

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MATEMÁTICA
ESCUELA DE QUÍMICA



TESIS:

“ Estudio Fitoquímico de los Frutos de *Maytenus chiapensis* (Celastraceae) ”

PRESENTADA POR:

Lcdo. Marvin Horacio Chávez Sifontes

PARA OPTAR AL GRADO DE:

Maestro en Química

ASESORES:

Dr. Marvin José Núñez Rivas

Coordinador de la Sección de Investigación Aplicada y Tesis Profesionales
Departamento de Tecnología Farmacéutica
Facultad de Química y Farmacia

Dr. Orlando Canjura Urrutia

Departamento de Química Física
Escuela de Química
Facultad de Ciencias Naturales y Matemática

Ciudad Universitaria, Septiembre de 2010

Los Doctores MARVIN JOSÉ NÚÑEZ RIVAS y ORLANDO CANJURA URRUTIA,
como asesores de la presente Tesis:

CERTIFICAN:

Que la Tesis titulada: “Estudio Fitoquímico de los Frutos de *Maytenus chiapensis* (Celastraceae)”, ha sido realizada por el Licenciado en Ciencias Químicas, Marvin Horacio Chávez Sifontes, bajo nuestra dirección; dentro del programa de post-grado de Maestría en Química, impartido por la Escuela de Química de la Facultad de Ciencias Naturales y Matemática.


Dr. Marvin José Núñez Rivas


DIRECCIÓN
ESCUELA DE QUÍMICA


Dr. Orlando Canjura Urrutia



Septiembre de 2010

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Marvin J. Núñez, por haberme brindado esta oportunidad para desarrollarme como un investigador. Gracias por la confianza depositada en mí para el desarrollo de este proyecto de investigación.

A los Dres. Doña Isabel López Bazzocchi y Don Ignacio Antonio Jiménez Díaz, coordinadores del Grupo de Investigación QUIMIOPLAN, por su valiosa colaboración y apoyo al abrirme las puertas de su grupo de trabajo.

Al Vicerrectorado de Universidad y Sociedad de la Universidad de La Laguna (Tenerife, España) por la beca concedida para la realización de una estancia de investigación en el Instituto Universitario de Bio-orgánica "Antonio González"

Al Dr. Orlando Canjura Urrutia, por su valioso apoyo en el asesoramiento de esta Tesis y por su disposición a colaborar en el momento que le es solicitado. Por todo lo que he aprendido de usted, incluidos los análisis después de las jornadas de fútbol.

A las autoridades de la Escuela de Química y de la Facultad de Ciencias Naturales y Matemática de la Universidad de El Salvador. Gracias por apoyar los proyectos encaminados a elevar el nivel académico e investigador de los docentes de esta Facultad.

A mis compañeros del Departamento de Química Física: Dr. Raúl Hernández, Lcdo. Berdugo y Dr. Orlando Canjura, por ser un apoyo en cada momento que los necesito. Con gratitud y respeto.

A mis compañeros de la Escuela de Química: Lcdo. Carlos Acosta (pirulo), Lcdo. Alfredo Díaz (edo), Lcdo. (cuasi Dr.) Alex Osorio (abdullha), Lcdo. Guillermo Crespín (memeyo); por haberme impulsado a emprender esta nueva aventura de conocimientos. Gracias por su apoyo y amistad.

A Ana Marta, por apoyarme y permitirme disfrutar de valores tan importantes como el amor, la amistad, la sinceridad, etc. Gracias por hacerme sentir que puedo contar contigo; así como tú conmigo.

A la gente del Lab. 14 (QUIMIOPLAN)

Nuria: Gracias por tu gran paciencia y ayuda al responder mis correos, disculpa por interrumpir tus merecidas vacaciones. Gracias por tu apoyo y amistad.

Alejandro y Alex: Gracias por ayudarme con los experimentos de RMN, pero sobre todo por hacerme sentir parte de su grupo, con las súper tardes de conciertos y en especial por las noches de fútbol.

David, Nayra y Gabi: Gracias por su colaboración con los experimentos de RMN, en los momentos que los interrumpía en su trabajo y además por brindarme su amistad.

Oli y Boli: Gracias por hacer mi estancia más amena, al poder observar como la Química, propició el reencuentro de dos hermanos que fueron separados al nacer.

Al Servicio de Parques Nacionales y Vida Silvestre del Ministerio de Medio Ambiente, Fundación Ecológica Salvadoreña (SALVANATURA) por permitirnos la colecta del material vegetal.

A la gente del Jardín Botánico de La Laguna, por la ayuda en la identificación de las especies de Celastraceae, presentes en la Flora Salvadoreña.

Para finalizar, pero nunca menos importantes:

Todos aquellos que de una u otra forma, han colaborado para que la culminación de esta Tesis sea una realidad. Tengan presente que les estoy infinitamente agradecido.

Marvin Horacio Chávez Sifontes – Septiembre de 2010

DEDICATORIA

A Dios

*Por ser la fuerza que no me permite
desmayar, incluso en los momentos
más difíciles; y por ser mi protector
a cada paso.*

A mi Familia

*Padres, Hermano, Abuelos y Tíos.
Gracias por sus consejos, apoyo y
comprensión.*

**Estudio Fitoquímico de los Frutos de *Maytenus chiapensis*
(Celastraceae)**



" Las ciencias tienen las raíces amargas, pero muy dulces los frutos "

– Aristóteles –

INDICE TEMÁTICO

I. INTRODUCCIÓN	<i>i</i>
<hr/>	
II. MARCO TEÓRICO	
<hr/>	
2.1 La Familia Celastraceae	7
✓ Distribución geográfica	
✓ Consideraciones taxonómicas	
✓ Usos etnobotánicos	
✓ Metabolitos secundarios aislados	
2.2 El género <i>Maytenus</i>	17
2.3 <i>Maytenus chiapensis</i> Lundell	18
2.4 Sesquiterpenos dihidro-β-agarofuránicos	20
✓ Introducción	
✓ Clasificación	
✓ Aislamiento, purificación y elucidación estructural	
✓ Actividades biológicas	
✓ Síntesis de sesquiterpenos	
2.5 Estudio fitoquímico	48
✓ Selección del material vegetal	
✓ Recolección del material vegetal	
✓ Extracción y fraccionamiento de los metabolitos secundarios	
2.6 Técnicas de elucidación estructural	54
✓ Resonancia Magnética Nuclear Monodimensional	
✓ Resonancia Magnética Nuclear Bidimensional	
✓ Espectroscopia Infrarroja	
✓ Espectroscopia Ultravioleta-visible	
✓ Espectrometría de Masas	

III. PARTE EXPERIMENTAL

3.1	Recolección del material vegetal	65
3.2	Extracción y fraccionamiento del material vegetal	65
3.3	Técnicas cromatográficas empleadas	67
3.4	Esquema de separación cromatográfica	70
3.5	Técnicas espectroscópicas y espectrométricas	71
3.6	Programas informáticos utilizados	72

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1	Sesquiterpenos nuevos	75
4.2	Sesquiterpenos conocidos	101
4.3	Misceláneo	117

V. CONCLUSIONES

VI. RECOMENDACIONES

VII. REFERENCIAS

VIII. ANEXOS

INDICE DE PRODUCTOS AISLADOS

SESQUITERPENOS NUEVOS

S-1	1 α ,6 β ,15-triacetoxi-8 α ,9 α -dibenzoiloxidihidro- β -agarofurano	75
S-2	1 α ,2 α ,15-triacetoxi-9 β -benzoiloxi-6 β -butiroxidihidro- β -agarofurano	82
S-3	6 β -acetoxi-9 β -benzoiloxi-1 α ,15-dihidroxi- β -agarofurano	90

SESQUITERPENOS CONOCIDOS

S-4	1 α ,6 β -diacetoxi-9 β -benzoiloxidihidro- β -agarofurano	101
S-5	Ejap-2	103
S-6	Triptogelin C-1	105
S-7	Orbiculin A	107
S-8	15-acetoxiorbiculin A	109
S-9	Triptogelin B-1	111
S-10	6 β ,15-diacetoxi-1 α ,8 α ,9 α -tribenzoiloxidihidro- β -agarofurano	113
S-11	1 α ,2 α ,6 β -triacetoxi-8 α ,9 α -dibenzoiloxidihidro- β -agarofurano	115
S-12	6 β ,15-diacetoxi-1 α ,2 α ,8 α ,9 α -tetrabenzoiloxidihidro- β -agarofurano	116

MISCELÁNEO

M-1	Escualeno	117
M-2	2-hexilfurano	119
M-3	Benzoato de benzilo	120
M-4	Ácido palmítico	122

INDICE DE FIGURAS

I. INTRODUCCIÓN

Figura 1	Plantas medicinales que han proveído medicamentos actualmente utilizados en clínica	<i>i</i>
Figura 2	Estructuras químicas de algunos medicamentos provenientes de especies vegetales	<i>ii</i>
Figura 3	Especies de Celastráceas presentes en la Flora Salvadoreña	<i>iv</i>
Figura 4	Metabolitos secundarios nuevos en la bibliografía química, aislados de especies de Celastráceas presentes en la Flora Salvadoreña.	<i>v</i>

II. MARCO TEÓRICO

Figura 5	Distribución geográfica de la Familia Celastraceae (color rojo)	7
Figura 6	Aplicaciones del <i>Tripterygium wilfordii</i> en medicina tradicional	9
Figura 7	Cultura de masticar hojas de “khat”	10
Figura 8	Estructura química del macrólido Maytensina	10
Figura 9	Sesquiterpenos alcaloídicos aislados de <i>Euonymus europaeus</i>	11
Figura 10	Especies del género <i>Maytenus</i> , utilizadas tradicionalmente	12
Figura 11	Especies del género <i>Maytenus</i> de las que se ha aislado Pristimerina	13
Figura 12	Variedad de metabolitos secundarios aislados de Celastraceae	13
Figura 13	Biosíntesis de los diferentes terpenos	15
Figura 14	Metabolitos sesquiterpénicos aislados de Celastráceas	16
Figura 15	Diterpenos con una potente actividad anti-leucémica	16

Figura 16	Triterpenos promisorios inhibidores de la activación del virus del Epstein-Barr.	17
Figura 17	Detalle de los frutos maduros de <i>Maytenus chiapensis</i>	19
Figura 18	Biogénesis de los sesquiterpenos agarofuránicos	20
Figura 19	Esqueleto de los sesquiterpenos dihidro- β -agarofuránicos (sistema de anillos y numeración)	21
Figura 20	Esqueletos polihidroxílicos base de los sesquiterpenos dihidro- β -agarofuránicos	23
Figura 21	Ácidos carboxílicos que esterifican los sesquiterpenos dihidro- β -agarofuránicos	24
Figura 22	Ácidos dicarboxílicos que esterifican los alcaloides sesquiterpénicos	25
Figura 23	Alcaloides sesquiterpénicos aislados del extracto T _{II} <i>Tripterygium wilfordii</i>	28
Figura 24	Alcaloides sesquiterpénicos y sesquiterpenos aislados de <i>Tripterygium wilfordii</i>	29
Figura 25	Sesquiterpenos aislados de diferentes especies de Celastráceas por Takaishi y col..	30
Figura 26	Sesquiterpenos aislados de <i>Maytenus cuzcoina</i> .	30
Figura 27	Sesquiterpenos aislados de <i>Crossopetalum tonduzii</i> .	31
Figura 28	Sesquiterpenos aislados de <i>Euonymus nanooides</i> .	31
Figura 29	Alcaloides sesquiterpénicos aislados de <i>Maytenus emarginata</i> .	32
Figura 30	Sesquiterpenos aislados de los tallos de <i>Microtropis fokienensis</i> .	33
Figura 31	Sesquiterpenos aislados de los tallos de <i>Maytenus jelskii</i> .	33
Figura 32	Alcaloides sesquiterpénicos aislados de la raíz de <i>Tripterygium hypoglaucumun</i> .	34
Figura 33	Sesquiterpeno inhibidor del VHS-1, aislado de <i>T. wilfordii</i> .	35

Figura 34	Estructuras del agente revertidor de la MDR utilizado en clínica y de los agentes utilizados en la quimioterapia contra el cáncer.	35
Figura 35	Sesquiterpenos revertidores de la MDR aislados de <i>Celastrus orbiculatus</i> .	36
Figura 36	Sesquiterpenos aislados de <i>Z. costaricensis</i> , por Muñoz-Martínez y col.	36
Figura 37	Compuestos sesquiterpénicos aislados de <i>Maytenus cuzcoina</i> .	37
Figura 38	Compuestos sesquiterpénicos aislados de <i>Celastrus vulcanicola</i>	38
Figura 39	Sesquiterpenos con actividad anti-inflamatoria aislados de <i>C. orbiculatus</i> .	39
Figura 40	Estructura de azadirachtina y alcaloides sesquiterpénicos aislados de <i>T. wilfordii</i> .	40
Figura 41	Compuestos sesquiterpénicos aislados de <i>Maytenus canariensis</i> .	41
Figura 42	Compuestos sesquiterpénicos con actividad insecticida aislados de dos especies del género <i>Maytenus</i> .	41
Figura 43	Alcaloides sesquiterpénicos aislados de varias especies del género <i>Euonymus</i> .	42
Figura 44	Alcaloides sesquiterpénicos aislados de <i>Maytenus chiapensis</i> .	43
Figura 45	Sesquiterpenos inhibidores del proceso fotosintético.	45
Figura 46	Resumen del esquema para la síntesis de (±)-euonyminol (White y col.)	46
Figura 47	Resumen del esquema para la síntesis asimétrica de (-)-euonyminol	47
Figura 48	Resumen del esquema para la síntesis asimétrica de (-)-isocelorbicol	47
Figura 49	Recolección del material vegetal para un estudio fitoquímico	49
Figura 50	Obtención de un extracto crudo mediante un Soxhlet	51
Figura 51	Fraccionamiento líquido-líquido, guiado por el bioensayo BSLT (bioensayo de letalidad de gambas en agua salada)	51

Figura 52	Aislamiento mediante técnicas cromatográficas de las espirocardinas A y B.	53
Figura 53	Espectro de RMN- ¹ H del Salvadoriol (400 MHz, CDCl ₃)	55
Figura 54	Espectros RMN- ¹³ C y DEPT para el Salvadoriol. (100 MHz, CDCl ₃)	56
Figura 55	Espectro COSY (acoplamientos escalares ¹ H- ¹ H, a dos y tres enlaces) para el Salvadoriol	57
Figura 56	Espectro HMBC (acoplamientos escalares ¹ H- ¹³ C, a dos y tres enlaces) para el Salvadoriol	58
Figura 57	Espectro HSQC (acoplamientos escalares ¹ H- ¹³ C, a un enlace) para el Salvadoriol	59
Figura 58	Espectro ROESY del (acoplamientos ¹ H- ¹ H, a través del espacio) para el Salvadoriol	60
Figura 59	Espectro IR de la 20α-hidroxitingenona aislada de <i>Cassine xylocarpa</i> .	61
Figura 60	Espectro UV de la 20α-hidroxitingenona aislada de <i>Cassine xylocarpa</i> .	62
Figura 61	Espectro de masas del Leonatriol, triterpeno de la serie del bacharano aislado de <i>Cassine xylocarpa</i> .	64

III. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

Figura 62	Mapa de distribución de <i>M. chiapensis</i> en El Salvador	65
Figura 63	Imagen del sistema acoplado de CG/EM (IUBO "Antonio González")	66
Figura 64	Diferentes técnicas cromatográficas empleadas en el estudio fitoquímico	68

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Sesquiterpenos Nuevos

Figura 65	Sesquiterpenos nuevos aislados de los frutos de <i>Maytenus chiapensis</i>	74
Figura 66	Sesquiterpenos conocidos aislados de los frutos de <i>Maytenus chiapensis</i>	74
Figura 67	Espectro de RMN- ¹ H (500 MHz, CDCl ₃) del sesquiterpeno S-1	75
Figura 68	Espectro de RMN- ¹³ C (125 MHz, CDCl ₃) del sesquiterpeno S-1	76
Figura 69	Experimento COSY (¹ H- ¹ H) del sesquiterpeno S-1	77
Figura 70	Experimento HSQC (¹ H- ¹³ C) del sesquiterpeno S-1	78
Figura 71	Experimento HMBC (¹ H- ¹³ C) del sesquiterpeno S-1	79
Figura 72	Regiosustitución de los grupos éster en el sesquiterpeno S-1	79
Figura 73	Correlaciones ROE observadas en el experimento ROESY (¹ H- ¹ H) del sesquiterpeno S-1	80
Figura 74	Espectro de RMN- ¹ H (500 MHz, CDCl ₃) del sesquiterpeno S-2	82
Figura 75	Espectro de RMN- ¹³ C (125 MHz, CDCl ₃) del sesquiterpeno S-2	83
Figura 76	Experimento COSY (¹ H- ¹ H) del sesquiterpeno S-2	85
Figura 77	Experimento HSQC (¹ H- ¹³ C) del sesquiterpeno S-2	85
Figura 78	Experimento HMBC (¹ H- ¹³ C) del sesquiterpeno S-2	87
Figura 79	Regiosustitución de los grupos éster en el sesquiterpeno S-2	87
Figura 80	Correlaciones ROE observadas en el experimento ROESY (¹ H- ¹ H) del sesquiterpeno S-2	88
Figura 81	Espectro de RMN- ¹ H (600 MHz, CDCl ₃) del sesquiterpeno S-3	91
Figura 82	Espectro de RMN- ¹³ C (125 MHz, CDCl ₃) del sesquiterpeno S-3	91

Figura 83	Comparación de los espectros RMN- ¹ H del sesquiterpeno S-5 con S-3	92
Figura 84	Experimento COSY (¹ H- ¹ H) del sesquiterpeno S-3	93
Figura 85	Experimento HSQC (¹ H- ¹³ C) del sesquiterpeno S-3	94
Figura 86	Experimento HMBC (¹ H- ¹³ C) del sesquiterpeno S-3	95
Figura 87	Correlaciones ROE observadas en el experimento ROESY (¹ H- ¹ H) del sesquiterpeno S-3	96

4.2 Sesquiterpenos Conocidos

Figura 88	Espectro de RMN- ¹ H (500 MHz, CDCl ₃) del sesquiterpeno S-4	101
Figura 89	Espectro de RMN- ¹³ C (100 MHz, CDCl ₃) del sesquiterpeno S-4	102
Figura 90	Espectro de RMN- ¹ H (400 MHz, CDCl ₃) del sesquiterpeno S-5	103
Figura 91	Espectro de RMN- ¹³ C (100 MHz, CDCl ₃) del sesquiterpeno S-5	104
Figura 92	Espectro de RMN- ¹ H (600 MHz, CDCl ₃) del sesquiterpeno S-6	105
Figura 93	Experimento DEPT-135 (150 MHz, CDCl ₃) del sesquiterpeno S-6	106
Figura 94	Espectro de RMN- ¹ H (600 MHz, C ₆ D ₆) del sesquiterpeno S-7	107
Figura 95	Espectro de RMN- ¹³ C (150 MHz, C ₆ D ₆) del sesquiterpeno S-7	108
Figura 96	Espectro de RMN- ¹ H (600 MHz, CDCl ₃) del sesquiterpeno S-8	109
Figura 97	Experimento DEPT-135 (150 MHz, CDCl ₃) del sesquiterpeno S-8	110
Figura 98	Espectro de RMN- ¹ H (600 MHz, CDCl ₃) del sesquiterpeno S-9	111
Figura 99	Espectro de RMN- ¹³ C (150 MHz, CDCl ₃) del sesquiterpeno S-9	112
Figura 100	Espectro de RMN- ¹ H (500 MHz, CDCl ₃) del sesquiterpeno S-10	113
Figura 101	Espectro de RMN- ¹³ C (150 MHz, CDCl ₃) del sesquiterpeno S-10	114
Figura 102	Espectro de RMN- ¹ H (600 MHz, CDCl ₃) del sesquiterpeno S-11	115
Figura 103	Espectro de RMN- ¹ H (600 MHz, CDCl ₃) del sesquiterpeno S-12	116

4.3 Misceláneo

Figura 104	Espectro de masas del compuesto M-1 (EM 70 eV)	117
Figura 105	Formación de diferentes fragmentos del compuesto M-1 (EM 70 eV)	117
Figura 106	Formación de los picos a 95 m/z y 81 m/z para el compuesto M-1	118
Figura 107	Espectro de masas del compuesto M-2 (EM 70 eV)	119
Figura 108	Formación de diferentes fragmentos del compuesto M-2 (EM 70 eV)	119
Figura 109	Espectro de masas del compuesto M-3 (EM 70 eV)	120
Figura 110	Formación de diferentes fragmentos de M-3 (EM 70 eV)	120
Figura 111	Formación del ión tropilio para el compuesto M-3 (EM 70 eV)	121
Figura 112	Espectro de masas del compuesto M-4 (EM 70 eV)	122
Figura 113	Formación de diferentes fragmentos de M-4 (EM 70 eV)	122
Figura 114	Formación del pico a 60 m/z por reordenamiento de McLafferty, a partir del ión molecular (EM 70 eV)	122

INDICE DE ESQUEMAS

Esquema A	Reacción de hidrólisis parcial del Siquiterpeno S-5	90
Esquema 1	Síntesis de (+)- α -agarofurano por Barret y Büchi (1967)	135
Esquema 2	Síntesis de (+)- α -agarofurano por Marshall <i>y col.</i> (1968)	135
Esquema 3	Síntesis de (+)- α -agarofurano por Deslongchamps <i>y col.</i> (1968)	136
Esquema 4	Síntesis de (-)- β -agarofurano reportada por Büchi y Wüest (1979)	136
Esquema 5	Síntesis de (\pm)-isocelorbicol reportada por Huffman <i>y col.</i> (1987)	137
Esquema 6	Síntesis de (\pm)-euonyminol reportada por White <i>y col.</i> (1997)	138
Esquema 7	Síntesis asimétrica de (-)-euonyminol reportada por Spivey <i>y col.</i> (2001)	139

I. INTRODUCCIÓN



Los productos naturales son tan antiguos como el hombre, cuando la especie humana comenzó a explorar todo lo que había a su alrededor, los más accesibles, eran los minerales y las plantas. No resulta extraño que durante siglos, los extractos de las plantas fueran la principal fuente de remedios contra dolencias y enfermedades, perfumes, especias, así como de pócimas mágicas sin olvidar los venenos, ya fueran para cazar el alimento o para acabar con el enemigo.

El conocimiento de las plantas y de sus formas de curar, han estado íntimamente relacionados, desde los principios de la humanidad. Históricamente las plantas medicinales (figura 1) o sus extractos han sido usados en diversas formas (tinturas, polvos, tés, seguido de formulaciones y posteriormente como compuestos puros) por los seres humanos desde tiempos inmemoriales para diferentes dolencias.¹

*Ephedra distachia**Digitalis purpurea**Artemisia annua**Camptotheca acuminata**Taxus bachata**Catharanthus roseus**Rauwolfia serpentin**Papaverum somniferum*

Figura 1. Plantas medicinales que han proveído medicamentos actualmente utilizados en clínica

Los productos naturales (metabolitos secundarios) constituyen un buen punto de partida para el descubrimiento de nuevos fármacos, ya que se pueden considerar como un grupo de estructuras privilegiadas que han sido seleccionadas por la evolución debido a su capacidad de interactuar con una amplia variedad de

proteínas y otras dianas biológicas. Por lo que, los productos naturales, sintetizados en un determinado organismo para una función específica, pueden ejercer un efecto similar en los seres humanos.²

Los compuestos obtenidos de fuentes naturales o bien sus derivados (*figura 2*), juegan un papel importante en la industria química en general y en la medicina moderna. De fuentes naturales se han obtenido valiosos medicamentos, tales como: analgésicos (morfina), antitusivos (codeína), antihipertensivos (reserpina), cardiotónicos (digoxina), antitumorales (vinblastina y taxol), antimaláricos (quinina y artemisina).¹

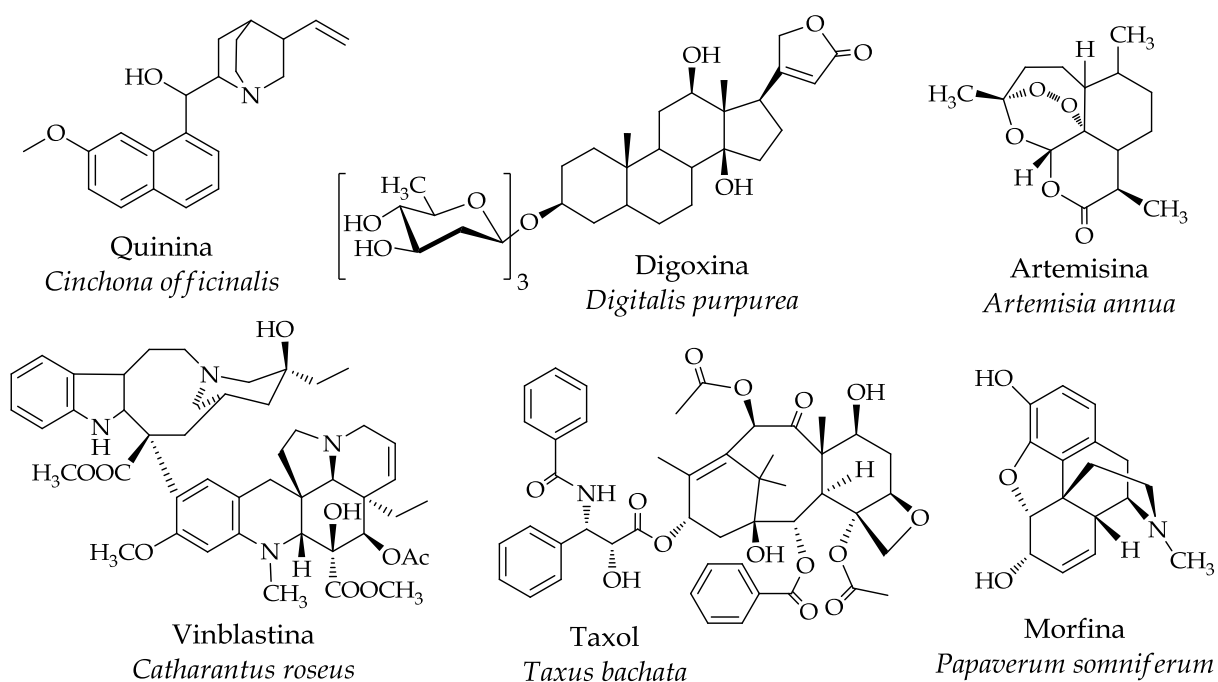


Figura 2. Estructuras químicas de algunos medicamentos provenientes de especies vegetales

Muchos de los fármacos que actualmente conocemos, han llegado hasta nosotros mediante el uso tradicional (folclórico) o por culturas indígenas. La medicina tradicional ha sido una herramienta útil para el descubrimiento de muchos de los medicamentos que usamos y de otras sustancias biológicamente activas.

Así, el conocimiento tradicional ha permitido el descubrimiento de tres tipos de productos naturales con aplicación clínica:³

- 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).

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS) el 80 % de la población vive en países en vías de desarrollo; estimando que más del 50 % de esta población dispone, casi exclusivamente, de la medicina tradicional para cubrir sus necesidades sanitarias primarias. Y dado que las plantas medicinales constituyen la “espinas dorsal” de la medicina tradicional, más de 4000 millones de personas de los países en vías de desarrollo utilizan plantas medicinales de forma regular. Así, para este segmento de la población mundial, que generalmente son incapaces de pagar el costo de los fármacos sintéticos, existe la necesidad de estudiar estas plantas para regular su uso seguro y eficaz, con el fin de desarrollar productos farmacéuticos normalizados.⁴

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. El interés despertado por esta familia se debe a la complejidad estructural de los metabolitos aislados y, sobre todo, a las actividades farmacológicas que presentan, lo que ha motivado a diferentes grupos de investigación que han centrado su investigación fitoquímica en esta familia botánica.

En este sentido; con el apoyo del grupo de investigación en productos naturales QUIMIOPLAN, perteneciente al Instituto Universitario de Bio-orgánica “Antonio González” (Universidad de La Laguna) se inició en 1999 el estudio fitoquímico de las especies de Celastráceas presentes en la Flora Salvadoreña (*figura 3*).

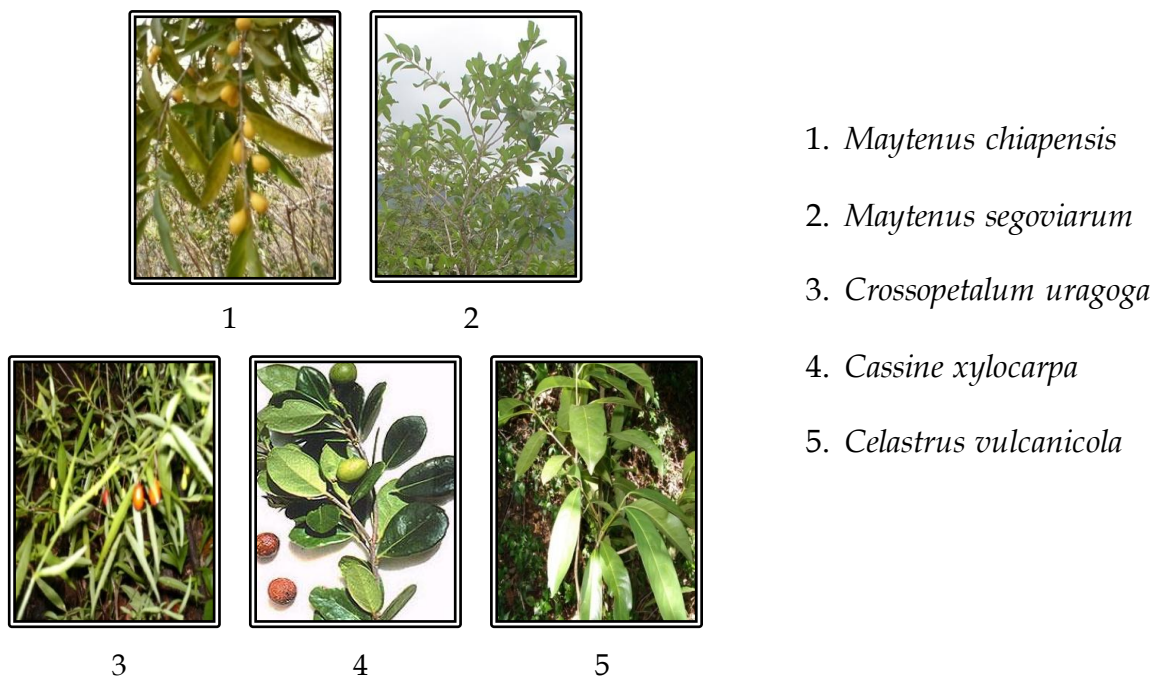


Figura 3. Algunas especies de Celastráceas presentes en la Flora Salvadoreña.

Las investigaciones fitoquímicas, se inician con el estudio de *Maytenus chiapensis* y *Crossopetalum uragoga*, obteniéndose como resultado el aislamiento y elucidación de 26 metabolitos secundarios nuevos en la literatura química, destacándose los sesquiterpenos dihidro- β -agarofuránicos, alcaloides sesquiterpénicos, diterpenos del tipo abietatrieno, triterpenos de la serie del baccharano, lupano, friedelano y oleano.⁵

Maytenus segoviarum es otra especie de esta Familia; cuyas hojas y ramas han sido estudiadas, produciendo el aislamiento y elucidación de 11 metabolitos secundarios conocidos en la literatura química, dentro de los cuáles podemos citar triterpenos de la serie del lupano y friedelano; así como, alcaloides sesquiterpénicos.⁶

Además, estudios sobre especies como: *Celastrus vulcanicola* y *Cassine xylocarpa*, concluyeron con el aislamiento y elucidación estructural de 34 metabolitos secundarios nuevos en la bibliografía química. Estos nuevos metabolitos presentaron una variedad estructural, que va desde los sesquiterpenos dihidro- β -agarofuránicos, alcaloides sesquiterpénicos, triterpenos de la serie del baccharano, lupano, friedelano, hasta celastroloides como *nor*-triterpenometilenquinonas y dímeros triterpénicos.⁶⁻⁷

Recientemente el estudio fitoquímico de las ramas de *Cassine xylocarpa*, produjo el aislamiento y elucidación estructural de treinta triterpenos pentacíclicos con esqueletos de oleano y lupano; resultando doce de ellos nuevos en la bibliografía química.⁸

Los estudios sobre especies de Celastráceas presentes en la Flora Salvadoreña, han generado una gran gama de metabolitos secundarios, con una amplia diversidad estructural, como los ejemplos mostrados en la siguiente figura.

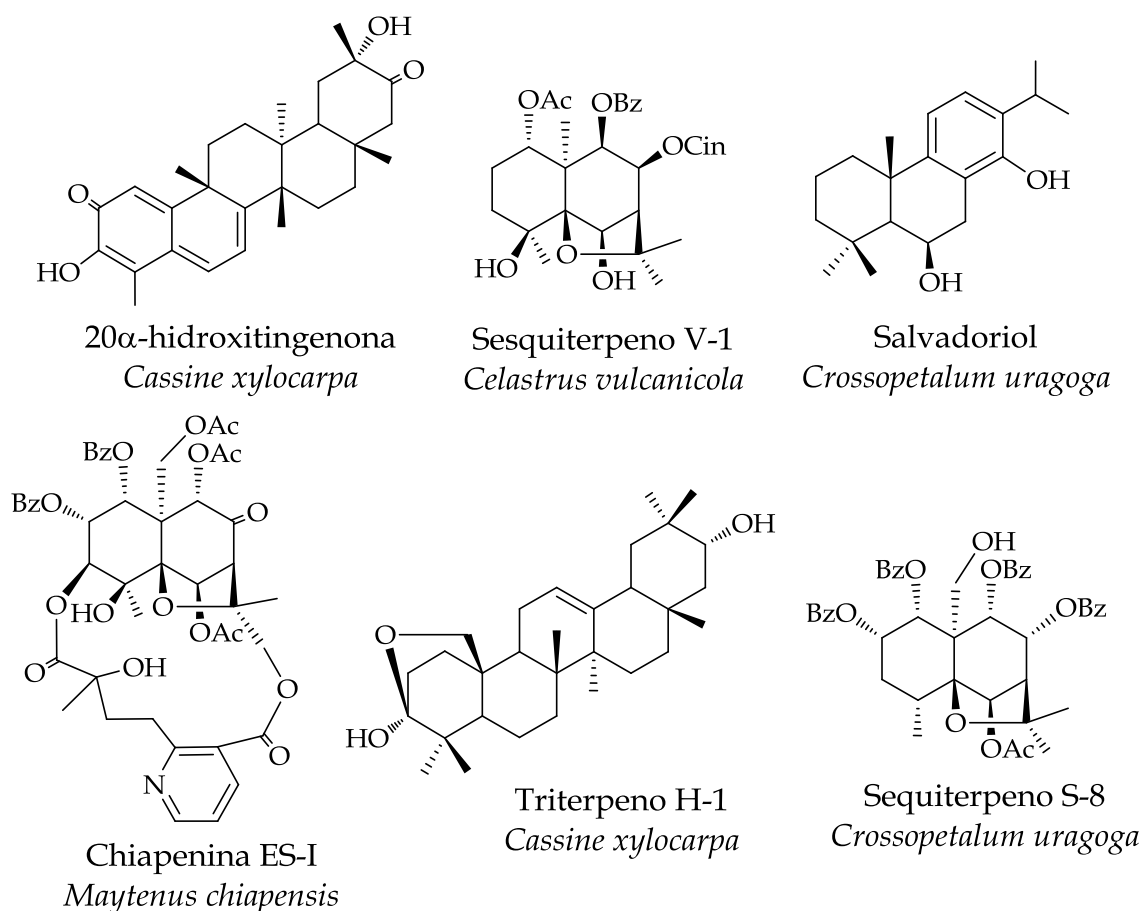


Figura 4. Metabolitos secundarios nuevos en la bibliografía química, aislados de especies de Celastráceas presentes en la Flora Salvadoreña.

La presente tesis continúa los esfuerzos desarrollados en esta línea de investigación y presenta los resultados del estudio fitoquímico de los frutos de *Maytenus chiapensis*, especie que fue recolectada en el Parque Nacional “El Imposible”, Departamento de Ahuachapán.

Del extracto de *n*-hexano/éter etílico (1:1) de los frutos de *Maytenus chiapensis* se obtuvieron veinte sub-fracciones; de las cuáles, fueron estudiadas siete de ellas; obteniéndose nueve sesquiterpenos dihidro- β -agarofuránicos anteriormente reportados en la bibliografía química (**S-4 - S-12**), sus estructuras se elucidaron mediante análisis de sus datos espectroscópicos y por comparación con los datos reportados en los artículos correspondientes.

Además, fueron aislados dos sesquiterpenos dihidro- β -agarofuránicos que resultaron ser nuevos en la bibliografía química (**S-1 y S-2**), las estructuras de estos compuestos se elucidaron mediante un cuidadoso estudio de sus datos espectroscópicos y espectrométricos, como: **1 α ,6 β ,15-triacetoxi-8 α ,9 α -dibenzoiloxidihidro- β -agarofurano** y **1 α ,2 α ,15-triacetoxi-6 β -butiroxi-9 β -benzoiloxidihidro- β -agarofurano**. Se obtuvo un tercer sesquiterpeno que resulto ser nuevo en la bibliografía química (**S-3**), como producto de la hidrólisis parcial del sesquiterpeno: 1 α ,6 β ,15-triacetoxi-9 β -benzoiloxidihidro- β -agarofurano (**S-5**); la estructura del sesquiterpeno nuevo, fue elucidada como: **6 β -acetoxi-9 β -benzoiloxi-1 α ,15-dihidroxidihidro- β -agarofurano**.

Se realizó un análisis preliminar de las fracciones menos polares (10 fracciones) obtenidas del extracto crudo de los frutos de *Maytenus chiapensis*. Estas fracciones fueron analizadas mediante la técnica acoplada de cromatografía de gases/espectrometría de masas obteniéndose, cuatro compuestos anteriormente reportados en la bibliografía química (**M-1 - M-4**).

II. MARCO TEÓRICO



2.1 LA FAMILIA CELASTRACEAE

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

2.1.1 Distribución geográfica

Esta Familia consta de 98 géneros y 1210 especies distribuidas principalmente en climas tropicales y subtropicales, menos común en regiones de clima templado. Esta Familia está bien representada en Centroamérica, en las Antillas, Sur América, África y algunas partes del Este de Asia, particularmente en China (*figura 5*). Algunos de sus géneros más representativos son *Maytenus* con 388 especies, *Euonymus* con 200 especies, *Cassine* con 121 especies y *Celastrus* con 30 especies.⁹

En la región Centroamericana se han reportado dieciséis géneros pertenecientes a esta Familia; encontrándose en nuestro país nueve géneros.¹⁰⁻¹³

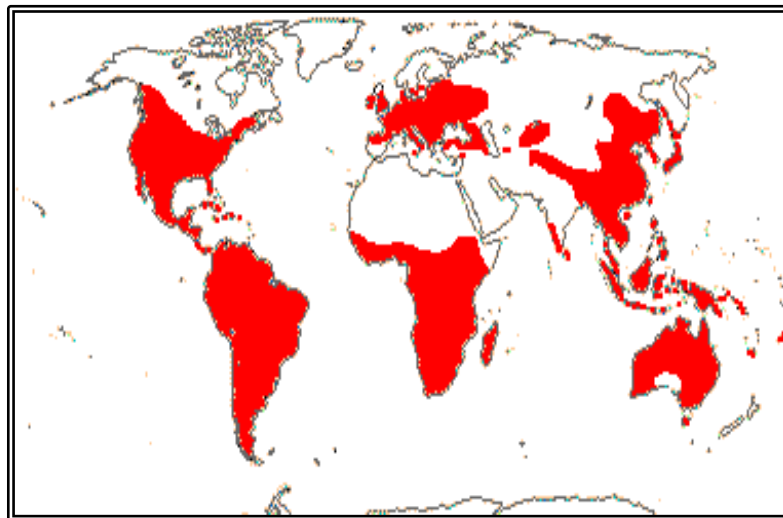


Figura 5. Distribución geográfica de la Familia Celastraceae (color rojo)

2.1.2 Consideraciones taxonómicas

La clasificación botánica de esta Familia ha experimentado cambios debido a las hibridaciones. Así el género *Maytenus* incluye actualmente, especies que anteriormente estaban incluidas en *Gymnosporia* y algunas especies del género

Rhacoma, actualmente están incluidas en *Crossopetalum*; esto ha dado lugar a que muchas especies posean varios sinónimos.¹⁴

Posición Sistemática:

División:	Spermathopyta
Clase:	Magnoliatae
Subclase:	Rosidae
Superorden:	Celastranae
Orden:	Celastrales
Familia:	Celastraceae

La Familia Celastraceae está conformada por árboles, arbustos, arbustos escandescientes o lianas; tallos y raíces con frecuencia de color amarillo intenso, ramitas con estípulas muy pequeñas. Hojas simples, alternas u opuestas, generalmente glabras, margen entero, crenado o aserrado. Inflorescencias mayoritariamente actinomorfas, unisexuales o bisexuales, sépalos 4-5 imbrincados o valvados, pétalos 4-5 imbrincados rara vez valvados, estambres alternos con los pétalos y desiguales, carpelos 2-5. Los frutos son cápsulas locuicidas, drupas, bayas, esquizocarpos o samaras, semillas numerosas a veces triangulares en las drupas o con la base alada en las cápsulas.¹⁵

2.1.3 Usos etnobotánicos

Una gran cantidad de especies de la Familia Celastraceae, han sido valoradas desde la antigüedad, debido a que sus extractos tienen propiedades medicinales útiles.

La variedad de propiedades atribuidas a los extractos crudos de las plantas de esta Familia en medicina tradicional y en agricultura son asombrosas; entre las que podemos citar: estimulantes, supresores del apetito, sedantes, restaurativo de la memoria, anticonceptivo masculino, antitumorales, antileucémico, insecticida, etc.¹⁶⁻¹⁷

Rodríguez F. M. en su Tesis Doctoral titulada, “Estudio fitoquímico de especies de la Familia *Celastraceae* (Flora Panameña): *Maytenus blepharodes* y *Crossopetalum lobatum*”, presenta una tabla que detalla los usos etnomédicos de diversas plantas pertenecientes esta Familia. Las especies están clasificadas alfabéticamente, incluyéndose el nombre científico, nombre vulgar, parte de la planta utilizada, método de preparación, así como el uso medicinal para el que está indicada.⁴

Los extractos de la corteza de *Tripterygium wilfordii*, conocido comúnmente en China como “Lei Gong Teng” han sido utilizados por los Chinos durante siglos para combatir diferentes tipos de dolencias y enfermedades; recientemente se le han descubierto aplicaciones en el tratamiento de la leucemia y la artritis reumatoide (figura 6). Además, 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.¹⁶



Artritis reumatoidea

Tripterygium wilfordii

Figura 6. Aplicaciones del *Tripterygium wilfordii* en medicina tradicional

Del mismo modo las propiedades estimulantes de las hojas del arbusto de “khat” *Catha edulis*, el cual crece en ciertas partes del Este de África y Arabia del Sur, han sido reportadas en la literatura antigua por el médico Naguib Ad Din, quién propuso el uso del “khat” para aliviar la depresión.¹⁸ El hábito de masticar hojas de “khat” (figura 7) por sus efectos estimulantes y supresores de la fatiga llegó a ser muy extendido, y a mediados de los 70’s formó una adicción conocida como “khatismo”, la que terminó presentando serias dificultades económicas y sociales en Etiopía y la República de Yemen.¹⁹

Esto impulsó a la Organización Mundial de la Salud (OMS) para financiar una investigación con el objetivo de determinar los constituyentes activos de “khat”.

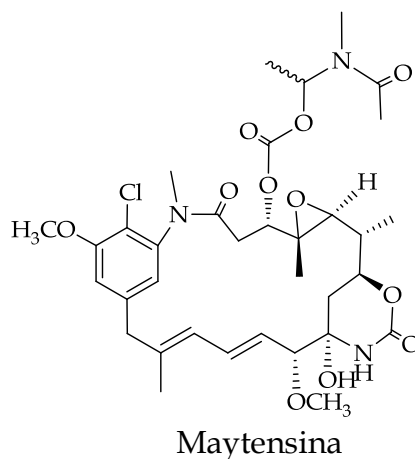


Catha edulis



Figura 7. Cultura de masticar hojas de “khat”

Fue este programa y el descubrimiento en 1972 del macrólido Maytensina (figura 8) aislado de *Maytenus ovatus*, el cual mostro una potente actividad inhibitoria *in vitro* contra algunos carcinomas humanos, lo que catapultó la química de productos naturales de las Celastráceas a la luz pública.²⁰



Maytenus ovatus

Figura 8. Estructura química del macrólido Maytensina

Euonymus europaeus, es una de las especies mejor conocida de esta Familia en el continente Europeo, tiene la particularidad de ser una de las especies tóxicas de esta Familia. Se cultiva como planta ornamental y para obtener su madera, usada como carboncillo. Antiguamente, los tegumentos se usaban por su color para teñir cuero, y sus frutos eran utilizados como purgantes y eméticos, aunque son venenosos.

Estudios fitoquímicos, llevaron al aislamiento e identificación de poliésteres del tipo β -agarofuránicos, algunos de ellos alcaloídicos, con propiedades antialimentarias e insecticidas (figura 9).²¹

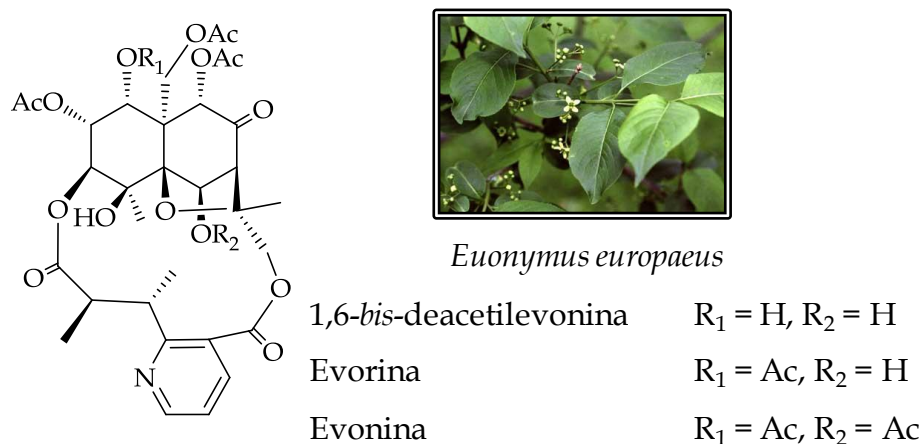


Figura 9. Sesquiterpenos alcaloídicos aislados de *Euonymus europaeus*

El género *Maytenus* es uno de los más representativos de la Familia Celastraceae, con más de 300 especies, distribuidas mayoritariamente en las zonas tropicales y subtropicales de África, Asia, Australia y América. De este género han sido aislados metabolitos secundarios como flavonoides, triterpenos pentacíclicos principalmente del tipo friedelano, oleanano, lupano y ursano, sesquiterpenos y alcaloides sesquiterpénicos. Esta variedad estructural y la diversidad de actividades biológicas mostradas por los metabolitos secundarios aislados de este género; le han dado un potencial interés frente a varios grupos de investigación.

En diversas áreas de la Amazonía (Perú, Ecuador y Colombia) el polvo rojo de la corteza de una planta conocida como "chuchuhasca" *Maytenus chuchuhasca* (figura 10), es usado por los indígenas (Ticunas, Boras, Cocamas, Yahuas, etc.) 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.

En los últimos años se ha ampliado de forma apreciable la literatura sobre la "chuchuasca", así estudios sobre la corteza han demostrado que posee actividad antiinflamatoria.²²

Maytenus canariensis (figura 10) es el único representante de esta Familia en las Islas Canarias, es un arbusto termófilo conocido con el nombre común de “peralillo”. Los agricultores mastican sus hojas para aprovechar su efecto estimulante y aliviar la fatiga, esto recuerda al uso del “khat” en África. Sus frutos triturados se utilizan de forma externa en el tratamiento de tumoraciones en la piel y abscesos cutáneos.²³

Otra especie interesante de este género es *Maytenus robusta* (figura 10), cuyo extracto hidroalcohólico muestra actividad antiulcerogénica (gastroprotectora); esto indica que esta especie puede ser usada en preparaciones fitoterapéuticas como un sustituto de *Maytenus ilicifolia*, la cual se encuentra en peligro de extinción debido a su uso indiscriminado en la medicina tradicional de Brazil.²⁴



Maytenus chuchuhuasca *Maytenus canariensis* *Maytenus robusta*

Figura 10. Especies del género *Maytenus*, utilizadas tradicionalmente

Maytenus ilicifolia (figura 11) es un arbusto nativo del nordeste de Argentina, Uruguay, y el sur de Brasil; es una de las especies de este género que más ha sido estudiada, aislándose de ella diversidad de terpenoides, flavonoides y taninos. De *Maytenus ilicifolia* se ha aislado Pristimerina (figura 11), un compuesto que ha mostrado actividades biológicas interesantes; entre ellas actividad leishmanicida.²⁵ Pristimerina ha sido aislada además de *Maytenus senegalensis* (figura 11); para esta especie se ha reportado actividad antiinflamatoria de los extractos de la raíz.²⁶

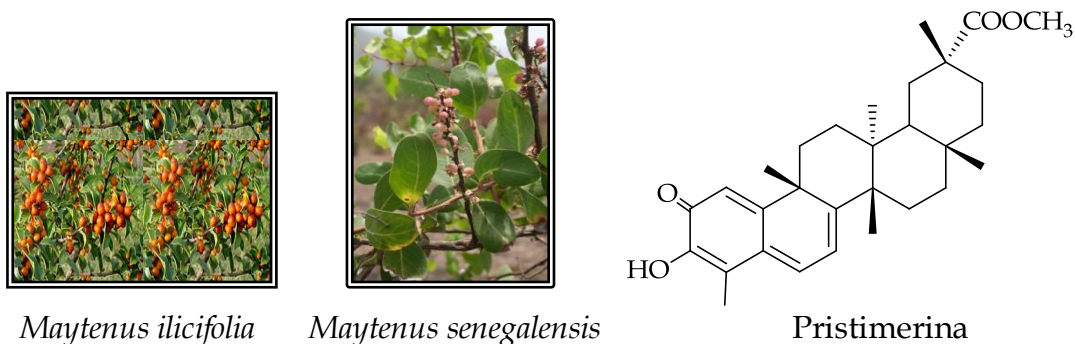
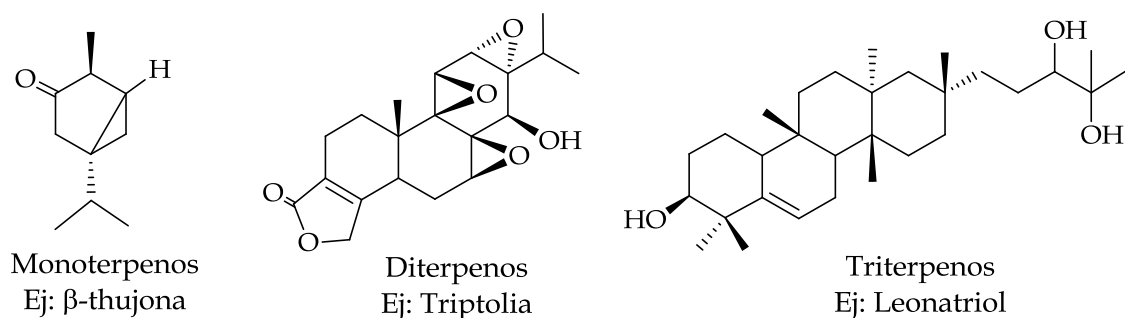


Figura 11. Especies del género *Maytenus* de las que se ha aislado Pristimerina

2.1.4 Metabolitos secundarios aislados

La Familia Celastraceae recobra su importancia en los años 70's cuando se aíslan los maytensinoides con potente actividad antitumoral. Desde entonces numerosos laboratorios han dedicado esfuerzos a investigarla, por su amplia distribución botánica, naturaleza química y complejidad de sus metabolitos, y fundamentalmente por las actividades farmacológicas de sus especies.

De las Celastráceas se han aislado un gran número de metabolitos secundarios (*figura 12*), destacando los flavonoides, los maytensinoides, terpenos y glicósidos cardiotónicos; los cuales presentan una amplia gama de actividades biológicas, habiéndose publicado varias revisiones sobre esta Familia.²⁷⁻²⁹



Continúa.....

Figura 12. Variedad de metabolitos secundarios aislados de Celastraceae

Continuación.....

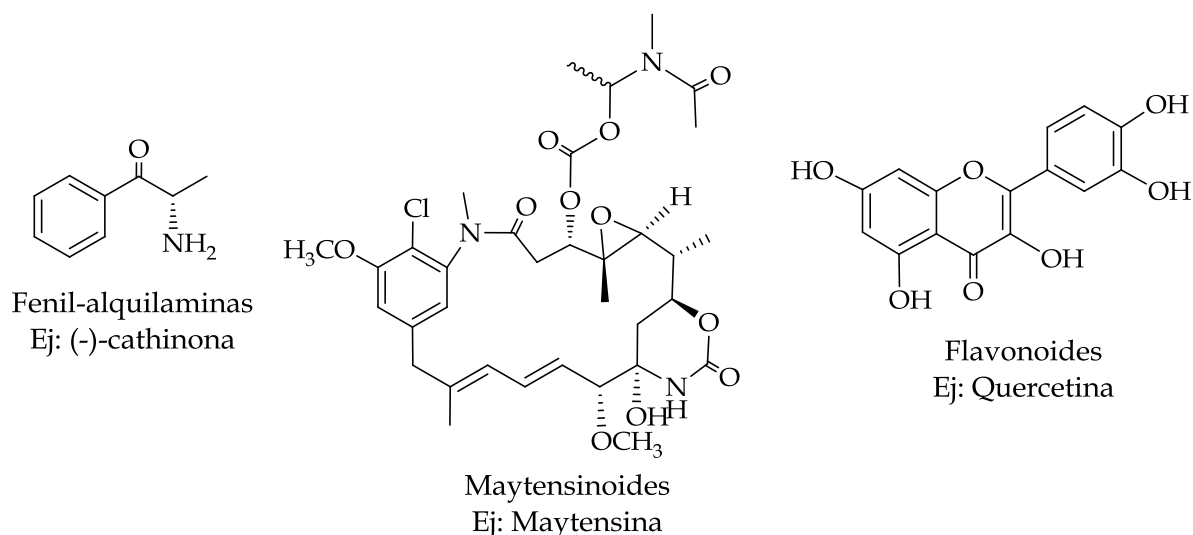


Figura 12. Variedad de metabolitos secundarios aislados de Celastraceae

Sin duda los metabolitos secundarios que mayoritariamente han sido aislados de Celastráceas son los terpenos. El sistema de clasificación de los terpenos es muy sencillo: se agrupan según el número de átomos de carbono del esqueleto carbonado, siempre múltiplo de cinco. Las estructuras típicas contienen esqueleto de carbono representados por $(\text{C}_5)_n$, y son clasificados como: hemiterpenos (C_5), monoterpenos (C_{10}), sesquiterpenos (C_{15}), diterpenos (C_{20}), sesterpenos (C_{25}), triterpenos (C_{30}) y tetraterpenos (C_{40}).³⁰⁻³¹ (figura 13)

Los monoterpenos (C_{10}), son biogénicamente derivados de dos unidades de isopreno; esto compuesto se encuentran distribuidos en una gran variedad de sistemas vivos: plantas, microorganismos e insectos; algunos tiene función específica en el individuo productor y varios presentan actividades biológicas de distinta naturaleza, son compuestos volátiles que forman parte de los aceites esenciales. La β -thujona (figura 12), es el monoterpeno responsable del olor característico de las hojas frescas del *Catha edulis* Forsk "khat".¹⁸

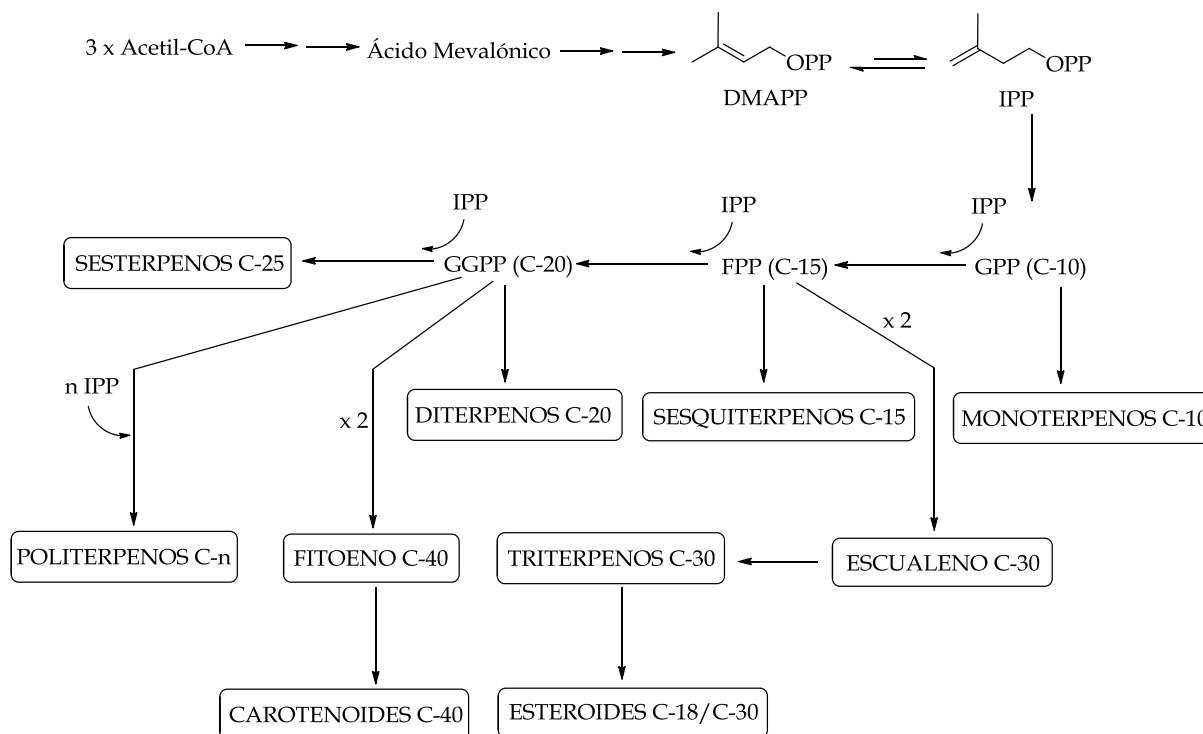


Figura 13. Biosíntesis de los diferentes terpenos

Los sesquiterpenos (C_{15}) con una estructura inusualmente oxigenada, basada en un esqueleto de 5,11-epoxi-5 β ,10 α -eudesman-4-(14)-eno, conocidos como dihidro- β -agarofuranos; son marcadores taxonómicos de esta Familia.³² Además, están dotados de una nueva diversidad química, estereoquímica compleja y un amplio espectro de actividades biológicas, tales como: inmunosupresores, citotóxicas, antialimentarias de insectos, insecticidas, anti-VIH, revertidores de la multirresistencia a fármacos (MDR) y actividades antitumorales.³³

Se han realizado una cantidad importante de trabajos con muchas plantas medicinales de varios géneros como *Tripterygium*, *Celastrus*, *Maytenus* y *Euonymus*. Estos trabajos han producido una gran cantidad de metabolitos sesquiterpénicos con interesantes actividades biológicas, como los mostrados en la figura 14.

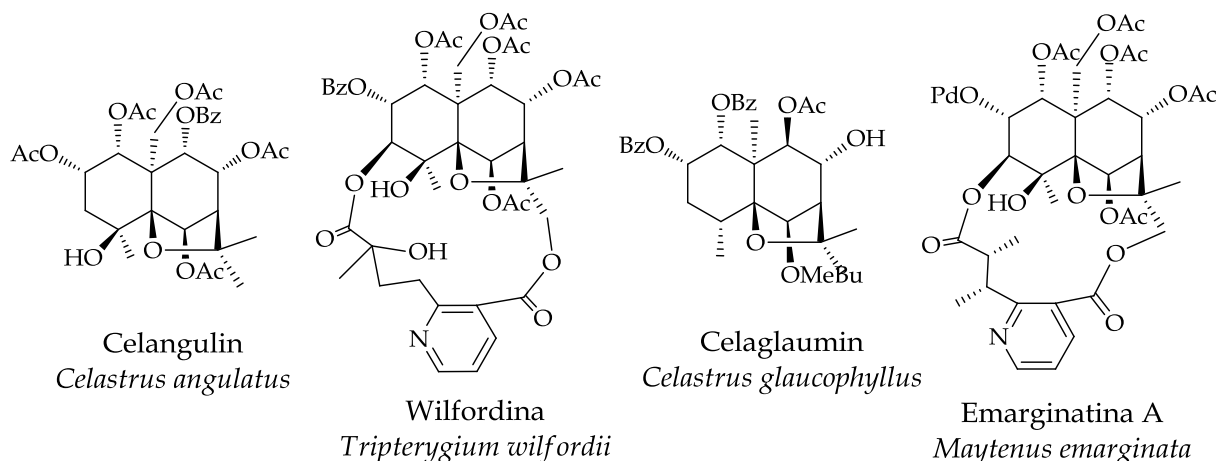


Figura 14. Metabolitos sesquiterpénicos aislados de Celastráceas

Los diterpenos (C_{20}), son poco frecuentes en la Familia Celastraceae; sin embargo, esto no hace menos interesante a este tipo de metabolitos. Desde el aislamiento de los primeros diterpenos de especies de las Celastráceas en la década de los sesenta por Kupchan *y col.*,³⁴ hasta la actualidad se han identificado más de 250 diterpenos, siendo los diterpenos con esqueleto de isopimarano y abietano los más frecuentes; estos últimos, poseen estructuras muy oxidadas como la triptolida, que muestra una potente actividad antileucémica e inmunosupresora (figura 15).³⁵ También se han descrito diterpenos con esqueleto de labdano, isopimarano, kaureno, podocarpano y totarano.

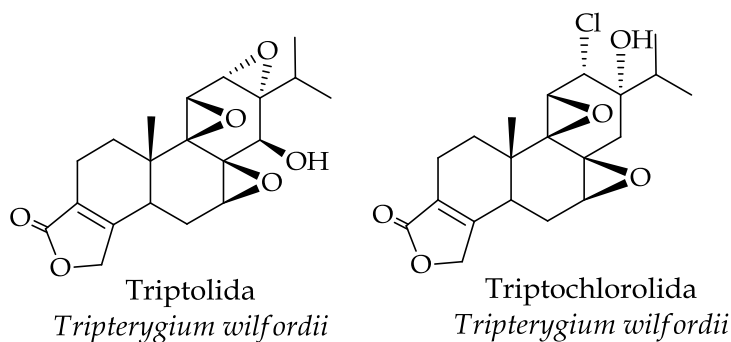


Figura 15. Diterpenos con una potente actividad antileucémica

Por otra parte, además de los sesquiterpenos, alcaloides sesquiterpénicos y diterpenos; en la Familia Celastraceae podemos encontrar triterpenos (C_{30}), triterpenometilenquinonas, triterpenofenoles, etc.

Los triterpenos descritos de especies de la Familia Celastraceae pertenecen, casi invariablemente, a las series del friedelano, lupano, baccharano, oleano, glutinano, ursano y dammarano.

Triterpenos interesantes con esqueleto de ursano y oleano, respectivamente son el ácido ursólico y el ácido oleanólico (figura 16), los cuales son inhibidores de la activación del virus del Epstein-Barr, con actividad similar a los revertidores de la promoción de tumores ácido retinoico y glicirrético; lo que sugiere que estos ácidos pueden ser valiosos agentes quimiopreventivos.³⁶ Piacente y col. reportan la evaluación de la actividad anti-HIV de triterpenos aislados de *Maytenus macrocarpa*.³⁷

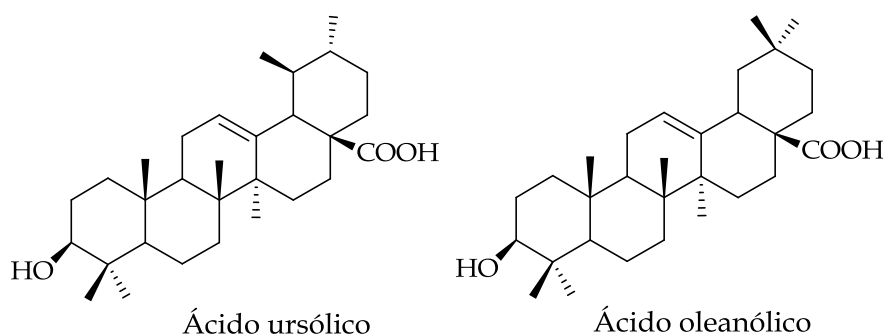


Figura 16. Triterpenos promisorios inhibidores de la activación del virus del Epstein-Barr.

2.2 EL GÉNERO *Maytenus*

El género *Maytenus* consta aproximadamente de 380 especies; su distribución es pantropical, endémico de Centro y Suramérica. En el Ecuador se han registrado 5 especies; en los bosques andinos se conocen 3 especies: *Maytenus jamesonii* Briq., *M. prunifolius* Presl y *M. verticillatus* DC., Reportándose además 15 especies en Perú y 15 en Venezuela.³⁸ En Centroamérica se encuentran 11 especies.¹⁰

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

motivó que algunos botánicos confundieran su descripción ubicándola en otras familias o creando otros géneros.⁵

Las especies del género *Maytenus*, tienen una larga historia de empleo en la medicina popular de varios pueblos (figura 10 y 11). En la cultura Guaraní, se empleaba la corteza de diversas especies de *Maytenus*, por ejemplo *M. ilicifolia* la cual se empleaba para el control de la natalidad, además han mostrado actividad anti-inflamatoria.

Muchos compuestos con actividad biológica han sido aislados de estas plantas, como los maytensinoides con actividad antitumoral, alcaloides sesquiterpénicos con actividad antialimentaria e inmunosupresora, poliésteres sesquiterpénicos con actividad antitumoral y antialimentaria, triterpenoquinonas y dímeros triterpénicos con actividad antimicrobiana y nortriterpenometilénquinonas con actividad antimicrobiana.⁵⁻⁷

Maytenus, es el único género representante de la Familia Celastraceae del que se han aislado e identificado diferentes compuestos derivados del núcleo β -agarofurano, los cuales comparados con otros compuestos similares se presentan como promisorios insecticidas naturales.

2.3 *Maytenus chiapensis* LUNDELL

Maytenus chiapensis Lundell (figura 17), 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 y amarillo cuando madura.⁵



Figura 17. Detalle de los frutos maduros de *Maytenus chiapensis*

M. chiapensis Lundell, es conocido en El Salvador con el nombre común de “escobo blanco”, fue recolectado en el mes de Julio de 2008 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 (El Salvador), entre los municipios de San Francisco Menéndez y Tacuba, correspondiente al gran paisaje de la Cordillera Costera de Apaneca-Ilamatepec. 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.⁵

Posición Sistemática:

Clase:	Magnoliopsida
Subclase:	Rosidae
Orden:	Celastrales
Familia:	Celastraceae
Género:	<i>Maytenus</i>
Especie:	<i>Maytenus chiapensis</i>
Nombre científico:	<i>Maytenus chiapensis</i> Lundell
Nombre común:	Escobo blanco

2.4 SESQUITERPENOS DIHIDRO- β -AGAROFURÁNICOS

2.4.1 Introducción

Los sesquiterpenos y alcaloides sesquiterpénicos macrocíclicos, con esqueleto básico de dihidro- β -agarofurano [5,11-epoxi-5 β ,10 α -eusedeman-4(14)-eno], están ampliamente distribuidos en las especies de las Celastráceas y son considerados indicadores quimiotaxonómicos de esta Familia. Los agarofuranos son sesquiterpenos tricíclicos de la familia del eusedmano que poseen como esqueleto base un sistema decalínico con una unión *trans* y un anillo tetrahidrofuranico, entre los carbonos 5 y 7, en posición β con respecto al plano del sistema decalínico.³⁹⁻⁴⁰

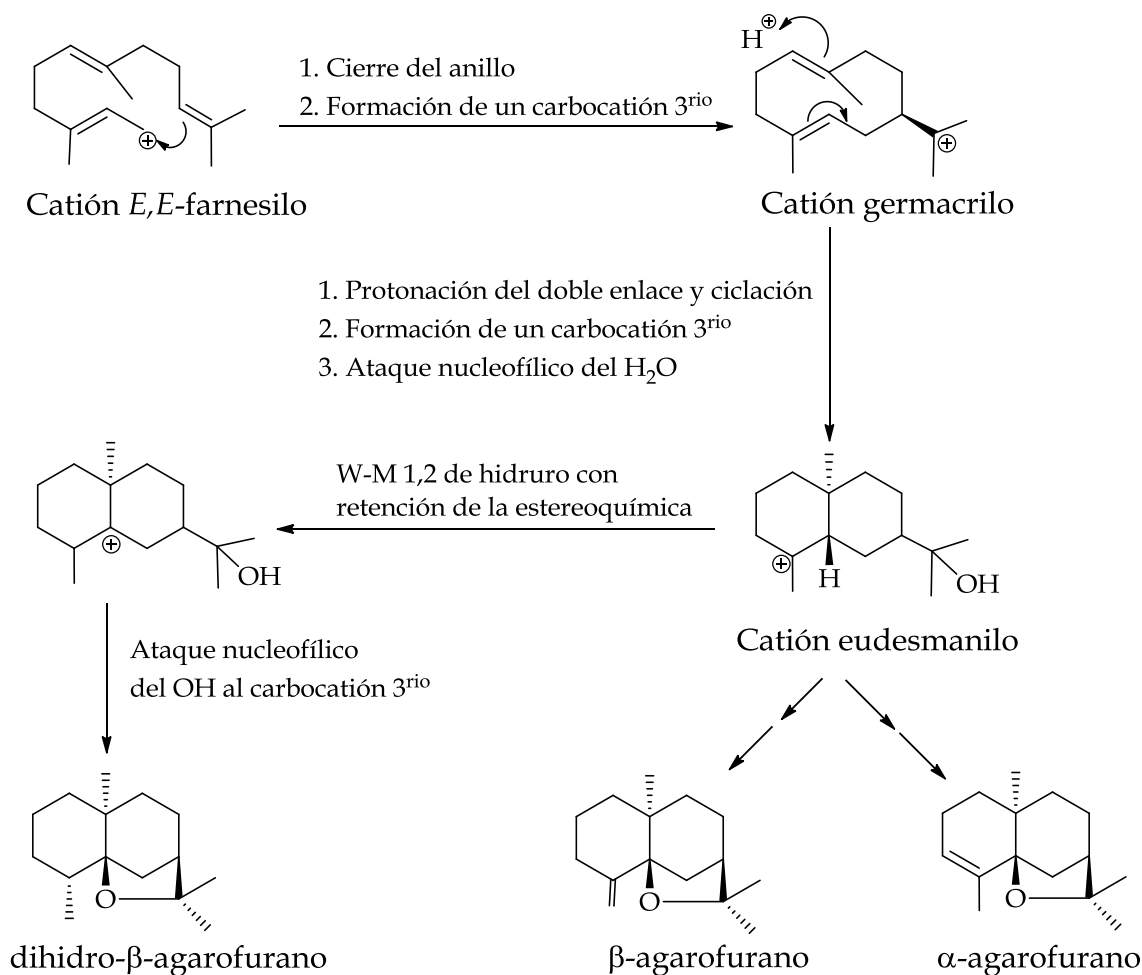


Figura 18. Biogénesis de los sesquiterpenos agarofuránicos

El precursor de los sesquiterpenos, tanto lineales como cíclicos, es el pirofosfato de farnesilo (FPP) que se ha formado por la repetición de tres subunidades de isopreno (5 carbonos) que se unen entre sí, mediante una reacción “cabeza-cola”. En la *figura 18* se muestra como se forman biogénicamente los sesquiterpenos agarofuránicos.³¹

Los primeros agarofuranos descritos en la literatura fueron el α -agarofurano, β -agarofurano y dihidro- β -agarofurano (*figura 18*), aislados del aceite de la madera de *Aquilaria agallocha* (Timelaceae) por Jaim y col.⁴¹ Sus estructuras fueron determinadas un año más tarde por Maheshwari, mediante estudios espectroscópicos (IR y RMN) y transformaciones químicas, que confirmaron la existencia en estas moléculas de un anillo decalínico, un anillo tetrahidrofuránico y una configuración α para el metilo angular en el carbono 10.⁴²

Posteriormente, en 1967, Barrett y Buchi, determinaron la conformación de la unión de los dos anillos como *trans* y una disposición β del sustituyente tetrahidrofuránico. Estudios de Rayos X y conformacionales realizados a estos sesquiterpenos han demostrado que con pequeñas variaciones, los anillos A-B con unión *trans* forman un sistema decalínico silla-silla, ligeramente distorsionado por la presencia del enlace 1,3-diaxial del anillo tetrahidrofuránico, prácticamente perpendicular al plano formado por los carbonos 5, 7, 8 y 10 (*figura 19*).⁴³

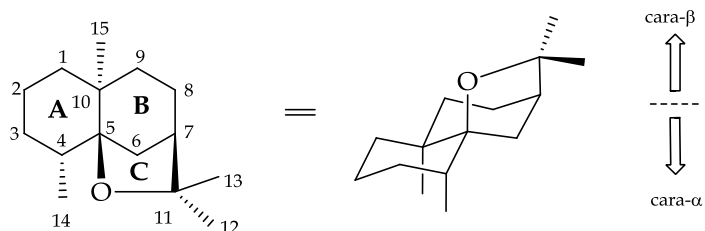


Figura 19. Esqueleto de los sesquiterpenos dihidro- β -agarofuránicos (sistema de anillos y numeración)

2.4.2 Clasificación

Generalmente los sesquiterpenos aislados de Celastraceae se presentan como poliésteres, basados en un núcleo C₁₅ conocido como dihidroagarofurano*. Este núcleo base presenta dos anillos A y B, unidos en forma 1,3-diaxial formando una *trans*-decalina dimetilada, el puente Me₂C-O constituye un grupo tetrahidrofuranílico, que forma el anillo C (*figura 19*).³⁹

En esta tesis se dibuja el sistema de anillos de los dihidro-β-agarofuranos, de manera que el anillo C, se muestra en la cara superior de la molécula, como se presenta en la *figura 19*. Se ha utilizado esta convención, ya que corresponde a la presentación convencional de estructuras de terpenos y esteroides. Además un número de autores, entre ellos Brüning, Büchi, González y Huffman han adoptado esta convención.³⁹

Sin embargo, es importante señalar que existe otra convención comúnmente empleada en la bibliografía de Celastráceas. Esta convención ha sido utilizada, por ejemplo en los estudios de aislamiento de Crombie y *col.*, estudios de síntesis de White y *col.* y los estudios biológicos de Takaishi y *col.*³⁹

Hasta la actualidad se ha reportado el aislamiento y caracterización estructural de más de 400 nuevos miembros de esta clase de productos, basados en más de 50 estructuras dihidroagarofuránicas básicas.³⁹⁻⁴⁰ Estas estructuras básicas pueden tener tan solo dos grupos oxigenados, como en el caso de *boariol*, o pueden contener hasta nueve grupos oxigenados como en el caso de *euonyminol*; como es presentado en la *figura 20*.

* El (-)-dihidroagarofurano es un producto natural encontrado solamente en una resina de galbaum y en el aceite de sandalwood. Algunas veces se le denomina (-)-dihidro-β-agarofurano. La designación β, se refiere al hecho que es el isómero mayoritariamente obtenido por hidrogenación catalítica (-)-β-agarofurano, el cual tiene un doble enlace entre C-4 y C-14. De manera similar, (-)-isodihidroagarofurano (el cual es el epímero en C-4) algunas veces es denominado (-)-dihidro-α-agarofurano, ya que es el isómero que se obtiene de forma mayoritaria por hidrogenación catalítica del (+)-α-agarofurano, el que posee un doble enlace entre C-3 y C-4.

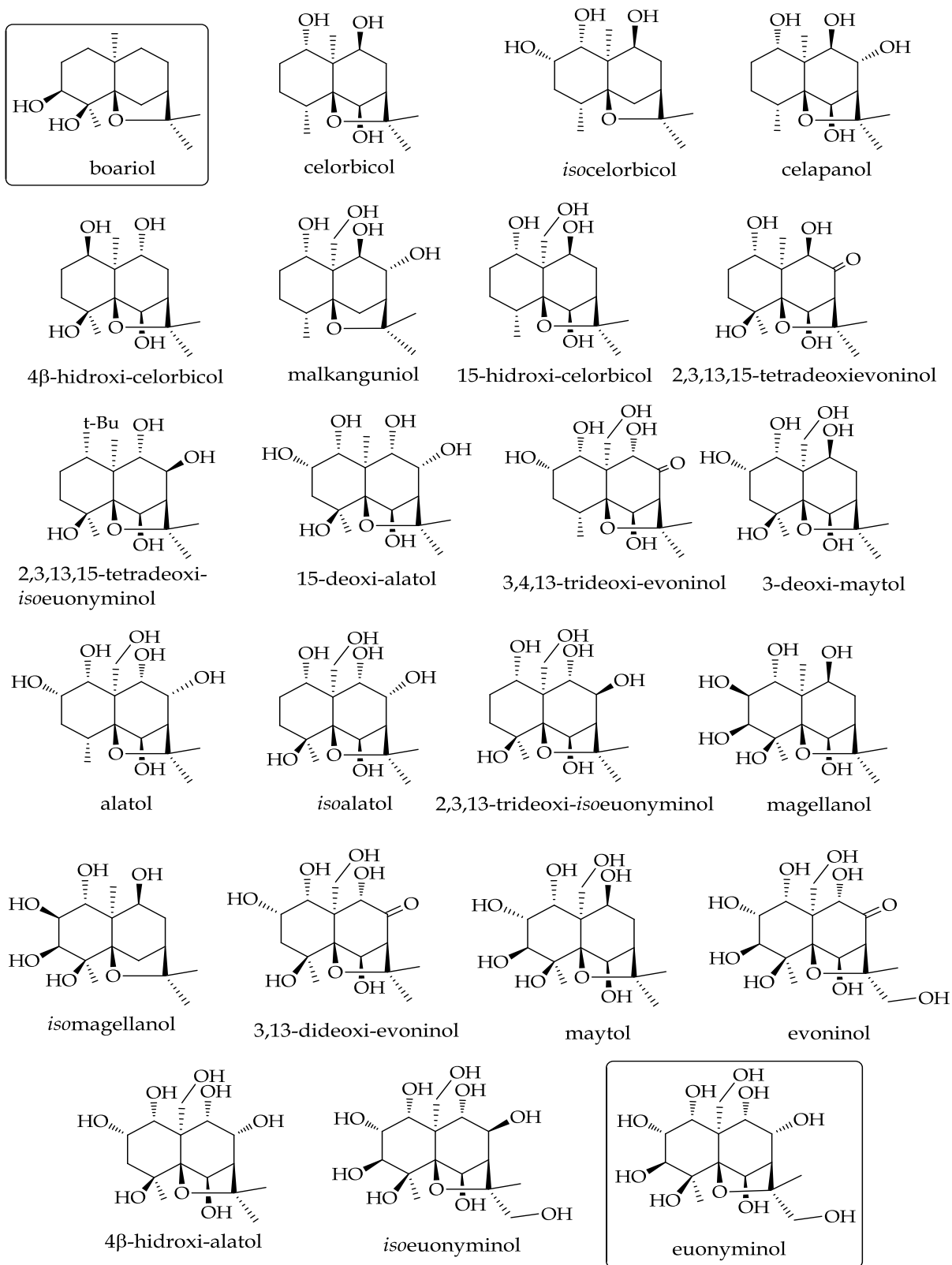


Figura 20. Algunos esqueletos polihidroxicos base de los sesquiterpenos dihidro- β -agarofuránicos

Los grupos ésteres varían ampliamente desde ácido acético (Ac) y benzoico (Bz) hasta ácidos alifáticos más complejos y heterocíclicos, como los presentados en la siguiente figura.

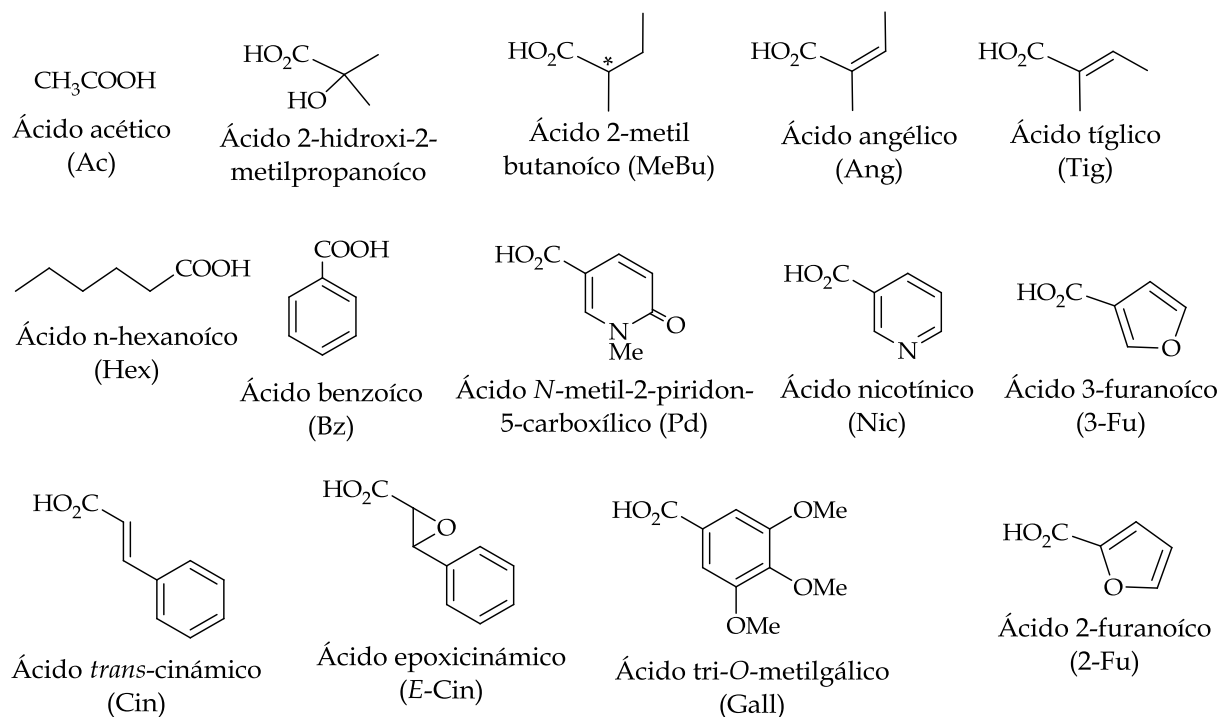


Figura 21. Ácidos carboxílicos que esterifican los sesquiterpenos dihidro-β-agarofuránicos

En algunos casos, se encuentran ésteres procedentes de ácidos dicarboxílicos (*figura 22*) que contienen mayoritariamente una piridina y en menor grado un diácido monoterpénico; estos ácidos dicarboxílicos forman puentes de tipo *macrobislactona* entre los carbonos C-3 y C-12 (*ver figura 23*) y/o C-8 y C-15 (*ver figura 32*). La posición relativa, el número y la configuración de estos grupos ésteres, es lo que distingue a cada sesquiterpeno individual.³⁹⁻⁴⁰

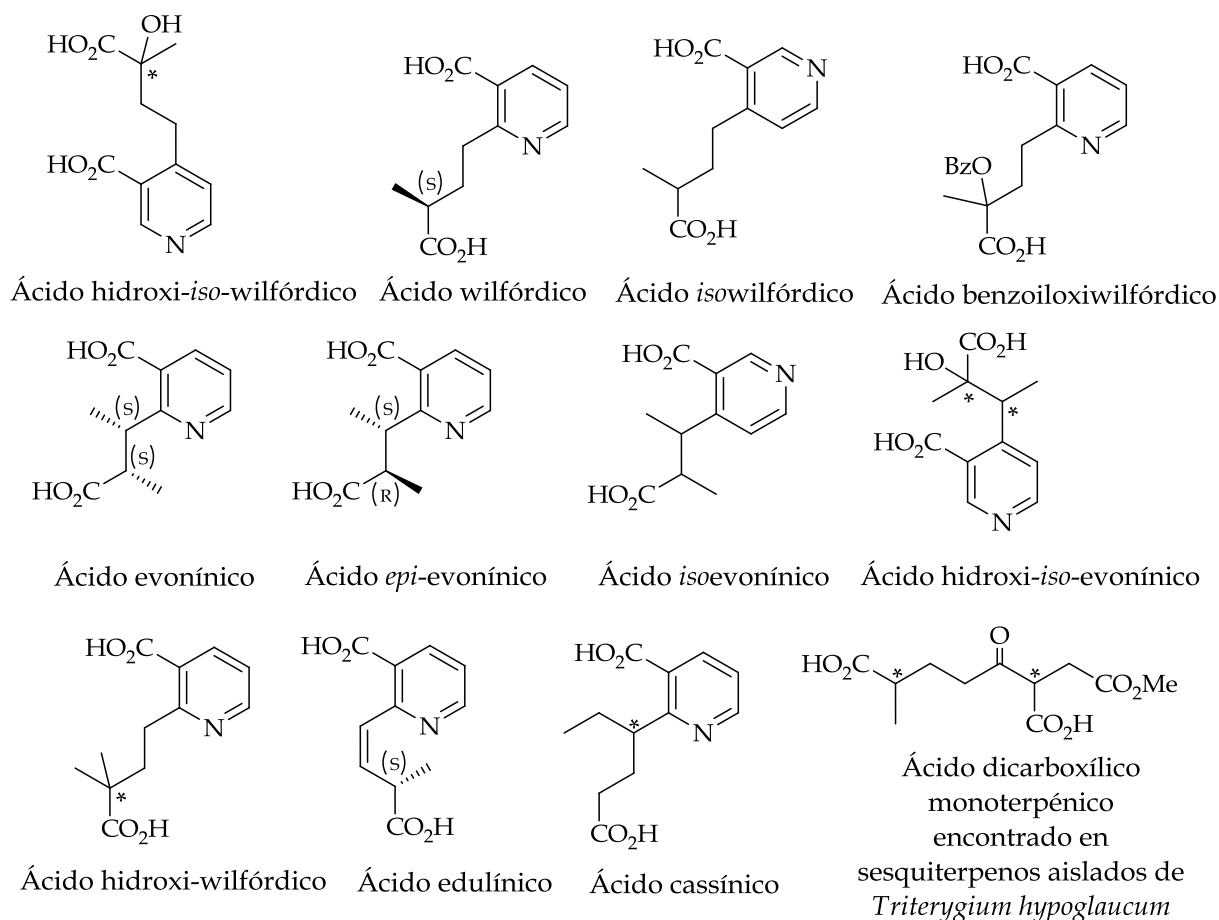


Figura 22. Ácidos dicarboxílicos que esterifican los alcaloides sesquiterpénicos[†]

2.4.3 Aislamiento, purificación y elucidación estructural

La extracción de los sesquiterpenos, se realiza generalmente por sucesivas extracciones mediante solventes, en grado creciente de polaridad, o mediante cromatografía de partición (líquido-líquido) a partir de un extracto etanólico.

Una mejor separación y purificación de estos metabolitos se lleva a cabo mediante cromatografía en columna a gravedad o flash en fase normal (CC, FCC), sobre gel de sílice, cromatografía en fase reversa y Sephadex LH-20. Los diastereoisómeros han sido separados con éxito por HPLC preparativa, o por cromatografía contracorriente (DCCC). La DCCC es particularmente eficaz para la purificación a gran escala.⁴⁴⁻⁴⁵

[†] Un asterisco denota un centro estereogénico para el cual la configuración absoluta del producto natural aislado de Celastraceae aún no ha sido determinada.

Las estructuras de los sesquiterpenos dihidro- β -agarofuranos son difíciles de identificar debido a la presencia de isómeros de posición y de diastereoisómeros. La elucidación estructural, inicia con la determinación precisa de la masa molecular, mediante EI-MS, FAB-MS y ESI-MSN, que además ayuda a determinar los bloques de construcción del esqueleto dihidroagarofurano. Por ejemplo, son fragmentos característicos, iones como $[M-Ac]^+$, $[M-Me_2CHCO(iBu)]^+$ y $[M-MeCH_2CHMeCO(MeBut)]^+$.

Los alcaloides sesquiterpénicos aparecen con frecuencia, como isómeros por la variación de la macrolactama, formada por ácido evonínico o ácido wilfórdico, cuyas fórmulas moleculares son las mismas ($C_{11}H_{13}NO_4$). Sin embargo, esta isomería puede distinguirse por ESI-MS/MS.⁴⁶

La cristalografía de rayos X, la espectroscopía RMN 1D y 2D, la hidrólisis selectiva son métodos eficaces para elucidar la estructura de los sesquiterpenos dihidro- β -agarofuránicos, especialmente cuando existen en la molécula más de tres tipos de ácidos como ésteres. Se ha establecido una metodología general para elucidar los patrones de regiosustitución (regioisomería y estereoisomería) de las funciones éster en las estructuras derivadas de estos sesquiterpenos.⁴⁷

La metodología aplica una comparación detallada de los experimentos de RMN 1H y RMN ^{13}C , incluyendo experimentos heteronucleares (HMQC, HSQC y HMBC) para correlaciones $^1H-^{13}C$, experimentos homonucleares (COSY, NOESY y ROESY) para correlaciones $^1H-^1H$; además la interpretación de los acoplamientos en los espectros de dicroísmo circular (CD), la hidrólisis y la preparación de derivados proveen información adicional. De hecho, las estructuras de tres compuestos relacionados, dos estructuras de celorbicol y una *isocelorbicol*, fueron revisadas mediante el uso de técnicas de RMN 2D.⁴⁸

La estereoquímica relativa de los centros de estereogénicos es elucidada en base a un análisis cuidadoso de las constantes de acoplamiento y confirmada mediante los efectos ROE del experimento ROESY. La configuración absoluta se determina por estudios de dicroísmo circular (CD), las correlaciones químicas o conocimientos biogénicos. La configuración absoluta de los centros quirales se resuelve de forma inequívoca por el método de quiralidad del dibenzoato, una extensión del método de dicroísmo circular. El ángulo diedro entre los diferentes cromóforos (benzoato y/o cinamato) se calcula a partir de sus valores de J (constante de acoplamiento) y la mecánica molecular.⁴⁹

2.4.4 Actividades biológicas

2.4.4.1 Actividad inmunosupresora

Los agentes inmunosupresores son componentes claves dentro del cóctel de medicamentos administrados durante una cirugía de trasplante de órganos. Para los sesquiterpenos aislados de Celastráceas se ha reportado una prometedora actividad inmunosupresora.

En los últimos años, el extracto denominado T_{II}, derivado de las raíces de *Tripterygium wilfordii*, se ha utilizado en China para tratamientos clínicos de artritis reumatoide, control de la fertilidad masculina, procesos inflamatorios y autoinmunes.

Zheng y *col.* han reportado las propiedades inmunosupresoras de wilfortrina (**1**) y euonina (**2**), los que pertenecen al tipo de sesquiterpenos macrocíclicos (alcaloides sesquiterpénicos) basados en un esqueleto base tipo euonyminol, y que fueron aislados de las raíces de *T. wilfordii*.⁵⁰

En la década de 1990, Lin y *col.* reportaron tres alcaloides sesquiterpénicos del tipo hidroxi-*iso*-evoninato *iso*-wilfortrina (**3**), wilfordsina (**4**) y wilfordconina (**5**) aislados de *T. wilfordii*; que mostraron notables efectos inmunosupresores.⁵¹

Duan y *col.* aislados alcaloides sesquiterpénicos del tipo evoninato, ebenifolina E-II (**6**) y cangorinina (**7**) aislados de *T. wilfordii* y el extracto de T_{II}, tienen efecto inhibitorio significativo en la producción de citoquinas de células homonucleares periféricas humanas, estimuladas por lipopolisacáridos (orfitohemaglutinina).⁵²

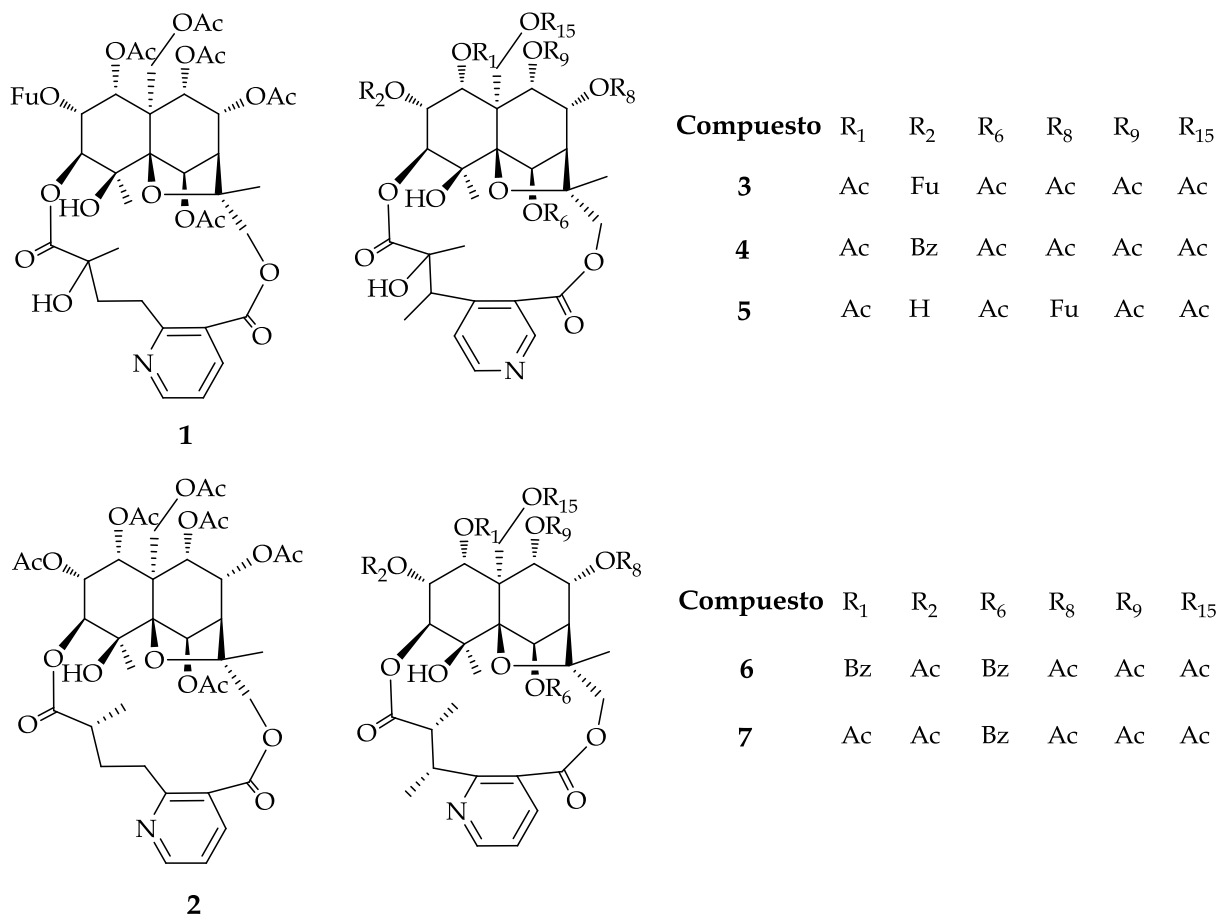


Figura 23. Alcaloides sesquiterpénicos aislados del extracto T_{II} *Tripterygium wilfordii*

Además, eunonina (**2**) y wilfordinina G (**8**) inhiben la producción de interleucinas (IL)-4, IL-8 e interferón (IFN)- γ , wilforina (**9**) aislada del extracto T_{II}, suprime la producción del factor de necrosis tumoral (TNF)- α , IL-1 β y IL-2. Más interesante, son cuatro nuevos sesquiterpenos poliesterificados (**10**), (**11**), (**12**) y (**13**) aislados de la corteza de *T. wilfordii*, los cuales inhiben la transformación de linfocitos, además de su notable actividad inmunosupresora.⁵³

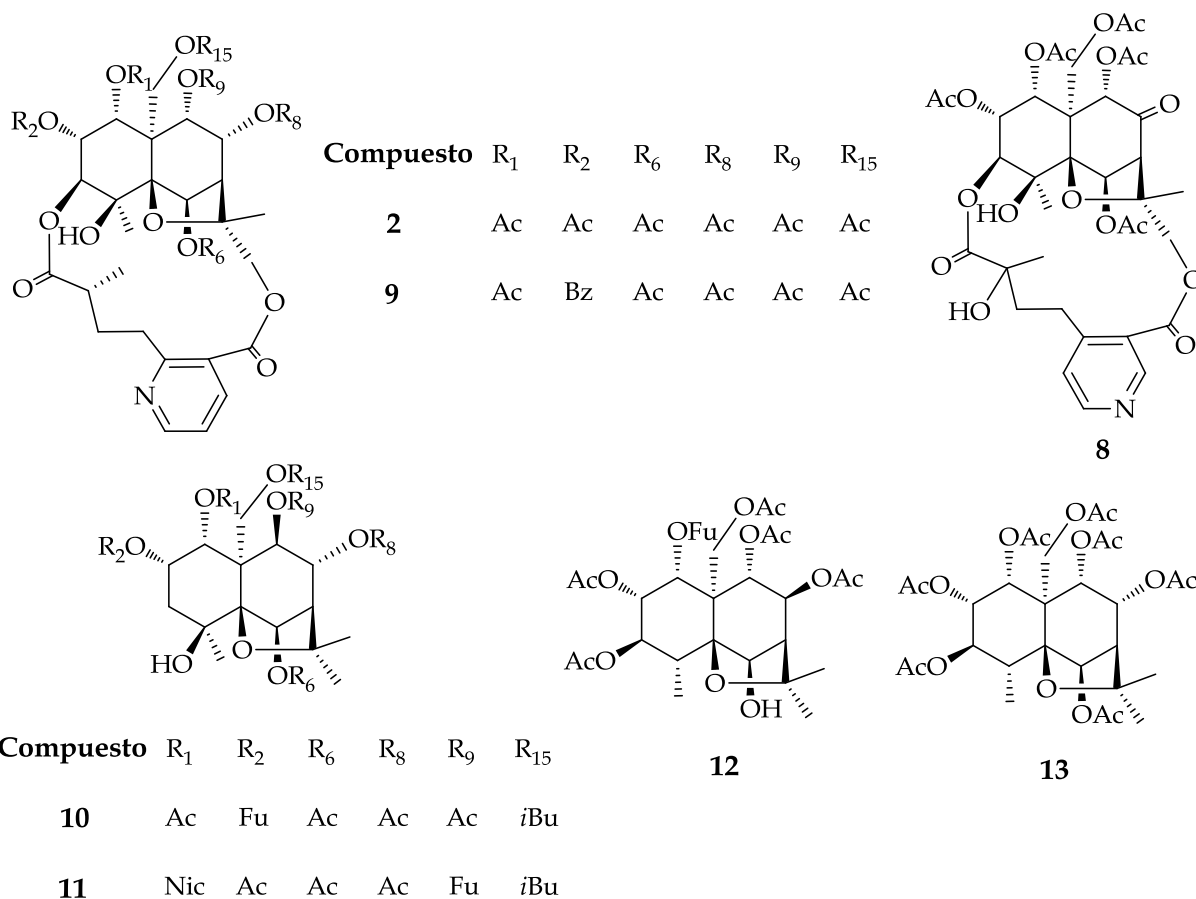


Figura 24. Alcaloides sesquiterpénicos y sesquiterpenos aislados de *Tripterygium wilfordii*

2.4.4.2 Actividad anti-tumoral y citotóxica

La inhibición tumoral en la fase de promoción es una estrategia prometedora en la quimioprevención del cáncer. Takaishi y *col.* fueron los primeros en reportar 33 sesquiterpenos, aislados de las hojas y los aquenios de *Tripterygium wilfordii* Hook y de los frutos de *Euonymus sieboldianus*, los cuáles mostraron efectos inhibitorios sobre la activación del VEB inducida por ATP en células Raji. Entre estos metabolitos activos, triptogelin A-1 (**14**) (40 % de inhibición en relación de 500 mol por ATP) inhibió notablemente la activación del VEB, sin citotoxicidad contra las células Raji. Además el compuesto (**14**) mostró un efecto inhibitorio significativo en la promoción de tumores en piel de ratón, en una prueba de carcinogénesis *in vivo* en dos etapas.⁵⁴

Posteriormente Takaishi *y col.* aislaron siete sesquiterpenos de las semillas de *Celastrus stephanotiifolius*, los cuáles suprimen significativamente la activación del VEB-EA; además dos de ellos mostraron una potente actividad inhibitoria: celafolin B-2 (**15**) y celafolin D-2 (**16**).⁴⁸

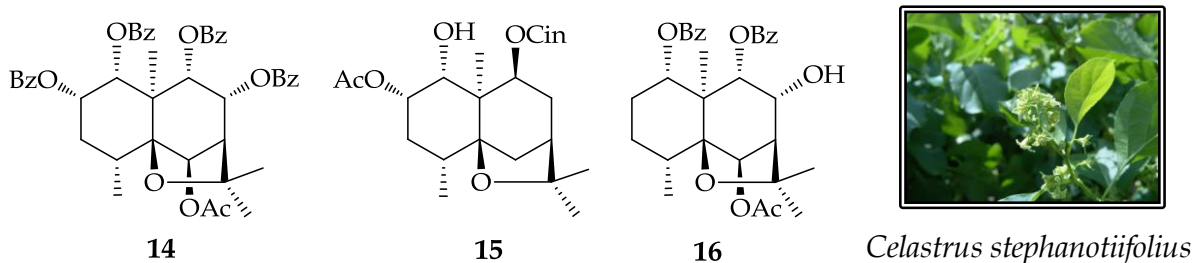


Figura 25. Sesquiterpenos aislados de diferentes especies de Celastráceas por Takaishi *y col.*.

Los sesquiterpenos (**17**)-(19), (**20**) y MACU7 (**21**), aislados de los frutos de *Maytenus cuzcoina*, mostraron un potente efecto inhibitorio sobre la inducción del VEB (100% de inhibición en relación por 1000 moles de ATP) y alta viabilidad preservando las células Raji (más del 70 % en relación por 10 a 1000 mol de ATP); resultando el compuesto (**21**) (con esqueleto de 3-deoximaytol) el más activo entre los compuestos ensayados (9,0 % de inhibición de la inducción en relación por 10 mol de ATP).⁵⁵

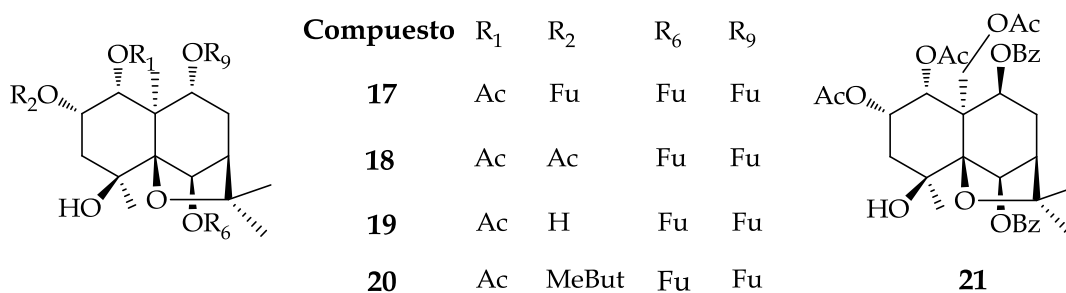


Figura 26. Sesquiterpenos aislados de *Maytenus cuzcoina*.

Las hojas de *Crossopetalum tonduzii* produjeron diez sesquiterpenos poliesterificados, los que mostraron efectos en la promoción anti-tumoral, sobre la activación del VEB-EA. Los compuestos (**22**)-(24) (esqueleto básico de 8-*epi*-4 α -hidroxialatol) exhibieron una potente actividad antitumoral con 9,9, 9,5 y el 5,9 % de inhibición en relación por

10 moles de ATP, respectivamente, y todos presentaron una alta viabilidad de preservar las células Raji (más del 60 % en relación a 10-1000 mol de ATP).⁵⁶

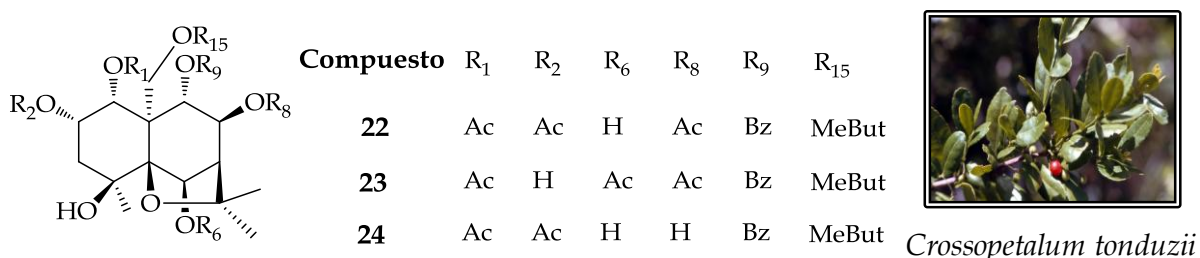


Figura 27. Sesquiterpenos aislados de las hojas de *Crossopetalum tonduzii*.

La mayoría de los dieciocho sesquiterpenos provenientes de las semillas de *Euonymus nanoides* fueron capaces de mostrar actividad inhibitoria *in vitro* contra tres líneas celulares de tumores humanos, es decir, A-549 (carcinoma de pulmón), HL-60, y BEL-7402 (cáncer de hígado), así como sobre la línea celular P-388 de tumores en ratón (leucemia neoplásica). Entre ellos, (**25**) y eur-7 (**26**) fueron los más activos contra las líneas celulares HL-60 y BEL-7402 (CI₅₀ 8.68 y 12.08, y 12.05 y 6.23 µg/mL⁻¹, respectivamente), mientras que (**25**) también inhibió la línea celular P-388 (CI₅₀ 13.26 µg/mL⁻¹). Así pues, la potencia de inhibición *in vitro* del compuesto (**25**), fue comparable a la de los agentes anti-cáncer utilizados actualmente en clínica: VP-16 (P-388: IC₅₀ 5.89 µg/mL⁻¹, HL-60: 5.08 µg/mL⁻¹, y BEL-7402: 13.17 µg/mL⁻¹).⁵⁷

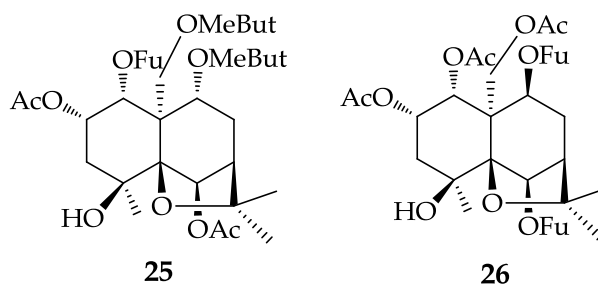


Figura 28. Sesquiterpenos aislados de las semillas de *Euonymus nanoides*.

Los tallos y las hojas de *Maytenus emarginata* produjeron nueve alcaloides sesquiterpénicos del tipo evoninato con una α-piridona en C-2. Entre ellos, (**27**), (**28**) y (**29**) mostraron actividad citotóxica *in vitro* contra células de carcinoma humano de

nasofaringe (KB) (DE_{50} 4.0, 0.4, 1.7 y 2.1 $\mu\text{g mL}^{-1}$, respectivamente); el compuesto (30) exhibió citotoxicidad contra células de carcinoma de colon (COLO-205) (DE_{50} 4.1 $\mu\text{g mL}^{-1}$).⁵⁸ El compuesto (31), además mostró potentes efectos citotóxicos contra varias líneas de células tumorales humanas: KB, adenocarcinoma ileocecal (HCT-8), melanoma (RPMI-7951) y meduloblastoma (TE-671) y contra la leucemia murina (P-388) (DE_{50} 0.51, 1.29, 0.1, 0.21 y 0.69 $\mu\text{g mL}^{-1}$, respectivamente).⁵⁹

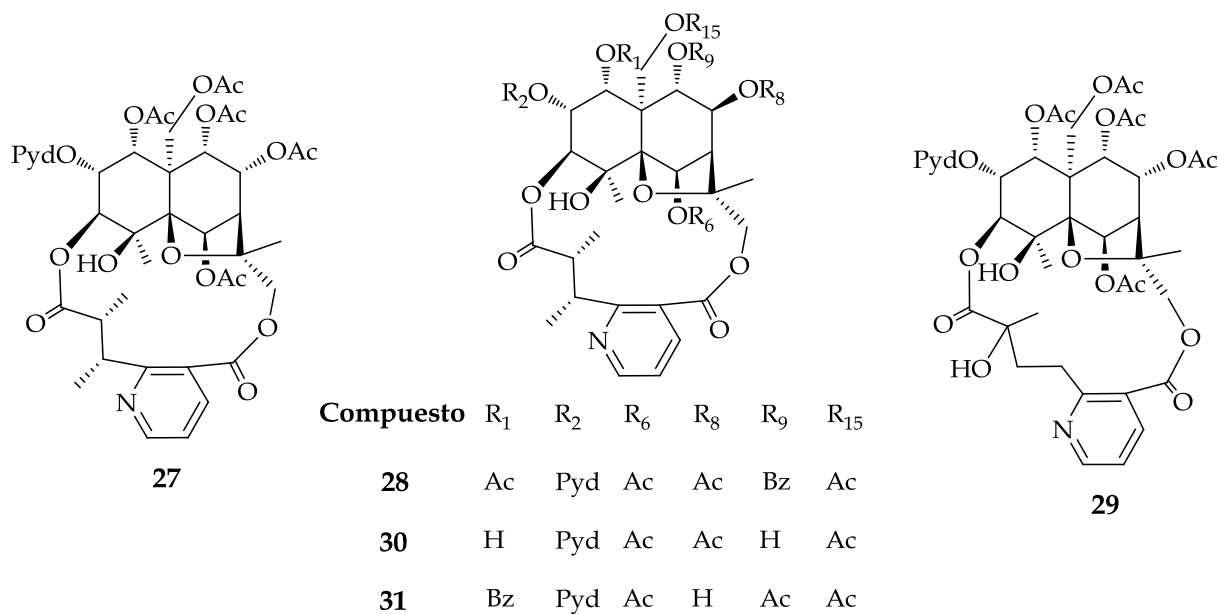


Figura 29. Alcaloides sesquiterpénicos aislados de *Maytenus emarginata*.

Cuatro sesquiterpenos (32), (33), (34) y (35) aislados de los tallos de *Microtropis fokienensis*, exhibieron una citotoxicidad potente *in vitro*, frente a las líneas celulares P-388 y cáncer de colon humano HT-29. Los compuestos (33) y (35) fueron los más citotóxicos frente a diferentes células, como por ejemplo: (CI_{50} 0.032 $\mu\text{g mL}^{-1}$ para células P-388; CI_{50} 0.054 $\mu\text{g mL}^{-1}$ para células HT-29) y (CI_{50} 0.036 $\mu\text{g mL}^{-1}$ para células P-388; 0.058 $\mu\text{g mL}^{-1}$ para células HT-29), respectivamente.

Los compuestos (32), (33) y (35), con un grupo benzoiloxi en C-15, mostraron una mayor citotoxicidad que el compuesto (34), con un grupo *iso*-butanoiloxi en C-15, contra ambas líneas celulares (P-388 y HT-29).⁶⁰

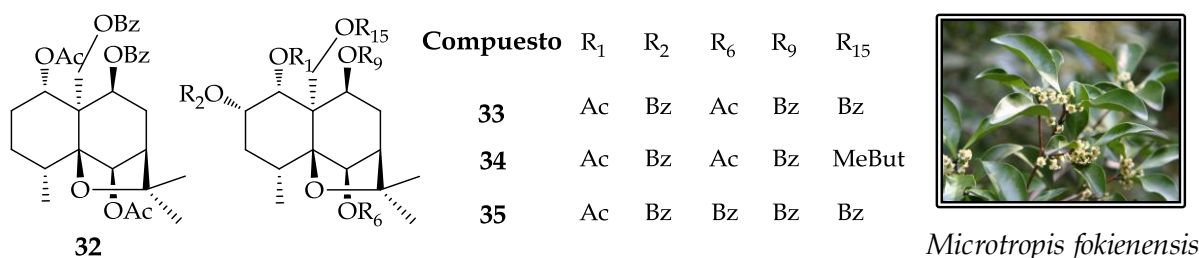


Figura 30. Sesquiterpenos aislados de los tallos de *Microtropis fokienensis*.

Recientemente, se ha reportado el aislamiento a partir las hojas de *Maytenus jelskii* de once sesquiterpenos dihidro- β -agarofuránicos, siete de ellos nuevos en la literatura química. Fue estudiado el efecto inhibitor de estos compuestos frente a la activación del virus del Epstein-Barr (VEB-EA); todos los compuestos mostraron un efecto inhibitor en alguna medida y además mostraron una moderada citotoxicidad. Entre ellos destacan el compuesto (36) con un valor de inhibición del 94.7 %, resultando ser más activo que el β -caroteno. El compuesto (37) exhibió una marcada actividad, mostrando ser más potente que el control a todas las concentraciones ensayadas; este sesquiterpeno presentó un efecto quimiopreventivo *in vivo*, en dos diferentes modelos de carcinomas en piel de ratón.⁶¹

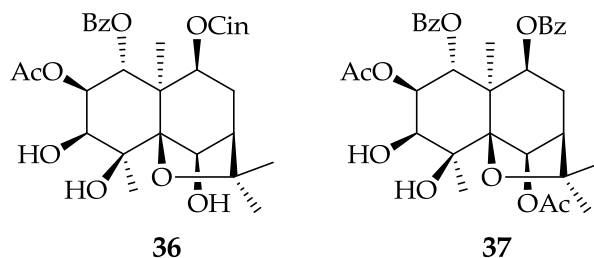


Figura 31. Sesquiterpenos aislados de las hojas de *Maytenus jelskii*.

2.4.4.3 Actividad anti-viral

Actividad anti-VIH (Virus de Inmunodeficiencia Humana)

Tal vez la más interesante actividad biológica asociada con los sesquiterpenos aislados de Celastráceas, es la actividad anti-VIH. En el año 2000 Duan *y col.* reportaron varios alcaloides sesquiterpénicos, extraídos de la corteza de raíz de

Tripterygium hypoglaucumun, que exhiben una potente inhibición del virus VIH. Entre ellos destacan hipoglaunina B (**38**), triptonina B (**39**) e hiponina B (**40**). Estos tres sesquiterpenos han mostrado valores para $CE_{50}^{\ddagger} < 0.01 \mu\text{g mL}^{-1}$ e índices terapéuticos *in vitro* (IT's) $^{\S} > 1000$. En general $IT > 5.0$ se considera significativo. Resultados comparables, con uno de los fármacos aprobados anti-VIH (agente AZT) $EC_{50} < 0.012 \mu\text{g mL}^{-1}$ y un IT de ≈ 42000 bajo las condiciones del ensayo.⁶²

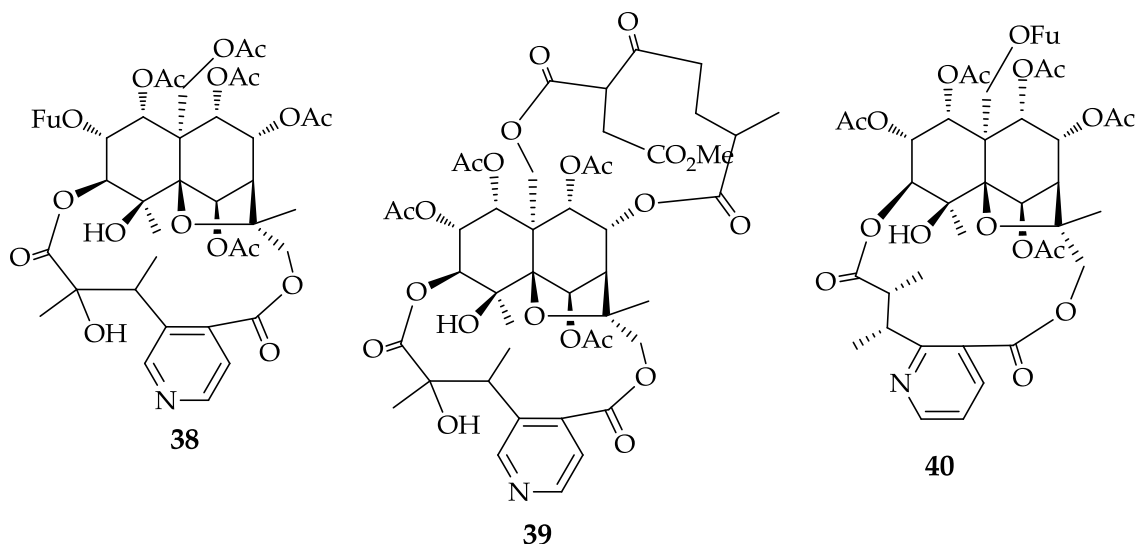


Figura 32. Alcaloides sesquiterpénicos aislados de la raíz de *Tripterygium hypoglaucumun*.

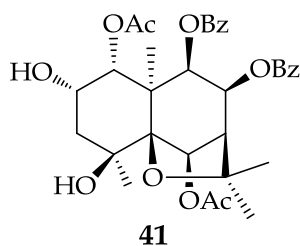
Actividad anti-VHS (Virus del Herpes Simple)

De 13 sesquiterpenos aislados de *Tripterygium wilfordii*, solamente triptofordin C-2 (**41**) inhibe la replicación del virus del herpes simple tipo 1 (VHS-1) *in vitro* (índice selectivo > 10). El compuesto (**41**), también podría inhibir la replicación del citomegalovirus humano (CMVH), sin afectar a la adsorción o la penetración del VHS-1 a las células huésped; pero suprime la síntesis de proteínas virales en las células infectadas, cuando se añade a los primeros pasos de replicación de VHS-1.

[‡] La CE_{50} es la concentración efectiva requerida para producir un 50 % de reducción de la actividad viral *in vivo*.

[§] El IT es una razón entre CI_{50} y CE_{50} , siendo una medida de la selectividad entre las células enfermas y las células sanas.

El compuesto (41), también mostró moderada actividad virucida contra varios tipos de virus encapsulados como: el VHS-1, citomegalovirus, virus del sarampión y el virus de la influenza A.⁶³



Tripterygium wilfordii

Figura 33. Sesquiterpeno inhibidor del VHS-1, aislado de *T. wilfordii*.

2.4.4.4 Actividad revertidora de la multirresistencia a fármacos (MDR)

Los sesquiterpenos aislados de Celastráceas también han mostrado esta interesante actividad, como es la reversión de la multirresistencia a fármacos en células cancerosas (MDR).

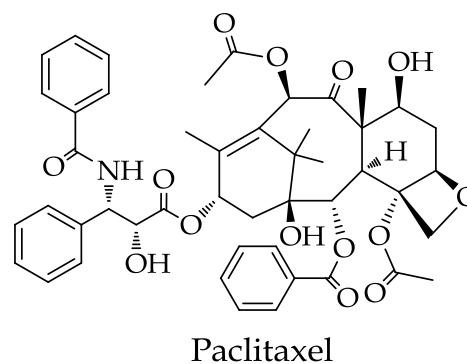
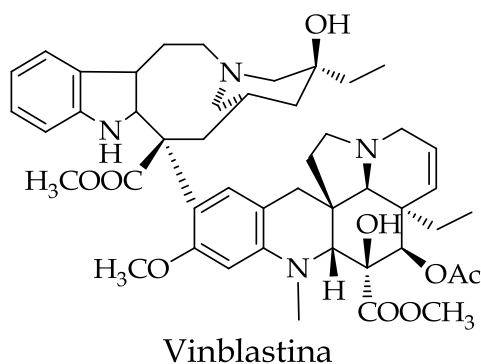
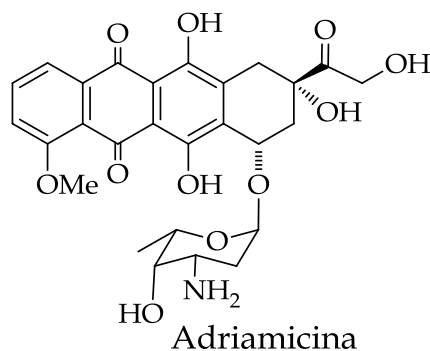
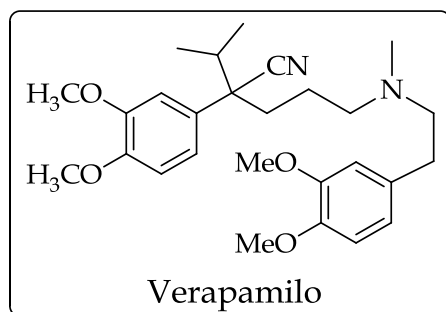
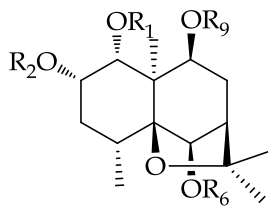



Figura 34. Estructuras del agente revertidor de la MDR utilizado en clínica (recuadro) y de los agentes utilizados en la quimioterapia contra el cáncer.

Una serie de compuestos, que incluyen orbiculin A (**42**), E (**43**), F (**44**), G (**45**) e I (**46**), han sido aislados de *Celastrus orbiculatus*, para ellos se ha reportado que invierten, ya sea parcial o totalmente, la resistencia a la adriamicina, vinblastina, paclitaxel en células de carcinoma nasofaríngeo humano (KB-V1) y células de cáncer de mama humano (MCF7/ADR). Estos sesquiterpenos resultaron ser menos tóxicos y además presentan más potencia revertidora que otros agentes MDR, conocidos y aprobados para su uso en clínica, como por ejemplo: el verapamilo.⁶⁴

Compuesto	R ₁	R ₂	R ₆	R ₉
42	Ac	Ac	Bz	Bz
43	Ac	Ac	Fu	Bz
44	Ac	Fu	Fu	Bz
45	Ac	Bz	Bz	Bz
46	Ac	Fu	Fu	Fu

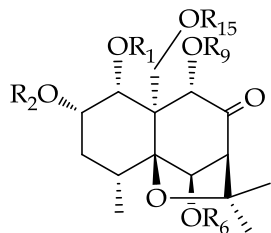
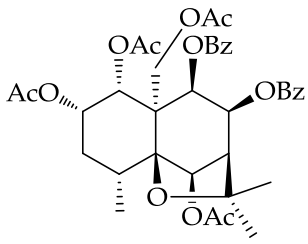



Celastrus orbiculatus

Figura 35. Sesquiterpenos revertidores de la MDR aislados de *Celastrus orbiculatus*.

Muñoz-Martínez *y col.* estudiaron la actividad revertidora de la MDR de veinte sesquiterpenos aislados de las hojas de *Zinowiewia costaricensis* en células humanas MDR1-transfectadas NIH-3T3. Ellos identificaron seis compuestos (**47**), (**48**), (**49**), (**50**), (**51**) y (**52**) que muestra una eficacia similar a la del verapamilo, para revertir la resistencia a la daunomicina, pero hasta dieciséis veces más potentes que la de verapamilo, para revertir la resistencia a la vinblastina.⁴⁹

Compuesto	R ₁	R ₂	R ₆	R ₉	R ₁₅
47	Bz	Ac	Ac	Bz	Ac
48	Bz	Bz	Ac	Bz	Ac

49

Continúa.....

Figura 36. Sesquiterpenos aislados de *Z. costaricensis*, por Muñoz-Martínez *y col.*

Continuación.....

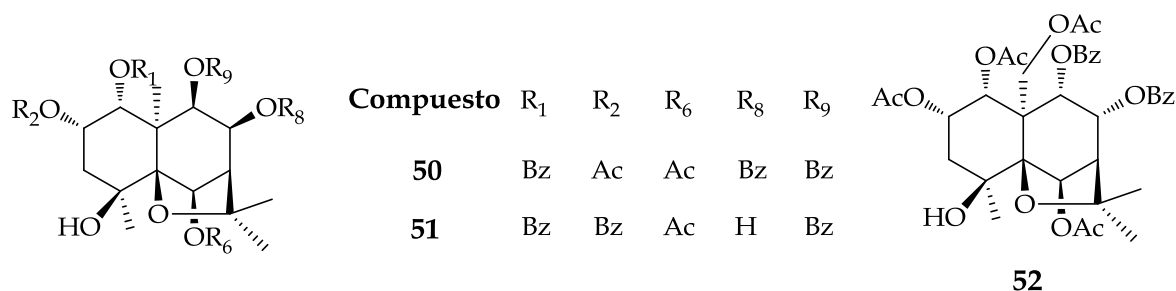


Figura 36. Sesquiterpenos aislados de *Z. costaricensis*, por Muñoz-Martínez *y col.*

Además Muñoz-Martínez *y col.* emplearon modelos 3D-QSAR/CoMSIA para caracterizar los factores estéricos, electrostáticos, lipofílicos y donadores o receptores de hidrógeno, para veintinueve sesquiterpenos provenientes de las hojas de *M. cuzcoina*, incluyendo análogos semi-sintéticos como moduladores de la Pgp-MDR en *Leishmania*. El rasgo más llamativo de estos elementos es la interacción mediante enlace de hidrógeno entre los grupos sustituyentes en las posiciones C-2 y C-6 y el receptor. Hasta ahora estos seis compuestos sesquiterpénicos son los más potentes agentes revertidores del fenotipo de MDR en *Leishmania*, con valores de inhibición más altos que el 75% a concentración de 3 μ M: MAMA7 (53), MAMA10 (54), MACU5 (55), MACU7 (56), MACHU4 (57) y MACU8 (58).⁶⁵

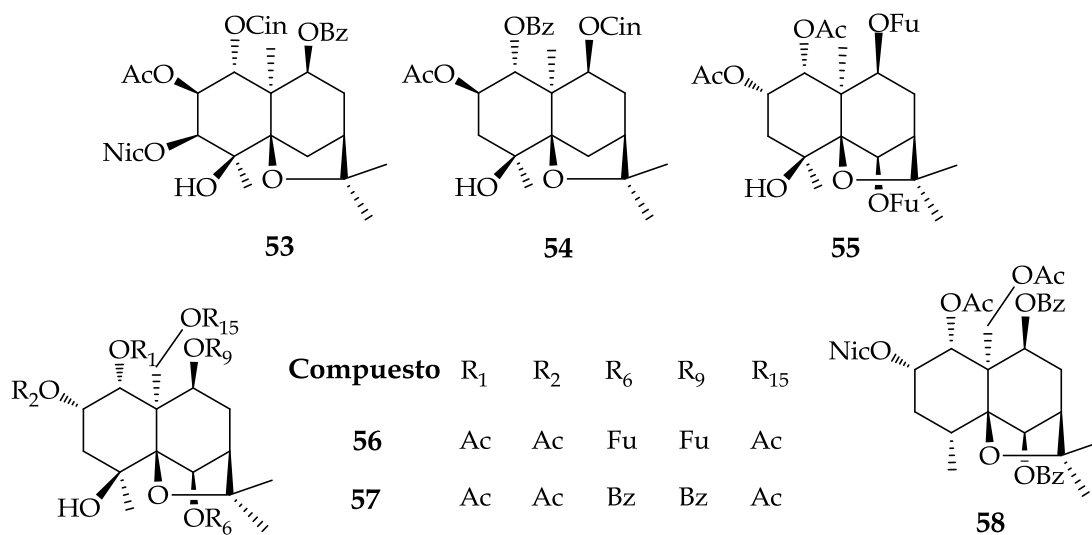


Figura 37. Compuestos sesquiterpénicos aislados de *Maytenus cuzcoina*.

Cortés-Selva *et al.* informaron que los compuestos (55) y (56) inhibieron el transporte Hoechst 33342, lo que se asocia con su efecto revertidor de la MDR en una línea de *L. trópica*. Ambos compuestos (55) y (56) a 15 μM , revierten en un 94.4 y 94.3% la resistencia a daunomicina, luego de 72 h de exposición del cultivo de una línea MDR de *L. trópica*, respectivamente. De este modo, el sistema de transporte Hoechst 33342 en la membrana celular Sf9 de insectos, ofrece una herramienta eficaz para probar las interacciones entre la Pgp de *Leishmania* y los agentes revertidores de MDR.⁶⁶

Recientemente Torres-Romero *et al.* estudiaron la actividad revertidora de la MDR de dieciseis sesquiterpenos aislados de las hojas de *Celastrus vulcanicola* en células humanas MDR1-transfectadas NIH-3T3. Identificando cuatro compuestos (59), (60), (61), y (62) que muestran una eficacia similar a la del revertidor de la Pgp clásico (verapamilo), para revertir la resistencia a la daunomicina y vinblastina. Además reportan dos compuestos (63) y (64) que presentaron una efectividad mayor a la del verapamilo.⁶⁷

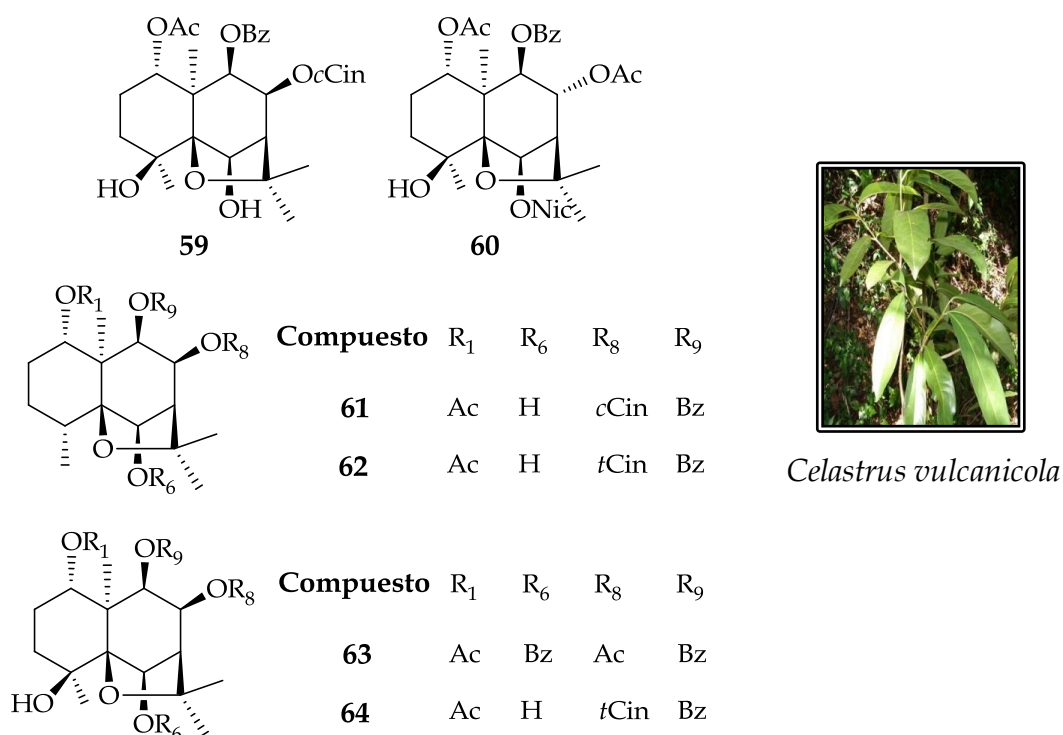


Figura 38. Compuestos sesquiterpénicos aislados de *Celastrus vulcanicola*

2.4.4.5 Actividad anti-inflamatoria

Celastrus orbiculatus (figura 35) es una planta medicinal que se usa para tratar la artritis reumatoide e infecciones bacterianas en la medicina tradicional de Korea y China. Además, estudios médicos y farmacológicos, han demostrado que sus metabolitos poseen propiedades antitumorales, antiinflamatorias, antioxidantes, antibacterianas e insecticidas.

Seis sesquiterpenos poliesterificados aislado de las raíces de esta planta, inhibieron la activación del factor NF- κ B. Los sesquiterpenos orbiculin I (46), H (65) y D (66), presentaron dos grupos furoiloxi, uno en C-6 y otro en C-9, mostrando una moderada actividad inhibitoria (CI₅₀ 33.5, 61.5, y 36.7 μ M, respectivamente), mientras que orbiculin A (42), E (43) y F (44), poseen un grupo benzoiloxi en C-9, presentaron actividad muy débil. De manera que los grupos furoiloxi en C-6 y C-9 parecen ser importantes en la modulación del factor NF- κ B.⁶⁸

Además, los compuestos (67), (68), (69), orbiculin D (66), orbiculin H (65) y orbiculin I (46) aislados de *C. orbiculatus*, inhibieron la producción de NO mediada por lipopolisacáridos en células de macrófagos murinos RAW264 (CI₅₀ 30-70 μ M) sin citotoxicidad alguna. Como consecuencia, estos metabolitos podrían ser candidatos para el desarrollo de fármacos anti-inflamatorios.⁶⁹

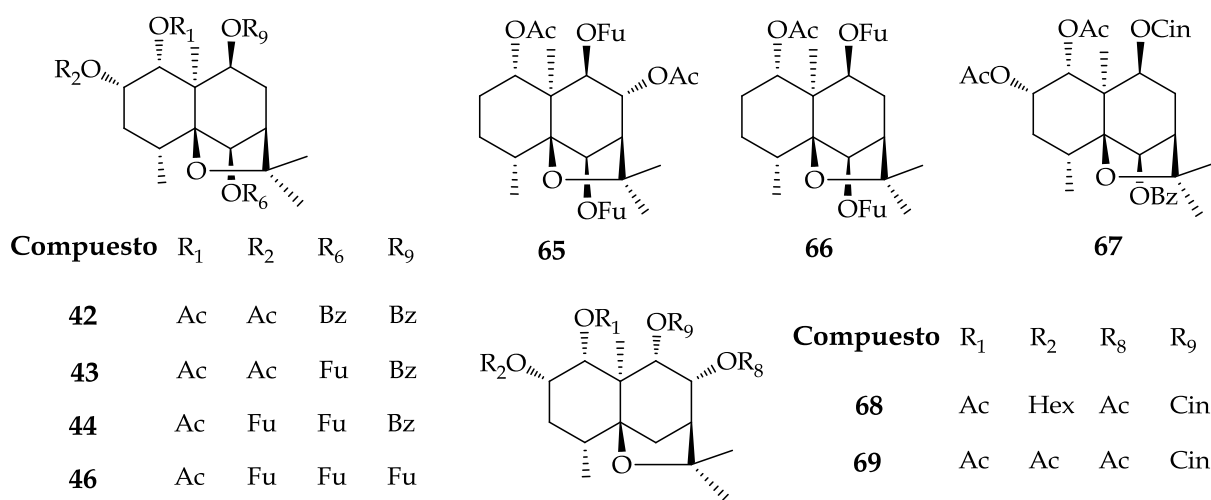


Figura 39. Sesquiterpenos con actividad anti-inflamatoria aislados de *C. orbiculatus*.

2.4.4.6 Actividad insecticida y anti-alimentaria

Los primeros compuestos con actividad insecticida fueron aislados del extracto de *Tripterygium wilfordii*, caracterizados como los sesquiterpenos: wilfordina (70) y wilforina (9).

Se encontró que estos alcaloides sesquiterpénicos, basados en un núcleo de euonyminol, son altamente tóxicos para las larvas del cogollero Europeo del maíz, *Pyrausta nubilalis*, en concentraciones de 60 ppm (100 % de mortalidad después de 3 días).⁷⁰ Además, wilforina (9) muestra una efectiva actividad anti-alimentaria contra el gusano de la hoja de la col, *Pieris rapae*, a una concentración 1×10^{-5} % de peso seco, y contra la langosta migratoria *Locusta migratoria* una concentración 5×10^{-5} % de peso seco. Esto muestra que wilforina (9), es más potente para estas plagas que azadirachtina, el más reconocido anti-alimentario proveniente de plantas (*Azadirachta indica*).⁷¹

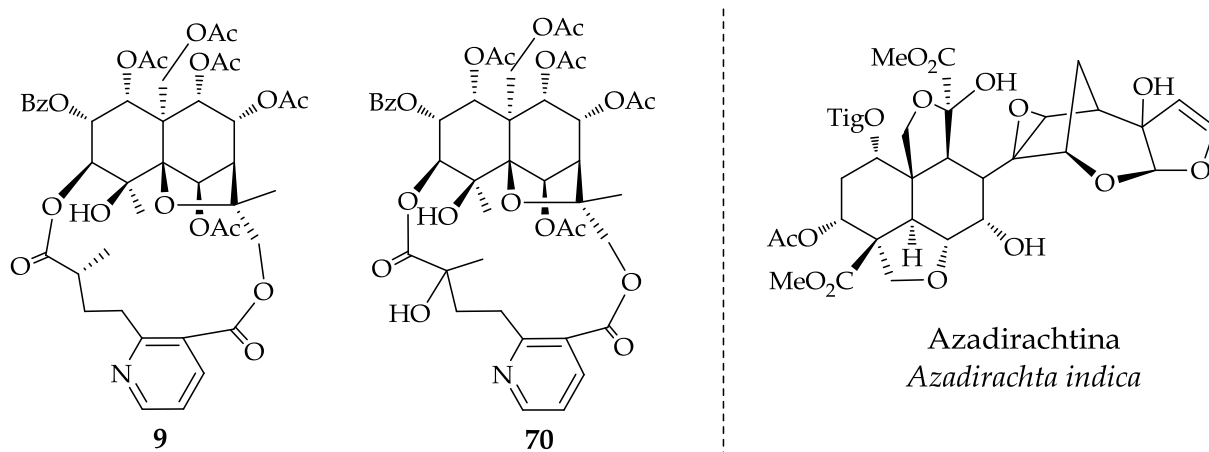


Figura 40. Estructura de azadirachtina y alcaloides sesquiterpénicos aislados de *T. wilfordii*.

González *y col.* reportaron la actividad antialimentaria e insecticida de aproximadamente cincuenta y cuatro sesquiterpenos poliesterificados, aislados de siete especies de Celastráceas contra las larvas del gusano egipcio del algodón *Spodoptera littoralis*.

La mayoría de ellos mostró una actividad antialimentaria más potente que la del agente comúnmente utilizado trifenilacetato de estaño, con una razón de alimentación $RF_{50}=0.37$; un derivado de *iso*-alatoil aislado de *Maytenus canariensis* fue el más potente con una $RF_{50}=0.69$ a la dosis más baja de $0.01 \mu\text{gcm}^{-2}$ (método del disco). Para los compuestos con núcleo de *iso*-alatoil (por ejemplo, **71**) o de 4α -hidroxialatoil (por ejemplo, **72**) la actividad antialimentaria aumenta a medida que el número de grupos acetoxi aumenta y disminuye con el incremento de ésteres tipo OBz (**71** vs **73**).⁷²⁻⁷³

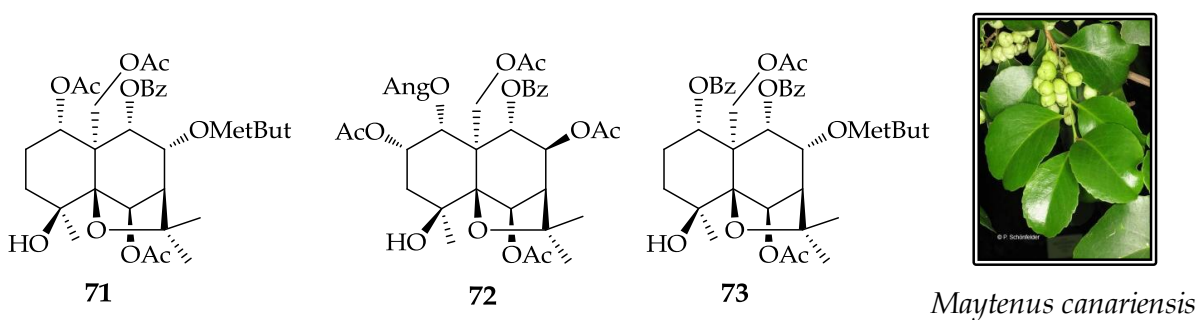


Figura 41. Compuestos sesquiterpénicos aislados de *Maytenus canariensis*.

Ejap-4 (**74**) aislado de las partes aéreas de *Maytenus disticha* y eumaitenin (**75**) aislado de las semillas de *Maytenus boaria*, redujeron significativamente el crecimiento de las larvas del gusano cogollero del maíz (*Spodoptera frugiperda*) con GC_{50} 7.55 y 3.84 ppm, respectivamente; además causaron una mortalidad larval del 100 % a concentraciones de 25 y 15 ppm, respectivamente. Además, el compuesto (**75**) tiene la toxicidad más potente contra los adultos de *S. frugiperda* (DL_{50} 1.9 mgkg^{-1}).⁷⁴

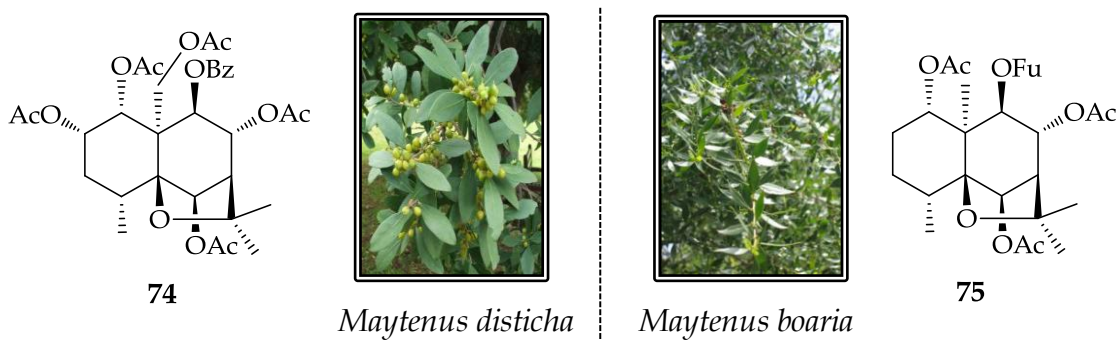


Figura 42. Compuestos sesquiterpénicos con actividad insecticida aislados de dos especies del género *Maytenus*.

Recientemente, el grupo de Zhu y col. aislaron de la corteza de raíz de *Euonymus verrucosides*, *E. fortunei* y *E. phellomana*, cuatro alcaloides sesquiterpénicos con actividad insecticida. Evaluando su actividad insecticida contra *Mythimna separata*, obteniendo los siguiente valores; euoverrina A (**76**) (DK_{50} 269.9 μgg^{-1}) y B (**77**) (DK_{50} 21.6 μgg^{-1}), euophellina (**78**) (DK_{50} 168.2 μgg^{-1}), y euojaponina C (**79**) (DK_{50} 102.5 μgg^{-1}). Estos datos corroboran que el número, la orientación de los grupos éster y la existencia de los alcaloides del tipo piridina tienen un impacto significativo sobre la actividad insecticida de los sesquiterpenos dihidro- β -agarofuránicos y de los alcaloides sesquiterpénicos.⁷⁵

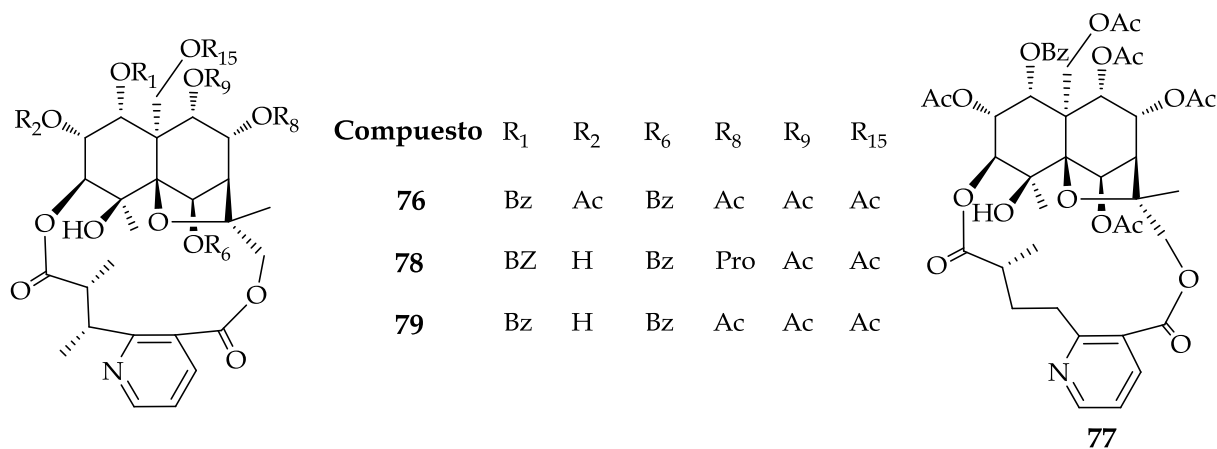


Figura 43. Alcaloides sesquiterpénicos aislados de varias especies del género *Euonymus*.

De las hojas de *Maytenus chiapensis* (figura 17) se aislaron catorce alcaloides sesquiterpénicos, los cuales mostraron moderados efectos tóxicos sobre células Sf9 de insecto, pero no mostraron citotoxicidad contra células de ovario de hámster chino. Por otra parte, alatusinina (**80**), euonina (**2**) y wilfordina (**70**), mostraron una fuerte actividad antialimentaria contra *S. littoralis* (CE_{50} 1.6×10^{-4} , 1.8×10^{-4} y 2.3×10^{-4} μgcm^{-2} , respectivamente).⁷⁶

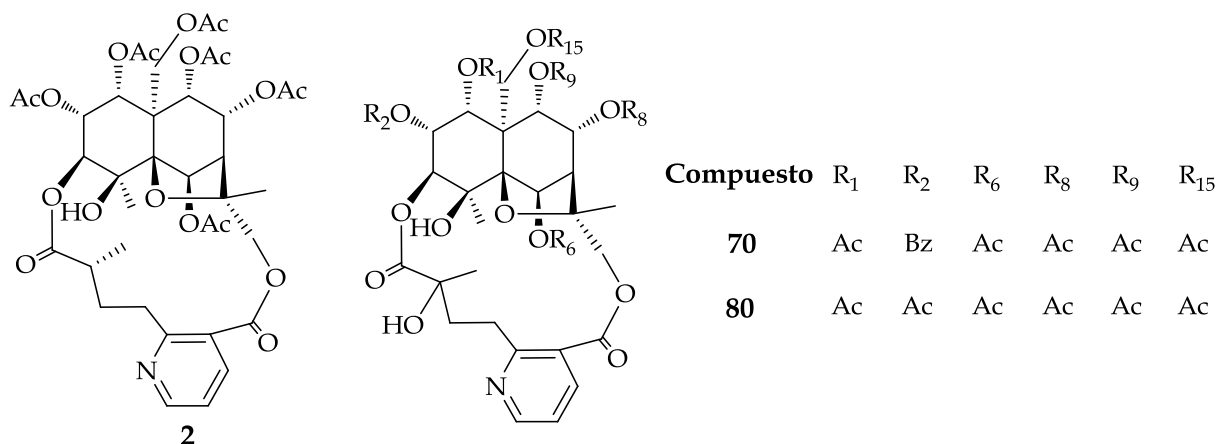


Figura 44. Alcaloides sesquiterpénicos aislados de *Maytenus chiapensis*.

2.4.4.7 Actividad inhibitoria del proceso fotosintético

El proceso de la fotosíntesis es la diana de un amplio rango de aleloquímicos y así la inhibición de dicho proceso por productos naturales, particularmente de plantas alelopáticas, son una buena estrategia para el descubrimiento de herbicidas naturales.⁷⁷

En este sentido, Céspedes *y col.* investigaron el modo de acción de dos sesquiterpenos dihidro- β -agarofuránicos Ejap-4 (**74**) y eumaitenin (**75**), aislados de *Maytenus disticha* y *Maytenus boaria* (figura 42), como inhibidores del crecimiento vegetal, mediante la interferencia del proceso fotosintético en cloroplastos aislados de espinaca. La fotofosforilación el transporte de electrones fue inhibida de una manera dependiente de la concentración de los sesquiterpenos.⁷⁸

Recientemente Torres-Romero *y col.* reportaron el ensayo de tres sesquiterpenos nuevos en la bibliografía química aislados de *Celastrus vulcanicola* (figura 38). Este estudio demostró que a bajas concentraciones el sesquiterpeno V-1 (**81**) (50 μ M) inhibió varias actividades fotosintéticas, incluyendo la síntesis de ATP y el flujo de electrones; además el sesquiterpeno V-12 (**82**) actuó bajo el mismo mecanismo que el sesquiterpeno V-1, pero resultó ser menos activo.⁷⁹

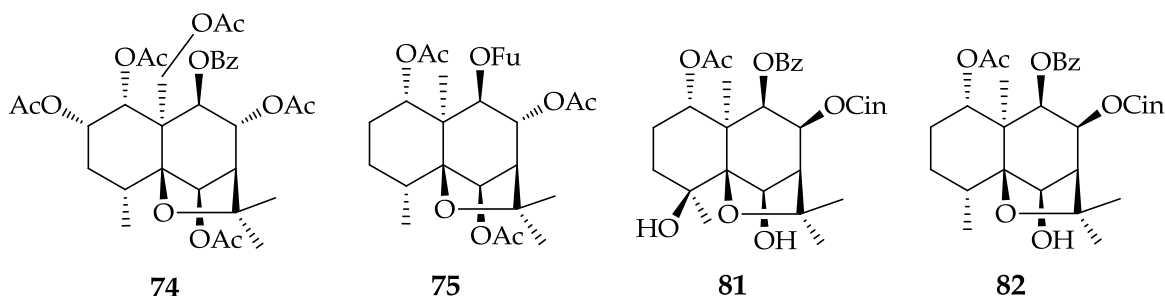


Figura 45. Sesquiterpenos inhibidores del proceso fotosintético.

2.4.5 Síntesis de sesquiterpenos**

La primera síntesis de un agarofurano, fue la del (+)- α -agarofurano, reportada por Barrett y Büchi en 1967. En su síntesis empleaban como material de partida la (-)-10-*epi*- α -ciperona^{††}. Algo particular en su síntesis fue la sencilla reacción de ciclación catalizada por alúmina; utilizada para formar un enlace (C11 - O) y dar paso al anillo C tetrahidrofuránico.⁸⁰

Posteriormente, Marshall y Pike informaron de una síntesis más eficiente del (+)- α -agarofurano, a partir de (-)-10-*epi*- α -ciperona en una secuencia de seis pasos. En contraste con Barrett y Büchi estos investigadores formaron el anillo C tetrahidrofuránico a través de un enlace (C5 - O). También intentaron desarrollar un método para la conversión de (+)- α -agarofurano a (-)- β -agarofurano; sin embargo, encontraron que la irradiación del producto, utilizando una lámpara de vapor de Hg a alta presión, consiguió la isomerización fotoquímica parcial en una proporción 3:7, generando una mezcla de α - y β - agarofuranos.⁸¹

** En el apartado de anexos se presentan de forma completa, los diferentes esquemas de síntesis aquí citados.

^{††} La (-)-10-*epi*- α -ciperona tiene la misma estereoquímica absoluta en el C-7 y en el C-10 que los agarofuranos naturales. Puede prepararse a gran escala en una síntesis de tres pasos, partiendo de la hidrogenación diastereoselectiva de (-)-carvona, seguida de una anelación de Robinson y finalmente una deshidratación; con un rendimiento aproximado del 35 %.

Una síntesis más corta del (+)- α -agarofurano fue reportada por Deslongchamps *y col.*. En esta síntesis, como en la de Marshall y Pike, el anillo C tetrahidrofuránico fue creado por la formación de un enlace (C5 - O). El cierre de este anillo se obtuvo con buen rendimiento, pero la eficiencia se vio comprometida por la co-formación de un dieno no ciclado. Además demostraron una forma análoga de lograr el cierre del anillo (catalizada por ácido), permitiendo así la primera síntesis del (-)-isodihidroagarofurano.⁸²

La primera síntesis estereocontrolada del (-)- β -agarofurano fue reportada por Büchi y Wüest en 1979; esta síntesis empleaba (-)-carvona como material de partida. La formación del anillo tetrahidrofuránico (anillo C) se llevó a cabo por medio de un enlace (C11 - O), el cual se logró por una adición 1,2-intramolecular, mediante tratamiento con PCl_5 . Un descubrimiento más importante de estos investigadores fue que el (-)- β -agarofurano podría ser hidrogenado, para formar (-)-dihidroagarofurano, con una diastereoselectividad > 95:5 utilizando una diimida (hidrogenación catalítica estándar es mucho menos selectiva).⁸³

A raíz de los esfuerzos pioneros de los grupos de Büchi, Marshall, Deslongchamps, y Kelly, a finales de la década de los 70's y principios de los 80's, Huffmann *y col.* asumieron el reto de desarrollar las bases para la aproximación sintética de derivados agarofuránicos altamente oxigenados, encontrados en Celastráceas. Después de una serie de giros, este trabajo culminó con la síntesis total de (\pm)-isocelorbicol en 1987.⁸⁴

A pesar de las importantes contribuciones hechas por diferentes grupos, la síntesis más significativa en el área de sesquiterpenos de Celastráceas, ha sido sin duda la de (\pm)-euonyminol, por White *y col.* en 1997. Esta síntesis se inició con una reacción Diels-Alder, entre una benzoquinona preparada *in situ* y un siloxipentadieno lo que estableció el sistema básico de anillos A-B de la decalina. El anillo C tetrahidrofuránico, se formó mediante un enlace (C11 - O), y al mismo tiempo se estableció en C12 y C13 un grupo metilo y un grupo metilhidroxi, respectivamente.

La elaboración del esqueleto altamente oxigenado (\pm)-euonyminol, se logró en general, con altos niveles de estereocontrol, por una serie de elegantes pasos sintéticos, en cascada (figura 46).⁸⁵

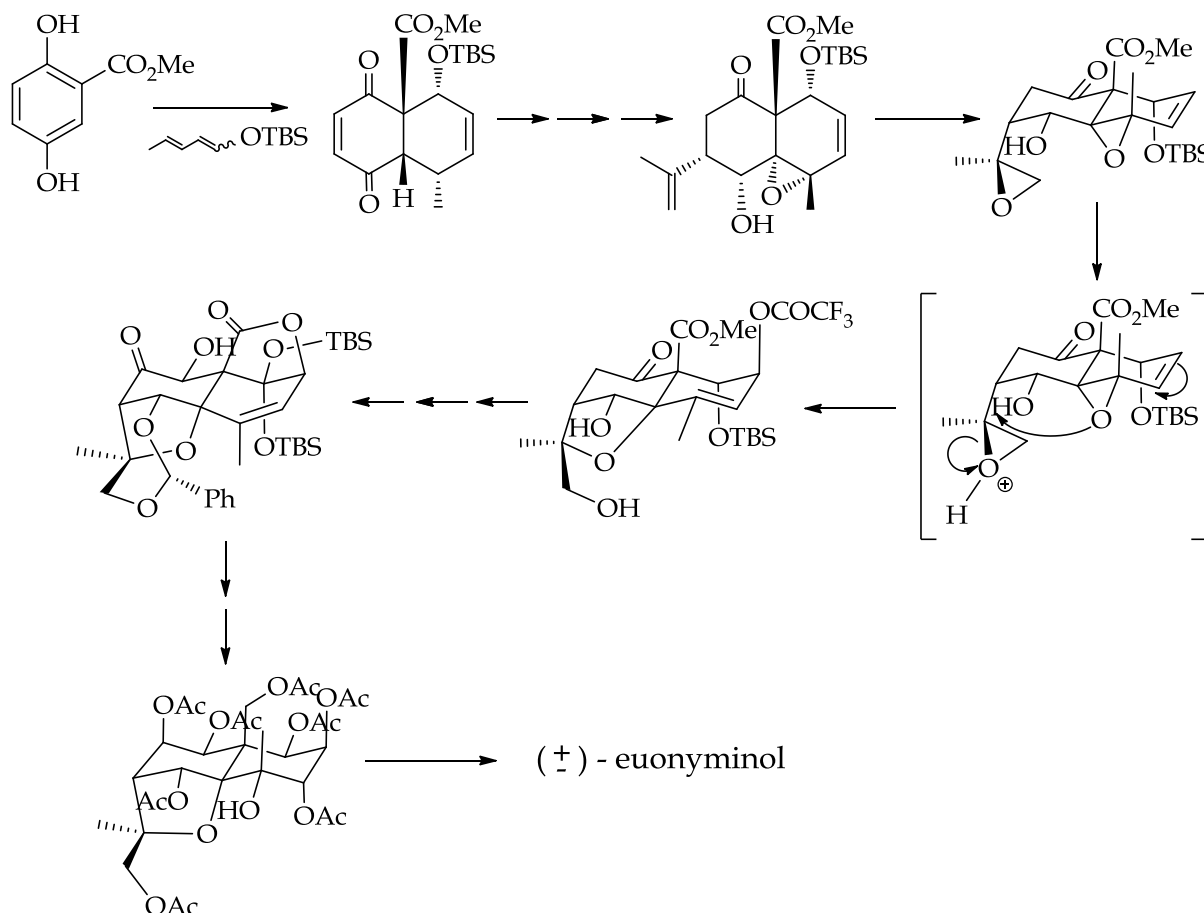


Figura 46. Resumen del esquema para la síntesis de (\pm)-euonyminol (White *y col.*)

El grupo de Spivey describió la primera aproximación a la síntesis de esqueletos de sesquiterpenos con patrones de oxigenación simétrica en la cara α del sistema de anillos dihidroagarofuránico (ejemplo 14-deoxialatol, alatol, 4 α -hidroxialatol y euonyminol) mediante una “fase avanzada” de desimetrización enantioselectiva. Este es, el primer enfoque descrito hacia el diseño de esta clase de esqueletos de productos naturales, mediante síntesis asimétrica (figura 47).⁸⁶

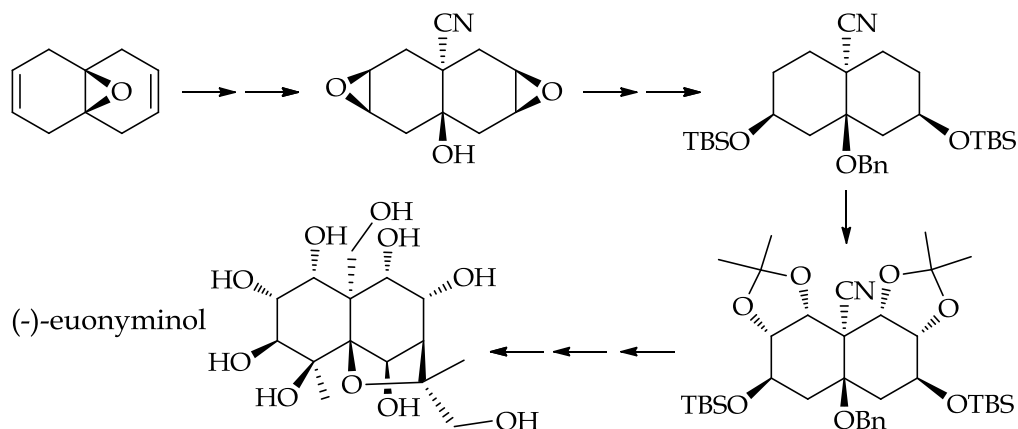


Figura 47. Resumen del esquema para la síntesis asimétrica de (-)-euonyminol

En 2001 Li *y col.*, publicaron la primera síntesis asimétrica de (-)-isocelorbicol, después de la síntesis racémica de este compuesto, reportada por Huffman *y col.*⁸⁴ En la síntesis utilizaron como material de partida, el compuesto ópticamente activo 9-oxo-10-*epi*- α -ciperona; la conversión de este compuesto un intermediario tipo enona fue realizado con buen rendimiento en una serie de cuatro pasos, según el procedimiento descrito en un artículo publicado por este mismo grupo.⁸⁷ Posterior a una serie de reacciones que incluyeron, acetoxilación, formación del anillo dihidroagarofuránico C catalizada por ácido, hidrogenación catalítica y un cambio de grupo funcional utilizando TBSOTf, fue obtenido el producto **10** (figura 48).⁸⁸

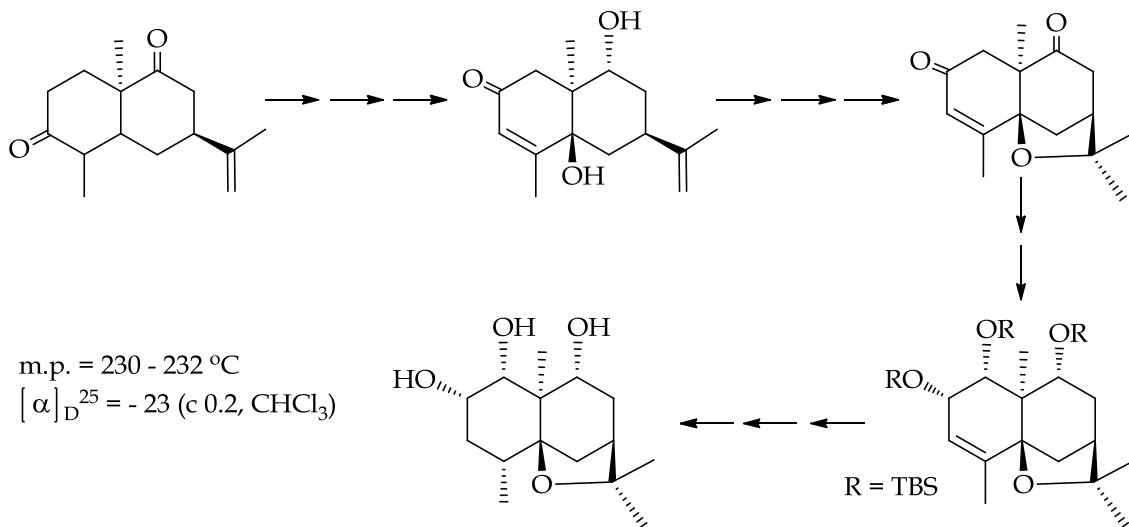


Figura 48. Resumen del esquema para la síntesis asimétrica de (-)-isocelorbicol

Boyer y *col.* sintetizaron sistemas decalínicos polihidroxilados partiendo del monoetilencetal de la ciclohexanodiona disponible comercialmente, y utilizando dimetildioxirano (DMDO), a través de la apertura oxidativa del anillo furánico del 4-monoetilencetal de la 3-furoilciclohexadiona. La síntesis se logró mediante una serie de oxidaciones, protecciones, hidrogenación, regio- y estereo-reducción selectiva y el uso de una oxidación alílica original con DMDO como un paso clave.⁸⁹

Recientemente Siwicka y *col.* publicaron un artículo detallado de la síntesis de esqueletos tricíclicos para sesquiterpenos asilados de Celastráceas y análogos sintéticos, cuya estrategia sintética se basó en la reacción aldólica de Mukaiyama; además fue ensayada la actividad insecticida de los productos sintetizados.⁹⁰

2.5 ESTUDIO FITOQUÍMICO

La fitoquímica comprende el estudio de los metabolitos secundarios de origen vegetal y la metodología que se sigue depende de los objetivos de tales estudios. Sin embargo, existen etapas comunes, que no necesariamente ocurren al mismo tiempo.

2.5.1 Selección del material vegetal

La selección del material depende del interés que persiga el estudio, como se detalla a continuación:⁶

- a. *Por interés particular:* se tiene información etnobotánica de que una especie vegetal se emplea en el tratamiento de cierta enfermedad. Se localiza la especie, se comprueba su clasificación botánica, se la ubica en la bibliografía química. Ello informa sobre los posibles constituyentes químicos, lo que permitirá planificar el fraccionamiento, la purificación, y las pruebas biológicas tanto de los extractos como de los compuestos puros.
- b. *Por interés dirigido a un tipo de compuesto químico:* por ejemplo alcaloides con cierto esqueleto particular. Se localiza una Familia botánica, un género o una especie que de acuerdo a la información bibliográfica, lo contiene. Se comprueba la presencia

de alcaloides mediante pruebas químicas en diferentes partes de la especie y si es preciso, a diferentes edades de la misma. Posteriormente se procede a la etapa de extracción y purificación.

c. *Por interés en una determinada actividad biológica:* se buscan Familias, géneros o especies citadas con esa actividad. Se recolectan cantidades pequeñas (10-50 g) de material, indiscriminadamente. Se hacen extractos alcohólicos, hidro-alcohólicos o acuosos y se comprueba en ellos esa actividad. En el caso de dificultades para solubilizar el sólido en el medio biológico, se usa un cosolvente adecuado (uno de los más usados es dimetilsulfóxido) a una concentración inocua al sistema biológico, la cual debe pre-establecerse.

2.5.2 Selección del material vegetal

La recolección de la especie vegetal (*figura 49*), debe ser realizada bajo requisitos legales y ambientales. En nuestro país, se solicita un permiso a la Dirección de Patrimonio Natural, dependencia del *Ministerio del Medio Ambiente y Recursos Naturales (MARN)*, detallando el interés que se tiene en dicha especie, esta autorización demora en ser aprobada un promedio de dos a seis meses. La recolección debe llevarse a cabo con la ayuda de un botánico, quien además de clasificar el material, guardará una muestra testigo para futuras comprobaciones.



Figura 49. Recolección del material vegetal para un estudio fitoquímico

Para cada órgano de la especie existe un momento adecuado de recolección. Las plantas herbáceas son generalmente utilizadas en su totalidad, pero en el caso de plantas leñosas es preferible seccionarlas en sus diferentes partes botánicas: flores, frutos, semillas, hojas, corteza, tallo, raíces, etc. Esto permitirá también programar la estrategia de extracción.⁶

2.5.3 Extracción y fraccionamiento de los metabolitos secundarios^{##}

El proceso de extracción más comúnmente usado en productos naturales es la extracción continua con el aparato Soxhlet (*figura 50*), donde el material vegetal se coloca en el depósito superior del aparato, dentro de un cartucho de celulosa que actúa como filtro. Al calentar el balón, el vapor del disolvente asciende por el tubo lateral y condensa en el refrigerante cayendo sobre el sólido que se encuentra en el cartucho. El disolvente extrae poco a poco los componentes del material vegetal y va llenando el depósito superior hasta que, cuando alcanza la parte alta del tubo lateral estrecho, cae de nuevo al matraz y el depósito superior se vacía completamente por efecto "sifón". El proceso se repite automáticamente y la concentración del compuesto orgánico extraído va aumentando en el matraz hasta que la extracción finaliza.

Los solventes para extracción son orgánicos de bajo punto de ebullición (alcohol etílico, alcohol metílico, éter etílico, acetato de etilo, etc.) y de baja reactividad. El alcohol etílico, es generalmente más eficaz para recuperar la mayoría de los metabolitos secundarios, pero a su vez, se obtiene un extracto crudo muy complejo y su fraccionamiento se convierte en un problema. Los extractos son evaporados a presión reducida o liofilizados, en el caso de extracción con agua.⁶

^{##} Para una amplia revisión sobre las técnicas de extracción de productos naturales, consultar: Sticher O., Natural Product Isolation, *Nat. Prod. Rep.*, 25, 517-554, 2008

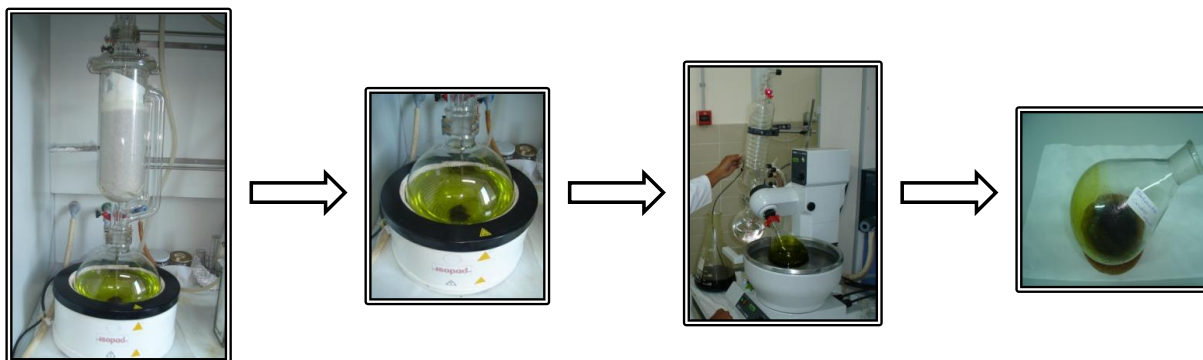
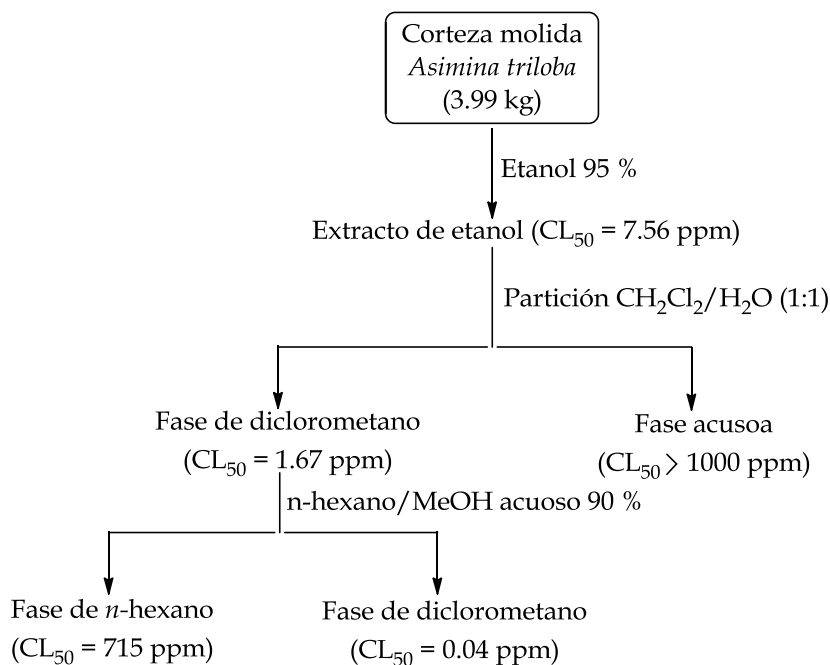


Figura 50. Obtención de un extracto crudo mediante un Soxhlet

Una vez realizada la etapa de extracción, normalmente hay que enfrentarse a una mezcla bastante compleja, gran parte de este material será muy diferente al compuesto objetivo; por lo que se lleva a cabo una serie de extracciones líquido-líquido con sistemas de disolventes que permiten el reparto o separación de los distintos componentes de la mezcla según su polaridad. La *figura 51* muestra un esquema de separación bioguiado para la búsqueda de la actividad citotóxica de la asimicina; mediante una serie de extracciones líquido-líquido.³⁰



Continúa.....

Figura 51. Fraccionamiento líquido-líquido, guiado por el bioensayo BSLT (bioensayo de letalidad de gambas en agua salada)

Continuación.....

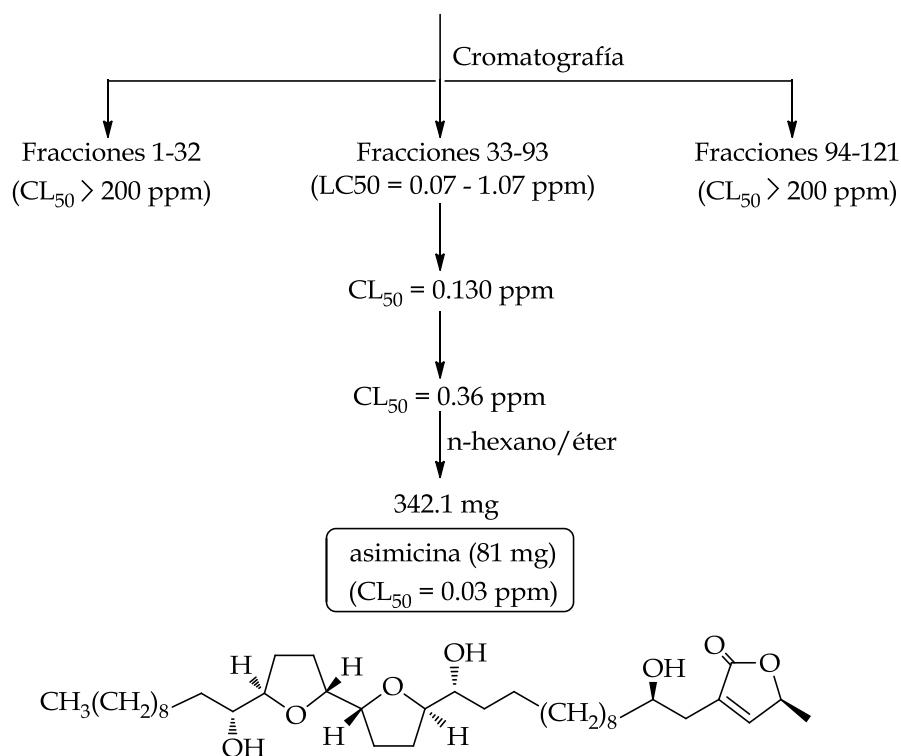


Figura 51. Fraccionamiento líquido-líquido, guiado por el bioensayo BSLT (bioensayo de letalidad de gambas en agua salada)

Se puede decir que todas las técnicas cromatográficas se basan en el mismo principio: la separación de las sustancias presentes en una mezcla dada, entre dos fases: una permanece fija (fase estacionaria), que puede ser sólida o líquida; mientras la otra eluye a través de la primera (fase móvil) y puede ser un líquido, un gas o una combinación de ambos. Esto permite distinguir entre dos sistemas cromatográficos: el de adsorción y el de partición.

Por otro lado, según la naturaleza del soporte o fase estacionaria, del eluyente o fase móvil y de las condiciones de trabajo, temperatura, gradiente, etc. se establecen con el fin de obtener una separación óptima de los diferentes constituyentes de una mezcla determinada; la cromatografía se puede clasificar en cromatografía en papel, cromatografía en capa fina y cromatografía en columna.

Considerándose a la cromatografía de gas y a la líquida de alta resolución como extensiones de esta última.⁹¹ Un esquema de separación mediante diferentes tipos de cromatografía, se presenta en la figura 52.³⁰

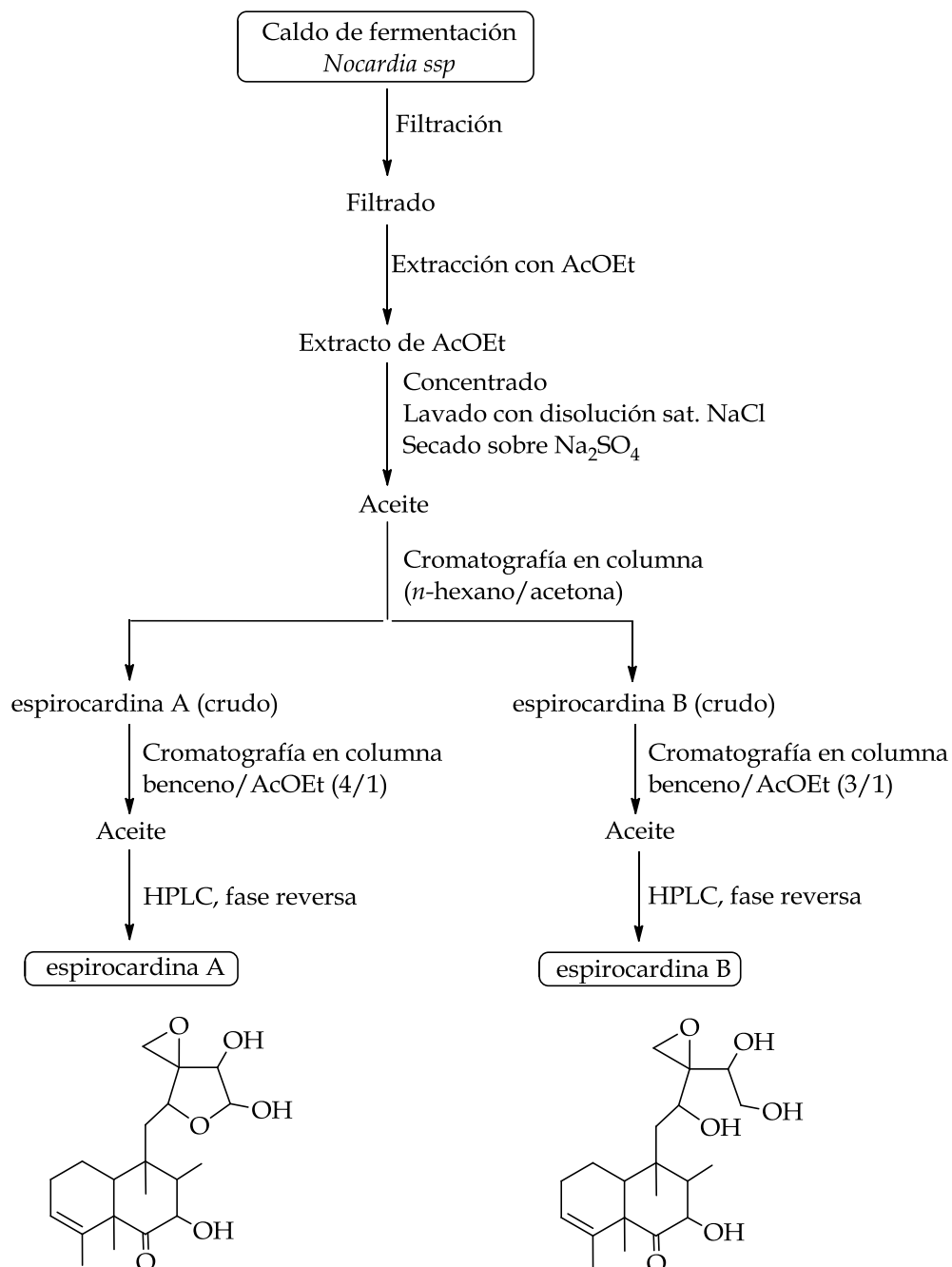


Figura 52. Aislamiento mediante técnicas cromatográficas de las espirocardinas A y B.

2.6 TÉCNICAS DE ELUCIDACIÓN ESTRUCTURAL

La elucidación de las estructuras moleculares de los productos naturales puede constituir una meta en sí misma o ser una etapa clave para trabajos posteriores. El análisis cristalográfico por rayos X es el medio más directo para determinar las estructuras, incluyendo la configuración absoluta. Aunque esta técnica se usa con cierta frecuencia debido a la comercialización de los aparatos automatizados, su aplicación en el área de los productos naturales es todavía limitada por cuanto es condición indispensable disponer de cristales perfectos de compuestos puros.⁹²

Los métodos espectroscópicos, especialmente resonancia magnética nuclear (RMN), infrarrojo (IR), ultravioleta visible (UV-Vis) y espectrométricos, como la espectrometría de masas (EM) son de uso cotidiano en este campo. Por lo cual procedemos a revisar brevemente cada uno de ellos.

2.6.1 Resonancia Magnética Nuclear Monodimensional (RMN-1D)

El método se basa en la absorción de energía por cambio de espín nuclear de átomos sometidos a un campo magnético externo. El análisis del espectro RMN ofrece evidencias bastante explícitas sobre las características de los núcleos que forman una molécula dada, los más frecuentemente analizados son ^1H , ^{13}C , ^{15}N , ^{19}F , ^{31}P .

Siendo los dos primeros utilizados en análisis de rutina. Los desplazamientos químicos de las señales de RMN de ^1H (0-20 ppm) y ^{13}C (0-200 ppm), dan información acerca de la naturaleza de los hidrógenos (alifáticos, olefínicos, aromáticos, o unidos a heteroátomos, etc.) y de carbonos (en dobles enlaces, aromáticos, carbonílicos, oxigenados, etc.).

Por la integración de las señales y el acoplamiento espín-espín (multiplicidad de la señal y magnitud de la constante de acoplamiento) que se observa en el espectro de protones, se deduce el número de hidrógenos y el modo de distribución en la molécula, mientras que el número de señales presentes en el espectro de carbono

(registrado por la técnica de desacoplamiento de protones) indica el número de carbonos presentes en la estructura.⁹³ En la *figura 53*, se presenta el espectro de resonancia magnética nuclear de protón (RMN-¹H) del Salvadoriol, diterpeno aislado de *Crossopetalum uragoga*.³²

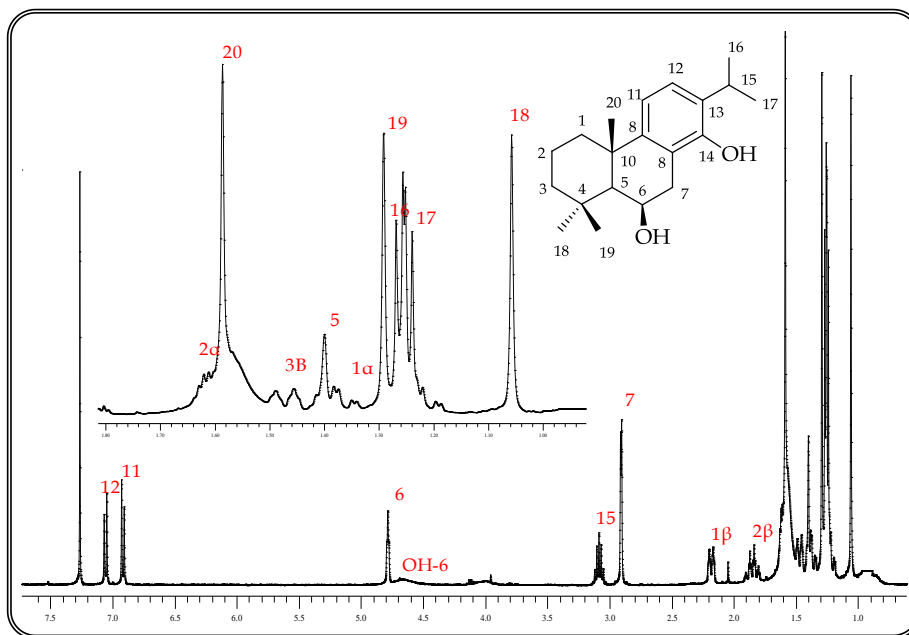


Figura 53. Espectro de RMN-¹H del Salvadoriol (400 MHz, CDCl₃)

Además de los experimentos de resonancia magnética nuclear de ¹H y ¹³C, existe otro experimento monodimensional rutinario; denominado DEPT (Distortionless Enhancement by Polarization Transfer).

Este experimento permite editar las señales del espectro monodimensional de ¹³C, en distintos subespectros de forma que se puedan distinguir grupos CH, CH₂ y CH₃, no observándose los carbonos cuaternarios, que son aquellos carbonos que no se encuentran unidos directamente a ningún protón.

La versión más utilizada del DEPT se denomina DEPT-135° que permite obtener señales de grupos CH₃ y CH de fase opuesta a las de grupos CH₂.

Por convenio se ajusta la fase del espectro de manera que, las señales de grupos CH_3 y CH son mostradas en sentido positivo del espectro y las señales correspondientes a los grupos CH_2 son mostradas en sentido negativo del espectro.⁹³

La *figura 54*, muestra, el espectro para el experimento de resonancia magnética nuclear de ^{13}C con desacoplamiento de banda ancha y los espectros correspondientes a los experimentos DEPT 90° y 135° del Salvadoriol, aislado de *Crossopetalum uragoga*.⁵ En los espectros DEPT, se observan cinco metilos, cuatro metilenos y cinco metinos.

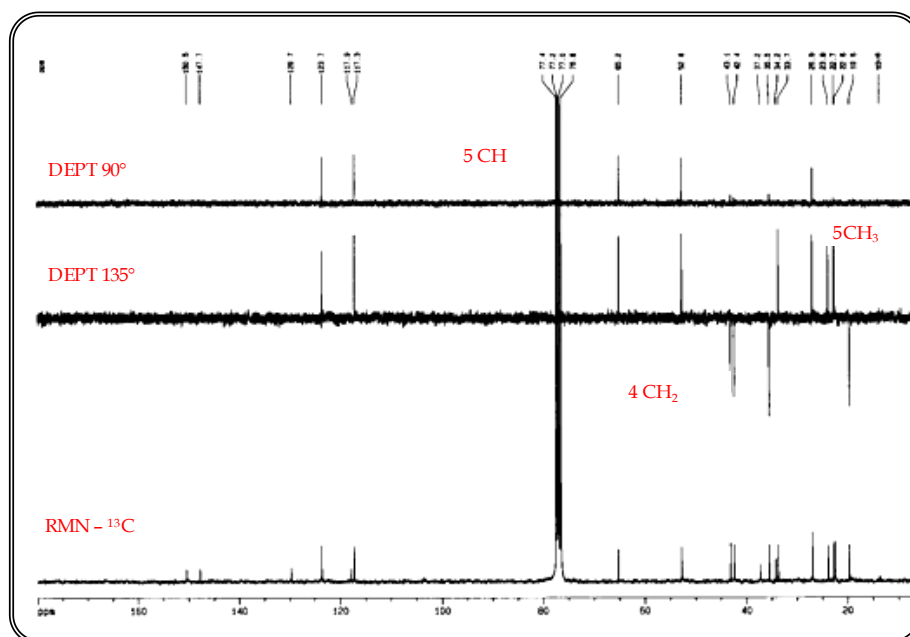


Figura 54. Espectros RMN- ^{13}C y DEPT para el Salvadoriol. (100 MHz, CDCl_3)

2.6.2 Resonancia Magnética Nuclear Bidimensional (RMN-2D)

Las técnicas bidimensionales que podemos destacar, incorporan experimentos homonucleares (COSY, ROESY, etc.) y heteronucleares (HSQC, HMBC, etc.), estas ofrecen información estructural mucho más directa y presentan ventajas enormes cuando se trata de esqueletos nuevos, poco relacionados a los ya conocidos. A continuación se detallan algunos de estos experimentos.

2.6.2.1 Experimento COSY (Correlated Spectroscopy)

Fue el primer experimento de resonancia magnética nuclear bidimensional; propuesto por el físico belga Jean Jeener en el año 1971. Es uno de los más simples y útiles experimentos bidimensionales, correlaciona todos los desplazamientos químicos de protones sobre carbonos contiguos ($\underline{\text{H}}-\text{C}-\text{C}-\underline{\text{H}}$).

El experimento COSY sirve para correlacionar parejas de protones acoplados a 2 ó 3 enlaces vecinalmente (típicamente para valores de $^3J_{\text{HH}}$ 3-15 Hz). El espectro bidimensional COSY contiene picos diagonales y picos de cruce (fuera de la diagonal). Los picos de la diagonal corresponden al espectro de monodimensional de RMN- ^1H . Los picos de cruce son correlaciones a través del acoplamiento escalar (2 y 3 enlaces) entre una pareja de protones de la diagonal. Estos picos aparecen en posiciones simétricas respecto de la diagonal.⁹³ En la *figura 55* se muestra el espectro del experimento COSY para el Salvadoriol.⁵

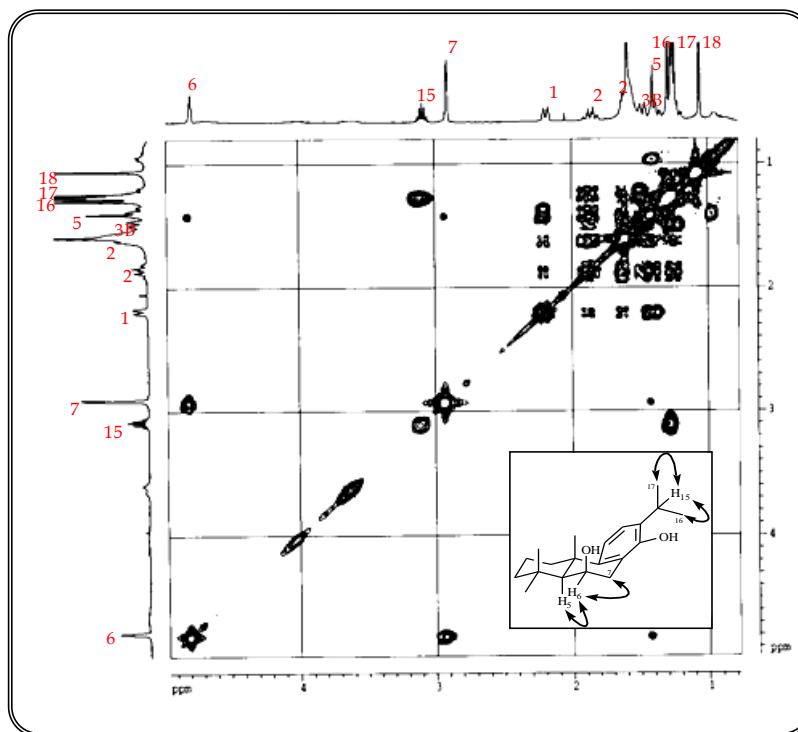


Figura 55. Espectro COSY (acoplamientos escalares $^1\text{H}-^1\text{H}$, a dos y tres enlaces) para el Salvadoriol

2.6.2.2 Experimentos HMBC (Heteronuclear Multiple-Bond Correlation) y HSQC (Heteronuclear Single-Quantum Correlation)

El experimento HMBC proporciona la conectividad protón-heteronúcleo ($^1\text{H}/^{13}\text{C}$), a varios enlaces (2 y 3 enlaces), mediante acoplamiento escalar. La J del experimento esta optimizada para observar preferente acoplamientos a tres enlaces ($J_{\text{CH}} \approx 4\text{-}8\text{ Hz}$). Para aprovechar este experimento es necesario tener identificada al menos una señal de protón en la molécula problema.

El experimento HSQC proporciona correlaciones a través de acoplamiento escalar a un enlace entre un protón y el heteronúcleo al que está directamente unido (valores de $^1J_{\text{CH}}$ 120-250 Hz). Puede aplicarse para obtener correlaciones con heteronúcleos como $^1\text{H}/^{13}\text{C}$, $^1\text{H}/^{15}\text{N}$, $^1\text{H}/^{31}\text{P}$, etc.⁹³ En las figuras 56 y 57 se presentan los espectros correspondientes al experimento HMBC y HSQC, respectivamente para el Salvadoriol.⁵

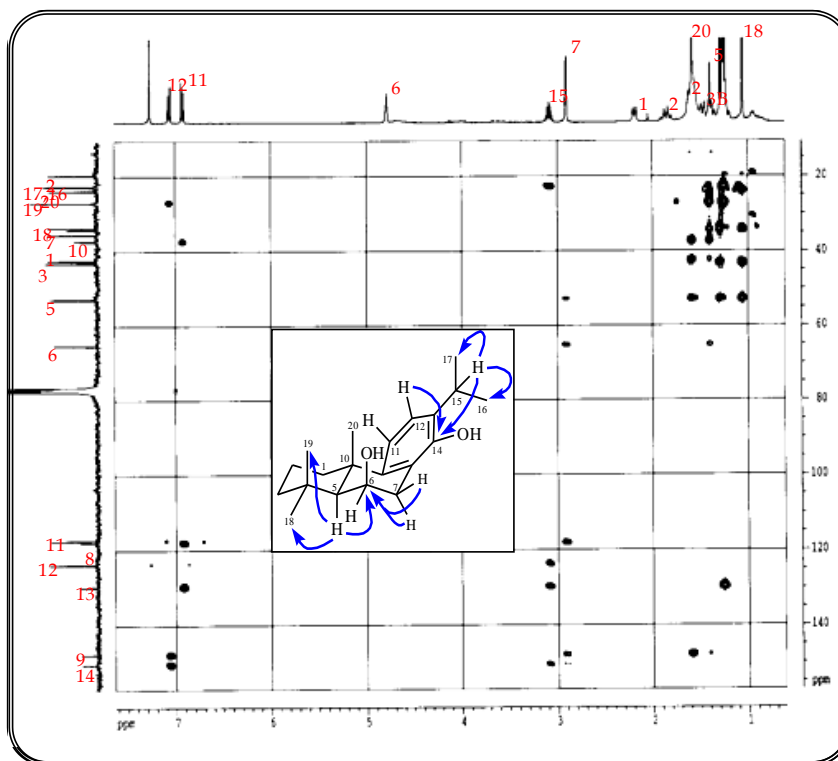


Figura 56. Espectro HMBC (acoplamientos escalares $^1\text{H}-^{13}\text{C}$, a dos y tres enlaces) para el Salvadoriol

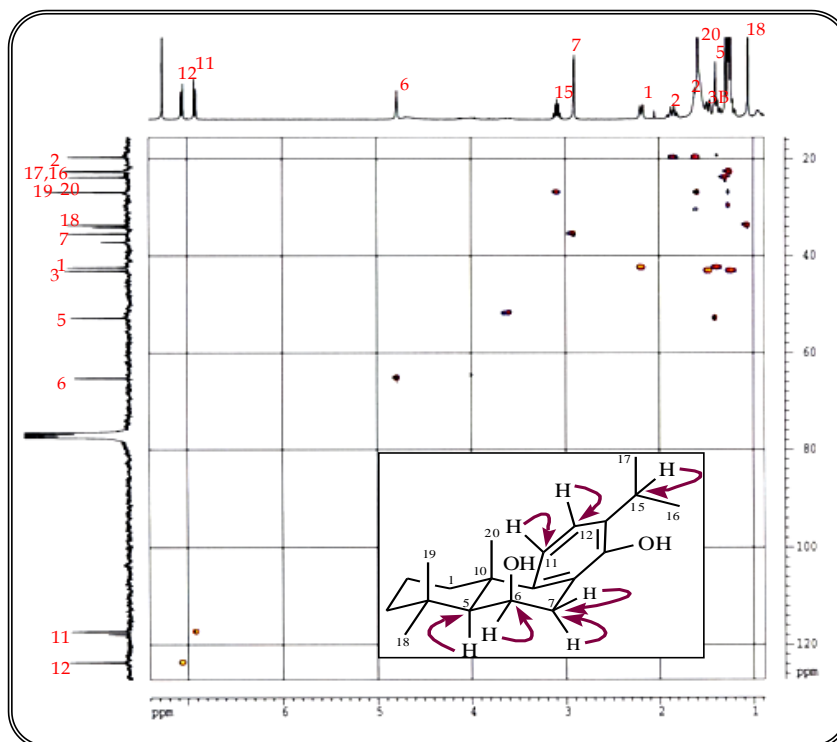


Figura 57. Espectro HSQC (acoplamiento escalares ^1H - ^{13}C , a un enlace) para el Salvadoriol

2.6.2.3 Experimento ROESY (Rotating Frame Overhauser Effect Spectroscopy)

El espectro bidimensional ROESY contiene picos diagonales y picos de cruce (fuera de la diagonal), similar al espectro COSY. Los picos de la diagonal corresponden al espectro de monodimensional de RMN- ^1H . Los picos de cruce son correlaciones mediante acoplamiento a través del espacio (distancia máxima 4 Å) entre una pareja de protones de la diagonal. De esta forma el experimento ROESY es útil para determinar la estereoquímica relativa de la molécula en estudio.⁹³

En la siguiente figura se muestra el espectro del experimento ROESY para el Salvadoriol.⁵

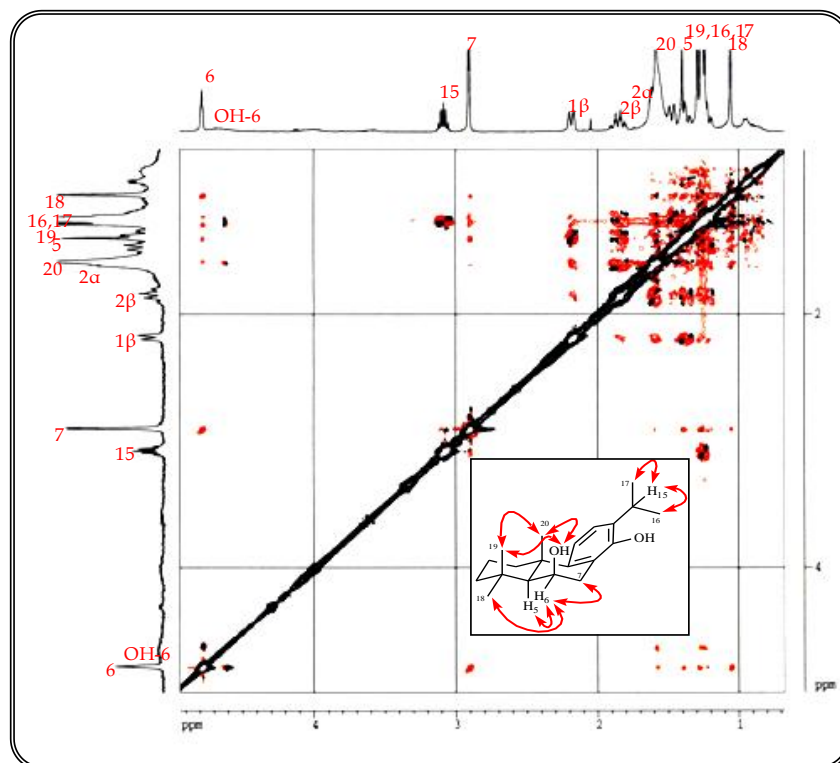


Figura 58. Espectro ROESY del (acoplamiento ^1H - ^1H , a través del espacio) para el Salvadoriol

2.6.3 Espectroscopía de Infrarrojo (IR)

Las bandas que se observan en los espectros de infrarrojo ($4000\text{--}200\text{ cm}^{-1}$), se relacionan con el cambio de estados vibracionales y rotacionales de los enlaces presentes en la molécula. La posición e intensidad de las bandas correspondientes a un grupo funcional, que generalmente aparecen distribuidas en varias zonas más o menos constantes del espectro son muy poco afectadas por el resto de la molécula, por lo tanto el análisis del espectro ofrece información sobre los grupos funcionales presentes en la molécula, tales como: OH, NH, CO, etc., así como del carácter alifático o aromático del compuesto.

La región comprendida entre 1350 y 900 cm^{-1} representa las “huellas dactilares” de la molécula pues las bandas de esa región corresponden a vibraciones y rotaciones del esqueleto carbonado y por lo tanto son muy sensibles a los diferentes arreglos

moleculares, aun para sustancias muy similares. Por esta razón esta zona debe considerarse cuidadosamente al establecer la identidad de dos muestras por comparación de sus espectros IR.⁹³

En la *figura 59*, se muestra el espectro IR de la 20 α -hidroxitingenona, aislada de *Cassine xylocarpa* (Celastraceae).⁷ El espectro IR son evidentes las tensiones: O-H a 3375 cm⁻¹, C=O a 1714 cm⁻¹ y un C=O combinado con un sistema α,β -insaturado a 1595 cm⁻¹.

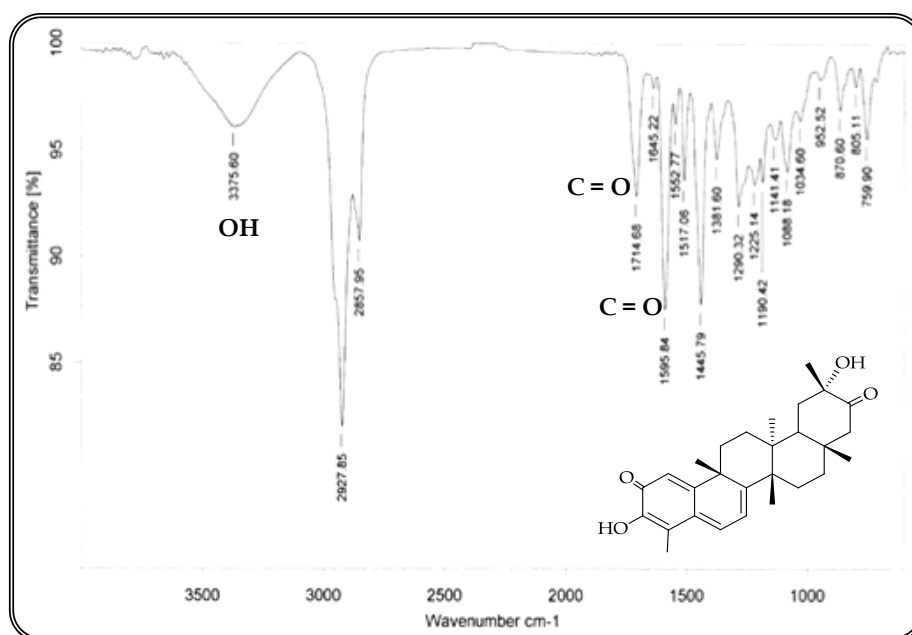


Figura 59. Espectro IR de la 20 α -hidroxitingenona aislada de *Cassine xylocarpa*.

2.6.4 Espectroscopía Ultravioleta/Visible (UV-Vis)

Se correlaciona con las transiciones electrónicas, es decir la transición de un electrón desde un estado fundamental (correspondiente a los orbitales enlazante o no enlazantes). La absorción de energía requerida para esa transición se registra en la región ultravioleta (190–380 nm) o en la región visible (380–700 nm).

En contraste con RMN e IR las señales en el espectro UV/Vis. Son muy anchas debido a los múltiples cambios de estados vibracionales y rotacionales que acompañan las transiciones electrónicas.

Para que se observe una absorción máxima debe existir en la molécula un cromóforo, generalmente conjugado, por ejemplo con insaturaciones múltiples, tales como dieno, enona, aromático, etc. La longitud de onda y la intensidad de la absorción son características del sistema y de las sustituciones que sobre él ocurren. De esta manera la técnica permite detectar la presencia de un determinado cromóforo, el cual origina prácticamente el mismo patrón espectral, independientemente de la estructura total de la molécula.⁹³

En la *figura 60* se presenta el espectro UV de la 20 α -hidroxitingenona, aislada de *Cassine xylocarpa* (Celastraceae).⁷ En este espectro se observa el máximo de absorbancia a 421 nm correspondiente al sistema carbonílico α,β -insaturado.

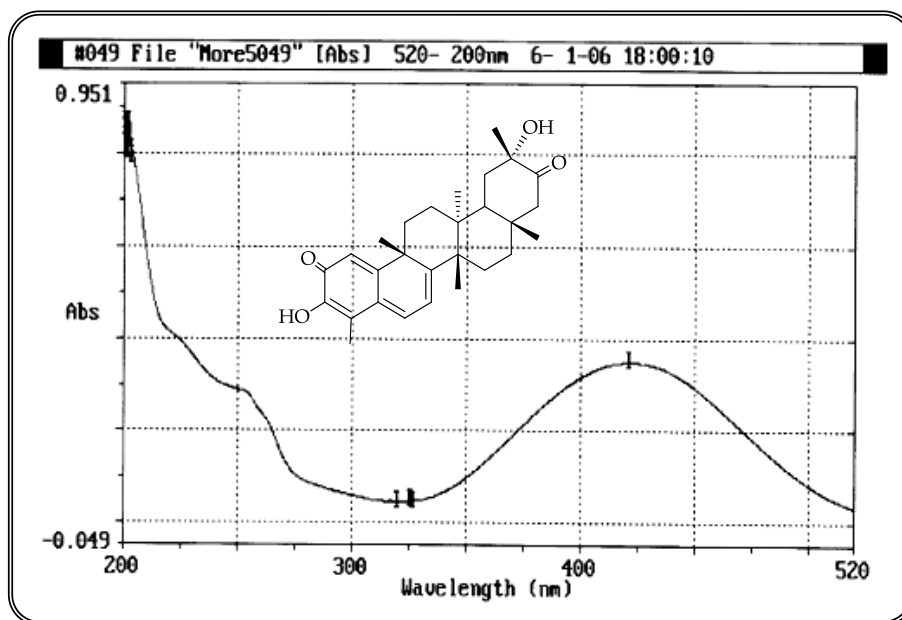


Figura 60. Espectro UV de la 20 α -hidroxitingenona aislada de *Cassine xylocarpa*.

2.6.5 Espectrometría de Masas (EM)

Un compuesto orgánico que se expone a una corriente de electrones de alta energía (frecuentemente a 70 eV), se degrada en fragmentos de los cuales las especies con cargas positivas se separan por el cambio y se registran en el espectro EM según la unidad de masa por el número de cargas positivas (m/z , donde $z=1$ generalmente).

Este tipo de espectrometría de masas se denomina LRMS (Low Resolution Electron Impact Mass Spectrometry). Un aparato de alta resolución HRMS (High Resolution Mass Spectrometry) registra la unidad de masa del ión molecular (molécula que pierde un solo electrón sin degradarse), además de los fragmentos con hasta cuatro o más cifras decimales, lo cual permite establecer la fórmula molecular correspondiente.

Las masas con carga positiva se separan también según la relación m/z mediante un analizador de cuadrupolo en lugar del separador de campo magnético. Hoy en día existe una variedad de técnicas de ionización particularmente útiles para detectar el ión molecular, lo cual falla frecuentemente con el empleo de ionización por impacto electrónico. Entre las más populares se encuentra CI (Chemical Ionization, se observa el ión $M+1$ como pico base) y FAB (Fast Atom Bombardment en el cual se observa el ión $M+X$ siendo $X=Na$ o K).⁹³

En la *figura 61*, se muestra el espectro de masas del Leonatriol aislado de *Cassine xylocarpa*.⁷ El espectro de masas presentó fragmentos correspondientes a la pérdida de agua a $442 m/z [M-18]^+$, metilo a $445 m/z [M-15]^+$ y $H_2O + metilo$ a $427 m/z [M-15-18]^+$.

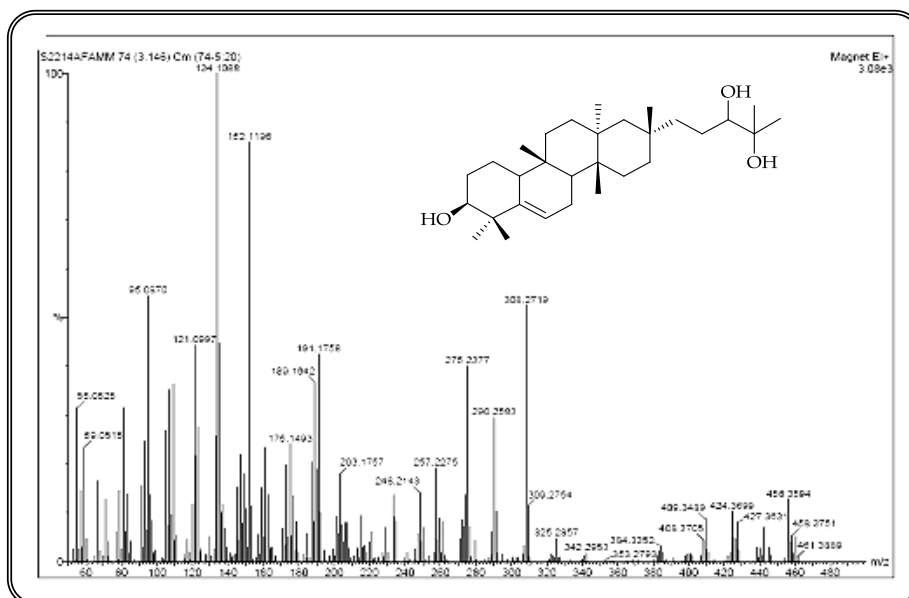


Figura 61. Espectro de masas del Leonatriol, triterpeno de la serie del bacharano aislado de *Cassine xylocarpa*.

III. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL



3.1 RECOLECCIÓN DEL MATERIAL VEGETAL

Los frutos de *Maytenus chiapensis* fueron recolectados en la área natural protegida, Parque Nacional “El Imposible”, Jurisdicción de San Francisco Menéndez en el Departamento de Ahuachapán, el 20 de Julio de 2008.

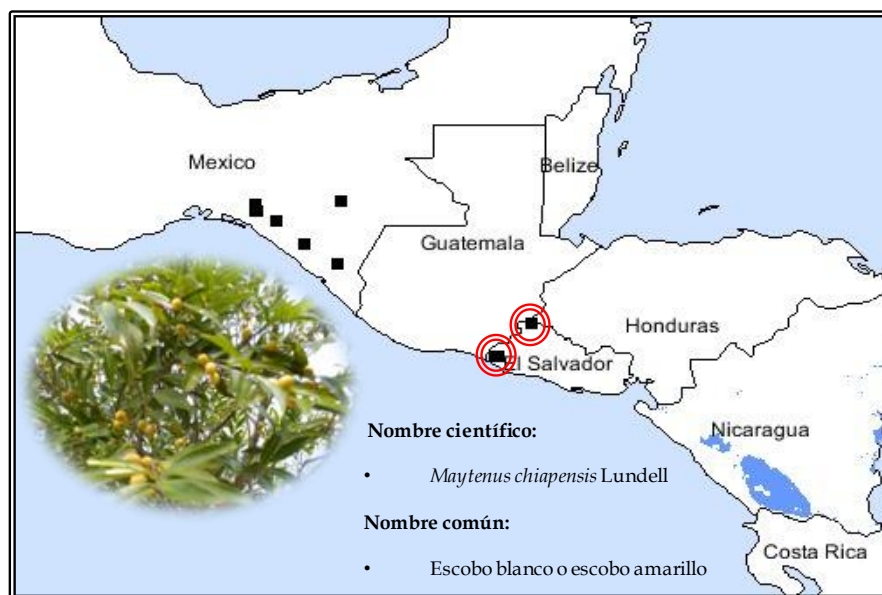


Figura 62. Distribución geográfica de *M. chiapensis* en El Salvador (círculos en rojo)

3.2 EXTRACCIÓN Y FRACCIONAMIENTO DEL MATERIAL VEGETAL

Los frutos recolectados se sometieron a un proceso de secado a la claridad y luego molidos, obteniéndose una masa de 656.9 g.

Los frutos secos de *Maytenus chiapensis* (Celastraceae) luego de ser molidos, se sometieron a un proceso de maceración durante 48 horas y luego a un proceso de extracción a reflujo con una mezcla de solventes *n*-hexano/éter etílico (1:1), en un aparato Soxhlet (*figura 50*) durante 24 horas. La mezcla de disolventes fue eliminada en un rotaevaporador hasta sequedad, obteniéndose 65.4 g de extracto crudo.

El extracto crudo fue fraccionado a presión atmosférica, mediante una columna cromatográfica, utilizando como fase estacionaria gel de sílice (0.2-0.5 nm de

diámetro), y como sistema de elución, mezclas de *n*-hexano-acetato de etilo con gradiente de polaridad creciente, hasta llegar a acetato de etilo puro, finalmente la columna fue lavada con acetona. Se recogieron cincuenta y un fracciones; la cuales se agruparon de acuerdo a la similitud presentada en cromatografía de capa fina, en veinte sub-fracciones.

Siete de las sub-fracciones (30-31; 32; 33-34; 35; 36-37; 38-39, 40-42) fueron sometidas a sucesivas cromatografías en columna sobre gel de sílice, cromatografía Sephadex LH-20, y placas preparativas usando como sistema de elución, mezclas de diferentes solventes, entre ellos: *n*-hexano, acetona, acetato de etilo, diclorometano, éter dietílico, cloroformo, metanol, tolueno y benceno. La purificación de los productos se efectuó mediante cromatografía preparativa en capa fina, cromatografía rotatoria (cromatotrón) o por cromatografía en capa fina de alta resolución (CCFAR).

Se realizó un análisis preliminar de las fracciones menos polares obtenidas del extracto crudo de los frutos de *Maytenus chiapensis* (1-10; 11-13; 14-15; 16; 17-18; 19-22; 23-24; 25; 26-27; 28-29). Estas fracciones fueron analizadas mediante la técnica acoplada de cromatografía de gases/espectrometría de masas (*figura 63*).⁹⁴⁻⁹⁵



Figura 63. Imagen del sistema acoplado de CG/EM (IUBO “Antonio González”)

El análisis por cromatografía de gases/espectrometría de masas, se realizó en un cromatógrafo de gases marca Agilent® Technologies modelo 6890N, acoplado a un espectrómetro de masas marca VG AutoSpec (EBE) Fisons Instruments. Columna SLB™-5 ms (SUPELCO) Silica 30 m x 0.32 mm (d.i.) x 0.25 mm (película).

El método cromatográfico/espectrométrico utilizado corresponde a una temperatura de horno de 250 °C, temperatura de inyección 250 °C, modo de inyección Split (1.25-1.50), gas portador Helio, velocidad de flujo 0.5 mL/min, rampa de temperatura: inicio a 50 °C seguido de un calentamiento a una velocidad de 5 °C/min hasta 100 °C permaneciendo 10 minutos, luego un último calentamiento hasta 250 °C a una velocidad de 10 °C/min., tiempo de análisis 60 minutos, volumen de inyección de 2 µL. El espectrómetro de masas utilizó una fuente ionización de 70 eV.

3.3 TÉCNICAS CROMATOGRÁFICAS

La cromatografía, es una técnica que permite la separación de los componentes de una mezcla debido a la influencia de dos efectos contrapuestos; *Retención*: efecto ejercido sobre los componentes de la mezcla por una fase estacionaria que puede ser un sólido o un líquido anclado a un soporte sólido; *Desplazamiento*: efecto ejercido sobre los componentes de la mezcla por una fase móvil, que puede ser un líquido o un gas.

La mezcla a separar, se deposita sobre la fase estacionaria y la móvil atraviesa el sistema desplazando a los componentes de la mezcla a distinta velocidad, dependiendo de la magnitud de sus interacciones relativas con ambas fases. La repetición sucesiva de las operaciones elementales de retención y desplazamiento a lo largo del sistema cromatográfico da lugar a la separación de la mezcla original.

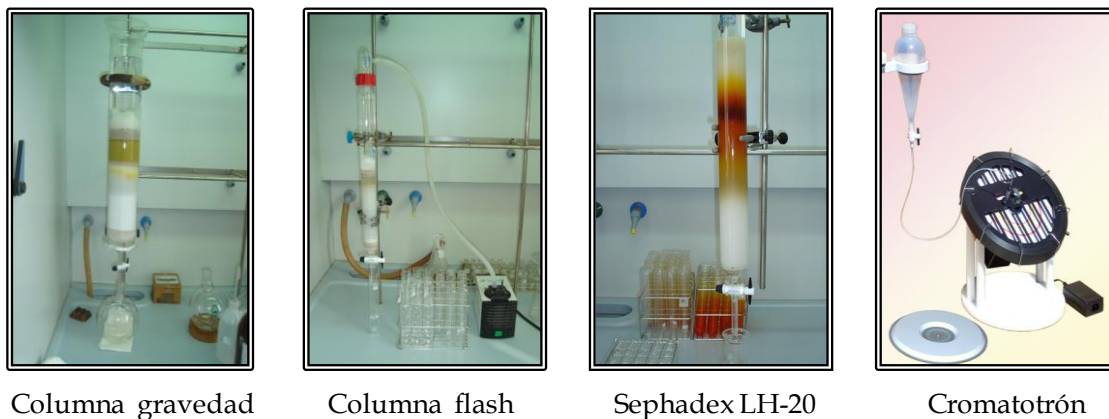


Figura 64. Diferentes técnicas cromatográficas empleadas en el estudio fitoquímico

3.3.1 Cromatografía en capa fina (CCF)

Las cromatografías en capa fina fueron realizadas 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/UV₂₅₄.

La detección de los productos sobre las placas se realizó por fluorescencia con luz ultravioleta a 254 y/o 360 nm, o bien aspersando óleum (disolución de H₂SO₄:CH₃COOH:H₂O, 1:20:4) y posterior calentamiento a 120°C.

3.3.2 Cromatografía en columna (CC)

Estas fueron realizadas en columnas cromatográficas (húmedas) empleando gel de sílice fina (diámetro 0.063-0.200 nm), de la empresa Macherey-Nagel. El montaje de estas columnas se llevó a cabo, suspendiendo el gel de sílice en un disolvente, con una posterior compactación mediante presión. La muestra a resolver se disolvió en la mínima cantidad de disolvente y fue absorbida sobre gel de sílice gruesa (diámetro 0.2-0.5 nm), de la empresa Merck; colocándose en la parte superior de la columna.

3.3.3 Cromatografía de exclusión molecular

Para este tipo de cromatografía se utilizó como soporte Sephadex LH-20, suministrado por la empresa Sigma, el cual requirió una previa estabilización del polímero en suspensión con metanol (4.1 mL/g), durante un tiempo aproximado de

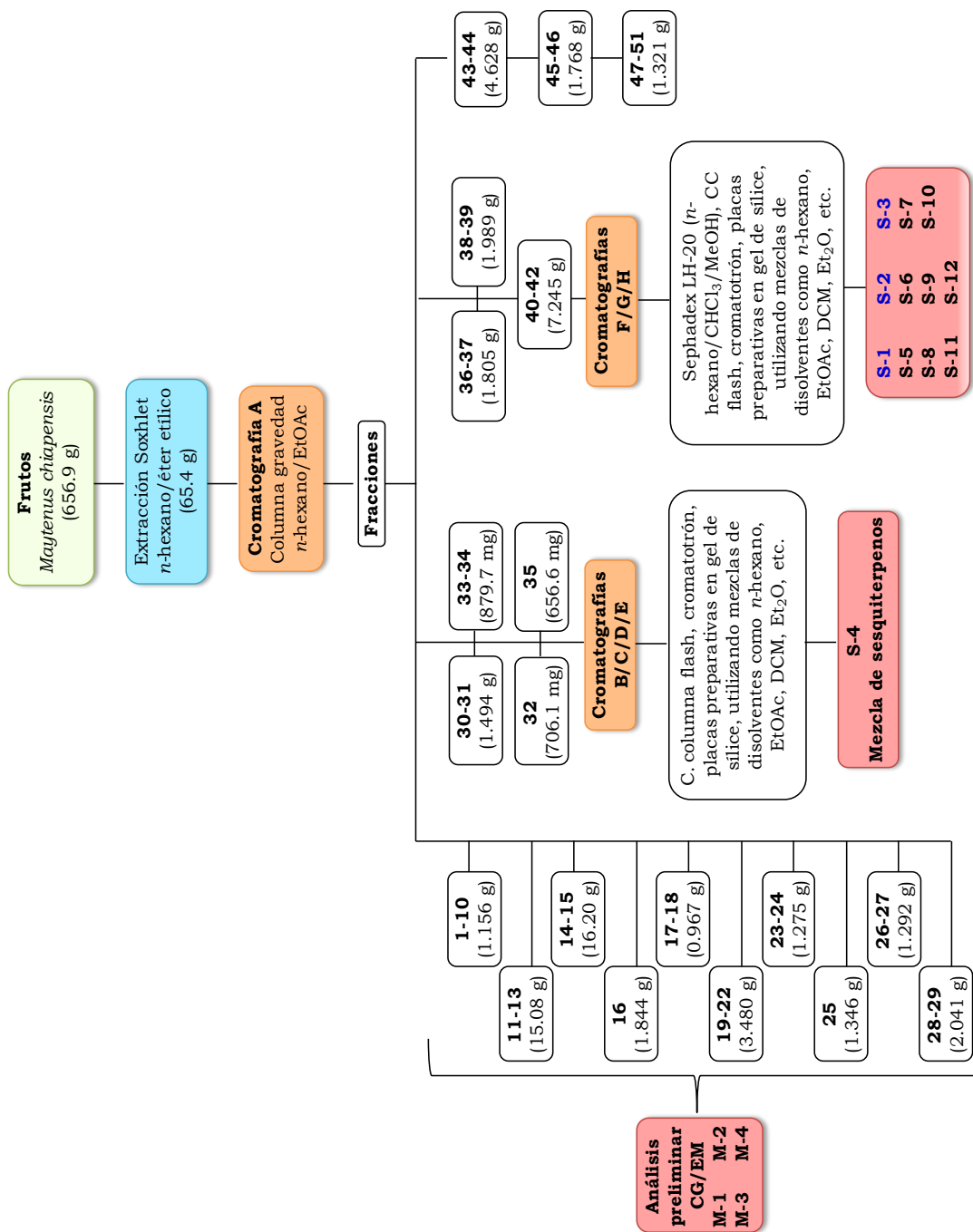
doce horas; luego fue vertido en la columna y se dejó reposar durante una hora. Posteriormente fue estabilizada, en la mezcla que se utilizó como eluyente; para lo cual se eluye tres veces la cantidad correspondiente al volumen muerto.

El eluyente generalmente utilizado es una mezcla de *n*-hexano/cloroformo/metanol (2:1:1). La muestra a resolver, fue filtrada y luego se colocó en la cabeza de la columna disuelta en una cantidad de eluyente no superior al 5% del volumen muerto de la columna. Al finalizar la columna puede ser reutilizada tras ser lavada con metanol y estabilizada con el eluyente que se va a utilizar.

3.3.4 Cromatografía rotatoria

Esta técnica se utilizó en la separación de mezclas de metabolitos con R_f muy próximos. El aparato utilizado fue un Chormatotron^R Modelo 7924T; la muestra se sembró (como máximo 200 mg) en placas circulares conteniendo gel de sílice de 1 y 2 mm de espesor marca Merck 60 PF 254 con yeso. La elución de la fase móvil es accionada por la fuerza centrífuga, utilizando el solvente o la mezclas de solventes adecuados.

3.4 ESQUEMA DE SEPARACIÓN CROMATOGRÁFICA



3.5 TÉCNICAS ESPECTROSCÓPICAS Y ESPECTROMÉTRICAS

Habiendo obtenido los metabolitos secundarios en estado puro, se procede a su determinación estructural; esto se realizó por medio de diferentes técnicas espectroscópicas y espectrométricas.

3.5.1 Resonancia Magnética Nuclear (RMN)

Los espectros de RMN ^1H , ^{13}C , DEPT y experimentos bidimensionales se realizaron en los espectrómetros Bruker Avance 400, Bruker Avance 500 y Bruker Avance II 600. Los productos se disolvieron en cloroformo deuterado (CDCl_3), utilizando como referencia interna el tetrametilsilano (TMS). Los valores para el desplazamiento químico (δ) se expresan en ppm y los valores de las constantes de acoplamiento (J) en Hz. En los experimentos de RMN ^1H , la multiplicidad de las señales se indica por las abreviaturas: (s) singlete, (d) doblete y (m) multiplete y en los experimentos de RMN ^{13}C : (c) CH_3 , (t) CH_2 , (d) CH y (s) C. Los experimentos bidimensionales se realizaron con los programas COSY, HSQC, HMBC y ROESY, suministrados por la casa Bruker.

3.5.2 Espectroscopía Infrarroja (IR)

Los espectros de infrarrojo se realizaron, con los productos puros disueltos en cloroformo seco, formando una película sobre pastillas de NaCl de 0.2 mm de espesor. Para estos experimentos se utilizó un espectrofotómetro Bruker IFS 55 (FTIR), los valores de (ν) se expresan en cm^{-1} .

3.5.3 Espectroscopía Ultravioleta (UV)

Los espectros ultravioleta fueron efectuados con el producto disuelto en etanol, en una celda de cuarzo de 1 mL de volumen con un paso de luz de 10 mm. Estos experimentos se realizaron en un aparato Jasco V-560. Los valores de la longitud de onda (λ) de la muestra se expresan en nm.

3.5.4 Rotación Óptica ($[\alpha]_D$)

Los experimentos para la determinación del valor de la actividad óptica se realizaron con un polarímetro Perkin Elmer 343, usando la línea D del sodio a 20°C. El producto se disolvió en cloroformo seco, en una célula de 1 mL de volumen y 1 dm de paso de luz. La concentración esta expresada en gramos por 100 mL de disolución.

3.5.5 Espectrometría de masas de baja resolución (EM)

La realización de los espectros de masas de baja resolución se llevaron a cabo en un espectrómetro Hewlett Packard 5995, VG Micromass AZ B-2F y/o Espire 3000 Bruker.

Los métodos de ionización utilizados fueron: impacto electrónico (IE) empleando potenciales de ionización de 70 eV, bombardeo con átomos rápidos (FAB) y electrospray (ESI).

3.5.6 Espectrometría de masas de alta resolución (EMAR)

La determinación de las fórmulas moleculares, de fragmentos y/o iones moleculares, se realizó en el espectrómetro VG Micromass ZAB-2F (a potenciales de ionización de 15-70 eV), y Fisons Instruments VG Autospec.

3.6 PROGRAMAS INFORMÁTICOS UTILIZADOS

Para el procesamiento y análisis de los espectros de Resonancia Magnética Nuclear, tanto monodimensionales (^1H y ^{13}C), como bidimensionales (COSY, ROESY, HMBC y HSQC); hemos empleado el software MestreNova 6.0. Para la representación de las moléculas se utilizó el software ChemBioDraw Ultra 12.0 y para la modelación tridimensional de las moléculas se utilizó el software Chem3D Pro 12.0.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN



A continuación describimos los sesquiterpenos aislados en el presente estudio fitoquímico. Tras repetidas cromatografías de siete de las sub-fracciones obtenidas del extracto *n*-hexano/éter etílico de los frutos de *Maytenus chiapensis*, como se detalla en el apartado de Metodología Experimental, aislamos un total de once sesquiterpenos, dos de los cuales resultaron ser nuevos en la bibliografía química. Además, producto de hidrólisis parcial de uno de los sesquiterpenos anteriormente reportados en la bibliografía química, se obtuvo un tercer sesquiterpeno que resultó nuevo en las referencias químicas.

Las estructuras de los metabolitos aislados fueron elucidadas mediante técnicas espectroscópicas de RMN - ^1H y ^{13}C , incluyendo experimentos homonucleares (COSY y ROESY) y heteronucleares (HMBC y HSQC), IR, UV y espectrometría de masas. Por otra parte, las estructuras de los metabolitos conocidos, fueron caracterizadas basándonos en sus datos físicos y espectroscópicos, además de la comparación de los mismos con los existentes en la bibliografía química.

La descripción de los sesquiterpenos, se ha dividido en una primera parte, correspondiente a los sesquiterpenos nuevos (**S-1**, **S-2** y **S-3**) (figura 65) y una segunda parte, correspondiente a los sesquiterpenos anteriormente reportados en la bibliografía química (**S-4** - **S-12**) (figura 66).

Los sesquiterpenos conocidos correspondieron a:

1 α ,6 β -diacetoxi-9 β -benzoiloxidihidro- β -agarofurano (**S-4**)⁹⁶⁻⁹⁸, Ejap-2 (**S-5**)⁹⁹⁻¹⁰², Triptogelin C-1 (**S-6**)^{97,101,103}, 1 α ,2 α -diacetoxi-6 β ,9 β -dibenzoiloxidihidro- β -agarofurano (**S-7**)¹⁰⁴⁻¹⁰⁵, 15-acetoxiorbiculin A (**S-8**)¹⁰⁶, Tritogelin B-1 (**S-9**)¹⁰⁷ y 6 β ,15-diacetoxi-1 α ,8 α ,9 α -tribenzoiloxidihidro- β -agarofurano (**S-10**)⁹⁸, 1 α ,2 α ,6 β -triacetoxi-8 α ,9 α -dibenzoiloxidihidro- β -agarofurano (**S-11**)¹⁰⁷, 6 β ,15-diacetoxi-1 α ,2 α ,8 α ,9 α -tetrabenzoiloxidihidro- β -agarofurano (**S-12**)¹⁰⁸.

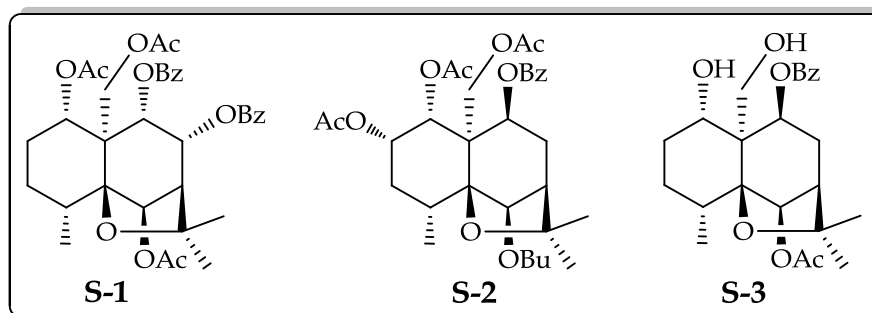


Figura 65. Sesquiterpenos nuevos obtenidos de los frutos de *Maytenus chiapensis*

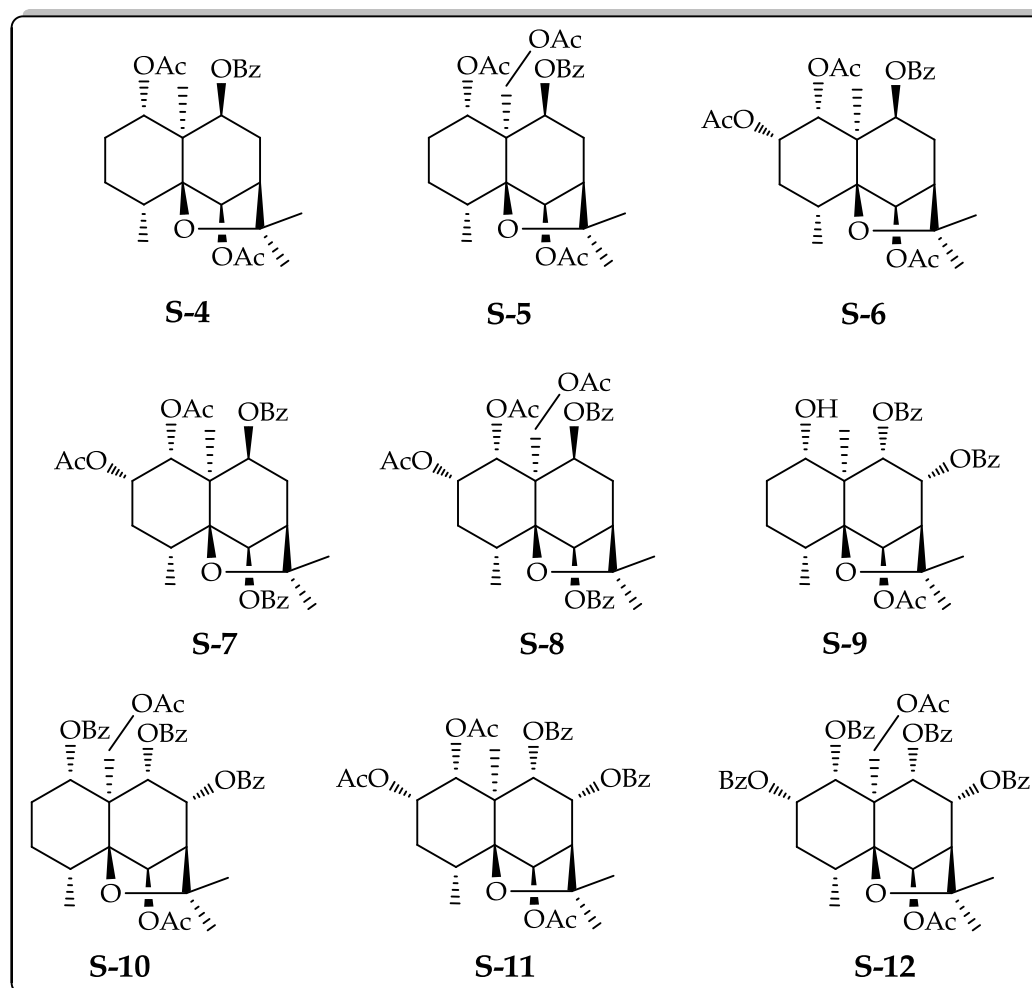


Figura 66. Sesquiterpenos conocidos asilados de los frutos de *Maytenus chiapensis*

4.1 Sesquiterpenos Nuevos



SESQUITERPENOS S-1

El metabolito que hemos denominado **S-1** presentó una fórmula molecular $C_{35}H_{40}O_{11}$ (636 g mol^{-1}), determinada mediante espectrometría de masas de alta resolución. En su espectro IR se observaron bandas de absorción características de grupos carboxílicos a 1734 cm^{-1} y de anillos aromáticos a 1258 cm^{-1} . En su espectro de masas se observaron los siguientes fragmentos: $[M^+ - 43, 593 \text{ m/z, MeCO}^+]$, $[105 \text{ m/z, C}_6\text{H}_5\text{CO}^+]$, $[77 \text{ m/z, C}_6\text{H}_5^+]$. En el espectro ultravioleta se observó la presencia de un grupo cromóforo a 228 nm , que corresponde a un sistema de anillo aromático; lo que confirma la banda observada a 1258 cm^{-1} en el espectro IR.

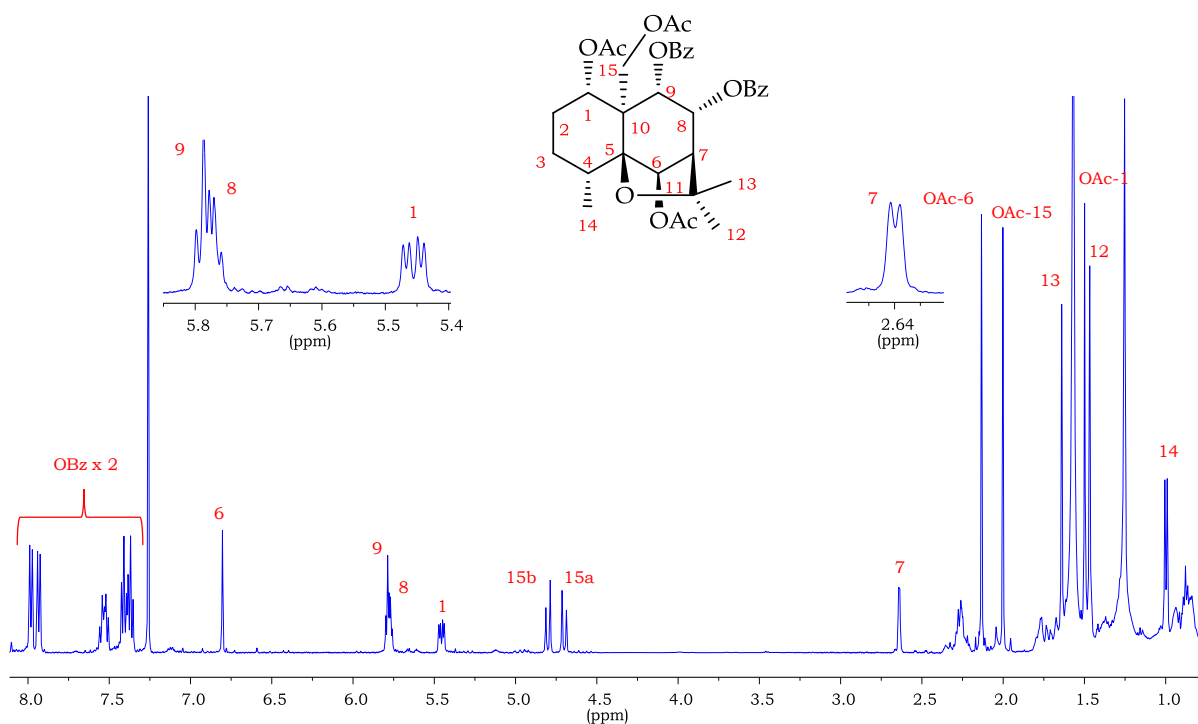


Figura 67. Espectro de RMN- ^1H (500 MHz, CDCl_3) del sesquiterpeno **S-1**

En el espectro RMN- ^1H (*figura 67*) se observan señales para cinco protones metínicos, tres de los cuales forman parte de un sistema ABX, con señales a δ_{H} 2.64 (d), 5.77 (m) y 5.79 (m), que integran cada uno para un protón; estas señales fueron asignadas a los protones H-7, H-8 y H-9, respectivamente.

Las señales a δ_H 5.45 como doble-doblete y δ_H 6.81 como singulete, fueron asignadas a los protones H-1 y H-6, respectivamente. Además se observaron dos señales a δ_H 4.70 (d, $J=13.1$ Hz, 1H) y 4.79 (d, $J=13.1$ Hz, 1H) que acoplan entre sí, las que corresponden a los protones H-15_a y H-15_b, respectivamente.

En el espectro de RMN-¹H, se observaron señales correspondientes a dos metilos singuletes a δ_H 1.47 y 1.64, asignables a Me-12 y Me-13; además señal para un metilo doblete ($J=7.2$ Hz) a δ_H 0.99, correspondiente al Me-14. Así mismo, en el espectro de RMN-¹³C, fueron observadas señales para tres carbonos cuaternarios a δ_C 51.1 (s), 81.5 (s) y 91.1 (s), asignables a los carbonos C-10, C-11 y C-5, respectivamente. (figura 68)

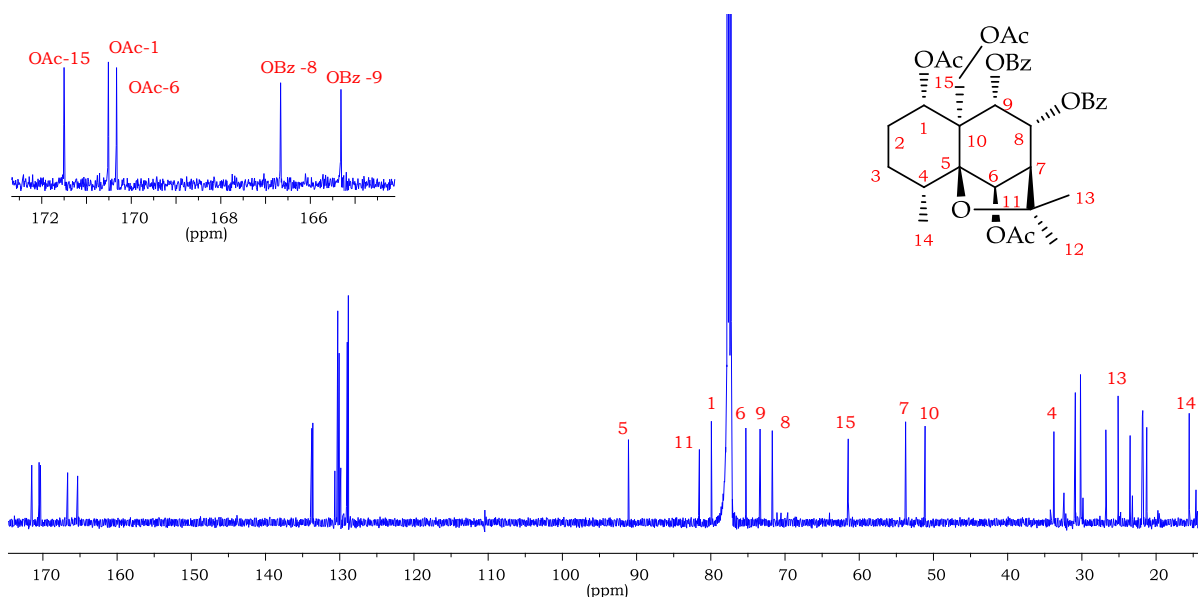


Figura 68. Espectro de RMN-¹³C (125 MHz, CDCl₃) del sesquiterpeno **S-1**

Además, en el espectro RMN-¹H (figura 67) se observa la presencia de tres singuletes que integran para tres protones a δ_H 1.50, 2.00 y 2.14; los cuales corresponden a los metilos de los grupos acetatos; así también se observa un grupo de señales entre δ_H 7.37 – 7.98, las que en conjunto integran para diez protones, esto nos indicó la presencia de dos grupos benzoatos.

Estos datos fueron corroborados en el espectro RMN- ^{13}C (figura 68), donde se observan señales para carbonos alifáticos a δ_{C} 21.3 (c), 21.8 (c) y 21.9 (c) y carbonos carboxílicos a δ_{C} 170.3 (s), 170.5 (s) y 171.5 (s), correspondientes a los tres acetatos; además señales correspondientes a doce carbonos aromáticos entre δ_{C} 128.8 - 133.8 y dos carbonos carboxílicos a δ_{C} 165.3 (s) y 166.7 (s), asignados a dos grupos benzoatos. Con los datos anteriores confirmamos que el producto **S-1**, es un sesquiterpeno poliesterificado pentasustituido con esqueleto de dihidro- β -agarofurano.

La asignación completa de los protones existentes en la molécula, se logró mediante un cuidadoso estudio de los espectros monodimensionales RMN- ^1H , RMN- ^{13}C y de los espectros bidimensionales, tanto homonucleares (COSY) (figura 69), como heteronucleares (HSQC) (figura 70).

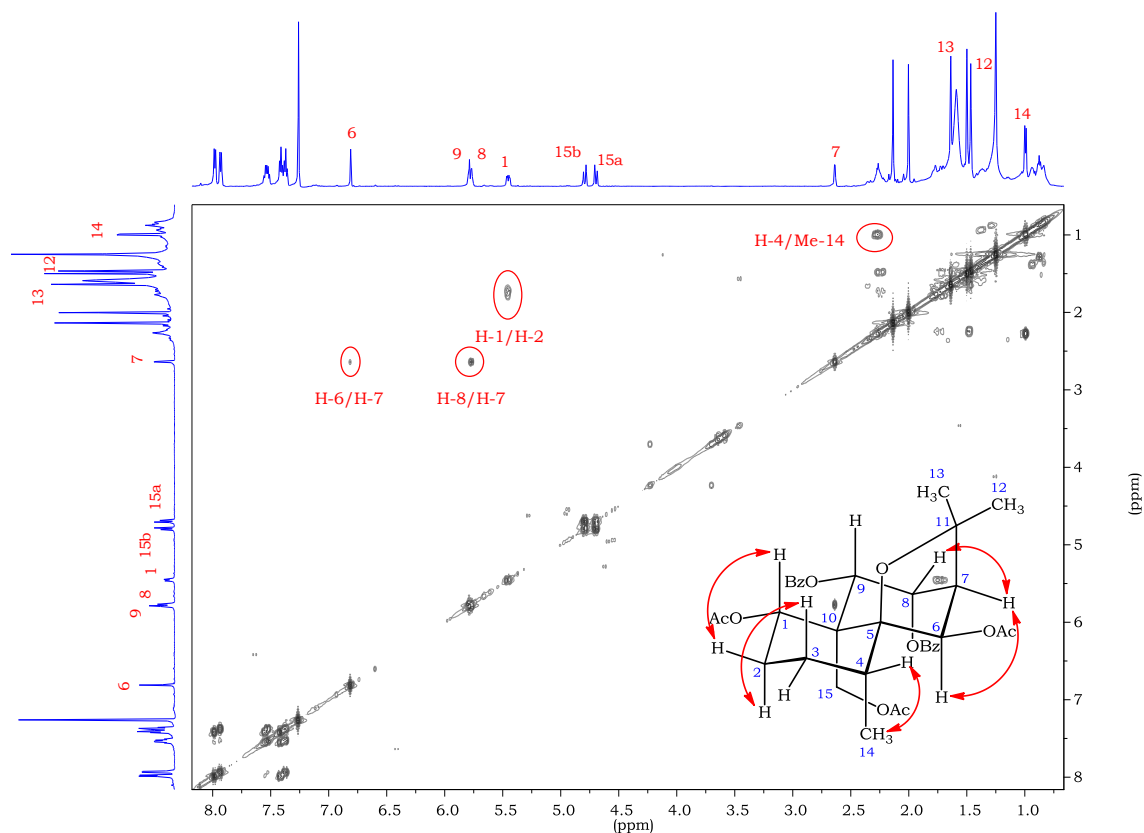


Figura 69. Experimento COSY (^1H - ^1H) del sesquiterpeno **S-1**

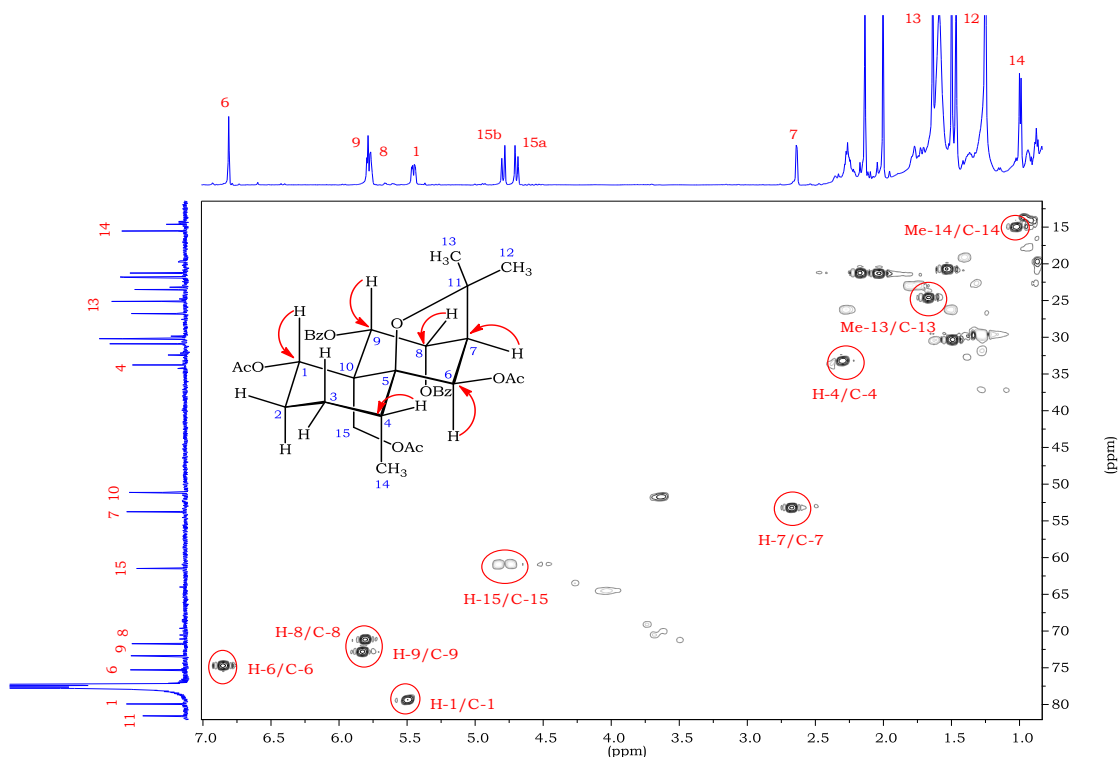


Figura 70. Experimento HSQC (^1H - ^{13}C) del sesquiterpeno **S-1**

La regiosustitución de los diferentes grupos ésteres, sobre el esqueleto sesquiterpénico, fue resuelto por medio de un experimento HMBC (figura 71), en el cual se observó que las señales de los carbonilos de los acetatos a δ_{C} 170.3 (s), 170.5 (s) y 171.5 (s), fueron correlacionados con las señales de sus metilos singuletes a δ_{H} 2.14, 1.50 y 2.00, respectivamente. La unión de los grupos acetatos a los carbonos C-1, C-6 y C-15, se estableció por la correlación de las señales entre los carbonilos de los grupos acetatos con las señales de los protones geminales a δ_{H} 5.45 (H-1), 6.81 (H-6), 4.70 y 4.79 (H-15_a y H-15_b), respectivamente. De la misma manera, las señales a δ_{C} 165.3 (s) y 166.7 (s), se correlacionaron con las señales de protones aromáticos a δ_{H} 7.93 y 7.98. La unión de los grupos benzoatos a δ_{C} 165.3 (C-9) y 166.7 (C-8), fueron definidos por correlación entre el carbono carbonílico y las señales de los protones geminales a δ_{H} 5.79 (d) y 5.77 (d), asignadas a los protones H-9 y H-8, respectivamente. Con la información anterior se pudo establecer que el compuesto **S-1** es un sesquiterpeno dihidro- β -agarofuránico sustituido en las posiciones 1, 6, 8, 9 y 15 (ver figura 72).

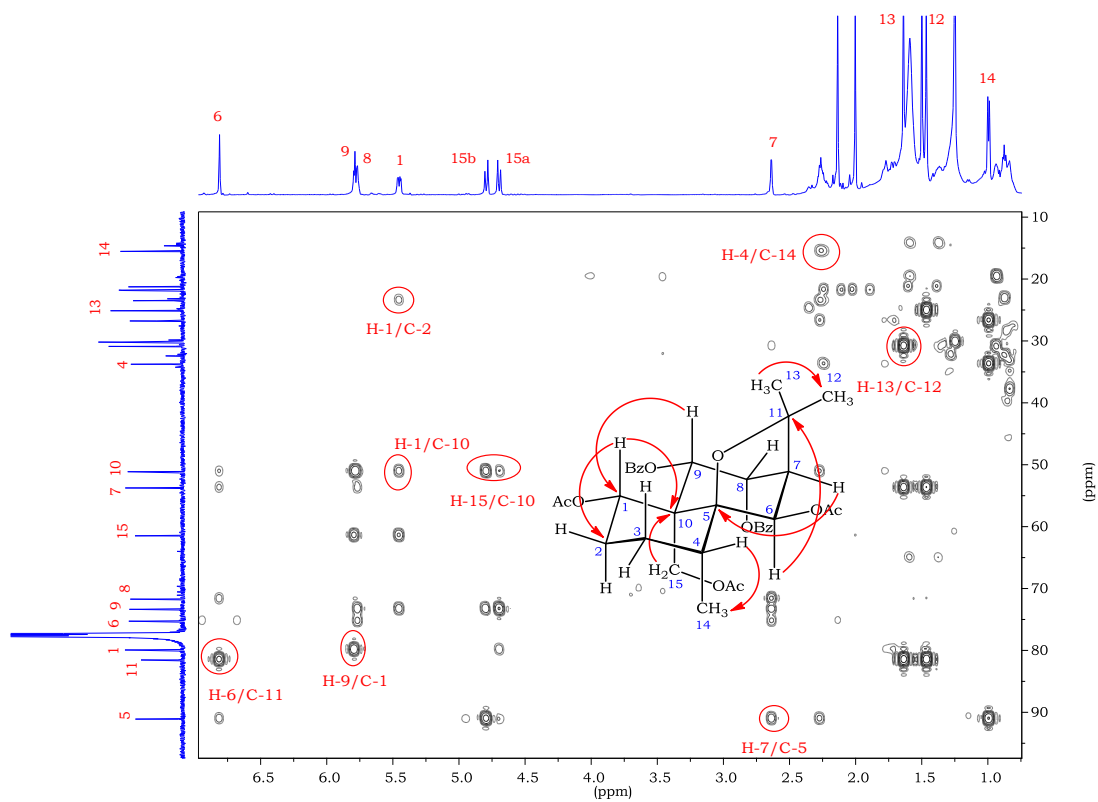


Figura 71. Experimento HMBC (^1H - ^{13}C) del sesquiterpene **S-1**

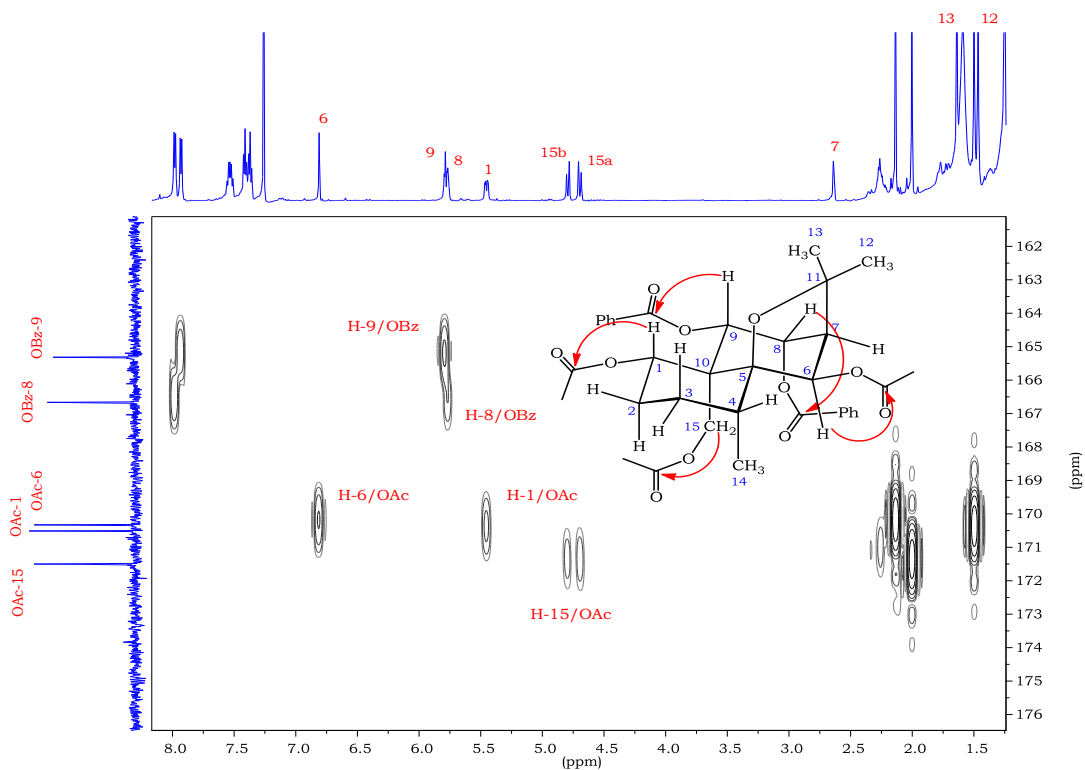


Figura 72. Regiosustitución de los grupos éster en el sesquiterpene **S-1**

La estereoquímica relativa de los grupos ésteres sobre el esqueleto dihidro- β -agarofuránico, fue establecida mediante un estudio de las constantes de acoplamiento ($J_{H8-H9}=5.7$ Hz), que indicaron una relación *cis* ecuatorial-axial para los protones H-8 y H-9; esto fue confirmado mediante un experimento ROESY (figura 73). En el cual destacan los efectos ROE entre el protón H-8 con H-7 y con Me-13, además efectos ROE del protón H-9 con H-1 y con Me-13.

La información anterior y la comparación con los datos espectroscópicos reportados para 6 β ,15-diacetoxi-1 α ,8 α ,9 α -tribenzoiloxidihidro- β -agarofurano (**S-10**)⁹⁸; nos permitió establecer la estructura del sesquiterpeno **S-1** como: 1 α ,6 β ,15-triacetoxi-8 α ,9 α -dibenzoiloxidihidro- β -agarofurano.

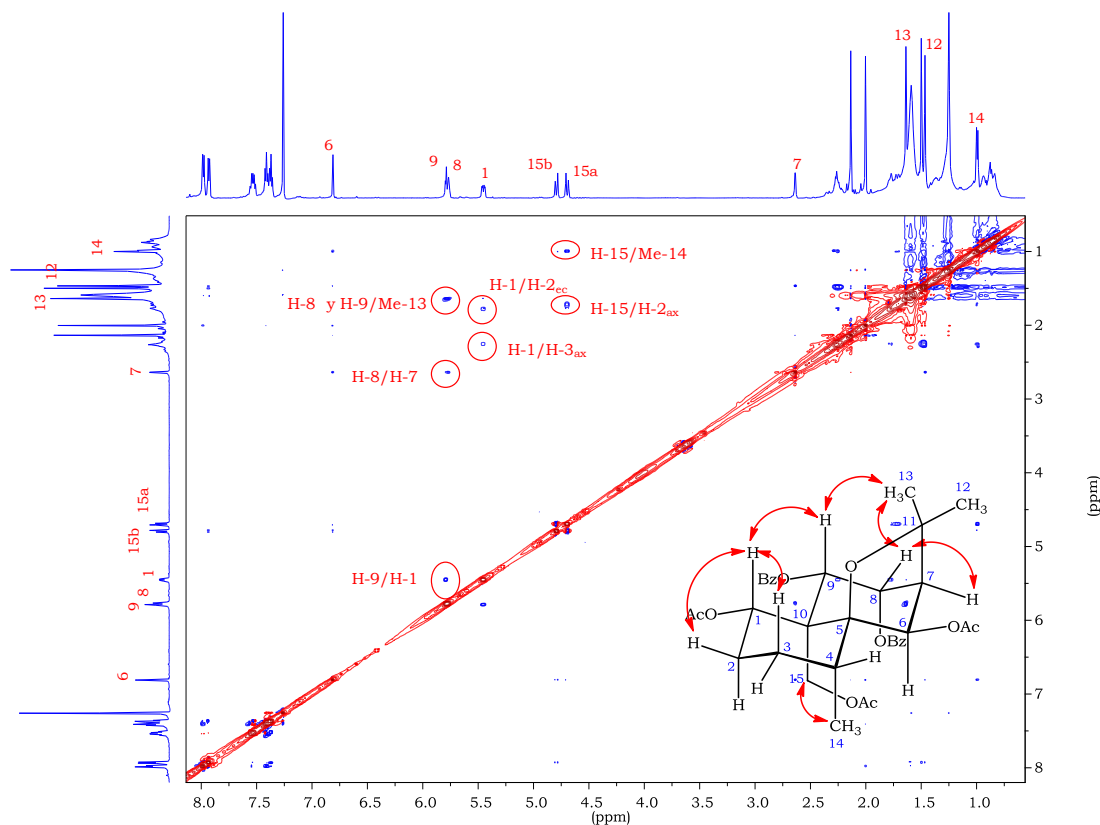


Figura 73. Correlaciones ROE observadas en el experimento ROESY (^1H - ^1H) del sesquiterpeno **S-1**

Tabla 1: Datos RMN-¹H (500 MHz) y ¹³C (125 MHz) para **S-1** en CDCl₃ [δ (ppm)]

No	δ_H	δ_C
1	5.45 (dd, $J = 4.5, 11.7$ Hz)	79.9 (d)
2 _{ec} (*)	1.32	23.5 (t)
2 _{ax} (*)	1.75	
3 _{ax} (*)	2.27	26.8 (t)
4(*)	2.30	33.8 (d)
5		91.1 (s)
6	6.81 (s)	75.3 (d)
7	2.64 (d, $J = 3.0$ Hz)	53.8 (d)
8	5.77 (m)	71.7 (d)
9	5.79 (m)	73.4 (d)
10		51.1 (s)
11		81.5 (s)
12	1.47 (s)	30.9 (c)
13	1.64 (s)	25.1 (c)
14	0.99 (d, $J = 7.2$ Hz)	15.5 (c)
15 _a	4.70 (d, $J = 13.1$ Hz)	61.5 (t)
15 _b	4.79 (d, $J = 13.1$ Hz)	
OAc-1	1.50 (s)	21.3 (c), 170.5 (s)
OAc-6	2.14 (s)	21.8 (c), 170.3 (s)
OAc-15	2.00 (s)	21.9 (c), 171.5 (s)

(*) Señales solapadas basadas en experimentos COSY, HSQC, ROESY.

SESQUITERPENO S-2

El producto denominado **S-2** presentó una fórmula molecular $C_{32}H_{43}O_{11}$ (603 gmol^{-1}), determinada por espectrometría de masas de alta resolución. El espectro IR presentó bandas a 1246 y 1750 cm^{-1} ; características de anillos aromáticos y grupos carboxílicos, respectivamente. En el espectro de masas observaron los siguientes fragmentos: pérdida de metilo [M^+-15 , 588 m/z , Me^+], [M^+-71 , 532 m/z , $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_2\text{CO}^+$], [105 m/z , $\text{C}_6\text{H}_5\text{CO}^+$], [77 m/z , C_6H_5^+]. Además en el espectro ultravioleta se observó una banda de absorción a 230 nm ; la cual confirma la presencia de un grupo cromóforo correspondiente a un anillo aromático.

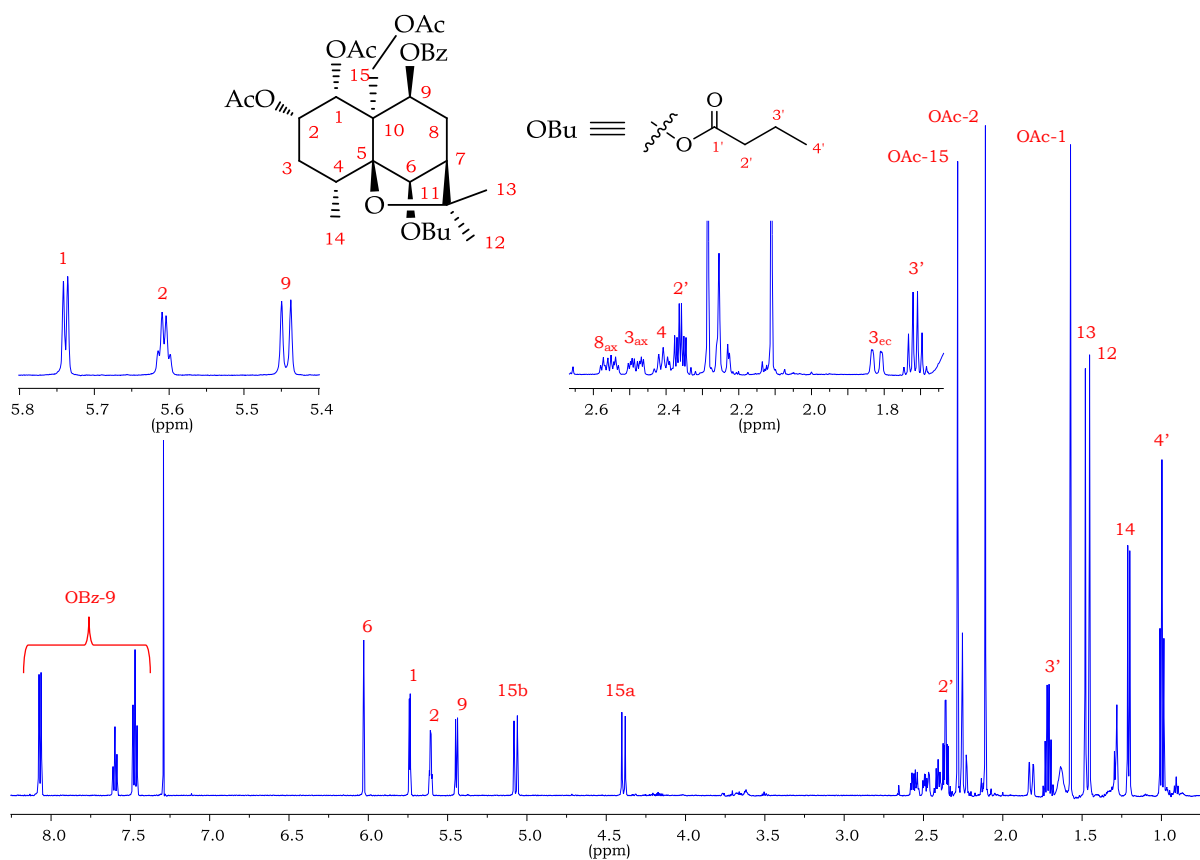


Figura 74. Espectro de RMN- ^1H (500 MHz, CDCl_3) del sesquiterpene **S-2**

En el espectro RMN- ^1H (figura 74) se observaron señales correspondientes a cuatro protones metínicos a δ_{H} 5.41 (d, $J=7.3$ Hz), 5.58 (c, $J=3.2$ Hz), 5.71 (d, $J=3.5$ Hz) y 6.00 (s), asignables a los protones H-9, H-2, H-1 y H-6, respectivamente.

Además dos dobletes que acoplan entre sí ($J=12.8$ Hz) a δ_{H} 4.36 y 5.04, los cuales corresponden a un grupo metileno en este caso los protones H-15_a y H-15_b. En el espectro RMN- ^{13}C (figura 75) se observaron señales para cuatro grupos metilénicos a δ_{C} 18.3 y 36.9 asignables a los metilenos del éster butirato; las dos restantes a δ_{C} 30.9 y 35.0 fueron correlacionadas con señales en el espectro RMN- ^1H a δ_{H} [1.80 (da) y 2.45 (ddd)] y a δ_{H} [2.19 y 2.52 (ddd)]; asignables a los protones H-3 y H-8, respectivamente.

Además el espectro de RMN- ^1H , presentó señales a δ_{H} 1.42 y 1.45 como singuletes (Me-12 y Me-13), y un señal a δ_{H} 1.17 como doblete ($J=7.7$ Hz), correspondiente al Me-14. Así mismo, en el espectro de RMN- ^{13}C fueron observadas señales correspondientes a tres carbonos cuaternarios a δ_{C} 53.5 (C-10), 82.8 (C-11) y 89.4 (C-5).

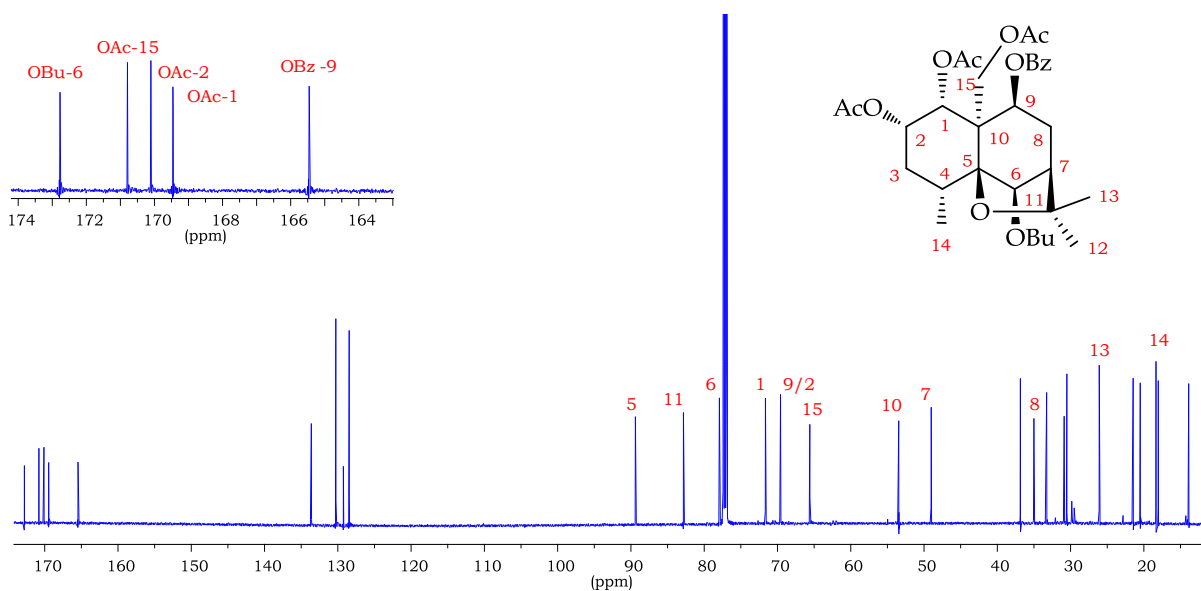


Figura 75. Espectro de RMN- ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) del sesquiterpene **S-2**

El espectro RMN-¹H (*figura 74*) presentó señales singuletes a δ_{H} 1.54, 2.08 y 2.25, las cuales corresponden a los metilos de los grupos acetatos. Además se observaron señales entre δ_{H} 7.44 y 8.04, las cuales integran para cinco protones, confirmando la presencia de un grupo benzoato. Así también destacan señales a δ_{H} 0.97 (3H, t, $J=7.4$ Hz, Me-4'), 1.70 (2H, m, H-3') y 2.33 (2H, td, $J=3.7, 7.5$ Hz, H-2'), asignables a dos metilenos y un metilo, de la cadena de un grupo butirato.

Estas asignaciones fueron corroboradas al estudiar el espectro de RMN-¹³C (*figura 75*), en el que se observaron señales para carbonos alifáticos a δ_{C} 20.49 (c), 21.45 (c) y 21.46 (c) y carbonos carboxílicos a δ_{C} 169.5 (s), 170.1 (s) y 170.8 (s); asignadas a tres grupos acetatos; además señales correspondientes a seis carbonos aromáticos entre δ_{C} 128.5 y 133.6, junto con un carbono carboxílico a δ_{C} 165.5, asignadas a un grupo benzoato; así también señales a δ_{C} 13.9 (c), 18.3 (t) y 36.9 (t) correlacionadas con un carbono carboxílico a δ_{C} 172.8, las que corresponden a un éster butirato. La información anterior, nos permitió confirmar que el producto **S-2**, es un sesquiterpeno poliesterificado pentasustituido con esqueleto dihidro- β -agarofurano.

Un cuidadoso estudio de los espectros monodimensionales RMN-¹H y RMN-¹³C, junto con espectros bidimensionales, COSY (*figura 76*) y HSQC (*figura 77*), nos permitió la asignación completa de los protones existentes en el producto **S-2**.

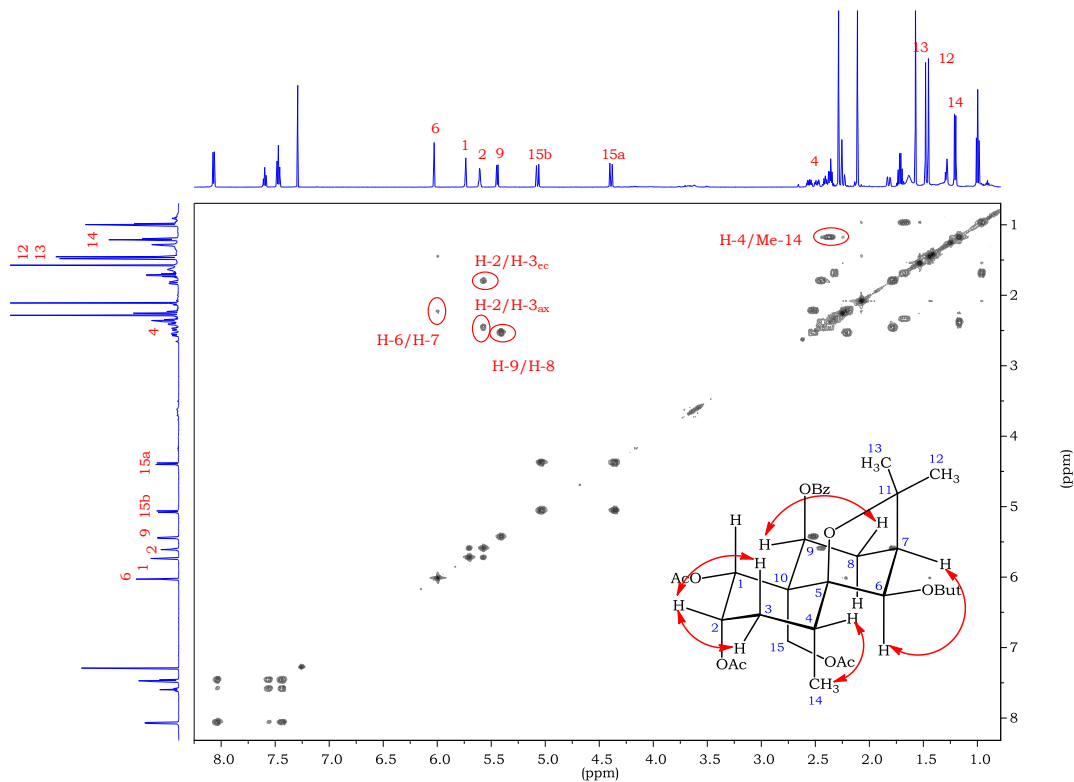


Figura 76. Experimento COSY (^1H - ^1H) del sesquiterpene **S-2**

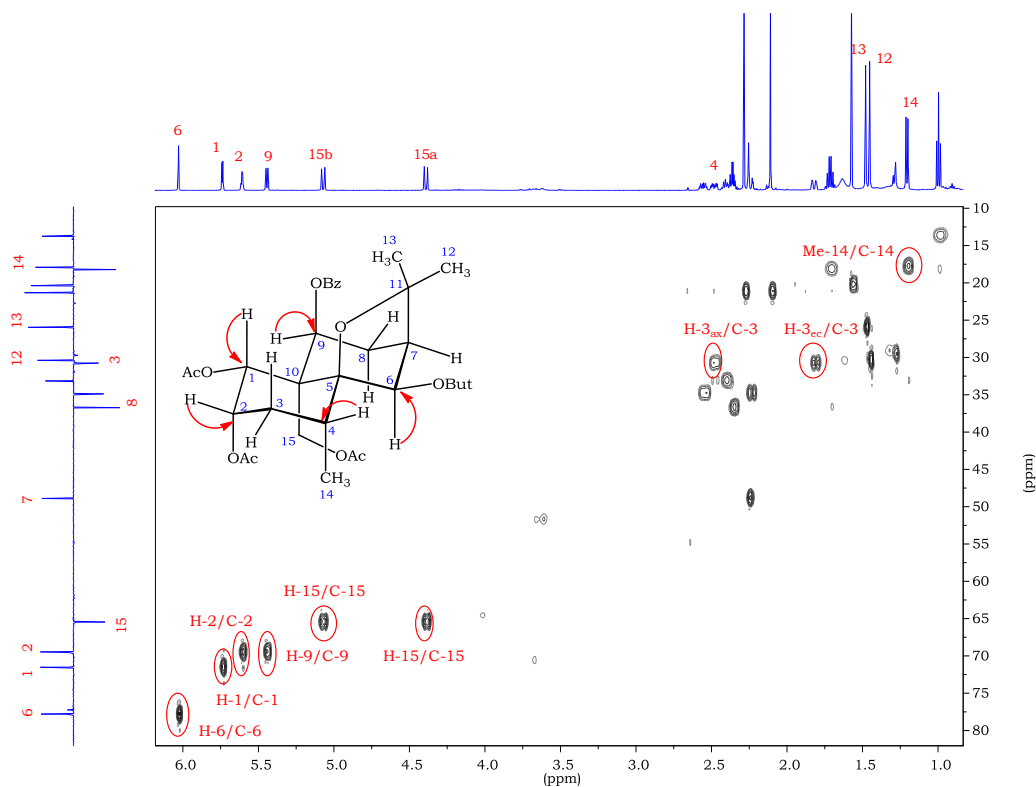


Figura 77. Experimento HSQC (^1H - ^{13}C) del sesquiterpene **S-2**

La regiosustitución de los diferentes grupos ésteres sobre el esqueleto sesquiterpénico, se resolvió mediante un experimento HMBC (*figura 78 y 79*), en el cual se observó que las señales de los carbonilos de los acetatos a δ_C 169.5 (s), 170.1 (s) y 170.8 (s) fueron correlacionadas con las señales de sus metilos singuletes a δ_H 1.54, 2.08 y 2.25, respectivamente. La unión de los grupos acetatos a los carbonos C-1, C-2 y C-15 se estableció por la correlación de los carbonilos con las señales de los protones geminales a δ_H 5.71 (H-1), 5.58 (H-2) y 4.36 y 5.04 (H-15_a y H-15_b), respectivamente.

De la misma manera la señal a δ_C 165.5 (s), se correlacionó con protones aromáticos entre δ_H 7.44 y 8.04, el grupo benzoato fue ubicado sobre el carbono C-9, por la correlación con su protón geminal a δ_H 5.41 (H-9) con el carbonilo correspondiente. Finalmente la señal correspondiente al carbonilo del grupo butirato a δ_C 172.8 (s) fue correlacionado con señales a δ_H 0.97 (t), 1.70 (m) y 2.33 (td), luego la asignación del éster butirato sobre el carbono C-6 se realizó, a través de la correlación del carbonilo con su protón geminal a δ_H 6.00 (H-6).

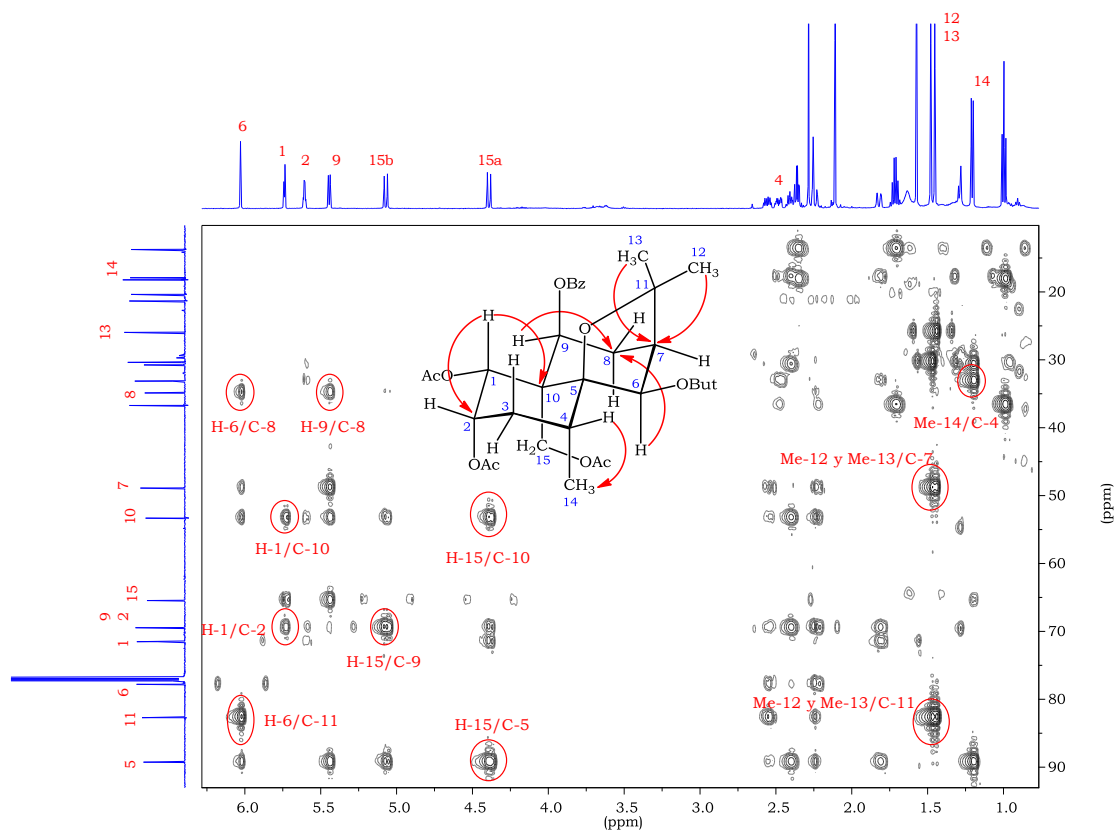


Figura 78. Experimento HMBC (^1H - ^{13}C) del sesquiterpene S-2

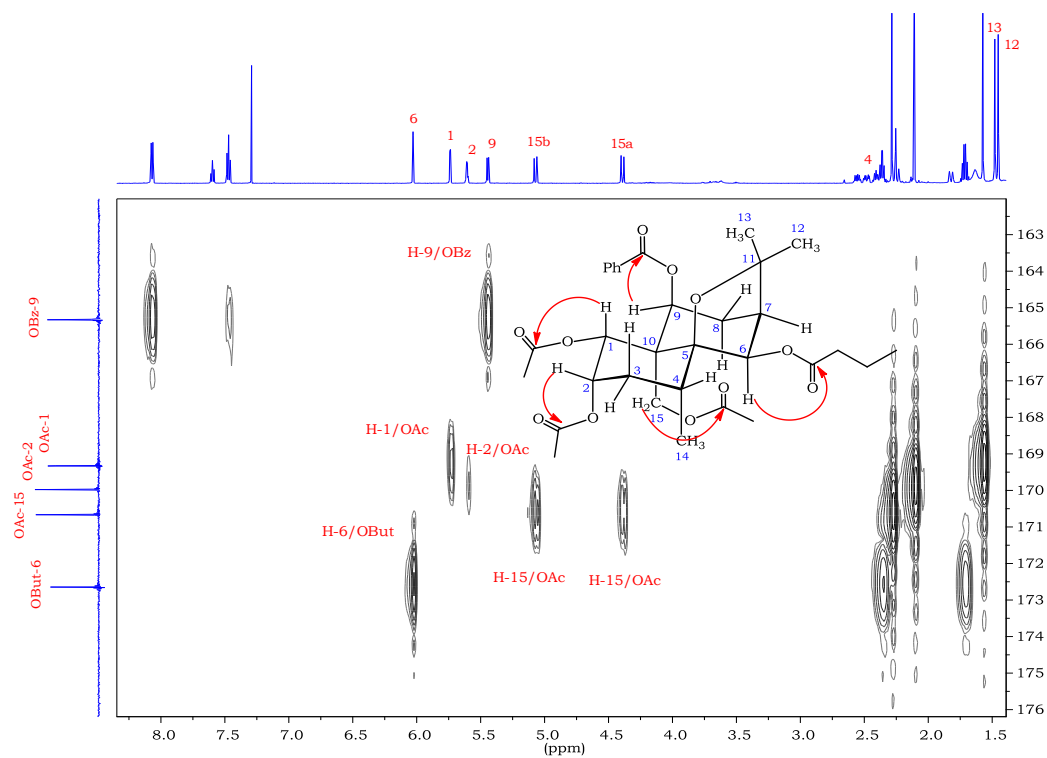


Figura 79. Regiosustitución de los grupos éster en el sesquiterpene S-2

Finalmente, la estereoquímica relativa de los diferentes ésteres sobre el esqueleto base, se estableció mediante un estudio de las constantes de acoplamiento ($J_{H1-H2}=3.2$ Hz), indicando una relación *cis* axial-ecuatorial para los protones H-1 y H-2, lo que fue confirmado mediante el experimento ROESY (figura 80). En este experimento se observaron efectos ROE del protón H-6 con H-8 y Me-14; así como entre H-9 con H-8 y H-15.

Todo el estudio, junto con la comparación con los datos reportados en las referencias químicas, para: 15-acetoxiorbiculin A (S-8)¹⁰⁶; nos permitió establecer la estructura del sesquiterpeno S-2, como: **1 α ,2 α ,15-triacetoxi-9 β -benzoiloxi-6 β -butiroxidihidro- β -agarofurano**.

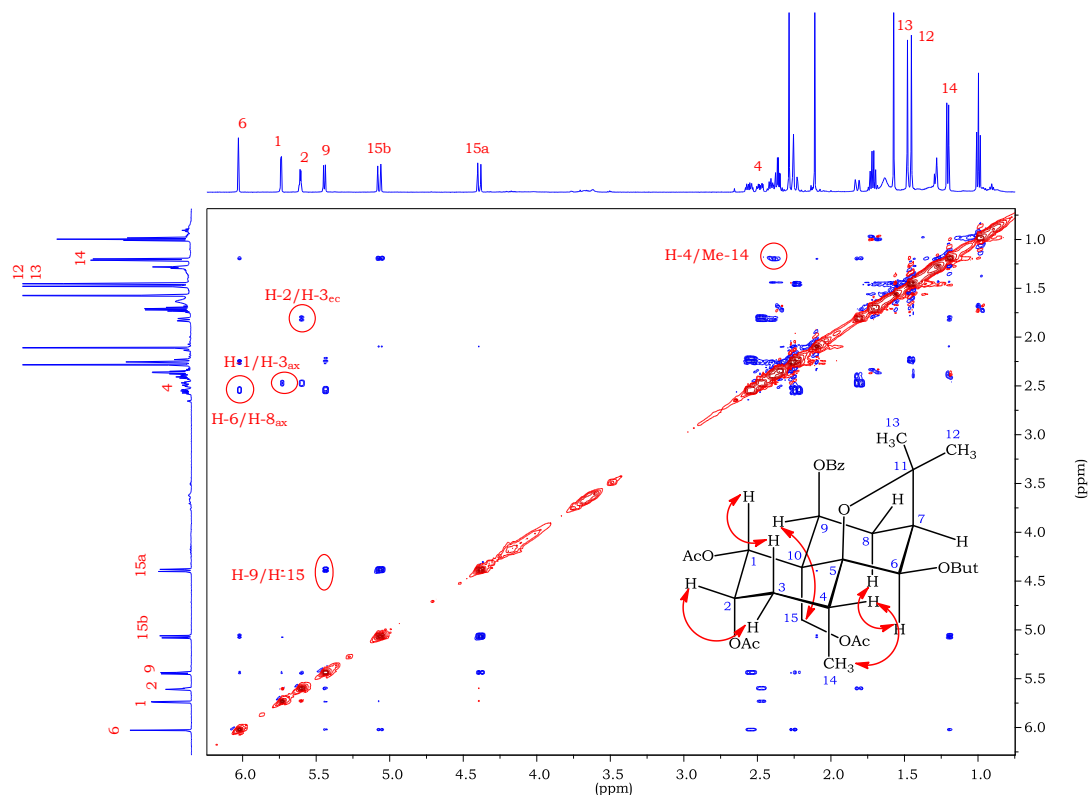


Figura 80. Correlaciones ROE observadas en el experimento ROESY (^1H - ^1H) del sesquiterpeno S-2

Tabla 2: Datos RMN-¹H (500 MHz) y ¹³C (125 MHz) para **S-2** en CDCl₃ [δ (ppm)]

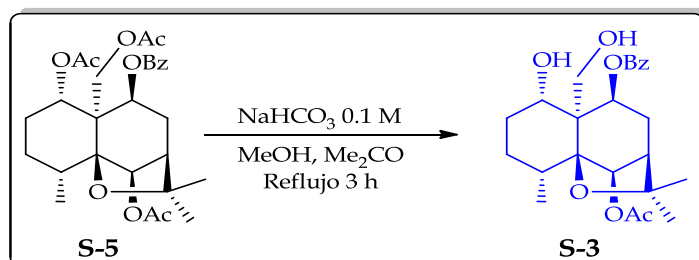
No	δ_H	δ_C
1	5.71 (d, $J = 3.5$ Hz)	71.6 (d)
2	5.58 (q, $J = 3.2$ Hz)	69.7 (d)
3 _{ec}	1.80 (da, $J = 15.0$ Hz)	30.9 (t)
3 _{ax}	2.45 (ddd, $J = 3.6, 6.4, 15.0$ Hz)	
4	2.38 (dt, $J = 5.3, 10.5$ Hz)	33.3 (d)
5		89.4 (s)
6	6.00 (s)	77.9 (d)
7(*)	2.22	49.0 (d)
8 _{ec} (*)	2.19	35.0 (t)
8 _{ax}	2.52 (ddd, $J = 4.7, 7.5, 17.4$ Hz)	
9	5.41 (d, $J = 7.3$ Hz)	69.6 (d)
10		53.5 (s)
11		82.8 (s)
12	1.42 (s)	30.5 (c)
13	1.43 (s)	26.1 (c)
14	1.17 (d, $J = 7.7$ Hz)	18.0 (c)
15 _a	4.36 (d, $J = 12.8$ Hz)	65.6 (t)
15 _b	5.04 (d, $J = 12.8$ Hz)	
OAc-1	1.54 (s)	20.5 (c), 169.5 (s)
OAc-2	2.08 (s)	21.46 (c), 170.1 (s)
OAc-15	2.25 (s)	21.45 (c), 170.8 (s)

(*) Señales solapadas basadas en experimentos COSY, HSQC, ROESY

SESQUITERPENOS S-3

El sesquiterpeno **S-3** fue obtenido como producto mayoritario de la hidrólisis parcial del sesquiterpeno **S-5**, mediante el siguiente procedimiento:

A una disolución de 10.0 mg de **S-5** en metanol (3.0 mL) y acetona (2.0 mL), se le añadió 1.0 mL (0.1 mmoles, 5.0 eq) de una disolución acuosa de bicarbonato sódico 0.1 M. La disolución se calentó a reflujo durante 3 horas, comprobando por cromatografía en capa fina el grado de avance de la reacción. El crudo de reacción se concentró mediante vacío y al residuo se le añadió agua extrayéndose tres veces con acetato de etilo. Las fases orgánicas reunidas se secaron sobre sulfato magnésico anhidro, se filtraron y el disolvente se eliminó a vacío. Posteriormente, el residuo fue purificado por cromatografía en placa de gel de sílice de capa fina (*n*-hexano:AcOEt, 25 %), obteniéndose 0.7 mg de **S-3**, como un sólido amorfo.



Esquema A. Reacción de hidrólisis parcial del Sesquiterpeno **S-5**

La estructura de este derivado se confirmó mediante experimentos de resonancia magnética nuclear y por comparación con datos de referencias.⁹⁹⁻¹⁰²

Observándose en el espectro de RMN-¹H (*figura 81*) una señal como singlete que integran para tres protones a δ_H 2.08, la cual corresponde al metilo de un grupo acetato; además se observaron señales a δ_H 7.46 (t), 7.56 (m) y 8.10 (d), que en conjunto integran para cinco protones, indicándonos la presencia de un grupo benzoato.

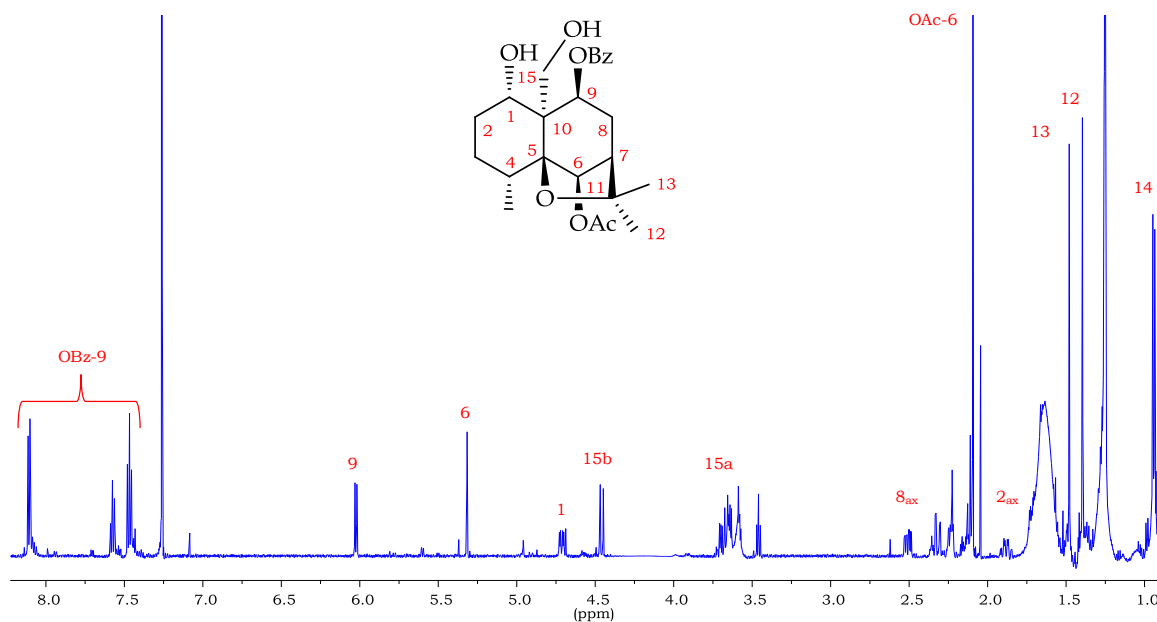


Figura 81. Espectro de RMN-¹H (600 MHz, CDCl₃) del sesquiterpene **S-3**

Estas asignaciones fueron corroboradas al estudiar el espectro de RMN-¹³C (figura 82), donde se observaron las señales correspondientes al metilo y carboxilo del grupo acetato, respectivamente a δ_c [21.3 (c), 170.0 (s)]. Un grupo de señales correspondientes a seis carbonos aromáticos entre δ_c 128.6 y 133.1, junto con un carbono carboxílico a δ_c 165.6, las cuales corresponden al grupo benzoato.

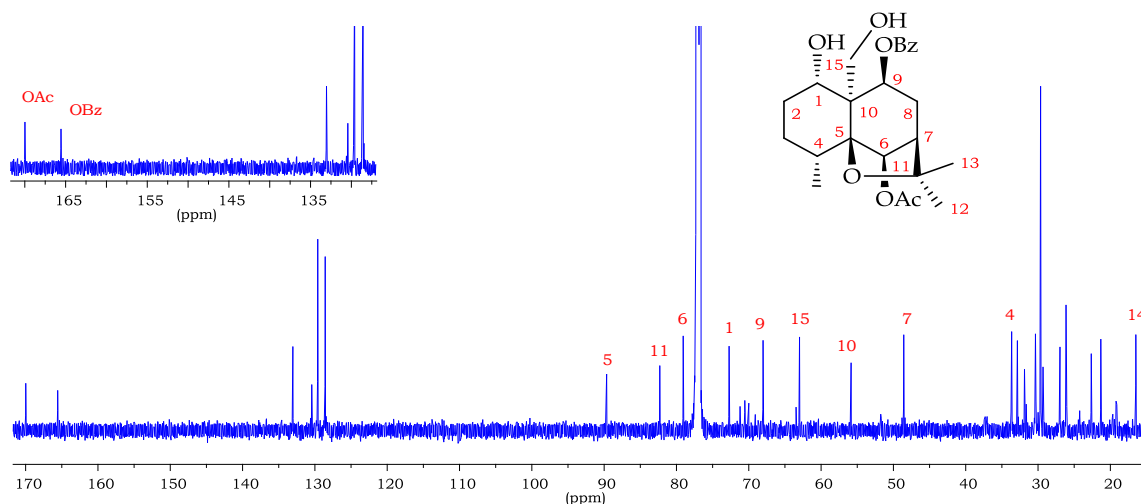


Figura 82. Espectro de RMN-¹³C (125 MHz, CDCl₃) del sesquiterpene **S-3**

Esto nos confirmó la pérdida de dos grupos éster (acetatos) producto de la hidrólisis de **S-5**; de manera que el producto **S-3**, es un sesquiterpeno que solamente posee dos grupos éster.

En el espectro RMN-¹H destaca el desplazamiento a campo más bajo de la señal correspondiente al protón H-9 de δ_H 5.39 a 6.02 (figura 83), el desplazamiento a campo más alto de la señal del protón H-6 de δ_H 5.95 a 5.31 y del protón H-1 de δ_H 5.56 a 4.71. Además se muestran dos dobletes que acoplan entre sí ($J=11.7$ Hz) a δ_H 3.67 y 4.45, los cuales corresponden a un grupo metileno en este caso los protones H-15; confirmado con una señal a δ_C 63.0 (t) en el experimento RMN-¹³C.

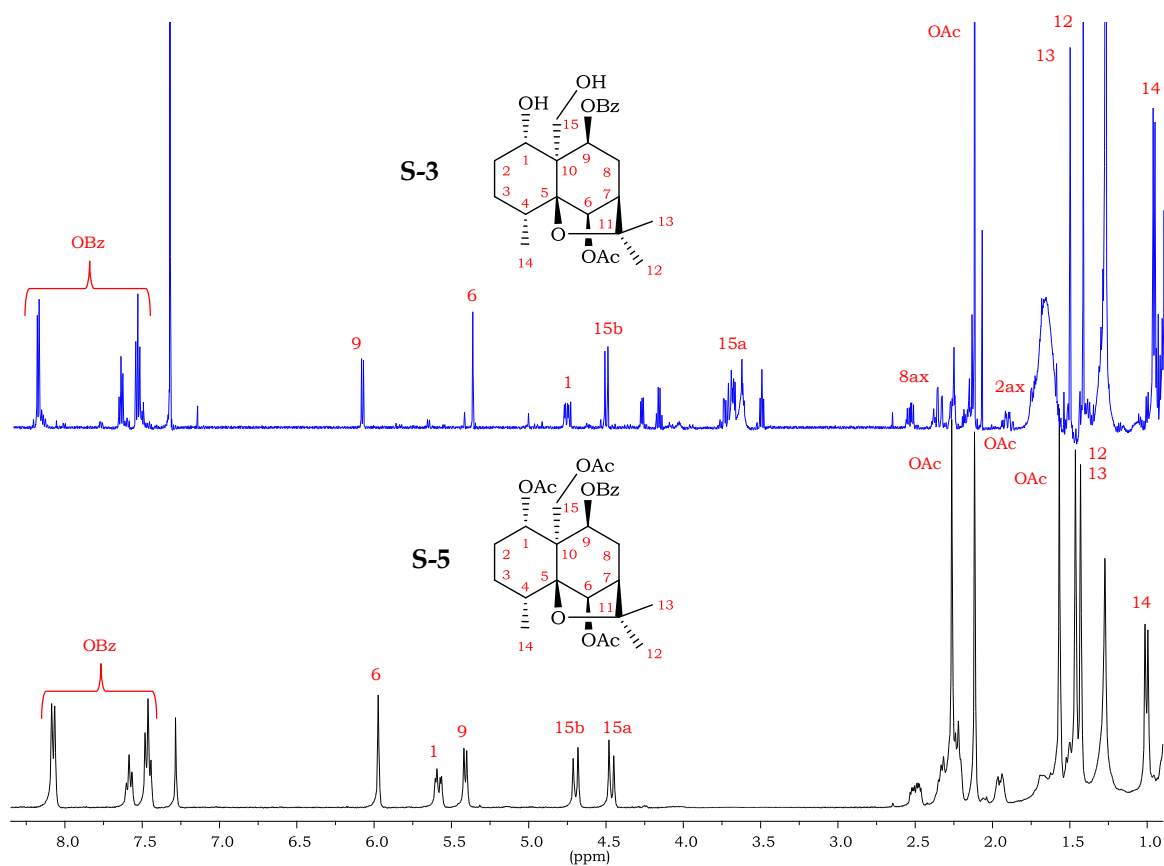


Figura 83. Comparación de los espectros RMN-¹H del sesquiterpeno **S-5** con **S-3**

Los espectros de RMN- ^1H y ^{13}C , presentaron señales correspondientes a dos metilos δ_{H} 1.39 y 1.47 como singuletes (Me-12 y Me-13), y un metilo a δ_{H} 0.93 como doblete (3H, d, $J=7.4$ Hz), correspondiente al Me-14. Así también fueron observables tres carbonos cuaternarios a δ_{C} 55.9 (C-10), 82.3 (C-11) y 89.7 (C-5).

Mediante un estudio de las correlaciones presentadas en el experimento COSY y HSQC, se consiguió la asignación completa de las señales correspondientes a cada protón y carbono presente en la molécula. (figuras 84 y 85, respectivamente)

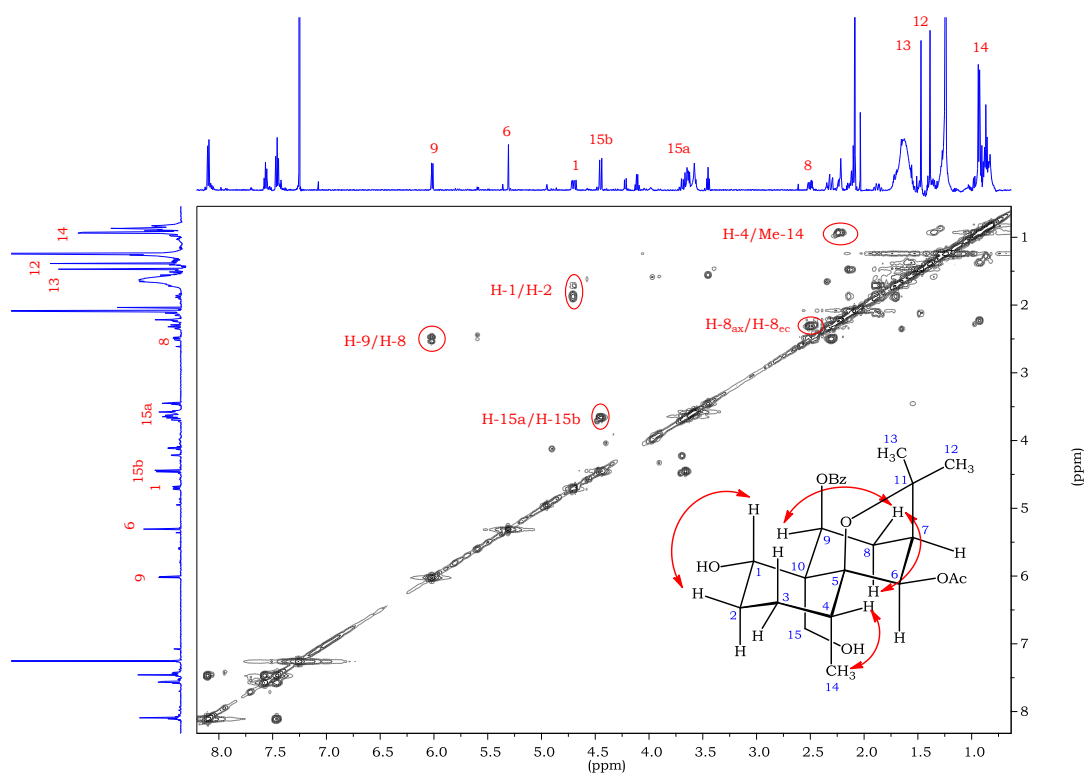


Figura 84. Experimento COSY (^1H - ^1H) del sesquiterpene **S-3**

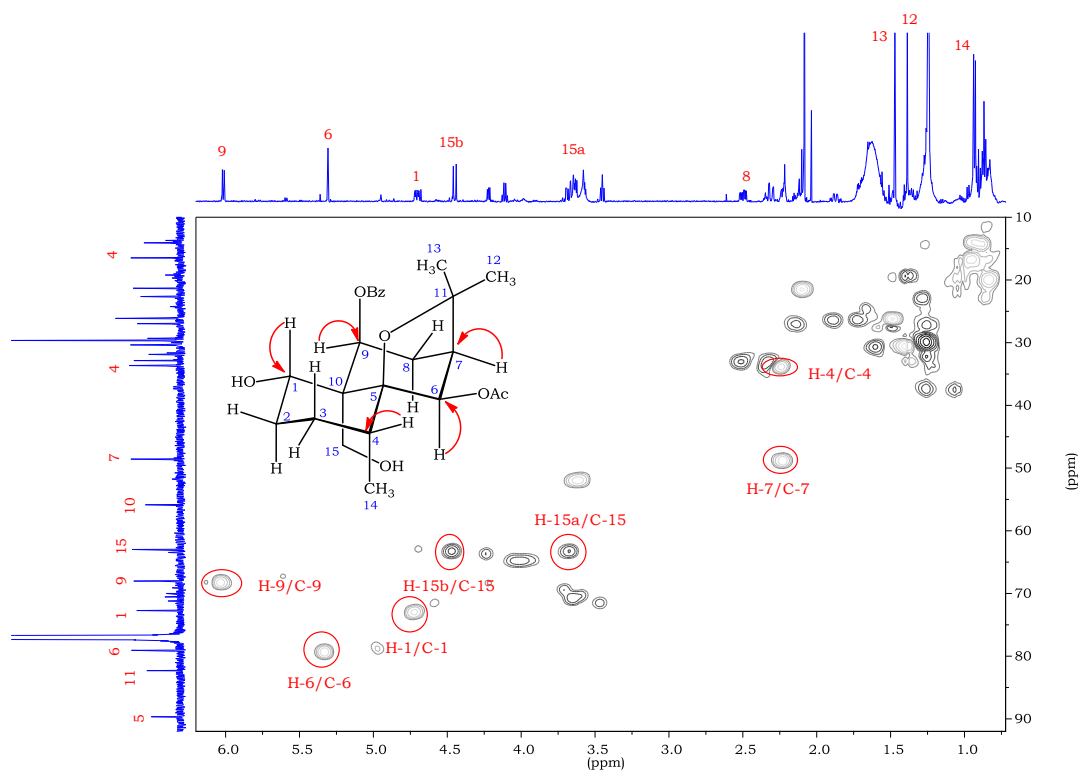


Figura 85. Experimento HSQC (^1H - ^{13}C) del sesquiterpene **S-3**

En el experimento HMBC (figura 86), se observó que el grupo carboxílico (δ_{C} 169.98) del acetato mostró correlación a tres enlaces con una señal a δ_{H} 5.31 (s), asignándose al protón H-6. Y una señal a δ_{C} 165.57, correspondiente al carboxilo del grupo benzoato, presentó correlación con una señal a δ_{H} 6.02 (d, $J = 7.3$ Hz), asignada al portón H-9. Lo anterior nos indicó que el compuesto **S-3**, habría sufrido hidrólisis de los ésteres ubicados en los carbonos 1 y 15.

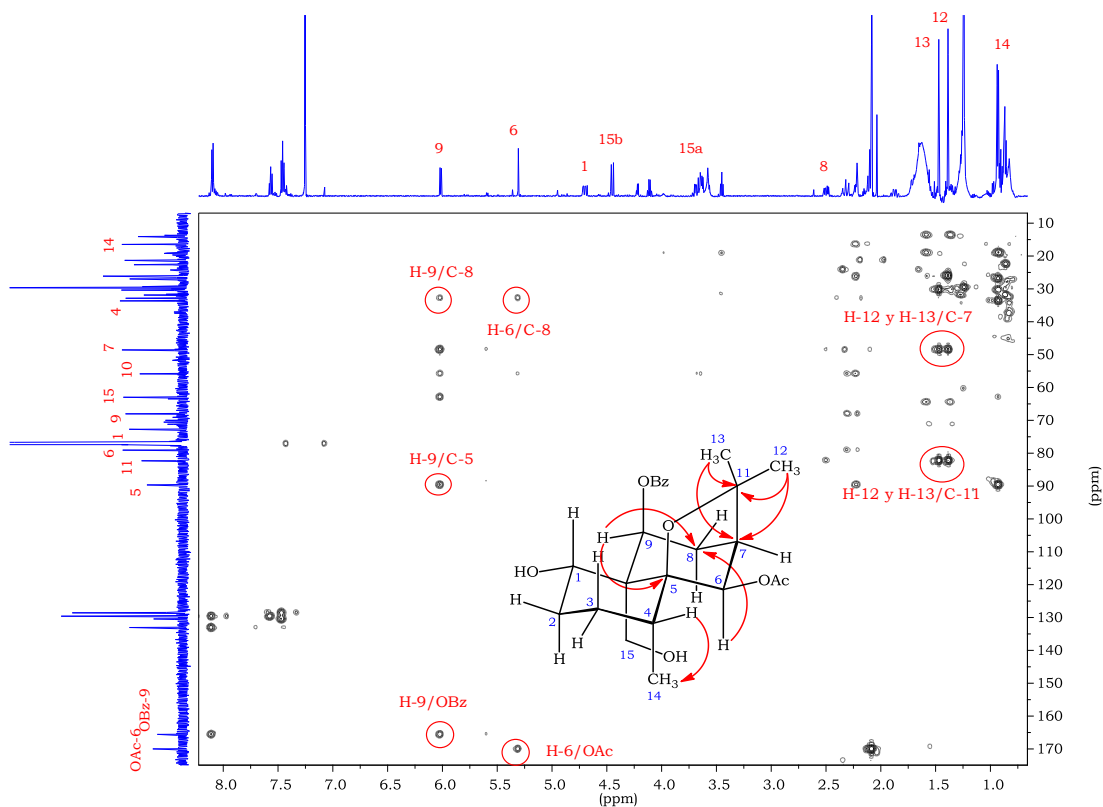


Figura 86. Experimento HMBC (^1H - ^{13}C) del sesquiterpene **S-3**

En el espectro ROESY (*figura 87*) se observaron efectos ROE de los protones H-9 y H-6 con H-8_{ax} y H-15_a; así como entre H-15_b con H-2_{ax} y H-14.

El análisis de la información anterior y la comparación con los datos reportados para: Ejap-2 (**S-5**)⁹⁹⁻¹⁰², nos permitió establecer la estructura para el sesquiterpene **S-3**, como: **6 β -acetoxi-9 β -benzoiloxi-1 α ,15-dihydroxidihidro- β -agarofurano**.

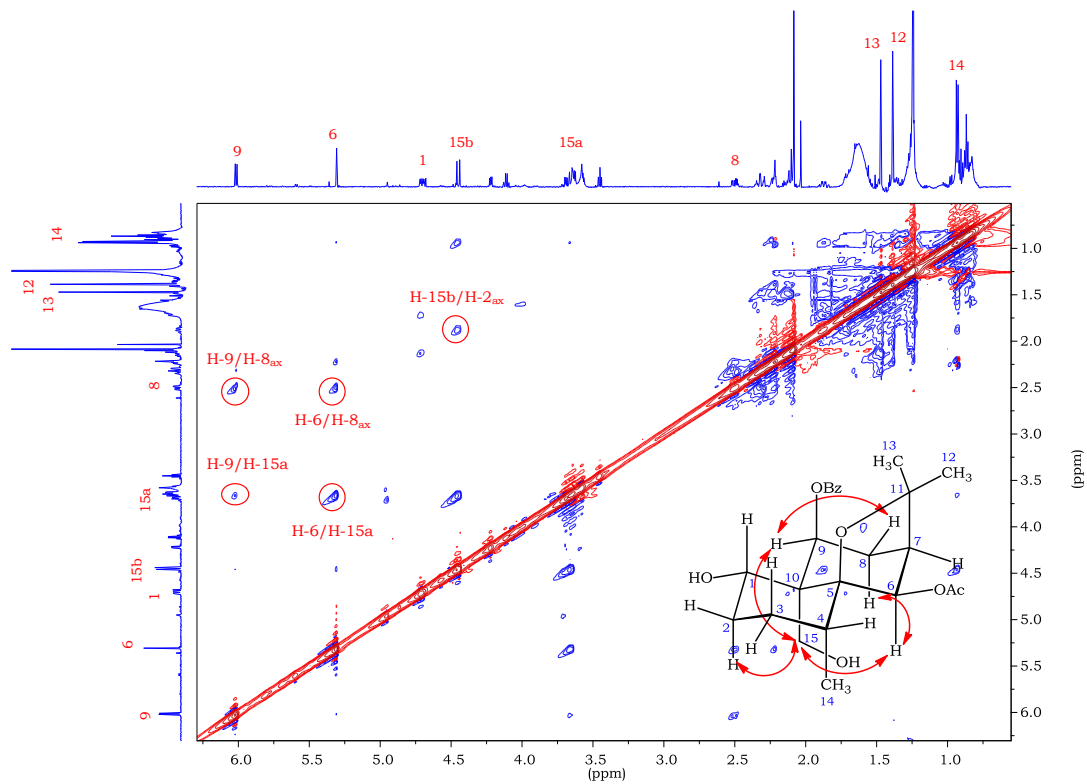


Figura 87. Correlaciones ROE observadas en el experimento ROESY (¹H-¹H) del sesquiterpene **S-3**

Tabla 3: Datos RMN-¹H (600 MHz) y ¹³C (125 MHz) para **S-3** en CDCl₃ [δ (ppm)]

No	δ_H	δ_C
1	4.71 (dd, $J = 4.3, 12.2$ Hz)	72.7 (d)
2 _{ec} (*)	1.72	26.13 (t)
2 _{ax} (*)	1.88	
3(*)	1.26	27.0 (t)
3(*)	2.14	
4	2.23 (m)	33.7 (d)
5		89.7 (s)
6	5.31 (s)	79.1 (d)
7	2.23 (m)	48.6 (d)
8 _{ec}	2.31 (dd, $J = 3.5, 16.5$ Hz)	32.9 (t)
8 _{ax}	2.50 (ddd, $J = 3.5, 7.5, 16.5$ Hz)	
9	6.02 (d, $J = 7.3$ Hz)	68.0 (d)
10		55.9 (s)
11		82.3 (s)
12	1.39 (s)	30.4 (c)
13	1.47 (s)	26.11 (c)
14	0.93 (d, $J = 7.4$ Hz)	16.5 (c)
15 _a	3.67 (d, $J = 11.7$ Hz)	63.0 (t)
15 _b	4.45 (d, $J = 11.7$ Hz)	
OAc-6	2.08 (s)	21.3 (c), 170.0 (s)

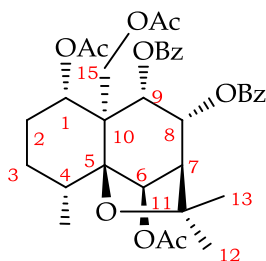
(*) Señales solapadas basadas en experimentos COSY, HSQC, ROESY

Parte Experimental

Sesquiterpenos Nuevos



SESQUITERPENO S-1

**Nombre:**

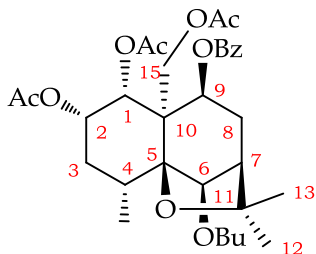
1 α ,6 β ,15-triacetoxi-8 α ,9 α -dibenzoiloxidihidro- β -agarofurano.

Descripción:

Sólido amorfo (5.5 mg)

= - 0.1832° (c 0.15, CHCl₃); UV (EtOH) $\lambda_{\text{máx}}$ (log ϵ) 228 (3.25) nm; IR (película) : 2928, 1734, 1258, 1100, 717, 559 cm⁻¹; **RMN ¹H (600 MHz, CDCl₃)** δ 0.99 (3H, d, J = 7.2 Hz, Me-14) 1.32* (1H, H-2_{ec}), 1.47 (3H, s, Me-12), 1.50 (3H, s, OAc-1), 1.64 (3H, s, Me-13), 1.75* (1H, H-2_{ax}), 2.00 (3H, s, OAc-15), 2.14 (3H, s, OAc-6), 2.27* (1H, H-3_{ax}), 2.30* (1H, H-4), 2.64 (1H, d, J = 3.0 Hz, H-7), 4.70 (1H, d, J = 13.1 Hz, H-15_a), 4.79 (1H, d, J = 13.1 Hz, H-15_b), 5.45 (1H, dd, J = 4.5, 11.7 Hz, H-1), 5.77 (1H, m, H-8), 5.79 (1H, m, H-9), 6.81 (1H, s, H-6), 2 x OBz [7.37 (t, J = 7.6 Hz, 2H), 7.41 (t, J = 7.6 Hz, 2H), 7.53 (m, 2H), 7.93 (d, J = 7.7 Hz, 2H), 7.98 (d, J = 7.7 Hz, 2H)]; **RMN ¹³C (151 MHz, CDCl₃)** δ 15.5 (c, C-14), 21.3 (c, OAc-1), 21.8 (c, OAc-6), 21.9 (c, OAc-15), 23.5 (t, C-2), 25.1 (c, C-12), 26.8 (t, C-3), 30.9 (c, C-13), 33.8 (d, C-4), 51.1 (s, C-10), 53.8 (d, C-7), 61.5 (t, C-15), 71.7 (d, C-8), 73.4 (d, C-9), 75.3 (d, C-6), 79.9 (d, C-1), 81.5 (s, C-11), 91.1 (t, C-5), 2 x OBz [128.8 (2 x d), 129.0 (2 x d), 129.9 (s), 130.1 (s), 130.3 (2 x d), 130.7 (2 x d), 133.6 (d), 133.8 (d)], 165.3, (s, OBz-9), 166.7 (s, OBz-8), 170.3 (s, OAc-6), 170.5 (s, OAc-1), 171.5 (s, OAc-15); (*) Señales solapadas basadas en experimentos COSY, HSQC, ROESY; **EMIE⁺ m/z (%)**: 636 [M⁺] (4), 593 [M-Ac]⁺ (1), 514 [M-C₆H₅CO₂]⁺ (3), 472 (8), 105 [C₆H₅CO]⁺ (100), 77 [C₆H₅]⁺ (25); **EMAR m/z** 636.2592 (calculado para C₃₅H₄₀O₁₁).

SESQUITERPENO S-2

**Nombre:**

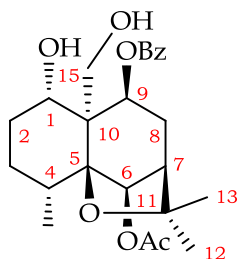
1 α ,2 α ,15-triacetoxi-9 β -benzoiloxi-6 β -butiroxi-dihidro- β -agarofurano.

Descripción:

Sólido amorfo (27.2 mg)

= + 0.6918° (c 0.43, CHCl₃); UV (EtOH) λ_{\max} (log ϵ) 230 (2.84) nm; IR (película) : 2933, 1750, 1246, 1097, 718 cm⁻¹; **RMN ¹H (600 MHz, CDCl₃) δ** 0.97 (3H, t, J = 7.4 Hz, Me-4'), 1.17 (3H, d, J = 7.7 Hz, Me-14), 1.42 (3H, s, Me-12), 1.45 (3H, s, Me-13), 1.54 (3H, s, OAc-1), 1.70 (2H, m, H-3'), 1.80 (1H, da, J = 15.0 Hz, H-3_{ec}), 2.08 (3H, s, OAc-2), 2.19* (1H, H-8_{ec}), 2.22* (1H, H-7), 2.25 (3H, s, OAc-15), 2.33 (2H, td, J = 3.7, 7.5 Hz, H-2'), 2.38 (1H, dt, J = 5.3, 10.5 Hz, H-4), 2.45 (1H, ddd, J = 3.6, 6.4, 15.0 Hz, H-3_{ax}), 2.52 (1H, ddd, J = 4.7, 7.5, 17.4 Hz, H-8_{ax}), 4.36 (1H, d, J = 12.8 Hz, H-15_a), 5.04 (1H, d, J = 12.8 Hz, H-15_b), 5.41 (1H, d, J = 7.3 Hz, H-9), 5.58 (1H, q, J = 3.2 Hz, H-2), 5.71 (1H, d, J = 3.5 Hz, H-1), 6.00 (1H, s, H-6), OBz [7.44 (2H, t, J = 7.8 Hz), 7.57 (1H, t, J = 7.4 Hz), 8.04 (2H, d, J = 7.7 Hz)]; **RMN ¹³C (151 MHz, CDCl₃) δ** 13.9 (c, C-4'), 18.0 (c, C-14), 18.3 (t, C-3'), 20.5 (c, OAc-1), 21.45 (c, OAc-15), 21.46 (c, OAc-2), 26.1 (c, C-13), 30.5 (c, C-12), 30.9 (t, C-3), 33.3 (d, C-4), 35.0 (t, C-8), 36.9 (t, C-2'), 49.0 (d, C-7), 53.5 (s, C-10), 65.6 (t, C-15), 69.6 (d, C-9), 69.7 (d, C-2), 71.6 (d, C-1), 77.9 (d, C-6), 82.8 (s, C-11), 89.4 (s, C-5), OBz-9 [128.5 (2 x d), 129.2 (s), 130.2 (2 x d), 133.6 (d)], 165.5 (s, OBz-9), 169.5 (s, OAc-1), 170.1 (s, OAc-2), 170.8 (s, OAc-15), 172.8 (s, OBut-6); (*) Señales solapadas basadas en experimentos COSY, HSQC, ROESY; **EMIE⁺ m/z (%)**: 603 [M⁺] (2), 588 [M-Me]⁺ (7), 465 [M-Me-C₆H₅CO₂H]⁺ (1), 532 [M-CH₃(CH₂)₂CO]⁺ (100), 105 [C₆H₅CO]⁺ (84), 77 [C₆H₅]⁺ (12); **EMAR m/z** 603.2780 (calculado para C₃₂H₄₃O₁₁).

SESQUITERPENO S-3

**Nombre:**

6β-acetoxi-9α-benzoiloxi-1α,15-dihydroxidihidro-β-agarofurano.

Descripción:

Sólido amorfo (0.7 mg)

= + 0.3852° (c 0.19, CHCl₃); UV (EtOH) λ_{max} (log ε) 227 (2.94) nm; **RMN ¹H** (600 MHz, CDCl₃) δ 0.93 (3H, d, *J* = 7.4 Hz, Me-14), 1.26* (1H, H-3_{ec}), 1.39 (3H, s, Me-12), 1.47 (3H, s, Me-13), 1.72* (1H, H-2_{ec}), 1.88* (1H, H-2_{ax}), 2.08 (3H, s, OAc-6), 2.14* (1H, H-3_{ax}), 2.23* (2H, m, H-4, H-7), 2.31 (1H, dd, *J* = 3.5, 16.5 Hz, H-8_{ec}), 2.50 (1H, ddd, *J* = 3.5, 7.5, 16.5 Hz, H-8_{ax}), 3.67 (1H, d, *J* = 11.7 Hz, H-15_a), 4.45 (1H, d, *J* = 11.7 Hz, H-15_b), 4.71 (1H, dd, *J* = 4.3, 12.2 Hz, H-1), 5.31 (1H, s, H-6), 6.02 (1H, d, *J* = 7.3 Hz, H-9), OBz [7.46 (2H, t, *J* = 7.8 Hz), 7.56 (1H, m), 8.10 (2H, d, *J* = 8.3 Hz)]; **RMN ¹³C** (125 MHz, CDCl₃) δ 16.5 (c, C-14), 21.3 (c, OAc-6), 26.11 (c, C-13), 26.13 (t, C-2), 27.0 (t, C-3), 30.4 (c, C-12), 32.9 (t, C-8), 33.7 (d, C-4), 48.6 (d, C-7), 55.9 (s, C-10), 63.0 (t, C-15), 68.0 (d, C-9), 72.7 (d, C-1), 79.1 (d, C-6), 82.3 (s, C-11), 89.7 (s, C-5), OBz-9 [128.6 (2 x d), 129.2 (2 x d), 130.4 (1 x d), 133.1 (s)], 165.6 (s, OBz-9), 170.0 (s, OAc-6); (*) Señales solapadas basadas en experimentos COSY, HSQC, ROESY

4.2 Sesquiterpenos Conocidos



SESQUITERPENOS S-4
(1 α ,6 β -diacetoxi-9 β -benzoiloxidihidro- β -agarofurano)

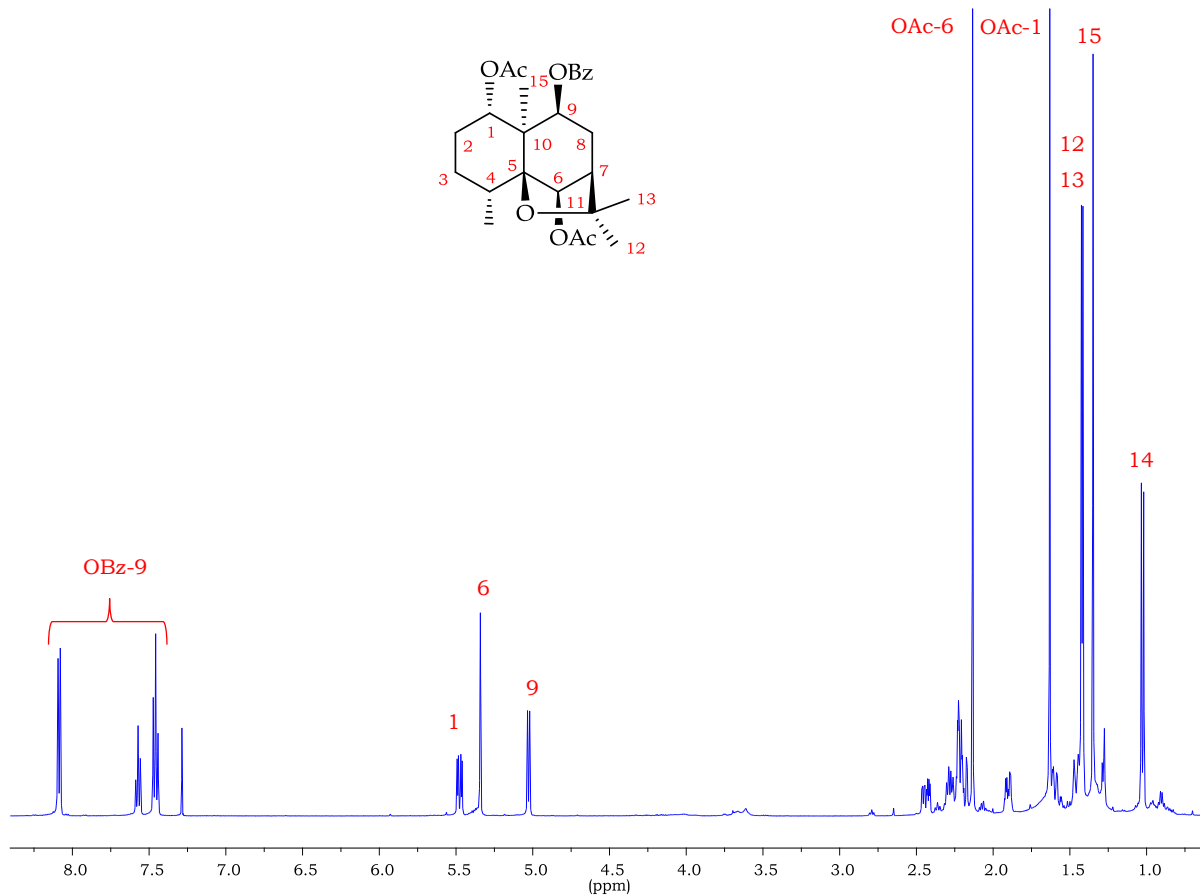


Figura 88. Espectro de RMN-¹H (500 MHz, CDCl₃) del sesquiterpeno **S-4**

RMN-¹H (500 MHz, CDCl₃) δ 1.03 (3H, d, J = 7.4 Hz, Me-14), 1.35 (3H, s, Me-15), 1.41 (3H, s, Me-12), 1.42 (3H, s, Me-13), 1.60 (1H, dd, J = 13.3, 3.0 Hz, H-2), 1.63 (3H, s, OAc-1), 1.90 (1H, m, H-2), 2.13 (3H, s, OAc-6), 2.16 - 2.31 (4H, m, H-3, H-4, H-7, H-8), 2.44 (1H, ddd, J = 16.2, 7.1, 3.1 Hz, H-8), 5.03 (1H, d, J = 7.0 Hz, H-9), 5.34 (1H, s, H-6), 5.48 (1H, dd, J = 12.0, 4.2 Hz, H-1), OBz-9 [7.46 (2H, t, J = 7.7 Hz), 7.57 (1H, t, J = 7.4 Hz), 8.09 (2H, d, J = 7.3 Hz)].

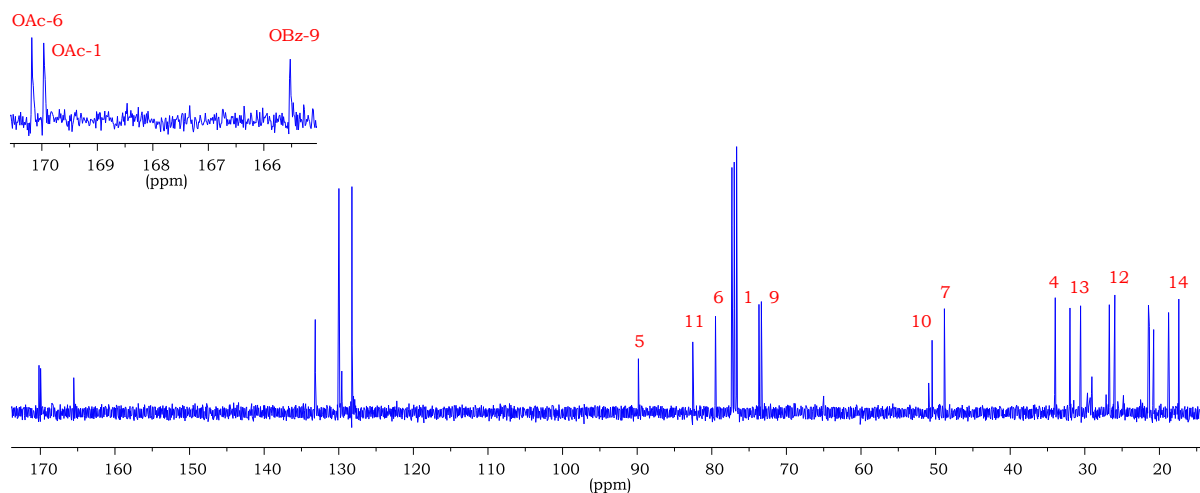


Figura 89. Espectro de RMN-¹³C (100 MHz, CDCl₃) del sesquiterpene **S-4**

RMN-¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ 17.4 (c, C-14), 18.8 (c, C-15), 20.8 (c, OAc), 21.4 (c, OAc), 21.5 (t, C-2), 26.0 (c, C-12), 26.7 (t, C-3), 30.6 (c, C-13), 32.0 (t, C-8), 34.0 (d, C-4), 48.8 (d, C-7), 50.5 (s, C-10), 73.4 (d, C-9), 73.7 (d, C-1), 79.5 (d, C-6), 82.6 (s, C-11), 89.8 (s, C-5), OBz-9 [128.2 (2 x d), 129.6 (s), 130.0 (2 x d), 133.2 (d)], 165.5 (s, OBz-9), 170.0 (s, OAc-1), 170.2 (s, OAc-6).

SESQUITERPENO S-5 (Ejap-2)

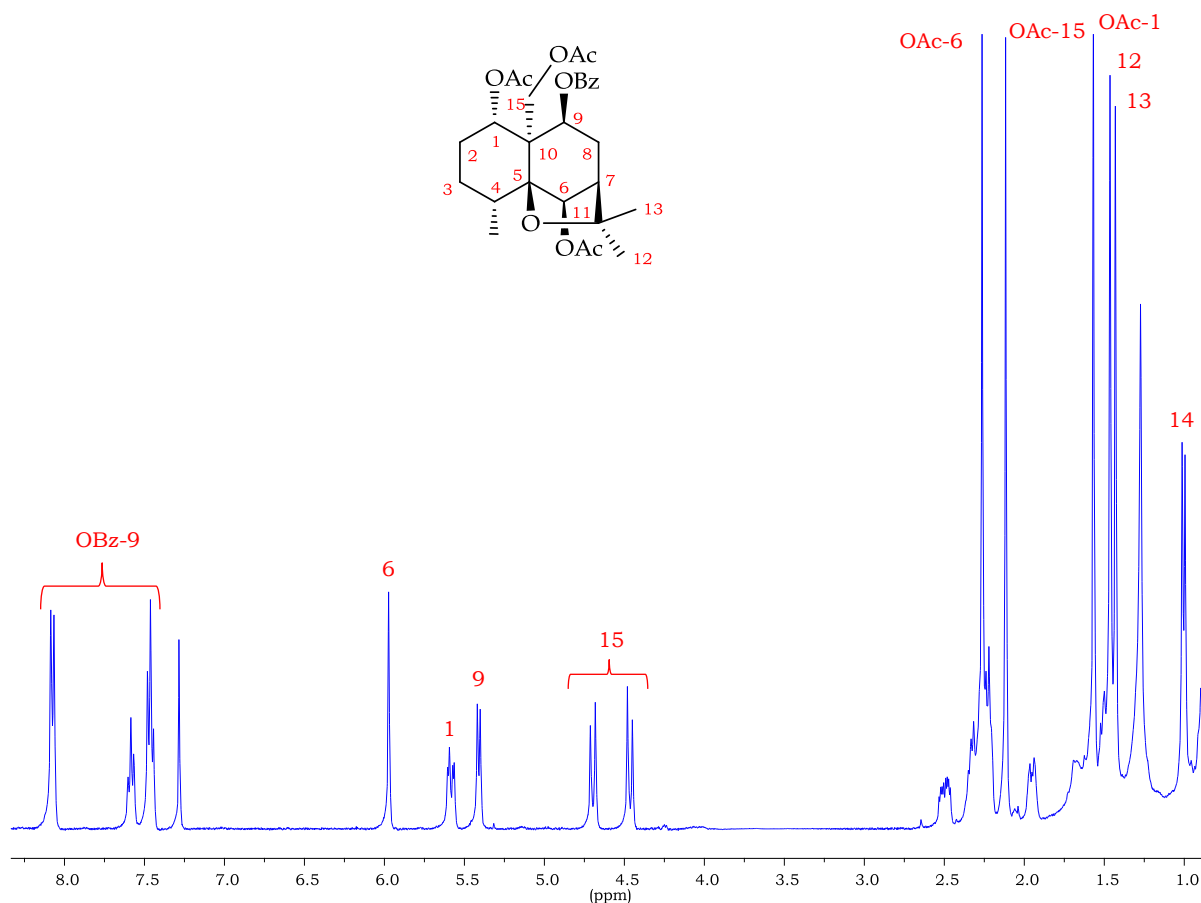


Figura 90. Espectro de RMN-¹H (400 MHz, CDCl₃) del sesquiterpene S-5

RMN-¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 0.98 (3H, d, *J* = 7.3 Hz, Me-14), 1.41 (3H, s, Me-13), 1.44 (3H, s, Me-12), 1.55 (3H, s, OAc-1), 1.93 (1H, m, H-2), 2.09 (3H, s, OAc-15), 2.24 (3H, s, OAc-6), 2.47 (1H, ddd, *J* = 16.3, 7.3, 4.0 Hz, H-8), 4.44 (1H, d, *J* = 12.3 Hz, H-15), 4.67 (1H, d, *J* = 12.3 Hz, H-15), 5.39 (1H, d, *J* = 7.3 Hz, H-9), 5.56 (1H, dd, *J* = 12.2, 4.0 Hz, H-1), 5.95 (1H, s, H-6), OBz-9 [7.44 (2H, t, *J* = 7.6 Hz), 7.56 (1H, t, *J* = 7.3 Hz), 8.05 (2H, d, *J* = 8.0 Hz)].

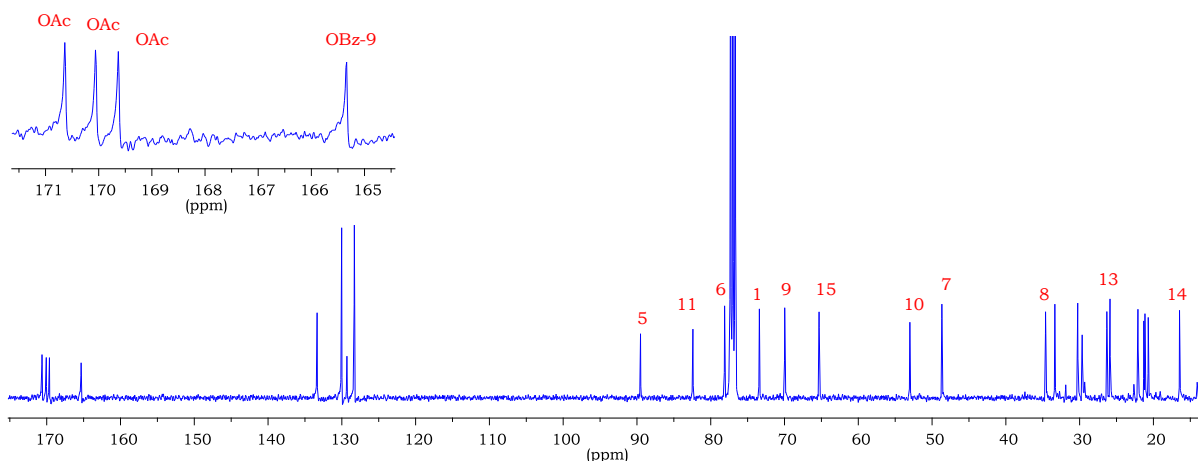


Figura 91. Espectro de RMN- ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) del sesquiterpeno **S-5**

RMN- ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ 16.5 (c, C-14), 20.7 (c, OAc), 21.1 (c, OAc), 21.3 (c, OAc), 22.1 (t, C-2), 25.9 (c, C-13), 26.3 (t, C-3), 30.3 (c, C-12), 33.4 (c, C-4), 34.6 (t, C-8), 48.9 (d, C-7), 53.0 (s, C-10), 65.3 (t, C-15), 70.0 (d, C-9), 73.4 (d, C-1), 78.1 (d, C-6), 82.4 (s, C-11), 89.5 (s, C-5), OBz-9 [128.3 (2 x d), 129.9 (s), 130.0 (2 x d), 133.4 (d)], 165.3 (s, OBz-9), 169.6 (s, OAc), 170.0 (s, OAc), 170.6 (s, OAc).

SESQUITERPENO S-6 (Triptogelin C-1)

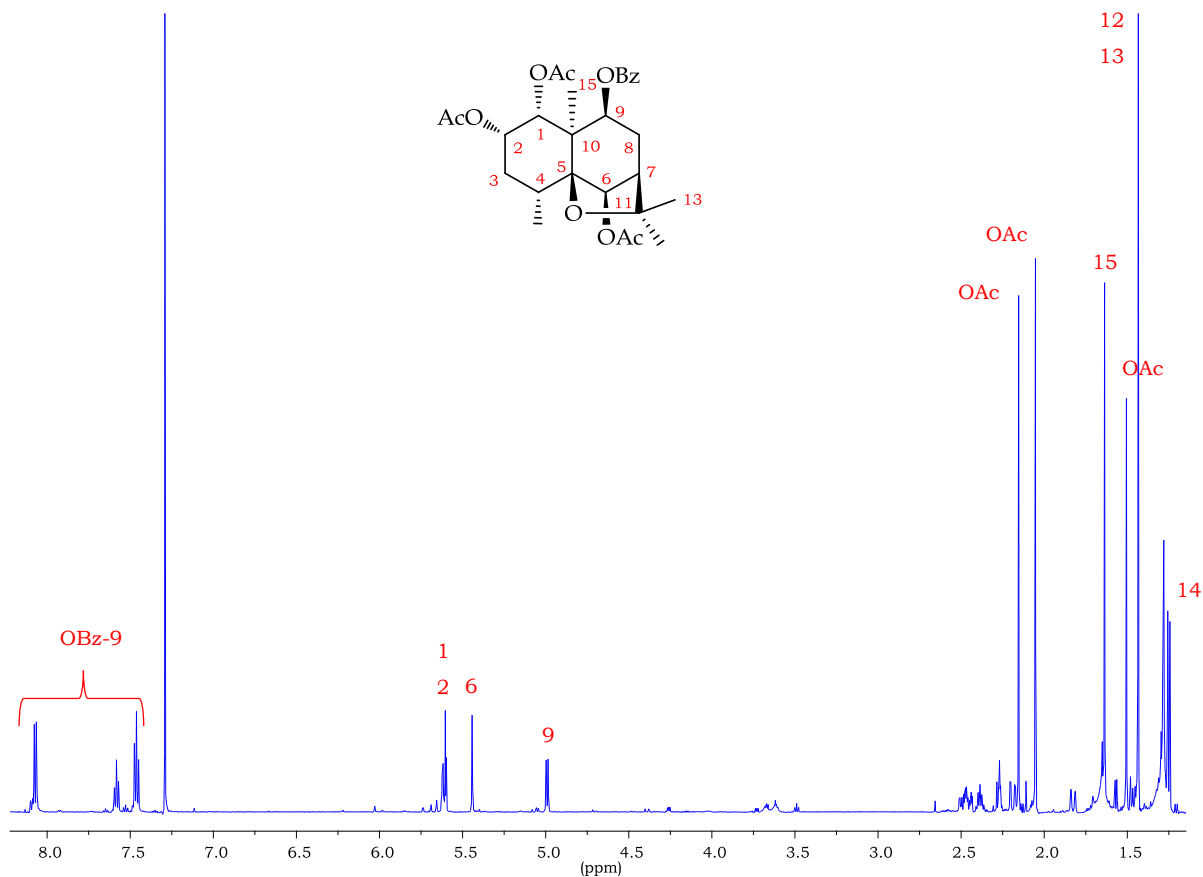


Figura 92. Espectro de RMN-¹H (600 MHz, CDCl₃) del sesquiterpeno S-6

RMN-¹H (600 MHz, CDCl₃) δ 1.22 (3H, d, *J* = 7.7 Hz, Me-14), 1.43 (6H, s, Me-12, Me-13), 1.51 (3H, s, OAc), 1.61 (3H, s, Me-15), 1.80 (1H, dd, *J* = 15.1, 1.6 Hz, H-3), 2.02 (3H, s, OAc), 2.12 (3H, s, OAc), 2.16 (1H, dd, *J* = 16.6, 3.1 Hz, H-8), 2.33 - 2.38 (1H, m, H-4), 2.39 - 2.43 (1H, m, H-3), 2.46 (1H, ddd, *J* = 16.3, 6.9, 3.3 Hz, H-8), 4.96 (1H, d, *J* = 6.9 Hz, H-9), 5.41 (1H, s, H-6), 5.57 (1H, d, *J* = 3.6 Hz, H-1), 5.59 (1H, dd, *J* = 6.6, 3.3 Hz, H-2), OBz-9 [7.43 (2H, t, *J* = 7.8 Hz), 7.55 (1H, t, *J* = 7.4 Hz), 8.02 - 8.06 (2H, m)].

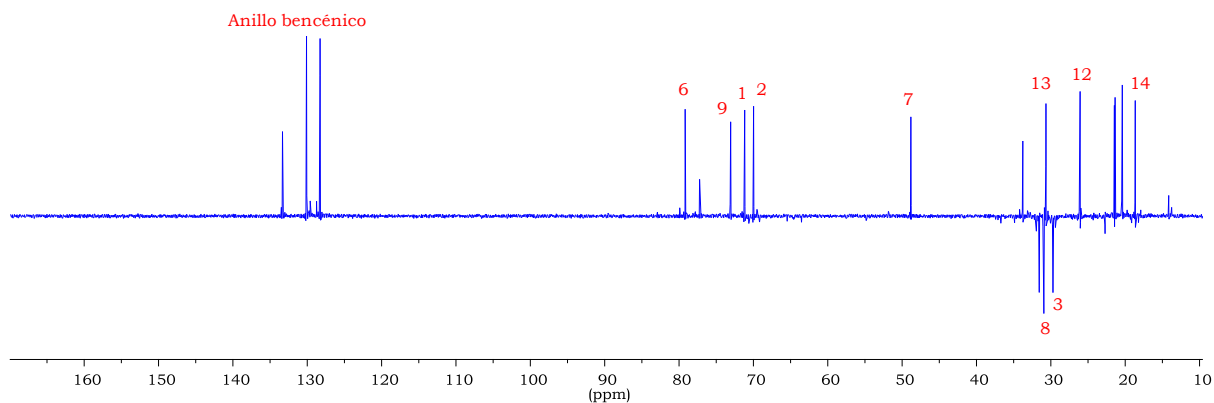


Figura 93. Experimento DEPT-135 (150 MHz, CDCl_3) del sesquiterpeno **S-6**

RMN- ^{13}C (150 MHz, CDCl_3) δ 18.7 (c, C-14), 20.39 (c, OAc), 20.43 (c, C-15), 21.4 (c, OAc), 21.5 (c, OAc), 26.1 (c, C-12), 30.7 (c, C-13), 31.0 (t, C-3), 31.6 (t, C-8), 33.8 (d, C-4), 48.8 (d, C-7), 50.0 (s, C-10), 70.0 (d, C-2), 71.2 (d, C-1), 73.1 (d, C-9), 79.2 (d, C-6), 82.9 (s, C-11), 89.6 (s, C-5), OBz-9 [(128.3 (2 x d), 130.1 (2 x d), 133.3 (d)], 165.5 (s, OBz-9), 169.5 (s, OAc), 169.9 (s, OAc), 170.0 (s, OAc).

SESQUITERPENO S-7 (Orbiculin A)

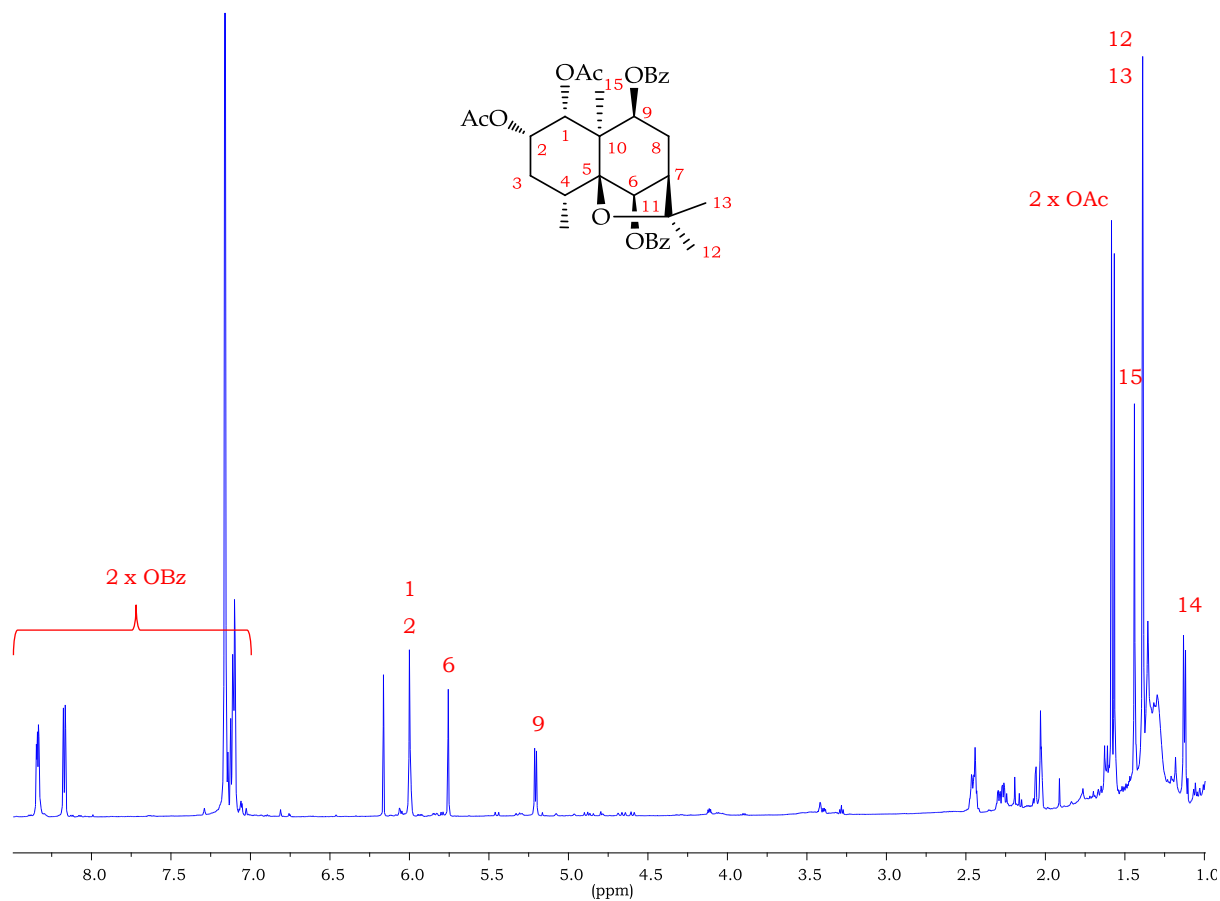


Figura 94. Espectro de RMN-¹H (600 MHz, C₆D₆) del sesquiterpeno **S-7**

RMN-¹H (600 MHz, C₆D₆) δ 1.13 (3H, d, $J = 7.6$ Hz, Me-14), 1.39 (6H, s, Me-12, Me-13), 1.44 (3H, s, Me-15), 1.57 (3H, s, OAc), 1.58 (3H, s, OAc), 2.28 (2H, ddd, $J = 15.9, 7.0, 2.7$ Hz, H-8), 2.45 (2H, dt, $J = 10.7, 4.4$ Hz, H-3, H-7), 5.21 (1H, d, $J = 6.9$ Hz, H-9), 5.76 (1H, s, H-6), 6.00 (2H, m, H-1, H-2), 2 x OBz [7.08 - 7.15 (6H, m), 8.15 - 8.19 (2H, m), 8.34 (2H, dd, $J = 6.6, 3.0$ Hz)].

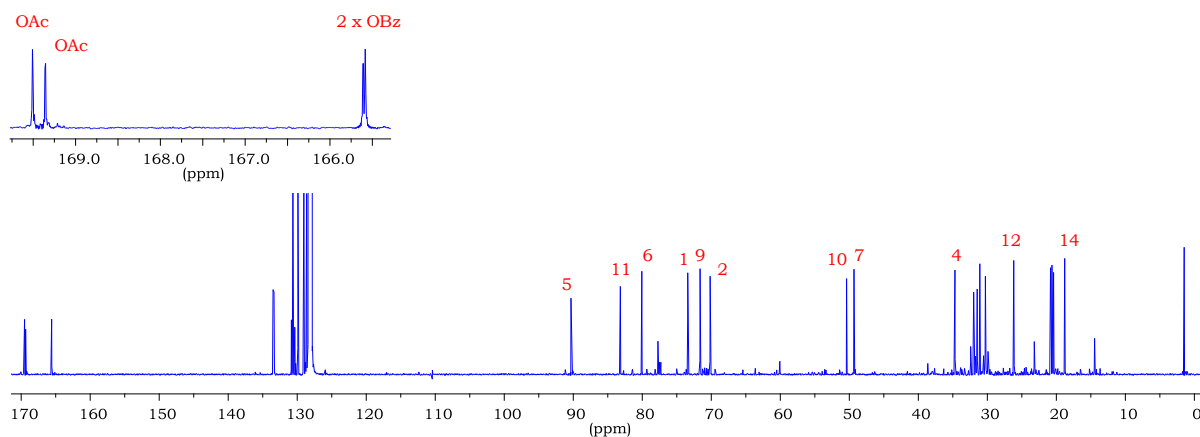


Figura 95. Espectro de RMN- ^{13}C (150 MHz, C_6D_6) del sesquiterpene **S-7**

RMN- ^{13}C (150 MHz, C_6D_6) δ 18.4 (c, C-14), 20.0 (c, OAc), 20.2 (c, OAc), 20.4 (c, C-15), 25.8 (c, C-12), 30.7 (c, C-13), 31.0 (t, C-3), 31.6 (t, C-8), 34.3 (d, C-4), 48.9 (d, C-7), 50.0 (s, C-10), 69.8 (d, C-2), 71.2 (d, C-1), 73.0 (d, C-9), 79.7 (d, C-6), 82.8 (s, C-11), 89.9 (s, C-5), 2 x OBz [128.2 (2 x d), 128.6 (2 x d), 129.5 (2 x d), 129.9 (d), 130.2 (2 x d), 130.4 (d), 133.1 (2 x d)], 165.16 (s, OBz), 165.19 (s, OBz), 168.9 (s, OAc), 169.0 (s, OAc).

SESQUITERPENO S-8 (15-acetoxiorbiculin A)

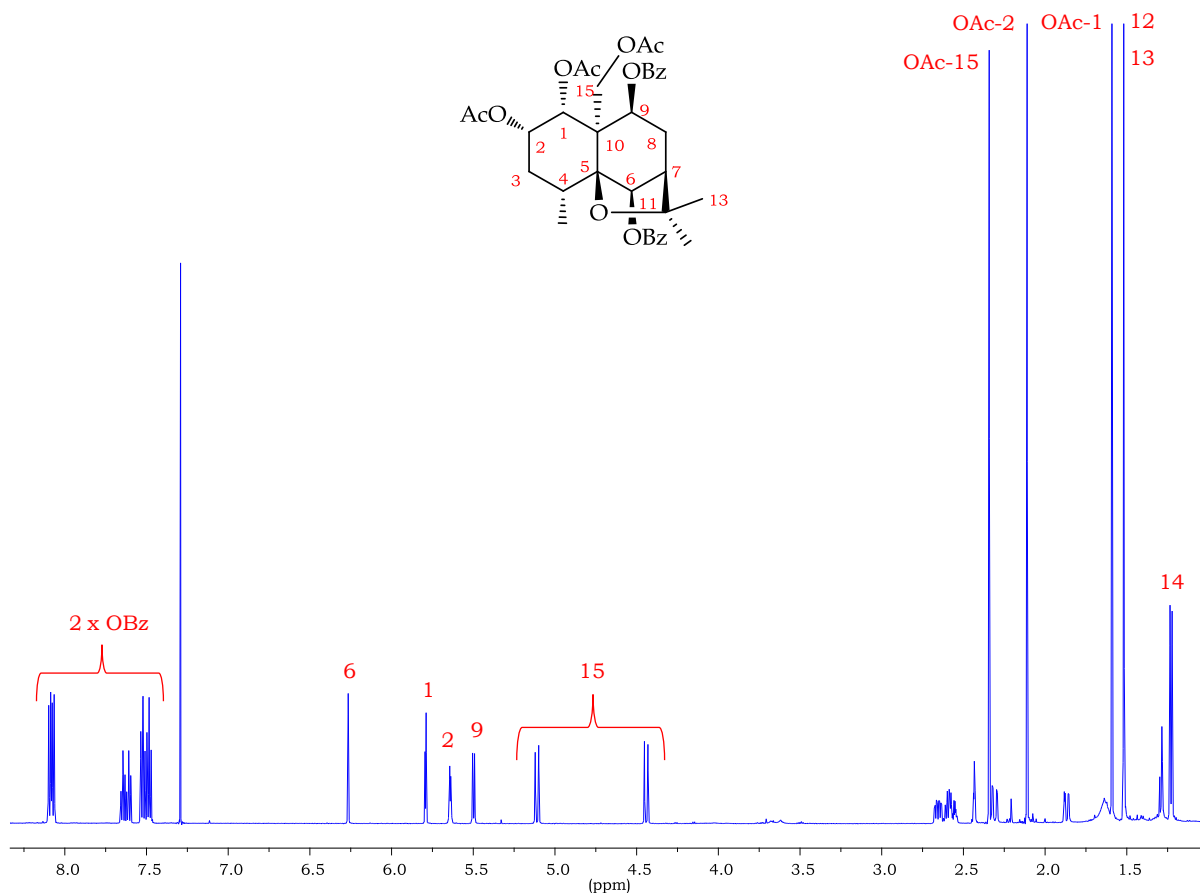


Figura 96. Espectro de RMN-¹H (600 MHz, CDCl₃) del sesquiterpeno **S-8**

RMN-¹H (600 MHz, CDCl₃) δ 1.23 (3H, d, $J = 7.6$ Hz, Me-14), 1.52 (6H, s, Me-12, Me-13), 1.59 (3H, s, OAc-1), 1.87 (1H, dd, $J = 14.1, 2.8$ Hz, H-3), 2.11 (3H, s, OAc-2), 2.31 (1H, dd, $J = 16.1, 3.0$ Hz, H-8), 2.34 (3H, s, OAc-15), 2.43 (1H, t, $J = 2.9$ Hz, H-7), 2.52 - 2.69 (3H, m, H-3, H-4, H-8), 4.44 (1H, d, $J = 12.9$ Hz, H-15), 5.11 (1H, d, $J = 12.8$ Hz, H-15), 5.50 (1H, d, $J = 7.3$ Hz, H-9), 5.64 (1H, q, $J = 3.2$ Hz, H-2), 5.79 (1H, d, $J = 3.5$ Hz, H-1), 6.27 (1H, s, H-6), 2 x OBz [7.48 (2H, dd, $J = 8.1, 7.6$ Hz), 7.52 (2H, dd, $J = 8.0, 7.6$ Hz), 7.61 (1H, m), 7.64 (1H, m), 8.07 (2H, dd, $J = 8.4, 1.3$ Hz), 8.09 (2H, dd, $J = 8.4, 1.3$ Hz)].

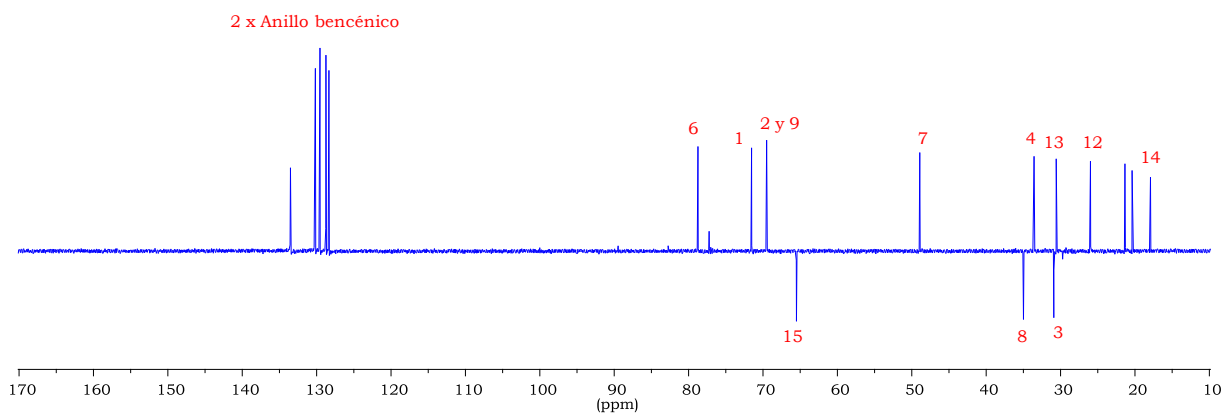


Figura 97. Experimento DEPT-135 (150 MHz, CDCl_3) del sesquiterpene **S-8**

RMN- ^{13}C (150 MHz, CDCl_3) δ 17.9 (c, C-14), 20.4 (c, OAc), 21.35 (c, OAc), 21.39 (c, OAc), 26.0 (c, C-12), 30.6 (c, C-13), 30.9 (t, C-3), 33.6 (d, C-4), 35.0 (t, C-8), 48.9 (d, C-7), 53.4 (s, C-10), 65.5 (t, C-15), 69.49 (d, C-9), 69.51 (d, C-2), 71.5 (d, C-1), 78.7 (d, C-6), 82.8 (s, C-11), 89.5 (s, C-5), 2 x OBz [128.4 (2 x d), 128.8 (2 x d), 129.6 (2 x d), 130.2 (d), 133.5 (d), 133.5 (d)], 165.3 (s, OBz), 165.4 (s, OBz), 169.4 (s, OAc), 170.0 (s, OAc), 170.9 (s, OAc).

SESQUITERPENO S-9 (Triptogelin B-1)

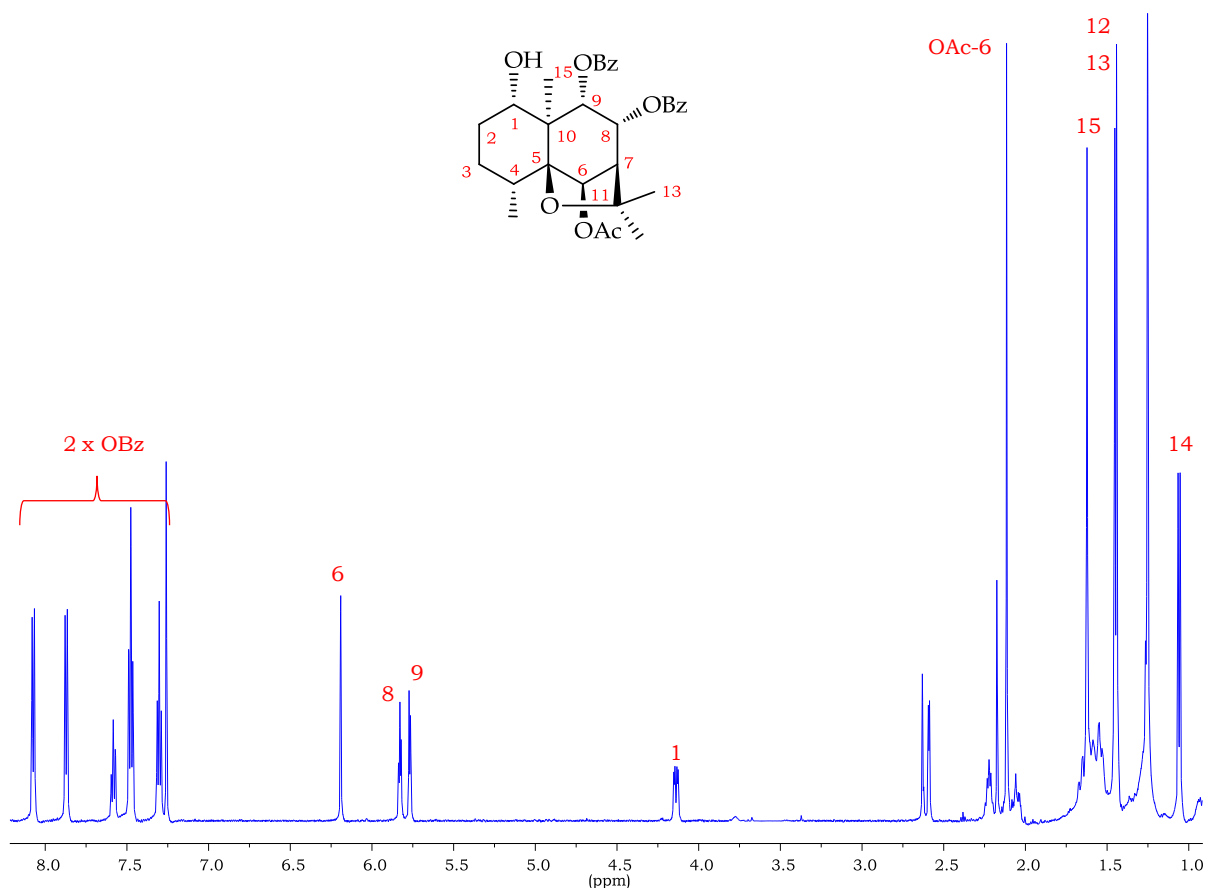


Figura 98. Espectro de RMN-¹H (600 MHz, CDCl₃) del sesquiterpeno **S-9**

RMN-¹H (600 MHz, CDCl₃) δ 1.06 (3H, d, *J* = 7.5 Hz, Me-14), 1.44 (3H, s, Me-13), 1.45 (3H, s, Me-12), 1.62 (3H, s, Me-15), 2.11 (3H, s, OAc-6), 2.24 (1H, m, H-4), 2.59 (1H, d, *J* = 4.2 Hz, H-7), 4.14 (1H, dd, *J* = 11.7, 4.3 Hz, H-1), 5.77 (1H, d, *J* = 5.1 Hz, H-9), 5.83 (1H, t, *J* = 4.7 Hz, H-8), 6.19 (1H, s, H-6), 2 x OBz [7.30 (2H, t, *J* = 7.3 Hz), 7.48 (3H, t, *J* = 7.1 Hz), 7.58 (1H, t, *J* = 8.0 Hz), 7.87 (2H, d, *J* = 8.3 Hz), 8.07 (2H, d, *J* = 8.3 Hz)].

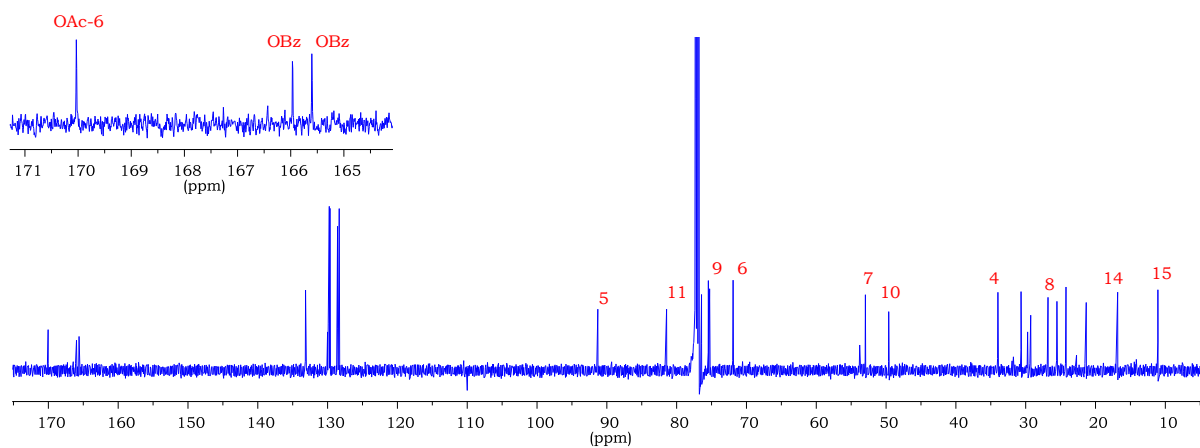


Figura 99. Espectro de RMN- ^{13}C (150 MHz, CDCl_3) del sesquiterpene **S-9**

RMN- ^{13}C (150 MHz, CDCl_3) δ 11.2 (c, C-15), 17.0 (c, C-14), 21.5 (c, OAc-6), 24.4 (c, C-12), 25.7 (t, C-3), 26.9 (t, C-2), 30.8 (c, C-13), 34.1 (d, C-4), 49.8 (s, C-10), 53.1 (d, C-7), 72.0 (d, C-6), 75.4 (d, C-8), 75.6 (d, C-9), 76.6 (d, C-1), 81.6 (s, C-11), 91.4 (s, C-5), 2 x OBz [128.5 (2 x d), 128.7 (2 x d), 129.8 (2 x d), 129.9 (2 x d), 133.2 (d), 133.3 (d)], 165.7 (s, OBz), 166.1 (s, OBz), 170.2 (s, OAc-6).

SESQUITERPENO S-10

 (6 β ,15-diacetoxi-1 α ,8 α ,9 α -tribenzoiloxidihidro- β -agarofurano)

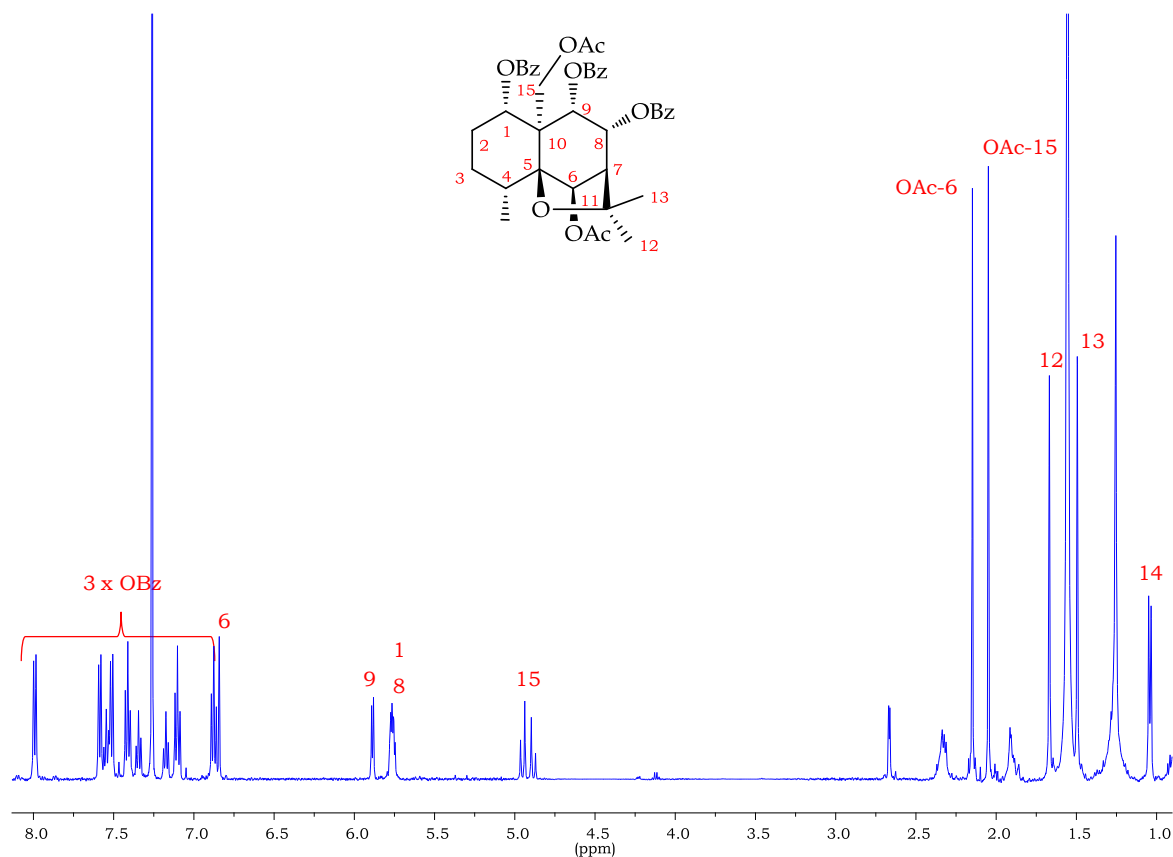


Figura 100. Espectro de RMN- ^1H (500 MHz, CDCl_3) del sesquiterpene **S-10**

RMN- ^1H (500 MHz, CDCl_3) δ 1.04 (3H, d, J = 7.5 Hz, Me-14), 1.49 (3H, s, Me-13), 1.67 (3H, s, Me-12), 1.89 (2H, m, H-2), 2.05 (3H, s, OAc-15), 2.15 (3H, s, OAc-6), 2.34 (2H, m, H-3, H-4), 2.67 (1H, d, J = 3.9 Hz, H-7), 4.88 (1H, d, J = 13.2 Hz, H-15), 4.95 (1H, d, J = 13.2 Hz, H-15), 5.74 - 5.79 (2H, m, H-1, H-8), 5.89 (1H, d, J = 5.8 Hz, H-9), 6.84 (1H, s, H-6), 3 x OBz [6.88 (2H, t, J = 7.8 Hz), 7.10 (2H, t, J = 7.8 Hz), 7.17 (1H, t, J = 7.4 Hz), 7.35 (1H, t, J = 7.4 Hz), 7.41 (2H, t, J = 7.7 Hz), 7.51 (2H, d, J = 7.2 Hz), 7.55 (1H, t, J = 7.5 Hz), 7.59 (2H, d, J = 7.2 Hz), 7.99 (2H, d, J = 7.2 Hz)].

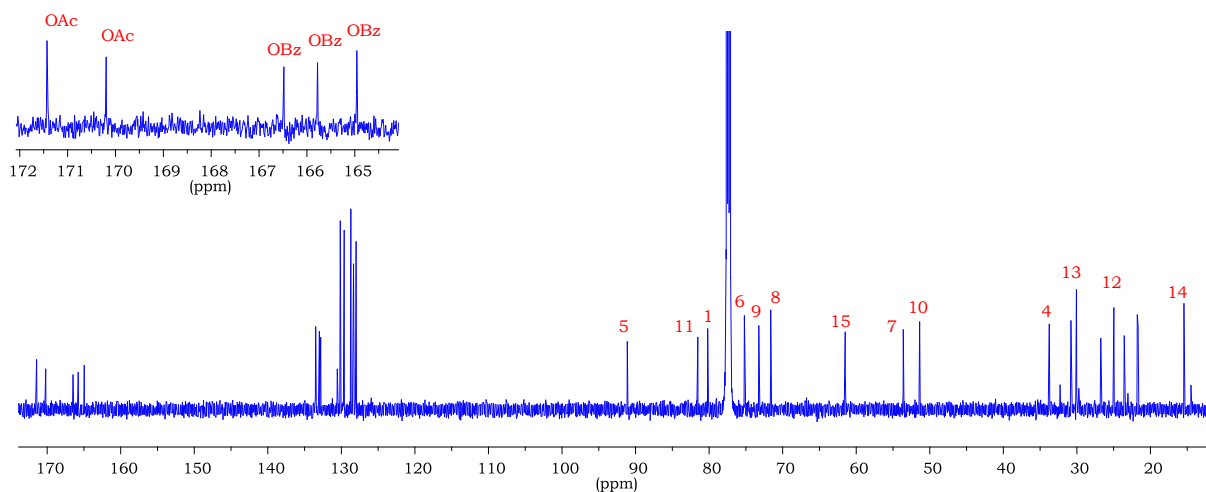


Figura 101. Espectro de RMN- ^{13}C (150 MHz, CDCl_3) del sesquiterpeno **S-10**

RMN- ^{13}C (150 MHz, CDCl_3) δ 15.4 (c, C-14), 21.7 (c, OAc), 21.8 (c, OAc), 23.6 (t, C-2), 25.0 (c, C-12), 26.8 (t, C-3), 30.8 (c, C-13), 33.8 (d, C-4), 51.4 (s, C-10), 53.6 (d, C-7), 61.5 (t, C-15), 71.6 (d, C-8), 73.2 (d, C-9), 75.2 (d, C-6), 80.2 (d, C-1), 81.5 (s, C-11), 91.1 (s, C-5), 3 x OBz [128.0 (2 x d), 128.3 (2 x d), 128.7 (2 x d), 129.6, 129.7 (2 x d), 130.2 (2 x d), 132.8 (d), 133.0 (d), 133.5 (d)], 165.0 (s, OBz), 165.8 (s, OBz), 166.5 (s, OBz), 170.2 (s, OAc), 171.4 (s, OAc).

SESQUITERPENO S-11

(1 α ,2 α ,6 β -triacetoxi-8 α ,9 α -dibenzoiloxidihidro- β -agarofurano)

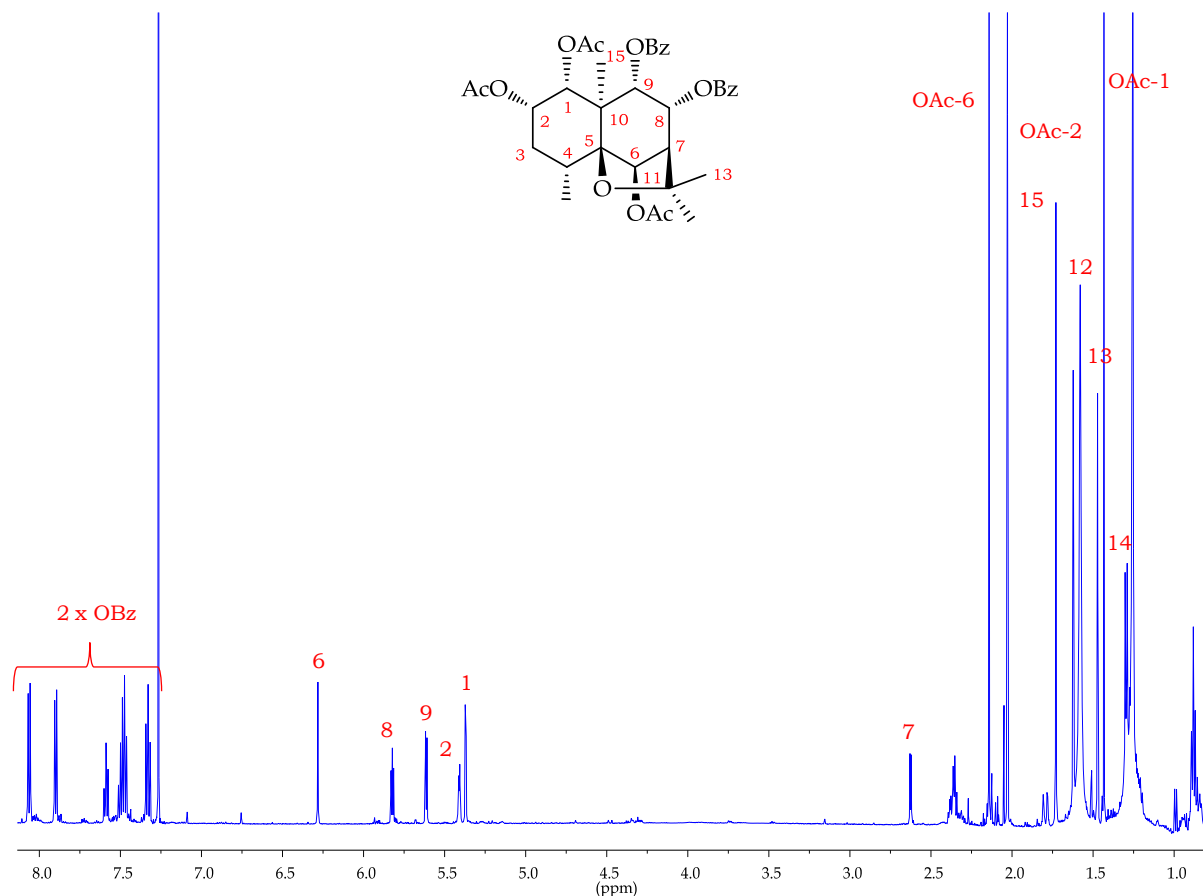


Figura 102. Espectro de RMN- ^1H (600 MHz, CDCl_3) del sesquiterpene **S-11**

RMN- ^1H (600 MHz, CDCl_3) δ 1.25 (3H, d, $J = 7.5$ Hz, Me-14), 1.43 (3H, s, OAc-1), 1.47 (3H, s, Me-13), 1.58 (3H, s, Me-12), 1.73 (3H, s, Me-15), 2.03 (3H, s, OAc-2), 2.14 (3H, s, OAc-6), 2.63 (1H, d, $J = 4.4$, H-7), 5.37 (1H, d, $J = 3.8$, H-1), 5.41 (1H, t, $J = 3.4$, H-2), 5.61 (1H, d, $J = 5.3$, H-9), 5.83 (1H, m, H-8), 6.28 (1H, s, H-6), 2 x OBz [7.31 (2H, m), 7.49 (3H, m), 7.58 (1H, m), 7.90 (2H, dd, $J = 8.3, 1.2$ Hz), 8.05 (2H, dd, $J = 8.3, 1.2$ Hz)].

SESQUITERPENO S-12

(6 β ,15-diacetoxi-1 α ,2 α ,8 α ,9 α -tetrabenzoiloxidihidro- β -agarofurano)

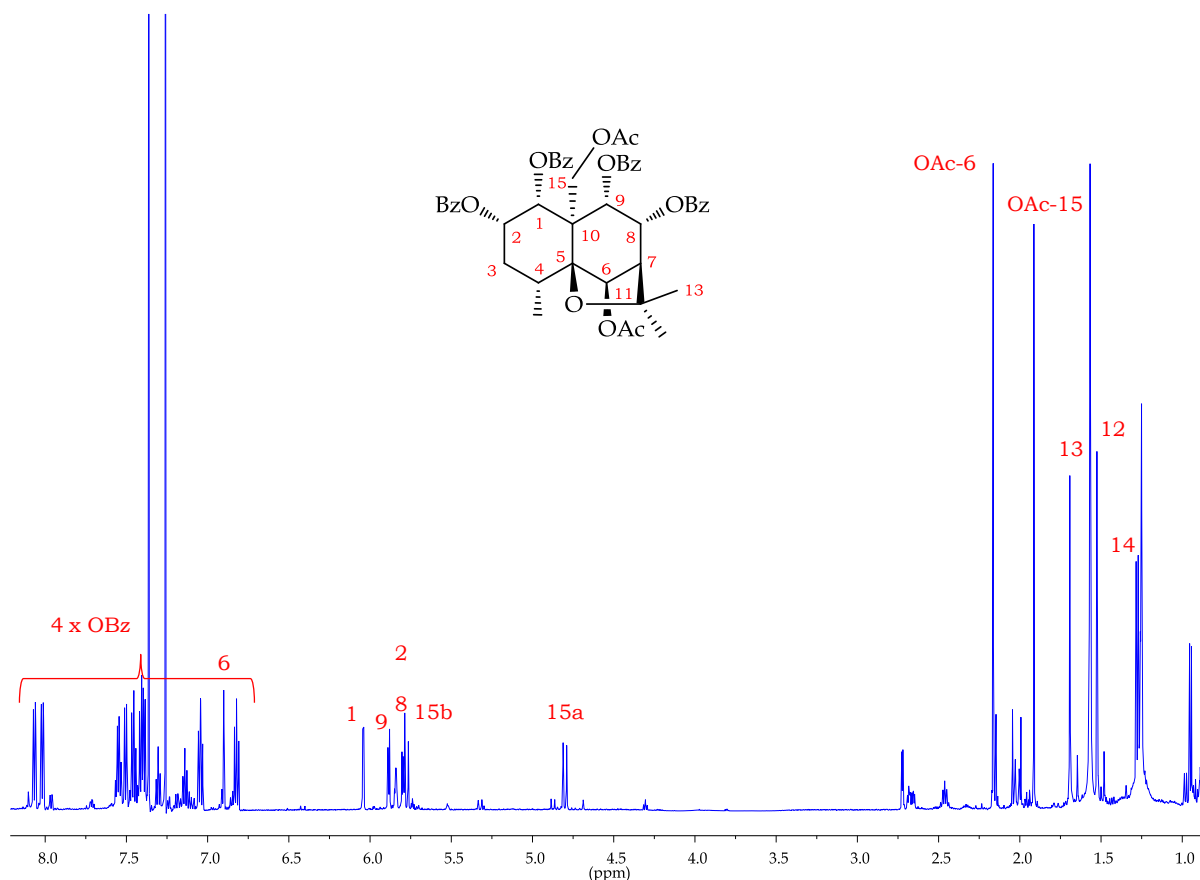


Figura 103. Espectro de RMN- ^1H (600 MHz, CDCl_3) del sesquiterpene **S-12**

RMN- ^1H (600 MHz, CDCl_3) δ 1.3 (3H, d, $J = 7.8$ Hz, Me-14), 1.5 (3H, s, Me-12), 1.7 (3H, s, Me-13), 1.9 (3H, s, OAc-15), 2.2 (3H, s, OAc-6), 2.7 (1H, d, $J = 4.0$ Hz, H-7), 4.8 (1H, d, $J = 13.1$ Hz, H-15a), 5.78 (1H, d, $J = 13.3$ Hz, H-15b), 5.80 (1H, m, H-8), 5.84 (1H, dd, $J = 6.5, 4.1$ Hz, H-2), 5.89 (1H, d, $J = 6.2$ Hz, H-9), 6.0 (1H, d, $J = 4.1$ Hz, H-1), 6.9 (1H, s, H-6), 4 x OBz [6.8 (2H, t, $J = 7.6$ Hz), 7.0 (2H, t, $J = 7.9$ Hz), 7.1 (1H, t, $J = 7.4$ Hz), 7.3 (1H, t, $J = 7.4$ Hz), 7.5 (10H, m), 8.0 (2H, dd, $J = 8.3, 1.3$ Hz), 8.1 (2H, dd, $J = 8.3, 1.2$ Hz)].

4.3 Misceláneo



COMPUESTO M-1 (Escualeno)

El estudio del patrón de fragmentación del compuesto **M-1** y la comparación con espectros de la librería, nos llevo a la conclusión que la estructura de este compuesto corresponde al: **Escualeno** (*figura 104*).

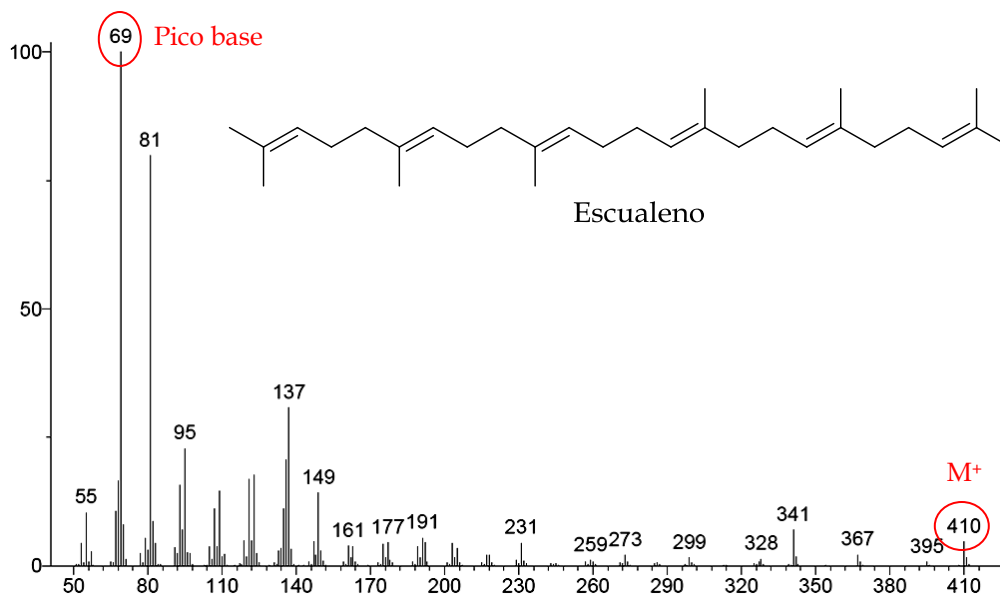


Figura 104. Espectro de masas del compuesto **M-1** (EM 70 eV)

El producto que hemos denominado **M-1** presentó una fórmula molecular $C_{30}H_{50}$, consistente con el pico de ión molecular observado a 410 m/z (*figura 104*). Este pico evidenció una pérdida significativa de 15 uma, correspondiente a un radical metilo, generando un pico a 395 m/z $[M-CH_3]^+$. El ión molecular presentó una fragmentación que produjo dos picos importantes a 341 m/z y 69 m/z, siendo este último el pico base (*figura 104*). La cadena lateral sufrió un fraccionamiento generando dos picos a 55 m/z y 137 m/z (*figura 105*).

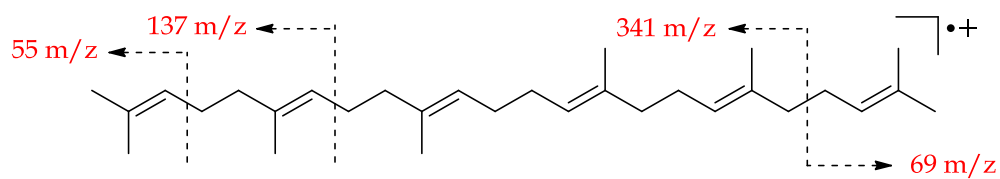


Figura 105. Formación de diferentes fragmentos del compuesto M-1 (EM 70 eV)

Los picos observados a 81 m/z y 95 m/z fueron producidos por fraccionamiento simultáneo en ambos extremos de la cadena (figura 106).

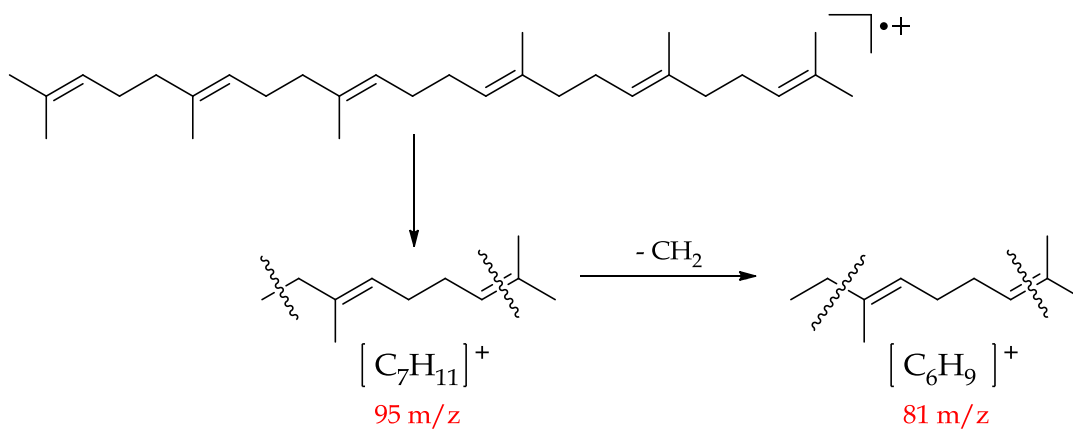


Figura 106. Formación de los picos a 95 m/z y 81 m/z para el compuesto M-1

COMPUESTO M-2 (2-hexilfurano)

La información obtenida a partir del patrón de fragmentación del compuesto **M-2** y su comparación con espectros de la librería, nos permitió concluir que la estructura de este compuesto corresponde al: **2-hexilfurano** (figura 107).

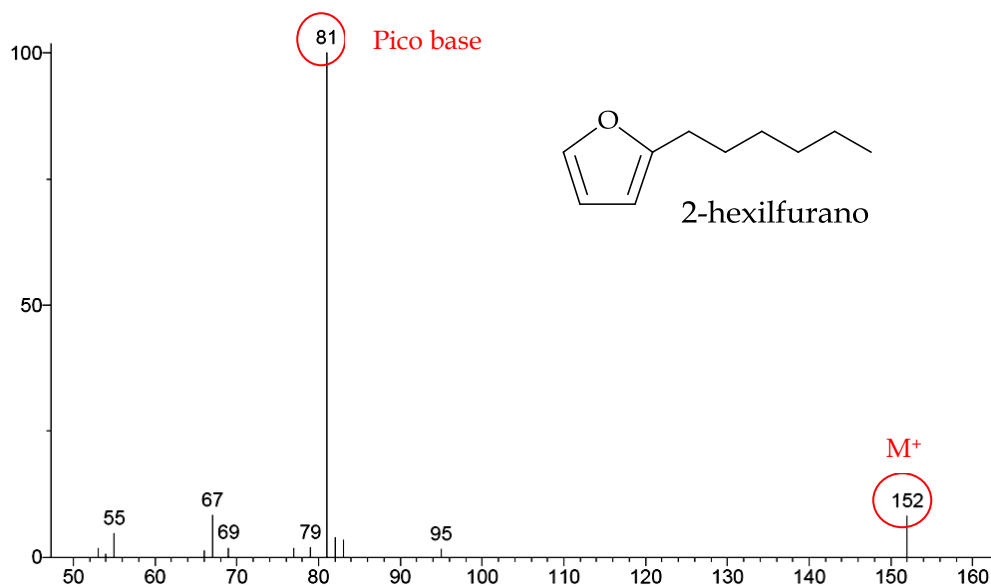


Figura 107. Espectro de masas del compuesto **M-2** (EM 70 eV)

El compuesto denominado **M-2** presentó un espectro de masas muy simple con pocos picos significativos. Entre ellos destacan el ión molecular a 152 m/z coincidiendo con una fórmula molecular $C_{10}H_{16}O$ (figura 107). El pico base a parece a 81 m/z el cuál se genera por pérdida de un radical *n*-pentilo (*n*-pent) $[M-(n\text{-pent})]^+$. La pérdida total de la cadena lateral genera el ión a 67 m/z (figura 108).

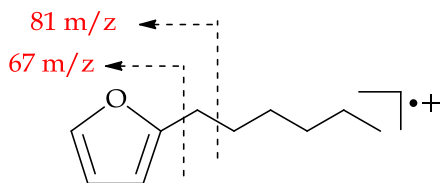


Figura 108. Formación de diferentes fragmentos del compuesto **M-2** (EM 70 eV)

COMPUESTO M-3 (Benzoato de benzilo)

El análisis del patrón de fragmentación del compuesto **M-3** y la comparación con espectros de la librería, nos permitió concluir que la estructura de este compuesto corresponde al: **Benzoato de benzilo** (*figura 109*).

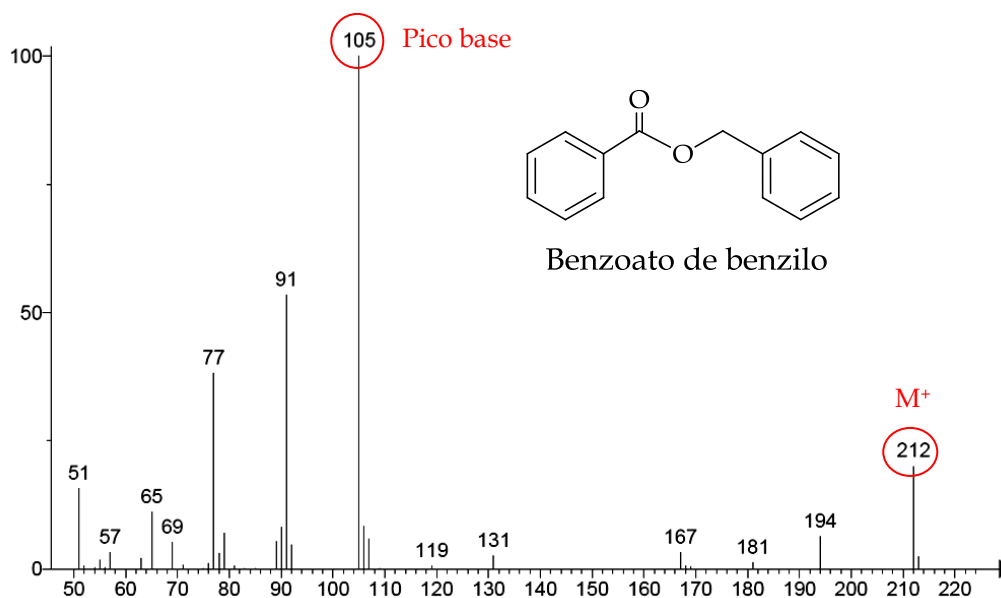


Figura 109. Espectro de masas del compuesto **M-3** (EM 70 eV)

El compuesto denominado **M-3**, presentó una fórmula molecular $C_{14}H_{12}O_2$, la cual está de acuerdo con el ión molecular a 212 m/z (*figura 109*). En el espectro de masas se muestra el pico base a 105 m/z, generado por la fragmentación del enlace éster del ión molecular (-COO-) (*figura 110*).

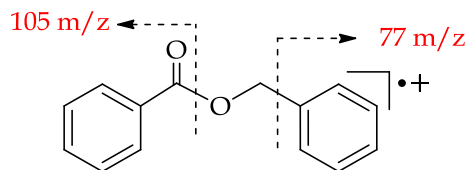


Figura 110. Formación de diferentes fragmentos del compuesto **M-3** (EM 70 eV)

Además, en el espectro de masas destacan picos a 65 m/z y 91 m/z, característicos de moléculas que poseen anillos aromáticos. El fragmento a 91 m/z corresponde a un ión tropilio, cuya formación es mostrada en la *figura 111*.

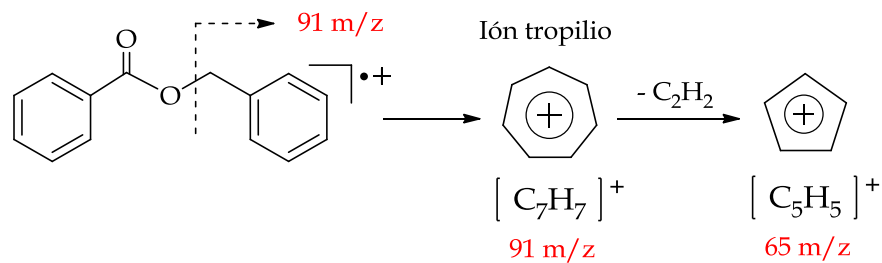


Figura 111. Formación del ión tropilio para el compuesto **M-3** (EM 70 eV)

COMPUESTO M-4 (Ácido palmítico)

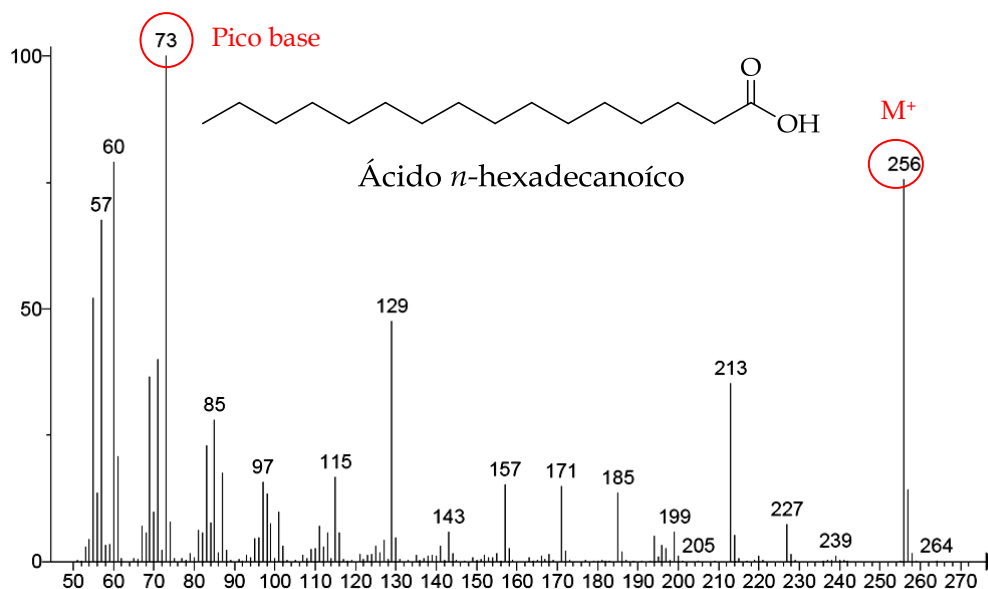


Figura 112. Espectro de masas del compuesto **M-4** (EM 70 eV)

En el espectro de masas del compuesto **M-4** se observó un ión molecular intenso a 256 m/z (*figura 112*), consistente con una fórmula molecular $C_{16}H_{32}O_2$.

El ión molecular experimentó pérdida de un radical *n*-propilo (*n*-pr) generando el ión $[M-(n-pr)]^+$ a 213 m/z. fragmentaciones de la cadena lateral generaron las especies a 73 m/z y 129 m/z; siendo el pico a 73 m/z el pico base (*figura 113*).

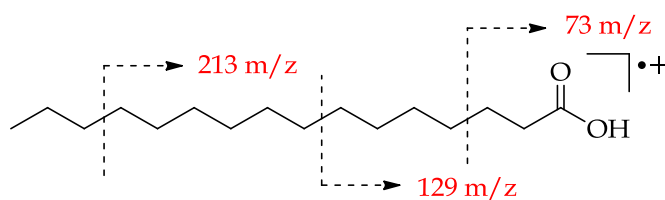


Figura 113. Formación de diferentes fragmentos de **M-4** (EM 70 eV)

Un pico característico de ácidos carboxílicos a parece a 60 m/z, el cual es generado por un reordenamiento de McLafferty del ión molecular (*figura 114*).

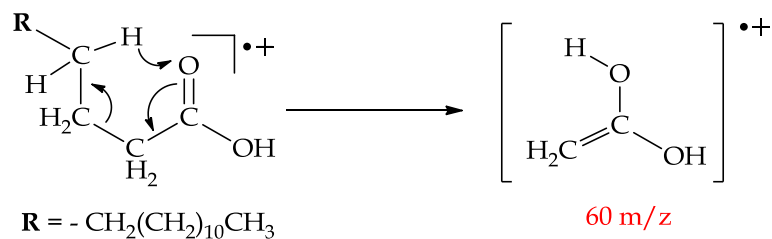


Figura 114. Formación del pico a 60 m/z por reordenamiento de McLafferty, a partir del ión molecular (EM 70 eV)

La información anterior y la comparación con los espectros de la librería, nos permite concluir que la estructura del compuesto **M-4** correspondía al: **ácido *n*-hexadecanoico (ácido palmítico)**.

Todos los compuestos anteriormente descritos resultaron ser conocidos en la bibliografía química. Además Chen *y col.* han reportado el aislamiento de compuestos similares de dos especies de Celastráceas, pertenecientes al género *Microtropis*.¹⁰⁹⁻¹¹¹

V. CONCLUSIONES



Del trabajo realizado en la elaboración de la presente Tesis, extraemos las siguientes conclusiones:

- Se aislaron del extracto *n*-hexano/éter etílico de los frutos de *Maytenus chiapensis*, nueve sesquiterpenos dihidro- β -agarofuránicos, anteriormente reportados en la bibliografía química. Estos sesquiterpenos presentaron una variedad de esqueletos polihidroxílicos base, entre ellos: celorbicol, 15-hidroxicelorbicol, 3,4-dideoximaytol, 9-*epi*-celapanol, 6 β -hidroxi-*iso*-celorbicol, 2-deoxialatol, alatol y 15-deoxialatol.⁴⁰
- Después de un estudio de sus datos espectroscópicos, se determinó que los sesquiterpenos anteriormente reportados en la bibliografía química, resultaron ser: 1 α ,6 β -diacetoxi-9 β -benzoiloxidihidro- β -agarofurano (**S-4**)⁹⁶⁻⁹⁸, Ejap-2 (**S-5**)⁹⁹⁻¹⁰², Triptogelin C-1 (**S-6**)^{97,101,103}, 1 α ,2 α -diacetoxi-6 β ,9 β -dibenzoiloxidihidro- β -agarofurano (**S-7**)¹⁰⁴⁻¹⁰⁵, 15-acetoxiorbiculin A (**S-8**)¹⁰⁶, Tritogelin B-1 (**S-9**)¹⁰⁷ y 6 β ,15-diacetoxi-1 α ,8 α ,9 α -tribenzoiloxidihidro- β -agarofurano (**S-10**)⁹⁸, 1 α ,2 α ,6 β -triacetoxi-8 α ,9 α -dibenzoiloxidihidro- β -agarofurano (**S-11**)¹⁰⁷, 6 β ,15-diacetoxi-1 α ,2 α ,8 α ,9 α -tetrabenzoiloxidihidro- β -agarofurano (**S-12**)¹⁰⁸.
- Se aislaron de los frutos de *Maytenus chiapensis*, dos sesquiterpenos dihidro- β -agarofuránicos nuevos en la bibliografía química, cuyas estructuras se elucidaron mediante un cuidadoso estudio de sus datos espectroscópicos y espectrométricos, como:

(S-1) 1 α ,6 β ,15-triacetoxi-8 α ,9 α -dibenzoiloxidihidro- β -agarofurano

Sesquiterpeno que presenta un esqueleto polihidroxílico base de 2,3,4,15-tetradeoxy-9-*epi-iso*-euonyminol.

(S-2) 1 α ,2 α ,15-triacetoxi-6 β -butiroxi-9 β -benzoiloxidihidro- β -garofurano

Sesquiterpeno que presenta un esqueleto polihidroxílico base de 3,4-dideoximaytol.

- Los sesquiterpenos dihidro- β -agarofuránicos aislados de los frutos de *Maytenus chiapensis* no poseen un grupo hidroxilo sobre carbono 4; a diferencia de los sesquiterpenos aislados anteriormente de las hojas de esta misma planta¹¹². Esta variación nos sugiere la presencia de enzimas específicas en los diferentes órganos de la planta.
- Intentamos la preparación de derivados sesquiterpénicos mediante reacción de hidrólisis parcial, usando como productos de partida el sesquiterpeno **S-5** y **S-8**; en busca de una mayor diversidad estructural sobre el esqueleto dihidro- β -agarofuránico.
- Se realizó la hidrólisis parcial del sesquiterpeno **S-5**, anteriormente reportado en la bibliografía química como **Ejap-2**. La estructura del producto resultante fue elucidada mediante sus datos espectroscópicos y por comparación con los datos reportados en los artículos para Ejap-2, determinándose como:

(S-3) 6 β -acetoxi-9 β -benzoiloxi-1 α ,15-dihidro- β -agarofurano.
Este sesquiterpeno resultó ser nuevo en la bibliografía química.
- El cincuenta por ciento de las fracciones obtenidas del extracto *n*-hexano/éter etílico, de los frutos de *Maytenus chiapensis* presentaron un contenido de grasa. De este grupo de fracciones menos polares, se aisló mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas, escualeno, como producto mayoritario.
- Los metabolitos secundarios aislados de los frutos de *Maytenus chiapensis*, resultaron ser comunes con otros géneros de la Familia Celastraceae, entre ellos: *Celastrus*, *Euonymus*, *Tripterygium* y *Microtropis*. Esto nos permite confirmar la relación quimiotaxonómica entre los diversos géneros de esta Familia.

VI. RECOMENDACIONES



Con el objeto de continuar las investigaciones fitoquímicas de las especies de Celastráceas presentes en nuestra flora, hacemos las siguientes recomendaciones:

- Completar el estudio fitoquímico del extracto *n*-hexano/éter etílico, obtenido de los frutos de *Maytenus chiapensis*, analizando las fracciones más polares, en busca de alcaloides sesquiterpénicos.
- Completar el estudio fitoquímico de *Maytenus chiapensis*, estudiando la corteza de raíz de dicha especie.
- Ensayar los metabolitos secundarios aislados, frente a diferentes actividades biológicas, dependiendo de las características estructurales presentadas por los diversos esqueletos base.
- Continuar el estudio fitoquímico de otras especies de Celastráceas pertenecientes a la flora salvadoreña, entre las que se pueden mencionar, por ejemplo: *Wymmeria cylocarpa*, *Zinowiewia cuneifolia* y *Quetzalia reynae*.
- Realizar hidrólisis selectivas de los sesquiterpenos conocidos, con el objetivo de obtener una mayor diversidad estructural sobre el esqueleto dihidro- β -agarofuránico.
- Realizar un estudio completo de las fracciones menos polares, obtenidas del extracto *n*-hexano/éter etílico de los frutos de *Maytenus chiapensis*.
- Realizar un estudio, de las actividades biológicas, presentadas por los ácidos grasos presentes en las fracciones menos polares.
- Aplicar técnicas automatizadas (Ej: High Performance Liquid Chromatography, HPLC), para el fraccionamiento de los extractos crudos, obtenidos de las especies de la Familia Celastraceae estudiadas.

- Realizar un estudio fitoquímico de los frutos verdes de *Maytenus chiapensis*, con el objeto de comparar los metabolitos secundarios producidos por los frutos en estado maduro.

VII. REFERENCIAS



1. Ramawat K. G., Merillon J.M. Bioactive and Medicinal Plants, *Springer*, **2008**
2. Breinbauer R., Vetter I. R., Waldmann H., *Angew. Chem. Int. Ed.*, 41, 2878, **2002**
3. Prance G., *Ethnobotany and the Search for New Drugs*, Ciba Foundation Symposium 185. Ed. John Wiley & Sons., **1994**
4. Rodríguez Pérez F. M. Tesis Doctoral, *Universidad de La Laguna*, España, **2000**
5. Núñez Rivas M. J. Tesis Doctoral, *Universidad de La Laguna*, España, **2003**
6. Martínez de Díaz M. L. Tesis Maestría, *Universidad de El Salvador*, El Salvador, **2007**
7. Torres-Romero D. Tesis Doctoral, *Universidad de La Laguna*, España, **2008**
8. Osorio Landaverde A. Memoria para la obtención del DEA, *Universidad de La Laguna*, España, **2009**
9. Mark P., Jennifer J., Robert H., Andrew J., Dedra E., Curtis C., *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 48, 745-757, **2008**
10. Hammel B. *Manual de Plantas de Costa Rica*, **2001**
11. Linares J. L. *Listado Comentado de los Árboles Nativos y Cultivados en la República de El Salvador*, *Ceiba*, 44, 105-268, **2003**
12. Herbario: Museo de Historia Natural de El Salvador (MHES), San Salvador, El Salvador, Año de consulta: **2008**
13. Herbario: Parque Jardín Botánico La Laguna, San Salvador, El Salvador, Año de consulta: **2008**
14. Brüning R., Wagner H., *Phytochemistry*, 17, 1821-1858, **1978**
15. Zamora N. *Celastraceae*, Organización para Estudios Tropicales: Flora Digital de la Selva, **2006**

16. Brinker A. M., Ma Jun, Lipsky P. E., Raskin I. Medicinal Chemistry and Pharmacology of Genus *Tripterygium* (Celastraceae), *Phytochemistry*, 68 (13), 732-766, **2007**
17. Paarakh P. M., Patil L. J., Thanga S. A. Genus Salacia: A Comprehensive Review, *Journal of Natural Remedies*, 8, 116-131, **2008**
18. Kalix P., Braenden O. Pharmacological Aspect of the Chewing of khat Leaves, *Pharmacol. Rev.*, 37, 149, **1985**
19. Crombie L., Crombie W. M., Whiting D. A. Alkaloids of khat (*Catha edulis*), *The Alkaloids*, 39, 139-164, **1990**
20. Kupchan S. M., Komoda Y., Court W. A., Thomas G. J., Smith R. A., Karim A., Gilmore C. J., Haltiwanger R. C. *J. Am. Chem. Soc.*, 94, 1354-1356, **1972**
21. Descoins C. Jr., Bazzocchi I., Ravelo A., New Sesquiterpenes from *Euonymus europeaus* (Celastraceae), *Chem. Pharm. Bull.*, 50 (2), 199-202, **2002**
22. Shirota O., Sekita S., Satake M., Morita H., Takeya K., Itokawap H., *Chem. Pharm. Bull.*, 52(9), 1148-1150, **2004**
23. Otero J., *Nuestras Hierbas Medicinales*, Caja Insular de Ahorros, Santa Cruz de Tenerife, **1984**
24. de Andrade S., Lemos M., Comunello E., Noldin V., Filho V., Niero R. Evaluation of Antiulcerogenic Activity of *Maytenus robusta* (Celastraceae) in Different Experimental Ulcer Models, *J. of Ethnopharmacology*, 113 (2), 252-257, **2007**
25. Alvarenga N., Canela N., Gomez R., Yaluff G., Maldonado M. Leishmanicidal Activity of *Maytenus ilicifolia* roots, *Fitoterapia*, 79 (5), 381-383, **2008**

26. Sosa S., Morelli C. F., Tubaro A., Cairoli P., Speranza G., Manitto P. Anti-inflammatory Activity of *Maytenus senegalensis* root Extracts and of Maytenoic Acid., *Phytomedicine*, 14 (2), 109-114, **2007**
27. Muñoz O., Peñaloza A., González A., Ravelo A., Bazzocchi I., Alvarenga N. "The Celastraceae from Latin America Chemistry and Biological Activity" in *Estudies in Natural Products Chemistry. Stereoselective Synthesis* (Park K), Vol. 18, 739, *Elsevier Science: B.V. The Netherlands*, **1996**
28. Gunatilaka A. A. Triterpenoids Quinonemethides and Related Compounds (Celastroloids), *Progress in the Chemistry of Organic Natural Products*, 67. *SpringerWien, New York*, **1996**
29. González A., Bazzocchi I., Moujir L., Jiménez I. *Studies in Natural Products Chemistry*, Elsevier, 23, 649, **2000**
30. Ruíz P. G., *Productos Naturales*, Universidad Pública de Navarra, España, **2003**
31. Paul M Dewick, *Medicinal Natural Products: a biosynthetic approach*, 2nd Ed., John Wiley & Sons, Ltd, England, **2002**
32. Brüning R., Wagner H., *Phytochemistry*, 17, 1821, **1978**
33. Liu G., Gao J., Wu W., *Chem. Res. Appl.*, 15, 321, **2003**
34. Kupchan S. M., Court W. A., Dailey Jr. R. G., Gilmore C. J., Bryan R. F. Tumor Inhibitors. LXXIV. Triptolide and Triptidiolide, Novel Antileukemic Diterpenoid Triepoxides from *Tripterygium wilfordii*, *J. Am. Chem. Soc.*, 94, 7194-7195, **1972**
35. Yang D., Ye X.-Y., Xu M., Pang K.-W., Zou N., Letcher R. M. A Concise Total Synthesis of Triptolide, *J. Org. Chem.*, 63, 6446-6447 **1998**
36. Pérez Reyes C. Tesis Doctoral, *Universidad de La Laguna*, España, **2007**

37. Piacente S., Dos Santos, L. C., Mahmood N., Pizza C. Triterpenes from *Maytenus macrocarpa* and Evaluation of their anti-HIV Activity, *Nat. Prod. Comm.*, 1 (12), 1073-1078, **2006**
38. <http://www.elbosquechileno.cl/maiten.html>, Año de consulta: **2010**
39. Spivey A., Weston M., Woodhead S., *Chem. Soc. Rev.*, 31, 43-59, **2002**
40. Gao J.-M., Zhang J.-W., Konishi Y., *Nat. Prod. Rep.*, 24, 1153-1189, **2007**
41. Jain T., Maheshwari M., Bhattacharyya S., *Perf. Ess. Oil Res.*, 53, 294, **1962**
42. Maheshwari M., Jain T., Bates R., Bhattacharyya S., *Tetrahedron*, 19, 1079, **1963**
43. Barrett H., Büchi G., *J. Am. Chem. Soc.*, 89, 5665, **1967**
44. Chang F., Hayashi K., Chen I. Liaw C., Bastow K., Nakanishi Y., Nozaki H., Cragg G., Wu Y., Lee K., *J. Nat. Prod.*, 66, 1416, **2003**
45. Núñez M., Guadano A., Jiménez I. Ravelo a., González-Coloma A., Bazzocchi I., *J. Nat. Prod.*, 67, 14, **2004**
46. Kite G., Ismail M., Simmonds M., Houghton P., *Rapid Commun. Mass Spectrum.*, 17, 1553, **2003**
47. Jiménez I., Bazzocchi I., Núñez M., Mukainaka T., Tokuda H., Nishino H., Konoshima T., Ravelo A., *J. Nat. Prod.*, 66, 1047, **2003**
48. Takaishi Y., Ohshima S., Nakano K., Tomimatsu T., Tokuda H., Nishino H., Iwashima A., *J. Nat. Prod.*, 56, 815, **1993**
49. Muñoz-Martínez F., Mendoza C., Bazzocchi I., Castanys S., Jiménez I, Gamarro F., *J. Med. Chem.*, 48, 4266, **2005**.
50. Zheng Y., Xu Y., Lin J., *Acta Pharm. Sin.*, 24, 568, **1989**
51. Lin S., Li Y., Sakurai N., Li J., Jin J., *Acta Pharm. Sin.*, 36, 116, **2001**

52. Duan H., Takaishi Y., Momota H., Ohmoto Y., Taki T., Jia Y., Li D., *J. Nat. Prod.*, 64, 582, **2001**
53. Wang X., Gao W., Yao Z., Zhang S., Zhang Y., Takaishi Y., Duan H., *Chem. Phar. Bull.*, 53, 607, **2005**
54. Ujita K., Takaishi Y., Tokuda H., Nishino H., Iwashima A., Fujita T., *Cancer Lett.*, 68, 129, **1993**
55. González A., Tincusi B., Bazzocchi I., Tokuda H., Nishino H., Konoshima T., Jiménez I., Ravelo A., *Bioorg. Med. Chem.*, 8, 1773, **2000**
56. Mendoza C., Jiménez I., Tokuda H., Kushida H., Bazzocchi I., *Chem. Biodiversity*, 2, 286, **2005**
57. Liu Z., Jia Z., Tian X., Wang H., *Planta Med.*, 70, 353, **2004**
58. Kuo Y., Huang H., Chiou W., Shi L., Wu T., Wu Y., *J. Nat. Prod.*, 66, 554, **2003**
59. Kuo Y., King M., Chen C., Chen H., Chen K., Lee K., *J. Nat. Prod.*, 57, 263, **1994**
60. Chen J., Chou T., Duh C., Shen I., *J. Nat. Prod.*, 69, 685, **2006**
61. Perestelo N., Jiménez I., Tokuda H., Hayashi H., Bazzocchi I., Sesquiterpenes from *Maytenus jelskii* as Potencial Cancer Chemopreventive Agents, *J. Nat. Prod.*, 73, 127-132, **2010**.
62. Duan H., Takaishi Y., Imakura Y., Jia Y., Li D., Cosentino L., Lee K., *J. Nat. Prod.*, 63, 357, **2000**
63. Hayashi K., Hayashi T., Ujita K., Takaishi Y., *J. Antimicrob. Chemother.*, 37, 59, **1996**
64. Kim S., Kim Y., Lee J., *J. Nat. Prod.*, 61, 108, **1998**
65. Muñoz-Martínez F., Lu P., Cortes-Selva F., Perez-Victoria J., Jiménez A., Ravelo A., Sharom F., Gamarro F., Castanys S., *Cancer Res.*, 64, 7130, **2004**

66. Cortés-Selva F., Muñoz-Martínez F., Ilias A., Jiménez A., Varadi A., Gamarro F., Castanys S., *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 329, 502, **2005**
67. Torres-Romero D., Muñoz-Martínez F., Jiménez I., Castanys S., Gamarro F., Bazzocchi I., *Org. Biomol. Chem.*, 7, 5166, **2009**.
68. Jing H., Hwang B., Kim H., Lee J. H., Kim Y., Lee J. J., *J. Nat. Prod.*, 65, 89, **2002**
69. Guo Y., Li X., Xu J., Li N., Meng D., Whang J., *Chem. Phar. Bull.*, 52, 1134, **2004**
70. Beroza M., Bottger G., *J. Econo. Entomol.*, 47, 188, **1954**
71. Delle Monache F., Marini G., Bernays E., *J. Appl. Entomol.*, 97, 406, **1984**
72. González A., Jiménez I., Ravelo A., Bazzocchi I., *Phytochemistry*, 29, 2577, **1990**.
73. González A., Jiménez I., Ravelo A., Bellés X., Piulachs M., *Biochem. Syst. Ecol.*, 20, 311, **1992**
74. Céspedes C., Alarcon J., Aranda E., Becerra J., Silva M., *Z. Naturforsch. Teil C.*, 56, 603, **2001**
75. Zhu J., Wang M., Wu W., Ji Z., Hu Z., *Phytochemistry*, 61, 699, **2002**
76. Núñez M., Guadaño A., Jiménez I., Ravelo A., González-Coloma A., Bazzocchi I., *J. Nat. Prod.*, 67, 14, **2004**
77. Hoagland R., Williams R., *Allelopathy*, 315, **2004**
78. Céspedes C., Achnine L., Alarcón J., Becerra J., Lotina-Hennsen B., *Naturforsch.*, 55c, 631, **2000**
79. Torres-Romero D., King-Díaz B., Jiménez I., Lotina-Hennsen B., Bazzocchi I., *J. Nat. Prod.*, 71, 1331, **2008**
80. Barret H., Büchi G., *J. Am. Chem. Soc.*, 89, 5665, **1967**
81. Marshall J., Pike M., *J. Org. Chem.*, 33, 435, **1968**

82. Asselin A., Mongrain M., Deslongchamps P., *Can. J. Chem.*, 46, 2817, **1968**
83. Büchi G., Wüest H., *J. Org. Chem.*, 44, 546, **1979**
84. Huffman J., Raveendranath P., *Tetrahedron*, 43, 5565, **1987**
85. White D., Shin H., Kim T., Cutshall N., *J. Am. Chem. Soc.*, 119, 2404, **1997**
86. Spivey A., Woodhead S., Weston M., Andrews B., *Angew. Chem., Int. Ed.*, 40, 769, **2001**
87. Zhou G., Gao X., Li W., Li Y., *Tetrahedron Lett.*, 42, 3101, **2001**
88. Li W., Zhou G., Gao X., Li Y., *Tetrahedron Lett.*, 42, 4649, **2001**
89. Boyer F., Descoins C. L., Thanh G., Descoins C., Prange T., Ducrot P., *Eur. J. Org. Chem.*, 1172, **2003**
90. Siwicka A., Cuperly D., Tedeschi L., Le Vézouet R., White A., Barret A., *Tetrahedron*, 63, 5903, **2007**
91. Villar del Fresno A. M. Farmacognosia General, *Editorial Síntesis*, España **1999**
92. Marcano D., Hasegawa M. Fitoquímica Orgánica, *Universidad Central de Venezuela – Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico*, Venezuela, **2002**
93. Hesse M., Meier H., Zehh B. Métodos Espectroscópicos en Química Orgánica, *Editorial Síntesis*, Madrid, **1999**
94. Kite G., Ismail M., Simmonds M., Houghton P., *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, 17, 1553-1562, **2003**.
95. Isaza J., Orozcco L., Zuleta L., Rivera D., Tapias L., Veloza L., Ramirez L., *Scientia et Technica*, Año XIII, No 33, **2007**.
96. Smith Jr. C., Miller R., Weisleder D., Rohwedder W., Eickman N., Clardy J., *J. Org. Chem.*, 41, 3264-3269, **1976**.

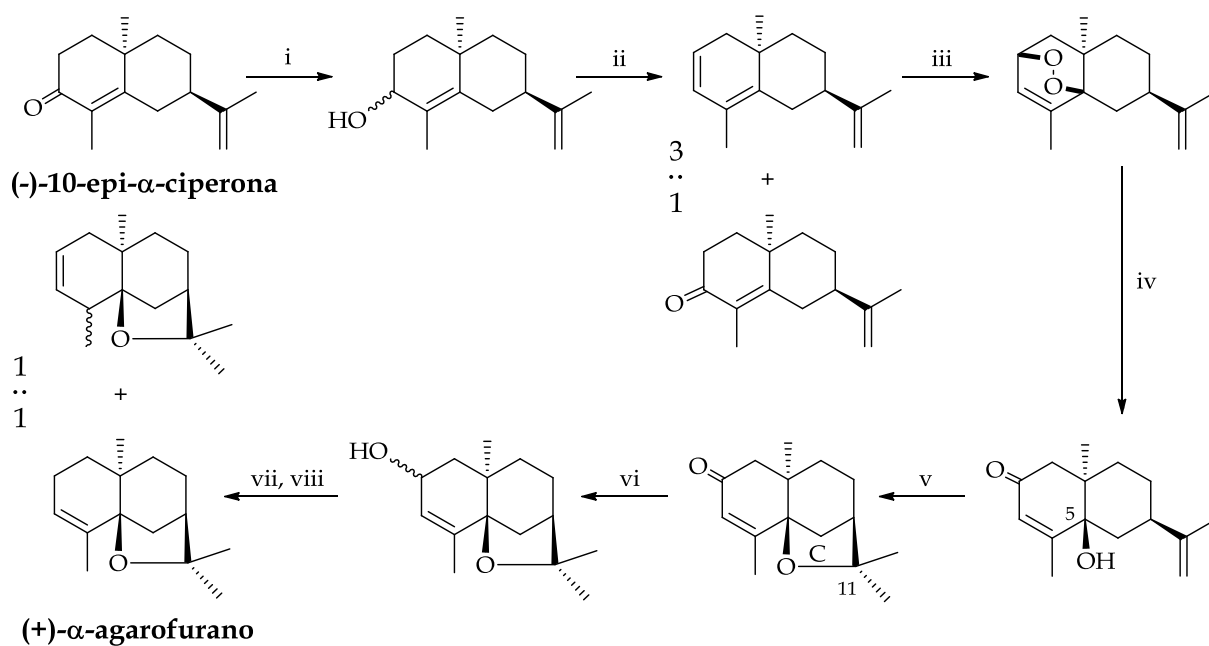
97. Takaishi Y., Ohshima S., Nakano K., Tomimatsu T., *J. Nat. Prod.*, 56, 815-824, **1993**.
98. Guo Y-Q, Li X., Wang J-H, Li W., Sha Y., *J. of Asian Natural Products Research*, 5, 205-208, **2003**.
99. Rózsa Z., Perjési A., Pelczer I., Argay G., Kálmán A., *J. Chem. Soc., Perkin Trans. I*, 1079-1087, **1989**.
100. Hohmann J., *J. Nat. Prod.*, 57, 320-323, **1994**.
101. Kim S., Kim H., Hong Y., Kim Y., Lee J., *J. Nat. Prod.*, 62, 697-700, **1999**.
102. Muñóz O., González A., Ravelo A., Luis J., Vázquez J., Núñez M., Jiménez I., *Phytochemistry*, 29, 3225-3228, **1990**.
103. Takaishi Y., Tokura K., Tamai S., Ujita K., Nakano K., Tomimatsu T., *Phytochemistry*, 30, 1567-1572, **1991**.
104. Kim S., Kim H., Lee J., *J. Nat. Prod.*, 61, 108-111, **1998**.
105. Jin H., Hwang B., Kim H., Lee J.H., Kim Y., Lee J.J., *J. Nat. Prod.*, 65, 89-91, **2002**.
106. Chou T.-H., Chen I.-S., Peng C.-F., Sung P.-J., Chen J.-J., *Chem. & Biodiver.*, 5, 11412-1418, **2008**.
107. Takaishi Y., Noguchi H., Murakami K., Nakano K., Tomimatsu T., *Phytochemistry*, 29 (12), 3869-3873, **1990**.
108. Pérez Reyes C., Muñoz-Martínez F., Torrecillas I., Mendoza C., Gamarro F, Bazzocchi I., Núñez M., Pardo L., Castanys S., Campillo M., Jiménez I., *J. Med. Chem.*, 50, 4808-4817, **2007**.
109. Chou T.-H., Chen I.-S., Sung P.-J., Peng C.-F., Shieh P.-C., Chen J.-J., *Chem. & Biodiver.*, 4, 1594-1600, **2007**.

110. Chou T.-H., Chen I.-S., Peng C.-F., Sung P.-J., Chen J.-J., *Chem. & Biodiver.*, 5, 11412-1418, **2008**.
111. Chen J.-J., Yang C.-S., Peng C.-F., Chen I.-S., Miaw C.-L., *J. Nat. Prod.*, 71, 1016-1021, **2008**.
112. Núñez M. J., Cortés-Selva F., Bazzochi I. L., Jiménez I. A., González A. G., Ravelo A. G., Gavin J. A., *J. Nat. Prod.*, 66 (4), 572-574, **2003**.

VIII. ANEXOS

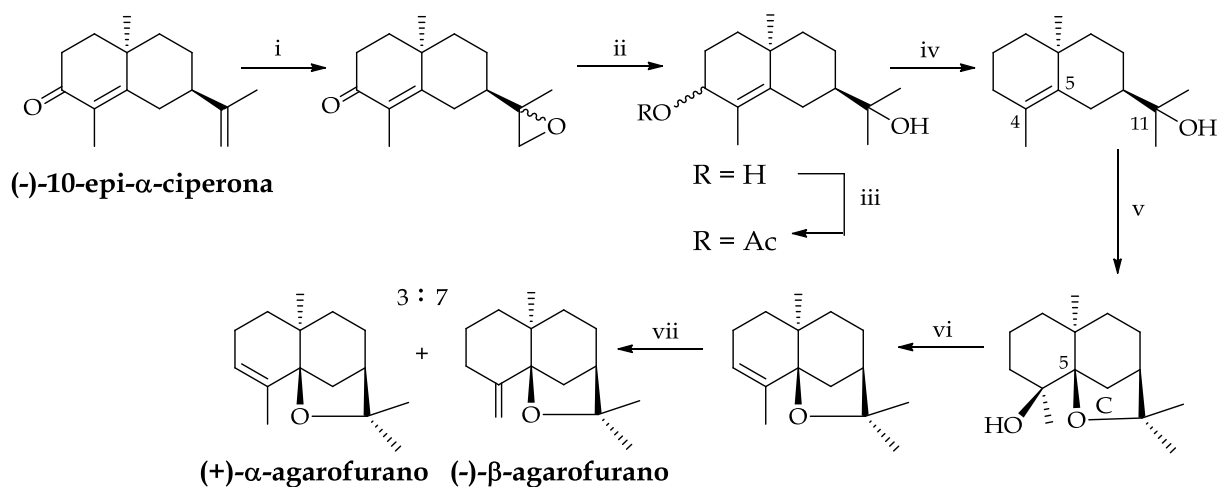


Esquema 1. Síntesis de (+)- α -agarofurano por Barret y Büchi (1967)

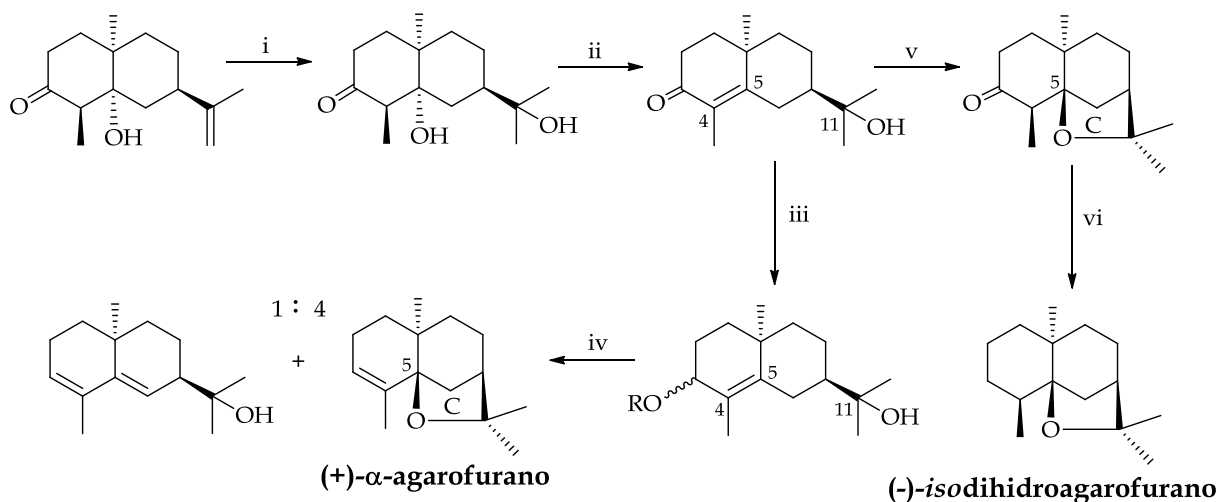


Reactivos y rendimientos: (i) LiAlH_4 [81%]; (ii) Al_2O_3 -Pyr [81%, total]; (iii) O_2 , $h\nu$ [62%]; (iv) Al_2O_3 /medio básico [84%]; (v) Al_2O_3 /medio ácido [72%]; (vi) NaBH_4 [88%]; (vii) SOCl_2 ; (viii) LiAlH_4 [87%, total].

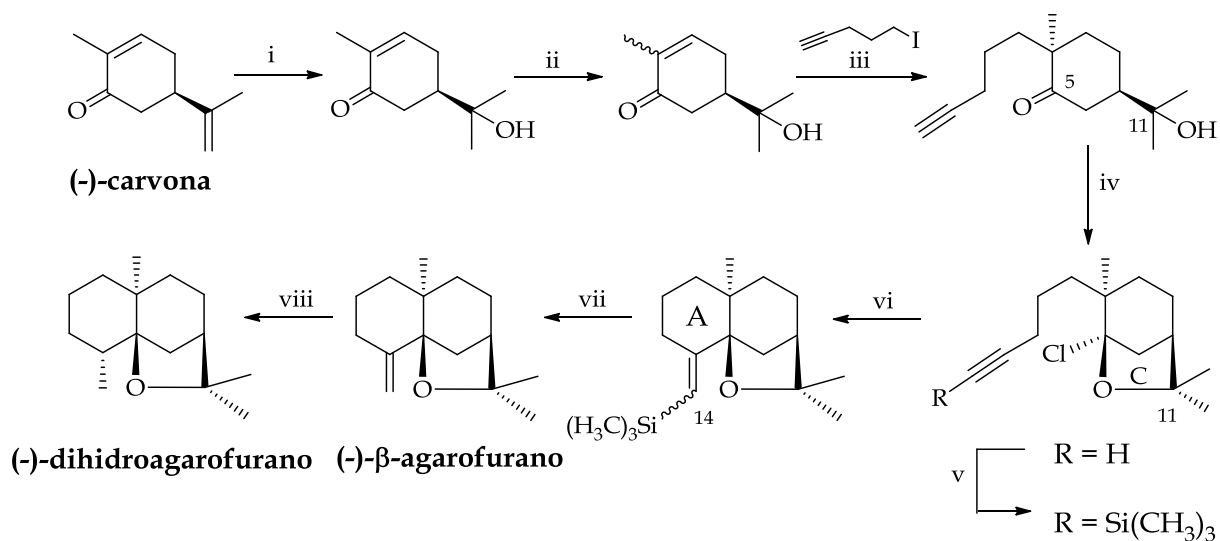
Esquema 2. Síntesis de (+)- α -agarofurano por Marshall y col. (1968)



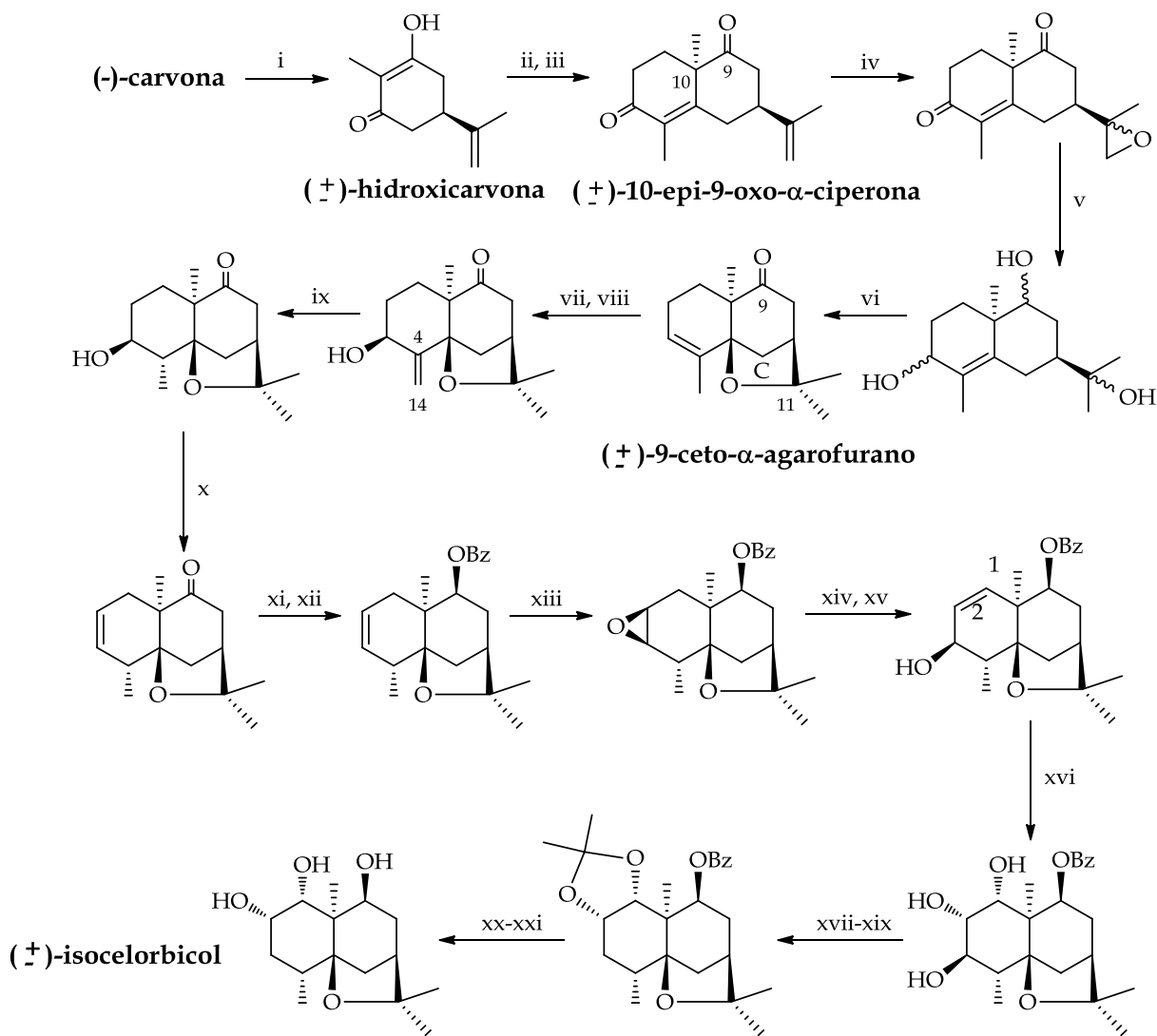
Reactivos y rendimientos: (i) MCPBA; (ii) LiAlH_4 ; (iii) Ac_2O ; (iv) Li , NH_3 [83%, 4 etapas]; (v) MCPBA. [55%]; (vi) SOCl_2 [94%]; (vii) $h\nu$, xileno-IPA [100%, total].

Esquema 3. Síntesis de (+)- α -agarofurano por Deslongchamps y col. (1968)

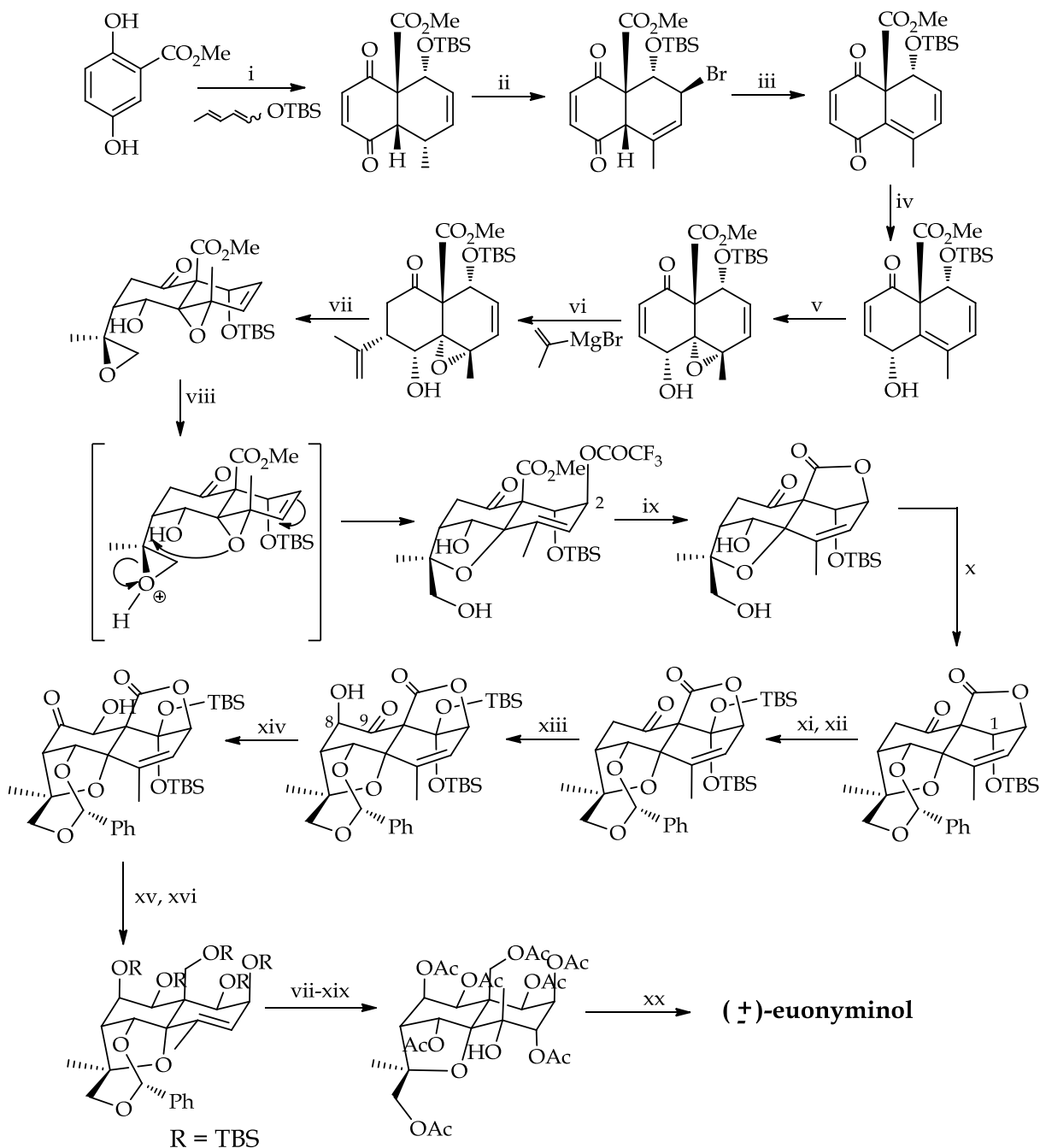
Reactivos y rendimientos: (i) $\text{Hg}(\text{OAc})_2$, NaOH , NaBH_4 [75%]; (ii) NaOMe [81%]; (iii) $\text{LiAl}(\text{OtBu})_3\text{H}$ [100%]; (iv) PTSA [100%, total]; (v) PTSA [30%]; (vi) *p*-toluensulfonilhidrazina, luego NaBH_4 [25%].

Esquema 4. Síntesis de (-)- β -agarofurano reportada por Büchi y Wüest (1979)

Reactivos y rendimientos: (i) H_2SO_4 (ac) [63%]; (ii) 10% $\text{Pd}/\text{C}-\text{H}_2$ [93%]; (iii) KNH_2 [41%]; (iv) PCl_5 [71%]; (v) EtMgBr , luego TMSCl [98%]; (vi) AIBN , HSnBu_3 , $h\nu$ [72%, total]; (vii) PTSA [92%]; (viii) hidrazina, H_2O_2 [92%].

Esquema 5. Síntesis de (\pm)-isocelorbicol reportada por Huffman *y col.* (1987)

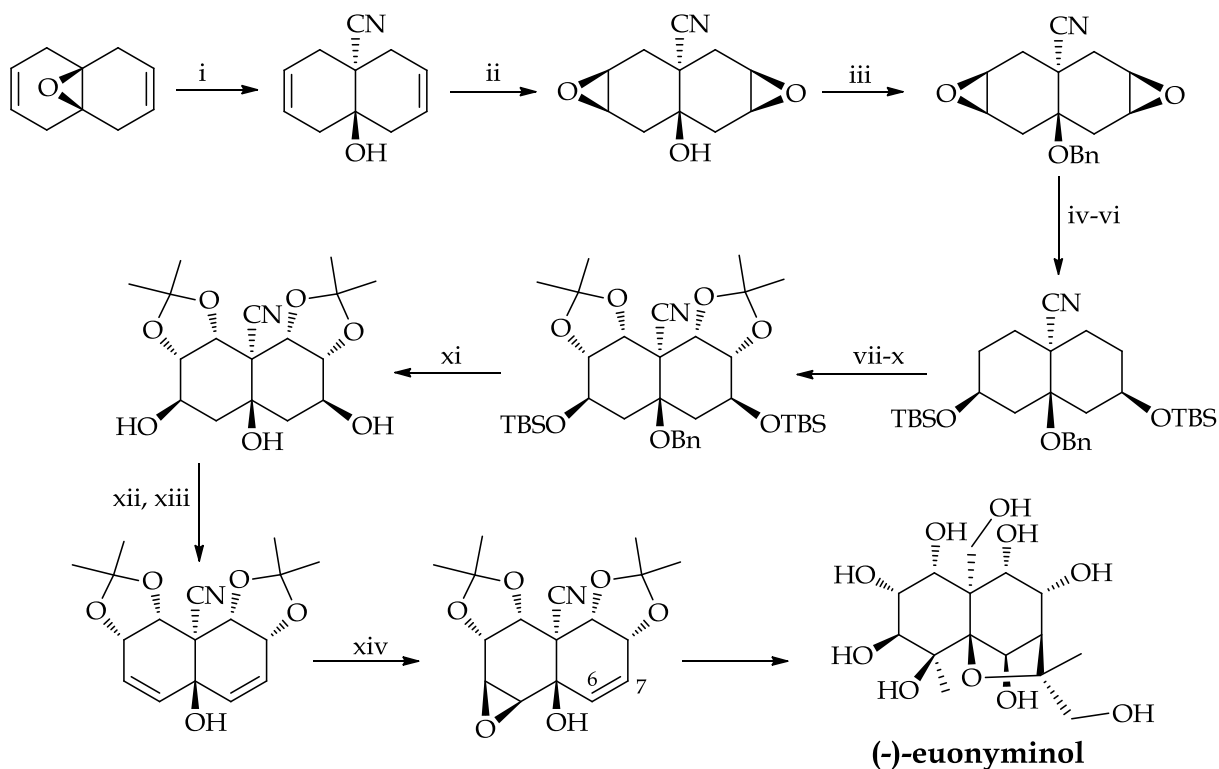
Reactivos y rendimientos: (i) KOH-H₂O₂ luego HCl [60%]; (ii) EVK, KOH; (iii) PTSA [32%, 2 etapas]; (iv) MCPBA; (v) LiAlH₄; (vi) Reactivo de Jones [47%, 3 etapas]; (vii) MCPBA, NaHCO₃ [70%]; (viii) LDA [72%]; (ix) NH₂NH₂, NaIO₄, CuSO₄, AcOH [90%]; (x) POCl₃ [65%]; (xi) LiAlH₄; (xii) BuLi luego BzCl [93%, 2 etapas]; (xiii) MCPBA [60%]; (xiv) (PhSe)₂, NaBH₄ [44%]; (xv) MCPBA, *i*Pr₂NH [87%]; (xvi) OsO₄, Pyr [66%]; (xvii) 2,2-DMP, CSA [87%]; (xviii) NaH, imidazol luego CS₂, luego MeI; (xix) *n*Bu₃SnH [82%, 2 etapas]; (xx) Ba(OH)₂; (xxi) HCl [86%, 2 etapas].

Esquema 6. Síntesis de (\pm)-euonyminol reportada por White *y col.* (1997)

Reactivos y rendimientos: (i) Ag_2O [94%]; (ii) NBS, Bz_2O_2 ; (iii) Et_3N [98%, 2 etapas]; (iv) NaBH_4 , $\text{CeCl}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ [90%]; (v) MCPBA [88%]; (vi) LDA, 15-crown-5 [63%]; (vii) *t*BuOOH, 2,6-lutidina, $\text{VO}(\text{acac})_2$ [74%]; (viii) TFA; (ix) Pyr-THF- H_2O , luego imidazol, MeCN [75%, 2 etapas]; (x) PPTS, $\text{PhCH}(\text{OMe})_2$ [83%]; (xi) $n\text{Bu}_4\text{NF}$ [96%]; (xii) TBSOTf, Et_3N [100%];

(xiii) KHMDS [86%]; (xiv) AlMe_3 [100%]; (xv) LiAlH_4 , luego HCl ; (xvi) TBSOTf , Et_3N ; (xvii) OsO_4 , Pyr; (xviii) Amberlita IR-120, $\text{AcOH-H}_2\text{O}$; (xix) Ac_2O , Pyr, [30%, 5 etapas]; (xx) NaOMe , MeOH , luego Amberlita IR-120 [100%].

Esquema 7. Síntesis asimétrica de (-)-euonyminol reportada por Spivey *y col.* (2001)



Reactivos y rendimientos: (i) Et_2AlCN [98%]; (ii) $\text{VO}(\text{acac})_2$, $t\text{BuOOH}$ [87%]; (iii) BnBr , NaH , $n\text{Bu}_4\text{NI}$ [83%]; (iv) Ph_3PBr_2 [87%]; (v) TBSOTf , 2,6-lutidina [98%]; (vi) DBU [98%]; (vii) OsO_4 , NMO [79%]; (viii) PTSA , DMP [95%]; (ix) $\text{K}_2\text{OsO}_2(\text{OH})_4$, $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$, K_2CO_3 , MeSO_2NH_2 , quinuclidina [74%]; (x) PTSA , DMP [98%]; (xi) Na-NH_3 , luego TBAF [91%]; (xii) MsCl , Et_3N [99%]; (xiii) DBN [67%]; (xiv) $\text{Zr}(\text{OiPr})_4$, $i\text{PrOH}$, D-(2)-DIPT , $t\text{BuOOH}$ [55%].