



**UADY**

POSGRADO  
INSTITUCIONAL  
EN CIENCIAS  
QUÍMICAS Y  
BIOQUÍMICAS

**APLICACIÓN DE AGENTES OXIDANTES PARA LA  
MODIFICACIÓN ESTRUCTURAL DE PRISTIMERINA**

**TESIS**

**PRESENTADA POR**

**DIANELA SILVANA LARA NAH**

**EN OPCIÓN AL GRADO DE**

**MAESTRA EN CIENCIAS  
QUÍMICAS Y BIOQUÍMICAS**

**MÉRIDA, YUCATÁN, MÉXICO**

**2018**





**UADY**

POSGRADO  
INSTITUCIONAL  
EN CIENCIAS  
QUÍMICAS Y  
BIOQUÍMICAS

**APLICACIÓN DE AGENTES OXIDANTES PARA LA  
MODIFICACIÓN ESTRUCTURAL DE PRISTIMERINA**

**TESIS**

**PRESENTADA POR**

**DIANELA SILVANA LARA NAH**

**EN OPCIÓN AL GRADO DE**

**MAESTRA EN CIENCIAS  
QUÍMICAS Y BIOQUÍMICAS**

**MÉRIDA, YUCATÁN, MÉXICO**

**2018**





Mérida, Yuc., 27 de noviembre de 2018  
Oficio Num.: PICQB/543/2018

**Asunto:** Autorización de digitalización

La tesis "Aplicación de agentes oxidantes para la modificación estructural de pristimerina" presentada por Dianela Silvana Lara Nah, en cumplimiento parcial de los requisitos para optar por el grado de Maestra en Ciencias Químicas y Bioquímicas, ha sido aprobada en cuanto a su contenido científico y en cuanto a lo establecido en el Manual de Procedimientos del Posgrado Institucional en Ciencias Químicas y Bioquímicas, por lo que se le autoriza la digitalización de los ejemplares correspondientes.

**Directores de la tesis**

Dr. Gonzalo Joaquín Mena Rejón

Dr. Rolando David Cáceres Castillo

**Sinodales:**

**Firmas**

Dr. Gumersindo Mirón López

Dr. Ángel Daniel Herrera España

Dr. Sergio Rubén Peraza Sánchez

**ATENTAMENTE**  
**"LUZ, CIENCIA Y VERDAD"**

**DRA. MAIRA RUBI SEGURA CAMPOS**  
**COORDINADORA DEL POSGRADO INSTITUCIONAL**  
**EN CIENCIAS QUÍMICAS Y BIOQUÍMICAS**



c.c. Archivo  
MRSC



## AGRADECIMIENTOS

De manera especial y sincera al Dr. Gonzalo Joaquín Mena Rejón, por la invitación acertada al hacerme partícipe en este proyecto, por sus invaluable conocimientos, enseñanzas y consejos que propiciaron un ambiente favorable y grato en el proceso de investigación, desarrollo y conclusión del trabajo. Sin duda alguna, constituye un gran pilar en mi proceso de formación profesional y personal. Mi más sincero agradecimiento.

En sumatoria directa a mi desarrollo académico y profesional a lo largo de la maestría al Dr. Rolando David Cáceres Castillo, por sus correcciones propias y pertinentes en cada etapa del proceso experimental y en el escrito del documento, mismas que enriquecieron el trabajo y expandieron mi manera de analizar y comprender las cosas.

Sin lugar a duda, al H. Síno: Dr. Gumersindo López Mirón, Dr. Ángel D. Herrera España y Dr. Sergio R. Peraza Sánchez, por su valioso tiempo dedicado en la revisión del documento, por sus aportaciones y recomendaciones en el desarrollo de la tesis, las cuales enriquecieron gran parte de este trabajo. Así como a la Dra. Adriana Esparza Ruiz por contribuir de manera significativa en la revisión y evaluación del documento.

Indudablemente, este trabajo ha sido posible gracias a la realización de los experimentos de RMN, los cuales fueron procesados en el Laboratorio de Resonancia Magnética Nuclear por la Q. Wendy C. Manzanarez Pech, gracias por la capacitación en el manejo del equipo, y por cada consejo dado en la interpretación de ellos. Así como al p. QFB Carlos A. Pech quien indudablemente cerró la etapa del procesamiento de los experimentos.

A cada una de las personas que con sus aportaciones contribuyeron a la mejora continua de este trabajo en su fase experimental y en la redacción al M. en C. Manlio Graniel Sabido, a mis compañeros tesisistas del Laboratorio: Q. Carolina Castro, Q. Marcelo Sosa, M. en C. Jasmín Salazar, y al IQB. Vicente López, así como a los p. QFB: Gilmer Cab y Mariana Sánchez quienes fueron pieza clave en el desarrollo experimental de esta tesis, sin más que decir: muchas gracias.

Al Posgrado Institucional en Ciencias Químicas y Bioquímicas y la Facultad de Química por de la Universidad Autónoma de Yucatán por el apoyo brindado.





Este trabajo de Tesis fue realizado en el laboratorio de Química Farmacéutica de la Facultad de Química de la Universidad Autónoma de Yucatán, bajo la dirección del Dr. Gonzalo Joaquín Mena Rejón y el Dr. Rolando David Cáceres Castillo y formó parte del proyecto “Estrategia Multidisciplinar en la búsqueda de nuevos agentes antiparasitarios de origen vegetal. Aislamiento, caracterización y modificación de moléculas obtenidas de celastráceas”. Financiado por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), clave 101265, con el apoyo de una beca concedida por el CONACYT.



## RESUMEN

En este trabajo se analizó el comportamiento y los cambios estructurales que presenta pristimerina, una metilénquinona, al someterla a distintas condiciones de oxidación, en busca de determinar la presencia de reacciones de cicloadición.

La pristimerina utilizada en las reacciones de oxidación fue aislada de la corteza de las raíces de *Hippocratea excelsa* H.B.K. Las reacciones de oxidación de pristimerina fueron llevadas a cabo utilizando, en cada ocasión, un diferente agente oxidante. Los agentes oxidantes utilizados fueron: 2,3-dicloro-5,6-dicianobenzoquinona (DDQ), nitrodisulfonato de potasio (Sal de Fremy) y ácido 2-yodoxibenzoico (IBX).

La reacción de oxidación realizada con DDQ resultó en la obtención de: xuxuarinas E $\alpha$  y E $\beta$ , dos nuevos dímeros triterpénicos conformados por unidades de isopristimerina III y pristimerina unidos mediante un enlace de tipo 3,4-dioxi en [3-O-2] y [4-O-3], 6-oxo-pristimerol y la pristimerina-dicianofenalediona. La aplicación del agente oxidante IBX resultó en la obtención de los mismos productos mencionados anteriormente. En el caso de la reacción en la que se utilizó la sal de Fremy solo se obtuvieron las xuxuarinas E $\alpha$  y E $\beta$ .

## ABSTRACT

In this work the behavior and the structural changes of the quinone methide pristimerin under oxidative conditions was investigated, in order to determine the occurrence of cycloaddition reactions.

Pristimerin was isolated from *Hippocratea excelsa* H.B.K. bark. 2,3-dichloro-5,6-dicyanobenzoquinone (DDQ), potassium nitrosodisulphonate (Fremy's salt), and 2-iodoxibenzoic acid (IBX) were used as oxidative agents in separate reactions.

The use of DDQ or IBX resulted in the formation of xuxuarines E $\alpha$  and E $\beta$ , two new dimers formed by moieties of isopristimerin III and pristimerin linked by a 3,4-dioxi bond, 6-oxo-pristimerol and pristimerin dicyanophenaledione; however, when Fremy's salt was used only xuxuarines E $\alpha$  and E $\beta$  were obtained.



## ÍNDICE GENERAL

<b>INTRODUCCIÓN</b>	1
<b>ANTECEDENTES</b>	3
Biosíntesis de metilénquinonas triterpénicas	4
Dímeros triterpénicos	5
Reacciones Diels-Alder	8
Obtención de derivados quinónicos	9
Agentes oxidantes para la obtención de estructuras quinónicas	11
Obtención de quinonas triterpénicas	14
Estudio de la oxidación de metilénquinonas triterpénicas	14
<b>OBJETIVOS</b>	
Objetivo general	17
Objetivos específicos	17
	17
<b>MATERIALES Y MÉTODOS</b>	
Recolecta y extracción del material vegetal	20
Aislamiento de pristimerina	20
<i>Fraccionamiento primario</i>	20
Reacciones de oxidación	22
<i>Oxidación de pristimerina con DDQ</i>	22
<i>Oxidación de pristimerina con DDQ promovida con un catalizador de SnCl<sub>4</sub></i>	25
<i>Oxidación de pristimerina con Sal de Fremy</i>	26
<i>Oxidación de pristimerina con IBX</i>	27
Cuantificación por RMN	28
<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b>	
Identificación de pristimerina	29
Identificación de los compuestos resultantes de la oxidación de pristimerina con DDQ	30
<i>Xuxuarina E<math>\alpha</math></i>	30
<i>Xuxuarina E<math>\beta</math></i>	33
Compuesto "a"	36
Compuesto "b"	44
Compuesto "c"	50
Compuesto "d"	52
Análisis de la oxidación de pristimerina con DDQ	55
Cuantificación de xuxuarinas E $\alpha$ y E $\beta$	55

<b>Análisis de la oxidación de pristimerina con Sal de Fremy</b>	60
<i>Compuesto f</i>	62
<b>Análisis de la oxidación de pristimerina con IBX</b>	63
<b>CONCLUSIONES</b>	67
<b>REFERENCIAS</b>	69

## LISTA DE ABREVIATURAS

AcOEt = Acetato de etilo	Hex= Hexano
APT = Experimento para asignar las multiplicidades C-H en el espectro de RMN- <sup>13</sup> C	HMBC = Experimento de correlación heteronuclear <sup>1</sup> H- <sup>13</sup> C a larga distancia
CC = Cromatografía en columna	HSQC = Experimento de correlación heteronuclear <sup>1</sup> H- <sup>13</sup> C a un enlace
CCD= Cromatografía en capa delgada	IBX = Ácido 2-iodobenzoico
CCDP = Cromatografía en capa delgada preparativa	<i>J</i> = Constante de acoplamiento
COSY = Experimento bidimensional de correlación homonuclear <sup>1</sup> H- <sup>1</sup> H	<i>m</i> = señal múltiple
<i>d</i> = señal doble	MeOH = Metanol
<i>da</i> = señal doble ancha	NOE = Efecto nuclear Overhauser
<i>dd</i> = señal doble de dobles	NOESY = Experimento de correlación homonuclear <sup>1</sup> H- <sup>1</sup> H a través del espacio
DA = Diels-Alder	RDA = Retro Diels-Alder
DDQ = 2,3-dicloro-5,6-dicianobenzoquinona	RMN = Resonancia Magnética Nuclear
DEPT = Experimento de transferencia de polarización	RMN- <sup>1</sup> H = Resonancia Magnética Nuclear de protón
DMDO = Dimetildioxirano	RMN- <sup>13</sup> C = Resonancia Magnética Nuclear de carbono 13
DMSO = Dimetilsulfóxido	RMN <sub>C</sub> = Resonancia Magnética Nuclear Cuantitativa
Eq = Equivalentes	<i>s</i> = señal simple
HDA = Hetero Diels-Alder	$\delta$ = desplazamiento químico





## INTRODUCCIÓN

Las metilénquinonas triterpénicas son un grupo de metabolitos secundarios de tipo friedelano que se encuentran restringidos a la familia Celastraceae, hoy en día se han identificado cerca de 23 metilénquinonas, las más comunes son la pristimerina, el celastrol y la tingenona.<sup>1</sup> Además de la presencia de las metilénquinonas, se han aislado dímeros triterpénicos en los cuales se sugiere su formación mediante la tautomería entre una metilénquinona triterpénica y su forma *orto*-quinónica para dar lugar a una reacción de tipo Diels-Alder entre ambas estructuras.<sup>2</sup> De acuerdo con la literatura existen alrededor de 300 cicloaductos que se dan por medio de reacciones de tipo Diels-Alder, en donde se incluyen a los policétidos, terpenoides, fenilpropanoides, alcaloides y productos naturales que se han formado a través de las vías biosintéticas mixtas. Sin embargo, no se ha establecido claramente si las reacciones de tipo Diels-Alder son solamente viables mediante la acción enzimática o no enzimática, es por ello que es imprescindible el aislamiento de un aducto con el precursor correspondiente para su estudio.<sup>3</sup>

Los aductos diméricos de tipo [4+2] son encontrados frecuentemente en productos naturales; el análisis retrosintético de estos compuestos proporciona información sobre el proceso de reacción de dimerización en donde se propone una oxidación (en casos de compuestos fenólicos) para obtener una quinona reactiva, a este tipo de reacciones en donde el dieno o el dienófilo contiene un heteroátomo (oxígeno o nitrógeno) se les conoce como reacciones hetero-Diels-Alder, y han sido ampliamente reportadas en la síntesis total de diferentes metabolitos secundarios. En el caso de las metilénquinonas triterpénicas, se sugiere la formación de la *orto*-quinona mediante un proceso de oxidación que se da en el anillo "A" de la molécula. Debido a que la especie que se obtiene es altamente reactiva no ha sido posible su aislamiento ni su caracterización dando lugar a la formación de dímeros triterpénicos con un bajo rendimiento.<sup>3</sup>

Es por ello que la intención del presente trabajo fue estudiar por medio de distintas reacciones y condiciones de oxidación la posible formación de la *orto*-quinona de una metilénquinona triterpénica (pristimerina) para valorar el papel que toma ésta dentro del proceso de formación de dímeros triterpénicos.

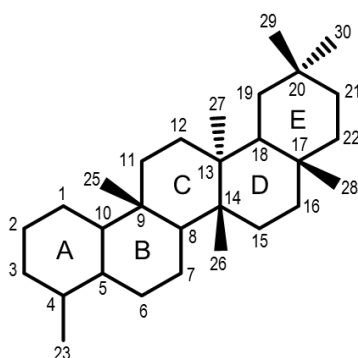


## ANTECEDENTES

La familia de las Celastráceas comprende más de 90 géneros y cerca de 1,300 especies, éstas han sido estudiadas por sus diversos usos en la agricultura y en la medicina tradicional, además de que se les considera como una fuente de terpenoides de tipo friedelano, lupano, oleanano, dímeros triterpénicos y diterpenos de tipo kaurano y abietano. Dentro de los metabolitos secundarios que se han aislado en esta familia destacan los alcaloides sesquiterpénicos y las metilénquinonas triterpénicas, estas últimas pueden llegar a ser precursores de dímeros o trímeros triterpénicos.<sup>5,6</sup>

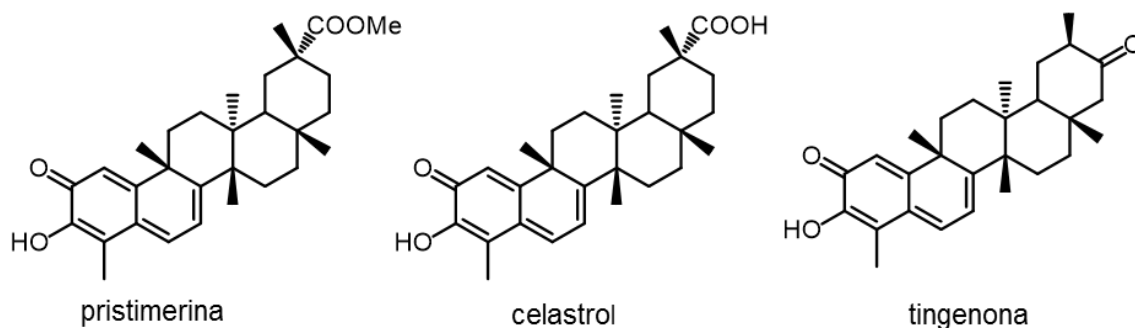
Las metilénquinonas triterpénicas constituyen un pequeño grupo de *nor*-D:A-friedoleanos insaturados y oxigenados (Figura 1), las cuales se encuentran restringidos a las raíces de especies de la familia de plantas superiores Celastraceae y se les considera indicadores quimiotaxonómicos de dicha familia ya que hasta ahora no se han aislado en otros géneros fuera de esta familia, debido a esto son conocidos también como “celastroides”, incluyendo a los que poseen agrupamientos fenólicos.<sup>7,8</sup>

Hoy en día se conocen alrededor de 100 triterpenoides de este tipo, el interés en particular por estudiar estos compuestos ha sido por la gran variedad de actividades biológicas que presentan, tales como: antitumoral, antimicrobiana, antibiótica, antimalaria, antiparasitaria, antioxidante e inhibidora del virus SARS-CoV, es por ello que en la actualidad existen varios estudios sobre relaciones estructura-actividad y mecanismos de acción de este tipo de triterpenoides.<sup>8,9</sup>



**Figura 1.** Estructura y numeración del esqueleto 24-*nor*-D:A-friedoleano.

Dentro de las metilénquinonas que han sido aisladas con mayor frecuencia y abundancia destacan el celastrol, tingenona y pristimerina (Figura 2). La diferencia entre estos compuestos radica en el grado de oxidación que poseen en el anillo E.<sup>9</sup> La presencia del cromóforo metilénquinónico extendido en los anillos A y B es de vital importancia para la actividad antimicrobiana; así como los sustituyentes presentes en el anillo E.<sup>10</sup>

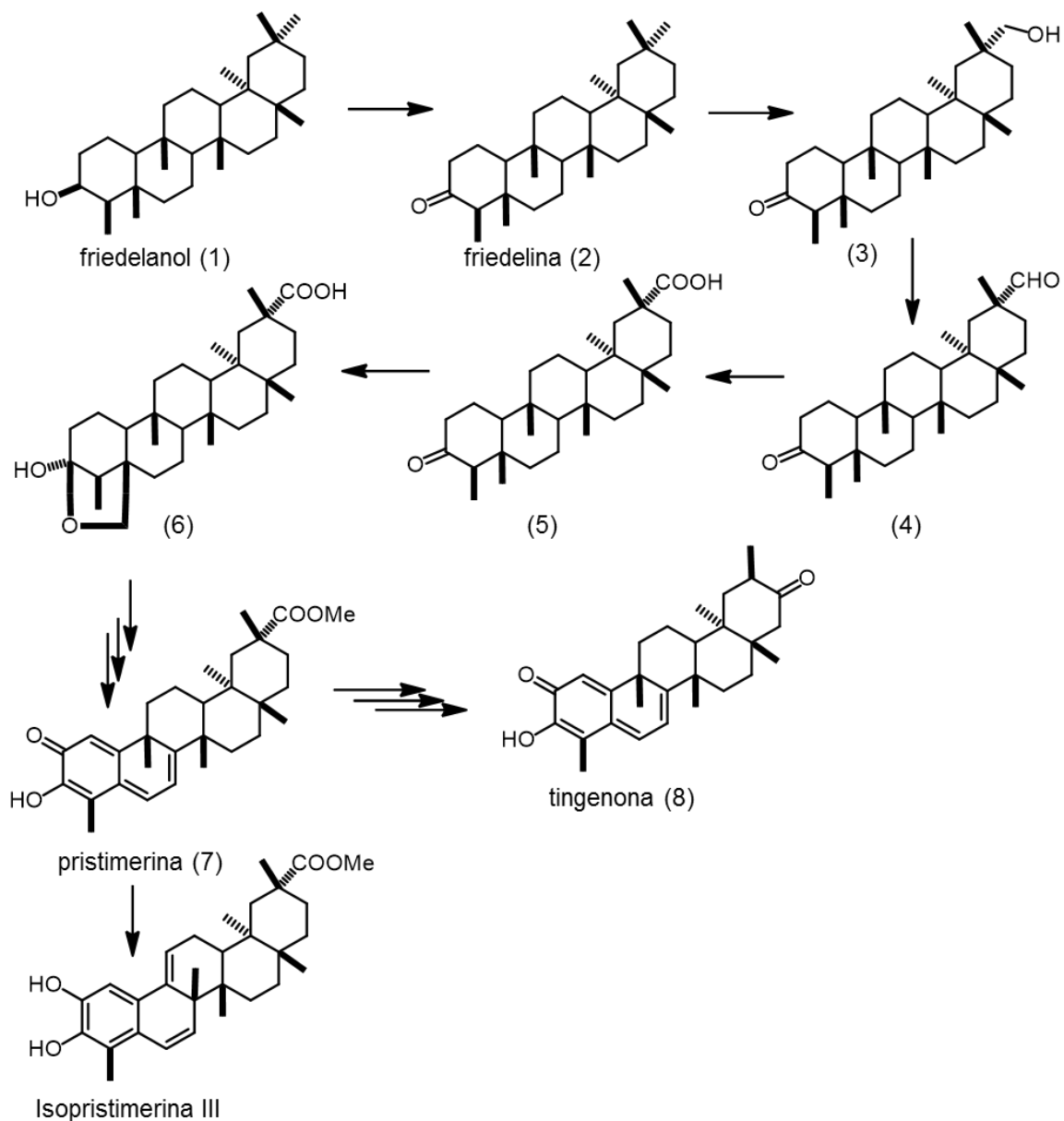


**Figura 2.** Metilénquinonas frecuentes de la familia Celastraceae.

*Biosíntesis de metilénquinonas triterpénicas.*

El estudio de su formación pone como base principal al esqueleto de tipo friedelano, el friedelanol sufre una oxidación transformándose en friedelina, la cual por medio de la intervención de enzimas oxido-reductasas y de re-arreglos da lugar a la formación de pristimerina (Figura 3), esta a su vez actúa como precursora de isopristimerina III e isotingenona III, las cuales poseen un arreglo de tipo catecol.<sup>11</sup>

Estructuralmente, las metilénquinonas como pristimerina poseen funciones oxigenadas en los carbonos dos y tres, sin embargo, se han encontrado oxidaciones adicionales en los carbonos C4, C7, C15, C20, C21, C22, C28, C29 y C30 e insaturaciones en C5-C6, C7-C8, C9-C11, C14-C15, C20-C21 y C20-C30, dependiendo de los procesos de oxidación y los re-arreglos que éstas presenten pueden dar lugar a los derivados 6-oxo-fenólicos como el 6-oxo-pristimerol, las 7-oxo-metilénquinonas, los triterpenofenoles, las 9 (11)-en-metilénquinonas, las 14(15)-en-metilénquinonas y la formación de los dímeros triterpénicos.<sup>12</sup>

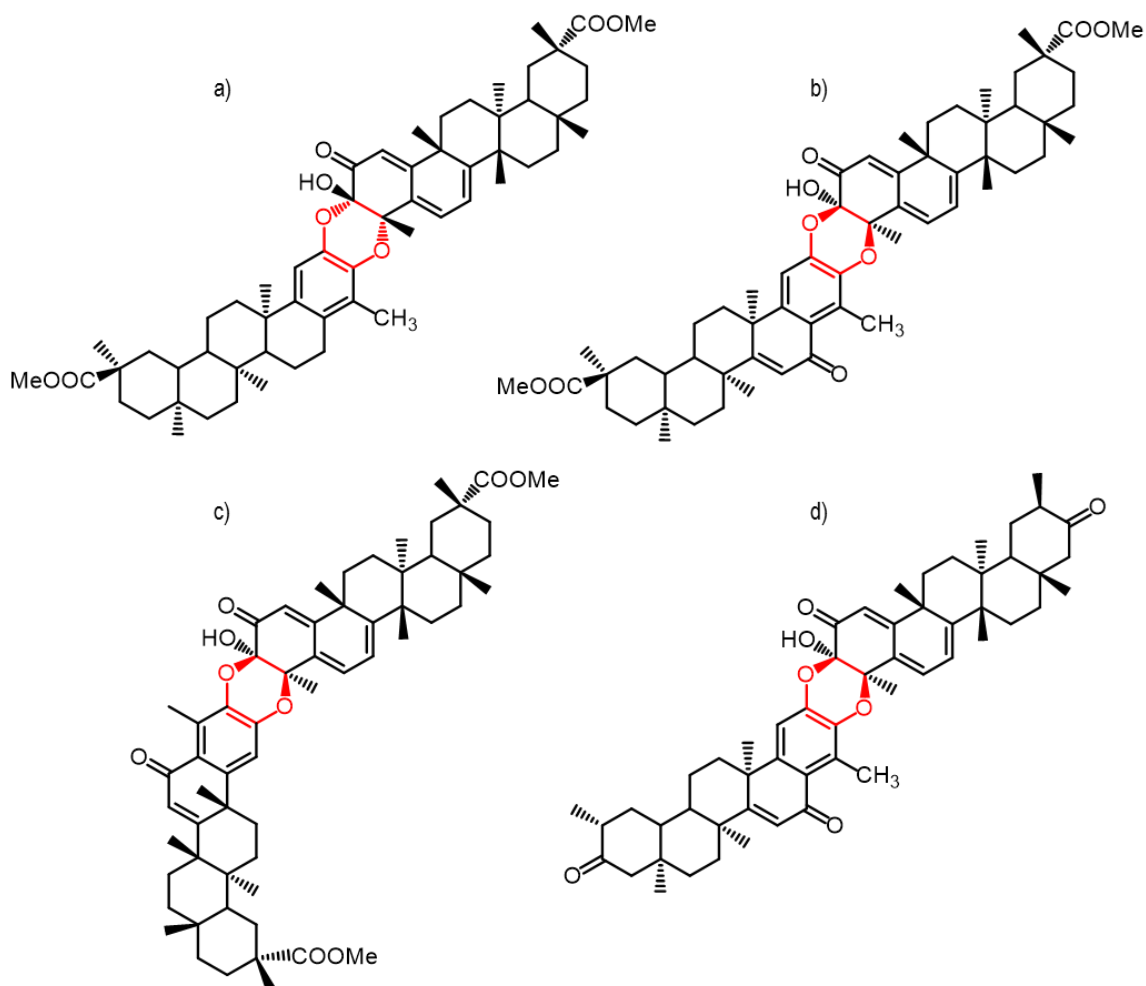


**Figura 3.** Ruta biogénica propuesta para la formación de pristimerina y tingenona.

### Dímeros triterpénicos

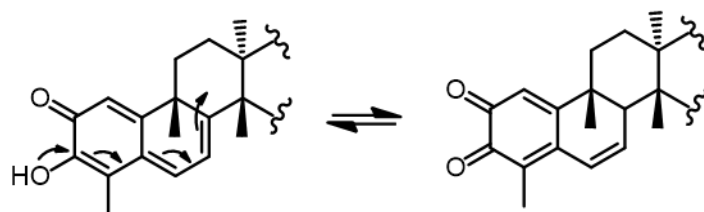
Los dímeros de triterpenometilénquinonas son característicos de la familia Celastraceae, y hasta ahora se han aislado más de 60 de ellos de especies pertenecientes al género *Maytenus*: *M. chuchuasca*, *M. ilicifolia*, *M. umbellata*, *M. magellanica*, *M. scutioides* y *M. blepharodes*, así como de otras especies de la familia Celastraceae (*Rzedowskia tolantonguensis*, e *Hippocratea excelsa*).<sup>9,12</sup> Estos se caracterizan por contener unidades de fenoles o unidades metilénquinónicas derivadas de pristimerina, tingenona, celastrol

y/o sus derivados, los cuales se encuentran unidos mediante dos enlaces tipo éter entre los anillos A-A de dos celastroloides (Figura 4) o bien entre los anillos B-A.<sup>13,14</sup>



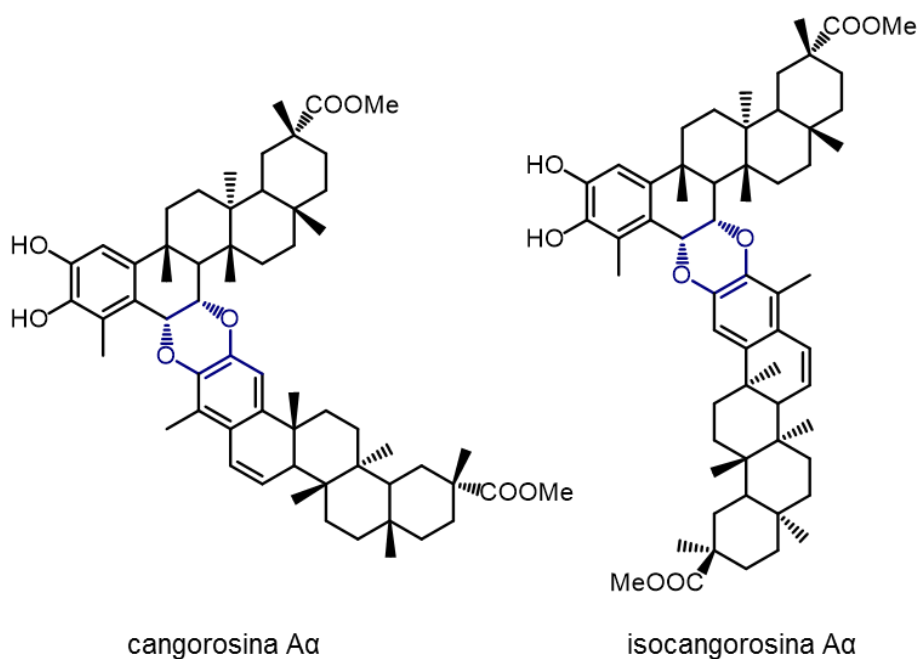
**Figura 4.** Dímeros triterpénicos a) 6'7'-dihidroscutionina  $\alpha$ B, b) xuxuarina E $\beta$ , c) 7,8-dihidroxxuarina-E $\alpha$  y d) xuxuarina A $\beta$ .

Shirota y colaboradores<sup>2</sup> postularon un mecanismo biosintético para la formación de los dímeros triterpénicos, en el cual se asume que una metilénquinona triterpénica se encuentra en estado de equilibrio con una *o*-quinona triterpénica (Figura 5) y ambas pueden reaccionar para formar el correspondiente aducto, esto se da por medio de una reacción de tipo Hetero-Diels-Alder, en donde se pueden obtener los dímeros de tipo A-A y los de tipo B-A (Figura 6).<sup>15,16,17</sup>



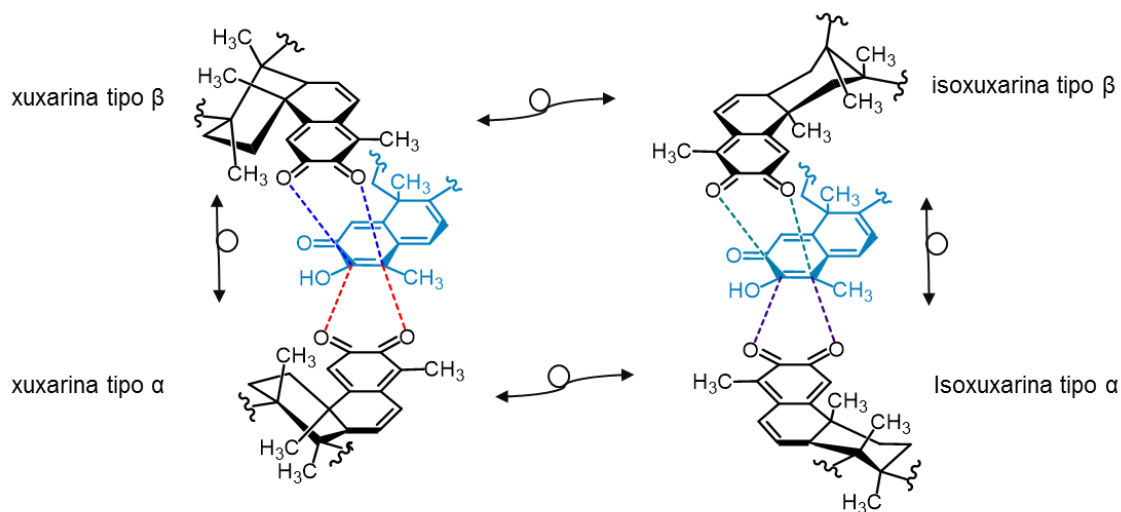
**Figura 5.** Equilibrio entre metilénquinona- *orto*-quinona.<sup>17</sup>

Cuando la reacción se da entre el doble enlace del anillo B de un fenol y la dicetona del anillo A de una *o*-quinona, se obtienen los dímeros B-A (Figura 6), éstos son considerados derivados de triterpenofenoles y dependiendo del tipo de unión se pueden obtener los regioisómeros A o B.<sup>15,17</sup>



**Figura 6.** Dímeros triterpenometilénquinónicos de tipo B-A.

La ruta biosintética propuesta para la formación de los dímeros triterpénicos sugiere que la metilénquinona se comporta como un dienófilo frente a la *o*-quinona, esto da lugar a la obtención de cuatro posibles isómeros de cada aducto (Figura 7), el ataque de la *o*-quinona (dieno) puede darse tanto en la cara *Si-Si*, o en la *Re-Re* del dienófilo, dando como resultado la obtención de dímeros con estereoquímica  $\alpha$  o  $\beta$ .<sup>17,19</sup>



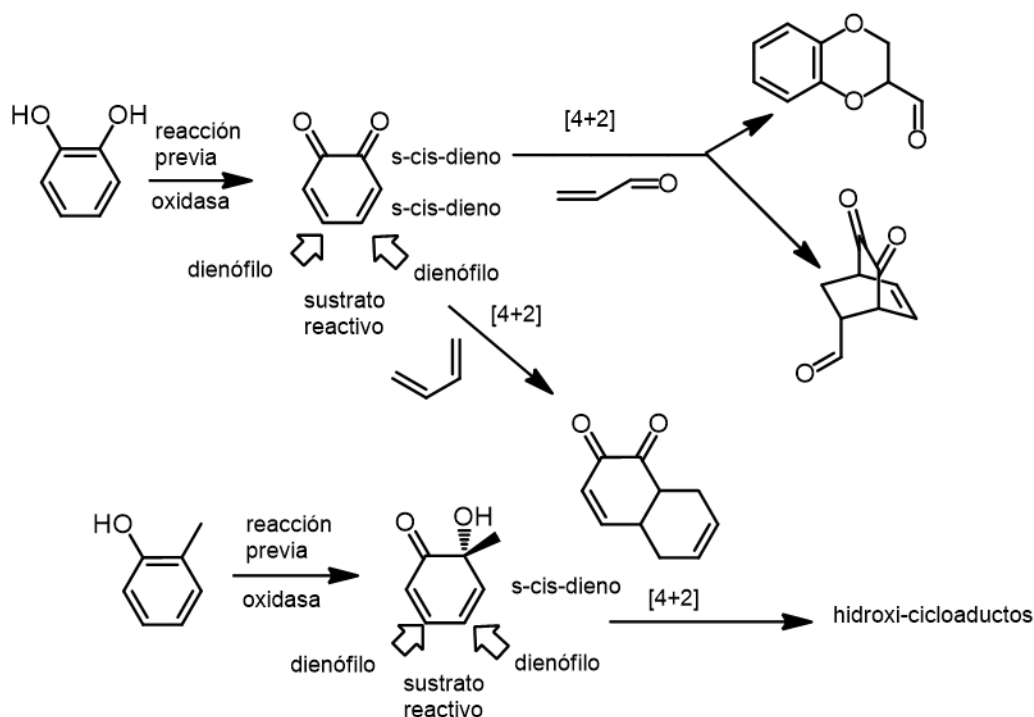
**Figura 7.** Posible mecanismo biosintético para los regio- y estereoisómeros de los dímeros triterpénicos.<sup>17</sup>

### Reacciones Diels-Alder

Las reacciones de tipo Diels-Alder se han propuesto como mecanismo de formación de cerca de 300 cicloaductos en productos naturales del reino vegetal, sin embargo, no se ha logrado establecer de forma experimental una reacción enzimática que pueda dar lugar a ellas; aun así existen ciertas enzimas aisladas de especies de hongos que se han caracterizado, en las cuales se ha encontrado que pueden promover reacciones Diels-Alder, dentro de ellas se encuentra la solanapirona sintasa (SPS), la macrofomato sintasa (MPS) y la lovastatina nonacétido sintasa (LNKS), la actividad de las enzimas dielsalderas hasta donde se sabe es limitada, una razón de esto podría ser la dificultad del aislamiento de los precursores de la reacción Diels-Alder, o bien de que las enzimas sean bifuncionales como catalizar oxidaciones previas a la cicloadición.<sup>19,20</sup>

Un número significativo de aductos [4+2] son considerados como derivados de una transformación oxidativa procedente de reacciones de tipo Diels-Alder, por ejemplo la oxidación de los catecoles proporcionan *o*-quinonas reactivas que presentan dos dienos y dos dienófilos en la misma molécula (Figura 8).<sup>20</sup>





**Figura 8.** Modelos de *o*-quinonas y *o*-quinoles como sustratos de enzimas dielsalderasas.

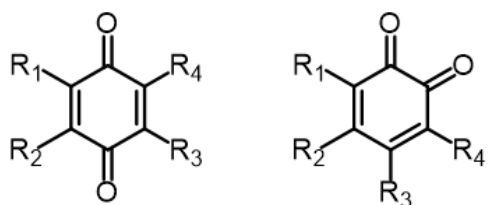
### Obtención de derivados quinónicos

En años recientes la oxidación de productos naturales, y en este caso de los terpenos, ha adquirido mayor importancia gracias al impacto que tienen en cuestiones de síntesis y biosíntesis, ya sea aplicado en la industria o en la química medicinal, gracias a ello es posible la adición de otras moléculas a la estructura de los terpenos<sup>22</sup>

La oxidación puede ser factible mediante reacciones con radicales hidroxilo (OH), ozono, nitrato (NO<sub>3</sub>), sales de paladio o por medio de fotólisis, sin embargo, su estudio no sólo se centra en estos últimos, generalmente, las reacciones de oxidación en terpenos pueden ser posibles mediante sus dobles enlaces o bien por los grupos oxigenados que éstos poseen, el hecho de usar una determinada reacción en la molécula, dependerá del tipo de terpeno que se esté oxidando.<sup>22,23</sup>

Las quinonas son resultado de la oxidación de fenoles las cuales pueden ser clasificadas como *p*- y *o*-quinonas (Figura 9). Su importancia yace en el impacto en la industria, en su capacidad para transportar energía, átomos de carbono en organismos vivos, proveer de nutrientes; en la industria farmacéutica se usan para tratar el cáncer, VIH y como agentes antibacterianos. Las *orto*-quinonas son compuestos polares e inestables debido a que pueden dar lugar a reacciones de dimerización y otras no deseables. Existen

ciertos tipos de reacciones de oxidación que pueden dar lugar a la obtención de *orto*-quinonas, algunas de ellas se muestran en la Tabla 1.<sup>23</sup>



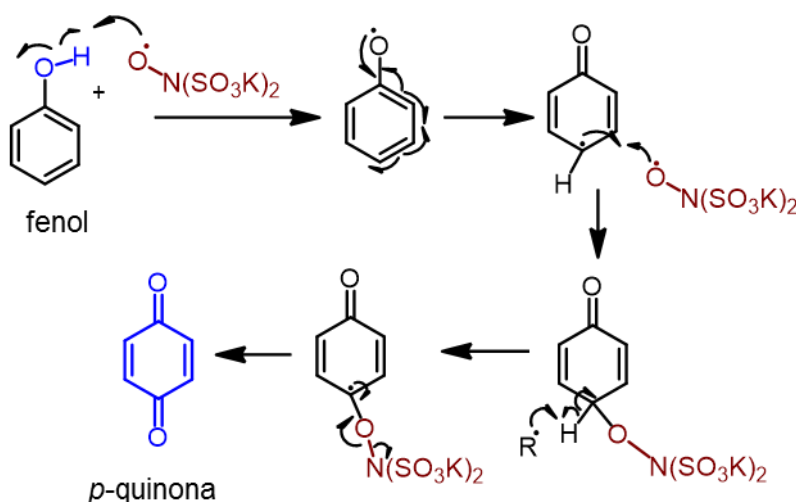
**Figura 9.** Estructura general de *p*-quinonas y *o*-quinonas.

**Tabla 1.** Obtención de distintos tipos de quinonas de derivados fenólicos.<sup>23</sup>

Condiciones	Productos
Selenio <sup>23</sup> SeO <sub>2</sub> , 60°C, AcOH	
Sal de Fremy <sup>23</sup> (KSO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> NO	
Dimetildioxirano <sup>23</sup>	
AgO <sub>2</sub> <sup>23</sup>	<p style="text-align: center;">Tautómero más estable                      Tautómero menos estable</p>

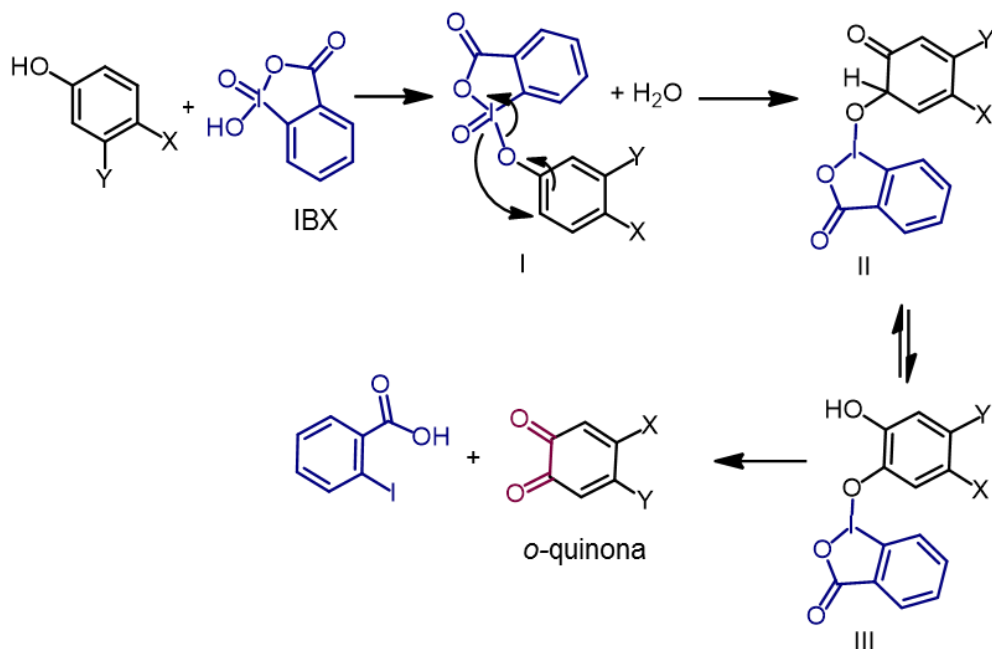
## Agentes oxidantes para la obtención de estructuras quinónicas

Existen diversos métodos para la oxidación de fenoles a sus correspondientes quinonas, aunque, no todos ellos son regioselectivos. Entre los agentes oxidantes que más se conocen por formar *p*- y *o*-quinonas destacan: el dinitrosulfonato de potasio (sal de Fremy), ácido *o*-iodobenzoico (IBX), 2,3-dicloro-5,6-dicianobenzoquinona (DDQ) y el dimetildiroxirano (DMDO). La sal de Fremy es un agente oxidante de tipo radical, el cual es comúnmente utilizado para oxidar fenoles a sus correspondientes benzoquinonas, cuando la posición *p*- con respecto al grupo hidroxilo en cuestión no se encuentra sustituido es más favorable la formación de la *p*-quinona (Figura 10), en contraste, cuando éste se encuentra sustituido es más probable que se obtenga la *o*-quinona.<sup>24,25</sup>



**Figura 10.** Formación de una *p*-quinona mediante la sal de Fremy.

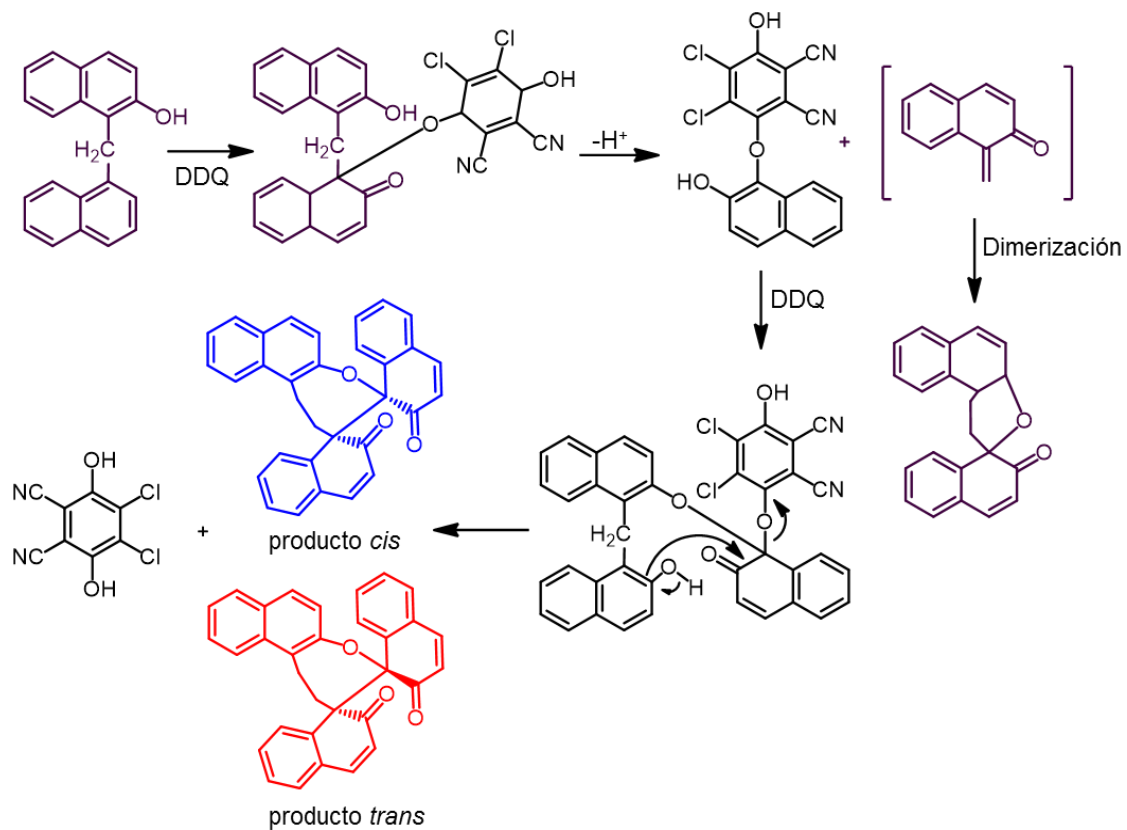
A diferencia de la sal de Fremy que da lugar a *p*- y *o*-quinonas Pettus y colaboradores<sup>26</sup> reportaron un método regioselectivo para la oxidación de fenoles a sus correspondientes *o*-quinonas usando IBX en dimetilformamida, en dicha oxidación es menos probable que se formen otros productos no deseados (Figura 11).



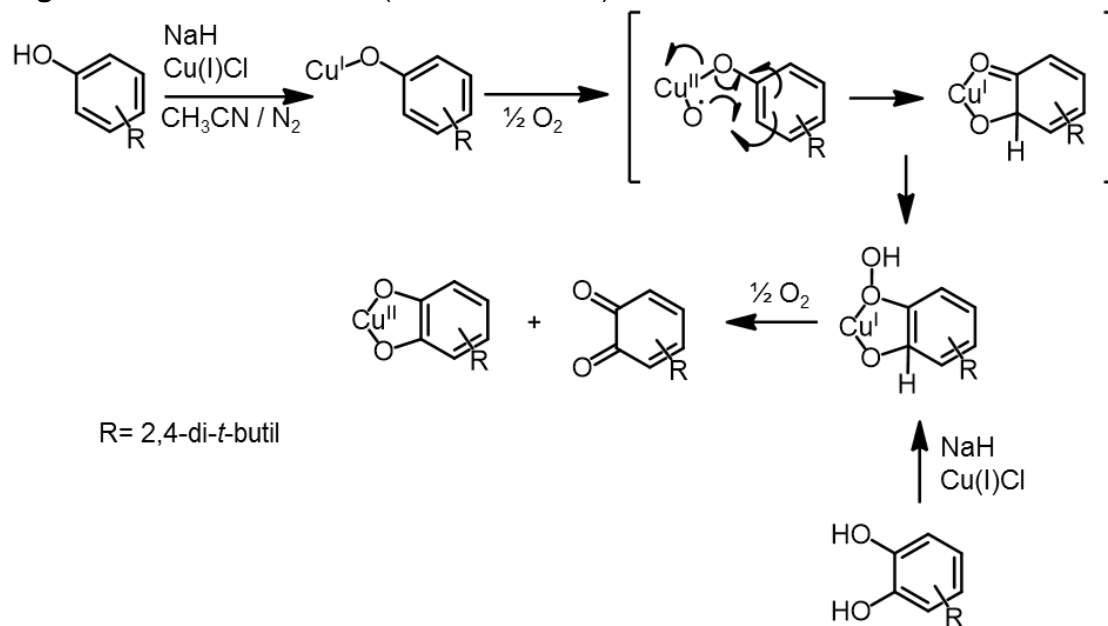
**Figura 11.** Mecanismo racional usando IBX para la conversión de fenoles a *o*-quinonas.

El DDQ es un reactivo ampliamente utilizado por su alto potencial como agente oxidante sobre alcoholes y grupos amino, dando lugar a la obtención de dímeros y derivados *o*-y *p*-quinónicos, además de promover algunas anillaciones oxidativas<sup>27</sup>. Así mismo se ha demostrado la formación de los correspondientes dímeros del sustrato en cuestión dando lugar a la obtención de nuevos productos (Figura 12).

Otro tipo de reacción que se usa para oxidar fenoles como el metil 4-hidroxibenzoato y convertirlos en sus respectivas quinonas es el uso de un catalizador de cobre, específicamente se han usado los complejos de aminas con Cu(II) para dar lugar a una *o*-quinona, la reacción se da en tres pasos de acuerdo a la Figura 13.<sup>28</sup>



**Figura 12.** Oxidación de bis (2-hidroxi-1-naftil) metano con DDQ.



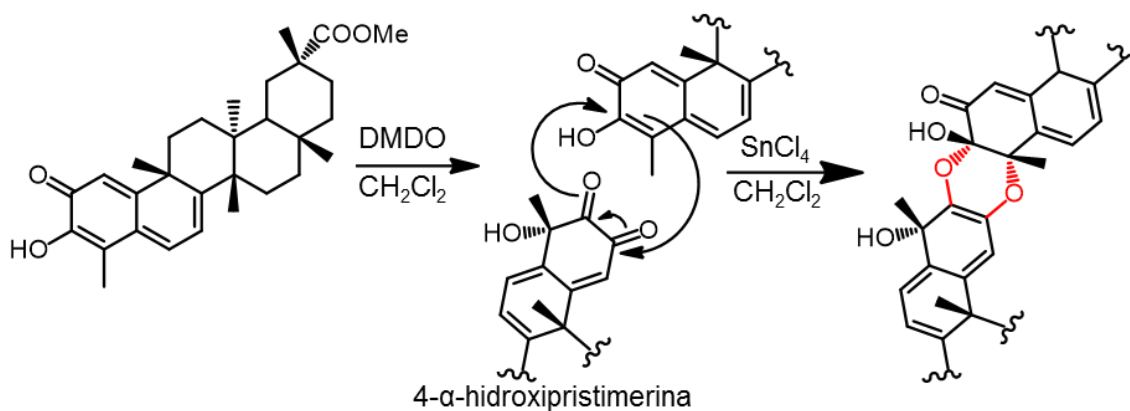
**Figura 13.** Reacción de la obtención de o-quinonas mediante el complejo de Cu(II).

## Obtención de quinonas triterpénicas

En el caso de las quinonas provenientes de las celastráceas no se sabe de manera experimental si se puede aislar la *o*-quinona correspondiente, la pristimerina ha servido como base para llevar a cabo ciertas reacciones que podrían demostrar la presencia de la *o*-quinona, sin embargo, debido a su inestabilidad ha sido difícil de aislar, aunque la presencia de triterpenos con agrupamiento de tipo catecol en especies de Celastráceas se conoce desde hace varios años,<sup>29</sup> los triterpenos *o*-quinónicos han permanecido esquivos, y solamente se cuenta con un reporte sobre la identificación de una especie poco estable de tipo 9(11)-en-metilen-*orto*-quinona, aislada de la especie *Celastrus orbiculatus*.<sup>30</sup> Los derivados de catecoles, que podrían ser los precursores de los triterpenos de tipo 2,3-dicetonas a través de oxidaciones enzimáticas en las plantas, o directamente las *o*-quinonas son considerados como los materiales de partida para la formación de dímeros triterpénicos.

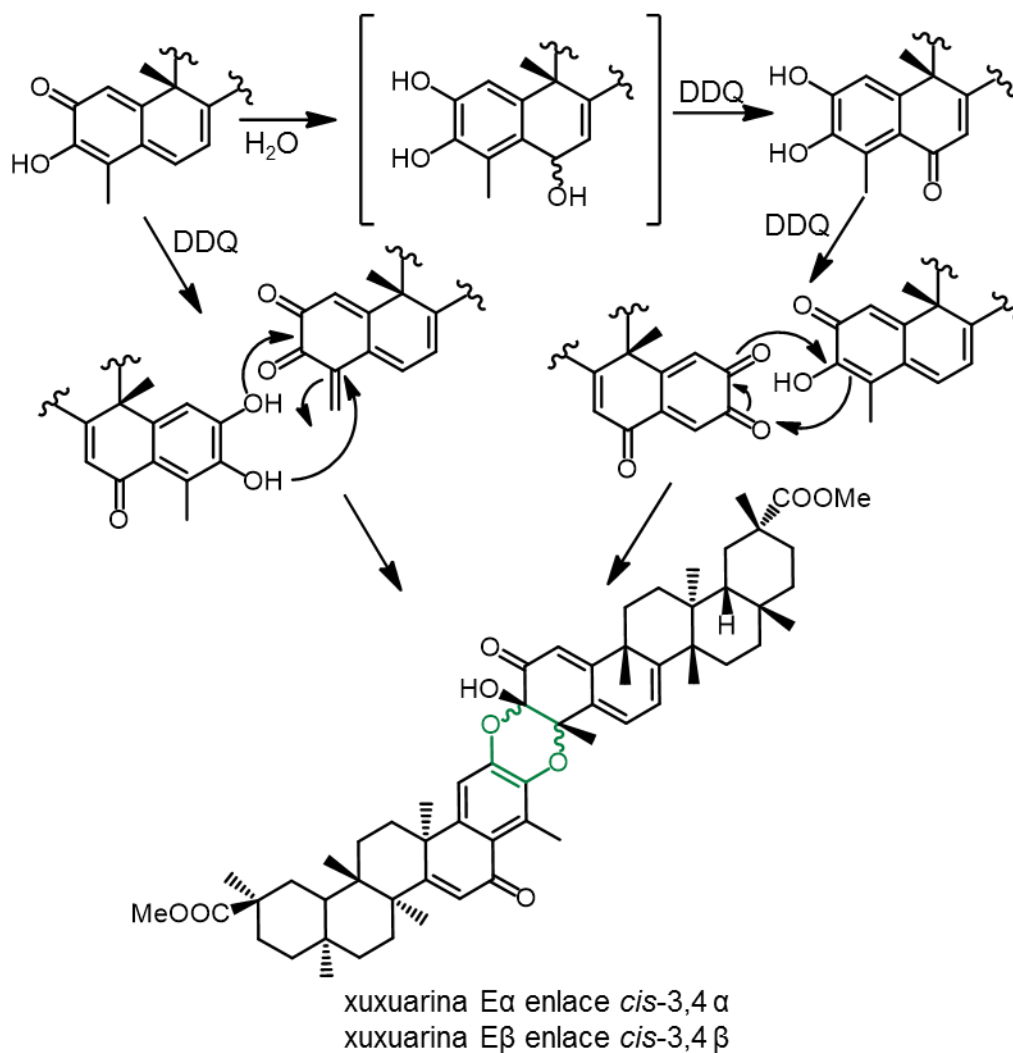
## Estudio de la formación de metilénquinonas triterpénicas

Como parte del estudio de la formación de los dímeros triterpénicos a partir de reactivos de oxidación, se puede mencionar el trabajo de Gonzalez y colaboradores<sup>31</sup> en donde realizaron la oxidación de la pristimerina bajo condiciones de tipo Diels-Alder con dimetildiroxano para producir la 4- $\alpha$  hidroxipristimerina<sup>32</sup>, dando lugar a un dímero sintético conformado por dos unidades de pristimerina (Figura 14). La reacción de cicloadición da soporte a la idea de que es necesaria una oxidación previa para la formación de un heterodieno.



**Figura 14.** Oxidación de pristimerina con DMDO.

Así mismo, se ha llevado a cabo la oxidación de la pristimerina usando (DDQ) en dioxano a temperatura ambiente, en esta reacción se obtuvieron dos dímeros triterpénicos que fueron identificados como xuxuarinas E $\alpha$  y E $\beta$  (Figura 15).<sup>33</sup>



**Figura 15.** Posibles rutas de reacción para la formación de dímeros triterpénicos (xuxuarina E $\alpha$  y xuxuarina E $\beta$ ) resultantes de la oxidación de la pristimerina.





## OBJETIVOS

### Objetivo general

Evaluar el efecto de diferentes agentes oxidantes en la obtención de derivados o-quinónicos de pristimerina.

### Objetivos específicos

- a. Obtener pristimerina del extracto apolar (Hex) de raíces de *Hippocratea excelsa* H.B.K.
- b. Identificar las condiciones de oxidación de pristimerina compatibles con el uso de  $K_2NO(SO_3)_2$  (Sal de Fremy), 2,3-dicloro-5,6-dicianobenzoquinona (DDQ) y ácido 2-yodoxibenzoico (IBX).
- c. Purificar los productos de oxidación por técnicas cromatográficas.
- d. Elucidar la estructura de los compuestos obtenidos por medio de experimentos 1D y 2D de RMN.



## MATERIALES Y MÉTODOS

### Materiales y reactivos

Los disolventes utilizados para los procesos de extracción, separación y purificación fueron de grado industrial y se destilaron previamente para su uso; los reactivos y disolventes utilizados en las reacciones de oxidación fueron de la marca Sigma-Aldrich.

### Métodos de separación

Las separaciones por cromatografía en columna (CC) se realizaron con distintas fases estacionarias, tales como Sephadex lipofílico LH-20 y gel de sílice con tamaño de poro de 60 Å y tamaño de partícula de 37-44 µm y de 2-25 µm.

El análisis en cromatografía por capa delgada (CCD) se realizó mediante cromatofolios de aluminio de 20 x 20 cm impregnados con gel de sílice 60GF<sub>254</sub> de 0.25 mm de espesor de la marca Sigma-Aldrich. Como agentes reveladores se utilizaron luz ultravioleta de onda corta (254 nm) y onda larga (365 nm), así como óleum (ácido acético glacial, agua y ácido sulfúrico en proporciones 20:4:1) con calentamiento posterior.

La cromatografía en capa delgada preparativa (CCDP) se llevó a cabo en placas de vidrio de 10 x 20 cm impregnadas con gel de sílice 60GF<sub>254</sub> de 0.5 mm de espesor de la marca Sigma-Aldrich.

### Equipos

#### *Espectroscopía de Resonancia Magnética Nuclear*

Para la caracterización estructural de los compuestos se usó la espectroscopía de resonancia magnética nuclear protónica (RMN-<sup>1</sup>H) y de carbono-13 (RMN-<sup>13</sup>C) a 400 y 100 MHz, respectivamente, así como los experimentos homonucleares y heteronucleares, en un espectrómetro Bruker DPX400 Avance, con una sonda BBO de 5 mm con un gradiente protegido en z, se emplearon disolventes deuterados de la marca Aldrich de acuerdo a la solubilidad de los compuestos. Los desplazamientos químicos se reportaron en partes por millón (ppm) y se encuentran referenciados con respecto a la señal residual del disolvente deuterado utilizado en cada caso.

#### *Ultrasonido*

Para las reacciones de oxidación se usó un equipo de ultrasonido de la marca Ultrasonic Processor con una amplitud de onda de 20 Hertz y a una temperatura de 30°C.

## Recolecta y extracción del material vegetal

La recolección del material vegetal se realizó en el mes de Diciembre de 2016 en las cercanías de la comisaría de Dzununcán, Yucatán, México (N 20°84', O 89°61'). Se recolectaron tres ejemplares de *Hippocratea excelsa* H.B.K de aproximadamente 1 m de altura, las raíces obtenidas se descortezaron, se limpiaron y se colocaron en un desecador para herbario durante cuatro días a una temperatura menor a 50°C, posteriormente el material vegetal seco fue molido a un tamiz de malla número 10 de dónde se obtuvo 2,050 g.

## Aislamiento de pristimerina

El material vegetal seco y molido (2,050 g) se sometió a extracción en un equipo Soxhlet con Hexano (Hex) como disolvente; el extracto ya concentrado (87.8 g) se disolvió en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> y posteriormente se le añadió Metanol (MeOH) hasta la obtención por filtración de un precipitado blanco grisáceo que fue identificado como gutapercha. La mezcla CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>–MeOH fue concentrada en un evaporador rotatorio a presión reducida para obtener 37.8 g de extracto seco.

### *Fraccionamiento primario*

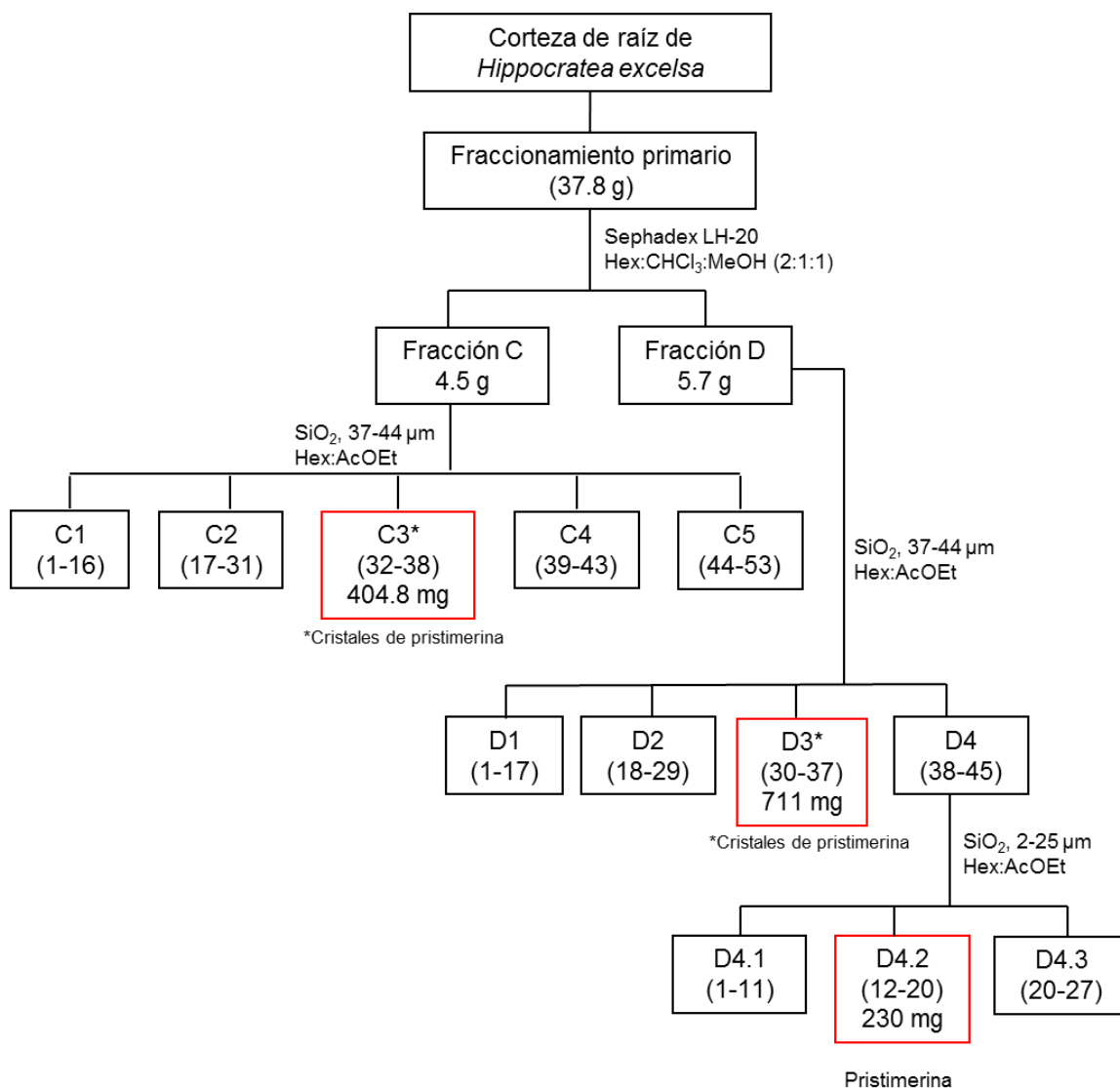
El extracto hexánico (37.8 g) fue fraccionado en una columna de vidrio empacada con Sephadex LH-20 y con una mezcla de Hex:CHCl<sub>3</sub>:MeOH (2:1:1). De esta columna se obtuvieron 22 fracciones que fueron reunidas por similitud de acuerdo a la CCD en cinco fracciones primarias (A-E), siendo la prioridad del presente trabajo aislar y purificar pristimerina se trabajó con las fracciones **C** (4.5 g) y **D** (5.7 g) de donde se observó la presencia de esta metilénquinona triterpénica.

La fracción **C** (4.5 g) fue separada por CC con gel de sílice (37-44 μm) y como fase móvil Hex, mezclas de Hex: Acetato de etilo (AcOEt) (9:1, 8.5:1.5, 8:2, 7.5:2.5, 7:3) y AcOEt. Se recolectaron 53 fracciones, las cuales fueron agrupadas por similitud por CCD en cinco fracciones principales (C1-C5). La fracción **C3** se sometió a evaporación lenta para la obtención de pristimerina cristalina (0.404 g). Los cristales fueron separados por filtración a gravedad y lavados con Hex frío. En la fracción **C4** se observó la presencia de la pristimerina y tingenona, y la fracción (C5) tuvo como componente mayoritario a la tingenona (figura 2).

La fracción **D** (5.7 g) se purificó mediante CC, utilizando gel de sílice (37-44 μm) como fase estacionaria y mezclas de Hex, Hex:AcOEt (9:1, 8.5:1.5, 8:2, 7.5:2.5, 7:3) y AcOEt, como fase móvil. Se recolectaron 45 fracciones y de acuerdo al análisis por CCD se reunieron en cuatro grupos (**D1-D4**). A partir de la fracción **D3**, por medio de la evaporación lenta del disolvente, se obtuvieron cristales de pristimerina (0.711 g).

La fracción marcada como **D4** (0.540 g) se fraccionó mediante CC utilizando gel de sílice (2-25µm) como fase estacionaria y como fase móvil Hex, una mezcla de Hex-CHCl<sub>3</sub>-AcOEt (2:7.5:0.5) y AcOEt, obteniéndose 27 fracciones, las cuales al ser analizadas por CCD se reunieron en **D4.1** (pristimerina con impurezas), **D4.2** (pristimerina pura) y **D4.3** pristimerina con tingenona (Figura 16).

La pristimerina se obtuvo como agujas de color naranja; RMN-<sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7.02 (dd, 1H, *J* = 7.1, 1.4 Hz, H-6), 6.97 (s, 1H, OH), 6.53 (d, 1H, *J* = 1.4 Hz, H-1), 6.35 (d, 1H, *J* = 7.1 Hz, H-7), 3.55 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 2.43 (1H, H-19), 2.20 (3H, H-23), 1.44 (3H, H-25), 1.25 (3H, H-26), 0.52 (3H, H-27), 1.09 (3H, H-28), 1.17 (3H, H-30).



**Figura 16.** Purificación de pristimerina.

## Reacciones de oxidación

### *Oxidación de pristimerina con DDQ*

En un matraz de fondo redondo y en atmósfera de nitrógeno, se agregaron 51.5 mg (110.8  $\mu\text{mol}$ ) de pristimerina, y se añadieron diferentes proporciones de DDQ; para el primer caso se utilizaron 30.2 mg (133.0  $\mu\text{mol}$ ) y para el segundo 75.4 mg (332.4  $\mu\text{mol}$ ), la mezcla de reactivos se disolvió en 5 mL de dioxano anhidro. Para las reacciones que emplearon 30.2 mg (1.20 eq.) de DDQ se establecieron tiempos de reacción de 3, 6 y 12 horas a temperatura ambiente, además de la irradiación con ondas ultrasónicas a una amplitud de onda de 20 Hz y a una temperatura de 30°C por 3 y 6 h. Las reacciones con 3 equivalentes de DDQ se realizaron a temperatura ambiente en agitación constante a 3, 6, y 12 h.

Al finalizar cada reacción, se añadieron 100 mL de AcOEt y posteriormente se realizó una extracción líquido-líquido con 70 mL de agua (6x), se recolectó la fase orgánica y fue secada con  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidro, filtrada y concentrada en un evaporador rotatorio. La purificación de los crudos de reacción se realizó en una columna de vidrio empacada con Sephadex LH-20 y eluída con una mezcla de Hex: $\text{CHCl}_3$ :MeOH (2:1:1).

La purificación de las reacciones con 1.20 eq. dio lugar a 18 fracciones, las cuales se agruparon por similitud (A-E), de acuerdo a la CCD. En las reuniones de tipo "A" se separaron a las xuxuarinas  $\text{E}\alpha$  y  $\text{E}\beta$  por medio de CCDP usando un sistema Hex: AcOEt (8.5:1.5), así como a dos productos nombrados como compuestos "a" (1.5 mg) y "b" (1.4 mg). Se trabajó con la reunión C y D de la reacción a 3 h con ultrasonido y a través una CCDP en un sistema Hex:AcOEt (7:3) se obtuvo un compuesto nombrado "c" (2.1 mg), y en la fracción D en un sistema Hex:AcOEt (6.5:3.5) al compuesto "d" (2.3 mg).

La xuxuarina  $\text{E}\alpha$  se obtuvo como un sólido de color amarillo (2.1 mg; 2.0%). RMN- $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  6.80 (s, 1H, H-1'), 6.25 (s, 1H, H-7'), 6.23 (dd, 1H,  $J = 5.95, 1.2$  Hz, H-6), 6.09 (d, 1H,  $J = 1.2$  Hz, H-1), 5.94 (d, 1H,  $J = 5.95$  Hz, H-7), 5.13 (s, 1H, OH), 2.40 (1H, H-19), 3.60 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ), 3.54 (s, 3H,  $\text{OCH}_3'$ ) 1.52 (s, 1H, H-18), 1.56 (s, 1H, H-18'), 2.74 (s, 3H, H-23'), 1.58 (s, 3H, H-23), 1.50 (s, 3H, H-25'), 1.42 (s, 3H, H-25), 1.28 (s, 3H, H-26'), 1.17 (s, 3H, H-26), 1.17 (s, 3H, H-30), 1.16 (s, 3H, H-30'), 1.09 (s, 3H, H-28'), 1.06 (s, 3H, H-28), 0.55 (s, 3H, H-27), 0.53 (s, 3H, H-27'). RMN- $^{13}\text{C}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  190.2 (C, C-6'), 187.8 (C, C-2), 178.7 (C, C-29), 178.7 (C, C-29'), 174.1 (C, C-10), 171.6 (C, C-10'), 161.3 (C, C-8), 150.4 (C, C-10'), 144.5 (C, C-2'), 137.4 (C, C-3'), 129.7 (C, C-5), 127.5 (C, C-4'), 126.7 (CH, C-6), 126.1 (CH, C-7'), 124.3 (C, C-5), 116.0 (CH, C-7), 115.1 (CH, C-1), 111.3 (CH, C-1'), 91.9 (C, C-3), 79.3 (C, C-4), 51.5 ( $\text{CH}_3$ ,  $\text{OCH}_3$ ), 51.5 ( $\text{CH}_3$ ,  $\text{OCH}_3'$ ), 44.6 (C, C-14'), 44.5 (C, C-14), 44.1 (CH, C-18'), 44.1 (CH, C-18), 41.8 (C, C-9), 39.8 (C, C-9'), 38.9 (C, C-13'), 38.1 (C, C-13), 37.6 ( $\text{CH}_3$ , C-25') 36.3 ( $\text{CH}_2$ , C-16), 36.3 ( $\text{CH}_2$ , C-16'), 34.7 ( $\text{CH}_2$ , C-22'), 34.8 ( $\text{CH}_3$ , C-25), 34.1 ( $\text{CH}_2$ , C-

11'), 32.7 (CH<sub>2</sub>, C-11), 32.6 (CH<sub>3</sub>, C-30), 32.6 (CH<sub>3</sub>, C-30'), 31.5 (CH<sub>3</sub>, C-28'), 31.4 (CH<sub>3</sub>, C-28), 30.8 (CH<sub>2</sub>, C-19), 30.7 (CH<sub>2</sub>, C-19'), 30.4 (C, C-17), 30.4 (C, C-17'), 29.8 (CH<sub>2</sub>, C-21), 29.8 (CH<sub>2</sub>, C-21'), 29.7 (CH<sub>2</sub>, C-12'), 29.3 (CH<sub>2</sub>, C-12), 28.4 (CH<sub>2</sub>, C-15'), 28.3 (CH<sub>2</sub>, C-15), 22.3 (CH<sub>3</sub>, C-26), 22.1 (CH<sub>3</sub>, C-23), 20.1 (CH<sub>3</sub>, C-26'), 18.5 (CH<sub>3</sub>, C-27), 18.1 (CH<sub>3</sub>, C-27'), 12.9 (CH<sub>3</sub>, C-23').

La xuxuarina Eβ se obtuvo como un sólido amarillo (1.9 mg; 1.8%). RMN-<sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 6.74 (s, 1H, H-1'), 6.25 (s, 1H, H-7'), 6.52 (dd, 1H, *J* = 5.95, 1.2 Hz, H-6), 6.08 (d, 1H, *J* = 1.2 Hz, H-1), 6.08 (d, 1H, *J* = 5.95 Hz, H-7), 5.12 (s, 1H, OH), 2.39 (1H, H-19), 3.59 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 3.48 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>'), 1.56 (s, 1H, H-18'), 2.74 (s, 3H, H-23'), 1.57 (s, 3H, H-23), 1.47 (s, 3H, H-25'), 1.37 (s, 3H, H-25), 1.25 (s, 3H, H-26'), 1.17 (s, 3H, H-26), 1.16 (s, 3H, H-30), 1.16 (s, 3H, H-30'), 1.09 (s, 3H, H-28'), 1.05 (s, 3H, H-28), 0.55 (s, 3H, H-27), 0.53 (s, 3H, H-27'). RMN-<sup>13</sup>C (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 189.3 (C, C-2), 187.3 (C, C-6'), 179.1 (C, C-29), 178.7 (C, C-29'), 174.0 (C, C-10), 171.1 (C, C-8'), 161.3 (C, C-8), 151.0 (C, C-10'), 145.1 (C, C-2'), 137.4 (C, C-3'), 129.8 (C, C-5), 128.2 (C, C-4'), 126.7 (CH, C-6), 126.1 (CH, C-7'), 123.7 (C, C-5'), 116.9 (CH, C-7), 115.0 (CH, C-1), 111.0 (CH, C-1'), 91.9 (C, C-3), 77.3 (C, C-4), 51.5 (CH<sub>3</sub>, OCH<sub>3</sub>), 51.4 (CH<sub>3</sub>, OCH<sub>3</sub>'), 44.7 (C, C-14'), 44.5 (C, C-14), 44.2 (CH, C-18'), 44.2 (CH, C-18), 42.8 (C, C-9), 40.1 (C, C-9'), 39.1 (C, C-13'), 39.1 (C, C-25), 38.4 (C, C-13), 37.6 (CH<sub>3</sub>, C-25') 36.3 (CH<sub>2</sub>, C-16), 36.3 (CH<sub>2</sub>, C-16'), 34.7 (CH<sub>2</sub>, C-22'), 34.1 (CH<sub>2</sub>, C-11'), 32.7 (CH<sub>2</sub>, C-11), 32.6 (CH<sub>3</sub>, C-30), 32.6 (CH<sub>3</sub>, C-30'), 31.5 (CH<sub>3</sub>, C-28'), 31.4 (CH<sub>3</sub>, C-28), 30.8 (CH<sub>2</sub>, C-19), 30.7 (CH<sub>2</sub>, C-19'), 30.4 (C, C-17), 30.4 (C, C-17'), 29.8 (CH<sub>2</sub>, C-21), 29.8 (CH<sub>2</sub>, C-21'), 29.7 (CH<sub>2</sub>, C-12'), 29.3 (CH<sub>2</sub>, C-12), 28.4 (CH<sub>2</sub>, C-15'), 28.3 (CH<sub>2</sub>, C-15), 23.9 (CH<sub>3</sub>, C-23), 20.8 (CH<sub>3</sub>, C-26'), 18.5 (CH<sub>3</sub>, C-27), 18.3 (CH<sub>3</sub>, C-27'), 13.3 (CH<sub>3</sub>, C-23').

El compuesto "a" se obtuvo como un sólido amarillo (1.5 mg; 1.4%). RMN-<sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 6.57 (s, 1H, H-1'), 6.49 (dd, 1H, *J* = 6.92, 1.6 Hz, H-6), 6.43 (d, 1H, *J* = 9.94 Hz, H-6'), 6.25 (d, 1H, *J* = 9.94 Hz, H-7'), 6.06 (s, 1H, H-1), 6.05 (sa, 1H, H-7), 5.42 (da, 1H, *J* = 5.32 Hz, H-11') 5.04 (s, 1H, OH), 2.39 (1H, H-19), 2.15 (1H, H-19'), 3.59 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 3.50 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>'), 2.26 (s, 3H, H-23'), 1.53 (s, 3H, H-23), 1.40 (s, 3H, H-25), 1.18 (s, 3H, H-26), 1.16 (s, 3H, H-30), 1.16 (s, 3H, H-30'), 1.07 (s, 3H, H-28), 1.03 (s, 3H, H-28'), 0.95 (s, 3H, H-25'), 0.90 (s, 3H, H-26'), 0.87 (s, 3H, H-27'), 0.52 (s, 3H, H-27'). RMN-<sup>13</sup>C (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 190.5 (C, C-2), 179.5 (C, C-29'), 178.2 (C, C-29), 173.4 (C, C-10), 164.2 (C, C-8), 142.8 (C, C-10'), 141.4 (C, C-2'), 140.0 (CH, C-6'), 138.0 (C, C-3'), 132.7 (C, C-5), 131.6 (C, C-9), 128.5 (CH, C-6), 125.9 (C, C-5), 122.7 (CH, C-11'), 121.6 (C, C-4'), 119.5 (CH, C-7'), 117.4 (CH, C-7), 115.1 (CH, C-1), 110.5 (CH, C-1'), 90.9 (C, C-3), 77.1 (C, C-4), 52.0 (CH<sub>3</sub>, OCH<sub>3</sub>'), 51.9 (CH<sub>3</sub>, OCH<sub>3</sub>), 47.3 (CH, C-18'), 44.6 (CH, C-18), 44.6 (C, C-14), 44.2 (C, C-9), 44.1 (C, C-8'), 41.0 (C, C-13'), 40.8 (C, C-14'), 40.7 (C, C-20), 39.0 (C, C-13), 39.3 (CH<sub>3</sub>, C-25), 39.2 (C, C-20'), 38.0 (CH<sub>2</sub>, C-22'), 37.9 (CH<sub>2</sub>, C-12'), 37.8 (CH<sub>2</sub>, C-16'), 36.7 (CH<sub>2</sub>, C-16), 35.1 (CH<sub>2</sub>, C-22), 33.0 (CH<sub>3</sub>, C-30'), 32.8 (CH<sub>3</sub>, C-11), 32.2 (CH<sub>3</sub>, C-30), 31.9 (CH<sub>3</sub>, C-28), 31.8 (C, C-17'), 31.7 (CH<sub>2</sub>, C-19'), 31.0 (CH<sub>3</sub>, C-28'), 30.4 (C, C-17'), 30.9 (CH<sub>2</sub>, C-19), 30.8 (C, C-17), 30.2 (CH<sub>2</sub>, C-21),

30.2 (CH<sub>2</sub>, C-21'), 29.4 (CH<sub>2</sub>, C-12), 28.9 (CH<sub>2</sub>, C-15), 24.9 (CH<sub>3</sub>, C-23), 24.0 (CH<sub>2</sub>, C-15), 22.9 (CH<sub>3</sub>, C-25), 22.7 (CH<sub>3</sub>, C-26), 19.7 (CH<sub>3</sub>, C-26'), 19.2 (CH<sub>3</sub>, C-27'), 18.5 (CH<sub>3</sub>, C-27), 10.9 (CH<sub>3</sub>, C-23').

El compuesto “b” se obtuvo como un sólido amarillo (1.4 mg; 1.3%). RMN-<sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 6.61 (s, 1H, H-1'), 6.42 (d, 1H, *J* = 9.92 Hz, H-6'), 6.28 (d, 1H, *J* = 9.92 Hz, H-7'), 6.14 (dd, 1H, *J* = 6.59, 1.59 Hz, H-6), 6.05 (d, 1H, *J* = 1.59 Hz, H-1), 5.90 (d, 1H, *J* = 6.59 Hz, H-7), 5.52 (da, 1H, *J* = 5.32 Hz, H-11'), 4.87 (s, 1H, OH), 2.2 (2H, H-19'), 2.07 (2H, H-12'), 3.60 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 3.53 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>'), 2.26 (s, 3H, H-23'), 1.54 (s, 3H, H-23), 1.40 (s, 3H, H-25), 1.18 (s, 3H, H-26), 1.16 (s, 3H, H-30), 1.16 (s, 3H, H-30'), 1.07 (s, 3H, H-28), 1.03 (s, 3H, H-28'), 0.92 (s, 3H, H-25'), 0.90 (s, 3H, H-26'), 0.83 (s, 3H, H-27'), 0.58 (s, 3H, H-27). RMN-<sup>13</sup>C (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 190.2 (C, C-2), 179.3 (C, C-29'), 178.9 (C, C-29), 173.8 (C, C-10), 164.9 (C, C-8), 142.2 (C, C-2'), 140.8 (C, C-10'), 139.5 (CH, C-6'), 137.9 (C, C-3'), 130.7 (C, C-5), 131.6 (C, C-9'), 126.0 (CH, C-6), 121.6 (C, C-4'), 120.2 (C, C-5'), 123.4 (CH, C-11'), 119.2 (CH, C-7'), 116.1 (CH, C-7), 115.6 (CH, C-1), 110.8 (CH, C-1'), 92.1 (C, C-3), 79.2 (C, C-4), 51.8 (CH<sub>3</sub>, OCH<sub>3</sub>'), 51.7 (CH<sub>3</sub>, OCH<sub>3</sub>), 47.1 (CH, C-18'), 44.3 (CH, C-18), 44.6 (C, C-14), 41.8 (C, C-9), 43.9 (C, C-8'), 41.0 (C, C-13'), 40.8 (C, C-14'), 40.7 (C, C-20), 39.0 (C, C-13), 34.9 (CH<sub>3</sub>, C-25), 39.2 (C, C-20'), 38.0 (CH<sub>2</sub>, C-22'), 37.9 (CH<sub>2</sub>, C-12'), 37.8 (CH<sub>2</sub>, C-16'), 36.7 (CH<sub>2</sub>, C-16), 35.1 (CH<sub>2</sub>, C-22), 33.0 (CH<sub>3</sub>, C-30'), 32.8 (CH<sub>3</sub>, C-11), 32.2 (CH<sub>3</sub>, C-30), 31.9 (CH<sub>3</sub>, C-28), 31.8 (C, C-17'), 31.5 (CH<sub>2</sub>, C-19'), 31.0 (CH<sub>3</sub>, C-28'), 30.4 (C, C-17'), 30.9 (CH<sub>2</sub>, C-19), 30.8 (C, C-17), 30.2 (CH<sub>2</sub>, C-21), 30.2 (CH<sub>2</sub>, C-21'), 29.4 (CH<sub>2</sub>, C-12), 28.9 (CH<sub>2</sub>, C-15), 24.9 (CH<sub>3</sub>, C-23), 24.0 (CH<sub>2</sub>, C-15), 22.9 (CH<sub>3</sub>, C-25), 22.7 (CH<sub>3</sub>, C-26), 19.7 (CH<sub>3</sub>, C-26'), 18.8 (CH<sub>3</sub>, C-27'), 18.8 (CH<sub>3</sub>, C-27), 10.98 (CH<sub>3</sub>, C-23').

El compuesto “c” se obtuvo como un sólido de color rojo (2.1 mg; 3.5%). RMN-<sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 8.19 (s, 1H, H-23), 6.87 (s, 1H, H-7), 6.64 (s, 1H, H-1), 3.57 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 2.42 (d, 2H, *J* = 16 Hz, H-19), 1.58 (s, 3H, H-25), 1.34 (s, 3H, H-26), 1.19 (s, 3H, H-30), 1.12 (s, 3H, H-28), 0.64 (s, 3H, H-27).

El compuesto “d” se obtuvo como un sólido amarillo pálido (2.3 mg, 4.31 %). RMN-<sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 6.92 (s, 1H, H-1), 6.11 (s, 1H, H-7), 3.53 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 2.47 (1H, *J* = 14 Hz, H-19), 2.26 (1H, *J* = 13.4 Hz, H-11), 2.59 (s, 3H, H-23), 1.52 (s, 3H, H-25), 1.33 (s, 3H, H-26), 1.15 (s, 3H, H-30), 1.13 (s, 3H, H-28), 0.59 (s, 3H, H-27). RMN-<sup>13</sup>C (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 187.2 (C, C-6), 178.8 (C, C-29), 178.9 (C, C-29), 170.9 (C, C-8), 150.9 (C, C-10), 149.4 (C, C-2), 142.8 (C, C-3), 126.7 (CH, C-7), 125.9 (C, C-4), 123.1 (C, C-5), 109.4 (CH, C-1), 51.7 (CH<sub>3</sub>, OCH<sub>3</sub>), 45.1 (CH, C-14), 45.1 (CH, C-18), 40.5 (C, C-9), 41.0 (CH<sub>2</sub>, C-11), 39.7 (C, C-13), 38.0 (CH<sub>3</sub>, C-25), 37.2 (CH<sub>2</sub>, C-16), 35.6 (CH<sub>2</sub>, C-22), 34.8 (C, C-14'), 32.8 (CH<sub>3</sub>, C-30), 31.9 (CH<sub>3</sub>, C-28), 31.4 (CH<sub>2</sub>, C-19), 31.2 (CH<sub>2</sub>, C-17), 30.5 (C, C-13), 21.3 (CH<sub>2</sub>, C-26), 18.8 (CH<sub>3</sub>, C-27), 13.8 (CH<sub>3</sub>, C-23).



*Oxidación de pristimerina con DDQ promovida con un catalizador de SnCl<sub>4</sub>.*

En un matraz de fondo redondo y en atmósfera de nitrógeno se agregaron 51.5 mg (110.8  $\mu\text{mol}$ ) de pristimerina y 75.4 mg (332.4  $\mu\text{mol}$ ) de DDQ y se disolvieron en 5 mL de dioxano anhidro, posteriormente se añadió una 500 mL de SnCl<sub>4</sub>. La reacción se mantuvo en agitación constante durante 3 horas a temperatura ambiente. Al finalizar, se añadieron 100 mL de AcOEt y posteriormente se realizó una extracción líquido-líquido con 70 mL de agua (6x), se recolectó la fase orgánica y fue secada con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, filtrada y concentrada en un evaporador rotatorio, obteniéndose 95.6 mg de residuo. La purificación del crudo de reacción se realizó en una columna empacada con Sephadex LH-20 y eluída con una mezcla de Hex:CHCl<sub>3</sub>:MeOH (2:1:1), se obtuvieron 20 fracciones que fueron agrupadas por similitud (A-D) de acuerdo a la CCD, la reunión B se purificó mediante CCDP usando un sistema Hx:AcOEt (8.5:1.5) de donde se obtuvo 3.1 mg (3.05 %) y 3.9 (3.84 %) mg de xuxuarina E $\alpha$  y E $\beta$  respectivamente (ver datos espectroscópicos en la página 22 y 23)

## Oxidación de pristimerina con Sal de Fremy

### ➤ Método A

Se preparó una disolución buffer (0.16 M) de fosfato de sodio heptahidratado ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ) a pH: 9.4, para cada reacción se tomó un volumen de 12 mL de esta disolución y se añadió por separado a 3 eq. (322.8  $\mu\text{mol}$ ) y 6 eq. (645.6  $\mu\text{mol}$ ) de la sal de Fremy. Una vez acondicionado el agente oxidante éste se adicionó gota a gota a 50 mg de pristimerina (107.6  $\mu\text{mol}$ ), la cual se encontraba disuelta ya sea en 6 mL de MeOH, Acetona ( $\text{Me}_2\text{CO}$ ) ó bien AcOEt. Se establecieron tiempos de reacción de 3, 6 y 24 horas a temperatura ambiente en agitación constante. Además de la adición de la irradiación con ondas ultrasónicas con una amplitud de onda de 20 Hz y a una temperatura de 30°C por 3 y 6 h. Así mismo, para las reacciones con 3 eq. del agente oxidante y la pristimerina disuelta en MeOH usando ultrasonido a 3 h se trabajó con un buffer a 0.16 M de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  a pH: 4.7.

Al finalizar cada reacción, se añadieron 60 mL de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  y posteriormente se realizó una extracción líquido-líquido con 80 mL de agua, los lavados fueron con  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (x3), se recolectó la fase orgánica y fue secada con  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidro, filtrada y concentrada en un evaporador rotatorio. La purificación de los crudos de reacción se realizó en una columna empacada con gel de sílice de 2-25  $\mu\text{m}$ , usando sistemas en gradiente de Hx-AcOEt (9:1, 8.5:1.5, 8:2, 7:3, 6:4 y 1:1). Los productos obtenidos por purificación, así como el porcentaje de rendimiento de cada uno de ellos se muestran en la Tabla 2 (ver datos espectroscópicos en la página 22 y 23)

**Tabla 2.** Compuestos obtenidos de la oxidación de pristimerina con Sal de Fremy.

Entrada	Sal de Fremy (eq)	Disolvente	pH	Producto observado	Rendimiento (%)
1 <sup>a</sup>	3	MeOH	9.4	xuxuarina E $\beta$	1.9
2 <sup>a</sup>	3	$\text{Me}_2\text{CO}$	9.4	xuxuarina E $\alpha$ , E $\beta$	2.1, 2.6
3 <sup>a</sup>	3	$\text{Me}_2\text{CO}$	5	Compuesto f	<sup>c</sup>
4 <sup>b</sup>	3	MeOH	9.4	xuxuarina E $\beta$	2.4
5 <sup>b</sup>	3	$\text{Me}_2\text{CO}$	9.4	xuxuarina E $\alpha$ , E $\beta$	1.3, 2.5

a: reacción a 3h

b: reacción a 6h

c: No determinado

### ➤ Método B

Se preparó una solución de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  a pH: 5, se tomó un volumen de 6 mL y se añadió a 86.6 mg (322.8  $\mu\text{mol}$ ) de la sal de Fremy, ésta se añadió gota a gota a 50 mg de pristimerina (107.6  $\mu\text{mol}$ ) la cual se encontraba disuelta en 10 mL de  $\text{Me}_2\text{CO}$ . La reacción se dejó a temperatura ambiente en agitación constante con tiempos de 3 y 15 h, y usando

la irradiación con ondas ultrasónicas a una amplitud de onda de 20 Hz y a una temperatura de 30°C por 3 h. El tratamiento al finalizar cada reacción fue similar al del método A, la purificación de los crudos de reacción se realizó por CC usando gel de sílice de 2-25  $\mu\text{m}$  y fases móviles de Hx-AcOEt (9:1, 8:2, 7:3, 6:4 y 1:1). De la reacción a 15 h se obtuvo un compuesto mayoritario denominado “f” (12 mg).

#### *Oxidación de pristimerina con IBX*

En un matraz de fondo redondo y en atmósfera de nitrógeno se agregaron 50.0 mg (107.6  $\mu\text{mol}$ ) de pristimerina, se ensayaron diferentes proporciones de IBX: 30.13 mg (107.6  $\mu\text{mol}$ ) y 60.28 mg (215.2  $\mu\text{mol}$ ), la mezcla de reactivos se disolvió en 5 mL de dimetilsulfóxido (DMSO) anhidro. Se establecieron tiempos de reacción de 3, 6, y 24 h a temperatura ambiente en agitación constante, además de la irradiación con ondas ultrasónicas a una amplitud de onda de 20 Hz y a una temperatura de 30°C por 3 y 6 h. Adicionalmente, las reacciones con se sometieron bajo calentamiento convencional durante 6, 12, 24 y 48 h a 70°C.

Al finalizar cada reacción, se añadieron 60 mL de AcOEt y posteriormente se realizó una extracción líquido-líquido con 40 mL de agua (6x), se recolectó la fase orgánica y fue secada con  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidro, filtrada y concentrada en un evaporador rotatorio. La purificación de los crudos de reacción se realizó en una columna empacada con gel de sílice de 2-25  $\mu\text{m}$ , usando sistemas en gradiente de Hx-AcOEt (9:1, 8.5:1.5, 8:2, 7:3, 6:4 y 1:1). Los productos obtenidos por purificación, así como el porcentaje de rendimiento de cada uno de ellos se muestran en la Tabla 3 (ver datos espectroscópicos en las páginas 22-24).

**Tabla 3.** Compuestos obtenidos de la oxidación de pristimerina con IBX.

Entrada	IBX (eq)	Modalidad	Tiempo de reacción (h)	Producto obtenido	Rendimiento (%)
1	2	a	3	6-oxo-pristimerol (2.4 mg)	4.64
2	2	a	6	6-oxo-pristimerol (3.1 mg)	5.9
3	2	b	24	compuesto “a” (1.9 mg) y “b” (2.1 mg)	1.9, 2.10
4	2	b	48	compuesto “a” (3.1 mg) y “b” (2.9 mg) xuxuarina E $\alpha$ y E $\beta$	3.1, 2.9 3, 2.8

a: ultrasonido

b: calentamiento convencional a 70°C

## Cuantificación por RMN

En un tubo de RMN de 5 mm se pesó 1 mg de nicotinamida (> 98%, Sigma-Aldrich) y 4 mg del crudo de reacción, se adicionó 0.5 mL CDCl<sub>3</sub> y la mezcla fue homogeneizada en un baño ultrasónico. La señal de la nicotinamida a 7.52 ppm (H<sub>AR</sub>-5, 1H) fue estandarizada a 100 % y empleada como referencia. Las correcciones de fase y de la línea base se realizaron de manera manual. Para el análisis cuantitativo de xuxuarinas E $\alpha$ , E $\beta$  y de pristimerina se seleccionaron las señales a 6.80 ppm (H-1, 1H), 6.74 ppm (H-1, 1H), y 6.53 ppm (H-1, 1H) para obtener la integración de sus áreas. La obtención de las integrales se realizó de manera manual y por triplicado y se obtuvo el promedio de cada valor resultante de la integración. La cantidad de xuxuarinas y de pristimerina en el crudo de reacción fue determinada mediante la siguiente ecuación:

$$m_x = m_{ST} \frac{N_{ST}}{N_x} \frac{I_x}{I_{ST}} \frac{M_x}{M_{ST}}$$

Donde  $m_x$  es la masa desconocida de los xuxuarinas (E $\alpha$  y E $\beta$ ) y de la pristimerina,  $m_{ST}$  es el peso del estándar en mg,  $M_x$  es el peso molecular de la xuxuarinas (E $\alpha$  ó E $\beta$ ) y pristimerina, y  $M_{ST}$  el peso molecular del estándar,  $I_x$  e  $I_{ST}$  representan el valor de la integral del área de las señales de la xuxuarina y pristimerina y del estándar;  $N_{ST}$  y  $N_x$  son los valores del número de protones de las señales integradas para el estándar y las xuxuarinas y pristimerina.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Identificación de pristimerina

Se obtuvo 1.35 g de pristimerina, su identificación fue por medio del espectro de RMN-<sup>1</sup>H. En éste (Figura 17) se observó una señal con  $\delta_H$  7.02 (dd,  $J = 7.1, 1.4$  Hz) correspondiente al protón vinílico localizado en la posición 6, dos señales dobles con  $\delta_H$  6.53 (d,  $J = 1.4$  Hz) y 6.35 (d,  $J = 7.3$  Hz) generadas por los protones vinílicos en posición 1 y 7; una señal simple con  $\delta_H$  3.55 correspondiente al éster metílico presente en la molécula y seis señales simples con  $\delta_H$  2.2, 1.44, 1.25, 1.17, 1.09 y 0.52 correspondientes a los metilos 23, 25, 26, 27, 28 y 30, respectivamente.

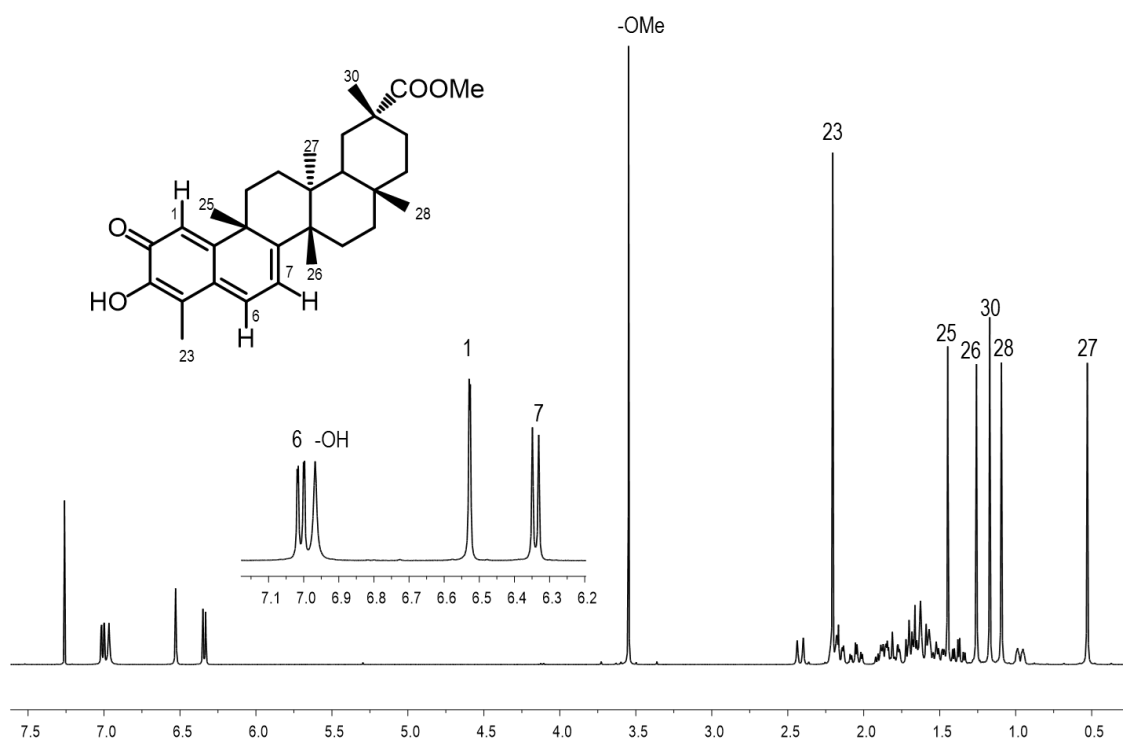
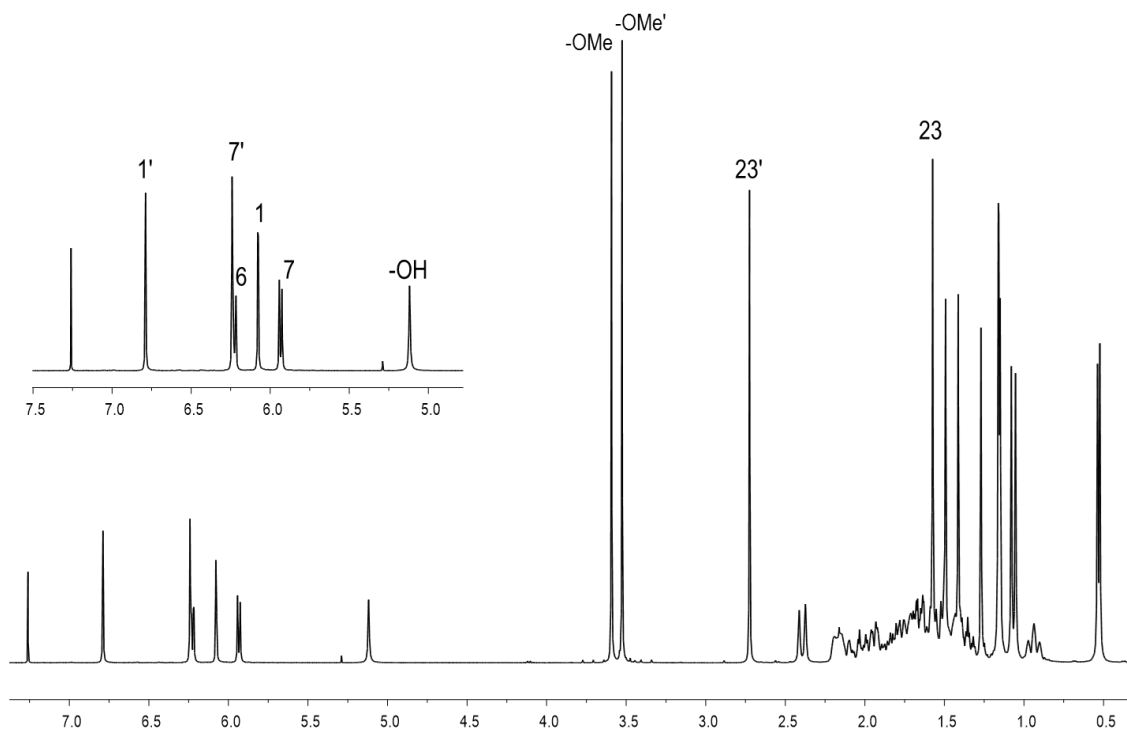


Figura 17. Espectro de RMN-<sup>1</sup>H de la pristimerina (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz).

## Identificación de los compuestos resultantes de la oxidación de pristimerina con DDQ

### *Xuxuarina Eα*

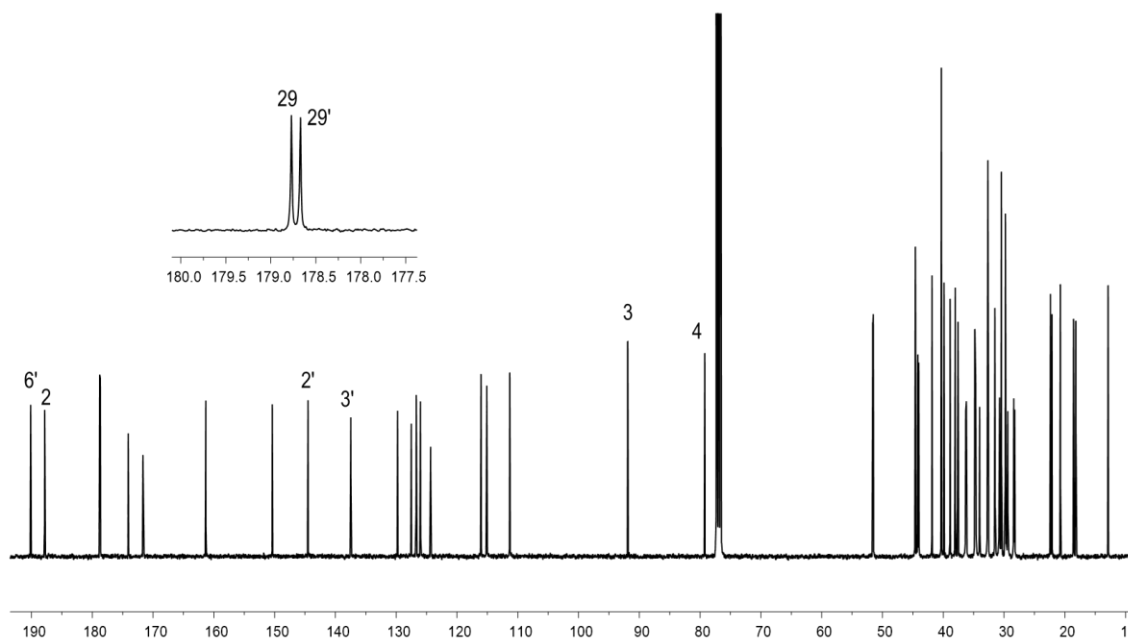
La xuxuarina Eα fue obtenida como un sólido de color amarillo, la cual fue identificada por medio de su análisis por RMN-<sup>1</sup>H y <sup>13</sup>C. En el espectro de RMN-<sup>1</sup>H (Figura 18) se observaron en la región de los protones aromáticos y vinílicos señales simples con  $\delta_H$  6.25 y 6.80 referentes a un protón en posición  $\alpha$  a un sistema  $\alpha,\beta$ -insaturado (H-7').<sup>33</sup> Además, se confirmó la presencia de protones característicos de un sistema metilenquinónico con  $\delta_H$  6.09 (d,  $J = 1.2$  Hz, H-1), 6.23 (dd,  $J = 1.2, 5.95$  Hz, H-6) y 5.95 (d,  $J = 5.2$  Hz, H-7). En la región con  $\delta_H$  3.60 y 3.53 se tuvieron dos señales simples que pertenecen a los grupos metoxilo de la unidad quinoide y aromática y una señal simple con  $\delta_H$  2.73 concerniente a un grupo metilo en un anillo aromático; además 11 señales simples agudas de grupos metilo entre  $\delta_H$  1.58- 0.53.



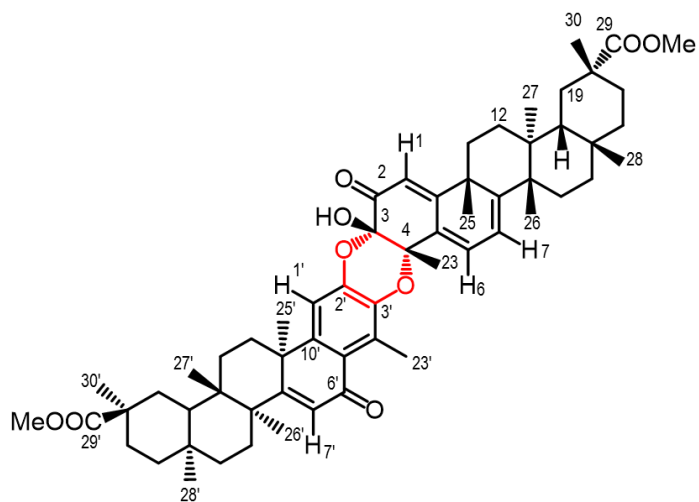
**Figura 18.-** Espectro de RMN-<sup>1</sup>H (400 MHz) de la xuxuarina Eα en CDCl<sub>3</sub>.

El análisis de RMN-<sup>13</sup>C (Figura 19) sirvió para confirmar la obtención de este compuesto (Figura 19) en donde se observaron dos señales de carbonilos  $\alpha,\beta$ -insaturados con  $\delta_C$  187.8 (C-2) y 190.14 (C-6'), dos carbonos cuaternarios con  $\delta_C$  178.8 y 178.7'

pertencientes del éster metílico en las posiciones 29 y 29' respectivamente; 14 señales de carbonos oleofínicos y aromáticos, los desplazamientos obtenidos se compararon con la literatura (Tabla 4).<sup>33</sup>



**Figura 19.** Espectro de RMN-<sup>13</sup>C de la xuxuarina Eα (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz).



**Figura 20.** Estructura de la xuxuarina Eα.

**Tabla 4.** Desplazamientos químicos de la xuxuarina E $\alpha$  en comparación con la literatura<sup>33</sup> (<sup>1</sup>H, 400 MHz, <sup>13</sup>C, 100 MHz en CDCl<sub>3</sub>).

Posición	Unidad Quinoide				Unidad Aromática			
	Reportado		Obtenido		Reportado		Obtenido	
	H <sup>a</sup>	C	H <sup>a</sup>	C	H	C	H	C
1	6.09 d (1.6)	115.1	6.08 d (1.2)	115.1	6.8 s	111.3	6.80 s	111.3
2		187.8		187.8		144.5		144.5
3	5.11 s (OH)	91.9	5.13 s (OH)	91.9		137.5		137.4
4		79.3		79.3		127.5		127.5
5		129.8		129.7		124.4		124.3
6	6.24 dd (1.6, 6.6)	126.7	6.23 dd ( <i>J</i> =1.2, 5.95)	126.7		190.2		190.2
7	5.94 d (6.6)	116.1	5.94 d (5.95)	116.0	6.25 s	126.1	6.25 s	126.1
8		161.3		161.3		171.6		171.6
9		41.9		41.8		39.9		39.8
10		174.1		174.1		150.4		150.4
11	1.82, 1.95	32.8	†	32.7	1.94, 2.12	34.1	†	34.1
12	1.77, 1.59	29.4	†	29.3	1.73, 1.64	29.8	†	29.7
13		38.1		38.1		38.9		38.9
14		44.6		44.5		44.6		44.6
15	1.50, 1.43	28.34	†	28.3	1.65, 1.58	28.4	†	28.4
16	1.42, 1.80	36.3	†	36.3	1.50, 1.87	36.3	†	36.2
17		30.5		30.4		30.5		30.4
18	1.52 s	44.1	1.52 s	44.1	1.57 s	44.2	1.56 s	44.1
19	2.40, 1.68	30.8	2.40, 1.67	30.8	2.40, 1.64	30.8	†	30.7
20		40.4		40.4		40.4		40.4
21	2.17, 1.36	29.8	†	29.8	2.18, 1.37	29.8	†	29.8
22	2.00, 0.93	34.7	†	34.6	2.05, 0.97	34.7	†	34.7
23	1.58 s	22.1	1.58 s	22.1	2.74 s	12.9	2.74 s	12.9
25	1.42 s	34.8	1.42 s	34.8	1.50 s	37.6	1.50 s	37.6
26	1.17 s	22.4	1.17 s	22.3	1.28 s	20.1	1.28 s	20.1
27	0.55 s	18.6	0.55 s	18.5	0.54 s	18.2	0.53 s	18.1
28	1.06 s	31.5	1.06 s	31.4	1.09 s	31.5	1.09 s	31.5
29		178.8		178.7		178.7		178.7
30	1.17 s	32.7	1.17 s	32.6	1.16 s	32.7	1.16 s	32.6
OMe	3.60 s	51.6	3.60 s	51.5	3.54 s	51.5	3.54 s	51.5

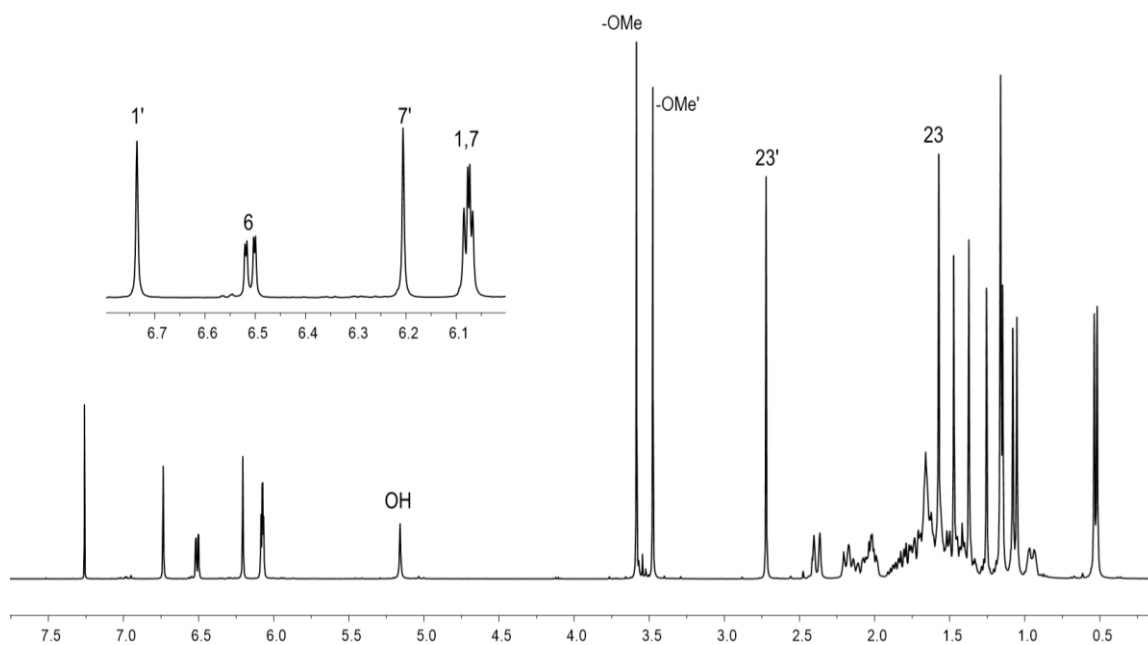
a: Constante de acoplamiento (Hz) indicada en paréntesis

†: No identificado experimentalmente

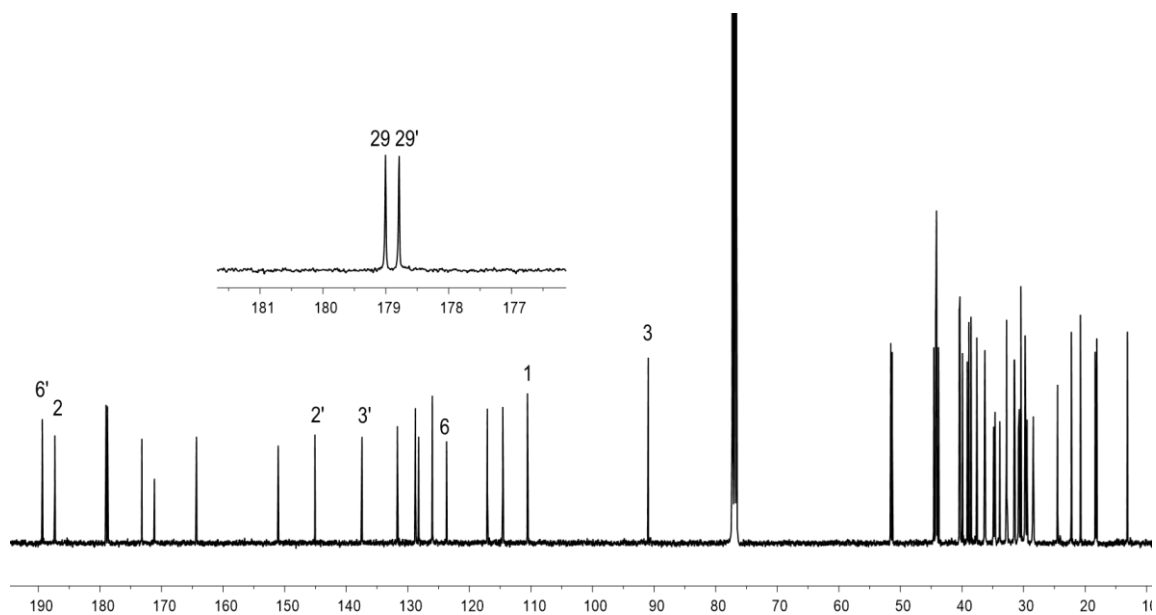


### Xuxuarina E $\beta$

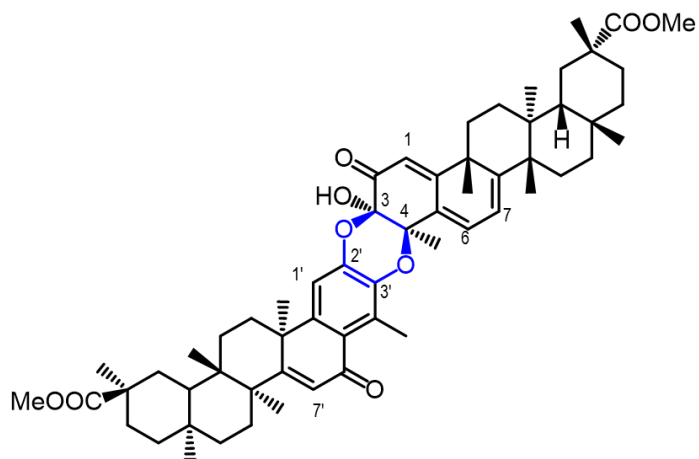
Este compuesto fue obtenido como un sólido de color amarillo, en los espectros de RMN- $^1\text{H}$  (Figura 21) y  $^{13}\text{C}$  (Figura 22) se obtuvieron desplazamientos similares a la xuxuarina E $\alpha$ , destacando entre ellas las señales simples con  $\delta_{\text{H}}$  6.74 (H-1') y 6.25 (H-7'), junto con el sistema AB con  $\delta_{\text{H}}$  6.08 (H-1, d) y  $\delta_{\text{H}}$  6.52 (H-6, dd), provenientes de una unidad quinoide de tipo pristimerina. De igual manera se observaron dos simples con  $\delta_{\text{H}}$  3.62 y 3.51 que corresponden a los grupos metoxilo de la unidad quinoide y aromática, y 11 metilos angulares con  $\delta_{\text{H}}$  1.60- 0.55. En el análisis de carbono los desplazamientos característicos con  $\delta_{\text{C}}$  77.29 (C-3), 24.6 (C-23) y el desplazamiento del H- 23' ( $\delta$  2.73) concuerdan con los datos obtenidos en la literatura (Tabla 5) para la confirmación de la estructura de la xuxuarina E $\beta$  (Figura 23).<sup>14, 33</sup>



**Figura 21.** Espectro de RMN- $^1\text{H}$  (400 MHz) de la xuxuarina E $\beta$  en  $\text{CDCl}_3$ .



**Figura 22.** Espectro de RMN- $^{13}\text{C}$  de la xuxuarina E $\beta$  ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz).



**Figura 23.** Estructura de la xuxuarina E $\beta$

**Tabla 5.** Desplazamientos químicos de la xuxuarina E $\beta$  en comparación con la literatura<sup>14,33</sup> (<sup>1</sup>H, 400 MHz, <sup>13</sup>C, 100MHz en CDCl<sub>3</sub>).

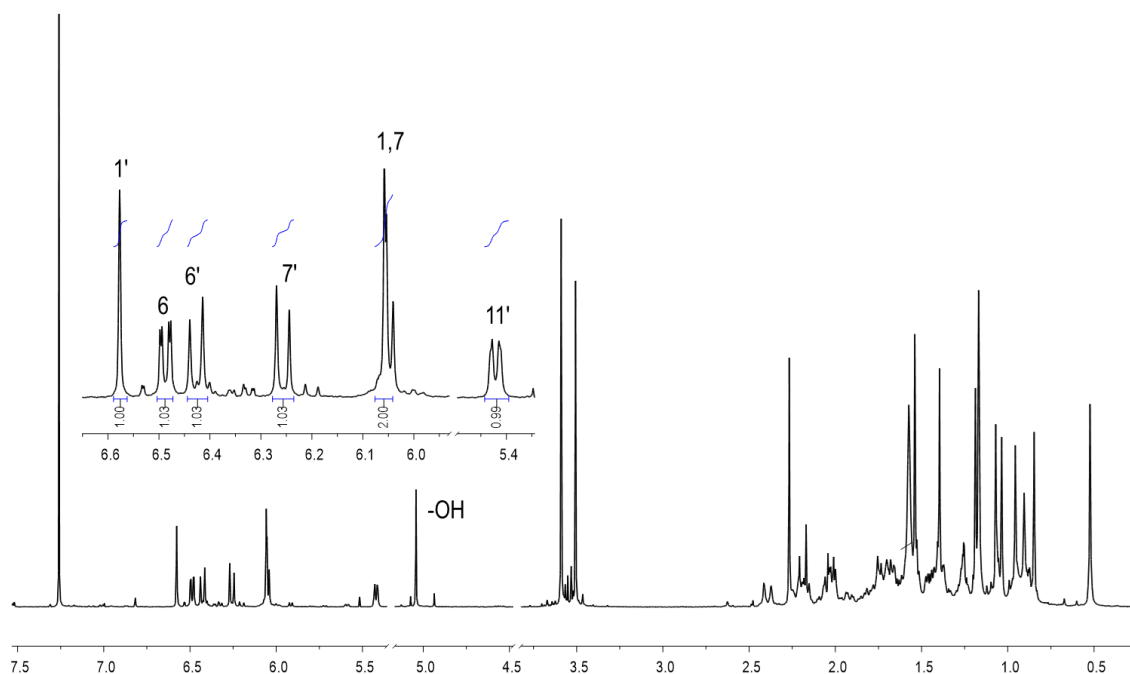
Posición	Unidad Quinoide				Unidad Aromática			
	Reportado		Obtenido		Reportado		Obtenido	
	H <sup>a</sup>	C	H <sup>a</sup>	C	H	C	H	C
1	6.08 (1.6) d	114.7	6.08 d (1.5)	115.0	6.74 s	110.6	6.74 s	111
2		189.4		189.3		145.2		145.1
3	5.11 s (OH)	91	5.12 s (OH)	91.9		137.5		137.4
4		77.3		77.3		128.3		128.2
5		131.8		129.8		123.8		123.7
6	6.52 dd (6.9, 1.6)	128.8	6.52 dd (1.5, 6.9)	126.7		187.4		187.3
7	6.08 d (6.9)	117.2	6.08 d (1.5)	116.9	6.25 s	126.1	6.25 s	126.1
8		164.4		161.3		171.2		171.1
9		43.9		42.8		40		40.1
10		173.3		174.0		151.1		151.0
11		32.8		32.6		34.1		34.1
12		29.8		29.0		29.8		29.8
13		38.6		38.4		39		39.1
14		44.4		44.5		44.7		44.7
15		28.6		28.6		28.5		28.4
16		36.4		36.3		36.4		36.3
17		30.5		30.4		30.5		30.4
18	†	44.2	†	44.2	1.57 s	44.2	1.56 s	44.2
19	2.39 m	30.9	2.39 m	30.8	2.39 m	30.8	†	30.7
20		40.5		40.4		40.4		40.31
21		29.8		29.8		29.5		29.7
22		35		34.9		34.7		34.6
23	1.58 s	24.6	1.57 s	23.9	2.74 s	13.2	2.74 s	13.3
25	1.38 s	39.2	1.37 s	39.1	1.48 s	37.1	1.47 s	37.1
26	1.17 s	22.3	1.17 s	22.3	1.26 s	20.9	1.25 s	20.8
27	0.53 s	18.2	0.53 s	18.5	0.55 s	18.4	0.55 s	18.3
28	1.06 s	31.6	1.05 s	31.7	1.09 s	31.5	1.09 s	31.5
29		179.1		179.1		178.8		178.7
30	1.16 s	32.9	1.16 s	32.8	1.17 s	32.7	1.16 s	32.6
OMe	3.59 s	51.6	3.59 s	51.5	3.48 s	51.4	3.48 s	51.3

a: Constante de acoplamiento (Hz) indicada en paréntesis

†: No determinado experimentalmente

### Compuesto "a"

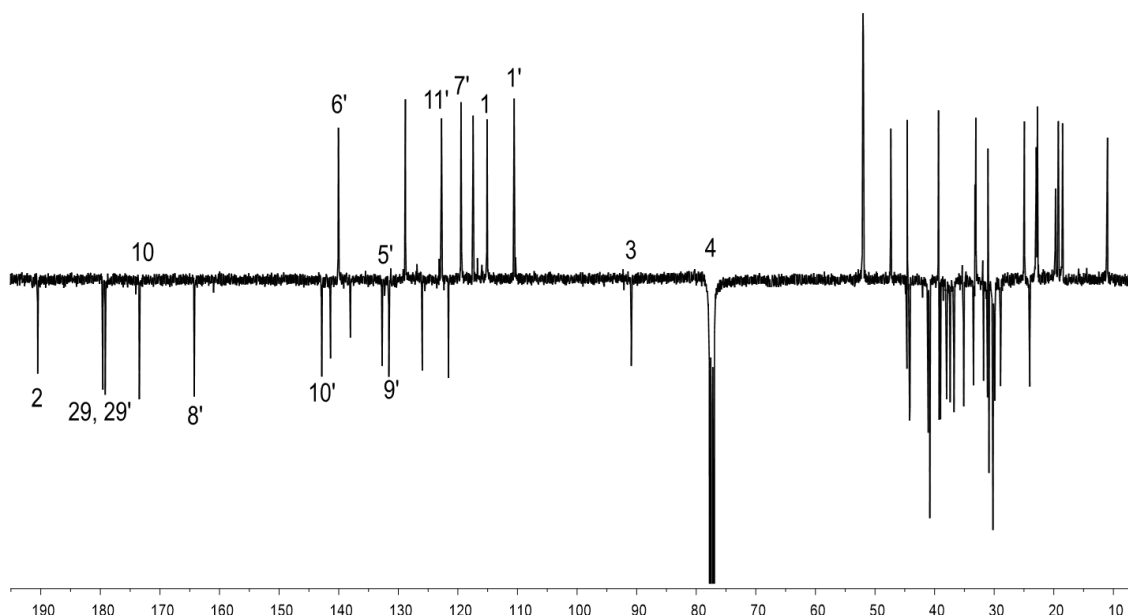
El compuesto "a" fue obtenido como un sólido amarillo, en el análisis de RMN-<sup>1</sup>H (Figura 24) se identificaron señales correspondientes a un sistema metilenquinónico con  $\delta_H$  6.49 (dd,  $J = 6.92, 1.60$  Hz, H-6), 6.06 (H-1) y 6.05 (H-7), en el caso de H-7 y H-1 no fue posible medir la constante de acoplamiento debido al solapamiento de las señales, por lo que se clasificaron como señales simples, las señales que se esperaban para estos protones eran de tipo doble; además de la presencia de una señal simple con  $\delta_H$  6.57 atribuible a un protón en posición aromática (H-1'), y un doble enlace conjugado con dos protones vinílicos con  $\delta$  6.43 (d,  $J = 9.94$  Hz, H-6') y 6.25 (d,  $J = 9.94$  Hz H-7'), adicionalmente se observó una señal doble con  $\delta_H$  5.42 (da,  $J = 5.32$  Hz, H-11') que integraba para un protón, estos desplazamientos son característicos de una unidad triterpénica aromática asignada a la isopristerina III<sup>11</sup>; dicho triterpenofenol presenta dobles enlaces entre C-6 y C-7, C-9 y C-11 con la migración de un grupo metilo (C-25) a C-8. Así mismo se contó con 11 metilos angulares, un grupo metilo con  $\delta_H$  2.26 asignado a un anillo aromático y dos grupos metoxilo con  $\delta_H$  3.59 y 3.50.



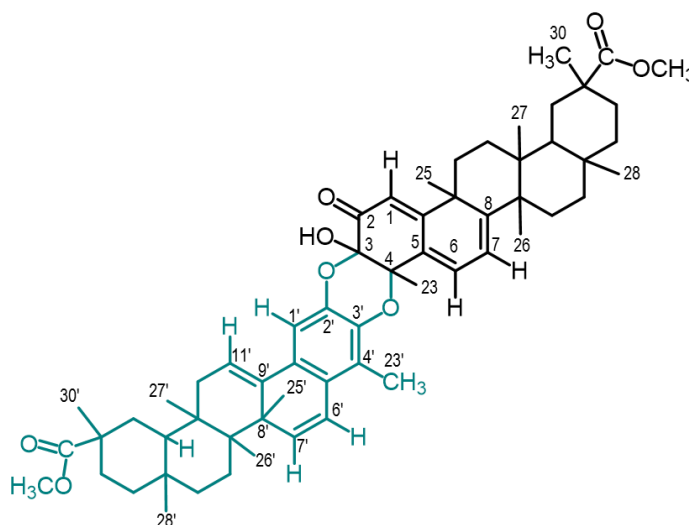
**Figura 24.** Espectro de RMN-<sup>1</sup>H (400 MHz) del compuesto "a" en CDCl<sub>3</sub>.

En el espectro de RMN-<sup>13</sup>C (APT) se confirmó la presencia de 60 carbonos, entre las cuales destaca la señal con  $\delta_C$  190.5 correspondiente al carbonilo en posición dos de la pristimerina, señales con  $\delta_C$  90.9 y 77.1 concernientes a carbonos cuaternarios unidos a grupos oxigenados, dos carbonilos de un grupo éster con  $\delta_C$  179.1 (C-29) y 179.5' (C-29'), además de señales con  $\delta_C$  140 (C-6'), 138.0 (C-3'), 121.6 (C-4'), 125.9 (C-5'), 142.8 (C-10') y 110.5 (C-1') provenientes de una unidad fenólica; aunado a esto, se

identificaron señales con  $\delta_c$  132.7 (C-5), 128.5 (C-6), 117.4 (C-7), 164.2 (C-8), 44.20 (C-9) y 173.4 (C-10) característicos del sistema metilenquinónico de pristimerina; en conjunto, se obtuvo 14 señales de grupos metilo ( $\delta_c$  52.0-10.4) y 13 señales de grupos metileno (Figura 25), el análisis de los carbonos y protones de la unidad fenólica y metilénquinónica en conjunto con la revisión de la literatura<sup>11</sup>, daban indicio de que la estructura para este compuesto pertenecía a un dímero triterpénico derivado de pristimerina e isopristimerina III (Figura 26), el mecanismo sobre la transposición del grupo metilo se discutirá en secciones posteriores (página 65).

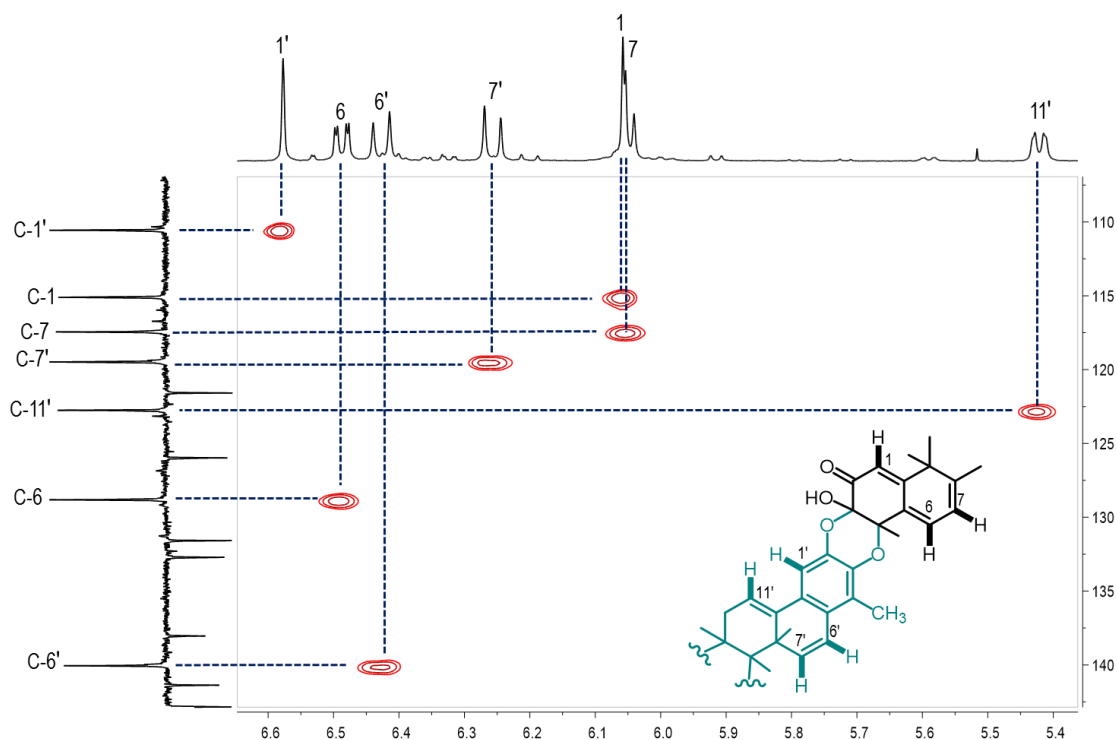


**Figura 25.** Espectro de RMN-<sup>13</sup>C (APT) del compuesto “a” (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz).



**Figura 26.** Estructura propuesta para el compuesto “a”.

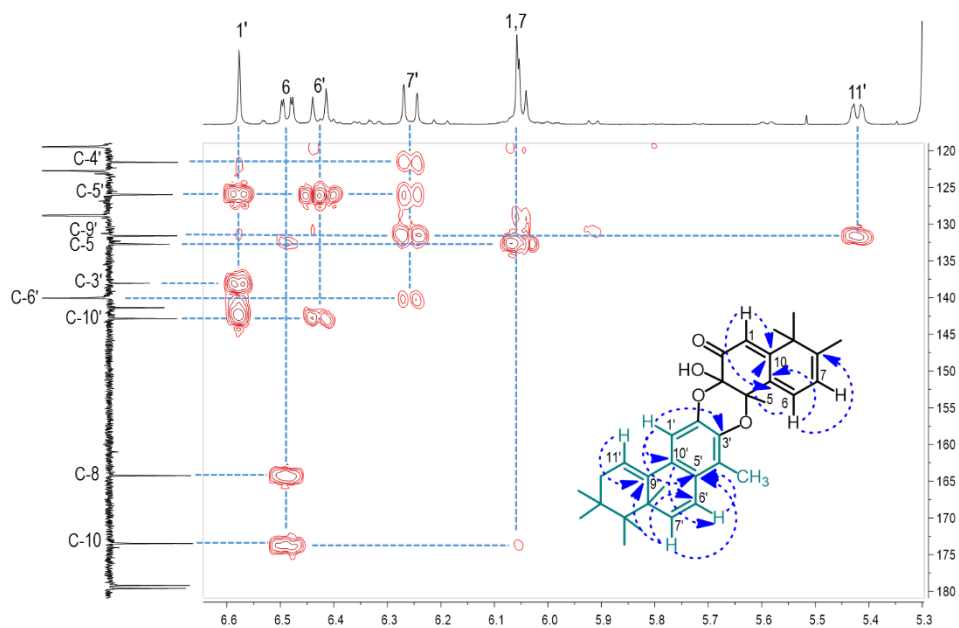
El experimento HSQC (Figura 27) permitió correlacionar las siete señales simples observadas en el experimento de RMN- $^1\text{H}$  con sus respectivos carbonos. De esta manera las señales del sistema metilenquinónico con  $\delta_{\text{H}}$  6.06, 6.49 y 6.05, pertenecen a los metinos C-1 ( $\delta_{\text{C}}$  115.1), C-6 ( $\delta_{\text{C}}$  128.5) y C-7 ( $\delta_{\text{C}}$  117.4), y las señales aromáticas con  $\delta_{\text{H}}$  6.57, 6.43, 6.25 y 5.42 fueron asignadas a C-1' ( $\delta_{\text{C}}$  110.5), C-6' ( $\delta_{\text{C}}$  140.0), C-7' ( $\delta_{\text{C}}$  119.4) y C-11' ( $\delta_{\text{C}}$  122.7) respectivamente, los desplazamientos de  $\delta_{\text{C}}$  47.3 y 44.6 fueron correlacionados con  $\delta_{\text{H}}$  1.68 (H-18') y 1.52 (H-18), la asignación de los grupo metilo con sus respectivos carbonos comprendió la zona entre 0.5 y 2.26 ppm.



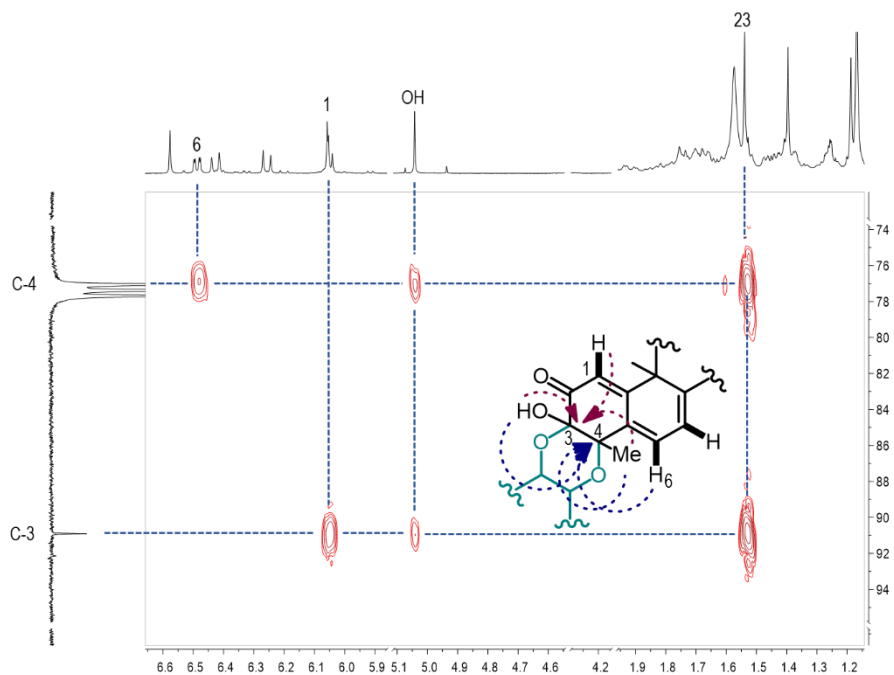
**Figura 27.** Experimento de correlación heteronuclear (HSQC) del compuesto “a” ( $\text{CDCl}_3$ ).

Las correlaciones heteronucleares a larga distancia fueron confirmadas mediante el HMBC en el cual se observó interacciones de C-3 ( $\delta_{\text{C}}$  90.9) con la señal del hidrógeno vinílico en posición 1 ( $\delta_{\text{H}}$  6.05), el protón del grupo  $-\text{OH}$  ( $\delta_{\text{H}}$  5.04) en posición 3 y los protones del grupo metilo en 23 ( $\delta_{\text{H}}$  1.53) (Figura 28). Adicionalmente, se observó las interacciones de C-4 ( $\delta_{\text{C}}$  77.1) con el protón del grupo  $-\text{OH}$  ( $\delta_{\text{H}}$  5.04) y los protones del grupo metilo en 23 ( $\delta_{\text{H}}$  1.53), en este caso, la interacción con el grupo vinílico correspondió a H-6 ( $\delta_{\text{H}}$  6.49). Se analizó la unidad metilenquinónica y aromática de los anillos A y B para dar sustento a la estructura propuesta (Figura 29), del sistema metilenquinónico la señal de H-1 ( $\delta_{\text{H}}$  6.05) correlacionó con C-5 ( $\delta_{\text{C}}$  132.7), C-9 ( $\delta_{\text{C}}$  44.2) y C-10 ( $\delta_{\text{C}}$  173.4), en el análisis de la unidad fenólica se observaron las interacciones entre  $\delta_{\text{C}}$  44.1 (C-8') con H-6' ( $\delta_{\text{H}}$  6.43), H-7' ( $\delta_{\text{H}}$  6.25) y H-11' ( $\delta_{\text{H}}$  5.42) las cuales pertenecían a sistemas vinílicos propios del anillo B y C de la isopristimerina III y con H-

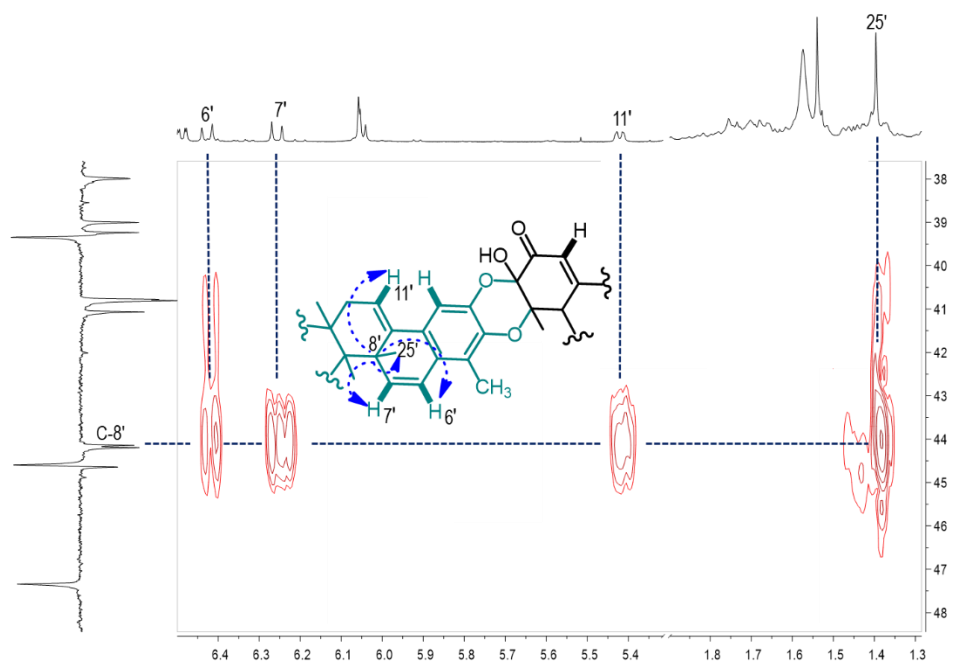
25' ( $\delta_H$  0.95), lo cual demostraba la migración de metilo -25 de acuerdo a la estructura propuesta (Figura 30).



**Figura 28.** Experimento HMBC de la unidad quinoide del compuesto “a” ( $CDCl_3$ ).

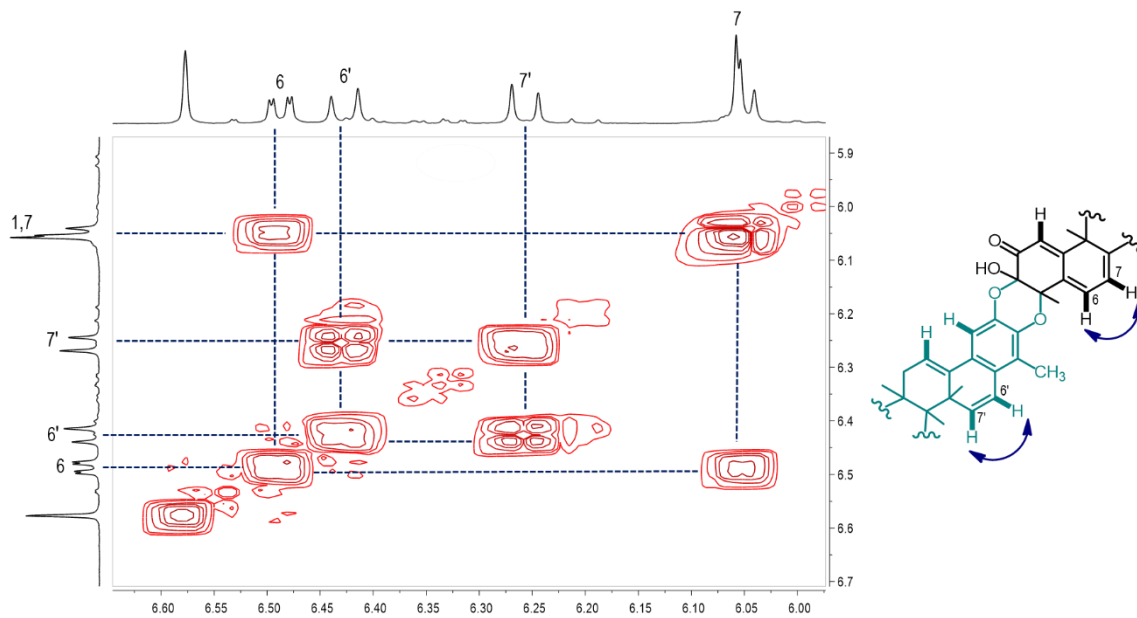


**Figura 29.** Experimento HMBC de la unidad quinoide y aromática del compuesto “a” ( $CDCl_3$ ).



**Figura 30.** Experimento HMBC de la unidad aromática del compuesto “a” ( $\text{CDCl}_3$ ).

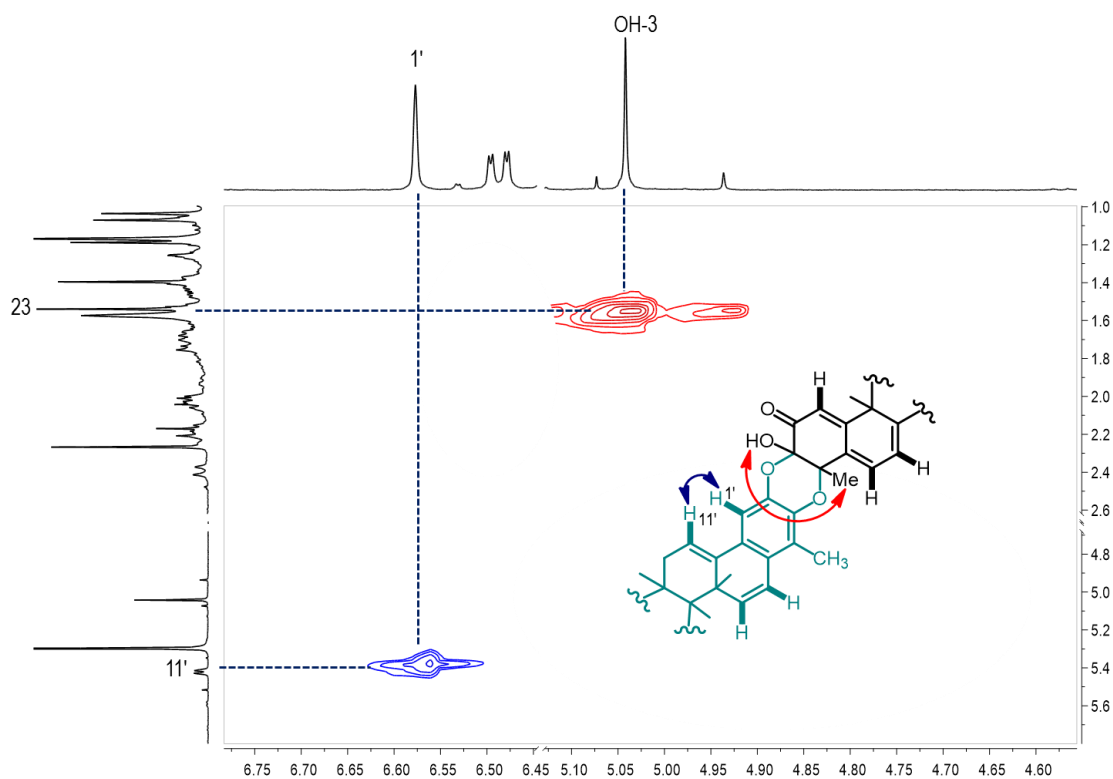
Mediante el experimento COSY (Figura 31) se determinaron las interacciones tanto de los protones de la unidad quinoide como de la aromática, esto sirvió como base para la asignación inequívoca de H-6' ( $\delta_{\text{H}}$  6.43), H-7' ( $\delta_{\text{H}}$  6.25) y H-6 ( $\delta_{\text{H}}$  6.49), H-7 ( $\delta_{\text{H}}$  6.05).



**Figura 31.** Experimento COSY del compuesto “a” en  $\text{CDCl}_3$ .

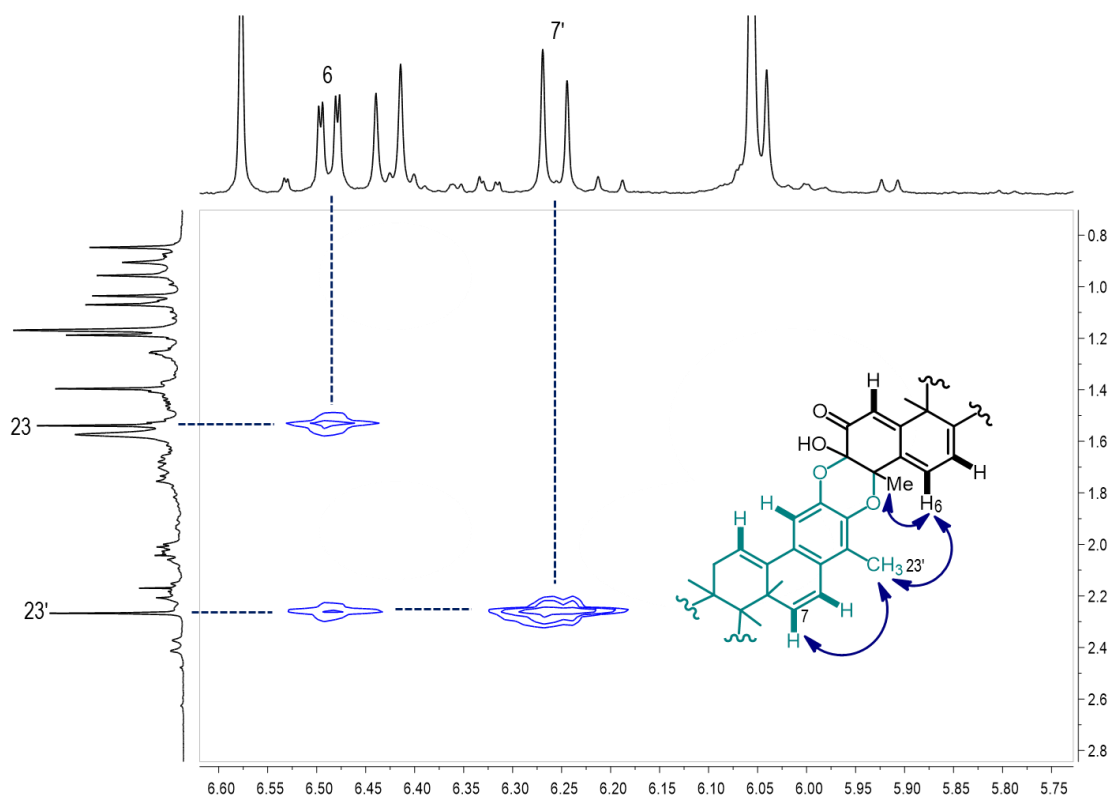


El experimento NOESY (Figuras 32 y 33) presentó la interacción entre H-1' ( $\delta_H$  6.57) y H-11' ( $\delta_H$  5.42) confirmando de esta manera la proximidad de estos dos grupos y su adecuada asignación, además se observaron correlaciones entre el metilo H-23' ( $\delta_H$  2.26) y H-6 ( $\delta_H$  6.49), y entre el hidrógeno del hidroxilo en C-3 ( $\delta_H$  5.04) y el metilo en posición 23 ( $\delta_H$  1.53) localizado en C-4, indicando que en el compuesto "a" las dos unidades se encuentran unidas por dos enlaces de tipo éter con orientación *cis*. El efecto NOE entre H-23' ( $\delta_H$  2.26) y H-6 ( $\delta_H$  6.49) confirmó que el enlace 3,4-dioxi consistía en [3-O-2] y [4-O-3], de esta manera para el compuesto "a", se afirma la formación de un aducto dimérico entre isopristerina III y pristerina, tal compuesto no ha sido aislado de fuentes naturales por lo cual se reporta como el primer dímero sintético entre estas uniones, los desplazamientos y asignaciones obtenidos se muestran en la Tabla 6.

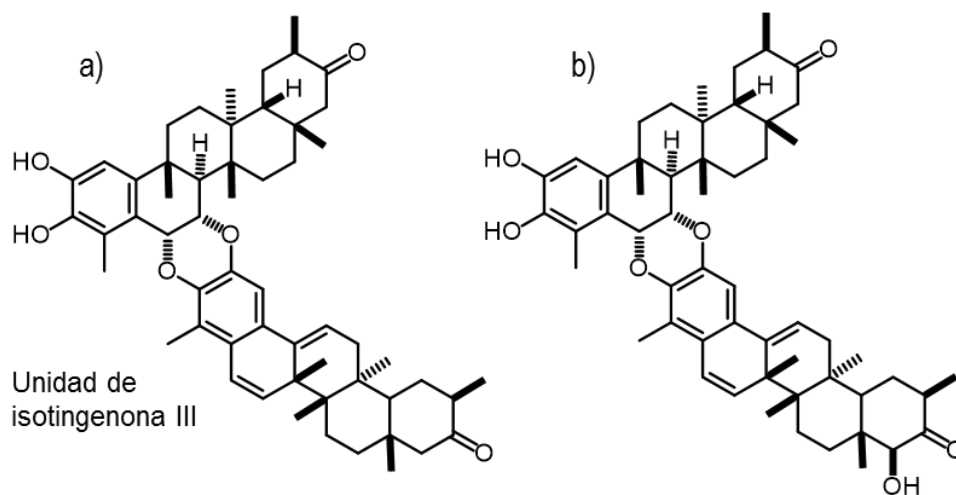


**Figura 32.** Experimento NOESY del compuesto "a" en  $CDCl_3$

Las uniones de dímeros triterpénicos que se han aislado con unidades de isopristerina III hasta ahora no han sido reportadas, sin embargo en 2004, Shirota y colaboradores<sup>34</sup>, aislaron dos dímeros de *Maytenus chuchuasca* a los que nombraron xuxuasinas A (Figura 34 a) y B (Figura 34 b), estos contenían en su unidad aromática isotingenona III, las uniones de estos compuestos fueron similares a la cangorosina A (dímero de tipo B-A).<sup>18</sup>



**Figura 33.** Experimento NOESY del compuesto "a" en  $\text{CDCl}_3$ .



**Figura 34.** Dímeros triterpénicos aislados de *Maytenus chuchuasca*, a) xuxuasina A, b) xuxuasina B.<sup>33</sup>

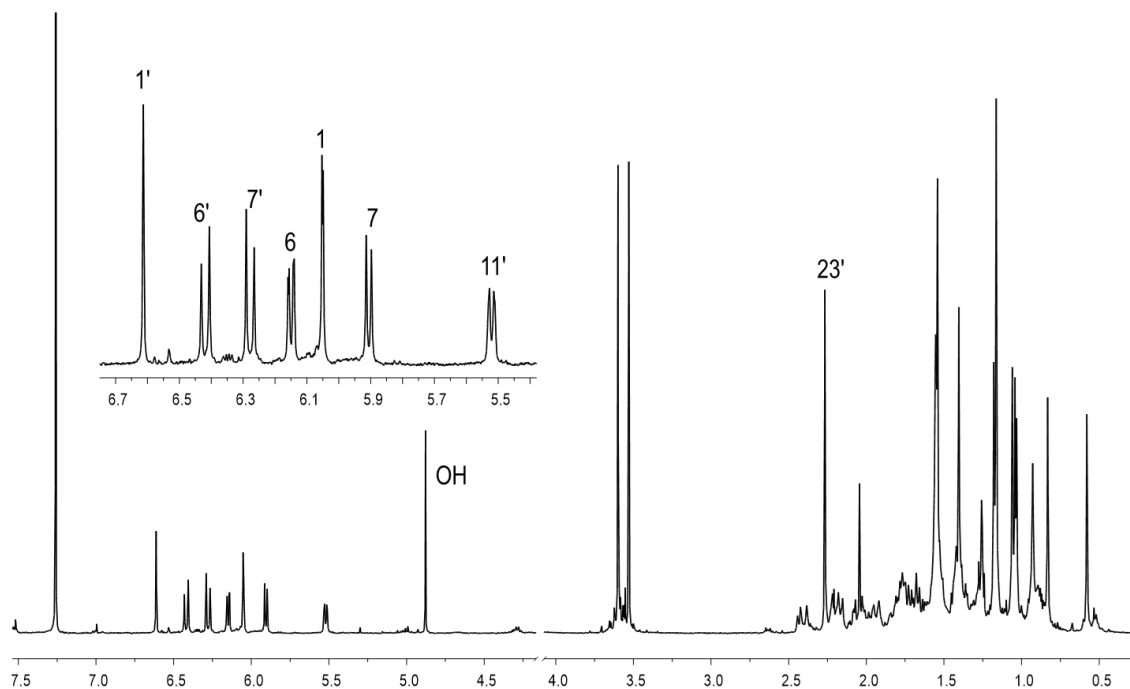
**Tabla 6.** Desplazamientos químicos obtenidos para el compuesto “a” ( $^1\text{H}$ , 400 MHz,  $^{13}\text{C}$  100MHz en  $\text{CDCl}_3$ ).

Posición	Unidad quinoide		Unidad aromática	
	H	C	H	C
1	6.06 s	115.1	6.57 s	110.5
2		190.5		141.4
3	5.04 s (OH)	90.9		138.0
4		77.1		121.6
5		132.7		125.9
6	6.49 (dd, $J = 6.92, 1.69$ Hz)	128.5	6.43 (d, $J = 9.94$ Hz)	140.0
7	6.05 s	117.4	6.25 (d, $J = 9.94$ Hz)	119.5
8		164.2		44.1
9		44.20		131.6
10		173.4		142.8
11	†	32.8	5.42 (da, $J = 5.32$ Hz)	122.7
12	1.75, 1.25	29.4	2.05, 2.00	37.9
13		39		41.0
14		44.6		40.8
15	1.57, 1.45	28.9	1.95, 1.25	24.0
16	1.46, 1.82	36.7	1.72, 1.87	37.8
17		30.8		31.8
18	1.52 s	44.6	1.68 s	47.3
19	2.39, 2.37	30.9	2.15	31.7
20		40.7		39.2
21	2.21, 1.37	30.2	2.12, 1.37	30.2
22	2.03, 0.93	35.1	†	38.0
23	1.53 s	24.9	2.26 s	10.9
25	1.40 s	39.3	0.95 s	22.9
26	1.18 s	22.7	0.90 s	19.7
27	0.52 s	18.5	0.87 s	19.2
28	1.07 s	31.9	1.03 s	31.0
29		178.2		179.5
30	1.16 s	32.2	1.16 s	33.0
OMe	3.59 s	51.9	3.50 s	52.0

†: No identificado experimentalmente

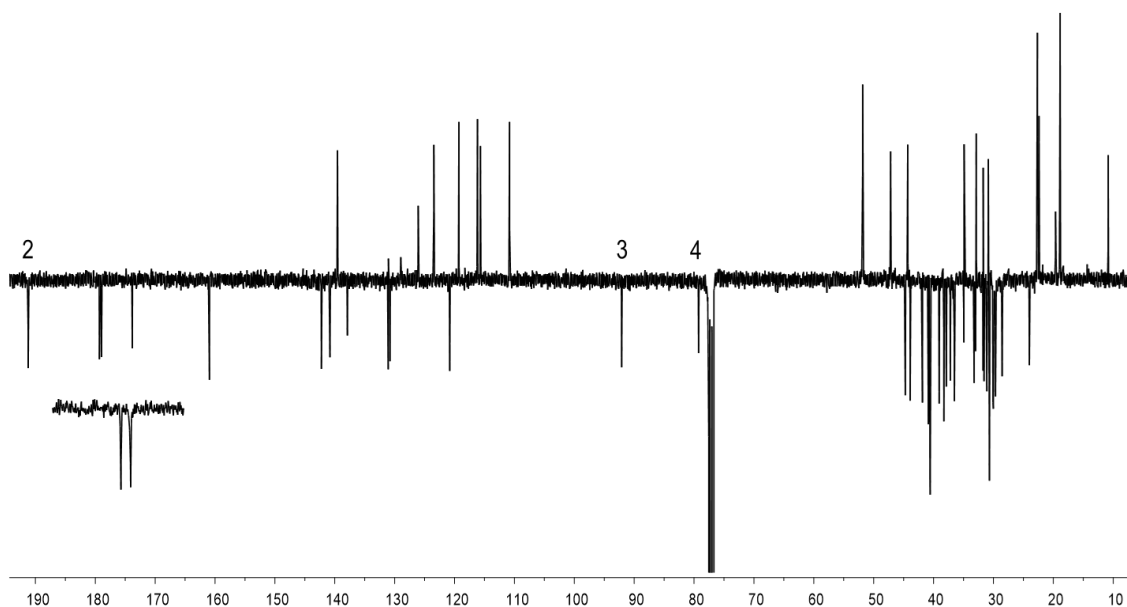
### Compuesto "b"

El compuesto "b" se obtuvo como un sólido amarillo, en el análisis por RMN-<sup>1</sup>H (Figura 35) se observaron desplazamientos similares al compuesto "a", se obtuvo una señal simple con  $\delta_H$  6.61 (H-1') atribuible a un protón en posición aromática. Además de la presencia de dos señales dobles con  $\delta_H$  6.42 (d, H-6',  $J = 9.92$  Hz) y 6.28 (d, H-7'  $J = 9.92$  Hz) propias de un sistema vinílico, y una señal doble con  $\delta_H$  5.52 (da,  $J = 5.32$  Hz) proveniente de una subunidad fenólica de isopristimerina III, además de la identificación del sistema metilenquinónico con  $\delta_H$  6.05 (d, H-1,  $J = 1.59$  Hz), 6.14 (dd, H-6,  $J = 6.59, 1.59$  Hz) y 5.90 (d, H-7,  $J = 6.59$  Hz), así mismo, se obtuvieron dos señales simples provenientes de grupos metoxilo con  $\delta_H$  3.60 y 3.53', un grupo metilo con  $\delta_H$  2.26 (H-23') asignado a un anillo aromático y la identificación de 11 metilos angulares con  $\delta$  1.54-0.58.

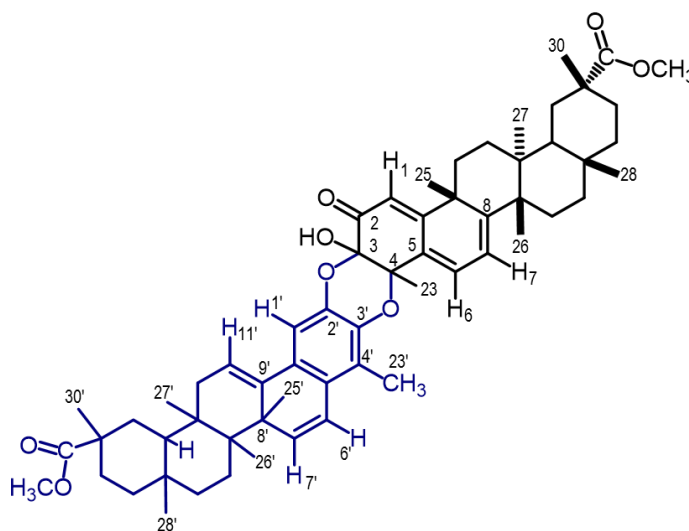


**Figura 35.** Espectro de RMN-<sup>1</sup>H (400 MHz) del compuesto "b" en CDCl<sub>3</sub>.

En el espectro de RMN-<sup>13</sup>C (APT) (Figura 36) se confirmó la presencia de 60 carbonos, entre las cuales destacan las señales con  $\delta_C$  190.2 correspondiente al carbonilo en posición dos de la pristimerina,  $\delta_C$  90.9 (C-3) y 79.25 (C-4) concernientes a carbonos cuaternarios unidos a grupos oxigenados y dos carbonilos de un grupo éster con  $\delta_C$  179.3 y 178.9', todo esto y en comparación con el compuesto "a" indicaba que se trataba de un posible aducto dimérico (Figura 37), mismo que podría ser su correspondiente regioisómero.

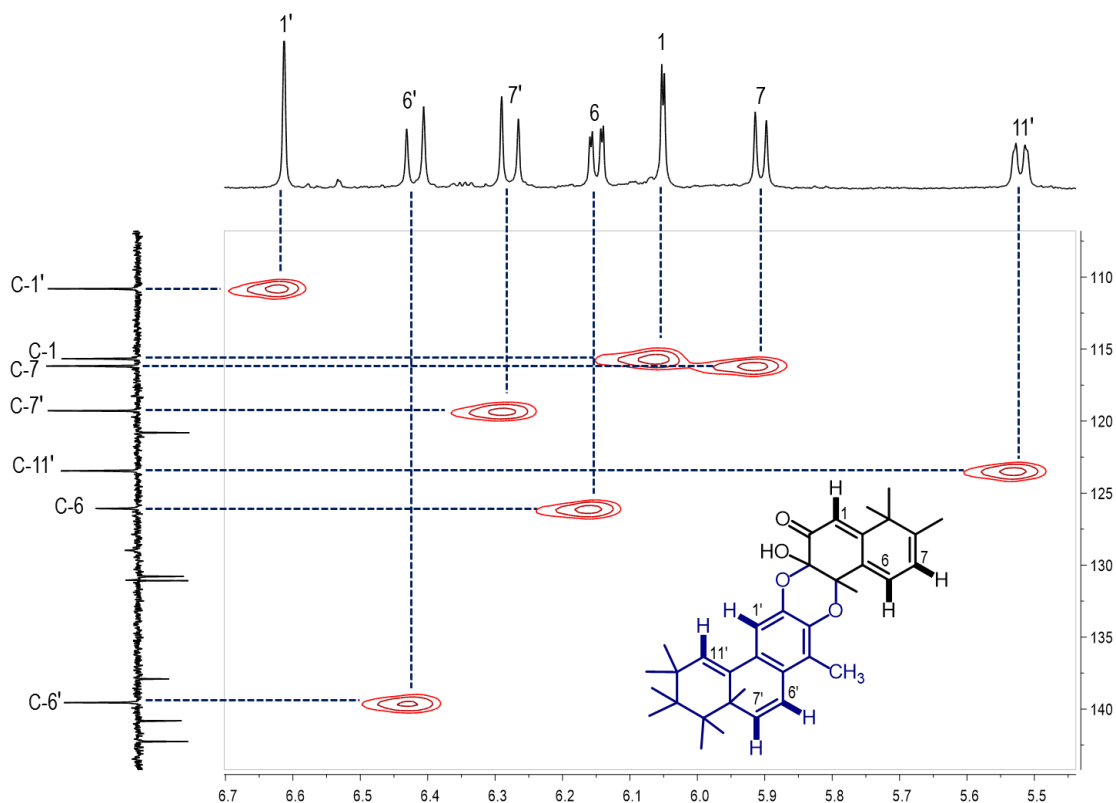


**Figura 36.** Espectro de RMN-<sup>13</sup>C (APT) del compuesto “b” (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz).



**Figura 37.** Estructura propuesta para el compuesto “b”.

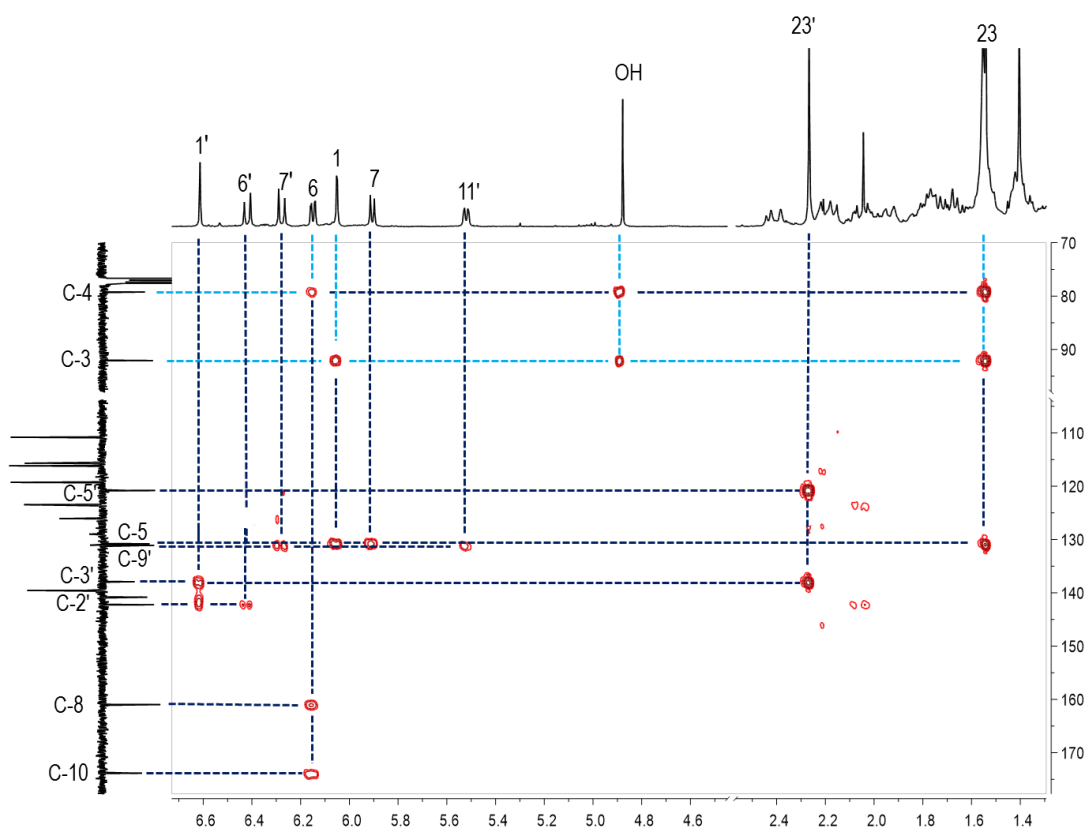
El experimento HSQC (Figura 38) permitió correlacionar las señales metilénquinónicas con  $\delta_H$  6.05, 6.14 y 5.95, pertenecientes a C-1 ( $\delta_C$  115.6), C-6 ( $\delta_C$  126.0) y C-7 ( $\delta_C$  116.1) y las señales aromáticas con  $\delta_H$  6.61, 6.42, 6.28 y 5.52 fueron asignadas a C-1' ( $\delta_C$  110.8), C-6' ( $\delta_C$  139.5), C-7' ( $\delta_C$  119.2) y C-11' ( $\delta_C$  123.4), los desplazamientos de  $\delta_C$  47.1 y 44.3 fueron correlacionados con  $\delta_H$  1.68 (H-18') y 1.52 (H-18), la asignación de los grupo metilo con sus respectivos carbonos comprendió la zona entre 0.5 y 2.26 ppm.



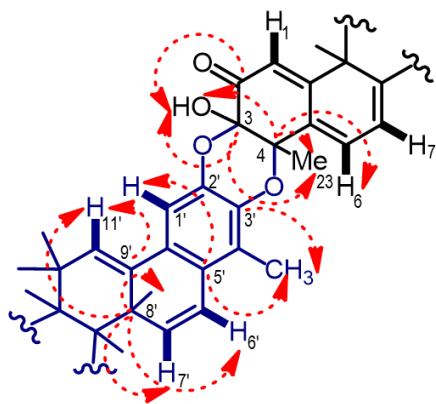
**Figura 38.** Experimento de correlación heteronuclear (HSQC) del compuesto “b” ( $\text{CDCl}_3$ ).

Las correlaciones heteronucleares a larga distancia (HMBC) (Figura 39) demuestran que el producto es un aducto dimérico debido a las interacciones de las señales con  $\delta_{\text{C}}$  92.90 y  $\delta_{\text{C}}$  79.25 lo cual concuerda con la literatura<sup>32</sup> para compuestos de este tipo. La señal de  $\delta_{\text{C}}$  92.90 (C-3) presentó interacciones con la señal del hidrógeno vinílico en posición 1 ( $\delta_{\text{H}}$  6.05), el protón del grupo  $-\text{OH}$  ( $\delta_{\text{H}}$  4.87) en posición 3 y los protones del grupo metilo en 23 ( $\delta_{\text{H}}$  1.53); adicionalmente, la señal con 79.25 (C-4) presentó las mismas correlaciones con el protón del grupo  $-\text{OH}$  ( $\delta_{\text{H}}$  4.87) y los protones del grupo metilo en 23 ( $\delta_{\text{H}}$  1.53), en este caso, la interacción con el grupo vinílico correspondió a H-6 ( $\delta_{\text{H}}$  6.14). Esta asignación de señales confirmó la presencia de un sistema 3-hidroxi-4-metil-3,4-dioxi, lo cual da sustento a un aducto dimérico formado en el anillo A de la pristimerina.

En el análisis de la unidad aromática (Figura 40) la señal con  $\delta_{\text{H}}$  6.61 presentó interacciones con el carbono cuaternario aromático en C-5' ( $\delta_{\text{C}}$  120.2) y con dos carbonos cuaternarios aromáticos en C-2' ( $\delta_{\text{C}}$  142.2) y C-3' ( $\delta_{\text{C}}$  137.9), así mismo  $\delta_{\text{C}}$  43.9 (C-8') correlacionó con H-6' ( $\delta_{\text{H}}$  6.42), H-7' ( $\delta_{\text{H}}$  6.28) y H-11' ( $\delta_{\text{H}}$  5.52) las cuales pertenecían a sistemas vinílicos propios del anillo B y C de la isopristimerina III, y con H-25 ( $\delta_{\text{H}}$  0.92) lo cual demostraba la migración de metilo -25 de acuerdo a la estructura propuesta.

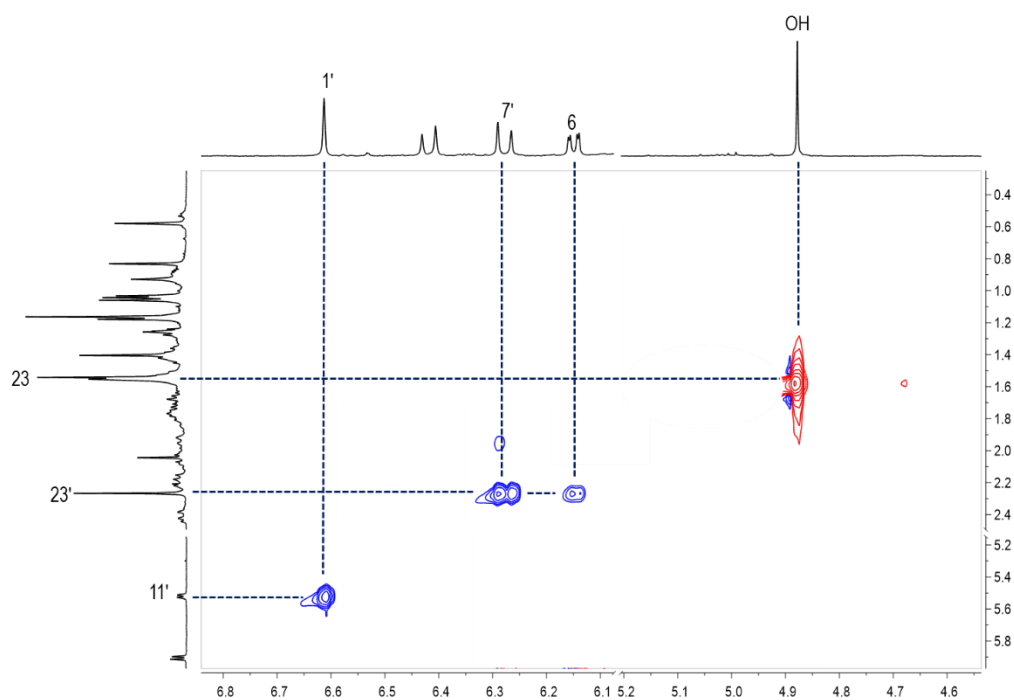


**Figura 39.** Experimento HMBC de la unidad quinoide del compuesto "b" (CDCl<sub>3</sub>).

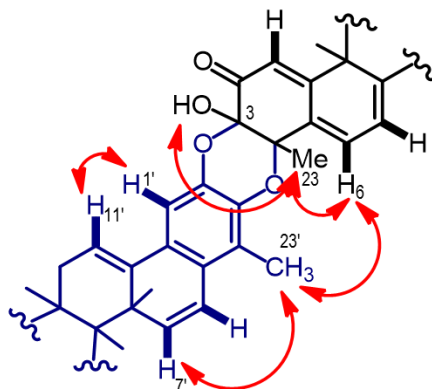


**Figura 40.** Interacciones observadas en el HMBC entre la unidad quinoide y la aromática del compuesto "b".

El experimento NOESY (Figura 41) presentó la interacción entre H-1' ( $\delta_H$  6.61) y H-11' ( $\delta_H$  5.52) confirmando de esta manera la proximidad de estos dos grupos y su adecuada asignación (Figura 42), además se observaron correlaciones entre el metilo H-23' ( $\delta_H$  2.26) y H-6 ( $\delta_H$  6.14), y entre el hidrógeno del hidroxilo en C-3 ( $\delta_H$  4.87) y el metilo en posición 23 ( $\delta_H$  1.54) localizado en C-4, indicando que en el compuesto "b" las dos unidades se encuentran unidas por dos enlaces de tipo éter con orientación *cis*. El efecto NOE entre H-23' ( $\delta_H$  2.26) y H-6 ( $\delta_H$  6.14) confirmó que el enlace 3,4-dioxi consistía en [3-O-2] y [4-O-3]. De esta manera se deduce que los compuestos "a" y "b" son regioisómeros, los desplazamientos y asignaciones obtenidos se muestran en la Tabla 7.



**Figura 41.** Experimento NOESY del compuesto "b" en  $CDCl_3$ .



**Figura 42.** Interacciones observadas en el NOESY del compuesto "b" ( $CDCl_3$ ).



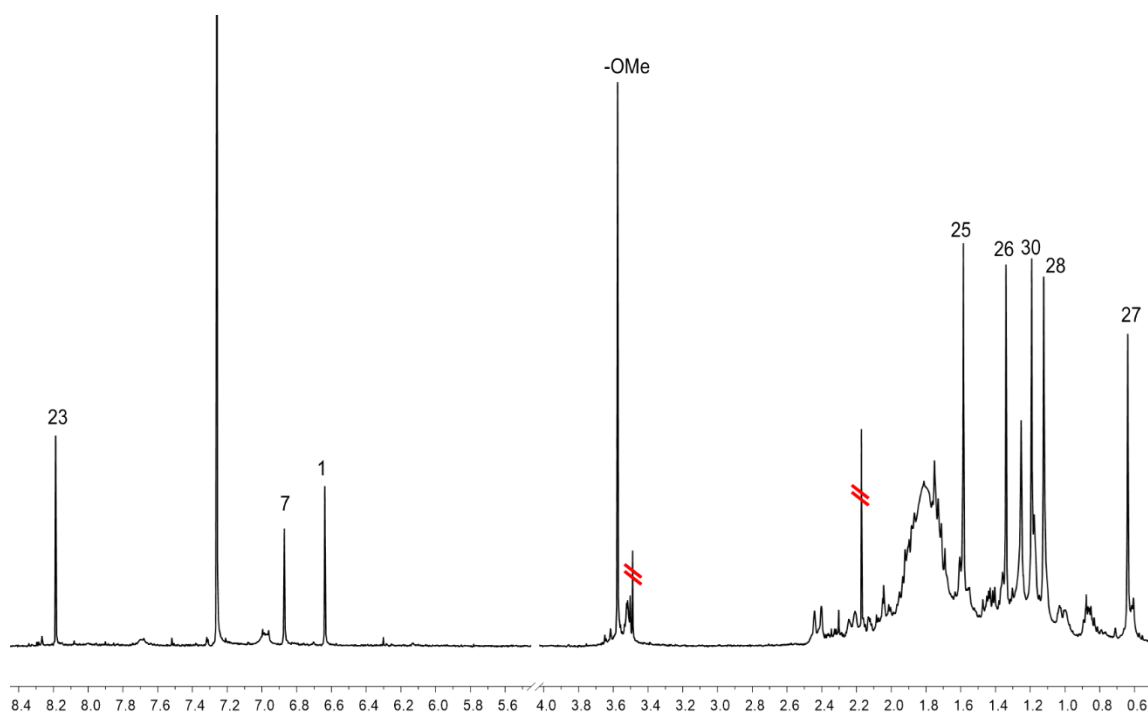
**Tabla 7.** Desplazamientos químicos obtenidos para el compuesto “b” ( $^1\text{H}$ , 400 MHz,  $^{13}\text{C}$ , 100 MHz en  $\text{CDCl}_3$ ).

Posición	Unidad quinoide		Unidad aromática	
	H	C	H	C
1	6.05 (d, $J = 1.59$ Hz)	115.6	6.61 s	110.8
2		190.2		142.2
3	4.87 s (OH)	92.1		137.9
4		79.2		121.5
5		130.7		120.2
6	6.14 (d, $J = 6.59, 1.59$ Hz)	126.0	6.52 (d, $J = 9.92$ Hz)	139.5
7	5.90 (d, $J = 6.59$ Hz)	116.1	6.28 (d, $J = 9.92$ Hz)	119.2
8		164.9		43.9
9		41.8		131.0
10		173.8		140.8
11	†	32.8	5.52 (da, $J = 5.32$ Hz)	123.4
12	†	29.4	2.07, 1.76	37.8
13		39		41.0
14		44.6		40.8
15	†	28.9	1.95, 1.25	24.0
16	†	36.7		37.8
17		30.8		31.9
18	1.52 s	44.3	1.68 s	47.1
19	†	30.9	2.2	31.5
20		40.7		39.2
21	†	30.2	†	30.2
22	†	35.1	†	38.0
23	1.54 s	22.6	2.26 s	10.98
25	1.40 s	34.9	0.92 s	19.6
26	1.18 s	32.9	0.90 s	19.7
27	0.58 s	18.8	0.83 s	18.8
28	1.07 s	31.9	1.03 s	22.6
29		178.9		179.3
30	1.16 s	30.6	1.16 s	33.0
OMe	3.60 s	51.7	3.53 s	51.8

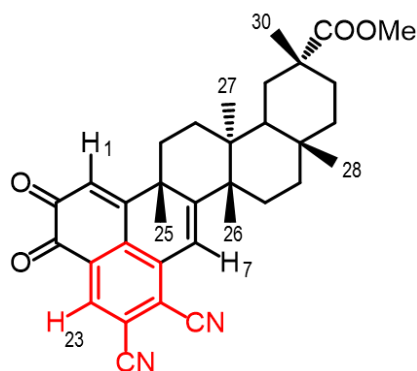
†: No identificado experimentalmente

*Pristimerina-dicianofenalediona* (Compuesto "c")

Este compuesto se obtuvo como un sólido de color rojo, al ser analizado por RMN-<sup>1</sup>H presentó tres señales simples en el espectro (Figura 43) con  $\delta_H$  8.19 (H-23), 6.87 (H-7) y 6.64 (H-1), las señales características de los grupos metilo y del metoxilo de la pristimerina permanecieron constantes, a diferencia del metilo en posición 23 en donde se observó la ausencia de éste. Por comparación con los datos publicados en la literatura (Tabla 8)<sup>33</sup> y sabiendo que el DDQ podría interferir en la reacción formando un aducto, se identificó como pristimerina-dicianofenalediona (Figura 44).



**Figura 43.** Espectro de RMN-<sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) de la pristimerina-dicianofenalediona

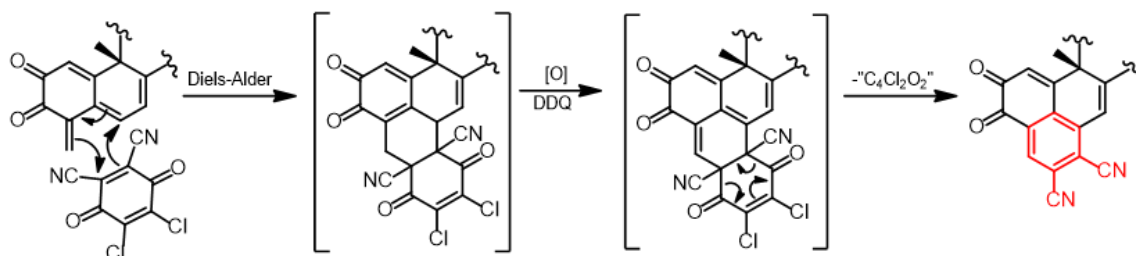


**Figura 44.** Estructura de la pristimerina-dicianofenalediona.

**Tabla 8.** Comparación de los datos de RMN-<sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) del compuesto “c” con los descritos en la literatura.<sup>33</sup>

Posición	δ <sub>H</sub> observado	δ <sub>H</sub> literatura <sup>33</sup>
1	6.64 s	6.64 s
7	6.87 s	6.87 s
19α	2.42 (d, <i>J</i> = 16 Hz)	2.42 (d, <i>J</i> = 15.7 Hz)
23	8.19 s	8.19 s
25	1.58 s	1.59 s
26	1.34 s	1.34 s
27	0.64 s	0.64 s
28	1.12 s	1.12 s
30	1.19	1.19 s
-OMe	3.57 s	3.57 s

Se ha propuesto que la obtención de este compuesto parte de la formación de una *orto*-quinona en el medio de reacción (Figura 45), la cual es obtenida mediante la oxidación promovida con el DDQ en el anillo A de la pristimerina. Ésta sufre una reacción de tipo Diels-Alder en donde el DDQ se comporta como un dienófilo dando lugar a la obtención de un aducto.

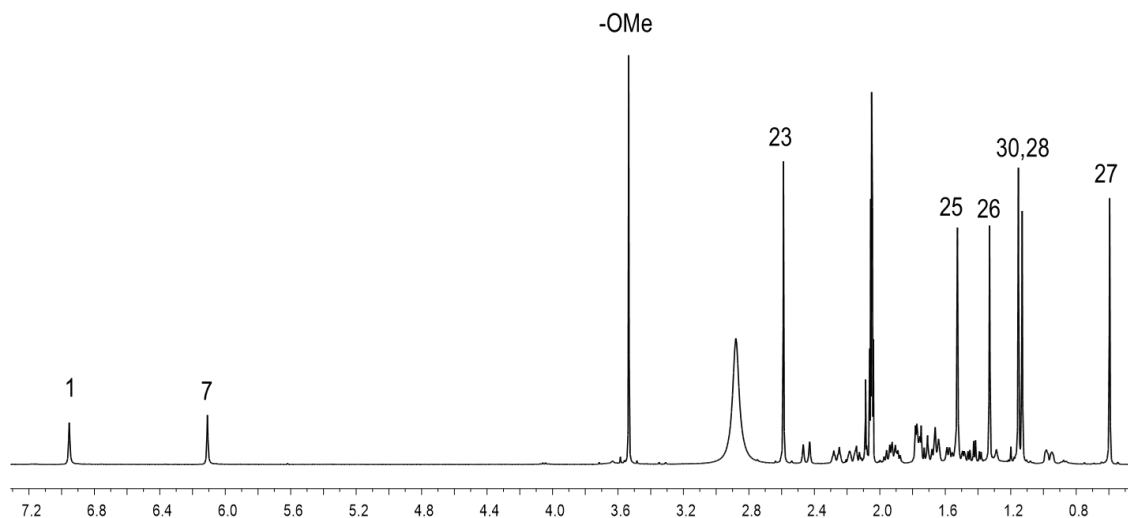


**Figura 45.** Posible ruta de formación de la pristimerina-dicianofenalediona.<sup>33</sup>

Por medio de una segunda oxidación se forma una estructura poco estable que da lugar a una retro-Diels-Alder en donde se elimina una parte de la molécula para la obtención de un anillo aromático con dos grupos cianos.

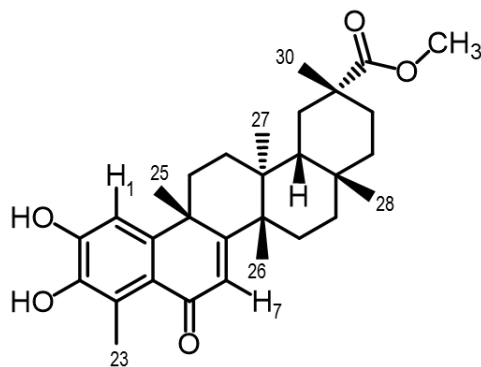
### 6-oxo-pristimerol (compuesto "d")

En el análisis por medio de RMN-<sup>1</sup>H (Figura 46), se observó la ausencia de las señales quinónicas de pristimerina y se obtuvo dos simples en regiones aromáticas ( $\delta$  6.85 y 6.11) las cuales integraban para un protón, seis señales angulares con  $\delta_H$  2.59, 1.52, 1.33, 1.15, 1.13 y 0.59 pertenecientes a grupos metilo y una señal con  $\delta$  3.53 que integraba para tres protones concerniente a un grupo metoxilo, todo esto y de acuerdo a lo reportado en la literatura<sup>35</sup> (Tabla 9) se trataba de un triterpenofenol derivado de pristimerina conocido como 6-oxo-pristimerol (Figura 47).

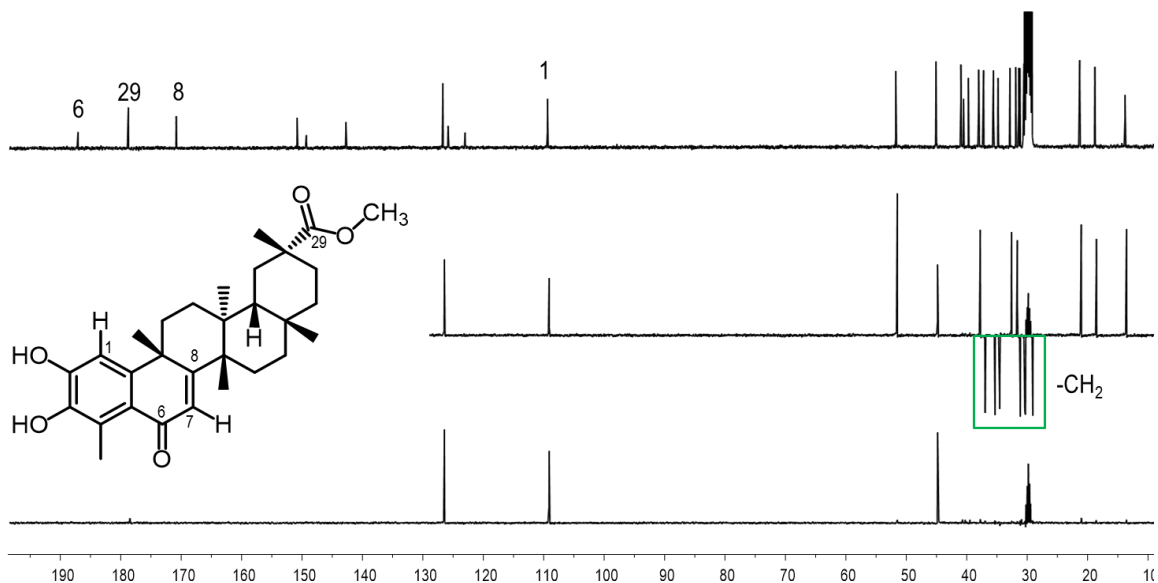


**Figura 46.** Espectro de RMN-<sup>1</sup>H del compuesto "d" (Me<sub>2</sub>CO-d<sub>6</sub>, 400 MHz).

En el espectro de RMN-<sup>13</sup>C (Figura 48) se apreciaron 30 señales, las cuales mediante el DEPT 135° y 90° se identificaron como: siete señales pertenecientes a metilos, siete metilenos, tres metinos y 13 carbonos cuaternarios, lo cual daba soporte a la estructura del compuesto obtenido, los desplazamientos y asignaciones obtenidos se muestran en la tabla 7.

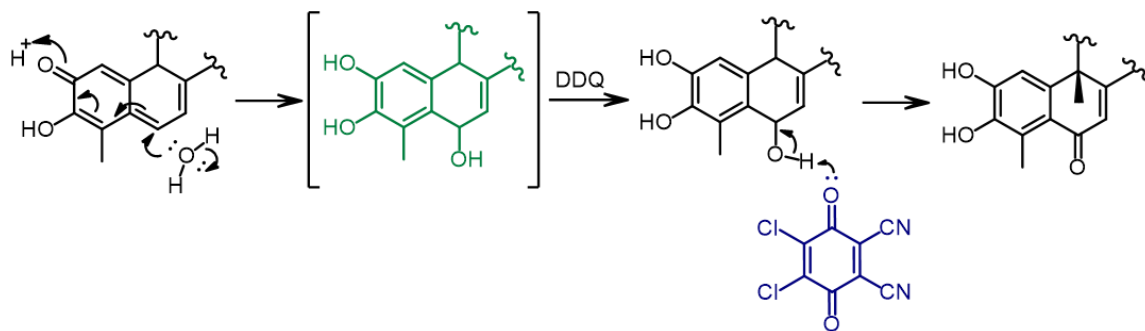


**Figura 47.** Estructura del 6-oxo-pristimerol.



**Figura 48.** Espectros de RMN- $^{13}\text{C}$ , DEPT  $135^\circ$  y  $90^\circ$  del 6-oxo-pristimerol ( $\text{Me}_2\text{CO}-d_6$ , 100 MHz).

Es importante mencionar que en la biosíntesis de las xuxuarinas E $\alpha$  y E $\beta$ , el 6-oxo-pristimerol se propone como producto de partida para la obtención del derivado *orto*-quinónico que da lugar a la unidad aromática del aducto formado, por lo cual su ruta de formación (Figura 49) probablemente ocurra mediante la adición de agua al carbono seis de la pristimerina para formar un intermediario, el cual es oxidado con el DDQ para su obtención.



**Figura 49.** Ruta propuesta para la obtención del 6-oxo-pristimerol con DDQ.<sup>33</sup>

**Tabla 9.** Comparación de los datos espectroscópicos del 6-oxo-pristimerol en Me<sub>2</sub>CO-*d*<sub>6</sub>.<sup>35</sup>

Posición	$\delta_H$	$\delta_H$	$\delta_C$	$\delta_C$
	observado	literatura <sup>34</sup>	observado	literatura <sup>34</sup>
1	6.92 (1H, s)	6.91 (1H, s)	109.4	109.4
2			149.4	149.5
3			142.8	142.9
4			125.9	125.9
5			123.1	123.0
6			187.2	187.2
7	6.11 (1H, s)	6.07 (1H, s)	126.7	126.8
8			170.9	170.9
9			40.5	40.5
10			150.9	150.9
11 $\alpha$	2.26 (1H, da <i>J</i> =13.4 Hz)	2.26 (1H, da <i>J</i> =13.65 Hz)	34.8	34.8
12			30.5	30.6
13			39.7	39.7
14			45.1	45.1
15	1.57 (1H, da <i>J</i> =5.3 Hz)	1.57 (1H, da <i>J</i> =5.2 Hz)	29.3	29.3
16	1.91 (2H, m)	1.91 (2H, m)	37.2	37.2
17			31.2	31.2
18	1.65 (1H, ta <i>J</i> =8 Hz)	1.65 (1H, ta <i>J</i> =8 Hz)	45.1	45.1
19 $\alpha$	2.47 (1H, d <i>J</i> =14 Hz)	2.44 (1H, d <i>J</i> =14 Hz)	31.4	31.4
20			41.0	41.0
21	1.40 (2H, td <i>J</i> =14,3Hz)	1.40 (2H, td <i>J</i> =14,3Hz)	30.6	30.6
22	0.96 (1H, da <i>J</i> =12.52 Hz)	0.96 (1H, da <i>J</i> =12.52 Hz)	35.6	35.6
23	2.59 (3H, s)	2.58 (3H, s)	13.8	13.8
25	1.52 (3H, s)	1.51 (3H, s)	38.0	38.0
26	1.33 (3H, s)	1.32 (3H, s)	21.3	21.2
27	0.59 (3H, s)	0.58 (3H, s)	18.8	18.8
28	1.13 (3H,s)	1.12 (3H,s)	31.9	31.9
29			178.8	178.9
30	1.15 (3H, s)	1.14 (3H, s)	32.8	32.8
MeO	3.53 (3H, s)	3.53 (3H, s)	51.7	51.8

## Análisis de la oxidación de pristimerina con DDQ

### Cuantificación de xuxuarinas E $\alpha$ y E $\beta$ .

En la Tabla 10 se presenta el rendimiento obtenido de las xuxuarinas E $\alpha$  y E $\beta$  para las reacciones establecidas con DDQ, es importante mencionar que no fue del todo posible la purificación de los estereoisómeros por métodos cromatográficos convencionales, ya que algunas fracciones (para 1.20 eq.) se encontraron en mezcla con pristimerina haciendo difícil su separación. Similarmente, con 3 eq. de DDQ algunas fracciones resultantes de la purificación se encontraron en mezcla E $\alpha$ :E $\beta$ . Por lo cual fue indispensable hacer uso de la RMN<sub>C</sub> (Tabla 11) para obtener valores más cercanos de este conjunto de estereoisómeros en el crudo de reacción.

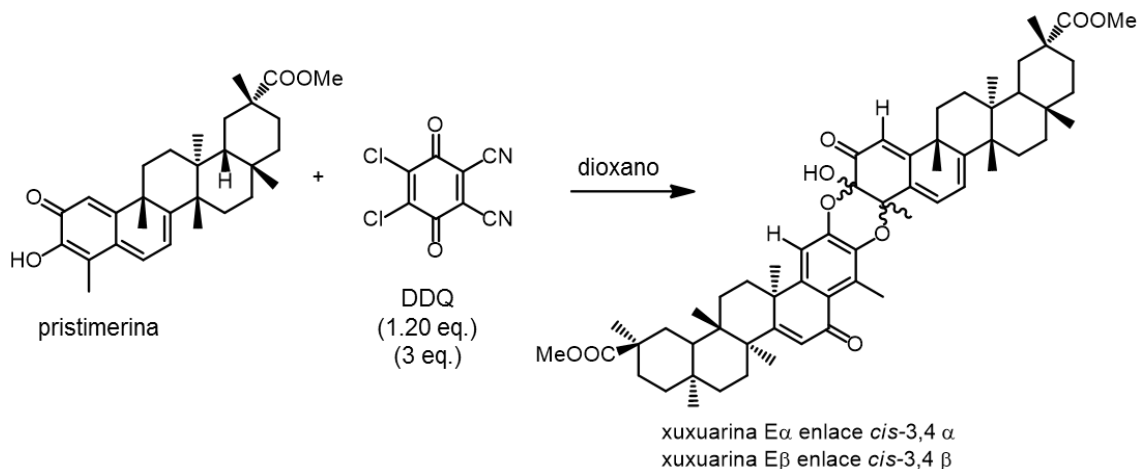
**Tabla 10.-** Porcentaje de rendimiento aislado de xuxuarinas E $\alpha$  y E $\beta$ .

Condiciones de reacción <sup>b</sup>	DDQ (Eq.)	xuxuarina E $\alpha$ (mg)	% Rendimiento	xuxuarina E $\beta$ (mg)	% Rendimiento
3 h	1.20	2.1	2.01	1.9	1.82
3 h <sup>a</sup>	1.20	3.3	3.16	3.7	3.54
3 h	3	6	5.74	6.9	6.60
6 h	1.20	2.3	2.20	2.1	2.01
6 h <sup>a</sup>	1.20	2.3	2.20	2.7	2.58
6 h	3	6.4	6.12	5.5	5.26
12 h	1.20	2.9	2.77	3.1	2.96
12 h	3	5.6	5.35	8.7	8.32

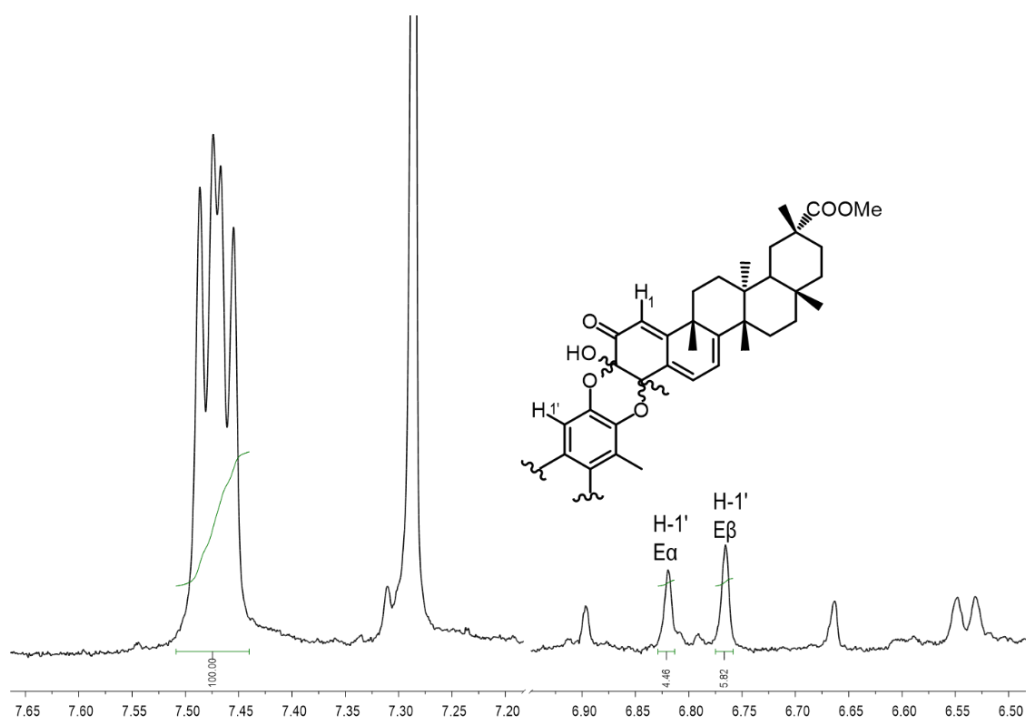
a: Reacciones promovidas con ultrasonido

b: 51.5 mg de pristimerina (110.8 $\mu$ mol, T. Amb)

Las distintas condiciones de reacción establecidas con el DDQ, sirvieron como base para el estudio del porcentaje de formación de xuxuarinas E $\alpha$  y E $\beta$  (Figura 50), por medio de RMN<sub>C</sub> se realizó con cada crudo de reacción la cuantificación de xuxuarinas E $\alpha$  y E $\beta$  (Figura 51), así como el cálculo del porcentaje de recuperación de pristimerina que no logró reaccionar.



**Figura 50.** Reacción de oxidación de pristimerina con DDQ.



**Figura 51.** Representación de la cuantificación por RMN- $^1\text{H}$  de las xuxuarinas E $\alpha$  y E $\beta$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400MHz).

En la Tabla 11, se observa una influencia positiva del aumento en la cantidad de DDQ empleado para la formación de xuxuarinas E $\alpha$  y E $\beta$ , al parecer, el rendimiento de los dimeros va en una proporción cercana 1:3 con respecto a la cantidad obtenida de xuxuarinas con 1.20 eq. y 3 eq. del agente oxidante. El aumento en el tiempo de reacción, así como el uso del ultrasonido, no impactó de manera considerable en el porcentaje de rendimiento de los estereoisómeros formados, por lo que se asume que el DDQ es el factor limitante para una mayor obtención de estos compuestos.



**Tabla 11.** Porcentajes de conversión y rendimiento cuantificado por RMN para las xuxuarinas E $\alpha$  y E $\beta$ .

Condiciones de reacción <sup>a</sup>	DDQ (Eq.)	% pristimerina recuperada	% Conversión (E $\alpha$ + E $\beta$ )	% Rendimiento <sup>b</sup> (E $\alpha$ + E $\beta$ )	Proporción E $\alpha$ :E $\beta$
3 h/agitación magnética	1.20	76.5	35.0	8.2	51:49
3 h/ultrasonido	1.20	30.6	11.8	8.2	49:51
3 h/agitación magnética	3	14.4	26.7	19.45	46:54
6 h/agitación magnética	1.20	48.1	17.0	8.8	52:48
6 h/ultrasonido	1.20	39.4	13.3	8.1	51:49
6 h/agitación magnética	3	c	22.9	23.9	45:55
12 h/agitación magnética	1.20	42.2	14.1	8.2	50:50
12 h/agitación magnética	3	c	19.64	20.5	41:59

a: 51.5 mg de pristimerina (110.8  $\mu$ mol, T. Amb)

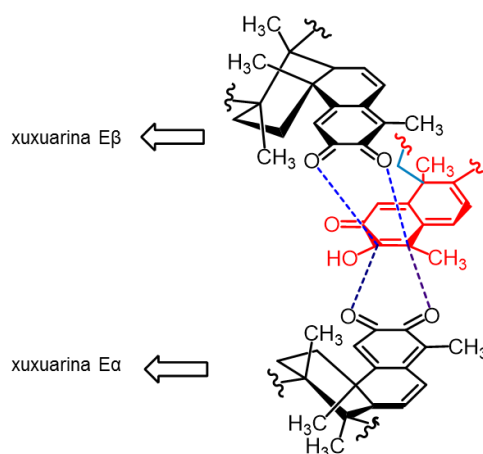
b: Rendimiento por RMNc

c: No identificado en el espectro de RMNc.

El uso de la técnica del ultrasonido en las condiciones de reacción (30.2 mg, 133.0  $\mu$ mol) de DDQ promovió un mayor consumo de la pristimerina. Sin embargo, como ya se mencionó, no resultó ser de gran importancia en el rendimiento de las xuxuarinas formadas, esto podría ser atribuido a que el consumo de la pristimerina se dirige hacia la formación de otros productos secundarios.

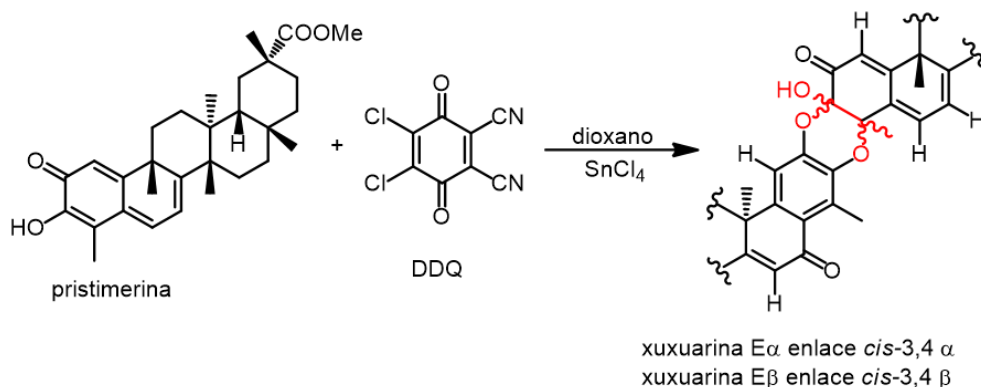
De acuerdo a la literatura<sup>36,37</sup> en las últimas dos décadas el uso del ultrasonido ha sido empleado en síntesis como un método alternativo para acelerar los procesos de reacción debido a un proceso conocido como cavitación acústica, lo cual permite la selectividad de las reacciones y mejora el rendimiento de los productos formados. Es importante hacer mención que el DDQ no actúa de manera selectiva hacia la formación de los dímeros, ya que a través de este agente oxidante se han obtenido trímeros, fenoles, así como derivados *orto* y *para*-quinónicos<sup>38</sup>, lo cual habla sobre la distintiva selectividad que puede presentar, esto explicaría la razón por la cual no se obtuvo un mayor rendimiento de los dímeros estudiados.

Con 1.20 eq. de DDQ la relación E $\alpha$ :E $\beta$  se mantiene en proporción 1:1, esto varió con la adición de 3 eq. de DDQ, de acuerdo a un estudio realizado con cálculos computacionales sobre la biogénesis de los dímeros triterpénicos<sup>9</sup> se encontró que los dímeros de tipo A-A con estereoquímica  $\alpha$  (xuxuarina A $\alpha$  e isoxuxuarina A $\alpha$ , unidos por dos unidades de tingenona) son más estables que los de tipo  $\beta$  (xuxuarina A $\beta$ , isoxuxuarina A $\beta$ ) por 1.7-2.6 Kcal/mol. Sin embargo, de acuerdo a lo ya descrito, para 3 eq. de DDQ se observó un favorecimiento hacia la estereoquímica  $\beta$  de la xuxuarina de tipo E, el cual aumentó considerablemente con respecto al tiempo, esto significaría, que el ataque de la *o*-quinona se da con mayor facilidad por la cara *Re-Re* del doble enlace de la metilénquinona<sup>19</sup> (Figura 52) y por eso se encuentra en una ligera mayor proporción.



**Figura 52.** Posible mecanismo del ataque de la *o*-quinona para formar los diferentes estereoisómeros.

Como un estudio complementario en la formación de los derivados diméricos se eligió la reacción a 3 h con 75.4 mg (332.4  $\mu$ mol) de DDQ para analizar la posible influencia de un catalizador de estaño ( $\text{SnCl}_4$ , 500 mL) en el porcentaje de rendimiento de las xuxuarinas E $\alpha$  y E $\beta$  (Figura 53). Se ha demostrado que los ácidos de Lewis sobre las reacciones Diels-Alder mejoran la reactividad de los dienos y dienófilos<sup>39</sup>, además de que el  $\text{SnCl}_4$  ha sido reportado en la síntesis de un dímero triterpénico al reaccionar la pristimerina con un derivado de tipo 4- $\alpha$ -hidroxi-pristimerina obtenido en la oxidación con DMDO.<sup>32</sup>



**Figura 53.** Oxidación de pristimerina frente a un catalizador de SnCl<sub>4</sub>

A diferencia de las reacciones presentadas en la Tabla 11, no fue posible cuantificar las señales de las xuxuarinas E $\alpha$  y E $\beta$  por RMN<sub>C</sub> debido al solapamiento de sus señales; sin embargo, se trabajó con la señal correspondiente al H-1 de la pristimerina para proceder a su cuantificación (Tabla 12), en donde se recuperó una cantidad menor de ésta (9.18 %) en comparación con las anteriores donde se obtuvieron valores entre 14.4- 76.5 % (ver tabla 11). Debido a que no se logró realizar la cuantificación de las xuxuarinas E $\alpha$  y E $\beta$  se procedió a la purificación del crudo de reacción, contrario a lo que se esperaba el consumo de la pristimerina no se dirige exclusivamente a la formación de los aductos diméricos; no obstante la mezcla de reacción fue muy compleja por lo que la caracterización de los otros productos formados fue imposible.

**Tabla 12.** Porcentaje de conversión y rendimiento para las xuxuarinas E $\alpha$  y E $\beta$ .

Condiciones de reacción	% de pristimerina recuperada	% Conversión (E $\alpha$ + E $\beta$ )	% Rendimiento (E $\alpha$ +E $\beta$ )	Proporción (E $\alpha$ :E $\beta$ )
3h/agitación magnética	9.18	10.7	6.7	62:38

### Análisis de la oxidación de pristimerina con Sal de Fremy

La oxidación de pristimerina con las condiciones presentadas en la Tabla 13, dio lugar a la formación de las xuxuarinas E $\alpha$  y E $\beta$ , aunque con menores rendimientos si se compara con los obtenidos con el DDQ (para 1.20 eq. 4%, para 3 eq. 20%), además de la ausencia de los compuestos “a” y “b” y del 6-oxo-pristimerol, lo cual indica que para estas condiciones, la oxidación se dirige preferentemente hacia las xuxuarinas E $\alpha$  y E $\beta$  por encima de los compuestos mencionados con anterioridad. En este caso fue imposible cuantificar directamente del crudo de reacción la obtención de las xuxuarinas E $\alpha$  y E $\beta$ , por lo que los porcentajes de rendimientos presentados en la Tabla 13 son de aislamiento por métodos cromatográficos convencionales.

**Tabla 13.** Condiciones asistidas con ultrasonido para la oxidación de pristimerina (50 mg, 107 $\mu$ mol).

Entrada	Sal de Fremy (eq)	Disolvente	pH	Producto observado	Rendimiento (%)
1 <sup>a</sup>	3	MeOH	9.4	xuxuarina E $\beta$	1.9
2 <sup>a</sup>	3	MeOH	4.7	sin reacción	---
3 <sup>a</sup>	3	Me <sub>2</sub> CO	9.4	xuxuarina E $\alpha$ , E $\beta$	2.1, 2.6
4 <sup>a</sup>	3	Me <sub>2</sub> CO	5	Compuesto f	c
5 <sup>a</sup>	3	AcOEt	9.4	sin reacción	---
6 <sup>a</sup>	6	MeOH	9.4	sin reacción	---
7 <sup>a</sup>	6	Me <sub>2</sub> CO	9.4	sin reacción	---
8 <sup>b</sup>	3	MeOH	9.4	xuxuarina E $\beta$	2.4
9 <sup>b</sup>	3	Me <sub>2</sub> CO	9.4	xuxuarina E $\alpha$ , E $\beta$	1.3, 2.5

a: reacción a 3h

b: reacción a 6h

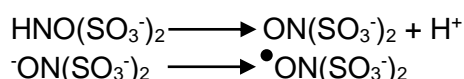
c: No determinado

El aumento de la formación de xuxuarina E $\beta$  (Tabla 13, entradas 1 y 8) fue proporcional con respecto al tiempo, no obstante no fue posible la detección de la E $\alpha$ , esto puede ser por la influencia del disolvente, ya que al modificar el medio en el cual se encontraba disuelta la pristimerina se vio favorecida la obtención de los dos aductos diméricos (Tabla 13, entradas 3 y 9).

Es importante destacar que el hecho de obtener un solo dímero para estas condiciones de reacción no descarta la posibilidad de que el mecanismo de formación sea de tipo Hetero Diels-Alder (HDA), ya que se ha demostrado con anterioridad que al oxidar pristimerina con DMDO solamente se forma un aducto dimérico,<sup>31</sup> descartando las otras tres posibilidades; aunado a esto, mediante estudios teóricos<sup>9</sup> se ha trabajado con el estudio del mecanismo de formación de xuxuarinas A $\alpha$ , A $\beta$  e isoxuxuarinas A $\alpha$ , A $\beta$  (dímeros triterpénicos unidos mediante dos unidades de tingenona) en donde las reacciones se ven favorecidas a través de una HDA y no mediante un mecanismo no

concertado de tipo Michael aldol como algunos autores han sugerido en la formación de diversos cicloaductos.<sup>9</sup> Todo esto da pie a no descartar la posibilidad de que la formación de la xuxuarina E $\beta$  sea a través de una HDA.

El hecho de que las cantidades obtenidas de xuxuarinas no sean similares a las obtenidas con el DDQ se debe a la potencia del agente oxidante, en este caso, el carácter oxidativo de la Sal de Fremy es menor en comparación con en DDQ, algunos autores consideran que la sal es capaz de descomponerse<sup>40</sup> cuando está entre pH: 9-12, con lo cual ocurre lo siguiente:



Esta disociación acarrea diversos problemas en torno a la estabilidad de los productos formados en el medio de reacción y posiblemente debido a ello su carácter oxidativo disminuya y esto desfavorece las reacciones de dimerización. Para las reacciones en condiciones a temperatura ambiente (Tabla 14) en las entradas 6 y 7 se obtuvo al compuesto “f”, la obtención de este compuesto y la nula formación de xuxuarinas a pH ácido hablan sobre el comportamiento en distintos medios de la pristimerina, favoreciéndose las reacciones de cicloadición a pH básico.

Adicionalmente se observó que en condiciones a temperatura ambiente no se favoreció la formación de estos dímeros triterpénicos (Tabla 14), lo cual indicaría que es necesaria una ligera adición de energía al sistema para promover las reacciones de cicloadición, debido a que únicamente con la irradiación de ondas ultrasónicas se observó la formación de diferentes productos según las condiciones utilizadas.

**Tabla 14.** Condiciones de reacción a temperatura ambiente para la oxidación de pristimerina (50 mg, 107  $\mu\text{mol}$ ).

Entrada <sup>a</sup>	Tiempo de reacción (h)	Disolvente	pH	Producto observado	Rendimiento (%)
1	3 <sup>b</sup>	MeOH	9.4	sin reacción	---
2	3	MeOH	9.4	sin reacción	---
3	6	MeOH	9.4	sin reacción	---
4	24	MeOH	9.4	sin reacción	---
5	3	Me <sub>2</sub> CO	9.4	sin reacción	---
6	3	Me <sub>2</sub> CO	5	Compuesto f	c
7	15	Me <sub>2</sub> CO	5	Compuesto f	c

a: 3 eq de la sal de Fremy

b: T: 0-5° C

c: No determinado

## Identificación del compuesto resultante de la oxidación de pristimerina con sal de Fremy

### Compuesto "f"

El compuesto "f" fue obtenido como un sólido rojo, el cual en su análisis por medio de RMN- $^1\text{H}$  (Figura 54), presentó señales con  $\delta_{\text{H}}$  6.27 (s, 1H), 5.79 (d, 1H,  $J = 6.31$  Hz) y una señal múltiple con  $\delta_{\text{H}}$  3.96 (m, 1H) éstas dieron indicio de la ausencia del sistema metilenquinónico de pristimerina, además de la presencia del grupo metoxilo con  $\delta_{\text{H}}$  3.58 y la conservación de los seis metilos angulares con desplazamientos entre 0.58-1.94 ppm. No obstante, no fue posible la elucidación completa de este compuesto debido a que probablemente sufrió un proceso de degradación haciendo difícil su caracterización. De acuerdo a las señales observadas en el espectro de RMN- $^1\text{H}$  y en comparación con la literatura, se propuso una probable estructura para este compuesto, en la cual se asigna un grupo  $-\text{OH}$  en posición 6 que acoplaría con  $\delta_{\text{H}}$  5.79 d (H-7); sin embargo, la falta de evidencia espectroscópica ponen en duda la estructura para "f".

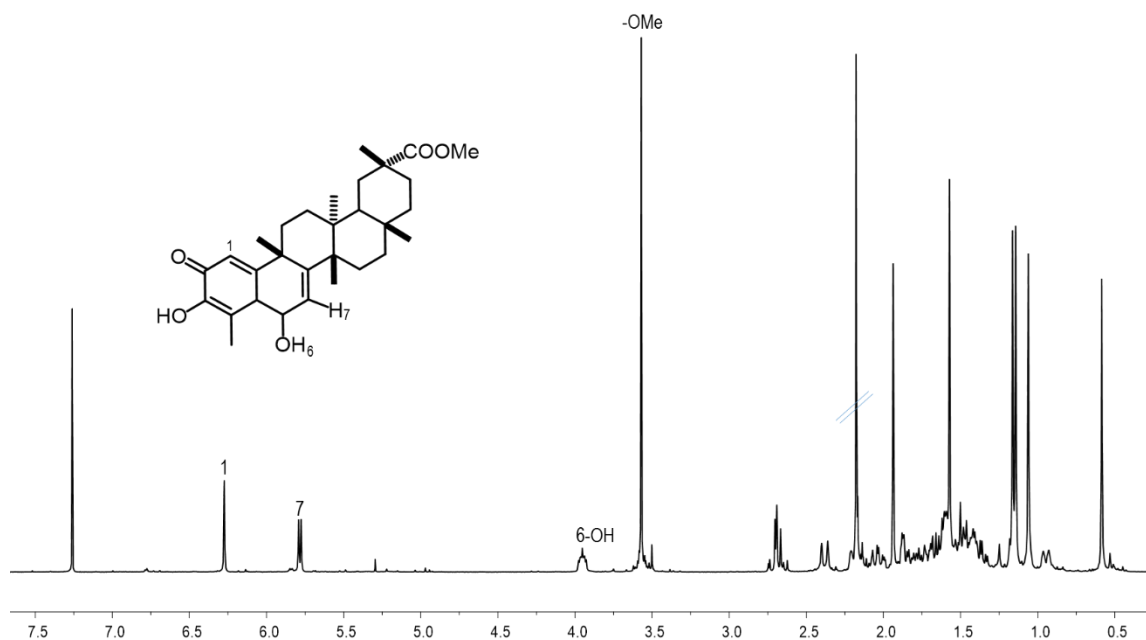
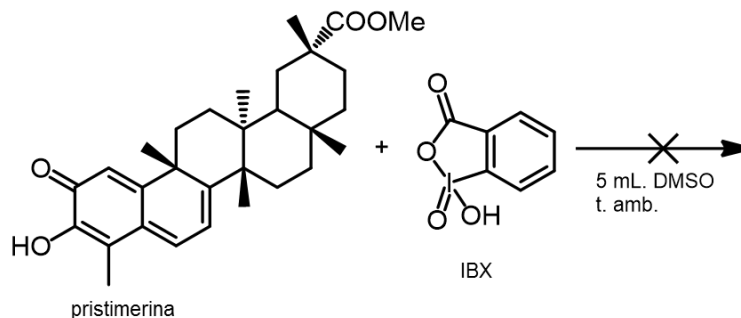


Figura 54. Espectro de RMN- $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz) del compuesto "f".

### Análisis de la oxidación de pristimerina con IBX.

En la Tabla 15 se resumen las condiciones de oxidación a temperatura ambiente con el IBX (Figura 55), no fue posible la obtención de producto alguno, lo cual dio pie a establecer dos modalidades de reacción: la adición de la técnica del ultrasonido y el calentamiento por método convencional a 70°C (Tabla 16).



**Figura 55.** Reacción para la oxidación de pristimerina.

**Tabla 15.** Condiciones de reacción a temperatura ambiente para la oxidación de pristimerina (50 mg, 107  $\mu\text{mol}$ ).

Entrada	IBX (eq)	Tiempo de reacción (h)	Producto observado	Rendimiento (%)
1	1	3	sin reacción	---
2	1	6	sin reacción	----
3	1	24	sin reacción	---
4	2	3	sin reacción	---
5	2	6	sin reacción	---
6	2	24	sin reacción	----

En las entradas 1- 4 (Tabla 16) se confirmó la presencia de los compuestos “a” y “b” a través de un análisis por CCD y por RMN- $^1\text{H}$ , sin embargo su purificación no fue posible debido a que se encontraban en mezcla con otros productos no identificados de la reacción, por otra parte la cantidad en mezcla que se obtuvo oscilaba entre 2-2.5 mg. La aparición de estos compuestos, daba indicio a que en el medio de reacción se estaban llevando a cabo reacciones de oxidación y cicloadición, esto con la evidencia ya descrita de que los compuestos “a” y “b” pertenecen a los aductos diméricos conformados por unidades de isopristerina III y pristimerina.

Al igual que en el caso de las oxidaciones con el DDQ se obtuvo al 6-oxo-pristimerol de las reacciones con 2 eq. de agente oxidante a 3 y 6 h en ultrasonido, esto indica que a diferencia de la sal de Fremy el IBX resultó poseer un carácter más oxidante pero menor al del DDQ; para estas condiciones no se observó la formación de las xuxuarinas E<sub>d</sub> y

E $\beta$ , lo cual indicaría la ausencia del sistema *o*-quinónico (Figura 56) para la obtención de los correspondientes regioisómeros.

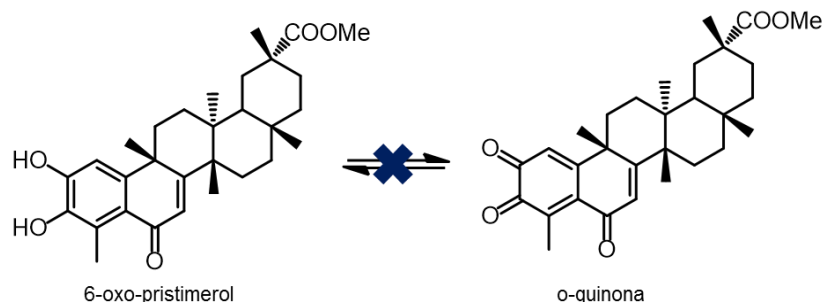
**Tabla 16.** Condiciones de reacción a temperatura ambiente para la oxidación de pristimerina (50 mg, 107  $\mu$ mol).

Entrada	IBX (eq)	Modalidad	Tiempo de reacción (h)	Producto observado	Rendimiento (%)
1	1	a	3	compuesto "a" y "b"	c
2	1	a	6	compuesto "a" y "b"	c
3	2	a	3	compuesto "a" y "b"	c
				6-oxo-pristimerol (2.4 mg)	c
4	2	a	6	compuesto "a" y "b"	c
				6-oxo-pristimerol (3.1 mg)	c
5	2	b	6	sin reacción	---
6	2	b	12	sin reacción	---
7	2	b	24	compuesto "a (1.9 mg)" y "b (2.1 mg)"	c
				xuxuarinas E $\alpha$ y E $\beta$	c
8	2	b	48	compuesto "a (3.1 mg)" y "b (2.9 mg)"	c
				xuxuarina E $\alpha$ y E $\beta$	3, 2.8

a: ultrasonido

b: calentamiento convencional a 70°C

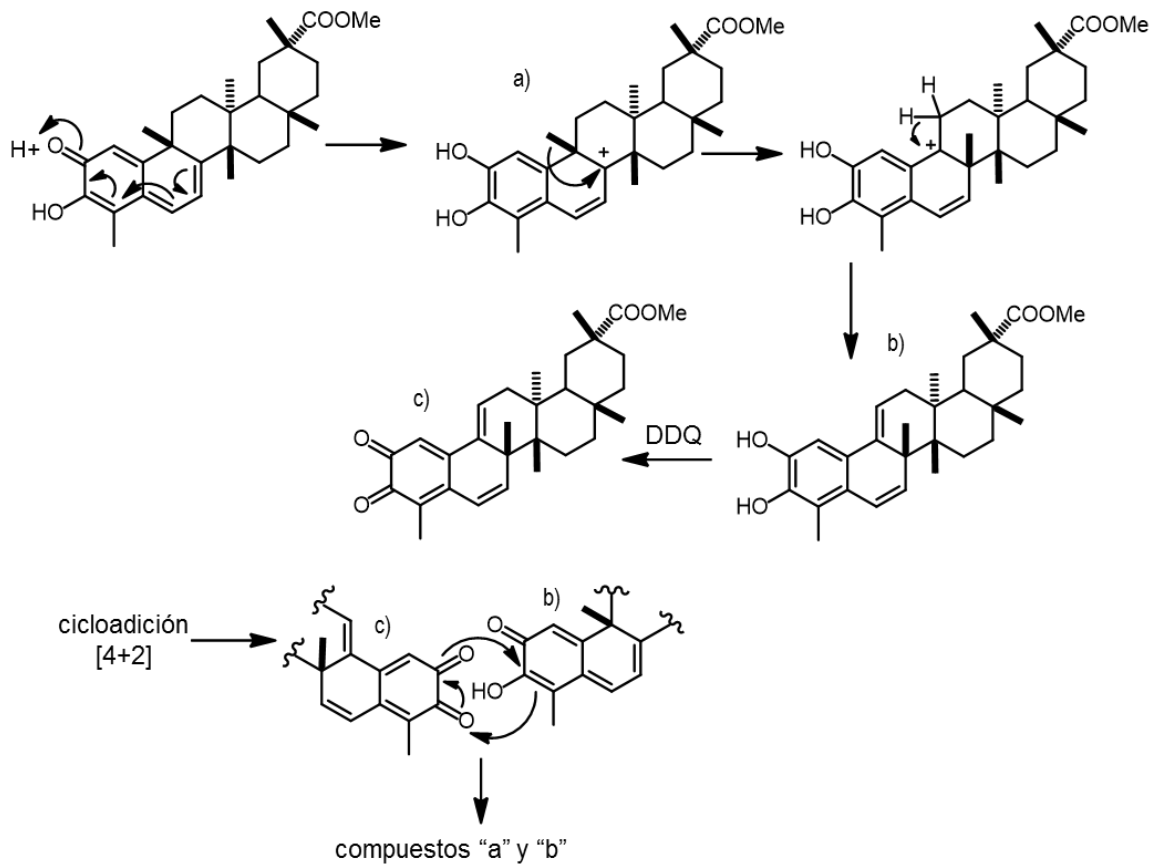
c: No identificado



**Figura 56.** Comparación del 6-oxo-pristimerol y su correspondiente *o*-quinona.

Debido a que la formación de los aductos diméricos "a" y "b" y el 6-oxo-pristimerol requerían la adición de energía, se llevaron a cabo reacciones con calentamiento convencional a 70°C, en las entradas 7 y 8 se demuestra una mejoría en las reacciones de cicloadición, obteniéndose a los dímeros "a" y "b" y a las xuxuarinas E $\alpha$  y E $\beta$ . La propuesta que se plantea para la formación de los compuestos "a" y "b" requiere de la aromatización del anillo A de la pristimerina (Figura 57 a) y a través de re-arreglos en la molécula ocurre una migración de metilo (C-25') a C-8' (Figura 57 b), posteriormente por medio de la oxidación con DDQ se formaría la probable *o*-quinona (Figura 57 c), el acoplamiento entre la unidad fenólica de isopristimerina III y el posible derivado *o*-quinónico dan como resultado la formación de "a" y "b".





**Figura 57.** Mecanismo de reacción propuesto para la formación de "a" y "b".



## CONCLUSIONES

Se calculó el porcentaje de rendimiento de las xuxuarinas E $\alpha$  y E $\beta$ , con 1.20 eq. de DDQ a través de RMN, la formación de estas fue de 1:1, de donde se deduce que para su obtención basta con un tiempo de 3 h para estar en proporción 50:50, la pristimerina se recupera en un 30.6% a 3h, ultrasonido, siendo la técnica más eficaz en el consumo de ésta para la obtención de los productos de oxidación.

Con tres equivalentes de agente oxidante (DDQ) se favorece la obtención de la xuxuarina E $\beta$  sobre la E $\alpha$ , esto fue más notable con un tiempo de reacción de 12 h en agitación constante [E $\alpha$ :E $\beta$  (41.59)], se obtuvo un porcentaje de rendimiento de xuxuarinas del 22.8% a diferencia de usar 1.20 eq. de donde se obtuvo un 8%.

El uso de un catalizador que promueve las reacciones Diels-Alder (SnCl<sub>4</sub>) no promueve la obtención de las xuxuarinas E $\alpha$  y E $\beta$ .

La técnica del ultrasonido para las oxidaciones con la sal de Fremy promovió la formación de las xuxuarinas E $\alpha$  y E $\beta$  debido a un proceso conocido como cavitación acústica, esto proporciona una energía adicional al sistema que favorece la formación de dímeros triterpénicos ya que en condiciones de reacción a temperatura ambiente la pristimerina no presentó reactividad alguna.

El medio en el cual se disuelve la pristimerina desempeña un papel importante debido a la solubilidad de esta metilénquinona triterpénica.

Las oxidaciones con DDQ e IBX dieron lugar dos nuevos dímeros triterpénicos, mismos que son regioisómeros los cuales se encuentran unidos mediante una unidad fenólica de isopristimerina III y pristimerina a través de dos enlaces de tipo éter con disposición en *cis*.

La condición de reacción más favorable en la obtención de xuxuarinas E $\alpha$  y E $\beta$  con los tres agentes oxidantes empleados fue la de tres equivalentes de DDQ a temperatura ambiente por 6 h, ya que presentó un rendimiento (E $\alpha$ : E $\beta$ ) del 23.9 %, a comparación de los otras condiciones de reacción en donde se obtuvieron valores alrededor del 5 y 8%.

No fue posible la obtención del derivado *o*-quinónico de pristimerina, las reacciones que se vieron favorecidas fueron las de cicloadición de tipo [4+2] para la obtención de los dímeros antes mencionados; sin embargo, en el caso del DDQ e IBX se obtuvo al correspondiente triterpenofenol (6-oxo-pristimerol) indispensable en la formación de las xuxuarinas E $\alpha$  y E $\beta$ , esto da soporte a la ruta propuesta por Jacobsen y colaboradores<sup>32</sup>,

en el cual se sugiere que las *o*-quinonas son formadas a partir de una posible oxidación del correspondiente triterpenofenol.

## REFERENCIAS

1. Gamlath, C.B.; Gunatilanka, A. L.; Tezuka, Y. Quinone-methide, phenolic and related triterpenoids of plants of Celastraceae: Further evidence for the structure of celastranhydride. *Phytochemistry*, **1990**, *10*, 3189-3192.
2. Shirota, O.; Morita, H. Structures of xuxuarines, stereoisomeric triterpene dimers from *Maytenus chuchuhuasca*: *Tetrahedron*, **1995**, *51*, 1107-1120.
3. Oikawa, H.; Tokiwano, T. Enzymatic catalysis of the Diels-Alder reaction in the biosynthesis of natural products. *Nat. Prod. Rep.*, **2004**, *21*, 321-350.
4. Stoking, E. M.; Williams, R. M. Chemistry and biology of biosynthetic Diels-Alder reactions. *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2003**, *43*, 3078-3115.
5. Oramas-Royo, S. M.; Chávez, H.; Martín-Rodríguez, P. Cytotoxic triterpenoids from *Maytenus retusa*: *J. Nat. Prod.*, **2010**, *73*, 2029-2030.
6. Rojo de Almeida, M.T.; Ríos-Luci, C. Antiproliferative terpenoids and alkaloids from the roots of *Maytenus vitis-idaea* and *Maytenus spinosa*: *Phytochemistry*, **2010**, *71*, 1741-1742.
7. Corsino, J.; Kato, M.J. Biosynthesis of friedelane and quinonemethide triterpenoids is compartmentalized in *Maytenus aquifolium* and *Salacia campestris*: *Phytochemistry*, **2000**, *55*, 741-742.
8. Rodríguez, F.; López, M. New phenolic triterpenes from *Maytenus blepharodes*. Semisynthesis of 6-deoxoblepharodol from pristimerin: *Tetrahedron*, **2005**, *61*, 2513-2519.
9. Quesadas Rojas, M. Estudio teórico del mecanismo de reacción de la formación de dímeros de triterpenos. Tesis de maestría, Universidad Autónoma de Yucatán, Mérida, México, 2013.
10. Setzer, W. N.; Holland, M. T.; Boezeman, C. A.; Rozmus, G. F.; Setzer, M. C.; Moriarity, D. M.; Reeb, S. Isolation and frontier orbital investigation of bioactive quinone-methide triterpenoids from the Bark of *Salacia petenensis*. *Planta Med.*, **2001**, *67*, 65-69.
11. Itokawa, H.; Shirota, O.; Ikuta, H.; Morita, H. Takeya, K. Triterpenes from *Maytenus ilicifolia*. *Phytochemistry* **1991**, *30*, 3713-3715.
12. Rodríguez Pérez, F. M. Estudio fitoquímico de especies de la familia Celastraceae (flora panameña): *Maytenus blepharodes* y *Crossopetalum lobatum*. Tesis Doctoral, Universidad de la La Laguna, La laguna España, 2000.
13. González, A, G.; Rodríguez, F. New Terpenoids from *Maytenus blepharodes*: *J. Nat. Prod.* **2000**, *63*, 48-49.
14. Shirota, O.; Morita, H. Five new triterpene dimers from *Maytenus chuchuhuasca*: *J. Nat. Prod.*, **1997**, *60*, 1100-1104.
15. Shirota, O.; Sekita, S.; Structures of xuxuarines, new geometric and stereoisomeric triterpene dimers from *Maytenus chuchuasca*: *Chem. Pharm. Bull.*, **2004**, *52*, 739-746.

16. Shirota, O.; Morita, H.; Takeya, H.; Itokawa, H. Revised structures of cangorosins, triterpenes from *Maytenus ilicifolia*. *J. Nat. Prod.*, **1997**, *60*, 111-115.
17. Shirota, O.; Sekita, S.; Satake, M.; Morita, H. Nine regioisomeric and stereoisomeric triterpene dimers from *Maytenus chuchuasca*. *Chem. Pharm. Bull.*, **2004**, *52*, 739-746.
18. Itokawa, H. Shirota, O. A new triterpene dimers from *Maytenus ilicifolia*. *Tetrahedron Lett.*, **1990**, *31*, 6881- 6882.
19. Cáceres Castillo, D. Síntesis biomimética asistida por microondas de dímeros triterpénicos. Tesis de doctorado, Universidad Autónoma de Yucatán, Mérida, México, 2016.
20. Erwin, Poupon. *Biomimetic Organic Synthesis*; Willey: Alemania, 2001; Vol 1, pp 766-767.
21. Lima, P.; Lucchese, A.; Menezes, P. Inclusion of terpenes in cyclodextrins: Preparation, characterization and pharmacological approaches. *Carbohydr Polymers*, **2016**, *151*, 965-987.
22. Rohr, A. The health significance of gas- and particle-phase terpene oxidation products: A review: *Environ Int.* **2013**, *60*, 145-155.
23. Weaver, MG.; Pettus, Tr. *Synthesis of para- and ortho-Quinones: Comprehensive Organic Synthesis II*, Willey: Santa Bárbara USA, 2014, Vol 7, pp. 373-407.
24. Zimmer, H. Lankin, D. Oxidations with potassium nitrosodisulfonate (Fremy's radical). The teuber reaction. Department of Chemistry, University of Cincinnati, Cincinnati, Ohio, **1970**.
25. Zeydan, R. Quinones in Organic Chemistry: Synthesis of and applications towards Natural Products. **2004**.
26. Magdziak, D. Rodriguez, A. W. Van de Water, R. T. Pettus: Regioselective oxidation of phenols to o-quinones with o-Iodoxybenzoic acid. *Org. Lett.*, **2002**, *2*, 285-288.
27. Kasturi, T. Rajasekhar, B, Oxidation of bis(2-hydroxy-1 -naphthyl)methane and similar bisnaphthols with 2,3-Dichloro-5,6-dicyano-1,4-benzoquinone. Structure and synthesis of novel products. *J. Chem. Soc.*, **1984**, *1*, 2375-2378.
28. Maumy, M.; Capdevielle, P. Copper-catalyzed *ortho*-oxidation of phenols by dioxygen (tyrosinase mimics) do yields catechols as primary products. *J. Mol. Cat. A.*, **1996**, *113*,159-166.
29. Li, K.; Duan, H.; Kawazow, K.; Takaishi, Y. Terpenoids from *Tripterygium wilfordii*. *Phytochemistry*, **1997**, *45*, 791-796.
30. Wu, J.; Zhou, Y.; Wang, L.; Zou, J.; Zhao, W. Terpenoids from root bark of *Celastrus orbiculatus*. *Phytochemistry*, **2012**, *75*, 159-168.
31. González, A.G.; Estévez-Braun, A. Structure and absolute configuration of triterpene dimers from *Maytenus scutioides*: *Tetrahedron*, **1996**, *52*, 9597-9608.
32. González, A.G. Alvarenga, N. L. Braun-Estévez, A. Ravelo, A.G. Oxidation of natural targets by dimethyl dioxirane: Regio and stereospecific reactions on enol double bond. Bioactive nor quinone methide triterpenes. *Tetrahedron*, **1996**, *32*, 1667-1672

33. Jacobsen, N. E.; Wijeratne, K.; Corsino, J. Furlan, M.; Bolzani, V.; Gunatilaka, A. A. L. Biomimetic synthesis of xuxuarines E $\alpha$  and E $\beta$ : Structure revision of Rzedowskia bisterpenoids. *Bioorg. Med. Chem.*, **2008**, *16*, 1884-1889.
34. Shirota, O.; Sekita, S.; Structures of xuxuarines, two cangorosin a type triterpene dimers from *Maytenus chuchuasca*. *Chem.Pharm. Bull*, **2004**, *52*, 1148-1150.
35. López Mirón. G. *Aislamiento de los metabolitos presentes en la raíz de Crossopetalum gaumeri (Loes) Lundell*. Tesis de maestría. Universidad Autónoma de Yucatán, **2003**.
36. Bishe, N. Shalini, D. Conventional and Ultrasonic synthesis of  $\beta$ -diketone with Mn(II), Fe(III), Co(II), Ni(II) and Cu(II) complexes and their antimicrobial screening. *Pharma. Chem.*, **2016**, *19*, 338-348.
37. Fattahi, M. Davoodnia, A. Ultrasonic assisted synthesis of 2-iminochromenes catalyzed by H<sub>3</sub>PW<sub>12</sub>O<sub>40</sub> as an efficient and reusable catalyst. *Heterocyclic Letters*. **2017**, *3*, 613-620.
38. Cardillo, R.G. Cricchio, R. Merlini, L. Reaction of orto alkenil and alkilphenols with 2,3-Dichloro-5,6-Dicyanobenzoquinone (DDQ). *Tetrahedron*. **1971**, *27*, 1875-1883.
39. Fringuelli, F. Taticchi, A. The Diels-Alder reaction: Selected practical methods; John Wiley and Sons: England, 2002, Vol I, pp 1-25.
40. Cottrell, W. Farrarm W. Preparation of Fremy's salt by electrochemical oxidation of potassium hydroxylamine disulphonate. *J. Chem. Soc.* **1970**, 1418-1420.







