

Curso 2003/04  
CIENCIAS Y TECNOLOGÍAS/14  
I.S.B.N.: 84-7756-610-0

MARVIN JOSÉ NÚÑEZ RIVAS

Metabolitos secundarios bioactivos aislados  
de *Maytenus chiapensis* y *Crossopetalum uragoga*  
(*Celastraceae*)

Directores

ÁNGEL GUTIÉRREZ RAVELO  
ISABEL LÓPEZ BAZZOCCHI  
IGNACIO ANTONIO JIMÉNEZ DÍAZ



SOPORTES AUDIOVISUALES E INFORMÁTICOS  
Serie Tesis Doctorales

*Esta tesis ha sido realizada bajo la dirección de los Doctores Don Ángel Gutiérrez Ravelo, Doña Isabel López Bazzocchi y Don Ignacio Antonio Jiménez Díaz, a quienes expreso mi agradecimiento por la estupenda acogida que me brindaron, su invalorable ayuda y sobre todo por su sincera amistad.*

## *AGRADECIMIENTOS*

*Al Prof. Dr. Don Antonio González González, por su agradable acogida en este instituto, constante motivación, protección, apoyo en la realización de este trabajo y el placer de haberle conocido y disfrutado de su amistad. Por todo, gracias **Don Antonio**.*

*A los Dres. Don Ángel Gutiérrez Ravelo, Doña Isabel López Bazzocchi y Don Ignacio Antonio Jiménez Díaz por apoyarme desde el primer momento, por ser mis amigos y por la dirección de esta Tesis. Nunca tendré como pagarles todo lo que me han enseñado como persona y como investigador.*

*A la Agencia de Cooperación Española (AECI) y al Instituto Canario del Cáncer (ICIC) por la beca recibida para la realización de esta Tesis Doctoral.*

*A los Licdos. Doña María Isabel Ramos de Rodas y Don Salvador Castillo, ex-decana y decano, respectivamente, de la Facultad de Química y Farmacia de la Universidad de El Salvador, por apoyarme en esta empresa.*

*A los Licdos. Don Nelson Genovez, Doña Rina Toledo, Doña Arely Cáceres, Doña Silvia Peña de Recinos, Doña Liseth Navas, Doña Morena Díaz de Martínez, Ing. Marroquin, Doña Patricia, Doña Ruth Borja de Rivera, Doña Miriam Pérez de Lara, Doña Silvia Rodríguez y a todo el Depto. de Farmacia y Tecnología Farmacéutica, por su constante apoyo, sus palabras de animo y tantas otras cosas.*

*Al Servicio de Parques Nacionales y Vida Silvestre, Dirección de Recursos Renovables del Ministerio de Agricultura y Ganadería (MAG) y la Fundación Ecológica de El Salvador (SALVANATURA), por proporcionar el material vegetal.*

*A los Licdos. Don Jorge Monterrosa y Doña Regina, del Jardín Botánico de La Laguna, por la ayuda en la búsqueda y estudio botánico de las especies de celastráceas estudiadas.*

*Al Dr. Don Jesús Trujillo Vázquez por su valiosa ayuda en la realización de los espectros de dicroísmo circular.*

*Al Dr. Don José Gavin Sazatornif, por su inestimable colaboración en la realización de espectros de Resonancia Magnética Nuclear, por el placer de vivir el fútbol desde otra orbita, espero los milagros y algún día sea un galáctico más...Hala Madrid.*

*Al Dr. José Antonio Palenzuela, por los estudios de modelización molecular.*

*A la Dra. Doña Laila Moujir del Departamento de Microbiología y Biología de la Universidad de La Laguna, por la inestimable ayuda en la realización de las actividades antimicrobina, citotóxica, inhibidora de xantina oxidasa y  $\beta$ -glucuronidasa.*

*Al Dr. Harukuni Tokuda del Kyoto Prefectural University of Medicine, Kyoto, Japón, por la evaluación de actividad inhibidora de la activación del virus Epstein-Barr.*

*Al Dr. Juan Carlos Lacal Instituto de Investigaciones Biomédicas, CSIC, Madrid, por la determinación de la actividad inhibidora de colina quinasa.*

*Al Dr. Eric De Clercq, del Rega Institute for Medical Research, Bélgica, por la realización de la actividad antiviral.*

*A los Dres. Gamarro y Castanys del Instituto López-Neyra, CSIC, Granada, por la determinación de la actividad revertidora de la multiresistencia a fármacos.*

*A el Prof. Antonio R. Martínez del Departamento de Parasitología de la Universidad Complutense de Madrid, por la determinación de la actividad anti-chagas.*

*A la Dra. Azucena González Coloma y su grupo de investigación del Centro de Ciencias Medioambientales, CSIC, Madrid, por la realización de la actividad antialimentaria e insecticida.*

*A Concha, Asun, Conchita, Ana, Nagla, Mari José, Nuria y Mercedes por su ayuda en la realización de las actividades, el amable acogimiento recibido y la amistad brindada durante mi estancia en el Centro de Ciencias Medioambientales, CSIC, Madrid, gracias por todo.*

*A la Dra. Rosa Lelia Dorta, por la realización de los dibujos más preciosos de esta Tesis, además de su sincera amistad y apoyo.*

## *Al maravilloso grupo que conforma el laboratorio 4 del IUBO-AG:*

### *Con los que comencé:*

*Beni, por su colaboración y amistad desde el primer momento que llegue al laboratorio. Gracias y hasta siempre.*

*Haydee, por sus consejos, amistad y compartir gratas vivencias en el piso, incluyendo la músiquita de los fines de semana en la disco de abajo y se me olvidaba, por rescatarme del aeropuerto de "Los Rodeos" el 27 de septiembre de 1999.*

*Charlito (Charls de Qua), por su alegría, sonrisa permanente y ser el alcalde del labo. 4, el "rey del mortero".*

*Maria Luisa, por ser una de las personas más especiales para mi, por apoyarme desde que llegue, por ese cariño permanente y esa forma tan dulce de decir las cosas.*

*Félix (Feliciano), el palmero más conflictivo y aunque casi siempre estamos discutiendo sabemos que nos tenemos una gran cariño.*

### *Los que están ahora:*

*Elisita, por ser la gallega-madrileña-canariona más alegre y chicharachera del mundo mundial, la amiga alfa y omega, por su cariño, su constante apoyo, amistad, por presentarme como Marvin "el salvadoreño de Centroamérica del centro" y por compartir muchas cosas especiales más.*

*Dulcita, la guanchera más aguerrida, mi hermana menor, creo que somos los amigos que más discuten por minuto convivido, deberíamos entrar en los guinness records, pero en fin, por ser como eres, para mi una de las personitas más especiales.*

*Carolina "caro-pristi", una de las chichas más dulces que he conocido, la super compañera del lavabo y con la que compartimos el material, nunca cambies que eres muy especial.*

*Nabil (naybil, nabílucho, el papi nabil, nabilongo), el canarion de Tenoya contratado por afora para dejarnos sin columnas, el constructor de piscinas, gracias por tu naturalidad, por ser un tipo alegre y un brother.*

*Cristinita, la compis más chacchis, la chica serena y de mirada penetrante, la del gomeuro, gracias por tu amistad sincera.*

*Ana y Rafa, por sus consejos, amistad y ayuda en cualquier momento.*

*A lolo-letty, la doble L, por ser unos buenos amigos y compartir muchas vivencias en las pateadas.*

*Ninos, la chica de la paz, por ser una buena amiga, compis del labo., gracias por tus te de cocas tan especiales.*

*A Sandra, la cachorruta del labo, por tu sonrisa y frescura.*

*A Vicky y Nuria por su amistad, cariño y ayuda en todo momento.*

*Al Prof. Ángel, gracias por apoyarme a este "chico de la gorra" en la Habana, por siempre tener una palabra de aliento y por tener claro que soy de Centroamérica del centro.*

*Antonio (Anthony), una gran persona, gracias por cuidarme y enseñarme mucho, por estar ahí para todo lo que yo necesitara.*

*Isabel, gracias por confiar en este negrito, por cuidarme como mi madre, por enseñarme, por ser una gran amiga, siempre estaré en deuda con usted.*

*Los de paso:*

*A Los cuñados argentinos Gabriela y Alejandro, margarita de Chile, Clara, Iraida y Rolando de Cuba, Virginia y Olga de Perú, Paulino (Pau) de Venezuela, Gonzalo (Gozzalo) y Gumersindo (Gumerzuqui) los querido hermanos mexicano y el puntal chileno, Jorge.*

*A Sandra, el descubrimiento más grande y maravillo de esta experiencia, por estar conmigo durante este camino y ser sin duda la chica mas guapa de la isla.*

*A Milagro, Susana, Jonay, Carlos y la pequeñita Claudita, gracias por darme el calor de familia, por apoyarme siempre, nunca tendré como pagarles.*

*A mis Padres, que me hicieron, que me apoyaron, alentaron y sin su cariño incondicional es evidente que no habría llegado hasta aquí.*

*A mis hermanos, porque incluso con la distancia que nos separa siempre están cerca de mí animándome.*

*A Lupe, Miguel, Cheli, Martín, Víctor y Yesenia, la pequeña comunidad de salvadoreños en la "madre patria".*

*A Guayo y Jaime, por ser mis hermanos, por darme siempre una palabra de aliento y por estar ahí para lo que sea, por supuestos agradecer también a sus familias, por que también son mis familias.*

*A Milton, Corina y Niña Angélica, por todo el apoyo y cariño que me han brindado siempre, este también es un triunfo de ustedes.*

*Al Narros (Warros), por ser la sede oficial de los partidos de fútbol y preparar las hamburguesas mas ricas de La Laguna.*

*A la Bodeguita del Medio (Monse y Ernesto), por todas las alegrías y experiencias vividas ahí, por ser un sitio muy especial para mi..*

*A la ciudad de los Adelantados, por que me considero un Lagunero más. Gracias por tus 20 grados!!!*

*A Francisco (la pureza), mi hermano desde que comencé esta aventura, con el que he compartido muchas y agradables vivencias, por considerar a El Salvador “la unidad métrica de América”, A Fernando (El Chavo), con el que puedo decir “serote”, “casaca”, “maitro”, con la gracia salvadoreña, un súper amigo, “chavo el gigante de América esta despertando”, A Patri, por su alegría y cariño y a todos los demás compañeros del Instituto, Laura R., Alejandra, Ivan (Mexican Boys), Joaquín, Fernando (El de Metralin), Carlos, David (D.D.D.), Celina, Nico, Pedro, Romen, Tommy, Juanqui, Candelaria, Juan (J. G. R.), Jorge y Litman (Los camaradas), Laura V., Laurette, Claudia (Chilena), Héctor (El presa chileno), Blanca, Martín, Diego, Ricardo (La fiera) y Claudio, con quienes compartimos la misma meta, por todos los buenos y malos momentos compartidos, por ser amigos, por estar allí.*

*El personal de seguridad del IUBO-AG, Lolo, Tasio y Ezequiel, por su amistad y por “tenernos a salvo”.*

*A todo el personal técnico del Instituto Universitario de Bio-Orgánica “Antonio González”, Zuppo (por la protónica), Gregorio (Gregory, con los acostumbrados análisis de la jornada de fútbol, los lunes por la mañana), Pastora, Angelito, Antonio, Mateo, Nicolás, Eva, Pili y del Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Carme, Juan Antonio, Manolo y todas las personas que no he nombrado que contribuyeron de alguna manera en la realización de este trabajo.*

***Gracias por que sin ustedes, este salvadoreño no habría  
logrado uno de los sueños de su vida...***

*A mis familias*

*IN MEMORIAM*

*Prof. Dr. D. Antonio González González*

*METABOLITOS BIOACTIVOS AISLADOS DE*  
*Maytenus chiapensis y Crossopetalum uragoga*  
*(Celastraceae)*

## ÍNDICE

	página
<b>Introducción</b>	1
<b>Antecedentes de la Familia Celastraceae</b>	17
<b>Objetivos</b>	31
<b>Descripción botánica de <i>Maytenus chiapensis</i> Lundell y <i>Crossopetalum uragoga</i> (Jacq.) Kuntze</b>	35
<b>Estudio fitoquímico de <i>Maytenus chiapensis</i> y <i>Crossopetalum uragoga</i></b>	43
<b>Sesquiterpenos</b>	45
<i>Sesquiterpenos agarofuránicos aislados de <i>Maytenus chiapensis</i></i>	63
<i>Sesquiterpenos agarofuránicos aislados de las hojas de <i>Crossopetalum uragoga</i></i>	81
<i>Parte experimental</i>	97
<b>Alcaloides sesquiterpénicos</b>	109
<i>Alcaloides sesquiterpénicos aislados de <i>Maytenus chiapensis</i></i>	131
<i>Parte experimental</i>	147
<b>Diterpenos</b>	155
<i>Diterpenos del abietatrieno aislados de <i>Crossopetalum uragoga</i></i>	169
<i>Parte experimental</i>	179
<b>Triterpenos</b>	183
<i>Triterpenos de la serie del lupano aislados de <i>Maytenus chiapensis</i></i>	195
<i>Parte experimental</i>	219
<i>Triterpenos de la serie del friedelano aislados de <i>Maytenus chiapensis</i></i>	227
<i>Triterpenos de la serie del friedelano aislados de <i>Crossopetalum uragoga</i></i>	247
<i>Parte experimental</i>	261
<i>Triterpenos de la serie del oleano aislados de los de <i>Crossopetalum uragoga</i></i>	263
<i>Parte experimental</i>	287
<i>D:B-friedobaccharano</i>	291
<i>Parte experimental</i>	303
<b>Metabolitos secundarios aislados de las raíces de <i>C. uragoga</i></b>	307

<b>Miscelánea</b>	311
<b>Quimiotaxonómia</b>	317
<b>Técnicas experimentales</b>	325
<b>Separación cromatográfica</b>	
<i>Maytenus chiapensis</i>	333
<i>Crossopetalum uragoga</i>	338
<b>Actividades biológicas</b>	341
Actividad anticancerígena	343
Actividad antimicrobiana	363
Actividad antiviral	369
Actividad inhibidora de enzimas implicadas en el metabolismo	375
Actividad antiparasitaria	383
Actividad insecticida	399
<b>Índice de productos</b>	411
<b>Conclusiones</b>	415



*Centaurea, en la versión inglesa del siglo XII del Herbarium de Platónico*

## **INTRODUCCIÓN**



Durante miles de años, el hombre ha hecho uso de los beneficios de las drogas provenientes de la naturaleza. Estas están constituidas por extractos de plantas, animales y por algunas sales inorgánicas. En la India, la medicina Ayurvédica dio paso a una gran variedad de medicinas de origen vegetal, conocidas desde 1000 años antes de Cristo, mientras que las primeras prescripciones de la medicina china datan de unos 500 años antes de Cristo. Cabe destacar, además, que ya desde el año 800, los monjes Benedictinos tenían un profundo conocimiento de las hierbas y su uso en medicina. Por ejemplo, eran capaces de aplicar *Papaver somniferum* L., no sólo para el tratamiento del dolor, sino también para anestesiar a los pacientes. El principio activo, la morfina, fue aislada por primera vez en 1806 y la preparación de una droga analgésica fue realizada por E. Merck en Alemania, en 1826. Hasta el presente, pese a los esfuerzos por sintetizar drogas que reemplacen a la morfina, ninguna alternativa se puede ofrecer aún a los pacientes con dolores severos, como en la fase terminal del cáncer.

La malaria jugó un papel importante en los países europeos hasta el siglo XVII, cuando fue importada la corteza de *Cinchona*, un árbol peruano del que posteriormente en 1820, se aisló su principio activo, la quinina. Esta fue la única droga antimalárica efectiva hasta 1926, con la aparición de la pamaquina, un compuesto sintético.

Las propiedades analgésicas de la corteza del sauce, ya eran conocidas desde el año 400 antes de Cristo por los griegos y romanos y fue empleada durante más de 2000 años, hasta que se aisló la salicina a mediados del siglo XVIII<sup>1</sup>.

Gradualmente, cuando el conocimiento acerca de las drogas aumentó, las disciplinas especializadas se convirtieron en una necesidad. A principios del siglo XIX la materia médica empezó a dividirse en Farmacología (acción de las drogas) y Farmacognosia (todos los aspectos de las drogas de origen vegetal, animal y mineral, con menos énfasis en la acción). A finales del siglo XIX los químicos empezaron a sintetizar una gran variedad de compuestos orgánicos con estructuras de complejidad creciente, algunos útiles como agentes terapéuticos. Dado que el estudio de estos productos caía fuera del alcance de la Farmacognosia, la disciplina llamada Química Médica (la ciencia de las drogas sintéticas), dormida desde los tiempos de Paracelso, cobró nuevo vigor. Esta situación prevaleció hasta mediados del siglo XX, cuando la Farmacognosia y la Química Médica empezaron a emerger.

En las últimas décadas del siglo XX, ocurrieron acontecimientos que produjeron cambios en la opinión, tanto de la población como de los científicos, en lo que hacia los productos naturales se refiere.

- En primer lugar, el lego descubrió la utilidad de la droga completa, o hierbas, como se llamaba comúnmente, lo que junto con la insatisfacción por la efectividad y el costo de la medicina moderna, condujeron a un incremento en la demanda de los productos naturales. Ello motivó que millones de personas alrededor del mundo ganaran un gran aprecio por el uso de las drogas vegetales clásicas para el tratamiento de múltiples enfermedades.
- En segundo lugar, las principales industrias farmacéuticas han reconocido que la medicina popular es la mejor fuente de nuevos fármacos y por lo tanto la desaparición de culturas indígenas conlleva a que los conocimientos etnobotánicos empíricos, adquiridos a lo largo de miles de años, desaparezcan.
- Según estima la OMS, alrededor del 80% de los seis mil millones de habitantes del planeta, viven en países en vías de desarrollo y utilizan la medicina tradicional para cubrir sus necesidades sanitarias primarias. Por tanto, para esta

---

<sup>1</sup> Grabley, S.; Thiericke, R. *Drug Discovery from Nature*, Springer-Verlag, Germany, 1999.



población que no puede costearse los medicamentos existentes en el mercado, se hace pues necesario realizar un estudio acerca de las plantas para buscar la máxima seguridad y eficacia con el objeto de desarrollar formas galénicas normalizadas y estables.

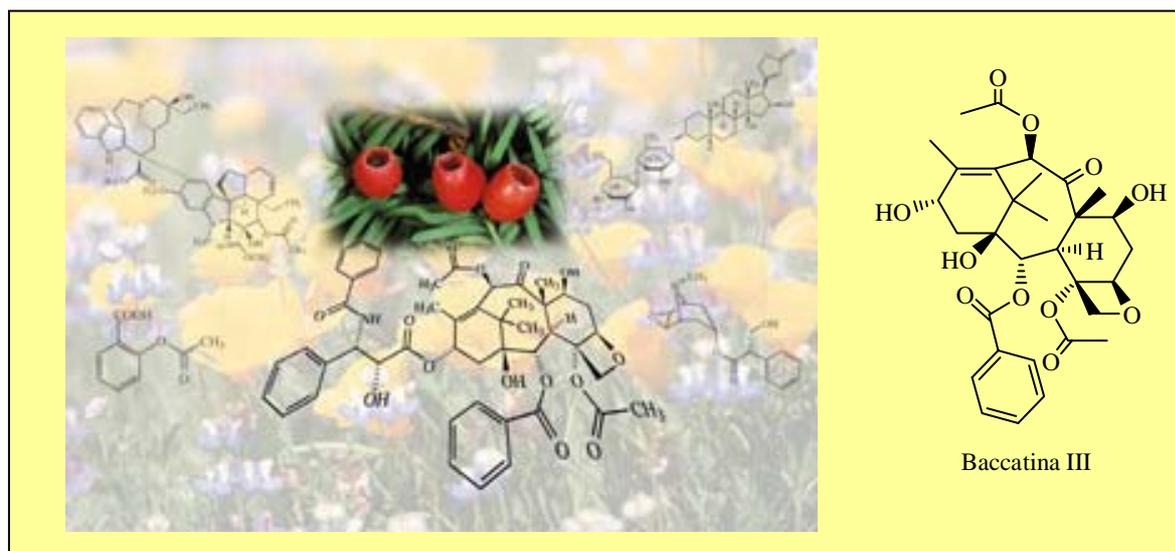
- Por último, los grandes avances tecnológicos, el uso de la tecnología del DNA recombinante, la ingeniería genética o farmacobiotechnología, junto con el desarrollo de nuevas técnicas para el aislamiento, elucidación estructural y ensayos biológicos<sup>2</sup>, han sido decisivos en el renovado interés por los productos naturales.

Los compuestos obtenidos de fuentes naturales o bien su derivados, juegan un papel importante en la medicina moderna.

- Proveen un número de drogas extremadamente útiles que son difíciles, si no imposible, de producir comercialmente por medios sintéticos. Aquí se incluye, por ejemplo, a los alcaloides del opio, del cornezuelo de centeno y de solanáceas; los glicósidos cardiotónicos de la digital y la mayoría de los antibióticos.
- Proporcionan compuestos básicos que pueden ser modificados ligeramente para dar otros más efectivos o menos tóxicos. Aquí sirve de ejemplo las numerosas variaciones de la molécula de morfina.
- Los productos naturales sirven como prototipo o modelo para fármacos sintéticos con actividad fisiológica similar a los originales, así podemos destacar a la procaína y los anestésicos locales.
- Algunas fuentes naturales contienen compuestos que demuestran poca o ninguna actividad por ellos mismos pero que pueden ser modificados por métodos químicos o biológicos para producir fármacos potentes difíciles de obtener por otros métodos. Por ejemplo, el paclitaxel (Taxol<sup>®</sup>) puede ser sintetizado a partir de la baccatina III, que se presenta abundantemente en las hojas de varias especies de *Taxus*, mientras que el taxol sólo se encuentra en la corteza de *Taxus brevifolia* Nutt. (Figura 1).

---

<sup>2</sup> Robbers, J.E.; Speedie, M.K.; Tyler, V. *Pharmacognosy and Pharmacobiotechnology*. Williamas & Wilkins, USA, 1996.



**Figura 1.** Taxol, baccatina III y otros metabolitos secundarios bioactivos aislados de *Taxus brevifolia*.

Existe actualmente un renovado interés por parte de la industria farmacéutica y la medicina por las sustancias bioactivas de origen natural. Como ejemplo de ello se pueden consultar los artículos de Cragg<sup>3,4</sup> y Newman.<sup>5</sup> En la Tabla 1, se muestran las ventas de fármacos superiores a 1 billón de dólares (o más) en 1997.

**Tabla 1.** Las mejores ventas mundiales de la industria farmacéutica  
(ventas > 1 billón de dólares en 1997)

Posición	Nombre Comercial	Nombre Genérico	Laboratorio Farmacéutico	Ventas (billones \$)	Fuente
<b>Antiulceroso</b>					
2	Losec	Omeprazol	Astra AB	2.82	S
6	Prilosec	Omeprazol	Astra Merck	2.24	S
15	Zantac	Ranitidina	Glaxo Wellcome	2.26	S
17	Pepcid	Famotidina	Merck	1.18	S
<b>Hipolipemiantes</b>					
1	Zocor	Simivastina	Merck	3.58	ND
13	Pravachol	Pravastatina	BristolMyers Squibb	1.44	N
14	Mevalotina	Pravastatina	Sankyo	1.41	N
22	Mevacor	Lovastatina	Merck	1.10	N
<b>Antihipertensivos</b>					
4	Vasotec	Enalaprilol	Merck	2.50	S*
7	Norvasc	Amilopidina	Pfizer	2.22	S
21	Adalat	Nefedipina	Bayer	1.10	S
<b>Antidepresivos</b>					

<sup>3</sup> Cragg, G.M.; Newman, D.J. *Exp. Opin. Invest. Drugs.*, 9, 2783-2797, 2000.

<sup>4</sup> Cragg, G.M.; Newman, D.J.; Snader, K.M., *J.Nat. Prod.*, 60, 52-60, 1997.

<sup>5</sup> Cragg, G.M.; Newman, D.J.; Snader, K.M. *Nat. Prod. Rep.*, 17, 215-234, 2000.



3	Prozac	Fluoxetina	Lily	2.56	S
10	Zoloft	Sertralina	Pfizer	1.51	S
11	Paxil	Paroxetina	SmithKline Beecham	1.47	S
<b>Hematológicos</b>					
18	Pocrit	Epoetina alfa	Johnson & Johnson	1.17	B
19	Epogen	Epoetina alfa	Amgen	1.16	B
24	Neupogen	Filigastrim	Amgen	1.06	B
<b>Antibacterianos</b>					
9	Augmentin	Amox. & Cla.	SmithKline Bee	1.52	ND
15	Biaxin	Claritromicina	Abbott	1.30	ND
12	Cipro	Ciprofloxacina	Bayer	1.44	S
<b>Antihistaminico (Antagonista H1)</b>					
8	Claritan	Loratidina	Schering-Plough	1.73	S
<b>Inmunosupresores</b>					
16	Sandimmune y Neoral	Ciclosporina	Novartis	1.25	N
<b>AINES</b>					
20	Voltaren-XR	Diclofenaco	Vovartis	1.11	S
<b>Antimigrañoso</b>					
23	Imitrex	Sumatriptan	Glaxo Wellcome	1.09	S
<b>Antiácidos</b>					
25	Propulsid	Cisaprida	Johnson & Johnson	1.05	S

B = biológico; N = producto natural; ND = derivado de un producto natural; S = sintético;

S\* = sintético, pero un producto natural farmacóforo.

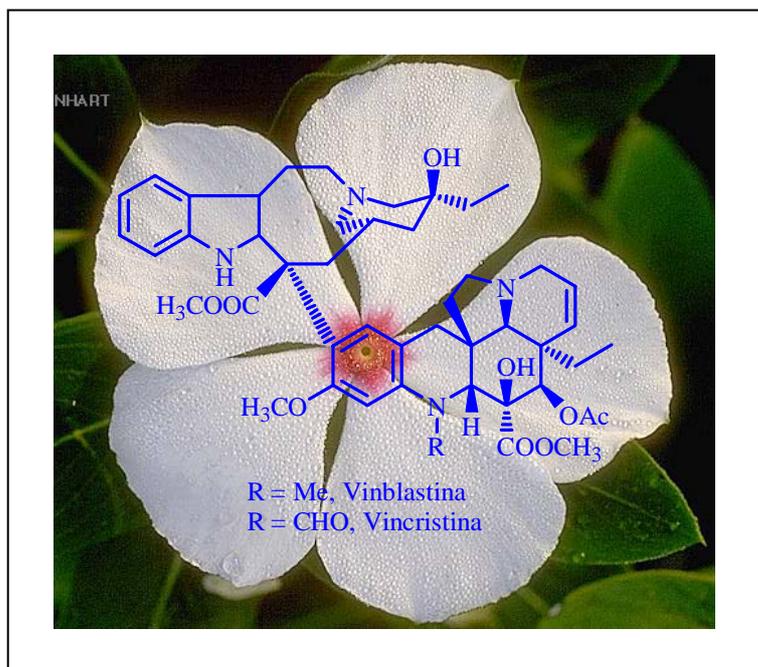
Así, los agentes hipolipemiantes, obtenidos a partir del cultivo de los hongos *Monascus ruber*, *Aspergillus terreus* y *Penicillium citrinum*,<sup>6</sup> resultaron el segundo grupo de fármacos que más beneficios rindieron para las empresas.

A estos les siguen los agentes antihipertensivos, uno de los cuales, el maleato de enalapril, es un fármaco derivado de un producto natural farmacóforo.<sup>4</sup> Asimismo, el 43% de los fármacos más vendidos son productos naturales o derivados de alguna manera de ellos (Tabla 2)

**Tabla 2.** Los mejores 25 fármacos en 1997. Ventas por fuente

Fuente del fármaco	Ventas brutas (billones \$)	%
Biológicos	3.39	8.2
Producto natural o derivado	11.59	28.1
Sintético	23.75	57.6
Producto natural farmacóforo	2.50	6.1

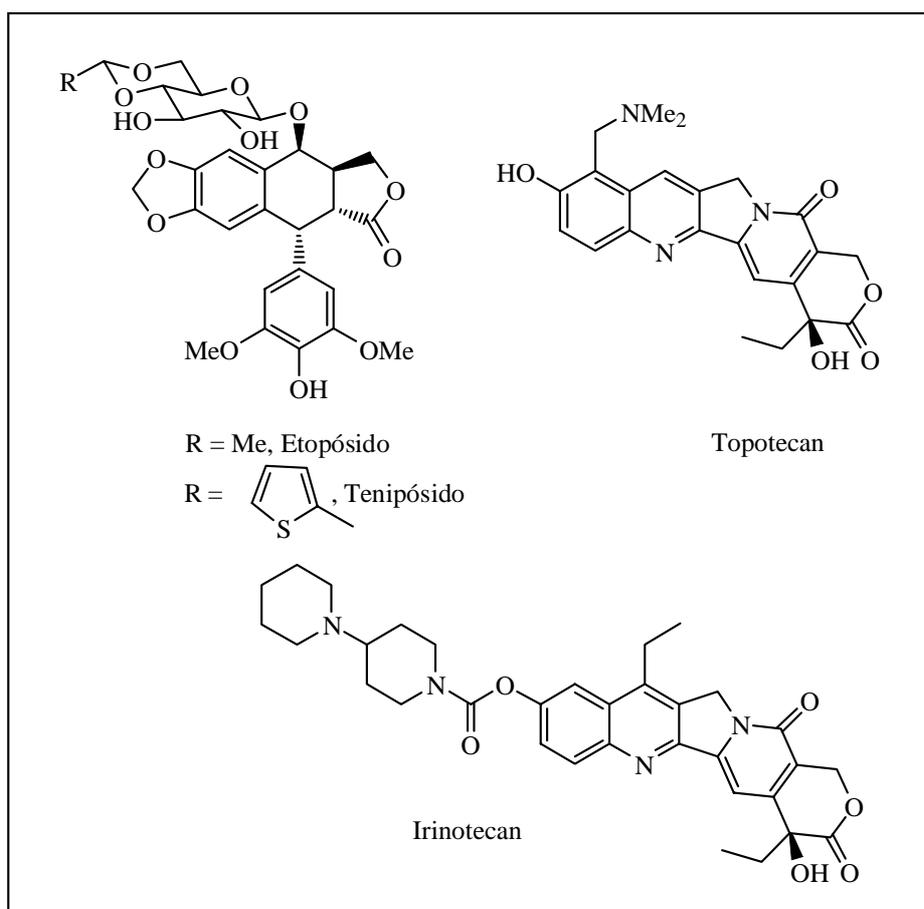
Aunque no se reflejan en la Tabla 1, hay otros fármacos de productos naturales que son abanderados en el área de los antitumorales. El primero de éstos es el paclitaxel (Taxol<sup>®</sup>) que vendió alrededor de 1.6 billones de dólares en el 2000, a este le siguen los alcaloides de la *Vinca*: vincristina y vinblastina (Figura 2).



**Figura 2.** Estructura de vinblastina y vincristina aislados de *Vinca rosea* Linné

Completando el cuarteto se encuentran dos derivados de la *epipodofilotoxina*: tenipósido y etopósido y los fármacos derivados de la *camptotecina*: topotecan e irinotecan (Figura 3). Éstos probablemente no son los únicos fármacos de productos naturales en el campo de los antitumorales, como puede verse en la Tabla 3, donde Cragg y Newman reportaron la fuente de compuestos, actualmente bajo ensayos clínicos, como agentes antitumorales.<sup>3</sup> En la tabla observamos que de los 294 candidatos a ensayos clínicos identificados, el 60% de éstos son productos naturales o relacionados.

<sup>6</sup> Vagelos, P. R. *Science*, 252, 1080-1084, 1991.



**Figura 3.** Estructura de fármacos con actividad antitumoral.

**Tabla 3.** Fuente de fármacos actualmente en ensayos clínicos como agentes antitumorales, en el primer cuarto del 2000 (datos mundiales)

Fuente del Fármaco	Número	Porcentaje del total
Producto natural	34	11.6
Derivado de producto natural	73	24.8
Producto natural farmacóforo	49	16.7
Síntesis química	115	39.1
NP-linked repartidos en sistemas biológicos	17	5.8
Total	294	100.0

Debido a sus diversos orígenes, es decir vegetal, animal o microbiano, la producción de drogas naturales toma formas muy diferentes. Las plantas superiores y organismos marinos pueden recolectarse en estado salvaje o cultivado, mientras que los metabolitos microbianos son producidos por fermentación.

El organismo vivo puede ser considerado un laboratorio biológico, no sólo para compuestos químicos (hidratos de carbono, proteínas, grasas, etc.) que son utilizados por el hombre, conocidos como **metabolitos primarios**, sino para una multitud de compuestos (compuestos fenólicos, alcaloides, terpenoides, etc) que ejercen un efecto fisiológico, llamados **metabolitos secundarios**.

Las drogas son utilizadas en forma cruda o pueden ser extraídas y los principios activos resultantes son empleados como agentes medicinales. Estos constituyentes, responsables del efecto terapéutico son llamados **constituyentes activos**, diferentes a los **constituyentes inertes** como la celulosa, lignina, suberina y cutina, también presentes en la planta. Así, los principios activos son extraídos y purificados para su uso terapéutico.

Existe controversia acerca de la utilidad de los metabolitos secundarios por las plantas. Se han propuesto seis hipótesis principales y éstas han sido resumidas por Haslam.<sup>7</sup>

1. Los metabolitos secundarios son productos absolutamente de desecho sin ningún papel fisiológico particular.
2. Los metabolitos secundarios son compuestos que tenían un papel metabólico pero que ya lo han perdido.
3. Los metabolitos secundarios son productos de mutaciones aleatorias y no tienen ninguna función real en el organismo.
4. Los metabolitos secundarios son un ejemplo de “*evolución en progreso*” y proporcionan una serie de compuestos de los cuales pueden surgir nuevos procesos bioquímicos.
5. El metabolismo secundario proporciona un camino que permite a las enzimas del metabolismo primario funcionar cuando no se les necesita para su propósito primario.
6. Los metabolitos secundarios juegan un papel importante en la supervivencia del organismo en un ecosistema determinado, proporcionándole las sustancias de defensa u otros compuestos fisiológicamente importantes.

Las teorías más modernas establecen que todos los metabolitos secundarios se expresan como resultado de estímulos y van dirigidos a interactuar con los sistemas

---

<sup>7</sup> Haslam, E. *Nat. Prod. Rep.*, 3, 217-249, 1986.



receptores adecuados. Aunque cada uno de los anteriores conceptos tiene (o ha tenido) sus partidarios, Williams<sup>8</sup> y Harborne,<sup>9</sup> entre otros, defienden convincentemente la sexta hipótesis. Esta hipótesis es consistente con el hecho de que la mayoría de los metabolitos secundarios se producen en organismos inmóviles (plantas, invertebrados marinos sésiles, microbios en los ambientes terrestres, etc.) y deben confiar en la “guerra química” para defenderse. Consistente con esta hipótesis fue el descubrimiento de que las plantas anuales, como los céspedes, que pueden renovarse cada año, tienden a tener menos metabolitos secundarios que los arbustos o árboles perennes. Otra consideración válida es que las plantas y los invertebrados marinos no poseen los sistemas inmunológicos sofisticados de los vertebrados y deben confiar en sus metabolitos secundarios para la defensa, por ejemplo, la supresión del crecimiento de plantas vecinas, la protección frente a patógenos, toxinas como defensa ante depredadores o sustancias que repelen o atraen a otros organismos.

La producción de metabolitos secundarios está influenciada por tres factores: 1. analogía estructural (quimiotaxonomía), 2. ontogenia (estado de desarrollo) y 3. factores ambientales.

1. Desde hace mucho tiempo se sabe que algunos tipos de plantas presentan cierta analogía en las estructuras de los metabolitos secundarios aislados de ellas (la relación biológica se refleja en la relación química). Esta es razonable ya que organismos relacionados deben tener genomas relacionados y en consecuencia hay una gran probabilidad de que al menos algunos genes que codifican los metabolitos secundarios se mantengan. Lo anterior refleja las teorías fundamentales de ambas disciplinas: la teoría estructural de la química y la teoría evolutiva de la biología.
2. La ontogenia juega también un papel importante en la naturaleza de los constituyentes activos, es de esperar que la concentración de metabolitos secundarios se incremente con la edad de la planta, pero la identidad de estos constituyentes también puede variar acorde con el estado de desarrollo, como ocurre con el cannabidiol que alcanza su pico productivo en la etapa de crecimiento y luego empieza a declinar, aumentando entonces la producción

---

<sup>8</sup> Williams, D. H.; Stone, M. J.; Hauck, P. R.; Rahman, S. K. *J. Nat. Prod.*, 59, 1189-1208, 1989.

<sup>9</sup> Harborne, J. B. *Bioactive Compounds from Plants*, Wiley, Chichester, 1990.

de tetrahidrocannabinol y continúa así hasta que la planta alcanza la madurez.

3. Los factores ambientales que pueden afectar a los constituyentes secundarios son: suelo, clima, flora asociada y métodos de cultivo. Por ejemplo, muchas plantas productoras de alcaloides, acumulan mayores concentraciones de estos componentes en suelos húmedos que en suelos áridos, lo que puede estar relacionado con la cantidad de nitrógeno, ya que los suelos áridos suelen ser pobres en este elemento.

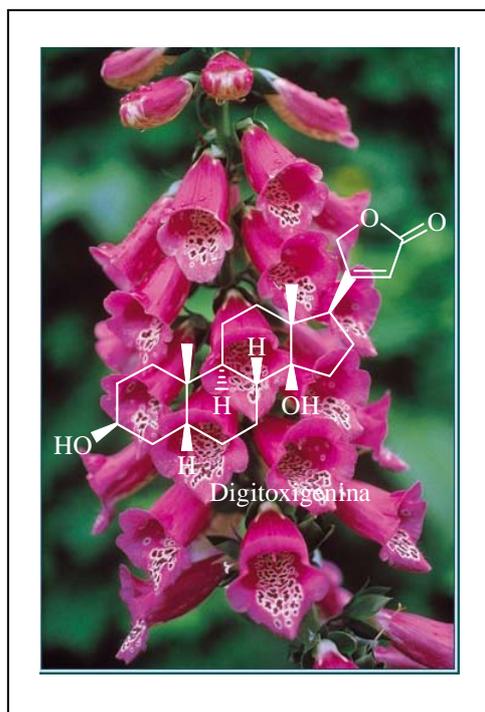
Con pocas excepciones el desarrollo de fármacos sigue una lógica progresión a partir de un compuesto natural sin modificar, normalmente extraído de una planta, el cual es sometido a una modificación sintética hasta llegar a un compuesto puramente sintético que no muestra ninguna relación aparente con sus antepasados naturales.

Por ejemplo, la aspirina no se produce en las plantas ni fue el compuesto activo original. La salicina (glucósido del alcohol salicílico) fue aislada de la corteza del sauce (*Salix* sp.) por el farmacéutico francés H. Leroux en 1829. Las primeras referencias de su uso datan de 1763, sin embargo Hipócrates y Celso ya estaban familiarizados con las virtudes de esta planta. La salicina mostró ser un profármaco que se convertía en el principio activo, el ácido salicílico en el tracto intestinal e hígado. Este compuesto presenta una excelente actividad analgésica, antiinflamatoria y antipirética, pero su ingestión presentaba serios efectos secundarios. Posteriormente en 1899, un químico llamado Félix Hoffman, de la compañía Bayer en Alemania, administró ácido acetilsalicílico a su padre reumático y probó ser efectivo y bien tolerado. Así, se introdujo la aspirina en la medicina.<sup>2</sup>

En 1775, un curandero comentó al médico inglés Withering, que las hojas de la *Digitalis purpurea* Linné eran útiles para tratar la hidropesía y empleándolo con sus pacientes descubrió un poderoso efecto cardiotónico. Desde entonces y hasta ahora se han aislado más de treinta glicósidos cardiotónicos, incluyendo digitoxina, digoxina y digitoxigenina de *D. purpurea*. Cada año se prescriben 1500 kg. de digoxina pura y 200 kg. de digitoxina a miles de pacientes con problemas cardiacos.<sup>10</sup>

---

<sup>10</sup> Lewington, A., *Plants for People*. The Natural History Museum, London, 1990.



**Figura 4.** Estructura de digitoxigenina aislada de *Digitalis purpurea* Linné

En la década de los 70 y 80, los productos naturales pasaron por una fase de reducido interés en el descubrimiento de drogas, debido a los enormes esfuerzos necesarios para aislar los principios activos y elucidar sus estructuras. Sin embargo, el desarrollo tecnológico, que ha permitido reducir el tiempo y la cantidad de muestra para llevar a cabo el aislamiento, elucidación estructural y ensayos biológicos, junto con el amplio espectro de variación estructural encontrado en la naturaleza, han hecho resurgir el interés por los productos naturales.<sup>11</sup>

Estos ofrecen compuestos que abren enfoques terapéuticos nuevos; además, han contribuido sustancialmente a la identificación y entendimiento de nuevas rutas biogénicas, con lo que no sólo se dispone de drogas, sino que también han sido una herramienta esencial para la Bioquímica, la Biología Molecular<sup>1</sup> y el desarrollo académico de estas disciplinas.

Dado que sólo un pequeño porcentaje de los organismos vivientes en la biosfera han sido descritos hasta la fecha, existe un enorme reservorio de compuestos naturales sin descubrir, con una amplia diversidad estructural.

<sup>11</sup> Kubinyi; H. *Pharmazie*, 50, 647-662, 1995.

Muchos fármacos del mercado han llegado hasta nosotros mediante el uso folclórico o por culturas indígenas. Estos fármacos están siendo usados de alguna manera en la medicina moderna, aunque no necesariamente con el mismo propósito para el que eran empleados por los indígenas. La medicina folclórica ha sido una herramienta útil para el descubrimiento de muchos de los medicamentos que usamos y de otras sustancias biológicamente activas.

Así, el conocimiento indígena ha permitido el descubrimiento de tres tipos de productos naturales con aplicación clínica:

- Productos naturales sin modificar, donde el uso etnobotánico sugirió la eficacia clínica (ej.: glicósidos cardiotónicos de *Digitalis*).
- Productos naturales sin modificar, en los que la eficacia terapéutica fue tan sólo remotamente sugerida por el uso indígena de plantas (ej.: vincristina).
- Productos naturales modificados o sustancias sintéticas basadas en productos naturales usados en la medicina folclórica (ej.: aspirina).

Sin embargo, no debemos olvidar el peligro asociado al descubrimiento de nuevos fármacos de origen natural y es que las especies de procedencia lleguen a estar amenazadas por la sobreexplotación, aunque se considera que el descubrimiento de una nueva droga derivada de planta será útil para su conservación.<sup>12</sup>

Recientemente, una de las grandes cuestiones que se plantea la etnobotánica, así como la medicina popular, es lo que se refiere a una legislación sobre los derechos de propiedad intelectual. Actualmente, las leyes existentes permiten patentar únicamente el principio activo identificado de una planta, no la planta ni la información relativa a las propiedades de la misma y los derechos más significativos de los indígenas son los derivados del control físico de la planta y el conocimiento referente a su uso.

En los últimos años se han hecho esfuerzos para proteger los derechos de los indígenas sobre los recursos genéticos y sus conocimientos, pero lo más trascendental no forma parte aún de las leyes internacionales. Las patentes farmacéuticas combinadas con el secreto de fabricación, pueden ser la base para desarrollar y

---

<sup>12</sup> Prance, G.T. *Ethnobotany and the search for new drugs*, Ciba Foundation Symposium 185. Ed. John Wiley & Sons., 1994.



comercializar los productos y asegurar que las naciones o personas de las que deriva la información sean compensadas apropiadamente.

Sin embargo, existe poca presión legal para que la recompensa sea compartida con los indígenas.<sup>13</sup> Se hace necesario el desarrollo de un acuerdo uniforme que trate de manera equilibrada los derechos relativos a los indígenas y sus gobiernos.

*“La pérdida de la diversidad biológica es una de las amenazas más grandes que enfrenta nuestro planeta”...*

---

<sup>13</sup> Barton, J.H. *Ethnobotany and intellectual property rights*. Wiley, Chichester, Ciba Foundation Symposium, **1994**.



## ANTECEDENTES DE LA FAMILIA CELASTRACEAE



La familia Celastraceae es conocida comúnmente como **familia agridulce** (bittersweet), debido al sabor de sus frutos.

Esta familia consta de 88 géneros y 1300 especies distribuidas<sup>1</sup> principalmente en climas tropicales y subtropicales, aunque se encuentran algunos representantes en zonas templadas. Comparativamente, esta familia está mucho mejor representada en Centroamérica y en las Antillas que en Sur América, excepto por el género *Maytenus*,<sup>2</sup> encontrándose 15 especies en Perú y 15 en Venezuela.

*Maytenus* con 255 especies, *Eonymus* con 200 especies, *Cassine* con 40 especies y *Celastrus* con 30 especies, son los géneros más representativos.<sup>3,4</sup>

La clasificación botánica de esta familia ha experimentado cambios debido a las hibridaciones.<sup>5</sup> Así, el género *Maytenus* incluye actualmente las especies antiguamente incluidas en *Gymnosporia* y algunas especies de *Rhacoma* hoy en día son incluidas en el género *Crossopetalum*, lo que ha dado lugar a que muchas especies tengan varios sinónimos.

---

<sup>1</sup> Spivey, A. C.; Weston, M.; Woodhead S. *Chem. Soc. Rev.*, 31, 43-59, **2001**.

<sup>2</sup> Ujita K.; Fujita, Y.; Takuda, H.; Nishimo, S.; Iwashima, A. *The 39<sup>th</sup> Annual Meeting of the Japanese Society of Pharmacognosy*, Tokio, Abstract Papers, **1992**.

<sup>3</sup> Heywood, V.H. *Flowering Plants of the World*, Oxford University Press, New York, **1993**

<sup>4</sup> Woodland, D. W. *Contemporary Plant Systematics*, Prentice-Hall, New Jersey, **1991**.

<sup>5</sup> Buening, R.; Wagner, H. *Phytochemistry*, 17, 1821-1858, **1978**.



*Distribución geográfica de la familia Celastraceae (en rosado).*

### Usos etnobotánicos de las celastráceas

Numerosas especies de la familia Celastraceae son conocidas por su uso en la medicina tradicional o en la agricultura en todo el mundo, especialmente en Asia y América Latina.

Así por ejemplo, *Catha edulis* Forsk, conocido como “khat”, es un arbusto de hojas perennes que crece a lo largo de la Costa este de África y de la península Arábiga. Las hojas y brotes del “khat” son masticadas por sus efectos estimulantes y ello constituye un evento social. Su consumo produce una sensación de bienestar y excitación, sin embargo presenta numerosos efectos secundarios como son insomnio y falta de concentración y el uso abusivo del “khat” crea grandes problemas de salud, sociales y económicos.<sup>6</sup>

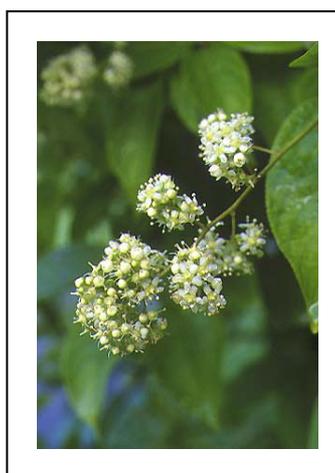
<sup>6</sup> Krikorian, A. D. J. *Etnopharmacol.*, 12, 115-178, 1984.



*Catha edulis* Forsk

Otro ejemplo del uso de especies de celastráceas en la cultura tradicional es *Tripterygium wilfordii* Hook, conocida comúnmente en China como “Lei Gong Teng” y que es sin lugar a dudas, la especie más estudiada y de la que se han aislado mayor número de principios activos. Las raíces molidas de esta especie se han usado en China durante siglos por sus propiedades insecticidas.<sup>7</sup>

Recientemente, extractos crudos y extractos refinados de *T. wilfordii* se están usando en clínica para el tratamiento de la artritis reumatoide, espondilitis anquilosante, enfermedades autoinmunes y diversas afecciones dérmicas.<sup>8</sup> Existen diversas patentes sobre el uso de la raíz seca de esta especie como antitumoral y de la actividad del extracto clorofórmico como inmunosupresor y antiinflamatorio.<sup>9</sup>



<sup>7</sup> Chou, T. Q.; Mei, P. F. *J. Physiol.*, 10, 529-534, 1936.

<sup>8</sup> Wang, X.W.; Xie, H. *Drugs of the future*, 24, 991-997, 1999.

<sup>9</sup> Zheng, J. R.; Gu, K.; Xu, L.; Gao, J.; Yu, Y.; Tang, M. *Acta Acad. Med. Sin.*, 13, 391-397, 1991.

*Tripterygium wilfordii* Hook

El representante europeo mejor conocido de la familia Celastraceae, *Euonymus europaeus* L., es de las pocas especies tóxicas de esta familia. Se cultiva como planta ornamental y para obtener su madera, que se usa como carboncillo. Antiguamente, los tegumentos se usaban por su color, para teñir cuero y sus frutos, como purgantes y eméticos, aunque son venenosos.<sup>10</sup> Estudios fitoquímicos llevados a cabo para identificar sus principios activos, condujeron al aislamiento de poliésteres de tipo  $\beta$ -agarofuránico, algunos de ellos alcaloídicos, con propiedades antialimentarias e insecticidas.<sup>11</sup>

*Euonymus europaeus* L.

En diversas áreas de la Amazonía (Perú, Ecuador y Colombia) el polvo rojo de la corteza de una planta conocida como “chuchuhuasha” o “chuchuhuasi” es usado por los indígenas (Pastazas, Ticunas, Boras, Huitotos, Pebas, Yahuas, Cocamas, Arguarunas y Jíbaros) como tónico, para el tratamiento del reumatismo y como afrodisíaco. De forma tópica, este polvo es empleado incluso como antitumoral en el cáncer de piel y para combatir la soriasis<sup>12</sup>. En los últimos años se ha ampliado de forma apreciable la literatura sobre la “chuchuhuasca” y diversas especies del género *Maytenus* han recibido este nombre (*M. chuchuhuasca* R.-H., *M. krukovii* A. C. Smith, *M. laevis* Reissek, *Maytenus macrocarpa* (R. & P.) Briq. y *Maytenus ebenifolia* Reissek).<sup>13</sup>

<sup>10</sup> Perrot, E. *Les Plantes Medicinales, Part I*, Paris, R.R., Press Universitaires de France, Paris, 1971.

<sup>11</sup> Descoins, C. *Tesis Doctora.*, Universidad de La Laguna, 1999.

<sup>12</sup> González, J. G.; Delle Monache, G.; Delle Monache, F.; Marini-Bettolo, G. B. *J. Ethnopharmacol.*, 5, 73-77, 1982

<sup>13</sup> Colas, R. *Les plantes amazoniennes designées sous le nom de “Chuchuhuasha”*, Paris, 1937.



El estudio de la corteza de estas especies ha mostrado que poseen actividad antiinflamatoria, analgésica, antiartrítica y relajante muscular, entre otras.<sup>14</sup>

Otras especies del género *Maytenus* han atraído la atención por sus propiedades antitumorales. Así, la investigación desarrollada en especies africanas (*Maytenus ovata* Loes y *Maytenus buchananii* Loes) permitió el aislamiento del principio activo maytensina,<sup>15</sup> compuesto relacionado con las ansamicinas.

Como único representante de esta familia en las Islas Canarias, se encuentra *Maytenus canariensis* Loes, arbusto de ambiente termófilo, que recibe el nombre local de “peralillo”. Los agricultores y pastores lo usan como un estimulante suave, mascan sus hojas para aliviar la fatiga, lo que recuerda al uso del “khat” en África. Sus frutos machacados se utilizan externamente para rebajar tumoraciones en la piel y abscesos cutáneos y la infusión de sus hojas contra el reuma.<sup>16</sup>

Estudios fitoquímicos de *M. canariensis* han dado lugar al aislamiento e identificación de numerosos metabolitos secundarios, destacando sesquiterpenos<sup>17</sup> con actividad antialimentaria e insecticida y nortriterpenos metilénquinonas con actividad antibiótica y citotóxica.<sup>18</sup>



*Maytenus chuchuhuasca* R.-H.    *Maytenus canariensis* Loes

<sup>14</sup> Olarte, J. C. *Contribución al estudio de la flora colombiana*, Bogotá, **1976**.

<sup>15</sup> Kupchan, S. M.; Komoda, Y.; Court, W. A.; Smith, R. M.; Karim, A.; Gilmore, C. J.; Haltiwanger, R. C.; Bryan, R. F. *J. Am. Chem. Soc.*, 94, 1354-1356, **1972**.

<sup>16</sup> J. Otero. *Nuestras hierbas medicinales*, Caja Insular de Ahorros, Santa Cruz de Tenerife, **1984**.

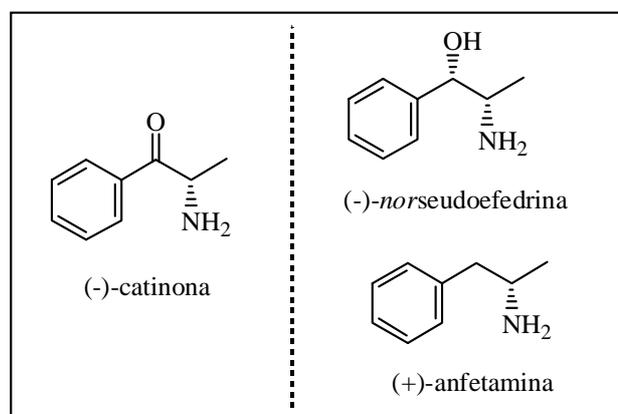
<sup>17</sup> Jiménez, I. A. *Tesis Doctoral*, Universidad de La Laguna, **1992**.

<sup>18</sup> Alveranga, N. L. *Tesis Doctoral*, Universidad de La Laguna, **1995**.

## Metabolitos secundarios aislados de celastráceas

De celastráceas se han aislado un gran número de metabolitos secundarios, destacando las fenilalquilaminas, maytensinoides, terpenoides y glicósidos cardiotónicos, los cuales presentan una amplia gama de actividades biológicas, que pasamos a reseñar.<sup>19,20</sup>

La  $\alpha$ -aminopropiofenona [(-)-catinona], una fenilalquilamina aislada del “khat” (*Catha edulis* Forsk), es la principal responsable de los efectos estimulantes que posee dicha planta. La estructura y configuración absoluta de la (-)-catinona es parecida a la (+)-anfetamina y (-)-norseudoefedrina, siendo todos ellos estimulantes del sistema nervioso central y de las cuales la (-)-catinona es la más potente.<sup>21</sup>



Los **maytensinoides** son compuestos que presentan marcadas similitudes en cuanto a su estructura con los antibióticos del tipo de la rifampicina, por ser ambos ansamacrólidos con diversos enlaces peptídicos, pero no tienen la misma biogénesis ni la misma actividad biológica. Este tipo de metabolitos estimuló el estudio de la familia

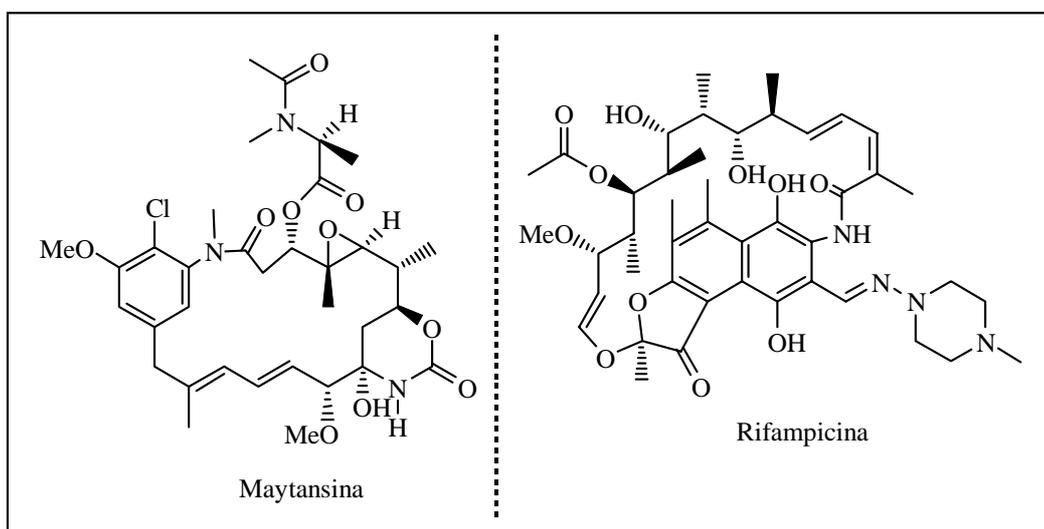
<sup>19</sup> Spivey, A.; Weston, M.; Woodhead, S. *Chem. Soc. Rev.*, 31, 43-59, **2002**.

<sup>20</sup> González, A. G.; Bazzocchi, I. L.; Jiménez, I. A.; Moijir, L. *Bioactive Natural Products (Part D)*, Elsevier Science: The Netherland, 23, 649-738, **2000**.

<sup>21</sup> Ahmed, M. B.; El Qirbi, A. B. *J. Ethnopharmacol.*, 39, 213-216, **1993**.



Celastraceae como posible fuente de sustancias bioactivas, pero recientemente se ha sugerido que las maytensinas no son metabolitos secundarios de la familia Celastraceae sino de un hongo/bacteria asociado a ella.<sup>22</sup> La maytensina es un agente antitumoral excepcionalmente interesante, que presenta actividad a dosis de microgramos por kilogramo de individuo. Sin embargo, debido a sus efectos secundarios (hepatotóxicos) se abandonó su aplicación clínica. Recientes investigaciones han dado una nueva posibilidad para su uso terapéutico, al combinarla con anticuerpos específicos.<sup>23</sup>

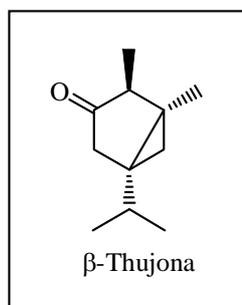


El grupo más numeroso de compuestos bioactivos de la familia Celastraceae sin duda son, los **terpenoides**. Los terpenoides son un grupo de metabolitos secundarios con gran diversidad estructural, que están formados por la repetición de una unidad de isopreno, que se unen entre sí, mediante una reacción “cabeza-cola”. Así, los monoterpenos están constituidos por dos unidades de isopreno ( $C_{10}$ ), los sesquiterpenos están constituidos por tres unidades ( $C_{15}$ ), los diterpenos por cuatro unidades ( $C_{20}$ ) y los triterpenos por seis unidades de isopreno ( $C_{30}$ ).

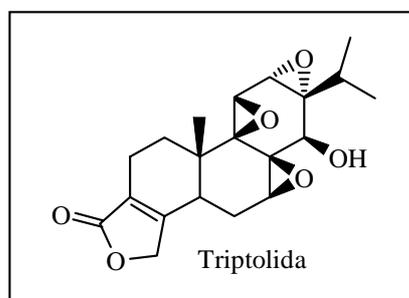
<sup>22</sup> Pullen, C.; Schmitz, P; Hoffmann, D.; Meurer, K.; Boettcher, T.; Bamberg, D.; Pereira, A.; Castro, F.; Hauser, M.; Geertsema, H.; Van Wyk, A.; Mahmud, T.; Floss, H.; Leistner, E. *Phytochemistry*, 62, 377-387, 2003.

<sup>23</sup> Liu, C.; Chari, V. *J. Expert. Opin. Invest. Drugs*, 6, 169-172, 1997.

Los **monoterpenos** son compuestos volátiles que forman parte de los aceites esenciales. La  $\beta$ -thujona, es el monoterpeno responsable del olor característico de las hojas frescas del “khat”.<sup>24</sup>



Los **diterpenos** son poco frecuentes en esta familia, se han aislado algunos metabolitos con esqueletos de isopimarano, abietano y abietatrieno. Estos últimos, poseen estructuras muy oxidadas como la triptolida, un triepóxido aislado de las raíces de *T. wilfordii* y uno de los responsables de la actividad antileucémica e inmunosupresora de esta planta,<sup>25</sup> que se comercializa en China, además para el control de la fertilidad.<sup>26</sup>



Los **sesquiterpenos y alcaloides sesquiterpénicos**, con esqueleto básico de dihidro- $\beta$ -agarofurano, se consideran indicadores quimiotaxonómicos de la familia Celastraceae. Se les han descrito una gran diversidad de propiedades como antialimentarias e insecticidas y recientemente, como inmunosupresoras,

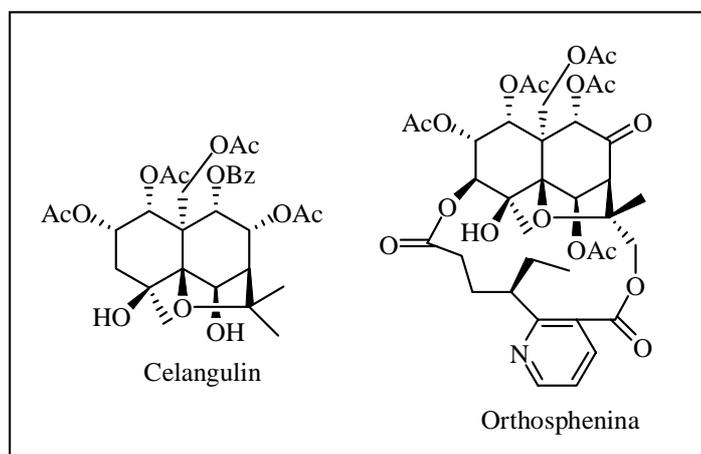
<sup>24</sup> Szendrei, K. *Lausanne International Council on Alcohol and Addiction*, 91, **1983**.

<sup>25</sup> Yang, D.; Ye, M. X.; Pang, K. W.; Zou, N.; Letcher, R. M. *J. Org. Chem.*, 63, 6446-6447, **1998**.

<sup>26</sup> Zhang, Z.; Ding, L.; Qian, S.; An, D. *J. Chin. Pharm. Sci.*, 2, 144, **1993**.



antitumorales, inhibidoras de la multirresistencia a fármacos y de la activación del virus Epstein-Barr, así como actividad anti-VIH.<sup>27</sup>



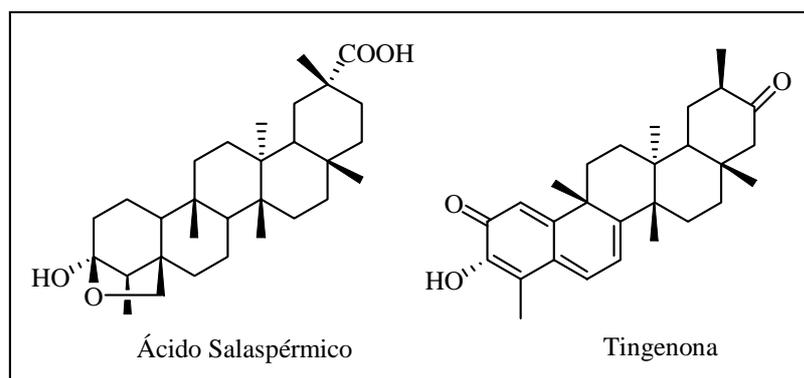
Los **triterpenos** se presentan con diferentes esqueletos, tanto tetracíclicos como pentacíclicos, con la singularidad de que algunos de ellos presentan sistemas metilenquinónicos sobre un esqueleto de friedelano, denominándose a estos compuestos *nor*triterpenometilenquinonas. Este tipo de compuestos sólo se han aislado de la familia Celastraceae, considerándose un indicador quimiotaxonómico. Sobre las *nor*triterpenometilenquinonas se han descrito una gran diversidad de actividades biológicas. Así, por ejemplo la tingenona presenta actividad citotóxica frente a las líneas celulares Hep-G2, H-4-II y SK-Mel-28 con  $CI_{50}$  de 1.9, 2.7 y 1.7  $\mu$ M, respectivamente<sup>28</sup> y actividad antimicrobiana frente a diferentes bacterias.<sup>29</sup> Otro triterpeno interesante es el ácido salaspérmico, que muestra actividad anti-VIH, al ser un inhibidor de la transcriptasa inversa del virus.<sup>30</sup>

<sup>27</sup> Spivey, A. C.; Weston, M.; Woodhead, S. *Chem. Soc. Rev.*, 31, 43-59, **2002**.

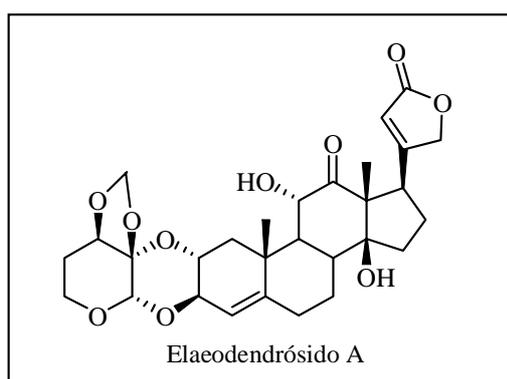
<sup>28</sup> Setzer, W. N.; Setzer, M. C.; Hopper, A.; Moriaty, D.; Lehrman, G. K.; Niekman, A.; Morcomb, S.; Bates, R. B.; McClure, K.; Stessman, C.; Haber, W. *Planta Med.*, 64, 583, **1998**.

<sup>29</sup> Sotanaphun, U.; Lipipum, V.; Suttisri, R.; Bavovada, R. *Planta Med.*, 65, 450-452, **1999**.

<sup>30</sup> Chen, K.; Shi, Q.; Kashiwada, Y.; Zhang, D.; Hu, C.; Jin, J.; Nozaki, H.; Kilkuskie, R.; Tramontano, E. *J. Nat. Prod.*, 55, 340-346, **1992**.



Los **glicósidos cardiotónicos** son muy abundantes en las semillas y raíces del género *Elaeodendrom*. Los metabolitos más interesantes de este grupo son los elaeodendrósidos, esteroides aislados de *Elaeodendrom glaucum* Pers, con una marcada actividad cardiotónica.<sup>31</sup>



En la familia Celastraceae sólo dos especies han presentado ciclopéptidos macrocíclicos; una serie de estos fueron aislados de *E. europeus*<sup>32</sup> y recientemente, se aisló de la corteza de raíz de *T. wilfordii*, el ciclopéptido denominado triptotin L.<sup>33</sup>

<sup>31</sup> Shimada, K.; Kyuno, T.; Nambara, T.; Uchida, I. *Heterocycles*, 15, 355-360, **1981**.

<sup>32</sup> Bishay, D. W.; Kowalewski, Z. *Phytochemistry*, 12, 693-698, **1973**.

<sup>33</sup> Yang, G.-Z.; Li, Y.-C. *Helv. Chim. Acta*, 85, 168-174, **2002**.





*Una mandrágora, según un herbario inglés del siglo XIII*

**OBJETIVOS**



En los países en vías de desarrollo el uso de las plantas medicinales representa una alternativa importante a la atención primaria en salud, además, el cultivo y comercialización de dichas plantas representa una fuente de ingresos y evita la dependencia de productos importados. La medicina tradicional de los países latinoamericanos es sumamente rica por razones fundamentales, la gran diversidad biológica y el conocimiento de los habitantes de los usos tradicionales de las plantas.

Nuestro grupo de investigación trabaja en la búsqueda de nuevos metabolitos secundarios con actividad biológica, centrado en especies de la familia Celastraceae y que se engloba en un proyecto de estudio de la flora medicinal iberoamericana. Nuestras investigaciones se dirigen a esta familia basándose en antecedentes bibliográficos que describen productos con actividad citotóxica, antimicrobiana, antiviral, inmunosupresora, inhibidora de la activación del virus Epstein-Barr, revertidota de la multiresistencia a fármacos, antialimentaria e insecticida, entre otras y al uso extendido en la medicina popular de especies de la familia Celastraceae.

Estos antecedentes han incrementado nuestro interés en el estudio de especies de esta familia, con los objetivos que se concretan a continuación:

- Aislamiento y elucidación estructural de los metabolitos secundarios de *Maytenus chiapensis* Lundell y *Crossopetalum uragoga* (Jacq.) Kuntze.
- Aplicación de nuevas técnicas en problemas de elucidación estructural y determinación de configuraciones absolutas.
- Revisión bibliográfica y sistematización estructural de sesquiterpenos alcaloídicos.
- Revisión bibliográfica de sesquiterpenos agarofuránicos.
- Revisión bibliográfica de diterpenos del abietano y abietatrieno en la familia Celastraceae.
- Aspectos quimiotaxonómicos de los géneros *Maytenus* y *Crossopetalum*.
- Estudio de las actividades biológicas de los metabolitos aislados.
- Estudio de las cuestiones que se susciten a lo largo de la investigación.



Fig. 16. *Bhesa archboldiana* (MERR. & PERRY) DING HOU. a. Habit, in fruit,  $\times \frac{2}{3}$ , b. stipule, from inside,  $\times 3$ , c. flower,  $\times 4$ , d. ditto in section, pistil removed,  $\times 4$ , e. pistil, f-g, ditto in sections,  $\times 8$ , h. seed with aril, i. seed in section, both nat. size.—*B. insulre* (BEDD.) DING HOU, j. 2-lobed fruit, both lobes dehiscing, k. seed enveloped by aril, both nat. size.—*B. paniculata* Arn. l. Flower,  $\times 4$ , m. ditto in section, pistil removed,  $\times 8$ , n. pistil,  $\times 8$ , o. fruit, one lobe barren, nat. size.—*B. robusta* (ROXB.) DING HOU, p. Flower,  $\times 4$ , q. ditto in section, pistil removed,  $\times 8$ , r. pistil,  $\times 8$ , s. fruit, nat. size (a BRASS 7754, b-g BRASS 28034, h-i BRASS 7754, j KEP 10158, k SF, 4177, l-n ASHTON 2613, o CLEMENS 27396, p-r KOSTERMANS 10319, s ditto 9716).

## DESCRIPCIÓN BOTÁNICA:

*Maytenus chiapensis* Lundell y

*Crossopetalum uragoga* (Jacq.) Kuntze



Los mayas ocuparon y ocupan un territorio continuo del trópico mesoamericano que abarca la Península de Yucatán, los estados de Campeche, Tabasco y Chiapas en México, todo el territorio de Belice y Guatemala y las porciones occidentales de Honduras y El Salvador. En esta extensión territorial encontramos una gran diversidad biológica, producto de los distintos procesos ecológicos, climáticos, edáficos, evolutivos, biogeoquímicos y culturales. Estos procesos interactúan entre si y a través del tiempo han modelado los distintos ambientes y los tipos de vegetación que caracterizan a esta región.

Es así, como el conjunto formado por México y los países centroamericanos suponen una de las regiones con flora y fauna más diversa del mundo.

Dentro de esta flora se encuentra la familia Celastraceae, constituida por aproximadamente 88 géneros y 1300 especies de plantas, 12 géneros de esta familia han sido reportados en Centroamérica.<sup>1</sup> Es una familia de plantas leñosas de regiones tropicales y subtropicales, aunque se encuentran algunos representantes en zonas templadas.

---

<sup>1</sup> Hammel, B. *Manual de Plantas de Costa Rica*, 2001.

Generalmente, los especímenes de celastráceas se caracterizan por ser árboles, arbustos y rara vez lianas, comúnmente dioicos, generalmente glabros; hojas simples, alternas u opuestas, dentadas o enteras; estípulas inconspicuas o ausentes. Inflorescencia axilar generalmente cimosa, a veces con fascículos de flores solitarias o paniculadas; flores pequeñas, regulares, verde pálido o blancas, pétalos 4-5, imbricados o valvados; estambres tantos como los pétalos y alternos con ellos, que surgen del margen de un disco usualmente plano, anteras más o menos orbiculares, usualmente versátiles, ovario súpero, 3-5 locular con 1-2 óvulos por cada celda; estilo simple ó 3-5 lobado; frutos en cápsulas de pocas semillas, drupas o sámaras; semillas con arilo blanco o anaranjado (en frutos capsulares).

Esta muy relacionada con la familia Aquifoliaceae (*Ilex sp.*), de la que difiere por tener estigmas capitados y frutos drupáceos con numerosas nuececillas. Asimismo, la familia Hippocrataceae esta íntimamente relacionada con la familia Celastraceae, debido tanto a su similitud botánica (la única diferencia es solo tener 3 estambres introrsos que surgen del centro del disco) como por como los aspectos químicos similares (presencia de alcaloides agarofuránicos, triterpenoquinonas, etc), por ello, sus géneros se incluyen en ocasiones dentro de las celastráceas como una subfamilia.<sup>2,3</sup>

### **Género: *Maytenus***

Se encuentran aproximadamente 225 especies, desde los trópicos a climas cálidos, en Centroamérica se encuentran 11 especies.<sup>1</sup>

El género *Maytenus* fue descrito en una obra pre-Linneo por Feuillée bajo el nombre de “maitén” basándose en la especie *Maytenus boaria*. Posteriormente, fue Molina en 1972 quien describió esta especie, no obstante cometió algunos errores morfológicos, lo que motivó que algunos botánicos

---

<sup>2</sup> Heywood, V. H. *Flowering Plants of the World*, Oxford University Press: New York, 178-181, 1993.

<sup>3</sup> Hedin, J. P. *Hippocrataceae*, Missouri Botanical Garden ([www.mobot.org/MOBOT/research/treat/hippocrat.html](http://www.mobot.org/MOBOT/research/treat/hippocrat.html)), 2001.



#### Descripción botánica

confundieran su descripción ubicándola en otras familias o creando otros géneros.

Este género presenta como caracteres taxonómicos ser árboles o arbustos con hojas alternas, enteras o dentadas y pequeñas estípulas deciduas. Inflorescencias racemosas, cimoso-paniculadas o fasciculadas; flores principalmente en 5 partes, de blancas a verde amarillentas o a veces rojizas, pétalos imbricados; ovario confluyente con el disco anular-aplanado, 2 celdas con 1 ó 2 óvulos por celda. Fruto capsular ovoide, 2 ó 3(4) celdas, principalmente 1 semilla, de amarilla a anaranjada con un arilo blanco.

#### **Descripción botánica de *Maytenus chiapensis* Lundell**

*Maytenus chiapensis* Lundell, se colectó por primera vez en el Estado de Chiapas, México, de donde toma su nombre. Es un árbol de aproximadamente 15 metros de altura, propio de bosque tropical entre 1000 y 1200 metros sobre el nivel del mar. Hojas enteras, alternas, simples, dísticas, glabras, oblongas de consistencia coriácea, con pecíolo decurrente y estípulas caducas. Inflorescencias en cimas terminales o axilares. Flores verdes bisexuales o unisexuales. Fruto en cápsula de color verde.

*M. chiapensis* Lundell, es conocido en El Salvador con el nombre común de “escobo blanco”. Fue recolectado en agosto de 1999 en el Parque Nacional “El Imposible”, bosque tropical de montaña que se encuentra entre 300 y 1450 metros sobre el nivel del mar, ubicado en el Departamento de Ahuachapán, entre los municipios de San Francisco Menéndez y Tacuba, correspondiente al gran paisaje de la Cordillera Costera de Apaneca-Ilamatepec (El Salvador). El espécimen se encuentra depositado como ISB-88 en el Jardín Botánico La Laguna, Antiguo Cuscatlán, Santa Tecla, El Salvador.

No se le conocen usos en la medicina tradicional de México y El Salvador.

Publicado en: *Wrightia* 1 (2): 156. 1946



*Maytenus chiapensis* Lundell

Corteza del tallo

**Género: *Crossopetalum***

Se encuentran aproximadamente 36 especies en América tropical, especialmente en las Antillas. En Centroamérica se localizan 10 especies.

Son árboles o arbustos pequeños con tallos cuadrados, hojas opuestas, dentadas y pequeñas estípulas inconspicuas. Inflorescencia cimosa; flores en 4 ó 5 partes, pétalos imbricados; ovario confluyente con el disco, 3 ó 4 celdas con un óvulo por celda. Fruto en drupa de una semilla, ovoide o algo reniforme, carnoso, normalmente rojo al madurar.

**Descripción botánica de *Crossopetalum uragoga* (Jacq.) Kuntze**

Arbusto pequeño de 20-100 cm, con tallos pubescentes. Hojas elípticas 2-5.5 x 0.5-1.5 cm, finamente aserradas, haz y envés pubescentes, pecíolos aproximadamente de 1 mm. Inflorescencia pequeña con pocas flores, pedúnculo



### Descripción botánica

hasta aproximadamente 10 mm, pedicelos hasta aproximadamente 5 mm, pubescentes. Frutos ovoides a casi globosos aproximadamente de 6 mm de diámetro, rojo brillante; semillas levemente tuberculadas.

*Crossopetalum uragoga* (Jacq.) Kuntze, es conocida en El Salvador con el nombre común de “arbolito de navidad”. Fue recolectado en agosto de 1999 en el Parque Nacional “El Imposible” y se encuentra depositado como JMR-577 en el Jardín Botánico La Laguna, Antiguo Cuscatlán, Santa Tecla, El Salvador.

Esta especie se ha localizado en México (Tanjasnex, San Luis Potosí), donde los indígenas huastecos la llaman “aretes de viejita” y sus raíces las emplean para expulsar cálculos renales; en Cuba se usa como diurético y en el tratamiento de la nefritis. Además, se localiza en Honduras, Nicaragua y Costa Rica.<sup>4</sup>

Publicado en: Revis. Gen. Pl. 1:116, **1891**.

Sinónimos: *Myginda uragoga* Jacq. Enum. Syst. Pl. p. 12, **1760**.

*Crossopetalum scoparium* (Hook. & Arn.) Kuntze.



*Crossopetalum uragoga* (Jacq.) Kuntze

Tallos

<sup>4</sup> Domínguez, X. A.; Franco, R.; Alcorn, J. B.; García, S.; Ortega, D. A. *Rev. Latinoamer. Quim.*, 15-1, 42, **1984**.



*Situación geográfica de El Salvador en el istmo Centroamericano.*



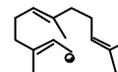
*El dios Tláloc "El que hace brotar"*

## *ESTUDIO FITOQUÍMICO*

*Maytenus chiapensis y*

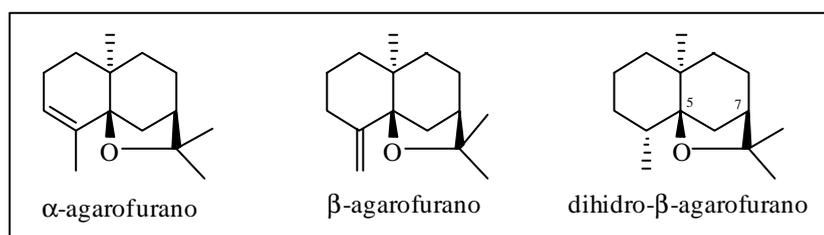
*Crossopetalum uragoga*

*SESQUITERPENOS*



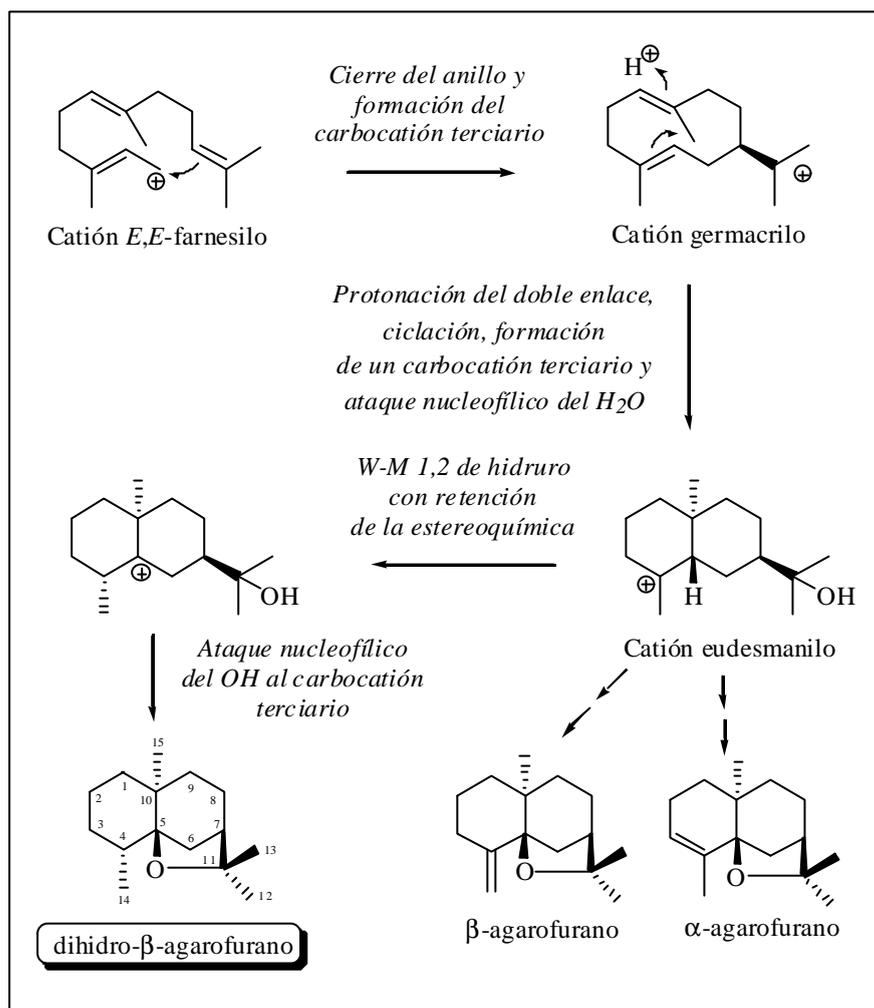
Los agarofuranos son sesquiterpenos tricíclicos de la familia del eudesmano, que provienen del catión *E,E*-farnesilo, pasando por el catión germacrilo como intermedio en la biogénesis (Figura 5).<sup>1</sup> Así, el esqueleto base de los sesquiterpenos agarofuranos, es un sistema decalínico con unión *trans* y un anillo tetrahidrofuránico, entre C-5 y C-7, en posición  $\hat{a}$  con respecto al plano del sistema decalínico.

Los primeros agarofuranos descritos en la literatura, el  $\alpha$ -agarofurano, el  $\hat{a}$ -agarofurano y el dihidro- $\hat{a}$ -agarofurano, fueron aislados del aceite de la madera de *Aquilaria agallocha* Roxb. (Thymelaceae) por Jain y col. en 1962.<sup>2</sup>



<sup>1</sup> Dewick, P. M. *Medicinal Natural Products*, John Wiley & Sons Ltd.; Ed, Baffins Lane, Chichester, 2<sup>nd</sup> ed., 2002.

<sup>2</sup> Jain, T. C.; Maheshwari, M. L.; Bhattacharyya, S. C. *Perf. and Ess. Oil Res.*, 53, 294-296, 1962.



**Figura 5.** Biogénesis de sesquiterpenos agarofuránicos.

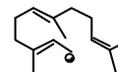
Sus estructuras fueron determinadas un año más tarde por Maheswari,<sup>3</sup> mediante estudios espectroscópicos (IR y RMN) y transformaciones químicas que confirmaron la existencia en estas moléculas de un anillo decalínico, un anillo tetrahydrofuránico y una configuración  $\alpha$  para el metilo angular en C-10. Posteriormente, en 1967, Barrett y Büchi<sup>4</sup> determinan la conformación de la unión de los dos anillos, como *trans* y una disposición  $\alpha$  del sustituyente tetrahydrofuránico.

Los sesquiterpenos con esqueleto de dihidro- $\beta$ -agarofurano [5,11-epoxi-5 $\alpha$ ,10 $\alpha$ -eusedman-4(14)-eno] son metabolitos frecuentes de las celastráceas y son considerados como indicadores quimiotaxonómicos de la familia.<sup>5</sup>

<sup>3</sup> Maheswari, M. L.; Jain, T. C.; Bates, R. B.; Bhattacharyya, S. C. *Tetrahedron*, 19, 1079-1090, **1963**.

<sup>4</sup> Barrett, H. C.; Büchi, G. *J. Am. Chem. Soc.*, 89, 5665-5667, **1967**.

<sup>5</sup> Brüning, R.; Wagner, H. *Phytochemistry*, 17, 1821-1858, **1978**.



Estudios de Rayos X y conformacionales han demostrado, que con pequeñas variaciones, los anillos A–B con unión *trans* forman un sistema decalínico de silla-silla, ligeramente distorsionado por la presencia del enlace 1,3-diaxial del anillo tetrahidrofuránico, prácticamente perpendicular al plano formado por los carbonos C-5, C-7, C-8 y C-10.

Dada la complejidad y número de agarofuranos aislados y con el objeto de simplificar su estudio se han clasificado dependiendo de sus esqueletos polihidroxicos base según el número, posición y estereoquímica de los sustituyentes. De acuerdo a ello, nos encontramos más de cincuenta series de sesquiterpenos dihidro-agarofuránicos (Figura 6), con esqueletos que van desde los más simples como es el caso del boario<sup>6</sup> que posee dos grupos hidroxilos, hasta los más complejos con nueve grupos hidroxilos en las series del euonyminol e isoeuonyminol.<sup>7</sup>

Estos sesquiterpenos suelen encontrarse en forma de poliésteres, esterificados generalmente con ácido acético y benzoico, así como por complejos ácidos alifáticos y heterocíclicos (Figura 7).

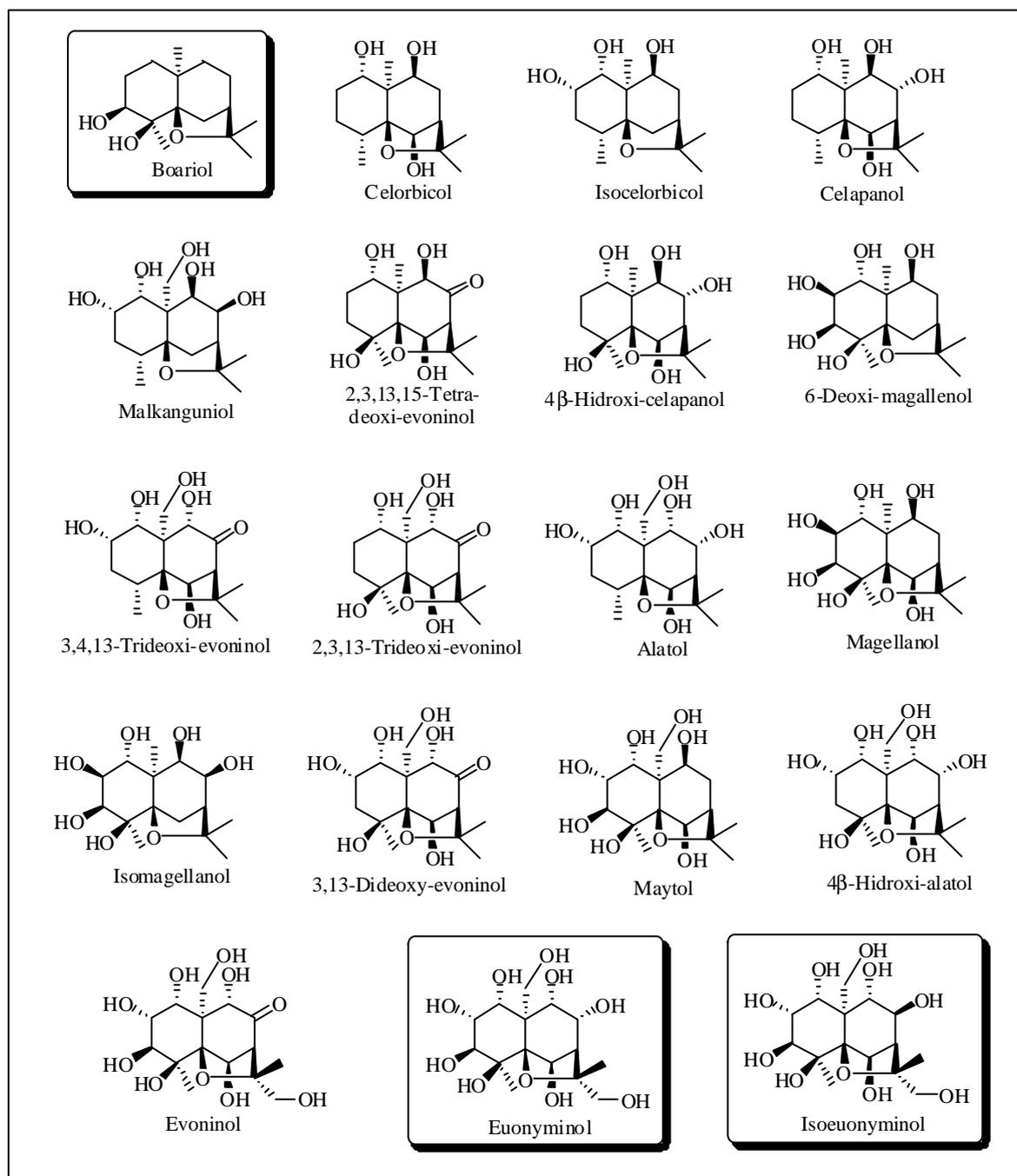
La configuración absoluta de estos compuestos se ha resuelto en muchos casos mediante estudios de dicroísmo circular,<sup>8</sup> haciendo uso del método de la quiralidad del benzoato, que es una extensión del método del excitón quiralidad,<sup>9</sup> ya que presentan en la mayoría de los casos grupos cromóforos (benzoato, nicotinato o cinamato), por lo que nos encontramos con productos, que bien naturales o derivados por introducción de nuevos cromóforos, son susceptibles de análisis mediante esta técnica.

<sup>6</sup> González, A. G.; Muñoz, O. M.; Ravelo, A. G.; Crespo, A.; Bazzocchi, I. L.; Jiménez, I. A.; Solans, X.; Ruiz-Pérez, C.; Rodríguez-Romero, V. *Tetrahedron Lett.*, 33, 1921-1924, **1992**.

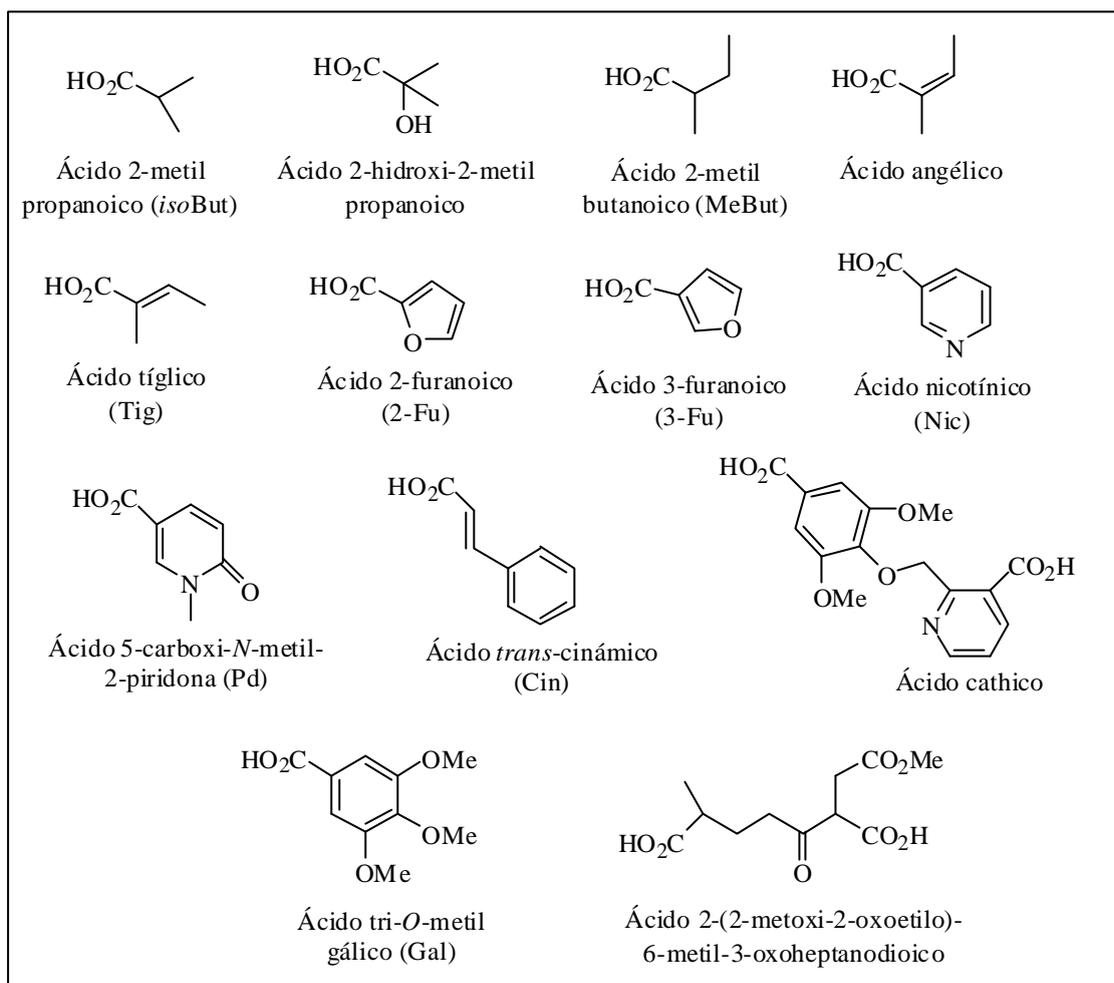
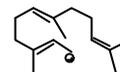
<sup>7</sup> Shizuri, Y.; Wada, K.; Sugiura, K.; Hirata, Y. *Tetrahedron*, 29, 1773-1774, **1973**.

<sup>8</sup> Takaiishi, Y.; Noguchi, H.; Murakami, K.; Nakamo, K.; Tomimatsu, T. *Phytochemistry*, 29, 3869-3873, **1990**.

<sup>9</sup> Harada, N.; Nakanishi, K.: *Circular Dichroic Spectroscopy-Exciton Coupling in Organic Stereochemistry*, University Science Books, Mil Valley, C.A. **1983**.



**Figura 6.** Algunos sesquiterpenos agarofuranos polihidroxílicos.



**Figura 7.** Ácidos carboxílicos que esterifican a los sesquiterpenos agarofuránicos.

## ACTIVIDADES BIOLÓGICAS

El interés generado por los sesquiterpenos poliesterificados de la familia Celastraceae se ha incrementado dada la amplia gama de actividades biológicas que presentan.

### Actividad Antialimentaria e Insecticida

Tradicionalmente son conocidas en China las propiedades insecticidas de *Celastrus angulatus* Maxim. y *Tripterygium wilfordii* Hook,<sup>10</sup> cuyas partes aéreas, molidas y mezcladas con agua se añaden sobre las plantas para protegerlas de diversas plagas.

Diversos trabajos dan cuenta del aislamiento de sesquiterpenos poliesterificados y alcaloides sesquiterpénicos a los que responsabilizan de la actividad frente a diferentes insectos, no sólo de estas especies, sino también de otras celastráceas<sup>11,12,13,14,15</sup>. Ello motivó que diversos grupos de investigación iniciaran estudios conducentes a la determinación de los compuestos responsables de esta actividad.

El primer trabajo sobre la actividad antialimentaria de sesquiterpenos poliesterificados no alcaloídicos fue publicado por Wakabayashi y col.,<sup>16</sup> quienes aíslan celangulin (Figura 8) de *C. angulatus*, activo frente a *Spodoptera frugiperda* “gusano cogollero”. Recientemente, de esta misma planta, se han aislado ocho sesquiterpenos con actividad insecticida frente a *Mythimna separate*, “insecto del ejército norteño”<sup>17,18</sup>. Desde entonces, se ha llevado a cabo un extenso trabajo sobre la actividad antialimentaria e insecticida de sesquiterpenos poliesterificados de celastráceas.

En nuestro grupo de trabajo se llevó a cabo un amplio estudio de la actividad antialimentaria de cuarenta y uno sesquiterpenos con esqueleto de dihidro-β-agarofurano, aislados de diversas especies de celastráceas, así como catorce compuestos de síntesis

<sup>10</sup> Swingle, W. T.; Haller, H. L.; Siegler, E. H.; Swingle, M. C. *Science*, 93, 60-61, **1941**.

<sup>11</sup> Jacobson, M.; Crosby, D. G. *Naturally Occurring Insecticidal*, Marcel Dekker, New York, 225, **1971**.

<sup>12</sup> Lin, J. K.; Jia, Z. J.; Wu, D. G.; Zhon, J.; Wang, Q. G. *Phytochemistry*, 29, 2503-2505, **1990**.

<sup>13</sup> Wang, C. L.; Nang, P.; Gong, F. J.; Zhu, X. Q. *Kexue Tongbao*, 15, 1156-1158, **1990**.

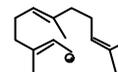
<sup>14</sup> Ke, Z.; Nan, U.; Lu, L.; Wu, D. *Acta Phytolacica Sinica*, 14, 208-216, **1987**.

<sup>15</sup> Shin-Foon, Ch. *Insecticides of Plant Origin*. American, Chemical Society, Washington D.C. 6, 69-77, **1989**.

<sup>16</sup> Wakabayashi N.; Wu, W. J.; Waters, R. M.; Redfern, R. E.; Mills, Jr G. D.; De Milo A. B.; Lusby W. R. *Andrzejewski. J. Nat. Prod.*, 51, 537-540, **1988**.

<sup>17</sup> Wenjun, W.; Mingan, W.; Wenming, Z.; Jinbo, Z.; Zhiqing, J.; Zhaonong, H. *Phytochemistry*, 58, 1183-1187, **2001**.

<sup>18</sup> Wenjun, W.; Mingan, W.; Wenming, Z.; Jinbo, Z.; Zhiqing, J.; Zhaonong, H. *J. Nat. Prod.*, 64, 364-367, **2001**.

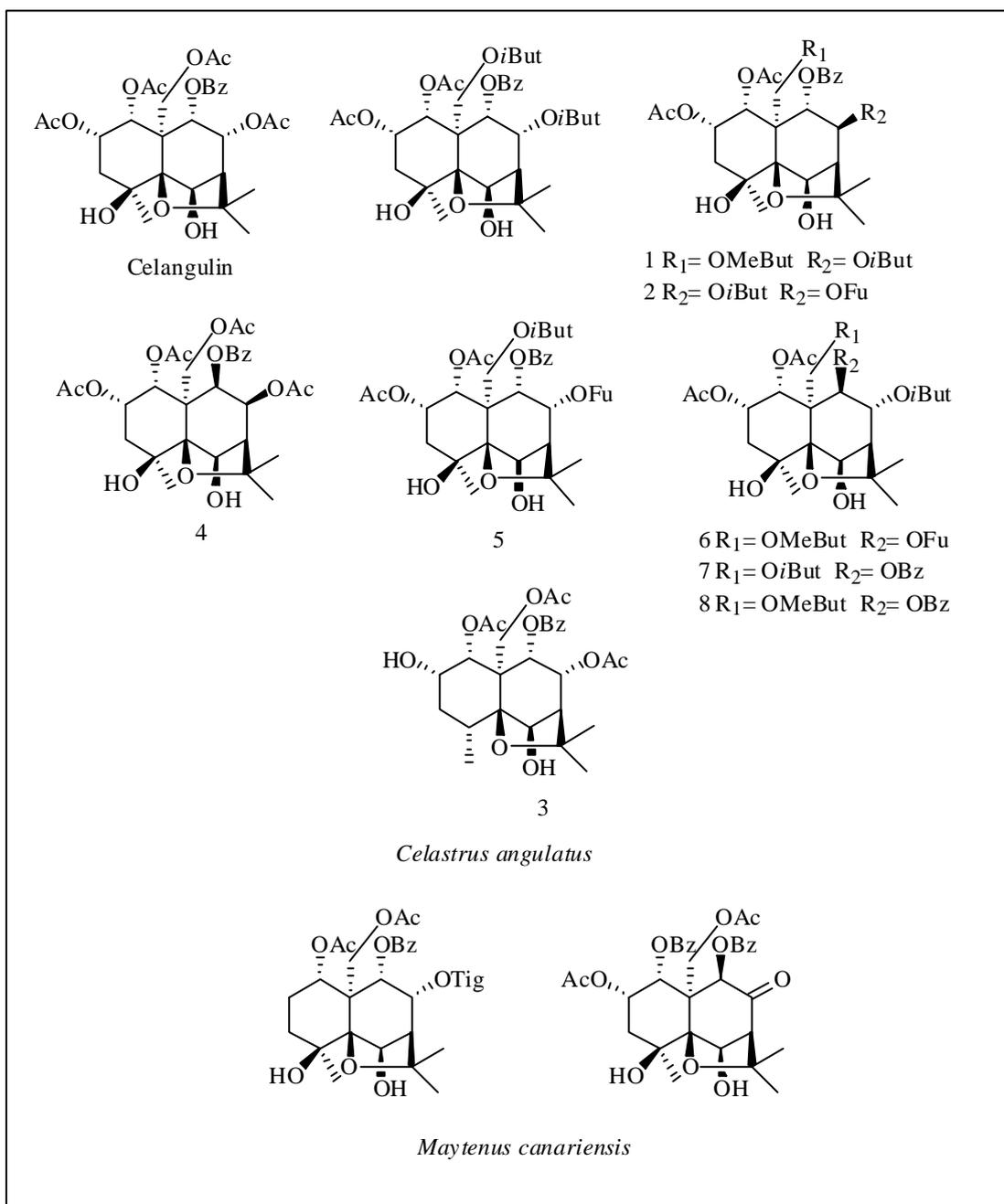


relacionados frente a *Spodoptera littoralis* “rosquilla negra” en el quinto estadio<sup>19</sup> (Figura 8). Estos estudios permitieron establecer que la actividad antialimentaria aumenta con el número de grupos acetatos presentes en la molécula y disminuye con el número de benzoatos. En general, los productos que tienen ésteres aromáticos en C-1 y C-9 son poco activos, mientras que la introducción de grupos ésteres en C-2 no modifica la actividad. Por otro lado, la actividad insecticida está relacionada con la presencia en la molécula de un grupo carbonilo en C-8. No se observó actividad antialimentaria o insecticida en los productos de síntesis que se ensayaron (tetrahidrofuranos), lo que demostró que el sistema tricíclico es un requisito para la expresión de estas actividades.

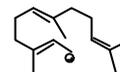
Estos datos indican que nos encontramos con una familia de productos activos y potencialmente útiles en la protección de los cultivos, quedando aún por estudiar algunas variables como son el uso de estas sustancias naturales con otros antialimentarios sintéticos, dentro de un control integrado de plagas con el objetivo de evitar los problemas de resistencia en los insectos o bien retrasar su aparición.

---

<sup>19</sup> González, A. G.; Jiménez, I. A.; Ravelo, A. G.; Coll, J.; González, J. A.; Lloria, J. *Biochem. Syst. and Ecol.*, 25, 513-519, 1997.

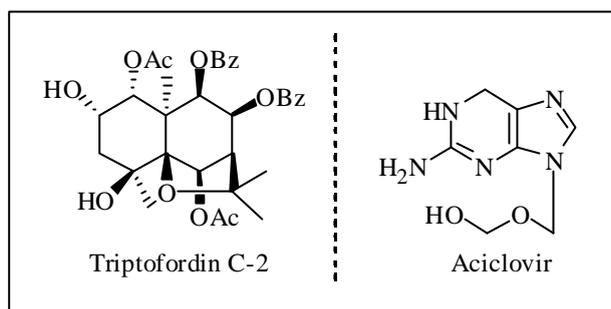


**Figura 8.** Sesquiterpenos agarofuránicos antialimentarios e insecticidas aislados de *Celastrus angulatus* y *Maytenus canariensis*.



### Actividad antiviral

La actividad de 13 sesquiterpenos aislados de *T. wilfordii* fue evaluado frente a los virus: herpes simplex 1 (HSV-1), virus de la influenza A, citomegalovirus y el virus de la rubéola. De todos los compuestos sólo triptofordin C-2 (Figura 9) mostró actividad frente al herpes simplex 1, aumentado su efecto antiviral cuando se combinó con aciclovir.



**Figura 9.** Sesquiterpeno con actividad antiviral frente a HSV-1 y estructura de aciclovir.

### Actividad inhibidora de la activación del virus Epstein-Barr

La inhibición de tumores en su etapa de promoción es una de las estrategias más prometedoras en la quimioprevención del cáncer.<sup>20</sup> En los últimos años se han publicado estudios sobre la actividad inhibidora de la inducción de tumores de numerosos productos naturales, incluyendo flavonoides,<sup>21</sup> triterpenoides<sup>22</sup> y quinonas.<sup>23</sup> Takaishi y col.<sup>24</sup> ensayaron por primera vez sesquiterpenos dihidro-â-agarofuránicos, aislados de *T. wilfordii* (Figura 10), obteniendo excelentes resultados, ya que estos actúan como posibles inhibidores de la activación de los antígenos tempranos del virus Epstein-Barr, inducido por el 13-acetato-12-*O*-tetra-decanoilforbol (TPA). El virus Epstein-Barr (VEB) es un virus que ha sido implicado en la etiopatogenia de diversas neoplasias de linfomas B (linfoma de

<sup>20</sup> Murakami, A.; Ohigashi, H.; Koshimizu, K. *Biosci. Biotech. Biochem.*, 60, 1-8, **1996**.

<sup>21</sup> Konoshima, T.; Tabasaki, M.; Kozuka, M.; Inada, A.; Nakanishi, T.; Tokuda, H.; Matsumoto, T. *Shoyakugaku Sasshi*, 43, 135-141, **1989**.

<sup>22</sup> Diablo, B.; Vanhaelen, M.; Vanhaelen-Fastré, R.; Konoshima, T.; Kozuka, M.; Tokuda, H. S. *J. Nat. Prod.*, 52, 879-881, **1989**.

<sup>23</sup> Konoshima, T.; Kozuka, M.; Koyama, J.; Okatani, T.; Tagahara, K.; Tokuda, H. *J. Nat. Prod.*, 52, 987-995, **1989**.

<sup>24</sup> Takaishi, Y.; Ujita, K.; Tokuda, H.; Nishino, H.; Iwashima, A.; Fujita, T. *Cancer Lett.*, 65, 19-26, **1992**.

Burkitt, linfomas de Hodgkin), de células epiteliales (carcinoma nasofaríngeo) y de células de músculo liso. Así mismo, es el agente etiológico de la mononucleosis infecciosa.

Nuestro grupo de trabajo llevó a cabo un estudio, en colaboración con el Profesor H. Tokuda del Kyoto Prefectural University of Medicine, Kyoto, Japón, sobre la relación estructura-actividad de una serie de sesquiterpenos aislados de *Maytenus cuzcoina* Loesener<sup>25,26</sup> (Figura 10). Cabe destacar que los alcaloides sesquiterpénicos no presentaron actividad, lo que sugiere que el tamaño de la molécula afecta fuertemente a su actividad inhibidora y los estrictos requerimientos estructurales para tal actividad hacen pensar que existe una diana específica implicada en el mecanismo de acción de estos sesquiterpenos.

La actividad inhibidora de algunos de estos compuestos resultó aun mayor que la de glycyrrhizina y el ácido retinoico,<sup>27</sup> los cuales son conocidos inhibidores de los promotores de actividad tumoral.

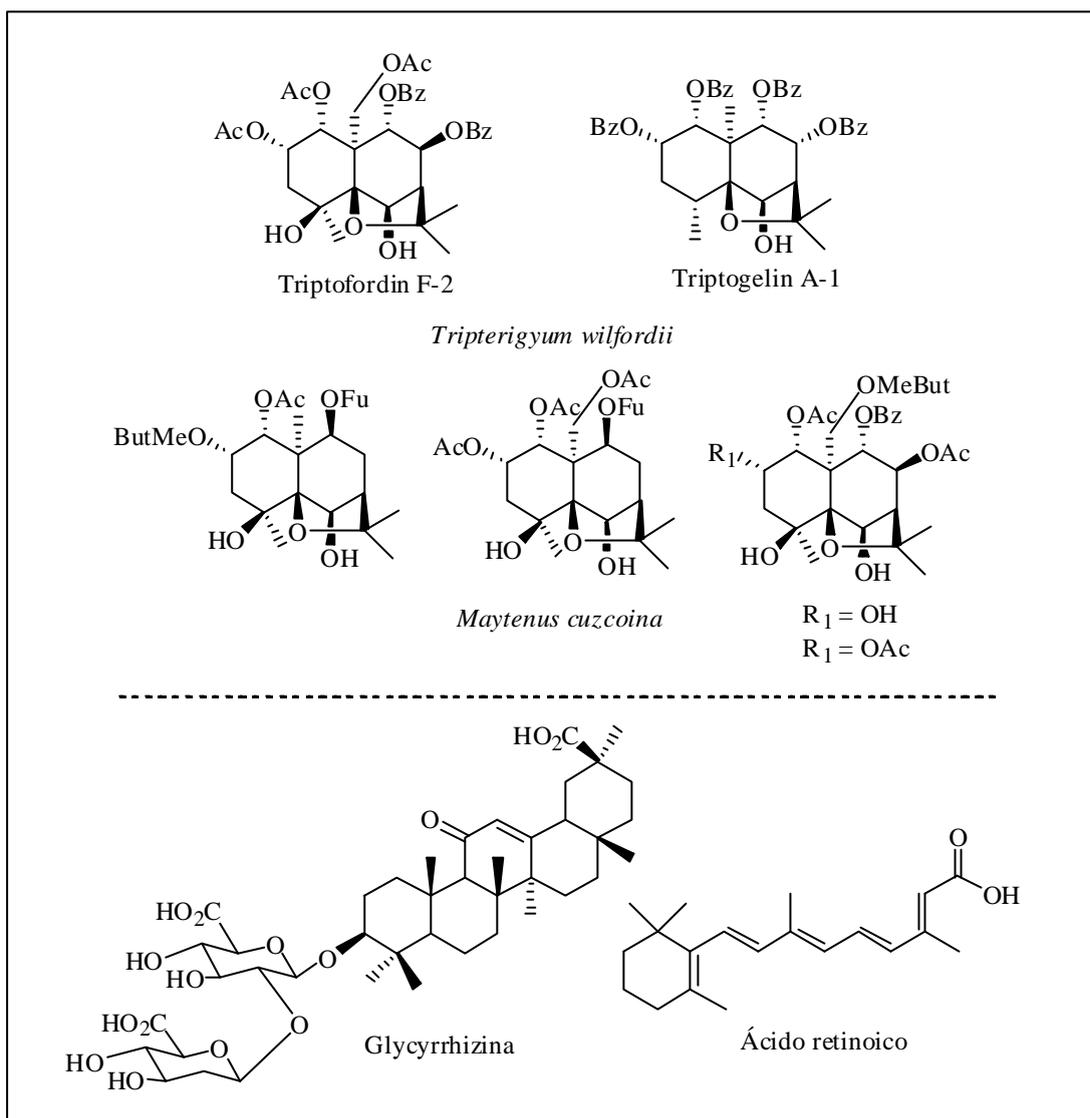
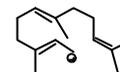
De ello se deduce que nos encontramos ante un nuevo tipo de compuestos realmente prometedores como agentes quimiopreventivos y que los frutos de *M. cuzcoina* L. pueden resultar una importante fuente de estos agentes.

---

<sup>25</sup> González, A. G.; Tincusi, B. M.; Bazzocchi, I. L.; Tokuda, H.; Nishino, H.; Konoshima, T.; Jiménez, I. A.; Ravelo, A. G. *Bioorgan. Med. Chem.*, 8, 1773-1778, **2000**.

<sup>26</sup> Jiménez, I. A.; Bazzocchi, I. L.; Núñez, M. J.; Mukainaka, T.; Tokuda, H.; Ravelo, A. G. *J. Nat. Prod.*, 66, 1047-1050, **2003**.

<sup>27</sup> O'Brian, C. A.; Word, N. E.; Vogel, V. G. *Cancer Lett.*, 49, 9-12, **1990**.



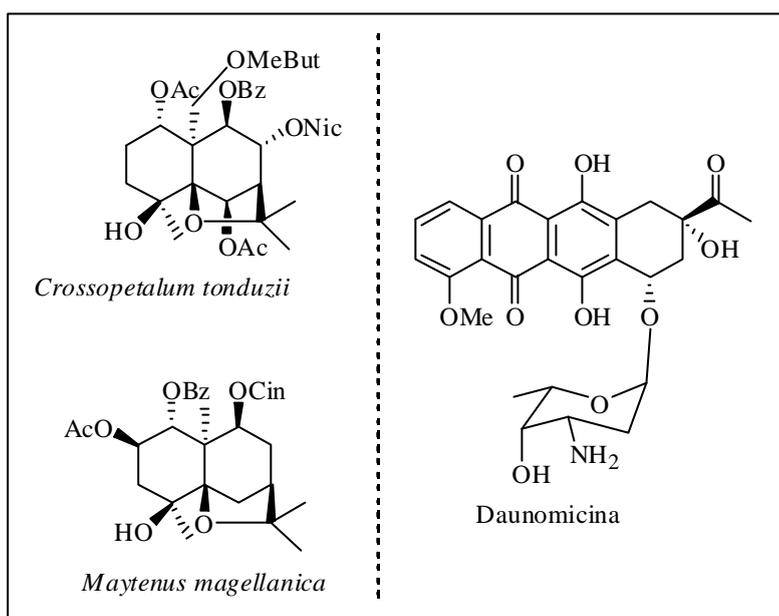
**Figura 10.** Sesquiterpenos agarofuránicos como inhibidores de la activación virus del Epstein-Barr y estructuras de glycyrrhizina y ácido retinoico.

**Actividad Revertidora de la Multiresistencia a Fármacos (MDR)**

La resistencia a la quimioterapia desarrollada por los organismos infecciosos y por las células tumorales representa uno de los problemas más importantes a los que se enfrenta la medicina en la actualidad, al impedir el éxito del tratamiento farmacológico de numerosas enfermedades. Se han encontrado cepas resistentes a fármacos en casi todos los agentes infecciosos estudiados, desde virus a parásitos y el fallo en el tratamiento de

muchos tumores también suele ir asociado a problemas de resistencia a la quimioterapia, siendo de especial importancia el fenómeno de la multiresistencia a fármacos (MDR).

Es nuestro grupo de trabajo se determinó el efecto revertidor *in vivo* de sesquiterpenos (Figura 11) sobre el crecimiento de parásitos resistentes a la daunomicina (DNM).<sup>28,29</sup> Los resultados obtenidos mostraron que dicha actividad depende del esqueleto polihidroxílico base y del número, tipo y posición de los ésteres en la molécula.



**Figura 11.** Sesquiterpenos agarofuránicos activos como revertidores de la MDR aislados de *Crossopetalum tonduzii* y *Maytenus magellanica* y estructura de la daunomicina.

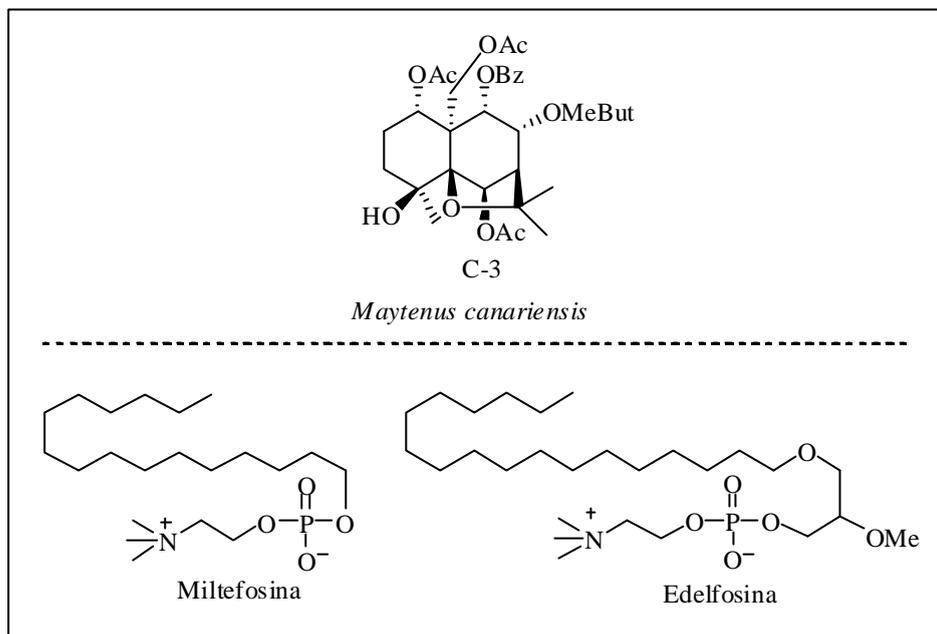
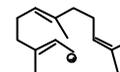
Los alquil-lisofosfolípidos (ALP), originalmente desarrollados como drogas anticancerígenas, son considerados los agentes leishmanicidas más prometedores hoy día, principalmente mitelfosina y edelfosina.<sup>30</sup> Para anticiparse al más que probable mecanismo de resistencia que estas drogas originaran en el futuro, nuestro equipo investigó posibles mecanismos de resistencia de estas drogas frente a *Leishmania* spp. Así, fueron ensayados una serie de sesquiterpenos aislados de *M. canariensis*, resultando el producto C-3 especialmente efectivo como revertidor (Figura 12).<sup>31</sup>

<sup>28</sup> Pérez-Victoria, J. M.; Tincusi, B. M.; Jiménez, I. A.; Bazzocchi, I. L.; Gupta, M. P.; Castanys, S.; Gamarro, F.; Ravelo, A. G. *J. Med. Chem.*, 42, 4388-4393, **1999**.

<sup>29</sup> Kennedy, M. L.; Cortés-Selva, F.; Pérez-Victoria, J. M.; Jiménez, I. A.; González, A. G.; Muñoz, M.; Gamarro, F.; Castanys, S.; Ravelo, A. G. *J. Med. Chem.*, 44, 4668-4676, **2001**.

<sup>30</sup> Urbina, J. A. *Parasitology*, 114, s91-s99, **1997**.

<sup>31</sup> Pérez-Victoria, J. M.; Pérez-Victoria, F. J.; Parodi-Talice, A.; Jiménez, I. A.; Ravelo, A. G.; Castanys, S.; Gamarro, F.



**Figura 12.** Sesquiterpeno agarofuránico aislado de *Maytenus canariensis* con actividad MDR y estructura de miltefosina y edelfosina.

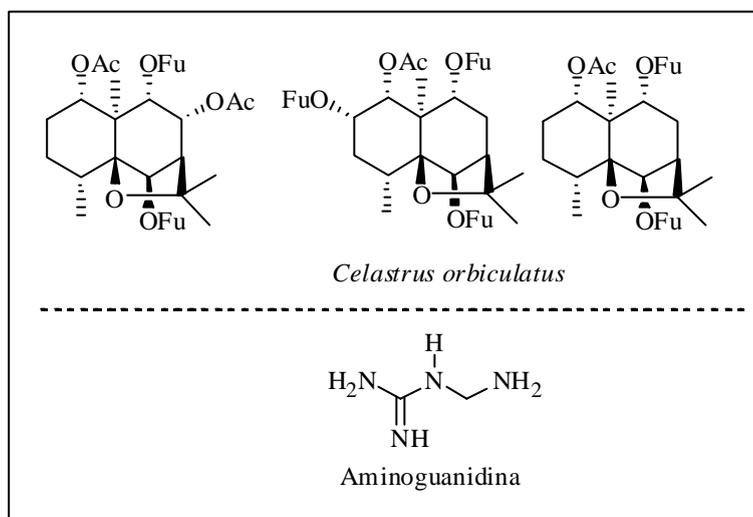
### Actividad Antiinflamatoria

El factor nuclear Kappa-B ( $\text{NF-}\kappa\text{B}$ ) es un factor dimérico de transcripción que activa la expresión de muchos genes involucrados en los procesos inflamatorios, por ejemplo las citoquinas 1L-1 $\alpha$ , 1L-2 y TNF- $\alpha$ , moléculas de adhesión o enzimas tales como la iNOS, ciclooxigenasa II y 5-lipooxigenasa.<sup>32</sup> El factor  $\text{NF-}\kappa\text{B}$  es inactivo sin estímulos y es activado mediante signos celulares tales como TNF- $\alpha$ , IL-1, lipopolisácaridos (LPS), luz ultravioleta y esteres del forbol. En células sin estimulación, el  $\text{NF-}\kappa\text{B}$  es retenido en el citoplasma vía interacción con su inhibidor  $\text{I}\kappa\text{B}$ . En respuesta a varios estímulos proinflamatorios, el inhibidor  $\text{I}\kappa\text{B}$  es fosforilado por el complejo  $\text{I}\kappa\text{B}$  quinasa. La activación del  $\text{NF-}\kappa\text{B}$  resulta en la expresión de numerosas moléculas de adhesión y enzimas responsables de la inflamación como la óxido nítrico sintetasa inducible (iNOS). La producción excesiva de NO (óxido nítrico) que se produce por el iNOS en los macrófagos y células endoteliales es la responsable de la inflamación y está implicada en la patogénesis

*Antimicrob. Agents Chemother.*, 45, 2468-2474, 2001.

<sup>32</sup> Tak, P. P.; Firestein, G. S. *J. Clin. Invest.*, 107, 7-11, 2001.

de algunas enfermedades inflamatorias tales como artritis reumatoidea, inflamación del intestino, en el rechazo de injertos, arteroesclerosis, asma y en el *Helicobacter pylori* asociado a la gastritis<sup>35</sup> y asociado con cáncer, caquexia, diabetes, SIDA, etc.<sup>33</sup> Jin y col.<sup>34</sup> ensayaron seis sesquiterpenos agarofuránicos aislados de *Celastrus orbiculatus* (Figura 13) como inhibidores de la activación del factor NF- $\kappa$ B, tres de los cuales mostraron una actividad moderada tanto en la inhibición de NF- $\kappa$ B como en la producción de NO, utilizando como control un inhibidor de iNOS, la aminoguanidina.



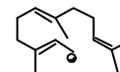
**Figura 13.** Sesquiterpenos agarofuránicos con actividad antiinflamatoria aislados de *Celastrus orbiculatus* y estructura de aminoguanidina.

## Síntesis

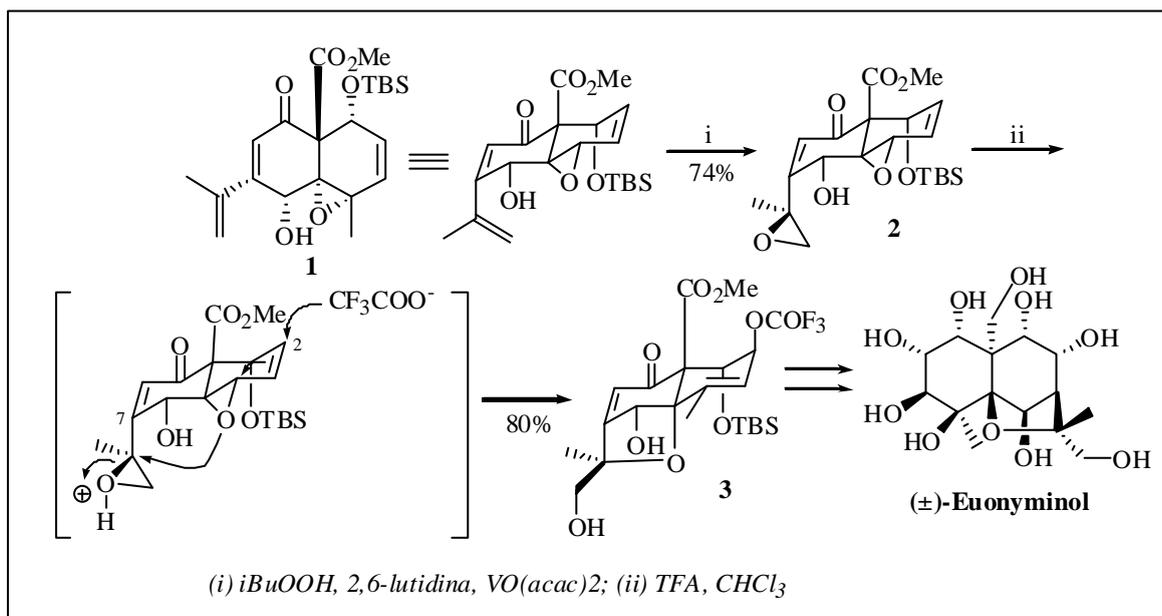
El descubrimiento de las propiedades biológicas de los sesquiterpenos agarofuránicos se ha incrementado en los últimos años. El interés por estas moléculas a fin de determinar sus mecanismos de acción, establecer relaciones estructura-actividad y como alternativa al aislamiento de fuentes naturales, motivó la realización de aproximaciones a su síntesis.

<sup>33</sup> Baldwin, A. S. *J. Clin. Invest.*, 107, 3-6, **2001**.

<sup>34</sup> Jin, H. Z.; Hwang, B. H.; Kim, H. S.; Lee, J. H.; Kim, Y. H.; Lee, J. H. *J. Nat. Prod.*, 68, 89-91, **2002**.



A pesar de las importantes contribuciones sintéticas hechas por otros grupos de investigación,<sup>35,36,37,38,39,40</sup> la síntesis más significativa en el área de sesquiterpenos aislados de celastráceas ha sido indudablemente desarrollada por White y *col.*,<sup>41</sup> quienes desarrollaron la síntesis total de ( $\pm$ )-euonyminol (Figura 14), sesquiterpeno que posee una estructura compleja, con nueve grupos hidroxilos y once centros estereogénicos. Esta síntesis comienza con una reacción de Diels-Alder entre una benzoquinona preparada *in situ* y un siloxipentadieno, con lo que se establece el sistema decalínico base **1**. Posteriormente, se forma un epóxido sobre el sustituyente isopropilo con la configuración apropiada, ya que el hidroxilo en C-6 permite que la epoxidación transcurra por una sola cara estereoespecíficamente con la ayuda de un complejo de vanadio, formándose **2**. El uso del ácido trifluoroacético permite iniciar la etapa de apertura-ciclización que conduce a **3** y que será usado posteriormente en la síntesis del ( $\pm$ -euonyminol).



**Figura 14.** Síntesis del ( $\pm$ )-euonyminol realizada por White y colaboradores.

<sup>35</sup> Descoins, C. Jr.; Thamh, G. V.; Boyer, F. D.; Ducrot, P. H.; Descoins, C.; Lallemand, J. Y. *Synlett*, 2, 240-242, **1999**.

<sup>36</sup> Boyer, F. D.; Ducrot, P. H. *Synthesis*, 13, 1868-1877, **2000**.

<sup>37</sup> Spivey, A. C.; Woodhead, S. J.; Weston, M.; Andrews, B. I. *Angew. Chem. Int. Ed.*, 40, 769-771, **2001**.

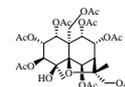
<sup>38</sup> Zhou, G.; Gao, X.; Li, W. Z.; Li, Y. *Tetrahedron Lett.*, 42, 3101-3103, **2001**.

<sup>39</sup> Li, Z. W.-D.; Zhou, G.; Gao, X.; Li, Y. *Tetrahedron Lett.*, 42, 4649-4651, **2001**.

<sup>40</sup> Boyer, F.-D.; Descoins, C. L.; Descoins, C.; Prangé, T.; Ducrot, P.-H. *Tetrahedron Lett.*, 43, 8277-8279, **2002**.

<sup>41</sup> White, J. D.; Shin, H.; Kim, T. S.; Cutshall, N. S. *J. Am. Chem. Soc.*, 119, 2404-2419, **1997**.

*Sesquiterpenos Agarofuránicos*  
*Aislados de Maytenus chiapensis*



Del extracto diclorometánico de las **hojas** de *Maytenus chiapensis*, se aislaron 4 sesquiterpenos agarofuránicos (**S-1**, **S-2**, **S-3** y **S-5**) y de las **ramas** de la misma especie se aisló **S-4**, asimismo un sesquiterpeno agarofuránico. Estos compuestos resultaron ser nuevos en la bibliografía química y su elucidación estructural se detalla a continuación.

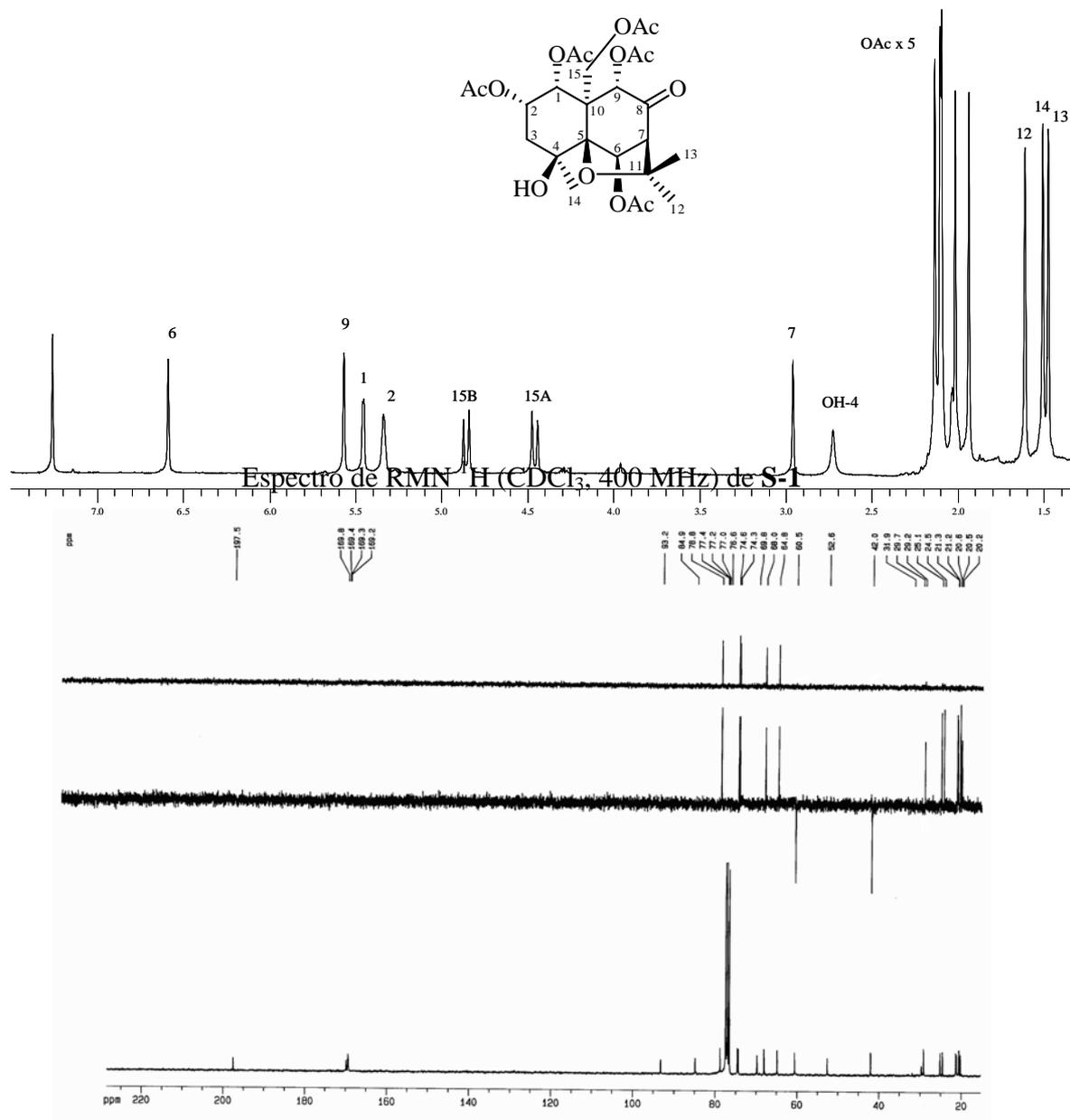
### Sesquiterpeno: S-1

El compuesto que hemos denominado **S-1**, presentó una fórmula molecular  $C_{25}H_{34}O_{13}$ , determinada mediante espectrometría de masas de alta resolución (EMAR). En su espectro de IR se observaron bandas de absorción características de grupo hidroxilo ( $3540\text{ cm}^{-1}$ ) y grupo carbonilo ( $1749\text{ cm}^{-1}$ ).

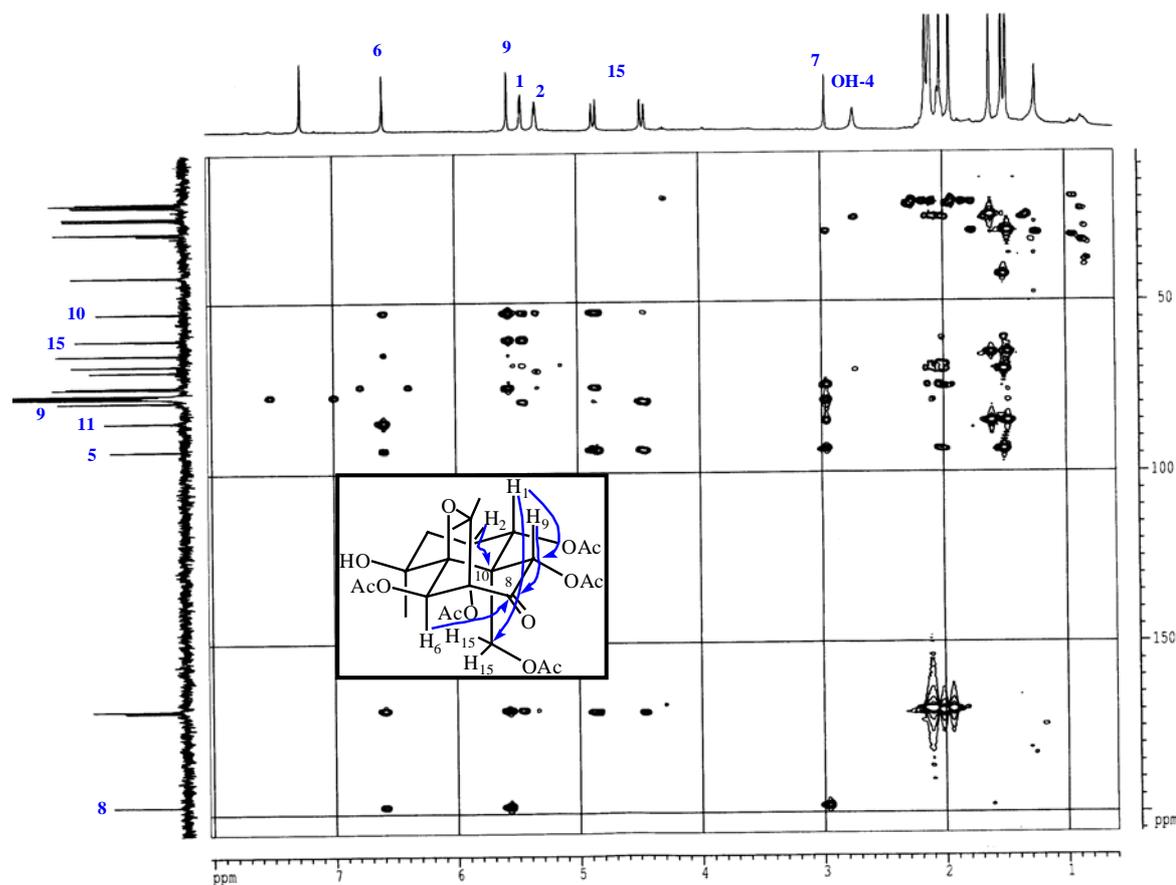
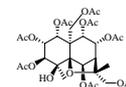
El espectro de masas presentó fragmentos correspondientes a la pérdida de metilo ( $15\text{ m/z}$ ,  $CH_3$ ) y grupo acetato ( $60\text{ m/z}$ ,  $C_2H_4O_2^+$  y  $42\text{ m/z}$ ,  $C_2H_2O^+$ ).

Cuando **S-1** fue tratado con anhídrido acético y piridina a temperatura ambiente, el compuesto permanece inalterado; este dato unido al anteriormente expuesto de la presencia de un grupo hidroxilo en su espectro de IR y de un singulete a  $\delta$  2.72 (OH-4) en su espectro de RMN  $^1H$  (Tabla 1) que integra para un protón y que es intercambiable con  $D_2O$ , nos confirma la presencia en la molécula de un grupo hidroxilo terciario. En su espectro de RMN  $^1H$  fueron también observadas señales para un sistema  $ABX_2$  ( $\delta$  5.47, d,  $J = 3.2\text{ Hz}$ ;  $\delta$  5.34, c,  $J = 3.1\text{ Hz}$  y  $\delta$  2.04 m), asignadas a los protones H-1, H-2 y H-3, respectivamente; tres protones metinos que aparecen como singuletes a  $\delta$  6.60 (H-6), 2.97 (H-7) y 5.58 (H-9), además de un grupo metileno ( $\delta$  4.47 y 4.87,  $d_{AB}$ ,  $J = 13.0\text{ Hz}$ ), asignado a H-15. Además, se observan en sus espectros de RMN  $^1H$  y  $^{13}C$ , señales correspondientes a un metilo a  $\delta_H$  1.52 (3H, s, Me-14), situado sobre un carbono tetra sustituido a  $\delta_C$  69.75 (s, C-4), que soporta un grupo hidroxilo y dos metilos angulares a  $\delta_H$  1.49 (Me-13) y 1.62 (Me-12); así mismose observaron en su espectro de RMN  $^{13}C$  tres carbonos cuaternarios a  $\delta_C$  52.65, 84.81 y 93.21 y un carbono carbonílico a  $\delta_C$  197.50. Estos datos indican que **S-1** es un sesquiterpeno con esqueleto de dihidro- $\beta$ -agarofurano hepta sustituido.

La multiplicidad y el desplazamiento químico en RMN  $^1\text{H}$  de las señales asignadas a H-7 y H-9, sugieren que están en disposición  $\alpha$  a un grupo carbonilo.



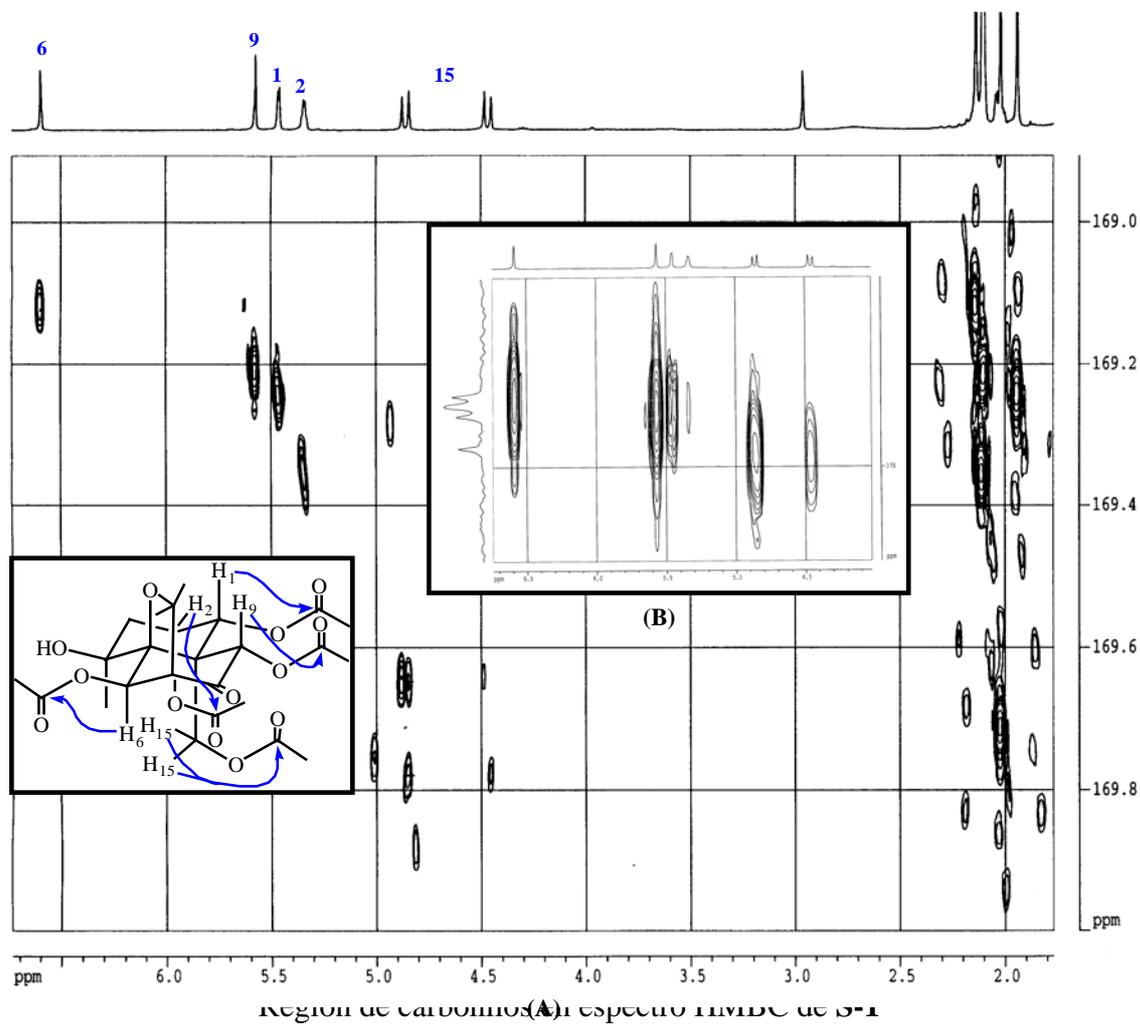
La regiosustitución de los grupos ésteres alrededor del esqueleto base fue resuelta por el examen del experimento convencional de HMBC.



En la elucidación estructural por espectroscopia de RMN, hay una limitación en cuanto al HMBC convencional, dado la gran anchura espectral que debe ser digitalizada. Si en una región del espectro de  $^{13}\text{C}$ , aparecen muchos picos solapados, ello se traduce en el solapamiento de las señales de correlación en el experimento HMBC. Este problema se resuelve, cuando se aplica la técnica del HMBC semiselectivo,<sup>1</sup> que permite la completa asignación del desplazamiento químico de RMN  $^{13}\text{C}$ , especialmente de los carbonos carbonílicos de los grupos ésteres (Tabla 5). Así, los cinco carbonilos de los grupos acetato de nuestro producto aparecen a  $\delta_{\text{C}}$  169.14, 169.22, 169.24, 169.35 y 169.72, que se correlacionan con sus metilos singuletes a  $\delta_{\text{H}}$  2.14, 2.10, 1.94, 2.11 y 2.02, respectivamente. La disposición de los grupos acetato sobre los C-6, C-9, C-1, C-2 y C-15, se estableció por correlación de los grupos carbonilos de los grupos acetatos con las señales de los protones geminales a  $\delta$  6.60 (H-6),  $\delta$  5.58 (H-9),  $\delta$  5.47 (H-1),  $\delta$  5.34 (H-2) y  $\delta$  4.47, 4.87 (H-15A y H-15B); mientras que la disposición del grupo carbonilo sobre el C-

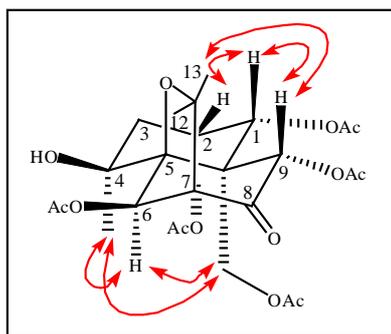
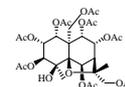
<sup>1</sup> Wilker, W.; Leibfrits, D.; Kersebaum, R.; Bermel, W. *Magn. Reson. Chem.*, 31, 287-292, **1993**.

8 se corroboró dado que la señal a  $\delta_C$  197.50 se correlacionó con las señales de protón a  $\delta_H$  2.97 (H-7), 5.58 (H-9) y 6.60 (H-6).



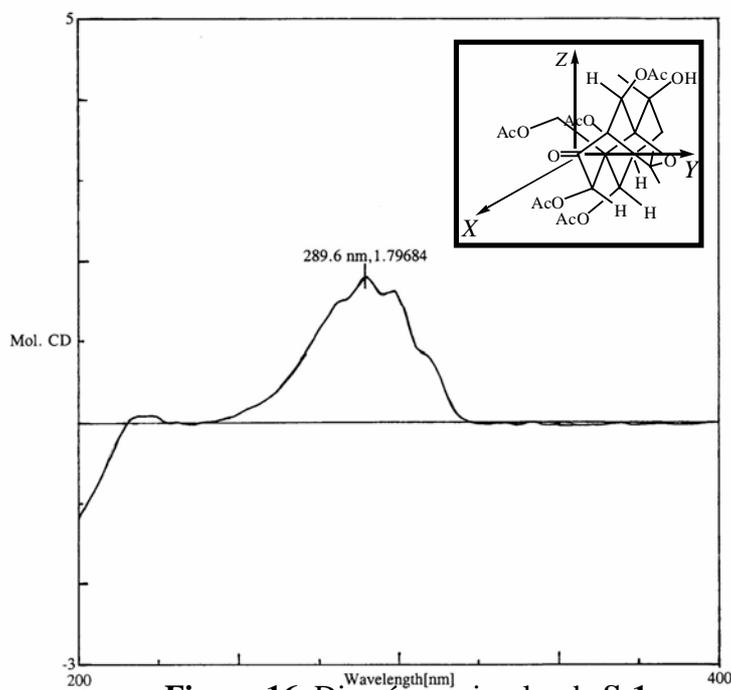
(A) HMBC semiselectivo (B) HMBC convencional

La estereoquímica relativa de **S-1** fue establecida basándose en las constantes de acoplamiento en su espectro de RMN  $^1\text{H}$  y fue confirmada por un experimento ROESY (Figura 15), mostrando efecto NOE del Me-14 con H-6 y H-15, H-1 con H-2 y H-9 y el Me-13 con H-9.



**Figura 15.** Correlaciones **NOE** para **S-1**

La configuración absoluta de **S-1** fue determinada por estudios de dicroísmo circular (Figura 16), mostrando la curva un efecto Cotton positivo a 290 nm ( $\Delta\epsilon = +1.8$ ), correspondiente a la transición  $n-\pi^*$  del grupo carbonilo sobre C-8 y la aplicación de la regla del octante indica que la estructura y configuración absoluta de **S-1** es (1*R*,2*S*,4*S*,5*S*,6*R*,7*R*,9*S*,10*S*)-1,2,6,9,15-pentaacetoxi-4-hidroxi-8-oxodihidro- $\beta$ -agarofurano.



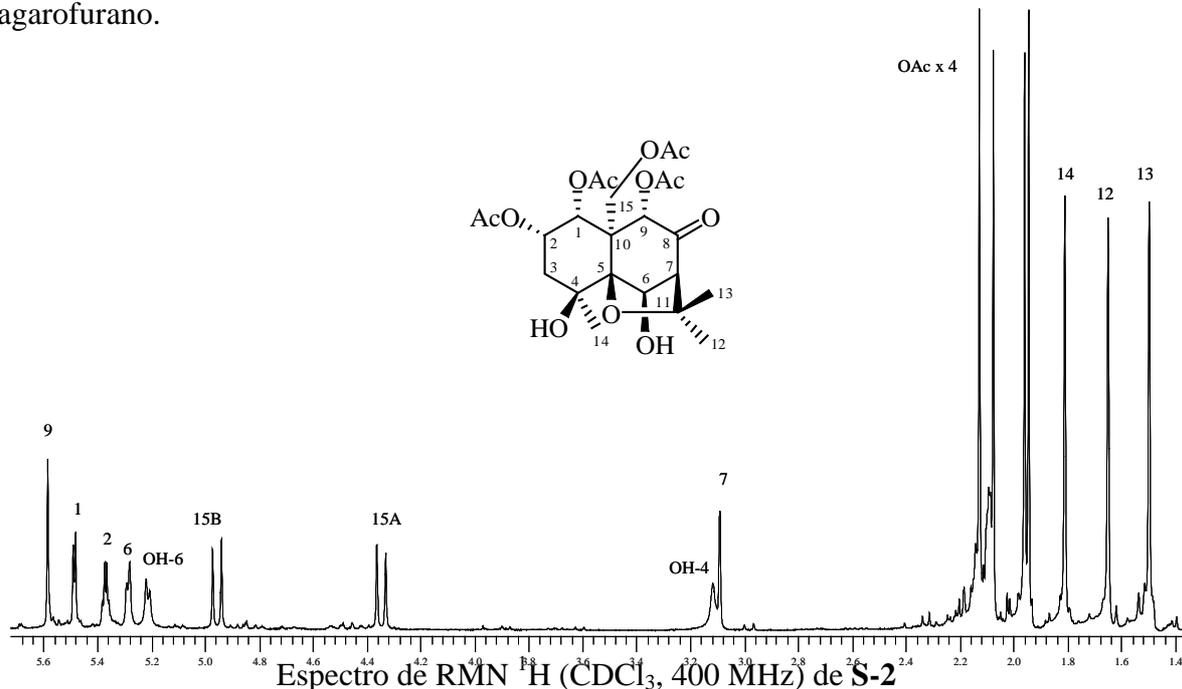
**Figura 16.** Dicroísmo circular de **S-1**

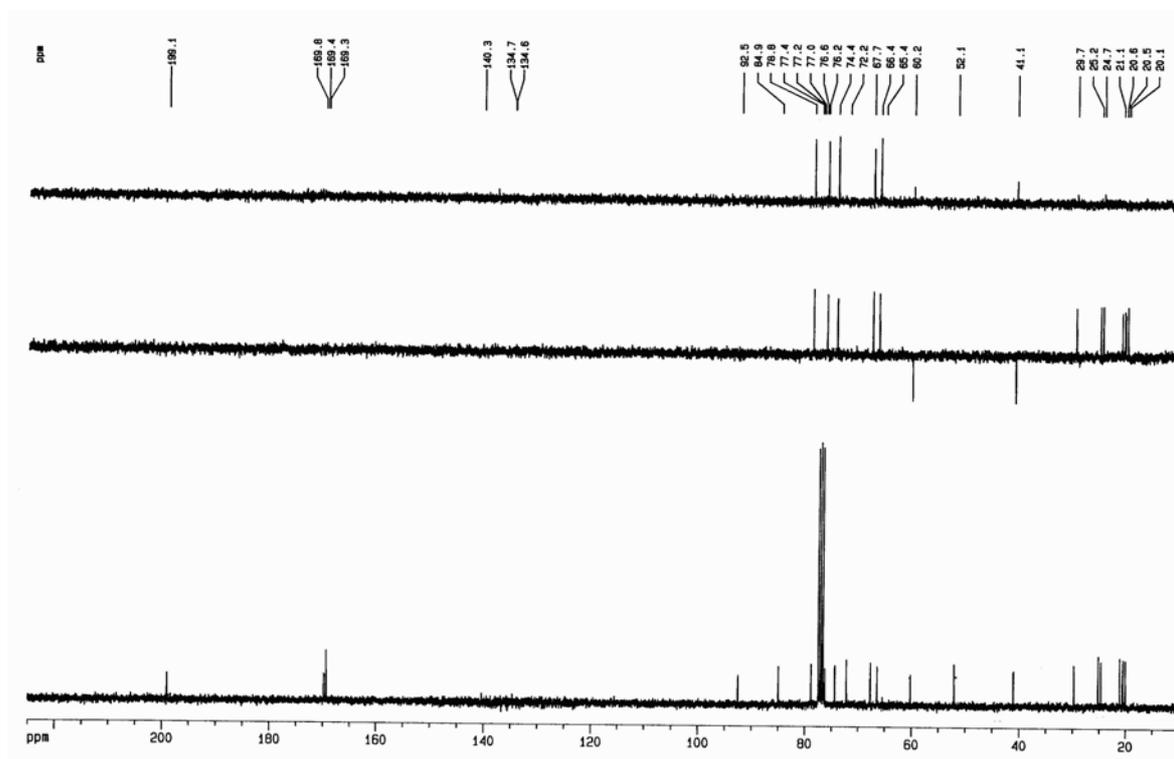
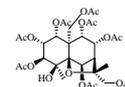
## Sesquiterpeno: S-2

La estructura del compuesto que hemos denominado **S-2** fue establecida mediante sus datos físicos y espectroscópicos. Su fórmula molecular  $C_{23}H_{32}O_{12}$ , fue fijada basándonos en sus datos de espectrometría de masas de alta resolución.

Un estudio detallado de sus datos espectroscópicos de RMN  $^1H$  y  $^{13}C$  (Tablas 4 y 5), correlación  $^1H$ - $^1H$  y  $^1H$ - $^{13}C$ , mostró que el producto **S-2** estaba muy relacionado con el producto que hemos denominado **S-1**, donde la única diferencia que se observa es la ausencia de un grupo acetato, la presencia de un grupo hidroxilo secundario y el desplazamiento y multiplicidad de la señal correspondiente a H-6 ( $\delta_H$  6.60, s en **S-1**, frente a  $\delta_H$  5.28 d,  $J = 5.4$  Hz, en **S-2**), lo que permitió situar el grupo hidroxilo sobre el C-6.

El compuesto **S-2** fue correlacionado químicamente con S-1; así, acetilación en condiciones habituales de **S-2** rindió un compuesto cuyos datos espectroscópicos fueron idénticos a **S-1**. Ello nos permitió establecer la configuración absoluta de **S-2** como (1*R*,2*S*,4*S*,5*S*,6*R*,7*R*,9*S*,10*S*)-1,2,9,15-tetraacetoxi-4,6-dihidroxi-8-oxodihidro- $\beta$ -agarofurano.





Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz) de **S-2**

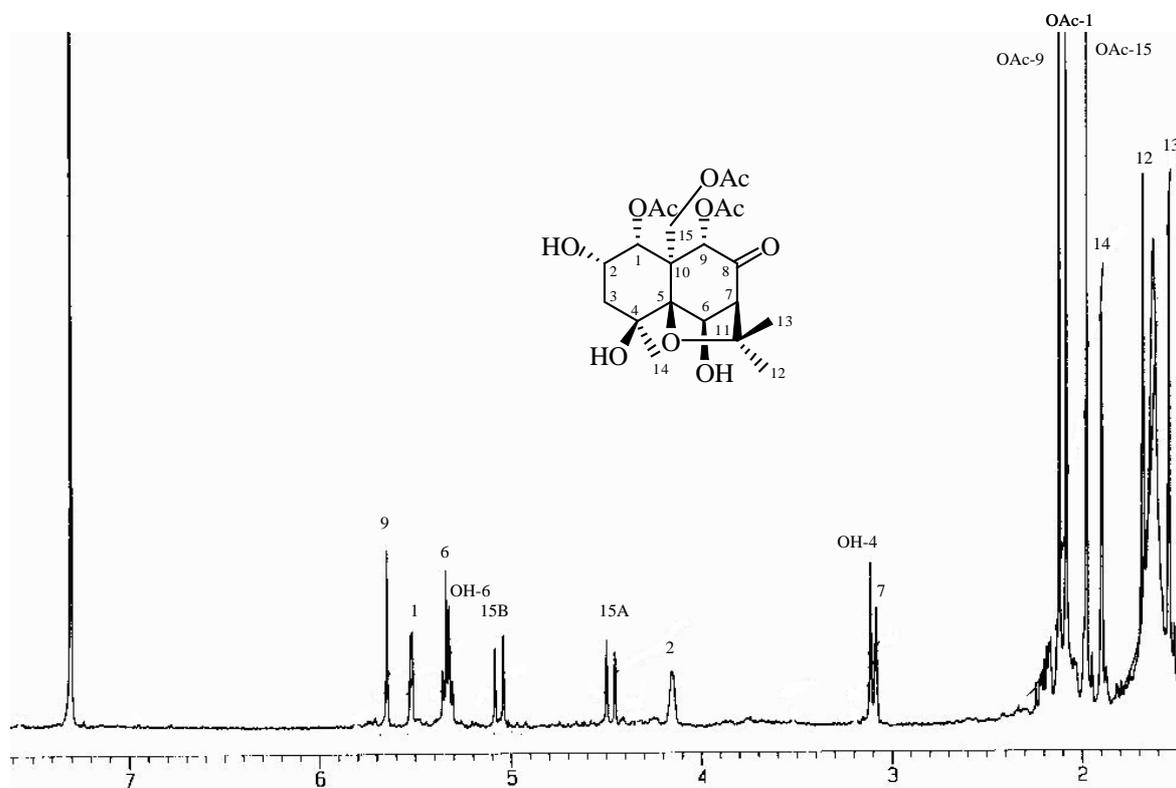
### Sesquiterpeno: **S-3**

Al producto que hemos denominado **S-3** se le asignó una fórmula molecular  $\text{C}_{21}\text{H}_{28}\text{O}_{10}$  (EMAR).

Este producto presenta un espectro de RMN  $^1\text{H}$  (Tabla 4) muy similar a **S-2**, con diferencia en la desaparición de un grupo acetato, la presencia de un grupo hidroxilo secundario y el desplazamiento a campos más altos de la señal correspondiente a H-2 ( $\delta_{\text{H}}$  5.36, c,  $J = 3.3$  Hz en **S-2**, frente a  $\delta_{\text{H}}$  4.10, s ancho en **S-3**), lo que permitió situar el grupo hidroxilo sobre el C-2.

Acetilación de **S-3** rindió un producto con idénticos datos espectrales que **S-1**. Estos datos junto a un estudio detallado de las constantes de acoplamiento en su espectro de RMN de  $^1\text{H}$  y un experimento ROESY nos permitió establecer la estructura de **S-3** como (1*R*,2*S*,4*S*,5*S*,6*R*,7*R*,9*S*,10*S*)-1,9,15-triacetoxi-2,4,6-trihidroxi-8-oxodihidro- $\beta$ -agarofurano.

Los sesquiterpenos **S-1**, **S-2** y **S-3** presentan un esqueleto polihidroxfílico base de 3,12-dideoxyevoninol.<sup>2</sup>



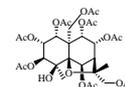
### Sesquiterpeno: S-4

El compuesto denominado **S-4** fue obtenido como una laca incolora con una fórmula molecular  $C_{29}H_{36}O_{16}$  obtenida por EMAR.

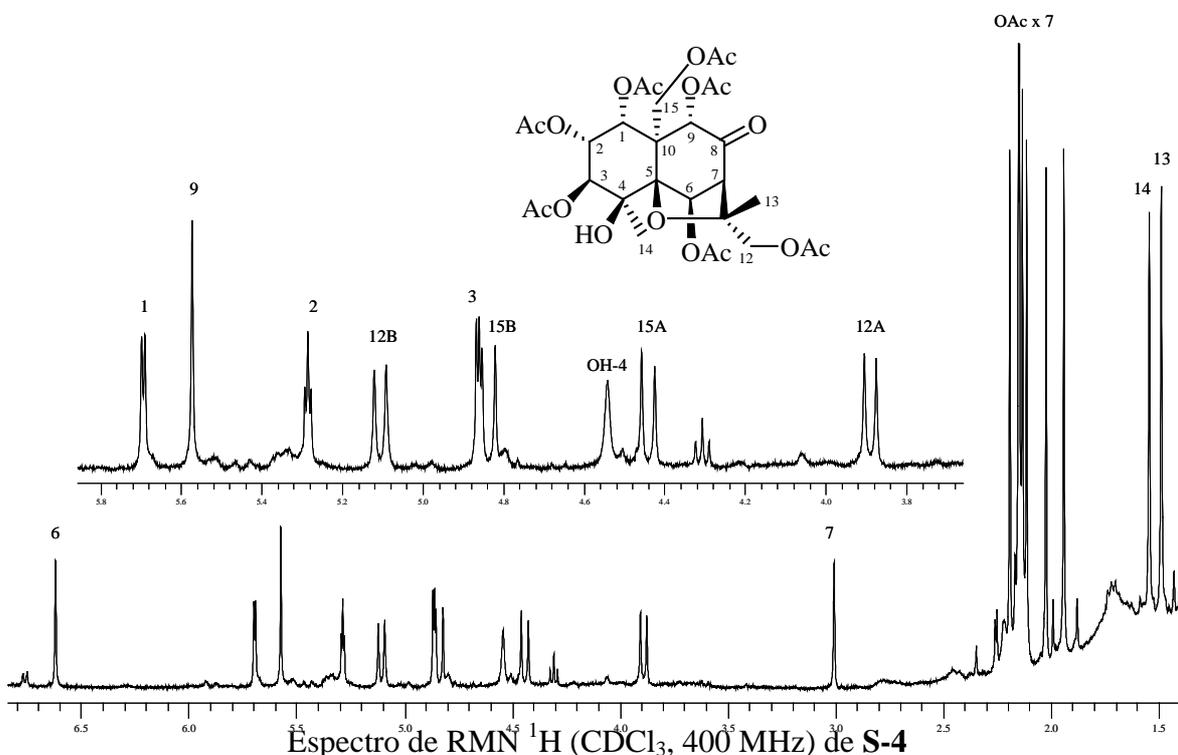
Los datos de RMN <sup>1</sup>H y <sup>13</sup>C (Tablas 4 y 5) así como experimentos bidimensionales de <sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H y <sup>1</sup>H-<sup>13</sup>C, incluyendo HMBC semiselectivo, permitió establecer la estructura de **S-4** como un sesquiterpeno poliesterificado con siete grupos acetatos, dos más que **S-1**.

En su espectro de RMN <sup>1</sup>H se observa un sistema AMX con señales a  $\delta$  5.69 (1H, d,  $J = 3.1$  Hz),  $\delta$  5.28 (1H, t,  $J = 3.1$  Hz) y  $\delta$  4.86 (1H, d,  $J = 2.8$  Hz), asignado a los protones H-1, H-2 y H-3, respectivamente, además de tres protones metinos como singuletes a  $\delta$  6.62 (H-6), 3.00 (H-7) y 5.57 (H-9); la multiplicidad y desplazamiento de las señales correspondientes a H-7 y H-9 indican que estos protones se encuentran en posición  $\alpha$  a un grupo carbonilo.

<sup>2</sup> Taylor, I.; Watson, W. H. *Acta Crystallogr.*, B33, 3176-3180, 1977.



El espectro de RMN  $^1\text{H}$  de **S-4** es similar al de **S-1**, excepto por las señales asignadas a H-3 ( $\delta$  4.86, d,  $J = 2.8$  Hz) y H-12 ( $\delta$  5.10 y 3.89,  $d_{\text{AB}}$ ,  $J = 11.7$  Hz), indicando que tanto C-3 como C-12 se encuentran acetilados.



La asignación y estereoquímica relativa de **S-4** fue determinada sobre la base de las constantes de acoplamiento en su espectro de RMN de  $^1\text{H}$  y confirmada por un experimento ROESY, mostrando en adición a las correlaciones observadas para los compuestos **S-1**, **S-2** y **S-3** (Figura 15), un efecto NOE entre el Me-14 y H-3.

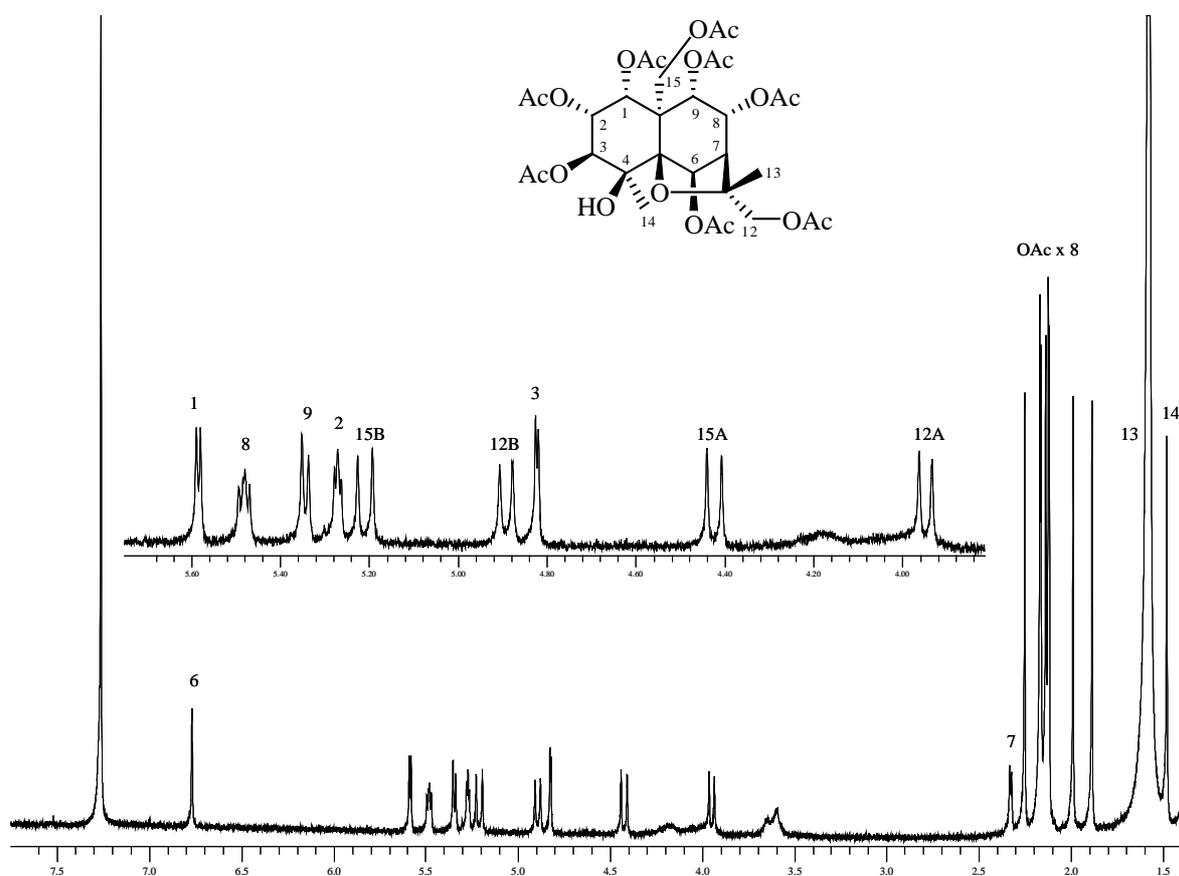
Todos estos datos revelan que **S-4** es (1*R*,2*S*,3*S*,4*S*,5*S*,6*R*,7*R*,9*S*,10*R*)-1,2,3,6,9,12,15-heptaacetoxi-4-hidroxi-8-oxodihidro- $\beta$ -agarofurano, con esqueleto polihidroxfílico base de evoninol.<sup>2</sup>

### Sesquiterpeno: **S-5**

El compuesto denominado **S-5** fue aislado como una laca incolora y sus estructura elucidada por métodos físicos y espectrales, incluyendo EMAR, IR, UV, RMN  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$  y experimentos 2D  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  y  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  (Tablas 4 y 5).

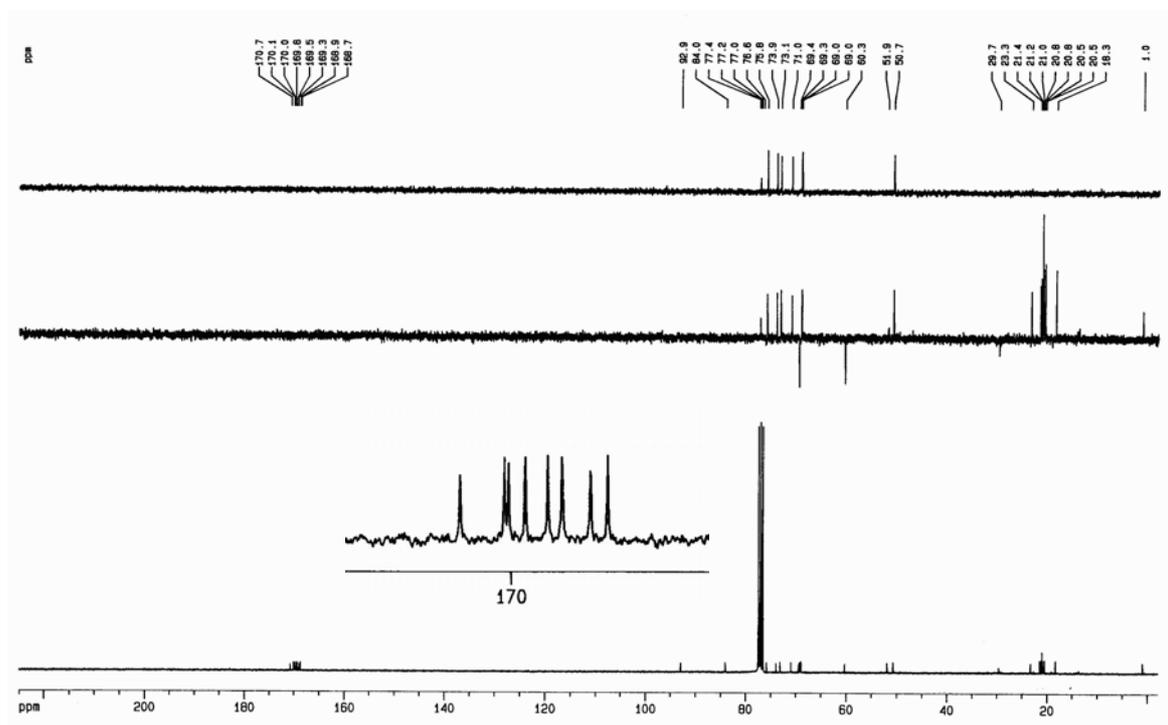
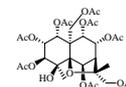
El espectro de RMN  $^1\text{H}$  resultó ser similar a **S-4**, excepto por la ausencia del grupo carbonilo sobre C-8, la aparición de un grupo acetato adicional y un protón metilénico a  $\delta$  5.48 (t,  $J = 5.9$  Hz), asignado a H-8.

Estos datos indican que el compuesto **S-5** es el **octaacetato de euonyminol**,<sup>3</sup> siendo esta la primera vez que se reporta como un compuesto natural. Este compuesto es clave para explicar la formación de un anillo macrocíclico entre la porción sesquiterpenoide y un diácido nicotínico en la ruta biogénica que conduce a los alcaloides sesquiterpénicos.



Espectro de RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz) de **S-5**

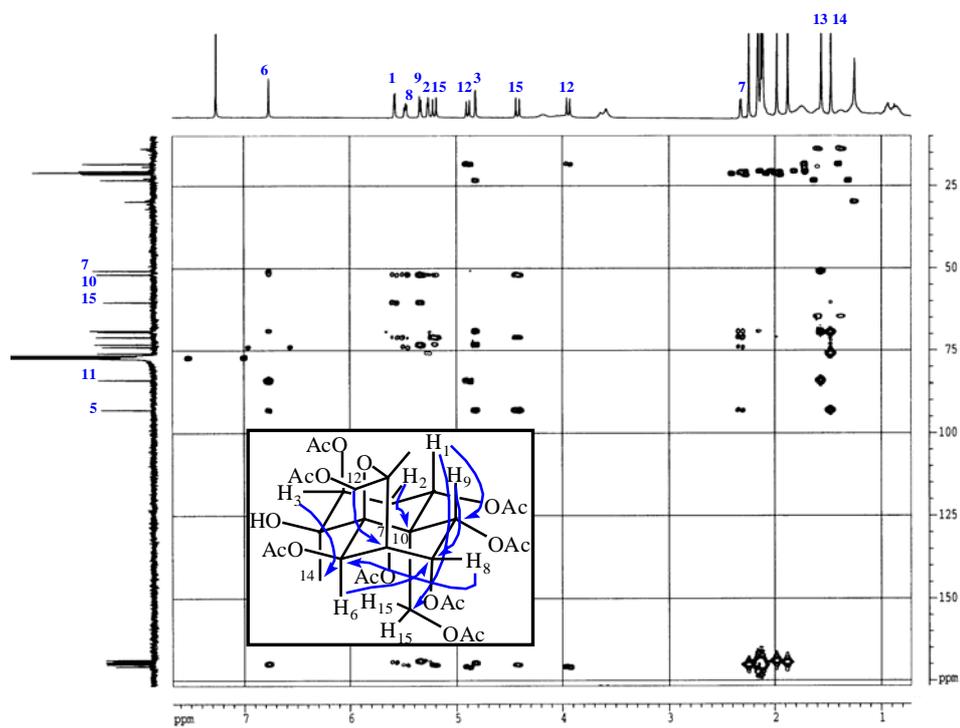
<sup>3</sup> Kiyoyuki, Y. *Kagaku no Ryoiki Zokan*, 128, 57-69, **1980**.



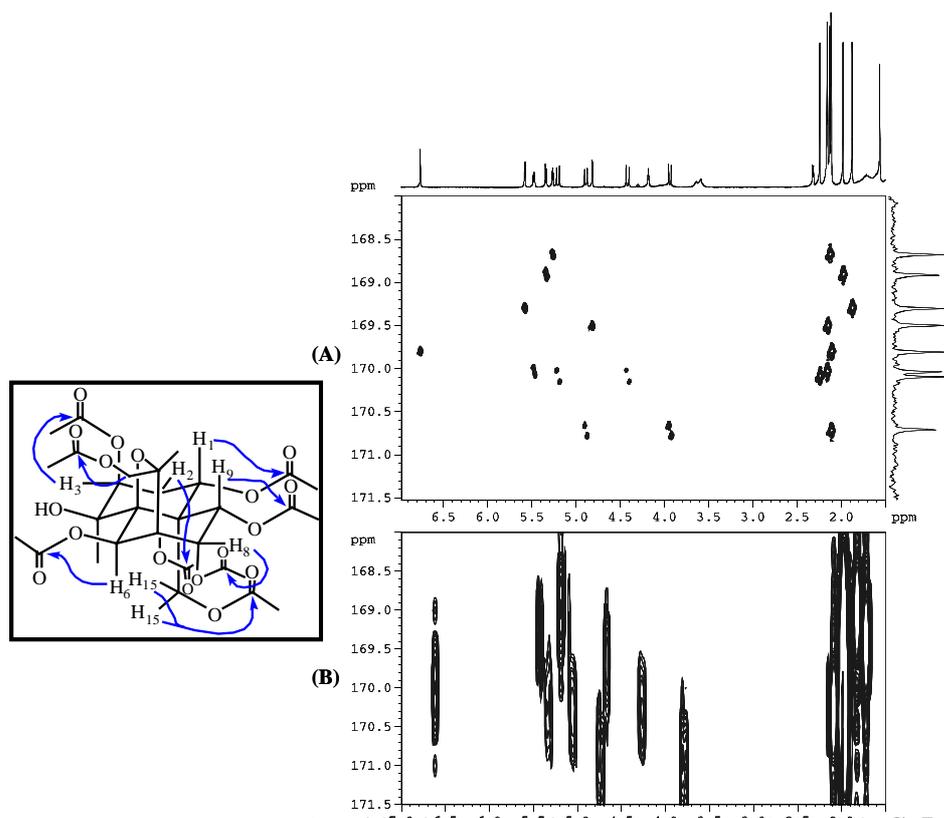
Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz) de **S-5**

El uso de la técnica de HMBC semiselectivo es especialmente útil en el caso de **S-5** dado el alto número de grupos acetato presentes en la molécula. El objetivo es obtener los desplazamientos específicos de cada grupo carbonilo a través de las conectividades con sus protones geminales. Esto permitió asignar todos los carbonos, aunque los ocho ésteres carbonílicos se encuentran en la región de 3 ppm.

Un estudio detallado de las constantes de acoplamiento en su espectro de RMN de  $^1\text{H}$  y un experimento ROESY nos permitió establecer la estructura de **S-5** como  $1\alpha,2\alpha,3\beta,6\beta,8\alpha,9\alpha,12,15$ -octaacetoxi-4-hidroxi-dihidro- $\beta$ -agarofurano.

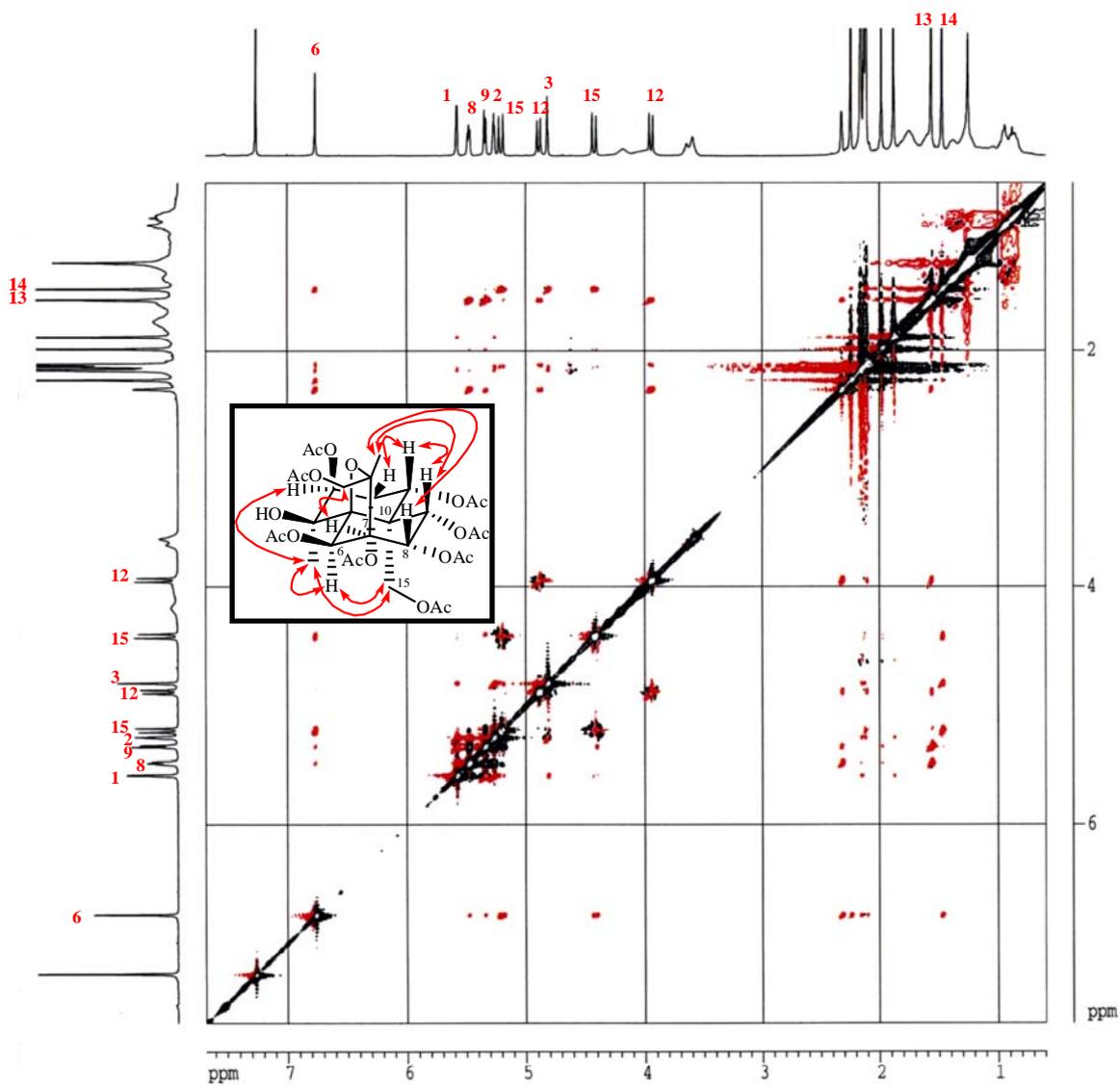
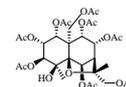


Experimento HMBC ( $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ ) para S-5



Región de carbonilos en espectro HMBC de S-5

(A) HMBC semiselectivo (B) HMBC convencional



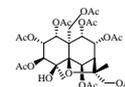
Experimento **ROESY** para S-5

**Tabla 4.** Datos<sup>a</sup> de RMN <sup>1</sup>H (400 MHz) para los sesquiterpenos **S-1** a **S-5**

Posición	S-1	S-2	S-3	S-4	S-5
<b>H-1</b>	5.47 d (3.2)	5.48 d (3.2)	5.46 d (2.8)	5.69 d (3.1)	5.58d (3.6)
<b>H-2</b>	5.34 c (3.1)	5.36 c (3.3)	4.10 s a	5.28 t (3.1)	5.26 t (3.6)
<b>H-3</b>	2.04 m	2.09 m	2.10 m	4.86 d (2.8)	4.82 d (2.8)
<b>OH-4</b>	2.72 s	3.14 s	3.03 s	4.54 s	
<b>H-6</b>	6.60 s	5.28 d (5.4)	5.26 d (5.3)	6.62 s	6.76 s
<b>OH-6</b>		5.22 d (5.4)	5.29 d (5.3)		
<b>H-7</b>	2.97 s	3.09 s	3.06 s	3.00 s	2.32 d (3.6)
<b>H-8</b>					5.48 t (5.9)
<b>H-9</b>	5.58 s	5.58 s	5.59 s	5.57 s	5.34 d (5.9)
<b>H-12</b>	1.62 s	1.64 s	1.63 s	3.89 d <sub>AB</sub> A 5.10 d <sub>AB</sub> B (11.7)	3.94 d <sub>AB</sub> A 4.89 d <sub>AB</sub> A (11.6)
<b>Me-13</b>	1.49 s	1.49 s	1.49 s	1.47 s	1.56 s
<b>Me-14</b>	1.52 s	1.80 s	1.85 s	1.54 s	1.47 s
<b>H-15A</b> <b>H-15B</b>	4.47 d <sub>AB</sub> 4.87 d <sub>AB</sub> (13.0)	4.34 d <sub>AB</sub> 4.95 d <sub>AB</sub> (13.0)	4.42 d <sub>AB</sub> 5.00 d <sub>AB</sub> (13.2)	4.44 d <sub>AB</sub> 4.84 d <sub>AB</sub> (13.1)	4.42 d <sub>AB</sub> 5.25 d <sub>AB</sub> (13.3)
<b>OAc-1</b>	1.94 s	1.94 s	2.04 s	1.94 s	1.88 s
<b>OAc-2</b>	2.11 s	2.12 s		2.15 s	2.12 s
<b>OAc-3</b>				2.19 s	2.15 s
<b>OAc-6</b>	2.14 s			2.14 s	2.13 s
<b>OAc-8</b>					2.16 s
<b>OAc-9</b>	2.10 s	2.05 s	2.07 s	2.13 s	1.98 s
<b>OAc-12</b>				2.11 s	2.11 s
<b>OAc-15</b>	2.02 s	1.95 s	1.93 s	2.02 s	2.25 s

<sup>a</sup> δ, CDCl<sub>3</sub>. *J* en paréntesis en Hz. Datos basados en experimentos COSY y HSQC.

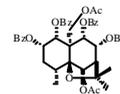
**Tabla 5.** Datos<sup>a</sup> de RMN <sup>13</sup>C (100 MHz) para los sesquiterpenos **S-1** a **S-5**



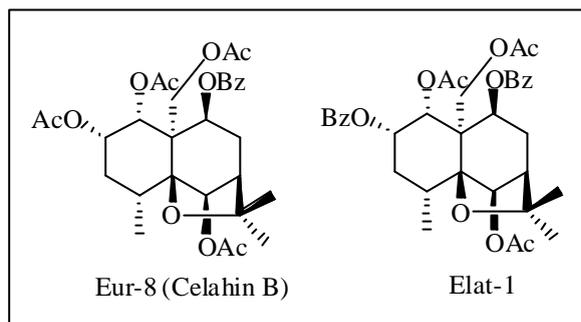
Posición	S-1	S-2	S-3	S-4	S-5
<b>C-1</b>	74.35 d	74.40 d	72.40 d	71.58 d	73.13 d
<b>C-2</b>	68.05 d	67.75 d	67.61 d	68.77 d	69.01 d
<b>C-3</b>	42.02 t	41.11 t	42.66 t	75.11 d	75.83 d
<b>C-4</b>	69.75 s	72.24 s	72.40 s	69.37 s	69.29 s
<b>C-5</b>	93.21 s	92.50 s	92.89 s	94.44 s	92.93 s
<b>C-6</b>	74.59 d	76.27 d	76.25 d	73.72 d	73.93 d
<b>C-7</b>	64.83 d	66.41 d	66.36 d	62.24 d	50.71 d
<b>C-8</b>	197.50 s	199.12 s	199.06 s	196.32 s	68.96 d
<b>C-9</b>	78.79 d	78.80 d	79.26 d	78.44 d	70.95 d
<b>C-10</b>	52.65 s	52.12 s	52.13 s	52.16 s	51.90 s
<b>C-11</b>	84.81 s	84.90 s	84.69 s	86.13 s	84.04 s
<b>C-12</b>	29.22 c	29.75 c	29.71 c	69.62 t	69.43 t
<b>C-13</b>	24.56 c	25.24 c	25.11 c	18.67 c	18.30 c
<b>C-14</b>	25.17 c	24.70 c	24.77 c	24.01 c	23.25 c
<b>C-15</b>	60.54 t	60.22 t	60.53 t	60.28 t	60.28 t
<b>OAc-1</b>	20.66 c 169.24 s	20.50 c 169.36 s	20.52 c 169.27 s	20.50 c 168.68 s	20.50 c 169.30 s
<b>OAc-2</b>	21.13 c 169.35 s	21.10 c 169.25 s		20.94 c 167.97 s	20.80 c 168.68 s
<b>OAc-3</b>				20.75 c 168.91 s	20.83 c 169.50 s
<b>OAc-6</b>	21.35 c 169.14 s			21.24 c 168.80 s	20.96 c 169.80 s
<b>OAc-8</b>					20.96 c 170.03 s
<b>OAc-9</b>	20.22 c 169.22 s	20.12 c 169.20 s	20.78 c 169.20 s	20.78 c 168.72 s	20.46 c 168.90 s
<b>OAc-12</b>				20.15 c 170.34 s	21.44 c 170.70 s
<b>OAc-15</b>	20.10 c 169.72 s	20.62 c 169.72 s	20.05 c 169.90 s	20.42 c 169.11 s	21.22 c 170.10 s

<sup>a</sup>  $\delta$ , CDCl<sub>3</sub>. Datos basados en los experimentos DEPT, HSQC y HMBC.

*Sesquiterpenos Agarofuránicos  
aislados de Crossopetalum uragoga*



Del extracto diclorometánico de las hojas de *Crossopetalum uragoga* se aislaron dos sesquiterpenos conocidos en la bibliografía química, Eur-8 (Celahin B)<sup>1,2</sup> y Elat-1,<sup>1</sup> cuyas estructuras se muestran a continuación.



Los sesquiterpenos Eur-8 y Elat-1 fueron aislados de *Euonymus europaeus* L. y *E. latifolius* (L.) Millar, respectivamente. Estos productos fueron elucidados por primera vez por Rózsa y col.<sup>1</sup> haciendo uso de RMN <sup>1</sup>H (d CDCl<sub>3</sub>, 250 MHz), más tarde el grupo de Kuo y col.<sup>2</sup> asignaron los datos de RMN <sup>13</sup>C (d CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz) de Eur-8, denominándole Celahin B. A pesar de que Elat-1 fue aislado con posterioridad por otros grupos<sup>3,4,5</sup>, hasta el momento no han sido reportados los datos de RMN <sup>13</sup>C, por lo que son presentados en esta Memoria de Tesis.

Además, se aislaron otros tres sesquiterpenos que hemos denominado de **S-7** a **S-9** y que resultaron ser nuevos en la bibliografía química. Pasamos a continuación a detallar su elucidación estructural.

<sup>1</sup> Rózsa, Z.; Pelczer, I. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I*, 6, 1089-1095, **1989**.

<sup>2</sup> Kuo, Y.-H.; Chou, C.-J.; Kuo, L.-M. Y.; Hu, Y.-Y.; Chen, Y.-C.; Chen, C.-F.; Lee, K.-H. *Phytochemistry*, 41, 549-551, **1996**.

<sup>3</sup> Hofmann, J.; Gunther, G. *J. Nat. Prod.*, 57, 320-323, **1994**.

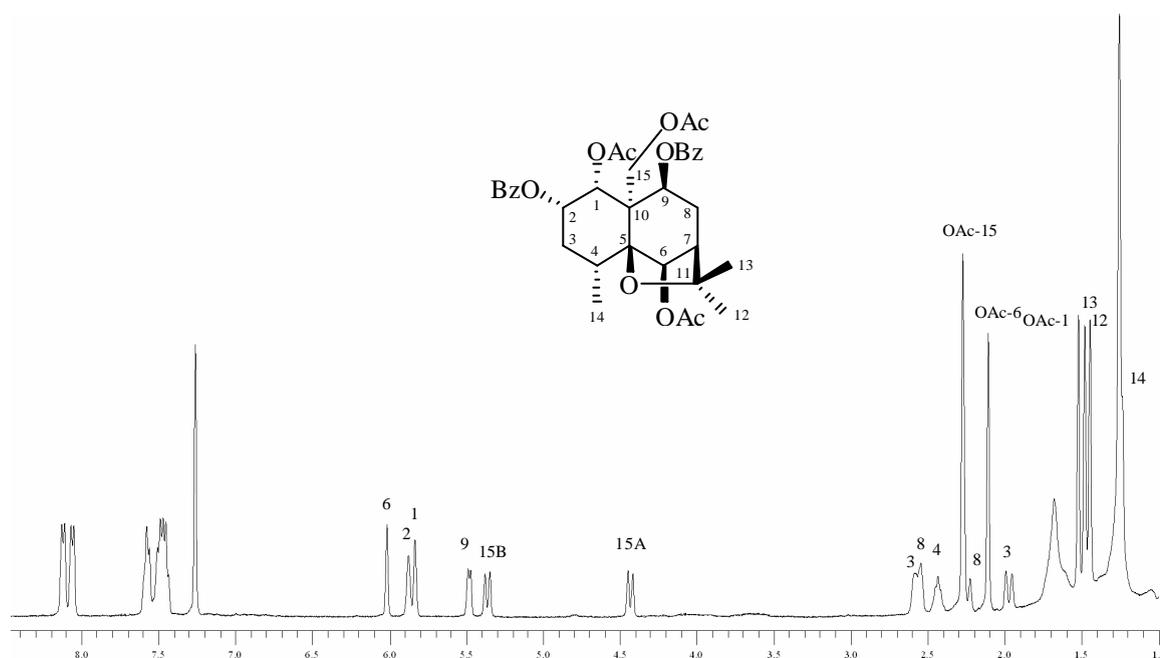
<sup>4</sup> Hofmann, J.; Nagy, G.; Dini, Z.; Gunther, G.; Pelczer, I.; Jerkovich, G.; Varjas, L. *J. Nat. Prod.*, 58, 1192-1199, **1995**.

<sup>5</sup> Kim, S. E.; Kim, H. S.; Hong Y. S.; Kim, Y. C.; Lee, J. J. *J. Nat. Prod.*, 62, 697-700, **1999**.

### Sesquiterpeno: S-6 (Elat-1)

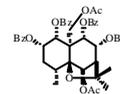
El producto conocido como Elat-1 presentó una fórmula molecular  $C_{34}H_{37}O_{11}$ , determinada por espectrometría de masas de alta resolución (EMAR). El espectro de masas presentó fragmentos correspondientes a la pérdida de metilo ( $15\ m/z$ ,  $CH_3$ ), grupo acetato ( $42\ m/z$ ,  $C_2H_2O^+$ ) y fenil derivados ( $77\ m/z$ ,  $C_6H_5^+$  y  $105\ m/z$   $C_7H_5O^+$ ).

En su espectro de IR se observaron bandas de absorción correspondientes a grupos ésteres y su espectro de UV revela la presencia de anillo aromático (231, 274 y 282 nm).



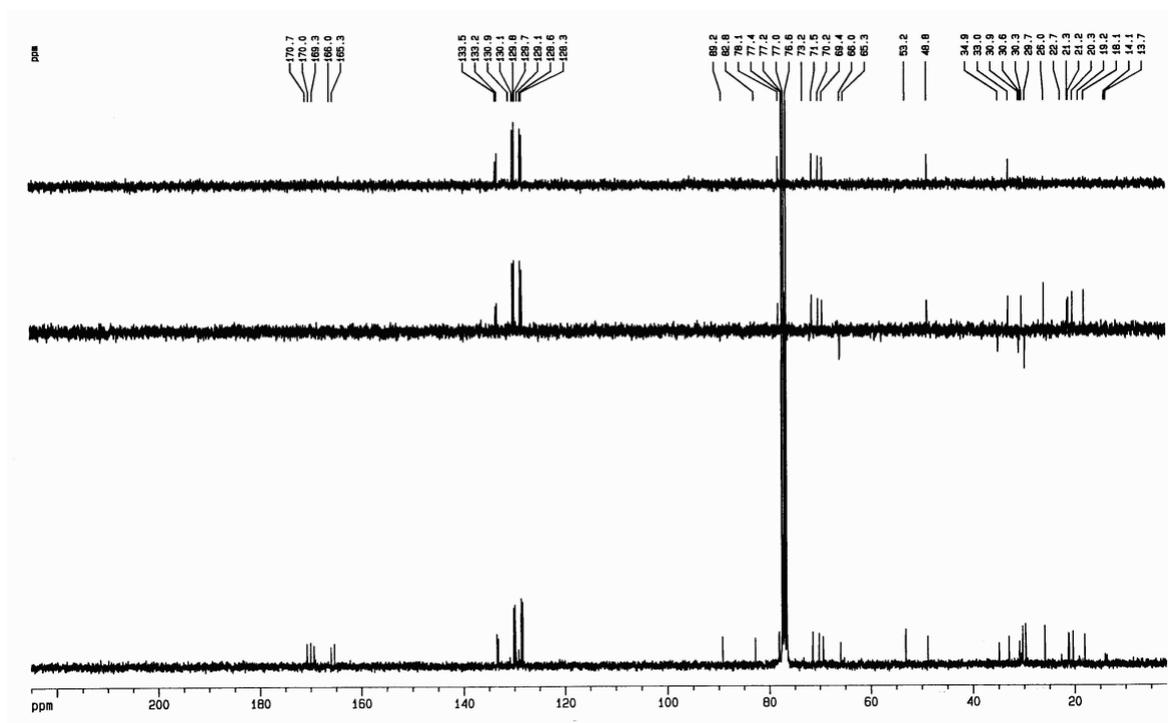
Espectro de RMN  $^1H$  ( $CDCl_3$ , 400 MHz) de **S-6** (Elat-1)

En su espectro de RMN  $^1H$  (Tabla 6) se observan señales para tres grupos acetato a  $\delta$  1.52 (OAc-1), 2.11 (OAc-6) y 2.27 (OAc-15) y dos grupos benzoato entre  $\delta$  7.51-8.12 (10H), un metilo doblete a  $\delta$  1.24 ( $J = 7.2\ Hz$ , Me-14) y dos metilos angulares a  $\delta$  1.44 (Me-12) y  $\delta$  1.48 (Me-13); señales correspondientes a seis protones metinos a  $\delta$  2.27 (solapado, H-7), 2.43 (c,  $J = 7.2\ Hz$ , H-4), 5.48 (d,  $J = 7.2\ Hz$ , H-9), 5.83 (d,  $J = 3.3\ Hz$ , H-1), 5.88 (t,  $J = 3.3\ Hz$ , H-2) y 6.01 (s, H-



6), además de tres grupos metileno asignados a H-15 (d 4.43 y 5.36 d<sub>AB</sub>,  $J = 12.6$  Hz), H-3 (d 1.97, d ancho y 2.58, m) y H-8 (d 2.23, s ancho y 2.58, m).

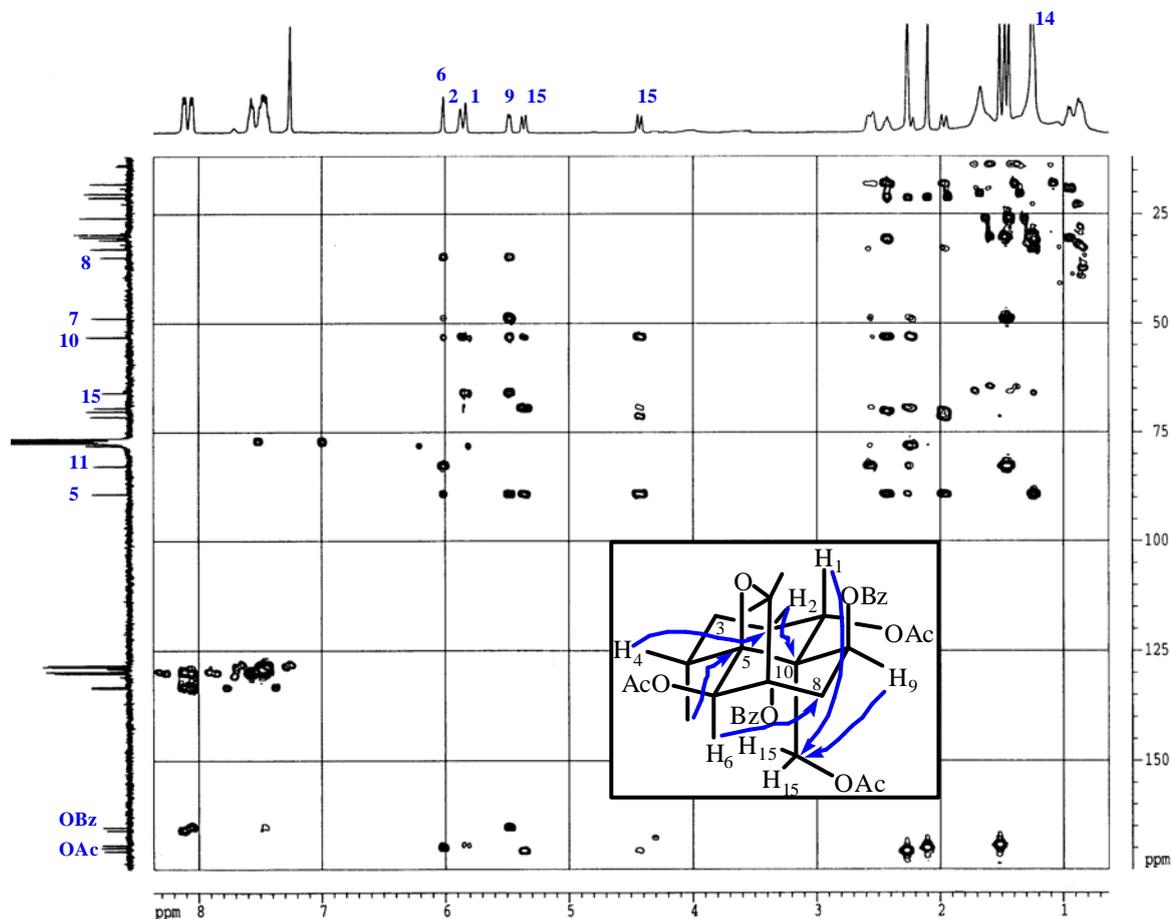
El espectro de RMN <sup>13</sup>C (Tabla 7), confirmó la presencia de tres carbonos carbonílicos de grupos acetato a d 169.3, 170.0 y 170.7 y dos de grupos benzoato a d 165.3 y 166.0; también se observaron señales de tres carbonos cuaternarios a d 53.2, 82.8 y 89.2 y tres carbonos metilénicos a d 30.9, 34.9 y 66.0.



Espectro de RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz) de **S-6** (Elat-1)

La regiosustitución de los grupos ésteres alrededor del esqueleto sesquiterpénico fue resuelto por medio de un experimento HMBC. Los tres grupos acetatos a d 169.3, 170.0 y 170.7 fueron correlacionados con las señales de sus metilos singuletes a d<sub>H</sub> 1.52, 2.11 y 2.27, respectivamente. La unión de los grupos acetato a los C-1, C-6 y C-15, se estableció por la correlación con las señales de los carbonilos de los grupos acetato con las señales de los protones geminales a d 5.83 (H-1), 6.01 (H-6) y 4.43, 5.36 (H-15), respectivamente. Las señales a dc 165.3 y 166.0 se correlacionaron con las señales de protones aromáticos a d 8.06 y 8.12. La unión del grupo benzoato a dc 165.3 con el C-9,

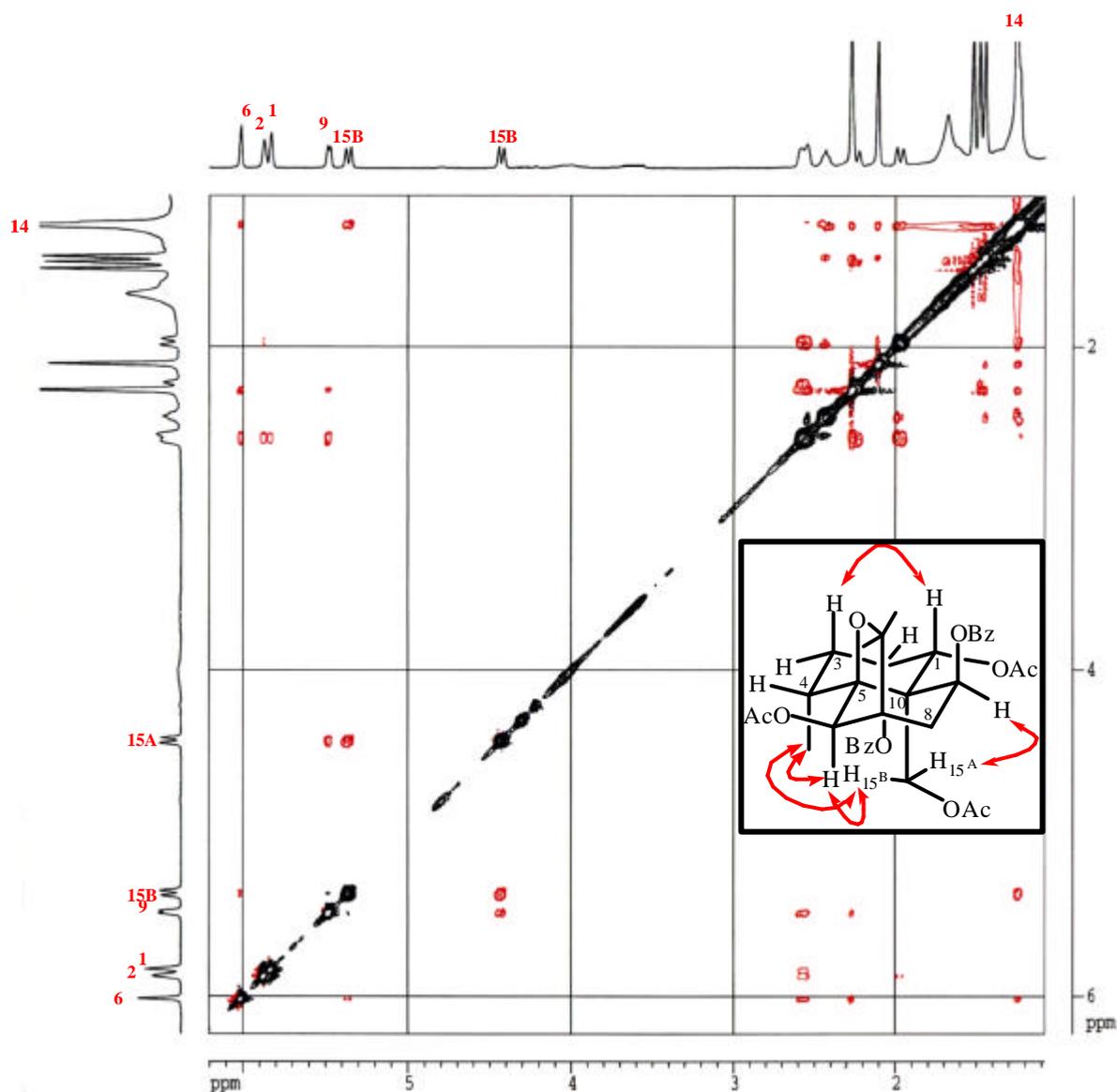
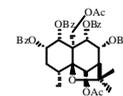
fue definido por correlación entre el carbono carbonílico de dicho grupo y la señal de protón a  $\delta$  5.48 (H-9), mientras el restante grupo benzoato se situó sobre el C-2.



Experimento HMBC ( $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ ) para **S-6**

La estereoquímica relativa de **S-6**, se estableció basándose en las constantes de acoplamiento y confirmada por un experimento ROESY, que mostró efecto NOE del Me-14 con H-6 y H-15 y H-9 con H-15. Se estableció así la estructura de **S-6** como 2 $\alpha$ ,9 $\beta$ -dibenzoiloxi-1 $\alpha$ ,6 $\beta$ ,15-triacetoxi-dihidro- $\beta$ -agarofurano, presentando un esqueleto polihidroxílico base de 3,4-dideoxi-maytol.<sup>6</sup>

<sup>6</sup> Taylor, I.; Watson, W. H. *Acta Crystallogr.*, B33, 3176-3180, 1977.



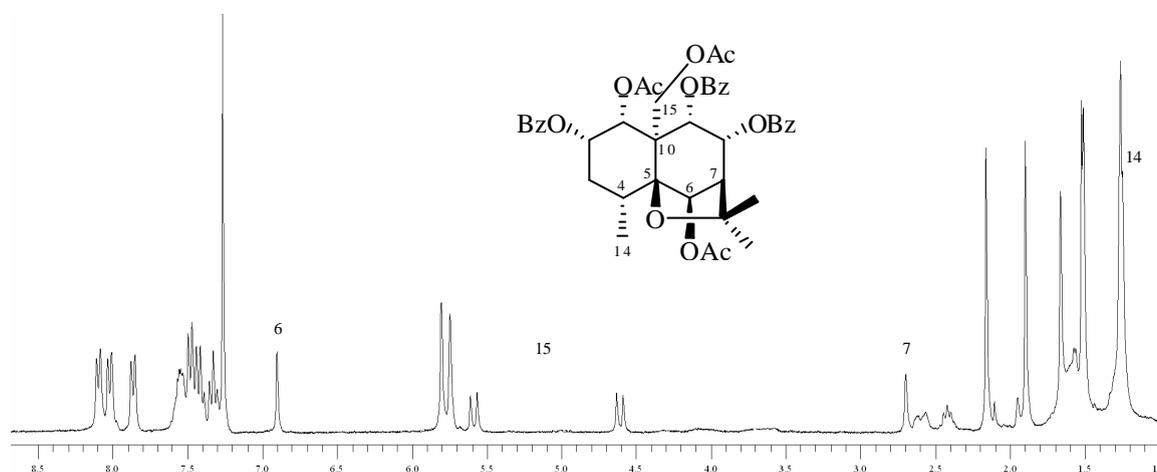
Experimento **ROESY** para **S-6**

**Sesquiterpeno: S-7**

El producto que hemos denominado **S-7** presentó una fórmula molecular  $C_{42}H_{44}O_{13}$ , determinada por EMAR. El espectro de masas presentó fragmentos correspondientes a la pérdida de grupos acetato y aromático.

En su espectro de IR se observaron bandas de absorción correspondientes a grupos ésteres y su espectro de UV reveló la presencia de anillo aromático (230, 274 y 282 nm).

En el espectro de RMN  $^1\text{H}$ , realizado en  $\text{CDCl}_3$ , se observaron señales para tres grupos acetato ( $\delta$  1.52, 1.91 y 2.16), tres grupos benzoato ( $\delta$  7.32-8.10, 15H), un metilo doblete a  $\delta$  1.24 ( $J = 7.8$  Hz, Me-14) y dos metilos angulares a  $\delta$  1.50 y 1.66. Se observaron además, señales para siete protones metinos a  $\delta$  2.41 (1H, c,  $J = 7.8$  Hz, H-4), 2.69 (1H, s, H-7), 5.74 (2H, señal solapada), 5.80 (2H, señal solapada) y 6.90 (1H, s, H-6), así como señales para un grupo metileno ( $\delta$  4.60 y 5.58,  $d_{\text{AB}}$ ,  $J = 13.3$  Hz), asignado a H-15. Todos estos datos nos permitieron establecer que la estructura de **S-7** debe corresponder a un sesquiterpeno poliesterificado del tipo dihidro- $\beta$ -agarofurano.

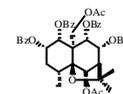


Espectro de RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz) de **S-7**

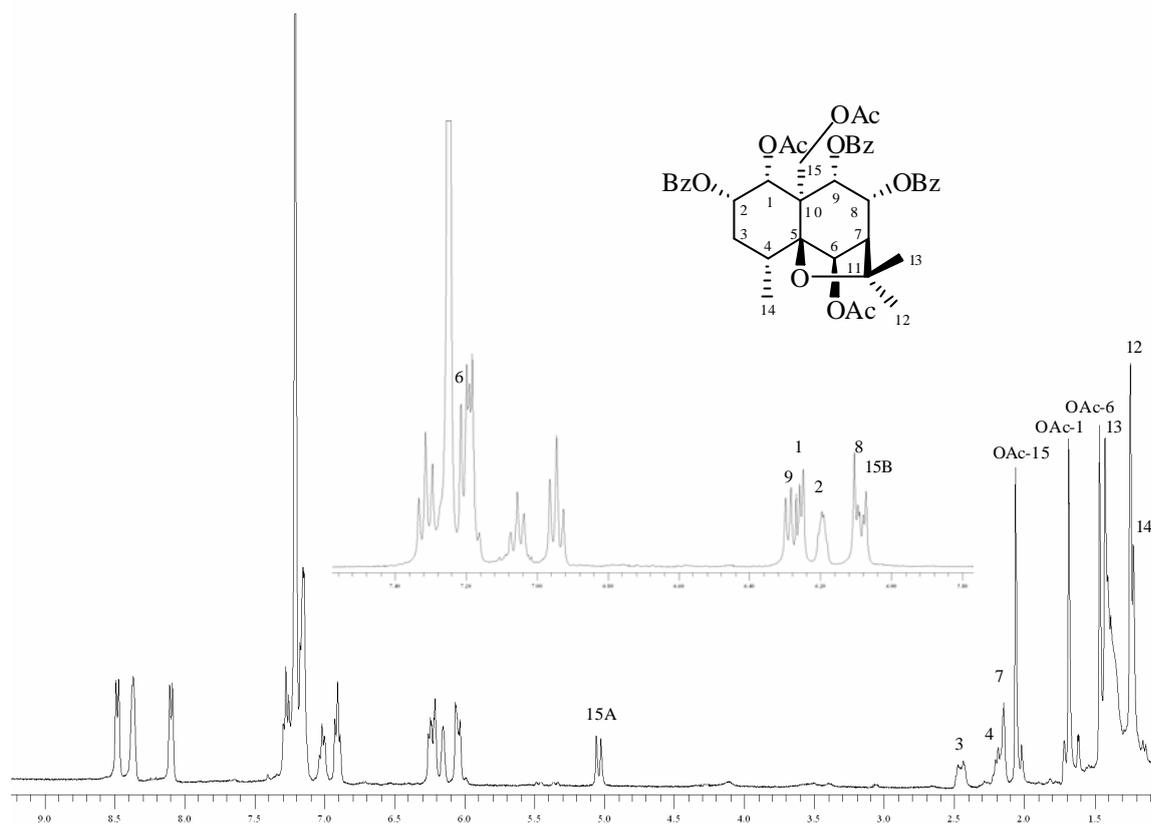
Debido al solapamiento de las señales (isocronía) de cuatro protones geminales a grupos ésteres, decidimos obtener los datos espectroscópicos de **S-7** en benceno deuterado ( $\text{C}_6\text{D}_6$ ), ya que posee una elevada anisotropía magnética<sup>7</sup> y es especialmente adecuado para separar señales solapadas como las antes mencionadas.

Así, en el espectro de RMN  $^1\text{H}$ , llevado a cabo en  $\text{C}_6\text{D}_6$  (Tabla 6) se observaron señales para tres grupos acetato a  $\delta$  1.51 (OAc-6), 1.72 (OAc-1) y 2.11 (OAc-15) y tres grupos benzoato ( $\delta$  6.95-8.52, 15H), un metilo doblete a  $\delta$  1.28 ( $J = 7.8$  Hz, Me-14) y dos metilos angulares a  $\delta$  1.29 (Me-12) y  $\delta$  1.47 (Me-13). Se observaron además, señales para siete protones metinos a  $\delta$  2.20 ( $d$ ,  $J =$

<sup>7</sup> Hesse, M.; Meier, H.; Zeeh, B. *Métodos espectroscópicos en Química Orgánica*; Ed. Síntesis, Madrid, 1995.



3.6 Hz, H-7), 2.27 (c,  $J = 7.8$  Hz, H-4), 6.08 (señal solapada, H-8), 6.20 (s ancho, H-2), 6.27 (d,  $J = 4.3$  Hz, H-1), 6.30 (d,  $J = 6.1$  Hz, H-9) y 7.23 (s, H-6), además de dos grupos metileno asignados a H-15 (d 5.09,  $d_{AB}$ ,  $J = 13.3$  Hz y 6.08, señal solapada) y H-3 (d 1.75, señal solapada y 2.50, m).



Espectro de RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{C}_6\text{D}_6$ , 400 MHz) de **S-7**

El espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (Tabla 7), confirmó la presencia de tres carbonos carbonílicos de grupos acetato a  $\delta$  169.8, 170.2 y 171.2 y tres de grupos benzoato a  $\delta$  165.7, 166.6 y 166.8; también se observaron señales de tres carbonos cuaternarios a  $\delta$  52.3, 81.7 y 91.2 y dos carbonos metilénicos a  $\delta$  32.3 y 62.5.

La regiosustitución de los grupos ésteres alrededor del esqueleto sesquiterpénico fue resuelto por medio de un experimento HMBC. Los tres grupos acetato a  $\delta$  169.8, 170.2 y 171.2 se correlacionaron con las señales de sus metilos singulete a  $\delta_{\text{H}}$  1.72, 1.51 y 2.11, respectivamente. La unión de los grupos acetato a los C-1, C-6 y C-15, se estableció por la correlación con las

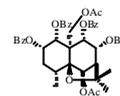
señales de los carbonilos de dichos grupos con las señales de los protones geminales a  $\delta$  6.27 (H-1), 7.23 (H-6) y 5.09, 6.08 (H-15), respectivamente. Las señales a  $\delta$  165.7, 166.6 y 166.8 se correlacionaron con las señales de protones aromáticos a  $\delta$  8.14, 8.42 y 8.52. La unión de los grupos benzoato a  $\delta$  165.7 y 166.8 con los C-9 y C-8, se definieron por correlación entre las señales de los carbonos carbonílicos de los grupos benzoatos y las señales de los protones a 6.30 (H-9) y 6.08 (H-8); mientras el restante grupo benzoato fue localizado sobre C-2.

La estereoquímica relativa de **S-7** se estableció basándonos en las constantes de acoplamiento y fue confirmada por un experimento ROESY, fijándose la estructura de **S-7** como 2 $\alpha$ ,8 $\alpha$ ,9 $\beta$ -tribenzoiloxi-1 $\alpha$ ,6 $\beta$ ,15-triacetoxi-dihidro- $\beta$ -agarofurano.

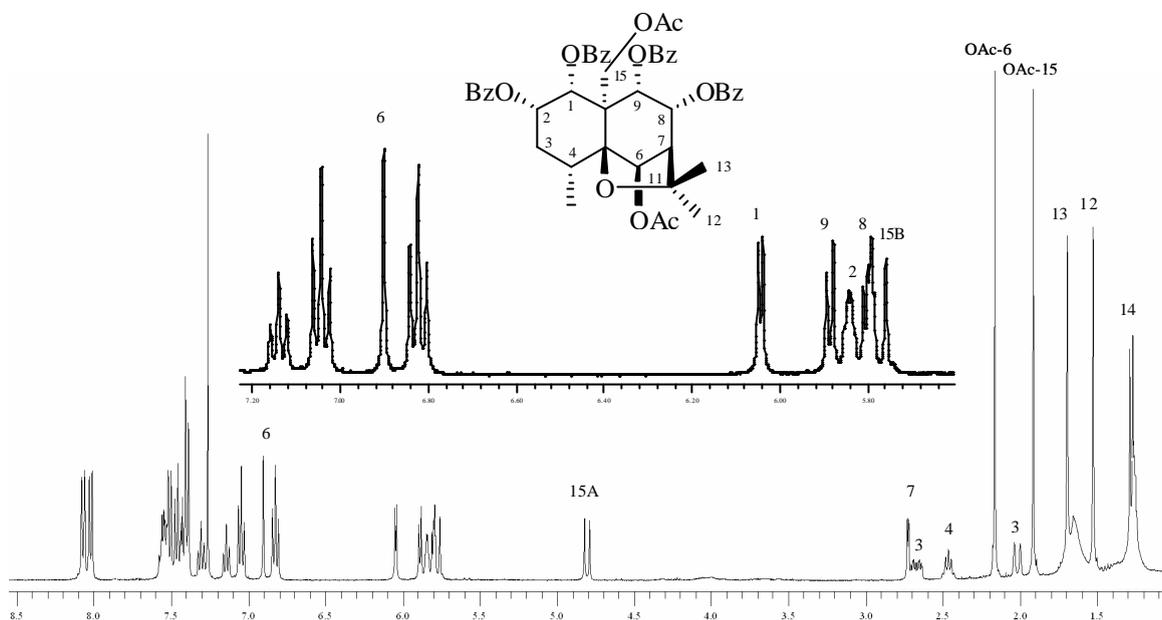
### **Sesquiterpeno: S-8**

Al producto que hemos denominado **S-8** se le asignó la estructura de 1 $\alpha$ ,2 $\alpha$ ,8 $\alpha$ ,9 $\alpha$ -tetrabenzoiloxi-6 $\beta$ ,15-diacetoxi-dihidro- $\beta$ -agarofurano, basándonos en sus datos espectroscópicos y en su fórmula molecular, C<sub>46</sub>H<sub>43</sub>O<sub>13</sub>, obtenida por espectrometría de masas de alta resolución, donde se observaron fragmentos correspondientes a la pérdida de grupos acetato y aromático. Esto se confirmó por el estudio de su espectro de RMN <sup>1</sup>H, en el cual se observaron señales para dos metilos de acetato como singuletes a  $\delta$  1.91 (OAc-15) y 2.16 (OAc-6), así como señales correspondientes a veinte protones aromáticos entre  $\delta$  6.82 y 8.06, lo que estaba de acuerdo con los datos de su espectro de RMN <sup>13</sup>C (Tabla 7).

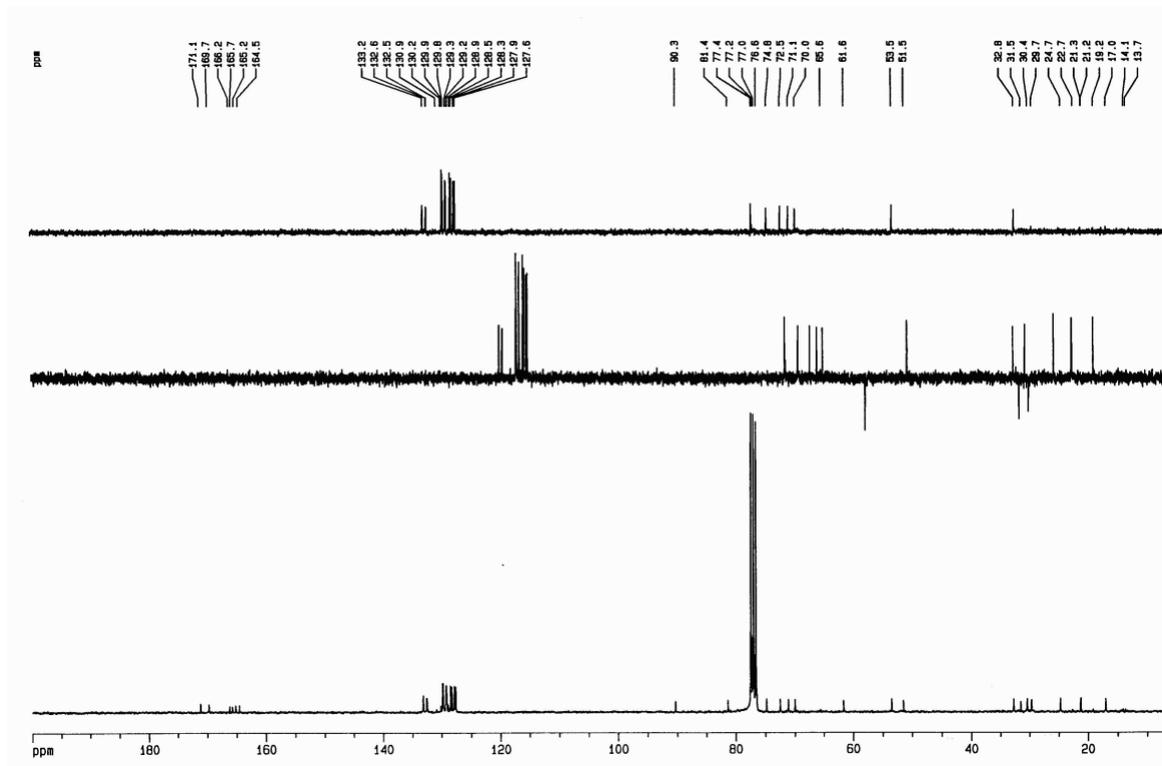
Se observó además, en su espectro de RMN <sup>1</sup>H (Tabla 6), señales para un metilo doblete a  $\delta$  1.28 ( $J = 7.7$  Hz, Me-14) y dos metilos angulares a  $\delta$  1.53 (Me-12) y  $\delta$  1.69 (Me-13), señales para siete protones metinos a  $\delta$  2.46 (c,  $J = 7.7$  Hz, H-4), 2.72 (d,  $J = 3.8$  Hz, H-7), 5.80 (t,  $J = 6.0$  Hz, H-8), 5.84 (c,  $J = 2.8$  Hz, H-



2), 5.89 (d,  $J = 6.0$  Hz, H-9), 6.04 (d,  $J = 4.0$  Hz, H-1) y 6.90 (s, H-6), además de un grupo metileno asignado a H-15 (d 4.81, 5.77,  $d_{AB}$ ,  $J = 13.2$  Hz).

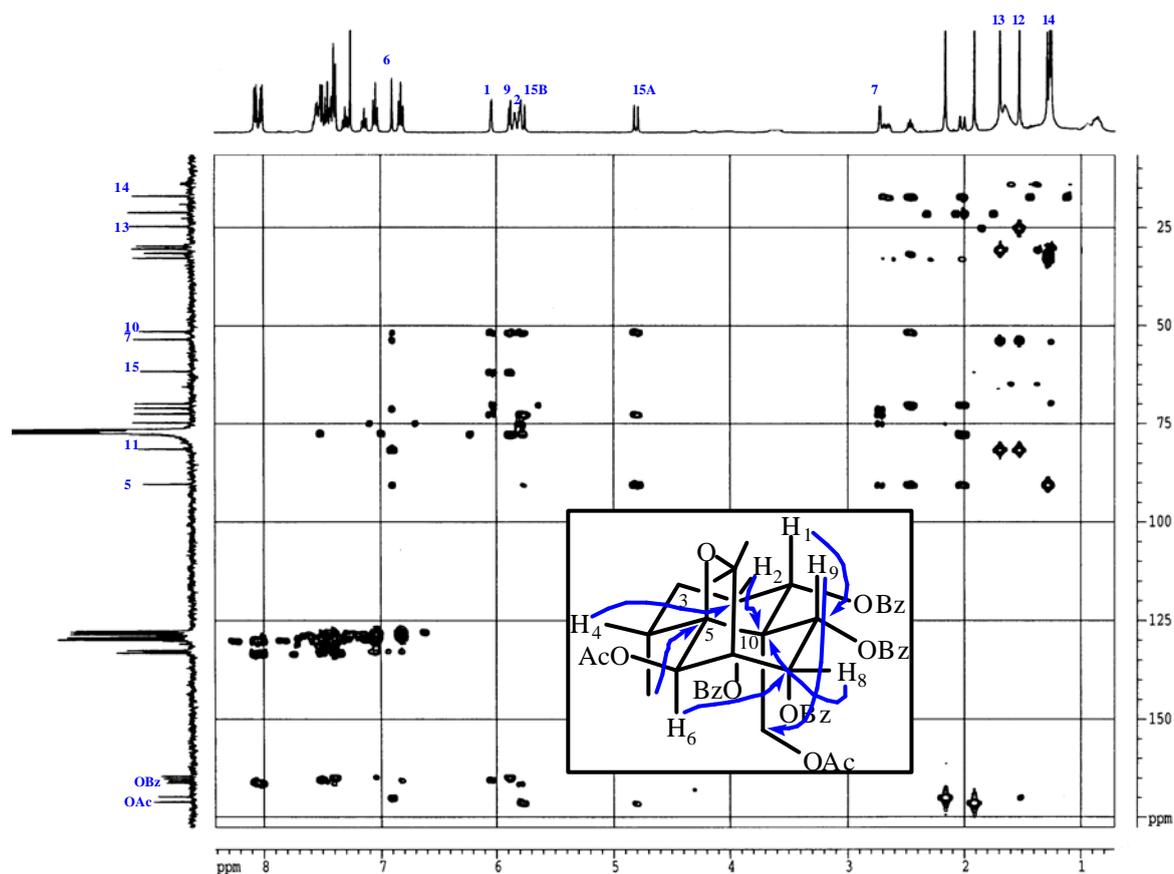


Espectro de RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz) de **S-8**



Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz) de **S-8**

Un experimento HMBC nos permitió asignar de forma inequívoca la posición de los distintos ésteres en la molécula y la estereoquímica relativa de 1a,2a,6β,8a,9a fue establecida por medio de las constantes de acoplamiento y un experimento ROESY. Todos estos datos permitieron establecer la estructura de **S-8** como la mostrada.

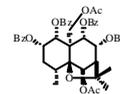


Experimento HMBC ( $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ ) para **S-8**

### Sesquiterpeno: **S-9**

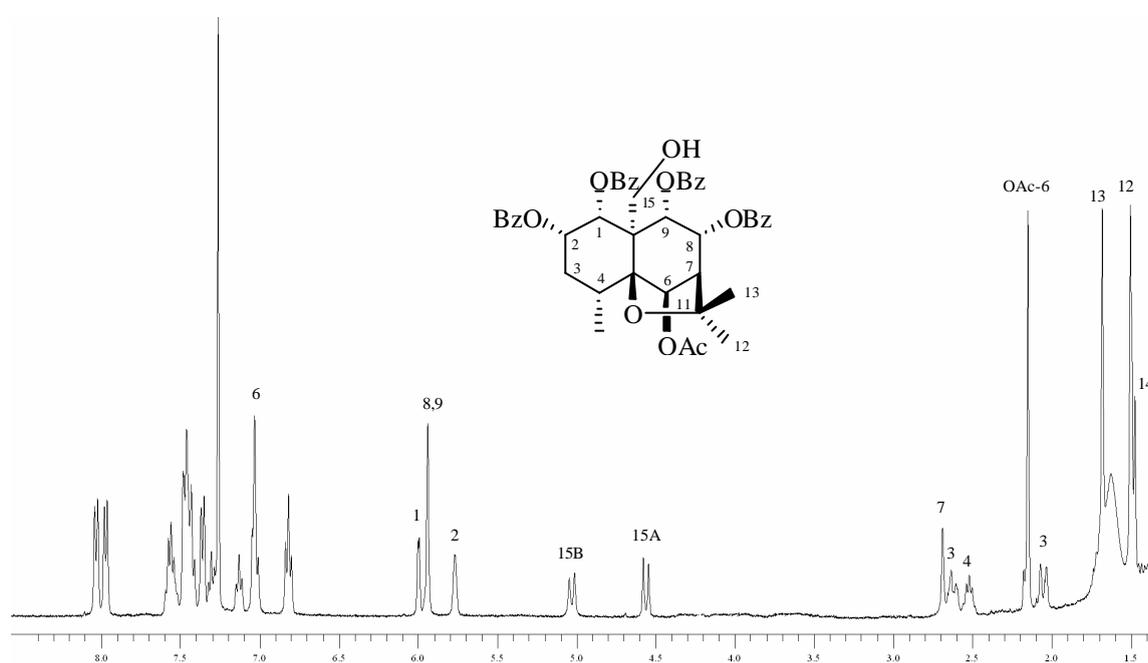
La estructura del compuesto que hemos denominado **S-9** fue establecida mediante sus datos físicos y espectroscópicos. Su fórmula molecular,  $\text{C}_{45}\text{H}_{44}\text{O}_{12}$  fue determinada por espectrometría de masas de alta resolución.

Un estudio detallado de sus datos espectroscópicos de RMN  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$  (Tablas 6 y 7), correlación  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  y  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  y experimento ROESY, mostró que el producto **S-9** estaba muy relacionado con el producto que hemos denominado



**S-8**, donde las principales diferencias que se observan en el espectro de RMN  $^1\text{H}$  son la ausencia de las señales correspondientes a un grupo acetato, la presencia de un grupo hidroxilo primario y el desplazamiento a campos más altos de H-15 ( $d_{\text{H}}$  4.81, 5.77,  $d_{\text{AB}}$ ,  $J = 13.2$  Hz en **S-8**, frente a  $d_{\text{H}}$  4.56,  $d_{\text{AB}}$ ,  $J = 11.6$  Hz y 5.03,  $d_{\text{AB}}$  ancho,  $J = 11.6$  Hz en **S-9**), lo que permitió situar el grupo hidroxilo sobre el C-15.

Así, determinamos la estructura de **S-9** como 1a,2a,8a,9a-tetrabenzoiloxi-6 $\beta$ -acetoxi-15-hidroxi-dihidro- $\beta$ -agarofurano.



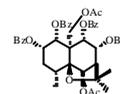
Espectro de RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz) de **S-9**

Los sesquiterpeno **S-7**, **S-8** y **S-9** presentan un esqueleto polihidroxílico base de alatol.<sup>6</sup>

**Tabla 6.** Datos de RMN <sup>1</sup>H (400 MHz) para los sesquiterpenos **S-6** a **S-9**

Posición	S-6 <sup>a</sup>	S-7 <sup>b</sup>	S-8 <sup>a</sup>	S-9 <sup>a</sup>
<b>H-1</b>	5.83 d (3.3)	6.27 d (4.3)	6.04 d (4.0)	6.00 d (3.8)
<b>H-2</b>	5.88 t (3.3)	6.20 s a	5.84 c (2.8)	5.77 c (2.8)
<b>H-3a</b> <b>H-3β</b>	1.97 d a 2.58 m	1.75* 2.50 m	2.02 d a 2.67 m	2.05 d a 2.59 m
<b>H-4</b>	2.43 c (7.2)	2.27 c (7.8)	2.46 c (7.7)	2.52 c (7.7)
<b>H-6</b>	6.01 s	7.23 s	6.90 s	7.03 s
<b>H-7</b>	2.27*	2.20 d (3.6)	2.72 d (3.8)	2.68 d (4.4)
<b>H-8</b>	2.23 s a a 2.56 m β	6.08*	5.80 t (6.0)	5.94 s
<b>H-9</b>	5.48 d (7.2)	6.30 d (6.1)	5.89 d (6.0)	5.94 s
<b>Me-12</b>	1.44 s	1.29 s	1.53 s	1.50 s
<b>Me-13</b>	1.48 s	1.47 s	1.69 s	1.69 s
<b>Me-14</b>	1.24 d (7.2)	1.28 d (7.8)	1.28 d (7.7)	1.47 d (7.7)
<b>H-15A</b> <b>H-15B</b>	4.43 d <sub>AB</sub> 5.36 d <sub>AB</sub> (12.6)	5.09 d <sub>AB</sub> (13.3) 6.08*	4.81 d <sub>AB</sub> 5.77 d <sub>AB</sub> (13.2)	4.56 d <sub>AB</sub> 5.03 d <sub>AB</sub> a (11.6)
<b>OAc-1</b>	1.52 s	1.72 s	1.91 s	
<b>OAc-6</b>	2.11 s	1.51 s	2.16 s	2.15 s
<b>OAc-15</b>	2.27 s	2.11 s		

<sup>a</sup> δ<sub>CDCl<sub>3</sub></sub>. *J* en paréntesis en Hz. <sup>b</sup> d, C<sub>6</sub>D<sub>6</sub>. *J* en paréntesis en Hz. \* Señal solapada. Datos basados en experimentos COSY y HSQC.

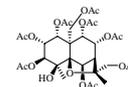


**Tabla 7.** Datos de RMN  $^{13}\text{C}$  (100 MHz) para los sesquiterpenos **S-6** a **S-9**

Posición	S-6 <sup>a</sup>	S-7 <sup>b</sup>	S-8 <sup>a</sup>	S-9 <sup>a</sup>
<b>C-1</b>	75.1 d	77.8 d	77.4 d	76.7 d
<b>C-2</b>	70.2 d	70.5 d	70.0 d	70.3 d
<b>C-3</b>	30.9 t	32.3 t	31.5 t	31.4 t
<b>C-4</b>	33.0 d	33.6 d	32.8 d	32.9 d
<b>C-5</b>	89.2 s	91.2 s	90.3 s	90.2 s
<b>C-6</b>	78.1 d	75.7 d	74.8 d	75.1 d
<b>C-7</b>	48.8 d	54.5 d	53.5 d	53.3 d
<b>C-8</b>	34.9 t	71.8 d	71.1 d	70.5 d
<b>C-9</b>	69.4 d	73.1 d	72.5 d	73.4 d
<b>C-10</b>	53.2 s	52.3 s	51.5 s	54.5 s
<b>C-11</b>	82.8 s	81.7 s	81.4 s	81.8 s
<b>C-12</b>	30.3 c	30.7 c	30.4 c	30.4 c
<b>C-13</b>	26.0 c	25.1 c	24.7 c	24.7 c
<b>C-14</b>	18.1 c	17.4 c	17.0 c	17.8 c
<b>C-15</b>	66.0 t	62.5 t	61.6 t	60.5 t
<b>OAc-1</b>	21.3 c, 169.3 s	21.3 c, 169.8 s		
<b>OAc-6</b>	21.2 c, 170.0 s	20.7 c, 170.2 s	21.3 c, 169.7 s	21.2 c, 169.9 s
<b>OAc-15</b>	20.4 c, 170.7 s	21.9 c, 171.2 s	21.2 c, 171.1 s	

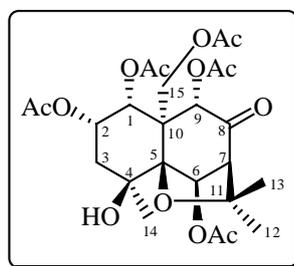
<sup>a</sup>  $\delta$ ,  $\text{CDCl}_3$ . <sup>b</sup>  $\delta$ ,  $\text{C}_6\text{D}_6$ . Datos basados en los experimentos DEPT, HSQC y HMBC.

*Parte Experimental:*  
*Sesquiterpenos Agarofuránicos*



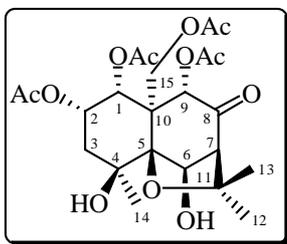
**S-1**

**(1*R*,2*S*,4*S*,5*S*,6*R*,7*R*,9*S*,10*S*)-1,2,6,9,15-Pentaacetoxi-4-hidroxi-8-oxodihidro-β-agarofurano**

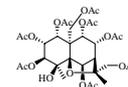


Laca incolora (41.0 mg);  $[\alpha]_D^{20}$   $-1.3^\circ$  ( $c$  0.77,  $\text{CHCl}_3$ ); **UV (EtOH)**  $\lambda_{\text{max}}$  ( $\log \epsilon$ ) 264 (2.8) nm; **CD**  $\lambda_{\text{ext}}$  (MeCN) nm 290 ( $\Delta\epsilon = +1.8$ ); **IR (película)**  $\nu_{\text{max}}$  3540, 2929, 1749, 1433, 1371, 1235, 1228, 1083, 1040, 757  $\text{cm}^{-1}$ ; **RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)**  $\delta$  1.49 (3H, s, Me-13), 1.52 (3H, s, Me-14), 1.62 (3H, s, Me-12), 1.94 (3H, s, OAc-1), 2.02 (3H, s, OAc-15), 2.04 (2H, m, H-3), 2.10 (3H, s, OAc-9), 2.11 (3H, s, OAc-2), 2.14 (3H, s, OAc-6), 2.72 (1H, s, OH-4), 2.97 (1H, s, H-7), 4.47 (1H,  $d_{\text{AB}}$ ,  $J = 13.0$  Hz, H-15A), 4.87 (1H,  $d_{\text{AB}}$ ,  $J = 13.0$  Hz, H-15B), 5.34 (1H, c,  $J = 3.1$  Hz, H-2), 5.47 (1H, d,  $J = 3.2$  Hz, H-1), 5.58 (1H, s, H-9), 6.60 (1H, s, H-6); **RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz)**  $\delta$  20.10 (c, OAc-15), 20.22 (c, OAc-9), 20.66 (c, OAc-1), 21.13 (c, OAc-2), 21.35 (c, OAc-6), 24.56 (c, C-13), 25.17 (c, C-14), 29.22 (c, C-12), 42.02 (t, C-3), 52.65 (s, C-10), 60.54 (t, C-15), 64.83 (d, C-7), 68.05 (d, C-2), 69.75 (s, C-4), 74.35 (d, C-1), 74.59 (d, C-6), 78.79 (d, C-9), 84.81 (s, C-11), 93.21 (s, C-5), 169.14 (s, OAc-6), 169.22 (s, OAc-9), 169.24 (s, OAc-1), 169.35 (s, OAc-2), 169.72 (s, OAc-15), 197.50 (s, C-8); **EMIE $^+$   $m/z$  (%)** 542 ( $\text{M}^+$ , 1), 527 ( $\text{M}^+$ -15, Me, 1), 500 ( $\text{M}^+$ -42,  $\text{C}_2\text{H}_2\text{O}^+$ , 11), 482 ( $\text{M}^+$ -60,  $\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2^+$ , 20), 440 (67), 380 (8), 263 (7), 156 (100), 114 (47), 96 (15), 83 (34), 69 ( $\text{C}_4\text{H}_5\text{O}^+$ , 6), 57 ( $\text{C}_3\text{H}_5\text{O}^+$ , 16); **EMAR  $m/z$**  542.19931 (calculado para  $\text{C}_{25}\text{H}_{34}\text{O}_{13}$ , 542.19994).

## S-2

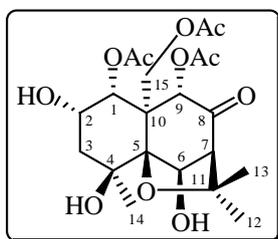
**(1R,2S,4S,5S,6R,7R,9S,10S)-1,2,9,15-Tetraacetoxi-4,6-dihidroxi-8-oxodihidro- $\beta$ -agarofurano**

Laca incolora (81.7 mg);  $[\alpha]_D^{20} +3.6^\circ$  (c 2.21,  $\text{CHCl}_3$ ); UV (EtOH)  $\lambda_{\text{max}}$  (log  $\epsilon$ ) 270 (2.6) nm; IR (película)  $\nu_{\text{max}}$  3403, 2978, 1752, 1371, 1232, 1140, 1052, 758  $\text{cm}^{-1}$ ; RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  1.49 (3H, s, Me-13), 1.64 (3H, s, Me-12), 1.80 (3H, s, Me-14), 1.94 (3H, s, OAc-1), 1.95 (3H, s, OAc-15), 2.05 (3H, s, OAc-9), 2.09 (2H, m, H-3), 2.12 (3H, s, OAc-2), 3.09 (1H, s, H-7), 3.14 (1H, s, OH-4), 4.34 (1H,  $d_{\text{AB}}$ ,  $J = 13.0$  Hz, H-15A), 4.95 (1H,  $d_{\text{AB}}$ ,  $J = 13.0$  Hz, H-15B), 5.22 (1H, d,  $J = 5.4$  Hz, OH-6), 5.28 (1H, d,  $J = 5.4$  Hz, H-6), 5.36 (1H, c,  $J = 3.3$  Hz, H-2), 5.48 (1H, d,  $J = 3.2$  Hz, H-1), 5.58 (1H, s, H-9); RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz)  $\delta$  20.12 (c, OAc-9), 20.50 (c, OAc-1), 20.62 (c, OAc-15), 21.10 (c, OAc-2), 24.70 (c, C-14), 25.24 (c, C-13), 29.75 (c, C-12), 41.11 (t, C-3), 52.12 (s, C-10), 60.22 (t, C-15), 66.41 (d, C-7), 67.75 (d, C-2), 72.24 (s, C-4), 74.40 (d, C-1), 76.27 (d, C-6), 78.80 (d, C-9), 84.90 (s, C-11), 92.50 (s, C-5), 169.20 (s, OAc-9), 169.25 (s, OAc-2), 169.36 (s, OAc-1), 169.72 (s, OAc-15), 199.12 (s, C-8); EMIE $^+$   $m/z$  (%) 500 ( $\text{M}^+$ , 8), 440 (28), 380 (11), 352 (19), 292 (8), 156 (100), 114 (73), 96 (6), 83 (60), 55 ( $\text{C}_3\text{H}_3\text{O}^+$ , 9); EMAR  $m/z$  500.18608 (calculado para  $\text{C}_{23}\text{H}_{32}\text{O}_{12}$ , 500.18937).



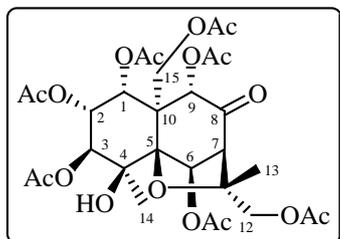
S-3

**(1R,2S,4S,5S,6R,7R,9S,10S)-1,9,15-Triacetoxi-2,4,6-trihidroxi-8-oxodihidro-β -agarofurano**

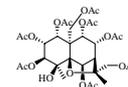


Laca incolora (2.9 mg);  $[\alpha]_D^{20}$   $-3.8^\circ$  ( $c$  0.34,  $\text{CHCl}_3$ ); UV (EtOH)  $\lambda_{\text{max}}$  ( $\log \epsilon$ ) 265 (2.1) nm; IR (película)  $\nu_{\text{max}}$  3536, 2925, 2853, 1736, 1375, 1235, 1136, 1045, 751  $\text{cm}^{-1}$ ; RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  1.49 (3H, s, Me-13), 1.63 (3H, s, Me-12), 1.85 (3H, s, Me-14), 1.93 (3H, s, OAc-15), 2.04 (3H, s, OAc-1), 2.07 (3H, s, OAc-9), 2.10 (2H, m, H-3), 3.03 (3H, s, OH-4), 3.06 (1H, s, H-7), 4.10 (1H, s ancho, H-2), 4.42 (1H,  $d_{\text{AB}}$ ,  $J = 13.2$ , H-15A), 5.00 (1H,  $d_{\text{AB}}$ ,  $J = 13.2$ , H-15B), 5.26 (1H,  $d$ ,  $J = 5.3$  Hz, H-6), 5.29 (1H,  $d$ ,  $J = 5.53$ , OH-6), 5.46 (1H,  $d$ ,  $J = 2.8$  Hz, H-1), 5.59 (1H, s, H-9); RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz)  $\delta$  20.05 (c, OAc-15), 20.52 (c, OAc-1), 20.78 (c, OAc-9), 24.77 (c, C-14), 25.11 (c, C-13), 29.71 (c, C-12), 42.66 (t, C-3), 52.13 (s, C-10), 60.53 (t, C-15), 66.36 (d, C-7), 67.61 (d, C-2), 72.40 x 2 (d, C-1; s, C-4), 76.25 (d, C-6), 79.26 (d, C-9), 84.69 (s, C-11), 92.89 (s, C-5), 169.20 (s, OAc-9), 169.27 (s, OAc-1), 169.90 (OAc-15), 199.06 (s, C-8); EMIE $^+$   $m/z$  (%) 440 ( $\text{M}^+$ -18,  $\text{H}_2\text{O}$ , 8), 380 (9), 338 (8), 278 (6), 165 (30), 114 (75), 83 (100), 69 ( $\text{C}_4\text{H}_5\text{O}^+$ , 47), 55 ( $\text{C}_3\text{H}_3\text{O}^+$ , 65); EMAR  $m/z$  440.17069 (calculado para  $\text{C}_{21}\text{H}_{28}\text{O}_{10}$ , 440.16825).

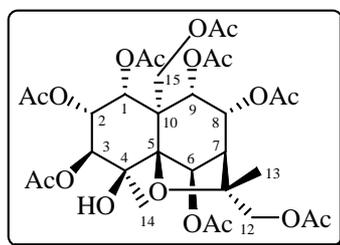
## S-4

**(1R,2S,3S,4S,5S,6R,7R,9S,10R)-1,2,3,6,9,12,15-Heptaacetoxi-4-hidroxi-8-oxodihidro-β-agarofurano**

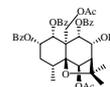
Laca incolora (5.0 mg);  $[\alpha]_D^{20} +1.0^\circ$  ( $c$  0.52,  $\text{CHCl}_3$ ); UV (EtOH)  $\lambda_{\text{max}}$  ( $\log \epsilon$ ) 264 (2.90) nm; IR (película)  $\nu_{\text{max}}$  3462, 2926, 1751, 1458, 1371, 1229, 1040, 757  $\text{cm}^{-1}$ ; RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  1.47 (3H, s, Me-13), 1.54 (3H, s, Me-14), 1.94 (3H, s, OAc-1), 2.02 (3H, s, OAc-15), 2.11 (3H, s, OAc-12), 2.13 (3H, s, OAc-9), 2.14 (3H, s, OAc-6), 2.15 (3H, s, OAc-2), 2.19 (3H, s, OAc-3), 3.00 (1H, s, H-7), 3.89 (1H,  $d_{\text{AB}}$ ,  $J = 11.7$  Hz, H-12A), 4.44 (1H,  $d_{\text{AB}}$ ,  $J = 13.1$  Hz, H-15A), 4.54 (1H, s, OH-4), 4.84 ( $d_{\text{AB}}$ ,  $J = 13.1$  Hz, H-15B), 4.86 (1H, d,  $J = 2.8$  Hz, H-3), 5.10 (1H,  $d_{\text{AB}}$ ,  $J = 11.7$  Hz, H-12B), 5.28 (1H, t,  $J = 3.1$  Hz, H-2), 5.57 (1H, s, H-9), 5.69 (1H, d,  $J = 3.1$  Hz, H-1), 6.62 (1H, s, H-6); RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz)  $\delta$  18.67 (c, C-13), 20.15 (c, OAc-12), 20.42 (c, OAc-15), 20.50 (c, OAc-1), 20.75 (c, OAc-3), 20.78 (c, OAc-9), 20.94 (c, OAc-2), 21.24 (c, OAc-6), 24.01 (c, C-14), 52.16 (s, C-10), 60.28 (t, C-15), 62.24 (d, C-7), 68.77 (d, C-2), 69.37 (s, C-4), 69.62 (t, C-12), 71.58 (d, C-1), 73.72 (d, C-6), 75.11 (d, C-3), 78.44 (d, C-9), 86.13 (s, C-11), 94.44 (s, C-5), 167.97 (s, OAc-2), 168.68 (s, OAc-1), 168.72 (s, OAc-9), 168.80 (s, OAc-6), 168.91 (s, OAc-3), 169.11 (OAc-15), 170.34 (s, OAc-12), 196.32 (s, C-8); EMIE $^+$   $m/z$  (%) 658 ( $\text{M}^+$ , 4), 640, ( $\text{M}^+-18$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ , 1), 585 ( $\text{M}^+-73$ ,  $\text{C}_3\text{H}_5\text{O}_2^+$ , 25), 567 (41), 465 (48), 363 (73), 321 (65), 231 (59), 105 (75), 95 (30), 85 (43), 60 ( $\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2^+$ , 21), 57 ( $\text{C}_3\text{H}_5\text{O}^+$ , 100), 55 ( $\text{C}_3\text{H}_3\text{O}^+$ , 56); EMAR  $m/z$  658.21906 (calculado para  $\text{C}_{29}\text{H}_{36}\text{O}_{16}$ , 658.21090).



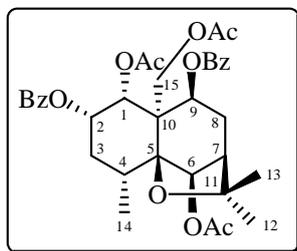
**S-5 (Octaacetato de euonyminol)**  
**1 $\alpha$ ,2 $\alpha$ ,3 $\beta$ ,6 $\beta$ ,8 $\alpha$ ,9 $\alpha$ ,12,15-Octaacetoxi-4-hidroxi-dihidro- $\beta$ -agarofurano**



Laca incolora (10.5 mg);  $[\alpha]_D^{20}$   $-5.9^\circ$  ( $c$  1.11,  $\text{CHCl}_3$ ); **IR (película)**  $\nu_{\text{max}}$  3444, 2969, 1738, 1645, 1370, 1233, 1045  $\text{cm}^{-1}$ ; **RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)**  $\delta$  1.47 (3H, s, Me-14), 1.56 (3H, s, Me-13), 1.88 (3H, s, OAc-1), 1.98 (3H, s, OAc-9), 2.11 (3H, s, OAc-12), 2.12 (3H, s, OAc-2), 2.13 (3H, s, OAc-6), 2.15 (3H, s, OAc-3), 2.16 (3H, s, OAc-8), 2.25 (3H, s, OAc-15), 2.32 (1H, d,  $J = 3.6$  Hz, H-7), 3.94 (1H,  $d_{\text{AB}}$ ,  $J = 11.6$  Hz, H-12A), 4.42 (1H,  $d_{\text{AB}}$ ,  $J = 13.3$  Hz, H-15A), 4.82 (1H, d,  $J = 2.8$  Hz, H-3), 4.89 (1H,  $d_{\text{AB}}$ ,  $J = 11.6$  Hz, H-12B), 5.25 (1H,  $d_{\text{AB}}$ ,  $J = 13.3$  Hz, H-15B), 5.26 (1H, t,  $J = 3.6$  Hz, H-2), 5.34 (1H, d,  $J = 5.9$  Hz, H-9), 5.48 (1H, t,  $J = 5.9$  Hz, H-8), 5.58 (1H, d,  $J = 3.6$  Hz, H-1), 6.76 (1H, s, H-6); **RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz)**  $\delta$  18.30 (c, C-13), 20.46 (c, OAc-9), 20.50 (c, OAc-1), 20.80 (c, OAc-2), 20.83 (c, OAc-3), 20.96 x 2 (c, OAc-6; c, OAc-8), 21.22 (s, OAc-15), 21.44 (c, OAc-12), 23.25 (c, C-14), 50.71 (d, C-7), 51.90 (s C-10), 60.28 (t, C-15), 68.96 (d, C-8), 69.01 (d, C-2), 69.29 (s, C-4), 69.43 (t, C-12), 70.95 (d, C-9), 73.13 (d C-1), 73.93 (d, C-6), 75.83 (d, C-3), 84.04 (s, C-11), 92.93 (s, C-5), 168.68 (s, OAc-2), 168.90 (OAc-9), 169.30 (s, OAc-1), 169.50 (s, OAc-3), 169.80 (s, OAc-6), 170.03 (s, OAc-8), 170.10 (s, OAc-15), 170.70 (s, OAc-12); **EMIE $^+$   $m/z$  (%)** 684 ( $\text{M}^+$ -18,  $\text{H}_2\text{O}$ , 1), 642 (6), 629 ( $\text{M}^+$ -73,  $\text{C}_3\text{H}_5\text{O}_2^+$ , 45), 611 (48), 540 (28), 509 (53), 449 (34), 407 (100), 347 (65), 257 (80), 245 (88), 215 (73), 95 (19), 60 ( $\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2^+$ , 30); **EMAR  $m/z$**  684.22867 (calculado para  $\text{C}_{31}\text{H}_{40}\text{O}_{17}$ , 684.22655).

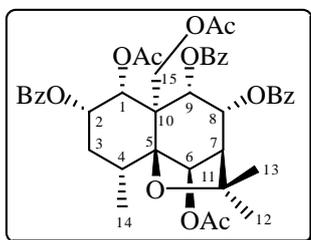


**S-6 (Elat-1): 2 $\alpha$ ,9 $\beta$ -Dibenzoiloxi-1 $\alpha$ ,6 $\beta$ ,15-triacetoxi-dihidro- $\beta$ -agarofurano**

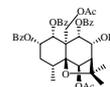


Laca incolora (45.6 mg);  $[\alpha]_D^{20} +68.2^\circ$  (*c* 0.11, CHCl<sub>3</sub>); UV (EtOH)  $\lambda_{\max}$  (log  $\epsilon$ ) 231 (4.1), 274 (3.2), 282 (3.1) nm; IR (película)  $\nu_{\max}$  2924, 2852, 1729, 1601, 1451, 1269, 1093, 708 cm<sup>-1</sup>; RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz)  $\delta$  1.24 (3H, d, *J* = 7.2 Hz, Me-14), 1.44 (3H, s, Me-12), 1.48 (3H, s, Me-13), 1.52 (3H, s, OAc-1), 1.97 (1H, d ancho, H-3 $\alpha$ ), 2.11 (3H, s, OAc-6), 2.23 (1H, s ancho, H-8 $\alpha$ ), 2.27 (3H, s, OAc-15; 1H, solapado, H-7), 2.43 (1H, c, *J* = 7.2 Hz, H-4), 2.56 (1H, m, H-8 $\beta$ ), 2.58 (1H, m, H-3 $\beta$ ), 4.43 (1H, d<sub>AB</sub>, *J* = 12.6 Hz, H-15A), 5.36 (1H, d<sub>AB</sub>, *J* = 12.6 Hz, H-15B), 5.48 (1H, d, *J* = 7.2, H-9), 5.83 (1H, d, *J* = 3.3 Hz, H-1), 5.88 (1H, t, *J* = 3.3 Hz, H-2), 6.01 (1H, s, H-6), OBz x 2 [7.51 (6H, m), 8.06 (2H, dd, *J* = 1.2, 7.1 Hz, OBz-9), 8.12 (2H, dd, *J* = 1.4, 7.0 Hz, OBz-2)]; RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz)  $\delta$  18.1 (c, C-14), 20.4 (c, OAc-15), 21.2 (c, OAc-6), 21.3 (c, OAc-1), 26.0 (c, C-13), 30.3 (c, C-12), 30.9 (t, C-3), 33.0 (d, C-4), 34.9 (t, C-8), 48.8 (d, C-7), 53.2 (s, C-10), 66.0 (t, C-15), 69.4 (d, C-9), 70.2 (d, C-2), 75.1 (d, C-1), 78.1 (d, C-6), 82.8 (s, C-11), 89.2 (s, C-5), OBz x 2 [128.3 (2 x d), 128.6 (2 x d), 128.6 (2 x d), 129.1 (s), 129.7 (s), 129.8 (2 x d), 130.1 (d), 133.2 (d), 165.3 (s, OBz-9), 166.0 (s, OBz-2)], 169.3 (s, OAc-1), 170.0 (s, OAc-6), 170.7 (s, OAc-15); EMIE<sup>+</sup> *m/z* (%) 621 (M<sup>+</sup>-15, Me, 5), 594 (M<sup>+</sup>-42, C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>O<sup>+</sup>, 18), 472 (2), 257 (3), 215 (3), 143 (4), 105 (C<sub>7</sub>H<sub>5</sub>O<sup>+</sup>, 100), 77 (C<sub>6</sub>H<sub>5</sub><sup>+</sup>, 18); EMAR *m/z* 621.23434 (calculado para C<sub>34</sub>H<sub>37</sub>O<sub>11</sub>, 621.23359).

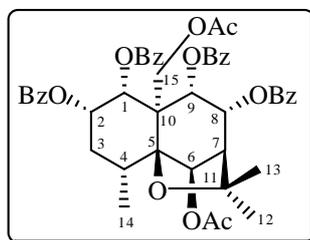
**S-7: 2 $\alpha$ ,8 $\alpha$ ,9 $\alpha$ -Tribenzoiloxi-1 $\alpha$ ,6 $\beta$ ,15-triacetoxi-dihidro- $\beta$ -agarofurano**



Laca incolora (63.4 mg);  $[\alpha]_D^{20} +5.0^\circ$  ( $c$  0.18,  $\text{CHCl}_3$ ); UV (EtOH)  $\lambda_{\text{max}}$  ( $\log \epsilon$ ) 230 (4.2), 274 (3.1), 282 (3.0) nm; IR (película)  $\nu_{\text{max}}$  2926, 2853, 1728, 1602, 1452, 1270, 1095, 710  $\text{cm}^{-1}$ ; RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{C}_6\text{D}_6$ , 400 MHz)  $\delta$  1.28 (3H, d,  $J = 7.8$  Hz, Me-14), 1.29 (3H, s, Me-12), 1.47 (3H, s, Me-13), 1.51 (3H, s, OAc-6), 1.72 (3H, s, OAc-1), 1.75 (1H, H-3 $\alpha$ ), 2.11 (3H, s, OAc-15), 2.20 (1H, d,  $J = 3.6$  Hz, H-7), 2.27 (1H, c,  $J = 7.8$  Hz, H-4), 2.50 (1H, m, H-3 $\beta$ ), 5.09 (1H, d<sub>AB</sub>,  $J = 13.3$  Hz, H-15A), 6.08 (1H, solapado, H-8), 6.08 (1H, solapado, H-15B), 6.20 (1H, s ancho, H-2), 6.27 (1H, d,  $J = 4.3$  Hz, H-1), 6.30 (1H, d,  $J = 6.1$  Hz, H-9), 7.23 (1H, s, H-6), OBz x 3 [6.95 (2H, t,  $J = 7.5$  Hz), 7.06 (2H, t,  $J = 7.4$  Hz), 7.19 (4H, m), 7.32 (2H, t,  $J = 7.5$  Hz), 8.14 (2H, dd,  $J = 1.2, 7.2$  Hz, OBz-9), 8.42 (2H, m, OBz-2), 8.52 (2H, d,  $J = 7.3$  Hz, OBz-8)]; RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{C}_6\text{D}_6$ , 100 MHz)  $\delta$  17.4 (c, C-14), 20.7 (c, OAc-6), 21.3 (c, OAc-1), 21.9 (c, OAc-15), 25.1 (c, C-13), 30.7 (c, C-12), 32.3 (t, C-3), 33.6 (d, C-4), 52.3 (s, C-10), 54.5 (d, C-7), 62.5 (t, C-15), 70.5 (d, C-2), 71.8 (d, C-8), 73.1 (d, C-9), 75.7 (d, C-6), 77.8 (d C-1), 81.7 (s, C-11), 91.2 (s, C-5), OBz x 3 [129.2 (2 x d), 131.2 (2 x d), 129.5 (2 x d), 130.2 (s), 130.3 (s), 130.5 (2 x d), 130.9 (2 x d), 131.1 (2 x d), 131.7 (s), 133.6 (d), 133.8 (d), 133.9 (d), 165.7 (s, OBz-9), 166.6 (s, OBz-2), 166.8 (s, OBz-8)], 169.8 (s, OAc-1), 170.2 (s, OAc-6), 171.2 (OAc-15); EMIE<sup>+</sup>  $m/z$  (%) 756 ( $\text{M}^+$ , 1), 742 (2), 714 ( $\text{M}^+-42$ ,  $\text{C}_2\text{H}_2\text{O}^+$ , 11), 592 (3), 305 (2), 228 (4), 188 (5), 105 ( $\text{C}_7\text{H}_5\text{O}^+$ , 100), 77 ( $\text{C}_6\text{H}_5^+$ , 11); EMAR  $m/z$  756.28166 (calculado para  $\text{C}_{42}\text{H}_{44}\text{O}_{13}$ , 756.27819).

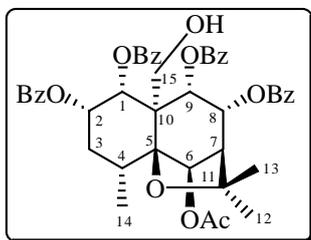


**S-8: 1 $\alpha$ ,2 $\alpha$ ,8 $\alpha$ ,9 $\alpha$ -Tetrabenzoiloxi-6 $\beta$ ,15-diacetoxi-dihidro- $\beta$ -agarofurano**



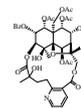
Laca incolora (7.3 mg);  $[\alpha]_D^{20}$   $-6.0^\circ$  ( $c$  0.10,  $\text{CHCl}_3$ ); UV (EtOH)  $\lambda_{\text{max}}$  (log  $\epsilon$ ) 229 (4.2), 274 (3.0), 281 (2.9) nm; IR (película)  $\nu_{\text{max}}$  2926, 2853, 1729, 1604, 1451, 1270, 1228, 1095, 707  $\text{cm}^{-1}$ ; RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  1.28 (3H, d,  $J = 7.7$  Hz, Me-14), 1.53 (3H, s, Me-12), 1.69 (3H, s, Me-13), 1.91 (3H, s, OAc-15), 2.02 (1H, d ancho, H-3 $\alpha$ ), 2.16 (3H, s, OAc-6), 2.46 (1H, c,  $J = 7.7$  Hz, H-4), 2.67 (1H, m, H-3 $\beta$ ), 2.72 (1H, d,  $J = 3.8$  Hz, H-7), 4.81 (1H, d<sub>AB</sub>,  $J = 13.2$  Hz, H-15A), 5.77 (1H, d<sub>AB</sub>,  $J = 13.2$  Hz, H-15B), 5.80 (1H, t,  $J = 6.0$  Hz, H-8), 5.84 (1H, c,  $J = 2.8$  Hz, H-2), 5.89 (1H, d,  $J = 6.0$  Hz, H-9), 6.04 (1H, d,  $J = 4.0$  Hz, H-1), 6.90 (1H, s, H-6), OBz x 4 [6.82 (2H, t,  $J = 7.9$  Hz, OBz-1), 7.04 (2H, t,  $J = 7.9$  Hz, OBz-9), 7.14 (1H, t,  $J = 7.5$  Hz, OBz-2), 7.30 (1H, t,  $J = 7.5$  Hz, OBz-2), 7.50 (10H, m), 8.01 (2H, dd,  $J = 1.2, 7.2$  Hz, OBz-8), 8.06 (2H, dd,  $J = 1.2, 7.2$  Hz, OBz-1)]; RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz)  $\delta$  17.0 (c, C-14), 21.2 (c, OAc-15), 21.3 (c, OAc-6), 24.7 (c, C-13), 30.4 (c, C-12), 31.5 (t, C-3), 32.8 (d, C-4), 51.5 (s, C-10), 53.5 (d, C-7), 61.6 (t, C-15), 70.0 (d, C-2), 71.1 (d, C-8), 72.5 (d, C-9), 74.8 (d, C-6), 77.4 (d C-1), 81.4 (s, C-11), 90.3 (s, C-5), OBz x 4 [127.6 (2 x d), 127.9 (2 x d), 128.3 (2 x d), 128.5 (2 x d), 128.9 (s), 129.1 (s), 129.2 (2 x d), 129.3 (2 x d), 129.3 (s), 129.8 (2 x d), 129.9 (2 x d), 130.2 (s), 132.5 (d), 132.6 (d), 133.2 (d), 133.3 (d), 164.6 (s, OBz-9), 165.2 (s, OBz-2), 165.7 (s, OBz-1), 166.2 (s, OBz-8)], 169.7 (s, OAc-6), 171.1 (s, OAc-15); EMIE<sup>+</sup>  $m/z$  (%) 803 ( $\text{M}^+$ -15, Me, 1), 776 ( $\text{M}^+$ -42,  $\text{C}_2\text{H}_2\text{O}^+$ , 7), 714 ( $\text{M}^+$ -77,  $\text{C}_6\text{H}_5^+$ , 1), 654 (3), 474 (4), 414 (3), 105 ( $\text{C}_7\text{H}_5\text{O}^+$ , 100), 77 ( $\text{C}_6\text{H}_5^+$ , 12); EMAR  $m/z$  803.27002 (calculado para  $\text{C}_{46}\text{H}_{43}\text{O}_{13}$ , 803.27037).

**S-9: 1 $\alpha$ ,2 $\alpha$ ,8 $\alpha$ ,9 $\alpha$ -Tetrabenzoiloxi-6 $\beta$ -acetoxi-15-hidroxi-dihidro- $\beta$ -agarofurano**



Laca incolora (3.2 mg);  $[\alpha]_D^{20}$   $-5.6^\circ$  ( $c$  0.09,  $\text{CHCl}_3$ ); UV (EtOH)  $\lambda_{\text{max}}$  ( $\log \epsilon$ ) 228 (3.9), 274 (3.0), 281 (2.8) nm; IR (película)  $\nu_{\text{max}}$  2924, 2852, 1729, 1601, 1451, 1269, 1093, 708  $\text{cm}^{-1}$ ; RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  1.47 (3H, d,  $J = 7.7$  Hz, Me-14), 1.50 (3H, s, Me-12), 1.69 (3H, s, Me-13), 2.05 (1H, d ancho, H-3 $\alpha$ ), 2.15 (3H, s, OAc-6), 2.52 (1H, c,  $J = 7.7$  Hz, H-4), 2.59 (1H, m, H-3 $\beta$ ), 2.68 (1H, d,  $J = 4.4$  Hz, H-7), 4.56 (1H, d<sub>AB</sub>,  $J = 11.6$  Hz, H-15A), 5.03 (1H, d<sub>AB</sub> ancho,  $J = 11.6$  Hz, H-15B), 5.77 (1H, c,  $J = 2.8$  Hz, H-2), 5.94 (1H, s, H-8; 1H, s, H-9), 6.00 (1H, d,  $J = 3.8$  Hz, H-1), 7.03 (1H, s, H-6), OBz x 4 [6.82 (2H, t,  $J = 8.0$  Hz, OBz-1), 7.03 (2H, t,  $J = 7.9$  Hz, OBz-9), 7.13 (1H, t,  $J = 7.6$  Hz, OBz-2), 7.30 (1H, t,  $J = 7.6$  Hz, OBz-2), 7.50 (10H, m), 7.98 (2H, dd,  $J = 1.4, 7.1$  Hz, OBz-8), 8.04 (2H, dd,  $J = 1.4, 7.1$  Hz, OBz-1)]; RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz)  $\delta$  17.8 (c, C-14), 21.2 (c, OAc-6), 24.7 (c, C-13), 30.4 (c, C-12), 31.4 (t, C-3), 32.9 (d, C-4), 53.3 (d, C-7), 54.5 (s, C-10), 60.5 (t, C-15), 70.3 (d, C-2), 70.5 (d, C-8), 73.4 (d, C-9), 75.1 (d, C-6), 76.7 (d C-1), 81.1 (s, C-11), 90.2 (s, C-5), OBz x 4 [127.6 (2 x d), 128.0 (2 x d), 128.6 (2 x d), 128.7 (s), 128.8 (2 x d), 129.0 (s), 129.1 (2 x d), 129.2 (2 x d), 129.4 (s), 129.5 (2 x d), 129.6 (2 x d), 130.0 (s), 132.5 (d), 132.7 (d), 133.1 (d), 133.5 (d), 164.2 (s, OBz-9), 165.1 (s, OBz-2), 165.2 (s, OBz-1), 165.7 (s, OBz-8)], 169.9 (s, OAc-6); EMIE<sup>+</sup>  $m/z$  (%) 776 ( $\text{M}^+$ , 1), 743 ( $\text{M}^+ - 33$ ,  $\text{CH}_5\text{O}^+$ , 5), 654 (3), 532 (2), 410 (5), 322 (7), 245 (4), 218 (6), 160 (10), 105 ( $\text{C}_7\text{H}_5\text{O}^+$ , 100), 77 ( $\text{C}_6\text{H}_5^+$ , 13); EMAR  $m/z$  776.280396 (calculado para  $\text{C}_{45}\text{H}_{44}\text{O}_{12}$ , 776.28328).

## *ALCALOIDES SESQUITERPÉNICOS*

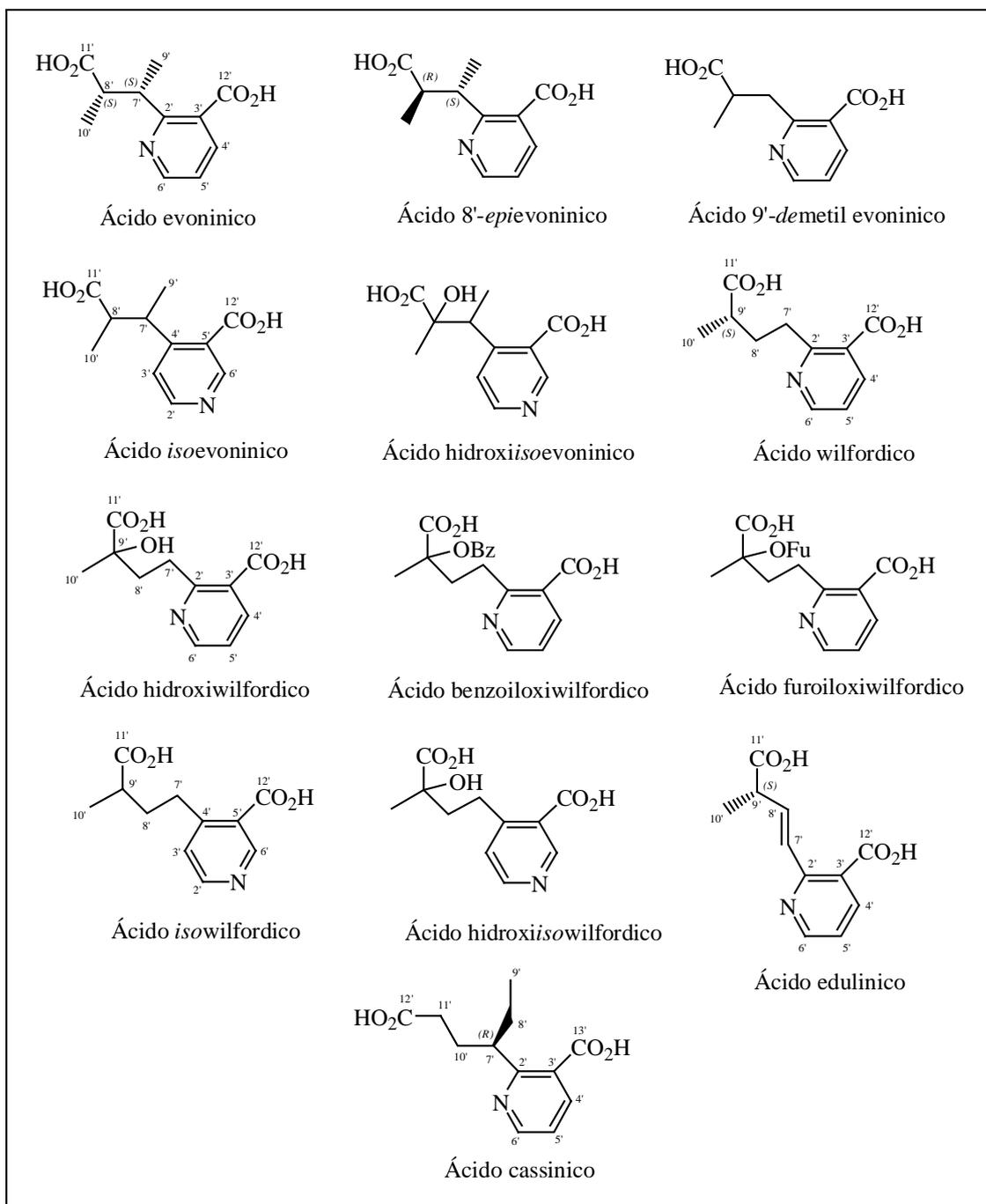


La presencia de alcaloides en especies de la familia Celastraceae se conoce desde hace más de 50 años.<sup>1</sup> La primera publicación sobre la presencia de alcaloides en esta familia data de 1934<sup>2</sup> y desde entonces numerosos investigadores han llevado a cabo el aislamiento y estudio estructural de los componentes alcaloídicos de especies de esta familia.

Este tipo de alcaloides sesquiterpénicos son indicadores quimiotaxonómicos de la familia Celastraceae y presentan una macrolactona, procedente de un ácido dicarboxílico piridínico (Figura 17), que forma un puente entre las posiciones C<sub>3</sub>-C<sub>12</sub> del esqueleto sesquiterpenoide de tipo evoninol, euoniminol o isoeouniminol, que se encuentran esterificados generalmente con ácido acético y benzoico, así como por complejos ácidos alifáticos y heterociclicos (*Figura 6 y 7, Sección: antecedentes sesquiterpenos agarofuránicos*).

<sup>1</sup> Smith, R.M. *The Alkaloids*, Academic Press, Ed.; R.H.F. Manske, London, **1997**.

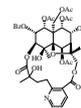
<sup>2</sup> Orechoff, A. *Arch. Pharm.*, 272, 673, **1934**



**Figura 17.** Ácidos dicarboxílicos que esterifican a los alcaloides sesquiterpénicos entre las posiciones C<sub>3</sub>-C<sub>12</sub>.

Un estudio sistemático de marcaje con <sup>14</sup>C de alcaloides aislados de *Tripterygium wilfordii* Hook, mostró que el anillo de piridina del ácido wilfordico e hidroxiwilfordico, derivan del ácido nicotínico o del nicotinamida adenina dinucleótido (NAD).<sup>3</sup> Por otro

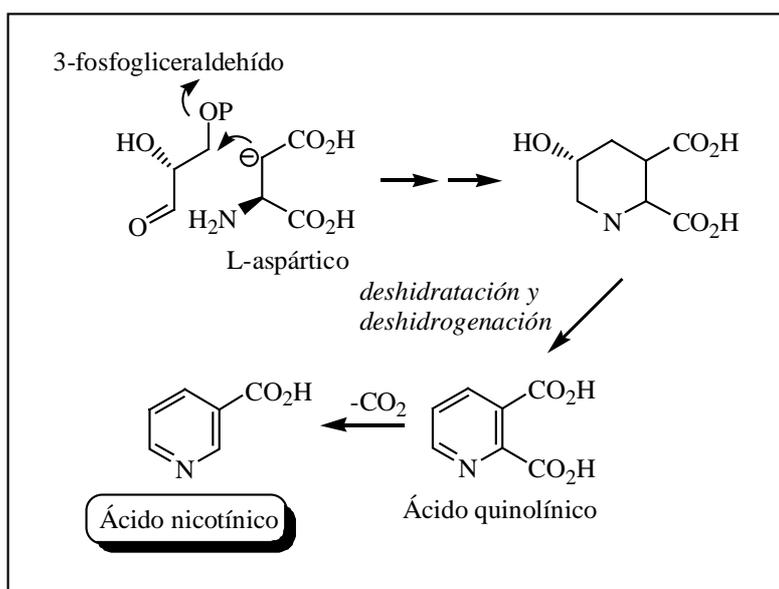
<sup>3</sup> Lee, H. J.; Waller, G. R. *Phytochemistry*, 11, 2223-2240, 1972.



*Antecedentes alcaloides sesquiterpénicos*

lado, el ácido nicotínico procede de la descarboxilación del ácido quinolínico formado por condensación de una unidad de 3-fosfogliceraldehído y una unidad del aminoácido L-aspartico<sup>4</sup> (Figura 18). Sin embargo, no existen trabajos sobre el origen de las cadenas laterales (C<sub>5</sub>) de los ácidos nicotínicos sustituidos, como el ácido wilfordico o el ácido evoninico. Cabe destacar que algunos sesquiterpenos poliesterificados presentan como sustituyente ésteres que contienen una unidad de C<sub>5</sub> tales como el  $\alpha$ -metilbutirato o el furoato.

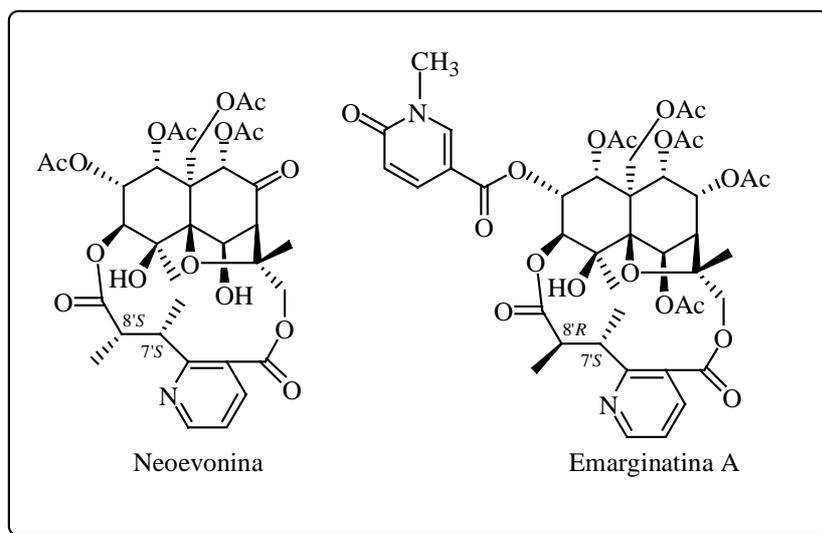
Sasaki e Hirata<sup>5</sup> establecieron la estructura del ácido evoninico por medio del análisis cristalográfico de rayos X del derivado bromoacetilneoevonina (Figura 19), aislado de *Euonymus sieboldiana* Blume. La configuración de los grupos metilos del ácido evoninico se determinó como 7'S, 8'S.



**Figura 18.** *Biogénesis del ácido nicotínico.*

<sup>4</sup> Dewick, P. M. *Medicinal Natural Products*, John Wiley & Sons Ltd.; Ed, Baffins Lane, Chichester, 2<sup>nd</sup> ed., **2002**.

<sup>5</sup> Sasaki, K.; Hirata, Y. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2*, 1268-1272, **1972**.



**Figura 19.** Alcaloides sesquiterpénicos aislados de *Euonymus sieboldiana* y *Maytenus emarginata*.

Del extracto metanólico de tallos y ramas de *Maytenus emarginata* (Willd.) Hou. se aisló emarginatina-A<sup>6</sup> (Figura 19), cuya configuración absoluta se determinó mediante el uso de difracción de rayos X del derivado monohidratado. La estereoquímica de los grupos metilo del ácido evonínico reveló ser 7'S, 8'R y representa además el primer ejemplo de un alcaloide sesquiterpénico tipo evonínico con un sustituyente 5-carboxi-N-metil-2-piridona, sobre el C-2.

Los alcaloides I y II (Figura 20), aislados de la corteza de *Hippocratea excelsa* H.B.K.,<sup>7</sup> representan los primeros ejemplos de alcaloides sesquiterpénicos con esqueleto base tipo euonyminol y ácido evonínico con pérdida del metilo 9', reportados de celastráceas.

<sup>6</sup> Kuo, Y. H.; Chen, C. H.; Yang Kuo, L. M.; King, M. L.; Wu, T. S.; Lu, S. T.; Chen, I. S.; McPhail, D. R.; McPhail, A. T.; Lee, K. H. *Heterocycles*, 29, 1465-1468, **1989**.

<sup>7</sup> Ichinobe, Y.; Fujimoto, Y.; Takaii, S. *Jnp. Kokai Tokkyo Koho*, 9, **2000**.

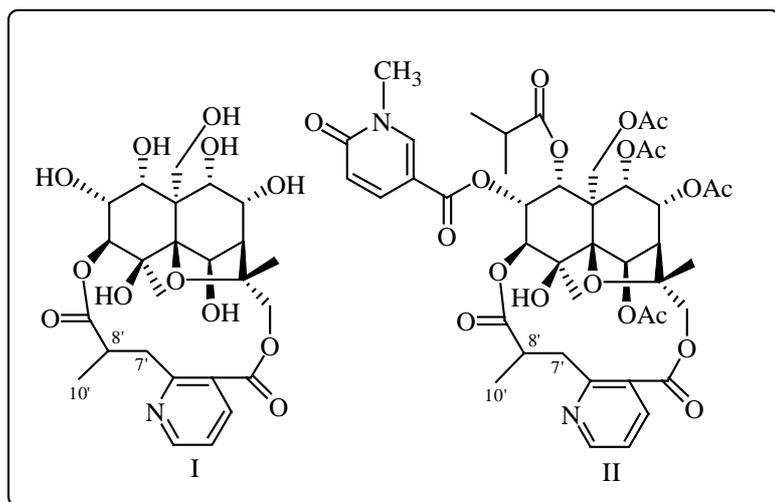
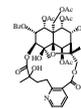


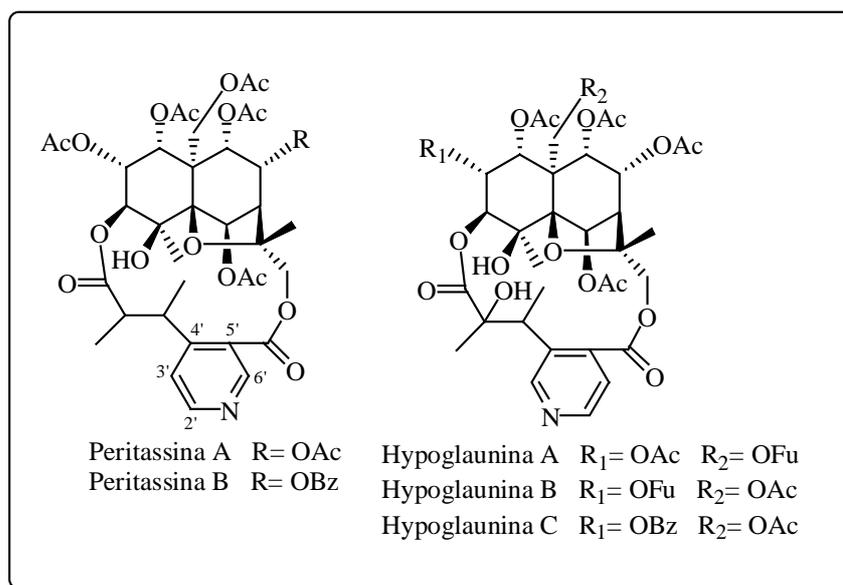
Figura 20. Alcaloides sesquiterpénicos de *Hippocratea excelsa*.

De *Peritassa compta* Miers, se aíslan dos nuevos alcaloides tipo evoninato, peritassinas A y B (Figura 21). Estas estructuras se caracterizan porque la unidad macrocíclica está formada por un isómero del ácido evonínico, en el cual el anillo de piridina del ácido dibásico está sustituido en las posiciones 4'-5', en lugar de la sustitución más habitual del ácido evonínico en 2'-3'.<sup>8</sup>

Por otro lado, del extracto metanólico de la corteza de raíz de *Tripterygium hypoglaucum* Levl. se aíslan las hypoglauninas A, B y C<sup>9</sup> (Figura 21), que representan los primeros compuestos isómeros del ácido evonínico, con un grupo hidroxilo en posición 8'.

<sup>8</sup> Klass, J.; Tinto, W.F. *J. Nat. Prod.*, 56, 946-948, 1993.

<sup>9</sup> Duan, H.; Takaishi, Y. *Phytochemistry*, 49, 2185-2189, 1998.



**Figura 21.** Alcaloides tipo evoninato aislados de celastráceas.

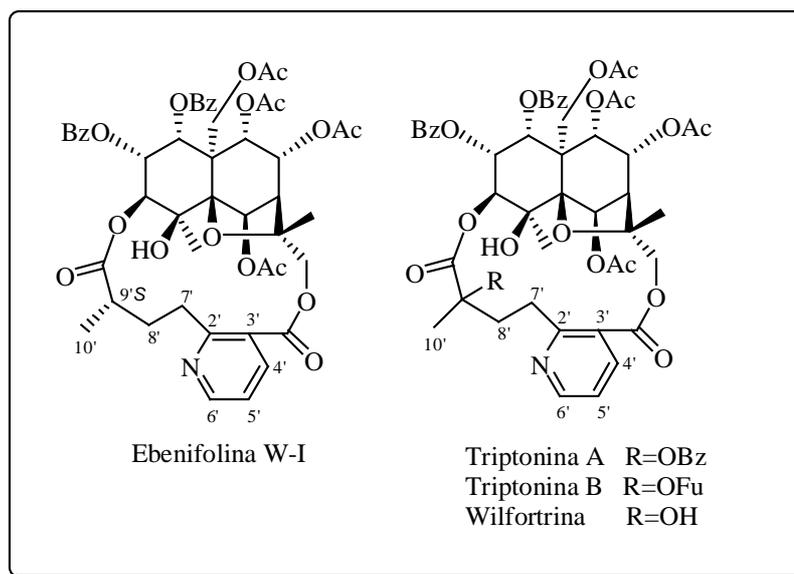
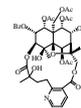
Itokawa y Shirota<sup>10</sup> establecieron la estructura del ácido wilfordico, por medio del análisis de rayos X de ebenifolina W-I (Figura 22), aislado del extracto metanólico de la corteza de *Maytenus ebenifolia* Reiss. La configuración del centro C-9' se determinó como *S*.

Recientemente, se publicó el aislamiento del extracto acetónico de la corteza de raíz de *T. wilfordii*, de dos nuevos alcaloides sesquiterpénicos, triptonina A y triptonina B<sup>11</sup> (Figura 22), relacionados con wilfortrina, aislado previamente.<sup>12</sup> Las estructuras de estos nuevos compuestos se establecieron como 9'-benzoiloxiwilfortrina y 9'-furoiloxiwilfortrina, siendo la primera referencia del aislamiento de alcaloides 9'-*O*-esterificados como compuestos naturales.

<sup>10</sup> Itokawa, H.; Shirota, O.; Morita, H.; Takeya, K.; Litaka, Y. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I*, 1447-1454, **1993**.

<sup>11</sup> Morota, T.; Yang, C.; Ikeya, Y.; Qin, W.; Nishimura, H.; Xu, L.; Ando, M.; Miao, K.; Maruno, M.; Yang, B. *Phytochemistry*, 39, 1219-1222, **1995**.

<sup>12</sup> Yamada, K.; Shizuri, Y.; Hirata, Y. *Tetrahedron*, 34, 1915-1920, **1978**.



**Figura 22.** Alcaloide tipo wilfordato de *Maytenus ebenifolia* y *Tripterigium wilfordii*.

Isowilfordina<sup>13</sup> (Figura 23), es el primer ejemplo de un isómero de wilfordina,<sup>14</sup> aislado del extracto de raíz de *T. wilfordii*, este alcaloide presenta un anillo de piridina sustituido en las posiciones 4'-5', en lugar de la sustitución más habitual del ácido wilfordico en 2'-3'.

El estudio fitoquímico de las hojas de *Catha edulis* Forsk, rindió más de 20 cathedulinas, de las cuales cathedulina K-19 (Figura 24) es la más compleja, siendo el único compuesto de esta familia de macrolactonas que contiene un puente diéster derivado del ácido (Z)-4-(3-carboxi-2-piridil)-2-metil-3-enoico (ácido edulínico), que une los C<sub>3</sub>-C<sub>12</sub> del esqueleto sesquiterpénico altamente funcionalizado del euonyminol.

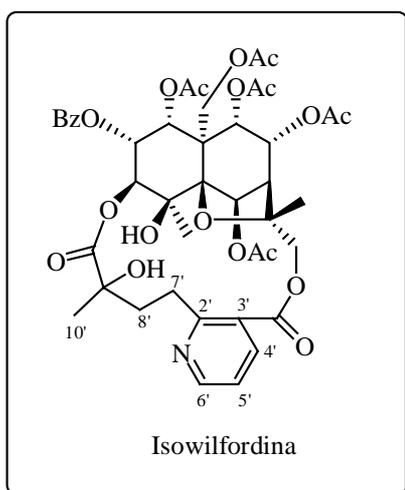
Así como el grupo de Crombie<sup>15</sup> determina la estereoquímica de cathedulina K-19, la configuración absoluta del ácido edulínico y por lo tanto del centro C-9' como *S*, fue resuelta posteriormente por Kim y White.<sup>16</sup>

<sup>13</sup> Ya, L.; Strunz, M. G.; Calhoun, L. A. *Phytochemistry*, 30, 719-721, **1991**.

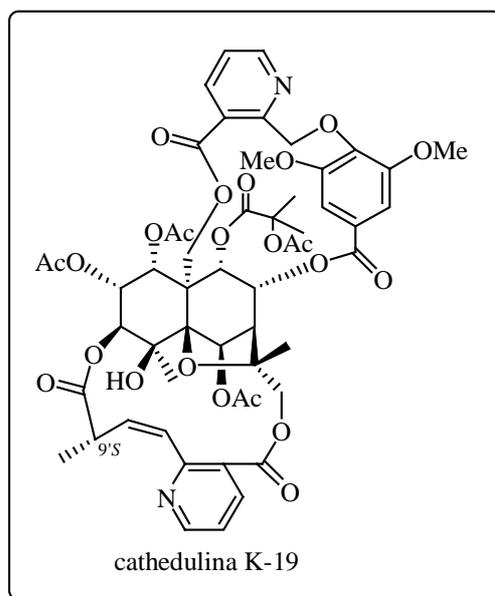
<sup>14</sup> Shizuri, Y.; Yamada, K.; Hirata, Y. *Tetrahedron Lett.*, 10, 741-744, **1973**.

<sup>15</sup> Crombie, L.; Toplis, D.; Whiting, D.A.; Rozsa, Z.; Hopmann, J.; Szendrei, K.J. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I*, 531-534, **1986**.

<sup>16</sup> Kim, T.S.; White, J. D. *Tetrahedron Lett.*, 34, 5535-5536, **1993**.



**Figura 23.** Primer alcaloide tipo isowilfordato aislado de celastráceas.



**Figura 24.** Alcaloide sesquiterpénico aislado de *Catha edulis*.

Cassinina,<sup>17</sup> aislada de la corteza de raíz de *Cassine metabelica* Loes., representa el primer ejemplo en la naturaleza de alcaloide sesquiterpénico esterificado entre las posiciones C<sub>3</sub>-C<sub>12</sub> con el ácido cassínico, estableciéndose la configuración absoluta de la estructura por medio de un análisis de Rayos X, que determinó la posición C-7' como *R* (Figura 25).

<sup>17</sup> Wagner, H.; Brüning, R. *Tetrahedron Lett.*, 1, 125-128, 1977.

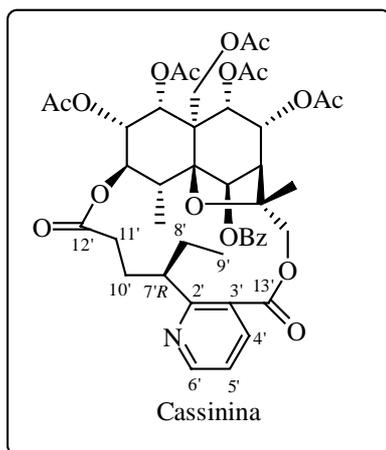
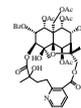


Figura 25. Primer ejemplo de alcaloide sesquiterpénico tipo cassinato.

## ACTIVIDADES BIOLÓGICAS

### Actividad Antialimentaria e Insecticida

El estudio de las actividades biológicas de los alcaloides sesquiterpénicos, se inició por la propiedad insecticida observada en algunas especies, por ejemplo *T. wilfordii* y *T. forrestii*, que eran ampliamente utilizados como insecticidas en las zonas rurales de china.<sup>18</sup>

Los esfuerzos realizados por Acree,<sup>19</sup> Swingle<sup>20</sup> y Beroza,<sup>21,22,23</sup> condujeron al aislamiento de wilfordina, wilforina, wilforgina y wilfortrina (Figura 26), como responsables de la actividad insecticida de esta planta. Sin embargo, la estructura de wilfordina no fue elucidada hasta 1973 por Shizuri<sup>24</sup> y col., mientras las estructuras de wilforina, wilforgina y wilfortrina postuladas por Smith,<sup>1</sup> basándose en las investigaciones de Beroza,<sup>21</sup> fueron establecidas por el grupo de Wu.<sup>25,26</sup> Por otro lado, wilfordina y wilforina, resultaron ser altamente tóxicos contra la larva europea *Pyrausta nubilalis*

<sup>18</sup> Chou, T. Q.; Mei, P. F. *J. Physiol.*, 10, 529-534, 1936.

<sup>19</sup> Acree, F. Jr.; Haller, H. L. *J. Am. Chem. Soc.*, 72, 1608-1611, 1950.

<sup>20</sup> Swingle, W. T.; Haller, H. L.; Siegler, E. H.; Swingle, M.C. *Science*, 93, 60, 1941.

<sup>21</sup> Beroza, M. J. *J. Am. Chem. Soc.*, 73, 3656-3659, 1951.

<sup>22</sup> Beroza, M. J. *J. Am. Chem. Soc.*, 74, 1585-1588, 1952.

<sup>23</sup> Beroza, M. J. *J. Am. Chem. Soc.*, 75, 2136-2138, 1953.

<sup>24</sup> Shizuri, Y.; Yamada, K. *Tetrahedron Lett.*, 10, 741-711, 1973.

<sup>25</sup> Wu, D. G.; Liu, L.; Chen, K. C. *Yunnan Zhiwu Yanjiu*, 3, 471-473, 1981.

<sup>26</sup> Wu, D. G. *Yunnan Zhiwu Yanjiu*, 8, 343-354, 1986.

“taladro del maíz”, a una concentración de 60 ppm (100% de mortalidad después de 3 días).<sup>27</sup>

Delle Monache y col.<sup>28</sup> describieron los pasos y métodos para el aislamiento del potente antialimentario wilforina, aislado de *Maytenus rigida* Mart. Este alcaloide exhibe una efectiva actividad antialimentaria contra la larva *Pieris rapae* “blanquita de la col” y la conocida “langosta migratoria africana”, *Locusta migratoria*. Esto hace a la wilforina más potente para estas plagas que la azadirachtina, aislada del árbol del Neem (*Azadirachta indica* Bark, Meliaceae) (Figura 26), el más notable antialimentario natural conocido.

Tres alcaloides sesquiterpénicos, cathedulinas E-3, E-4 y E-5<sup>29</sup> (Figura 26), aislados del extracto metanólico de *Catha edulis*, fueron ensayados como insecticidas frente a *Pectinophora gossypiella* “lagarta rosada”, de ellos cathedulina E-5 presentó potente actividad a la concentración de 1 ppm, valor comparable a la azadirachtina.

A pesar de que el uso de *Euonymus nanus* M. Bieb. como insecticida natural no ha sido publicado, un ensayo preliminar mostró que el extracto lipofílico de los frutos presenta toxicidad moderada frente a larvas de *Pieris brassicae* “blanca de la col”, *Hyphantria cunea* “palomilla gitana” y un efecto marginal frente a *Oncopeltus fasciatus* “chinche de los establos”. Del extracto se aisló, junto con otros sesquiterpenos, evonina (Figura 26), que mostró ser el compuesto más activo cuando se ensayó su actividad larvicida frente a *P. brassicae*, a una dosis de 200 mg/espécimen, induciendo un 74% de mortalidad.<sup>30</sup>

---

<sup>27</sup> Beroza, M. J.; Bottger, G. T. *J. Econom. Entomol.*, 47, 188, 1954.

<sup>28</sup> Monache, F. D.; Marini-Bettolo, G. B.; Bernays, E. A. *Z. Angew. Entomol.*, 97, 406-414, 1984.

<sup>29</sup> Kubo, I.; Kim, M.; De Boer, G. *J. Chromatogr.*, 402, 354-357, 1987.

<sup>30</sup> Hohmann, J.; Nagy, G.; Dini, Z.; Günther, G.; Pelczer, Y.; Jerkouich, G.; Varjas, L. *J. Nat. Prod.*, 58, 1192-1199, 1995.

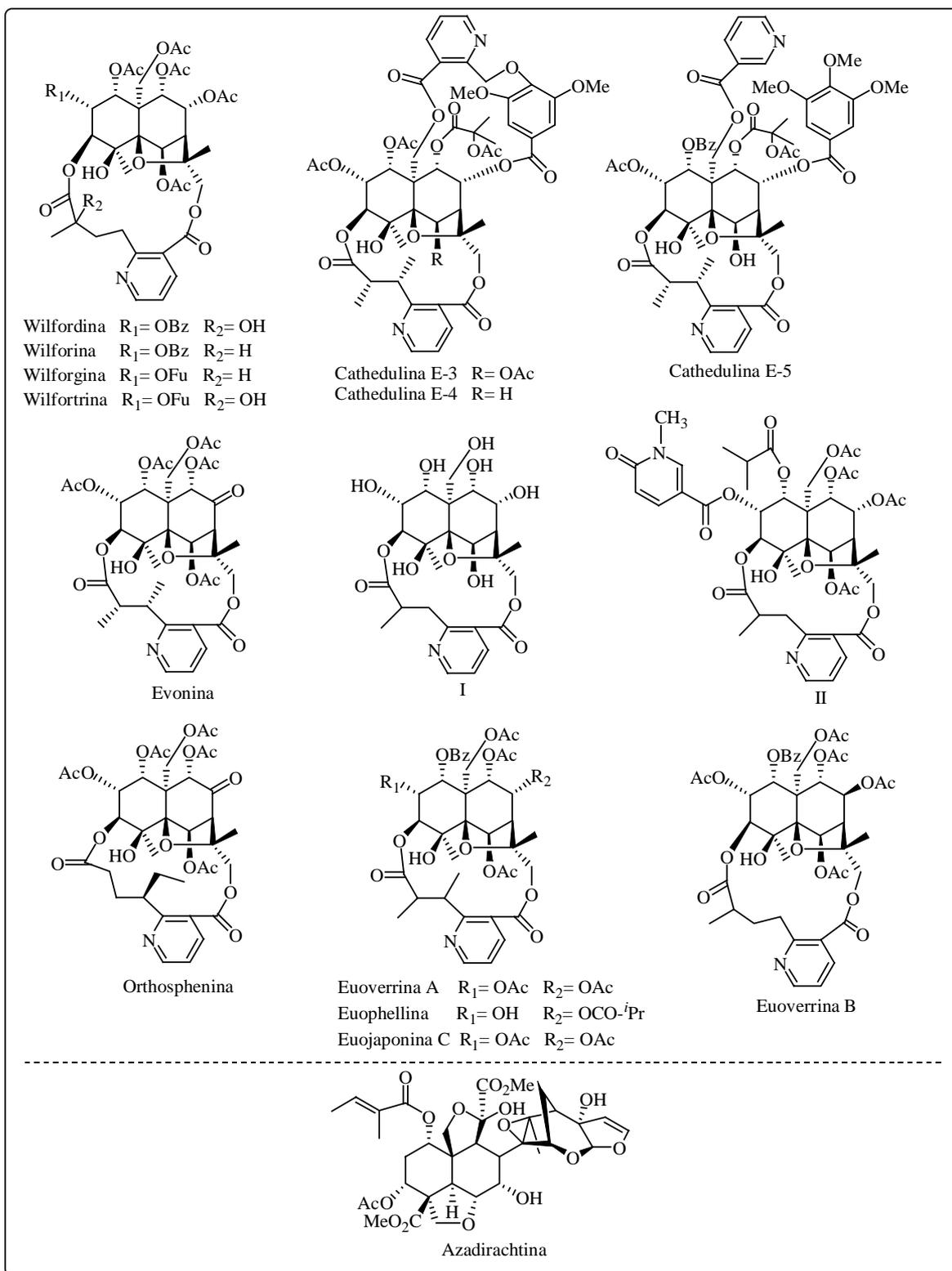
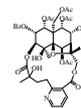


Figura 26. Alcaloides sesquiterpénicos antialimentarios e insecticidas de especies de celastráceas y estructura de azadirachtina.

Orthosphenina (Figura 26), el primer ejemplo de un sesquiterpeno con un núcleo de evoninol y ácido cassínico, aislado del extracto hexánico de las raíces de *Orthosphenia mexicana* Standley, presentó una dosis letal (DL<sub>100</sub>) de 0.01 µg/cm<sup>2</sup> en el ensayo del disco frente al primer estadio de las larvas de *Spodoptera littoralis* “rosquilla negra”.<sup>31</sup>

Los alcaloides sesquiterpénicos I y II (Figura 26), aislados de la corteza de *H. excelsa*, han sido utilizados como insecticidas en la agricultura y horticultura.<sup>7</sup> El alcaloide II mostró a 100 ppm una actividad insecticida del 100% frente al insecto del arroz *Nilaparvata lugens* “chicharrita café”.

Zhaonong y col.<sup>32</sup> estudiaron el extracto metanólico de la corteza de raíz de *Euonymus verrucosides*, *E. fortunei* y *E. phellomana*, mediante un ensayo bioguiado frente al insecto de la caña de azúcar *Mythinma separate* “insecto del ejército norteño”. De dicho extracto se aislaron euverrina A, euoverrina B y euophellina (Figura 26); de los cuales euoverrina B, exhibió la actividad insecticida más potente (KD<sub>50</sub> 21.6 µg/g).

### Actividad Antitumoral

*Maytenus emarginata* es conocida como “Lan Yu Lo Shinh” para indicar que es un arbusto endémico de la isla de Lan Yu, al sudeste de Taiwan. El extracto metanólico del tallo y ramas de esta especie presentó significativa actividad citotóxica *in vitro* frente a cultivos de células KB y actividad antitumoral *in vitro* frente a la línea celular de leucemia linfocítica, P-388.<sup>33</sup>

Kuo y col. estudiaron la fracción clorofórmica de *M. emarginata* mediante un ensayo bioguiado *in vitro* frente a un cultivo de células KB (carcinoma de nasofaringe). Se aislaron como productos activos emarginatina A y emarginatina B,<sup>6</sup> siendo la primera vez que se observa actividad citotóxica significativa en este tipo de alcaloides. Posteriores investigaciones de la planta condujeron al aislamiento de emarginatina C, D, E, F y G y emarginatina,<sup>34,35</sup> que fueron ensayados por su citotoxicidad frente a células KB (Figura

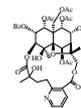
<sup>31</sup> González, A. G.; Jiménez, I. A.; Ravelo, A. G.; Coll, J.; González, J. A.; Lloria, J. *Biochem. System. Ecol.*, 25, 513-519, 1997.

<sup>32</sup> Jinbo, Z.; Míngan, W.; Wenjun, W.; Zhiging, J.; Zhaonong, H. *Phytochemistry*, 61, 699-704, 2002.

<sup>33</sup> Liu, H. C.; King, C. H.; Su, M. H.; Chen, G. L.; Wang, T. C. *J. Chin. Chem. Soc.*, 28, 95, 1981.

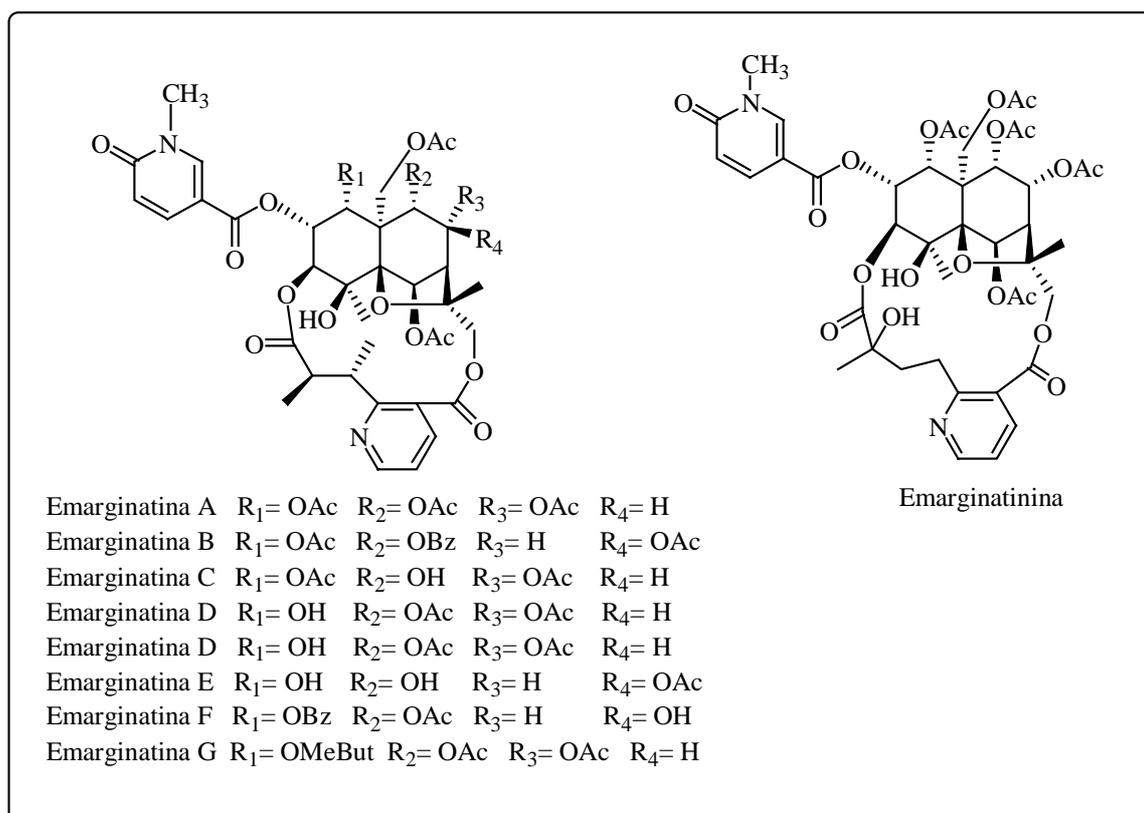
<sup>34</sup> Kuo, Y.; Chen, C.; King, M.; Wu, T.; Lee, K. *Phytochemistry*, 35, 803-807, 1993.

<sup>35</sup> Kuo, Y.; King, M.; Chen, G.; Chen, H.; Chen, C.; Chen, L.; Lee, K. *J. Nat. Prod.*, 57, 263-269, 1994.



*Antecedentes alcaloides sesquiterpénicos*

27). Emarginatina F y G, fueron así mismo evaluados sobre una batería de líneas celulares cancerígenas y los resultados mostraron que emarginatina F fue el más activo frente a las líneas celulares HCT-8 (cáncer de colon humano,  $DE_{50} = 1.29 \mu\text{g/mL}$ ), P-388 ( $DE_{50} = 0.69 \mu\text{g/mL}$ ), RPMI-7951 (melanoma humano,  $< 0.1 \mu\text{g/mL}$ ) y TE-671 (meduloblastoma humano,  $DE_{50} = 0.21 \mu\text{g/mL}$ ) y citotoxicidad en la línea A-549 (carcinoma humano de pulmón,  $DE_{50} = 5.50 \mu\text{g/mL}$ ), mientras que emarginatina G resultó inactivo.



**Figura 27.** Alcaloides sesquiterpénicos citotóxicos de *Maytenus emarginata*.

Estudios de la relación estructura-actividad mostraron que la citotoxicidad estaba relacionada con los grupos funcionales sobre C-1 y C-9 y con la configuración del protón H-8 ( $\alpha$  o  $\beta$ ), dado que emarginatina B mostró muy buena actividad con valores de  $DE_{50}$  de  $0.4 \mu\text{g/mL}$  y posee dos grupos ésteres, un acetato y un benzoato, sobre C-1 y C-9, respectivamente. Sin embargo, emarginatina E, con grupos hidroxilos en estas posiciones fue aproximadamente cinco veces menos activo. Por otro lado, la configuración sobre C-8 es relevante para la actividad citotóxica, ya que los epímeros H-8 $\alpha$  (emarginatina B y E) fueron más activos que los epímeros H-8 $\beta$  (emarginatina A, C y D). El sesquiterpeno tipo

wilfordato, emarginatinina, fue ligeramente más activo que emarginatina A, análogo tipo evoninato.

Recientemente, se ensayó emarginatina E<sup>36</sup> sobre cuatro líneas celulares cancerosas: carcinoma de nasofaringe (KB), carcinoma de colon (COLO-205), hepatoma (Hepa-3B) y carcinoma cervical (HeLa), mostrando citotoxicidad en células KB ( $DE_{50} = 1.7 \mu\text{g/mL}$ ) y COLO-205 ( $DE_{50} = 4.1 \mu\text{g/mL}$ ).

El estudio fitoquímico del extracto etanólico de la corteza del tallo de *Maytenus krukovii* A. C. Smith, rindió mayteina y 6-benzoil-6-deacetilmayteina (Figura 27), ambos compuestos mostraron toxicidad en el ensayo de letalidad de *Artemia salina* (BST), con  $DL_{50} < 10 \mu\text{g/mL}$ .<sup>37</sup>

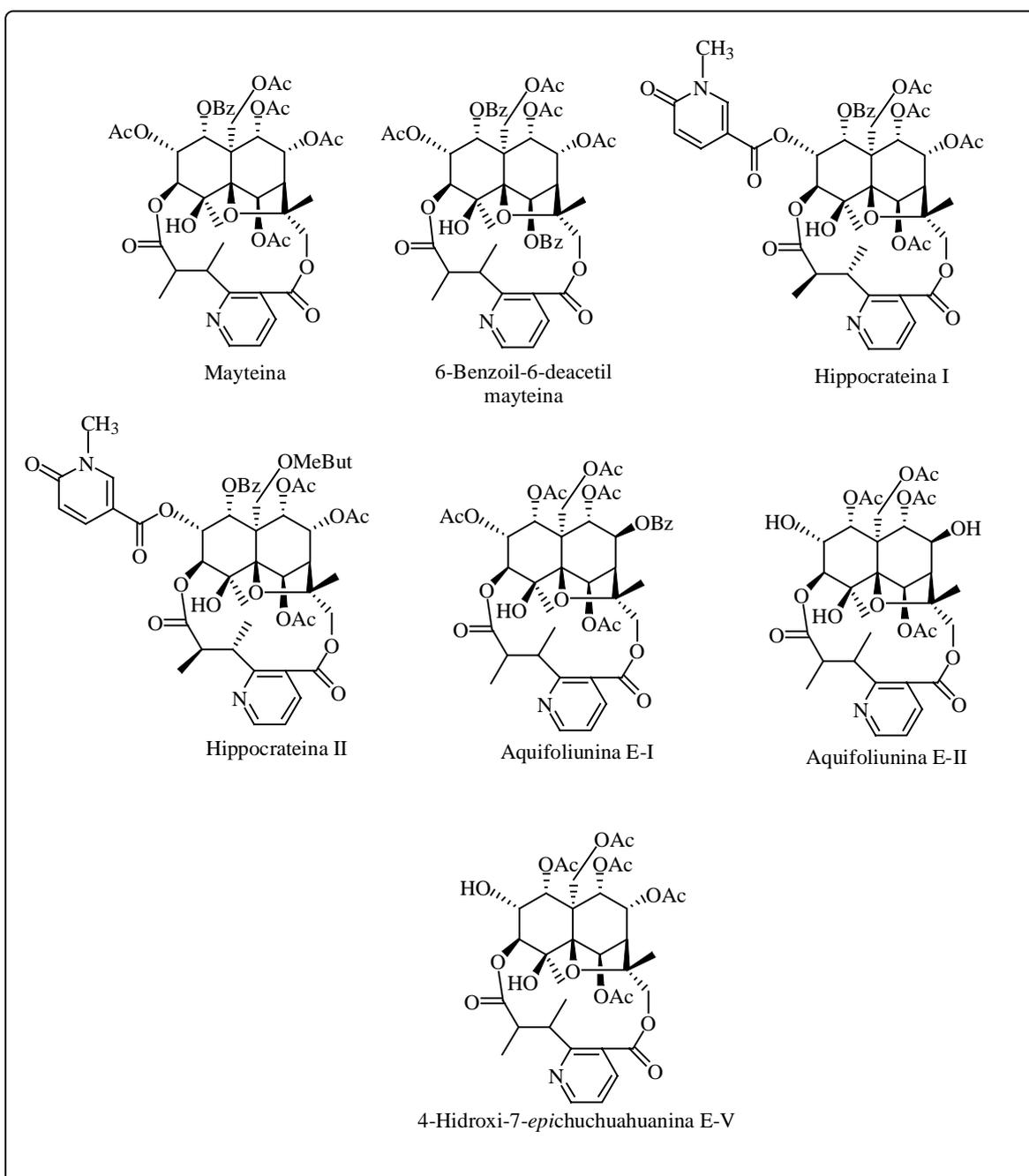
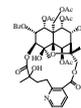
La corteza roja de *H. excelsa*, comúnmente conocida como “cancerina”, es usada en el tratamiento de afecciones de la piel y úlcera gástrica, así como por sus propiedades como pesticida. De la corteza de tallo y raíces se aislaron los alcaloides sesquiterpénicos hippocrateina I y II (Figura 28). Hippocrateina I mostró moderada actividad en la prueba de letalidad de *Artemia salina* (BST), con una  $DL_{50}$  212  $\mu\text{g/mL}$  y frente a la línea celular 9PS (carcinoma de nasofaringe humano,  $DE_{50} 1.85 \times 10^{-1} \mu\text{g/mL}$ ), pero resultó inactivo frente a cultivos de HT-29 (adenocarcinoma de colon humano), A-549 (adenocarcinoma de pulmón humano) y MCF-7 (cáncer de mama) ( $DE_{50} > 10 \mu\text{g/mL}$ ).<sup>38</sup>

---

<sup>36</sup> Huang, H. C.; Shen, C. C.; Chen, C. F.; Wu, Y. C.; Kuo, Y. H. *Chem. Pharm. Bull.*, 48, 1079-1080, 2000.

<sup>37</sup> Sekar, K. V. S.; Sneden, A. T.; Flores, F. A. *Planta Med.*, 61, 390, 1995.

<sup>38</sup> Mata, R.; Calzada, F.; Díaz, E.; Toscano, B. A. *J. Nat. Prod.*, 53, 1212-1219, 1990.



**Figura 28.** Alcaloides sesquiterpénicos con actividad citotóxica aislados de celastráceas.

La fracción diclorometánica, procedente del extracto metanólico de la corteza de raíz de *Maytenus aquifolium* Martius, exhibió una débil actividad frente a cepas mutantes de levadura de *Saccharomyces cerevisiae*. De dicha fracción se aislaron los alcaloides aquifoliunina E-I y E-II (Figura 28), que mostraron débil pero selectiva actividad de daño al ADN, con valores de  $CI_{12}$  de 164 y 266; 160 y 167; 160 y 189  $\mu\text{g/mL}$  frente a cepas mutantes de levadura RS 321N, RS 322 YK (Rad 52 Y) y RS 167N (rad 6),

respectivamente. Además, aquifoliunina E-I y E-II fueron inactivos ( $CI_{12} > 1000 \mu\text{g/mL}$ ) en la cepa salvaje RS 188N (rad +). Estos resultados indican que estos compuestos son los responsables de la ligera actividad del daño al ADN observado en el extracto diclorometánico de *M. aquifolium*.<sup>39</sup>

Las raíces de *Peritassa campestris* Cambess., conocida en Brasil como “bacupari do campo”, son utilizadas en la medicina folclórica para sanar heridas; de estas se aisló un alcaloide sesquiterpénico, 4-hidroxi-7-epichuchuhuanina E-V (Figura 28), el cual fue evaluado en el ensayo de letalidad de *Artemia salina* (BST), mostrando una  $DL_{50}$   $99.0 \mu\text{g/mL}$ .<sup>40</sup>

### **Actividad Anti-VIH**

Alcaloides sesquiterpénicos, aislados de *T. hypoglaucum*, fueron ensayados por su actividad anti-VIH. Los resultados obtenidos indican que este tipo de compuestos son potenciales agentes terapéuticos. Así, triptonina A (Figura 29), con una estructura de di-macrocielo relacionado con cathedulin-K 20, inhibe la replicación del VIH en linfocitos H9 con valores de  $CE_{50}$  de  $2.54 \mu\text{g/mL}$  e inhibe el crecimiento celular (H9) con una  $CI_{50} > 100 \mu\text{g/mL}$ , representando un índice terapéutico (IT) de 39.4. Por otro lado, triptonina B e hypoglaunina B (Figura 29), mostraron una potente actividad anti-VIH con valores de  $CE_{50}$  de  $0.10 \mu\text{g/mL}$  y  $0.13 \mu\text{g/mL}$ , respectivamente y un valor de  $IT > 1000$ , lo que es poco frecuente en un compuesto bioactivo de fuentes naturales.<sup>41,42</sup>

<sup>39</sup> Corsino, J.; Da Silva Bolzani, V.; S. Pereira, A. M.; Castro França, S.; Burlan, M. *Phytochemistry*, 48, 137-140, **1998**.

<sup>40</sup> Lião, L. M.; Vieira, P. C., Rodrigues-Filho, E.; Fernades, J. B.; Fernandes da Silva, M. F. G. *Phytochemistry*, 58, 1205-1207, **2001**.

<sup>41</sup> Duan, H.; Takaishi, Y.; Bando, M.; Kido, M.; Imakura, Y.; Lee, K. *Tetrahedron Lett.*, 40, 2969-2972, **1999**.

<sup>42</sup> Duan, H.; Takaishi, Y.; Bando, M.; Kido, M.; Imakura, Y.; Lee, K. *J. Nat. Prod.*, 63, 357-361, **2000**.

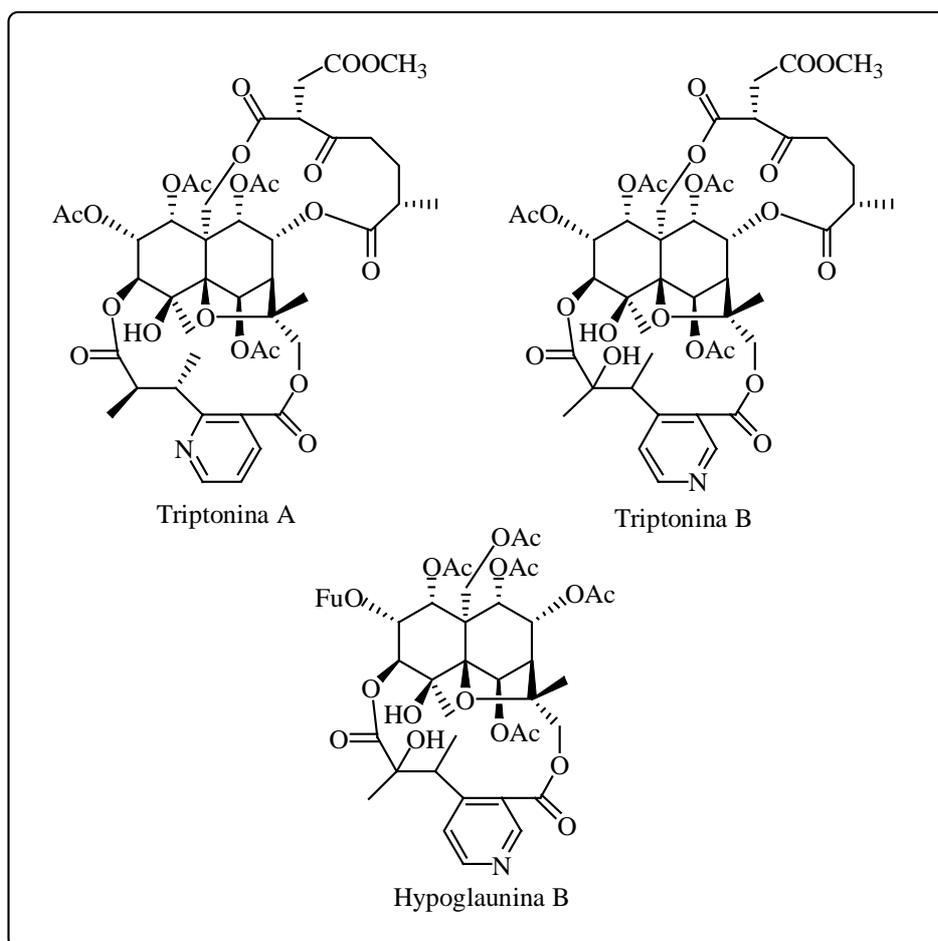
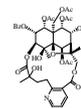


Figura 29. Alcaloides sesquiterpénicos anti-VIH aislados de celastráceas.

### Actividad Inmunosupresora

Los inmunomoduladores son drogas que modifican directamente una función inmune específica o tienen un efecto neto positivo o negativo sobre la actividad del sistema inmune. Los trastornos por inmunodeficiencia son aquellos en los cuales se presenta disminución o ausencia de la respuesta inmune (VIH, enfermedad de Bruton, síndrome de Job, etc.) y las enfermedades autoinmunes son las causadas por las respuestas inmunes contra los propios tejidos del cuerpo (artritis reumatoidea, lupus eritematoso sistémico, esclerosis múltiple, fibrosis pulmonar idiopática, soriasis, enfermedad de Crohn, etc.).

El extracto crudo del xilema de *T. wilfordii* ha sido usado para tratar la artritis reumatoide, la nefritis crónica y diversos desordenes de la piel, incluyendo la soriasis, lupus eritematoso sistémico, lepra, así como otros desórdenes inmunológicos. Observaciones clínicas dieron resultados prometedores en un gran número de casos. Cabe

mencionar que dos alcaloides, wilfortrina y wilforina (Figura 30), aislados de esta especie inhibieron la respuesta inmune humoral en animales de laboratorio. Wilforina fue efectiva en el tratamiento de artritis reumatoidea, siendo la toxicidad intraperitoneal ( $DL_{50}$ ) en ratones de 418 mg/Kg.<sup>43</sup> Wilforina, es un inmusupresor usado en el tratamiento de la fibrosis pulmonar idiopática y su eficacia fue evaluada sobre un modelo de fibrosis pulmonar en rata causado por la bleomicina y comparado con el efecto de la inyección intraperitoneal de hidrocortisona. La eficacia terapéutica de la wilforina fue evidente, basada sobre la observación patológica, aunque no fue tan buena como la hidrocortisona. Una terapia combinada de wilforina e hidrocortisona mostró mejores resultados terapéuticos.<sup>44</sup> Wilforidina (Figura 30), mostró un efecto inmunofarmacológico sobre pacientes afectados con lupus eritematoso sistémico (LES).<sup>45</sup> Del extracto de *T. wilfordii*, conocido como “Extracto T<sub>II</sub>”, se ensayaron 15 alcaloides sesquiterpénicos, evaluándose el efecto inhibitor sobre la producción de citoquina. Los compuestos ebenifolina E-11 y cangorinina E-1 (Figura 30), mostraron un significativo efecto inhibitor sobre la producción de citoquinas de células humanas mononucleares periféricas de lipopolisacáridos (o fitohemaglutininas), comparadas con la prednisolona.<sup>46</sup>

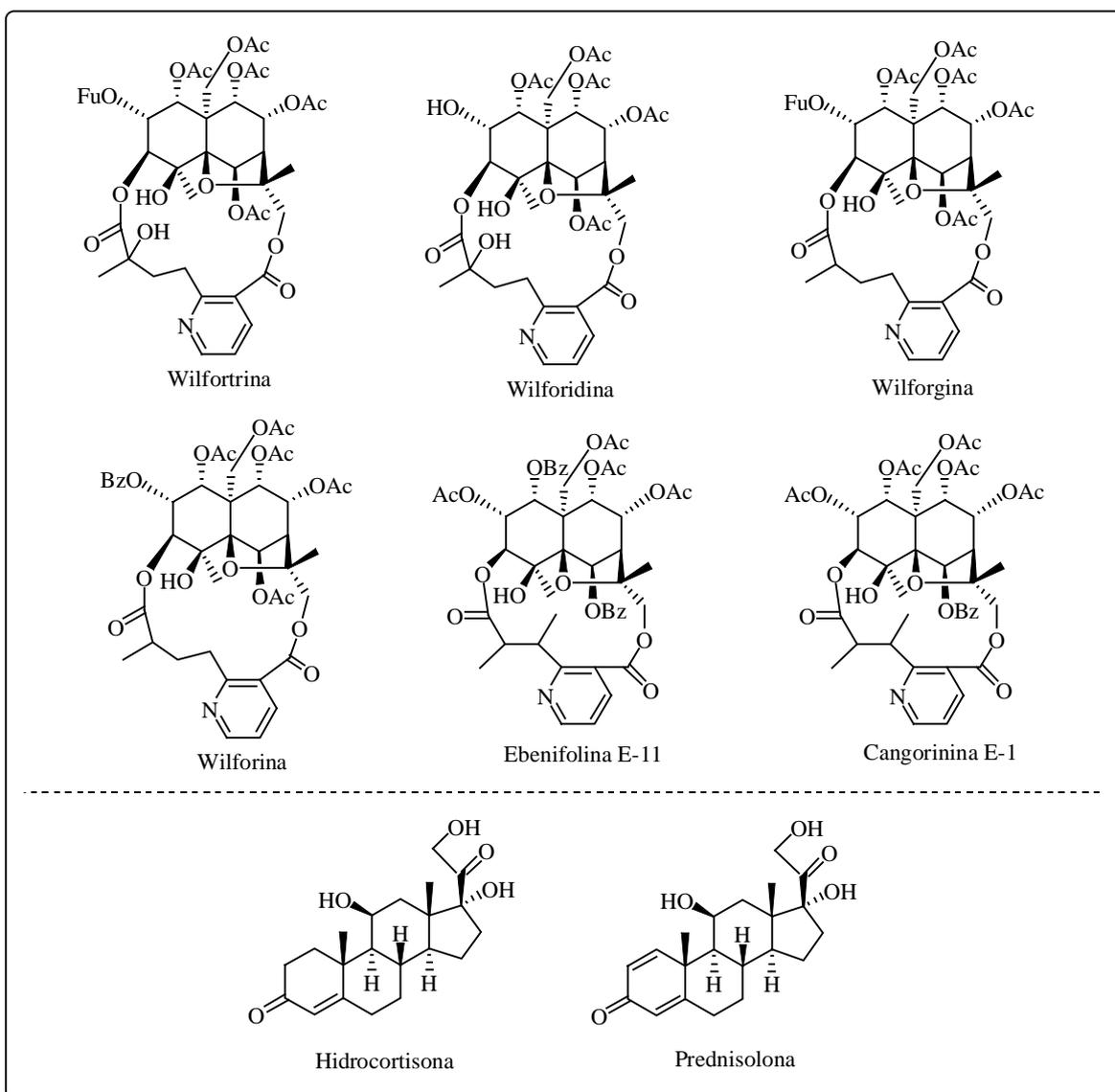
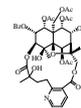
---

<sup>43</sup> Xia, Z.; Chen, J. *Zhongguo Yaoxue*, 25, 266-267, **1990**.

<sup>44</sup> Dai, L.; Hou, J.; Cai, H.; Wang, W. *Jiangsu Yiyao*, 24, 28-30, **1998**.

<sup>45</sup> Yu, H.; Qin, W.; Wu, H. *Zhongguo Mianyixue*, 15, 27-31, **1999**.

<sup>46</sup> Duan, H.; Takaishi, Y.; Momota, H.; Ohmota, Y.; Taki, T.; Jia, Y.; Li, D. *J. Nat. Prod.*, 64, 582-587, **2001**.



**Figura 30.** Alcaloides sesquiterpénicos con actividad inmunosupresora, estructuras de hidrocortisona y prednisolona.

*Alcaloides Sesquiterpénicos  
aislados de Maytenus chiapensis*



Del extracto diclorometánico de hojas y ramas de *Maytenus chiapensis*, se aislaron diez alcaloides sesquiterpénicos previamente descritos en la literatura química, que se relacionan a continuación:

**Aislados de hojas:** wilfordina,<sup>1</sup> alatamina,<sup>2</sup> wilforidina,<sup>3</sup> alatusinina,<sup>4</sup> euonina,<sup>5</sup> euonymina,<sup>6</sup> ebenifolina E-I,<sup>7</sup> forrestina,<sup>8</sup> mayteina<sup>9</sup> y 4-hidroxi-7-epichuchuhuanina E-V.<sup>10</sup>

**Aislados de ramas:** wilfordina,<sup>1</sup> euonymina,<sup>6</sup> ebenifolina E-I,<sup>7</sup> mayteina<sup>9</sup> y 4-hidroxi-7-epichuchuhuanina E-V.<sup>10</sup>

Las estructuras de los diferentes alcaloides sesquiterpénicos se muestran a continuación:

---

<sup>1</sup> Han, B. H.; Ryu, J. H.; Han, Y. H.; Park, M. K.; Park, J. H.; Naoki, H. *J. Nat. Prod.*, 53, 909-914, **1990**.

<sup>2</sup> Ishiwata, H.; Shizuri, Y.; Yamada, K. *Phytochemistry*, 12, 2839-2841, **1983**.

<sup>3</sup> Zhisheng, H.; Shanhai, H.; Ya, L.; Huai, S.; Xianguo, Y. *Huaxue Xuebao*, 43, 593-596, **1985**.

<sup>4</sup> Hiroyuki, I.; Yoshikazu, S.; Kiyoyuki, Y. *Phytochemistry*, 22, 2839-2841, **1983**.

<sup>5</sup> Yoshikazu, S.; Kiyoyuki, Y.; Yoshimasa, H. *Tetrahedron Lett.*, 2, 113-116, **1973**.

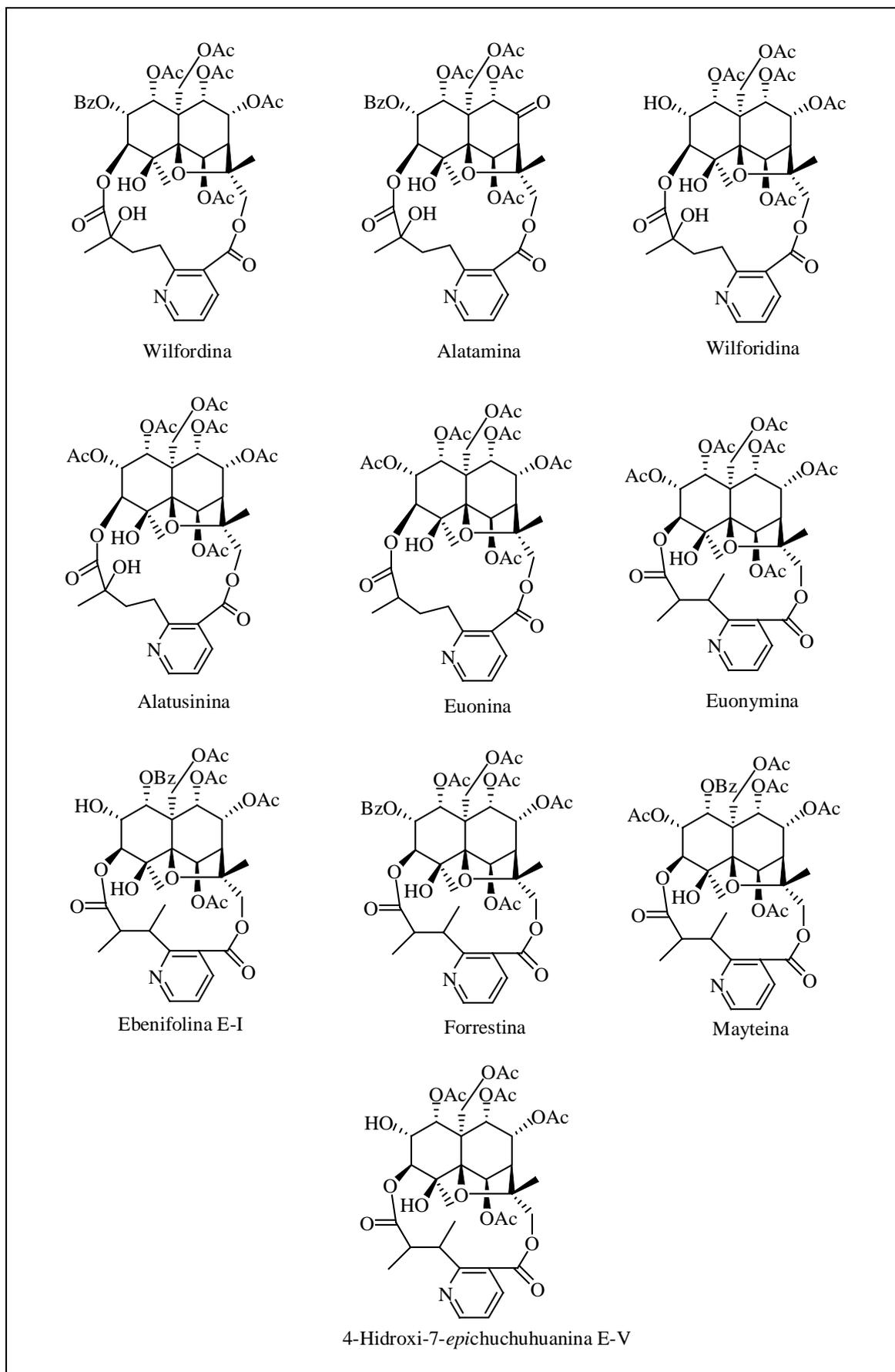
<sup>6</sup> Kimio, S.; Yoshikazu, S.; Hiroshi, W.; Kiyoyuki, Y.; Yoshimasa, H. *Tetrahedron Lett.*, 29, 2733-2736, **1971**.

<sup>7</sup> Hideji, I.; Osamu, S.; Hiroshi, M.; Koichi, T.; Yoichi, L. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, 1247-1254, **1993**.

<sup>8</sup> Chunguan, C.; Jikai, L.; Dagang, W. *Phytochemistry*, 31, 4391-4392, **1992**.

<sup>9</sup> De Sousa, J. R.; Pinheiro, J. A.; Ribeiro, E. F.; De Sousa, E.; Maia, J. G. S. R. *Phytochemistry*, 25, 1776-1778, **1986**.

<sup>10</sup> Lião, L. M.; Vieira, P. C.; Rodrigues-Filho, E.; Fernandes, J. B. Fernandes Da Silva, M. F. *Phytochemistry*, 58, 1205-1207, **2001**.

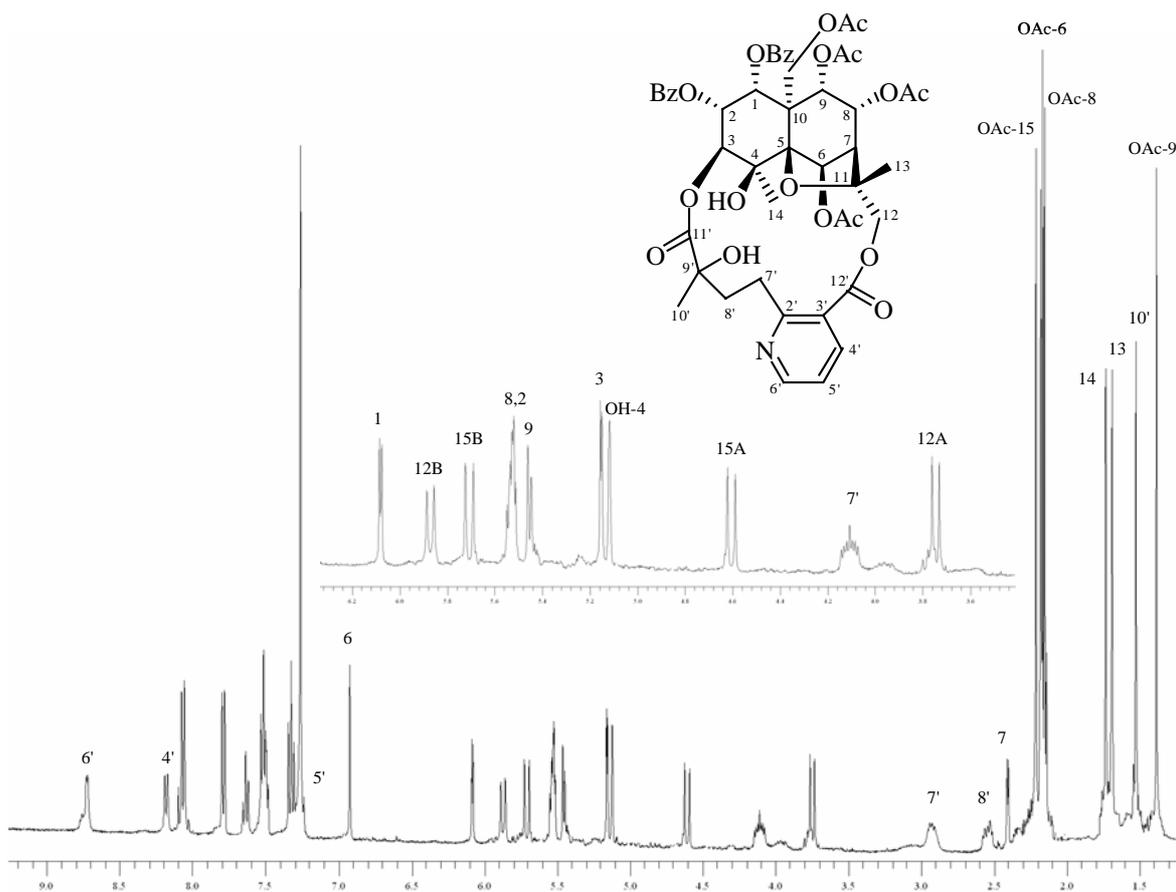




Además, se aislaron de las hojas y ramas de *M. chiapensis*, cuatro alcaloides sesquiterpénicos que resultaron ser nuevos en la bibliografía química y que hemos denominado **Chiapenina ES-I** a **ES-IV**. Así, de las hojas se aislaron estos cuatro alcaloides y solamente de las ramas se aisló **Chiapenina ES-II**. A continuación pasamos a discutir la elucidación estructural de estos compuestos.

### Chiapenina ES-I

Este producto presentó una fórmula molecular  $C_{48}H_{51}NO_{19}$ , determinada por espectrometría de alta resolución (EMAR). En su espectro de IR se observaron bandas de absorción para grupos hidroxilo y carbonilo ( $3461$  y  $1740\text{ cm}^{-1}$ ) y el espectro UV reveló la presencia de anillo aromático ( $201$ ,  $229$  y  $268\text{ nm}$ ).



Espectro de RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz) de **Chiapenina ES-I**

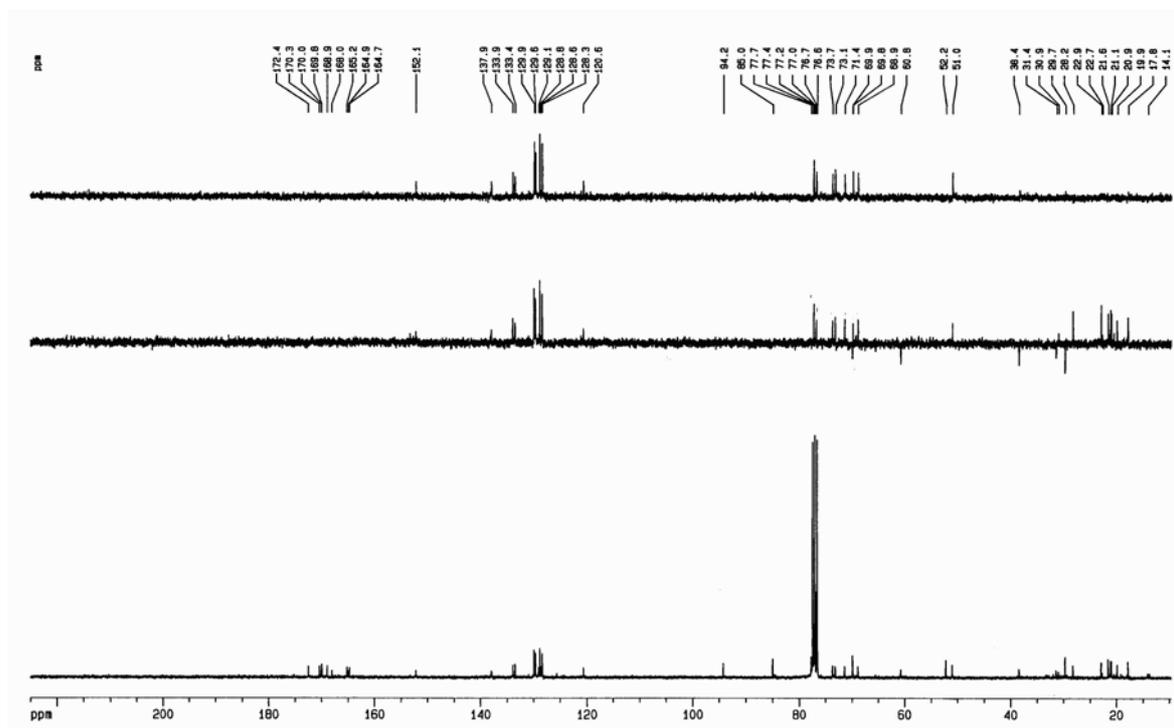
El espectro de RMN  $^1\text{H}$  (Tabla 8), presenta señales características de cuatro grupos acetato a  $\delta$  1.39, 2.18, 2.22 y 2.25; dos grupos benzoato entre  $\delta$  7.33-8.07 (10H) y dos metilos singuletes a  $\delta$  1.69 y 1.74. Además, se observaron señales para siete protones metinos a  $\delta$  2.41 (d,  $J = 3.8$  Hz),  $\delta$  5.16 (d,  $J = 2.7$  Hz),  $\delta$  5.46 (d,  $J = 5.8$  Hz),  $\delta$  5.53 (2H, señales solapadas),  $\delta$  6.09 (d,  $J = 3.6$  Hz) y  $\delta$  6.92 (s) y dos grupos metilenos a  $\delta$  4.61, 5.72 ( $d_{\text{AB}}$ ,  $J = 13.2$  Hz, H-15A y H-15B) y  $\delta$  3.75, 5.87 ( $d_{\text{AB}}$ ,  $J = 12.0$  Hz, H-12A y H-12B), respectivamente.

Haciendo uso del experimento  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY, las señales a  $\delta$  6.09, 5.53 y 5.16 fueron asignadas a H-1, H-2 y H-3 y las señales a  $\delta$  2.41, 5.53 y 5.46, fueron asignadas a H-7, H-8 y H-9, respectivamente; la restante señal singulete a  $\delta$  6.92 fue asignada a H-6.

La presencia del ácido hidroxilfordico fue determinada por las señales de tres protones aromáticos correspondientes a una unidad de piridina 2,3-disustituida a  $\delta$  8.71 (dd,  $J = 1.6, 4.5$  Hz, H-6'),  $\delta$  8.16 (dd,  $J = 1.6, 7.8$  Hz, H-4') y 7.23 (dd,  $J = 4.5, 7.8$  Hz, H-5'), dos protones metilénicos a  $\delta$  2.90, 4.11, (H-7') y  $\delta$  2.28, 2.55 (H-8') que acoplan entre sí y un metilo singulete a  $\delta$  1.57 (H-10'). Estos datos son similares a los dados en la literatura para la wilfordina.<sup>5</sup>

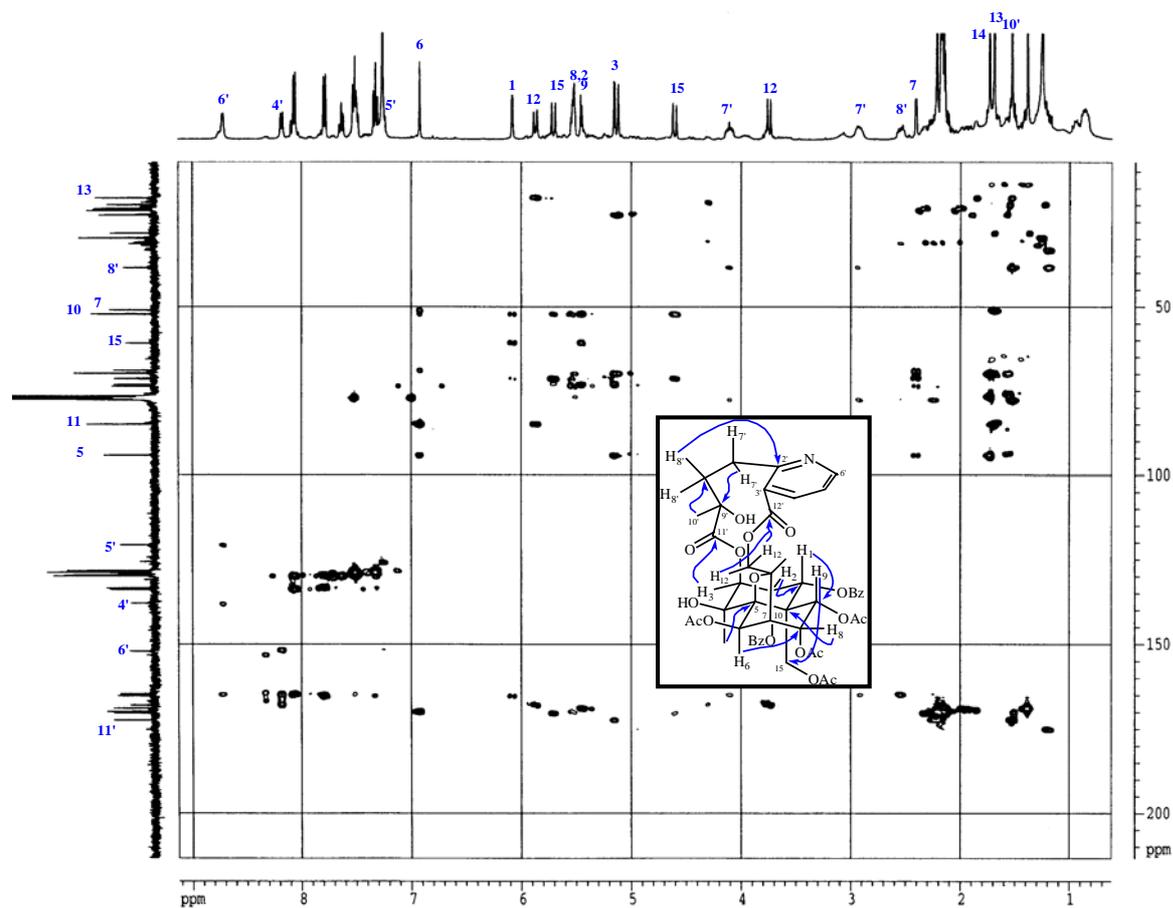
El espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (Tabla 9) confirmó la presencia de ocho carbonos carbonílicos a  $\delta$  172.4, 170.3, 170.0, 169.8, 168.9, 168.0, 165.2 y 164.7; también fueron observados cuatro carbonos cuaternarios a  $\delta$  52.2, 69.9, 85.0 y 95.2, además de cinco carbonos aromáticos de una unidad de piridina 2,3-disustituida a  $\delta$  164.9 (C-2'), 152.1 (C-6'), 137.9 (C-4'), 125.1 (C-3') y 120.6 (C-5'). Todos estos datos indican que **Chiapenina ES-I** es un alcaloide sesquiterpénico con esqueleto de dihidro- $\beta$ -agarofurano heptasustituido.

La regiosustitución de los grupos ésteres alrededor del esqueleto base fue resuelta por medio de un experimento HMBC. Los cuatro carbonos carbonílicos de los grupos acetato a  $\delta_{\text{C}}$  169.8, 170.0, 168.9 y 170.3, se correlacionan con sus metilos singuletes a  $\delta_{\text{H}}$  2.22, 2.18, 1.39 y 2.25, respectivamente. La disposición de los grupos acetato sobre los C-6, C-8, C-9 y C-15, se estableció por la correlación de las señales de los carbonilos de los grupos acetato con las señales de los protones geminales a  $\delta_{\text{H}}$  6.92 (H-6),  $\delta$  5.53 (H-8),  $\delta$  5.46 (H-9) y 4.61, 5.72 (H-15A y H-15B), respectivamente. Las señales a  $\delta_{\text{C}}$  164.7 y 165.2, fueron asignados a los carbonos carbonílicos de grupos benzoato, basándonos en la correlación con las señales de protón a  $\delta_{\text{H}}$  8.07 y 7.79.



Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz) de **Chiapenina ES-I**

Correlación entre el grupo carbonílico del grupo benzoato a  $\delta_{\text{C}}$  165.2 y la señal del protón a  $\delta_{\text{H}}$  6.09 (H-1), permitió situar dicho grupo, situándose el restante grupo benzoato sobre el C-2. La señal a  $\delta_{\text{C}}$  164.9 fue asignada al C-2', basándonos en su correlación con los protones a  $\delta_{\text{H}}$  4.11, 2.90 (H-7') y 2.55, 2.28 (H-8'). Así mismo, la correlación entre las señales de carbono a  $\delta_{\text{C}}$  172.4 (C-11') y 168.0 (C-12') con la señal de los protones a  $\delta_{\text{H}}$  5.16 (H-3) y 3.75, 5.87 (H-12A y H-12B), respectivamente, confirmaron la unión del agrupamiento hidroxiwilfordico al esqueleto sesquiterpénico entre los carbonos C-3 y C-12.



Experimento HMBC ( $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ ) para **Chiapenina ES-I**

Un cuidadoso estudio de las constantes de acoplamiento y un experimento ROESY (Figura 31), en el que se observaron efectos NOE entre H-1 con H-2 y H-9, H-6 con H-15 y Me-14 y H-9 con Me-13, permitieron establecer la disposición relativa de los grupos ésteres en la molécula como  $1\alpha$ ,  $2\alpha$ ,  $6\beta$ ,  $8\alpha$ ,  $9\alpha$  y  $15\alpha$ . Todos estos datos y comparación con los datos dados en la literatura para wilfordina<sup>1</sup> nos permitió establecer la estructura de **Chiapenina ES-I** como 1-benzoiloxi-1-desacetilwilfordina.

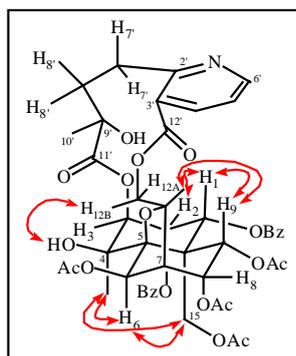
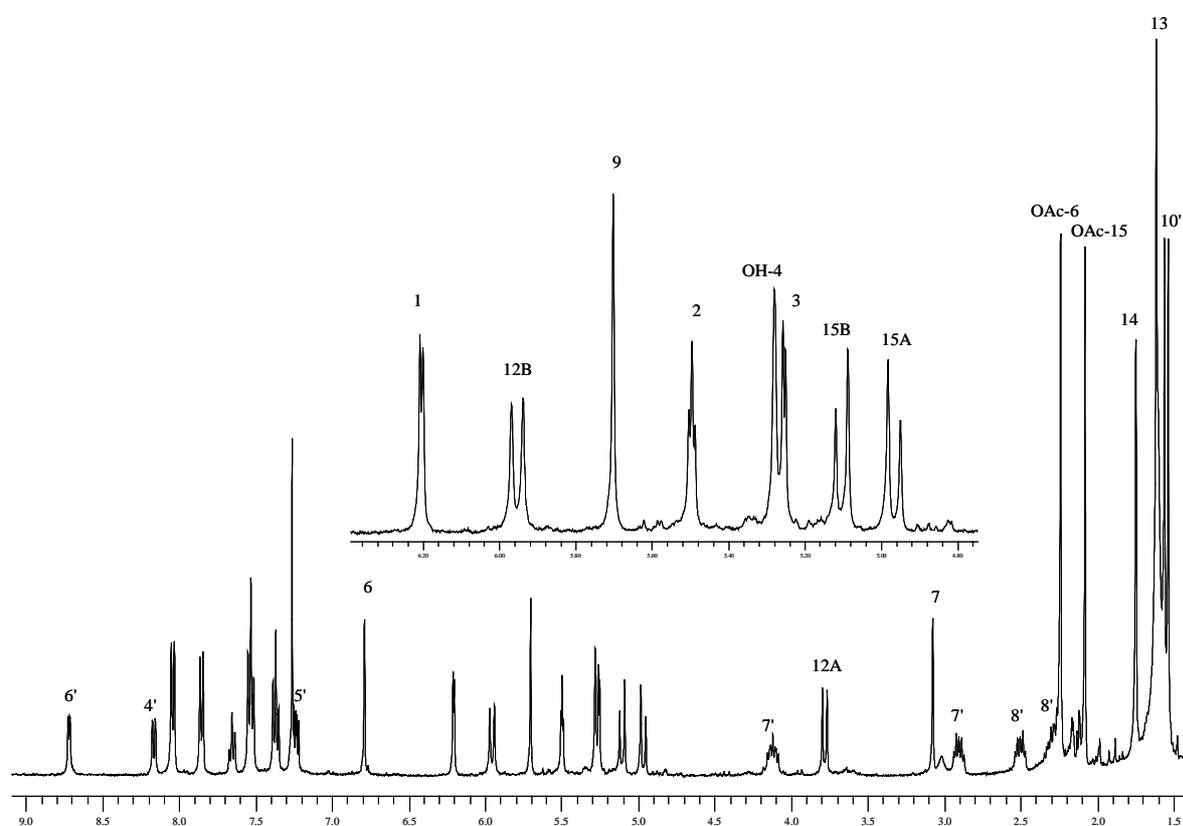
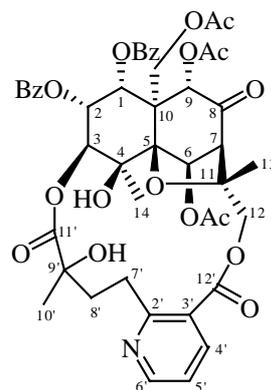


Figura 31. Correlaciones **NOE** para **Chiapenina ES-I**

### Chiapenina ES-II

El producto denominado **Chiapenina ES-II** presentó una fórmula molecular  $C_{46}H_{47}NO_{18}$  (EMAR). El estudio de sus espectros de IR, UV, RMN  $^1H$  y  $^{13}C$  (Tablas 8 y 9) y experimentos 2D, nos indicó que se trataba de un alcaloide sesquiterpénico con dos grupos benzoato, tres grupos acetato y un grupo carbonilo en el esqueleto sesquiterpénico. La presencia del ácido hidroxiwilfordico en la molécula fue determinada por comparación con los datos de RMN del compuesto **Chiapenina ES-I** (Tablas 8 y 9).

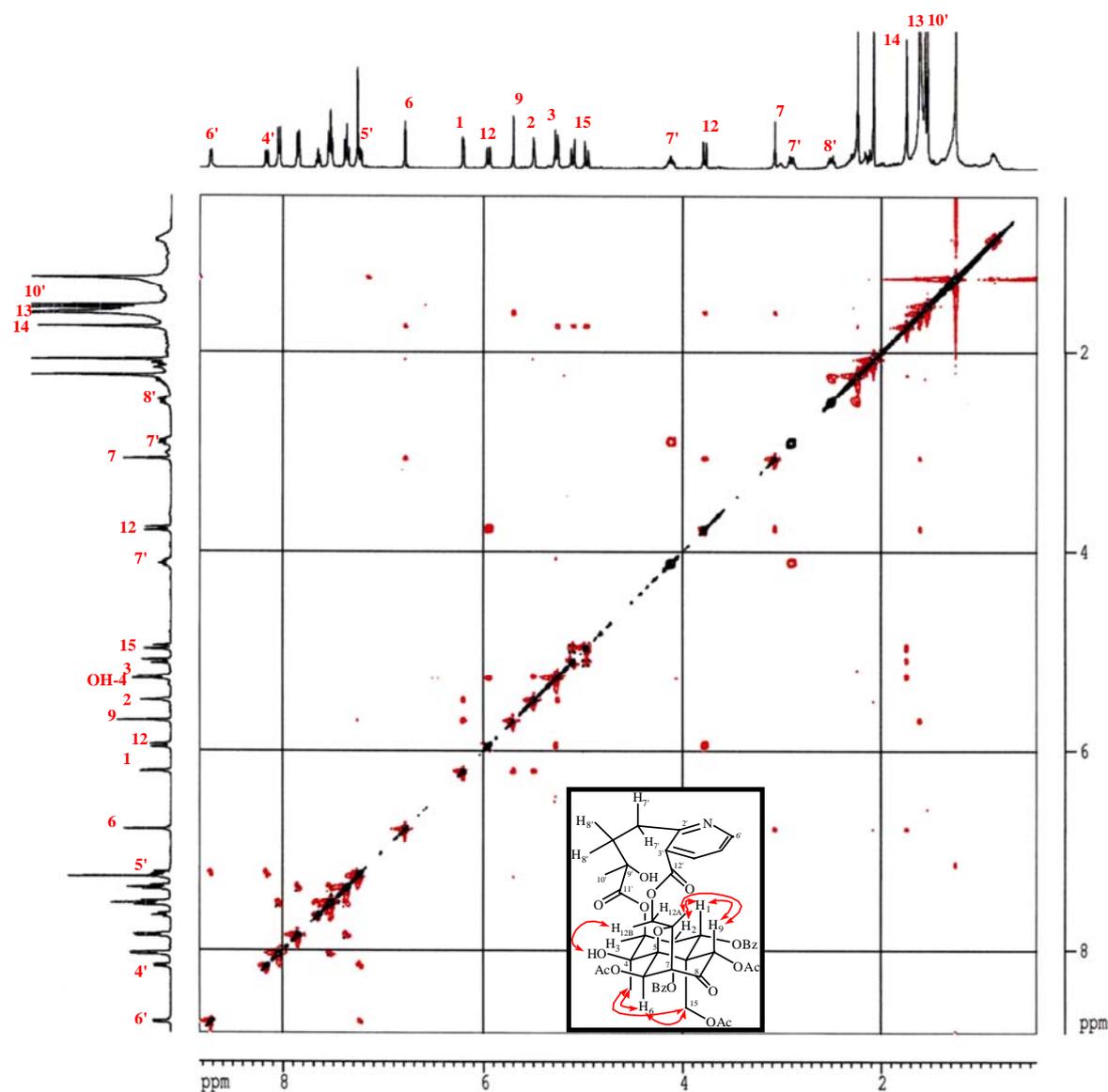
La regiosustitución de los grupos ésteres alrededor del esqueleto básico fue resuelta por medio de un experimento HMBC; así, los tres carbonilos de los grupos acetato a  $\delta_C$  169.2, 169.4 y 169.8, se correlacionan con los metilos singuletes a  $\delta_H$  2.24, 1.53 y 2.08, respectivamente. La unión de los grupos acetatos a los C-6, C-9 y C-15, se estableció por la correlación de los grupos carbonilos de los grupos acetatos con las señales de los protones geminales a  $\delta_H$  6.79 (H-6),  $\delta_H$  5.70 (H-9) y  $\delta_H$  4.96, 5.11 (H-15A y H-15B), respectivamente. El grupo carbonilo fue situado sobre el C-8, debido a que la señal a  $\delta_C$  195.6 fue correlacionada con las señales de protón a  $\delta_H$  3.07 (H-7) y 5.70 (H-9). Las señales a  $\delta_C$  164.7 y 164.8 fueron asignadas a los carbonos carbonílicos de los grupos benzoato basándonos en la correlación con las señales de protón a  $\delta_H$  8.04 y 7.85. Correlación del grupo carbonilo a  $\delta_C$  164.8 con el protón a  $\delta_H$  6.21 (H-1), permitió situar un grupo benzoato sobre C-1, localizándose el otro grupo benzoato sobre el C-2, la única posición posible sobre la molécula.



Espectro de RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz) de **Chiapenina ES-II**

En un experimento ROESY se observaron efectos NOE entre H-1 con H-2 y H-9, H-6 con H-15 y Me-14 y H-9 con Me-13, lo que nos permitió determinar la configuración relativa de los grupos ésteres como 1 $\alpha$ , 2 $\alpha$ , 6 $\beta$ , 8 $\alpha$ , 9 $\alpha$  y 15 $\alpha$ . Estos datos y su comparación con los datos dados en la literatura para alamina<sup>2</sup> y wilforina E<sup>11</sup> revelan que la estructura de **Chiapenina ES-II** corresponde con el 1-benzoiloxi-1-desacetilalamina.

<sup>11</sup> Duan, H.; Takaishi, Y.; Momota, H.; Ohmoto, Y.; Taki, T.; Jia, Y.; Li, D. *J. Nat. Prod.*, 64, 582-587, **2001**.



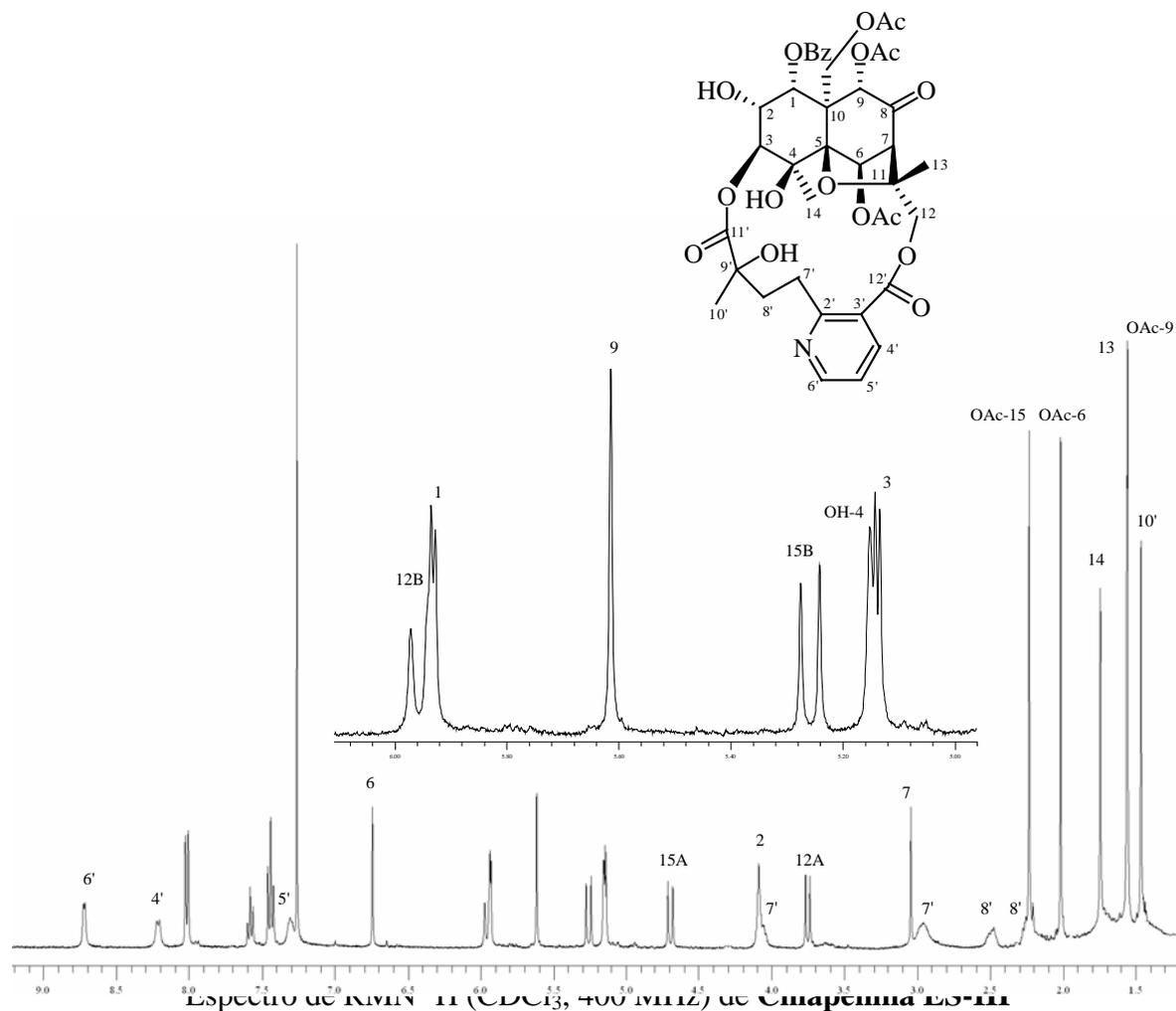
Experimento **ROESY** para **Chiapenina ES-II**

### **Chiapenina ES-III**

Este producto mostró una fórmula molecular  $C_{39}H_{43}NO_{17}$ , determinada por EMAR y un peso molecular con 105 unidades de masas ( $C_7H_5O$ ) menos que **Chiapenina ES-II**.

Los datos de RMN  $^1H$  y  $^{13}C$  de **Chiapenina ES-III** fueron similares a los de **Chiapenina ES-II** (Tablas 8 y 9), siendo la diferencia más notable la pérdida de las señales correspondientes a un grupo benzoato y el desplazamiento a campo más alto de las

señales de los protones H-1 y H-2 ( $\delta_H$  6.21 y 5.49 en **Chiapenina ES-II** frente a  $\delta_H$  5.94 y 4.09 en **Chiapenina ES-III**).

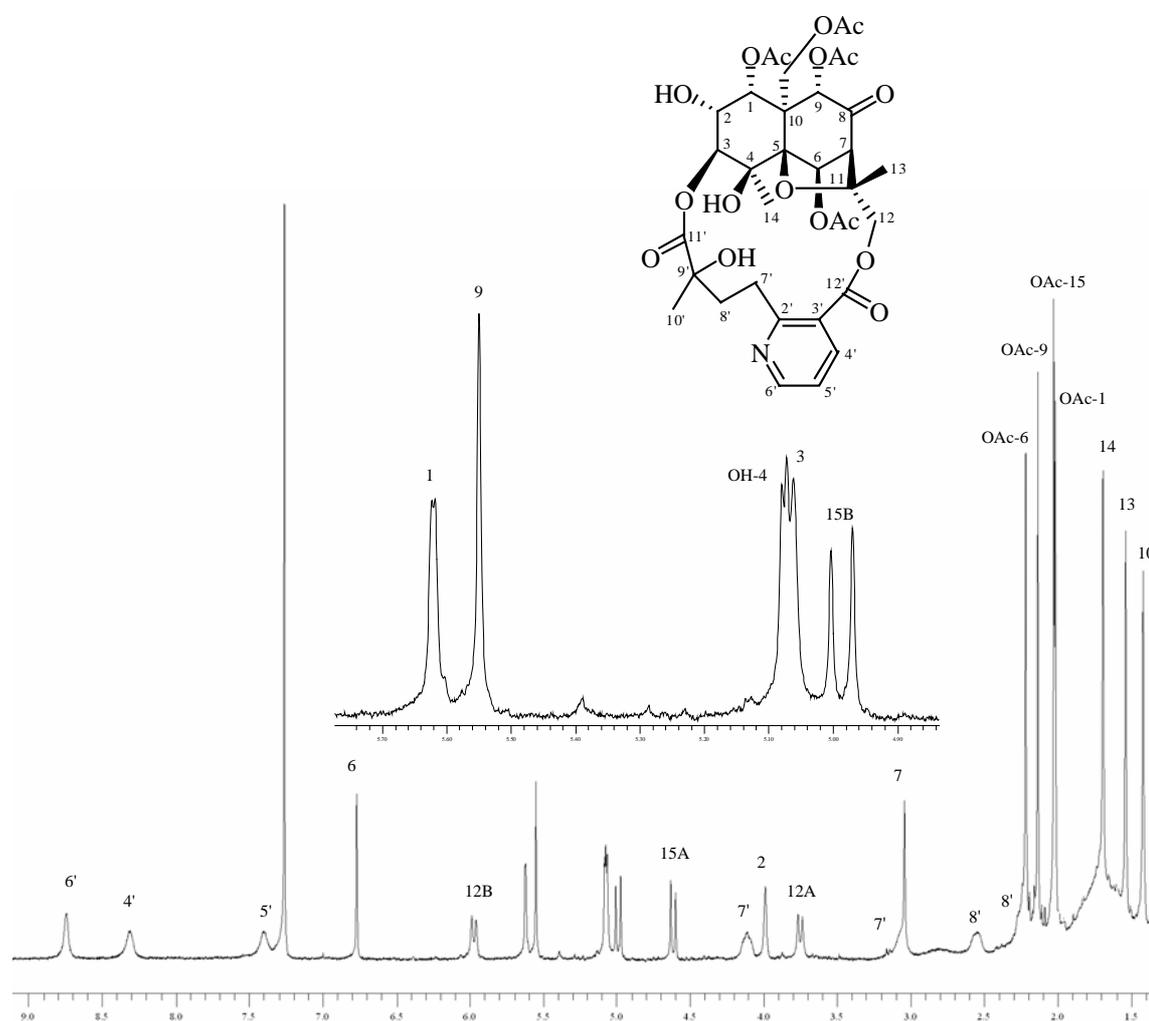


Un experimento HMBC nos permitió asignar de forma inequívoca la posición de los distintos ésteres en la molécula. La estereoquímica relativa fue establecida por medio de un experimento ROESY, donde se observa efecto NOE entre H-2 y H-1, lo que indica la posición relativa del grupo hidroxilo sobre el C-2 como  $\alpha$ . Estos datos y su comparación con los dados en la literatura para alatamina<sup>2</sup> y wilforina E<sup>11</sup> determinaron la estructura de **Chiapenina ES-III** como 1-benzoiloxi-1-desacetil-2-desbenzoilalatamina.



### Chiapenina ES-IV

La estructura de **Chiapenina ES-IV** fue elucidada por métodos físicos y espectroscópicos, estudios de RMN  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$  (Tabla 8 y 9), correlaciones 2D  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  y  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ , experimento ROESY y por comparación con los datos dados en la literatura para wilforina E.<sup>11</sup> Lo que reveló que **Chiapenina ES-IV** es el 2-desacetilwilforina E.



Espectro de RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz) de **Chiapenina ES-IV**

Tabla 1. Datos<sup>a</sup> de RMN <sup>1</sup>H (400 MHz) para Chiapenina ES-I a ES-IV

Posición	ES-I	ES-II	ES-III	ES-IV
<b>H-1</b>	6.09 d (3.6)	6.21 d (3.3)	5.94 d (3.0)	5.62 d (2.7)
<b>H-2</b>	5.53*	5.49 t (3.3)	4.09 s a	3.99 s a
<b>H-3</b>	5.16 d (2.7)	5.25 d (2.3)	5.14 d (3.3)	5.08 d (3.3)
<b>OH-4</b>	5.14 s	5.28 s	5.17 s	5.11 s
<b>H-6</b>	6.92 s	6.79 s	6.74 s	6.77 s
<b>H-7</b>	2.41 d (3.8)	3.07 s	3.04 s	3.04 s
<b>H-8</b>	5.53*			
<b>H-9</b>	5.46 d (5.8)	5.70 s	5.62 s	5.55 s
<b>H-12A</b> <b>H-12B</b>	3.75 d <sub>AB</sub> 5.87 d <sub>AB</sub> (12.0)	3.78 d <sub>AB</sub> 5.95 d <sub>AB</sub> (12.0)	3.76 d <sub>AB</sub> 5.93 d <sub>AB</sub> (11.3)	3.75 d <sub>AB</sub> 5.97 d <sub>AB</sub> (11.9)
<b>Me-13</b>	1.69 s	1.61 s	1.56 s	1.53 s
<b>Me-14</b>	1.74 s	1.75 s	1.74 s	1.67 s
<b>H-15A</b> <b>H-15B</b>	4.61 d <sub>AB</sub> 5.72 d <sub>AB</sub> (13.2)	4.96 d <sub>AB</sub> 5.11 d <sub>AB</sub> (13.0)	4.69 d <sub>AB</sub> 5.26 d <sub>AB</sub> (13.4)	4.62 d <sub>AB</sub> 4.99 d <sub>AB</sub> (13.3)
<b>H-4'</b>	8.16 dd (1.6, 7.8)	8.15 dd (1.6, 8.0)	8.15 dd (1.9, 7.9)	8.31 dd (1.8, 7.9)
<b>H-5'</b>	7.23 dd (4.5, 7.8)	7.23 dd (4.8, 8.0)	7.25 dd (4.8, 7.9)	7.38 dd (4.7, 7.9)
<b>H-6'</b>	8.71 dd (1.6, 4.5)	8.72 dd (1.6, 4.8)	8.70 dd (1.9, 4.8)	8.74 dd (1.8, 4.7)
<b>H-7'</b>	2.90 m 4.11 m	2.88m 4.08m	2.90 m 4.06 m	3.06 m 4.09 m
<b>H-8'</b>	2.28 m 2.55 m	2.26 m 2.50 m	2.25 m 2.45 m	2.23 m 2.54 m
<b>Me-10'</b>	1.57 s	1.56 s	1.47 s	1.43 s
<b>OAc-1</b>				2.01 s
<b>OAc-6</b>	2.22 s	2.24 s	2.02 s	2.22 s
<b>OAc-8</b>	2.18 s			
<b>OAc-9</b>	1.39 s	1.53 s	1.56 s	2.13 s
<b>OAc-15</b>	2.25 s	2.08 s	2.23 s	2.03 s

<sup>a</sup> δ, CDCl<sub>3</sub>; J en paréntesis en Hz; \* Señales solapadas. Datos basados en experimentos COSY y HSQC.



**Tabla 2.** Datos<sup>a</sup> de RMN <sup>13</sup>C (100 MHz) para **Chiapenina ES-I** a **ES-IV**

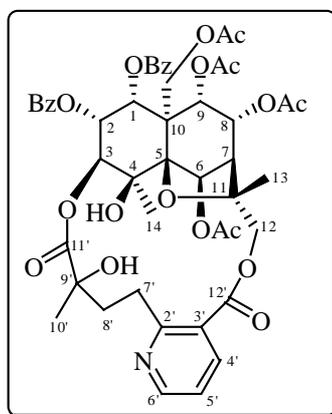
Posición	ES-I	ES-II	ES-III	ES-IV
<b>C-1</b>	73.1 d	71.4 d	73.7d	73.7 d
<b>C-2</b>	69.8 d	70.0 d	70.1 d	69.7 d
<b>C-3</b>	77.2 d	75.9 d	78.2 d	78.2 d
<b>C-4</b>	69.9 s	69.9 s	70.1 s	70.0 s
<b>C-5</b>	95.2 s	95.4 s	95.9 s	96.0 s
<b>C-6</b>	73.7 d	73.5 d	74.2 d	73.5 d
<b>C-7</b>	51.0 d	62.3 d	62.3 d	62.3 d
<b>C-8</b>	68.9 d	195.6 s	195.8 s	195.9 s
<b>C-9</b>	71.4 d	78.8 d	79.2 d	78.6 d
<b>C-10</b>	52.2 s	52.6 s	53.0 s	52.7 s
<b>C-11</b>	85.0 s	86.7 s	86.4 s	86.2 s
<b>C-12</b>	69.9 t	69.9 t	70.1 t	70.0 t
<b>C-13</b>	17.2 c	18.7 c	18.8 c	18.7 c
<b>C-14</b>	22.7 c	23.5 c	23.3 c	23.3 c
<b>C-15</b>	60.8 t	60.8 t	60.7 t	60.7 t
<b>C-2'</b>	164.9 s	164.9 s	164.8 s	164.3 s
<b>C-3'</b>	125.1 s	125.1 s	128.7 s	125.2 s
<b>C-4'</b>	137.9 d	137.9 d	138.5 d	137.8 d
<b>C-5'</b>	120.6 d	120.7 d	125.0 d	121.1 d
<b>C-6'</b>	152.1 d	152.3 d	152.2 d	152.4 d
<b>C-7'</b>	31.4 t	31.5 t	31.5 t	29.7 t
<b>C-8'</b>	38.4 t	38.8 t	38.8 t	38.7 t
<b>C-9'</b>	77.7 s	77.8 s	77.6 s	77.2 s
<b>C-10'</b>	28.2 c	27.8 c	27.5 c	27.7 c
<b>C-11'</b>	172.4 s	172.2 s	172.5 s	172.6 s
<b>C-12'</b>	168.0 s	167.9 s	167.2 s	167.3 s
<b>OAc-1</b>				20.5 c, 169.7 s
<b>OAc-6</b>	21.1 c, 169.8 s	21.4 c, 169.2 s	20.5 c, 169.2 s	21.4 c, 169.2 s
<b>OAc-8</b>	20.9 c, 170.0 s			
<b>OAc-9</b>	19.9 c, 168.9 s	19.6 c, 169.4 s	19.6 c, 169.2 s	20.2 c, 169.4 s
<b>OAc-15</b>	21.6 c 170.3 s	20.5 c, 169.8 s	21.4 c, 169.3 s	20.7 c, 169.6 s

<sup>a</sup> δ, CDCl<sub>3</sub>. Datos basados en los experimentos DEPT, HSQC y HMBC.

*Parte Experimental:*  
*Alcaloides Sesquiterpénicos*



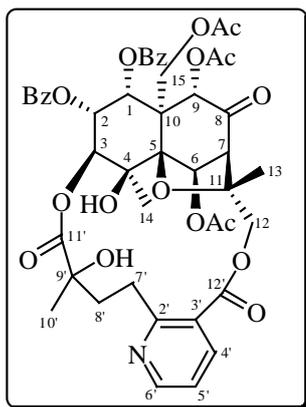
### Chiapenina ES-I: 1-benzoiloxi-1-desaceatilwilfordina



Laca incolora (30.0 mg);  $[\alpha]_D^{20} +15.0^\circ$  ( $c$  1.3,  $\text{CHCl}_3$ ); UV (EtOH)  $\lambda_{\text{max}}$  (log  $\epsilon$ ) 201 (4.6), 229 (4.5), 268 (3.8) nm; IR (película)  $\nu_{\text{max}}$  3461, 2921, 2850, 1740, 1452, 1370, 1247, 1097, 759  $\text{cm}^{-1}$ ; RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  1.39 (3H, s, OAc-9), 1.57 (3H, s, Me-10'), 1.69 (3H, s, Me-13), 1.74 (3H, s, Me-14), 2.18 (3H, s, OAc-8), 2.22 (3H, s, OAc-6), 2.25 (3H, s, OAc-15), 2.28 (1H, m, H-8'), 2.41 (1H, d,  $J = 3.8$ , H-7), 2.55 (1H, m, H-8'), 2.90 (1H, m, H-7'), 3.75 (1H,  $d_{\text{AB}}$ ,  $J = 12.0$  Hz, H-12A), 4.11 (1H, m, H-7'), 4.61 (1H,  $d_{\text{AB}}$ ,  $J = 13.2$  Hz, H-15A), 5.14 (1H, s, OH-4), 5.16 (1H, d,  $J = 2.7$  Hz, H-3), 5.46 (1H, d,  $J = 5.8$  Hz, H-9), 5.53 (2H, solapados, H-2; H-8), 5.72 (1H,  $d_{\text{AB}}$ ,  $J = 13.2$  Hz, H-15B), 5.87 (1H,  $d_{\text{AB}}$ ,  $J = 12.0$  Hz, H-12B), 6.09 (1H, d,  $J = 3.6$  Hz, H-1), 6.92 (1H, s, H-6), OBz x 2 [7.33 (2H, m), 7.52 (3H, m), 7.62 (1H, t,  $J = 7.5$  Hz), 7.79 (2H, d,  $J = 8.1$  Hz), 8.07 (2H, d,  $J = 8.2$  Hz)], 7.23 (1H, dd,  $J = 4.5, 7.8$  Hz, H 5'), 8.16 (1H, dd,  $J = 1.6, 7.8$  Hz, H 4'), 8.71 (1H, dd,  $J = 1.6, 4.5$  Hz, H 6'); RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz)  $\delta$  17.8 (c, C-13), 19.9 (c, OAc-9), 20.9 (c, OAc-8), 21.1 (c, OAc-6), 21.6 (c, OAc-15), 22.7 (c, C-14), 28.2 (c, C-10'), 31.4 (t, C-7'), 38.4 (t, C-8'), 51.0 (d, C-7), 52.2 (s, C-10), 60.8 (t, C-15), 68.9 (d, C-8), 69.8 (d, C-2), 69.9 x 2 (s, C-4; t, C-12), 71.4 (d, C-9), 73.1 (d, C-1), 73.7 (d, C-6), 77.2 (d, C-3), 77.7 (s, C-9'), 85.0 (s, C-11), 95.2 (s, C-5), 120.6 (d, C-5'), 125.1 (s, C-3'), OBz x 2 [128.3 (s), 128.6 (s), 128.8 (2 x d), 129.1 (2 x d), 129.7 (2 x d), 129.9 (2 x d), 133.4 (d), 134.0 (d), 164.7 (s, OBz-2), 165.2 (s, OBz-1)], 137.9 (d, C-4'), 152.1 (d, C-6'), 164.9 (s, C-2'), 168.0 (s, C-12'), 168.9 (s, OAc-9), 169.8 (s, OAc-6), 170.0 (s, OAc-8), 170.3 (s, OAc-15), 172.4 (s, C-11'); EMIE $^+$   $m/z$  (%) 945 ( $\text{M}^+$ , 2), 901 ( $\text{M}^+-44$ ,  $\text{CO}_2$ , 2), 805 (2), 780 (2), 674 (3), 572 (2), 463 (100), 273 (30), 199 (25), 194 (7), 176 (10), 149 (60), 105 ( $\text{C}_7\text{H}_5\text{O}^+$ ,

42), 77 ( $C_6H_5^+$ , 17), 57 ( $C_3H_5O^+$ , 59); **EMAR**  $m/z$  945.30534 (calculado para  $C_{48}H_{51}NO_{19}$ , 945.30553).

### Chiapenina ES-II: 1-benzoiloxi-1-desacetilalcatamina

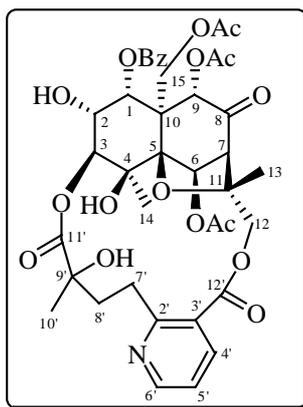


Laca incolora (242.0 mg);  $[\alpha]_D^{20} +60.9^\circ$  ( $c$  4.7,  $CHCl_3$ ); **UV (EtOH)**  $\lambda_{max}$  (**log  $\epsilon$** ) 201 (4.5), 230 (4.5), 269 (3.8) nm; **IR (película)**  $\nu_{max}$  3459, 2959, 1748, 1451, 1231, 1087, 757  $cm^{-1}$ ; **RMN  $^1H$  ( $CDCl_3$ , 400 MHz)**  $\delta$  1.53 (3H, s, OAc-9), 1.56 (3H, s, Me-10'), 1.61 (3H, s, Me-13), 1.75 (3H, s, Me-14), 2.08 (3H, s, OAc-15), 2.24 (3H, s, OAc-6), 2.26 (1H, m, H-8'), 2.50 (1H, m, H-8'), 2.88 (1H, m, H-7'), 3.07 (1H, s, H-7), 3.78 (1H,  $d_{AB}$ ,  $J = 12.0$  Hz, H-12A), 4.08 (1H, m, H-7'), 4.96 (1H,  $d_{AB}$ ,  $J = 13.0$  Hz, H-15A), 5.11 (1H,  $d_{AB}$ ,  $J = 13.0$  Hz, H-15B), 5.25 (1H, d,  $J = 2.3$  Hz, H-3), 5.28 (1H, s, OH-4), 5.49 (1H, t,  $J = 3.3$  Hz, H-2), 5.70 (1H, s, H-9), 5.95 (1H,  $d_{AB}$ ,  $J = 12.0$  Hz, H-12B), 6.21 (1H, d,  $J = 3.3$  Hz, H-1), 6.79 (1H, s, H-6), 7.23 (1H, dd,  $J = 4.8, 8.0$  Hz, H-5'), OBz x 2 [7.36 (2H, m), 7.53 (3H, m), 7.65 (1H, t,  $J = 7.8$  Hz), 7.85 (2H, d,  $J = 7.9$  Hz), 8.04 (2H, d,  $J = 7.8$  Hz)], 8.15 (1H, dd,  $J = 1.6, 8.0$  Hz, H-4'), 8.72 (1H, dd,  $J = 1.6, 4.8$  Hz, H-6'); **RMN  $^{13}C$  ( $CDCl_3$ , 100 MHz)**  $\delta$  18.7 (c, C-13), 19.6 (c, OAc-9), 20.5 (c, OAc-15), 21.4 (c, OAc-6), 23.5 (c, C-14), 27.8 (c, C-10'), 31.5 (t, C-7'), 38.8 (t, C-8'), 52.6 (s, C-10), 60.8 (t, C-15), 62.3 (d, C-7), 69.9 x 2 (s, C-4; t, C-12), 70.0 (d, C-2), 71.4 (d, C-1), 73.5 (d, C-6), 75.9 (d, C-3), 77.8 (s, C-9'), 78.8 (d, C-9), 86.7 (s, C-11), 95.4 (s, C-5), 120.7 (d, C-5'), 125.1 (s, C-3'), OBz x 2 [128.3 (s), 128.8 (2 x d), 129.0 (s), 129.0 (2 x d), 129.7 (4 x d), 133.8 (d), 134.1 (d), 164.7 (s, OBz-2), 164.8 (s, OBz-1)], 137.9 (d, C-4'), 152.3 (d, C-6'), 164.9 (s, C-2'), 167.9 (s, C-12'), 169.2 (s, OAc-6), 169.4 (s, OAc-9), 169.8 (s, OAc-15), 172.2 (s, C-11'), 195.6 (s, C-



8); **EMIE**<sup>+</sup> *m/z* (%) 901 (M<sup>+</sup>, 58), 857 (M<sup>+</sup>-44, CO<sub>2</sub>, 71), 842 (M<sup>+</sup>-59, C<sub>2</sub>H<sub>3</sub>O<sub>2</sub><sup>+</sup>, 41), 814 (58), 784 (41), 736 (10), 467 (14), 194 (15), 176 (19), 105 (C<sub>7</sub>H<sub>5</sub>O<sup>+</sup>, 100), 77 (C<sub>6</sub>H<sub>5</sub><sup>+</sup>, 23), 57 (C<sub>3</sub>H<sub>5</sub>O<sup>+</sup>, 59); **EMAR** *m/z* 901.27824 (calculado para C<sub>46</sub>H<sub>47</sub>NO<sub>18</sub>, 901.27931).

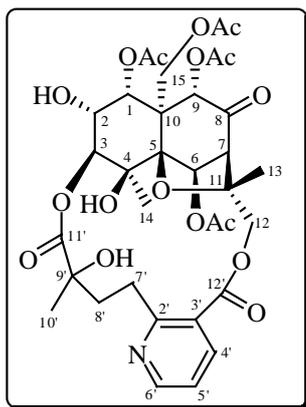
### Chiapenina ES-III: 1-benzoiloxi-1-desacetil-2-desbenzoilalatamina



Laca incolora (24.0 mg);  $[\alpha]_D^{20} +29.3^\circ$  (*c* 0.4, CHCl<sub>3</sub>); **UV (EtOH)**  $\lambda_{\max}$  (log  $\epsilon$ ) 201 (4.1), 230 (4.0), 269 (3.4) nm; **IR (película)**  $\nu_{\max}$  3460, 2925, 2854, 1748, 1452, 1270, 1217, 1060, 758 cm<sup>-1</sup>; **RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz)**  $\delta$  1.47 (3H, s, Me-10'), 1.56 (6H, s, Me-13, OAc-9), 1.74 (3H, s, Me-14), 2.02 (3H, s, OAc-6), 2.23 (3H, s, OAc-15), 2.25 (1H, m, H-8'), 2.45 (1H, m, H-8'), 2.90 (1H, m, H-7'), 3.04 (1H, s, H-7), 3.76 (1H, d<sub>AB</sub>, *J* = 11.3 Hz, H-12A), 4.06 (1H, m, H-7'), 4.09 (1H, s ancho, H-2), 4.69 (1H, d<sub>AB</sub>, *J* = 13.4 Hz, H-15A), 5.14 (1H, d, *J* = 3.3 Hz, H-3), 5.17 (1H, s, OH-4), 5.26 (1H, d<sub>AB</sub>, *J* = 13.4 Hz, H-15B), 5.62 (1H, s, H-9), 5.93 (1H, d<sub>AB</sub>, *J* = 11.3 Hz, H-12B), 5.94 (1H, d, *J* = 3.0 Hz, H-1), 6.74 (1H, s, H-6), 7.25 (1H, dd, *J* = 4.8, 7.9, Hz, H-5'), OBz [7.45 (2H, t, *J* = 7.6 Hz), 7.58 (2H, t, *J* = 7.6 Hz), 8.02 (1H, d, *J* = 7.3 Hz)], 8.15 (1H, dd, *J* = 1.9, 7.9 Hz, H-4'), 8.70 (1H, dd, *J* = 1.9, 4.8 Hz, H-6'); **RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz)**  $\delta$  18.8 (c, C-13), 19.6 (c, OAc-9), 20.5 (c, OAc-6), 21.4 (c, OAc-15), 23.3 (c, C-14), 27.5 (c, C-10'), 31.5 (t, C-7'), 38.8 (t, C-8'), 53.0 (s, C-10), 60.7 (t, C-15), 62.3 (d, C-7), 70.1 x 3 (s, C-4; t, C-12; d, C-2), 73.7 (d, C-1), 74.2 (d, C-6), 77.6 (d, C-9'), 78.2 (d, C-3), 79.2 (d, C-9), 86.4 (s, C-11), 95.9 (s, C-5), 125.0 (d, C-5'), 128.7 (s, C-3'), OBz [128.7 (s), 128.7 (d), 129.9 (d), 133.9 (d), 165.0 (s)], 138.5 (d, C-4'), 152.2 (d, C-6'), 164.8 (s, C-2'), 167.2 (s, C-12'), 169.2 x 2 (s, OAc-6; s, OAc-9), 169.3 (s, OAc-15), 172.5 (s, C-11'), 195.8 (s, C-8); **EMIE**<sup>+</sup> *m/z* (%) 797 (M<sup>+</sup>,

26), 754 ( $M^+ - 43$ ,  $C_2H_3O^+$ , 19), 738 ( $M^+ - 59$ ,  $C_2H_3O_2^+$ , 20), 710 (28), 516 (18), 250 (22), 194 (100), 176 (99), 105 ( $C_7H_5O^+$ , 79), 77 ( $C_6H_5^+$ , 16), 57 ( $C_3H_5O^+$ , 11); **EMAR**  $m/z$  797.25737 (calculado para  $C_{39}H_{43}NO_{17}$ , 797.25310).

### Chiapenina ES-IV: 2-desacetilwilformina E



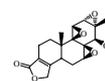
Laca incolora (6.0 mg);  $[\alpha]_D^{20} +7.9^\circ$  ( $c$  0.4,  $CHCl_3$ ); **UV (EtOH)**  $\lambda_{max}$  ( $\log \epsilon$ ) 201 (4.1), 220 (3.9), 264 (3.5) nm; **IR (película)**  $\nu_{max}$  3464, 2926, 1747, 1449, 1373, 1229, 758  $cm^{-1}$ ; **RMN  $^1H$  ( $CDCl_3$ , 400 MHz)**  $\delta$  1.43 (3H, s, Me-10'), 1.53 (3H, s, Me-13), 1.67 (3H, s, Me-14), 2.01 (3H, s, OAc-1), 2.03 (3H, s, OAc-15), 2.13 (3H, s, OAc-9), 2.22 (3H, s, OAc-6), 2.23 (1H, m, H-8'), 2.54 (1H, m, H-8'), 3.04 (1H, s, H-7), 3.06 (1H, m, H-7'), 3.75 (1H,  $d_{AB}$ ,  $J = 11.9$  Hz, H-12A), 3.99 (1H, s ancho, H-2), 4.09 (1H, m, H-7'), 4.62 (1H,  $d_{AB}$ ,  $J = 13.3$  Hz, H-15A), 4.99 (1H,  $d_{AB}$ ,  $J = 13.3$  Hz, H-15B), 5.08 (1H, d,  $J = 3.3$  Hz, H-3), 5.11 (1H, s, OH-4), 5.55 (1H, s, H-9), 5.62 (1H, d,  $J = 2.7$  Hz, H-1), 5.97 (1H,  $d_{AB}$ ,  $J = 11.9$  Hz, H-12B), 6.77 (1H, s, H-6), 7.38 (1H, dd,  $J = 4.7, 7.9$  Hz, H-5'), 8.31 (1H, dd,  $J = 1.8, 7.9$  Hz, H-4'), 8.74 (1H, dd,  $J = 1.8, 4.7$  Hz, H-6'); **RMN  $^{13}C$  ( $CDCl_3$ , 100 MHz)**  $\delta$  18.7 (c, C-13), 20.2 (c, OAc-9), 20.5 (c, OAc-1), 20.7 (c, OAc-15), 21.4 (c, OAc-6), 23.3 (c, C-14), 27.7 (c, C-10'), 29.7 (t, C-7'), 38.7 (t, C-8'), 52.7 (s, C-10), 60.7 (t, C-15), 62.3 (d, C-7), 69.7 (d, C-2), 70.0 x 2 (s, C-4; t, C-12), 73.5 (d, C-6), 73.7 (d, C-1), 77.2 (s, C-9'), 78.2 (s, C-3), 78.6 (d, C-9), 86.2 (s, C-11), 96.0 (s, C-5), 121.1 (d, C-5'), 125.2 (s, C-3'), 137.8 (d, C-4'), 152.4 (d, C-6'), 164.3 (s, C-2'), 167.3 (s, C-12'), 169.2 (s, OAc-6), 169.4 (s, OAc-9), 169.6 (s, OAc-15), 169.7 (s, OAc-1), 172.6 (s, C-11'), 195.9 (s, C-8); **EMIE $^+$   $m/z$  (%)** 735 ( $M^+$ , 11), 691 ( $M^+ - 44$ ,  $CO_2$ , 8), 676 ( $M^+ - 59$ ,  $C_2H_3O_2^+$ , 6), 648 (10), 632 (6), 618



*Parte experimental alcaloides sesquiterpénicos*

(7), 516 (7), 250 (10), 222 (3), 194 (37), 176 (38), 149 (67), 83 (76), 57 ( $C_3H_5O^+$ , 66), 49 (100); **EMAR**  $m/z$  735.23245 (calculado para  $C_{34}H_{41}NO_{17}$ , 735.23745).

*DITERPENOS*



En general, muy poco se ha escrito acerca de diterpenos de celastráceas, debido a que estos terpenos son poco frecuentes en especies de esta familia. Sin embargo, la novedad de sus estructuras y las actividades biológicas que presentan han estimulado la búsqueda de diterpenos.

Los diterpenos de la serie del abietano y abietatrieno se forman biogénicamente a partir del difosfato de geranylgeranilo (GGPP) (Figura 32), pasando por el difosfato de labdadienilo<sup>1</sup> y son generalmente, los más frecuentes en esta familia. Sugiol,<sup>2</sup> maytenona,<sup>2</sup> dispermol,<sup>2</sup> dispermona<sup>2</sup> y maytenoquinona<sup>2</sup> (Figura 33), aislados de *Celastrus dispermus*, son algunos ejemplos.

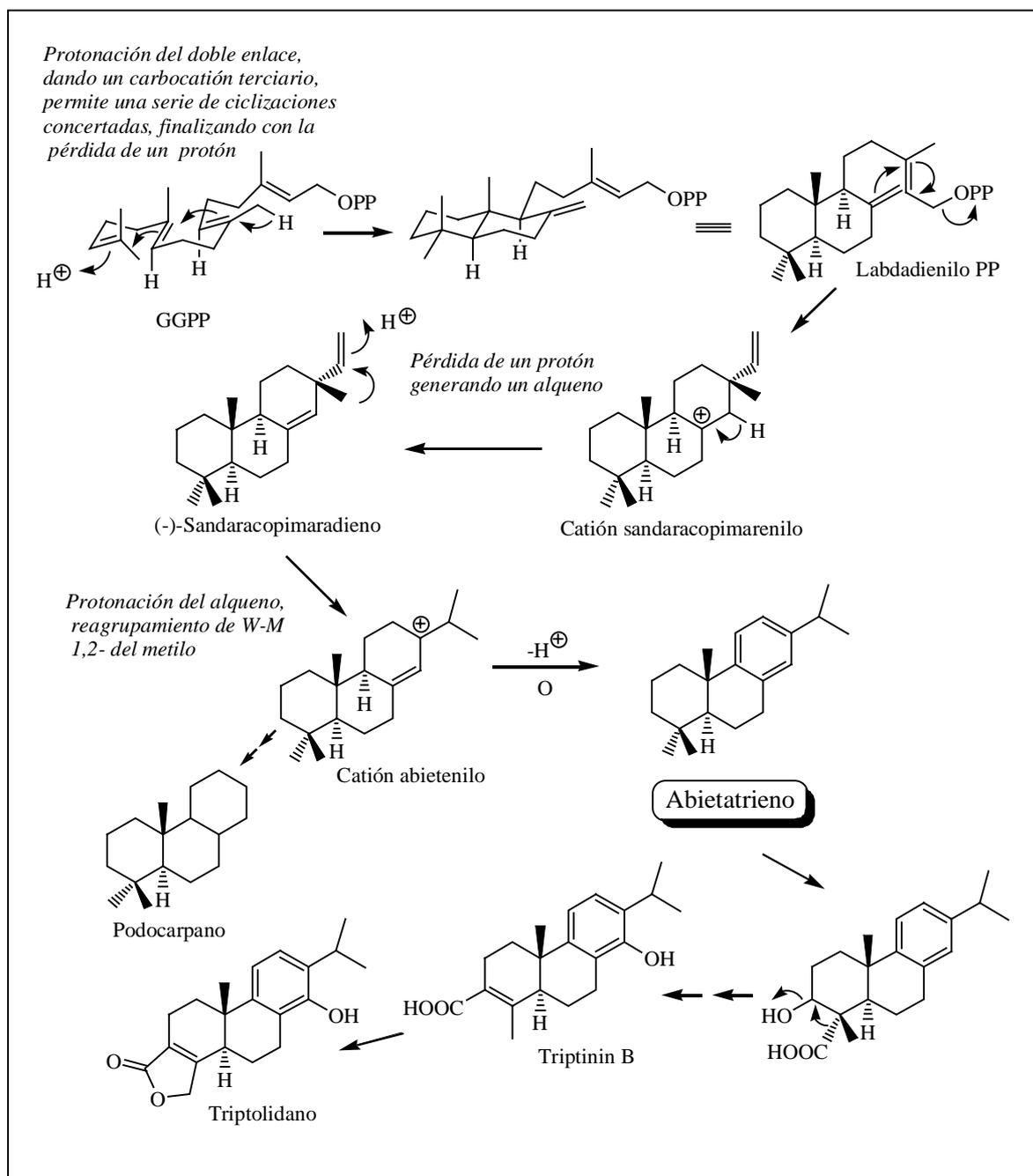
Los diterpenos más interesantes, desde el punto de vista biológico, son una variedad de diterpenos altamente oxigenados de la familia del abietano y dehidroabietano, que han sido aislados de *Tripterygium wilfordii* Hook. Entre estos, triptolida<sup>3</sup> y triptodiolida,<sup>3</sup> con una potente actividad antileucémica, estimularon el estudio detallado de este tipo de diterpenos en especies de celastráceas.

---

<sup>1</sup> Dewick, P. M. *Medicinal Natural Products*, John Wiley & Sons Ltd.; Ed, Baffins Lane, Chichester, 2<sup>nd</sup> ed., **2002**.

<sup>2</sup> Martin, J. D. *Tetrahedron*, 29, 2553-2559, **1973**.

<sup>3</sup> Kupchan, S. M.; Court, W. A.; Dayley, R. G. Jr.; Gilmore, C. J.; Bryan, R. F. *J. Am. Chem. Soc.*, 94, 7194-7195, **1972**.

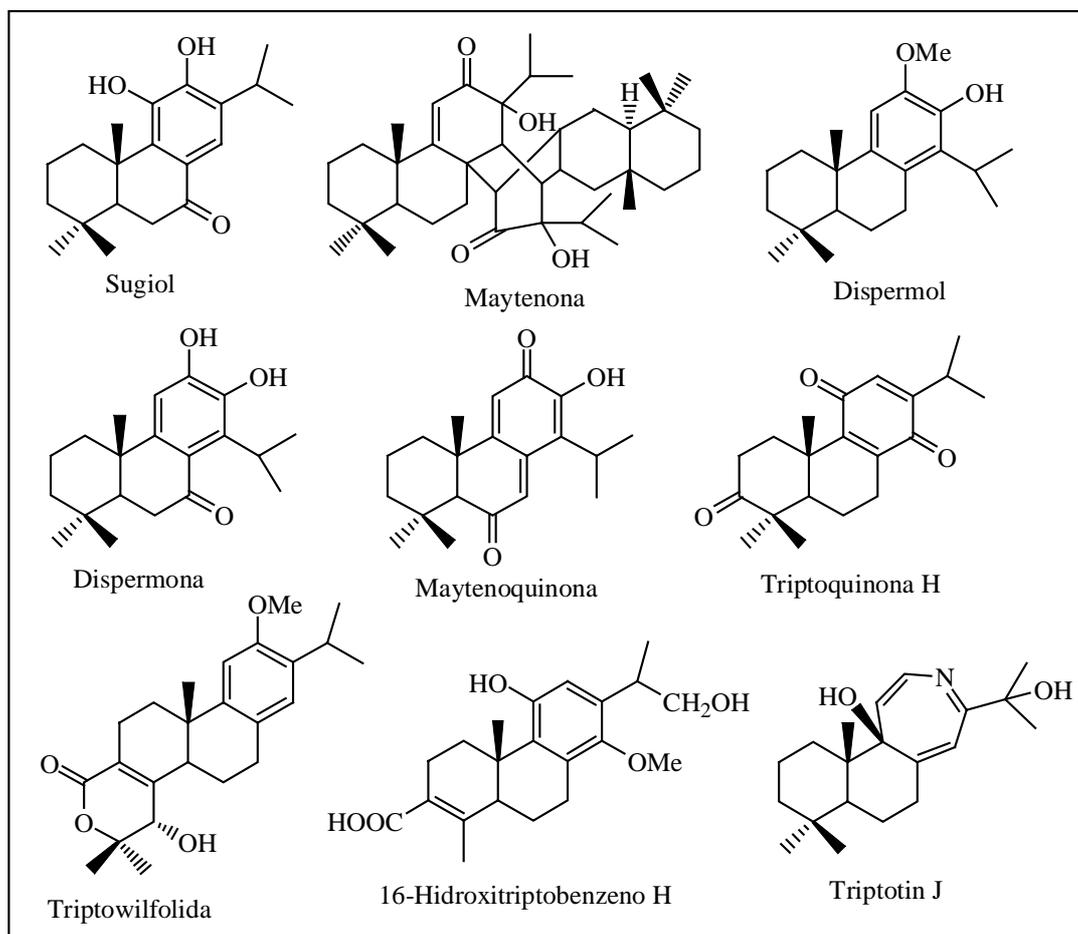
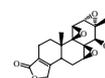


**Figura 32.** Biosíntesis de diterpenos de tipo abietano y estructuras relacionadas.

Como resultado de estos estudios, se han aislado nuevos diterpenos y como ejemplos recientes podemos citar, triptoquinona H,<sup>4</sup> triptowilfolida,<sup>5</sup> 16-hidroxitriptobenzeno H<sup>6</sup> y triptotin J.<sup>7</sup> (Figura 33).

<sup>4</sup> Fujita, R.; Duan, H.; Takaishi, Y. *Phytochemistry*, 53, 715-722, 2000.

<sup>5</sup> Lou, D.; Zhang, X.; Tian, X.; Liu, J. *Helv. Chem. Acta*, 86, 2784-2786, 2003.



**Figura 33.** Algunos ejemplos de diterpenos de tipo abietano de especies de celastráceas.

## ACTIVIDADES BIOLÓGICAS

### Actividad Citotóxica y Antitumoral

En 1972, Kupchan y colaboradores, reportaron que el extracto etanólico de *T. wilfordii*, mostraba significativa actividad *in vivo* frente a leucemias de tipo L-210 y P-388 en ratones e *in vitro* frente a células KB, derivadas de carcinoma humano de nasofaringe. El fraccionamiento biodirigido reveló que los responsables de dicha actividad eran triptolida (1), triptodiolida (2) y triptonida (3) (Figura 34). Estos compuestos resultaron ser los primeros

<sup>6</sup> Yang, G.-Z.; Li, Y.-C. *Helv. Chim. Acta*, 85, 168-174, 2002.

<sup>7</sup> Yisheng, W.; Isamu, A. *Zhongguo Yaoli Xuebao*, 12, 406-410, 1991.

diterpenos triepoxidados reportados y que presentan un nuevo esqueleto de 18(4→3)-*abeo*-abietano (triptolidano), siendo sus configuraciones absolutas establecidas por difracción de Rayos X.<sup>8</sup> Triptolida (**1**) y triptodiolida (**2**) mostraron significativa actividad frente a leucemias de tipo L-1210 y P-388 a 0.1 mg/Kg y citotóxica con una DE<sub>50</sub> (dosis efectiva cincuenta) de 10<sup>-3</sup>-10<sup>-4</sup> µg/mL frente a la línea celular KB,<sup>9</sup> mientras que triptonida (**3**) resultó inactivo a una dosis de 0.4 mg/Kg.

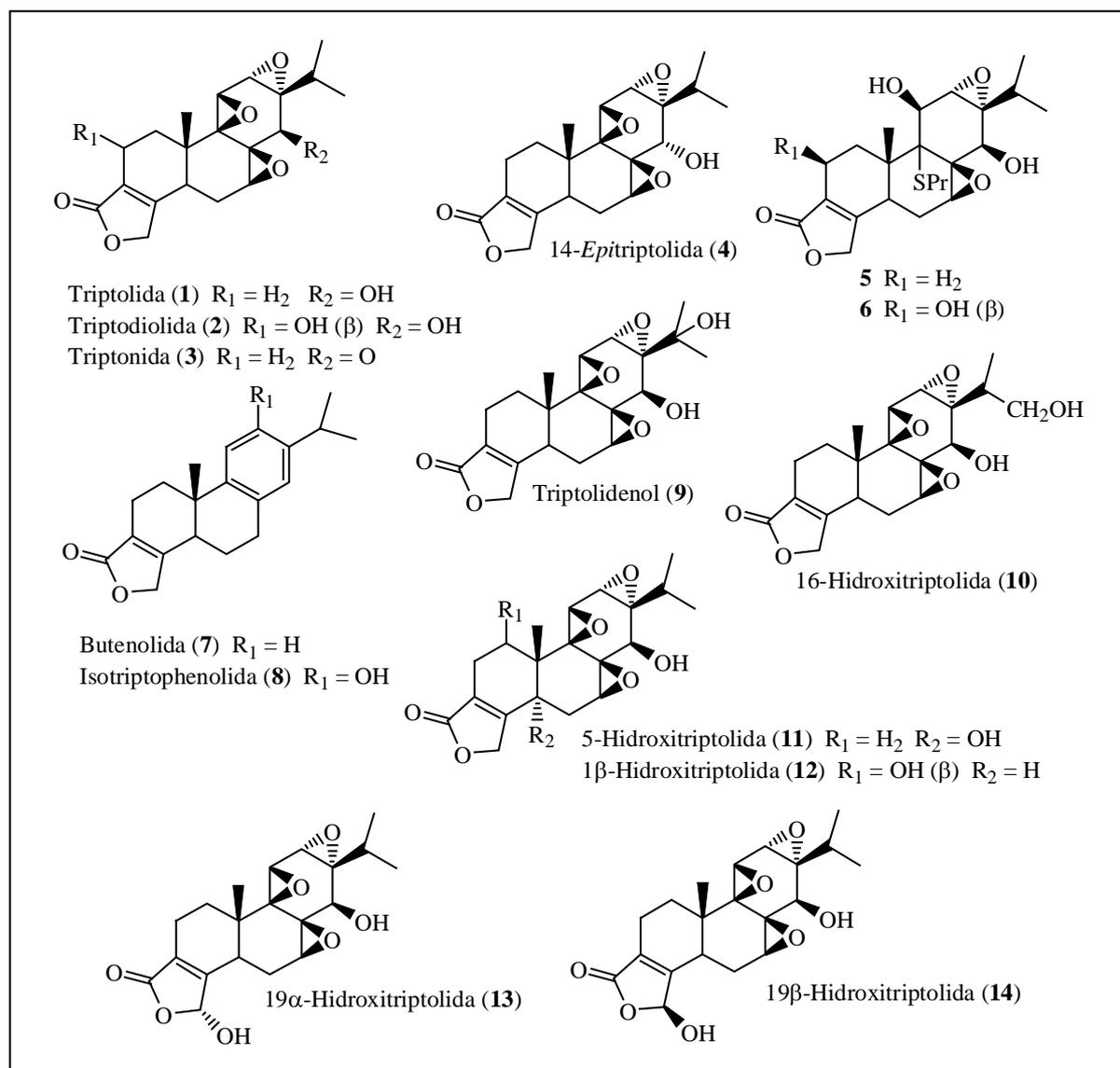
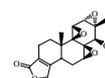
Kupchan y *col.*<sup>5</sup> establecieron como hipótesis, que el sistema 9,11-epoxi-14β-hidroxilo presente en los potentes antileucémicos (**1**) y (**2**), era necesario para la expresión de la actividad antileucémica. Así, los derivados 14-*epitriptolida* (**4**), principal producto de reducción de la triptonida (**3**), con el grupo hidroxilo sobre C-14 en disposición α y los tioles (**5**) y (**6**), obtenidos por la alquilación selectiva de triptolida (**1**) y triptodiolida (**2**), respectivamente, que carecen del grupo epóxido-9,11 (Figura 34), resultaron inactivos a una dosis de 0.4 mg/Kg. La importancia del sistema 9,11-epoxi-14β-hidroxilo, para la expresión de actividad se puso asimismo de manifiesto en los resultados obtenidos frente a la línea celular KB, siendo las DE<sub>50</sub> para los productos (**1**), (**2**), (**3**) y (**4**) de 0.0017, 0.0042, 0.021 y 0.076, respectivamente; mientras que los compuestos (**5**) y (**6**) presentaron una DE<sub>50</sub> > 1µg/mL. Estos resultados estaban de acuerdo con la hipótesis establecida, según la cual el grupo hidroxilo favorece el ataque de nucleófilos sobre el epóxido-9,11, imitando el mecanismo por el cual las triptolidas antileucémicas ejercen su actividad biológica.

Posteriormente, en 1991,<sup>7</sup> se publicaron los efectos citotóxicos de triptolida (**1**) frente a células de cáncer de mama (MCFG-7 y BT-20), cáncer de estómago (MKN-45, MKN-7 y KATO-III) y leucemia promielocítica (HL-60), siendo los resultados similares a los obtenidos frente a la línea celular de leucemia HL-60 (IC<sub>50</sub> 0.504-1.22 µg/mL).

Estos resultados sugieren que triptolida (**1**) tiene un posible potencial terapéutico sobre algunos tipos de tumores sólidos, como son el cáncer de mama o el cáncer de estómago.

<sup>8</sup> Gilmore, C. J.; Bryan, R. F. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. II*, 6, 816-819, **1973**.

<sup>9</sup> Kupchan, S. M.; Court, W. A.; Dailey, Jr. R. G.; Gilmore, C. J.; Bryan, R. F. *J. Am. Chem. Soc.*, 94, 7194-7195, **1972**.



**Figura 34.** Diterpenos triepoxidados y derivados aislados de celastráceas.

El aislamiento de este tipo de compuestos antileucémicos animó a Kutney y *col.*<sup>10,11</sup> a desarrollar una línea celular de cultivo de plantas de *T. wilfordii*, que produjera estos compuestos en un rendimiento más alto y bajo condiciones controladas de laboratorio. Así, este equipo publicó el desarrollo de una línea celular estable, conocida como TRP4a, capaz de producir los diterpenos citotóxicos, triptolida (1) y triptodiolida (2), con un rendimiento de 3 a 16 veces mayor que el observado en plantas colectadas en el campo. Estos mismos autores, obtuvieron nuevos análogos, mediante síntesis y biotransformaciones catalizadas por

<sup>10</sup> Kutney, J. P.; Hewitt, G. M.; Kurihara, T.; Salisbury, P. J.; Sindelar, R. D.; Stuart, K. L.; Townsley, P. M.; Chalmers, W. T.; Jacoli, G. G. *Can. J. Chem.*, 59, 2677-2683, **1981**.

<sup>11</sup> Kutney, J. P.; Hewitt, G. M.; Lee, G.; Piotrowska, K.; Roberts, M.; Rettig, S. J. *Can. J. Chem.*, 70, 1455-1480, **1992**.

enzimas.<sup>12</sup> Así, obtuvieron los análogos (**7**) y (**8**) a partir del ácido dehidroabietico (Figura 34) que fueron evaluados, junto a (**1**) y (**2**), en sistemas de leucemia linfocítica de ratones P-388 y en seis líneas celulares de diferentes cánceres humanos *in vitro*. La actividad más significativa se encontró en los diterpenos triepoxidados (**1**) y (**2**) (DE<sub>50</sub> de 0.01 y 0.04 µg/mL, respectivamente), mientras que los análogos (**7**) y (**8**), exhibieron baja actividad. Aunque el estudio de la relación estructura-actividad para esta familia de diterpenos es aún incompleto, se ha sugerido que la presencia del epóxido en los anillos B y/o C es importante para la actividad antineoplásica.

Recientemente, Ning y *col.*<sup>13</sup> realizaron biotransformaciones de triptolida (**1**), utilizando el hongo *Cunninghamella blakesleana*, obteniendo así siete productos de los cuales cuatro resultaron ser nuevos en la literatura química. Sus estructuras fueron caracterizadas como, triptodiolida (**2**), triptolidenol (**9**), 16-hidroxitriptolida (**10**), 5 $\alpha$ -hidroxitriptolida (**11**), 1 $\beta$ -hidroxitriptolida (**12**), 19 $\alpha$ -hidroxitriptolida (**13**) y 19 $\beta$ -hidroxitriptolida (**14**) (Figura 34). Los productos **11-14** resultaron ser nuevos en la literatura química y mostraron potente actividad citotóxica *in vitro* frente a algunas líneas tumorales humanas.

Van Tamelen<sup>14</sup> y Buckanin,<sup>15</sup> realizaron los primeros esfuerzos en la síntesis total de triptolida (**1**). Posteriormente, Yang y *col.*<sup>16</sup>, reportaron un método eficaz para la síntesis total de análogos de triptolida (**1**), utilizando dioxiranos generados *in situ*; los compuestos **16** y **17**, obtenidos por epoxidación de la isopropildienona (**15**) (Figura 35), mostraron ser citotóxicos en células de leucemia humana HL-60 (CI<sub>50</sub> 16 µM para ambos) y frente a células del linfoma humano de Jurkat (CI<sub>50</sub> 31 µM y 36 µM, respectivamente). Estos resultados sugieren que el grupo electrofílico  $\alpha,\beta$ -enona, presente en ambos compuestos, puede ser el responsable de la actividad, comparable a la de triptolida.

Recientemente, se llevó a cabo con éxito la síntesis total enantioselectiva de triptolida (**1**) y triptonida (**3**), entre otros diterpenos.<sup>17</sup>

<sup>12</sup> Kutney, J. P.; Han, K.; Kuri-Brena, F.; Milanova, R. K.; Roberts, M. *Heterocycles*, 44, 95-104, **1997**.

<sup>13</sup> Ning, L.; Zhan, J.; Qu, G.; Zhong, L.; Guo, H.; Bi, K.; Guo, D. *Tetrahedron*, 59, 4209-4213, **2003**.

<sup>14</sup> Van Tamelen, E. E.; Demers, J. P.; Taylor, E. G.; Soller, K. J. *J. Am. Chem. Soc.*, 102, 5424-5425, **1980**.

<sup>15</sup> Buckanin, R. S.; Chen, S. J.; Zimmerman, D. F.; Sher, F. T.; Berchtold, G. A. *J. Org. Chem.*, 47, 2364-2369, **1982**.

<sup>16</sup> Yang, D.; Wong, M. K.; Cheung, K. K.; Chan, E. W. C.; Xie, Y. *Tetrahedron Lett.*, 38, 6865-6868, **1997**.

<sup>17</sup> Yang, D.; Ye, X.-Y.; Xu, M. *J. Org. Chem.*, 65, 2208-2217, **2000**.

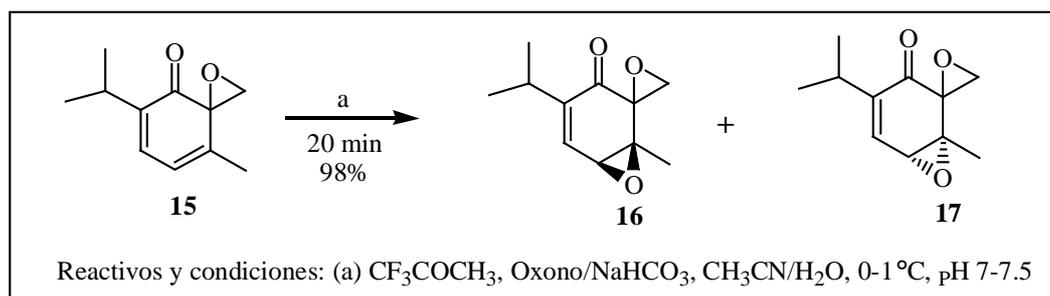
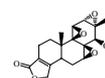


Figura 35. Síntesis de triepóxidos análogos de triptolida.

### Actividad inmunomoduladora y antiinflamatoria

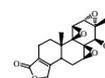
En los últimos 20 años, se han estudiado plantas de la medicina tradicional China en la búsqueda de metabolitos con actividad inmunomoduladora. A lo largo de estos estudios, se aislaron seis lactonas diterpénicas epoxidadas con actividad antiinflamatoria e inmunosupresora de *T. wilfordii*. Zheng y col.<sup>18</sup> publicaron que triptolida (**1**), triptodiolida (**2**), triptonida (**3**), triptolidenol (**9**) y triptochlorolida (**18**) poseen tanto actividad inmunosupresora como antiinflamatoria, y triptriolida (**19**) mostró actividad antiinflamatoria (Figura 36).

La actividad inmunomoduladora de triptolida (**1**) y su mecanismo de acción ha sido ampliamente estudiada en China. En esta línea, se evaluaron los efectos de triptolida sobre la mezcla de cultivos de linfocitos (MLC), actividad supresora de linfocitos T supresores ( $T_S$ ), un tipo reacción de hipersensibilidad retardada (DHT), actividad secretora de interleuquina-2 (IL-2) y la relación  $T_H/T_S$  (linfocitos T cooperadores/linfocitos T supresores). Pruebas *in vivo* mostraron que triptolida (**1**) es efectiva para inhibir el rechazo de injertos de piel.<sup>19</sup>

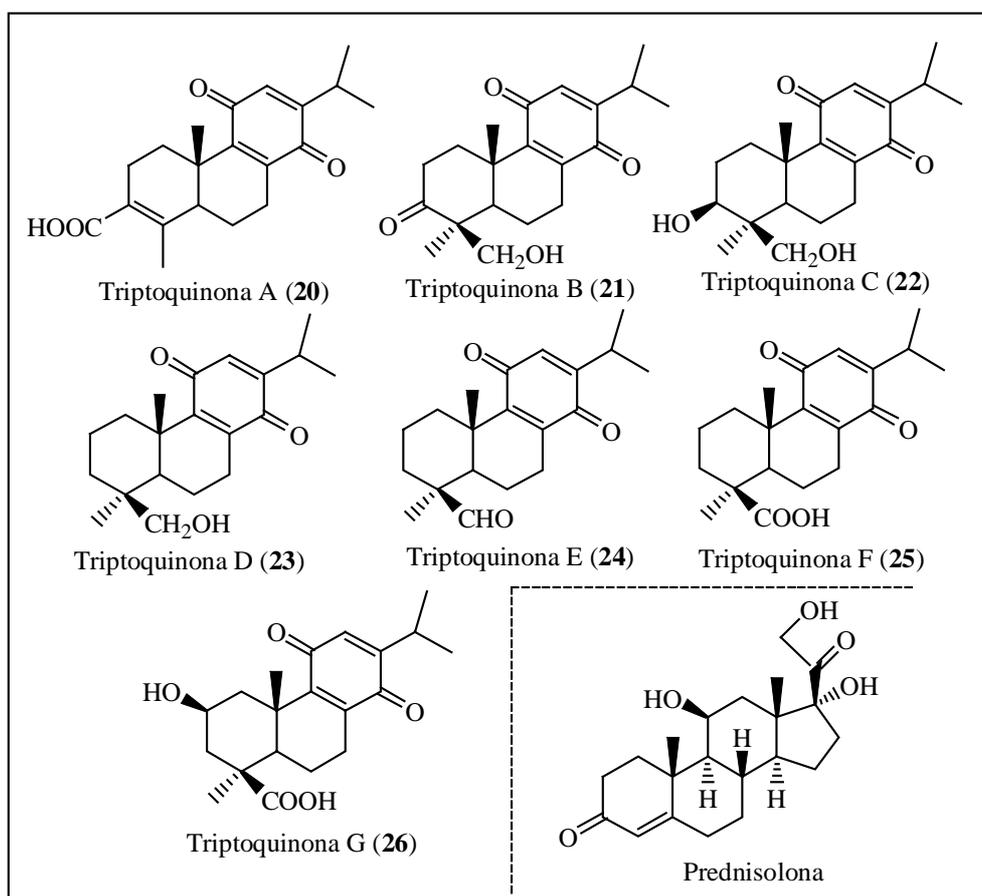
<sup>18</sup> Zheng, J. R.; Gu, K.; Xu, L.; Gao, J.; Yu, Y.; Tang, M. *Acta Acad. Med. Sin.*, 13, 391-397, **1991**.

<sup>19</sup> Yang, S. X.; Gao, H. L.; Xie, S. S.; Zhang, W. R.; Long, Z. Z. *Int. J. Immunopharmacol.*, 14, 963-969, **1992**.





inhibe completamente la IL-1 a una dosis de 0.1  $\mu\text{g/mL}$ , siendo más potente incluso que la prednisolona.<sup>24</sup>



**Figura 37.** Inhibidores de interleuquina 1 aislados de *Tripterygium wilfordii* y estructura de prednisolona.

### Actividad Anticonceptiva

El desarrollo de anticonceptivos ha estado encaminado a la mujer. La dificultad de aplicar los mismos métodos al hombre y la falta de concienciación al respecto han sido obstáculos para lograr anticonceptivos masculinos, no obstante, la mentalidad en este sentido están empezando a cambiar. Desde que en los años 60 se introdujo la píldora anticonceptiva para la mujer, ya conocida como la “píldora” sin más apelativos, no se han producido avances demasiado espectaculares en lo referente a los anticonceptivos masculinos.

<sup>24</sup> Duan, H.; Takaiishi, Y.; Momota, H.; Ohmoto, Y.; Taki, T.; Tori, M.; Takaoka, S.; Jia, Y.; Li, D. *Tetrahedron*, 57, 8413-8424, 2001.

Los extractos acuosos y alcohólicos de las raíces de *T. wilfordii* han mostrado efectos sobre el sistema reproductivo y este hecho ha estimulado la investigación, particularmente en lo relacionando con el sistema reproductor masculino y su posible uso en el control de la natalidad. Yu y col.<sup>25,26</sup> trataron con *T. wilfordii* a nueve pacientes con artritis reumatoidea, durante un período de 2 a 56 meses, observándose necropermia (la mayoría de los espermatozoides están muertos) o azoospermia (ausencia total de espermatozoides en el eyaculado). En un experimento realizado con ratas Wistar, se descubrió que el epitelio seminífero fue dañado y que los niveles de testosterona fueron disminuidos cuando las ratas se alimentaron con *T. wilfordii*. En otro estudio, se observó esterilidad en ratas después de recibir *T. wilfordii* durante 8 semanas, la motilidad y concentración del esperma disminuyó considerablemente y no se observó evidencia de toxicidad. Después de un período de 4 a 5 semanas sin la administración de *T. wilfordii* se había recuperado completamente la fertilidad. En este contexto, experimentos farmacológicos revelaron que triptolida (**1**), triptodiolida (**2**) y triptoclorolida (**18**) mostraron actividad anticonceptiva.

Zhen y col.<sup>27</sup> administraron *T. wilfordii* a 26 hombres fértiles para tratar la soriasis y observaron que después de un mes de tratamiento, la densidad y motilidad del esperma había disminuido significativamente y a los dos meses la densidad y motilidad disminuyó aun más. Después de un mes sin tratamiento la densidad y motilidad del esperma aumentó significativamente y a los dos meses restauraron los niveles de pre-tratamiento. Por lo tanto, se concluyó que al administrar dosis pequeñas de *T. wilfordii* se causa esterilidad reversible y uno de los sitios de acción podría ser el esperma epididimal. Zhen y col. aislaron de esta planta seis diterpenos epoxidados, triptolida (**1**), triptodiolida (**2**), triptolidenol (**9**), 16-hidroxitriptolida (**10**) y triptoclorolida (**18**).

En 1998, se demostró que a una dosis de 100 µg/Kg/día durante 35 a 70 días, triptolida (**1**) inducía esterilidad completa en ratas adultas, con efectos adversos fueron mínimos, principalmente sobre las testes y este actúa a nivel del esperma epididimal, haciendo de triptolida (**1**) un atractivo líder como un anticonceptivo masculino post-testicular.<sup>28</sup>

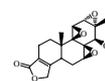
---

<sup>25</sup> Zhang, Z.; Ding, L.; Qian, S.; An, D. *J. Chin. Pharm. Sci.*, 2, 144, **1993**.

<sup>26</sup> Matlin, S. A.; Belenguer, A.; Stacey, V. E.; Qian, S. Z.; Xu, Y.; Zhang, J. W.; Sanders, J. K. M.; Amor, S. R.; Pearce, C. M. *Contraception*, 47, 387-400, **1993**.

<sup>27</sup> Zhen, Q. S.; Ye, X.; Wei, Z. J. *Contraception*, 51, 121-129, **1995**.

<sup>28</sup> Lue, Y.; Hikim, A. P. S.; Wang, C.; Leung, A.; Baravarian, S.; Reutrakul, V.; Sangsawan, R.; Chaichana, S.; Swerdloff, R. *S. J. Androl.*, 19, 479-486, **1998**.



Wang y col.<sup>29</sup> evaluaron el efecto anticonceptivo de triptochlorolida (**18**), a una dosis de 50 µg/Kg/día durante 5 semanas, sobre la epididimidas y testes de ratas, observándose cambios morfológicos en los espermatozoides epididimales, principalmente separación de la cabeza y la cola. Se encontraron los espermátides desprendidos en los túbulos seminíferos y epididimales. Triptochlorolida (**18**) no tubo influencia sobre la lactato deshidrogenasa-C4 (LDH-C4) y la actividad de la hialuronidasa. No se observó ninguna lesión clara sobre el epitelio seminífero y epididimal, concluyendo que las principales dianas son las espermátides y los espermatozoos testiculares y epididimales.

### Otras actividades

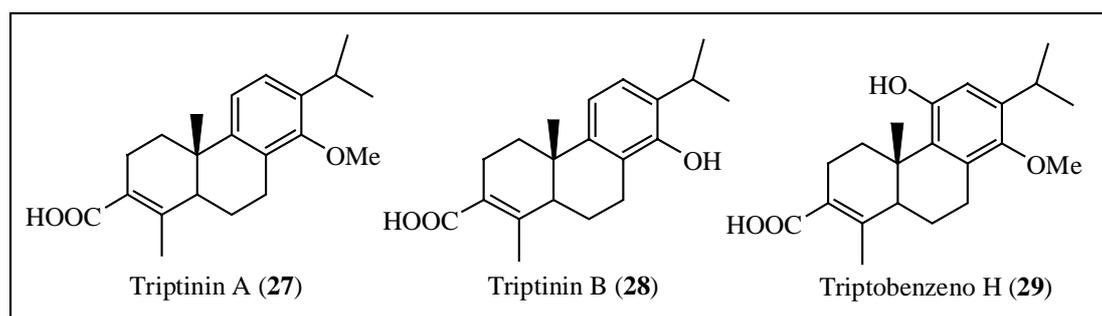
En el curso de un programa sobre la búsqueda de compuestos antialérgicos a partir de plantas de la flora China, el extracto etanólico de las raíces de *T. wilfordii* mostró potente actividad antagonica del leucotrieno D<sub>4</sub> (LTD<sub>4</sub>), utilizando el bioensayo de los músculos traqueales de cuy.

Del fraccionamiento bioguiado del extracto se aislaron cuatro compuestos bioactivos, dos de ellos, triptinin A (**27**) y B (**28**), resultaron ser diterpenos 19 (4→3)abeo-abietanos, mientras que los otros dos compuestos fueron identificados como triptoquinona A (**20**)<sup>23</sup> y el compuesto relacionado, triptobenzeno H (**29**)<sup>30</sup> (Figura 38). Estos compuestos parecen ser antagonistas competitivos de LTD<sub>4</sub> con valores de K<sub>D</sub> x 10<sup>-5</sup> (constante de disociación entre receptor y antagonista) de 4.5, 20.2, 12.4 y 3.4 para (**29**), (**20**), (**27**) y (**28**), respectivamente, a una concentración de 50 µg/mL. Estos compuestos son los primeros diterpenos que se reportan como antagonistas de LTD<sub>4</sub> y sus resultados explican por que se prescribe *T. wilfordii* en la medicina tradicional China como un agente anti-asmático.<sup>31</sup>

<sup>29</sup> Wang, Z.-P.; Gu, Z.-P.; Cao, L.; Xu, Y.; You, G.-D.; Mao, B.-Y.; Qian, S.-Z. *J. Androl.*, 1, 121-125, **1999**.

<sup>30</sup> Takaishi, Y.; Goto, K.; Takai, M.; Taniguchi, T.; Manabe, S.; Asakuni, T. Japan Patent 211035, **1992**, C. A. 116 28115d, **1992**.

<sup>31</sup> Xu, J.; Ikekawa, T.; Ohkawa, M.; Yokota, I.; Hara, N.; Fujimoto, Y. *Phytochemistry*, 44, 1511-1514, **1997**.



**Figura 38.** Antagonistas Leucotrieno D4 19 (4→3) abeo-abietanos aislados de *Tripterygium wilfordii*.

*Diterpenos del Abietrieno  
aislados de Crossopetalum uragoga*

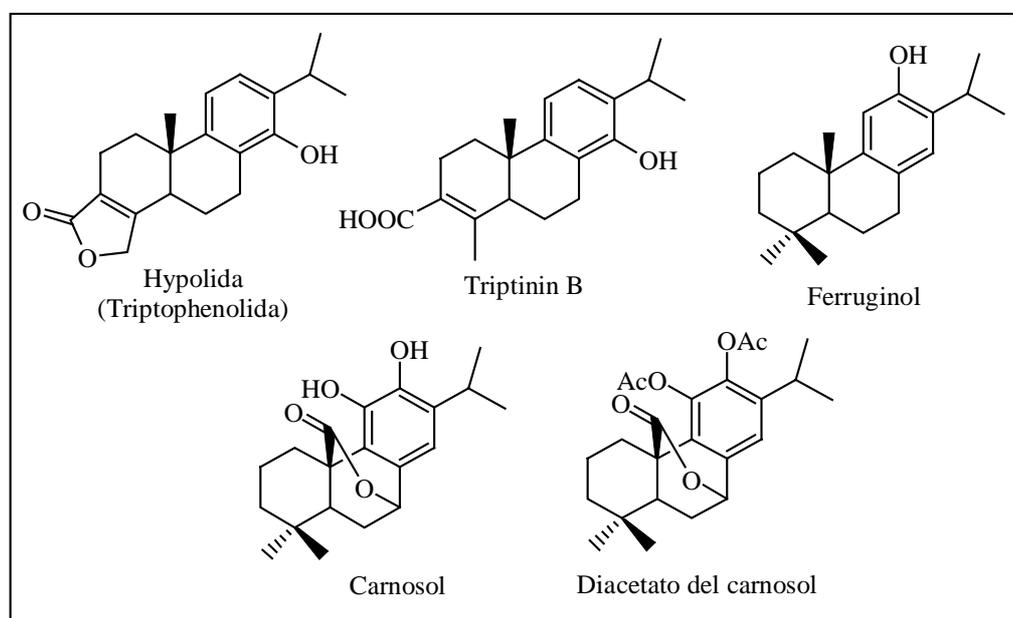


Del extracto diclorometánico de hojas y tallo de *Crossopetalum uragoga*, se aislaron diterpenos de la serie del abietatrieno, cinco de los cuales habían sido descritos previamente en la literatura química y que se relacionan a continuación:

**Aislados de las hojas:** hypolida (triptophenolida)<sup>1</sup> y triptinin B.<sup>2</sup>

**Aislados de los tallos:** ferruginol,<sup>3</sup> carnosol<sup>4</sup> y diacetato del carnosol.<sup>4</sup>

Las estructuras de los diferentes diterpenos se muestran a continuación:



Además, se aisló de los tallos de *Crossopetalum uragoga* un diterpeno nuevo en la bibliografía química, que hemos denominado **D-1** y cuya elucidación estructural pasamos a detallar a continuación.

<sup>1</sup>Wu, D. G.; Sun, X. C.; Li, F. *Yunnan Zhiwu Yanjiu*, 1, 29-36, **1979**.

<sup>2</sup>Xu, J.; Ikekawa, T.; Ohakawa, M.; Yokota, I.; Hara, N.; Fujimoto, Y. *Phytochemistry*, 44, 1511-1514, **1997**.

<sup>3</sup>Bredenberg, J. B.-S. *Acta Chem. Scand.*, 11, 932-935, **1957**.

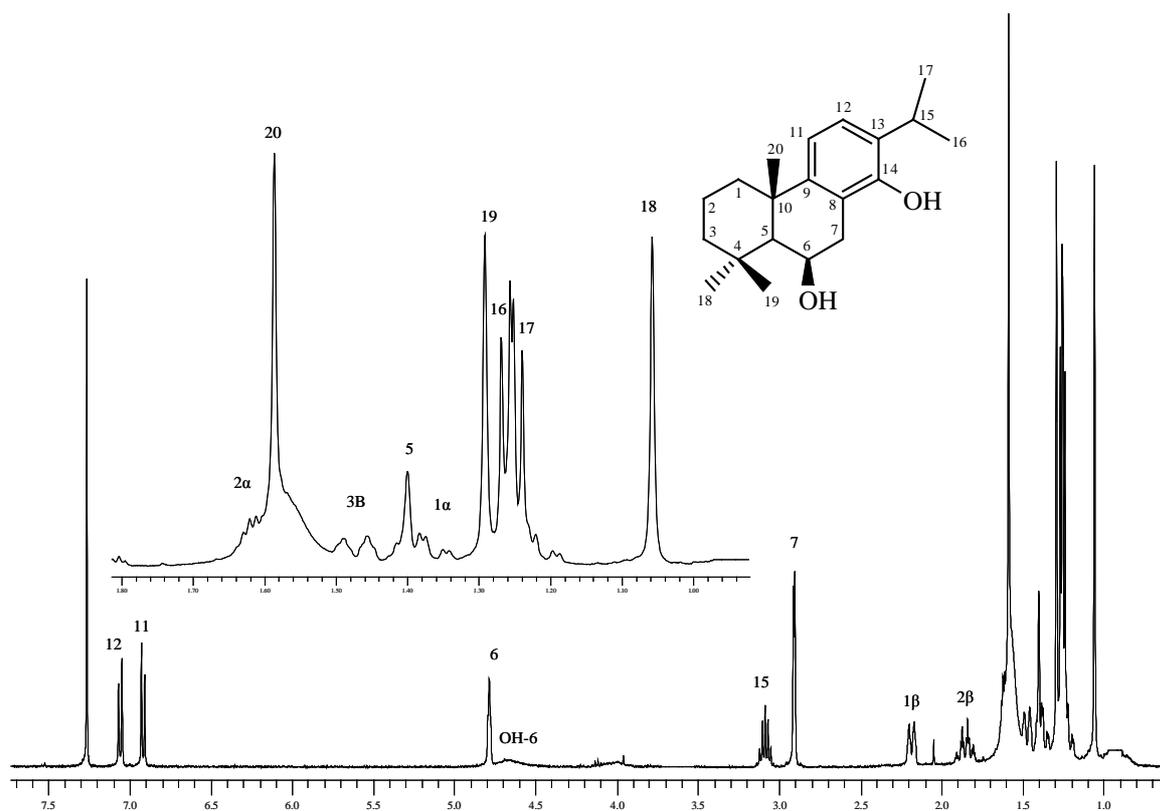
<sup>4</sup>Brieskorn, C. H.; Fuchs, A.; Bredenberg, J. B.-S.; McChesney, J. D.; Wenkert, E. *J. Org. Chem.*, 29, 2293-2298, **1964**.

**Diterpeno: D-1**

El compuesto denominado **D-1** presentó una fórmula molecular  $C_{20}H_{30}O_2$ , determinada por espectrometría de alta resolución, fórmula que indica 6 grados de insaturación. El espectro de masas presentó fragmentos correspondientes a la pérdida de metilo ( $15 m/z$ ,  $CH_3$ ) y  $H_2O + CH_3$  ( $33 m/z$ ,  $CH_5O^+$ ).

En su espectro de IR se observaron bandas de absorción correspondientes a grupo aromático ( $3467\text{ cm}^{-1}$ ) lo que fue confirmado por la presencia en su espectro de UV de bandas absorción a 204 y 271 nm.

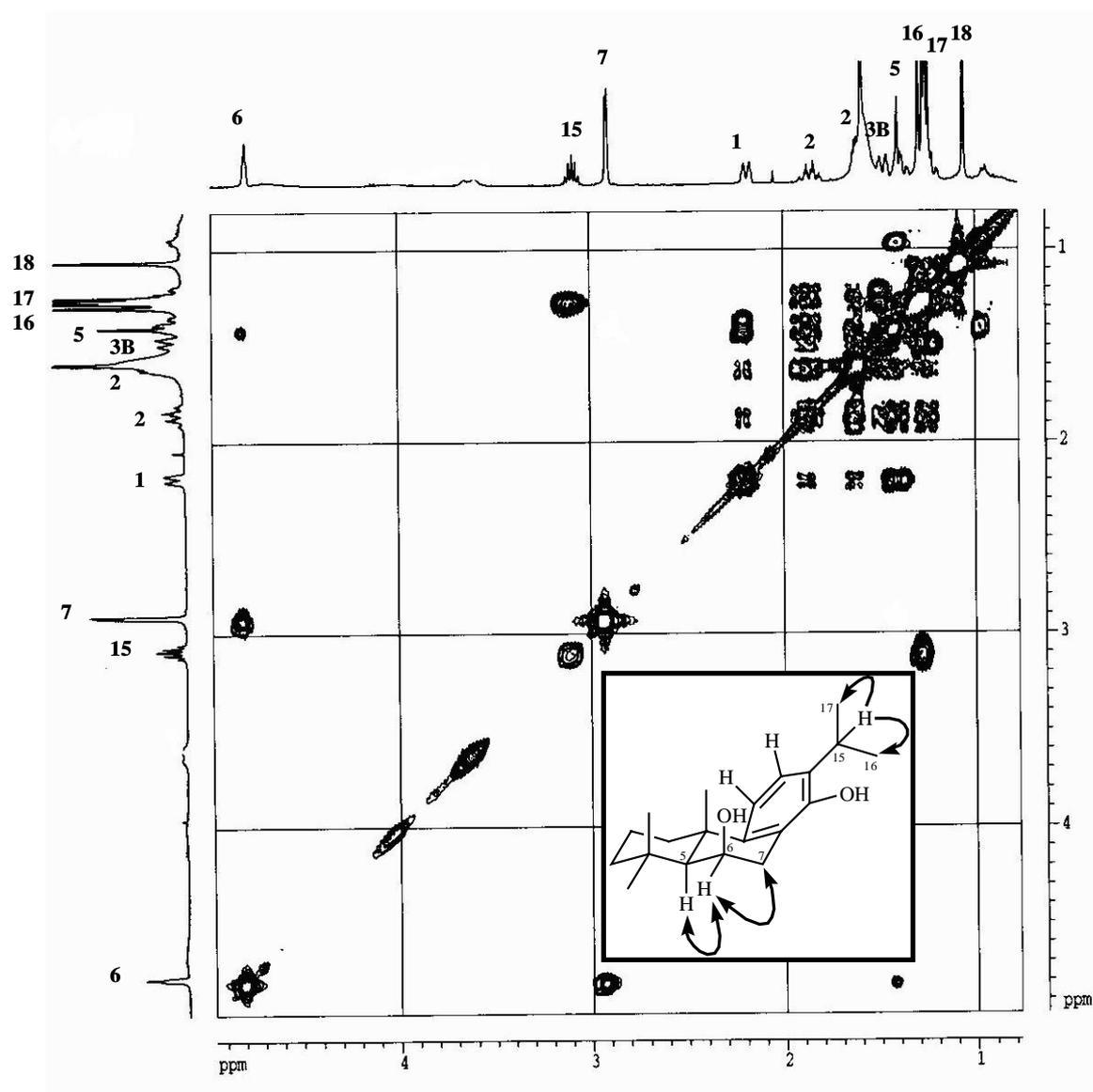
El espectro de RMN  $^1H$  (Tabla 9), presentó señales para un grupo isopropilo a  $\delta_H$  3.09 (1H, sept, H-15), 1.25 (3H, d,  $J = 6.7$  Hz, Me-17) y 1.26 (3H, d,  $J = 6.7$  Hz, Me-16); un protón metínico geminal a grupo hidroxilo a  $\delta_H$  a 4.78 (t,  $J = 2.8$  Hz) y dos protones aromáticos en posición *orto* a  $\delta_H$  6.90 (1H, d,  $J = 8.3$  Hz) y 7.06 (1H, d,  $J = 8.3$  Hz).



Espectro de RMN  $^1H$  ( $CDCl_3$ , 400 MHz) de **D-1**



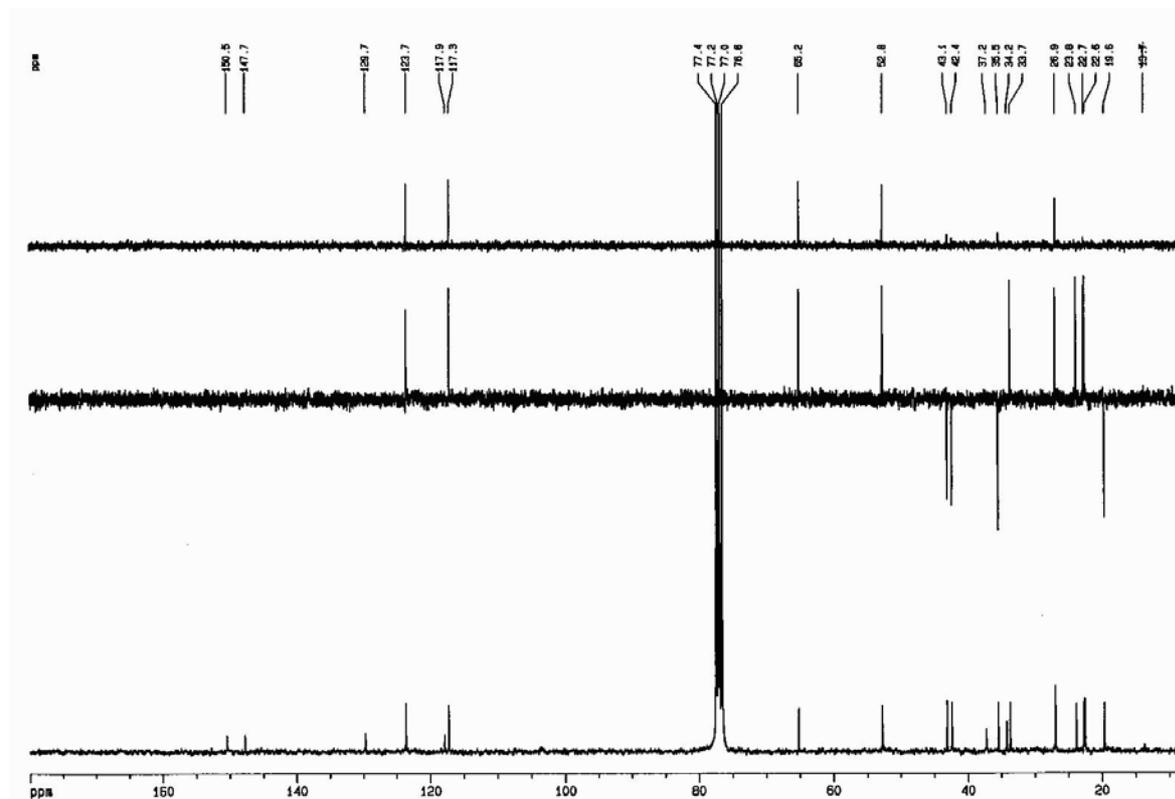
Haciendo uso del experimento  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY, las señales a  $\delta_{\text{H}}$  1.40 (1H, s), 4.78 (1H, t) y 2.90 (2H, d,  $J = 3.3$  Hz) fueron asignadas a H-5, H-6 y H-7, respectivamente; además, se observó correlación entre H-15 ( $\delta_{\text{H}}$  3.09, sept) y los metilos 16 ( $\delta_{\text{H}}$  1.26, d,  $J = 6.7$  Hz) y 17 ( $\delta_{\text{H}}$  1.25, d,  $J = 6.7$  Hz).



Experimento  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY para **D-1**

En su espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (Tabla 9) se observaron señales para 20 carbonos, incluyendo un anillo aromático, cinco metilos y un metino oxigenado ( $\delta_{\text{C}}$  65.2, d), datos obtenidos mediante experimentos DEPT y HSQC. Estos datos nos indican que **D-1** es un diterpeno

tipo abietano, con desplazamientos similares al compuesto denominado  $6\alpha,14$ -dihidroxi-abieta-8,11,13-trieno.<sup>5</sup>

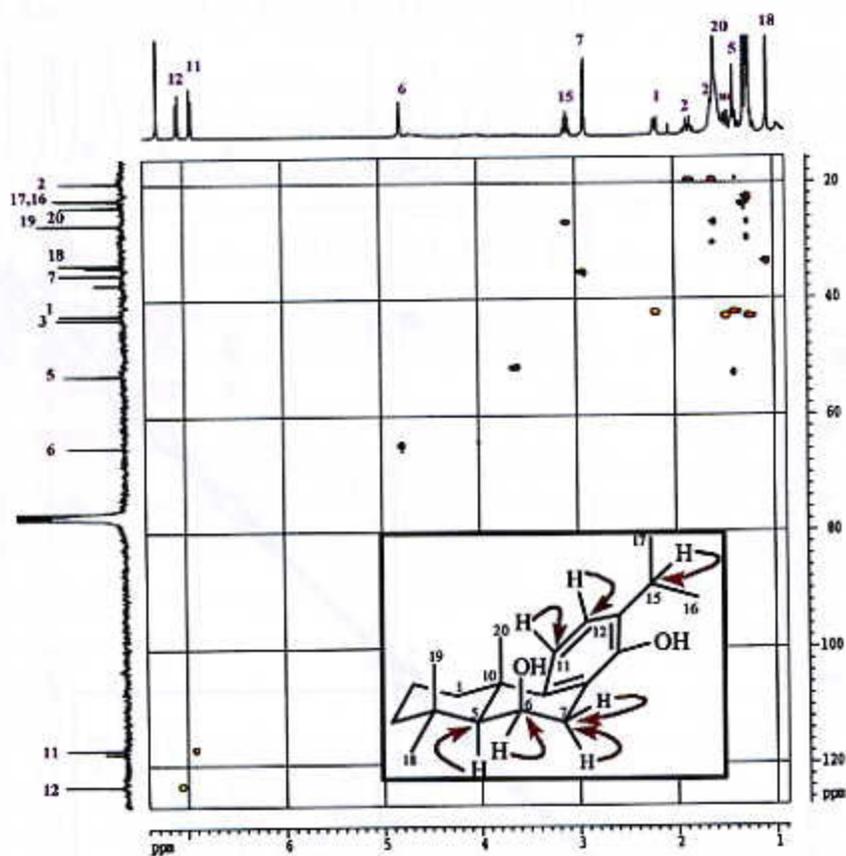
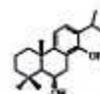


Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz) de **D-1**

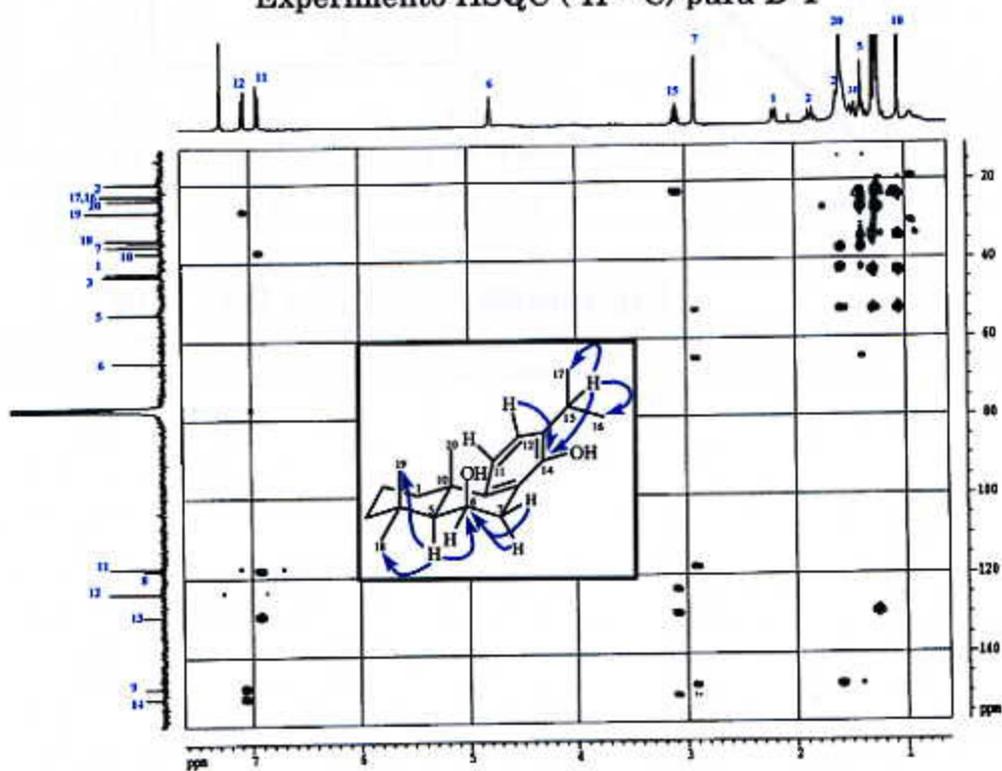
En el experimento HMBC se observó correlación entre las señales a  $\delta_{\text{H}}$  1.40 (H-5) y  $\delta_{\text{H}}$  2.90 (H-7) con el carbono metínico a  $\delta_{\text{C}}$  65.2, lo que nos permitió situar el grupo hidroxilo sobre el C-6. Además, se observó correlación entre las señales a  $\delta_{\text{H}}$  7.06 (H-12) y  $\delta_{\text{H}}$  3.09 (H-15) y el carbono aromático a  $\delta_{\text{C}}$  150.5 (s), situando así el hidroxilo fenólico sobre el C-14.

En un experimento ROESY, se observaron efectos NOE entre H-6 con el Me-18 y H-5 y entre Me-19 y Me-20 con OH-6. Estos datos y comparación con los dados en la literatura para  $6\alpha,14$ -dihidroxi-abietano-8,11,13-trieno<sup>5</sup> permitió establecer la estructura de **D-1** como  $6\beta,14$ -dihidroxi-abieta-8,11,13-trieno.

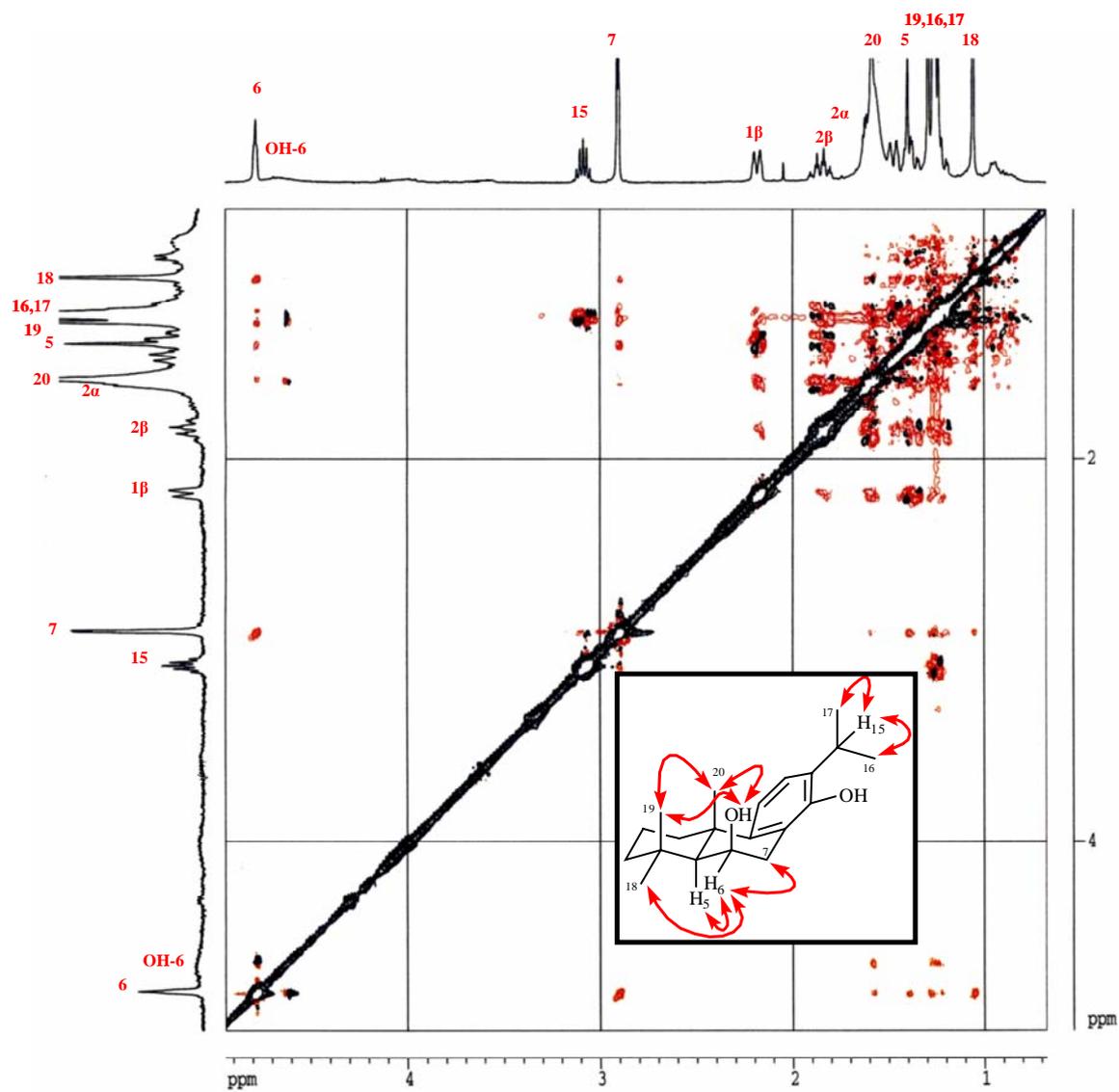
<sup>5</sup> Akita, H.; Anasawa, A.; Oishi, T. *Chem. Pharm. Bull.*, 29, 1588-1593, 1981.



Experimento HSQC ( $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ ) para D-1



Experimento HMBC ( $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ ) de D-1

Experimento HMBC ( $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ ) de **D-1**Experimento **ROESY** para **D-1**



**Tabla 9.** Datos de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz) y  $^{13}\text{C}$  (100 MHz) del compuesto **D-1**

Posición	$\delta_{\text{H}}^{\text{a}}$	$\delta_{\text{C}}^{\text{b}}$
<b>1</b>	1.36 dd (3.5, 13.3), $\alpha$ 2.18 dt (2.8, 12.5), $\beta$	42.4 t
<b>2</b>	1.62, $\alpha$ 1.84 dt (3.4, 13.3), $\beta$	19.6 t
<b>3</b>	1.23, A, 1.47 dt (1.2, 12.8), B	43.1 t
<b>4</b>		34.2 s
<b>5</b>	1.40 s	52.8 d
<b>6</b>	4.78 t (2.8)	65.2 d
<b>OH-6</b>	4.65 s a	
<b>7</b>	2.90 d (3.3)	35.5 t
<b>8</b>		117.9 s
<b>9</b>		147.7 s
<b>10</b>		37.2 s
<b>11</b>	6.90 d (8.3)	117.3 d
<b>12</b>	7.06 d (8.3)	123.7 d
<b>13</b>		129.7 s
<b>14</b>		150.5 s
<b>15</b>	3.09 sept.	26.9 d
<b>16</b>	1.26 d (6.7)	22.7 c
<b>17</b>	1.25 d (6.7)	22.6 c
<b>18</b>	1.06 s	33.7 c
<b>19</b>	1.29 s	26.9 c
<b>20</b>	1.58 s	23.8 c

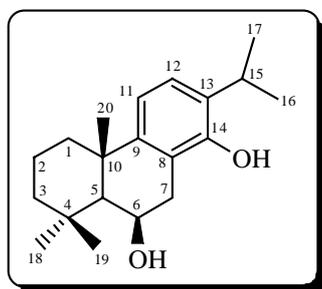
<sup>a</sup>  $\delta$ ,  $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz;  $J$  en paréntesis en Hz. Datos basados en experimentos COSY y HSQC.

<sup>b</sup>  $\delta$ ,  $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz. Datos basados en experimentos DEPT, HSQC y HMBC.

*Parte Experimental: Diterpenos*



### D-1: 6β,14-Dihidroxi-abieta-8,11,13-trieno



Laca incolora (6.0 mg);  $[\alpha]_D^{20} +14.0^\circ$  ( $c$  0.10,  $\text{CHCl}_3$ ); **UV (EtOH)**  $\lambda_{\text{max}}$  (**log  $\epsilon$** ) 204 (4.0), 271 (3.0) nm; **IR (película)**  $\nu_{\text{max}}$  3467, 2957, 2926, 2867, 1639, 1460, 1246, 1040, 760  $\text{cm}^{-1}$ ; **RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)**  $\delta$  1.06 (3H, s, Me-18), 1.23, (1H, H-3A), 1.25 (3H, d,  $J = 6.7$  Hz, Me-17), 1.26 (3H, d,  $J = 6.7$  Hz, Me-16), 1.29 (3H, s, Me-19), 1.36 (1H, dd,  $J = 3.5, 13.3$  Hz, H-1 $\alpha$ ), 1.40 (1H, s, H-5), 1.47 (1H, dt,  $J = 1.2, 12.8$  Hz, H-3B), 1.58 (3H, s, Me-20), 1.62 (1H, H-2 $\alpha$ ), 1.84 (1H, dt,  $J = 3.4, 13.3$  Hz, H-2 $\beta$ ), 2.18 (1H, dt,  $J = 2.8, 12.5$  Hz, H-1 $\beta$ ), 2.90 (2H, d,  $J = 3.3$  Hz, H-7), 3.09 (1H, sept, H-15), 4.65 (1H, s ancho, OH-6 $\beta$ ), 4.78 (1H, t,  $J = 2.8$  Hz, H-6 $\alpha$ ), 6.90 (1H, d,  $J = 8.3$  Hz, H-11), 7.06 (1H, d,  $J = 8.3$  Hz, H-12); **RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz)**  $\delta$  19.6 (t, C-2), 22.6 (c, C-17), 22.7 (c, C-16), 23.8 (c, C-20), 26.9 x 2 (d, C-15; c, C-19), 33.7 (c, C-18), 34.2 (s, C-4), 35.5 (t, C-7), 37.2 (s, C-10), 42.4 (t, C-1), 43.1 (t, C-3), 52.8 (d, C-5), 65.2 (d, C-6), 117.3 (d, C-11), 117.9 (s, C-8), 123.7 (d, C-12), 129.7 (s, C-13), 147.7 (s, C-9), 150.5 (s, C-14); **EMIE $^+$   $m/z$  (%)** 302 ( $\text{M}^+$ , 47), 287 ( $\text{M}^+$ -15, Me, 9), 269 ( $\text{M}^+$ -33,  $\text{CH}_3\text{O}^+$ , 100), 227 (17), 199 (13), 149 (13), 69 ( $\text{C}_4\text{H}_5\text{O}^+$ , 13), 55 ( $\text{C}_3\text{H}_3\text{O}^+$ , 7); **EMAR  $m/z$**  302.22131 (calculado para  $\text{C}_{20}\text{H}_{30}\text{O}_2$ , 302.22458).

*TRITERPENOS*



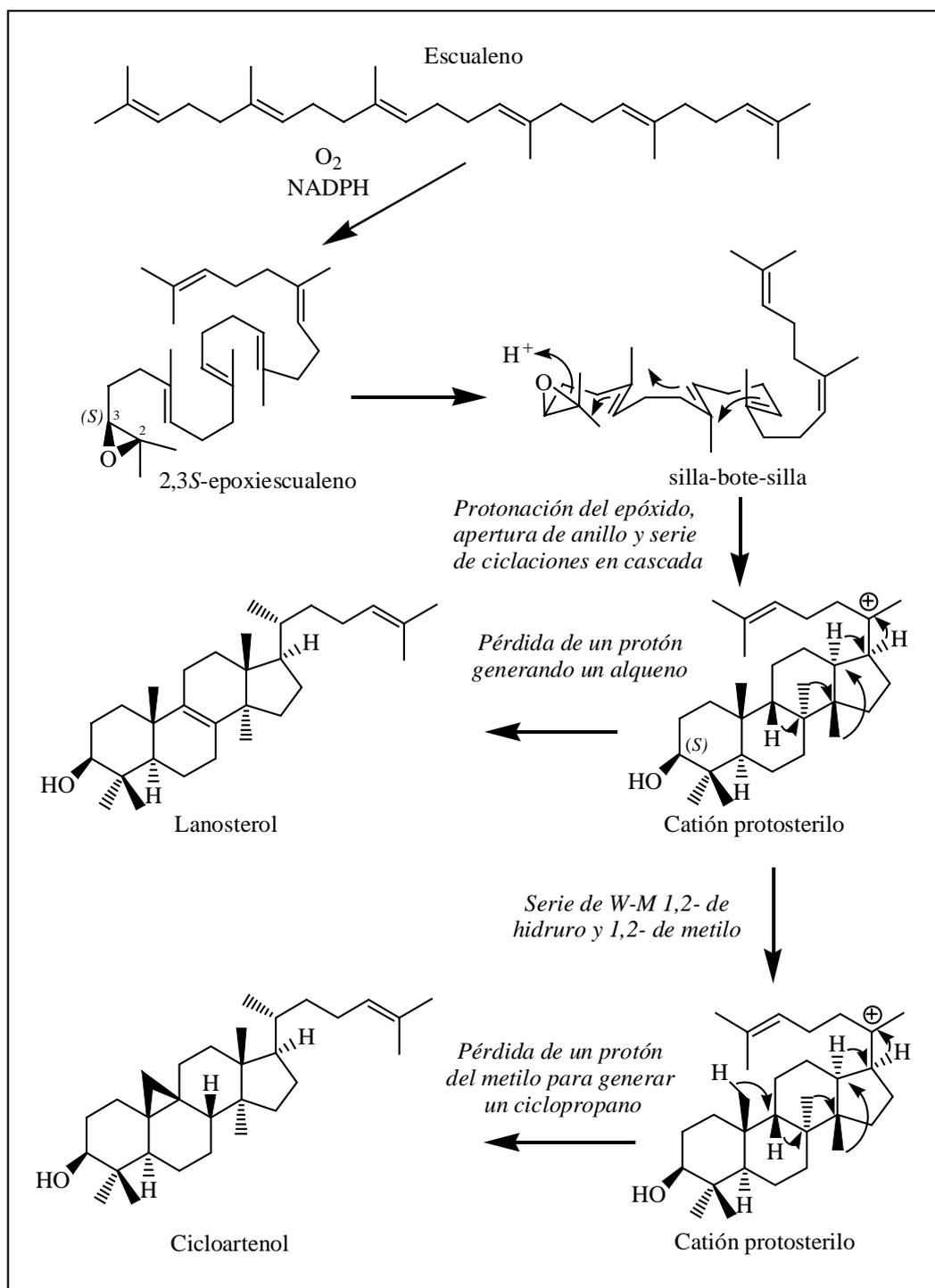
Los triterpenos constituyen un grupo muy amplio de metabolitos secundarios, con más de 5000 compuestos descritos hasta el momento, que pueden dividirse en diferentes familias químicas. Estos terpenos se forman por la unión de dos unidades de farnesil pirofosfato, que da lugar al escualeno, el cual es epoxidado enantioselectivamente por la cara  $\beta$  mediante acción enzimática, formándose el 2,3*S*-epoxiesqualeno.<sup>1</sup>

La mayoría de los esqueletos triterpénicos, tanto tetracíclicos como pentacíclicos, derivan de la ciclación de dos posibles conformeros de este epóxido, el silla-bote-silla y el silla-silla-silla. Una apertura regioselectiva del grupo epóxido, mediante protonación y a través de una secuencia de adiciones electrofílicas a los dobles enlaces presentes, da lugar a la formación de los correspondientes anillos, generándose dos intermedios claves, el catión protosterilo y el catión dammarenilo (Figura 39 y 40).

Los **esteroles** se forman a partir del **catión protosterilo**, que da lugar al **lanosterol** en animales y hongos o al **cicloartenol** en plantas. Los esteroles juegan un importante papel biológico ya que forman parte de las membranas celulares y actúan como precursores de las hormonas esteroideas.

---

<sup>1</sup> Dewick, P. M. *Medicinal Natural Products*, John Wiley & Sons Ltd.; Ed, Baffins Lane, Chichester, 2<sup>nd</sup> ed., **2002**.



**Figura 39.** Biosíntesis del lanosterol y cicloartenol a partir del escualeno.

Un gran número de triterpenos pentacíclicos se obtienen a partir del **catión dammarenilo** (Figura 40).<sup>1</sup> Los triterpenos pentacíclicos están constituidos por un esqueleto de 30 carbonos que pueden estar dispuestos en cinco anillos de seis miembros, como es el caso de los triterpenos con esqueleto de **ursano, oleano, taraxerano, glutinano**



y **friedelano**,<sup>2</sup> entre otros, o cuatro anillos de seis miembros y uno de cinco, como son los triterpenos con esqueleto de **lupano y hopano**.

En los últimos años, los triterpenos han tomado relevancia debido al amplio espectro de actividades biológicas que presentan, entre las que cabe destacar actividad antibacteriana, antifúngica, antiinflamatoria, antitumoral, antituberculosa y anti-VIH.<sup>3,4,5,6,7,8</sup>

Los triterpenos descritos de especies de la familia Celastraceae pertenecen, casi invariablemente, a las series **friedelano, lupano, oleano, glutinano, taraxerano, ursano y dammarano**.<sup>9,10,11,12,13</sup>

El  **$\beta$ -sitosterol** (Figura 41) es un esteroide presente en muchas plantas superiores, que ha sido aislado en la familia Celastraceae y sobre él se ha publicado una extensa relación de actividades biológicas. Así, cabe destacar que posee actividad antiinflamatoria y antipirética, con un efecto similar a la hidrocortisona y la oxifenbutazona. Además, presenta un amplio margen de seguridad debido a su mínimo efecto ulcerogénico, lo que le confiere un alto valor terapéutico. Recientemente, se ha descrito como posible fármaco para el tratamiento de la hiperplasia benigna de próstata.<sup>14</sup>

<sup>2</sup> Marcano, D.; Hasegawa, M. *Fitoquímica Orgánica*, Universidad Central de Venezuela, Caracas, **1991**.

<sup>3</sup> Nozaki, H.; Matsuura, Y.; Hirono, S.; Kasai, R.; Chang, J. J.; Lee, K. *J. Nat. Prod.*, 53, 1039-1041, **1990**.

<sup>4</sup> Tane, P.; Tsopmo, A.; Ngnokam, D.; Ayaford, J. F.; Sterner, O. *Tetrahedron*, 47, 14989-14994, **1996**.

<sup>5</sup> Kuo, Y.H.; Yang-Kio, L. M. *Phytochemistry*, 44, 1257-1281, **1997**.

<sup>6</sup> Wächter, G. A.; Valvic, S.; Franzblau, S. C.; Suarez, E.; Timmermann, B. N. *J. Nat. Prod.*, 64, 37-41, **2001**.

<sup>7</sup> Kashiwada, Y.; Chiyo, J.; Ikeshiro, Y.; Nagao, T.; Okabe, H.; Cosentino, L. M.; Fowke, K.; Lee, K. H. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 11, 183-185, **2001**.

<sup>8</sup> Zhang, H.-J.; Tan, G. T.; Hoang, V. D.; Hung, N. V.; Cuong, N. M.; Soejarto, D. D.; Pezzuto, J. M.; Fong, H. H. S. *J. Nat. Prod.*, 66, 263-268, **2003**.

<sup>9</sup> Cota, A. B.; Mascarenhas, Y. P.; Silva, G. D. F.; De Souza, J. R. *Acta Crystallogr. C*, C46, 326-327, **1990**.

<sup>10</sup> González, A. G.; Bazzocchi, I. L.; Ravelo, A. G.; Luis, J. G.; Domínguez, X. A. *Rev. Latin. Química*, 20, 17, **1989**.

<sup>11</sup> Dantanarayana, A. P.; Kumar, N. S.; Muthukuda, P. M.; Balasubramaniam, S. *Phytochemistry*, 22, 473-474, **1983**.

<sup>12</sup> De Fatima, G. D. S.; Duarte, L. P.; Da Silva, H. C. P.; De Sousa, J. R.; Nonato, M. C.; Portezani, P. J.; Mascarenhas, Y. P. *J. Brazil Chem. Soc.*, 9, 461-464, **1998**.

<sup>13</sup> Chavez, H.; Estevez-Braun, A.; Ravelo, A. G.; González, A. G. *Tetrahedron*, 53, 6465-6472, **1997**.

<sup>14</sup> Wilt, T. J. *B. J. U. Int.*, 83, 976-983, **1999**.

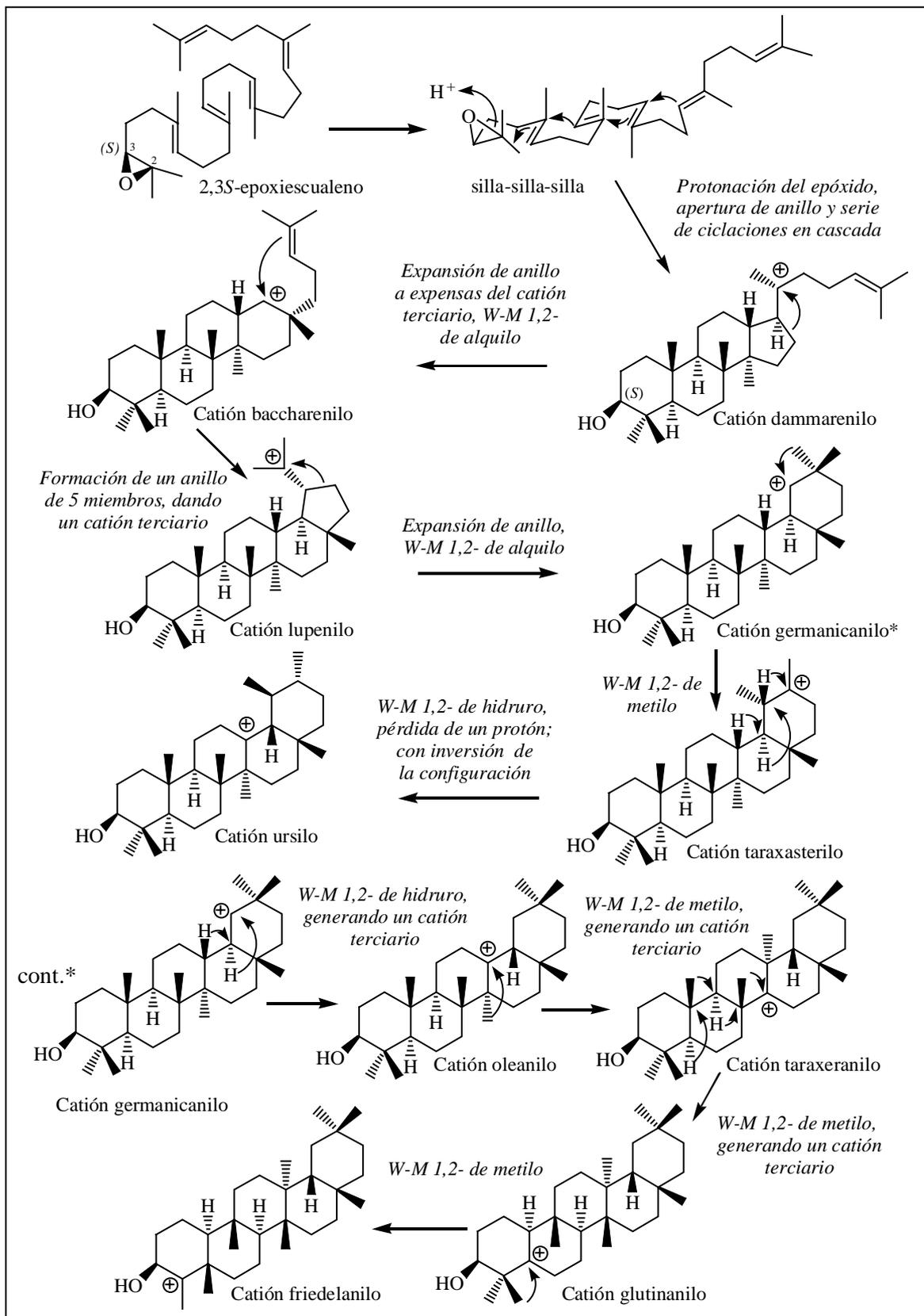
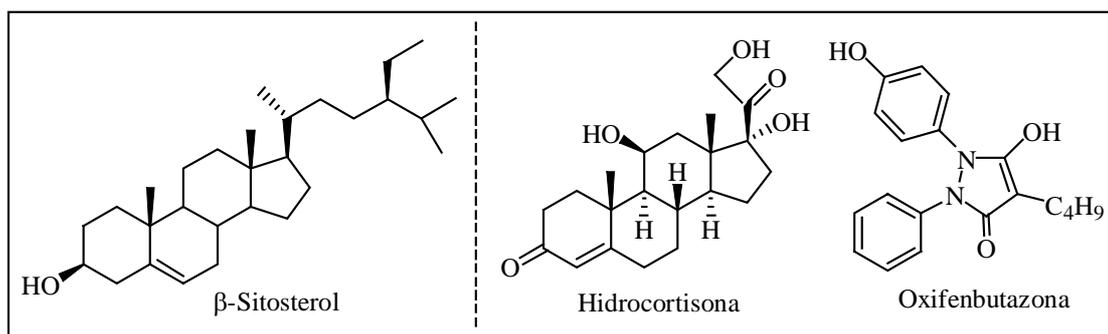


Figura 40. Biosíntesis de los diferentes triterpenos a partir del escualeno.



**Figura 41.** Estructuras de  $\beta$ -sitosterol, hidrocortisona y oxifenbutazona.

Los triterpenos con esqueleto de friedelano son bastante abundantes en la familia Celastraceae, existiendo numerosos ejemplos de estos triterpenos que han mostrado actividad citotóxica frente a diferentes tipos de células cancerígenas.

Así, el **ácido polpunónico** (Figura 42), aislado de *Orthosphenia mexicana* Standley, presentó citotoxicidad frente a células A-549 con una  $DE_{50}$  de 0.21  $\mu\text{g/mL}$ .<sup>15</sup> El **ácido salaspérmico** (Figura 42) fue aislado del extracto de la corteza de raíz de *Tripterygium wilfordii* Hook y este friedelano mostró actividad anti-VIH.<sup>16</sup>

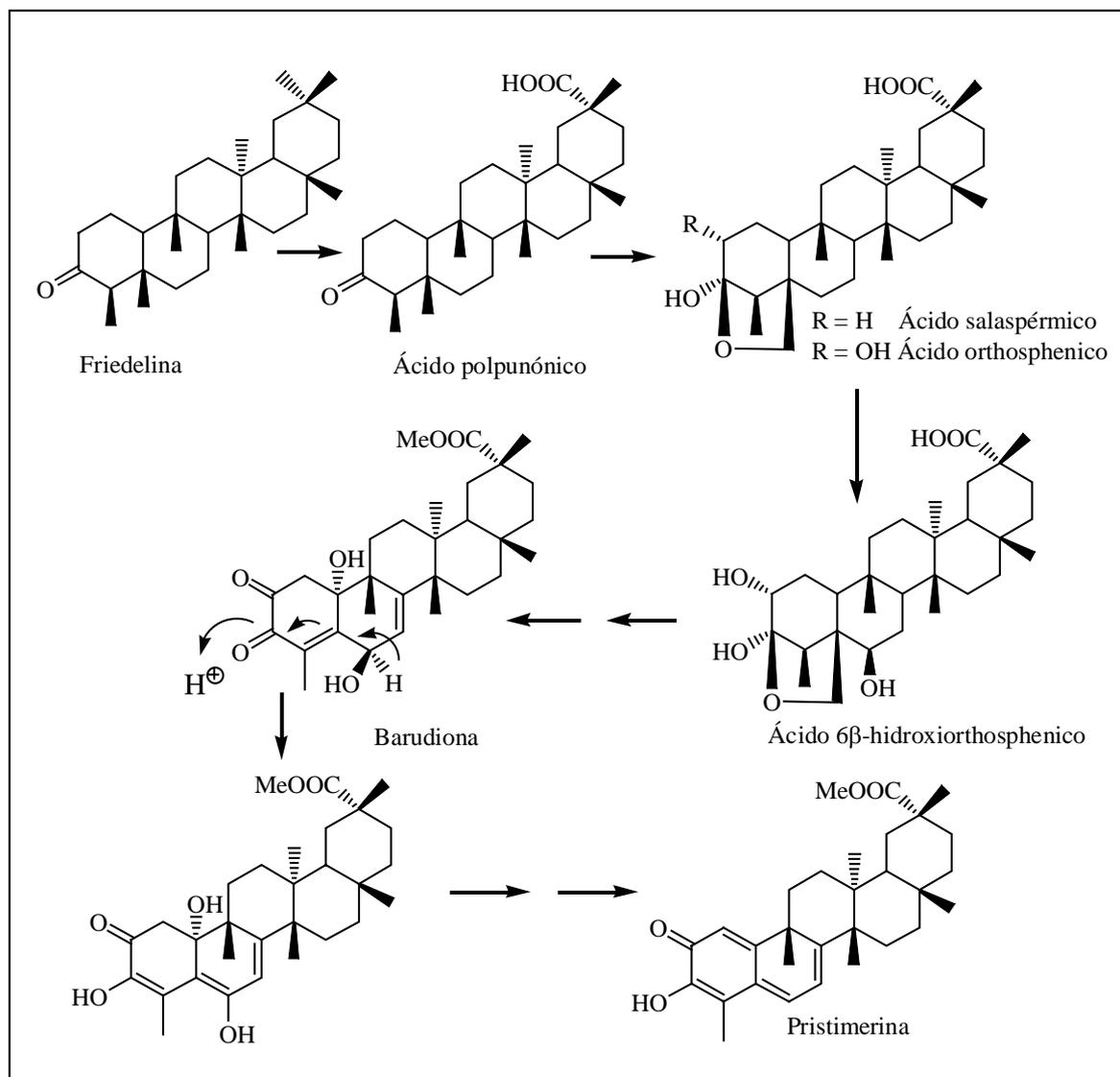
La serie del friedelano con una función hemiacetal entre el grupo hidroxilo en el carbono C-24 y la cetona en el carbono C-3 son frecuentes en la familia Celastraceae. Este tipo de compuestos, como el **ácido salaspérmico** y el **ácido orthosphenico**, han sido propuestos como posibles intermedios en la biosíntesis de quinonas triterpénicas (Figura 42).<sup>17</sup>

Las **nortriterpenometilénquinonas** constituyen un grupo de *nor*-D:A-friedoolenos insaturados y oxigenados. Estos pigmentos se encuentran restringidos a las raíces de la familia Celastraceae y se consideran indicadores quimitaxonómicos de dicha familia. Este grupo de triterpenoides se caracterizan por poseer estructuras complejas e interesantes actividades antibiótica y citostática, siendo la pristimerina (Figura 42) un ejemplo representativo de este tipo de metabolitos.<sup>18</sup>

<sup>15</sup> Nozaki, H.; Matsuura, Y.; Hirono, S.; Kasai, R.; Chang, J. J.; Lee, K. H. *J. Nat. Prod.*, 53, 1039-1041, **1990**.

<sup>16</sup> Chen, K.; Shi, Q.; Kashiwada, Y.; Zhang, D.C.; Hu, C. Q.; Jin, J.Q.; Nozaki, H.; Killkuskie, R.E.; Tramontano, E.; Chen, Y.C.; McPhail, D.R.; McPhail, A. T.; Lee, K.H. *J. Nat. Prod.*, 55, 340-346, **1992**.

<sup>17</sup> González, A. G.; González, C. M.; Ferro, E. A.; Ravelo, A. G.; Domínguez, X. A. *J. Chem. Res. S.*, 20, 264-272, **1988**.

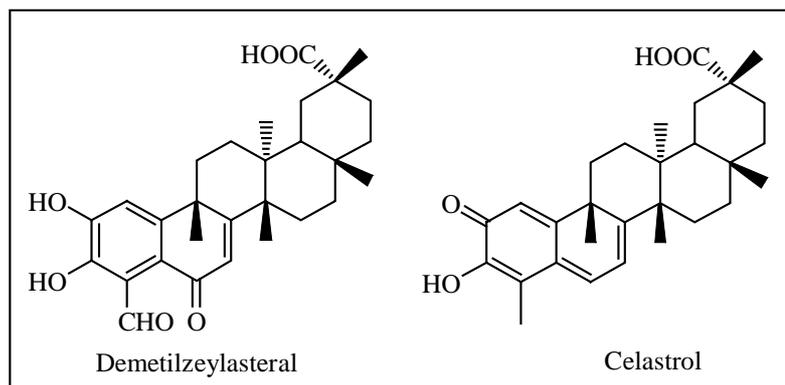


**Figura 42.** Esquema biosintético propuesto para las nortriterpenoquinonas.

<sup>18</sup> Nakanishi, K.; Kakisawa, H.; Hirata, Y. *J. Am. Chem. Soc.*, 77, 3169-3171, 1955.



Además, se han evaluado los efectos inmusupresores, antiinflamatorios, anticonceptivos masculinos y antioxidantes de algunos *nortriterpenos*, entre ellos, demetilzeylasteral y celastrol, mostrando actividades significativas.<sup>19,20,21,22</sup>



Otro grupo de triterpenos presente en las celastráceas son los de la **serie del oleano y el ursano**, que han mostrado un perfil farmacológico similar al de los retinoides y esteroides, destacando su actividad antiinflamatoria y supresora, tanto de la promoción tumoral como de la síntesis de inmunoglobulinas, actividad hepatoprotectora e inductora de la síntesis de colágeno.<sup>23</sup>

Los ensayos biológicos realizados con el **ácido ursólico** (Figura 43), un triterpeno común en las especies de celastráceas, han mostrado que posee actividad antiinflamatoria, antiartrítica, anti-VIH, antidiabética, antiulcerosa, así como, hipolipidémica y antiarterioesclerótica. La citotoxicidad de este producto y varios ésteres derivados fue ensayada por Lee y *col.*<sup>24</sup> frente a varias líneas celulares de tumores humanos. Este ácido mostró actividad frente al crecimiento celular de las leucemias linfocíticas P-388 y L-1210,

<sup>19</sup> Tamaki, T.; Morota, T.; Kawamura, H.; Maruyama, H.; Kaneko, A.; Numone, S.; Komatsu, Y.; Qin, W.-Z.; Yang, B.-H. *Nat. Med.*, 51, 98-104, **1997**.

<sup>20</sup> Ushiro, S.; Ono, M.; Nakamaya, J.; Fujiwara, T.; Komatsu, Y.; Sugimachi, K.; Kuwano, M. *Int. J. Cancer*, 72, 657-663, **1997**.

<sup>21</sup> Bai, J.-P.; Shi, Y.-L.; Fang, X.; Shi, Q.-X. *Eur. J. Pharmacol.*, 464, 9-15, **2003**.

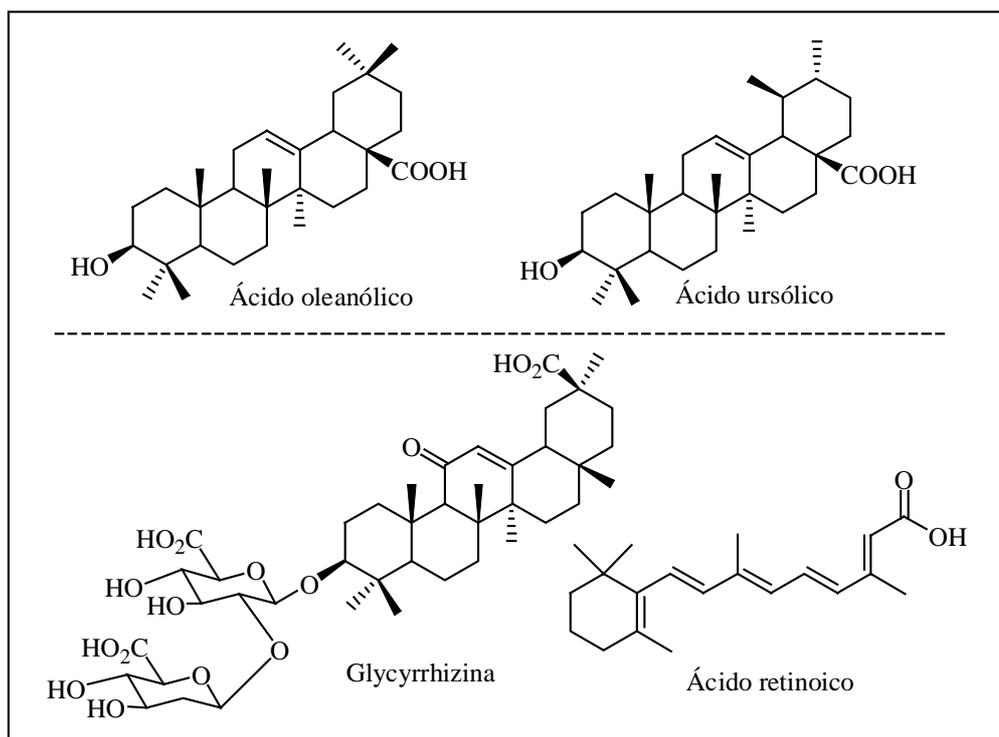
<sup>22</sup> Allison, A. C.; Cacaueles, R.; Lombarda, V. R. M.; Alvarez, X. A.; Vigo, C. *Prg. Neuro-Psychoph. Biol. Psychiat.*, 25, 1341-1357, **2001**.

<sup>23</sup> Honda, T.; Finlay, H. J.; Gribble, W. J. *J. Nat. Prod.*, 60, 1174-1177, **1997**.

<sup>24</sup> Lee, K. H.; Lin, Y. M.; Wu, T. S.; Zhang, D. C.; Yamagishi, T.; Hayashi, T.; Hall, I. H.; Chang, J. J.; Wu, R. Y.; Yang, T. H. *Planta Med.*, 54, 308-311, **1988**.

y frente al carcinoma humano A-549, así como citotoxicidad frente a las células tumorales humanas de colon (HCT-8) y mama (MCF-7).

Por otro lado, el **ácido ursólico**, junto con el **ácido oleanólico** (Figura 43) son inhibidores de la activación del virus Epstein-Barr, con actividad similar a los conocidos agentes quimiopreventivos, ácido retinoico y glycyrrhizina, lo que sugiere que estos ácidos pueden ser valiosos agentes inhibidores de la promoción de tumores.<sup>25</sup>



**Figura 43.** Ejemplo de triterpenos pentacíclicos como inhibidores de la activación del virus Epstein-Barr y estructura de glycyrrhizina y ácido retinoico.

El **lupeol**, **betulina** y **ácido betulínico** (Figura 44) son tres triterpenos de la serie del lupano presentes en muchas plantas superiores, que también han sido aislados en la familia Celastraceae y sobre los cuales se ha publicado diversas de actividades biológicas.<sup>26,27</sup>

<sup>25</sup> Tokuda, H.; Ohigashi, H.; Koshimu, K.; Ito, Y. *Cancer Lett.*, 33, 279-285, **1986**.

<sup>26</sup> González, A.G.; Amaro, J. L.; Gutierrez, J. L. *Rev. Lat. Quim.*, 17, 56-58, **1986**.



El **lupeol** muestra efecto antiinflamatorio, lo que junto a su baja toxicidad hacen de esta sustancia un interesante agente terapéutico. Además, tiene actividad analgésica y antipirética, con la ventaja de que no induce úlcera gástrica.<sup>28</sup>

La **betulina** muestra efecto inhibidor sobre la activación del virus Epstein-Barr y actividad bacteriostática frente a *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Shigella flexneri* y *Staphylococcus aureus*.<sup>29</sup> Además, se ha publicado que presenta un efecto protector frente a la citotoxicidad del cadmio, observándose que los grupos hidroxilos sobre C-3 y C-28 y el grupo isopropileno sobre C-19 son fundamentales para dicha actividad.<sup>30</sup>

El **ácido betulínico**, además de actividad anti-VIH, ha mostrado actividad citotóxica frente al melanoma humano mediante la inducción de apoptosis, actividad leishmanicida frente a *Leishmania amazonensis* y actividad antimalárica frente estadios asexuales eritrocíticos del parásito de la malaria humana, *Plasmodium falciparum*.<sup>31</sup> Su especificidad por las células de melanoma, lo hace ser una de las sustancias más prometedoras frente al cáncer.<sup>11</sup>

Recientemente, se ha descrito la actividad antiviral de betulina, ácido betulínico y ácido betulónico, frente al herpes simplex tipo I, influenza FPV/Rostock y virus ECHO 6 (virus implicado en infecciones respiratorias). Todos estos triterpenos fueron activos frente al virus del herpes simplex. Betulina y especialmente ácido betulínico suprimieron la reproducción del virus ECHO 6.<sup>32,33</sup>

---

<sup>27</sup> Muñoz, O.; Ruiz, R.; González, A.; Núñez, M. P.; Jiménez, I. A.; Ravelo, A. *Helv. Chim. Acta*, 76, 2537-2543, **1993**.

<sup>28</sup> Patocka, J. *J. Appl. Biomed.*, 7-12, **2003**.

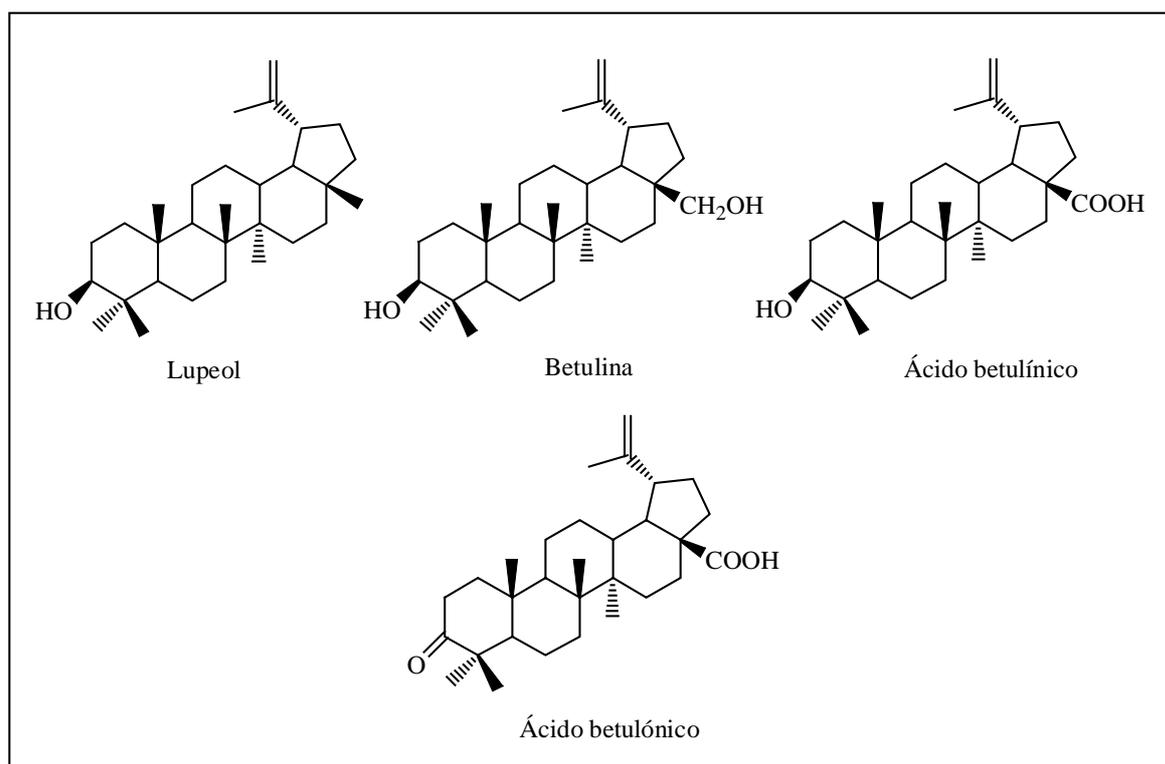
<sup>29</sup> Krasutsky, P.; Carlson, R. M. *PCT Int. Appl.*, 97, **2002**.

<sup>30</sup> Hiroya, K.; Takahashi, T.; Miura, N.; Naganuma, A.; Sakamoto, T. *Bioorg. Med. Chem.*, 10, 3229-3236, **2002**.

<sup>31</sup> Bringmann, G.; Saeb, W.; Assi, L.A.; François, G.; Narayanan, A. S. S.; Peters, K.; Peters, E.M. *Planta Med.*, 63, 255, **1997**.

<sup>32</sup> Pavlova, N. I.; Savinova, O. V.; Nikolaeva, S. N.; Boreko, E. I.; Flekhter, O. B. *Fitoterapia*, 74, 489-492, **2003**.

<sup>33</sup> Baltina, L. A.; Flekhter, O. B.; Nigmatullina, L. R.; Boreko, E. I.; Pavlova, N. I.; Nikolaeva, S. N.; Saninova, O. V.; Tolstikov, G. A. *Bioorg. Med. Chem.*, 13, 3459-3552, **2003**.

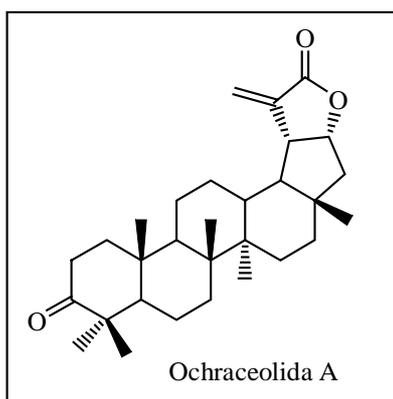


**Figura 44.** Triterpenos de la serie del lupano con actividad biológica.

**Ochraceolida A** (Figura 45) aislado de *Kokoona ochracea* (Elmer.) Merr. (Celastraceae), es un ejemplo de lupano con un reagrupamiento  $\gamma$ -lactona entre C-21 y C-30, que exhibió actividad citotóxica frente a cultivos de células P-388 ( $CI_{50}$  de 0.26  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ).<sup>34</sup> Posteriormente, se observó que muestra actividad inhibitoria en el ensayo de la farnesilo-transferasa, FPTasa ( $CI_{50}$  1.0  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ), lo que demuestra su potencial como agente anticancerígeno.<sup>35</sup> Esta actividad se pierde cuando se reduce el carbonilo en C-3, lo que sugiere a esta posición como sitio de anclaje a la enzima. Este compuesto se ensayó frente a 60 líneas celulares cancerígenas humanas en el Instituto Nacional del Cáncer de Estados Unidos (NCI) y ha sido seleccionado para su evaluación *in vivo* en varios sistemas xenográficos de ratón.

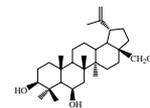
<sup>34</sup> Ngassapa, O. D.; Soejarto, D. D.; Che, C. T.; Pezzuto, J. M.; Farnsworth, N. R. *J. Nat. Prod.*, 54, 1353-1359, **1991**.

<sup>35</sup> Sturm, S.; Gil, R. R.; Chai, H.-B.; Ngassapa, O. D.; Santisuk, T.; Reutrakul, V.; Howe, A.; Moss, M.; Besterman, J. M.; Yang, S.-L.; Farthing, J. E.; Tait, R. M.; Lewis, J. A.; O'Neill, M. J.; Farnsworth, N. R.; Cordell, G. A.; Pezzuto, J. M.; Kinghorn, A. D. *J. Nat. Prod.*, 59, 658-663, **1996**.



**Figura 45.** Lupano con un reagrupamiento  $\gamma$ -lactona entre C-21 y C-30 aislado de *Kokona ochracea*.

*Triterpenos de la serie del Lupano*  
*Aislados de Maytenus chiapensis*



Del extracto diclorometánico de las ramas y corteza del tallo de *Maytenus chiapensis*, se aislaron quince triterpenos de la serie del lupano previamente descritos en la bibliografía química, que se relacionan a continuación:

**Aislados de ramas:** 3-oxolup-20(29)-en-28-al,<sup>1</sup> betulina,<sup>2</sup> betulona,<sup>3</sup> *trans*-cafeato de la betulina,<sup>4</sup> 3-*epiglochidiol*,<sup>5</sup> lupenona,<sup>6</sup> lupeol,<sup>7</sup> ácido 6 $\beta$ -hidroxi-3-oxolup-20(29)-en-28-oico,<sup>8</sup> 3 $\beta$ ,28-dihidroxi-20-oxo-29-*nor*lupano,<sup>9</sup> 6 $\beta$ ,28-dihidroxi-3-oxolup-20(29)-eno,<sup>10</sup> 28,30-dihidroxi-3-oxolup-20(29)-eno<sup>11</sup> y 28-hidroxi-3,20-dioxo-29-*nor*lupano (**L-5**).<sup>12</sup>

**Aislados de corteza del tallo:** betulina,<sup>2</sup> betulona,<sup>3</sup> 3-*epiglochidiol*,<sup>5</sup> *glochidona*,<sup>13</sup> *glochidonol*,<sup>13</sup> lupenona,<sup>6</sup> 3 $\beta$ ,6 $\beta$ -dihidroxilup-20(29)-eno (**L-2**)<sup>14</sup> y resinona.<sup>15,16</sup>

El triterpeno que hemos denominado **L-2** (3 $\beta$ ,6 $\beta$ -dihidroxilup-20(29)-eno), fue aislado por Dantanarayana y *col.*<sup>14,17</sup> de la corteza del tallo de *Pleurostyliya opposita* (Wall) Alston (Celastraceae). Su elucidación estructural fue llevada a cabo utilizando RMN <sup>1</sup>H ( $\delta$  CDCl<sub>3</sub>, 60 MHz), espectrometría de masas y correlación química, no habiéndose reportado hasta el momento los datos RMN <sup>13</sup>C de **L-2**, por lo que se presentan así mismo en esta Memoria de Tesis.

<sup>1</sup> Bolhmann, F.; Knoll, K.-H.; Zdero, C.; Mahanta, P. K.; Grenz, M.; Suwita, A.; Ehlers, D.; Le Van, N.; Abraham, W.-R.; Natsu, A. A. *Phytochemistry*, 16, 965-968, **1977**.

<sup>2</sup> Hui, W.-H.; Li, M.-M.; Luk, K. *Phytochemistry*, 14, 833-834, **1975**.

<sup>3</sup> Rimpler, H.; Kuhn, H.; Luuckert, Ch. *Arch. Pharm.*, 299, 422-428, **1966**.

<sup>4</sup> Ekman, R.; Sjöholm, R. *Finn. Chem. Lett.*, 5-6, 134-136, **1986**.

<sup>5</sup> Hui, W.-H.; Lee, W. K.; Ng, K. K.; Chan, C. K. *Phytochemistry*, 9, 1099-1102, **1970**.

<sup>6</sup> Chatterjee, A.; Mukherjee, R.; Srimany, S. K.; Bhattacharjee, S. *J. Indian Chem. Soc.*, 43, 63-64, **1966**.

<sup>7</sup> Wenkert, E.; Baddeley, G. V.; Burfitt, I. R.; Moreno, L. N. *Org. Magn. Resonance*, 11, 337-343, **1978**.

<sup>8</sup> Kuroyanagi, M.; Shiotsu, M.; Ebihara, T.; Kawai, H.; Ueno, A.; Fukushima, S. *Chem. Pharm. Bull.*, 34, 4012-4017, **1986**.

<sup>9</sup> Macías, F. A.; Simonet, A. M.; Esteban, M. D. *Phytochemistry*, 36, 1369-1397, **1994**.

<sup>10</sup> Dantanarayana, A. P.; Kumar, N. S.; Muthukuda, P. M.; Wazeer, M. I. M. *Phytochemistry*, 21, 2065-2068, **1982**.

<sup>11</sup> González, A. G.; Jiménez, J. A.; Ravelo, A. G. *Phytochemistry*, 31, 2069-2072, **1992**.

<sup>12</sup> Cole, B. J. W.; Bentley, M. D.; Hua, Y.; Bu, L. *J. Wood Chem. Technol.*, 11, 209-223, **1991**.

<sup>13</sup> Ganguly, A. K.; Covidachari, J. R.; Mohamed, P.; Rahimtulla, A. D.; Viswanathan, N. A. *Bull. Nat. Sci. India*, 37, 77-80, **1968**.

<sup>14</sup> Dantanarayana, A. P.; Kumar, N. S.; Sultanbawa, M. U. S.; Balasubramaniam, S. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I*, 2717-2723, **1981**.

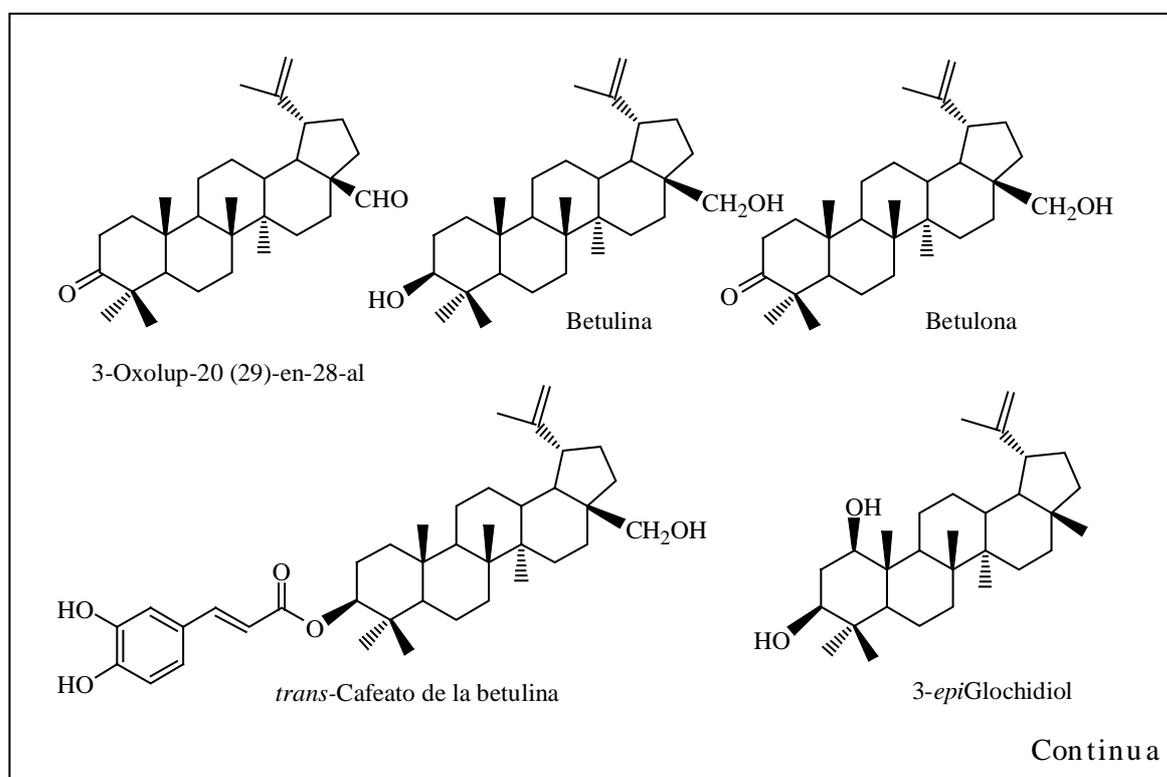
<sup>15</sup> Rodríguez, L. H.; Rodríguez, J. *Rev. Latinoamer. Quim.*, 3, 148-153, **1973**.

<sup>16</sup> Pech, G. G.; Brito, W. F.; Mena, G. J.; Quijano, L. *Z. Naturforsch. C*, 57, 773-776, **2002**.

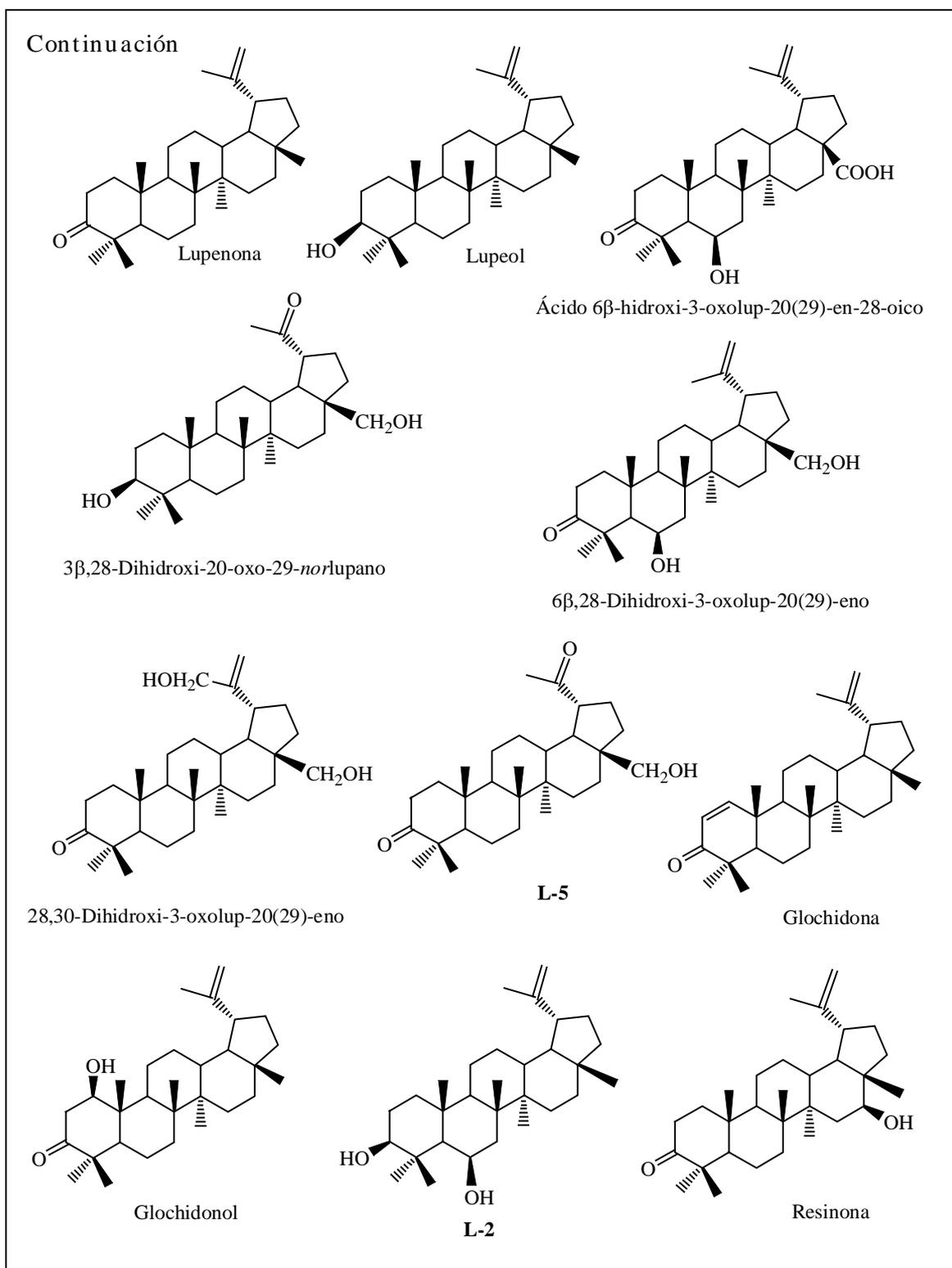
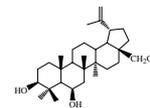
<sup>17</sup> Dantanarayana, A. P.; Kumar, N. S.; Muthukuda, P. M.; Balasubramaniam, S. *Phytochemistry*, 22, 473-474, **1983**.

El triterpeno que hemos denominado **L-5** (3,20-dioxo-28-hidroxi-29-*nor*lupano) fue aislado de *Betula alleghaniensis* Britton en 1991<sup>18</sup> y elucidado haciendo uso de RMN <sup>1</sup>H ( $\delta$  CDCl<sub>3</sub>, 200 MHz) y espectrometría de masas. Sin embargo, los datos de RMN <sup>13</sup>C no han sido reportados, por lo que son presentados en esta Memoria de Tesis. Cabe destacar además, que los datos de RMN <sup>1</sup>H correspondientes a los metilos 23 al 27 son mencionados como  $\delta_H$  0.92-1.07 (15H, s), no siendo asignados individualmente.

Las estructuras de los diferentes lupanos aislados se muestran a continuación en los siguientes cuadros.



<sup>18</sup> Cole, B. J. W.; Bentley, M. D.; Hua, Y.; Bu, L. *J. Wood Chem. Technol.*, 11, 209-223, **1991**.



Además, se aislaron de ramas y corteza del tallo de *Maytenus chiapensis*, cuatro triterpenos de la serie del lupano, que resultaron ser nuevos en la bibliografía química y que hemos denominado **L-1**, **L-3**, **L-5** y **L-6**. Así, de las ramas se aislaron **L-3**, **L-5** y **L-6** y

de la corteza del tallo se aisló **L-1**. A continuación pasamos a discutir la elucidación estructural de estos compuestos.

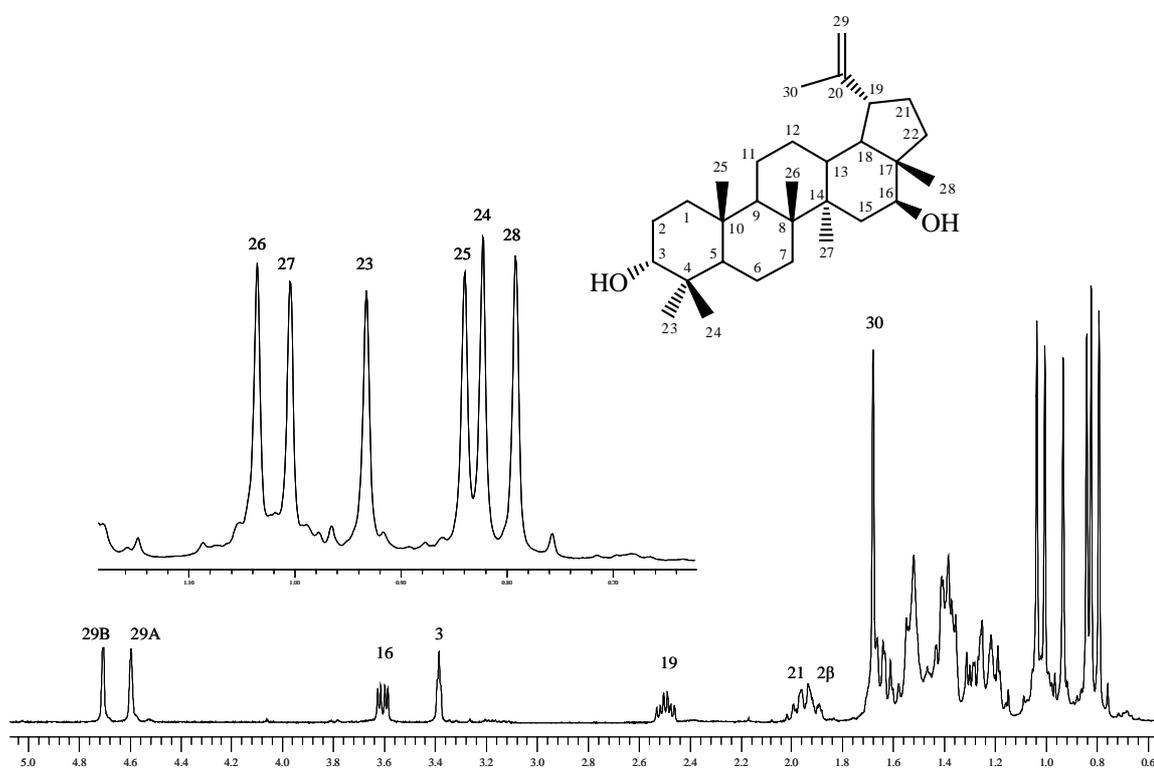
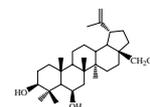
### **Triterpeno: L-1**

El compuesto que hemos denominado **L-1** presentó una fórmula molecular  $C_{30}H_{50}O_2$ , determinada por espectrometría de masas de alta resolución (EMAR). Esta fórmula indica 6 grados de insaturación y el espectro de masas presentó fragmentos correspondientes a la pérdida de agua ( $18 m/z$ ,  $H_2O$ ).

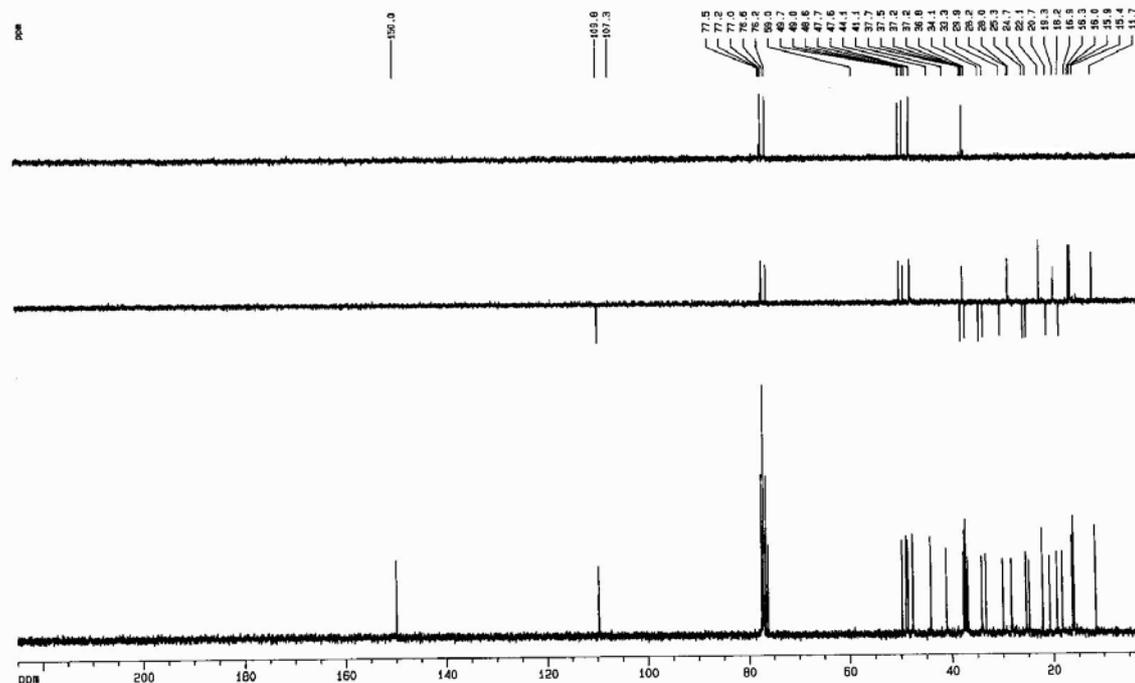
En su espectro de IR se observaron bandas de absorción correspondientes a grupo hidroxilo ( $3430\text{ cm}^{-1}$ ) y doble enlace terminal ( $3010$ ,  $1645$  y  $900\text{ cm}^{-1}$ ).

El análisis detallado del espectro de RMN  $^1H$  (Tabla 10), nos confirmó que **L-1** es un triterpeno lup-20(29)-eno. En su espectro se observaron señales para seis metilos como singuletes a  $\delta_H$  0.79 (Me-28), 0.82 (Me-24), 0.84 (Me-25), 0.93 (Me-23), 1.00 (Me-27) y 1.04 (Me-26); un grupo isopropilideno a  $\delta_H$  1.68 (3H, s, Me-30) y 4.59 (1H, s ancho, H-29A), 4.68 (1H, d,  $J = 1.7\text{ Hz}$ , H-29B) y un típico protón lupenilo H-19 $\beta$  a  $\delta_H$  2.50 (1H, td,  $J = 5.6$ ,  $10.4\text{ Hz}$ ). Además, se observaron señales para dos protones metínicos geminales a grupo hidroxilo a  $\delta_H$  3.38 (1H, t,  $J = 2.6\text{ Hz}$ ) y 3.60 (1H, dd,  $J = 4.7$ ,  $11.2\text{ Hz}$ ).

Su espectro de RMN  $^{13}C$  (Tabla 11) mostró señales para 30 carbonos, lo que conjuntamente con los experimentos DEPT  $90^\circ$  y  $135^\circ$ , corroboró la existencia de siete metilos, diez metilenos, siete metinos y seis carbonos cuaternarios. La presencia de un grupo isopropilideno ( $\Delta^{20-29}$ ), característico de los triterpenos con esqueleto de lupano, se corroboró al observar un carbono cuaternario a  $\delta_C$  150.0 (C-20) y un metileno  $\delta_C$  109.8 (C-29). Además, se confirmó la presencia de dos grupos hidroxilos al observarse dos metinos a  $\delta_C$  76.2 y 77.0.



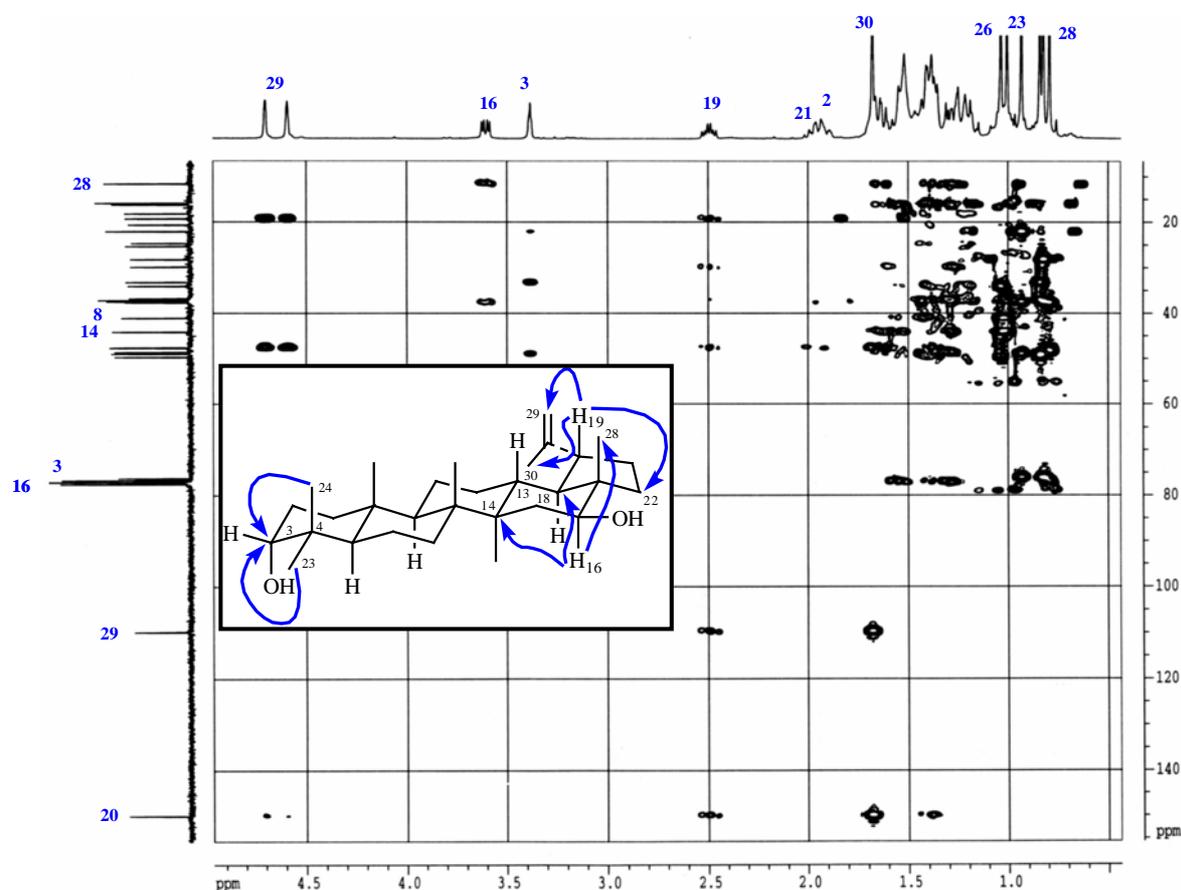
Espectro de RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz) de **L-1**



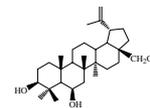
Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz) de **L-1**

El estudio de los experimentos bidimensionales homonucleares (COSY y ROESY) y heteronucleares (HSQC y HMBC), nos permitió situar los diferentes grupos funcionales en la molécula.

La posición de los dos grupos hidroxilos en la molécula fue determinada mediante el uso de un experimento HMBC, en el cual se observó correlación entre los metilos 23 y 24 a  $\delta_H$  0.93 y 0.82, con un carbono cuaternario a  $\delta_C$  37.5 (C-4) y uno secundario unido a oxígeno a  $\delta_C$  76.2, lo que permitió situar el grupo hidroxilo sobre C-3; además, se observó correlación entre un protón geminal a un grupo hidroxilo a  $\delta_H$  3.60 con los carbonos C-28 ( $\delta_C$  11.7), C-18 ( $\delta_C$  47.7), C-14 ( $\delta_C$  44.2) y C-17 ( $\delta_C$  48.6), permitiendo situar el segundo grupo hidroxilo sobre el C-16. De igual manera, se fijó el sistema isopropilideno sobre C-19, al observar correlaciones a tres enlaces entre la señal del metino a  $\delta_H$  2.50 (H-19) y los carbonos C-30 ( $\delta_C$  19.3), C-20 ( $\delta_C$  150.3), C-13 ( $\delta_C$  37.2) y C-22 ( $\delta_C$  37.7).



Experimento HMBC ( $^1H$ - $^{13}C$ ) para L-1



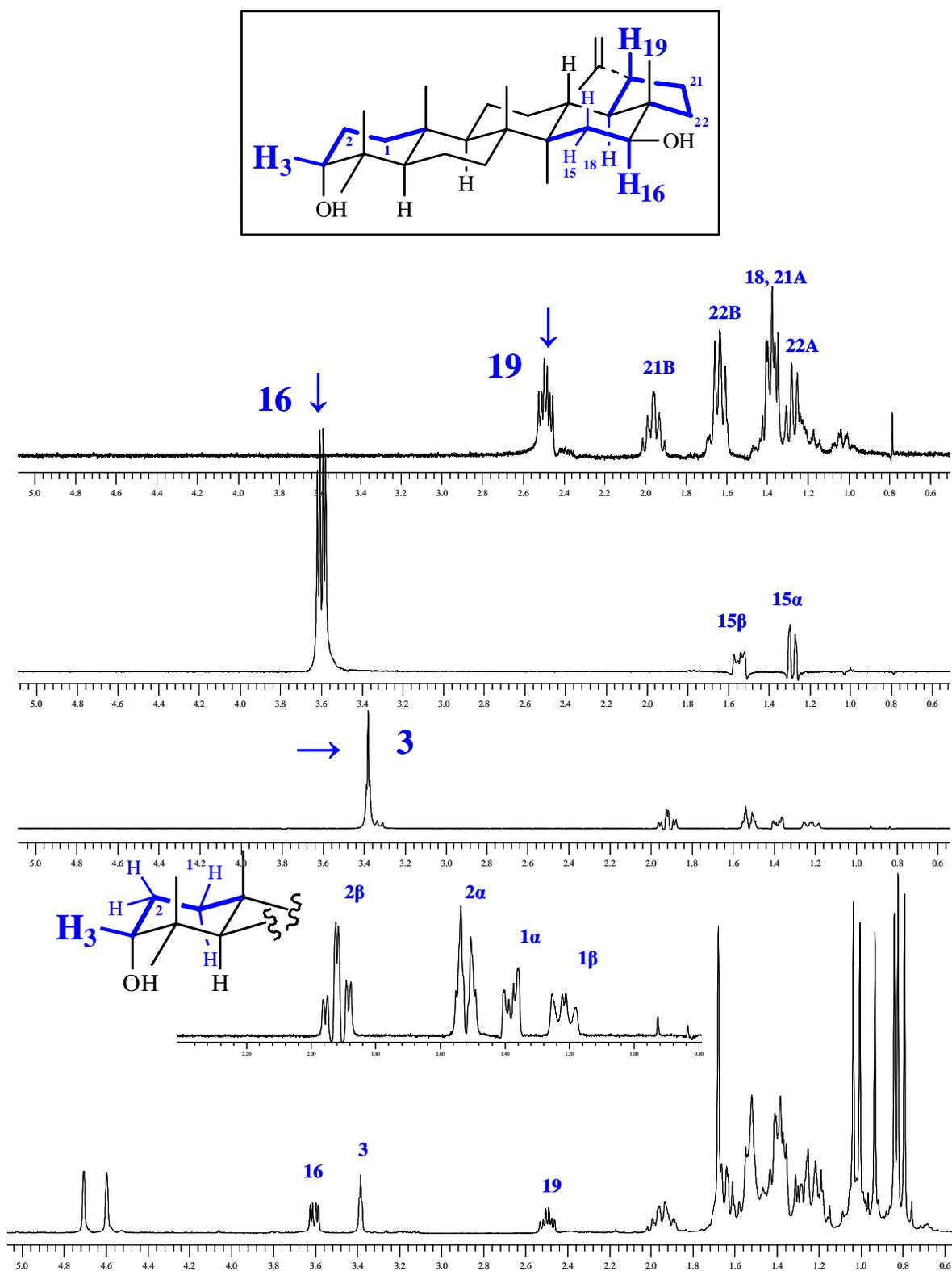
Los triterpenos presentan en general señales solapadas en su espectro de RMN  $^1\text{H}$  correspondientes a metilenos, metinos, etc., lo que impide la asignación completa de las señales. Aunque se pueden obtener los desplazamientos químicos de las señales solapadas, recurriendo a los experimentos  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY, HSQC y HMBC, no se puede conocer la multiplicidad y las constantes de acoplamiento.

Por ello, decidimos realizar un experimento 1D-TOCSY selectivo de los protones H-3 $\beta$  ( $\delta_{\text{H}}$  3.38), H-16 $\alpha$  ( $\delta_{\text{H}}$  3.60) y H-19 $\beta$  ( $\delta_{\text{H}}$  2.50) del compuesto **L-1**, lo que nos permitió determinar la multiplicidad y constantes de acoplamiento de las señales correspondientes a los protones H-1, H-2, H-15, H-18, H-21 y H-22 (Tabla 10), que generalmente se encuentran solapados entre la región de 0.5-2.00 ppm, en el espectro de RMN  $^1\text{H}$ .

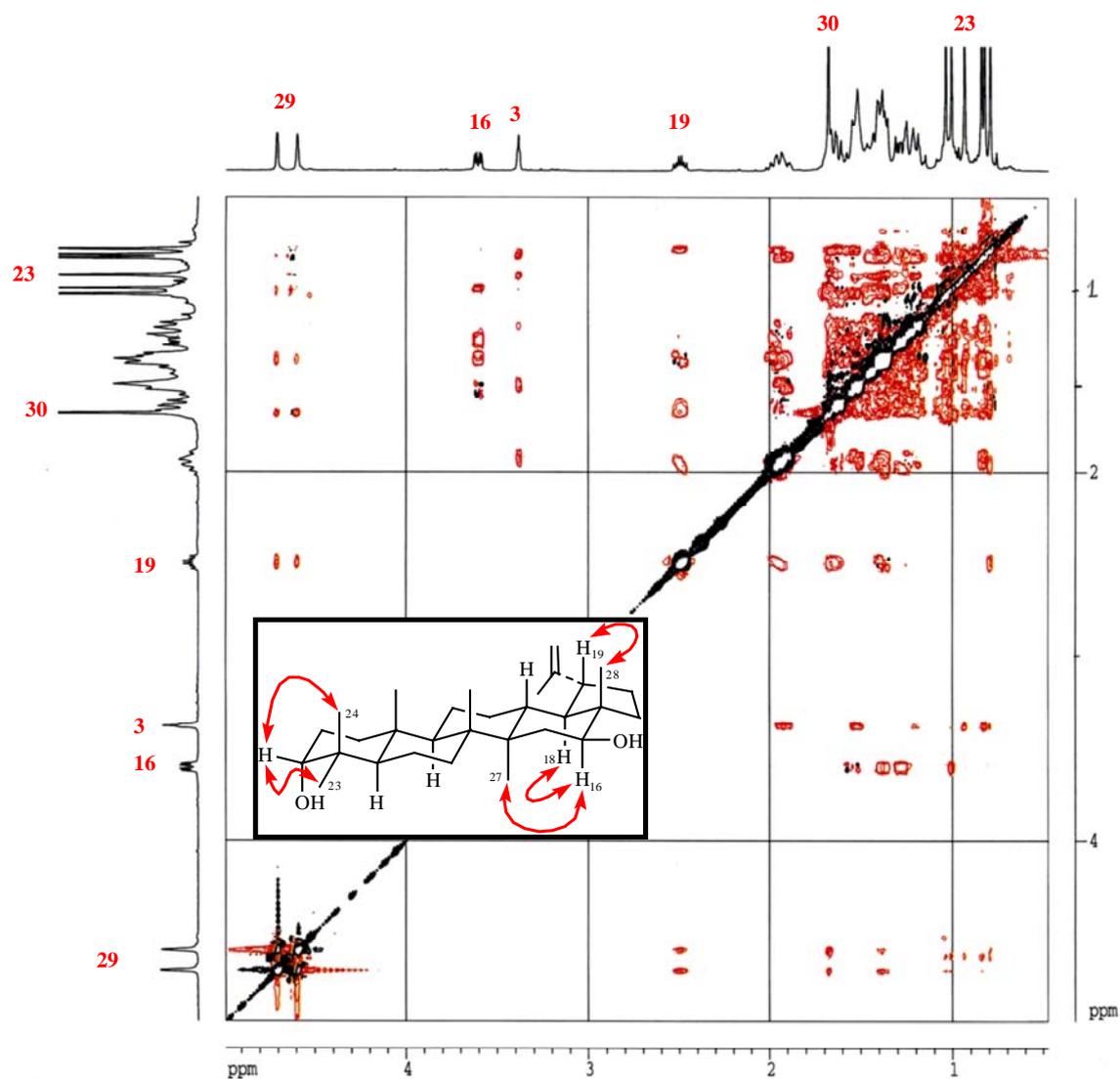
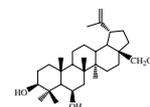
La estereoquímica de los dos alcoholes se determinó mediante el estudio de las constantes de acoplamiento y un experimento ROESY, donde se observó correlación entre el protón H-3 y los metilos 23 y 24, lo que sólo es posible si la estereoquímica para dicho hidrógeno es  $\beta$ -ecuatorial. Además, se observó efecto NOE entre H-16 y el metilo 27 y H-18, lo que nos indica que H-16 presenta una disposición  $\alpha$  axial, quedando determinada la posición  $\alpha$  para el OH sobre el C-3 y  $\beta$  sobre el C-16. La posición  $\alpha$  del grupo isopropilideno fue confirmada por correlación espacial (efecto NOE) entre H-19 $\beta$  y la señal del metilo 28.

Estos datos y comparación con los datos dados en la literatura para calenduladiol<sup>19</sup> (3 $\beta$ ,16 $\beta$ -dihidroxilup-20(29)-eno), nos permitió establecer la estructura de **L-1** como 3 $\alpha$ ,16 $\beta$ -dihidroxilup-20(29)-eno, para el que proponemos el nombre de 3-epicalenduladiol.

<sup>19</sup> St. Pyrek, J.; Baranowska, E. *Roczniki Chemii*, 51, 1141-1146, 1977.



Experimentos 1D-TOCSY selectivo del compuesto L-1 con un tiempo de mezcla de 40 ms para los protones H-3 $\beta$ , H-16 $\alpha$  y H-19 $\beta$ .



Experimento **ROESY** para **L-1**

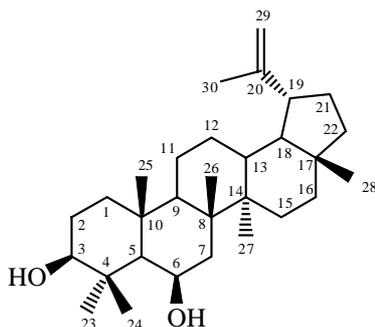
### **Triterpeno: L-2**

El compuesto que hemos denominado **L-2** presentó una fórmula molecular  $C_{30}H_{50}O_2$ , determinada por EMAR y coincidente con el producto **L-1**. El espectro de masas presentó fragmentos correspondientes a la pérdida de agua ( $18 m/z$ ,  $H_2O$ ).

En su espectro de IR se observaron bandas de absorción correspondientes a grupo hidroxilo ( $3438\text{ cm}^{-1}$ ) y doble enlace terminal ( $3010$ ,  $1640$  y  $905\text{ cm}^{-1}$ ).

El análisis de su espectro de RMN  $^1H$  [ $\delta_H$  0.80 (Me-28), 0.92 (Me-27), 1.06 (Me-23), 1.15 (Me-24), 1.20 (Me-25), 1.36 (Me-26), 1.69 (Me-30), (cada uno 3H, s), 2.39 (1H, m,

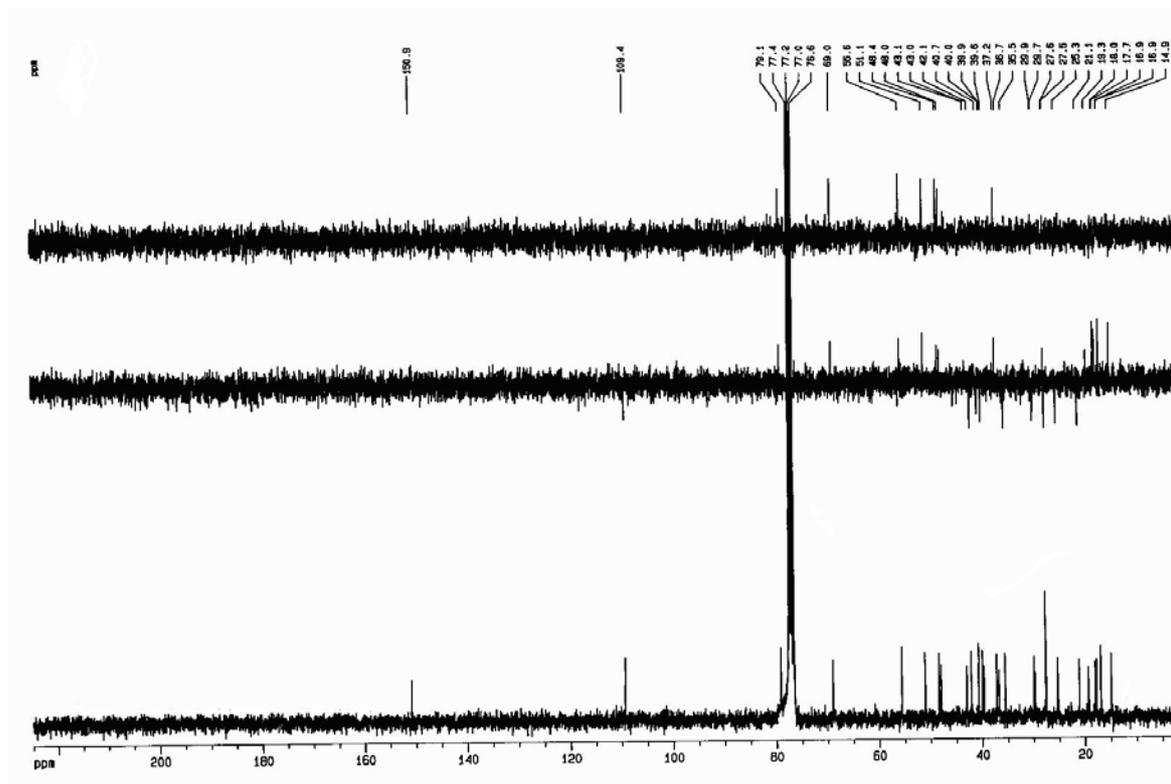
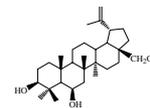
H-19), 3.14 (1H, t,  $J = 7.3$  Hz, H-3), 4.53 (1H, s ancho, H-6), 4.59, 4.70 (2H, s ancho, H-29)] (Tabla 10), nos confirmó que **L-2** es un triterpeno de la serie del lupano, aislado previamente por Dantanarayana y *col.*,<sup>14,18</sup> no habiéndose asignado, hasta el momento, los datos de RMN-<sup>13</sup>C.



#### Espectro de RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) de **L-2**

El espectro de RMN <sup>13</sup>C (Tabla 11) mostró señales para 30 carbonos, lo que conjuntamente con los experimentos DEPT 90° y 135°, nos indicó la existencia de siete metilos, diez metilenos, siete metinos y seis carbonos cuaternarios. La presencia de un grupo isopropilideno ( $\Delta^{20-29}$ ), característico de los triterpenos con esqueleto de lupano, se corroboró al observar la presencia de un carbono cuaternario a  $\delta_C$  150.9 (C-20) y un metileno 109.4 (C-29). Además, se confirmó la presencia de dos grupos hidroxilos al observarse dos metinos a  $\delta_C$  69.0 y 79.1.

La posición de los dos grupos hidroxilos en la molécula fueron confirmados mediante el uso de un experimento HMBC, en el cual se observó correlación entre el metilo 23 y 24 a  $\delta_H$  1.06 y 1.15, respectivamente, con un carbono cuaternario a  $\delta_C$  39.6 (C-4) y un carbono secundario unido a oxígeno a  $\delta_C$  79.1, lo que situó un alcohol sobre C-3; además, se observó correlación entre un protón geminal a un grupo hidroxilo a  $\delta_H$  4.53 con los carbonos cuaternarios a  $\delta_C$  39.9 (C-8) y a  $\delta_C$  36.7 (C-10), permitiendo situar el segundo grupo hidroxilo sobre C-6.



Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz) de **L-2**

La estereoquímica de los dos grupos hidroxilos se determinó mediante el estudio de las constantes de acoplamiento y un experimento ROESY, donde se observó correlación entre el protón H-3 y H-6 con el metilo 23 y H-5, confirmando la disposición  $\beta$  de los grupos hidroxilos sobre C-3 y C-6.

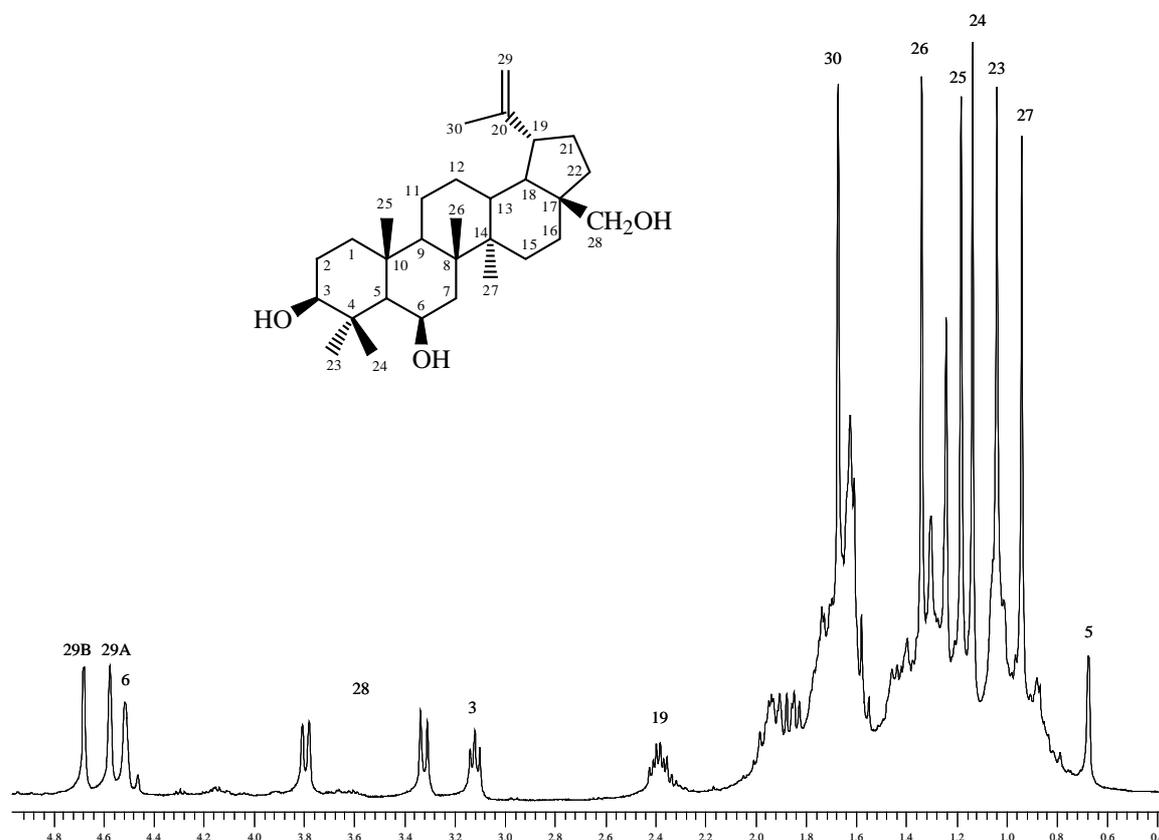
Estos datos y comparación con los dados en la literatura para  $3\beta,6\alpha$ -dihidroxilup-20(29)-eno<sup>20</sup> nos permitió confirmar de forma inequívoca la estructura de **L-2** como  $3\beta,6\beta$ -dihidroxilup-20(29)-eno.

### **Triterpeno: L-3**

El compuesto que hemos denominado **L-3** presentó una fórmula molecular  $\text{C}_{30}\text{H}_{50}\text{O}_3$ , determinada por espectrometría de masas de alta resolución (EMAR). El espectro de masas presentó fragmentos correspondientes a la pérdida de agua (18  $m/z$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ ) y metanol (31  $m/z$ ,  $\text{CH}_3\text{O}^+$ ).

<sup>20</sup> Mustafa, G.; Anis, E.; Ahmed, S.; Anis, I.; Ahmed, H.; Malik, A.; Shahzad-ul-Hassan, S.; Choudhary, I. *J. Nat. Prod.*, 63, 881-883, 2000.

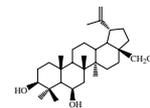
En su espectro de IR se observaron bandas de absorción correspondientes a grupo hidroxilo ( $3433\text{ cm}^{-1}$ ) y doble enlace terminal ( $3011$ ,  $1642$  y  $974\text{ cm}^{-1}$ ).



Espectro de RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz) de **L-3**

Un estudio detallado de sus datos espectroscópicos de RMN  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$  (Tablas 10 y 11), experimentos de correlación  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  y  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ , así como un experimento ROESY, mostró que el producto **L-3** estaba muy relacionado con el producto que hemos denominado **L-2**, donde la única diferencia que se observa es la ausencia de la señal correspondiente al metilo 28 y la aparición de un sistema AB a  $\delta_{\text{H}}$  3.32, 3.79 (2H, d,  $J = 10.7\text{ Hz}$ ) y un carbono metilénico a  $\delta_{\text{C}}$  60.4.

Estos datos nos indicaron que nuestro compuesto presenta un alcohol primario adicional con respecto a **L-2** y un cuidadoso estudio de experimentos 2D nos permitió determinar la estructura de **L-3** como 3 $\beta$ ,6 $\beta$ ,28-trihidroxilup-20(29)-eno.



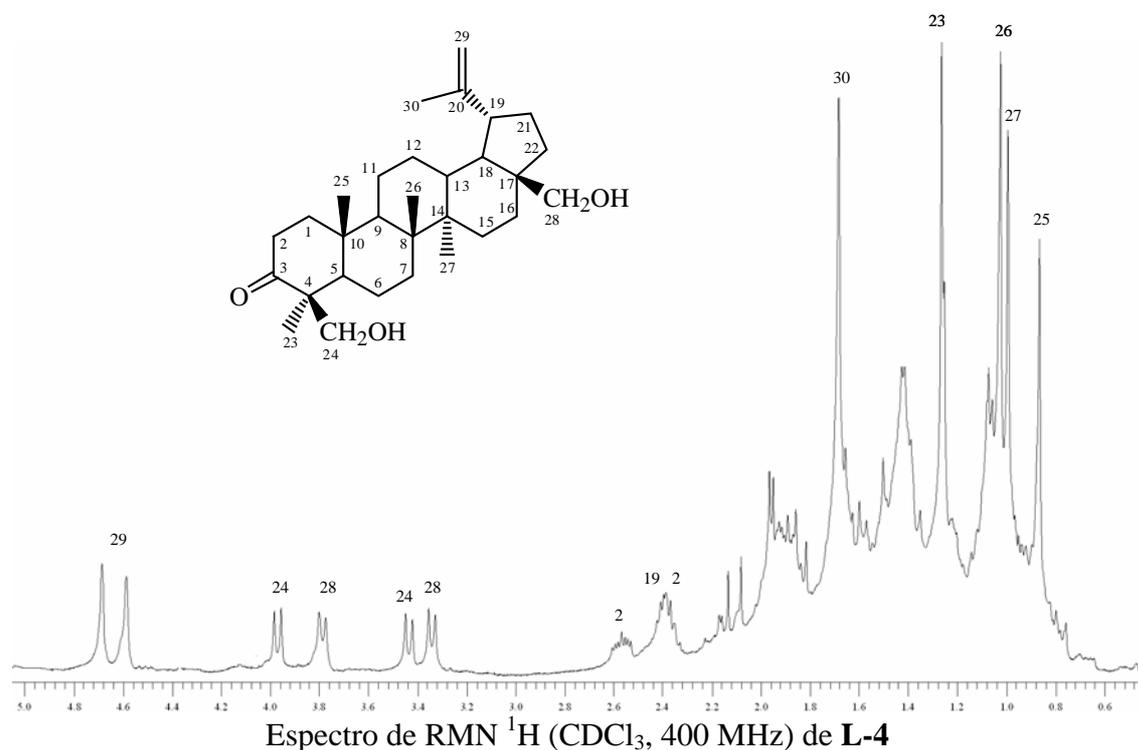
### Triterpeno: L-4

El compuesto que hemos denominado **L-4** presentó una fórmula molecular  $C_{30}H_{48}O_3$ , determinada por espectrometría de masas de alta resolución. Esta fórmula indica 7 grados de insaturación y su espectro de masas presentó fragmentos correspondientes a la pérdida de agua ( $18 m/z$ ,  $H_2O$ ).

En su espectro de IR se observaron bandas de absorción correspondientes a grupo hidroxilo ( $3425\text{ cm}^{-1}$ ), grupo carbonilo ( $1705\text{ cm}^{-1}$ ) y doble enlace terminal ( $3011$ ,  $1650$  y  $910\text{ cm}^{-1}$ ).

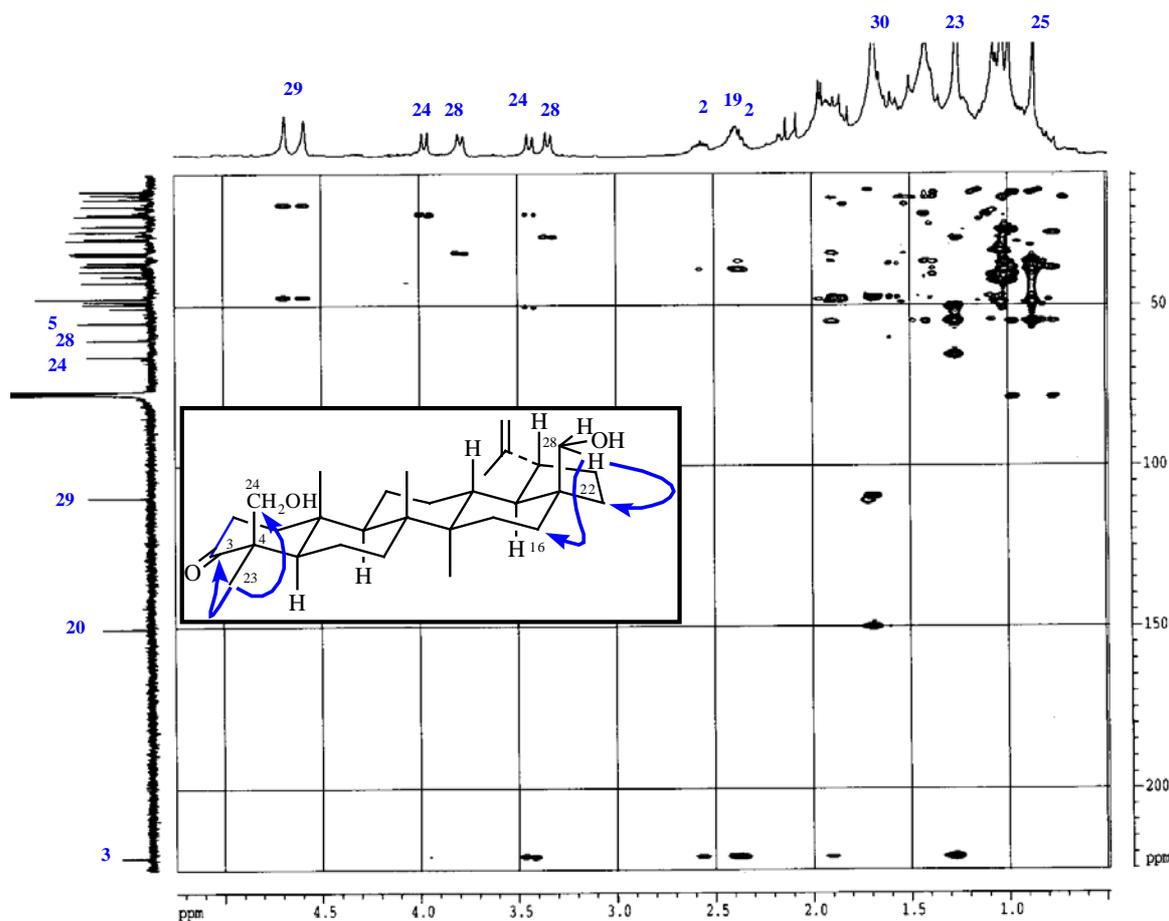
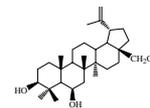
El análisis detallado de su espectro de RMN  $^1H$  (Tabla 10), nos confirmó que **L-4** es un triterpeno de la serie del lup-20(29)-eno. Así, se observaron señales para cuatro metilos, todos como singuletes a  $\delta_H$  0.86 (Me-25), 0.99 (Me-27), 1.02 (Me-26) y 1.26 (Me-23) y un grupo isopropilideno con señales a  $\delta_H$  1.68 (3H, s, Me-30),  $\delta_H$  4.58, 4.68 (2H, s ancho, H-29) y el típico protón lupenilo H-19 $\beta$  a  $\delta_H$  2.40 (1H, m). Además, se observaron señales para dos sistemas AB de protones carbinólicos a  $\delta_H$  3.33, 3.78 (2H, d,  $J = 10.6$  Hz) y 3.43, 3.97 (2H, d,  $J = 11.2$  Hz).

Su espectro de RMN  $^{13}C$  (Tabla 11) mostró señales para 30 carbonos, lo que conjuntamente con los experimentos DEPT  $90^\circ$  y  $135^\circ$ , indicaron la existencia de cinco metilos, trece metilenos, cinco metinos y siete carbonos cuaternarios. La presencia de un grupo isopropilideno ( $\Delta^{20-29}$ ), característico de los triterpenos con esqueleto de lupano, se corroboró al observar la presencia de un carbono cuaternario a  $\delta_C$  150.3 (C-20) y un metileno a  $\delta_C$  109.8 (C-29). Además, se confirmó la presencia de dos grupos hidroxilos primarios al observarse señales correspondientes a dos metilenos a  $\delta_C$  60.5 y 65.3, así como señal de un carbonilo a  $\delta_C$  221.4.



La posición de los dos grupos hidroxilo y del carbonilo en la molécula se determinó mediante el uso de un experimento HMBC, en el cual se observó correlación entre el metilo 23 a  $\delta_{\text{H}}$  1.26, con un carbono cuaternario a  $\delta_{\text{C}}$  50.7 (C-4), un carbono carbonílico a  $\delta_{\text{C}}$  221.4 y un carbono metilénico unido a oxígeno a  $\delta_{\text{C}}$  65.3, lo que permitió situar un grupo hidroxilo sobre C-24 y el carbono carbonílico en la posición 3 del esqueleto triterpénico; además, se observó correlación entre dos protones carbinólicos a  $\delta_{\text{H}}$  3.33, 3.78 con los carbonos metilénicos C-16 y C-22 a  $\delta_{\text{C}}$  34.0 y 29.1, permitiendo situar el hidroxilo restante sobre el C-28.

La estereoquímica de los dos grupos hidroxilo se determinó mediante el estudio de las constantes de acoplamiento y un experimento ROESY, donde se observó correlación entre los protones H-24 y el metilo 25 y entre los protones H-28 y H-19. Estos datos nos permitieron establecer la estructura de **L-4** como 24,28-dihidroxi-3-oxolup-20(29)-eno.

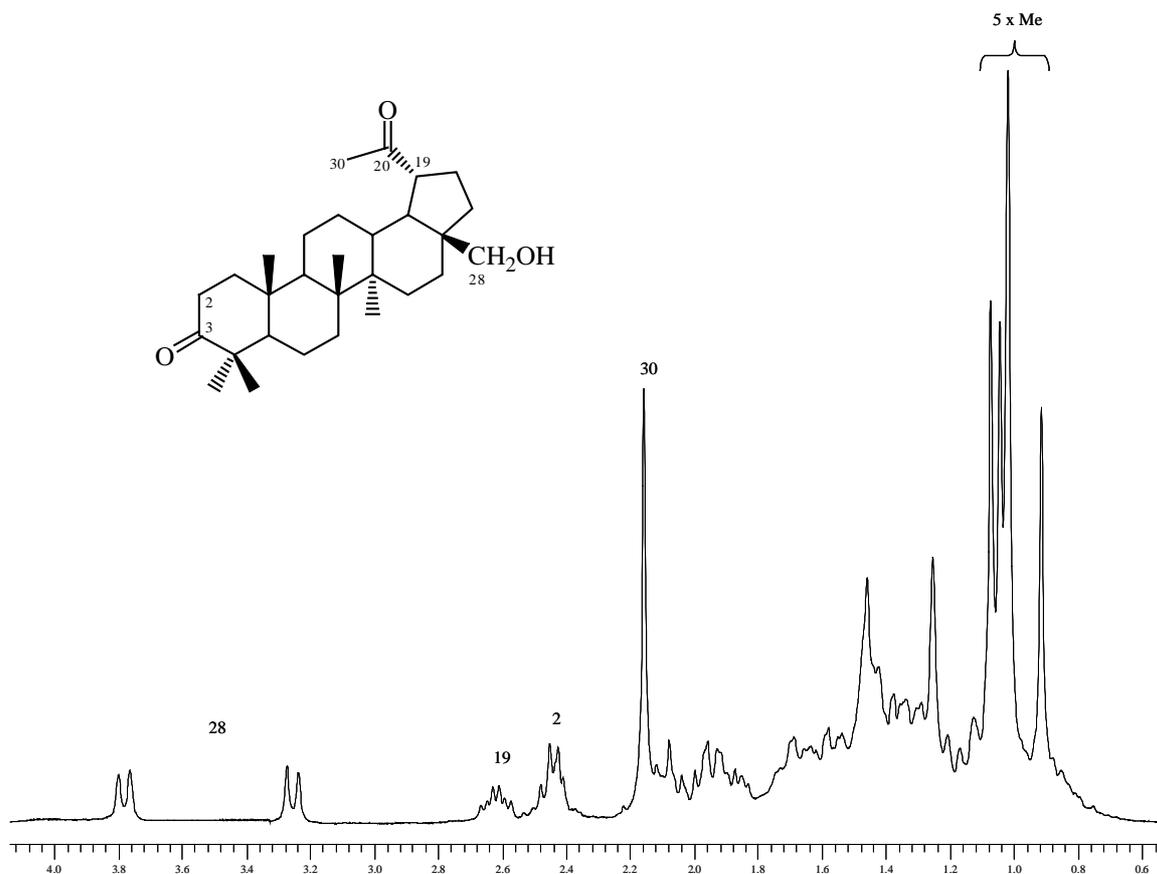


### Triterpeno: L-5

El compuesto que hemos denominado **L-5** presentó una fórmula molecular  $C_{29}H_{46}O_3$ , determinada por EMAR, fórmula que indica 7 grados de insaturación. El espectro de masas presentó fragmentos correspondientes a la pérdida de agua ( $18 m/z$ ,  $H_2O$ ) y metanol ( $31 m/z$ ,  $CH_3O^+$ ).

En su espectro de IR se observaron bandas de absorción correspondientes a grupo hidroxilo ( $3444\text{ cm}^{-1}$ ) y carbonilo ( $1702\text{ cm}^{-1}$ ).

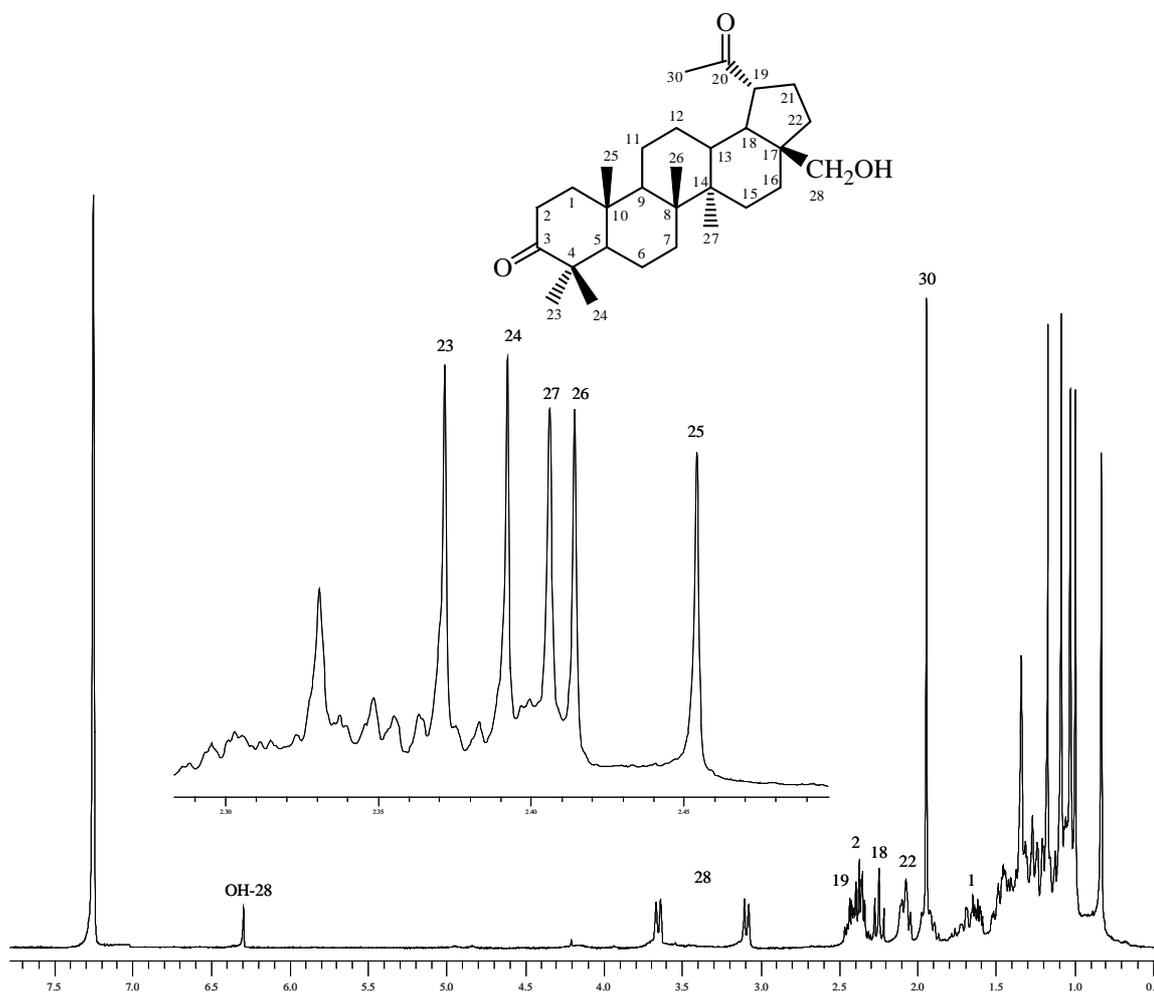
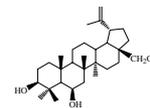
El análisis de su espectro de RMN  $^1H$  ( $CDCl_3$ ) [ $\delta_H$  0.91-1.07 (15H, s, 5 x Me), 2.16 (3H, s, Me-30), 2.46 (2H, m, H-2), 2.60 (1H, td,  $J = 5.6, 10.4$  Hz, H-19), 3.25 (1H, d,  $J = 10.7$  Hz, H-28), 3.78 (1H, d,  $J = 10.7$  Hz, H-28)], nos confirmó que **L-5** es un triterpeno 29-norlupano, aislado previamente por Britton y col. en 1991.<sup>17</sup>

Espectro de RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz) de **L-5**

Debido al solapamiento de las señales (isocronía) de dos metilos del esqueleto triterpénico, decidimos realizar la espectroscopía de **L-5** en benceno deuterado ( $\text{C}_6\text{D}_6$ ), ya que posee una elevada anisotropía magnética,<sup>21</sup> especialmente adecuado para separar señales solapadas como las antes mencionadas. Por otra parte, se asignaron todos los datos de RMN  $^{13}\text{C}$  de **L-5**, que no habían sido reportados hasta el momento.

Así, en el espectro de RMN  $^1\text{H}$  (Tabla 10) se observaron señales para cinco metilos, todos como singuletes a  $\delta_{\text{H}}$  0.73 (Me-25), 0.89 (Me-26), 0.93 (Me-27), 0.99 (Me-24), 1.07 (Me-23), una metilcetona a  $\delta_{\text{H}}$  1.84 (3H, s, Me-30) y un protón a  $\delta_{\text{H}}$  2.31 (1H, m, H-19). Además, se observaron señales para un sistema AB de protones carbinólicos a  $\delta_{\text{H}}$  2.98, 3.55 (2H, d,  $J = 10.6$  Hz, H-28) y un protón singulete a  $\delta_{\text{H}}$  6.18, intercambiable con  $\text{D}_2\text{O}$  (OH-28).

<sup>21</sup> Hesse, M.; Meier, H.; Zeeh, B. *Métodos espectroscópicos en Química Orgánica*; Ed. Síntesis, Madrid, 1995.

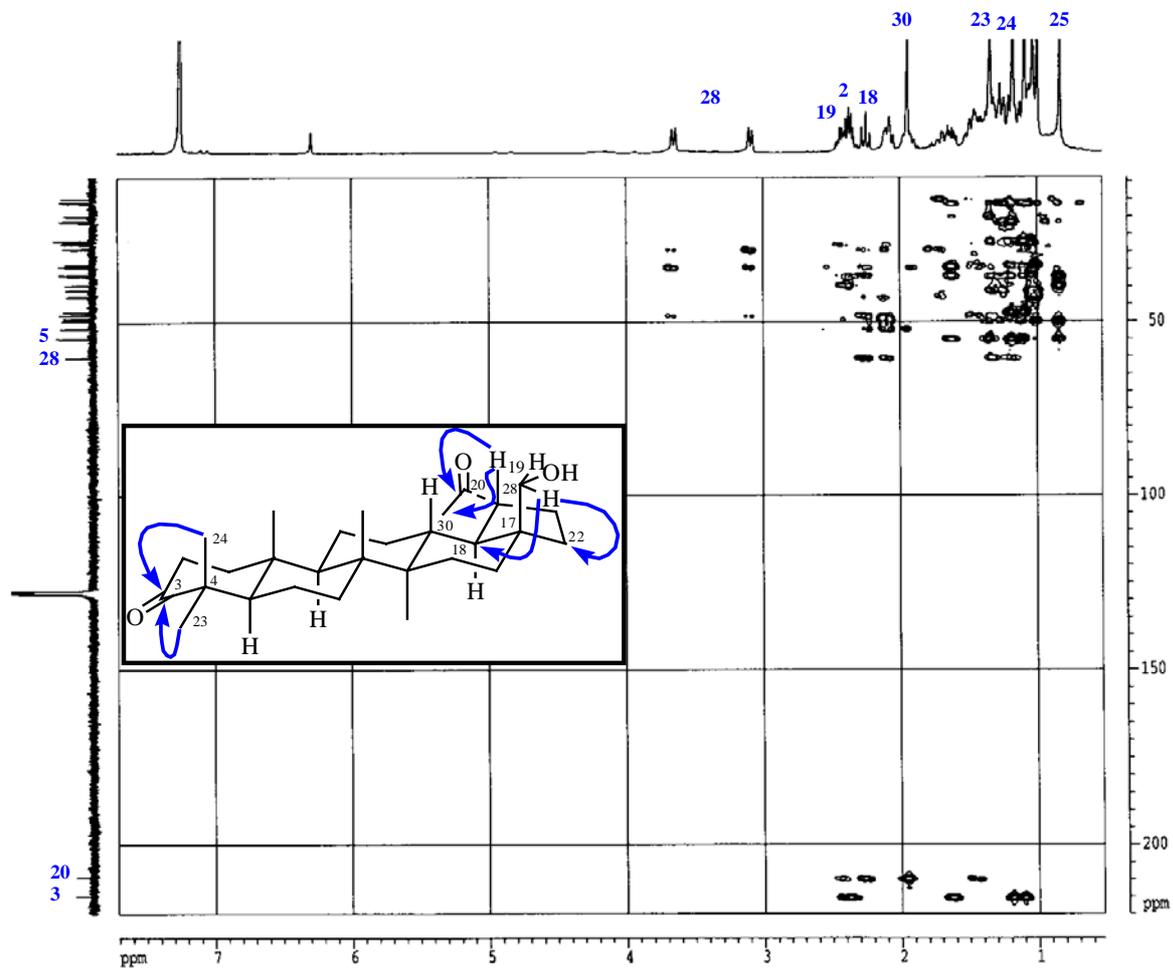


Espectro de RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{C}_6\text{D}_6$ , 400 MHz) de **L-5**

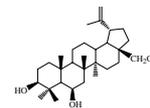
Su espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (Tabla 11) mostró señales para 29 carbonos, lo que conjuntamente con los experimentos DEPT  $90^\circ$  y  $135^\circ$ , nos indicó la presencia de seis metilos, once metilenos, cinco metinos y siete carbonos cuaternarios. La presencia de una metilcetona, se corroboró al observar un carbonilo a  $\delta_{\text{C}}$  209.4 (C-20) y un metilo a  $\delta_{\text{C}}$  28.8 (c, C-30). Además, se confirmó la presencia de un grupo hidroxilo primario al observarse un metileno a  $\delta_{\text{C}}$  60.1 (C-28) y un carbonilo a  $\delta_{\text{C}}$  214.9 (C-3).

El estudio de los experimentos bidimensionales homonucleares (COSY y ROESY) y heteronucleares (HSQC y HMBC), nos permitió situar los grupos funcionales en la molécula y determinar la estereoquímica relativa. Estos datos nos permitieron así confirmar de forma inequívoca los datos de RMN  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$  de **L-5**, que no habían sido

reportados anteriormente y confirmar su estructura como 28-hidroxi-3,20-dioxo-29-norlupano.



Experimento HMBC ( $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ ) para L-5

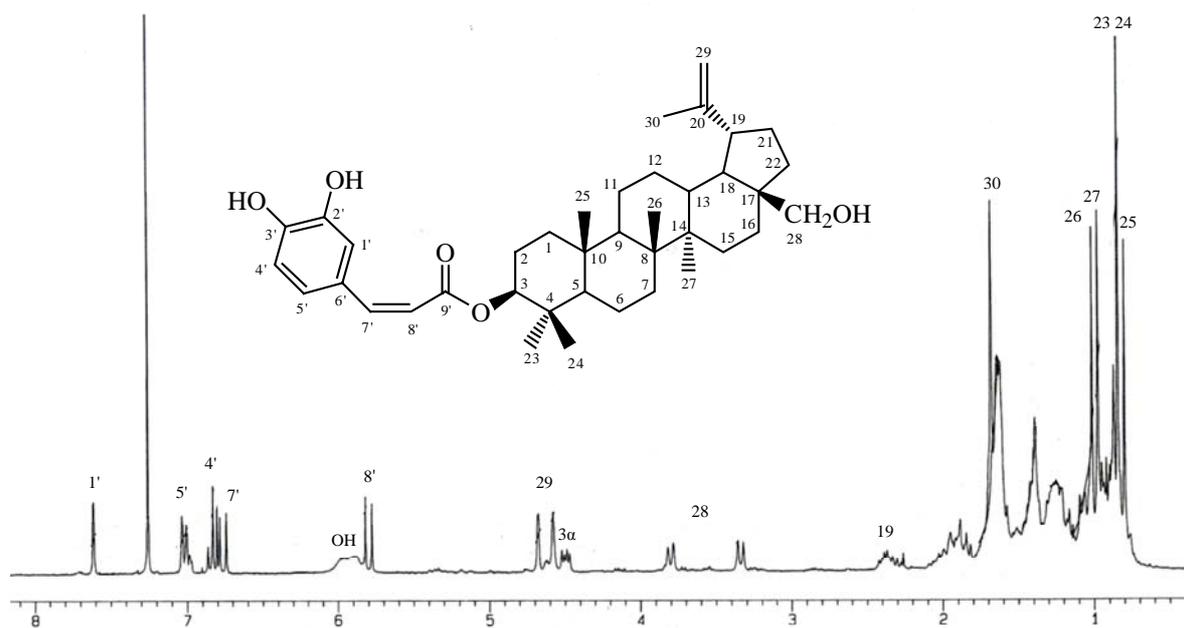
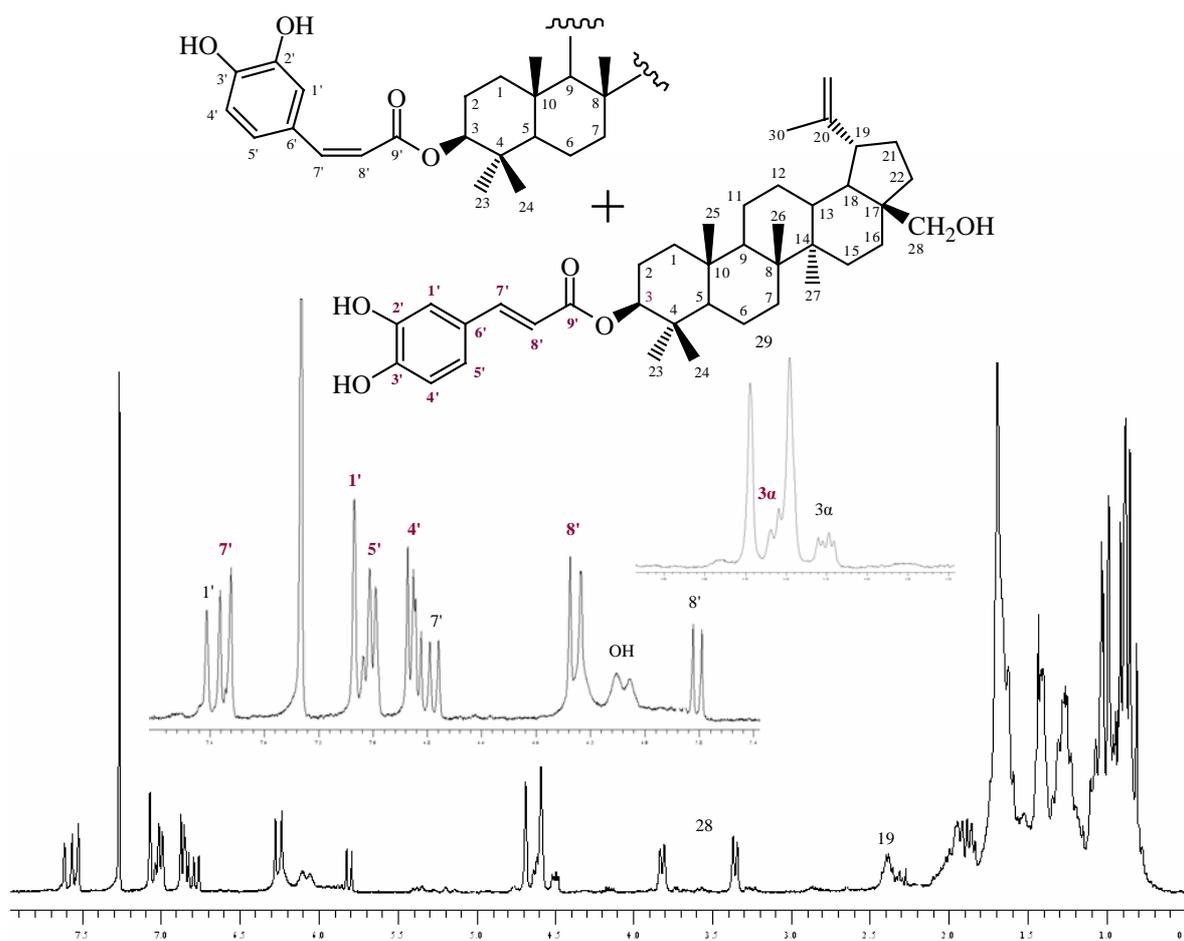


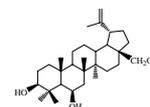
### Triterpeno: L-6

El compuesto que hemos denominado **L-6** presentó una fórmula molecular  $C_{39}H_{56}O_5$ , determinada por EMAR, fórmula que indica 12 grados de insaturación. El espectro de masas presentó fragmentos correspondientes a la pérdida de agua ( $18 m/z$ ,  $H_2O$ ) y ácido cafeíco ( $181 m/z$ ,  $C_9H_9O_4^+$ ).

El análisis detallado de su espectro de RMN  $^1H$ , nos indicó que **L-6** es un triterpeno de la serie del lup-20(29)-eno con un grupo *O*-cafeato, relacionado con el *trans*-cafeato de la betulina.<sup>4</sup> Así, se observaron cinco singuletes a  $\delta_H$  0.81 (Me-25), 0.85 (Me-23, Me-24), 0.98 (Me-27) y 1.02 (Me-26); un grupo isopropilideno con señales a  $\delta_H$  1.68 (3H, s, Me-30),  $\delta_H$  4.59, 4.68 (2H, s ancho, H-29) y el típico protón lupenilo H-19 $\beta$  a  $\delta_H$  2.38 (1H, m), un protón geminal a grupo éster a  $\delta_H$  4.50 (1H, dd,  $J = 4.4, 10.0$  Hz, H-3 $\alpha$ ) y señales para un sistema AB de protones carbinólicos a  $\delta_H$  3.35, 3.88 (2H, d,  $J = 10.8$  Hz, H-28). Además, se observaron en su espectro de RMN  $^1H$  señales correspondientes a tres protones aromáticos a  $\delta_H$  6.82 (1H, d,  $J = 8.2$  Hz, H-4'), 7.03 (1H, d,  $J = 8.2$  Hz, H-5') y 7.62 (1H, s, H-1') y un doble enlace *cis* ( $J = 12.8$  Hz) a  $\delta_H$  5.81 (H-8') y 6.30 (H-7').

Transcurrido un mes del aislamiento y obtención del espectro de RMN  $^1H$  de **L-6**, realizamos los experimentos bidimensionales, observándose en el espectro de RMN  $^1H$ , el desplazamiento de las señales correspondientes al doble enlace 7'-8' [ $\delta_H$  6.25 (1H, d,  $J = 15.9$  Hz, H-8') y  $\delta_H$  7.54 (1H, d,  $J = 15.9$  Hz, H-7')], así como cambios en el desplazamiento de las señales asignadas a los protones del anillo aromático. Esto nos sugirió la isomerización del compuesto al isómero *trans*, lo cual es lógico debido a la mayor estabilidad del último isómero. Los datos de RMN  $^1H$  del isómero *trans* coincidieron con los dados en la bibliografía para el *trans*-cafeato de la betulina.<sup>4</sup> Estos datos y un cuidadoso estudio de los datos de RMN nos permitieron confirmar que **L-6** se trataba del *cis*-cafeato de la betulina, producto que no ha sido reportado anteriormente.

Espectro de RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz) de L-6Espectro de RMN  $^1\text{H}$  de L-6 y del *trans*-cafeato de la betulina



**Tabla 10.** Datos<sup>a</sup> de RMN <sup>1</sup>H (400 MHz) para los lupanos **L-1** a **L-5**

Protón	L-1	L-2	L-3	L-4	L-5 <sup>b</sup>
<b>H-1</b>	1.22 dd (12.4, 17.2) β 1.38 dd (6.4, 12.4) α	0.91, 1.67	0.90, 1.67	1.52, 1.90	1.00, 1.52
<b>H-2</b>	1.53 dd (6.0, 12.4) α 1.93 td (6.0, 18.8) β	1.59	1.61	2.40, 2.60	1.35, 2.36
<b>H-3</b>	3.38 t (2.6)	3.14 t (7.3)	3.12 t (7.3)		
<b>H-5</b>	1.20	0.68 s a	0.68 s a	1.60	1.10
<b>H-6</b>	1.41	4.53 s a	4.51 s a	1.43, 1.50	1.25
<b>H-7</b>	1.41	1.61	1.61	1.45	1.45
<b>H-9</b>	1.40	1.30	1.30	1.40	1.16
<b>H-11</b>	1.20, 1.43	1.39, 1.47	1.30, 1.45	1.40	1.17
<b>H-12</b>	1.05, 1.69	1.05, 1.68	1.03, 1.64	1.67	1.37
<b>H-13</b>	1.65	1.76	1.74	1.70	1.40
<b>H-15</b>	1.31 d (5.0) α 1.56 dd (8.0, 13.6) β	1.60, 1.72	1.65	1.70	0.96
<b>H-16</b>	3.60 dd (4.7, 11.2)	1.38, 1.50	1.03, 1.85	1.05, 1.87	1.10, 1.98
<b>H-18</b>	1.40 m	1.38	1.58	1.65	2.25 t (11.7)
<b>H-19</b>	2.50 td (5.6, 10.4)	2.39 m	2.39 td (5.6, 10.4)	2.40 m	2.31 m
<b>H-21</b>	1.40, 1.98 m	1.32, 1.90	1.40	1.95	1.90
<b>H-22</b>	1.28, 1.65 t (10.4)	1.20, 1.38	1.90	1.90	1.23, 2.10
<b>H-23</b>	0.93 s	1.06 s	1.04 s	1.26 s	1.07 s
<b>H-24</b>	0.82 s	1.15 s	1.14 s	3.43, 3.97 d <sub>AB</sub> (11.2)	0.99 s
<b>H-25</b>	0.84 s	1.20 s	1.18 s	0.86 s	0.73 s
<b>H-26</b>	1.04 s	1.36 s	1.34 s	1.02 s	0.89 s
<b>H-27</b>	1.00 s	0.92 s	0.94 s	0.99 s	0.93 s
<b>H-28</b>	0.79 s	0.80 s	3.32, 3.79 d <sub>AB</sub> (10.7)	3.33, 3.78 d <sub>AB</sub> (10.6)	2.98, 3.55 d <sub>AB</sub> (10.6)
<b>H-29</b>	4.59 A s a 4.68 B d (1.7)	4.59 A s a 4.70 B s a	4.57 A s a 4.68 B d (1.5)	4.58 A s a 4.68 B s a	
<b>H-30</b>	1.68 s	1.69 s	1.67 s	1.68 s	1.84 s

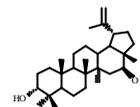
<sup>a</sup> Datos basados en experimentos COSY y HSQC. δ, CDCl<sub>3</sub>, *J* en paréntesis en Hz. <sup>b</sup> δ, C<sub>6</sub>D<sub>6</sub>.

**Tabla 11.** Datos<sup>a</sup> de RMN <sup>13</sup>C (100 MHz) para los lupanos **L-1** a **L-5**

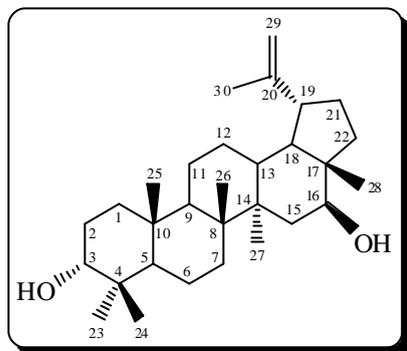
<b>Posición</b>	<b>L-1</b>	<b>L-2</b>	<b>L-3</b>	<b>L-4</b>	<b>L-5<sup>b</sup></b>
<b>C-1</b>	33.3 t	40.7 t	40.7 t	39.3 t	39.3 t
<b>C-2</b>	25.2 t	29.7 t	27.5 t	34.3 t	33.5 t
<b>C-3</b>	76.2 d	79.1 d	79.1 d	221.4 s	214.9 s
<b>C-4</b>	37.5 s	39.6 s	39.6 s	50.7 s	46.9 s
<b>C-5</b>	49.0 d	55.6 d	55.6 d	55.3 d	54.6 d
<b>C-6</b>	18.2 t	69.0 d	68.9 d	19.2 t	19.6 t
<b>C-7</b>	34.1 t	42.1 t	42.0 t	33.6 t	33.8 t
<b>C-8</b>	41.1 s	39.9 s	40.0 s	40.7 s	40.7 t
<b>C-9</b>	49.7 d	51.9 d	51.0 d	49.5 d	49.5 d
<b>C-10</b>	37.2 s	36.7 s	36.7 s	36.6 s	36.6 s
<b>C-11</b>	20.7 t	21.1 t	21.0 t	21.7 t	21.2 t
<b>C-12</b>	24.7 t	25.3 t	25.3 t	25.2 t	27.6 t
<b>C-13</b>	37.2 d	37.2 d	36.4 d	37.5 d	36.3 d
<b>C-14</b>	44.2 s	43.0 s	42.9 s	42.8 s	42.5 s
<b>C-15</b>	36.8 t	27.5 t	27.1 t	27.0 t	27.3 t
<b>C-16</b>	77.0 d	35.5 t	33.6 t	34.0 t	34.1 t
<b>C-17</b>	48.6 s	43.1 s	47.7 s	47.8 s	47.8 s
<b>C-18</b>	47.7 d	48.4 d	48.8 d	48.6 d	49.0 d
<b>C-19</b>	47.6 d	48.0 d	47.7 d	47.8 d	51.7 d
<b>C-20</b>	150.0 s	150.9 s	150.4 s	150.3 s	209.4 s
<b>C-21</b>	29.9 t	29.9 t	29.7 t	29.7 t	27.1 c
<b>C-22</b>	37.7 t	40.0 t	29.1 t	29.1 t	29.0 t
<b>C-23</b>	28.2 c	27.6 c	27.6 c	22.1 c	26.6 c
<b>C-24</b>	22.1 c	16.8 c	16.9 c	65.3 t	21.0 c
<b>C-25</b>	15.9 c	17.7 c	17.7 c	17.0 c	14.5 c
<b>C-26</b>	16.0 c	16.9 c	16.9 c	15.6 c	15.6 c
<b>C-27</b>	16.3 c	14.9 c	15.1 c	14.7 c	15.7 c
<b>C-28</b>	11.7 c	18.0 c	60.4 t	60.5 t	60.1 t
<b>C-29</b>	109.8 t	109.4 t	109.7 t	109.8	
<b>C-30</b>	19.3 c	19.3 c	19.1 c	19.1 c	28.8 c

<sup>a</sup>Datos basados en experimentos DEPT, HSQC y HMBC.  $\delta$ , CDCl<sub>3</sub>. <sup>b</sup> $\delta$ , C<sub>6</sub>D<sub>6</sub>.

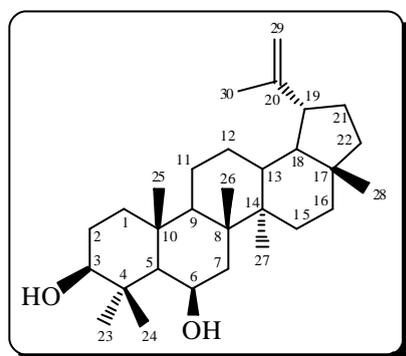
*Parte Experimental: Lupanos*



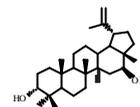
**L-1: 3-*epi*Calenduladiol (3a,16b-Dihidroxilup-20(29)-eno)**



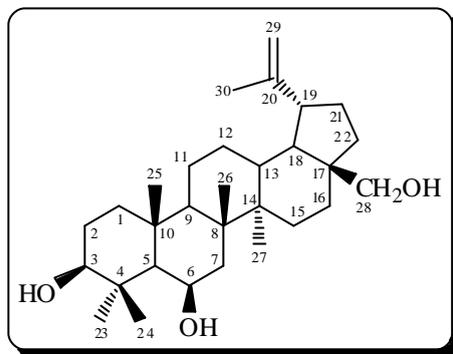
Sólido blanco (136.0 mg);  $[\alpha]^{20}_{\text{D}} +4.1^{\circ}$  ( $c$  0.87,  $\text{CHCl}_3$ ); **IR (película)**  $n_{\text{max}}$  3430, 3010, 2946, 2844, 1645, 1460, 1385, 1035, 900  $\text{cm}^{-1}$ ; **RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)**  $\delta$  0.79 (3H, s, Me-28), 0.82 (3H, s, Me-24), 0.84 (3H, s, Me-25), 1.20, 1.43 (2H, H-11), 0.93 (3H, s, Me-23), 1.00 (3H, s, Me-27), 1.04 (3H, s, Me-26.), 1.05, 1.69 (2H, H-12), 1.20 (1H, H-5), 1.22 (1H, dd,  $J = 12.4, 17.2$  Hz, H-1 $\beta$ ), 1.28, 1.65 (2H, t,  $J = 10.4$  Hz, H-22A, H-22B), 1.31 (1H, d,  $J = 15.0$  Hz, H-15a), 1.38 (1H, dd,  $J = 6.4, 12.4$  Hz, H-1a), 1.40 (1H, H-9), 1.40 (1H, m, H-18), 1.40, 1.98 (2H, m, H-21A, H-21B), 1.41 (2H, H-6), 1.41 (2H, H-7), 1.53 (1H, dd,  $J = 6.0, 12.4$  Hz, H-2a), 1.56 (1H, dd,  $J = 8.0, 13.6$  Hz, H-15 $\beta$ ), 1.65 (1H, H-13), 1.68 (3H, s, Me-30), 1.93 (1H, td,  $J = 6.0, 18.8$  Hz, H-2 $\beta$ ), 2.50 (1H, td,  $J = 5.6, 10.4$  Hz, H-19), 3.38 (1H, t,  $J = 2.6$  Hz, H-3 $\beta$ ), 3.60 (1H, dd,  $J = 4.7, 11.2$  Hz, H-16a), 4.59 (1H, s ancho, H-29A), 4.68 (1H, d,  $J = 1.7$  Hz, H-29B); **RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz)**  $\delta$  11.7 (c, C-28), 15.9 (c, C-25), 16.0 (c, C-26), 16.3 (c, C-27), 18.2 (t, C-6), 19.3 (c, C-30), 20.7 (t, C-11), 22.1 (c, C-24), 24.7 (t, C-12), 25.2 (t, C-2), 28.2 (c, C-23), 29.9 (t, C-21), 33.3 (t, C-1), 34.1 (t, C-7), 36.8 (t, C-15), 37.2 x 2 (s, C-10; d, C-13), 37.5 (s, C-4), 37.7 (t, C-22), 41.1 (s, C-8), 44.2 (s, C-14), 47.6 (d, C-19), 47.7 (d, C-18), 48.6 (s, C-17), 49.0 (d, C-5), 49.7 (d, C-9), 76.2 (d, C-3), 77.0 (d, C-16), 109.8 (t, C-29), 150.0 (s, C-20); **EMIE $^+$   $m/z$  (%)** 442 ( $\text{M}^+$ , 9), 424 ( $\text{M}^+ - 18, \text{H}_2\text{O}$ , 10), 406 (100), 363 (17), 201 (37), 189 (67), 147 (42), 134 (79), 107 (54), 95 (45), 69 ( $\text{C}_4\text{H}_5\text{O}^+$ , 29), 55 ( $\text{C}_3\text{H}_3\text{O}^+$ , 34); **EMAR  $m/z$**  442.37602 (calculado para  $\text{C}_{30}\text{H}_{50}\text{O}_2$ , 442.38108).

**L-2: 3b,6b-Dihidroxilup-20(29)-eno**

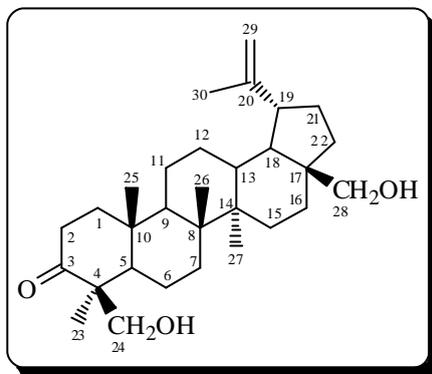
Sólido blanco amorfo (9.0 mg);  $[\alpha]^{20}_{\text{D}} +3.2^{\circ}$  (c 0.19,  $\text{CHCl}_3$ ); **IR (película)**  $n_{\text{max}}$  3438, 3010, 2946, 2844, 1640, 1460, 1380, 1040, 905, 755  $\text{cm}^{-1}$ ; **RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)**  $\delta$  0.68 (1H, s ancho, H-5), 0.80 (3H, s, Me-28), 0.91, 1.67 (2H, H-1), 0.92 (3H, s, Me-27), 1.06 (3H, s, Me-23), 1.15 (3H, s, Me-24), 1.20 (3H, s, Me-25), 1.30 (1H, H-9), 1.36 (3H, s, Me-26), 1.38 (1H, H-18), 1.59 (2H, H-2), 1.61 (2H, H-7), 1.69 (3H, s, Me-30), 1.76 (1H, H-13), 2.39 (1H, m, H-19), 3.14 (1H, t,  $J = 7.3$  Hz, H-3a), 4.53 (1H, s ancho, H-6a), 4.59, 4.70 (2H, s ancho, H-29); **RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz)**  $\delta$  14.9 (c, C-27), 16.8 (c, C-24), 16.9 (c, C-26), 17.7 (c, C-25), 18.0 (c, C-28), 19.3 (c, C-30), 21.1 (t, C-11), 25.3 (t, C-12), 27.5 (t, C-15), 27.6 (c, C-23), 29.7 (t, C-2), 29.9 (t, C-21), 35.5 (t, C-16), 36.7 (s, C-10), 37.2 (d, C-13), 39.6 (s, C-4), 39.9 (s, C-8), 40.0 (t, C-22), 40.7 (t, C-1), 42.1 (t, C-7), 43.0 (s, C-14), 43.1 (s, C-17), 48.0 (d, C-19), 48.4 (d, C-18), 51.9 (d, C-9), 55.6 (d, C-5), 69.0 (d, C-6), 79.1 (d, C-3), 109.4 (t, C-29), 150.9 (s, C-20); **EMIE $^+$   $m/z$  (%)** 442 ( $\text{M}^+$ , 5), 424 ( $\text{M}^+-18$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ , 4), 406 (83), 391 (49), 363 (15), 201 (21), 187 (100), 145 (30), 134 (38), 107 (29), 95 (32), 69 ( $\text{C}_4\text{H}_5\text{O}^+$ , 22), 55 ( $\text{C}_3\text{H}_3\text{O}^+$ , 24); **EMAR  $m/z$**  442.37823 (calculado para  $\text{C}_{30}\text{H}_{50}\text{O}_2$ , 442.38108).



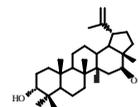
**L-3: 3b,6b,28- Trihidroxilup-20(29)-eno**



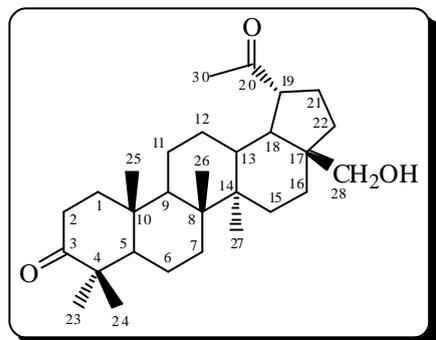
Laca incolora (59.0 mg);  $[\alpha]^{20}_D$   $-0.8^\circ$  ( $c$  2.12,  $\text{CHCl}_3$ ); **IR (película)**  $n_{\text{max}}$  3433, 3011, 2936, 2869, 1642, 1458, 1375, 1028, 974  $\text{cm}^{-1}$ ; **RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)**  $\delta$  0.68 (1H, s ancho, H-5), 0.90, 1.67 (2H, H-1), 0.94 (3H, s, Me-27), 1.03, 1.64 (2H, H-12), 1.03, 1.85 (2H, H-16), 1.04 (3H, s, Me-23), 1.14 (3H, s, Me-24), 1.18 (3H, s, Me-25), 1.30 (1H, H-9), 1.30, 1.45 (2H, H-11), 1.34 (3H, s, Me-26), 1.40 (2H, H-21), 1.58 (1H, H-18), 1.61 (2H, H-2), 1.61 (2H, H-7), 1.65 (2H, H-15), 1.67 (3H, s, Me-30), 1.74 (1H, H-13), 1.90 (2H, H-22), 2.39 (1H, td,  $J = 5.6$ , 10.4 Hz, H-19), 3.12 (1H, t,  $J = 7.3$  Hz, H-3a), 3.32, 3.79 (2H,  $d_{\text{AB}}$ ,  $J = 10.7$  Hz, H-28), 4.51 (1H, s ancho, H-6a), 4.57 (1H, s ancho, H-29A), 4.68 (1H, d,  $J = 1.5$  Hz, H-29B); **RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz)**  $\delta$  15.1 (c, C-27), 16.9 x 2 (c, C-24; c, C-26), 17.7 (c, C-25), 19.1 (c, C-30), 21.0 (t, C-11), 25.3 (t, C-12), 27.1 (t, C-15), 27.5 (t, C-2), 27.6 (c, C-23), 29.1 (t, C-22), 29.7 (t, C-21), 33.6 (t, C-16), 36.4 (d, C-13), 36.7 (s, C-10), 39.6 (s, C-4), 40.0 (s, C-8), 40.7 (t, C-1), 42.0 (t, C-7), 42.9 (s, C-14), 47.7 x 2 (s, C-17; d, C-19), 48.8 (d, C-18), 51.0 (d, C-9), 55.6 (d, C-5), 60.4 (t, C-28), 68.9 (d, C-6), 79.1 (d, C-3), 109.7 (t, C-29), 150.4 (s, C-20); **EMIE $^+$   $m/z$  (%)** 458 ( $\text{M}^+$ , 43), 440 ( $\text{M}^+ - 18$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ , 10), 427 ( $\text{M}^+ - 31$ ,  $\text{CH}_3\text{O}^+$ , 40), 409 (20), 368 (15), 207 (48), 187 (79), 147 (32), 133 (42), 123 (94), 107 (52), 95 (72), 69 ( $\text{C}_4\text{H}_5\text{O}^+$ , 97), 55 ( $\text{C}_3\text{H}_3\text{O}^+$ , 100); **EMAR  $m/z$**  458.37227 (calculado para  $\text{C}_{30}\text{H}_{50}\text{O}_3$ , 458.37599).

**L-4: 24,28-Dihidroxi-3-oxolup-20(29)-eno**

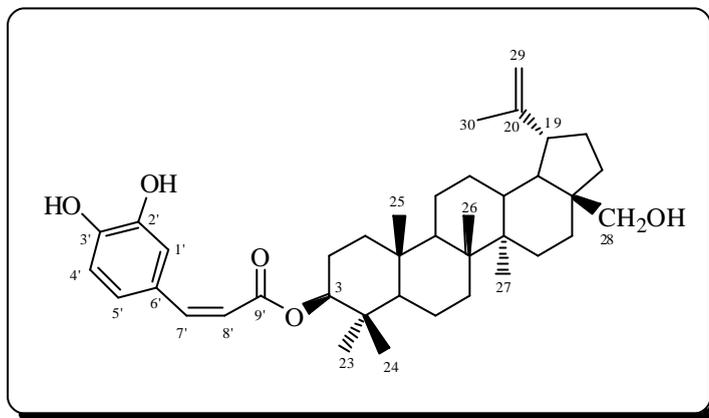
Laca incolora (6.0 mg);  $[\alpha]^{20}_{\text{D}} +18.5^{\circ}$  ( $c$  0.68,  $\text{CHCl}_3$ ); **IR (película)**  $\nu_{\text{max}}$  3425, 3011, 2943, 2870, 1705, 1650, 1461, 1377, 1035, 910  $\text{cm}^{-1}$ ; **RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)**  $\delta$  0.86 (3H, s, Me-25), 0.99 (3H, s, Me-27), 1.02 (3H, s, Me-26), 1.05, 1.87 (2H, H-16), 1.26 (3H, s, Me-23), 1.40 (1H, H-9), 1.40 (2H, H-11), 1.43, 1.50 (2H, H-6), 1.45 (2H, H-7), 1.52, 1.90 (2H, H-1), 1.60 (1H, H-5), 1.65 (1H, H-18), 1.67 (2H, H-12), 1.68 (3H, s, Me-30), 1.70 (1H, H-13), 1.70 (2H, H-15), 1.90 (2H, H-22), 1.95 (2H, H-21), 2.40, 2.60 (2H, H-2), 2.40 (1H, m, H-19), 3.33, 3.78 (2H,  $d_{\text{AB}}$ ,  $J = 10.6$  Hz, H-28), 3.43, 3.97 (2H,  $d_{\text{AB}}$ ,  $J = 11.2$  Hz, H-24), 4.58, 4.68 (2H, s ancho, H-29); **RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz)**  $\delta$  14.7 (c, C-27), 15.6 (c, C-26), 17.0 (c, C-25), 19.1 (c, C-30), 19.2 (t, C-6), 21.7 (t, C-11), 22.1 (c, C-23), 25.2 (t, C-12), 27.0 (t, C-15), 29.1 (t, C-22), 29.7 (t, C-21), 33.6 (t, C-7), 34.0 (t, C-16), 34.3 (t, C-2), 36.6 (s, C-10), 37.5 (d, C-13), 39.3 (t, C-1), 40.7 (s, C-8), 42.8 (s, C-14), 47.8 x 2 (s, C-17; d, C-19), 48.6 (d, C-18), 49.5 (d, C-9), 50.7 (s, C-4), 55.3 (d, C-5), 60.5 (t, C-28), 65.3 (t, C-24), 109.8 (t, C-29), 150.3 (s, C-20), 221.4 (s, C-3); **EMIE $^+$   $m/z$  (%)** 456 ( $\text{M}^+$ , 4), 438 ( $\text{M}^+-18$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ , 23), 410 (2), 368 (3), 203 (8), 185 (7), 137 (17), 109 (12), 95 (21), 69 ( $\text{C}_4\text{H}_5\text{O}^+$ , 100), 55 ( $\text{C}_3\text{H}_3\text{O}^+$ , 37); **EMAR  $m/z$**  456.35310 (calculado para  $\text{C}_{30}\text{H}_{48}\text{O}_3$ , 456.36035).



**L-5: 28-Hidroxi-3,20-dioxo-29-norlupano**

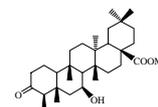


Laca incolora (18.0 mg);  $[\alpha]^{20}_{\text{D}} +4.5^{\circ}$  (c 1.44,  $\text{CHCl}_3$ ); **IR (película)**  $n_{\text{max}}$  3444, 2945, 2870, 1702, 1461, 1383, 1037, 754  $\text{cm}^{-1}$ ; **RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{C}_6\text{D}_6$ , 400 MHz)** d 0.73 (3H, s, Me-25), 0.89 (3H, s, Me-26), 0.93 (3H, s, Me-27), 0.96 (2H, H-15), 0.99 (3H, s, Me-24), 1.00, 1.52 (2H, H-1), 1.07 (3H, s, Me-23), 1.10 (1H, H-5), 1.10, 1.98 (1H, H-16), 1.16 (1H, H-9), 1.17 (2H, H-11), 1.23, 2.10 (2H, H-22), 1.35, 2.36 (2H, H-2), 1.25 (2H, H-6), 1.37 (2H, H-12), 1.40 (1H, H-13), 1.45 (2H, H-7), 1.84 (3H, s, Me-30), 1.90 (2H, H-21), 2.25 (1H, t,  $J = 11.7$  Hz, H-18), 2.31 (1H, m, H-19), 2.98, 3.55 (2H,  $d_{\text{AB}}$ ,  $J = 10.6$  Hz, H-28), 6.18 (1H, s, OH-28); **RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{C}_6\text{D}_6$ , 100 MHz)** d 14.5 (c, C-25), 15.6 (c, C-26), 15.7 (c, C-27), 19.6 (t, C-6), 21.0 (c, C-24), 21.2 (t, C-11), 26.6 (c, C-23), 27.1 (t, C-21), 27.3 (t, C-15), 27.6 (t, C-12), 28.8 (c, C-30), 29.0 (t, C-22), 33.5 (t, C-2), 33.8 (t, C-7), 34.1 (t, C-16), 36.3 (d, C-13), 36.6 (s, C-10), 39.3 (t, C-1), 40.7 (s, C-8), 42.5 (s, C-14), 46.9 (s, C-4), 47.8 (s, C-17), 49.0 (d, C-18), 49.5 (d, C-9), 51.7 (d, C-19), 54.6 (d, C-5), 60.1 (t, C-28), 209.4 (s, C-20), 214.9 (s, C-3); **EMIE $^+$   $m/z$  (%)** 442 ( $\text{M}^+$ , 99), 424 ( $\text{M}^+-18$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ , 35), 411 ( $\text{M}^+-31$ ,  $\text{CH}_3\text{O}^+$ , 100), 399 ( $\text{M}^+-43$ ,  $\text{C}_2\text{H}_3\text{O}^+$ , 12), 381 (48), 205 (66), 191 (40), 177 (33), 147 (47), 135 (45), 107 (41), 95 (45), 80 (53), 69 ( $\text{C}_4\text{H}_5\text{O}^+$ , 32), 55 ( $\text{C}_3\text{H}_3\text{O}^+$ , 40); **EMAR  $m/z$**  442.34036 (calculado para  $\text{C}_{29}\text{H}_{46}\text{O}_3$ , 442.34469).

**L-6: *cis*-Cafeato de la betulina**

Laca incolora (6.6 mg); **RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)**  $\delta$  0.81 (3H, s, Me-25), 0.85 (6H, s, Me-23, Me-24), 0.98 (3H, s, Me-27), 1.02 (3H, s, Me-26), 1.68 (3H, s, Me-30), 2.38 (1H, m, H-19), 3.35, 3.88 (2H,  $d_{\text{AB}}$ ,  $J = 10.8$  Hz, H-28), 4.50 (1H, dd,  $J = 4.4, 10.0$  Hz, H-3), 4.59, 4.68 (2H, s ancho, H-29), 5.81 (1H, d,  $J = 12.8$  Hz, H-8'), 5.90 (2H, s ancho, OH-fenólicos), 6.30 (1H, d,  $J = 12.8$  Hz, H-7'), 6.82 (1H, d,  $J = 8.2$  Hz, H-4'), 7.03 (1H, d,  $J = 8.2$  Hz, H-5'), 7.62 (1H, s, H-1'); **EMIE $^+$   $m/z$  (%)** 604 ( $\text{M}^+$ , 5), 586 ( $\text{M}^+ - 18, \text{H}_2\text{O}$ , 15), 424 ( $\text{M}^+ - 181, \text{C}_9\text{H}_9\text{O}_4^+$ , 24), 406 (21), 381 (28), 216 (20), 203 (100), 189 (81), 175 (43), 135 (49), 119 (48), 107 (52), 95 (54), 69 (38), 55 (38); **EMAR  $m/z$**  604.27036 (calculado para  $\text{C}_{39}\text{H}_{56}\text{O}_5$ , 604.27469).

*Triterpenos de la serie del Fridelano*  
*Aislados de Maytenus chiapensis*



Del extracto diclorometánico de las hojas y corteza del tallo de *Maytenus chiapensis*, se aislaron siete triterpenos de la serie del friedelano, anteriormente descritos en la bibliografía química, que se relacionan a continuación:

**Aislados de hojas:** epifriedelinol<sup>1</sup> y putrol (**F-5**).<sup>2,3,4</sup>

**Aislados de la corteza del tallo:** friedelina,<sup>5</sup> canophyllol,<sup>6</sup> 29-hidroxifriedelina,<sup>4</sup> 28,29-dihidroxifriedelina,<sup>7,8</sup> y 29-hidroxi-3-oxofriedelan-28-al (**F-4**).<sup>7</sup>

El triterpeno denominado putrol (**F-5**) fue aislado por primera vez de las hojas de *Putranjiva roxburghii* Wall (Euphorbiaceae)<sup>2</sup> y su estructura elucidada haciendo uso de RMN <sup>1</sup>H (δ CDCl<sub>3</sub>, 60 MHz), correlación química y espectrometría de masas. Los datos de RMN <sup>13</sup>C de este producto nunca han sido aportados y se presentan en esta Memoria de Tesis.

El triterpeno que hemos denominado **F-4** (29-hidroxi-3-oxofriedelan-28-al), fue aislado en 1982,<sup>7</sup> de la corteza de *Elaeodendron balae* Kosterm (Celastraceae). Su elucidación estructural fue llevada a cabo utilizando RMN <sup>1</sup>H (δ CDCl<sub>3</sub>, 60 MHz), espectrometría de masas y correlación química, sin embargo hasta el momento no se han reportado sus datos de RMN <sup>13</sup>C; así mismo, los datos de RMN <sup>1</sup>H de los metilos 24, 25, 26 y 27 no habían sido asignados, por lo que se presentan en esta Memoria de Tesis.

Las estructuras de los diferentes friedelanos aislados se muestran a continuación:

<sup>1</sup> Apurba, K.; Mitra, A. K.; *Org. Magn. Resonance*, 17, 166-168, **1980**.

<sup>2</sup> Chopra, G. R.; Jain, A. C.; Seshadri, T. R. *Curr. Sci.*, 37, 301-304, **1968**.

<sup>3</sup> Aiyar, V. N.; Chopra, G. R.; Jain, A. C.; Seshadri, T. R. *Indian J. Chem.*, 11, 525-527, **1973**.

<sup>4</sup> Sengupta, P.; Sen, M.; Mitra, B.; Das, S. *Indian J. Chem. B*, 28B, 21-23, **1989**.

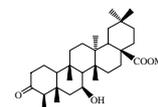
<sup>5</sup> Patra, A.; Mukhopadhyay, A. K.; Mitra, A. K. *Org. Magn. Resonance*, 17, 166-168, **1981**.

<sup>6</sup> Betancor, C.; Freire, R.; González, A. G.; Salazar, J. A.; Pascard, C.; Prange, T. *Phytochemistry*, 19, 1989-1993, **1980**.

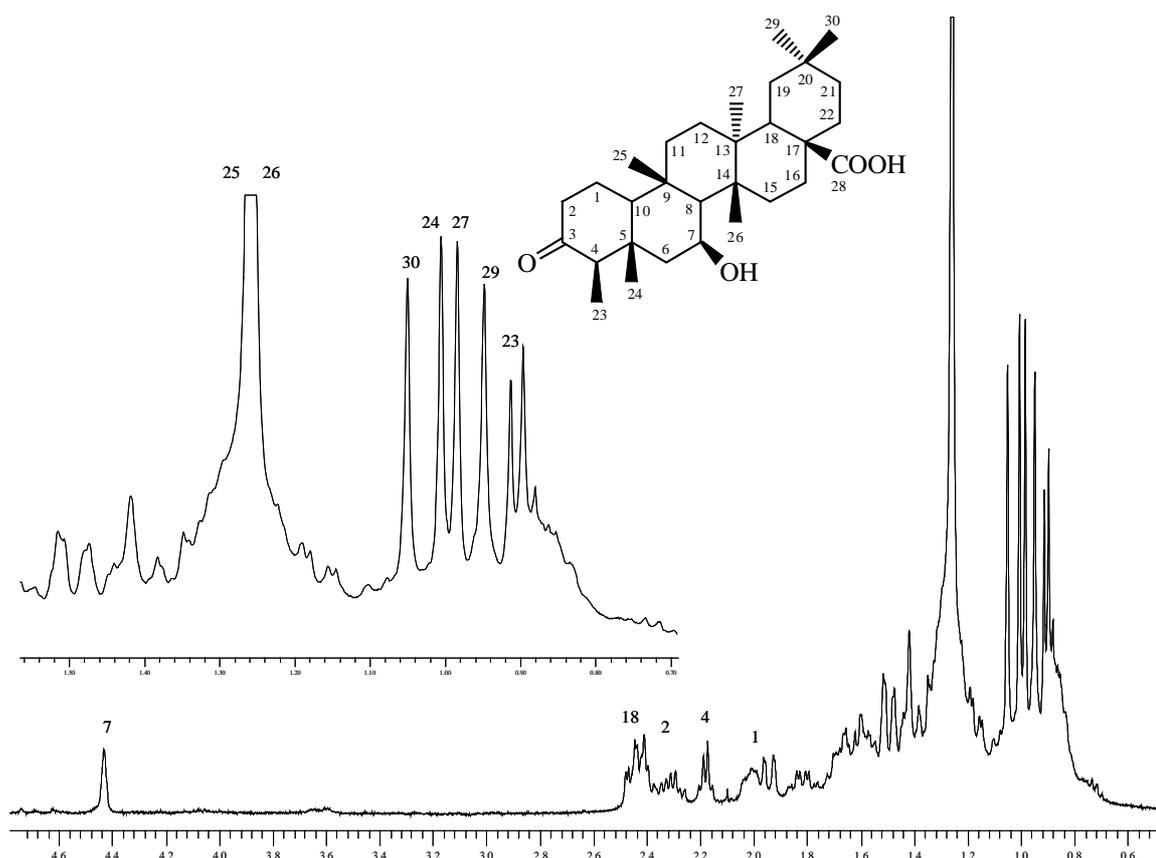
<sup>7</sup> Weeratunga, G.; Kumar, V.; Sultanbawa, M. U. S.; Balasubramaniam, S. *J. Chem. Soc. Perkins Trans. I*, 2457-2459, **1982**.

<sup>8</sup> Nosaki, H.; Matsuura, Y.; Hirono, S.; Kasai, R.; Chang, J.-J.; Lee, K.-H. *J. Nat. Prod.*, 53, 1039-1041, **1990**.





Su espectro de RMN  $^1\text{H}$  (Tabla 12) mostró señales para seis metilos como singuletes a  $\delta_{\text{H}}$  0.93, 0.98, 1.01, 1.05, 1.25 x 2 y uno como doblete a  $\delta_{\text{H}}$  0.90 ( $J = 6.7$  Hz). Además, se observaron señales para un protón metínico a  $\delta_{\text{H}}$  2.18 (c,  $J = 6.7$  Hz) y un protón metínico geminal a grupo hidroxilo a  $\delta_{\text{H}}$  4.43 (s ancho).

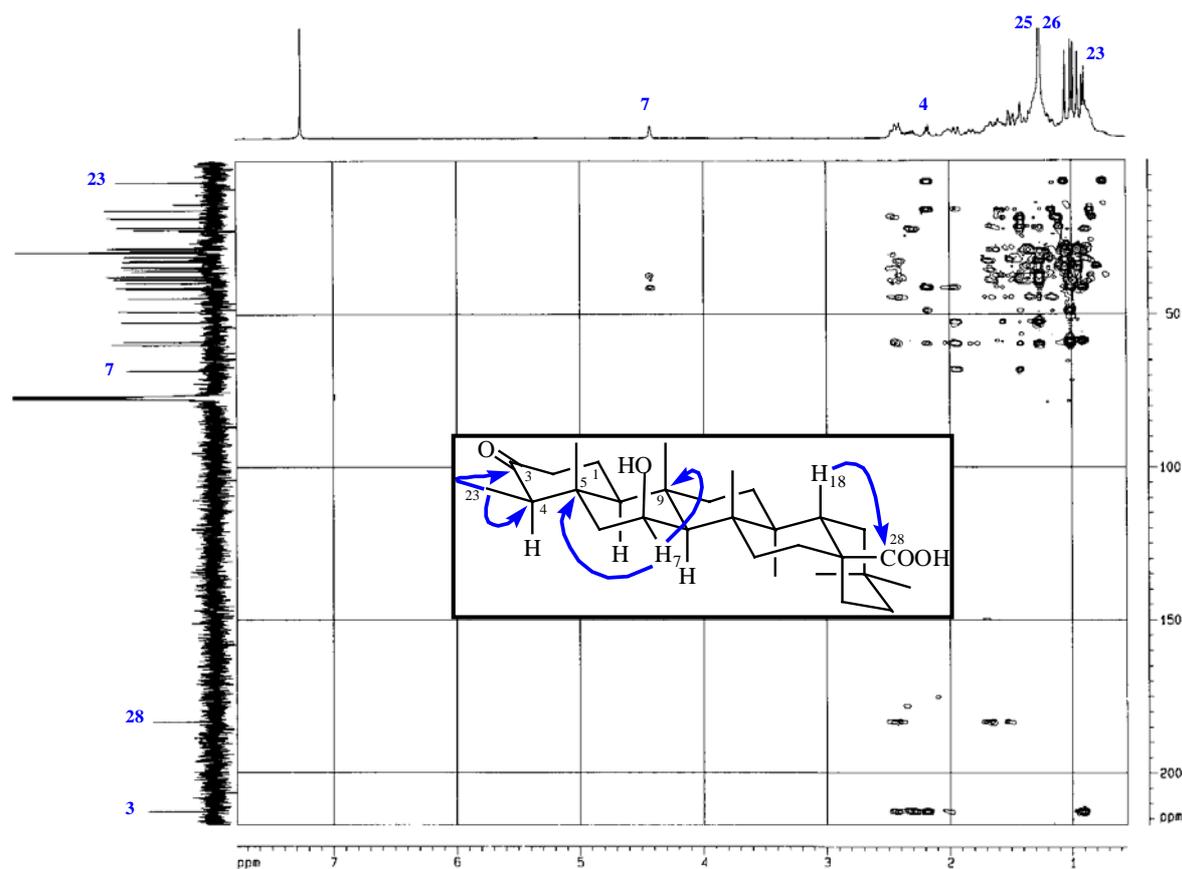


Espectro de RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz) de **F-1**

Los datos anteriores se corroboran con su espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (Tabla 13), al observarse señales para siete metilos, diez metilenos, cinco metinos y ocho carbonos cuaternarios; siendo las señales más significativas las correspondientes a un carbono carbonílico a  $\delta_{\text{C}}$  212.7 (s), un carbono carboxílico a  $\delta_{\text{C}}$  183.3 (s) y un carbono unido a oxígeno a  $\delta_{\text{C}}$  68.3 (d). Todos estos datos sugieren que **F-1** es un triterpeno con esqueleto de friedelano.

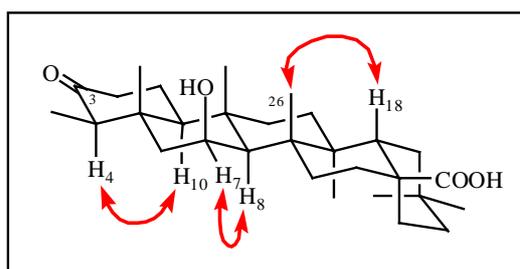
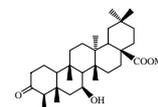
La posición de los grupos funcionales en la molécula fue determinada mediante el uso de un experimento HMBC, en el cual se observó correlación entre el metilo 23 a  $\delta_{\text{H}}$  0.90 con un carbono metínico a  $\delta_{\text{C}}$  58.8 (d, C-4) y un carbono carbonílico a  $\delta_{\text{C}}$  212.7 (s), lo

que permitió situar este último en la posición 3 del esqueleto triterpénico; además, se observó correlación entre un protón geminal a un grupo hidroxilo a  $\delta_H$  4.43 con los carbonos C-9 a  $\delta_C$  37.6 y C-5 a  $\delta_C$  41.3, permitiendo situar el grupo hidroxilo sobre C-7; asimismo correlación de los protones H-18 ( $\delta_H$  2.45), H-16 ( $\delta_H$  1.15, 2.39) y H-22 ( $\delta_H$  1.21) con un carbono carboxílico a  $\delta_C$  183.3, situó el ácido carboxílico sobre la posición 28.



Experimento HMBC ( $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ ) para **F-1**

La estereoquímica del alcohol sobre C-7 se determinó mediante el estudio de las constantes de acoplamiento y un experimento COSY y fue corroborada por un experimento ROESY, donde se observó efecto NOE entre la señal a  $\delta_H$  4.43 (H-7) y  $\delta_H$  1.42 (H-8) (Figura 46).



**Figura 46.** Correlaciones **NOE** para **F-1**

Todos estos datos nos permitieron establecer la estructura de **F-1** como ácido 7 $\beta$ -hidroxi-3-oxofriedelano-28-oico.

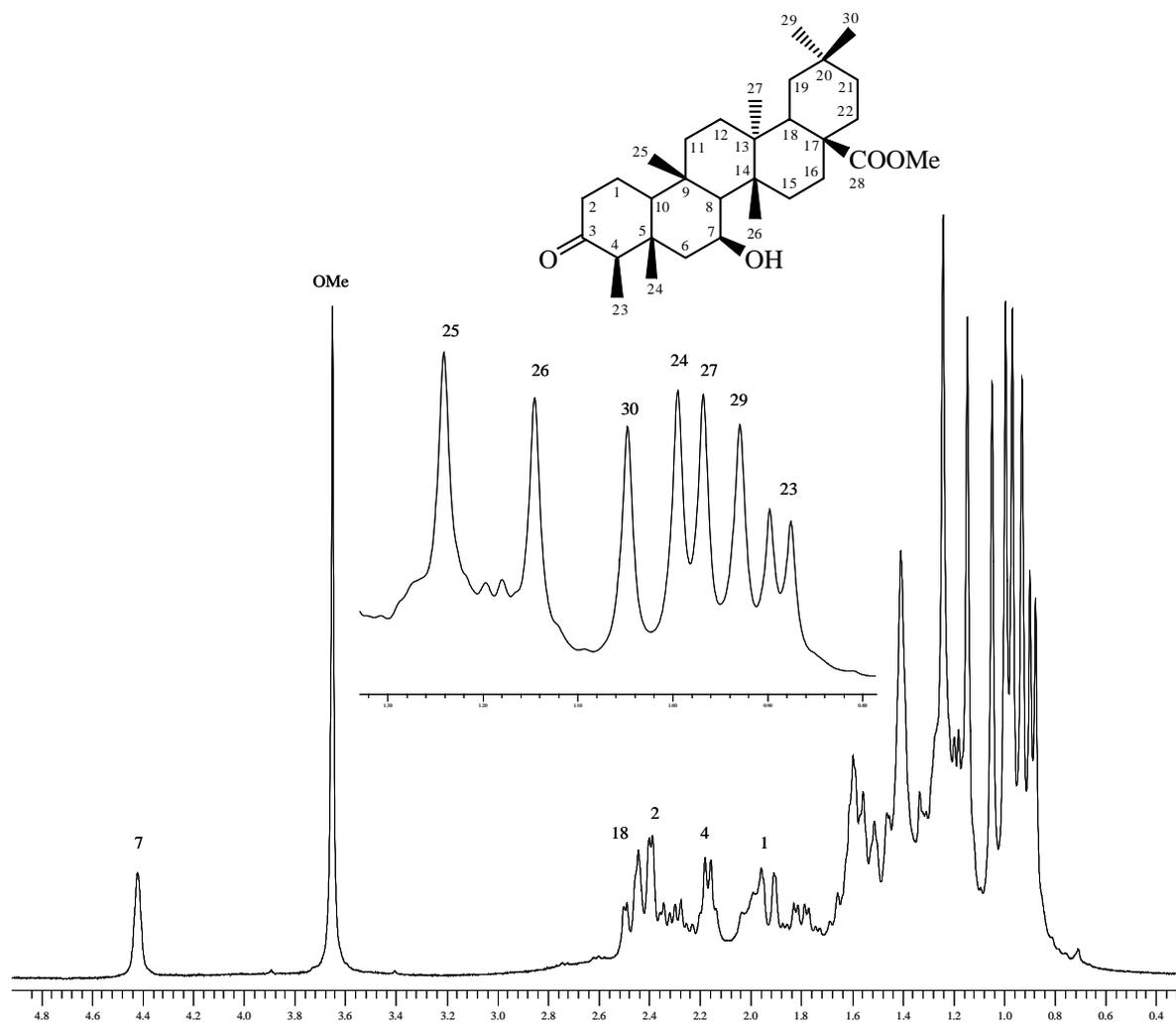
### **Triterpeno: F-2**

El compuesto que hemos denominado **F-2** presentó una fórmula molecular  $C_{31}H_{50}O_4$ , determinada por EMAR, indicando 7 grados de insaturación. El espectro de masas presentó fragmentos correspondientes a la pérdida de agua (18  $m/z$ ,  $H_2O$ ) y metiléster (59  $m/z$ ,  $C_2H_3O_2^+$ ).

En su espectro de IR se observaron bandas de absorción correspondientes a grupo hidroxilo ( $3526\text{ cm}^{-1}$ ) y carbonilo ( $1706\text{ cm}^{-1}$ ).

Un estudio detallado de sus datos espectroscópicos de RMN  $^1H$  y  $^{13}C$  (Tablas 12 y 13), correlación  $^1H$ - $^1H$  y  $^1H$ - $^{13}C$ , así como un experimento ROESY, mostró que el producto **F-2** estaba muy relacionado con el producto que hemos denominado **F-1**, siendo la principal diferencia la presencia, en su espectro de RMN  $^1H$  de una señal a  $\delta_H$  3.64 (s), asignada a un metiléster fijado sobre el C-28.

Se determinó así la estructura de **F-2** como el metiléster del ácido 7 $\beta$ -hidroxi-3-oxofriedelano-28-oico.

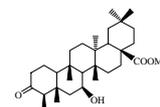
Espectro de RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz) de **F-2**

### **Triterpeno: F-3**

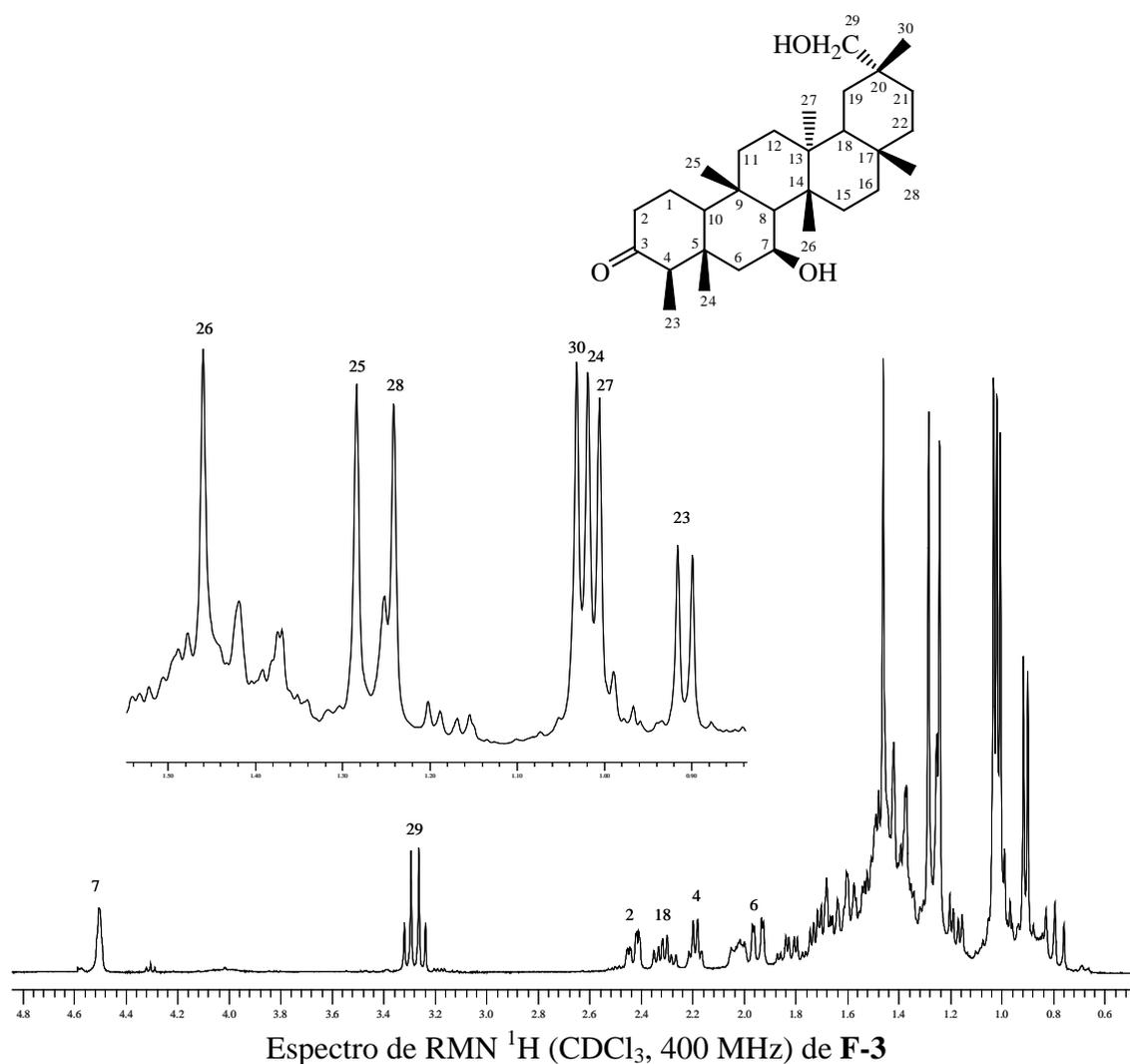
El compuesto que hemos denominado **F-3** presentó una fórmula molecular  $\text{C}_{30}\text{H}_{50}\text{O}_3$ , determinada por espectrometría de masas de alta resolución. El espectro de masas presentó fragmentos correspondientes a la pérdida de agua ( $18\ m/z$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ ) y  $\text{H}_2\text{O}$  + metilo ( $33\ m/z$ ,  $\text{CH}_3\text{O}^+$ ).

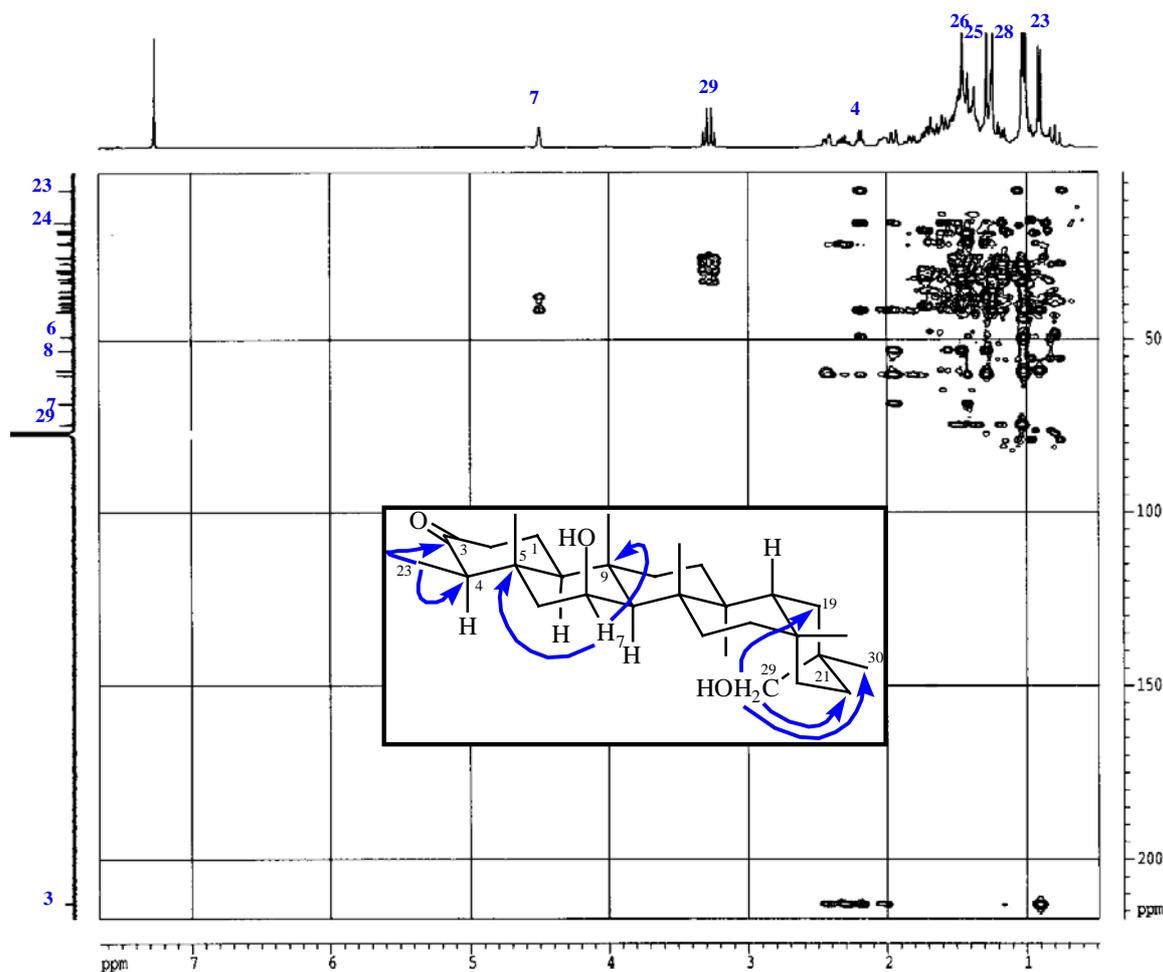
En su espectro de IR se observaron bandas de absorción correspondientes a grupo hidroxilo ( $3422\ \text{cm}^{-1}$ ) y carbonilo ( $1705\ \text{cm}^{-1}$ ).

Los datos de RMN  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$  (Tablas 12 y 13) fueron asignados mediante experimentos COSY, HSQC, HMBC y ROESY, indicando que **F-3** es un triterpeno



relacionado con **F-1**. Así, las principales diferencias en su espectro de RMN  $^1\text{H}$ , son la presencia de una señal a  $\delta_{\text{H}}$  1.25 (s), asignada al metilo 28, el desapantallamiento de la señal correspondiente al metilo 26 a campos más bajos y la presencia de dos protones carbinólicos a  $\delta_{\text{H}}$  3.27 (c,  $J = 10.3$  Hz), lo que unido a la desaparición de la señal asignada al metilo 29, permitió situar este grupo hidroxilo secundario sobre C-29. Así, se determinó la estructura de **F-3** como 7 $\beta$ ,29-dihidroxifriedelina.



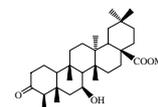
Experimento HMBC ( $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ ) para **F-3**

### Triterpeno: **F-4**

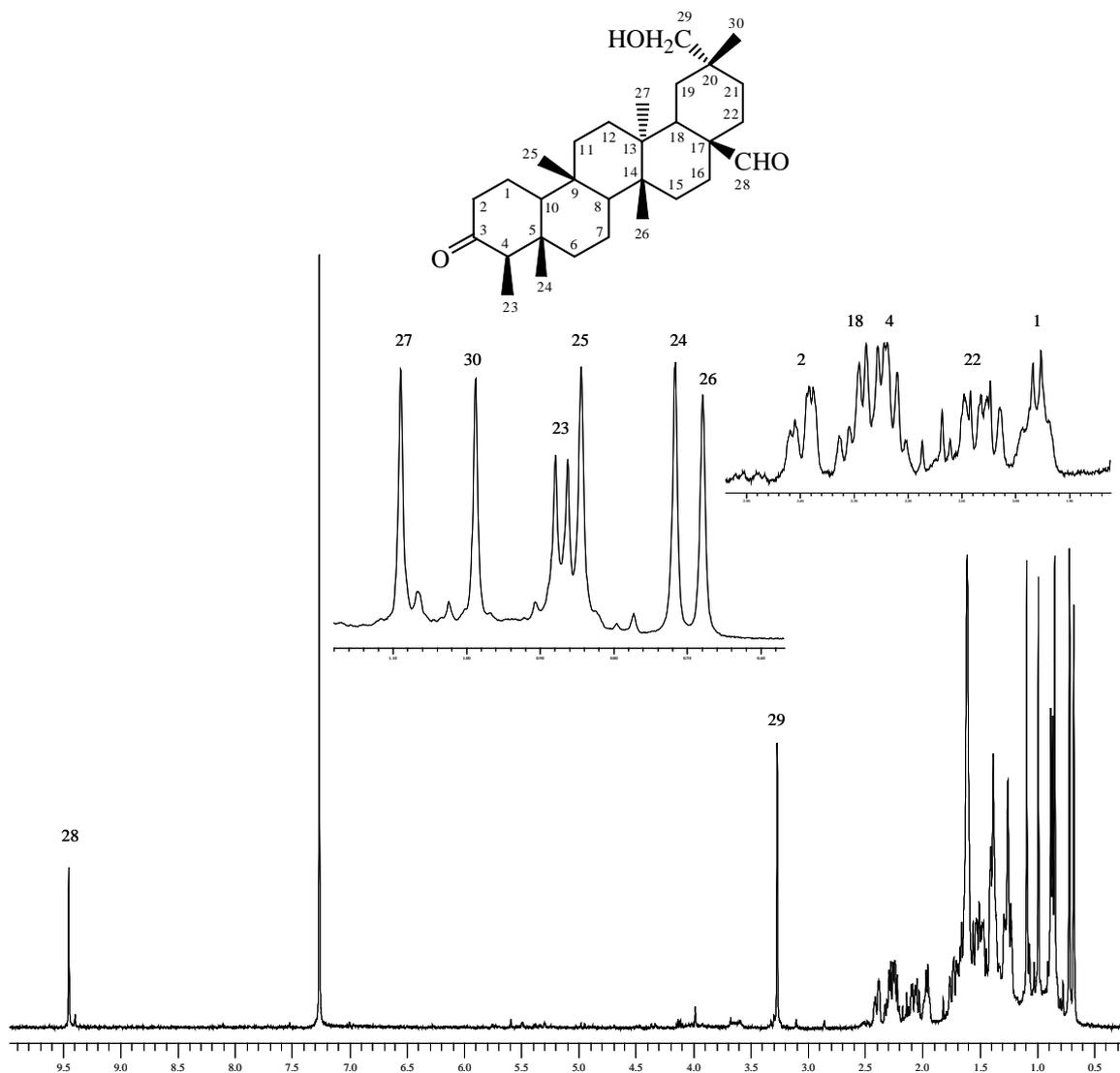
El compuesto que hemos denominado **F-4** presentó una fórmula molecular  $\text{C}_{30}\text{H}_{48}\text{O}_3$ , determinada por espectrometría de masas de alta resolución, indicando 7 grados de insaturación. El espectro de masas presentó fragmentos correspondientes a la pérdida de agua ( $18 m/z$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ ) y aldehído ( $29 m/z$ ,  $\text{CHO}^+$ ).

En su espectro de IR se observaron bandas de absorción correspondientes a grupo hidroxilo ( $3445 \text{ cm}^{-1}$ ), aldehído ( $2868 \text{ cm}^{-1}$ ) y carbonilo ( $1704 \text{ cm}^{-1}$ ).

El análisis de su espectro de RMN  $^1\text{H}$  [ $\delta_{\text{H}}$  0.67 (3H, s, Me-26), 0.72 (3H, s, Me-24) 0.84 (3H, s, Me-25), 0.87 (3H, d,  $J = 6.6 \text{ Hz}$ , Me-23), 0.99 (3H, s, Me-30), 1.09 (3H, s, Me-27), 2.23 (1H, c,  $J = 6.6 \text{ Hz}$ , H-4), 3.27 (2H, s, H-29), 9.45 (1H, s, H-28)] (Tabla 12),

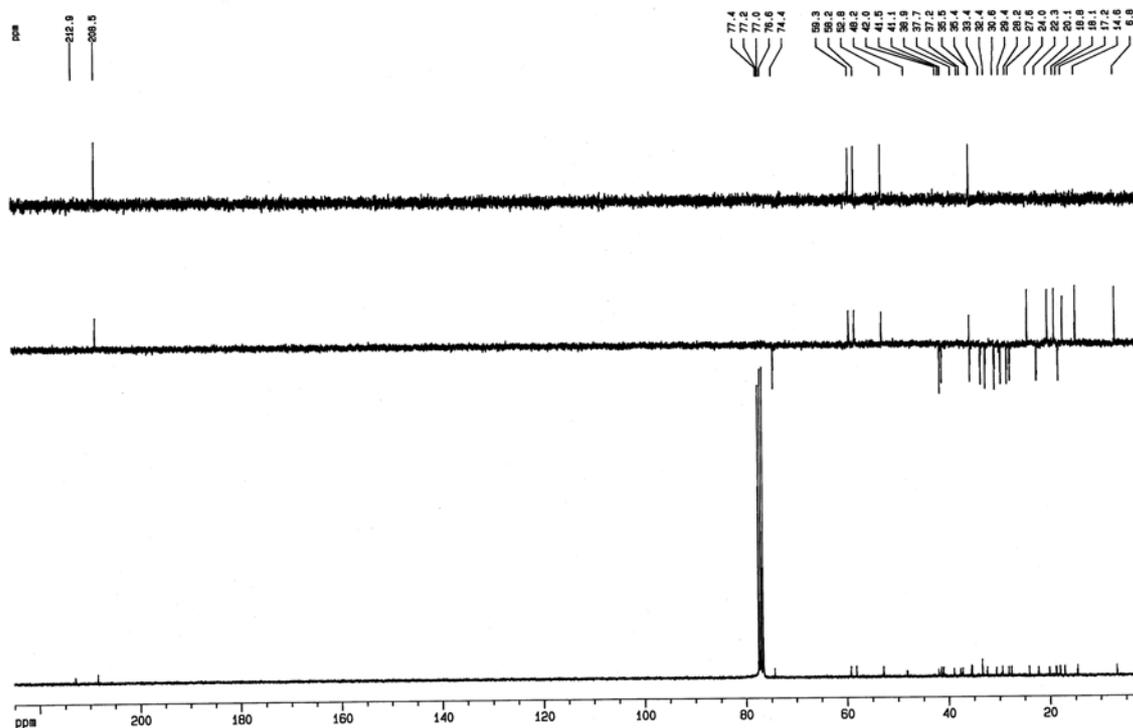


nos confirmó que **F-4** es un triterpeno de la serie del friedelano, aislado previamente por Weeratunga y *col.*<sup>7</sup>



Espectro de RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) de **F-4**

Su espectro de RMN <sup>13</sup>C (Tabla 13) mostró señales para 30 carbonos, lo que junto a los experimentos DEPT 90° y 135°, nos indicó la presencia de seis metilos, doce metilenos, cinco metinos y siete carbonos cuaternarios. La presencia de un aldehído, se corroboró al observar un carbonilo a  $\delta_C$  208.5 (d, C-28), la presencia de un grupo hidroxilo primario al observarse una señal de metileno a  $\delta_C$  74.4 (C-29) y la señal a  $\delta_C$  219.9 (s), corroboró la presencia de un grupo carbonilo.

Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz) de **F-4**

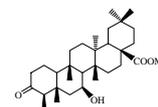
El estudio de los experimentos bidimensionales homonucleares (COSY y ROESY) y heteronucleares (HSQC y HMBC), nos permitió situar de forma inequívoca los grupos funcionales en la molécula.

Estos datos nos permitieron confirmar de forma inequívoca los datos de RMN  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$  de **F-4**, que no habían sido reportados anteriormente y confirmar su estructura como 29-hidroxi-3-oxofriedelan-28-al.

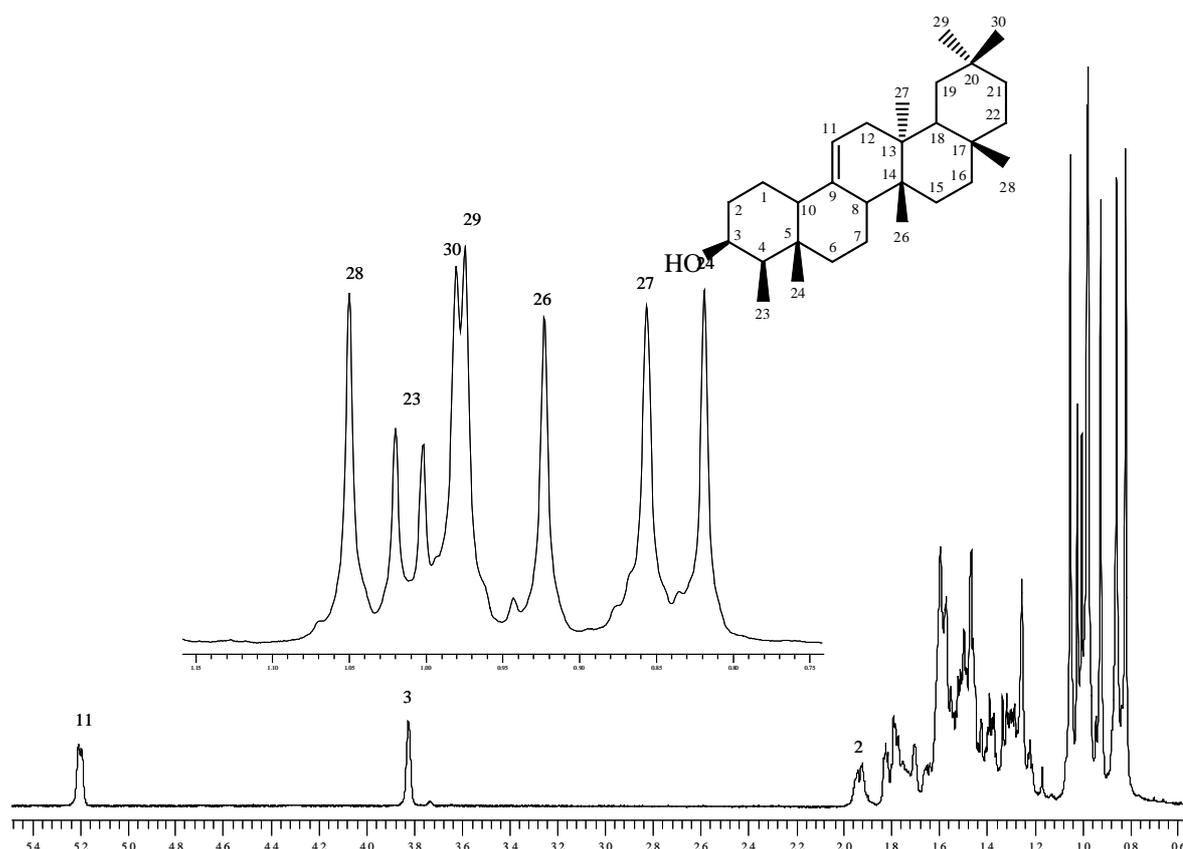
### **Triterpeno: F-5 (Putrol)**

El compuesto denominado **F-5** presentó una fórmula molecular  $\text{C}_{29}\text{H}_{48}\text{O}$ , determinada por espectrometría de masas de alta resolución (EMAR), fórmula que indica 6 grados de insaturación. El espectro de masas presentó fragmentos correspondientes a la pérdida de metilo ( $15\ m/z$ ,  $\text{CH}_3$ ) y agua ( $18\ m/z$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ ).

En su espectro de IR se observaron bandas de absorción correspondientes a grupo hidroxilo ( $3448\ \text{cm}^{-1}$ ) y doble enlace ( $3010$ ,  $1640$  y  $840\ \text{cm}^{-1}$ ).

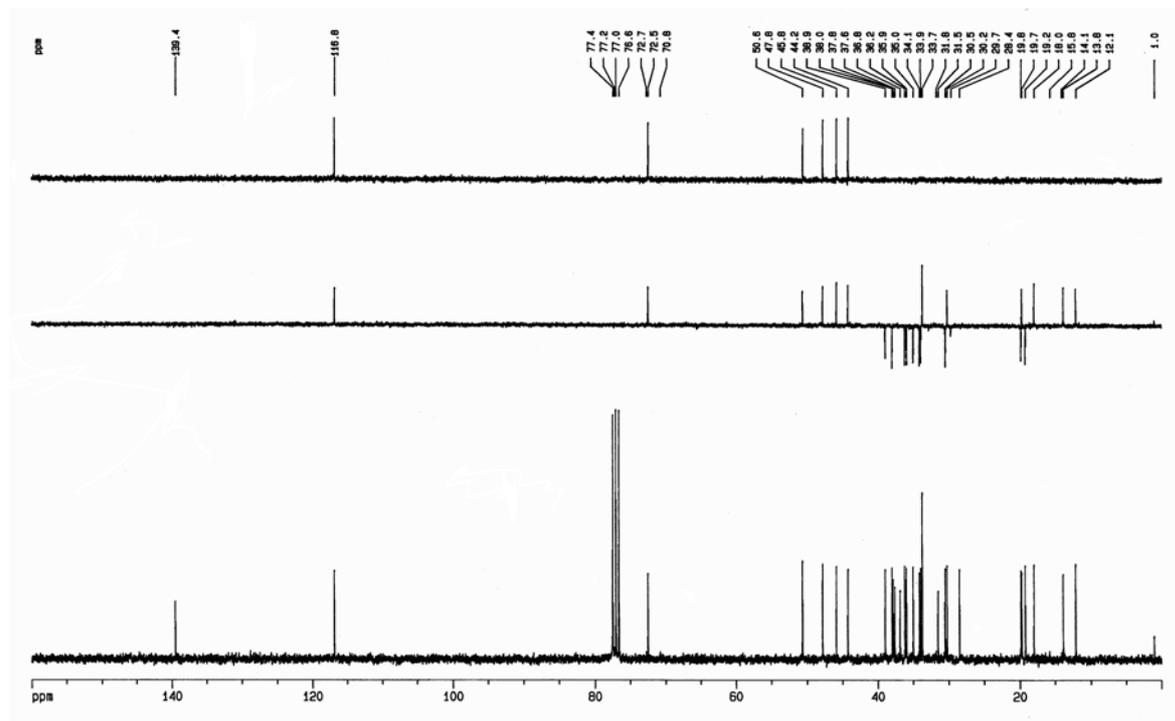


Su espectro de RMN  $^1\text{H}$  (Tabla 12) mostró señales para seis metilos como singuletes a  $\delta_{\text{H}}$  0.82, 0.86, 0.92, 0.97, 0.98, 1.05 y uno como doblete a  $\delta_{\text{H}}$  1.01 ( $J = 7.2$  Hz). Además, se observaron señales para un protón metínico geminal a grupo hidroxilo a  $\delta_{\text{H}}$  3.82 (s ancho) y un protón vinílico trisustituido a  $\delta_{\text{H}}$  5.20 (d,  $J = 5.2$  Hz).



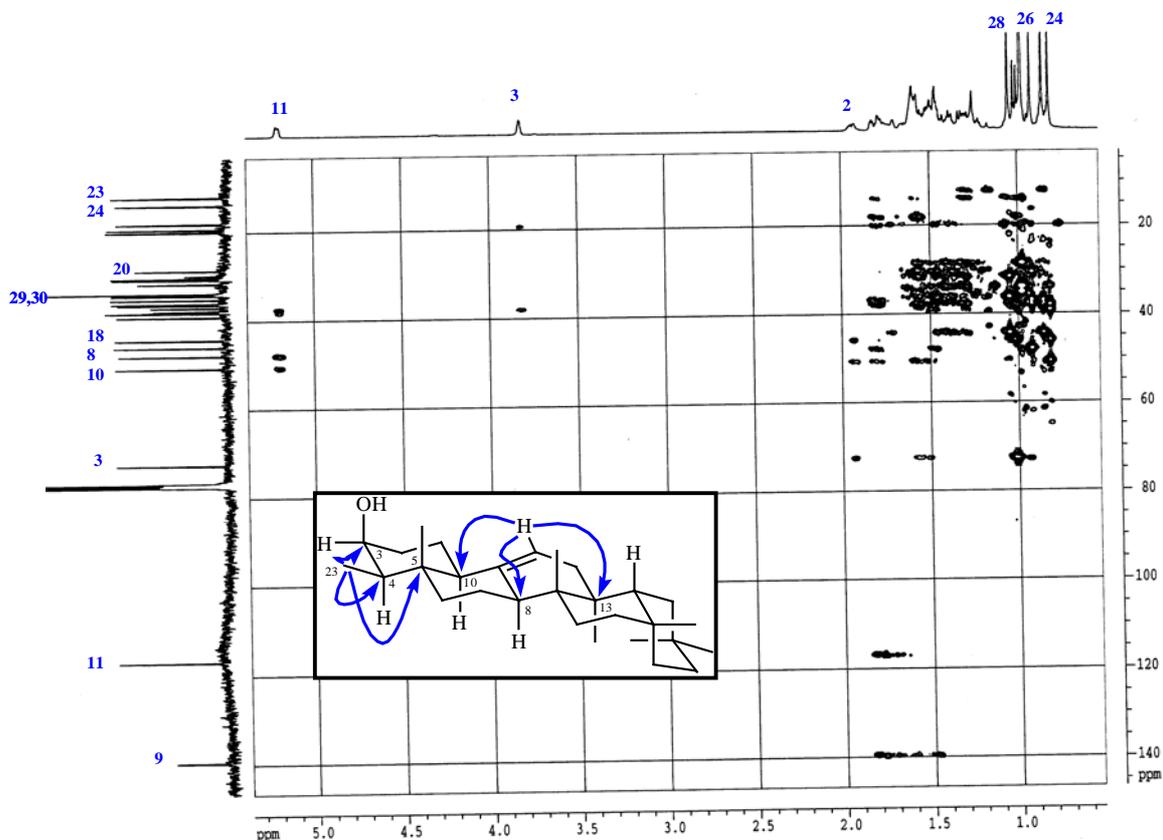
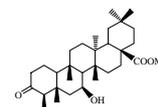
Espectro de RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz) de **F-5**

Los datos anteriores se corroboraron con su espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (Tabla 13), al observarse señales para siete metilos, diez metilenos, seis metinos y seis carbonos cuaternarios; siendo las señales más significativas las correspondientes a un doble enlace trisustituido ( $\delta_{\text{C}}$  139.4, s y  $\delta_{\text{C}}$  116.8, d) y un carbono unido a oxígeno ( $\delta_{\text{C}}$  72.5, d). Estos datos nos sugirieron que **F-5** era un triterpeno con esqueleto de *norfriedelano*.



Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz) de F-5

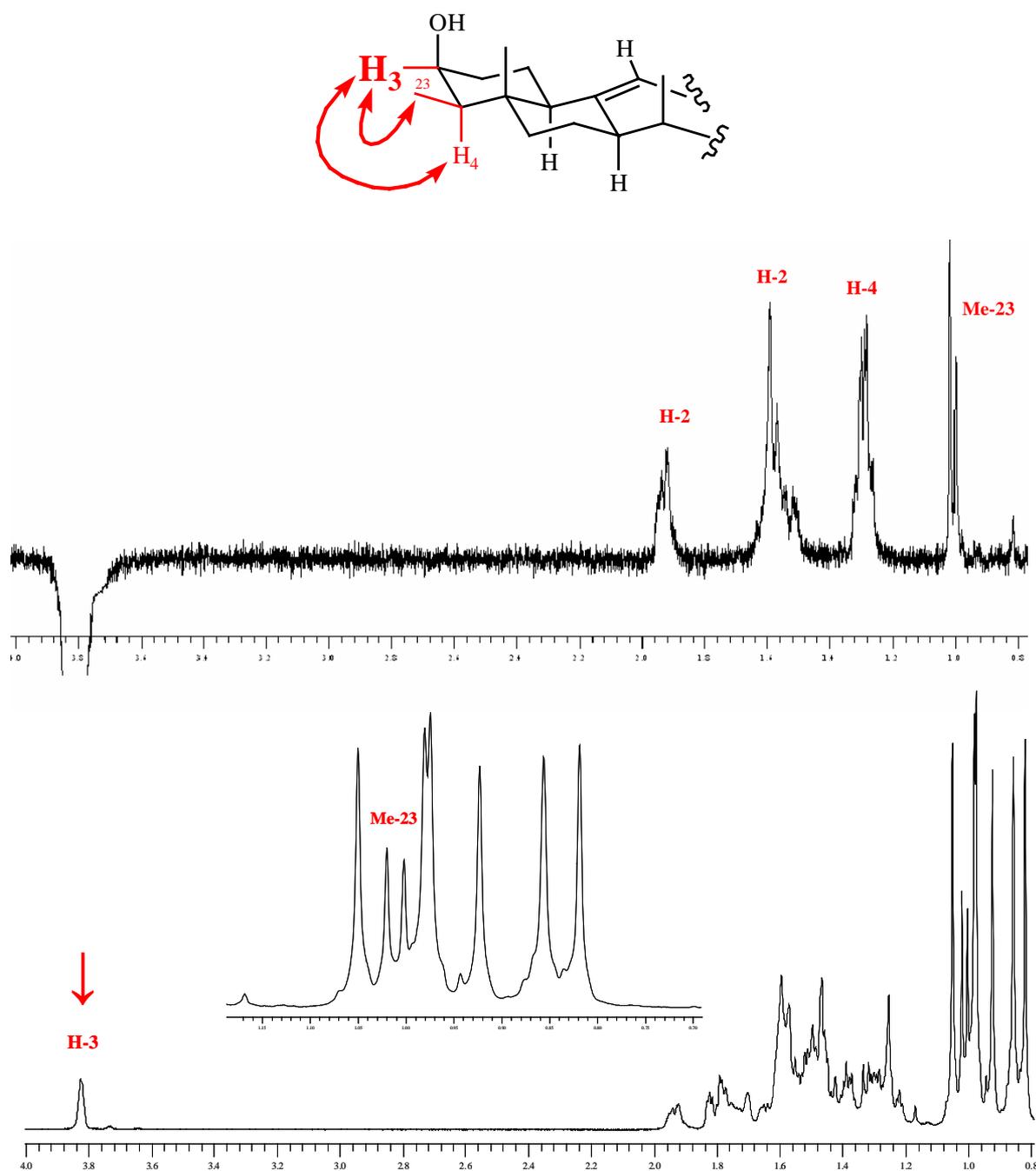
La posición de los grupos funcionales en la molécula fue determinada mediante el uso de un experimento HMBC, en el cual se observó correlación entre el metilo 23 a  $\delta_{\text{H}}$  1.01 con un carbono metínico a  $\delta_{\text{C}}$  45.8 (d, C-4), un carbono cuaternario a  $\delta_{\text{C}}$  37.6 (s, C-5) y un carbono metínico unido a oxígeno a  $\delta_{\text{C}}$  72.5 (d), lo que permitió situar el grupo hidroxilo sobre el C-3 del esqueleto triterpénico. Además, se observó correlación entre un protón vinílico a  $\delta_{\text{H}}$  5.20 con los carbonos C-10 a  $\delta_{\text{C}}$  50.6, C-8 a  $\delta_{\text{C}}$  47.8, C-13 a  $\delta_{\text{C}}$  37.8 y C-12 a  $\delta_{\text{C}}$  38.0, permitiendo situar el doble enlace sobre las posiciones 9-11 ( $\Delta^9$ ), lo que confirma la ausencia del metilo 25.



### Experimento HMBC ( $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ ) para **F-5**

La estereoquímica del alcohol sobre C-3 se determinó mediante el estudio de las constantes de acoplamiento y experimentos COSY, ROESY y 1D-GOESY. Así, en un experimento ROESY, se observó efecto NOE entre H-3 ecuatorial ( $\delta_{\text{H}}$  3.82) y Me-23 ( $\delta_{\text{H}}$  1.01) y H-4 ( $\delta_{\text{H}}$  1.29), lo que se corroboró mediante un experimento 1D-GOESY.

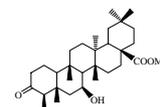
Estos datos nos permitieron confirmar y asignar de forma inequívoca los datos de RMN  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$ , que no habían sido reportados anteriormente y confirmar la estructura del putrol.



1D-GOESY de **F-5** con un tiempo de mezcla de 500 ms (irradiación de **H-3**)

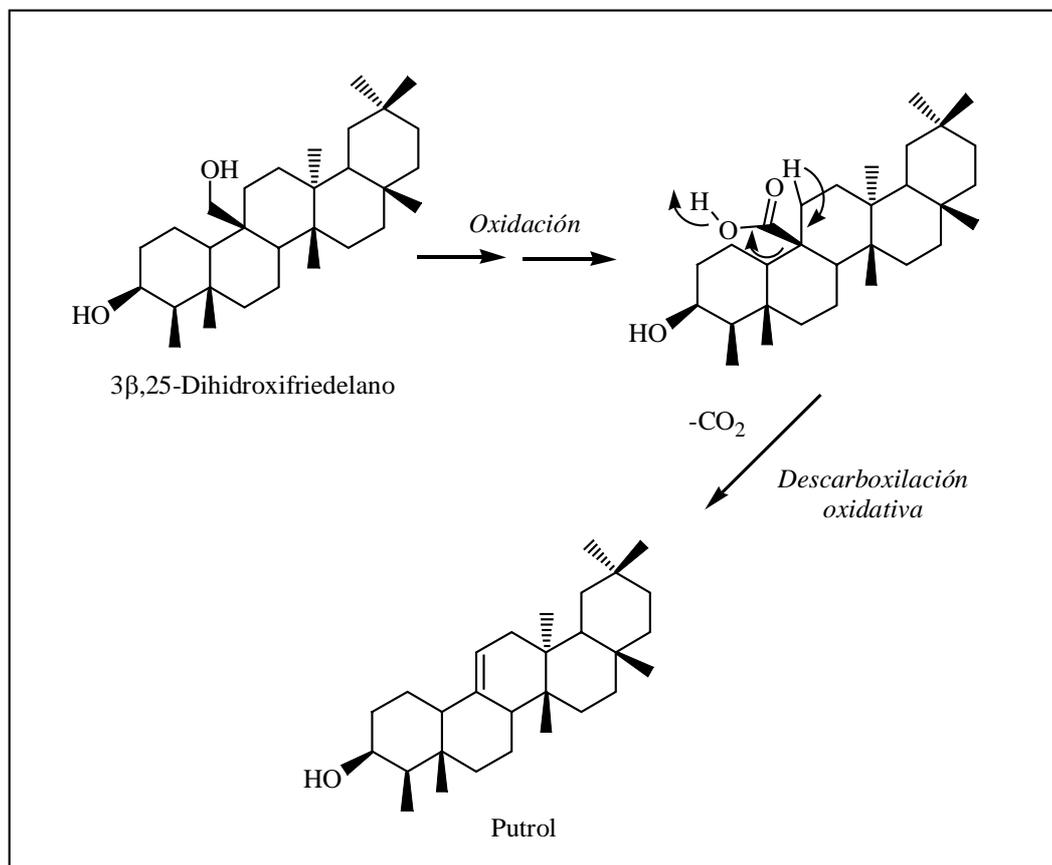
Una posible explicación para la biosíntesis del putrol (**F-5**) (Figura 47), es a partir del 3 $\beta$ ,25-dihidroxifriedelano,<sup>9</sup> producto que no ha sido obtenido de forma natural, aunque si existen ejemplos en la bibliografía de friedelanos con el metilo 25 oxidado a alcohol,

<sup>9</sup> Ghosh, S. K.; Dutta, S. K.; Roy, M.; Majumdar, K.; Das, S. *Indian J. Chem. B*, 41B, 1960-1961, 2002.



*Discusión friedelanos M. chiapensis*

aislados de especies de celastráceas,<sup>10,11,12</sup> que por oxidación en el C-25 daría lugar al ácido 3β-hidroxifriedelano-25-oico y posterior descarboxilación oxidativa del C-25 generaría el putrol.



**Figura 47.** Biosíntesis propuesta para la formación del putrol.

<sup>10</sup> Anjeneyulu, A. S. R.; Rao, M. N. *Phytochemistry*, 19, 1163-1169, **1980**.

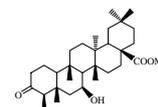
<sup>11</sup> Weeratunga, G., Kumar, V.; Sultanbawa, M. U. S. *Tetrahedron Lett.*, 23, 2031-2032, **1982**.

<sup>12</sup> Rodríguez Pérez, F. M. *Tesis Doctoral*, Universidad de La Laguna, **2000**.

**Tabla 12.** Datos<sup>a</sup> de RMN <sup>1</sup>H (400 MHz) para los friedelanos **F-1** a **F-5**

Posición	F-1	F-2	F-3	F-4	F-5
H-1	1.78, 2.00 m	1.78, 2.00 m	2.05 m	1.98 m	1.47
H-2	2.28, 2.45 m	2.28, 2.45 m	1.72, 2.43 m	2.30, 2.40 m	1.92, 1.60
H-4	2.18 c (6.7)	2.19 c (6.7)	2.18 c (6.7)	2.23 c (6.6)	1.29 c (7.2)
H-6	1.50, 1.95	1.50, 1.95	1.52, 1.95	1.30, 1.75	1.00, 1.78
H-7	4.43 s a	4.43 s a	4.50 s a	1.40	1.54
H-8	1.42	1.42	1.43	1.40	1.73
H-10	1.58	1.58	1.60	1.51	1.57
H-11	1.41, 1.58	1.40, 1.58	1.39, 1.46	1.30, 1.52	5.20 d (5.0)
H-12	1.29, 1.42	1.27, 1.45	1.38, 1.47	1.50	1.63, 1.68
H-15	1.29, 1.62	1.28, 1.60	1.42, 1.68	1.30, 1.40	1.43
H-16	1.15, 2.39	1.16, 2.40	1.44, 1.60	1.42	0.88, 1.46
H-18	2.45 m	2.48 m	2.32 m	2.30 m	1.55
H-19	1.15, 1.33	1.16, 1.32	1.25, 1.48	1.29, 1.58	1.34, 1.39
H-21	1.20, 1.40	1.21, 1.41	1.38	0.88, 1.40	1.24
H-22	1.21	1.20	1.10, 1.41	1.70, 2.10 m	1.40
H-23	0.90 d (6.7)	0.90 d (6.7)	0.91 d (6.7)	0.87 d (6.6)	1.01 d (7.2)
H-24	1.01 s	1.00 s	1.02 s	0.72 s	0.82 s
H-25	1.25 s	1.25 s	1.28 s	0.84 s	
H-26	1.25 s	1.15 s	1.46 s	0.67 s	0.92 s
H-27	0.98 s	0.98 s	1.00 s	1.09 s	0.86 s
H-28			1.25 s	9.45 s	1.05 s
H-29	0.93 s	0.94 s	3.27 c (10.3)	3.27 s	0.97 s
H-30	1.05 s	1.06 s	1.03 s	0.99 s	0.98 s
OMe		3.64 s			

<sup>a</sup> δ, CDCl<sub>3</sub>, *J* en paréntesis en Hz. Datos basados en experimentos COSY y HSQC.

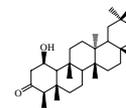


**Tabla 13.** Datos<sup>a</sup> de RMN <sup>13</sup>C (100 MHz) para los friedelanos **F-1** a **F-5**

Posición	F-1	F-2	F-3	F-4	F-5
C-1	22.4 t	22.4 t	22.3 t	22.3 t	19.8 t
C-2	41.7 t	41.7 t	41.7 t	41.1 t	33.9 t
C-3	212.7 s	212.7 s	212.8 s	219.9 s	72.5 d
C-4	58.8 d	58.8 d	58.8 d	58.2 d	45.8 d
C-5	41.3 s	41.3 s	41.3 s	42.0 s	37.6 s
C-6	48.9 t	48.9 t	49.0 t	41.5 t	39.0 t
C-7	68.3 d	68.3 d	68.4 d	18.1 t	19.2 t
C-8	52.9 d	52.6 d	52.9 d	52.9 d	47.8 d
C-9	37.6 s	37.6 s	37.2 s	37.7 s	139.4 s
C-10	59.8 d	59.8 d	60.0 d	59.3 d	50.6 d
C-11	31.1 t	31.2 t	37.6 t	35.4 t	116.8 d
C-12	37.8 t	37.5 t	30.5 t	30.6 t	38.0 t
C-13	39.5 s	39.5 s	40.4 s	38.9 s	37.8 s
C-14	44.6 s	44.9 s	39.1 s	37.2 s	36.9 s
C-15	32.8 t	32.8 t	32.4 t	32.4 t	30.5 t
C-16	29.2 t	29.1 t	35.8 t	33.4 t	35.9 t
C-17	38.4 s	38.3 s	30.5 s	48.2 s	31.5 s
C-18	38.4 d	38.0 d	41.6 d	35.5 d	44.2 d
C-19	35.1 t	35.1 t	29.6 t	29.4 t	35.0 t
C-20	28.5 s	28.5 s	33.1 s	33.5 s	28.5 s
C-21	35.8 t	35.9 t	27.9 t	27.6 t	34.1 t
C-22	32.4 t	32.5 t	39.4 t	28.2 t	36.2 t
C-23	6.9 c	6.9 c	6.9 c	6.8 c	12.1 c
C-24	16.1 c	16.1 c	16.1 c	14.6 c	13.8 c
C-25	18.8 c	18.8 c	19.0 c	17.2 c	
C-26	21.7 c	21.4 c	21.8 c	20.1 c	19.7 c
C-27	18.5 c	18.5 c	18.3 c	18.8 c	18.0 c
C-28	183.3 s	179.2 s	32.1 c	208.5 d	30.2 c
C-29	34.3 t	34.4 s	74.5 t	74.4 t	33.7 c
C-30	29.7 c	29.6 c	26.0 c	24.0 c	33.7 c
OMe		51.9 c			

<sup>a</sup>  $\delta$ , CDCl<sub>3</sub>. Datos basados en experimentos DEPT, HSQC y HMBC.

*Triterpenos de la serie del Fridelano  
aislados de Crossopetalum uragoga*



Del extracto diclorometánico de las hojas y tallos de *Crossopetalum uragoga*, se aislaron ocho triterpenos de la serie del friedelano previamente descritos en la bibliografía química, que se relacionan a continuación:

**Aislados de hojas:** friedelina,<sup>1</sup> cerina,<sup>2,3</sup> 3 $\alpha$ -hidroxi-2-oxofriedelano,<sup>4</sup> 3 $\alpha$ ,25-dihidroxi-2-oxofriedelano,<sup>5</sup> 25-hidroxifriedelina (**F-8**),<sup>6</sup> canophyllol,<sup>7</sup> 29-hidroxifriedelina<sup>7</sup> y 3-oxofriedelan-30-al.<sup>7</sup>

**Aislados de la corteza del tallo:** 29-hidroxifriedelina.<sup>7</sup>

El triterpeno que hemos denominado **F-8** (25-hidroxifriedelina) fue aislado por primera vez de *Siphonodon australe* Benth (Celastraceae)<sup>6</sup> y posteriormente, se aisló de *Elaeodendron glaucum* Pers (Celastraceae).<sup>8,9,10</sup> Su elucidación estructural fue llevada a cabo utilizando RMN <sup>1</sup>H ( $\delta$  CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz), espectrometría de masas y correlación química; sin embargo, hasta el momento no se han reportado sus datos RMN <sup>13</sup>C, por lo que se presentan en esta Memoria de Tesis.

Las estructuras de los diferentes friedelanos aislados se muestran a continuación:

<sup>1</sup> Patra, A.; Mukhopadhyay, A. K.; Mitra, A. K. *Org. Magn. Resonance*, 17, 166-168, **1981**.

<sup>2</sup> Shooppe, C. W.; Howden, M. E. H.; Johnston, G. A. R. *J. Chem. Soc.*, 498-501, **1962**.

<sup>3</sup> Moiteiro, M.; Justino, F.; Tavares, R.; Marcelo-Curto, Florêncio, M. H.; Nascimento, M. S. J.; Pedro, M.; Cerqueira, F.; Pinto, M. M. M. *J. Nat. Prod.*, 64, 1273-1277, **2001**.

<sup>4</sup> Gottlieb, H. E.; Ramaiah, P. A.; Lavie, D. *Magn. Reson. Chem.*, 23, 616-620, **1985**.

<sup>5</sup> Rodríguez Pérez, F. M. *Tesis Doctoral*, Universidad de La Laguna, **2000**.

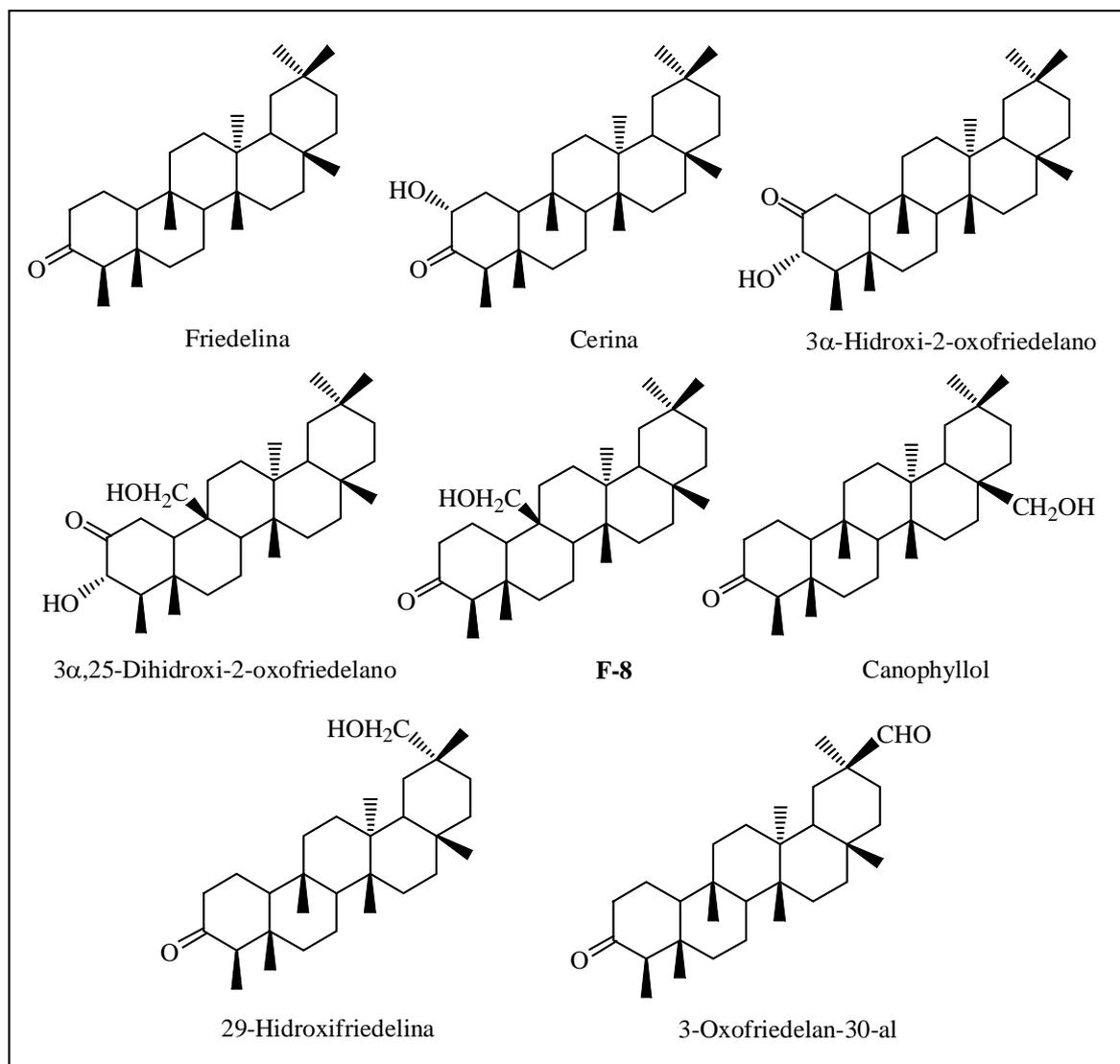
<sup>6</sup> Anjeneyulu, A. S. R.; Rao, M. N. *Phytochemistry*, 19, 1163-1169, **1980**.

<sup>7</sup> Betancor, C.; Freire, R.; González, A. G.; Salazar, J. A.; Pascard, C.; Prange, T. *Phytochemistry*, 19, 1989-1993, **1980**.

<sup>8</sup> Anjeneyulu, A. S. R.; Rao, M. N. *Phytochemistry*, 19, 1163-1169, **1980**.

<sup>9</sup> Weeratunga, G.; Kumar, V.; Sultanbawa, M. U. S. *Aust. J. Chem.*, 36, 1067-1072, **1983**.

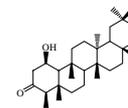
<sup>10</sup> Weeratunga, G.; Kumar, V.; Sultanbawa, M. U. S. *Tetrahedron Lett.*, 23, 2031-2032, **1982**.



Además, se aislaron de las hojas de *Crossopetalum uragoga*, otros dos triterpenos de la serie del friedelano que hemos denominado **F-6** y **F-7**, que resultaron ser nuevos en la bibliografía química. Pasamos a continuación a detallar su elucidación estructural.

### Triterpeno: F-6

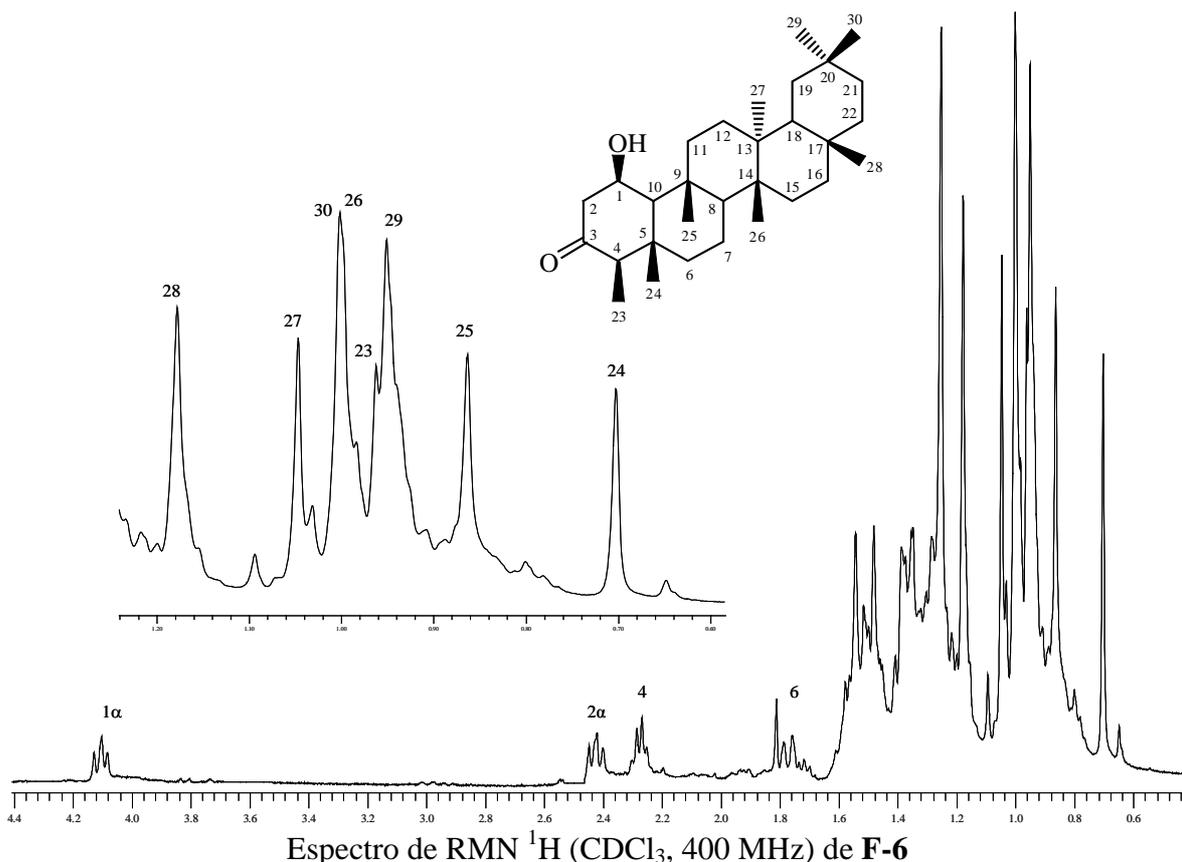
El compuesto que hemos denominado **F-6** presentó una fórmula molecular  $C_{30}H_{50}O_2$ , determinada por espectrometría de masas de alta resolución, fórmula que indica 6 grados de insaturación. El espectro de masas presentó fragmentos correspondientes a la pérdida de agua ( $18 m/z$ ,  $H_2O$ ) y metilo ( $15 m/z$ ,  $CH_3$ ).



*Discusión friedelanos C. uragoga*

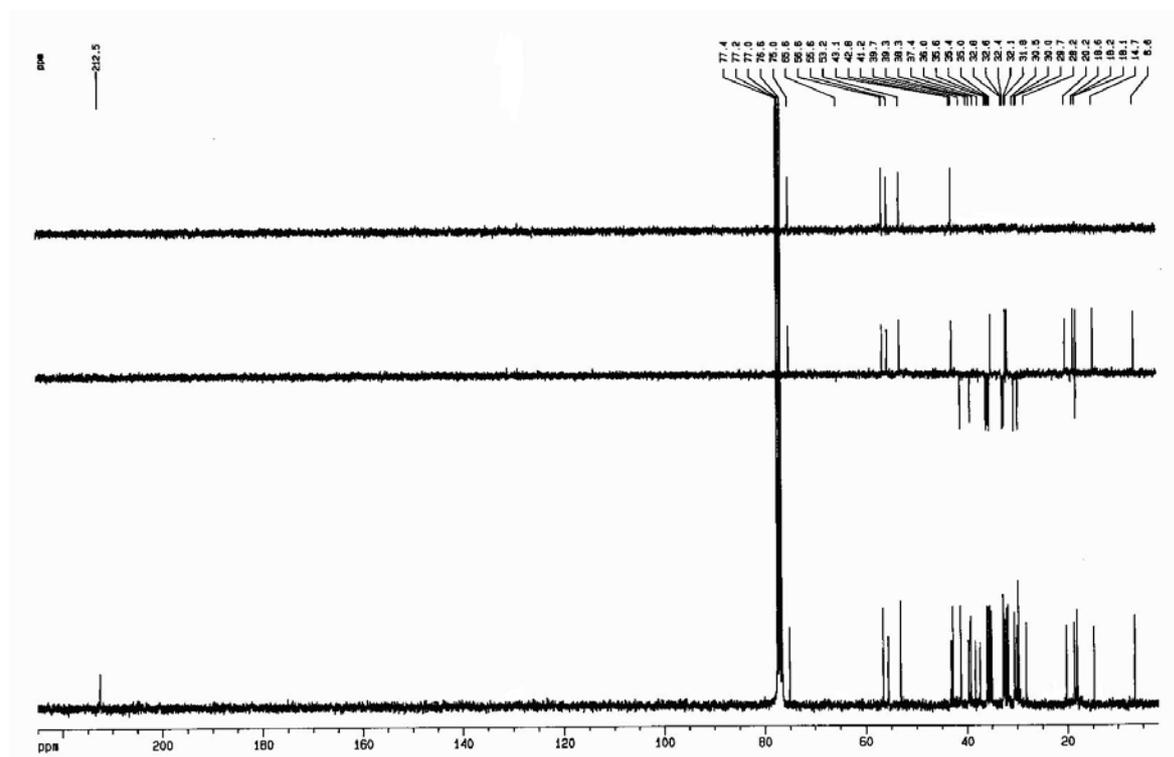
En su espectro de IR se observaron bandas de absorción correspondientes a grupo hidroxilo ( $3437\text{ cm}^{-1}$ ) y carbonilo ( $1713\text{ cm}^{-1}$ ).

Su espectro de RMN  $^1\text{H}$  (Tabla 14) mostró señales para siete metilos como singuletes a  $\delta_{\text{H}}$  0.70, 0.86, 0.96, 1.00 x 2, 1.05 y 1.18 y uno como doblete a  $\delta_{\text{H}}$  0.90 ( $J = 6.7\text{ Hz}$ ). Además, se observaron señales para un protón metínico a  $\delta_{\text{H}}$  2.26 (c,  $J = 6.7\text{ Hz}$ ) y un protón metínico geminal a grupo hidroxilo a  $\delta_{\text{H}}$  4.10 (t,  $J = 10.3\text{ Hz}$ ).

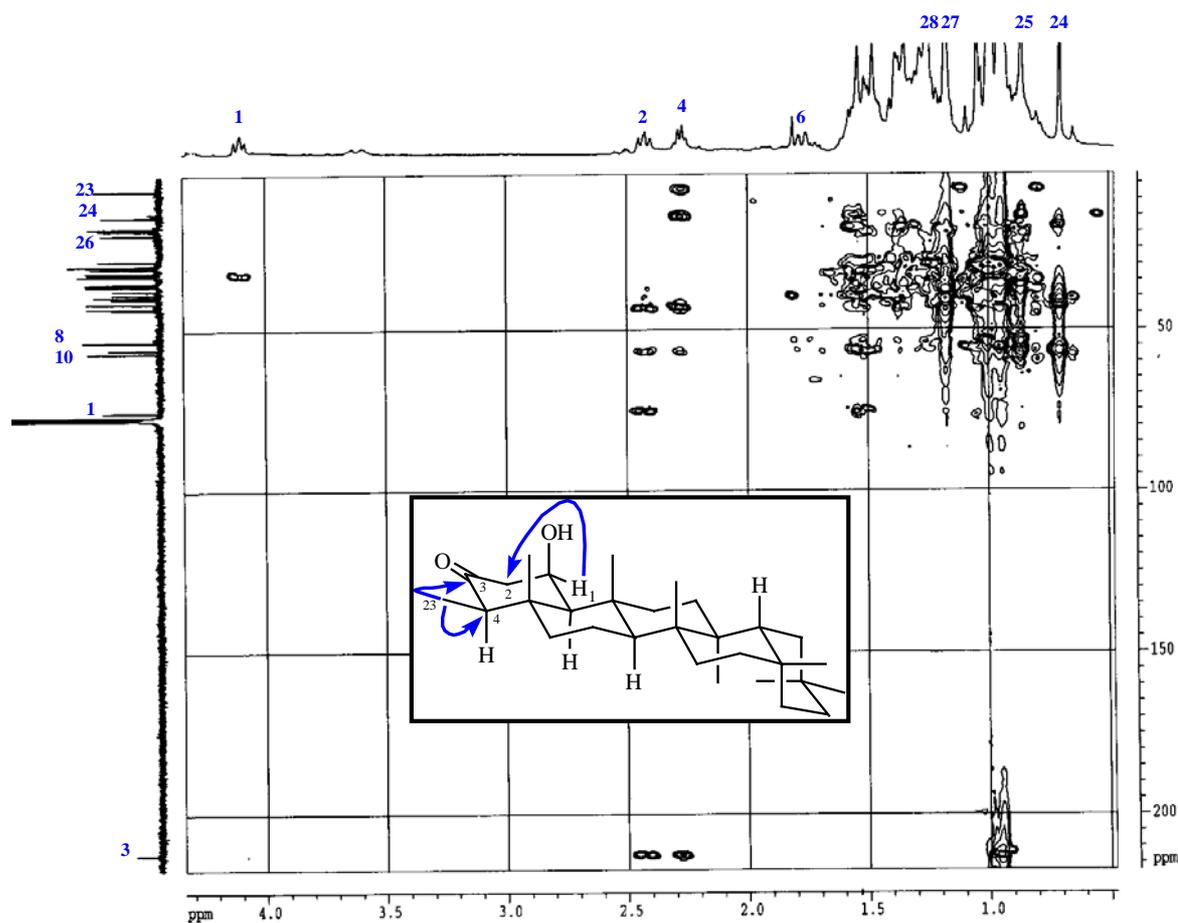
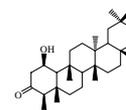


Espectro de RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz) de **F-6**

Los datos anteriores se corroboran con su espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (Tabla 15), al observarse señales para ocho metilos, diez metilenos, cinco metinos y siete carbonos cuaternarios, siendo las señales más significativas, la presencia de una señal característica de un carbono carbonílico a  $\delta_{\text{C}}$  215.5 (s) y un carbono unido a oxígeno a  $\delta_{\text{C}}$  75.0 (d). Todos estos datos sugieren que **F-6** es un triterpeno con esqueleto de friedelano.

Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz) de **F-6**

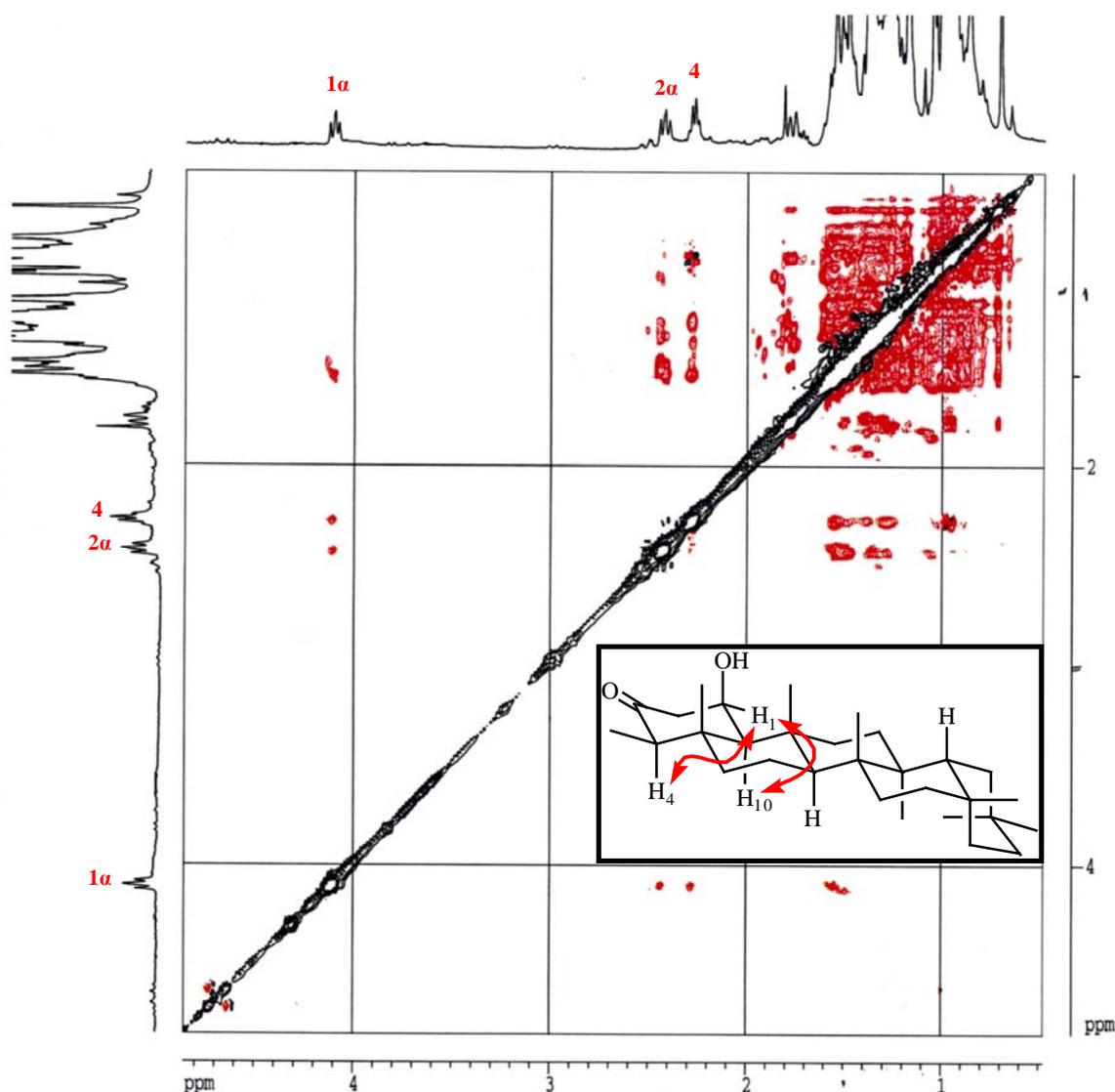
La posición de los grupos funcionales en la molécula fue determinada mediante un experimento HMBC, en el cual se observa correlación entre el metilo 23 a  $\delta_{\text{H}}$  0.90 con un carbono metínico a  $\delta_{\text{C}}$  55.6 (C-4) y un carbono carbonílico a  $\delta_{\text{C}}$  215.5 (s), lo que permite situar el carbono carbonílico en la posición 3 del esqueleto triterpénico; además, se observó correlación entre un protón geminal a un grupo hidroxilo a  $\delta_{\text{H}}$  4.10 con el carbono C-2 a  $\delta_{\text{C}}$  32.6 (t), a la vez que se observó, en un experimento  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY, que la señal a  $\delta_{\text{H}}$  4.10 tenía correlación con los protones H-2 [( $\delta_{\text{H}}$  1.52), ( $\delta_{\text{H}}$  2.42, t,  $J = 10.3$  Hz)] y H-10 ( $\delta_{\text{H}}$  1.55), lo que permitió situar el alcohol sobre el C-1.



Experimento HMBC ( $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ ) para **F-6**

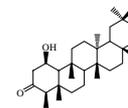
La estereoquímica del grupo hidroxilo sobre el C-1 se determinó mediante el estudio de las constantes de acoplamiento y un experimento ROESY, donde se observó correlación entre H-1 y los protones H-4 y H-10.

Estos datos y comparación con los datos dados en la literatura para friedelina,<sup>1</sup> nos permitieron establecer la estructura de **F-6** como 1 $\beta$ -hidroxifriedelina.

Experimento **ROESY** para **F-6****Triterpeno: F-7**

El compuesto que hemos denominado **F-7** presentó una fórmula molecular  $C_{30}H_{50}O_2$ , determinada por espectrometría de masas de alta resolución, coincidente con **F-6**. El espectro de masas presentó fragmentos correspondientes a la pérdida de agua ( $18 m/z$ ,  $H_2O$ ) y metilo ( $15 m/z$ ,  $CH_3$ ).

En su espectro de IR se observaron bandas de absorción correspondientes a grupo hidroxilo ( $3420\text{ cm}^{-1}$ ) y carbonilo ( $1710\text{ cm}^{-1}$ ).

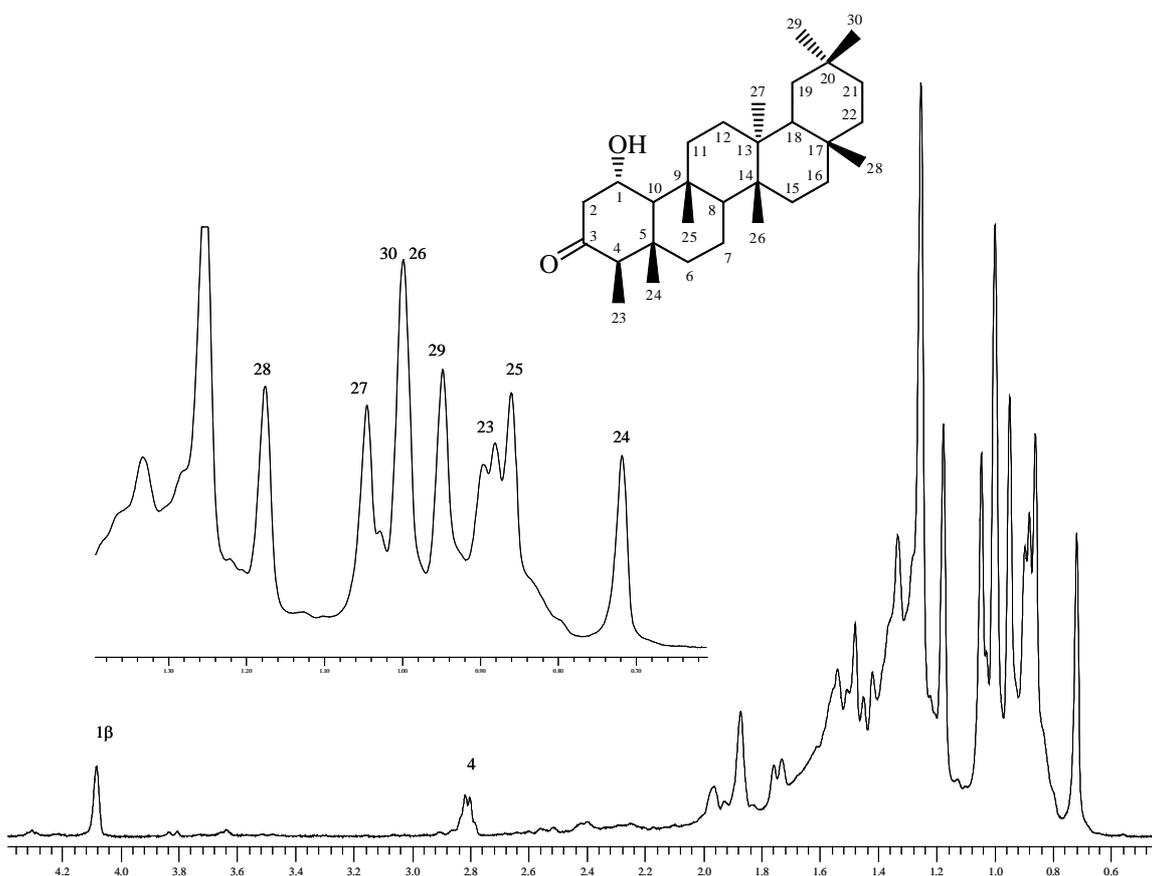


*Discusión friedelanos C. uragoga*

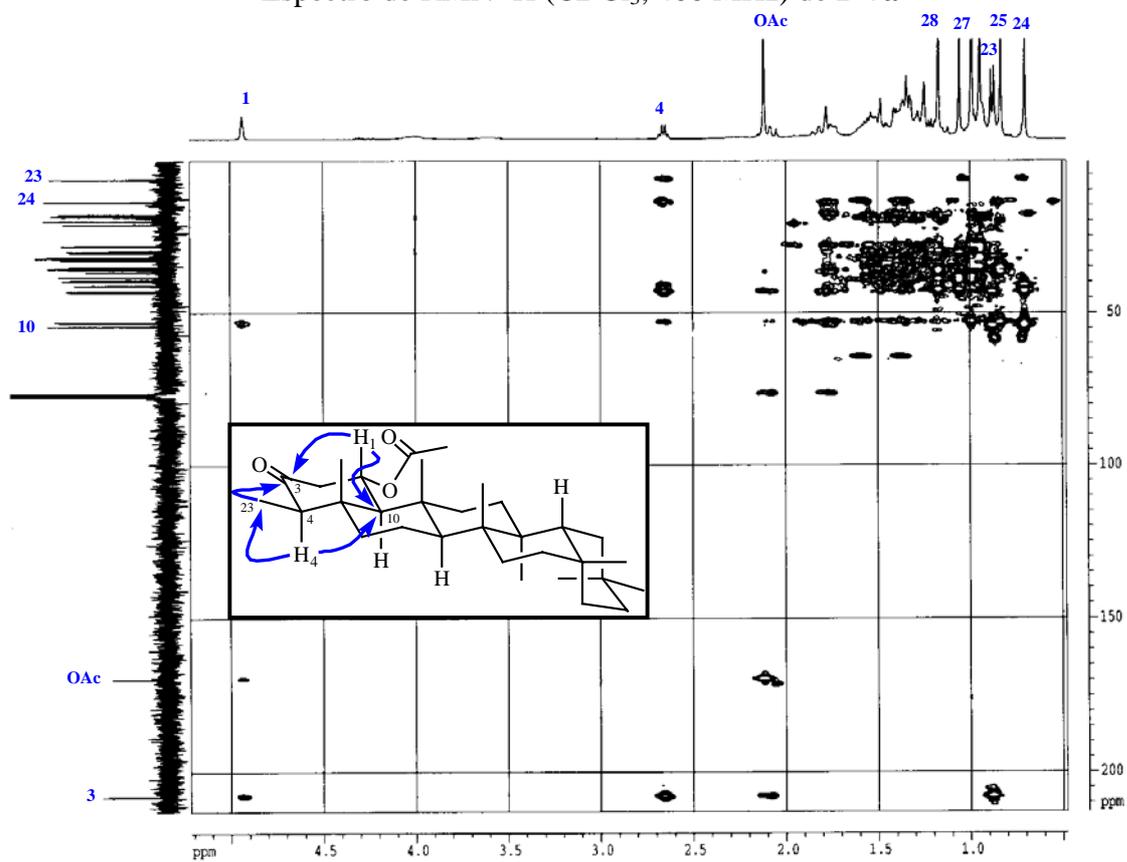
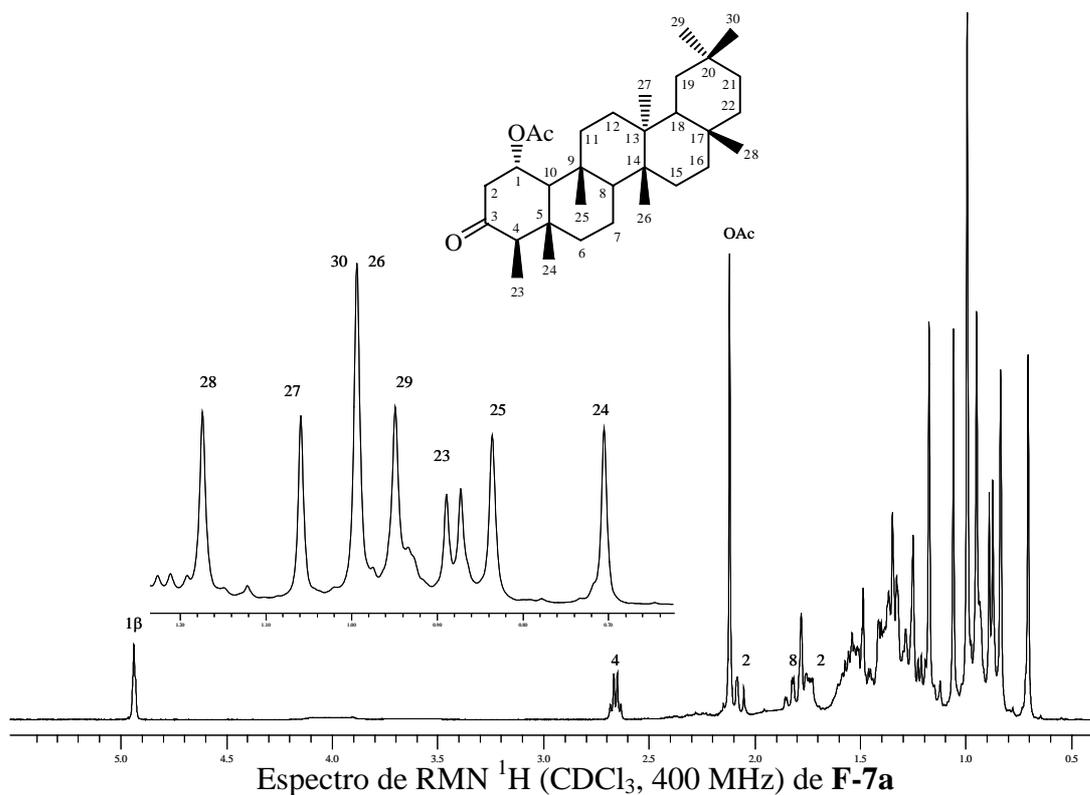
Un estudio detallado de sus datos espectroscópicos de RMN  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$  (Tablas 14 y 15), correlación  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  y  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  y un experimento ROESY, mostró que la principal diferencia con el producto **F-6**, era la ausencia de la correlación entre el protón H-1 y los protones H-4 y H-10 en el experimento ROESY. Ello nos indicó que **F-7** era un epímero de **F-6**, con una estereoquímica  $\alpha$  para el grupo hidroxilo sobre C-1.

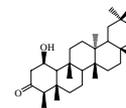
A fin de confirmarlo y dado que el experimento HMBC no fue concluyente, al no observarse correlación a tres enlaces del protón geminal a dicho grupo hidroxilo con sus carbonos vecinos, el producto fue acetilado (**F-7a**).

Un experimento HMBC del derivado acetilado **F-7a** mostró correlación entre la señal del protón geminal al grupo acetato a  $\delta_{\text{H}}$  4.93 con los carbonos C-3 ( $\delta_{\text{C}}$  208.1) y C-10 ( $\delta_{\text{C}}$  53.3). Estos datos nos permitieron concluir que **F-7** es  $1\alpha$ -hidroxifriedelina.



Espectro de RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz) de **F-7**





### Triterpeno: F-8

El compuesto que hemos denominado **F-8** presentó una fórmula molecular  $C_{30}H_{50}O_2$ , determinada por espectroscopia de masas de alta resolución, coincidente con **F-6** y **F-7**. El espectro de masas presentó fragmentos correspondientes a la pérdida de agua (18  $m/z$ ,  $H_2O$ ), metanol (31  $m/z$ ,  $CH_3O^+$ ) y  $H_2O$  + metilo (33  $m/z$ ,  $CH_5O^+$ ).

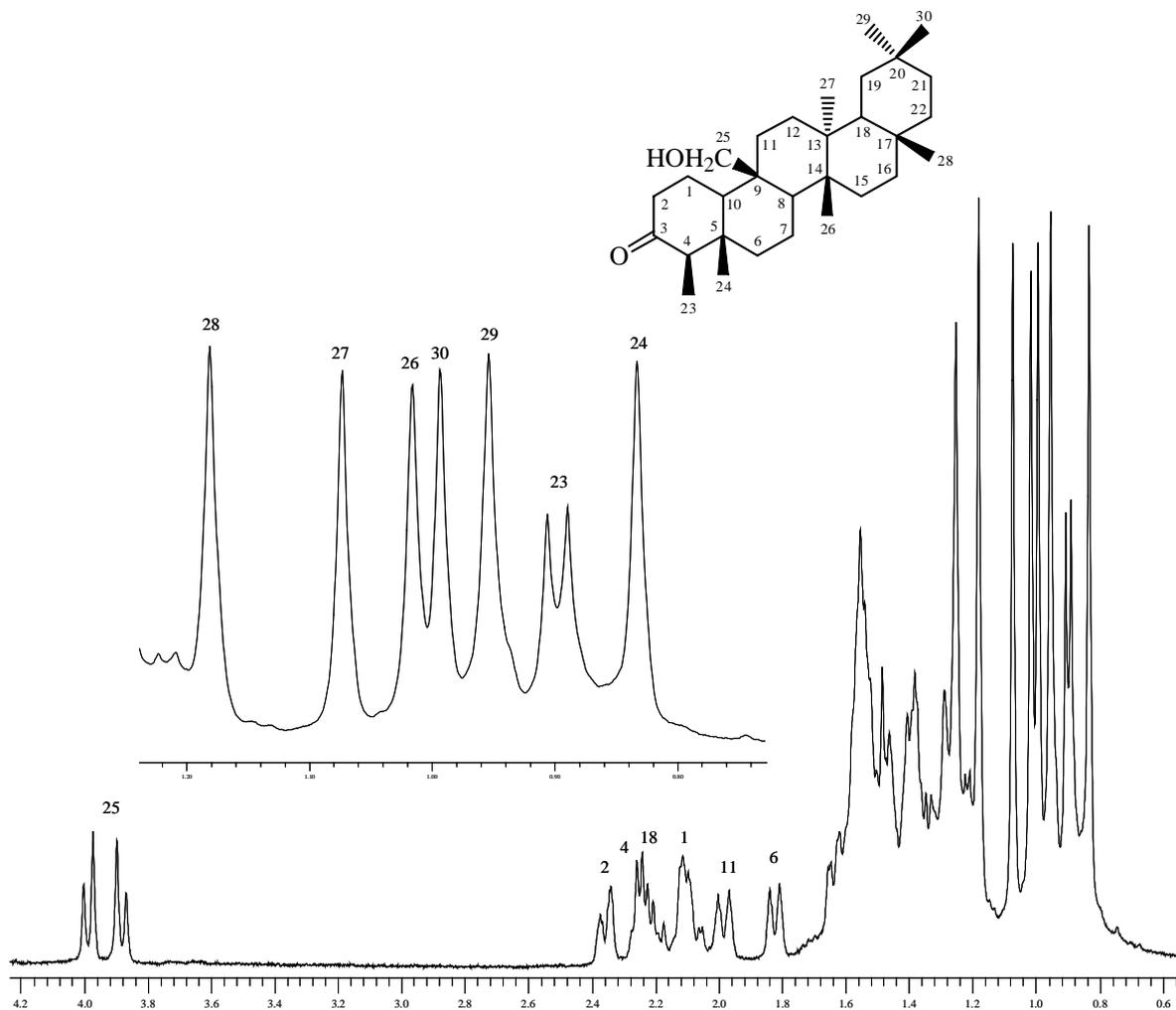
En su espectro de IR se observaron bandas de absorción correspondientes a grupo hidroxilo ( $3520\text{ cm}^{-1}$ ) y carbonilo ( $1698\text{ cm}^{-1}$ ).

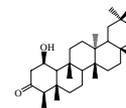
El análisis de su espectro de RMN  $^1H$  [ $\delta_H$  0.83 (3H, s, Me-24), 0.90 (3H, d,  $J = 6.7$  Hz, Me-23), 0.95 (3H, s, Me-29), 0.99 (3H, s, Me-30), 1.02 (3H, s, Me-26), 1.07 (3H, s, Me-27), 1.18 (3H, s, Me-28), 2.25 (1H, c,  $J = 6.7$  Hz, H-4), 3.93 (2H, c,  $J = 11.7$  Hz, H-25)] (Tabla 14), nos confirmó que **F-8** es un triterpeno de la serie del friedelano, aislado previamente por Anjaneyulu y *col.*,<sup>8</sup> al cual no se le han asignado hasta el momento sus datos de RMN- $^{13}C$ .

Los datos de RMN- $^1H$  se corroboran con su espectro de RMN  $^{13}C$  (Tabla 15), lo que conjuntamente con los experimentos DEPT  $90^\circ$  y  $135^\circ$ , nos indicó la presencia de siete metilos, doce metilenos, cuatro metinos y siete carbonos cuaternarios, siendo las señales más significativas, la presencia de un grupo hidroxilo primario al observarse un metileno a  $\delta_C$  63.0 (C-25) y un grupo carbonilo a  $\delta_C$  212.9 (C-3).

El estudio de los experimentos bidimensionales homonucleares (COSY y ROESY) y heteronucleares (HSQC y HMBC), nos permitió corroborar la disposición de los grupos funcionales en la molécula.

Estos datos nos permitieron confirmar y asignar de forma inequívoca la estructura de **F-8** como 25-hidroxifriedelina.

Espectro de RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) de F-8



**Tabla 14.** Datos<sup>a</sup> de RMN <sup>1</sup>H (400 MHz) para los friedelanos **F-6** a **F-8**

Posición	F-6	F-7	F-7a	F-8
<b>H-1</b>	4.10 t (10.3)	4.08 s a	4.93 s	2.10
<b>H-2</b>	1.52 β 2.42 t α (10.3)	1.87, 1.95	1.80, 2.10	1.56, 2.37
<b>H-4</b>	2.26 c (6.7)	2.80 c (6.7)	2.65 c (6.7)	2.25 c (6.7)
<b>H-6</b>	1.29, 1.78	1.32, 1.75	1.35, 1.75	1.32, 1.82
<b>H-7</b>	1.40, 1.50	1.41, 1.50	1.41, 1.50	1.45
<b>H-8</b>	1.43	1.89	1.85	1.54
<b>H-10</b>	1.55	1.40	1.40	1.64
<b>H-11</b>	1.20	1.22	1.39	2.00
<b>H-12</b>	1.25	1.33	1.60	1.39
<b>H-15</b>	1.29, 1.49	1.31, 1.49	1.30, 1.50	1.30, 1.50
<b>H-16</b>	1.55	1.55	1.58	1.58
<b>H-18</b>	1.56	1.57	1.57	2.22
<b>H-19</b>	1.38	1.38	1.38	1.38
<b>H-21</b>	1.29, 1.49	1.29, 1.46	1.29, 1.46	1.30, 1.50
<b>H-22</b>	0.95, 1.49	0.94, 1.49	0.97, 1.50	0.95, 1.50
<b>H-23</b>	0.90 d (6.7)	0.89 d (6.7)	0.88 d (6.7)	0.90 d (6.7)
<b>H-24</b>	0.70 s	0.72 s	0.71 s	0.83 s
<b>H-25</b>	0.86 s	0.86 s	0.84 s	3.93 c (11.7)
<b>H-26</b>	1.00 s	1.00 s	0.99 s	1.02 s
<b>H-27</b>	1.05 s	1.05 s	1.06 s	1.07 s
<b>H-28</b>	1.18 s	1.17 s	1.17 s	1.18 s
<b>H-29</b>	0.96 s	0.95 s	0.95 s	0.95 s
<b>H-30</b>	1.00 s	1.00 s	0.99 s	0.99 s
<b>OAc</b>			2.12 s	

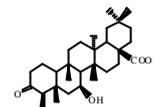
<sup>a</sup> δ, CDCl<sub>3</sub>, *J* en paréntesis en Hz. Datos basados en experimentos COSY y HSQC.

**Tabla 15.** Datos<sup>a</sup> de RMN <sup>13</sup>C (100 MHz) para los friedelanos **F-6** a **F-8**

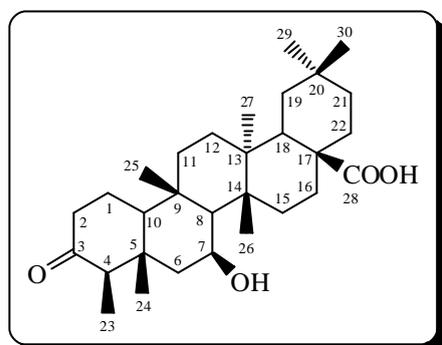
Posición	F-6	F-7	F-7a	F-8
C-1	75.0 d	74.0 d	76.6 d	24.7 t
C-2	32.6 t	30.5 t	28.2 t	42.6 t
C-3	215.5 s	213.2 s	208.1 s	212.9 s
C-4	55.6 d	53.4 d	54.4 d	58.5 d
C-5	43.1 s	42.7 s	43.2 s	42.4 s
C-6	41.3 t	41.2 t	41.0 t	41.8 t
C-7	18.2 t	18.2 t	18.2 t	17.9 t
C-8	53.1 d	52.5 d	53.0 d	53.7 d
C-9	37.4 s	36.9 s	36.9 s	42.0 s
C-10	56.6 d	53.1 d	53.3 d	60.7 d
C-11	35.6 t	35.6 t	35.5 t	29.9 t
C-12	30.5 t	32.6 t	30.3 t	31.2 t
C-13	39.7 s	39.7 s	39.7 s	39.7 s
C-14	38.3 s	38.3 s	38.3 s	37.7 s
C-15	32.4 t	32.4 t	32.3 t	32.7 t
C-16	36.0 t	36.0 t	36.0 t	36.0 t
C-17	30.0 s	30.0 s	30.0 s	30.1 s
C-18	42.8 d	42.8 d	42.8 d	42.7 d
C-19	35.4 t	35.4 t	35.3 t	35.3 t
C-20	28.2 s	28.2 s	28.1 s	28.1 s
C-21	32.8 t	32.8 t	32.8 t	32.7 t
C-22	39.3 t	39.3 t	39.2 t	39.2 t
C-23	6.6 c	6.9 c	6.5 c	7.0 c
C-24	14.7 c	14.3 c	14.1 c	14.7 c
C-25	18.1 c	17.8 c	17.9 c	63.0 t
C-26	20.2 c	20.3 c	20.1 c	20.1 c
C-27	18.7 c	18.7 c	18.6 c	18.5 c
C-28	32.1 c	32.1 c	32.1 c	32.1 c
C-29	35.0 c	35.0 c	34.9 c	35.0 c
C-30	31.8 c	31.8 c	31.8 c	31.7 c
OAc			21.1 c 169.7 s	

<sup>a</sup>δ, CDCl<sub>3</sub>. Datos basados en experimentos DEPT, HSQC y HMBC.

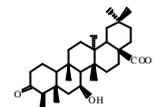
*Parte Experimental: Fridelanos*



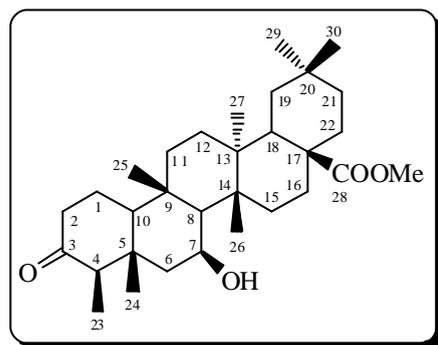
**F-1: Ácido 7b-hidroxi-3-oxofriedelan-28-oico**



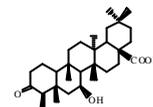
Sólido blanco amorfo (4.4 mg);  $[\alpha]^{20}_D$   $-0.50^\circ$  (c 0.44,  $\text{CHCl}_3$ ); **IR (película)**  $n_{\text{max}}$  3448, 2925, 2865, 1654, 1458, 1195, 1081  $\text{cm}^{-1}$ ; **RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)**  $\delta$  0.90 (3H, d,  $J = 6.7$  Hz, Me-23), 0.93 (3H, s, Me-29), 0.98 (3H, s, Me-27), 1.01 (3H, s, Me-24), 1.05 (3H, s, Me-30), 1.15, 1.33 (2H, H-19), 1.20, 1.40 (2H, H-21), 1.21 (2H, H-22), 1.25 x 2 (6H, s, Me-25; Me-26), 1.29, 1.42 (2H, H-12), 1.29, 1.62 (2H, H-15), 1.41, 1.58 (2H, H-11), 1.42 (1H, H-8), 1.50, 1.95 (2H, H-6), 1.58 (1H, H-10), 1.59, 2.39 (2H, H-16), 1.78, 2.00 (2H, m, H-1), 2.18 (1H, c,  $J = 6.7$  Hz, H-4), 2.28, 2.45 (2H, m, H-2), 2.45 (2H, m, H-18), 4.43 (1H, s ancho, H-7a); **RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz)**  $\delta$  6.9 (c, C-23), 16.1 (c, C-24), 18.5 (c, C-27), 18.8 (c, C-25), 21.7 (c, C-26), 22.4 (t, C-1), 28.5 (s, C-20), 29.2 (t, C-16), 29.7 (c, C-30), 31.1 (t, C-11), 32.4 (t, C-22), 32.8 (t, C-15), 34.3 (c, C-29), 35.1 (t, C-19), 35.8 (t, C-21), 37.6 (s, C-9), 37.8 (t, C-12), 38.4 x 2 (s, C-17; d, C-18), 39.5 (s, C-13), 41.3 (s, C-5), 41.7 (t, C-2), 44.6 (s, C-14), 48.9 (t, C-6), 52.9 (d, C-8), 58.8 (d, C-4), 59.8 (d, C-10), 68.3 (d, C-7), 183.3 (s, C-28), 212.7 (s, C-3); **EMIE $^+$   $m/z$  (%)** 472 ( $\text{M}^+$ , 25), 454 ( $\text{M}^+ - 18$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ , 20), 439 ( $\text{M}^+ - 33$ ,  $\text{CH}_5\text{O}^+$ , 13), 427 ( $\text{M}^+ - 45$ ,  $\text{CHO}_2^+$ , 7), 408 (13), 379 (36), 289 (20), 248 (50), 207 (26), 189 (45), 163 (51), 147 (39), 107 (82), 95 (100), 69 ( $\text{C}_4\text{H}_5\text{O}^+$ , 95), 55 ( $\text{C}_3\text{H}_3\text{O}^+$ , 85); **EMAR  $m/z$**  472.35754 (calculado para  $\text{C}_{30}\text{H}_{48}\text{O}_4$ , 472.35526).



**F-2: Metiléster del ácido 7b-hidroxi-3-oxofriedelan-28-oico**

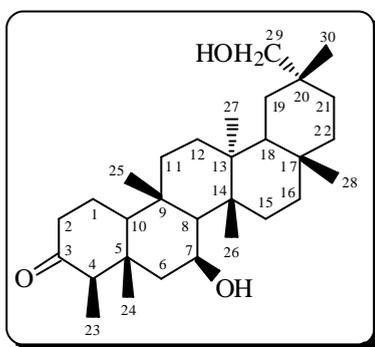


Sólido blanco amorfo (65.0 mg);  $[\alpha]^{20}_{\text{D}} -2.40^{\circ}$  (c 0.29,  $\text{CHCl}_3$ ); **IR (película)**  $\nu_{\text{max}}$  3526, 2946, 2868, 1706, 1457, 1209, 865  $\text{cm}^{-1}$ ; **RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)**  $\delta$  0.90 (3H, d,  $J = 6.7$  Hz, Me-23), 0.94 (3H, s, Me-29), 0.98 (3H, s, Me-27), 1.00 (3H, s, Me-24), 1.06 (3H, s, Me-30), 1.15 (3H, s, Me-26), 1.16, 1.32 (2H, H-19), 1.20 (2H, H-22), 1.21, 1.42 (2H, H-21), 1.25 (3H, s, Me-25), 1.27, 1.45 (2H, H-12), 1.28, 1.60 (2H, H-15), 1.40, 1.58 (2H, H-11), 1.42 (1H, H-8), 1.50, 1.95 (2H, H-6), 1.58 (1H, H-10), 1.61, 2.40 (2H, H-16), 1.78, 2.00 (2H, m, H-1), 2.19 (1H, c,  $J = 6.7$  Hz, H-4), 2.28, 2.45 (2H, m, H-2), 2.48 (1H, m, H-18), 3.64 (3H, s, OMe), 4.43 (1 H, s ancho, H-7a); **RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz)**  $\delta$  6.9 (c, C-23), 16.1 (c, C-24), 18.5 (c, C-27), 18.8 (c, C-25), 21.4 (c, C-26), 22.4 (t, C-1), 28.5 (s, C-20), 29.1 (t, C-16), 29.6 (c, C-30), 31.2 (t, C-11), 32.5 (t, C-22), 32.8 (t, C-15), 34.4 (c, C-29), 35.1 (t, C-19), 35.9 (t, C-21), 37.5 (t, C-12), 37.6 (s, C-9), 38.0 (d, C-18), 38.3 (s, C-17), 39.5 (s, C-13), 41.3 (s, C-5), 41.7 (t, C-2), 44.9 (s, C-14), 48.9 (t, C-6), 51.9 (c, OMe), 52.6 (d, C-8), 58.8 (d, C-4), 59.8 (d, C-10), 68.3 (d, C-7), 179.2 (s, C-28), 212.7 (s, C-3); **EMIE $^+$   $m/z$  (%)** 486 ( $\text{M}^+$ , 2), 468 ( $\text{M}^+-18$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ , 14), 427 ( $\text{M}^+-59$ ,  $\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2^+$ , 2), 409 (13), 394 (32), 379 (64), 300 (45), 262 (39), 218 (21), 203 (100), 189 (50), 163 (34), 133 (39), 121 (41), 107 (41), 95 (43), 81 (32),

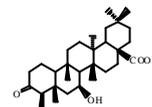


69 ( $C_4H_5O^+$ , 40), 55 ( $C_3H_3O^+$ , 34); **EMAR  $m/z$**  486.36857 (calculado para  $C_{31}H_{50}O_4$ , 486.37091).

### **F-3: 7b,29-Dihidroxifriedelina**



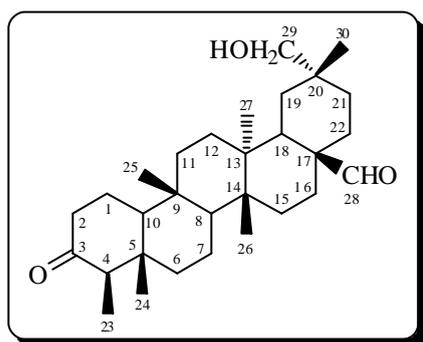
Sólido blanco amorfo (8.3 mg);  $[\alpha]^{20}_D$   $-1.83^\circ$  (c 0.82,  $CHCl_3$ ); **IR (película)**  $n_{max}$  3422, 2927, 2865, 1705, 1457, 1389, 1040, 759  $cm^{-1}$ ; **RMN  $^1H$  ( $CDCl_3$ , 400 MHz)** d 0.91 (3H, d,  $J = 6.7$  Hz, Me-23), 1.00 (3H, s, Me-27), 1.02 (3H, s, Me-24), 1.03 (3H, s, Me-30), 1.10, 1.41 (2H, H-22), 1.25, 1.48 (2H, H-19), 1.25 (3H, s, Me-28), 1.28 (3H, s, Me-25), 1.38, 1.47 (2H, H-12), 1.38 (2H, H-21), 1.39, 1.46 (2H, H-11), 1.42, 1.68 (2H, H-15), 1.43 (2H, H-8), 1.44, 1.60 (2H, H-16), 1.46 (3H, s, Me-26), 1.52, 1.95 (2H, H-6), 1.60 (1H, H-10), 1.72, 2.43 (2H, m, H-2), 2.05 (2H, m, H-1), 2.18 (1H, c,  $J = 6.7$  Hz, H-4), 2.32 (1H, m, H-18), 3.27 (2H, c,  $J = 10.3$  Hz, H-29), 4.50 (1 H, s ancho, H-7a); **RMN  $^{13}C$  ( $CDCl_3$ , 100 MHz)** d 6.9 (c, C-23), 16.1 (c, C-24), 18.3 (c, C-27), 19.0 (c, C-25), 21.8 (c, C-26), 22.3 (t, C-1), 26.0 (c, C-30), 27.9 (t, C-21), 29.6 (t, C-19), 30.5 x 2 (t, C-12; s, C-17), 32.1 (c, C-28), 32.4 (t, C-15), 33.1 (s, C-20), 35.8 (t, C-16), 37.2 (s, C-9), 37.6 (t, C-11), 39.1 (s, C-14), 39.4 (t, C-22), 40.4 (s, C-13), 41.3 (s, C-5), 41.6 (d, C-18), 41.7 (t, C-2), 49.0 (t, C-6), 52.9 (d, C-8), 58.8 (d, C-4), 60.0 (d, C-10), 68.4 (d, C-7), 74.5 (t, C-



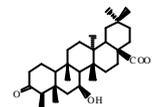
Parte experimental friedelanos *M. chiapensis*

29), 212.8 (s, C-3); **EMIE<sup>+</sup> m/z (%)** 458 (M<sup>+</sup>, 6), 440 (M<sup>+</sup>-18, H<sub>2</sub>O, 15), 425 (M<sup>+</sup>-33, CH<sub>5</sub>O<sup>+</sup>, 13), 407 (7), 203 (33), 189 (39), 137 (26), 123 (71), 109 (90), 95 (100), 69 (C<sub>4</sub>H<sub>5</sub>O<sup>+</sup>, 78), 55 (C<sub>3</sub>H<sub>3</sub>O<sup>+</sup>, 84); **EMAR m/z** 458.37748 (calculado para C<sub>30</sub>H<sub>50</sub>O<sub>3</sub>, 458.37599).

#### **F-4: 29-Hidroxi-3-oxofriedelan-28-al**



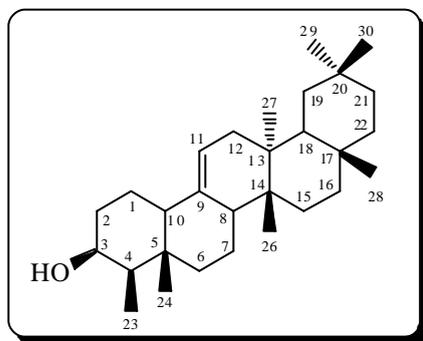
Sólido blanco amorfo (4.0 mg);  $[\alpha]^{20}_{\text{D}}$  -20.7° (c 0.29, CHCl<sub>3</sub>); **IR (película)**  $n_{\text{max}}$  3445, 2938, 2868, 1704, 1645, 1456, 1389, 1047 cm<sup>-1</sup>; **RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz)** δ 0.67 (3H, s, Me-26), 0.72 (3H, s, Me-24) 0.84 (3H, s, Me-25), 0.87 (3H, d, *J* = 6.6 Hz, Me-23), 0.88, 1.40 (2H, H-21), 0.99 (3H, s, Me-30), 1.09 (3H, s, Me-27), 1.29, 1.58 (2H, H-19), 1.30, 1.52 (2H, H-11), 1.30, 1.75 (2H, H-6), 1.30, 1.40 (2H, H-15), 1.40 (2H, H-7), 1.40 (1H, H-8), 1.42 (2H, H-16), 1.50 (2H, H-12), 1.51 (1H, H-10), 1.70, 2.10 (2H, m, H-22), 1.98 (1H, m, H-1), 2.23 (1H, c, *J* = 6.6 Hz, H-4), 2.30, 2.40 (2H, H-2), 2.30 (1H, m, H-18), 3.27 (2H, s, H-29), 9.45 (1H, s, H-28); **RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz)** δ 6.8 (c, C-23), 14.6 (c, C-24), 17.2 (c, C-25), 18.1 (t, C-7), 18.8 (c, C-27), 20.1 (c, C-26), 22.3 (t, C-1), 24.0 (c, C-30), 27.6 (t, C-21), 28.2 (t, C-22), 29.4 (t, C-19), 30.6 (t, C-12), 32.4 (t, C-15), 33.4 (t, C-



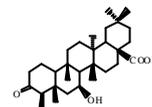
Parte experimental friedelanos *M. chiapensis*

16), 33.5 (s, C-20), 35.4 (t, C-11), 35.5 (d, C-18), 37.2 (s, C-14), 37.7 (s, C-9), 38.9 (s, C-13), 41.1 (t, C-2), 41.5 (t, C-6), 42.0 (s, C-5), 48.2 (s, C-17), 52.9 (d, C-8), 58.2 (d, C-4), 59.3 (d, C-10), 74.4 (t, C-29), 208.5 (d, C-28), 219.9 (s, C-3); **EMIE<sup>+</sup> m/z (%)** 456 (M<sup>+</sup>, 4), 438 (M<sup>+</sup>-18, H<sub>2</sub>O, 37), 427 (M<sup>+</sup>-29, CHO<sup>+</sup>, 81), 409 (11), 395 (34), 273 (48), 203 (31), 189 (21), 135 (67), 123 (41), 109 (92), 95 (100), 69 (C<sub>4</sub>H<sub>5</sub>O<sup>+</sup>, 54), 55 (C<sub>3</sub>H<sub>3</sub>O<sup>+</sup>, 69); **EMAR m/z** 456.36004 (calculado para C<sub>30</sub>H<sub>48</sub>O<sub>3</sub>, 456.36035).

### **F-5: Putrol**

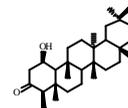


Sólido blanco (35.0 mg);  $[\alpha]^{20}_{\text{D}} +8.0^{\circ}$  (c 0.39, CHCl<sub>3</sub>); **IR (película)**  $n_{\text{max}}$  3445, 3010, 2938, 1640, 1456, 1389, 1047, 840 cm<sup>-1</sup>; **RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz)** d 0.82 (3H, s, Me-24), 0.86 (3H, s, Me-27), 0.88, 1.46 (2H, H16), 0.92 (3H, s, Me-26), 0.97 (3H, s, Me-29), 0.98 (3H, s, Me-30), 1.00, 1.78 (2H, H-7), 1.01 (3H, d,  $J = 7.2$  Hz, Me-23), 1.05 (3H, s, Me-28), 1.24 (2H, H-21), 1.27 (1H, H-4), 1.34, 1.39 (2H, H-19), 1.40 (2H, H-22), 1.43 (2H, H-15), 1.47 (2H, H-1), 1.54 (2H, H-16), 1.55 (1H, H-18), 1.57 (1H, H-18), 1.60, 1.95 (2H, H-2), 1.63, 1.68 (2H, H-12), 1.73 (1H, H-8), 3.82 (1H, s, H-3), 5.20 (1H, d,  $J = 5.2$  Hz); **RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>,**

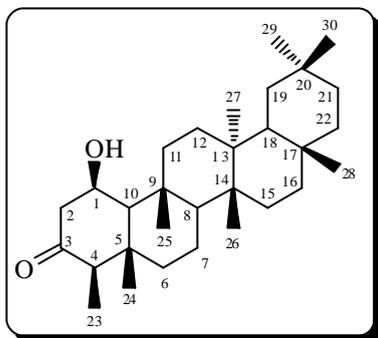


Parte experimental friedelanos *M. chiapensis*

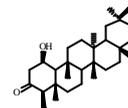
**100 MHz**) d 12.1 (c, C-23), 13.8 (c, C-24), 18.0 (c, C-27), 19.2 (t, C-7), 19.7 (c, C-26), 19.8 (t, C-1), 28.5 (s, C-20), 30.2 (c, C-28), 30.5 (t, C-15), 31.5 (s, C-17), 33.7 x 2 (c, C-29; c, C-30), 33.9 (t, C-2), 34.1 (t, C-21), 35.0 (t, C-19), 35.9 (t, C-16), 36.2 (t, C-22), 36.9 (s, C-14), 37.6 (s, C-5), 37.8 (s, C-13), 38.0 (t, C-12), 39.0 (t, C-6), 44.2 (d, C-18), 45.8 (d, C-4), 47.8 (d, C-8), 50.6 (d, C-10), 72.5 (d, C-3), 116.8 (d, C-11), 139.4 (s, C-9); **EMIE<sup>+</sup> m/z (%)** 412 (M<sup>+</sup>, 11), 397 (M<sup>+</sup>-15, CH<sub>3</sub>, 37), 394 (M<sup>+</sup>-18, H<sub>2</sub>O, 54), 379 (M<sup>+</sup>-33, CH<sub>5</sub>O<sup>+</sup>, 26), 227 (18), 215 (23), 206 (49), 191 (100), 179 (26), 163 (21), 123 (26), 109 (40), 95 (42), 81 (26), 69 (C<sub>4</sub>H<sub>5</sub>O<sup>+</sup>, 32), 55 (C<sub>3</sub>H<sub>3</sub>O<sup>+</sup>, 24); **EMAR m/z** 412.37125 (calculado para C<sub>29</sub>H<sub>48</sub>O, 412.37052).



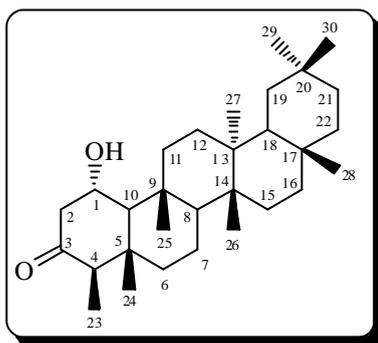
### F-6: 1b-Hidroxifriedelina



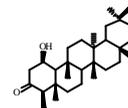
Sólido amorfo (84.0 mg);  $[\alpha]^{20}_D$   $-10.6^\circ$  (c 0.33,  $\text{CHCl}_3$ ); **IR (película)**  $n_{\text{max}}$  3437, 2928, 2875, 1713, 1640, 1461, 1389, 757  $\text{cm}^{-1}$ ; **RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400)** d 0.70 (3H, s, Me-24), 0.86 (3H, s, Me-25), 0.94 (3H, s, Me-29), 0.95, 1.50 (2H, H-22), 0.96 (3H, d,  $J = 6.7$  Hz, Me-23), 1.00 (6H, s, Me-26; Me-30), 1.05 (3H, s, Me-27), 1.18 (3H, s, Me-28), 1.20 (2H, H-11), 1.25 (2H, H-12), 1.29, 1.78 (2H, H-6), 1.29, 1.49 (2H, H-15), 1.29, 1.49 (2H, H-21), 1.38 (2H, H-19), 1.40, 1.50 (2H, H-7), 1.43 (1H, H-8), 1.52 (1H, H-2a), 1.55 (1H, H-10), 1.55 (2H, H-16), 1.56 (1H, H-18), 2.26 (1H, c,  $J = 6.7$  Hz, H-4), 2.42 (1H, t,  $J = 10.3$  Hz, H-2 $\beta$ ), 4.10 (1H, t,  $J = 10.3$  Hz, H-1a); **RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz)** d 6.6 (c, C-23), 14.7 (c, C-24), 18.1 (c, C-25), 18.2 (t, C-7), 18.7 (c, C-27), 20.2 (c, C-26), 28.2 (s, C-20), 30.0 (s, C-17), 30.5 (t, C-12), 31.8 (c, C-30), 32.1 (c, C-28), 32.4 (t, C-15), 32.6 (t, C-2), 32.8 (t, C-21), 35.0 (c, C-29), 35.4 (t, C-19), 35.6 (t, C-11), 36.0 (t, C-16), 37.4 (s, C-9), 38.3 (s, C-14), 39.3 (t, C-22), 39.7 (s, C-13), 41.3 (t, C-6), 42.8 (d, C-18), 43.1 (s, C-5), 53.2 (d, C-8), 55.6 (d, C-4), 56.6 (d, C-10), 75.0 (d, C-1), 215.5 (s, C-3); **EMIE $^+$   $m/z$  (%)** 442 ( $\text{M}^+$ , 34), 427 ( $\text{M}^+-15$ ,  $\text{CH}_3^+$ , 14), 424 ( $\text{M}^+-18$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ , 10), 318 (63), 289 (46), 205 (67), 189 (15), 137 (44), 123 (85), 109 (88), 95 (98), 69 ( $\text{C}_4\text{H}_5\text{O}^+$ , 100), 55 ( $\text{C}_3\text{H}_3\text{O}^+$ , 64); **EMAR  $m/z$**  442.38297 (calculado para  $\text{C}_{30}\text{H}_{50}\text{O}_2$ , 442.38108).



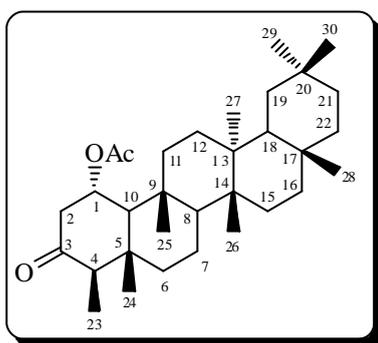
### **F-7: 1a-Hidroxifriedelina**



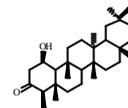
Sólido amorfo (40.0 mg);  $[\alpha]^{20}_{\text{D}} -30.0^{\circ}$  (c 0.60,  $\text{CHCl}_3$ ); **IR (película)**  $n_{\text{max}}$  3420, 2925, 2870, 1710, 1630, 1456, 1390, 759  $\text{cm}^{-1}$ ; **RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400)** d 0.72 (3H, s, Me-24), 0.86 (3H, s, Me-25), 0.89 (3H, d,  $J = 6.7$  Hz, Me-23), 0.94, 1.49 (2H, H-22), 0.95 (3H, s, Me-29), 1.00 (6H, s, Me-26; Me-30), 1.05 (3H, s, Me-27), 1.17 (3H, s, Me-28), 1.22 (2H, H-22), 1.29, 1.46 (2H, H-21), 1.31, 1.49 (2H, H-15), 1.32, 1.75 (2H, H-6), 1.33 (2H, H-12), 1.38 (2H, H-19), 1.40 (1H, H-10), 1.41, 1.50 (2H, H-7), 1.55 (2H, H-16), 1.57 (1H, H-18), 1.87, 1.95 (2H, H-2), 1.89 (1H, H-8), 2.80 (1H, c,  $J = 6.7$  Hz, H-4), 4.08 (1H, s ancho, H-1 $\beta$ ); **RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz)** d 6.9 (c, C-23), 14.3 (c, C-24), 17.8 (c, C-25), 18.2 (t, C-7), 18.7 (c, C-27), 20.3 (c, C-26), 28.2 (s, C-20), 30.0 (s, C-17), 30.1 (t, C-2), 30.5 (t, C-12), 31.8 (c, C-30), 32.1 (c, C-28), 32.4 (t, C-15), 32.8 (t, C-21), 35.0 (c, C-29), 35.3 (t, C-19), 35.4 (t, C-11), 36.0 (t, C-16), 36.9 (s, C-9), 38.3 (s, C-14), 39.3 (t, C-22), 39.7 (s, C-13), 41.2 (t, C-6), 42.7 (s, C-5), 42.8 (d, C-18), 52.5 (d, C-8), 53.1 (d, C-10), 53.4 (d, C-4), 74.0 (d, C-1), 213.2 (s, C-3); **EMIE $^+$  m/z (%)** 442 ( $\text{M}^+$ , 23), 427 ( $\text{M}^+-15$ ,  $\text{CH}_3^+$ , 14), 424 ( $\text{M}^+-18$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ , 9), 318 (42), 289 (28), 205 (51), 125 (65), 123 (75), 109 (83), 95 (94), 81 (63), 69 ( $\text{C}_4\text{H}_5\text{O}^+$ , 100), 55 ( $\text{C}_3\text{H}_3\text{O}^+$ , 56); **EMAR m/z** 442.38258 (calculado para  $\text{C}_{30}\text{H}_{50}\text{O}_2$ , 442.38108).



### **F-7a: 1a-Acetoxifriedelina**



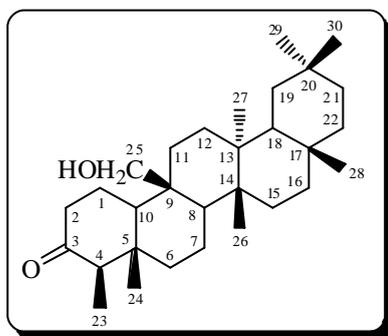
Sólido amorfo (10.0 mg);  $[\alpha]^{20}_{\text{D}} -22.7^{\circ}$  ( $c$  0.45,  $\text{CHCl}_3$ ); **IR (película)**  $n_{\text{max}}$  3419, 2925, 2870, 1743, 1705, 1635, 1454, 1389, 758  $\text{cm}^{-1}$ ; **RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400)**  $\delta$  0.71 (3H, s, Me-24), 0.84 (3H, s, Me-25), 0.88 (3H, d,  $J = 6.7$  Hz, Me-23), 0.95 (3H, s, Me-29), 0.97, 1.50 (2H, H-22), 0.99 (6H, s, Me-26; Me-30), 1.06 (3H, s, Me-27), 1.17 (3H, s, Me-28), 1.29, 1.46 (2H, H-19), 1.30, 1.50 (2H, H-15), 1.35, 1.75 (2H, H-6), 1.38 (2H, H-19), 1.39 (2H, H-11), 1.40 (1H, H-10), 1.41, 1.50 (2H, H-7), 1.57 (1H, H-18), 1.58 (2H, H-16), 1.60 (2H, H-12), 1.80, 2.10 (2H, H-2), 1.85 (1H, H-8), 2.12 (3H, s, OAc), 2.65 (1H, c,  $J = 6.7$  Hz, H-4), 4.93 (1H, s, H-1 $\beta$ ); **RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz)**  $\delta$  6.5 (c, C-23), 14.1 (c, C-24), 17.9 (c, C-25), 18.2 (t, C-7), 18.6 (c, C-27), 20.1 (c, C-26), 21.1 (c, OAc), 28.1 (s, C-20), 28.2 (t, C-2), 30.0 (s, C-17), 30.3 (t, C-12), 31.8 (c, C-30), 32.1 (c, C-28), 32.3 (t, C-15), 32.8 (t, C-21), 34.9 (c, C-29), 35.3 (t, C-19), 35.5 (t, C-11), 36.0 (t, C-16), 36.9 (s, C-9), 38.3 (s, C-14), 39.2 (t, C-22), 39.7 (s, C-13), 41.0 (t, C-6), 42.8 (d, C-18), 43.2 (s, C-5), 53.0 (d, C-8), 53.3 (d, C-10), 54.4 (d, C-4), 76.6 (d, C-1), 169.7 (s, OAc), 208.1 (s, C-3); **EMIE $^+$   $m/z$  (%)** 484 ( $\text{M}^+$ , 22), 469 ( $\text{M}^+-15$ ,  $\text{CH}_3^+$ , 5), 424 ( $\text{M}^+-60$ ,  $\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2^+$ , 27), 300 (21), 273 (35), 205 (57), 179 (35), 125 (67), 109



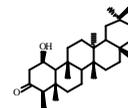
Parte experimental friedelanos *C. uragoga*

(85), 95 (98), 69 ( $C_4H_5O^+$ , 100); 55 ( $C_3H_3O^+$ , 56); **EMAR**  $m/z$  484.38648 (calculado para  $C_{32}H_{52}O_3$ , 484.39165).

### **F-8: 25-Hidroxifriedelina**



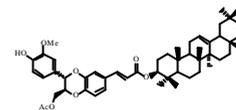
Sólido blanco (165.9 mg);  $[\alpha]^{20}_D$   $-4.5^\circ$  (c 0.33,  $CHCl_3$ ); **IR (película)**  $n_{max}$  3520, 2926, 2870, 1698, 1635, 1463, 1383, 1029, 771  $cm^{-1}$ ; **RMN  $^1H$  ( $CDCl_3$ , 400)**  $\delta$  0.83 (3H, s, Me-24), 0.90 (3H, d,  $J = 6.7$  Hz, Me-23), 0.95, 1.50 (2H, H-22), 0.95 (3H, s, Me-29), 0.99 (3H, s, Me-30), 1.02 (3H, s, Me-26), 1.07 (3H, s, Me-27), 1.18 (3H, s, Me-28), 1.30, 1.50 (2H, H-15), 1.30, 1.50 (2H, H-21), 1.32, 1.82 (2H, H-6), 1.38 (2H, H-19), 1.39 (2H, H-12), 1.45 (2H, H-7), 1.54 (1H, H-8), 1.56, 2.37 (2H, H-2), 1.58 (2H, H-16), 1.64 (1H, H-10), 2.00 (2H, H-11), 2.10 (2H, H-1), 2.22 (1H, H-18), 2.25 (1H, c,  $J = 6.7$  Hz, H-4), 3.93 (2H, c,  $J = 11.7$  Hz, H-25); **RMN  $^{13}C$  ( $CDCl_3$ , 100 MHz)**  $\delta$  7.0 (c, C-23), 14.7 (c, C-24), 17.9 (t, C-7), 18.5 (c, C-27), 20.1 (c, C-26), 24.7 (t, C-1), 28.1 (s, C-20), 29.9 (t, C-11), 30.1 (s, C-17), 31.2 (t, C-12), 31.7 (c, C-30), 32.1 (c, C-28), 32.7 x 2 (t, C-15; t, C-21), 35.0 (c, C-29), 35.3 (t, C-19), 36.0 (t, C-16), 37.7 (s, C-14), 39.2 (t, C-22), 39.7 (s, C-13), 41.8 (t, C-6), 42.0 (s, C-9), 42.4 (s, C-5), 42.6 (t, C-2), 42.7 (d, C-18), 53.7



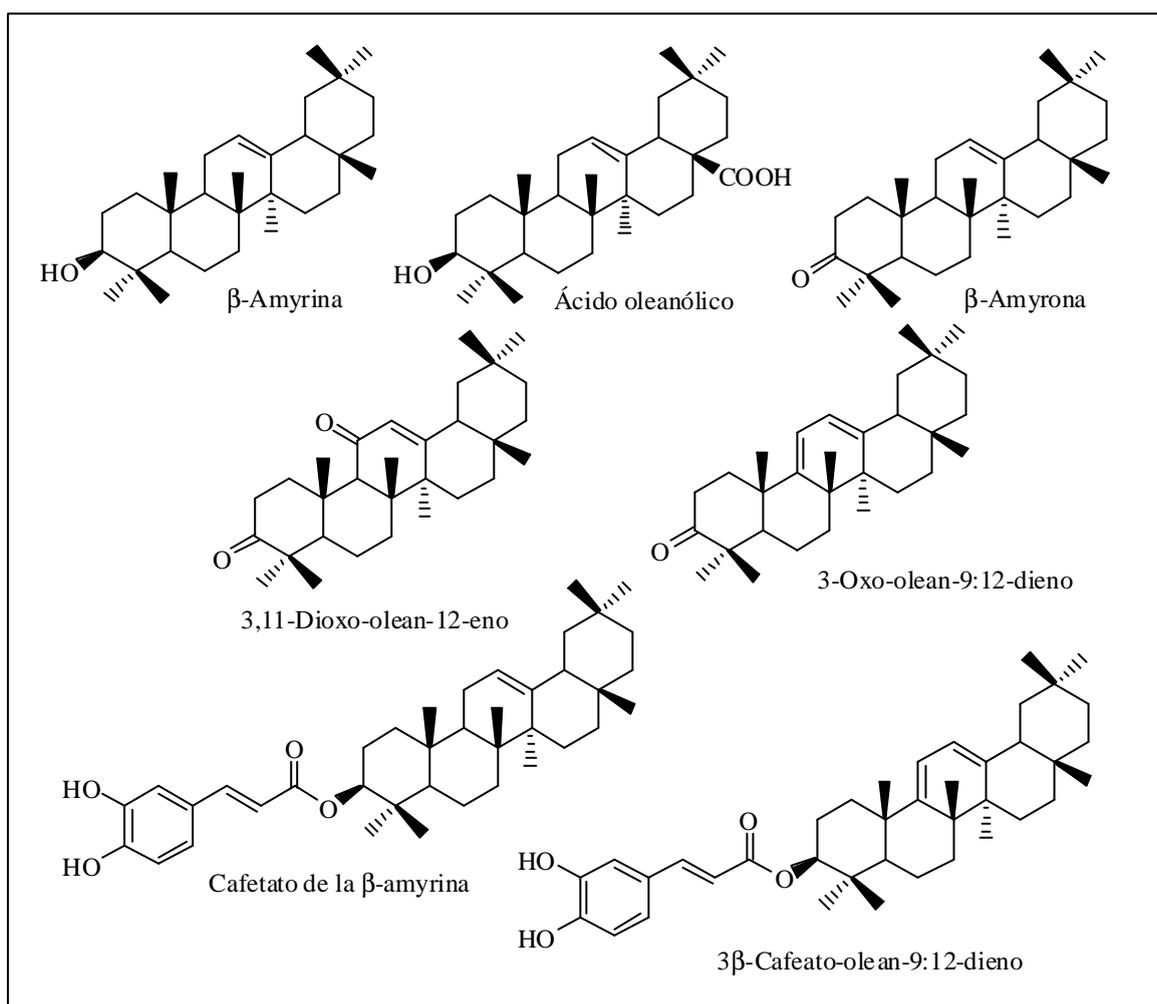
Parte experimental friedelanos *C. uragoga*

(d, C-8), 58.5 (d, C-4), 60.7 (d, C-10), 63.0 (t, C-25), 212.9 (s, C-3); **EMIE<sup>+</sup> m/z (%)** 442 (M<sup>+</sup>, 4), 424 (M<sup>+</sup>-18, H<sub>2</sub>O, 5), 411 (M<sup>+</sup>-31, CH<sub>3</sub>O<sup>+</sup>, 41), 409 (M<sup>+</sup>-33, CH<sub>5</sub>O<sup>+</sup>, 7), 289 (62), 259 (15), 231 (28), 205 (100), 191 (31), 177 (17), 163 (19), 137 (21), 121 (25), 109 (49), 95 (59), 81 (36), 69 (C<sub>4</sub>H<sub>5</sub>O<sup>+</sup>, 50); 55 (C<sub>3</sub>H<sub>3</sub>O<sup>+</sup>, 32); **EMAR m/z** 442.38316 (calculado para C<sub>30</sub>H<sub>50</sub>O<sub>2</sub>, 442.38108).

*Triterpenos de la serie del Oleano aislados  
de los tallos de Crossopetalum uragoga*



Del extracto diclorometánico de los tallos de *Crossopetalum uragoga*, se aislaron siete triterpenos de la serie del oleano, previamente descritos en la bibliografía química:  $\beta$ -amyrina,<sup>1</sup> ácido oleanólico,<sup>2</sup>  $\beta$ -amyrina,<sup>3</sup> 3,11-dioxo-olean-12-eno,<sup>4</sup> 3-oxo-olean-9:12-dieno,<sup>5</sup> cafeato de la  $\beta$ -amyrina<sup>6</sup> y 3 $\beta$ -cafeato-olean-9:12-dieno,<sup>6</sup> cuyas estructuras se muestran a continuación:



<sup>1</sup> Knight, S. A. *Org. Mang. Resonance*, 6, 603-611, **1974**.

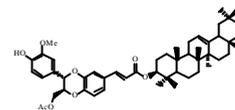
<sup>2</sup> Seebacher, W.; Simic, N.; Weis, R.; Saf, R.; Kunert, O. *Magn. Reson. Chem.*, 41, 636-638, **2003**.

<sup>3</sup> Monaco, P.; Caputo, R.; Palumbo, G.; Mangoni, L. *Phytochemistry*, 12, 2534-2537, **1973**.

<sup>4</sup> Finucane, B. W.; Thomson, J. B. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I*, 1856-1862, **1972**.

<sup>5</sup> Barnes, R. A.; Pereira, A. I.; Cristina, T.; Scofield, V.; Filho, R. B.; Pinto, A. C. *Chem. Pharm. Bull.*, 32, 3674-3677, **1984**.

<sup>6</sup> Wang, H.; Tian, X.; Chen, Y.-Z. *J. Chin. Chem. Soc.-Tap.*, 49, 433-436, **2002**.



Además, se aisló de los tallos de *C. uragagoga*, un aducto formado por una unidad de un triterpeno de la serie del oleano y un neolignano, que resultó nuevo en la literatura química y que hemos denominado **O-1**.

Pasamos a continuación a detallar su elucidación estructural.

### **Triterpeno: O-1**

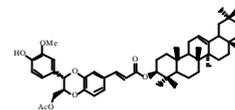
El compuesto que hemos denominado **O-1** presentó una fórmula molecular  $C_{51}H_{68}O_8$ , determinada por espectrometría de masas de alta resolución. Esta fórmula indica 18 grados de insaturación. El espectro de masas presentó un fragmento correspondiente a la pérdida a un grupo acetato ( $60 m/z$ ,  $C_2H_4O_2^+$ ).

En su espectro de IR se observaron bandas de absorción correspondientes a grupo hidroxilo ( $3434\text{ cm}^{-1}$ ), éster ( $1741\text{ cm}^{-1}$ ) y éster  $\alpha,\beta$ -insaturado ( $1703\text{ cm}^{-1}$ ) y el espectro de UV reveló la presencia de anillo aromático y cetona  $\alpha,\beta$ -insaturada ( $217, 235, 288, 297$  y  $320\text{ nm}$ ).

El espectro de RMN  $^1H$  (Tabla 16) indicó la presencia de ocho metilos ( $d_H$  0.84-1.15) y dos protones metínicos a  $d_H$  4.63 (H-3, t,  $J = 8.2\text{ Hz}$ ) y  $d_H$  5.19 como singlete ancho, este último característico de un esqueleto de  $\Delta^{12}$ -oleano.<sup>7</sup> Estos datos están de acuerdo con su espectro de RMN  $^{13}C$  (Tabla 16), en el cual se observan señales a  $d_C$  15.5-33.3,  $d_C$  121.6 y 144.8, atribuido a ocho metilos y a los carbonos 12 y 13 del esqueleto  $\Delta^{12}$ -oleano.

Además, se observó en su espectro de RMN  $^1H$ , señales para un doble enlace *trans* ( $J = 15.9\text{ Hz}$ ) a  $d_H$  7.57 (H-7'') y  $d_H$  6.30 (H-8''), los cuales acoplan entre si; un típico sistema ABX de anillo aromático a  $d_H$  6.97 (H-5'', d,  $J = 8.3\text{ Hz}$ ), 7.11 (H-6'', dd,  $J = 1.6, 8.3\text{ Hz}$ ) y 7.16 (H-2'', d,  $J = 1.6\text{ Hz}$ ) con acoplamientos *orto*, *orto/meta* y *meta*, respectivamente. Estos datos indican que **O-1** es un éster cafeíco de un triterpeno del  $\Delta^{12}$ -oleano, relacionado con el cafeato de la  $\beta$ -amyrina, también aislado de los tallos de *Crossopetalum*

<sup>7</sup> Conrad, J.; Vogler, B.; Klaiher, I.; Roos, G.; Walter, U.; Kraus, W. *Phytochemistry*, 48, 647-650, 1998.



uragoga y que fue aislado por primera vez de *Celastrus hypoleucus* (Celastraceae).<sup>6</sup>

La posición del *O*-cafeato sobre el C-3 fue confirmada mediante el uso de un experimento HMBC, en el cual se observó correlación entre el protón a  $\delta_{\text{H}}$  4.63 (H-3), con los carbonos a  $\delta_{\text{C}}$  22.7 (C-2), 28.1 (C-23), 16.8 (C-24), 37.9 (C-4) y 167.0 (C-9''). La correlación de H-3 con H-5 y Me-23, mostrada en un experimento ROESY, nos permitió determinar la estereoquímica relativa del grupo *O*-cafeato como 3 $\beta$  (Figura 48).

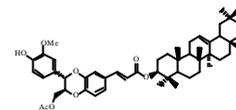
Además, se observaron, en su espectro de RMN  $^1\text{H}$  (Tabla 16), señales a  $\delta_{\text{H}}$  2.08 (3H, s, OAc), 3.91 (3H, s, OMe), 4.88 (1H, d,  $J = 7.8$  Hz, H-7'), 4.26 (1H, m, H-8'), 3.96 y 4.31 (1H, dd,  $J = 4.5, 12.7$  Hz, m, H-9'), 6.86 (1H, s, H-2'), 6.90 (1H, dd,  $J = 1.5, 8.1$  Hz, H-6') y 6.95 (1H, d,  $J = 8.1$  Hz, H-5').

Un cuidadoso análisis de los experimentos COSY y HMBC, nos indicaron que **O-1**, presenta una unidad de arilpropano, correspondiente al monoacetato del alcohol coniferílico.<sup>8</sup> El experimento  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY reveló acoplamientos entre los protones geminales a oxígeno, H-7', H-8' y el metileno H-9'. El doblete a  $\delta_{\text{H}}$  4.88 (H-7'), típico de un protón sobre un carbono benzílico que lleva como sustituyente un oxígeno y el multiplete a  $\delta_{\text{H}}$  4.26 (H-8'), indican la existencia de un anillo 1,4-dioxano<sup>9</sup> entre la unidad de arilpropano y el éster cafeico del triterpeno, lo que también se sustenta por la fragmentación típica del anillo 1,4-dioxano (Figura 48).

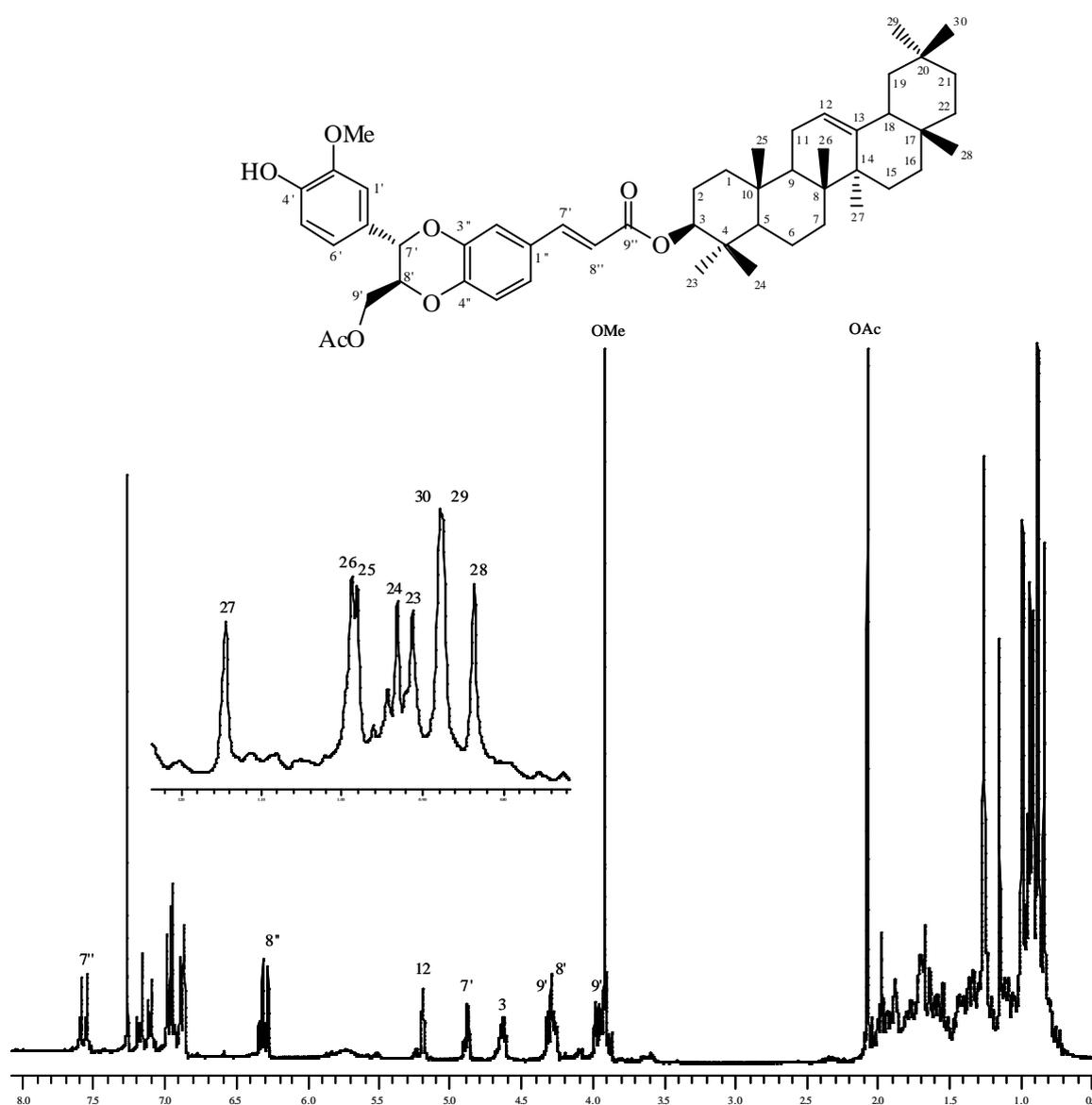
Sobre la base de estas observaciones, proponemos que el compuesto **O-1** es un aducto formado por una unidad de neolignano y otra de triterpeno, unidas a través de un enlace tipo éster. La unión del arilpropano y el cafeato del triterpeno a través del puente 1,4-dioxano se dedujo por medio de un experimento HMBC. Así, después de la optimizar el valor de la  $J$  a 3 Hz [ $^{2,3}J(\text{C,H})$ ] para la correlación a tres enlaces, se observó solamente correlación entre H-7' y C-3''. Además, se observó correlación entre la señal del metoxilo ( $\delta_{\text{H}}$  3.91, s) y el C-3' ( $\delta_{\text{C}}$  147.0), indicando la posición del grupo metoxilo sobre el

<sup>8</sup> ZDero, C.; Bojlmann, F.; King, R. M. *Phytochemistry*, 31, 1703-1711, 1992.

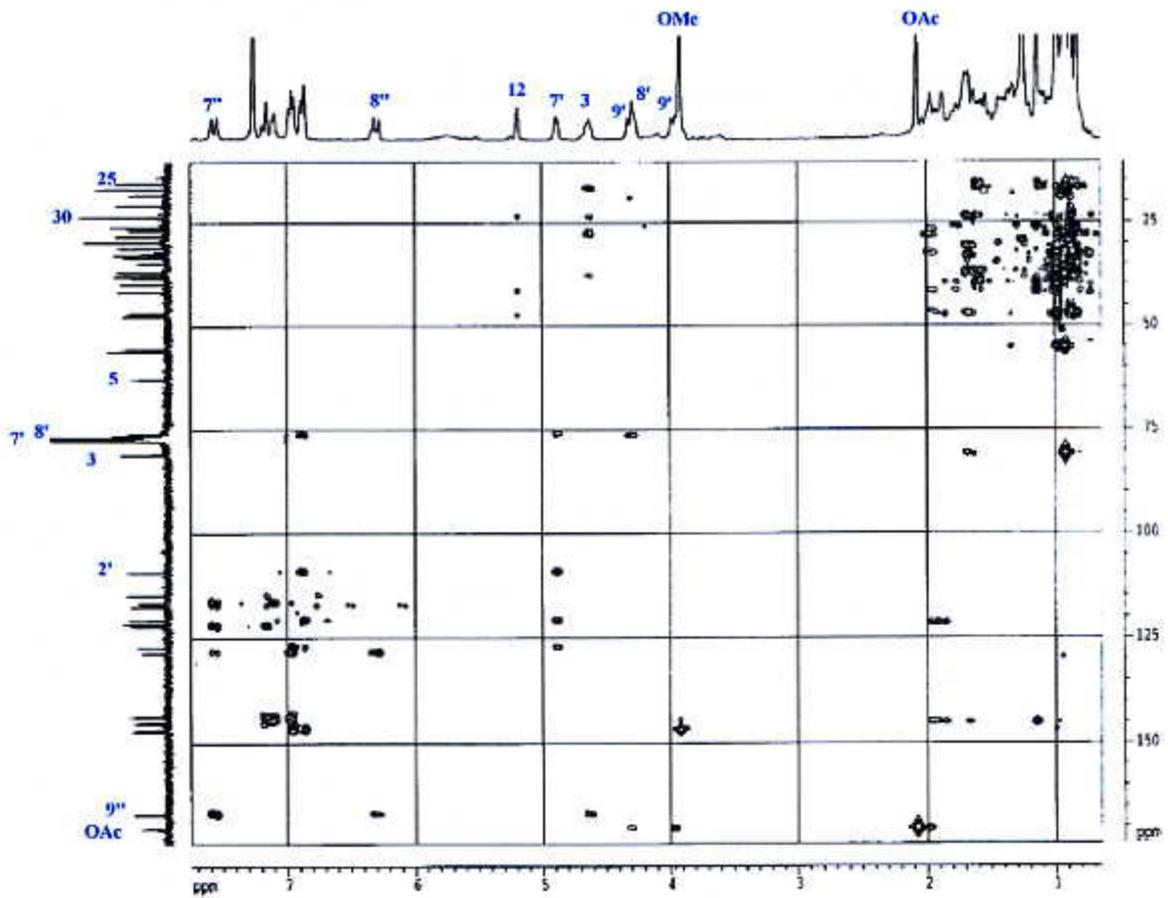
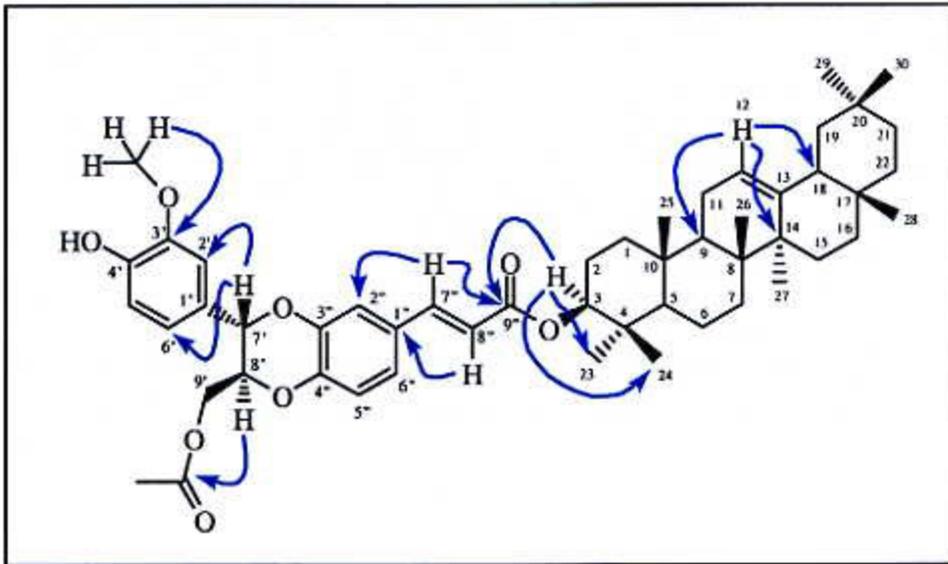
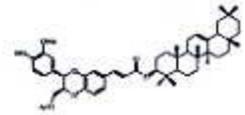
<sup>9</sup> Lee, D.; Cuendet, M.; Vigo, J. S.; Graham, J. G.; Cabieses, F.; Fong, H. H. S.; Pezzuto, J. M.; Kinghorn, A. D. *Org. Lett.*, 3, 2169-2171, 2001.



C-3'. La unión *trans* del sistema dioxano fue confirmada por el valor de la constante de acoplamiento y un experimento ROESY (Figure 48); así, la  $J = 7.8$  Hz entre H-7' y H-8' y las correlaciones NOE entre H-7' con H-2' y H-9' y H-8' con H-6', indican claramente la isomería *trans* del enlace entre C-7' y C-8' en el anillo de dioxano.<sup>8</sup> Todos estos datos nos permitieron establecer la estructura de **O-1** como 3β-(9'-acetoxi-4'-hidroxi-3'-metoxi-3'',7'-epoxi-8',4''-oxineolignan-9''-carboxi-7''-en)-olean-12-eno, para el que proponemos el nombre de **Uragogin**.



Espectro de RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) de **uragogin (O-1)**



Experimento HMBC ( $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ ) de uragoin (O-1)

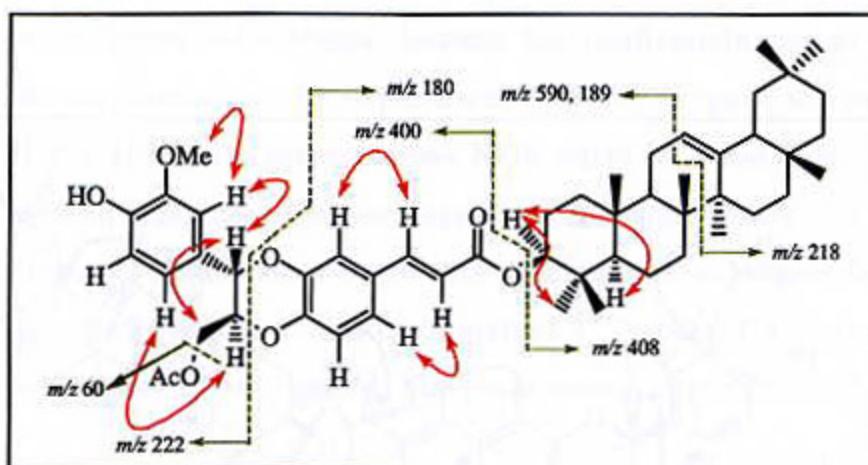
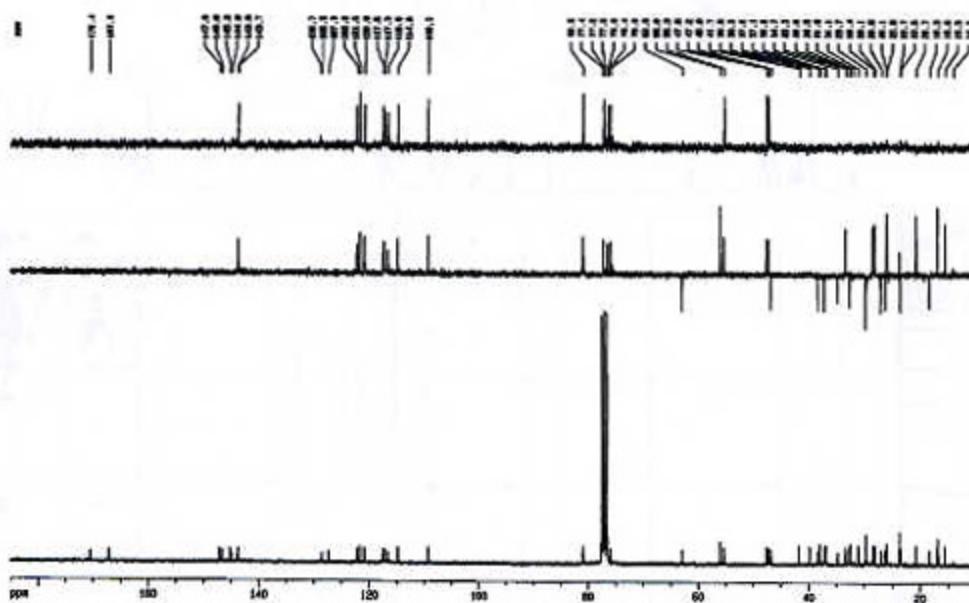


Figura 48. Correlaciones NOE ( $\curvearrowright$ ) y fragmentación de masas ( $\uparrow$ ) para uragoin (O-1)



Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz) de uragoin (O-1)

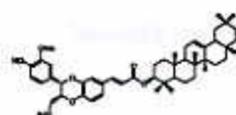


Tabla 16. Datos de RMN <sup>1</sup>H (400 MHz) y <sup>13</sup>C (100 MHz) de uragodin (O-1)

Unidad triterpénica			Unidad neolignánica		
Posición	δ <sub>H</sub> <sup>a</sup>	δ <sub>C</sub> <sup>b</sup>	Posición	δ <sub>H</sub> <sup>a</sup>	δ <sub>C</sub> <sup>b</sup>
1	1.10, 1.65	38.3 t	1'		127.3 s
2	1.69	22.7 t	2'	6.86 s	109.3 d
3	4.63 t (8.2)	80.9 d	3'		147.0 s
4		37.9 s	4'		146.6 s
5	0.90	55.3 d	5'	6.95 d (8.1)	114.8 d
6	1.55	18.3 t	6'	6.90 dd (1.5, 8.1)	120.8 d
7	1.35, 1.53	32.5 t	7'	4.88 d (7.8)	76.4 d
8		39.8 s	8'	4.26 m	76.0 d
9	1.95	47.5 d	9'	3.96 dd (4.5, 12.7) 4.31 m	62.9 t
10		36.9 s	OMe	3.91 s	56.0 c
11	1.90	23.5 t	OAc	2.08 s	20.7 c 170.4 s
12	5.19 s a	121.6 d	1''		128.5 s
13		145.2 s	2''	7.16 d (1.6)	116.6 d
14		41.7 s	3''		143.8 s
15	0.97, 1.76	26.1 t	4''		144.8 s
16	0.81, 2.00	26.9 t	5''	6.97 d (8.3)	117.5 d
17		32.6 s	6''	7.11 dd (1.6, 8.3)	122.2 d
18	1.60	47.2 d	7''	7.57 d (15.9)	143.7 d
19	1.20, 1.68	46.8 t	8''	6.30 d (15.9)	117.3 d
20		31.1 s	9''		167.0 s
21	1.10, 1.33	34.7 t			
22	1.22, 1.43	37.1 t			
23	0.92 s	28.1 c			
24	0.94 s	16.8 c			
25	0.98 s	15.5 c			
26	0.99 s	16.8 c			
27	1.15 s	25.9 c			
28	0.84 s	28.4 c			
29	0.88 s	33.3 c			
30	0.88 s	23.7 c			

<sup>a</sup> δ, CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz; *J* en paréntesis en Hz. Datos basados en experimentos COSY y HSQC.

<sup>b</sup> δ, CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz. Datos basados en experimentos DEPT, HSQC y HMBC.

En la naturaleza se han encontrado varios ejemplos de aductos (Figura 49) formados por neolignano y estilbeno,<sup>9</sup> sesquineolignano,<sup>10</sup> cumarolignano,<sup>11,12</sup> o xantonaneolignano,<sup>13</sup> formando un sistema de 1,4-dioxano entre ambas unidades; sin embargo, uragogin representa el primer ejemplo de un aducto formado por un neolignano y un triterpeno de la serie del oleano con un sistema 1,4-dioxano, encontrado en la naturaleza, además de ser el primer neolignano aislado de una especie de celastrácea.

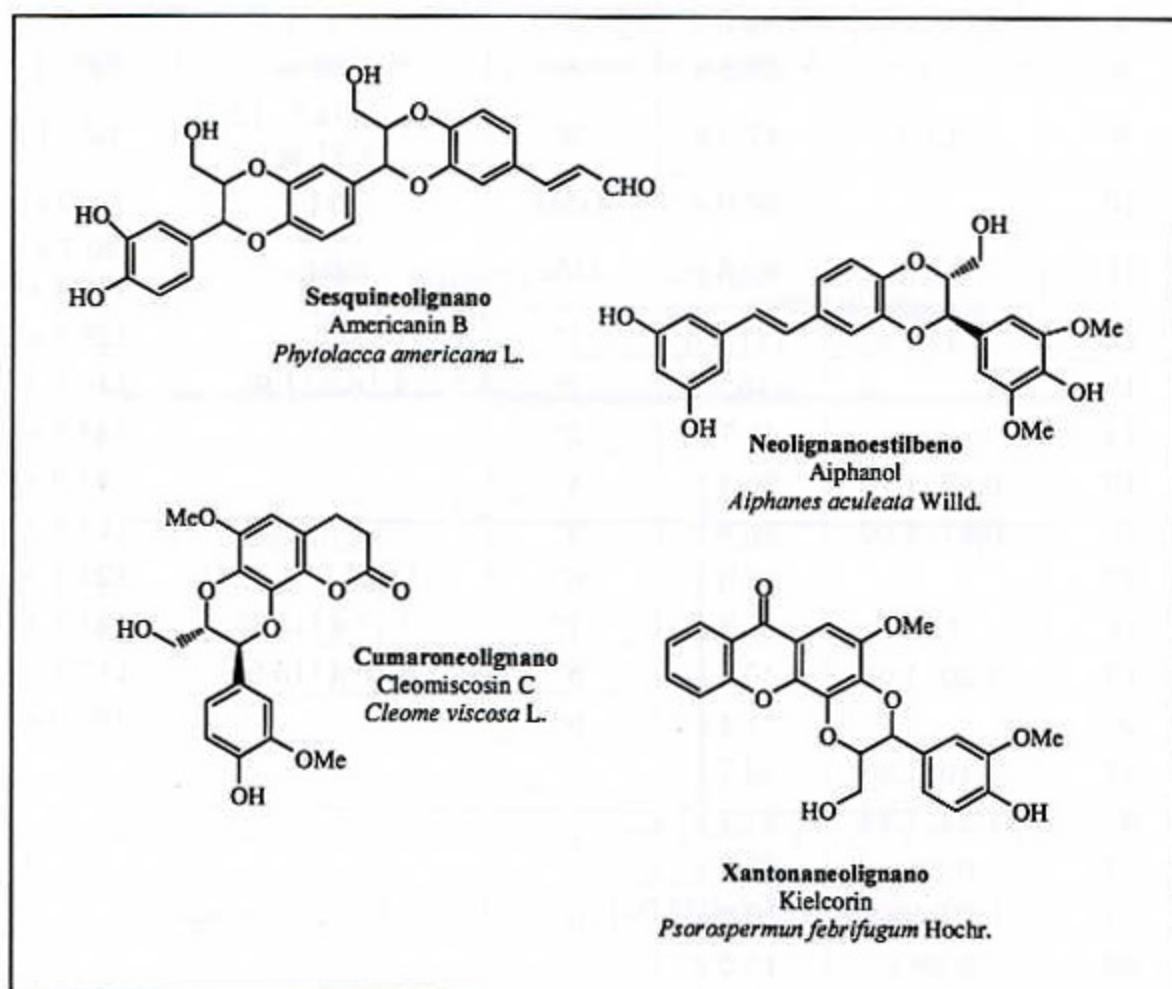


Figura 49. Ejemplos de diferentes aductos formados por neolignanos.

<sup>10</sup> Woo, W. S.; Kang, S. S.; Seligmann, O., Chari, V. M.; Wagner, H. *Tetrahedron Lett.*, 21, 4255-4258, 1980.

<sup>11</sup> Ray, A. B.; Chattopadhyay, S. K., Kumar, S.; Konno, C.; Kiso, Y.; Hikino, H. *Tetrahedron*, 41, 209-214, 1985.

<sup>12</sup> Mandal, S.; Das, P. C., Joshi, P. C.; Chatterjee, A. *Indian J. Chem. B*, 30B, 712-713, 1991.

<sup>13</sup> Abou-Shoer, M.; Habib, A.-A.; Chang, C.-J.; Cassidy, J. M. *Phytochemistry*, 28, 2483-2487, 1989.

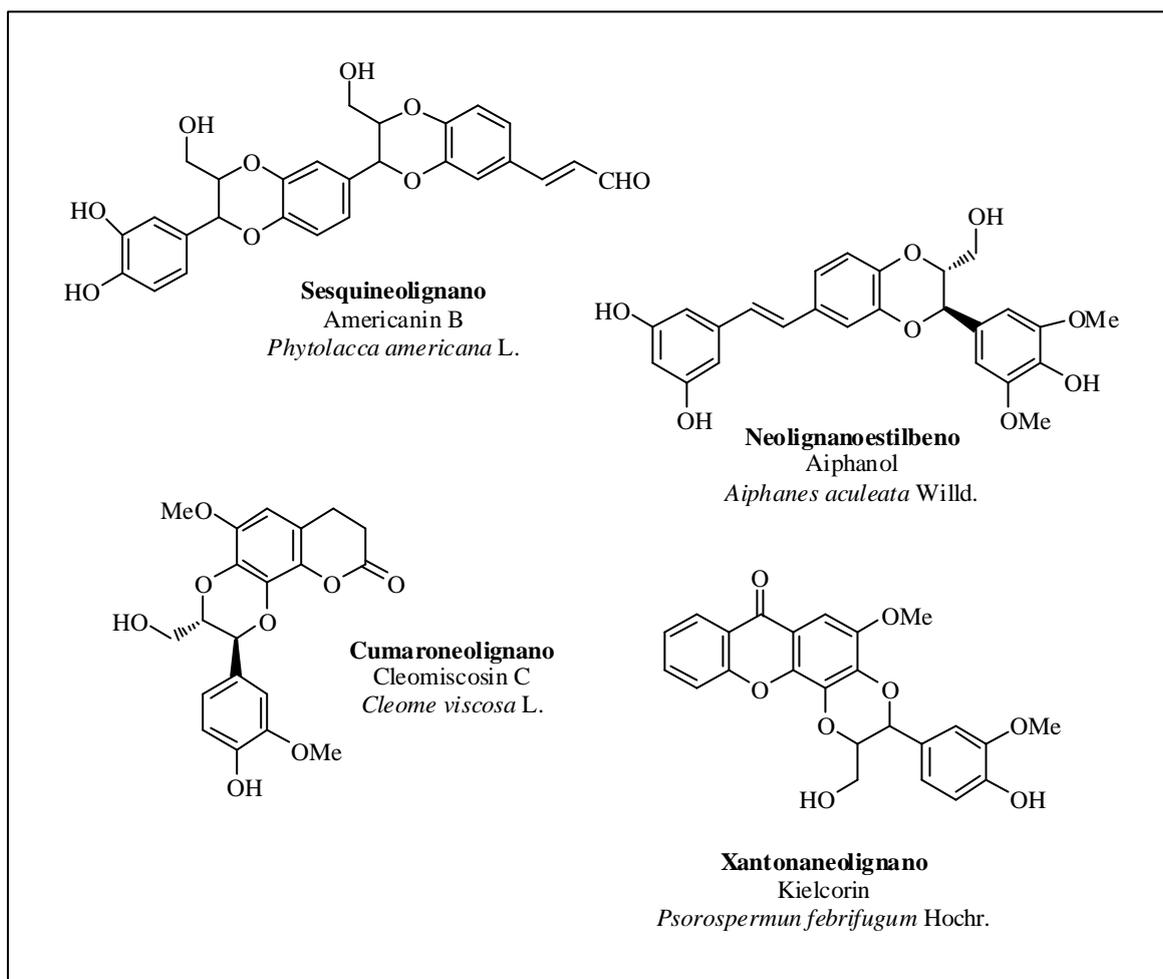
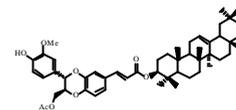


Figura 49. Ejemplos de diferentes aductos formados por neolignanos.

Los neolignanos están formados por dos unidades C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>, unidas a través de enlaces diferentes a uniones β-β', como es el caso de los lignanos (Figura 50).<sup>14</sup>

<sup>14</sup> Moss, G. P. *Nomenclature of Lignans and Neolignans*, *Pure Appl. Chem.*, 72, 1493-1523, 2000.

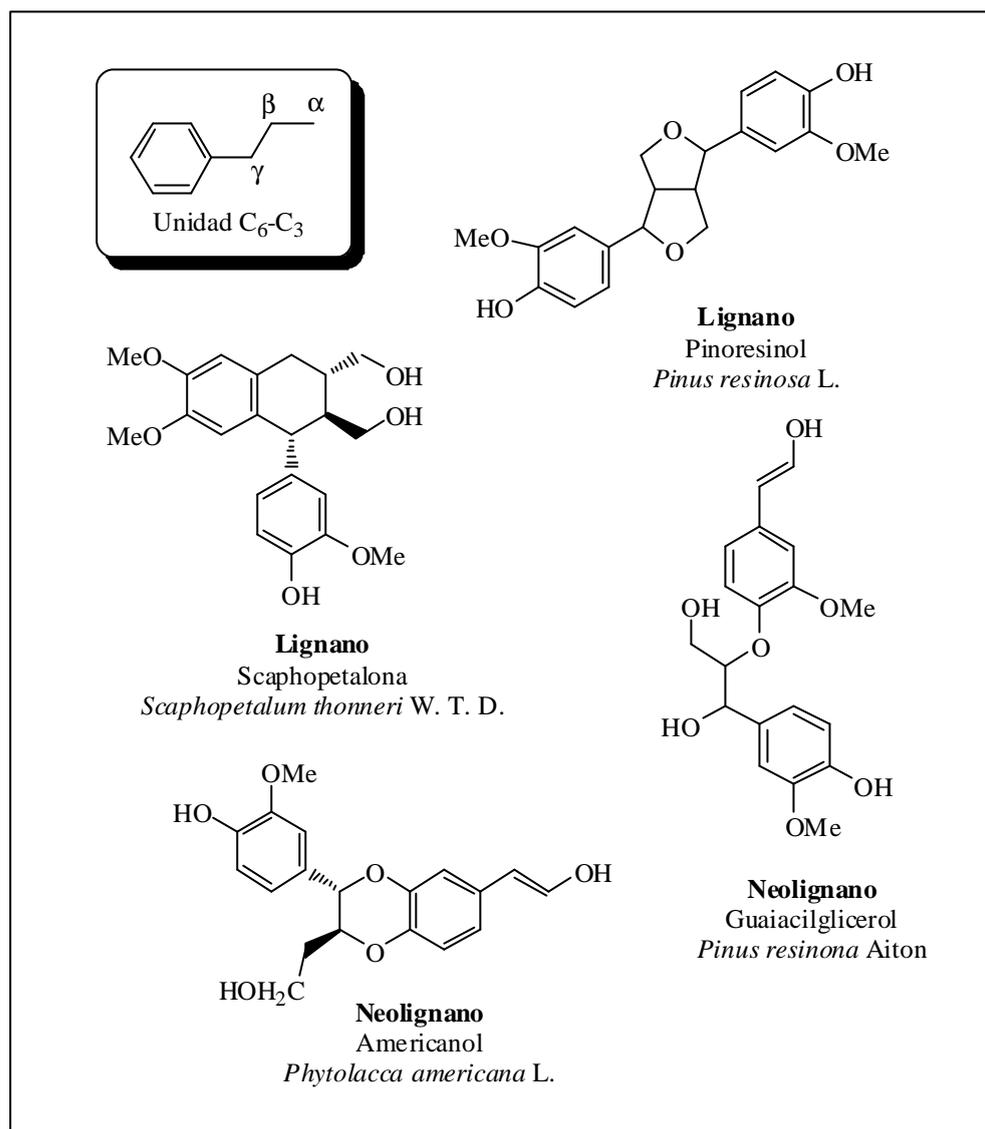
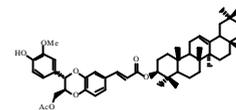


Figura 50. Ejemplos de lignanos y neolignanos.

Los triterpenos de la serie del  $\Delta^{12}$ -oleano son frecuentes en la familia de las celastráceas.<sup>15,16,17</sup> Así mismo, se han aislado de esta familia compuestos con sistemas 1,4-dioxano y como ejemplos de ellos son: elaeodendrosido A,<sup>18</sup> buchaninosida,<sup>19</sup> xuxuarina Aa y triscutin A (Figura 51). Se postula que estos

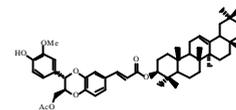
<sup>15</sup> Muhammad, I.; El Sayed, K. A.; Mossa, J. B.; Al-Said, M. S.; El-Feraly, F. S.; Clark, A. M.; Hufford, C. D.; Oh, S.; Mayer, M. S. A. *J. Nat. Prod.*, 63, 605-610, **2000**.

<sup>16</sup> González, A. G.; Ferro, E. A.; Ravelo, A. G. *Phytochemistry*, 26, 2785-2788, **1987**.

<sup>17</sup> Muñoz, O.; Ruiz, R.; González, A.; Núñez, M. P.; Jiménez, I.; Ravelo, A. *Helv. Chem. Acta*, 76, 2537-2543, **1993**.

<sup>18</sup> Kupchan, M.; Uchida, I.; Shimada, K.; Fei, B. Y.; Stevens, D. M.; Sneden, A. T.; Miller, R. W.; Bryan, R. J. C. S. *Chem. Soc.*, 255-256, **1977**.

<sup>19</sup> Tsujino, Y.; Ogoche, J. I. J.; Tazaki, H.; Fujimori, T.; Mori, K. *Phytochemistry*, 40, 753-756, **1995**.



dos últimos ejemplos se biosintetizan a través de una reacción hetero Diels-Alder.<sup>20,21,22</sup>

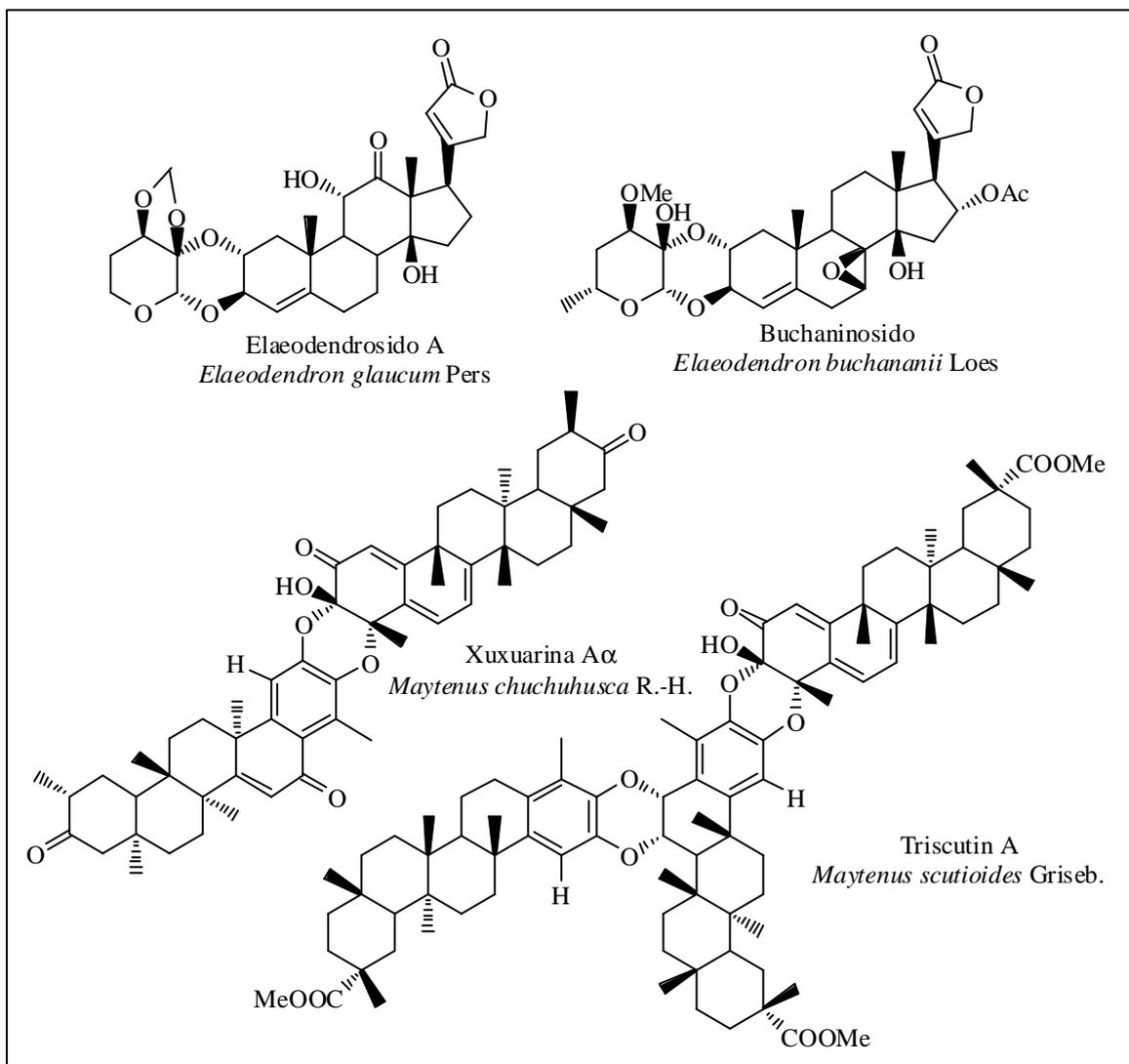


Figura 51. Diferentes estructuras con sistemas 1,4-dioxano aislados de celastráceas

Basándonos en la bibliografía,<sup>23,24,25,26</sup> la biosíntesis de **O-1** podría tener lugar por un proceso de acoplamiento radicalario entre el cafeato de la  $\beta$ -

<sup>20</sup> Shirota, O.; Morita, H.; Takeya, K.; Itokawa, H. *Tetrahedron*, 51, 1107-1120, 1995.

<sup>21</sup> González, A. G.; Alvarenga, N. L.; Bazzocchi, I. L.; Ravelo, A. G.; Moujir, L. *J. Nat. Prod.*, 62, 1185-1187, 1999.

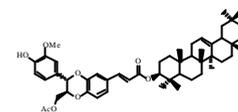
<sup>22</sup> Nakanishi, K. *Comprehensive Natural Products Chemistry*, Vol. 1, p. xxxvii, 1998.

<sup>23</sup> Pettit, G. R.; Meng, Y.; Stevenson, C. A.; Doubek, D. L.; Knight, J. C.; Cichacz, Z.; Pettit, R. K.; Chapuis, J. C.; Schmidt, J. M. *J. Nat. Prod.*, 66, 259-262, 2003.

<sup>24</sup> Arnoldi, A.; Merlini, L. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I*, 2555-2557, 1985.

<sup>25</sup> Dewick, P. M. *Medicinal Natural Products*, John Wiley & Sons Ltd.; Ed, Baffins Lane, Chichester, 2<sup>nd</sup> ed., 2002.

<sup>26</sup> Takahashi, H.; Matsumoto, K.; Ueda, M.; Miyake, Y.; Fukuyuma, Y. *Heterocycles*, 56, 245-256, 2002.



amyrina y el monoacetato del alcohol coniferílico (Figura 52), más que por una ciclo adición tipo Diels-Alder.

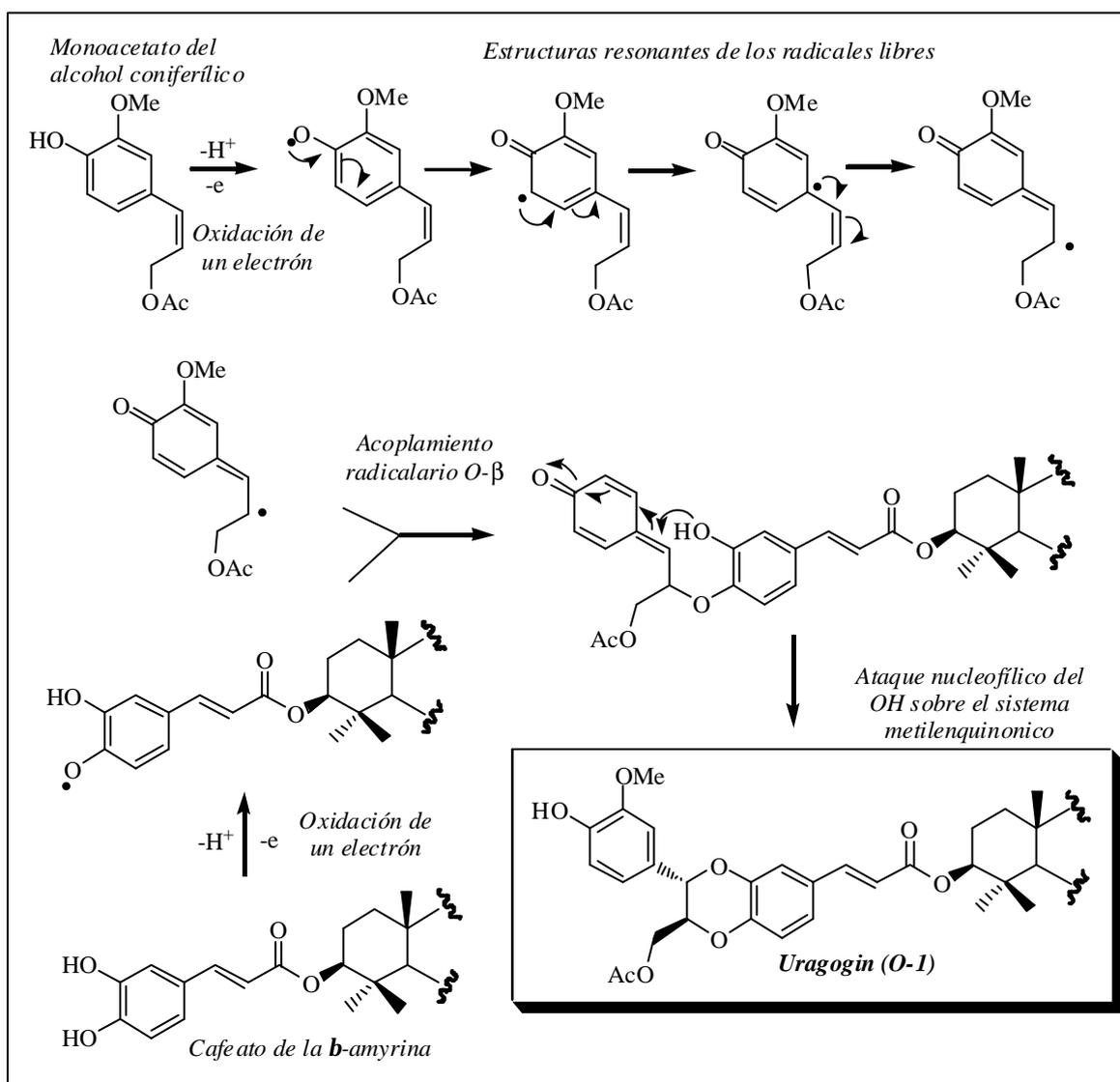
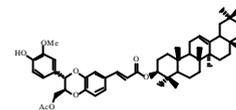


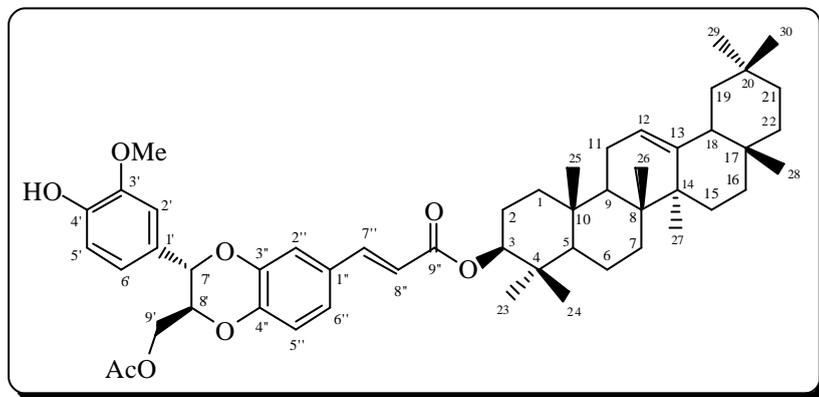
Figura 52. Ruta biosintética propuesta para la formación de uragodin (O-1)

*Parte Experimental: Oleanos*

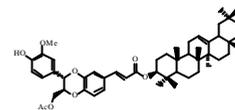


**O-1: Uragogin**

**3b-(9'-acetoxi-4'-hidroxi-3'-metoxi,3'',7'-epoxi-8',4''-oxinedoligna-9''-carboxi-7''-eno)-olean-12-eno**



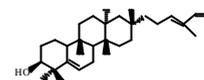
Laca incolora (7.0 mg);  $[\alpha]_D^{20} +25.8^\circ$  (c 0.12, CHCl<sub>3</sub>); **UV (EtOH)**  $\lambda_{max}$  (log e) 217 (4.1), 235 (4.0), 288 (3.9), 297 (3.9), 320 (3.9) nm; **IR (película)**  $\nu_{max}$  3434, 2926, 2854, 1741, 1703, 1635, 1464, 1384, 1270, 760 cm<sup>-1</sup>; **RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz)**  $\delta$  0.81, 2.00 (2H, H-16), 0.84 (3H, s, Me-28), 0.88 x 2 (6H, s, Me-29; Me-30), 0.90 (1H, H-5), 0.92 (3H, s, Me-23), 0.94 (3H, s, Me-24), 0.97, 1.76 (2H, H-15), 0.98 (3H, s, Me-25), 0.99 (3H, s, Me-26), 1.10, 1.33 (2H, H-21), 1.10, 1.65 (2H, H-1), 1.15 (3H, s, Me-27), 1.20, 1.68 (2H, H-19), 1.22, 1.43 (2H, H-22), 1.35, 1.53 (2H, H-7), 1.55 (2H, H-6), 1.60 (1H, H-18), 1.69 (2H, H-2), 1.90 (2H, H-11), 1.95 (1H, H-9), 2.08 (3H, s, OAc), 3.91 (3H, s, OMe), 3.96 (1H, dd,  $J = 4.5, 12.7$  Hz, H-9'), 4.26 (1H, m, H-8'), 4.31 (1H, m, H-9'), 4.63 (1H, t,  $J = 8.2$  Hz, H-3a), 4.88 (1H, d,  $J = 7.8$  Hz, H-7'), 5.19 (1H, s ancho, H-12), 6.30 (1H, d,  $J = 15.9$  Hz, H-8''), 6.86 (1H, s, H-2'), 6.90 (1H, dd,  $J = 1.5, 8.1$  Hz, H-6'), 6.95 (1H, d,  $J = 8.1$  Hz, H-5'), 6.97 (1H, d,  $J = 8.3$  Hz, H-5''), 7.11 (1H, dd,  $J = 1.6, 8.3$  Hz, H-6''), 7.16 (1H, d,  $J = 1.6$  Hz, H-2''), 7.57 (1H, d,  $J = 15.9$  Hz, H-7''); **RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz)**  $\delta$  15.5 (c, C-25), 16.8 x 2 (c, C-26; c, C-24), 18.3 (t, C-6), 20.7 (c, OAc), 22.7 (t, C-2), 23.5 (t, C-11), 23.7 (c, C-30), 25.9 (c, C-27), 26.1 (t, C-15), 26.9 (t, C-16), 28.1 (c, C-23), 28.4 (c, C-28), 31.1 (s, C-20), 32.5 (t, C-7), 32.6 (s, C-17), 33.3 (c, C-29), 34.7 (t, C-21), 36.9 (s, C-10), 37.1 (t, C-22), 37.9 (s, C-4), 38.3 (t, C-1), 39.8 (s, C-8), 41.7 (s, C-14), 46.8 (t, C-19), 47.2 (d, C-18), 47.5 (d, C-9), 55.3 (d, C-5), 56.0 (c, OMe), 62.9 (t, C-9'), 76.0 (d, C-8'), 76.4



*Parte experimental oleanos*

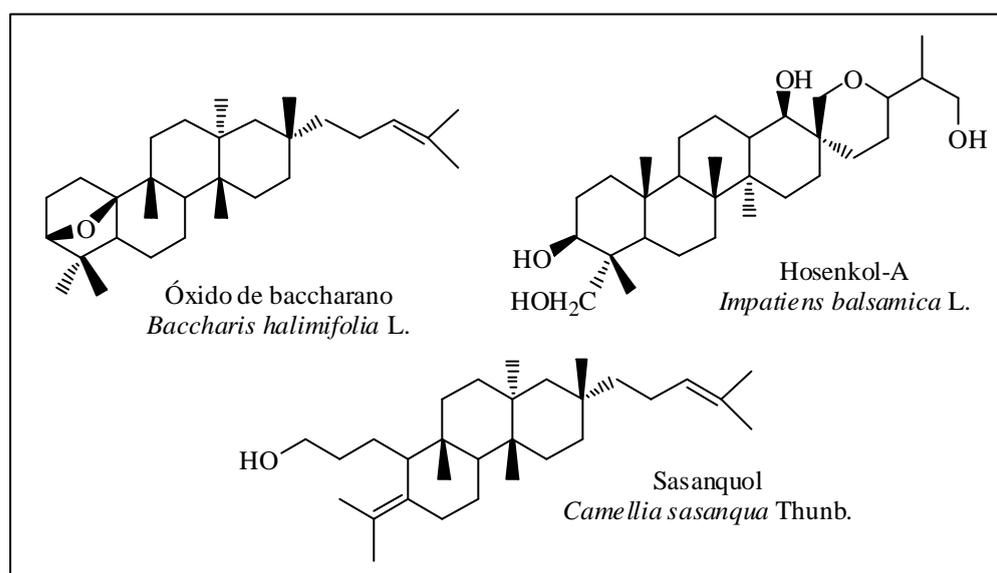
(d, C-7'), 80.9 (d, C-3), 109.3 (d, C-2'), 114.8 (d, C-5'), 116.6 (d, C-2''), 117.3 (d, C-8''), 117.5 (d, C-5''), 120.8 (d, C-6'), 121.6 (d, C-12), 122.2 (d, C-6''), 127.3 (s, C-1'), 128.5 (s, C-1''), 143.7 (d, C-7''), 143.8 (s, C-3''), 144.8 (s, C-4''), 145.2 (s, C-13), 146.6 (s, C-4'), 147.0 (s, C-3'), 167.0 (s, C-9''), 170.4 (s, OAc); **EMIE<sup>+</sup> m/z (%)** 808 (8), 748 (M<sup>+</sup>-60, C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>O<sub>2</sub><sup>+</sup>, 21), 590 (21), 530 (6), 408 (9), 400 (37), 340 (13), 323 (9), 222 (28), 218 (100), 189 (23), 180 (7), 109 (18), 95 (26), 69 (22), 55 (16); **EMAR m/z** 808.49738 (calculado para C<sub>51</sub>H<sub>68</sub>O<sub>8</sub>, 808.49142).

*D:B-Friedobaccharanos*



Los triterpenos de tipo baccharano son escasos en el campo de los productos naturales y con pocas excepciones,<sup>1</sup> están restringidos a las plantas terrestres.

El nombre baccharano deriva del óxido de baccharano,<sup>2</sup> aislado de *Baccharis halimifolia* L. (Compositae). Hosenkol-A,<sup>3</sup> con un esqueleto pentacíclico y sasanquol,<sup>4</sup> con esqueleto 3,4-*seco*-tricíclico, fueron los primeros baccharanos y D:B-friedobaccharanos, respectivamente, reportados en la literatura.



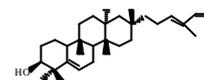
Del extracto diclorometánico de las hojas de *Maytenus chiapensis*, aislamos el primer ejemplo de triterpeno tetracíclico con esqueleto de D:B-friedobaccharano, que hemos denominado **B-1**, compuesto de oxidación en el

<sup>1</sup> Poinsot, J.; Adam, P.; Trendel, J. M.; Albrecht, P.; Riva, A. *Geochim. Cosmochim.*, 57, 3201-3205, **1993**.

<sup>2</sup> Mo, F.; Anthonsen, T.; Bruun, T. *Acta Chem. Scand.*, 26, 1287-1288, **1972**.

<sup>3</sup> Shoji, N.; Umeyama, A.; Taira, Z.; Takemoto, T.; Nomoto, K.; Mizukawa, K.; Ohizumi, Y. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 871-873, **1983**.

<sup>4</sup> Akihisa, T.; Yasukawa, K.; Kimura, Y.; Yamanouchi, S.; Tamura, T. *Phytochemistry*, 48, 301-305, **1998**.



carbono 30 de un triterpeno aislado, posteriormente en nuestro laboratorio, de *Maytenus blepharodes* Lundell.<sup>5</sup>

### **Triterpeno: B-1**

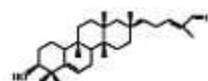
El compuesto que hemos denominado **B-1** presentó una fórmula molecular  $C_{30}H_{48}O_2$ , determinada por espectrometría de masas de alta resolución. Esta fórmula indica 7 grados de insaturación. El espectro de masas presentó fragmentos correspondientes a la pérdida de agua (18  $m/z$ ,  $H_2O$ ) y grupo aldehído (29  $m/z$ ,  $CHO^+$ ).

En su espectro de IR se observaron bandas de absorción correspondientes a grupo hidroxilo ( $3437\text{ cm}^{-1}$ ), aldehído ( $2868\text{ cm}^{-1}$ ) y carbonilo  $\alpha,\beta$  insaturado ( $1688\text{ cm}^{-1}$ ).

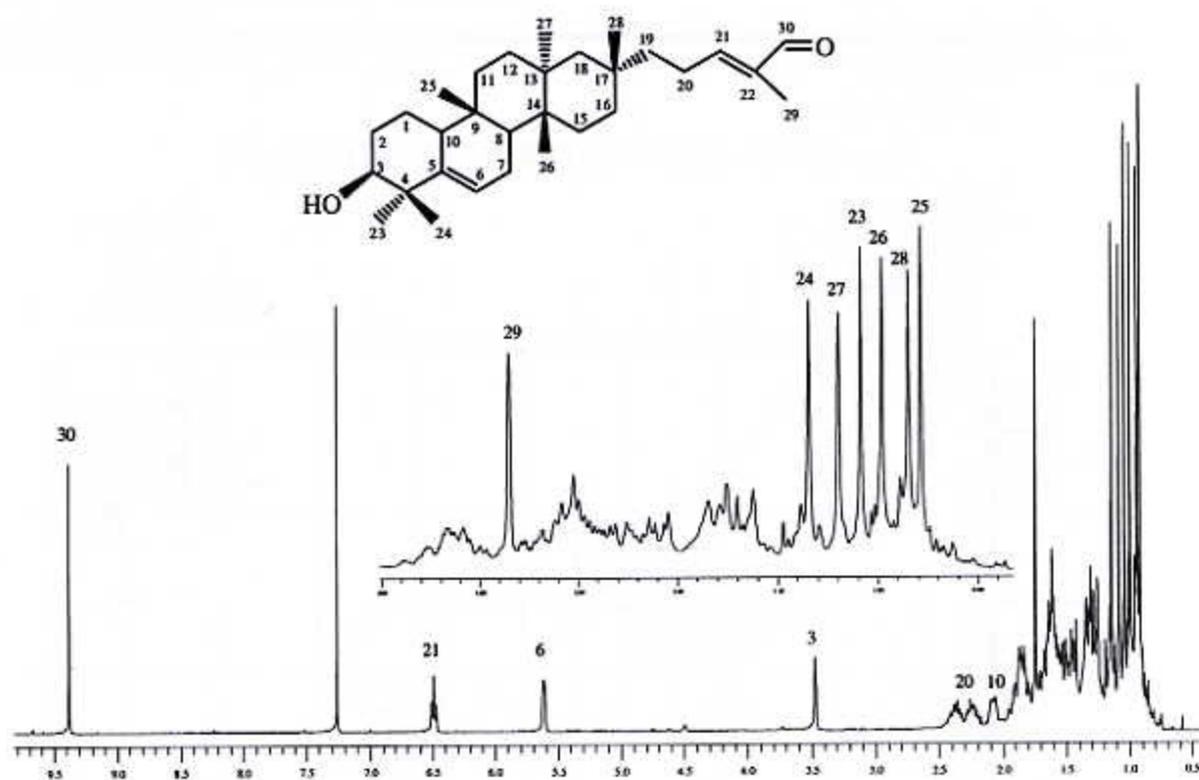
Sus datos de RMN (Tabla 17) mostraron la presencia de siete metilos, un alcohol secundario ( $d_H$  3.47, t,  $J = 2.0\text{ Hz}$  y  $d_C$  76.3, d), dos dobles enlaces trisustituídos ( $d_H$  5.60, t,  $J = 2.7\text{ Hz}$ ,  $d_C$  121.8, d y  $d_H$  6.48, t,  $J = 7.2\text{ Hz}$ ,  $d_C$  155.5, d), señal de grupo aldehído ( $d_H$  9.38, s y  $d_C$  195.3, d), además de diez metilenos, dos metinos y siete carbonos cuaternarios. Estos datos y comparación con los datos de RMN dados en la bibliografía para los anillos A, B y C del glutinol (triterpeno de la serie del glutinano),<sup>6</sup> sugieren que **B-1** es un triterpeno tetracíclico con esqueleto de baccharano.

<sup>5</sup> Núñez, M. J.; López, M. R.; Jiménez, I. A.; Moujir, L. M.; Ravelo, A. G.; Bazzocchi, I. L. *Tetrahedron Lett.*, **2003**. (enviada)

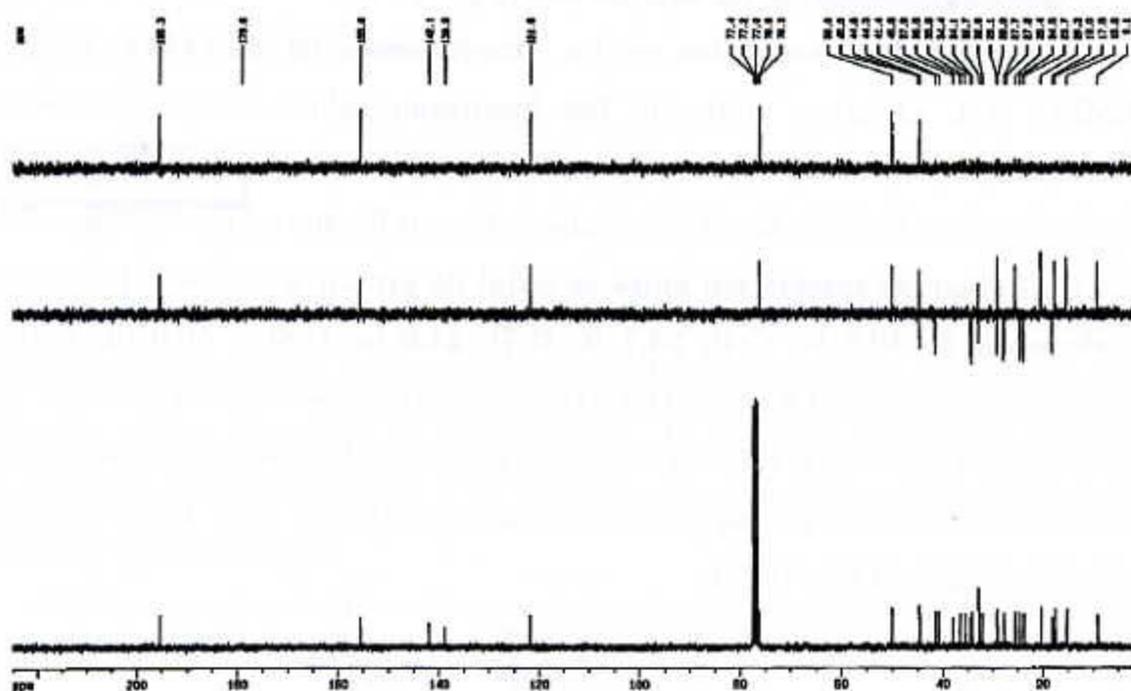
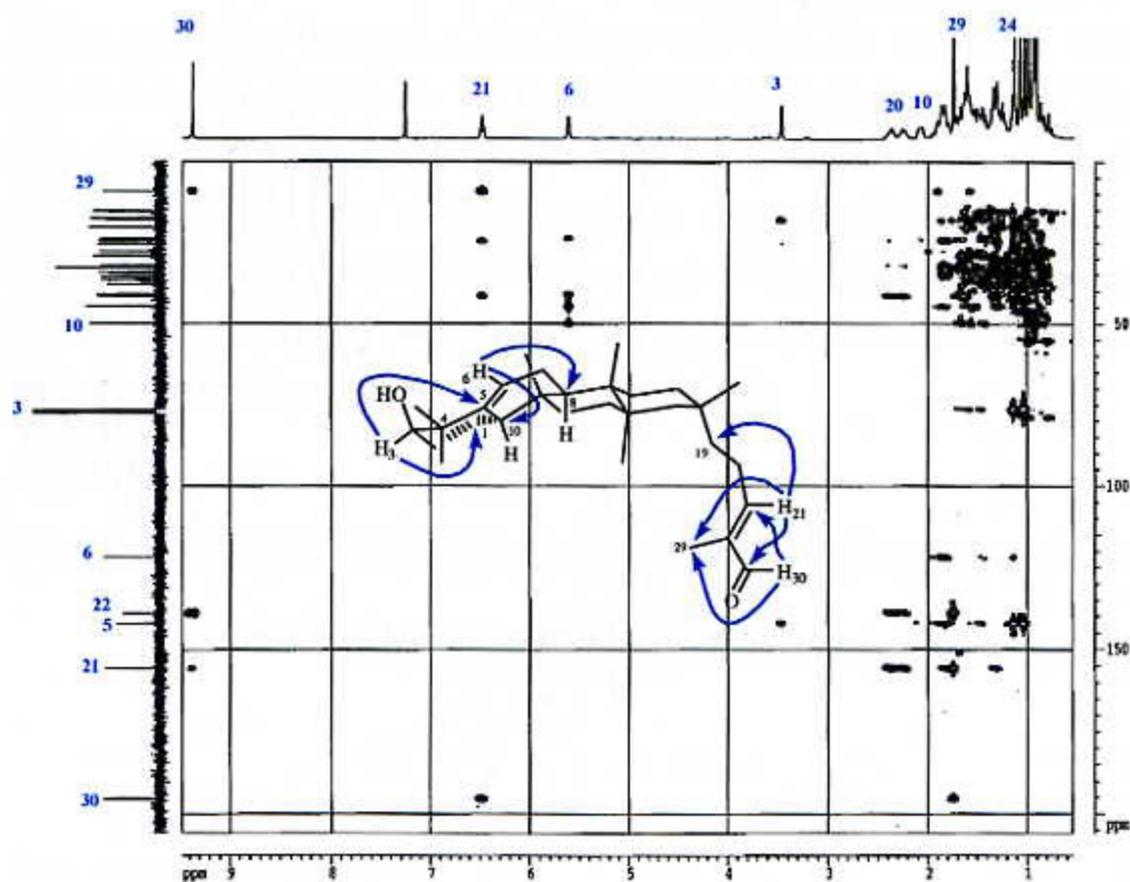
<sup>6</sup> González, A. G.; Ferro, E. A.; Ravelo, A. G. *Phytochemistry*, 26, 2785-2788, **1987**.

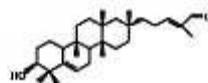


Las asignaciones de las señales de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$ , se establecieron a través de las conectividades observadas en los experimentos  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY, HSQC y HMBC. Así, el grupo hidroxilo fue localizado sobre el C-3 al observar correlación a tres enlaces entre el protón a  $\delta_{\text{H}}$  3.47 con los carbonos a  $\delta_{\text{C}}$  18.0 (t, C-1) y  $\delta_{\text{C}}$  142.1 (s, C-5). Los dobles enlaces fueron fijados en los carbonos C-6 y C-21, al observar correlación entre la señal de protón a  $\delta_{\text{H}}$  5.60 (H-6) con los carbonos a  $\delta_{\text{C}}$  40.8 (s, C-4), 23.7 (t, C-7), 44.6 (s, C-8) y 50.0 (d, C-10) y correlación de la señal a  $\delta_{\text{H}}$  6.48 (H-21) con los carbonos a  $\delta_{\text{C}}$  41.4 (t, C-19), 24.5 (t, C-20), 9.1 (c, C-29) y 195.3 (d, C-30). El grupo aldehído se localizó sobre C-30 al correlacionarse el protón a  $\delta_{\text{H}}$  9.38 con los carbonos a  $\delta_{\text{C}}$  155.5 (d, C-21), 138.9 (s, C-22) y 9.1 (c, C-29).



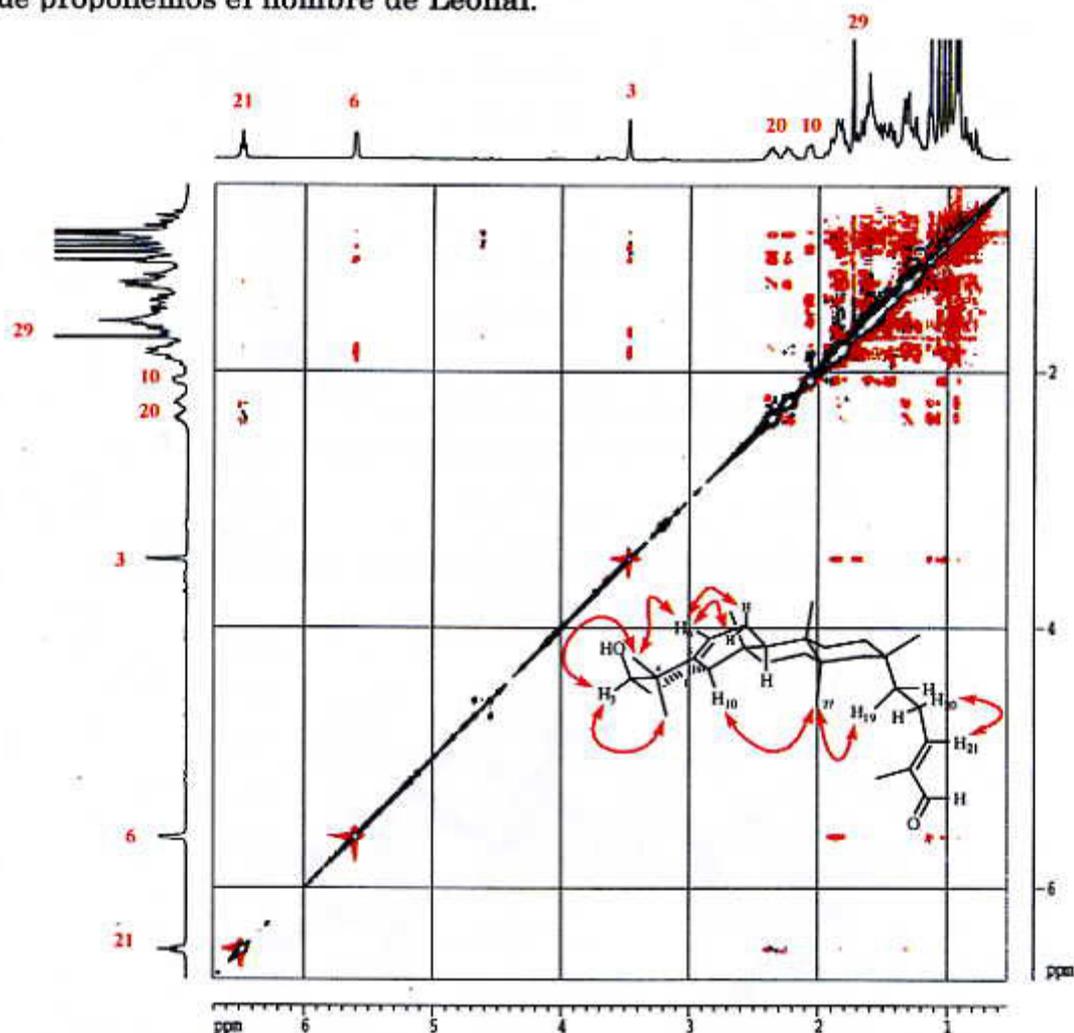
Espectro de RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz) de B-1

Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz) de B-1Experimento HMBC ( $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ ) para B-1



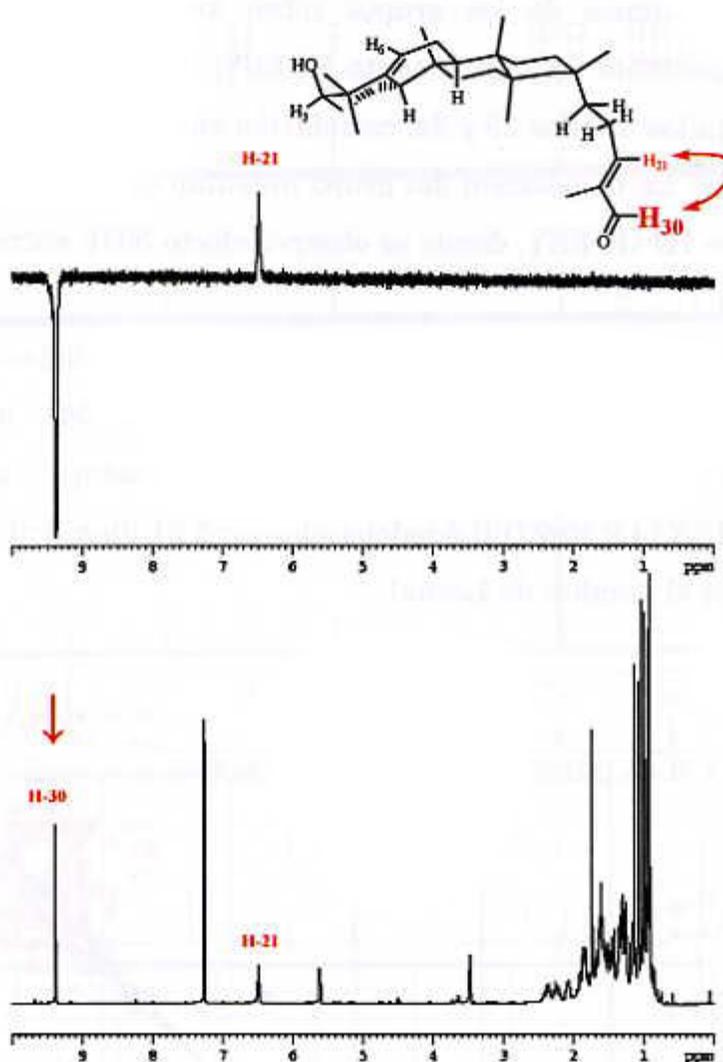
La estereoquímica de los grupos sobre los carbonos C-3 y C-17 fue determinada mediante un experimento ROESY, donde se observó correlación entre H-3<sub>ec</sub> con los metilos 23 y 24, correlación entre H-19 y el Me 27 y de este último con H-10. La disposición del grupo aldehído se estableció por medio de un experimento 1D-GOESY, donde se observó efecto NOE entre el protón H-21 y H-30.

Estos datos, conjuntamente con estudios de modelización molecular<sup>7</sup> (Figura 53) y consideraciones biogénéticas (Figura 54), nos permitieron establecer la estructura y configuración absoluta de B-1 como 3*S*,8*S*,9*R*,10*S*,13*S*,14*R*,20*R*-D:B-friedobaccharan-5,21-dien-3-ol-30-al, para el que proponemos el nombre de Leonal.



Experimento **ROESY** para Leonal (B-1)

<sup>7</sup> Macromodel 4.0, Schrödinger, Inc., Portland, Oregon, USA.



1D- GOESY de Leonal (B-1) con un tiempo de mezcla de 500 ms  
(irradiación de H-30)

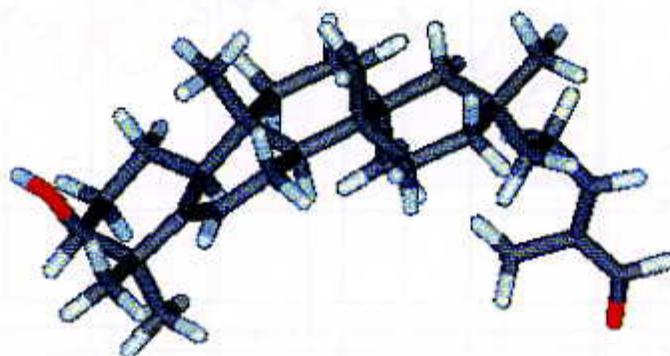


Figura 53. Conformero de mínima energía para Leonal (B-1)

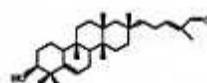


Tabla 17. Datos de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz) y  $^{13}\text{C}$  (100 MHz) de Leonal (B-1)

Posición	$\delta_{\text{H}}^{\text{a}}$	$\delta_{\text{C}}^{\text{b}}$
1	1.41	18.0 t
2	1.72, 1.85	27.7 t
3	3.47 t (2.0)	76.3 d
4		40.8 s
5		142.1 s
6	5.60 t (2.7)	121.8 d
7	1.85, 1.92	23.7 t
8	1.44	44.6 d
9		35.5 s
10	2.08 m	50.0 d
11	1.34, 1.65	34.4 t
12	1.20, 1.61	32.7 t
13		36.5 s
14		37.9 s
15	1.27, 1.33	29.1 t
16	1.53, 1.61	34.1 t
17		32.0 s
18	1.14, 1.53	44.5 t
19	1.31, 1.83	41.4 t
20	2.16, 2.37 m	24.5 t
21	6.48 t (7.2)	155.5 d
22		138.9 s
23	1.03 s	29.0 c
24	1.14 s	25.4 c
25	0.91 s	17.5 c
26	0.99 s	15.2 c
27	1.08 s	20.3 c
28	0.94 s	32.7 c
29	1.74 s	9.1 c
30	9.38 s	195.3 d

<sup>a</sup>  $\delta$ ,  $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz. *J* en paréntesis en Hz. Datos basados en experimentos COSY y HSQC.

<sup>b</sup>  $\delta$ ,  $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz. Datos basados en experimentos DEPT, HSQC y HMBC.

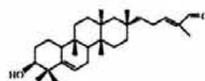
Los triterpenos en plantas se originan, biogenéticamente, a partir del epoxiescualeno, a través de la protonación del epóxido, apertura del mismo y una serie de ciclaciones en cascada, que dan lugar al catión dammarenilo; posteriores reagrupamientos de Wagner-Meerwein dan lugar a las diferentes series de triterpenos tetra y pentacíclicos.

La biogénesis de los triterpenos con esqueleto de baccharano y shionano tienen un origen común, el catión dammarenilo, vía reagrupamiento frito (Figura 54). La expansión del anillo D del catión dammarenilo conduce al catión baccharanilo, el cual por posterior ciclación, con participación del enlace olefínico, genera el catión lupenilo. Una vía alternativa, implicaría un reagrupamiento de Wagner-Meerwein 1,2 de hidruro y posterior pérdida de un protón para dar lugar a la formación del catión D:B-friedobaccharanilo, cuya desprotonación en el C-6, conduciría a los triterpenos D:B-friedobaccharan-5,21-dieno, ruta que podría explicar la formación del Leonal. Por otro lado, la migración 1,2 de un metilo en el cation D:B-friedobaccharanilo, llevaría a la formación del esqueleto de shionano.

Leonal representa el primer ejemplo de triterpeno tetracíclico con un esqueleto de D:B-friedobaccharano. Aún cuando, el catión D:B-friedobaccharanilo había sido postulado como intermedio entre los triterpenos de la serie del baccharano y shionano, hasta el momento no había sido aislado ningún compuesto que lo justificara. El aislamiento de Leonal apoya la hipótesis de la formación de un intermedio común para ambos esqueletos, baccharano y shionano.

En 1995, se aisló del hongo *Russula flavisa* Frost (Russulaceae), russulaflavidin,<sup>8</sup> un 24,26-bisnorshionano con los mismos grupo cromóforos que presentan las quinonas de celastráceas. Este compuesto puede considerarse formalmente derivado del catión D:B-friedobaccharanilo, que a su vez es el precursor del catión shionanilo. Esta relación entre los cationes baccharenilo y shionanilo nos lleva a pensar que, en el futuro, podrían encontrarse triterpenos y quinonas con esqueleto de shionano en especies de

<sup>8</sup> Fröde, R., Bröckelmann, M.; Steffan, B.; Steglich, W. *Tetrahedron*, 51, 2553-2569, 1995.



friedobaccharanilo, es un intermedio común a los triterpenos con esqueleto de shionano y al Leonal, descrito en esta Memoria.

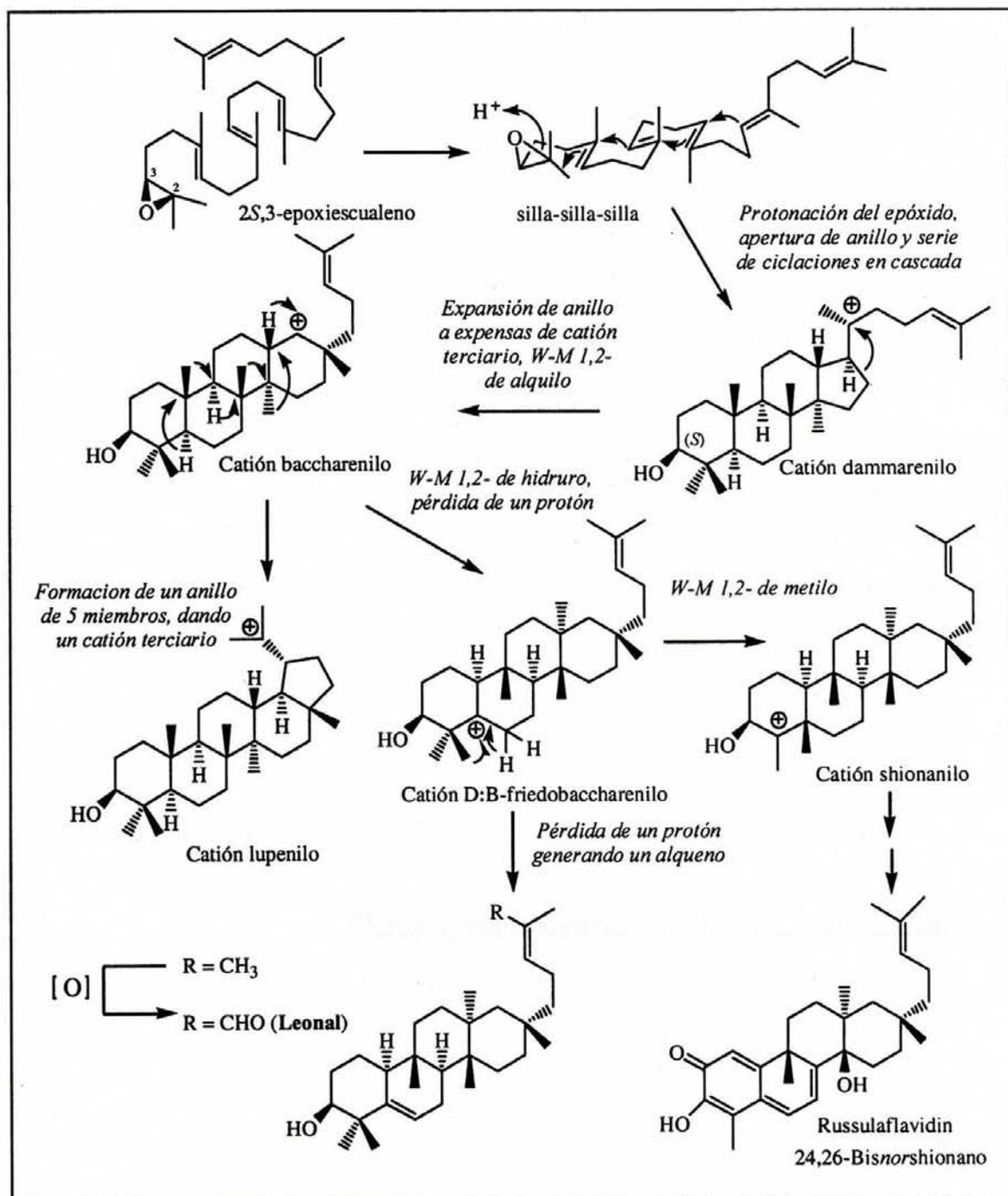
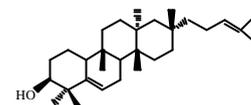
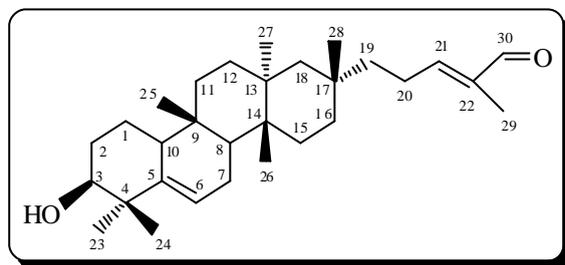


Figura 54. Ruta biosintética propuesta para la formación de Leonal.

*Parte Experimental: D:B-Friedobaccharanos*



**B-1: Leonal (3*S*,8*S*,9*R*,10*S*,13*S*,14*R*,20*R*-D:B-friedobaccharan-5,21-dien-3-ol-30-al)**

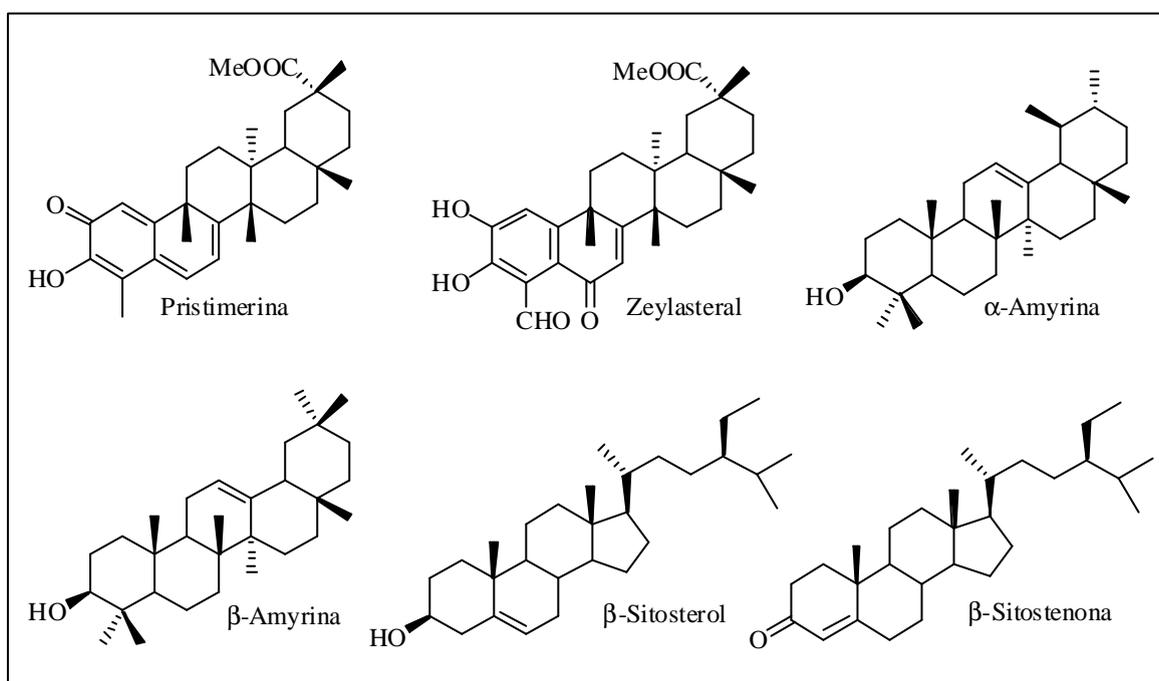


Laca incolora (45.0 mg);  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} -1.5^{\circ}$  ( $c$  0.99,  $\text{CHCl}_3$ ); **UV (EtOH)**  $\lambda_{\text{max}}$  (log  $\epsilon$ ) 228 (3.9), 270 (3.4) nm; **IR (película)**  $n_{\text{max}}$  3437, 2931, 2868, 1688, 1463, 1382, 756  $\text{cm}^{-1}$ ; **RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)**  $\delta$  0.91 (3H, s, Me-25), 0.94 (3H, s, Me-28), 0.99 (3H, s, Me-26), 1.03 (3H, s, Me-23), 1.08 (3H, s, Me-27), 1.14, 1.53 (2H, H-18), 1.14 (3H, s, Me-24), 1.20, 1.61 (2H, H-12), 1.27, 1.33 (2H, H-15), 1.31, 1.83 (2H, H-19), 1.34, 1.65 (2H, H-11), 1.41 (2H, H-1), 1.44 (1H, H-8), 1.53, 1.61 (2H, H-16), 1.72, 1.85 (2H, H-2), 1.74 (3H, s, Me-29), 1.85, 1.92 (2H, H-7), 2.08 (1H, m, H-10), 2.16, 2.37 (2H, m, H-20), 3.47 (1H, t,  $J = 2.0$  Hz, H-3), 5.60 (1H, t,  $J = 2.7$  Hz, H-6), 6.48 (1H, t,  $J = 7.2$  Hz, H-21), 9.38 (1H, s, H-30); **RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz)**  $\delta$  9.1 (c, C-29), 15.2 (c, C-26), 17.5 (c, C-25), 18.0 (t, C-1), 20.3 (c, C-27), 23.7 (t, C-7), 24.5 (t, C-20), 25.4 (c, C-24), 27.7 (t, C-2), 29.0 (c, C-23), 29.1 (t, C-15), 32.0 (s, C-17), 32.7 x 2 (t, C-12; c, C-28), 34.1 (t, C-16), 34.4 (t, C-11), 35.5 (s, C-9), 36.5 (s, C-13), 37.9 (s, C-14), 40.8 (s, C-4), 41.4 (t, C-19), 44.5 (t, C-18), 44.6 (d, C-8), 50.0 (d, C-10), 76.3 (d, C-3), 121.8 (d, C-6), 138.9 (s, C-22), 142.1 (s, C-5), 155.5 (d, C-21), 195.3 (d, C-30); **EMIE $^+$   $m/z$  (%)** 440 ( $\text{M}^+$ , 4), 422 ( $\text{M}^+-18$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ , 6), 411 ( $\text{M}^+-29$ ,  $\text{CHO}^+$ , 10), 407 ( $\text{M}^+-33$ ,  $\text{CH}_5\text{O}^+$ , 4), 288 (17), 273 (22), 189 (32), 152 (50), 134 (100), 95 (74), 69 ( $\text{C}_4\text{H}_5\text{O}^+$ , 52); **EMAR  $m/z$**  440.3651 (calculado para  $\text{C}_{30}\text{H}_{48}\text{O}_2$ , 440.3654).

*METABOLITOS SECUNDARIOS AISLADOS  
DE LAS RAÍCES DE *Crossopetalum uragoga**



Del extracto hexano/éter etílico (1:1) de la corteza de raíz (pigmento amarillo) de *Crossopetalum uragoga*, se aislaron seis metabolitos, previamente descritos en la bibliografía química: pristimerina<sup>1</sup> (triterpenometilenquinona), zeylasteral<sup>2</sup> (triterpenofenol),  $\alpha$ -amyrina<sup>3</sup> (triterpeno de la serie del ursano),  $\beta$ -amyrina<sup>4</sup> (triterpeno de la serie del oleano),  $\beta$ -sitosterol<sup>5</sup> (esterol) y  $\beta$ -sitostenona<sup>6</sup> (esterol). Las diferentes estructuras se muestran a continuación:



Cabe mencionar que las raíces de *Crossopetalum uragoga* fueron estudiadas, por primera vez en 1984, por el grupo de Xorge Domínguez.<sup>7</sup> Del extracto hexánico de especímenes recolectados en Tanjasnex, San Luis Potosí, México, reportaron el aislamiento de pristimerina, tingenona, 2-oxofriedelina y  $\beta$ -sitosterol.

<sup>1</sup> Nakanishi, K.; Kakisawa, H.; Hirata, Y. *Bull. Chem. Soc. Japan*, 29, 7-15, **1956**.

<sup>2</sup> Gamlath, C. B.; Gunaherath, K. B.; Gunatilaka, A. A. L. *J. Chem. Soc. Perkins Trans I*, 2845-2850, **1983**.

<sup>3</sup> Abramovitch, R. A.; Micetich, R. G. *Chem. J. Chem.*, 41, 2362-2367, **1963**.

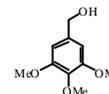
<sup>4</sup> Knight, S. A. *Org. Mang. Resonance*, 6, 603-611, **1974**.

<sup>5</sup> Rathmann, D. M.; Morrow, L. R. *J. Am. Chem. Soc.*, 72, 5647-5650, **1950**.

<sup>6</sup> Toshi, K. C.; Bansal, R. K.; Singh, P. *Indian J. Chem.*, 12, 903-904, **1974**.

<sup>7</sup> Domínguez, X. A.; Franco, R.; Alcorn, J. B.; García, S.; Ortega, D. A. *Rev. Latinoamer. Quim.*, 15-1, 42, **1984**.

*MISCELÁNEA*



Además de los anteriormente citados, del extracto diclorometánico de **Maytenus chiapensis**, se aislaron otros metabolitos de estructuras diversas que relacionamos a continuación:

**Aislados de hojas:** alcohol siringílico,<sup>1</sup> siringaldehído,<sup>2</sup> β-sitosterol,<sup>3</sup> luteína,<sup>4</sup> β-amyrina,<sup>5</sup> blumenol A<sup>6</sup> y (-)-boscialin.<sup>7</sup>

Blumenol A y (-)-boscialin son dos compuestos con estructura de C<sub>13</sub>-norisoprenoide, conocidos como dihidro-β-ionanos, siendo esta la tercera vez que se aísla blumenol A<sup>8,9</sup> y la primera vez que se aísla (-)-boscialin de la familia Celastraceae, ya que este tipo de metabolitos son frecuentes en las familias Solanaceae<sup>10</sup> y Vitaceae.<sup>11</sup>

Estos metabolitos se biosintetizan a través de la degradación enzimática de los carotenoides por medio de oxigenasas regioespecíficas.<sup>12</sup> Los C<sub>13</sub>-norisoprenoides poseen actividades biológicas interesantes, tales como, actividad antiulcerogénica, antibacteriana, citotóxica y antiparasitaria.<sup>13</sup>

**Aislados de ramas:** alcohol 2,4-dimetoxibencílico,<sup>14</sup> alcohol 3,4,5-trimetoxibencílico<sup>11</sup> y β-sitosterol.<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Pearl, I. A. *J. Org. Chem.*, 24, 736-740, **1959**.

<sup>2</sup> Steelink, C. *J. Am. Chem. Soc.*, 87, 2056-2057, **1965**.

<sup>3</sup> Fieser, L.; Fieser, M. *Steroids*, *Reinhold Pubs.*, **1950**.

<sup>4</sup> Volker, Z. *Physiol. Chem.*, 288, 20, **1951**.

<sup>5</sup> Kinght, S. A. *Org. Mang. Resonance*, 6, 603-611, **1974**.

<sup>6</sup> González, A. G.; Guillermo, J. A.; Ravelo, A. G.; Jiménez, I. A. *J. Nat. Prod.*, 57, 400-402, **1994**.

<sup>7</sup> Pauli, N.; Séquin, U.; Walter, A. *Helv. Chim. Acta*, 73, 578-582, **1990**.

<sup>8</sup> González, A. G.; Guillermo, J. A.; Ravelo, A. G.; Jiménez, I. A. *J. Nat. Prod.*, 57, 400-402, **1994**.

<sup>9</sup> Mesa-Siverio, D.; Estévez-Braun, A.; Ravelo, A. G.; Murgui, J. R.; Rodríguez-Afonso, A. *Eur. J. Org. Chem.*, 4243-4247, **2003**.

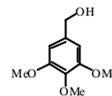
<sup>10</sup> Dodoma, H.; Fujimori, T.; Kato, K. *Phytochemistry*, 23, 583-585, **1984**.

<sup>11</sup> Strauss, C. R.; Dimitridis, E.; Wilson, B.; Willians, P. J. *J. Agr. Food Chem.*, 34, 145-149, **1986**.

<sup>12</sup> Baumes, R.; Wirth J.; Bureau S.; Gunata Y.; Razungles, A. *Anal. Chim. Acta*, 458, 3-14, **2002**.

<sup>13</sup> Busch, J.; Grether, Y.; Ochs, D.; Séquin, U. *J. Nat. Prod.*, 61, 591-597, **1998**.

<sup>14</sup> Bosh, J. *Anales de Química*, 72, 709-712, **1976**.



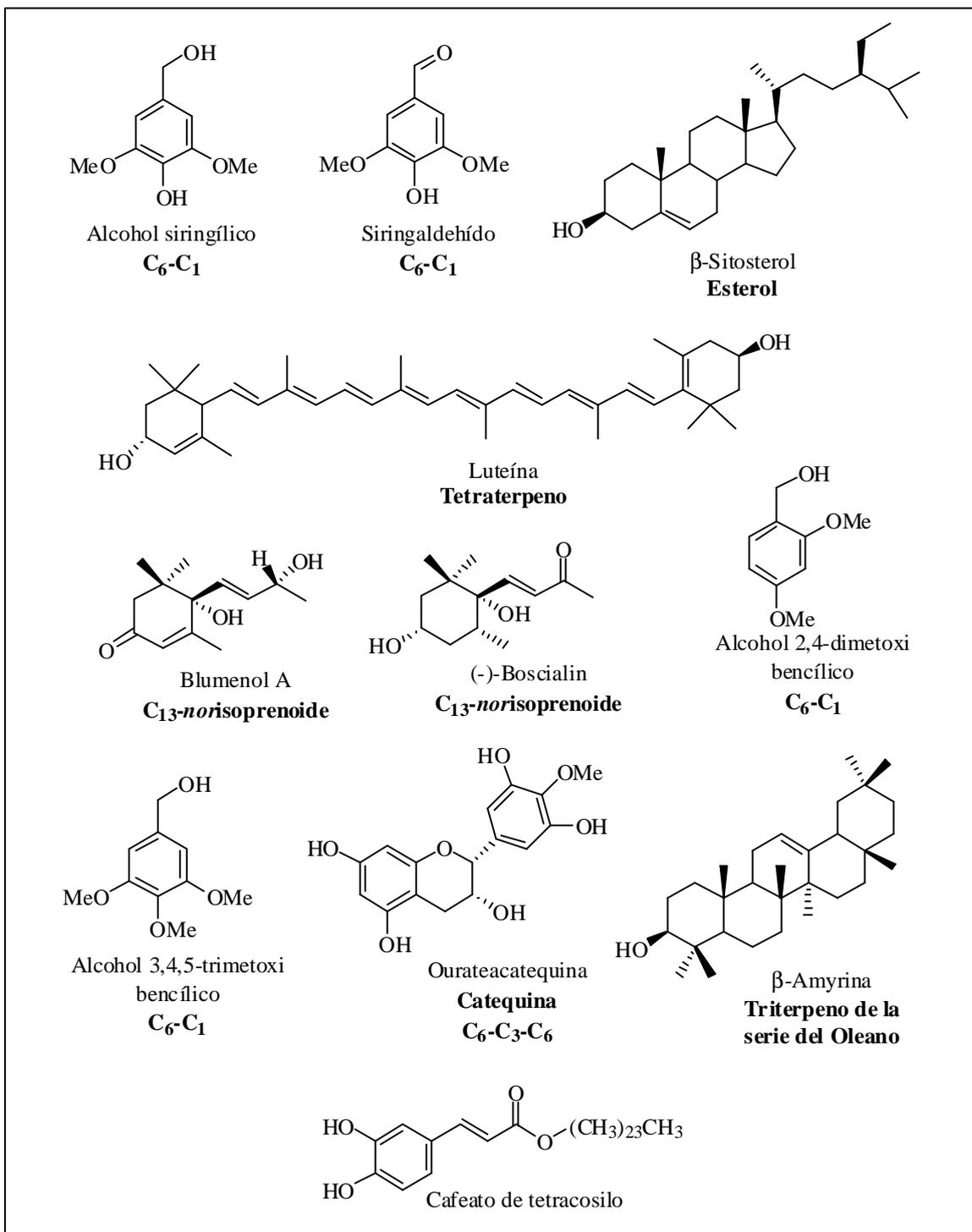
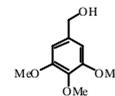
**Aislados de corteza del tallo:** ouratecatequina,<sup>15</sup> cafeato de tetracosilo<sup>16</sup> y  $\beta$ -sitosterol.<sup>3</sup>

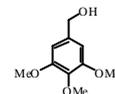
Las diferentes estructuras se muestran a continuación:

---

<sup>15</sup> Delle Monache, F.; Leoncio, D. I.; Ferrari, F.; Marini-Bettulo, G. B. *Annali di Chimica*, 57, 964-971, **1967**.

<sup>16</sup> Komatsu, M.; Tomimori, T.; Hatayama, K.; Makiguchi, Y. *Yakugaku Zasshi*, 90, 459-462, **1970**.



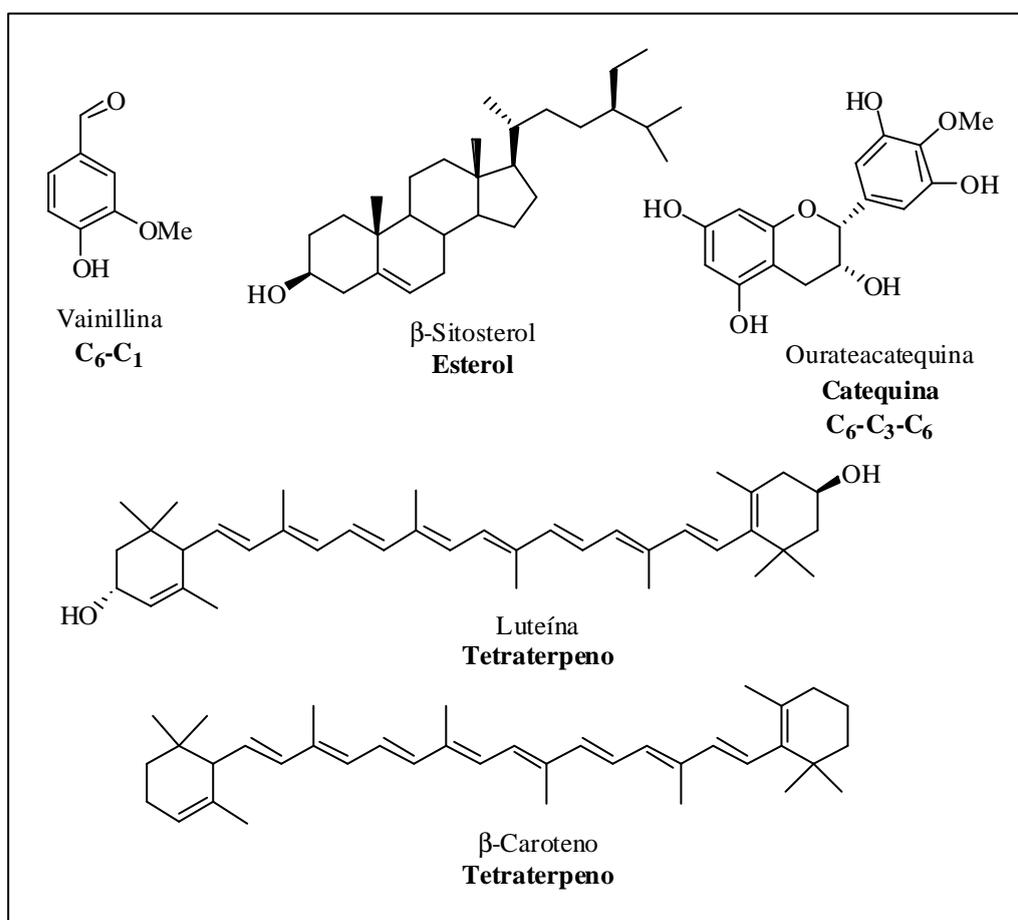


Del extracto diclorometánico de *Crossopetalum uragoga*, se aislaron además de los compuestos antes citados, otros metabolitos con estructuras diversas y que relacionamos a continuación:

**Aislados de hojas:** vainillina,<sup>17</sup> luteína,<sup>4</sup>  $\beta$ -caroteno<sup>18</sup> y  $\beta$ -sitosterol.<sup>3</sup>

**Aislados del tallo:** ourateacatequina<sup>13</sup> y  $\beta$ -sitosterol.<sup>3</sup>

Las diferentes estructuras se muestran a continuación:



<sup>17</sup> Smith, D. M. *J. Asso. Oficial Agr. Chem.*, 47, 808-815, 1964.

<sup>18</sup> Toulemonde, B.; Horman, I.; Egli, H.; Derbesy, M. *Helv. Chem. Acta*, 66, 2342-2345, 1983.



*Materia Médica (Dioscórides)*

## QUIMIOTAXONOMÍA

La quimiotaxonomía es una ciencia híbrida que se fundamenta en la Fitoquímica y trata de ubicar las sustancias naturales conocidas en su estructura molecular dentro de los diferentes *phyla* de clasificación taxonómica, en otras palabras, esta basada en la suposición de que la relación biológica se refleja en la relación química. Esta es razonable ya que los organismos relacionados deben tener genomas relacionados y en consecuencia, hay una gran posibilidad de que al menos algunos de los genes que codifican los metabolitos secundarios se mantengan.<sup>1</sup>

En especies de la familia Celastraceae se presenta un alto índice de especificidad en la fabricación de esqueletos, siendo notables por su alto estado de oxidación y esterificación las triterpenquinonas<sup>2,3</sup> y los alcaloides sesquiterpénicos,<sup>4</sup> respectivamente. Las metilénquinonas triterpénicas son biosintetizadas específicamente en raíz,<sup>5</sup> mientras que los alcaloides sesquiterpénicos se han aislado de todas las partes de la planta.<sup>6,7,8</sup>

Dos géneros pertenecientes a la familia Celastraceae: *Maytenus* y *Crossopetalum* poseen en común una serie de metabolitos secundarios (Tabla 18), mientras que algunos son específicos de cada género.

En el caso del género *Maytenus*, se han aislado alrededor de 80 alcaloides sesquiterpénicos de especies recolectadas en zonas tan diferentes como: Kenya (*Maytenus putterlickoides* E. & M.),<sup>6</sup> Brasil (*Maytenus guianensis* Klotzch),<sup>9</sup> El Salvador (*Maytenus chiapensis* Lundell)<sup>10</sup> o Ecuador (*Maytenus laevis* Reiss.),<sup>7</sup> esterificados exclusivamente con los ácidos evonínico, wilfordico e

---

<sup>1</sup> Ruiz, P. G. *Productos Naturales*, Ed. Universidad Pública de Navarra, Pamplona, 2002.

<sup>2</sup> González, A. G.; Fraga, B. M.; Ravelo, A. G.; Ferro, E. A.; Domínguez, X. A.; Martínez, M. A.; Fayos, J.; Perales, A.; Rodríguez, M. L. *Tetrahedron Lett.*, 24, 3033-3036, 1983.

<sup>3</sup> González, A. G.; Alvarenga, N. L.; Bazzocchi, I. L.; Ravelo, A. G.; Moujir, L. *Planta Med.*, 64, 769-771, 1998.

<sup>4</sup> Yamada, K.; Shizuri, Y.; Hirata, Y. *Tetrahedron*, 34, 1915-1920, 1978.

<sup>5</sup> Bruning, R.; Wagner, H. *Phytochemistry*, 17, 1821-1858, 1978.

<sup>6</sup> Schaneberg, B. T.; Green, D. K.; Sneden, A. *J. Nat. Prod.*, 64, 624-626, 2001.

<sup>7</sup> Piacente, S.; Tommasi, D. N.; Pizzi, C. *J. Nat. Prod.*, 62, 161-163, 1999.

<sup>8</sup> Hofmann, J.; Nagy, G.; Dini, Z. *J. Nat. Prod.*, 58, 1192-1199, 1995.

<sup>9</sup> Sousa, J. R. S.; Pinheiro, J. A.; Ribeiro, E. F.; Souza, E. D.; Maia, G. S. *Phytochemistry*, 25, 1776-1778, 1986.

<sup>10</sup> Núñez, M. J.; Guadaño A., Jiménez I. A., Ravelo, A. G., González-Coloma, A., Bazzocchi, I. L. *J. Nat. Prod.*, 2003, (en prensa ms No. NP030347Q)

hidroxiwilfordico (Figura 55). Por otra parte, únicamente se han aislado alcaloides sesquiterpénicos esterificados con el ácido 8-epievoninico (Figura 55), de la parte aérea de dos especies de Taiwan, *Maytenus emarginata* (Willd.) Hou<sup>11,12,13</sup> y *Maytenus diversifolia* (Gray) Hou.<sup>14</sup>

**Tabla 18.** Tipo de metabolitos secundarios presentes en los géneros *Maytenus* y *Crossopetalum*

Metabolito secundario	Género <i>Maytenus</i>	Género <i>Crossopetalum</i>
Sesquiterpenos agarofuránicos	X	X
Alcaloides sesquiterpénicos	X	–
Diterpenos del abietano	–	X
Triterpenos del lupano	X	X
Triterpenos del friedelano	X	X
Triterpenos del oleano	X	X
Triterpenos del ursano	X	X
Triterpenoquinonas	X	X

X = metabolitos secundarios presentes.

El género *Crossopetalum*<sup>15</sup> es uno de los géneros menos estudiados en la familia Celastraceae y de especies del mismo, hasta el momento, no se han reportado alcaloides sesquiterpénicos. Sin embargo, se caracteriza por la presencia en algunas especies de diterpenos de la serie del abietano y estructuras relacionadas poco frecuentes (Figura 56); así, se han aislado este tipo de diterpenos de *Crossopetalum gaumeri* Lundell (Yucatán, México)<sup>15,16</sup> *Crossopetalum rhacoma* Crantz (Yucatán, México)<sup>16</sup> y *Crossopetalum uragoga* (Jacq.) Kuntze (Ahuachapán, El Salvador).

<sup>11</sup> Kuo, Y. H.; Chen, C. H.; Yang Kuo, L. M.; King, M. L.; Wu, T. S.; Lu, S. T.; Chen, I. S.; McPhail, D. R.; McPhail, A. T.; Lee, K. H. *Heterocycles*, 29, 1465-1468, **1989**.

<sup>12</sup> Kuo, Y. H. *J. Nat. Prod.*, 57, 263-269, **1994**.

<sup>13</sup> Kuo, Y. H.; Che, C. H.; King, M. L.; Wu, T. S.; Lee, K. H. *Phytochemistry*, 35, 803-807, **1994**.

<sup>14</sup> Kuo, Y. H.; Ou, J. C. *J. Nat. Prod.*, 58, 1103-1108, **1995**.

<sup>15</sup> Ankli, A.; Heilmann, J.; Heinrich, M.; Sticher, O. *Phytochemistry*, 54, 531-537, **2000**.

<sup>16</sup> López, G. M. *Tesis de Maestría*, Universidad Autónoma de Yucatán, **2003**.

Cabe mencionar, que estas especies no son endémicas, ya que se encuentran en otros países del istmo Centroamericano, México y el Caribe.<sup>17,18</sup>

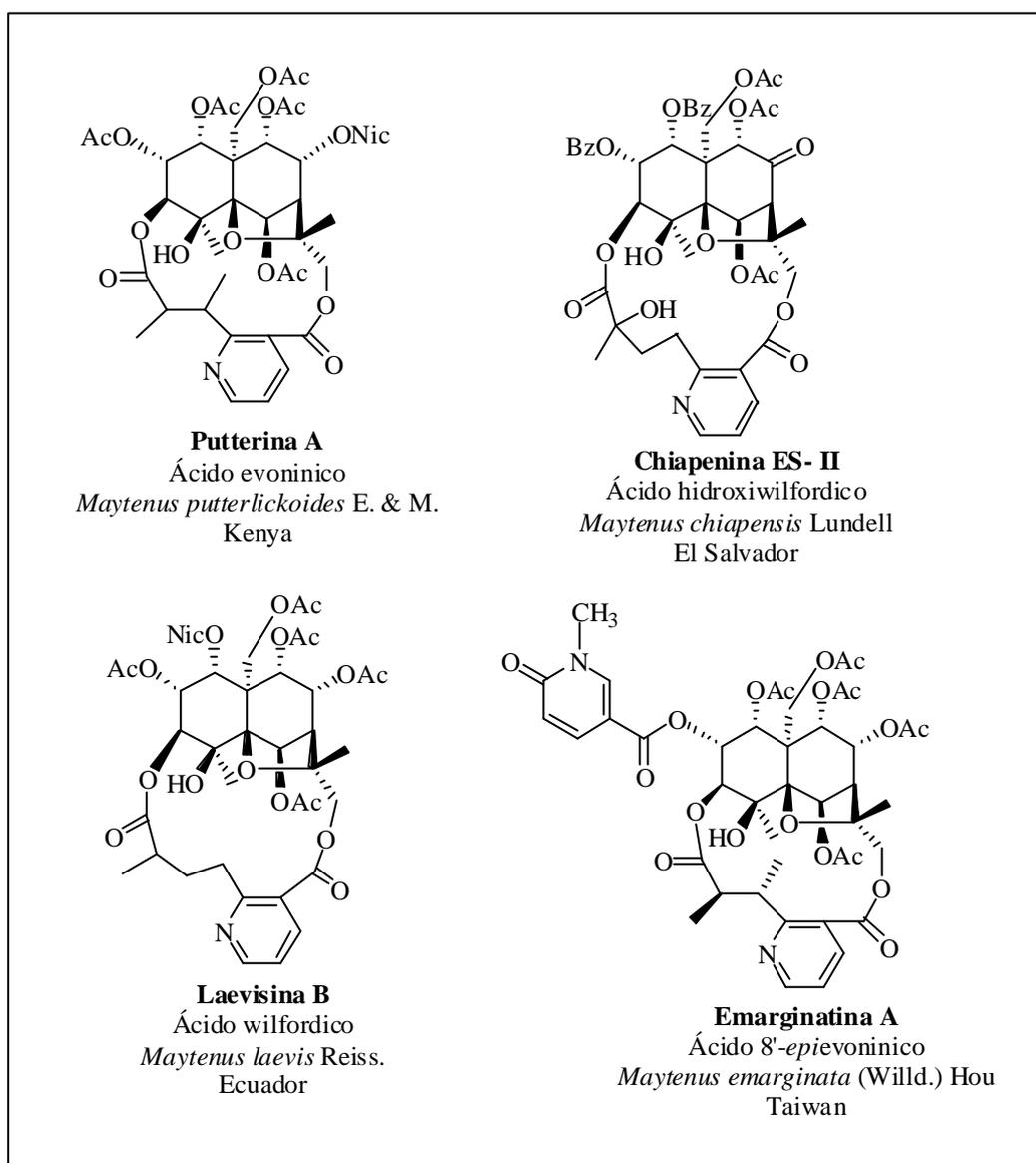


Figura 55. Alcaloides sesquiterpénicos aislados de especies de *Maytenus*.

Sin embargo, no se han sido aislado diterpenos del abietano de otras especies de *Crossopetalum* estudiadas, como son: *Crossopetalum tonduzii* Lundell (Panamá) y *Crossopetalum lobatum* Lundell (Panamá). Se plantea la cuestión de si esta diferencia en la composición química, tendrá que ver con la

<sup>17</sup> Lundell, C. L. *Phytologia*, 57, 453-454, 1985.

<sup>18</sup> Lundell, C. L. *Phytologia*, 56, 137-140, 1984.

ubicación geográfica, clima o temperatura donde crecen dichas especies, o es fruto de la casualidad, dado que las tres especies que biosintetizan los diterpenos tienen una ubicación geográfica próxima. Esta pregunta podrá contestarse si en el futuro se realizan estudios de otras especies del género *Crossopetalum* de la región.

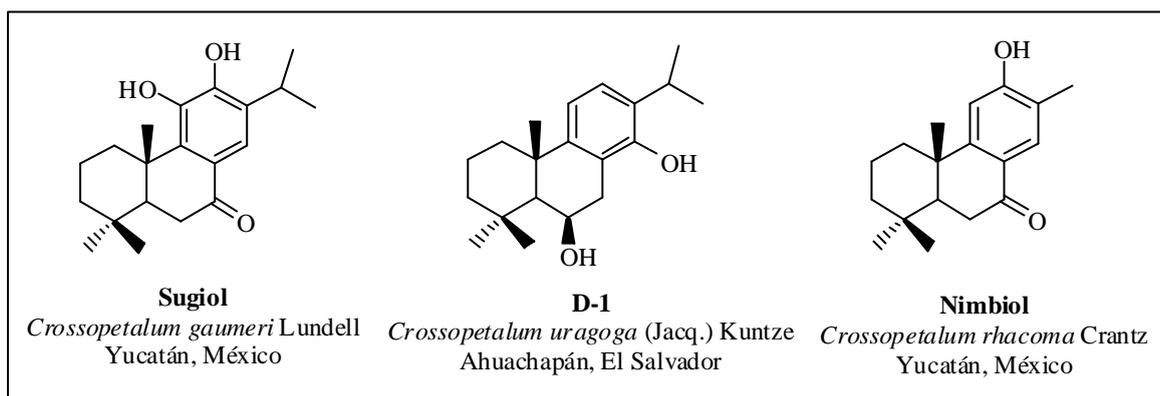


Figura 56. Diterpenos abietatriénicos aislados de especies de *Crossopetalum*

Estos diterpenos no son exclusivos del género *Crossopetalum*, ya que también se han encontrado en otros dos géneros de la familia Celastraceae, *Celastrus*<sup>19,20,21</sup> y *Tripterygium*,<sup>22,23</sup> además de ser abundantes en la familia Labiateae. Ravelo y col.<sup>24</sup> realizaron un estudio quimiotaxonomico que relacionaba los metabolitos aislados de celastráceas y labiadas, encontrando una relación filogenética y fitoquímica entre ambas familias.

Cabe resaltar que las dos especies estudiadas y presentadas en esta Memoria de Tesis, *Maytenus chiapensis* Lundell y *Crossopetalum uragoga* (Jacq.) Kuntze, fueron recolectados en el Parque Nacional “El Imposible”, Ahuachapán, El Salvador. La distancia entre una y otra especie dentro del Parque es de aproximadamente 1 km, lo que implica que estas dos especies conviven dentro del mismo ecosistema. Sin embargo, ambas especies

<sup>19</sup> Martin, J. D. *Tetrahedron*, 29, 2553-2559, 1973.

<sup>20</sup> Chen, B.; Duan, H.; Takaishi, Y. *Phytochemistry*, 51, 683-687, 1999.

<sup>21</sup> Jin, H. Z.; Hwang, B. Y.; Kim, H. S.; Lee, J. H.; Kim, Y. H.; Lee, J. J. *J. Nat. Prod.*, 65, 89-91, 2002.

<sup>22</sup> Takaishi, Y.; Wariishi, N.; Tateishi, H.; Kawazoe, K.; Miyagi, K.; Li, K.; Duan, H. *Phytochemistry*, 45, 979-984, 1997.

<sup>23</sup> Fujita, R.; Duan, H.; Takaishi, Y. *Phytochemistry*, 53, 715-722, 2000.

<sup>24</sup> Ravelo, A. G.; Luis, J. G.; Ferro, E. A.; Bazzocchi, I. L.; Jiménez, I. A.; Herrera, J. R.; Jiménez, J.; Aguiar, Z. E.; Plasencia, M.; Muñoz, O. *Rev. Latinoamer. Quím.*, 19, 72-78, 1988.

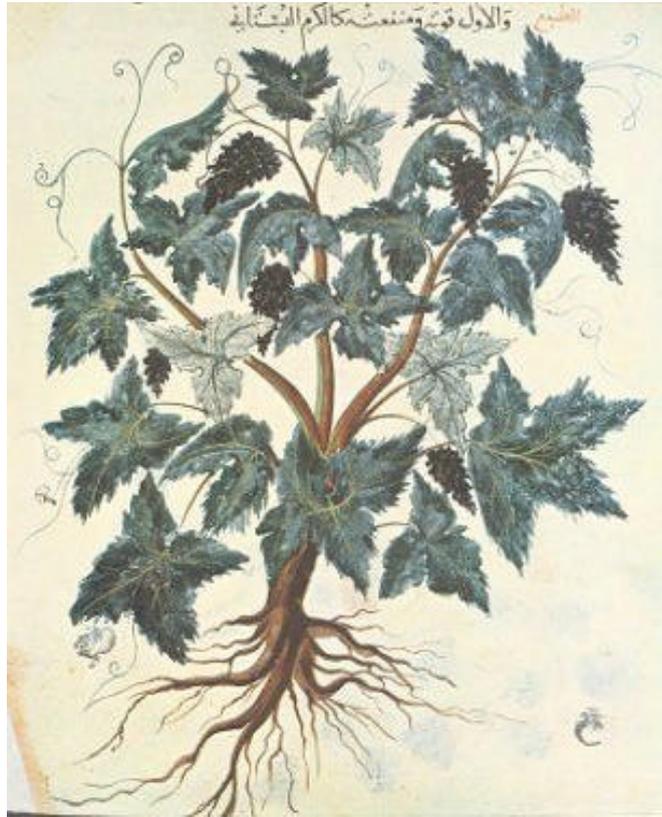
presentaron diferencias en el contenido de metabolitos secundarios, de acuerdo a lo antes mencionado.

Podríamos decir que en cada especie existen sistemas enzimáticos responsables de biozintetizar ciertos metabolitos secundarios, posiblemente como una respuesta de supervivencia a un ecosistema determinado o como resultado de estímulos externos. Se conoce la actividad insecticida que poseen los alcaloides sesquiterpénicos aislados de especies de celastráceas.<sup>25,26</sup> De esta forma, el gasto de energía se limita al almacenamiento de información en el material genético y a la producción de metabolitos secundarios de forma más eficaz. Visto de esta manera, no hay nada fortuito en el complejo patrón de metabolitos secundarios que a menudo expresa un determinado organismo. Dicho patrón es el resultado de un largo proceso de selección que refleja el ambiente ecológico que interacciona con el organismo.

---

<sup>25</sup> Hohmann, J.; Nagy, G.; Dini, Z.; Günther, G.; Pelczer, Y.; Jerkouich, G.; Varjas, L. *J. Nat. Prod.*, 58, 1192-1199, **1995**.

<sup>26</sup> González, A. G.; Jiménez, I. A.; Ravelo, A. G.; Coll, J.; González, J. A.; Lloria, J. *Biochem. System. Ecol.*, 25, 513-519, **1997**.



*Planta islámica*

## **TÉCNICAS EXPERIMENTALES**



## TÉCNICAS ESPECTROSCÓPICAS

### ➤ Resonancia magnética nuclear (RMN)

Los espectros de RMN  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ , DEPT y experimentos bidimensionales se realizaron en los espectrómetros Bruker Avance 300 (300 MHz) y Bruker Avance 400 (400 MHz). Los productos se disolvieron en cloroformo deuterado ( $\text{CDCl}_3$ ) o benceno deuterado ( $\text{C}_6\text{D}_6$ ), según se indica en cada caso. Se utilizó como referencia interna el tetrametilsilano (TMS). Los valores de desplazamiento químico ( $\delta$ ) se expresan en ppm y las constantes de acoplamiento ( $J$ ) en Hz.

### ➤ Experimentos bidimensionales

Los experimentos bidimensionales se realizaron con los programas COSY, HSQC, HMBC y ROESY, suministrados por la casa Bruker.

### ➤ Experimento HMBC semiselectivo

El experimento HMBC convencional presenta una limitación, importante en algunos casos, debido a la gran anchura espectral que debe ser digitalizada en la dimensión  $f_1$ , alrededor de 200 ppm, lo que se traduce en una baja resolución (40-50 Hz/pt). Esto puede ser crítico cuando en una región del espectro de  $^{13}\text{C}$  aparecen muchos picos solapados, lo que conlleva a un solapamiento de las señales de correlación. Este problema se resuelve, cuando se aplica la técnica del HMBC semiselectivo,<sup>1</sup> que consiste en la excitación selectiva de

<sup>1</sup> Wilker, W.; Leibfrits, D.; Kersebaum, R.; Bermel, W. *Magn. Reson. Chem.*, 31, 287-292, 1993.



una banda de unos pocos hercios de  $^{13}\text{C}$ , que corresponde a la zona de mayor solapamiento de señales. Esto lleva consigo un aumento de la resolución en  $f_1$ , hasta 4-5 Hz/pt, que permite separar señales de correlación que antes aparecían superpuestas. Este experimento tiene especial aplicación en el estudio de productos poliesterificados naturales o de síntesis, en los que aparecen una gran cantidad de grupos carbonilo y metilos provenientes de acetato.

### 🔧 Experimento 1D-TOCSY

Es la versión selectiva 1D del TOCSY (Total Correlation Spectroscopy). A partir de la excitación selectiva de una señal de protón, se obtiene un subespectro de un sistema de espín. Las únicas señales que aparecen son las que han “recibido” magnetización del espín excitado. Permite por lo tanto, obtener una transferencia de magnetización a lo largo de una cadena de espines en función del tiempo de mezcla del experimento. Los experimentos 1D tienen la ventaja, frente a los 2D, de necesitar un menor tiempo de adquisición y de poseer una mayor resolución digital, lo que los hace particularmente interesantes cuando se necesita una información específica.<sup>2</sup>

### 🔧 Experimento 1D-GOESY

El principal problema en la determinación del NOE en estado estacionario por espectroscopia diferencial, consiste en la inevitable aparición de errores de resta. El método GOESY,<sup>3</sup> que combina el uso de gradientes y de pulsos selectivos, permite obtener directamente un único espectro que presenta solamente las señales de espín

---

<sup>2</sup> Parella, T. *Magn. Reson. Chem.*, 34, 329-347, 1996.

<sup>3</sup> Stonehouse, J.; Adell, P.; Keeler, J.; Shaka, A. *J. Am. Chem. Soc.*, 116, 6037-6038, 1994.



selectivamente perturbado (invertido) y de los espines que han experimentado intensificación Overhauser, estos últimos con intensidades proporcionales al porcentaje de NOE generado. Hay que resaltar que el espectro GOESY se obtiene sin usar espectroscopia diferencial, ya que se usan gradientes para la selección de coherencias, con lo que el espectro GOESY está libre incluso de los errores de resta indirectamente inherentes a los métodos de ciclado de fases. Por este motivo, el método GOESY permite medir con gran fiabilidad NOEs muy pequeños (del orden de 0.05%).

#### **↻ Espectroscopia infrarroja (IR)**

Los espectros de infrarrojo fueron realizados con los productos puros en disolución de cloroformo en película sobre pastillas de NaCl de 0.2 mm de espesor. Se usó el espectrofotómetro Bruker IFS 55 (FTIR). Los valores de  $\nu$  se expresan en  $\text{cm}^{-1}$ .

#### **↻ Espectroscopia ultravioleta (UV)**

Los espectros de ultravioleta se efectuaron con el producto disuelto en etanol, en una celda de cuarzo de 1 mL de volumen y con un paso de luz de 10 mm. Se utilizó el aparato Jasco V-560. Los valores de la longitud de onda ( $\lambda$ ) de la muestra se expresan en nm.

#### **↻ Rotación óptica ( $[\alpha]_D$ )**

La determinación del valor de la actividad óptica se realizó en el polarímetro Perkin Elmer 343, usando la línea D del sodio a 20 °C. Para la realización de la medida el producto se disolvía en cloroformo



seco, en una célula de 1 mL de volumen y 1 dm de paso de luz. La concentración está expresada en gramos por 100 mL de disolución.

#### **➤ Espectrometría de masas de baja resolución**

La realización de los espectros de masas de baja resolución se llevó a cabo en el espectrómetro Micromass VG Autospec (70 eV), Geometryc EBE.

#### **➤ Espectrometría de masas de alta resolución (EMAR)**

La determinación de las fórmulas moleculares, de fragmentos y/o iones moleculares, se realizó en el espectrómetro Micromass VG Autospec (70 eV), Geometryc EBE.

### **TÉCNICAS CROMATOGRÁFICAS**

#### **➤ Cromatografía en capa fina (CCF)**

Las cromatografías en capa fina se realizaron sobre cromatofolios (20 x 20 cm) de gel de sílice tipo G, de 0.25 mm de espesor, con indicador de fluorescencia a 254 nm, de la empresa Macherey-Nagel Sil G/UV<sub>254</sub>. La detección de los productos sobre las placas se realizó por fluorescencia con luz ultravioleta a 254 y/o 360 nm, o bien pulverizando óleum (disolución de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>: CH<sub>3</sub>COOH: H<sub>2</sub>O, 1:20:4) y posterior calentamiento a 120 °C.

#### **➤ Cromatografía preparativa en capa fina (CCFP)**



Se utilizaron placas (20 x 20 cm) de 1 mm de espesor de gel de sílice tipo G, con indicador de fluorescencia a 254 nm, de la empresa Macherey-Nagel SIL G-100 UV<sub>254</sub>. La cantidad de muestra a sembrar en estas placas es de unos 30 mg, usándose para la elución diferentes mezclas de disolventes.

La detección de los productos sobre las placas se realizó por fluorescencia con luz ultravioleta a 254 y/o 360 nm, o bien pulverizando óleo sobre el borde, después de proteger convenientemente el resto de la placa con una lámina de vidrio y posterior calentamiento de la zona tratada con una pistola de calor.

#### **➤ Cromatografía en capa fina de alta resolución (CCFAR)**

Se utilizaron placas (10 x 10 cm) de 1 mm de espesor de gel de sílice de 60 Å, con indicador de fluorescencia a 254 nm, de la empresa Macherey-Nagel NANO-SIL 20 UV<sub>254</sub>. La resolución de estas placas es mayor que las anteriores y la cantidad a sembrar es entorno a 5 mg, usándose para la elución diferentes mezclas de disolventes.

La detección de los productos sobre las placas se realizó por fluorescencia con luz ultravioleta a 254 y/o 360 nm, o bien pulverizando oleúm sobre el borde, después de proteger convenientemente el resto de la placa con una lámina de vidrio y posterior calentamiento de la zona tratada con una pistola de calor.

#### **➤ Cromatografía en columna (CC)**

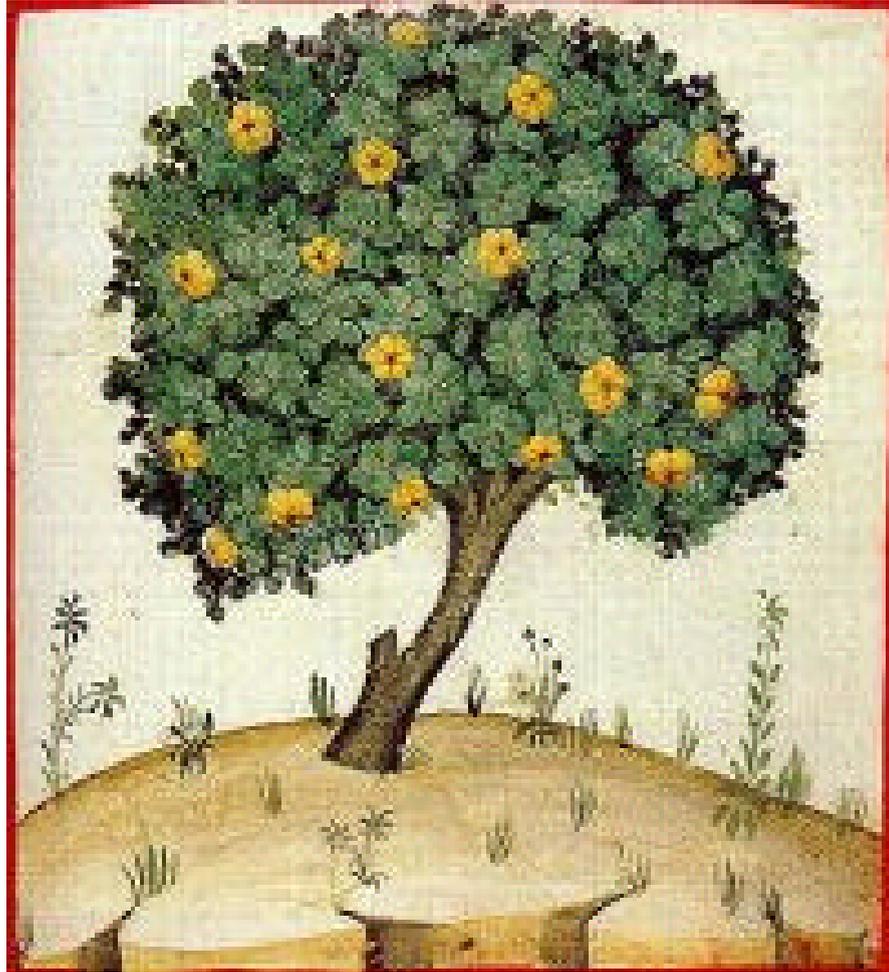
En la realización de columnas cromatográficas (secas y húmedas) se empleó gel de sílice fina, de 0.063–0.200 mm de diámetro, de la empresa Macherey-Nagel. Las columnas secas se montaron aplicando vacío a la columna mientras se carga lentamente con gel de sílice. La



mezcla a resolver se colocó en la parte superior de la columna, adsorbida en gel de sílice gruesa, de 0.2–0.5 nm de diámetro, de la empresa Merck. Las columnas húmedas se montaron con gel suspendido en un disolvente, con posterior compactación por presión, colocando la muestra a resolver disuelta en la mínima cantidad de disolvente.

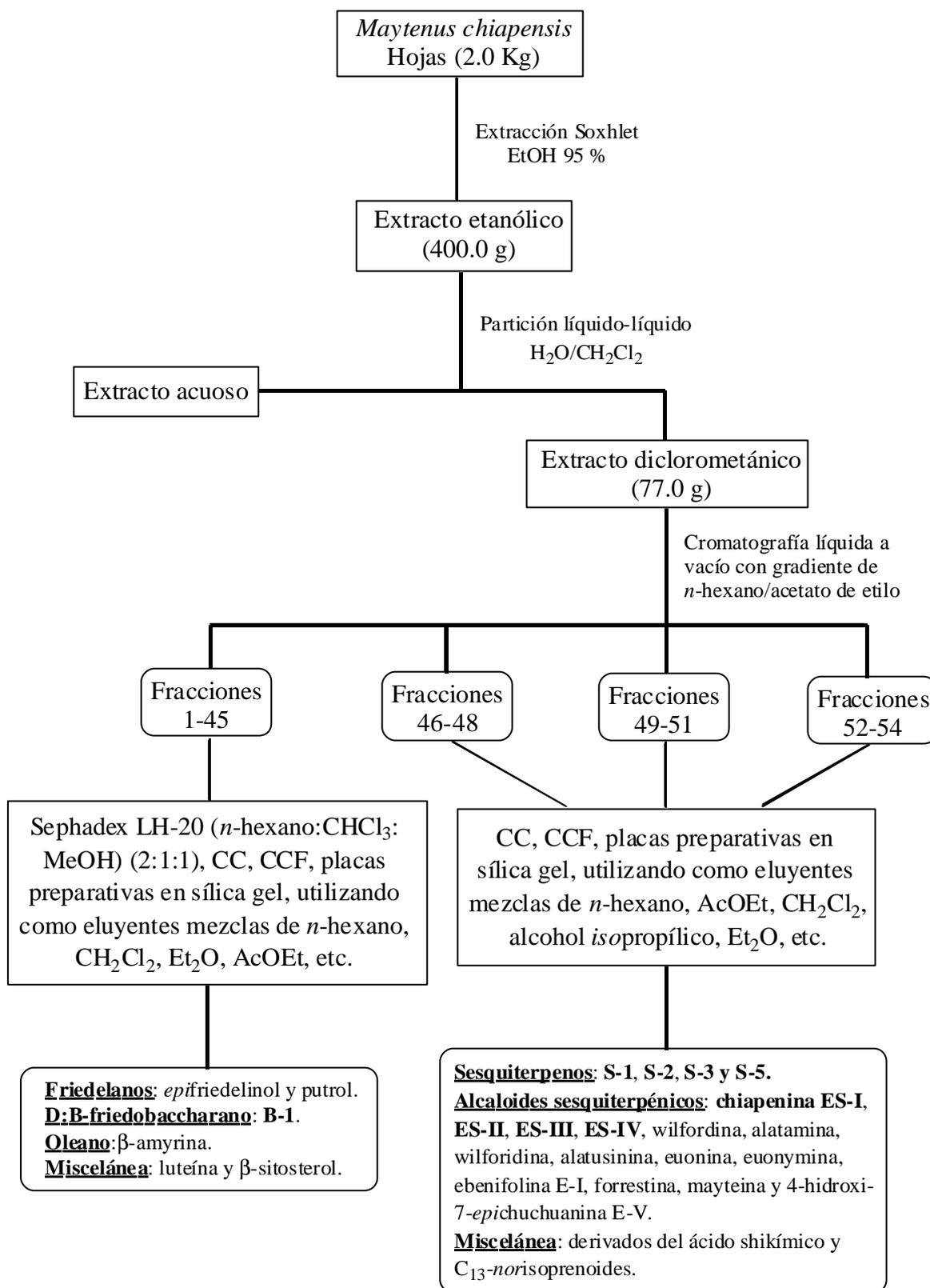
### ➤ **Cromatografía de exclusión molecular**

Se usó como soporte Sephadex LH-20, que suministra la empresa Sigma, y requiere una previa estabilización del polímero en suspensión con metanol (4.1 mL/g), durante al menos doce horas. A continuación, se vierte en la columna y se deja reposar durante una hora, aproximadamente. Esta columna se estabiliza, posteriormente, en la mezcla que se va a usar como eluyente, para lo cual se eluye tres veces la cantidad correspondiente al volumen muerto. El eluyente que en general se utiliza es *n*-hexano:cloroformo:metanol (2:1:1). La muestra a cromatografiar, tras ser filtrada, se colocó en la cabeza de la columna disuelta en una cantidad de eluyente no superior al 5% del volumen muerto de la columna. La columna puede ser reutilizada tras ser lavada con metanol y estabilizada con el eluyente que se va utilizar.

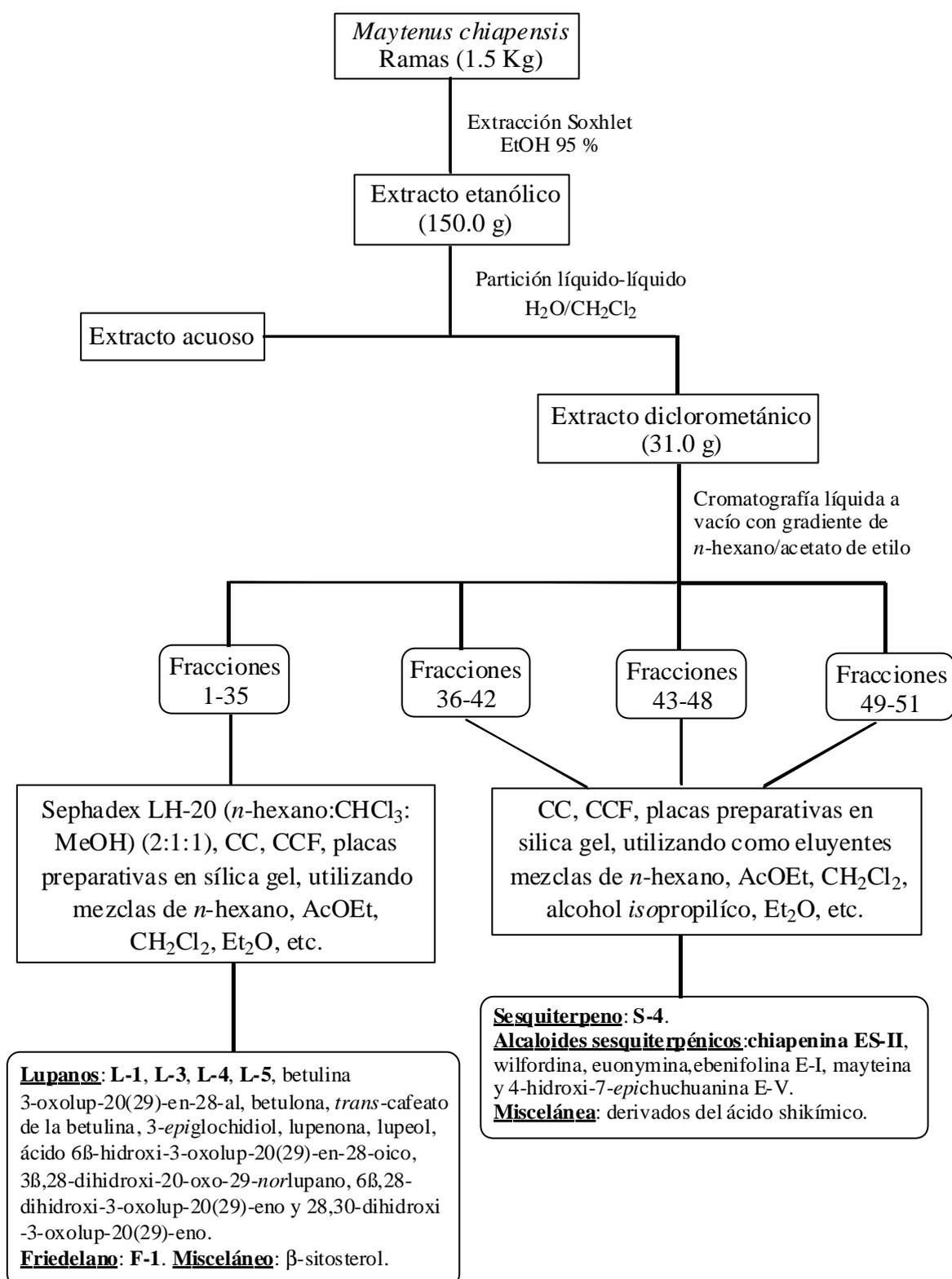


*Membrillo, Remedio del Perjuicio, Theatrum sanitatis, 1052*

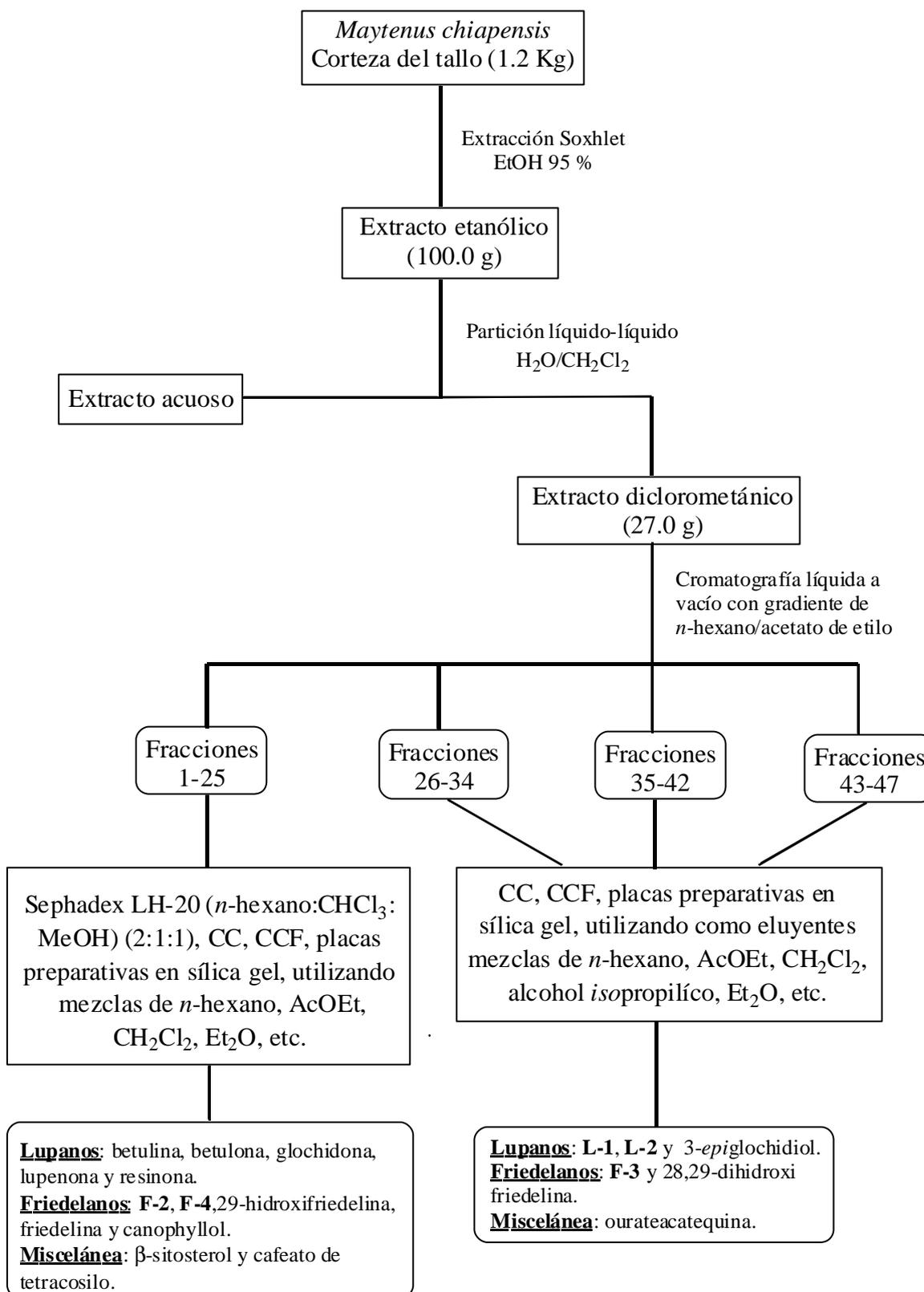
## ***SEPARACIÓN CROMATOGRÁFICA***



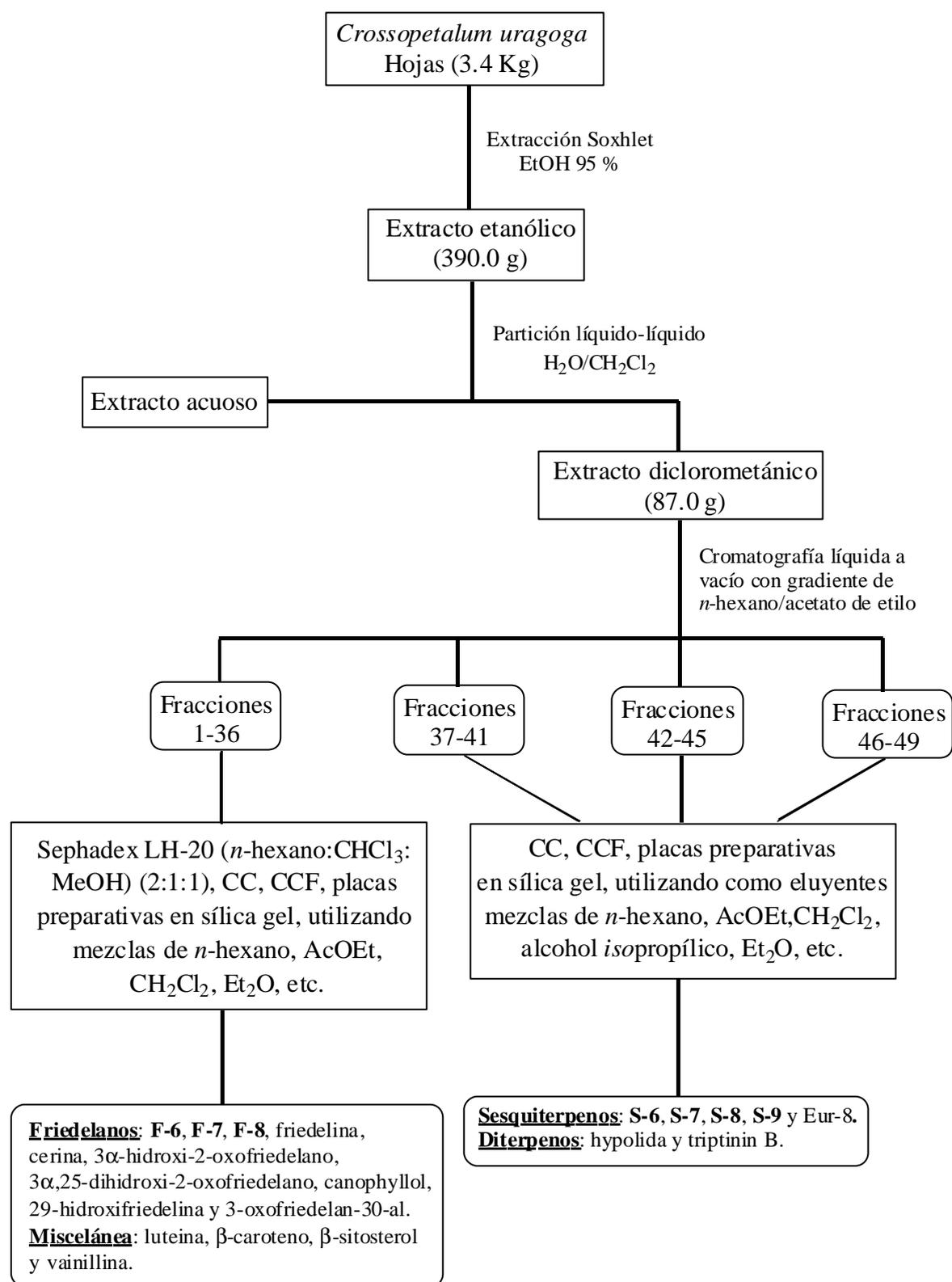
Esquema 1. Separación de los metabolitos secundarios de las hojas de *Maytenus chiapensis*.



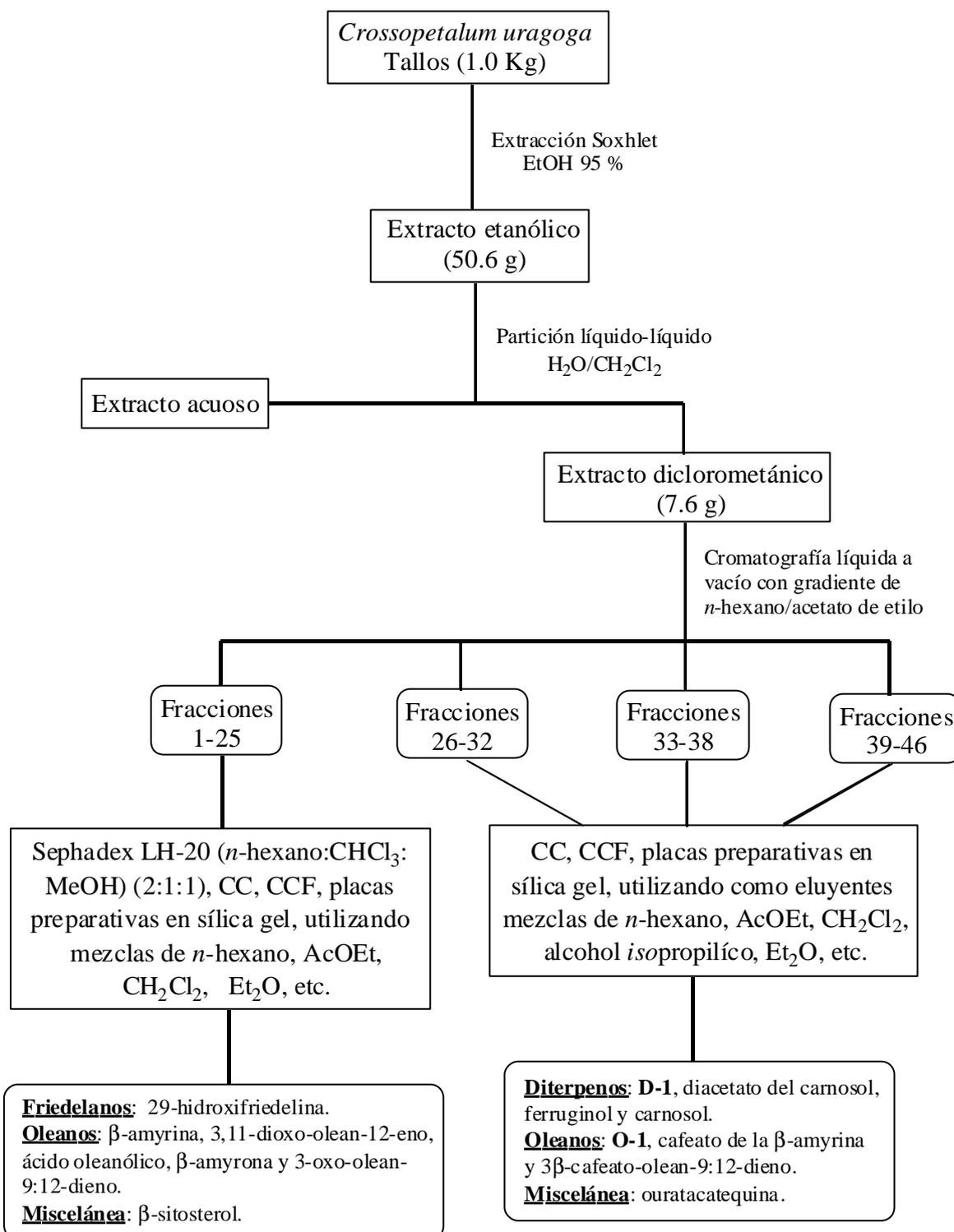
*Esquema 2. Separación de los metabolitos secundarios de las ramas de Maytenus chiapensis.*



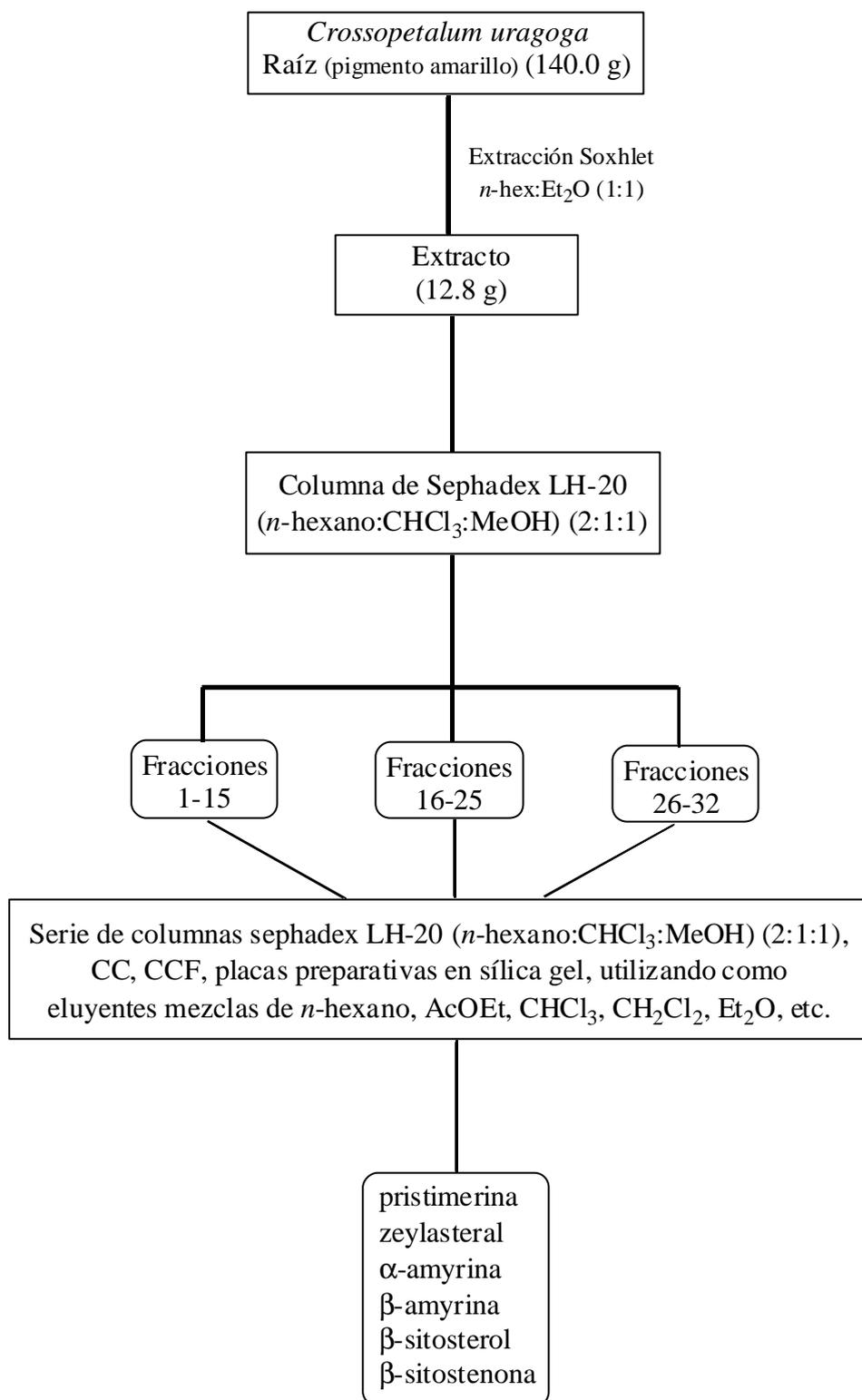
**Esquema 3.** Separación de los metabolitos secundarios de la corteza del tallo de *Maytenus chiapensis*.



**Esquema 4.** Separación de los metabolitos secundarios de las hojas de *Crossopetalum uragoga*.



Esquema 5. Separación de los metabolitos secundarios de los tallos de *Crossopetalum uragoga*.



*Esquema 6. Separación de los metabolitos secundarios de las raíces de Crossopetalum uragoga.*



## *ACTIVIDADES BIOLÓGICAS*

*ACTIVIDAD ANTICANCERÍGENA*

El cáncer constituye la segunda causa de mortalidad en los países desarrollados y el aumento paralelo de la incidencia de esta enfermedad con respecto a la esperanza de vida de la población, explica el interés médico y social por la misma. A pesar de los avances que se han realizado en la investigación y los múltiples intentos de mejorar los tratamientos existentes, la realidad es que aún no disponemos de terapias eficaces contra esta enfermedad.

La naturaleza ha proporcionado muchos agentes anticancerígenos efectivos de uso actual, los cuales incluyen fármacos de origen microbiano como la doxorubicina, dactinomicina y bleomicina y otros derivados de plantas, algunos de los cuales han sido aceptados por la FDA (Food and Drugs Administration) para su aplicación en clínica. Ejemplos de tales fármacos son Taxol<sup>®</sup> (paclitaxel), Taxotere<sup>®</sup> (docetaxel), vincristina, nabelbina, etopósido, tenipósido, topotecan e irinotecan.<sup>1</sup>

En la lucha contra el cáncer, se han desarrollado numerosas estrategias y en los últimos años se han ampliado considerablemente las posibles dianas que puedan actuar sobre la célula cancerosa con cierta selectividad, lo que permite

---

<sup>1</sup> Baguley, B. C.; Kerr, D. J. *Anticancer Drug Development*, Ed. Academic Press, London, 2002.

no sólo la búsqueda de nuevos agentes anticancerígenos, sino la determinación de sus mecanismos de acción.

En nuestro equipo de trabajo, en el que la búsqueda de metabolitos bioactivos es uno de nuestros objetivos, la identificación de nuevos anticancerígenos constituye uno de los aspectos en los que hacemos mayor incidencia.

En esta línea, se han empleado diferentes estrategias para evaluar los metabolitos aislados con posible potencial anticancerígeno, que pasamos a comentar.

### **Actividad citotóxica**

El uso de agentes químicos citotóxicos que destruyan las células cancerosas ha constituido la gran esperanza en el tratamiento del cáncer desde hace varias décadas. Los agentes quimioterápicos aceptables deben actuar con una cierta especificidad que permita una ventana terapéutica, es decir una situación en que la dosis empleada suponga más beneficio que efectos secundarios tóxicos. Así, el ensayo inicial más común de la actividad anticancerígena de un compuesto o extracto es su capacidad para inhibir el crecimiento de células tumorales en cultivo.<sup>2</sup>

### **Actividad inhibidora de la activación del virus Epstein-Barr**

La prevención del cáncer está siendo ampliamente estudiada con la finalidad de desarrollar estrategias para el control de dicha enfermedad, siendo definida la prevención como el método para el control del cáncer mediante la administración de compuestos naturales o sintéticos capaces de detener o inhibir el inicio del proceso carcinogénico. De este modo, la quimioprevención se presenta como una solución prometedora, siendo de

---

<sup>2</sup> Muñoz, A. *Cáncer. Genes y Nuevas Terapias*, Ed. Hélice, Madrid, 1997.

particular interés la inhibición de promotores del cáncer en procesos carcinogénicos.

Actualmente, el proceso químico de la carcinogénesis está sustancialmente dividido en tres etapas: iniciación, promoción y progresión. La etapa de iniciación se caracteriza por la activación metabólica de una serie de enzimas que pueden convertirse de precarcinogénicas a carcinogénicas, por acción de promotores. La promoción implica la proliferación clonal de las células iniciales y conversión en células tumorales pre-malignas, con una gran variedad de señales intracelulares, las cuales son reversibles. La tercera etapa, progresión, se caracteriza por ser irreversible e inestable, con alteraciones genéticas y biológicas debido a la conversión de los papilomas en carcinomas, con capacidad de invasión y metástasis. La inhibición de tumores en la etapa de promoción es una de las estrategias más prometedoras en la quimiopreención del cáncer.<sup>3</sup>

El virus Epstein-Barr (VEB) es el agente etiológico del cuadro clásico de mononucleosis infecciosa y también se asocia con el desarrollo de una amplia variedad de neoplasias linfoides (linfoma de Burkitt, enfermedad de Hodgkin, linfomas cerebrales primarios y otros linfomas de células B y T), epiteliales (carcinoma nasofaríngeo y linfoepiteliales) y de músculo liso (leiomiomas).<sup>4</sup>

El VEB es capaz de establecer infección latente en linfocitos B, células basales del epitelio nasofaríngeo y algunas células linfoides de estirpe T.<sup>5,6</sup> En el seno de éstas, pueden ser expresadas hasta seis proteínas nucleares y tres proteínas de membrana codificadas por el virus, así como dos pequeñas cadenas de ARN. Entre los productos de latencia del VEB destaca la LMP-1 (proteína de membrana expresada durante las infecciones latentes), por su papel individual en la transformación celular. Esto ha sido claramente

---

<sup>3</sup> Murakami, A.; Ohigashi, H.; Ad Koshimizu, K. *Biosci. Biotech. Biochem.*, 60, 1-8, **1996**.

<sup>4</sup> Herrero, J. A. *Enferm. Infecc. Microbiol. Clin.*, 9, 551-560, **1996**.

<sup>5</sup> Thorley-Lawson, D. A. *Semin. Hematol.*, 25, 247-260, **1988**.

<sup>6</sup> Nalesnik, M. A. *Immunopathol.*, 13, 199-216, **1991**.

demostrado *in vitro* e *in vivo*,<sup>7,8,9</sup> pero los mecanismos específicos por los que la LMP-1 induce la transformación oncogénica no están aclarados.

En la búsqueda de posibles agentes quimiopreventivos, la inhibición de la activación de antígenos tempranos del virus Epstein-Barr, inducido por el 13-acetato-12-*O*-tetra-decanoilforbol (TPA) (AT-VEB), se ha revelado como un primer ensayo en la búsqueda de agentes quimiopreventivos y que se correlaciona bien con los ensayos *in vivo*, los últimos años se han publicado estudios de la actividad inhibidora de numerosos productos naturales, por ejemplo: flavonoides,<sup>10</sup> esteroides,<sup>11</sup> triterpenoides,<sup>12</sup> saponinas triterpénicas,<sup>13</sup> quinonas,<sup>14</sup> sesquiterpenos con esqueleto de dihidro- $\beta$ -agarofurano<sup>15,16</sup> y diterpenos,<sup>17,18,19,20,21</sup> entre otros.

### Actividad inhibidora de colina quinasa

Los recientes avances en el entendimiento de los mecanismos que regulan la proliferación, diferenciación y apoptosis celular facilitan el desarrollo de nuevas estrategias basadas en el diseño racional de nuevos agentes anticancerígenos. Así, cada vez es más evidente que las células tumorales presentan alteraciones en los mecanismos que controlan el desarrollo celular. La interferencia específica de los procesos aberrantes, pretende revertir el

<sup>7</sup> Kaye, K.; Izumi, K. M.; Kieef, E. P. *Nat. Acad. Sci. Phi.*, 90, 9150-9154, **1993**.

<sup>8</sup> Fareheus, R.; Rymo, R.; Rhim, J. S.; Klein, G. *Nature*, 345, 447-449, **1990**.

<sup>9</sup> Wilson, J. B.; Weinberg, W.; Johnson, R.; Yuspa, S.; Levine, A. J. *Cell*, 61, 1315-1327, **1990**.

<sup>10</sup> Konoshima, T.; Tabasaki, M.; Kozuka, M.; Inada, A.; Nakanishi, T.; Tokuda, H.; Matsumoto, T. *Shoyakugaku Sasshi*, 43, 135-141, **1989**.

<sup>11</sup> Inada, A.; Nakanishi, T.; Konoshima, T.; Kozuka, M.; Tokuda, H.; Nishino, H.; Iwashina, A. *Shoyakugaku Sasshi*, 44, 215-218, **1990**.

<sup>12</sup> Diablo, B.; Vanhaelen, M.; Vanhaelen-Fastré, R.; Konoshima, T.; Kozuka, M.; Tokuda, H. *J. Nat. Prod.*, 52, 879-881, **1989**.

<sup>13</sup> Tokuda, H.; Konoshima, T.; Kozuka, M.; Kimura, T. S. *Cancer Lett.*, 40, 309-317, **1988**.

<sup>14</sup> Konoshima, T.; Kozuka, M.; Koyama, J.; Okatani, T.; Tagahara, K.; Tokuda, H. *J. Nat. Prod.*, 52, 987-995, **1989**.

<sup>15</sup> Ujita K.; Takaishi, Y.; Tokuda, H.; Nishino, H.; Iwashina, A.; Fujita, T. *Cancer Lett.*, 68, 129-133, **1993**.

<sup>16</sup> Ujita K.; Takaishi, Y.; Tokuda, H.; Nishino, H.; Iwashina, A.; Fujita, T. *Cancer Lett.*, 65, 19-23, **1992**.

<sup>17</sup> Tanaka, R.; Ohtsu, H.; Iwamoto, M.; Toshifumi, M.; Tokuda, H.; Nishino, H.; Matsunaga, S.; Yoshitake, A. *Cancer Lett.*, 161, 165-170, **2000**.

<sup>18</sup> Iwamoto, M.; Ohtsu, H.; Tokuda, H.; Nishino, H.; Matsunaga, S.; Tanaka, R. *Bioorg. Med. Chem.*, 9, 1911-1921, **2001**.

<sup>19</sup> Ohtsu, H.; Tanaka, R.; Matsunaga, S.; Tokuda, H.; Nishino, H. *Planta Med.*, 65, 664-666, **1999**.

<sup>20</sup> Konoshima, T.; Konishi, T.; Takasaki, M.; Yamazoe, K.; Tokuda, H. *Biol. Pharm. Bull.*, 24, 1440-1442, **2001**.

<sup>21</sup> Ohtsu, H.; Tanaka, R.; Matsunaga, S.; Tokuda, H.; Nishino, H. *Planta Med.*, 67, 55-60, **2001**.

fenotipo transformado o destruir selectivamente las células tumorales. Por ello, la identificación de nuevas dianas intracelulares, responsables de las alteraciones inducidas por la actividad de diferentes oncogenes y genes supresores de tumores, constituye la base para el diseño racional de nuevas estrategias antitumorales.

Estudios previos han mostrado que en células transformadas por oncogenes *ras*, de alta incidencia en tumores humanos, se produce una activación de colina quinasa y el incremento de la actividad de esta enzima resulta en elevados niveles de fosforilcolina, un mensajero secundario implicado en la proliferación celular. Ello indica, un papel crítico de esta enzima en la regulación del crecimiento celular, lo que la convierte en una nueva diana para el diseño racional de nuevas drogas anticancerígenas.<sup>22</sup>

### **Determinación de la actividad citotóxica**

La actividad citotóxica fue realizada en el marco de un proyecto de colaboración con la Dra. Laila Moujir del Departamento de Microbiología y Biología Celular de la Universidad de La Laguna.

La actividad citotóxica se determinó usando el método colorimétrico de Mosman<sup>23</sup> que se basa en la capacidad que poseen las células vivas de reducir el MTT (bromuro de 3-(4,5-dimetiltrazol-2-1)-2,5-difeniltetrazolio) por medio de la succinato deshidrogenasa existente en las mitocondrias.

Las células ( $10^4$  células) se incubaron a 37 °C en una atmósfera de CO<sub>2</sub> al 5% y una humedad relativa del 98%, en placas de cultivo de 96 pocillos, durante 24 horas con los productos a ensayar disueltos en dimetilsulfoxido

---

<sup>22</sup> Lacal J. C. *IDrugs*, 4, 419-426. 2001.

<sup>23</sup> Mosmann, T. J. *Immunol. Methods*, 65, 55-63, 1983.

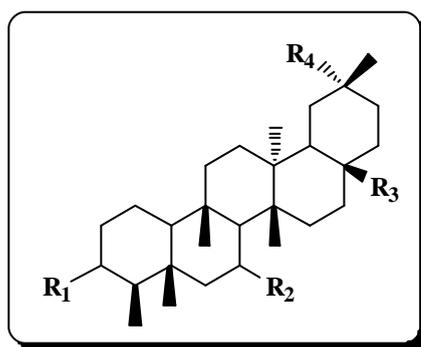
(DMSO), a una concentración inicial de 40 µg/mL y diluciones sucesivas a un medio hasta 0,004 µg/mL. La concentración de DMSO a emplear fue siempre menor al 1%. Tras 48 horas de incubación se añadió el MTT, disuelto en tampón fosfato salino y se incubaron posteriormente durante 4 horas, tras las cuales se succionó el medio y se añadió DMSO para disolver los cristales de formazán producidos por las células vivas. La densidad óptica del color desarrollado se leyó en un espectrofotómetro ELISA, a una longitud de onda de 550 nm. Los resultados se expresan como CI<sub>50</sub> en µg/mL.

Las células empleadas para llevar a cabo los experimentos proceden de líneas celulares establecidas a partir de:

- carcinoma epitelial de cuello de útero humano (células HeLa).
- carcinoma de laringe humano (Hep-2)

**Realizamos el estudio de actividad citotóxica de los productos que se presentan a continuación.**

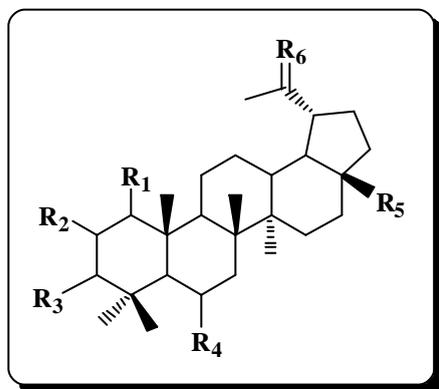
- **Alcaloides sesquiterpénicos:** Alatusinina, wilfordina, alatamina, euonymina, mayteina y forrestina.
- **Triterpenos de la serie del friedelano:** F-1, F-2, F-3, F-4, 28,29-dihidroxifriedelina (1), 29-hidroxifriedelina (2), epifriedelinol (3) y canophyllol (4).



Friedelano	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>
F-1	O	OH (β)	COOH	Me
F-2	O	OH (β)	COOMe	Me
F-3	O	OH (β)	Me	CH <sub>2</sub> OH
F-4	O	H <sub>2</sub>	CHO	CH <sub>2</sub> OH

1	O	H <sub>2</sub>	CH <sub>2</sub> OH	CH <sub>2</sub> OH
2	O	H <sub>2</sub>	Me	CH <sub>2</sub> OH
3	OH (β)	H <sub>2</sub>	Me	Me
4	O	H <sub>2</sub>	CH <sub>2</sub> OH	Me

- **Triterpenos de la serie del lupano:** L-3, lupenona (**5**), 3-oxolup-20(29)-en-28-al (**6**), lupeol (**7**), *trans*-cafeato de la betulina (**8**), betulina (**9**), 3-epiglochidiol (**10**), glochidiona (**11**), 6β,28-dihidroxi-3-oxolup-20(29)-eno (**12**), betulona (**13**), ácido 6β-hidroxi-3-oxolup-20(29)-en-28-oico (**14**), 3β,28-dihidroxi-20-oxo-29-norlupano (**15**) y glochidonol (**16**).



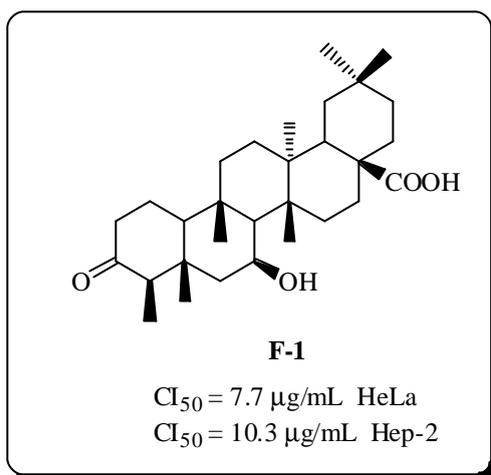
Lupano	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	R <sub>5</sub>	R <sub>6</sub>
L-3	H <sub>2</sub>	H <sub>2</sub>	OH (β)	OH (β)	CH <sub>2</sub> OH	H <sub>2</sub>
5	H <sub>2</sub>	H <sub>2</sub>	O	H <sub>2</sub>	Me	H <sub>2</sub>
6	H <sub>2</sub>	H <sub>2</sub>	O	H <sub>2</sub>	CHO	H <sub>2</sub>
7	H <sub>2</sub>	H <sub>2</sub>	OH (β)	H <sub>2</sub>	Me	H <sub>2</sub>
8	H <sub>2</sub>	H <sub>2</sub>	C <sub>9</sub> H <sub>7</sub> O <sub>4</sub> (β)	H <sub>2</sub>	CH <sub>2</sub> OH	H <sub>2</sub>
9	H <sub>2</sub>	H <sub>2</sub>	OH (β)	H <sub>2</sub>	CH <sub>2</sub> OH	H <sub>2</sub>

10	OH (β)	H <sub>2</sub>	OH (β)	H <sub>2</sub>	Me	H <sub>2</sub>
11	H	H	O	H <sub>2</sub>	Me	H <sub>2</sub>
12	H <sub>2</sub>	H <sub>2</sub>	O	OH (β)	CH <sub>2</sub> OH	H <sub>2</sub>
13	H <sub>2</sub>	H <sub>2</sub>	O	H <sub>2</sub>	CH <sub>2</sub> OH	H <sub>2</sub>
14	H <sub>2</sub>	H <sub>2</sub>	O	OH (β)	COOH	H <sub>2</sub>
15	H <sub>2</sub>	H <sub>2</sub>	OH (β)	H <sub>2</sub>	CH <sub>2</sub> OH	O
16	OH (β)	H <sub>2</sub>	O	H <sub>2</sub>	Me	H <sub>2</sub>

### **Resultados y discusión**

Los resultados obtenidos mostraron que los **alcaloides sesquiterpénicos** evaluados no presentaron actividad frente a las líneas celulares ensayadas ( $CI_{50} > 20 \mu\text{g/mL}$ ).

De los **triterpenos de la serie del friedelano** evaluados resultó moderadamente activo el compuesto **F-1** con  $CI_{50}$  de 7.7 y 10.3  $\mu\text{g/mL}$ , frente a las líneas celulares HeLa y Hep-2, respectivamente. La principal diferencia estructural de **F-1** con respecto a los demás triterpenos con esqueleto de friedelano ensayados, es la presencia de un ácido carboxílico en C-28, que podría ser responsable de la mayor actividad citotóxica presentada por este compuesto.



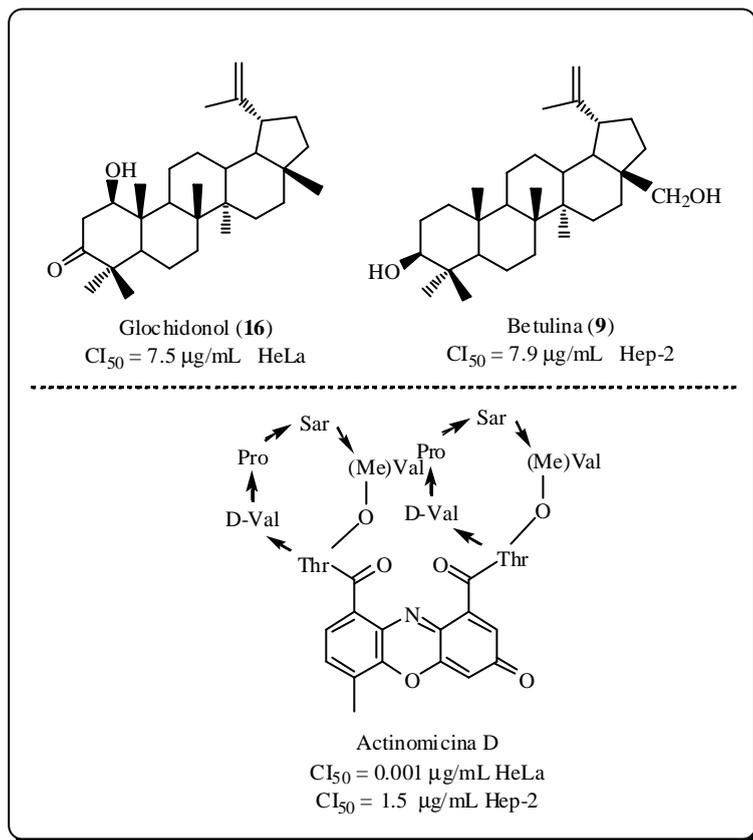
En lo que a los triterpenos de la serie del lupano se refiere, los compuestos **L-3**, **6**, **9** y **12-16** resultaron moderadamente activos frente a la línea celular HeLa, destacando **16** (CI<sub>50</sub> = 7.5 µg/mL) y **13** (CI<sub>50</sub> = 8.8 µg/mL). Por otro lado, los compuestos **L-3**, **9** y **16** fueron así mismo moderadamente activos frente a la línea celular Hep-2, destacando el compuesto **9** (CI<sub>50</sub> = 7.9 µg/mL) y **16** (CI<sub>50</sub> = 8.8 µg/mL) (Tabla 19).

En general, podemos concluir que los compuestos más activos frente a ambas líneas celulares presentan en su estructura dos grupos oxigenados (un grupo carbonilo y un grupo hidroxilo o dos grupos hidroxilos), salvo el compuesto **10**, mientras que la presencia de una única función hace que disminuya la actividad (Ej. **16** frente **5** ó **9** frente **7**).

**Tabla 19.** Actividad citostática (CI<sub>50</sub> en µg/mL) de los triterpenos del lupano

Lupano	HeLa	Hep-2
<b>L-3</b>	13.1	10.0
<b>6</b>	16.5	> 20
<b>9</b>	11.3	7.9
<b>12</b>	15.4	> 20
<b>13</b>	8.8	> 20
<b>14</b>	16.1	> 20

<b>15</b>	10.0	> 20
<b>16</b>	7.5	8.1
<b>Actinomicina D (Control)</b>	0.001	1.5



### ☛ Determinación de la inhibición de la activación del Virus Epstein-Barr

La evaluación de actividad inhibidora de la activación del VEB fue realizada por el Dr. Harukuni Tokuda del Kyoto Prefectural University of Medicine, Kyoto, Japón.

Primero, se determinó el efecto inhibidor de los productos en la activación de los antígenos tempranos del virus Epstein-Barr (AT-VEB), para

seguidamente someter a un ensayo *in vivo* los compuestos que mostraran una actividad significativa.

### **Ensayo de inhibición de la activación de los antígenos tempranos del VEB**

Células Raji (células derivadas de linfoma de Burkitts), fueron cultivadas en medio RPMI 1640 con 10% de suero fetal. La inhibición de los antígenos tempranos del virus Epstein-Barr (AT-VEB) se ensayó de acuerdo con el método descrito por Takasaki.<sup>24</sup> Así, 10<sup>6</sup> células Raji fueron incubadas durante 48 horas a 37 °C en 1 mL de medio que contenía ácido *n*-butírico (4 mmol), TPA (13-acetato-12-*O*-tetra-decanoilforbol, 32 pmol = 20 ng en DMSO) como inductor y diferentes concentraciones de los productos en DMSO. Posteriormente, se añadió suero positivo de AT-VEB, determinándose el número de células por inmunofluorescencia indirecta.<sup>2</sup>

El porcentaje de inducción de los antígenos tempranos de los compuestos son expresados como la relación en las células del control (100%) que contienen ácido *n*-butírico y TPA y los existentes en presencia de producto. Como control se usó  $\beta$ -caroteno,<sup>25</sup> precursor de la vitamina A.

### **Determinación de la carcinogénesis en piel de ratones en dos fases**

Se realizó de acuerdo con la metodología descrita por Iwamoto.<sup>17</sup> Para este ensayo se usaron ratones hembra de aproximadamente 30 gramos, que se trataron tópicamente con 0.1 mL de iniciador de la carcinogénesis, DMBA (7,12-dimetilbenzantraceno, 100  $\mu$ g, 390 nmol). Al cabo de una semana, se aplicó dos veces por semana 0.1 mL de TPA (1  $\mu$ g, 1.7 nmol) sobre la piel, para inducir la formación del papiloma. Una hora antes de someter a los ratones a la inducción del papiloma, los ratones fueron tratados con 0.1 mL de los

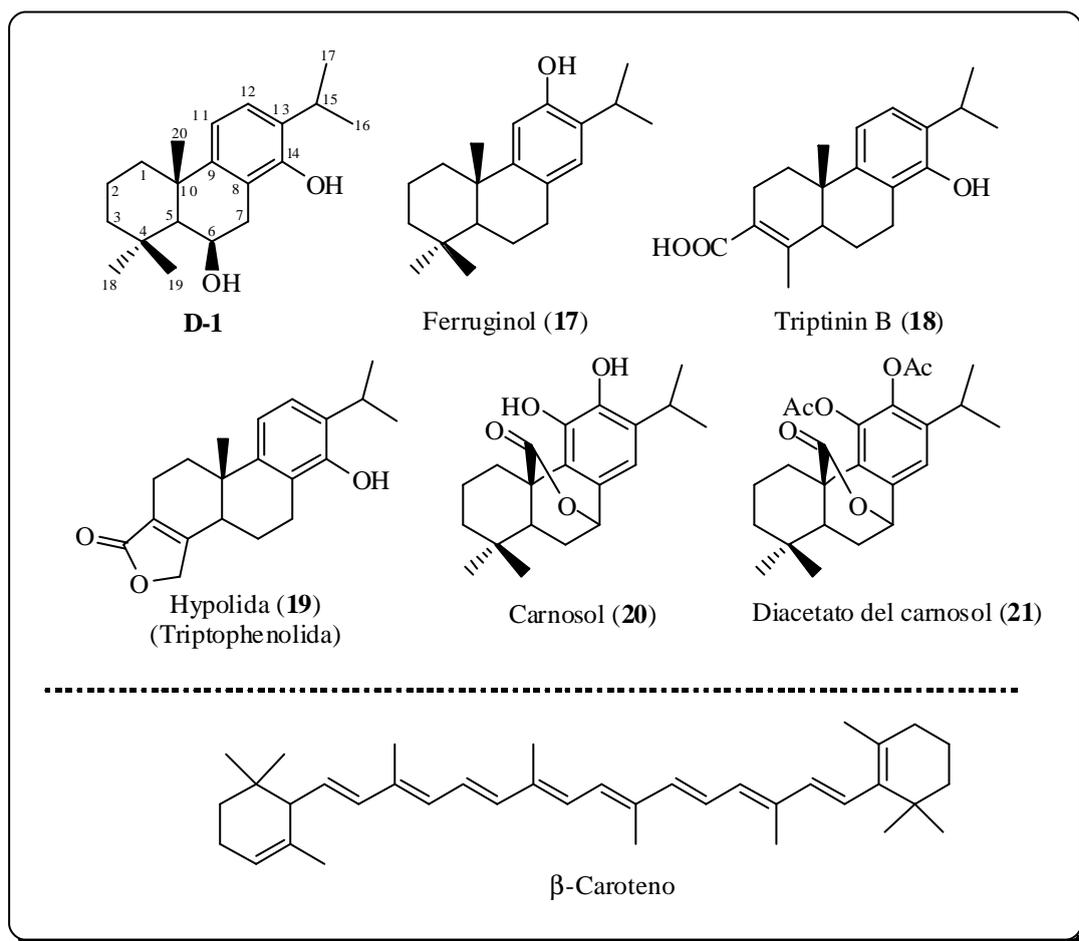
---

<sup>24</sup> Takasaki, M.; Konoshima, T.; Yasuda, Y.; Hamano, T.; Tokuda, H. *Pharm. Bull.*, 776-780, **1997**.

<sup>25</sup> Konishi, T.; Takasaki, M.; Tokuda, H.; Kiyosawa, S.; Konoshima, T. *Biol. Pharm. Bull.*, 21, 993-996, **1998**.

compuestos a evaluar (85 nmol) en acetona. La incidencia de papiloma se examinó semanalmente durante un período de 20 semanas.

**Las estructuras de los diferentes diterpenos evaluados y del  $\beta$ -caroteno, usado como control, se muestran a continuación.**



## **Resultados y discusión**

Los resultados obtenidos en la determinación de la inhibición de la activación de los antígenos tempranos del VEB se muestran en la Tabla 20.

**Tabla 20.** Proporción<sup>a</sup> relativa de la inducción de la activación de los AT-VEB en presencia de los diferentes diterpenos con respecto a un control positivo (100%)

Diterpeno	Concentración (proporción mol /TPA) <sup>b</sup>			
	1000	500	100	10
	% para el control (% de viabilidad)			
<b>D-1</b>	0 (60) <sup>c</sup>	21.1	62.4	90.3
<b>17</b>	0 (60)	28.4	68.6	97.4
<b>18</b>	0 (60)	25.3	66.3	94.5
<b>19</b>	13.6 (60)	51.6	86.1	100
<b>20</b>	0 (70)	21.7	68.4	89.6
<b>21</b>	0 (70)	23.5	69.3	90.7
<b>β-caroteno<sup>d</sup></b>	9.1 (60)	34.3	82.7	100

<sup>a</sup> Valores presentados en porcentajes relativos al valor de control positivo TPA (100%).

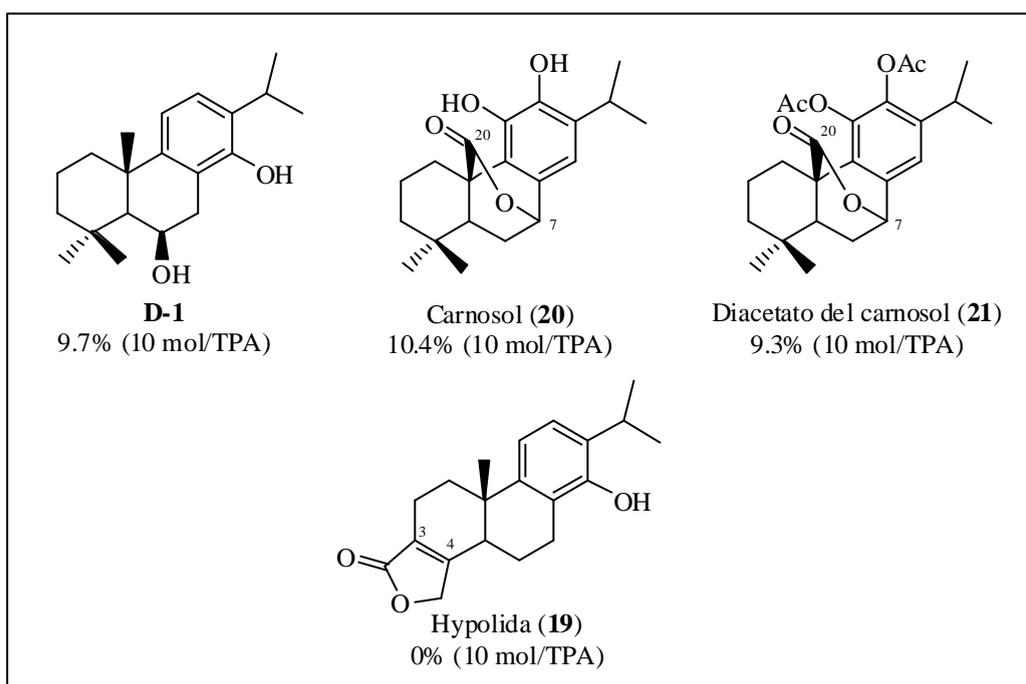
<sup>b</sup> La concentración de TPA fue 20 ng/mL (32 pmol/mL).

<sup>c</sup> Los valores en paréntesis representan el porcentaje de viabilidad de las células Raji.

<sup>d</sup> Control positivo.

Como se deduce de los datos, que se presentan en la Tabla 20, cinco de los compuestos evaluados, ferruginol (**17**), triptinin B (**18**), **D-1**, diacetato del carnosol (**21**) y carnosol (**20**), fueron más potentes que el β-caroteno, usado como control, a todas las concentraciones ensayadas, siendo la viabilidad de las células Raji más del 60% a la concentración más alta de estos compuestos, lo que implica una citotoxicidad moderada frente a la línea celular. Entre los compuestos más activos **D-1**, **20** y **21** presentan una inhibición entorno al 10% a la concentración más baja ensayada (10 mol/TPA).

Estos resultados indican que la presencia de una lactona bicíclica entre las posiciones C-7 y C-20 es relevante para la actividad (compuestos **20** y **21** con 11.4% y 9.3% de inhibición de antígenos tempranos a 10 mol/TPA). Por otra parte, la presencia de una lactona condensada insaturada entre las posiciones C-3 y C-4, hace que se pierda la actividad (hypolida, **19**). Sin embargo, para llevar a cabo un estudio detallado de la relación estructura-actividad, es necesario el ensayo de un mayor número de compuestos.



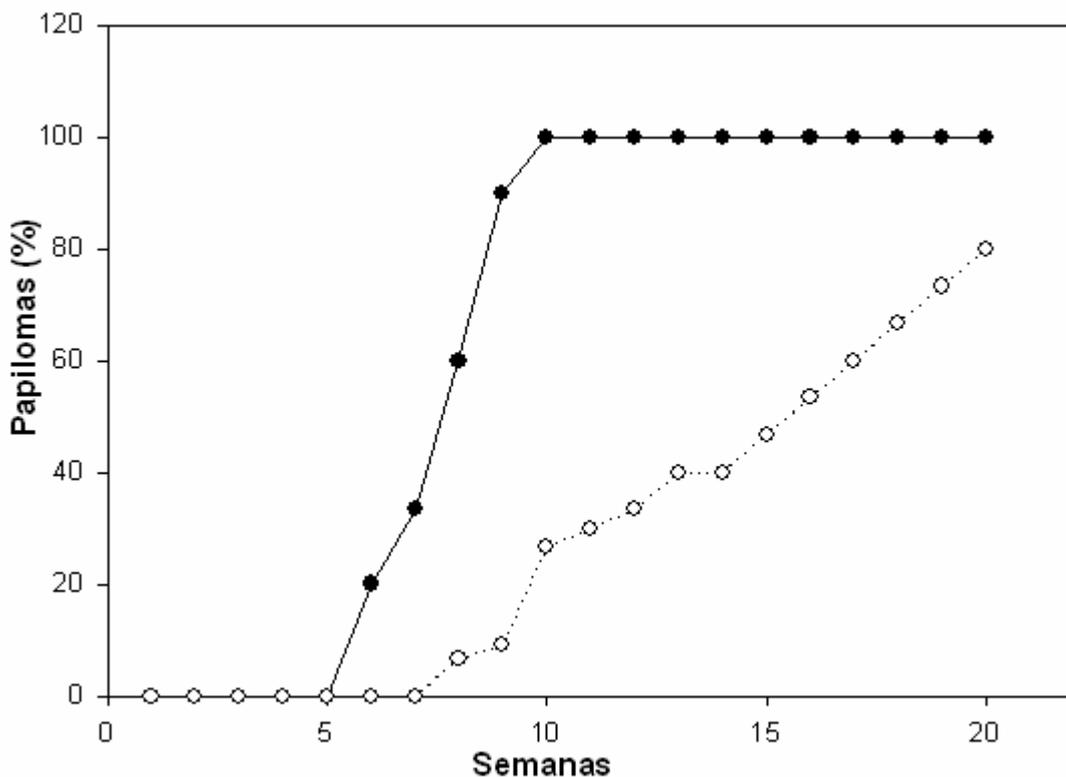
Dada la mayor actividad inhibidora mostrada por el compuesto **20** (carnosol) en este ensayo *in vitro*, decidimos examinar el efecto de este compuesto *in vivo*, usando para ello un bioensayo de inducción de carcinogénesis en ratones.

Los resultados de estos ensayos se muestran en la Tabla 21 y en las gráficas obtenidas con dichos resultados (Figura 57 y 58)

**Tabla 21.** Efecto inhibitor del carnosol (**20**) sobre la carcinogénesis en ratones (sistema DMBA-TPA)

Semana	Control positivo			
	DMBA (390 nmol) + TPA (1.7 nmol)		Carnosol (85 nmol) + TPA (1.7 nmol)	
	Papilomas (%)	Papilomas/ratón	Papilomas (%)	Papilomas/ratón
<b>1</b>	0	0	0	0
<b>2</b>	0	0	0	0
<b>3</b>	0	0	0	0
<b>4</b>	0	0	0	0
<b>5</b>	0	0	0	0
<b>6</b>	20.0	1.0	0	0
<b>7</b>	33.3	2.0	0	0
<b>8</b>	60.0	3.3	13.3	0.3
<b>9</b>	90.0	4.7	20.0	0.6
<b>10</b>	100	5.4	26.6	1.1
<b>11</b>	100	5.9	30.0	1.5
<b>12</b>	100	6.3	33.3	2.1
<b>13</b>	100	6.8	40.0	2.3
<b>14</b>	100	7.4	40.0	2.5
<b>15</b>	100	7.8	46.6	2.8
<b>16</b>	100	8.3	53.3	3.1
<b>17</b>	100	8.5	60.0	3.5
<b>18</b>	100	8.7	66.6	3.8
<b>19</b>	100	9.0	73.3	4.0
<b>20</b>	100	9.3	80.0	4.2

Como se observa en la Figura 57, el porcentaje de papilomas en el grupo control aumenta rápidamente a partir de la sexta semana y alcanza el máximo (100%) en la décima semana, a partir de la cual se mantiene constante, mientras que el tratamiento con carnosol, junto con el iniciador y el promotor, redujo a las 10 semanas de tratamiento el porcentaje de papilomas hasta un 73.4% (26.6% de papilomas), a partir de la cual aumenta hasta alcanzar a las 20 semanas, el 80% de formación.

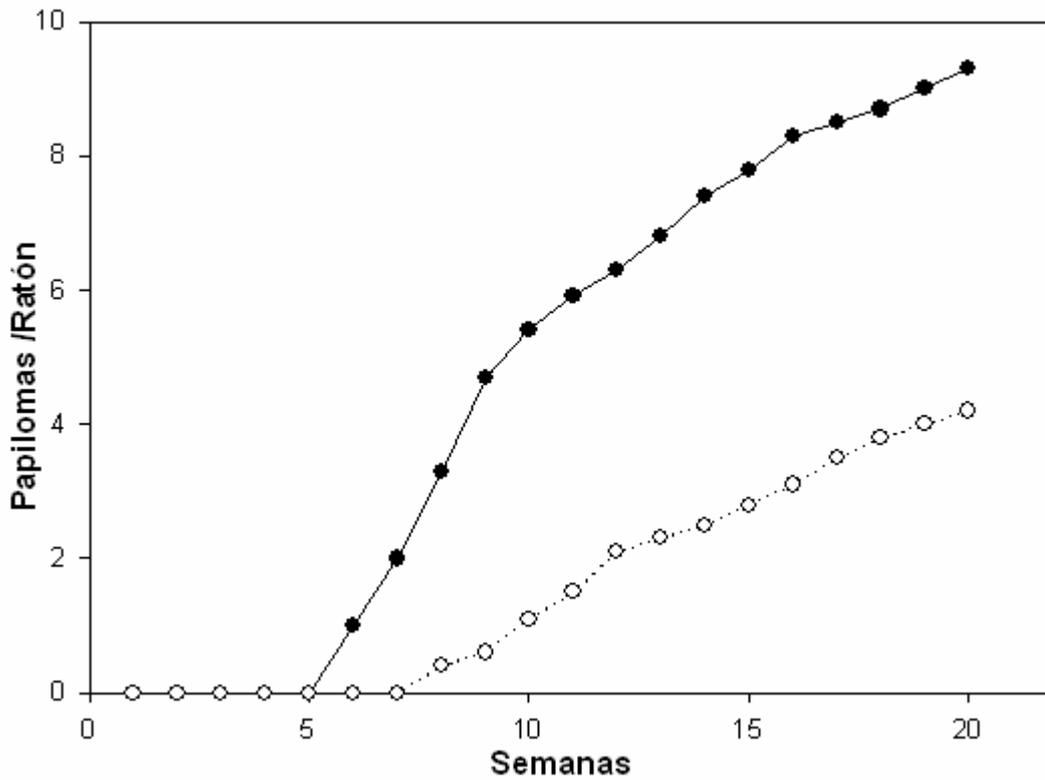


**Figura 57.** Inhibición de la promoción de tumores inducidos por TPA por aplicación múltiple de carnosol. La carcinogénesis se inició con DMBA (390 nmol) y se promovió con 1.7 nmol de TPA.

? Porcentaje de papilomas en el control (TPA). ? Porcentaje de papilomas en el ensayo TPA + 85 nmol de carnosol.

Por otra parte, como se observa en la Figura 58, el número de papilomas por ratón aumentó rápidamente en el grupo control a partir de la sexta semana de tratamiento y alcanza 9.3 papilomas/ratón a las 20 semanas. En el

grupo de ratones tratados con carnosol, se redujo más de la mitad el número de papilomas en el período de 20 semanas, alcanzando 4.2 papilomas/ratón al final del ensayo.



*Figura 58.* reducción de la formación de tumores (inducido por TPA) por el carnosol. La formación de tumores se inició con DMBA (390 nmol) y se redujo con 1.7 nmol de TPA.

Número de papilomas por ratón. ? Control (TPA), ? TPA + 85 nmol de carnosol.

Estos resultados tan alentadores nos animan a continuar en esta línea de trabajo a la búsqueda de diterpenos como potenciales agentes quimiopreventivos.

### ✿ **Determinación de la actividad inhibidora de colina quinasa**

Los ensayos realizados con este enzima se llevaron a cabo en el Instituto de Investigaciones Biomédicas, CSIC, Madrid en el marco de un proyecto de colaboración con el Dr. Juan Carlos Lacal.

La metodología seguida para la evaluación de la actividad inhibidora de la colina quinasa se realizó según el método descrito por Hernández-Alcobeda y col.<sup>26</sup>

Diferentes concentraciones de los productos a ensayar fueron incubadas a 37 °C durante 45 min. con 10 mU/mL de colina quinasa en un tampón conteniendo 100 mM Tris pH 8, 100 mM MgCl<sub>2</sub>, 10 mM ATP y 200 μM de cloruro de metil-[<sup>14</sup>C]colina (55 mCi/mmol, 2 μCi/ml) en un volumen final de 50 μL. La reacción se paró en hielo por adición de 10 μL de 500 mM de EDTA y se midió la radioactividad de colina y fosforilcolina. Los resultados se expresan como IC<sub>50</sub>, concentración de compuesto a la cual se alcanza el 50% de inhibición de la enzima, calculado usando una gráfica semilogarítmica de la relación de PCho/(PCho + Cho) frente a la concentración del compuesto a ensayar.

**Los compuestos evaluados como inhibidores de este enzima fueron los triterpenos de la serie del lupano:**

---

<sup>26</sup> Hernández-Alcoceba, R.; Saniger, L.; Campos, J.; Núñez, M. C.; Khaless, F.; Gallo, M. A.; Espinosa, A.; Lacal, J. C. *Oncogene*, 15, 2289-2301, 1997.

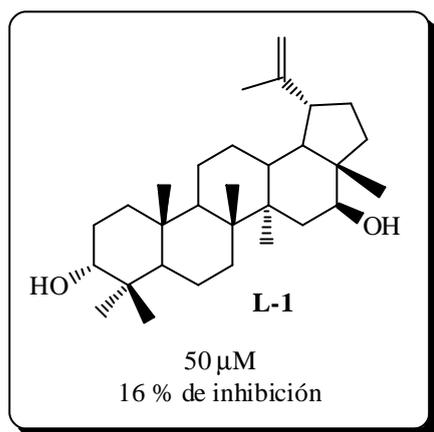
- **L-1, L-3, trans-cafeato de la betulina (8), betulina (9), 3-epiglochidiol (10), 6β,28-dihidroxi-3-oxolup-20(29)-eno (12), betulona (13) y ácido 6β-hidroxi-3-oxolup-20(29)-en-28-oico (14).**

### **Resultados y discusión**

Los resultados obtenidos indicaron que los compuestos ensayados no resultaron de interés, ya que presentaron un porcentaje de inhibición de la colina quinasa entre un 16-31 % (Tabla 22).

**Tabla 22.** Actividad inhibidora de colina quinasa de los triterpenos del lupano

Lupano	Concentración (μM)	% inhibición
<b>L-1</b>	50	16
<b>L-3</b>	50	25
<b>8</b>	150	31
<b>9</b>	150	20
<b>10</b>	150	21
<b>12</b>	150	24
<b>13</b>	150	21
<b>14</b>	50	24



## *ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA*

En los últimos años se ha observado un rápido incremento de microorganismos resistentes a los antibióticos clásicos, lo que ha provocado por un lado, la reaparición de muchas enfermedades, como la tuberculosis, el cólera, las neumonías y endocarditis por enterococos y por otro lado, la aparición de nuevas enfermedades infecciosas.<sup>1</sup> Hay que tener en cuenta que las bacterias poseen poblaciones infinitamente mutables, capaces de diseminar el carácter de resistencia, en donde plásmidos, transposones e integrones pueden proveer a una bacteria de elementos que codifiquen resistencia a antimicrobianos procedentes de las más variadas especies y géneros bacterianos. Así pues, además del papel fundamental que desempeñan los factores ecológicos en la aparición de nuevos microorganismos, las características genéticas de los patógenos explican, con sólidas bases biológicas, el resurgimiento de las enfermedades infecciosas. Por ello se sugiere, que la aparición y difusión de patógenos humanos resistentes es un problema ambiental que constituye una amenaza para la salud mundial. Ante estos problemas, cabe deducir la estricta necesidad de nuevos fármacos con carácter antimicrobiano, que bien mejoren los que están en uso, por tratamiento de factores de resistencias o que presenten nuevos modos de acción.

---

<sup>1</sup> Coates, A.; Hu, Y.; Bax, R.; Page, C. *Nat. Rev. Drug Disc.*, 1, 895-910, 2002.

### ✿ **Determinación de la actividad antimicrobiana**

La determinación de la actividad antimicrobiana fue realizada en el Departamento de Microbiología y Biología Celular de la Universidad de La Laguna por la Dra. Laila Moujir.

Para la realización de este trabajo se han empleado las siguientes estirpes microbianas: bacterias Gram positivas, *Staphylococcus aureus* ATCC6538, *S. epidermidis* CECT232, *S. saprophyticus* CECT235, *Bacillus subtilis* CECT39, *B. cereus* CECT496, *B. pumilus* CECT29, *B. megaterium* CECT44, *Mycobacterium smegmatis* CECT3032, *Enterococcus faecalis* CECT481; bacterias Gram negativas, *Escherichia coli* CECT99, *Proteus mirabilis* CECT170, *P. aeruginosa* CECT 118, *Salmonella sp* CECT450 y una levadura, *Candida albicans* UBC1.

La concentración mínima inhibitoria (CMI) se determinó por el método de microdilución en medio líquido utilizando placas de 96 pocillos. Los productos previamente disueltos en dimetilsulfóxido (DMSO) se preparan en el medio de experimentación (caldo nutritivo o BHI en el caso de bacterias o Sabouraud para la levadura) a doble de concentración de la requerida para iniciar el ensayo. Las placas se inoculan con una suspensión del microorganismo a ensayar, preparado a partir de cultivos de 18 horas en agitación a la temperatura de 37 °C, de forma que quedara una concentración celular en los pocillos de  $10^5$  unidades viables/mL. Cada ensayo se realizó por triplicado y como control se inoculan pocillos en las mismas condiciones pero carentes de producto y con DMSO a una concentración equivalente a la máxima utilizada en los cultivos problemas. En ningún caso la concentración de DMSO superó la

máxima tolerable por cada bacteria.<sup>2</sup> Tras 24 horas de incubación a 37 °C en agitación basculante se determina la turbidez de los cultivos en un lector de ELISA a 550 nm y el número de unidades viables por recuento en placas de agar nutritivo, BHI agar o Sabouraud.

**Los compuestos evaluados son los que se relacionan a continuación.**

- **Alcaloides sesquiterpénicos:** alatusinina, wilfordina, alatamina, euonimina, mayteina y forrestina.
  
- **Triterpenos de la serie del friedelano:** **F-1, F-2, F-3, F-4**, 28,29-dihidroxifriedelina, 29-hidroxifriedelina, *epifriedelinol* y *canophyllol*.
  
- **Triterpenos de la serie del lupano:** **L-3**, lupenona, 3-oxolup-20(29)-en-28-al, lupeol, *trans*-cafeato de la betulina, betulina, 3-*epiglochidiol*, *glochidiona*, 6 $\beta$ ,28-dihidroxi-3-oxolup-20(29)-eno, betulona, ácido 6 $\beta$ -hidroxi-3-oxolup-20(29)-en-28-oico, *glochidonol* y 3 $\beta$ ,28-dihidroxi-20-oxo-29-*norlupano*.

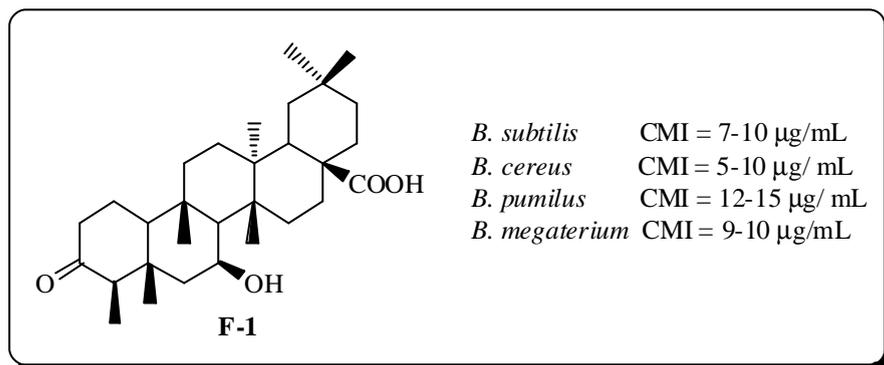
### **Resultados y discusión**

Los **alcaloides sesquiterpénicos** y los triterpenos de la serie del **lupano** ensayados resultaron inactivos frente a los microorganismos utilizados en este estudio (CMI > 40  $\mu$ g/mL).

De los compuestos de la serie del friedelano, el compuesto **F-1** presentó una actividad moderada (CMI entre 5-15  $\mu$ g/mL) frente a las especies de *Bacillus* utilizadas.

---

<sup>2</sup> González, A. G.; Ravelo, A. G.; Bazzocchi, I. L.; Jiménez, J.; González C. M.; Luis, J. G.; Ferro, E. A.; Gutiérrez, A.; Moujir, L.; Las Heras, F. G. *Il Fàrmaco*, 43, 501, 1988.



*ACTIVIDAD ANTIVIRAL*

El interés de la quimioterapia antiviral comenzó en la década de 1950, cuando la investigación de los agentes antitumorales se dirigió a la síntesis de inhibidores del ADN y se obtuvieron compuestos capaces de inhibir la síntesis del ADN viral. Los agentes antivirales se administraron por primera vez con éxito, durante la década de 1960, cuando Bauer utilizó preventivamente tiosemicarbazona (methisazona) en pacientes expuestos a la viruela<sup>1</sup> y Kaufman curó la queratitis herpética con ixoduridina, aplicada de manera tópica.<sup>2</sup>

Los progresos en la investigación de nuevos antivirales son lentos, dada la dificultad de encontrar compuestos capaces de inhibir a los virus respetando las funciones de la célula huésped. Durante la década de 1970 y los primeros años de la década de los 80 se desarrolló y se comercializó el aciclovir, el primer agente antiviral no tóxico, capaz de curar un amplio espectro de infecciones provocadas por el virus Herpes. Los últimos años de la década de los 80 y los primeros años de la década de los 90 se han caracterizado por la eclosión de agentes antivirales, en gran parte debido al desarrollo de la

---

<sup>1</sup> Bauer, D. J.; St. Vincent, L.; Kempe, C. H.; Downie, A. W. *Lancet*, ii, 494-496, **1963**.

<sup>2</sup> Kaufman, H. E.; Martola, E. L.; Dohlman, C. *Arch. Ophthalmol.*, 68, 235-239, **1962**.

epidemia del SIDA. Sin embargo, la necesidad de fármacos antivirales más efectivas y menos tóxicas, continúa siendo prioritario.

### ✚ Determinación de la actividad antiviral

Los ensayos realizados se llevaron a cabo en el Rega Institute for Medical Research, Bélgica por el Dr. Eric De Clercq y la metodología seguida para la evaluación de los distintos virus se detalla en trabajos de De Clercq y *col.*<sup>3,4</sup>

Los virus ensayados y sus principales características se presentan en la siguiente tabla.

**Tabla 23.** Clasificación de los virus ensayados

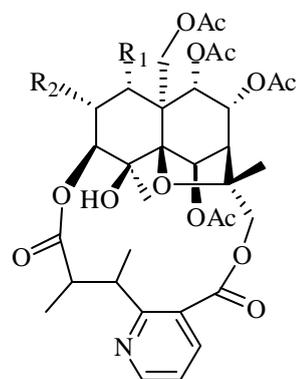
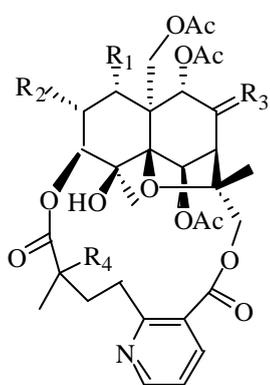
Familia - Subfamilia	Género	Virus	Enfermedad o síndrome clínico
<b>Herpesviridadae</b>			
Alphaherpesvirinae	<i>Virus simplex</i>	Herpes simplex 1 y 2 (HSV)	Herpes labial y herpes genital.
<b>Poxviridae</b>			
Chordopoxvirinae	<i>Orthopoxvirus</i>	Viruela	Viruela
<b>Rhabdoviridae</b>	<i>Vesiculovirus</i>	Virus de la estomatitis vesicular	Estomatitis vesicular
<b>Picornaviridae</b>	<i>Enterovirus</i>	Coxsackievirus B1-B5	Parálisis, carditis meningitis, enfermedades neonatales, fiebre sin foco, pleurodinia
<b>Paramyxoviridae</b>	<i>Pneumovirus</i>	Virus respiratorio sincitial (VRS)	Bronquitis, resfriado común, bronquiolitis, neumonía.
	<i>Paramyxovirus</i>	Virus parainfluenza 3	Bronquiolitis, resfriado, neumonía
<b>Reoviridae</b>	<i>Reovirus</i>	Reovirus tipo 1	Fiebre con diarrea en niños, afecciones respiratorias, cuadros eruptivos, hepáticos y neurológicos.
<b>Bunyaviridae</b>	<i>Phlebovirus</i>	Virus Punta Toro	Fiebre hemorrágica

<sup>3</sup> Andrei, G.; Snoeck, R.; Neyts, J.; Sandvold, M. L.; Myhren, F.; De Clercq, E. *Antivir. Res.*, 45, 157-167, 2000.

<sup>4</sup> Bergstrom, D. E.; Lin, X.; Wood, T. D.; Witvrouw, M.; Ikeda, S.; Andrei, G.; Snoeck, R.; Schols, D.; De Clercq, E. *Antivir. Chem. Chemoth.*, 13, 185-195, 2002.

**Los alcaloides sesquiterpénicos evaluados fueron:**

- 4-hidroxi-7-epichuchuhuanina E-V (**22**), chiapenina ES-I (**23**), chiapenina ES-II (**24**), chiapenina ES-III (**25**), chiapenina ES-IV (**26**), euonymina (**27**), ebenifolina E-I (**28**), forrestina (**29**), maytenina (**30**), wilfordina (**31**), alatusinina (**32**), euonina (**33**) y alatamina (**34**).



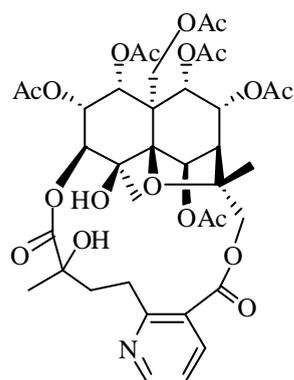
- 23**  $R_1 = R_2 = \text{OBz}$ ,  $R_3 = \alpha\text{-OAc}$ ,  $\beta\text{-H}$ ,  $R_4 = \text{OH}$   
**24**  $R_1 = R_2 = \text{OBz}$ ,  $R_3 = \text{O}$ ,  $R_4 = \text{OH}$   
**25**  $R_1 = \text{OBz}$ ,  $R_2 = \text{OH}$ ,  $R_3 = \text{O}$ ,  $R_4 = \text{OH}$   
**26**  $R_1 = \text{OAc}$ ,  $R_2 = \text{OH}$ ,  $R_3 = \text{O}$ ,  $R_4 = \text{OH}$   
**31**  $R_1 = \text{OAc}$ ,  $R_2 = \text{OBz}$ ,  $R_3 = \alpha\text{-OAc}$ ,  $\beta\text{-H}$ ,  $R_4 = \text{OH}$   
**32**  $R_1 = R_2 = \text{OAc}$ ,  $R_3 = \alpha\text{-OAc}$ ,  $\beta\text{-H}$ ,  $R_4 = \text{OH}$   
**33**  $R_1 = R_2 = \text{OAc}$ ,  $R_3 = \alpha\text{-OAc}$ ,  $\beta\text{-H}$ ,  $R_4 = \text{H}$   
**34**  $R_1 = \text{OAc}$ ,  $R_2 = \text{OBz}$ ,  $R_3 = \text{O}$ ,  $R_4 = \text{OH}$

- 22**  $R_1 = \text{OAc}$ ,  $R_2 = \text{OH}$   
**27**  $R_1 = R_2 = \text{OAc}$   
**28**  $R_1 = \text{OBz}$ ,  $R_2 = \text{OH}$   
**29**  $R_1 = \text{OAc}$ ,  $R_2 = \text{OBz}$   
**30**  $R_1 = \text{OBz}$ ,  $R_2 = \text{OAc}$

## Resultados y discusión

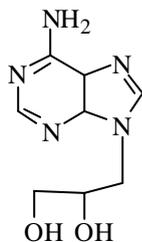
Los resultados obtenidos en la determinación antiviral de los alcaloides sesquiterpénicos, mostraron que el único compuesto con una actividad significativa fue alatusinina (**32**) con una CMI = 8  $\mu\text{g/mL}$  frente a los virus parainfluenza 3, reovirus tipo 1 y punta toro. Sin embargo, resultó ser también el compuesto más citotóxico (CMI = 40  $\mu\text{g/mL}$ ) en la línea celular Vero (células de riñón de mono verde) usada en la realización de los ensayos.

El resto de los compuestos evaluados presentaron una CMI > 200  $\mu\text{g/mL}$  frente a las células Vero, pero fueron inactivos (CMI > 120  $\mu\text{g/mL}$ ) frente a todos los virus ensayados.



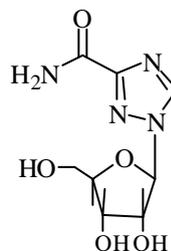
Alatusinina (**32**)

Virus parainfluenza 3	CMI = 8 $\mu\text{g/mL}$
Reovirus tipo 1	CMI = 8 $\mu\text{g/mL}$
Virus unta toro	CMI = 8 $\mu\text{g/mL}$
Citotoxicidad (Vero)	CMI = 40 $\mu\text{g/mL}$



(s)-DHPA como control

Virus parainfluenza 3 CMI = 16  $\mu\text{g/mL}$



Rivabirina como control

Reovirus tipo 1 CMI = 48  $\mu\text{g/mL}$   
Virus punta toro CMI = 48  $\mu\text{g/mL}$

*ACTIVIDAD INHIBIDORA DE ENZIMAS  
IMPLICADAS EN EL METABOLISMO:  
Xantina oxidasa y  $\beta$ -glucuronidasa*

Durante la última década se ha intensificado el uso de ensayos enzimáticos hacia la búsqueda de sustancias bioactivas presentes en los vegetales. En este sentido, son diversos los trabajos en los que se describen productos naturales que actúan como inhibidores de xantina oxidasa<sup>1</sup> y  $\beta$ -glucuronidasa.<sup>2</sup>

La **xantina oxidasa**, es una enzima versátil y ampliamente distribuida, encontrándose desde el hombre a las bacterias,<sup>3</sup> que cataliza la hidroxilación de muchas bases púricas y convierte la hipoxantina en xantina y ésta en ácido úrico, responsable de la enfermedad de la gota. Por otro lado, en esta misma cascada oxidativa se producen aniones superóxidos que pueden contribuir no sólo al daño tisular sino también al desarrollo del cáncer, por lo que se sugiere que sustancias inhibidoras de esta enzima no sólo serían beneficiosas en el tratamiento de la gota sino también como inhibidores de la carcinogénesis química.

Actualmente, se ha incentivado la búsqueda de moléculas efectivas capaces de interferir con la generación de especies activas y/o dificultar el

---

<sup>1</sup> Ohnishi, M.; Tanaka, T.; Makita, H.; Kaguamori, T.; Mori, H. *J. Cancer Reserarch*, 87, 349-356, **1996**.

<sup>2</sup> Schmeda-Hirschmann, G.; Loyola, J. I.; Reyes, S.; Hubert, E.; Rodríguez, M.; Dutra-Behrens, M. *Phytoter. Res.*, 8, 49-51, **1994**.

<sup>3</sup> Stevens, C. R.; Millar, T. M.; Clinch, J. G.; Kanczler, J. M.; Bodamyali, T.; Black, D. R. *Lancet*, 356, 829-830, **2000**.

curso de la cascada peroxidativa. De acuerdo con ello, son cada vez más las sustancias de origen natural que se describen como agentes secuestrantes de radicales libres e inhibidores de xantina oxidasa (quercetina,<sup>4,5</sup> hesperidina,<sup>6</sup> etc.).

Por otro lado, se ha demostrado que los compuestos hepatotóxicos producen un aumento de la actividad de la **enzima  $\beta$ -glucuronidasa**, la cual está implicada en la hidrólisis de los  $\beta$ -glucurónidos conjugados a alcohol y ácido glucurónico de sustancias derivadas del metabolismo y toxinas. Un aumento endógeno de esta enzima puede ser responsable de la formación de cálculos biliares, sugiriéndose que inhibidores de esta enzima juegan un papel hepatoprotector.<sup>7</sup>

### ✿ **Determinación de la actividad inhibidora de xantina oxidasa y $\beta$ -glucuronidasa**

La actividad inhibidora frente a las enzimas seleccionadas, xantina oxidasa y  $\beta$ -glucuronidasa fue realizada en el Departamento de Microbiología y Biología Celular de la Universidad de La Laguna por la Dra. Laila Moujir.

Los productos a una concentración de 10  $\mu\text{g/mL}$  se incubaron a 25 °C en presencia de una solución de xantina oxidasa y xantina, parándose la reacción al cabo de 30 min., por adición de HCl. Como control se usó alopurinol, un conocido inhibidor de **xantina oxidasa**. La actividad enzimática se determinó espectroscópicamente a una absorbancia de 290 nm y de aquellos productos que presentaron una inhibición > 50%, se determinó su  $\text{CI}_{50}$  en  $\mu\text{g/mL}$ .<sup>8</sup>

Los productos disueltos en DMSO a una concentración de 10  $\mu\text{g/mL}$ , se incubaron con una solución de  **$\beta$ -glucuronidasa** de hígado bovino a 37°C durante 30 min., parándose la reacción por adición de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  0.2 M. La

---

<sup>4</sup> Schmeda, G. H.; Zúñiga, J.; Dutra, M. B.; Habermehl, G. *Phytother. Res.*, 10, 260-262, 1996.

<sup>5</sup> Costantino, L.; Rostelli, G.; Albasini, A. *Int. J. Pharm.*, 86, 17-23, 1992.

<sup>6</sup> Chang, W. S.; Lee, Y. J.; Lu, F. J.; Chiang, H. C. *Anticancer Res.*, 13, 2165-2170, 1999.

<sup>7</sup> Gao, Y.; Lin, Z.-H.; Huang, M.; Zhou, S. *Int. J. Med. Mush.*, 5, 111-131, 2003.

<sup>8</sup> González, A. G.; Bazzocchi, I. L.; Moujir, L.; Ravelo, A. G.; Correa, M. D.; Gupta, M. P. *J. Ethnopharmacol.*, 46, 25-29, 1995.

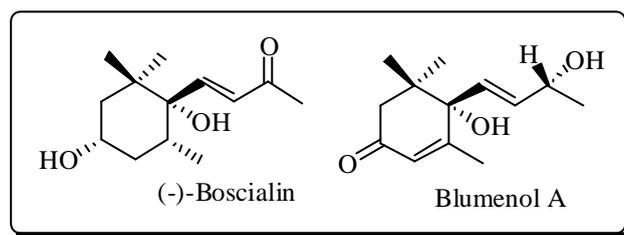
actividad enzimática se determinó espectroscópicamente a una absorbancia de 405 nm y como control se usó glucosaccharo-1,4-lactona. Los productos que presentaron una inhibición alrededor del 50%, se les determinó su  $CI_{50}$ .<sup>9</sup>

**Los compuestos seleccionados para evaluar como inhibidores de estas enzimas son los que se relacionan a continuación:**

- **Alcaloides sesquiterpénicos:** alatusinina, wilfordina, alatamina, euonymina, mayteina y forrestina.
- **Triterpenos de la serie del friedelano:** F-1, F-2, F-3, F-4, 28,29-dihidroxifriedelina (1), 29-hidroxifriedelina (2), epifriedelinol (3) y canophyllol (4).
- **Triterpenos de la serie del lupano:** L-3, lupenona (5), 3-oxolup-20(29)-en-28-al (6), lupeol (7), *trans*-cafeato de la betulina (8), betulina (9), 3-epiglochidiol (10), glochidiona (11), 6 $\beta$ ,28-dihidroxi-3-oxolup-20(29)-eno (12), betulona (13), ácido 6 $\beta$ -hidroxi-3-oxolup-20(29)-en-28-oico (14), 3 $\beta$ ,28-dihidroxi-20-oxo-29-*nor*lupano (15) y glochidonol (16).
- **C<sub>13</sub>-norisoprenoides:** (-)-boscialin y blumenol A.

---

<sup>9</sup> Sang-Bum, S.; Nam-Jae, K.; Dong-Hyun, K. *Planta Med.*, 66, 40-43, 2000.



## Resultados y discusión

Los resultados obtenidos en la evaluación de los productos anteriormente mencionados con las dos enzimas, se presentan en la Tabla 24.

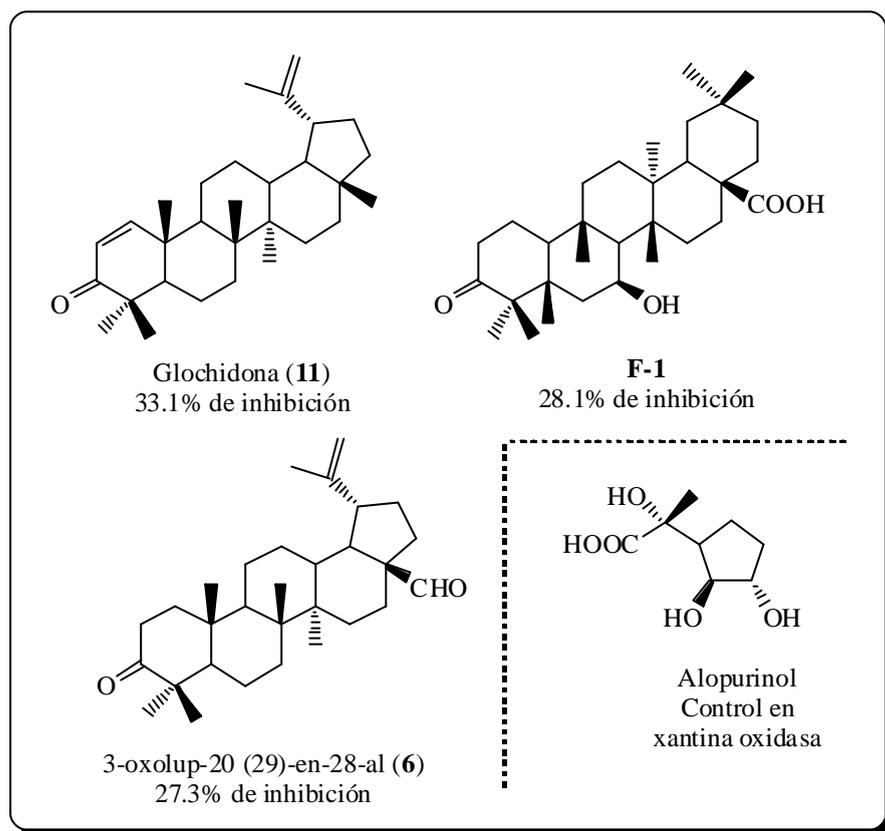
**Tabla 24.** Actividad inhibidora de los productos evaluados<sup>a</sup> frente a xantina oxidasa y  $\beta$ -glucucoridasa.

Producto	% inhibición xantina oxidasa	% inhibición $\beta$ -glucucoridasa
<b>Alatusinina</b>	5.3	0
<b>Wilfordina</b>	0	0
<b>Alatamina</b>	7.3	0
<b>Euonymina</b>	0.8	3.1
<b>Maytenina</b>	4.8	10.7
<b>Forrestina</b>	8.3	11.3
<b>F-1</b>	0	20.9
<b>F-2</b>	5.8	4.5
<b>F-3</b>	28.1	4.5
<b>F-4</b>	0	17.7
<b>1</b>	0	15.2
<b>2</b>	17.1	23.5
<b>3</b>	8.2	22.5

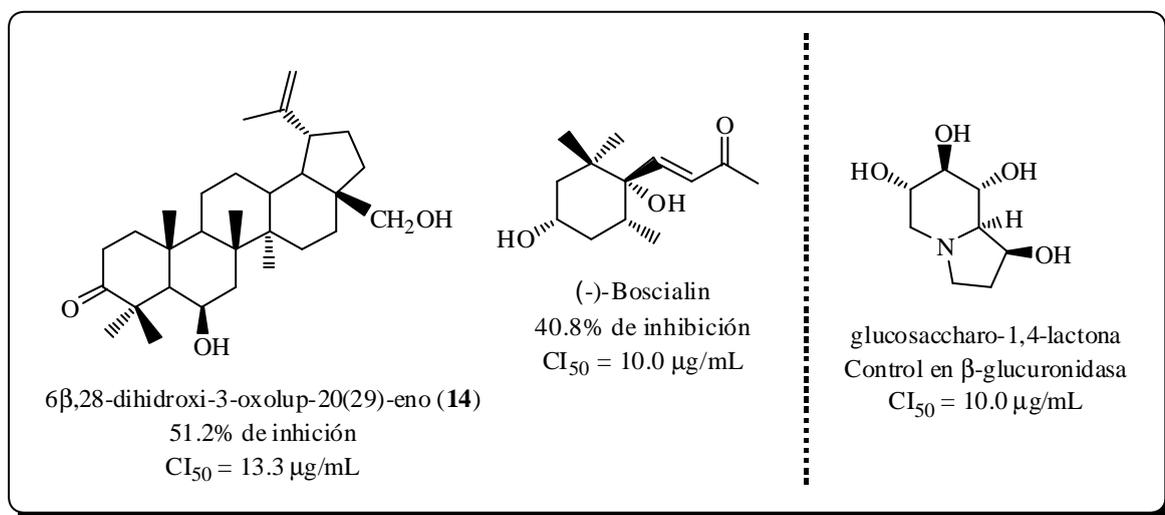
<b>4</b>	0	6.8
<b>L-3</b>	10.4	36.4, CI <sub>50</sub> = 26.0 µg/mL
<b>5</b>	19.5	21.2
<b>6</b>	27.3	15.9
<b>7</b>	0	4.5
<b>8</b>	19.2	0
<b>9</b>	5	17.3
<b>10</b>	4	43.2, CI <sub>50</sub> = 25.3 µg/mL
<b>11</b>	33.1	18.1
<b>12</b>	12.7	0
<b>13</b>	0	37.9
<b>14</b>	0	51.2, CI <sub>50</sub> = 13.3 µg/mL
<b>15</b>	2.9	4.3
<b>16</b>	0	17.8
<b>(-)-Boscialin</b>	24.8	40.8, CI <sub>50</sub> = 10.0 µg/mL
<b>Blumenol A</b>	0	15.2

<sup>a</sup> Los productos fueron evaluados a una concentración de 10 µg/mL, utilizando como control para xantina oxidasa, alopurinol (CI<sub>50</sub> = 0.038 µg/mL) y para β-glucuronidasa, glucosaccharo-1,4-lactona (CI<sub>50</sub> = 10.0 µg/mL).

Los compuestos que presentan mayor actividad inhibidora de la enzima xantina oxidasa fueron **11**, **F-3** y **6**, con inhibiciones de 33.1%, 28.1% y 27.3%, respectivamente.



Con respecto a los resultados obtenidos en la evaluación de inhibidores de la  $\beta$ -glucuronidasa, los lupanos **L-3**, **10** y **14** presentaron una actividad significativa, siendo **14** el más potente con un 51.2% de inhibición y una  $CI_{50}$  de 13.3  $\mu\text{g/mL}$ . De los dos  $C_{13}$ -norisoprenoides ensayados, (-)-boscialin resultó activo con un 40.8% de inhibición de la enzima  $\beta$ -glucuronidasa.



***ACTIVIDAD ANTIPARASITARIA***

El descubrimiento de la quinina aislada de *Cinchona succiruba* (Rubiaceae) y su subsiguiente desarrollo como fármaco antimalárico, representó un hito en la historia de los fármacos aislados de la naturaleza para el tratamiento de enfermedades parasitarias. Los primeros estudios sobre productos naturales fueron seguidos por una era de síntesis orgánica que llevó al desarrollo de fármacos líderes como antiprotozoarios, como por ejemplo: derivados arsenicales y antimoniatos (melarsoprol, antimonio de meglumina), diamidina (pentamidina) y heterociclos nitrogenados (metronidazol).

Sin embargo, en la actualidad los fármacos utilizados para tratar las principales parasitosis de interés: malaria, tripanosomiasis y leishmaniasis, presentan serios problemas, ya sea porque los medicamentos en uso son pocos eficaces y/o tóxicos o porque los parásitos han desarrollado algún tipo de resistencia.

Cabe destacar, además, que la investigación en la búsqueda de fármacos eficaces frente a las grandes enfermedades parasitarias, ha disminuido desde hace varios años en casi todas las empresas farmacéuticas internacionales. Este fenómeno es debido, principalmente, a la corta vida comercial de los mismos, causa del rápido establecimiento de la resistencia y a los bajos

ingresos económicos provenientes de la venta de estos medicamentos, que por los elevados costos de desarrollo son denominados “huérfanos” de la ciencia “comercial”.

En nuestro esfuerzo por buscar sustancias con posible aplicación en el tratamiento de la leishmaniasis, hemos seguido como estrategia la búsqueda de revertidos de la multiresistencia a fármacos, dado el grave problema que origina la aparición de resistencia a los fármacos actualmente en uso. Así mismo, hemos centrado nuestro esfuerzo en la búsqueda de compuestos activos frente a *Trypanosoma cruzi*, responsable de la enfermedad de Chagas.

### **Actividad revertidora de la multiresistencia a fármacos en *Leishmania***

La leishmaniasis es una de las principales enfermedades protozoarias, siendo la segunda enfermedad parasitaria que produce más muertes al año, después de la malaria. Doce millones de personas en 88 países distintos sufren sus efectos y alrededor de 350 millones de personas están en situación de riesgo.<sup>1</sup> Recientemente, se ha producido un aumento desmesurado en la incidencia de la leishmaniasis, debido principalmente a los pacientes inmunodeprimidos por infecciones víricas y a fenómenos de resistencia, desarrollado por los parásitos frente a los fármacos utilizados. Actualmente, los fármacos utilizados son los antimoniales pentavalentes (Petostam o Glucantina), fármacos que necesitan un tratamiento largo y una administración vía parenteral; sin embargo, el principal problema que plantean son los elevados niveles de resistencia.

En nuestro grupo de trabajo existe una línea de investigación dirigida a la búsqueda de revertidores de la multiresistencia a fármacos (MDR) en *Leishmania tropica*. Trabajos previos, han mostrado que los sesquiterpenos agarofuránicos son prometedores agentes revertidores de MDR.<sup>2</sup>

---

<sup>1</sup> Hirst, S. I.; Staplet, L. A. *Parasitol Today*, 16, 1-3, 2000.

<sup>2</sup> Pérez-Victoria, J. M.; Tincusi, B. M.; Jiménez, I. A.; Bazzocchi, I.; Gupta, P.; Castanys, S.; Gamarro, F.; Ravelo A. G. *J. Med. Chem.*, 42, 4388-4393, 1999.

La relevancia clínica del fenómeno de la multiresistencia, durante el tratamiento quimioterapéutico, ha potenciado los esfuerzos por desarrollar compuestos capaces de inhibir el eflujo de fármacos al medio extracelular y que se restablezca así la toxicidad intracelular de los mismos. Dentro de los mecanismos implicados en el fenotipo MDR, se ha descrito una glicoproteína de membrana denominada glicoproteína-P o Pgp, cuya sobreexpresión disminuye la acumulación intracelular de fármaco a la vez que confiere una resistencia cruzada frente a un gran número de fármacos estructural y funcionalmente distintos al que originó inicialmente la resistencia. La Pgp es una proteína transportadora situada en la membrana plasmática, perteneciente a la superfamilia de proteínas ABC (ATP-binding cassete), que suele encontrarse sobreexpresada en células cancerígenas, en parásitos, en hongos y levaduras patógenas. La Pgp expulsa los fármacos usando como fuente de energía la hidrólisis del ATP, confiriendo un fenotipo de multiresistencia a fármacos.

Desde la identificación del primer compuesto, el verapamil<sup>3</sup> capaz de revertir el fenotipo MDR en el año 1981 hasta ahora, se han descubierto numerosas sustancias que modulan *in vitro* la actividad Pgp y con muchas de ellas se han llevado a cabo ensayos clínicos en humanos. Sin embargo, hasta la fecha, ningún compuesto con actividad quimiosensibilizadora ha demostrado ser clínicamente útil, debido a la ineficacia *in vitro* o especialmente, a su toxicidad intrínseca. Por lo tanto, la identificación de compuestos revertidores más específicos, potentes, no transportados y menos tóxicos para el paciente continúa.

Dado el interés suscitado por la búsqueda de sustancias revertidoras del fenotipo MDR, los productos naturales no han quedado al margen y son numerosos los productos ensayados, entre los que podemos destacar los flavonoides<sup>4</sup> y los sesquiterpenos.<sup>5</sup>

---

<sup>3</sup> Tsuruo, T.; Iida, H.; Tsukagoshi, S.; Sakurai, Y. *Cancer Res.*, 41, 1967-1972, **1981**.

<sup>4</sup> Pérez-Victoria, J. M.; Di Prieto, A.; Barron, D.; Ravelo, A. G.; Castanys, S.; Gamarro, F. *Current Drug Targets*, 3, 311-333, **2003**.

<sup>5</sup> Kim, S. E.; Kim, H. S.; Hong, Y. S.; Kim, Y. C.; Lee, J. J. *Nat. Prod.*, 62, 697-700, **1999**.

**Actividad antichagas**

El Mal de Chagas,<sup>6</sup> lo sufren en la actualidad aproximadamente 20 millones de personas y tiene carácter más grave en los lactantes sobre todo de corta edad, a los que le puede ocasionar la muerte, siendo las zonas endémicas, un importante factor de mortalidad infantil.

El agente causal de esta enfermedad es un parásito unicelular, el *Trypanosoma cruzi*, que se encuentra en el intestino de un insecto hematófago, conocido comúnmente como “chinche” o “vinchuca”. La distribución de la vinchuca, es sumamente amplia, siendo las zonas más afectadas las provincias de clima cálido o templado y seco.

Esta enfermedad tiene una evolución en tres periodos: agudo o de comienzo, intermedio o de latencia y crónico. En ocasiones hay signos en el organismo que delatan la puerta de entrada de la infección, el complejo oftalmoganglionar o signo de Romana, que representa una manifestación de gran valor diagnóstico; lamentablemente, se ve sólo en no más de 4% del total de formas agudas y esta inflamación ocular desaparece lentamente en el curso de la fase aguda de la infección.

¿Se puede curar el Mal de Chagas-Mazza?. A pesar del avance de las ciencias médicas, todavía no se ha encontrado el ideal para curar esta enfermedad. El problema es grave, ya que una vez instaladas las lesiones en el organismo (lesiones que son destructivas), no se vuelve a restituir la zona afectada y las lesiones persisten durante toda la vida de la persona enferma.

La enfermedad de Chagas se trata hoy en día con nifutimox (derivado nitrofuránico) o con benzimidazol (derivado imidazólico), que alcanzan eficacia satisfactoria en la fase aguda y precaria en la forma crónica de la enfermedad. Sin embargo, ambos son poco eficaces y presentan numerosos efectos secundarios, además de ser potencialmente mutagénicos.

---

<sup>6</sup> Grueiro, M. M. *Tesis Doctoral*, Universidad Complutense de Madrid, 2000.

## ☉ **Determinación de la actividad revertidora de la multiresistencia a fármacos**

Trabajos previos llevados a cabo en colaboración con los Dres. Gamarro y Castanys del Instituto López-Neyra, CSIC (Granada) de la actividad revertidora de sesquiterpenos agarofuránicos, sobre una cepa resistente a daunomicina de *Leishmania tropica*, revelaron que **estos sesquiterpenos son excelentes revertidores.**

Ello nos motivó a evaluar los sesquiterpenos aislados de *M. chiapensis* como potenciales modulares en una línea de *L. tropica* resistente, de acuerdo a un protocolo establecido.<sup>7</sup>

La viabilidad de los parásitos en presencia de los diferentes sesquiterpenos fue analizada por el método colorimétrico del MTT (bromuro de 3-(4,5-dimetiltrazol-2-1)-2,5-difeniltetrazolio).<sup>8</sup> El ensayo se llevó a cabo en placas de 96 pocillos, depositándose 50  $\mu$ L ( $3 \times 10^5$  células) de una suspensión de formas promastigote del parásito en fase logarítmica y 50  $\mu$ L del compuesto a ensayar disuelto en DMSO (no superior a 0.3%). Para determinar la actividad quimiosensibilizadora de los sesquiterpenos, las formas promastigotes se expusieron a daunomicina (150  $\mu$ M) y a los sesquiterpenos. La citotoxicidad intrínseca de los compuestos se determinó por exposición de la cepa salvaje de *L. tropica* a los mismos en ausencia de daunomicina. Después de 72 h de incubación a 28 °C, la viabilidad de los promastigotes se determinó por el método colorimétrico del MTT.<sup>9</sup> Así, se añadieron 10  $\mu$ L de MTT en cada pocillo y las placas se incubaron por un período adicional de 4 horas. Los cristales de formazán fueron disueltos agregando 100  $\mu$ L de SDS al 20%, leyéndose la absorbancia a 540 nm. La supervivencia de las células se determinó dividiendo la absorbancia del sesquiterpeno a una concentración

---

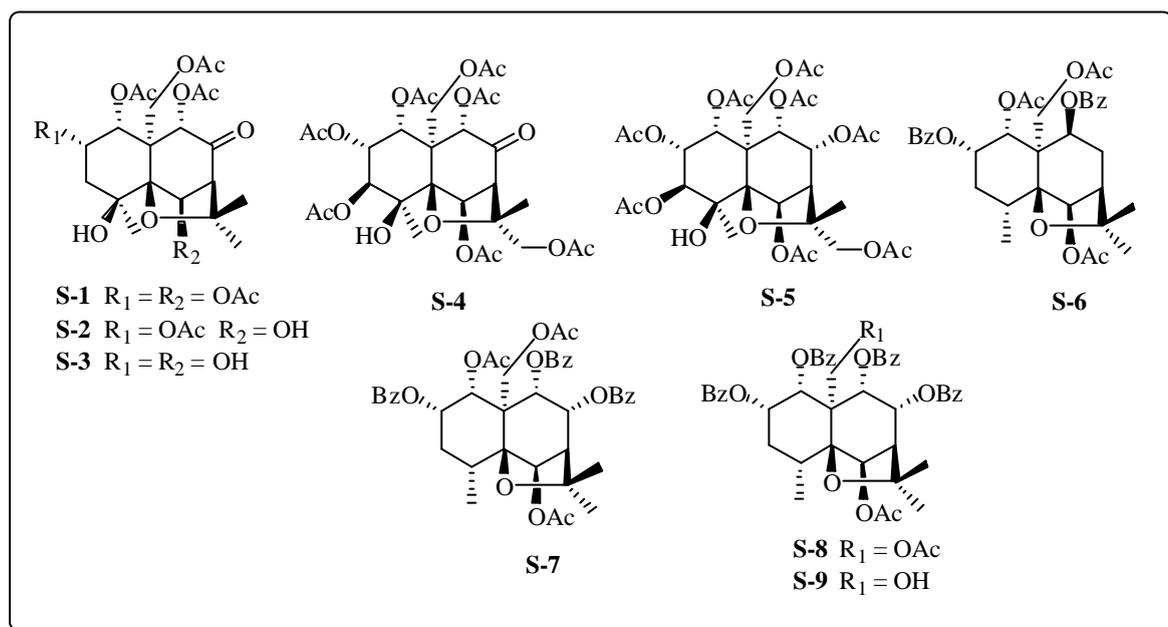
<sup>7</sup> Kennedy, M. L.; Cortés-Selva, F.; Pérez-Victoria, J. M.; Jiménez, I. A.; González, A. G.; Muñoz, M.; Gamarro, F.; Castanys, S.; Ravelo, A. G. *J. Med. Chem.*, 44, 4668-4676, **2001**.

<sup>8</sup> Mosmann, T. *J. Immunol. Methods*, 65, 55-63, **1983**.

<sup>9</sup> Mosmann, T. *J. Immunol. Methods*, 65, 55-63, **1983**.

entre la absorbancia de células del control. Los resultados se expresan como porcentaje de inhibición del crecimiento.

Los **sesquiterpenos** evaluados como revertidores de la multiresistencia a fármacos son los que se relacionan a continuación.



## Resultados y discusión

Los resultados obtenidos en los ensayos para determinar el efecto revertidor de los sesquiterpenos en una línea con fenotipo MDR resistente de *L. tropica* y los resultados obtenidos en una cepa salvaje de parásitos sin droga se muestran en las Tablas 25 y 26, respectivamente.

**Tabla 25.** Efecto de los sesquiterpenos en el crecimiento de una cepa con fenotipo MDR de *Leishmania tropica*

Inhibición del crecimiento (%)							
S	60 $\mu$ M	30 $\mu$ M	15 $\mu$ M	7.5 $\mu$ M	3.75 $\mu$ M	1.87 $\mu$ M	0.9 $\mu$ M
S-4	28.0 $\pm$ 7.1	3.0 $\pm$ 3.8	0.0	0.0	0.0	-	-
S-6	93.7 $\pm$ 2.3	93.0 $\pm$ 2.6	91.3 $\pm$ 2.1	79.3 $\pm$ 5.7	41.3 $\pm$ 10.6	19.0 $\pm$ 1.0	9.0 $\pm$ 1.4
S-7	15.0 $\pm$ 3.6	13.0 $\pm$ 3.6	11.3 $\pm$ 3.5	12.7 $\pm$ 7.6	4.0 $\pm$ 4.4	4.3 $\pm$ 3.2	-
S-8	6.3 $\pm$ 7.8	2.7 $\pm$ 3.8	-	-	-	-	-
S-9	20.5 $\pm$ 2.1	11.0 $\pm$ 0.0	11.5 $\pm$ 3.5	8.5 $\pm$ 3.5	4.0 $\pm$ 2.8	-	-

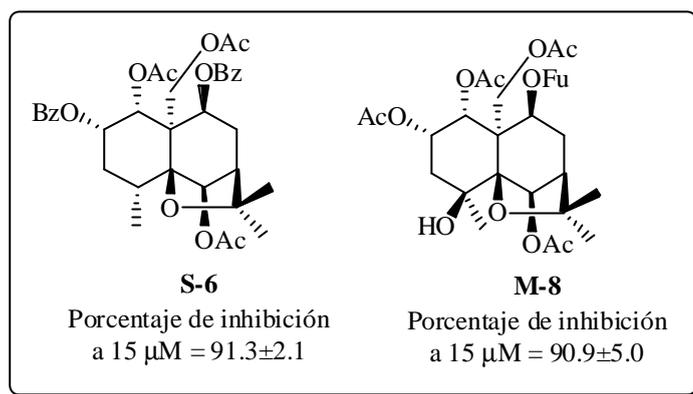
**Tabla 26.** Efecto de los sesquiterpenos en el crecimiento de una cepa salvaje de *Leishmania tropica*

Inhibición del crecimiento (%)							
S	60 $\mu$ M	30 $\mu$ M	15 $\mu$ M	7.5 $\mu$ M	3.75 $\mu$ M	1.87 $\mu$ M	0.9 $\mu$ M
S-4	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	-	-
S-6	18.0 $\pm$ 8.5	2.5 $\pm$ 3.5	1.5 $\pm$ 0.7	-	-	-	-
S-7	1.5 $\pm$ 2.1	-	-	-	-	-	-
S-8	7.0 $\pm$ 1.4	2.5 $\pm$ 3.5	-	-	-	-	-
S-9	2.5 $\pm$ 3.5	1.0 $\pm$ 0.0	-	-	-	-	-

Después de 72 horas de incubación de los parásitos en un medio con 150  $\mu$ M de dauomicina y diferentes concentraciones de los sesquiterpenos ensayados, se observó una inhibición significativa del crecimiento para el sesquiterpeno **S-6**.

Estos resultados están de acuerdo con trabajos previos, en el cual el compuesto **S-6** que es el producto más activo presenta un esqueleto base relacionado con los sesquiterpenos más activos aislados de *Maytenus cuzcoina* Loesener (Ej. **M-8**),<sup>10</sup> que posee un esqueleto de 3-deoximaytol.

<sup>10</sup> Cortés-Selva, F.; Campillo, M.; Reyes, P. C.; Jiménez, I. A.; Castany, S.; Bazzocchi, I. L.; Pardo, L.; Gamarro, F.; Ravelo, A.G. *J. Med. Chem.*, **2003**, en prensa.



En el futuro, dado los excelentes resultados obtenidos con **S-6**, se pretenden realizar estudios encaminados a determinar el mecanismo de acción.

### ☛ Determinación de la actividad antichagas

La determinación de la actividad frente a *Trypanosoma cruzi* fue realizada por el Profesor Antonio R. Martínez del Departamento de Parasitología de la Universidad Complutense de Madrid.

Para determinar la actividad anti-chagas se realizó un primer cribado frente a epimastigotes de *T. cruzi*, así como la determinación de la citotoxicidad frente a macrófagos. Aquellos compuestos que presentaron una actividad significativa se ensayaron frente a formas amastigote del parásito.

### **Cribado de productos frente a epimastigotes de *T. cruzi***

El cribado clásico, se comienza preparando un cultivo en masa homogéneo. Para ello, se siembran 500,000 epimastigotes/mL en medio LIT suplementado con un 10% de SBF (suero bovino fetal). Tras 2-3 días de incubación a 28 °C, se toma una alícuota y mediante recuento microscópico se determina la concentración del cultivo (inóculo inicial o inóculo a tiempo cero). El cultivo se transfiere a placas Nunclon de 24 pocillos, distribuyendo 2 mL en cada uno de los pocillos y se añade el producto a ensayar disuelto en DMSO,

siendo las concentraciones de producto ensayadas 100, 10 y 1 µg/mL, cada una de las cuales se prueba 3 veces. Tras 2-6 días de incubación a 28 °C, se procede al recuento microscópico del número de epimastigotes/mL en cada pocillo. Se calcula la media ( $\bar{x}$ ) y desviación estándar ( $S_{n-1}$ ) de los 3 pocillos con la misma concentración de los productos y se compara con la media de epimastigotes/mL de los 6 pocillos control, expresándose el resultado como porcentaje de inhibición.

### **Citotoxicidad inespecífica de los productos frente a macrófagos J774**

Se añade a placas de 96 pocillos, 100 µL de medio que contienen 70,000 macrófagos. Tras 24 horas de incubación a 37 °C se retira el medio y se añade medio fresco con los productos disueltos a las concentraciones de 100, 10 y 1 µg/mL, ensayos que se realizan por duplicado. Para la evaluación de la actividad se emplea el método propuesto por Hattori y Nakanishi,<sup>11</sup> basado en la reducción a nivel mitocondrial del MTT.

Para calcular la actividad se emplea la siguiente fórmula:

$$\%C = 100 - (A_{\text{fármaco}} - A_{\text{blanco fármaco}}) / (A_{\text{Control}} - A_{\text{blanco}}) \times 100$$

donde,

%C = porcentaje de citotoxicidad inespecífica frente a macrófagos;

$A_{\text{fármaco}} - A_{\text{blanco fármaco}}$  = absorbancia media de los pocillos de un producto a una concentración determinada, menos la absorbancia de su blanco;

$A_{\text{control}} - A_{\text{blanco}}$  = absorbancia media de los pocillos control, menos la absorbancia media de los blancos control.

### **Cribado de productos frente a amastigotes de *T. cruzi***

Se comienza por una infección de los macrófagos J774 con tripomastigotes metacíclicos, en placas de 24 pocillos. Dentro de cada pocillo se coloca un cubre redondo de vidrio estéril, sobre el que se adhieren las células y en cada pocillo

---

<sup>11</sup> Hattori, Y.; Nakanashi, N. *Cell. Immunol.*, 165, 7-11, 1995.

se añaden 50,000 células, 500,000 tripomastigotes y 1 mL de medio de cultivo RPMI. Tras 24 horas a 37 °C y 5% CO<sub>2</sub>, se retira el medio, se lavan las células con PBS estéril y se añaden 2 mL de medio suplementado con 20% SBF y los productos a ensayar. Las concentraciones ensayadas son aquellas que no son citotóxicas para los macrófagos (citotoxicidad inespecífica < 50%). Cada concentración se ensaya por triplicado, empleándose 6 pocillos sin producto como control.

La actividad se evalúa a las 48 horas de contacto con el producto. Se realiza una tinción May-Grünwald/Giemsa, sobre los propios pocillos tras retirar el medio. Los cubres teñidos se fijan con DPX a un porta y se determina mediante microscopia, con el objetivo de inmersión, el número de amastigotes que hay por cada 100 núcleos de macrófagos.

La actividad anti-amastigote se calcula con la siguiente fórmula:

$$\%C = 100 - (A_{\text{fármaco}} / A_{\text{control}}) \times 100$$

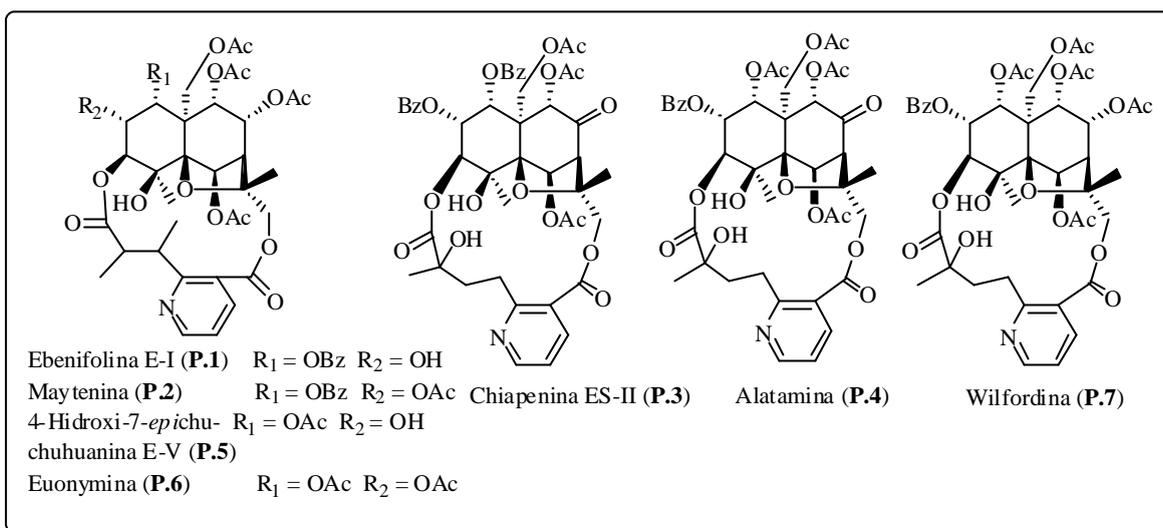
donde,

%C = el porcentaje de citotoxicidad anti-amastigote;

$A_{\text{fármaco}}$  = valor medio del número de amastigotes por cada 100 núcleos de macrófagos de un producto a una concentración;

$A_{\text{control}}$  = valor medio del número de amastigotes por cada 100 núcleos de macrófagos, de los 6 pocillos control.

**Los productos ensayados por su actividad frente a *T. cruzi* son los que se muestran a continuación:**



## Resultados y discusión

Los resultados obtenidos en la determinación de la actividad anti-epimastigote de los sesquiterpenos evaluados y la citotoxicidad específica y comparación con los fármacos hoy en día en uso: nifutimox y benzimidazol se reflejan en las Figuras 59 y 60.

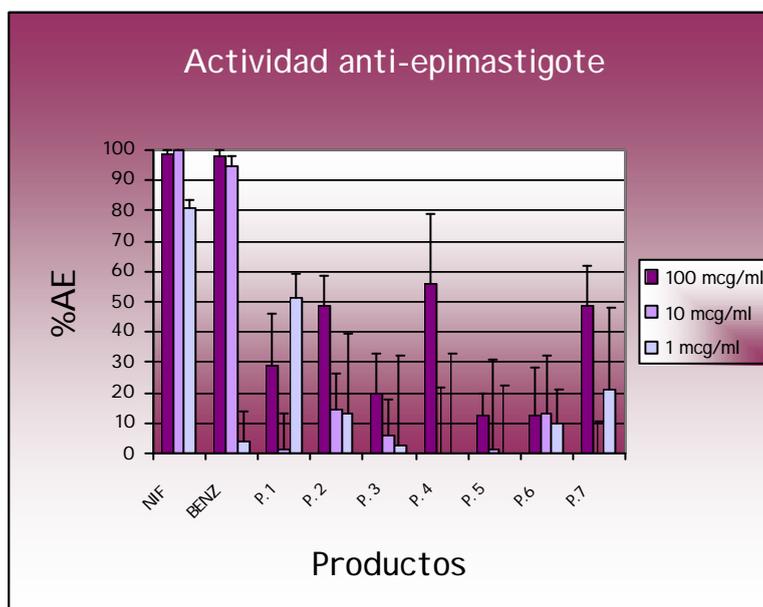
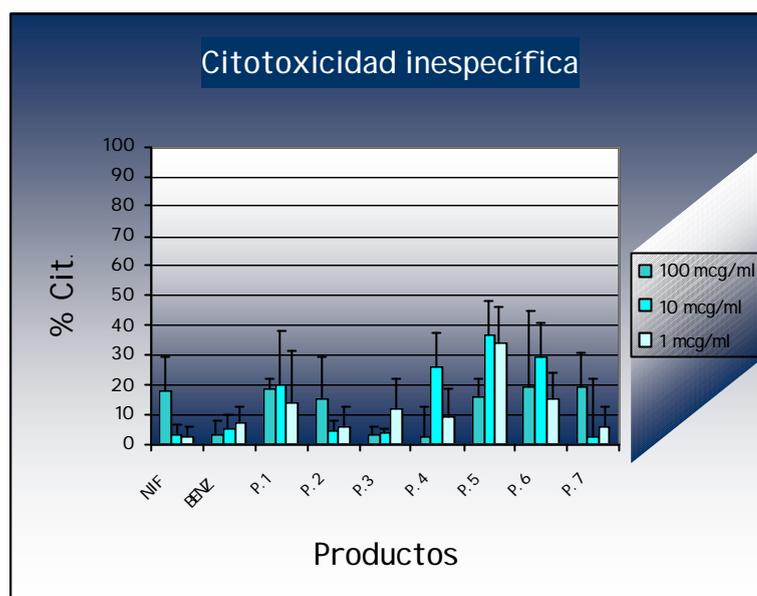


Figura 59. Actividad anti-epimastigote de alcaloides sesquiterpénicos evaluados.



*Figura 60. Citotoxicidad inespecífica de los alcaloides sesquiterpénicos evaluados.*

En la prueba de citotoxicidad los compuestos ebenifolina E-I (**1**), chiapenina ES-II (**3**), 4-hidroxi-7-epichuchuhuanina E-V (**5**) y euonymina (**6**) no presentaron actividad significativa frente a epimastigote y tampoco resultaron ser tóxicos para los macrófagos.

Por otra parte, mayteina (**2**), alatamina (**4**) y wilfordina (**7**) presentaron una actividad tripanocida significativa a una concentración de 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  (50 % de inhibición), no resultando ser tóxicos para los macrófagos, por lo que se realizó el ensayo frente a amastigotes, resultados que se presentan en la Figura 61. Sin embargo, ninguno de ellos dio resultados destacables.

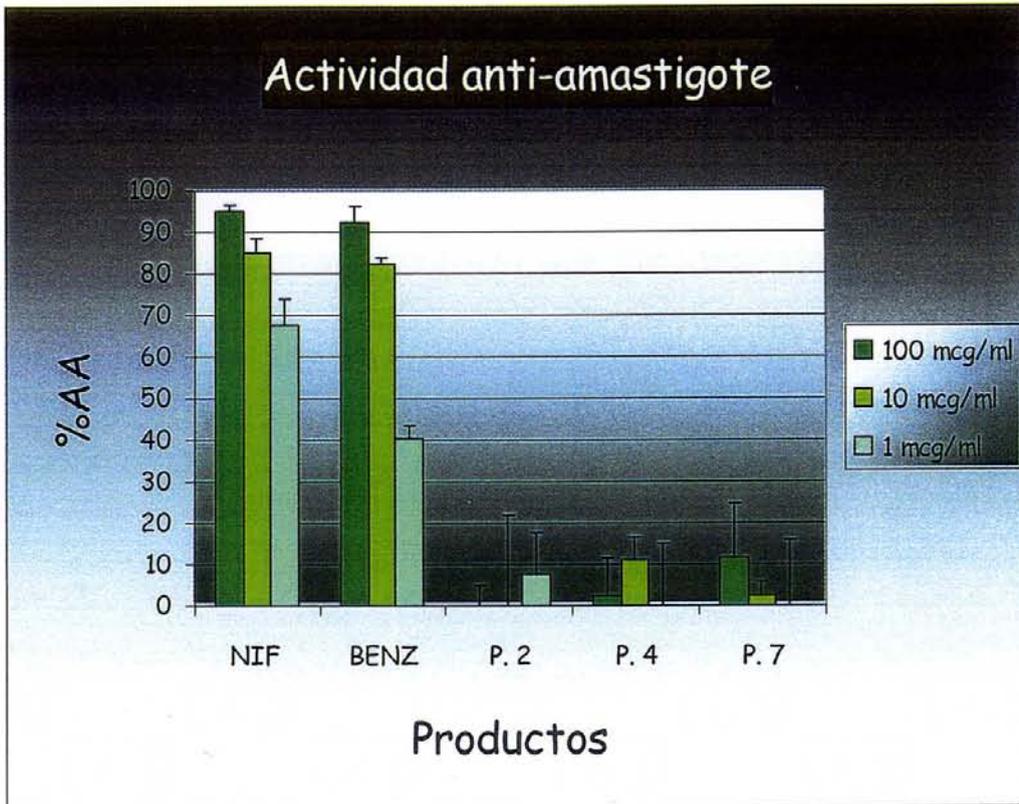


Figura 61. Actividad anti-amastigote de alcaloides sesquiterpénicos evaluados.

*ACTIVIDAD INSECTICIDA*

Durante siglos, el hombre ha establecido una lucha por proteger sus cultivos del ataque de insectos, agentes patógenos de origen microbiano y malas hierbas. En las últimas décadas el control convencional de plagas se ha llevado a cabo mediante la aplicación de compuestos orgánicos de síntesis de amplio espectro de acción, elevada toxicidad y persistencia en el medio. En 1980 se consumieron aproximadamente 1 millón de Tm de plaguicidas en todo el mundo, cifra que alcanzó los 2.5 millones en 1991. Su utilización indiscriminada ha dado lugar a la aparición de líneas de insectos y hongos fitopatógenos resistentes a los principales plaguicidas.<sup>1</sup>

La utilización de los insecticidas de síntesis ha ocasionado la aparición de resistencia en los insectos, la introducción de desequilibrios ecológicos y la consiguiente aparición de nuevas plagas, así como problemas de contaminación del medio ambiente y graves consecuencias para la salud humana.<sup>2</sup>

En este contexto, las plantas constituyen la principal fuente de nuevas estructuras con mecanismos de acción alternativos en el campo de la agricultura.

---

<sup>1</sup> Georghiou, G. P. *Managing Resistance to Agrochemicals*. Research to Practical Strategies. ACS, Washington D.C. 18-41, **1990**.

<sup>2</sup> Edwards, C. A. *The pesticide Question*. Environment, Economics and Ethics. Chapman and Hall, New York, **1993**.

## ☛ **Determinación de la actividad insecticida**

La actividad antialimentaria e insecticida fue realizada en el Centro de Ciencias Medioambientales, CSIC, Madrid por la Dra. Azucena González Coloma.

### **Cría y mantenimiento de los insectos**

Las colonias de *Spodoptera littoralis* y *Myzus persicae* fueron alimentadas con dietas artificiales y plantas de pimiento verde (*Capsicum annuum*), respectivamente y mantenidas en cámaras de crecimiento a  $22\pm 1$  °C, > 70% de humedad relativa y un fotoperíodo de 16:8 horas (luz:oscuridad).

### **Bioensayo de elección (dos vías)**

Este ensayo tiene como objetivo analizar la capacidad repelente de un producto a corto plazo. Se basa en la preferencia de larvas del sexto estadio (L6) de *S. littoralis* por discos de hojas (tratados y control) de planta huésped (*C. annuum*) colocados en la misma placa. Los discos (1 cm<sup>2</sup>) se trataron superficialmente con la sustancia a probar. Cada tratamiento consistió en 5 placas petri y tres insectos por placa. Los discos se colocaron en las placas de acuerdo a la metodología descrita por González-Coloma y col.<sup>3,4</sup>. Una vez consumido entre el 50% y el 75% de la superficie de los discos control, las áreas foliares no consumidas se midieron. Posteriormente, se calculó el índice de consumo (%FR) mediante la ecuación  $FR = 1 - (\text{consumo del tratamiento} / \text{consumo del control}) \times 100\%$ . Los productos con un  $FR > 75\%$  a una concentración de 50

---

<sup>3</sup> González-Coloma, A.; Reina, M.; Cabrera, R.; Castanera, P.; Gutiérrez, C. *J. Chem. Ecol.*, 21, 1255-1270, **1995**.

<sup>4</sup> González-Coloma, A.; Terreo, D.; Perales, A.; Escoubas, P.; Fraga, B. M. *J. Agr. Food Chem.*, 44, 296-300, **1996**.

$\mu\text{g}/\text{cm}^2$ , se sometieron a experimentos de dosis-respuesta, para calcular sus dosis efectiva ( $\text{DE}_{50}$  = dosis para la cual se produce un 50% de inhibición de la alimentación) mediante análisis de regresión lineal.

En el caso del áfido *M. persicae*, este tipo de ensayo determina el efecto de los compuestos sobre el asentamiento de las diferentes especies de pulgón. En cada experimento se utilizaron cajas plásticas de 3x3x1.5 cm, tapadas y con ventilación, colocándose una fina capa de agar (2.5%) en la tapa. Se emplearon discos de hojas de *C. annuum*.<sup>5</sup> Cada medio disco se trató con una solución del compuesto a ensayar en acetona (tratamiento) o con el disolvente (control). Cada tratamiento consistió en 20 cajas con 10 insectos cada una, que se incubaron a  $22 \pm 1$  °C y 16:8 horas (luz:oscuridad) en posición invertida y bajo luz indirecta. Después de 24 horas se contaron los pulgones asentados en el tratamiento y en el control y se calculó el índice de inhibición del asentamiento (%SI) para cada tratamiento ( $\%SI = 1 - (\%T/\%C) \times 100$ , donde T es el porcentaje de pulgones sobre la superficie tratada y C el porcentaje de pulgones sobre la superficie control).<sup>6</sup> Los productos con un índice de repelencia significativo a 50  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ , se sometieron a experimentos de dosis-respuesta para calcular su dosis efectiva ( $\text{DE}_{50}$  = dosis para la cual se produce un 50% de inhibición de la alimentación) mediante análisis de regresión lineal.

### **Canulación oral de *S. littoralis***

Este ensayo se llevó a cabo con larvas de *S. littoralis* L6 (de 24 horas), de 400 mg aproximadamente que se colocaron en placas petri con una cantidad conocida de dieta artificial. Cada experimento constó de 20 larvas a las que se canularon oralmente 20  $\mu\text{g}$  del compuesto a probar en 2  $\mu\text{l}$  de DMSO (tratamiento) o sólo el disolvente (control).<sup>6</sup> Al final del experimento (72 horas), realizamos un análisis por covarianza (ANCOVA), del consumo de alimento y de la variación de biomasa en las larvas tratadas, con el peso inicial de la larva como variable.

---

<sup>5</sup> Gutiérrez, C.; Federes, A.; Reina, M.; Cabrera, R.; González-Coloma, A. *J. Chem. Ecol.*, 23, 1641-1650, 1995.

<sup>6</sup> Reina, M.; González-Coloma, A.; Gutiérrez, C.; Cabrera, R.; Rodríguez, M. L.; Fajardo, V.; Villaruel, L. *J. Nat. Prod.*, 64, 6-11, 2001.

Adicionalmente y para aquellos compuestos que tenían un efecto sobre el descenso de biomasa estadísticamente significativo, realizamos un nuevo ANCOVA sobre la variación de biomasa, con el consumo de alimento como covariable, para probar los posibles efectos post-ingestivos.

### **Citotoxicidad**

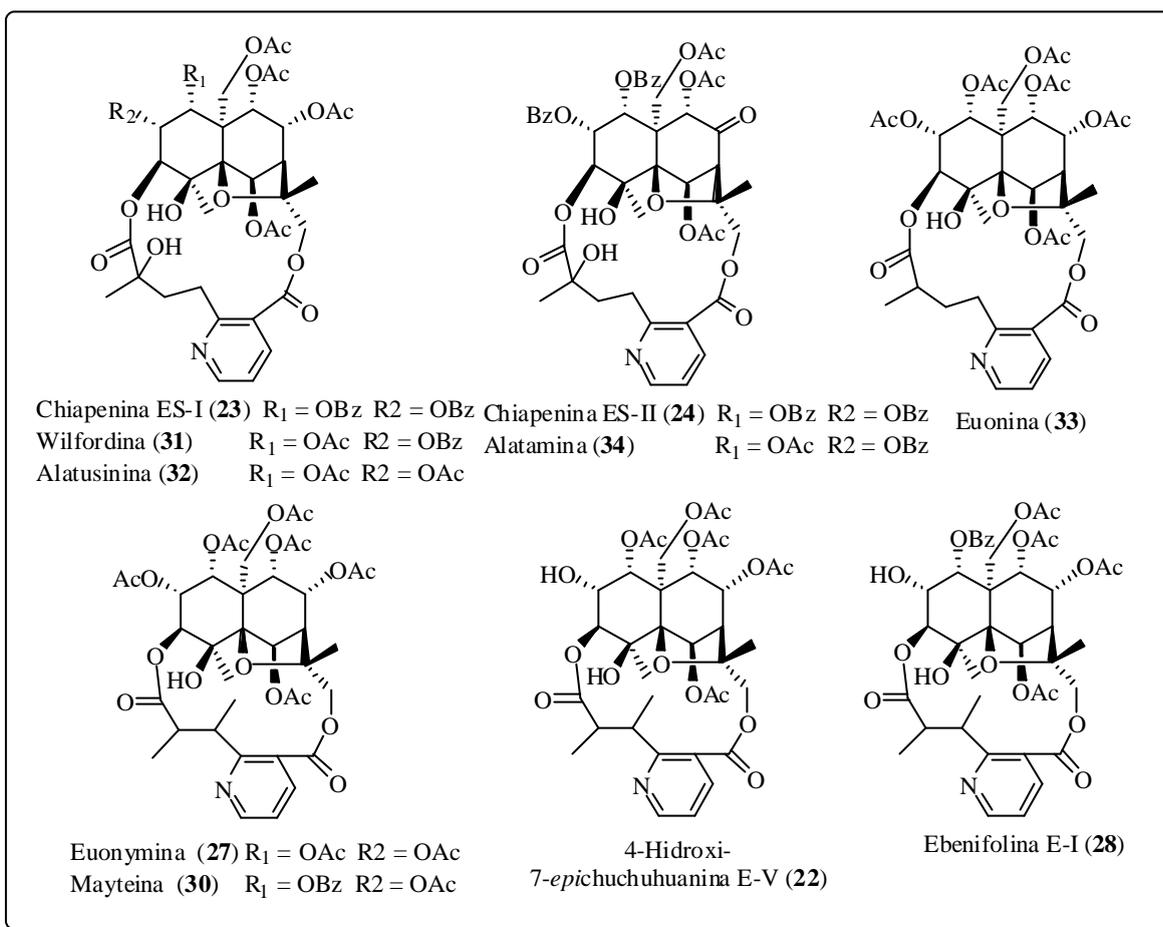
Se usaron células Sf9, derivadas de tejido ovárico pupal de *S. frugiperda* y de células de ovario de hamster chino (CHO). La viabilidad celular fue analizada por una adaptación del método colorimétrico del MTT y la potencia relativa de los compuestos activos se expresó como DL<sub>50</sub>, dosis eficaz para dar el 50% de viabilidad celular.<sup>7</sup>

### **Resultados y discusión**

Los compuestos evaluados como antialimentarios frente a *M. persicae* y *S. littoralis* y su citotoxicidad frente a células de insecto (Sf9) y células animales (CHO), son los alcaloides sesquiterpénicos que se muestran.

---

<sup>7</sup> González-Coloma, A.; Guadaño, A.; De Inés, C.; Martínez-Díaz, R.; Cortés, D. Z. *Naturforsch*, 57c, 1028-1034, **2002**.



Ninguno de los productos afectó la conducta alimentaria del áfido *M. persicae* (datos no mostrados). Los efectos antialimentarios de los compuestos ensayados fueron dependientes de las estructuras y las especies diana (Tabla 27).

**Tabla 27.** Efecto antialimentario y nutricional (consumido  $\Delta I$  y ganancia de biomasa  $\Delta B$ , expresado como porcentaje del control) de los alcaloides sesquiterpénicos sobre las larvas L6 de *S. littoralis*. Efecto citotóxico sobre las células Sf9 y CHO.

	<i>Spodoptera littoralis</i>			CHO	Sf9
	CE <sub>50</sub> (μg/cm <sup>2</sup> ) <sup>a</sup>	? B (%C)	? I (%C)	DL <sub>50</sub> (μg/mL) <sup>b</sup>	
<b>23</b>	3.9 x 10 <sup>-2</sup> (0.0063, 0.24) <sup>c</sup>	96	87	> 100	> 100

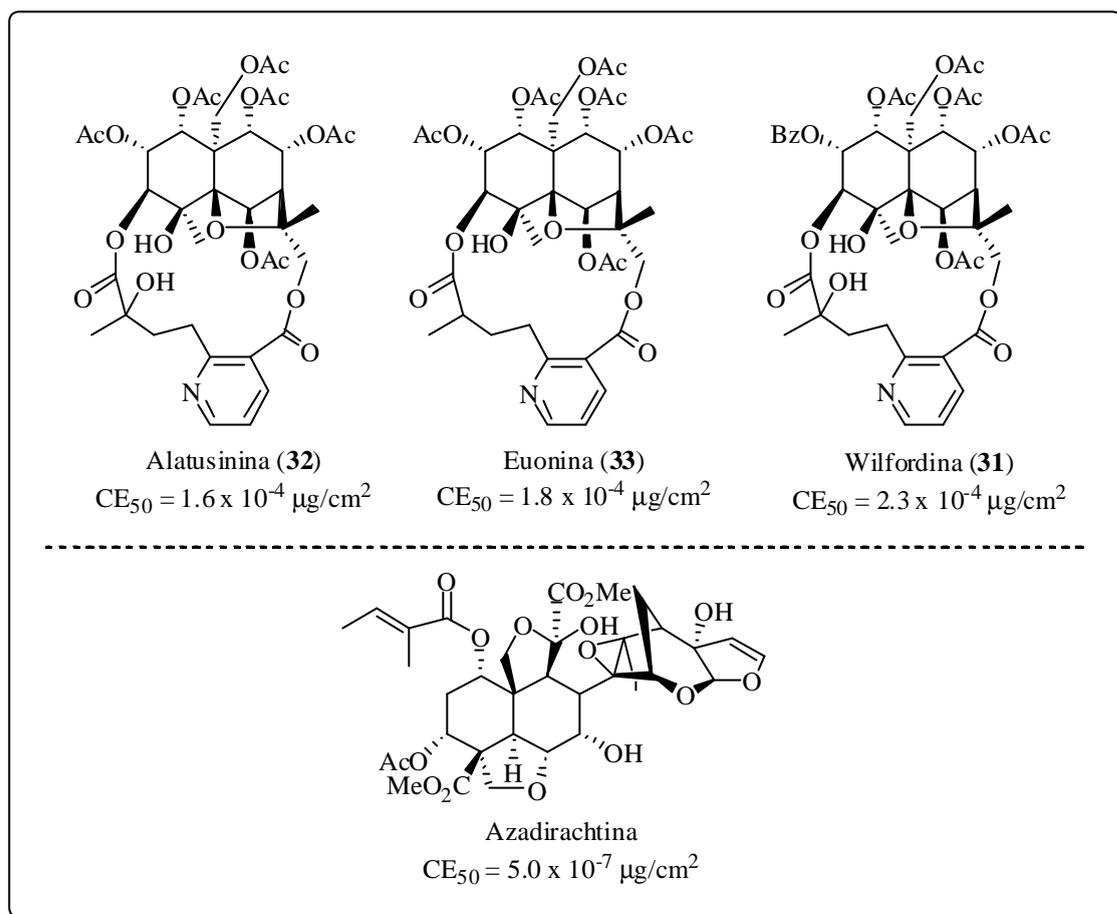
<b>31</b>	$2.3 \times 10^{-4}$ ( $1.2 \times 10^{-5}$ , 0.0044)	93	109	>100	86.22 (73.95, 106.44)
<b>32</b>	$1.6 \times 10^{-4}$ ( $1.8 \times 10^{-5}$ , 0.0014)	111	125	>100	73.22 (70.24, 76.32)
<b>24</b>	$6.6 \times 10^{-2}$ (0.013, 0.33)	93	92	>100	78.67 (76.30, 81.11) <sup>c</sup>
<b>34</b>	$5.2 \times 10^{-3}$ ( $8.5 \times 10^{-4}$ , 0.032)	118	117	>100	> 100
<b>33</b>	$1.8 \times 10^{-4}$ ( $2.2 \times 10^{-5}$ , 0.0015)	98	111	>100	48.38 (35.79, 65.39)
<b>27</b>	> 50	105	102	>100	49.60 (37.75, 65.17)
<b>30</b>	> 50	112	146	>100	> 100
<b>22</b>	> 50	101	94	>100	57.54 (43.10, 76.82)
<b>28</b>	0.72 (0.26, 2.02)	83	81	>100	78.81 (75.34, 82.44)
<b>Azadirachtina</b> $5.0 \times 10^{-7}$					

<sup>a</sup> CE<sub>50</sub> = Concentración necesaria para producir el 50% inhibición en la alimentación.

<sup>b</sup> DL<sub>50</sub> = Concentración necesaria para producir el 50% células viables.

<sup>c</sup> Límite de confianza del 95%.

Los productos que presentan mayor efecto antialimentario sobre las larvas de *S. littoralis*, fueron alatusinina (**32**), euonina (**33**) y wilfordina (**31**), seguidos por alatamina (**34**) > chiapenina ES-I (**23**), chiapenina ES-II (**24**) > ebenefolina E-I (**28**). Los compuestos inyectados oralmente no afectaron, ni el crecimiento ni la ingestión en *S. littoralis*.



La mayoría de estos compuestos presentó un efecto citotóxico ligeramente bajo y selectivo en las células derivadas de insecto Sf9 (ninguno de ellos presentó citotoxicidad en las células CHO). Esta citotoxicidad indica un modo de acción diferente al neurotóxico y la selectividad entre ambas líneas celulares puede deberse a factores de membrana.

Se ha establecido que la composición lipídica de células de insecto difiere, significativamente de las células animales. Así, se ha demostrado que la membrana plasmática de las células Sf9 contiene 10 veces menos colesterol y recientemente se ha reportado que la proporción de colesterol/fosfolípido en éstas es más bajo que en las células de mamífero.<sup>8</sup>

Los compuestos euonina (**33**), euonymina (**27**) y 4-hidroxi-7-epichuchuhuanina E-V (**22**) fueron los más activos, seguidos por chiapenina ES-I (**23**), alatamina (**34**), ebenefolina E-I (**28**) y wilfordina (**31**). La falta de

<sup>8</sup> Marheineke, K.; Grunewald, S.; Christie, W.; Reilander, H. *FEBS Letters*, 441, 49-52, 1998.

toxicidad en la administración oral de los compuestos citotóxicos sobre *S. littoralis*, podría ser el resultado de la destoxificación metabólica o de la excreción.

Se han descrito alcaloides sesquiterpénicos<sup>9</sup> con actividad citotóxica frente a células tumorales y esta actividad se ha relacionado con la configuración sobre el C-8, epímeros H-8 $\beta$  son inactivos; sin embargo, la citotoxicidad de nuestros compuestos en células de insecto no presenta semejante relación.

La presencia de los ácidos hidroxiwilfordico (**23**, **24**, **31**, **32** y **34**) o wilfordico (**33**) potencian la actividad antialimentaria, en contraste con los productos que poseen ácido evonínico en su molécula (**22**, **27**, **28** y **30**). Por otra parte, el número de grupos acetato (**32**, **33**) y la presencia de un grupo acetato sobre C-1 (**31** y **34** frente a **23** y **24**) en el esqueleto de dihidro- $\beta$ -agarofurano, es un requerimiento estructural importante para esta actividad.

Los sesquiterpenos con esqueleto de dihidro- $\beta$ -agarofurano y alcaloides sesquiterpénicos presentan efectos insecticidas<sup>10,11</sup> frente a varias especies de insectos. Además, algunos sesquiterpenos dihidro- $\beta$ -agarofuranos han sido descritos como antialimentarios frente a *S. littoralis*<sup>12</sup> con una menor actividad que los alcaloides sesquiterpénicos y una relación estructura-actividad similar a la que describimos aquí. Por consiguiente, la estructura del diácido nicotínico, junto con los sustituyentes del esqueleto dihidro- $\beta$ -agarofurano determinan la potencia de la actividad antialimentaria en nuestra prueba, que podría asociarse con una acción del potencial neuronal del ácido nicotínico, además del efecto del sesquiterpeno.

Estudios previos han mostrado que agonistas nicotínicos de receptores acetilcolinérgicos (nAChRs) tienen acción insecticida, en contraste con el efecto antialimentario de los antagonistas.<sup>13</sup> Además, se ha postulado la mediación de

---

<sup>9</sup> Kuo, Y.-H.; King, M.-L.; Chen, C.-F.; Chen, H.-Y.; Chen, C.-H.; Chen, K.; Lee, K.-H. *J. Nat. Prod.*, 57, 263-269, **1994**.

<sup>10</sup> Wenjun, W.; Mingan, W.; Jinbo, Z.; Wenming, Z.; Zhaonong, H.; Zhiqing, J. *J. Nat. Prod.*, 64, 364-367, **2001**.

<sup>11</sup> Jinbo, Z.; Mingan, W.; Wenjun, W.; Zhiqing, J.; Zhaonong, H. *Phytochemistry*, 61, 699-704, **2002**.

<sup>12</sup> González, A. G.; Jiménez, I. A.; Ravelo, A. G.; Coll, J.; González, J. A.; Lloria, J. *Biochem. Syst. Ecol.*, 25, 513-519, **1997**.

<sup>13</sup> Nauen, R.; Ebbinghaus, U.; Tietjen, K. *Pestic. Sci.*, 55, 566-614, **1999**.

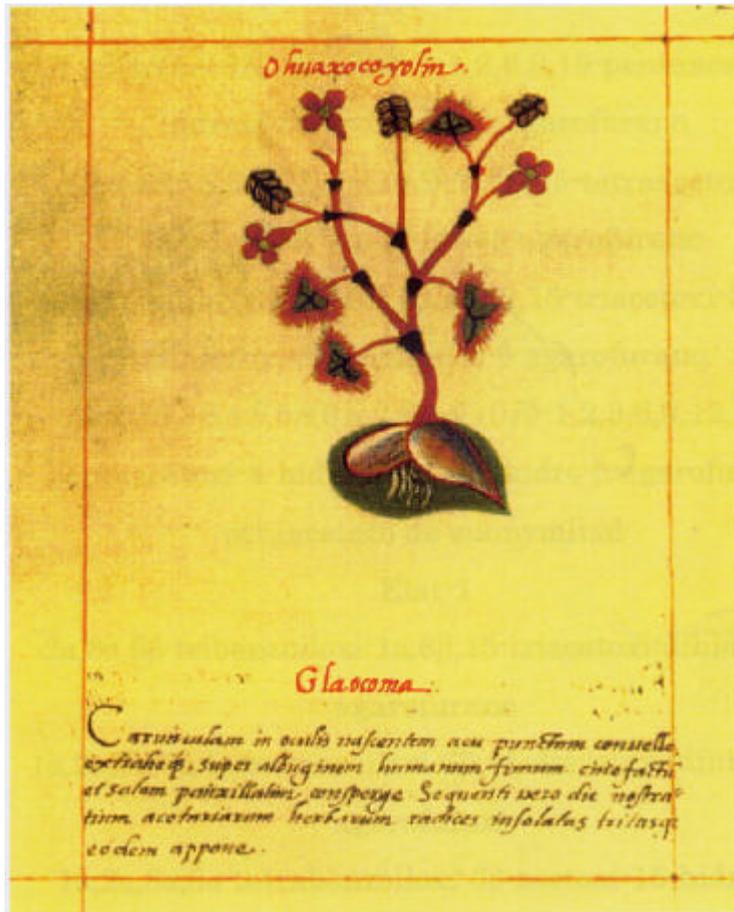
receptores GABA en la regulación del gusto de crisomélidos y áfidos. Esta hipótesis se basa parcialmente en el efecto antialimentario y la capacidad de inhibición de receptores GABA por parte de silfinenos tricíclicos.<sup>14,15,16</sup> Por tanto, nosotros proponemos la mediación de receptores nAChR y/o GABA en el efecto antialimentario de los alcaloides piridinícos. No obstante, es necesario demostrar los efectos neuronales de esta clase de compuestos y la implicación de esos neuroreceptores en la regulación del gusto en insectos.

---

<sup>14</sup> Bloomquist, J. R. In *Biochemical Sites of Insecticide Action and Resistance*; Ishaaya, I., Ed.; Springer-Verlag: Berlin,; pp 17-41, **2001**.

<sup>15</sup> González-Coloma, A.; Valencia, F.; Martín, N.; Hoffmann, J. J.; Hutter, L.; Marco, J. A.; Reina, M. *J. Chem. Ecol.*, **28**, 117-129, **2002**.

<sup>16</sup> Reina, M.; Nold, M.; Santana, O.; Orihuela, J. C.; González-Coloma, A. *J. Nat. Prod.*, **65**, 448-453, **2002**.



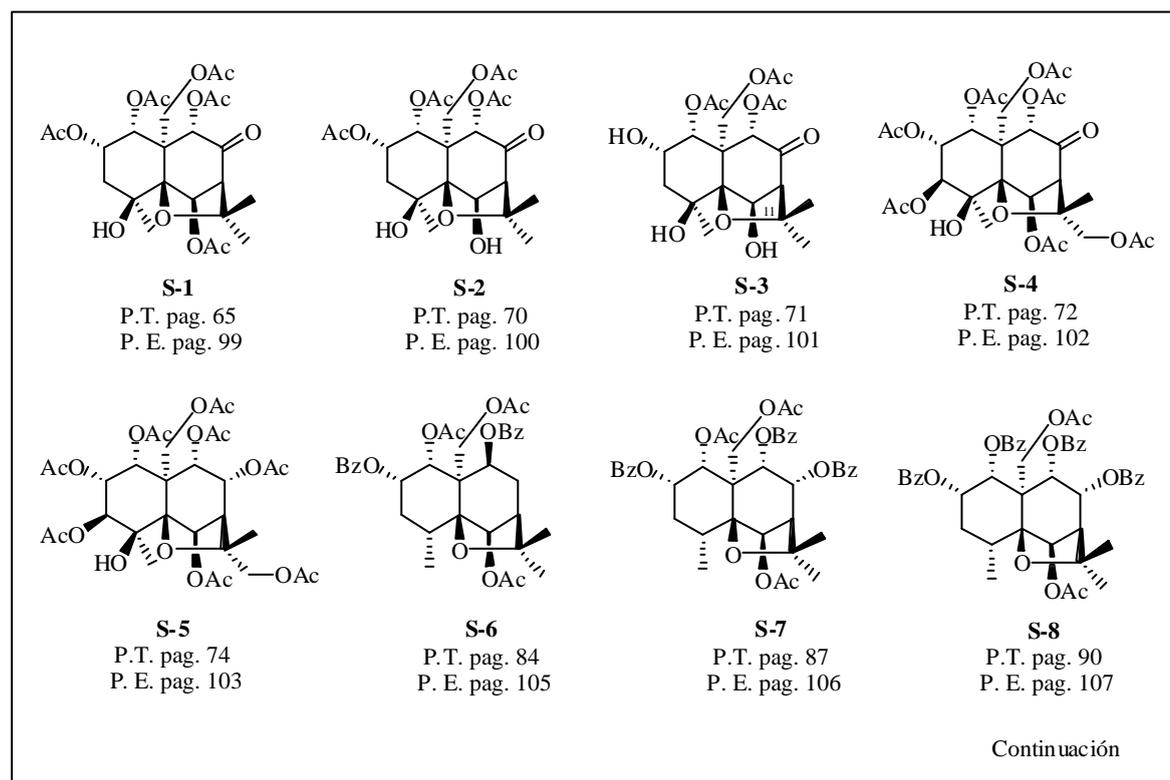
Códice Badiano, México, 1550

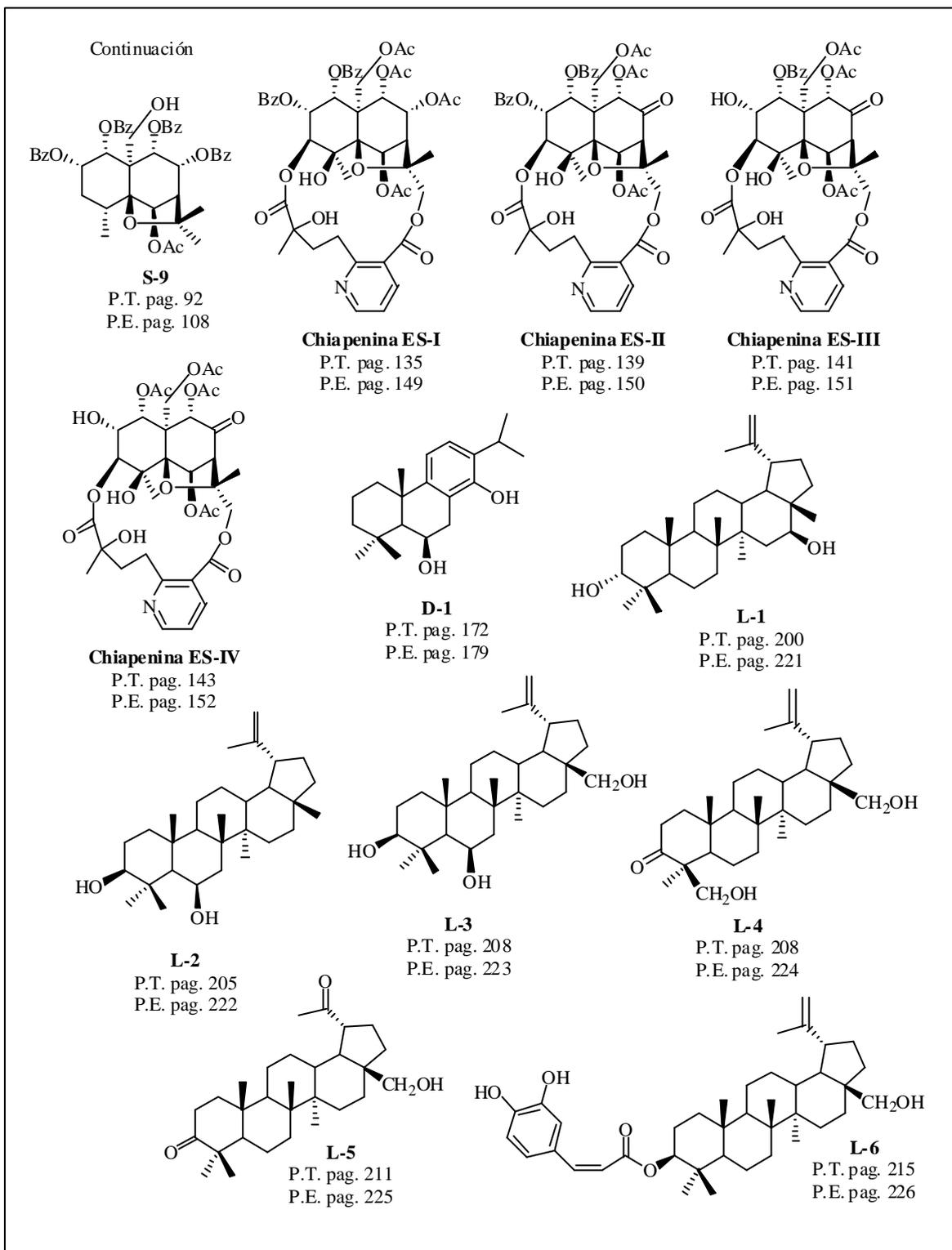
## INDICE DE NUEVOS PRODUCTOS

## INDICE DE PRODUCTOS

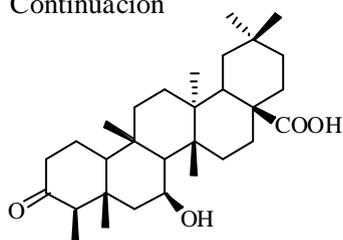
PRODUCTO	P.T	P.E
<b>S-1</b> (1 <i>R</i> ,2 <i>S</i> ,4 <i>S</i> ,5 <i>S</i> ,6 <i>R</i> ,7 <i>R</i> ,9 <i>S</i> ,10 <i>S</i> )-1,2,6,9,15-pentaacetoxi-4-hidroxi-8-oxodihidro-β-agarofurano	65	99
<b>S-2</b> (1 <i>R</i> ,2 <i>S</i> ,4 <i>S</i> ,5 <i>S</i> ,6 <i>R</i> ,7 <i>R</i> ,9 <i>S</i> ,10 <i>S</i> )-1,2,9,15-tetraacetoxi-4,6-dihidroxi-8-oxodihidro-β-agarofurano	70	100
<b>S-3</b> (1 <i>R</i> ,2 <i>S</i> ,4 <i>S</i> ,5 <i>S</i> ,6 <i>R</i> ,7 <i>R</i> ,9 <i>S</i> ,10 <i>S</i> )-1,9,15-triacetoxi-2,4,6-trihidroxi-8-oxodihidro-β-agarofurano	71	101
<b>S-4</b> (1 <i>R</i> ,2 <i>S</i> ,3 <i>S</i> ,4 <i>S</i> ,5 <i>S</i> ,6 <i>R</i> ,7 <i>R</i> ,9 <i>S</i> ,10 <i>R</i> )-1,2,3,6,9,12,15-heptaacetoxi-4-hidroxi-8-oxodihidro-β-agarofurano	72	102
<b>S-5</b> octaacetato de euonyminol	74	103
<b>S-6</b> Elat-1	84	105
<b>S-7</b> 2 <i>a</i> ,8 <i>a</i> ,9β-tribenzoiloxi-1 <i>a</i> ,6β,15-triacetoxi-dihidro-β-agarofurano	87	106
<b>S-8</b> 1 <i>a</i> ,2 <i>a</i> ,8 <i>a</i> ,9 <i>a</i> -tetrabenzoiloxi-6β,15-diacetoxi-dihidro-β-agarofurano	90	107
<b>S-9</b> 1 <i>a</i> ,2 <i>a</i> ,8 <i>a</i> ,9 <i>a</i> -tetrabenzoiloxi-6β-acetoxi-15-hidroxi-dihidro-β-agarofurano	92	108
<b>ES-I</b> chiapenina ES-I (1-benzoiloxi-1-deacetilwifordina)	135	149
<b>ES-II</b> chiapenina ES-II (1-benzoiloxi-1-deacetilalatamina)	139	150
<b>ES-III</b> chiapenina ES-III (1-benzoiloxi-1-deacetil-2-debenzoilalatamina)	141	151
<b>ES-IV</b> chiapenina ES-IV (2-deacetilwilfordina E)	143	152
<b>D-1</b> 6β,14-dihidroxi-abieta-8,11,13-trieno	172	179
<b>L-1</b> 3-epicalenduladiol	200	221
<b>L-2</b> 3β,6β-dihidroxi-20(29)-eno	205	222
<b>L-3</b> 3β,6β,28-trihidroxi-20(29)-eno	208	223
<b>L-4</b> 24,28-dihidroxi-3-oxolup-20(29)-eno	208	224
<b>L-5</b> 28-hidroxi-3,20-dioxo-29-norlupano	211	225
<b>L-6</b> <i>cis</i> -cafeato de la betulina	215	226

<b>F-1</b>	ácido 7β-hidroxi-3-oxofriedelan-28-oico	230 263
<b>F-2</b>	metiléster del ácido 7β-hidroxi-3-oxofriedelan-28-oico	233 264
<b>F-3</b>	7β,29-dihidroxifriedelina	234 265
<b>F-4</b>	29-hidroxi-3-oxofriedelan-28-al	236 266
<b>F-5</b>	putrol	238 267
<b>F-6</b>	1β-hidroxifriedelina	250 269
<b>F-7</b>	1a-hidroxifriedelina	254 270
<b>F-7a</b>	1a-acetoxifriedelina	255 271
<b>F-8</b>	25-hidroxifriedelina	257 272
<b>O-1</b>	uragoin	276 289
<b>B-1</b>	leonal	294 305

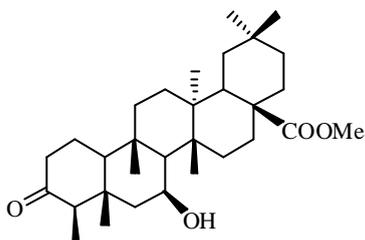




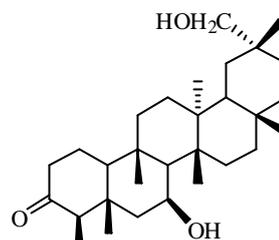
Continuación



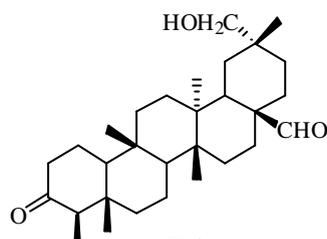
**F-1**  
P.T. pag. 230  
P.E. pag. 263



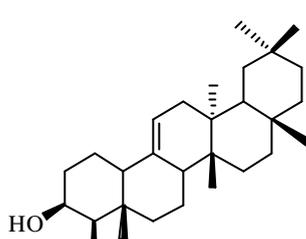
**F-2**  
P.T. pag. 233  
P.E. pag. 264



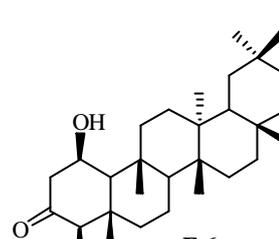
**F-3**  
P.T. pag. 234  
P.E. pag. 265



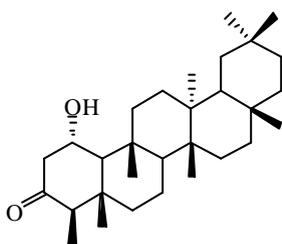
**F-4**  
P.T. pag. 236  
P.E. pag. 266



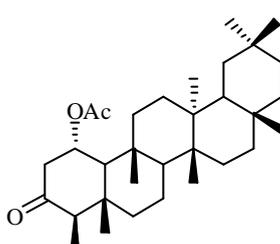
**F-5**  
P.T. pag. 238  
P.E. pag. 267



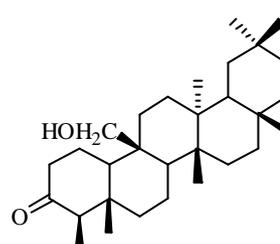
**F-6**  
P.T. pag. 250  
P.E. pag. 269



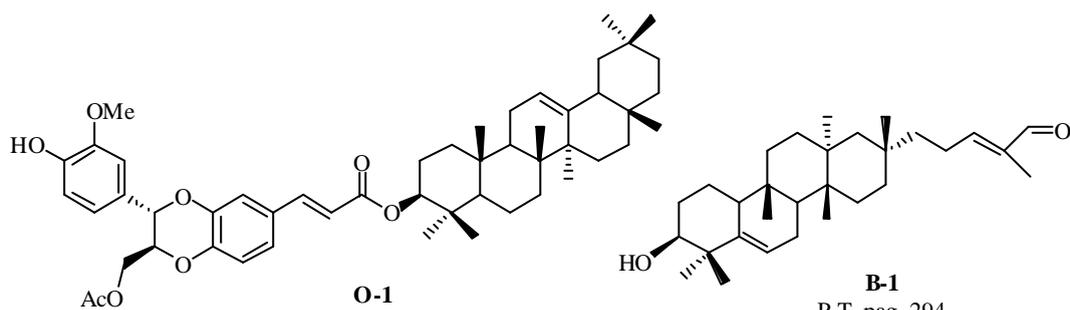
**F-7**  
P.T. pag. 254  
P.E. pag. 270



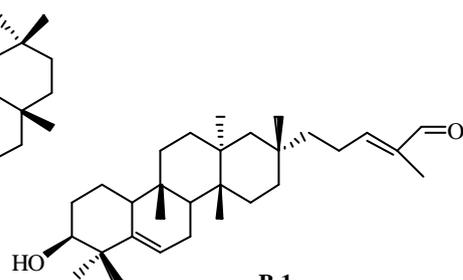
**F-7a**  
P.T. pag. 255  
P.E. pag. 271



**F-8**  
P.T. pag. 257  
P.E. pag. 272



**O-1**  
P.T. pag. 276  
P.E. pag. 289



**B-1**  
P.T. pag. 294  
P.E. pag. 305



*Maytenus recondita* Hammel

**CONCLUSIONES**



Del trabajo llevado a cabo para la realización de la presente Memoria, extraemos las siguientes conclusiones:

- ☑ Se realiza el estudio fitoquímico del extracto diclorometánico de la parte aérea de *Maytenus chiapensis* Lundell, recolectada en el Parque Nacional “El Imposible”, El Salvador.
- ☑ Se aíslan y determinan las estructuras de **cinco sesquiterpenos**, con esqueleto de dihidro- $\beta$ -dihidroagarofurano, nuevos en la bibliografía química: **(1R,2S,4S,5S,6R,7R,9S,10S)-1,2,6,9,15-pentaacetoxi-4-hidroxi-8-oxodihidro- $\beta$ -agarofurano (S-1)**, **(1R,2S,4S,5S,6R,7R,9S,10S)-1,2,9,15-tetraacetoxi-4,6-dihidroxi-8-oxodihidro- $\beta$ -agarofurano (S-2)**, **(1R,2S,4S,5S,6R,7R,9S,10S)-1,9,15-triacetoxi-2,4,6-trihidroxi-8-oxodihidro- $\beta$ -agarofurano (S-3)**, **(1R,2S,3S,4S,5S,6R,7R,9S,10R)-1,2,3,6,9,12,15-heptaacetoxi-4-hidroxi-8-oxodihidro- $\beta$ -agarofurano (S-4)** y el **octaacetato de euonyminol (S-5)**. Los 4 sesquiterpenos agarofuránicos (**S-1**, **S-2**, **S-3** y **S-5**) se aislaron de las **hojas** y **S-4** de las **ramas**, no encontrándose ninguno de estos metabolitos en la corteza del tallo.
- ☑ Se aíslan los siguientes **alcaloides sesquiterpénicos**, conocidos previamente en la bibliografía química: wilfordina, alatamina, wilforidina, alatusinina, euonina, euonymina, ebenifolina E-I, forrestina, mayteina y 4-hidroxi-7-epichuchuhuanina E-V. Los alcaloides sesquiterpénicos sólo se encuentran en las **hojas y las ramas** de esta especie; por otro lado, alatamina, wilforidina, alatusinina, euonina y forrestina sólo están presentes en las **hojas**.
- ☑ Se obtuvieron, asimismo, **cuatro nuevos alcaloides sesquiterpénicos**, cuyas estructuras se elucidaron mediante un cuidadoso estudio de sus datos espectroscópicos, como: 1-benzoiloxi-1-deacetilwilfordina (**chiapenina ES-I**), 1-benzoiloxi-1-deacetilalatamina (**chiapenina ES-II**), 1-benzoiloxi-1-

deacetil-2-debenzoilalatamina (**chiapenina ES-III**) y 2-deacetilwilfornina E (**chiapenina ES-IV**). Los cuatro alcaloides se aislaron de las **hojas**, mientras que de las **ramas** sólo se aisló **chiapenina ES-II**.

☑ De las **ramas** se aíslan los siguientes **triterpenos de la serie del lupano**: 3-oxolup-20(29)-en-28-al, betulina, betulona, *trans*-cafeato de la betulina, 3-*epiglochidiol*, lupenona, lupeol, ácido 6 $\beta$ -hidroxi-3-oxolup-20(29)-en-28-oico, 3 $\beta$ ,28-dihidroxi-20-oxo-29-*nor*lupano, 6 $\beta$ ,28-dihidroxi-3-oxolup-20(29)-eno, 28,30-dihidroxi-3-oxolup-20(29)-eno y 28-hidroxi-3,20-dioxo-29-*nor*lupano (**L-5**) y de la **corteza del tallo** se aíslan, betulina, betulona, 3-*epiglochidiol*, *glochidona*, *glochidonol*, lupenona, 3 $\beta$ ,6 $\beta$ -dihidroxilup-20(29)-eno (**L-2**) y resinona, descritos previamente en la literatura química. No se obtuvo de las **hojas** ningún triterpeno de la serie del lupano.

☑ Se aíslan y elucidan las estructuras de **cuatro nuevos triterpenos de la serie del lupano**: 3-*epicalenduladiol* (**L-1**), 3 $\beta$ ,6 $\beta$ ,28-trihidroxilup-20(29)-eno (**L-3**), 24,28-dihidroxi-3-oxolup-20(29)-eno (**L-4**) y *cis*-cafeato de la betulina (**L-6**). **L-1** se aisló de la **corteza del tallo**, mientras los restantes triterpenos (**L-3-L-6**) se aislaron de las **ramas**. Por otro lado, se reportan por primera vez los datos de RMN <sup>13</sup>C de los triterpenos **L-2** y **L-5**.

☑ Se aíslan los siguientes **triterpenos de la serie del friedelano**, conocidos en la bibliografía química: *epifriedelinol* y *epiputrol* (**F-5**) de las **hojas** y friedelina, canophyllol, 29-hidroxifriedelina, 28,29-dihidroxifriedelina y 29-hidroxi-3-oxofriedelan-28-al (**F-4**) de la **corteza del tallo**. Se reportan por primera vez los datos de RMN <sup>13</sup>C del putrol (**F-5**).

☑ Se obtuvieron asimismo, **tres triterpenos de la serie del friedelano nuevos** en la bibliografía química: ácido 7 $\beta$ -hidroxi-3-oxofriedelan-28-oico (**F-1**), metiléster del ácido 7 $\beta$ -hidroxi-3-oxofriedelan-28-oico (**F-2**) y 7 $\beta$ ,29-dihidroxifriedelina (**F-3**). El triterpeno **F-1** se aisló de las **ramas** y los dos



restantes (**F-2** y **F-3**) se aislaron de la **corteza del tallo**. Se reportan además por primera vez, los datos de RMN  $^{13}\text{C}$  de **F-4** y **F-5**.

☑ Se aísla el **primer ejemplo de triterpeno tetracíclico con esqueleto de D:B-friedobaccharano**. Sus datos espectroscópicos, estudios de modelización molecular y biogénesis nos permitieron establecer su estructura y configuración absoluta como: **3S,8S,9R,10S,13S,14R,20R**-D:B-friedobaccharan-5,21-dien-3-ol-30-al, para el que propusimos el nombre de **Leonal**. Este tipo de estructura había sido postulado como intermedio biogénico entre los triterpenos de la serie del baccharano y la serie del shionano, pero hasta el momento no había sido aislado ningún compuesto que lo justificara, de ahí la importancia biogénica de este metabolito.

☑ Se reporta el aislamiento de blumenol A y (-)-boscialin, dos **C<sub>13</sub>-norisoprenoides**, metabolitos poco frecuentes en la familia Celastraceae. El aislamiento de las hojas de luteína, un carotenoide, apoya la hipótesis de que la biosíntesis de los **C<sub>13</sub>-norisoprenoides** es a través de la degradación enzimática de los carotenoides.

☑ Se realiza el estudio fitoquímico del extracto diclorometánico de la parte aérea de **Crossopetalum uragoga (Jacq.) Kuntze**, recolectada en el Parque Nacional “El Imposible”, El Salvador.

☑ Se aíslan, de las hojas de esta especie, dos **sesquiterpenos** con esqueleto de dihidro- $\beta$ -agarofurano, previamente descritos en la bibliografía química: Eur-8 (Celahin B) y Elat-1 (**S-6**).

☑ También se aíslan y determinan las estructuras de **tres sesquiterpenos nuevos** en la bibliografía química: **2 $\alpha$ ,8 $\alpha$ ,9 $\beta$ -tribenzoiloxi-1 $\alpha$ ,6 $\beta$ ,15-triacetoxi-**

**dihidro- $\beta$ -agarofurano (S-7), 1a,2a,8a,9a-tetrabenzoiloxi-6 $\beta$ ,15-diacetoxi-dihidro- $\beta$ -agarofurano (S-8) y 1a,2a,8a,9a-tetrabenzoiloxi-6 $\beta$ -acetoxi-15-hidroxi-dihidro- $\beta$ -agarofurano (S-9).** Se reportan además, por primera vez, los datos de RMN de  $^{13}\text{C}$  del sesquiterpeno Elat-1 (**S-6**).

☑ Se aíslan los siguientes **diterpenos de la serie del abietatrieno**, previamente descritos en la bibliografía química, hypolida (triptophenolida) y triptinin B, **aislados de hojas** y ferruginol, carnosol y diacetato del carnosol, que se **aislaron de los tallos**.

☑ Se aísla, también de los **tallos** un **diterpeno nuevo** en la bibliografía química: 6 $\beta$ ,14-dihidroxi-abieta-8,11,13-trieno (**D-1**).

☑ Se aíslan los siguientes **triterpenos de la serie del friedelano**, previamente descritos en la bibliografía química, friedelina, cerina, 3a-hidroxi-2-oxofriedelano, 3a,25-dihidroxi-2-oxofriedelano, 25-hidroxfriedelina (**F-8**), canophyllol, 29-hidroxfriedelina y 3-oxofriedelan-30-al, aislados de las **hojas** y 29-hidroxfriedelina, **aislado de la corteza del tallo**.

☑ Se aíslan de las hojas **dos triterpenos de la serie del friedelano, nuevos** en la bibliografía química: 1 $\beta$ -hidroxifriedeina (**F-6**) y 1a-hidroxifriedelina (**F-7**). Se reportan por primera vez los datos de RMN  $^{13}\text{C}$  de **F-8**.

☑ Los grupos funcionales sobre los carbonos 1 y 3 en los triterpenos de la serie del friedelano, son muy frecuentes en especies de celastráceas, lo que indica una gran especificidad en los sistemas enzimáticos de dicha familia.

☑ Se aísla de los **tallos**, el **primer ejemplo en la naturaleza de un aducto**, formado por un **neolignano y un triterpeno de la serie del oleano**, 3 $\beta$ -(9'-acetoxi-4'-hidroxi-3'-metoxi-3'',7'-epoxi-8',4''-oxineolignan-9''-carboxi-7''-en)-



olean-12-eno, que hemos denominado **uragogin**. Postulamos su biogénesis a partir de un acoplamiento radicalario entre el cafeato de la  $\beta$ -amyrina y el monoacetato del alcohol coniferílico.

☑ El estudio fitoquímico del extracto *n*-hexano/éter etílico (1:1) de la corteza de raíz (pigmento amarillo) de ***C. uragoga***, rindió seis metabolitos secundarios de estructuras diversas, previamente descritos en la bibliografía química: pristimerina, zeylasteral,  $\alpha$ -amyrina,  $\beta$ -amyrina,  $\beta$ -sitosterol y  $\beta$ -sitostenona.

☑ Se establece la **relación quimiotaxonómica de los dos géneros estudiados, *Maytenus* y *Crossopetalum***, que presentaron metabolitos secundarios comunes, mientras otros son específicos de cada género. En el género *Maytenus*, se han aislado alcaloides sesquiterpénicos esterificados con los ácidos evonínico, wilfordico e hidroxiwilfordico, metabolitos que no han sido reportados en el género *Crossopetalum*. Por otro lado, el género *Crossopetalum* se caracteriza por la presencia de diterpenos de tipo abietano, metabolitos que no se encuentran en el género *Maytenus*. Las especies estudiadas, *Maytenus chiapensis* Lundell y *Crossopetalum uragoga* (Jacq.) Kuntze, viven en un ecosistema similar, pero presentaron metabolitos diferentes, posiblemente, como un mecanismo de supervivencia o como resultado de estímulos externos.

☑ La aparición de nuevos tipos de estructuras y agrupamientos funcionales renueva el interés por el estudio de los metabolitos secundarios aislados de celastráceas y nos hace optimistas de que en un futuro cercano se pueden obtener pruebas inequívocas de las rutas biogénicas propuestas o las enzimas implicadas.

☑ Después de aproximadamente 25 años de estudio sobre esta familia, el conocimiento de la maquinaria bioquímica de estas especies parece más

claro, pero sin duda las cuestiones que aún quedan por resolver hacen el trabajo excitante.

- ☑ Se determina la actividad biológica de los metabolitos aislados: actividad anticancerígena, empleando diferentes estrategias (actividad citotóxica e inhibidora de la inducción del virus Epstein-Barr y de la enzima colina quinasa), antimicrobiana, antiviral, inhibidora de enzimas implicados en el metabolismo (xantina oxidasa y  $\beta$ -glucuronidasa), antiparasitaria (revertidora de la multirresistencia a fármacos en *Leishmania tropica* y antichagas), insecticida y antialimentaria.
- ☑ El friedelano **F-1** presentó una citotoxicidad moderada frente a las líneas tumorales HeLa y Hep-2 (CI<sub>50</sub> de 7.7 y 10.3  $\mu$ g/mL, respectivamente), atribuyéndosele la actividad al grupo carboxílico en C-28. Los triterpenos de la serie del lupano, **16** y **9** fueron igualmente activos frente a HeLa (CI<sub>50</sub> de 7.5  $\mu$ g/mL) y Hep-2 (CI<sub>50</sub> de 7.5  $\mu$ g/mL), respectivamente.
- ☑ Los diterpenos de la serie del abietano aislados, resultaron prometedores por su actividad inhibidora de la inducción del virus Epstein-Barr. Los resultados obtenidos indicaron que la presencia de una lactona bicíclica entre las posiciones C-2 y C-7 es relevante para la actividad, mientras que la presencia de una lactona condensada insaturada entre C-3 y C-4 los inactiva. Se evaluó la actividad *in vivo* del carnosol, el cual reduce la carcinogénesis inducida en ratones hasta un 73.4% en 10 semanas de tratamiento, resultados que hacen de este compuesto un potencial agente quimiopreventivo.
- ☑ El friedelano **F-1** presentó actividad antimicrobiana moderada frente a especies de *Bacillus* (CMI = 5-15  $\mu$ g/mL).



- ☑ El alcaloide sesquiterpénico alatusinina presentó una actividad significativa frente a los virus: parainfluenza 3, reovirus tipo 1 y punta toro ( $CI_{50} = 8 \mu\text{g/mL}$ ).
- ☑ Los metabolitos **F-3**, **6** y **11** presentaron actividad inhibidora de la enzima xantina oxidasa (entorno al 30% de inhibición) y **14** y (-)-boscialin resultaron ser inhibidores de la  $\beta$ -glucuronidasa (51.2% y 40.8% de inhibición, respectivamente) a una concentración de  $10 \mu\text{g/mL}$ .
- ☑ El sesquiterpeno **S-6**, presentó una actividad prometedora como revertidor de la multitirresistencia a fármacos en *Leishmania tropica*, lo que apoya resultados previos de nuestro grupo de que el esqueleto de 3-deoximaytol o relacionado es relevante en la actividad.
- ☑ Los alcaloides mayteina, alatamina y wilfordina presentaron actividad frente a epimastigotes de *Trypanosoma cruzi* (50% de inhibición a  $100 \mu\text{g/ml}$ ) y no resultaron tóxicos para los macrófagos, pero fueron inactivos frente a formas amastigotes.
- ☑ Los alcaloides sesquiterpénicos mostraron tener efecto antialimentario frente a *S. littoralis* y fueron inactivos frente al áfido *M. persicae*. La presencia de ácidos hidroxiwilfordico y wilfordico potencian la actividad antialimentaria, lo que podría asociarse con una acción del potencial neuronal del ácido nicotínico, en adición al efecto del sesquiterpeno. Estos resultados abren una línea de investigación de enorme interés sobre el potencial de estos compuestos en la agricultura.