



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

**PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS
QUÍMICAS**

SÍNTESIS DE DERIVADOS DE ARGENTATINA B

TESIS

PARA OPTAR POR EL GRADO DE

MAESTRO EN CIENCIAS

PRESENTA

Q.F.B. ATZIN HERNÁNDEZ FLANDES

DR. MARIANO MARTÍNEZ VÁZQUEZ
DEPARTAMENTO DE PRODUCTOS NATURALES, INSTITUTO DE QUÍMICA,
UNAM

CIUDAD DE MÉXICO, JUNIO DEL 2018



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Jurado asignado

Presidente: Dr. Gustavo García de la Mora

Vocal: Dr. Manuel Jimenez Estrada

Vocal: Dr. Roberto Martinez

Vocal: Dr. María Isabel Aguilar Laurents

Secretario: Dr. René Miranda Ruvalcaba

Tutor:

Dr. Mariano Martínez Vázquez

Sustentante:

Q.F.B. Atzin Hernández Flandes

Este trabajo se realizó en el laboratorio 1-4 del departamento de Productos Naturales del Instituto de Química de la Universidad Nacional Autónoma de México

Agradecimientos

Al consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por el apoyo financiero otorgado para la realización mis estudios de maestría con número de becario 596645

A la Universidad Nacional Autónoma de México, el Instituto de Química, la Facultad de Química y al Posgrado en Ciencias Químicas de la UNAM por su contribución en mi formación profesional.

Al Dr. Mariano Martínez Vázquez, por sus enseñanzas y la ayuda prestada durante el desarrollo de este trabajo.

A los miembros del jurado revisor, por las observaciones y correcciones que ayudaron a mejorar de este trabajo

A los M. en C. Víctor Castro Torres y Javier Porras por el apoyo brindado para la obtención de los espectros de RMN de 300MHz.

Al personal del Laboratorio Universitario de RMN (LURMN) del IQ-UNAM por la realización de los espectros de RMN de 700MHz.

Al M. en C. Simón Hernández Ortega por la difracción de rayos X realizada en el derivado 5.

A la Lic. Lidia Díaz Sánchez por los estudios de citotoxicidad realizados sobre la línea HCT116.

A mi familia por su cariño, su dedicación y el ánimo incondicional que siempre me han compartido.

A los compañeros del laboratorio de 1-4 del departamento de Productos Naturales por su apoyo y el tiempo de convivencia.

Dedicatorias

A mi familia Teresa, Guillermo y Rosa por el cariño que me han dado, los gratos momentos que he pasado con ellos y los valores que me han inculcado.

A mis amigos por los gratos momentos que me han brindado y su amistad sincera.

Parte de este trabajo se presentó en el Simposio Interno Anual del Instituto de Química celebrado los días 15 y 16 de junio del 2017 en forma de cartel.

Índice General

Índice General.....	6
Índice de Cuadros.....	8
Índice de Figuras.....	9
Índice de Espectros.....	11
Abreviaturas y fórmulas.....	13
Líneas celulares citadas en este texto.....	15
Resumen.....	17
Introducción.....	18
Marco teórico.....	21
VII.I. Cáncer.....	21
VII.I.I. El cáncer como problema de salud mundial.....	23
VII.I.II. El cáncer como problema de salud en México.....	24
VII.I.III. Tratamiento terapéutico del cáncer.....	26
VII.II. Triterpenos tetracíclicos y pentacíclicos con potencial terapéutico.....	29
VII.II.I. Triterpenos pentacíclicos.....	29
VII.II.II. Triterpenos subtipos del cucurbitano.....	33
VII.II.III. Triterpenos subtipos del alisol.....	36
VII.II.IV. Triterpenos subtipos del lanostano.....	39
VII.II.V. Triterpenos subtipos del cicloartano.....	41
Antecedentes.....	44
VII.III. Estudios previos sobre <i>Parthenium argentatum</i> (guayule) y la argentatina B.....	44
Hipótesis.....	50
Objetivos.....	50
Objetivo general.....	50

Objetivos particulares.....	50
Materiales y equipos.....	51
Discusión y Resultados.....	52
XI.I. Aislamiento de la argentatina B.....	52
XI.II. Transformación química de la argentatina B.....	52
XI.III. Elucidación estructural de los análogos de argentatina B con apertura del anillo de oxepano.....	67
XI.IV. Evaluación en línea celular HCT116.....	111
XI.V. Discusión.....	112
Conclusiones.....	113
Bibliografía.....	114

Índice de Cuadros

Tabla 1. Fármacos utilizados actualmente en quimioterapia [15].	26
Tabla 2. Comparación de CI ₅₀ de los taxanos mencionados [16] [17].	27
Tabla 3. Algunos triterpenos pentacíclicos con actividad citotóxica	31
Tabla 4. Algunas cucurbitacinas con actividad citotóxica	34
Tabla 5. Subtipos y derivados del alisol con actividad citotóxica	37
Tabla 6. Actividad citotóxica de triterpenos subtipos del lanostano	40
Tabla 7. Compuestos citotóxicos subtipos del cicloartano	42
Tabla 8. CI ₅₀ de los derivados de argentatina B [5].....	46
Tabla 9. Picos característicos (1-3) en la fragmentación de masas de triterpenos con cadena lateral similar a los compuestos sintetizados [73][74].	69
Tabla 10. Fragmentos observados en los espectros de masas de los triterpenos 3, 5, 6, 9 y 12.	69
Tabla 11. Datos de difracción de rayos X del análogo 5	85
Tabla 12. Desplazamientos de argentatina B y los análogos obtenidos en RMN ¹³ C.....	110
Tabla 13. Datos obtenidos de la evaluación citotóxica en línea HCT116.....	111

Índice de Figuras

Figura 1. Argentatina B	20
Figura 2. Características biológicas que se observan en las células cancerosas [9].	21
Figura 3. Datos de incidencia y mortalidad de cáncer en México en hombres y mujeres [14].	25
Figura 4. Taxanos y <i>Taxus brevifolia</i>	28
Figura 5. Estructuras de algunos triterpenos pentacíclicos.....	29
Figura 6. Producción de ROS y regulación a la baja de factores de transcripción [26].....	32
Figura 7. Esqueleto de triterpeno tipo cucurbitano.....	33
Figura 8. Grupos farmacóforos involucrados en la actividad de las cucurbitacinas	34
Figura 9. Señalización JAK/STAT[44].	35
Figura 10. Estructura del alisol A	36
Figura 11. Estructura de los triterpenos del lanostano	39
Figura 12. Estructura de cicloartano	41
Figura 13. Acetilmetilquadrangularato D.....	42
Figura 14. Planta de guayule [66].	44
Figura 15. Metabolitos aislados del guayule	45
Figura 16. Derivados de argentatina B sintetizados [5].	46
Figura 17. i) Ac ₂ O, NaOAc, refl. 1.5h ii) DDQ, benceno, refl. 3días iii) BF ₃ -OEt ₂ , 0°C, 2h	47
Figura 18. 3 α ,16 β -Dihidroxi-3,19-ciclopentil-lanost-9,11-en-24-ona	48
Figura 19. Mecanismo de reacción propuesto.	48
Figura 20. Obtención de (16 β) ol-cicloartan-3,24-diona (3).....	52
Figura 21. Síntesis de la 3 β ,16 β -dihidroxi-cicloartan-24-ona (5) y la 3 β ,16 β -dihidroxi-lanost-9,11-en-24-ona (6).	55

Figura 22. Obtención de 3β -acetil-(16β) ol-cicloartan-24-ona (9).....	58
Figura 23. Obtención de 2α -bromo- 16β -hidroxi-cicloartan-3,24-diona (12)	61
Figura 24. Determinación de (10) mediante difracción de rayos X[5].	63
Figura 25. Esquema general de síntesis.....	66
Figura 26. Principales correlaciones C-H de (3) observadas en el experimento HMBC	67
Figura 27. Ion molecular y pérdida de H ₂ O en la 16β -hidroxi-cicloartan-3,24-diona (3).....	68
Figura 28. Principales correlaciones H-C de (5) observadas en el experimento HMBC	76
Figura 29. Ion molecular y pérdida de H ₂ O en la 3β,16β -dihidroxi-cicloartan-24-ona (5).....	77
Figura 30. Difracción de rayos X de la 3β,16β -dihidroxi-cicloartan-24-ona	84
Figura 31. Principales correlaciones H-C de (6) observadas en el experimento HMBC	86
Figura 32. Ion molecular y pérdida de H ₂ O en la 3β,16β -dihidroxi-lanost-9,11-en-24-ona (6)	87
Figura 33. Principales correlaciones H-C de (9) observadas en el experimento HMBC	94
Figura 34. Ion molecular y pérdida de H ₂ O en la 3β -Acetil-(16β) ol-cicloartan-24-ona (9)	95
Figura 35. Principales correlaciones C-H observadas en el experimento HMBC de (12)	102
Figura 36. Pérdida de H ₂ O en la 2α -Bromo-(16β) ol-cicloartan-3,24-diona (12)	103

Índice de Espectros

Espectro 1. Espectro de masas de la 16β-hidroxi-cicloartan-3,24-diona (3)	70
Espectro 2. RMN ^1H del análogo 3	71
Espectro 3. RMN ^{13}C , DEPT135 y DEPT90 del análogo 3	72
Espectro 4. Experimento HSQC del análogo 3 (algunas correlaciones C-H observadas a un enlace de distancia).....	73
Espectro 5. Experimento HMBC del análogo 3 (algunas correlaciones C-H a tres enlaces de distancia observadas).....	74
Espectro 6. Absorción en el infrarrojo de la 16 β -hidroxi-cicloartan-3,24-diona (3).....	75
Espectro 7. Espectro de Masas de la 3β,16β-dihidroxi-cicloartan-24-ona (5)	78
Espectro 8. RMN ^1H del análogo 5	79
Espectro 9. RMN ^{13}C , DEPT135 y DEPT90 del análogo 5	80
Espectro 10. Experimento HSQC del análogo 5 (algunas correlaciones C-H observadas a un enlace de distancia).....	81
Espectro 11. Experimento HMBC del análogo 5 (algunas correlaciones C-H de dos a tres enlaces de distancia observadas).....	82
Espectro 12. Absorción en el infrarrojo de la 3 β ,16 β -dihidroxi-cicloartan-24-ona (5).....	83
Espectro 13. Espectro de masas de la 3β,16β-dihidroxi-lanost-9,11-en-24-ona (6)	88
Espectro 14. RMN ^1H del análogo 6	89
Espectro 15. RMN ^{13}C , DEPT135 y DEPT90 del análogo 6	90
Espectro 16. Experimento HSQC del análogo 6 con algunas correlaciones observadas	91
Espectro 17. Experimento HMBC del análogo 6 con algunas correlaciones C-H de dos a tres enlaces de distancia observadas.....	92
Espectro 18. Absorción en el infrarrojo de la 3β,16β-dihidroxi-lanost-9,11-en-24-ona (6)	93
Espectro 19. Espectro de masas de la 3 β -acetil-(16 β) ol-cicloartan-24-ona (9).....	96

<i>Espectro 20. RMN ¹H del análogo 9</i>	<i>97</i>
<i>Espectro 21. RMN ¹³C, DEPT135 y DEPT90 del análogo 9</i>	<i>98</i>
<i>Espectro 22. Experimento HSQC del análogo 9 con algunas correlaciones C-H observadas a un enlace de distancia</i>	<i>99</i>
<i>Espectro 23. Experimento HMBC del análogo 9 con algunas correlaciones C-H de dos a tres enlaces de distancia observadas.....</i>	<i>100</i>
<i>Espectro 24. Absorción en el infrarrojo de la 3β-acetil-(16β) ol-cicloartan-24-ona (9)</i>	<i>101</i>
<i>Espectro 25. Espectro de masas de la 2α-bromo-(16β) ol-cicloartan-3,24-diona (12)</i>	<i>104</i>
<i>Espectro 26. RMN ¹H del análogo 12</i>	<i>105</i>
<i>Espectro 27. RMN ¹³C, DEPT135 y DEPT90 del análogo12</i>	<i>106</i>
<i>Espectro 28. Experimento HSQC del análogo 12 con Algunas correlaciones C-H observadas a un enlace de distancia</i>	<i>107</i>
<i>Espectro 29. Experimento HMBC del análogo12 con algunas correlaciones C-H de dos a tres enlaces de distancia observadas.....</i>	<i>108</i>
<i>Espectro 30. Absorción en el infrarrojo de la 2α-bromo-(16β) ol-cicloartan-3,24-diona (12).....</i>	<i>109</i>

Abreviaturas y fórmulas

Ac ₂ O	Anhídrido acético
AcOEt	Acetato de etilo
Akt	Proteína cinasa serina/treonina-específica
ATP	Adenosin trifosfato
BA	Ácido betulínico
Bcl-2	Proteína 2 de la leucemia de células B
Bcl-xL	B-cell lymphoma-extra large
BF ₃ ·OEt ₂	Eterato de trifloruro de boro
c	Cuarteto
CaMKK	Proteína cinasa dependiente de calmodulina
CDDO-Me	Metil- 2-ciano-3,12-dioxooleana-1,9(11)-dien-28-oato
CDODA-Me	Metil- 2-ciano-3,12-dioxo-18β-olean-1,12-dien-30-oato
CHCl ₃	Cloroformo
Cl ₅₀	Concentración de inhibición media
CoMFA	Análisis comparativo de campo molecular
dd	Doble de dobles
DDQ	2,3-Dicloro-5,6-dicianobenzoquinona
DEPT	Mejoramiento sin distorsión por transferencia de polarización
DNA	Ácido desoxirribonucleico
EGFR	Receptor del factor de crecimiento epidérmico
EM-IE	Espectrometría de masas por impacto electrónico
G ₂ /M	Etapas del ciclo celular previo a la fase de mitosis
GTP	Guanosin trifosfato
hept	Heptuplete
HMBC	Conectividad heteronuclear a enlaces múltiples
HOMO	Orbital molecular ocupado de mayor energía
HSQC	Coherencia heteronuclear cuántica simple
IARC	Agencia internacional para para la investigación del cáncer
IR	Espectrofotometría de absorción en el infrarrojo
JAK2	Cinasa de Janus 2
LUMO	Orbital molecular desocupado de menor energía
m	Multiplete
Mcl-1	Proteína de diferenciación celular en leucemia mieloide inducida 1

MeOH	Metanol
MMP	Potencial de membrana mitocondrial
NaBH ₄	Borohidruro de sodio
NaOAc	Acetato de sodio
NF-κB	Factor nuclear-κB
Nrf2	Factor nuclear derivado de eritroide 2
OMS	Organización Mundial de la Salud
pf	Punto de fusión
P-gP	Glicoproteína P
ppm	partes por millón
PTTG1	Transformante tumoral de pituitaria 1
RMN ¹ H	Resonancia Magnética Nuclear de Hidrógeno
RMN ¹³ C	Resonancia Magnética Nuclear de Carbono-13
RNA	Ácido ribonucleico
ROS	Especies reactivas de oxígeno
s	Singulete
SEM	Error estándar de la media
SNC	Sistema Nervioso Central
Sp (1,3,4)	Factores de transcripción proteína específicos (1,3,4)
STAT3	El transductor de señal y activador de la transcripción 3
t	Triplete
THF	Tetrahidrofurano
TMS	Tetrametilsilicio
Top-I	Topoisomerasa 1
Top-II	Topoisomerasa 2
Ulk1	Proteína cinasa involucrada en la iniciación de la autofagia
VEGF	Factor de crecimiento endotelial vascular
VEGFR	Receptor del factor de crecimiento endotelial vascular
VEGFR2	Receptor del factor de crecimiento endotelial vascular 2
ZBTB10	Región de una proteína que contiene un dedo de zinc y 10 dominios BTB

Líneas celulares citadas en este texto

253J-BV:	Carcinoma de vejiga humano metastásico
26-L5:	Carcinoma murino de colon
A549:	Carcinoma humano alveolar de células epiteliales
ACHN:	Adenocarcinoma renal humano metastásico proveniente de efusión pleural
B16:	Melanoma murino
B16F10:	Melanoma murino subclon de B16 altamente metastásica
BC-1:	Linfoma de células tipo B
C33A:	Células de retinoblastoma epitelial humano
Caki-1:	Cáncer renal humano metastásico proveniente de piel
CCRF-CEM:	Leucemia linfoblástica aguda humana
ChaGo:	Carcinoma broncogénico humano
Col2:	Neoplasia maligna de colon humano
DU145:	Carcinoma humano de próstata moderadamente metastásico
EAT:	Células de tumor de ascitos de Ehrlich
HCT116:	Carcinoma colorrectal humano metastásico
HCT-15:	Adenocarcinoma colorrectal de Duke tipo C
HCT-8:	Cáncer humano colorrectal ileocecal
HeLa:	Adenocarcinoma cervical humano
Hep G2:	Carcinoma humano hepatocelular
HEp-2:	Contaminación de células HeLa
HL-60:	Leucemia promielocítica humana
HT-1080:	Fibrosarcoma humano
HT-1197:	Carcinoma humano de vejiga recurrente
HT-29:	Adenocarcinoma rectosigmoide humano
IGROV-1:	Células de adenocarcinoma de ovario endometriode humano
K562:	Leucemia mielogénica crónica humana
KATO-3:	Células de carcinoma gástrico humano metastásico
KB:	Contaminación de células HeLa
KB-3-1:	Carcinoma cérvix humano proveniente de HeLa
KB-8-5:	Carcinoma cérvix humano que sobre expresa para P-gP
KG-1:	Células de leucemia mieloide aguda humana
KU-7:	Cáncer de vejiga humano (Contaminación de células HeLa)
L-1210:	Leucemia linfocítica murina proveniente de líquido peritoneal
L3.6pL:	Células de carcinoma pancreático humano metastásico
L5158Y:	Células de linfoma murino multifarmacoresistente
LNCaP:	Adenocarcinoma prostático humano sensible a andrógenos
MCF-7:	Adenocarcinoma de mama (humano)

MDA-468:	Células de cáncer de mama humano para evaluar EGF
NB4:	Células de leucemia promielocítica humana
NCI-H460:	Carcinoma de pulmón de células grandes
P338:	Leucemia linfocítica murina
Panc-1:	Cáncer de células epiteliales de páncreas humano
Panc-28:	Cáncer Pancreático
PC-3:	Adenocarcinoma prostático humano altamente metastásico
RKO:	Células de carcinoma de colon usada para medir parámetros de p53
SF-268:	Células de astrocitoma humano
SGC-7901:	Células de cáncer gástrico humano derivado de nódulo linfático
SK-MEL-2:	Melanoma humano metastásico proveniente de piel de muslo
SK-MEL-28:	Melanoma maligno humano con mutación en BRAF
SK-MEL-3:	Melanoma maligno humano proveniente de nódulo linfático
SK-N-MC:	Células de neuroblastoma humano
SK-OV-3:	Cistoadenoma seroso de ovario humano metastásico
SW480:	Adenocarcinoma humano colorrectal de Duke tipo B
SW620:	Carcinoma humano de colon de alta tumorigenicidad en ratones
U251:	Cáncer de glioblastoma humano maligno multiforme
UO31:	Células de carcinoma renal humano
XF498:	Cáncer humano de SNC de tumor sólido
4T1:	Carcinoma mamario murino

Resumen

La argentatina B es un triterpeno con esqueleto de cicloartano. Este metabolito secundario es característico de la especie *Parthenium argentatum* y tiene documentada actividad inhibitoria en el crecimiento de larvas, así como efectos antiinflamatorios y citotóxicos a varias líneas tumorales de cáncer humano. Una de las particularidades de este triterpeno es la presencia de un anillo de oxepano, con el átomo de oxígeno entre C16 β y C24.

Como resultado de trabajos previos se logró la apertura del anillo de siete miembros, produciendo la 16 β -hidroxi-cicloarta-3,24-diona, mediante la reacción del acetato de la argentatina B con BF₃·OEt₂. Sin embargo, esta reacción presentó un bajo rendimiento, posiblemente debido a la adición en exceso de trifloruro de boro y/o al tiempo de reacción.

Con el fin de mejorar el rendimiento de esta reacción, así como la obtención de nuevos análogos con posible actividad citotóxica a líneas de cáncer humano, se decidió no solo estudiar de nuevo la reacción del acetato de argentatina B con BF₃·OEt₂ sino también se decidió realizar esta reacción con otros cuatro derivados del acetato de argentatina B.

Los resultados indicaron que en todos los análogos la apertura del anillo de oxepano se logró con buenos rendimientos. Sin embargo, la actividad citotóxica hacia la línea de cáncer de colon metastásico (HCT-116) de casi todos los nuevos compuestos fue similar a la de la argentatina B, excepto el análogo con bromo en C2 cuya actividad citotóxica fue diez veces mayor que de la argentatina B.

Adicionalmente se obtuvo la estructura del análogo (3 β ,16 β) diol-cicloartan-24-ona (**5**) mediante difracción de rayos X que confirmó la configuración relativa de los centros quirales en los análogos obtenidos.

Introducción

En México y a nivel mundial el cáncer sigue presentándose como un problema de salud pública. El término “cáncer” se emplea para referirse a más de un centenar de enfermedades distintas con origen, epidemiología, patrones de riesgo, respuesta al tratamiento y pronóstico diferentes. Este padecimiento se caracteriza por la alteración del equilibrio entre la proliferación y los mecanismos normales de muerte celular que implican el desarrollo de una clona con la capacidad de dañar e invadir los tejidos adyacentes y finalmente propagarse a tejidos distantes.

La terapéutica del cáncer se concentra en un tratamiento multidisciplinario en la que intervienen la cirugía, radioterapia, quimioterapia, entre otros. Dentro de la quimioterapia, una de las estrategias para la obtención de agentes citotóxicos es aquella referente a los llamados productos naturales y su transformación química.

Por ejemplo, unos de los fármacos quimio terapéuticos obtenidos por fuentes naturales son los alcaloides de la vinca y el paclitaxel, a los cuales se les ha realizado modificaciones químicas para mejorar su eficacia [1][2].

Otro ejemplo es la obtención por métodos químicos del etopósido y tenipósido a partir del fármaco natural anticanceroso podofilotoxina. Cabe señalar que tanto el etopósido como el tenipósido son más efectivos y menos tóxicos que la podofilotoxina [3]. Así se han obtenido fármacos clínicamente más eficaces y que abarcan nuevos blancos moleculares.

Sin embargo, aún existen límites en la quimioterapia, por ejemplo, la baja selectividad de varios fármacos, lo que se traduce en intensos efectos adversos y la resistencia que pueden generar las células cancerosas, lo que justifica la búsqueda de nuevos y mejores fármacos.

Existen diversos compuestos de origen natural que ofrecen una prometedora opción para el tratamiento del cáncer, como alcaloides, flavonoides, cumarinas, terpenos, solo por mencionar algunos. Dentro del grupo de los triterpenos, en la literatura, se mencionan metabolitos y derivados de los tipos del cucurbitano, ursano, oleanano, cicloartano, lupano que presentan actividad citotóxica.

Se sabe que algunos triterpenos inducen apoptosis. Sin embargo, en la mayoría de estos compuestos se desconoce la vía por la cual ejercen su acción citotóxica. Por lo que la concentración de inhibición media (CI₅₀) en líneas celulares de cáncer humano sigue siendo la mejor forma de medir y comparar la eficacia entre triterpenos.

Diversos trabajos indican que la especie *Parthenium argentatum*, conocida comúnmente como guayule, es una fuente rica de triterpenos del tipo lanostano y cicloartano, como las isoargentatinas y argentatinas respectivamente. Estos triterpenos se encuentran en la resina que se genera como subproducto de la obtención industrial de hule a partir del guayule, lo que la convierte en una fuente de cantidades industriales de los triterpenos presentes en la resina.

Está documentado que las argentatinas A, B y C poseen tanto actividad antiinflamatoria como citotóxica a varias líneas de cáncer humano [4]. Tomando en cuenta lo anterior, se realizó un estudio de estructura/actividad y se demostró [5] que la incorporación de bromo, los grupos formilo y nitrilo en la posición C2 de la argentatina B (Figura 1) aumentaba la citotoxicidad de la molécula.

Como parte de un estudio fotoquímico sobre la apertura del ciclopropano del acetato de la argentatina B, se hipotetizó que la apertura de éste anillo también se lograría mediante la reacción de este derivado acetilado con un ácido de Lewis como el BF₃·OEt₂. Los resultados indicaron que no procedió la apertura del anillo de ciclopropano, sino que se abrió el anillo de oxepano entre C16β y C24 del acetato de la argentatina B, obteniéndose, con un rendimiento de 10%, la 16β-hidroxi-cicloarta-3,24-diona [6].

Con el fin de conocer si la presencia del acetato en C25 de la argentatina B era indispensable para la apertura del anillo de oxepano, se decidió tratar la argentatina B con BF₃·OEt₂. Lo que llevó a la formación, en rendimiento de aproximadamente 1 % de la 16β-hidroxi-cicloartan 3,24-diona y el 3α,16β-dihidroxi-24-oxo-3,19-ciclolanost-9,11-eno como productos de la reacción. Estos derivados se formaron mediante la apertura del anillo de 7 miembros cuando la argentatina B se trató con BF₃·OEt₂. Estos hallazgos mostraron que la presencia de un grupo acetato en C25 de la argentatina B mejora el rendimiento de la reacción de apertura[7].

Recientemente se publicó la evaluación citotóxica de 16 derivados de la cicloartenona, un triterpeno que es subtipo del cicloartano con un carbonilo en C3 y sin el anillo de éter típico en las argentatinas. Los resultados de este estudio indicaron que los derivados obtenidos no poseen una actividad citotóxica significativa, inclusive aquellos derivados con halógenos fueron inactivos. Tomando en cuenta estos antecedentes, los autores de este estudio propusieron que la actividad citotóxica de este tipo de compuestos depende de la presencia de átomos de oxígeno en la cadena lateral como un anillo de éter típico de las argentatinas[8].

Tomando en cuenta lo anterior y considerando que la apertura del anillo de oxepano en argentatina B mediante $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ produce un grupo carbonilo en la cadena lateral de 8 miembros se propuso la síntesis y evaluación citotóxica de varios derivados del acetato de la argentatina B con apertura del anillo E.

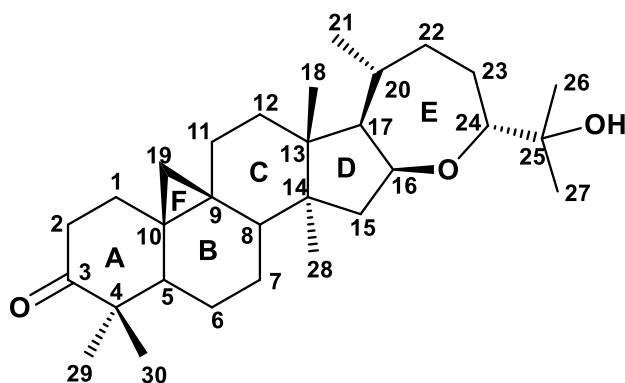


Figura 1. Argentatina B

Marco teórico

VII.I. Cáncer

El cáncer es una enfermedad multifactorial en la que las células normales adquieren características biológicas que alteran el equilibrio entre la proliferación y los mecanismos normales de muerte celular.



Figura 2. Características biológicas que se observan en las células cancerosas [9].

Mientras que, los tejidos normales controlan cuidadosamente la división celular manteniendo una homeostasis en el número de células y una arquitectura funcional se ha observado que en el caso de las células cancerosas se sobre expresan las señales proliferación de una manera sostenida y evaden los supresores de crecimiento. Resisten los mecanismos de muerte celular como la necrosis, la apoptosis y la autofagia. Adquieren una

capacidad de replicación inmortal. También se ha observado que inducen la formación de nuevos vasos sanguíneos (angiogénesis). Además de invadir y destruir los tejidos adyacentes obtienen la habilidad para diseminarse a sitios más alejados (metástasis). Alteran su metabolismo energético cambiando de la fosforilación oxidativa a glucólisis anaerobia (efecto Warburg). Evaden al sistema inmune, mantienen una inestabilidad genómica que por ejemplo les permite inactivar a los genes supresores mediante mecanismos epigenéticos. Hoy se sabe que las células del sistema inmune también constituyen parte del tumor y de alguna manera promueven la inflamación dentro de él y le ayudan en la progresión [9] (Figura 2).

En varios casos esta enfermedad implica la muerte del individuo por el deterioro de la función de los órganos vitales.

Actualmente se sabe que el término cáncer se utiliza para designar a más de un centenar de enfermedades distintas, con origen, epidemiología, patrones de diseminación, factores de riesgo, respuesta al tratamiento y pronósticos diferentes.

Por ejemplo, una manera de dividir el cáncer es en base a la edad, esto por las diferencias significativas de los tipos de cáncer que se presentan en la población menor de 20 años y los de mayor edad.

El cáncer en infantes tiene su origen principalmente en las predisposiciones hereditarias y las mutaciones genéticas como resultado de la exposición a radiación ionizante, sustancias químicas y medicamentos a los que la madre estuvo expuesta durante la gestación. Las leucemias son el cáncer de mayor frecuencia en esta población. Consiste en una neoplasia maligna de los órganos hematopoyéticos, éste se caracteriza porque los glóbulos blancos aumentan de manera desproporcionada y al mismo tiempo se presenta una disminución en la producción de glóbulos rojos y plaquetas. Esta condición puede ser potencialmente mortal por la alteración en los componentes sanguíneos y la generación de hemorragias. Sin embargo, en los últimos 30 años los avances en su detección temprana y en el tratamiento oportuno han logrado que poco más del 70% de los casos sean curables [10].

Por el contrario se estima que aproximadamente 80% de los casos en edad adulta son prevenibles [4] y aproximadamente 30% de las defunciones por esta enfermedad se deben a cinco factores de riesgo relacionados con estilos

de vida y de alimentación. Elevado índice de masa corporal, falta de actividad física, bajo consumo de frutas y verduras, tabaquismo y alcoholismo. Algunas infecciones como las del virus del papiloma humano, hepatitis B y C, también son precursoras de lesiones que pueden desencadenar la formación de tumores malignos [12]. El envejecimiento a su vez propicia la aparición de alteraciones en los mecanismos celulares y combinado con otros factores dan como resultado el desarrollo de la enfermedad.

VII.I.I. El cáncer como problema de salud mundial

El Informe Mundial sobre el Cáncer 2014 de la Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer (IARC), indica que en 2012 hubo aproximadamente 14.1 millones de casos nuevos, 8.2 millones de defunciones y 32.6 millones de personas dentro un periodo de cinco años con diagnóstico que viven con la enfermedad. África, Asia, América Central y Sudamérica presentan más del 60% de los casos nuevos y 70% de las defunciones por cáncer [13].

La Organización Mundial de la Salud (OMS) estima que dentro de los próximos 20 años los casos de cáncer aumentaran en un 70%, por lo que se han promovido campañas para su diagnóstico temprano y prevención en los sistemas de salud. Así también, el tratamiento de este malestar adquiere una gran relevancia [12].

A su vez, también la OMS señala que el cáncer es la principal causa de muerte en todo el mundo. En 2015 se produjeron 8.8 millones de defunciones a causa de esta enfermedad. Los cinco principales tipos de cáncer que causan un mayor número de fallecimientos fueron: pulmonar (1,69 millones de defunciones); Hepático (788 000 defunciones); colorrectal (774 000 defunciones); gástrico (754 000 defunciones); de mama (571 000 defunciones) [12].

VII.I.II. El cáncer como problema de salud en México

Estudios el cáncer en México realizados durante el año 2012 indicaron que, de los casos diagnosticados, el cáncer de mama es la neoplasia maligna que presenta mayor incidencia y mortandad en las mujeres. Mientras que, en los hombres es el cáncer de próstata (figura 3). Sin embargo, fue el cáncer de pulmón la enfermedad que cobró mayor número de vidas (9.7% del total) si no se toma en cuenta la división de género [14].

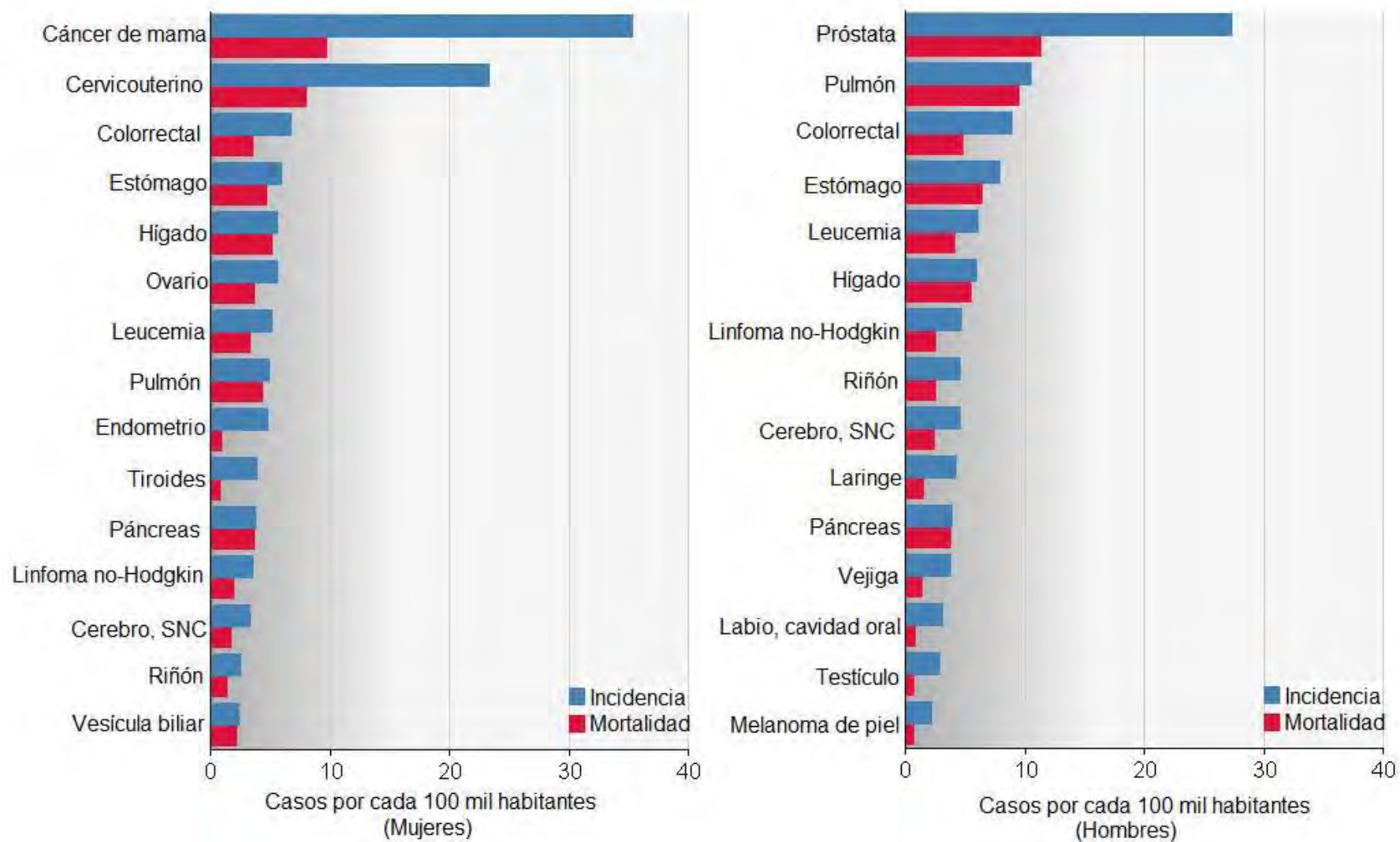


Figura 3. Datos de incidencia y mortalidad de cáncer en México en hombres y mujeres [14].

VII.I.III. Tratamiento terapéutico del cáncer

Cuando el tipo de cáncer lo permite la cirugía es un tratamiento de lo más eficaz contra el cáncer. Se estima que la resección produce el 62% de las curaciones, la radioterapia 25% y la quimioterapia 4%. La combinación de estos métodos aumenta el porcentaje [15]. En conclusión, la terapéutica del cáncer requiere de un enfoque multidisciplinario en que convergen la cirugía, la radioterapia y la quimioterapia para un tratamiento aditivo o sinérgico más efectivo.

Grupo	Mecanismos de acción	Ejemplo de Fármaco
Análogos de purinas	Desfosforilación→Disminución de la síntesis de purinas→Terminación de cadena	6-Mercaptopurina, fludarabina, cladribina
Análogos de pirimidinas	Inhibición de la DNA polimerasa y RNA reductasa→Apoptosis	Citarabina(Ara-C) y gemcitabina
Análogos de fluoropirimidinas	Inhiben timidilato sintetasa→Afecta la síntesis y reparación del DNA→Apoptosis	5-Fluorouracilo, capecitabina, tegafur, S-1
Antifolatos	Inhiben la dihidrofolato reductasa y otras vías→Disminuye la síntesis proteica→Forman poliglutamatos→Apoptosis	Metotrexato, pemetrexed
Alcaloides de la vinca	Despolimerizan microtúbulos y complejos mitóticos→Detienen la mitosis→Apoptosis	Vincristina, vinblastina, vinorelbina
Taxanos y epotilonas	Inhiben la despolimerización de tubulinas→Elongación de cadenas→Apoptosis	Paclitaxel, docetaxel, cabazitaxel, ixabepilona,
Inhibidores topoisomerasa I	Inhiben Top-I→súper enrollamiento de cadena simple de DNA →Apoptosis	Topotecan, Irinotecan
Antraciclinas	Inhiben Top-II→Súper enrollamiento y rompimiento de doble cadena→Radicales libres→Lesión al DNA→Apoptosis	Doxorrubicina, daunorrubicina, epirubicina, doxorrubicina liposomal
Antracenedionas y antibióticos	Inhiben Top-II→Ruptura de cadena doble sin radicales libres→Apoptosis	Mitoxantrona, dactinomicina, bleomicina, mitomicina C
Epipodofilotoxinas	Inhiben Top-II→Destrucción de cadena doble →Apoptosis	Etopósidos (VP16), tenopósido
Platinados	Formación de -DNA (N7 adenina o guanina)→Ruptura de cadena→Apoptosis	Cisplatino, carboplatino, oxaliplatino, satraplatino, picoplatino
Alquilantes	Enlace del grupo alquilo con bases del DNA, reacciones cruzadas intercadena, formación de mono ductos en N7 guanina y de radicales libres→Daño de cadena→Apoptosis	Tiotepa, busulfán, dacarbazina(DTIC), temozolomidina, procarbazona, ciclofosfamida, ifosfamida, melfalán, carmustina, lomustina, estramustina

Tabla 1. Fármacos utilizados actualmente en quimioterapia [15].

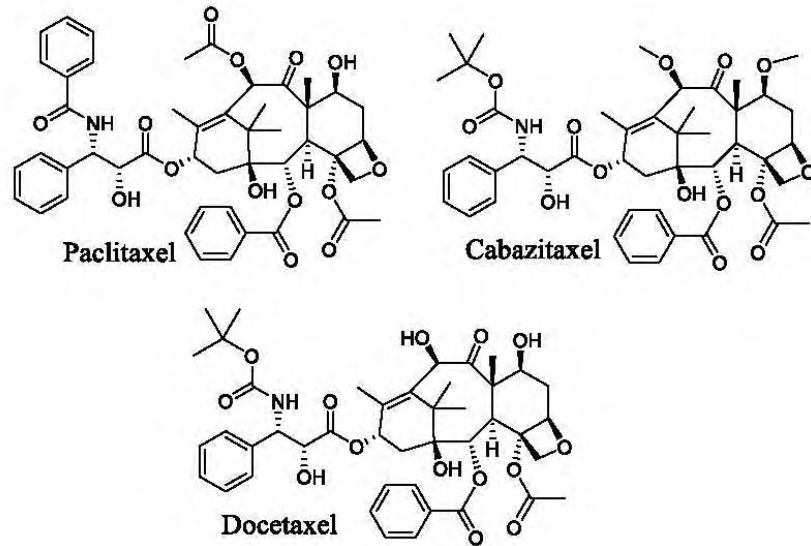
Una metodología que combina las ventajas de la resección oncológica, la radioterapia y quimioterapia, es la terapia neoadyuvante, útil en ciertas neoplasias. La quimio-radioterapia neoadyuvante o preparatoria disminuye el volumen tumoral, lo cual disminuye la resección completa con menor morbilidad y facilita un ensayo *in situ* de la sensibilidad a los fármacos utilizados en la quimioterapia [15].

El tratamiento de quimioterapia debe ser monitoreado, tanto en la respuesta tumoral como los efectos adversos, esto debido a que los agentes quimioterapéuticos (Tabla 1) en su mayoría son inespecíficos, es decir, no pueden discriminar una célula normal de una cancerosa. Otro problema es la alta toxicidad que presentan, además de la resistencia que generan las células cancerosas a dichos medicamentos. Por las razones anteriores es necesaria la búsqueda de nuevos fármacos.

Cabe destacar que algunos de los fármacos mencionados provienen de fuentes naturales, el más significativo de estos ejemplos es el paclitaxel aislado del tejo del Pacífico (*Taxus brevifolia*). El cabazitaxel y el docetaxel son derivados semisintéticos del paclitaxel (Figura 4). La obtención de derivados por métodos químicos sigue siendo una herramienta para mejorar la eficacia de los fármacos provenientes de fuentes naturales. Generalmente los derivados disminuyen la toxicidad, mejoraran la interacción ligando-receptor y aumentan la solubilidad, entre otros aspectos.

Línea celular	CI ₅₀ (nM)		
	Paclitaxel	Docetaxel	Cabazitaxel
A549	18.73	1.560	1.483
HeLa	3.206	2.750	1.799
MCF-7	1.290	1.640	1.187

Tabla 2. Comparación de CI₅₀ de los taxanos mencionados [16] [17].



Taxus brevifolia



Taxus brevifolia Nutt. – Pacific yew. SHRUBS or small TREES to about 20 m tall; LEAVES (a) to 3 cm long; POLLEN CONES (b) to 5 mm long; ARILS (c) to 10 mm long; SEEDS (d) to 7 mm long; BARK (e).

Figura 4. Taxanos y *Taxus brevifolia*.

VII.II. Triterpenos tetracíclicos y pentacíclicos con potencial terapéutico

En la naturaleza existen diversas fuentes de triterpenos tetracíclicos y pentacíclicos. En la literatura la actividad biológica de varios de estos triterpenos está estudiada como antiinflamatorios, inmunomoduladores, antidiabéticos, solo por mencionar algunos [18]. En el presente trabajo sólo se indican algunos ejemplos tomando en cuenta la actividad citotóxica.

VII.II.I. Triterpenos pentacíclicos

Las principales estructuras que presentan los triterpenos pentacíclicos son friedelano, oleanano, ursano y lupano entre otros (Figura 5). Algunos triterpenos pentacíclicos como el ácido betulínico (BA), el ácido oleanólico y el ácido ursólico son potentes agentes anticancerosos y tienen actividad antiproliferativa, antiangiogénica y proapoptótica [19]. A su vez, se tienen documentados triterpenos pentacíclicos que inducen apoptosis e inhiben el crecimiento de células cancerosas provenientes tanto de tumores sólidos como no sólidos [19].

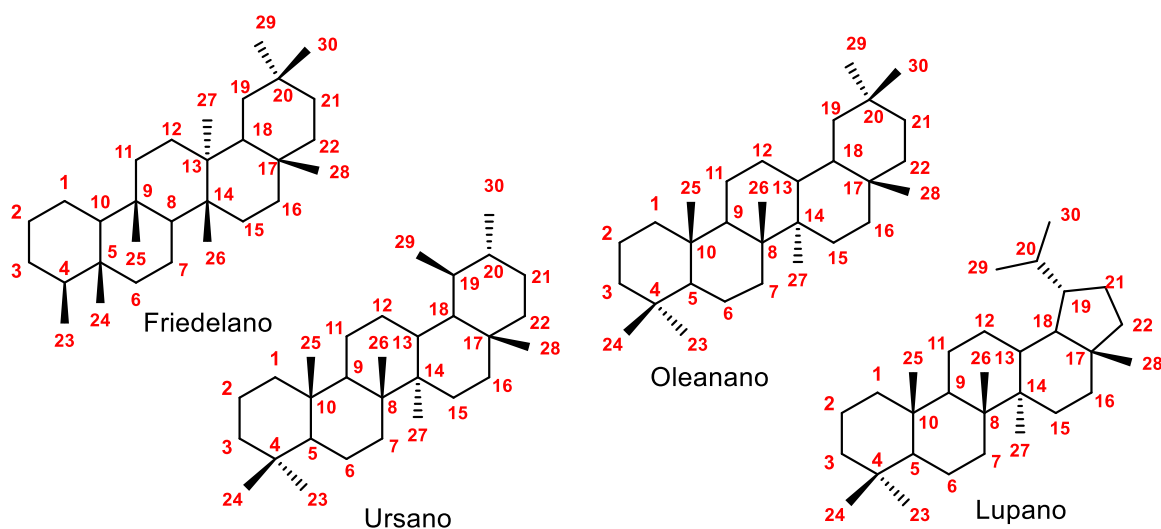
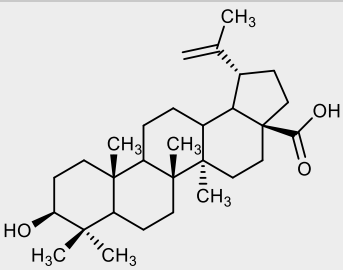
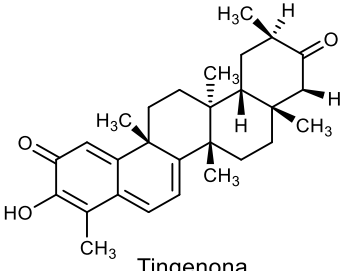
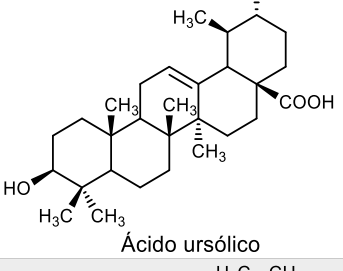
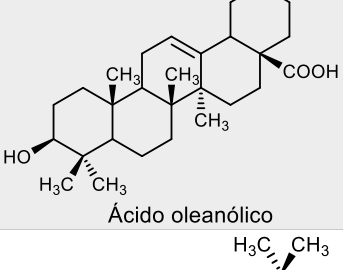
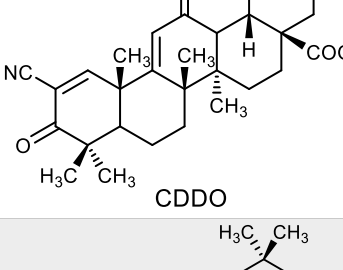
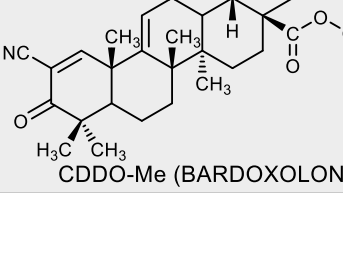


Figura 5. Estructuras de algunos triterpenos pentacíclicos

Compuesto	Origen	Citotoxicidad	Referencia
 <p>Ácido betulínico</p>	<i>Pulsatilla chinensis</i>	B16(CI ₅₀ 76µg/mL) A549(CI ₅₀ 146µM) DU145(CI ₅₀ 196µM) MCF7(CI ₅₀ 143µM) SK-Mel2 (CI ₅₀ 21µM)	[20],[21]
 <p>Tingenona</p>	<i>Kokoona ochracea</i>	BC-1(CI ₅₀ 0.3µg/mL) HT-1080(CI ₅₀ 0.7µg/mL) LU-1(CI ₅₀ 0.6µg/mL) COL-2(CI ₅₀ 0.9µg/mL) KB (CI ₅₀ 0.5µg/mL) P-338(CI ₅₀ 0.1µg/mL) LNCaP (CI ₅₀ 0.2µg/mL)	[22]
 <p>Ácido ursólico</p>	<i>Physocarpus intermedius</i>	A549(CI ₅₀ 4.2µg/mL) SK-OV-3(CI ₅₀ 3.6µg/mL) SK-MEL-3(CI ₅₀ 4.6µg/mL) XF498 (CI ₅₀ 4.5µg/mL) HCT15 (CI ₅₀ 4.4µg/mL)	[23]
 <p>Ácido oleanólico</p>	<i>Physocarpus intermedius</i>	A549(CI ₅₀ 16.4µg/mL) SK-OV-3(CI ₅₀ 12.4µg/mL) SK-MEL-3(CI ₅₀ 18.5µg/mL) HCT15 (CI ₅₀ 12.1µg/mL)	[23]
 <p>CDDO</p>	Semisíntesis	KB-3-1 (CI ₅₀ 1.2µM) KB-8-5 (CI ₅₀ 3.1µM) HeLa (CI ₅₀ 2.8µM) SK-N-MC (CI ₅₀ 4.9µM)	[24]
 <p>CDDO-Me (BARDXOLONA)</p>	Semisíntesis	HL-60 (CI ₅₀ 0.4µM) KG-1 (CI ₅₀ 0.4µM) NB4 (CI ₅₀ 0.27µM)	[25]

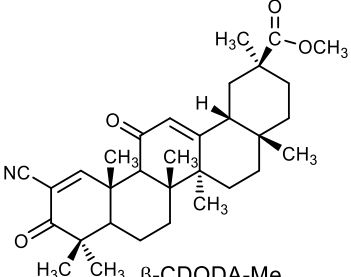
	Semisíntesis	253JB-V (CI ₅₀ 0.25µM) KU7 (CI ₅₀ 1.59µM) Panc-1 (CI ₅₀ 1.22µM) Panc-28 (CI ₅₀ 1.80µM)	[26]
---	--------------	---	------

Tabla 3. Algunos triterpenos pentacíclicos con actividad citotóxica

La metil-bardoxolona CDDO-Me (Tabla 3) es un derivado semisintético obtenido a partir del ácido oleanólico el cual actúa como modulador de la vía Nrf2. El factor de transcripción Nrf2 regula la expresión inducible de numerosos genes de enzimas detoxificantes y antioxidantes. Adicionalmente, en ratones, se ha evaluado la actividad de CDDO-Me como inductor de genes involucrados en la citoprotección de hígado, pulmón, mucosa de intestino delgado, así como del córtex cerebral. Algunos estudios sugieren que este tipo de compuestos disminuyen la expresión de la ciclina D1, Bcl-2, survivina y genes angiogénicos como VEGF y su receptor VEGFR[19][27][28].

El tratamiento de las cepas RKO y SW480 de cáncer de colon con ácido betulínico (BA) disminuyó la expresión de ciclina D1, survivina, VEGF, EGFR, PTTG-1 y la subunidad p65 de NFκB [29].

Se observaron resultados similares con CDDO y CDODA-Me. Es decir disminuyen la expresión de genes asociados a la proliferación celular (ciclina D1, EGFR), supervivencia (bcl-2, survivina), angiogénesis (VEGF, VEGFR) e inflamación (p65)[30].

Algunos de los elementos anteriormente mencionados son dependientes de los factores de transcripción proteína-específicos (Sp).

Los factores de transcripción Sp1, Sp3 y Sp4 son críticos para el desarrollo temprano del embrión y la disminución de Sp1 va asociado con un aumento de la edad. Sin embargo, estos factores son altamente expresados en tumores y células cancerosas, mientras que en los xenotransplantes se observan mínimos niveles [19],[31].

Se ha demostrado que la expresión de Sp1 es baja en fibroblastos humanos no obstante se incrementa de 8-18 veces en células a las que se les induce carcinogénesis [32].

Se cree que la actividad anticancerosa de BA, CDODA-Me y CDDO-Me pueden ser debido a una regulación a la baja de Sp1, Sp3, Sp4 y los genes pro oncogénicos regulados por Sp. Varios de estos son blancos de fármacos inhibidores de cinasa y neutralización de anticuerpos [19].

El tratamiento de las cepas Panc1, Panc28 y L3.6pL (páncreas) con CDDOMe disminuyó la expresión de Sp1, Sp3 y Sp4, VEGF regulado por Sp, ciclina D1, VEGFR2 y survivina. También el tratamiento de células de cáncer de colon con BA o CDDO-Me disminuyó los valores de MMP, indujo ROS, disminuyó microRNA-27a e indujo la expresión de ZBTB10 con una consecuente regulación a la baja de Sp1, Sp3 y Sp4 [33] (Figura 6).

Lo anterior pudiera ser indicativo de un blanco molecular sobre la mitocondria de los triterpenos pentacíclicos y la subsecuente inducción de ROS sobre algunos tipos de cáncer para la regulación a la baja de los factores de transcripción Sp.

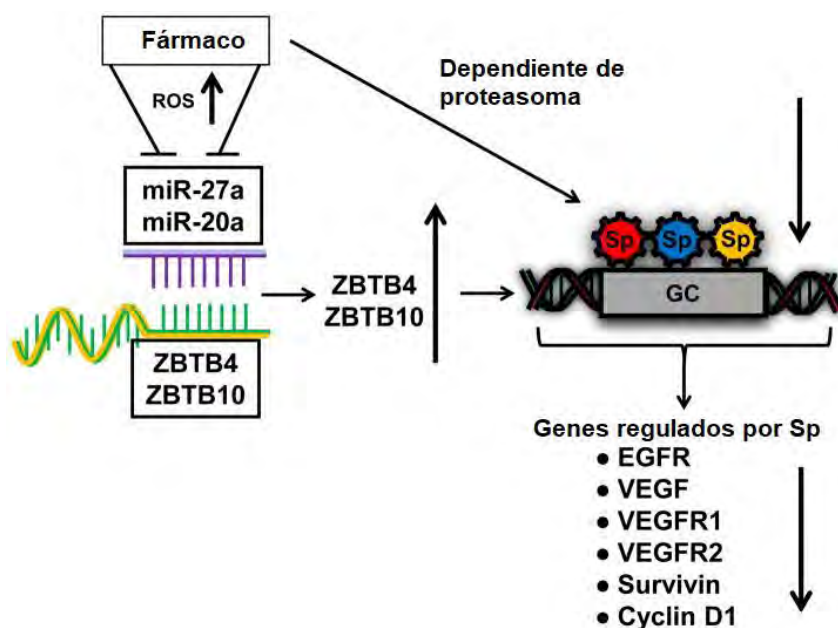


Figura 6. Producción de ROS y regulación a la baja de factores de transcripción [26].

Por otro lado, un estudio computacional de estructura-actividad *in vitro* muestra que la actividad citotóxica de los triterpenos tipo celastroide está correlacionada con el efecto electrónico que involucra la adición nucleofílica en la posición del carbono 6; las energías de frontera (E_{HOMO} y E_{LUMO}), la diferencia de energía HOMO-LUMO, el momento dipolar, la carga en el C6 y la electrofilicidad en C6 [34].

VII.II.II. Triterpenos subtipos del cucurbitano

Una división dentro de los triterpenos que tiene bien documentada actividad citotóxica contra varias líneas celulares cancerosas es la del grupo de las cucurbitacinas (tabla 4), éstas tienen una estructura 19-(10→9β)-abeo-10α-lanost-5-eno (Figura 7) con grupos carbonilo en C11, C22 y grupos hidroxilo en C16, C20 y C25.

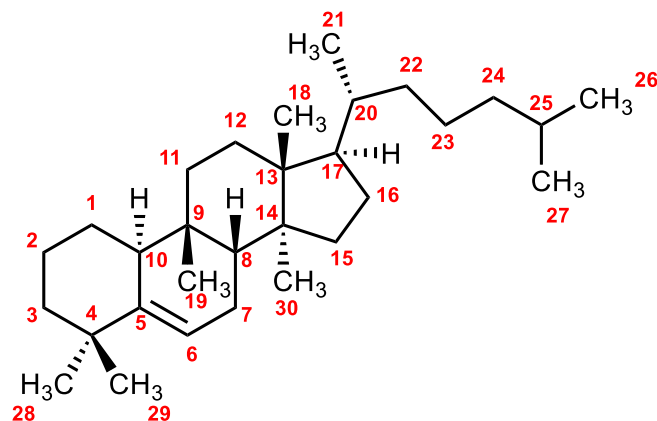
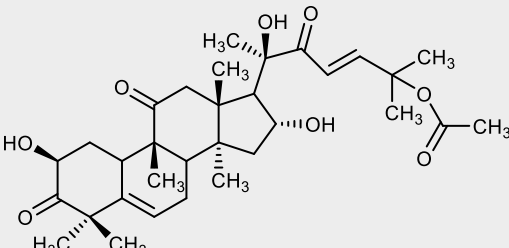
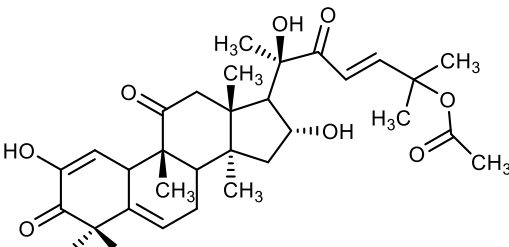


Figura 7. Esqueleto de triterpeno tipo cucurbitano

Metabolito	Origen	Citotoxicidad	Referencia
 <p>Cucurbitacina B</p>	<i>Marah oreganus</i>	KB (CI ₅₀ 25x10 ⁻⁶ µg/mL) PC-3 (CI ₅₀ 35nM)	[35][36]
 <p>Cucurbitacina E</p>		KB (CI ₅₀ 4.5x10 ⁻⁷ µg/mL) SF268(CI ₅₀ 27nM) CCRFCEM (CI ₅₀ 32nM) H460(CI ₅₀ 26nM) HT-29(CI ₅₀ 23nM) SK-MEL-28 (CI ₅₀ 21nM) IGROV1(CI ₅₀ 29nM) Caki-1 (CI ₅₀ 22nM) PC-3 (CI ₅₀ 50nM)	[35][36]

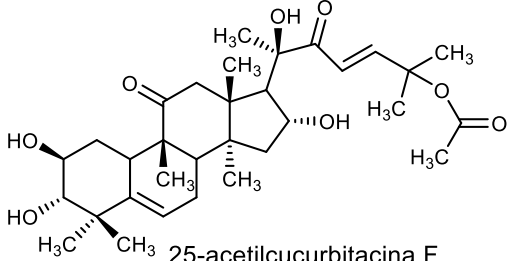
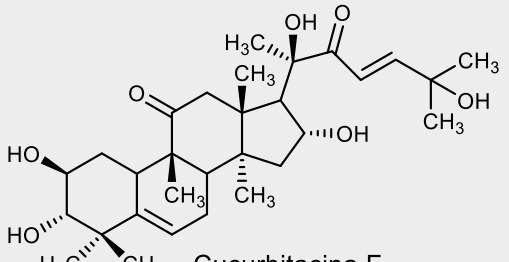
 <p>25-acetylcurbitacina F</p>	<i>Sloanea zuliaensis</i>	MCF-7 (CI ₅₀ 0.03µg/mL) NCI-H460 (CI ₅₀ 0.06µg/mL) SF268 (CI ₅₀ 0.01µg/mL)	[37]
 <p>Cucurbitacina F</p>	<i>Elaeocarpus dolichostylus</i>	KB (CI ₅₀ 0.07µg/mL) P-388(CI ₅₀ 0.04µg/mL)	[38]

Tabla 4. Algunas cucurbitacinas con actividad citotóxica

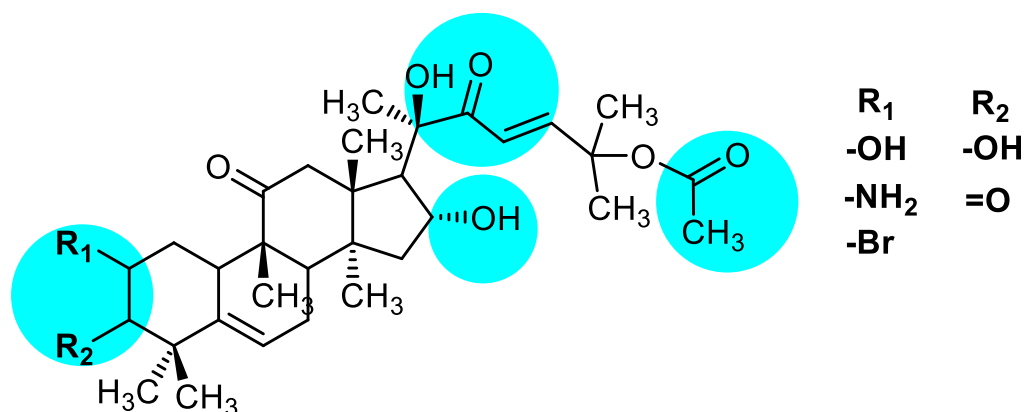


Figura 8. Grupos farmacóforos involucrados en la actividad de las cucurbitacinas

Se determinó que el doble enlace entre el C23 y C24 es necesario para la actividad de la cucurbitacina F, así también, los grupos hidroxilo en C2 y C3, el carbonilo en C3 y el 16 α -hidroxilo (Figura 8). Mientras que en la cadena lateral la presencia de los grupos 20 β -hidroxilo, la cetona α,β -insaturada y el grupo acetilo en 25 [39].

Se hipotetizó que el grupo hidroxilo del C16 forma un puente de hidrógeno con la cetona del C22, lo que activa a la cetona α,β -insaturada hacia ataques nucleofílicos y por tanto la alquilación de grupos tiol [40]. En derivados publicados de las cucurbitacinas, es interesante notar que los únicos que

conservaron la actividad fueron los que se les sustituyó un grupo -NH₂ y -Br en el carbono 2 [41].

El efecto observado por las cucurbitacinas es la inhibición de la síntesis de proteínas y la ruptura de las estructuras de actina. La cucurbitacina E desorganiza el citoesqueleto de actina en la cepa PC-3 [36].

Estudios sobre las vías de señalización parecen indicar que el mecanismo de acción de las cucurbitacinas es sobre la vía de señalización JAK-STAT, cabe señalar que en las células cancerosas existe una sobre señalización de JAK-STAT, particularmente STAT3 y STAT5[42][43]. Particularmente en el caso de STAT3, las citosinas se unen a un receptor de membrana que induce la fosforilación de JAK2 seguida de la fosforilación y activación de STAT3 el cual se dimeriza para translocarse al núcleo y controlar la transcripción directamente mediante la unión al ADN. (Figura 9). Dentro del núcleo induce la síntesis de la proteína antiapoptótica Bcl-xL, Mcl-1, survivina y la proliferación de la proteína inductora ciclina D1.

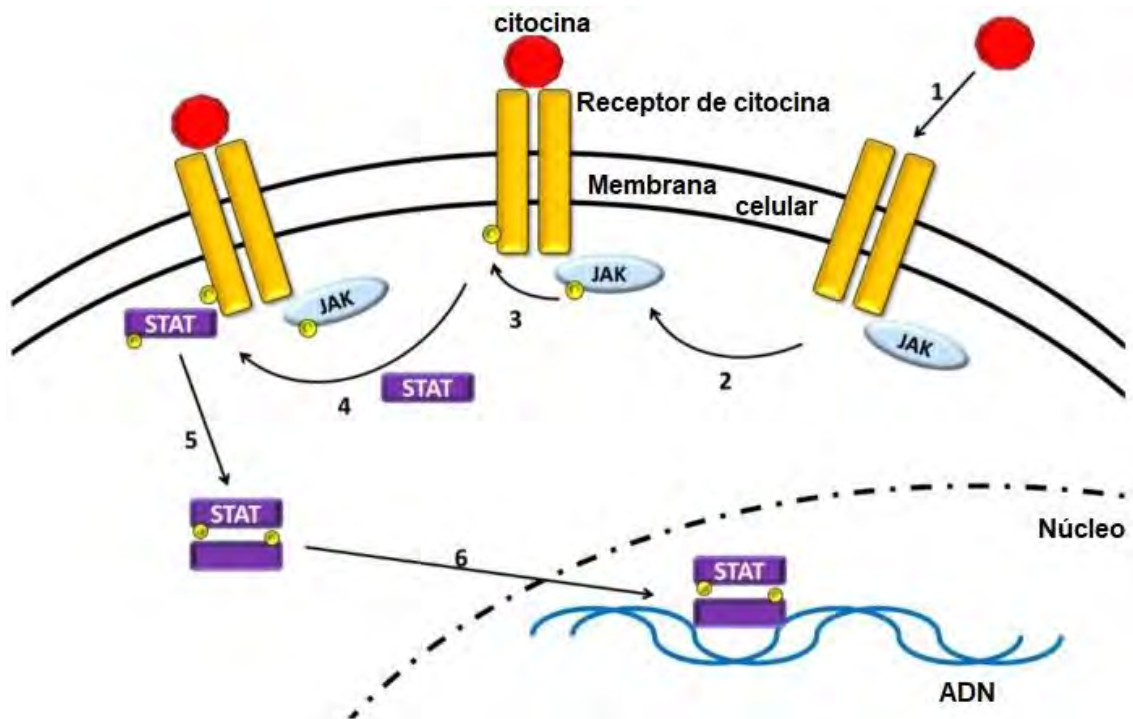


Figura 9. Señalización JAK/STAT[44].

VII.II.III. Triterpenos subtipos del alisol

Alisma Plantago-aquatica es una planta acuática de los pantanos de China, Corea, Japón y Mongolia. En Japón se utiliza como diurético y antiinflamatorio y contiene metabolitos que son subtipos del alisol, a los que se les atribuye la principal acción farmacológica [45].

Sin embargo, el alisol A (Figura 10) fue inactivo en MCF-7 y HeLa, mientras que los derivados acetilados en C23 y C24 fueron activos. Concluyendo que dichas acetilaciones son esenciales para la actividad de los alisoles [46].

Lee et al., sintetizaron una serie de derivados del acetato de alisol B, encontrando que la adición de un grupo hidroximiino en el C3 aumenta la actividad citotóxica en algunas líneas celulares (tabla 5) [47].

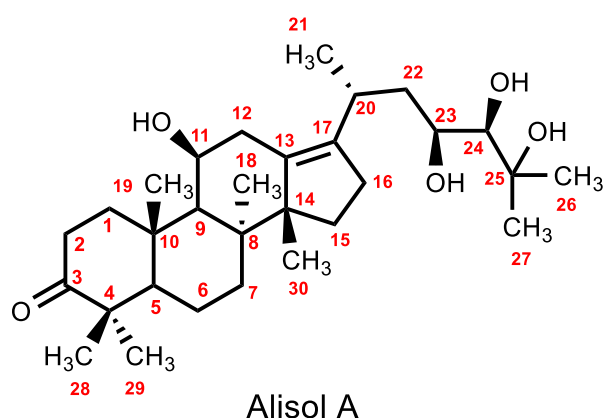


Figura 10. Estructura del alisol A

Un estudio estructura actividad mostró que el 23-acetato de alisol C inhibió la actividad enzimática de la farnesilprotein-transferasa, un interesante blanco oncológico porque es una proteína crítica para el progreso del ciclo celular perteneciente al grupo de las proteínas pequeñas ligadas a GTP [45]

El acetato de alisol B induce la muerte celular mediante apoptosis tanto en las vías extrínseca e intrínseca, en las células de PC-3 [48].

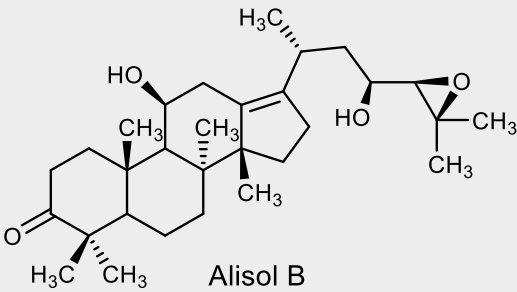
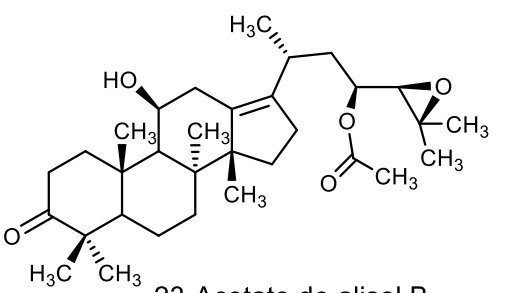
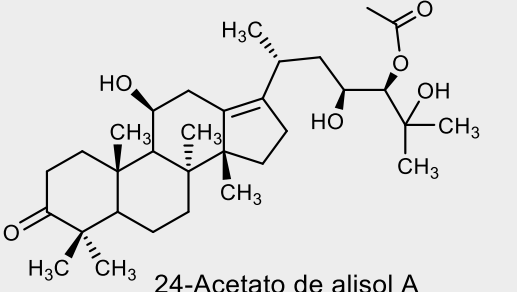
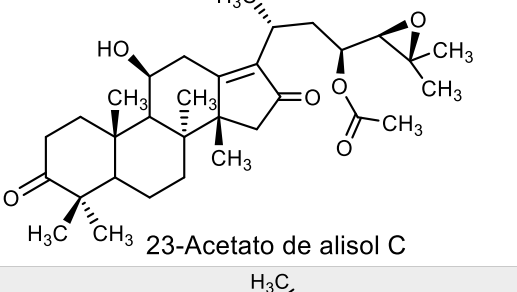
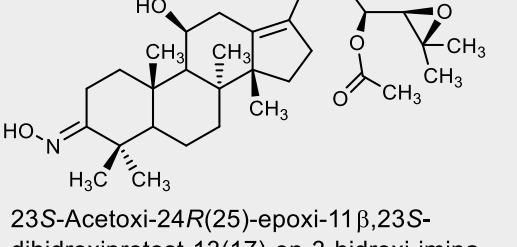
Compuesto	Origen	Evaluación	Referencia
 <p>Alisol B</p>	<i>Alisma plantago-aquatica</i>	SK-OV-3 (CI507.5µg/mL) B16-F10 (CI507.5µg/mL) HT 1080 (CI504.9µg/mL) L1210 (CI5018µg/mL) MCF-7 (CI5029.9µM) HeLa (CI5024.3µM)	[49][46]
 <p>23-Acetato de alisol B</p>		SK-OV3 (CI5014µg/mL) K562 (CI5018µg/mL) L1210 (CI5016µg/mL) MCF-7 (CI5028.9µM) SGC-7901 (CI5030µM) HeLa (CI5021.0µM) PC-3(CI5013.5µM)	[49][46][48]
 <p>24-Acetato de alisol A</p>		SK-OV-3 (CI5010µg/mL) A549(CI5014µg/mL) K562(CI5015µg/mL) B16-F10 (CI5019µg/mL) HT 1080 (CI5015µg/mL) L1210 (CI5018µg/mL) MCF-7 (CI5038.2µM) HeLa (CI5027.2µM)	[49][46]
 <p>23-Acetato de alisol C</p>		SK-OV-3 (CI5018µg/mL) B16-F10 (CI5018µg/mL) L1210 (CI5014µg/mL)	[49]
 <p>23S-Acetoxi-24R(25)-epoxi-11β,23S-dihidroxi-protost-13(17)-en-3-hidroxi-imina</p>	Semisíntesis	SK-OV-3 (CI508.7µg/mL) A549(CI5010µg/mL) B16-F10 (CI505.2µg/mL) HT 1080 (CI503.1µg/mL) L1210 (CI5019µg/mL)	[47]

Tabla 5. Subtipos y derivados del alisol con actividad citotóxica

El acetato de alisol B inhibió a las células de cáncer gástrico (SGC-7901) mediada por una baja fosforilación de Akat, concluyendo en la activación de las caspasas 9 y 3 para inducir apoptosis [50].

Así también, el acetato de alisol B revirtió la resistencia de células de carcinoma hepático multiresistente (HepG2-DR) y de leucemia eritromieloblastoide (K562-DR) a la vinblastina, deteniendo a las células en la etapa G₂/M, bloqueando el flujo de la bomba glicoproteína-P (P-gP) ATP-dependiente [51] [52].

La regulación de la autofagia es un blanco interesante. Se sabe experimentalmente que el alisol B aumentó la concentración de Ca²⁺ en el citoplasma de células MCF-7 mediante el bloqueo de la bomba del retículo sarcoplásmico (Ca²⁺-ATPasa). Resultando en la inducción de autofagia a través de la proteína cinasa dependiente de calmodulina (CaMKK) que fosforila a la proteincinasa 5'-AMP activada (AMPK) que a su vez fosforila y se une a la cinasa iniciadora de la autofagia mamífera(Ulk1) [46].

VII.II.IV. Triterpenos subtipos del lanostano

El lanostano tiene una estructura de 4,4,14-trimetilcolestano (Figura 11). En la tabla 6 se representan algunos de sus metabolitos con actividad citotóxica.

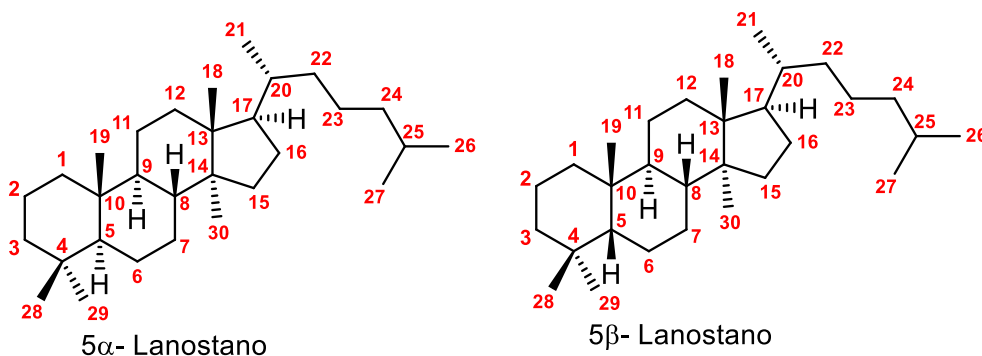


Figura 11. Estructura de los triterpenos del lanostano

Triterpeno	Origen	Evaluación	Referencia
<p style="text-align: center;">Daedalosido B</p>	<i>Daedalea dickisii</i>	HL-60 (CI50 9.4μM) HCT-15(CI50 55μM)	[53]
<p style="text-align: center;">Ácido dehidrotrametenólico</p>	<i>Poria cocos</i>	Rat2(CI50 39.2μM) J82(CI50 26.7μM)	[54]
<p style="text-align: center;">Ácido ganodérico Me</p>	<i>Ganoderma lucidum</i>	95-D (CI50 55.1μM) HCT-116p53+/+ (CI50 36.9μM) HCT-116p53-/(CI50 71.0μM) HeLa (CI50 14.8μM) 95-D (CI50 55.1μM) H1299 (CI50 83.7μM)	[55]

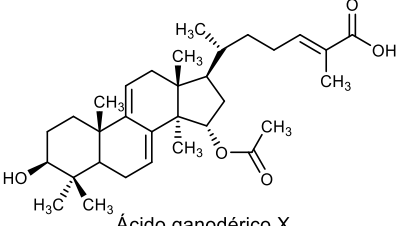
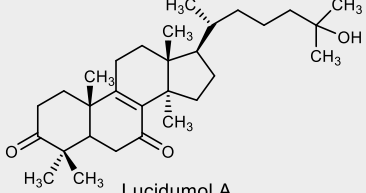
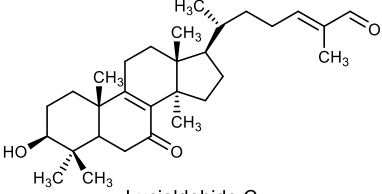
 <p>Ácido ganodérico X</p>		HuH-7(CI50 20.3µg/mL) HCT-116(CI50 38.3µg/mL) Raji (CI50 39.2µg/mL) HL60 (CI50 26.5µg/mL)	[56]
 <p>Lucidumol A</p>		Meth-A (CI50 4.2µg/mL) LLC (CI50 2.3µg/mL)	[57]
 <p>Lucialdehido C</p>		LCC (CI50 10.7µg/mL) T-47D (CI50 4.7µg/mL) S-180 (CI50 7.1µg/mL) Meth A (CI50 3.8µg/mL)	[58]

Tabla 6. Actividad citotóxica de triterpenos subtipos del lanostano

Las estructuras anteriormente mencionadas parecen confirmar que la presencia de los carbonilos en las posiciones 3 y 7 mejora la actividad citotóxica en los lanostanos.

Se sabe que la proteína proapoptótica P-53 es estimulada por algunos lanostanos, por ejemplo, el ácido ganodérico X en células cancerosas “wildtype”. El mecanismo es todavía desconocido, pero se cree que la estructura planar de estos compuestos pueda ocasionar daño en el ADN e inhibir la actividad enzimática de la topoisomerasa 2 [56].

VII.II.V. Triterpenos subtipos del cicloartano

Se puede observar que los cicloartanos (Figura 12) presentan un enlace covalente entre los carbonos C19 y C9 formando un ciclopropano, esto impide la formación de un doble enlace en las posiciones C8-C9 y C9-C11, lo que implica una disminución en la planaridad de la molécula y posiblemente este aspecto estructural es importante para inducir la muerte celular por vías diferentes a la topoisomerasa.

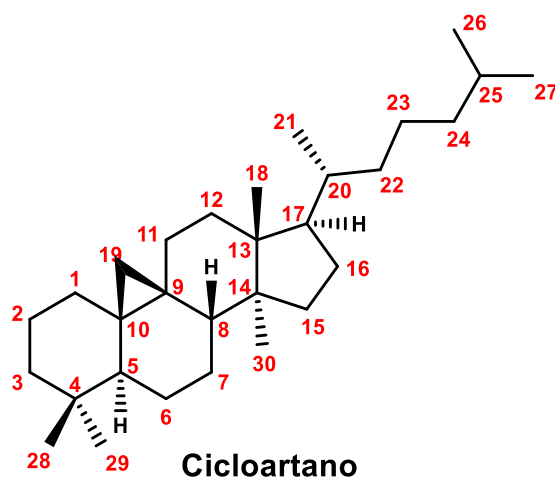
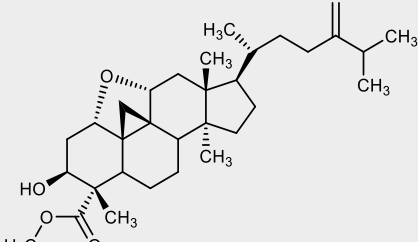
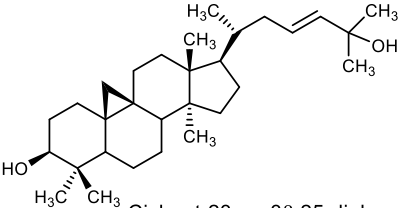


Figura 12. Estructura de cicloartano

A continuación, se muestra una serie de triterpenos del cicloartano con actividad citotóxica.

Triterpeno	Origen	Evaluación	Referencia
 <p>Metilquadrangularato D</p>	<i>Combretum quadrangulare</i>	26-L5 (CI50 5.4µM)	[59]
 <p>Cicloart-23-en-3β,25-diol</p>		EAT (CI50 15µM)	[60]

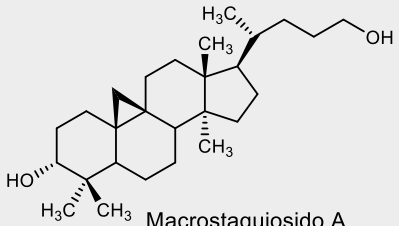
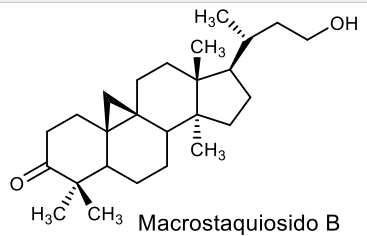
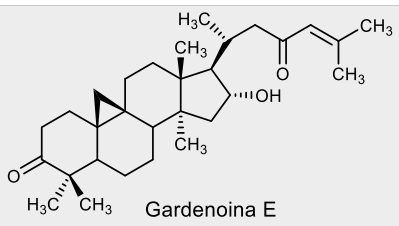
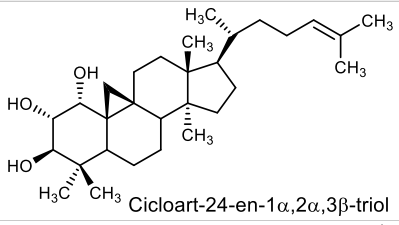
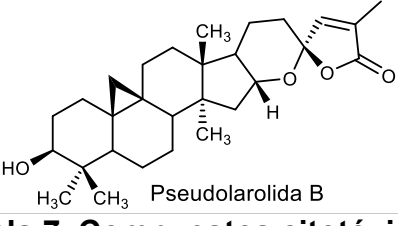
 <p>Macrostaquiosido A</p>	<i>Mallotus macrostachyus</i>	KB (CI50 7.12 µg/mL) LU-1(CI50 6.40µg/mL)	[61]
 <p>Macrostaquiosido B</p>		KB (CI50 5.15 µg/mL) LU-1(CI50 4.31 µg/mL)	[61]
 <p>Gardenoina E</p>	<i>Gardenia obtusifolia</i>	SW620 (CI50 5.5µM) KATO-3(CI50 7.2µM) CHAGO (CI50 5.5µM)	[62]
 <p>Cicloart-24-en-1α,2α,3β-triol</p>	<i>Commiphora oppobalsamum</i>	PC-3 (CI50 5.7µM) LNCaP (CI50 22.1µM)	[63]
 <p>Pseudolarolida B</p>	<i>Pseudolarix kaempferi</i>	P338 (CI50 0.79µg/mL) A549 (CI50 0.67µg/mL) HCT-8 (CI50 0.73µg/mL) KB (CI50 0.49µg/mL)	[64]

Tabla 7. Compuestos citotóxicos subtipos del cicloartano

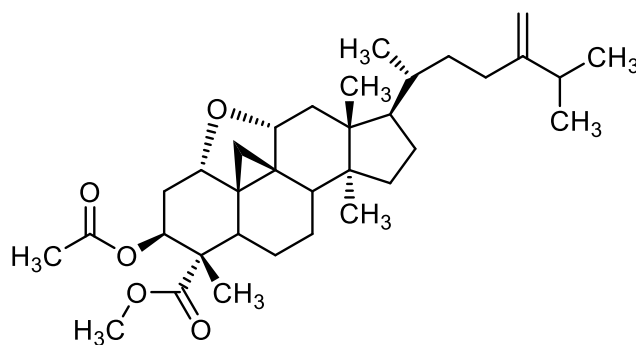


Figura 13. Acetilmetilquadrangularato D

En acetilmetilquadrangularato D (Figura 13) es menos activo (CI_{50} 77.77 μ M) respecto al metilquadrangularato D en la misma cepa celular evaluada. También se observa disminución en la citotoxicidad el derivado acetilado de cicloart-24-en-1 α ,2 α ,3 β -triol (tabla 7), esto podría indicar que una acetilación en el C3 disminuye la actividad [59].

Se observó inhibición del P-gP en la cepa L5178Y (multifarmaco-resistente) con cicloart-23-en-3 β ,25-diol (tabla 7) de *Euphorbia portlandica* en concentración de 40 μ g/mL [65]

En el caso de los macrostaquiósidos se puede observar que la presencia de una olefina no es necesaria para la citotoxicidad, pero una hidroxilación la pudiera favorecer.

Antecedentes

VII.III. Estudios previos sobre *Parthenium argentatum* (guayule) y la argentatina B

P. argentatum (Figura 14) es un arbusto propio de las zonas áridas del norte de México y del sur de EUA, pertenece a la familia *Asteraceae* y fue clasificada en 1852 por Assa Gray. Su nombre común “guayule” significa “planta que contiene hule”.



Figura 14. Planta de guayule [66].

El guayule se explotó comercialmente desde inicios del siglo pasado (1903-1951), y el aprovechamiento industrial del hule obtenido de esta planta alcanzó su auge durante la segunda guerra mundial, posteriormente su uso disminuyó debido a la llegada de los polímeros sintéticos. En México los estudios relacionados con el guayule iniciaron en 1970. Estos estudios tuvieron como

conclusión la creación de una planta piloto en 1976, que debido a la crisis financiera cerró en 1981 [67].

Sin embargo, el guayule ha recobrado interés debido a que el hule que se extrae de este arbusto carece de las proteínas alergénicas que presenta el que se obtiene del árbol *Hevea brasiliensis* además contar con la elasticidad que no contienen los polímeros sintéticos [66].

La resina es un subproducto del proceso de extracción del hule y presenta compuestos aromáticos, terpenos y ácidos grasos. Por cada kilogramo de hule que se obtiene del proceso también se obtiene un kilogramo de resina [68]. Este desecho industrial contiene una gran cantidad de compuestos triterpénicos que son subtipos del lanostano y cicloartano [69] (Figura 15). También, está documentada la actividad citotóxica contra algunas líneas de cáncer humano y la actividad antiinflamatoria en el modelo TPA, de las argentatinas A, B y C [4].

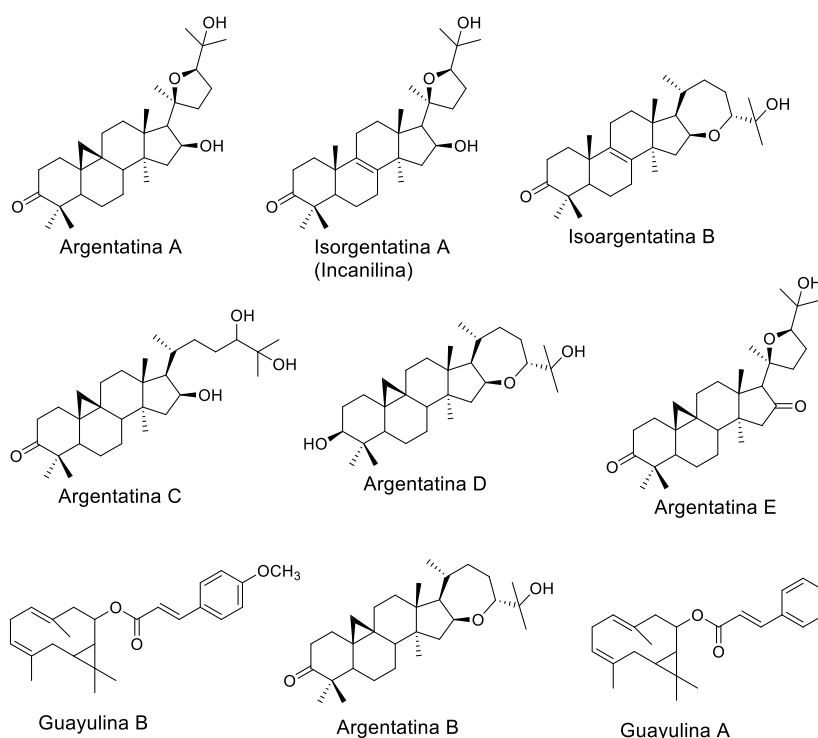


Figura 15. Metabolitos aislados del guayule

Los principales metabolitos aislados de la resina de guayule son las argentatinas. La argentatina B es un triterpeno subtipo del cicloartano con actividad antiinflamatoria y citotóxica [70] y está presente en dicha resina con

un rendimiento de entre el 4-7% [68]. Estudios previos de la argentatina B indicaron que presenta actividad antitumoral en ratones nu/nu xenotrasplantados con células de cáncer HCT-15 y PC-3. Se determinó que la muerte celular inducida por el metabolito fue por senescencia [71].

Posteriormente se informó de la síntesis de 14 derivados de argentatina B (Figura 16) con modificaciones en la posición C2 del anillo A. Tomando en cuenta los resultados de la actividad citotóxica de estos derivados, se realizó una relación de estructura actividad utilizando un análisis comparativo de campo molecular (CoMFA) [5].

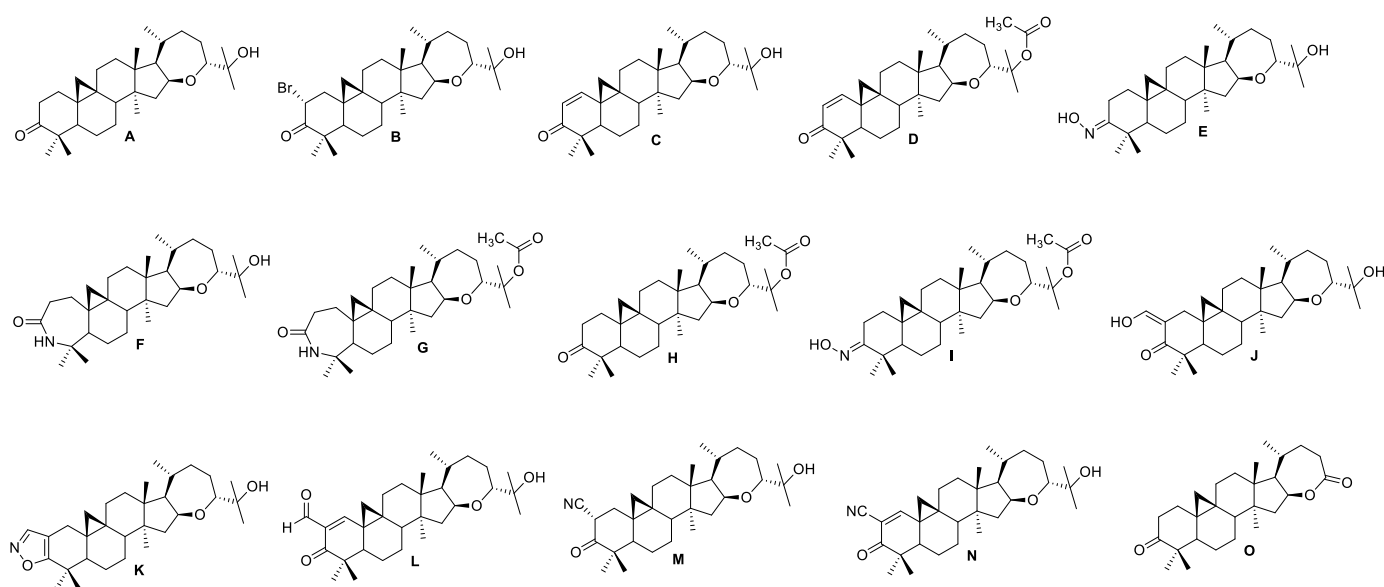


Figura 16. Derivados de argentatina B sintetizados [5].

Compuesto	Cl ₅₀ ± SEM (μM)			
	HCT-15 (colon)	K562 (leucemia)	PC-3 (próstata)	U251 (SNC)
A	24.14 ± 5.58	79.38 ± 0.08	33.41 ± 3.71	36.4 ± 6.79
B	12.42 ± 0.91	6.03 ± 0.52	18.07 ± 2.27	39.48 ± 1.75
C	17.04 ± 5.08	19.50 ± 4.39	35.13 ± 3.90	26.19 ± 1.00
D	19.89 ± 5.21	50.00 ± 6.10	42.19 ± 1.62	44.15 ± 2.28
E	>100	45.81 ± 6.38	18.84 ± 3.32	>100
F	>100	24.21 ± 2.32	59.82 ± 6.51	14.75 ± 1.96
G	40.83 ± 4.02	29.30 ± 5.26	49.82 ± 3.52	23.82 ± 6.00
H	27.33 ± 2.35	20.38 ± 5.45	>100	>100
I	>100	>100	>100	38.89 ± 0.47
J	>100	23.42 ± 3.43	28.13 ± 6.74	36.41 ± 3.52
K	>100	>100	>100	>100
L	0.44 ± 0.09	1.64 ± 0.62	0.940 ± 0.001	1.05 ± 0.14
M	10.66 ± 2.37	4.26 ± 0.65	10.28 ± 0.81	10.76 ± 0.45
N	>100	>100	39.35 ± 5.75	19.87 ± 3.72
O	>100	>100	>100	>100
Doxorrubicina	0.23 ± 0.01	0.28 ± 0.01	0.32 ± 0.02	0.09 ± 0.02

Tabla 8. Cl₅₀ de los derivados de argentatina B [5].

Los resultados de dicho estudio indicaron que la formación de un enlace α, β insaturado en el anillo A, así como la incorporación de bromo, los grupos nitrilo y formilo favorecen la citotoxicidad de la molécula [5].

Con el fin de continuar la obtención sistemática de nuevos derivados con mayor actividad citotóxica y considerando que la presencia de un doble enlace en la posición C1-C2 en el derivado 25-O-acetil-(16*S*, 24*R*)16,24-epoxi-cicloart-2-en-3-ona (**D**) (Tabla 8) le proporcionaba mayor actividad citotóxica que el derivado acetilado original, se hipotetizó que la apertura del anillo de ciclopropano conduciría a un nuevo doble enlace el cual podría contribuir a la actividad citotóxica. Fue entonces que se decidió realizar la apertura de este anillo mediante técnicas fotoquímicas. Aunque se logró la apertura del ciclopropano este de nuevo se cerró obteniéndose un producto con una orientación α del ciclopropano. Tomando en cuenta este resultado y para tratar de abrir el anillo de ciclopropano se decidió hacer reaccionar el acetato de argentatina B con $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ (Figura 17). Los resultados indicaron que no se logró la apertura del ciclopropano sino que se abrió el anillo de oxepano entre 16 β y C24 y de manera no esperada el producto de la reacción presentaba un carbonilo en la posición C24 [6].

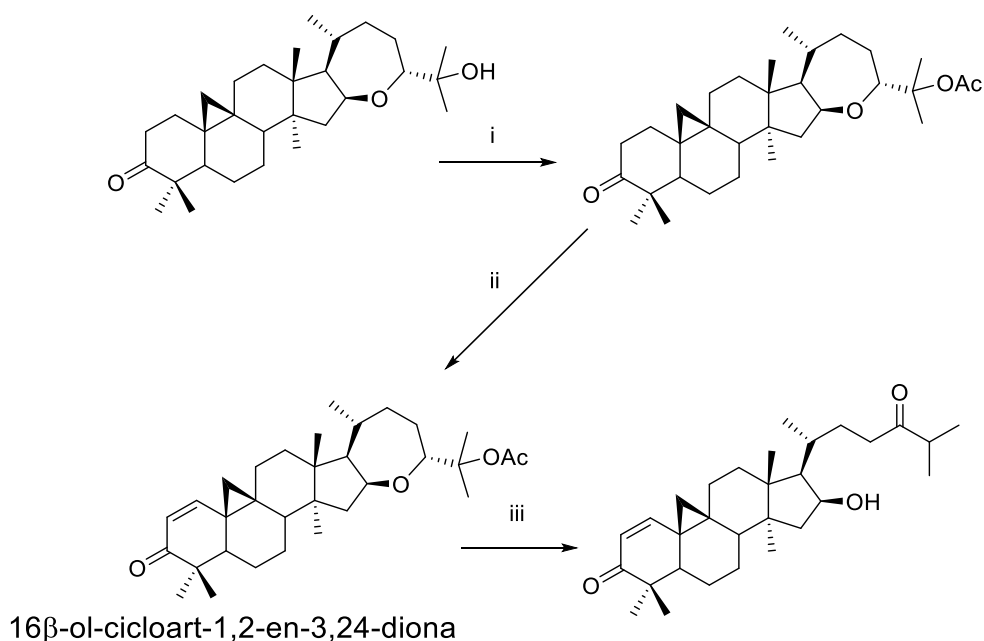


Figura 17. i) Ac_2O , NaOAc , refl. 1.5h ii) DDQ , benceno, refl. 3días iii) $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$, 0°C , 2h. (Carmona et al 2004)

Con el fin de conocer si la presencia del grupo acetato en C25 era necesaria para que se llevara a cabo la apertura del anillo E, se realizó la reacción con argentatina B. Los resultados mostraron la formación, en rendimientos de aproximadamente 1 % de la 16 β -hidroxi-cicloartan-3,24-diona (**3**) y la 3 α ,16 β -dihidroxi-3,19-ciclopentil-lanost-9,11-en-24-ona como productos de la apertura del anillo de 7 miembros.

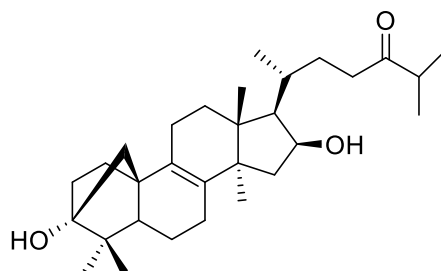


Figura 18. 3 α ,16 β -Dihidroxi-3,19-ciclopentil-lanost-9,11-en-24-ona

De lo anterior se dedujo que la presencia de un grupo acetato en C25 de la argentatina B mejora el rendimiento de la reacción de apertura. Considerando lo anterior, en la figura 19 se ilustra el mecanismo propuesto para esta reacción.

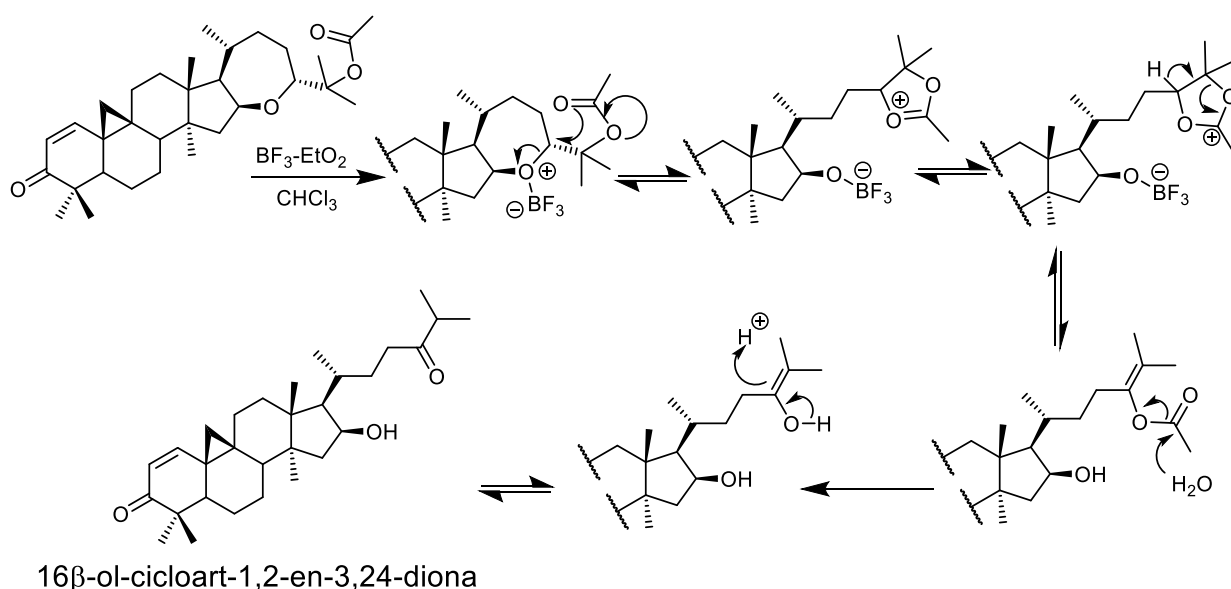


Figura 19. Mecanismo de reacción propuesto.

Considerando los resultados anteriores se propuso obtener una serie de análogos de la argentatina B con apertura del anillo E. Todos los análogos obtenidos serán evaluados como agentes citotóxicos en la línea de cáncer de colon humano metastásico HCT-116.

Hipótesis

Es factible tratar diferentes derivados del acetato de la argentatina B en la posición 25 mediante la reacción con $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ con la finalidad obtener análogos del triterpeno mencionado, que presenten apertura del anillo de oxepano y que sean más activos contra la línea de cáncer de colon metastásico HCT-116.

Objetivos

Objetivo general

Sintetizar y evaluar la actividad citotóxica de nuevos análogos de argentatina B con apertura del anillo E con la finalidad de desarrollar compuestos más efectivos para el cáncer.

Objetivos particulares

- Aislar e identificar la argentatina B a partir de la resina obtenida como subproducto durante el proceso de obtención del hule a partir de la especie *Parthenium argentatum* (Gray).
- Sintetizar análogos de argentatina B con apertura del anillo E
- Identificar mediante técnicas espectroscópicas (RMN ^{13}C , RMN ^1H , IR, Masas) los nuevos análogos de argentatina B.
- Determinar la actividad citotóxica de los análogos obtenidos en la línea de cáncer de colon humano HCT-116.

Materiales y equipos

En la extracción y purificación de la argentatina B se utilizaron disolventes grado industrial, destilados en el laboratorio.

Los análisis cromatográficos en capa fina (CCF) se realizaron siguiendo las técnicas convencionales, empleando placas aluminio ALUGRAM® recubiertas con gel de sílice 60 con indicador fluorescente UV₂₅₄ de 0.2 mm de espesor marca MACHEREY-NAGEL.

Para la extracción de argentatina B de la resina de guayule se realizaron procedimientos de cromatografía en columna abierta en columnas de vidrio de diferentes capacidades y se utilizó gel de sílice 60 como adsorbente. El revelado se realizó con luz ultravioleta de onda corta (254 nm) y larga (350 nm), y con solución de sulfato cérico. Los puntos de fusión de cada compuesto en estudio se determinaron en un equipo Fisher Johns y no fueron corregidos.

Los espectros de absorción en el Infrarrojo se obtuvieron en un espectrofotómetro Bruker-Tensor 27. Los espectros de RMN ¹H y ¹³C se adquirieron a 300, 400 o 700 MHz y 75, 100 y 175 MHz, respectivamente, en los equipos Bruker-Avance 300, Bruker Avance III 400 MHz o Bruker Avance III HD 700 MHz. Los desplazamientos químicos se expresaron en (ppm) y las constantes de acoplamiento (J) se informaron en Hz, empleando Tetrametilsilicio (TMS) como referencia interna. Los espectros de masas se obtuvieron en un espectrómetro de masas Jeol JMS-SX102A mediante impacto electrónico (+). Los estudios de difracción de rayos X del análogo 5 se llevaron a cabo en un difractómetro de rayos X Bruker D8 Venture de radiación de cobre y geometría kappa.

Discusión y resultados

XI.I. Aislamiento de la argentatina B

Se disolvieron 125 g de un extracto de acetato de etilo de resina de guayule en aproximadamente 100 ml de AcOEt. Esta solución se adsorbió en 200 g de sílice. La evaporación del disolvente produjo un sólido el cual se colocó en la parte superior de una columna abierta empacada con sílice y se eluyó con mezcla de disolventes de polaridad ascendente (hexano, hexano-AcOEt, AcOEt y MeOH). A partir de las fracciones eluidas con la mezcla hexano-AcOEt (9:1) se aislaron 5.4 gramos de argentatina B (16 β ,24*R*)-16,24-epoxi-25-hidroxi-cicloartan-3-ona), la cual se purificó mediante recristalización por par de disolventes (hexano y AcOEt). La caracterización de este triterpeno se hizo mediante la comparación de sus constantes físicas y espectroscópicas con aquellas previamente documentadas [72].

XI.II. Transformación química de la argentatina B

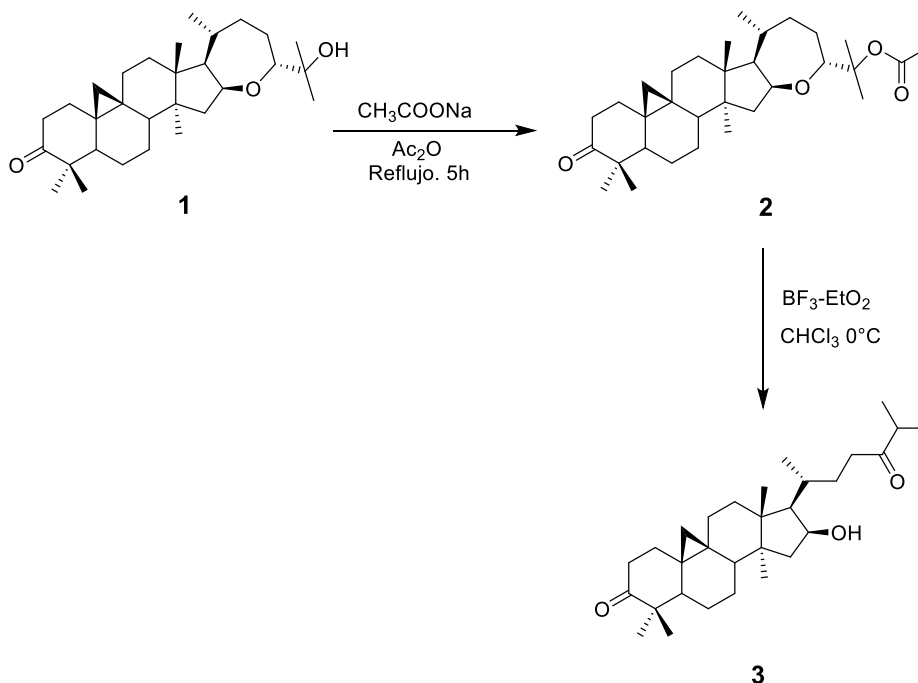


Figura 20. Obtención de (16 β) ol-cicloartan-3,24-diona (3)

25-*O*-Acetil-(16*S*,24*R*)-16,24-epoxi-cicloartan-3-ona (**2**). 1g de argentatina B (**1**) (2.19 mmol) con 13 mL de Ac₂O se hizo reaccionar en presencia de 1g de acetato de sodio por calentamiento hasta ebullición, manteniéndose a reflujo durante 5 horas. Posteriormente se enfrió la mezcla de reacción y se vertió en un matraz Erlenmeyer con 50g de hielo, se observa la presencia de precipitado que se extrajo con AcOEt. La fase orgánica se lavó con una solución sobresaturada de Na₂CO₃, se secó con Na₂SO₄ anhidro y se evaporó el disolvente a presión reducida. Mediante recristalización se obtuvo 0.92 g (83.53%) de 25-*O*-acetil-(16β,24*R*)-16,24-epoxi-cicloartan-3-ona (**2**).

pf 158-159°C

IR (CHCl₃) ν_{\max} cm⁻¹: 2946.82(C-H), 2871.48(C-H), 1733.90(C=O), 1706.11(C=O), 1254.23(C-O), 1114.88(C-O).

EMIE (70eV) m/z (%ar): 438(17.31) [M-60]⁺, 397(47.12), 311(25), 175(63.46), 109(100), 85(89.42), 43(92.31).

RMN ¹H (700 MHz, CDCl₃) δ 4.64 (q, $J = 7.7$ Hz, 1H), 3.84 (dd, $J = 12.6, 2.3$ Hz, 1H), 2.73 (td, $J = 13.9, 6.4$ Hz, 1H), 2.32 (ddd, $J = 14.0, 4.4, 2.6$ Hz, 1H), 2.13 – 2.00 (m, 3H), 1.98 (s, 3H), 1.90 – 1.75 (m, 3H), 1.74 – 1.54 (m, 5H), 1.46 (s, 3H), 1.41 (s, 3H), 1.18 (s, 3H), 1.15 (dd, $J = 12.7, 2.8$ Hz, 1H), 1.12 (s, 3H), 1.06 (s, 3H), 0.95 (d, $J = 6.4$ Hz, 3H), 0.90 (s, 3H), 0.83 (d, $J = 4.4$ Hz, 1H), 0.59 (d, $J = 4.4$ Hz, 1H).

RMN ¹³C (176 MHz, CDCl₃) δ 216.54, 170.26, 84.98, 80.18, 74.44, 57.21, 50.22, 48.41, 47.33, 45.72, 45.67, 44.84, 37.46, 35.28, 33.39, 32.69, 29.70, 28.99, 26.26, 26.08, 25.99, 23.30, 22.55, 22.34, 22.17, 21.38, 21.09, 20.90, 20.78, 19.54, 18.81.

(16 β) ol-cicloartan-3,24-diona (**3**). Una disolución de 100 mg (0.2mmol) de **2** en 3 mL de CHCl₃ se hizo reaccionar con 0.25 mL de eterato de trifloruro de boro. La adición fue lenta durante 15 minutos a 0°C y se mantuvo en agitación constante hasta completar 45 minutos de reacción. Después, a la mezcla se le agregó una solución sobresaturada de Na₂CO₃ y se extrajo con CH₂Cl₂. Se evaporó el disolvente a presión reducida. Por último, se recristalizaron 46 mg (50.34%) del análogo (16 β)-hidroxi-cicloartan-3,24-diona (**3**).

pf 125-126°C

IR (CHCl₃) ν_{\max} cm⁻¹: 3502.37(O-H), 2954.41(C-H), 2935.24(C-H), 2907.36(C-H), 2863.47(C-H), 1705.43(C=O), 1111.42(C-O).

EMIE (70eV) $m/z(\%ar)$: 456(6.7) M⁺, 438(27.88) [M-18]⁺, 423(41.35), 352(19), 311(31.73), 219(60.58), 43(100).

RMN ¹H (700 MHz, CDCl₃) δ 4.56 (q, J = 6.0 Hz, 1H), 4.04 (s, 1H), 2.76 – 2.67 (m, 2H), 2.63 (hept, J = 6.8 Hz, 1H), 2.55 (ddd, J = 19.0, 5.3, 3.4 Hz, 1H), 2.31(ddd, J = 14.1, 4.4, 2.6 Hz, 1H), 2.08 – 2.01 (m, 2H), 1.86 (td, J = 13.4, 4.2 Hz, 1H), 1.74 – 1.59 (m, 6H), 1.55 (ddd, J = 13.1, 6.3, 2.2 Hz, 1H), 1.48 – 1.42 (m, 2H), 1.19 (s, 3H), 1.13 (d, J = 4.2 Hz, 4H), 1.12 (s, 6H), 1.07 (s, 3H), 0.93 (d, J = 6.0 Hz, 4H), 0.92 (s, 4H), 0.84 (d, J = 4.0 Hz, 1H), 0.59 (d, J = 4.3 Hz, 1H).

RMN ¹³C (176 MHz, CDCl₃) δ 216.77, 216.57, 72.14, 57.35, 50.21, 48.48, 47.86, 46.75, 46.62, 45.26, 40.89, 37.44, 36.64, 33.37, 32.64, 29.82, 29.54, 29.32, 26.44, 26.04, 25.90, 22.13, 21.40, 20.92, 20.76, 20.13, 18.91, 18.34, 18.26, 17.72.

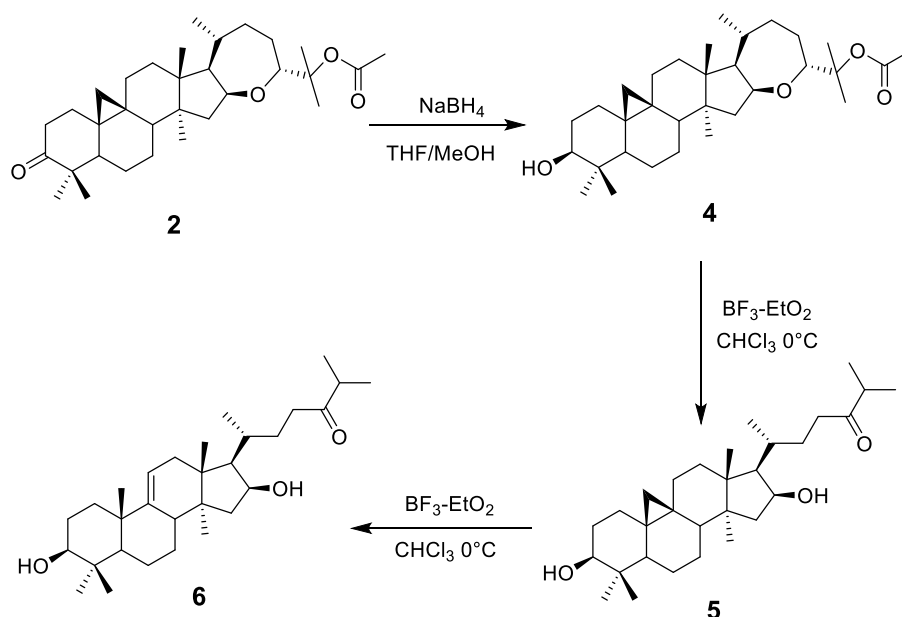


Figura 21. Síntesis de la 3 β ,16 β -dihidroxi-cicloartan-24-ona (5) y la 3 β ,16 β -dihidroxi-lanost-9,11-en-24-ona (6).

(16 β ,24*R*)-25-Acetil, 16,24-epoxi-cicloart-3 β -ol (**4**). Una disolución de 600 mg del derivado acetilado **2** (1.20 mmol) en 24 mL de THF se hizo reaccionar en presencia de 10 mL de MeOH y 0.3 g (7.9 mmol) de NaBH₄ durante 2h. Posteriormente se agregaron 10 mL de H₂O más NaCl hasta sobresaturar a la mezcla de reacción y se extrajo con acetato de etilo. Se evaporó el disolvente a presión reducida y mediante recristalización se obtuvieron 548 mg (91%) del compuesto (16*S*,24*R*)-25-acetil, 16,24-epoxi-cicloart-3 β -ol (**4**).

pf 154-155°C

IR (CHCl₃) ν_{\max} cm⁻¹: 3440.57(O-H), 2935.59(C-H), 2870.02(C-H), 1729.39(C=O), 1255.68(C-O), 1115.52(C-O).

EMIE (70eV) m/z (%ar): 440(21.15) [M-60]⁺, 399(61.54), 381(100), 313(29.81), 43(40.38).

RMN ^1H (700 MHz, CDCl_3) δ 4.63 (q, $J = 7.8$ Hz, 1H), 3.83 (dd, $J = 12.6, 2.4$ Hz, 1H), 3.30 (dd, $J = 10.7, 4.3$ Hz, 1H), 2.13 – 1.99 (m, 3H), 1.98 (s, 3H), 1.83 – 1.75 (m, 3H), 1.67 – 1.54 (m, 5H), 1.46 (s, 4H), 1.41 (s, 3H), 1.30 (dd, $J = 12.5, 4.4$ Hz, 1H), 1.26 (dd, $J = 9.4, 2.6$ Hz, 1H), 1.15 (s, 3H), 1.13 – 1.04 (m, 2H), 0.99 (s, 3H), 0.94 (d, $J = 6.5$ Hz, 3H), 0.89 (s, 3H), 0.83 (s, 3H), 0.60 (d, $J = 4.4$ Hz, 1H), 0.35 (d, $J = 4.3$ Hz, 1H).

RMN ^{13}C (176 MHz, CDCl_3) δ 170.27, 85.01, 80.18, 78.80, 74.50, 57.21, 47.44, 47.08, 45.77, 45.64, 44.84, 40.48, 35.32, 32.78, 31.92, 30.36, 30.05, 29.00, 26.18, 26.14, 26.00, 25.44, 23.30, 22.55, 22.35, 21.35, 21.10, 20.99, 19.80, 19.54, 18.76, 14.00.

$3\beta, 16\beta$ -Dihidroxi-cicloartan-24-ona (**5**). Se disolvió 1g (2mmol) del compuesto **4** en 20 mL de cloroformo. La disolución se hizo reaccionar con 2.5 mL de eterato de trifloruro de boro. La adición fue lenta durante 15 minutos a $^{\circ}\text{C}$ y se mantuvo en agitación constante hasta completar 45 minutos de reacción. Luego se le agregó una solución sobresaturada de Na_2CO_3 y la mezcla de reacción se extrajo con CH_2Cl_2 . Se evaporó el disolvente a presión reducida y finalmente se recrystalizó obteniéndose 572 g (62.4%) de **5**.

pf 138-139 $^{\circ}\text{C}$

IR (CHCl_3) ν_{max} cm^{-1} : 3450.56(O-H), 2936.63(C-H), 2870.45(C-H), 1702.21(C=O), 1382.68(C-O).

EMIE (70eV) m/z (%ar): 458(5.77) M^+ , 440(30.76) $[\text{M}-18]^+$, 425(100), 219(22.11), 133(30.76), 69(65.38), 43(45).

RMN ^1H (700 MHz, CDCl_3) δ 4.54 (q, $J = 6.2$ Hz, 1H), 3.95 (s, 1H), 3.29 (dd, $J = 10.6, 4.2$ Hz, 2H), 2.70 (ddd, $J = 19.0, 11.0, 3.3$ Hz, 1H), 2.62 (hept, $J = 6.9$ Hz, 1H), 2.54 (ddd, $J = 19.0, 5.6, 3.5$ Hz, 1H), 2.08 – 1.96 (m, 4H), 1.80 – 1.75 (m, 1H), 1.71 (s, 1H), 1.67 – 1.53 (m, 7H), 1.44 (dd, $J = 13.3, 4.4$ Hz, 2H), 1.41 – 1.35 (m, 3H), 1.30 (dd, $J = 12.5, 4.3$ Hz, 1H), 1.25 (dd, $J = 9.0, 2.9$ Hz, 1H), 1.15 (s, 3H), 1.12 (d, $J = 3.8$ Hz, 3H), 1.11 (d, $J = 3.7$ Hz, 3H), 0.99 (s, 3H), 0.92 (d, $J = 6.1$ Hz, 3H), 0.90 (s, 3H), 0.83 (s, 3H), 0.60 (d, $J = 4.3$ Hz, 1H), 0.34 (d, $J = 4.3$ Hz, 1H).

RMN ^{13}C (176 MHz, CDCl_3) δ 216.75, 78.81, 72.22, 57.38, 47.98, 47.19, 46.84, 46.72, 45.26, 40.92, 40.49, 36.72, 32.78, 31.94, 30.37, 30.19, 29.61, 29.41, 26.23, 26.18, 26.09, 25.44, 21.05, 20.17, 19.86, 18.90, 18.38, 18.30, 17.77, 14.01.

3 β ,16 β -Dihidroxi-lanost-9,11-en-24-ona (**6**). Una disolución de 100 mg (0.21mmol) de **5** en cloroformo se hizo reaccionar con 0.25 mL de eterato de trifloruro de boro. La adición fue lenta durante 15 minutos a 0°C y se mantuvo en agitación constante hasta completar 30 minutos de reacción. Posteriormente a la mezcla se le neutralizó con una solución sobresaturada de Na_2CO_3 en agua y se extrajo con CH_2Cl_2 . Se evaporó el disolvente a presión reducida, por último, se recristalizó obteniéndose 70 mg (70%) de **6**.

pf 151-152°C

IR (CHCl_3) ν_{max} cm^{-1} : 3444.87(O-H), 2965.61(C-H), 2937.52(C-H), 2870.79(C-H), 1702.01(C=O), 1099.61(C-O).

EMIE (70eV) m/z (%ar): 458(1.92) M^+ , 440(18.26) $[\text{M}-18]^+$, 425(43.26), 313(100), 173(57.69), 43(39.42).

RMN ^1H (700 MHz, CDCl_3) δ 5.22 (dt, $J = 6.4, 2.1$ Hz, 1H), 4.56 (ddd, $J = 7.9, 6.0, 4.5$ Hz, 1H), 3.23 (dd, $J = 11.8, 4.3$ Hz, 1H), 2.69 (ddd, $J = 19.0, 11.1, 3.2$ Hz, 1H), 2.62 (hept, $J = 6.9$ Hz, 1H), 2.54 (ddd, $J = 19.0, 5.7, 3.4$ Hz, 1H), 2.31 – 2.26 (m, 1H), 2.09 – 1.99 (m, 4H), 1.88 (ddd, $J = 17.1, 6.1, 1.9$ Hz, 1H), 1.81 (dt, $J = 12.9, 3.5$ Hz, 1H), 1.79 – 1.68 (m, 2H), 1.62 – 1.59 (m, 2H), 1.55 – 1.44 (m, 3H), 1.34 (qd, $J = 11.8, 3.6$ Hz, 1H), 1.13 (d, $J = 2.5$ Hz, 3H), 1.12 (d, $J = 2.5$ Hz, 3H), 1.07 (s, 3H), 1.01 (s, 3H), 0.93 (d, $J = 5.3$ Hz, 3H), 0.89 (dd, $J = 12.2, 2.2$ Hz, 1H), 0.84 (s, 3H), 0.83 (s, 3H), 0.74 (s, 3H).

RMN ^{13}C (176 MHz, CDCl_3) δ 216.76, 148.78, 114.55, 78.93, 72.11, 56.00, 52.48, 45.18, 44.82, 44.15, 41.67, 40.92, 39.44, 39.12, 37.05, 36.70, 36.12, 29.66, 29.38, 28.26, 27.99, 27.79, 22.37, 21.31, 19.21, 18.37, 18.31, 17.88, 15.66, 15.18.

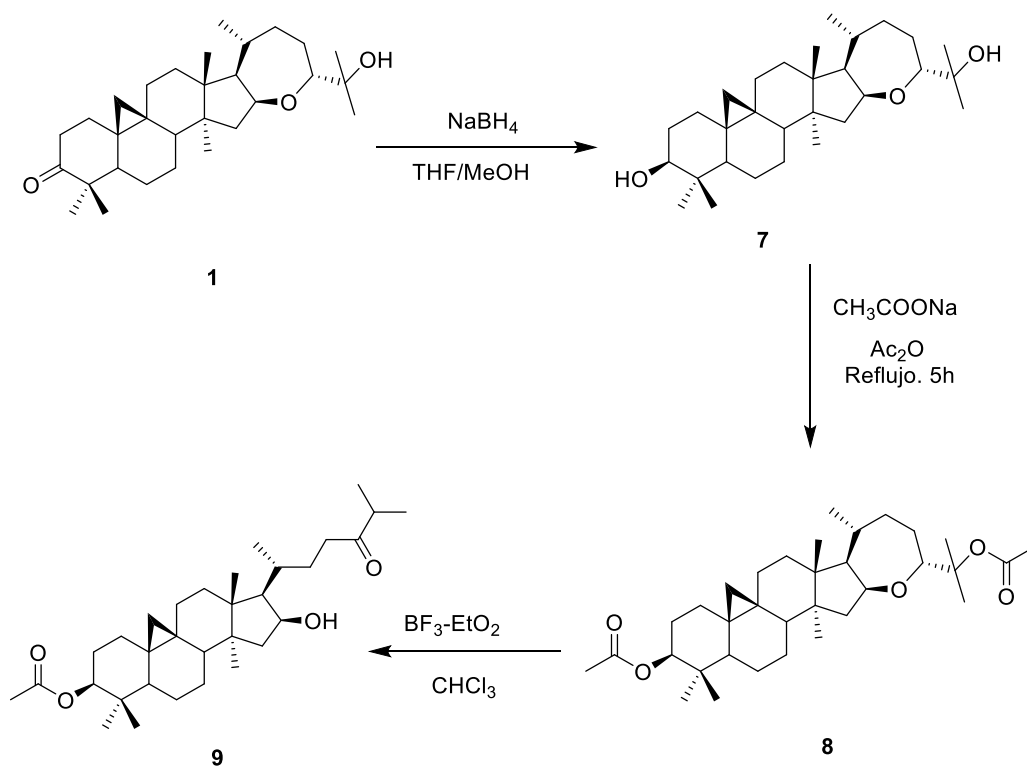


Figura 22. Obtención de 3 β -acetyl-(16 β) ol-cicloartan-24-ona (9)

(16*S*,24*R*)-16,24-Epoxi-cicloart-3 β ,25-diol (**7**). Se hizo reaccionar una mezcla de 4 mL de THF con 1.6 mL de MeOH y 50 mg de NaBH₄ con 100 mg de argentatina B (0.22mmol) a temperatura ambiente durante 2h. Seguidamente a la mezcla de reacción se le agregó 2 mL de H₂O y NaCl hasta saturación. Se realizó una extracción con AcOEt y se la trató con sulfato de sodio anhidro. Se evaporó el disolvente a presión reducida y posteriormente se recrystalizaron 73 mg (72.68%) de **7**.

pf 224-225°C

IR (CHCl₃) ν_{max} cm⁻¹: 3465.76(O-H), 2972.52(C-H), 2926.10(C-H), 1447.73, 1382.64(C-O), 1111.24(C-O).

EMIE (70eV) m/z (%ar): 458(1.93) M⁺, 440(3.80) [M-18]⁺, 399(56.73), 381(100), 175(58.65), 109(57.69).

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 4.59 (q, J = 7.6 Hz, 1H), 3.58 (dd, J = 12.5, 2.1 Hz, 1H), 3.35 – 3.23 (m, 1H), 2.81 (s, 1H), 2.13 – 1.95 (m, 1H), 1.85 (dd, J = 12.6, 8.2 Hz, 1H), 1.66 – 1.43 (m, 7H), 1.26 (d, J = 2.7 Hz, 1H), 1.14 (s, 3H), 1.09 (s, 6H), 0.97 (s, 3H), 0.93 (d, J = 6.4 Hz, 4H), 0.88 (s, 4H), 0.81 (s, 3H), 0.59 (d, J = 4.4 Hz, 1H), 0.34 (d, J = 4.3 Hz, 1H).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ 82.49, 78.77, 74.92, 73.23, 57.41, 47.47, 47.07, 45.88, 45.73, 44.88, 40.47, 35.50, 32.76, 31.92, 30.35, 30.01, 28.96, 26.17, 26.13, 25.98, 25.65, 25.43, 23.87, 23.46, 20.96, 19.77, 19.54, 18.71, 13.99.

(16*S*,24*R*)-3 β ,25-Diacetil-16,24-epoxi-cicloartano (**8**). Se realizó una acetilación colocando en un matraz 185 mg (0.40mmol) de **7** con 200 mg de acetato de sodio en 3 mL de anhídrido acético. Se calentó hasta reflujo durante 6h. Se enfrió la mezcla de reacción y se vertió en un vaso de precipitados con 5 g de hielo. La mezcla de reacción se extrajo con CH₂Cl₂, se secó con Na₂SO₄ anhidro y se evaporó el disolvente a presión reducida. Posteriormente mediante recrystalización se obtuvieron 154.7 mg (70.67%) de **8**.

pf 176-177°C

IR (CHCl₃) ν_{\max} cm⁻¹: 2942.27(C-H), 2870.51(C-H), 1732.79(C=O), 1251.21(C-O), 1116.50(C-O).

EMIE (70eV) m/z (%ar): 482(2.80) [M-60]⁺, 381(24.04), 190(94.23), 117(100), 91(50.96).

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 4.59 (dd, J = 14.3, 7.2 Hz, 2H), 3.81 (d, J = 12.2 Hz, 1H), 2.05 (s, 4H), 1.96 (s, 3H), 1.84 – 1.67 (m, 3H), 1.66 – 1.54 (m, 15H), 1.44 (s, 4H), 1.39 (s, 3H), 1.24 (d, J = 7.3 Hz, 1H), 1.13 (s, 4H), 0.92 (d, J = 6.5 Hz, 4H), 0.89 (s, 2H), 0.88 (s, 3H), 0.85 (s, 3H), 0.60 (d, J = 4.3 Hz, 1H), 0.34 (d, J = 4.3 Hz, 1H).

RMN ¹³C (176 MHz, CDCl₃) δ 170.99, 170.26, 84.99, 80.62, 80.18, 74.47, 57.15, 47.22, 47.12, 45.77, 45.62, 44.78, 39.42, 35.31, 32.73, 31.54, 29.86, 29.00, 26.76, 26.06, 26.02, 25.92, 25.41, 23.30, 22.55, 22.34, 21.36, 21.34, 21.09, 20.77, 19.93, 19.50, 18.68, 15.13.

3 β -Acetil-16 β -hidroxi-cicloartan-24-ona (**9**). Una disolución de 100 mg (0.184mmol) de **8** en 3 mL de cloroformo se hizo reaccionar con 0.25 mL de eterato de trifloruro de boro. La adición fue lenta durante 15 minutos a 0°C y se mantuvo en agitación constante hasta completar 30 minutos de reacción. Posteriormente a la mezcla de reacción se le agregó con una solución sobresaturada de Na₂CO₃ se extrajo con CH₂Cl₂ y se secó con Na₂SO₄ anhidro. Se evaporó el disolvente a presión reducida y al final se recristalizó obteniéndose 37.7mg (40.6%) de **9**.

pf 144-145°C

IR (CHCl₃) ν_{\max} cm⁻¹: 3498.90(O-H), 2973.14(C-H), 2939.56(C-H), 2886.78(C-H), 1730.01(C=O), 1705.07(C=O), 1248.62(C-O).

EMIE (70eV) m/z (%ar): 500(1.92) M^+ , 482(7.70) $[M-18]^+$, 467(29.80), 440(39.42), 219(43.2), 71(90.38), 43(100).

RMN 1H (700 MHz, $CDCl_3$) δ 4.55 (dd, $J = 11.0, 4.3$ Hz, 1H), 4.52 (dd, $J = 12.8, 6.0$ Hz, 1H), 3.98 (s, 1H), 2.70 (ddd, $J = 19.0, 11.0, 3.2$ Hz, 1H), 2.62 (hept, $J = 7.0$ Hz, 1H), 2.54 (ddd, $J = 19.0, 5.7, 3.4$ Hz, 1H), 2.07 (s, 3H), 2.05 – 1.97 (m, 2H), 1.78 – 1.73 (m, 1H), 1.66 – 1.57 (m, 8H), 1.46 – 1.36 (m, 3H), 1.29 – 1.24 (m, 1H), 1.15 (s, 3H), 1.13 (d, $J = 3.8$ Hz, 3H), 1.12 (d, $J = 3.8$ Hz, 4H), 1.05 – 0.99 (m, 1H), 0.94 – 0.89 (m, 9H), 0.87 (s, 3H), 0.63 (d, $J = 4.3$ Hz, 1H), 0.35 (d, $J = 4.3$ Hz, 1H).

RMN ^{13}C (176 MHz, $CDCl_3$) δ 216.90, 171.13, 80.80, 72.35, 57.49, 47.97, 47.39, 46.92, 46.86, 45.39, 41.06, 39.58, 36.84, 32.88, 31.72, 30.21, 29.74, 29.52, 26.93, 26.38, 26.20, 26.03, 25.56, 21.49, 20.99, 20.29, 20.14, 18.98, 18.52, 18.44, 17.91, 15.29.

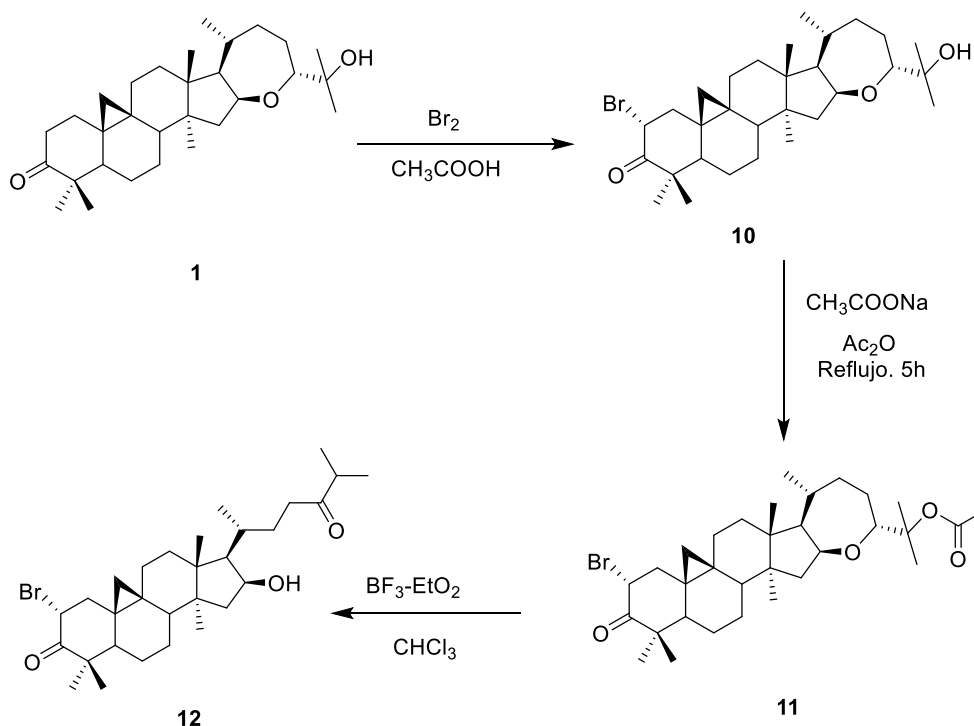


Figura 23. Obtención de 2 α -bromo-16 β -hidroxi-cicloartan-3,24-diona (12)

2 α -Bromo-(16 β ,24*R*)-epoxi-25-hidroxi-cicloartan-3-ona (**10**). A una disolución de un gramo de argentatina B (2.19mmol) en 16 mL de ácido acético glacial se le adicionó lentamente durante 20 min. 2.5 mL de una solución 1M de Br₂ en ácido acético hasta completar 45 minutos de tiempo de reacción. A continuación, se vertió la mezcla en un vaso de precipitado con 50 g de hielo, observándose un precipitado abundante que fue extraído con CH₂Cl₂. Se lavó la fase orgánica con una solución sobresaturada de Na₂CO₃, se secó con Na₂SO₄ anhidro y se evaporó el disolvente a presión reducida. Mediante recristalización se obtuvieron 682 mg (58.3%) de **10**.

pf 205-206°C

IR (CHCl₃) ν_{\max} cm⁻¹: 3439.55(O-H), 2971.31(C-H), 2948.57(C-H), 2871.91(C-H), 1722.24(C=O), 1113.34(C-O).

EMIE (70eV) m/z (%ar): 477(30.76) [M+2-59]⁺, 475(29.81) [M-59]⁺, 397(48.10), 175(75), 69(100), 43(57.69).

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 5.10 (dd, J = 13.1, 6.2 Hz, 1H), 4.60 (q, J = 7.6 Hz, 1H), 3.59 (dd, J = 12.6, 2.2 Hz, 1H), 2.28 (t, J = 13.0 Hz, 1H), 2.15 (dd, J = 12.9, 6.3 Hz, 1H), 2.11 – 1.96 (m, 2H), 1.94 – 1.82 (m, 3H), 1.80 – 1.52 (m, 10H), 1.54 – 1.36 (m, 3H), 1.33 (s, 1H), 1.29 – 1.19 (m, 2H), 1.16 (s, 4H), 1.15 (s, 6H), 1.09 (s, 7H), 0.94 (d, J = 6.4 Hz, 4H), 0.88 (s, 3H), 0.71 (d, J = 4.6 Hz, 1H).

RMN ¹³C (101 MHz, CDCl₃) δ 205.69, 82.56, 74.78, 73.26, 57.35, 54.93, 51.36, 48.57, 46.98, 46.08, 45.83, 45.72, 44.75, 35.43, 32.48, 29.28, 28.95, 27.75, 26.41, 25.69, 25.65, 23.90, 23.43, 23.05, 21.33, 21.21, 20.93, 20.82, 19.45, 18.64.

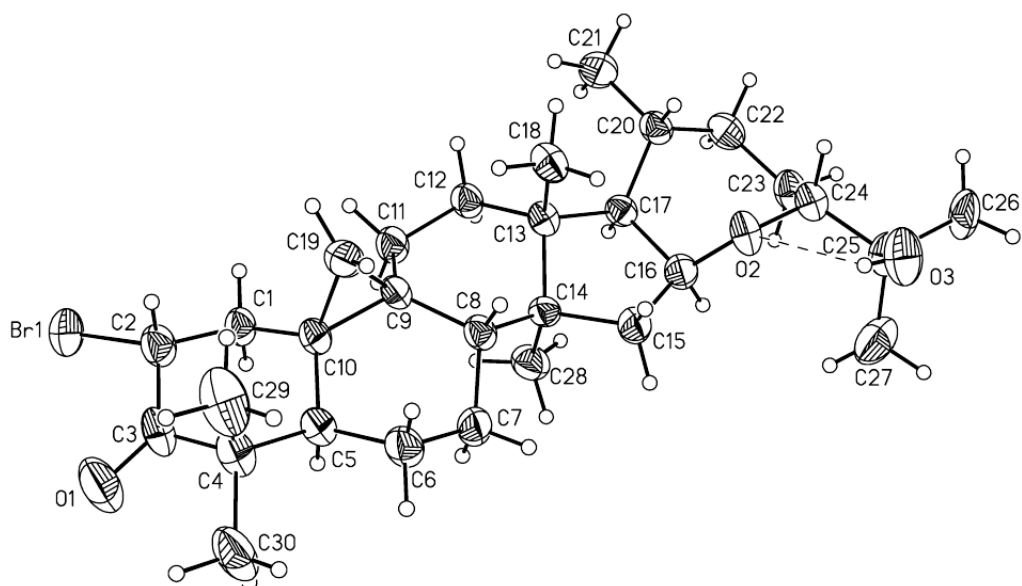


Figura 24. Determinación de (10) mediante difracción de rayos X[5].

2 α -Bromo-(16 β ,24*R*)-epoxi-25-acetil-3-ona (**11**). Una disolución de 500 mg del derivado bromado **10** (0.93 mmoles) en 5.5 mL de Ac₂O se hizo reaccionar con 450 mg de acetato de sodio, se colocó a reflujo durante 5 horas. La mezcla de reacción se enfrió y se vertió en un matraz Erlenmeyer con 50 g de hielo, se observa la presencia de precipitado que se extrajo con AcOEt. La fase orgánica se lavó con una solución sobresaturada de Na₂CO₃, se secó con Na₂SO₄ anhidro y se evaporó el disolvente a presión reducida. Mediante recristalización se obtuvieron 307 mg (56.93%) de **11**.

pf 175-176°C

IR (CHCl₃) ν_{\max} cm⁻¹: 2945.98(C-H), 2871.59(C-H), 1725.92(C=O), 1254.65(C-O), 1115.70(C-O).

EMIE (70eV) m/z (%ar): 518(10.5) [M+2-60]⁺, 516(9.61) [M-60]⁺, 477(22.21), 475(23.08), 437(14.42), 109 (72.12), 43(100).

RMN ^1H (700 MHz, CDCl_3) δ 5.12 (dd, $J = 13.2, 6.2$ Hz, 1H), 4.64 (dd, $J = 15.2, 7.7$ Hz, 1H), 3.84 (dd, $J = 12.6, 2.2$ Hz, 1H), 2.30 (t, $J = 13.1$ Hz, 1H), 2.17 (dd, $J = 13.0, 6.2$ Hz, 1H), 2.09 (td, $J = 11.2, 5.6$ Hz, 1H), 2.06 – 1.99 (m, 2H), 1.98 (s, 3H), 1.81 (dd, $J = 12.6, 8.2$ Hz, 1H), 1.79 – 1.75 (m, 2H), 1.72 (dd, $J = 11.0, 6.2$ Hz, 2H), 1.65 – 1.57 (m, 5H), 1.46 (s, 3H), 1.41 (s, 3H), 1.26 – 1.21 (m, 1H), 1.17 (s, 9H), 0.99 (dd, $J = 12.7, 2.3$ Hz, 1H), 0.95 (d, $J = 6.4$ Hz, 3H), 0.92 (d, $J = 4.1$ Hz, 1H), 0.90 (s, 3H), 0.72 (d, $J = 4.5$ Hz, 1H).

RMN ^{13}C (176 MHz, CDCl_3) δ 205.75, 170.26, 84.95, 80.20, 74.35, 57.14, 54.99, 51.38, 48.58, 46.94, 46.09, 45.71, 45.62, 44.71, 35.24, 32.49, 29.31, 28.98, 27.76, 26.43, 25.70, 23.29, 23.06, 22.55, 22.33, 21.39, 21.35, 21.22, 21.07, 20.83, 19.46, 18.69.

2 α -Bromo-16 β -hidroxi-cicloartan-3,24-diona (**12**). Una disolución de 124 mg (0.21mmol) de **11** en 3 mL de CHCl_3 se hizo reaccionar con 0.31 mL de eterato de trifloruro de boro. La adición fue lenta durante 15 minutos a 0°C y se mantuvo en agitación constante hasta completar 45 minutos de reacción. Se lavó la mezcla con una solución sobresaturada de Na_2CO_3 , se extrajo con CH_2Cl_2 y se secó la fase orgánica con Na_2SO_4 anhidro. Se evaporó el disolvente a presión reducida y posteriormente se recristalizó obteniéndose 48.6mg (42.26%) de **12**.

pf 122-124

IR (CHCl_3) ν_{max} cm^{-1} : 3463.43(O-H), 2970.13(C-H), 2943.03(C-H), 2872.23(C-H), 1720.97(C=O), 1702,63(C=O), 1383(C-O).

EMIE (70eV) m/z (%ar): 518(36.50) $[\text{M}+2-18]^+$, 516(33.65) $[\text{M}-18]^+$, 503(32.69), 501(33.65), 437(32.69), 391(71.15), 389(67.30), 219(60.58), 84(100), 43(80).

RMN ^1H (700 MHz, CDCl_3) δ 5.11 (dd, $J = 13.2, 6.2$ Hz, 1H), 4.55 (dt, $J = 7.8, 5.9$ Hz, 1H), 4.10 (s, 1H), 2.70 (ddd, $J = 19.1, 11.2, 3.0$ Hz, 1H), 2.62 (hept, $J = 6.9$ Hz, 1H), 2.54 (ddd, $J = 19.0, 5.6, 3.1$ Hz, 1H),), 2.28 (t, $J = 13.1$ Hz, 1H), 2.15 (dd, $J = 12.8, 6.1$ Hz, 1H), 2.06 – 1.99 (m, 6H), 1.76 (dd, $J = 12.3, 4.3$ Hz, 1H), 1.73 (dd, $J = 12.4, 5.0$ Hz, 1H), 1.69 – 1.56 (m, 5H), 1.48 – 1.42 (m, 2H), 1.23 – 1.18 (m, 2H), 1.16 (s, 9H), 1.12 (d, $J = 4.2$ Hz, 3H), 1.11 (d, $J = 4.1$ Hz, 3H), 0.92 (d, $J = 5.9$ Hz, 4H), 0.90 (s, 3H), 0.71 (d, $J = 4.5$ Hz, 1H).

RMN ^{13}C (176 MHz, CDCl_3) δ 216.87, 205.76, 72.08, 57.33, 55.08, 51.41, 48.69, 47.55, 46.63, 46.11, 45.24, 40.91, 36.65, 32.48, 29.54, 29.52, 29.31, 27.75, 26.62, 25.67, 23.06, 21.40, 21.29, 20.84, 20.10, 18.83, 18.38, 18.30, 17.76.

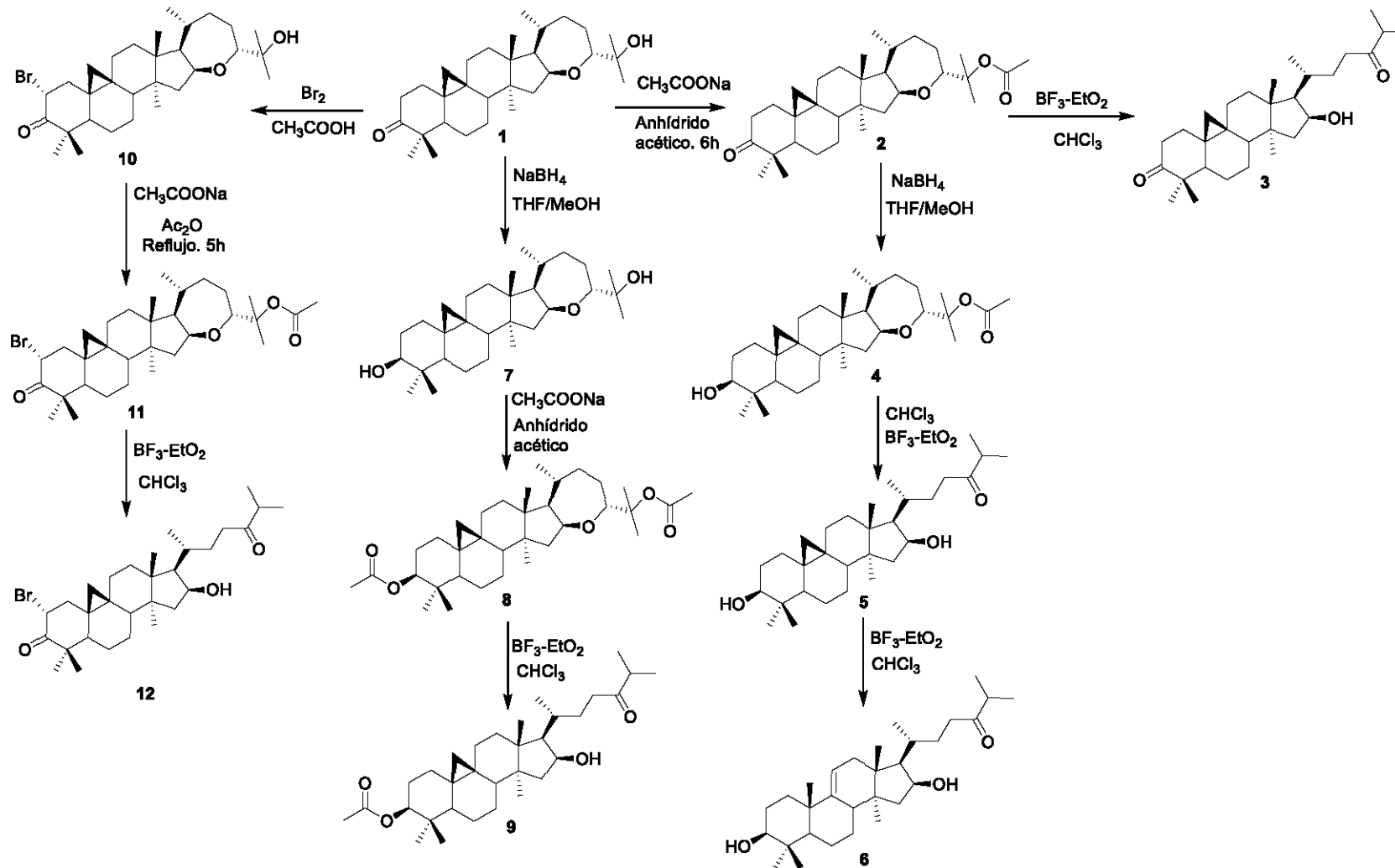


Figura 25. Esquema general de síntesis

XI.III. Elucidación estructural de los análogos de argentatina B con apertura del anillo de oxepano

16 β -hidroxi-cicloartan-3,24-diona (**3**)

En el espectro de RMN ^1H (Espectro 2) de la 16 β -hidroxi-cicloartan-3,24-diona (**3**) se observa claramente el sistema AB correspondiente a los protones del anillo de ciclopropano a 0.84 ppm (d, $J = 4.0$ Hz) y a 0.59 ppm (d, $J = 4.3$ Hz) que se encuentra en C19. También se observan 3 singuletes, que integran cada uno de ellos para tres, a 1.19, 1.07 y 0.92 ppm, que mediante los experimentos 2D; HSQC y HMBC se pudieron asignar como los protones de los metilos de las posiciones C18, C29 y C30 respectivamente. Un doblete a 0.93 ppm ($J = 5.7$ Hz) asignado a los protones del metilo en C21 y se traslapa ligeramente con la señal de 0.93 ppm. La señal a 4.56 ppm (q, $J = 6.0$ Hz) corresponde al protón de la posición 16 que se encuentra desprotegido por el grupo OH presente en el mismo carbono. El heptuplete a 2.63 ppm ($J = 6.8$ Hz) fue asignado al protón de la posición C25 ya que interacciona con los dos metilos vecinos en C26 y C27. Esta señal es característica de todos los compuestos con apertura del anillo E.

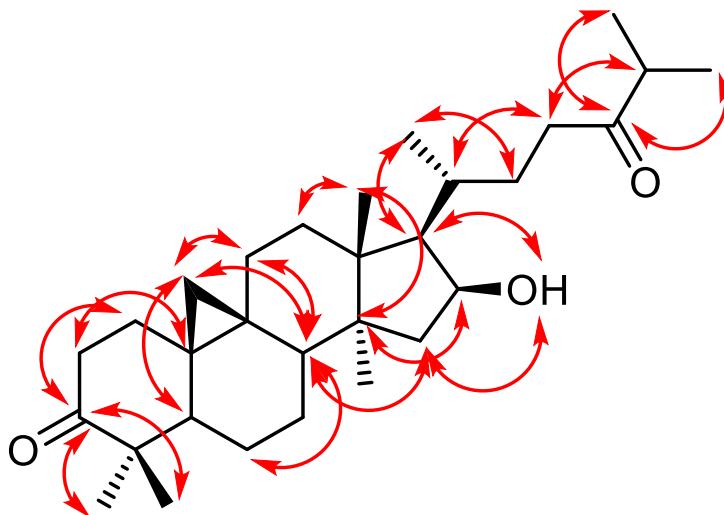


Figura 26. Principales correlaciones C-H de (3**) observadas en el experimento HMBC**

En los experimentos DEPT 135 y DEPT 90 de RMN ^{13}C de **3** se observaron 6 metinos, 12 metilenos y 7 metilos que junto con el espectro total permitieron

observar los 30 átomos de carbono de la molécula (Espectro 3). La asignación se logró mediante los experimentos HSQC (Espectro 4) y HMBC (Espectro 5), destacan principalmente los dos carbonilos a 216.5 y 216.7 ppm asignados a C3 y C24 respectivamente.

En el espectro de absorción en el infrarrojo se observaron principalmente las bandas O-H (3502.37cm^{-1}), C=O (1705.43cm^{-1}) y C-O (1111.42cm^{-1}).

En el espectro de masas adquirido a 70 eV y por impacto electrónico se observó el ion molecular en m/z 456, también destaca la señal en m/z 438 que corresponde a $[M-H_2O]^+$.

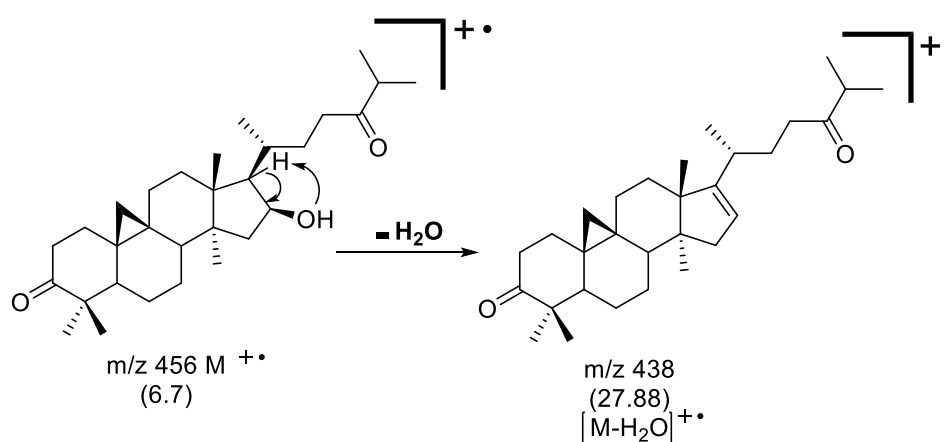


Figura 27. Ion molecular y pérdida de H_2O en la 16β-hidroxi-cicloartan-3,24-diona (3)

Agregado a lo anterior, se observó también la presencia de fragmentos característicos a los triterpenos sintetizados, por ejemplo el pico en m/z 71 atribuido al ion $[(Me)_2CHC=O]^+$ y que está informado en estos compuestos consistente con la presencia de un carbonilo en C24 de la cadena lateral [73] [74]. También se observa los picos característicos de la fragmentación de cicloartanos a m/z 127, 203 y 219.

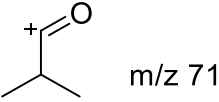
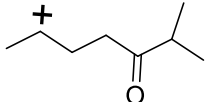
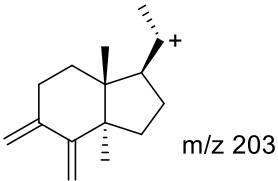
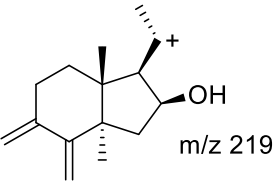
 <p>m/z 71</p> <p>Fragmento 1</p>	 <p>m/z 127</p> <p>Fragmento 2</p>
 <p>m/z 203</p> <p>Fragmento 3</p>	 <p>m/z 219</p> <p>Fragmento 4</p>

Tabla 9. Picos característicos (1-3) en la fragmentación de masas de triterpenos con cadena lateral similar a los compuestos sintetizados. El fragmento 4 es un pico esperado para los triterpenos 3, 5, 9 y 12 [73][74].

Compuesto 3	Compuesto 5	Compuesto 6	Compuesto 9	Compuesto 12
219 (65 %)	219 (25 %)	--	219 (55 %)	219 (50 %)
127 (45 %)	127 (25 %)	127 (22 %)	127 (55 %)	127 (35 %)
71 (81 %)	71 (41 %)	71 (31 %)	71 (90 %)	71 (43 %)

Tabla 10. Fragmentos observados en los espectros de masas de los triterpenos 3, 5, 6, 9 y 12. La abundancia de los diferentes picos está en paréntesis.

[Mass Spectrum]

Data : Dr-Martinez-Mariano044 Date : 24-Nov-2017 12:02

Sample: 2615 IR-03 Jeol SX102R

Note : Operadores Carmen Garcia Javier Perez

Inlet : Direct

Ion Mode : EI+

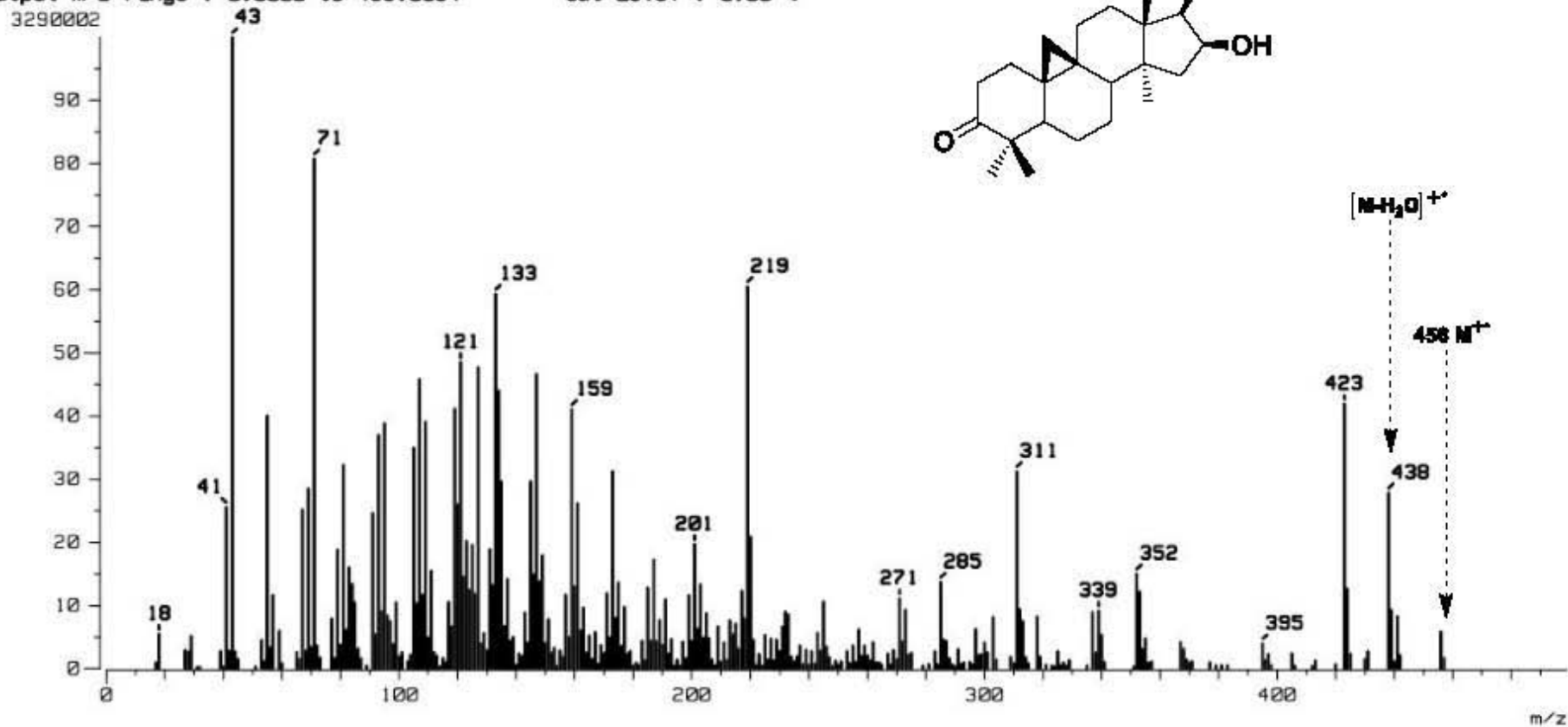
Spectrum Type : Normal Ion [MF-Linear]

RT : 0.45 min Scan# : (10,11)

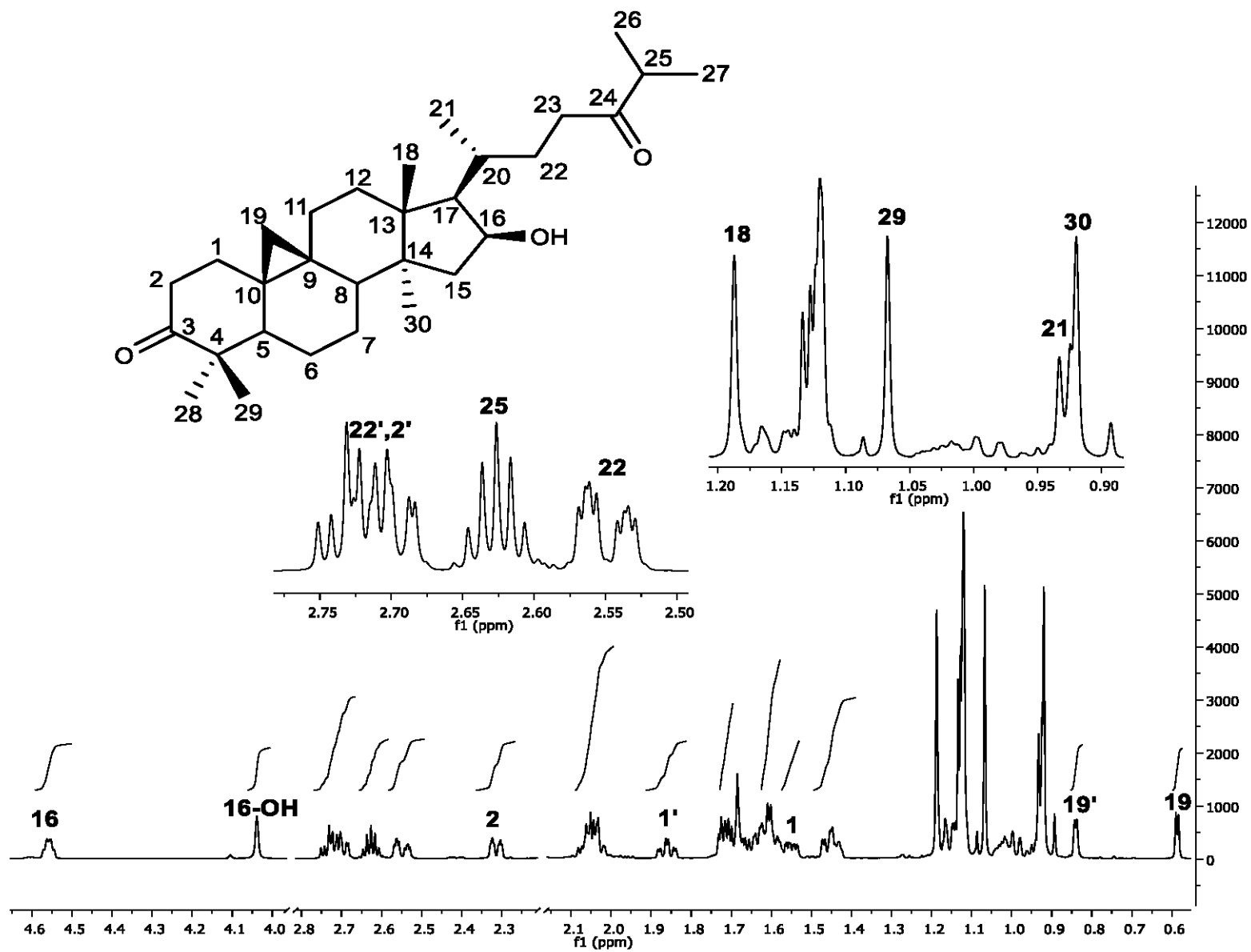
BP : m/z 43.0000 Int. : 313.76

Output m/z range : 0.0000 to 499.0094

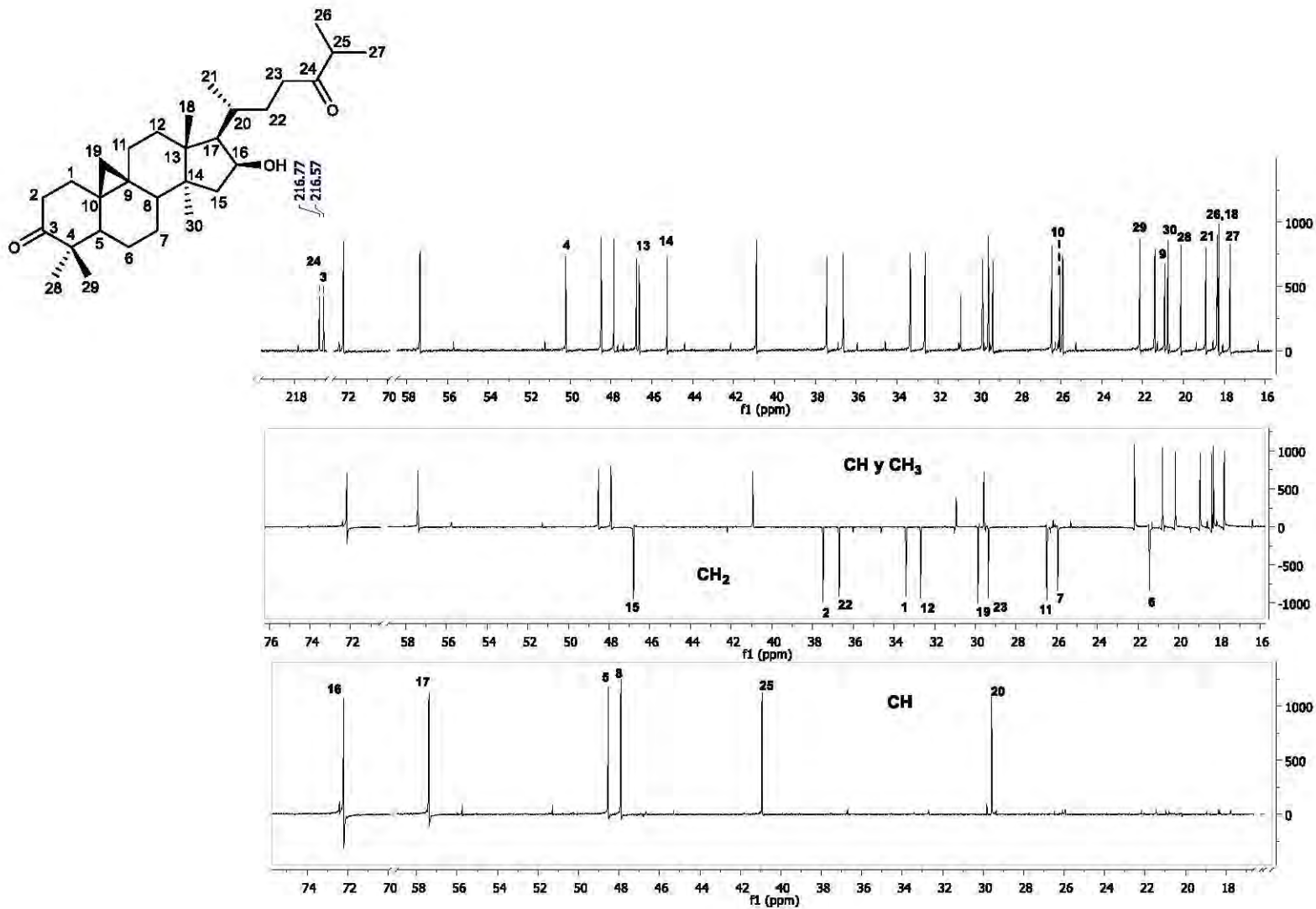
Cut Level : 0.00 %



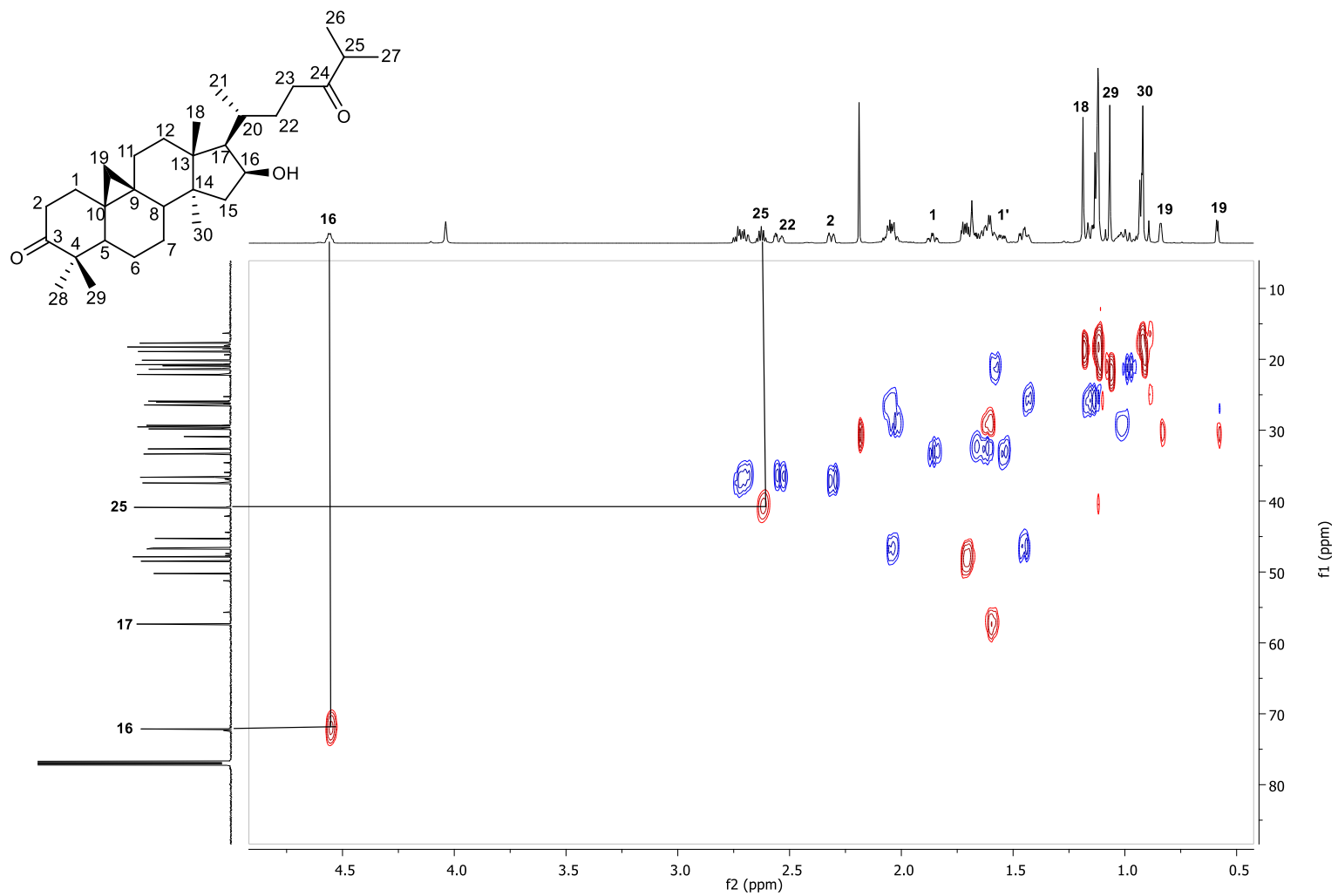
Espectro 1. Espectro de masas de la 16β-hidroxi-cicloartan-3,24-diona (3)



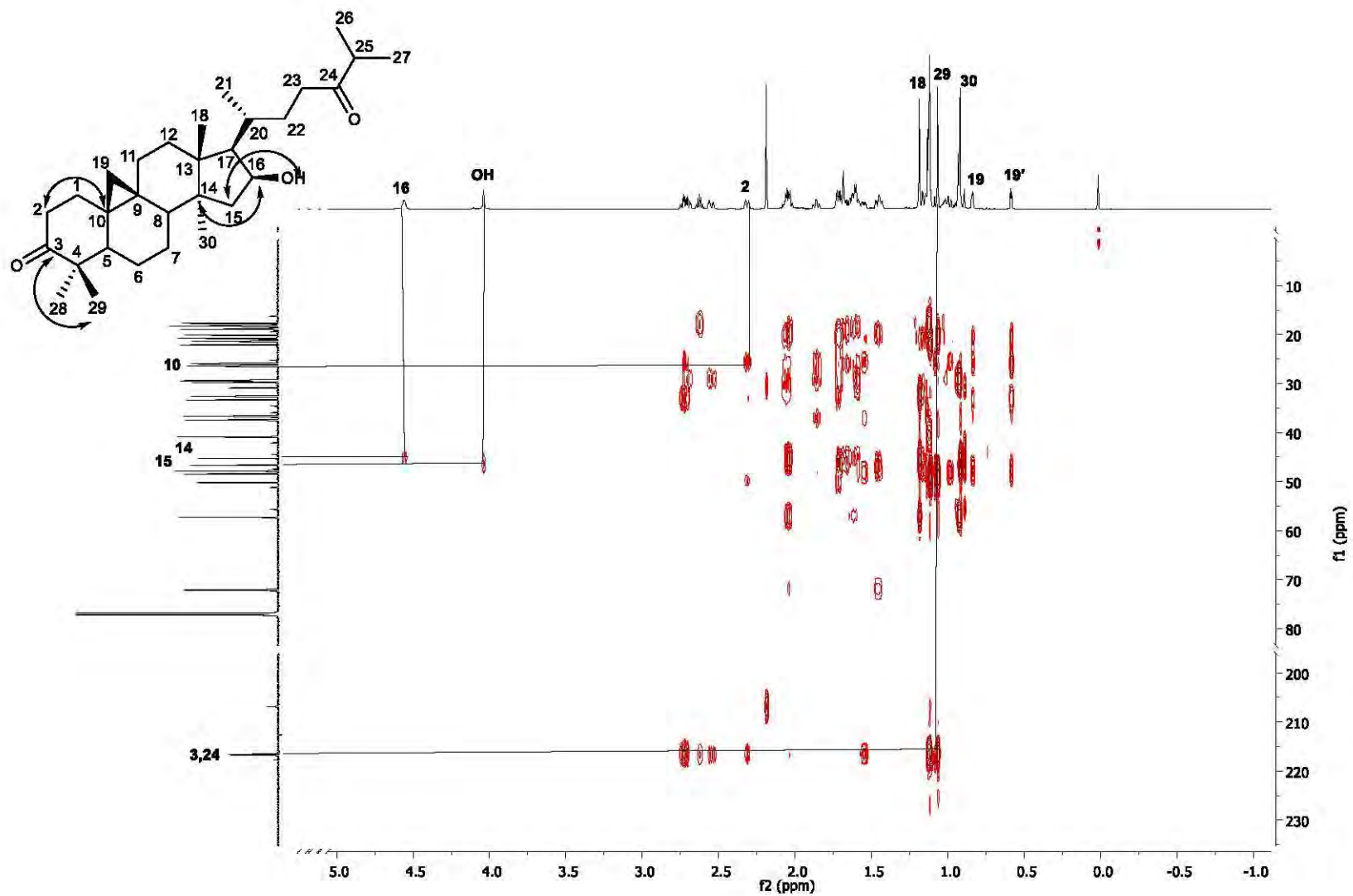
Espectro 2. RMN ¹H del análogo 3



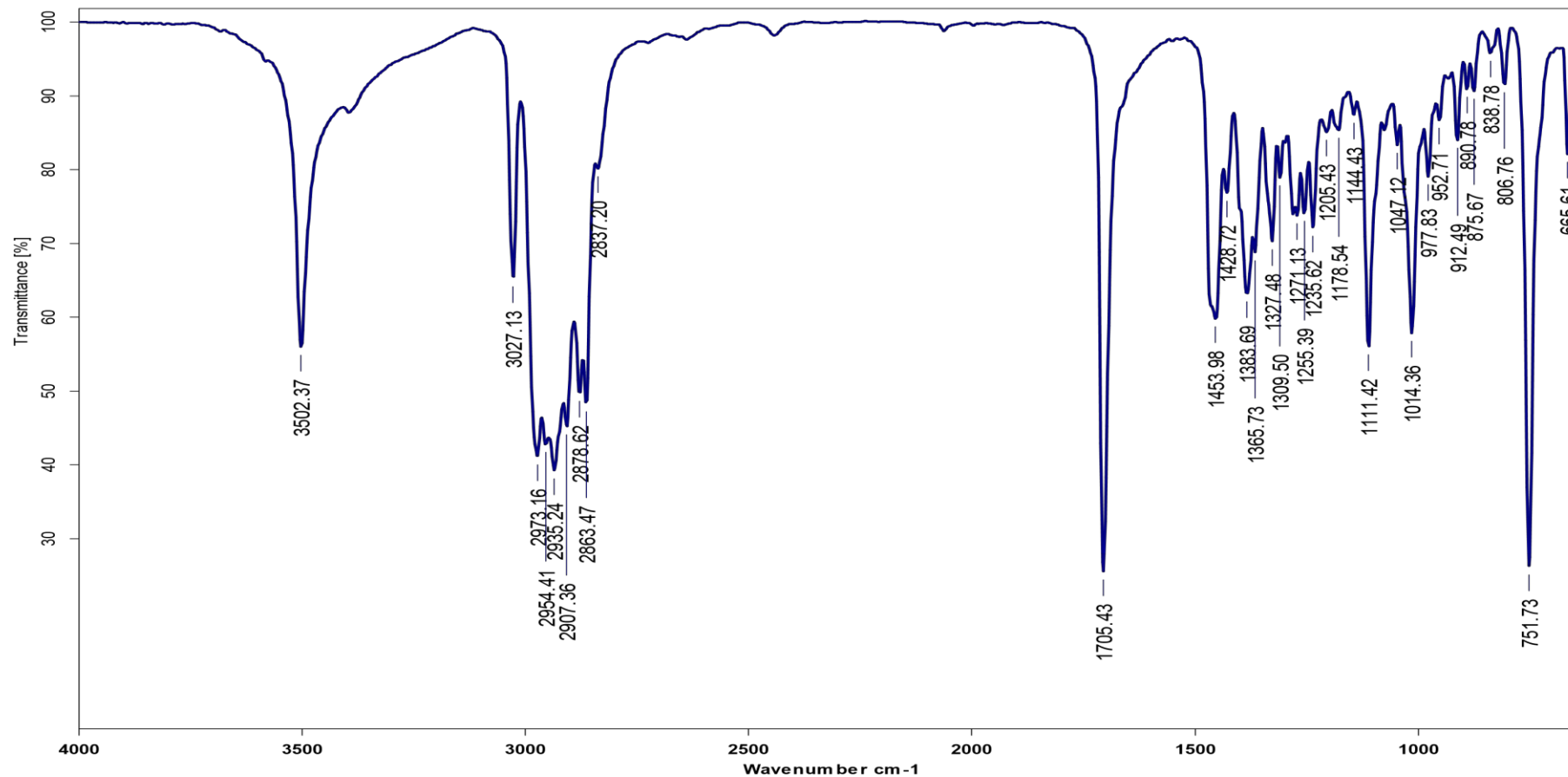
Espectro 3. RMN ^{13}C , DEPT135 y DEPT90 del análogo 3



Espectro 4. Experimento HSQC del análogo 3 (algunas correlaciones C-H observadas a un enlace de distancia)



Espectro 5. Experimento HMBC del análogo 3 (algunas correlaciones C-H a tres enlaces de distancia observadas)



Espectro 6. Absorción en el infrarrojo de la 16β-hidroxi-cicloartan-3,24-diona (3)

3 β ,16 β -dihidroxi-cicloartan-24-ona (5)

El espectro de RMN ^1H del compuesto **5** (Espectro 8) muestra nuevamente el sistema AB de los protones del anillo de ciclopropano (0.60ppm, d, $J = 4.3$ Hz; 0.34ppm, d, $J = 4.3$ Hz) en la posición C19. También se pueden notar 4 singuletes a 1.15, 0.99, 0.90 y 0.83ppm que mediante los experimentos 2D; HSQC y HMBC se asignaron como protones de metilos, en C18, C29, C30 y C28 respectivamente. El doblete en 0.92ppm (d, $J = 6.1$ Hz) corresponde a los protones de metilo en C21, interacciona con el único protón de C20 y se traslapa ligeramente con la señal de 0.90 ppm. Adicionalmente, se aprecian 2 dobletes a 1.12ppm ($J = 3.8$ Hz) y a 1.11ppm ($J = 3.7$ Hz) que corresponden a los metilos C26 y C27 respectivamente, la multiplicidad se debe a la interacción con el protón en C25. La señal de campo bajo a 4.54ppm, (q, $J = 6.2$ Hz) corresponde al protón de C16 que se encuentra desprotegido por el OH presente en el mismo carbono. En este espectro también se observan las señales de los protones de la posición 22 (2.54ppm, ddd, $J = 19.0, 5.6, 3.5$ Hz; 2.70ppm, ddd, $J = 19.0, 11.0, 3.3$ Hz) desplazados a campo bajo por la desprotección del OH en C16 y el carbonilo en C24. Se identifica el protón del heptuplete en C25 (2.62ppm, $J = 6.9$ Hz) que interacciona con dos metilos vecinos en C26 y C27. El protón en C3 se ubica a 3.33ppm.

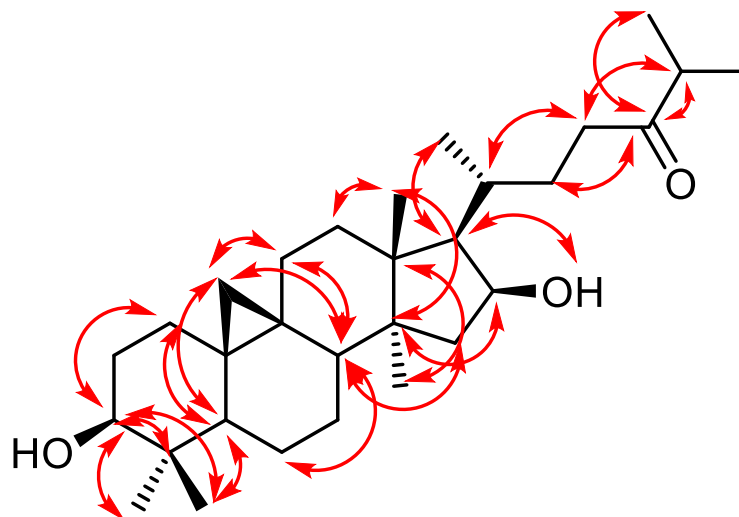


Figura 28. Principales correlaciones H-C de (5) observadas en el experimento HMBC

Mediante los datos de los experimentos DEPT135 y DEPT90 y los del espectro total (Espectro 9) se asignaron los carbonos de la molécula complementado por los

experimentos DEPT135 y DEPT90. Se destacan principalmente el carbonilo en C24 (216.8ppm) en campo bajo y el C3 que presenta un grupo OH por la reducción desplazado a 78.8ppm. La asignación se logró mediante los experimentos HSQC (Espectro 10) y HMBC (Espectro 11), se observan la correlación entre el carbonilo C24 con el protón de C25 (Figura 28).

En el espectro de absorción en el infrarrojo se observaron principalmente las bandas O-H(3450.56cm^{-1}), C=O(1702.21cm^{-1}) y C-O(1382.68cm^{-1})

En el espectro de masas adquirido a 70 eV mediante impacto electrónico se observó el ion molecular en m/z 458, igualmente como en la molécula anterior se observa la pérdida de agua $[M-H_2O]^+$ en m/z 440 (Espectro7).

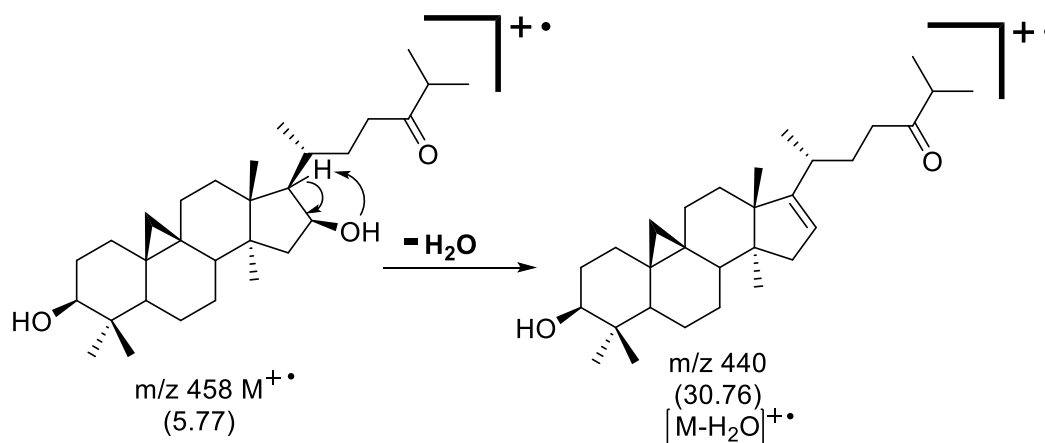
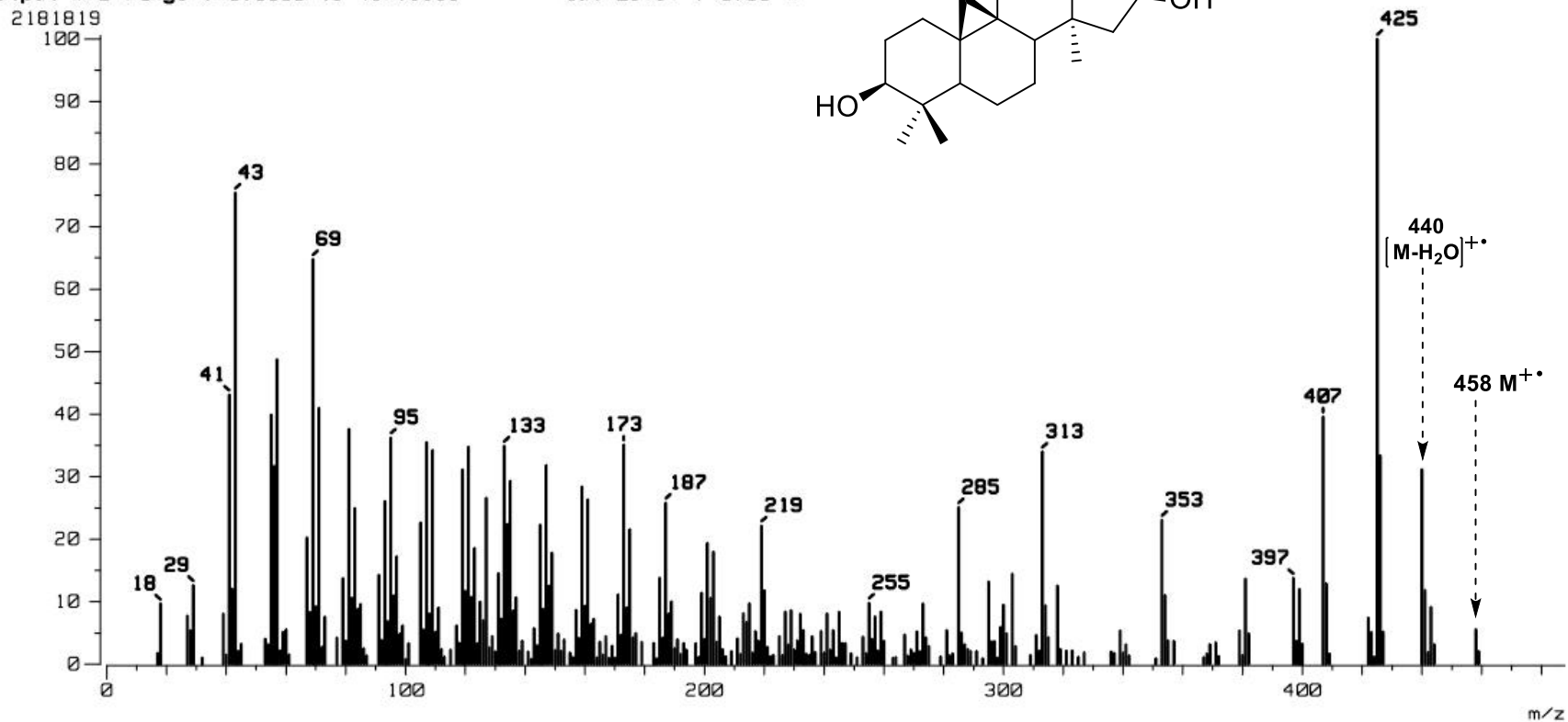
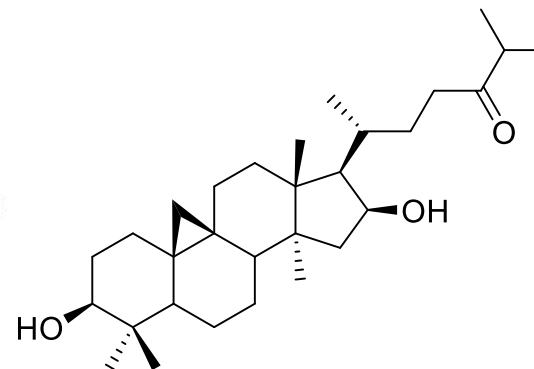
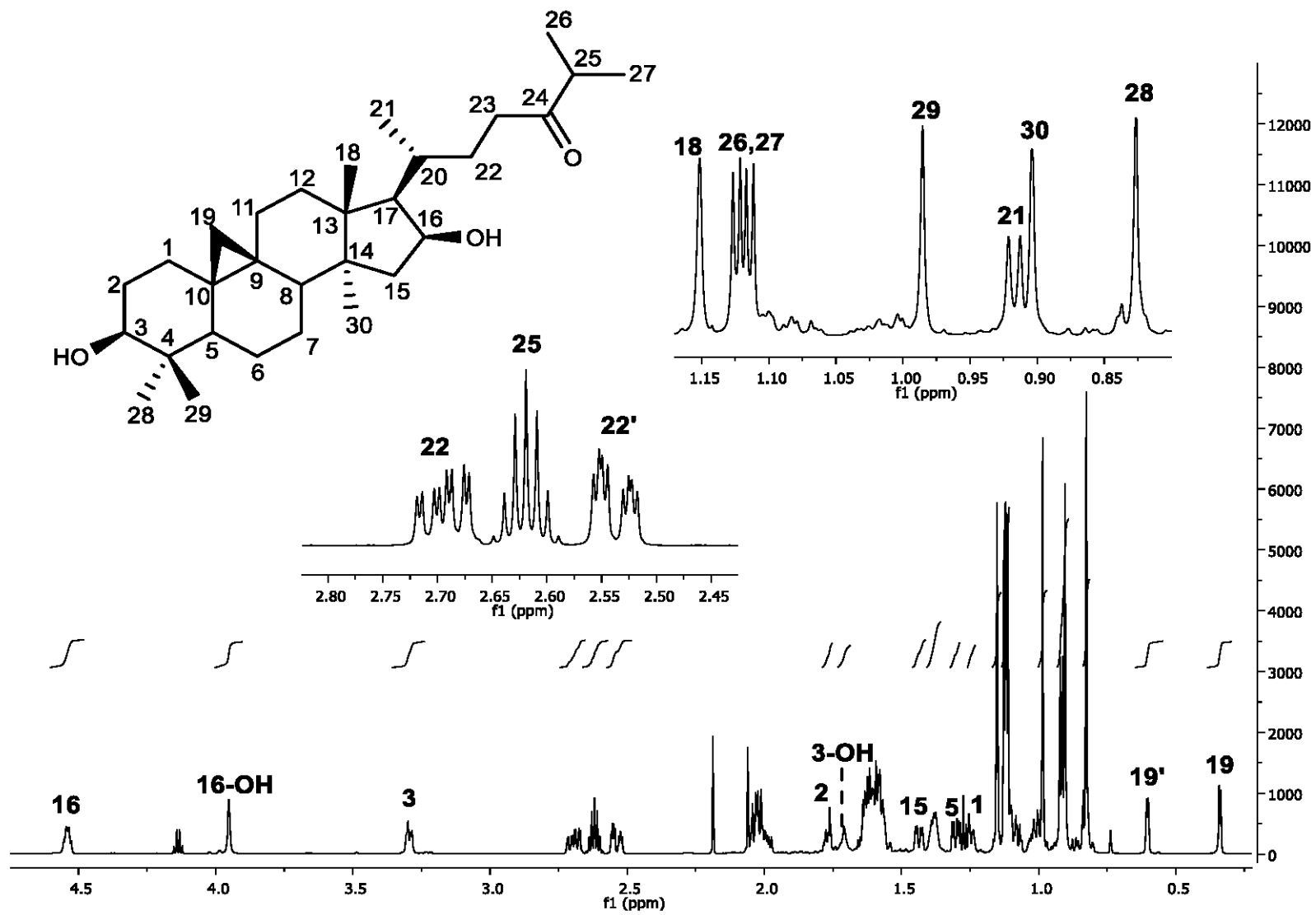


Figura 29. Ion molecular y pérdida de H_2O en la 3β,16β-dihidroxi-cicloartan-24-ona (5)

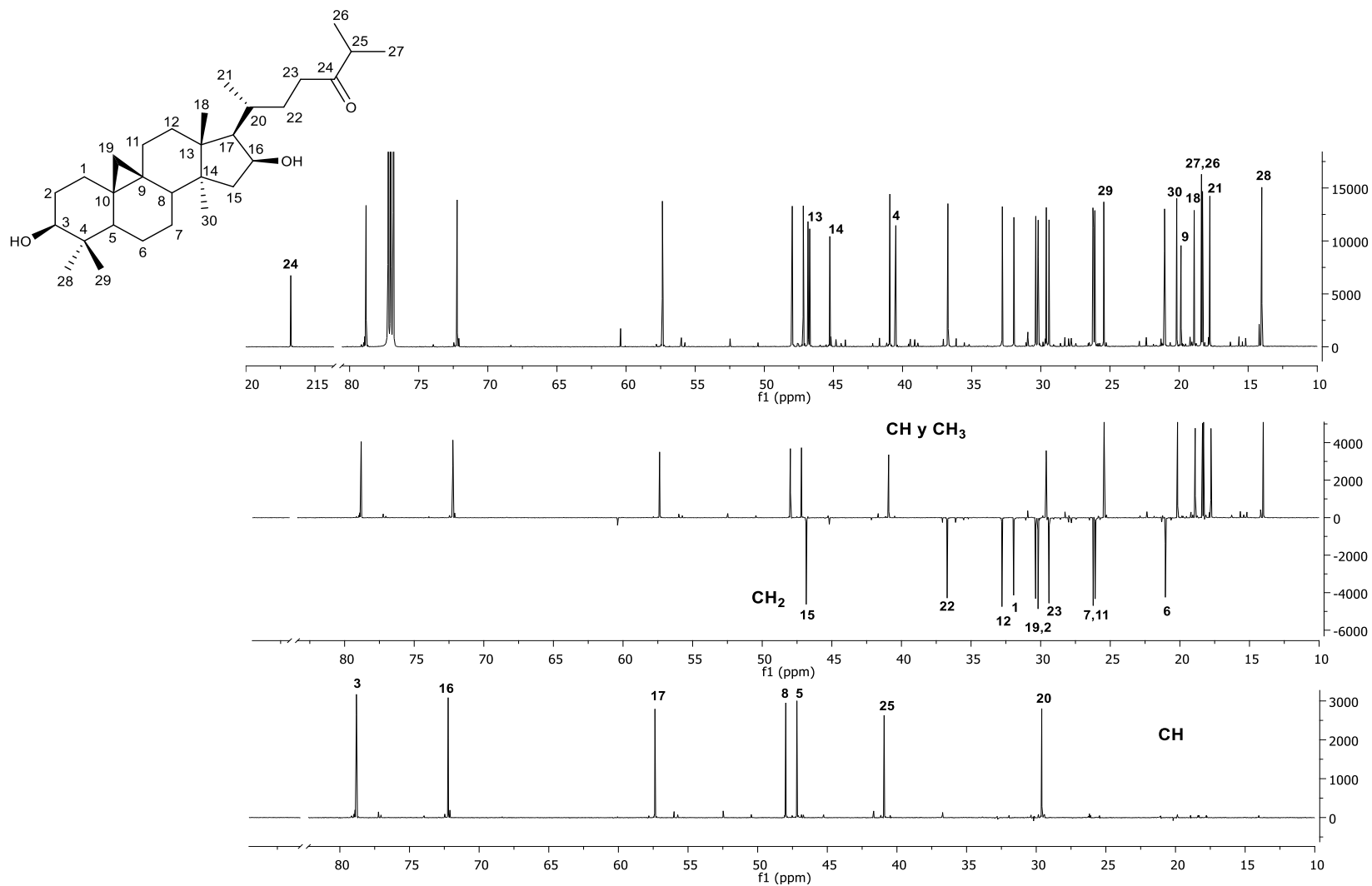
[Mass Spectrum]
 Date : 24-Nov-2017 12:12
 Sample: 2617 IR-05 Jeol SX102A
 Note : Operadores Carmen Garcia - Javier Perez
 Inlet : Direct Ion Mode : EI+
 Spectrum Type : Normal Ion [MF-Linear]
 RT : 0.30 min Scan# : 7
 BP : m/z 425.0000 Int. : 206.88
 Output m/z range : 0.0000 to 487.8338
 Cut Level : 0.00 %



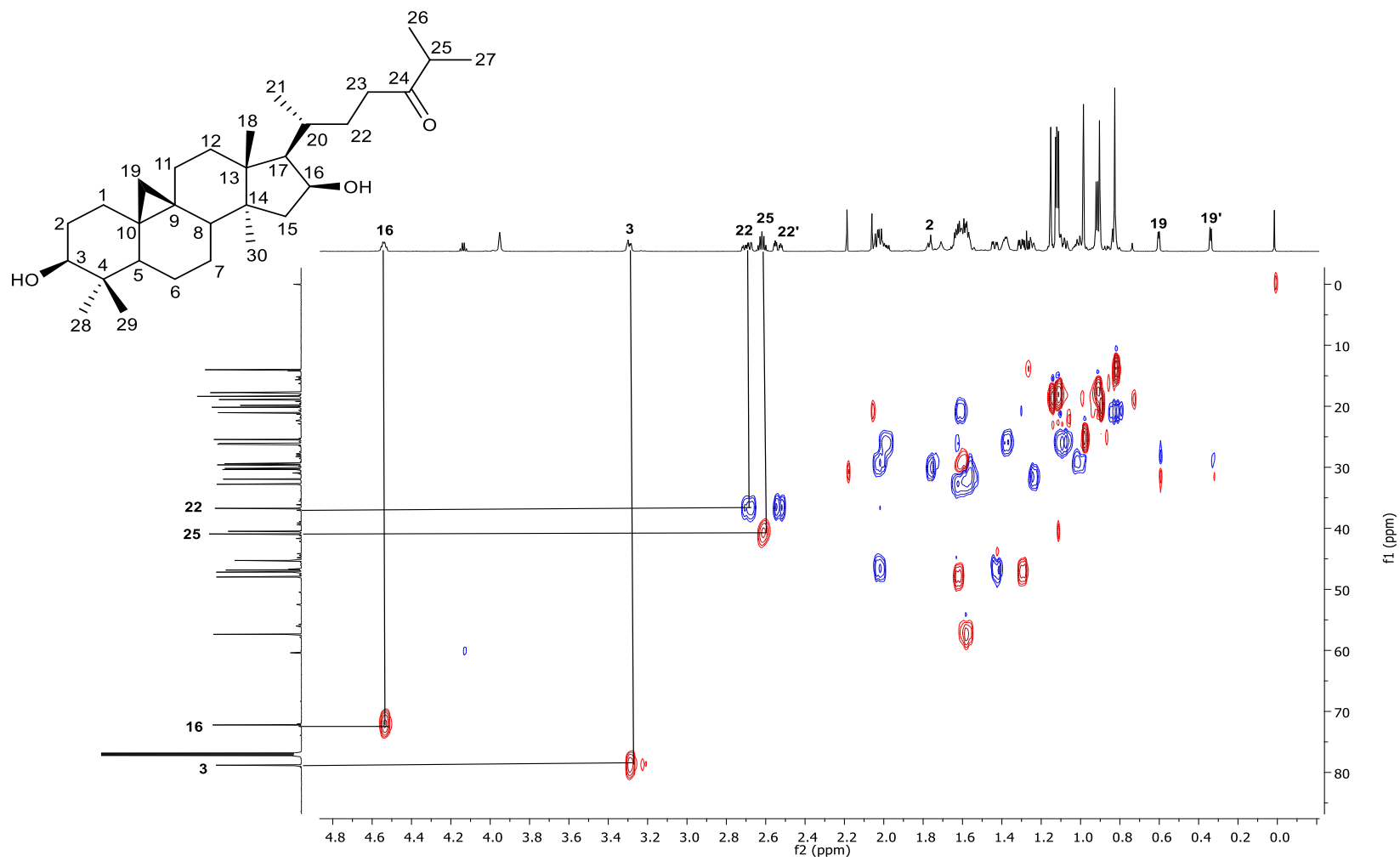
Espectro 7. Espectro de Masas de la 3β,16β-dihidroxi-cicloartan-24-ona (5)



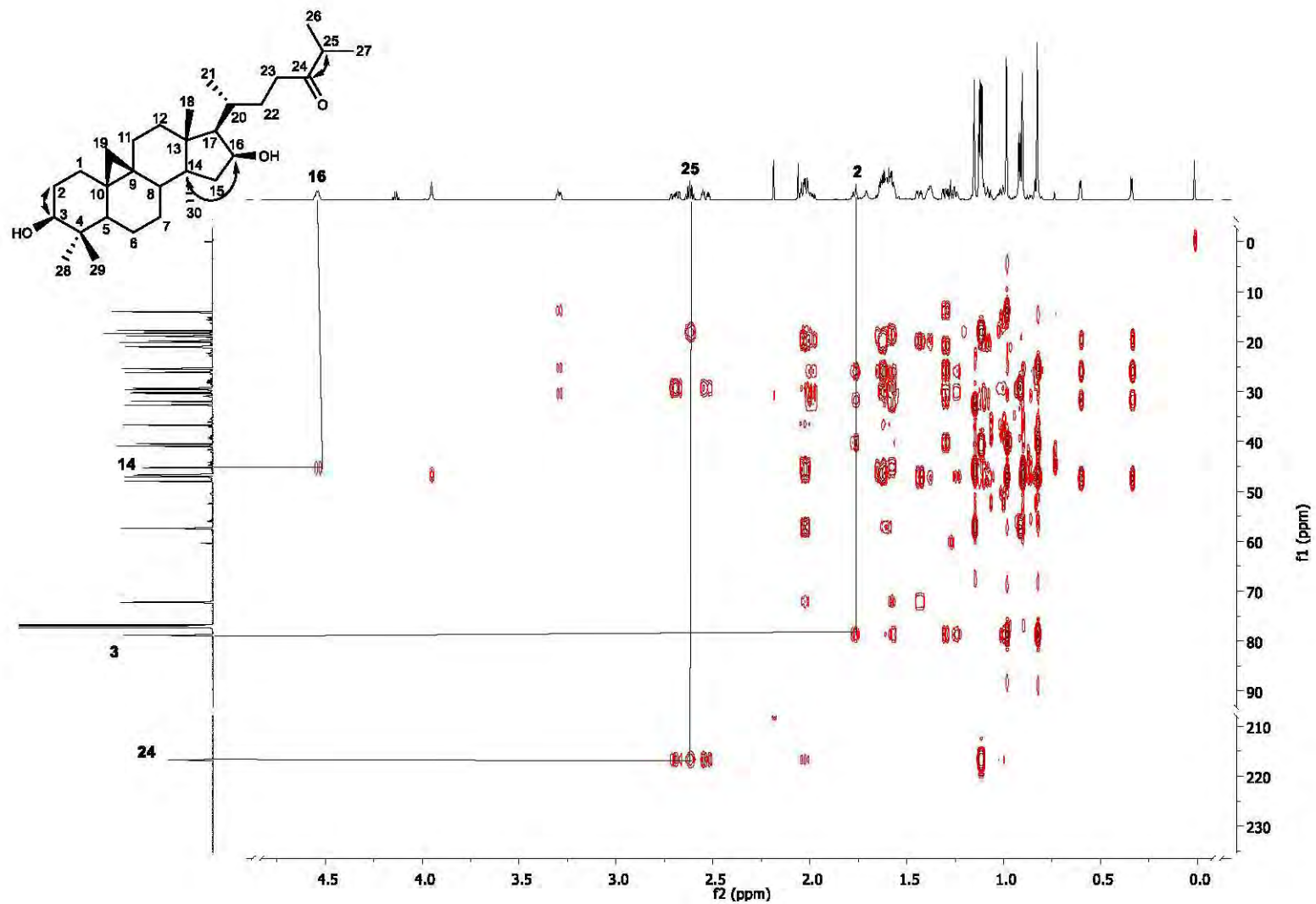
Espectro 8. RMN ¹H del análogo 5



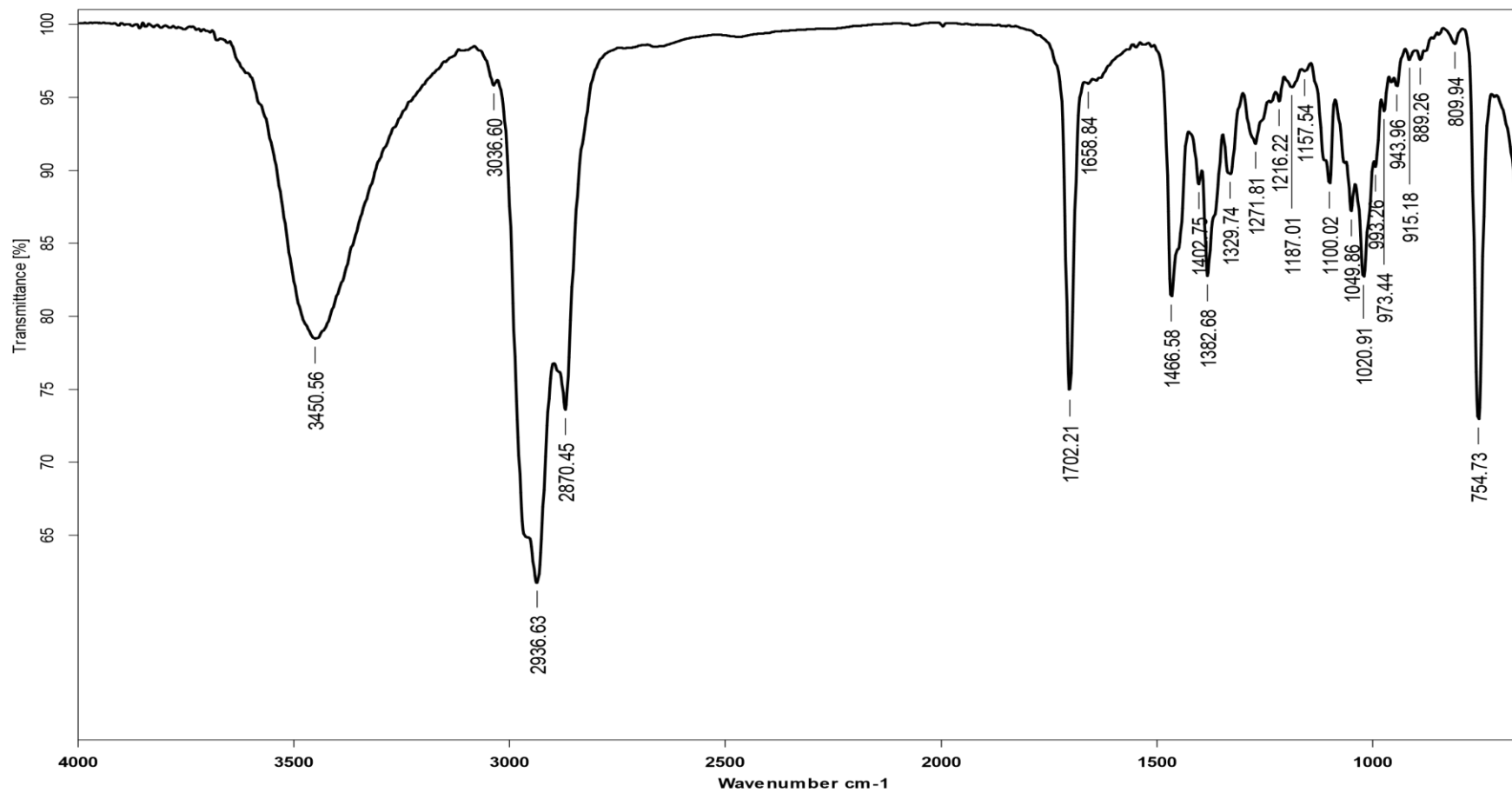
Espectro 9. RMN ^{13}C , DEPT135 y DEPT90 del análogo 5



Espectro 10. Experimento HSQC del análogo 5 (algunas correlaciones C-H observadas a un enlace de distancia)



Espectro 11. Experimento HMBC del análogo 5 (algunas correlaciones C-H de dos a tres enlaces de distancia observadas)



Espectro 12. Absorción en el infrarrojo de la 3 β ,16 β -dihidroxi-cicloartan-24-ona (5)

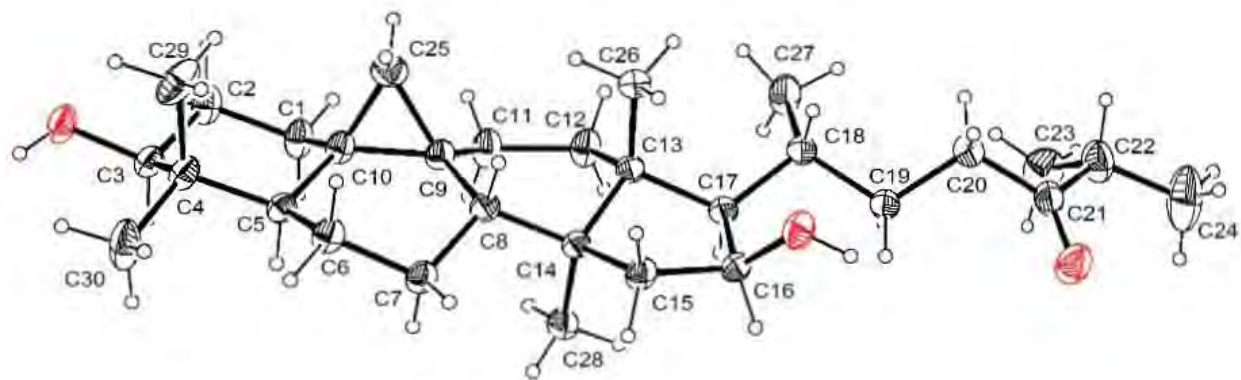


Figura 30. Difracción de rayos X de la 3β,16β-dihidroxi-cicloartan-24-ona

Identification code	377MVM17	
Empirical formula	C ₃₀ H ₅₀ O ₃	
Formula weight	458.70	
Temperature	298(2) K	
Wavelength	1.54178 Å	
Crystal system	Orthorhombic	
Space group	P2 ₁ 2 ₁ 2 ₁	
Unit cell dimensions	a = 10.1688(3) Å	α = 90°.
	b = 11.5050(3) Å	β = 90°.
	c = 23.4972(5) Å	γ = 90°.
Volume	2748.99(12) Å ³	
Z	4	
Density (calculated)	1.108 Mg/m ³	
Absorption coefficient	0.530 mm ⁻¹	
F(000)	1016	
Crystal size	0.452 x 0.322 x 0.182 mm ³	
Theta range for data collection	3.762 to 68.598°.	
Index ranges	-10 ≤ h ≤ 12, -13 ≤ k ≤ 13, -28 ≤ l ≤ 28	
Reflections collected	20733	
Independent reflections	5011 [R(int) = 0.0265]	
Completeness to theta = 67.679°	99.5 %	
Absorption correction	Semi-empirical from equivalents	
Max. and min. transmission	0.7531 and 0.6647	
Refinement method	Full-matrix least-squares on F ²	
Data / restraints / parameters	5011 / 2 / 311	
Goodness-of-fit on F ²	1.037	
Final R indices [I > 2σ(I)]	R1 = 0.0476, wR2 = 0.1313	
R indices (all data)	R1 = 0.0505, wR2 = 0.1358	
Absolute structure parameter	0.01(9)	
Largest diff. peak and hole	0.370 and -0.158 e.Å ⁻³	

Tabla 11. Datos de difracción de rayos X del análogo 5

3 β ,16 β -dihidroxi-lanost-9,11-en-24-ona (6)

De los análogos sintetizados, este tiene la peculiaridad de carecer del sistema AB del anillo de ciclopropano, es decir sufrió una apertura y se produjo un doble enlace entre las posiciones C9 y C11. Un dato espectroscópico que apoya esta propuesta es el hecho de que en el espectro de RMN ^1H del compuesto **6** (Espectro 14) presenta 5 singuletes a 1.07ppm, 1.01ppm, 0.84ppm, 0.83ppm y 0.74ppm que mediante los experimentos HSQC y HMBC se pudieron asignar como los protones de metilos de las posiciones C19, C29, C28, C18 y C30 respectivamente. El doblete en 0.93 ppm ($J = 5.3$ Hz) corresponde a los protones de metilo en C21, los cuales interacciona con el protón de C20. También se aprecian 2 dobletes a 1.13ppm ($J = 2.5$ Hz) y 1.12ppm ($J = 2.5$ Hz) que corresponden a los metilos en C26 y C27 respectivamente, esta multiplicidad se debe a la interacción que presentan con el protón en C25. La señal a 4.56ppm (ddd, $J = 7.9, 6.0, 4.5$ Hz) corresponde al protón de la posición 16 que se encuentra desprotegido por el grupo OH presente en el mismo carbono. También se observan las señales de los protones de la posición C22 (2.69ppm, ddd, $J = 19.0, 11.1, 3.2$ Hz; 2.54ppm, ddd, $J = 19.0, 5.7, 3.4$ Hz) desplazadas a campo bajo debido a la desprotección por parte del OH en C16 y el carbonilo en C24.

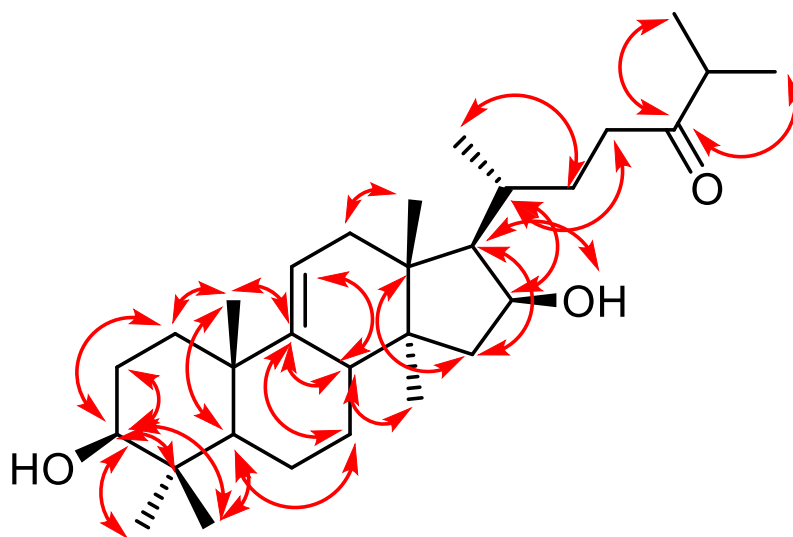


Figura 31. Principales correlaciones H-C de (6) observadas en el experimento HMBC

El protón de C25 se observa a 2.62ppm como heptuplete ($J = 6.9$ Hz) debido a su interacción con los metilos vecinos en C26 y C27. Se identificó la presencia de un dd a 3.23ppm ($J = 11.8, 4.3$ Hz) asignado al protón H3. Debido a la presencia de doble

enlace entre C9 y C11, el protón H11 se desplazó a campo bajo (5.22ppm, dt, $J = 6.4, 2.1$ Hz). Así también, ocurrió con C8 (2.31 – 2.26ppm, m) y C12 (1.88ppm, ddd, $J = 17.1, 6.1, 1.9$ Hz).

Mediante los experimentos DEPT135 y DEPT90 en el espectro de RMN ^{13}C se lograron asignar asignaron todos los carbonos de la molécula (Espectro 15). Se destacan el carbonilo en C24 a 216.8ppm, el C3 que unido a un grupo OH desplazado a 78.9ppm y los carbonos vinílicos C11 a 114.5 y C9 a 148.8.

En el espectro de absorción en el infrarrojo se observó principalmente las bandas de O-H(3444.87cm^{-1}), C=O(1702.01cm^{-1}) y C-O(1099.61cm^{-1}).

En el espectro de masas a 70 eV y por impacto electrónico de **6** se observa el ion molécula en m/z 458, también se ve un fragmento a m/z 440 que corresponde a la pérdida de agua a partir del ion molecular.

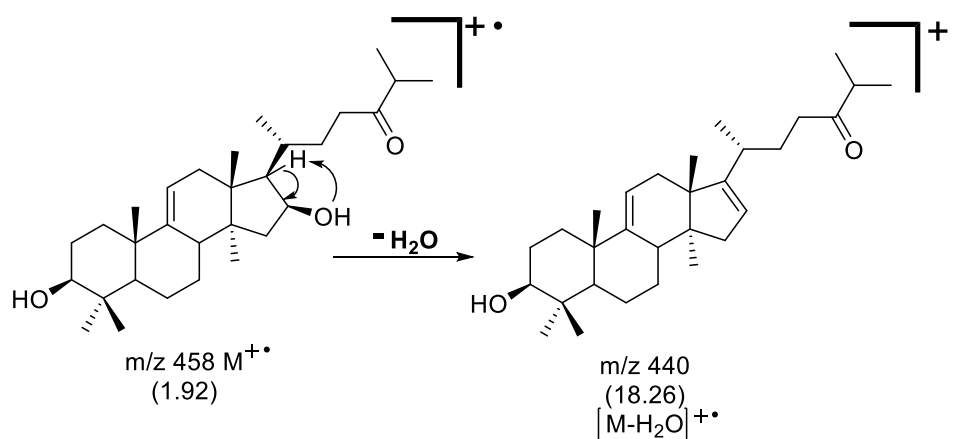
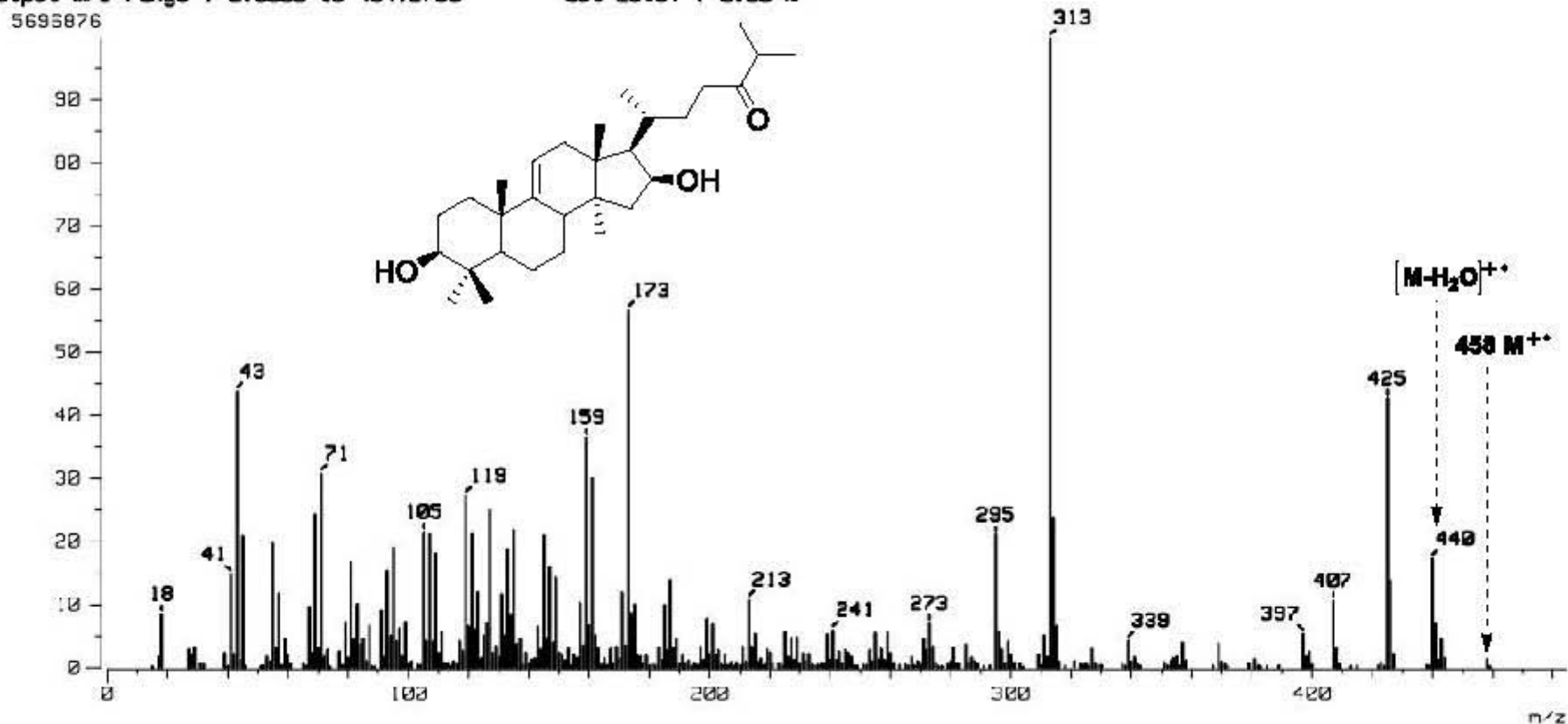
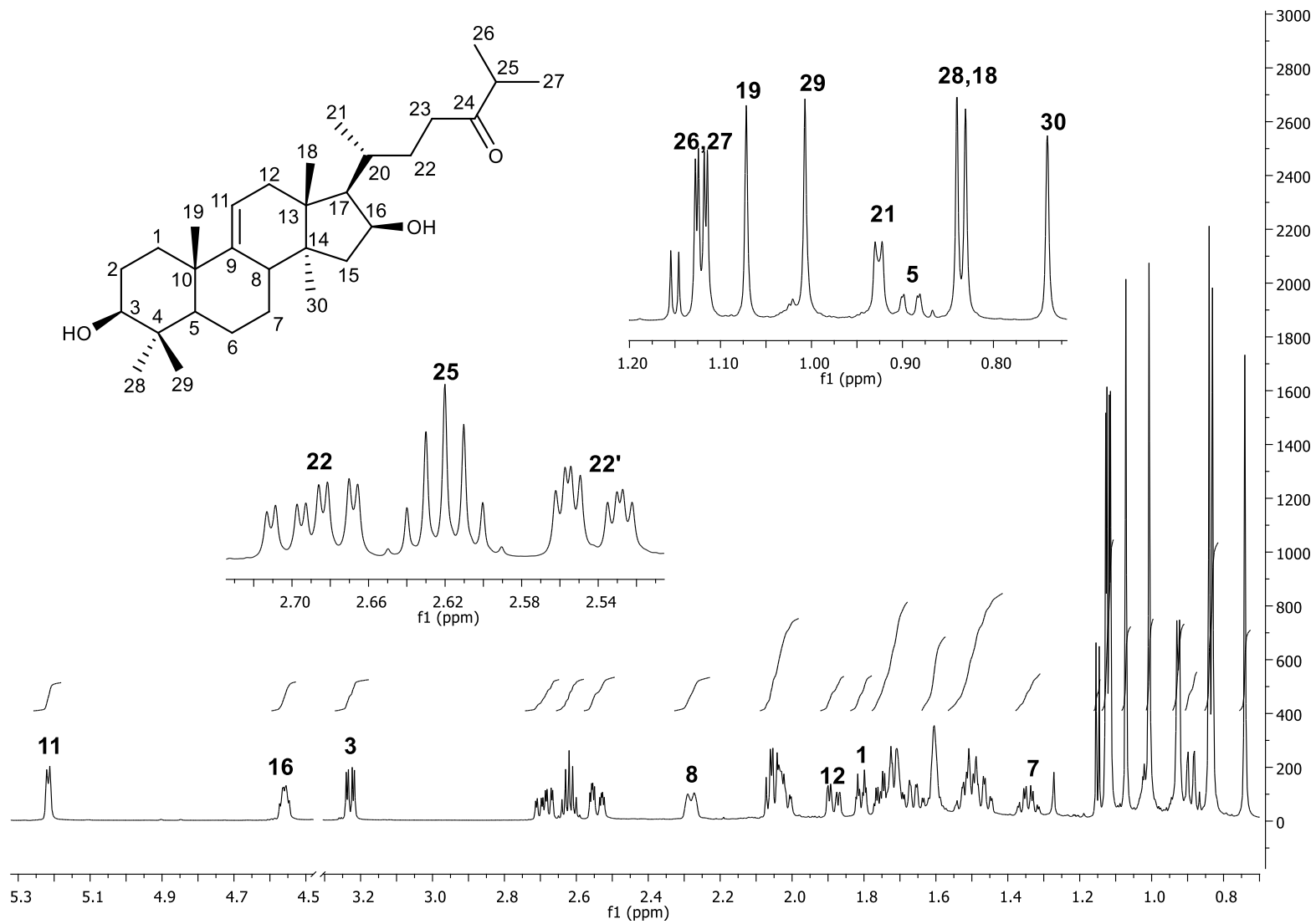


Figura 32. Ion molecular y pérdida de H_2O en la $3\beta,16\beta$ -dihidroxi-lanost-9,11-en-24-ona (6**)**

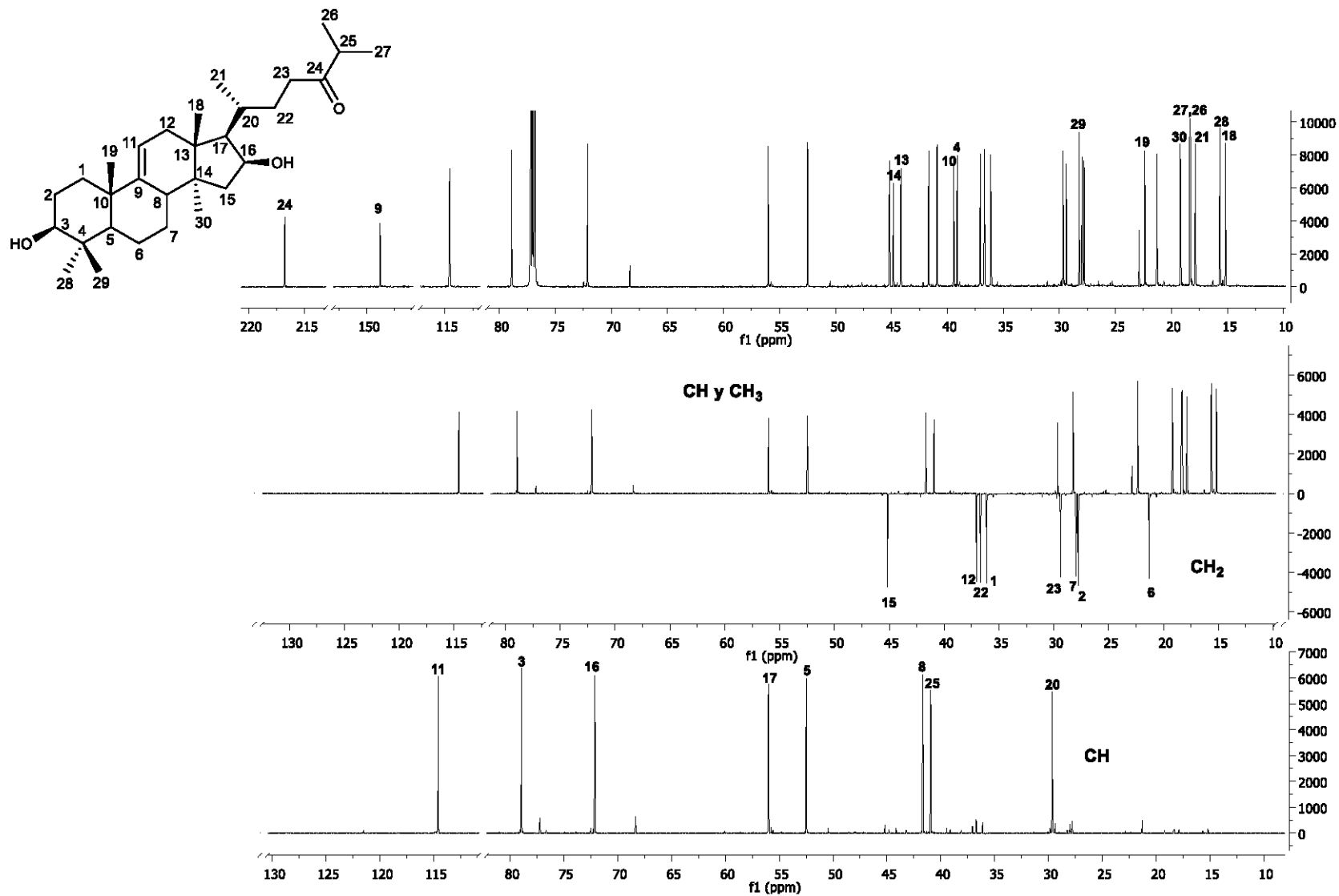
[Mass Spectrum]
 Data : Dr-Martinez-Mariano-047 Date : 24-Nov-2017 12:14
 Sample: 2618 IR-06 Jeol SX102A
 Note : Operadores Carmen Garcia - Javier Perez
 Inlet : Direct Ion Mode : EI+
 Spectrum Type : Normal Ion [MF-Linear]
 RT : 0.30 min Scan# : (7,8)
 BP : m/z 313.0000 Int. : 544.87
 Output m/z range : 0.0000 to 484.2730 Cut Level : 0.00 %



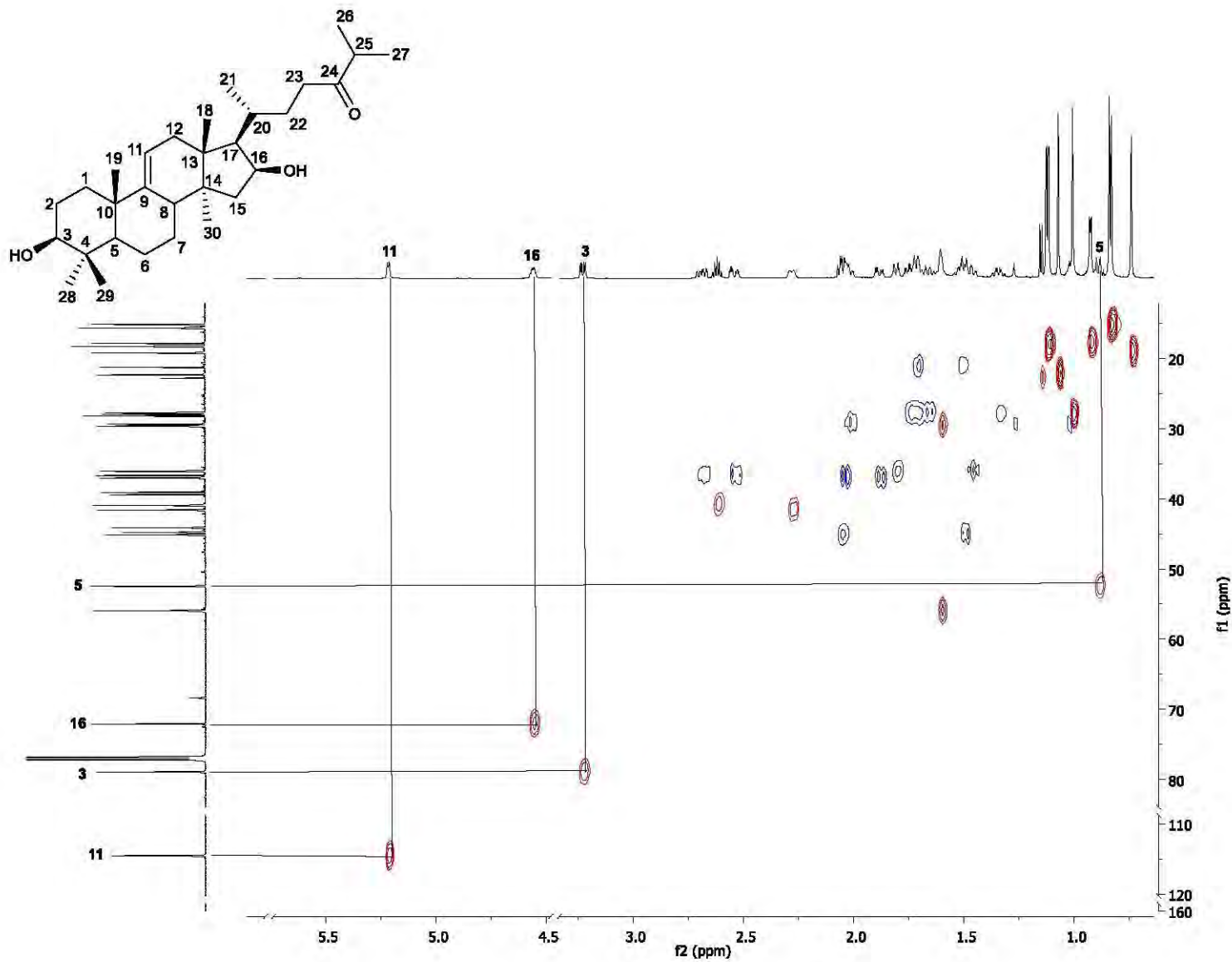
Espectro 13. Espectro de masas de la 3β,16β-dihidroxi-lanost-9,11-en-24-ona (6)



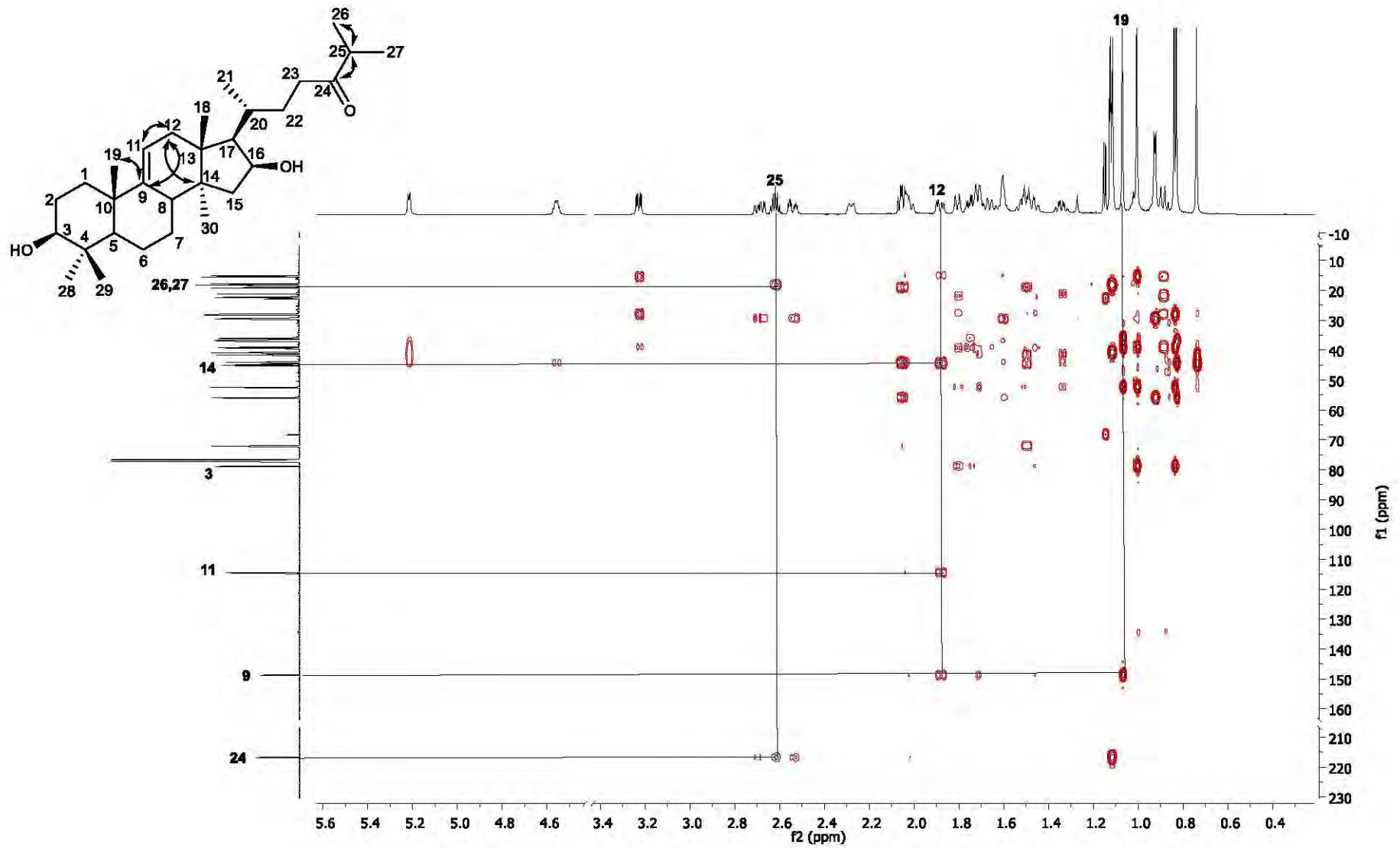
Espectro 14. RMN ¹H del análogo 6



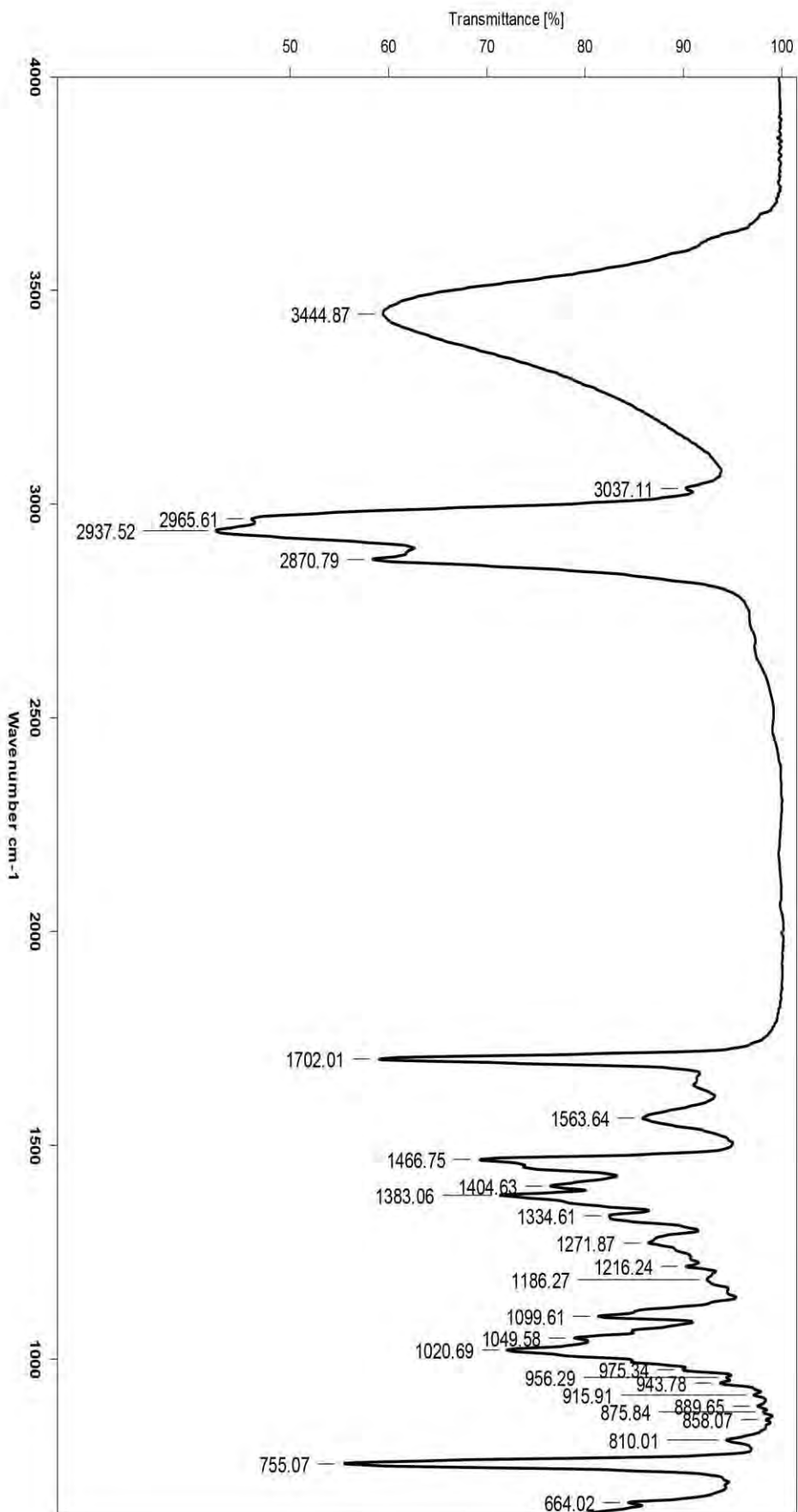
Espectro 15. RMN ^{13}C , DEPT135 y DEPT90 del análogo 6



Espectro 16. Experimento HSQC del análogo 6 con algunas correlaciones observadas



Espectro 17. Experimento HMBC del análogo 6 con algunas correlaciones C-H de dos a tres enlaces de distancia observadas



Espectro 18. Absorción en el infrarrojo de la 3 β , 16 β -dihidroxi-lanost-9, 11-en-24-ona (6)

3 β -Acetil-(16 β) ol-cicloartan-24-ona (9)

El espectro de RMN ^1H de **9** (Espectro 20) muestra nuevamente los protones del sistema AB correspondiente al anillo de ciclopropano a 0.63ppm (d, $J = 4.3$ Hz) y a 0.35ppm (d, $J = 4.3$ Hz) en C19. También se observan dos singuletes a 1.15ppm y 0.87ppm. Los experimentos HSQC y HMBC permitieron asignar estos singuletes a los protones de metilos de las posiciones C-18 y C-29 respectivamente. Se identificó la señal de protón de C-20 (1.05 – 0.99, m). Los dobletes a 1.13ppm ($J = 3.8$ Hz) y 1.12 ppm ($J = 3.8$ Hz) corresponden a los metilos C26 y C27, los cuales están interaccionando con el protón de C25. La señal que confirma la acetilación del OH en C3 es el singulete 2.07ppm(3H) característico del metilo del grupo acetilo. La señal de protón en C3 se encuentra desplazada a campo bajo por la presencia del acetato 4.55 (dd, $J = 11.0, 4.3$ Hz) traslapándose ligeramente con la señal que corresponde al protón de la posición C16 (4.52, dd, $J = 12.8, 6.0$ Hz) y que se encuentra desprotegido por el grupo OH presente en el mismo carbono.

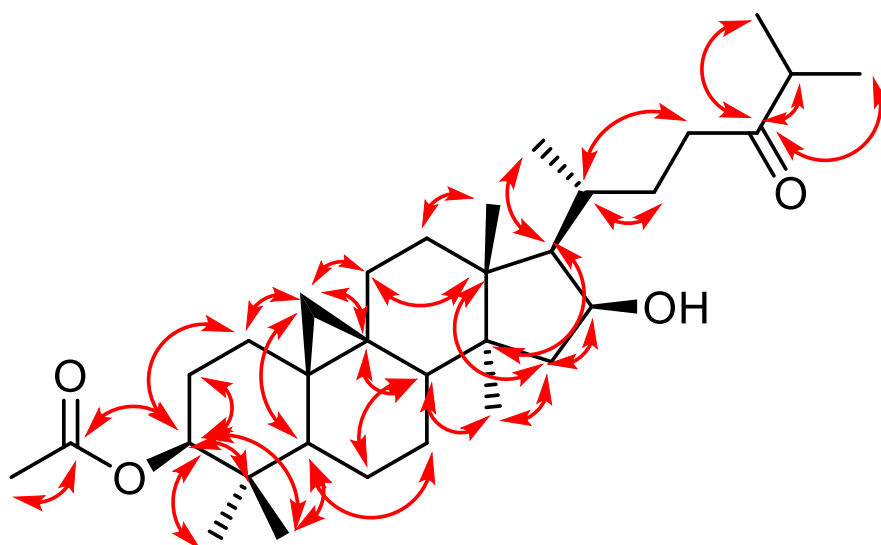


Figura 33. Principales correlaciones H-C de (9) observadas en el experimento HMBC

También se observan ver las señales de los protones de la posición 22 (2.70ppm, ddd, $J = 19.0, 11.0, 3.2$ Hz; 2.54ppm; ddd, $J = 19.0, 5.7, 3.4$ Hz) que están presentes a campo bajo debido a la desprotección por parte del OH en C16. La señal de heptuplete fue asignada al protón de C25 a 2.62ppm ($J = 7.0$ Hz) e interacciona con dos metilos vecinos en C26 y C27.

En el espectro de RMN ^{13}C (Espectro 21) se asignaron todos los carbonos de la molécula mediante los experimentos DEPT135 y DEPT90. Destaca los carbonilos en C24 a 216.9ppm y C31 171.13ppm respectivamente. El átomo C3 unido a un grupo OH es desplazado a 80.80ppm.

En el espectro de absorción en el infrarrojo se observaron principalmente las bandas $\text{C}=\text{O}$ (1730.01cm^{-1}), $\text{C}=\text{O}$ (1705.07cm^{-1}), OH (3498.90cm^{-1}) y $\text{C}-\text{O}$ (1248.62cm^{-1})

En el espectro de masas a 70 eV y por impacto electrónico de **6** se observa el ion molécula en m/z 500, posterior a la pérdida de agua de dicho ion se genera el pico en m/z 482.

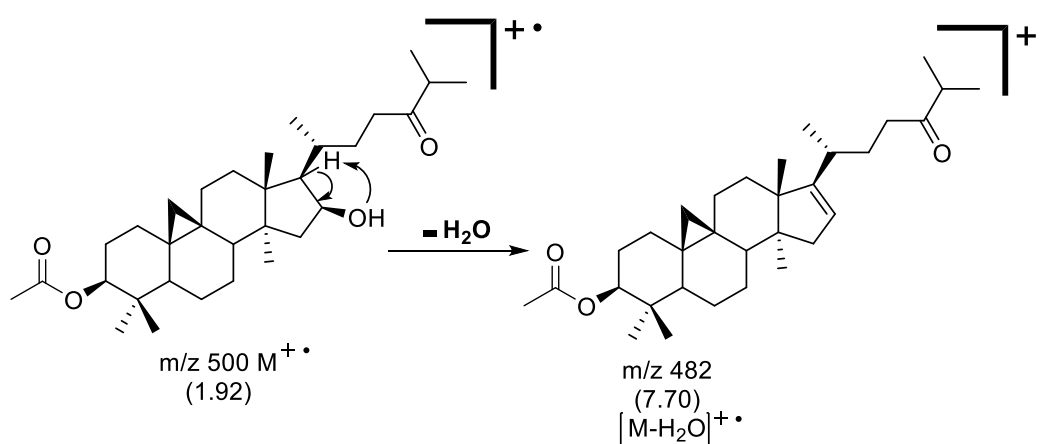
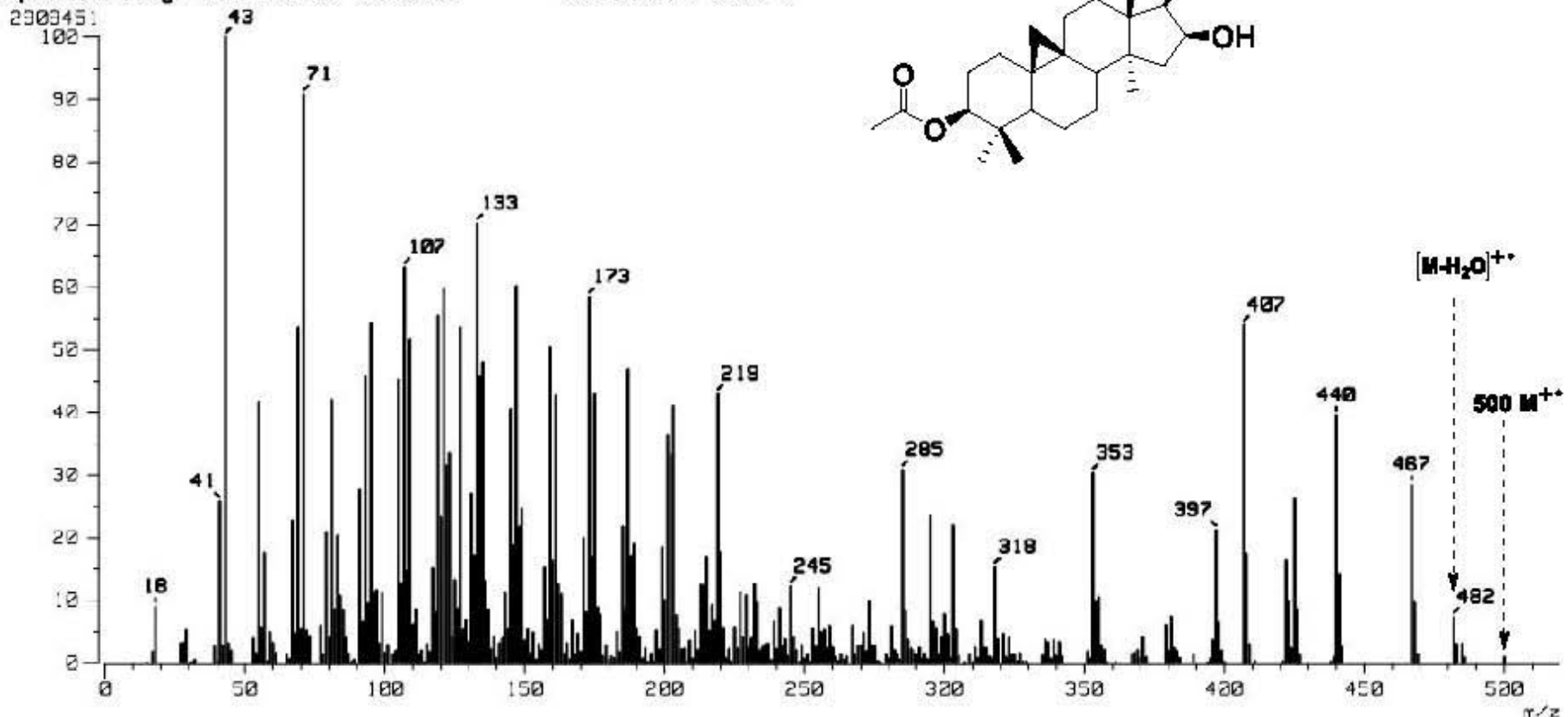
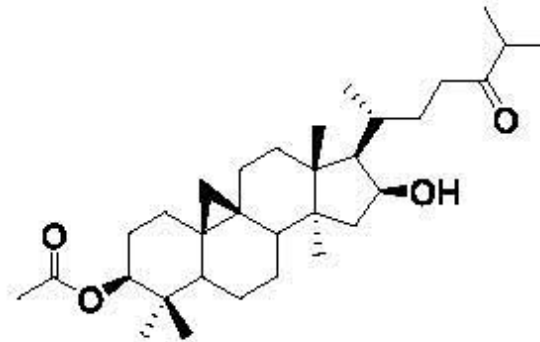
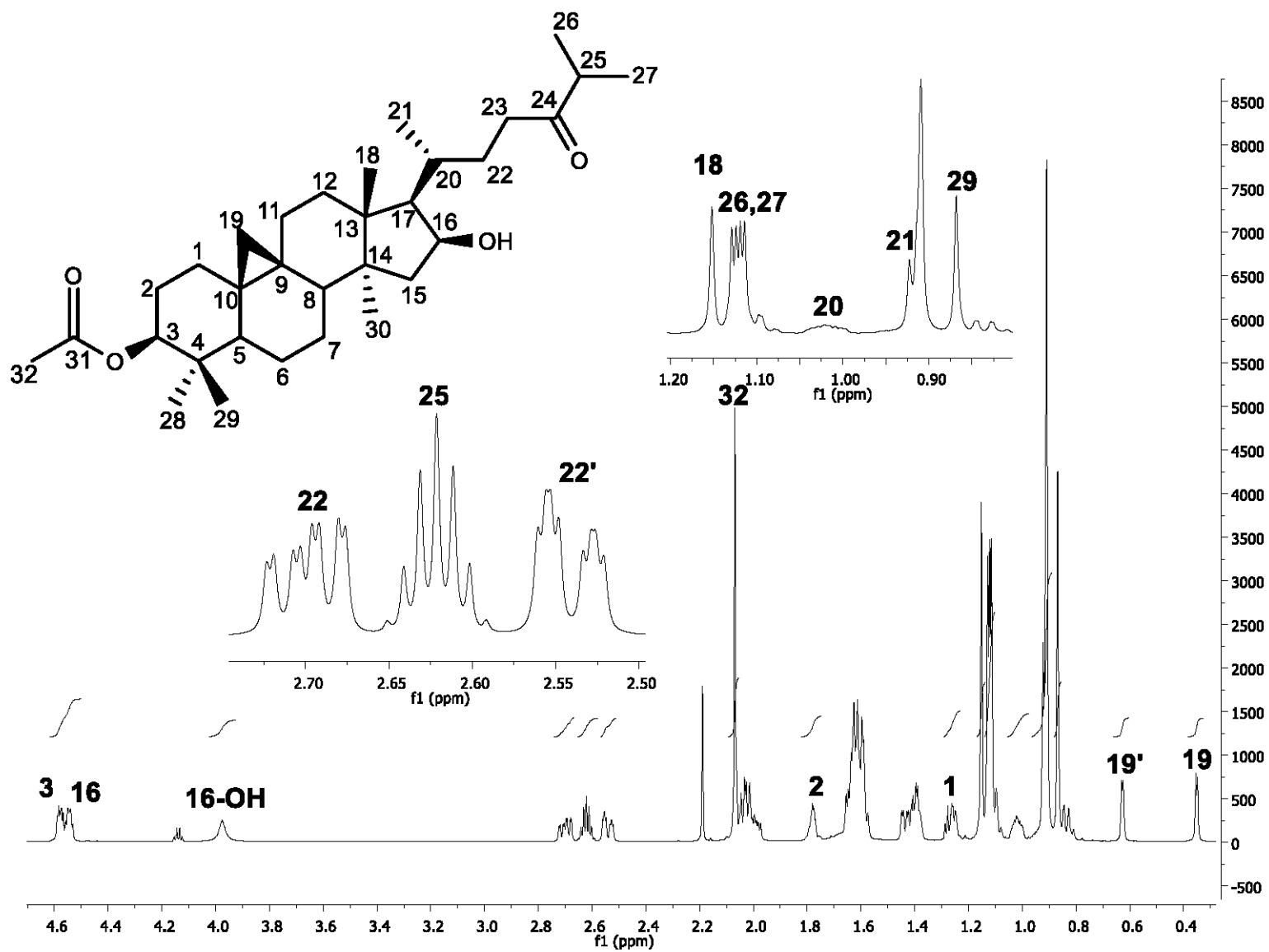


Figura 34. Ion molecular y pérdida de H_2O en la 3β-Acetil-(16β) ol-cicloartan-24-ona (**9**)

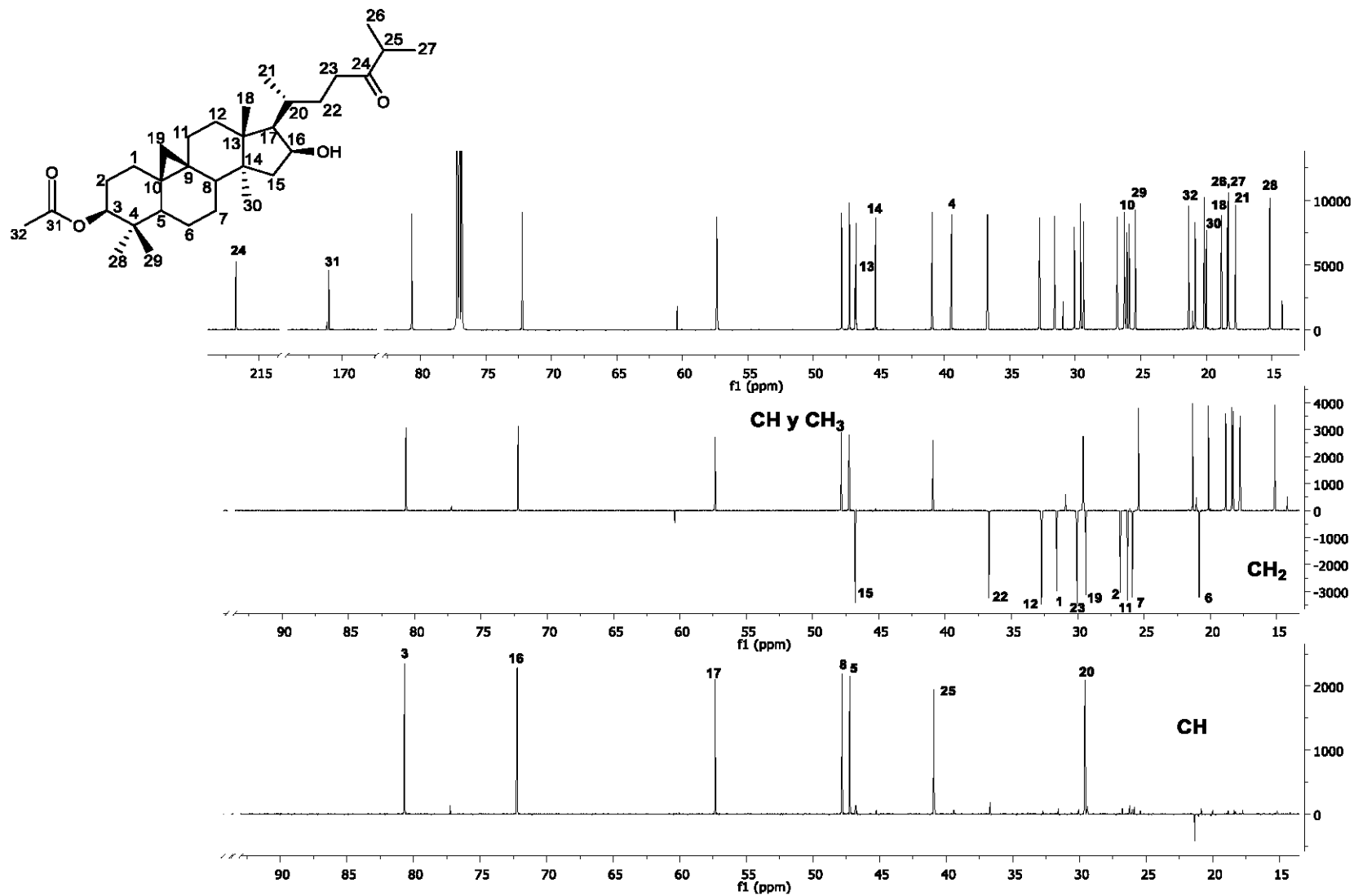
[Mass Spectrum]
 Data : Dr-Martinez-Mariano-050 Date : 24-Nov-2017 12:23
 Sample: 2621 IR-09 Jeol SX102R
 Note : Operadores Carmen Garcia - Javier Perez
 Inlet : Direct Ion Mode : EI+
 Spectrum Type : Normal Ion [MF-Linear]
 RT : 0.40 min Scan# : (7,11)
 BP : m/z 43.0000 Int. : 276.57
 Output m/z range : 0.0000 to 519.8813 Cut Level : 0.00 %



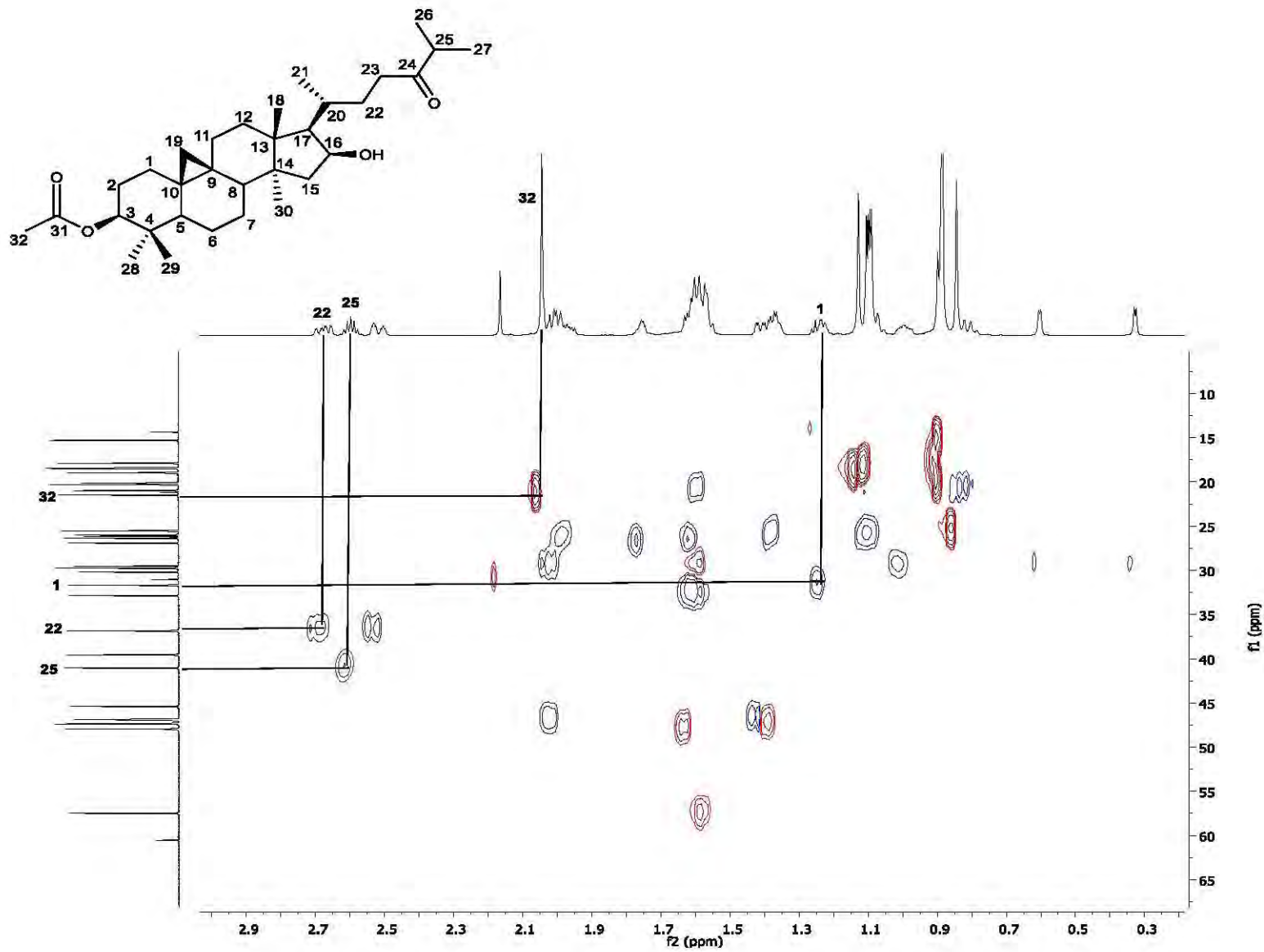
Espectro 19. Espectro de masas de la 3β-acetil-(16β) ol-cicloartan-24-ona (9)



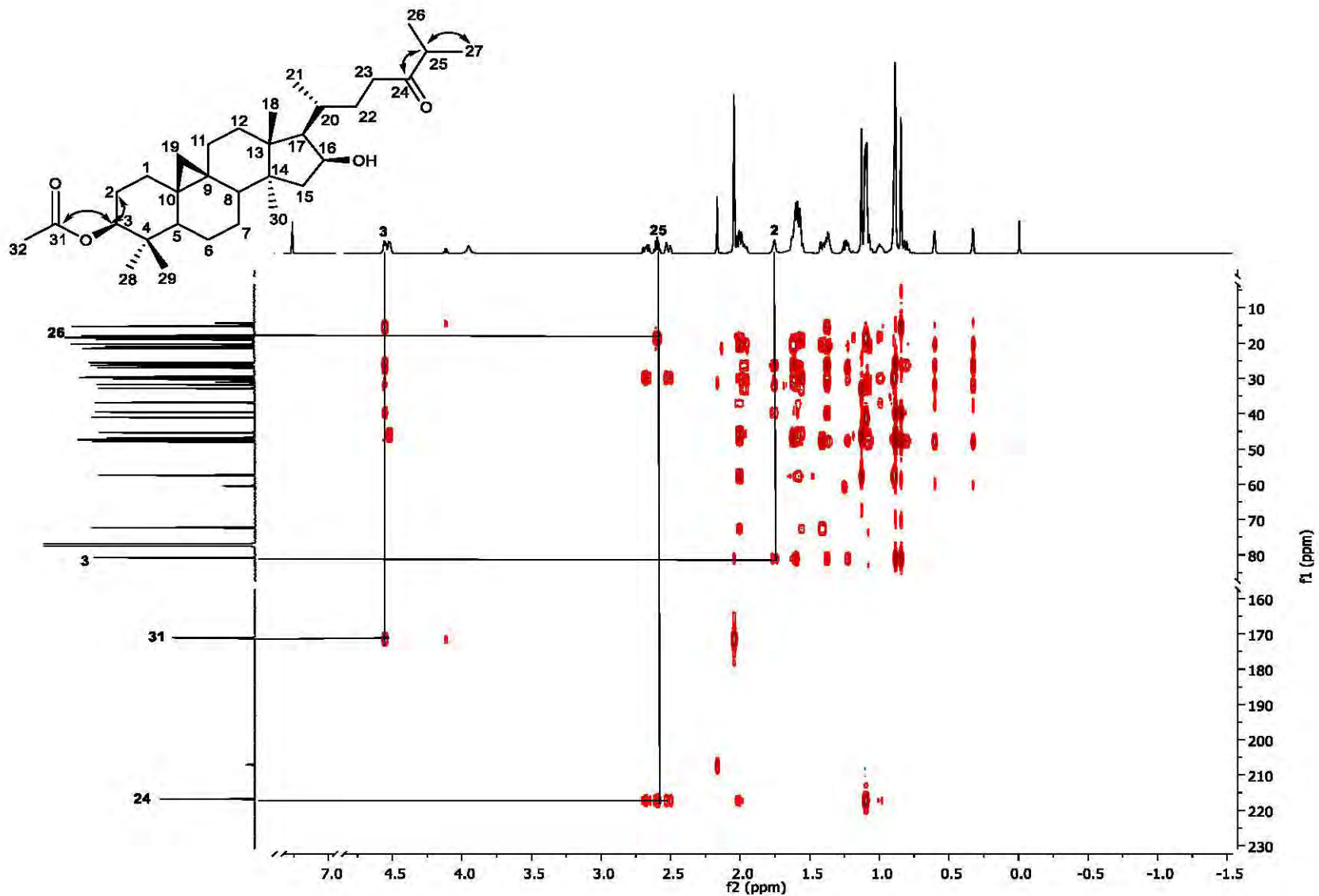
Espectro 20. RMN ¹H del análogo 9



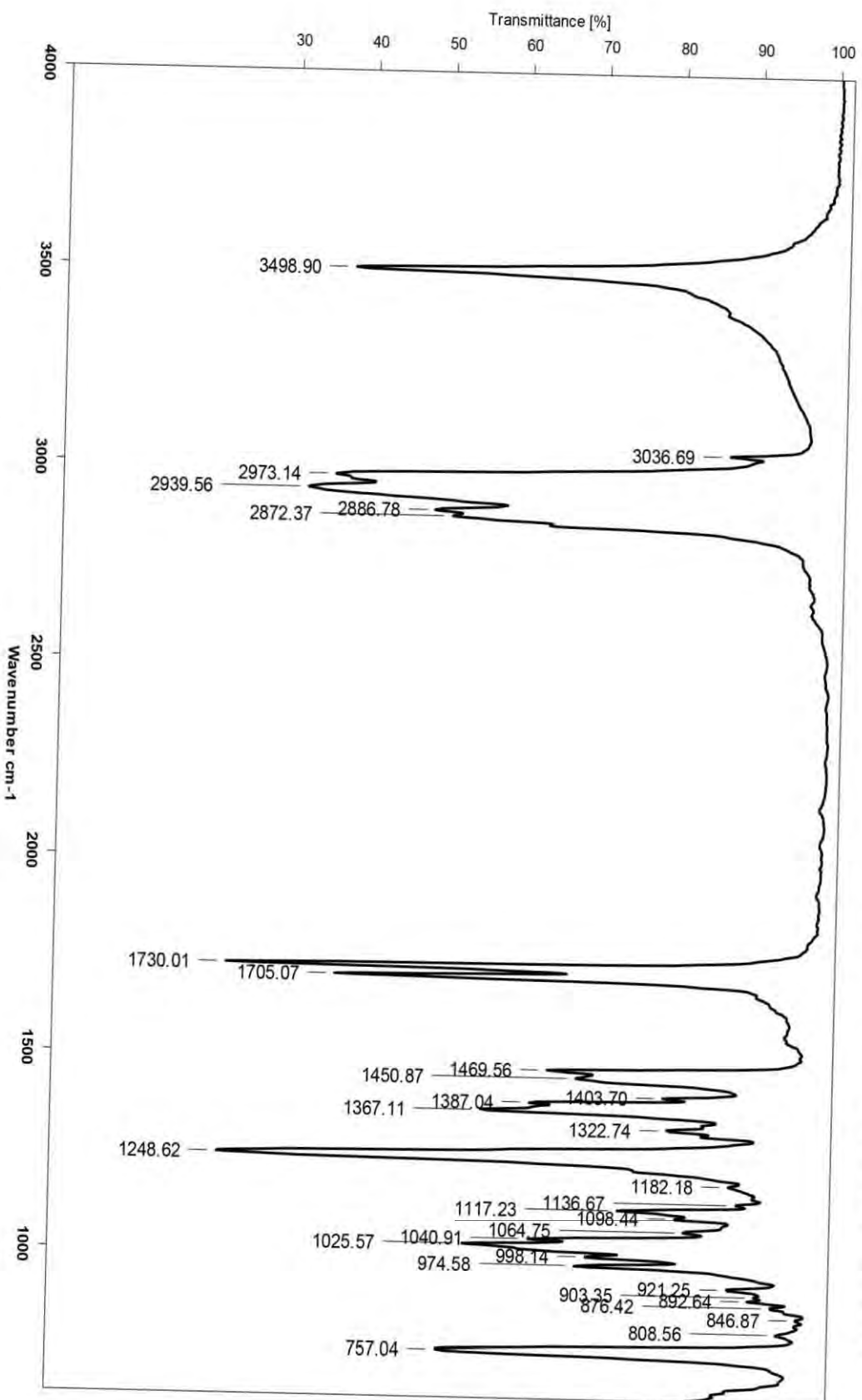
Espectro 21. RMN ^{13}C , DEPT135 y DEPT90 del análogo 9



Espectro 22. Experimento HSQC del análogo 9 con algunas correlaciones C-H observadas a un enlace de distancia



Espectro 23. Experimento HMBC del análogo 9 con algunas correlaciones C-H de dos a tres enlaces de distancia observadas



Espectro 24. Absorción en el infrarrojo de la 3β-acetil-(16β)-ol-cicloartan-24-ona (9)

2 α -Bromo-(16 β) ol-cicloartan-3,24-diona (12)

A diferencia de los compuestos anteriores el espectro de resonancia de hidrógeno del compuesto **12** solo muestra uno de los protones en C-19 a 0.71 ppm (d, $J = 4.5$ Hz). En el espectro del experimento HSQC se observa el otro protón H-19 traslapado con la señal doblete del metilo C-21 a 0.92 ppm. En el espectro de resonancia de hidrógeno (Espectro 26) de **12** también se observa un singulete a 0.90ppm que mediante los experimentos HSQC y HMBC se asignó como protones de metilo de la posición 30. A su vez, se observa el doblete a 0.92ppm ($J = 5.9$ Hz) antes referido del metilo C21. Los dos dobletes 1.12ppm ($J = 4.2$ Hz y a 1.11ppm, $J = 4.1$ Hz) corresponden a los protones de metilos C26 y C27 respectivamente, los cuales interaccionan con el protón de C25. La señal que confirma la bromación de C2 es el doble de dobles a 5.11ppm ($J = 13.2, 6.2$ Hz) desplazado a campo bajo por la presencia del bromo y un carbonilo vecino; así también el átomo de bromo desprotege los protones de C-1 (2.28ppm, t, $J = 13.1$ Hz; 2.15ppm, dd, $J = 12.8, 6.1$ Hz). La señal 4.55 (dt, $J = 7.8, 5.9$ Hz) corresponde al protón de la posición 16 que se encuentra desprotegido por el grupo OH presente en el mismo carbono. En este espectro también se pueden ver las señales de los protones de la posición C22 (2.70ppm, ddd, $J = 19.1, 11.2, 3.0$ Hz; 2.54ppm, ddd, $J = 19.0, 5.6, 3.1$ Hz) que están desplazados a campo bajo porque los desprotege el OH en C16 y el carbonilo en C24. El protón en C25 se ubica a 2.62ppm como heptuplete ($J = 6.9$ Hz) ya que interacciona con los metilos vecinos en C26 y C27.

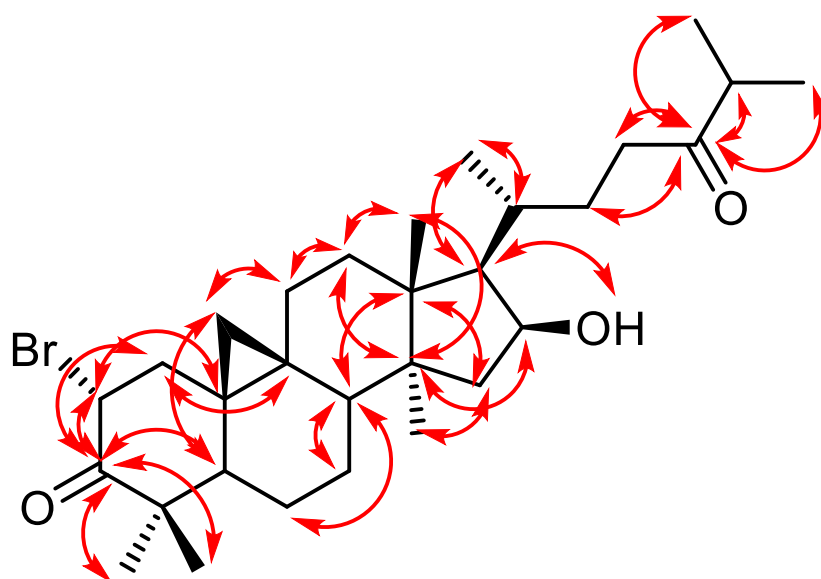


Figura 35. Principales correlaciones C-H observadas en el experimento HMBC de (12)

Mediante los experimentos DEPT135 y DEPT90 se lograron asignar todos los átomos de carbono de **12** (Espectro 27). Destacan los carbonilos en C-24 a 216.9 ppm y en C-3 a 205.8 ppm. Así como también el carbono base de oxígeno de C-16 en 72.1ppm.

En el espectro de absorción en el infrarrojo se observó principalmente la presencia de los grupos OH(3463.43cm⁻¹), C=O(1720.97cm⁻¹) y C-O(1383.82cm⁻¹).

En el espectro de masas adquirido a 70 eV y por impacto electrónico no se observó el ion molecular M⁺ en m/z 534, tampoco [M+2]⁺, sin embargo, destacan las señales en m/z 516 que corresponde a [M-H₂O]⁺ y se puede observar la contribución en masa por la presencia del isótopo de bromo (Br⁸¹) en m/z 518 [M+2-H₂O]⁺.

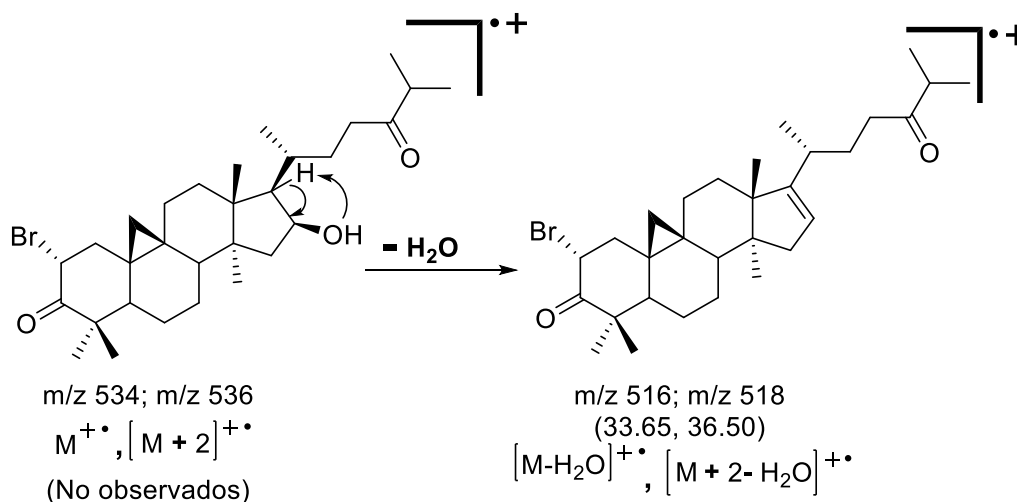


Figura 36. Pérdida de H₂O en la 2 α -Bromo-(16 β) ol-cicloartan-3,24-diona (12**)**

[Mass Spectrum]

Data : Dr-Martinez-Mariano-053 Date : 24-Nov-2017 12:32

Sample: 2624 IR-12 Jeol SX102R

Note : Operadores Carmen Garcia - Javier Perez

Inlet : Direct

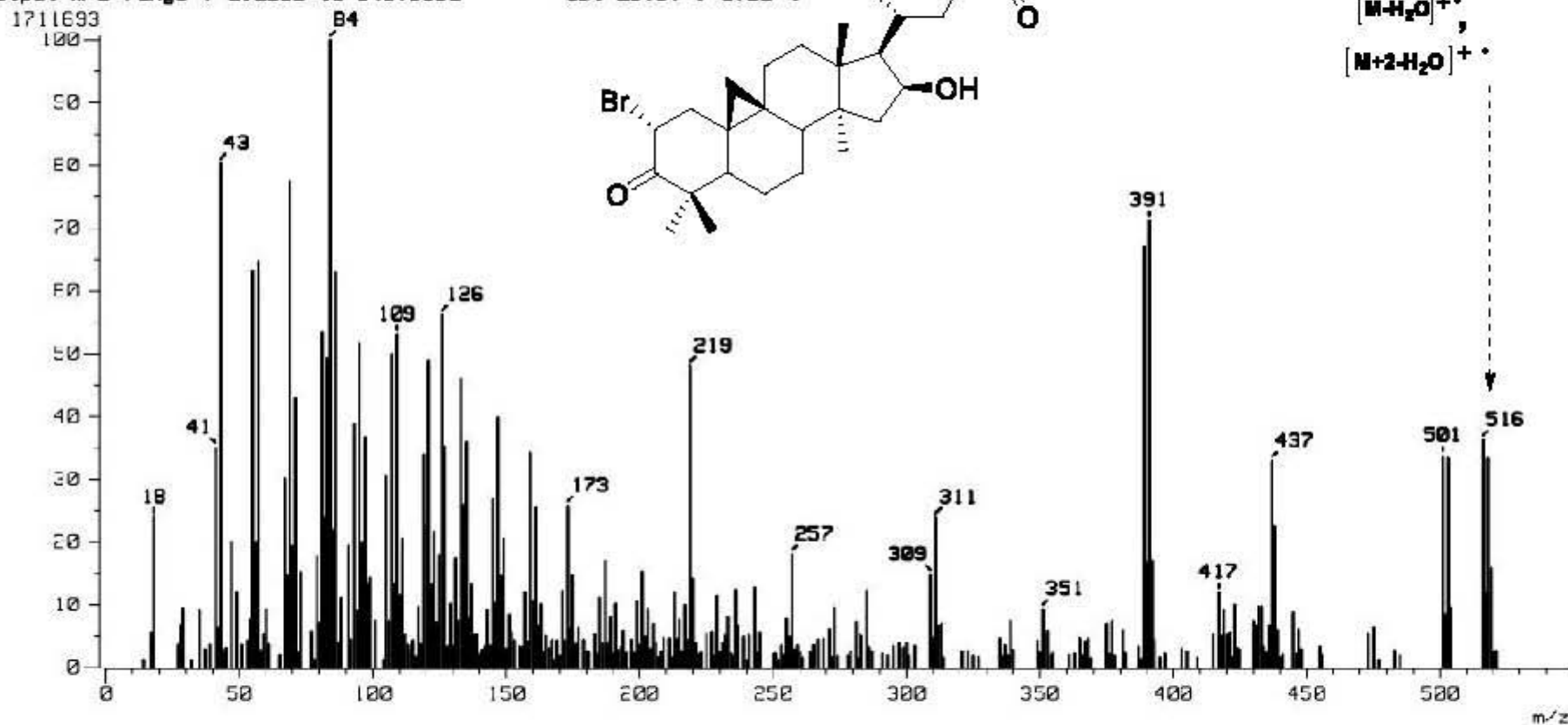
Ion Mode : EI+

Spectrum Type : Normal Ion [MF-Linear]

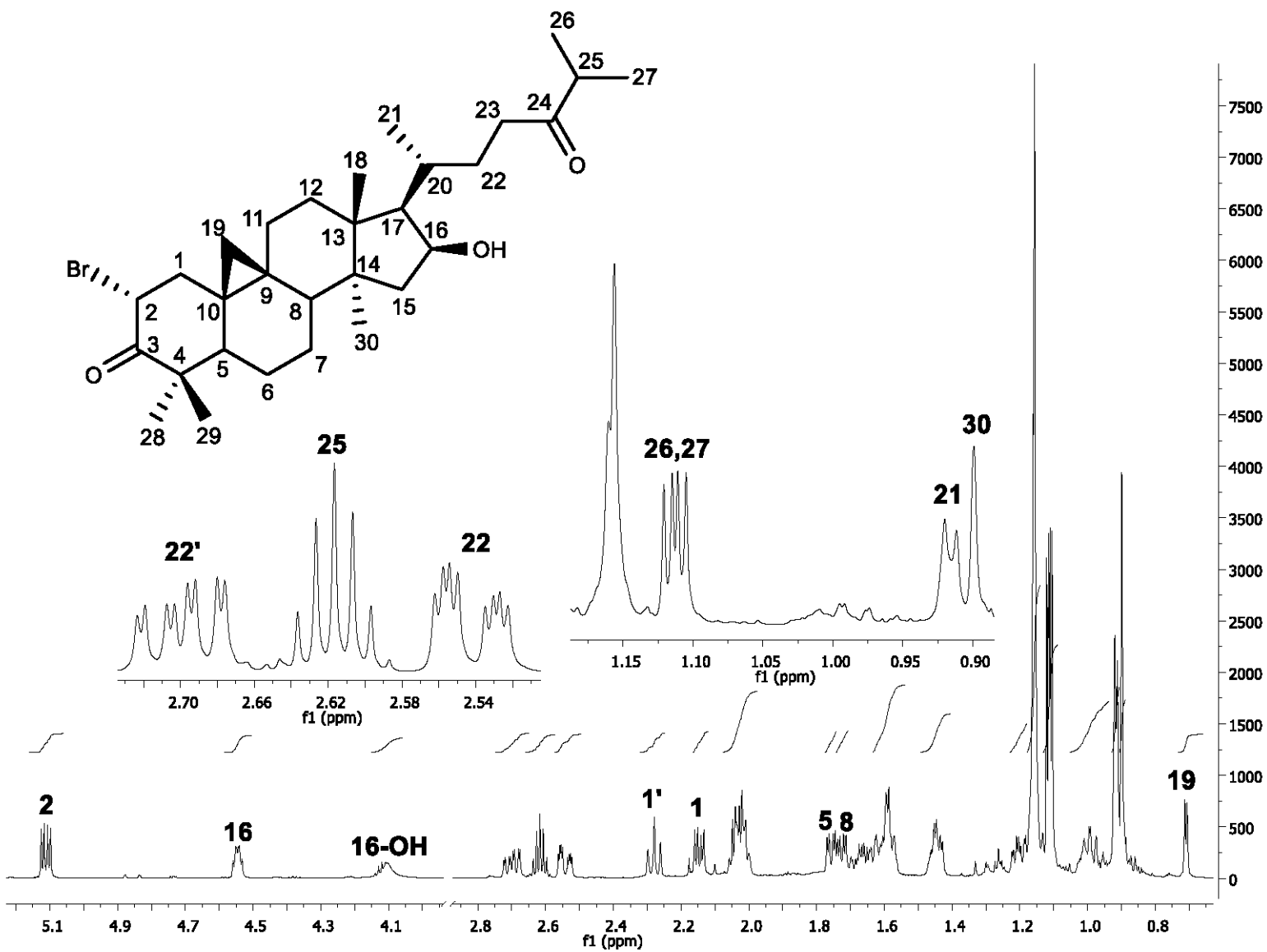
RT : 0.25 min Scan# : 6

BP : m/z 84.0000 Int. : 162.30

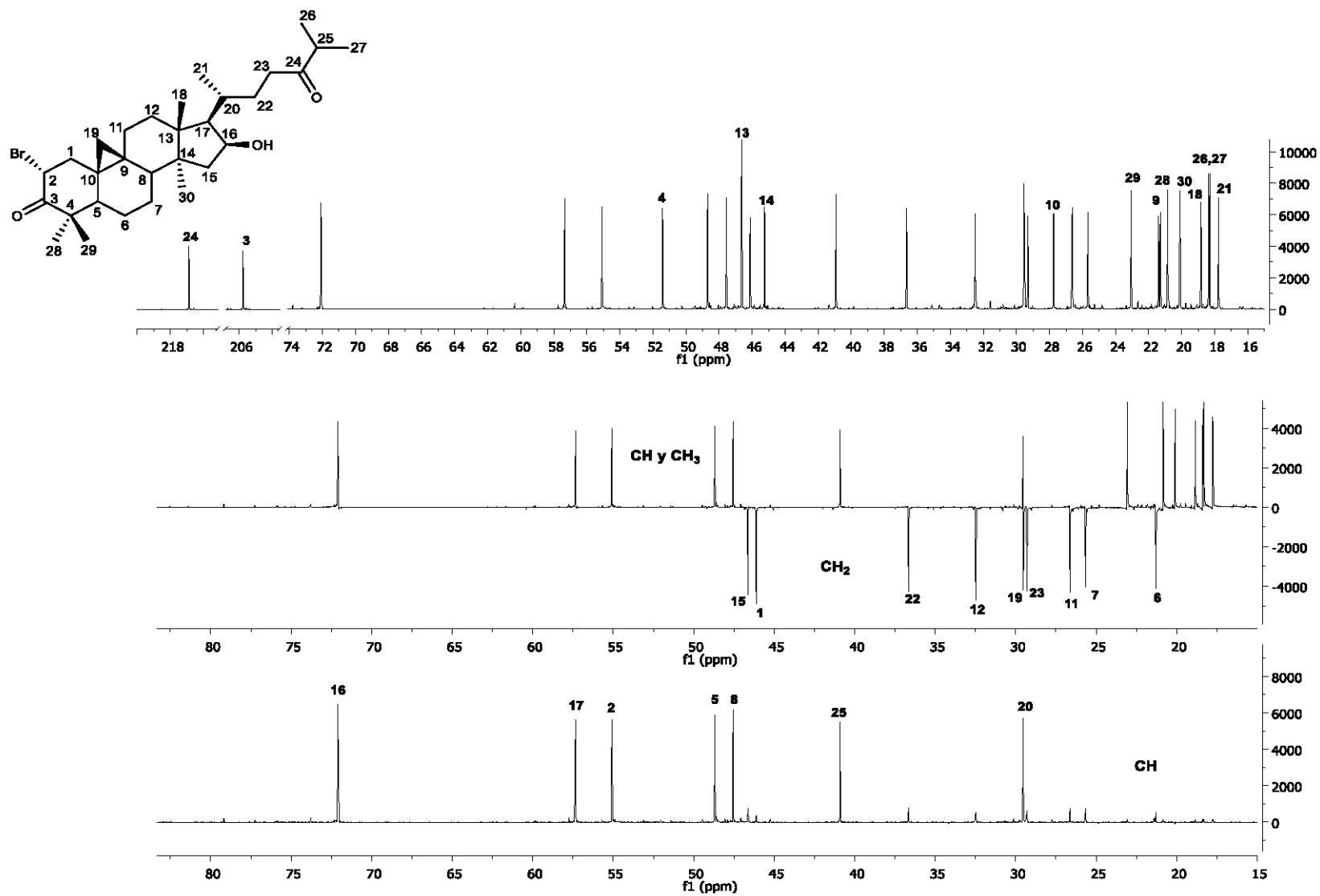
Output m/z range : 0.0000 to 540.3600



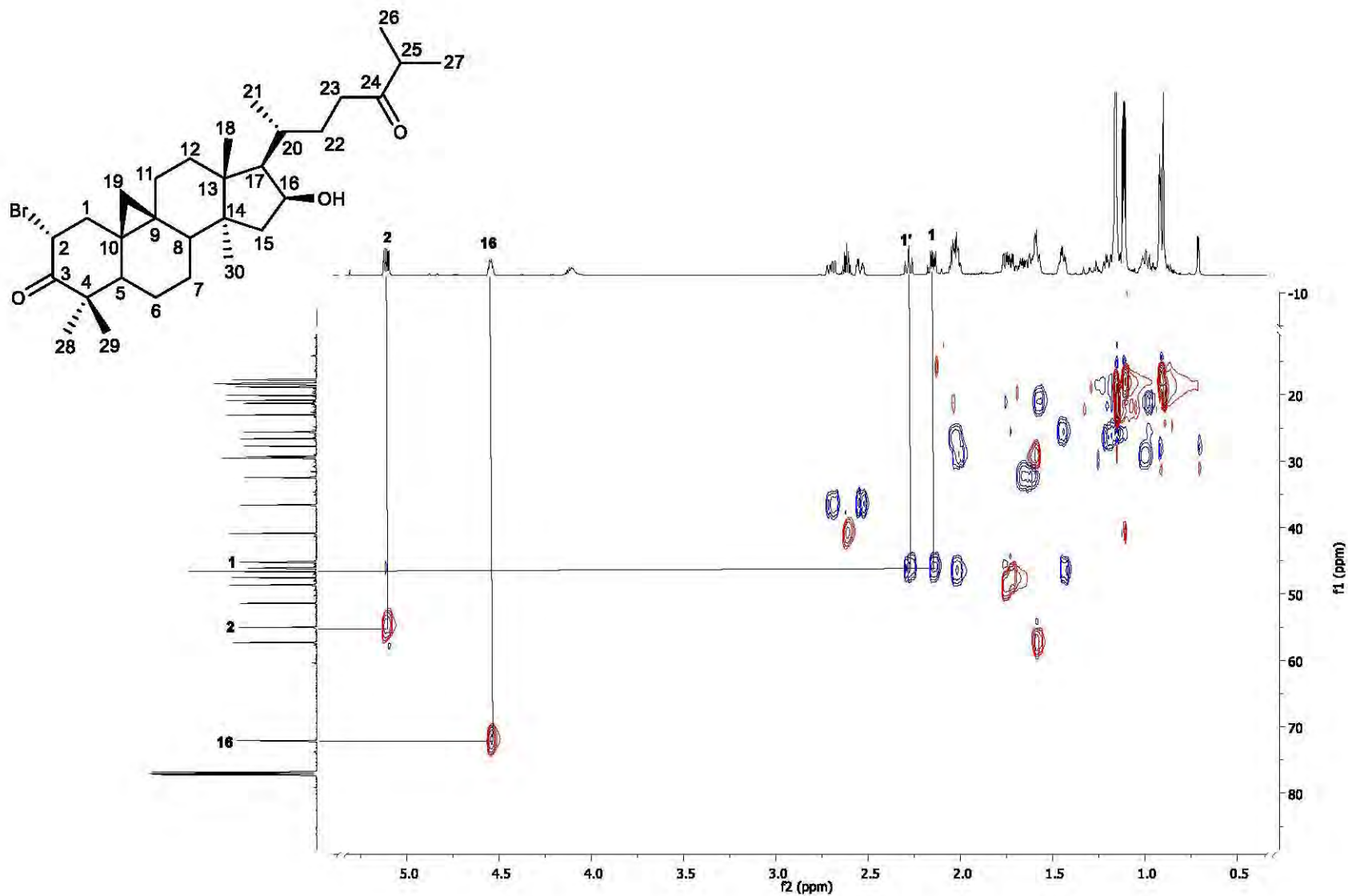
Espectro 25. Espectro de masas de la 2 α -bromo-(16 β) ol-cicloartan-3,24-diona (12)



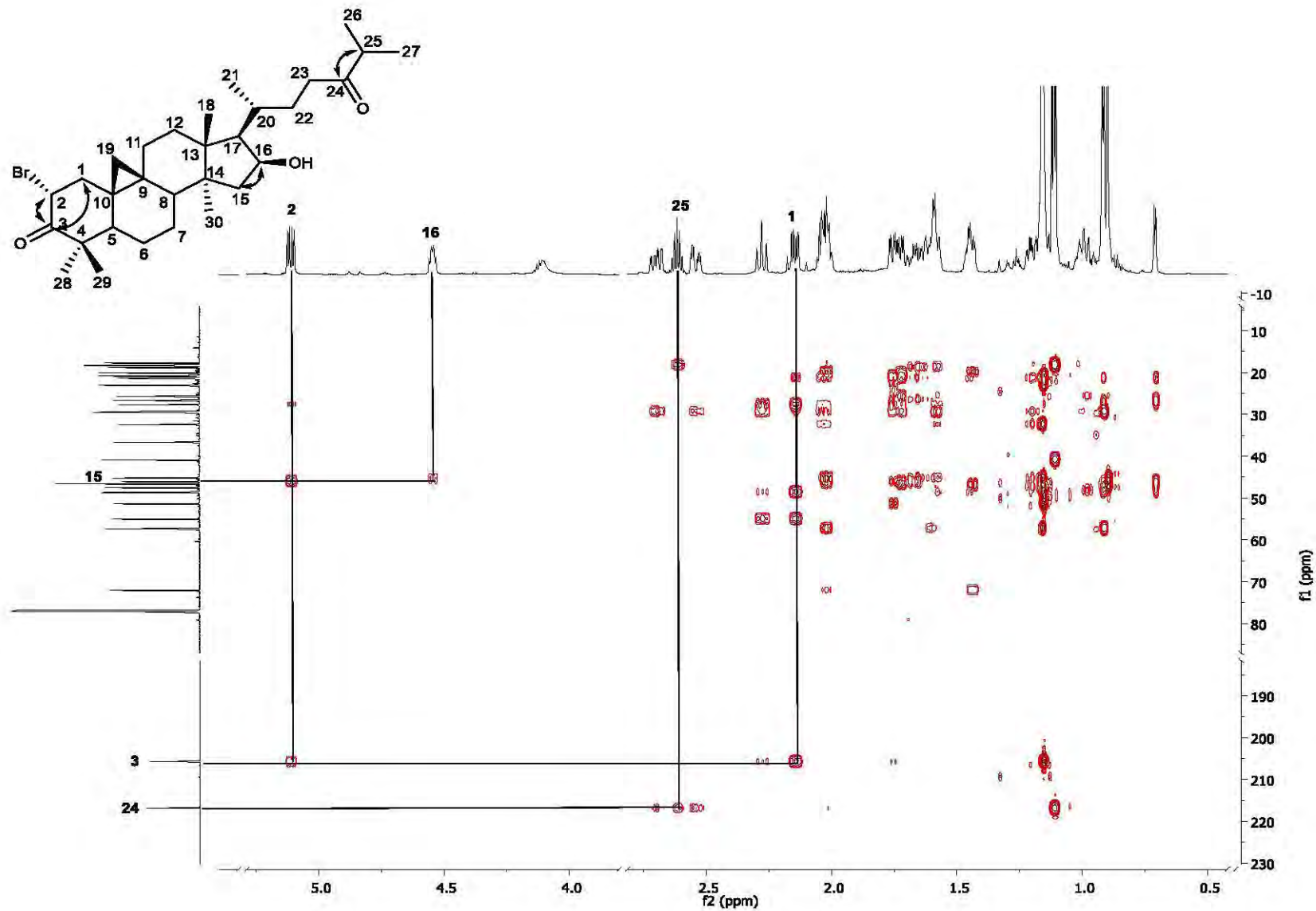
Espectro 26. RMN ¹H del análogo 12



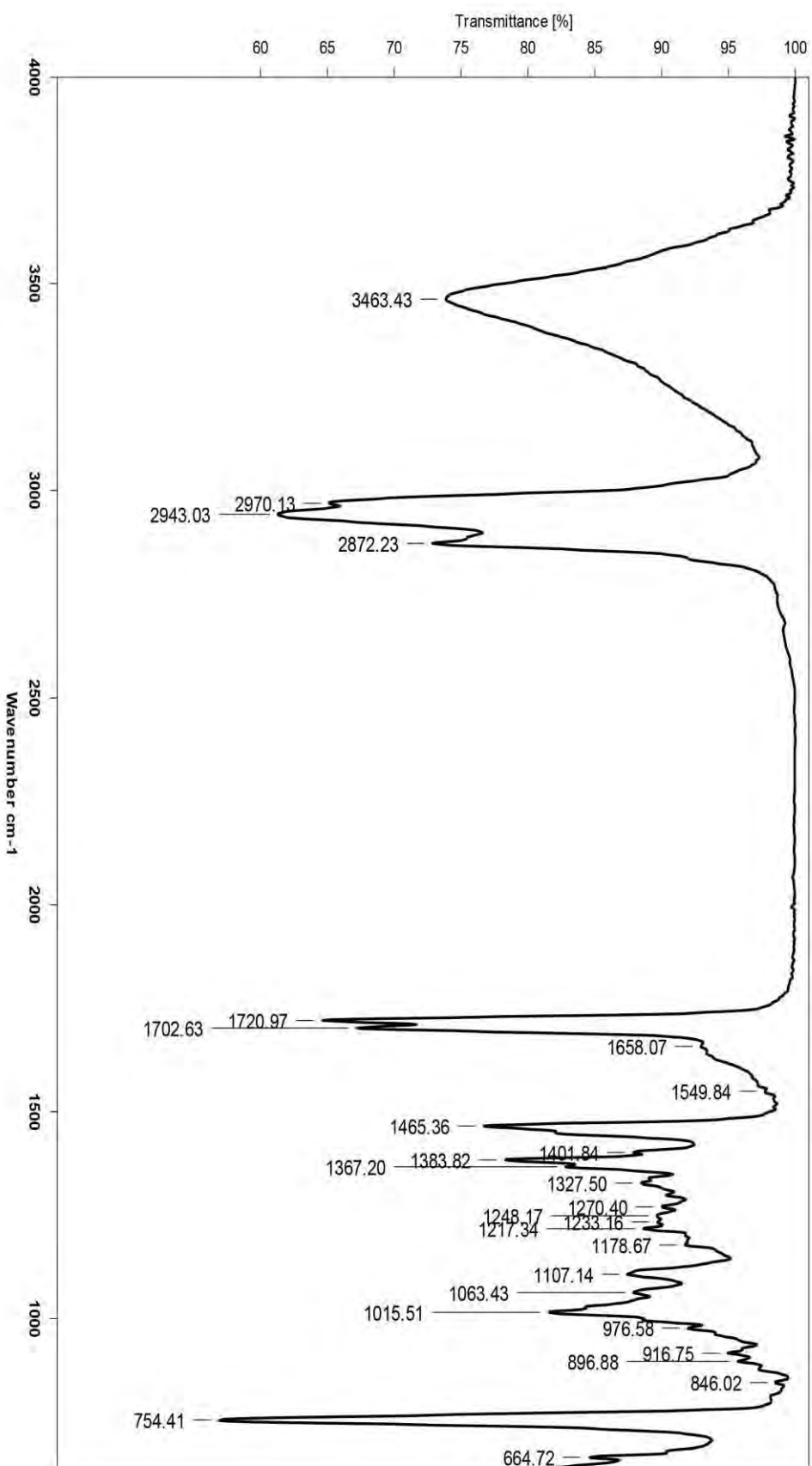
Espectro 27. RMN ^{13}C , DEPT135 y DEPT90 del análogo 12



Espectro 28. Experimento HSQC del análogo 12 con Algunas correlaciones C-H observadas a un enlace de distancia



Espectro 29. Experimento HMBC del análogo 12 con algunas correlaciones C-H de dos a tres enlaces de distancia observadas



Espectro 30. Absorción en el infrarrojo de la 2 α -bromo-(16 β) ol-cicloartan-3,24-diona (12)

Átomo de C	1*	3	5	6	9 ^a	12
1	33.4	33.4	31.9	36.1	31.6	46.1
2	37.4	37.4	30.4	27.8	26.8	55.1
3	216.3	216.5	78.8	78.9	80.8	205.8
4	50.2	50.2	40.5	39.1	39.4	51.4
5	48.4	48.5	47.2	52.5	47.2	48.7
6	21.4	21.5	21.1	21.3	20.9	21.3
7	26.0	25.9	26.2	28.0	25.9	25.7
8	47.4	47.9	48.0	41.7	47.8	47.6
9	20.9	20.9	20.0	148.8	20.0	21.4
10	26.1	26.0	26.2	39.4	26.1	27.8
11	26.3	26.4	26.1	114.5	26.2	26.6
12	32.7	32.6	32.8	37.1	32.7	32.5
13	45.9	46.6	46.7	44.1	46.7	46.6
14	45.9	45.3	45.3	44.8	45.3	45.2
15	44.9	46.7	46.8	45.2	46.8	46.6
16	74.9	72.19	72.2	72.1	72.4	72.1
17	57.5	57.3	57.4	56.0	57.4	57.3
18	18.8	18.3	18.9	15.2	18.8	18.8
19	29.7	29.8	30.2	22.4	29.4	29.5
20	29.0	29.5	29.6	29.7	29.6	29.5
21	20.9	18.9	17.8	17.9	17.2	17.8
22	35.5	36.6	36.7	36.7	36.7	36.7
23	23.4	29.3	29.4	29.4	30.1	29.3
24	82.6	216.7	216.8	216.8	216.9	216.9
25	73.4	40.9	40.9	40.9	40.9	40.9
26	24.0	18.3	18.4	18.4	18.4	18.4
27	25.6	17.8	18.3	18.3	18.3	18.3
28	19.5	20.1	13.8	15.7	15.2	20.8
29	22.2	22.1	25.4	28.3	25.4	23.1
30	20.3	20.8	20.2	19.2	20.2	20.1

Tabla 12. Desplazamientos de argentatina B y los análogos obtenidos en RMN ¹³C. * Valores tomados de Komoroski et al 1986[72]; ^a No se incluyen los valores del acetato en la posición 3.

XI.IV. Evaluación en línea celular HCT116

Los resultados de la actividad citotóxica en la línea de cáncer de colon humano metastásico (HCT-116) indicaron que la 16 β -ol-cicloartan-3,24-diona (**3**) fue menos activo que la argentatina B (**1**). Por otro lado, 3 β ,16 β -diol-lanostan-24-ona (**6**) y 16 β -ol-3 β -acetoxi-cicloartan-24-ona (**9**) presentaron una actividad citotóxica similar a la argentatina B. Aparentemente la presencia del anillo de ciclo propano induce a una mayor citotoxicidad, esta propuesta surge del hecho de que la 3 β ,16 β -diol-cicloartan-24-ona (**5**) resulto casi tres veces más activo que **1**. La única diferencia entre **5** y **6** es que el primero presenta un ciclo propano en C19 mientras que **6** posee una doble ligadura en C9/C11 (Tabla 11).

Estos resultados indican que la apertura del anillo E y la reducción de la cetona en C3 son importantes para la actividad citotóxica.

Sin embargo, como era de esperar la presencia de un átomo de bromo en C2 y la apertura del anillo E indujo a una actividad citotóxica diez veces más potente la argentatina B.

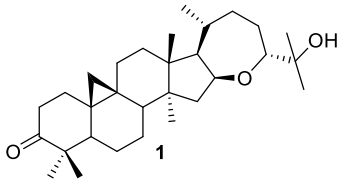
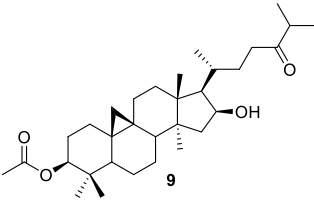
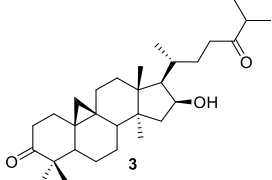
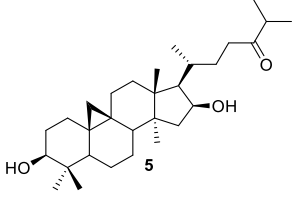
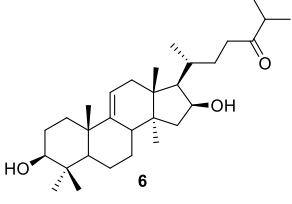
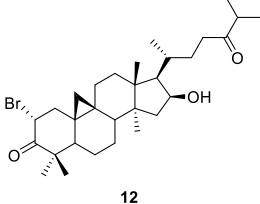
Compuesto	Cl ₅₀ (μ M) HCT116	Compuesto	Cl ₅₀ (μ M) HCT116
	45 \pm 2.0		43.75 \pm 1.5
	60 \pm 0.8		16.52 \pm 1.0
	42.5 \pm 1.0		4.93 \pm 0.75

Tabla 13. Datos obtenidos de la evaluación citotóxica en línea HCT116.

XI.V. Discusión

Se logró la obtención de los compuestos **3**, **5**, **6**, **9** y **12** por medio de la apertura del anillo de oxepano, mediante la reacción de $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ con los respectivos derivados de acetato de argentatina B. Como se mencionó anteriormente, esta apertura procede con la argentatina B, pero los rendimientos son del orden del 1%. Estos resultados están de acuerdo con el mecanismo propuesto donde los electrones del carbonilo del grupo acetato ayudan a la apertura del anillo de oxepano.

La obtención del análogo **6** a partir del diol **5** indica que la apertura del anillo de ciclopropano mediante la reacción con $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ es factible, como se había postulado anteriormente. Sin embargo, el anillo de éter entre C16 β y C24 es más reactivo al ataque del $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ por consiguiente la apertura del anillo del ciclopropano en C19 es posterior a la apertura del anillo de oxepano.

Como se ha mencionado anteriormente se determinó la actividad antitumoral *in vivo* de la argentatina B. Sin embargo, la actividad citotóxica *in vitro* de **1** se puede considerar no relevante en varias líneas de cáncer humano. Aun cuando no es una regla oficial, varias revistas de circulación internacional consideran inactivas a aquellas sustancias de origen natural cuya actividad citotóxica es mayor a CI_{50} de $4\mu\text{M}$. Sin embargo, estudios han demostrado que la argentatina B, mediante experimentos de xenotransplantes presenta una muy buena actividad antitumoral *in vivo* con células de próstata. Además, el mecanismo por el que actúa la argentatina B es por senescencia, lo que no se había demostrado en triterpenos del tipo del cicloartano [77].

En ocasiones no se pueden correlacionar los resultados *in vitro* con aquellos obtenidos *in vivo*. Por consiguiente, los bajos valores de actividad citotóxica de las nuevas moléculas sintetizadas no impiden continuar sus estudios como posibles agentes antitumorales *in vivo*.

Así también, los resultados en líneas celulares parecen indicar que los átomos de oxígeno en el anillo D, son necesarios para la actividad citotóxica de las moléculas tipo cicloartano, ya que el caso del compuesto **12** difiere en la cetona en C24 y el grupo OH en C16 respecto al derivado de bromocicloartanona previamente publicado[8] que presenta baja actividad citotóxica en otras líneas celulares.

Conclusiones

Se obtuvieron 5 análogos de argentatina B con el anillo E abierto, los cuales fueron caracterizados mediante técnicas espectroscópicas y espectrométricas.

Es factible sintéticamente la obtención de análogos de argentatina B mediante la apertura del anillo de oxepano. Esta metodología abre paso a la incorporación de nuevos grupos funcionales en las posiciones de la cadena lateral a los compuestos obtenidos.

El estudio cristalográfico del análogo 5 por difracción de rayos X permitió la obtención de la configuración relativa en los centros quirales C3 y C16, que pueden ser aplicables a los demás compuestos obtenidos.

De la evaluación en líneas celulares cancerosas se puede concluir que el análogo bromado en C2 es el más citotóxico de los 5 compuestos obtenidos.

Bibliografía

- [1] B. Kang, O.-K. Kwon, H. Chung, W. Yu, and J. Kim, "Taxanes in the Treatment of Advanced Gastric Cancer," *Molecules*, vol. 21, no. 5, pp. 651, 2016.
- [2] A. Kruczynski and B. T. Hill, "Vinflunine, the latest Vinca alkaloid in clinical development: A review of its preclinical anticancer properties," *Crit. Rev. Oncol. Hematol.*, vol. 40, no. 2, pp. 159–173, 2001.
- [3] P. I. Clark and M. L. Slevin, "The Clinical Pharmacology of Etoposide and Teniposide," *Clin. Pharmacokinet.*, vol. 12, no. 4, pp. 223–252, 1987.
- [4] J. C. Romero *et al.*, "Synthesis, anti-inflammatory activity and modeling studies of cycloartane-type terpenes derivatives isolated from *Parthenium argentatum*," *Bioorganic Med. Chem.*, vol. 22, no. 24, pp. 6893–6898, 2014.
- [5] H. Parra-Delgado *et al.*, "Synthesis and comparative molecular field analysis (CoMFA) of argentatin B derivatives as growth inhibitors of human cancer cell lines," *Bioorganic Med. Chem.*, vol. 14, no. 6, pp. 1889–1901, 2006.
- [6] D. S. Carmona Navarro, "Estudio fotoquímico de la 16 β -24R-epoxi-25-hidroxi-cicloart -1-en-3-ona," Tesis de Maestría. Universidad Nacional Autónoma de México, 2004.
- [7] J. A. Torres Rodriguez, "Obtención y evaluación biológica de derivados tetracíclicos de la argentatina B," Tesis de licenciatura. Universidad Nacional Autónoma de México, 2013.
- [8] E. E. Zambrano, A. G. Casas, G. M. Di Venosa, M. L. Uriburu, F. J. Duran, and J. A. Palermo, "Synthesis and cytotoxicity evaluation of A-ring derivatives of cycloartanone," *Phytochem. Lett.*, vol. 21, no. April, pp. 200–205, 2017.
- [9] D. Hanahan and R. A. Weinberg, "Hallmarks of cancer: The next generation," *Cell*, vol. 144, no. 5, pp. 646–674, 2011.
- [10] INEGI, "Estadísticas a propósito del día mundial contra el cáncer. Datos Nacionales," *Inegi*, pp. 1–14, 2017.

- [11] IACR, "Press Release No. 231. 13 January 2015. Most types of cancer not due to 'bad luck'. IARC responds to scientific article claiming that environmental and lifestyle factors account for less than one third of cancers," *Cent Eur J Public Health.*, 2015. [Online]. Available: https://www.iarc.fr/en/media-centre/pr/2015/pdfs/pr231_E.pdf. [Accessed: 12-Feb-2018].
- [12] W. H. Organization, "Cancer," 2017. [Online]. Available: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs297/es/>. [Accessed: 24-Jan-2018].
- [13] International Agency for Research on Cancer, "Cancer Fact Sheets: All Cancers excluding Non-Melanoma Skin Cancer," *Globocan 2012*, 2016. [Online]. Available: <http://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/cancer>. [Accessed: 25-Jan-2018].
- [14] International Agency for Research on Cancer, "Globocan 2012: estimated cancer incidence, mortality and prevalence worldwide in 2012," *WHO*, 2012. [Online]. Available: http://globocan.iarc.fr/Pages/fact_sheets_population.aspx. [Accessed: 27-May-2018].
- [15] A. Herrera and M. Granados, *Manual de Oncología. Procedimientos medico quirurgicos*, 5th ed. Mexico: Mc Graw Hill, 2013.
- [16] C. Li, Y. Qiu, X. Li, N. Liu, and Z. Yao, "Biological evaluation of new antitumor taxoids : Alteration of substitution at the C-7 and C-10 of docetaxel," *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, vol. 24, no. 3, pp. 855–859, 2014.
- [17] S. Institute and M. G. Hospital, "Genomics of drug sensitivity in cancer." [Online]. Available: <https://www.cancerrxgene.org/translation/Drug/1007>. [Accessed: 27-May-2018].
- [18] V. R. Yadav, S. Prasad, B. Sung, R. Kannappan, and B. B. Aggarwal, "Targeting inflammatory pathways by triterpenoids for prevention and treatment of cancer," *Toxins (Basel)*, vol. 2, no. 10, pp. 2428–2466, 2010.
- [19] S. H. Safe, P. L. Prather, L. K. Brents, G. Chadalapaka, and I. Jutooru, "Unifying Mechanisms of Action of the Anticancer Activities of Triterpenoids and Synthetic Analogs," *Anticancer. Agents Med. Chem.*, vol. 12, no. 10, pp. 1211–1220, 2012.

- [20] W. K. Liu, J. C. K. Ho, F. W. K. Cheung, B. P. L. Liu, W. C. Ye, and C. T. Che, "Apoptotic activity of betulinic acid derivatives on murine melanoma B16 cell line," *Eur. J. Pharmacol.*, vol. 498, no. 1–3, pp. 71–78, 2004.
- [21] M. Urban, J. Sarek, J. Klinot, G. Korinkova, and M. Hajduch, "Synthesis of A-seco derivatives of betulinic acid with cytotoxic activity," *J. Nat. Prod.*, vol. 67, no. 7, pp. 1100–1105, 2004.
- [22] O. Ngassapa, D. D. Soejarto, J. M. Pezzuto, and N. R. Farnsworth, "Quinone-methide triterpenes and salaspermic acid from *kokoona ochracea*," *J. Nat. Prod.*, vol. 57, no. 1, pp. 1–8, 1994.
- [23] Y. K. Kim, S. K. Yoon, and S. Y. Ryu, "Cytotoxic triterpens from stem bark of *Physocarpus intermedius*," *Planta Med.*, vol. 66, pp. 485–486, 2000.
- [24] E. B. Logashenko *et al.*, "Synthesis and Pro-Apoptotic Activity of Novel Glycyrrhetic Acid Derivatives," *ChemBioChem*, vol. 12, no. 5, pp. 784–794, 2011.
- [25] Y. Ito, P. Pandey, M. B. Sporn, R. Datta, S. Kharbanda, and D. Kufe, "The novel triterpenoid CDDO induces apoptosis and differentiation of human osteosarcoma cells by a caspase-8 dependent mechanism," *Mol. Pharmacol.*, vol. 59, no. 5, pp. 1094–1099, 2001.
- [26] B. Xu *et al.*, "An overview of structurally modified glycyrrhetic acid derivatives as antitumor agents," *Molecules*, vol. 22, no. 6, 2017.
- [27] Y. Huang, Y. Zhou, Y. Fan, and D. Zhou, "Celastrol inhibits the growth of human glioma xenografts in nude mice through suppressing VEGFR expression," *Cancer Lett.*, vol. 264, no. 1, pp. 101–106, 2008.
- [28] D. Deeb, X. Gao, S. A. Dulchavsky, and S. C. Gautam, "CDDO-me induces apoptosis and inhibits Akt, mTOR and NF-kappaB signaling proteins in prostate cancer cells," *Anticancer Res*, vol. 27, no. 5A, pp. 3035–3044, 2007.

- [29] S. Chintharlapalli, S. Papineni, P. Lei, S. Pathi, and S. Safe, "Betulinic acid inhibits colon cancer cell and tumor growth and induces proteasome-dependent and -independent downregulation of specificity proteins (Sp) transcription factors," *BMC Cancer*, vol. 11, no. 1, pp. 371, 2011.
- [30] S. Chintharlapalli *et al.*, "Oncogenic MicroRNA-27a Is A Target For Anticancer Agent Methyl 2-Cyano-3,11-dioxo-18 β -olean-1,12-dien-30-oate in Colon Cancer Cells," *Int. J. Cancer*, vol. 125, no. 8, pp. 1965–1974, 2009.
- [31] J. E. Oh, J. A. Han, and E. S. Hwang, "Downregulation of transcription factor, Sp1, during cellular senescence," *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, vol. 353, no. 1, pp. 86–91, 2007.
- [32] Z. Lou, S. O'Reilly, H. Liang, V. M. Maher, S. D. Sleight, and J. J. McCormick, "Down-regulation of overexpressed sp1 protein in human fibrosarcoma cell lines inhibits tumor formation.," *Cancer Res.*, vol. 65, no. 3, pp. 1007–17, 2005.
- [33] I. Jutooru *et al.*, "Methyl 2-Cyano-3,12-dioxooleana-1,9-dien-28-oate Decreases Specificity Protein Transcription Factors and Inhibits Pancreatic Tumor Growth: Role of MicroRNA-27a," *Biosystems*, vol. 78, no. 2, pp. 226–236, 2010.
- [34] W. N. Setzer, "A theoretical investigation of cytotoxic activity of celastroid triterpenoids," *J. Mol. Model.*, vol. 15, no. 2, pp. 197–201, 2009.
- [35] S. Morris Kupchan; Allison H. Gray and Michael D. Grove, "Tumor Inhibitors. XXIII. The Cytotoxic principles of *Marah oreganus* H.," *J. Med. Chem.*, vol. 10, no. 3, pp. 337–340, 1967.
- [36] K. L. K. Duncan, M. D. Duncan, M. C. Alley, and E. A. Sausville, "Cucurbitacin E-induced disruption of the actin and vimentin cytoskeleton in prostate carcinoma cells," *Biochem. Pharmacol.*, vol. 52, no. 10, pp. 1553–1560, 1996.
- [37] N. Rodriguez, Y. Vasquez, A. a Hussein, P. D. Coley, P. N. Solis, and M. P. Gupta, "Cytotoxic cucurbitacin constituents from *Sloanea zuliaensis*," *J. Nat. Prod.*, vol. 66, no. 11, pp. 1515–6, 2003.

- [38] J. M. Pezzuto *et al.*, "Plant anticancer agents, XXXIV. cucurbitacins from *elaecarpus dolichostylus*1'2," *J. Nat. Prod.*, vol. 47, no. 6, pp. 988–993, 1984.
- [39] G. van Dang, B. M. Rode, and H. Stuppner, "Quantitative electronic structure-activity relationship (QESAR) of natural cytotoxic compounds: maytansinoids, quassinoids and cucurbitacins," *Eur. J. Pharm. Sci.*, vol. 2, pp. 331–350, 1994.
- [40] E. Fujita and Y. Nagao, "Tumor inhibitors having potential for interaction with mercapto enzymes and/or coenzymes. A review," *Bioorg. Chem.*, vol. 6, no. 3, pp. 287–309, 1977.
- [41] K. L. Lang *et al.*, "Synthesis and cytotoxic activity evaluation of dihydrocucurbitacin B and cucurbitacin B derivatives," *Bioorganic Med. Chem.*, vol. 20, no. 9, pp. 3016–3030, 2012.
- [42] S. J. Thomas, J. A. Snowden, M. P. Zeidler, and S. J. Danson, "The role of JAK/STAT signalling in the pathogenesis, prognosis and treatment of solid tumours," *Br. J. Cancer*, vol. 113, no. 3, pp. 365–371, 2015.
- [43] M. A. Blaskovich, J. Sun, A. Cantor, J. Turkson, R. Jove, and S. M. Sebti, "Discovery of JSI-124 (cucurbitacin I), a selective Janus kinase/signal transducer and activator of transcription 3 signaling pathway inhibitor with potent antitumor activity against human and murine cancer cells in mice," *Cancer Res.*, vol. 63, no. 6, pp. 1270–1279, 2003.
- [44] S. Zundler and M. Neurath, "Integrating Immunologic Signaling Networks: The JAK/STAT Pathway in Colitis and Colitis-Associated Cancer," *Vaccines*, vol. 4, no. 1, pp. 5, 2016.
- [45] C. Wiart, *Lead Compounds from Medicinal Plants for the Treatment of Cancer*, First. United States of America: Academic Press, 2013.
- [46] B. Y. K. Law *et al.*, "Alisol B, a Novel Inhibitor of the Sarcoplasmic/Endoplasmic Reticulum Ca²⁺ ATPase Pump, Induces Autophagy, Endoplasmic Reticulum Stress, and Apoptosis," *Mol. Cancer Ther.*, vol. 9, no. 3, pp. 718–730, 2010.

- [47] S. Lee, B. Min, and K. Bae, "Chemical modification of alisol B 23-acetate and their cytotoxic activity.," *Arch. Pharm. Res.*, vol. 25, no. 5, pp. 608–12, 2002.
- [48] Y. T. Huang, D. M. Huang, S. C. Chueh, C. M. Teng, and J. H. Guh, "Alisol B acetate, a triterpene from *Alismatis rhizoma*, induces Bax nuclear translocation and apoptosis in human hormone-resistant prostate cancer PC-3 cells," *Cancer Lett.*, vol. 231, no. 2, pp. 270–278, 2006.
- [49] S. Lee *et al.*, "Cytotoxic triterpenoides from *Alismatis Rhizoma*," *Arch. Pharm. Res.*, vol. 24, no. 6, pp. 524–526, 2001.
- [50] Y. H. Xu, L. J. Zhao, and Y. Li, "Alisol B acetate induces apoptosis of SGC7901 cells via mitochondrial and phosphatidylinositol 3-kinases/Akt signaling pathways," *World J. Gastroenterol.*, vol. 15, no. 23, pp. 2870–2877, 2009.
- [51] M. Zhao, T. Gödecke, J. Gunn, J. A. Duan, and C. T. Che, "Protostane and fusidane triterpenes: A mini-review," *Molecules*, vol. 18, no. 4, pp. 4054–4080, 2013.
- [52] C. Wang, J. X. Zhang, X. L. Shen, C. K. Wan, A. K. W. Tse, and W. F. Fong, "Reversal of P-glycoprotein-mediated multidrug resistance by Alisol B 23-acetate," *Biochem. Pharmacol.*, vol. 68, no. 5, pp. 843–855, 2004.
- [53] K. Yoshikawa *et al.*, "Cytotoxic constituents of the fruit body of *Daedalea dickisii*," *J. Nat. Prod.*, vol. 68, no. 6, pp. 911–914, 2005.
- [54] H. M. Kang *et al.*, "Dehydrotrametenolic acid selectively inhibits the growth of H-ras transformed rat2 cells and induces apoptosis through caspase-3 pathway," *Life Sci.*, vol. 78, no. 6, pp. 607–613, 2006.
- [55] N. H. Chen and J. J. Zhong, "Ganoderic acid Me induces G1 arrest in wild-type p53 human tumor cells while G1/S transition arrest in p53-null cells," *Process Biochem.*, vol. 44, no. 8, pp. 928–933, 2009.
- [56] C. H. Li *et al.*, "Ganoderic acid X, a lanostanoid triterpene, inhibits topoisomerases and induces apoptosis of cancer cells," *Life Sci.*, vol. 77, no. 3, pp. 252–265, 2005.

- [57] B.-S. Min, J.-J. Gao, N. Nakamura, and M. Hattori, "Triterpenes from the Spores of *Ganoderma lucidum* and Their Cytotoxicity against Meth-A and LLC Tumor Cells," *Chem. Pharm. Bull.*, vol. 48, no. 7, pp. 1026–1033, 2000.
- [58] J.-J. Gao, B.-S. Min, E.-M. Ahn, N. Nakamura, H.-K. Lee, and M. Hattori, "New triterpene aldehydes, lucialdehydes A-C, from *Ganoderma lucidum* and their cytotoxicity against murine and human tumor cells," *Chem. Pharm. Bull.*, vol. 50, no. 6, pp. 837–840, 2002.
- [59] A. H. Banskota *et al.*, "Cytotoxic cycloartane-type triterpenes from *Combretum quadrangulare*," *Bioorganic Med. Chem. Lett.*, vol. 8, no. 24, pp. 3519–3524, 1998.
- [60] I. Smith-Kielland *et al.*, "Cytotoxic Triterpenoids from the Leaves of *Euphorbia pulcherrima*," *Planta Med.*, vol. 62, no. 04, pp. 322–325, 1996.
- [61] N. H. Nam *et al.*, "Chemical constituents of *Mallotus macrostachyus* growing in Vietnam and cytotoxic activity of some cycloartane derivatives," *Phytochem. Lett.*, vol. 4, no. 3, pp. 348–352, 2011.
- [62] T. Nuanyai, R. Sappapan, T. Vilaivan, and K. Pudhom, "Gardenoins E—H, Cycloartane Triterpenes from the Apical Buds of *Gardenia obtusifolia*," *Chem. Pharm. Bull.*, vol. 59, no. 3, pp. 385–387, 2011.
- [63] T. Shen *et al.*, "Secondary metabolites from *Commiphora opobalsamum* and their antiproliferative effect on human prostate cancer cells," *Phytochemistry*, vol. 68, no. 9, pp. 1331–1337, 2007.
- [64] G. F. Chen *et al.*, "The isolation and structural elucidation of four novel triterpene lactones, pseudolarolides A, B, C, and D, from *pseudolarix kaempferi*," *J. Nat. Prod.*, vol. 56, no. 7, pp. 1114–1122, 1993.
- [65] A. M. Madureira *et al.*, "Effect of Cycloartanes on Reversal of Multidrug Resistance and Apoptosis Induction on Mouse Lymphoma Cells," *Anticancer Res.*, vol. 24, no. 2B, pp. 859–864, 2004.

- [66] D. Rasutis, K. Soratana, C. McMahan, and A. E. Landis, "A sustainability review of domestic rubber from the guayule plant," *Ind. Crops Prod.*, vol. 70, pp. 383–394, 2015.
- [67] H. Parra-Delgado, "Obtención de compuestos citotóxicos a partir de triterpenos del tipo cicloartano," Tesis de Doctorado. Universidad Nacional Autónoma de México, 2006.
- [68] W. W. Schloman, R. A. Hively, A. Krishen, and A. M. Andrews, "Guayule Byproduct Evaluation: Extract Characterization," *J. Agric. Food Chem.*, vol. 31, no. 4, pp. 873–876, 1983.
- [69] R. J. Rodriguez-Hahn L., Romo de Vivar A., Ortega A., Aguilar M., "Determinación de las estructuras de las argentatinas A, B y C del guayule," *Rev. Latinoam. Química*, pp. 24–38, 1970.
- [70] H. Parra-Delgado, F. García-Pillado, M. Sordo, T. Ramírez-Apan, M. Martínez-Vázquez, and P. Ostrosky-Wegman, "Evaluation of the cytotoxicity, cytostaticity and genotoxicity of Argentatins A and B from *Parthenium argentatum* (Gray)," *Life Sci.*, vol. 77, no. 22, pp. 2855–2865, 2005.
- [71] E. Alcántara-Flores, A. E. Brechú-Franco, P. García-López, L. Rocha-Zavaleta, R. López-Marure, and M. Martínez-Vázquez, "Argentatin B inhibits proliferation of prostate and colon cancer cells by inducing cell senescence," *Molecules*, vol. 20, no. 12, pp. 21125–21137, 2015.
- [72] R. A. Komoroski, E. C. Gregg, J. P. Shockcor, and J. M. Geckle, "Identification of guayule triterpenes by two-dimensional and multipulse NMR techniques," *Magn. Reson. Chem.*, vol. 24, no. 6, pp. 534–543, 1986.
- [73] A. Inada, H. Murayta, Y. Inatomi, T. Nakanishi, and D. Darnaedi, "Cycloartane triterpenes from the leaves of *aglaia harmsiana*," *J. Nat. Prod.*, vol. 58, no. 7, pp. 1143–1146, 1995.

- [74] B. Talapatra, P. K. Chaudhuri, A. K. Mallik, and S. K. Talapatra, "Lagerenyl acetate and lagerenol two tetracyclic triterpenoids with the cycloartane skeleton from *Lagerstroemia lancasteri*," *Phytochemistry*, vol. 22, no. 11, pp. 2559–2562, 1983.