



10570  
5  
281  
**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA  
DE MEXICO**

---

FACULTAD DE QUIMICA

**ESTUDIO FITOQUIMICO DE ALGUNAS  
EUPHORBIACEAE MEDICINALES  
MEXICANAS**

**T E S I S**  
QUE PARA OBTENER EL GRADO DE  
**MAESTRO EN CIENCIAS QUIMICAS**  
**(FARMACIA: QUIMICA FARMACEUTICA)**  
**P R E S E N T A :**  
**O.F.B. JULIO HERNANDEZ SALGADO**

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**

MEXICO, D. F.

1990



## **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 está 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.

## CONTENIDO

I. INTRODUCCION	1
II. OBJETIVOS	4
III. TAXONOMIA DE EUPHORBIACEAE	6
IV. ANTECEDENTES	14
V. DISCUSION DE RESULTADOS	21
A. <i>Croton draco</i>	22
B. <i>Cnidoscolus multilobus</i>	51
VI. CONCLUSIONES	67
VII. PARTE EXPERIMENTAL	70
A. <i>Croton draco</i>	71
B. <i>Cnidoscolus multilobus</i>	83
VIII. ESPECTROS	90
IX. BIBLIOGRAFIA	129

## 1. INTRODUCCION

Desde épocas muy remotas, prácticamente desde la aparición del Hombre sobre la Tierra, los vegetales han sido elementos importantes en la alimentación, el alivio y/o cura de las enfermedades y en muchas otras aplicaciones.

A través del tiempo, muchos eminentes investigadores lograron encontrar mejores virtudes en las plantas y es así como en la actualidad el predominio de ellas en la economía de la alimentación y manutención de la salud representa una de las conquistas más preciadas para el bienestar de los individuos y uno de los retos mayores para la investigación en diferentes áreas.

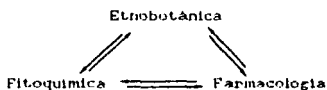
Los estudios etnobotánicos pueden servir como punto de partida en la investigación científica de los recursos vegetales medicinales, continuando con las evaluaciones biológicas realizadas a los extractos de las partes utilizadas con los fines mencionados por las poblaciones o grupos étnicos.

El análisis fitoquímico juega también un papel importante en la investigación científica de la flora medicinal ya que además de mostrar la composición de metabolitos secundarios, permite la caracterización de las moléculas con posibles actividades biológicas particulares.

Las moléculas que resulten bioactivas, pueden entonces ser evaluadas en ensayos farmacológicos específicos que permitan corroborarlas o descartarlas como las responsables de la actividad anunciada por la tradición popular.

Como puede verse, el estudio científico de la flora

medicinal, requiere pues, al menos, la participación de tres áreas básicas de investigación, que además deben interactuar de tal manera que se llegue al conocimiento integrado de la misma:



Una vez que se ha establecido lo anterior, el campo de investigación de los productos naturales puede proyectarse a otras áreas, tales como la síntesis química, la toxicología, la biotecnología, etc., cada una de las cuales puede realizar estudios científicos que permitan obtener mayores logros en favor del bienestar de los seres humanos.

## II. OBJETIVOS

Enriquecer el conocimiento sobre los constituyentes químicos de la flora nacional, específicamente de plantas de la familia Euphorbiaceae, mediante el análisis químico de las especies *Croton draco* y *Cnidoscolus multiflorus*.

Establecer las estructuras químicas de las sustancias aisladas de estas especies mediante métodos químicos, espectroscópicos y espectrométricos.

Analizar el comportamiento químico de dichas sustancias.



### III. TAXONOMIA DE EUPHORBIACEAE

El primer tratamiento taxonomico de la familia Euphorbiaceae fue realizado en 1763 por Adanson<sup>1,2</sup> quien describió 32 generos e intento la primera division infrafamiliar, sin una aceptación general.

Posteriormente, los estudios de Adrien de Jussieu en 1824 constituyeron el primer gran avance en la taxonomia de estas plantas, dividiendo a las Euphorbiaceae en seis secciones bien definidas. Esta subdivisión se baso en varios caracteres tales como el numero de ovulos, la presencia de pétalos y el tipo de inflorescencia; y dió el paradigma para todos los trabajos posteriores.<sup>3</sup>

Las secciones propuestas por A. de Jussieu fueron:

- |                   |                 |
|-------------------|-----------------|
| I. Buxee          | IV. Acalyphaeae |
| II. Phyllanthheae | V. Hippomaneeae |
| III. Kicineae     | VI. Euphorbieae |

La aportación más importante de los trabajos realizados por A. de Jussieu es el reconocimiento de la importancia taxonomica del número de ovulos (uno ó dos ovulos), lo que sirvió a Zollinger para dividir a la familia en dos subfamilias: Monosporae y Disporae, las cuales corresponden a las subfamilias Phyllanthoideae y Crotonoideae de Pax.<sup>4</sup>

Reichenbach<sup>5</sup> fue el primer gran taxónomo después de A. de Jussieu en proponer una clasificación original de las Euphorbiaceae. Su clasificación, realizada entre 1828 y 1841 comprende tres tribus, cada una con tres subtribus:

- |                         |                 |                     |
|-------------------------|-----------------|---------------------|
| I. Euphorbieae genuinae | II. Crotonaeae  | III. Ruxeeae        |
| a) Callitrichtneae      | a) Micrantheae  | a) Phyllantheae     |
| b) Tithymaleae          | b) Argythamneae | b) Cluytieae        |
| c) Ricíneae             | c) Crozophoreae | c) Buxeeae genuinae |

La primera y única descripción de las Euphorbiaceae a nivel de especies aparece en la monografía de De Candolle en dos secciones. la tribu Euphorbieae por Roissier<sup>1,6</sup> y las otras tribus por Jean Mueller,<sup>1,7</sup> en la llamada época de oro de la clasificación de las Euphorbiaceae, alrededor de 1860.

Cada una de las series del sistema de Mueller tiene tribus caracterizadas por una secuenciación jerárquica de tres caracteres. número de ovulos, estivación del cáliz y orientación de las anteras en el botón.

En el trabajo de Baillon,<sup>8</sup> en 1873, existen algunas discrepancias con respecto a la clasificación de Mueller y comenta el traslado de algunos géneros de una tribu a otra.

En el conocimiento actual de las Euphorbiaceae, curiosamente se han mezclado criterios de Mueller y Baillon.

Pax<sup>9</sup> revisó, en 1884, los sistemas previos y ofreció sus hallazgos basados en observaciones anatómicas. Nuevamente, presenta desde Zollinger<sup>10</sup> en 1845, una clasificación bipartita con los taxa bióvulado en la subfamilia Phyllanthoidae y monoóvulado en Crotonoidae.

Como resultado de sus investigaciones, Pax llegó a varias conclusiones acerca de la filogenia de las Euphorbiaceae,

que habían sido anticipadas por Bentham y que han sido aceptadas por muchos investigadores.

Algunas de las contribuciones más importantes en el entendimiento de la clasificación de las Euphorbiaceae han sido realizadas por Atry Shaw,<sup>11</sup> quien concluye, en 1965, que además de las Euphorbiaceae en el sentido estricto, pueden ser reconocidas otras pequeñas familias: Androstachydaceae, Bischofiaceae, Hymenocardiaceae, Pandaceae, Peraceae, Picrodendraceae, Stilaginaceae y Uapacaceae. Su clasificación es enlistada en la tabla 1, en la cual se incluye, para fines de comparación, el sistema propuesto por Webster,<sup>12</sup> en 1975.

Si se ignoran las pequeñas diferencias en los rangos, puede verse que los dos sistemas corresponden casi completamente.

Las tribus Crotonaeae, Jatrophaeae y Euphorbteae de la clasificación de Atry Shaw son más o menos comparables a las subfamilias Acalyphoideae, Crotonoideae y Euphorbioideae según Webster.

El sistema de Webster con cinco subfamilias y más de cincuenta tribus es ampliamente compatible con los datos de anatomía de la madera, citología y bioquímica, pero se hace necesario para muchos géneros mayor información de estudios morfológicos y anatómicos antes de que su clasificación pueda considerarse segura.

Tabla 1 Comparación de las clasificaciones de las Euphorbiaceae por Webster y Aitry Shaw.

	Webster	Aitry Shaw
Subfamilia	PHYLLANTHOIDEAE	
Tribu	Wielandieae	---
	Amanoeae	(Phyllanthoae)
	Bridelleae	Bridelleae
	Poranthereae	---
	Spondiantheae	---
	Antidesmeae	STILAGINECEAE
	Aporuseae	Aporuseae, Baccaureae
	Drypeteae	Drypeteae
	Phyllanthae	Phyllanthae
	Hymenocardiaceae	HYMENOCARDIACEAE
	Uapacae	UAPACACEAE
	Bischofieae	BISCHOFIACEAE
Subfamilia	OLDFIELDIOIDEAE	
	Hyaenanthae	Dissiliariae, Austrobuxae
	Petalostigmatiae	Petalostigmatiae
	Galetieae	Drypeteae (ex parte)
	Picrodendreae	---
Subfamilia	ACALYPHOIDEAE	
	Glutiae	---
	Pogonophoreae	---
	Chaetocarpeae	Chaetocarpeae
	Chelloseae	Chelloseae
	Erismantheae	Crotoneae-Erismanthinae
	Ampereae	---
	Chrozophoreae	Crotoneae-Chrozophorinae
	Agrostistachyidae	Crotoneae-Agrostistachyinae
	Caruodendreae	---
	Pycnocomae	Crotoneae-Blumeodendrinae
	Bernardieae	Mallotinae
	Epiprineae	---
	Adelleae	Crotoneae-Epiprininae
	Alchorneae	---
	Acalyphae	Crotoneae-Alchorneinae
	Plukenetiae	Acalyphae: Crotoneae-
	Dalechamptiae	Mallotinae, Homonoifinae,
	Omphaleae	Mercurialinae; Ricinae
	Pereae	Crotoneae-Plukenetinae
		Crotoneae-Dalechamptinae
		Jatrophae-Jatrophiinae
		PERACEAE
Subfamilia	CROTONOIDEAE	
	Microandreae	---
	Manihoteae	Jatrophae-Manihotinae
	Adenoclineae	Crotoneae-Endosperminae
	Uelonae	Suregadae

	Elateriospermeae	Jatrophaeae-Jatrophiae
	Joannesieae	Jatrophaeae-Jatrophiae
	Codiaeae	Baloghiaee; Crotonaeae-Codiaeinae, Ostodinae
	Ricinocarphae	Borneodendreae; Crotonaeae
	Trigonostemoneae	Alphandinae
	Aleuritideae	Jatrophaeae-Ostodinae
	Crotonaeae	Jatrophaeae-Jatrophiae
Subfamilia	EUPHORBIOIDEAE	Crotonaeae-Crotoninae
	Stomatocalyceae	Euphorbieae-Pimeledendrinae
	Hippomaneae	Euphorbieae-Hippomaninae
	Pachystromateae	---
	Hureae	Euphorbieae-Hippomaninae
	Euphorbieae	Euphorbieae-Euphorbiinae

---

Las familias segregadas reconocidas por Airy Shaw son escritas en mayúsculas; los taxa no tratados por Airy Shaw son indicados por ---.

Así, el trabajo de más de 150 años de estudio taxonómico de las Euphorbiaceae, ha generado un conocimiento importante en este grupo de plantas. Sin embargo, las relaciones infrafamiliares no han sido establecidas de manera completamente satisfactoria, por lo que se requieren argumentos adicionales e integrados para su discusión.

**Ubicación del Genero *Croton* en la Taxonomía General de la Familia Euphorbiaceae**

Como ya fue mencionado, se han realizado muchos intentos para clasificar a las euporbiaceas y actualmente el trabajo de mayor autoridad es la clasificación realizada por Pax y Hoffman en 1931.<sup>12,13</sup>

Estos investigadores dividen a la familia en cuatro subfamilias. Las divisiones infrafamiliares de Pax y Hoffman ubican al género *Croton* en la tribu Crotoneae de la subfamilia Crotonoideae, lo cual corresponde también con la clasificación realizada por Webster.<sup>12</sup> (Tabla 2).

**Tabla 2. Taxonomía General de la familia Euphorbiaceae según Pax y Hoffman.<sup>13</sup>**

Subfamilia	Tribu	Subtribu	Género
Phyllanthoideae			
Crotonoideae	Crotoneae		<i>Croton</i>
Poranteroideae			
Ricinocarpoideae			

**Ubicación del género *Cnidoscolus* en la taxonomía general de la familia Euphorbiaceae**

El género *Cnidoscolus* cuenta con aproximadamente 50 especies, las cuales han sido frecuentemente confundidas con especies del género *Jatropha*, a causa de la influencia de Mueller, quien trata al género *Cnidoscolus* como una sección de *Jatropha* en el Prodomus de De Candolle.<sup>7,14</sup>

Actualmente es posible separar a estos géneros, ya que la línea de demarcación entre ellos es tan clara como la que existe entre *Jatropha* y *Manihot*, *Jatropha* y *Aleurites*, y *Jatropha* y *Hevea*.

*Cnidoscolus* merece, indudablemente, consideración como un género independiente, caracterizado por la posesión de una envoltura floral blanca, vellosidades epidérmicas punzantes y glándulas petiolares distintivas.<sup>14</sup>

Sin embargo, es precisamente su parecido con el género *Jatropha* lo que ubica al género *Cnidoscolus* en la misma subfamilia Grotonoideae, (a la cual pertenece *Jatropha*), de las clasificaciones generales de Pax y Hoffman<sup>13</sup> o Webster.<sup>12</sup>

Pax, en el Pflanzenreich (1910), reconoce 44 especies de *Cnidoscolus* y lo divide en seis secciones, basándose principalmente en caracteres del androceo.<sup>14</sup>

Sección	Especies	Distribución
I. Vitifoliae	19	Sudamérica
II. Ramosae		
III. Oligandrae	3	Sur de Brazil
IV. Platyandrae	1	Cuba
V. Jussteulia	21	--
VI. Galyptrosolen		



#### IV ANTECEDENTES

La familia Euphorbiaceae esta constituida por mas de 7000 especies, las cuales estan repartidas en aproximadamente 280 generos y distribuidas en todo el mundo.<sup>15</sup>

Los generos más numerosos de esta familia son:<sup>16</sup>

<i>Euphorbia</i>	1600	especies
<i>Croton</i>	700	" "
<i>Phyllanthus</i>	480	" "
<i>Acalypha</i>	430	" "
<i>Glochidion</i>	280	" "
<i>Macaranga</i>	240	" "
<i>Manihot</i>	160	" "
<i>Jatropha</i>	150	" "
<i>Tragia</i>	140	" "

La mayoría de los trabajos científicos realizados a las especies de esta familia son justificados por el interés comercial (*Hevea brasiliensis*, *Ricinus communis*), alimenticio (*Cnidioscolus chayamansa*, *Cnidioscolus marcroviti*), medicinal (*Croton tiglium*, *Euphorbia hirta*, *Mercurialis annua*); y toxicológico (*Euphorbia pekunensis*, *Croton humilis*), entre otros.<sup>1</sup>

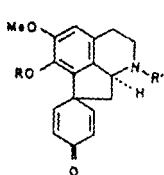
Muchos de estos generos se caracterizan por la presencia de látex en sus tejidos, es decir, de una suspensión compuesta principalmente de sales minerales, proteínas, aminoácidos, terpenos y caucho.<sup>15</sup>

Sin embargo, algunas especies contienen también sustancias que han sido probadas como las responsables de la actividad biológica específica para las que son utilizadas.

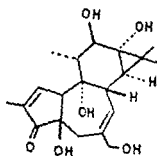
Entre estas sustancias podemos mencionar alcaloides (A),<sup>17</sup> terpenoides (B),<sup>18-20</sup> lignanos (C),<sup>21</sup> cumarinas (D),<sup>22</sup>

flavonoides (E).<sup>23</sup>

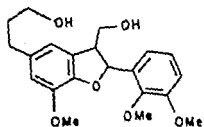
De particular interés han resultado algunos diterpenos con propiedades anticancerígenas ó como promotores de tumores.<sup>16</sup>



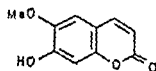
A R=R'=H



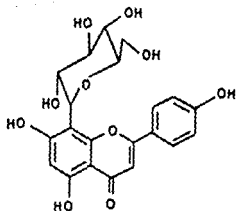
B



C



D



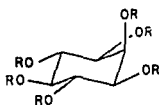
E

## ANTECEDENTES FITOQUIMICOS DEL GENERO CROTON

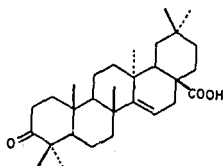
Se han realizado numerosos trabajos quimicos a especies de este genero.<sup>17-30</sup> Como resultado de tales estudios se ha descrito el aislamiento de un gran numero de compuestos de diversos tipos estructurales.

Sin embargo, el aislamiento de cumarinas (D),<sup>22</sup> ciclitoles (F),<sup>29</sup> triterpenoides (G),<sup>27</sup> y diterpenos de los tipos clerodano (H)<sup>25-27</sup> y ent-atizano (I)<sup>28</sup> ha sido reportado con mayor frecuencia.

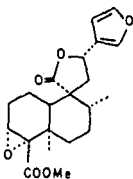
La corteza de la especie *Croton draco* ha sido previamente estudiada y la draconina (H), un clerodano con propiedades citotoxicas, fue caracterizada en este estudio.<sup>27</sup>



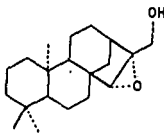
F R=H



G



H

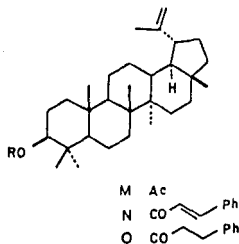
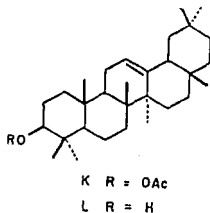
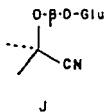


I

## ANTECEDENTES FITOQUIMICOS DEL GENERO CNIDOSCOLUS

Aunque existen varios reportes acerca de la composición proteínica y de aminoácidos de algunas plantas pertenecientes a este género,<sup>82-85</sup> existen muy pocos estudios sobre metabolitos secundarios aislados de estas plantas.

De la raíz de *Cnidioscolus texanus* se detecto la presencia de sacaridos.<sup>36</sup> La linamarina (J), el acetato de  $\beta$ -amirina (K) y la amirina (L) son constituyentes de otra población de la misma especie.<sup>87</sup> Se ha reportado la presencia de un principio cianogénico de las semillas de *Cnidioscolus stimulosus*.<sup>87</sup> De *Cnidioscolus elasticus* se han caracterizado el acetato (M), cinamato (N) y  $\beta$ -fenil-propionato (O) de lupeol.<sup>88,89</sup>



### USOS MEDICINALES DE PLANTAS DEL GENERO CROTON

Siendo *Croton* uno de los generos más grandes de la familia Euphorbiaceae, es también uno de los más utilizados en la medicina tradicional. Las aplicaciones medicinales de estas plantas son muy variadas, siendo la más frecuente su uso como antibiótico. En la tabla 3 se han enlistado algunas de las especies de este género así como su principal uso medicinal.

Tabla 3. Usos medicinales de plantas del género *Croton*.

Especie	Uso medicinal	Referencia
<i>C. argyrophyloides</i>	Antibiótico	18
<i>C. cortesianus</i>	Tratamiento de dermatitis	1
<i>C. draco</i>	Antipirético	31
<i>C. eluteria</i>	Tratamiento de enfermedad des venereas	1
<i>C. flavens</i>	Citotóxico	1
<i>C. humilis</i>	Tratamiento de enfermedad des urinarias	1
<i>C. lacciferus</i>	Antipirético	24, 28
<i>C. linearis</i>	Antipirético	1
<i>C. macrostachys</i>	Antihelmintico	1
<i>C. sellowii</i>	Antibiótico	1
<i>C. sonderianus</i>	Antibiótico	22
<i>C. sublyratus</i>	Tratamiento de ulcera	25
<i>C. tiglium</i>	Tratamiento de conjuntivitis	1

#### USOS MEDICINALES DE PLANTAS DEL GENERO CNIDOSCOLUS

La información sobre la utilización de especies de *Cnidocolus* como plantas medicinales es muy escasa debido a la confusa ubicación taxonómica que se tenía sobre este género.<sup>14</sup>

Sin embargo, existen informes de plantas del género *Jatropha*, ahora ubicadas dentro de *Cnidocolus*, que han sido utilizadas con fines curativos. En la tabla 4 se muestran estos ejemplos:

Tabla 4. Usos medicinales de plantas del género *Cnidocolus*.

Especie	Uso medicinal	Referencia.
<i>C. stimulosus</i> ( <i>J. stimulosus</i> )	Tratamiento de alergias	37
<i>C. urens</i> ( <i>J. urens</i> )	Antibiótico	31
<i>C. souzoi</i>	Diurético	40

## V. DISCUSION DE RESULTADOS



#### A. *Croton draco*.

*Croton draco* es un arbusto ó árbol de hasta 25 metros de altura, cuyo tronco produce un jugo rojizo al cual se le atribuyen propiedades astringentes.<sup>31,40</sup>

"Sangre de drago", "cuate", "palo muela" y "lora sangre" son algunos de los nombres populares con los que es conocido.<sup>41</sup> En Veracruz y lugares cercanos se utiliza en algunos casos de fiebre y como endurecedor de las encías.<sup>31</sup>

De las partes aéreas de esta planta, fueron aisladas y caracterizadas (según se describe en la parte experimental) cinco sustancias de tipo terpenoide. La elucidación estructural de cada una de estas fue realizada mediante la comparación de los datos obtenidos para cada una de ellas con los correspondientes datos informados en la literatura.

Sin embargo, en la mayoría de estos compuestos, fue necesario realizar un análisis detallado de la elucidación estructural para confirmar tanto la estructura como la estereoquímica propuesta. Tal estudio se realizó mediante el análisis de los datos físicos, espectroscópicos, espectrométricos y químicos.

La descripción de cada uno de los metabolitos secundarios aislados se presenta en esta discusión en orden de polaridad relativa de elución.

#### Castaprenol-11 (1).

Esta sustancia exhibe una banda en  $3610\text{ cm}^{-1}$  en su

espectro de infrarrojo (Espectro 1), lo que indica la presencia de grupos hidroxilo o amino en la molécula. También es posible apreciar bandas en 1630 y 950  $\text{cm}^{-1}$  características de las vibraciones  $\text{C}=\text{C}$  y de olefina trisustituída, respectivamente.<sup>42</sup> La presencia de grupos metilo y metileno es evidenciada por las bandas en 2940 y 2870  $\text{cm}^{-1}$ .

En el espectro de resonancia magnética nuclear de hidrógeno (Espectro 2), se observa un triplete en la zona de protones vinílicos ( $\delta$  5.45 ppm) que integra para un hidrógeno. La multiplicidad de la señal demuestra la vecindad de este hidrógeno con dos protones magnéticamente equivalentes entre sí, como puede notarse en la estructura parcial de la figura 1.

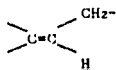


Figura 1.

El grupo metileno se observa en este espectro como un doblete centrado en 4.05 ppm con la misma constante de acoplamiento ( $J = 7$  Hz) que la del triplete anterior, lo que comprueba la interacción de estos protones. El desplazamiento químico de la última señal evidencia que el metileno debe estar unido a un sustituyente electronegativo, a saber, por el espectro de infrarrojo, un hidroxilo o un grupo amino.

En la misma zona de hidrogenos vinílicos, centrada en 5.12 ppm, se observa una señal múltiple, cuya integración para diez unidades fue determinada en el espectro de RMN  $^1\text{H}$  obtenido a

300 MHz (Espectro 2) y en relación a los dos protones del grupo metileno.

En este mismo espectro, en la zona de 1.8 a 1.6 ppm puede notarse la presencia de metilos vinílicos, como tres señales singuletes bien diferenciables y asignadas según Bates y Gale<sup>43</sup> de la siguiente manera: la centrada en 1.75 ppm a un grupo metilo vinílico en relación trans a un grupo hidroximetileno, lo cual permite confirmar la presencia del hidroxilo.

Así, la estructura parcial anterior puede ampliarse a otra que contenga estos últimos grupos como sigue:

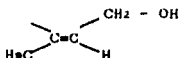
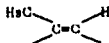


Figura 2.

El isómero geométrico de esta estructura puede descartarse, ya que el metilo resuena en 1.67 ppm cuando existe un hidroximetileno cis a este grupo metilo.<sup>43</sup> Las señales singuletes en 1.67 y 1.59 ppm que integran para 21 y 12 unidades respectivamente, son asignadas, la primera a metilos vinílicos en relación cis a un protón vinílico y la segunda a metilos vinílicos en disposición trans a un protón vinílico<sup>43</sup> de la siguiente manera, (figura 3):

$\delta = 1.67$  ppm



$\delta = 1.59$  ppm

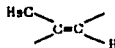


Figura 3.

Un total de doce metilos de tipo vinílico, incluido el trans al grupo hidroximetileno, es así determinado por los espectros de RMN <sup>1</sup>H de este compuesto. Considerando que se observan sólo once hidrógenos olefinicos en estos espectros, una de las dobles ligaduras debe poseer dos grupos metilo geminales, uno de ellos siendo trans y el otro cis al protón vinílico, (figura 4):

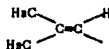


Figura 4.

Como resultado del análisis anterior, se deduce la presencia de tres metilos trans y seis metilos cis a hidrogenos olefinicos, además de los restantes ya asignados.

Finalmente, la señal amplia localizada entre 2.12 - 1.92 ppm, que integra para un total de 40 protones puede ser atribuida a los metilenos de los tipos señalados en la figura 5.<sup>44</sup>



δ 2.03 - 2.06

Figura 5.

La conectividad química de los hidrógenos puede comprobarse por el análisis del espectro bidimensional homonuclear (COSY, figura 6), en el cual se observan señales que correlacionan a los protones olefinicos con los metilos y metilenos unidos a las dobles ligaduras.

La integración de las estructuras parciales anteriores,

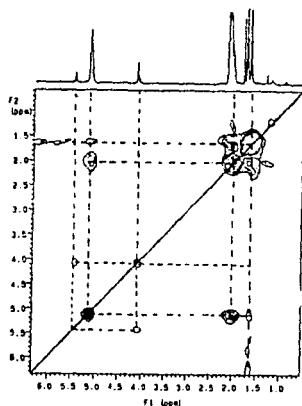


Figura 6.

conduce a la formación de unidades hemiterpénicas unidas entre sí, dando como resultado un compuesto poliprenolide con once unidades de isopreno,<sup>45</sup> (figura 7):

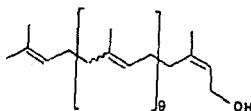


Figura 7.

Como se hizo notar anteriormente, la unidad alfa del poliprenol posee una estereoquímica  $Z_1$  mientras que la unidad omega carece de estereoquímica.

De las nueve unidades restantes, tres de ellas poseen configuración E y seis Z de acuerdo con el análisis de las señales de los metilos vinílicos. La ubicación de cada una de las unidades de isopreno en la molécula, se realizó durante mucho tiempo, con base en la biogénesis de este tipo de compuestos,<sup>46,47</sup> la cual supone la participación del (ZE,OE) pirofosfato de larnesilo o del (ZE,OE,10E) pirofosfato de geranigeranilo, como las unidades iniciadoras de la cadena, y una posterior condensación con la generación de olefinas cis en las unidades restantes, lo que establece una estereoquímica  $2Z_n(Z)_{n-1}(E)_m$  del polipreno, donde  $n = 1, 2, 3, \dots, n$ , y  $m = 2, 3, \dots, m$ , según se muestra en la figura 8:

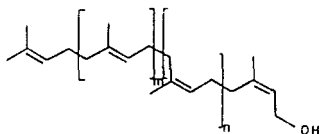


Figura 8.

Se han realizado estudios biosintéticos que comprueban que efectivamente, estos son los precursores y mecanismos de condensación de algunos poliprenoles.<sup>46,47</sup>

Sin embargo, los estudios biosintéticos sobre este tipo de compuestos no permiten generalizar sus resultados hacia todos los poliprenoides ya que estos han sido aislados como una serie de diferentes números de unidades de isopreno y con diferente

estereoquímica a lo largo de la cadena.<sup>44-45</sup>

La ubicación de las unidades E ó Z en la cadena poliprenoide puede ser inequívocamente determinada por el análisis del espectro de RMN <sup>13</sup>C de acuerdo con el estudio realizado por Tanaka y colaboradores.<sup>46</sup>

La asignación de las señales del espectro de RMN <sup>13</sup>C (Espectro 3) de la sustancia 1 fue realizada por comparación con modelos de moléculas relacionadas<sup>44,50</sup> y por la ayuda del experimento APT.

Once señales para carbonos vinílicos singletes son observadas en la zona de 130.80 a 131.24 ppm. Se ha reportado que el carbono C-2 olefínico de la unidad omega en uniones ω-trans resuena alrededor de 131.0 - 131.3 ppm mientras que el átomo de carbono análogo en la unión ω-cis se desplaza entre 131.5 - 131.6 ppm.<sup>49</sup>

La señal en 131.24 ppm y la ausencia de señales en 131.5 - 131.6 ppm determina la secuencia ω-trans del último par de isoprenos en la molécula, como se aprecia en la figura 9:

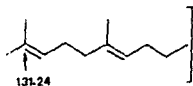


Figura 9.

Para determinar la ubicación de las dos unidades trans restantes así como de las unidades cis es necesario analizar la

zona de señales de los carbonos metilénicos C-1, los cuales pueden ser de cinco tipos, de acuerdo con las posibilidades estereoquímicas mostradas en la figura 10. En el caso de la sustancia 1, la zona de estos carbonos metilénicos se extiende de 39.75 a 26.29 ppm para un total de veinte átomos, de acuerdo con la medida relativa de las señales en el espectro.

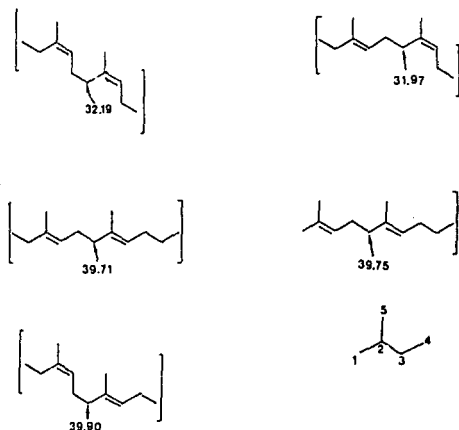


Figura 10.

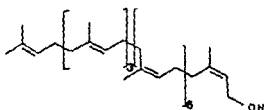
Las señales en 32.19 y 31.97 ppm son asignadas al carbono metilénico C-1 de las unidades cis en las uniones cis-cis y trans-cis, respectivamente.<sup>50</sup>

Los átomos de carbono metilénicos C-1 de las unidades trans en las uniones trans-trans y ω-trans resuenan en 39.71 ppm las primeras y en 39.75 ppm la última.<sup>50</sup> Si existiera una unión



del tipo cis-trans en la molécula, el átomo de carbono C-1 de la unidad trans, resonaría en 39.9 ppm.<sup>50</sup>

Nuevamente, la señal en 31.97 ppm para el átomo de carbono C-1 de la unidad cis en la unión trans-cis y la ausencia de señales en 39.9 ppm, descartan la posibilidad de encontrar uniones cis-trans en la molécula, por lo que la ubicación de las dos unidades trans debe ser adyacente a la unidad de tipo trans representada en la figura 10, mientras que las unidades cis deben estar unidas entre sí y a la vez, a la última unidad trans, como se ejemplifica en la estructura 1.



1

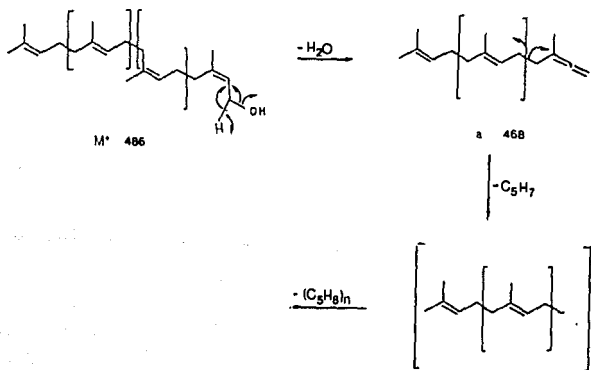
En el espectro de RMN <sup>13</sup>C (Espectro 3) pueden observarse las señales correspondientes a los átomos de carbono restantes, incluyendo la señal triplete para el carbono unido al hidroxilo en 58.99 ppm.

El espectro de masas de la sustancia 1 (Espectro 4), muestra como último pico el correspondiente a la eliminación de una molécula de agua del ión molecular con una relación masa/carga de 748 y con una intensidad relativa de 0.2 % (Esquema 1).

Posteriormente, la eliminación de 67 uma y eliminación sucesiva de 68 uma, corresponden a la ruptura alílica de las unidades de isopreno y un pico base con relación masa/carga en 69, caracterizan la fragmentación de este tipo de sustancias.<sup>45,51,52</sup>

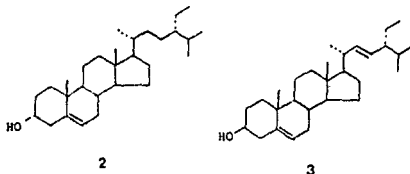
De esta manera, la estructura y estereoquímica de la sustancia 1 se establece como 3,7,11,15,19,23,27,31,35,39,43-undecametil-2Z,6Z,10Z,14Z,18Z,22Z,26Z,30E,34E,38E,42-tetratetracontaundecaen-1-ol (1).

Este compuesto ha sido aislado de otras fuentes naturales, principalmente de plantas superiores<sup>45,46</sup> pero la estructura propuesta no había sido establecida de manera inambigua.



Esquema 1.

El  $\beta$ -sitosterol (2) y el estigmasterol (3) fueron las siguientes sustancias aisladas de la especie *Croton draco* y sus datos físicos y espectroscópicos se describen en la parte experimental.



#### Peróxido del ergosterol (4).

La cuarta sustancia aislada y caracterizada de sangre de drago presenta una banda característica de hidroxilo en  $3609\text{ cm}^{-1}$  en el espectro de infrarrojo, así como bandas atribuibles a las vibraciones C=C-H en  $3024$  y  $3007\text{ cm}^{-1}$ ; para metilos y metilenos, y una banda en  $1171\text{ cm}^{-1}$  que indica la existencia de un grupo peróxido en la molécula.<sup>42</sup>

En el espectro de resonancia magnética nuclear de hidrogeno de 80 MHz, es posible observar un sistema AB en 6.50 y 6.24 ppm con una constante de acoplamiento de 8.5 Hz. La naturaleza vinilica de estos dos hidrógenos se deduce del desplazamiento químico de esta señal y su interacción cis a través de la doble ligadura se determina por el valor de la constante de acoplamiento, el cual ubica también a este doble enlace en un anillo de seis miembros.<sup>53</sup> (figura 11).

En la misma zona de protones vinilicos, centrada en 5.20

ppm se observa una señal múltiple que integra para dos hidrógenos. Esta señal es resuelta en el espectro de RMN  $^1\text{H}$  determinado a de 300 MHz (Espectro 5) en donde se observa como dos señales doble de doble centradas en 5.22 y 5.14 ppm con constantes de acoplamiento de 15.14 y 7.80 Hz.

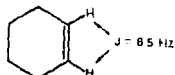


Figura 11

En este caso, la geometría trans de los protones en la doble ligadura, puede establecerse por el valor de la constante de acoplamiento de 15.14 Hz. La multiplicidad de esta señal indica también la interacción de cada uno de los protones vinílicos con otro protón adyacente, según la siguiente estructura parcial (figura 12):

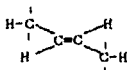


Figura 12

Este sistema de protones AA'BB' puede ser comparado con el correspondiente sistema encontrado en la cadena lateral del estigmasterol,<sup>54</sup> en el espectro determinado a 300 MHz (Espectro 9). La similitud de las dos señales confirma la estructura parcial mostrada en la figura 12.

En 3.97 ppm se observa una señal triplete de triplete

con constantes de acoplamiento de 11.47 y 5.13 Hz, cuya integración relativa corresponde a una unidad. La zona de desplazamiento químico en que se encuentra esta señal caracteriza a este protón como geminal al grupo hidroxilo. El valor de la constante de acoplamiento de 11.47 Hz del primer triplete indica una interacción trans-diaxial con dos protones vecinos magnéticamente equivalentes entre sí.<sup>55</sup>

Por otro lado, la constante de acoplamiento de 5.13 Hz es característica de la interacción de protones con ángulo diedro de aproximadamente 60° como se observa en las interacciones axial-ecuatorial.<sup>55</sup>

Así, se establece la relación del hidrógeno geminal al grupo hidroxilo con cuatro protones vecinos, como la encontrada para protones base de grupo hidroxilo en algunos esteroides.<sup>56-58</sup> razón por la cual, se propone la ubicación del grupo funcional en la posición 3 del anillo A de tales triterpenoides y se toma como modelo para las siguientes discusiones estructurales de la sustancia 4, (figura 13).

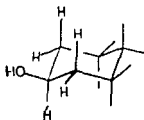


Figura 13

Cuatro señales dobles centradas en 0.997, 0.906, 0.831 y 0.814 ppm, con constantes de acoplamiento entre 6.59 y 6.84 Hz.

y dos señales (ingletes) en 0.883 y 0.815 ppm, cada una de estas seis señales que integran para tres protones, indican la existencia de seis metilos.

En el espectro de RMN<sup>13</sup>C de este compuesto (Espectro 7), se observan un total de 28 señales, confirmandose el modelo esteroideal propuesto, particularmente del tipo ergostano,<sup>58,59</sup> (figura 14). Este modelo permite la ubicación de la doble ligadura de tipo trans en la cadena lateral en semejanza a la del estigmasterol, como ya fue mencionado.

De las cuatro señales de carbonos vinílicos observadas en el espectro de esta sustancia, las centradas en 135.40 y

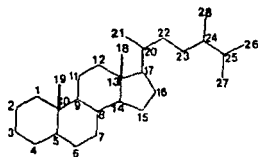


Figura 14.

132.29 ppm, corresponden a esta doble ligadura, y las centradas en 135.19 y 130.74 ppm a la olefina cis dentro de un anillo de seis miembros.<sup>50-52</sup>

La comparación de la señal en 3.97 ppm en el espectro de RMN <sup>1</sup>H (Espectro 5), tanto en multiplicidad como en desplazamiento químico, con datos reportados<sup>54-58</sup> así como la consideración biogenética de 3-hidroxi-esteroides, permiten ubicar al grupo hidroxilo en esa posición, (figura 15).

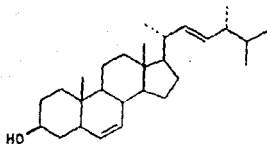
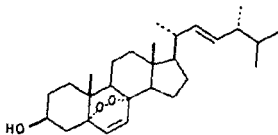
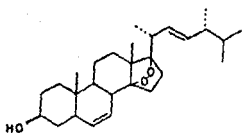


Figura 15

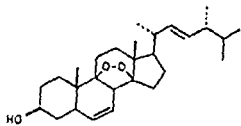
Las señales en 135.19 y 130.74 ppm son atribuidas a los carbonos de la olefina cis, la cual debe ubicarse en la posición 6, ya que es la única que ofrece simetría para los protones vinílicos, tal como se observa en el espectro de RMN <sup>1</sup>H (Espectro 5). Dos señales singletes para carbonos unidos a oxígeno en 82.16 y 79.43 ppm indican la sustitución por oxígeno en dos de los siguientes átomos de carbono: 5, 8, 9, 14 y 17, mediante una funcionalidad peróxido, que se manifiesta por la banda en 1172 cm<sup>-1</sup> y por la eliminación de 32 unidades de masa del ión molecular en el correspondiente espectro de masas (Espectro 8). Este argumento, aunado a la simetría de la señal de la olefina cis permite proponer las fórmulas 4, 5 y 6 como hipótesis estructurales.



4

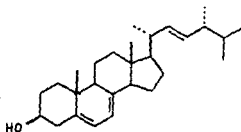


5

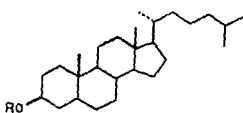


6

Las dos últimas fórmulas se descartan si se considera que cada protón olefínico sería observado como una señal doble de doble, lo cual no es apreciado en el espectro de RMN  $^1\text{H}$  (Espectro 5), ya que estos se manifiestan como un sistema AB, lo cual está de acuerdo con la estructura 4. Las asignaciones de las señales restantes del espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (Espectro 7) se realizaron utilizando como modelos estructurales al ergosterol (7)<sup>50,51</sup> y moléculas relacionadas (8,9),<sup>52</sup> (Tabla 5).



7



8 R = H

9 R = OAc



Tabla 5. Desplazamientos químicos de RMN  $^{13}\text{C}$  de 4, 7,

8 y 9.

C	4	7	8	9
1	34.68 t	38.90 t	37.60 t	37.20 t
2	30.09 t	32.50 t	32.10 t	27.90 t
3	68.47 d	70.00 d	70.70 d	73.50 d
4	36.91 t	41.40 t	38.90 t	34.50 t
5	82.16 s	141.00 s	45.50 d	45.10 d
6	130.74 d	119.70 d	29.30 t	29.10 t
7	135.19 d	117.00 d	32.60 t	32.40 t
8	79.43 s	140.90 s	36.10 d	36.00 d
9	51.07 d	46.80 d	55.10 d	54.90 d
10	36.95 s	37.50 s	35.90 s	35.90 s
11	20.63 t	21.50 t	21.70 t	21.70 t
12	28.64 t	28.60 t	28.60 t	28.50 t
13	44.55 s	43.30 s	43.10 s	43.00 s
14	51.67 d	54.90 d	57.00 d	57.00 s
15	23.40 t	23.40 t	24.60 t	24.50 t
16	39.33 t	39.70 t	40.70 t	40.50 t
17	56.18 d	56.30 d	57.00 d	57.00 d
18	12.87 q	12.10 q	12.40 q	12.30 q
19	18.18 q	16.30 q	12.30 q	12.30 q
20	39.73 d	40.80 d	36.20 d	36.20 d
21	19.64 q	19.70 q	18.90 q	19.00 q
22	135.40 d	136.30 d	32.70 t	32.70 t
23	132.29 d	132.50 d	24.40 t	24.40 t
24	42.76 d	43.30 d	40.00 t	39.90 t
25	33.06 d	33.50 d	28.30 d	28.30 d
26	20.87 q	21.30 q	22.70 q	22.70 q
27	19.95 q	20.00 q	22.90 q	22.90 q
28	17.56 q	17.70 q		

#### DETERMINACION DE LA ESTEREOQUIMICA DE LOS CENTROS QUIRALES DE 4.

La determinación de la estereoquímica de los centros quirales se llevó a cabo mediante el análisis espectroscópico y la comparación de los datos obtenidos con los reportados para esta sustancia<sup>56-58</sup> así como para moléculas relacionadas,<sup>56-58</sup> y tomando en consideración la secuencia estereoquímica trans, anti, trans, anti, trans de los esteroides.

El grupo hidroxilo en la posición C-3 se determinó como  $3\beta$ , por el análisis de las constantes de acoplamiento ya descrito.

La configuración alfa del grupo epóxido en C-8 y C-9 fue establecida por la comparación de los desplazamientos químicos de los protones de los grupos metilo en las posiciones C-10 y C-13 con los reportados para otros  $5\alpha$ ,  $8\alpha$ -epóxidoesteroides.<sup>59,63,64</sup>

La estereoquímica de estos dos centros quirales puede ser también determinada mediante el análisis del espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  de este peróxido (Espectro 7), en el cual puede notarse un mayor efecto gamma-gauche sobre el átomo de carbono C-1 (37.6  $\rightarrow$  34.68,  $\Delta\delta = -2.92$ ) en relación al  $3\beta$ -hidroxicolestanol (8)<sup>61</sup> ejercido por el grupo peróxido, que el observado para el átomo de carbono C-11 (21.70, 21.50  $\rightarrow$  20.63,  $\Delta\delta = -1.07, -0.87$ ) para este mismo esteroide (8) y para el ergosterol (7)<sup>60,61</sup> respectivamente, ejercido por la olefina en C-6, (figura 16).

La estereoquímica del centro quiral C-24 se determinó mediante el análisis de los desplazamientos de las señales de los

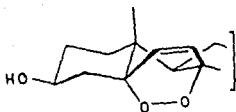
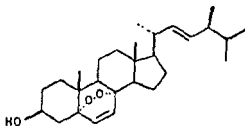


Figura 16

metilos en RMN  $^1\text{H}$ , en particular de C-26 y C-27. El volumen del grupo isopropilo es suficiente para impedir la libre rotación alrededor del enlace C(24)-C(25) en 24(R) alquil-esteroides, originando una no equivalencia magnética intrínseca en los hidrógenos 26 y 27.<sup>50-58</sup> Tal diferencia es mejor observada en disolventes aromáticos, de los cuales el benceno (Espectro 6) ha sido generalmente utilizado por su alta anisotropía magnética.<sup>59</sup>

Así, los desplazamientos químicos de los metilos singlete y de los metilos doblete fueron comparados con los reportados para otros  $\Delta^{22}$ -24-metil-esteroides en cloroformo y benceno. Puede observarse una diferencia en los desplazamientos químicos de C-26 y C-27 en los pares epiméricos del peróxido del ergosterol 24(R) (4) y 24(S) (10).<sup>60</sup> Tal comparación permite concluir que la sustancia aislada de *Croton draco* posee la configuración 24(R), como se muestra en 4.



10

40

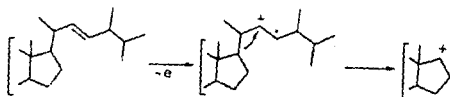
En el espectro de masas del peróxido del ergosterol (Espectro 8), es posible observar el ión molecular con  $m/z$  428 (Esquema 2). La eliminación de una molécula de oxígeno, a través de un mecanismo retro Diels-Alder (RDA), da origen al fragmento más abundante con  $m/z$  396 (fragmento a).

La ruptura alílica entre C(3) y C(4) seguida de la eliminación de 54 una, origina el fragmento aromático b de  $m/z$  337, el cual es uno de los fragmentos más característicos de los  $\Delta^{5,7}$  dienos esteroideos.<sup>58,66,67</sup>

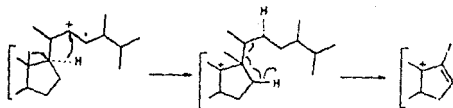
La eliminación directa de una molécula de agua del ion molecular genera al fragmento c ( $m/z = 410$ ). La subsecuente pérdida de una molécula de agua del fragmento a, ó de oxígeno del fragmento c, produce un fragmento importante de  $m/z$  378 (d).

La ruptura de la cadena lateral para  $\Delta^{12}$  esteroides puede ser analizada desde dos puntos de vista mecanísticamente diferentes:<sup>67</sup>

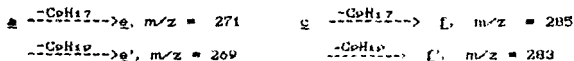
1. Fragmentación sin migración de hidrógeno por una ruptura alílica:



2. Fragmentación con migración de dos hidrógenos al doble enlace de la cadena y migración del metilo 18:



La operación de estos mecanismos en el ion molecular o en los fragmentos que contienen a la cadena lateral, origina fragmentos importantes en el espectro de masas:

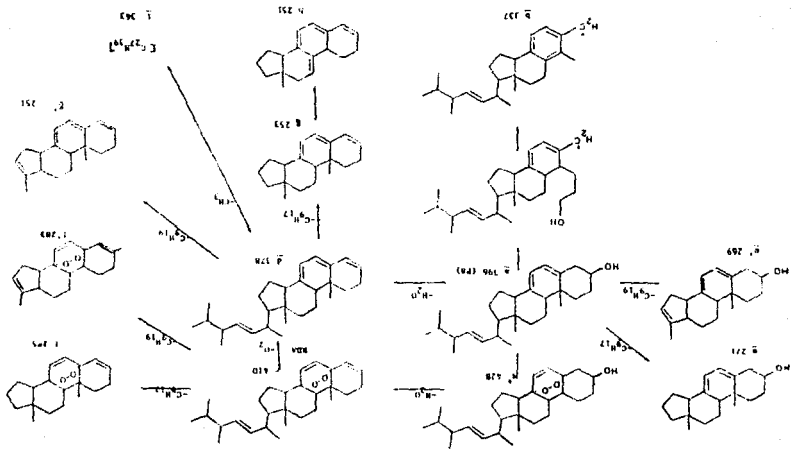


Particularmente importantes son los fragmentos g ( $m/z = 253$ ) y g' ( $m/z = 251$ ), resultantes de la realización de los anteriores mecanismos sobre el fragmento d. Este último fragmento sufre una pérdida de hidrógeno molecular dando como resultado el fragmento h,  $m/z = 251$ .

Otro pico importante en el espectro de masas del peróxido de ergosterol es el correspondiente al fragmento i de relación  $m/z = 363$ , el cual puede ser producido por ruptura beta a las dobles ligaduras para eliminar un radical metilo.<sup>58</sup>

#### Origen y Consideraciones Biogenéticas del Peróxido del Ergosterol (4).

Aunque existen varios informes de la existencia de esta substancia con el ergosterol en varios organismos, tales como levaduras,<sup>59, 60</sup> líquenes<sup>61, 62</sup> y esponjas,<sup>64</sup> sólo existe un reporte



previo de la presencia del peróxido del ergosterol (4) en vegetales superiores.<sup>70</sup>

Mucho se ha discutido acerca del origen natural de este compuesto. Se han realizado experimentos que utilizan ergosterol en presencia de oxígeno en condiciones de luz y de oscuridad, tanto en procesos de cultivo *in vivo* como *in vitro* y se ha observado una mayor conversión del ergosterol en su epidióxido en condiciones de iluminación.<sup>58,62</sup>

Sin embargo, el estudio realizado por White y colaboradores<sup>71</sup> demostró que la conversión del ergosterol en su epidióxido derivado, en cultivos de hongos (*Penicillium rubrum* y *Gibberella fujikuroi*) opera tanto por mecanismos químicos (fotoquímicos) como enzimáticos. Los resultados de estos experimentos se informan en la tabla 6.

Tabla 6. % Incorporación de <sup>3</sup>H ergosterol (7) en el peróxido de ergosterol (4) bajo varias condiciones de crecimiento.

ORGANISMO	INCORPORACION TOTAL		INCORPORACION FOTOOXIDATIVA		INCORPORACION ENZIMATICA	
	LUZ	obs.	LUZ	obs.	LUZ	obs.
<i>G. fujikuroi</i>	46.7	20.9	25.7	0.3	21.0	20.6
<i>P. rubrum</i>	31.5	19.3	12.1	0.6	19.4	18.7

En el presente estudio, se podría descartar la posibilidad de que el peróxido del ergosterol (4) sea un artefacto, debido a que no se detectó la presencia del dieno precursor (7) en la planta.

Petzoldt y Kleistrich<sup>72</sup> demostraron que la incubación del

peróxido del ergosterol (4) con *Mycobacterium crystallophagum*, causa isomerización en los epóxidos 5 $\alpha$ , 6 $\alpha$ -epoxi-ergosta-6,22-dien-3 $\beta$ , 7 $\alpha$  diol (11) y su  $\Delta^{6,11}$  isomero (12). Los epóxidos se encuentran involucrados en la introducción de oxígeno en la biogénesis de los terpenos, de acuerdo con la hipótesis de Bergmanns.<sup>78</sup>

#### Vonifolol (13).

La sustancia de mayor polaridad (13), aislada y caracterizada en el presente estudio de la especie *Croton draco*, se obtuvo en forma de agujas blancas, con punto de fusión de 112 - 114 °C.

En su espectro de infrarrojo (Espectro 10), se observan bandas que evidencian la presencia de grupos hidroxilo (3609  $\text{cm}^{-1}$ ), C=C-H (3090,3015  $\text{cm}^{-1}$ ), cetona  $\alpha,\beta$ -insaturada (1661  $\text{cm}^{-1}$ ) y de metilos y metilenos.<sup>42</sup>

Un máximo en 235 ( $\log \epsilon = 4.05$ , EtOH) puede ser observado en el espectro de ultravioleta (Espectro 11), lo que confirma la existencia de un cromóforo del tipo carbonilo  $\alpha,\beta$ -insaturado,  $\alpha,\beta$  o  $\beta,\beta$ -disustituido no exocíclico, tal como se señala en la figura 17:



Figura 17



El espectro de resonancia magnética protonica de 13 (Espectro 12). muestra una señal múltiple centrada en 5.80 ppm con integración para tres hidrógenos. A pesar de la complejidad de esta señal es posible observar hacia ambos lados del centro de gravedad de la misma, pequeñas señales distanciadas en aproximadamente 16 Hz cada una del centro, como en un sistema AB, sugiriendo la geometría trans en un doble enlace disustituido. (figura 18).



Figura 18

Una señal cuarteto dos veces dobleteada, se observa en 4.38 ppm con constantes de acoplamiento de 7, 3 y 1 Hz. La integración de la señal indica que se trata de un solo hidrógeno, el cual debe ser geminal a un grupo electronegativo, de acuerdo con el desplazamiento químico. Por la multiplicidad de esta señal puede suponerse la interacción del hidrógeno con un grupo metilo (q.  $J = 7$  Hz), mientras que las constantes de acoplamiento de 3 y 1 Hz indican las interacciones vinílica (d,  $J = 3$  Hz) y alílica (d,  $J = 1$  Hz) de este mismo protón, como se representa en la estructura parcial de la figura 19.

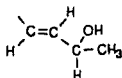


Figura 19

La correspondiente señal doble del metilo, resuena en 1.28 ppm con el mismo valor de constante de acoplamiento ( $J = 7$

Hz).

Un sistema AB centrado en 2.40 y 2.18 ppm con constante de acoplamiento de 18 Hz, se observa en este espectro y puede atribuirse a protones geminales magnéticamente no equivalentes. La señal en 1.98 ppm desaparece al adicionar agua deuterada a la muestra, por lo que se asigna al protón de un grupo hidroxilo.

Un metilo unido a un doble enlace es inferido por la señal doblete ( $J = 1$  Hz) centrada en 1.89 ppm, la cual integra para tres unidades. El valor pequeño de la constante de acoplamiento sugiere una interacción a través de cuatro ligaduras (interacción alílica<sup>65</sup>) de los hidrógenos del metilo con un protón vinílico, (figura 20).

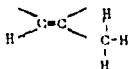


Figura 20

Finalmente, en el espectro de RMN <sup>1</sup>H de la sustancia 13, son también observadas dos señales singuletes centradas en 1.06 y 1.00 ppm, que integran para tres hidrógenos cada una y que se atribuyen a metilos sobre carbono cuaternario.<sup>74</sup>

Los experimentos de irradiación en algunas zonas del espectro de RMN <sup>1</sup>H permitieron corroborar las estructuras parciales propuestas. Tales experimentos se describen a continuación.

Al irradiar la zona de 1.0 a 2.0 ppm, la señal en 4.38 ppm es simplificada en una señal doble de doble (Espectro 12, trazo II) con constantes de acoplamiento de 3 y 1 Hz. La misma

señal se observa como un cuarteto con constante de acoplamiento de 7 Hz al irradiar la zona de protones vinílicos (Trazo III), de acuerdo con la estructura parcial propuesta para el hidrógeno geminal del hidroxilo, (figura 19). En este mismo trazo III es posible apreciar la simplificación del doblete en 1.89 ppm a un singulete, lo que confirma la interacción alílica del metilo vinílico. La irradiación de la señal en 4.38 ppm simplifica, como es de esperarse, la señal doble en 1.28 ppm a un singulete y la señal múltiple de los hidrógenos olefinicos (Trazo IV). La irradiación del sistema AB en 2.48 y 2.18 ppm, (Trazo V) no produce variaciones significativas sobre el espectro normal de hidrógeno de la sustancia 13.

Por otro lado, en el espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (Espectro 13) se observan trece señales. El átomo de carbono carbonílico resuena en 198.41 ppm y un átomo de carbono de tipo vinílico disustituido en 163.48 ppm. El desplazamiento químico de este átomo de carbono lo identifica como beta al grupo carbonilo, de acuerdo con la estructura de la figura 21.

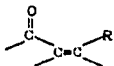


Figura 21.

De las cuatro señales de carbonos vinílicos, la desplazada a campo mas alto (126.66 ppm) es asignada al átomo de carbono alfa al grupo carbonilo. Las dos señales restantes en 135.64 y 128.90 ppm, corresponden a los metinos del sistema olefinico trans de la figura 19.

Las señales en 78.94 ppm (s) y 67.92 ppm (d) se asignan a carbonos unidos a oxígeno. Esta última es atribuible al carbono unido al hidroxilo de la estructura parcial de la figura 19. La presencia de un metileno, con hidrógenos no equivalentes magnéticamente se infiere del sistema AB en 2.48 y 2.18 ppm en el espectro de RMN  $^1\text{H}$  y por la señal triplete centrada en 49.61 ppm. El desplazamiento químico de esta señal indica la unión directa de este metileno con el grupo carbonilo, como se representa en la figura 22.

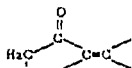


Figura 22

Otro átomo de carbono, totalmente sustituido puede apreciarse por la señal en 41.44 ppm (s). A campo alto son observadas cuatro señales para carbonos metílicos.

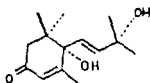
El peso molecular 224, determinado por espectrometría de masas (impacto electrónico e ionización química) aunado a los datos del grado de hidrogenación de los átomos de carbono permiten deducir la fórmula molecular  $\text{C}_{15}\text{H}_{20}\text{O}_2$ .

De las cuatro insaturaciones calculadas para esta fórmula, dos corresponden a las dos dobles ligaduras, una más al grupo carbonilo y la cuarta indica la presencia de un ciclo.

La integración de los fragmentos estructurales propuestos sugiere como única estructura para la sustancia 13, la del vomifolol (biunenol A), un producto natural conocido.<sup>74-82</sup>

La estereoquímica de los centros quirales C-6 y C-9 de

La sustancia aislada de *Croton draco* fue establecida como 6S,9R por comparación de sus datos ópticos ( $[\alpha]_D^{25} = + 51.13$ ) con los reportados para el blumenol A, aislado de *Podocarpus blumei*.<sup>77</sup>



19

La determinación de la quiralidad de C(6) y C(9) fue motivo de controversia durante varios años.<sup>75,77,78</sup> Finalmente, la configuración de tales centros se estableció mediante estudios de correlación química.<sup>77</sup>

El vomifolol fue primero aislado de *Rauwolfia vomitoria*<sup>74</sup> y a la fecha se ha aislado y/o detectado en las siguientes especies, (tabla 7).

Tabla 7. Aislamiento y detección de vomifolol (13).

Especie	Familia	Referencia
<i>Rauwolfia vomitoria</i>	Apocynaceae	74
<i>Podocarpus blumei</i>	Podocarpaceae	75
<i>Croton sparsiflorus</i>	Euphorbiaceae	75
<i>Vinca rosea</i> <sup>*</sup>	Apocynaceae	80
<i>Panicourea alpina</i>	Rubiaceae	81
<i>Croton lobatus</i>	Euphorbiaceae	81
<i>Croton trinitatis</i>	Euphorbiaceae	81
<i>Croton linearis</i> <sup>**</sup>	Euphorbiaceae	82
<i>Blighia sapida</i> <sup>**</sup>	Sapindaceae	82
<i>Murraya paniculata</i> <sup>**</sup>	Rutaceae	82
<i>Eichhornia crassipes</i> <sup>**</sup>	Pontederiaceae	82

(\*) Aislado como glicósido. (\*\*) Detectado.

### B. *Cnidioscolus multilobus*

*Cnidioscolus multilobus* es un arbusto de hasta tres metros de altura, que produce un jugo lechoso; posee hojas de unos 30 centímetros de diámetro, con vellosidades urticantes y flores blancas unisexuales. Se distribuye en el este y sur del país.<sup>41</sup>

Se conoce también como "chichicaste", "ortiga" y "mala mujer lisa" y al igual que otras especies de este género, que reciben estos nombres populares, se utiliza en el tratamiento de enfermedades venéreas, como diurético y purgante.<sup>41</sup>

De las hojas secas de esta planta fueron aislados y caracterizados, además de  $\beta$ -sitosterol (2), tres metabolitos secundarios de naturaleza terpenoide.

La determinación estructural de los triterpenoides se realizó por comparación de sus correspondientes datos físicos y espectroscópicos con los informados en la literatura, para ellos y para moléculas relacionadas.<sup>88-102</sup>

#### Acetato de Moretenilo (15).

La primera de estas sustancias, la cual fue extraída con hexano, muestra una banda en  $1733\text{ cm}^{-1}$  en el espectro de infrarrojo (Espectro 17) que corresponde a un carbonilo de éster. En  $1655$  y  $888\text{ cm}^{-1}$  son observadas las bandas características de un metileno terminal.

En el espectro de resonancia magnética nuclear de hidrógeno (Espectro 18) se aprecia una señal singulete amplia, centrada en  $4.66\text{ ppm}$  ( $W_{1/2} = 6\text{ Hz}$ ) que integra para dos protones y

que se asigna a los hidrógenos vinílicos del metileno terminal, señalado en el espectro de infrarrojo.



Figura 23

Uno de los sustituyentes de la doble ligadura, es un grupo metilo de acuerdo con el singlete centrado en 1.67 ppm con integración para tres hidrogenos, según se indica en la figura 24.



Figura 24

La señal de un hidrogeno geminal a un grupo electronegativo, se observa en 4.49 ppm en forma de doble de doble con constantes de acoplamiento de 11 y 6 Hz, indicando interacciones axial-axial y axial-ecuatorial de este protón con dos hidrógenos vecinos.

En 2.04 ppm se observa un singlete con integración de tres unidades, atribuido a un éster acético.

Las dos últimas señales pueden relacionarse debido a la ausencia de otros grupos electronegativos en la molécula, de la siguiente manera (figura 25).

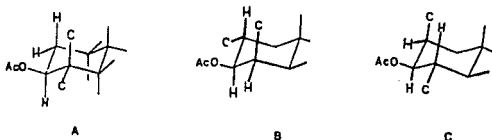
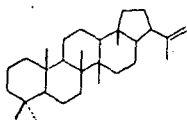


Figura 25

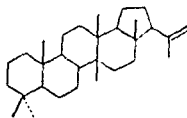
Las estructuras B y C son descartadas tomando en cuenta el origen terpenico de este tipo de sustancias y por la discusión que se describe a continuación.

En la zona de 1.0 a 0.5 ppm del espectro de resonancia magnética protonica son observados seis metilos, como señales singuletes, según se informa en la parte experimental.

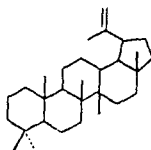
El ion molecular 468 observado en el espectro de masas de esta sustancia (Espectro 20) cumple para la fórmula molecular  $C_{22}H_{32}O_2$ . Este dato, aunado a la anterior información espectroscópica, establece la estructura de un triterpeno pentacíclico, lo que se deduce del índice de insaturaciones de la fórmula molecular. Los metabolitos secundarios que reúnen las características estructurales antes mencionadas son ciertos grupos de triterpenos con los esqueletos carbonados señalados en la figura 26.



HOP-22(29)-ENO



FERN-22(29)-ENO



LUP-20(29)-ENO

Figura 26



La sustancia 15 debe poseer alguno de estos tres tipos de esqueletos, lo cual será analizado en la descripción del siguiente compuesto.

Acetato de Lupeljo (17).

Un isómero del compuesto anterior, fue obtenido en fracciones de igual polaridad a aquellas de las que fue aislada la sustancia 15. Ambos compuestos tienen valores de  $R_f$  iguales en diferentes sistemas de elución y sólo pudieron ser separados mediante cristalizaciones fraccionadas sucesivas.

El espectro de infrarrojo de la sustancia 17, (Espectro 25) exhibe bandas en  $1719\text{ cm}^{-1}$  (carbonilo de ester);  $1639$ ,  $1455$  Y  $887\text{ cm}^{-1}$  (doble ligadura gem-disubstituida), semejantes a las encontradas en el correspondiente espectro de infrarrojo del producto anterior 15, por lo que 17 posee también los mismos grupos funcionales.

En el espectro de resonancia magnética protónica de este último compuesto (Espectro 25) son observadas dos señales dobletes ( $J = 2\text{ Hz}$ ) para hidrógenos vinílicos, centradas en  $4.66$  y  $4.54$  ppm, cada una integrando para una unidad. Estas señales son atribuidas a los hidrógenos olefinicos del metileno terminal (figura 23).



Figura 23

La diferencia observada en la multiplicidad y en el

desplazamiento químico de las señales correspondientes de los hidrogenos olefinicos de las sustancias 15 y 17, puede ser explicada por la equivalencia magnética para el primer caso (singlete) y la no equivalencia magnética para el segundo (dos señales dobles).

Esto es explicado en el trabajo de Corbett,<sup>80</sup> en el cual se hace notar la diferencia entre triterpenos pentacíclicos que poseen un grupo isopropenilo en la posición C-19, como en el caso del lup-20(22)-eno y derivados; y los que poseen al mismo radical en la posición C-21 como en los casos de hop-22(29)-enos y fern-22(29)-enos (figura 27).

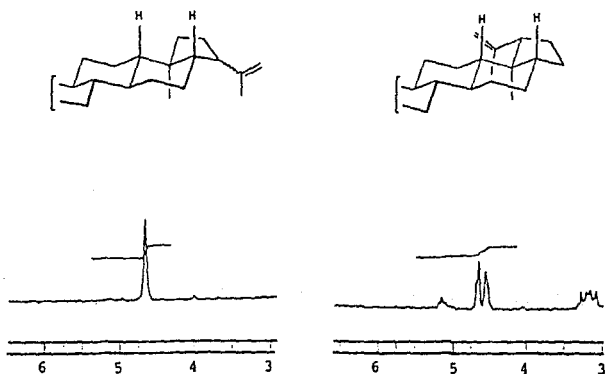


Figura 27

En el primero de estos casos, la proximidad de los dos átomos de hidrógeno de C-12 con el isopropenilo, disminuye la libre rotación del enlace C(19)-C(22), resultando en la no equivalencia magnética de los protones olefinicos, como consecuencia de la conformación molecular preferida.<sup>40</sup>

La sustancia 17, al mostrar en su espectro de resonancia magnética protónica (Espectro 26), dos señales dobles para los hidrógenos vinílicos, debe pertenecer a la serie de los lup-20(22)-enos (figura 28).

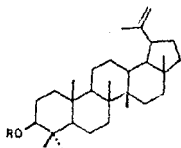


Figura 28

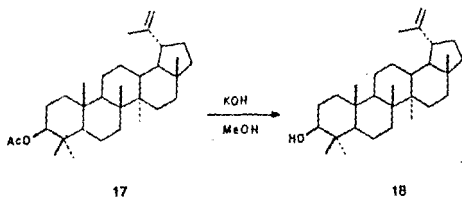
El espectro 25 muestra también una señal doblete de doblete, con constantes de acoplamiento de 11 y 6 Hz, centrada en 4.44 ppm, asignada al hidrógeno geminal a un grupo acetato en la posición C-3 de estos triterpenoides.

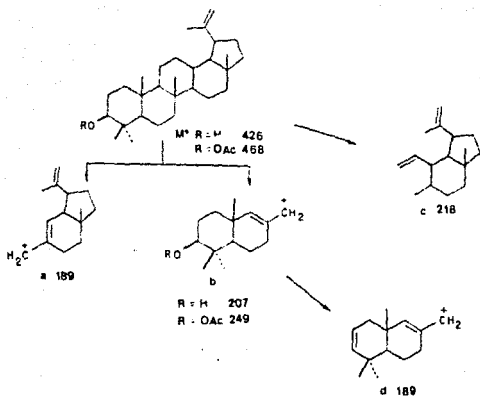
Las señales singuletes en 2.04 y 1.67 ppm, cada una integrando para tres unidades, son atribuidas a los protones de acetato y metilo vinílico, respectivamente. La comparación de estas señales y aquellas desplazadas en la zona de 1.1 a 0.7 ppm, con las informadas en la literatura para moléculas relacionadas, permite establecer identidad de esta la sustancia (17) como la

del acetato de lupello.<sup>8d,9a</sup>

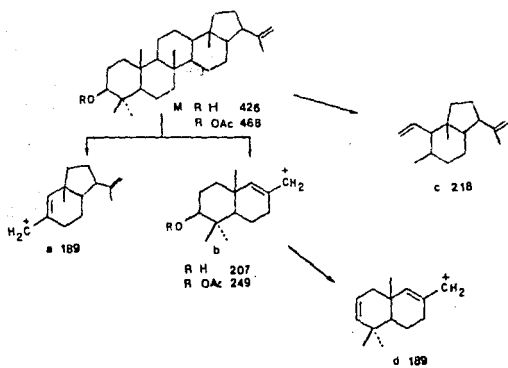
El patrón de fragmentación característico de este tipo de triterpenos,<sup>9b,9d</sup> es observado en el espectro de masas (Espectro 27) del compuesto 17, el cual presenta un ión molecular con  $m/z$  468 y fórmula molecular  $C_{32}H_{52}O_2$ . La primera ruptura en la molécula es debida a la eliminación de 15 unidades de masa, originando un fragmento a de  $m/z$  453 (Esquema 3). La apertura del anillo C de la molécula da origen a fragmentos importantes que diagnostican en gran medida a este tipo de triterpenos.<sup>9b,9d</sup> El fragmento b de  $m/z$  189 es generado de esta ruptura, junto con un fragmento de  $m/z$  249 (fragmento c), el cual sufre la eliminación de una molécula de ácido acético produciendo un fragmento de  $m/z$  igual a la del fragmento b. La apertura en el anillo A de este último fragmento, mediante un mecanismo retro Diels-Alder, conduce a la formación del fragmento  $m/z$  107 (fragmento d) y del de  $m/z$  81 (fragmento e). De la misma ruptura en el anillo C del ión molecular puede originarse un fragmento f de  $m/z$  218, siendo característico para estos compuestos.

La estructura propuesta para esta substancia, fue corroborada por la hidrólisis alcalina del compuesto 17, la cual genera el alcohol correspondiente 18.





Esquema 3



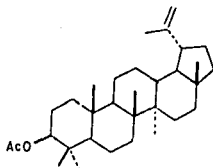
Esquema 4

El alcohol 18 exhibe en el espectro de infrarrojo (Espectro 28) la banda característica de la absorción del hidroxilo en  $3612\text{ cm}^{-1}$ , así como las bandas de las vibraciones de la doble ligadura gem-disustituida en  $1639$  y  $887\text{ cm}^{-1}$

Los cambios más importantes entre el espectro de RMN  $^1\text{H}$  de este producto (18) (Espectro 29) y el correspondiente espectro (Espectro 26) de la materia prima (17), son el desplazamiento hacia campo alto de la señal del hidrogeno geminal en C-3 ( $4.44\text{ ppm} \rightarrow 3.17\text{ ppm}$ ) y la ausencia de la señal singulete del grupo acetato en  $2.04\text{ ppm}$ .

El espectro de masas de 18 (Espectro 31) muestra un patrón de fragmentación análogo al descrito en el esquema 3.

El espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  del producto de reacción (Espectro 30), fue comparado con los datos reportados en la literatura para el mismo alcohol<sup>85, 88</sup> y moléculas relacionadas<sup>85, 86</sup> y corrobora las estructuras propuestas tanto para la substancia 17 como para el producto de hidrólisis 18, identificando de esta manera a la substancia aislada de *Cnidioscolus multilobus* como el acetato de lupeilo (17).



17

Por otra parte, el enlace C(21)-C(22) en hop-22(29)-eno y fern-22(29)-eno, y derivados, posee mayor libertad de giro, dando como consecuencia la equivalencia magnética que hace aparecer a los dos hidrógenos olefinicos como una señal singlete en el espectro de resonancia magnética protónica,<sup>89</sup> (Figura 27).

Por lo tanto, la estructura del primer acetil derivado mencionado (15) debe poseer un esqueleto carbonado con el isopropenilo en la posición C-21, ya sea del tipo hopano o del tipo fernano.<sup>87-92</sup>

La selección del esqueleto carbonado para esta substancia, se realizará mediante la descripción del tercer triterpenoide aislado de *Cnidioscolus multilobus*, así como por ensayos de correlación química entre ambos.

#### Mopetenona (19).

Este tercer triterpenoide exhibe en su espectro de infrarrojo (Espectro 32) las bandas que caracterizan a las vibraciones C=C de la doble ligadura terminal, gem-disustituida en 1640 y 889  $\text{cm}^{-1}$ , como ya fue mencionado para los compuestos anteriores. Se observa también, en este espectro, una banda para carbonilo de cetona en anillo de seis miembros en 1697  $\text{cm}^{-1}$ .

La ausencia de señales para hidrógenos geminales a grupos hidroxilo o acetato en el espectro de resonancia magnética protónica (Espectro 33) y la anterior evidencia de una ciclohexanona por el espectro de IR, hacen suponer que el carbonilo se ubica en el mismo átomo de carbono de los terpenoides

anteriores, tratándose así de un 3-oxo-triterpeno.

En 4.67 ppm se observa el singlete para los dos hidrógenos olefinicos, que corresponde a triterpenos pentacíclicos con sustituyente isopropenilo en C-21. Tal señal se observa también para la sustancia 15, por lo que se realizó la comparación de estos compuestos.

En el espectro de RMN  $^1\text{H}$  (Espectro 33) de este tercer triterpenoide se puede apreciar también la señal singlete de protones alílicos en 1.68 ppm, correspondiente a los hidrógenos del metilo vinílico. La comparación de los valores de desplazamiento químico de los hidrógenos metílicos, alílicos y vinílicos indicaron una notable similitud con los valores informados para sustancias con esqueleto del hopano, por lo que se tomó este triterpeno como base estructural.

En la estructura hopanoide indicada puede existir isomería en C-21, dando lugar a dos grupos de compuestos: hopanos (21 $\beta$ H) y moretanos (21 $\alpha$ H). La discriminación entre ambas posibilidades estructurales fue realizada mediante el análisis de las características espectroscópicas de RMN  $^1\text{H}$  del producto natural 19. Las señales a campo alto para los grupos metilo, en el espectro de resonancia protónica a 300 MHz de la cetona (Espectro 33) fueron cuidadosamente comparadas con las reportadas para hopenona B<sup>86</sup>(20) y su epímero en C-21, 21 $\alpha$ H-hop-22(29)-enona<sup>87</sup>(19) encontrándose muy semejantes en cuanto a desplazamiento químico. Sin embargo, existe una diferencia significativa en los desplazamientos químicos de los protones



vinílicos ( $\text{OH-20}_{20}$ : 4.81 ppm;  $\text{OH-20}_{10}$ : 4.67 ppm) y alílicos ( $\text{OH-30}_{20}$ : 1.77 ppm;  $\text{OH-30}_{10}$ : 1.67 ppm) de ambos epimeros, según se observa en la tabla 8.

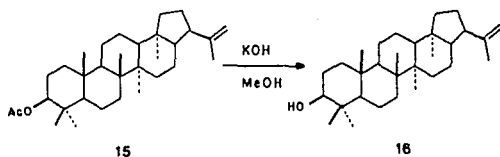
Tabla 8. Desplazamiento químico de metilos y protones vinílicos y alílicos de los compuestos (16), (19), (20) y (21). (CDCIs).

Compuesto	C-23	C-24	C-25	C-26	C-27	C-28	C=CH <sub>2</sub>	C=C-CH <sub>3</sub>
16*	1.00	-----	-----	-----	-----	0.70	4.73	1.67
16**	0.97	0.77	0.84	0.94	0.94	0.70	4.67	1.67
16***	0.97	0.78	0.82	0.94	0.94	0.68	4.68	1.67
21*	0.98	0.76	0.82	0.98	0.93	0.72	4.78	1.75
19*	1.08	1.02	0.94	1.02	0.94	0.68	4.67	1.67
19***	1.08	1.03	0.95	1.03	0.95	0.70	4.67	1.67
20*	1.08	1.03	0.96	1.03	0.96	0.75	4.81	1.77

(\*) Datos de la literatura. (\*\*). Espectro a 80 MHz.  
 (\*\*\*) Espectro a 300 MHz.

Lo anterior establece la estructura de la 210H-hop-22(29)-enona para la cetona natural 19.

La hidrólisis del acetato 15 con hidróxido de potasio en metanol, dió como producto el alcohol 16, cuyos datos físicos y espectroscópicos fueron comparados con los reportados para el moretenol (16)<sup>84</sup> (ver tablas 8 y 9), estableciéndose su identidad.



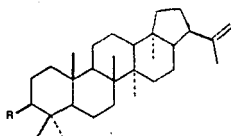
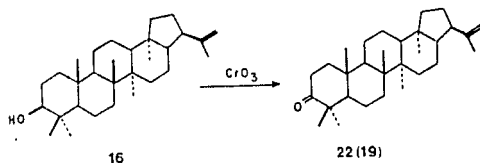


Tabla 9. Desplazamientos químicos de RMN  $^{13}\text{C}$  de 23, 16, 15 y 19.

C	23	16	15	19
	R = H	R = OH	R = OAc	R = =O
1	40.40 t	37.76 t	38.68 t	39.54 t
2	18.80 t	23.67 t	27.33 t	34.15 t
3	42.20 t	80.92 d	78.98 d	218.04 s
4	33.30 s	38.36 s	38.83 s	47.32 s
5	56.20 d	55.15 d	55.26 d	54.81 d
6	18.80 t	18.25 t	18.37 t	19.73 t
7	33.40 t	33.26 t	34.25 t	32.63 t
8	42.30 s	41.69 s	41.68 s	41.62 s
9	50.50 d	50.26 d	50.34 d	49.68 d
10	37.50 s	37.00 s	37.08 s	36.80 s
11	21.00 t	21.04 t	21.03 t	21.55 t
12	24.10 t	23.83 t	23.86 t	23.88 t
13	48.80 d	48.65 d	48.65 d	48.77 d
14	42.00 s	42.20 s	42.21 s	42.28 s
15	32.70 t	32.59 t	32.61 t	32.63 t
16	21.00 t	20.83 t	20.84 t	20.80 t
17	54.00 d	53.83 d	53.81 d	53.81 d
18	44.30 s	44.17 s	44.19 s	44.15 s
19	40.30 t	40.14 t	40.14 t	40.15 t
20	27.40 t	27.33 t	27.33 t	27.30 t
21	48.00 d	47.86 d	47.87 d	47.82 d
22	148.30 s	148.16 s	148.18 s	148.03 s
23	33.50 q	27.95 q	27.96 q	26.54 q
24	21.70 q	16.68 q	15.36 q	21.08 q
25	16.00 q	15.95 q	16.10 q	15.73 q
26	16.70 q	16.48 q	15.94 q	16.48 q
27	16.90 q	16.56 q	16.60 q	16.48 q
28	15.20 q	15.09 q	15.10 q	15.14 q
29	109.50 t	109.43 t	109.44 t	109.48 t
30	19.70 q	19.66 q	19.64 q	19.64 q
COCH <sub>3</sub>		70.98 s		
COCH <sub>3</sub>		21.31 q		

El alcohol 16 fue oxidado con trióxido de cromo en piridina produciéndose la cetona 22, la cual fue comparada espectroscópicamente con el producto natural 19, aislado de *Cnidoscopus multilobus*, determinándose la identidad de ambos compuestos.



La anterior correlación química establece el esqueleto carbonado de hopano para el compuesto 15 y específicamente la estructura de acetato de 21 $\alpha$ H-hop-22(29)-en-3 $\beta$ -ilo.

La investigación bibliográfica acerca de estos productos naturales, revela informes sobre aislamiento y caracterización de moretenona (19) y moretenol (16) de diversas fuentes naturales, en particular, de plantas de la familia Euphorbiaceae.<sup>84,87</sup>

Existen también informes sobre los datos físicos y espectroscópicos del acetato de moretenio (15).<sup>92</sup> Sin embargo, este es el primer reporte del mismo como un producto natural.

Los datos espectroscópicos de RMN <sup>13</sup>C de estos hopanos (Espectros 19, 23, 34) confirman las estructuras propuestas. Las señales en estos espectros fueron comparadas con las reportadas para estructuras relacionadas, en particular, con las de

moretenona (19)<sup>101</sup> y moreteno (23)<sup>102</sup> observándose un fuerte efecto gamma-gauche (Tabla 9) sobre los átomos de carbono C-23 y C-24 a causa de la presencia de los grupos hidroxilo en 16 ó acetato en 15, en relación al compuesto no oxigenado 23.

Este efecto diamagnético es observado también en el caso de la cetona 19, pero solamente para el átomo de carbono C-23, debido a la conformación adoptada de esta molécula. Un efecto protector gamma-trans es observado para el átomo de carbono C-1, en los casos de las sustancias 15 y 16, siendo casi nulo en la cetona 19, los tres con relación al terpeno 23.

El patron de fragmentación de estos compuestos, es descrito en el esquema 4. La eliminación de 15 unidades de masa produce el fragmento a. La apertura del anillo C, genera un ion característico de  $m/z$  189, correspondiente a los anillos D y E de la molécula. Otros fragmentos importantes son los que contienen a los anillos A y B, que por eliminación de la funcionalidad en C-3 puede derivar también un fragmento de  $m/z$  189.

Es importante señalar que la elucidación estructural de este tipo de productos naturales, requiere extrema minuciosidad en el análisis espectroscópico, ya que existen varias posibilidades regio y estereoisoméricas en triterpenos pentacíclicos, algunas de las cuales coexisten en la misma fuente natural.

En particular, las series de lupanos y hopanos están relacionadas biogenéticamente por el carbocation intermediario 23, en el cual la migración del enlace sigma a través de la ruta a genera la serie de hopanos, mientras que la migración de este

enlace por la ruta b, da lugar a la formación de lupanos, como se observa en la figura 29.

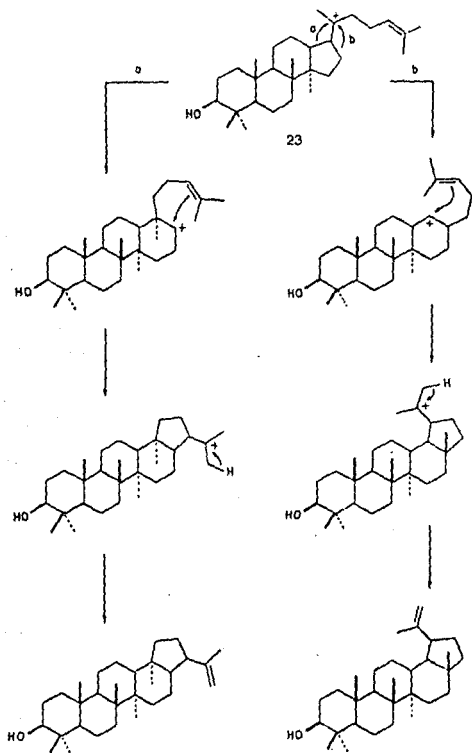


Figura 29.

## vi. CONCLUSIONES

Del estudio fitoquímico de *Croton draco* y *Cnidioscolus multiflorus* (Euphorbiaceae) se pueden derivar las siguientes conclusiones:

De *Croton draco* se aislaron y caracterizaron cinco metabolitos secundarios terpenoides (1, 2, 3, 4 y 13). No se detectó la presencia del diterpeno clerodánico H, previamente aislado de esta especie. Lo anterior puede ser explicado por el tipo de material vegetal utilizado en cada estudio y a variaciones oncogénicas.

El castaprenol-II (1) y el vomifolol (13) han sido aislados de esta familia de plantas y en el caso particular del último, se ha caracterizado y detectado en plantas del género *Croton*.

- De especial interés resultó el aislamiento del peróxido de ergosterol (4), el cual se ha aislado de levaduras, hongos, algas y líquenes. Esta la segunda ocasión que se aísla de vegetales superiores.

El origen natural de este compuesto ha sido motivo de controversia, pero se ha demostrado que puede generarse por ambas rutas. Sin embargo, en este estudio podría descartarse la posibilidad del origen artefactual, al no detectarse la presencia del dieno precursor (7).

Por otro lado, el tipo de compuestos aislados de *Cnidioscolus multiflorus*, (15, 17 y 19) es muy semejante a los encontrados en este género y en otras especies de la familia

Euphorbiaceae No obstante, en la determinación estructural de triterpenoides pentacíclicos como los encontrados en la presente investigación, debe realizarse un análisis espectroscópico minucioso, para evitar interpretaciones erróneas por la semejanza de los diferentes esqueletos carbonados.

Esta es la primera ocasión que se informa la estructura del acetato de moretenilo (15) como producto natural.



## VII. PARTIE EXPERIMENTAL

#### A. *Croton draco*

La especie *Croton draco* fue colectada en la presa de Temascal, en los límites de Veracruz y Oaxaca.

Las partes aéreas de esta planta (3.0 Kg de hojas secas) se sometieron a extracción con hexano durante tres días, a temperatura ambiente, mediante un proceso de maceración, obteniéndose 35.27 g de extracto hexánico (Esquema 5).

Las hojas desengrasadas fueron maceradas con metanol, bajo las mismas condiciones, lo que rindió 246.0 g de extracto metanólico.

El extracto hexánico fue adsorbido en gel de sílice desactivada con agua al 10% y aplicado en una columna de cromatografía, utilizando gel de sílice como fase estacionaria y un sistema de n-hexano-acetato de etilo, de polaridad creciente como fase móvil. Se colectaron eluatos de aproximadamente 500 ml. Las primeras fracciones (1 - 21), eluidas con hexano, contenían solamente ceras y ácidos grasos, que no fueron caracterizados. Las fracciones posteriores (22 - 35, 1.114 g) eluidas también con hexano, estaban constituidas por una mezcla de productos poco polares que tampoco fueron caracterizados. Las fracciones 36 - 43 (7.52 g) se adsorbieron en gel de sílice desactivada al 10% y se aplicaron en una columna de cromatografía empacada con gel de sílice tratada de igual manera, se utilizó n-hexano como eluyente y se colectaron eluatos de aproximadamente 100 ml.

Las fracciones 3 y 4 de esta recromatografía (158 mg)

fueron reunidas y aplicadas en una cromatoplaaca preparativa, la cual fue eluida con la mezcla de n-hexano-acetato de etilo (90:10). Del anterior procedimiento, se obtuvo 100 mg de una mezcla de tres componentes con valores de Rf muy parecidos. Esta mezcla fue entonces aplicada a una columna de cromatografia empacada con gel de silice (3.0 g) desactivada al 10% con agua destilada. Como resultado de esto, se logro la purificacion del componente mayoritario, obteniendose un total de 80 mg de compuesto (1).

Los datos fisicos y espectroscopicos de esta sustancia son los siguientes:

Castaprenol-II (1).

Aspecto fisico: consistencia aceitosa, incolora.

IR (CHCl<sub>3</sub>) cm<sup>-1</sup>: 3600, 2960, 2940, 2860, 1660, 1450, 1380, 970.

RMN<sup>1</sup>H (80 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 5.42 (t, J = 7 Hz, 1H, H<sub>2</sub>), 5.12 (m, w 1/2 = 12 Hz, 10 H, C=C-H), 4.08 (d, J = 7 Hz, 2H, H<sub>1</sub>), 2.11 (s) y 2.07 (s) ambos para 40H, 1.78 (s, 3H, C=C-CH<sub>3</sub>), 1.73 (s, 21H, C=C-CH<sub>3</sub>), 1.64 (s, 12H, C=C-CH<sub>3</sub>).

RMN<sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 5.45 (t, J = 7 Hz, 1H, H<sub>2</sub>), 5.12 (m, w 1/2 = 12 Hz, 10.43H, C=C-H), 4.09 (d, J = 7 Hz, 2H, H<sub>1</sub>), 2.11 (m) y 2.07 (m) ambos para 39.57H, 1.75 (s, 3H, C=C-CH<sub>3</sub>), 1.68 (s, 21H, C=C-CH<sub>3</sub>), 1.60 (s, 12H, C=C-CH<sub>3</sub>).

RMN<sup>13</sup>C (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 139.86 (s), 136.06 (s), 135.35 (s, x3), 135.26 (s, x2), 135.23 (s), 134.95 (s), 134.87 (s), 131.21 (s), 125.12 (d), 125.00 (d, x2), 124.92 (d), 124.87

(d), 124.51 (d), 124.44 (d), 124.39 (d), 124.24 (d), 124.21 (d),  
124.12 (d), 58.99 (t), 39.75 (t), 39.71 (t), 32.19 (t), 31.97 (t),  
26.75 (t), 26.55 (t), 26.39 (t), 26.29 (t), 25.69 (q), 23.42 (q),  
23.35 (q), 17.67 (q), 15.98 (q).

EMIE, 70 eV, (int. rel.): 748 ( $M^+$  - H<sub>2</sub>O) (0.2), 681 ( $M^+$   
- C<sub>5</sub>H<sub>7</sub>) (0.2), 611 (0.2), 550 (0.2) 95 (48), 93 (35), 81 (82), 69  
(100).

Los datos anteriores establecen la estructura de un poliprenol con once unidades de isopreno (1).

Las fracciones siguientes (50 - 66) eluidas con n-hexano-acetato de etilo (90:10) contenian principalmente la mezcla de los esteroides  $\beta$ -sitosterol y estigmasterol.

De estos, el  $\beta$ -sitosterol fue el constituyente mas abundante. Sus datos fisicos y espectroscopicos son los siguientes:

$\beta$ -sitosterol (2).

Aspecto fisico: agujas blancas,  $mp = 138 - 139 ^\circ C$

IR (CHCl<sub>3</sub>)  $cm^{-1}$ : 3605, 3027, 2959, 2869, 1464, 1380,  
1044, 1019.

RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  5.12 (dd, J = 6,6 Hz, 1H, H<sub>6</sub>), 3.41 (dddd, J = 11, 6 Hz, 1H, H<sub>5</sub>), 2.25 (d, J = 6 Hz, 2H, H<sub>3</sub>), 1.51 (sa, 1H, -OH), 0.89 (s, 3H, H<sub>18</sub>), 0.79 (d, J = 7 Hz, 3H, H<sub>21</sub>), 0.72 (t, J = 7 Hz, 3H, H<sub>20</sub>), 0.69 (d, J = 7 Hz, 6H, H<sub>25,27</sub>), 0.55 (s, 3H, H<sub>19</sub>).

EMIE. 70 eV, (int. rel.): 414 ( $M^+$ ), 396 ( $M^+ - H_2O$ ) (27),  
43 (100).

El estigmasterol se aisló en menor proporción, obteniéndose solamente 63 mg del compuesto puro, cuyos datos característicos son los siguientes:

Estigmasterol (3).

Aspecto físico: agujas blancas  $m_p = 162^\circ C$

IR (CHCl<sub>3</sub>)  $cm^{-1}$ : 3595, 2940, 2865, 1460, 1375

RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  5.34 (dd, J = 5.5 Hz, 1H, H<sub>6</sub>), 5.155 (dd, J = 15.17, 8.4 Hz, 1H, H<sub>22</sub>), 5.02 (dd, J = 15.17, 8.4 Hz, 1H, H<sub>23</sub>), 3.508 (dddd, J = 11, 6 Hz, 1H, H<sub>8</sub>), 1.022 (d, J = 6.99 Hz, 6H, H<sub>26,27</sub>), 1.01 (s, 3H, H<sub>19</sub>), 0.847 (d, J = 6.5 Hz, 3H, H<sub>21</sub>), 0.806 (t, J = 7 Hz, 3H, H<sub>20</sub>), 0.70 (s, 3H, H<sub>10</sub>).

EMIE. 70 eV, (int. rel.): 412 ( $M^+$ ) (2), 397 ( $M^+ - CH_3$ ) (1.4), 394 ( $M^+ - H_2O$ ) (2), 83 (42), 41 (50), 43 (68), 55 (100)

El extracto metanólico (246 g) fue suspendido en 500 ml de una mezcla de metanol-agua (1:1). La suspensión resultante fue particionada con un volumen igual de cloroformo. La fase acuosa se trató dos veces más con volúmenes iguales de cloroformo. Las fases orgánicas reunidas se lavaron con 250 ml de agua destilada, después de lo cual se secaron con sulfato de sodio anhidro. La evaporación del disolvente por destilación produjo 61.0 g de extracto orgánico. El agua de lavado fue reunida con la

primera fase acuosa y posteriormente extraída con 300 ml de acetato de etilo, realizándose la extracción dos veces más con volúmenes iguales del disolvente orgánico. Este último fue tratado de igual manera que el extracto clorofórmico obteniéndose 4.0 g de extracto seco. La fracción acuosa fue desechada.

El extracto de acetato de etilo (4.0 g) fue adsorbido en gel de sílice desactivada al 10% con agua destilada, y aplicado a una columna de cromatografía empacada con este mismo material. Para el desarrollo de esta cromatografía se utilizaron sistemas de n-hexano-acetato de etilo de polaridad creciente, colectándose eluatos de aproximadamente 100 ml. Las fracciones eluidas con hexano, contenían ceras y grasas. Las fracciones 39 - 92 eluidas con hexano-acetato de etilo en proporciones de 90:10 y 80:20 contenían como constituyente más abundante *β*-sitosterol.

Las fracciones 178 - 185 eluidas con hexano-acetato de etilo (50:50), estaban constituidas por vomifolol (13), el cual fue cristalizado en el mismo sistema utilizado para su elución.

Los datos físicos y espectroscópicos obtenidos para este compuesto son los siguientes:

Vomifolol (13).

Aspecto físico: agujas finas, color amarillo pálido

pf = 114 - 115 °C, 20 mg

IR (CHCl<sub>3</sub>) cm<sup>-1</sup>: 3609, 3030, 3015, 2973, 2896, 1661,  
1439, 975

UV: λ<sub>max</sub> 235 (log ε = 4.05, EtOH),

RO:  $\alpha_D^{25} = + 51.13$  (CHCl<sub>3</sub>, c 0.26)

RMN <sup>1</sup>H (80 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 5.92 (d, J = 15 Hz, 1H, H<sub>7</sub>), 5.82 (m, w 1/2 = 5 Hz, 1H, H<sub>4</sub>), 5.70 (d, J = 15 Hz, 1H, H<sub>6</sub>), 4.38 (qdd, J = 6, 3, 1 Hz, 1H, H<sub>5</sub>), 2.5, 2.2 (ABq, J = 18 Hz, 2H, H<sub>2</sub>), 1.89 (d, J = 3 Hz, 3H, C=C-CH<sub>3</sub>), 1.28 (d, J = 6 Hz, 3H, H<sub>10</sub>), 1.06 (s, 3H, H<sub>11</sub>) 1.0 (s, 3H, H<sub>12</sub>).

Experimento de irradiación de algunas señales en el espectro de RMN <sup>1</sup>H.

Zona irradiada (ppm)	Señal (ppm)	
1.00 - 1.75	4.38, qdd, ----->	dd, J=6,3,1 Hz J=3,1 Hz
1.35 - 2.00	5.82, m, ----->	s, -
2.00 - 3.00	-	-
4.00 - 5.00	1.28, d, ----->	s, J = 6 Hz
	5.78, m, ----->	s,
5.20 - 6.00	1.89, d, ----->	s,
	4.38, qdd, ----->	q, J = 6 Hz

Adición de Eu(fod)<sub>3</sub> al espectro de RMN <sup>1</sup>H de la sustancia 19.

δ(ppm)	Eu(fod) <sub>3</sub>		(mg)	
	2.70	4.90	7.00	8.80
1.05	1.20	1.37	1.59	1.79
1.11	1.30	1.51	1.77	2.03
1.28	1.60	1.92	2.31	2.67
1.89	2.08	2.29	2.55	2.77
2.02	--	--	--	--
2.20	2.67	3.28	4.02	4.67
2.50	3.00	3.65	4.42	5.13
4.38	4.82	5.43	6.10	6.73
5.78	6.18	6.62	7.19	7.60
5.84	6.35	6.92	7.61	8.28

RMN  $^{13}\text{C}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  198.41 (s), 163.48 (s), 135.64 (d), 129.90 (d), 126.66 (d), 78.94 (s), 67.92 (d), 49.61 (t), 41.14 (s), 23.97 (q), 23.64 (q), 22.85 (q), 19.00 (q).

EMIE, 70 eV, (int. rel): 224 ( $\text{M}^+$ ) (0.2), 206 ( $\text{M}^+ - \text{H}_2\text{O}$ ) (5), 168 (22), 124 (100), 79 (13), 43 (29), 41 (13).

EMIQ, 70 eV, (int. rel.): 225 ( $\text{M}^+ + 1$ ) (31), 208 (20), 207 (100), 124 (16).

El extracto cloroformico (61.0 g) fue tambien adsorbido y aplicado en una columna de cromatografía empacada con gel de sílice. Se utilizó el sistema de n-hexano-acetato de etilo como fase móvil y se colectaron eluatos de 500 ml aproximadamente.

De este procedimiento se tiene el siguiente fraccionamiento cromatográfico:

Polaridad n-Hex-AcOEt.	Eluatos	
100:00	1	- 19
95:05	20	- 33
90:10	34	- 44
90:10	45	- 66
90:10	67	- 71
85:15	72	- 75
85:15	76	- 85
85:15	86	- 106
80:20	107	- 120
80:20	121	- 135
80:20	136	- 154
80:20	155	- 167
70:30	168	- 179
70:30	180	- 198
60:40	199	- 236
60:40	237	- 262
50:50	263	- 273



Por examinación de la composición de sustancias en cada una de las fracciones anteriores, mediante cromatografía analítica, se determinó la mayor homogeneidad de sustancias en algunas de ellas, las cuales fueron recromatografiadas.

Las fracciones 168 - 179 (17 g) fueron aplicadas a una columna de cromatografía utilizando como soporte gel de sílice (50 g) desactivada al 10% con agua destilada y n-hexano-acetato de etilo como sistema de elución. Se colectaron eluatos de aproximadamente 100 ml. Las primeras fracciones de esta recromatografía no fueron analizadas. Las fracciones 21 - 29 eluidas con hexano-acetato de etilo (60:40) (320 mg) estaban constituidas por una mezcla de tres componentes.

100 mg de este extracto se aplicaron en una placa preparativa, que se eluyó con la mezcla hexano-acetato de etilo (90:10), lográndose la purificación de una sustancia (21 mg) que presenta los siguientes datos físicos y espectroscópicos:

Péroxido del ergosterol (4).

Aspecto físico: agujas finas, color amarillo claro

$$m_p = 176 - 179 \text{ } ^\circ\text{C}$$

IR (CHCl<sub>3</sub>) cm<sup>-1</sup>: 3609, 3024, 3007, 2958, 2932, 2871, 1673, 1450, 1377, 1172

UV:  $\lambda_{max}$  199 (log  $\epsilon$  = 2.9, EtOH)

RO.  $[\alpha]_D^{25} = -11.36$  (CHCl<sub>3</sub>, c 0.22)

$[\alpha]_D^{25} = -7.52$

$[\alpha]_D^{25} = -5.45$

RMN  $^1\text{H}$  (80 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  6.48 (d, J = 8.5 Hz, 1H, H<sub>7</sub>),  
6.18 (d, J = 8.5 Hz, 1H, H<sub>6</sub>), 5.16 (m, 2H, H<sub>2,2s</sub>), 3.92 (m, 1H,  
H<sub>3</sub>), 1.04 (s, 3H), 0.95 (d, J = 7 Hz, 6H),

RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  6.50 (d, J = 8.5 Hz, 1H, H<sub>7</sub>),  
6.24 (d, J = 8.5 Hz, 1H, H<sub>6</sub>), 5.22 (dd, J = 15.14, 7.8 Hz, 1H,  
H<sub>2</sub>), 5.14 (dd, J = 15.14, 7.8 Hz, 1H, H<sub>2a</sub>), 3.95 (tt, J = 11.47,  
5.13 Hz, 1H, H<sub>3</sub>), 0.997 (d, J = 6.59 Hz, 3H, H<sub>21</sub>), 0.906 (d, J =  
6.84 Hz, 3H, H<sub>20</sub>), 0.883 (s, 3H, H<sub>19</sub>), 0.831 (d, J = 6.77 Hz, 3H,  
H<sub>20</sub>), 0.815 (s, 3H, H<sub>18</sub>), 0.814 (d, J = 6.84 Hz, 3H, H<sub>27</sub>)

RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz, CoD<sub>6</sub>):  $\delta$  6.28 (d, J = 8.3 Hz, 1H, H<sub>7</sub>),  
5.95 (d, J = 8.3 Hz, 1H, H<sub>6</sub>), 5.251 (dd, J = 15.38, 7.57 Hz, 1H,  
H<sub>2</sub>), 5.136 (dd, J = 15.38, 7.57 Hz, 1H, H<sub>2a</sub>), 3.936 (tt, J =  
11.4, 5.1 Hz, 1H, H<sub>3</sub>), 1.001 (d, J = 6.83 Hz, 3H, H<sub>21</sub>), 0.991 (d, J  
= 6.83 Hz, 3H, H<sub>20</sub>), 0.914 (d, J = 6.83 Hz, 3H, H<sub>20</sub>), 0.908 (d, J  
= 6.83 Hz, 3H, H<sub>27</sub>), 0.671 (s, 3H, H<sub>19</sub>), 0.604 (s, 3H, H<sub>18</sub>).

RMN  $^{13}\text{C}$  (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  135.40 (d), 135.19 (d),  
132.29 (d), 130.74 (d), 82.16 (s), 79.43 (s), 66.47 (d), 56.18  
(d), 51.67 (d), 51.07 (d), 44.55 (s), 42.76 (d), 39.73 (d), 39.33  
(s), 36.95 (s), 36.91 (t), 34.68 (t), 33.06 (d), 30.09 (t), 28.64  
(t), 23.40 (t), 20.87 (q), 20.63 (t), 19.95 (q), 19.64 (q), 18.18  
(q), 17.56 (q), 12.87 (q).

EMIE, 70 eV, (Int. rel.): 428 (M<sup>+</sup>) (2.6), 410 (M<sup>+</sup> - H<sub>2</sub>O)  
(4), 396 (M<sup>+</sup> - O<sub>2</sub>) (100), 378 (4), 363 (45), 337 (30), 285 (7),  
271 (5), 253 (7), 251 (5), 69 (78), 55 (87), 43 (86)

2.19 g de extracto de las fracciones 237 - 262 de la cromatografía anterior fueron adsorbidos en gel de sílice desactivada al 10% con agua destilada y aplicados a una cromatografía en columna empacada con el mismo material, utilizando el sistema n-hexano-acetato de etilo de polaridad creciente como fase móvil, colectándose eluatos de 100 ml.

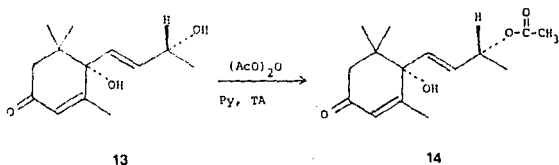
De esta cromatografía, las fracciones 71 - 77, eluidas con hexano-acetato de etilo (60:40) contenían vomifoliol (13), el cual fue purificado por cromatografía preparativa, obteniéndose un total de 80 mg.

El resto de las fracciones de esta cromatografía, fue también analizado, sin lograr el aislamiento de compuestos adicionales.

#### REACCIÓN DE ACETILACIÓN DE VOMIFOLIOL

30 mg de vomifoliol (13) se trataron con 0.5 ml de anhídrido acético y 0.5 ml de piridina a temperatura ambiente, durante 30 minutos.

Después de la purificación del producto, mediante cromatografía en columna, se obtuvo la muestra analítica con los siguientes datos físicos y espectroscópicos:



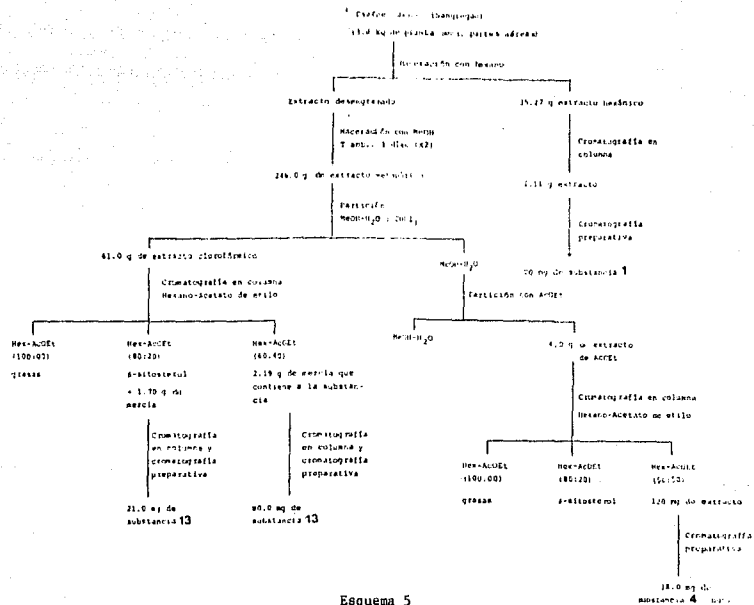
Acetato de Vomifolide (14).

Aspecto físico: consistencia aceitosa, incolora

IR (CHCl<sub>3</sub>) cm<sup>-1</sup>: 3600, 2970, 2938, 2870, 1730, 1660,  
1430, 1370, 975

RMN <sup>1</sup>H (80 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 5.86 (m, w<sub>1/2</sub> = 5 Hz, 1H, H<sub>4</sub>),  
5.75 (dd, J = 16 Hz, 2H, H<sub>7,a</sub>), 5.32 (qdd, J = 6, 3, 1 Hz, 1H,  
H<sub>6</sub>), 2.5, 2.2 (ABq, J = 18 Hz, 2H, H<sub>2</sub>), 2.04 (s, 3H, OCOCH<sub>3</sub>), 1.86  
(d, J = 2 Hz, 3H, C=C-CH<sub>3</sub>), 1.31 (d, J = 7 Hz, 3H, H<sub>10</sub>), 1.06 (s,  
3H, H<sub>11</sub>), 0.99 (s, 3H, H<sub>12</sub>).

HZ



Esquema 5

### B. *Cnidocolus multilobus*

Las hojas secas de *Cnidocolus multilobus* (3.20 Kg) fueron maceradas con acetona a temperatura ambiente durante tres días (X2) con lo que se obtuvieron 114.0 g de extracto orgánico.

El extracto orgánico total fue adsorbido en gel de sílice desactivada al 10% y aplicado a una columna de cromatografía, empacada con gel de sílice de tamaño de partícula 0.063 - 0.200 mm. La mezcla de n-hexano-acetato de etilo de polaridad creciente se utilizó como fase eluyente. Se colectaron eluatos de aproximadamente 500 ml (Esquema 6).

De las primeras fracciones de esta cromatografía (1 - 3), eluidas con hexano, se obtuvo, por precipitación en el mismo sistema de elución, una sustancia (15) cuyos parámetros físicos y espectroscópicos, después de su purificación por recristalización, son los siguientes:

#### Acetato de moretenilo (15).

Aspecto físico: polvo blanco    pf = 268 °C

IR (CHCl<sub>3</sub>) cm<sup>-1</sup>: 2947, 2873, 1733, 1463, 1369, 1246, 1026, 888, 757

RMN <sup>1</sup>H (80 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 4.66 (s, 2H, H<sub>2</sub>), 4.49 (dd, J = 7,7 Hz, 1H, H<sub>3</sub>), 2.04 (s, 3H, COCH<sub>3</sub>), 1.67 (s, 3H, C=C-CH<sub>3</sub>), 0.99 (s, 3H), 0.95 (s, 3H), 0.89 (s, 6H), 0.86 (s, 3H), 0.70 (s, 3H).

RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 4.68 (d, J = 5.8 Hz, 2H, H<sub>2</sub>), 4.47 (dd, J = 7.5, 7.0 Hz, 1H, H<sub>3</sub>), 2.04 (s, 3H, COCH<sub>3</sub>),

1.67 (s, 3H, C=C-CH<sub>3</sub>), 0.975 (s, 3H), 0.93 (s, 3H), 0.849 (s, 6H), 0.836 (s, 3H), 0.68 (s, 3H).

RMN <sup>13</sup>C (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 170.98 (s), 148.10 (s), 109.43 (t), 104.42 (d), 55.15 (d), 53.83 (d), 50.26 (d), 48.05 (d), 47.86 (d), 44.17 (s), 42.20 (s), 41.63 (t), 40.14 (t), 38.36 (s), 37.76 (t), 37.00 (s), 33.26 (t), 32.59 (t), 27.95 (q), 27.33 (t), 23.89 (t), 23.67 (t), 21.31 (t), 21.04 (q), 20.83 (t), 19.66 (t), 18.25 (q), 16.68 (t), 16.56 (q), 16.48 (q), 15.93 (q), 15.09 (q).

EMIE 70 eV, (int. rel): 468 (M<sup>+</sup>) (6), 453 (M<sup>+</sup> - CH<sub>3</sub>) (0.3), 425 (M<sup>+</sup> - COCH<sub>3</sub>) (0.2), 408 (M<sup>+</sup> - AcOH) (1), 249 (4), 218 (100), 203 (23), 189 (48), 43 (23).

Los anteriores datos establecen la estructura de la sustancia 15 como la del acetato de moretenol, un producto reportado en la literatura como el resultado de la acetilación en condiciones normales del moretenol.<sup>84</sup> Sin embargo, este es el primer reporte, acerca del aislamiento como producto natural, de esta sustancia.

Las fracciones siguientes (4 - 7) eluidas también con hexano, contenían una mezcla del compuesto anterior (15) con otra sustancia de mayor polaridad. Las fracciones 8 - 15 estaban enriquecidas en este último, y mediante precipitación fraccionada, en el mismo sistema utilizado para su elución pudo ser separada de la anterior sustancia.

Este segundo producto fue recristalizado de acetona, con lo que se logró la obtención de pequeñas láminas del compuesto puro con las siguientes características:

Moretenona (19).

Aspecto físico: pequeñas láminas transparentes

pf = 199 - 200 °C

IR (CHCl<sub>3</sub>) cm<sup>-1</sup>: 3368, 3345, 3071, 3039, 2948, 2868, 1697, 1640, 1605, 1459, 1384, 1115, 960

RMN <sup>1</sup>H (80 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 4.67 (sa, w<sub>1/2</sub> = 6 Hz, 2H, H<sub>2</sub>), 2.45 (m, 1H), 2.35 (s, 1H), 1.68 (s, 3H), 1.08 (s, 3H), 1.03 (s, 3H), 0.95 (s, 6H), 0.70 (s, 3H).

RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 4.69 (d, J = 5.8 Hz, 2H, H<sub>2</sub>), 1.67 (s, 3H, C=C-CH<sub>3</sub>), 1.078 (s, 3H), 0.949 (s, 6H), 0.936 (s, 3H), 0.691 (s, 3H).

RMN <sup>13</sup>C (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 218.04 (s), 148.03 (s), 109.48 (t), 54.81 (d), 53.81 (s), 49.68 (d), 48.77 (d), 47.82 (d), 47.32 (s), 44.15 (s), 42.28 (s), 41.62 (s), 40.15 (t), 39.54 (t), 36.80 (s), 34.15 (t), 32.63 (t, X2), 27.30 (t), 26.54 (q), 23.88 (t), 21.55 (t), 21.08 (q) 20.80 (t), 19.73 (t), 19.64 (q), 16.48 (q, X2), 15.73 (q), 15.14 (q).

EMIE. 70 eV, (Int. rel): 424 (M<sup>+</sup>) (10), 409 (M<sup>+</sup> - CH<sub>3</sub>) (6.5), 368 (1), 218 (3), 205 (20), 203 (15), 189 (70), 67 (88), 55 (100) 43 (74), 41 (67).

Un rendimiento total de 3.5 g de la mezcla de las sustancias 15 y 19, y de 650 mg del acetato de moretenilo (15) y 250 mg de moretenona (19) como compuestos puros, fue obtenido al final de esta cromatografía.

De las siguientes fracciones (15 - 20), eluidas con el



mismo sistema de elucion, se logro el aislamiento, mediante cristalización fraccionada, de un tercer compuesto, el cual tiene el mismo Rf que el primer acetato de esta cromatografía y que presenta las siguientes propiedades físicas y espectroscópicas:

Acetato de lupello (17).

Aspecto físico: polvo blanco      pf = 214 - 216 °C

IR (CHCl<sub>3</sub>) cm<sup>-1</sup>: 2948, 2874, 1719, 1639, 1458, 1377, 1256, 887.

RMN <sup>1</sup>H (80 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 4.66 (d, J = 2 Hz, 1H, H<sub>2</sub>), 4.54 (d, J = 2 Hz, 1H, H<sub>2</sub>), 4.4 (dd, J = 6,6 Hz, 1H, H<sub>3</sub>), 2.04 (s, 3H, COCH<sub>3</sub>), 1.68 (s, 3H, C=C-CH<sub>3</sub>), 1.04 (s, 3H), 0.98 (s, 3H), 0.95 (s, 3H), 0.89 (s, 3H), 0.86 (s, 3H), 0.79 (s, 3H).

EMIE, 70 eV. (int. rel.): 468 (M<sup>+</sup>) (0.6), 453 (M<sup>+</sup>-15)(0.4), 408 (0.5), 218 (18), 203 (15), 189 (18), 43 (100).

Se obtuvieron 1.80 g de acetato de lupello (17).

HIDROLISIS DE ACETATO DE MORETENILO (15).

100 mg de la sustancia 15 se hicieron reaccionar con 25 ml de una solución al 10% de hidroxido de potasio en metanol. La reacción se mantuvo en reflujo durante 30 minutos. Al término de la reacción la mezcla fue neutralizada con una solución de ácido clorhídrico al 10% y luego extraída con acetato de etilo.

Después de la extracción y de la eliminación del disolvente por destilación al vacio, se obtuvieron 80 mg de un alcohol (16), con las siguientes características:

Moret-eib. (16).

Aspecto físico: agujas blancas  $p_f = 223 - 226 \text{ }^\circ\text{C}$

IR (CHCl<sub>3</sub>)  $\text{cm}^{-1}$ : 3611, 2946, 2867, 1639, 1454, 1380, 888

RMN <sup>1</sup>H (80 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  4.66 (sa,  $w_{1/2} = 5 \text{ Hz}$ , 2H, Hz), 3.23 (dd,  $J = 7,7 \text{ Hz}$ , 1H, Ha), 1.67 (s, 3H, C=C-CH<sub>3</sub>), 0.97 (s, 3H), 0.94 (s, 6H), 0.84 (s, 3H), 0.77 (s, 3H), 0.70 (s, 3H).

RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  4.68 (sa,  $w_{1/2} = 6 \text{ Hz}$ , 2H, Hz), 3.19 (m,  $w_{1/2} = 20 \text{ Hz}$ , 1H, Ha), 1.67 (s, 3H, C=C-CH<sub>3</sub>), 1.02 (s, 3H), 0.974 (s, 3H), 0.941 (s, 3H), 0.824 (s, 3H), 0.786 (s, 3H), 0.678 (s, 3H).

RMN <sup>13</sup>C (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  148.18 (s), 109.44 (t), 78.98 (d), 55.26 (d), 53.81 (s), 50.34 (d), 48.65 (d), 47.07 (d), 44.19 (s), 42.21 (s), 41.08 (s), 40.14 (t), 38.83 (s), 38.68 (t), 37.08 (s), 34.25 (t), 32.61 (t), 27.96 (q), 27.33 (t, X2), 23.06 (t), 21.03 (t), 20.84 (t), 19.64 (q), 18.37 (t), 16.60 (q), 16.10 (q), 15.94 (q), 15.36 (q), 15.10 (q).

EMIE 70 eV, (Int. rel.): 426 (M<sup>+</sup>) (15), 411 (M<sup>+</sup> - CH<sub>3</sub>) (4), 218 (18), 207 (40), 203 (20), 189 (100), 165 (20), 81 (76), 67 (76), 55 (75).

HIDROLISIS DE ACETATO DE LUPEILO (17)

100 mg de la sustancia 17 se hicieron reaccionar con 25 ml de una solución de hidróxido de potasio en metanol. La reacción se mantuvo en reflujo durante 30 minutos. Al término de la misma, la mezcla fue neutralizada con una solución de ácido clorhídrico al 10% y extraída con acetato de etilo.

Después de la extracción y de la eliminación del disolvente mediante destilación al vacío, se obtuvieron 60 mg del alcohol **18**, cuyos datos físicos y espectroscópicos son los siguientes:

Lupeol (**18**).

Aspecto físico: polvo blanco       $pf = 195 - 197^{\circ}C$

IR (CHCl<sub>3</sub>)  $cm^{-1}$ : 3612, 3070, 3041, 3022, 2945, 2868, 1639, 1455, 1382, 1275, 887

RMN <sup>1</sup>H (80 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  4.66 (d, J = 2 Hz, 1H, H<sub>2</sub>), 4.54 (m,  $w_{1:2} = 6$  Hz, 1H, H<sub>2</sub>), 3.17 (dd, J = 7,7 Hz, 1H, H<sub>3</sub>), 1.68 (s, 3H, C=C-CH<sub>3</sub>), 1.05 (s, 3H), 0.99 (s, 3H), 0.96 (s, 3H), 0.86 (s, 3H), 0.81 (s, 3H), 0.77 (s, 3H).

RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  4.68 (d, J = 2 Hz, 1H, H<sub>2</sub>), 4.56 (m,  $w_{1:2} = 6$  Hz, 1H, H<sub>2</sub>), 3.18 (dd, J = 11, 6 Hz, 1H, H<sub>3</sub>), 1.67 (s, 3H, C=C-CH<sub>3</sub>), 1.02 (s, 3H), 0.967 (s, 3H), 0.943 (s, 3H), 0.827 (s, 3H), 0.787 (s, 3H), 0.76 (s, 3H).

RMN <sup>13</sup>C (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  150.97 (s), 109.31 (t), 79.01 (d), 55.30 (d), 50.43 (d), 48.30 (d), 47.98 (d), 43.00 (s), 42.82 (s), 40.83 (s), 39.99 (t), 38.86 (s), 38.70 (t), 38.04 (d), 37.16 (s), 35.57 (t), 34.28 (t), 29.84 (t), 27.99 (q), 27.44 (t), 27.41 (t), 25.14 (t), 20.92 (t), 19.31 (q), 18.32 (t), 18.00 (q), 16.12 (q), 15.97 (q), 15.37 (q), 14.54 (q).

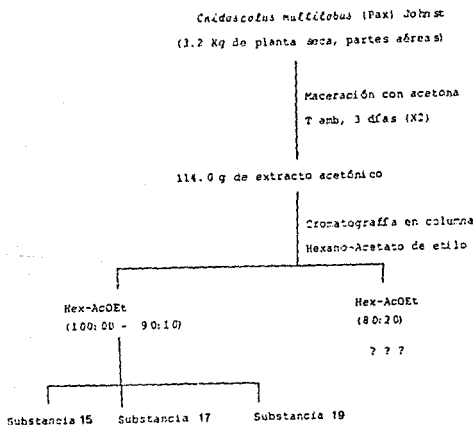
EMIE 70 eV, (int. rel.): 426 (M<sup>+</sup>) (7), 411 (M<sup>+</sup> - CH<sub>3</sub>) (3), 218 (50), 207 (23), 203 (30), 189 (40), 95 (95), 81 (95), 69 (100), 67 (95).

Los anteriores datos espectroscópicos caracterizan al

lupeol (18) e identifican al producto de la hidrólisis de la sustancia 17 como este mismo compuesto.

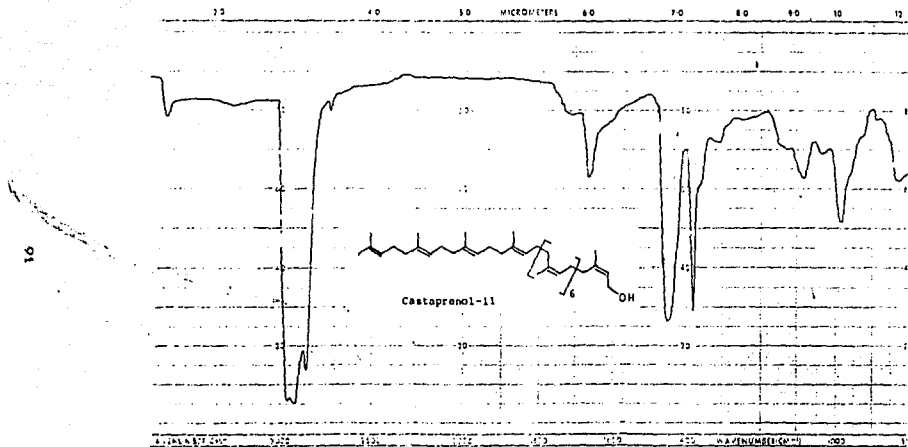
#### OXIDACION DE MORETENOL (16)

40 mg del alcohol 16 se disolvieron en 3 ml de acetona y se hicieron reaccionar con reactivo de Jones. Después de la extracción con cloroformo y eliminación del disolvente por destilación al vacío, se obtuvieron 30 mg de la cetona (21) cuyos datos espectroscópicos fueron comparados con los de la moretenona, aislada de *Unidoscolus multilobus* como producto natural, encontrándose los mismos datos, con lo cual se establece la identidad de ambos compuestos.



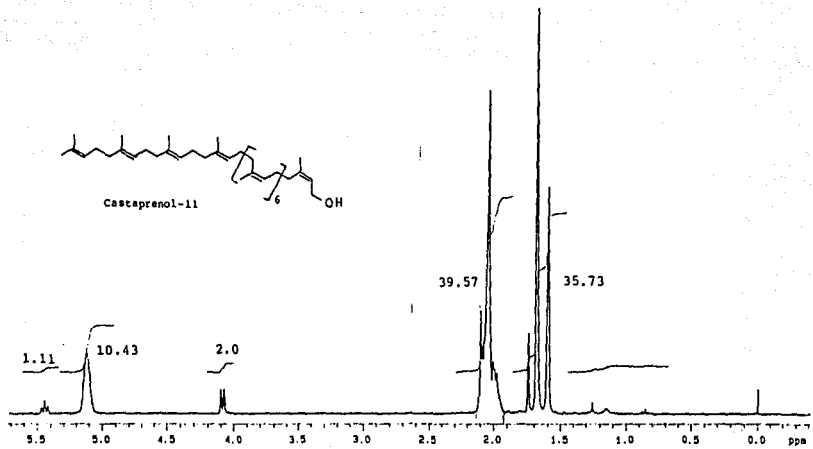
Esquema 6

## VIII. ESPECTROS

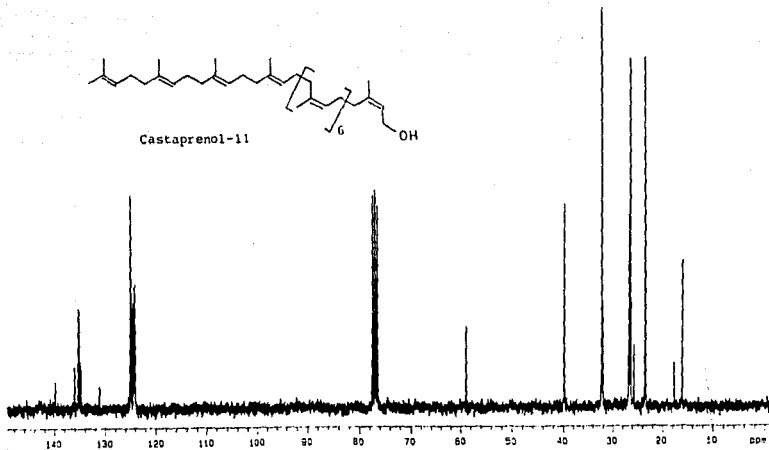
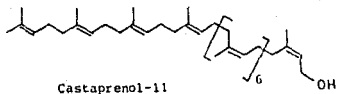


ESPECTRO 1.

76



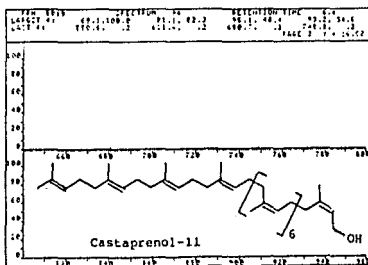
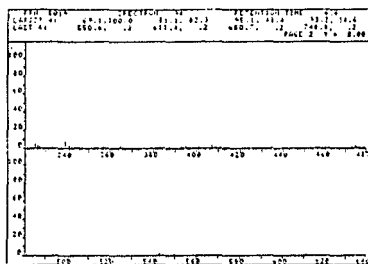
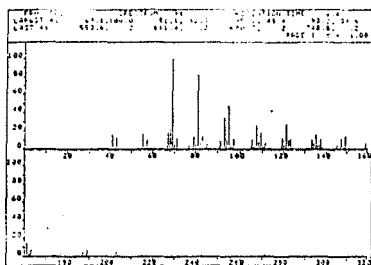
ESPECTRO 2.



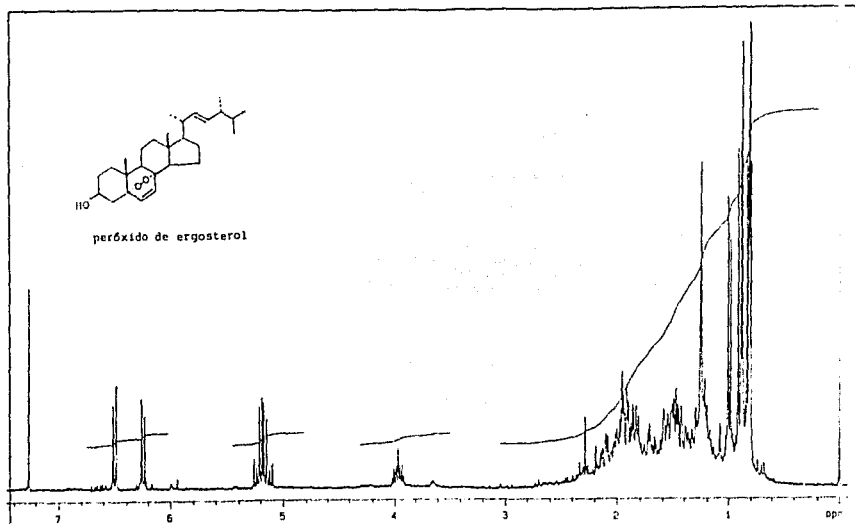
93

ESPECTRO 3.

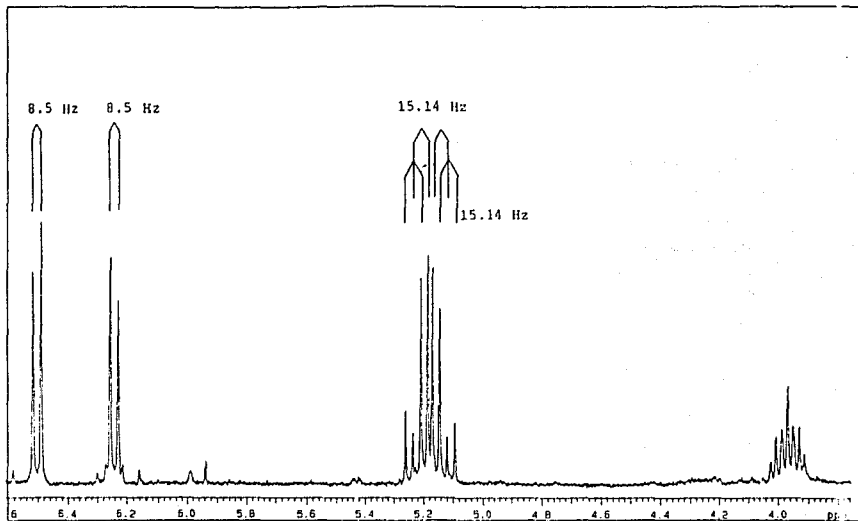




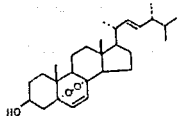
ESPECTRO 4.



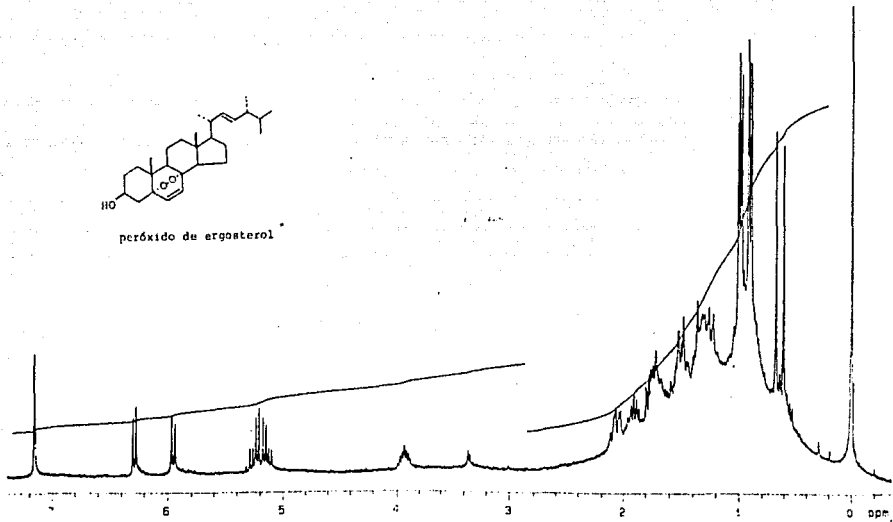
ESPECTRO 5.



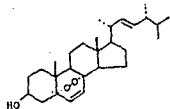
ESPECTRO 5. (fragmento)



peróxido de ergosterol

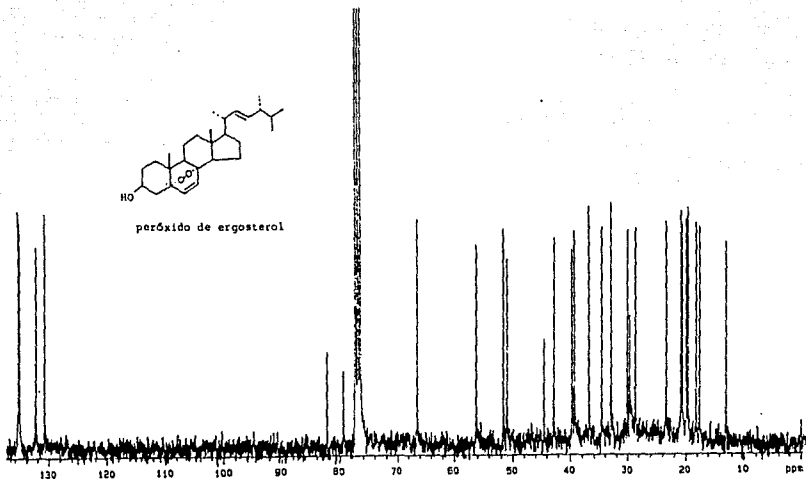


ESPECTRO 6.

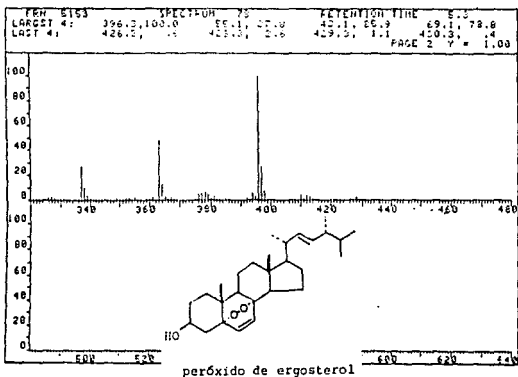
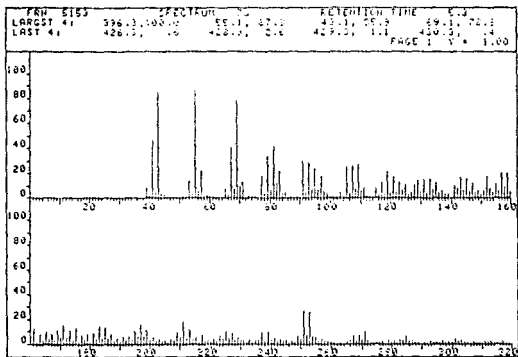


peróxido de ergosterol

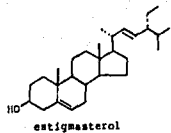
86



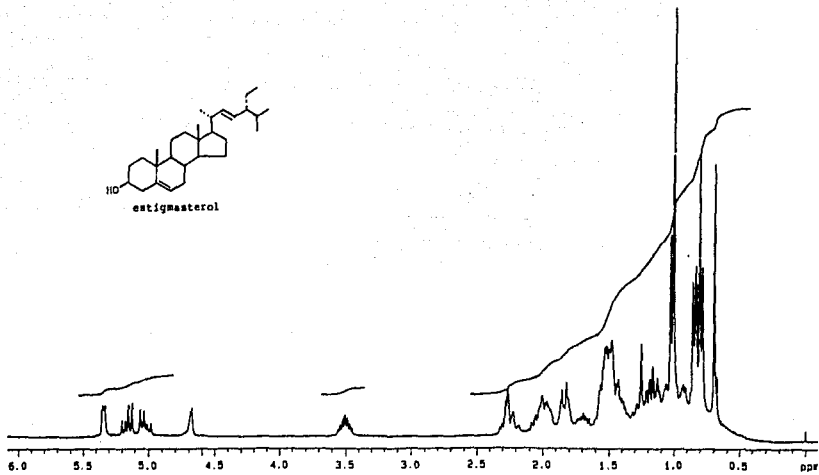
ESPECTRO 7.



ESPECTRO 8.

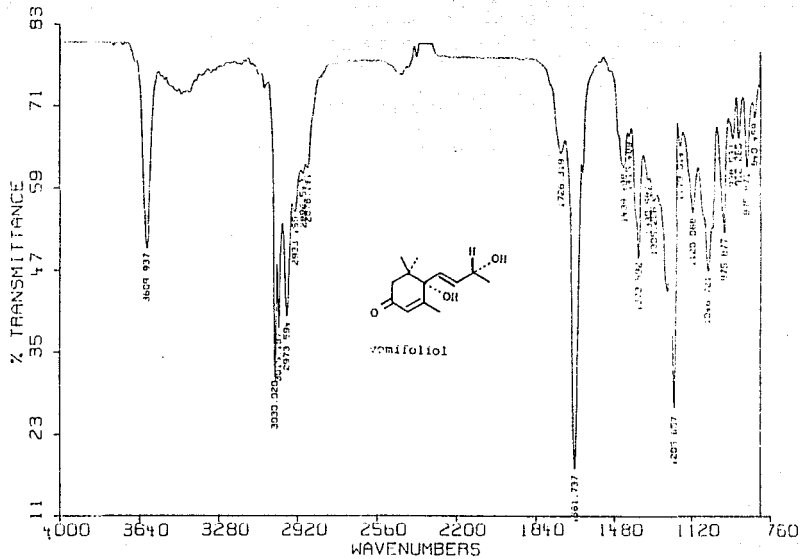


100



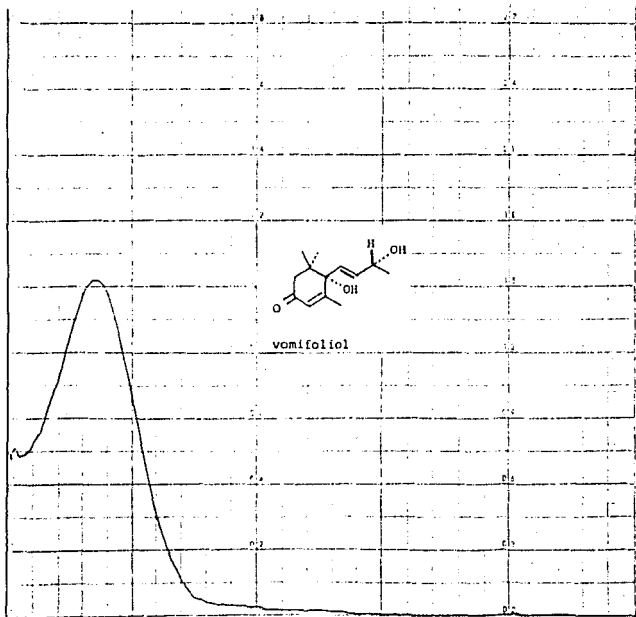
ESPECTRO 9.

101

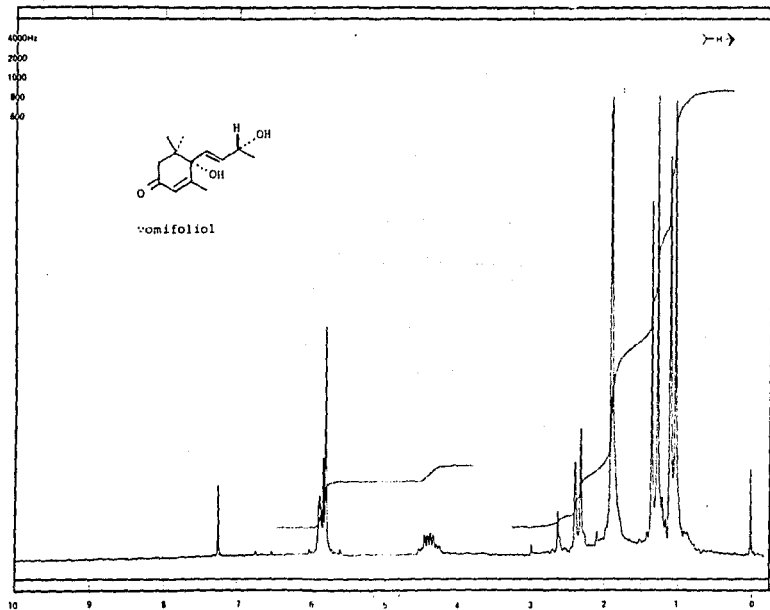


ESPECTRO 10.



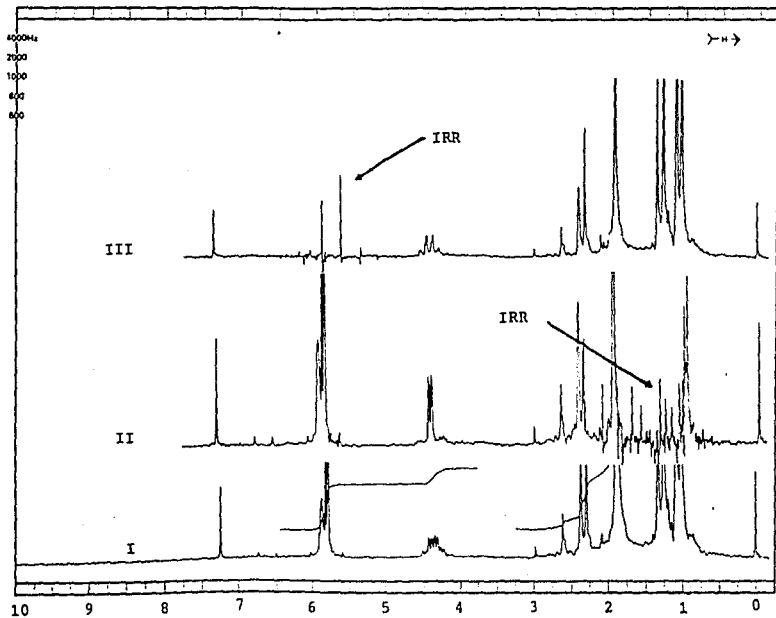


ESPECTRO 11.

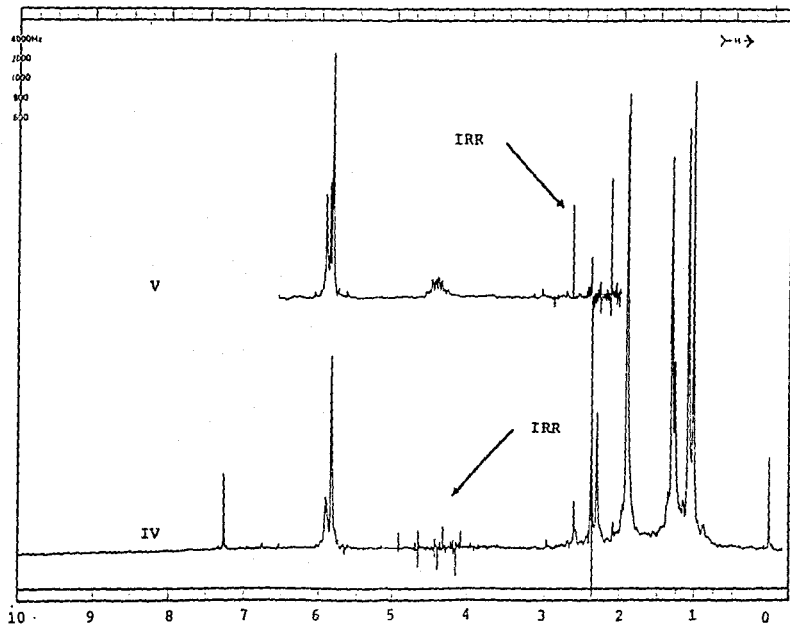


601

ESPECTRO 12.

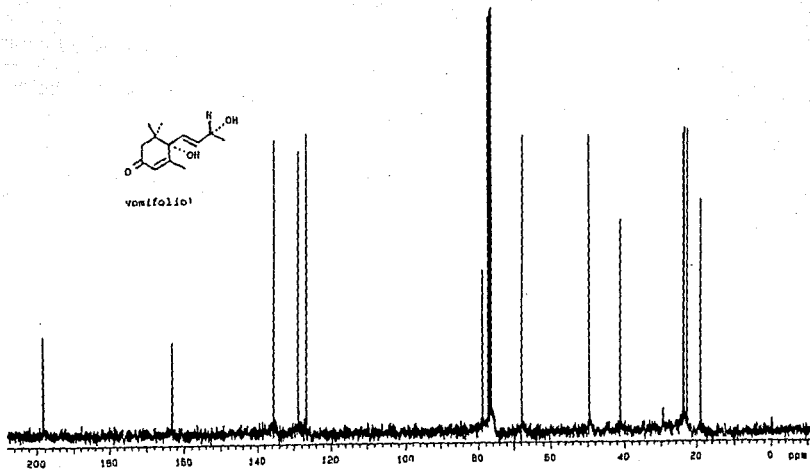


ESPECTRO 12. (IRRADIACION)



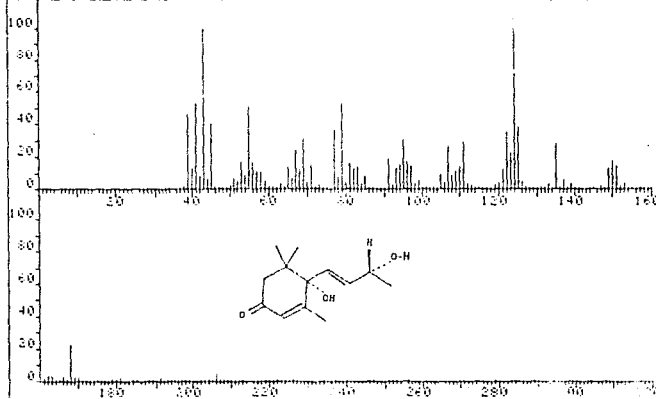
ESPECTRO 12. (IRRADIACION)

100



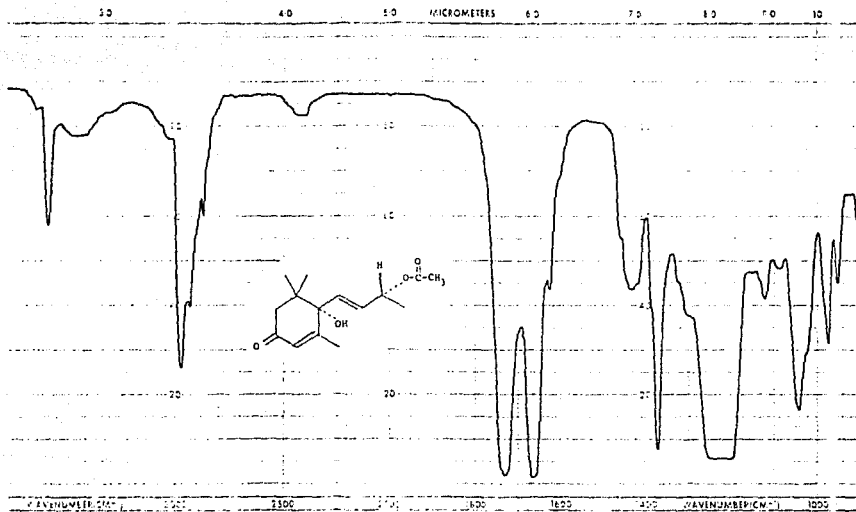
ESPECTRO 13.

REN 5194	SPECTRUM 40	RETENTION TIME 2.8
LARGEST 4: 124.1, 100.0	48.2, 49.1	72.1, 12.1
LARGEST 4: 256.2, .0	379.2, .1	41.1, 13.3
		290.2, .0
		PRGE 1 Y = 4.00

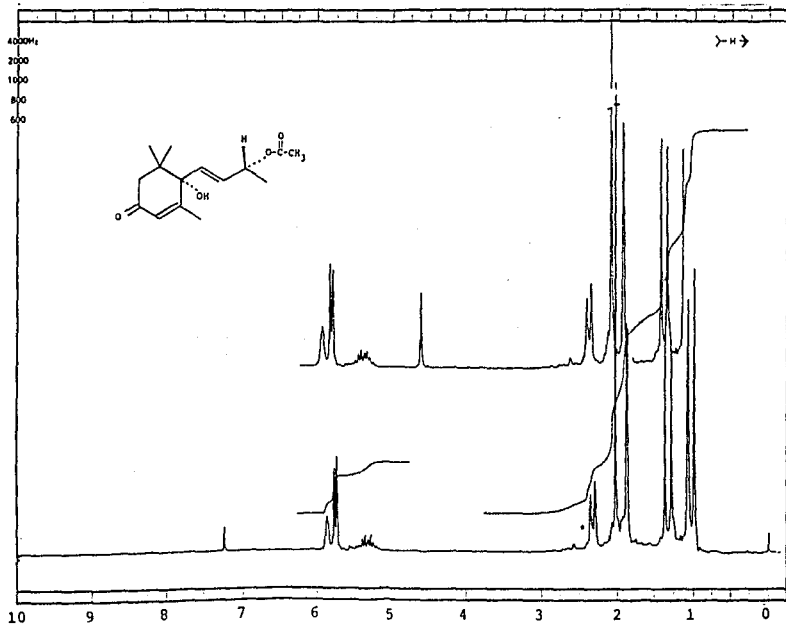


ESPECTRO 14.

801

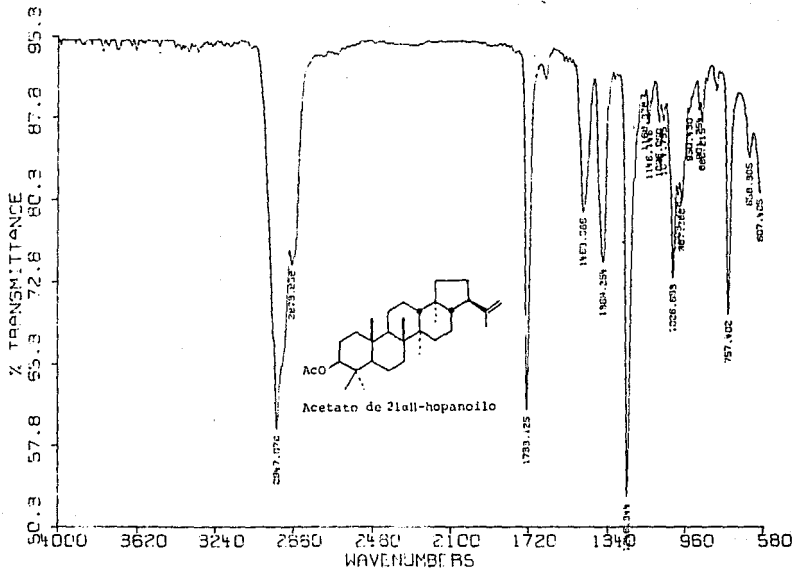


ESPECTRO 15.

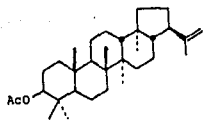


ESPECTRO 16.

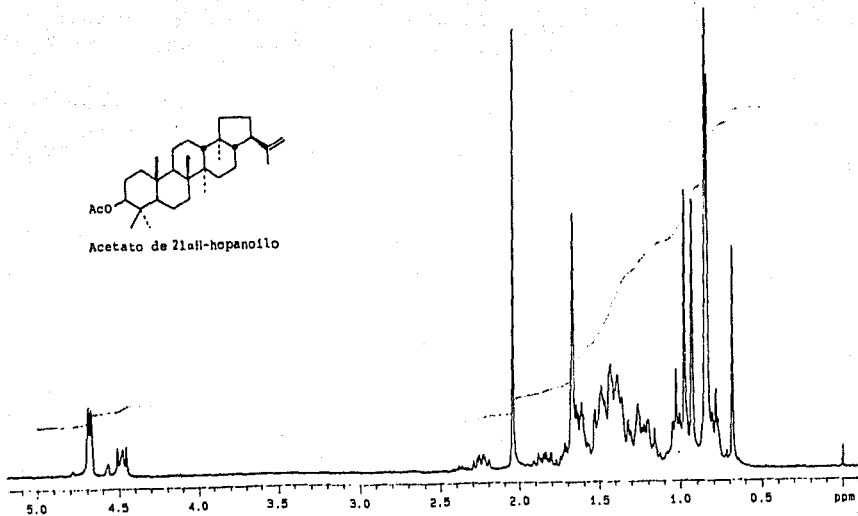




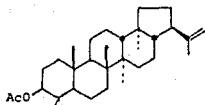
ESPECTRO 17.



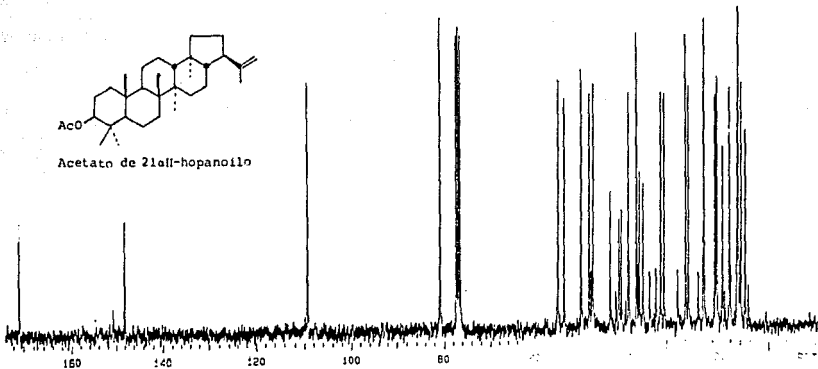
Acetato de 21alil-hopanoilo

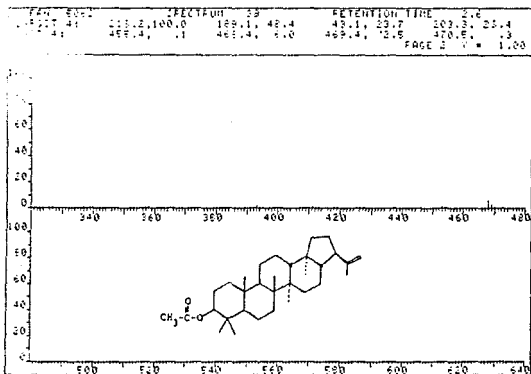
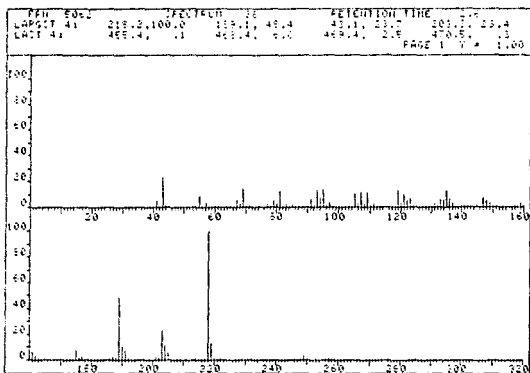


ESPECTRO 18.

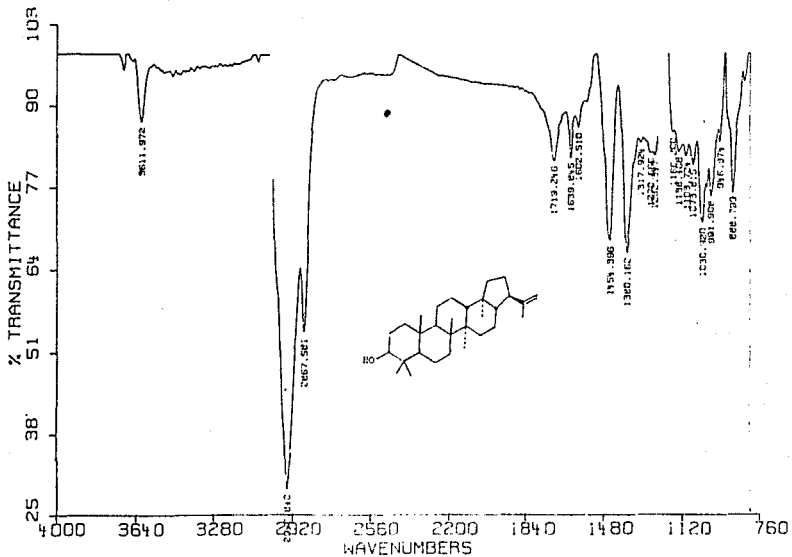


Acetato de 21oH-hopanoilo



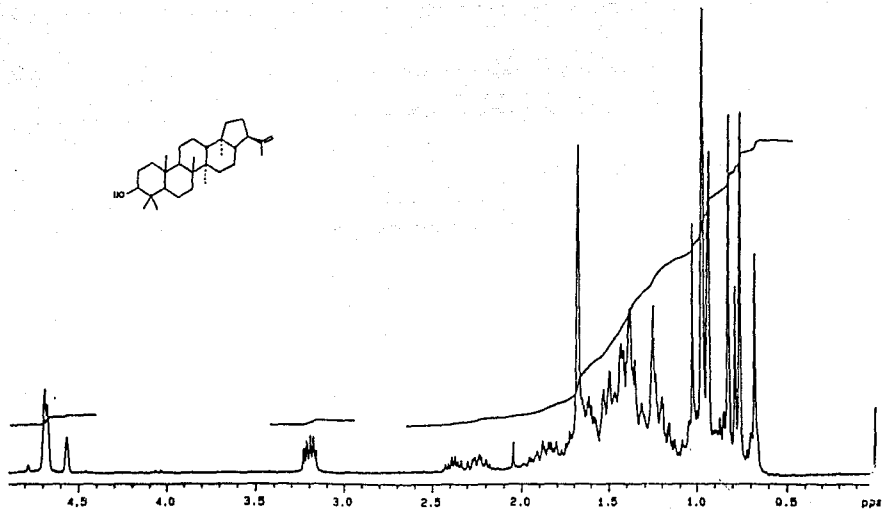


ESPECTRO 20.



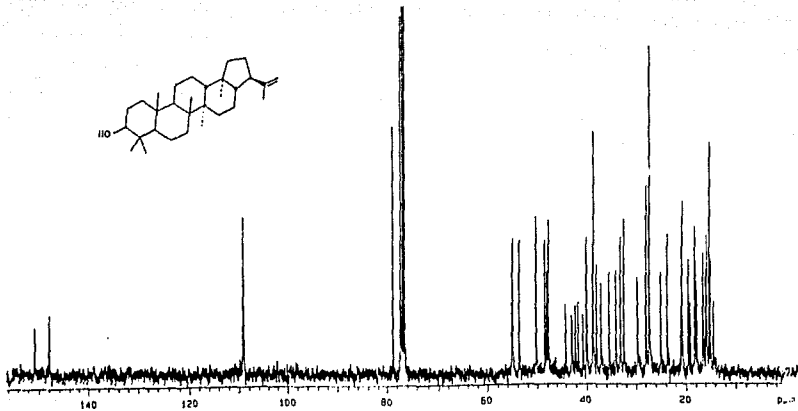
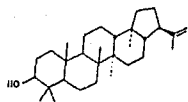
ESPECTRO 21.

115

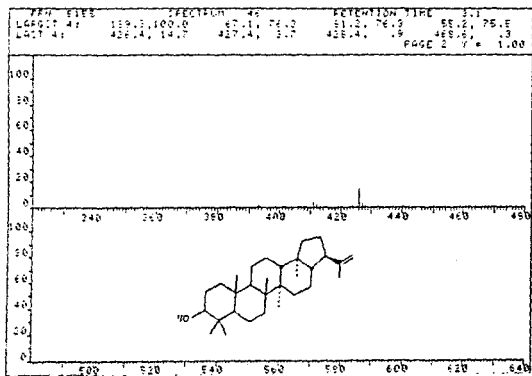
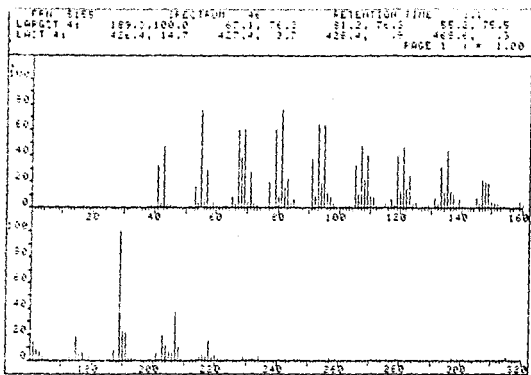


ESPECTRO 22.

110

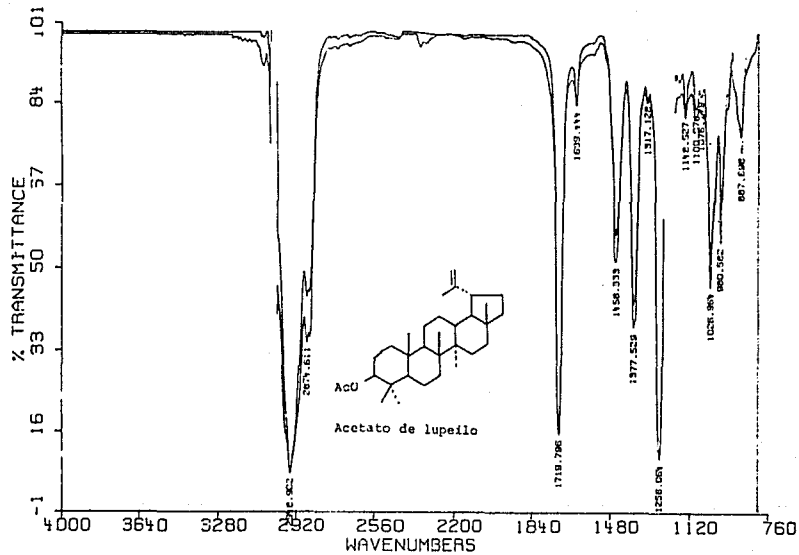


ESPECTRO 23.

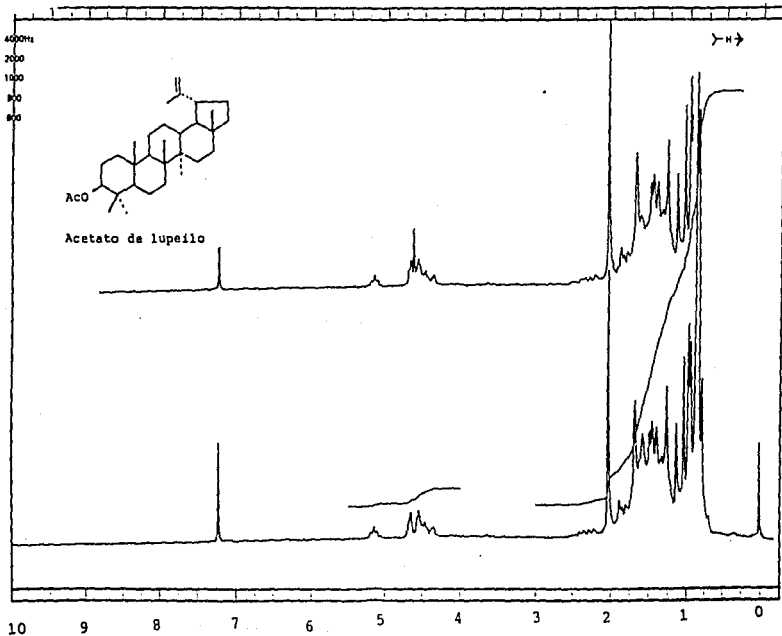


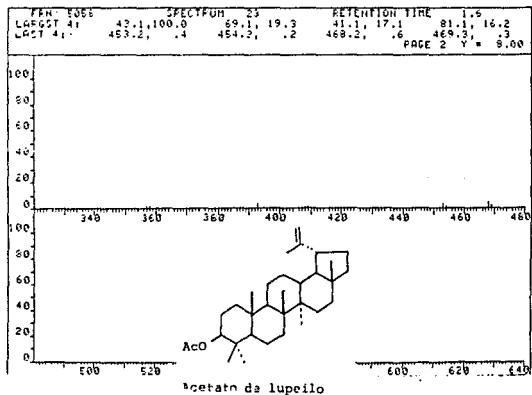
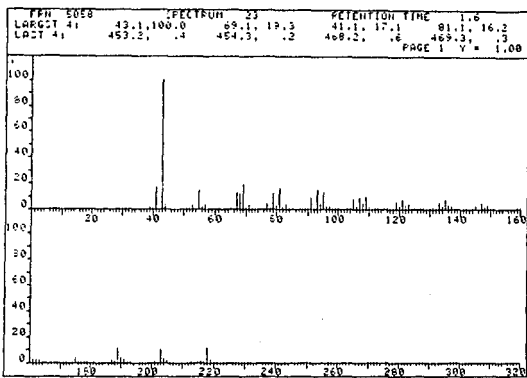
ESPECTRO 24.



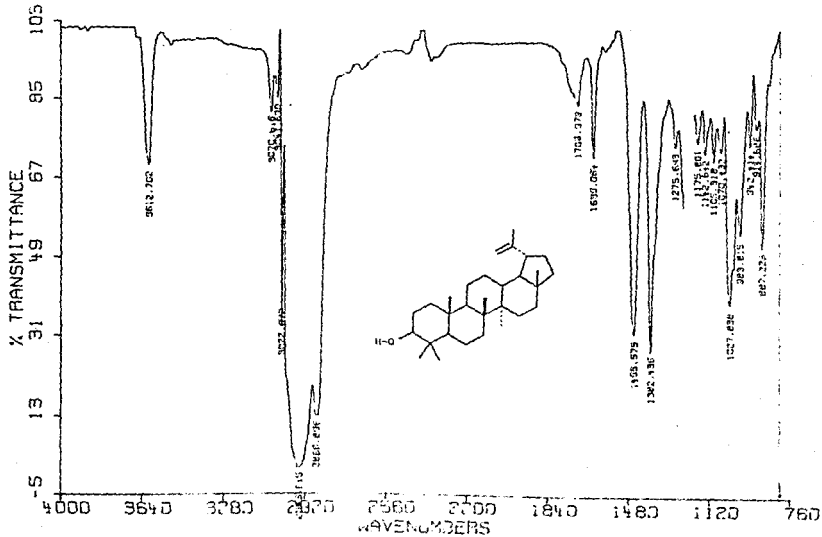


ESPECTRO 25.

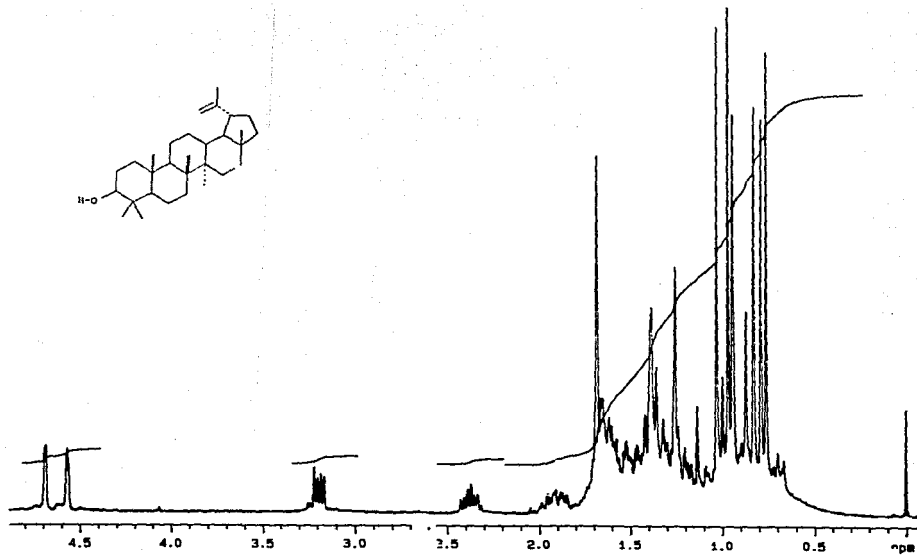




ESPECTRO 27.

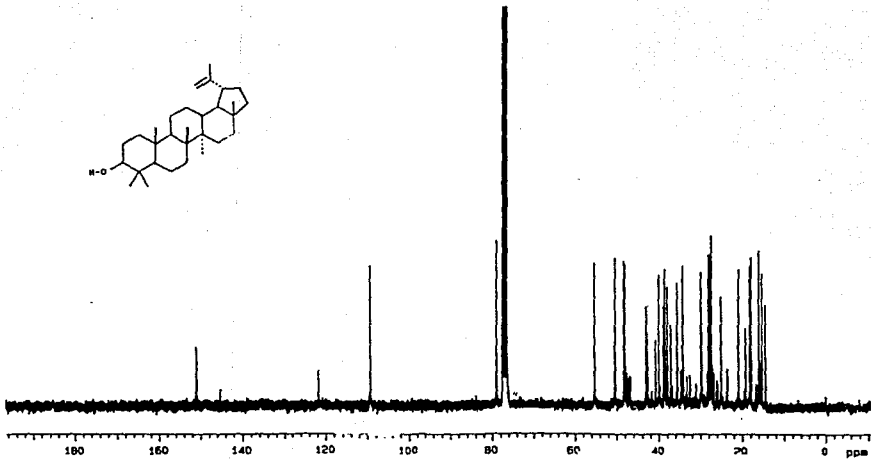
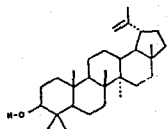


ESPECTRO 28.

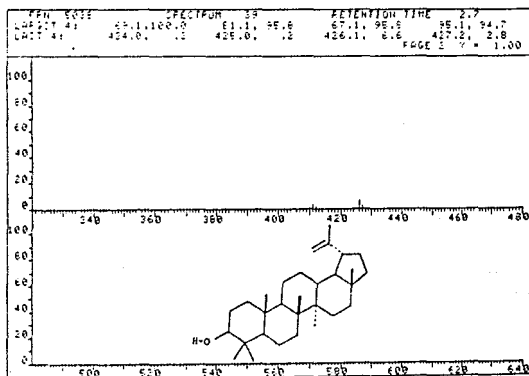
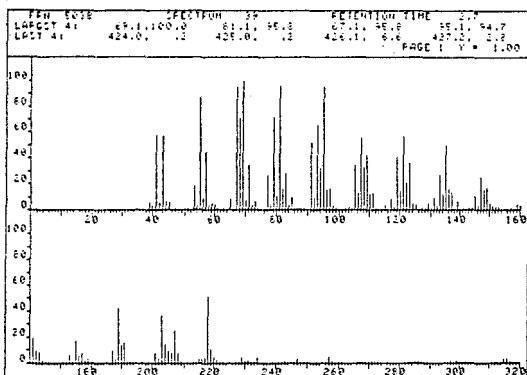


ESPECTRO 29.

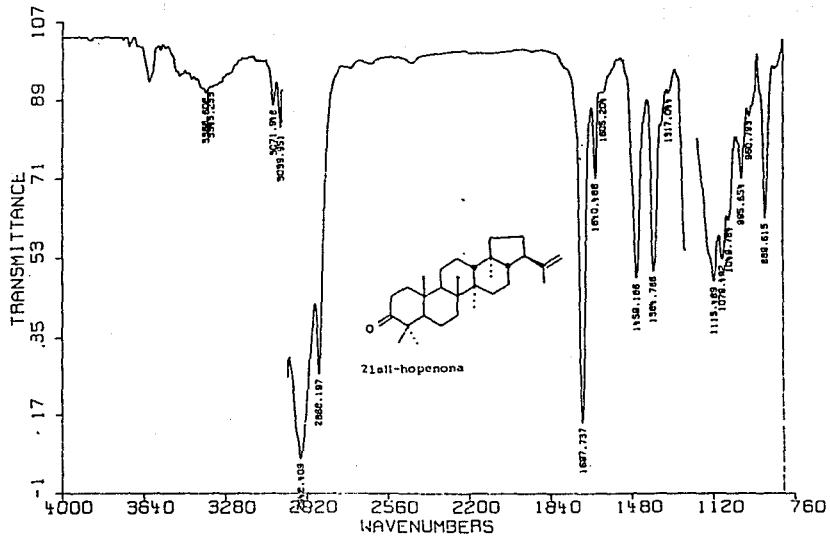
123



ESPECTRO 30.



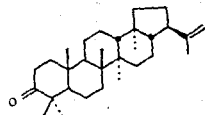
ESPECTRO 31.



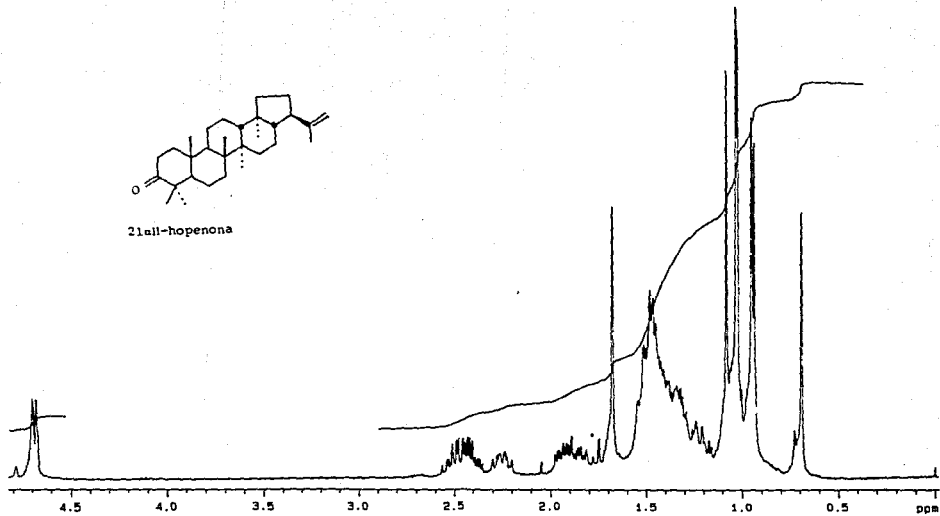
ESPECTRO 32.



126

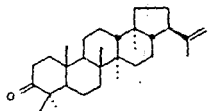


21ail-hopenona

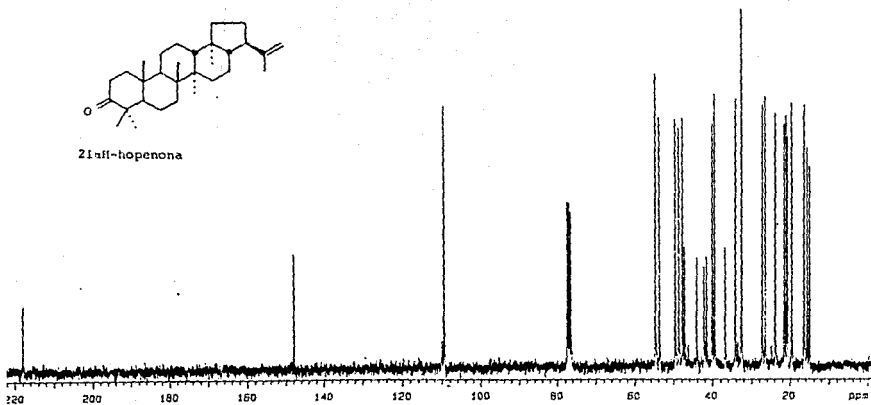


ESPECTRO 33.

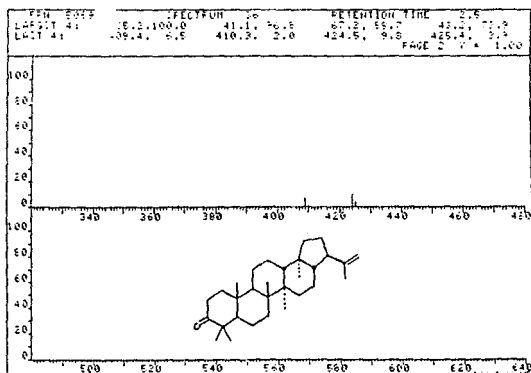
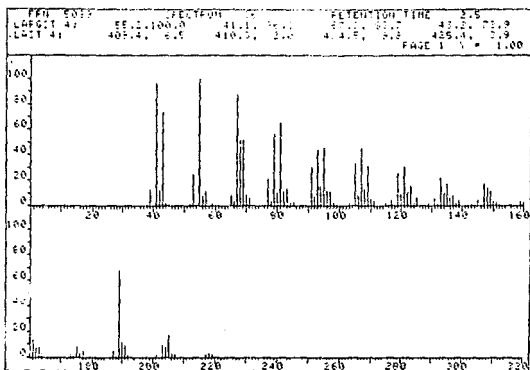
127



Ziaff-hopenona



ESPECTRO 34.



ESPECTRO 35.

## IX. BIBLIOGRAFIA

1. Jurv, S. L., Reynolds, T., Cutler, D. F. y Evans, F. J., (1987), "The Euphorbiales: Chemistry, Taxonomy and Economic Botany" Academic Press, Great Britain.
2. Adanson, M., (1763), "Familles des Plants" Vincent, Paris.
3. De Jussieu, A., (1824), "De Euphorbiacearum Generibus Medicisque Earundem Viribus Tentamen" Didot, Paris.
4. Pax, F., (1890), "Euphorbiaceae. In A. Engler & K. Prantl (Eds), Die Natürlichen Pflanzenreich, Erste Auflage. III, 3, 1, Leipzig W. Engelmann.
5. Reichenbach, H. G. L., (1841), "Repertorium Herbarii sive Nomenclator Generum Plantarum", Dresden, Arnold.
6. Buisier, E., (1862) "Euphorbiae. In A. P. de Candolle (Ed), Prodomus Systematis Naturalis Regni Vegetabilis, 15, 3, Paris, Treuttel & Wurtz.
7. Mueller, J., (1866), Nachehrift zu Meiner Systematischen Arbeit über Euphorbiaceen. Botanische Zeitung. 24, 333.
8. Baillon, H., (1873) Ochnacées, Rutacées. Histoire des Plantes, 4, 357. Paris: Hachette.
9. Pax, F. (1884), Die Anatomie der Euphorbiaceen in Ihrer Beziehung zum System Derselben. Botanische Jahrbücher für Systematik. Pflanzengeschichte und Pflanzengeographie, 5, 384.
10. Zollinger, H., (1845), Observationes Phytographicae, Praecipue Genera et Species Nova Nonnulla Respicientes. Naturen

Geneeskundig Archief voor Neerland's-Indie, 2, 1.

11. Airy Shaw, H. K., (1965), Diagnoses of New Families, New Names, etc., for the Seventh Edition of Willis's "Dictionary", Kew Bulletin, 18, 249.
12. Webster, G. L., (1975), Conspectus of a New Classification of the Euphorbiaceae, Taxon, 24, 593.
13. Pax, F. & Hoffmann, K., (1931), Euphorbiaceae. In A Engler & K. Prantl (Eds), Die Natürlichen Pflanzenfamilien, Zweite Auflage, 19, 11, Leipzig: W. Engelmann.
14. Mc Vaugh, R., (1944), "The Genus *Cnidioscolus*: Generic Limits and Intrageneric Groups", Bull. of the Torrey Botanical Club, 71, 457.
15. Ponsinet, G. y Ourisson, G., (1965), "Études Chimico-Taxonomiques dans la Famille des Euphorbiacées-I", Phytochemistry, 4, 799.
16. Evans, F. J. y Taylor, S. E., (1983), "Pro-Inflammatory, Tumour-Promoting and Anti-Tumour Diterpenes of the Plant Families Euphorbiaceae and Thymelaeaceae", Progress in the Chemistry of Organic Natural Products, 44, Springer-Verlag, Wien New York.
17. Bhakuni, D. S., Satish, S. y Dhar, M. M., (1970), "The Alkaloids of *Croton sparsiflorus*", Phytochemistry, 9, 2573
18. Monte, F. J. Q., Andrade, C. H. S., Craveiro, A. A. y Braz Filho, R., (1984), "New Tetracyclic Diterpenes from *Croton argyrophylloides*", J. Nat. Products, 47, 55.
19. Chavez, P. I., Jolad, S. D., Hoffmann, J. J. y Cole J. R.

- (1982), "Four New 12-Deoxyphorbol Diesters from *Croton californicus*", J. Nat. Products, 45, 745.
20. Burke, B. A., Chan, W. R., Pascoe, K. O., Blount, J. F. y Manchand, P. S., (1981), "The Structure of Crotonitenone, a Novel Casbane Diterpene from *Croton nitens* Sw", J. Chem. Soc. Perkin I, 2666.
21. Pieters, L. A. G., Vanden Berghe, D. A. y Viletinck, A. J., (1990), "A Dihydrobenzofuran Lignan from *Croton erythrochilus*", Phytochemistry, 29, 348.
22. Craveiro, A. A. y Silveira, E. R., (1982), "Two Cleistanthane Type Diterpenes from *Croton sonderianus*", Phytochemistry, 21, 2571.
23. Wagner, H., Hoerhammer, L. y Kiraly, I. G., (1970), "Flavon C-glycoside in *Croton zambezicus*", Phytochemistry, 9, 897.
24. Ratnayake Bandara, B. M. y Wimalasiri, W. R. (1988), "Diterpene Alcohols from *Croton lacciferus*", Phytochemistry, 27, 225.
25. Takahashi, S., Kurabayashi, M., Kitazawa, E., Haruyama, H. y Ogiso, A. (1983), "Plaunolide, a Furanoid Diterpene from *Croton sublyratus*", Phytochemistry, 22, 302.
26. Roengsumran, S., Luangdilok, W., Petsom, A., Praruggamo, S. y Pengprecha, S., (1982), "Structure of Swassin, a New Furanoid Diterpene", J. Nat. Products, 45, 772.
27. Rodriguez-Hahn, L., Rodriguez, J. J. y Romo, J., (1975), "Aislamiento y Estructura de la Draconina", Rev. Latinoamer. Quim., 6, 123.

28. Ratnayake Bandara, B. M., Wimalasiri, W. R. y Macleod, J. K., (1988), "Ent-Lauranes and Oleananes from *Croton lacciferus*", Phytochemistry, **27**, 869.
29. Mukherjee, R. y Axt, E. M., (1984), "Cyclitols from *Croton celtidifolius*", Phytochemistry, **23**, 2682.
30. Sato, A., Ogiso, A. y Kuwano, H., (1980), "Acyclic Diterpenes from *Croton kerrii*", Phytochemistry, **19**, 2207.
31. Martinez, M., (1959), "Las PLantas Medicinales de México", 4a. Edición, Ed. Botas, México.
32. Ventura, M. M. y Lima, I. H., (1959), "The Non-Protein Nitrogenous in Oily Seeds. I. Free Amino Acids in Mature Seeds of the Favela Tree", An. da Acad. Brasileira de Ciências, **31**, 191.
33. Ventura, M. M. y Lima, I. H., (1959), "Proteínas da Semente de Favela *Cnidoscolus phyllacanthus* (Mart.) Pax y Hoffm.). I. Solubilização e Comportamento Eletroforético", An. da Acad. Brasileira de Ciências, **31**, 537.
34. Cravioto, R. O., Massieu H. G., Garcia, J. G. y Calvo de la Torre, J., (1952), "Valor Nutritivo de Plantas Alimenticias de Yucatan", Bol. Ofic. Sanit. Panamer., **31**, 328.
35. Ceballos, M. Y., Cruz, M. T., Oliver, M. C., Castañeda-Agullo, M. y del Castillo, L. M., (1986), "Proteinases of Mexican Plants XIV. Chayain from the Latex of *Cnidoscolus chayamansa*", Rev. Latinoamer. Quím., **16**, 162.
36. Rouse, S. H. y Blentang, R., (1954), "A Note on the Phytochemical Study of the Root of *Cnidoscolus texanus* (Muell.



- Arg.) Small", J. Am. Pharm. Assoc., **43**, 699.
37. Seigler, D. S. y Bloomfield, J. J., (1969), "Constituents of the Genus *Cnidoscopus*", Phytochemistry, **8**, 935.
  38. Dominguez, X. A., Franco, R., Garcia, S., Pugliese, O. y Santoyo, A., (1980), "Esteres de Lupeol Aislados del Latex del Chile (*Cnidoscopus elasticus* Lundell)", Rev. Latinoamer. Quim., **13**, 82.
  39. Caballero, P., Fronczek, F. R., Fischer, N. H., Fernandez, S. y Hernandez, E., (1984), "The Isolation and Molecular Structure of Lupeol D-Phenylpropionate from *Cnidoscopus elasticus*", J. Nat. Products, **47**, 819.
  40. Von Reis Altschul, S., (1973), "Drugs and Foods from Little-known Plants", Harvard University Press, U. S. A.
  41. Martinez, M. (1979), "Catalogo de Nombres Vulgares y Cientificos de Plantas Mexicanas", Fondo de Cultura Económica, México.
  42. Nakanishi, K. y Solomon, P. H., (1977), "Infrared Absorption Spectroscopy", Holden-Day Inc., Segunda edición, U. S. A.
  43. Bates, R. B. y Gale, D. M., (1960), "Stereochemistry of Trisubstituted Double Bonds in Terpenoids", J. Amer. Chem. Soc., **82**, 5749.
  44. Burgos, J., Hemming, F. W., Pennock, J. F. y Morton, R. A., (1963), "Dolichol: a Naturally-Occurring C100 Isoprenoid Alcohol", Biochem. J. **88**, 470.
  45. Wellburn, A. R., Stevenson, J., Hemming, F. W. y Morton, R. A., (1967), "The Characterization and Properties of

- Castaprenol-11, -12 y -13 from the Leaves of *Aesculus hippocastanum* (Horse Chestnut)", Biochem. J. **102**, 513.
46. Suga, T. y Shishibori, T., (1980), "Structure and Biosynthesis of Cleomeprenols from the Leaves of *Cleome spinosa*", J. Chem. Soc. Perkin I, 2098.
47. Suga, T., Hirata, T., Aoki, T. y Shishibori, T., (1983), "Biosynthesis of Polyprenols in Higher Plants. The Elimination of the pro-4S Hydrogen Atom of Mevalonic Acid during the Formation of Their (Z)-Isoprene Chain", J. Amer. Chem. Soc. **105**, 4178.
48. Singh, B., Agrawal, P. K. y Thakur, K. S., (1989), "An Acyclic Triterpene from *Phyllanthus niruri*", Phytochemistry, **28**, 1980.
49. Tanaka, Y., Sato, H., Kageyu, A. y Tomita, T., (1987), "Determination of Arrangement of Isoprene Units in Pig Liver Dolichol by <sup>13</sup>C-NMR Spectroscopy", Biochem. J., **243**, 481.
50. Tanaka, Y., Sato, H. y Kageyu, A., (1982), "Structural Characterization of Polyprenols by <sup>13</sup>C-NMR Spectroscopy: Signal Assignments of Polyprenol Homologs", Polymer, **23**, 1087.
51. Ito, M., Kobayashi, M., Koyama, T. y Ogura, K., (1987), "Stereochemical Analysis of Prenyltransferase Reactions Leading to (Z)- and (E)-Polyprenyl Chains", Biochemistry, **26**, 4745.
52. Suga, T., Shishibori, T. y Nakaya, K., (1980), "Structure and Biosynthesis of Malloprenols from *Mallotus japonicus*", Phytochemistry, **19**, 2327.
53. Swern, D., Clements, A. H. y Luong, T. M., (1969), "Nuclear

- Magnetic Resonance Spectra of Organic Peroxides", Anal. Chem., **41**, 412.
54. Schwartz, J. J. y Wall, M. E., (1955), "Isolation of the Sterols of the White Potato", J. Amer. Chem. Soc., 5442.
55. Gunther, H., (1980), "NMR Spectroscopy", John Wiley & Sons,
56. Thompson, M. J., Dutky, S. R., Patterson, G. W. y Gooden, E. L., (1972), "NMR Spectra of C-24 Isomeric Sterols", Phytochemistry, **11**, 1781.
57. Rubinstein, I., Goad, L. J., Clague, A. D. H. y Mulheirn, L. J., (1976), "The 220 MHz NMR Spectra of Phytosterols", Phytochemistry, **15**, 195.
58. Gunatilaka, A. A. L., Gopichand, Y., Schmitz, F. J. y Djerassi, C., (1981), "Minor and Trace Sterols in Marine Invertebrates. Isolation and Structure Elucidation of Nine New 5 $\alpha$ , 8 $\alpha$ -Epidioxy Sterols from Four Marine Organisms", J. Org. Chem., **46**, 3860.
59. Weete, J. D., (1973), "Sterols of the Fungi: Distribution and Biosynthesis", Phytochemistry, **12**, 1943.
60. Stothers, J. B., (1972), "Carbon-13 NMR Spectroscopy", Academic Press, U. S. A.
61. Reich, H. J., Jautelat, M., Messe, M. T., Weigert, F. J. y Roberts, J. D., (1969), "Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy. Carbon-13 Spectra of Steroids", J. Am. Chem. Soc., **91**, 7445.
62. Eggert, H., VanAntwerp, C. L., Bhacca, N. S. y Djerassi, G., (1976), "Carbon-13 Nuclear Magnetic Resonance Spectra of

- Hydroxy Steroids", J. Org. Chem., 41, 71.
63. Arditti, J., Fish, R. E. M. H. y Flick, B. H., (1972), "Ergosterol Peroxide from *Rhizoctonia repens*: Composition, Conformation, and Origen", J. Chem. Soc. Chem. Comm., 1217.
64. Fattorusso, E., Magno, S., Santacroce, C. y Sica, D., (1974), "Sterol Peroxides from the Sponge *Axinella cannabina*", Gazzetta Chimica Italiana, 104, 409.
65. Es importante señalar que se han realizado análisis espectroscópicos de los desplazamientos químicos de los metilos en esteroides.<sup>56-58</sup> Sin embargo, no existe un modelo espectroscópico de RMN <sup>1</sup>H para establecer directamente la estereoquímica de C-24.
66. Galli, G. y Maroni, S., (1967), "Mass Spectrometric Investigations of Some Unsaturated Sterols Biosynthetically Related to Cholesterol", Steroids, 10, 189.
67. Gonzalez, A. G., Bermejo, J., Mediavilla M. J. y Toledo, F. J., (1984), "Espectrometría de Masas de Esteroides de Origen Natural y Sintético", Rev. Latinoamer. Quim., 15, 107.
68. Hirayama, T. y Fujikawa, F., Yosioka, I. y Kitagawa, I., (1975), "Vittatolic Acid, a New Depsidone Isolated from the Lichen *Hypogymnia vittata* (Ach) Gas", Chem. Pharm. Bull., 23, 693.
69. Quilhot, W., Piovano, M., Arancibia, H., Garbarino, J. A. y Gambaro, V., (1989), "Studies on Chilean Lichens, XII. Chemotaxonomy of the Genus *Psoroma*", J. Nat. Products, 52, 191.

70. Krishna, S. C., Achari, B. y Majumdar, P. C., (1975), "Constituents of *Ananas comosus* Leaves". Ind. J. Chem., **13**, 755.
71. Bates, M. L., Reid, W. W. y White, J. D., (1976). "Duality of Pathways in the Oxidation of Ergosterol to its Peroxide *In Vivo*". J. Chem. Soc. Chem. Comm., 44.
72. Petzoldt, K. y Kieselich, K. (1969), "Mikrobiologische Isomerisierung von Ergosterinperoxid". Iustus Liebigs Ann. Chem. **724**, 194.
73. Bergmann, W. y Meyers, N. B., (1959), "Die Thermische Umlagerung des Ergosterinperoxyds". Iustus, Liebigs Ann. Chem., **620**, 46.
74. Poussel, J. L. y poisson, J., (1969), "Vomifolol: Alcool Terpenique Isole des Feuilles du *Rauwolfia vomitoria* Afz". Tetrahedron Lett., 1173.
75. Galbraith, M. N. y Horn, D. H. S., (1972). "Structures of the Natural Products Blumenols A, B, and C". J. Chem. Soc. Chem. Comm., 113.
76. Satish, S. y Bhakuni, D. S., (1972), "Constituents of Indian and Other Plants". Phytochemistry, **11**, 2889.
77. Galbraith, M. N. y Horn, D. H. S., (1973), "Stereochemistry of the Blumenol A into (S)-(+)-Abscisic Acid". J. Chem. Soc. Chem. Comm., 566.
78. Weiss, G. Foreeda, M. y Nakanishi, K., (1973), "Stereochemistry of Theaspirone and the Blumenols". J. Chem. Soc. Chem. Comm., 566.

79. Aasen, A. J., Hlubucek, J. R. y Enzell, C. R., (1974), "Tobacco Chemistry. 24. (9R)-9-Hydroxy-4-megastigmen-3-one, a New Tobacco Constituent", Acta Chem. Scand. B **28**, 285.
80. Bhakuni, D. S., Joshi, P. P., Uprety, H. y Kapil, R. S., (1974), "Roseoside-A Cis Glycoside from *Vinca rosea*", Phytochemistry, **13**, 2541.
81. Stuart, K. L. y Woo-Ming, R. B., (1975), "'Vomifoliol in *Croton* and *Palicourea* Species", Phytochemistry, **14**, 594.
82. Stuart, K. L., Roberts, E. V. y Whittle, Y. G., (1976), "A General Method for Vomifoliol Detection", Phytochemistry, **15**, 332.
83. Lehn, J. M. y Ourisson, G., (1962), "Résonance Magnétique Nucléaire de Produits Naturels. I. Introduction Générales. Triterpènes de la série du Lupano: les Groupes méthyles", Bull. Soc. Chim. Fr., 1137.
84. Galbraith, M. N., Miller, C. J., Rawson, J. W. L., Ritchie, E., Shannon, J. S. y Taylor, W. G., (1965), "Moretenol and Other Triterpenes from *Ficus macrophylla* Desf", Aust. J. Chem., **18**, 226.
85. Chatterjee, A., Mukherjee, R., Srimany, S. K. y Bhattacharjee, J. Ind. Chem. Soc., **43**, 63.
86. Lindgren, B. O. y Svahn, C. M., (1966), "Lupan-3 $\beta$ ,20-diol and Lupan-3 $\beta$ ,20,28-triol in Bark from Birch, *Betula verrucosa* Ehrh.", Acta Chem. Scand., **20**, 1720.
87. Khastgir, H. N., Pradhan, B. P., Duffield, A. M. y Durham, L. J., (1967), "Identification of a New Triterpene,

- 3-Epimoretenol, from the Bark of *Sapum sebiferum* Roxb.", J. Chem. Soc. Chem. Comm., 1217.
88. Starratt, A. N., (1969), "Isolation of Hopenone-B from *Euphorbia cyparissias*", Phytochemistry, **8**, 1831.
89. Chin, W. J., Corbett, R. E., Heng, G. K. y Wilkins, A. L., (1973), "Lichens and Fungi. Part XI. Isolation and Structural Elucidation of a New Group of Triterpenes from *Sticta coronata*, *S. colensoi*, and *S. flavicans*", J. Chem. Soc. Perkin I, 1437.
90. Santa-Cruz, L. H., Turner, G. E., Knapp, J. E., Schiff, P. L. y Slatkin, D. J., (1975), "Moretenol and Other Constituents of *Celtis laevigata*", Phytochemistry, **14**, 2532.
91. Hul, W. y Li, M., (1976), "Triterpenoids from Two *Mallotus* Species: A Non-Triterpene and Two New Acids", Phytochemistry, **15**, 985.
92. Hul, W. y Li, M., (1976), "Two New Triterpenoids from *Rhodomyrtus tomentosa*", Phytochemistry, **15**, 1741.
93. Wenkert, E., Baddeley, G. V., Burfitt, I. R. y Moreno, L. N., (1978), "Carbon-13 Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy of Naturally-occurring Substances. Triterpenes Related to Lupane and Hopane", Org. Magn. Res., **11**, 337.
94. Pant, P. y Rastogi, R. P., (1979), "The Triterpenoids", Phytochemistry, **18**, 1095.
95. Schmidt, J. y Huneck, S., (1979), "Mass Spectroscopy of Natural Products. VI. Localization of Functional Groups in the Hopane Skeleton", Org. Mass Spectrometry, **14**, 656.

96. Kumar, N. y Seshadri, T. R., (1976), "A New Triterpene from *Pterocarpus santalinus* Bark", Phytochemistry, 15, 1417.
97. Sil, A. K., Som, U. K. y Dutta, G. P., (1980), "Chemical Investigation of *Mallotus napatensis* Muell", Ind. J. Chem., 19 B, 330.
98. Matsunaga, S. y Morita, R., (1983), "Hopanol-B, A Triterpene alcohol from *Euphorbia supina*", Phytochemistry, 22, 605.
99. Kouno, I., Saishoji, T., Sugiyama, M. y Kawano, N., (1983), "Xylosylglucoside of Xanthoxylin from *Saptum sebiferum* Root Bark", Phytochemistry, 22, 790.
100. Pradhan, B. P., Chakrabarti, D. K. y Chakraborty, S., (1984), "Lithium-Ethylenediamine as a Reducing Agent", Ind. J. Chem., 23 B, 1115.
101. Wilkins, A. L., Bird, P. W. y Jager, P. M., (1987), "Carbon-13 NMR Study of Some Triterpene Hydrocarbons of the Hopane Group", Magn. Reson. Chem., 25, 503.
102. McLean, S., Perpich-Dumont, M., Reynolds, W. F., Jacobs, H., y Lachmansing, S. S., (1987), "Unambiguous Structural and Nuclear Magnetic Resonance Spectral Characterization of Two Triterpenoids of *Maprounea guianensis* by Two-Dimensional Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy", Can. J. Chem., 65, 2519.