

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

HACIA LA FUNCIONALIZACIÓN QUÍMICA DE ARGENTATINAS CON LA POTENCIAL APLICACIÓN EN LA SÍNTESIS DE PROFÁRMACOS

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE

QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA

PRESENTA

MARÍA SUSANA TIBURCIO DOMÍNGUEZ



CIUDAD DE MÉXICO, 2021



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:	Dra. Isabel del Carmen Rivero Cruz
Vocal:	Dra. Mabel Clara Fragoso Serrano
Secretario:	Dra. Hortensia Parra Delgado
1er. Suplente:	M. en C. María Eugenia Mendoza Jasso
2do. suplente:	Dr. Audifás Salvador Matus Meza

Sitio donde se desarrolló el tema:

Laboratorio 1-4 del Departamento de Productos Naturales, Instituto de Química, UNAM.

Laboratorio de Productos Naturales de la Facultad de Ciencias Químicas, Universidad de Colima.

Asesor del tema:

Dra. Hortensia Parra Delgado

Sustentante:

María Susana Tiburcio Domínguez

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional Autónoma de México en especial a la Facultad de Química y al Instituto de Química por todo lo aprendido en sus instalaciones.

A la DGAPA (IACOD 2011) y al sistema PRODEP (SEP, 2014) por el financiamiento parcial para la realización del presente proyecto.

A todos los profesores de los cuales adquirí las bases necesarias para desarrollarme en el ámbito laboral y muy especialmente a la Dra. Hortensia Parra Delgado por ser mi guía en este proyecto, por todo el tiempo dedicado y los conocimientos compartidos.

Al Dr. Mariano Martínez Vázquez por la donación de la resina de Guayule y al Biol. Miguel Ángel Maldonado Michel por el apoyo técnico.

A la Universidad de Colima por permitirme concluir los análisis químicos.

DEDICATORIAS

Dedico esta tesis que representa hasta el momento uno de mis mayores logros profesionales a mis padres Felipa y Mateo quienes con su apoyo, amor y sacrificios me han forjado como la persona que soy.

A Bety Bety, Auris, Abi, Luis Mateo y Miguel mis hermanos y amigos quienes me apoyan incondicionalmente.

A mi compañero de vida José Luis por impulsarme a seguir adelante, de quien siempre he recibido todo el apoyo y quien ha compartido sus logros conmigo.

A todos esos amigos con los que compartí los salones, laboratorios y pasillos de nuestra alma mater, especialmente a Paty con quien compartí momentos felices, tristes, estresantes, pero sobre todo muchas aventuras.

A todos ellos de corazón gracias.

ÍNDICE GENERAL

Í٨		AL .	I
Í٨	NDICE DE FIGU	JRAS	IV
A	BREVIATURAS	6	IX
1	RESUMEN		1
2	INTRODUCCI	ÓN	2
3	MARCO TEÓF	RICO	3
	3.1 Cáncer		3
	3.2 Estadística	a	3
	3.3 Causas de	el cáncer	5
	3.4 Tratamient	to	5
	3.5 Quimiotera	apia	7
	3.6 Productos	naturales	11
	3.7 Guayule		13
	3.8 Triterpeno	s	14
	3.9 Profármac	os	16
4	HIPÓTESIS		19
5	OBJETIVOS		19
	5.1 Objetivo G	General	19
	5.2 Objetivos I	Particulares	19
6	MÉTODO EXF	PERIMENTAL	20
	6.1 Esquema	general de trabajo	20
	6.2 Resina		20
	6.3 Aislamient	o de las argentatinas A y B	20
	6.4 Transform	aciones químicas de glucosa y galactosa	21
	6.4.1 1	,2,3,4,6-penta-O-acetil-D-glucopiranosa (1a).	22
	6.4.2 1	,2,3,4,6-penta-O-acetil-D-galactopiranosa (2a).	23
	6.4.3 1	-bromo-2,3,4,6-tetra-O-acetil- α -D-glucopiranosa (1b).	24

	6.4.4	1-bromo-2,3,4,6-tetra-O-acetil- α -D-galactopiranosa (2b).	25
	6.4.5	2,3,4,6-tetra-O-acetil-D-glucopiranosa (1c).	26
	6.4.6	2,3,4,6-tetra-O-acetil-D-galactopiranosa (2c).	27
	6.5 Transfor	maciones químicas de la argentatina A (3).	28
	6.5.1	20,24-epoxi-25-hidroxicicloartan-3,16-diona (3a).	29
	6.5.2	16- O -(2,3,4,6-tetraacetil- β -D-glucopiranosil)-argentatina A (3b).	30
	6.5.3	16- O -(2,3,4,6-tetraacetil- β -D-galactopiranosil)-argentatina A (3c).	31
	6.5.4	16-O-β-glucosilargentatina A (3d).	32
	6.6 Transfor	maciones químicas de argentatina B (4).	33
	6.6.1	(16β,24R)-16,24-epoxi-25-hidroxicicloart-1-en-3-ona (4a).	34
	6.6.2	(16β,24R)-16,24-epoxi-2,25-dihidroxicicloart-1-en-3-ona (4b).	35
	6.6.3	2-hidroxi-(16β,24R)-16,24-epoxi-25-hidroxicicloart-3-ona (4c).	36
7	DISCUSIÓN	DE RESULTADOS	38
	7.1 Derivado	os de glucosa y galactosa	38
	7.1.1	1,2,3,4,6-penta-O-acetil-D-glucopiranosa (1a).	38
	7.1.2	1,2,3,4,6-penta-O-acetil-D-galactopiranosa (2a).	40
	7.1.3	1-bromo-2,3,4,6-tetra-O-acetil- α -D-glucopiranosa (1b).	42
	7.1.4	1-bromo-2,3,4,6-tetra-O-acetil- α -D-galactopiranosa (2b).	44
	7.1.5	2,3,4,6-tetra-O-acetil-D-glucopiranosa (1c).	46
	7.1.6	2,3,4,6-tetra-O-acetil-D-galactopiranosa (2c).	48
	7.2 Derivado	os de la argentatina A (3).	50
	7.2.1	20,24-epoxi-25-hidroxi-cicloartan-3,16-diona (3a).	51
	7.2.2	16- O -(2,3,4,6-tetraacetil- β -D-glucopiranosil)-argentatina A (3b).	52
	7.2.3	16- O -(2,3,4,6-tetraacetil- β -D-galactopiranosil)-argentatina A (3c).	55
	7.2.4	16- <i>Ο</i> -β-glucosilargentatina A (3d).	56
	7.3 Derivado	os de la argentatina B (4).	58
	7.3.1	(16β,24R)-16,24-epoxi-25-hidroxicicloart-1-en-3-ona (4a).	59
	7.3.2	(16β,24R)-16,24-epoxi-2,25-dihidroxicicloart-1-en-3-ona (4b).	61
	7.3.3	2-hidroxi-(16β,24R)-16,24-epoxi-25-hidroxicicloart-3-ona (4c).	61
8	CONCLUSIO	DNES	64
9	PERSPECTI	IVAS	65

II

10REFERENCIAS

11ANEXOS	71
Anexo 1. Espectroscopía de 1,2,3,4,6-penta-O-acetil-D-glucopiranosa (1a).	71
Anexo 2. Espectroscopía de 1,2,3,4,6-penta-O-acetil-D-galactopiranosa (2a).	73
Anexo 3. Espectroscopía de 1-bromo-2,3,4,6-tetra-O-acetil-D- glucopiranosa (1b).	76
Anexo 4. Espectroscopía de 1-bromo-2,3,4,6-tetra-O-acetil-D- galactopiranosa (2b).	78
Anexo 5. Espectroscopía de 2,3,4,6-tetra-O-acetil-D-glucopiranosa (1c).	80
Anexo 6. Espectroscopía de 2,3,4,6-tetra-O-acetil-D-galactopiranosa (2c).	82
Anexo 7. Espectroscopía de 20,24-epoxi-25-hidroxicicloartan-3,16-diona (3a).	84
Anexo 8. Espectroscopía de 16-O-(2,3,4,6-tetraacetil-β-D-glucopiranosil)- argentatina A (3b).	86
Anexo 9. Espectroscopía de 16-O-(2,3,4,6-tetraacetil-β-D- galactopiranosil)-argentatina A (3c).	92
Anexo 10. Espectroscopía de 16-O-β-glucosilargentatina A (3d).	96
Anexo 11. Espectroscopía de (16β,24R)-16,24-epoxi-25-hidroxicicloart-1- en-3-ona (4a).	97
Anexo 12. Espectroscopía de (16β,24R)-16,24-epoxi-2,25- dihidroxicicloart-1-en-3-ona (4b).	99
Anexo 13. Espectroscopía de 2-hidroxi-(16β,24R)-16,24-epoxi-25- hidroxicicloart-3-ona (4c).	101

66

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Trasplante de células madre. National cancer institute 2011 Terese Winslow LLC.	6
Figura 2. Parthenium argentatum Gray (Guayule).	13
Figura 3. Triterpenos aislados de Partenium argentatum.	14
Figura 4. Clasificación de triterpenos basados en su estructura química (Yan, et al., 2013).	15
Figura 5. Esquema de los mecanismos empleados por los métodos ADEPT, VDEPT y GDEPT (Xu & Mc Leod, 2001).	17
Figura 6. Derivados de glucosa.	21
Figura 7. Derivados de galactosa.	21
Figura 8. Obtención de la 1,2,3,4,6-penta-O-acetil-D-glucopiranosa (1a).	22
Figura 9. Obtención de la 1,2,3,4,6-penta-O-acetil-D-galactopiranosa (2a).	23
Figura 10. Obtención de la 1-bromo-2,3,4,6-tetra- <i>O</i> -acetil-α-D-glucopiranosa (1b).	24
Figura 11. Obtención de la 1-bromo-2,3,4,6-tetra-O-acetil-α-D-galactopiranosa (2b).	25
Figura 12. Obtención de la 2,3,4,6-tetra-O-acetil-D-glucopiranosa (1c).	26
Figura 13. Obtención de la 2,3,4,6-tetra-O-acetil-D-galactopiranosa (2c).	27
Figura 14. Derivados de la argentatina A (3).	28
Figura 15. Obtención de la 20,24-epoxi-25-hidroxicicloartan-3,16-diona (3a).	29
Figura 16. Obtención de la 16- <i>O</i> -(2,3,4,6-tetraacetil-β-D-glucopiranosil)- argentatina A (3b).	30
Figura 17. Obtención de la 16-O-(2,3,4,6-tetraacetil-β-D-galactopiranosil)- argentatina A (3c).	31
Figura 18. Obtención de la 16-O-β-glucosilargentatina A (3d).	32
Figura 19. Derivados de la argentatina B (4).	33
Figura 20. Obtención de la (16β,24R)-16,24-epoxi-25-hidroxicicloart-1-en-3- ona (4a).	34
	IV

Figura 21. Obtención de la (16β,24R)-16,24-epoxi-2,25-dihidroxicicloart-1-en- 3-ona (4b).	35
Figura 22. Obtención de la 2-hidroxi-(16β,24R)-16,24-epoxi-25-hidroxicicloart- 3-ona (4c).	36
Figura 23. Espectro en el IR del compuesto 1a.	39
Figura 24. Espectro de RMN ¹ H del compuesto 1a (indicando el desplazamiento de los grupos acetato).	39
Figura 25. Espectro de RMN ¹³ C del compuesto 1a (indicando los desplazamientos de los grupos acetato en $\delta_{\rm C}$ 20 y 170 ppm).	40
Figura 26. Espectro en el IR del compuesto 2a.	41
Figura 27. Espectro de RMN ¹ H del compuesto 2a.	41
Figura 28. Comparación del espectro de RMN ¹³ C y DEPT 135 del compuesto 2a.	42
Figura 29. Espectro de RMN ¹ H del compuesto 1b.	43
Figura 30. Espectro de RMN ¹³ C del compuesto 1b.	43
Figura 31. Espectro de RMN ¹ H del compuesto 2b.	44
Figura 32. Espectro de RMN ¹³ C y DEPT 135 del compuesto 2b.	45
Figura 33. Espectro COSY del compuesto 2b.	45
Figura 34. Espectro en el IR del compuesto 1c.	46
Figura 35. Espectro de RMN ¹ H del compuesto 1c.	47
Figura 36. Espectro de RMN ¹³ C del compuesto 1c.	47
Figura 37. Espectro en el IR del compuesto 2c.	48
Figura 38. Espectro de RMN ¹³ C del compuesto 2c.	49
Figura 39. Espectro de RMN 1H característico de la argentatina A (3).	50
Figura 40. Espectro de RMN ¹³ C característico de la argentatina A (3).	50
Figura 41. Espectro en el IR del compuesto 3a.	51
Figura 42. Espectro de RMN ¹³ C del compuesto 3a.	52

Figura 43. Espectro en el IR del compuesto 3b.	53
Figura 44. Comparación de los espectros RMN ¹³ C, DEPT 135 y DEPT 90 del compuesto 3b.	54
Figura 45. Espectro en el IR del compuesto 3c.	55
Figura 46. Comparación de los espectros RMN ¹³ C, DEPT 135 y DEPT 90 del compuesto 3c.	56
Figura 47. Comparación del espectro en el IR de los productos 3b y 3d.	57
Figura 48. Espectro de RMN ¹ H característico de la argentatina B (4).	58
Figura 49. Espectro de RMN ¹³ C característico de la argentatina B (4).	58
Figura 50. Comparación del espectro RMN 1H de la Argentatina B y el compuesto 4a.	59
Figura 51. Espectro de masas del compuesto 4a.	60
Figura 52. Espectro de RMN ¹³ C del compuesto 4a.	60
Figura 53. Espectro de RMN ¹ H del compuesto 4b.	61
Figura 54. Comparación de los espectros RMN ¹³ C del compuesto 4c.	62
Figura 55. Espectro de RMN ¹ H del compuesto 4c.	63
Figura 56. Espectro en el IR del compuesto 1a.	71
Figura 57. Espectro de masas del compuesto 1a.	71
Figura 58. Espectro de RMN ¹ H del compuesto 1a.	72
Figura 59. Espectro de RMN ¹³ C del compuesto 1a.	72
Figura 60. Espectro en el IR del compuesto 2a.	73
Figura 61. Espectro de masas del compuesto 2a.	73
Figura 62. Espectro de RMN ¹ H del compuesto 2a.	74
Figura 63. Espectro de RMN ¹³ C del compuesto 2a.	74
Figura 64. Espectro DEPT 135 del compuesto 2a.	75
Figura 65. Análisis COSY del compuesto 2a.	75
Figura 66. Espectro en el IR del compuesto 1b.	76
	VI

Figura 67. Espectro de masas del compuesto 1b.	76
Figura 68. Espectro de RMN ¹ H del compuesto 1b.	77
Figura 69. Espectro de RMN ¹³ C del compuesto 1b.	77
Figura 70. Espectro de RMN ¹ H del compuesto 2b.	78
Figura 71. Espectro de RMN ¹³ C del compuesto 2b.	78
Figura 72. Análisis COSY del compuesto 2b.	79
Figura 73. Espectro DEPT 135 del compuesto 2b.	79
Figura 74. Espectro en el IR del compuesto 1c.	80
Figura 75. Espectro de RMN ¹ H del compuesto 1c.	80
Figura 76. Espectro de RMN ¹³ C del compuesto 1c.	81
Figura 77. Espectro en el IR del compuesto 2c.	82
Figura 78. Espectro de RMN ¹ H del compuesto 2c.	82
Figura 79. Espectro de RMN ¹³ C del compuesto 2c.	83
Figura 80. Espectro en el IR del compuesto 3a.	84
Figura 81. Espectro de masas del compuesto 3a.	84
Figura 82. Espectro de RMN ¹ H del compuesto 3a.	85
Figura 83. Espectro de RMN ¹³ C del compuesto 3a.	85
Figura 84. Espectro en el IR del compuesto 3b.	86
Figura 85. Espectro de masas del compuesto 3b.	86
Figura 86. Espectro de RMN ¹ H del compuesto 3b.	87
Figura 87. Espectro de RMN ¹³ C del compuesto 3b.	87
Figura 88. Espectro DEPT 135 del compuesto 3b.	88
Figura 89. Espectro DEPT 90 del compuesto 3b.	88
Figura 90. Análisis COSY del compuesto 3b.	89
Figura 91. Análisis HSQC del compuesto 3b.	89

VII

Figura 92. Análisis HSQC del compuesto 3b.	90
Figura 93. Análisis NOESY del compuesto 3b.	90
Figura 94. Análisis HMBC del compuesto 3b.	91
Figura 95. Espectro en el IR del compuesto 3c.	92
Figura 96. Espectro de masas del compuesto 3c.	92
Figura 97. Espectro de RMN ¹ H del compuesto 3c.	93
Figura 98. Espectro de RMN ¹³ C del compuesto 3c.	93
Figura 99. Espectro DEPT 135 del compuesto 3c.	94
Figura 100. Espectro DEPT 90 del compuesto 3c.	94
Figura 101. Análisis COSY del compuesto 3c.	95
Figura 102. Espectro en el IR del compuesto 3d.	96
Figura 103. Espectro en el IR del compuesto 4a.	97
Figura 104. Espectro de masas del compuesto 4a.	97
Figura 105. Espectro de RMN ¹ H del compuesto 4a.	98
Figura 106. Espectro de RMN ¹³ C del compuesto 4a.	98
Figura 107. Espectro en el IR del compuesto 4b.	99
Figura 108. Espectro de masas del compuesto 4b.	99
Figura 109. Espectro de RMN ¹ H del compuesto 4b.	100
Figura 110. Comparación de los espectros RMN ¹ H del compuesto 4c.	101
Figura 111. Espectro de RMN ¹ H del compuesto 4c.	101

ABREVIATURAS

Ac ₂ O	Anhídrido acético
AcOEt	Acetato de etilo
ADN	Acido desoxirribonucleico
Ag ₂ CO ₃	Carbonato de plata
Ag ₂ O	Óxido de plata
C ₆ H₅SeCl	Cloruro de fenil selenio
ccf	Cromatografía en capa fina
CH₃ONa	Metóxido de sodio
CHCI₃	Cloroformo
CTMS	Clorotrimetilsilano
DCM	Diclorometano
DMF	Dimetilformamida
DMP	Reactivo Dess-martin periodinano
EM	Espectrometría de masas
HBr	Bromuro de hidrógeno
HCI	Ácido clorhídrico
INEGI	Instituto Nacional de Estadística y Geografía
IR	Espectroscopía en el Infrarrojo
K ₂ CO ₃	Carbonato de potasio
KHCO₃	Bicarbonato de potasio
КОН	Hidróxido de potasio
LDA	Diisopropilamida de litio
<i>m</i> -CPBA	Ácido metacloroperbenzoico
MeOH	Metanol
N2H4 CH3CO2H	Acetato de hidrazida
Na ₂ SO ₄	Sulfato de sodio
NaCl	Cloruro de sodio
NaHCO₃	Bicarbonato de sodio
°C	Grado centígrado
OMS	Organización Mundial de la Salud
p.f.	Punto de fusión
R _f	Factor de retención
RMN ¹³ C	Resonancia magnética nuclear de carbono 13
RMN ¹ H	Resonancia magnética nuclear protónica
SRB	Sulforodamida B
TBAF	Fluoruro de terbutilamonio
THF	Tetrahidrofurano

1 RESUMEN

En el presente trabajo se describe el aislamiento de los triterpenos argentatina A y argentatina B característicos del guayule (*Partenium argentatum*), una especie originaria del norte de México y del sur de Estados Unidos. Considerando las investigaciones realizadas en trabajos previos se sabe que dichos compuestos presentan actividad citotóxica y citostática en células cancerosas.

Las argentatinas A y B aisladas de la resina de guayule fueron sometidas a diversas reacciones químicas entre las que se encuentran la formación de glicósidos e inserción de grupos funcionales en posiciones responsables de actividad citostática y/o citotóxica.

Los productos de reacción fueron aislados por diferentes métodos que incluyen a la cromatografía en columna abierta y recristalización, posteriormente la estructura fue elucidada mediante resonancia magnética nuclear (RMN), espectroscopía en el infrarrojo (IR) y espectrometría de masas (EM).

Los profármacos 16-*O*-(2,3,4,6-tetraacetil- β -D-glucopiranosil)-argentatina A (3b) y 16-*O*-(2,3,4,6-tetraacetil- β -D-galactopiranosil)-argentatina A (3c) se obtuvieron a partir de la reacción de la argentatina A con el reactivo 1-bromo-2,3,4,6-tetra-*O*-acetil- α -D-glucopiranosa (1b) y 1-bromo-2,3,4,6-tetra-*O*-acetil- α -D-galactopiranosa (2b) respectivamente, mientras que el profármaco 16-*O*- β -glucosilargentatina A (3d) se formó a partir de la reacción de desacetilación del compuesto 3b. De ésta serie de compuestos se evaluó por el método SRB el compuesto 3b y mostró una disminución en el porcentaje de inhibición de las líneas celulares evaluadas.

2 INTRODUCCIÓN

El cáncer es responsable de un gran número de muertes en nuestro país y alrededor del mundo; de acuerdo con datos de la Organización Mundial de la Salud (OMS) se trata de la segunda causa de muerte a nivel mundial y la tasa de mortalidad va en aumento a pesar de los esfuerzos para prevenir la incidencia.

En la actualidad el tratamiento para esta enfermedad es amplio, estos tratamientos van desde quimioterapia, radioterapia y el uso de nuevos tratamientos como anticuerpos (Goodman & Gilman, 2007). Sin embargo, dada la naturaleza de la enfermedad y la baja selectividad de los tratamientos es prácticamente imposible un tratamiento eficaz e inocuo (Harvey, 2001).

La búsqueda de tratamientos que sean más selectivos ha generado varias alternativas que basan su mecanismo de acción en el uso de marcadores presentes en las células cancerosas. Una de las alternativas con las que se cuenta es el uso de profármacos, estas moléculas pueden ser bioactivadas en el sitio de acción o complejos fármaco-acarreador que por medio de una enzima presente en células tumorales son activados al llegar al tumor (Xu & Mc Leod, 2001).

Desde tiempos ancestrales se ha recurrido al uso de plantas medicinales para curar diversas enfermedades (Mendoza, 2008), con el paso del tiempo y los avances en la ciencia algunos metabolitos de plantas con uso terapéutico se han aislado y caracterizado; como resultado un gran número de medicamentos tienen como base uno o más fármacos con origen vegetal.

El uso de guayule como productor de hule natural deja como producto de desecho una resina formada principalmente por compuestos triterpénicos del tipo cicloartano, en estudios previos se ha demostrado que estos triterpenos presentan actividad citostática y citotóxica en diferentes líneas celulares de cáncer (Parra Delgado, et al., 2005). Con la finalidad de buscar tratamientos más eficaces y selectivos se propuso la formación de nuevas moléculas a partir de las argentatinas A y B como potenciales precursores en la formación de profármacos.

3 MARCO TEÓRICO

3.1 Cáncer

El termino cáncer agrupa un gran número de enfermedades que pueden afectar a cualquier parte del organismo, se caracteriza por un crecimiento y diseminación incontrolada de células, además dichas células pueden invadir tejidos cercanos o incluso pueden diseminarse a otras partes del cuerpo a través del sistema linfático o torrente sanguíneo, este proceso es conocido como metástasis (Bustamante, et al., 2012).

3.2 Estadística

En la actualidad el cáncer es una de las enfermedades con mayor incidencia a nivel mundial, tan solo en el 2015 murieron 8.8 millones de personas en el mundo a causa de algún tipo de cáncer, siendo el de pulmón, hepático, colorrectal, gástrico y de mama los principales (OMS, 2018). En nuestro país tan solo en el 2016 se registraron 82,502 defunciones a causa de esta enfermedad, siendo la tercera causa de muerte (INEGI, 2016). A pesar de los innumerables esfuerzos que se realizan para curar y detectar oportunamente esta enfermedad se estima que entre el 2007 a 2030 habrá un incremento en la tasa de mortalidad de un 45%, llegando a 11.5 millones de muertes a causa de algún tumor maligno (Reynoso Noverón & Torres Domínguez, 2017).

El cáncer es una enfermedad que puede presentarse a cualquier edad y género, sin embargo, en la mayoría de los casos existe una relación entre el tipo de cáncer y la población afectada.

De acuerdo con datos recabados por el INEGI del año 2011 al 2016 en nuestro país a una temprana edad se observó una prevalencia de los cánceres influenciados por cambios celulares en el ADN, tal es el caso de los tumores en órganos hematopoyéticos como las leucemias. Aunque en adultos jóvenes (entre 18 a 29 años) la presencia de tumores malignos es menos frecuente, es evidente que comienza a verse influenciada por el estilo de vida; los canceres con mayor incidencia fueron cáncer de órganos hematopoyéticos, testículo, ovario y digestivo entre otros. Entre la población de 30 a 59 años se hace más evidente la influencia de hábitos no saludables como el fumar, la obesidad y el consumo de alcohol; en este grupo los tumores malignos que más afectan a la población son cáncer de órganos digestivos, órganos genitales femeninos, mama, órganos hematopoyéticos y órganos respiratorios, mientras que en adultos mayores a 60 años el cáncer de mayor incidencia es el de órganos digestivos. En la Gráfica 1 se muestran los porcentajes de muertes debidas a los principales tipos de cáncer que afectaron a los mexicanos en el año 2016 (INEGI, 2018).



Gráfica 1. Datos publicados en "Estadísticas a propósito del día mundial contra el cáncer (4 de febrero)" **(INEGI, 2018)**.

3.3 Causas del cáncer

Las causas del cáncer aun no son muy claras, pero se sabe que involucra factores genéticos y agentes externos; los agentes externos los podemos clasificar como carcinógenos físicos (radiaciones ultravioletas y ionizantes), carcinógenos químicos (como componentes del tabaco, aflatoxinas, arsénico) y carcinógenos biológicos (virus, bacterias y parásitos). Adicionalmente se sabe que la edad, hábitos poco saludables como el consumo de tabaco, de alcohol, la mala alimentación y la falta de actividad física son los principales factores de riesgo para esta y otras enfermedades (OMS, 2018).

Entre el 30 y 50% de los canceres de acuerdo con la OMS se pueden evitar si se reducen los factores de riesgo antes mencionados, así mismo se sabe que muchos de los canceres son curables si se detectan en una etapa temprana.

3.4 Tratamiento

En la actualidad existen diferentes tratamientos contra el cáncer, desde los convencionales como la cirugía, la quimioterapia y radioterapia; así como los nuevos tratamientos que tienen la intención de ser más específicos para causar menos efectos adversos, tal es el caso de los trasplantes de células madre, inmunoterapia, terapia dirigida o terapia con hormonas (National Cancer Institute, 2017). La mayoría de los pacientes son tratados con la combinación de dos o más tratamientos (ejemplo: la cirugía con radioterapia o quimioterapia), con el propósito de incrementar las posibilidades de éxito.

Cada uno de los tratamientos tiene limitaciones, por lo que la combinación de los tratamientos hace más efectiva la respuesta ante esta letal enfermedad. La cirugía se usa para disminuir o eliminar tumores sólidos; sin embargo, no siempre es suficiente y requiere de un tratamiento coadyuvante como la quimioterapia que se basa en la administración de fármacos que con diferentes mecanismos ayudan a la eliminación o disminución de las células cancerosas; otro de los tratamientos más utilizados es la radioterapia que consiste en exponer la zona donde se encuentra el tumor a radiación (rayos X o gamma) (American Cancer Society, 2019), la radiación daña el ADN de las células causando su muerte, sin embargo como la mayoría de los tratamientos no es

específico para células cancerosas también causa la muerte de las células normales cercanas a la zona del tumor.

Actualmente existen nuevos tratamientos como el trasplante de células madre usado principalmente en leucemias, linfomas o mieloma múltiple. El trasplante de células madre (Figura 1) es usado para reemplazar la medula ósea destruida por quimioterapia, permitiendo usar dosis más altas de fármacos. Las células madre donadas, además de reemplazar las células eliminadas, pueden ser más efectivas que el sistema inmune del paciente para encontrar y eliminar células cancerosas (American Cancer Society, 2019).





La inmunoterapia, uno de los tratamientos recientes, engloba diferentes métodos que estimulan o inhiben los mecanismos del sistema inmunológico para combatir las células cancerosas; esta es una de las terapias usadas en una amplia variedad de canceres (National Cancer Institute, 2017).

Algunos de los tumores como el de próstata o el de mama requieren de hormonas producidas por el cuerpo para aumentar su tamaño, las terapias hormonales frecuentemente bloquean los mecanismos para la producción de hormonas o modifican el efecto de las hormonas sobre el organismo, de tal forma que se inhiba el crecimiento de los tumores o en algunos casos disminuya su tamaño (National Cancer Institute, 2017).

A pesar de todos los avances con los que se cuenta en el tratamiento del cáncer los índices de mortalidad continúan siendo alarmantes (OMS); la cura de esta enfermedad sigue sin ser efectiva en la mayoría de los casos y el éxito del tratamiento depende de la etapa de detección y la estrategia a seguir para tratarla.

3.5 Quimioterapia

Dado la magnitud de este problema, la búsqueda de nuevos tratamientos ha sido de suma importancia. La práctica de la cancerología ha cambiado notablemente en los últimos años, afecciones malignas que anteriormente eran letales, tales como el cáncer de testículo, linfomas y leucemia ahora son curables en muchos de los casos. En un inicio los medicamentos que se emplearon para el cáncer se descubrieron probando sustancias sintéticas y productos naturales en sistemas tumorales de proliferación rápida (Goodman & Gilman, 2007). La quimioterapia actual para el cáncer consiste en atacar de diversas formas las células tumorales, con la intención de causar un fenómeno citotóxico letal únicamente en la célula cancerosa y así detener la progresión del tumor.

Un número importante de fármacos que se descubrieron en las dos primeras décadas de la quimioterapia del cáncer (1950 a 1970) se intercalan en el ADN o sus precursores, inhibiendo la síntesis de nuevo material genético o causando daño irreparable del ADN, provocando la muerte de la célula (Goodman & Gilman, 2007) desafortunadamente el daño que causan estos fármacos no es exclusivo para células tumorales. Lo ideal sería que los fármacos antineoplásicos interfirieran solo en los procesos celulares que son exclusivos de las células malignas, lamentablemente la mayoría de los fármacos antineoplásicos actualmente disponibles no reconocen exclusivamente a células neoplásicas (Harvey, 2001).

Con el fin de eliminar las células cancerosas causando el menor daño posible a las células normales se han buscado características que sean únicas en las células cancerosas; sin embargo, esto no ha sido sencillo dado que tanto las células cancerosas como normales tienen el mismo origen primario. Una característica única en la mayoría de las células cancerosas es que tienen una mayor proliferación que las células normales (Mendoza, 2008).

El haber conseguido en un inicio la caracterización de antígenos y oncogenes tumorales únicos, introdujo nuevas oportunidades terapéuticas, si bien los medicamentos dirigidos molecularmente han tenido un éxito en diversas neoplasias como en la leucemia mielocítica crónica (CML) y en la leucemia promielocítica aguda (APL), no es probable que en un futuro cercano nuevas terapias sustituyan a los fármacos citotóxicos, ya que estos medicamentos son cada vez más eficaces cuando se administran combinados y en etapas iniciales de la enfermedad (Goodman & Gilman, 2007).

Actualmente se cuenta con una amplia variedad de fármacos antineoplásicos, la mayoría de estos fármacos pueden ser empleados en más de un tipo de cáncer, los cuales pueden clasificarse por mecanismo de acción, diana y origen, entre otros. En el siguiente cuadro se resume a los grupos más importantes de fármacos antineoplásicos:

CLASE	TIPO DE FÁRMACO	EJEMPLOS
	Análogos del ácido fólico	Metotrexano Pemetrexed
Antimetabolitos	Análogos de la pirimidina	Fluorouracilo Capecitabina Citarabina Gemcitabina
	Análogos de la purina e inhibidores relacionados	Mercaptopurina Pentostatina Cladribina Fludarabina

Cuadro 1. Clasificación de fármacos usados en enfermedades neoplásicas (Goodman & Gilman, 2007).

CLASE	TIPO DE FÁRMACO	EJEMPLOS
	Mostazas nitrogenadas	Cliclofosfamida Ifosfamida Melfalán (L-sarcolisina) Clorambucilo
	Etileniminas y metilmelaminas	Altretamina Tiotepa
Fármacos	Derivados de metilhidrazina	Procarbazina (n-metilhidrazina)
alquilantes	Alquilsulfonato	Busulfán
	Nitrosoureas	Carmustina (BCNU) Estreptozocina
	Triazenos	Dacarbazina Temozolomida
	Complejos de coordinación	Cisplatino Carboplatino Oxaliplatino
	Alcaloides de la vinca	Vinblastina Vinorelbina Vincristina
	Taxanos	Paclitaxel Docetaxel
Productos	Epipodofilotoxinas	Etopósido Tenipósido
naturales	Camptotecinas	Topotecán Irinotecán
	Antibióticos	Dactinomicina (actinomicina D) Daunorrubicina Doxorrubicina
	Antracenodiona	Mitoxantrona Bleomicina

Cuadro 2. Clasificación de fármacos usados en enfermedades n	eoplásicas (Goodman &
Gilman, 2007)continuación-	

CLASE	TIPO DE FÁRMACO	EJEMPLOS
Fármacos diversos	Urea sustituida	Hidroxiurea
	Agentes de diferenciación	Tretinoína Trióxido de arsénico
	Inhibidor de la proteína cinasa de la tirosina	Imatinib Gefitinib
	Inhibidor de proteosoma	Bortezomib
	Modificadores de la respuesta biológica	Interferón-alfa Interleucina 2
	Anticuerpos monoclonales	Rituximab Gemtuzumab Bevacizumab
Hormonas y antagonistas	Supresores de adrenocorticales	Mitotano Aminoglutetimida
	Adrenocorticosteroides	Prednisona
	Progestágenos	Caproato de hidroxiprogesterona Acetato de medroxiprogesterona
	Estrógenos	Dietilestilbestrol Etinilestradiol
	Antiestrógenos	Tamoxifeno Toremifeno
	Inhibidores de la aromatasa	Anastrozol Letrozol Exemestano
	Andrógenos	Propionato de testosterona Fluoximesterona
	Antiandrógenos	Flutamida
	Análogos de la hormona liberadora de gonadotropinas	Leuprolide

Cuadro 3.	Clasificación de fármacos usados en enfermedades neoplásicas	(Goodman &
Gilman, 20	007)continuación-	

A pesar de los muchos fármacos quimioterapéuticos existentes, la tasa de mortalidad asociada a cáncer continúa en aumento. No es de sorprenderse que las células hayan desarrollado mecanismos elaborados de defensa para protegerse de los antineoplásicos, puesto que estos son toxinas que constituyen una amenaza letal para las células. Algunas células neoplásicas tienen una resistencia inherente contra la mayoría de los fármacos quimioterapéuticos, otras células pueden adquirir resistencia a los efectos citotóxicos de una medicación mediante mutaciones, especialmente posterior a la administración prolongada de dosis subóptimas de los fármacos (Harvey, 2001).

Entre los principales problemas a resolver de la quimioterapia actual es la resistencia a uno o múltiples fármacos, efectos adversos, toxicidad y tumores inducidos por el tratamiento; dado que la mayoría de los antineoplásicos son mutágenos, pueden surgir nuevas neoplasias varios años después de la curación del cáncer original (Harvey, 2001).

3.6 **Productos naturales**

A pesar de los avances en el área farmacéutica y de contar cada vez con más y mejores tratamientos disponibles para curar diversas enfermedades, el número de pacientes que recurre al uso de plantas medicinales en busca de una terapia alterna que mejore su salud crece de forma exponencial. La herbolaria es empleada por gran parte de la población mundial, hasta en un 80% de la población de países en desarrollo por cuestiones culturales o por la falta de otros recursos y en el caso de los países desarrollados su uso es por considerar que lo "natural" es sinónimo de inocuidad (OMS, 2004).

La medicina basada en productos naturales es el resultado de las experiencias terapéuticas acumuladas por cientos de generaciones. Los antiguos pobladores de nuestro territorio desarrollaron una de las herbolarias más complejas del mundo, debido a la riqueza cultural y étnica que alcanzaron; así pues, desde tiempos prehispánicos diferentes grupos étnicos han usado plantas con fines medicinales (Mendoza, 2008). Esto se ve reflejado en documentos como el Códice de La Cruz-Badiano, la Historia de las Plantas de Nueva España y las ilustraciones de la Real Expedición Botánica a la Nueva España.

México cuenta con una gran biodiversidad de especies de plantas con alguna propiedad curativa, a partir de estas especies se han realizado preparados herbolarios con el fin de aliviar algunas enfermedades, cabe señalar que, aunque para algunos de ellos se ha establecido su eficacia y seguridad, para otros esto no ha sido posible (Ocegueda, et al., 2005). De la herbolaria mexicana alrededor de 4000 especies de plantas con flores (lo que representa casi 15% de la flora total) tienen atributos medicinales.

Desde hace varias décadas, basado en información quimiotaxonómica y etnomédica, se han abierto un sin fin de líneas de investigación que nos lleven a encontrar nuevos compuestos más efectivos y con menos efectos colaterales (Alonso-Castro, et al., 2011). Los investigadores han tratado de aislar los componentes activos de las plantas medicinales y en consecuencia, al obtenerlos, para un cierto número de plantas se ha logrado esclarecer el mecanismo de acción que valida su utilidad terapéutica (Mendoza, 2008), a pesar de esto se cree que solo en un 5% se han realizado los estudios químicos, farmacológicos y biomédicos de los principios activos (Ocegueda, et al., 2005). Se estima que anualmente en todo el mundo se facturan 60,000 millones de dólares por concepto de comercialización de medicamentos de patente elaboradas con plantas medicinales, lo que representa una cifra importante para la industria farmacéutica.

Se sabe que de los fármacos anticancerígenos usados en los diferentes tratamientos aproximadamente el 60% son derivados de productos naturales (Alonso-Castro, et al., 2011), tal es el caso de los alcaloides de la vinca. De acuerdo con el artículo Natural Products as Sources of New Drugs from 1981 to 2014 los productos naturales y sus análogos continúan teniendo un importante papel en la búsqueda de nuevos antitumorales, ya que de los fármacos anticancerígenos registrados entre 1981 y 2014 solo el 17% fueron de origen sintético (Newman & Cragg, 2016), esto demuestra que el área de los productos naturales es un rubro que debe continuar explorándose.

3.7 Guayule



Figura 2. Parthenium argentatum Gray (Guayule).

Parthenium argentatum Gray (Guayule) es un arbusto desértico con pequeñas hojas cubiertas de una cera blanca que las protege de la sequía y diminutas flores, es capaz de soportar temperaturas de 18°C a 40°C y puede vivir de 30 a 40 años (Figura 2). El Guayule es una especie nativa de zonas semiáridas del norte de México y sur de Texas, su principal uso es en la obtención de hule natural (CONACYT, s.f.), se sabe que desde épocas prehispánicas fue usado como fuente de hule, pues por el método de exudado se obtenía un látex que era empleado para hacer las pelotas de los juegos de pelota ceremoniales. Durante la primera mitad del siglo XX fue la única fuente de producción de hule, pero con la llegada del hule producido sintéticamente su uso decayó; (CONABIO, s.f.). recientemente se han retomado la investigación en torno al látex obtenido del Guayule, debido a sus propiedades hipoalergénicas.

Se sabe que por cada kilogramo de hule natural obtenido se produce un kilogramo de resina como desecho (Parra Delgado, et al., 2005). De la resina de guayule se han aislado seis diferentes triterpenos caracterizados como la incanilina, argentatina A, B, C, D e isoargentatina B (Maatooq, et al., 2002). Las argentatinas representan el 20% de la

composición de la resina, siendo la argentatina A [(16S, 17R, 20S, 24R)-20,24-epoxi-16,25-dihidroxi-cicloartan-3-ona] y la argentatina B [(16β,24R)-16,24-epoxi-25hidroxicicloartan-3-ona] (Figura 3) los compuestos mayoritarios (Parra Delgado, et al., 2006). Las argentatinas son triterpenos de tipo cicloartano con propiedades citotóxicas en líneas de cáncer colon, mama, leucemia, entre otras.

Algunos experimentos realizados en nuestro grupo de trabajo demuestran que análogos de la argentatinas A y B poseen una actividad anticancerígena más efectiva que los compuestos originales. Sin embargo, uno de los principales problemas de estos compuestos es la hidrofobicidad, lo cual limita su estudio en sistemas biológicos *in vivo* (Parra Delgado, et al., 2006).



Figura 3. Triterpenos aislados de Partenium argentatum.

3.8 Triterpenos

Los triterpenos son un grupo diverso de metabolitos secundarios derivados del escualeno o de precursores acíclicos de 30 átomos de carbono (Parra Delgado, 2006); estos metabolitos pueden ser clasificados en triterpenos tetracíclicos y pentacíclicos (Yan, et al., 2013). En la Figura 4 se muestra la clasificación de los principales tipos de triterpenos.

En la naturaleza hay una amplia variedad de estos metabolitos secundarios, se pueden encontrar triterpenos o combinados con azúcares dando lugar a glicósidos o saponinas triterpénicas, generalmente los triterpenos son compuestos solubles en solventes orgánicos como éter de petróleo, éter etílico, cloroformo y metanol, entre otros, pero insolubles en agua, sin embargo, las saponinas son poco solubles en solventes no polares y presentan mejor solubilidad en agua y otros solventes polares (Yan, et al., 2013).



Triterpenos tetraciclicos

Triterpenos pentaciclicos

Figura 4. Clasificación de triterpenos basados en su estructura química (Yan, et al., 2013).

Diversas líneas de investigación han demostrado que los algunos glicósidos triterpénicos presentan actividad citotóxica, ejemplo de esto son los glicósidos triterpénicos de Gordonia kwangsiensis, los cuales son buenos agentes citotóxicos en líneas celulares de cáncer gástrico, de colon, pulmón y ovario (Fu, et al., 2013); mientras los triterpenos presentan actividad antiinflamatoria, antiviral (Zhang, et al., 2014), antiparasitaria (Alakurtti, et al., 2010) y anticancerígena, inclusive se ha demostrado que pueden ser capaces de regular los niveles de glucosa y actuar como agentes reversibles de la multirresistencia que presentan algunas células cancerosas a la quimioterapia convencional (Yan, et al., 2013). Los mecanismos de acción de estos compuestos como agentes anticancerígenos aún se desconocen, sin embargo, se sabe que un gran número de triterpenos presenta actividad citotóxica en un amplia gama de líneas celulares de cáncer (Chudzik, et al., 2015), además otras investigaciones demuestran que los triterpenos pueden ser compuestos altamente efectivos y con baja toxicidad (Tian, et al., 2005); tal es el caso de la argentatina B que disminuye la proliferación de células de cáncer de próstata y cáncer de colón tan eficiente como el cisplatino pero sin presentar efectos tóxicos en los animales de experimentación (Alcántara Flores, et al., 2015).

3.9 Profármacos

Un profármaco es aquel compuesto que requiere ser activado *in vivo* mediante transformaciones metabólicas o enzimáticas para presentar una actividad farmacológica. Existen profármacos bioprecursores y aquellos que se encuentran unidos a un transportador o acarreador, la unión con dicho acarreador debe cumplir con las siguientes características (Beaumont, et al., 2003):

- Unión covalente.
- El profármaco debe ser inactivo o menos activo que el fármaco.
- El enlace debe romperse in vivo.
- El profármaco y el transportador no deben ser tóxicos.
- La bioactivación del fármaco debe ser rápida en el lugar de acción para evitar el metabolismo alternativo (Cabrera & Diez Torrubia, 2010).

Además de disminuir la toxicidad propia de los fármacos, el uso de profármacos puede favorecer las propiedades fisicoquímicas, biofarmacéuticas y farmacocinéticas de la molécula, ejemplo de estos son los conjugados con ácido fosfórico, ácido sulfúrico, aminoácidos, polímeros y azúcares que mejoran la solubilidad acuosa, biodisponibilidad oral o los conjugados con ésteres que mejoran la absorción oral y tópica (Ettmayer, et al., 2004).

Los métodos GDEPT (*gene-directed enzyme prodrug therapy*), VDEPT (*virus-directed enzyme prodrug*) y ADEPT (*antibody-directed enzyme prodrug*) (Figura 5) son algunas de las estrategias empleadas en la activación de profármacos; estas metodologías tienen como finalidad la ruptura del profármaco mediante una enzima.





Los métodos VDEPT y GDEPT se basan en llevar a células cancerosas genes que codifican las enzimas responsables de activar el profármaco, una vez que las enzimas son codificadas los profármacos (moléculas inactivas y de baja toxicidad) son administrados y separados en acarreador + fármaco (molécula anticancerígena) dentro de las células tumorales que contienen la enzima codificada, causando la muerte únicamente de las células tumorales. A diferencia de los métodos VDEPT y GDEPT, el

método ADEPT utiliza al complejo de enzima-anticuerpo, el anticuerpo debe ser específico para algún antígeno expresado en las células tumorales de interés (Xu & Mc Leod, 2001); una vez administrado el complejo, éste llega al tumor y reconoce el sitio de unión presente en la célula tumoral, así pues cuando el profármaco es administrado y pasa por el torrente sanguíneo no es capaz de causar daño a las células normales, sin embargo cuando llega al tumor es bioactivado por la enzima unida al anticuerpo que reconoce al anticuerpo de células cancerosas, de esta forma se asegura que el tratamiento será especifico e inocuo para el paciente (Bagshawe, 1995).

Como la mayoría de los tratamientos estos métodos representan aún un reto para lograr que el tratamiento sea especifico e inocuo para el paciente, como el que los profármacos sean estables en sangre, que tanto el complejo enzima-anticuerpo como el profármaco se difundan adecuadamente en la zona del tumor y la activación de profármaco sea exitosa *in situ*, entre otros. Los estudios en este campo de investigación continúan para en un futuro lograr la eficacia de estos tratamientos (Xu & Mc Leod, 2001).

4 HIPÓTESIS

La derivatización del esqueleto triterpénico de las argentatinas A y B mediante la formación de glucósidos disminuirán la actividad citotóxica sobre diferentes líneas celulares de cáncer, generando posibles profármacos.

5 OBJETIVOS

5.1 Objetivo General

 A partir de los metabolitos secundarios argentatina A (16S, 17R, 20S, 24R)-20,24epoxi-16,25-dihidroxi-cicloartan-3-ona) y la argentatina B (16β,24R)-16,24-epoxi-25-hidroxicicloartan-3-ona) obtener derivados con una menor citotóxica sobre líneas celulares de cáncer.

5.2 Objetivos Particulares

- Aislar a las argentatinas A y B a partir de la resina de Guayule.
- Sintetizar a los derivados glicosilados con residuos de glucosa y galactosa de las argentatinas A y B.
- Evaluar a los derivados de argentatinas A y B contra diferentes líneas celulares de cáncer.

6 MÉTODO EXPERIMENTAL

6.1 Esquema general de trabajo



6.2 Resina

La resina, un subproducto del proceso de industrialización de la especie *Parthenium argentatum* (Gray), fue amablemente donado por el Dr. Mariano Martínez Vázquez.

6.3 Aislamiento de las argentatinas A y B

El aislamiento de las argentatinas A y B se llevó a cabo mediante una cromatografía en columna a vacío (diámetro = 7.5 cm, altura = 55 cm) de la resina (50 g). Para ello, se emplearon 1150 g de tonsil (proporción 1:23) la elución de la columna se realizó utilizando mezclas de polaridad creciente de hexano y AcOEt, se colectaron fracciones de 1 l de volumen. Cada fracción se concentró a presión reducida; las fracciones se compararon por medio de cromatografía en capa fina y se reunieron aquellas que presentaron un perfil cromatográfico similar. Posteriormente aquellas que contenían a los compuestos de interés se recristalizaron empleando la técnica de par de disolventes (DCM, éter isopropilico). Cada argentatina (A y B) se identificó por comparación de sus constantes físicas y espectroscópicas con estándares.

6.4 Transformaciones químicas de glucosa y galactosa

Una serie de compuestos fueron obtenidos a partir de la derivatización de los compuestos de D-glucosa y D-galactosa, estos productos se emplearon en la formación de posibles profármacos de la argentatina A.



Figura 6. Derivados de glucosa.



Figura 7. Derivados de galactosa.

6.4.1 1,2,3,4,6-penta-O-acetil-D-glucopiranosa (1a).



Figura 8. Obtención de la 1,2,3,4,6-penta-O-acetil-D-glucopiranosa (1a).

Para la obtención de la 1,2,3,4,6-penta-O-acetil-D-glucopiranosa a 10 g de Dglucosa se le adicionaron 30 ml de piridina y 30 ml de Ac₂O (Tietze, et al., 2007). La mezcla se mantuvo en agitación a temperatura ambiente y en atmósfera inerte durante 14 días, la reacción fue monitoreada mediante ccf utilizando AcOEt como fase móvil. Pasado ese tiempo la mezcla de reacción se vertió en 500 g de hielo y se extrajo empleando como fase orgánica AcOEt (5x100 ml), se lavó con HCl 2N (3x100 ml) y solución saturada de NaCI (2x100 ml), la fase orgánica se secó con Na₂SO₄ anhidro y se concentró a presión reducida. El producto obtenido fue un sólido blanco 1a con un p.f. de 94-96°C con un rendimiento del 79.6% y un Rf de 0.36 (eluyente hexano-AcOEt (7:3)). IR (CHCl₃) v_{max} cm⁻¹ 3556.04, 3020, 2959.09, 1755.02, 1430.74, 1371.12, 1239.53, 1193.84, 1153.64, 1079.08, 1041.41, 1014.44, 938.25, 889.89, 860.30. EM-FAB+ m/z (%) 331 (M+ -59, 20), 281 (9), 207 (20), 169 (51), 136 (34), 73 (84), 43 (M⁺⁺-347, 100), 41 (42). RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 6.33 (d, J = 3.6 Hz, 1H), 5.47 (t, J = 9.9 Hz, 1H), 5.11-5.12 (m, 2H), 4.27 (dd, J = 12, 4.2 Hz, 1H), 4.14-4.07 (m, 2H), 2.182 (s, 3H), 2.094 (s, 3H), 2.044 (s, 3H), 2.028 (s, 3H), 2.017 (s, 3H). RMN ¹³C (75 MHz) δ 170.6, 170.2, 169.6, 169.3,168.7, 89.1, 69.8, 69.2, 67.9, 61.5, 20.8, 20.6, 20.6, 20.5, 20.4.

6.4.2 1,2,3,4,6-penta-O-acetil-D-galactopiranosa (2a).



Figura 9. Obtención de la 1,2,3,4,6-penta-O-acetil-D-galactopiranosa (2a).

El compuesto 1,2,3,4,6-penta-O-acetil-D-galactopiranosa se obtuvo disolviendo 5 g de D-galactosa en 30 ml de piridina y 30 ml de Ac₂O; la mezcla se mantuvo a temperatura ambiente, en agitación y atmósfera inerte por 14 días. La purificación del producto se realizó de la misma forma que 1,2,3,4,6-penta-O-acetil-D-glucopiranosa. Después de la evaporación de disolvente el producto 2a obtenido fue un líquido viscoso de color ligeramente amarillo con un Rf de 0.32 en ccf eluída con hexano-AcOEt (7:3). A partir de la espectroscopía se calculó un rendimiento de producto de 86.2% de los anómeros. IR (CHCl₃) v_{max} cm⁻¹: 2927.76, 2854.60, 1751.92, 1430.54, 1371.52, 1248.72, 1202.64, 1139.47, 1073.83, 1012.20, 936.88, 902.76. EM-FAB⁺ m/z (%). 705 (4), 690 (4), 634 (5), 603 (10), 577 (15), 549 (9), 530 (9), 521 (6), 461 (5), 459 (5), 415 (4), 401 (7), 385 (6), 331 (14), 327 (15), 281 (15), 267 (8), 251 (6), 207 (16), 191 (10), 154 (38), 136 (48), 95 (42), 57 (90), 55 (100), 41 (90), 27 (38), 15 (8). RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 6.30 (d, J = 3 Hz, 1H), 5.43 (ta, 1H), 5.27 (t, J = 3 Hz, 2H), 4.29 (t, J = 9 Hz, 1H), 4.11-3.90 (m, J = 0 Hz, 1Hz, 1H), 4.11-3.90 (m,2H), 2.10 (d, J = 3 Hz, 3H), 2.06 (t, J = 4.2 Hz, 3H), 2.97 (s, 3H), 1.95 (s, 3H), 1.94 (s, 3H). RMN ¹³C (75 MHz) δ 170.1, 169.9, 169.9, 169.7, 168.7, 91.9, 89.5, 67.2, 67.2, 66.3, 61.0. 20.0, 20.5, 20.4, 20.4, 20.3.
6.4.3 1-bromo-2,3,4,6-tetra-*O*-acetil- α -D-glucopiranosa (1b).



Figura 10. Obtención de la 1-bromo-2,3,4,6-tetra-*O*-acetil-α-D-glucopiranosa (**1b**).

La obtención de la 1-bromo-2,3,4,6-tetra-O-acetil- α -D-glucopiranosa se realizó adicionando 924.8 mg de 1,2,3,4,6-penta-O-acetil-D-glucopiranosa a 1 ml de una solución de HBr al 33% en ácido acético, la mezcla se mantuvo en atmósfera inerte y con agitación por 50 min (Tietze, et al., 2007). El producto de reacción se extrajo con DCM (4x10ml), posteriormente la fase orgánica se lavó con una solución saturada de NaHCO₃ (2x10ml) y se secó con Na₂SO₄ anhidro, el DCM fue evaporado a presión reducida. El sólido obtenido se purificó en una columna empacada con silica gel de 60 Å, eluída con diferentes mezclas de hexano-AcOEt de polaridad creciente; las fracciones 18 a 24 se reunieron, obteniendo 820 mg del producto (**1b**, 83.4%) con un valor de R_f de 0.57 en ccf con una mezcla de hexano-AcOEt (7:3). IR (CHCl₃) v_{max} cm⁻¹ 2960.56, 2928.23, 1754.55 1603.68, 1370.39, 1240.68, 1225.65, 1205.09. EM-IE m/z (%): 331 ([M+ -Br],14), 169 (65), 127 (16), 109 (34), 43 (100), 28 (45), 4 (38). RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 6,60 (d, J = 3.9 Hz, 1H), 5.55 (t, J = 9.6 Hz, 1H), 5.15 (td, J = 9.9, 3.3 Hz, 1H), 4.83 (dd, J = 5.1, 3.6 Hz, 1H), 4.35 - 4,26 (m, 2H), 4.12 (dt, J = 14.1, 2.1 Hz, 2H), 2,096 (s, 3H), 2.091 (s, 3H), 2,047 (s, 3H), 2,029 (s, 3H). RMN ¹³C (75.4 MHz) δ 170.4, 169.8, 169.7, 169.4, 86.6, 72.1, 70.6, 70.2, 67.2, 60.9, 20.6, 20.6, 20.5.

6.4.4 1-bromo-2,3,4,6-tetra-*O*-acetil- α -D-galactopiranosa (2b).



Figura 11. Obtención de la 1-bromo-2,3,4,6-tetra-*O*-acetil-α-D-galactopiranosa (**2b**).

Un gramo de 1,2,3,4,6-penta-*O*-acetil-D-galactopiranosa se colocó en agitación y con atmósfera inerte con 1 ml de una solución de HBr al 33% durante 50 minutos. La extracción y purificación del producto obtenido se realizó bajo las mismas condiciones utilizadas para la 1-bromo-2,3,4,6-tetra-*O*-acetil- α -D-glucopiranosa, el resultado fue la obtención de 434.6 mg de la 1-bromo-2,3,4,6-tetra-*O*-acetil- α -D-galactopiranosa (**2b**, 41.3%) con un valor de Rf de 0.56 (hexano-AcOEt (7:3)). RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 6.70 (d, *J* = 3.9 Hz, 1H), 5.52 (dd, *J* = 3.2, 1.5 Hz, 1H), 5.41 (dd, *J* = 5.3, 3.3 Hz, 1H), 5.05 (dd, *J* = 5.4, 4.2 Hz, 1H), 4.49 - 4.47 (m, 1H), 4.22 - 4.08 (m, 2H), 2.15 (s, 1H), 2.11 (s, 1H), 2.06 (s, 1H), 2.01 (s, 1H). RMN ¹³C (100 MHz) δ 170.2, 170.0, 169.8, 169.6, 88.1, 71.1, 68.8, 67.8, 67.0, 60.8, 20.7, 20.6, 20.5, 20.5.

6.4.5 2,3,4,6-tetra-O-acetil-D-glucopiranosa (1c).



Figura 12. Obtención de la 2,3,4,6-tetra-O-acetil-D-glucopiranosa (1c).

La desacetilación en la posición del C1 de la 1,2,3,4,6-penta-O-acetil-Dglucopiranosa se realizó mediante el tratamiento de 1.98 g del compuesto **1a** y 0.6 g de acetato de hidrazina (N₂H₄·CH₃CO₂H) en 22 ml de DMF, la mezcla se mantuvo en agitación y en atmósfera inerte; después de una hora de reacción la mezcla fue diluida con AcOEt, la fase orgánica fue lavada con agua fría, solución saturada de NaCl, solución saturada de NaHCO₃ y fue secada con Na₂SO₄ anhidro. La eliminación del disolvente se realizó a vacío (Tietze, et al., 2007). De la reacción se obtuvieron 1.38 g de un líquido viscoso (78.1%). IR (CHCl₃) v_{max} cm⁻¹ 3444.38, 2959.50, 1739.34, 1369.86, 1215.28, 1030.98, 909.35. RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 5.52 (t, *J* = 9.9 Hz, 1H), 5.44 (d, *J* = 3.6 Hz, 1H), 5.23 (t, *J* = 9.3 Hz, 1H), 5.07 (t, *J* = 10.4 Hz 1H), 4.87 (dd, *J* = 6, 3.3 Hz 1H), 4.73 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 4.28-4.19 (m, 3H), 4.16-4.09 (m, 2H), 2.08 (s, 3H), 2.07 (s, 3H), 2.02 (s, 3H), 2.00 (s, 3H). RMN ¹³C (300 MHz) δ 170.9*, 170.8, 170.7, 170.2*(x2), 170.2, 169.7*, 169.5, 95.4, 90.0*, 73.1, 72.3, 72.0, 71.1*, 69.8*, 68.5*, 68.4, 67.1*, 61.9*, 20.7, 20.6, 20.5, 20.5. [*señales claramente diferenciadas del anómero mayoritario*].

6.4.6 2,3,4,6-tetra-O-acetil-D-galactopiranosa (2c).



Figura 13. Obtención de la 2,3,4,6-tetra-O-acetil-D-galactopiranosa (2c).

La obtención de la 2,3,4,6-tetra-*O*-acetil-D-galactopiranosa, se realizó mezclando 1.97 g de la 2,3,4,6-penta-*O*-acetil-*D*-galactopiranosa (**2a**) con 0.6 g de acetato de hidrazina (N₂H₄·CH₃CO₂H) en 22 ml de DMF, las condiciones de reacción y la extracción se describen en el inciso 6.4.5 de esta sección experimental. De esta reacción se obtuvieron 1.33 g del producto viscoso (**2c**, 75.7%). IR (CHCl₃) v_{max} cm⁻¹ 3402.08, 2940.73, 1724.84, 1371.36, 1224.13, 1037.75, 759.28. RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 5.49 (d, *J* = 3.3 Hz, 1H), 5.45 (dd, *J* = 3.3, 1.2 Hz, 1H), 5.42 (d, *J* = 3.3 Hz, 1H), 5.38 (d, *J* = 3.3 Hz, 13H), 5.13 (dd, *J* = 5.4, 3.6 Hz, 16H), 5.07 (s, 1H), 5.06 (s, 1H), 4.70 (d, *J* = 7.2 Hz, 1H), 4.46 (t, *J* = 6.6 Hz, 13H), 4.14 (d, *J* = 6 Hz, 1H), 4.08 (dd, *J* = 3.15, 1.8 Hz, 1H), 3.95 (t, *J* = 7.0 Hz, 1H), 2.15 (s, 3H), 2.13 (s, 3H), 2.08 (s, 3H), 2.04 (s, 3H), 1.98 (s, 3H). RMN ¹³C (300 MHz) δ 170.6, 170.4, 170.3, 170.1, 95.8, 90.5, 70.9, 70.4, 68.7, 68.3, 68.2, 67.5, 67.4, 67.3, 67.2, 67.1, 66.4, 66.0, 61.7, 61.4, 20.7, 20.6, 20.6.

6.5 Transformaciones químicas de la argentatina A (3).

A partir de la (16S,17R,20S,24R)-20,24-epoxi-16,25-dihidroxi-cicloartan-3-ona (**3**) se sintetizaron cuatro derivados, las cuales se describen a continuación:



Figura 14. Derivados de la argentatina A (3).

6.5.1 20,24-epoxi-25-hidroxicicloartan-3,16-diona (3a).



Figura 15. Obtención de la 20,24-epoxi-25-hidroxicicloartan-3,16-diona (3a).

La reacción para obtener la 20,24-epoxi-25-hidroxicicloartan-3,16-diona (**3a**) se llevó a cabo mezclando 300 mg de la argentatina A (**3**) y 12.4 ml del reactivo DMP 0.3 M en DCM, la mezcla se mantuvo en agitación, a temperatura ambiente y atmósfera inerte por un periodo de 45 minutos, posteriormente se evaporo el disolvente. La purificación del compuesto se realizó en una columna empacada con silica gel en una proporción 1:40, la elución se realizó con hexano-AcOEt comenzando con hexano y finalizando con la proporción (1:1). Las fracciones se reunieron de acuerdo con el perfil cromatográfico que presentaron y se recristalizaron con la mezcla de hexano-DCM. Se obtuvieron 263 mg (88.0%) del compuesto **3a** con un p.f. de 131-132°C. R_f de 0.74 en ccf eluída con hexano-AcOEt (1:1). IR (CHCl₃) v_{max} cm⁻¹ 3482.01, 3023.41, 2976.56, 2877.92, 1729.44, 1700.61, 1467.45, 1225.13, 1206.72. RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 3.81 (m, 1H) 3.10 (s, 1H), 2.99 (s, 1H), 2.78-2.31 (multipletes traslapados, 5H), 2.25-1.5 (multipletes traslapados, 15H), 1.35–0.5 (multipletes traslapados, 28H). RMN ¹³C (100 MHz) δ 218.0, 216.0, 84.9, 83.5, 71.4, 63.7, 51.3, 50.2, 48.4, 47.1, 45.9, 42.0, 37.3, 37.2, 33.2, 32.0, 30.0, 27.6, 26.5, 26.4, 26.2, 25.4, 25.1, 24.0, 22.2, 21.3, 20.8, 20.3, 19.9, 19.8.

6.5.2 16-O-(2,3,4,6-tetraacetil-β-D-glucopiranosil)-argentatina A (3b).



Figura 16. Obtención de la 16-*O*-(2,3,4,6-tetraacetil-β-D-glucopiranosil)-argentatina A (**3b**).

Se preparó una disolución utilizando 138 mg de 1-bromo-2,3,4,6-tetra-*O*-acetil- α -D-glucopiranosa (compuesto **1b**) y 103 mg de la argentatina A (**3**) en 10 ml de DCM, y se le adicionó 630 mg de drierita, 176 mg de Ag₂O y 45 mg de Ag₂CO₃, esta mezcla se mantuvo en agitación a temperatura ambiente, en atmósfera inerte y ausencia de luz por 4 días. La mezcla de reacción se filtró sobre celita, el disolvente se evaporó a presión reducida, obteniéndose 130 mg de un sólido impuro.

El sólido se purificó en una columna abierta empacada con silica gel eluída con mezclas de hexano-AcOEt comenzando con una mezcla 9:1 y aumentando la polaridad hasta una proporción 1:1, finalmente las reuniones de fracciones se recristalizaron con DCM-éter etílico obteniéndose 89.1 mg (51.5%) de un sólido con un punto de fusión de 190-191°C. IR (CHCl₃) v_{max} cm⁻¹ 3039.87, 2973.68, 2873.32, 1754.22, 1699.93, 1459.85, 1699.93, 1459.93, 1459.85, 1429.84, 1368.92, 1236.53, 1170. 28, 1138.75, 1062.06, 1038.64. RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ 5.15 (t, *J* = 9.5 Hz, 1H), 5.02 (t, *J* = 9.5 Hz, 1H), 4.97 (c, *J* = 8, 4.7 Hz, 1H), 4.56 (d, *J* = 8 Hz, 1H), 4.31 - 4.26 (m, 1H), 4.22 - 4.19 (m, 1H), 4.11 (dd, *J* = 6.7, 2.5 Hz, 1H), 3.68 - 3.61 (m, 2H), 2.70 (td, *J* = 14.7, 6.5 Hz, 1H), 2.40 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H), 2.32-2.27 (m, 2H), 2.07 (s, 3H), 2.02 (d, *J* = 2 Hz, 6H), 1.99 (s, 3H), 1.32 (s, 3H), 1.27 (s, 3H), 1.24 (s, 3H), 1.15 (s, 3H), 1.13 (d, *J* = 6 Hz, 2H), 1.09 (s, 3H),

1.04 (s, 3H), 0.91 (s, 3H), 0.82 (d, *J* = 4 Hz, 1H), 0.57 (d, *J* = 4.5 Hz, 1H). RMN ¹³C (125 MHz, CDCl₃) δ 216.2, 170.4, 170.3, 169.4, 169.2, 102.0, 85.4, 83.4, 82.2, 73.5, 72.0, 71.7, 71.0, 68.8, 62.5, 58.2, 50.2, 48.5, 47.5, 46.8, 46.4, 46.3, 37.4, 36.1, 33.3, 33.0, 30.1, 28.3, 28.0, 26.4, 26.3, 26.0, 24.8, 22.8, 22.1, 21.3, 20.9, 20.8, 20.7, 20.6, 20.6, 20.2.





Figura 17. Obtención de la 16-*O*-(2,3,4,6-tetraacetil- β -D-galactopiranosil)-argentatina A (**3c**).

En 5 ml de DCM se disolvieron 105 mg de argentatina A (**3**), 98 mg de 1-bromo-2,3,4,6-tetra-*O*-acetil- α -D-galactopiranosa (compuesto **2b**) y 630 mg de drierita, la mezcla se mantuvo en ausencia de luz, agitación y con atmósfera inerte por 30 min; enseguida se adicionaron 84 mg de Ag₂CO₃ y 357 mg de Ag₂O. Después de 48 h la mezcla de reacción se diluyó con 50 ml de DCM y se filtró sobre celita, el disolvente se evaporó y se procedió a purificar el producto por cromatografía en placa preparativa que se eluyó cuatro veces en una mezcla 7:3 de hexano-AcOEt, el producto se extrajo con AcOEt y se obtuvieron 51.7 mg (29.3%). IR (CHCl₃) v_{max} cm⁻¹ 3569.21, 3033.85, 2932.82, 2869.20, 1748.93, 1701.92, 1463.03, 1371.42, 1238.80, 1191.36, 1168.78, 1077.97, 1059. 54, 1018.15, 951.04, 911.06. RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 7.27 (s, 2H), 5.53 (d, *J* = 3.5 Hz, 1H), 5.49 (dd, *J* = 3.4, 1.2 Hz, 1H), 5.41 (d, *J* = 3.3 Hz, 1H), 5.36 (dd, *J* = 3.4, 0.8 Hz, 2H), 5.31 (s, 2H), 5.23-5.14 (m, 2H), 4.98 (dd, *J* = 10.3, 3.5 Hz, 2H), 4.51 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H), 4.34-4.01 (m, 10H) 3.87 (t, *J* = 6.7 Hz, 2H), 3.66 (t, *J* = 7.8 Hz, 2H), 2.71 (td, *J* = 14.1, 6.6 Hz, 2H), 2.43 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 2.17 (s, 6H), 2.15 (s, 4H), 2.11 (s, 8H), 2.06 (s, 6H), 2.05 (s, 6H), 2.04 (s, 6H), 2.00 (s, 5H), 1.98 (s, 6H), 1.34 (s, 6H), 1.29 (s, 6H), 1.17 (s, 6H), 1.10 (s, 6H), 1.05 (s, 6H), 0.91 (s, 5H), 0.89 (s, 4H), 0.58 (d, *J* = 4.1 Hz, 2H). RMN ¹³C (300 MHz) δ 216.5, 170.4, 170.3, 170.2, 169.3, 102.7, 96.1, 90.7, 85.5, 83.5, 82.1, 71.5, 71.1, 70.6, 69.3, 68.3, 68.2, 67.2, 66.3, 61.8, 61.5, 58.2, 50.2, 48.5, 47.5, 46.9, 46.4, 46.2, 37.4, 36.1, 33.3, 33.0, 31.9, 30.1, 29.7, 29.3, 28.4, 27.9, 26.4, 26.3, 26.2, 26.0, 24.7, 22.7, 22.1, 21.3, 21.0, 20.8, 20.8, 20.7, 20.6, 20.5, 20.2, 14.1.

6.5.4 16-*O*-β-glucosilargentatina A (3d).



Figura 18. Obtención de la 16-*O*-β-glucosilargentatina A (3d).

Una solución de 5 ml de MeOH y 47 mg de 16-*O*-(2,3,4,6-tetraacetil- β -D-glucopiranosil)-argentatina A (**3b**) se colocaron en un matraz bola provisto de atmósfera inerte, en agitación y a 0°C, después de 30 minutos se adicionaron gota a gota 30 μ l de metóxido de sodio al 30% (CH₃ONa) y 4.4 mg de Na elemento, posterior a las 2 h de que la mezcla alcanzó la temperatura ambiente se agregaron 3 gotas de ácido acético.

El disolvente se evaporó en alto vacío, el sólido obtenido se lavó con DCM obteniendo 41 mg de un precipitado blanco p.f. mayor a 300°C; por otra parte, con las aguas madres se realizó una placa preparativa eluída 2 veces con AcOEt, la extracción se hizo con DCM y el sólido obtenido se envió a análisis. IR (CHCl₃) v_{max} cm⁻¹ 3437.25, 1701.51, 1564.01, 1414.41, 1340.56, 1051.77, 1021.52, 927.82, 792.91, 643.15, 525.21.

6.6 Transformaciones químicas de argentatina B (4).

A partir de la argentatina B (4) se obtuvieron los tres derivados que a continuación se describen:





6.6.1 (16β,24R)-16,24-epoxi-25-hidroxicicloart-1-en-3-ona (4a).



Figura 20. Obtención de la $(16\beta, 24R)$ -16,24-epoxi-25-hidroxicicloart-1-en-3-ona (**4a**).

Se preparó una solución de 200 mg de argentatina B (4) y 100 mg de cloruro de fenil selenio (C₆H₅SeCl) en 5 mL de AcOEt, la mezcla se puso en agitación a temperatura ambiente y con atmósfera inerte durante dos horas, posteriormente se adicionó 1 mL de agua. La fase acuosa fue separada y se adicionaron 2 mL de THF y 0.2 mL de H₂O₂ al 30%, después de 90 minutos se realizaron lavados con una solución saturada de K₂CO₃ (3x10 mL) y H₂O (3x10 mL). La fase orgánica se secó con Na₂SO₄ anhidro, se filtró y concentró. El sólido resultante se purificó por cromatografía en columna abierta [hexano-AcOEt (8:2)]. Este proceso cromatográfico permitió la obtención 70.4 mg de (16*β*,24R)-16,24-epoxi-25-hidroxicicloart-1-en-3-ona (4a, 35%) con un punto de fusión de 165-167°C. IR (CHCl₃) v_{max} cm⁻¹. 3684.84, 3543.71, 3041.74, 3019.58-2806, 1663.02, 1604.07, 1521.32, 1465.81, 1426.33, 1334.51, 1225.78, 1208.79, 1112.21. EM-IE m/z (%): 454 (20) [M]⁺, 436 (17) [M -18]⁺, 396(45) [M -58]⁺ RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ ppm: 0.74 (d, J = 4.8 Hz, 1H), 0.88 (s, 3H), 0.94 (d, J = 6.6 Hz, 3H), 0.96 (s, 3H), 1.10 (s, 3H),1.14 (s, 1H), 1.32 (d, J = 4.8 Hz, 1H), 1.65-2.04 (m traslapados, 24H), 3.59 (dd, J = 6.7, 2.1 Hz, 1H), 4.60 (c, J = 7.8, 7.5 Hz, 1H), 5.94 (d, J = 10.2 Hz, 1H), 6.77 (d, J = 9.9 Hz, 1H). RMN ¹³C (75.4 MHz) δ ppm: 205.1, 153.6, 126.8, 82.6, 74.6, 73.3, 57.1, 46.4, 46.0, 45.8, 44.4, 43.9, 43.3, 35.5, 32.2, 30.0, 29.3, 29.0, 27.4, 25.6, 24.5, 23.9, 23.6, 23.4, 21.4, 21.0, 19.5, 19.1, 18.8, 17.5.

6.6.2 (16β,24R)-16,24-epoxi-2,25-dihidroxicicloart-1-en-3-ona (4b).



Figura 21. Obtención de la $(16\beta, 24R)$ -16,24-epoxi-2,25-dihidroxicicloart-1-en-3-ona (**4b**).

Se disolvieron 105 mg de argentatina B (**4**) en 3 mL de etanol, la mezcla se llevó a ebullición y se agregaron 33 mg de SeO₂, se observó la formación de un precipitado café, la reacción se mantuvo en reflujo por 15 minutos, después de este periodo la mezcla de reacción fue filtrada y diluida con éter. La fase orgánica se lavó con agua, posteriormente con una solución saturada de KHCO₃ y finalmente con una solución de KOH al 20%, la fase orgánica se vertió en hielo y se con la extracción agregando nuevamente KOH al 20% y se finalizó con un lavado de HCl 2N.

La purificación se realizó en una cromatografía en columna abierta, la elución se realizó empleando mezclas de hexano-AcOEt de polaridad ascendente; de la reunión de fracciones se obtuvo 32.2 mg (29.8%) de un sólido blanco cristalino con p.f. de 155-158°C y 2.2 mg (2.0%) de un sólido blanco amorfo con p.f. de 169-170°C. IR (CHCl₃) v_{max} cm⁻¹. 3458.44, 3037.51, 3022.27, 2975.42, 2896.20, 2074.80, 1662.87, 1602.57, 1521.68, 1424.09, 1385.75, 1225.04, 1206.73. RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 6.78 (d, *J* = 10.2 Hz) 5.95 (d, *J* =9.9 Hz) 4.59 (c, *J* =7.4,7.2 Hz), 3.58 (dd, *J* =6.3, 2.1 Hz), 3.48 (t, *J* =3.6 Hz), 3.28 (c, *J* = 4.5, 5.7 Hz), 2.2-1.0 (multipletes traslapados), 0.97 (s), 0.95 (s), 0.94 (s), 0.93 (s), 0.92 (s), 0.89 (s), 0.81 (s), 0.75 (d, *J* = 4.2 Hz), 0.57 (dd, *J* = 5.7, 4.2 Hz). Por el

conjunto de señales observadas se infiere la presencia del compuesto **4a** con una cantidad minoritaria de **4b**.



6.6.3 2-hidroxi- $(16\beta, 24R)$ -16,24-epoxi-25-hidroxicicloart-3-ona (4c).

Figura 22. Obtención de la 2-hidroxi- $(16\beta, 24R)$ -16,24-epoxi-25-hidroxicicloart-3-ona (**4c**).

En un matraz se colocó 0.12 mmol de LDA en 1 ml de THF, a esta mezcla se le adicionaron 65 mg de argentatina B (4) disueltos en 2 ml de THF; la mezcla se mantuvo en agitación, a -15°C y atmósfera inerte, después de 10 minutos de agitación se adicionaron 0.2 mmol de CTMS, después de la adición de CTMS se permitió que la mezcla alcanzara la temperatura ambiente gradualmente y se mantuvo en agitación y atmósfera inerte durante una noche, posteriormente los disolventes se evaporaron en rotavapor y se reconstituyeron con 3 ml de DCM anhidro.

Una segunda reacción comenzó con atmósfera inerte y agitación a -15°C, para la cual se disolvieron 29.75 mg de *m*-CPBA en 1 ml de DCM, a esta mezcla se le adicionó la mezcla de reacción del párrafo anterior y se mantuvo en agitación hasta alcanzar la temperatura ambiente, después de 2 h se filtró, se evaporó y resuspendió en DCM. Para finalizar la reacción se adicionaron 3.7 mg de TBAF y la reacción se mantuvo en agitación por 72 h.

Al término de la reacción, a la mezcla se le adicionaron 20 ml de DCM y se realizaron lavados sucesivos de la fase orgánica con una solución saturada de NaHCO₃

(5 x 20 ml), H₂O (2 x 20 ml), HCl 2N (7 x 20 ml) y finalmente con solución saturada de NaHCO₃ (1 x 20 ml), los restos de agua se eliminaron con Na₂SO₄ anhidro. De esta reacción se obtuvieron 75 mg de una mezcla 1:1 del sustrato y su derivado. RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 11.69 (s,1H del compuesto **4d**), 4.60 (c, *J* = 16 Hz 1H del compuesto **4** y 1H del compuesto **4d**), 3.59 (da, *J* = 12 Hz 1H del compuesto **4** y 1H del compuesto **4d**), 2.72 (td, *J* = 12 Hz y 8 Hz,2 H del compuesto **4** y 1H del compuesto **4d**), entre 2.15-1-35 (multipletes traslapados) 0.585 (d, *J* = 2 Hz 1H del compuesto **4** y 1H del compuesto **4d**). RMN ¹³C (100 MHz) δ 82.5, 77.3, 77.0, 76.7, 75.9, 74.9, 62.6, 57.4, 50.8, 50.2, 48.4, 47.4, 45.9, 44.9, 37.4, 35.5, 33.4, 29.7, 27.5, 26.3, 26.1, 26.0, 25.6, 22.7, 22.2, 21.4, 20.9, 20.3, 19.7, 19.5, 18.7, 14.1.

7 DISCUSIÓN DE RESULTADOS

7.1 Derivados de glucosa y galactosa

A continuación, se describen los resultados de los derivados de D-glucosa y Dgalactosa obtenidos y su uso potencial como acarreadores en la formación de profármacos.

7.1.1 1,2,3,4,6-penta-O-acetil-D-glucopiranosa (1a).

Después de llevar a cabo la reacción como se describe en el punto 6.4.1 se obtuvo un sólido blanco con un punto de fusión de 94-96°C y con un rendimiento de 79.6% y R_f de 0.36 (eluyente 7:3 hexano-AcOEt). Posteriormente se analizó por RMN, IR y EM.

El espectro en el IR nos da una evidencia clara de la acetilación de sustrato, pues como se observa en la Figura 23 no aparece una señal alrededor de 3400 cm⁻¹ característica para los grupos hidroxilo presentes en la glucosa, en su lugar aparece una señal en 1751 cm⁻¹ característica del grupo carbonilo (C=O) de un éster y otra señal a 1248 cm⁻¹ debida al estiramiento C-O; también en el espectro de RMN ¹H (Figura 24) se observan cinco señales simples con un desplazamiento entre δ_H 2.18- 2.02 ppm, que corresponden a la señal de los hidrógenos pertenecientes a los 5 metilos de los ésteres que sustituyeron a los grupos hidroxilo de la glucosa; en el espectro de RMN ¹³C (Figura 25) se observan nuevamente señales características de grupos metilos (20.8-20.4 ppm) y entre δ_C 170.58 ppm -168.70 ppm, señales que indican la presencia de los carbonilos de éster. La evidencia confirma la formación del compuesto 1,2,3,4,6-penta-*O*-acetil-D-glucopiranosa (**1a**).



Figura 23. Espectro en el IR del compuesto 1a.



Figura 24. Espectro de RMN ¹H del compuesto **1a** (indicando el desplazamiento de los grupos acetato).



Figura 25. Espectro de RMN ¹³C del compuesto **1a** (indicando los desplazamientos de los grupos acetato en δ_C 20 y 170 ppm).

7.1.2 1,2,3,4,6-penta-O-acetil-D-galactopiranosa (2a).

Como resultado de la metodología descrita en el punto 6.4.2 se obtuvo un líquido viscoso de color ligeramente amarillo (rendimiento fue de 86.2%).

El perfil del compuesto fue muy similar al del compuesto **1a**, en el IR (Figura 26) se observa una banda en 1751.92 cm⁻¹ debido a la presencia de grupos carbonilo. En el espectro de RMN ¹H (Figura 27) a campos altos se observan cinco señales correspondientes a grupos metilo de una función acetato; en el espectro RMN ¹³C (Figura 28) aparecen nuevamente señales características para los metilos de grupos acetato, además de las señales correspondientes a carbonos con hibridación sp² como es el caso de los carbonos de grupos carbonilo, que en el espectro DEPT 135 no se observan por ser señales de carbonos no protonados, también se observa una señal para un grupo metileno en un desplazamiento de 61.02 ppm. Con los datos anteriores podemos decir que se obtuvo el producto de reacción esperado.



Figura 26. Espectro en el IR del compuesto 2a.



Figura 27. Espectro de RMN ¹H del compuesto 2a.



Figura 28. Comparación del espectro de RMN ¹³C y DEPT 135 del compuesto **2a**.

7.1.3 1-bromo-2,3,4,6-tetra-*O*-acetil- α -D-glucopiranosa (1b).

Después de la reacción y purificación para la obtención del compuesto 1-bromo-2,3,4,6-tetra-O-acetil- α -D-glucopiranosa (**1b**) como se describe en el punto 6.4.3, se realizó la caracterización del derivado purificado.

El espectro en el infrarrojo fue muy similar al del compuesto (**1a**) manteniendo la banda a 1755.02 cm⁻¹ debida a la presencia del grupo C=O. Los espectros de RMN ¹H y ¹³C presentan señales características con la presencia de cuatro grupos –CH₃ un metilo menos que los presentes en el compuesto **1a**; además el protón unido al carbono anomérico se desplazó a campo bajo en $\delta_{\rm H}$ 6.6 ppm en comparación con el compuesto **1a** ($\delta_{\rm H}$ 6.3 ppm) debido al bromo (Figura 29), mientras que en el espectro de RMN ¹³C en $\delta_{\rm C}$ 169 ppm se observan cuatro singuletes debido a los grupos C=O presentes en el derivado obtenido (Figura 30). Los hallazgos nos indican que se formó el compuesto **1b**.



Figura 29. Espectro de RMN ¹H del compuesto 1b.



Figura 30. Espectro de RMN ¹³C del compuesto 1b.

7.1.4 1-bromo-2,3,4,6-tetra-*O*-acetil- α -D-galactopiranosa (2b).

Después de seguir la metodología descrita en el punto 6.4.4, se obtuvieron 434.6 mg de la 1-bromo-2,3,4,6-tetra-O-acetil- α -D-galactopiranosa (**2b**, 41.3%).

A diferencia del compuesto **2a**, el espectro de RMN ¹H (Figura 31)muestra solo cuatro singuletes a campo alto que corresponden a los grupos metilo presentes, con la reacción se buscaba sustituir el éster de la posición anomérica por bromo, en la Figura 32 se muestra una comparación del espectro de RMN ¹³C y DEPT 135 donde se observa la presencia de cuatro señales simples en δ_C 20.7-20.5 ppm (metilos) y cuatro señales en δ_C 170- 169 ppm (carbonilo de éster), estos últimos no se observan en el análisis DEPT 135 debido a que son señales de carbonos cuaternarios como los carbonos de grupos carbonilo.

Además, se realizó el análisis del espectro COSY con el cual fue posible asignar los desplazamientos de los hidrógenos vecinales (Figura 33).



Figura 31. Espectro de RMN ¹H del compuesto 2b.



Figura 32. Espectro de RMN ¹³C y DEPT 135 del compuesto 2b.



Figura 33. Espectro COSY del compuesto 2b.

7.1.5 2,3,4,6-tetra-O-acetil-D-glucopiranosa (1c).

Después de seguir la metodología descrita en el punto 6.4.5 se obtuvieron 1.38 g de producto **1c** con un rendimiento de 78.1%.

En el espectro de IR (Figura 34) del producto se observó una señal alrededor de 3400 cm⁻¹ debido a la presencia de grupos hidroxilo, además de observarse la señal característica del grupo carbonilo (1739 cm⁻¹). En el espectro de RMN ¹H (Figura 35) la señal que el sustrato presentaba alrededor de δ_H 6.3 ppm correspondiente al hidrogeno del carbono anomérico no se observa en el derivado **1c**, en su lugar se observa una señal doble alrededor de δ_H 5.44 y 4.73 ppm que de acuerdo con la bibliografía (Tietze, et al., 2007) corresponden al protón del carbono anomérico de los isómeros α y β , respectivamente, presentes en una mezcla 2:1, que también se observa en el espectro de RMN ¹³C del producto (Figura 36).



Figura 34. Espectro en el IR del compuesto 1c.



Figura 35. Espectro de RMN ¹H del compuesto 1c.



Figura 36. Espectro de RMN ¹³C del compuesto 1c.

7.1.6 2,3,4,6-tetra-O-acetil-D-galactopiranosa (2c).

La obtención del compuesto 2,3,4,6-tetra-*O*-acetil-D-galactopiranosa se realizó como se describe en el punto 6.4.6. El espectro en el IR del producto permite evidenciar (Figura 37) las señales correspondientes al grupo hidroxilo (3402 cm⁻¹) y a los grupos carbonilo de la molécula (1724 cm⁻¹); como en el caso del compuesto **1c**. En el espectro RMN ¹³C del producto **2c** (Figura 38) además de las señales correspondientes a los carbonos de los grupos metilo (~20 ppm) y carbonilo (~170 ppm) se observan dos señales diagnosticas en la región de los carbonos anoméricos (δ_c 95.8 y 90.5 ppm) que evidencian la presencia de una mezcla epimérica del 2,3,4,6-tetra-*O*-acetil-D-galactopiranosa (**2c**).



Figura 37. Espectro en el IR del compuesto 2c.



Figura 38. Espectro de RMN ¹³C del compuesto 2c.

7.2 Derivados de la argentatina A (3).

Las Figura 39 y Figura 40 muestran los espectros de RMN ¹H y ¹³C característicos de la argentatina A (**3**) con los cuales se compararon los derivados obtenidos.



Figura 39. Espectro de RMN 1H característico de la argentatina A (3).



Figura 40. Espectro de RMN ¹³C característico de la argentatina A (3).

7.2.1 20,24-epoxi-25-hidroxi-cicloartan-3,16-diona (3a).

Después de someter la argentatina A (3) a una oxidación con el reactivo DMP como se indica en el punto 6.5.1, el producto obtenido fue caracterizado mediante la aplicación de métodos espectroscópicos y espectrométricos.

El espectro en el IR (Figura 41) muestra una señal en 3482 cm⁻¹ que corresponde al grupo hidroxilo presente, además se observan las señales características del grupo cetona (1700 cm⁻¹). Se confirma la formación del compuesto 20,24-epoxi-25-hidroxicicloartan-3,16-diona (**3a**) con las señales presentes en el espectro de RMN ¹³C, a diferencia del espectro de la argentatina A (**3**) (Figura 40) que muestra dos señales que corresponden con los grupos hidroxilo presentes en C16 y C25 (δ_C 73.4 y 70.9 ppm) en el espectro del producto **3a** (Figura 42) solo se observa un desplazamiento en δ_C 71.4 ppm del C25 mientras que entre δ_C 215 y 218 ppm se observan los desplazamientos correspondientes para los dos grupos cetona en C3 y C16.



Figura 41. Espectro en el IR del compuesto 3a.



Figura 42. Espectro de RMN ¹³C del compuesto 3a.

7.2.2 16-O-(2,3,4,6-tetraacetil-β-D-glucopiranosil)-argentatina A (3b).

La reacción de la argentatina A (**3**) con el compuesto **1b** permitió la obtención de 89.1 mg (51.5%) del producto **3b** con un punto de fusión de 190-191°C. El espectro en el IR (Figura 43) muestra una señal a 1754 cm⁻¹ debido a la presencia de los grupos carbonilo del complejo formado; la presencia de estos grupos carbonilo de se puede confirmar en espectro de RMN ¹³C (Figura 44) donde se observan un pico característicos de la argentatina A a 216 ppm dado por el carbonilo de la posición C3, pero además alrededor de 170 ppm aparecen 4 señales debido a los carbonilos del éster de las posiciones C37, C39, C41 y C43. Los H de los metilos correspondientes a la parte glicosídica de la molécula se ubicaron en el espectro de RMN ¹H alrededor de 2 ppm.

La citotoxicidad del compuesto $16-O-(2,3,4,6-tetraacetil-\beta-D-glucopiranosil)$ argentatina A fue evaluado a una concentración de 50 µM usando el método de sulforodamina B (SRB), empleando las líneas de adenocarcinoma prostático humano (PC3), leucemia mielogénica crónica humana (K562), cáncer humano de colon (HCT-15), adenocarcinoma de mama (MCF-7) y adenocarcinoma pulmonar (SKLU-1). (Parra Delgado, et al., 2005). Estudios previos reportados por el equipo de trabajo demostraron que la argentatina A presenta actividad citotóxica en las líneas celulares antes mencionadas; sin embargo, como se observa en la gráfica el porcentaje de inhibición del compuesto **3b** es bajo e incluso nulo en el caso de la línea celular K562, por tal motivo podemos inferir que la incorporación de un grupo glicósido en la posición 16 provocó una disminución de la actividad citotóxica sobre las líneas celulares probadas, este comportamiento se debe a que la actividad citotóxica de las argentatinas está estrechamente relacionada con su estructura química (Parra Delgado, et al., 2005).



Figura 43. Espectro en el IR del compuesto 3b.



Figura 44. Comparación de los espectros RMN ¹³C, DEPT 135 y DEPT 90 del compuesto **3b**.



Gráfica 2. Porcentajes de inhibición del compuesto 3b sobre líneas celulares de adenocarcinoma prostático humano (PC3), leucemia mielogénica crónica humana (K562), cáncer humano de colon (HCT-15), adenocarcinoma de mama (MCF-7) y adenocarcinoma pulmonar (SKLU-1). sa= sin actividad.

7.2.3 16-O-(2,3,4,6-tetraacetil-β-D-galactopiranosil)-argentatina A (3c).

Como se describe en el punto 6.5.3 se realizó la síntesis del derivado **3c**, obteniéndose 51.7 mg (29.3%) de producto.

Debido a la naturaleza de la molécula y a la similitud con el compuesto **3b** el análisis por espectroscopía en el IR fue muy similar (Figura 45), a 1748.93 cm⁻¹ se observan las señales para los grupos carbonilo presentes. En el espectro de RMN ¹³C (Figura 46) en $\delta_{\rm C}$ 216 ppm se observa la señal del C3 de la argentatina A (**3**), también presenta cuatro señales que corresponden a los C37, C39, C41 y C43 de los ésteres de la parte glicosídica del compuesto, dada la evidencia podemos confirmar que el compuesto 16-*O*-(2,3,4,6-tetraacetil- β -D-galactopiranosil)-argentatina A se sintetizó.



Figura 45. Espectro en el IR del compuesto 3c.



Figura 46. Comparación de los espectros RMN ¹³C, DEPT 135 y DEPT 90 del compuesto **3c**.

7.2.4 16-*O*-β-glucosilargentatina A (3d).

La desacetilación del compuesto 16-*O*-(2,3,4,6-tetraacetil- β -D-glucopiranosil)argentatina A (**3b**) se llevó a cabo utilizando como reactivos metóxido de sodio y sodio elemento como se indica en el punto 6.5.4. En el espectro en el IR (Figura 47) se observa una señal ancha a un numero de longitud de 3437 cm⁻¹ lo que nos indica la desacetilación del compuesto **3b** formandose el compuesto 16-*O*- β -glucosilargentatina A (**3d**).



Figura 47. Comparación del espectro en el IR de los productos 3b y 3d.

7.3 Derivados de la argentatina B (4).

La elucidación estructural de los productos derivados de la argentatina B (16β,24R)-16,24-epoxi-25-hidroxicicloartan-3-ona) se realizó comparando los espectros de RMN del producto natural (Figura 48 y Figura 49) y de los derivados.



Figura 49. Espectro de RMN ¹³C característico de la argentatina B (4).

110 100 f1 (ppm) 90 80 70

60 50

40 30

20 10

0

140 130

120

210 200 190 180 170 160 150

7.3.1 (16β,24R)-16,24-epoxi-25-hidroxicicloart-1-en-3-ona (4a).

La obtención de este compuesto (16β,24R)-16,24-epoxi-25-hidroxicicloart-1-en-3ona se realizó como se indica en el punto 6.6.1, después de la purificación de obtuvieron 70.4 mg (35%) del compuesto **4a** con un punto de fusión de 161-164°C.

El peso molecular del producto **4a** es de 454 g/mol (Figura 51) y se encuentra en armonía con el peso molecular esperado; además como se muestra en la Figura 50 los desplazamientos correspondientes a los protones de C1 y C2 del espectro de RMN ¹H en δ_H 2.3 y 2.7 ppm se desplazan hacia campos más bajos en δ_H 6.7 y 5.9 ppm debido al doble enlace formado entre los carbonos C1 y C2, mientras que en el espectro de RMN ¹³C las señales para los C1 y C2 se desplazaron a campos bajos en δ_C 153.6 y 126.8 ppm (Figura 52). Con la información recabada podemos confirmar que la formación del derivado de alqueno correspondiente.



Figura 50. Comparación del espectro RMN 1H de la Argentatina B y el compuesto 4a.


Figura 51. Espectro de masas del compuesto 4a.



Figura 52. Espectro de RMN ¹³C del compuesto 4a.

7.3.2 (16β,24R)-16,24-epoxi-2,25-dihidroxicicloart-1-en-3-ona (4b).

Después de reunir y analizar las fracciones de la reacción descrita en el punto 6.6.2 se procedió a analizar los resultados, una de las fracciones mostró que se obtuvo parte del compuesto **4a** ya que en el espectro de RMN ¹H (Figura 53) se observaron dos dobletes en δ_H 6.7 y 5.9 tal como se muestra en la Figura 50, también podemos ver que las señales en δ_H 2.3 y 2.7 que corresponden a los C1 y C2 de la argentatina B (**4**) no están presentes, indicando la conversión del producto natural. La intensidad y el desplazamiento de las señales en δ_H 3.47 y 3.29 ppm sugieren la presencia del producto deseado **4b**; sin embargo, es necesario optimizar las condiciones de reacción y realizar la caracterización del derivado correspondiente.



Figura 53. Espectro de RMN ¹H del compuesto 4b.

7.3.3 2-hidroxi-(16β,24R)-16,24-epoxi-25-hidroxicicloart-3-ona (4c).

Estudios previos han demostrado que sustituyentes en la posición C2 en la argentatina B (4) incrementan la actividad biológica (Parra Delgado, 2006) por lo que se propuso la formación del compuesto 4c. Basado en la bibliografía (Rubottom & Gruber,

1978) se realizó la oxidación de la posición C2 para la obtención del derivado correspondiente como se describe en el punto 6.6.3.

Comparando los espectros de RMN ¹H con y sin D₂O (Figura 54) se observa una señal con un desplazamiento en δ_{H} 11.68 ppm esta señal no se observa en el espectro de la argentatina B (4), además al adicionar D₂O dicha señal desaparece lo cual indica la presencia de un protón quelado, lo anterior sugiere que hay una interacción entre el protón del grupo hidroxilo en la posición C2 con el grupo funcional cetona de la posición C3. La señal en δ_{H} 11.68 ppm tiene una integración de 0.5 (Figura 55) lo que nos indica la presencia de otro compuesto; como los desplazamientos característicos de la argentatina B (4, δ_{H} 0.58, 0.8, 3,6 ppm) no se desplazamientos inferir que se trata de la presencia del producto natural sin reaccionar, esto se confirma al observar que el desplazamiento en δ_{H} 2.7 correspondiente a la posición C2 tiene una integración de 1.5, con una contribución de 2 H por parte del sustrato y 1H del derivado semisintético.



Figura 54. Comparación de los espectros RMN ¹³C del compuesto 4c.



Figura 55. Espectro de RMN ¹H del compuesto 4c.

8 CONCLUSIONES

Una vez aisladas las argentatinas A y B de la resina de guayule se obtuvieron 4 derivados de argentatina A (**3a-3d**) y 3 derivados de argentatina B (**4a-4c**) los cuales fueron caracterizados mediante RMN, IR y EM.

Mediante reacciones de acetilación y bromación se formaron derivados de glucosa y galactosa que se podrían emplear como acarreadores en la formación de profármacos; por la naturaleza de estas moléculas sabemos que son inocuas, con la capacidad de formar uniones que pueden romperse enzimáticamente. Con los derivados de glucosa y argentatina A se formaron los profármacos **3b** y **3d**, mientras que el compuesto **3c** se formó a partir del derivado de galactosa **2b** y argentatina A.

La evaluación biológica mediante el método SRB del compuesto 16-*O*-(2,3,4,6tetraacetil- β -D-glucopiranosil)-argentatina A (**3b**) evidenció un porcentaje de inhibición menor al 6% en las líneas celulares cancerosas PC3 (próstata), HCT-15 (colon) y MCF-7 (mama); mientras que en la línea celular K562(leucemia) no presentó actividad. Por estudios previos sabemos que la argentatina A (**3**) inhibe el crecimiento de estas líneas celulares (Parra Delgado, 2006). Por otra parte, la adición del compuesto 2,3,4,6tetraacetil- β -D-glucopiranosil a la argentatina A (**3**) formó un compuesto menos activo. En resumen, el compuesto **3b** tiene potencial como posible profármaco pues cumple con ser menos activo que el fármaco, está unido con el acarreador mediante un enlace covalente y es inocuo.

Los resultados obtenidos en este trabajo permitieron evidenciar que los triterpenos aislados y transformados de la resina del Guayule pueden constituir importantes profármacos.

9 PERSPECTIVAS

Este trabajo es preámbulo para la optimización de las diversas transformaciones químicas realizadas, la evaluación biológica de los compuestos y la unión de los derivados de argentatina A y B con los acarreadores obtenidos.

Con el método SRB el compuesto 3b mostró resultados favorables, con este antecedente será importante la futura evaluación de los compuestos 3a y 3b para poder comparar su porcentaje de inhibición de las líneas celulares. Otro aspecto importante para evaluar será la activación del compuesto *in vivo* mediante reacciones enzimáticas y comprobar que los compuestos formados tengan potencial como profármacos.

10 REFERENCIAS

Alakurtti, S., Heiska, T., Kiriazis, A. & Sacerdoti-Sierra, N., 2010. Synthesis and Anti-leishmanial activity of heterocyclic betulin derivatives. *Bioorganic & medicinal chemestry*, Volumen 18, pp. 1573-1582.

Alcántara Flores, E. y otros, 2015. Argentatin B inhibits proliferation of prostate and colon cancer cells by inducing cell senescence. *Molecules,* Volumen 20, pp. 21125-21137.

Alonso-Castro, A. J. y otros, 2011. Mexican medicinal plants used for cancer treatment: Pharmacological, phytochemical and ethnobotanical studies.. *Journal of Ethnopharmacology,* Issue 133, pp. 945-972.

American Cancer Society, 2019. American Cancer Society.

https://www.cancer.org/es/cancer.html. Enero 2019.

Beaumont, K., Webster, R., Gardner, I. & Dack, K., 2003. Design of Ester Prodrugs to Enhance Oral Absorption of Poorly Permeable Compounds: Challenges to the Discovery Scientist. *Current Drug Metabolism,* 4(6), pp. 461-485.

Bustamante, L. M., Marin O´, S. J. & Doris, C. A., 2012. Mortalidad por cáncer: segunda causa de muerte del adulto mayor en Medellín, 2002-2006. *Facultad Nacional de Salud Publica,* Issue 30, pp. 17-25.

Cabrera, S. & Diez Torrubia, A., 2010. Profármacos: pasado, presente y futuro. *Anales de Química,* Issue 3, pp. 207-2014. Chudzik, M., Korzonek-Szlacheta, I. & Krol, W., 2015. Triterpenes as potentially cytotoxic compounds. *Molecules,* Volumen 20, pp. 1610-1625.

CONABIO, s.f. Parthenium argentatum.

http://www.conabio.gob.mx/conocimiento/info_especies/arboles/doctos/8-aster2m.pdf. Julio 2019.

CONACYT, s.f. *El hule de guayule, de la naturaleza a tu vida diaria.* <u>centrosconacyt.mx/objeto/huledeguayule/</u>. Agosto 2019.

Ettmayer, P., Amidon, G. L., Clement, B. & Testa, B., 2004. Lessons Learned from Marketed and Investigational Prodrugs. *Journal of medicinal chemestry*, 47(10), pp. 2393-2404.

Fu, H. Z. y otros, 2013. Triterpenoid glycosides from the stems of Gordonia kwangsiensis. *Phytochemistry*, Volumen 85, pp. 167-174.

Goodman & Gilman, 2007. *Las bases farmacologicas de la terapeutica.* 11a ed. Mexico, D.F.: Mc Graw Hill.

Harvey, R. A., 2001. *Farmacología*. 5a ed. Barcelona, España: Lippincott Williams & Wilkins.

INEGI, 2016. Principales causas de mortalidad por recidencia habitual, grupos de edad y sexo del fallecido.

www.inegi.org.mx/est/contenidos/proyectos/registros/vitales/mortalidad/tabulados/Cons ultaMortalidad.asp. Octubre 2018. INEGI, 2018. Estadísticas a propósito del día mundial contra el cáncer (4 de febrero).

http://www.beta.inegi.org.mx/contenidos/saladeprensa/aproposito/2018/cancer2018_Nal_.pdf. Septiembre 2018.

Maatooq, G. T. y otros, 2002. Triterpenoids from Parthenium argentatum x P. Tomentosa. *Phytochemestry*, Issue 60, pp. 755-760.

Mendoza, N., 2008. *Farmacologia Medica*. México: Editorial Medica Panamericana.

National Cancer Institute, 2017. NIH National Cancer Institute.

https://www.cancer.gov/espanol/cancer. Enero 2019.

Newman, D. J. & Cragg, G. M., 2016. Natural products as sources of new drugs from 1981-2014. *Journal of natural products*, 79(3), pp. 629-661.

Ocegueda, S., Moreno, E. & Koleff, P., 2005. Plantas utilizadas en la medicina tradicional y su identificación científica. *Biodiversitas,* Issue 62, pp. 12-15.

OMS, 2004. *Nuevas directrices de la OMS para fomentar el uso adecuado de las medicinas tradicionales.* <u>http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2004/pr44/es/</u>. Julio 2014.

OMS, 2018. *Cáncer.* <u>http://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/cancer</u>. Septiembre 2018.

Parra Delgado, H., 2006. *Tesis: Obtención de compuestos citotóxicos a partir de triterpenos del tipo cicloartano.* México: s.n.

Parra Delgado, H. y otros, 2006. Syntesis and comporative molecular field analysis (CoMFA) of argentatin B derivates as grow inhibitors of human cancer cell lines. *Bioorganic & Medicinal Chemestry*, Issue 14, pp. 1889-1901.

Parra Delgado, H., Ramírez Apan, T. & Martínez Vazquez, M., 2005. Sinthesis of aregentatin A derivates as growth inhibitors of human cell lines in vitro. *Bioorganic & Medicinal chemestry Letters*, Issue 15, pp. 1005-1008.

Reynoso Noverón, N. & Torres Domínguez, J. A., 2017. Epidemiología del cáncer en México: carga global y proyecciones 2000-2020. *Revista Latinoamericana de Medicina Conductual,* 8(1), pp. 9-15.

Rubottom, G. & Gruber, J. M., 1978. m-Chloroperbenzoic acid oxidation of 2trimethylsilyloxy-1,3-dienes. Synthesis of .alpha.-hydroxy and .alpha.-acetoxy enones. *The Journal of Organic Chemistry*, 43(8), pp. 1599-1602.

Tian, Z. y otros, 2005. Cytotoxicity of three cycloartane triterpenoids from Cimicifuga dahurica. *Cancer letters,* Volumen 226, pp. 65-75.

Tietze, L. F., Eicher, T., Diederichsen, U. & Speicher, A., 2007. Carbohydrates. En: *Reactions and Syntheses In the Organic Chemistry Laboratory.* Germany: Wiley-VCH, pp. 476-488.

Xu, G. & Mc Leod, H. L., 2001. Strategies for Enzyme/Prodrug Cancer Therapy. *Minireview,* Volumen 7, p. 3314–3324.

Yan, X.-J.y otros, 2013. Triterpenoids as reversal agents for anticancer drugs resistance treatment. *Drug discovery today*, 00(00), pp. 1-7.

69

Zhang, W., Men, X. & Ping, L., 2014. Rewiew on anti-tumor effect of triterpene acid compounds. *Journal of cancer research and therapeutics,* 10 (special issue 1), pp. C14-C18.

11 ANEXOS



Anexo 1. Espectroscopía de 1,2,3,4,6-penta-O-acetil-D-glucopiranosa (1a).

Figura 56. Espectro en el IR del compuesto 1a.



Figura 57. Espectro de masas del compuesto 1a.



Figura 58. Espectro de RMN ¹H del compuesto 1a.



Figura 59. Espectro de RMN ¹³C del compuesto 1a.



Anexo 2. Espectroscopía de 1,2,3,4,6-penta-O-acetil-D-galactopiranosa (2a).

Figura 60. Espectro en el IR del compuesto 2a.



Figura 61. Espectro de masas del compuesto 2a.



Figura 62. Espectro de RMN ¹H del compuesto 2a.



Figura 63. Espectro de RMN ¹³C del compuesto 2a.



Figura 64. Espectro DEPT 135 del compuesto 2a.



Figura 65. Análisis COSY del compuesto 2a.



Anexo 3. Espectroscopía de 1-bromo-2,3,4,6-tetra-*O*-acetil-α-D-glucopiranosa (1b).

Figura 66. Espectro en el IR del compuesto 1b.



Figura 67. Espectro de masas del compuesto 1b.



Figura 68. Espectro de RMN ¹H del compuesto 1b.



Figura 69. Espectro de RMN ¹³C del compuesto 1b.



Anexo 4. Espectroscopía de 1-bromo-2,3,4,6-tetra-O-acetil- α -D-galactopiranosa (2b).

Figura 70. Espectro de RMN ¹H del compuesto 2b.



Figura 71. Espectro de RMN ¹³C del compuesto 2b.



Figura 72. Análisis COSY del compuesto 2b.



Figura 73. Espectro DEPT 135 del compuesto 2b.



Anexo 5. Espectroscopía de 2,3,4,6-tetra-O-acetil-D-glucopiranosa (1c).

Figura 74. Espectro en el IR del compuesto 1c.



Figura 75. Espectro de RMN ¹H del compuesto 1c.



Figura 76. Espectro de RMN ¹³C del compuesto 1c.



Anexo 6. Espectroscopía de 2,3,4,6-tetra-O-acetil-D-galactopiranosa (2c).

Figura 77. Espectro en el IR del compuesto 2c.



Figura 78. Espectro de RMN ¹H del compuesto 2c.



Figura 79. Espectro de RMN ¹³C del compuesto 2c.



Anexo 7. Espectroscopía de 20,24-epoxi-25-hidroxicicloartan-3,16-diona (3a).

Figura 80. Espectro en el IR del compuesto 3a.



Figura 81. Espectro de masas del compuesto 3a.



Figura 82. Espectro de RMN ¹H del compuesto 3a.



Figura 83. Espectro de RMN ¹³C del compuesto 3a.

Anexo 8. Espectroscopía de 16-O-(2,3,4,6-tetraacetil- β -D-glucopiranosil)argentatina A (3b).



Figura 84. Espectro en el IR del compuesto 3b.



Figura 85. Espectro de masas del compuesto 3b.



Figura 86. Espectro de RMN ¹H del compuesto 3b.



Figura 87. Espectro de RMN ¹³C del compuesto 3b.



Figura 88. Espectro DEPT 135 del compuesto 3b.



Figura 89. Espectro DEPT 90 del compuesto 3b.



Figura 90. Análisis COSY del compuesto 3b.



Figura 91. Análisis HSQC del compuesto 3b.



Figura 92. Análisis HSQC del compuesto 3b.



Figura 93. Análisis NOESY del compuesto 3b.



Figura 94. Análisis HMBC del compuesto 3b.

Anexo 9. Espectroscopía de 16-O-(2,3,4,6-tetraacetil- β -D-galactopiranosil)argentatina A (3c).



Figura 95. Espectro en el IR del compuesto 3c.



Figura 96. Espectro de masas del compuesto 3c.



Figura 97. Espectro de RMN ¹H del compuesto 3c.



Figura 98. Espectro de RMN ¹³C del compuesto 3c.



Figura 99. Espectro DEPT 135 del compuesto 3c.



Figura 100. Espectro DEPT 90 del compuesto 3c.



Figura 101. Análisis COSY del compuesto 3c.


Anexo 10. Espectroscopía de 16-O- β -glucosilargentatina A (3d).

Figura 102. Espectro en el IR del compuesto 3d.



Anexo 11. Espectroscopía de $(16\beta, 24R)$ -16,24-epoxi-25-hidroxicicloart-1-en-3-ona (4a).

Figura 103. Espectro en el IR del compuesto 4a.



Figura 104. Espectro de masas del compuesto 4a.



Figura 105. Espectro de RMN ¹H del compuesto 4a.



Figura 106. Espectro de RMN ¹³C del compuesto 4a.

Anexo 12. Espectroscopía de (16β,24R)-16,24-epoxi-2,25-dihidroxicicloart-1-en-3-ona (4b).



Figura 107. Espectro en el IR del compuesto 4b.



Figura 108. Espectro de masas del compuesto 4b.



Figura 109. Espectro de RMN ¹H del compuesto 4b.

Anexo 13. Espectroscopía de 2-hidroxi- $(16\beta, 24R)$ -16,24-epoxi-25-hidroxicicloart-3-ona (4c).



Figura 110. Comparación de los espectros RMN ¹H del compuesto 4c.



Figura 111. Espectro de RMN ¹H del compuesto 4c.