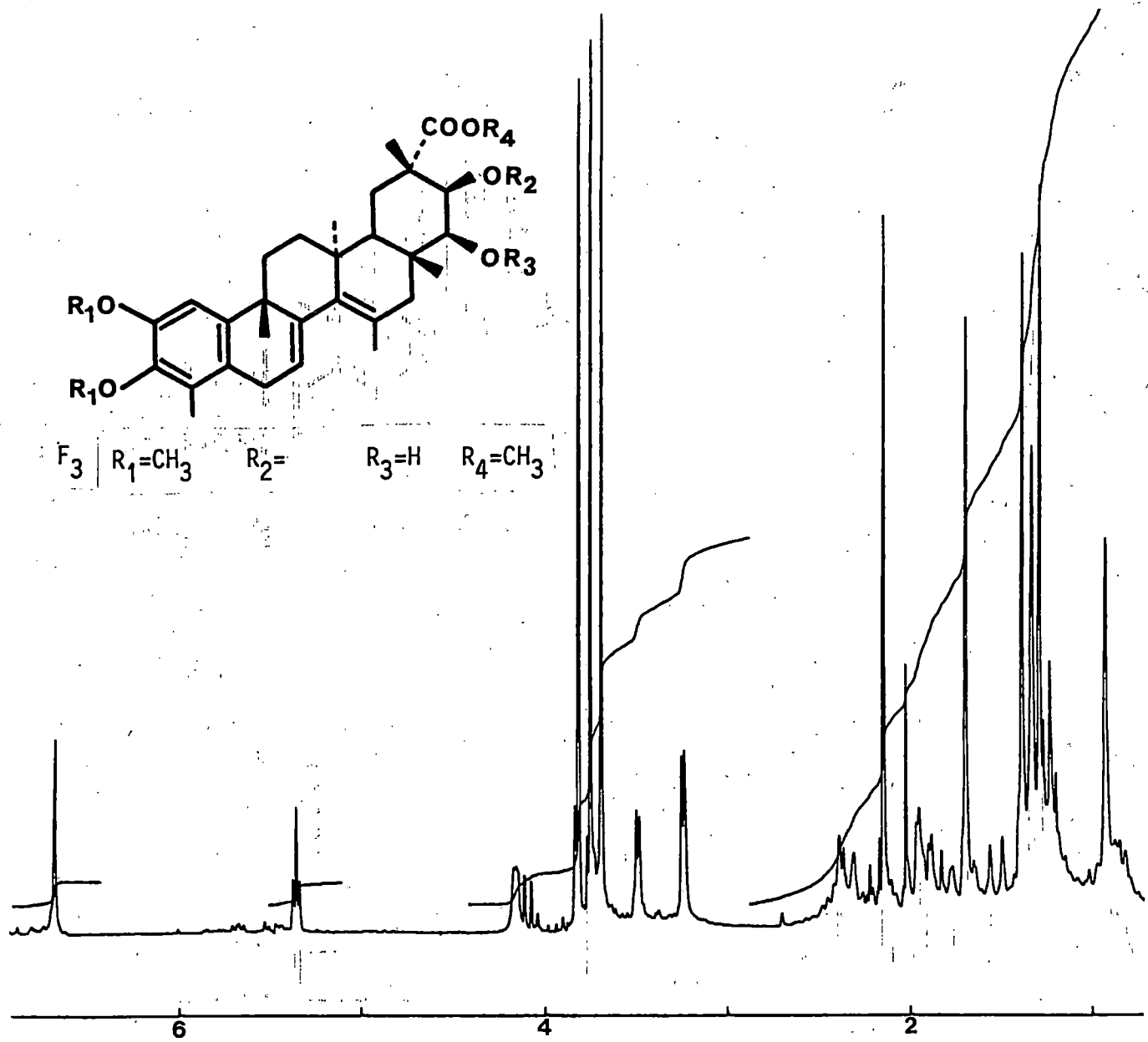
O₂ NETZAHUALCOYOL





F_2 $R_1=CH_3$ $R_2=CH_2$ $R_3=H$ $R_4=CH_3$





La presente Tesis fué leída en La Laguna ante el Tribunal formado por HATURO SANFELICIANO MARTIN - PRESIDENTE;
FRANCISCO GAVIÑA RIBELLES - VOCALES; ANTONIO ERILIN-
DO BRITO - VOCALES; RAFAEL BEYES ^{ESTEVEZ} - VOCALES;
LIBLO PEREZ Y PEREZ - SECRETARIO
mereciendo la calificación de APTO. EN LAUDE

La Laguna, 21 de Junio de 19 85

