

Fitoquímica Orgánica

Deanna Marcano
Masahisa Hasegawa



Universidad Central de Venezuela
Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico

Copyright, 2018
© Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico,
Universidad Central de Venezuela (CDCH-UCV)

Autores:

Deanna Marcano
deannamarcano@gmail.com
Masahisa Hasegawa

Título:

Fitoquímica Orgánica

ISBN: 980-00-2066-7

Depósito Legal: lf17520026002670

Coordinador Editorial:

Glisell Bonilla

Coordinador de Producción:

Levi Galindo

Diagramación y montaje:

María Pilar Urbina Davó

3^{ra} Edición (Digital)

Todas las obras publicadas por el CDCH-UCV son sometidas a arbitraje.

Marcano Deanna

Fitoquímica Orgánica / Deanna Marcano,
Masahisa Hasegawa.-- Caracas: U.C.V.,
Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico, 2002.--
Colección estudios.--

1. Plantas - Composición
2. Plantas – Análisis Químico
3. Productos naturales. I. Hasegawa, Masahisa.

581.19
M313

ISBN: 980-00-2066-7



Licencia Creative Commons BY-NC-ND (Atribución, No Comercial, Sin Obras Derivadas) 4.0 Internacional.

Fitoquímica Orgánica. Esta nueva edición de de Fitoquímica Orgánica, tal como ha sido el objetivo de la primera, es un texto de estudio que desde un punto de vista químico, localiza la interconexión de las diferentes clases de productos naturales, así como de las innumerables estructuras de compuestos individuales aislados de fuentes vegetales y animales. La información actualizada al 2000, comprende ocurrencia, aislamiento, determinación estructural, síntesis, biosíntesis y propiedades químicas y biológicas de los diferentes metabolitos secundarios, agrupados de acuerdo a su origen biogenético. Este libro, como lo indica el título, pretende poner en práctica el conocimiento de química orgánica para la comprensión de la conducta química de moléculas que ocurren en la naturaleza.

Deanna Marcano. Profesora Titular de la UCV. Doctor en Philosophy, Universidad de Oxford, Inglaterra, ha sido miembro del personal docente y de investigación de la Escuela de Química desde 1961. Es fundadora del grupo de Productos Naturales de la Escuela de Química y su inclinación docente de investigación, que mantiene aún después de su jubilación, incluye fitoquímica y química orgánica. Es recipiente del Premio Bienal al Libro Universitario, APUC-UCV en los años 1984, 1994, 2000 y 2001. Pertenece a varias sociedades científicas y profesionales. Tiene unas 80 presentaciones en congresos nacionales e internacionales incluyendo varias conferencias invitadas. Es autora de 5 libros y coautora de 8 monografías de química, todos utilizados profundamente en docencia e investigación. Editor Jefe de las Memorias de cinco Congresos Venezolanos de Química. Tiene más de 60 publicaciones científicas en revistas arbitradas y unos 16 folletos técnicos. Es Vicepresidenta de la Sociedad Venezolana de Química desde 1983 y Editor Jefe de la Revista de la misma Sociedad desde 1986.

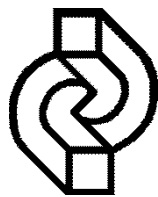
Masahisa Hasegawa. Doctor en Farmacia de la Universidad de Kioto, Japón (1968), es Profesor Asociado UCV, miembro del personal Docente y de Investigación de la Escuela de Química, Facultad de Ciencias desde 1968 y desde esa fecha ha venido ejerciendo su docencia e investigación en química orgánica, específicamente en el área de fitoquímica. Representante por Venezuela en varias reuniones nacionales e internacionales de Ciencia y Tecnología, es coautor de la primera edición de Fitoquímica Orgánica, Libro que ganó el Premio Bienal APUC-UCV al Texto Universitario en 1994. Ha sido tutor de varias tesis de pregrado, doctorado y trabajos de ascenso. Jurado de varios trabajos de ascenso y tesis de grado y árbitro de varias publicaciones científicas, ha publicado unos 40 artículos científicos en revistas arbitradas y ha presentado unas 100 ponencias en congresos nacionales e internacionales; ha participado y participa en varios proyectos interdisciplinarios.

Colección Estudios

Fitoquímica Orgánica

Deanna Marcano
Masahisa Hasegawa

Fitoquímica Orgánica



Universidad Central de Venezuela
Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico
Caracas, 2018

Agradecimiento

Los autores desean expresar su reconocimiento al Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico de la Universidad Central de Venezuela, por el patrocinio de la presente obra.

Dedicatoria

A nuestros estudiantes y a todos aquellos que han hecho suyo el reto de conocer la química de los productos naturales.

PRÓLOGO

PRIMERA EDICIÓN

La química de los productos naturales es desde hace varios años, uno de los temas de investigación preferidos en muchos de los centros de enseñanza superior más importantes y ha pasado por varias etapas y sufrido diferentes enfoques. Como consecuencia, algunos de los tópicos de este campo registran un mayor desarrollo dependiente de las tendencias de los investigadores y son casi exclusivamente considerados en cursos avanzados, seminarios y conferencias especializadas. Es por ello que a pesar de la vasta información bibliográfica dedicada a la química de los compuestos de la naturaleza, es escaso el número de libros o monografías que suministren una visión global y que unifiquen los conceptos de manera coherente, mientras que es frecuente encontrar excelentes revisiones dedicadas a diferentes clases de metabolitos secundarios o de algunos de los tópicos relacionados a su estructura, bioformación, reacciones, síntesis y perspectivas farmacológicas.

Hay muchos aspectos de la química de los productos naturales que sin requerir énfasis especial podrían ser incluidos en los cursos convencionales de química orgánica; sin embargo, ello no es frecuente pues el interés creciente en el estudio de los mecanismos de reacción y de la fisicoquímica orgánica, así como la gran variedad de los metabolitos secundarios aislados, hace cada vez más complejo enseñar la química de los productos naturales. Siendo estas moléculas compuestos orgánicos, con estructuras que van desde las excepcionalmente sencillas hasta las increíblemente complicadas, sus propiedades físicas, transformaciones químicas y síntesis pueden resultar extremadamente atractivas y ser englobadas dentro de los principios generales de la química orgánica. Por otra parte, el vasto conocimiento químico sobre los compuestos aislados de la naturaleza no es suficientemente aprovechado en los campos interdisciplinarios que se nutren de él, como la quimiotaxonomía y los estudios de la relación estructura-actividad biológica.

Si bien la determinación estructural fue el punto clave en las investigaciones de los productos naturales, hay una tendencia reciente a desconocer su importancia por cuanto esta tarea resulta día a día más sencilla y no requiere de mucha creatividad gracias al tremendo avance de los métodos espectroscópicos y analíticos. Pero, la investigación por muy original que sea no puede sobrepasar en gran proporción, a los conocimientos acumulados y en este sentido la naturaleza es sumamente caprichosa, imprevisible y un verdadero genio para crear nuevas estructuras que serán objeto de nuevas investigaciones.

Evidentemente, la descripción de un metabolito secundario resulta árida si sólo se restringe a su estructura, cuya determinación ya no es la meta final sino el punto de partida para desarrollar otras investigaciones como reactividad química, síntesis, biosíntesis, o posibles aplicaciones relacionadas a su actividad biológica o aún a su cuantificación. Varios de estos tópicos son reseñados a lo largo de la obra a modo de presentar algunos aspectos interesantes de estas moléculas. No pretendemos sugerir que los temas omitidos o tratados brevemente sean menos importantes, por el contrario creemos que los principios generales que puedan ser adquiridos a través de la lectura de este libro sirvan para familiarizar al lector con una o más clases individuales de compuestos y de su interrelación con otros tipos de metabolitos secundarios, y conducirlo así a la lectura de monografías más especializadas en el área de su preferencia. Algunas de estas monografías se citan en la sección correspondiente a referencias generales.

Cada molécula aislada de la naturaleza tiene su propia historia en cuanto a su purificación, determinación estructural, síntesis, biosíntesis, etc., por eso el mundo de los productos naturales es fascinante y puede abordarse de muchas diferentes maneras. Esta obra, que agrupa a los metabolitos secundarios de acuerdo al conocimiento biosintético, está dividida en seis capítulos en los cuales se contemplan además de la bioformación, la interrelación de las estructuras, la reactividad química, algunas características espectroscópicas y métodos de síntesis, así como aspectos de quimiotaxonomía y actividad biológica.

Este libro, como lo indica su título, está escrito principalmente para poner en práctica el conocimiento de la química orgánica para la

comprensión de la conducta química de moléculas que ocurren en la naturaleza. Es entonces otra de las intenciones, la de ejercitar la química orgánica utilizando el mundo fitoquímico como su "crudo total".

D. Marcano
M. Hasegawa
1991

PRÓLOGO

SEGUNDA EDICIÓN

Escribir el prólogo a una segunda edición podría parecer “llover sobre mojado”; sin embargo, creemos que vale la pena apuntar hacia algunos detalles del por qué de nuestro interés en la química de productos naturales y que ha propiciado esta nueva aventura. En principio, este es un campo que ha fascinado a una considerable cantidad de químicos por el reto que significó la determinación estructural de moléculas que sólo la naturaleza en su bizarra voluntad era capaz de sintetizar. Paralelamente, los mismos químicos tratando de imitar los procesos naturales o mediante técnicas sintéticas distantes a tales procesos, han venido preparando en el laboratorio, sin contar con la eficiencia de los sistemas enzimáticos, una buena porción de metabolitos secundarios previamente aislados así como el estudio de sus modificaciones, con el fin de elucidar las estructuras, mejorar las cualidades para determinadas aplicaciones, disponer de cantidades apropiadas para su estudio y uso, o por simple curiosidad. Todo ello ha conllevado a un enorme desarrollo de la química orgánica y, como las avalanchas, éste no se detiene.

Con el descubrimiento de nuevas estructuras, nuevas actividades biológicas asociadas a un determinado grupo de metabolitos, nuevos métodos sintéticos, nuevos métodos físicos para la purificación y determinación estructural, se ha abierto el campo de una manera asombrosa. Es más, gracias a las nuevas técnicas ha sido posible penetrar el mundo de los compuestos minoritarios que hasta hace poco era dejado a un lado, así como abordar fuentes, abundantes o no, diferentes a las terrestres: organismos marinos, microorganismos, sistemas biológicos alterados, etc., en la búsqueda de nuevos compuestos. Pero, por otra parte, el número de ellos así como de nuevos esqueletos no ha incrementado ostentosamente en la última década, a pesar de la sofisticación de las técnicas de purificación y elucidación estructural.

Paralelamente, la tendencia (o tal vez, la moda) de volver a la naturaleza en los diferentes aspectos de la vida del hombre, de los cuales no se escapa el nutricional y por demás, aquel que trata de aprovechar las fuentes naturales para el tratamiento de varias enfermedades, ha encontrado en el estudio de las plantas principalmente terrestres y en menor grado plantas acuáticas, insectos y otros, un filón que pareciera inagotable. De hecho, desde hace unos cuantos años, las industrias farmacéuticas grandes, así como las agencias estatales dedicadas a la salud de diferentes partes del globo, han invertido considerables sumas con el afán, no necesariamente humanitario, de lograr nuevos fármacos menos tóxicos y/o más eficientes.

Asimismo, esta moda de lo natural ha desarrollado una inagotable lista de productos comerciales "naturales" que consisten en plantas enteras o parte de ellas, que ha sido sometidas a una simple desecación, y se las presenta como polvos, cápsulas o pastillas, o bien como extractos crudos en agua, alcohol o aceite, para el tratamiento alternativo de las más variadas dolencias, pero que en general, carecen de estudios farmacológicos serios o profundos que demuestren su utilidad e inocuidad. Además estos productos son vendidos sin restricciones por lo cual su dosificación es incontrolada y con ello el desarrollo de posibles daños a los usuarios. A esto se suman, los remedios caseros basados - muchas veces mal interpretados - en el conocimiento popular, con análogas consecuencias.

En las bases de datos más o menos confiables, de diferentes países, creadas a partir del conocimiento etnobotánico se fundamentan los estudios bio-dirigidos de los productos naturales, de prácticamente todos los grupos que se enfrentan con la fitoquímica, lo que requiere una concurrencia multidisciplinaria. Por desgracia, en muchos casos la penetración entre químicos con su trabajo típico y los profesionales de otras disciplinas: botánicos, biólogos celulares, farmacólogos, médicos..., no es óptima por lo que se pierde buena parte de los esfuerzos. Tal vez la falta de un lenguaje entendible por las diferentes áreas que conforman los tales grupos es un factor importante en esta pérdida.

Es sin duda indispensable disponer de un conocimiento fundamental y con ello saber expresar el alcance de la disciplina propia de

cada participante, dentro del contexto holístico, para que la empresa sea exitosa. En función de este conocimiento básico, un químico debe conocer la "química" de los compuestos con los cuales trabaja y sin necesidad de ser un especialista en cada una de las innumerables estructuras que caracterizan los metabolitos secundarios, debe saber correlacionarlas, lo que le permitirá establecer una estrategia para su estudio y así darlo a conocer dentro del grupo multidisciplinario.

Esta nueva edición de FITOQUÍMICA ORGÁNICA, tal como ha sido el objetivo de la primera edición, es un texto de estudio que mantiene el esquema unitario, contemplado desde un punto de vista químico, de la interconexión de los diferentes grupos químicos y sus esqueletos, su origen y sus propiedades e incorpora nuevas estructuras, nuevos esqueletos, nuevas técnicas y nuevas propiedades biológicas de los últimos diez años. Esperamos que esta edición pueda ser aprovechada como ha demostrado haber sido la anterior, para que el químico a través de un conocimiento sólido, pueda ser un interlocutor confiable y de fácil acceso al resto de las disciplinas y así mismo, absorber de las demás sus aportes a los proyectos cada vez más interdisciplinarios.

Deanna Marcano
Masahisa Hasegawa
2002.

CONTENIDO

CAPÍTULO 1

PRODUCTOS NATURALES. UNA VISIÓN GENERAL	29
1.1. Introducción.....	29
1.2. ¿Qué es un producto natural?.....	32
1.3. Biosíntesis.....	33
1.4. Coenzimas y su participación en las reacciones biosintéticas.....	35
1.5. Reacciones biosintéticas.....	37
1.6. El método biosintético.....	43
1.6.1. Análisis secuencial.....	44
1.6.1.1. ¿Qué se hace?.....	45
1.6.1.2. ¿Cómo se detectan los posibles precursores?.....	46
1.6.2. Métodos del trazado isotópico.....	46
1.6.2.1. Suministros	46
1.6.2.2. Efectividad del precursor.....	47
1.6.2.3. ¿Por qué son tan bajas las incorporaciones?.....	48
1.6.2.4. Análisis de muestras	48
1.6.3. Empleo de mutantes e inhibidores específicos.....	51
1.7. Quimiotaxonomía.....	51
1.8. Estudio fitoquímico	54
1.8.1. Selección del material.....	55
1.8.2. Pruebas de actividad biológicas.....	55
1.8.3. Examen químico de las muestras.....	57
1.8.4. Métodos de extracción y fraccionamiento.....	60
1.9. Cromatografía	61
1.9.1. Cromatografía de adsorción.....	62
1.9.2. Cromatografía de partición.....	66
1.9.3. Cromatografía en papel.....	66
1.9.4. Cromatografía en capa fina	69
1.9.5. Cromatografía centrífuga en capa fina	72
1.9.6. Cromatografía contracorriente.....	72
1.9.6.1. Distribución contracorriente.....	72

1.9.6.2. Métodos cromatográficos.....	73
1.9.7. Cromatografía de intercambio iónico.....	75
1.9.8. Cromatografía de gel	77
1.9.9. Cromatografía de bioafinidad.....	78
1.9.10. Electroforesis	78
1.10. Análisis espectroscópico.....	80

CAPÍTULO 2

COMPUESTOS ALIFÁTICOS	89
2.1. Introducción.....	89
2.2. Acidos grasos y compuestos relacionados.....	90
2.2.1. Biosíntesis	93
2.2.2. Ramificaciones y otras modificaciones de las cadenas.....	95
2.3. Poliacetilenos.....	100
2.4. Eicosanoides.....	102
2.4.1. Nomenclatura.....	104
2.4.2. Biosíntesis	106
2.4.3. Aplicaciones de los prostanooides.....	109
2.5. Acetogeninas.....	109
2.6. Otros compuestos alifáticos	112

CAPÍTULO 3

COMPUESTOS AROMÁTICOS	117
3.1. Introducción.....	117
3.2. Biosíntesis.....	119
3.2.1. Policétidos aromáticos.....	119
3.2.2. Derivados del ácido shikímico	123
3.3. Glicósidos fenólicos.....	127
3.4. Aislamiento e identificación	131
3.5. Compuestos fenólicos sencillos y sus estructuras poliméricas.....	134
3.5.1. Metabolismo general de los fenilpropanoides.....	135
3.6. Flavonoides.....	137
3.6.1. Aislamiento e identificación.....	140

3.6.2. Cromatografía.....	140
3.6.3. Métodos espectrocópicos.....	142
3.6.3.1. Espectroscopía ultravioleta	143
3.6.3.2. Resonancia magnética nuclear	145
3.6.4. Reacciones típicas de los flavonoides.....	148
3.6.5. Biosíntesis de los flavonoides.....	149
3.6.6. Metabolismo de los flavonoides en mamíferos.....	156
3.6.7. Chalconas y auronas.....	157
3.6.8. Flavonoles y flavonas	159
3.6.8.1. Métodos de separación e identificación.....	161
3.6.9. Antocianinas.....	163
3.6.9.1. Aislamiento e identificación.....	166
3.6.9.2. Estabilidad.....	168
3.6.9.3. Oxidaciones y reducciones.....	168
3.6.9.4. El color de las flores	170
3.6.10. Flavonas y flavanoles.....	172
3.6.11. Flavanoles	175
3.6.12. Flavonoides poliméricos. Taninos	177
3.6.12.1. Taninos del té.....	180
3.6.12.2. Proantocianidinas	181
3.6.13. Biflavonoides	185
3.7. Isoflavonoides.....	187
3.7.1. Isoflavonas.....	187
3.7.1.1. Reacciones de degradación.....	190
3.7.2. Isoflavanonas.....	191
3.7.3. Rotenoides.....	192
3.7.4. Pterocarpanos y cumestanos.....	194
3.7.5. Isoflavanos e isoflavenos.....	198
3.7.6. Derivados quinónicos y otros productos de oxidación.....	199
3.7.7. Biosíntesis de los isoflavonoides.....	200
3.8. Quinonas.....	202
3.8.1. Aislamiento e identificación.....	203
3.8.2. Benzoquinonas.....	207
3.8.3. Naftoquinonas.....	209
3.8.4. Antraquinonas.....	212
3.8.5. Bis-antraquinonas.....	213
3.9. α -Pironas.....	216
3.10. Cumarinas	217

3.11. Isocumarinas.....	221
3.12. γ -Pironas.....	221
3.13. Cromanos y cromonas.....	222
3.13.1. Canabinoides.....	222
3.14. X antonas.....	223
3.15. Estilbenos.....	228
3.16. Lignoides	230
3.17. Dépsidos.....	234
3.18. Otros policétidos aromáticos.....	234

CAPÍTULO 4

TERPENOS	237
4.1. Introducción.....	237
4.2. Biosíntesis.....	239
4.2.1. Origen de la estructuraisoprenoide.....	241
4.2.2. Bioformación de terpenos.....	243
4.3. Aislamiento y purificación	245
4.4. Hemiterpenos.....	246
4.5. Poliprenoles	247
4.6. Monoterpenos.....	248
4.6.1. Esqueletos regulares.....	250
4.6.2. Esqueletos irregulares.....	252
4.6.3. Piretroides.....	255
4.6.4. Iridoides	256
4.6.4.1. Biosíntesis de iridoides y seco-iridoides.....	257
4.7. Aceites esenciales.....	259
4.7.1. Obtención y análisis	261
4.7.2. Actividad biológica.....	262
4.8. Sesquiterpenos.....	264
4.8.1. Núcleos principales y su bioformación.....	265
4.8.2. Farnesenos.....	265
4.8.3. Sesquiterpenos α cíclicos	266
4.8.4. Lactonas sesquiterpénicas.....	283
4.8.4.1. Actividad biológica	284
4.8.5. Hormonas juveniles	289
4.8.6. Feromonas.....	290
4.9. Diterpenos.....	292

4.9.1. Biosíntesis	295
4.9.2. Diterpenosbicíclicos	297
4.9.3. Diterpenos tricíclicos	301
4.9.4. Diterpenospolicíclicos	304
4.9.4.1. Abeo-kauranos.....	307
4.9.4.2. Gibberellinas.....	308
4.9.5. Diterpenosmacrocíclicos	309
4.10. Sesterpenos.....	315
4.10.1. Biosíntesis	316
4.11. Triterpenos.....	317
4.11.1. Biosíntesis del escualeno	318
4.11.2. Formación de los esqueletostriterpénicos.....	319
4.11.2.1. Ciclaciones iniciadas en un extremo de la cadena.....	320
4.11.2.2. Otras ciclaciones	328
4.11.3. Triterpenostetracíclicos. Consideraciones generales.....	330
4.11.3.1. Cadena lateral.....	332
4.11.3.2. Sistema anular	335
4.11.4. Grupos principales de triterpenos tetracíclicos.....	338
4.11.5. Esteroides.....	339
4.11.5.1. Nomenclatura.....	340
4.11.5.2. Colesterol	342
4.11.5.3. Hormonas esteroideas.....	345
4.11.5.4. Hormonas adrenocorticales.....	345
4.11.5.5. Hormonas sexuales	349
4.11.6. Ácidos cólicos	351
4.11.7. Ergosterol y pro-vitamina D.....	351
4.11.8. Glicósidos cardiotónicos.....	352
4.11.9. Otras estructuras lactónicas.....	355
4.11.10. Derivados de dammarano-eufad	356
4.11.11. Saponinas y sapogeninas.....	361
4.11.11.1. Saponinas esteroideas.....	363
4.11.11.2. Saponinastriterpenoidales.....	367
4.12. Tretaterpenos (Carotenoides).....	369
4.12.1. Biosíntesis	370
4.12.2. Estructuras principales y nomenclatura.....	373

CAPÍTULO 5

ALCALOIDES	379
5.1. Introducción.....	379
5.2. Reacciones comunes en la biosíntesis de alcaloides	380
5.3. Detección de alcaloides	382
5.4. Extracción y aislamiento de alcaloides	385
5.5. Determinación de estructuras alcaloidales	388
5.6. Reacciones de degradación.....	390
5.7. Alcaloides piperidínicos.....	392
5.8. Alcaloides pirrolidínicos	398
5.9. Alcaloides pirrolizidínicos	400
5.10. Alcaloides quinolizidínicos	401
5.11. Alcaloides indolizidínicos.....	404
5.12. Alcaloides quinolínicos.....	405
5.12.1. Alcaloides de cinchona.....	406
5.13. Alcaloides de imidazol	408
5.14. Alcaloides de carbazol.....	409
5.15. Alcaloides de tropano.....	409
5.15.1. Estereoquímica.....	410
5.15.2. Cocaína y pseudococaína Su relación con tropina.....	411
5.16. Alcaloides derivados de feniletilamina	412
5.16.1. Alcaloides isoquinolínicos.....	415
5.16.2. Benzilisoquinolinas de cadena abierta.....	416
5.16.3. Bis-bencilisoquinolinas.....	418
5.16.4. Aporfinas	420
5.16.4.1. Estereoquímica de las aporfinas	423
5.16.4.2. Reacciones de las aporfinas.....	423
5.16.5. Proaporfinas.....	429
5.16.6. Cularinas	430
5.16.7. Dibenzopirrolcolinas.....	432
5.16.8. Pavininas e isopavininas.....	433
5.16.9. Alcaloides de eritrina.....	433
5.16.9.1. Reacciones típicas de las eritrininas	435
5.16.9.2. Biosíntesis de las eritrininas	437
5.16.10. Morfinanos.....	439
5.16.10.1. Derivados del tipo morfina	440
5.16.10.2. Reacciones de los derivados del tipo morfina.....	440

5.16.10.3. Estereoquímica de las morfina	444
5.16.10.4. Biosíntesis de las morfina	445
5.16.11. Derivados del tipo hasubanonina	446
5.16.12. Colchicina	447
5.16.13. Alcaloides de Amaryllidáceas y estructuras relacionadas	449
5.16.14. Alcaloides de ipecacuana	451
5.16.15. Protoberberinas	453
5.16.15.1. Reacciones de las protoberberinas	455
5.16.15.2. Síntesis de las protoberberinas	459
5.16.15.3. Biosíntesis y transformaciones en otros núcleos	460
5.17. Alcaloides indólicos	467
5.17.1. Triptamina y isoprenoides	468
5.17.1.1. Bases de harmala	470
5.17.1.2. Rutaecarpina y evodiamina	471
5.17.1.3. Ergolina	472
5.17.1.4. Otros alcaloides	474
5.17.2. Triptamina y isoprenoides	475
5.17.2.1. Alcaloides indólicos con el precursor Tipo I	478
5.17.2.1.1. Seco-derivados	480
5.17.2.2. Alcaloides indólicos con el precursor Tipo II	487
5.17.2.3. Alcaloides indólicos con el precursor Tipo III	489
5.17.3. Reordenamiento de los núcleos indólicos	490
5.17.4. Alcaloides bis-indólicos	491
5.18. Alcaloides terpenoidales y esteroidales	496
5.18.1. Alcaloides diterpénicos	496
5.18.1.1. Alcaloides C-20	496
5.18.1.2. Alcaloides C-19	500
5.18.1.3. Alcaloides de <i>Daphniphyllum</i>	502
5.18.2. Alcaloides esteroidales	504
5.18.2.1. Aminopregnanos	504
5.18.2.2. 20-Piperidilpregnanos	506
5.18.2.3. Alcaloides esteroidales con esqueletos anormales	509
5.19. Betalaínas	511

CAPÍTULO 6

ANTIBIÓTICOS	515
6.1. Introducción	515

6.2. Derivados de aminoácidos.....	518
6.2.1. Antibióticos polipéptidos.....	518
6.2.2. Penicilinas y cefalosporinas.....	521
6.3. Derivados de acetato.....	524
6.3.1. Citocalasinas.....	524
6.3.2. Ansamicinas.....	524
6.3.3. Macrólidos.....	525
6.3.4. Poliéteres.....	526
6.3.5. Nonádridos.....	528
6.3.6. Tetraciclinas.....	529
6.3.7. Antraciclinas.....	530
6.3.8. Otros derivados de acetato.....	531
6.4. Derivados de azúcares.....	531
6.5. Otros derivados.....	533
6.5.1. Derivados de shikimato.....	533
6.5.2. Derivados de terpenos.....	533
6.6. Antibióticos de origen mixto.....	534
REFERENCIAS GENERALES.....	537
ÍNDICE DE GÉNEROS.....	551
ÍNDICE ALFABÉTICO.....	559

CAPÍTULO 1

PRODUCTOS NATURALES. UNA VISIÓN GENERAL

1.1. Introducción

Desde la prehistoria se conocen plantas cuyos extractos han sido usados en pocimas o en curaciones y aún las plantas sin tratamiento se han empleado para los mismos fines. El conocimiento que la humanidad ha tenido ha sido transmitido de padre a hijo, de brujo, médico, sacerdote a los aprendices, principalmente de manera verbal. Hipócrates conocía el uso de la manzanilla de la cicuta (con la cual se envenenó Sócrates) y son éstos de los primeros registros escritos. Dióscorida (77 a.c.) escribió *Materia Medica*, una obra considerada por 15 siglos la cumbre de la botánica y farmacia. En ella registró todas las plantas y medicinas conocidas por los griegos e incluyó desde la simple descripción hasta su utilización. Plinio (37-79 d.c.) escribió un manual de 47 volúmenes de *Historia Natural* en el cual se indicaban usos y características de vegetales como la casia y el anís. A las plantas le eran atribuidas propiedades curativas de acuerdo a su forma, su color o el hábitat. Por ejemplo, los embriones de quenopodio por parecerse a una lombriz, eran utilizados como antihelmínticos, y por su forma, las raíces de *Rauwolfia serpentina* lo eran para combatir los efectos de las mordeduras de serpientes. Independientemente de su aspecto, estas plantas son efectivas en los tratamientos indicados gracias a ciertos metabolitos secundarios presentes en ellas.

El nuevo mundo es particularmente rico en plantas, por ejemplo hay

unas 80-100 especies con características alucinógenas y probablemente habrá más que no han sido descubiertas o de las que no se tiene registro. Las plantas que principalmente llaman la atención son aquellas que causan alteraciones visibles por ingestión, inhalación o contacto; existe una vasta información desde hace siglos, sobre la flora americana y su uso, que no solamente ha sido recopilada por europeos (principalmente alemanes) sino también por naturistas de este lado del globo. El Manuscrito o Codice Badiano dedicado a plantas medicinales mejicanas fue escrito por un indio xochimilca y traducido al latín. Colombia tiene un texto clásico: El Arcano de la Quina y La Flora de Santa Fe, redactado a finales del siglo XVIII. Para esa misma época, Perú y Chile disponen de un tratado sobre la coca y quinología. De la flora venezolana hay varias obras clásicas pero la más famosa es la de Henry Pittier (1926) que describe las plantas de acuerdo a su clasificación botánica y a su uso. En 1962 Blohm reseña las plantas venenosas de Venezuela y L. Schnee, de la Facultad de Agronomía, UCV, presenta un tratado de plantas comunes en Venezuela, su ubicación y descripción taxonómica (1ª edición de 1984). Las obras Library of Medicinal Plants (recopilada por Laszlo, 1958), Codex Vegetabilis (Steinmetz, 1957) y Plantas Medicinales del Dioscórides Renovado (P. Font Quer, 8ª edición, 1983), tratan de cientos de plantas, sus sinónimos, sus constituyentes y los usos citados.

Con el interés que ha despertado la medicina "naturista" a diario crece el número de escritos que ilustran la utilidad de las plantas para el tratamiento de diversas afecciones. Por desgracia la mayoría no están suficientemente documentados ni alertan contra los posibles efectos colaterales derivados del uso indiscriminado de materiales vegetales. Paralelamente, el interés ha evolucionado hacia el estudio científico de los componentes y los efectos de las plantas que tradicionalmente o "di novo", muestran actividades biológicas interesantes y con ello la circulación de una serie de publicaciones periódicas reconocidas.

No hay que olvidar que la información sobre usos populares proviene frecuentemente de fuentes dudosas y puede resultar no del todo cierta, puesto que a veces es guardada como secreto y/o es posible que se confunda la clasificación botánica del vegetal. La etnobotánica trata de recopilar esos conocimientos de manera precisa. El término etnobotánica fue usado por primera vez por John Harshbeger en 1895, para referirse al estudio de las plantas utilizadas por las etnias y en especial, por los pueblos primitivos y/o aborígenes. Hoy en día, este término se usa en sentido más amplio como estudio de las

interacciones hombre-planta, de cualquier índole. En la actualidad en el campo de productos naturales, la información cubre además, aspectos adicionales como estructura de los constituyentes químicos, actividad biológica, extracción y purificación, datos espectroscópicos, síntesis y biosíntesis. Ella está registrada en textos, catálogos, publicaciones periódicas e índices. Generalmente esos aspectos no son tratados de maneras simultáneas ni con igual intensidad en cada caso.

Hasta los comienzos del siglo XIX los compuestos orgánicos eran considerados como productos propios de los organismos vivos, que contaban con una "fuerza vital" para su formación. La síntesis de la urea por Wöhler (1828) marcó el comienzo de la química sintética y ello condujo a la conjugación de química orgánica y productos naturales. De hecho, se desarrolló toda una química de productos naturales que ha pasado por diferentes etapas:

1. Utilización de las plantas enteras o parte de ellas en pócimas curativas y/o religiosas.
2. Tratamiento, cocción, maceración y mezclado para ciertas acciones específicas, lo que implica conocimiento acerca del uso de las especies y su aprovechamiento (alteración de su acción).
3. Extracción de los productos causantes de la acción. Aunque esto es con frecuencia, la justificación principal de la mayoría de los trabajos fitoquímicos, por razones de complejidad no se alcanza muchas veces, lográndose solamente en el mejor de los casos, aislar el (o los) componente(s) principal(es), que no necesariamente son los causantes de la acción en cuestión, e investigar su estructura, sus características espectroscópicas y su actividad biológica.
4. Determinación estructural, modificación de las estructuras y síntesis.
5. Estudio de la relación estructura química – actividad biológica y farmacológica, utilizando cada día más el método computacional.
6. Productos naturales con relación a otras disciplinas, por ejemplo, quimiotaxonomía, ecología química, biotecnología, etc.

Las fuentes de los metabolitos secundarios son plantas superiores silvestres o cultivadas, plantas inferiores, microorganismos, animales (insectos, principalmente) y desde hace un tiempo han cobrado importancia los pro-

ductos naturales de origen marino. Los últimos dos casos son consecuencia del agotamiento de fuentes terrestres de fácil acceso y/o del interés por un campo menos explotado.

Los métodos químicos para la determinación de las estructuras han sido engorrosos y requieren de cantidades apreciables. La prueba final para la asignación de una estructura era su síntesis total. En consecuencia, la química orgánica ha tenido nuevos impulsos a medida que las estructuras se hacían más y más complejas y la disponibilidad de los compuestos era menor. Ello condujo al desarrollo de una serie de técnicas físicas de separación, purificación e identificación: RMN, EM, IR, UV, Rayos X, técnicas cromatográficas, solas o combinadas con métodos espectroscópicos tales como EM-CG, o HPLC, frecuentemente acoplado con una base de datos ("librería") de EM. Las bases de datos también se asocian con otras técnicas espectroscópicas (IR y RMN).

1.2. ¿Qué es un producto natural?

Los seres vivos son capaces de sintetizar una gran variedad de compuestos pero se define "producto natural" o "metabolito secundario", que se usa como sinónimo, aquél que es propio de una especie, se le conoce también como producto químico y en la mayoría de los casos no tiene utilidad aparente para el ser que lo sintetiza, a diferencia de los metabolitos primarios o productos bioquímicos que presentan una utilidad definida y que son comunes a todos los seres vivos: carbohidratos, lípidos, proteínas, etc.

La clasificación de los metabolitos secundarios puede hacerse de acuerdo a sus estructuras, a su bioformación, a la fuente de producción o a su acción biológica. En todos estos casos es inevitable la superposición. Por ejemplo, por ser moléculas generalmente polifuncionales es difícil ubicarlas en un determinado grupo químico, o dos compuestos totalmente diferentes tienen la misma acción, o la misma fuente de producción puede originar simultáneamente compuestos muy distintos. Aparentemente el criterio más acertado es aquél que usa la biosíntesis como denominador común, la cual, en su esquema básico, engloba la formación de los metabolitos primarios y secundarios.

1.3. Biosíntesis

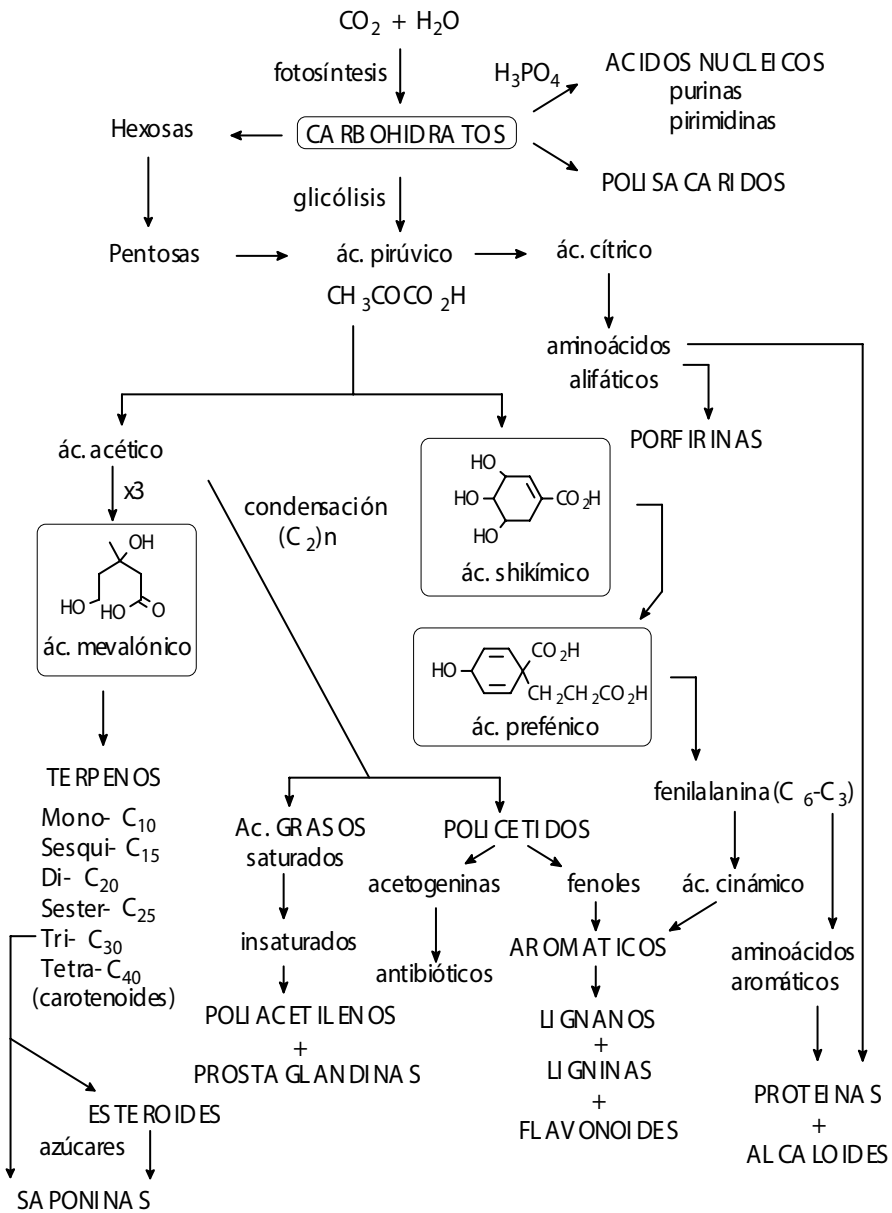
Todos los compuestos orgánicos están constituidos por carbono e hidrógeno, a menudo contienen oxígeno y nitrógeno y menos frecuentemente, azufre, fósforo y halógenos. La formación de los productos naturales comienza con la fotosíntesis que tiene lugar en plantas superiores, algas y algunas bacterias. Es un proceso endotérmico que requiere de la luz solar. Aquellos organismos incapaces de absorber la luz obtienen su energía de la degradación de carbohidratos, de modo que su fuente principal de carbono es la inversa a la indicada en el esquema general de biosíntesis (cuadro 1-1). Este cuadro ilustra la secuencia de aparición de los productos. Los fragmentos pequeños se recombinan para generar las grandes moléculas y de acuerdo a ese esquema se observó cómo los metabolitos secundarios se forman por distintas vías y cómo, siguiendo el criterio biogenético, una misma clase de compuestos por ejemplo los alcaloides, pueden tener varios orígenes.

Las rutas biogénicas para vegetales superiores están bastante bien establecidas en la mayoría de los casos, pero en las algas y en ciertos vegetales inferiores existe una gran variedad de productos oxigenados (además de nitrogenados y azufrados) los cuales son difícilmente ubicados dentro de un determinado camino biogenético como por ejemplo, aquellos que siguen las ciclaciones propuestas para la formación de terpenoides y otros metabolitos "clásicos". El descubrimiento de nuevos sistemas cíclicos, como ocurre en monos y sesquiterpenoides, hace que frecuentemente se los considere, gracias a su escasa ocurrencia, como artificios, productos provenientes del manipuleo indebido del material biológico.

Tales compuestos pueden en realidad, ser resultado de sistemas enzimáticos particulares de una dada clase de organismos, que incluyen variedades y/o mutantes, que cambian su metabolismo de acuerdo a las condiciones ambientales.

Se sabe que la concentración de ciertos metabolitos aumenta cuando el vegetal se encuentra en estado de estrés. Las condiciones biomiméticas de laboratorio que tratan de imitar a las producidas por el sistema enzimático, pueden representar ese estado de estrés en el organismo vivo y generar ciertos esqueletos no abundantes y a veces específicos, para la especie bajo estudio.

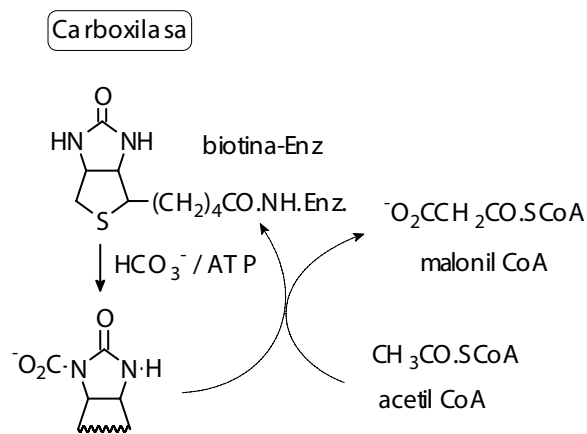
Cuadro 1-1. Esquema general de biosíntesis



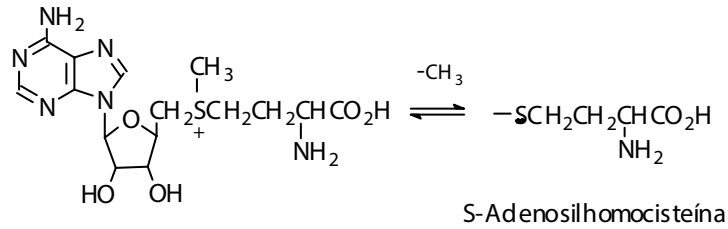
1.4. Coenzimas y su participación en las reacciones biosintéticas

La formación de metabolitos primarios y secundarios, resumida en el esquema general de biosíntesis, ocurre a través de reacciones enzimáticas. Las enzimas (que actúan como catalizadores de superficie) tienen naturaleza proteica, lo que las hace difícil de aislar y purificar. Su identificación completa sólo se ha logrado para algunos casos. Se las conoce con nombres propios: papaína (que se aísla de la lechoza, *Carica papaya*, enzima proteolítica utilizada en la manufactura de los ablandadores de carne), o según su acción, por ejemplo, Oxidoreductasas, (deshidrogenasa, oxidasa, reductasa), Transferasas (metiltransferasa, aciltransferasa, transaminasas, etc.), Hidrolasas (lipasa, proteasa, fosfatasa, etc.), Liasas (descarboxilasas, deshidratasas, etc.), Ligasas (carboxilasa, sintetasa), etc. Las enzimas tienen un grupo proteico (formado por cadenas de aminoácidos) y uno prostético de diferente naturaleza en el cual se incluyen, metales (Co, Fe, Mg, Cu, Zn...), azúcares, ácidos grasos, ácidos nucleicos, ácido fosfórico y otros. El grupo prostético se puede separar por diálisis y se le conoce como coenzima. De entre las enzimas agrupadas según su acción, se pueden reconocer: fosfatasa, óxido-reductasa, metilasa, acilasa, descarboxilasa, carboxilasa, transaminasa, como las involucradas en los procesos metabólicos principales. Los grupos prostéticos de las enzimas principales y su transformación en la reacción que catalizan se ilustran a continuación.

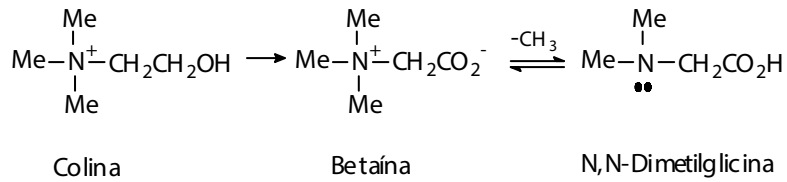
Grupos prostéticos de las enzimas principales



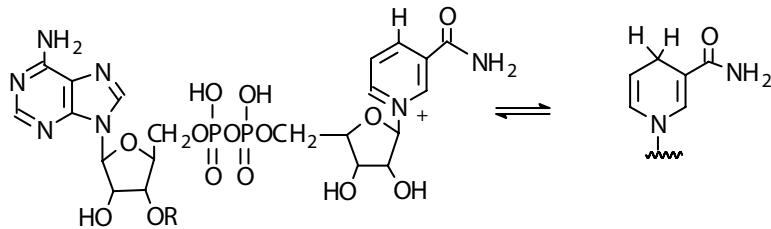
Metilaciones



S-Adenosilmetionina
(A denina + ribosa = Adenosina)

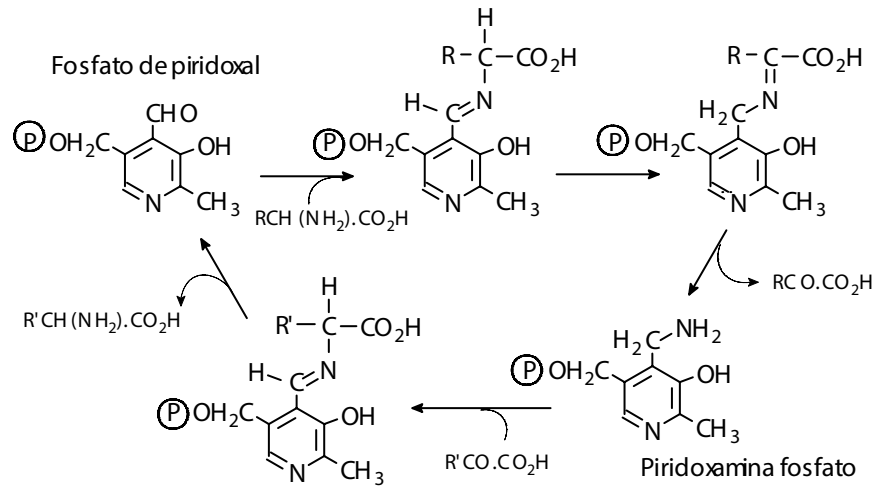


Oxido-reductasa

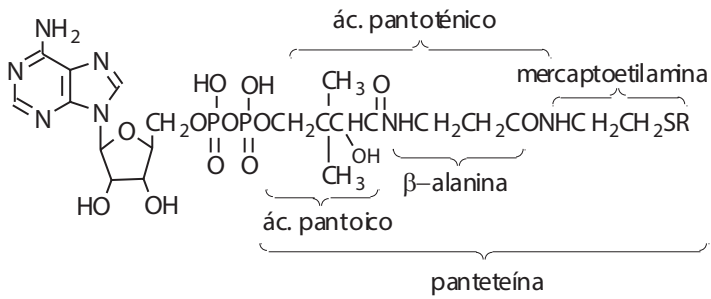


Oxidasas	Reductasas
R = H: Co-I (ó NA D ó DPN)	NA DH (ó DPNH)
R = PO.(OH) ₂ : Co-II (ó NA DP ó TPN)	NA DPH (ó TPNH)
NA D: Nicotina adenina dinucleótido = DPN: difosfopiridina dinucleótido	

Transaminasa

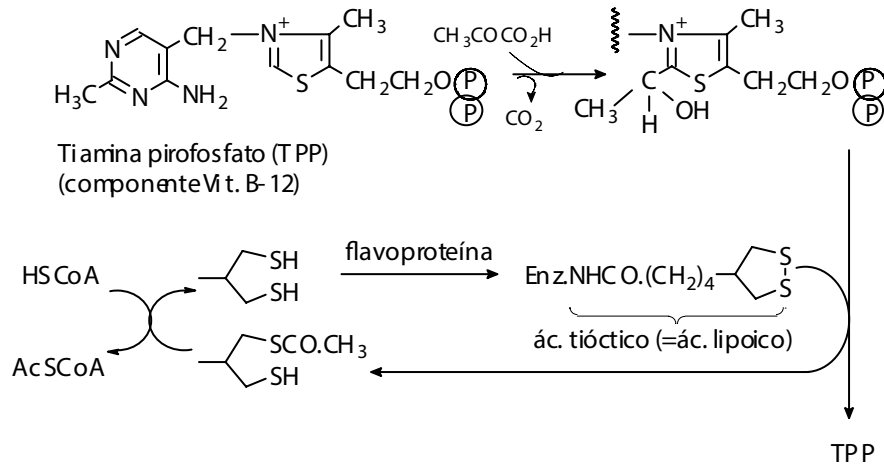


Acilasa

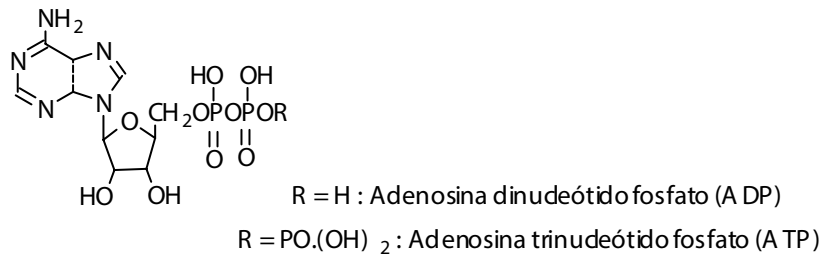


R = H : Coenzima-A (Co A)
 R = $COCH_3$: A cetilcoenzima A (A cetil Co A)

Descarboxilasa



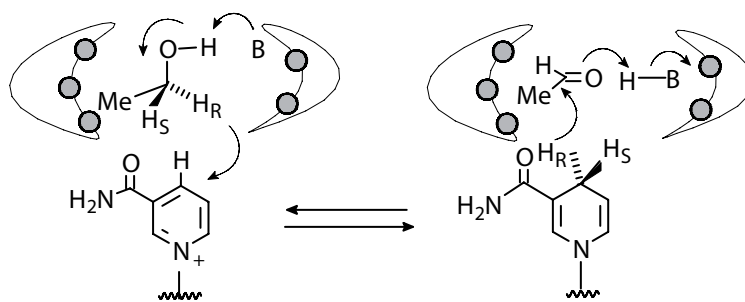
Fosfatasa



1.5. Reacciones biosintéticas

Las reacciones biosintéticas son de naturaleza enzimática. En un sistema enzimático la molécula que se transforma es reconocida por aquél como un todo. La especificidad de las reacciones enzimáticas ocurre a niveles no sólo de centros quirales sino también de proquirales. Cuando se genera un centro quiral a partir de uno aquiral se dice que el grupo que se transforma es

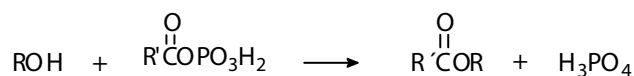
proquiral. Como ejemplo tenemos la oxidación enzimática del etanol en la cual sólo es transferido el H pro-R al NAD; el mismo se transfiere en la reducción del aldehído a partir del NADH. En el etanol, los dos H del grupo metileno tienen una vecindad enantiomérica (considere un plano de simetría en el carbono metilénico que bisecta los grupos OH y CH₃), serán entonces enantiotópicos. Es decir, si se sustituye el H pro-R por deuterio se obtiene la configuración R para ese carbono (por ello este hidrógeno se denomina pro-R el metileno es proquiral).



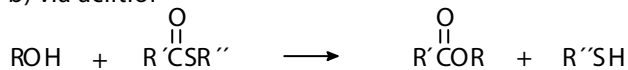
Los esquemas continuados deben interpretarse como las reacciones químicas involucradas en el proceso enzimático, que conduce a la bioformación de los metabolitos primarios y secundarios.

Acilación

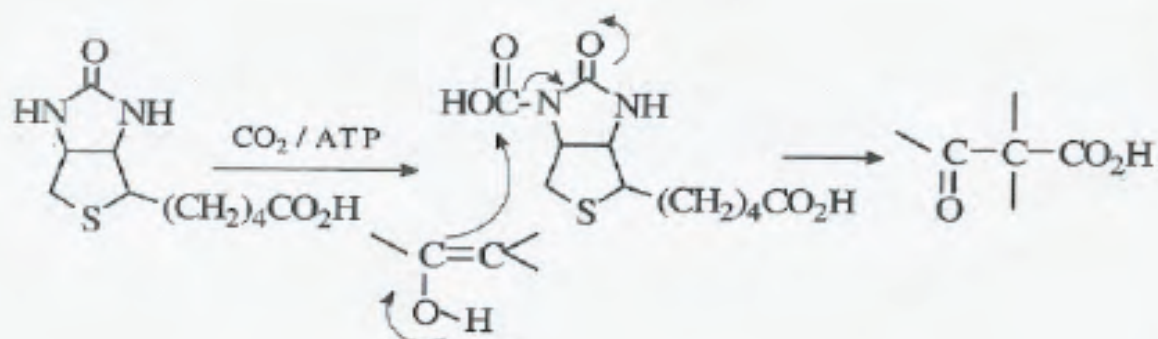
a) vía acil fosfato



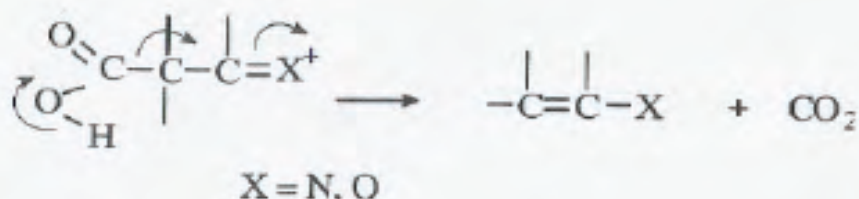
b) vía aciltiol



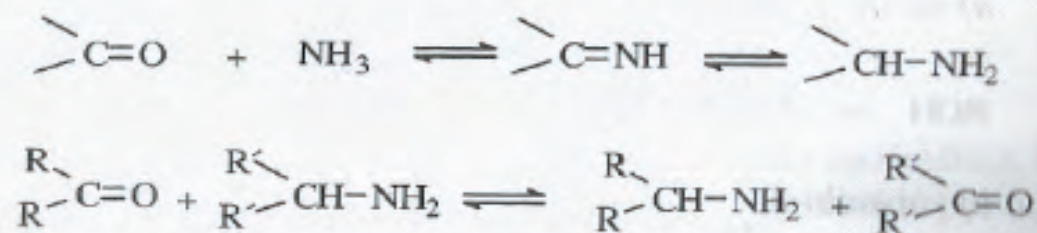
Carboxilación



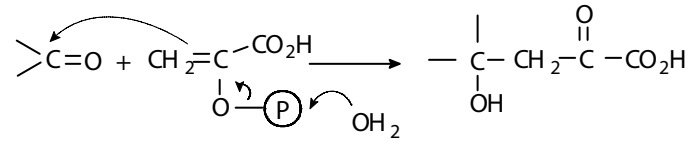
Descarboxilación



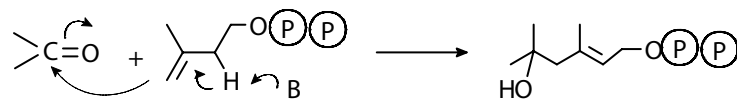
Aminación, Desaminación, Transaminación



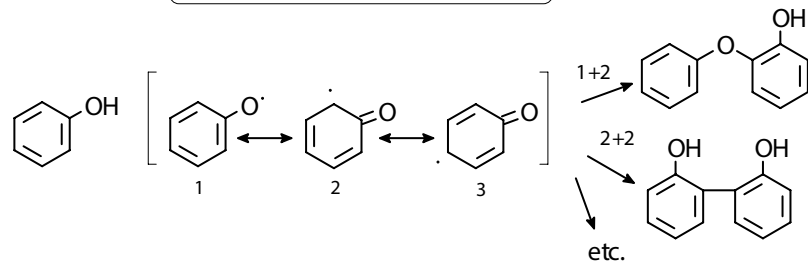
b) vía Fosfoenolpiruvato



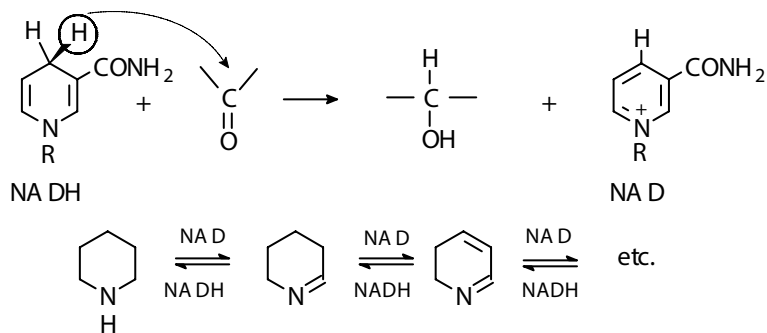
c) vía Isopentenilpirofosfato



Acoplamiento oxidativo de fenoles



Transferencia de hidruro (óxido-reducción)

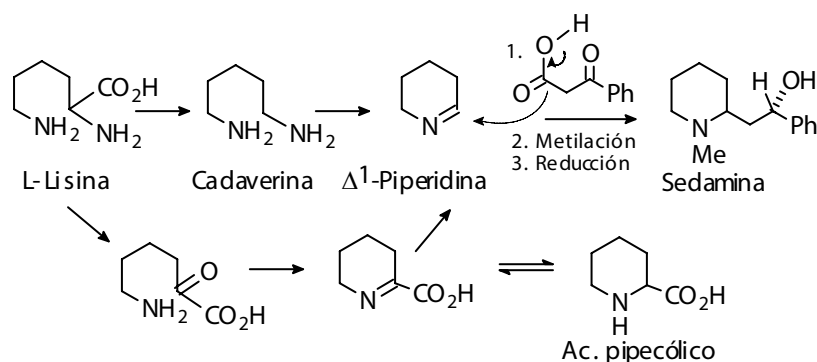


1.6. El método biosintético

En el esquemageneral de biosíntesis se indica a “grosso modo” la formación de las moléculas claves que originarán los diversos metabolitos. Evidentemente, se obvia una serie de otros compuestos que pueden ser comunes a más de un tipo de metabolitos secundarios y primarios. El método biosintético trata de determinar los pasos individuales en la secuencia de formación de un metabolito dado y de ahí, su origen. Por ejemplo, si la L-lisina es precursor de ciertos alcaloides piperidínicos como la sedamina, aquélla debe transformarse a la cadaverina por descarboxilación y formar el intermediario Δ^1 -piperidina, precursor de estos alcaloides.

Tanto la L-lisina como la cadaverina se incorporan en la sedamina, según se determinó por experimentos con isótopos radiactivos. Ello prueba la intervención de ambas especies en la biosíntesis de la sedamina. Por otra parte, el ácido pipecólico, un derivado piperidínico que se genera por hidrogenación de la Δ^1 -carboxipiperidina, tiene un origen distinto al anterior, pero también puede transformarse a sedamina (ver esquema). Puede suponerse entonces que la Δ^1 -piperidina tiene al menos dos orígenes.

Como se puede observar, para la bioformación de estructuras aún muy sencillas, hay más de una vía a seguir y en muchos casos, la situación se complica debido a la rápida interconversión de algunos intermediarios.



La aparición secuencial de los productos puede ser confusa. Por ejemplo, puede surgir la duda de si C proviene efectivamente de B y éste de A o más bien B es un artefacto de D, el cual es el verdadero precursor de C. Preguntas como éstas son las que trata de responder el análisis secuencial.

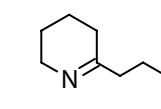
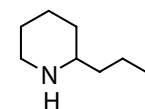


La manera de atacar este problema es la de establecer cuáles son la(s) enzima(s) que cataliza(n) cada paso individual. Sin embargo, esto no es concluyente si el intermediario considerado es producto de un equilibrio.

Por otra parte, las conversiones pueden ocurrir tan rápidamente que no es posible detectar alguno de los intermediarios.

1.6.1. Análisis secuencial

El análisis secuencial pretende establecer los pasos individuales de una secuencia biogénica como por ejemplo aquellos involucrados en la bioformación de N-metilpelletierina o de sedamina, o a veces casos más simples como es la interconversión entre los alcaloides de cicuta: coniína y γ -coniceína. En este caso, el último se encuentra en mayor proporción al comienzo de la maduración del fruto y ello hizo postular al primero como su precursor. Sin embargo, la diferencia es solamente de un estado de oxidación y es posible que la concentración individual de cada alcaloide sea producto de un equilibrio existente entre ellos. Tal como éste, existen muchos otros casos no resueltos.



El análisis secuencial se basa en la aparición de productos interrelacionados a diferentes etapas de la vida del organismo productor: microorganismos, vegetales superiores y animales. Sin embargo, hay que tener en cuenta que:

1. Un mismo precursor puede metabolizarse de varias maneras simultáneas.
2. El crecimiento rápido que implica diferencias en los sistemas enzimáticos, puede hacer perder la pista de alguno de los metabolitos intermediarios.
3. La diversificación de los tejidos en los organismos superiores origina sistemas enzimáticos diversos que operan simultáneamente.
4. El uso de microorganismos y cultivo de tejidos disminuye la diversidad de enzimas.
5. Un compuesto puede, al menos químicamente, tener varios orígenes y es necesario establecer cuál es el precursor efectivo.

1.6.1.1. ¿Qué se hace?

1. Detectar posibles precursores.
2. Marcar isotópicamente posibles precursores.
3. Producir o identificar el medio biológico capaz de transformar los precursores:
 - a) como organismo intacto (diversidad de células)
 - b) como tejido o microorganismo (unidad de células)
 - c) como medio enzimático (sin células)
 - d) como inhibidor específico (mutante).
4. Analizar los productos. Para ello se sigue la marca incorporada o se determina la presencia o ausencia, de un compuesto seleccionado. En el caso de emplear mutantes se aprovecha la presencia o ausencia, de un dado paso metabólico.

Los estudios biosintéticos encierran dos fines: la determinación de la secuencia de aparición de productos y los mecanismos por los cuales las transformaciones tienen lugar. Estos últimos son muy complejos y sólo en pocos casos hay respuestas.

1.6.1.2. ¿Cómo se detectan los posibles precursores?

El sistema de tanteos es el empleado, y una vez que a "grosso modo" se presume la naturaleza del precursor éste se introduce en el medio biológico; para seguir su destino existen dos métodos principales:

1. Marcado isotópico, se puede emplear isótopos radiactivos: ^{14}C , T, o isótopos estables ^{13}C , ^{15}N , D, o combinación de ambos.
2. Método biológico, bien sea utilizando mutantes o inhibidores específicos.

Evidentemente conocer la estructura del precursor de los productos finales y de los intermedios es indispensable para la determinación de los mecanismos operantes. El marcaje isotópico debe ser riguroso, en sitios específicos y a menudo estereoespecíficos. Los precursores deben estar bien identificados y cuidar que el compuesto bajo estudio no sea un artefacto proveniente de la descomposición de los productos durante la fase de extracción.

1.6.2. Método del trazado isotópico

El primer paso es preparar el sustrato marcado en un sitio específico de la molécula. Aquel es introducido en el medio biológico transformante y los metabolitos producidos en el medio son aislados, purificados y analizados.

1.6.2.1. Suministro

La introducción en el organismo vivo depende del estado físico del sustrato: gas, sólido o líquido, éstos últimos se suministran en solución.

a) Gas, puede ser $^{18}\text{O}_2$ o dióxido de carbono marcado con ^{14}C ó ^{13}C . En el caso de microorganismos o cultivo de tejidos se adapta al cultivo un dispositivo que suministre gas estéril y filtrado. Cuando se trata de plantas superiores se hacen crecer en una cámara con atmósfera de gas marcado.

b) Soluciones. El sustrato debe estar en medio fisiológico y los compuestos deben ser solubilizados convirtiéndolos por ejemplo, a sales, en el caso de ácidos y bases; a glicósidos si se trata de fenoles, terpenos, etc.; los ésteres y lactonas serán hidrolizados y neutralizados. También se emplean cosolventes, ej: diglima, DMSO, o bien surfactantes. A veces se utilizan homogeneizados en suspensión.

Existen varias alternativas para el suministro de las soluciones. En el caso de animales: en alimentos o inyectadas (subcutánea, intraperitoneal o intramuscular). Con microorganismos se incorporan los precursores en el medio de cultivo, y para órganos aislados se utiliza el método de perfusión. Para las plantas superiores hay varias técnicas:

i) Regadas, si la planta es cultivada en medio hidropónico; ii) por absorción en tallos cortados; iii) por infiltración a presión reducida: la planta se somete a vacío y después de evacuar los gases intersticiales se deja llenar con solución; iv) por inyección de soluciones al supuesto sitio de biosíntesis.

En el suministro de precursores marcados hay que considerar la permeabilidad y el transporte. Así, los ésteres fosfóricos no son capaces de penetrar la membrana celular y deben entonces evitarse como materiales de suministro. Por otra parte, hay que localizar el sitio y determinar las condiciones de incorporación: la cercanía al órgano sintetizador y la etapa biológica durante la cual es sintetizado un cierto metabolito a partir de un precursor dado. Por ejemplo el ñongüeo floripondio, sintetiza escopolamina en la etapa de prefloración y no durante la fructificación. Los estambres de la flor son órganos ricos en este alcaloide. Por ello en el análisis de escopolamina deben emplearse plantas a punto de florecer para la incorporación de los precursores y evaluar los alcaloides en la flor. En muchos casos la selección de las condiciones de suministro es un problema eurístico.

1.6.2.2. Efectividad del precursor

En las plantas superiores se aceptan incorporaciones del 0.1 % como efectivas, para microorganismos el porcentaje requerido como tal es superior (aprox. 5 %); considérese la restricción del número de procesos metabólicos para estos casos. Se define como grado de incorporación la relación:

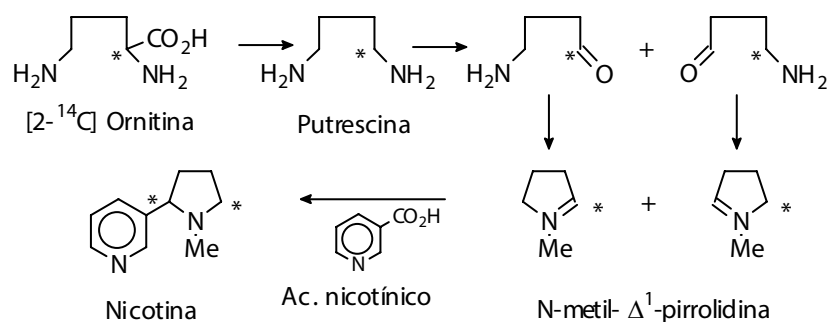
$$\frac{A_2 \times M_2}{A_1 \times M_1} \times 100$$

donde M_1 y M_2 son las concentraciones molares, A_1 y A_2 las actividades específicas molares, medidas por el método de centelleo, del precursor y producto, respectivamente.

El grado de incorporación depende de la pureza química (aislamiento y purificación apropiados) de precursores y productos. Los valores de cuentas de radiactividad deben ser al menos el doble de los valores de fondo.

1.6.2.3. ¿Por qué son tan bajas las incorporaciones?

A parte de la eficiencia en la selección del sitio y tiempo de incubación, el precursor puede tomar varios caminos metabólicos y el grado de dilución de la marca isotópica dependerá de ello. La diversificación será más importante cuanto más primario sea el precursor. La ocurrencia de reacciones reversibles también disminuye el porcentaje de incorporación y por último, hay que considerar la simetría del precursor. Este es el caso de la aparición de la marca en dos carbonos distintos de la nicotina (lo que hace que la efectividad de incorporación en un carbono particular sea menor), debido al intermediario simétrico: putrescina, según se ilustra.



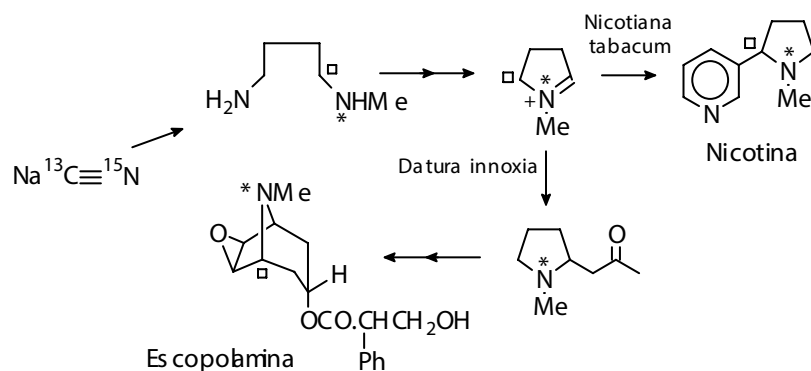
1.6.2.4. Análisis de las muestras

a) Isótopos radiactivos: se analizan por centelleo; pero, para determinar cuál es el carbono marcado es necesario degradar la molécula y analizar los fragmentos individuales. Se requiere una cierta cantidad de muestra y

conocer las propiedades químicas de los productos

b) Isótopos estables: el desarrollo de técnicas espectroscópicas con RMN de ^{13}C y de ^{15}N permite una información rápida y económica, pues a diferencia de sustancias marcadas con isótopos radiactivos, los métodos son no destructivos, no hace falta conocer el comportamiento químico y requieren poca cantidad; a veces unos 5 mg son suficientes. Sin embargo, es necesario un alto enriquecimiento del precursor y ello puede incidir negativamente en el caso de radioisótopos, al introducirse la marca en cantidades mínimas no se altera el metabolismo, pero en el caso de isótopos estables la situación cambia ya que deben tenerse en cuenta que los pasos metabólicos son reacciones químicas y que los sustratos reaccionan con diferentes velocidades para los diferentes isótopos. Como condición indispensable: es necesario que el espectro del producto esté bien asignado porque ello permite no solamente establecer la incorporación del precursor sino además determinar cuál átomo de carbono (o de nitrógeno) del precursor lo es en el producto y proponer así mecanismos para la transformación.

Un ejemplo sencillo es el estudio del origen de la nicotina y escopolamina que se resume a continuación y representa un caso de marcaje múltiple de análisis por RMN de ^{13}C y de ^{15}N . Para isótopos estables también se emplea la espectrometría de masas.



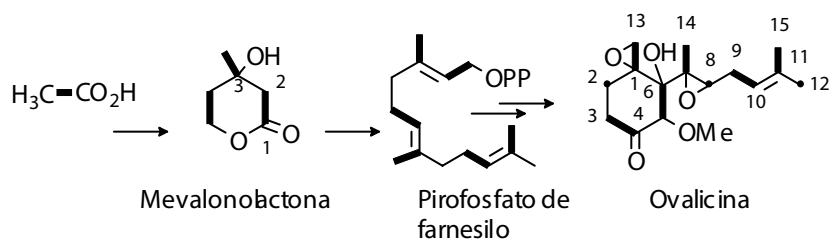
Por otra parte, la incorporación de un precursor marcado en un carbono específico, por ejemplo ácido acético cuyo carbono metílico es un isótopo estable ($^{13}\text{CH}_3\text{CO}_2\text{H}$), permite decidir cuáles carbonos en el metabolito

bajo estudio derivan de ese metilo; sin embargo esta sola información no ilustra la secuencia de la incorporación. Para lo último se emplea el "doble marcaje" y un ejemplo práctico lo constituye el estudio de la biosíntesis de la ovalicina, un sesquiterpeno de origen fungal*.

En resumen, la técnica consistió en lo siguiente: al medio de cultivo del hongo productor se suministró ácido acético doblemente marcado con ^{13}C (en el CH_3 y en el CO_2) y ácido acético sin marcar (constituido solo por ^{12}C y la pequeña abundancia natural en ^{13}C) en una relación 1:1. Después de aislar el metabolito-ovalicina- producido, éste se analizó por RMN de ^{13}C . El espectro muestra 12 juegos de señales satélite causadas por el acoplamiento ^{13}C - ^{13}C de los carbonos marcados, que ocurren a cada lado de la señal correspondiente a la abundancia natural. Ello significa que la molécula de ácido acético se incorporó intacta, lo cual indica que en ovalicina hay seis unidades de acetato doblemente marcado que se incorporaron. Por supuesto que las señales correspondientes a cada carbono fueron asignadas con anterioridad en el metabolito sin marcar. En el espectro también se observa tres singletes (cuya intensidad también ha aumentado con respecto a los correspondientes de la muestra no marcada), asignados a los carbonos 2, 8 y 12, de mayor intensidad que la correspondiente al carbono del grupo metoxi (el grupo metoxi tiene su origen en la metionina). Este aumento de intensidad se debe a que también esos carbonos están enriquecidos con el isótopo-13. Pero, a pesar que puede existir un acoplamiento C-C con los carbonos vecinos que produciría señales satélite, la probabilidad de que ocurra es la cuarta parte de la correspondiente de los carbonos provenientes de la incorporación del ácido acético intacto por lo cual aquellas son muy pequeñas y en el espectro se observan "singletes".

Este resultado confirma el camino acetato-mevalonato en la biosíntesis de ovalicina y además que el rompimiento del enlace C-1, C-2 que implica pérdida de CO_2 en el ácido mevalónico (en la figura representado como su lactona: mevalonolactona) ocurre durante su conversión a la unidad de isopentenil pirofosfato; así, los carbonos 2, 8 y 12 se derivan del C-2 del ácido mevalónico.

*M. Tanabe, y K.T. Suzuki, "Biosynthetic Studies with C-13: Incorporation pattern of 1,2- ^{13}C -acetate into the sesquiterpene ovalicin", *Tetrahedron Lett.* 49-50, 4417, 1974.



1.6.3. Empleo de mutantes e inhibidores específicos

Si el sistema biológico responsable de la transformación A → B → C → D se altera o sea se convierte en mutante, de tal manera que una enzima dada, por ejemplo la involucrada en el paso B → C, no está presente, la secuencia biogénica se interrumpe, acumulándose B. Un inhibidor específico que desactiva la enzima del paso B → C, trae como consecuencia el mismo resultado anterior. Los mutantes actúan entonces, como inhibidores específicos de ciertos caminos metabólicos. Por ejemplo la transaminasa se desactiva si se pone en contacto con aminoácidos insaturados, debido a la formación de receptores Michael. Este proceso se conoce como inhibición suicida.

1.7. Quimiotaxonomía

Desde hace tiempo se sabe que algunos tipos de plantas presentan cierta analogía en las estructuras de los metabolitos secundarios aislados de ellas. Desde 1900 Greshoff habla de fitoquímica comparada como una conexión entre las correspondencias morfológicas de la planta y/o de su hábitat sus componentes químicos presentes. Entre 1917 y 1945 McNair estudió la relación entre la taxonomía y las características físico-químicas de unas 80 familias y observó que:

- a) Las plantas tropicales reservan mayor proporción de aceites no secantes.
- b) Los glicéridos insaturados son más frecuentes en vegetales más evolucionados.

c) El almacenamiento de los azúcares en las semillas es más primitivo que el de los aceites.

Bate-Smith (1950-1960) determinó que las plantas herbáceas no contienen leucoantocianinas, frecuentes en las leñosas. Alton y Turner en 1960, utilizaron métodos cromatográficos para determinar perfiles químicos y establecer ciertas conexiones entre morfología, fisiología y genética. Desde entonces han incrementado considerablemente los estudios quimiotaxonómicos y han tenido gran importancia aquellos relativos a la composición, presencia y proporción, de flavonoides, particularmente aplicados al campo de la viticultura. Puede inferirse entonces, que la quimiotaxonomía trata de usar los caracteres químicos de ciertos metabolitos secundarios para determinar la posición jerarquizada evolutivamente de los seres vivos. Hasta ahora ha servido como evidencia confirmatoria para taxónomos

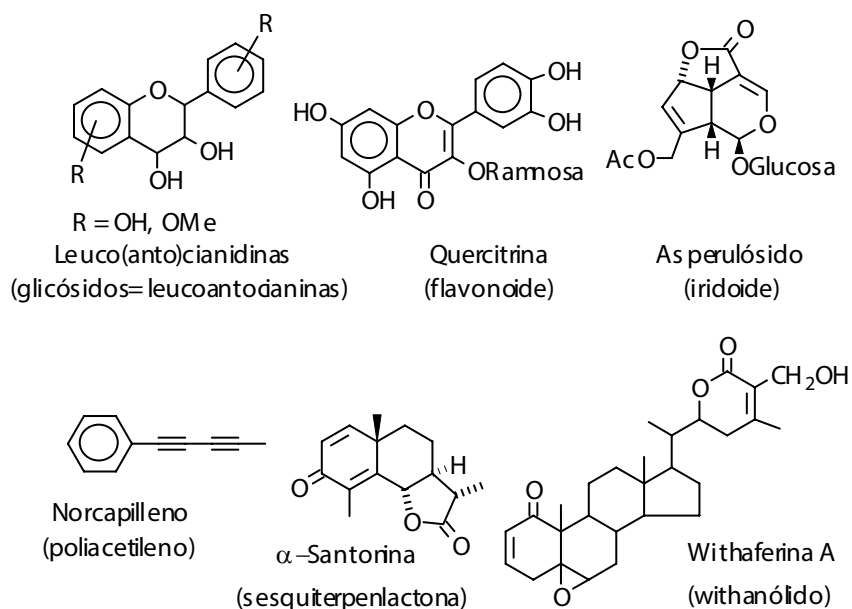
Informaciones de esta naturaleza permiten elegir plantas con probabilidad de encontrar un cierto tipo de compuestos o de seleccionar métodos de trabajo de acuerdo a los posibles componentes de un vegetal escogido al azar. De esta manera, Gottlieb en 1977 amplía sus estudios sobre *Sympetala* y los arregla en dos bloques de superórdenes principales: uno que contiene iridoides y uno que no los contiene, pero en su lugar presenta poliacetilenos y lactonas sesquiterpénicas (importantes por su actividad antineoplásica). Sin embargo, reconoce las limitaciones de estos estudios debido a la frecuente superposición de taxas, los cuales están definidos por caracteres morfológicos. Nótese que no hay un procedimiento para asegurar el significado de las alteraciones químicas y morfológicas en conexión con la evolución de la planta. L'Avie (1981-1982) caracterizó los withanólidos como terpenoides típicos de las Solanáceas, e hizo estudios de varios quimiotipos genéticos basados en la ausencia o presencia de diferentes sustituyentes en el esqueleto carbonado del withanólido, inclusive empleó injertos para expresar caracteres morfológicos dominantes y recesivos a nivel químico (e.g. estructuras).

El método quimiotaxonómico enfrenta varios problemas y entre los más frecuentes:

1. Localización de caracteres químicos en un grado adecuado de repetición (deben aparecer entre el 20 y el 60% de los miembros del grupo del cual son "característicos").
2. Es posible afirmar la presencia pero no la ausencia, de un

determinado grupo o metabolito particular, porque el método de detección pueden no ser lo suficientemente sensible.

3. Variación entre órganos, edad del vegetal, temporada, ubicación geográfica, etc.



Como caracteres quimiotaxonómicos se utilizan:

- Alcaloides, cuya estructura depende de la familia y aún del género. Por ejemplo, en Solanáceas hay principalmente tres grandes tipos que corresponden a los géneros 1. Solanum alcaloides esteroidales, 2. Nicotiana: con núcleos de piridinas-pirrolidinas, y 3. Datura: con el núcleo de tropano.
- Aminoácidos no proteicos, por ejemplo, latipina es propio de las Cucurbitáceas.
- Betalainas y betaxantinas, pigmentos comunes del orden Centrospermas.

- d) Terpenos, entre ellos los monoterpenos (aceites esenciales) son típicos de Labiadas y Umbelíferas; los sesquiterpenos del grupo de los guayanólidos son comunes en la tribu Helianae; los diterpenos, con el núcleo taxano se encuentran sólo en el género *Taxus*, y así, sucesivamente.
- e) Los compuestos fenólicos han sido los más utilizados en quimiotaxonomía y hay una serie de trabajos de esta naturaleza relacionados a la clasificación de las Compuestas.

La quimiotaxonomía pretende descubrir también el reino animal. A sí, se ha estudiado la secreción de las glándulas anales del género *Mustela* (*M. vison*, *M. putorius*, *M. putorius-furo* y *M. erminea*); ésta contiene sustancias azufradas, alcoholes y cetonas con estructura parcial de diterpenoides. Los análisis indican que no hay diferencias en las sustancias específicas para ambos sexos, ni entre épocas de celo o normales y los componentes de la glándula derecha son iguales a aquellos de la izquierda, pero hay variaciones en diferentes individuos. La quimiotaxonomía de los Mustélidos indica que los compuestos de azufre sólo están presentes en el género *Mustela* (visones), mientras que los ácidos grasos de bajo peso molecular son típicos de las secreciones de los géneros *Letrinias* (nutrias) y *Martes* (martas).

Las termitas guerreras (*Prorhinotermes simplex*) en su glándula frontal, producen una secreción terpenoidal. Tal tipo de compuestos también es segregado por otras termitas superiores: *Armitermes excellens* y *Noditermes wasambricus*. Esta observación sugiere que la secreción terpenoidal no puede usarse como criterio para la división taxonómica de termitas superiores e inferiores.

Tal como los ejemplos anteriores existen muchos otros que sugieren que la quimiotaxonomía sólo puede ser empleada en algunos casos y con criterio de indicio.

1.8. Estudio fitoquímico

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

1.8.1. Selección del material

La selección del material depende del interés que tenga el estudio:

a) Interés particular, se tiene información, por ejemplo etnobotánica, que una determinada planta es utilizada para cierto tipo de cura, pócima, hechizo, etc. Se localiza la planta, se comprueba su clasificación botánica, se la ubica en la literatura química (a ella, o a géneros y especies relacionados). Ello informa sobre los posibles constituyentes químicos lo que permitirá planificar el fraccionamiento, la purificación, y las pruebas biológicas tanto de los extractos como de los compuestos puros.

b) El interés está dirigido a un determinado tipo químico de compuestos, por ejemplo alcaloides con cierto esqueleto particular. Se localiza una familia, un género o una especie que, de acuerdo a la información bibliográfica, lo contiene. Se comprueba la presencia de alcaloides mediante pruebas químicas en diferentes partes de la planta y, si es preciso, a diferentes edades de la misma. Se procede a la etapa de extracción y purificación.

c) Se tiene interés en un determinado tipo de actividad biológica:

1) Se buscan familias, géneros o especies citadas con esa actividad
2) Se recolectan cantidades pequeñas (c.a. 10-50 g) de material, indiscriminadamente. Se hacen extractos alcohólicos, acuoso-alcohólicos o acuosos (directamente o provenientes del extracto alcohólico llevado a sequedad) y se comprueba en ellos, esa actividad. En el caso de dificultades para solubilizar el sólido en el medio biológico, se usa un cosolvente adecuado (dimetilsulfóxido es uno de los más usados) a una concentración inocua al sistema biológico, la cual debe pre-establecerse.

d) Se tiene interés en los metabolitos secundarios de una determinada familia o género. Se recolectan las especies pertenecientes a ellas y se hacen pruebas químicas preliminares en el campo y pruebas químicas y biológicas en el laboratorio.

La recolección de una determinada especie debe hacerse con la ayuda de un botánico quien además de clasificar el material guardará una muestra testigo para futuras comprobaciones.

1.8.2. Pruebas de actividad biológica

La actividad biológica se refiere a cualquier efecto que ejerce la muestra sobre los seres vivos, de modo que existe un gran número de ensayos

utilizados para monitorear los estudios fitoquímicos. Históricamente, la inmensa mayoría de las investigaciones fitoquímicas desarrolladas hasta hace unas décadas estaban dirigidas a determinar estructuras novedosas. Hoy día esos estudios se orientan hacia el aislamiento e identificación de compuestos biológicamente activos, especialmente encauzados a atacar dolencias que afectan a toda la humanidad y que cobran a diario más vidas: cáncer, enfermedades cardiovasculares, diabetes..., así como otras enfermedades endémicas: malaria, tripanosomiasis, leishmaniasis y otras.

Se sabe que los resultados provenientes de pruebas in vivo e in vitro son generalmente diferentes. Sin embargo, los ensayos in vitro son preferentemente utilizados porque son más económicos, requieren mucho menos cantidad de material y las condiciones experimentales son más controlables. Cuando se trata de evaluar un número grande de muestras se utilizan sistemas automatizados, tanto enzimáticos como de líneas celulares, usando generalmente placas de microtítulo de 96 o 384 pozos*.

Cuando el estudio fitoquímico está destinado al aislamiento de principios activos responsables de una determinada actividad se usan ensayos específicos. Sin embargo, McLaughlin ha presentado tres bioensayos simples que pueden ser aplicados con carácter general, que no requieren de entrenamiento ni de condiciones ambientales especiales. Estos son:

a) Mortalidad de *Artemia salina*, que tiene una correlación positiva con ensayos sobre células 9KB (carcinoma nasofaríngeo humano) por lo que puede ser utilizado para detectar antitumorales y pesticidas.

b) Efectos inhibitorios del crecimiento de tumores sobre discos de papa ("crown gall") causados por una droga. Este es paralelo al efecto observado en ensayos in vivo contra células 3PS (leucemia tipo murine), por lo cual el ensayo es útil para detectar compuestos anticancerígenos.

c) Efectos sobre el crecimiento de una planta acuática, *Lemna minor*, (dockweed) que se usa en el despistaje simple de varias actividades, incluyendo antitumoral, herbicida y estimulante del crecimiento de las plantas.

Los ensayos mencionados se encuentran referidos en: a) J.L.

*R. Grebhardt "In vitro screening of plant extracts and phytopharmaceuticals: Novel approaches for the elucidation of active compounds and their mechanisms". *Planta Medica*, 66, 99, 2000.

McLaughlin, T. Colman-Sarzaibitoria y E.J. Anderson, "Tres ensayos simples para guiar química de productos naturales", Revista de la Sociedad Venezolana de Química, 18(4), 13-1995; b) J.L. McLaughlin, C.J. Chang, D.L. Smith, "Benchmark bioassays for the discovery of bioactive natural products: an update". En Atta-urRahman (ed.), Studies in Natural Products Chemistry, vol 9, Elsevier, Amsterdam, p. 388, 1991.

1.8.3. Examen químico de las muestras

a. Pruebas químicas de campo

Es conveniente llevar un "kit de pruebas" durante la recolección que permite hacer los exámenes más sencillos y frecuentes en muestras recién cosechadas. Ocurrir a veces que los resultados en el campo no son reproducidos en el laboratorio, cuando el material vegetal no es fresco, como consecuencia de la descomposición promovida por enzimas presentes en el vegetal. Las pruebas más comunes son:

a) Alcaloides, el extracto proveniente de la maceración del material con HCl diluido se precipita con reactivo de Meyer o se somete a reacciones de color con reactivo de Dragendorff o ácido yodoplatínico.

b) Saponinas, el extracto acuoso se agita. La aparición de espuma es indicio de estos compuestos

c) Taninos, el extracto en NaOH al 10 % se trata con unas gotas de solución de gelatina al 1%. La presencia de taninos se manifiesta con la precipitación del complejo proteína-tanino.

d) Flavonoides, el extracto alcohólico se trata con un trozo de Mg y HCl. La formación de una coloración roja es indicativa de flavonoides

e) Aceites esenciales, son detectados por el olor del material.

b. Pruebas químicas de laboratorio

Las mismas pruebas preliminares del campo hay que repetir las en el laboratorio, pero en este caso los análisis deben ser aplicados a un extracto un poco más elaborado. En esta etapa hay que considerar el objetivo del trabajo (véase selección del material). Sin embargo, es conveniente efectuar una serie de pruebas rápidas que permitan decidir la estrategia de separación; la evaluación fitoquímica se repite entonces para los grupos principales de sustancias tanto en el vegetal fresco como en un "crudo" preparado por extracción del material vegetal molido. Este extracto crudo total, obtenido por digestión

en caliente, de la muestra (100 g) en alcohol (100-200 ml), que está libre de almidón, proteínas y de la mayoría de azúcares de bajo PM, se concentra y se evalúa para:

a) Alcaloides:

El crudo se evapora hasta casi sequedad; si durante este proceso se detecta olor de amoníaco o aminas, se evidencia alcaloides que además, deben ser inestables. El extracto casi seco se retoma con HCl (10%) y se agita con un solvente inmiscible (diclorometano, cloroformo, acetato de etilo) y éste se separa. La fase acuosa se alcaliniza y se extrae con un solvente inmiscible. Las tres fases se analizan para alcaloides por separado (reactivo de Meyer, de Dragendorf, ácido yodoplatínico) lo que permite detectar alcaloides débilmente básicos, básicos y sales cuaternarias de amonio en los tres extractos, respectivamente.

b) Saponinas y esteroides:

Las saponinas, glicósidos de compuestos esteroidales y triterpenoidales, se manifiestan por la formación de una espuma persistente cuando se agita el vegetal con agua. Esta espuma dificulta la extracción. Una parte del crudo total se hidroliza (HCl 10% o H_2SO_4 5%, reflujo) y el hidrolizado se concentra y se extrae con acetato de etilo o cloroformo. La fracción gánica debe contener las saponinas (agliconas de saponinas) y otros materiales no hidrolizables. Tanto el crudo total como el extracto orgánico proveniente de la hidrólisis, se analiza para esteroides y triterpenos (reacción de Liebermann-Burchard). Los glicósidos cardiotónicos se detectan por reacción con una mezcla 1:1 recién preparada de ácido 3,5-dinitrobenzoico (2%) y KOH (0.5N), lo que produce coloraciones azules o violetas.

c) Flavonoides:

El crudo total se lleva a sequedad y se desgrasa con éter de petróleo. El residuo se trata con: i: HCl concentrado y virutas de magnesio. El test será positivo para flavonoides si se produce una coloración roja al dejar en reposo la reacción por unos 10-20 minutos y ii: una gota del extracto total se adsorbe sobre papel de filtro y se rocía con una solución de cloruro de aluminio al 1% en etanol. La aparición de una mancha fluorescente amarilla bajo luz UV es indicativa de flavonoides.

d) Taninos y polifenoles:

Los compuestos fenólicos se detectan por la coloración parda que producen en presencia de una solución de cloruro férrico al 1%. Para ello el extracto total es evaporado a sequedad y retomado en agua y filtrado antes de la reacción con cloruro férrico. Si los fenoles están presentes producen una

coloración marrón y si al tratar el crudo con solución al 1 % de gelatina en NaCl al 1 %, se produce una precipitación, el crudo contiene taninos

e) Antraquinonas:

El crudo total llevado a sequedad, se extrae con KOH (0.5N), se filtra, se acidifica con ácido acético y se agita con benceno. Si la capa orgánica toma una coloración roja al alcalinizarla con hidróxido de amonio, hay antraquinonas presentes.

f) Glicósidos cianogénicos

Al material fresco macerado se añaden gotas de cloroformo y se calienta a 50 -70°C en tubo cerrado, los vapores se ponen en contacto con un papel de filtro impregnado en una solución al 1 % de ácido pícrico en carbonato de sodio al 10%. Los compuestos cianogénicos se manifiestan como una mancha roja sobre el papel; el tiempo de reacción varía, puede tomar hasta 2 horas.

Es también importante tener alguna información sobre los cationes presentes y otros metabolitos, por ejemplo mono y disacáridos, aminoácidos libres, aceites volátiles (por arrastre de vapor), entre los más frecuentes.

Recordemos que los resultados de estos ensayos deben ser tomados con precaución pues están hechos con un crudo que contiene gran variedad de compuestos, muchas veces altamente colorados. Todo ello interfiere en los resultados de las reacciones indicadas porque un mismo reactivo puede responder más de un grupo de sustancias y además se debe considerar que, generalmente se trata de compuestos polifuncionales y por otra parte, la coloración del crudo puede enmascarar las reacciones de color.

Hay que tomar en cuenta que las pruebas indicadas antes son de carácter general y que posiblemente algunas fallen debido a interferencias ocasionadas por la complejidad del extracto a analizar. Bien la polifuncionalidad que caracteriza algunos metabolitos impide obtener respuestas claras para un determinado grupo.

c. Qué parte del material se analiza

Las plantas herbáceas son generalmente utilizadas en su totalidad, pero en el caso de plantas leñosas es preferible seccionarlas en sus diferentes partes botánicas: frutos, semillas, raíces, hojas, madera, corteza, etc. Esto permitirá también programar la estrategia de extracción.

1.8.4. Métodos de extracción y fraccionamiento

Ellos dependerán fundamentalmente de los objetivos del estudio de la planta. Si se persigue el aislamiento de materiales sensibles al calor, deberán emplearse métodos "fríos" de extracción y purificación. Si el trabajo va dirigido al aislamiento de sustancias para la comprobación de actividad biológica, la extracción del material vegetal debe hacerse en agua o con solución isotónica (0.9% NaCl) y evitarse cualquier elevación de la temperatura.

El grupo del Instituto Nacional de Cáncer (EUA) ha presentado un protocolo para extractos acuosos de diversos orígenes (plantas, cianobacterias, invertebrados marinos y algas) en búsqueda de agentes anti-VIH. En el desarrollo de este protocolo primero se eliminan: polisacáridos sulfatados, comunes en los extractos acuosos y activos contra VIH, y taninos, con amplia distribución en el reino vegetal y con diversas actividades, y segundo se utiliza extracción en fase sólida (empleando cartuchos acondicionados para ello)*.

Si por el contrario no se tiene información sobre la naturaleza química de las sustancias que se espera aislar se procede con una extracción y un fraccionamiento muy "gruesos", combinando con bioensayos y se seleccionarán las técnicas dependiendo de las observaciones sobre la marcha.

Sin entrar en detalles experimentales, que pueden ser encontrados casi en cualquier manual de laboratorio o en otras fuentes bibliográficas, podemos agrupar los métodos de extracción en:

1. Percolación en frío o en caliente (la digestión en algunos casos acelera el proceso).
2. Extracción continua (Soxhlet).
3. Destilación por arrastre de vapor.
4. Extracción con fluidos en condiciones supercríticas, especialmente CO_2 , con o sin cosolvente**.
5. Extracción en fase sólida.

*J.H. Cardellina, et al., "Chemical screening strategy for the dereplication and prioritization of HIV-inhibitory aqueous natural product extracts", J. Nat. Prod. 56, 1123, 1993.

**a) C.D. Bevan y P.S. Marshall "The use of supercritical fluids in the isolation of natural products" Nat. Prod. Reports, 11, 451, 1994. b) W.K. Modey, D.A. Mulholland y M.W. Raynor "Analytical supercritical fluid extraction of natural products", Phytochemical Analysis 7, 1, 1996.

Los solventes para extracción pueden ser soluciones diluidas de ácidos o de bases, cuando se desea aprovechar la basicidad o la acidez de las moléculas, como por ejemplo en el caso de alcaloides. Más frecuentemente se usa la extracción con solventes orgánicos de bajo punto de ebullición (alcohol acetato de etilo) y de baja reactividad. En estos casos es conveniente desgrasar antes el material vegetal mediante extracción con éter de petróleo o hexano. El alcohol es generalmente más eficaz para recuperar la mayoría de los metabolitos secundarios, pero a su vez, se obtiene un crudo muy complejo y su fraccionamiento se convierte en un problema. Los extractos son evaporados bajo presión reducida o liofilizados, en el caso de extracción con agua.

El fraccionamiento de los crudos totales comienza generalmente con la distribución entre solventes inmiscibles. Tal distribución puede llevarse a cabo en frío o en caliente, pero en todo caso es recomendable repetir la extracción. Esto puede representar un proceso largo y costoso. La extracción continua puede, en parte, solventar estos inconvenientes y para ello a escala de laboratorio, existen dos tipos de extractores para líquidos a) más densos que el agua y b) menos densos que el agua. El uso de extractores continuo evita además la complicación de separar dos fases inmiscibles cuando por agitación de las mismas, se forman espumas (causadas generalmente por la presencia de saponinas) que a veces degeneran en emulsiones más o menos permanentes. Las emulsiones pueden destruirse mediante vibraciones, descargas eléctricas o añadiendo un electrolito, por ejemplo, cloruro de amonio.

De los métodos más empleados, tanto para la separación como para la purificación de extractos y finalmente de los compuestos, la cromatografía tiene lugar prioritario. Asimismo, es utilizada como monitor de las estrategias de aislamiento en su variante analítica. A continuación se revisarán brevemente, los métodos cromatográficos más comunes.

1.9. Cromatografía

El principio básico de la cromatografía consiste en una distribución desigual entre dos fases: estacionaria y móvil, de un determinado compuesto. Esto permite separar una mezcla en sus componentes de acuerdo a sus diferentes distribuciones en un sistema de dos fases dado. En la tabla 1-1 se ilustra la clasificación de esta técnica de acuerdo a los principios responsables de la separación:

Ta bla 1-1. Tipos de cromatografía

Tipo	Naturaleza del proceso	U nidades*
Adsorción	adsorción sobre sólido	coeficiente de adsorción
Partición	distribución entre líquidos	coeficiente de distribución
Intercambio iónico	interacciones electrostáticas y difusión	carga, cte. de disociación, radio iónico
Permeabilidad de gel	difusión	tamaño molecular efectivo
Bioafinidad	interacciones bioespecíficas con el afinante	no tiene

* determinanla magnitudde la afinidad de las sustancias separadaspor una de las fases.

Cualquiera de los tipos anteriores puede ser utilizado en su variante analítica o preparativa. En las cromatografías de adsorción y partición el orden de polaridad con el cual los compuestos son eluidos las identifica con cromatografía en fase normal cuando son los compuestos menos polares los primeros eluidos y cromatografía en fase reversa en caso contrario. En esta sección no se pretende ilustrar el uso de equipos cromatográficos particulares, sino más bien enfocar el fundamento y la utilidad de la cromatografía en sus diferentes variantes.

1.9.1. Cromatografía de adsorción

Representa el método más antiguo y es todavía el de mayor aplicación. La distribución tiene lugar entre un adsorbente sólido (fase estacionaria) y un eluyente líquido (fase móvil) en la cromatografía líquida, o entre un adsorbente sólido o líquido y un eluyente gaseoso, en el caso de cromatografía de gases. La cromatografía de adsorción sólido-líquido en columnas se emplea con más frecuencia para fines preparativos. En el caso de HPLC (anglicismo para High Performance o Pressure-Liquid Chromatography) los eluatos

y eluyente son forzados a pasar por una columna cuando el sistema está bajo presión más elevada que la atmosférica. La presión aplicada depende del tamaño de las partículas del adsorbente. Cuanto menor sea el tamaño de las partículas (mayor resolución cromatográfica) mayor será la presión necesaria para lograr una velocidad de flujo adecuada en la fase móvil. Para HPLC el tamaño de las partículas es menor de 10 μm y la presión es 600 a 6000 psi. Para LPLC (Low Pressure Liquid Chromatography): cromatografía líquida de baja presión, el tamaño de las partículas varía entre 40 y 60 μm y la presión alrededor de 50 psi.

En la cromatografía de absorción la fase estacionaria es el adsorbente mismo y ajustando su naturaleza se puede tener cromatografía en fase normal y cromatografía en fase reversa.

Los adsorbentes deben tener alta capacidad de adsorción, ser insolubles en el eluyente e inertes a las sustancias a ser separadas por cromatografía. La estructura porosa y la granulación dependerá de si se usa columna gravitacional o HPLC. Entre los tipos frecuentes de adsorbentes se tiene:

1. Sílica gel, para la mayoría de las sustancias, se emplea generalmente en proporción 1:40 (peso de muestra a peso de sílica, para columnas gravitacionales). Para columnas destinadas a separar compuestos no polares o poco polares, se prefiere de 60 mm o mayores: 65-200 mm, para mejor fluidez de los eluyentes. Para la cromatografía "Flash" la sílica gel para TLC sin yeso es la adecuada.
2. Alúmina (óxido de aluminio), para compuestos menos polares, tiene mayor poder de adsorción, y permite a veces separar isómeros (proporción 1:20).
3. Silicato de magnesio (Florisil), adsorbencia intermedia, para separar lípidos, glicósidos, azúcares.
4. Carbón activado de naturaleza no polar, generalmente se usa mezclado en una relación 1:1 con celita y separa azúcares, polihidroxiaromáticos y poliaromáticos.
5. Poliamida, usada para compuestos que pueden formar puentes de hidrógeno, tales como aminoácidos, polihidroxi compuestos, etc.
6. RP-8 y RP-18. El término RP se refiere a fase reversa (Reversed Phase), estos adsorbentes son derivados de sílica gel en los cuales los enlaces SiOH han sido transformados a SiOR, siendo R una cadena carbonada de 8 y 18 átomos, respectivamente. Debido a su polaridad disminuida, la interacción

con los compuestos polares es mucho menor que con los no polares que serán más retenidos. Como la naturaleza química de la superficie de la sílica ha sido modificada en estos adsorbentes, algunos autores identifican el proceso cromatográfico como de "fase enlazada" (bonded phase chromatography).

Notas (para sílica y alúmina)

- Para los grupos funcionales se tiene el siguiente orden creciente de adsorptividad: CH_2 , CH_3 , $\text{CH}=\text{}$, SR , OR , $\text{N}=\text{O}$, COOR , CHO , OH , $\text{N}=\text{H}$, COOH .
- Cuando se trata de separar compuestos de mediana polaridad su recuperación se facilita si el adsorbente es desactivado, generalmente con agua (1%, 2%...etc.). Si el contenido de agua alcanza a valores superiores al 16 % la cromatografía será de partición. Para la alúmina, además de diferentes grados de activación, se puede disponer de alúmina ácida, neutra o básica y se utiliza para separar sustancias ácidas, neutras y básicas.
- Para la separación de compuestos olefínicos de las parafinas análogas o de olefinas isoméricas conviene utilizar adsorbente generalmente sílica, impregnado con nitrato de plata en solución al 10-12 % añadida en una relación del 10 % con respecto al peso del adsorbente. El nitrato de plata actúa en complejos de transferencia de carga reteniendo más olefinas que parafinas y de acuerdo a la estructura de las olefinas, se formarán complejos más o menos estables que serán retenidos más o menos sobre la sílica. Estas columnas deben ser trabajadas en la oscuridad para evitar en lo posible, el ennegrecimiento del adsorbente que complica el manipuleo.

La preparación de las columnas tiene varias técnicas. El método clásico consiste en llenar un tubo de vidrio provisto de una llave de paso, cuyas dimensiones son escogidas de acuerdo a la cantidad y tipo de adsorbente. En general se acepta que una columna delgada y larga (por ejemplo 2 cm de diámetro por 50 cm de longitud) es más eficiente que una corta y ancha, pues la muestra recorrerá un camino más largo con lo cual la distribución y separación de sus componentes será más nítida. Sin embargo, durante este camino es posible la readsorción de esos componentes en las zonas "virgenes" del adsorbente, así como el largo tiempo de permanencia en la columna puede originar la descomposición de la mezcla a separar o la difusión de las bandas donde se concentraron los compuestos inicialmente, con la pérdida consecuentemente de la resolución.

En el llenado pueden emplearse tanto la técnica de columna seca

como la de columna húmeda. En la primera el adsorbente se compacta en seco introduciendo en el tubo de vidrio una lluvia uniforme del adsorbente ayudándose con un movimiento vibratorio. Una solución concentrada de la muestra se pre-adsorbe en una pequeña cantidad del mismo adsorbente y una vez eliminado el solvente se coloca sobre la superficie de la columna y se comienza la elución. Este método tiene el inconveniente que el hinchamiento del adsorbente que ocurre al humedecerse dentro de la columna, puede causar obstrucciones y disminuir la velocidad de flujo. Este sistema se emplea en una modificación "rápida" de la cromatografía en columna conocida como "Flash-chromatography", ("cromatografía instantánea") en la cual el adsorbente es empaquetado muy apretado y el flujo del eluyente es forzado a pasar por la columna con la ayuda de presión en el eluyente y vacío a la salida de los eluatos.

La columna húmeda tiene dos variantes para su preparación. La primera consiste en dejar caer el adsorbente suave y uniformemente sobre la superficie de la fase móvil colocada en el tubo de vidrio al tiempo que el mismo se golpea ligeramente para ayudar a la compactación uniforme. En la segunda se prepara una suspensión uniforme del adsorbente en la fase móvil y se deja caer sobre una pequeña capa de fase móvil contenida en el tubo de vidrio, con ligeros golpes y salida simultánea del líquido por la llave de paso. Este método produce una compactación más uniforme y el hinchamiento del adsorbente al ocurrir antes de preparar la columna, no causa obstrucciones que retardan el flujo con los consecuentes problemas de difusión de la muestra a separar. En ambos casos es conveniente colocar una pequeña capa (3-5 mm) de arena lavada sobre la superficie del adsorbente que servirá como protección a ésta. La muestra se introduce en solución, concentrada, preferentemente con el mismo eluyente, sobre la superficie de la arena (cuidando de no alterar la capa inmediata del adsorbente) de la cual se ha evacuado el solvente hasta unos 2-5 mm por debajo del borde, o bien, como en el caso de la columna seca, la muestra se coloca preadsorbida sobre una pequeña cantidad del mismo adsorbente sobre la columna.

En el caso de la cromatografía en fase normal la elución comienza con el solvente menos polar y su polaridad se incrementa dependiendo de los resultados de la separación. El aumento de polaridad puede hacerse manualmente con mezclas de solventes o mediante el gradiente de elución que consiste en la preparación automatizada de un eluyente cuya polaridad se aumenta mediante suministro a diferentes velocidades, de dos solventes que se mezclan antes de introducirse en la columna.

En el caso de la cromatografía sobre carbón, RP-8 y RP-18, (cromatografía en fase reversa) los compuestos no polares se adsorben más que los polares y en consecuencia en la elución la polaridad cambiará de mayor a menor

1.9.2. Cromatografía de partición

La cromatografía de partición es fundamentalmente una distribución entre dos líquidos: fase móvil y fase estacionaria y esta última puede o no estar anclada sobre un soporte sólido. Ambas fases, móvil y estacionaria deben ser inmiscibles y/o estar mutuamente saturadas, de otra manera al eluir la cromatografía habrá cambios en la concentración de las fases con lo cual al no haber una distribución nítida, se perderá el poder de resolución. En general se emplea un sistema de dos fases, una rica en solvente orgánico y otra rica en agua. Dependiendo de la naturaleza de la fase estacionaria la cromatografía de partición puede ser tratada como de fase normal o de fase reversa. La fase estacionaria para una cromatografía en fase reversa es en general, goma de silicona, parafina, etc., mientras que para una cromatografía de fase normal es el agua.

El conjunto fase móvil - fase estacionaria puede estar integrado por más de dos componentes. Un ejemplo típico para una cromatografía de partición en fase normal es el sistema: butanol-ácido acético-agua (4:1:5) el cual se separa en dos capas, la orgánica será la fase móvil y la acuosa la fase estacionaria.

Ejemplo de técnicas que no requieren soporte sólido son la cromatografía contracorriente a la gota (DCC) y la cromatografía contracorriente centrífuga (CCC) que se usan a escala semipreparativa y preparativa, ver más adelante; mientras que las técnicas a) sobre papel y b) cromatografía gas-líquido (CGL), que son empleadas principalmente como métodos analíticos, necesitan soporte sólidos.

1.9.3. Cromatografía en papel

En la cromatografía de papel la muestra a separar es adsorbida sobre

el punto de aplicación del soporte: papel, el cual retiene el agua (fase estacionaria), pero se puede saturar con otra fase estacionaria, por ejemplo, dejándolo equilibrar con ésta en una cámara cerrada (cámara de cromatografía donde se va a desarrollar el cromatograma), antes de permitir el flujo del eluyente: fase móvil.

En aquellos casos en los cuales la muestra se disuelve mucho mejor en solventes no polares que polares, el soporte se impregna con la fase orgánica (fase estacionaria) y el cromatograma se desarrolla con la fase acuosa. Esta técnica constituye una cromatografía en fase inversa. En este caso los primeros a eluir (los de mayor R_f) serán los compuestos más polares. El principio de cromatografía en fase inversa puede aplicarse a cualquier técnica cromatográfica de partición.

Los tipos más comunes de papel que se emplean en esta técnica son:

Tipo de papel	espesor (mm)	peso (g/m ²)	características
Whatmann-1	0.16	80	analítico
-3MM	0.31	180	preparativo
-4	0.19	90	rápido
-31ET	0.50	190	muy rápido

Hay papeles modificados para casos especiales, pero su costo es muy elevado y han caído en desuso.

Técnicas de elución:

1. Ascendente (lenta)
2. Descendente (más rápida)
3. Circular (muy lenta pero muy nítida)
4. Bidimensional (especial para mezclas muy complejas, puede emplearse en sentido ascendente o en el descendente). Una mezcla de flavonoides relativamente compleja puede analizarse satisfactoriamente por esta técnica*.

*T.J. Marby, K.R. Markam y M.B. Thomas, "The systematic identification of flavonoids", Springer-Verlag, 1970.

5. Elución continua (puede ser usada con las cuatro anteriores, se la conoce también como sobre-elución). Cuando el sentido del desarrollo es ascendente o circular puede ocurrir que los compuestos de mayor R_f se superpongan de nuevo al final del papel. En el desarrollo descendente dos compuestos de mayor R_f saldrán primero del papel, como si se tratara de una columna cromatográfica. Esta técnica es a veces empleada con fines preparativos.

6. Elución múltiple (una vez desarrollado el cromatograma hasta el final del papel, éste es sacado de la cámara y secado antes de introducirlo de nuevo en el solvente de elución que puede no ser el mismo). En cada caso hay que dejarlo equilibrar con los vapores de la fase estacionaria antes de la próxima corrida. De nuevo, para el caso de cromatografía ascendente o circular puede ocurrir la superposición de los compuestos de mayor R_f .

Fase móvil:

En todos los casos el sistema de solventes a emplear debe ser probado con anterioridad. Un método sencillo es poner una pequeña gota de la muestra sobre el papel de cromatografía, o un papel de filtro normal, y después de seca dejarle caer una gota del solvente de elución; de acuerdo a la difusión de la mancha decidir la modificación del eluyente. Como ejemplos generales pueden indicarse las siguientes fases móviles:

1. Ácidos carboxílicos y dicarboxílicos: propanol-hidróxido de amonio 6:4; acetato de etilo saturado con agua.
2. Fenoles: agua-ácido acético 9:1.
3. Flavonoides: benceno-ácido acético-agua 12:7:2.
4. Azúcares: acetato de etilo-agua-piridina 6:4:1.
5. Terpenos y esteroides: benceno-acetato de etilo 9:1, formamida hexano-benceno 1:2:9, propilenglicol-benceno 1:9.
6. Aminoácidos, péptidos: n-butanol-ácido acético-agua 4:1:5, n-butanol-ácido acético-piridina-agua 6:1:4:5.
7. Ácidos nucleicos: propanol-hidróxido de amonio-agua 7:1:2.
8. Alcaloides: ciclohexano-cloroformo-dietilamina 9:5:1, n-butanol-ácido acético-agua 9:2:1.

Detección:

Para la detección de los componentes en el cromatograma de nuevo existen muchos reactivos específicos, sólo se indicarán los más generales que son utilizados como rocío para:

1. Ácidos carboxílicos: solución de indicadores, azul de bromofenol

verde de bromocresol

2. Fenoles y flavonoides: cloruro férrico 0.1%; ácido pícrico en etanol al 1 % (después de secar se rocía con solución al 5 % de KOH en alcohol al 80 %).

3. Azúcares: p-anisidina en butanol húmedo al 3%, seguido de calentamiento

4. Terpenos y esteroides: solución saturada de pentacloruro de anti-monio en cloroformo.

5. Aminoácidos y péptidos: ninhidrina al 0.1 %; 8-hidroxiquinolina en acetona.

6. Alcaloides: reactivo de Dragendorff; ácido yodoplatínico.

Los reactivos de color, así como los eluyentes se encuentran bien descritos en la mayoría de los textos clásicos y manuales.

1.9.4. Cromatografía en capa fina

Es una variante de la cromatografía en columna o en papel, por lo que se aplican los mismos principios; la fase fija está formada por una capa uniforme de adsorbente que es la fase estacionaria en la cromatografía de adsorción, o que sirve como soporte de la fase estacionaria en la cromatografía de partición. Tiene como ventaja la rapidez del desarrollo y la versatilidad de las operaciones que sobre el estrato fino pueden hacerse. Se la abrevia como TLC (anglicismo, de Thin Layer Chromatography) en el caso de cromatografía analítica y como PLC (de Preparative Layer Chromatography) para la modificación preparativa. Por esta técnica pueden también ponerse en práctica, además de las anteriores, la cromatografía de intercambio iónico, la de permeación de gel y la de bioafinidad.

La fase fija se adhiere a una placa rígida, generalmente de vidrio, y puede prepararse en el laboratorio o comprarse en hojas llamadas cromatofolios que se cortan de acuerdo a las necesidades; en este caso el soporte es una hoja delgada de aluminio o de plástico (la hoja de aluminio permanece más rígida durante el desarrollo del cromatograma) y el espesor normal del estrato de adsorbente es de 0.1-0.2 mm, muy uniforme y más rápido que el fabricado en el laboratorio sobre una lámina de vidrio, el espesor del estrato es en general 0.25 mm en el caso de TLC y de 1 mm, en el caso de PLC.

Para la preparación de las placas analíticas se utiliza el método de inmersión de la placa de vidrio en una suspensión del adsorbente en agua o mejor, en cloroformo-metanol. Sin embargo, es recomendable emplear un esparcidor fabricado a propósito que asegura una capa uniforme del espesor deseado que va desde 0.25 hasta 1 mm. Las placas de vidrio plano y templado se colocan sobre una bandeja fija y después de lavadas y secadas se esparcen con una suspensión del adsorbente en agua destilada. En el caso de sílica gel se requieren 30 g en 60-70 ml de agua para cubrir 20 placas de 5 por 20 cm (ó 5 placas de 20 por 20 cm) y 0.25 mm de espesor; se dejan secar unas 12 h a temperatura ambiente y si se desea activarlas, se calientan en la estufa a 110°. Por la técnica de PLC se puede separar hasta unos 100 mg de muestra por cada placa de 1 mm de espesor y de 20 x 20 cm, siempre que la muestra no sea muy compleja. Para ello se aplica en una línea la muestra a separar y luego de eluir (a veces se necesita más de una elución para una separación nítida) las bandas contenidas de los productos (o mezclas menores) de la muestra aplicada son localizadas con luz UV o por rociado suave con agua, si los compuestos son poco polares y no sensibles a la hidrólisis. Por raspado de las zonas de la placa donde se encuentran los compuestos, se tiene fracciones del adsorbente con los diferentes componentes de la muestra original ya separados, los cuales se recuperan por extracción con un solvente apropiado.

Con esta técnica, analítica o preparativa, es difícil decidir si se trata de cromatografía de adsorción o de partición, pues es un compromiso entre ambas. Como regla general se acepta que las muestras no polares deben ser separadas usando materiales con fuertes propiedades adsorptivas (cromatografía de adsorción) como lo es la sílica gel y la alúmina y los eluyentes deben ser poco polares, mientras que para las muestras polares o solubles en agua debe usarse el principio de partición o fase reversa.

Los adsorbentes comerciales tienen aditivos (generalmente yeso) para aumentar la fuerza de adhesión al vidrio y estabilizar así el estrato, y/o indicadores para UV: fluoresceína de sodio (que fluoresce cuando se expone a la luz de 254 nm y los compuestos adsorbidos aparecen como manchas oscuras sobre un fondo verde) y el ácido sulfónico del hidroxipireno (que fluoresce a 366 nm y los compuestos se visualizan como manchas oscuras sobre fondo azul).

Hay una gran variedad de adsorbentes comerciales; los más frecuentes

son sílica gel, alúmina, celulosa, celita (tierra de diatomeas), poliamida, silicato de magnesio, RP-8 y RP-18. Pueden adquirirse además placas preparadas con gradientes de adsorción (diferente adsorptividad en diferentes regiones de la placa) y otros tipos preparados especialmente, por ejemplo la placa de alta resolución (HPTLC), con zonas de concentración de muestras y que resultan en general, muy costosos. El adsorbente más común es la sílica gel con granulometría de 20 a 100 μm .

Las placas pueden acondicionarse con nitrato de plata en las siguientes formas: a) rociar la capa preparada con una solución de nitrato de plata al 10% en alcohol; b) preparar la placa con una suspensión de sílica en una solución de nitrato de plata del 15 al 25%. Las mismas precauciones que las mencionadas antes deben observarse para esta técnica: oscuridad, elución con solventes no polares y no aromáticos. El ácido bórico adsorbido sobre sílica en una proporción del 10-20% se emplea para separar polihidroxocompuestos.

El acondicionamiento para la cromatografía de partición implica impregnar la placa con la fase estacionaria lo cual puede lograrse dejando ascender la fase por la placa o más rápidamente, sumergirla en ella. Esto último es menos conveniente pues en el manipuleo puede romperse el estrato. Para una cromatografía en fase normal se acostumbra a impregnar la placa con una solución al 20% de etilenglicol en metanol seguida por un secado de 3 h. Para una cromatografía en fase reversa se impregna con 5 % de parafina en éter de petróleo y se seca por 15 min. Hoy día se prefieren las placas prefabricadas (RP-8, ó RP-18).

Los métodos de elución son similares a los de cromatografía en papel. El descendente y el circular son menos frecuentes y requieren el primero de cromatofolios flexibles y el segundo de un equipo en forma de disco, que hace girar la placa, para la preparación del estrato adsorbente y para el desarrollo del cromatograma. Esta técnica puede utilizarse como cromatografía preparativa al coleccionar las franjas circulares que eluyen al final del estrato.

Existe un sistema que se usa principalmente para TLC y es el de desarrollo por pasos. La placa se desarrolla hasta la mitad con un solvente muy polar (e.g. MeOH) que arrastra todos los componentes no polares con el frente del solvente pero los polares se separan a lo largo de la mitad de la placa. Después de secada se desarrolla con un solvente poco polar que permite la

separación de los compuestos que están en el frente originado por el metanol

Para la aplicación de las muestras, si son analíticas se utilizan las mismas técnicas usadas en la cromatografía de papel, pero si son preparativas existen equipos que permiten introducir una cantidad determinada y uniforme automáticamente. La visualización de los compuestos puede hacerse tanto con luz UV o con reactivos de color (pueden usarse los mismos que para papel), además de vapores de yodo, sulfato cérico (estos últimos son muy versátiles y se emplean en la detección de una gran variedad de sustancias), etc. Las placas preparativas permiten recuperar la muestra de cada banda. Se raspa la sílica de la placa de vidrio y se extrae en frío por percolación o en caliente por extracción continua, con un solvente apropiado (una mezcla de cloroformo - metanoles de uso general).

1.9.5. Cromatografía centrífuga en capa fina

El equipo presenta un rotor inclinado que permite la recolección de las bandas circulares eluidas sobre un estrato circular, con la ayuda de la fuerza centrífuga generada durante el giro de la lámina circular que soporta el adsorbente. La mezcla a separar es aplicada cerca del centro de la placa que tiene una capa de 1 a 4 mm de espesor. En una placa de 2 mm de espesor se pueden aplicar de 50 a 500 mg de una mezcla a separar, dependiendo de la complejidad. La elución ocurre cuando el solvente que cae sobre la muestra aplicada se difunde ayudado con el giro de la placa soportada sobre el rotor, lo que produce círculos concéntricos para las diferentes fracciones que se mueven hacia la orilla y son recolectadas junto con el solvente. Ello permite usar varias veces las placas de adsorbentes sin destruirlas como ocurre en la técnica de PLC convencional. La utilización está limitada por la selección de la fase estacionaria, especialmente para muestras muy polares. El uso de solventes ácidos que dañan el equipo.

1.9.6. Cromatografías contracorriente

1.9.6.1. Distribución contracorriente

El método está basado en el principio de partición de una sustancia

en un sistema líquido-líquido. Si una mezcla de varios componentes se agita entre dos fases inmiscibles cada uno pasará a una u otra fase dependiendo de su coeficiente de distribución que en el caso ideal es independiente de la cantidad de sustancia pero es función de la presión y temperatura. El concepto de coeficiente de distribución (o reparto), es válido sólo si las sustancias se encuentran en la misma forma en ambas fases, es decir, no deben reaccionar, asociarse o disociarse.

En la separación contracorriente clásica se tiene, digamos, una batería de varios embudos de separación conectados en serie, llenados con iguales volúmenes de fase acuosa y orgánica, mutuamente saturadas y conectados de manera que con una inclinación apropiada sólo una de las fases pasa al embudo siguiente, cuando la muestra a separar se introduce en el primer embudo se disuelve y se agita, ocurre una primera distribución de acuerdo a la solubilidad de los compuestos en las fases. Después de permitir la separación de las dos capas se inclina el sistema de modo que sólo una de ellas pase al siguiente embudo donde la muestra disuelta se distribuye de nuevo, al tiempo que el primer embudo es recargado con la fase que se transfirió, la cual sale por el último embudo (en la práctica no se emplean embudos sino tubos que cumplen la misma función). El proceso se repite hasta que toda la muestra esté distribuida en todos los tubos de modo que en los extremos se acumularán los liposolubles en uno, y los hidrosolubles en el otro. Este proceso puede repetirse tantas veces como sea necesario, la mayoría de los equipos comerciales proveen una cantidad considerable de tubos (de 20 a 200) conectados en serie (aparato de Craig). Al repetirse la operación pueden resolverse mezclas de sustancias muy similares.

El uso de buffers es ideal para separar ácidos y bases con valores similares de pK. En los tubos intermedios la concentración de los componentes individuales variará de acuerdo a su posición y a la complejidad de la muestra. Esta técnica es ideal para enriquecer las fracciones diluidas en un determinado compuesto usando cantidades relativamente pequeñas de solvente.

1.9.6.2. Métodos cromatográficos

Hay dos tipos de cromatografía contracorriente sin soporte sólido y ambas se basan en una distribución contracorriente.

En la CCC (cromatografía contracorriente centrífuga) la fase estacionaria se coloca en una tubería de teflón enrollada sobre un rotor el cual gira al rededor de un eje a gran velocidad al mismo tiempo que la fase móvil entra por un extremo y sale por el otro. El movimiento centrífugo produce una agitación vigorosa mezclando y separando las dos fases repetidamente y por ende, los componentes de la mezcla.

La técnica DCC (cromatografía contracorriente a la gota) se lleva a cabo pasando diminutas gotas de una fase móvil a través de una columna hecha con fase estacionaria. Los equipos comerciales constan de unos 200 a 600 tubos de vidrio de pequeño diámetro (la columna) colocados verticalmente y conectados en serie con tubería de teflón. La fase móvil puede ser más o menos densa que la estacionaria y de ello depende el sitio de introducción de la fase móvil en la columna (por arriba si la fase móvil es más densa que la estacionaria, y desde abajo en caso contrario). La ausencia de soporte tiene la ventaja de evitar la adsorción (a veces irreversible) de los solutos altamente polares que ocurre en la cromatografía de columna convencional. Los mejores resultados se han obtenido con mezclas de agua-cloroformo-metanol en proporciones adecuadas para generar dos fases y se usa la menos polar como la móvil, que eluye primero los componentes menos polares. Los C- como O-glicósidos se retienen mejor en la fase más polar.

La limitante de esta técnica es el tamaño de la gota que debe formarse con un diámetro similar al diámetro interno de la columna, para lo cual se emplean varillas huecas de 40 - 50 cm de longitud y de 2 a 3 mm de luz. Las columnas son conectadas en serie en número variable. Los aparatos comerciales están equipados con paquetes de columnas que pueden ser adicionados de acuerdo a las necesidades.

Una variante de este procedimiento lo constituye la cromatografía contracorriente de rotación locular en la cual se prepara una columna perforada centralmente de modo que ésta presenta una serie de lóculos, en cada uno de los cuales se forma una interfase de dos solventes inmiscibles, donde el soluto se reparte entre las fases móvil y estacionaria. Se promueve una de las fases al siguiente lóculo tanto por rotación como por giro al inclinar la columna unos 30°, con ello cada lóculo se llena con la fase inferior. La fase superior móvil es introducida continuamente desde el fondo. Así, el soluto está sujeto a una partición por pasos múltiples. Se dispone de equipos comerciales.

1.9.7. Cromatografía de intercambio iónico

Un intercambiador de iones es un material insoluble en agua que tiene grupos funcionales capaces de intercambiar iones de carga similar de la solución circundante. Hay materiales sintéticos y naturales, orgánicos e inorgánicos; entre estos últimos se encuentran zeolitas, óxidos y fosfatos de metales del grupo IV. Entre los orgánicos naturales: algodón, papel, que son sulfonados o fosfatados. Los más frecuentemente empleados son resinas de intercambio iónico y su poder de retención depende de i) número de grupos ionogénicos por unidad de superficie; ii) grosor de las partículas; y iii) afinidad electrostática. El proceso es un simple equilibrio ácido-base, donde la reversibilidad depende de la concentración y de la fuerza de los iones. Las resinas tienen generalmente una matriz de derivados de poliestireno, celulosa, polidextran o agarosa, y se las puede clasificar de acuerdo a los grupos iónicos en:

1. Resinas aniónicas (intercambian cationes) que pueden ser:
 - a. $R-SO_3^-$ fuertemente ácidaDowex 50
 - b. $R-PO_3^-$ medianamente ácidaDuolite C-63
 - c. $R-CH_2-CO_2^-$ débilmente ácidaAmberlite CG-50
2. Resinas catiónicas (intercambian aniones) que pueden ser:
 - a. $R-CH_2-NMe_3^+$ fuertemente básicaDowex 1-AG
 - b. $R-NHMe_2^+$ medianamente básicaDuolite A-30
 - c. $R-C_2H_4NH_3^+$ débilmente básicaAmberlite 45
3. Resinas anfotéricas. Pueden intercambiar ambos aniones y cationes, pues presentan ambos grupos, frecuentemente un ácido sulfónico y una sal de trimetilamonio. Estas resinas son capaces de formar quelatos internos, son las más costosas.

La selección de la resina depende de la finalidad de esta técnica. Por ejemplo, si se desea separar ácidos fuertes de débiles, se utilizará una resina medianamente débilmente básica en la cual sólo los fuertes son retenidos.

Las resinas se empacan en columnas generalmente para lo cual es necesario acondicionarlas primero, pues comercialmente vienen casi secas y deben ser dejadas en reposo con agua (el intercambio iónico tiene lugar en agua, por tanto la cromatografía de intercambio procederá en medio acuoso). Esto provoca el aumento del volumen de las resinas conocido como hinchamiento (swelling) que se debe a un efecto osmótico considerable que la

concentración de iones en el interior del grano de la resina es mayor que la del medio y hay un flujo de solvente al interior del grano tratando de decrecer esa concentración. El sobrenadante se decanta y el proceso se repite varias veces. Si las partículas son muy finas (especialmente en el caso de povidona o agarosa) es necesario utilizar centrifugación. Una vez hinchadas las resinas se ponen en contacto con la solución del contraíón que será desplazado por la muestra, se lava hasta la neutralidad para asegurar que toda la resina ha intercambiado el contraíón y luego se equilibra con la mezcla de solventes donde se disuelve la muestra.

Debido a la baja solubilidad en agua de las moléculas orgánicas poco polares, es necesario emplear un cosolvente (etanol, acetona, etc.) que ayude a solubilizar la muestra. Se pasa la muestra hasta que se detecte la saturación de la columna (analizando el eluyente), se lava con la mezcla de solventes hasta detectar que no salen iones de la columna y se eluyen los componentes de la muestra introducida con una base o un ácido, según el caso.

El orden de elución dependerá de la naturaleza iónica, los más débiles serán desplazados primero. Los más fuertes son desadsorbidos aumentando la concentración de los iones en el eluyente. Para la cromatografía de intercambio existen tres técnicas de elución:

a. Desplazamiento. Supongamos que la muestra a eluir tenga tres componentes B, C, D, cuya afinidad por la resina en su forma A está en el orden $A < B < C < D$. Al comienzo una banda que contiene los tres componentes se forma en el tope de la columna. Cuando se eluye con una solución que contiene E cuya afinidad por la resina es mayor que para cualquiera de los anteriores, los componentes se moverán a lo largo de la columna con diferente velocidad y saldrá primero el de menor afinidad: A, luego B y así sucesivamente.

b. Desarrollo de elución. De nueva mezcla de B, C y D se introduce en la columna en la forma A y se eluye con solución de A. En este caso la concentración de A sobrepasa a los anteriores y la elución comienza por el de menor afinidad: B, y le siguen los otros.

c. Análisis frontal. En este caso la solución de B, C y D es alimentada continuamente en la columna, si el orden de afinidad de la resina es $D > C > B > A$, se desplazará primero A luego B, y así sucesivamente. Generalmente las separaciones no son nítidas.

Teniendo en mente los tres métodos de elución puede inferirse que esta técnica es utilizable para: a) purificación de muestras (impurezas polares y no polares, según el caso), b) intercambio de aniones y cationes, c) separación de especies, d) concentración de ciertas especies - por ejemplo para compuestos minoritarios - cuando éstos pueden ser retenidos en la columna, e) otros.

1.9.8. Cromatografía de gel

El principio de esta técnica es la separación de las moléculas por su tamaño y forma. Tiene su principal aplicación en el estudio de polímeros, pues cubre un amplio intervalo de PM (aproximadamente de 200 a 10.000.000 Da). Se conoce a veces como filtración de gel; los geles que se usan como material filtrante tienen poros y canales y sólo serán retenidas dentro de éstos las moléculas cuyo PM tenga hasta un cierto valor, aquellas mayores pasarán.

Hay dos tipos de geles: a) Xerogeles (por ejemplo Sephadex) constituidos por macromoléculas lineales y unidas entre sí por puentes de hidrógeno y enlaces covalentes, que forman una matriz insoluble con tamaño de poros definido; se los usa en agua, donde el gel se hincha considerablemente y/o en solventes orgánicos, donde el gel hinchado colapsa y se encoge. Sephadex LH-20 es muy usado para la separación de metabolitos secundarios. b) Xerogeles formados por matrices sólidas inertes, contienen pequeños canales y poros llenos de aire si el gel está seco, el aire es desplazado por el solvente por tanto el volumen del gel no cambia.

Un ejemplo típico de estos geles es el vidrio poroso. Entre los geles más comunes están los polisacáridos (polidextran, agarosa) que son atacados por microorganismos, y los sintéticos como la poliacrilamida no atacada por hongos.

Cuando esta técnica se aplica para determinar pesos moleculares promedio, el valor deducido depende de la calibración de las columnas (contra un patrón de PM conocido), las cuales frecuentemente son empaquetadas con material de diferente tamaño de poro promedio arreglado en serie y es preferible utilizarlas para analizar materiales químicamente similares al polímero.

1.9.9. Cromatografía de bioafinidad

Requiere de un ligando bioespecífico (o afinante) anclado sobre una matriz inmovilizada. El afinante se enlazará bioespecíficamente con la sustancia a ser purificada y después de lavadas las impurezas, es desadsorbida con un solvente apropiado. La matriz es generalmente esférica de la cual los grupos hidroxilo pueden derivarse fácilmente por su unión covalente con el ligando, que debe exhibir una afinidad específica y reversible con la sustancia a ser purificada. El ligando también debe tener grupos químicamente modificables que le permitan unirse a la matriz sin que su actividad se destruya. Las fuerzas que mantienen unidos los complejos matriz-afinante-sustancia son interacciones electrostáticas, efectos hidrofílicos y puentes de hidrógeno. Los eluyentes que destruyen la unión afinante-sustancia, pueden ser selectivos si son usados en combinación con afinantes generales o no selectivos si se usan con afinantes específicos. Hay que tener en cuenta el riesgo de usar solventes no selectivos por cuanto pueden desnaturalizar el material eluido. El pH, la fuerza iónica y la afinidad de la muestra con el ligando deben ser tomados en cuenta en la selección de los sistemas.

La cromatografía de afinidad se utiliza en general, para purificar moléculas biológicas, pero también puede aplicarse para la concentración de soluciones diluidas, almacenamiento de proteínas inestables sobre ligandos inmovilizados, separación de material desnaturalizado u otras formas modificadas de sustancias nativas en reactores con enzimas inmóviles, para la preparación de sueros y otros.

1.9.10. Electroforesis

Las sustancias que difieren en sus puntos isoeléctricos migran con diferente movimiento electroforético (propiedad que tienen las partículas ionizadas al estar sometidas a un campo eléctrico) hasta la posición en la cual el valor del pH es igual al punto isoeléctrico de cada una. En este punto, donde una sustancia se detiene, ocurre un fenómeno "quasi-estacionario" donde la difusión en el medio líquido es compensada por el campo eléctrico en el gradiente de pH sobre el cual la sustancia se ha movido. Obviamente, una sustancia puede migrar como anión o como catión o permanecer en el origen simplemente ajustando el pH. En el punto isoeléctrico la sustancia es neutra o

no ionizada. Los factores que afectan la movilidad son de dos tipos: aquellos propios de los iones mismos y los debidos al sistema en el cual el experimento tiene lugar. Para los primeros hay que considerar el tamaño y la carga; los más pequeños migrarán más rápido aunque hay moléculas grandes como las proteínas que pueden presentar varias cargas y así la movilidad dependerá de la relación masa/carga. De los factores externos, el gradiente de voltaje, el pH del buffer, la concentración del buffer, la difusión y la viscosidad del medio, deben ser tomados en cuenta.

El soporte para estas separaciones es una matriz sólida generalmente una tira de papel o un folio de geles de poliacrilamida, agarosa, etc., los cuales pueden adquirirse ya impregnados con reactivos específicos para la separación de varias clases de compuestos: péptidos, proteínas, ácidos nucleicos, sobre el cual se aplica la muestra y cuyos extremos están sumergidos en un líquido (buffer) que asegura los contactos adecuados con los electrodos.

Cuando la corriente pasa la muestra se separa en sus componentes iónicos que migran al cátodo o al ánodo de acuerdo a su movilidad electroforética. Las proteínas y otras moléculas hidrofílicas que presentan gran tendencia a formar puentes de hidrógeno con la celulosa no se separan nítidamente, originando "colas", pero si se sustituye el soporte por acetato de celulosa disminuye la posibilidad de formación de puentes de hidrógeno, el soporte no retiene buffer, con lo cual se pueden aplicar voltajes mayores y como resultado la separación es más definida.

El papel puede sustituirse por soportes de celita o de sílica gel (combinación de TLC y electroforesis) en cuyo caso las manchas son más pequeñas y el desarrollo de la placa es más rápido que en papel. La evaporación del solvente sobre el soporte ocurre debido al calor que se genera durante el paso de la corriente, así más buffer pasa al soporte decreciendo la resistencia del mismo. Si el buffer está constituido por sustancias orgánicas el pH se convierte en un factor crucial, porque de él depende la ionización del buffer.

La concentración también es importante, mientras mayor es la cantidad de corriente que pasa a través del buffer más lenta será la migración de la muestra, los buffers orgánicos serán además apropiados porque en su forma no iónica pueden ser volátiles y pueden ser eliminados del soporte fácilmente.

La electroforesis continua es un método donde el buffer se mueve perpendicularmente al campo aplicado, es así una combinación de cromatografía y electroforesis y se usa principalmente para fines preparativos.

En la última década se ha desarrollado la electroforesis capilar como un método alternativo de alta resolución y complementario de la HPLC y CG para analizar metabolitos secundarios. El fundamento de la separación es esencialmente igual a la electroforesis normal pero se usa una columna capilar de sílica fundida como matriz en lugar de papel, acetato de celulosa, acrilamida, etc. Como en la electroforesis es necesaria la presencia de cargas en los compuestos a separar: los compuestos nitrogenados como los alcaloides y los fenólicos como flavonoides pueden convertirse a especies cargadas ajustando el pH, pero los compuestos neutros tanto hidrofílicos (ej. glicósidos) como lipofílicos (terpenos) deben ser transformados a complejos iónicos (boratos de cis-1,2-dioles) y complejos micelares generados por surfactantes aniónicos (dodecilsulfato de sodio) o catiónicos (bromuro de cetiltrimetilamonio)*.

1.10. Análisis espectroscópico

La elucidación de las estructuras moleculares de los productos naturales puede constituir una meta en sí misma o ser una etapa clave para trabajos posteriores. El análisis cristalográfico por rayos X es el medio más directo para determinar las estructuras, incluyendo la configuración absoluta. Aunque esta técnica se usa con cierta frecuencia debido a la comercialización de los aparatos automatizados, su aplicación en el área de los productos naturales es todavía limitada por cuanto es condición indispensable disponer de cristales perfectos de compuestos puros. Los métodos espectroscópicos, especialmente resonancia magnética nuclear (RMN), infrarrojo (IR), ultravioleta y visible (UV/VIS) y espectrometría de masas (EM) son de uso cotidiano en este campo. A continuación se revisará muy brevemente estos métodos en el entendido que ellos están descritos en cualquier texto de métodos físicos para la elucidación estructural y que además, se cuenta con innumerables datos tabulados para familias de compuestos, en catálogos, artículos de revisión, referencias bibliográficas y aun datos computarizados que permiten por comparación,

*F.A.T omas-Barberan " Capillary electrophoresis. A new technique in the analysis of plant secondary metabolites". *Phytochemical Analysis*, 6, 177, 1995.

asignar estructuras bien sea de compuestos conocidos o nuevos pero relacionados a otros ya identificados, o al menos, deducir estructuras parciales.

El procedimiento conocido como "Transformadas de Fourier" ha contribuido considerablemente al desarrollo de los métodos espectrales, incluyendo la instrumentación para el acoplamiento de los mismos a equipos cromatográficos. El principio consiste en registrar repetidamente numerosos espectros (datos), por ejemplo de IR o de RMN, irradiando la muestra en todo el intervalo de análisis de la técnica espectroscópica elegida, a la vez y en un tiempo muy corto.

Los datos son almacenados en un sistema de cómputo los cuales, después de un análisis matemático de Fourier, se convierten en un espectro de alta resolución. La información así obtenida puede usarse para diferentes fines; por ejemplo, un espectro de IR puede expresarse en número de ondas (cm^{-1}) o en longitud de onda (μm) a partir de un mismo juego de datos y puede identificarse el compuesto a través de un banco de datos acoplado al sistema. Como se requiere sólo de pequeñas cantidades de muestra es posible acoplar los aparatos espectroscópicos a equipos cromatográficos y en una sola operación, separar y analizar espectroscópicamente los componentes de mezclas más o menos complejas.

RMN: El método se basa en la absorción de energía por cambio de espín nuclear de átomos sometidos a un campo magnético externo. El análisis del espectro de RMN ofrece evidencias bastante explícitas sobre las características de los núcleos que conforman una dada molécula, y los más frecuentemente analizados son ^1H , ^{13}C , ^{15}N , ^{19}F , ^{31}P , siendo los dos primeros utilizados en análisis de rutina. Los desplazamientos químicos de las señales de RMN de ^1H (0 - 20 ppm) y de ^{13}C (0 - 200 ppm) dan información acerca de la naturaleza de hidrógenos (alifáticos, aromáticos, olefínicos, geminales y/o unidos a heteroátomos etc.) y de carbonos (en dobles ligaduras, aromáticos, carbonílicos, oxigenados, etc.). Por la integración de las señales y el acoplamiento espín-espín (multiplicidad de la señal y magnitud de la constante de acoplamiento) que se observa en el espectro de protones, se deduce el número de hidrógenos y el modo de distribución en la molécula, mientras que el número de señales presentes en el espectro de carbono (registrado por la técnica de desacoplamiento de ruido de protones, PND) indica el número de carbonos presentes en la estructura. En los espectros donde se preserva el acoplamiento C-H la

multiplicidad de la señal evidencia el número de átomos de hidrógeno unidos al carbono responsable de la señal (cuadruplete para un CH_3 , triplete para un CH_2 , doblete para un CH y singlete para un carbono cuaternario). Las técnicas de pulsos y Transformadas de Fourier en una y dos dimensiones ofrecen información estructural mucho más directa y presentan ventajas enormes cuando se trata de esqueletos nuevos, pero relacionados a los ya conocidos. Estas técnicas cobran a diario mayor importancia.

A continuación se indica el fundamento de algunos experimentos de mayor popularidad en una y dos dimensiones que están destinados a establecer correlaciones homoy heteronucleares en la molécula.

a) Una dimensión (1D):

Desacoplamiento homonuclear de protones. Al irradiar el protón A que está acoplado con el protón B, se simplifica la multiplicidad del último (y viceversa). Puede aplicarse para sistemas de más de tres protones en acoplamiento.

PND (Proton Noise Decoupled). Al irradiar zonas de protones para eliminar acoplamiento C-H se obtiene un espectro de ^{13}C en el cual cada señal (singlete) corresponde a uno de los carbonos presentes en la molécula, excepto por la existencia de simetría en la molécula o por solapamiento accidental de las señales.

ATP (Attached Proton Test), INEPT (Insensitive Nuclei Enhancement by Polarization Transfer) y DEPT (Distortionless Enhancement by Polarization Transfer). Por la técnica de pulsos múltiples se catalogan los carbonos según el número de hidrógenos enlazados a ellos. Por ATP los grupos CH_3 y CH se manifiestan como singletes en la fase negativa y los CH_2 y C cuaternario, como singletes en la fase positiva. Con INEPT y DEPT-135 (en DEPT-135 CH_3 y CH en la fase positiva, CH_2 en la negativa) se obtiene el mismo resultado, excepto que el C cuaternario no se detecta. Con DEPT-45 todos los carbonos que tienen unidos hidrógenos dan señales positivas y el C cuaternario no se observa. Con DEPT-90 se revelan los picos de C-H.

NOE (Nuclear Overhauser Enhancement) Al irradiar un protón o un grupo de protones A, que se encuentran espacialmente cerca de otro B, cambia -generalmente incrementa- la intensidad de la señal de B. El incremento puede observarse utilizando la técnica de desacoplamiento homonuclear o bien, del espectro original se sustrae el correspondiente irradiado lo que produce el NOE diferencial en el cual las señales no relacionadas en el irradiado se quedan en la línea de base, así las que han incrementado en el NOE se

destacan como picos.

b) Dos dimensiones (2D):

^1H - ^1H (homonuclear) COSY y ^1H - ^{13}C (heteronuclear) COSY (Correlated Spectroscopy): H-H COSY correlaciona todos los desplazamientos químicos de protones sobre carbonos contiguos ($\text{H}-\text{C}-\text{H}$), con lo cual es posible ubicar los protones vecinos que están acoplados. ^1H - ^{13}C COSY correlaciona los desplazamientos químicos de un protón (o protones) que está (n) unido (s) a un carbono particular lo que facilita la asignación espectroscópica de ambos núcleos. Esta última técnica también se conoce como HETCOR (Heteronuclear COR relation).

HMQC (Heteronuclear Multiple Quantum Coherence). Se obtiene la misma información que resulta del ^1H - ^{13}C COSY o HETCOR, o sea, la conectividad C-H. La ventaja de esta técnica es que necesita una menor cantidad de muestra, ya que la correlación C-H se establece a través del hidrógeno, mientras que en HETCOR se hace mediante carbono.

HMBC (Heteronuclear Multiple Bond Correlation). Informa sobre la correlación (a través de hidrógeno) entre protones unidos a carbono o heteroátomo y carbonos separados por dos y tres enlaces: $\text{H}-\text{C}(\text{X})-\text{C}-\text{C}$. La conectividad a larga distancia también puede ser establecida por otras técnicas: INEPT (1D), COLOC, relayed COSY, TOCSY.

NOESY (Nuclear Overhauser Enhancement Spectroscopy). Informa sobre la correlación entre protones espacialmente cercanos. Para tal fin hay otra técnica. ROESY (Rotating-frame Overhauser Enhancement Spectroscopy)

Para finalizar, las técnicas de 1D y 2D RMN facilitan tremendamente la determinación estructural de compuestos orgánicos complejos y eventualmente se emplean para confirmar o revisar las estructuras supuestamente ya establecidas. Además, el desarrollo de nuevas técnicas de 2D y el análisis de espectros con la asistencia computacional, ponen de manifiesto la particular importancia de este método espectroscópico. Algunos procedimientos de 3D y 4D RMN están en desarrollo; pero por razones de sensibilidad los que involucran la correlación ^1H - ^1H son más prometedores.

IR: Las bandas que se observan en los espectros de infrarrojo ($4.000 - 200 \text{ cm}^{-1}$), se relacionan con el cambio de los estados vibracionales y rotacionales de los enlaces presentes en la molécula. La posición e intensidad de las bandas correspondientes a un grupo funcional, que generalmente

aparecen distribuidas en varias zonas más o menos constantes del espectro son muy poco afectadas por el resto de la molécula, por lo tanto el análisis del espectro ofrece información sobre los grupos funcionales presentes en la molécula, tales como OH, NH, CO, etc., así como del carácter alifático o/y aromático del compuesto. La región comprendida entre 1.350 y 900 cm^{-1} representa las "huellas dactilares" de la molécula, pues las bandas de esa región corresponden a las vibraciones y rotaciones del esqueleto carbonado y por lo tanto son muy sensibles a los diferentes arreglos moleculares, aun para sustancias muy similares. Por esta razón esta zona debe considerarse cuidadosamente al establecer la identidad de dos muestras por comparación de sus espectros IR.

Hoy día FT-IR es de amplio uso por su gran sensibilidad y poder de resolución lo cual facilita el acoplamiento con equipos cromatográficos (CG y HPLC). Además el manipuleo computacional de los datos espectroscópicos permite compararlos con los almacenados en la "librería" o banco de datos, bien sea para la identificación de una muestra problema o para sustraer los datos almacenados de aquellos experimentales de una mezcla compleja y así al simplificar el espectro se facilita el análisis de la misma.

UV/VIS: Se correlaciona con las transiciones electrónicas, es decir, la transición de un electrón desde un estado fundamental (correspondiente a los orbitales enlazantes o no enlazantes) a un estado excitado (correspondiente a orbitales anti enlazantes). La absorción de la energía requerida para esa transición se registra en la región ultravioleta ($190 - 380\text{ nm}$) o/y en la región visible ($380 - 700\text{ nm}$). En contraste con RMN e IR las señales en el espectro UV/VIS son muy anchas debido a los múltiples cambios de estados vibracionales y rotacionales que acompañan a las transiciones electrónicas. Para que se observe una absorción máxima debe existir en la molécula un cromóforo, generalmente conjugado, por ejemplo un sistema de insaturaciones múltiples, tal como dieno, enona, aromático, etc. La longitud de onda y la intensidad de la absorción son características del sistema y de las sustituciones que sobre él ocurren. De esta manera la técnica permite detectar la presencia de un determinado cromóforo el cual origina prácticamente el mismo patrón espectral, independientemente de la estructura total de la molécula.

La absorción UV-VIS es aprovechada en detectores de aparatos de HPLC, seleccionando una determinada longitud de onda, dependiendo del cromóforo presente en la molécula (254 nm es la más versátil) o registrando el

espectro con la ayuda de un arreglo de diodo, para cada pico cromatográfico por separado. Esto se emplea para fines de caracterización.

Un método espectroscópico relacionado es la Dispersión Óptica Rotatoria: ORD (Optical Rotatory Dispersion) y su alternativa Dicroísmo Circular: CD (Circular Dichroism). Para ello se irradia con luz polarizada y se registra la rotación óptica en el mismo intervalo de UV-VIS. Los compuestos quirales que tienen un cromóforo que absorben en el UV pueden dar curvas anómalas que se correlaciona con la estereoquímica de la molécula. Ello se conoce como Efecto Cotton, el cual tiene una aplicación importante para la determinación de la configuración y conformación del centro quiral en compuestos cíclicos cetónicos mediante la conocida "regla del octante".

EM: Un compuesto orgánico que se expone a una corriente de electrones de alta energía (frecuentemente a 70 eV) se degrada en fragmentos de los cuales las especies con cargas positivas se separan por el campo magnético y se registran en el espectro de EM según la unidad de masa por el número de cargas positivas (m/z , donde $z=1$ generalmente). Este tipo de espectrometría de masas se denomina LRM S o LREIM S (Low Resolution Electron Impact Mass Spectrometry). Un aparato de alta resolución: HRMS (High Resolution Mass Spectrometry) registra la unidad de masa del ion molecular (la molécula que pierde un solo electrón sin degradarse), además de los fragmentos con hasta cuatro o más cifras decimales, lo cual permite establecer la fórmula molecular correspondiente. La fragmentación, es decir, el proceso de degradación, es una característica de las diferentes clases de compuestos, y esto es aprovechado para la ubicación de ciertos grupos funcionales en entornos particulares de la molécula.

Para la ionización por impacto electrónico (EI) la muestra debe estar en estado gaseoso, o la menos tener una cierta presión de vapor, así que esta técnica es apropiada para combinarla con un aparato de cromatografía de gases. Además el patrón de fragmentación que se obtiene facilita la identificación del compuesto por comparación con los datos de una "librería" (registro computarizado de datos logrados mediante una técnica particular, para una serie de moléculas que permite la identificación de un compuesto).

Las masas con carga positiva (aunque hay espectrómetros que registran cargas negativas) se separan también según la relación m/z mediante

un analizador de cuadrupolo en lugar del método del separador por campo magnético. Las librerías comerciales están constituidas con base de datos logrados con instrumentos EI y analizadores cuadrupolares, de manera que es conveniente utilizar instrumentos con estas características para la identificación de compuestos utilizando las librerías.

Hoy día existe una variedad de técnicas de ionización particularmente útiles para detectar el ion molecular al cual falla frecuentemente con el empleo de ionización por impacto electrónico. Entre los más populares se cuenta con CI (Chemical Ionization, se observa el ion $M+1$ como pico base) y FAB (Fast Atom Bombardment) en el cual se observa el ion $M+X$ siendo $X = Na$ o K). Otros métodos: SIMS (Secondary Ion MS), ES (ElectroSpray) TS (ThermoSpray), MALDI (Matrix Assisted Laser Desorption Ionization), FD (Field Desorption), FI (Field Ionization) y PD (Plasma Desorption), se emplean en casos particulares.

Asimismo, existen diferentes técnicas para separar y analizar las especies cargadas según el m/z , los cuales ofrecen diferentes grados de resolución y ellas son: Ion Trap Analyzer, Time-of-Flight (TOF), Analyzer and Fourier Transform-Ion Cyclotron Resonance (FTICR o FTMS).

Un espectrómetro puede tener diferentes métodos de ionización y diferentes tipos de analizadores los cuales son combinados a conveniencia. También puede aplicarse espectros de masas en serie: Tandem MS (MS-MS) para analizar en detalle un fragmento proveniente de un EM anterior*.

Métodos espectroscópicos como los indicados tienen diferentes fundamentos y, en consecuencia, ofrecen datos complementarios y frecuentemente contundentes acerca de la estructura molecular. Además, los análisis espectroscópicos, no destructivos, requieren de cantidades desde muestras relativamente pequeñas (50 mg es en general suficiente para llevar a cabo los cuatro espectros en equipos convencionales y 5 mg en equipos FT) en comparación con el método químico, destructivo.

*M.A. Baldwin "Modern mass spectrometry in bioorganic analysis", Nat. Prod. Reports, 12, 33, 1995.

Los métodos espectroscópicos no sólo sirven para la elucidación estructural sino que también pueden aplicarse en el análisis de mezclas, lo cual orientará los trabajos a seguir para la separación y purificación de los compuestos. La espectroscopía de RMN de carbonos es quizás la más útil para el análisis de mezclas debido a que se logran informaciones individuales de cada carbono y por ello de cada componente.

Aunque la espectrometría de masas es ampliamente usada en combinación con cromatografía de gases y HPLC para el análisis, aún cuantitativo, de mezclas orgánicas, permite además el manejo de microcantidades, pero es necesario disponer de los patrones correspondientes o al menos el sistema de archivo computarizado. Día a día se combinan y automatizan los aparatos cromatográficos con instrumentos espectroscópicos e inclusive, con las fases de bioensayo*.

*K. Hostettmann, J-L Wolfendery S. Rodríguez. "Rapid detection and subsequent isolation of bioactive constituents of crude plant extract". *Planta Medica*, 63, 2, 1997.

CAPÍTULO 2

COMPUESTOS ALIFÁTICOS

2.1. Introducción

En la naturaleza son muy frecuentes los ácidos grasos y los compuestos relacionados con ellos y constituyen un grupo de sustancias alifáticas diferentes a los terpenoides. Se presentan tanto en animales como en vegetales y sus estructuras son bastante más sencillas que la mayoría de los metabolitos secundarios. Pueden agruparse en: ácidos grasos y sus derivados, poliacetilenos, prostaglandinas y sus análogos, acetogeninas alifáticas y otros compuestos. Presentan en su mayoría, estructuras acíclicas poco ramificadas, las cuales se forman por condensaciones sucesivas de unidades de acetato-malonato. Esta combinación lineal iniciada por la acetilcoenzima-A y propagada por malonilcoenzima-A, origina compuestos formados por $2n$ -átomos de carbono.

La primera evidencia experimental de la importancia del ácido acético en la biosíntesis de estos compuestos fue suministrada por Bloch en 1945, quien obtuvo ácidos grasos marcados isotópicamente a partir de hígados de ratas alimentadas con acetato marcado. Posteriormente Birch (1953) y Robinson (1955) intuyeron que los compuestos aromáticos se originaban de «policétidos» formados a través de condensaciones cabeza-cola de las unidades de acetato, y por ello se pensó que también un policétido era precursor de los ácidos grasos, los poliacetilenos y otros compuestos alifáticos. Esta teoría fue posteriormente descartada cuando se demostró que en la formación de los ácidos grasos, a

Compuestos Alifáticos

diferencia de los policétidos aromáticos, intervienen, en el transcurso del ensamblaje de la cadena, enzimas que reducen el grupo carbonilo generado durante la condensación, antes que ocurra la adición de una nueva unidad de dos carbonos a partir de malonilcoenzima-A

2.2. Ácidos grasos y compuestos relacionados

Las grasas han llamado la atención de los químicos desde tiempos remotos por cuanto son constituyentes de los alimentos. Su presencia es generalizada en todos los organismos vivos en los cuales cumple una función protectora (grasas superficiales) o como almacén energético (grasas internas). Aunque la grasa natural es principalmente, una mezcla de triglicéridos de ácidos grasos, hay otros componentes también presentes, en especial en las grasas superficiales, y entre ellos los más frecuentes son ceras e hidrocarburos. En la tabla 2-1 se ilustra la distribución principal de las familias químicas que componen las grasas naturales

Tabla 2-1. Constituyentes de las grasas naturales y su distribución.

Clase	Distribución (a)
Hidrocarburos	
alcanos	bacterias, hongos, algas, plantas superiores, insectos, animales superiores (incluye mamíferos)
olefinas	bacterias, algas, (menos frecuente en insectos y animales superiores)
alcanos cíclicos	plantas
isoprenoides	plantas, organismos marinos
Cetonas	
monocetonas	plantas superiores, bacterias
β-dicetonas	plantas superiores
Aldehídos	
Alcoholes	
primarios	bacterias, algas, plantas superiores, insectos, animales superiores
secundarios	plantas superiores, insectos

Fitoquímica Orgánica

Dioles	
1,2-dioles (diésteres)	aves, mamíferos, plantas
1,3-dioles (diésteres)	aves
α, ω -dioles	plantas
Ácidos	
alcanoicos y alquenoicos	en todos los organismos vivos
α y ω -hidroxiácidos	mamíferos (diésteres), plantas superiores
Esteres de	
alcoholes primarios (ceras)	bacterias, hongos, algas, plantas superiores, animales superiores
alcoholes secundarios	insectos
hidroxiácidos	mamíferos, insectos
triglicéridos	en todos los organismos vivos
de hidroxiácidos	mamíferos, aves, insectos
poliésteres de hidroxiácidos	plantas superiores (b)
Terpenoides	plantas, animales (c)

(a) Tomado de "Chemistry and Biochemistry of Natural Waxes", Ed. P.E. Kolattukudy, Elsevier 1976.

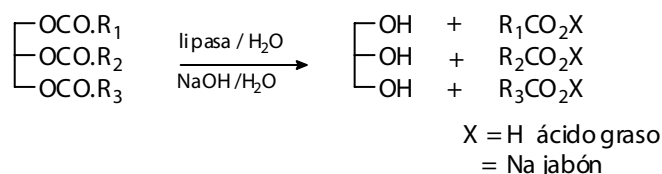
(b) El ejemplo típico es la cutina, un biopolímero componente estructural de la cutícula.

(c) Los triterpenos pentacíclicos están en vegetales incluyendo ciertas ceras, mientras que los esteroides se encuentran tanto en animales como en vegetales.

Se denomina grasa natural a una mezcla de ésteres de glicerina y ácidos grasos, en consecuencia éstos se obtienen por hidrólisis alcalina de las grasas. Las grasas sólidas (o pastosas) están constituidas principalmente por glicéridos de ácidos grasos saturados, mientras que a los aceites los conforman ácidos insaturados. Por hidrogenación catalítica se convierten en grasas sólidas (endurecimiento), de modo que la plasticidad y consistencia puede en parte, controlarse por hidrogenación parcial. Los aceites insaturados absorben oxígeno del aire aumentando su viscosidad como resultado de la polimerización, y forman productos resinosos que son usados en pinturas y barnices, se los conoce como aceites secantes. La oxidación es también la causa parcial del enranciamiento debido a la formación de compuestos cetónicos provenientes de la descomposición de los peróxidos que se forman en los sitios de insaturación.

Compuestos Alifáticos

de la cadena del ácido graso. Los aldehídos especialmente de cadena corta, son los causantes de los gustos y olores característicos de los alimentos rancios. La lipólisis o hidrólisis del éster: ácido graso-glicerina, producida por acción enzimática, por reactivos químicos y especialmente por calentamiento prolongado, es también responsable del enranciamiento de la grasa y es un importante factor económico en el procesamiento de las grasas naturales.



La mayoría de los ácidos grasos son monocarboxílicos, de cadena recta con un número par de átomos de carbono (usualmente 12, 14, 16 y 18), algunos tienen insaturaciones siendo las más frecuentes en C-9, con estereoquímica cis.

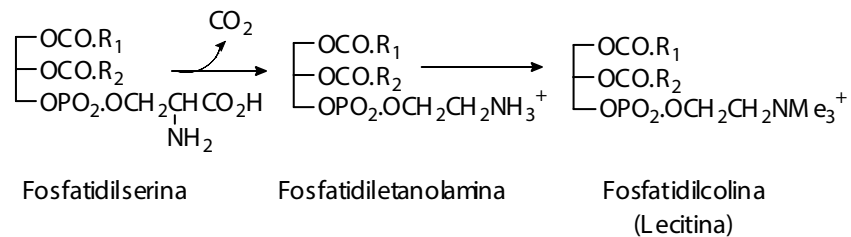
En la nomenclatura abreviada de los ácidos grasos se usa un número para indicar la longitud de la cadena, otro para señalar cuántos dobles enlaces contiene y un tercero, seguido de una letra (c o t), para indicar la ubicación y estereoquímica (cis o trans) de cada doble enlace. La nomenclatura de la IUPAC se emplea regularmente, en especial cuando existen sustituyentes sobre la cadena. Los nombres vulgares son de uso ordinario.

Los ácidos grasos más frecuentes en la naturaleza son:

Palmítico	hexadecanoico	16:0
Estearico	octadecanoico	18:0
Oleico	cis-octadec-9-enoico	18:1(9c)
Linoleico	cis,cis-octadeca-9,12-dienoico	18:2(9c,12c)

El ácido linoleico y el araquidónico: 20:4(5c,8c,11c,14c) son componentes

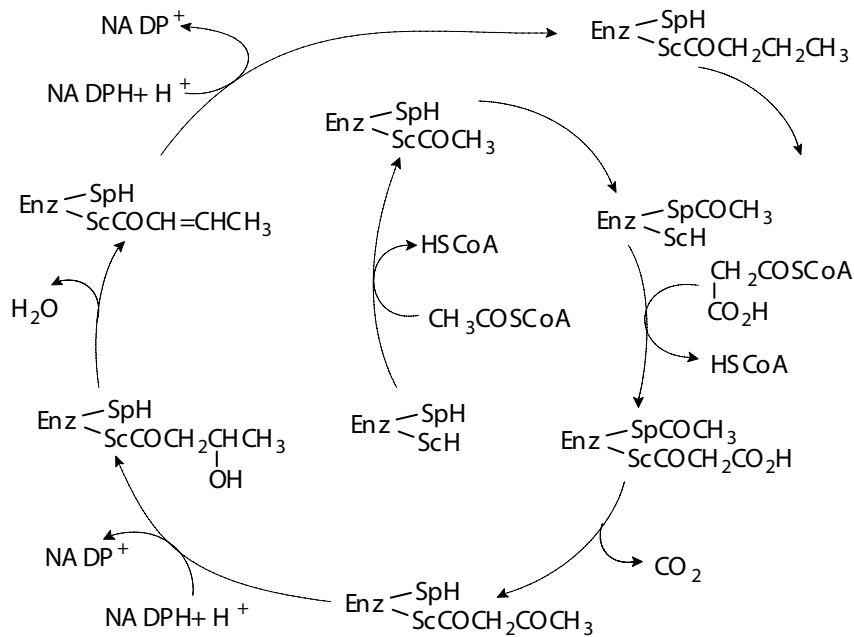
esenciales de los fosfolípidos que actúan en el crecimiento y funcionamiento de las membranas celulares. También intervienen en el control de la concentración del colesterol en la sangre. La lecitina es el ejemplo típico de los fosfolípidos y se trata de una mezcla de diglicéridos que presentan además una base nitrogenada (colina) y fosfato. La base nitrogenada se forma por descarboxilación del aminoácido correspondiente. El ácido linoleico no puede ser sintetizado por el cuerpo humano por lo tanto su concentración depende de la ingesta.



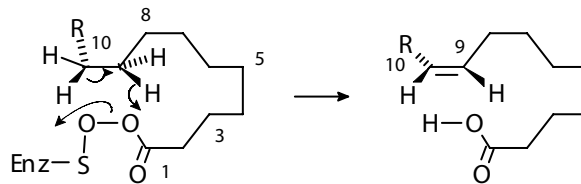
2.2.1. Biosíntesis

Keop en 1904, encontró que los ácidos grasos se degradaban de dos en dos unidades desde carbonoy ello originó la teoría del policétido como precursor; sin embargo, el proceso de ensamblaje de la cadena con unidades de acetato se interrumpiese si no está presente un medio reductor. En la biosíntesis de los ácidos grasos intervienen un sistema de dos enzimas: acetil-CoA y malonil-CoA, que conforman la ácido grasos-sintetasa. La primera suministra el acetato inicial el cual es carboxilado a través de biotina, hasta malonato. El malonato (elongador de la cadena) transfiere dos carbonos, con descarboxilación concurrente siendo transportado por malonil-CoA. Todo el sistema queda adherido a una proteína a través del enlace SH, conocida como ACP (anglicismo de A cyl Carrier Protein), hasta completar la formación del ácido graso. En el cuadro 2-1 se ilustra la secuencia biosintética.

Cuadro 2-1. Construcción de las cadenas de ácidos grasos.



En las moléculas de ácidos grasos se encuentra una mayor incidencia de dobles en la cis y casi siempre en C-9. Desde el punto de vista biológico en la forma cis no hay un buen acercamiento entre las moléculas. Para satisfacer esta observación Hendrickson propuso la eliminación estereoespecífica de dos átomos de hidrógeno a través de un peróxido unido a la superficie enzimática según se ilustra en la figura.



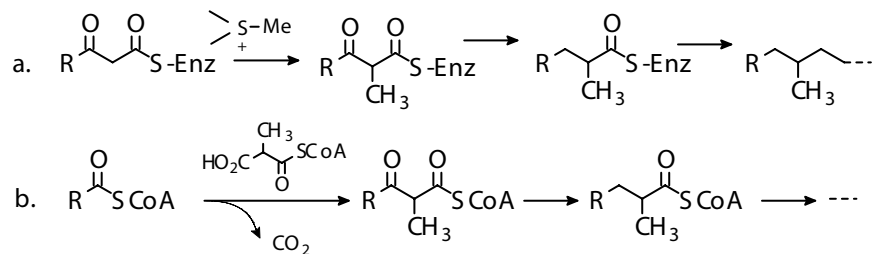
La formación de las insaturaciones adicionales como las presentes en los ácidos poliolenfínicos, se originan en un proceso posterior que involucra la adición de unidades de C_2 después de formada la insaturación en el precursor. Así, la ruta que se propone para la biosíntesis del ácido araquidónico detectada a partir de experimentos llevados a cabo en cultivos de *Acetomoeba* sp., es:

ácido acético \square 16:0 \square 18:1(9c) \square 18:2(9c,12c) \square 20:2(11c,14c) \square 20:4(5c,8c,11c,14c).

2.2.2. Ramificación y otras modificaciones de las cadenas

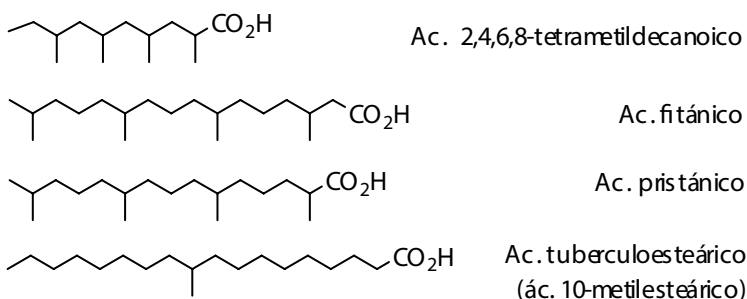
Algunos ácidos grasos son ramificados y estas estructuras son típicas de los compuestos microbiales. Las cadenas laterales tienen diversos orígenes como por ejemplo la metilación de los dobles enlaces en la cadena del precursor (por ejemplo en el caso del ácido tuberculoesteárico), análoga a la formación de anillos de tres miembros (ácido lactobacílico).

La introducción de grupos metilo también puede tener lugar sobre un metileno activado durante la propagación de la cadena, o bien formarse a expensas de un elongador ramificado como por ejemplo el metilmalonato. Esto último parece ser el caso del ácido graso más abundante en las glándulas uropigiales de los gansos: 2,4,6,8-tetrametildecanoico. La misma situación se aplica a la biogénesis de ciertos antibióticos derivados de ácidos grasos como eritromicina.



Compuestos Alifáticos

Ciertos ácidos grasos ramificados no se forman a expensas de unidades de acetato, en su lugar son biosintetizados a expensas de isopreno. Este es el caso de los ácidos fitánico y pristánico, los cuales se forman por oxidación del fitol, constituyente de la molécula de clorofila.



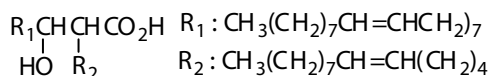
Si bien en los animales superiores y en las plantas los ácidos grasos tienen principalmente de 16 a 20 átomos de carbono, en los ácidos grasos microbiales la longitud de la cadena es variable; hay ciertas bacterias que producen estructuras de 62-70 átomos de carbono. Otras modificaciones frecuentes de los ácidos grasos propios de los microorganismos son la formación de lactonas, como las aisladas de un hongo del género *Cephalosporium* y la hidroxilación en la posición beta al grupo carboxilato, como en el caso de los ácidos micólicos presentes en los glicolípidos micobacteriales. Estos últimos muestran además, como característica estructural, la sustitución de un hidrógeno en el carbono α al grupo carboxilato por una cadena alquílica de longitud variable ($C_{16} - C_{24}$).

También se encuentran estructuras que poseen anillos ciclopropánicos, como por ejemplo el ácido lactobacílico (aislado de *Lactobacillus arabinosus* y de otras bacterias) y el hominomicolato de metilo aislado de *Mycobacterium tuberculosis* var. *hominis*.

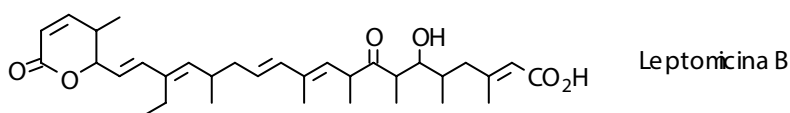
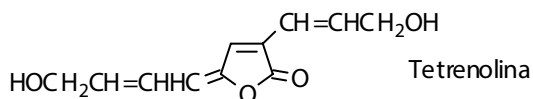
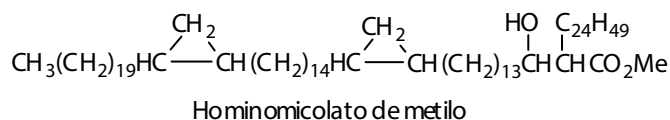
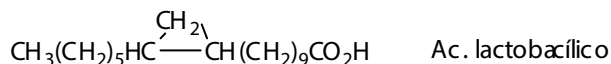
Las modificaciones incluyen lactonas insaturadas provenientes de la oxidación de los carbonos centrales de la cadena. Un ejemplo de ello es el

antibiótico tetrenolina, aislada en 1969, del hongo *Micropolyspora venezuelensis*

La leptomicina B, otro antibiótico aislado del género *Streptomyces* al que se le atribuyeron propiedades antifúngicas, es ahora reconocido con actividad antitumoral. El mecanismo de acción que se propone es tal que afecta el control de la expresión genética influyendo en la exportación de las proteínas nucleares, probablemente a través de un complejo covalente que involucra el sistema δ -lactona- α,β -conjugada y el grupo sulfhidrilo de la cisteína*.



Ácido micólico de *Mycobacterium* sp. y *Nocardia* sp.



Las ceras son también ésteres de ácidos grasos, siendo las más abundantes aquellas cuya porción ácida tiene entre 24 y 26 átomos de carbono y el alcohol entre 16 y 36. A algunos esteroides son componentes alcohólicos de las

*S. Pepper, D. Allison, T. Johnson, D. Talley y M. Caple, *Life Science*, 2(2), 6, 2001.

Compuestos Alifáticos

ceras. Conforman la mayoría de las grasas superficiales, como se viera antes, se le atribuye acción protectora hacia la desecación del ser vivo, por ejemplo de los insectos de las plantas de zonas áridas (las plantas acuáticas generalmente no poseen ceras y son muy poco resistentes a la desecación), hacen las plumas a prueba de agua, con lo cual mejoran la capacidad de nado de las aves acuáticas, actúan controlando el crecimiento de algunos agentes patógenos y juegan un papel feromonal importante. La cera de recubrimiento de *Mycobacterium tuberculosis* ha sido en buena parte responsable del tratamiento tedioso de la tuberculosis.

Tabla 2-2. Ceras comerciales más importantes*.

Tipo	Fuente	Constituyentes principales
Carnauba	<i>Copernicia cerífera</i> (Palmas)	ésteres superiores C ₅₀ -C ₅₄ (85) alcoholes C ₂₈ -C ₃₃ (5) hidrocarburos (3)
Candelilla	<i>Euphorbia antisiphylitica</i> (Euforbiáceas)	hidrocarburos C ₂₇ -C ₃₃ (50) ésteres superiores (30) alcoholes superiores (40)
Ouricuri	<i>Syagrus coronata</i> (Palmas)	ésteres superiores C ₄₈ -C ₆₄ hidroxiésteres superiores (46) alcoholes superiores (15)
Cauassú	<i>Calathea lutea</i> (Marantáceas)	ésteres superiores
Espermaceti	<i>Physeter macrocephalus</i> o <i>P. catodon</i>	ésteres superiores (96) alcoholes superiores (3)
Cera de abadeja		ésteres superiores (71) hidrocarburos (15) ácidos grasos (10)
Aceite de ballena	<i>Physeter macrocephalus</i> o <i>P. catodon</i>	ésteres superiores (75) gliceridos (25)
Jojoba	<i>Simmondsia chinensis</i> (Buxáceas)	ésteres superiores C ₄₀ -C ₄₄ insaturados (96)

* En paréntesis se indica el contenido (porcentaje) aproximado de las clases químicas en la cera.

Desde tiempos antiguos las ceras han sido y son explotadas por el hombre para diversos fines y actualmente su obtención comercial se logra mediante extracción con hexano, o con agua caliente, o por exfoliación de la capa de cera en las hojas dejadas secar previamente. Las ceras comerciales son de origen tanto animal como vegetal y entre ellas se las encuentra sólidas y líquidas, las últimas conocidas como «aceites»: aceite de jojoba, aceite de esperma de ballena; su estado físico es producto de las insaturaciones en las cadenas, principalmente de la porción del ácido graso; por hidrogenación producen ceras sólidas. La composición aproximada de las ceras y su origen se muestra en la tabla 2-2 (tomado de Boletín G-128 del Tropical Products Institute, 1979).

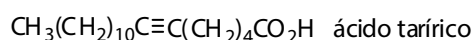
Las ceras superficiales en los vegetales superiores se presentan principalmente en la cutícula de las hojas y frutos y se distinguen cuatro tipos diferentes de recubrimiento: a) agujas finas, b) granuladas, c) bastoncitos y d) estratos membranáceos. Las ceras se depositan en estratos que descansan sobre la cutina, uno de los polímeros que junto con la suberina provee de una capa protectora a los vegetales superiores. La cutina es un biopolímero formado por ácidos grasos hidroxilados (por ejemplo la cutina de hojas de *pitagave americana*, presenta en su composición varios derivados hidroxilados del ácido octadecanoico: 18-hidroxi-, 18-hidroxi-9-en-, 10,18-dihidroxi-, 10,16-dihidroxi-, y 9,10,18-trihidroxi-octadecanoico)

Siendo las ceras mezclas, a veces muy complejas que incluyen varios tipos químicos, su explotación encara la falta de regularidad de los diferentes lotes, aun si se obtiene de la misma fuente en diferentes cultivares. Esta es una de las causas para motivar la producción de ceras sintéticas, cuya uniformidad es controlable, especialmente para aquellas de mayor valor comercial. La idea es hidrolizar triglicéridos abundantes, recuperar los ácidos grasos, reducir parte de ellos a alcoholes y esterificar de nuevo con los ácidos grasos.

Los n-alcenos y n-alquenos son también modificaciones de los ácidos grasos, por ejemplo el 3-metil- y 13-metil-pentaeicoseno, que son los hidrocarburos cuticulares principales de la cucaracha: *Periplaneta americana*. Así mismo conforman los hidrocarburos superficiales (C_{24} - C_{28}) de crustáceos (*Ligia oceanica*). En las plantas superiores los hidrocarburos se forman por descarboxilación de los ácidos grasos correspondientes es por ello que el número de átomos de carbono de estos compuestos es generalmente impar.

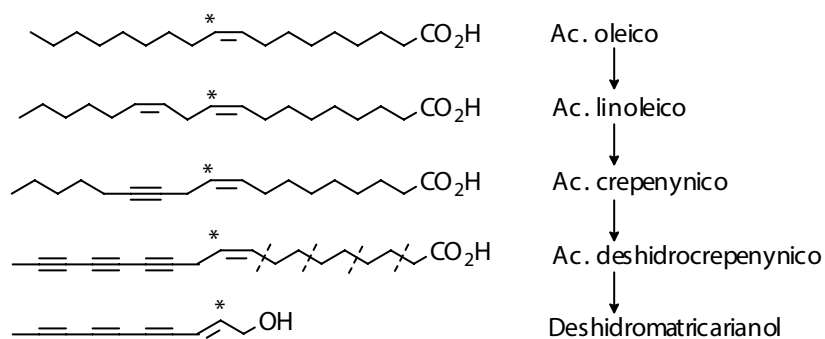
Fitoquímica Orgánica

familias Oleáceas, Umbellíferas y Compuestas. Algunas de estas estructuras se han encontrado de fuentes marinas: principalmente algas y de microorganismos. Los poliacetilenos se conocen desde 1826 al aislar (sin estudios estructurales) el éster de deshidromatricaria, a partir de un aceite esencial japonés. A finales de 1800 se citó la primera estructura poliacetilénica: el ácido tarírico y se debe a la escuela noruega los primeros avances importantes en este campo.



La mayoría de los poliacetilenos son inestables, más aún, si están cristalizados son fotosensibles: se descomponen con la luz desarrollando colores brillantes (rojos, azules) y residuos poliméricos de apariencia gráfica. La estabilidad de estos compuestos se mejora si se introducen terminales abultados en la cadena. La extracción se lleva a cabo con éter de petróleo en frío y su separación y purificación mediante los diversos métodos cromatográficos.

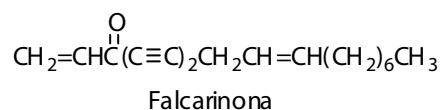
Las estructuras no tienen en general, ramificaciones y presentan funciones oxigenadas frecuentemente al final de la cadena como ácido y/o sus ésteres incluyendo triglicéridos, alcoholes, lactonas, cetales, anillos furánicos y además de anillos tiofénicos, aromáticos o simplemente se presentan como hidrocarburos. El origen de los triples enlaces es aceptado como el resultado de la deshidrogenación de las cadenas de ácidos grasos siendo las modificaciones restantes producto de degradaciones oxidativas. Ello se demostró con experimentos de marcaje isotópico en la génesis de deshidromatricaria a partir de ácido oleico empleando *Basidiomycetosp.* como fuente enzimática.



Compuestos Alifáticos

Las oxidaciones son principalmente de dos tipos: oxidación beta al grupo carboxilato del ácido graso, que origina cadenas con dos átomos menos de carbono y oxidación alílica que puede suceder en cualquier posición alílica a un doble enlace existente en la molécula. Nótese que las oxidaciones no necesariamente tienen origen bioquímico pues la formación de compuestos degradados puede suceder durante el aislamiento debido a la fragilidad molecular. Se han citado varios ejemplos de oxidaciones alílicas algunas incluyen reordenamientos formación de ciclos oxigenados (furanos, lactonas, y otros), azufrados (tiofenos: son frecuentes las estructuras que contienen varios de estos anillos conjugados) o aromáticos. En el cuadro 2-2 se ilustra esquemáticamente la formación de estos sistemas.

Se conoce muy poco sobre la fisiología de los poliacetilenos, en muchos casos la concentración de algunos acetilenos varía con la edad de la planta o del microorganismo entre 10⁻⁶ a 1%, calculados sobre la base de material fresco. Su toxicidad, inestabilidad y baja concentración ha limitado el uso práctico de los poliacetilenos como posibles sustancias antibióticas. La baja concentración permite ingerir el vegetal que los contiene. Es el caso de las raíces de céleri, perejil y zanahoria, que contienen falcarinona, una cetona muy tóxica.



2.4. Eicosanoides

Las estructuras análogas a los ácidos grasos poli-insaturados de 20 átomos de carbono conforman un grupo de sustancias bioquímicamente importante: eicosanoides que incluyen las prostaglandinas, prostaciclina, tromboxano y leucotrienos. Los eicosanoides son sustancias ubicuas, biosintetizadas en el sitio de acción, en cantidades sólo necesarias para su función inmediata, con diversas y a veces opuestas propiedades farmacológicas, que las hace medicamentos potenciales. Así, promueven la migración de los leucocitos, ayudan o previenen la agregación plaquetaria, contraen o relajan la musculatura lisa, regulan la secreción gástrica, además de otras acciones. Algunas de estas propiedades se han aprovechado en ciertos tratamientos de anginas, de úlceras, para prevenir la pérdida plaquetaria en operaciones

El conocimiento de la existencia de estos compuestos se remonta a 1932, cuando von Euler aisló de la próstata de ovejas, un crudo que, además de presentar la misma actividad del semen humano sobre la contracción o dilatación del útero, también producía contracciones de diversas musculaturas lisas, y afectaba la presión sanguínea al ser inyectado en animales experimentales. Solamente a finales de los años 50 se logró el aislamiento de dos prostaglandinas: PGE_1 y $\text{PGF}_{1\alpha}$, sus estructuras fueron definidas en 1963 y la configuración absoluta en 1966.

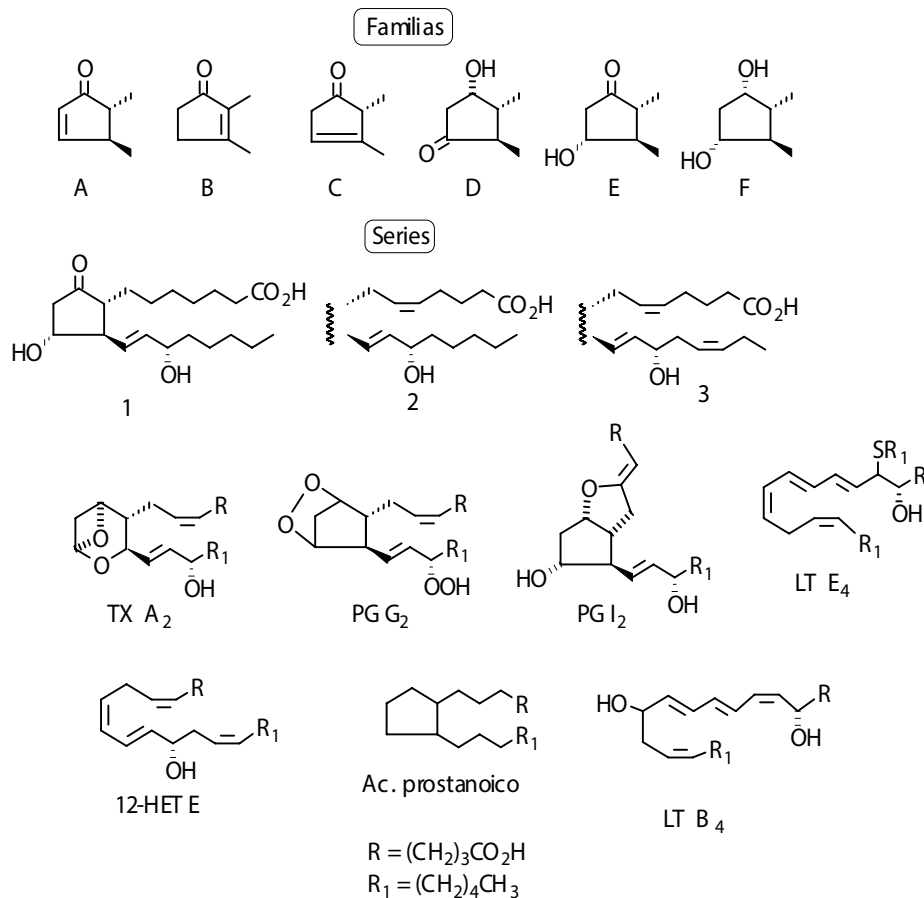
Uno de los problemas principales que confronta el estudio y la utilización práctica de estos compuestos es su baja concentración. Sin embargo, habiéndose demostrado que se forman a expensas de los ácidos grasos, se estudió la posibilidad de obtenerlos a través de la biosíntesis, pero el proceso resultó excesivamente costoso para ser comercial. En 1969 se encontró que el coral blando *Plexaura homomalla* abundante en el Caribe, es una fuente promisorio de un derivado de prostaglandina A (PGA_2 , 3 al 5 % en peso seco del coral), que puede ser usado como materia prima para la elaboración de otros prostanoides. Prostanoides es el nombre genérico para las estructuras de prostaglandinas y compuestos relacionados. Sin embargo, el peligro ecológico y económico de una recolección indiscriminada del coral, sin el conocimiento apropiado de su crecimiento y de la cosecha, así como la presencia de isómeros difíciles de separar, dirigió el interés hacia la síntesis total de las prostaglandinas naturales y de sus análogos.

2.4.1. Nomenclatura

Las prostaglandinas (PG) son derivados del ácido prostanoico, una estructura que presenta un anillo de cinco miembros y dos cadenas laterales no ramificadas en posiciones adyacentes, de siete y ocho átomos de carbono. Las series definen las cadenas laterales (1: un doble enlace, 2: dos dobles enlaces, 3: tres dobles enlaces) y las familias indican el estado de oxidación del anillo; éstas se nombran con las letras A hasta I. En los prostanoides naturales el doble enlace entre C-5 y C-6 es *cis*, mientras que entre C-13 y C-14 es *trans*. La cadena en C-8 es α y en C-12 es β . Las prostaglandinas G y H son a veces llamadas endoperóxidos y la prostaglandina I se conoce como prostaciclina. Todas presentan un OH α en C-15 (PGG_2 tiene un precursor hidroperóxido) y un oxígeno en C-9 que puede presentarse como grupo carbonilo o como OH orientado α ; esto surge como consecuencia de su bioformación. Los tromboxanos (TX) presentan como hecho estructural común un anillo

Fitoquímica Orgánica

heterocíclico hemiacetalico en lugar del anillo carbocíclico y su nombre proviene de su acción potente como agregadores plaquetarios con la consecuente formación de trombos (de hecho, los tromboxanos A y B se aislaron de coágulos sanguíneos). Los leucotrienos (LT) son compuestos acíclicos con dobles enlaces cis y trans, presentan a veces restos de aminoácidos y fueron aislados de los leucocitos; son análogos estructurales de los ácidos eicosapolienoicos (que tienen generalmente sólo dobles enlaces cis) pero más evolucionados en la secuencia biogénica. El sufijo α se utiliza para indicar la estereoquímica natural α del OH en C-15, por ejemplo $PGF_2\alpha$ significa una prostaglandina de la familia F con dos dobles enlaces (5,6 cis y 13,14 trans) y un OH orientado α en C-15.

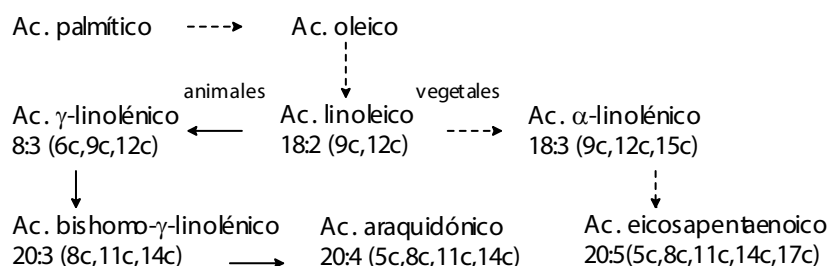


PG: prostaglandina, TX: tromboxano, LT: leucotrieno, HETE: hidroxeicosatetraeno

2.4.2. Biosíntesis

La conversión de ácidos grasos a prostaglandinas está bien documentada y el camino biogénico depende del organismo productor. Los ácidos grasos que intervienen directamente en la formación de estos compuestos son el linoleico y el linoléico, conocidos como ácidos grasos insaturados esenciales, pues son precursores de otros ácidos grasos involucrados en la formación de los eicosanoides, pero no son sintetizados por los animales. El ácido araquidónico es el precursor inmediato de los prostanoideos y las enzimas claves para la síntesis de PG son las ciclo-oxigenasas de las cuales se conocen dos formas isoméricas: COX-1 presente en la mayoría de los constituyentes celulares y COX-2 cuya formación es inducida como respuesta a un estímulo inflamatorio.

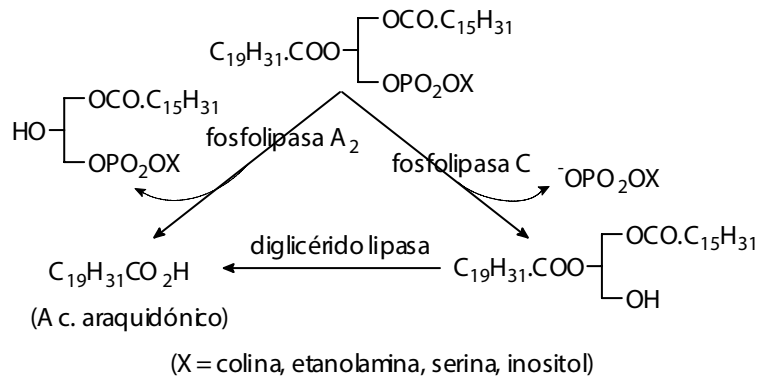
La ruta para la formación de ácidos eicosapoliénicos difiere en las plantas y en los animales, siendo en los últimos sólo posible la introducción de dobles enlaces adicionales en las posiciones más cercanas al grupo carboxilato.



Estos ácidos están mayormente esterificados formando fosfolípidos que son los constituyentes principales de la parte lipídica de las membranas celulares; hay evidencias experimentales que el ácido araquidónico debe liberarse del fosfolípido para intervenir en la síntesis de las prostaglandinas. Algunas prostaglandinas aumentan la permeabilidad capilar causando la fuga de los componentes sanguíneos, lo que produce un fenómeno inflamatorio.

Al menos una parte de la actividad anti-inflamatoria de los corticoesteroides se debe a que inhiben la liberación del ácido araquidónico del fosfolípido y en consecuencia, no procede la síntesis de las prostaglandinas.

La descomposición del fosfolípido se ilustra en la figura.



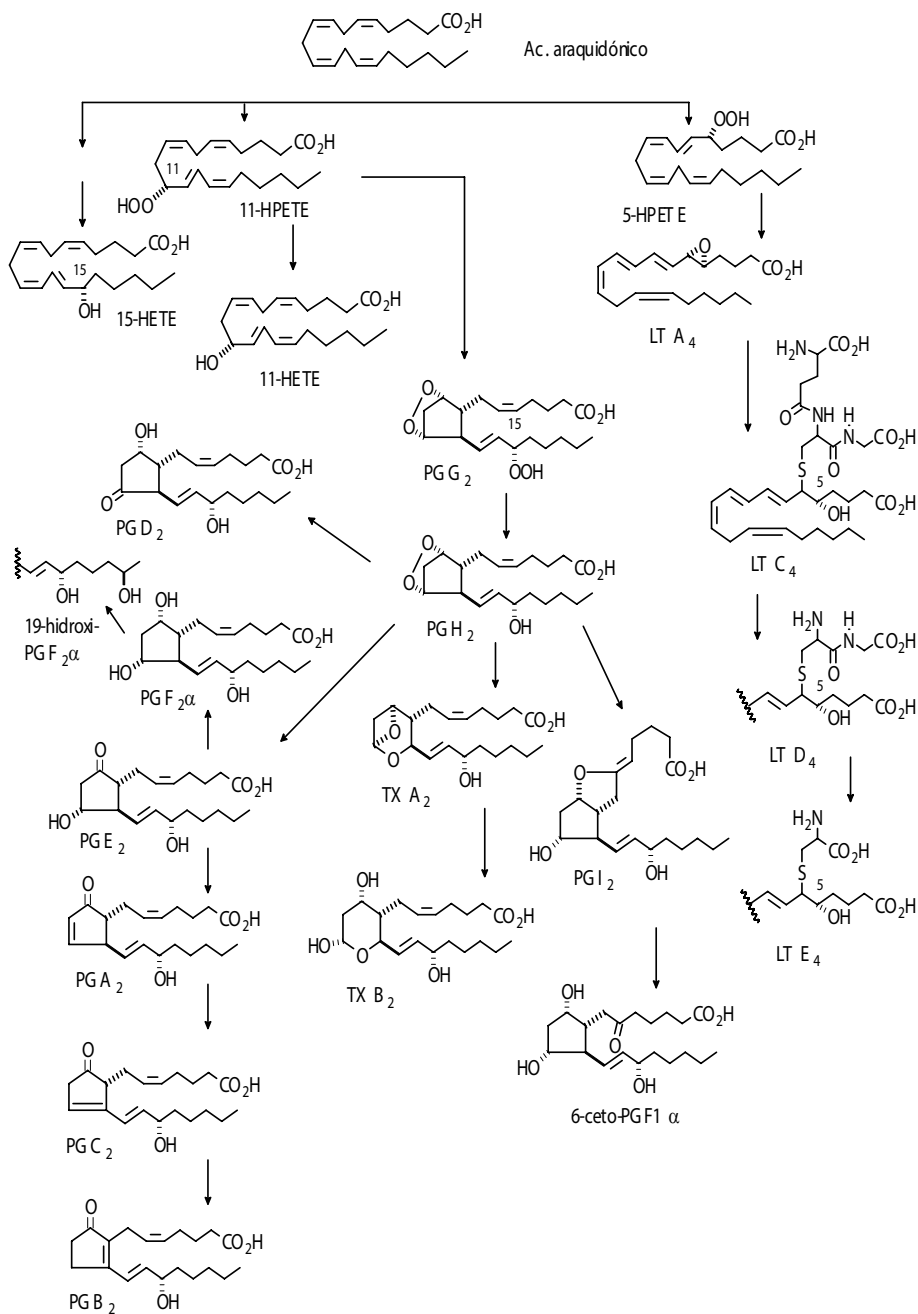
Nota. En general C-1 y C-2 de la glicerina en el fosfolípido están sustituidos con un ácido graso saturado (palmítico, principalmente) e insaturado, respectivamente. Hay diferentes fosfolipasas que atacan selectivamente los enlaces. Por ejemplo, la fosfolipasa A₁ hidroliza el éster en C-1 y la A₂ lo propio en C-2, la fosfolipasa C hidroliza el grupo fosfato y la D separa la base (X) y el grupo fosfato. Las bases son colina, etanolamina, serina, inositol.

La oxigenación del ácido araquidónico tiene varios caminos biogénicos independientes. Uno de ellos es la formación de ácidos hidroperoxieicosatetraenoicos (HPETE), que son reducidos y aislados como ácidos hidroxieicosatetraenoicos (HETE), o transformados a leucotrienos, los cuales pueden encontrarse libres o asociados con aminoácidos. Hasta la fecha se conocen cinco leucotrienos: A - E.

El sitio de oxigenación inicial de la cadena del ácido araquidónico define los diferentes metabolitos. Para los leucotrienos el hidroperóxido inicial se origina en C-5, mientras que el ataque del oxígeno en C-11 y C-15 se producen HETE (s). En presencia de la enzima ácido graso ciclo-oxigenasa el 11-hidroperóxido (11-HPETE) se transforma en el primer endoperóxido PGG₂ que se convierte en el resto de las prostaglandinas y tromboxanos. Esta secuencia se ilustra en el cuadro 2-3.

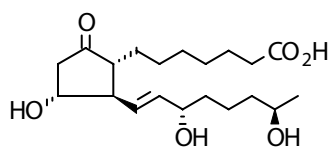
Compuestos Alifáticos

Cuadro 2-3. Eicosanoides derivados del ácido araquidónico.

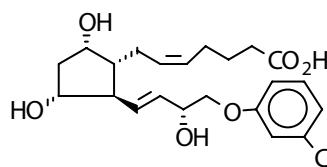


2.4.3. Aplicaciones de los prostanooides

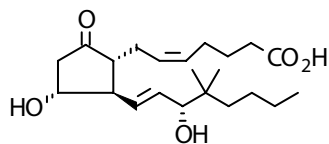
Como se mencionó antes, la potencialidad de los prostanooides como fármacos es innegable, sin embargo la inestabilidad de algunos (por ejemplo la vida media del tromboxano- A_2 es de 30-40 segundos y la de los endoperóxidos G y H es de 5 minutos), así como la escasez de otros, ha generado un grupo considerable de productos sintéticos idénticos y análogos a los naturales los cuales han sido evaluados farmacológicamente algunos son comerciales (unos 35) y se aplican en ciertos tratamientos clínicos (frecuentemente en pacientes voluntarios) en problemas de fertilidad, terapia cardiovascular y gástrica, y como bronquodilatadores. En 1973 se aprobó el uso clínico de prostaglandina $F2\alpha$ para inducir el parto. Sin embargo son pocos los prostanooides con permiso sanitario para tratamientos de rutina. Algunos ejemplos de estas estructuras sintéticas y su respectivo uso potencial, se indican en la figura a continuación.



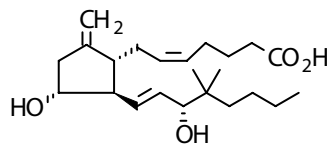
Bronquodilatador



Sincroniza el ciclo estral en el ganado



Previene las úlceras



Induce la menstruación y dilata la cervix

2.5. Acetogeninas alifáticas

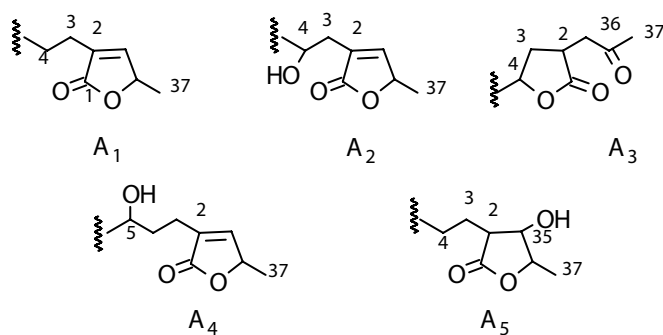
Un grupo de compuestos alifáticos que son típicos de la familia Annonáceas, en los géneros Annona, Asimina, Disepalum, Goniotalum, Rollinia, Uvaria y Xylopia, son las acetogeninas alifáticas; contienen 35 a

Compuestos Alifáticos

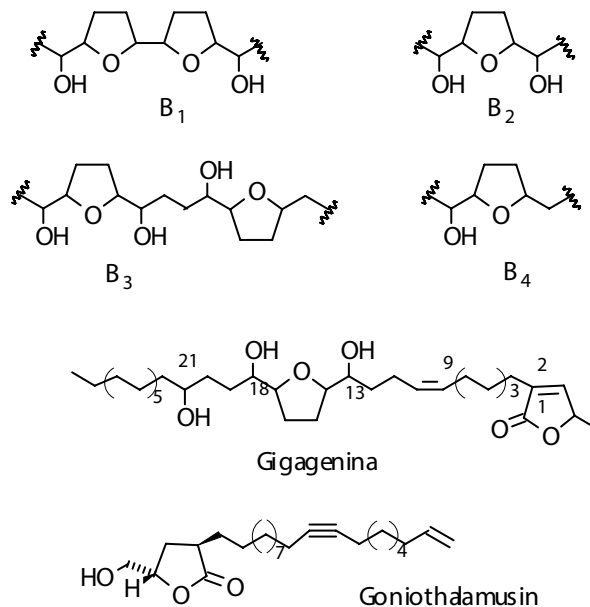
39 átomos de carbono en su estructura presentando cadenas largas de hidrocarburos sobre un anillo tetrahydrofurano. Una de las cadenas está conectada a una γ -lactona terminal. Todas las acetogeninas contienen múltiples estereocentros debido a su naturaleza azucarosa no es posible producir cristales para el análisis de las estructuras por rayos-x, por lo cual la secuencia de los átomos y la estereoquímica se determinan por estudios comparativos en RMN, con modelos sintéticos. Se las puede agrupar en cuatro clases estructurales principales:

1. Con dos anillos furánicos adyacentes.
2. Con un solo anillo furánico.
3. Con anillos furánicos no adyacentes.
4. Sin anillos furánicos.

En el último grupo se encuentran estructuras con enlaces alénicos o acetilénicos, como en el caso de goniotalamusina aislada de *Miliusa velutina* (Annonáceas)*. A algunos contienen el anillo tetrahidropiránico con o sin anillos tetrahydrofuránicos. El terminal γ -lactona se ha reportado en los tipos A 1 hasta A-5, y la unidad de tetrahydrofurano en los tipos B-1 hasta B-4, como los indicados en la figura. Así, la gigagenina será una acetogenina del grupo A-1, B-2. Como sustituyentes se encuentran OH, CO, OAc, 1,2-dioles, epóxidos y dobles enlaces; la numeración de la cadena comienza por el anillo lactónico.



*S. Jumana, C. H. Hasan y M.A. Rashid, «Antibacterial activity and cytotoxicity of *Miliusa velutina*». *Fitoterapia*, 71, 559, 2000.



Para su bioformación se propone un mecanismo similar a la formación de ácidos grasos y en el esqueletocarbonado se llegan a la formación de dienos trienos intermediarios cuya epoxidación y apertura del epóxido genera anillos de tetrahydrofurano. Estos compuestos muestran actividad citotóxica, antitumoral, antiplaquetaria y pesticida. El mecanismo principal de acción consiste en la potente inhibición del complejo I (NADH-Ubiquinona-oxidoreductasa) para el transporte de electrones mitocondriales en mamíferos e insectos, por la NADH-oxidasa de la membrana plasmática de células cancerígenas y como consecuencia, la reducción en la producción de ATP. El uso como insecticidas de las anoninas, nombre genérico de las acetogeninas aisladas de *Annona squamosa* le ha valido una patente a la Bayer. A estos compuestos aislados de las semillas de *A. muricata* (guanábana) se debe su energética acción contra los áfidos*.

*a) X. Fang, M.J. Rieser, Z. Gu, G. Zhao y J.L. McLaughlin, «Annonaceous acetogenins. An update review». *Phytochemical Analysis*, 4, 27, 1993.

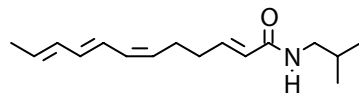
b) F.Q. Alali, X-X. Liu y J.L. McLaughlin «Annonaceous acetogenins: Recent progress» *J. Nat. Prod.*, 62, 504, 1999.

2.6. Otros compuestos alifáticos

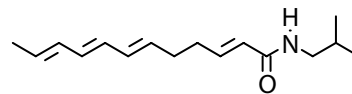
Dentro de los compuestos alifáticos podemos incluir un grupo de metabolitos secundarios que presentan como característica común sabor y olor pungente. Pueden clasificarse en:

a. Amidas, estructuras aisladas de varias pimentas y ajíes entre las cuales se cuenta con la piperina proveniente de la pimienta *Piper nigrum* (el isómero cis-cis es más picante que el isómero trans-trans), α y β -sanshool, producidos por la pimienta japonesa (*Zanthoxylum piperitum*) y la capsaicina, el principio picante de los ajíes.

b. Derivados de vanilina, como zingerona, shogaol y gingerona que se aíslan del jengibre: *Zingiber officinale*.

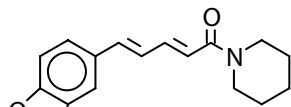


α -Sanshool

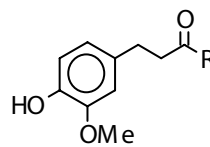


β -Sanshool

<*Zanthoxylum piperitum*>

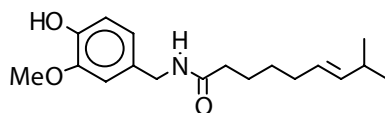


Piperina
(*Piper nigrum*)



CH=CH(CH₂)₄CH₃ Shogaol
 CH₂CH(OH)(CH₂)₄CH₃ Gingerona
 CH₃ Zingerona

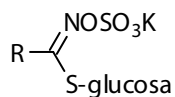
<*Zingiber officinale*>



Capsaicina
<*Capsicum annuum*>

c. Glucosinolatos, tioglicósidos derivados de sulfatos de aldoximas. Son típicos del aceite de mostaza y se presentan en varias especies de la familia Crucíferas. Estos compuestos se hidrolizan aún dentro de la misma planta por acción enzimática y generan isotiocianatos e isocianatos que constituyen los componentes volátiles de ciertos vegetales como alcaparras, berros, repollos, etc. (Los isotiocianatos también se han aislado de algunas esponjas).

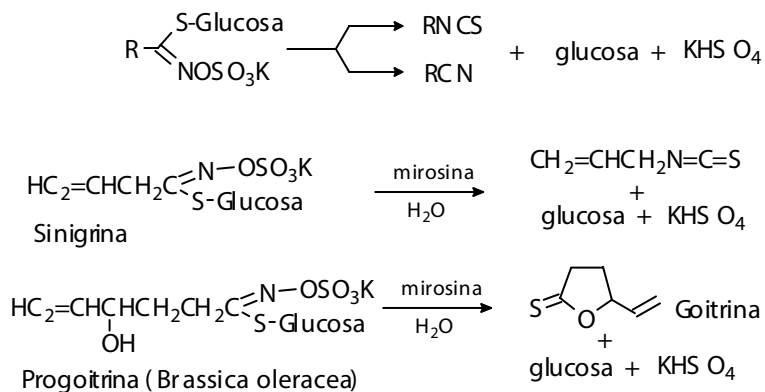
En la estructura general representada abajo, R puede ser un resto alquílico o aromático, dependiendo del aminoácido precursor. En su bioformación se han propuesto dos vías: en una, el nitrógeno del aminoácido se mantiene (los aminoácidos son transformados a aldoximas y éstas a glucosinolatos) y en otra el nitrógeno no se preserva. Esta segunda alternativa que parece operar en la biosíntesis de (2S)-hidroxi-2-feniletilglucosinato, típico de berros (*Nasturtium officinale*), es menos frecuente y parece obedecer a condiciones específicas. En la elongación de la cadena intervienen unidades de acetato-malonato.



R	compuesto	origen
$\text{CH}_2=\text{CHCH}_2$	Sinigrina	Brassica nigra
$p\text{-HOC}_6\text{H}_4\text{CH}_2$	Sinalbina	Sinapis alba
$\text{C}_2\text{H}_5\text{CO}(\text{CH}_2)_4$	Gluconorcappasalina	Capparis salicifolia
1-MeO-3-indolil- CH_2	Neoglucobrassicina	Brasica campestris
$\text{CH}_3\text{SOCH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_2$	Glucorafenina	Raphanus sativus
$\text{CH}_2=\text{CH}(\text{CH}_2)_2$	Gluconapina	Brassica napus

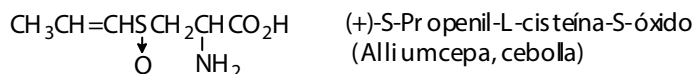
Se ha observado una diferencia entre los tipos de productos de hidrólisis formados por enzimas endógenas y aquellos provenientes de la participación de la mirosinasa exógena. En el segundo caso los isotiocianatos se forman a expensas de rearrreglos y los nitrilos surgen por fragmentación de la aglucona.

Compuestos Alifáticos

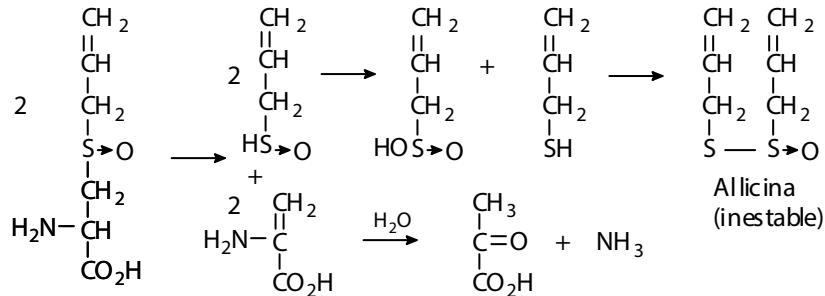


La actividad antitiroidea de los isotiocianatos (el bocio es una enfermedad frecuente en consumidores de grandes cantidades de repollo) puede controlarse por tratamiento con yodo, pero en el caso del glucosinolato de las semillas de mostaza, progoitrina, la actividad antitiroidea no puede prevenirse de la misma manera, pues el isotiocianato que se forma se cicla a la tioxazolidona, goitrina, la cual interfiere en la síntesis de las hormonas de la tiroides*.

d. Compuestos azufrados, que comprenden tioéteres, sulfuros y sulfóxidos de alilo. Están prácticamente limitados a las especies de las familias Crucíferas y Liliáceas (los ésteres sulfónicos y sulfúricos son ampliamente distribuidos en el reino vegetal y no tienen olores o sabores particulares). Se encuentran conjugados con aminoácidos y la hidrólisis provocada por acción enzimática o calor origina tioles o sus derivados de bajo peso molecular que tienen los olores característicos de los ajos y las cebollas.



*J.W. Fahey, A.T. Zalcmann y P. Talalay «The chemical diversity and distribution of glucosinolates and isothiocyanates among plants», *Phytochemistry*, 56, 5, 2000.



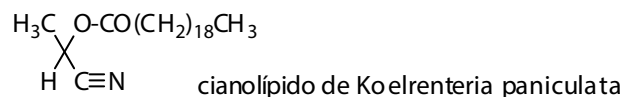
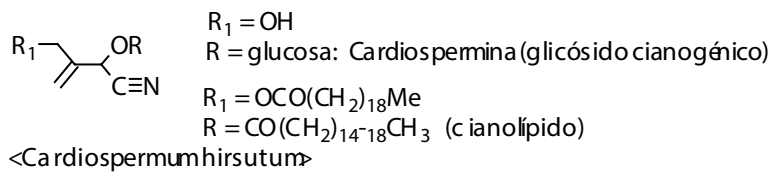
Alliina (Allium sativum ajo)

e. Principios cianogénicos, se conocen con este nombre aquellos compuestos que liberan HCN por descomposición. Su estructura general puede representarse como O-derivados de α -cianhidrinas. Las variaciones estructurales comprenden tanto el sustituyente sobre el oxígeno como en la cadena carbonada. Sobre el oxígeno pueden existir azúcares o ésteres de ácidos grasos y se los conocen como glicósidos cianogénicos y cianolípidos, respectivamente. Los primeros son abundantes en todas las plantas, incluyendo las alimenticias*, mientras que los segundos son más frecuentes en semillas de oleaginosas y en particular en las Sapindáceas. La hidrólisis de los principios cianogénicos es la causante de la toxicidad (por liberación del HCN con formación de aldehídos o cetonas) de varias semillas del género Prunus (prunasina -de duraznos y ciruelas- y amigdalina -de almendras-) y de la yuca Manihot esculenta (linamarina) o de los tallos jóvenes de bambú y otras gramíneas (taxifilina y dhurrina).

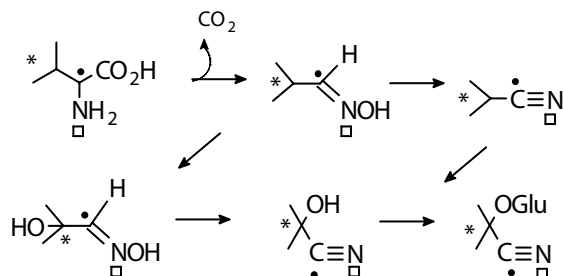
$ \begin{array}{c} \text{R}_2 \\ \diagdown \\ \text{C} \\ \diagup \\ \text{R}_1 \end{array} \begin{array}{l} \text{O-azúcar} \\ \text{C}\equiv\text{N} \end{array} $	Compuesto	R ₁	R ₂	azúcar
	Prunasina	H	C ₆ H ₅	glucosa
	Amigdalina	H	C ₆ H ₅	gentiobiosa
	Dhurrina (2S)	H	p-HOC ₆ H ₄	glucosa
	Taxifilina (2R)	H	p-HOC ₆ H ₄	glucosa
	Linamarina	Me	Me	glucosa

*D.A. Jones, «Why are so many food plants cyanogenic?» Phytochemistry, 47, 155, 1998.

Compuestos Alifáticos



Los metabolitos de partida para estos compuestos son α -aminoácidos que conforman las cadenas proteicas: L-valina, L-isoleucina, L-fenilalanina y L-tirosina y su intervención fue determinada por el método de trazadores isotópicos según se ejemplifica a continuación. Se propone como secuencia para la génesis de estos compuestos la descarboxilación del aminoácido con la formación de la aldoxima y su transformación a nitrilo, a la cianhidrina y al glicósido.



CAPÍTULO 3

COMPUESTOS AROMÁTICOS

3.1. Introducción

Los compuestos aromáticos naturales incluyen derivados simples de benceno, anillos bencénicos condensados, monómeros, dímeros o polímeros de alto peso molecular, como lo son ligninas y taninos, que se encuentran prácticamente en todas las plantas superiores y por ello se los considera productos universales. Generalmente presentan grupos funcionales oxigenados que en la mayoría de los casos son fenoles y por lo que se les conoce con el nombre genérico de compuestos fenólicos. Esta expresión engloba una amplia gama de estructuras de las cuales los flavonoides y sus derivados son los más abundantes, entre los compuestos de bajo peso molecular. Algunos poseen cadenas alifáticas de origen terpénico o policétido, frecuentemente se encuentran asociados con azúcares y están presentes tanto en el reino vegetal como en el animal. En este capítulo no se considerarán los compuestos aromáticos nitrogenados que se expondrán en el correspondiente a los alcaloides (Capítulo 5).

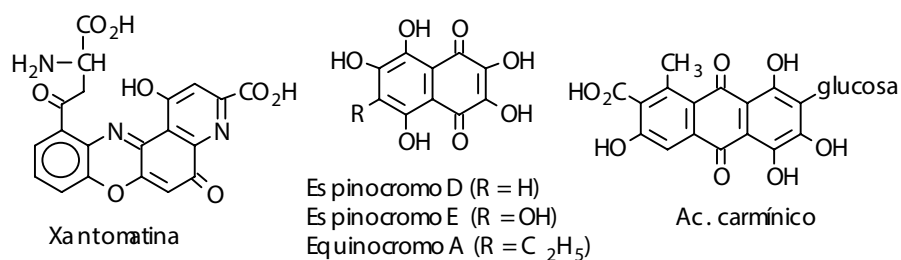
A pesar de su diversidad estructural la mayoría de los compuestos aromáticos pueden clasificarse desde el punto de vista biogénico, como derivados de acetato (policétidos) y derivados de shikimato. Sin embargo, hay que considerar que muchos representantes fenólicos tienen origen mixto (acetato-shikimato); además, algunos se forman a partir del ácido mevalónico, tal es el

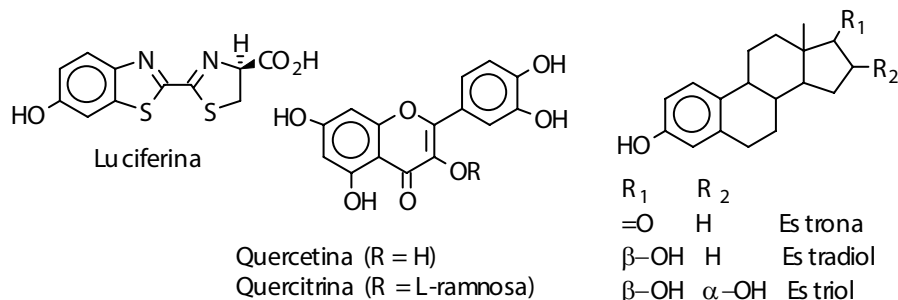
Compuestos Aromáticos

caso de los carotenoides, esteroides y otros terpenos con anillos aromáticos en su esqueleto.

Los compuestos fenólicos son más frecuentes en el reino vegetal que en los animales y en éstos presentan generalmente una función metabólica definida. En el reino animal se encuentran estructuras fenólicas de diferente complejidad. Los fenoles simples: p-cresol y p-benzoquinona están asociados a secreciones de defensa de algunos insectos, los aminoácidos fenólicos: tirosina, dopa, se encuentran solos o condensados conformando cadenas proteicas, o pigmentos como melanina. Otros pigmentos como los encontrados en los ojos de equinodermos y cefalópodos, son estructuras fenólicas más sencillas como por ejemplo el glicósido de la xantomatina. La luciferina, responsable de la bioluminiscencia de las luciérnagas, es un compuesto fenólico azulado, que debe oxidarse enzimáticamente para su luminiscencia. Otros pigmentos de insectos y erizos son hidroquinonas complejas, como por ejemplo los espinocromos, presentes en las espinas del erizo de mar y el ácido carmínico, que se extrae comercialmente de un coquito: *Dactylopius coccus*. La ubiquinona, distribuida en animales y vegetales, es un factor importante en procesos de transferencia de electrones.

Los esteroides fenólicos: estrona, estriol y estradiol, están asociados a la actividad estrogénica de los mamíferos. Un grupo de flavonoides típicos de los vegetales superiores (por ejemplo quercetina y sus derivados) se ha encontrado también en las alas de ciertas mariposas y se ha sugerido que su presencia está asociada a la ingesta del insecto durante su estado larval, de hojas y tallos de plantas ricas en estos compuestos.



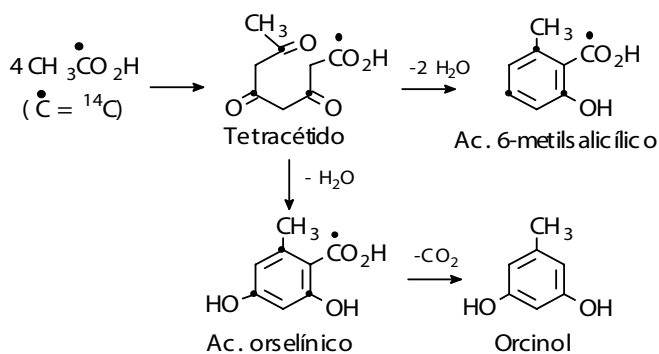


3.2. Biosíntesis

Como se mencionó arriba, hay dos vías principales a través de las cuales se biosintetizan los compuestos fenólicos en la naturaleza: acetato-malonato (acetogeninas o policétidos aromáticos) y ácido shikímico (fenilpropanos). Ambas vías pueden generar compuestos con el mismo esqueleto, como por ejemplo las quinonas, o pueden conjugarse formando compuestos de origen mixto, como ocurre en los flavonoides.

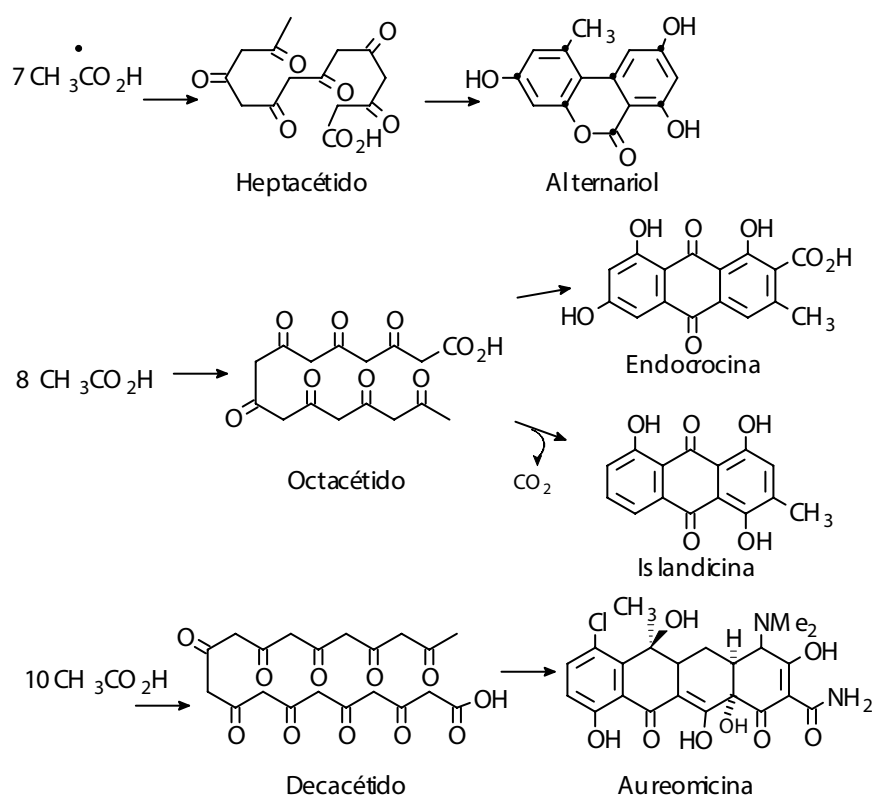
3.2.1. Policétidos aromáticos

En vista de la abundancia natural de compuestos fenólicos con funciones oxigenadas en posiciones alternas sobre el núcleo aromático, A. J. Birch, hace unos 40 años, propuso como hipótesis para la biogénesis de tales compuestos, la unión consecutiva de unidades de acetato para producir, de manera controlada, un policétido de cadena abierta que ciclará toda vez que se ha completado la secuencia de los átomos de carbono.



El proceso involucra una unidad de acetato y tres de malonato como en el caso de los ácidos grasos, la acetil-CoA interviene como iniciador, mientras que la propagación de la cadena está a cargo de la malonil-CoA. Nótese que la presencia de un doble enlace cis es primordial para el cierre del anillo aromático. (Ver cuadro 3-1).

El número de unidades C_2 puede extenderse y formar acetogeninas aromáticas superiores, por ejemplo heptacétidos: alternariol, octacétidos: endocrocina e islandicina, o decacétidos como los antibióticos del tipo tetraciclina.



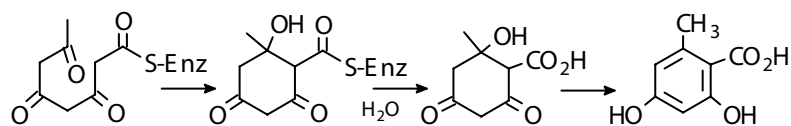
Compuestos Aromáticos

Eventualmente, la secuencia de unidades de C_2 no puede seguirse de manera coherente al examinar las estructuras de ciertos productos y ello puede tener varias causas: metilaciones, alquilaciones superiores, oxigenaciones de la cadena del policétido, propagadores diferentes del malonato, ensamblaje del esqueleto a partir de dos unidades independientes de policétidos y rompimiento (una vez formados) de los anillos aromáticos por vías oxidativas seguido de reciclación. Estos últimos son los más complejos de detectar. Las descarboxilaciones son frecuentes, tal es el caso de la formación del orcinol a partir del ácido orselínico; también son usuales las dimerizaciones por acoplamiento C-O y C-C, y son responsables de la formación de varios pigmentos quinoideos.

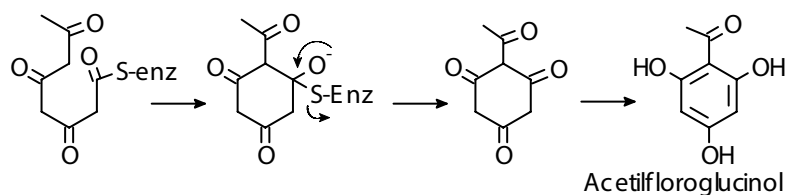
La presencia de grupos metileno activos puede originar tres tipos de ciclaciones a través de condensaciones aldólicas, de Claisen y de esterificación intra- o intermolecular de enoles; las estructuras resultantes se encuentran ampliamente distribuidas en la naturaleza.

Ciclaciones que generan compuestos aromáticos

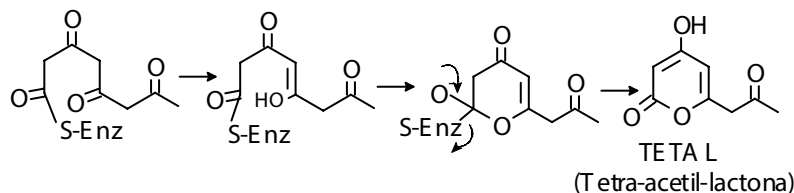
Aldólica



Claisen



Esterificación de enoles

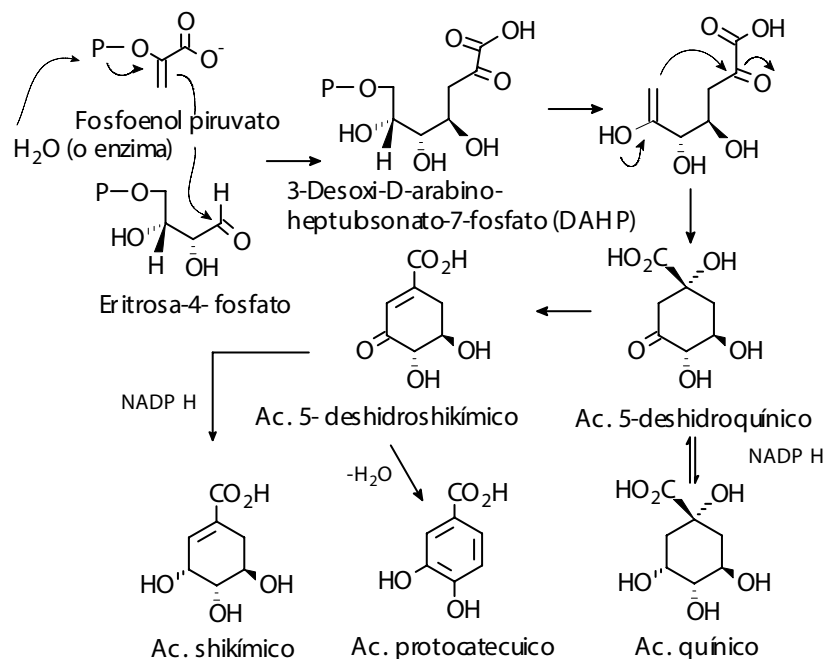


Estas se ilustran para el tetracétido hipotético que interviene en la formación de ácido orsellínico, acetilfloroglucinol y TET AL (tetra-acetil-lactona). Las estructuras resultantes muestran un patrón de oxigenación meta el cual puede alterarse por oxidaciones posteriores. Los derivados más representativos de estas acetogeninas aromáticas son quinonas, xantonas, cumarinas, cromanos y cromonas, así como sus productos de degradación.

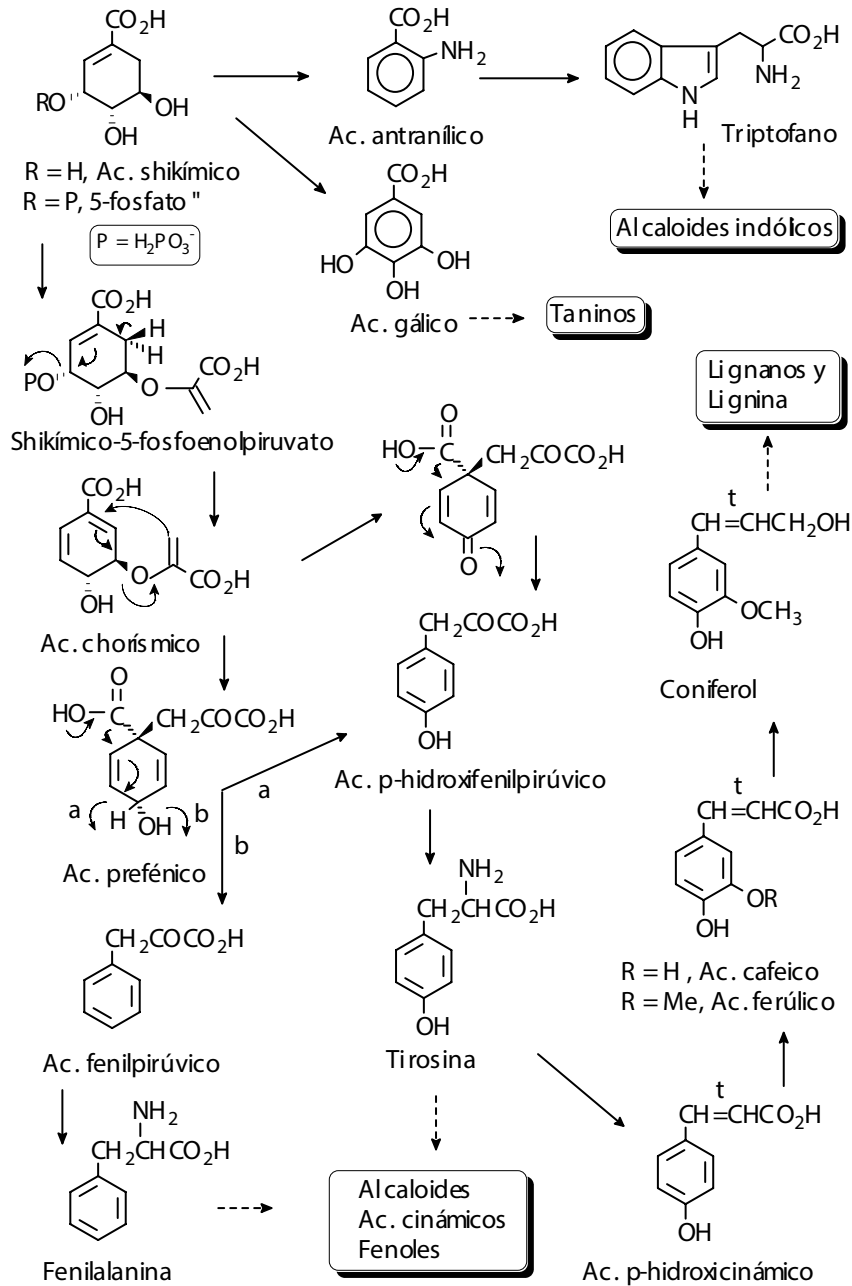
3.2.2. Derivados del ácido shikímico

La glucosa es el precursor de los fenilpropanoides a través del intermediario clave: el ácido shikímico. Este compuesto fue aislado en 1885 de un árbol japonés shikimi-no-ki, y su intervención en la bioformación de fenoles naturales fue establecida en 1955. La ruta metabólica que conduce al ácido shikímico involucra un intermediario de 7 átomos de carbono proveniente de la condensación de fosfoenolpiruvato y eritrosa, según se indica en el cuadro 3-2.

Cuadro 3-2. Bioformación del ácido shikímico y compuestos análogos.



Cuadro 3-3. Derivados del ácido shikímico.

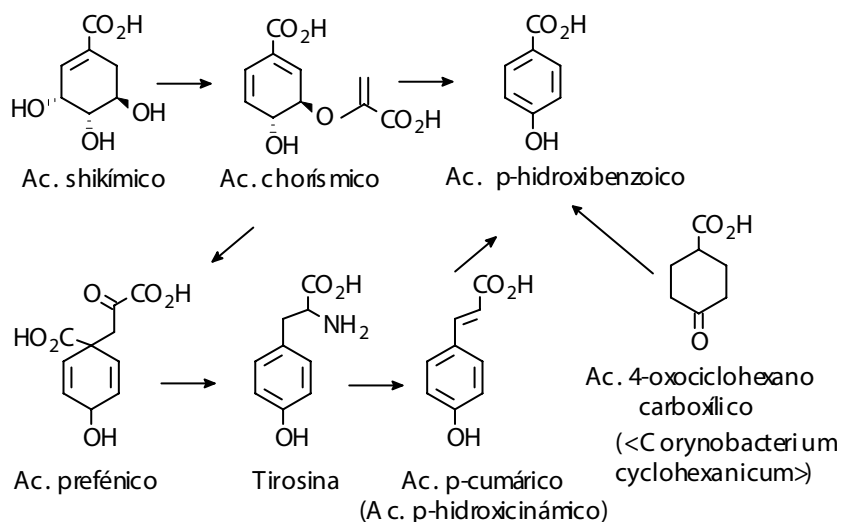


Fitoquímica Orgánica

El ácido shikímico, precursor de ácidos benzoicos sustituidos, se condensa de nuevo con una unidad de fosfoenolpiruvato y produce ácido chorísmico, precursor de los fenilpropanoides, según se indica en el cuadro 3-3.

El grupo de los fenilpropanoides es el más abundante y comprende además el mayor número de variaciones estructurales que van desde moléculas con esqueletos C_6-C_3 hasta polímeros, mientras que los derivados del ácido benzoico con esqueletos C_6-C_1 , son reducidos en número y es frecuente encontrarlos como parte de los sustituyentes (por ejemplo ésteres) de otras estructuras.

La biosíntesis de compuestos fenólicos simples ha sido estudiada extensamente. Aparte de las muchas incógnitas por resolver en los pasos individuales de las secuencias biogénicas, hay un gran número de casos donde se ha detectado más de un camino para llegar a un mismo producto fenólico y ello depende del medio biológico sintetizante. Por ejemplo para el ácido p-hidroxibenzoico se propone al menos tres vías de formación: directamente del ácido chorísmico, a partir del ácido 4-oxo-ciclohexanocarboxílico y a través del ácido p-cumárico. El ácido p-hidroxibenzoico es un intermediario importante en la síntesis de ubiquinonas y plastoquinonas.

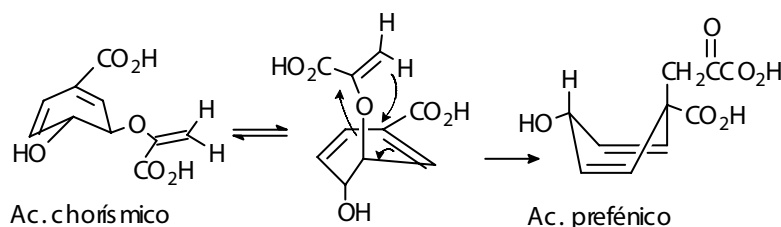


Aún para compuestos muy semejantes pueden visualizarse dos rutas distintas en su formación; por ejemplo, el ácido salicílico se genera del ácido

shikímico pero el 6-MSA (ácido 6-metilsalicílico) tiene origen policétido.

El patrón de oxigenación de los anillos aromáticos puede tomarse como un indicio del origen del polifenol, pues aquellos derivados del acetato malonato conservan la alternancia de los oxígenos (patrón meta) mientras que en los derivados del shikimato las funciones oxigenadas guardan relación orto. Pero, no debe olvidarse la posibilidad de oxigenaciones ulteriores sobre el esqueleto ya formado, o las deshidrataciones que pueden alterar los patrones meta y orto, complicando así el análisis superficial del origen de una estructura dada.

Entre los derivados del ácido shikímico se cuenta con esqueletos C_6-C_1 , C_6-C_3 (fenilpropanoides) y un grupo de sustancias abundantemente distribuidas en la naturaleza, en cuya formación intervienen ambos precursores, shikímico y acético: $C_6-C_3-C_6$ (los flavonoides). La unidad C_6-C_3 se origina por un reordenamiento Claisen del ácido chorísmico que da lugar al ácido prefénico. La esteoquímica de esta reacción in vivo es idéntica a la correspondiente reacción fotoquímica in vitro. El ácido prefénico es el precursor de los aminoácidos aromáticos: tirosina y fenilalanina que forman por desaminación, los ácidos p-cumárico y cinámico, respectivamente, y de ellos se derivan otros fenilpropanoides.



A fin de sistematizar la descripción de las diferentes estructuras fenólicas naturales se tratará de agruparlas de acuerdo a su similitud esquelética lo que representará rutas biosintéticas similares. Así se tendrán compuestos fenólicos sencillos (C_6-C_1 y C_6-C_3), quinonas, α -pironas, γ -pironas, flavonoides, lignoides, dépsidos, taninos y otros pigmentos condensados.

3.3. Glicósidos fenólicos

Generalmente los fenoles que se encuentran libres se acumulan en semillas, frutos y tejidos muertos, a excepción de los compuestos poliméricos como taninos y ligninas; estas últimas están dentro de las células, en asociación íntima con la celulosa formando el tejido de sostén de los vegetales superiores.

La mayoría de los compuestos fenólicos de bajo peso molecular se presentan en las células vivas en forma combinada, generalmente como O-glicósidos. Puede interpretarse entonces, que la glicosación juega un papel importante en la economía de las plantas, pues al aumentarla solubilidad de las agliconas en agua, aquéllas aumentan su movilidad en los fluidos acuosos del organismo sintetizador y ello representa un método de almacenar fenoles sin que interfieran en otros procesos metabólicos. Se denomina aglicona o genina a la porción diferente del azúcar que se obtiene por hidrólisis de los glicósidos. El azúcar puede ser un mono-, di-, tri-, o menos frecuentemente, oligo- y polisacárido y estar conformado por unidades de hexosa y pentosa. Una fuente muy rica en éstos es la soya (*Glycine max*, Leguminosas) que presenta los triglicósidos como O-(α -ramnosil-(1 \rightarrow 2)-O-(β -glucosil)-(1 \rightarrow 6)-glucosa sustituido en el C-3 de quercetina y kanferol. También se encuentran combinaciones de glicosación en átomos de carbono (C-glicósido) en las cuales se genera una unión C-C entre el azúcar y la aglicona, mientras que en los O-glicósidos se une el azúcar a un oxígeno de la aglicona a través de un éter que forma parte de una estructura acetálica, en el caso de enlazarse con el carbono anomérico.

De las agliconas, aquellas pertenecientes al grupo de los flavonoides son las más abundantes y en éstas los azúcares están principalmente en C-3 (flavonoles y antocianinas) y unidos al anillo A: O-glicósidos en C-5 y C-7, y C-glicósidos en C-6 y C-8. Menos frecuentemente se encuentra glicosación en 4' y 3'*. Eventualmente, los azúcares pueden presentarse unidos covalentemente al C-3 del flavonoide con iones inorgánicos como el sulfato ácido. La sulfatación aunque poco frecuente, ocurre en cualquiera de los OH tanto del azúcar como de la aglicona, principalmente en las posiciones 3 y 7. Entre los glicósidos también se encuentra esterificación en la unidad de azúcar, con los ácidos, acético, benzoico, ferúlico, gálico, cumárico, cafeico y otros.

*Para la numeración del esqueleto de flavonoides, ver página 139.

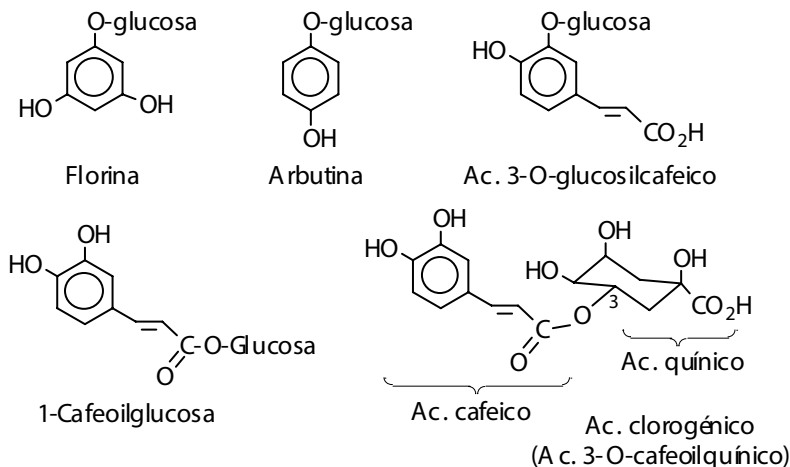
Entre los flavonoides conjugados con azúcares, los O-glicósidos son los más abundantes. El primer C-glicósido fue aislado en 1898 por Perkin: vitexina, cuya estructura fue definitivamente establecida a finales de los años 50. Los C- y O-glicósidos, que se localizan principalmente en los cloroplastos, pueden contener varios azúcares: arabinosa, galactosa, glucosa, ramnosa, xilosa, así como azúcares raros como por ejemplo el 6-desoxi-xilo-hexo-4-ulósido que forma parte de una C-glicoflavona del maíz, inhibidora del desarrollo de insectos en la planta.

La glicosación es menos frecuente en cumarinas, chalconas e isoflavonoides. También los fenoles sencillos, derivados del ácido benzoico (C_6-C_1) o del cinámico (C_6-C_3), se presentan asociados con glucosa. Por ejemplo el floroglucinol está en la piel de los cítricos como su glucósido: florina y la hidroquinonasa encuentra en hojas de pera como su glucósido: arbutina.

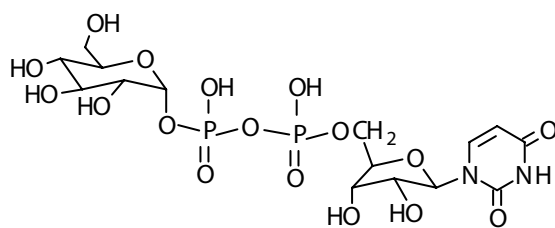
Ciertos derivados del ácido cafeico presentan uniones con la glucosa tanto en el OH fenólico en C-3 como formando un éster en la porción del ácido. Análoga a estos tipos de ésteres glicosídicos se encuentran los llamados ácidos clorogénicos, compuestos asociados con la resistencia de las plantas a ciertas enfermedades, éstos son ésteres del ácido quínico y del ácido 3,4-dihidroxicinámico. Los glicósidos se encuentran en todos los órganos del vegetal pero tal como para las agliconas, su abundancia relativa está coligada a las funciones específicas de los órganos. Por ejemplo las antocianinas (glicósidos de las antocianidinas) son pigmentos naturales y se acumulan preferentemente en las flores y los frutos.

Los glicósidos se nombran indicando el tipo del azúcar (o azúcares) y la (s) posición (es) de unión con la aglicona que se identifica con su nombre; por ejemplo, kanferol-3-O- β -D-glucósido, indica que la molécula de kanferol está unida por el oxígeno en C-3 a una molécula de D-glucosa en el carbono anomérico con configuración β . Algunos tienen nombre propio (ej. arbutina). Genéricamente, la terminación inina es indicativo de un glicósido, sin especificar el tipo o tipos de azúcar ni su ubicación en la aglicona, mientras que la terminación idina se reserva para la aglicona, por ejemplo, las antocianinas son los glicósidos de las antocianidinas.

Desde el punto de vista de su bioformación, la presencia de mono-, di-, y trisacáridos relacionados a la misma aglicona y en la misma planta, sugiere



la transferencia por etapas sucesivas de la porción del azúcar a partir del transferidor: uridina-difosfato, al fenol apropiado. Los monosacáridos más frecuentes son D-glucosa, D-galactosa, D-xilosa, L-ramnosa y L-arabinosa, generalmente asociados a la aglicona en uniones beta para los tres primeros y alfa para los dos últimos y ácidos galacturónico y glucurónico. Entre los flavonoides diglicosidados la glucosa y la ramnosa son los azúcares más frecuentes y existen en varias combinaciones; es usual encontrar más de una posición glicosidada.



Uridina-5'-difosfato-glucosa

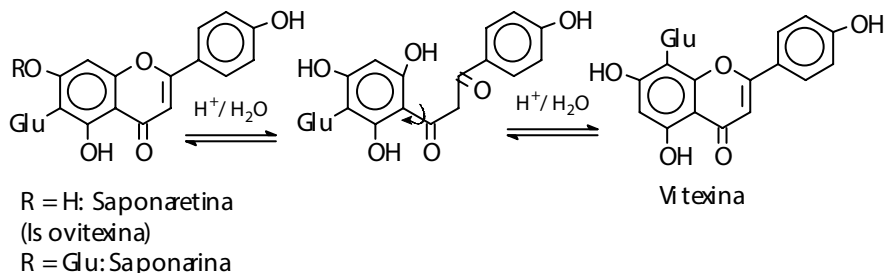
Los monosacáridos se unen entre sí 1,2 y 1,6 (a veces 1,4) en hexosas ó 1,5 en pentosas, estando el azúcar reductor en el terminal de la cadena glicosídica. Es de notar que los di- y trisacáridos asociados a fenoles no han sido encontrados libres o formando parte de unidades estructurales en polisacáridos comunes.

Mientras que la O-glicosación de flavonoides ocurre en las fases terminales de la biosíntesis, la C-glicosación tiene lugar en los pasos intermedios. Ello fue detectado con el siguiente experimento. La incubación de apigenina marcada con ^{14}C en C-2 en *Spirodela polyrhiza*, planta conocida como acumuladora de C- y O- glicósidos, produjo el derivado 7-O-glicosido isotópicamente marcado, pero no se encontraron rastros de C-glicosación. Sin embargo, cuando se incubó naringenina marcada con ^{14}C en C-2 se encontró tanto 7-O-glucosilapigenina como 8-C-glucosilapigenina (vitexina). La naringenina es precursora de apigenina (ver sección 3.6.5).

En el aislamiento y caracterización de los glicósidos hay que considerar dos factores importantes: la facilidad de hidrólisis (ácida o enzimática) de los enlaces O-glicosídicos y la necesidad de disponer de las agliconas sin la contaminación de azúcares libres, propios de la planta o provenientes de glicósidos. La velocidad de hidrólisis depende principalmente de la naturaleza del azúcar. La hidrólisis enzimática es un método útil para propósitos de caracterización. Existen varias enzimas hidrolíticas de las cuales la β -glucosidasa es la más común, no es específica en cuanto al sustrato e hidroliza la mayoría de las uniones β -D-glicosídicas.

En general, los disacáridos son eliminados más lentamente que los monosacáridos, de esta manera, puede controlarse la hidrólisis selectiva de las uniones con monosacáridos sin alterar aquellas de los di- y polisacáridos conjugados a la misma aglicona. También es posible disponer de sistemas enzimáticos que no destruyen los enlaces entre unidades de monosacáridos, pero separan de la aglicona el resto del di- u oligosacárido intacto. Existen métodos enzimáticos que permiten «quitar» por pasos, las unidades de azúcar mediante enzimas específicas.

La C-glicosación es resistente a la hidrólisis. Las uniones C-glicosídicas siempre se encuentran adyacentes a un OH fenólico, por lo que se supone que en su bioformación interviene el precursor O-glicosido. Esta distribución también puede ser el resultado de la activación de la posición orto al fenol. La C-glicosación se presenta en chalconas, flavanoles, isoflavonas, flavonas, flavanonas, principalmente sobre C-8 y C-6 como por ejemplo en vitexina y saponarina respectivamente, que co-ocurren en *Polygonum orientale*. Nótese que la isomerización de 5-hidroxi-C-glicoflavonas catalizada por ácido, es un proceso bien conocido y tiene lugar por apertura reversible del anillo heterocíclico.



Hay dos factores que complican la determinación estructural de los glicósidos. A parte de la ubicación y la naturaleza del azúcar, cada monómero puede estar bajo la forma furanósida o piranósida y en cada una de ellas es necesario determinar la estereoquímica de los carbonos anoméricos. Así, para un glicósido muy sencillo como el 3-O-arabinokanferol, se han aislado las cuatro formas α - y β -furanosa y α - y β -piranosa, pero en la mayoría de los casos no se conocen todos los isómeros posibles.

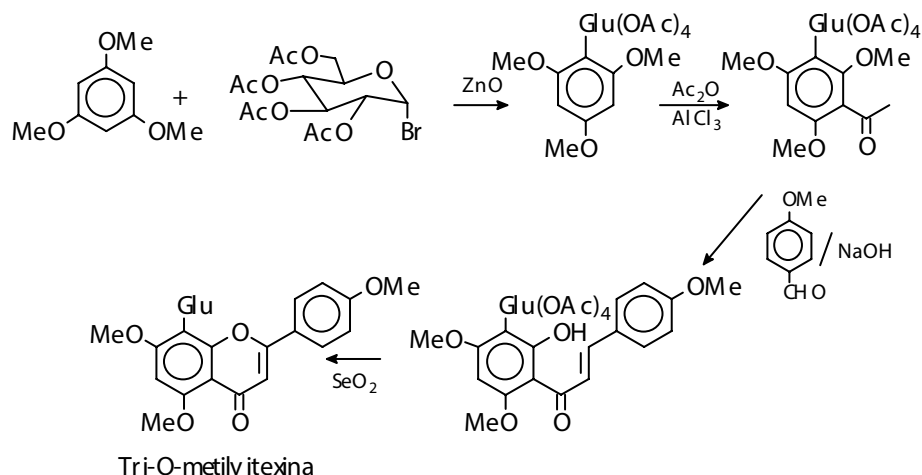
Se indicó que los C-glicósidos a diferencia de los O-glicósidos, son resistentes al tratamiento con ácido (hidrólisis), es decir no se logra la separación del azúcar de la aglicona y es ésta una manera de diferenciar ambos tipos de compuestos. Sin embargo, los ácidos inducen la isomerización del resto del azúcar. Así, se producen mezclas de anómeros furanósidos y piranósidos y como consecuencia, la mayor dificultad para la determinación de sus estructuras reside en la identificación del residuo glicosídico original. Este inconveniente se ha aliviado mediante el análisis de los derivados O-metilados por espectrometría de masas y por RMN de ^1H y ^{13}C del producto sin metilar.

En la síntesis de los C-glicósidos es indispensable proteger los OH fenólicos de los anillos A y B y generalmente se comienza por unir el azúcar al anillo correspondiente. En la literatura están citados buenos rendimientos si se trata de compuestos simétricos, como lo es el tri-O-metilfloroglucinol en la síntesis de la O-metilvitexina (ver próxima página)

3.4. Aislamiento e identificación

Los métodos de detección, aislamiento e identificación de compuesto fenólicos se fundamentan en sus propiedades ácidas y en su polaridad. Así, la

Compuestos Aromáticos



solubilidad en álcali es utilizada en ocasiones para fines de extracción y los métodos espectroscópicos, de los cuales la espectroscopía ultravioleta es la clásica, permitiendo diferenciar este grupo de sustancias. Tal como para otros metabolitos secundarios, es difícil visualizar uno o dos métodos generales de aislamiento y purificación, sobre todo cuando se consideran compuestos poliméricos como taninos, ligninas y procianidinas, o si se incluyen alcaloides fenólicos o esteroides fenólicos, que por su naturaleza, son considerados en los capítulos correspondientes.

La mayoría de los fenoles son sólidos y su color varía desde incoloro hasta fuertemente colorados, dependiendo de la conjugación del o los cromóforos presentes, su solubilidad en solventes polares: metanol, butanol, ..., permite diferenciarlos de otros pigmentos liposolubles igualmente colorados: los carotenoides. Su acidez los hace solubles en bases, como hidróxido de sodio y carbonato de sodio. Generalmente absorben en la región visible y ultravioleta y sus espectros son afectados por reactivos de desplazamiento de manera característica. Entre estos reactivos se encuentran bases y sales inorgánicas cuyo metales capaz de formar quelatos con dos oxígenos fenólicos y/o cetónicos vecinos.

La prueba específica y universal para fenoles es la producción de una intensa coloración verde, marrón o azul con soluciones recién preparadas de cloruro férrico 1-2 %, le siguen pruebas de reactividad de los anillos aromáticos, por

reacciones de acoplamiento con sales de diazonio recién preparadas (puede usarse cualquier amina diazotada, aunque las correspondientes al ácido sulfanílico y a la p-nitroanilina producen las coloraciones más intensas) y por último, la facilidad de oxidación de los fenoles se manifiesta por la reacción de Tollens o cualquier otro reactivo oxidante.

La extracción precedida por el desgrasamiento del material con un solvente no polar. Si se desea analizar los glicósidos, el método general es una primera hidrólisis del crudo y el análisis de la mezcla de agliconas; esto permitirá diseñar una estrategia para el aislamiento y purificación de los compuestos originales. En ocasiones, la purificación mediante precipitaciones sucesivas o la distribución contracorriente, dan resultados satisfactorios y esta última técnica se emplea para purificarlos y separarlos de acuerdo a su acidez, si una de las fases se ajusta a diferentes valores de pH mediante el empleo de soluciones buffer.

La cromatografía es un método ampliamente preferido y se emplea tanto sobre resinas de intercambio que se usa en la purificación más que para la separación, como sobre adsorbentes alúmina, sílica, celulosa, poliamida, y carboximetilcelulosa, siendo los solventes de elución mezclas de benceno-cloroformo o de butanol-ácido acético para las dos primeras, mientras que las últimas aceptan solventes más polares como metanol acuoso. Sephadex LH-20 y adsorbentes de fase reversa (RP-8 y RP-18) son ideales para los glicósidos.

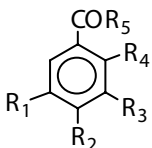
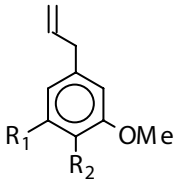
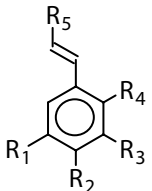
La cromatografía analítica en papel en todas sus variantes, es todavía utilizada para las primeras detecciones y los solventes de desarrollo se escogen de acuerdo al tipo de sustancia, aunque el eluyente universal es una mezcla en varias proporciones, de un alcohol parcialmente soluble en agua (n-butanol, n-pentanol o isopentanol), ácido acético (o fórmico, o clorhídrico) y agua.

Los papeles impregnados con dimetilformamida aumentan la eficiencia en la separación de fenoles simples. El reactivo visualizador general es una solución 1-5 % de una sal de aluminio (cloruro, acetato o sulfato) o una solución 0.2 % de amina diazotada estabilizada con carbonato de sodio al 20%. La cromatografía de gases requiere de la volatilización previa de los productos mediante la preparación de sus éteres trimetilsilílicos y hoy día cobran más importancia la cromatografía de alta presión, HPLC, en sus versiones analítica y preparativa y la técnica de cromatografía contracorriente a la gota: DCC.

3.5. Compuestos fenólicos sencillos y sus estructuras poliméricas

Entre los compuestos fenólicos sencillos pueden contarse derivados de fenoles simples: C_6 , del ácido benzoico: C_6-C_1 , de la acetofenona: C_6-C_2 , y del ácido cinámico (fenilpropano): C_6-C_3 . Hay relativamente pocos fenoles sencillos en la naturaleza y se forman por reacciones de degradación de los fenilpropanoides; algunos se derivan del ácido acético. La hidroquinona es probablemente el más frecuente, le sigue el floroglucinol que se encuentra libre (en té, cebollas) y combinado con glucosa (en varios cítricos). Los ácidos fenólicos son comunes en las plantas superiores. Para su formación se propone la conversión de los precursores directos: ácido shikímico \rightarrow ácido quínico, además de la degradación del fenilpropano correspondiente ácido cinámico y sus derivados.

Tabla 3-1. Compuestos fenólicos sencillos.

	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	
	H	H	H	OH	OMe	Salicilato de metilo
	H	OH	H	H	OH	Ac. p-hidroxibenzoico
	H	OH	OMe	H	OH	Ac. vanílico
	OH	OH	OH	H	OH	Ac. gálico
	OMe	OH	OMe	H	OH	Ac. siringico
	H	OH	OH	H	OH	Ac. protocatecuico
	H	OH	OMe	H	H	Vanilina
	H	OH	OGL	H	Me	Pungénina
	R ₁	R ₂				
	H	OH				Eugenol
	OCH ₂ O					Miristicina
	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	
	H	OH	H	H	CO ₂ H	Ac. p-cumárico
	H	H	H	OH	CO ₂ H	Ac. o-cumárico
	H	OH	OH	H	CO ₂ H	Ac. cafeico
	H	OH	OMe	H	CO ₂ H	Ac. ferúlico
	OMe	OH	OMe	H	CO ₂ H	Ac. sinápico
	H	OGL	OMe	H	CH ₂ OH	Coniferina
	H	OH	OMe	H	CH ₂ OH	Alcohol coniferílico
OCH ₂ O	OMe	H	CH ₃		Isomiristicina	

Los monómeros más conocidos con la unidad C_6-C_1 se ilustran en la tabla 3-1, generalmente se encuentran esterificados (ej. salicilato de metilo, que es el componente principal de la esencia de gaulteria) o formando glicósidos (ej. salicina, aislado de sauces). La mayoría forman parte de estructuras más complejas, a veces poliméricas como la lignina cuyos monómeros más abundantes son los ácidos p-hidroxibenzoico, vanílico y siríngico. El ácido protocatecuico está muy difundido en Angiospermas, el ácido salicílico es frecuente en Ericáceas y el ácido gálico, pocas veces encontrado libre, forma un dímero común: ácido elágico, del cual se sospecha que sea un artefacto de extracción del primero. Las acetofenonas C_6-C_2 , provenientes de un proceso de β -oxidación del precursor C_6-C_3 , aparecen como glicósidos, por ejemplo pungenina, aislado de *Picea pungens*. Los fenilpropanoides son los más abundantes dentro de esta clase, su secuencia de formación: ácido shikímico \square ácido prefénico \square fenilalanina \square ácido cinámico, está bien establecida. En la cadena lateral se encuentran varios niveles de oxidación: ácidos, alcoholes, aldehídos, hidrocarburos, saturados o insaturados. Es frecuente la metilación de OH fenólicos, como por ejemplo el eugenol (del aceite de clavo) o miristicina (el principio aromático de la nuez moscada), que al igual de otros fenilpropanoides, le son atribuidas propiedades psicotrópicas.

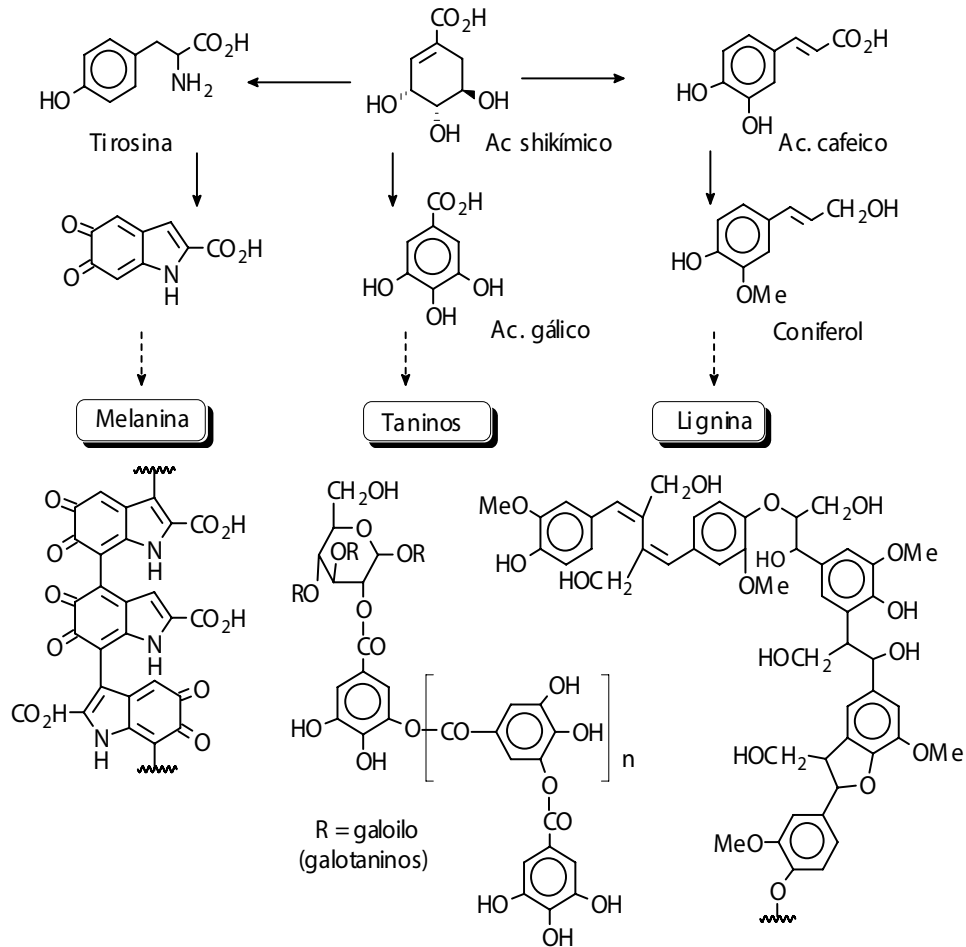
En las estructuras poliméricas (taninos, melanina, ligninas) se repiten las unidades C_6-C_1 y C_6-C_3 y de esta manera, la fuente principal de los fenoles sencillos son los polímeros cuya génesis se esquematiza en el cuadro 3-4. En el cuadro se ilustran las estructuras promedio de los polímeros mencionados.

3.5.1. Metabolismo general de los fenilpropanoides

La formación de la unidad C_6-C_3 derivada del ácido shikímico involucra la transformación de la fenilalanina al tioéster cumaril-CoA, las enzimas que catalizan los pasos individuales son fenilalanina amonioliasa (1), cinamato-4-hidroxilasa (2) y 4-cumarato-CoA ligasa (3), que actúan en los pasos que se indica en la página 137.

Si bien existen algunos ejemplos de oxidación de fenilalanina en microorganismos y en animales (la oxidación ocurriría a nivel de aminoácido para la formación de tirosina), este proceso no parece tener lugar en plantas superiores y la tirosina es sintetizada directamente a partir del ácido shikímico,

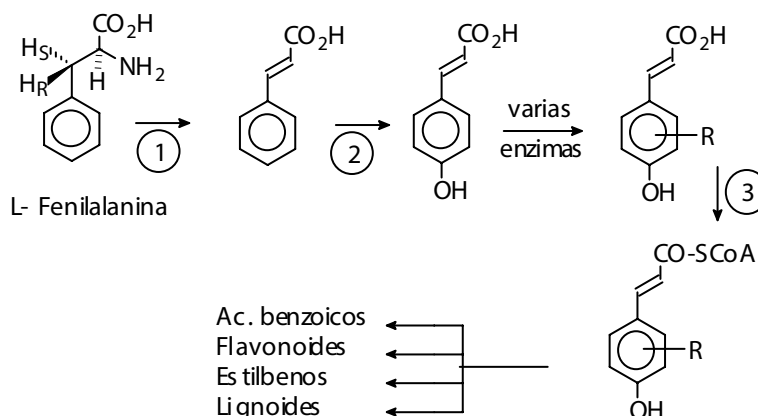
Cuadro 3-4. Origen de polímeros fenólicos.



vía ácido 4-hidroxifenilpirúvico (cuadro 3-3). También es posible aunque con menor eficiencia, convertir la L-tirosina (con una enzima apropiada) en 4-cumaril-CoA.

En la eliminación anti del amoníaco sale el protón pro-3S (paso 1). La cinamato-4-hidroxilasa (paso 2) es una mono-oxigenasa cuya acción depende de NADPH y oxígeno molecular; es altamente específica, se inhibe por el cis-cinamato y por su producto de oxigenación: 4-trans-cumarato

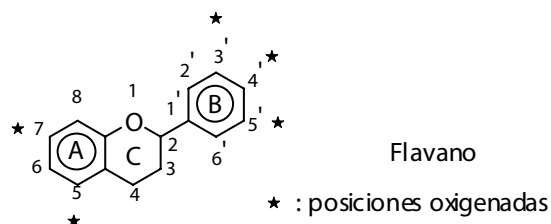
Metabolitos secundarios derivados de fenilalanina



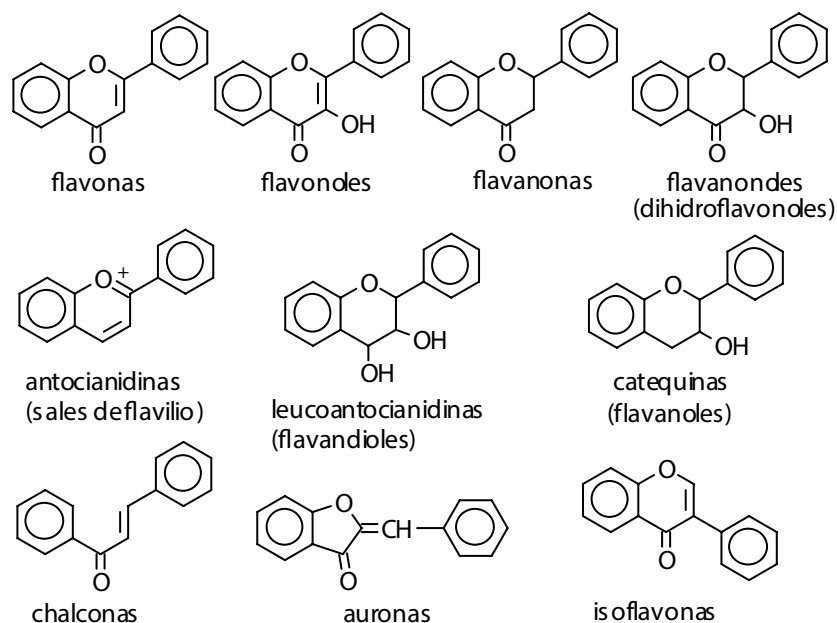
La 4-cumarato-ligasa (paso 3) (que se aisló por primera vez, de hojas de acelgas) es responsable de la «forma activa» de los derivados del ácido cumárico; actúa en presencia de ATP, Mg^{+2} y CoASH. La unión de trans-p-cumaril-CoA con unidades consecutivas de dos átomos de carbono provenientes de malonato-acetato conduce a la formación de un gran número de compuestos reconocidos como $C_6-C_3-(C_2)_n$, donde n es generalmente 3, y son los representantes más abundantes dentro de los fenoles naturales: los flavonoides. Existen ejemplos donde la cadena del policétido es más corta, tal es el caso de la zingerona, el principio activo del jengibre y además compuestos cíclicos de tipo α -pironas como la yangonina. También hay ejemplos de compuestos diméricos como por ejemplo la curcumina, el pigmento de la cúrcuma (Curcuma tinctorum) donde las unidades C_6-C_3 están unidas por un puente metileno (ver fórmulas en la página siguiente).

3.6. Flavonoides

Los flavonoides no son metabolitos primarios, se encuentran casi en cualquier vegetal superior y hay más de 8000 compuestos conocidos de plantas vasculares mientras que en los vegetales inferiores: algas, hongos, bacterias, los compuestos fenólicos principales son quinonas y xantonas y a éstos deben su color. La función de los flavonoides en la planta son varias. Así, se consideran



Estos pueden contener un anillo central heterociclo (γ -pironas) que son los más abundantes, o una cadena abierta: chalconas, como precursores de los anteriores. La proporción de oxigenación varía y puede estar como OH, OMe, dioximetileno y aún formando glicósidos. Las polimerizaciones son frecuentes, hay muchos monómeros, algunos dímeros, pocos trímeros y tetrameros; la mayoría son polímeros entre los cuales se encuentran los taninos condensados. La polimerización ocurre principalmente por uniones C-C y a medida que ésta aumenta, se intensifica el color. El estado de oxidación del anillo central determina varios grupos estructurales que se ilustran en la figura a continuación. La hidroxilación en los anillos aromáticos es muy frecuente en las posiciones 7 y 4', frecuente en 5 y 3', a veces en 5' y 8, y escasa en 6 y 2'. Hay un grupo de flavonoides que presentan el anillo B unido a C-3 y se denominan isoflavonoides



3.6.1. Aislamiento e identificación

Como en el caso de otros compuestos fenólicos, los flavonoides son por lo general, altamente polares y estas propiedades aprovechadas para su aislamiento. Se ubican preferentemente en las vacuolas y por tanto son hidrofílicos. La extracción con agua o solventes acuosos puede presentar algunas desventajas como es la co-extracción de otros compuestos hidrosolubles difíciles de separar: azúcares, péptidos, o enzimas, como por ejemplo la glicosidasa, que no se destruyen por el medio acuoso y al actuar sobre los compuestos fenólicos produce cambios en las moléculas originalmente presentes a un poco con solventes acuosos es posible aislar aquellos flavonoides ocultos en los cloroplastos y otros organelos, pues se requiere de solventes lipídicos para destruir la membrana y permitir su flujo hacia el medio. Los polifenoles, a menos que sean totalmente esterificados o eterificados son solubles en solventes polares y los glicósidos lo son en agua.

Para aislarlos se recurre a la extracción con solventes de polaridad creciente o directamente con álcali; el material se purifica mediante extracciones repetidas y precipitaciones con acetato básico de plomo. Este último separa los di- y polihidroxi-fenoles de los monohidroxilados, que quedan en solución. Para recuperarlos de las sales de plomo, éstas se descomponen con ácido sulfúrico o con sulfuro de hidrógeno.

Si el material biológico es un tejido animal o un fluido como sangre u orina, son necesarias otras técnicas. En el primer caso deben precipitarse las proteínas con ácido trifluoroacético, mientras que en el segundo es necesario calentar bajo reflujo con iguales volúmenes de HCl concentrado para hidrolizar los sulfatos o glucuronatos y liberar así la aglicona que es extraída con un solvente orgánico de polaridad intermedia. Los extractos totales desgrados son en general separados por métodos cromatográficos.

3.6.2. Cromatografía

En la separación y purificación se emplean columnas de resinas de intercambio iónico (fase H^+) que los separa del resto del material hidrosoluble y una vez recuperados de la columna el fraccionamiento se puede lograr por cromatografía de adsorción (para los menos polares) sobre silicato de magnesio.

(magnesol), sílica gel, celulosa, poliamida, etc.; para los últimos adsorbentes pueden emplearse solventes acuosos y estas combinaciones son apropiadas para polihidroxi-flavonoides. La separación de los glicósidos se logra por cromatografía en fase reversa. La cromatografía en papel y TLC, en fases normal y reversa, en una y en dos dimensiones es usada para individualizarlos compuestos de mezclas complejas, siendo los reactivos de coloración más populares cloruro férrico, cloruro de aluminio, cloruro de antimonio y sulfato cérico-amónico.

En los últimos años se han desarrollado varias técnicas cromatográficas nuevas que además de reducir el tiempo de separación, simplifican el tratamiento previo. Entre ellas, HPLC y DCCC (cromatografía contracorriente a la gota) son las de mayores posibilidades, así como la cromatografía centrífuga de capa fina para fines preparativos. La cromatografía analítica y preparativa en capa fina: TLC y su análoga de alta resolución: HPTLC, proveen buenas y rápidas separaciones. Por supuesto que en las técnicas donde se emplea un adsorbente o un soporte sólido como en el caso de la cromatografía de partición, debe considerarse la adhesión de los compuestos a éste, lo cual ocasiona separaciones poco nítidas si el solvente no es escogido cuidadosamente. En la tabla 3-2 se indican las condiciones empleadas para placas de TLC en los trabajos de rutina.

Tabla 3-2. Condiciones generales para TLC de los flavonoides.

Adsorbente	Solvente
Sílica-gel	Bz-Py-NH ₄ OH: 80-20-1
	Cl ₂ CH ₂ -AcOH-agua: 2-1-1
	Cl ₃ CH-EtOAc-Me ₂ CO: 5-1-4
	BuOH-AcOH-agua: 3-1-1
	CH ₂ O ₂ -EtOAc-agua: 9-1-1
	Cl ₃ CH-AcOH: 100-4
Poliamida	Bz-MeEtCO-MeOH: 4-3-3
	agua-BuOH-AcOH-Me ₂ CO: 16-2-1-2
Celulosa	Cl ₃ CH-AcOH-agua: 10-9-1

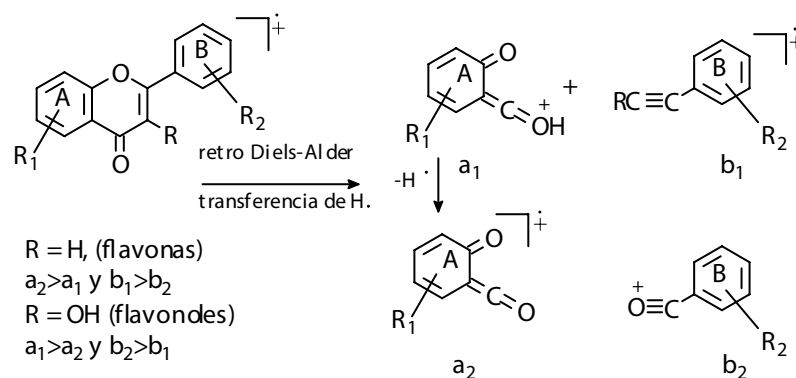
- a. Cromatografía en columna. La sílica gel (en fase normal o reversa) es el adsorbente universal; para la fase reversa (RP-8 y RP-18) eluyen primero los glicósidos con solventes acuosos y luego las agliconas pueden separarse con mezcla cloroformo-metanol. Los geles de Sephadex son buenas fases estacionarias, especialmente G-10 y G-25 y son usados en solventes acuosos (MeOH-agua o acetona-agua) para el análisis de flavonoles, 6-hidroxi flavonas, y los glicósidos. En los últimos se separan mejor sobre Sephadex LH-20 con metanol-agua y cloroformo-metanol.
- b. HPLC. Existe adsorbente tanto para fase normal como para fase reversa; para la última se usa como eluyentes mezclas de MeOH-agua o acetonitrilo-agua, tanto para las agliconas como para los glicósidos.
- c. Cromatografía de gases. Para ello se requiere de compuestos termoestables y es generalmente necesario derivarlos con agentes sililantes a fin de aumentar estabilidad térmica y su volatilidad. Las columnas de Cromosorb WAW DMC S (soporte) con 1.5 % de SE-30 o 1.5 % de SE-52 (fases estacionarias o columnas capilares equivalentes) parecen ser las mejores, contando con programación de temperatura entre 80 y 300°. Estas condiciones son empleadas en CG-EM para fines analíticos.

3.6.3. Métodos espectroscópicos

Como para cualquier determinación de estructuras químicas, los métodos espectroscópicos son de valor creciente sobre todo cuando se considera que la disponibilidad de material decrece por tratarse de elucidar estructuras de compuestos bien sea muy complejos minoritarios, que habían sido ignorados. Por otra parte el gran número de estudios previos hace posible aplicar patrones conocidos y acelerar así la elucidación de estructuras. De los cuatro tipos de espectroscopía, la infrarroja es la de menor utilidad en este campo, ya que la similitud de los grupos funcionales y de los esqueletos la hace poco aplicable.

La espectrometría de masas necesita de la permetilación (metilación total de los OH libres) para hacer a los compuestos volátiles, las flavonas y los flavonoles son bastante estables a menos que sean altamente sustituidos. La fragmentación principal implica la escisión del anillo heterocíclico, este com-

portamientos casi universal para todos los flavonoides lo cual no permite diferenciar los esqueletos fácilmente. Para flavonas y flavonoles la fragmentación retro-Diels-Alder del anillo central se ilustra en la figura.

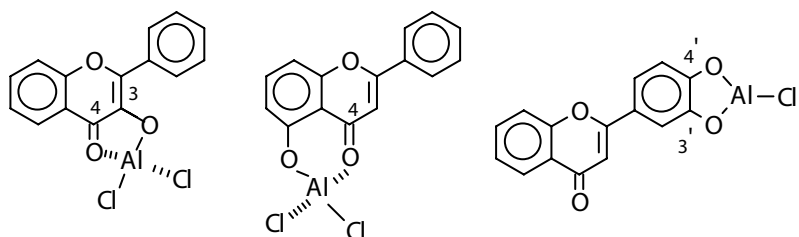


3.6.3.1. Espectroscopía ultravioleta

El máximo de absorción de los flavonoides no sólo varía de acuerdo al estado de oxidación del anillo central, sino además del número y posición de los grupos OR, como resultado de los diferentes sistemas conjugados. Por otra parte, el empleo de reactivos de desplazamiento como cloruro férrico etóxido de sodio, acetato de sodio y ácido bórico produce corrimientos de los máximos de absorción de acuerdo a la localización y naturaleza de las funciones oxigenadas.

Para las flavonas y los flavonoles la Banda I se encuentra entre 320 y 380 nm mientras que la Banda II se localiza entre 240 y 270 nm. Las antocianinas presentan el máximo de absorción cerca de 500-550 nm, muy similar a los de sus agliconas. Nótese que esos valores cambian con el solvente, son menores en agua que en metanol (o etanol) y sufren un corrimiento del máximo de absorción a mayores longitudes de onda en medio ácido. Por ejemplo, la cianidina-3-ramnósido absorbe a 507, 523, 535 y 545 nm en agua, metanol, etanol y etanol-ácido clorhídrico, respectivamente. Al aumentar el número de OH conjugados con el sistema insaturado el máximo de absorción también se desplaza a mayor longitud de onda. Este comportamiento a su vez se observa cuando se alcaliniza la solución. El espectro UV de compuestos

que no contienen al menos dos grupos OH en posición orto, así como aquellos que no pueden formar quelatos entre el carbonilo en C-4 y un OH libre en C-5 ó C-3, no son afectados por la adición de cloruro de aluminio, que provoca la formación de complejos amarillos estables como los que se indican en la figura. Estos complejos producen un corrimiento a mayores longitudes de onda de la Banda I de 20 a 45 nm y un poco menor para la Banda II (10-20 nm).



Los OH libres también causan un desplazamiento batocrómico en soluciones alcalinas y éste es mayor en la medida que aumenta la conjugación a través del sistema enona, como por ejemplo aquellos que están en la posición 4'. La ionización de los OH en C-3 y C-4' da lugar a un corrimiento de la Banda I pero no afecta la Banda II. El acetato de sodio es particularmente útil para localizar los OH libres en C-7, el máximo de adsorción de la Banda II se desplaza de 8 a 20 nm a longitudes de onda mayores, mientras que el etóxido de sodio lo hace en unos 30 nm para la Banda II, si está presente un 7-OH, y 50-60 nm para la Banda I en caso de 4'-OH. La O-metilación y O-glicosación impiden la ionización y en este caso no se observan corrimientos batocrómicos con la adición de reactivos alcalinos.

Las auronas muestran 3 ó 4 máximos de absorción de los cuales el principal está en la región de 350-430 nm. El mayor corrimiento hacia el visible cuando se parangona con las flavonas, se ha explicado en función de la mayor tensión del anillo heterocíclico en las auronas y a la presencia del doble enlace exocíclico conjugado. La tensión del anillo también se refleja al comparar la zona de absorción de las chalconas: 300-400 (Banda I) y 220-270 (Banda II). Estas, al igual que las flavonas, sufren corrimiento batocrómico por adición de bases.

Los flavanoles y flavanonas, por faltarle el sistema enona conjugado, sólo presentan la absorción característica de los compuestos aromáticos

aislados: c.a. 280 nm. En la tabla 3-3, se resume los valores de los máximos de absorción de estos esqueletos.

Tabla 3-3. Variación en la absorción UV-VIS de los flavonoides (nm).

E esqueleto	MeOH	NaOH ^a	NaOAc ^b	AlCl ₃ ^c
flavonas	315-350	40-60	-	25-40
flavonoles	350-385	40-60	-	40-60
flavanonas	275-295	30-40	30-40	20-30
isoflavonas	250-270	10-15	5-15	10-20
chalconas	370-395	40-60	-	50-65
aurona	385-415	40-60	-	50-65
antocianinas	475-545	inestable.	-	15-50

a) 3 gotas de NaOH 2M o de NaOMe 1M. b) sólido (se añade hasta que comienza la turbidez)
 c) 2-8 gotas de AlCl₃ en MeOH. d) el corrimiento sólo se produce si hay dos OH en orto.

3.6.3.2. Resonancia magnética nuclear

Una limitante para recabar información mediante RMN de ¹H es la baja solubilidad de estos compuestos en solventes poco polares (tetracloruro de carbono, cloroformo, etc.) usuales en esta técnica. Una manera de solventar este problema es formando derivados (éteres o acetatos) que disminuyan la polaridad de las moléculas; sin embargo, esto es viable si se cuenta con cierta cantidad de material, pero aún así resulta engorroso, sobre todo cuando se trata de moléculas polihidroxiladas. Es más, los dímeros u oligómeros son particularmente complicados de derivar y persiste la dificultad de purificar las muestras. Los polímeros son frecuentemente poco solubles en agua o en cualquier otro solvente. En estos casos se prefiere el dimetilsulfóxido (DMSO-d₆). De hecho, muchos espectros de flavonoides naturales (sin la formación de derivados) han sido registrados en este solvente. La desventaja es que DMSO es higroscópico y por tanto la señal del agua (3-4 ppm) oculta las correspondientes a los compuestos, en esa zona. Además, su alto punto de ebullición dificulta la recuperación de la muestra. Para evitar este problema se puede precipitar la muestra por adición de agua o benceno, dependiendo del caso o

Compuestos Aromáticos

usar una pequeña columna con un adsorbente de fase reversa. Con los equipos modernos (RMN-FT) se pueden analizar muestras de unos pocos miligramos (5 mg o menos), que tolera no sólo el estudio de productos minoritarios sino también de aquellos poco solubles.

Para el caso de RMN de ^{13}C esta técnica no está limitada por la solubilidad de los compuestos en solventes hidroxílicos, especialmente D_2O y de ahí su mayor aplicabilidad en la elucidación de estas estructuras que pueden ser analizadas directamente sin derivación. En la selección del solvente prevalecen generalmente criterios de solubilidad, aunque también deben considerarse los efectos del solvente en el desplazamiento tanto de protones como de carbono, especialmente para aquellos núcleos directamente unidos a oxígenos fenólicos.

Tabla 3-4. Desplazamientos químicos de carbono en esqueletos de flavonoides.

Tipo de carbono	δ (en ppm a partir de TSM)
C=O (carbonilo, acetato)	210-170
Aromáticos y olefinicos	
oxigenados	165-155 (sin oxigenación/p) 150-130 (con oxigenación/p) 136-135 ($\text{C}_3\text{-H}$)
no oxigenados	135-125 (sin oxigenación/p) 125-90 (con oxigenación/p) 110-102 ($\text{C}_3\text{-H}$)
Alifáticos	
oxigenados (azúcares)	105 (anoméricos) y 55 (no anoméricos)
C-2 y C-3 flavonas	80-40
C-4 epicatequinas	28
metoxi aromático	64-55
metilo en C-aromático	20
metilo en C-alifático	17
dioximetileno	100

Fitoquímica Orgánica

Por ejemplo, para carbonosfenólicos la variación es del orden de 3 ppm(155□ 158), mientras que en los carbonosorto y para al OH es de 1 ppm, (116□ 115: orto, 120□ 121: para), y para la posición metaes de 0.5 ppm(130). Las zonas de los desplazamientos químicos de carbono para los flavonoides se ilustra en la tabla 3-4.

El efecto de los sustituyentes sobre el desplazamiento químico de los carbonos aromáticos sigue las mismas reglas que para otros sistemas fenólicos análogos que pueden ser usados como patrones. El desplazamiento químico de los carbonos del anillo heterocíclico de las agliconas permite distinguir el tipo de flavonoide y ello se relaciona en la tabla 3-5*.

Tabla 3-5. Desplazamiento químico de C-2, C-3 y C-4 en flavonoides. ^a

E esqueleto	C-4	C-3	C-2 ^b
chalconas	188-195	116-128	137-145
auronas	182-183	111-112	146-148
flavanonas	189-196	43-45	75-80
flavona	173-184	103-112	160-165
flavonoles	172-177	136-139	145-150
isoflavonas	174-181	122-126	150-155
pterocarpanos	78-79	39-4	66-67
catequinas	28-29	67-68	78-79
procianidinas	29-37	66-72	76-80

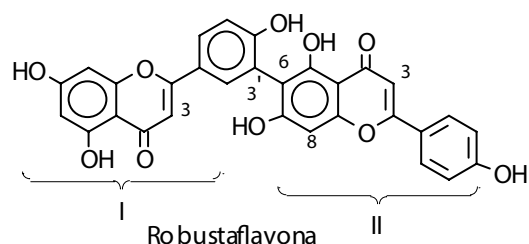
a) En ppm a partir de TMS, en DMSO o DMSO-CHCl₃.

b) La numeración de los esqueletos está indicada en la sección 3.6 y se aplica la misma para auronas, chalconas y pterocarpanos.

*a) K.R. Markham y H. Geiger, «¹H magnetic resonance spectroscopy of flavonoids and their glycosides in hexadeuterodimethylsulfoxide» en J.B. Harborne (ed.) «The flavonoids. Advances in Research since 1986». Chapman & Hall, 1994.

b) P.K. Agrawal «Carbon-13 NMR of flavonoids» Elsevier Science Publ., 1989.

En el caso de los biflavonoides, los desplazamientos de los carbonos del anillo C se diferencian poco de los equivalentes de los monómeros; las alteraciones se observan principalmente en los valores de δ de los carbonos de los anillos A y B donde ocurren las uniones de los monómeros. Por ejemplo, la robustaflavona, un dímero de apigenina, cuyas unidades se unen por C-6 y C-3', [se lo conoce como (I-3', II-6)-diapigenina, ver nomenclatura más adelante], muestre los valores de δ ilustrados al pie de la figura.



Flavonoide	C-3	C-3'	C-4	C-6	C-8
apigenina	102.8	116.0	181.8	98.8	94.0
unidad I	102.9	120.8	180.8	99.0	93.9
unidad II	102.9	116.1	181.8	103.5	94.0

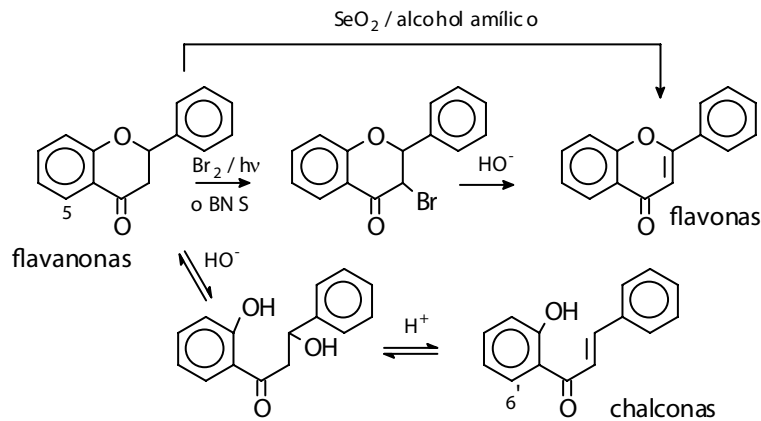
La O- y C-glicosación también afecta al desplazamiento de los carbonos de la aglicona. Un C-glicósido desapantalla el carbono alfa de la aglicona en unos 10 ppm y produce un pequeño apantallamiento en los carbonos beta y gamma a la posición de glicosación. La metilación o la glicosación del OH en C-7 introduce restricciones en la rotación del enlace C-glicosídico en el carbono vecino (C-6 ó C-8) y a veces es factible detectarlos conformeros aún a temperatura ambiente. Es posible determinar la naturaleza del carbohidrato analizando la zona entre 60 y 110 ppm; ahora bien, cuando C-6 y C-8 están sustituidos con el mismo azúcar se puede observar un grupo de señales para cada unidad, pero no se logra individualizar las señales si se trata de azúcares diferentes.

3.6.4. Reacciones típicas de los flavonoides

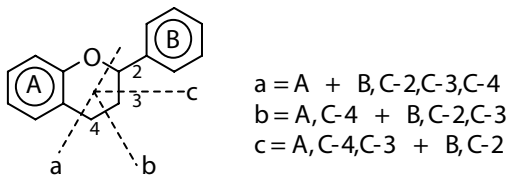
Una característica importante de estos compuestos es la variedad en los estados de oxidación de los carbonos 2, 3 y 4 así como del número y posición

de los grupos fenólicos, siendo el prototipo de sustitución los 5,7 y 3',4'. Dentro de un mismo grupo (igual patrón de oxigenación en los anillos A y B) se pueden interconvertir estructuras por procesos de oxidación y reducción o de retrocondensación catalizadas por ácidos o por bases.

El anillo heterocíclico es particularmente frágil en las flavanonas y se abre dando chalconas, en un proceso de equilibrio el cual se desplazará hacia la flavanona si está presente un OH en C-5 del esqueleto de flavanona, posición equivalente al C-6' en el esqueleto de la chalcona.



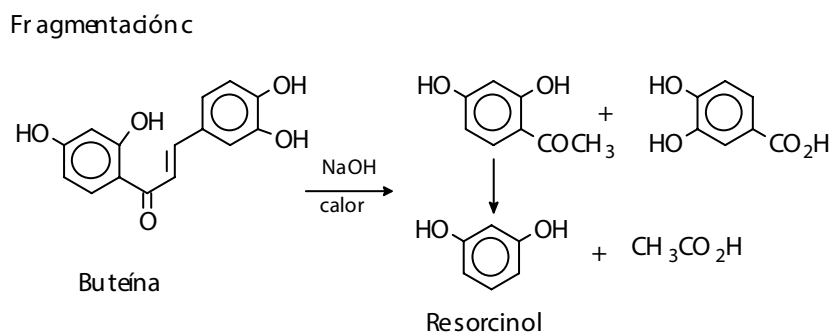
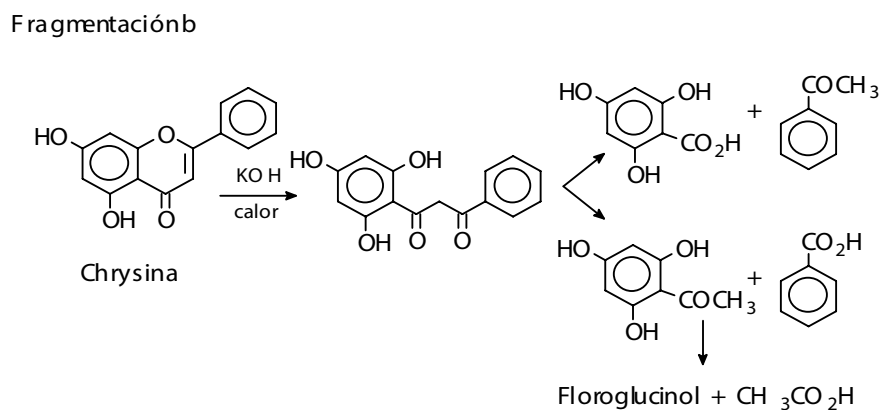
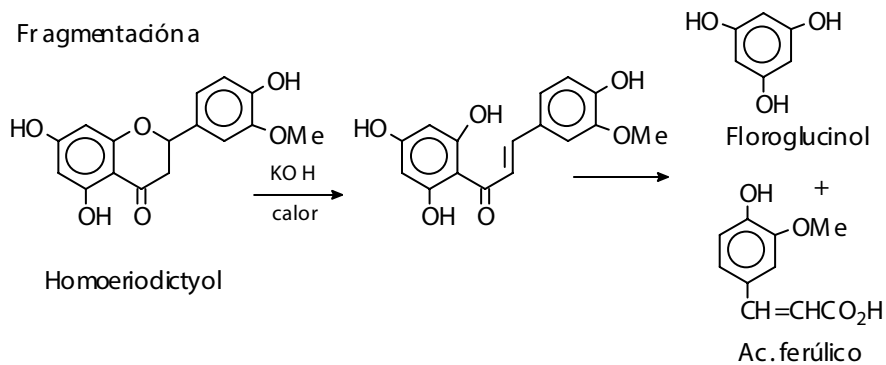
Si estos compuestos son tratados con álcali concentrado (30 - 50%) y calor, la reacción procede hasta la separación de los fragmentos correspondientes a los anillos A y B y los carbonos 2 y 3. Si se controla la reacción (bases más diluidas y tiempo menor) es posible aislar los productos que contienen el anillo A+C-4+C-3 y el anillo B+C-2; (fragmentación c) o el anillo A+C-4 y el anillo B+C-2+C-3 (fragmentación b), o aun, el anillo A y el anillo B+C-2+C-3+C-4 (fragmentación a). Esta situación puede representarse esquemáticamente en la figura.



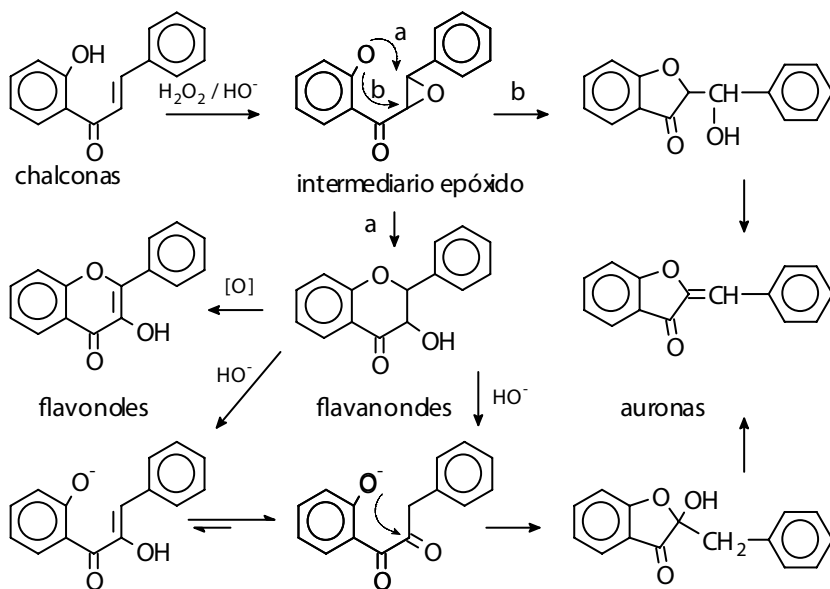
En el siguiente esquema se ilustra lo anterior

Compuestos Aromáticos

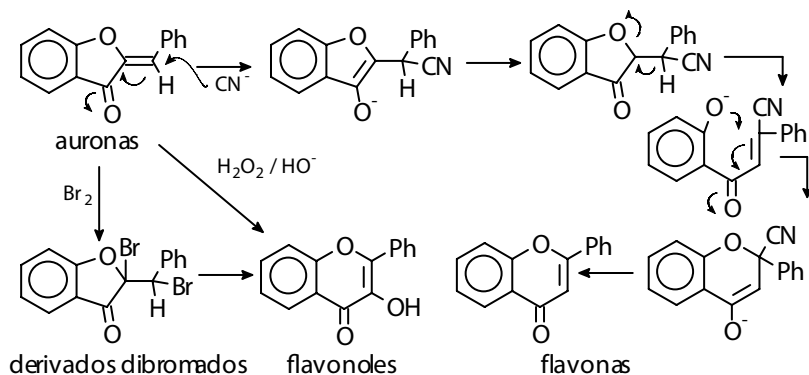
Degradación de flavonas y flavanonas en medio alcalino



La ciclación de las chalconas ocurre por catálisis ácida, sin embargo también puede formarse el anillo heterocíclico con peróxido de hidrógeno en medio alcalino, probablemente a través de flavanones, para producir flavonoles. Bajo estas condiciones al igual se forman auroras y se supone la existencia de un epóxido intermediario común para ambos derivados. Nótese que los flavanones mismos isomerizan a auroras en medio alcalino.

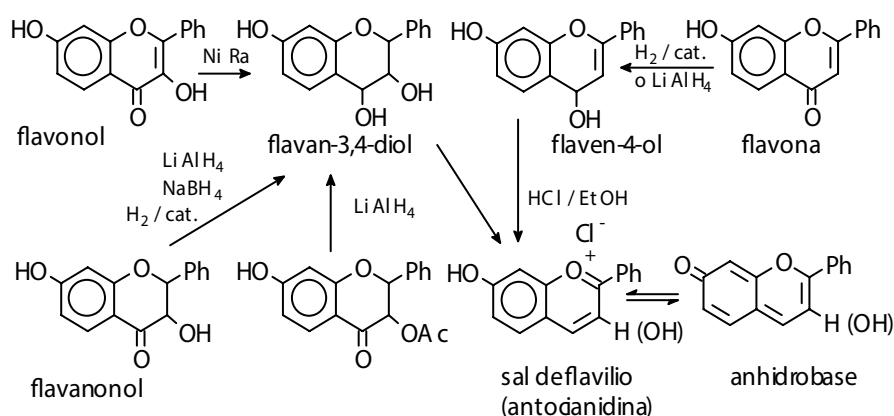


Las auroras pueden convertirse en flavonas y flavonoles, si se hacen reaccionar con cianuro de potasio, o bien empleando las condiciones que permiten revertir la reacción indicada antes, o mediante bromación del doble enlace.

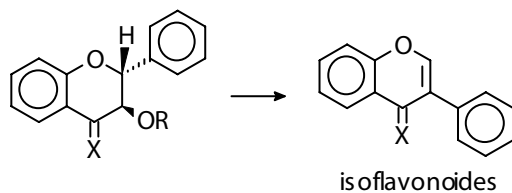


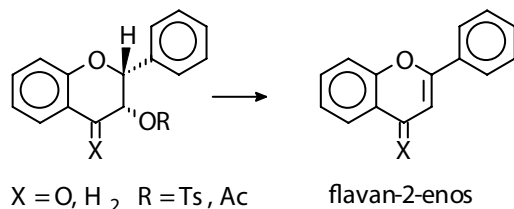
Compuestos Aromáticos

La reducción de los carbonos 2, 3, y 4 de los flavonoides se efectúa por varios métodos que incluyen la hidrogenación catalítica, amalgama de sodio e hidruros metálicos. En el caso de flavanonoles y flavonoles producen flavan-3,4-dioles, mientras que con las flavonas se obtiene 2-flaven-4-oles. Estos productos parecen ser los intermediarios responsables de la formación de la sal de flavilio que se originan al tratar la mezcla de reacción caliente, con HCl. La sal de flavilio se equilibra con su tautómero quinoide, conocido como «anhidrobase».



Se conocen pocos ejemplos de conversión del esqueleto de flavonoide al de isoflavonoide y, para que ocurra, parece indispensable una estructura análoga a la catequina, es decir un grupo OR sobre C-3 el cual será desplazado por el fenilo en C-2. Así el 3-tosilato o el 3-acetato de la catequina se convierte a un isoflavonoide cuando se calienta con quinolina o con hidrato de hidracina. La estereoquímica, de C-2 y C-3 es crucial; el reordenamiento sólo ocurre si el OH en C-3 y el H en C-2 son cis y por tanto difíciles de eliminar los H y OH, como en el caso de la catequina. La epicatequina (H y OH trans) origina flavan-2-eno.

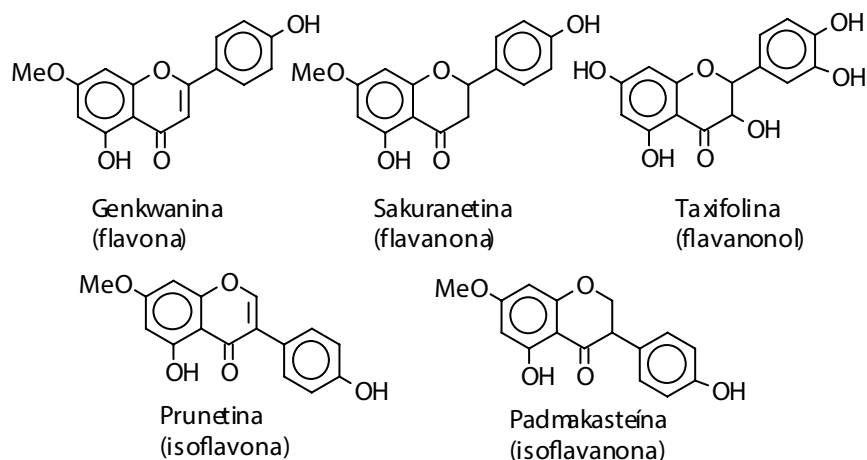




3.6.5. Biosíntesis de los flavonoides

En la corteza de *Prunus puddum* coexisten varios flavonoides con el mismo patrón de oxigenación en los anillos A y B. Este hecho sugiere una ruta común para su bioformación la cual debe proceder a partir de un mismo precursor que sufre diferentes niveles de oxidación, para generar los anillos centrales con los que se diferencian las estructuras, ilustradas a continuación, aisladas de esta planta.

Flavonoides de *Prunus puddum*



Por otra parte, la facilidad de interconversión química de los núcleos, indicada antes, pudiera sugerir como alternativa a la secuencia biogénica, la posibilidad de que las variaciones en el anillo heterocíclico

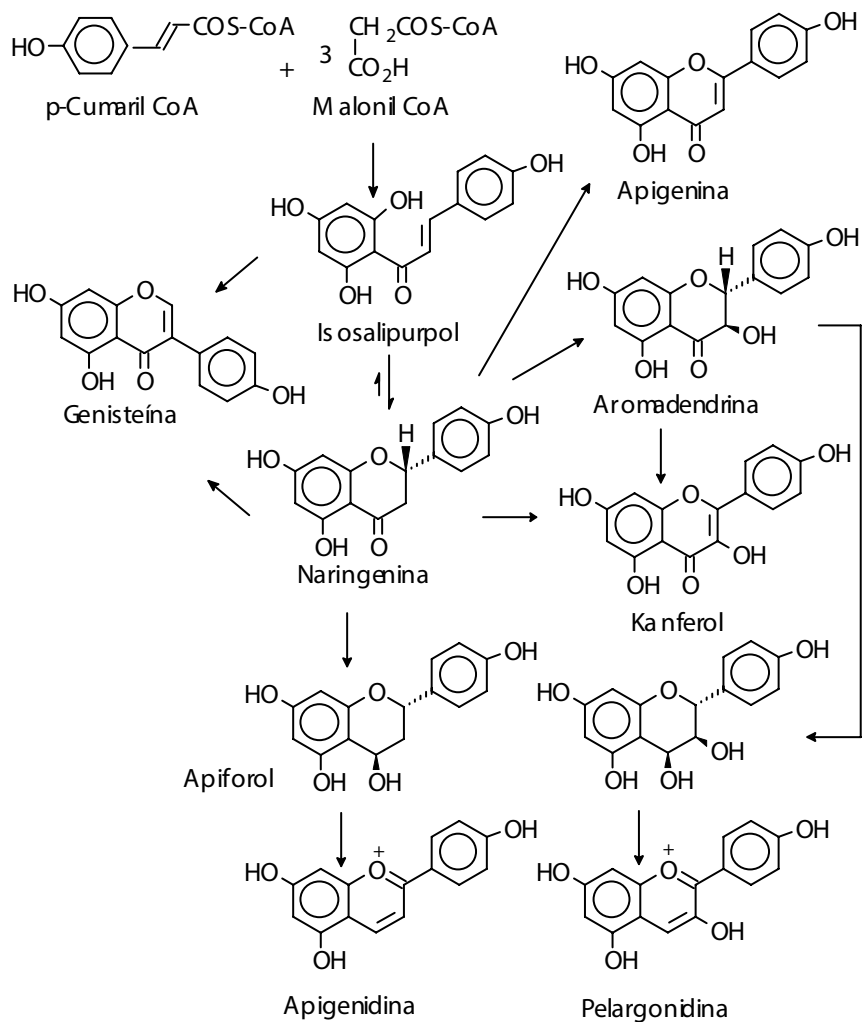
sean producto de los procesos de extracción. Sin embargo, se ha demostrado en repetidas experiencias con marcaje isotópico, que las chalconas se convierten en otros flavonoides y por ello, son consideradas sus precursoras. Hay así dos enzimas, ambas aisladas de la soya, que actúan en la bioformación de los flavonoides: la chalcona-sintetasa (CHS) que cataliza la condensación de p-cumaril CoA con tres unidades de acetato a través de malonil CoA y la chalcona-isomerasa (CHI) que cataliza la ciclación de la chalcona. La ciclación mediada por CHI es una adición syn por lo cual bajo la acción de la isomerasa se forma exclusivamente la flavanona 2S. Sin embargo, la ciclación también puede ocurrir espontáneamente durante el proceso de extracción con lo cual se aísla la mezcla racémica (2R y 2S)-flavanona. Bajo la acción de la chalcona isomerasa el equilibrio se inclina hacia la flavanona que continúa la cadena biogénica. En el cuadro 3-5 se resume la secuencia evolutiva de la bioformación de los flavonoides.

La transformación de flavanonas a 3 β -hidroxiflavanonas (flavanonoles, dihidroflavonoles) está catalizada por la flavanona-3-hidroxilasa (F3H) la cual actúa en presencia de 2-oxoglutarato, Fe⁺², ascorbato y oxígeno molecular. Así, la naringenina se transforma en aromadendrina. La formación del dihidroflavonol inicia la secuencia en la formación de las antocianinas. El uso de mutantes con flores blancas de especies que son normalmente coloreadas (por ejemplo, petunias) es de gran utilidad para estudiar la biosíntesis de antocianinas. Esto puede detectarse visualmente: si a un mutante deficiente en F3H se suministra un dihidroflavonol que desencadena la formación de antocianidinas con lo cual la floración resulta coloreada.

La bioformación de las antocianidinas requiere de la reducción del grupo carbonilo en C-4: es decir, la formación de flavan-3,4-dioles y la enzima asociada a esta transformación se conoce como dihidroflavonol-reductasa (DFR) y requiere de NADPH. Los flavan-3,4-dioles son bastante inestables y se convierten rápidamente en antocianidinas; se asigna las siglas ANS (antocianidina-sintetasa) al complejo enzimático responsable. Una propuesta para la conversión es la oxigenación en C-2 que conduce a un cromenol (pseudobase) (ver más adelante, antocianinas, cuadro 3-7) seguido por la eliminación de agua.

Cualquiera que sea el mecanismo la conversión es rápida y asociada con una glucosil-transferasa que convierte la antocianidina al correspondiente 3-O-glicósido (la antocianina), estabilizando la estructura.

Cuadro 3-5. Secuencia evolutiva de los flavonoides*.



Hay un pequeño grupo de antocianidinas que no poseen el OH en C-3. Para su formación también se propone al 4-hidroxiflavanol como intermediario el cual se forma por reducción mediada por la flavanona-4-reductasa (FNR) en presencia de NADPH. Así naringenina es el precursor de apigenidina.

*B.A. Bohm. Introduction to Flavonoids, Serie: Chemistry and Biochemistry of Natural Products. Harwood Academic Publs., 1998, pp 285.

La transformación de flavanonas a flavonas requiere la dehidrogenación entre C-2 y C-3 y se cumple con la enzima flavona-sintetasa (FNS). La misma deshidrogenación se requiere en la transformación de flavanoles a flavonoles, pero la enzima que actúa en este caso se conoce como flavonol-sintetasa (FLS). Ambas actúan en presencia de 2-oxoglutarato, Fe^{+2} , ascorbato y oxígeno molecular.

3.6.6. Metabolismo de los flavonoides en mamíferos

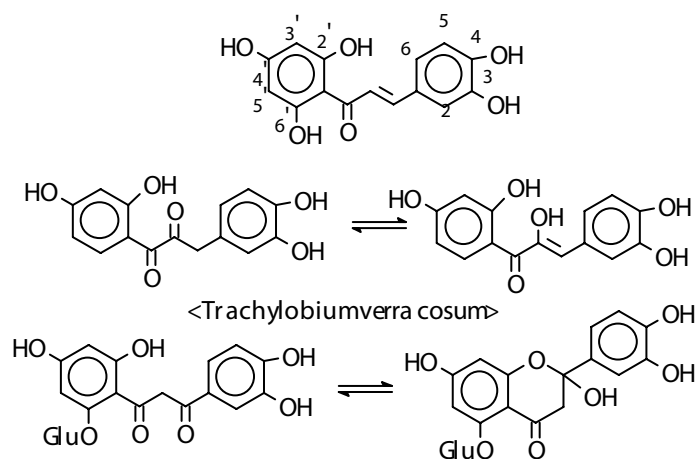
Algunos flavonoides presentan actividad biológica en aquellos mamíferos que los acumulan principalmente en el tracto digestivo. Como resultado de estas observaciones se iniciaron estudios en varios medios: con enzimas aisladas, con constituyentes celulares y con células. La fisión de los anillos, especialmente el heterocíclico, es la biotransformación más conocida y es análoga a las reacciones que sufren *in vitro*. Esto conduce a la formación de ácidos cinámicos, fenilacéticos y benzoicos y su abundancia relativa depende del estado de oxidación del anillo central. Los derivados glicosidados y metilados, así como aquellos poco oxigenados son más resistentes al rompimiento de los anillos.

Los pasos metabólicos seguidos en la degradación no sólo dependen del flavonoide sino del organismo transformante (o del sistema enzimático) que él induce. Se encuentran en general, que las *Pseudomonas* son capaces de romper el anillo A de las catequinas y para ello se propone un camino inverso al de su formación originando un policétido no aromático: ácido oxalacético. El anillo B, derivado del ácido shikímico se mantiene intacto. Aún dentro de los mamíferos, el catabolismo de la catequina es diferente según se desprende de la comparación de los productos fenólicos urinarios. Así, en las ratas se observa principalmente la formación de ácidos m-hidroxifenilpropiónico e hidroxihipúrico, mientras que en los monoses el ácido m-hidroxifenilacrílico es el metabolito principal. La habilidad de los mamíferos para hidrolizar las uniones glicosídicas se observa cuando se administra oralmente flavonoides glicosidados. Los glicósidos también pueden ser excretados intactos, pero las agliconas son generalmente transformadas en sus conjugados glucurónicos para ser excretados por la bilis con el esqueleto intacto y/o degradados, a compuestos fenólicos más sencillos.

De los flavonoides se han citado varias acciones biológicas y entre ellas, la inhibición de la ribonucleasapancreática bovina, la inhibición de la prostaglandinasintetasa de la médula renal y actividad mutagénica. Por otro lado, se ha señalado la importancia de los flavonoides y sus productos de degradación como antioxidantes para neutralizar especies reactivas de oxígeno principalmente, superóxidos, peróxidos, óxido nítrico, y radicales alcoxilo e hidroxilo*.

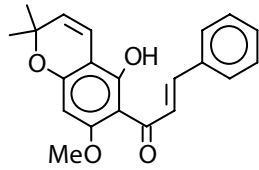
3.6.7. Chalconas y auronas

Las chalconas se encuentran solamente en algunas familias botánicas. Aquellas que contienen el anillo A hidroxilado en C-2 y C-4 están prácticamente confinadas a las Compuestas y son responsables de la pigmentación amarilla de sus flores. Algunas chalconas presentan grupos alquílicos: metilo isoprenilo, tanto en cadenas abiertas como formando ciclos piránicos o furánicos. Las dihidrochalconas son aún más escasas y se presentan también como derivados O- y C-prenilados y O-glicósidos en el anillo A. Se disponen de algunos ejemplos de oxidación del anillo B y de la cadena alquílica, como los aislados de *Trachylobium verrucosum*. Estas últimas estructuras se encuentran en equilibrio con 2-hidroxi-flavanonas, al igual que las chalconas lo están con las flavanonas.

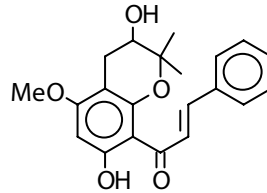


*G. Pietta «Flavonoids as antioxidants». J. Nat. Prod. 63, 1035, 2000.

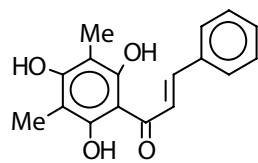
Compuestos Aromáticos



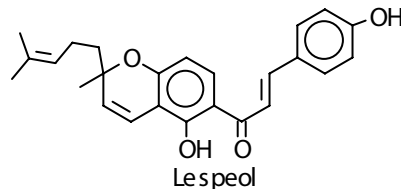
Pongachalconal
(<Pongamia glabra>)



(<Helichrysum cymosum>)



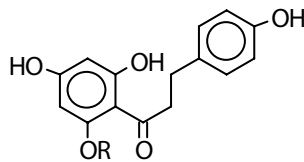
(<Myrica gale>)



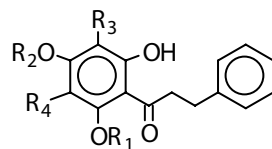
Lespeol
(<Lespedeza cyrtobotrya>)

La actividad biológica de este grupo está poco estudiada, pero cabe mencionar que el glucósido de la fletina: florizina, ampliamente distribuido en la corteza de los frutos de varias Rosáceas, produce un aumento de la excreción urinaria de la glucosa y el fenómeno se conoce como «diabetes de la fletina» que se caracteriza por una glucosuria causada por interferencia en la reabsorción de la glucosa por los túbulos renales.

Las auronas se forman probablemente a partir de las chalconas por



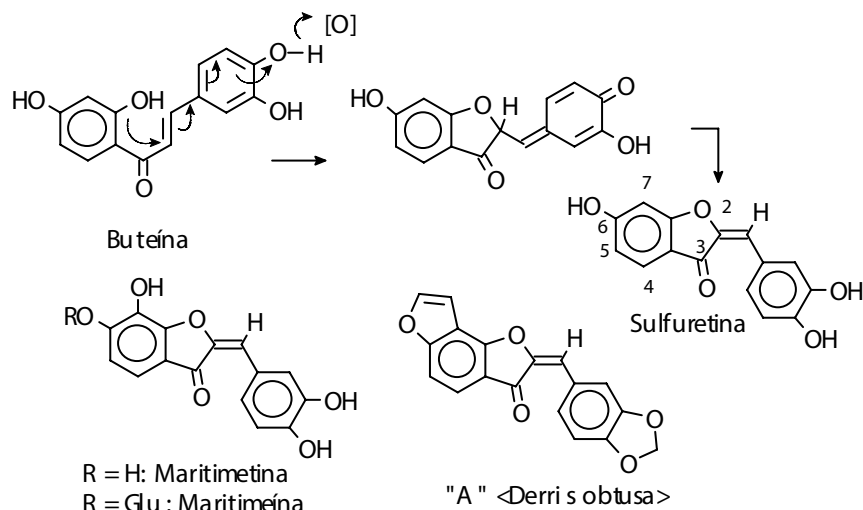
R = H: Fletina
R = glucosa: Florizina



Dihidrochalconas

- $R_1R_2R_3R_4 = H$
- $R_1R_3R_4 = H, R_2 = CH_2CH=CHMe$
- $R_2R_3R_4 = H, R_1 = glucosa$
- $R_1 = H, R_2R_3R_4 = Me$

ciclación oxidativa con el C-2, como se indica para la transformación de la buteína en sulfuretina. Su distribución natural es errática y como en otros compuestos fenólicos se encuentran ejemplos de glicosación y alquilación en el anillo A (véase maritiméina y la furanoaurona «A» que se aísla de *Derris obtusa*).



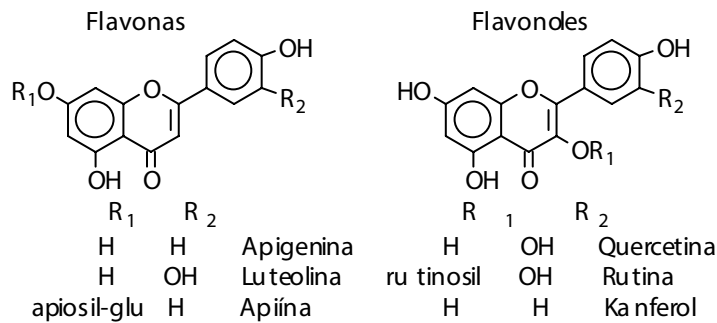
3.6.8. Flavonoles y flavonas

Los representantes más abundantes de los flavonoides naturales son las flavonas y los flavonoles. Se han aislado tanto libres como formando glicósidos y están distribuidos en todos los órganos de las plantas de una gran variedad de géneros y familias. Las agliconas, especialmente cuando son altamente oxigenadas, se localizan en la parte más externa del vegetal.

Los compuestos más frecuentes de estos grupos son: apigenina y apiína (7-O-apioglucósido), luteolina y sus glicósidos, quercetina (de mayor abundancia) y rutina (3-O-rutinósido), kanferol y sus glicósidos, generalmente la unidad de azúcar se encuentra en el anillo A. Sin embargo, recientemente se ha aislado de *Melissa officinalis*, un glicósido que compromete el OH de la posición 3' (anillo B) de la luteolina: es un 3'-O-β-D-glucurónido*.

*A. Heitz, A. Carnat, D. Fraisse, A-P. Carnat, J-L. Lamaison, «Luteolin 3'-glucuronide, the major flavonoid from *Melissa officinalis* subsp. *officinalis*», *Fitoterapia*, 71, 201, 2000.

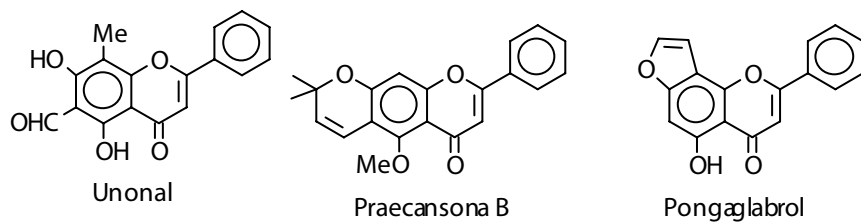
Compuestos Aromáticos

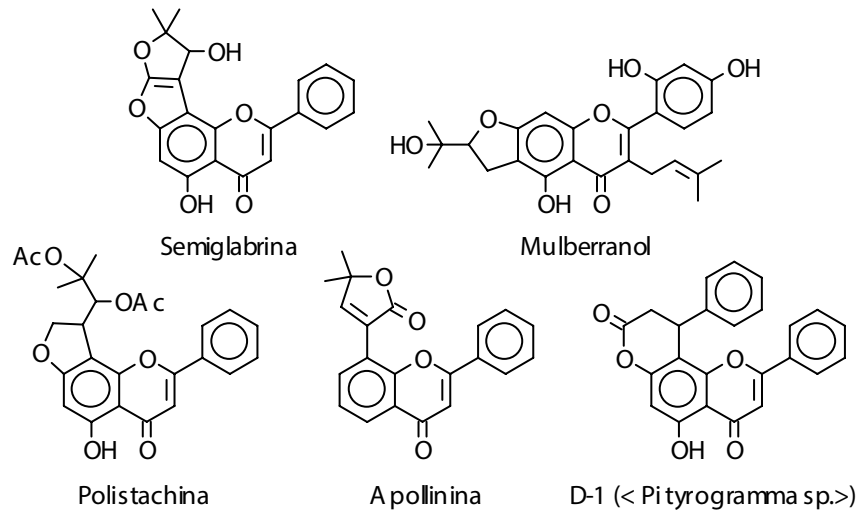


Como con la O- y C-glicosación, la metilación y prenilación ocurren generalmente sobre los carbonos del anillo A. En ocasiones se encuentran otros sustituyentes, por ejemplo un grupo formilo, tal es el caso del unonal, aislado de *Unona lawii*, Annonaceas. Los grupos prenilo se disponen en cadenas abiertas o en ciclos que pueden o no estar conformados por una unidad completa de isopreno.

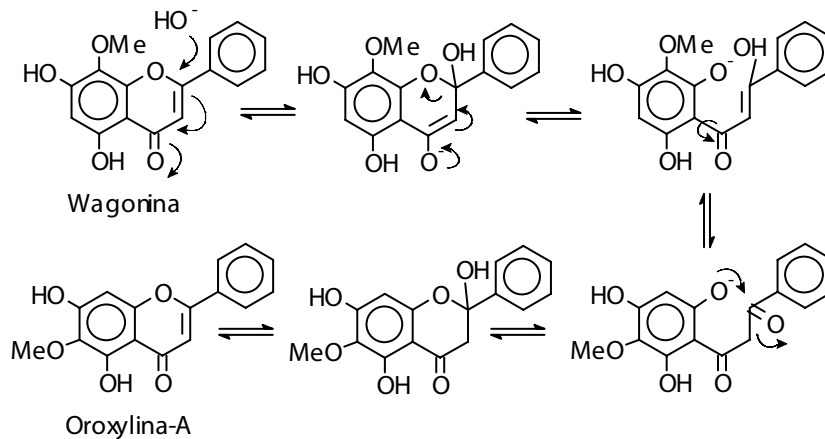
La ocurrencia de flavonas con cadenas mono- y di-preniladas, está casi restringida a la familia Moráceas, mientras que los flavonoles prenilados se encuentran en Berberidáceas, Leguminosas, Platanáceas, Rubiáceas y Rutáceas. El género *Tephrosia* (Leguminosas) se caracteriza por presentar flavonoides sin oxigenación en el anillo B y una cadena de prenilo en C-8, a veces formando lactonas. También se localizan lactonas, aparentemente provenientes del ácido cinámico, en especies del género *Pityrogramma*.

Alquilflavonas naturales





La isomerización que sufren las flavonas en medio básico procede por apertura del anillo heterocíclico en un proceso análogo que tiene lugar en medio ácido.



3.6.8.1. Métodos de separación e identificación

Los métodos cromatográficos de detección (TLC) prefieren la

poliamida como adsorbente para diferenciar los éteres metílicos tanto de flavonas como de flavonoles, siendo el eluyente de uso frecuente cloroformo o benceno (o tolueno) combinado con éter de petróleo e incluyen acetato de etilo o metanol. Una fase móvil clásica es tolueno-éter de petróleo-acetato de etilo-metanol 60-30-10-5. En la detección se aprovecha su fluorescencia bajo luz UV a 366 nm del compuesto solo, o ayudado por rociado con reactivo de fluorescencia: Naturstoffreagenz (natural product reagent: éster β -aminoetílico del ácido difenilbórico al 0.5 % en MeOH). Las placas analíticas se preparan con poliamida DC-11 con 15 % de celulosa, en MeOH y de espesor 0.2 a 0.3 mm; se necesitan unos 85 g de poliamida y 15 de celulosa para cubrir 14 placas de 20 x 20 cm. Las placas preparativas (> 0.5 mm de espesor) deben ser "lavadas" antes de su empleo, con metanol que arrastra al frente del solvente la mayoría de la poliamida de bajo peso molecular, soluble. Las bandas no son raspadas sino limitadas y eluidas con benceno o metilacetona (pero no con metanol) dejando el estrato de adsorbente unido al vidrio. A veces es necesario repurificar en placas de TLC o por columna de Sephadex LH-20. Cuando se usan columnas de poliamida también debe tomarse la precaución de "lavar" el adsorbente agitándolo con metanol, el sobrenadante es descartado y el sedimento se seca a 50 - 60° C y se almacena en tolueno hasta el momento del uso. Los eluyentes son los mismos de TLC.

Nota. La poliamida puede ser re-usada; el polvo se suspende en agua, se trata con un pequeño volumen de hidróxido de amonio (30%) y agua oxigenada (30%) y se reposa durante la noche. Se lava varias veces con agua hasta que el sobrenadante sea incoloro, se filtra, se lava con acetona y se seca a 50 - 60° C.

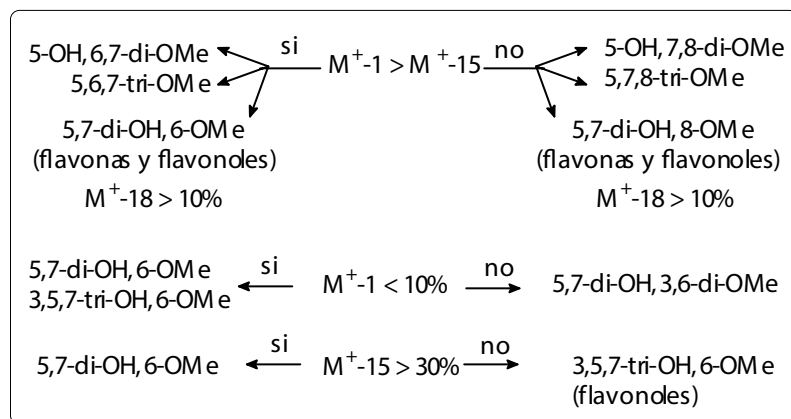
Métodos espectroscópicos

La presencia del cromóforo en una conjugada admite el uso de UV para el análisis. Casi siempre estos compuestos exhiben absorción (Banda I) entre 304 y 350 nm para las flavonas y entre 352 y 385 nm, para los flavonoles. Si en el flavonol el OH en C-3 está sustituido, la Banda I se corre a 328-357 nm (se aproxima a la conjugación de las flavonas). El aumento de oxigenación en el anillo B produce un desplazamiento batocrómico de la Banda I. La Banda II aparece a 270 nm en los compuestos mono-oxigenados en el anillo B. La introducción de un OH en C-6 produce corrimiento hipsocrómico de la Banda I de 8 a 12 nm en los flavonoles, pero no afecta las flavonas; la metilación de

6-OH cancela tal efecto. La hidroxilación de C-8 en flavonoles desplaza la Banda I a mayores longitudes de onda (13-16 nm), el efecto contrario se observa en algunas flavonas (la mueve unos 7 nm a menores longitudes de onda). Nótese que los desplazamientos producidos por varios sustituyentes en las diferentes posiciones, no son necesariamente aditivos. El cloruro de aluminio como reactivo de desplazamiento, produce un corrimiento batocrómico de 20-30 nm en flavonas oxigenadas en C-5 y en flavonoles sustituidos en el oxígeno de C-3.

La espectrometría de masas puede emplearse con derivados acetilados o trimetilsililados. En las estructuras sin derivar hay una serie de hechos comunes que permiten, a través de la abundancia relativa de ciertos picos, predecir la posición de los sustituyentes OH y OMe en los esqueletos de flavonas y flavonoles, sin embargo la baja volatilidad de los compuestos polioxigenados limita el uso de esos parámetros a moléculas tetra-oxigenadas o menos. Algunos valores se indican esquemáticamente en el cuadro 3-6.

Cuadro 3-6. Intensidades relativas de los picos a m/z altas de flavonoles y flavonas.



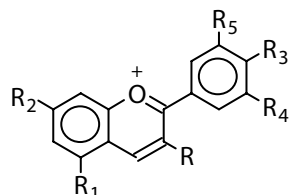
3.6.9. Antocianinas

Constituyen los pigmentos principales de las flores y de las hojas de otoño, sus colores van desde el rojo hasta el azul. Son glicósidos de

Compuestos Aromáticos

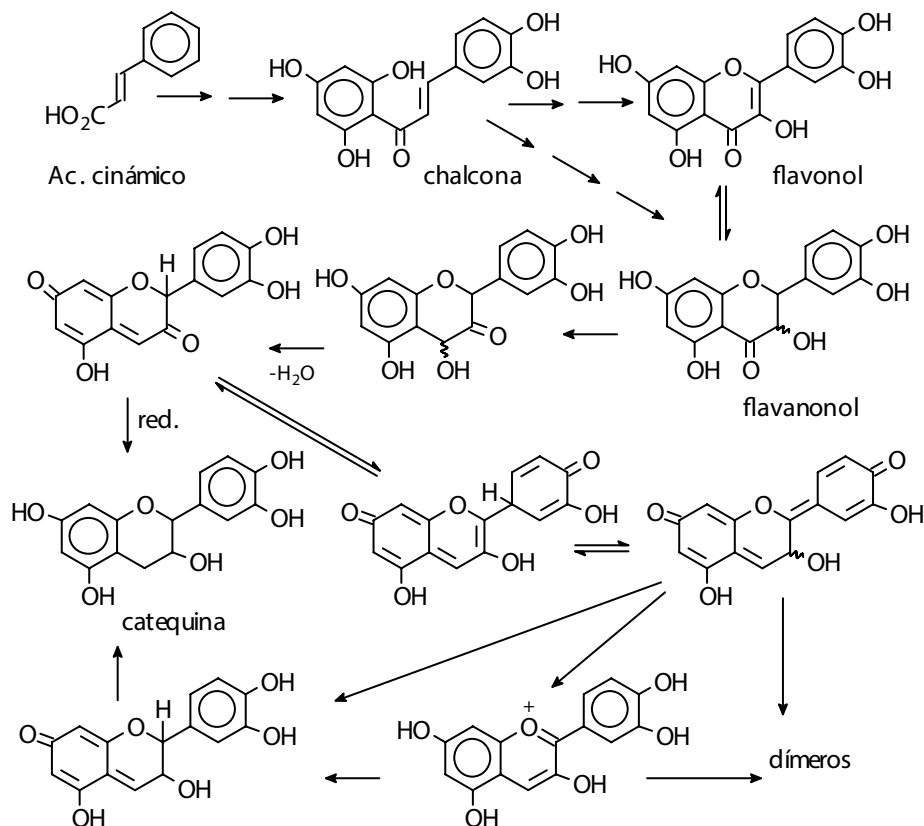
polihidroxi flavilio en los cuales la unión glicosídica está principalmente en C-3. Las agliconas más frecuentes se resumen en la continuación:

Aglicona	R	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅
Apigenidina	H	OH	OH	OH	H	H
Pelargonidina	OH	OH	OH	OH	H	H
Cianidina	OH	OH	OH	OH	OH	H
Peonidina	OH	OH	OH	OH	OMe	H
Rosinidina	OH	OH	OMe	OH	OMe	H
Delfinidina	OH	OH	H	OH	OH	OH
Malvidina	OH	OH	OH	OH	OMe	OMe
Hirsutidina	OH	OH	OMe	OH	OMe	OMe



La biosíntesis de las antocianidinas (agliconas de las antocianinas) ha sido objeto de muchos estudios por el interés comercial que representan nuevas variedades en el color de las flores. La secuencia propuesta para su bioformación incluye la reducción (cuadro 3-5) y deshidratación de flavanonas y flavanoles. Esta misma secuencia parece involucrarse en la formación de catequinas por reducción del producto de deshidratación, las cuales a su vez polimerizan a proantocianidinas (ver más adelante).

Los estudios más relevantes de estos compuestos se dedicaron a la familia Leguminosae, Polemoniáceae, Compuestas y Orquidáceae. No se encuentran comúnmente en organismos marinos aunque está citado el aislamiento del 3,5-diglucósido de cianidina en *Urginea maritima*. Los pigmentos del tipo pelargonina y delfinina son frecuentes en las plantas más evolucionadas mientras que los del tipo cianina están en plantas más primitivas. Las variaciones en la naturaleza y la proporción de las antocianinas no sólo dependen de la familia, sino de la especie y aún de los cultivares de la misma especie, por lo que se usan como marcadores químicos en el análisis de híbridos. La mayoría de los estudios quimiotaxonómicos están basados en la técnica de cromatografías sobre papel y recientemente de HPLC (nótese que TLC no se ha considerado reproducible). Las antocianinas de las flores se han señalado como marcadores genéticos y por ello, utilizados en la manipulación genética para la obtención de nuevas variedades de petunias, rododendros, camelias, etc. Se ha encontrado que la deficiencia de fósforo en el suelo, la baja temperatura (de 0 a 5°C) y la exposición al ozono, aumentan el contenido de antocianinas.



Las antocianinas representan un factor importante en la industria alimenticia debido a las restricciones sanitarias hacia el uso de colorantes sintéticos. En el mercado existen algunas patentes que permiten extraer y estabilizar las estructuras naturales de antocianinas para ser usadas en la fabricación de colorantes alimentarios y por ello se patrocinan varios estudios dedicados a la búsqueda de nuevas fuentes vegetales ricas en antocianinas, entre las cuales se cuenta con repollo morado, grosellas, manzanas, aceitunas, fresas, ciruelas, uvas, y toda una serie de cerezas. Las antocianinas en los frutos aparecen cerca de la maduración y su contenido es usado con frecuencia, como criterio de calidad.

Las antocianinas no son estables bajo ciertas condiciones de almacenamiento, el cambio de color afecta la calidad del producto almacenado que

las contiene. La sensibilidad del color se debe fundamentalmente a los cambios de pH, producto de la fermentación, que inducen transformaciones estructurales de estos colorantes.

Las antocianinas juegan un papel muy importante en la industria vinícola, no solamente en cuanto a la correlación de pigmentos y cambios de color durante el proceso de vinificación, sino también en cuanto a su contenido en el residuo que se deposita durante la fermentación de la uva, el cual debe ser descartado y ello representa un costo considerable para el tratamiento del agua de lavado. Por esto se ha procurado extraer las antocianinas presentes en el residuo, para su uso en la industria alimentaria, disminuyendo al mismo tiempo, el contenido de fenoles en el agua de salida.

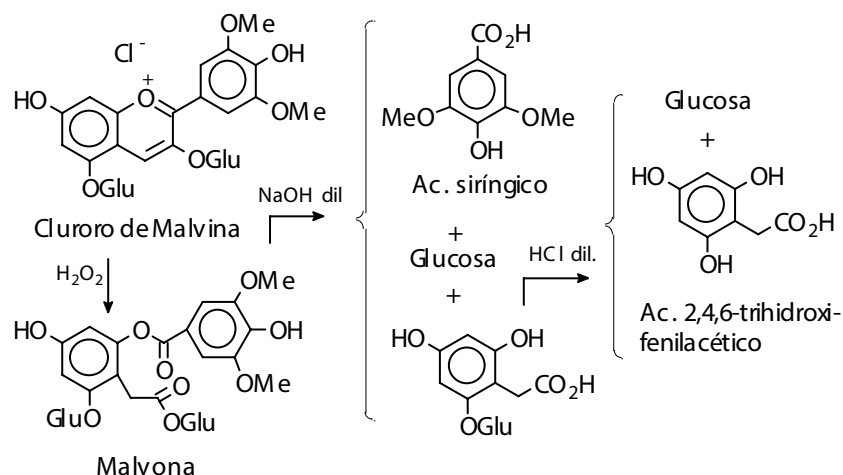
3.6.9.1. Aislamiento e identificación

Todas las antocianinas son solubles en agua y pueden precipitarse de la solución acuosa-alcohólica con sales de plomo con las cuales producen un precipitado de color azul intenso, soluble en ácido acético glacial originando soluciones de color rojo oscuro. Como método general de extracción, se emplea HCl 1-2 % en MeOH y se precipitan de esta solución con el triple del volumen de éter. Las sales, cloruros o picratos, pueden ser cristalizadas.

Para el aislamiento de antocianinas se usa generalmente la cromatografía en columna de poliamida que las retiene y permite obtenerlas libres de otras sustancias orgánicas solubles en agua que no son adsorbidas, como azúcares, ácidos orgánicos, y otros. La separación en general no es muy buena, mejores resultados parecen lograrse con una mezcla de poliamida y polivinilpirrolidona (PVP- PolycarAT), aun así la purificación de las fracciones requiere de cromatografías adicionales. La cromatografía de gases es de poco beneficio y HPLC es la técnica preferida (columnas en fase reversa, con mezclas de agua-metanol o acetonitrilo-metanol); los componentes se detectan a 520 nm. Este método que no precisa de tratamiento previo de la muestra, se usa preferentemente en su variante analítica.

En la determinación de las estructuras de estos compuestos por vía química se emplean las reacciones de degradación de la aglicona, bien sea por álcali o por oxidación, que comienzan con el rompimiento inicial entre el

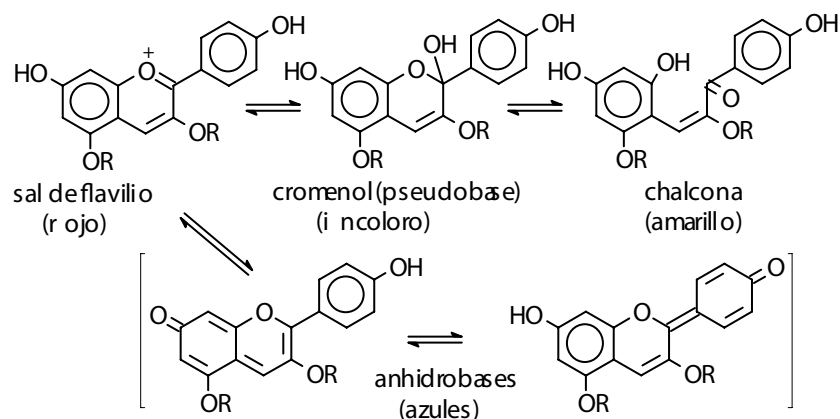
oxígeno y C-2. La oxidación con agua oxigenada puede aplicarse directamente sobre el glicósido y después de aislar los fragmentos, la hidrólisis de éstos permite ubicar la porción de azúcar sobre el esqueleto. Por ejemplo, la malvina: el 3,5-diglicósido de la malvidina, al ser oxidada con H_2O_2 seguida por hidrólisis con hidróxido de sodio, produce ácido siríngico, glucosa y un compuesto derivado del floroglucinol que contiene un resto de azúcar. La hidrólisis de este último produce otra molécula de glucosa, ello informa la naturaleza de los azúcares y su ubicación en C-3 (de la primera reacción) y en el anillo A (de la segunda hidrólisis).



De las reacciones más representativas de las antocianinas la isomerización por cambios de pH juega papel primordial. La modificación de la conjugación induce al cambio en la coloración. En el cuadro 3-7 se resumen las estructuras que pueden presentarse.

A valores de pH menores de 2 las antocianinas están preferentemente bajo la forma de sal de flavilio (rojo si un OH está en C-3 o amarillo en caso de glicosación del OH en C-3, o no hay oxigenación en ese carbono). A medida que aumenta el pH existen cromenoles (pseudobases) y coloros, chalconas (amarillas) y estructuras quinoideas (azules) tanto con el anillo A como con el anillo B, que serán más abundantes a pH más alcalino. Estas estructuras, llamadas anhidrobases, al condensarse, conducen a dímeros, trímeros y aún polímeros.

Cuadro 3-7. Antocianidinas y sus estructuras conjugadas.



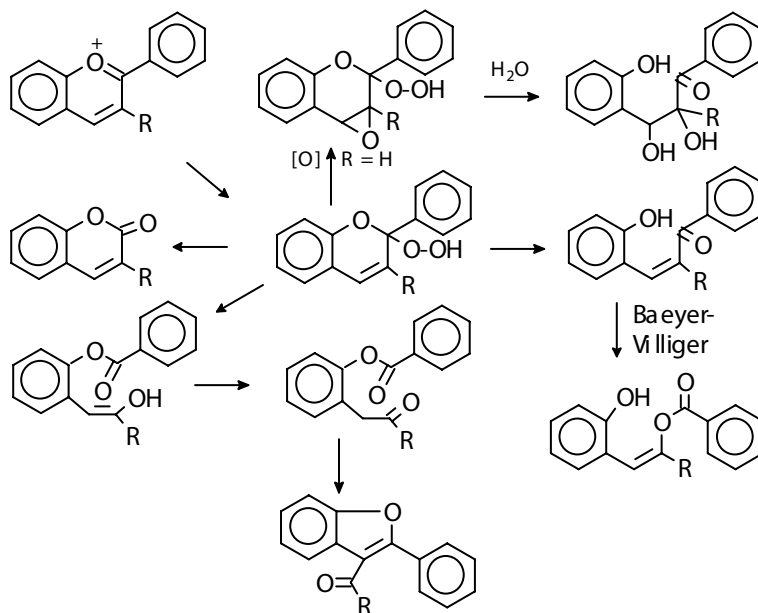
3.6.9.2. Estabilidad

Si las antocianinas se conservan a pH adecuado (2-3) son moléculas razonablemente estables, dependiendo de la naturaleza y posición de las funciones oxigenadas. Por ejemplo, el cianidina-3-rutinósido a pH 2.8 se mantiene casi inalterado por 65 días pero su aglicona tiene vida media de 12 horas. La metilación de los OH fenólicos disminuye la estabilidad de las antocianinas, pues decrece las posibilidades de conjugación, la cual es a su vez, responsable de la estabilidad que infiere la hidroxilación en 7 y 4', mientras que la presencia de un OH adicional en el anillo B la disminuye, porque aumenta la posibilidad de acoplamiento fenólicos (C-C y C-O). Estos acoplamientos son acelerados por el medio ácido y son responsables del oscurecimiento y enturbiamiento de las soluciones rojas de las antocianinas.

3.6.9.3. Oxidaciones y reducciones

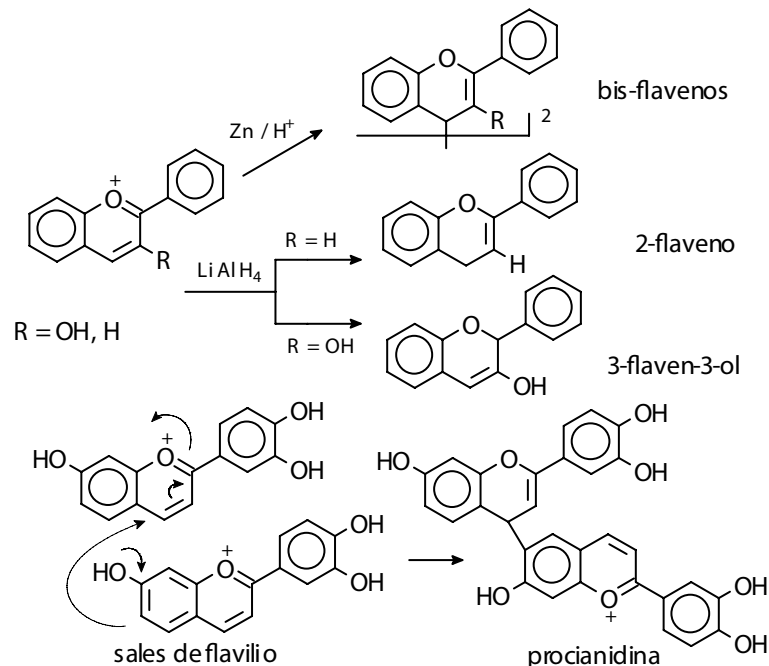
Las antocianinas son particularmente inestables frente al oxígeno que, como otros agentes oxidantes, causa la decoloración de las soluciones. Ello procede por el rompimiento oxidativo del anillo heterocíclico, probablemente a través de oxidaciones del tipo Baeyer-Villiger. En analogía, el ácido ascórbico también descompone rápidamente las antocianinas. Esta reacción

se conoce desde hace mucho tiempo, y aunque su mecanismo no está totalmente elucidado, se asume la intervención de un peróxido intermediario producido por la descomposición del ácido ascórbico. Dependiendo del pH pueden sugerirse diferentes rutas, según se ilustra a continuación.



La reducción de las antocianidinas conduce a la formación de flavanos y flavenos. Cuando la reacción no es completa se obtienen también productos de condensación. Por ejemplo la reducción con Zn en medio ácido origina bis-flavanos, mientras que los hidruros metálicos mantienen las estructuras monoméricas: 3-flavanos y 2-flavanos, si OR está o no presente en C-3, respectivamente.

Los nucleófilos tienden a atacar con preferencia la posición 4 de las sales de flavilio, siendo ésta la ruta para la obtención de proantocianidinas. Si un OH libre está presente en C-7 se logra la formación de dímeros que comprometen C-6 ó C-8 de una unidad y C-4 de otro monómero; y además, el OH en C-7 puede unirse a C-2 originando biflavonoides doblemente condensados (ver sección 3.6.12.2).



3.6.9.4. El color de las flores

Los pigmentos vegetales se pueden clasificar en cuatro grandes grupos, dos liposolubles: clorofilas y carotenoides, y dos hidrosolubles: las betalaínas y los flavonoides. Ellos se encuentran principalmente en flores y frutos. En la mayoría de los casos el botón de las flores contiene clorofilas, las cuales desaparecen a medida que se sintetizan los otros pigmentos de la flor misma. Algunas veces las clorofilas permanecen dando coloraciones verdes a los pétalos. Los colores generados por clorofilas, carotenoides, chalconas y auronas provienen de un proceso de pigmentación sencillo, ya que el color del pigmento es el de los pétalos, mientras que las antocianinas presentan un mecanismo complejo de coloración el cual ha sido objeto de varios estudios desde inicios del siglo XX.

En 1913, R. Willstätter encontró que la coloración de antocianinas variaba con el cambio de pH, de rojo en medio ácido, pasando por amarillo, a violeta y azul en medio alcalino. En 1919, Shibata basó en que el color azul

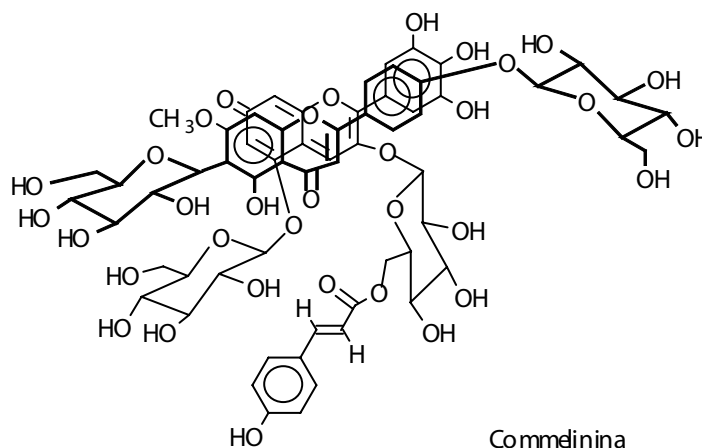
en medio alcalino es bastante inestable y que el pH del pétalo es neutro (o ligeramente ácido) propuso un mecanismo de coloración que involucra la formación de un ligando entre antocianidinas y metales (Mg, Al). En 1931, R. Robinson introdujo el concepto de copigmentación. Esta hipótesis se basa en que las antocianinas dan color azul cuando coexisten con otros compuestos: flavonas, flavonoles, taninos, etc., a los cuales denominó "copigmentos", que no tienen color pero que aumentan la estabilidad de la especie coloreada. Esta interacción a través de un complejo "flojo" utiliza la anhidrobase de la antocianina. El complejo se aloja en las vacuolas de las células epiteliales de los pétalos.

Se ha propuesto que el mecanismo de agrupación procede:

1. Mediante puentes de hidrógeno. Aparentemente esto no es importante ya que las antocianinas completamente metiladas producen las mismas coloraciones que las no metiladas.

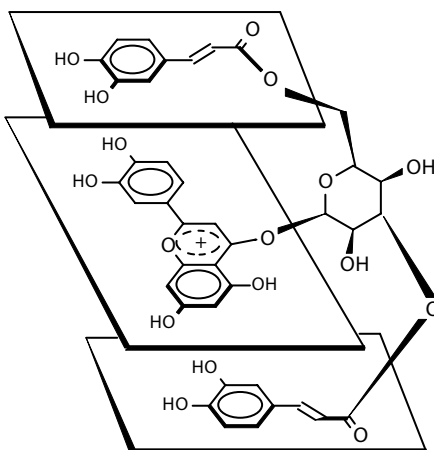
2. Mediante interacción entre anillos bencénicos. Esta proposición parece tener mayor soporte. Goto demostró que una mezcla de awobanina (antocianina) y flavocommelinina (flavona) producen una coloración azul que se estabiliza con sales de magnesio bivalente. Este pigmento, denominado commelinina, se aísla de *Commelia communis*

El ácido cumárico es un factor de estabilización importante en la interacción de los anillos bencénicos, así como la glicosación, que sin cambiar el color del pigmento, lo estabiliza frente a la acción de la luz y al rompimiento enzimático, además de aumentar su solubilidad en la savia. Es frecuente encontrar el mismo azúcar unido a un flavonol y a una antocianidina, en la misma flor.



La copigmentación puede también ocurrir con otra parte de la molécula de la antocianina misma y esto se conoce como copigmentación intramolecular. Ello sucede cuando la antocianina no está asociada a otros flavonoides, en cuyo caso la unión tiene lugar entre dos unidades de éster del tipo cinamóilo que se presentan como sustituyentes de la porción del azúcar (ver figura). En este caso la adición de metales bivalentes no aumenta la estabilidad del color. Se cree que la disposición particular de los anillos aromáticos de los ésteres actuando como un sándwich sobre la molécula plana de la antocianidina, protege C-2 y C-4 de la hidrólisis, aumentando la estabilidad del cromóforo.

La copigmentación intramolecular produce un desplazamiento batocrómico del máximo de absorción de la antocianina. Se asume que el complejo es resistente a la hidratación.

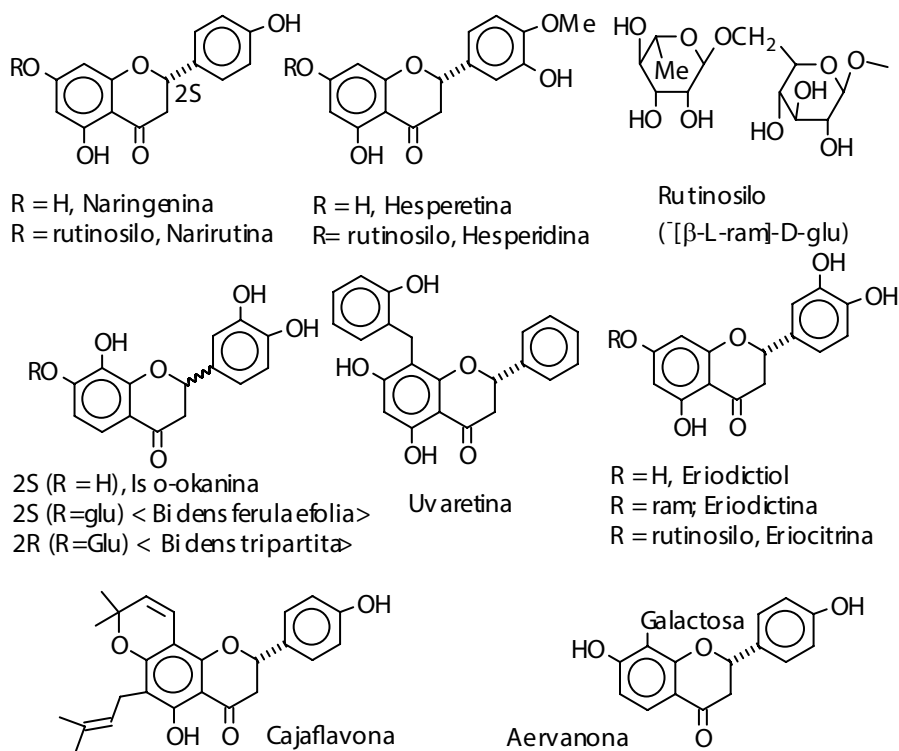


3.6.10. Flavanonas y flavanoles

La saturación del anillo heterocíclico crea en la molécula al menos dos centros quirales C-2 y C-3 (flavanoles) y un tercero: C-4 en el caso de la reducción del grupo carbonilo que origina flavanodoles.

Las flavanonas de origen natural presentan casi siempre la configuración 2S, que dispone el anillo B ecuatorial. Esta estereoquímica está asociada a las propiedades levorrotatorias de tales moléculas. Las flavanonas pueden

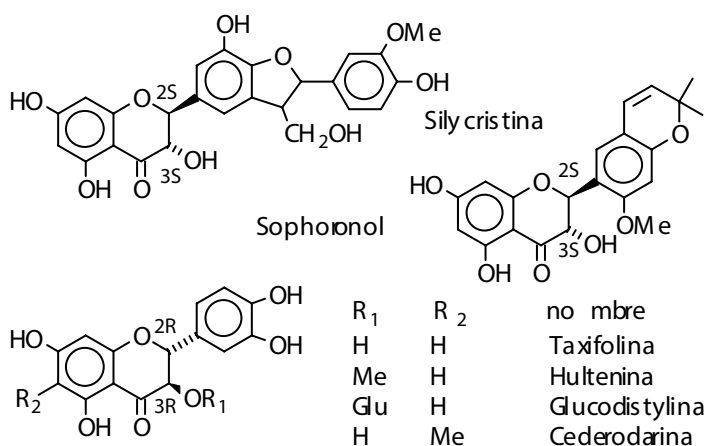
presentarse como O- y C-glicósidos (hesperidina y aervanona) y también pueden tener O- y C-metilaciones o alquilaciones superiores (prenilaciones). Las agliconas más representativas son hesperetina y naringenina, esta última es la estructura más frecuente de su clase y se encuentra en 26 géneros de varias familias, bien sola o glicosidada en diversas posiciones con diferentes azúcares. Las agliconas pueden presentar más de un grupo alquilo como en la cajaflavona, extraída del quinchoncho (*Cajanus cajan*). También se encuentran sustituyentes alquilaromáticos como en el caso de la uvaretina. Del género *Bidens* se han aislado algunos compuestos con estereoquímica 2R, además de la más usual, 2S (de *Bidens tripartita* y *B. ferulaefolia*). Otra flavanona ampliamente distribuida en las fanerógamas es el eriodictiol y sus derivados alquilados y glicosidados. Menores el número de representantes trioxigenados en el anillo B (derivados del ácido gálico).



Los flavanonoles, llamados también 3-hidroflavanonas o dihidroflanonoles, presentando carbonos asimétricos: 2 y 3. La mayoría tiene

Compuestos Aromáticos

configuración 2R:3R, pero además se conocen ejemplos de enantiómeros 2S:3S. Los compuestos incluyen polioxigenación en los anillos A y B, glicosación, prenilación y también algunas estructuras cíclicas como en el caso del flavolignano silycristina (de *Silybum marianum*, Compuestas), en cuya estructura se observa la estereoquímica 2S:3S, común a otros flavolignanos. (Los flavolignanos son estructuras constituidas por dos fragmentos, uno flavonoide y el otro lignano). Sophoronoles otro ejemplo de flavanonol de estereoquímica 2S:3S que presenta oxigenación en 2' y prenilación entre 4' y 5' conformando un éter. El miembro de mayor frecuencia en esta clase de compuestos es la taxifolina, incluyendo sus derivados O- y C-metilados y prenilados.



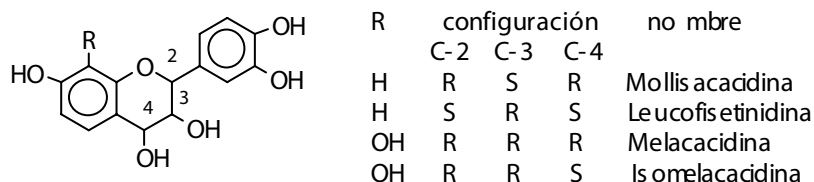
Acción biológica

Algunas flavanonas y dihidroflavonoles inhiben el crecimiento larval de *Heliothis zea*, una plaga del maíz, entre ellos el eriodictiol, la dihidroquercetina (taxifolina) y su 3-O-ramnósido, pero la naringenina o la hesperetina no son activas, la uvaretina es citotóxica.

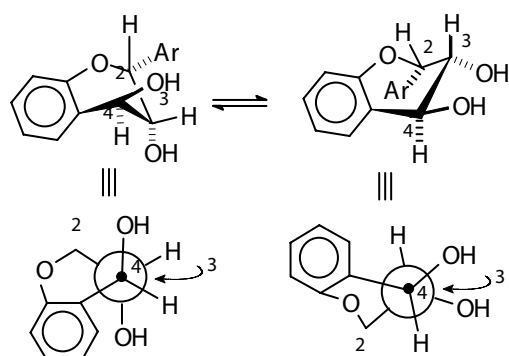
La actividad está aparentemente asociada con el número de OH libres y la presencia de un patrón de hidroxilación orto, mientras que el nivel de oxidación del anillo central no parece jugar papel importante. Algunos regulan la germinación de semillas (alelopatía), imprimen resistencia a la infección de semillas y hojas jóvenes, es decir, actúan como fitoalexinas.

3.6.11. Flavanoles

El modelo de estructuras con el esqueleto de flavano con uno o dos grupos OH en el anillo heterocíclico se conoce como flavanoles; hay así, flavan-3,4-dioles, flavan-4-oles y flavan-3-oles, o catequinas. Generalmente, no se encuentran como estructuras monoméricas sino formando parte de flavonoides condensados. La estereoquímica es conocida para todos los miembros de la serie. Los flavan-3,4-dioles monoméricos se localizan principalmente en las especies del género *Acacia*; la estereoquímica de C-2, C-3 y C-4, puede variar como se ilustra en la figura a continuación.

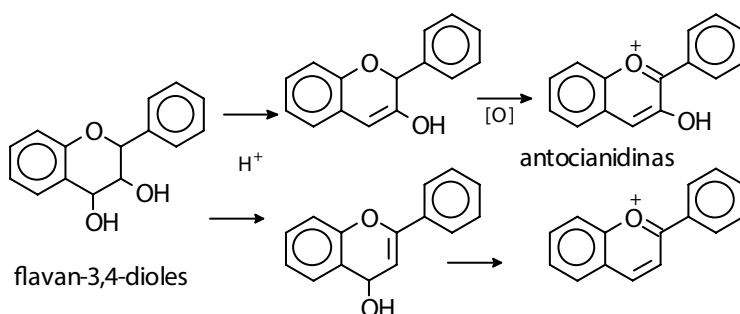


De los varios métodos físicos para las determinaciones estructurales, RMN de ^{13}C da información rápida y particularmente valiosa para analizar la estereoquímica de los carbonos 2, 3, y 4. El corrimiento a campo alto de la frecuencia de resonancia de un carbono cuando está "gauche" a otro carbono heteroátomo en la posición γ , se observa en estas estructuras. Por ejemplo, el C-2 en los flavan-3,4-dioles se aparta en unos 4.1-4.6 ppm, si el enlace C4-OH (o acetato, éter, u otro sustituyente) es casi axial. El equilibrio conformacional de estos sistemas se desplazará hacia el conformero con menos repulsiones entre los sustituyentes en C-3 y C-4.



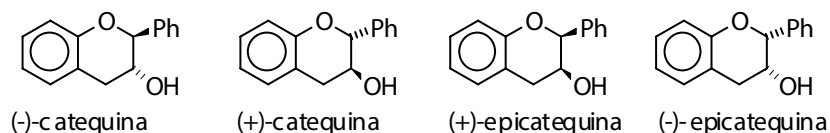
C₄-OH / C₂-C₃ : gauche

La reacción típica de los flavan-3,4-dioles es su conversión a antocianidinas por tratamiento con ácido mineral, lo que provoca la deshidratación seguida de la oxidación, por el oxígeno del aire, originando la sal de flavilio. Por esta razón se conocen a estos flavonoides como leucoantocianidinas (denominación genérica para los compuestos que se convierten en antocianidinas cuando se hierven con un ácido mineral en agua o etanol).

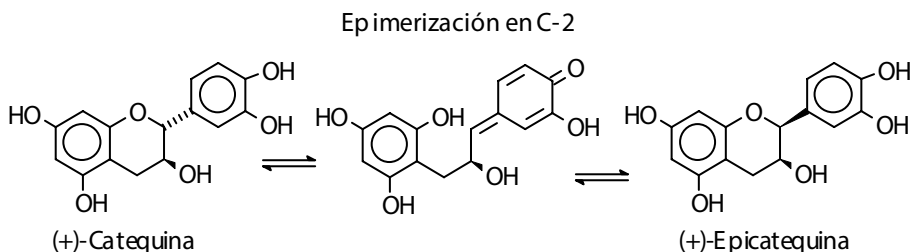


La facilidad de ionización de la posición 4 está influenciada por la estereoquímica de C-3 y de C-4. Por ejemplo, aquellos compuestos con 4β -OH, 3α -OH solvolizan más fácilmente que sus epímeros 4α -OH, 3α -OH, como resultado de la superposición de los orbitales aromáticos con aquel vacío del ion carbonio que se genera en C-4. Esta observación es también válida para la descomposición de 4-aryl-3-flavonoles (estructuras típicas de los flavonoides condensados: proantocianidinas), en presencia de nucleófilos externos

Las catequinas o flavan-3-oles son las unidades monoméricas de los flavonoides condensados taninos; de las catequinas se han aislado los cuatro estereoisómeros. Las configuraciones respectivas se ilustran en la figura. Se ha encontrado que la (+)-catequina ejerce efectos protectores sobre el tejido conectivo.



Nota: No se incluyen los sustituyentes.



La epimerización del carbono 2 tiene lugar siempre que exista un OH libre, por ejemplo en C-4', conjugado con la posición bencílica, en cuyo caso el equilibrio se establece a través de estructuras quinoideas. Así, la (+)-catequina se convierte en la (+)-epicatequina y viceversa. Los derivados totalmente metilados preservan la estereoquímica, bajo condiciones de epimerización (reflujo con base). En analogía los dihidroflavonoles (flavanonoles) son fácilmente racemizados con ácido o con base (considérese en este caso la epimerización de C-3 a través de estructuras enólicas por la presencia del carbonilo en la posición 4) y lo mismo que las flavanonas, la interconversión de C-2 se atribuye a estructuras intermedias del tipo chalcona. Por su parte, la racemización de las catequinas debe pasar por un doble enlace C-2,C-3 y rotura del enlace C-2-oxígeno, a través de un proceso más energético y menos frecuente. De la misma manera los flavan-3,4-dioles son resistentes a la racemización.

3.6.12. Flavonoides poliméricos. Taninos

Las plantas vasculares presentan una mezcla compleja de compuestos fenólicos y entre ellos los flavonoides poliméricos de alto peso molecular y estructuras mal definidas que por hidrólisis producen antocianidinas y flavanoles. Este grupo de sustancias se conoce como proantocianidinas y forma parte de los llamados taninos condensados. Las proantocianidinas son responsables de un gran número de reacciones, por ejemplo la precipitación de polisacáridos, alcaloides, proteínas y como parte de estas últimas, las enzimas de la saliva, lo que le infieren las características astringentes a los vegetales que los poseen, y que son atribuidas a los "taninos". Los taninos, sustancias que producen el endurecimiento del cuero, están ampliamente distribuidos en dicotiledóneas leñosas; su función en las plantas no está clara, pero debido a

su abundancia en tejidos jóvenes y en las heridas causadas en el tallo, particularmente aquellas cerca del suelo, se cree que son utilizados por el vegetal como protección contra infecciones de hongos y parásitos (los árboles pobres en taninos se pudren rápidamente). Se extraen con aguaya que a pesar de su complejidad estructural son altamente oxigenados y/o presentan azúcares en su composición que le dan carácter hidrofílico. Los taninos se los clasifica en:

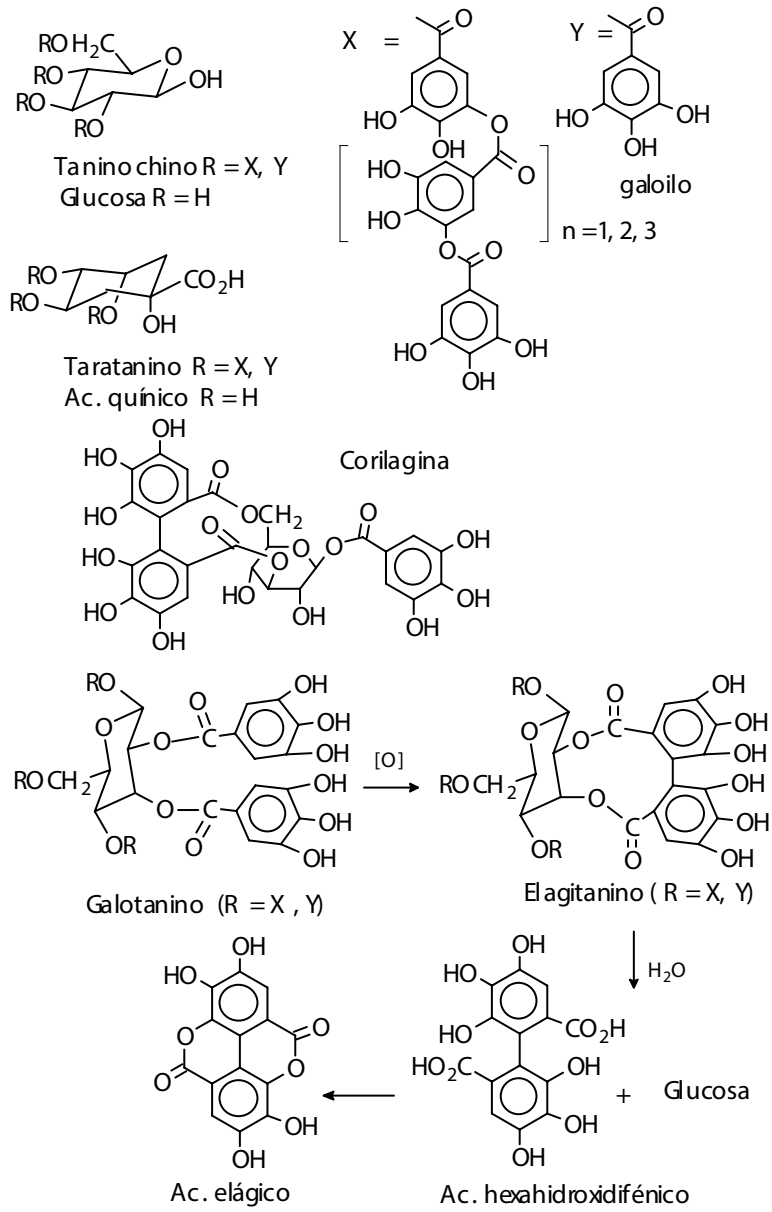
- a. Hidrolizables, (galotaninos y elagitaninos) aquellos que por tratamiento con ácido o por enzimas, se separan en la aglicona (ácidos gálico y elágico, o sus derivados) y los azúcares.
- b. Condensados, aquellos que por tratamiento con ácido no se degradan, polimerizan aún más, convirtiéndose en masas amorfas insolubles conocidas como flobafenos; éstos son polímeros derivados de 3-hidroxi- y 3,4-dihidroxi-flavanos.

Los taninos hidrolizables presentan un núcleo central constituido por un azúcar o por un análogo del ácido shikímico, el cual está esterificado por unidades de ácido gálico o compuestos relacionados (C_6H_4). A este grupo pertenece el tanino chino, que tiene el núcleo central de glucosa y que se aísla de las agallas de *Rhus semialata*; el taratanino, con el centro de ácido quínico; el elagitanino, presente en la cáscara del fruto del granado, tiene el núcleo de glucosa y produce ácido elágico durante la hidrólisis. Los elagitaninos son mezclas de varios compuestos y pueden encontrarse los ácidos gálico y elágico en el mismo tanino, por ejemplo en la corilagina, producida por el árbol de avellana. También se supone que durante la hidrólisis puede tener lugar el acoplamiento de dos unidades cercanas de ácido gálico y formar así el ácido hexahidroxidifénico el cual se convierte a la dilactona: ácido elágico. El cuadro 3-8 ilustra los principales taninos hidrolizables.

Un hecho curioso es la ausencia del ácido 3,4,5-trihidroxi-cinámico en las plantas, en contraste con la amplia distribución del ácido gálico y del hexahidroxidifénico que conforman los taninos hidrolizables. A su mismo, mientras los mono-, di- y poli-ésteres naturales de galaoilo son abundantes los del ácido p-hidroxibenzoico y protocatecuico son escasos.

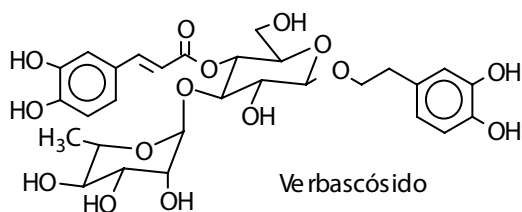
Las especies de ciertas familias botánicas: Aracáceas, Ericáceas, Fagaráceas y Rosáceas, principalmente, son capaces de biosintetizar varios tipos de compuestos polifenólicos, pero dentro de ellas, algunos géneros presentan cierta selectividad. Por ejemplo en las Ericáceas, los géneros *Calluna*,

Cuadro 3-8. Taninos hidrolizables.



Erica y Rhododendron son ricos en proantocianidinas y en el género Arctostaphylosuva-ursi tienen poca incidencia los taninos condensados pero son abundantes los metabolitos del ácido gálico. La afinidad de estos compuestos por las proteínas es máxima si la asociación puede formarse con al menos dos grupos OH en posición orto (catecol, ácido gálico) y estos mismos grupos son los representados en el anillo B de las estructuras de las proantocianidinas y de los galotaninos naturales.

Análogos a las estructuras de los taninos hidrolizables son los glicósidos feniletanoides aislados de Lantana camara (carioquito) como verbascósido, al cual se le han demostrado propiedades antivirales contra el virus RS V, causante de infecciones en el tracto respiratorio de niños*.



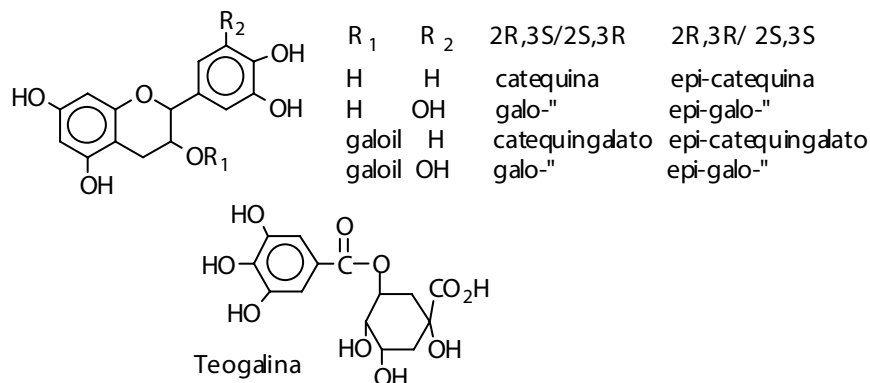
3.6.12.1. Taninos del té

El té es un producto manufacturado con hojas y tallos de ciertas variedades de Camellia sinensis, además de otras especies del mismo género, que son mezclados diferentemente para los diversos tipos de té. El efecto estimulante del té es debido a la cafeína, su sabor a las sustancias volátiles, mientras que la astringencia es consecuencia de las sustancias polifenólicas que a menudo, alcanzan un 30% del peso seco. Hay dos tipos básicos de té: el verde y el negro. Este último es producto de un proceso de fermentación enzimática producida por la polifenóloxidasa, la cual se inactiva con vapor, y es así como se manufactura el té verde.

Propiamente hablando, el té no contiene sustancias que puedan considerarse taninos, si se designa con este nombre a aquellas capaces de curtir cueros; sin embargo, se siguen llamando así a los compuestos fenólicos presentes

*E.L. Ghisalberti, "Lantana camara. Verbenaceae". Fitoterapia, 71, 467, 2000.

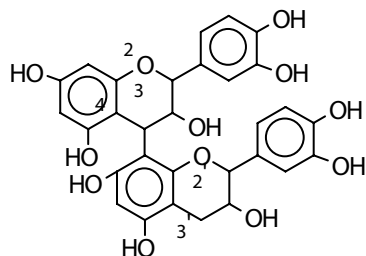
en el té y contienen cantidades variables de L-epicatequina, D,L-catequina, D,L-galocatequina, y ésteres del ácido gálico unidos en C-3 a los flavanoles anteriores. Estos compuestos se comportan como taninos hidrolizables. Tiene además, teogalina, ácidos clorogénicos y otros flavonoides incluyendo compuestos diméricos.



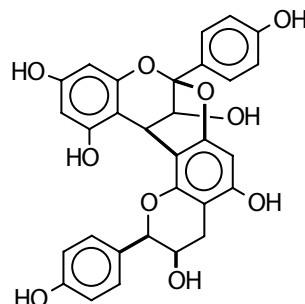
3.6.12.2. Proantocianidinas

Entre las proantocianidinas naturales hay dos tipos abundantes aquellas formadas por la condensación de unidades de catequina y epicatequina que se relacionan a la cianidina y conocidas como procianidinas, y aquellas cuyas unidades monoméricas son galocatequina y epigalocatequina, se asemejan a la delphinidina y son conocidas como prodelphinidinas. Las proantocianidinas se diferencian además en la quiralidad de C-2 y C-3. Los cuatro dímeros más abundantes son las procianidinas B1, B2, B3 y B4 que se presentan en la figura, se han aislados de frutos y semillas de una gran variedad de plantas y son invariablemente ésteres de azúcares.

Las plantas contienen una mezcla de B1 a B4 formadas por unidades de (+)-catequina y (-)-epicatequina. Si uno de los monómeros se aísla predominantemente como tal, éste mismo conformará el grueso del tanino condensado. La unión más frecuente es entre C-4 y C-8. También existen uniones C-4,C-6 (por ejemplo B5, formada por dos unidades de epicatequina y B6 por dos de catequina), así como uniones dobles entre dos unidades lo cual complica considerablemente el estudio de estos compuestos. Un ejemplo lo constituye la mahuanina B que se aísla de una droga oriental: "mao-kon" con acción hipotensora.



Procianidina	2	3	4	2'	3'
B1	α	α	β	α	β
B2	α	α	β	α	α
B3	α	β	α	α	β
B4	α	β	α	α	α



Mahuanina B

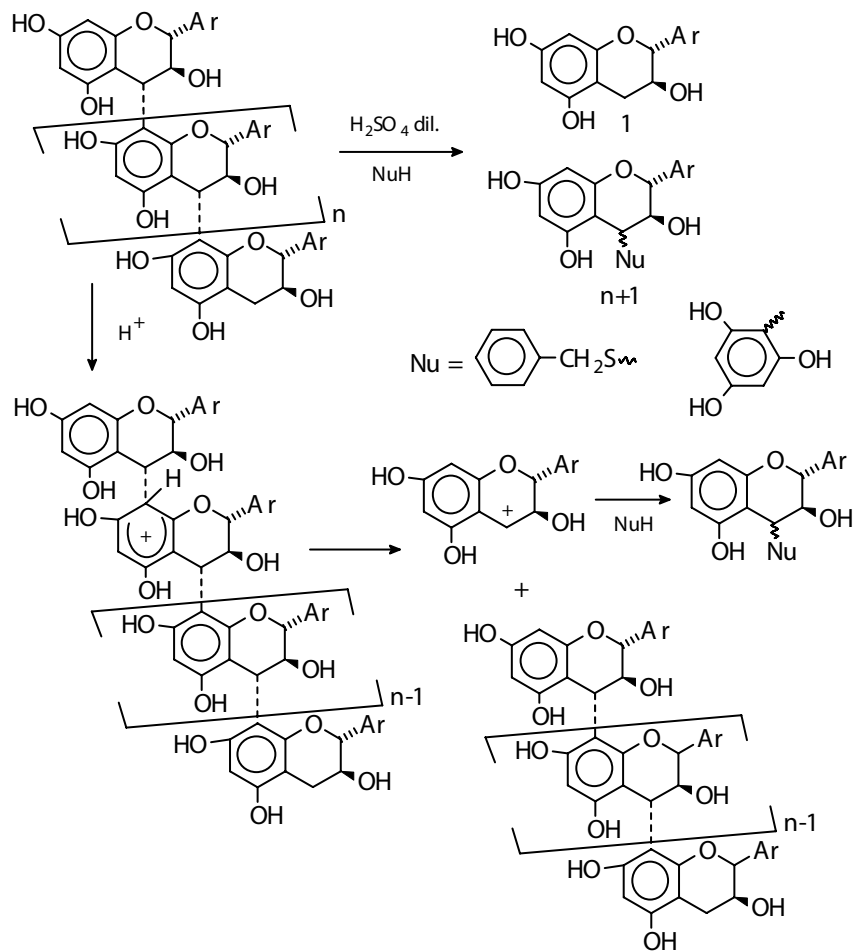
Los oligómeros también se incluyen en este grupo. En ellos las unidades centrales repiten la estereoquímica de la unidad inferior de los dímeros catequina para B3 y B1 y epicatequina para B4 y B2. Esto conduce a estructuras helicoidales cuyo centro está formado por los anillos A y C, mientras que el anillo B se proyecta lateralmente. Aquellos provenientes de epicatequina son hélices "zurdas" y son "derechas" las provenientes de catequina, de modo que la estereoquímica de C-3 define la helicidad.

La degradación química de los polímeros (hidrólisis en medio ácido) produce la rotura del enlace "interflavano" y el carbocatión que se genera a partir de la unidad superior (y unidades intermedias) puede atraparse con nucleófilos como por ejemplo, floroglucinol, tolueno- α -tiol (bencilmercaptano) mientras que la unidad terminal producirá el flavan-3-ol correspondiente. Este método permite estimar el PM del polímero, pues éste es cuantitativamente degradado así como la estereoquímica de C-2 y C-3 y por ello se asume que la hidrólisis comienza con el ataque de protones sobre C-8 (ó C-6). El análisis de la mezcla resultante se lleva a cabo por cromatografía de gases de los derivados metílicos o trimetilsilílicos.

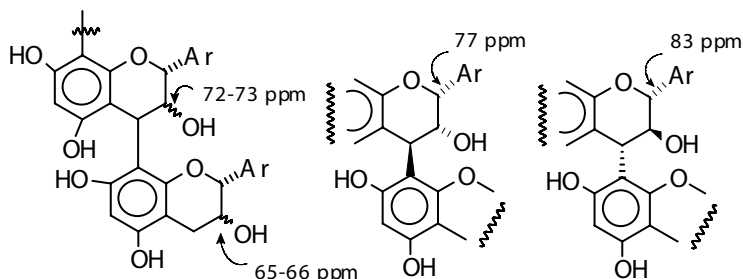
También se ha descrito un método por RMN de C-13, para la determinación del PM y se basa en correlacionar las áreas relativas de C-3 de la unidad terminal y de las unidades inicial e intermedias. El desplazamiento químico de estos carbonos es suficientemente diferente (unos 10 ppm) para permitir este análisis y es el resultado del desapantallamiento que sobre C-3,

produce el enlace interflavano. Los desplazamientos químicos típicos de los carbonos 2 y 3 son indicativos de la configuración de C-2, C-3 y C-4, según se ilustra en la página que sigue.

Degradación de las proantocianidinas



Estos métodos para la determinación estructural, son aplicables si el polímero es uniforme (repite unidades), si el sitio de unión es preferentemente C-4, C-8 y si no existiendo dobles uniones. En la práctica la mayoría de los taninos son mezclas muy complejas aun en oligómeros pequeños trímeros, tetrameros,



pentámeros, etc., y no responde satisfactoriamente a la aplicación de los métodos mencionados

Generalmente es muy difícil aislar los polímeros puros y lo que se establece grosso modo, es la relación de procianidinas y prodelphinidinas, el PM promedio y la fracción molar de isómeros 2,3-cis y 2,3-trans. La relación de las áreas en RMN de ^1H de las señales de los protones en C-6 y C-8 distingue los tipos de uniones y el análisis de la zona a c.a. 145 ppm en RMN de C-13 da información sobre la proporción de procianidina a prodelphinidina.

Acción biológica

Se atribuyen a los taninos diversas actividades biológicas, tales como: antibacteriana, molusquicida, antihelmíntico, antihepatóxica, antiviral, antitumoral y citotóxica, inhibidora enzimática, entre otras. Al menos, tres propiedades generales de los taninos son responsables de esos comportamientos: 1) habilidad quelante con metales 2) propiedad antioxidante y atrapador de radicales libres y 3) habilidad para formar complejos con macromoléculas como proteínas incluyendo enzimas y polisacáridos. La interacción con proteínas es una de las más importantes y se conoce que los taninos tienen mayor afinidad con las proteínas ricas en prolina y de conformación flexible (enzimas de la saliva, caseína, colágeno-gelatina siendo la última abundante en la piel se aprovecha para curtir el cuero) pero no con las de estructuras rígidas secundarias y terciarias. El uso terapéutico de los taninos podría aprovechar su capacidad para inactivar de enzimas fisiológicamente importantes. Este hecho es cierto en el bioensayo *in vitro*, pero se sabe poco el comportamiento *in vivo*. En este sentido, no habría problema en la inactivación de enzimas extracelulares y es interesante mencionar el posible uso de taninos para la prevención de

caries dentales, ya que los polifenoles presentes en el extracto del té verde inhiben la acción de glucosiltransferasas de *Streptococcus* sp. que intervienen en la síntesis de glucano a partir de la sacarosa, el cual es responsable de la producción de las caries dentales*.

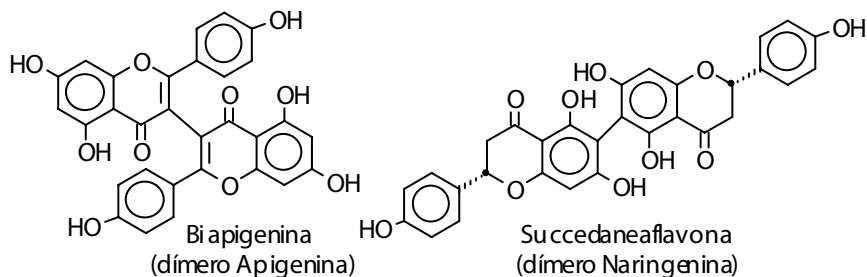
3.6.13. Biflavonoides

Además de los dímeros de catequinas, existen otros flavonoides que se presentan como dímeros conjugados con azúcares o libres. Se forman por un mecanismo de oxidación fenólica (acoplamiento C-C y C-O) y pueden encontrarse: biflavonas, flavona-flavanona, biflavanonas y otros. Algunos tienen nombres comunes que indican las unidades monoméricas (biapigenina), o son simples nombres triviales como succedaneaflavona. Sin embargo, en vista de la complejidad de estas estructuras se ha propuesto una nomenclatura sistemática que define los sustituyentes sobre el esqueleto de flavano, nombrando las unidades con números romanos, los sustituyentes con números arábigos y letras para los anillos; la posición de acoplamiento de las dos unidades de monómeros se indican entre paréntesis.

Por ejemplo la GB-1 se llamará:

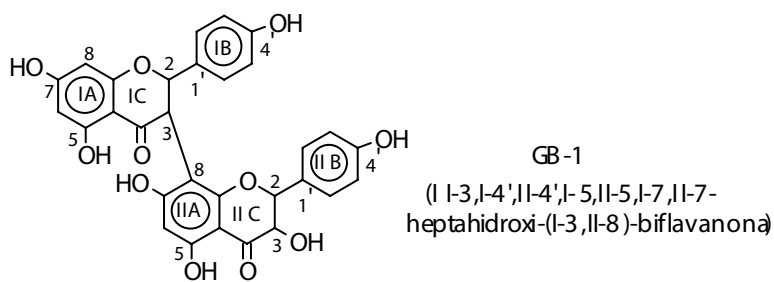
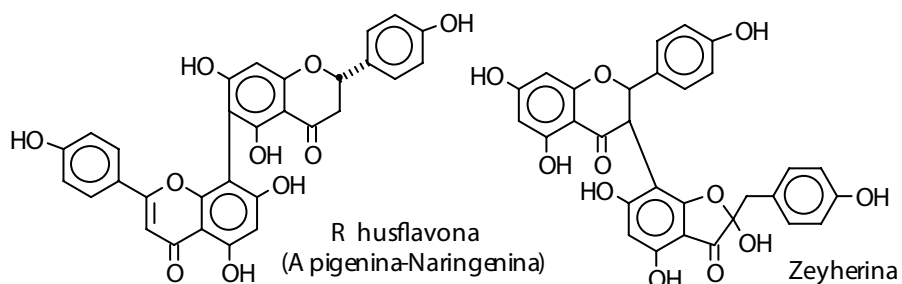
II-3, I-4', II-4', I-5, II-5, I-7, II-7-heptahidroxi-(I-3,II-8)-biflavanona.

Los nombres comunes siguen en uso.



*E. Haslam, "Natural polyphenols (vegetable tannins) as drugs: Possible modes of action", *J.Nat.Pr od.*, 59, 205, 1996.

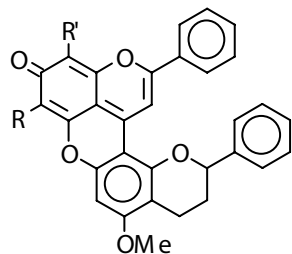
Compuestos Aromáticos



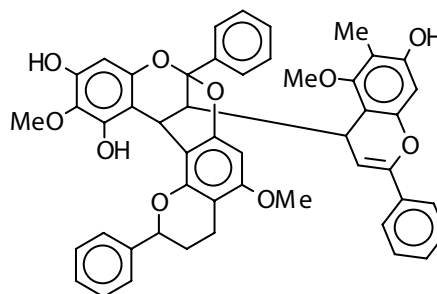
La purificación y aislamiento de biflavonoides no siguen métodos especiales, y para propósitos de determinación de estructura la espectroscopía UV-VIS y RMN de ^{13}C y ^1H , utilizando los monómeros como patrones, son los más frecuentes (Sección 3.6.3.).

La espectrometría de masas con la técnica de ionizaciones suaves p.ej. desorción de campo, parece tener buenas perspectivas. Muchas de las estructuras se han comprobado mediante vía sintética, así como a través de reacciones típicas de degradación de compuestos conocidos.

En cuanto a la actividad farmacológica, se ha citado para estos compuestos la plasmólisis y su acción vasodilatadora periférica. Aparentemente los biflavonoides son más activos que los monómeros de los cuales provienen. Ocurren preferentemente en plantas vasculares y a veces se presentan como trímeros y tetrámeros. Se incluye la formación de otros anillos como por ejemplo, en los aislados del exudado del árbol Dragón ("Drago") (*Daemnoropus draco*), indicados en la figura.



R = Me, R' = H: Dracorrubina
R = R' = H: Nordracorrubina



Compuesto trimérico 31

3.7. Isoflavonoides

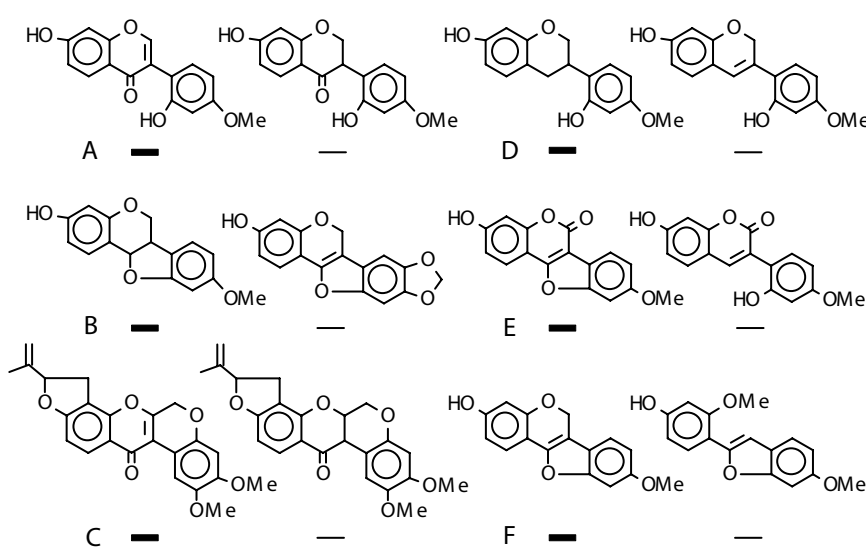
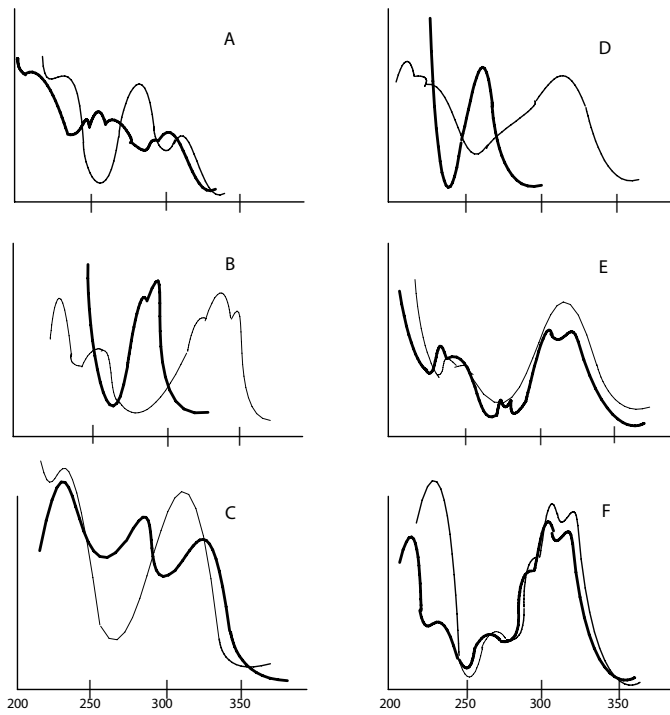
Sus esqueletospuedenrelacionarseal 3-fenilcromano,son distribuidos en pocas familias, probablemente debido a un sistema enzimático, responsable de su bioformación, muy especializado. Se encuentranprincipalmenteen la subfamilia Papilionoideasde las Leguminosas, y menosfrecuentementeen otra subfamilia: Caesalpinioideas. A lgunos isoflavonoides están presentes en otras familias, distintas a las Leguminosas: Rosáceas, Moráceas, Amarantáceas, Chenopodiáceas,Cupressáceas, Podocarpáceas,Iridáceas, Myristicáceas, y Stemonáceas.

Estructuralmentese los puededividir en varias clases de acuerdoa los niveles de oxidación del anillo central y a la complejidaddel esqueleto, como por ejemplo la formación de otros heterociclos. Se correlacionan con las estructurascorrespondientes a los flavonoides: isoflavonas, isoflavonoles, etc. Los métodos de análisis son similares a los de sus isómeros y aquí también, la espectroscopíaUV y RMN de ^{13}C son de capital importancia.La espectroscopía ultravioleta está bien documentada y los espectros tienen "formas" típicas para cada clase de compuestos,en soluciones neutras de etanol. La figura en el cuadro 3-9 reproduceespectros patrones para los diferentes isoflavonoides.

3.7.1. Isoflavonas

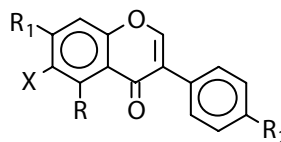
Son las más abundantesentre los isoflavonoides, se han detectado unas 160 agliconas. El patrón de oxigenación varía desde muy simple, por

Cuadro 3-9. EspectrosUV de isoflavonoides

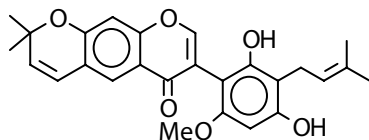


ejemplo. 7,4'-dihidroxi-isoflavona (daizdeína), hasta altamente oxigenado, como la 5,7-dihidroxi-6,2',3',4'-tetrametoxi- y 5,7-dihidroxi-6,2',3',4',5'-pentametoxi-isoflavonas aisladas de Iris japónica*. La O-glicosación es más frecuente que la C-glicosación (por ejemplo, la puererina: el 8-C-glucósido de la daizdeína). Las cuatro agliconas más comunes son: daizdeína, formononetina, genisteína y biochanina-A. Se encuentran prenilaciones en los carbonos 6 y 8 de cadena abierta (ej. wighteona) y/o formando heterociclos (cajaisoflavona, aislada del quinchoncho, *Cajanus cajan*).

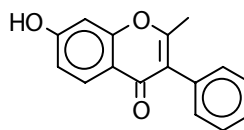
Nombre	R	R ₁	R ₂	X
Daizdeína	H	OH	OH	H
Formononetina	H	OH	OMe	H
Genisteína	OH	OH	OH	H
Biochanina-A	OH	OH	OMe	H
Wighteona	OH	OH	OH	Me ₂ C=CHCH ₂



Las alquilaciones pueden presentarse sobre C-2, tal es el caso de la 7-hidroxi-2-metilisoflavona que se encuentra en la raíz de regalí (Glycyrrhiza glabra). La presencia de isoflavonas restringida a vegetales superiores es cuestionada, porque algunas isoflavonas glicosidadas se han encontrado en cultivos de varios microorganismos. Sin embargo, tales cultivos se hicieron en un medio de soya, y no es de descartarla posibilidad de que las isoflavonas son realmente metabolitos de la soya que pasan por su solubilidad en agua, al medio de cultivo. De hecho, es conocido que la producción de flavonoides puede afectarse por la infección microbial y el tratamiento con una sal inorgánica (por ejemplo CuCl₂)**.



Cajaisoflavona

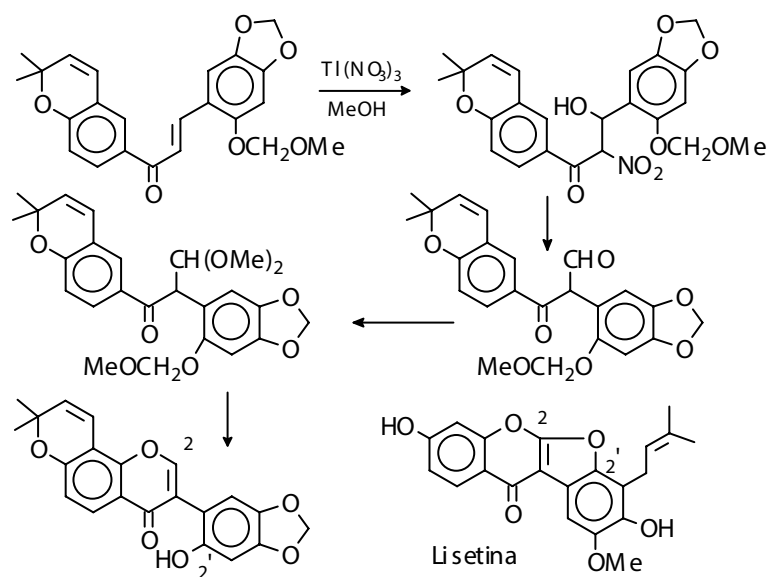


7-Hidroxi-2-metilisoflavona

**T. Hakamatsuka, Y. Ebizuka, U. Sankawa, " Induced isoflavonoids from copper chloride treated stems of *Pueraria lobata*", *Phytochemistry*, 30, 1481, 1991.

*H. Minami, A. Okubo, M. Kodama, Y. Fukuyama, "Highly oxygenated isoflavones from *Iris japonica*". *Phytochemistry*, 41, 1219, 1996.

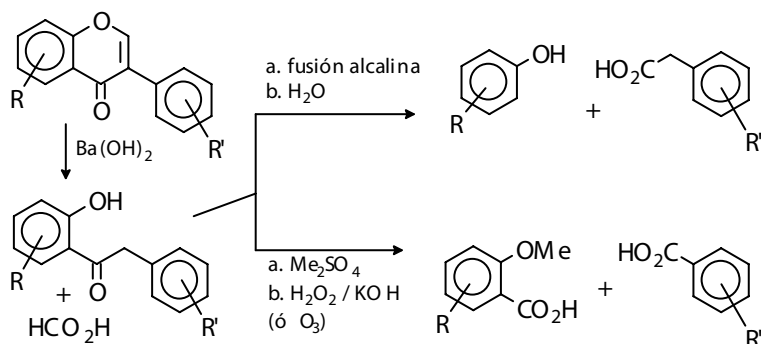
La síntesis de estos compuestos se ha intentado de varias maneras, siendo la más frecuente aquella que involucra la oxidación de la chalcona con nitrato de talio. La oxidación ulterior de la 2'-hidroxi-isoflavona con ferricianuro de potasio o con carbonato de plata, produce un éter cíclico C2-O-C2'. Este sistema está presente en las estructuras denominadas "cumarano-cromona", de las cuales se conocen derivados naturales como la lisetina, un isoflavonoide aislado de *Piscidia erythrina*.



3.7.1.1. Reacciones de degradación

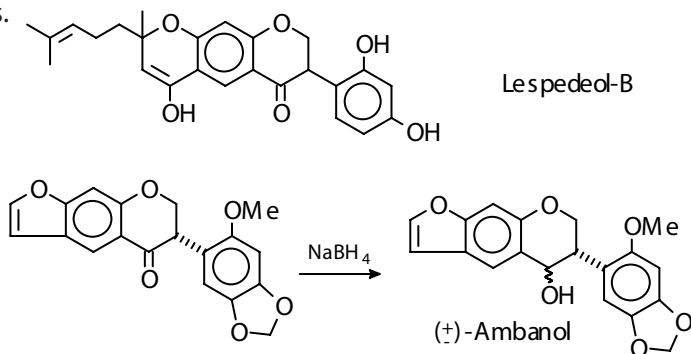
Las isoflavonas son generalmente estables en condiciones ácidas pero no en condiciones alcalinas. La hidrólisis con hidróxido de bario las transforma en una desoxibenzoína y ácido fórmico, mientras que la fusión alcalina rompe el anillo C y produce derivados del ácido fenilacético. Las oxidaciones que deben estar precedidas de la metilación de los OH libres, generan derivados del ácido benzoico, probablemente a través de la epoxidación del doble enlace de la enona. La reducción con hidruros metálicos satura el doble enlace y los reactivos de Grignard se adicionan al final del sistema conjugado (en C-2). Las alquilaciones o acilaciones atacan rápidamente los OH en las posiciones 7 y 4', pero más lentamente en 5 y 2'. En esto último la baja velocidad

ha sido atribuida a la formación de puentes de hidrógeno intramoleculares y/o impedimento estérico. La desalquilación (desmetilación) es fácil para C-5OR (tricloruro de aluminio en nitrobenzén bajo reflujo), pero el C-7OR es particularmente resistente.



3.7.2. Isoflavononas

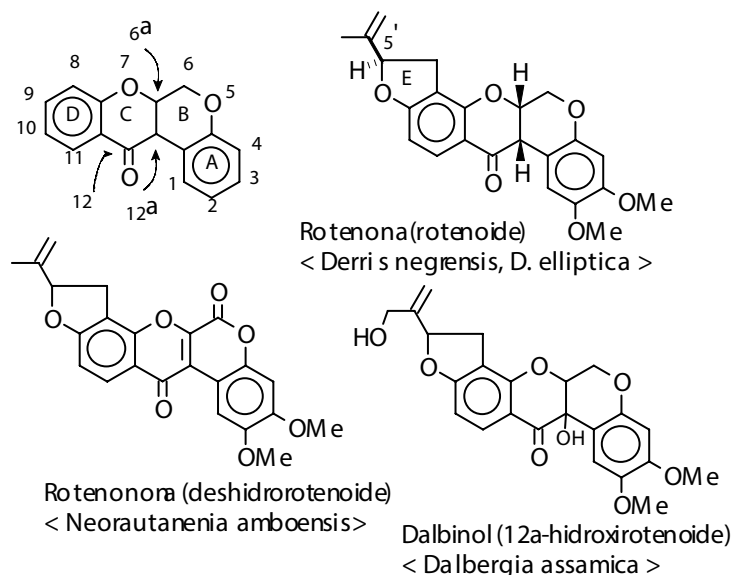
Son mucho más escasas que las anteriores y contienen generalmente una o más unidades de prenilo. La epimerización de C-3 tiene lugar bajo condiciones relativamente suaves, por lo cual durante años se han aislado las formas ópticamente inactivas; éste es el caso del lespedeol-B (de *Lespedeza homoloba*). Como para otros compuestos, el signo de la rotación óptica no es indicativo de la quiralidad de C-3, pero las curvas de ORD de las (S)-3-isoflavononas tienen un efecto Cotton negativo intenso en el intervalo 330 - 350 nm. La reducción con hidruro de boro y sodio produce una mezcla epimérica del 4-isoflavanol correspondiente. A algunos de estos isoflavanoles se han aislado de fuentes naturales (ej. (-)-ambanol de *Neurautania amboensis*).



3.7.3. Rotenoides

Es el nombre genérico de una clase de los isoflavonoides (se conocen unas 40 estructuras) que contienen un carbonilo y un anillo heterocíclico adicional con el esqueleto cromano-cromanona. Con excepción de una familia de las monocotiledóneas Stemonáceas, se encuentran preferentemente en Leguminosas de la subfamilia Papilionoideas. *Derris elliptica* (Leguminosas) rica en rotenona, es utilizada como veneno temporal de las aguas de ríos para facilitar la pesca. Estos compuestos promueven la oxidación mitocondrial del NADPH.

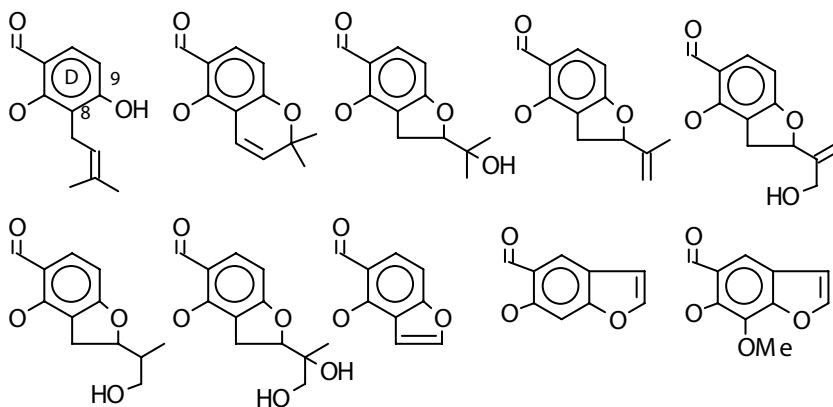
El esqueleto totalmente conjugado se conoce como "rotoxeno", la numeración del mismo se indica en la figura. Es frecuente encontrar un anillo adicional en estas estructuras (anillo E) el cual es generado por prenilación en C-8. Los primeros estudios estructurales, incluyendo los estereoquímicos fueron hechos con la ayuda de difracción por rayos X. Con ellos se demostró la disposición doblada de la molécula de la (-)-rotenona (6*S*,12*aS*,5'*R*) que le infiere estabilidad termodinámica a la molécula con fusión B/C *cis*. Note que la numeración de los carbonos no sigue el sistema de los flavonoides.



Su estructura general se enumera según se ilustra y pueden existir varios niveles de oxidación. De acuerdo a la nomenclatura se conocen como "derrano" y "derranona" (12-oxo), en analogía al sistema flavano-flavona. Sin embargo el uso de nombres triviales es más generalizado, pero con éstos no es posible distinguir el nivel de oxidación del anillo heterocíclico. Para simplificar, se acostumbra agrupar los rotenoides de acuerdo a su abundancia natural en:

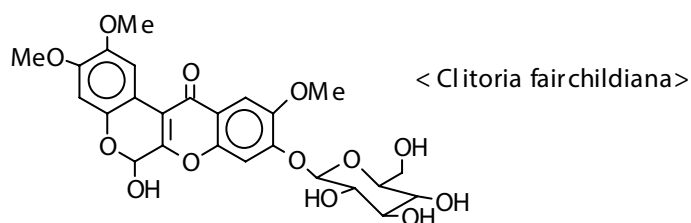
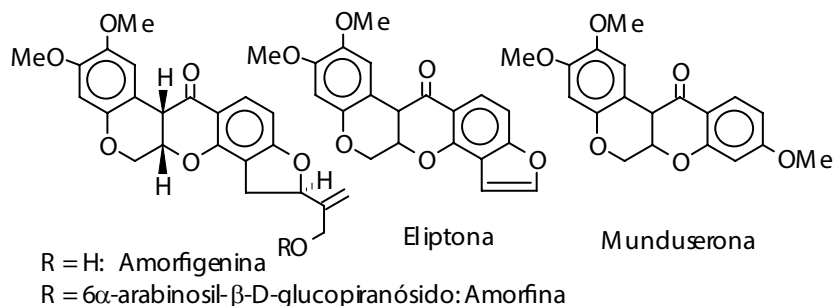
- Rotenoides, (12-oxo) ej. rotenona
- Deshidrorotenoides ($\Delta^{6a(12a)}$, 12-oxo) ej. rotenonona.
- Hidroxirotenoides, (aquellas estructuras que presentan un OH en 12a, 6 y/o 6a) ej. dalbinol (12aOH, 12-oxo).

En los rotenoides y en los hidroxirotenoides hay al menos dos centros quirales los cuales son susceptibles a epimerizarse bajo condiciones ácidas o básicas fuertes. La oxigenación de los anillos aromáticos está localizada casi invariablemente en las posiciones 2, 3 (generalmente como grupos metoxi o dioximetileno), 9 y 11. Cuando hay una cadena de isopreno ésta puede generar un anillo adicional con un oxígeno en C-9 (anillo E). Así se encuentran 10 modificaciones naturales para los anillos D y E, que se ilustran. Las variaciones en el fragmento de isopreno pueden encontrarse sobre un mismo patrón de oxigenación del esqueleto básico véase por ejemplo: amorfigenina, eliptorina y munduserona. Las glicosaciones también ocurren en estos compuestos (ej. amorfinina y 9-O- β -D-glucopiranosil-6-hidroxi-2,3,10-trimetoxi-[1]benzopirano-12-ona, aislada de *Clitoria fairchildiana*)*.

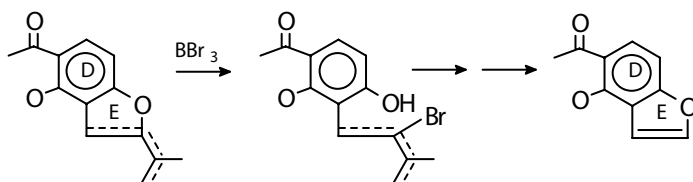


*B.P. Silva, R.R. Bernardoy J.P. Parente, "A novel rotenoid glucoside from the roots of *Clitoria fairchildiana*", *Fitoterapia*, 79, 49, 1998.

Compuestos Aromáticos



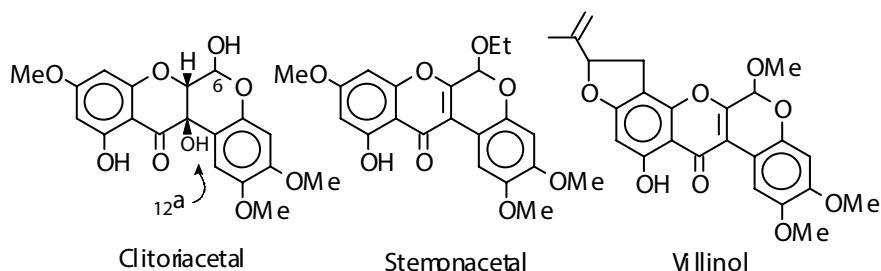
El anillo E se rompe al tratar estas moléculas con BBr_3 y la cadena abierta puede reciclarse ($\text{BzSeCl}-\text{C}_2\text{H}_4\text{Cl}_2$) o degradarse por oxidación con OsO_4 a estructuras más simples.



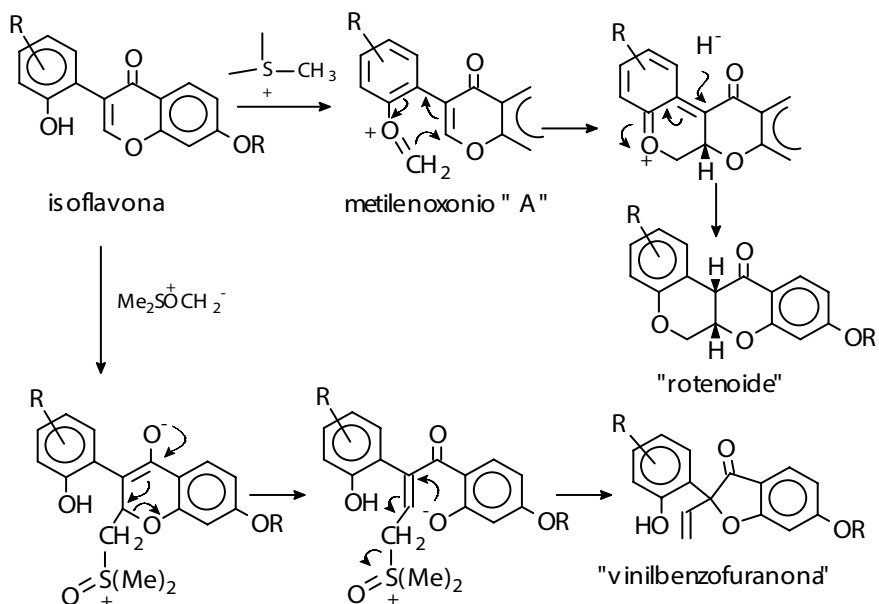
Los deshidrorotenoides se forman por deshidratación de los 12a-hidroxirottenoides los cuales a su vez, se generan por aeración de las soluciones de rotenoides. Es por ello que los 12a-hidroxirottenoides eran considerados como artificios de los rotenoides mismos, sin embargo hoy día se acepta que los rotenoides, deshidrorotenoides e hidroxirottenoides son productos biogénicos. (La formación de 6-oxo-rotenoides es casi cuantitativa cuando se irradia con luz UV los 6a,12a-deshidrorotenoides).

La configuración absoluta determinada para algunos 12a-hidroxirottenoides 6aS,12aS, concuerda con la de los rotenoides naturales y ello es un indicio de que los hidroxirottenoides no son artificios provenientes

del trabajo de extracción. También se encuentran 6,12a-dihidroisoflavenoides (clitoriactal, un hemiacetal) que co-ocurre con los acetales 6-etoxi- y 6-metoxi-deshidrorotenonasstemonacetaly villinol, en *Tephrosia villosa*.



Los estudios biosintéticos demuestran que el carbono adicional: C-6, se incorpora (a partir de la metionina), a través de la metilación del OH en la posición 2' de la isoflavona. La hipótesis para la formación del anillo B propone un reordenamiento sigmatrópico [3,3] sobre el intermediario metiloxonio: "A". Como alternativa, se pensó en un isoflavonoidemetilado en C-2, generador de un iluro como intermediario. Sin embargo en los experimentos de laboratorio la transferencia del iluro produjo una vinilcumaranona (vinilbenzofuranona, el dihidrobenzofuranone cono cetambien como cumarano) de acuerdo a la reacción que sigue, por lo que se descartó la teoría que propone



el 2-metil-isoflavonoide como intermediario biogénico. Los experimentos con metionina radiactiva ($^{14}\text{CH}_3$ -metionina) evidenciaron la ruta biosintética mencionada en la formación del anillo B de los rotenoides*.

3.7.4. Pterocarpanos y cumestanos

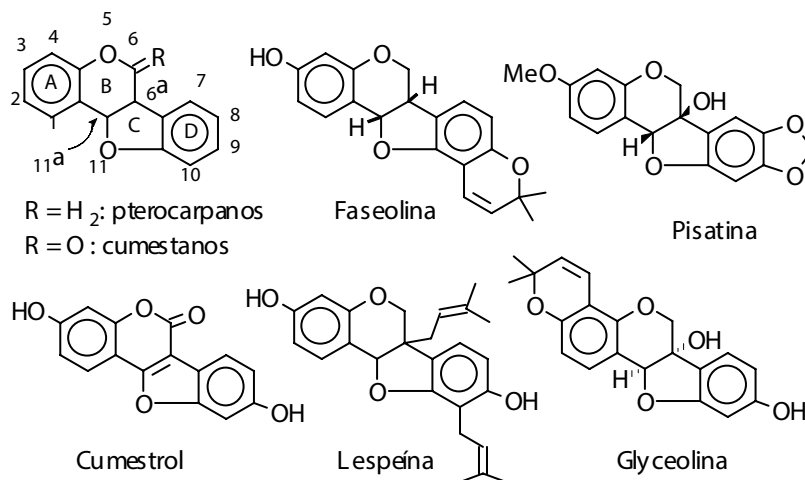
Los pterocarpanos y cumestanos presentan en su esqueleto dos anillos heterocíclicos y se diferencian en la presencia de un grupo carbonilo en C-6 para los cumestanos, siendo también derivados de cumarina. Son ampliamente distribuidos en Leguminosas, tanto en la madera y la corteza, como en los tejidos jóvenes atacados por microorganismos; varias de estas estructuras funcionan como fitoalexinas. Dos de los pterocarpanos más frecuentes son 3-hidroxi-9-metoxipterocarpano y 3-hidroxi-8,9-metilendioxipterocarpano (medicarpina y maackiaina, respectivamente). La faseolina, aislada de *Phaseolus vulgaris* -caraota-, la pisatina de *Pisum sativum* -arveja- y la glyceolina de *Glycine max* -soya-, son algunos otros ejemplos.

Nota. Las fitoalexinas son compuestos que se forman en las plantas atacadas por hongos, previenen la diseminación de la infección y protegen la planta de otras enfermedades. No parecen tener requerimientos estructurales específicos, pues se han encontrado varios tipos de compuestos que presentan esta actividad, incluyendo poliacetilenos

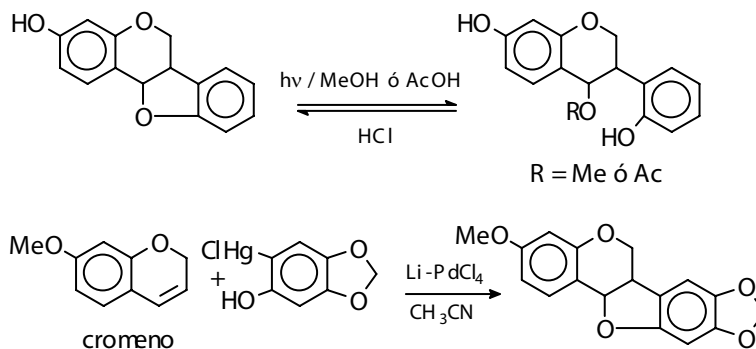
El esqueleto puede presentar un grupo OH: 6a-hidroxipterocarpanos, o un doble enlace entre carbonos 6a y 1b: pterocarpenos. Poseen generalmente una cadena prenilica (C_5 ó C_{10}) y ésta a su vez, puede conformar nuevos ciclos asociándose con OH fenólicos en el anillo A o D. La unión con la cadena de isopreno está casi siempre en las posiciones 2 y 10, a veces en 6a, como en lespeína, que se encuentra en *Lespedeza homoloba*. El patrón de oxigenación predominante incluye las posiciones 3, 8 y 9; menos frecuentemente en 1, que corresponde a la posición 5 en isoflavonoides. Hay ejemplos de pterocarpanos glicosidados naturales.

La numeración de estos núcleos se indica en la figura.

*L. Crombie, D.A. Whiting, "Review Article N° 135. Biosynthesis in the rotenoid group of natural products: Applications of isotope methodology", *Phytochemistry*, 49, 1479, 1998.



Los pterocarpanos sufren rompimiento fotorolítico por irradiación en metanol o ácido acético y producen 3,4-trans-2'-hidroxi-4-metoxi(o acetoxi)isoflavanos, respectivamente. Tal reacción se revierte con HCl diluido y en ello se basa la síntesis de estas moléculas, aunque la formación de los anillos B y C también se logra con buenos rendimientos, a partir de cromenos y compuestos organometálicos.

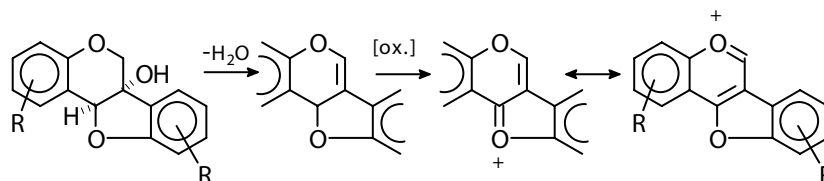


Estas moléculas presentan dos centros quirales pero sólo dos estereoisómeros estables (con fusión cis de los anillos heterocíclicos): R,R o S,S. En la naturaleza se encuentran moléculas dextro y levorrotatorias, además de formas racémicas. Mediante las técnicas de RMN y ORD se determinó que

todos los pterocarpanos levorrotatorios tienen configuración absoluta 6aR, 11aR y muestran una curva de efecto Cotton múltiple con máximos a 250 y 350 nm

La asignación de la estereoquímica absoluta de los 6a-hidroxipterocarpanos naturales ha originado discrepancias entre los autores que trabajan en este campo. En general, se acepta que la sustitución de un H por un OH no afecta el signo de la rotación óptica. Sin embargo, en la mayoría de los casos la quiralidad en C-6a y C-11a no ha sido inequívocamente establecida.

Los pterocarpenos son menos abundantes que los 6a-hidroxipterocarpanos y se cree que son productos de la deshidratación de éstos. La deshidratación es la conversión típica de los 6a-hidroxipterocarpanos. Los espectros de masas de ambas familias son muy similares y en ellos se observa la formación de un ion muy estable que involucra a los dos átomos de oxígeno que conforman los anillos heterocíclicos.



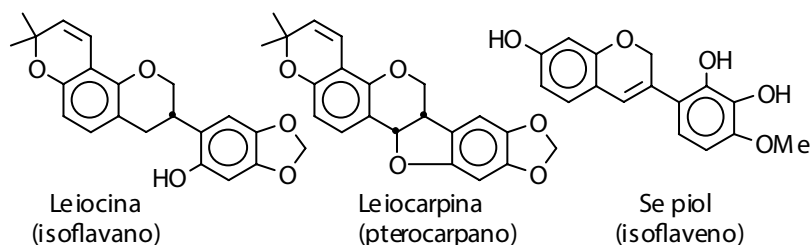
En los cumestanos no hay muchos ejemplos de variaciones estructurales. Ejemplos típicos son 3,9-dihidroxi- y 3,4,9-trihidroxicumestanos. Se reconocen fácilmente en solución o sobre un cromatograma, por la intensa fluorescencia azul brillante o violeta, en UV. Los cumestanos se obtienen por oxidación de pterocarpanos con DDQ, bajo condiciones suaves.

3.7.5. Isoflavanos e isoflavenos

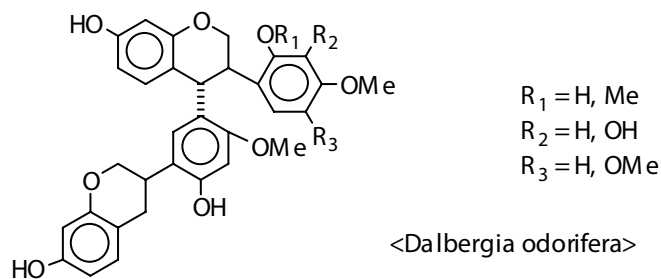
Se sintetizan usualmente por hidrogenación catalítica de isoflavonas (Pd-C en ácido acético, que previene la saturación de los anillos aromáticos). Los naturales son poco frecuentes y todos presentan oxigenaciones en 2', 7 y 4'. Este hecho parece asociarse con la posible ruta biogénica en la cual los pterocarpanos son sus precursores inmediatos, véase la similitud entre leiocarpin y leiocina. También actúan como fitoalexinas. Un muy simple, el

(S)-7,4'-dihidroxi-isoflavano (equol) es probablemente el único flavonoide encontrado en animales: se ha detectado en la orina de algunos mamíferos incluyendo el hombre. Se considera que es un producto metabólico de otros isoflavonoides presentes en las dietas tales como daizdeína, pisatina, cajiisoflavona, etc.

Los isoflavenos (e.g. sepiol), se conocen desde hace bastante tiempo y pueden sintetizarse por deshidratación de los isoflavanoles o por tratamiento controlado con ácidos, de los pterocarpenos. En espectrometría de masas el pico predominante es el correspondiente a M^+-1 , debido a la fácil formación del ion isoflavilio. Estos compuestos juegan un papel importante en la biosíntesis de los cumestanos.



Se han aislado una serie de bi-isoflavonoides con el enlace interflavano 4-5' de *Dalbergia odorifera*. Estos compuestos son análogos a las proantocianidinas, según se ilustra a continuación.

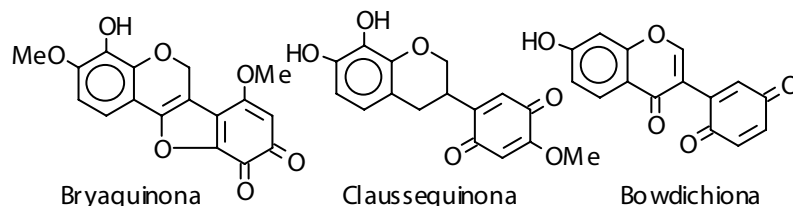


3.7.6. Derivados quinónicos y otros productos de oxidación

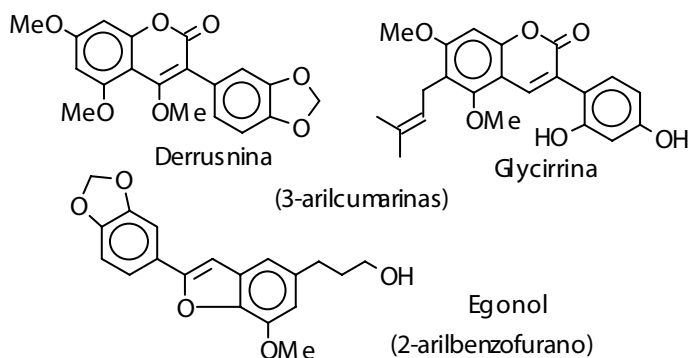
Hay varios productos quinónicos naturales con estructuras de isoflavonas, isoflavanos, pterocarpanos, etc. Son compuestos colorados, por

Compuestos Aromáticos

ejemplola bryaquinonaes púrpura. Su EM exhibelas fragmentacionescaracterísticas de las quinonas(pérdida de CO) y de los isoflavonoides (retro Diels-Alder). El origen de estas quinonases dudoso,considerandoque puedenprovenirdeprocesosoxidativos durantela extraccióndelos isoflavonoides.



Otros productosde oxidación se conocencomo 3-aril-cumarinas, por ejemplola derrusnina y glycirrina, los cuales se presentan en las plantas, casi siempre Leguminosas, junto con pterocarpanos y cumestanos. Existen algunos compuestosque no tienen formado el anillo C, como el egonol que pertenece a un grupo conocido como 2-arilbenzofuranos cuya absorción ultravioleta es parecida a la de los pterocarpenos, pues repiten, en parte, su cromóforo (ver cuadro 3-9).



3.7.7. Biosíntesis de los isoflavonoides

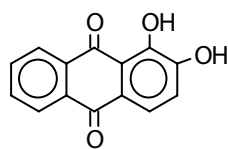
En la bioformación de los isoflavonoides tiene lugar la migración del anillo B a la posición vecina C-3. A partir de la información disponible se asume que es necesario el sistema 2',4',4'-trihidroxichalcona para que ocurra el reordenamiento el cual debe estar seguido por la oxidación de la posición 2'

la infección de las plantas con hongos apropiados, por irradiación con luz UV, o suministrando sales de metales pesados. Las incorporaciones de algunos precursores han sido particularmente buenas (hasta el 10%). Los estudios enzimáticos están menos desarrollados que en el caso de los flavonoides.

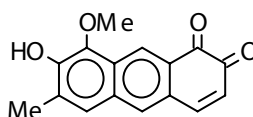
3.8. Quinonas

Entre los productos naturales, las quinonas están ampliamente representadas, bien sea como núcleo principal de una estructura o formando parte de moléculas complejas aromáticas o aromáticas-alifáticas y a veces diméricas. Las quinonas constituyen un grupo importante de pigmentos vegetales y animales. El ejemplo más antiguo es la alizarina, una antraquinona usada desde hace más de 2000 años para teñir telas. Estos compuestos tienen afinidad por las zonas calcáreas y se fijan en ellas. Así, se ha encontrado restos de alizarina en ciertas manchas rojas de huesos humanos excavados en el cementerio de Quram, en la región del Mar Muerto y ello es atribuido a la ingestión de *Rubia tinctorum*, planta particularmente rica en alizarina.

Tomando en cuenta su estructura se las puede clasificar en benzoquinonas, naftoquinonas, antraquinonas y quinonas extendidas. Los ejemplos más frecuentes se refieren a estructuras p-quinoides altamente hidroxiladas en cuyo caso pueden encontrarse en equilibrio varios tautómeros. Hay ejemplos de o-quinonas como lo es el hallocromo, un pigmento rojo que se aísla del gusano utilizado para pescar: *Lumbriconereis impatiens*.



Alizarina



Hallocromo

Aun pudiendo agrupar estos compuestos dentro de una estructura común, su origen biogenético está distribuido entre los metabolitos fundamentales principales: ácido acético, shikímico y mevalónico; para las quinonas es particularmente aventurado proponer un precursor determinado sin más evidencias que la similitud estructural con un análogo cuya génesis está bien definida. Como criterio general, se acepta que las quinonas provienen de los

microorganismos son formadas a partir de ácido acético y aquellas de los vegetales superiores lo son de ácido shikímico.

3.8.1. Aislamiento e identificación

No hay métodos especiales para el aislamiento de las quinonas. La extracción alcalina es a veces utilizada en el caso de las antraquinonas que son las más abundantes en los vegetales superiores (esto no se recomienda si existen OH libres en conjugación con el grupo carbonilo). La presencia de azúcares aumenta su solubilidad en solventes polares. Los glicósidos son derivados frecuentes de las antraquinonas pero no se encuentran en las benzoquinonas, las cuales generalmente están conjugadas con una cadena alifática que las hace liposolubles. La purificación se lleva a cabo en cromatografía en columna y TLC de sílica gel. Para la cromatografía de gases deben ser transformadas en derivados volátiles: los éteres trimetilsilílicos.

Se comportan como indicadores, en solución neutra su color varía desde amarillo hasta casi negro. La reducción alcalina con ditionito de sodio o con hidruro de boro y sodio los convierte en compuestos menos colorados: quinoles, los cuales se re-oxidan simplemente agitando la solución al aire. La oxidación es más rápida en la medida que aumenta el número de OH libres en la molécula.

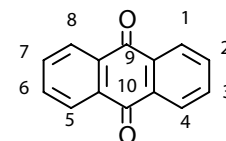
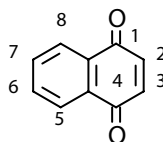
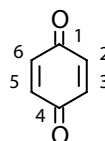
Las benzoquinonas y naftoquinonas son visibles en TLC con el reactivo azul de leucometileno (la quinona se observa como una mancha azul sobre fondo blanco). Las antraquinonas se pueden diferenciar de las benzo- y nafto-quinonas por reducción con ditionito de sodio alcalino que origina soluciones rojas para las primeras mientras que para las segundas son incoloras o amarillo-pardo. El color de la quinona en solución básica y el máximo de absorción en la región visible indican el patrón de oxigenación. En la tabla 3-6 se ilustra lo anterior.

También en solución neutra las quinonas muestran patrones de absorción UV típicos. Las 1,4-benzoquinonas se caracterizan por una banda intensa a 240 y una media a 285 nm. Los grupos metilo alteran poco (5 a 10 nm) los máximos de absorción pero los grupos OH en C-2 lo corren hacia el visible unos 20 nm. Este desplazamiento es menor si el fenol no está libre, por ejemplo, formando un éter. Las 1,2-benzoquinonas tienen 3 máximos en la misma

Compuestos Aromáticos

Tabla 3-6. Patrón de hidroxilación y color en solución etanólica alcalina de quinonas.

Quinonas	color	$\lambda_{\text{max.}}$ (nm)
2-OH-5-Me	rojo	493
2,3-diOH-5,6-diMe	azul-púrpura	522
2,5-diOH	azul-rojo	505
2-OH	naranja	459
5-OH	violeta	538
2,3-diOH	azul	650
2,5-diOH	rojo-violeta	490
3,5-diOH	rojo	436
5,8-diOH	azul	655
1-OH	rojo	500
2-OH	rojo-naranja	478
1,2-diOH	azul-violeta	576
1,3-diOH	rojo	485
1,4-diOH	violeta	560
1,5-diOH	rojo	496
1,2,3-triOH	verde	688
1,2,4-triOH	violeta-rojo	544
1,4,5-triOH	violeta	561



región, pero de menor intensidad que los isómeros para. Las naftoquinonas exhiben absorción benzoide y quinoide entre 240 y 290 nm y una banda menos intensa a 335 nm. Los grupos OH en las posiciones 5 y 8 provocan la absorción a 269 y los 2,5,8-trihidroderivados complican el espectro que muestra dos grupos de picos de intensidad comparable a 292 y 310 y a 481, 489 y 510 nm. En las 1,2-naftoquinonas los máximos están desplazados a longitudes de onda menores: 255 nm. La mayoría de las antraquinonas presentan tres zonas de absorción: 240-260, 260-290 y 320-330 nm. Los grupos OH y OMe intensifican la banda de mayor longitud de onda, siendo el efecto más

notorio para las hidroxilaciones en las posición "peri". La banda de mayor longitud de onda de las hidroxi- (o metoxi-)antraquinonas se muestra en la tabla 3-7.

Tabla 3-7. Absorción UV/VIS de las hidroxi- (o metoxi-) antraquinonas.

Posición de OR	λ_{max} en EtOH*, nm
1	400-420
1,8	430-450
1,5	420-440
1,4	470-510
1,4,5	485-530
1,4,5,8	540-560

(*) solución neutra.

En el infrarrojo el grupo carbonilo de las quinonas absorbe a 1680 cm^{-1} . La solución de p-benzoquinona tiene el máximo a 1669. La frecuencia aumenta si hay anillos aromáticos fusionados; por ejemplo la 1,4-naftoquinona absorbe a 1675 y la 9,10-antraquinona a 1678 cm^{-1} . La frecuencia disminuye en las hidroxiquinonas como resultado de la formación de quelatos y/o puentes de hidrógeno, especialmente cuando los OH ocupan la posición peri. La acetilación de tales OH devuelve la frecuencia del carbonilo a su posición original. El aumento en el número de posibles quelatos se manifiesta en la complejidad de la zona entre 1680 y 1570 cm^{-1} . También como consecuencia de la formación de quelatos, los grupos hidroxilos involucrados en ellos no muestran absorción en su zona típica, sino una banda ancha a 2700, mientras que los OH beta al grupo carbonilo lo hacen a 3600-3150 cm^{-1} (ver la tabla 3-8).

La resonancia magnética nuclear de protones muestra las señales de los hidrógenos quinoides entre 6 y 7 ppm en las benzoquinonas pero a campo más bajo para las nafto- y antraquinonas siempre que no se encuentren apantallados por grupos OH u OMe en orto. Los protones de los OH en posiciones peri, gracias a la formación de puentes de hidrógeno, resuenan a campo bastante bajo (12 a 13 ppm) que los hace fácilmente reconocibles. La resonancia de ^{13}C ha tenido gran aplicación, particularmente en estudios biosintéticos de estas moléculas. La polarización del enlace π del grupo carbonilo debido a

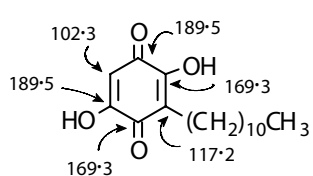
Compuestos Aromáticos

Tabla 3-8. Frecuencias de C=O, OH y C=C (en cm⁻¹) para antraquinonas hidroxiladas

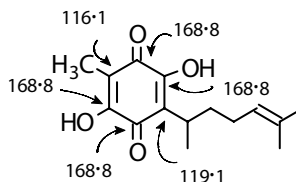
Sustituyentes	C=O	OH	C=C
no OH en 1,4,5,8	1678-1653	3600-3150	
OH en 1	1675-1647 y 1637-1621	2700	
OH en 1,4 ó 1,5	1645-1608	2700	>1575
OH en 1,8	1678-1661 y 1626-1616	2700	<1575
OH en 1,4,5	1616-1592	2700	(*)
OH en 1,4,5,8	1592-1572	2700	(*)

(*) No se diferencia de la absorción del C=O.

la conjugación y la formación de puentes de hidrógeno, tienen efectos opuestos sobre el desplazamiento químico del C=O. En la 1-hidroxiantraquinona se corre unos 5 ppm más bajo que en la antraquinona (debido al puente de hidrógeno), mientras que un OH en C-2 no afecta el carbonilo en la posición 9 pero apantalla en casi 1 ppm al de C-10 como resultado de la conjugación. Las metilaciones de los OH anulan los efectos mencionados. Los grupos carbonilo aparecen a 183 ppm para las estructuras sin OH conjugados, o quelatados, pero pueden desplazarse a 190 ppm en 1,8-dihidroxiantraquinonas. Esta observación se reproduce en naftoquinonas. Por su parte en las hidroxibenzoquinonas ambos efectos se suman y la frecuencia de resonancia puede llegar hasta 168 ppm, tal es el caso de embelina y 5-hidroxiperezona, para las cuales la conjugación implica equivalencia en los carbonos, por lo que los espectros se simplifican.

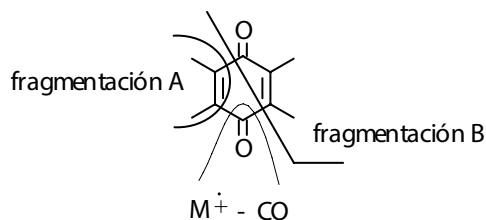


Embelina



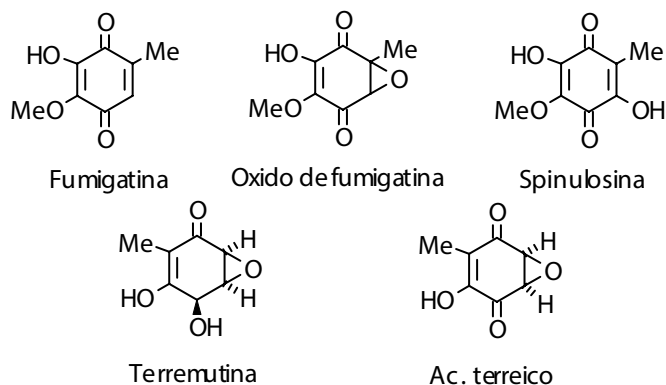
5-Hidroxiperezona

En el espectro de masas la fragmentación típica es la pérdida de monóxido de carbono además de la rotura del anillo quinoide según se indica, con eliminación preferente (fragmentación A ó B) del segmento olefínico más sustituido.



3.8.2. Benzoquinonas

Las benzoquinonas se encuentran más frecuentemente en hongos que en plantas superiores; algunas se han aislado de insectos, por ejemplo la benzoquinona misma se encuentran en *Spirostreptus castaneus* y *Diploptera punctata*. Generalmente muestran colores amarillo y naranja. Entre las provenientes del ácido acético hay compuestos sencillos de bajo peso molecular y el grupo quinoide puede estar parcialmente epoxidado, tal es el caso de fumigatina, óxido de fumigatina y spinulosina aislado en los cultivos de *Aspergillus fumigatus* y *terremutinina* y ácido terreico de *A. terreus*.



Varias benzoquinonas presentes en vegetales superiores, que se originan a partir del ácido shikímico, poseen una cadena alquílica lineal o ramificada. Entre las primeras se encuentran mesoquinonas y embelina, así como

Compuestos Aromáticos

con fenómenos respiratorios y acción antihelmíntica, respectivamente. Entre las segundas con cadena prenilada, están las ubiquinonas o coenzima Q, pigmentos amarillos que se encuentran en las mitocondrias y que actúan en la transferencia de electrones en procesos biológicos redox, las análogas plastoquinonas, presentes en los cloroplastos, y el pigmento de hongos: bovoquinonas. A veces presentan sustituyentes aromáticos como la muscarufina, un pigmento rojo del hongo *Amanita muscaria*. También existen ejemplos de formación del núcleo de quinona a partir del ácido mevalónico: helicobasidina, aislada del hongo *Helicobasidium mompa*. En la tabla 3-9 se incluyen algunas benzoquinonas preniladas.

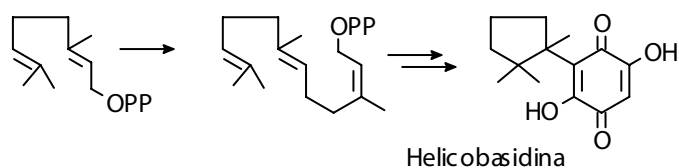
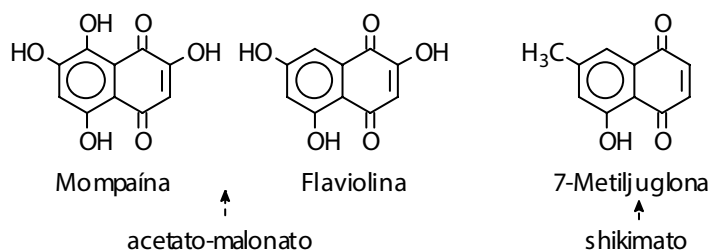


Tabla 3-9. Benzoquinonas preniladas

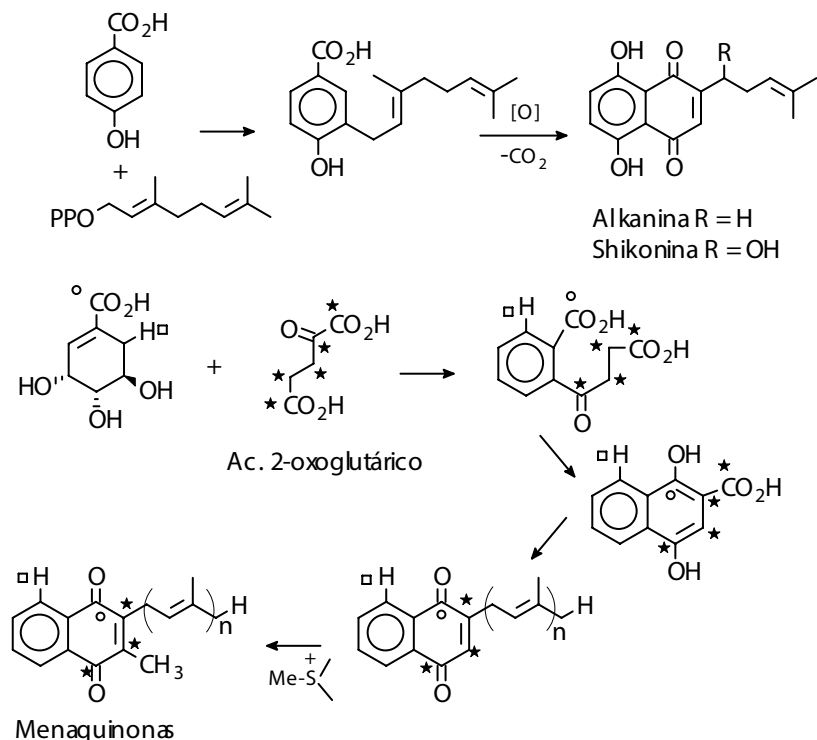
R_1	R_2	R_3	R_4		Nombre
	Me	OMe	OMe		Coenzima Q
$(CH_2)_{13}CH=CH(CH_2)_3CH_3$	OH	Me	OH		Mesaquinona
	OH	H	OH		Bovoquinona
	H	Me	Me		Plastoquinona
	OH	Me	OH		Helicobasidina
$CH=CHCH=CHCO_2H$		OH			Muscarufina

3.8.3. Naftoquinonas

Se encuentran tanto en plantas superiores como en microorganismos y conforman las moléculas de ciertos pigmentos animales. Para algunas naftoquinonas provenientes de los microorganismos se ha comprobado su origen acetato-malonato (mompaina, flaviolina), mientras que en los vegetales superiores se forman a partir de ácido shikímico (7-metiljuglona).



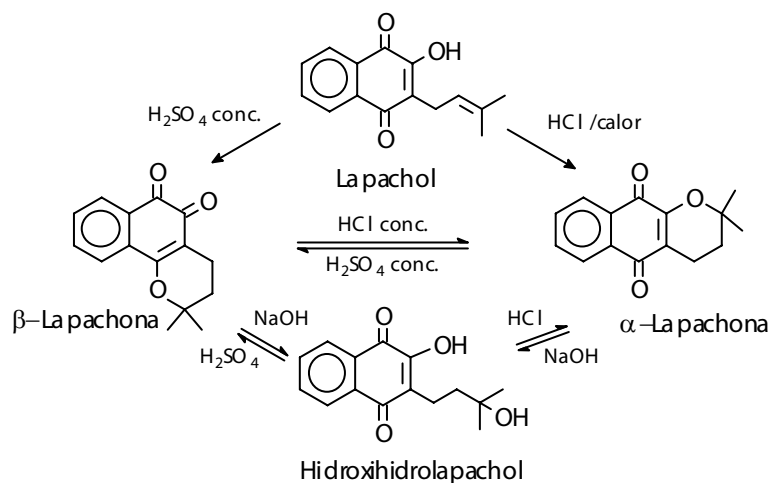
Las naftoquinonas con unidades preniladas pueden generarse su anillo quinoida a partir de una porción de prenilo directamente unido al precursor,



Compuestos Aromáticos

ácido p-hidroxibenzoico, como en el caso de alkanina. También se origina a expensas del ácido 2-oxoglutarico (metabolito formado en el ciclo del ácido cítrico) que se incorpora en menaquinonas de acuerdo a la secuencia indicada según se detectó por experimentos con marcaje isotópico. Esto parece ser el caso de las menaquinonas biosintetizadas por bacterias, compuestos análogos a la vitamina K, cuya función está relacionada al transporte de electrones. La formación de shikonina, (2'-hidroxi-alkanina) y sus derivados han sido estudiada en *Lithospermum erythrorhizon* (Boragináceas), planta en cuyas raíces se localizan tales pigmentos y los autores proponen la geranilhidroquinona como precursor*.

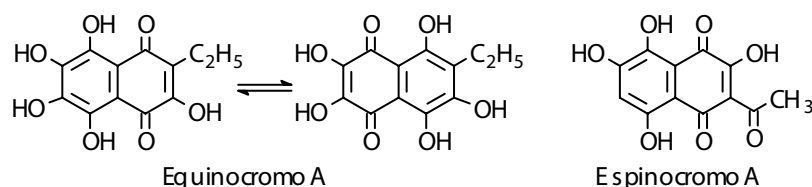
En este grupo se encuentra el lapachol, pigmento amarillo de *Tecoma sp.*, (Bignoniáceas), su derivado saturado en el doble enlace de la cadena lateral: dihidrolapachol tiene actividad antimalárica. Varias reacciones que involucran el doble enlace de la cadena lateral producen nuevos ciclos como en las estructuras indicadas las cuales están en equilibrio.



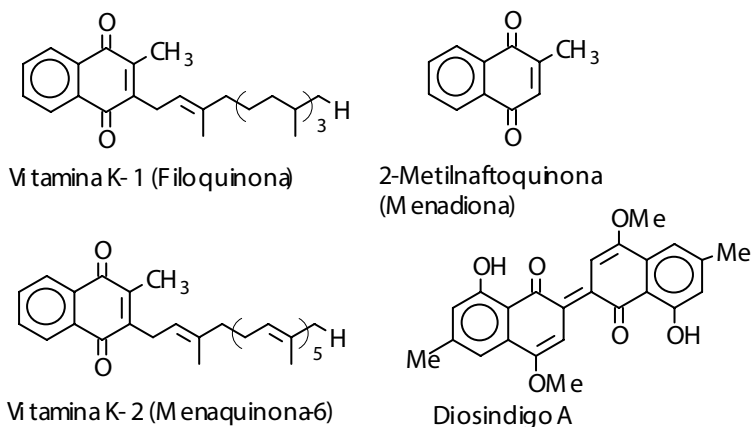
*V.P. Bulgakov, M.M. Kozyrenko, S.A. Fedoreyev, N.P. Mischenko, V.A. Denisenko, L.V. Zvereva, T.V. Pokushalova y Yu.N. Zhuravlev, "Shikonin production by p-fluorophenylalanine resistant cells of *Lithospermum erythrorhizon*" *Fitoterapia*, 72, 394. 2001.

Fitoquímica Orgánica

Los pigmentos de los erizos de mar *Echinotrix diadema* y *E. calamaris*, pertenecen a estas sustancias. Son altamente oxigenados y pueden tener carbonos adicionales: grupos metilo, etilo, propilo, hexilo, que pueden además ser oxigenados. Se conocen como espinocromos los pigmentos que se encuentran en las espinas y como equinocromos si se aíslan de la parte carnosa del erizo; están asociada la función respiratoria.



Entre las naftoquinonas más importantes se destacan las vitaminas K, factor coagulante (factor K) descubierto por Dam en 1929. Las dos conocidas: K-1 y K-2 se diferencian en la saturación de la cadena prenilica. La primera (líquido amarillo pálido, $pf -2^\circ$) se aisló de la alfalfa (*Medicago sativa*) y también se encuentra en repollos y espinacas, y la segunda (sólido amarillo, $pf 52^\circ$) se halla en el pescado en estado de putrefacción y es probablemente sintetizada por los microorganismos presentes (por ejemplo *Escherichia coli*). En los tratamientos clínicos se emplea un compuesto sintético: 2-metilnaftoquinona (menadiona), dos veces más efectivo que la vitamina K-2. El grupo metilo es primordial para la acción coagulante.

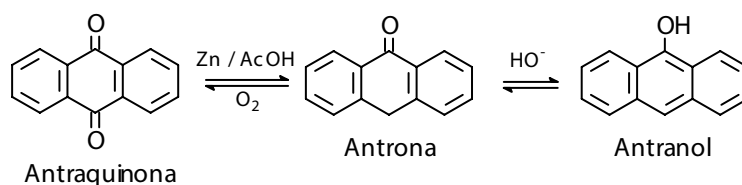


Algunas bis-naftoquinona (e.g. diosindigo A) se han aislado de *Diospyros villosiuscula*, planta utilizada en Nueva Guinea para el tratamiento de múltiples afecciones: fiebre, gonoreya, lepra, dolores menstruales etc*. A diferencia de las naftoquinonas sencillas (e.g. lapachol, vit. K-2, y otros) las bis-naftoquinonas no son molusquicidas. Las primeras son estructuras potenciales para el control de *Schistosoma* sp., transmisores de la bilharzia.

3.8.4. Antraquinonas

Las antraquinonas se localizan principalmente en vegetales superiores, hay ejemplos de compuestos provenientes de insectos y de microorganismos. También se aislaron derivados reducidos de antraquinonas como antronas y sus enoles respectivos: antranols. El ácido acético es aceptado como su precursor biogénico casi exclusivo.

Son generalmente hidroxiladas y las hidroxiantraquinonas dan coloraciones específicas con álcali o acetato de magnesio en etanol (rojo), y fluorescen en ácido acético glacial; las antronas se acoplan con p-nitrosodimetilanilina al 0.1 % en piridina y producen colores verdes, azules, violetas, etc., dependiendo del patrón de hidroxilación. Esta reacción es típica de las antronas. La antrona misma se usa para la cuantificación colorimétrica de carbohidratos.

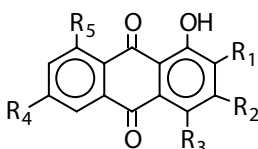
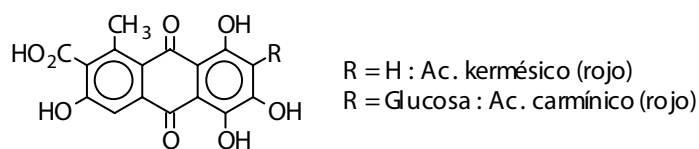


Varias hidroxiantraquinonas tienen efecto laxante, entre ellas: crisofanol, emodina, islandicina, rheína y aloe-emodina. Este último se encuentra como glicósido en la zábila. Muchas antraquinonas se presentan como C- y O-glicósidos, especialmente en plantas del género *Rubia* (Rubiáceas), las cuales

*a) M.R. Khan y D. T. J. "Constituents of the root and stem barks of *Diospyros villosiuscula*", *Fitoterapia*, 70, 209, 1999.

b) A. Marston y K. Hostetmann, "Plant molluscicides", *Phytochemistry* 24, 639, 1985.

se han utilizado para teñir tejidos de algodón en combinación con sales metálicas (de aluminio dan coloraciones rojas, de hierro, negras y de cromo, violeta-marrón). Las antraquinonas altamente oxigenadas se encuentran en los insectos. Dos ejemplos clásicos son el ácido carmínico y el ácido kermésico, provenientes de *Dactylopius coccus* y *Kermococcus ilicis*, respectivamente y son utilizados comercialmente en preparaciones cosméticas y en la industria alimentaria y textil.



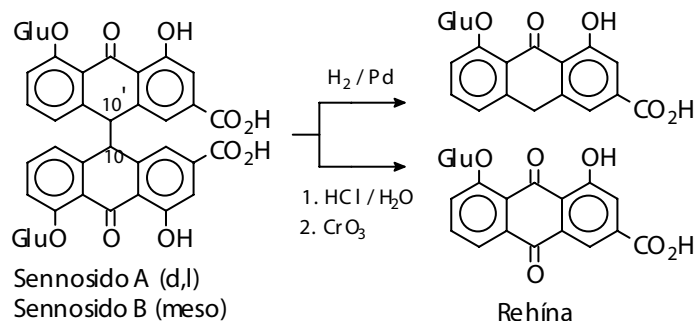
R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	Nombre
H	Me	H	H	OH	Crisofanol
H	Me	H	OH	OH	Emodina
H	CH ₂ OH	H	H	OH	Aloe-emodina
H	CO ₂ H	H	H	OH	Rheína
H	Me	OH	H	OH	Islandicina (amarillo)
H	OH	OH	H	H	Purpurina (rojo)
Me	OH	H	H	H	Rubiadina (amarillo)
CO ₂ H	OH	H	H	H	Munjistina (amarillo)

3.8.5. Bis-antraquinonas

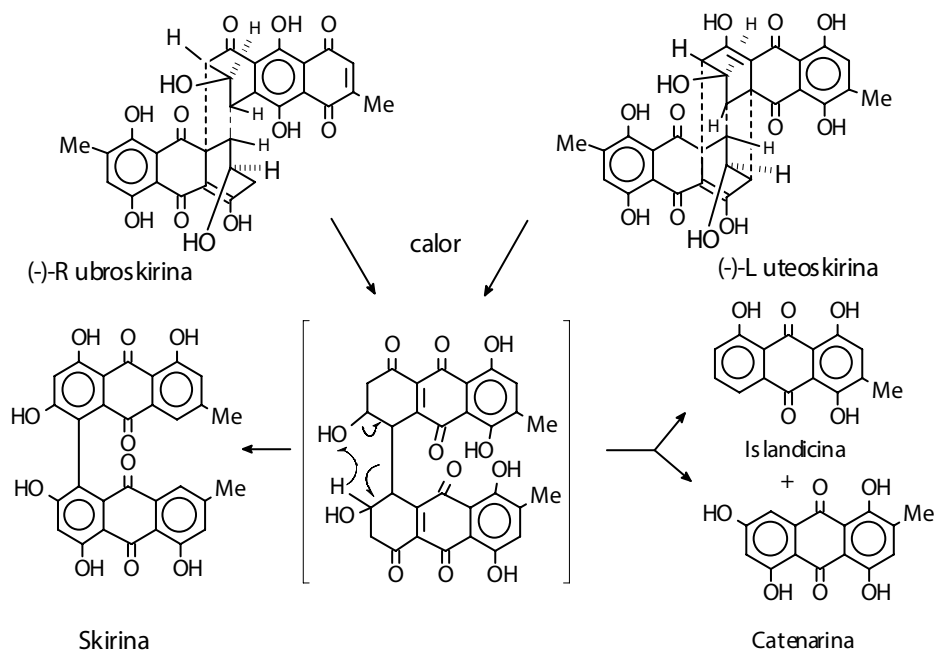
Las fuentes más abundantes para los dímeros de las antraquinonas son los hongos del género *Penicillium*, algunos ejemplos se encuentran en líquenes, pero son poco frecuentes en los vegetales superiores. Como ejemplo de los últimos se tienen los sennósidos A y B (estereoisómeros en C-10 y C-10') que son los principios laxantes de las hojas de senna (*Cassia angustifolia*, Leguminosas). La hidrogenación catalítica produce dos moléculas con el esque-

Compuestos Aromáticos

leto de antrona, mientras que el tratamiento con ácido y oxidación produce dos moléculas de rheína. Estas representan reacciones típicas para identificar los monómeros que conforman las bis-antraquinonas.

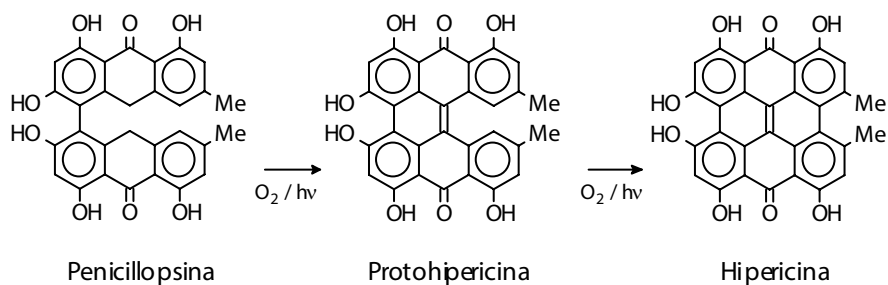


La mayoría de las bis-antraquinonas producidas por hongos presentan la unión en los anillos externos (unión 5-5') y contienen casi todas las combinaciones posibles de los monómeros.

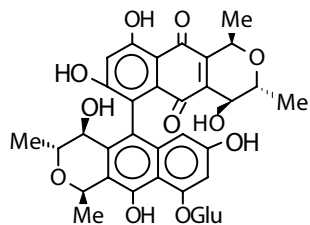


Algunos dímeros presentan rotación restringida en el enlace que une las dos unidades, véase por ejemplo rubroskirina. Esto es interpretado como la formación de estructuras dobles triplemente enlazadas en 5-5', 7-10a' y 7'-10a; lo implica la pérdida de la aromaticidad de los anillos C. La deshidratación suave produce bis-antraquinonas en un solo enlace entre las unidades monoméricas, mientras que la pirólisis las degrada hasta los monómeros correspondientes. Estos compuestos han sido clasificados como "micotoxinas" pues son los causantes de los daños en el arroz infectado con el hongo *Penicillium islandicum*, que las produce.

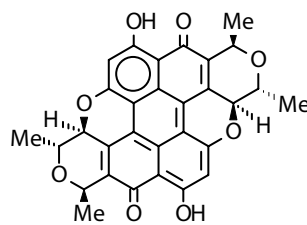
Entre la bis-antraquinona hay un grupo conocido como "quinonas extendidas" que se refieren a estructuras altamente condensadas y se forman por acoplamiento oxidativo C-C o C-O, catalizado por la luz, los ácidos o las bases. Hipericina, un pigmento rojo oscuro pertenece a esta clase de compuestos y se forma por oxidación de la penicillopsina (un pigmento amarillo-naranja aislado de *Penicillium clavariaeformis*) pasando por el menos condensado: protohipericina. Tanto la hipericina como la protohipericina también se encuentran en plantas superiores del género *Hypericum* y el ganado que ingiere estas plantas y se expone a la luz, sufre una fuerte irritación cutánea llamada hipericismo. Esto se debe a que estas quinonas actúan como fotosensibilizadoras a la luz UV.



Análogas a éstas, hay un grupo de sustancias conocidas con el nombre genérico de afinas, compuestos fluorescentes que se presentan en la hemolinfa de los áfidos, bien como sustancias originales o que se forman durante la extracción y separación. A algunas están presentes en el insecto vivo mientras que otras se generan por acción enzimática, a la muerte de éste, como en el caso de la eritroafina-fb.



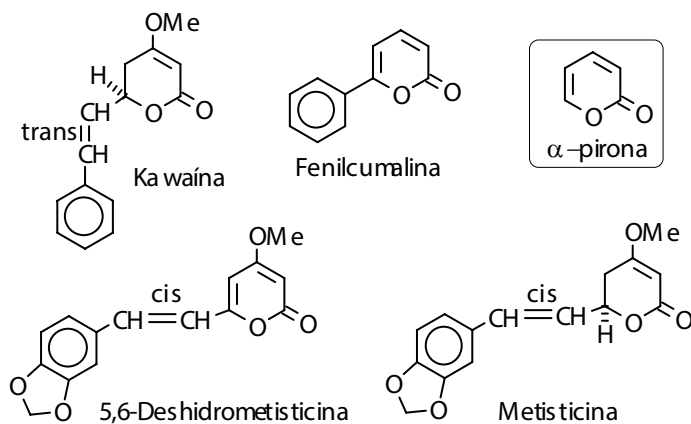
Protoafina-fb (< *Aphis fabae*>)



Eritroafina-fb

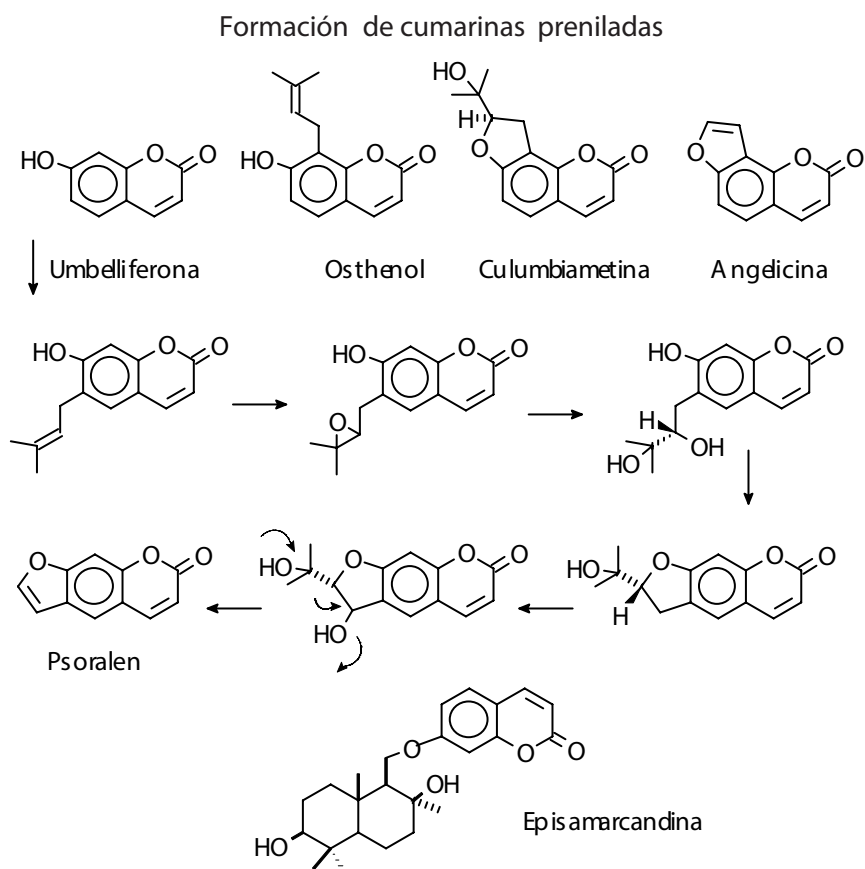
3.9. α -Pironas

La esterificación de enoles de un policétido produce lactonas insaturadas conocidas como α -pironas. Este núcleo forma parte de varias estructuras aromáticas y alifáticas. Entre las últimas recordemos los glicósidos cardiotónicos del grupo de los bufadienólidos. El anillo heterocíclico puede estar conjugado con sistemas aromáticos como en fenilcumalina y paracotoína, componentes de la corteza de Aniba coto o como yangonina, kawaína, 5,6-dihidrometisticina y metisticina, que están presentes en las raíces de Kawa: *Piper methysticum* que se usa masticada como anestésico local y preparada en bebidas para la ceremonia del Kawa, en la Polinesia.



3.10. Cumarinas

Las α -pironas que se generan por la lactonización del ácido o-cumárico se conocen como cumarinas y están ampliamente distribuidas en el reino vegetal. La estructura más sencilla, la cumarina misma, es utilizada como aromatizante en confitería.



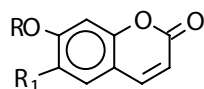
Las cumarinas se encuentran en su mayoría oxigenadas en C-7 (por ejemplo umbelliferona, muy frecuente en las plantas de la familia Umbellíferas), presentan a menudo, una o varias unidades de isopreno en posiciones orto al oxígeno fenólico. Ello puede a su vez formar, por degradación de la cadena,

Compuestos Aromáticos

furocumarinas lineales o angulares, como por ejemplo psoralen (un potente antiasmático, que se encuentra en las plantas de ruda, *Ruta graveolens*) y angelicina, respectivamente. Algunas furanocumarinas preniladas en C-5 y C-8 se han aislado como metabolitos minoritarios de las semillas de *Murraya koenigii*, usadas en la medicina tradicional de Nigeria entre otras cosas, como tónicos estomacales y para curar la mordedura de animales venenosos (probablemente debido a su contenido de alcaloides). Se conocen ejemplos (epi-samarandina, aislada de especies del género *Ferula*, Apiáceas) donde las unidades prenilo están representadas en un sesquiterpeno*.

Nota: Los psoralenos, estructuras con el esqueleto de psoralen, se coordinan con el ADN y actúan como fotosensibilizadores de ácidos nucleicos y sus bases nitrogenadas.

Su bioformación se ha seguido en varias especies de los géneros *Angelica*, *Ruta* y *Heracleum*. Las cumarinas con la cadena prenilo no degradada se ejemplifican con la suberosina, umbelliprenina, aurapteno, xantiletina y alloxantiletina. Con el núcleo de cumarina se presenta el antibiótico de baja toxicidad y efecto prolongado: novobiocina (aislado de *Streptomyces niveus*).

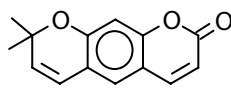


R, R₁=H: Umbelliferona

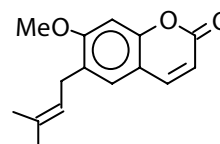
R=H, R₁=OH: Esculetina

R=geranilo, R₁=H: Aurapteno

R=farnesilo, R₁=H: Umbelliprenina



Xantiletina

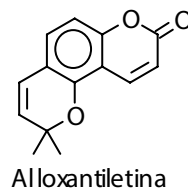
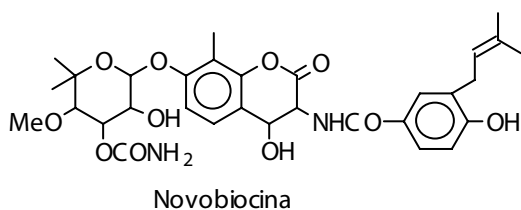


Suberosina

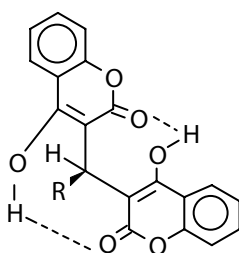
Son compuestos altamente fluorescentes bajo luz UV y aún en la región del visible, particularmente cuando se rocían con ácido sulfúrico. La lactona absorben en el IR a 1715-1740 junto con la banda del doble enlace conjugado con el anillo aromático a 1620-1640 cm⁻¹. Los protones olefínicos H-3 y H-4 muestran un par de dobletes característicos en RMN de ¹H a 6.0-6.5 y 7.8-8.1 ppm, respectivamente, y los carbonos correspondientes resonan a 116 y 145 ppm, mientras que el carbonilo lo hace a 161 ppm.

*a) A. C. Adebajo y J. Reisch, "Minor furanocumarins of *Murraya koenigii*", *Fitoterapia*, 71, 334, 2000.

b) M.I. Nassar, T.K. Mohamed, "A new sesquiterpenecoumarin from *Ferula assa-foetida*". *Fitoterapia*, 69, 41, 1998.

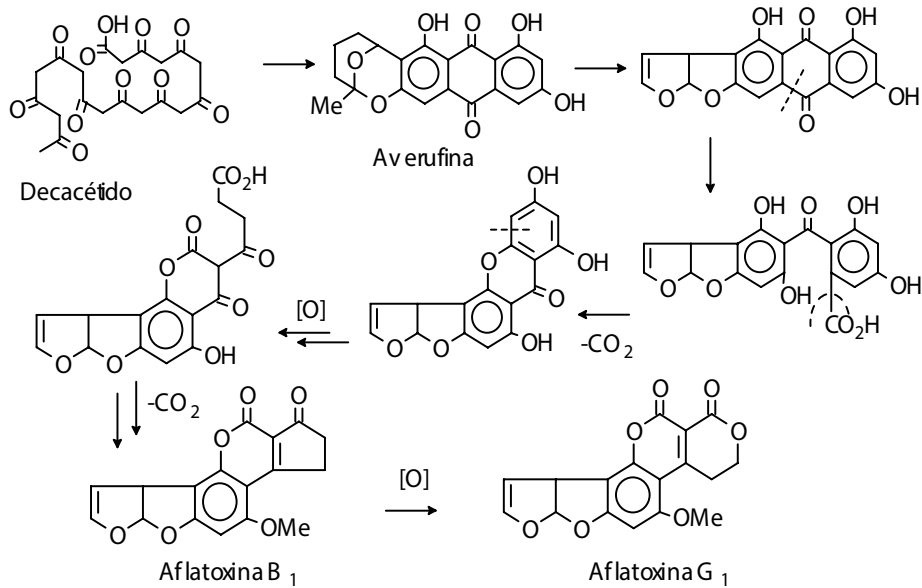


Entre los compuestos diméricos se encuentra el dicumarol, que se produce durante la fermentación de tréboles en el pasto y causa graves daños por su propiedad anticoagulante al ganado que ingiere pasto fermentado. Es utilizado comercialmente en venenos para ratas. El dicumarol antagoniza la producción de protrombina y otras proteínas necesarias para la coagulación de la sangre. El dicumarol y sus derivados sintéticos con sustituyentes en el carbono metilénico presentan rotación restringida alrededor del enlace que une los anillos, gracias a la formación de un doble puente de hidrógeno como se ilustra en la figura.

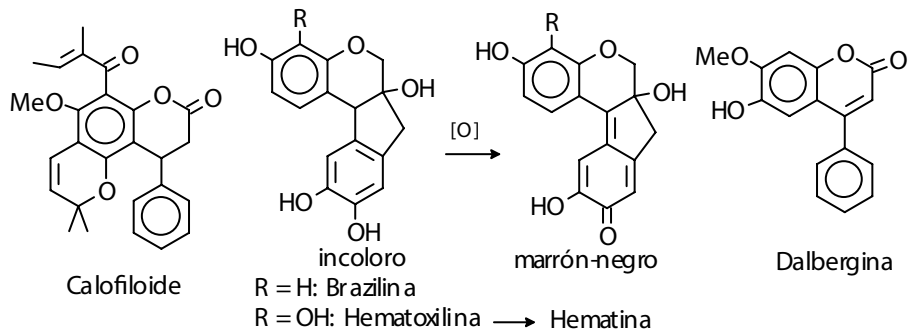


R = H: Dicumarol

Un grupo de sustancias estructuralmente relacionadas a las cumarinas, aunque no su génesis, son las aflatoxinas: micotoxinas sintetizadas por *Aspergillus versicolor* y *A. flavum*, que, conjuntamente con ácido lisérgico y botulina (un péptido biosintetizado por *Clostridium botulinum*), han causado más estragos en animales y humanos. Las primeras aflatoxinas que se aislaron se denominaron B y G (refiriéndose a su color: Blue y Green), se conocieron a las 8 pero la más activa es la B₁. Su biosíntesis, así como la de otras aflatoxinas se ha determinado por RMN de ¹³C y se propone como precursor de las aflatoxinas una antraquinona: averufina, la cual sufre las degradaciones que se indican resumidamente.



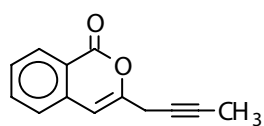
Otras estructuras relacionadas a las cumarinas son los neoflavonoides, cuyo esqueleto es un 4-arylcrmano (los flavonoides e isoflavonoides son derivados de 2- y 3-arylcrmanos, respectivamente). La primera estructura neoflavonoidea se determinó y corresponde a calofloide (de *Calophyllum inophyllum* Guttíferas) y la más frecuente es la dalbergina. La alquilación es común en este pequeño grupo de metabolitos secundarios. Se localizan en Guttíferas, Fabáceas, Rubiáceas, principalmente. A este grupo pertenecen brazilina y hematoxilina, de *Caesalpinia braziliensis* y *Haematoxylum campechianum* conocido como palo campeche ("logwood") del cual se obtiene el pigmento, marrón-negro, destinado a textiles y que está constituido por hematina, es decir, el producto de oxidación (por aire) de la hematoxilina.



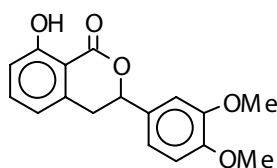
3.11. Isocumarinas

Se conocen pocos ejemplos de esta clase. Son estables en medio ácido pero con álcali se abre el anillo lactónico. Capillarina de *Artemisia capillaris* y fillodulcina un principio dulce aislado de hortensias (*Hydrangea serrata*) son ejemplos típicos. Entre este grupo de sustancias vale la pena mencionar oosponol, encontrado en el aire de las habitaciones de pacientes asmáticos. Las isocumarinas son los representantes típicos de los "pentacetidos". El núcleo de isocumarina también se encuentra en estructuras condensadas como el dímero aislado de especies del género *Paepalanthus*.

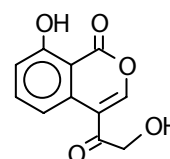
Iso cumarinas naturales



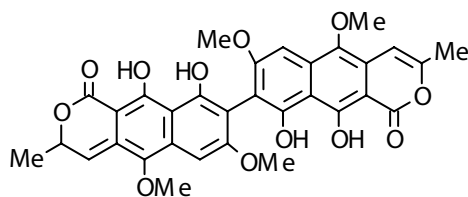
Capillarina



Fillodulcina



Oosponol

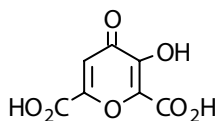


< *Paepalanthus* sp. >

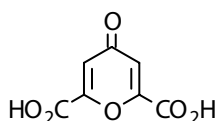
3.12. γ -Pironas

El anillo de γ -pirona está presente en el conjunto más abundante de los compuestos fenólicos: los flavonoides. Existe sin embargo, un grupo más reducido que comprende xantonas, cromanos, cromonas y γ -pironas sencillas. Entre estas últimas están el ácido mecónico y ácido chelidónico (aislados de opio y de *Chelidonium majus*) y el ácido kójico producido por *Aspergillus oryzae*.

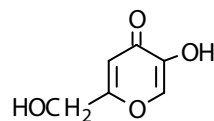
Compuestos Aromáticos



Ac. mecónico



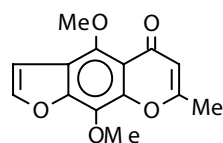
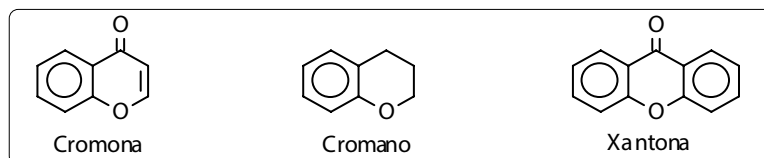
Ac. chelidónico



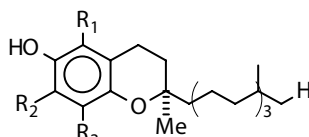
Ac. kójico

3.13. Cromanos y cromonas

Las cromonas con el núcleo de benzo- γ -pirona tienen un representante importante: khellin, que se encuentra en el fruto de la *Ammi visnaga*, planta utilizada en los países árabes por su propiedad vasodilatadora. Las cromonas presentan un máximo de absorción en UV muy intenso a 240-250 nm mientras que las cumarinas presentan un mínimo en esa región. Del grupo de los cromanos, con el núcleo de benzopirano, los tocoferoles tienen el mayor interés. Se conocen varios tocoferoles que difieren en el número de grupos metilo y la mezcla de éstos se denomina vitamina E, actúa como antioxidante natural y su carencia puede conducir a la esterilidad.



Khellin



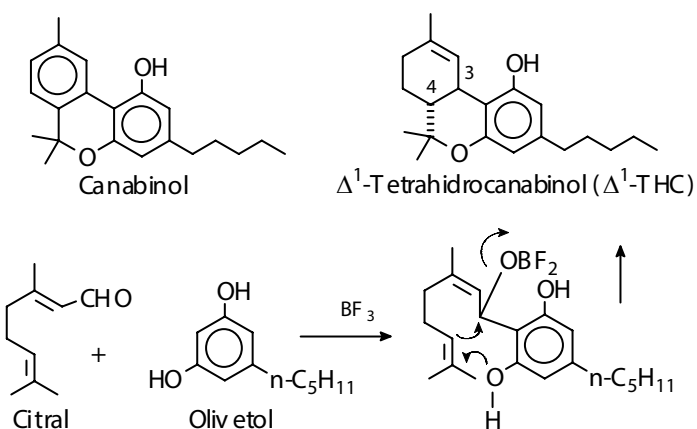
Tocopheroles

α : $R_1=R_2=R_3=Me$
 β : $R_1=R_3=Me, R_2=H$
 γ : $R_1=H, R_2=R_3=Me$
 δ : $R_1=R_2=H, R_3=Me$

3.13.1. Canabinoides

La resina producida por la flor hembra de *Cannabis sativa*, (cáñamo, cultivada desde hace mucho tiempo por la resistente fibra de su tallo) se ha usado como anestésico desde 1840, y más tarde como agente psicomimético, se le conoce como "hashish" o "marihuana". En ella están presentes varios

derivados del benzopirano, el Δ^1 -tetrahydrocannabinol (Δ^1 THC) es el más activo. La porción alifática tiene origen terpenoidal y la síntesis de estos compuestos aprovecha este hecho. El método clásico de síntesis utiliza olivetol y citral en una condensación catalizada con BF_3 . El Δ^1 -tetrahydrocannabinol natural presenta estereoquímica 3S,4R.



3.14. Xantonas

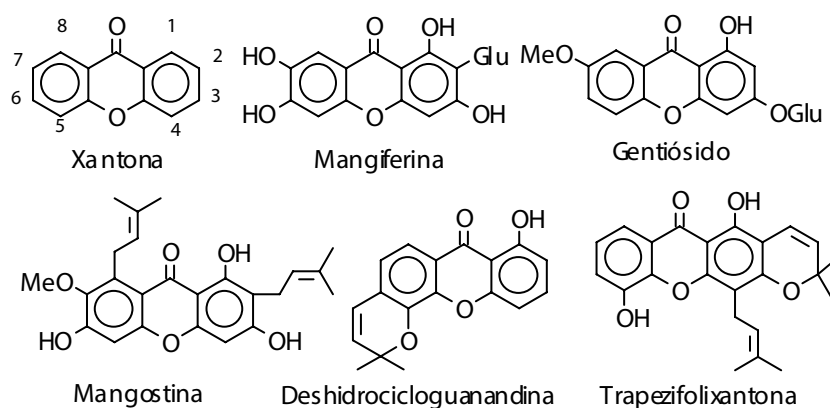
Son derivados de dibenzo- γ -pironas, generalmente se aíslan como cristales amarillos a partir de plantas superiores principalmente de las familias Gentianáceas, Guttíferas, Moráceas, y Poligaláceas, hecho que permite utilizar estos metabolitos como trazadores químicos en estudios taxonómicos. También se encuentran en microorganismos y líquenes. En 1960 sólo se habían aislado unas 12 xantonas de plantas superiores y 4 provenientes de microorganismos, en 1983 ya se conocían 183 y el número ha aumentado considerablemente.

En estas moléculas son frecuentes las polioxigenaciones. A aquellas monoxigenadas poseen el sustituyente en C-1 y debemos mencionar que el esqueleto de xantonas en sustituyentes no se ha encontrado en la naturaleza. Este se sintetiza por condensación de ácido salicílico y fenol, catalizada con cloruro de cinc. Los sustituyentes varían: OH, OMe, dioximetileno y además, unidades de isopreno: geranilo, farnesilo y aún, poliprenilo, en cadenas abiertas o conformando estructuras cíclicas. Pueden presentarse como agliconas o como

Compuestos Aromáticos

C- y O-glicósidos. Estos últimos parecen tener mayor incidencia en Guttíferas y Gentianáceas.

Como ejemplo típico de C-glicósido está la mangiferina, aislada en 1908 del mango (*Mangifera indica*, Guttíferas), ampliamente distribuida, incluyendo en los helechos como ejemplo de O-glicósido se tiene el gentiósido, muy común en las Gentianáceas. Entre los azúcares de ambos tipos de glicósidos se han identificado: primaverosa, D-glucosa, D-galactosa, L-arabinosa, L-ramnosa, L-apiosa.

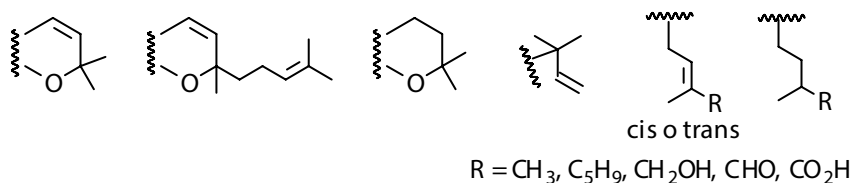


Para el aislamiento de los glicósidos se emplea el método clásico de extracción con solventes polares y cromatografía en poliamida y/o Sephadex, con mezclas de metanol-agua como eluyentes. La poliamida también se utiliza para placas preparativas de TLC, mientras que para las analíticas se prefiere sílica gel, como adsorbente. Las agliconas, muy polares así como los glicósidos, se resuelven bien en HPLC en fase reversa (R-N H₂-C-8 o C-16). De los métodos espectroscópicos el UV y la RMN son los más frecuentes. Para la espectrometría de masas es necesario preparar los sustratos per-metilados y aún así resulta difícil determinar el peso molecular.

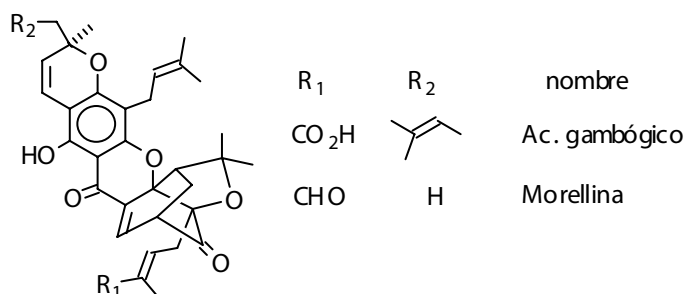
Una de las xantonas más conocidas es la mangostina y su análogo el ácido 2,8-di-isoprenil-1,3-dihidroxi-7-carboxílico que se aíslan de *Garcinia mangostana*^{*}, que presentan una cadena de isopreno en cada anillo aromático.

^{*}G. Golapakrishnan y B. Balaganesan "Two novel xanthenes from *Garcinia mangostana*". *Fitoterapia*, 71, 607, 2000.

y son de las estructuras preniladas más sencillas. La cadena de isopreno se encuentra con cierta frecuencia conformando éteres cíclicos con un oxígeno fenólico. Estas últimas estructuras se conocen como cromanoxantonas (o cromo-xantonas), tal es el caso de trapezifolixantonas y deshidrocicloguanandina. En el resto prenilo se pueden presentar varios patrones así como varios niveles de oxidación y varias unidades consecutivas y/o en diferentes posiciones de la molécula.

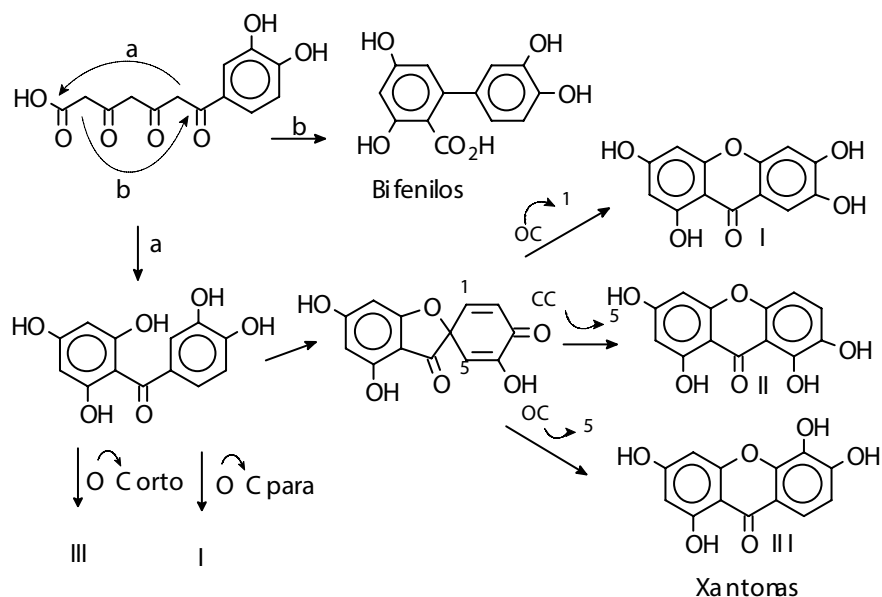


El núcleo de xantonas se encuentra en estructuras bastante complejas de las cuales el ácido gambógico es el representante clásico. Este fue aislado en 1809 pero sólo en 1963 se determinó su estructura correcta. Su análogo: morellina fue la primera estructura de xantonas bicíclicas a ser elucidada.

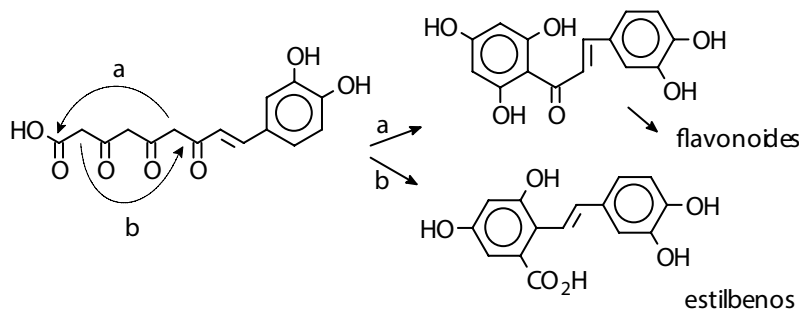


Las xantonas representan un caso biogénico interesante. Como ocurre con las benzoquinonas, hay dos rutas disponibles para la construcción biosintética del esqueleto. A aquellas producidas por microorganismos tienen su origen policétido mientras que las provenientes de plantas superiores se forman a través de shikimato-malonato. Es por ello que uno de los anillos aromáticos presenta el patrón de oxigenación del floriglucinol y el otro tiene usualmente oxigenaciones en posición orto, cuya posición depende de cuál de los enlaces migra en el reordenamiento del compuesto espiro intermedio.

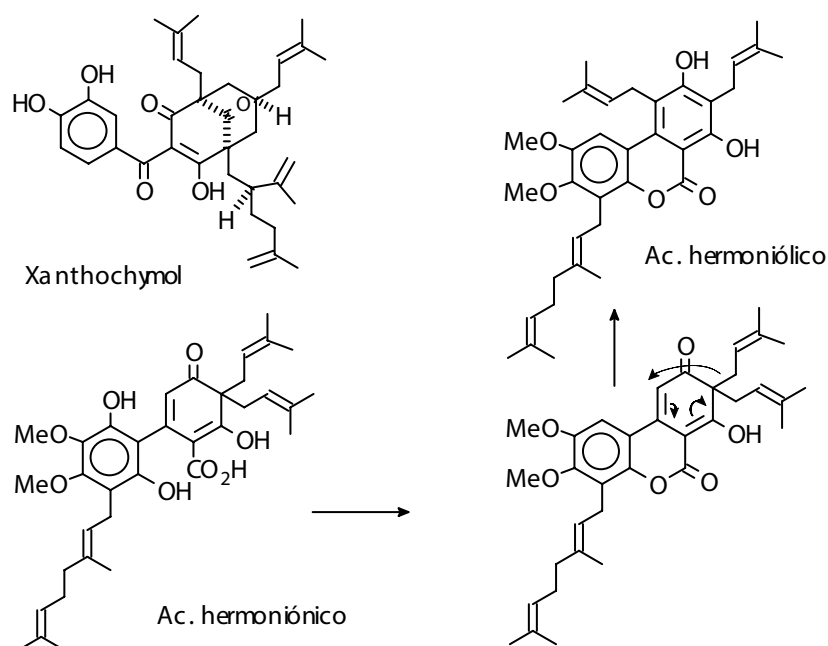
En las xantonas provenientes de vegetales superiores el anillo B y el carbonilo se forman a expensas del ácido shikímico mientras que la génesis del anillo A sigue la vía acetato-malonato. Como paso intermedio se forma una benzofenonahidroxilada que sufre una ciclación posterior.



Hay varias teorías para la transformación de benzofenonas en xantonas, desde aquellas que incluyen el acoplamiento oxidativo directo C-O a posiciones conjugadas con grupos OH, hasta la intervención de una espirociclodienona, a la cual se reordena por migración de los enlaces unidos al espiroátomo y ello origina diferentes patrones de oxigenación en el anillo B. La coexistencia de xantonas y bifenilos indica la posibilidad de una condensación aldólica competitiva del fragmento policétido del precursor común. Esto es análoga a la formación paralela de flavonoides y estilbenos.

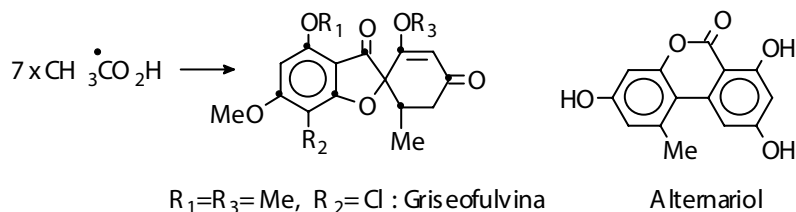


Como en las xantonas, las benzofenonas y los bifenílos, pueden presentarse sustituidos con cadenas de isopreno. Ejemplos de estas estructuras lo constituyen el xanthochymol (pigmento principal de los frutos de *Xanthochymus indica*) y los ácidos hermoniónico y hermoniólico (de *Garcinia hermonii*).



Como se mencionó arriba, algunas xantonas y sus congéneres, en especial los provenientes de los hongos y los líquenes, se originan de acetato-malonato, exclusivamente. Un heptacétido genera una antraquinona y ésta se transforma en xantona por rompimiento del anillo central. Sin embargo, a través de una manera alternativa de doblar la cadena del heptacétido, pueden formarse bifenílos (alternariol, ver sección 3.6) y espirodienonas (griseofulvinas). Las últimas son fungicidas orales de amplio uso, aislados de *Penicillium griseofulvum*, y su origen ha sido uno de los primeros en ser estudiado mediante marcaje isotópico por incubación de acetato marcado (2^3H , 2^{14}C) en cultivos de *Penicillium urticae*.

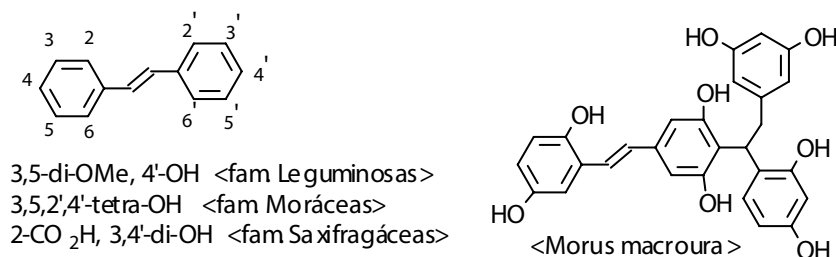
Compuestos Aromáticos



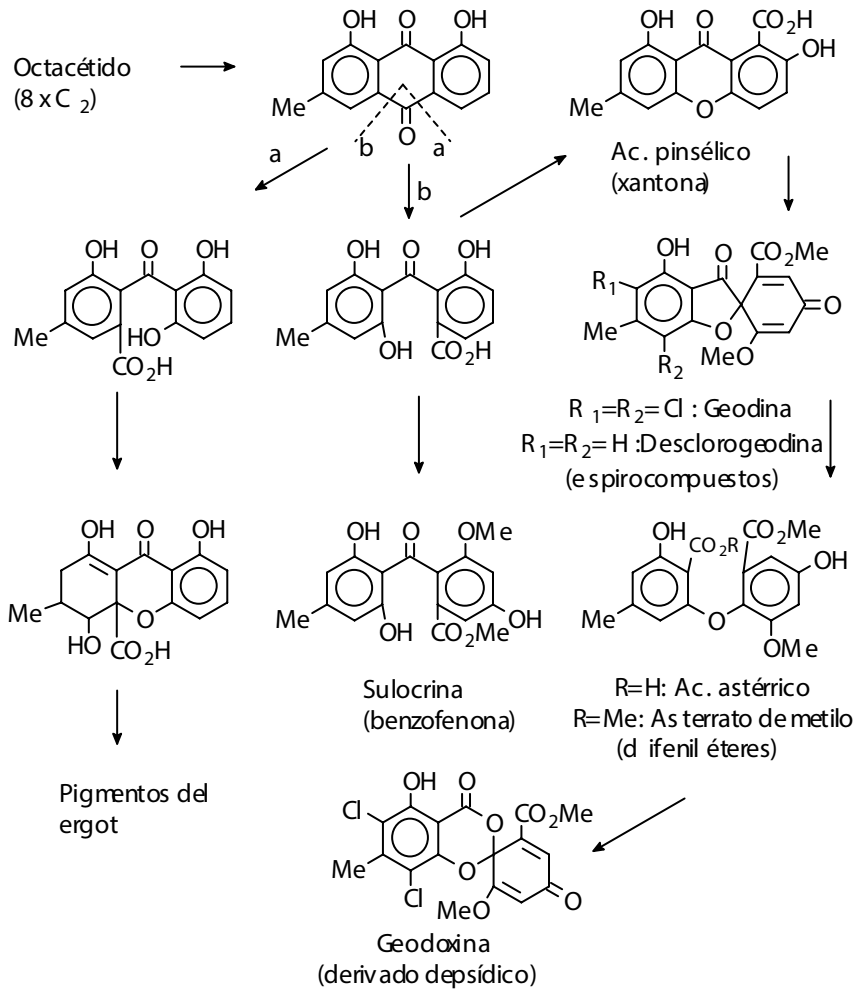
La cadena de un "octacétido" es también precursora de xantonas y congéneres generados por hongos como sulocrina, ácido pinsélico, geodina y los pigmentos del ergot (*Claviceps purpurea*): ergocromos, dímeros de xantonas que presentan un metilo y un grupo carboxilato en cada unidad. Se conocen 4 unidades monoméricas y la combinación de ellas origina los diferentes pigmentos. Cuadro 3-11.

3.15. Estilbenos

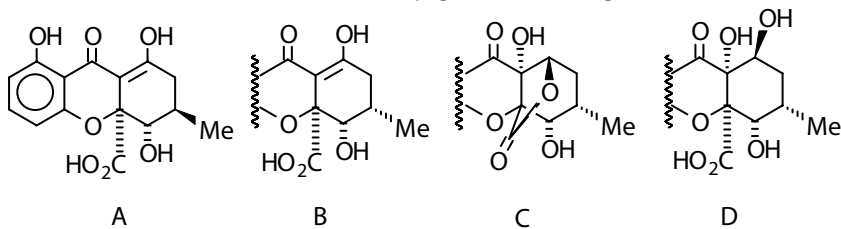
Aunque menos frecuentes que los flavonoides éstos también son ampliamente distribuidos y están presentes en varios géneros de las familias Liliáceas, Moráceas, Saxifragáceas, Leguminosas y Polygaláceas. El patrón de oxigenación depende de cómo se dobla el policétido. En general, la abundancia relativa para las distintas posiciones oxigenadas es característica de una familia particular, como se indica en la figura. Se encuentran también dímeros como los de *Morus macroura*, planta utilizada en la dieta del gusano de seda.



Cuadro 3-11. Octacétidos naturales.



Monómeros de los pigmentos del Ergot



3.16. Lignoides

Los lignoides son aril-propanoides (C_6-C_3)_n, n=1,2,3... oligoméricos, que se presentan en las plantas vasculares; éstas a su vez, poseen tejidos enriquecidos con lignina, macromoléculas donde pueden llegar a 5000 o más. La mayoría de los lignoides son dímeros que se forman por condensación oxidativa de dos moléculas de alcoholes cinámicos entre sí o con ácidos cinámicos y se conocen como lignanos, mientras que los neolignanos se forman por condensación de dos unidades de fenilalil-carbinol y propenilfenol. Por esta razón los carbonos de las cadenas laterales son oxigenados en los lignanos y no oxigenados en los neolignanos.

La condensación se ilustra para la formación de algunos lignanos, lo cual involucra el acoplamiento oxidativo de dos radicales fenilpropanoides y es necesaria la presencia de un OH libre en la posición para a la cadena, que permita establecer estructuras quinoideas. En algunos casos se encuentra acoplamiento con los oxígenos fenólicos. Algunas estructuras son totalmente aromáticas (juscianina) y también se encuentran glicósidos como arctina, un análogo de maitesinol*.

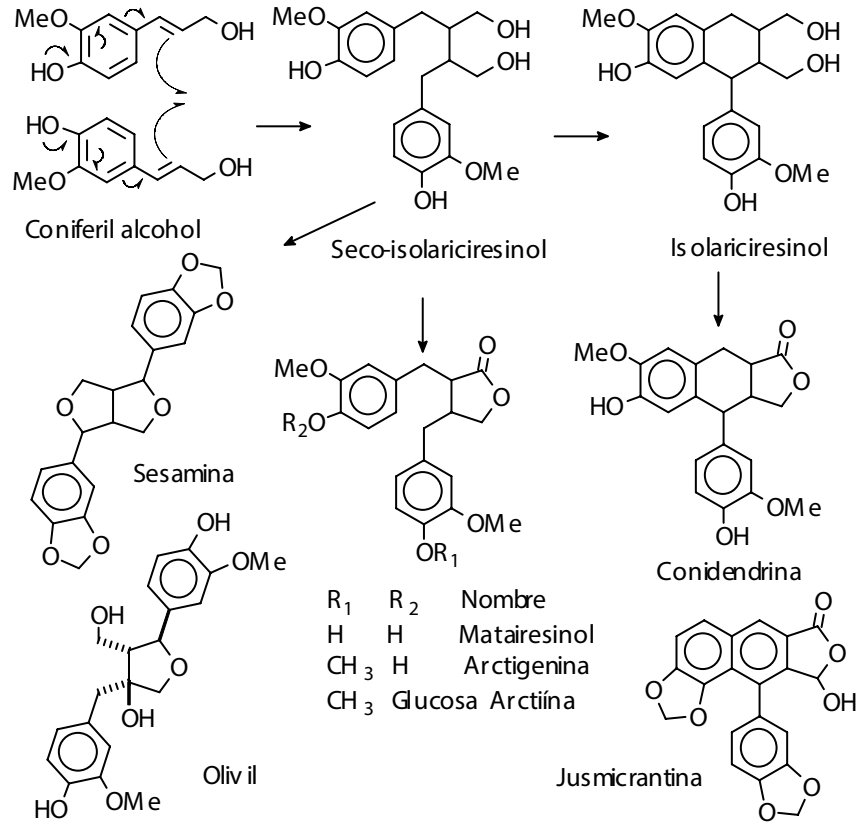
En la estructura de la lignina se pueden presentar todas las variantes de acoplamiento de los lignoides y su constitución depende de la ubicación botánica del vegetal.

Se han citado varias acciones farmacológicas para los lignoides, tal vez la más reconocida es la antineoplásica, como la del ácido nordihidroguaiarético (uno de los más potentes *in vitro*) o de derivados semisintéticos: vepésido, un glicósido análogo a podofilotoxina (que se aísla de varias especies del género *Podophyllum*, Berberidáceas, así como de géneros de otras familias) y es utilizado en el tratamiento del cáncer pulmonar y testicular: Se encuentran también sedantes (magnolol), citotóxicos (licarina-A), fungicidas (hordatina A y B), cercaricidas (surinamensina), psicotrópicos (esquizandrina), insecticidas (sesamina). En la práctica los lignoides actúan

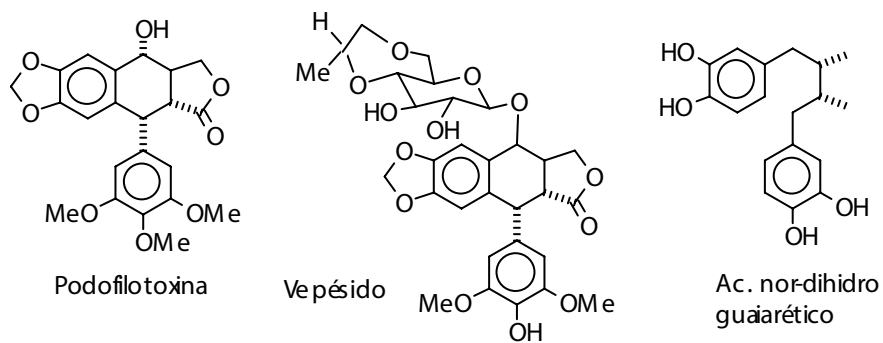
*a) D. Rajasekhar G. V. Subbaraju, "Juscianin, a new aryl naphthalid lignan from *Justicia neesii*". *Fitoterapia*, 71, 598, 2000.

b) R. Tundis, G. Statti, F. Menechino, F. Delle Monache, "Arctiin and onopordopicrin from *Carduus micropterus* ssp. *perspinosus*" *Fitoterapia*, 71, 600, 2000.

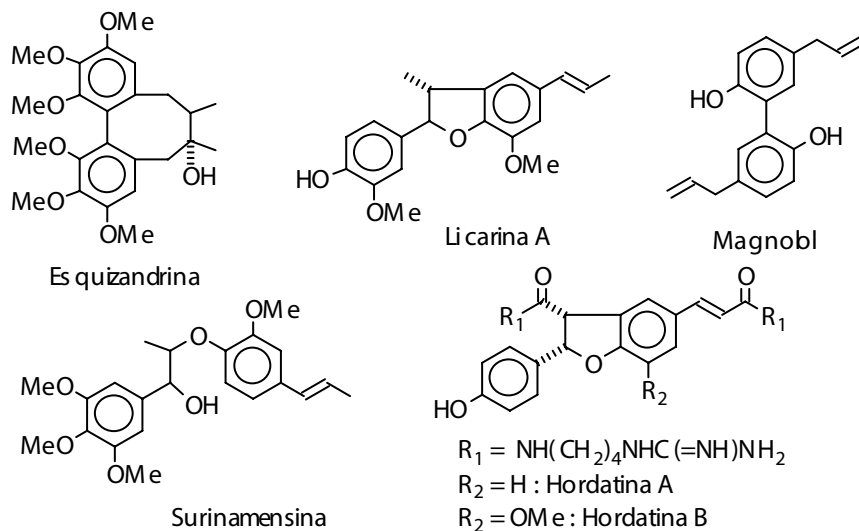
Fitoquímica Orgánica



como inductores de la resistencia de las plantas hacia los agentes patógenos y animales herbívoros.

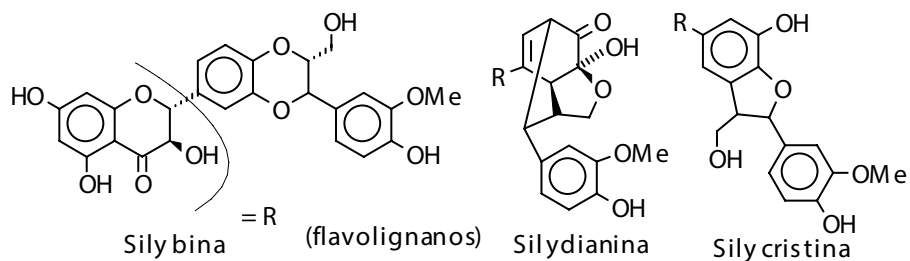


Compuestos Aromáticos

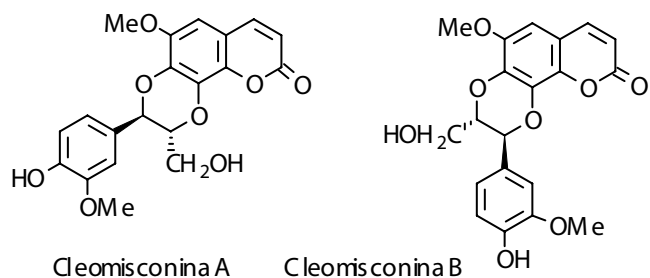


Dentro de esta clase hay ejemplos de compuestos conjugados con otros fenoles conocidos genéricamente como heterolignan. Tal es el caso de silymarina, un flavolignano (compuesto por flavonoide y lignoide) que es una mezcla de tres estructuras y se aísla de *Silybum marianum*, (cardo de leche). La silymarina antagoniza ciertos efectos hepatotóxicos y es el único tratamiento reconocido para vencer la intoxicación producida por el hongo *Amanita muscaria*; también se utiliza en el tratamiento de cirrosis y hepatitis.

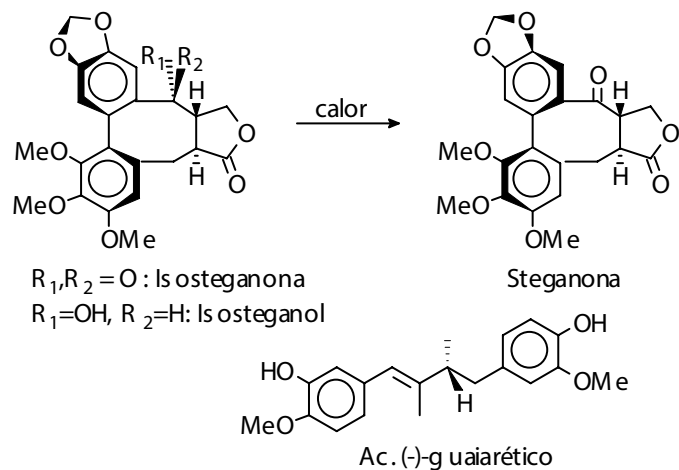
Constituyentes de Silymarina



Otros heterolignanossn las lignanocumarinas cleomisconinas A y B que se aislan de *Dodonaea viscosa**, empleada en medicina folklórica como analgésico, antiinflamatorio, espasmolítico e hipotensor



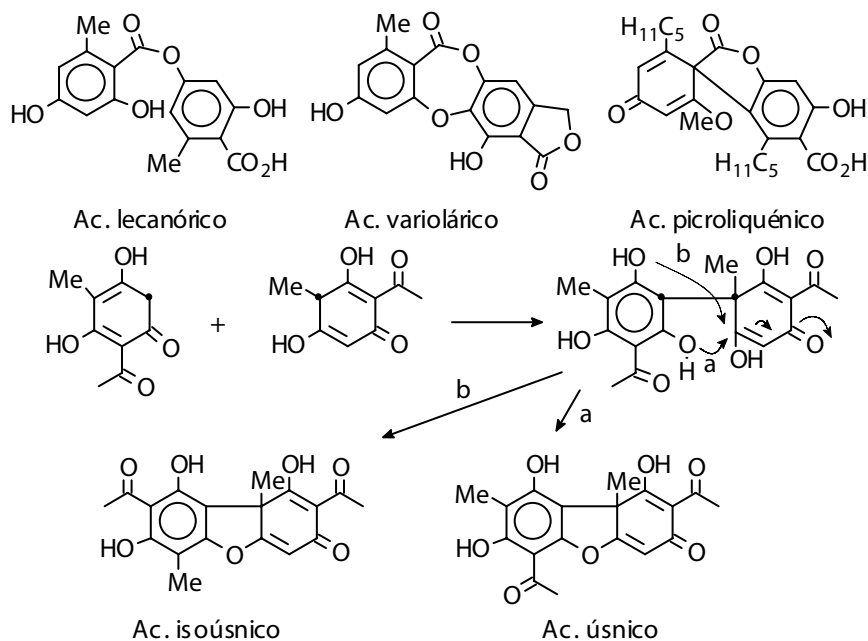
La presencia de carbonos saturados en la estructura de los lignoides implica centros quirales que pueden ser hasta 4 para los dímeros. El ácido (-)-guaiarético cuya configuración absoluta es conocida, sirve como compuesto de referencia. La cristalografía de rayos X ha jugado un papel importante en estos estudios; por ejemplo, para el isosteganol, un antileucémico potente, se determinó la configuración indicada en la figura. El anillo de ocho miembros está fusionado *trans* a la lactona y presenta cierta flexibilidad: su producto de oxidación la isosteganoná s omeriza a steganoná al calentarla. Este es un caso de isomerismo de bifenilos impedidos (atropisomerismo)



*E.L. Ghisalberti, "Ethnopharmacology and phytochemistry of *Dodonaea* species", *Fitoterapia*, 69, 99, 1998.

3.17. Dépsidos

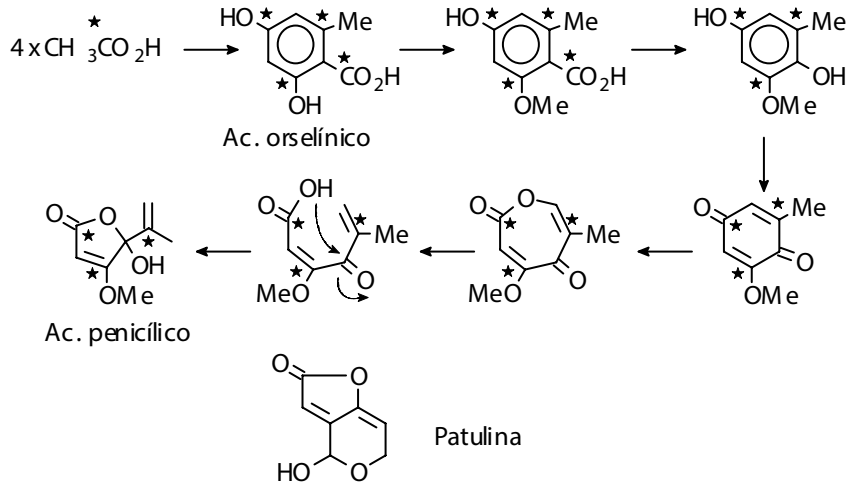
Los dépsidos son ésteres de policétidos aromáticos que pueden a su vez sufrir acoplamiento C-O (depsidonas) y C-C (depsonas). Las unidades pueden no ser iguales. Se aíslan principalmente de líquenes y pueden formar dímeros y trímeros. En este grupo se encuentran el ácido lecanórico (dépsido), el ácido variolárico (depsidona), el ácido picroliquéico (depsona) y el más ampliamente distribuido, el ácido úsnico (estrictamente no es un dépsido), utilizado en la industria cosmética como antiséptico. Se forma, junto con el ácido isoúsnico, por acoplamiento de dos moléculas de acetil-3-metilfloroglucinol



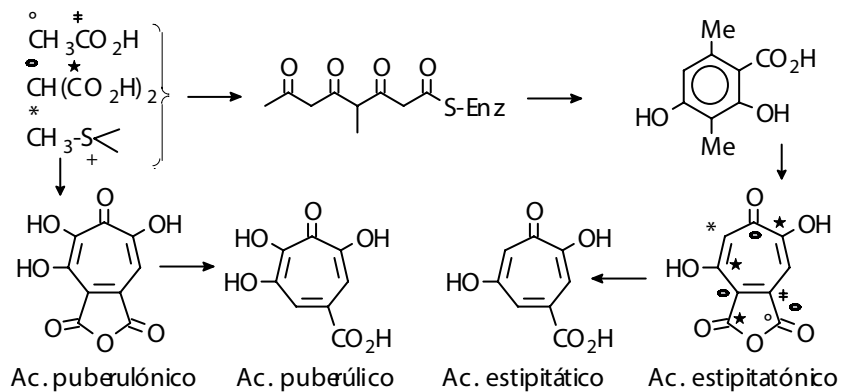
3.18. Otros policétidos aromáticos

Existe un grupo de compuestos formados por la rotura de un anillo aromático de origen policétido. Dos ejemplos clásicos lo constituyen el ácido penicílico y la patulina. El primero aislado en 1913 de *Penicillium puberulum*, se origina por fisión oxidativa del ácido orselínico. Su bioformación ha sido objeto de varios estudios y se ha logrado aislar el sistema enzimático oxidante. La fisión del anillo aromático es similar a la de otros sistemas, como por ejemplo los involucrados en la formación de solucrina, patulina, y aflatoxinas. Para

todos ellos se asumen oxidaciones del tipo Baeyer-Villiger sobre las estructuras quinoideas correspondientes.



Las tropolonas constituyen "sistemas aromáticos" en un anillo de siete miembros y se presentan como metabolitos de microorganismos (*Penicillium stipitatum* y *P. puberulum*). Su origen policétido fue comprobado mediante experimentos con marcaje isotópico. El precursor de los ácidos estipitático, estipitónico, puberúlico y puberulónico es un tetracétido. El carbono adicional proviene de metionina. El anillo de siete miembros se genera por rotura del anillo aromático metilado ya formado. Un sistema anular análogo también está presente en el alcaloide colchicina, pero su bioformación es enteramente diferente a la de las tropolonas. En la figura se ilustra la secuencia sugerida para la biosíntesis de estos compuestos.



CAPÍTULO 4

TERPENOS

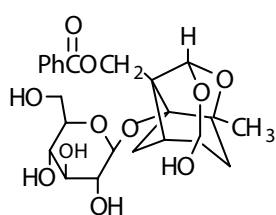
4.1. Introducción

La gran diversidad estructural de los terpenos dificulta el resumen de las características comunes de estos compuestos, pues no solamente se trata de la variedad en los grupos funcionales, sino además del número de átomos de carbono que conforman los esqueletos. Entre los primeros, los oxigenados ocupan un lugar prioritario (alcoholes, ésteres, éteres, ácidos carboxílicos, aldehídos, cetonas, cetales, etc.) y le siguen funciones con azufre, halógenos (principalmente encontrados en compuestos de origen marino) y nitrógeno, e cuyo caso la molécula se la clasifica como alcaloide. Los terpenos están ampliamente distribuidos en el reino vegetal y su frecuencia y abundancia están íntimamente ligados a factores genéticos y climáticos.

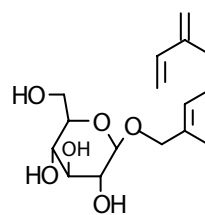
Con pocas excepciones no hay estudios individuales sistemáticos para terpenos de plantas superiores, excluyendo las investigaciones de esteroides y saponinas, debido probablemente a su uso práctico potencial como precursores de fármacos. Sin embargo, se puede disponer de una buena colección de compuestos de referencia, con características espectroscópicas citadas, que permite el reconocimiento rápido de estructuras nuevas. Gracias a estos estudios se sabe que el colesterol, considerado como típico del reino animal, es el precursor de varios tipos de fitoesteroides.

Terpenos

Los terpenos pueden encontrarse en la fuente vegetal solos o formando glicósidos. Estos son más frecuentes para triterpenos (conocidos como saponinas) aunque hay algunos ejemplos de glicósidos de terpenos inferiores, como en el caso de 1-glucosilmircenol, aislado de *Tagetes patula*, fuente comercial de β -caroteno y la paeoniflorina, un hemi-orto-éster de diez átomos de carbono, que se aísla como el glicósido correspondiente, a partir de *Paeonia albiflora*, utilizada en la medicina tradicional japonesa como antialérgico, analgésico, antiespasmódico y sedante.



Paeoniflorina



1-Glucosilmircenol

La unidad fundamental que define estos esqueletos contiene cinco átomos de carbono y se la conoce como isopreno. Ha sido detectada libre en *Hamamelis jelena*; sin embargo, esta molécula como tal no es frecuente en las plantas sino que está asociada a otras unidades iguales o a otras moléculas. Se la puede obtener por pirólisis del limoneno o de la goma, con lo cual se deduce el origen común de estos compuestos.

De manera general, los terpenos obedecen a lo que se conoce como regla del isopreno, es decir, la secuencia de los átomos que conforman un terpeno es tal que pueden localizarse varias unidades consecutivas de isopreno. Sin embargo, esto no es siempre cierto por cuanto el número de átomos de carbono pueden ser un múltiplo de cinco, pues son frecuentes las reacciones de degradación, o bien suceden rearrreglos esqueléticos que conducen a secuencias anormales de la unidad de C_5 . El descubrimiento de un gran número de compuestos que presentan diferentes grupos funcionales ha generado el uso del término "terpenoide" para designarlos en lugar de "terpeno" cuya terminación (-eno) denota más bien hidrocarburos.

Como se mencionó, la diversidad estructural impide considerar las características físicas y químicas dentro de un contexto de grupo. Para dar una idea de lo complejo que pudiera resultar, en la tabla 4-1 se presenta la situación

Fitoquímica Orgánica

para 1972 (no se tienen los datos actuales) en cifras aproximadas, (extraído de T.K.Devon y A.I. Scott, "Handbook of naturally occurring compounds vol II, Terpenes, Academic Press, 1972), considérese además el número de nuevas estructuras que han podido ser elucidadas gracias a la sofisticación de las técnicas recientes que permiten recabar información de los compuestos minoritarios.

Tabla 4-1. Estructuras terpenoidales aisladas hasta 1970.

Terpenos	E squeletos más comunes	E squeletos menos comunes
Monoterpenos	15 (380)	16 (30)
Sesquiterpenos	30 (700)	85 (300)
Diterpenos	20 (560)	51 (90)
Sesterpenos	3 (13)	
Triterpenos	29 (640)	52 (110)
Carotenoides	6 (100)	misceláneos (30)

(a) Entre paréntesis se indica el número aproximado de compuestos.

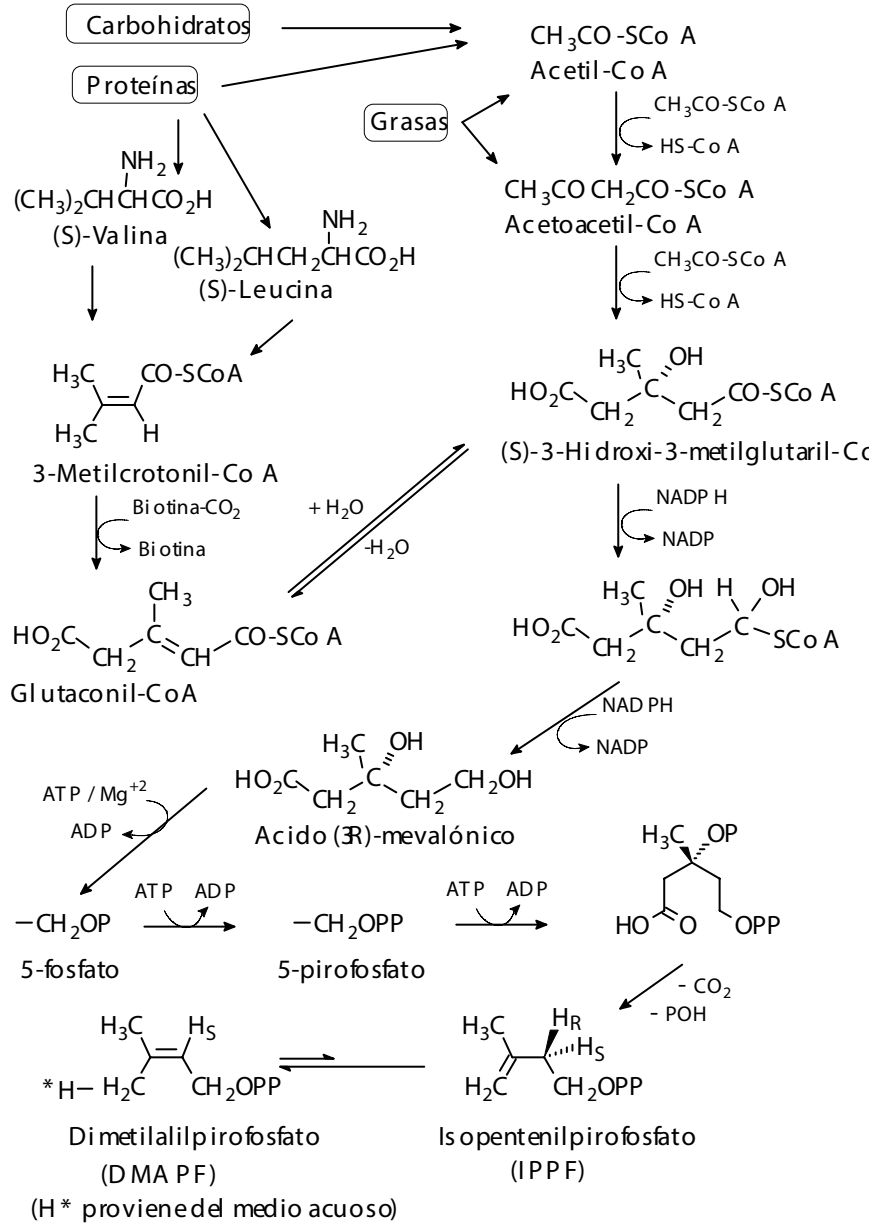
En la lista mencionada se agrupan los terpenos de acuerdo al número de unidades de isopreno que contienen: 2, 3, 4, 5, 6, 8, respectivamente. Si una sola unidad C_5 está presente se conocen como hemiterpenos (generalmente ocurren como sustituyentes) y pueden existir además, polímeros superiores sin un número definido de unidades y que conforman el grupo de los politerpenos (gomas), en los cuales la unidad de isopreno se repite un número variable de veces C_5 , $(n > 9)$.

4.2. Biosíntesis

Se ha mencionado que la unidad estructural de los terpenoides es el isopreno la cual se acopla con otras unidades a través del llamado "isopreno activo", conformado por unidades de dimetilalil pirofosfato (DMAPP) e isopentenil pirofosfato (IPP) cuya biosíntesis se ilustra de manera esquemática en el cuadro 4-1, así como la formación de los terpenos, en el cuadro 4-2, de la página 217.

Terpenos

Cuadro 4-1. Biosíntesis del isoprenoactivo: IPPF y DMAPF .



4.2.1. Origen de la estructura isoprenoide

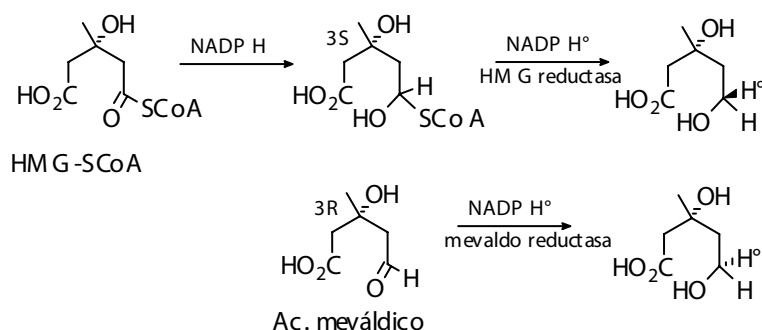
El ácido mevalónico (seis átomos de carbono), derivado de la condensación de tres moléculas de ácido acético, constituye el precursor de la unidad de isopreno que se origina por su deshidratación y descarboxilación simultánea. La condensación de unidades de acetato (C_2) tiene lugar a través de la acetilcoenzima A ($CH_3CO-S-CoA = Ac-CoA$) y origina la acetilcoenzima A. Este β -cetoácido es el sustrato de una nueva condensación aldólica que produce (S)-3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA. Este mismo compuesto puede derivarse del éster del ácido glutacónico, formado a partir de leucina y/o valina, según se indica en el cuadro 4-1. Según esto se propuso como vía alterna, la intervención de proteínas en el camino biosintético de los terpenoides, ya que se conoce que el ácido hidroximetilglutárico (HMG) está en equilibrio (hidratación- deshidratación) con el ácido glutacónico el cual se origina por carboxilación del ácido β -metilcrotonico que participa como intermediario en la oxidación de compuestos con cinco átomos de carbono y estructuras de isopentenilo, incluyendo los aminoácidos leucina y valina. Sin embargo, si bien se encontraron indicios de goma marcada cuando se suministró β -metilcrotonato marcado a árboles de hevea (caucho), todos los esfuerzos para identificar el último como participante en la síntesis de terpenoides fallaron.

Se pensó en la intervención de malonil-CoA para la elongación de la cadena, en un proceso similar al que ocurre en la bioformación de los ácidos grasos, pero si bien hay incorporación de malonato (detectado en experimentos de marcaje isotópico de carbono) en HMG-CoA y en ergosterol, el patrón de marcaje indica que debe haber descarboxilación del malonato antes de su incorporación (por tanto no entra el malonato intacto) y además, la concentración de carbono marcado es proporcional al nivel de actividad de la descarboxilasa (mediante experimentos en hígados de rata). Por otra parte, la adición de kynurenato (4-hidroxiquinolina-2-carboxilato), inhibidor de la acetil-CoA carboxilasa, responsable de la formación del ácido malónico a partir del acético, bloquea hasta el 80% la síntesis de ácidos grasos pero no altera la velocidad de formación de colesterol y además, la acetil-CoA tiolasa inhibe la síntesis del colesterol sin afectar la síntesis de ácidos grasos, lo que indica que HMG-CoA no proviene del malonato y por tanto, los terpenos y los ácidos grasos se forman por rutas metabólicas diferentes.

La reducción de (S)-3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA que origina el ácido (R)-mevalónico, involucra el ataque del NADPH sobre el carbono del tioéster

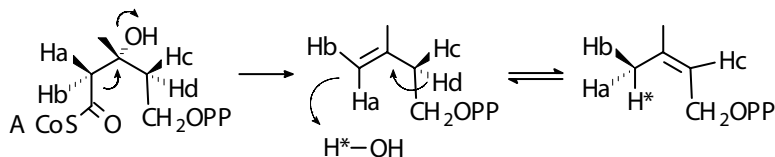
Terpenos

de coenzima-A y ello implica un cambio de quiralidad en C-3. En la transformación del HMG a ácido mevalónico interviene una doble reducción siendo la especie intermedia el hemioacetil del ácido mevalónico y el NADPH transfiere el hidrógeno que ocupará la posición pro-R en C-5 del ácido mevalónico. Por otra parte, en la reducción del correspondiente ácido mevalónico el hidrógeno transferido ocupa la posición pro-S en el C-5 del ácido mevalónico. En ambos casos el hidrógeno transferido es el 4-pro-R del NADPH. Esto fue detectado con experimentos en homogenizados de hígado de ratas.



El mecanismo detallado de la biosíntesis de los terpenos acíclicos ha sido estudiado usando ácido mevalónico isotópicamente marcado, por Conforth y colaboradores, quienes determinaron el destino de los seis hidrógenos en los carbonos 2, 4 y 5 del ácido mevalónico. Conforth dedujo que en la formación de la unidad de C_5 , la descarboxilación y la deshidratación son simultáneas y ayudadas por la fosforilación del OH en C-3. En esta etapa se produce isopentenil pirofosfato (IPPF), el cual se equilibra con dimetilalil pirofosfato (DMPF) por pérdida del hidrógeno originalmente pro-R en el ácido mevalónico (Hd). El nuevo grupo metilo se origina por la adición de protones del medio acuoso. Ambos compuestos conformarán los terpenoides al sucumbir a varias condensaciones sucesivas. En la eliminación de CO_2 y H_2O verificó que el H-2 pro-R ocupa la posición cis al metilo en el IPPF y demostró que el metilo del DMPF que se genera por equilibrio con IPPF es el antiguo C-2 en el ácido mevalónico y se encuentra cis al grupo CH_2OPP .

Es un hecho comúnmente aceptado que el ácido mevalónico es precursor del IPPF y del DMPF. Sin embargo, a través de experimentos de marcaje isotópico se determinó que hay una vía alterna para la formación de la unidad de isopreno, y esta comprende la unión de piruvato y gliceraldehído-3-fosfato, que al condensar pierden CO_2 y se forma 1-desoxi-xilulosa-5-fosfato

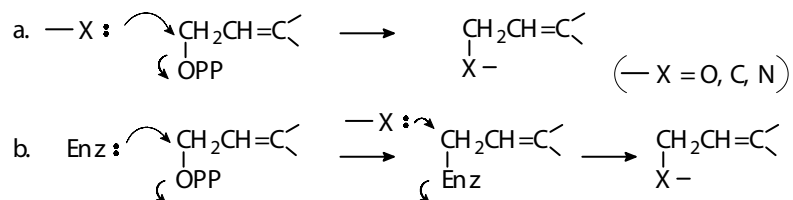


como precursor del IPPF. Esto ha sido propuesto para la biosíntesis de gingólidos (principios activos del Gingo biloba) y de marrubiína (principio activo del marrubio). Esta vía alterna parece ser el modo que opera en Gimnospermas y Eubacterias; sin embargo, serán necesarios experimentos adicionales*.

4.2.2. Bioformación de terpenos

El cuadro 4-2 esquematiza la génesis de los esqueletos terpenoidales.

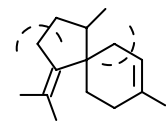
Las unidades de isopreno (IPPF y DMAPF) constituyen agentes alquilantes tanto para carbono como para oxígeno, nitrógeno o azufre. La prenilación puede ser considerada como una reacción directa de sustitución de un nucleófilo sobre el carbono que contiene el éster fosfato, o bien a través de un complejo sustrato-enzima como intermediario



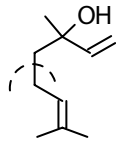
La habilidad alquilante de la unidad de isopreno es la clave de la biosíntesis de terpenoides. En este caso el nucleófilo es el doble enlace terminal del IPPF (véase cuadro 4-2) y la unión es conocida como "cabeza-cola". Esto origina una secuencia regular la cual permite aplicar la regla del isopreno como, por ejemplo, se ilustra para el acoradieno, linalool y ácido comúnic. (La regla del isopreno fue establecida en 1955, por A. Eschenmose y L. Ruzicka, O. Jeger y D. Arigoni, *Helv. Chim. Acta*, 38, 1890, 1955).

*W. Knöss B. Reuter y J. Zapp "Biosynthesis of labdane diterpenes in *Marrubium vulgare* via non-mevalonate pathway" *Biochem. J.*, 326, 4449, 1997.

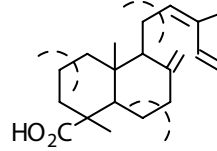
Terpenos



Acoradieno
(sesquiterpeno)

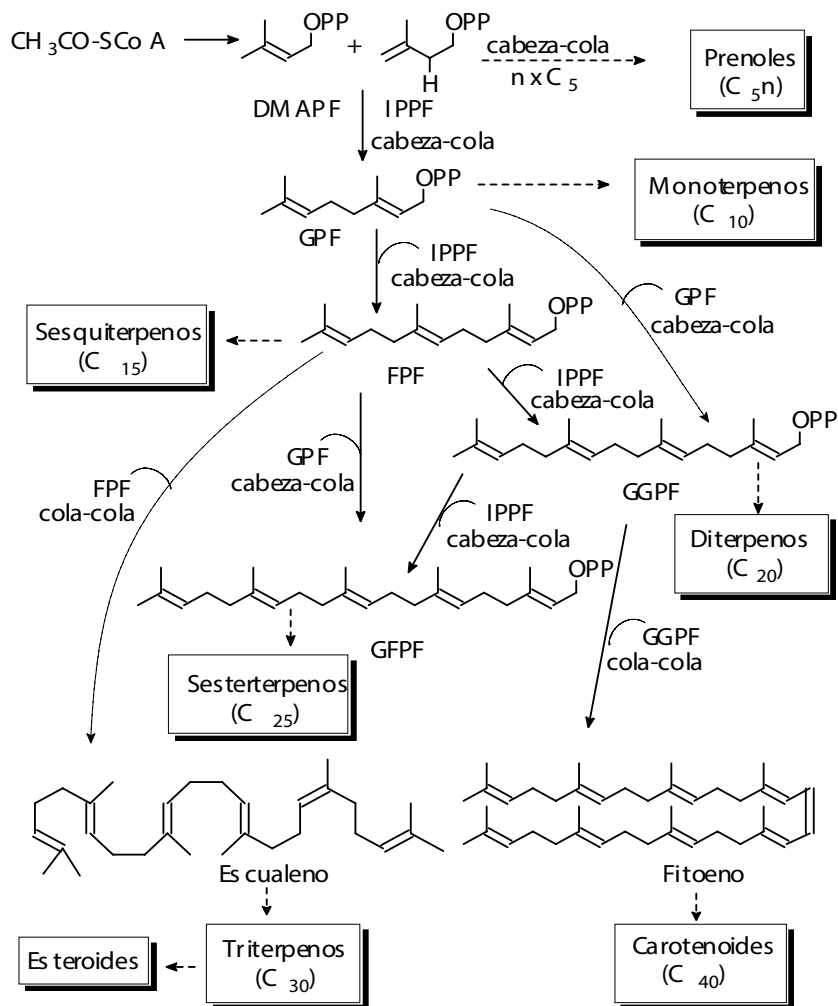


Linalool
(monoterpeno)



Ac. comúnic
(diterpeno)

Cuadro 4-2. Bioformación de terpenos



Considerando que los terpenos se forman a partir de condensaciones sucesivas de unidades de C-5 y que los precursores acíclicos de los mismos presentan casi exclusivamente dobles enlaces trans, se asumió que tal estereoquímica se origina por la pérdida del H pro-R de la unidad de IPPF al unirse al DMAPF, mientras que las eliminaciones del H pro-S del IPPF origina la unión cis, típica de los poliprenos y de las gomas. De esta manera, se forma al inicio, el geranyl pirofosfato (GPF) que da origen a los monoterpenos y al farnesil pirofosfato (FPF) por condensación cabeza-cola con otra unidad de isopreno. El FPF representa el precursor de los sesquiterpenos (C₁₅), el cual tiene dos maneras de condensarse: a) cabeza-cola con una unidad C₅ y da geranylgeranyl pirofosfato (GGPF), producto de diterpenos (C₂₀), el cual, a su vez, puede engendrarse a partir de la condensación de dos unidades de GGPF cola-cola con otra unidad idéntica para formar un hidrocarburo (C₃₀), precursor de los triterpenos, conocido como escualeno, por haberse aislado inicialmente de tiburones.

Los sesterterpenos (C₂₅) pueden formarse a partir de las unidades FPF y GPF o de GGPF y IPPF, y la cadena es conocida como geranyl farnesil pirofosfato (GFPP). La condensación cola-cola de dos unidades GGPF conduce a la formación de fitoeno, precursor de los carotenoides (C₄₀). Una revisión reciente de la biosíntesis de terpenos de C₅ a C₂₅ se encuentra en M.P. Dewick, "The biosynthesis of C₅-C₂₅ terpenoid compounds" Nat. Prod. Reports, 16, 97, 1999.

4.3. Aislamiento y purificación

Siendo en general, compuestos neutros se hace difícil planificar una estrategia de separación más o menos común, como ocurre en el caso de los alcaloides (Capítulo 5). Por otra parte, su solubilidad varía de acuerdo a los sustituyentes y la relación de grupos polares vs átomos de carbono del esqueleto. Los representantes poco oxigenados serán más liposolubles y por lo tanto recuperables del material vegetal con éter, diclorometano, etc., que también extrae la materia grasa de diferente naturaleza, como triglicéridos, ceras, hidrocarburos y otros.

Los terpenoides que se encuentran bajo la forma de glicósidos son altamente solubles en agua, lo que dificulta su separación de azúcares, polihidroxifenoles y otros compuestos polares. La selección de un solvente de polaridad intermedia: etanol, metanol, ..., permite aislarlos como un "crudo

total", del material biológico. Este crudo deberá ser fraccionado y para ello, la técnica generalmente aplicada es la cromatografía en sus diferentes variantes. Sin embargo, es práctica general, si la planta presenta compuestos con aroma, indicativo de mono- y sesquiterpenos, aprovechar su volatilidad y separarlos del material vegetal por arrastre con vapor.

Si se trata de saponinas (glicósidos de terpenoides y esteroides), altamente solubles en agua, la separación puede llevarse a cabo mediante cromatografía en fase reversa y contracorriente. Por otro lado, el crudo total se hidrolizará y la parte "no saponificable": las geninas, se aíslan del medio acuoso por extracción con un solvente orgánico. El análisis de la mezcla de la glicona se precede por una separación cromatográfica de sus componentes.

En el aislamiento de terpenos superiores (di- y triterpenos) es aconsejable desgrasar previamente el material biológico y sobre la fracción de "grasas" comprobar la ausencia de terpenoides antes de desecharla. La separación cromatográfica generalmente se lleva a cabo en columna de adsorción y el proceso se sigue por TLC. Los reactivos reveladores comprenden vapores de yodo y reactivos de rociado. Entre los últimos los más frecuentes son: solución de pentacloruro de antimonio en cloroformo o en tetracloruro de carbono al 25 %; p-aminobenzaldehído (solución al 0.25 %) en una mezcla de ácido acético - ácido fosfórico (85 %) - agua, 5:4.5:0.5; solución de sulfato cérico (suspensión de sulfato cérico, 1 g en 40 ml de agua, a la cual se añade ácido sulfúrico hasta que la solución sea diáfana).

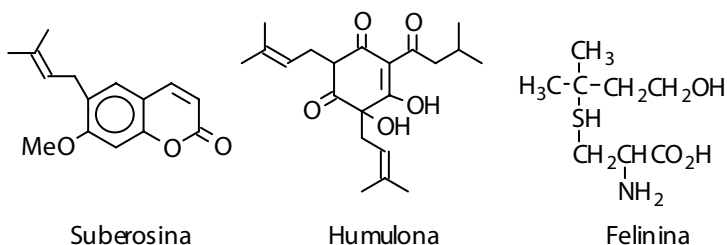
De cualquier manera, cada separación y purificación reviste problemas particulares en los cuales se conjuga la naturaleza del material vegetal y por ende, los componentes totales presentes y la naturaleza química del o los compuestos a extraer y purificar. Por lo tanto, a menos que se trate de fuentes y/o compuestos ya conocidos, es frecuente la práctica del ensayo-error.

4.4. Hemiterpenos

Se encuentran raramente libres en la naturaleza pero son productos metabólicos. Los dos hemiterpenos intrínsecos de los organismos vivos son DMAPP e IPPP, los cuales forman parte de otros metabolitos, no solamente provenientes del acoplamiento entre sí (terpenos) sino también de otras estructuras biosintéticamente diferentes como en la suberosina (una cumarina) o

humulona, una quinona responsable del sabor amargo del lúpulo. Esta clase de metabolitos cuya génesis intervienen, además del ácido mevalónico, otros precursores se conoce como meroterpenoides. Pertenecen a este grupo los meroterpenoides aromáticos: derivados de quinonas, flavonoides, cumarinas, así como la mayoría de los alcaloides indólicos y varios antibióticos.

La cadena de isoprenilo también puede presentarse en ácidos o alcoholes libres o sus ésteres, éteres y tioéteres. Tal es el caso de los ácidos angélico y tíglico, cuya génesis parte de la isoleucina, que esterifican uno de los grupos OH de los alcaloides de ceveratrum, del alcohol isoamílico, componente de la esencia de eucalipto, del ácido isovalérico presente en el aceite de valeriana y de la felinina (encontrada en glándulas de gatos) en la cual la unidad de C_5 está conjugada con el aminoácido cisteína.



4.5. Poliprenoles

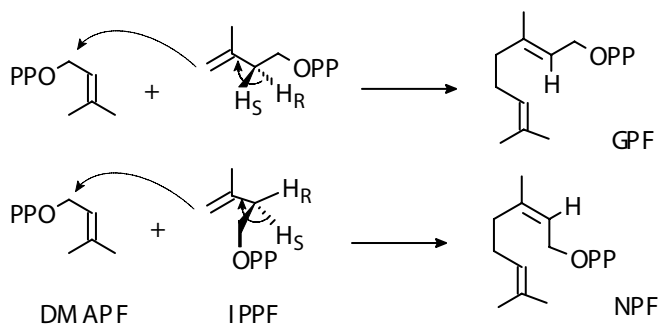
El poli-isopreno (C_{5n} , $n > 9$) está presente en la planta como partículas diminutas que pueden o no estar dispersas en un fluido lechoso llamado látex. Varias plantas contienen látex pero no necesariamente poli-isopreno y en estos casos es común la presencia de otros derivados del isopreno: aceites esenciales, terpenoides, etc. El látex se produce en células laticíferas más o menos diferenciadas y puede recuperarse de las plantas por sangramiento del tronco (árboles de caucho), extracción de la planta total o exprimiéndola (guayule) en el caso de vegetales blandos. Los poliprenoles conforman el grupo de la goma, la gutapercha y el chicle, se encuentran en varias familias: Apocynáceas, Asclepiadáceas, Celastráceas, Compuestas, Umbelíferas, Moráceas, Euforbiáceas y Sapotáceas. La goma es un hidrocarburo 1,4-cis-poli-isopreno de alto PM, la gutapercha es un isómero 1,4-trans de bajo PM y el chicle es una mezcla de isómeros cis y trans, de bajo PM y en proporción aproximada 3:7.

Terpenos

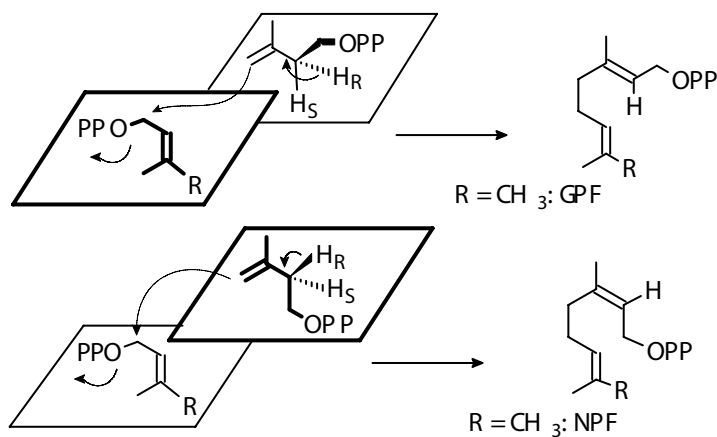
El sudeste de Asia es el gran productor de gomas aunque la especie más productiva es *Hevea brasiliensis* (Euforbiáceas), endémica de las selvas amazónicas, la cual es sin embargo, fácilmente atacada por hongos lo que disminuye considerablemente su productividad. En Méjico y USA se ha tratado de imponer otro gran productor de gomas: el guayule, *Parthenium argentatum* (Compuestas), un arbusto que crece bien en zonas áridas, pero a pesar de su potencial está aún poco explotado. La gutapercha y el balatá (polímeros superiores de la gutapercha) se extraen principalmente de *Mimusops balata* (Sapotáceas) eran productos fundamentales de la economía de Java y su uso va frecuentemente dirigido al recubrimiento aislante de cables submarinos y correajes. En la actualidad los productos sintéticos los han sustituido casi en su totalidad. El chicle es explotado en Méjico, Guatemala, y hace algunos años en Venezuela era considerado material de exportación, se utiliza en la fabricación de gomas de mascar y se aísla de *Achras sapota* (Sapotáceas) o níspero común.

4.6. Monoterpenos

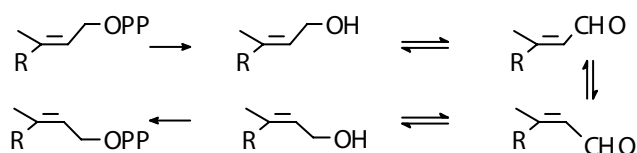
Son biogénicamente derivados de dos unidades de isopreno y están distribuidos en una gran variedad de sistemas vivos: plantas, microorganismos, insectos; algunos tienen función específica en el individuo productory varios presentan actividades biológicas de distinta naturaleza. La formación de la cadena con 10 átomos de carbono procede por condensación de DMAPP y IPPF. De la última unidad la pérdida del H pro-R o pro-S sobre C-2 origina la unión trans (geranil pirofosfato: GPF) o cis (neril pirofosfato: NPF), respectivamente.



Esto es válido si sólo se considera las conformaciones del IPPF; sin embargo, la estereoquímica del nuevo enlace π también depende del sistema enzimático en el cual se acomoda el sustrato para obtener un isómero particular, ya que también se encuentra la pérdida del H-2 pro-R en la formación de prenoles y en el nerol (doble enlace cis). En la figura se ilustra cómo dos arreglos de las unidades de C_5 pueden generar ambos isómeros GPF y NPF, considerando solamente la pérdida del 2-H pro-R.



Como vía alterna, se propuso la isomerización del doble enlace a través de un mecanismo de desfosforilación-redox-fosforilación. Hay evidencias de la transformación de geraniol a nerol en los medios enzimáticos (libre de células) de rosa, menta y zanahoria, que soporta esta teoría.



Como NPF y GPF se encuentran en equilibrio serán considerados como una sola unidad en los procesos que conducen a los terpenoides. Es evidente que el NPF será necesario para la formación de esqueletos cíclicos como el mentano.

Existen varios tipos estructurales, los que siguen la regla del isopreno o esqueletos regulares y los llamados irregulares en los cuales no se mantiene

Terpenos

la secuencia de los carbonos que conforman los dos fragmentos de isopreno unidos cabeza- cola. Los esqueletos irregulares se generan por:

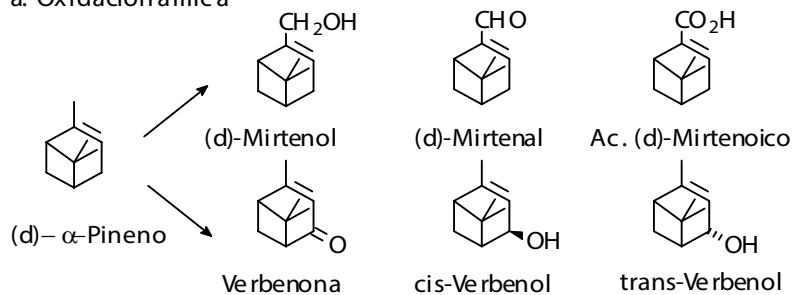
1. Pérdida de átomos de carbono.
2. Reordenamientos esqueléticos
3. Unión anormal de los monómeros.

4.6.1. Esqueletos regulares

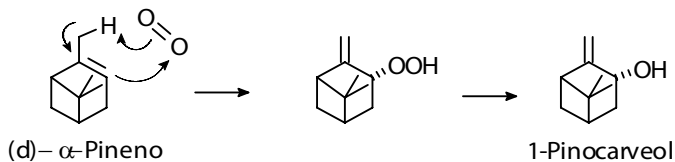
Los esqueletos regulares más frecuentes pueden ser acíclicos, monocíclicos: mentano, o bicíclicos: tujano, carano, pinano y canfano (llamado también bornano). Su formación se ilustra de manera esquemática en el cuadro 4-3.

Las funciones oxigenadas se pueden generar de diferentes maneras: oxidación alílica, oxidación vinílica, o cicloadiciones del tipo Diels-Alder, como se ilustra para el caso de los derivados de α -pineno, β -pineno y α -terpineno, respectivamente, dos hidrocarburos típicos del aceite de pino.

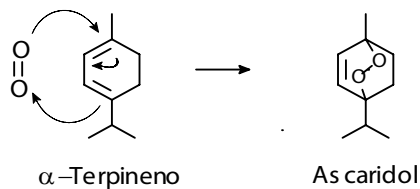
a. Oxidación alílica



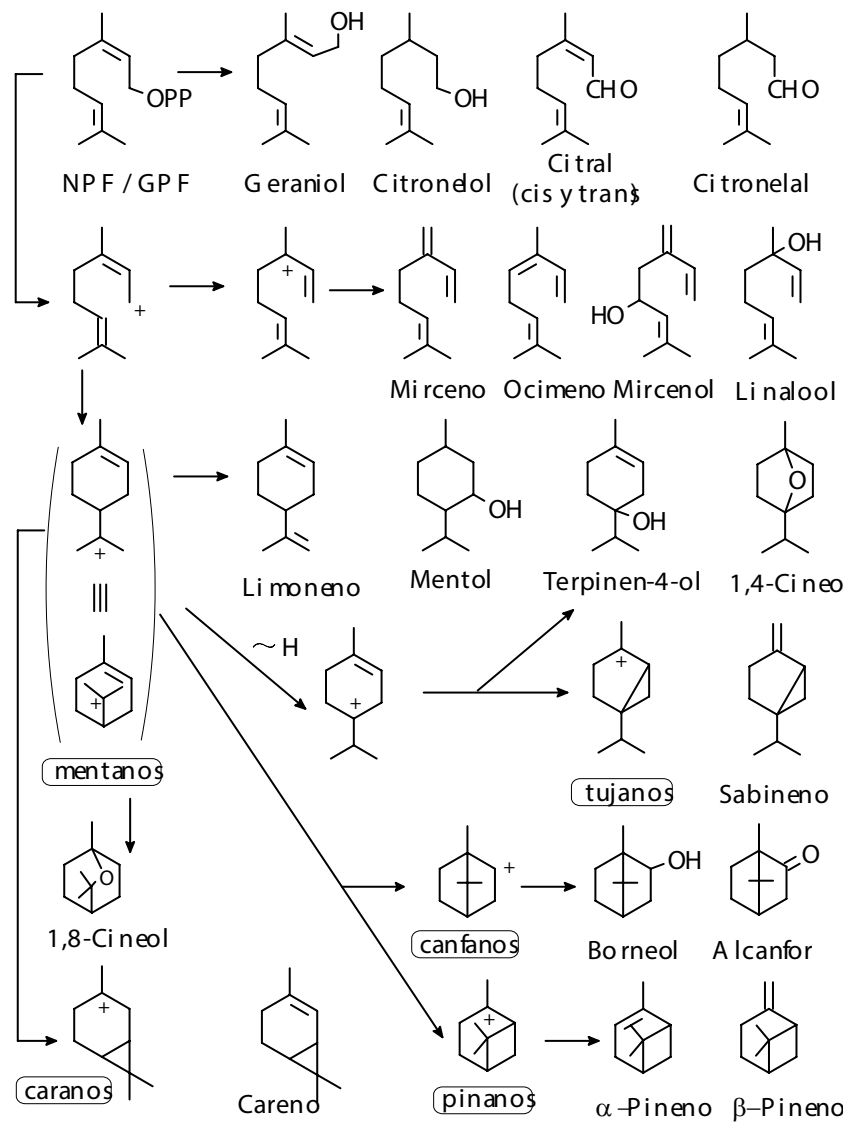
b. Oxidación vinílica



c. Cicloadición



Cuadro 4-3. Monoterpenos con esqueletos regulares (*).

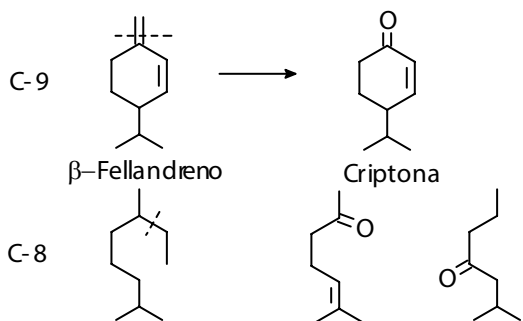


(*) En los cuadros se indican los esqueletos más comunes, provenientes de los iones respectivos.

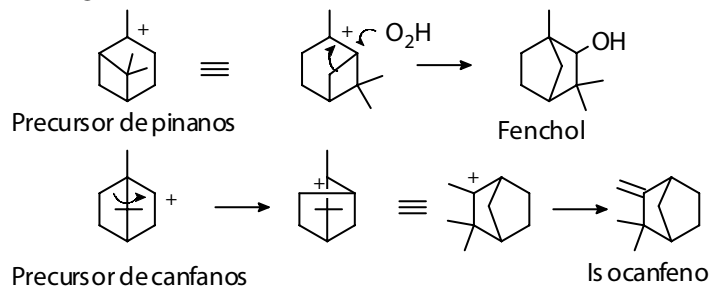
4.6.2. Esqueletos irregulares

Entre los monoterpenos irregulares, la criptona (C₉), que se forma por oxidación del β-fellandreno, y las cetonas con 8 átomos de carbono, son ejemplos de "irregularidades" provenientes de la pérdida de carbonos, mientras que el fenchol y el canfeno (con el núcleo de isocanfano) provienen de rearrreglos esqueléticos de los precursores de pinano y canfano, respectivamente.

a. Pérdida de carbonos



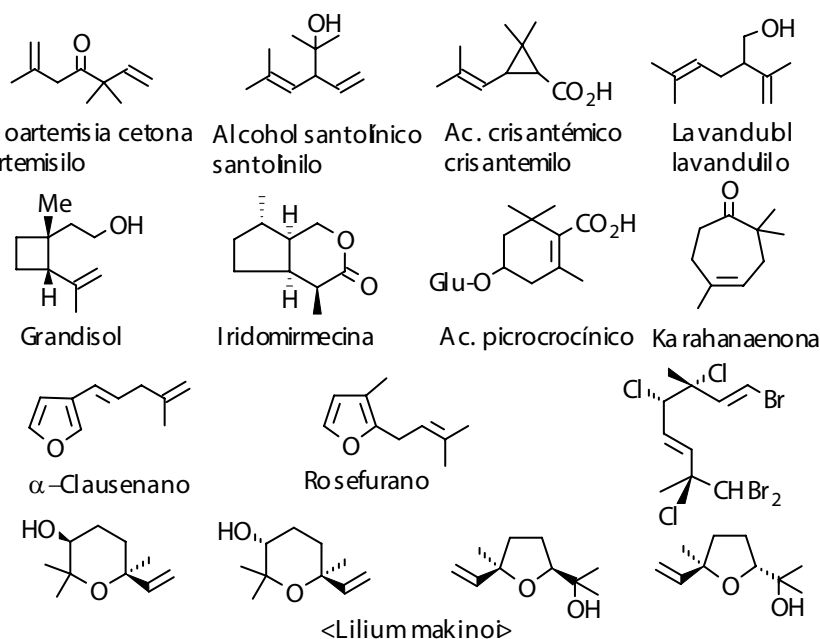
b. Rearreglos



Los esqueletos irregulares también surgen de uniones anormales y con este origen se encuentran estructuras tanto acíclicas y como cíclicas con anillos de 3 a 7 miembros. De las primeras el prototipo es el ácido crisantémico y entre las estructuras acíclicas se hallan los esqueletos relacionados: artemisilo, santolinilo y lavandulilo.

El esqueleto de crisantemilo representa el precursor de los tres arreglos de cadena abierta. El esqueleto de ciclobutano está presente en grandisol, la hormona sexual del gorgojo del trigo, mientras que los ciclopentanos conforman

una clase muy importante de terpenoides: los iridoides y son parte del esqueleto de los alcaloides indólicos. El tetrametilciclohexano como en caso del ácido picrocrocínico, se encuentran en compuestos aislados de *Gardenia jasminoides*. La karahanaenona es un representante de esqueletos irregulares con un anillo de siete miembros. También se consiguen en la naturaleza compuestos furánicos y piránicos como el α -clausenano y el rosefurano o los óxidos aislados de *Lilium makinoi*, que representan congéneres del linalool del cual provienen probablemente. Los compuestos halogenados se citan en fuentes naturales marinas de *Plocamium coccineum* y *Aplysia californica* y pueden ser tanto acíclicos como cíclicos.



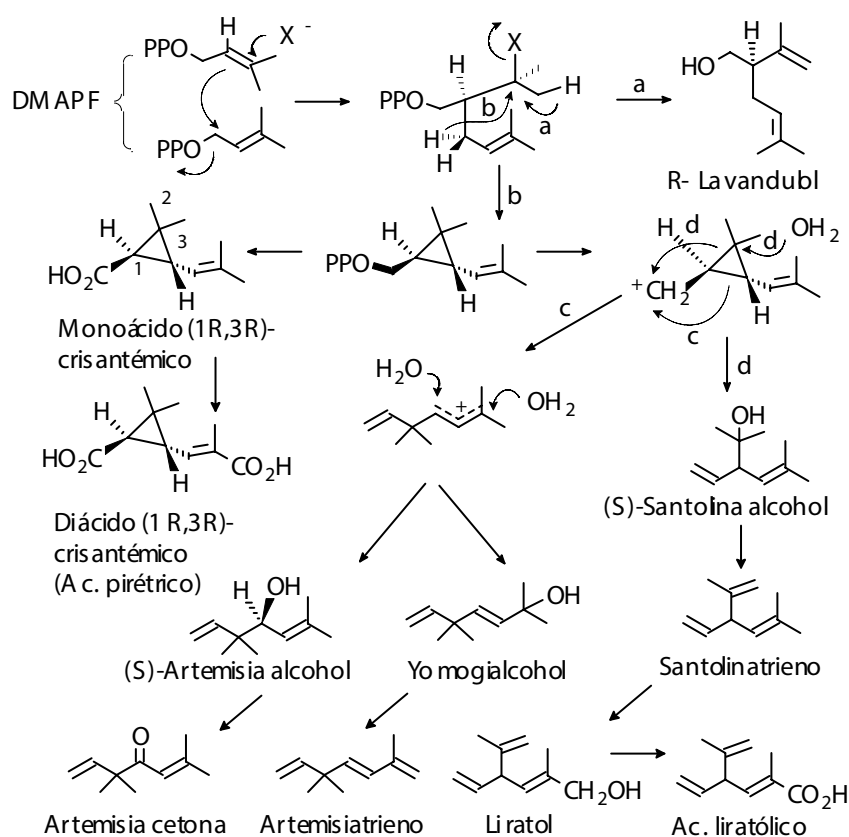
La unión anormal se refiere a una unión diferente a la cabeza-cola del IPPF y DMAPF. La mayoría de los ejemplos de esta clase se localizan en la familia Compuestas, especialmente en los géneros *Artemisia*, *Chrysanthemum* y *Santolina*, que pertenecen a la tribu Anthemidae. Su formación se ilustra en el cuadro 4-4, en el cual puede verse cómo se unen dos moléculas de DMAPF y dar un intermediario que puede progresar hasta el esqueleto de lavandulol (cadena abierta) o al precursor de compuestos ciclopropánicos con el arreglo

Terpenos

crisantemilo, o evolucionar a los restantes de cadena abierta: santolinilo y artemisilo.

Se propuso que el lavandulol se forma por apertura del anillo ciclopropilo del ácido crisantémico, porque por irradiación se puede convertir el esqueleto de crisantemilo a lavandulilo. De la misma manera, por tratamiento con ácido el yomogi-alcohol se convierte en santolina-alcohol, lo que sugiere equilibrios entre las especies acíclicas y las ciclopropánicas durante la biosíntesis.

Cuadro 4-4. Monoterpenos derivados de uniones anómalas del isopreno.

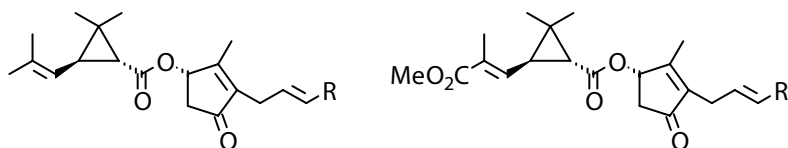


4.6.3. Piretroides

Se conocen con este nombre una serie de compuestos que tienen como característica estructural común la presencia de un anillo ciclopropánico. Presentan propiedades pesticidas. El ácido crisantémico es el compuesto patrón se encuentra esterificado en *Chrysanthemum cinerariaefolium*, planta usada como insecticida. Los principios activos: piretrinas, jasmolinas y cinerinas, muestran diferente actividad. Así, piretrina I y II son más activas que cinerina I y II, mientras que las jasmolinas I y II son casi inactivas. La actividad relativa de piretroides naturales frente a la mosca doméstica se ilustra en la tabla 4-2.

Tabla 4-2. Actividad de piretroides naturales.

Actividad	Piretrina		Cinerina	
	I	II	I	II
insecticida	100	39	45	26
noqueadora	100	340	81	108



R

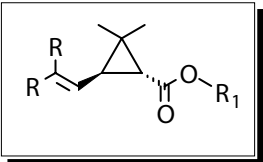
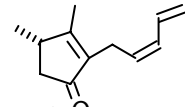
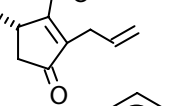
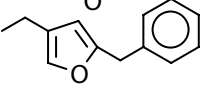
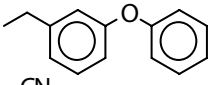
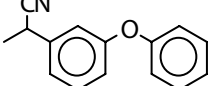
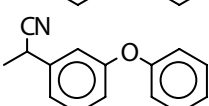
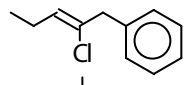
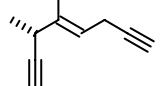
Piretrina I	CH=CH ₂	Piretrina II
Jasmolina I	C ₂ H ₅	Jasmolina II
Cinerina I	C ₃ H ₇	Cinerina II

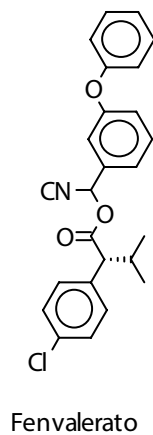
Los piretroides naturales son casi atóxicos para los mamíferos y muy poco residuales (ventajas), pero son algo inestables en las condiciones normales y más costosos con respecto a otros insecticidas sintéticos (desventajas). Por otra parte, mundialmente está prohibido el uso de DDT y BHC, insecticidas potentes pero muy residuales, lo que incentivó la búsqueda de alternativas menos tóxicas para humanos. Desde el punto de vista no sólo de la mayor efectividad sino también de la estabilidad, la facilidad y economía de producción, se han desarrollado una serie de piretroides sintéticos que preservan la

Terpenos

característica estructural de los ésteres del ácido crisantémico, a excepción del fenvalerato. (Cuadro 4-5).

Cuadro 4-5. Piretroides sintéticos.

R	R ₁	Nombre
		
Me		Piretrina
Me		Alletrina
Me		Resmetrina
Me		Fenotrina
Me		Cifentrina
Br		Decametrina
Me		Butetrina
Cl		SP-3243

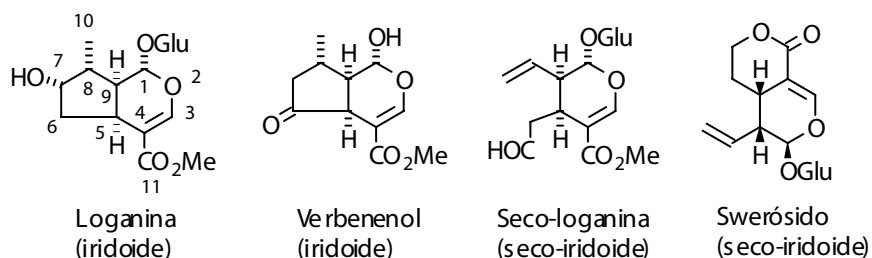


La piretrina I se toma como patrón para cuantificar la actividad insecticida. Alletrina es el producto más fácil de sintetizar y su actividad es comparable a la anterior. Resmethrin y fenotrina son 50 veces más activas que la piretrina I. Mucho más potentes son cifentrina, decametrina y fenvalerato, pero su uso no está definitivamente establecido.

4.6.4. Iridoides

Los ciclopentanoides (iridoides) son aquellos compuestos que tie-

nen el esqueletociclopentanopirano,generalmentepresentanoxigenación en C -1 y menosfrecuentementenC- 11, C-7 y C-6. Se aíslan comoglicósidos de la glucosa, apiosa y gentiobiosa,y a veces puedefaltar el enlace 7-8. E ste último grupo se lo conoce como "seco-iridoide", siendo ejemplos la seco-loganinay el swerósido, el cual se forma por reduccióndel grupoaldehído seguidode lactonización,de la seco-loganina.



El nombre "iridoide" proviene de la fuente natural de donde se obtuvo el primer ejemplo: la "iridomirmecina" que logró aislarse de una hormiga carnívora australiana *Iridomyrmex detectus*. Posteriormente se han aislado de un gran número de fuentes vegetales, solos o formando parte de otros metabolitos como en el caso de los esqueletos de alcaloides indólicos (seco-iridoides). La loganina misma fue aislada de *Strychnos nux-vomica*, *Menyanthes trifoliata*, *Vinca rosea* y otras especies ricas en alcaloides indólicos y está bien establecido su papel en la biosíntesis de estas bases.

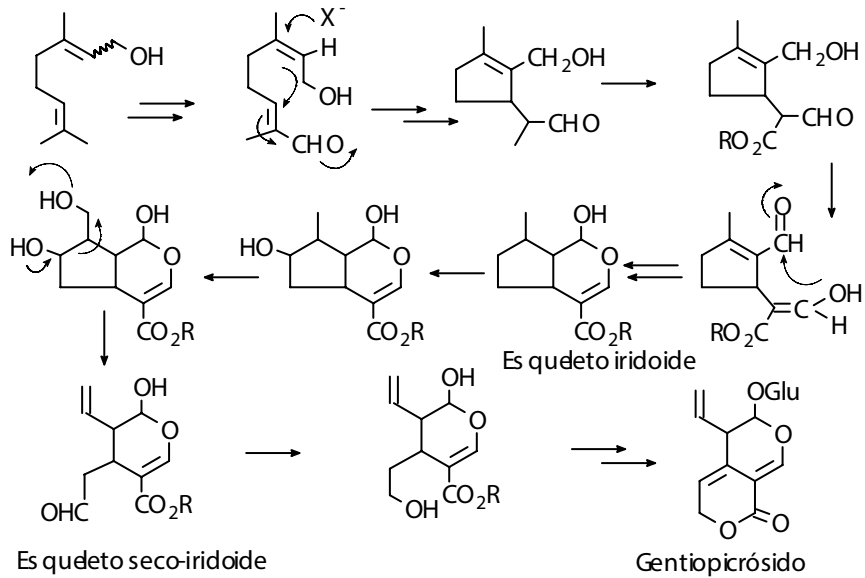
4.6.4.1. Biosíntesis de iridoides y seco-iridoides

La biosíntesis de estos monoterpenos que se esquematiza a continuación, ha sido propuesta para la bioformación del gentiopicrósido. La hidroxilación de los carbonos 7 y 10 parece preceder a la rotura del enlace 7,8 lo que origina los seco-iridoides.

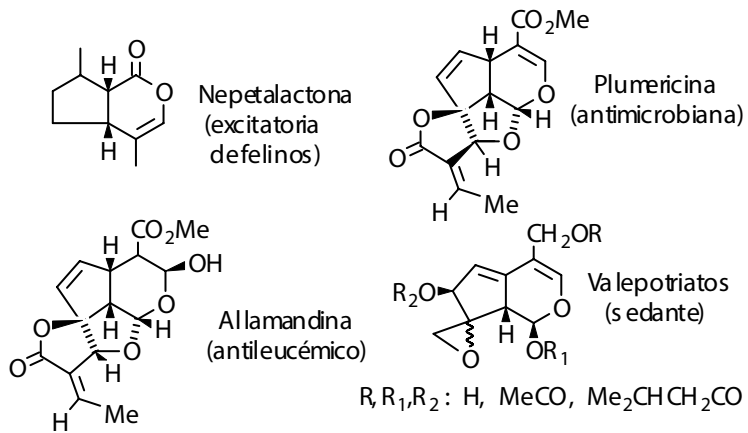
Los iridoides presentan actividades biológicas interesantes y ejemplos de ellas se indican en las estructuras mostradas. Son abundantes en la familia Valerianáceas, tanto con estructuras sencillas, glicosidadas o más complejas (plumericina, allamandina, valepotriatos). También se encuentran en otras familias vegetales y en algunos insectos.

Terpenos

Bioformación de iridoides y seco-iridoides.



Iridoides biologicamenteactivos.



Varios glicósidos seco-iridoides ácidos esterificados con alcoholes 4-hidroxi y 3,4-dihidroxi-2-feniletílico se aislaron de *Fraxinus ornus*, cuya corteza es empleada en medicina popular de Europa central para aliviar inflamaciones, artritis y disentería*.

4.7. Aceites esenciales

Los aceites esenciales o esencias (considerados sinónimos) están constituidos por monoterpenos, sesquiterpenos y fenilpropanos, de los últimos los más frecuentes son: anetol (del anís, *Pimpinella anisum*, Umbellíferas), eugenol (del clavo, *Eugenia caryophyllata*, y de la pimienta *Pimenta officinalis*, Myrtáceas), magnolol (de la magnolia, *Magnolia obvata*, Magnoliáceas) cinamaldehído (de la canela, *Cinnamomum cassia*, Lauráceas).

Entre los componentes volátiles aislados de las plantas también se encuentran ácidos libres (isovalérico, caprílico, en las flores del tabaco), aldehídos (heptanal, octanal, en el aceite de mandarina), cetonas (1,2-ciclopentanodiona en el café), compuestos azufrados como allicina (del ajo), isotiocianato de alilo (de la mostaza), etc. (Ver Capítulo 2).

Los aceites esenciales son volátiles, arrastrables por vapor y a ello se debe su aroma. Están presentes en glándulas de aceites, pelos glandulares o disueltos en las resinas. Son insolubles en agua y solubles en solventes orgánicos, generalmente son líquidos, pero en algunos casos se solidifica una parte por enfriamiento. Ello se aprovecha para separar los componentes sólidos que conforman la parte conocida como estereopteno (ejm. alcanfor) de los aceites: oleopteno. Algunos aceites esenciales se encuentran bajo la forma de precursores no volátiles, por ejemplo como glicósidos, tal es el caso del aceite de almendras amargas y de la vainilla que se producen en glándulas especiales formando bolsas de células secretoras. La esencia varía tanto en rendimiento (de muy poco hasta 1 a 3 %) como en composición, de acuerdo al lugar geográfico y a la variedad genética. Son particularmente ricas las familias Lauráceas, Myrtáceas, Umbellíferas, Pináceas, Rutáceas, Labiadas, Verbenáceas y Compuestas. Su gran valor comercial reside en su utilización como especias y condimentos para alimentos y cosméticos: eugenol, anetol, safrol; remedios

*I. Kostova, "Fraxinus ornus L", *Fitoterapia*, 72, 471, 2001.

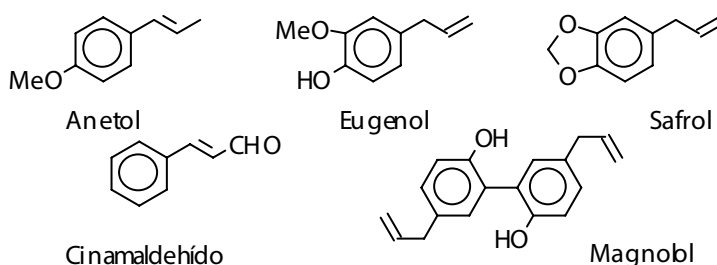
Terpenos

Tabla 4-3. Aceites esenciales más comunes.

Nombre	Materia Prima	Localización y rendimiento en aceite (%)	Comp. principales (%)
Trementina	Pinus sp. (Pináceas)	Exudado (30%)	α y β -pineno (90%)
Citronela	Cymbopogon winterianus (Gramíneas)	Hojas (0.5-1%)	citronelal (30-55%)
Vetiver	Vetiveria zizanoides (Gramíneas)	Raíces (2-3%)	vetivenol, α y β -vetivona
Pasote	Chenopodium ambrosioides var. antihelminticum (Chenopodiáceas)	Toda la planta (0.6 a 0.8%)	ascaridol (40-70%)
Alcanforado	Cinnamomum camphora (Lauráceas)	Hojas y troncos (0.5-3%)	cineol (5-6%) safrol (10%) alcanfor (50%)
Rosa	Rosa damascena R. centifolia (Rosáceas)	Flores (0.1%)	geraniol (40%) citronelol (30-40%)
Limón	Citrus limos (Rutáceas)	Cáscara del fruto (0.3%)	limoneno (90%) cital (1-3%)
Clavo	Eugenia caryophyllata (Myrtáceas)	Botón (15-18%)	eugenol (80-95%)
Jazmín	Jasminum grandiflorum (Oleáceas)	Flores (0.2-0.3%)	acetato de bencilo (40-60%)
Lavanda	Lavandula vera (Labiatas)	Flores (1%)	linalool (30%) acetato de linalilo (30-55%)
Menta	Mentha piperita (Labiatas)	Toda la planta	mentol (50-60%)

alcanfor; repelentes: citronelal, disolventes de pinturas: trementina, o como materia prima, tal es el caso del citral usado en la fabricación de vitamina-A.

En cuanto a su función se ha especulado mucho. Se piensa que entre otras cosas, pueden servir como hormonas de polinización al actuar como atracción y repelentes de insectos. En la tabla 4-3 se ilustran los ejemplos más importantes de aceites esenciales.



4.7.1. Obtención y análisis

En la obtención de aceites esenciales se aprovecha su volatilidad pues al ser arrastrables por vapor pueden obtenerse relativamente libres de otros compuestos liposolubles. Sin embargo, debido a su baja proporción es conveniente utilizar grandes cantidades, aún a escala de laboratorio (20 - 30 kg) de material fresco u oreado. Este último método es frecuentemente utilizado para la obtención industrial de ciertos componentes de los aceites esenciales, mientras que la obtención de las esencias empleadas en perfumería sigue los caminos tradicionales y arraigados en este arte. En todo caso, hay que tener en cuenta que el tratamiento prolongado con calor puede fácilmente producir reordenamientos esqueléticos, los cuales son a veces deseables dependiendo de la naturaleza de la esencia.

También se utiliza la extracción con solventes orgánicos (éter de petróleo o hexano) o se exprime el material biológico (como es el caso de las cáscaras de cítricos). Estos métodos pueden usarse solos o combinados. La extracción con solventes en condiciones supercríticas (por ejemplo anhídrido carbónico, cuyo punto crítico corresponde a 31°C a 73,8 bar) ha dado excelentes rendimientos y tiene un gran potencial para la obtención industrial de los aceites esenciales.

Terpenos

La separación y purificación proceden generalmente por destilación fraccionada bajo presión reducida (rectificación), o por cromatografía de columna, en sus diferentes variantes. La congelación sirve para separar la parte de estereoisómeros por ejemplo, el aceite de eucalipto (*Eucalyptus globulus* y otras especies) tiene como componente principal (80%) el cineol (1,8-cineol = eucaliptol, p.f. -1.2°C y p.e. 176°C), solidifica por enfriamiento lo que se utiliza en la purificación del cineol.

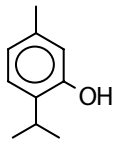
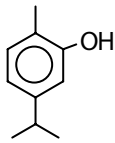
Debido al gran interés comercial los métodos de análisis han avanzado rápidamente. Estos se han aprovechado desde puntos de vista muy variables: elucidación estructural de compuestos nuevos, reordenamiento y transformaciones químicas de los diferentes núcleos, identificación de compuestos minoritarios, quimiotipos, variación en la composición de los aceites debido a factores geográficos, climáticos, estacionales, genéticos-incluyendo hibridación-, etc. El método moderno emplea la separación mediante cromatografía de gases y HPLC y el análisis computarizado de los datos espectroscópicos (UV, IR, RMN de protones y de carbono, y EM). El procedimiento más usado, gracias a la volatilidad, es la cromatografía de gases acoplada a la espectrometría de masas (CG-EM); en ella la fase de espectrometría de masas utiliza el impacto electrónico para la fragmentación y que las "librerías" comerciales utilizadas en la identificación de los aceites esenciales están basadas en los datos obtenidos mediante ionización por impacto de electrones de alta energía (generalmente 70 eV ; $1\text{ eV} = 10\text{ kJ/mol}$)*.

4.7.2. Actividad biológica

Las propiedades antisépticas, desinfectantes y antihelmínticas de los aceites esenciales se han aprovechado desde hace tiempo, y especialmente en casos de infecciones bronquiales, urinarias y las causadas por cortadas y quemaduras. Hoy día se han sustituido por sulfonamidas, y antibióticos; sin embargo, varios monoterpenos muestran actividad antiséptica significativa como se ilustra en la tabla 4-4.

*A. Bandoni, Ed. "Los recursos vegetales aromáticos en Latinoamérica, su aprovechamiento industrial para la producción de aromas y sabores" Ediciones CYTED, Subprograma IV, Proyecto IV-6, 2000.

Tabla 4-4. Propiedades antisépticas relativas al fenol de algunos monoterpenos.

Fenol (patrón)	1		
Carvona	1.5		
Mentona	2.25		
Citronelal	3.8		
Mentol	4.0		
Linalool	5.0		
Citral	5.2		
Geraniol	7.1		
Timol	20.0		
		Timol	Carvacrol

El timol y el carvacrol, que están en altos porcentajes en el tomillo (*Thymus vulgaris*) todavía se usan en los preparados para gárgaras, y algunos monoterpenos de los arriba indicados son ingredientes de las pastas dentales.

El ascaridol, "aceite de pasote", es uno de los antihelmínticos más potentes, pero debido a su alta toxicidad se limitó el uso humano y se aplica más bien en veterinaria. El citronelal fue empleado como repelente hasta la aparición de productos sintéticos de mayor efectividad.

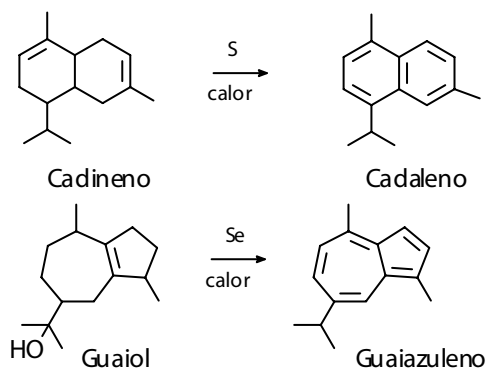
Muchos monoterpenos son irritantes de la piel (aceite alcanforado: el alcanfor es su componente principal) lo cual se aprovecha en la preparación de linimentos y a veces como cardiotónicos, o en fórmulas expectorantes, es el caso del aceite de eucalipto con cineol como componente principal y del aceite de espigas de piña con acetato de bornilo, felandrenol y limoneno. Algunos son diuréticos (por irritar el riñón) como el aceite de junípero que contiene terpinen-4-ol.

La propiedad sedante de la valeriana (*Valeriana officinalis*), del toronjil (*Melissa officinalis*) y de la lavanda (*Lavandula vera* o *L. officinalis*), es bien conocida. Varios monoterpenos actúan sobre el sistema nervioso central y entre los examinados están citral, limoneno, linalool, citronelol, citronelal, geraniol y otros, siendo el citronelal el de mayor actividad sedante.

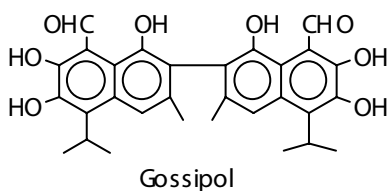
Por otro lado, numerosos monoterpenos son atractores de insectos y como se mencionó, ello juega un papel importante en la polinización y protección de las plantas.

4.8. Sesquiterpenos

Aunque los sesquiterpenos contienen sólo 15 átomos de carbono, presentan una gran diversidad esquelética como resultado de la gran facilidad de reorganizarse que tienen estas estructuras, es por ello que sólo se considerarán los más representativos y de manera esquemática para simplificar la visión global y las interrelaciones de sus esqueletos. Aunque el estudio de los sesquiterpenos comenzó a principios del siglo XIX, fue solamente en 1920 cuando se iniciaron los verdaderos progresos en este campo. En esos años Ruzicka y colaboradores prepararon una serie de hidrocarburos derivados del naftaleno, por deshidrogenación de hidrocarburos con 15 átomos de carbono, aislados de fuentes vegetales. Asimismo, durante mucho tiempo se había observado que ciertos aceites esenciales desarrollaban un color azul por tratamiento con ácidos o por calentamiento u oxidación. A estos aceites se les denominó "azulenos", presentan el esqueleto carbonado del azuleno, el cual se genera a partir de algunos sesquiterpenos.

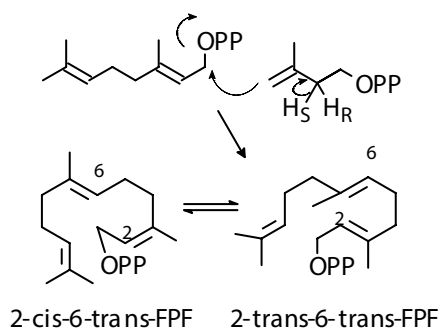


Por otra parte, hay estructuras aromáticas naturales en las cuales es difícil ubicar su origen terpenoidal. Entre ellas el gossipol, un agente anticonceptivo presente en el aceite de algodón, el cual es un dímero trifenólico cuyo monómero posee la estructura de un sesquiterpeno clásico: el cadineno.



4.8.1. Núcleos principales y su bioformación

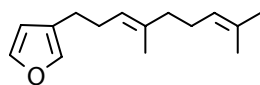
La unidad de 15 átomos de carbono: farnesilpirofosfato (FPF) se forma por condensación de una unidad de geranylpirofosfato (GPF) y una de isopentenilpirofosfato. El FPF se origina en sus dos formas isoméricas e interconvertibles en C-2 y C-6 y cada una de ellas genera a su vez, un grupo distinto de sesquiterpenos. También puede intervenir el nerilpirofosfato (NPF), como unidad de 10 átomos de carbono en cuyo caso se asume un intermedio abierto cis en C-6. Aunque la formación de ciclos presupone un doble enlace cis en el precursor acíclico, éste no es indispensable cuando los anillos que se generan son mayores de seis miembros. El doble enlace es incorporado frecuentemente en la unidad isoprenoid terminal a través de un reordenamiento alílico. A continuación se revisarán los sesquiterpenos más abundantes.



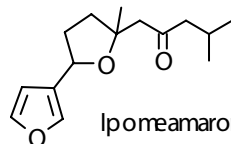
4.8.2. Farnesenos

En la naturaleza hay varios sesquiterpenos acíclicos, ellos comprenden principalmente hidrocarburos, alcoholes, ésteres, aldehídos, ..., bien sea solos o formando parte de otras estructuras como "cadenas laterales". Los primeros están representados por algunas hormonas juveniles de los insectos y por ciertos componentes de los aceites esenciales. Algunos muestran una ciclación parcial en la modalidad de heterociclo. Tal es el caso de la dendrolasina, compuesto aislado de las glándulas mandibulares de la hormiga *Lucius fuliginosus* y de la ipomeamarona, aislada de batatas infectadas con el hongo *Fusarium solani*. Los anillos furánicos, sus equivalentes reducidos y las γ -lactonas son comunes en este grupo. Hay varias citas de farnesenos de origen marino.

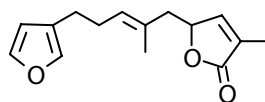
Terpenos



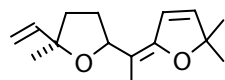
Dendrolasina



Ipomeamarona



Fr edlingite
<Stilpnophyllumlinifolium>



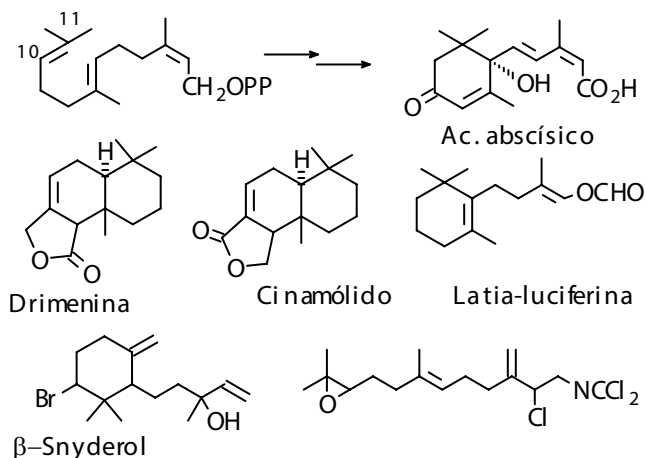
Eter davana
<Artemisia sp.>

4.8.3. Sesquiterpenos cíclicos

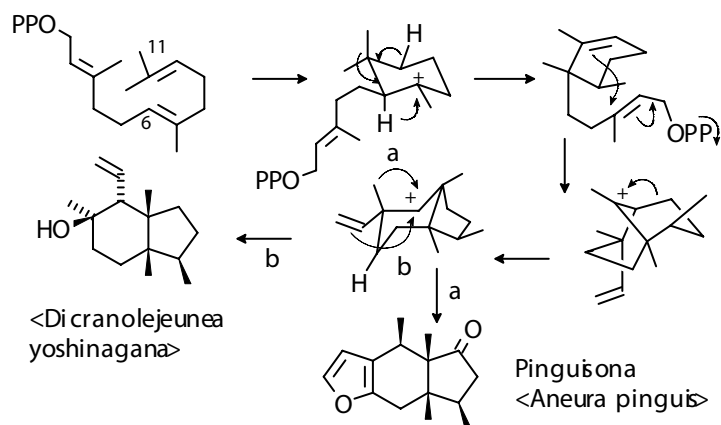
Si bien el C-1 es el centro polarizado del FPF que promueve la formación de estructuras cíclicas principales, existe un conjunto de sustancias que se genera de manera parecida a los triterpenos y tetraterpenos; es decir la ciclación se inicia por el ataque de un agente electrofílico al doble enlace C10-C11. Así las estructuras que se forman tienen parecido a los carotenoides. Dentro de este grupo se encuentra el ácido abscísico (una hormona vegetal, clasificado a veces como un carotenoide degradado) y la latia-luciferina (con 14 átomos de carbono, sustrato específico para la bioluminiscencia de ciertos moluscos de agua dulce); además de algunos compuestos bicíclicos conocidos genéricamente como cinamólidos; entre ellos el cinamólido mismo y la drimenina. Su característica estructural es la presencia del anillo 1,1,3-trimetilciclohexano que resulta como consecuencia del modo de ciclación. Estos compuestos se conocen como "ciclofarnesenos".

Los ciclofarnesenos son sustancias habituales en organismos marinos (como el β -snyderol, aislado de algas rojas) y menos frecuentemente de plantas superiores. Los halógenos son sustituyentes usuales en los terpenoides de origen marino, en los cuales también se encuentran grupos poco comunes como la dicloroimida que ocupa la posición terminal de un epoxifarneseno que se aísla de esponjas del género *Axinyssa*. Es común encontrar en los sesquiterpenos de fuentes marinas que la estereoquímica es antipodal a la forma más usual encontrada en las plantas terrestres.

En los compuestos anteriores puede apreciarse la secuencia normal de unidades de C_5 ; sin embargo, existen varias estructuras en las cuales la regla



del isopreneno es aplicable. Tal es el caso de moléculas con el esqueleto de pinguisano y relacionados, para los cuales se ha demostrado que provienen de un intermediario ciclofarnesilo que sufre varios reordenamientos poco comunes según se indica en la figura. Ello fue elucidado mediante estudios de RMN con precursores marcados con isótopos estables ^{13}C y ^2H , en cultivos de *Aneura pinguis*. Los pinguisanos se aíslan principalmente de especies del género *Porella*, hierba conocida como "hepática" por su uso tradicional como desintoxicador del hígado*.

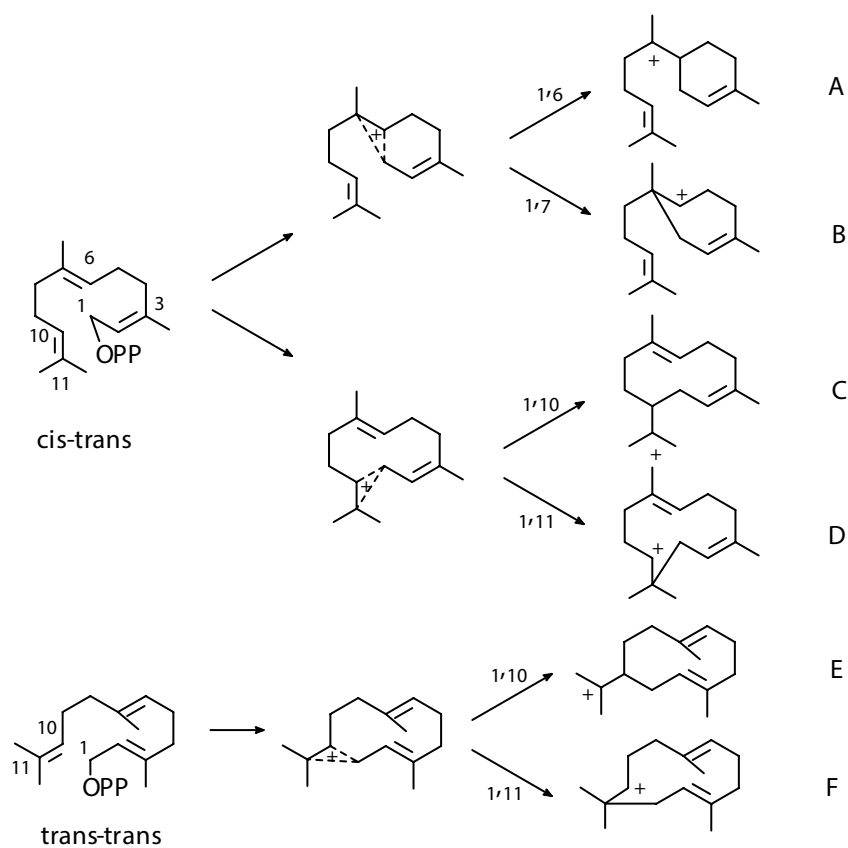


*H. Takazi, H. Soutom, T. Iwasaki, K. Nebetay, D. Arigoni, Stable isotope labelling studies on the biosynthesis of pinguisane-type sesquiterpenes in axenic culture of *Aneura pinguis*, J. Chem. Soc. Chem. Comm., 1997, 1101.

Terpenos

La ionización de C-1 en el FPF representa la situación más común para promover la formación de sesquiterpenoscíclicos, a partir de los precursores 2-cis y 2-trans- farnesilpirofosfato, según se ilustra en el cuadro 4-6. En el entendido que se trata de una representación meramente formal, pues en la mayoría de los casos son procesos enzimáticos netamente concertados, podemos agrupar los sesquiterpenos en función del catión hipotético (A a F) del cual provienen. Así, se tendrán compuestos mono-, di- y tri-cíclicos producidos mediante reordenamientos del tipo Wagner-Meerwein, migraciones (1,i) y asistencia de dobles enlaces alejados.

Cuadro 4-6. Cationes precursores de los sesquiterpenos.

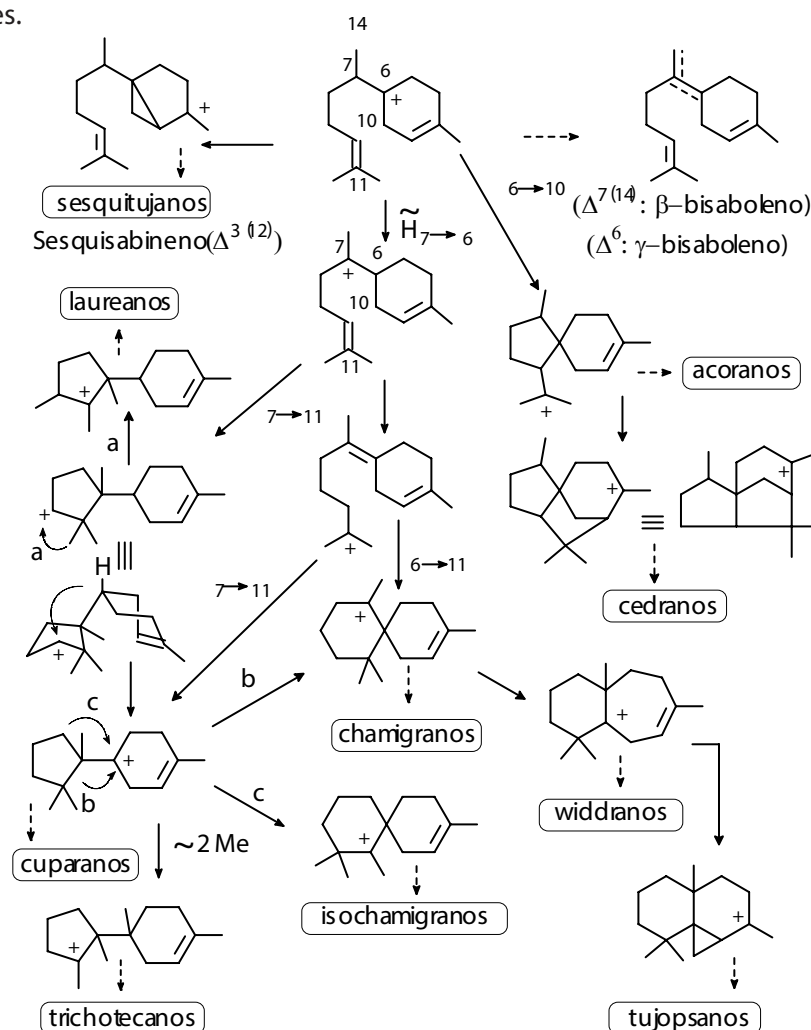


Tanto en la formación de los cationes indicados como en los esqueletos generados a partir de ellos, deben considerarse factores estéricos. Si la

ionización del C-1, alílico, del FPF implica la asistencia de un doble enlace, la cadena debe doblarse para que el enlace π asistiese superponga al catión que se genera. De esta manera el doble enlace central (trans) sólo puede hacerse eficiente en el isómero 2-cis-6-trans-FPF y formar así los iones A y B.

El catión A: "catión bisabolilo", como precursor directo, produce los núcleos derivados del bisaboleno. Los más representativos se indican en el cuadro 4-7.

Cuadro 4-7. Ciclaciones iniciadas por el catión bisabolilo y esqueletos principales.



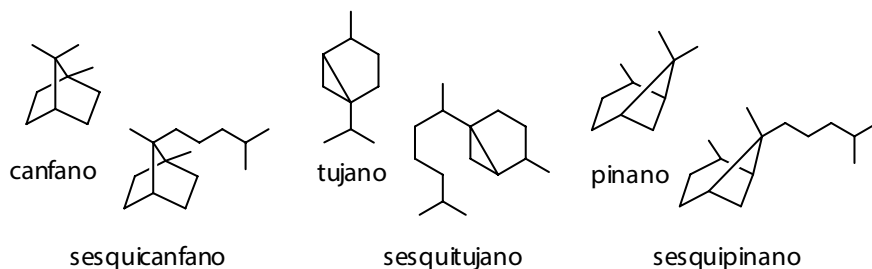
Terpenos

De la utilización del doble enlace terminal (10,11) pueden surgir los cationes C y D del 2-cis-6-trans y E y F del 2-trans-6-trans-FPF (cuadro 4-6). Nótese que el catión F, por saturación, origina la misma secuencia en la cadena carbonada que el catión D.

Las variaciones estructurales de los sesquiterpenos implican situaciones estereoquímicas particulares, algunas serán brevemente revisadas para los diferentes núcleos que se agruparán de acuerdo a su semejanza, consecuencia de las rutas que siguen para su bioformación.

Las ciclaciones posteriores tienen lugar con la asistencia del doble enlace terminal sobre el ion A mismo para formar derivados de cedranos o sobre el ion A reordenado originando derivados de cuparanos laureano (unión 7,11). A partir del catión γ -bisabolilo la unión 7,10 también origina cuparanos y los esqueletos de chamigranos y sus derivados widdranos y tujopsanos (unión 6,11). La asistencia del doble enlace endocíclico 2,3 origina derivados de sesquisabinenos conocidos como sesquitujanos.

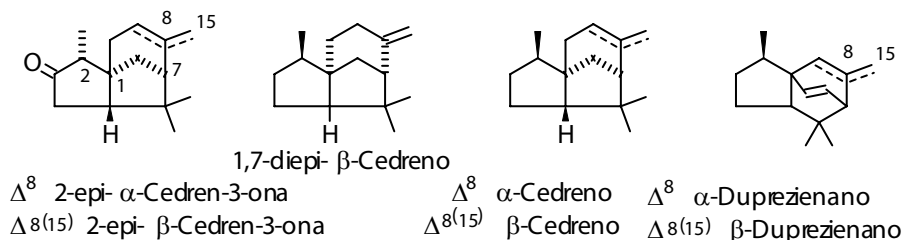
Entre los núcleos de ciertos sesquiterpenos se encuentran estructuras análogas en la serie de monoterpenos para nombrarlos se antepone el prefijo sesqui al nombre del monoterpeno al cual se relacionan. Por ejemplo, pinano y sesquipinano, canfano y sesquicanfano, etc.



Es frecuente encontrar epímeros en la unión de los anillos, en las ramificaciones y en la ubicación de doble enlace. Así en los cedranos se identifican las series: a y b (ver figura). También se han encontrado esqueletos relacionados a los cedranos como los de duprezienanos donde el grupo gemdimetilo está en un anillo de seis miembros*.

*B. Fraga, "Natural sesquiterpenoids" Nat. Prod. Rep, 16, 711, 1999.

Los últimos se encuentran en *Juniperus thurifera**.



El ent-β-cedreno (1,2,7-tri-epi-β-cedreno) se ha aislado de *Plagiomnium acutum* un líquen japonés y corresponde al primer ejemplo aislado de plantas**.

De sólo, no es fácil decidir cuáles cambios y en qué secuencia se han sucedido, por simple inspección de las estructuras. Tal es el caso de la trichotesina, un antibiótico del hongo *Trichotecium roseum*. En éste, los experimentos con mevalonato marcado sugieren la migración 1,2 de dos grupos metilo a partir de γ -bisaboleno; sin embargo, estudios biosintéticos posteriores con moléculas de doblemente marcadas con ^{14}C y T de GPF y FPF y de ácido mevalónico, excluyeron el γ -bisaboleno como intermediario directo y sugirieron que la formación del sistema bicíclico provenía de una ciclación diferente.

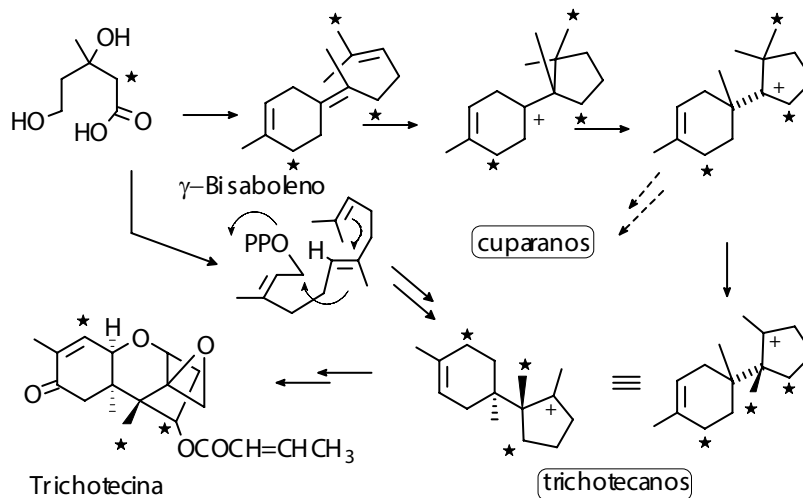
Así aunque los trichotecanos (esqueleto al cual pertenece la trichotesina) pueden formalmente generarse por migraciones 1,2 de Me y H a partir de los cupranos (conocidos también como cuprenanos), éste no es el único camino para su formación. Ello se ilustra en la siguiente figura.

El catión bisabolilo A, reordenado puede a su vez originar compuestos bicíclicos con la asistencia del doble enlace 2-3. Las estructuras que se producen son estructuralmente relacionadas a los monoterpenos del grupo α -pineno, canfeno y borneol: α -bergamoteno, canferenol, β -santaleno (y epi- β -santaleno), respectivamente.

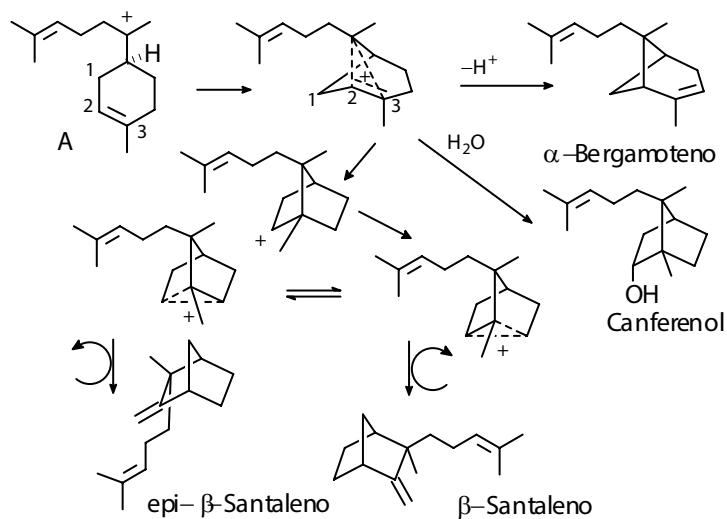
* A.F. Barero, J. Quilez del Moral y A. Lara, "Sesquiterpenes from *Juniperus thurifera* L. Stereochemistry in unusual cedrane and duprezianane series", *Tetrahedron* 56, 3717, 2000.

** M. Toyota, K. Kimura, Y. Asakawa, "Occurrence of ent-sesquiterpenes in the Japanese moss *Plagiomnium acutum* First isolation and identification of the ent-sesquiterpene and dodecalan-type diterpenoids from the musci". *Chem. Pharm. Bull. Japan*, 46, 1488, 1988.

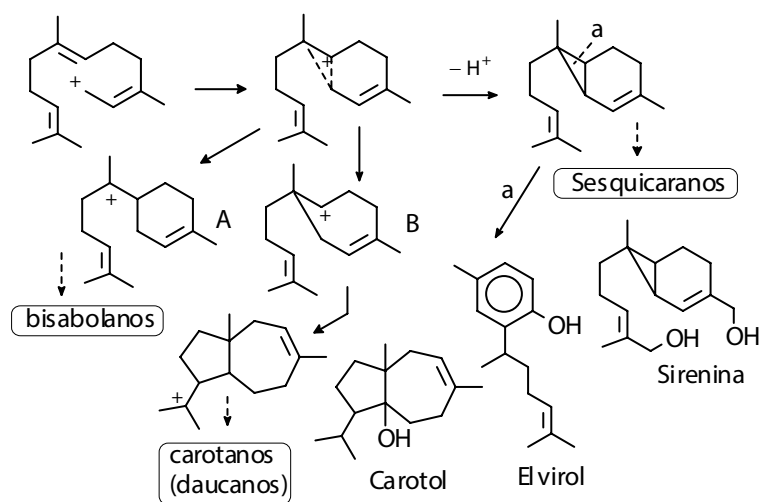
Terpenos



Su formación se ilustra en la figura a continuación. La interconversión de los núcleos es un proceso frecuente y éste se alcanza con facilidad por tratamiento con ácido de los ésteres respectivos, lo cual presupone la intervención de cationes no clásicos originados por ionización de tales derivados.



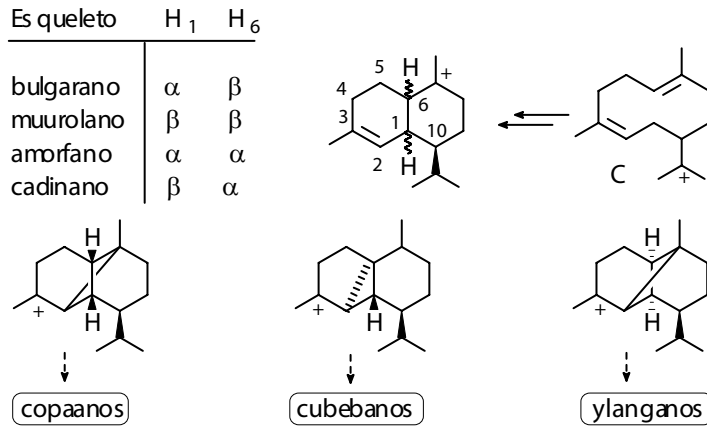
El ion B origina un grupo reducido de sesquiterpenos que presentan el esqueleto del carotano-daucano- (ver carotol). El ion A y el B pueden considerarse derivados de un ion no clásico y como consecuencia de ello la formación de esqueletos de sesquicaranos. Un ejemplo de los últimos lo constituye la sirenina, un atractor de esperma producido por los gametos femeninos de hongos acuáticos del género *Allomyces*. Se han aislado varios sesquiterpenos con este esqueleto, algunos aromáticos (elvirol) que se forman a expensas del reordenamiento del núcleo de sesquicarano.



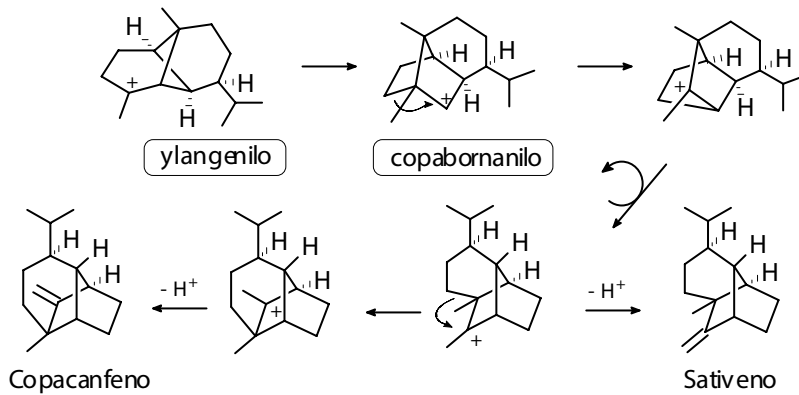
El precursor C al transformarse en la especie bicíclica, puede dar lugar a cuatro esqueletos relacionados al cadinano (representante natural de mayor abundancia), que varían en la configuración relativa de los carbonos 1 y 6 con respecto al carbono 10, según se especifica en la figura que sigue, y se los conoce como bulgaranos, muurolanos, amorfanos y cadinanos. En todos se preserva la orientación beta del grupo isopropilo. Por supuesto, que para cada uno pueden existir ambos enantiómeros y en la figura están representados los enantiómeros (-). Con el esqueleto de cadinano y muurolano se han aislado (-)- α -cadinol = (-)-cadinan-10 α -OH y (-)-T-muurolol = muurolan-1 β -OH, de las raíces de *Homalomena aromatica*, utilizadas en medicina tradicional vietnamita como tónico estomacal*. Ejemplos de estos esqueletos se representan en el hidrocarburo aromático cadaleno (Sección 4.8) y sus derivados.

*T.V. Sung, L.Kutschovbsky, A. Porzel, W. Steglich y G. Adam, Sesquiterpenes from the roots of *Homalomena aromatica*, *Phytochemistry*, 31(5), 1659, 1992.

Terpenos



Los derivados de cis-decalina pueden sufrir nuevas ciclaciones; así, el ion muurolanilo generará el esqueleto de copaanomientras que el ion amorfilo producirá su epímero en C-1 y C-6: ylangano. También se conocen compuestos provenientes de la migración de hidrógeno y ciclación como en los cubebanos que se supone provienen del muurolano. A su vez, el ion ylangenilo originará nuevos esqueletos al rearrreglarse, por ejemplo al ion copabornilo, el cual puede originar copacanfeno y/o sativeno. Estos reordenamientos son muy frecuentes y pueden suceder aún durante el manipuleo en la fase de extracción.

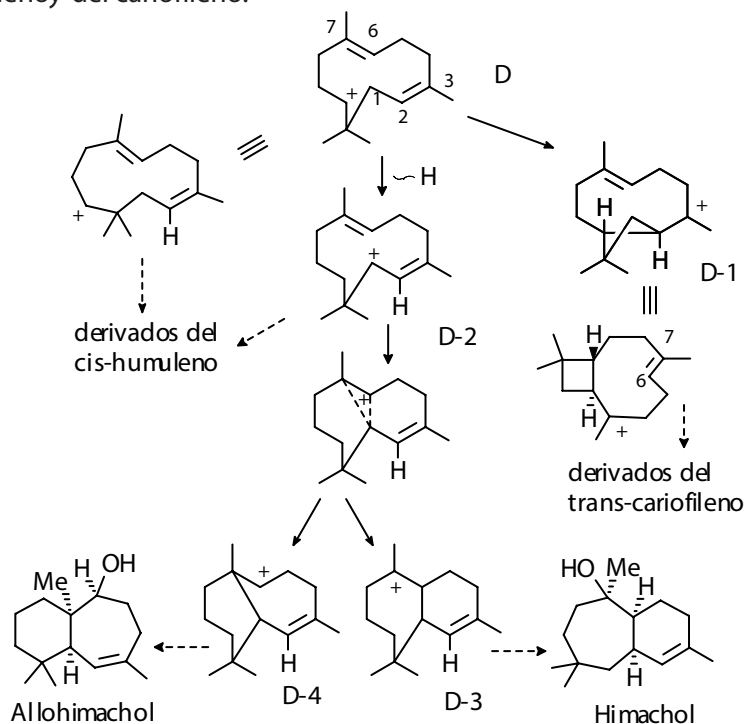


Estos compuestos forman parte de los aceites esenciales de muchas plantas aromáticas y de ellos se demuestra la capacidad atractora de insectos.

El orden de actividad frente a moscas de la fruta (*Ceratitis capitata*) es α -copaen α > α -ylangeno > β -copaeno > β -ylangeno, todos aislados de *Angelica arcangelica*, utilizada en infusiones como tónico, tratamiento de flatulencias, catarros bronquiales y otros. El aceite es usado en perfumería.

Nota: los prefijos α y β se refieren a la ubicación endocíclica y exocíclica, respectivamente del doble enlace*.

En el catión D se observa hechos interesantes los dobles enlaces no están muy próximos para la ciclación interna y por ello uno de los hidrógenos en C-1 debe ubicarse dentro del anillo. El catión D puede saturarse y/o neutralizarse con la pérdida de un protón y generar estructuras como la del humuleno del cariofileno.

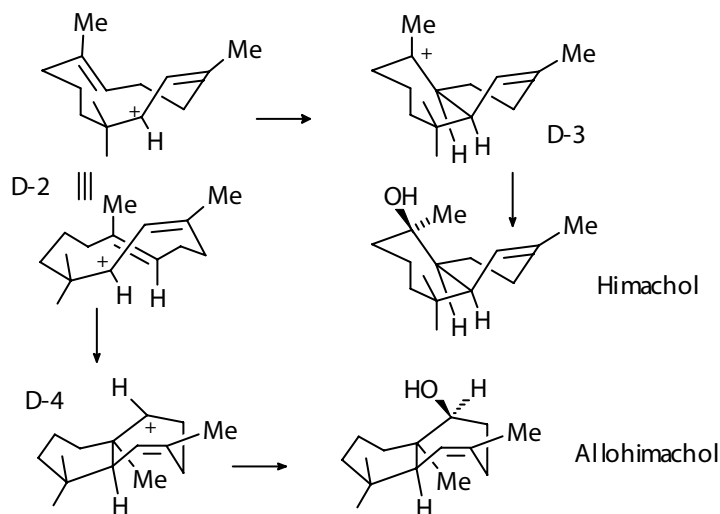


*a) R.A. Flath, R.T. Cunningham, R.T. Mon y J.B. John, «Male lures for mediterranean fruitfly *Ceratitis capitata*. Structural analogs of α -copaene», *J. Chem. Ecology*, 20, 1969, 1994, *ibid*, 20, 1595, 1994.

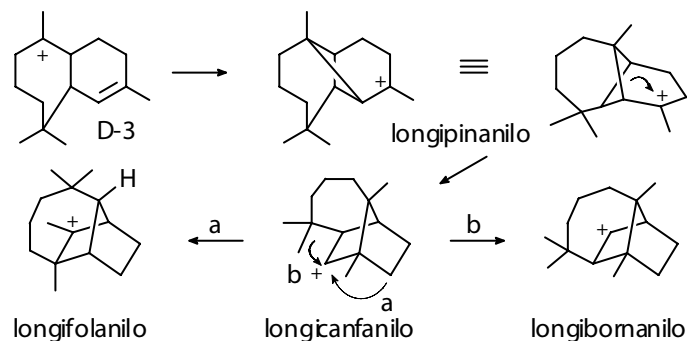
b) R. Nishida, T.E. Shelly, T.S. Whittier y K.Y. Kaneshiro, « α -Copaene, a potential rendezvous cue for the mediterranean fruitfly *Ceratitis capitata*», *J. Chem. Ecology*, 26, 87, 2000.

Terpenos

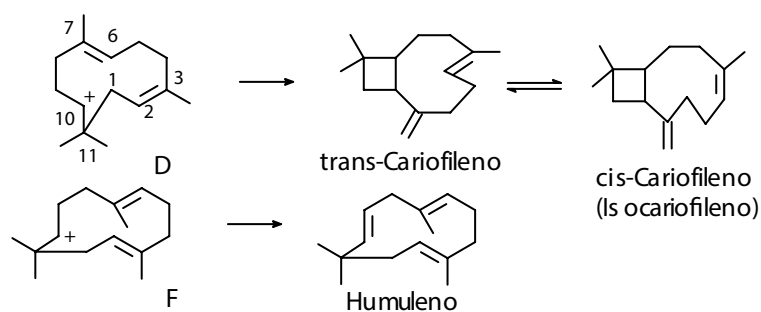
Para el último la asistencia del doble enlace cis 2,3 origina un anillo de cuatro miembros fusionado trans y mantiene el doble enlace trans 6,7 (catión D-1). Si tiene lugar la migración 1,3 del hidrógeno en C-1, se formará un nuevo catión D-2 el cual podrá estar asistido por el enlace p 6,7 y formar D-3 y D-4. El catión D-3 tendrá una unión cis de los anillos y ello se justifica si D-2 se dispone de la manera menos estéricamente impedida. Nótese que el compuesto representante himachol, tiene el OH en C-7 trans a la fusión de los anillos. Esta relación estérica no es la esperada de un proceso concertado, por lo cual se propone que la conversión debe proceder a través de una adición totalmentecis desde D-2 hasta himachol (o totalmenteanti desde el isómero 6,7-cis del catión D-2). La misma situación se registra en la formación del allohimachol a partir del catión D-4, y probablemente, ambas reflejen el resultado de las interacciones estéricas durante la aproximación del nucleófilo: agua, que satura los cationes respectivos



En analogía a los anteriores, la asistencia del doble enlace 2,3 al centro catiónico D-3 (el mismo que genera himachol, ver arriba), origina compuestos tricíclicos con el esqueleto de longipinano, longibornano, longicanfanoy longifolano. El longifoleno, que corresponde a la olefina exocíclica formada a partir del catión longifolanilo es el hidrocarburo típico de la resina de los pinos.



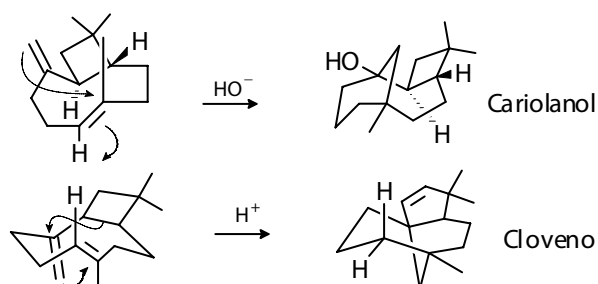
Como se indicó arriba, el trans-trans- y el cis-trans-FPF al ciclar, producen los cationes F y D, respectivamente que se saturan formando derivados del humuleno y cariofileno. Sin embargo, en el humuleno todos los dobles enlaces son trans (catión F), mientras que para producir el cariofileno el doble enlace 2,3 debe ser cis (catión D). Los hidrocarburos co-ocurren en el aceite de clavo (*Eugenia caryophyllata*); de ellos se dice que incrementan la actividad S-glutation transferasa, que interviene en el mecanismo de desintoxicación causada por agentes químicos carcinogénicos. Para otros isómeros del cariofileno, por ejemplo el isocariofileno cuyo doble enlace 6,7 es cis, se puede sugerir que provienen del FPF- cis-6,7 o simplemente que son artificios productos de la isomerización trans \rightleftharpoons cis, durante el proceso de aislamiento.



La interconversión de los núcleos a través de ciclaciones trans-anulares ocurre a veces bajo condiciones muy suaves y es por ello la dificultad

Terpenos

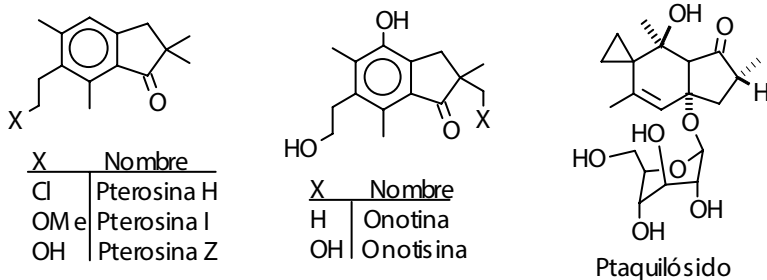
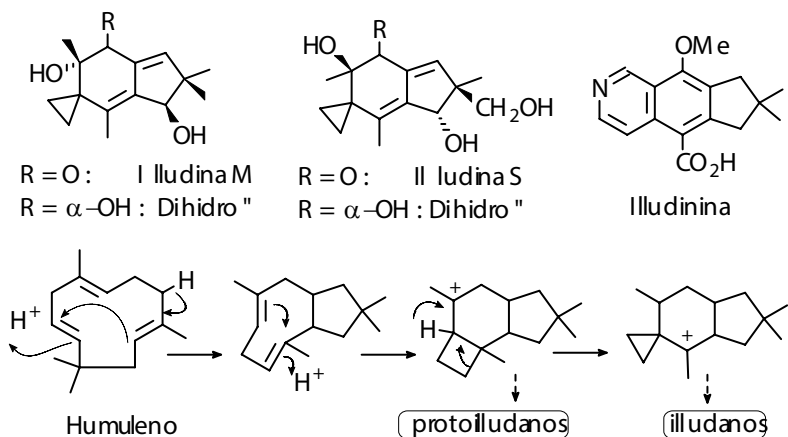
para el aislamiento de compuestos puros. Los productos de tales interconversiones dependen de las diferentes conformaciones que adopta el sustrato, especialmente si su estructura presenta un anillo macrocíclico. Ello se ilustra en la obtención del cariolanol y del cloveno a partir de dos conformaciones diferentes del cariofileno.



La flexibilidad del macrociclo humulenol permite la formación de estructuras con anillos pequeños (3 y 4 miembros) y un ejemplo clásico lo constituye la illudina y sus análogos, que se aíslan de los hongos bioluminiscentes *Clitocybe illudens* y *Lampteromyces japonicus* (muy tóxicos, han causado accidentes lamentables al ingerirlos por equivocación). La illudina-S tiene propiedades antimicrobianas y antitumorales. Algunos illudanos sufren ruptura del anillo de tres miembros y aromatización lo que origina núcleos de pterosina y onotina, encontrados en helechos. Un compuesto particularmente interesante es el ptaquilósido: un glicósido cuya aglicona pertenece a los nor-illudanos. El ptaquilósido (carcinogénico) es un componente mayoritario de los sesquiterpenos glicosidados aislados del helecho *Pteridium aquilinum*. El compuesto se acumula en la leche del ganado vacuno que lo consume como forraje y se le atribuye la frecuencia anormal de cáncer humano en las zonas donde abunda la planta*.

Congéneres muy conocidos de las illudinas son los ácidos marásmico e hirsútico, aislados de hongos: *Marasmius conigenus* y *Stereum hirsutum*, respectivamente. Ambos presentan propiedades antibióticas.

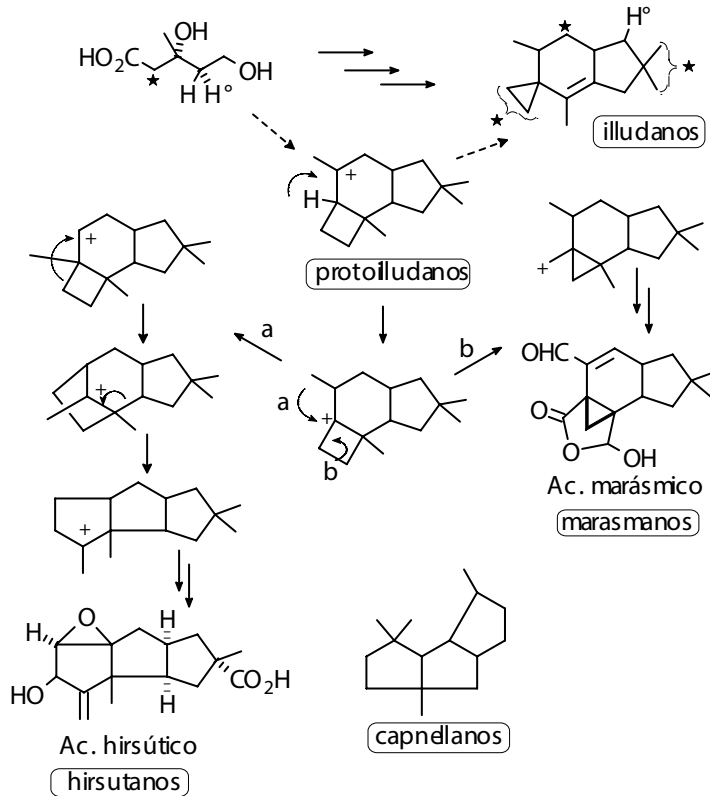
*M.E. Alonso-Amelot, U. Castillo, B.L. Smith, y D.R. Bracken, "Ptaquiloside in milk", *Nature*, 382, 578, 1996.



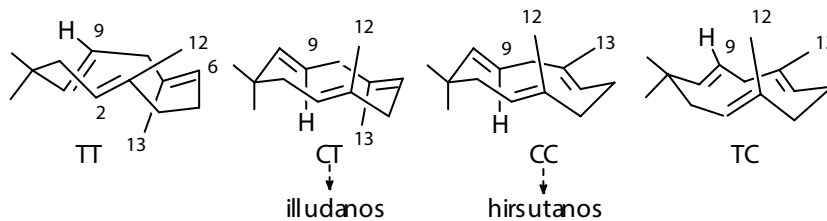
Para la illudina se demostró su origen terpenoidal mediante mevalonatomarcado. Para explicar la retención de sólo un H del total de los originalmente marcados se asume un reordenamiento del esqueleto de humuleno que pasa a protoilludanos e illudanos, con lo cual se pierden parte de los hidrógenos marcados. Análogos son los esqueletos de capnellano que se encuentran en compuestos aislados de un coral blando *Capnella imbricata*.

Los modelos moleculares del humuleno indican que los planos nodales de los tres dobles enlaces trans son perpendiculares al plano molecular promedio.

Terpenos

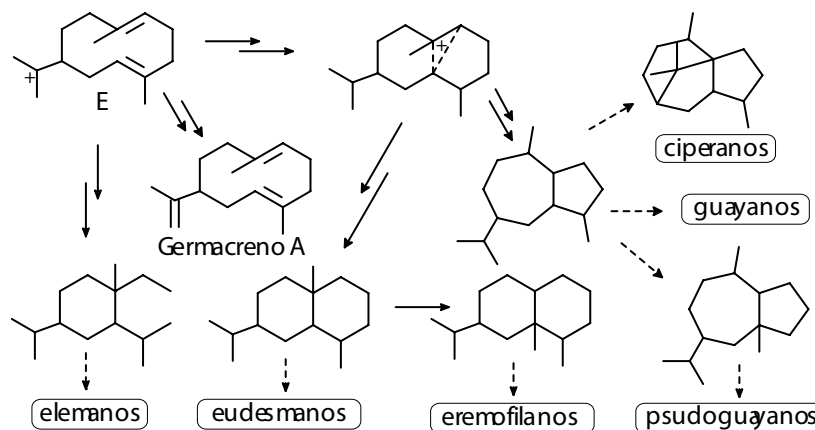


y de acuerdo a cálculos teóricos, las conformaciones más estables son la $\text{C}\bar{\text{Y}}$ CC ; éstas son las precursoras de illudanos e hirsutanos, respectivamente. Las letras C y T denotan un arreglo cruzado y un arreglo paralelo, respectivamente, de los dobles enlaces 9,10 y 2,3 para la primera letra y la relación del arreglo de los dobles enlaces 2,3 y 6,7 para la segunda.



En el catión trans E los dobles enlaces están muy cercanos y en contraste con D, no hay interferencia del hidrógeno interno en C-1. La saturación del catión produce esqueletos monocíclicos como el del germacranol (véase por ejemplo, el germacreno-A).

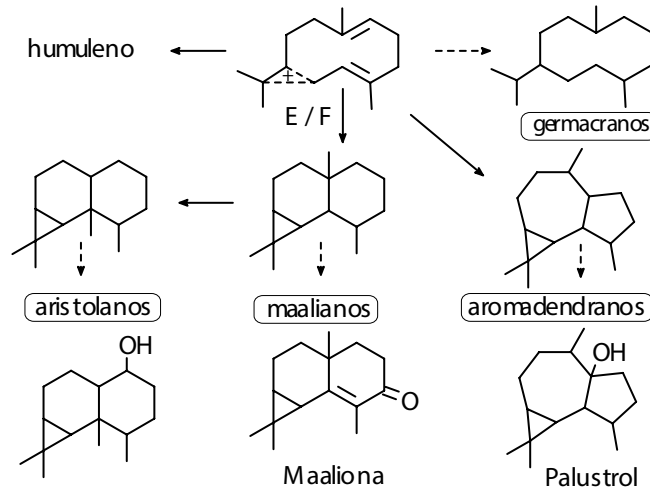
La flexibilidad del macrociclo permite la formación de dos núcleos muy frecuentes: del eudesmano con fusión trans de los anillos en un sistema decalínico y del guayano con fusión cis con un anillo de 5 y otro de 7 miembros; y junto con ellos los biogénicamente relacionados: eremofilanos y pseudoguayanos (por migración de metilos). El núcleo monocíclico de elemano se forma por reordenamiento de Cope.



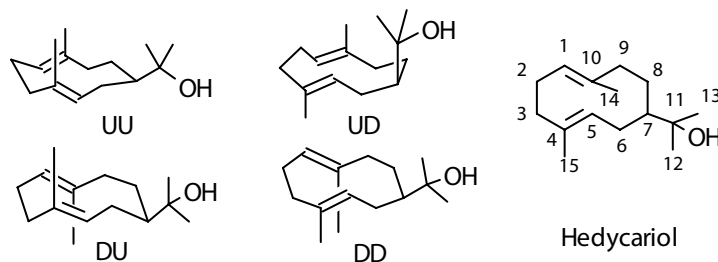
Si consideramos la existencia de un equilibrio entre los cationes E y F, se originan nuevos esqueletos: maalianos, aristolanos y aromadendranos, provenientes del ion no clásico que involucra C-1, C-10 y C-11. La formación de compuestos tricíclicos procede como en los casos anteriores y ello se ilustra con el esqueleto de ciperanos. En este grupo son frecuentes los derivados lactónicos. Con el esqueleto del aromadendrano se aísla el palustrol, del invertebrado marino *Ledum palustre*.

Al igual que los humulenos, los germacranos pueden existir en varias configuraciones: EE, ZE, EZ y ZZ, y para cada una se han determinado conformaciones preferentes. Así se encuentran las conformaciones

Terpenos



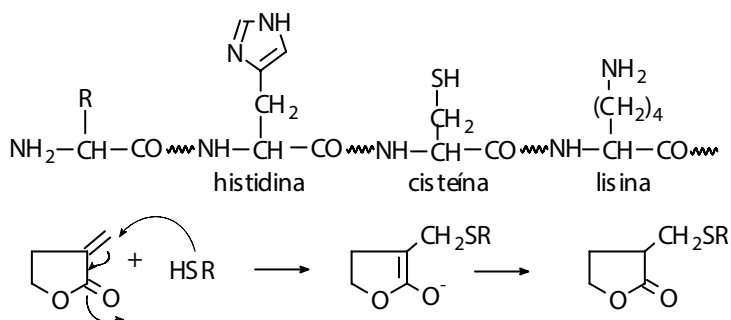
interconvertibles UU, UD, DU y DD, que señalan la orientación de los metilos 14 y 15 (U -up-: arriba y D -down-: debajo) con respecto al plano de la molécula, como se indica para hedyariol (configuración EE). Las conformaciones más estables (determinado por estudios de RMN) presentan el sustituyente en C-7 en posición pseudo-ecuatorial. Los conformeros UU son los preferidos para la configuración EE del germacreno, mientras que los DU y UD son típicas para los melampólidos (ZE-germacreno) y heliangólidos (EZ-germacreno)*.



*A.J. Minnaard, J.P.B.A. Wijnberg y A deGroot, "The synthesis of germacranes sesquiterpenes and related compounds" *Tetrahedron* 55, 2115, 1999.

4.8.4. Lactonas sesquiterpénicas

Muchos sesquiterpenos presentan diversas actividades biológicas que parecen asociarse a una estructura parcial común: una γ -lactona α, β -insaturada, o más estrictamente: una α -metileno- γ -lactona. A unqueno se conoce bien la relación existente entre la estructura química y actividad biológica de estos metabolitos, se presume que el mecanismo operante es el ataque nucleofílico de ciertos centros activos de las proteínas sobre el sistema α -metileno- γ -lactona en una reacción del tipo Michael. Los centros nucleofílicos principales de una cadena proteica son grupos amino, imidazol y tiol, según se indica en el esquema, siendo los últimos los más reactivos.

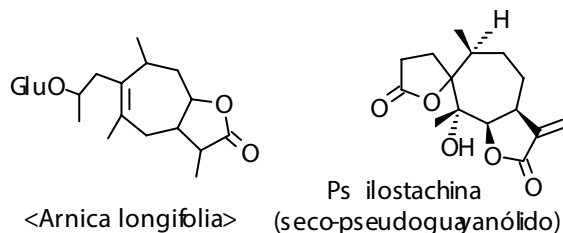


El anillo lactónico se encuentra en varias familias de sesquiterpenos y por ello se nombran utilizando la nomenclatura del esqueleto seguido del sufijo "ólido" que indica el grupo lactónico. Por ejemplo, la vernolepina es un elemanólido y la elefantopina es un germacranólido. En general, en un mismo esqueleto, el anillo lactónico puede unirse al menos de dos maneras diferentes, como consecuencia de la alta oxigenación de estas moléculas. A algunas aparecen glicosidas como los guayanólidos aislados de *Arnica longifolia**. A veces se presentan varios anillos lactónicos; los éteres y epóxidos son también frecuentes. Otras modificaciones suelen ocurrir sobre los esqueletos básicos, por ejemplo la psilostachina que puede considerarse como un guayanólido modificado en el anillo A (un seco-pseudoguayanólido).

Nota. El término "butenólido" identifica lactonas α, β -insaturadas derivadas del ácido 4-hidroxi-butanoico.

*C. M. Passreiter, M. De Carlo y A. Steigel, "Sesquiterpenelactone glycosides from *Arnica longifolia*, *Planta Medica*, 65, 153, 1999.

Terpenos



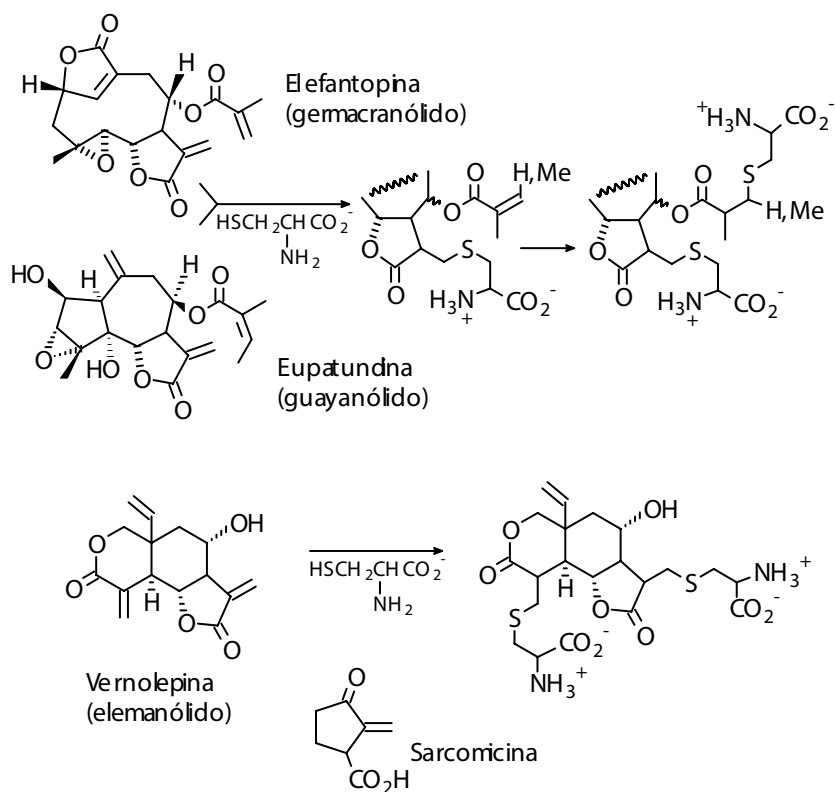
La familia Compuestases particularmenterica en estas moléculas que en general, son lo suficientemente polares para no ser aislables con éter de petróleo;son ademásinsolubles en agua y se las obtienefrecuentementepor extracción continua con cloroformo. Como indicio de la presencia de estos compuestos en los extractos crudos se utiliza la información de los espectros de IR: la absorción característica de las γ -lactonas saturadas a 1790 cm^{-1} y de los butenólidos a 1750 cm^{-1} . Las lactonas insaturadas exhiben además bandas correspondientes al metilenoexocíclico, cuando está presente, a 1660 , 1450 , 960 y 890 cm^{-1} . El cromóforo de los derivados saturados no muestran absorción a longitudes de onda mayores de 200 nm , mientras que en las insaturadas el máximo se registra a 225 nm ($E= 14.000 - 5.000$).

Son compuestos amargos y difíciles de saponificar y se los caracteriza por la coloración púrpura que se manifiesta con la formación de hidroxamatos férricos: reacción de hidroxamato para ésteres y lactonas. La reacción consiste en mezclar unos miligramos del crudo con una solución 2N de clorhidrato de hidroxilamina en MeOH y una solución 2N de KOH en MeOH, se calienta hasta ebullición y después de enfriar se añaden gotas de cloruro férrico al 1.%. La prueba de Legal da una coloración rosa para las lactonas insaturadas: unos miligramos de crudo se disuelven en 2-3 gotas de piridina y se añade una gota de solución fresca de nitroprusiato de sodio 0.5 % y 4 gotas de NaOH 2N.

4.8.4.1. Actividad biológica

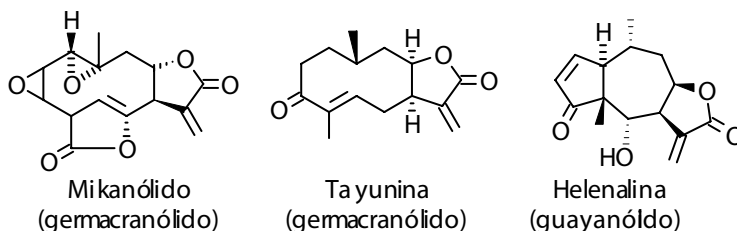
Como se mencionó, estos compuestos presentan diferentes acciones fisiológicas y se tratará de dar una visión global resumida, de las principales propiedades.

Actividad antitumoral (anticancerígena, antineoplásica) y citotóxica. Está relacionada a la capacidad de formar aductos Michael y se la mide en función de la velocidad de reacción con cisteína. A sí por ejemplo, elefantopina (aislada de *Elephantopus elatus*), un germacranólido, reacciona con la misma velocidad (a pesar de poseer dos sistemas "olidos") que eupatundina, un guayanólido; ello se interpreta como el resultado de la baja capacidad de la lactona endocíclica para interactuar con el nucleófilo. Ambos son cinco veces menos activos que el elemanólido vernolepina, aislada de *Vernonia hymenolepis*, el cual también actúa como fitotoxina. (Algunas estructuras análogas pero no relacionadas a sesquiterpenos como la sarkomicina, producida por microorganismos, también poseen cierta actividad antitumoral). La presencia de grupos polares como epóxidos, carboxilatos, hidroxilos, acetoxilos, carbonilos α, β -insaturados, aumenta la efectividad de estas moléculas.

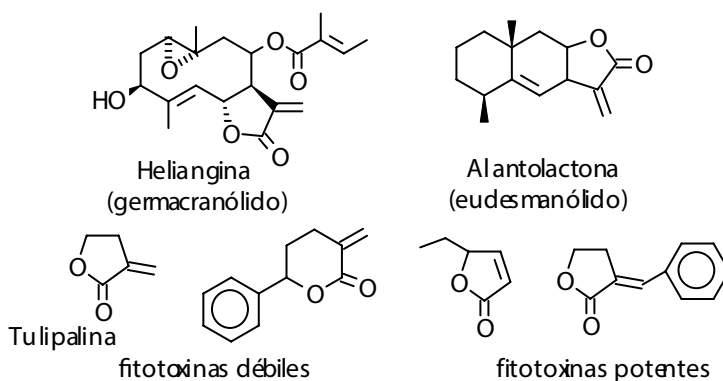


Terpenos

Actividad antimicrobiana, antibacteriana y fungicida. En este grupo se encuentran los germacranólidos: mikanólido aislado de *Mikania monagensis* y tayunina (de *Inula viscosa*) y el pseudoguayanólido aislado de especies de *Helenium*, helenalina.



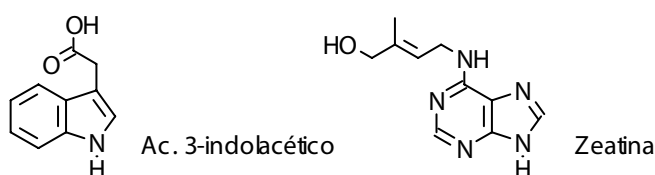
Actividad fitotóxica. El crecimiento de ciertos vegetales es detenido por principios fitotóxicos como por ejemplo la heliangina, un germacranólido aislado de *Helianthus tuberosus* que en concentraciones del orden de 10^{-3} mmol/ml inhibe el crecimiento de las plantas jóvenes de arroz (*Oryza sativa*). Por su parte, la alantolactona, eudesmanólido (de *Inula* sp.) es un retardador potente de la germinación de las semillas y del crecimiento de los retoños. Se supone que su actividad es consecuencia de la inhibición que ejerce sobre la amilasa y la proteasa. Existen varios compuestos que exhiben fitotoxicidad como los indicados y ésta se anula por acción de la cisteína.



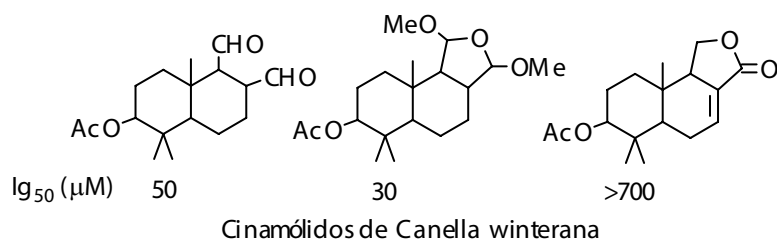
Nota: Se conoce como fitohormonas aquellas sustancias reguladoras del crecimiento de las plantas. Con esta característica se han estudiado en detalle, varios compuestos nuevos y se utilizan en la actualidad como:

Fitoquímica Orgánica

1. Estimulantes del crecimiento mediante elongación celular; se las conoce como auxinas y ejemplo de ellas son el ácido 3-indolacético y las gibberelinas.
2. Estimulantes del crecimiento mediante división celular, mitosis; se las conoce como citoquininas, por ejemplo la zeatina, que se aísla del maíz.
3. Inhibidores del crecimiento, como el ácido abscísico.
4. Promotores de la abscisión (maduración y envejecimiento), tal es el caso del etileno



Algunos cinamólidos presentan actividad inhibitoria del crecimiento vegetal como los aislados de *Canella winterana* y se atribuye la actividad fitotóxica a la presencia del grupo 1,12 dialdehído. En la lactona desaparece la actividad, pero se mantiene en el diacetal interno lo que sugiere que tal grupo actúa enmascarando el dialdehído*.



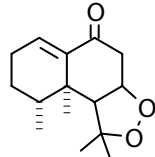
Actividad antimalárica. Se conocen varias estructuras con el esqueleto del aristolano (nardosina) y guayano (nardoperóxido e isonardoperóxido) que se aíslan de *Nardotachys chinensis*, activas contra *Plasmodium***.

*B. Ying, G.O. Peiser, Y. Yi, K. Mathias, Y. Huang, "Structure-activity relationships of phytotoxic terpenoids from *Canella winterana*", J. Agric. Food Chem. 43, 826, 1995.

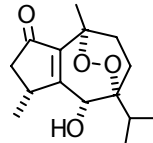
**T. Takaga, N. Ikemoto, Y. Wataya y Y. Oshima, "Novel antimalarial guayano-type sesquiterpenoids from *Nardotachys chinensis*". Tetrahedron Letters, 39, 1361, 1998.

Terpenos

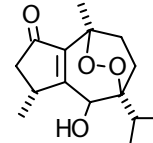
En ellas el grupo peróxido parece ser responsable de la actividad



Nardosina

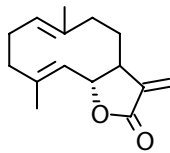


Nardoperóxido

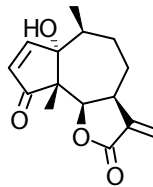


Isonardoperóxido

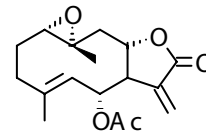
Actividad alérgica. Se ha demostrado que los sesquiterpenos lactónicos de las Compuestas, Lauráceas, Magnoliáceas y algunas especies del moho *Frullaria* (Jubuláceas), son frecuentemente responsables de dermatitis o de inflamaciones alérgicas, como en el caso del costunólido (aislado de *Laurus nobilis*: laurel) que es usado como materia prima en perfumería, de la partenina, compuesto muy agresivo presente en la "escoba amarga" (*Parthenium hysterophorus*) y de la piretosina que fue aislado de especies de *Chrysanthemum*



Costunólido
(gemacranólido)

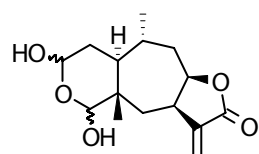


Partenina
(pseudoguayanólido)

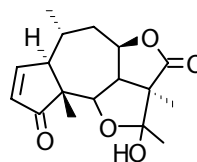


Piretosina
(gemacranólido)

Venenos de ganado. Se conocen muchos casos de envenenamiento del ganado producido por la ingestión de ciertos forrajes. Frecuentemente las plantas de la familia Compuestas son las responsables. Se cree que al menos en parte, las lactonas sesquiterpénicas presentes en las especies de esta familia alteran la composición microbiana de la panza, afectando así la función digestiva. Entre tales compuestos tenemos himenoxina (de *Hymenoxys odorata*) y tenulina (de *Helenium amarum*) que proporcionan sabor amargo a la leche de las vacas que ingieren la planta.



Himenoxina
(seco-pseudoguyanólido)

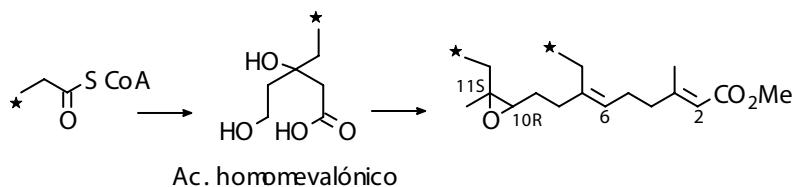


Tenulina
(pseudoguyanólido)

4.8.5. Hormonas juveniles

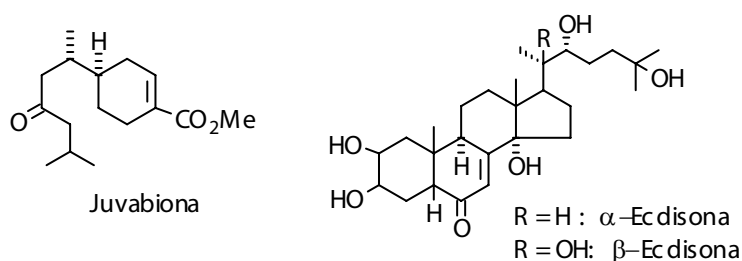
Entre las hormonas de los invertebrados, aquellas de los insectos están bastante estudiadas. Ellas intervienen en el fenómeno de la metamorfosis: larva \square pupa \square adulto, y todo está controlado por dos tipos de hormonas: una estimulante conocida como hormona de muda o ecdisona (ecdysis = muda) y otra que detiene el desarrollo, conocida como hormona juvenil: HJ. El mecanismo global viene controlado por el cerebro que envía señales al cuerpo allata, el cual segrega HJ que actúa como preservador del estadio larval, y al mismo tiempo y a través de una hormona adeno-trópica (una proteína), activa la glándula protórax que secreta ecdisona la cual provoca el desarrollo del estadio larval a pupa y a adulto. La HJ es importante no sólo en la etapa del desarrollo de las larvas sino también en el adulto, ya que funciona como hormona gonadotrófica sobre la maduración de los huevos.

La primera HJ fue aislada por Roller en 1967 (300 mg) a partir de *Hyalophora cecropia*, una mariposa. Su estructura fue propuesta como trans,trans,cis-10-epoxi-7-etil-1,3,11-dimetil-2,6-tridecanoato de metilo y confirmada a través de la síntesis de los 8 isómeros posibles. Este compuesto difiere en dos grupos etilo del esqueleto de farnesilo. Se ha demostrado mediante experimentos de marcaje, que en su biosíntesis interviene el precursor propionato en lugar del acetato, éste actúa como elongador de la cadena, produciendo así el ácido homomevalónico.



Terpenos

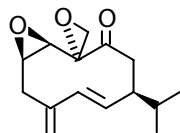
El descubrimiento de otra hormona: la juvabiona fue un asunto curioso. Slams y Williams observaron que la larva de *Pyrrhocoris apterus* (un chinche de monte) no mudaba cuando se criaba sobre un papel determinado. Creyeron que tal papel contenía alguna sustancia que inhibía la metamorfosis y lo llamaron "factor papel". Después de haber sometido varios tipos de papeles a ensayo, se determinó que el papel proveniente de un árbol canadiense (*Abies balsamea* L.) era el responsable. De este árbol se aisló el principio activo: la juvabiona. Entre las hormonas de muda existen varias conocidas genéricamente como ecdisonas, presentan un esqueleto esteroide, un diol 2,3 y otras funciones oxigenadas. Butenandt y Karlson aislaron 25 mg del principio activo a partir de 500 kg de gusano de seda y lo identificaron como una mezcla de α y β -ecdisonas. Las ecdisonas también se han aislado de plantas, pero su función en ellas no está clara.



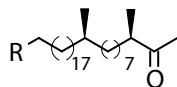
4.8.6. Feromonas

Son sustancias que miden las correlaciones humorales entre individuos de una misma especie y se las conoce como feromonas sexuales, de alarma, etc. Hay varias estructuras asociadas con estos compuestos. Los estudios estructurales de la feromona sexual excretada por cucarachas americanas (*Periplaneta americana*) fueron iniciados por Jacobson en 1963, quien presentó una estructura relacionada al ácido crisantémico. Esta fue rechazada por Day y Whiting al año siguiente, gracias a que el producto sintético correspondiente a la estructura propuesta, no mostraba actividad biológica. En 1976 Person, et al. aislaron 200 mg de la feromona a partir de 75.000 cucarachas hembras y propusieron una nueva estructura con el núcleo del germacrano para la periplanona B. La estereoquímica de la misma fue establecida 3 años más tarde por Still y colaboradores a través de la síntesis de tres estereoisómeros y ensayos de actividad. La síntesis total estereoespecífica se cumplió, junto

con la de otros germacrano, en 1984. La feromona sexual de otra cucaracha (*Blattella germanica*) es una cetona alifática de cadena larga, mientras que la feromona de la mosca doméstica es (Z)-9-trieicoseno.

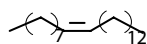


Periplanona B



R = H, OH

<Blattella germanica>



< Musca domestica >

Entre las feromonas de alarma se encuentran estructuras de tipo del farneseno, por lo menos en aquellas del pulgón de las plantas, y es necesaria la presencia de dobles enlaces para que tengan actividad. Esto fue demostrado sintetizando y midiendo el efecto de varios compuestos análogos lo que permitió deducir la importancia de ciertos parámetros estructurales, como un doble enlace en C-2, un doble enlace trans 6,7, ó al menos, una conformación anti de la cadena saturada, y un doble enlace trans al final de la cadena. En el cuadro 4-8 se ilustran ejemplos de estructura- actividad de diferentes compuestos análogos.

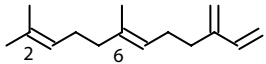
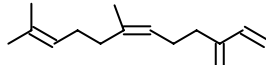
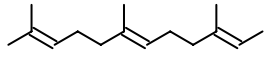
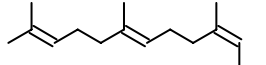
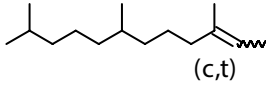
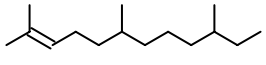
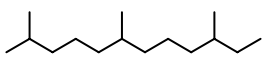
La "sustancia de la reina" es una de las feromonas más estudiadas, uno de sus componentes aparentemente el activo, es el ácido 9-oxo-2-decenoico que es liberado por las glándulas mandibulares de la abeja reina y actúa impidiendo a las obreras criar larvas que pudieran convertirse en reinas y atrofiando los ovarios de las obreras, de modo que la postura de huevos está impedida. Funciona además como atrayente sexual.

A diario se encuentran en la literatura un mayor número de nuevas estructuras que incluyen nuevos núcleos sesquiterpénicos producidos por reordenamientos, bien sea provocados intencionalmente, o provenientes de fuentes naturales.

La facilidad de interconversión de estos núcleos es notoria, por lo que es probable que su origen sea consecuencia de los métodos de manipuleo durante la extracción o purificación o aún que resulte de sistemas enzimáticos "alterados" por la presencia de factores exógenos al organismo productor

Terpenos

Cuadro 4-8. Compuestos con actividad feromonal

Compuesto	E_D (10^{-9} g) para <i>Schizaphis graminum</i>
	0,05
	no tiene efecto
	2 - 20
	2 - 20
	10 - 20
	200 - 500
	no tiene efecto

4.9. Diterpenos

Son biosintetizados por ciclaciones progresivas del geranilgeranilpirofosfato:GGPF. Este esqueleto aparece en el fitol, el cual ocurre abundantemente en las plantas conformando la parte lipofílica de la clorofila. En las diferentes etapas de la ciclación pueden ocurrir reordenamientos Wagner-Meerwein, que conducen a la contracción y a la expansión de anillos, rearrreglos de intermediarios, movimientos de carbono e hidrógeno, oxidaciones, oxigenaciones y otros. Los diterpenos se han aislado principalmente de vegetales superiores, algunos diterpenos acíclicos se encuentran como constituyentes de aceites esenciales, por ejemplo el geranilgeraniol en el aceite de linaza, el isofitol y el geranil-linalool en el aceite de jazmín. En insectos el geranilcitronelol es parte de la feromona de apareamiento de los abejorros. También hay algunos representantes en fuentes marinas y en microorganismos.

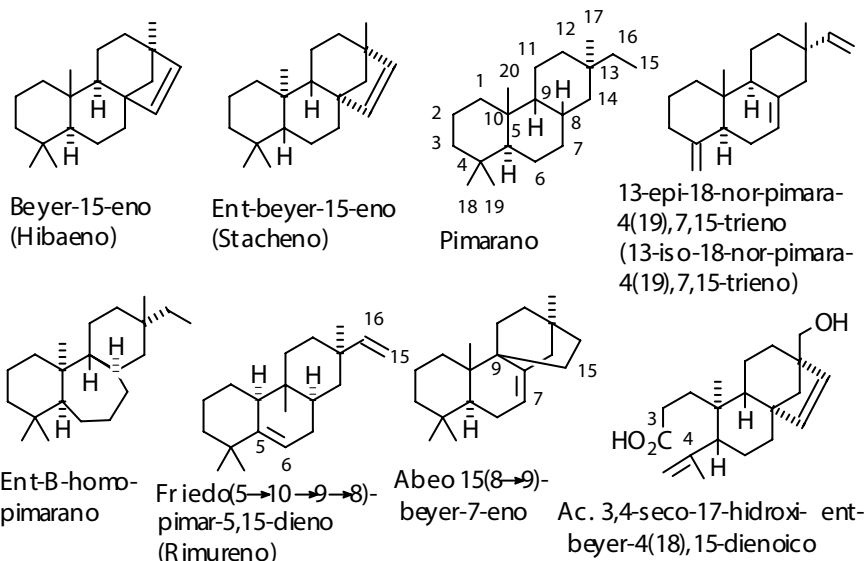
A principios del siglo XX su estudio se dirigió a "las resinas ácidas" (los exudados resinosos de ciertos árboles presentan un alto contenido de ácidos diterpénicos). Debido a la facilidad de isomerización con la consecuente dificultad para conseguir productos puros, los trabajos químicos pioneros fueron ejecutados en su mayoría con mezclas o partiendo de estructuras equivocadas. El desarrollo de los métodos cromatográficos y espectroscópicos permitió la identificación inequívoca de muchas estructuras.

Probablemente de éstas, las más importantes son las gibberellinas por su acción auxínica; también se encuentran varios antibióticos, antineoplásicos, venenos de ganados y componentes de perfumería. Las Coníferas son particularmente ricas en diterpenos y de ellas se han aislado una gran variedad de esqueletos.

El rápido progreso en la química de diterpenos condujo a una proliferación de nombres comunes, difícilmente asociados con las estructuras y que fueron asignados de acuerdo al origen botánico o por simple capricho. Ello promovió la sistematización de acuerdo a las reglas de Rowe en 1968, que son prácticamente seguidas por los autores que trabajan en este campo. Estas reglas se basan en los esqueletos resultantes de las ciclaciones primarias del precursor y sólo son usadas para simplificar la nomenclatura que se le asignaría a un compuesto dado, según la IUPAC. En las reglas de Rowe se preservan nombres "triviales" de los esqueletos de acuerdo al ordenamiento de sus átomos.

Las variaciones estereoquímicas son indicadas con la nomenclatura R,S para la cadena lateral, o "alfa y beta" (o "epi", en el caso de desconocer la configuración) para los sustituyentes y/o fusión de los anillos. Las estructuras enantioméricas son frecuentes, así como la migración de enlaces C-C; en este caso se ha sugerido una serie de prefijos que definen tanto la estereoquímica absoluta como la posición de los metilos en el esqueleto. Estos mismos prefijos se han adoptado para terpenos superiores: triterpenos y esteroides. Así, el prefijo "ent" se usa para denominar el enantiómero del esqueleto que presenta la fusión "esteroidal" de los anillos (por ejemplo, beyerenoy ent-beyerenoy). Para un mismo esqueleto es posible encontrar dos (o más) nombres y ello se debe a que se mantiene la nomenclatura tradicional (indicada entre paréntesis en la figura) además aquella que sigue las reglas de Rowe, como se muestra abajo.

Terpenos

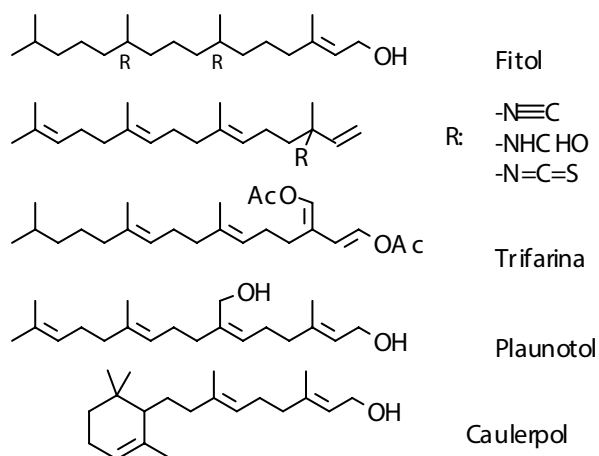


El prefijo "homo" se usa para indicar un carbono adicional; "nor-": la eliminación de un carbono y "seco" designa la rotura de un enlace entre dos átomos de carbono de la estructura patrón, indicando en cada caso, la localización de las modificaciones sobre el esqueleto. Se usó "abeo" para señalar que un enlace C-C se ha roto y uno nuevo se ha formado, nombrando los sitios de rotura y unión. "Friedo-" indica la migración 1,2 (una o más, consecutivas) de grupos alquilo y/o de hidrógenos a lo largo del esqueleto, pero sin afectar el sistema anular. El prefijo es precedido por el número del átomo donde comienza el reordenamiento.

Los últimos prefijos (friedo y abeo) son con preferencia empleados para identificar productos sintéticos o de transformación de los naturales para los cuales se siguen usando profusamente los nombres comunes, especialmente si se considera que se han aislado un gran número de compuestos nuevos. En estos casos las reglas de Rowe y de la IUPAC dejan de ser prácticas. Para los fines de esta obra sólo se considerarán los esqueletos clásicos más frecuentemente encontrados en la naturaleza, manteniendo lo posible la nomenclatura de Rowe y los nombres comunes.

Si bien el interés se presta principalmente a los compuestos cíclicos, recientemente ha incrementado la frecuencia de aparición de compuestos

acíclicos tanto en plantas superiores como en insectos y fuentes marinas. El ejemplo clásico de éstos es el fitol que como se indicó antes, ocurre como un éster del ácido propiónico formando parte de la cadena lateral de las clorofilas a y b y suele aislarse después de la saponificación del pigmento. Los carbonos 7 y 11 tienen configuración R y para el doble enlace se han encontrado ambos isómeros cis y trans, inclusive en la misma fuente (algas: Gracilaria andersoniana). De estructuras acíclicas hay varios ejemplos en algas e incluyen sustituyentes "no comunes" como en el caso de geranil-linaloilisonitrilo. De las especies del género Caulerpa (algas verdes) se encuentran diterpenos relacionados a geranilgeraniol (trifarina) y estructuras monocíclicas como el caulerpol, relacionado al retinol, o estructuras macrocíclicas y aún policíclicas. El plaunotol, componente activo de la droga comercial Kelnac, usada como protector de la mucosa estomacal en el tratamiento de úlcera gástrica, se encuentra en plantas superiores: Croton sublyratus.

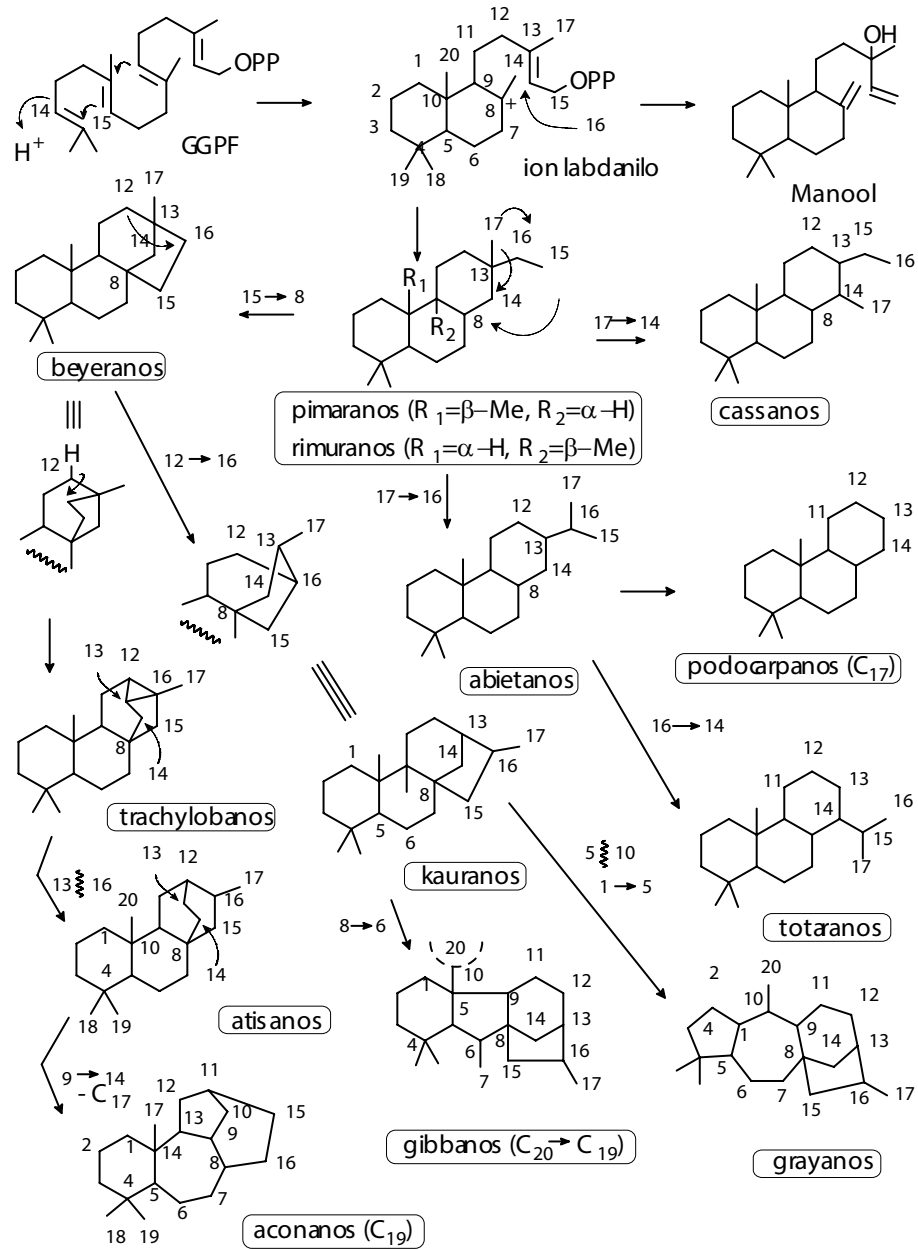


4.9.1. Biosíntesis

A diferencia de los mono y sesquiterpenos la mayoría de los diterpenos provienen de una ciclación inicial que no involucra el carbono que tiene el resto fosfato en el GGPF, es decir sigue el patrón de los triterpenos. La ciclación comienza generalmente con el ataque electrofílico sobre el doble enlace 14-15 siendo la especie atacante casi siempre un protón, por lo cual muchas de estas estructuras no están oxigenadas en la posición 3 del esqueleto (antiguo C-14 del GGPF). (Cuadro 4-9).

Terpenos

Cuadro 4-9. Esqueletos diterpenoidales provenientes de la ciclación "esteroidal".

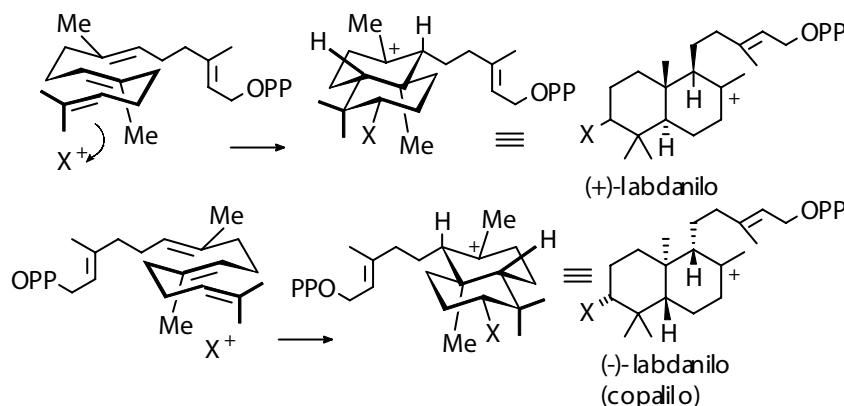


Nota: La numeración se asigna para cada esqueleto particular y no necesariamente sigue aquella del precursor. Para los anillos A, B y C se mantiene la numeración típica de los triterpenos, excepto de los aconanos.

Contrario a los triterpenos, cuya ciclación es un proceso concertado que se inicia con la formación de un epóxido, razón por la cual esas moléculas, en su mayoría están oxigenadas en C-3 y además preservan la configuración absoluta "esteroidal" en la fusión de los anillos (ver sección 4.11.2), en los diterpenos se encuentran ambos antipodas naturales, aún en la misma planta. Este fenómeno es algo similar a lo observado para monoterpenos. En el cuadro 4-9 se ilustra la formación de los esqueletos principales, sin especificar la estereoquímica proveniente de la ciclación inicial del tipo "triterpenoidal", la cual es seguida por la formación de estructuras más complejas de 3, 4 y 5 anillos.

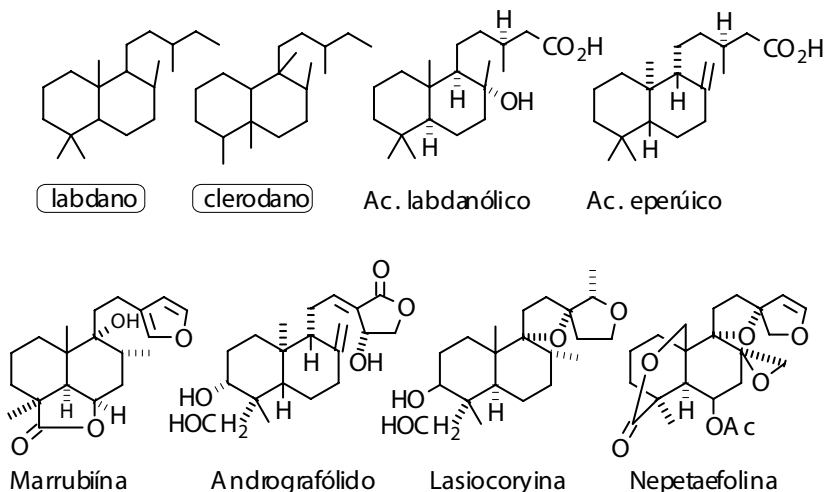
4.9.2. Diterpenos bicíclicos

La primera ciclación puede generar dos intermediarios enantioméricos dependiendo de la disposición del GGPF sobre la superficie enzimática. La relación anti-trans en la fusión de los anillos A y B es consecuencia del doblamiento inicial de la cadena de GGPF. Ello producirá el esqueleto de labdano y ent-labdano, originalmente conocidos como (+)-labdano y (-)-labdano (o copalano), respectivamente.

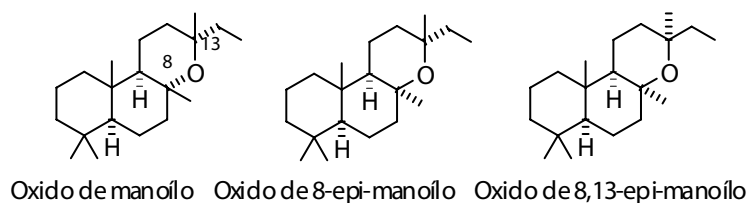


Terpenos

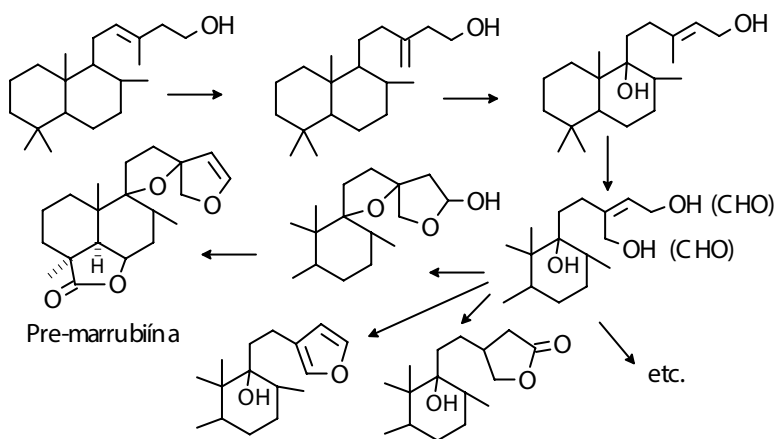
La saturación de los cationes da lugar a compuestos bicíclicos y sus derivados heterocíclicos (con un mayor número de anillos). Entre los primeros se reconocen los de la serie de labdano y clerodano, el último proveniente de un reordenamiento de metilos.



En este grupo se encuentran varios ácidos aislados de resinas como por ejemplo el labdanólico y el eperuico, o estructuras derivadas como las lactonas marrubiína, el principio amargo del marrubio (*Marrubio vulgare*), hierba usada desde la antigüedad como tónico, expectorante, colagogo e inclusive, para combatir envenenamientos. El andrografólido así como moléculas con un número mayor de ciclos oxigenados como nepetaefolina y lasiocoryina, son otros ejemplos. En estructuras sencillas se encuentra el anillo C oxigenado como un éter que puede presentarse con diferente estereoquímica en C-13 y C-8, según se ilustra para los óxidos de manoílo, 8-epi-manoílo y 8,13-epi-manoílo, que se presentan en la oleoresina del abeto noruego (*Picea abies*).



Los anillos furánicos son frecuentes en diterpenos (marrubiína). La formación puede ser atribuida a equilibrios donde participan hidroxi aldehídos, hemiacetales, lactonas y otros ésteres. De hecho se sospecha que marrubiína es un artefacto y que el metabolito propio de *M. vulgare* es pre-marrubiína (que se transforma en la primera por calentamiento). La pre-marrubiína fue solamente aislada de la planta cuando la extracción se llevó a cabo con acetona fría. Así para la formación del anillo furánico se supone la intervención de varios productos de oxidación de la cadena lateral del ion labdanilo, los cuales podrían ser los precursores del sistema hidrofurano en compuestos como pre-marrubiína, lasiocoryína y nepetaefolina.



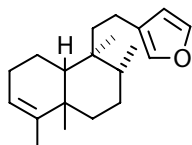
Los éteres cíclicos anteriores así como los aldehídos y cetonas se obtienen por oxidación de ciertos alcoholes derivados del labdano como el manool. El interés en estas oxidaciones está dirigido a la obtención de esencias del tipo ambar-gris.

En las especies de *Solidago* son frecuentes los diterpenos con el esqueleto clerodano; de ellos el ácido kolavénico y los compuestos relacionados, son los prototipos. En estas estructuras también se presentan butenóidos como es el caso del elongatólido-A. Aquí también, la cadena lateral puede generar un anillo furánico, como por ejemplo el ácido hardwíckiico, uno de los componentes principales del exudado de *Caesalpinia*, conocido como goma "abga" y ampliamente usada en África.

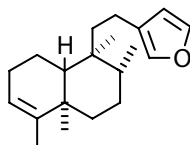
Terpenos

En estos esqueletos, se observa la pérdida de un carbono (probablemente a través de procesos oxidativos), que generalmente es un metilo en C-5, como en el caso de teuflidina y taucvina. Para éstos, 19-norclerodanos, se ha detectado actividad antitumoral y anti-inflamatoria. La estereoquímica de los carbonos 5, 8, 9 y 10 es variable, aún para compuestos aislados de la misma planta, se encuentren ejemplos de fusión A/B trans ($5\alpha, 10\beta$: ácido hardwíckiico) y ($5\beta, 10\alpha$: caryoptinol) y cis ($5\alpha, 10\alpha$: ácido floribúndico) y ($5\beta, 10\beta$: ácido cistodioico). El ácido floribúndico tiene la estereoquímica antipodal en C-8, C-9 y C-10 de la scutalbina, cuya estructura es conocida también como "neo-clerodano".

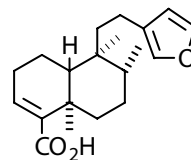
Estos compuestos son frecuentes en especies del género *Scutellaria* y *Teucrium* (fam. Labiatae); se han detectado en insectos que devoran las hojas y partes blandas de la planta y probablemente son usados por el insecto como sustancias de defensa. Varios de estos neo-clerodanos muestran actividad antinutricional para las larvas de *Spodoptera littoralis*, una plaga de las plantas de algodón y hacia *Tenebrio molitor*, una plaga de cereales almacenados. Algunos clerodanos se han aislado de plantas acuáticas y de esponjas marinas*.



cis-clerodano



trans-clerodano



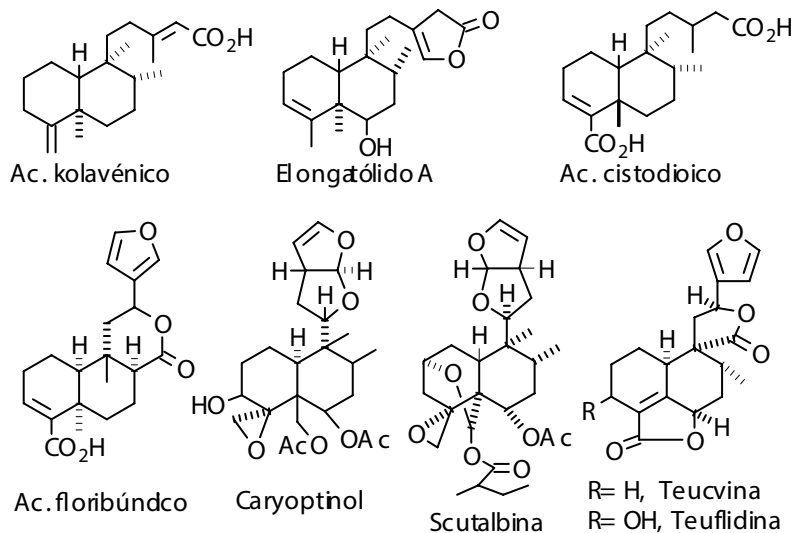
(-)- Ac. hardwíckiico

*a) H. Benjannet, F. Harzallah-Skhiri, Z. Mighri, M.S.J. Simmonds y W.J. Blaney, "Responses of *Spodoptera littoralis* larvae to tunisian plant extracts and to neo-clerodane diterpenoids isolated from *Ajuga reptans* leaves" *Fitoterapia*, 71, 105, 2000.

b) R.D. Enriz, H.A. Baldoni, M.A. Zamora, E.A. Jauregui, M.E. Sosa, C.E. Tonn, J.M. Luco y M. Gordaliza, "Structure-antifeedant activity relationship of clerodane diterpenoids: comparative study with withanolides and azadirachtin" *J. Agr. Food Chem.*, 48, 1384, 2000.

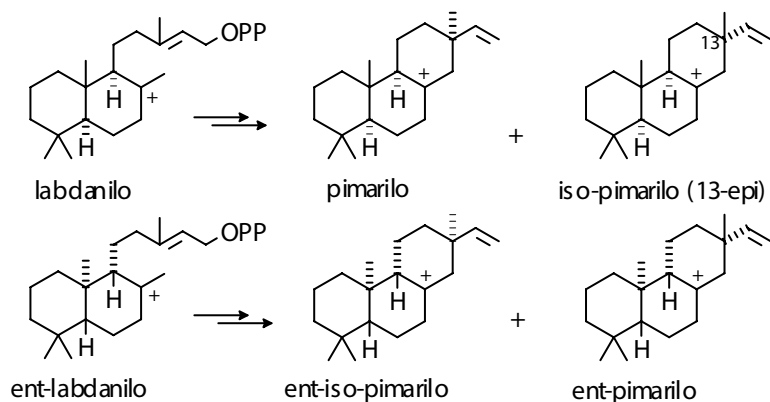
c) M. Costa, C.M.A. Tanaka, P.M. Imamura A.J. Marsaioli, "Isolation and synthesis of new clerodane from *Echinodorus grandiflorus*" *Phytochemistry*, 50, 117, 1999.

d) M.L. West, P.T. Nothcotey C. N. Battershill, "Two neo-clerodane diterpenes from the New Zealand marine sponge *Raspaila* sp", *Aust. J. Chem.*, 51, 1097, 1998.



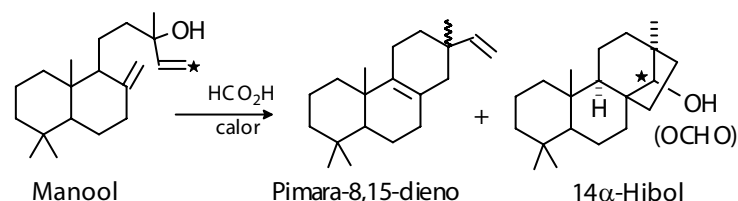
4.9.3. Diterpenos tricíclicos

La formación del sistema tricíclico, a partir de catión labdanilo o ent-labdanilo -o sus equivalentes-, procede con retención de la relación anti-trans del hidrógeno en C-9 y el metilo en C-10. Dependiendo de la estereoquímica de C-13 se originan dos estereoisómeros i) derivados del ácido pimárico (13-Me orientado α) y ii) derivados del ácido isopimárico (13-Me orientado β). Nota: para la serie "iso" algunos autores utilizan el prefijo "sandaraco".

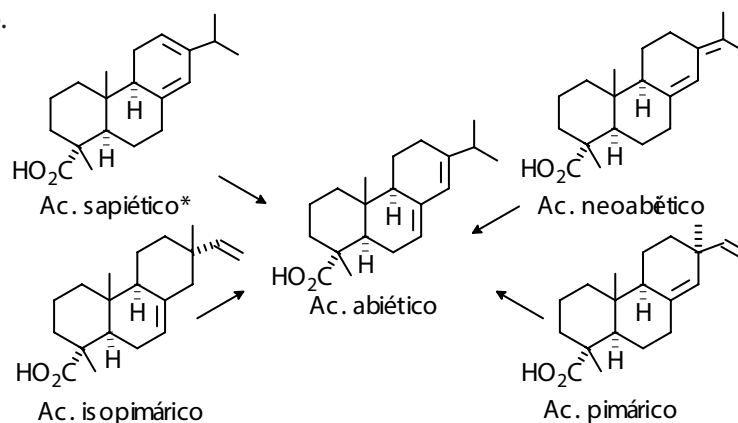


Terpenos

La ciclación del catión labdanilo ha sido comprobada en el laboratorio. Por ejemplo, la formólisis del manool produce 13-epi-pimara-8,15-dieno y el compuesto tetracíclico: 14 α -hibol, según se ilustra. El primer producto se justifica teniendo en cuenta la biogénesis de estos compuestos, mientras que para la formación del 14 α -hibol (que se obtiene como su formato) es necesaria la intervención de un intermediario con el anillo C de 8 miembros que justifica la marca isotópica en C-14*.



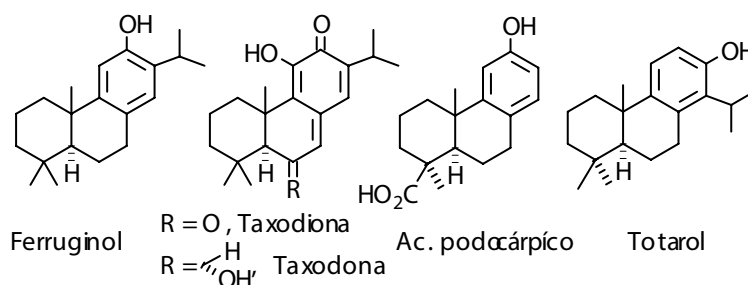
El catión tricíclico puede sufrir reordenamientos de hidrógenos y metilos para formar nuevos esqueletos como abietano, cassano, rimurano, totarano y el núcleo de 17 átomos de carbono: podocarpano entre los más recurrentes (ver cuadro 4-9). El ácido abiético, el representante más abundante de este grupo, es el mayor constituyente de las resinas comerciales y se obtiene a partir de las oleorresinas de las Coníferas por tratamiento con ácido mineral y calor. En estas condiciones los ácidos originalmente presentes en las resinas: pimárico, sapiético, neoabiético e isopimárico se isomerizan fácilmente al ácido abiético.



*a) L. Fourrey, J. Polonski y E. Wenkert. «The mechanism of the transformation of manool into 14 α -hibilformate». JCS Chem Comm 1969, 714,. b) S.F. Hally A.C. Oehlschlager, The mechanism of the acid catalyzed cyclization of labdadienols. *ibid*, 1157.

Nota: El ácido sapiético se denomina a menudo ácido levopimárico, aunque formalmente no tiene el esqueleto pimarano.

El anillo C de estas estructuras frecuentemente es aromático o altamente insaturado y entre ellas se destacan los abietanos ferruginol de la resina de *Podocarpus ferruginea* y un grupo de quinonas como la taxodona y la taxodiona aisladas de las semillas de *Taxodium distichum* (Cupressales), fuertes inhibidoras del crecimiento de tumores. En el ácido podocárpico (podocarpano) aislado por primera vez de la resina de Podocarpaceas en 1873, se observa la pérdida del grupo isopropilo.



Diterpenoestríclicos menos abundantes son el friedo-pimarano y se presentan con los esqueletos de rimurano (también conocido como rosano), cassano y totarano. El primero se forma por la migración del metilo en C-10 a C-9 y se encuentran en metabolitos fungales (rosenonolactona, en *Trichotecium roseum*). Para los cassanos ocurre la migración del metilo de C-13 a C-14. La formación de anillos furánicos caracteriza a los ácidos cassáicos, siendo un representante de ellos el ácido vinháico.

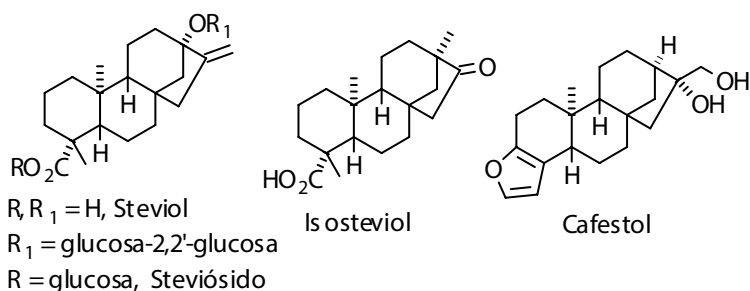
En los totaranos la migración es del grupo isopropilo de C-13 a C-14 se muestra en (±)-totarol, aislado de *Chamaecyparis nootkatensis*, que presenta marcada actividad contra *Mycobacterium tuberculosis**. Por otra parte el eritroxidiol-Y, que tiene el anillo C y las cadenas de C₁ y C₂ en C-13 como el grupo pimarano-rosano, se forma a través de la ciclación del esqueleto clerodano.

*G.H. Constantine, J.J. Karchesy, S.G. Franzblau y L.E. La Fleur "(±)-Totarol from *Chamaecyparis nootkatensis* and activity against *Mycobacterium tuberculosis*". *Fitoterapia*, 72, 572, 2001.

Menos frecuentemente se encuentran las estructuras derivadas del isopimarilo (isobeyeranosy (+)-kauranos) y del ent-pimarilo (ent-beyeranosy (-)-phyllocladanos).

Los compuestos con los esqueletos del kaurenoy del phyllocladeno se caracterizaron por su transformación a 4,6-dimetilfenantreno y 4-metil-6-isopropilfenantreno cuando se someten a condiciones de deshidrogenación. Varias reacciones típicas involucran el anillo D, tanto para la isomerización de los dobles enlaces como en la rotura oxidativa de ese anillo, que origina compuestos con un grupo carboxilato en C-8.

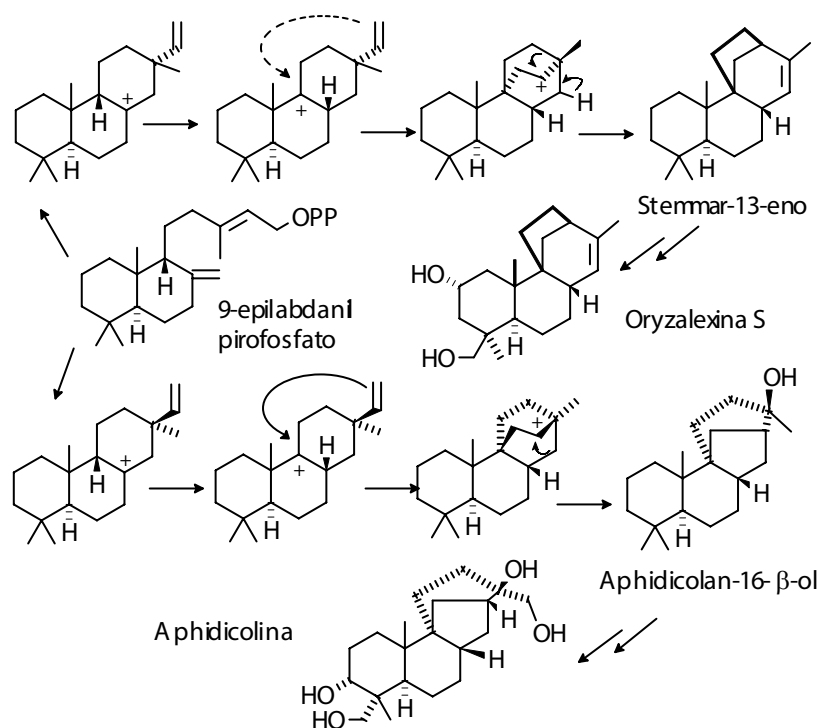
De estos compuestos cabe mencionar el glicósido steviósido, aislado de la planta paraguaya "Coa-ehe", *Stevia rebaudiana* que es 200 veces más dulce que el azúcar y cuya hidrólisis enzimática produce steviol y tres unidades de glucosa, mientras que la hidrólisis ácida origina isosteviol que implica un reordenamiento de los anillos C/D inducido por ácidos. Aparentemente, los requisitos estructurales para el sabor dulce son OH u O-carbohidrato en C-13 y COOH o COO-carbohidrato en C-4, además de un doble enlace 16-17. Actualmente la explotación de varias especies de *Stevia* como fuentes de edulcorantes no calóricos es una actividad comercial importante en el Japón. El steviol tiene actividad auxínica semejante a las gibberellinas. Otro representante de este grupo es el cafestol, principal constituyente de la fracción no saponificable del aceite de café.



Los iones pimarilo e isopimarilo se proponen también como precursores de otras estructuras policíclicas, es el caso de los esqueletos de aphidicolano y stemarano, presentes en aphidicolina (un antibiótico del hongo *Cephalosporium aphidicola*) y en oryzalexina S (una fitoalexina encontrada en arroz cuyas plántulas habían sido tratadas con quitina). Para la generación

Terpenos

de estos esqueletos son necesarios los β -H-epímeros de los precursores. Ello se demostró con la formación de oryzalexina S, a partir de la incubación de 9β -H-labdani pirofosfato en las plantas de arroz tratadas que, comparadas con las no tratadas, aumentaban considerablemente la formación de diterpenos kauránicos entre los cuales se encuentra la fitoalexina mencionada, lo que se atribuyó a la alteración provocada por la quitina, en la enzima sintetizante*.



*a) W. Dalziel, B. Hesp, K.M. Stevensony A.J. Jarvis, "The structure and absolute configuration of the antibiotic aphidicolin: A tetracyclic diterpenoid containing a new ring system". J. Chem. Soc. Perkin I, 1973, 2841.

b) R.S. Mohan, N.K.N. Yee, R.M. Coates, Y. Y. Ren, P. Stamenkovic, I. Mendez y C.A. West, "Biosynthesis of cyclic diterpene hydrocarbons in rice cell suspensions: Conversion of $9,10$ -syn-labda-8(17),13-dienyl diphosphate to 9β -pimara-7,15-diene and stemmar-13-ene". Arch. Biochem. Biophys. 330, 33, 1996.

atisano (C₂₀), el cual se origina a través de reordenamientos sucesivos del esqueleto de beyerano.

4.9.4.2. Gibberellinas

Es un grupo de abeo-kaurano con el esqueleto de gibberano y generan el hidrocarburo gibbereno por deshidrogenación. Las gibberellinas son ampliamente usadas como promotoras del crecimiento de las plantas. Las primeras fueron aisladas como sustancias cristalinas en 1938, del hongo *Gibberella fujikuroi* a partir del cual se manufacturan comercialmente por fermentación. Muchas contienen una lactona en el anillo A que compromete el metilo alfa en C-4 a través de su transformación previa a grupo carboxilato. Se han aislado más de 100 gibberellinas y todas tienen propiedades auxínicas. La estereoquímica de estos compuestos se preserva anti-trans para la fusión A/B y B/C y en todas las naturales conocidas, el sustituyente en C-10 es α , el hidrógeno en C-9 es β y el anillo D se encuentra por encima del plano de los anillos A, B y C.

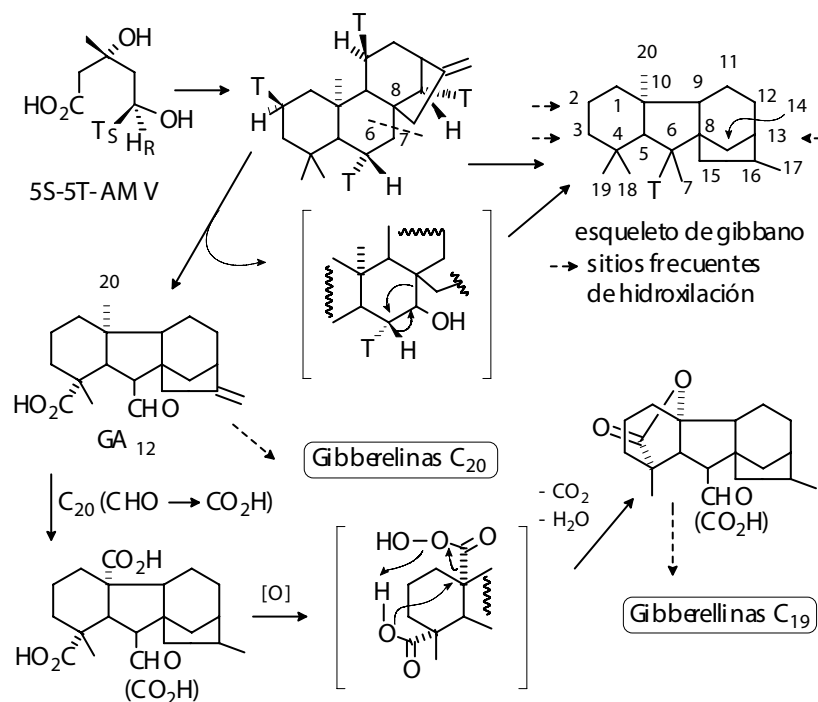
La biosíntesis se ha seguido con mevalonato marcado y se ha demostrado que el (-)-kaureno es su precursor; en el cual se oxidan C-7 y el 4 α -Me, seguido por la contracción del anillo B, que genera derivados de gibberellinas con 20 átomos de carbono, y éstos a su vez, producen los derivados C-19 (son los más abundantes) por la pérdida del metilo en C-10, con la formación de una lactona. Frecuentemente se encuentran sustituyentes oxigenados en 2, 3, 12 y 13 (la numeración del esqueleto se indica en la figura). Su bioformación se ilustra en el cuadro 4-10.

Prácticamente en todas las gibberellinas naturales el carbono 7 es una función carboxilato, presentan además un doble enlace C-16, C-17 y un enlace olefínico adicional C-1, C-2. Hay una revisión en 1992 que incluye las estructuras naturales, las modificaciones sintéticas, síntesis parciales y totales y la biosíntesis y otra más reciente que incluye la relación estructura-actividad*.

*a) L.N. Mander, "The chemistry of gibberellins, an overview", Chem. Rev., 92, 573, 1992.

b) M. Pour, G.R. King, J.T. Monck, J.C. Morris, H. Zhang y L. N. Mander, "Synthetic and structural studies on novel gibberellins", Pure and Appl. Chem., 70, 351, 1998.

Cuadro 4-10. Biosíntesis de las gibberelinas.

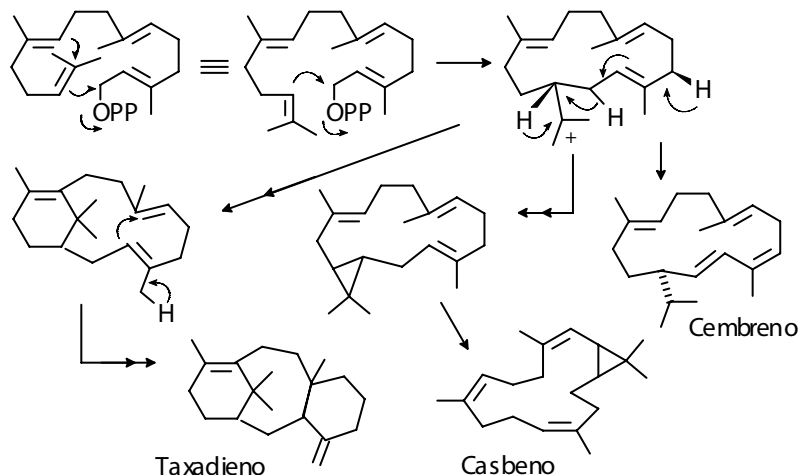


4.9.5. Diterpenos macrocíclicos

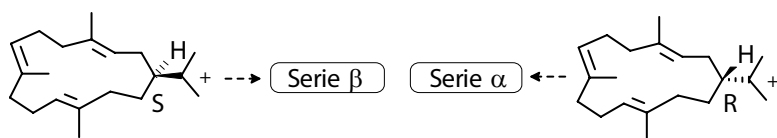
Corresponden a un grupo de diterpenos que se forman al ciclar cabeza-cola C-1 con C-14 o con C-15 del GGPF; ello genera macrociclos como el cembreno (diterpeno común en coníferas y en ciertas algas), del taxadieno, esqueletos solamente encontrados en el género *Taxus*, de los jatropanos y de los forboles, con el esqueleto de casbano (altamente tóxicos), aislados de plantas superiores.

En la ciclación inicial 1-14 que forman los cembranólidos, abundantes en fuentes marinas, se generan dos cationes antipodales y a partir de cada uno, una serie diferente. El catión S produce la serie beta y el R la serie alfa. Obviamente, ambas series son interconvertibles a través de la migración de uno u otro hidruro e isomerización del doble enlace. Los cembranólidos,

Terpenos



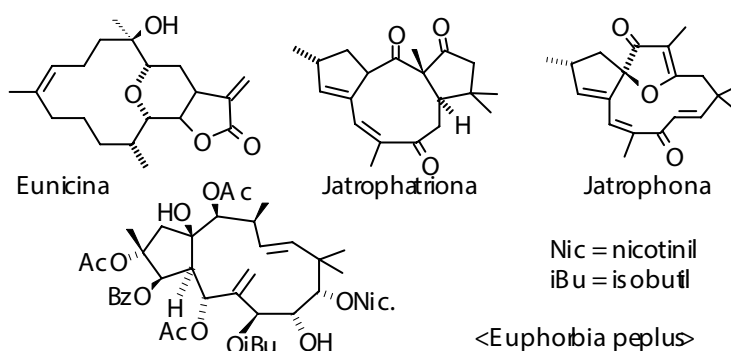
aislados de los géneros del orden de las Gorgonaceae pertenecen a la serie beta, mientras que los aislados de fuentes terrestres o de especies marinas del orden de las Aleyonaceae, a la serie alfa. Ello sugiere la existencia de al menos dos sistemas enzimáticos diferentes que intervienen en la ciclación del GGPP.



De los cembrenólidos se han aislado estructuras altamente oxigenadas donde los anillos furánicos y las lactonas son frecuentes; un ejemplo es el butenólido eunicina obtenido de *Eunicea mammosa*, relacionado a las Gorgonaceae.

Una nueva ciclación C-C forma el esqueleto de jatropano, que se caracteriza por presentar un anillo macrocíclico fusionado a uno de cinco miembros, son en general poliésteres y poseen al menos un grupo carbonilo. Estas estructuras se encuentran en plantas superiores del género *Euphorbia* que se distinguen por sus propiedades pro-inflamatorias y promotoras de tumores, pero, paradójicamente se usan en medicina folklórica para el tratamiento de hinchazones y verrugas. Sin embargo, las características pro-inflamatorias no

pueden atribuirse a estos compuestos, ya que de los muchos estudiados solamente el políéster aislado de *Euphorbia peplus* (indicado en la figura) muestra alguna actividad inflamatoria, de modo que esta particularidad puede deberse a la presencia de otras clases de diterpenos (u otras moléculas) en las *Euphorbias*. A la "Tua-Tua" (*Jatropha gossypifolia*), se le atribuye propiedades curativas y de ella se ha aislado la jatrofona. La jatrofatriona aislada de *Jatropha macrorrhiza*, posee actividad antitumoral, probablemente como consecuencia del sistema dienona*.



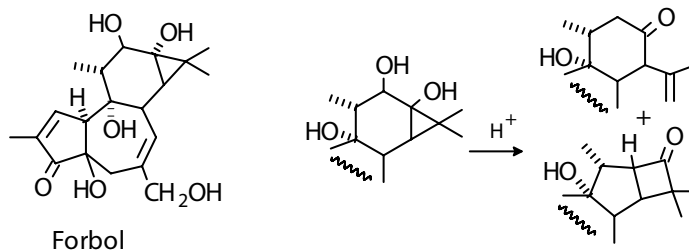
Las Euforbiáceas también son ricas en forboles, diterpenos macrocíclicos con el esqueleto del casbeno, altamente tóxicos y co-carcinogénicos. El forbol mismo fue aislado de las semillas de *Croton tiglium* cuyo aceite contiene forbol esterificado con ácidos grasos de diferente longitud en su cadena, y en semillas de *Aleurites fordii*, conocido como "árbol del Tung", que se explota para la extracción de aceites secantes

También se encuentran forboles en otras Euforbiáceas como *Ricinus communis* (ricino, tártago) a partir del cual se ha aislado casbeno. El anillo de tres miembros de estas estructuras es particularmente frágil y por tratamiento con ácido diluido se rompe, reordenándose la molécula.

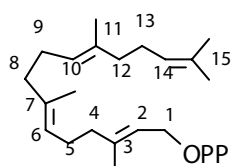
*a) J.R. Hanson, "Diterpenoids", Nat. Prod. Reports, 15, 93, 1998.

b) J. Hohmann, A. Vagas, G. Günther, G. Domby, G. Blazso, G. Falkay, I. Mathé y G. Jerkovich. "Jatrophanediterpenoids from *Euphorbia peplus*". *Phytochemistry*, 51, 673, 1999.

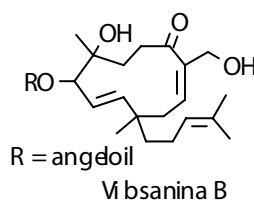
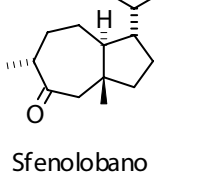
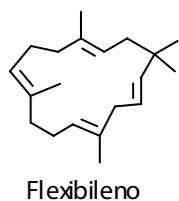
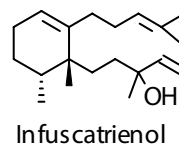
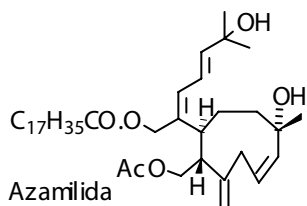
Terpenos



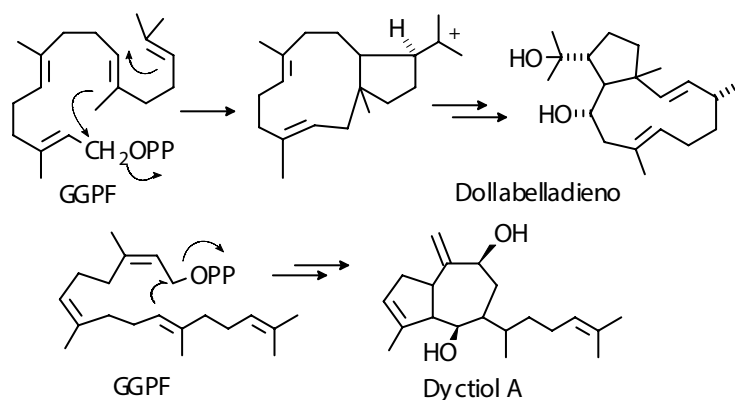
Los diterpenos macrocíclicos presentan muchas variaciones esqueléticas que pueden resultar de ciclaciones que involucran ambos extremos del GGPP, como los indicados antes, o de posiciones intermedias. Así es posible encontrar ciclaciones: 15-10 (caulerpol), 10-2 (azamilida), 1-7 y 10-6 (sfenolobano), 11-6 (infuscatrienol), 11-1 (vibsanina B), 14-1 (cembrenólidos), 15-1 (forboles), 10-1 y 4-8, (dictyol, aislado del alga *Dictyota dichotoma*), etc



- 15→10 Caulerpol
- 15→1 Flexibileno, jatropanos (y 5,9)
- 14→1 cembranos, taxanos, casbanos
- 11→6 Infuscatrienol
- 11→1 Vibsanina B
- 7→1 Sfenolobano (y 10-6)
- 10→2 Azamilida
- 10→1 Dyciol A (y 4-8)



Como en otros casos para una misma ciclación inicial pueden generarse compuestos con diferente número de anillos; por ejemplo, en la bioformación del dollabelladieno (de *Dollabella californica*) y vibsantina B, se supone en ambos una ciclación 1-1 de GGPF y le siguen la construcción de las distintas partes de la molécula, particulares para cada caso*.



Otros compuestos macrocíclicos son los derivados de taxano (el hidrocarburo patrón no se ha encontrado en la naturaleza), de cuya génesis se propone al cembrenol como posible precursor. De este grupo se han aislado unos 50 compuestos altamente cristalinos y entre los primeros a ser estudiados fue la taxina.

Son ampliamente oxigenados y se presentan enteramente hidroxilados o como derivados de ésteres de diversos ácidos: acético, benzoico, cinámico, dimetilaminofenilpropiónico, etc. Algunos presentan grupos cetónicos y epóxidos. Todos los naturales presentan un doble enlace tetrasustituido. Son responsables del envenenamiento del ganado y de otras propiedades tóxicas que le han sido atribuidas a la planta: *Taxus baccata* (Taxáceas), desde la antigüedad.

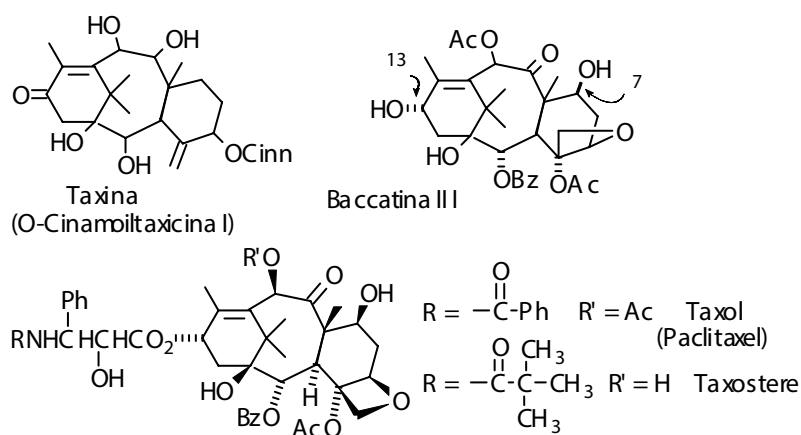
Hasta la fecha se han encontrado solamente en el género *Taxus*. Algunos taxanos que presentan un anillo oxetánico, tienen propiedades citotóxicas por ejemplo baccatina-III cuya estructura fue establecida en 1970, a través de los estudios de cristalografía de rayos X de su epímero en C-7. En 1971 Wani

*J.R. Hanson, "Diterpenoids". Nat. Prod. Reports, 15, 93, 1998.

Terpenos

reportó la obtención a partir de la madera de *T. brevifolia*, de un potente agente antileucémico y con propiedades inhibitorias de tumores: el "taxol" (Paclitaxel) que resultó ser baccatina-III con un resto de fenilisoserina unido a C-13. La llama la atención que ninguno de los taxanos aislado de las espículas contiene el resto fenilisoserina, que constituye el hecho estructural crítico para la actividad antitumoral de los taxoides (nombre genérico asignado a los compuestos con el esqueleto de taxano).

El taxol (y su análogo taxostere) conocido como la "droga del 2000", a diferencia de otros agentes actúa estabilizando los microtúbulos: las dos unidades subcelulares: alfa y beta tubulina se enlazan al taxol para interferir el proceso de división celular, y por ello se reconocen como los marcadores subcelulares más importantes en la quimioterapia del cáncer.

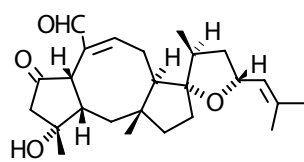


La producción comercial de taxol puede generar un desequilibrio ecológico considerable. Se estima que el sacrificio de un árbol de 100 años produce unos 3 kg de corteza y de ella se logra aproximadamente 300 mg de taxol. Para obtener un kilo de taxol (que sólo alcanza para tratar 500 pacientes, se requiere de unas 10 toneladas de corteza lo que representa sacrificar unos 3000 árboles. La dosis por tratamiento es relativamente alta: unos 2 gramos, distribuidos en 4 a 6 sesiones mensuales en pacientes promedio. La toxicidad del taxol es alta y como efectos colaterales visibles se observan hipersensibilidad, disnea, hipotensión, dolores en el pecho, irritaciones cutáneas

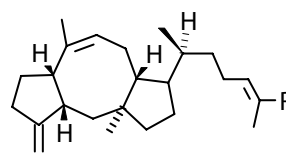
y de las mucosas, bradicardia, neuropatías periféricas, alopecia, dolores musculares y articulares, náuseas, vómitos y diarreas, alteración del sentido del gusto, y menos frecuentemente necrosis hepática, flebitis y celulitis. Aún así, es la droga de mayor uso en el tratamiento de cáncer pulmonar entre otros tipos, ya que la esperanza de prolongar la vida, (aunque su calidad no sea apropiada), no tiene precio*.

4.10. Sesterterpenos

Son los miembros de conocimiento más recientes de la familia terpenica, cuyo esqueleto está conformado por 25 átomos de carbono, tienen su origen en la ciclación del geranilfarnesil pirofosfato: GFPP. La estructura del primer representante el ácido gascárdico aislado de la cera cuticular del insecto *Gascardia madagascariensis*, fue descrita en 1965. Los sesterterpenos se los encuentran en hongos, insectos, plantas superiores y organismos marinos y pueden presentar estructuras abiertas o formar ciclos. Entre las primeras, los derivados furánicos abundan y se aíslan principalmente de esponjas, tal es el caso de las ircininas I y II (de *Ircinia* sp.). El ácido retigeránico se aísla de un líquen, *Lobaria retigera* y los más abundantes las ofiobolinas, se encuentran en hongos (el primer representante ofiobolina-A, se aisló del hongo patógeno del arroz: *Ophiobolus miyabeanus*). Varias ofiobolinas como el ceroplastol y ácido ceroplastérico se obtuvieron a partir de la cera del insecto *Ceroplastes albolinatus*, junto con geranilfarnesol



Ofiobolina A

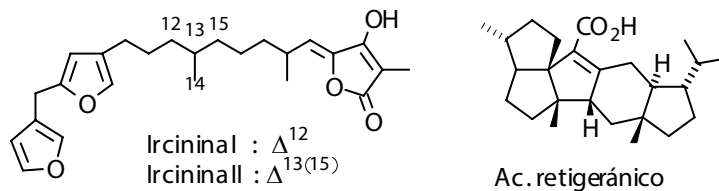


R = CO₂H, Ac. ceroplastérico

R = CH₂OH, Ceroplastol I

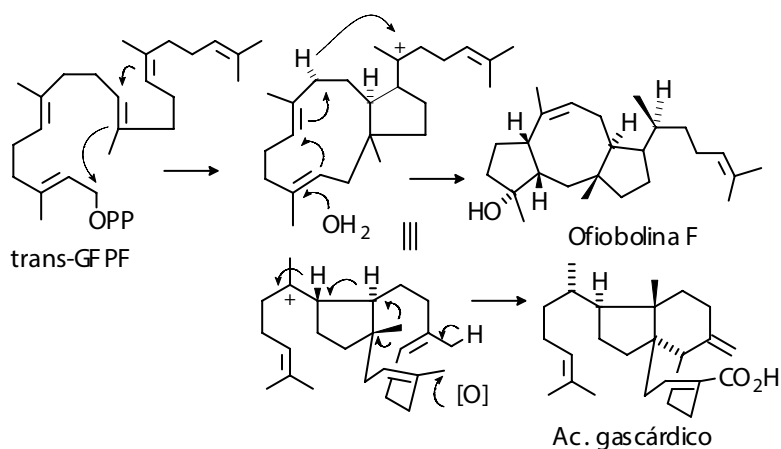
*D. Marcano, "Taxol de cómo se llegó a su estructura química". Revista de la Soc. Venez. de Química, 23 (1), 7, 2000.

Terpenos



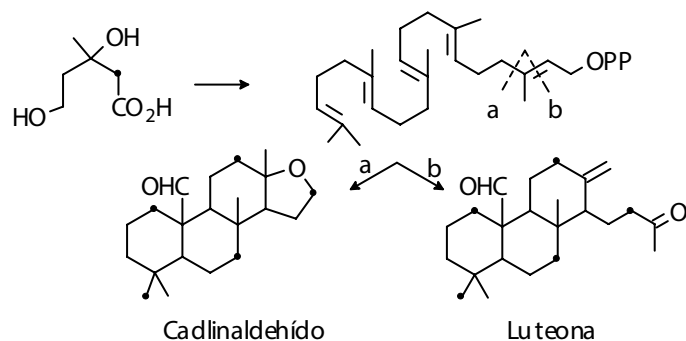
4.10.1. Biosíntesis

El *trans*-geranilfarnesil pirofosfato (GFPP) es el precursor que se propone para los sesterterpenos al menos en la bioformación de la ofiobolina F, la cual fue seguida por Nozoe y Morisak a partir de mevalonato y GFPP marcados. En la figura se resume la biosíntesis de la ofiobolina-F y lo sugerido para el ácido gascárdico.



Aunque hay muchos ejemplos naturales de terpenoides, las rutas de su bioformación han sido muy poco estudiadas. Una de ellas comprende la formación de los sesterterpenos degradados: cadlinaldehído (C_{21}) y luteona (C_{23}), ambos con el esqueleto del cadlinaldano. Como resultado de los experimentos con ácido mevalónico marcado en C-2, se propone la pérdida de 4 y 2 átomos de carbono, respectivamente, en el intermediario C_{25} que sufre la ciclación "esteroidal"*.

*P.M. Dewick, "The biosynthesis of C_5 - C_{25} terpenoid compounds" Nat. Prod. Reports, 16, 97, 1999.



4.11. Triterpenos

Los componentes de esta familia son muy numerosos, pero a pesar del mayor número de átomos de carbono (30, seis unidades de IPPF) del esqueleto básico, las modificaciones esqueléticas son menores que, por ejemplo, en el caso de los sesquiterpenos. Los triterpenos han sido estudiados rigurosamente debido en parte, a su relación con los esteroides, los cuales han llamado poderosamente la atención desde hace tres cuartos de siglo, cuando se conoció que las hormonas sexuales humanas pertenecen a este grupo de compuestos. Los triterpenos se encuentran ampliamente distribuidos en la naturaleza tanto en el reino vegetal como en el reino animal.

En las plantas está generalizada su habilidad de biosintetizarlos, pero en el reino animal el proceso parece ser más complicado y mucho menos conocido. Por ejemplo, los vertebrados sintetizan esteroides a partir de precursores sencillos, pero los insectos sólo pueden acumularlos a partir de los ingeridos en su alimentación. Así las fitoecdisonas, hormonas de muda de los Artrópodos, no son biosintetizadas por ellos a partir de escualeno; sin embargo, aquéllos son capaces de convertir el colesterol a estas hormonas a través de hidroxilaciones sucesivas del esqueleto carbonado, provocadas por los sistemas enzimáticos de las "regiones de muda" o en casos específicos, en "órganos de muda". Además, hay que tener en cuenta la asociación con la microflora que generalmente acompaña a los insectos, en cuyo caso, siendo un régimen estéril, deben considerarse las contribuciones que hace tal microflora al metabolismo de los insectos. También en las plantas superiores se han encontrado unas 30 ecdisonas (fitoecdisonas) y se sospecha que su función es la de interferir con el metabolismo hormonal de insectos fitófagos.

Terpenos

Los triterpenos se encuentran en la naturaleza tanto en forma libre como asociados con azúcares o aminoácidos. Aunque la tendencia actual es la de determinar su posible aplicación desde el punto de vista biológico, hasta hace poco no habían sido objeto de mucho interés excepto las agliconas de las saponinas. Sin embargo, debido a su amplia distribución en el reino vegetal, es razonable pensar en su interrelación con la vida de las plantas, pero, tal como ocurre con otros metabolitos secundarios, sólo se dispone de conjeturas generales. A pesar de sus variedades estructurales, se originan bajo sistemas muy parecidos, por lo menos en las etapas iniciales de su bioformación. El escualeno es el precursor común de todos los triterpenos.

4.11.1. Biosíntesis del escualeno

En contraste con la formación de mono-, sesqui-, di- y sester-terpenos que provienen de la unión cabeza- cola de isoprenos activos (IPPF y DMAPF), el escualeno, precursor de los triterpenos y el fitoeno de los tetraterpenos (carotenoides), se producen por la unión cola - cola de dos unidades de FPF (C_{15}) y de GGPF (C_{20}), respectivamente. La biosíntesis del escualeno ha sido objeto de muchos estudios por varios grupos de investigadores quienes llegaron a las siguientes conclusiones:

- La unión de las dos unidades de FPF ocurre cola - cola.
- La unión tiene lugar con la inversión de la configuración del C-1 en una de las unidades de FPF.
- De la otra unidad de FPF, el hidrógeno en C-1 pro-S se pierde.
- Es necesaria la presencia de NADPH para la formación del escualeno (camino A). De no estar presente, se acumula pre-escualeno, considerado precursor del escualeno (con la asistencia de OPP, camino B).

En el cuadro 4-11 se resume la bioformación del escualeno.

El NADPH interviene en la última transformación. El hidrógeno pro-S se pierde durante la formación del pre-escualeno, como se demostró mediante espectrometría de masas del producto obtenido por condensación de dos unidades de FPF di-deuteradas en C-1. El pre-escualeno, obtenido por reducción con hidruro de aluminio y litio del pirofosfato correspondiente, sólo presenta tres átomos de deuterio en su estructura. El hidrógeno que se pierde

pentacíclicos para los cuales se reserva el término "triterpenoide". La estereoquímica de los diferentes centros asimétricos depende del doblamiento inicial de la molécula de escualeno. Sin entrar en detalles, la ciclación del escualeno requiere de la formación del epóxido de escualeno el cual sólo se produce con oxígeno molecular y en presencia de NADPH. El epóxido puede formarse en cualquiera de los extremos de la cadena (nótese la simetría de ésta) y gracias a ello, abundan los triterpenos oxigenados en C-3. La orientación β del OH es indicativa de la estereoquímica β del anillo epoxídico. Sin embargo, hay una serie de compuestos con el OH en C-3 orientado alfa, como en el ácido fusídico. El cambio de estereoquímica en C-3 puede resultar de procesos oxidativos-reductivos posteriores a la ciclación.

Algunos hechos generales se han sugerido para la ciclación enzimática del epóxido de escualeno, a partir de estudios hechos con compuestos análogos sintéticos. A sí, parece que la presencia de grupos metilo en C-6, C-10 y C-15 y los enlaces π en C-14 y C-18 no son esenciales para la ciclación, pero es indispensable el epóxido trisustituido. Estos estudios que se llevaron a cabo utilizando homogeneizados de hígado de cerdo como medio enzimático, son en parte, consecuencia del interés que se tiene en el metabolismo del colesterol en los mamíferos. El aislamiento de algunos triterpenos tricíclicos con anillos de 6,6 y 5 miembros como productos de incubación del escualeno en sistemas enzimáticos particulares (libres de células de mutante F601A), indujo a los autores proponer tales sistemas como intermedios en la síntesis de triterpenos pentacíclicos, como una vía alterna operando en ese medio enzimático para la bioformación del esqueleto del hopano, ampliamente representado en los compuestos pentacíclicos*. A continuación se adopta la cascada biosintética de los triterpenos según los hechos generales indicados antes.

4.11.2.1. Ciclaciones iniciadas en un extremo de la cadena

a. Triterpenos tetracíclicos

Dos maneras de doblarse la cadena de escualeno originan dos primeros anillos tetracíclicos que se diferencian en la estereoquímica de los carbonos

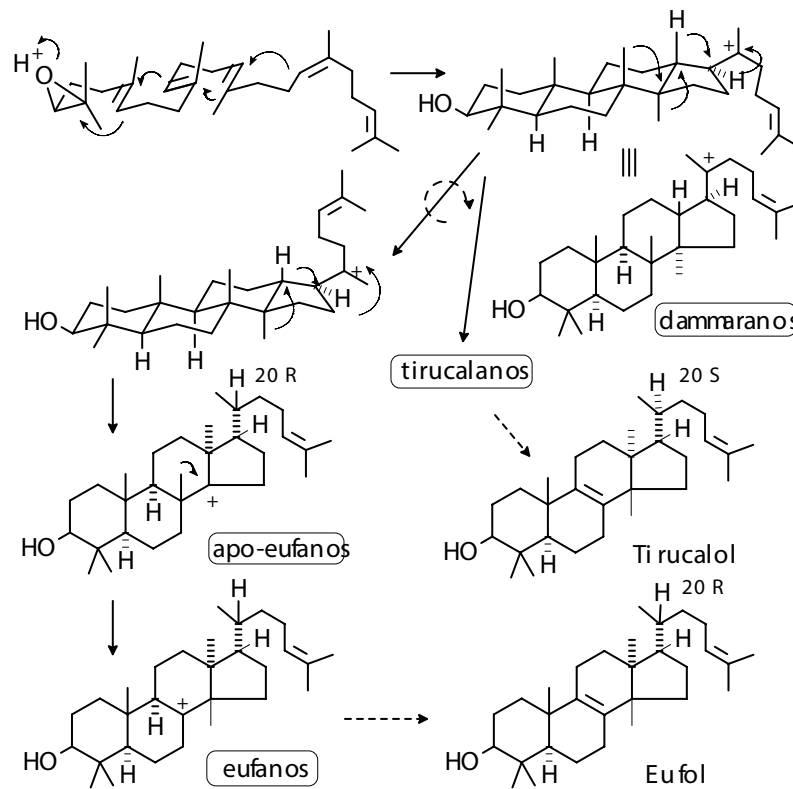
*T. Hoshino, M. Kouda, T. Abe, S. Ohashi, " New cyclization mechanism for squalene: a ring expansion for the five-membered C-ring intermediate in hopane biosynthesis " Biosci. Biotechnol. Biochem. 63, 2038, 1999.

Terpenos

entendimiento de cómo se forman los diferentes esqueletos por la misma razón, se obvian los sustituyentes.

Algunos ejemplos de seco compuestos, especialmente en el anillo A se encuentran en la naturaleza. En el esquema anterior se ilustra la localización del H-4-pro-R del ácido mevalónico marcado en lanosterol y cicloartenol. Nótese que en el lanosterol se pierde un hidrógeno en la formación del doble enlace entre los carbonos 8 y 9.

Esquema a-2. Ciclación sssb (silla-silla-silla-bote). Dammaranos.

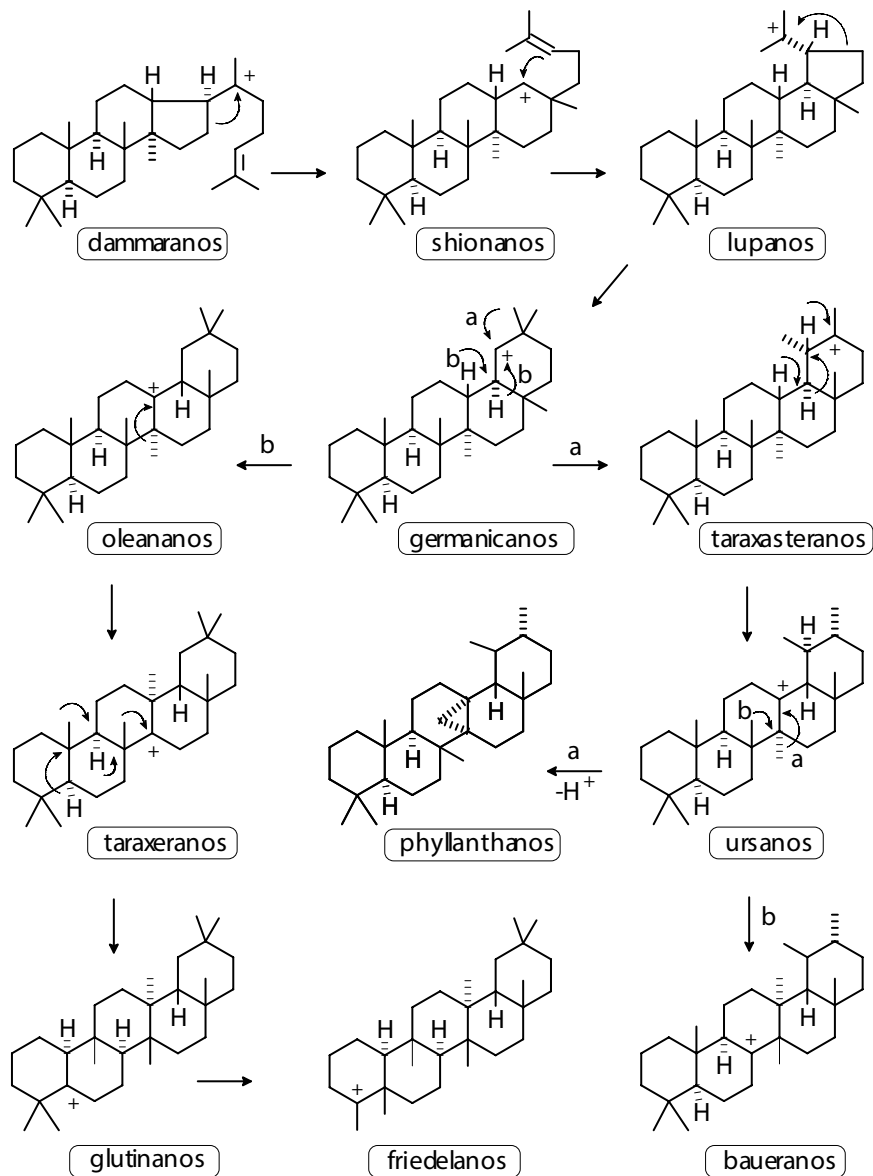


b. Triterpenos pentacíclicos

Tres diferentes caminos conducen a los triterpenos pentacíclicos, el primero a través del reordenamiento Wagner-Meerwein del catión tetracíclico del grupo de dammarano, con la consecuente expansión del anillo D y de allí la

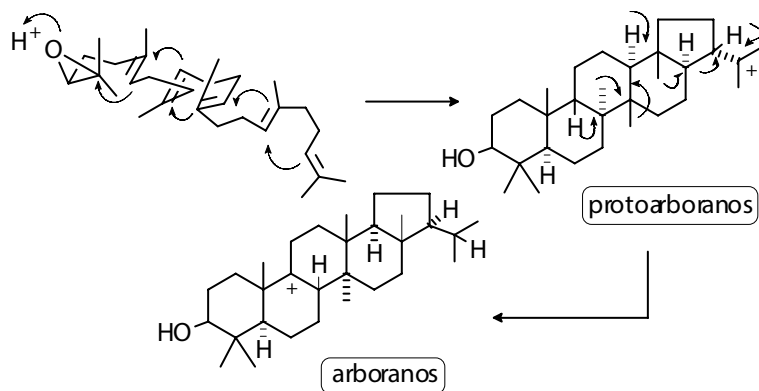
estructuración de otros núcleos (esquema b-1). El segundo y el tercer modo comprenden la formación inicial de un catión pentacíclico, según se indica (esquemas b-2 y b-3).

Esquema b-1. Ciclación sssb (silla-silla-silla-bote).

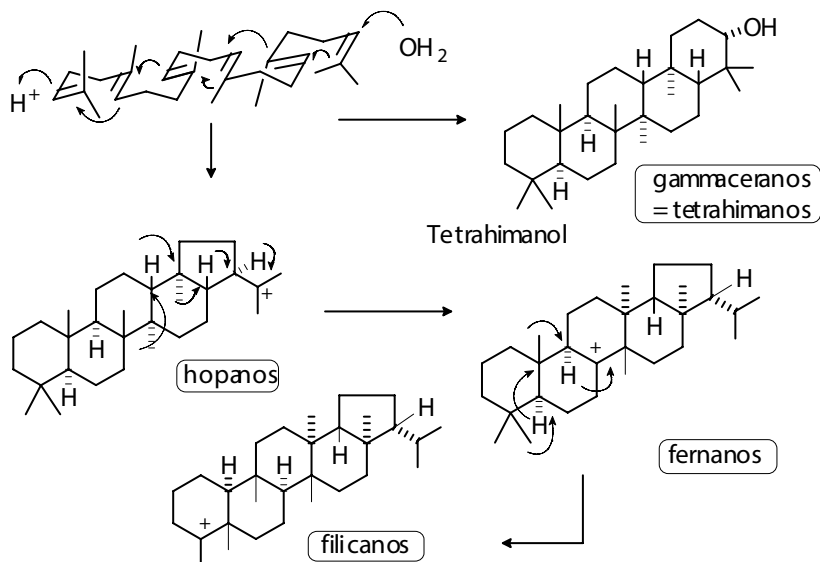


Terpenos

Esquema b-2. Ciclación sbss (silla-bote-silla-silla).

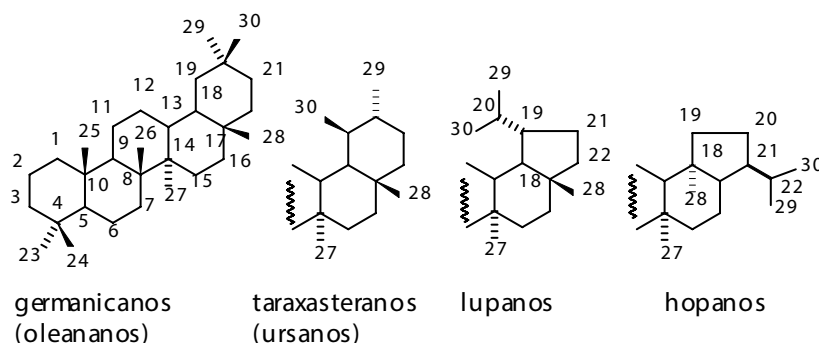


Esquema b-3. Ciclación ssss (silla-silla-silla-silla).



Los triterpenospentacíclicos más abundantes presentan los esqueletos de oleanano, ursano y lupanoy en todos ellos los carbonos oxigenados con

más frecuencia son 2, 3, 6, 23, 28, siendo el último comúnmente un grupo carboxilato. La numeración en los anillos sigue el sistema esteroidal, los metilos mantienen los números más altos según se ilustra para los esqueletos de germanicano-oleanano, taraxasterano-ursano, lupano y hopano. Los grupos metilos de los esqueletos restantes conservan su número aún después de la migración correspondiente.



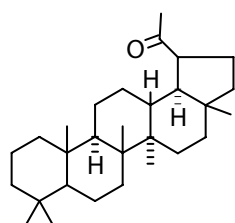
Las funciones oxigenadas pueden ser OH, CO, ésteres alifáticos (acetatos, angelatos, tiglatos...) y menos frecuentemente ésteres aromáticos (benzoatos, cinamatos, caffeatos...), lactonas, éteres; pueden estar conjugados con azúcares. También es frecuente localizar dobles enlaces en C12-C13 y es posible distinguir los esqueletos Δ^{12} -ursanos de Δ^{12} -oleananos por las absorciones características en el IR y los desplazamientos químicos de los carbonos olefínicos en los espectros de RMN de ^{13}C .

Es posible encontrar referidas en la literatura estructuras con esqueletos menos frecuentes, como epímeros de los más abundantes, indicando el (o los) carbono(s) comunes a dos anillos que han sufrido el cambio. Así los germanicanos pueden interpretarse como 18α -oleananos, respetando en todo caso el nombre del esqueleto en función de la ubicación de los metilos.

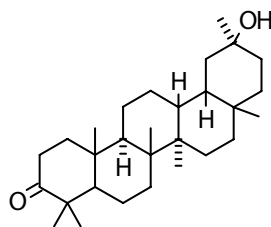
Entre los triterpenos pentacíclicos se encuentran estructuras a las cuales falta uno o varios metilos (nor-triterpenos). Por ejemplo del helecho *Adiantum venustum* se ha aislado un nor-lupano y un nor-oleanano (andiantanoleanona)*.

*M. Sarwar Alam, N. Chopra M. Ali y M. Niwa, "Normetil pentacyclic and lanostanetype triterpene from *Adiantum venustum*". *Phytochemistry*, 54, 21, 2000.

Terpenos

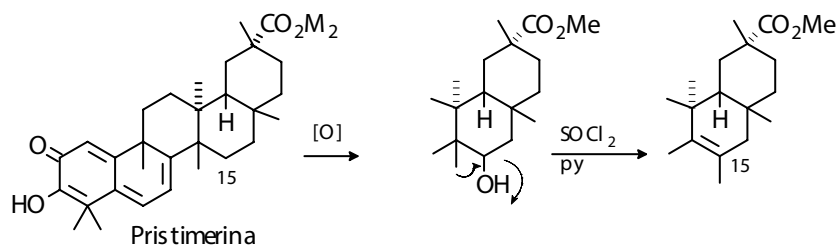


30-Normetil-lupan-20-ona



Andiantanoleanona

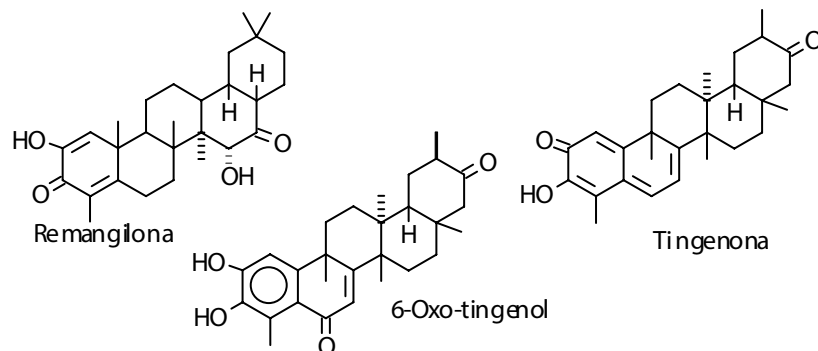
Hay varios ejemplos de nor-triterpenoides pentacíclicos con estructura quinoidea en el anillo A y son típicos del género *Maytenus* (Celesteráceas). Este es el caso de la pristimerina con el núcleo de glutinano, la cual por oxidación de C-15 y eliminación de agua sufre reordenamiento del metilo*.



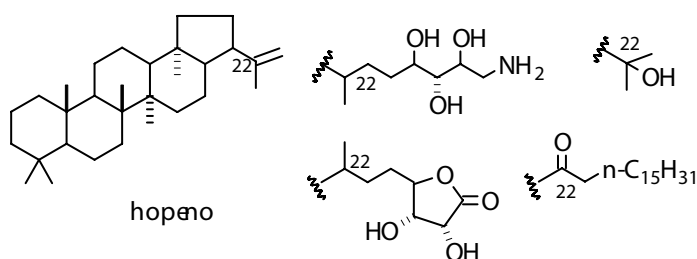
Compuestos "bis-nor" se encuentran también en otros géneros, por ejemplo la remangilonona: un 24,28 bis-nor-oleanano que se aísla de las hojas de *Physenia madagascariensis*, las cuales son utilizadas como repelente para piojos, y la tingenona: un 24,29-bis-nor-glutinano aislada del género *Maytenus**. Estas estructuras quinoideas parecen ser precursores de estructuras aromáticas como en el 6-oxo-tingenol.

* a) A. González, N.L. Alvarenga, I.L. Bazzocchi, A.G. Ravelo y L.M. Moujir, "New bioactive norquinonemethide triterpene from *Maytenus scutioides*". *Planta Medica*, 64, 769, 1998.

b) A. González, N.L. Alvarenga, A.G. Ravelo, I.A. Jimenez, I.L. Bazzocchi, N.J. Canela y L.M. Moujir, "Antibiotic phenol nortriterpenoides from *Maytenus canariensis*". *Phytochemistry*, 43, 129, 1996.



Los hopanos presentan una diversidad de sustituyentes especialmente relacionada a la estructura de la cadena lateral de la cual se acepta que proviene de carbohidratos. Su origen no isoprenoide está bien documentado a través de estudios en bacterias y algas. A tales estructuras se atribuye un papel estabilizador de las membranas*.



Diferentes esqueletos pueden co-ocurrir en la misma fuente, inclusive estar acompañados de triterpenos tetracíclicos, (además de otras estructuras). Por ejemplo se encuentran esqueletos de lupano, oleanano, ursano y eufanos

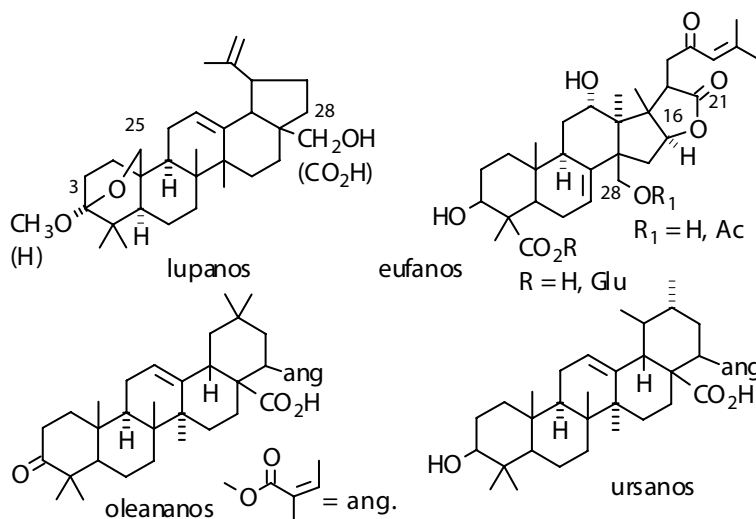
* a) M. Seemann, P. Bissleret, J.P. Tritz, A.B. Hoppery M. Rohmer, "Novel bacterial triterpenoids of the hopan series from *Nitrosoma europaea* and their significance for the formation of C_{35} bactriohopane skeleton" *Tetrahedron Lett.*, 40, 1681, 1999.

b) M. Rohmer «Comprehensive Natural Product Chemistry», Ed. E.D. Cane, Pergamon Press, 2, 45, 1992.

c) T. Tuvold y M. Rohmer, "Synthesis of ribosylhopane, the putative precursor of bacterial triterpenoids of the hopan series". *Tetrahedron*, 55, 9847, 1999.

Terpenos

representados en los metabolitos indicados en la figura, en *Lantana camara* ("cariacuito") utilizada en medicina tradicional para aliviar fiebre, influenza, dolores estomacales y otros, además de su reputación popular de "dar suerte" a quien se baña con la infusión de las flores de esta planta.



De igual manera, de una misma planta se aíslan varios tipos de metabolitos secundarios. Por ejemplo, de *Uncaria tomentosa* conocida popularmente como "uña de gato", se han obtenido alcaloides indólicos y oxindólicos, glicósidos, catequinas, esteroides y triterpenos polioxigenados derivados del ácido 6-oxo-ursólico. Nótese que la planta es usada como droga cruda por poseer actividades farmacológicas significantes entre las que se mencionan la anti-inflamatoria, anti HIV, antioxidante, e inclusive, poseedor de propiedades "anticancer", sin la comprobación de la naturaleza del o de los compuestos responsables de tales acciones*.

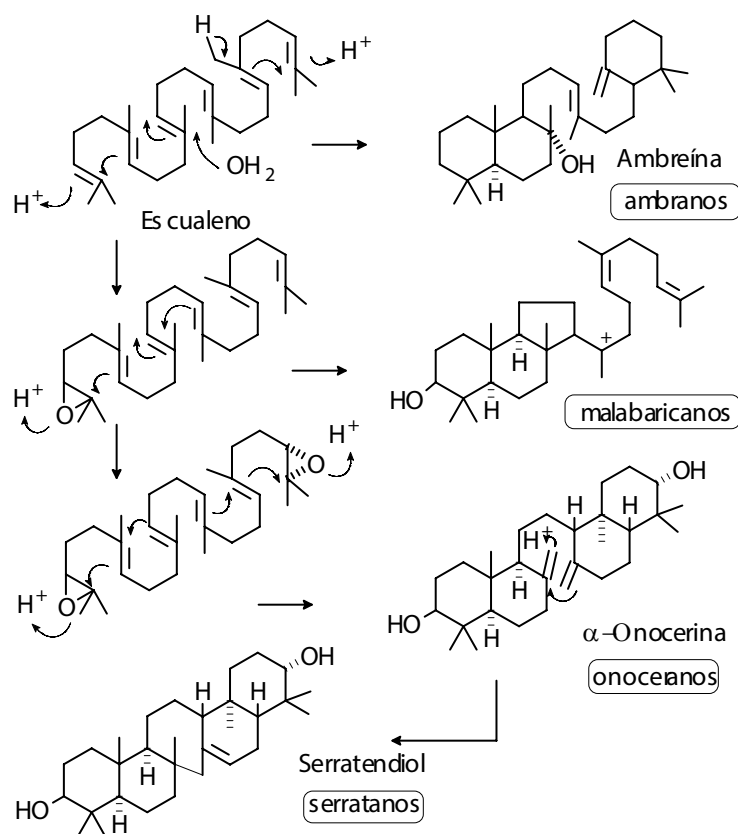
4.11.2.2. Otras ciclaciones

Las ciclaciones iniciadas simultáneamente por ambos extremos de la molécula de escualeno originan metabolitos con un sistema anular anormal

*M. Kitajima, K. Hashimoto, M. Yokoya, H. Takayama y N. Aimi. "Two new 19-hydroxyursolic acid type triterpenes from peruvianuña de gato (*Uncaria tomentosa*)". *Tetrahedron*, 56, 547, 2000.

Tal es el caso de la ambreína, aislada del ambagrís, para la cual no se conoce con exactitud la naturaleza del electrófilo que inicia su formación. En la construcción del esqueleto de onocerano (en α - y β -onocerina) se presume la intervención de dos epóxidos en ambos extremos originando un compuesto totalmente simétrico. Estos se encuentran en las raíces de *Ononis spinosa* y de *Lycopodium clavatum*. La generación de un nuevo ciclo a partir de onocerina, origina un triterpeno pentacíclico: serratendiol, que presenta el anillo C de 7 miembros. El éter metílico en C-3 de este alcohol se aisló de la corteza de *Picea jezoensis* (Pinnáceas)*. En el esquema se ilustra la formación de estos esqueletos.

Esquema c. Otras ciclaciones.



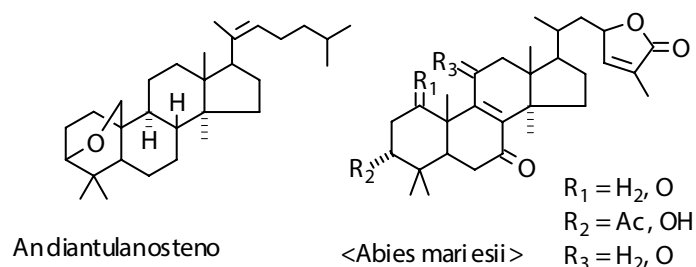
*R. Tanaka, K. Tsujimoto y S. Matsunaga, "Two serratane triterpenes from the stem bark of *Picea jezoensis*", *Phytochemistry*, 52, 1581, 1999..

Terpenos

4.11.3. Triterpenos tetracíclicos. Consideraciones generales

Los triterpenotetracíclicos forman un grupo amplio dentro del cual se encuentran gran variedad de estructuras y actividad biológica: esteroides, ácidos cólicos, glicósidos cardiotónicos y saponinas. Las variaciones son tanto en la cadena lateral como en el sistema anular. C-3 está casi siempre oxigenado y como se indicara antes, la estereoquímica en la fusión de los anillos y de la cadena lateral depende fundamentalmente del modo cómo se dobla la cadena del escualeno para ciclar (ver arriba).

Generalmente, los 3β -alcoholes de los triterpenotetracíclicos se aíslan de vegetales superiores. A algunos, como lanosterol y sus productos de desmetilación, se encuentran en animales (lana de oveja, hígado y otros tejidos) y aunque se asocia el esqueleto de lanostano con metabolitos de origen animal, también se ha localizado en compuestos aislados de helechos (*Andiantum venustum*), el éter andiantulanostenoy de pinos (*Abies mariesii*), como las lactonas indicadas*.



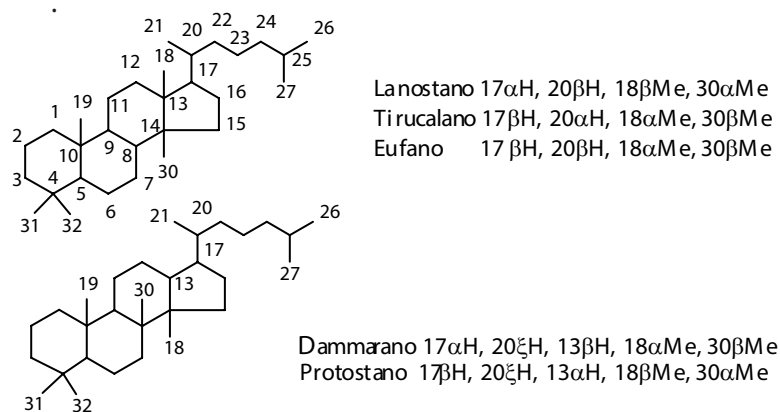
Ciertos triterpenos degradados como los limonoides son típicos de Rutáceas y Meliáceas y las cucurbitacinas lo son de las Cucurbitáceas. Las últimas se encuentran frecuentemente bajo la forma de glicósidos, los cuales son más abundantes cuanto más oxigenada sea la aglicona. Los glicósidos están menos representados en otros derivados tetracíclicos y éstos también presentan agliconas muy oxigenadas, tal es el caso de las saponinas esteroidales o de los glicósidos cardioactivos.

*R. Tanaka, H. Aoki, T. Mizota, S. Wade, S. Matsunaga, H. Tokuda y H. Nishino, "Three new lanostane-type triterpene lactones from the stem bark of *Abies mariesii*", *Planta Medica*, 66, 163, 2000.

Generalmente los glicósidos se hidrolizan por la acción de la enzima glicosidas y por ello es difícil de predecirse en la planta están como agliconas libres o no. También se encuentran los alcoholes esterificados con diferentes ácidos incluyendo ácidos grasos de alto peso molecular. Es por ello que el análisis primario se lleva a cabo sobre la "fracción no saponificable" (aglicona, conocida también como "genina"), proveniente de la hidrólisis del crudoterpenoidal que se aísla de la planta. En este análisis debe tenerse en cuenta que pueden ocurrir modificaciones en el esqueleto durante la hidrólisis.

Aparte del significado de la conversión biológica de 1 lanosterol a colesterol y a las hormonas esteroideas, se citan algunas propiedades interesantes en estos compuestos. Tal es el caso de la cucurbitacina-E, un antitumoral aislado de varias plantas usadas en medicina folklórica como vermífugos, narcóticos, eméticos y para curar tumores. Asimismo, hay un grupo de esteroides provenientes de hongos, que tienen propiedades antibióticas, por ejemplo: ácido helvólico, ácido fusídico, cefalosporina-P, entre otros.

Sin contar con los derivados de onocerano las estructuras tetracíclicas presentan el esqueleto de ciclopentano perhidrofenantreno siendo los núcleos más representativos del lanostano (sbsb) y del dammarano, tirucalano-eufano (sss) y en menor escala, los protostanos. La estereoquímica de los centros quirales se indican debajo de los esqueletos en la figura que sigue. En ellos se encuentran estructuras que conservan todos sus carbonos: protosterol y estructuras degradadas como el ácido fusídico.



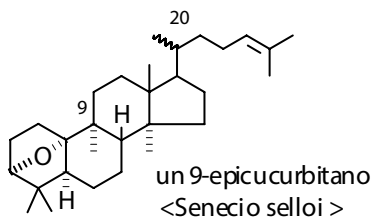
Terpenos

Nota: la numeración y estereoquímica del esqueleto se indica en la figura; los números 28 y 29 se reservan para carbonos adicionales en la cadena lateral; esta regla no siempre es seguida por los diferentes autores.

Las modificaciones más frecuentes que pueden tener lugar son:

1. En la cadena lateral; pueden variar en su longitud y sus ramificaciones, sitio y número de dobles enlaces y grupos funcionales, generalmente oxigenados y a veces nitrogenados
2. Los anillos pueden abrirse y formar nuevos esqueletos y/o generar otros ciclos (lanostano \square cicloartano).
3. En el sistema anular; pueden variar la posición de los metilos (lanostanos \square cucurbitanos), la estereoquímica en la fusión de los anillos y de los sustituyentes de funcionalización.

Algunos ejemplos de epimerización en C-9 se encuentran en compuestos aislados de *Senecio seloi* (Asteráceas), un arbusto raramente en alcaloides pirrolizidínicos. Es el caso del 9-epi-cucurbitano el cual se presenta en las dos formas diastereoméricas en C-20*.



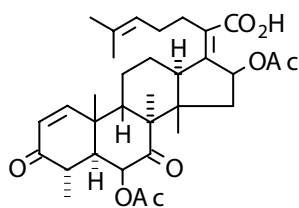
4.11.3.1. Cadena lateral

Hay dos posiciones donde la diferencia estereoquímica es bien conocida: C-17 y C-20. Eufano y lanostano varían en su configuración en C-17 (17 β -H y 17 α -H, respectivamente) mientras que tirucalano y eufano difieren en C-20 (20 α -H y 20 β -H, respectivamente). Nótese que el epímero

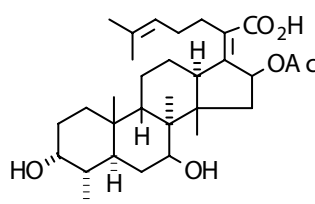
*G. Rucker, D. Manns, E. Schenkel, R. Hartman y B.M. Heinzmann, " Triterpenes with a new 9-epi-cucurbitane skeleton from *Senecio seloi*", *Phytochemistry*, 52, 1587, 1999.

20 α -H-lanostano no está citado como un producto de la naturaleza, a pesar de los muchos ejemplos naturales de ambos epímeros en las series de dammarano y eufano, y del isómero natural 20 α -H del colesterol

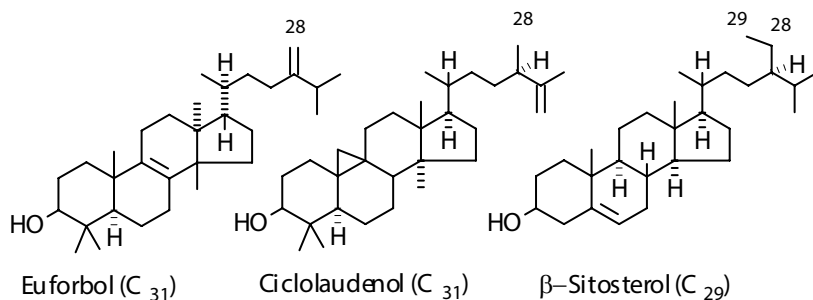
Se conocen como esteroides los triterpenostetracíclicos que tienen de 27 a 30 átomos de carbono. La pérdida de tres átomos de carbono corresponde a procesos de desmetilación los cuales no necesariamente ocurren al mismo tiempo. Ello está ejemplificado en el ácido helvólico, cefalosporina P₁ y otras sustancias antibióticas aisladas de varios hongos, así como en el esteroide más conocido: colesterol



Ac. helvólico



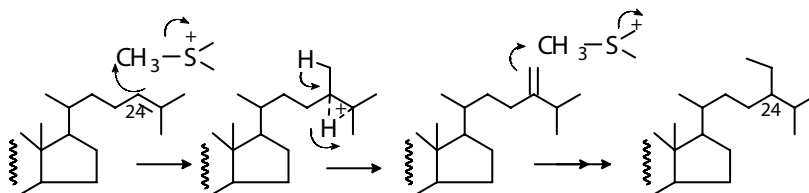
Cefalosporina P₁



Euforbol (C₃₁)

Ciclolaudanol (C₃₁)

β -Sitosterol (C₂₉)

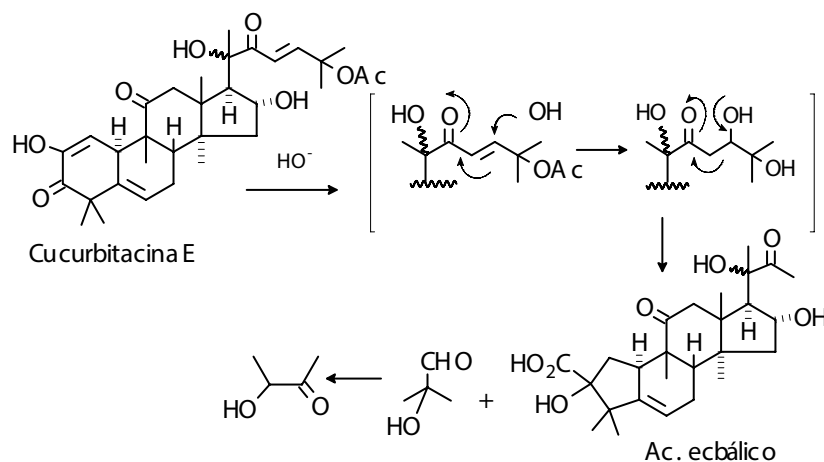


La presencia de un carbono adicional se observa tanto en derivados de lanostano (ej. ciclolaudanol, que se extrae del opio) como de tirucalano (ej. euforbol, obtenido de varias Euforbiáceas), que han sufrido o no,

Terpenos

desmetilaciones en el sistema anular. Generalmente se revela como un metilo localizado sobre C-24, aunque hay ejemplos de metilación sobre C-22 y C-23, en ciertos triterpenos con el esqueleto del cicloartano, obtenidos de *Swietenia mahoganii* (caoba). A veces se presentan grupos etilo como en el caso del β -sitosterol, ampliamente distribuido en vegetales superiores. Los carbonos adicionales provienen de la metionina. También se encontraron ejemplos de carbonos adicionales en esqueletos pentacíclicos de ursano, aislados de la corteza de *Thevetia peruviana* (Apocináceas)*.

Las oxidaciones conducen a la formación de alcoholes, cetonas, epóxidos, ácidos y a productos de degradación. Las cucurbitacinas son ejemplos de alta oxigenación de la cadena lateral, con estructuras aciloínicas (C-20 y C-22, además de C-2 y C-3) sobre un esqueleto de protostano. En esta situación favorece el rompimiento del enlace C-C aciloínico. Por ejemplo, la cucurbitacina-E (aislada como glicósido en más del 40% de las especies de las Cucurbitáceas sometidas a estudios fitoquímicos) se descompone en condiciones básicas a ácido ecbálico a través de la adición del OH al sistema enona, y se acompaña con un reordenamiento cíclico del anillo A, además de hidrolizar el éster en C-25.

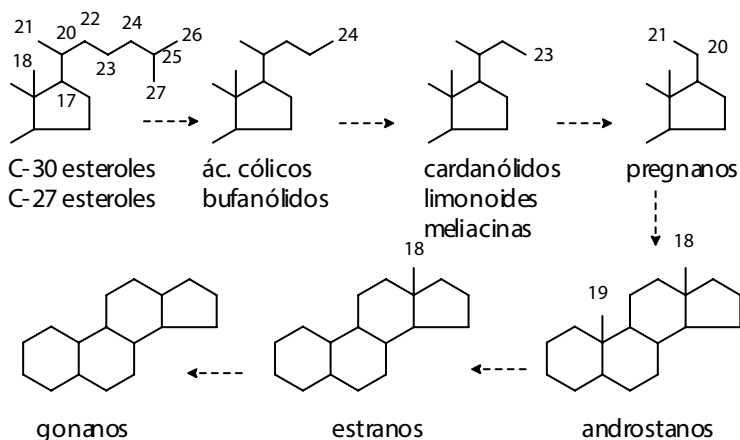


*Mc. Kavinder, R. Ramachandram, "New ursane-type triterpenic esters from the bark of *Thevetia peruviana*", *Pharmazie* 55, 5, 2000.

La pérdida del grupo isopropilo da lugar a las cadenas típicas de los ácidos cólicos y de los bufanólidos (la estereoquímica en C-17 y C-20 para ambos es la del lanosterol) mientras que si falta el isobutilo terminal se logra el esqueleto de los cardanólidos (doblamiento *sb*) y limonoides y meliacinas (para la conformación *ssb*). Las hormonas esteroideas presentan esqueletos aún más degradados y la configuración del lanosterol, al menos en su origen (ver más adelante).

4.11.3.2. Sistema anular

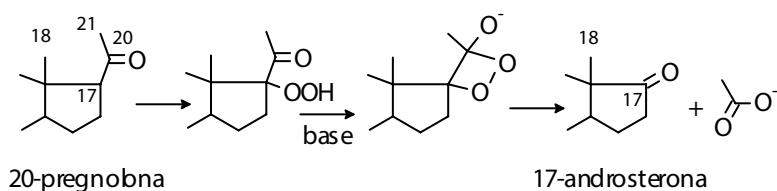
Las familias de compuestos provenientes de las degradaciones se ilustran a continuación. Nótese que esta secuencia no debe interpretarse como la ruta biogénica que sigue la formación de tales núcleos degradados. De las modificaciones esqueléticas, la pérdida de los metilos angulares y el reordenamiento de los anillos, los primeros son más frecuentes y han despertado mayor interés por la transformación del lanosterol al colesterol.



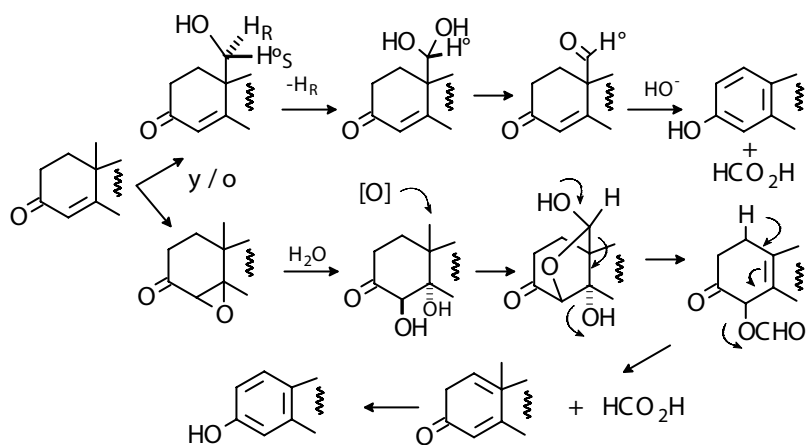
Tanto los procesos de desmetilación como la degradación de la cadena lateral obedecen a procesos oxidativos que dependen del sistema enzimático, para algunos casos no se conoce con exactitud el tipo de reacción que tiene lugar. Por ejemplo, en la conversión de pregnanos a androstanos, se propone la formación de un peróxido entre los carbonos 17 y 20 (en lugar de una transformación del tipo Baeyer-Villiger), mediante la intervención de una peroxidasa

Terpenos

(al menos si se usa tejido testicular de ratas), que transforma la pregnolona (3 α -hidroxi-20-pregnanona) a 17-androsterona (3 α -hidroxi-17-androstanona)



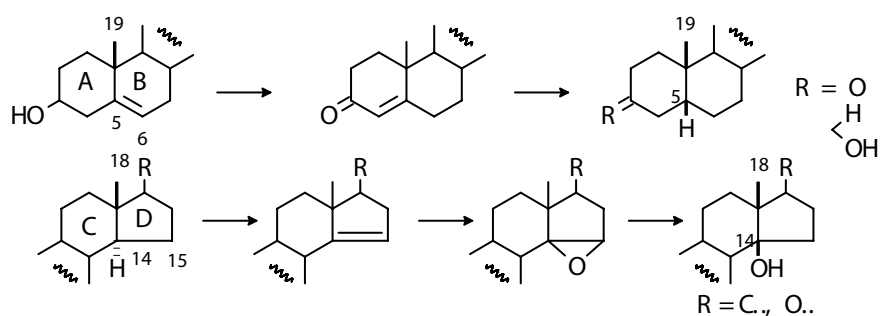
La transformación de androstanosa estranos, requiere de la epoxidación de un doble enlace 4,5 y la oxidación del Me-19 al alcohol y al aldehído y este último paso procede con la pérdida del H pro-R, según se ilustra.



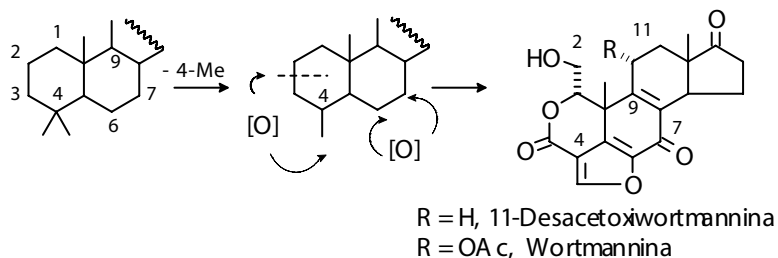
Manteniéndolos anillos intactos, el grado de insaturación puede variar. Frecuentemente se encuentran dobles enlaces en 4,5 (casi siempre asociado con un carbonilo en C-3) y en 5,6 (junto con un grupo 3 β -OH). El sistema enona es típico, no exclusivo, de las hormonas esteroidales, mientras que el alcohol homoalílico lo es para los esteroides de origen vegetal.

Las conformaciones *sbsb* y *sssb* de la cadena del escualeno originan sistemas cíclicos con fusión *trans* en todos sus anillos, así que la epimerización de los carbonos comunes a dos ciclos puede ser consecuencia de la migración

de hidrógenos o metilos, como por ejemplo en la transformación de protostanos al esqueleto cucurbitano, o bien provenir de la saturación de dobles enlaces. Tal es el caso de los ácidos cólicos, cardanólidos, bufanólidos y algunos furostanos y espirostanos que presentan la fusión A/B cis: β, β . En esta epimerización se asume la intervención de la enona como el precursor insaturado. En la formación de 14β -OH (fusión C/D cis: β, β) de los bufanólidos y los cardanólidos (ver más adelante) es necesario un doble enlace 14,15. Nótese que se han aislado varios compuestos con el anillo epoxídico beta en esa posición.

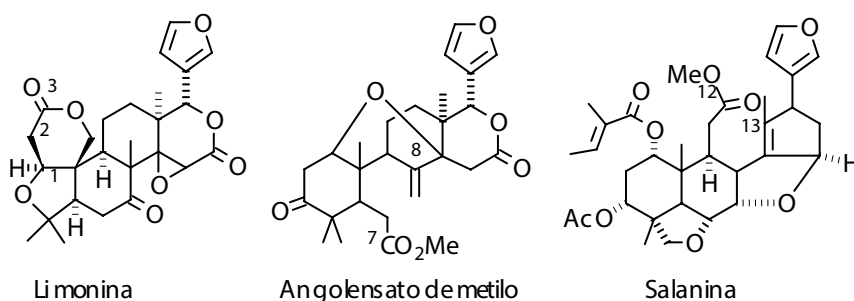


La formación de nuevos ciclos puede resultar de la simple saturación de una especie cargada sin modificación del esqueleto básico, tal es el caso del cicloartenol, triterpeno ampliamente distribuido en las plantas superiores y en las algas, o bien provenir de la pérdida de un metilo o metileno con la consecuente rotura del enlace y formación de un nuevo sistema. Ambas situaciones se reflejan simultáneamente en 11-desacetoxiwortmannina un metabolito de *Penicillium wortmanni*. En esta estructura se observa la oxidación de un metilo en C-4 que origina el anillo furánico y el rompimiento del enlace 2,3 que genera el anillo lactónico.



Terpenos

El rompimiento del anillo A es también frecuente en otras moléculas triterpenoidales y se ejemplifica en los limonoides que también presentan la oxidación del anillo D. Véase por ejemplo la estructura de la limonina, el principio activo mayoritario de las semillas de cítricos. La rotura de los enlaces C-C es usual en los anillos terminales, pero no en los centrales. El último caso se observa en algunos triterpenos aislados de Meliáceas, por ejemplo angolensato de metilo (fisión 7,8) y salanina (fisión 12,13) (Sección 4.11.10).



4.11.4. Grupos principales de triterpenos tetracíclicos

En las dos familias de los triterpenos tetracíclicos se agrupan distintas series de compuestos y a continuación se hará una breve revisión de las principales. Así, dentro de la familia de los protostanos aquellos provenientes de la degradación del lanosterol se encuentran el grupo más estudiado: los esteroides y junto con ellos, los ácidos cólicos y los glucósidos cardiotónicos. Su origen es esencialmente animal, mientras que los provenientes del cicloartenol y los dammaranos son de origen vegetal. En la familia de los dammaranos se ubican como productos de degradación del núcleo apo-eufano, las meliacinas, los limonoides y los simarubálicos, llamados también simarólidos o quassinoides y son todos de origen vegetal.

Protostanos

Esteroides
Esteroles
Cucurbitacinas

Apo-eufanos

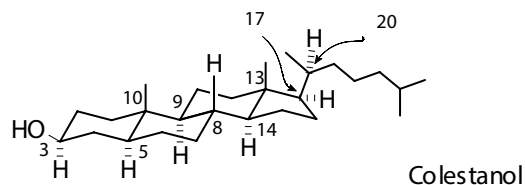
Meliacinas
Limonoides
Simarubálicos

4.11.5. Esteroides

Con el término "esteroides" se denomina a un grupo de sustancias que poseen el núcleo del ciclopentano-perhidrofenantreno que puede o no presentar una cadena lateral en C-17, así como los metilos angulares en C-10 y C-13. Aunque esta clasificación puede traer confusiones en cuanto al tipo de sustancias presentes, pues no indica diferencias estereoquímicas en la fusión de los anillos o en la cadena lateral, se designa con este término a los derivados al menos en principio, del lanosterol por ello es frecuente encontrar incluidos en este grupo los ácidos cólicos, los estrostanos, los bufanólidos y cardanólidos así como otros esteroides: furostanos, ergostanos y estigmastanos. Sin embargo, se prefiere designar como "esteroides" a los derivados de pregnano, androstano, estrano y gonano, y a los restantes como "esteroles".

Debido a la importancia farmacológica de estos compuestos, pues comprenden sustancias vitales: hormonas sexuales, vitamina D, hormonas corticoides, compuestos cardiotónicos, hormonas de muda de los insectos, antibióticos, toxinas y otros, se ha desarrollado un gran número de análogos sintéticos con intenciones, entre otras cosas, de suplantar, modificar, o comprobar las estructuras de aquéllos aislados de la naturaleza.

Los estudios químicos de esteroides comenzaron en 1903 y se dedicaron a la determinación de la estructura del colesterol, el esteroide más conocido, el cual había sido aislado en 1812 por Chevreul, a partir de la grasa animal. En 1932 se conocía la estructura planar correcta del núcleo tetracíclico, gracias a los trabajos de Winstein (en ácidos biliares) y de Wieland (en colesterol). Aunque la configuración relativa de los centros quirales de algunos esqueletos claves, fue establecida a finales de 1940, la determinación de la configuración absoluta del colesterol fue sólo posible después de conocer la del gliceraldehído, en 1952. Considérese la magnitud del problema cuando por ejemplo, para el colestano existen 9 centros asimétricos y por lo tanto, 512 modificaciones teóricas posibles.



Entre 1929 y 1935 se aislaron y elucidaron las estructuras de las hormonas sexuales (Ruzicka y Butenandt) y Kendall, Reichstein y Wintersteiner avanzaron estudios sobre corticoides entre 1935 y 1938. Debido a su esqueleto plano y relativamente rígido, su alta capacidad de cristalización y el gran número de derivados que se han preparado, los esteroides han sido y son compuestos claves para estudios químicos y fisicoquímicos, al punto de que prácticamente, en el desarrollo de cualquiera de las fases de la química orgánica se encuentran estructuras esteroideas involucradas. Los métodos cromatográficos, la síntesis orgánica, incluyendo síntesis totales de productos naturales complejos, fueron impulsados por Woodward y Robinson sobre estructuras esteroideas, así como el análisis conformacional desarrollado por Barton, la espectroscopía UV por Woodward y Fieser, IR, CD, RMN, EM y ORD por Djerassi y la biosíntesis por Cornforth, Popjak y Bloch, tuvieron como marco de referencia tales compuestos.

4.11.5.1. Nomenclatura

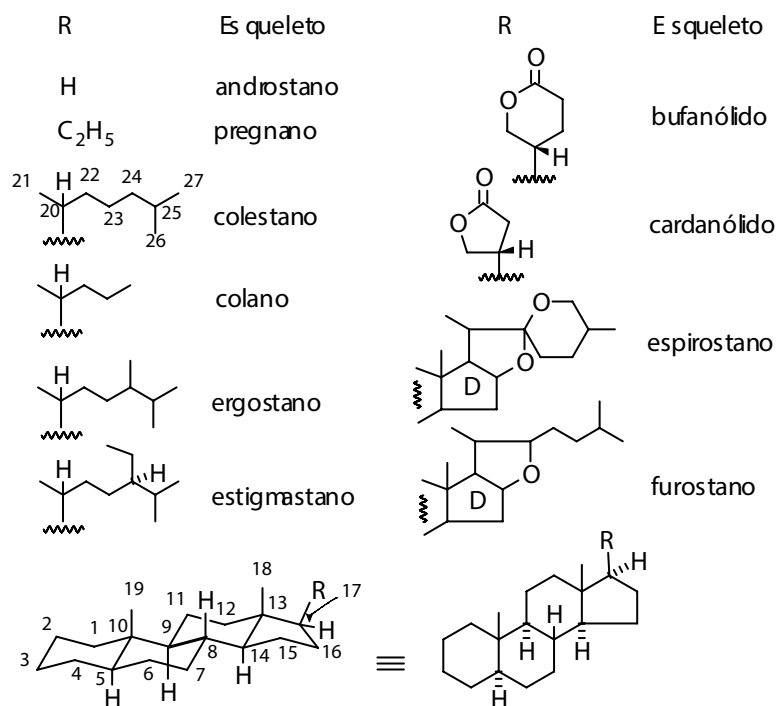
Las reglas de nomenclatura para los esteroides fueron establecidas por la IUPAC en 1971 y comprenden tanto los compuestos naturales como los sintéticos. Al igual que para otros terpenoides ellas tratan de simplificar y uniformar las denominaciones y utilizar en lo posible, los nombres comunes más primitivos que permitan la rápida interrelación de estructuras con las ya conocidas. A menos que se indique, se sobreentiende que la configuración absoluta de las estructuras esteroideas reproduce la del colesterol en la fusión de sus anillos y en la unión con la cadena lateral. Esto se conoce como "serie natural". Sin embargo, es requisito especificar siempre la estereoquímica del H en C-5, a menos que un doble enlace ocupe esa posición, en cuyo caso se le nombrará. La numeración de los carbonos y de los anillos se ilustra en la estructura del colestanol. Los sustituyentes se indican como " α " debajo del plano de los anillos, en líneas punteadas, " β " arriba del plano de los anillos, en líneas gruesas, y cuando no se conoce la estereoquímica " ξ " se representa con líneas onduladas.

El nombre de los esqueletos carbocíclicos y de aquellos donde varía la cadena lateral se indican en el cuadro 4-12, donde se incluyen esteroides y esteroides. Los centros asimétricos de la cadena lateral se refieren como: R o S, según corresponda. Nótese que el término "cardanólido" (o "bufanólido")

se refiere a estructuras con el anillo lactónico saturado; sin embargo, las estructuras naturales presentan dobles enlaces en ese anillo. Siguiendo las reglas de la IUPAC, las insaturaciones se indican cambiando la última sílaba (por ejemplo: "ano" por "eno", anteponiéndole el número de la posición de la insaturación).

Los sustituyentes pueden ser designados como prefijos o sufijos (los halógenos, grupos alquilo y grupos nitro, solamente como prefijos) y cuando hay más de un sustituyente se escoge como sufijo al más oxidado, por ejemplo: 3 β -hidroxi-5 α -androstan-17-ona. Tal como en los diterpenos, la pérdida o ganancia de un carbono, o la contracción o expansión de los anillos se denominan con los prefijos "nor" y "homo", respectivamente, precedidos del número del carbono o de la letra correspondiente al anillo afectado. El término "abeo" se reserva para indicar la migración de enlaces C-C que conducen a la expansión y/o contracción de los anillos.

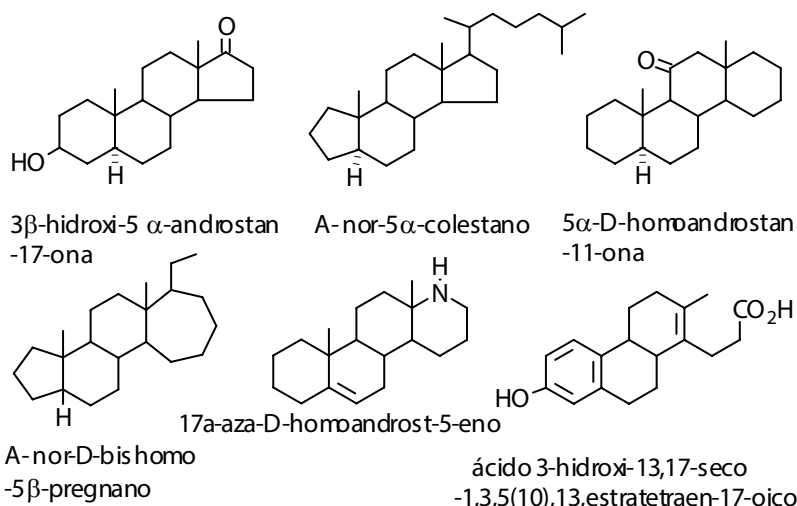
Cuadro 4-12. Cadenas laterales de derivados esteroidales.



Terpenos

El rompimiento de un enlace C-C se indica con el prefijo "seco" y se incluye la posición de la fisión, por ejemplo: A-nor-5 α -colestano, D-homo-5 α -androstan-11-ona, ácido 3-hidroxi-13,17-seco-1,3,5(10),13-estratetraen-17-oico. Si más de un carbono adicional está en un anillo (o falta en un anillo) se utiliza el prefijo "bis", antes de homo o nor; por ejemplo, A-nor-D-bishomo-5 β -pregnano. Se indica en mayúsculas el anillo afectado. Nótese que se evitan dos vocales seguidas, aún si están interrumpidas por números. Así se nombra: 5 α -androstan-4-ona y no 5 α -androstano-4-ona.

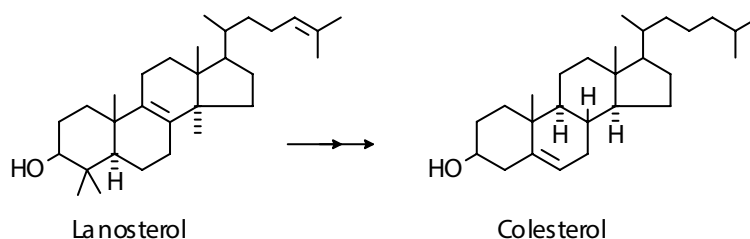
Recientemente se han desarrollado gran número de estructuras esteroideas que tienen incorporados heteroátomos generalmente nitrógeno, azufre y oxígeno. Para ellos se indica la posición del heteroátomo con los prefijos "aza", "tia" y "oxa", respectivamente, por ejemplo 17a-aza-D-homoandrost-5-eno. Nótese que el carbono heteroátomo adicional de un anillo expandido se designa con la letra "a", a continuación de la numeración de la posición vecina más alta.



4.11.5.2. Colesterol

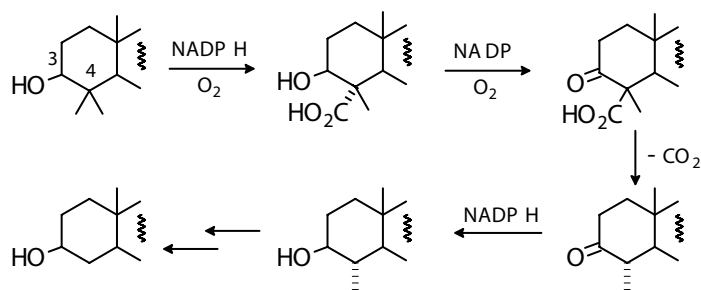
Su estructura fue definitivamente establecida por difracción de rayos-X en 1952. Se encuentra ampliamente distribuido en los tejidos animales, especialmente en el nervioso, glándulas suprarrenales, yema de huevo y es

el constituyente principal de los cálculos biliares. El colesterol metabolizado a coprostanol (5β -colestanol) en el tracto digestivo y se elimina con las heces. El colesterol que a su vez es el precursor de los demás esteroides fisiológicamente importantes, es biosintetizado a partir del lanosterol, por pérdida de tres metilos del sistema carbocíclico. Sin entrar en detalles, se indican a continuación las reacciones más importantes de esta transformación.



1. Pérdida de los metilos en C-4

Las evidencias experimentales sugieren una secuencia de eventos donde el 4α -Me se oxida primero hasta carboxilato y el OH en C-3, a cetona; le sigue la descarboxilación del β -ceto-ácido, quedando el metilo restante en C-4 orientado alfa, la cetona se reduce a OH y el proceso de oxidación y descarboxilación se repite. Nótese que tanto C-3 como C-4 se tritúan en presencia de agua tritida.

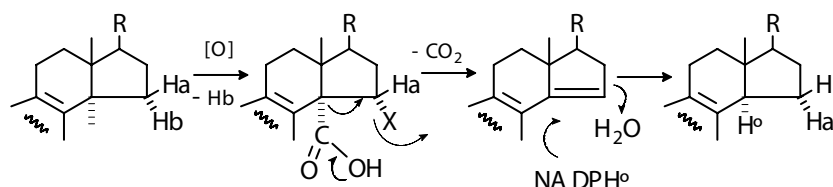


2. Pérdida del metilo en C-14

La pérdida del metilo en C-14 debe proceder por simple descarboxilación después de la oxidación del metilo. Aparentemente interviene la formación de un dieno 8,14 a través de un intermediario unido por C-15 a un grupo X (OH, enzima, ó, H) que se pierde durante o inmediatamente después

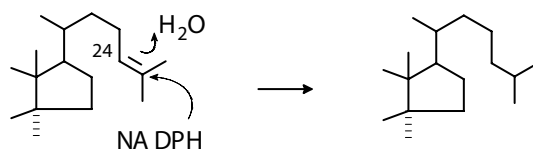
Terpenos

de la descarboxilación. El doble enlace entre C-14 y C-15 se reduce y C-15 se une un hidrógeno del medio (tritio, en el caso de agua tritiada); la posición 14- α se satura con un hidrógeno proveniente de NADPH.



3. Reducción del doble enlace de la cadena lateral

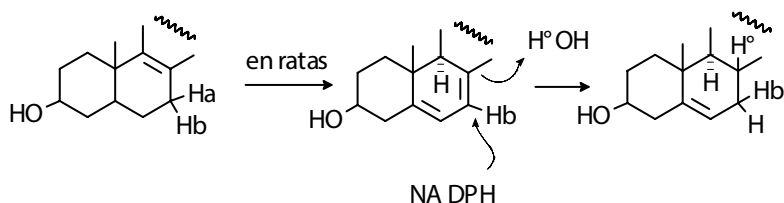
Es de nuevo, un proceso de adición trans donde el NADPH suministra el H a C-25 mientras que el hidrógeno unido a C-24 procede del medio.



4. Migración del doble enlace endocíclico

La primera etapa involucra la isomerización del doble enlace 8(9) a 7(8). Se supone que esta reacción es reversible. En ella se pierde el 7 β -H y el hidrógeno en C-9 proveniente del agua, se orienta α si el sistema enzimático es un homogeneizado de hígado de ratas, o protozoarios del género *Ochromonas* pero si se trata de microorganismos como *Aspergillus* o *Saccharomyces* se pierde el protón 7 α .

El doble enlace en 5(6) es introducido por deshidrogenación de la olefina 7(8) a través de una enzima formada por un sistema de dos proteínas. En todos los casos estudiados los protones 5 α y 6 α se pierden durante la formación del dieno. Por último, la adición trans de hidrógenos por NADPH (en C-7 α) y del medio (en C-8 β) originan el doble enlace 5(6).



4.11.5.3. Hormonas esteroidales

Las hormonas más importantes de los mamíferos son las adrenocorticales y las sexuales. Cada una de ellas tiene su historia en cuanto a su descubrimiento, aislamiento, elucidación estructural y síntesis. La baja proporción de estos compuestos ha dificultado tremendamente su obtención y ha incentivado grandemente su estudio, su síntesis y la producción de análogos artificiales a escala comercial.

4.11.5.4. Hormonas adrenocorticales

Son producidas por la corteza de las glándulas adrenales (la médula de las mismas produce y reserva catecolaminas, como la adrenalina) y se han aislado unas 30 estructuras con los esqueletos del pregnano, androstanoy estrano. (De ciertas estrellas de mar se pudo aislar $\Delta^{9(11)}$ -pregnen-3 α ,6 β -dihidroxi-20-ona).

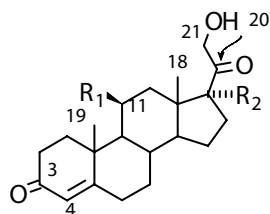
De las hormonas adrenocorticales, siete poseen actividad biológica marcada. De acuerdo a su modo de acción se clasifican en glucocorticoides (por ejemplo cortisol) que regulan el metabolismo de la glucosa y mineralocorticoides (por ejemplo aldosterona) que intervienen en la retención de sodio y la excreción de potasio. La proporción de estos compuestos en las glándulas es muy baja. Por ejemplo, se necesitaron 500 kg de glándulas suprarrenales de reses para obtener 900 g de un crudo del cual se aislaron unos 1.2 g de una mezcla de seis corticoesteroides activos.

El método clásico para su obtención consiste en extraer las glándulas molidas con etanol, para precipitar las proteínas, y separar las catecolaminas por intercambio iónico, particionar el crudo entre MeOH y pentano, de modo de eliminar los lípidos, resolver por cromatografía el crudo previamente acetilado, seguido por hidrólisis de las fracciones para obtener los alcoholes libres.

Todas tienen el mismo esqueleto pero difieren en los niveles de oxidación de los carbonos, 3, 11, 17, 18, 20 y 21.

El sistema Δ^4 -3-cetona parece indispensable para la actividad, así como la aciloína 20,21 (20-ceto-21-hidroxi).

Terpenos



Adrenocorticoides	R ₁	R ₂	C-18
Cortisona	=O	OH	Me
Cortisol	OH	OH	Me
Cortisolona	H	OH	Me
Corticosterona	OH	H	Me
11-Deshidrocorticosterona	=O	H	Me
Cortexona	H	H	Me
Aldosterona	OH	H	CHO

Los adrenocorticoides han tenido amplia aplicación en tratamientos antiartríticos y como anti-inflamatorios y gracias a su gran demanda se producen sintéticamente. Una de las mayores dificultades en la síntesis de los corticoides ha sido la introducción de un oxígeno en C-11. Se han intentado varios métodos: químicos, microbiológicos o combinación de ambos, sobre sustratos abundantes, naturales o sintéticos. Por ejemplo, utilizando el método microbiológico se transformó la progesterona en 11 α -hidroxiprogesterona por incubación con varias especies del hongo *Rhizopus*, entre otros; este proceso ha sido desarrollado y empleado por la industria farmacéutica, para la obtención de varios derivados esteroideos.

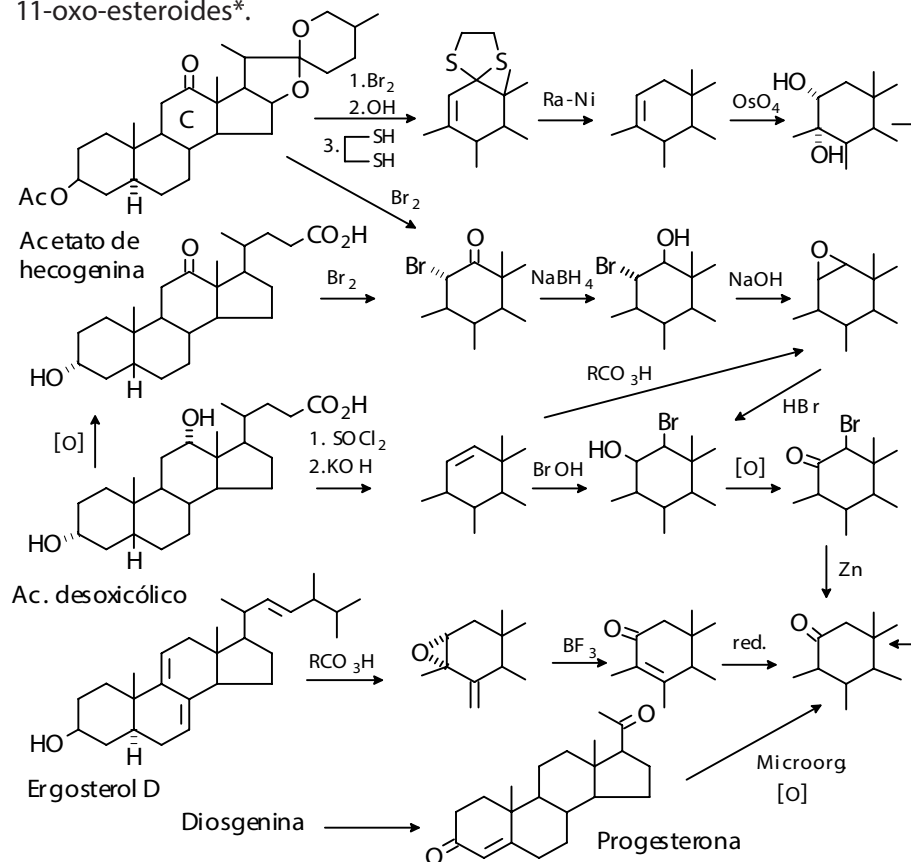
En la traslocación de oxígeno de C-12 a C-11 por medios químicos se utilizan ácidos cólicos como material de partida, con los cuales puede funcionalizarse C-11, a través de una olefina 11,12 o por bromación en posición alfa (C-11) de la cetona en C-12. En estos casos es necesario considerar la conversión de 5 β -H, 3 α -OH de los ácidos cólicos al sistema Δ^4 -3-cetona de los corticoesteroides, así como la funcionalización adecuada de C-17, C-20 y C-21. El ergosterol-D presenta un sistema apropiado para introducir oxigenación en C-11, esto es un dieno 7,9(11). Este esteroide fue utilizado como material de partida por varios laboratorios comerciales.

Los sustratos mencionados son escasos y por ello se escogieron esteroides abundantes como colesterol, estigmasterol o diosgenina. Sin embargo, por no presentar el anillo C funcionalizado, con éstos se requiere un número adicional de pasos sintéticos para alcanzar la oxigenación en C-11 así como la degradación de la cadena lateral y la introducción de la enona en el anillo A. Se regresó entonces, a la utilización de sustratos oxigenados en C-12 como la hecogenina, que se aísla del material de desecho en los procesos de fabricación.

de la fibra de sisal (*Agave sisalana*). Sin embargo se requiere también de la transformación de la cadena lateral y de la introducción de un doble enlace en el anillo A.

Todo esto condujo a la utilización combinada de métodos químicos y microbiológicos sobre esteroides abundantes de ellos, la diosgenina (triterpeno principal de *Dioscorea mexicana* y de varias Solanáceas) parece ser el material adecuado por su transformación fácil a hormonas sexuales, del grupo de la progesterona, y de allí su conversión a derivados de cortisona. En el cuadro 4-13 se ilustran algunos métodos clásicos de oxigenación de C-11, como paso clave en la síntesis de los corticoesteroides.

Cuadro 4-13. Síntesis de hormonas corticales. Preparación de 11-oxo-esteroides*.

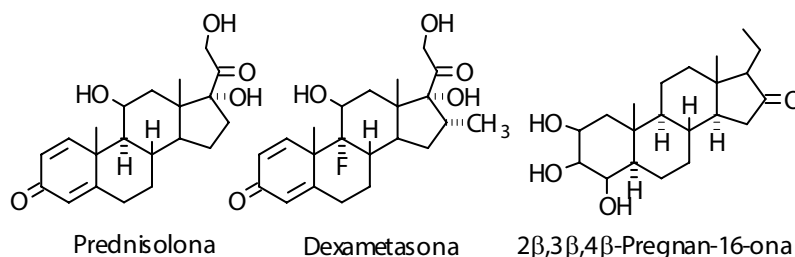


(*) Sólo se indican las condiciones generales de las reacciones que involucran el anillo C

Terpenos

La necesidad de anti-inflamatorios ha impulsado el desarrollo de una gran variedad de análogos sintéticos, de mayor efectividad y con menos efectos colaterales, especialmente destinados a tratamientos prolongados. (Sin embargo, hoy día ha decrecido su uso debido a respuestas secundarias adversas que afectan a una buena parte de la población y se han sustituido por anti-inflamatorios sintéticos no esteroideos). Entre las modificaciones más frecuentes se encuentran carbonos adicionales y/o átomos de halógenos. De los últimos el flúor es el más eficiente: 9 α -fluorcortisol es diez veces más activo que el cortisol en su actividad anti-inflamatoria glucocorticoide; sin embargo, su actividad mineralocorticoide es muy baja y produce la retención de sodio, con lo cual su uso directo se abandonó. El producto sintético más popular por mucho tiempo, ha sido la dexametasona un derivado fluorado y metilado de la prednisolona (también sintético) que presenta actividad anti-inflamatoria y antialérgica. El efecto causado por la introducción del flúor puede resumirse en los siguientes factores:

- El átomo de flúor no altera mucho el entorno espacial del átomo de hidrógeno al cual sustituye, en comparación con otros elementos (por ejemplo otros halógenos) y en consecuencia, puede entrar en el proceso metabólico.
- Por su electronegatividad altera la acción de las enzimas, por ejemplo en la unión con los receptores, etc. Tal es en el caso de la dexametasona en la cual el flúor aumenta la acidez del OH en C-11, incrementa así la fuerza del enlace con los receptores a través de puentes de hidrógeno.
- Aumenta la lipofilia de la droga a la cual llega al centro de acción con mayor facilidad.

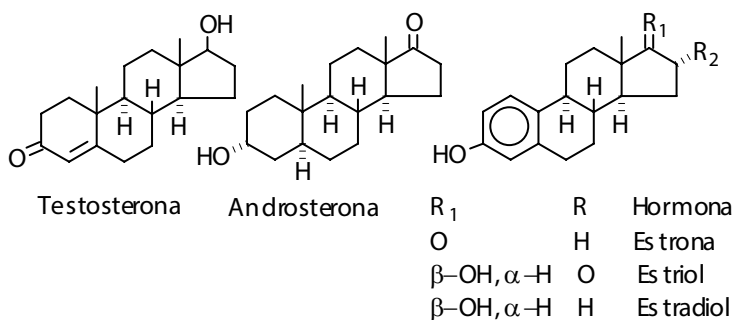


Aunque los pregnanos son característicos de hormonas esteroideas de origen animal, hay varios representantes provenientes de plantas, como por ejemplo $2\beta,3\beta,4\beta$ -pregn-16-ona aislado de *Melia azadirachta* (árbol del neem, profusamente utilizado en medicina ayurvédica)*.

4.11.5.5. Hormonas sexuales

Son producidas por las gonadas, ovarios y testículos, bajo la estimulación de una hormona proteínica secretada por el lóbulo anterior de la glándula pituitaria y controlan la actividad sexual del individuo. Hay dos tipos de hormonas sexuales: las femeninas que a su vez se clasifican como estrógenos y gestágenos y las masculinas o andrógenos.

Las hormonas sexuales presentan los esqueletos del pregnano (progesterona, gestágeno, hormona del cuerpo lúteo que mantiene el embarazo mediante la preparación de la mucosa uterina para la implantación del óvulo), del estrano (estradiol, estrona y estriol, estrógenos que controlan el ciclo estral, estimulan el desarrollo y el mantenimiento de los caracteres secundarios femeninos, son secretados por útero y ovarios) y del androstano (andrógenos: testosterona y androsterona que controlan los caracteres sexuales masculinos, son secretados por los testículos). Han sido aisladas de diferentes fuentes, principalmente de la orina. De hecho, la estrona, el estriol y la androsterona se eliminan por la orina.

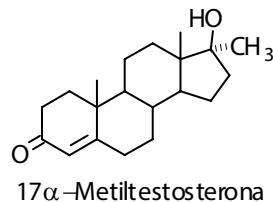
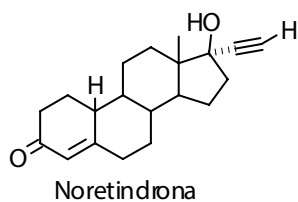
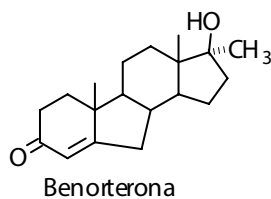
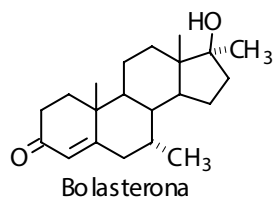


*X. Luo, S. Wu, Y. Ma y D. Wu "A new triterpenoid from *Melia azadirachta*" *Fitoterapia*, 71, 668, 2000.

Terpenos

Los estrógenos tienen importantes aplicaciones en la terapia de casos deficitarios de hormonas, típicos de la menopausia o postmenopausia en el control de las irregularidades menstruales, en las fallas en el desarrollo o ovárico y en el tratamiento del carcinoma prostático. También se usan en preparaciones cosméticas y en el engorde de pollos y ganado (esto último parece haber caído en desuso por los efectos producidos en los consumidores de pollos y reses, así tratados). Constituyen los ingredientes esenciales de los anticonceptivos orales. Por su parte, los gestágenos al inhibir la ovulación también pueden ser usados como anticonceptivos. Sin embargo, ya que muchos gestágenos causan tumoraciones, por administración prolongada, su uso ha disminuido.

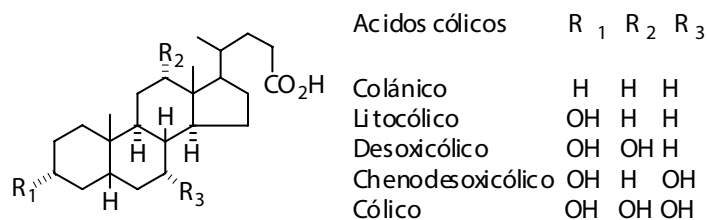
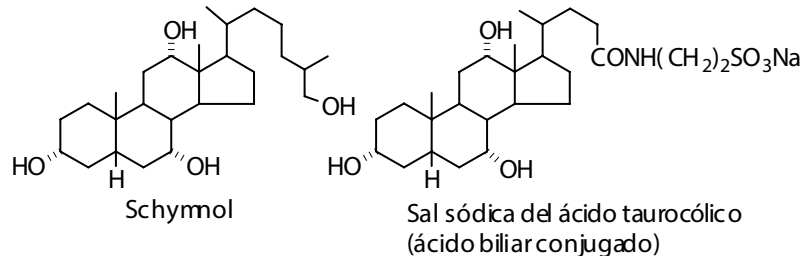
Una gran variedad de modificaciones sintéticas se han logrado para estas hormonas, por ejemplo la noretindrona (19-nor- Δ^4 -7 α -etiltestosterona) es uno de los anticonceptivos sintéticos más empleados actualmente. La introducción de carbonos adicionales parece en muchos casos, aumentar la actividad del compuesto. Así, la bolasterona (7 α ,17 α -dimetiltestosterona) es un agente anabólico/androgénico mucho más potente que la testosterona. La orientación de los grupos hidroxilo, especialmente en C-17, afecta la actividad androgénica. Por ejemplo el epímero 17 α -OH de la testosterona es unas 30 veces más activo que la testosterona en el crecimiento de la cresta de los capones. La contracción del anillo B del andrógeno oral benorterona (B-nor-17 α -metiltestosterona) produce un compuesto con propiedades antiandrogénicas.



4.11.6. Ácidos cólicos

Los ácidos cólicos o biliares son sintetizados en el hígado de los vertebrados a partir del colesterol, se acumulan en la bilis en la cual existen como amidas con glicina o taurina (ácidos biliares conjugados) en forma de sal sódica y su función principal es facilitar la digestión de las grasas, actividad principalmente debida a sus características de surfactantes, por lo que forman micelas y emulsionan las grasas. Son derivados mono-, di- o tri-hidroxilados del ácido colánico, el grupo en C-3 es generalmente orientado alfa, la fusión A/B es cis (5β-H). Los principales ácidos biliares del hombre son el cólico, el desoxicólico y el chenodesoxicólico. El litocólico es minoritario en los humanos. Los ácidos cólicos son productos del metabolismo del colesterol y es a través de ellos que su exceso se elimina por las heces fecales.

En la bilis de ciertos animales y relacionados a los ácidos cólicos, existen alcoholes biliares que presentan la cadena lateral del colesterol, como el schymnol (de algunos tiburones) que actúa de manera parecida a los ácidos cólicos. Estructuras de esta naturaleza también se citan para ciertos reptiles, anfibios y organismos marinos.



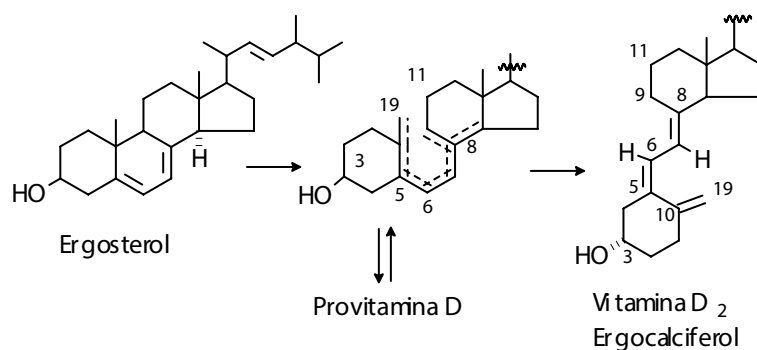
4.11.7. Ergosterol y pro-vitamina D

El raquitismo, enfermedad de la infancia que se caracteriza por la osificación defectuosa, debida a la deposición irregular del fosfato de calcio

Terpenos

durante el crecimiento de los huesos, fue una dolencia común sobre todo en los niños de las zonas norte de Europa. En 1920 se encontró que podía aliviarse con el uso del aceite de hígado de bacalao y con la exposición al sol. Se concluyó así, que el aceite de hígado contenía un principio antirraquítico que fue llamado vitamina D y su efecto aumentaba en el animal de experimentación (ratas) sometido a dieta de aceite de hígado, era expuesto a la radiación de la luz UV. En 1924 se descubrió que los aceites vegetales también actuaban como factores antirraquíticos. Steenboch (1925) patentó un proceso para irradiar con UV alimentos como cereales, granos, aceites, leche, etc., que produjo 14 millones de dólares. En la fracción de esteroides aislada de aceites vegetales irradiados se encontró colesterol que contenía un 0.02 % de ergosterol. Los tejidos animales como páncreas o placenta tienen cantidades muy pequeñas de ergosterol, pero la piel es más rica. Así, de 100 kg de piel de cerdo se aislaron 30 g de esteroides crudos con un contenido del 4 % de pro-vitamina D.

Se entiende por pro-vitamina D un conjunto de sustancias que se interconvierten por irradiación y se transforman en vitamina D al romperse el enlace 9,10 en el dieno del anillo B. Hay varias "vitaminas D" y se diferencian en la cadena lateral, todas presentan un trieno conjugado, como en la vitamina D-2, (ergocalciferol) o un isómero del mismo.

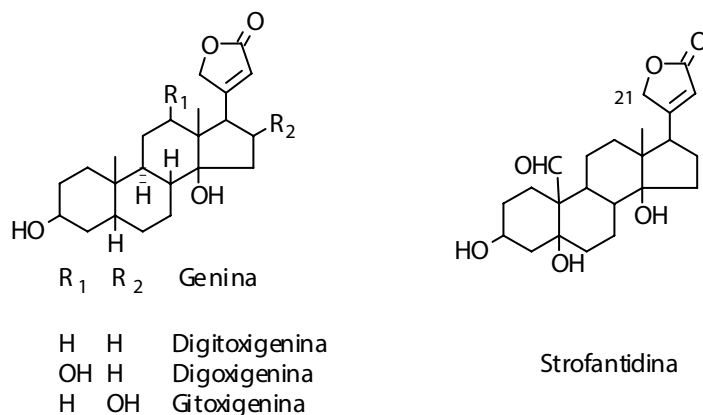


4.11.8. Glicósidos cardiotónicos

Desde hace tiempo se conoce que las semillas de *Strophanthus*, las hojas de *Digitalis* y el veneno excretado por las glándulas parótidas de Bufo (sapo común), son agentes cardiotónicos y sus principios activos son glicósidos esteroidales. Estos se clasifican en dos categorías, dependiendo del anillo

lactónico en sus agliconas: cardanólidos (lactona de cinco miembros) y bufanólidos (lactona de seis miembros). Como características estructurales comunes poseen la fusión A/B y C/D pero *trans* B/C; en C-14 presentan un OH y las lactonas son siempre insaturadas (para los que ocurren en la naturaleza), es por ello que se los llama cardenólido y bufadienólido. Los primeros se encuentran siempre en las plantas como glicósidos pero los segundos se presentan tanto en animales (sapos) como en vegetales. Los cardenólidos son particularmente abundantes en la familia Apocynáceas y los bufanólidos sólo se han encontrado en Liliáceas y Ranunculáceas.

Los glicósidos cardíacos más frecuentes son cardanólidos: digitoxina, digoxina, gitoxina y K-strofantósido, cuyas geninas: digitoxigenina, digoxigenina, gitoxigenina y strofantidina, respectivamente están unidas por C-3 con azúcares poco comunes, generalmente trisacáridos, que incluyen desoxiazúcares, azúcares metilados, etc., además de glucosa y ramnosa.

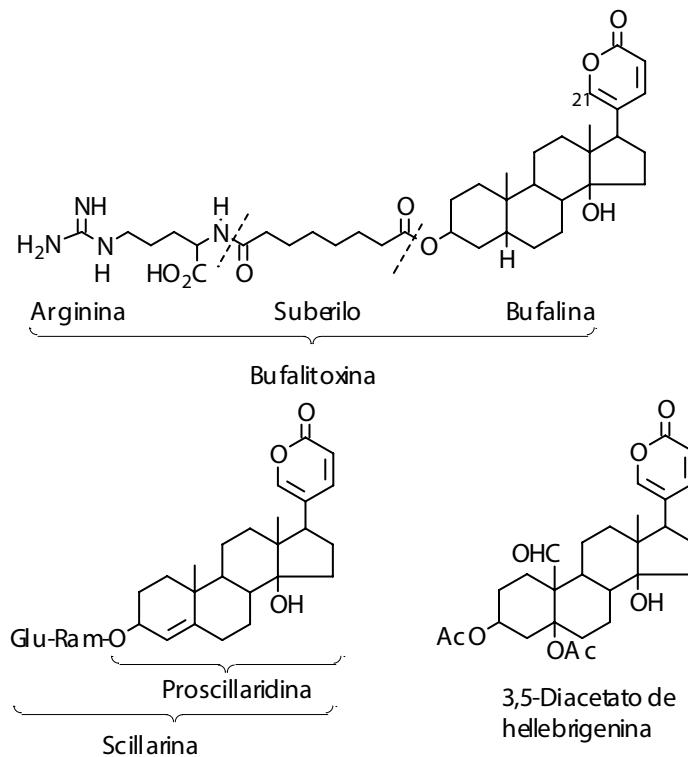


En los bufanólidos de origen animal el OH en C-3 está esterificado con un ácido dicarboxílico conjugado con un aminoácido, por ejemplo bufalitoxina cuya genina: bufalina se une a suberilarginina. En los de origen vegetal se encuentran unidos con azúcares, véase scillarina (aislada de *Scilla maritima*), un glicósido de glucosa-ramnosa de la aglicona proscillaridina. la 11 α -acetoxi y la 11 α -hidroxiscillarina se aísla de *Urginea maritima**.

*L Krenn M. J. Lelovina y B. Kopp, "New bufanolides from *Urginea maritima*, sensu strictu" *Fitoterapia*, 71, 126, 2000.

Terpenos

La hidrólisis ácida rompe fácilmente la unión con el carbohidrato, mientras que la enzimática se usa a veces para separar las agliconas en condiciones menos drásticas; por ejemplo, la hidrólisis enzimática de scillarina produce proscillaridina, mientras que el tratamiento con ácido conduce a la formación de productos de eliminación. La mayoría de los azúcares provenientes de glicósidos cardíacos no han sido encontrados en otras fuentes naturales. Además de las propiedades cardiotónicas de estos compuestos se han citado otras como actividad antitumoral para el bufanólido 3,5-diacetato de hellebrigenina.

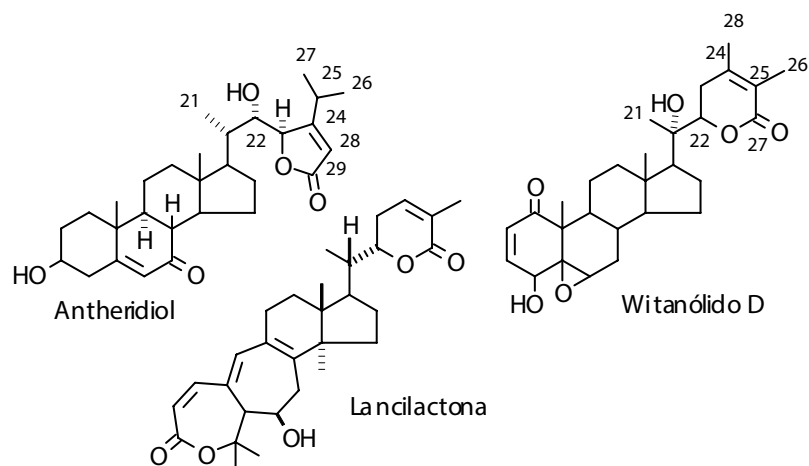


Muchos de los productos comerciales usados con fines terapéuticos son sintetizados a partir de derivados de 5β -pregnanosa los cuales se le adiciona la cadena apropiada. Esta situación recuerda la ruta biogénica para la formación de los cardanólidos. Estos son generados en la transformación:

colesterol \rightarrow pregnenolona \rightarrow progesterona \rightarrow cardenólidos. Como una evidencia de estos pasos se encontró que la incubación de ácido mevalónico marcado en C-2, en *Digitalis* produce digitoxigenina marcada en C-1, C-7 y C-15, pero no se detectaron isótopos en el anillo lactónico con lo cual se presume C-22 y C-23 se originan de una unidad independiente de acetato, después de la degradación de la cadena lateral del colesterol

4.11.9. Otras estructuras lactónicas

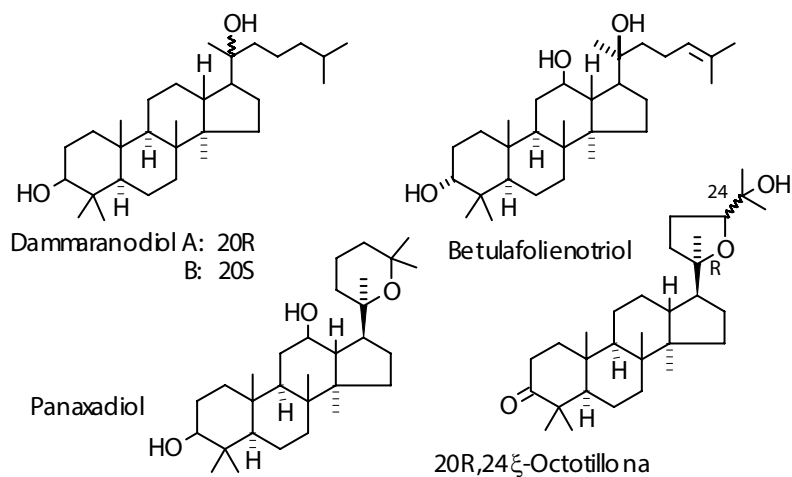
Otras estructuras lactónicas que no implican la participación del C-21 o la degradación de la cadena lateral se encuentran en ciertos triterpenos típicos de Solanáceas, los withanólidos. Estos tienen además como característica estructural una enona en el anillo A (Δ^2 -l-cetona) y un anillo lactónico de seis miembros. El antheridiol, hormona que gobierna la reproducción sexual de ciertos hongos acuáticos, tiene la lactona de cinco miembros. Estas estructuras preservan el sistema anular de los esteroides (19 átomos de carbono), pero también se encuentran estructuras derivadas de lanosterol como se mencionó antes para las lactonas de *Abies mariesii* (ver sección 4.11.3) y otros que han sufrido expansión de los anillos A y B. Este es el caso de la lactona A, aislada de *Kadsura lancilimba*, que presenta acción anti HIV* .



*D. Chen, S. Zhang, H. Wang, S. Zhay, Q. Sun, L.M. Cosentino y K. Lee "Novel anti HIV lancilactone C and related triterpenes from *Kadsura lancilimba*" J. Nat. Prod, 62, 94, 1999.

4.11.10. Derivados de dammarano-eufano

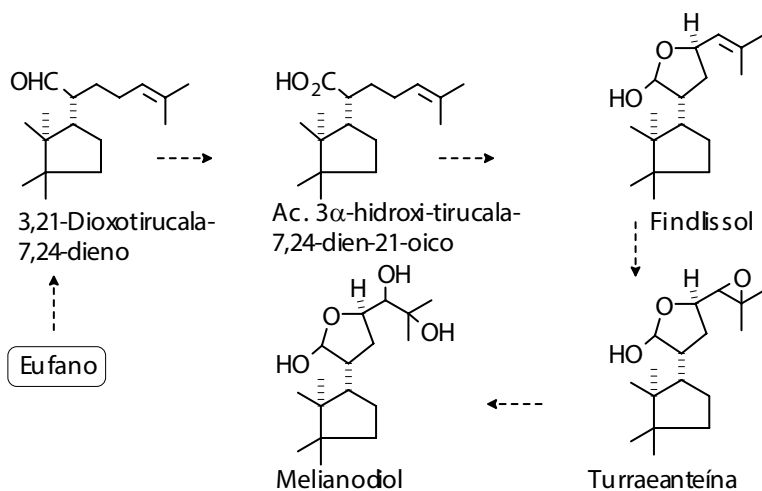
Las estructuras de estos compuestos generalmente contienen oxígeno en la cadena lateral. Con el esqueleto básico de dammarano se han aislado varios derivados oxigenados en C-20, con grupos OH o formando éteres cíclicos con C-24 ó C-25, véase por ejemplo 20R,24ξ-octotillona, aislada del bálsamo de Tolú comercial y panaxadiol, aislado del panax. La cadena lateral de compuestos como betulafolienotriol (de *Betula platyphylla*) y dammaranodiol representan estructuras parciales precursoras de los éteres cíclicos. Estos esqueletos son comunes en compuestos aislados de bálsamos y resinas (resina Dammar) y también son los núcleos básicos de los triterpenos aislados de las raíces de la muy conocida droga china Ginseng (panax).



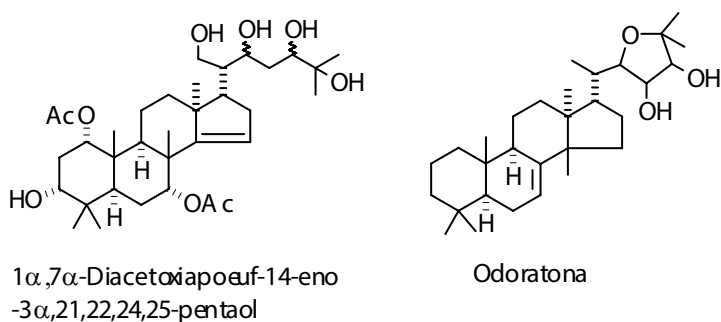
La fragmentación de la cadena lateral del esqueleto de apo-eufano (ver atrás, ciclaciones sssb), conduce a productos degenerados conocidos como "tetra-nor-triterpenoides" que comprenden limonoides, meliacinas y estructuras aún más degradadas como los simarubálidos (quassinoides). Nótese que C-20 es un sitio de oxigenación frecuente para dammaranos, mientras que C-21 o es para el grupo de eufano, apo-eufano y tirucalano.

Las oxigenaciones degradativas en el rompimiento de la cadena lateral se deducen gracias a la ocurrencia natural de numerosos compuestos con diferente grado de oxigenación que se han aislado de plantas ricas en limonoides

y meliacinas, así como en las transformaciones químicas similares alcanzadas en el laboratorio. Se ilustran algunos ejemplos de cadenas laterales de derivados del eufano y las estructuras parciales de los compuestos citados de abajo de cada una de ellas. Por ejemplo, las cadenas laterales de turraeanteína y de melianodiol fueron transformadas a un anillo furánico, típico de meliacinas, por oxidación con ácido periódico y eliminación de una molécula de agua. El camino análogo se propone para la bioformación de tales compuestos.

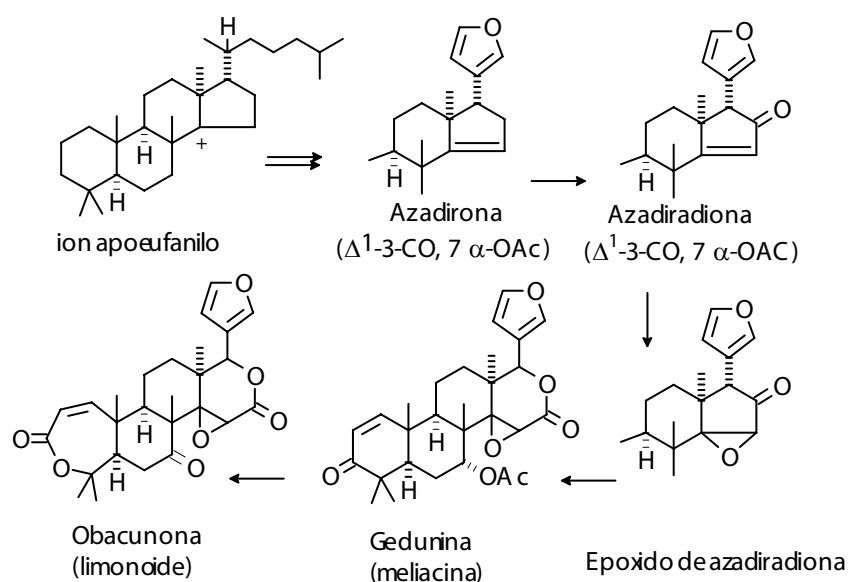


La oxigenación de la cadena lateral tiene varias alternativas estructurales aparte de las indicadas arriba incluyendo estructuras acíclicas polioxigenadas como la odoratona y el 1α,7α-diacetoxiapoeuf-14-eno-3α,21,22ξ,24ξ,25-pentaol

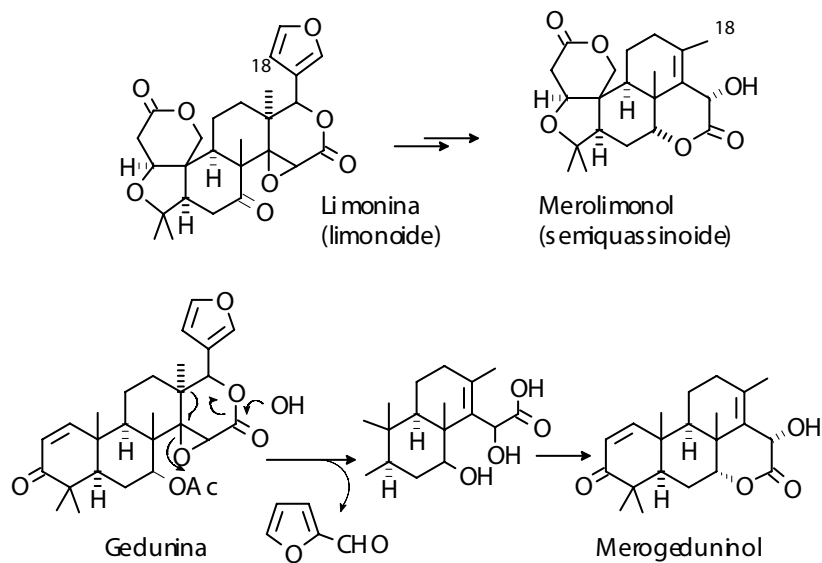


Terpenos

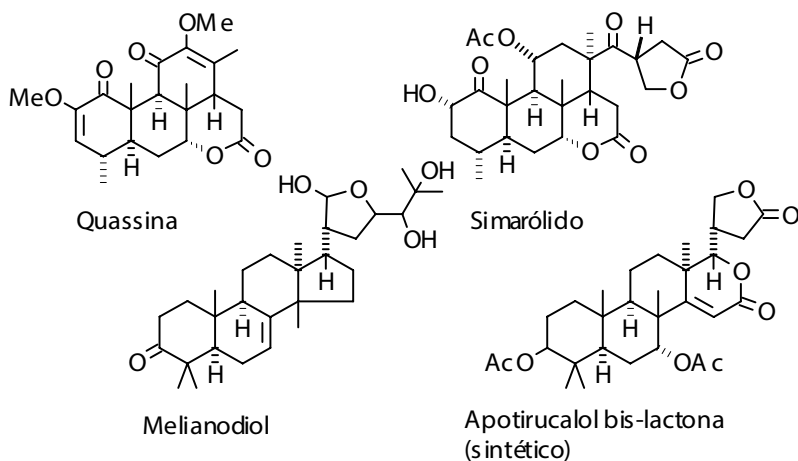
Las características estructurales de los limonoides y las meliacinas son además de la presencia del anillo furánico, la oxigenación en C-14 orientada β , generalmente como epóxido entre C-14 y C-15 y el anillo D conformando una lactona, lo cual presupone una oxidación del tipo Baeyer-Villiger de un derivado cetónico en C-16. De hecho, de las semillas de *Melia azadirachta*, se aíslan azadirona, azadiradiona, epoxiazadiradiona y gedunina; este último se encuentra en varias Meliáceas. Por su parte, las meliacinas contienen el anillo A intacto y son típicas de las Meliáceas, mientras que los limonoides, propios de las Rutáceas, tienen el anillo A alterado por fisión oxidativa. Su estructura representa una etapa biosintética más evolucionada que las meliacinas. Así, es posible inferir el origen de obacunona a partir de estructuras como gedunina. El metilo en C-10 puede a su vez estar oxigenado, tal es el caso de la limonina.



Las Simaroubáceas, relacionadas a las Meliáceas y Rutáceas, presentan un grupo de sustancias cuyas estructuras tipo pueden derivarse de las anteriores y son conocidas como simarólidos o quassinoides. Estos se originan por fisión del anillo D y pérdida del C-17 y del anillo furánico. La transformación de la gedunina a merogeduninol, o de la limonina en merolimonol, por tratamiento con álcali, es un indicio de la secuencia biogenética. Es necesario un OH en C-7 para que se forme la lactona entre C-7 y C-16.



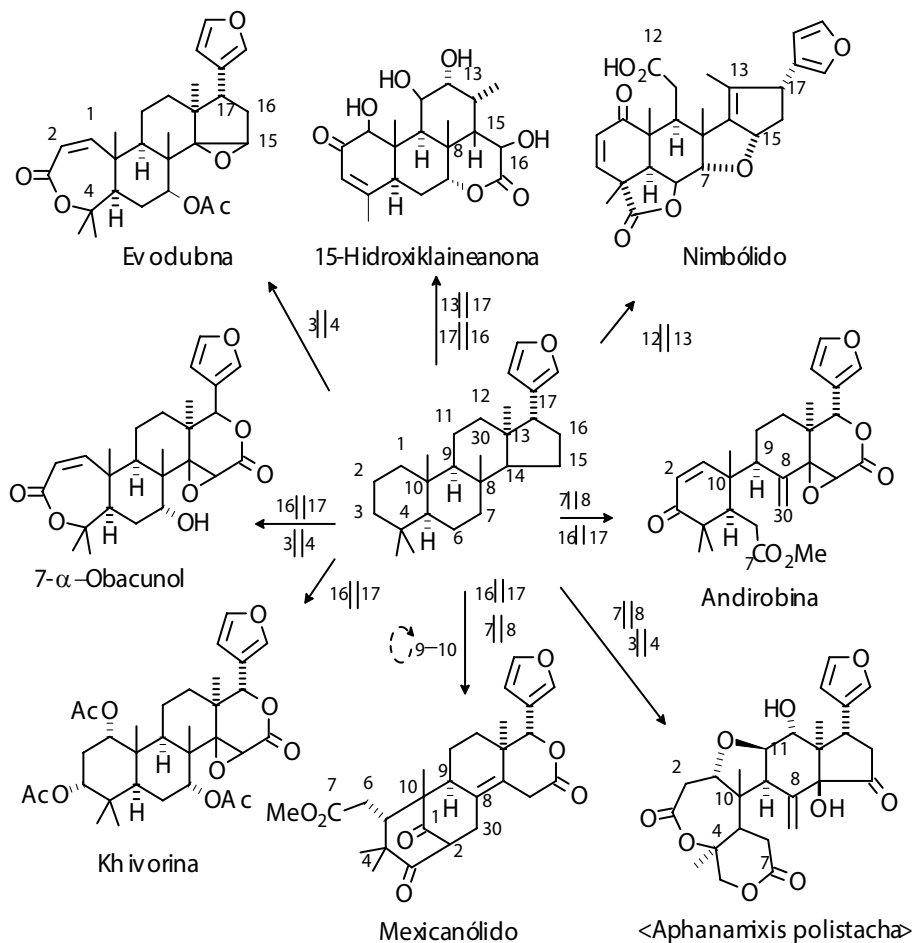
En los quassinoides (e.g. quassina, compuesto aislado de *Quassia amara*) falta un metilo en C-4, presentan una cetona insaturada en C-1 y el anillo C está altamente oxigenado; son típicos de los géneros *Picrasma* y *Simarouba*. La relación estructural entre meliacinas y quassinoides tiene un representante natural, el simarólido, aislado de *Simarouba amara*, en el cual se preserva la cadena lateral. A partir del melianodiol, por vía sintética se ha



Terpenos

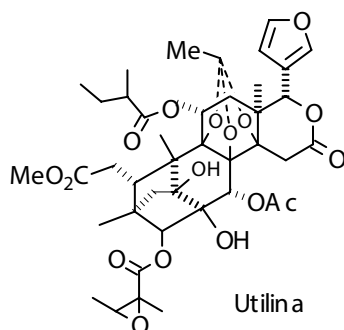
obtenido el apo-tirucalol-bis lactona que es considerado una estructura intermedia entre meliacinas (melianodiol) y quassinoides (simarólido). El anillo D lactónico es el sustrato para la génesis de los quassinoides.

Cuadro 4-14. Nor-triterpenoides. Interconversión de núcleos.



El interés hacia este grupo de compuestos, además de su variedad estructural, está orientado por las distintas actividades biológicas que tienen por ejemplo la actividad pesticida de la azadirachtina, aislado de *Melia azadirachta*, y la actividad antimalárica de algunos quassinoides frente a cepas resistentes a la cloroquina. Para otros se reporta actividad antitumoral

Varios quassinoides aislados de *Samadera indica* (Simaroubáceas) muestran actividad antinutricional para la larva de *Spodoptera litura*, una plaga del tabaco*.



Las meliacinas pueden considerarse los precursores, además de los quassinoides y limonoides, de otros triterpenoides que tienen interrumpidos los anillos centrales. Un ejemplo de tales estructuras son los bicliclononánidos conocidos a veces como "mexicanólidos", por ser el mexicanólido el primer representante de tales estructuras en ser aislado (*Cedrela odorata*). En este grupo se encuentran compuestos altamente oxigenados, tal es el caso de utilina, cuya estructura determinada por análisis de rayos-X, presenta un orto-acetato, grupo muy poco frecuente en moléculas naturales. En el cuadro 4-14 se ilustra con ejemplos la interconversión de núcleos nor-triterpenoides.

4.11.11. Saponinas y sapogeninas

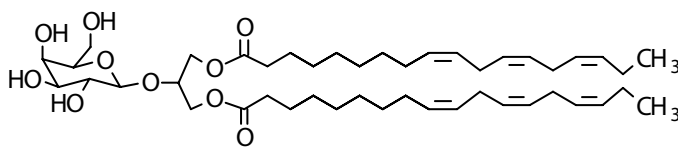
Se llaman saponinas a un grupo de sustancias glicosídicas que se disuelven en agua y poseen la propiedad de formar espuma al agitar la solución. Por hidrólisis (ácida, microbiológica o enzimática) de una saponina se obtienen carbohidratos y una aglicona: "sapogenina", la cual estructuralmente puede ser del tipo esteroideal (C_{27}) o triterpenoidal (C_{30}). Estos compuestos se aíslan de diferentes fuentes vegetales. En Liliáceas, Dioscoreáceas y Solanáceas son comunes las saponinas esteroideas, mientras que en las Umbelíferas, Leguminosas, Caryofiláceas, Araliáceas, Rhamnáceas, etc., lo son las

*T.R. Govidanchari, G.N. Krishna Kumari, G. Gopalakrishnan G. Suresh S.D. Wesley y T. Sreelatha, "Insect antifeedant and growth regulating activities of quassinoids from *Samadera indica*" *Fitoterapia*, 72, 568, 2001.

Terpenos

triterpenoidales. En general, las esteroidales, menos numerosas que las triterpenoidales conocidas, son más importantes como materia prima para la fabricación de hormonas sintéticas, mientras que las triterpenoidales son potencialmente más aplicables en forma directa.

Las saponinas clásicas están conformadas por azúcares y una aglicona. Sin embargo, recientemente se han aislado compuestos tensoactivos, que además de azúcares, poseen un glicérido que contiene dos unidades de ácido linolénico y una unidad galactosa con la cual se conecta el resto glicérico a la posición 23 del esqueleto del ácido oleanólico*.



resto de azúcar unido por C-23 con el esqueleto de oleanano de saponinas aisladas de *Ranunculus fluitans*

Por ser solubles en agua, pueden extraerse fácilmente en frío o en caliente con agua o con alcoholes de bajo peso molecular. Los extractos son desgrasados por agitación de los concentrados, con éter, benceno o diclorometano, en algunos casos, las saponinas se separan por enfriamiento como sólidos que deben ser purificados por cristalización o precipitación con mezclas de solventes (generalmente butanol y acetona). Por su alta polaridad es complicada su extracción y purificación como tales, por los métodos convencionales, por ello se procede a:

1. Aislar y purificar la "genina" de los crudos totales hidrolizados, en cuyo caso la porción de azúcares queda en la fase acuosa.
2. Convertir la saponina en un derivado menos polar (por ejemplo por acetilación total) y su aislamiento y purificación se lleva a cabo por medios cromatográficos.

En ciertos casos es posible separar la saponina del crudo mediante cromatografía preparativa en fase reversa.

*C. Wagner, M. Hamburger, O. Kunert y E. Haslinger, "Tensioactive compounds from aquatic plant *Ranunculus fluitans* (Ranunculaceae)", *Helvetica Chim. Acta*, 83, 1454, 2000.

Como el análisis de la genina es el primer paso para la determinación estructural de la saponina, se procede a la hidrólisis directa de los extractos acuosos previamente desgrasados. Los azúcares se analizan mediante métodos cromatográficos y la utilización racional de la hidrólisis enzimática permite determinar la secuencia de las unidades monoméricas en la porción de azúcar. La hidrólisis química (ácido clorhídrico concentrado o ácido sulfúrico 3 - 5 N, bajo reflujo), empleada para obtener la sapogenina, descompondrá la porción de azúcar hasta los monómeros que la forman. En algunos casos las condiciones ácidas modifican la estructura de la genina. Para evitar esto se han desarrollado varios métodos enzimáticos y microbiológicos y en los últimos años se ha recurrido a bacterias aisladas del suelo, seleccionadas mediante cultivos repetidos en un medio sintético que contiene la saponina como única fuente de carbono. Los azúcares más frecuentes son D-glucosa, D-galactosa, D-xilosa, L-arabinosa, L-fucosa, L-ramnosa, ácido glucurónico y ácido galacturónico. El desarrollo de diversas técnicas multidimensionales de RMN facilitan la determinación estructural de las saponinas intactas incluyendo las uniones de los carbohidratos constituyentes.

4.11.11.1. Saponinas esteroideas

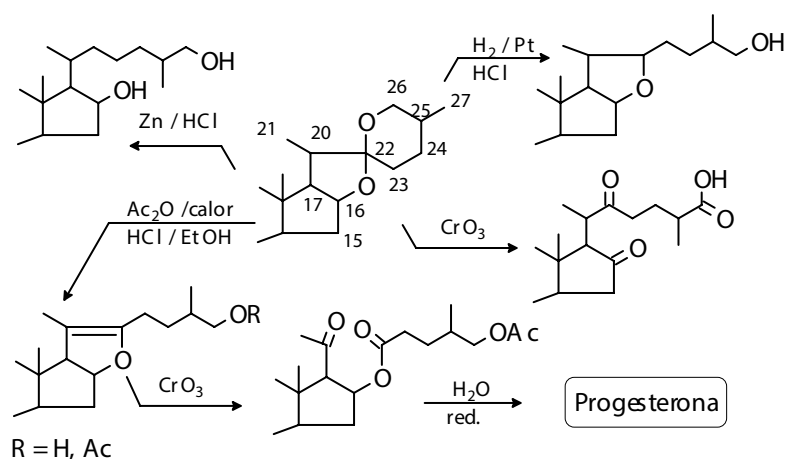
Entre los principales representantes se encuentran estructuras espirostánicas y tienen diferentes aplicaciones en la preparación de detergentes no alcalinos, fármacos (en especies del género *Smilax*), agentes espumantes y venenos para peces, como por ejemplo el barbasco que macerado y lanzado a los ríos paraliza los peces, pero no los hace tóxicos para humanos con lo cual es usado para facilitar la pesca. La tintura de *Digitalis purpurea* que contiene saponinas y glicósidos cardiotónicos (cardenólidos) se usa desde mediados de 1800 para controlar la frecuencia cardíaca. Las principales fuentes de estas saponinas son las especies de los géneros *Dioscorea* y *Digitalis*, *Trillium erectum*, *Radix sarsaparilla* e (zarzaparrilla) y varias especies del género *Solanum* en las cuales se encuentran alcaloides con estructuras análogas tales como tomatina, solanina, solasonina (ver Capítulo 5) cuyas geninas también han encontrado aplicación para la fabricación de hormonas esteroideas. También están presentes en las familias Liliáceas, Amaryllidáceas y Dioscoreáceas.

Las reacciones más importantes (y más representativas) de las sapogeninas esteroideas involucran el sistema espirostánico; algunas, resumidas en la figura, han servido de apoyo para la determinación estructural y

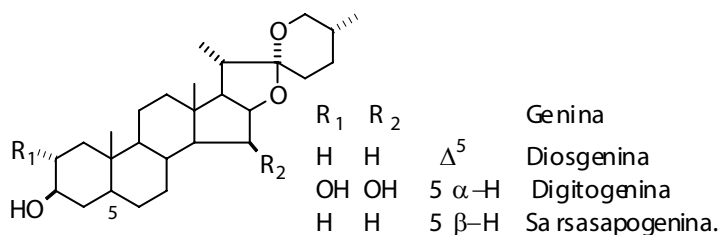
Terpenos

estereoquímica de la cadena lateral. El sistema carbocíclico fue establecido por deshidrogenación con selenio, mientras que la unidad espirocetálica se detecta a partir del comportamiento de estos compuestos en medio ácido y frente a condiciones oxidativas y reductivas.

El calentamiento de sapogeninas con anhídrido acético produce la fisión del anillo tetrahidropirano y forma un doble enlace C-20,C-22, el cual representa la funcionalización clave para la síntesis de hormonas comerciales y sus análogos.

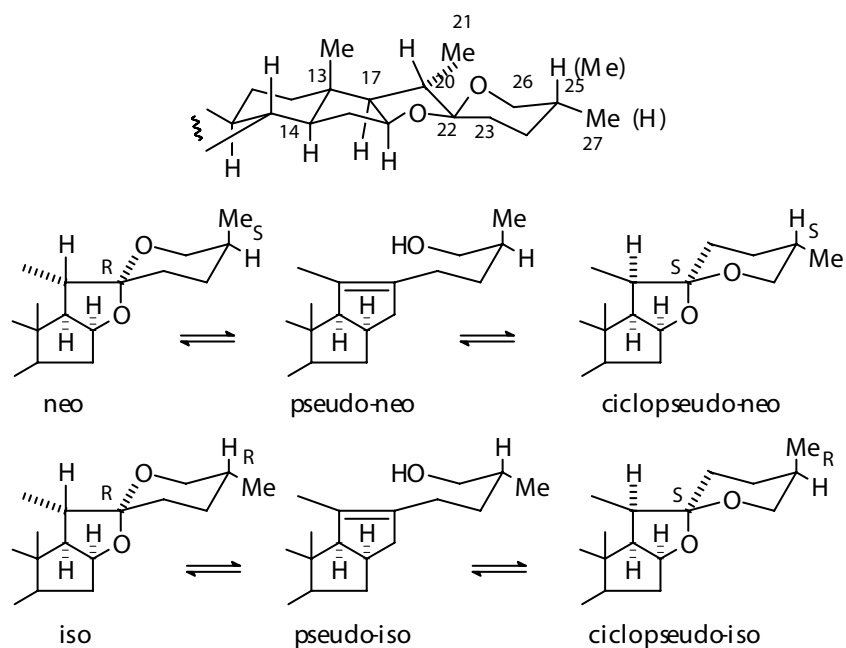


Las geninas están casi siempre enlazadas a C-3 con un número variable de monosacáridos comunes. Una misma aglicona forma más de un glicósido, por ejemplo, la diosgenina origina dioscina (si está unida a dos moléculas de ramnosa y una de glucosa) y trillina (si se conjuga con una molécula de glucosa). Las geninas pueden tener varios sitios de oxigenación, como en la digitogenina cuya saponina (con dos unidades de glucosa, dos de galactosa y una de xilosa) es la digitonina.



Estereoquímica del anillo espiroestánico

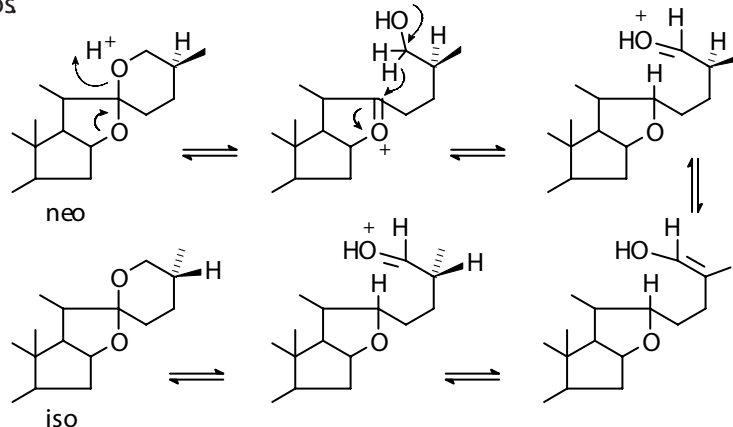
Varios pares de estereoisómeros se encuentran en la naturaleza y se conocen con los prefijos neo, iso, ciclopseudo-iso y ciclopseudo-neo (los prefijos pseudo-iso y pseudo-neo se reservan para los compuestos que no presentan el anillo tetrahidropirano, conocidos también "furostanos"). En el grupo espiroestánico se encuentran cinco centros asimétricos: 16, 17, 20, 22 y 25. En los esqueletos naturales C-16 y C-17 presentan la configuración beta para el sustituyente sobre cada uno y el metilo en C-20 está orientado alfa. Si la configuración de C-22 es R se tiene las series neo (Me axial, 25S) e iso (Me ecuatorial, 25R); si C-22 tiene configuración S se presentarán los isómeros ciclopseudo-neo (Me ecuatorial, 25S) y ciclopseudo-iso (Me axial, 25R). En medio ácido éstas son interconvertibles, así como la configuración de C-20, siendo predominante aquella correspondiente a las más estables: "isosapogeninas".



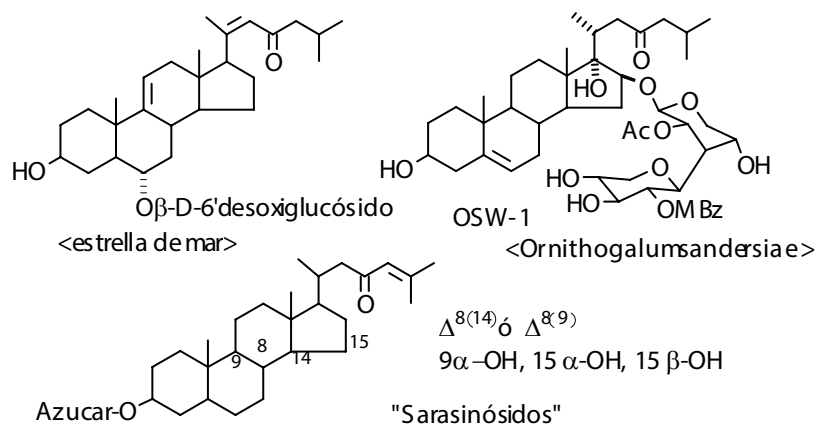
La facilidad de isomerización ha complicado el estudio de la configuración absoluta de las saponinas naturales. Los pares más frecuentes son

Terpenos

aquellos que relacionan las estructuras neo e iso, por ejemplo, la diosgenina (iso) y la yamogenina (neo) que sólo se diferencian en la configuración de C-25. La isomerización iso \rightleftharpoons neo se conoce como reacción "ISO"; en ésta la epimerización de C-25 es el resultado de una transferencia reversible de hidruros



Hay un grupo de saponinas esteroidales que no poseen el anillo espiroestánico, entre ellas los sarasinósidos, cuyo azúcar está conformado por unidades de N-acetilaminoglucosa y ácidos urónicos. En analogía, se encuentran saponinas aisladas de estrellas de mar que tiene una unidad de azúcar en C-6 y la saponina OSW-1 aislada del lirio *Ornithogalum sandersiae* y posteriormente sintetizada, que posee una potente actividad antitumoral*.

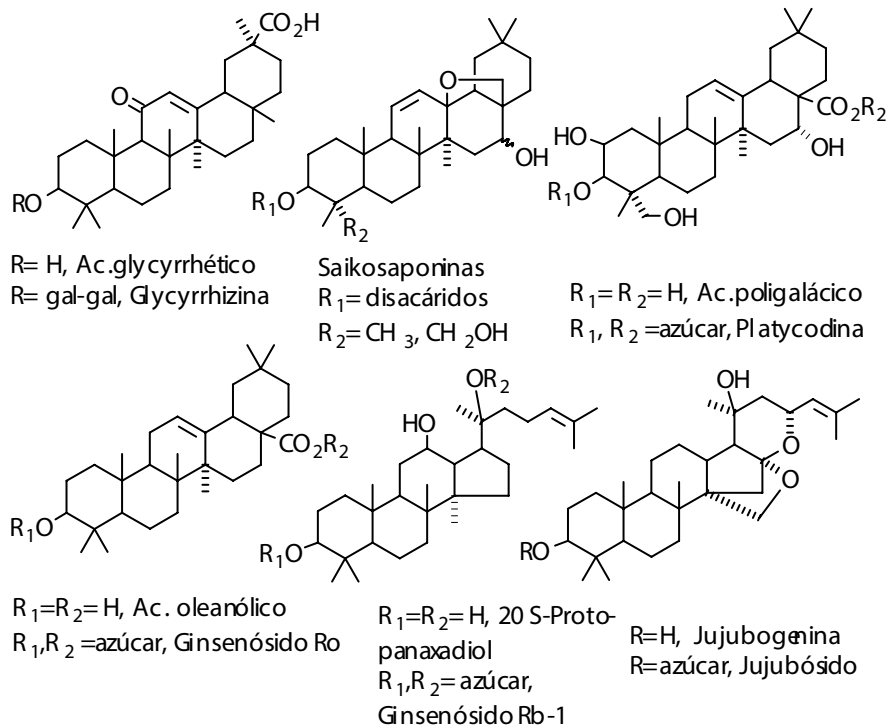


*a) H.S. Lee, Y. Seo, K.W. Cho, J. Shin y V.J. Paul, "New triterpenoid saponins from the sponge *Melophus isis*", *J. Nat. Prod.*, 63, 915, 2000. b) S. Deng, b) Yu, Y. Lou, Y. Hui, "First total synthesis of an exceptionally potent antitumor saponin OSW-1" *J. Org. Chem.*, 64, 202, 1999.

4.11.11.2. Saponinas triterpenoidales

Entre las drogas "naturales" orientales hay muchas que contienen saponina triterpenoidales y aunque su actividad fisiológica sólo ha sido estudiada en algunos casos y a veces muy superficialmente, desde hace milenios se vienen usando para curar o prevenir diferentes afecciones. Los esqueletos más frecuentes de las agliconas son oleanano, lupano y ursano y la (s) unidad(es) de azúcar comprende varios monosacáridos, incluyendo ácidos urónicos como las aisladas de *Spartium junceum*, que presentan efectos antiulcerogénicos. Como ejemplos tenemos:

- a) El ácido glycyrrhético, que se presenta comercialmente como la sal sódica o potásica en edulcorantes acalóricos destinados a modificar el sabor-olor del tabaco. Su aglicona es la glycyrrhizina la cual presenta propiedades anti-inflamatorias análogas a las hormonas corticoides. La saponina se aísla de las raíces de regaliz: *Glycyrrhiza glabra* y *G. uralensis* (Leguminosas).



Terpenos

- b) La saikosaponina, una mezcla de saponinas constituyentes de la raíz de *Bupleurum falcatum* (Umbellíferas) y conocida en Japón como "saiko".
- c) La platycodina, saponina del ácido poligalácico (de *Platycodon grandiflorum*, kikió), usado como expectorante y antitúxico.
- d) Las saponinas del Ginseng, son tal vez las más estudiadas, así como las agliconas correspondientes que presentan algunas estructuras derivadas del ácido oleanólico, como el ginsenósido Ro y otras con el esqueleto del dammarano, como el ginsenósido Rb-1, o el panaxadiol, que corresponde al éter generado entre C-20 y C-25, cuando el protopanaxadiol se trata con ácido.
- e) También con el esqueleto de dammarano se encuentran las saponinas en *Zizyphus jujuba* (jujubósido), que presentan actividad sedante en los animales.

Tanto las saponinas crudas como las purificadas tienen acción estimulante sobre el sistema nervioso central, acción antipirética, sedante, expectorante, antitúxica, previenen las úlceras provocadas por el estrés, aceleran la movilidad intestinal y muestran actividad anti-inflamatoria. Por otra parte, promueven la síntesis de ARN y de las proteínas.

De las varias actividades atribuidas a las saponinas las más frecuentes son la anti-inflamatoria y la antiviral para casi todas las triterpenoidales, en algunos casos, se ha intentado estudiar el mecanismo de las últimas*. Independientemente de cuál sea la actividad, los siguientes hechos son comunes a todas ellas:

-Reducen de la tensión superficial. Las saponinas por sus estructuras, son surfactantes-detergentes-, de manera que se generan espumas resistentes por agitación de la solución acuosa.

-Alteran de la permeabilidad de las membranas celulares. La característica bien conocida de las saponinas: hemólisis (descomposición de los glóbulos rojos) las convierte en venenos para peces. Penetran fácilmente en las células de las algas, alteran su permeabilidad y causan la exclusión de electrolitos celulares. Las saponinas también son tóxicas a otros animales acuáticos: esponjas corales, etc. La actividad antibacteriana. Está relacionada a la hemólisis. Para

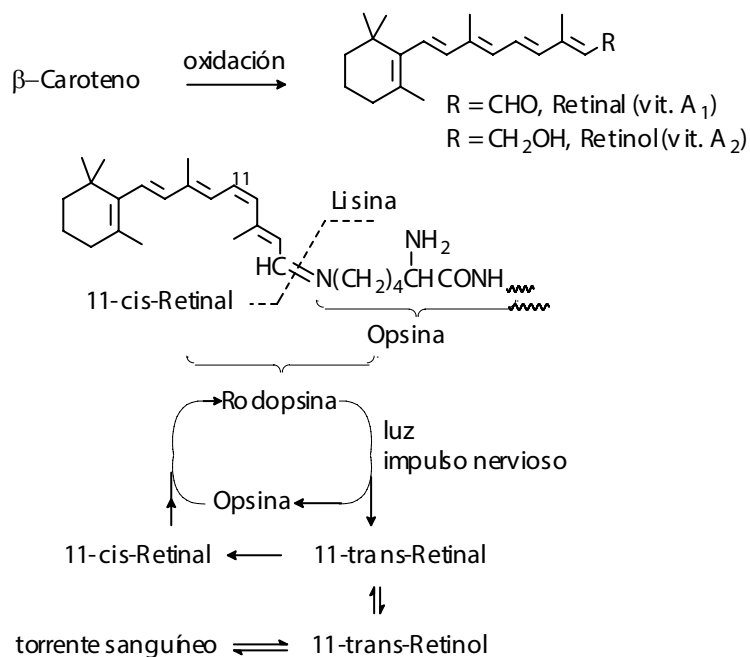
*C.M.O. Simoes, M. Amoros y L. Girre, "Mechanism of antiviral activity of triterpenoid saponins", *Phytother Res.*, 13, 323, 1999.

ella se sugiere la formación de complejos con el colesterol presente en la membrana celular.

4.12. Tetraterpenos (Carotenoides)

Forman parte de los pigmentos naturales y su color va desde el amarillo hasta el rojo. El sistema de dobles enlaces altamente conjugado es responsable de la coloración. A los carotenoides se les han atribuido varias funciones en la planta. Por ejemplo, por estar presentes en los órganos reproductivos hace postular que entre otras, cumplen funciones de preservación de la especie. También se le ha asignado funciones antioxidantes y de material de reserva. Tal vez el mejor conocido es el β -caroteno: provitamina-A el cual por oxidación se transforma a retinal, que se conjuga con la proteína opsina por el terminal de lisina para formar rodopsina, pigmento fotosensible principal de la retina que interviene en el proceso de la visión, como se ilustra en el cuadro 4-15.

Cuadro 4-15. Proceso de la visión.



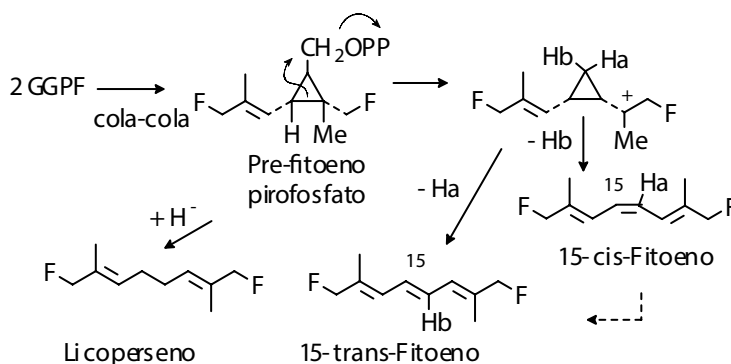
Terpenos

El mayor problema experimental que enfrenta el estudio de los carotenoides surge de las muy bajas concentraciones con que se presentan y son además inestables. Los carotenoides son particularmente sensibles a la luz y la fotooxidación de estructuras como la de β -caroteno o de la zeaxantina que producen mezclas complejas de moléculas degradadas algunas de las cuales se encuentran en la naturaleza, por ejemplo, α - y β -ionon y loliólido.

Los métodos cromatográficos, por ejemplo cromatografía de capa preparativa, son frecuentes y el uso de placas impregnadas en carbonato de magnesio ha tenido éxito en la separación de isómeros cis y trans. Para fines analíticos se utiliza corrientemente la cromatografía de gases y la cromatografía líquida de alta presión. Los métodos espectroscópicos UV, RMN, CD, ORD, EM y CG-EM se han adoptado para la elucidación estructural; el espectro UV es ampliamente usado con fines diagnósticos de la naturaleza del sistema conjugado mientras que la estereoquímica absoluta está basada en estudios de correlación con ORD y CD. Menos provecho ha reportado la cristalografía de rayos X para esta clase de compuestos.

4.12.1. Biosíntesis

La bioformación de tetraterpenos presenta un intermediario clave análogo al escualeno, el fitoeno, que comprende una cadena insaturada de 40 átomos de carbono proveniente de la unión cola-cola de dos unidades de GGPF. El 15-trans-fitoeno es el precursor de la mayoría de los carotenoides y su formación es precedida por el pre-fitoeno análogo al pre-escualeno, del cual sólo el isómero 1R,2R,3R- es utilizado en la biosíntesis de carotenoides.

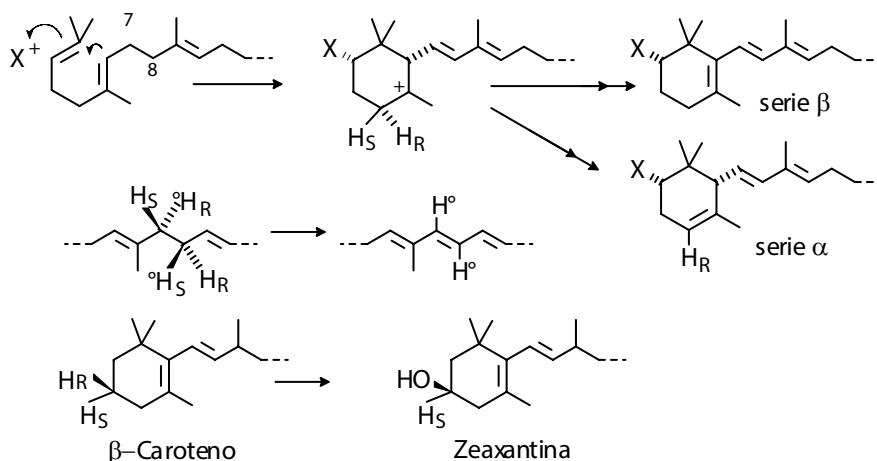


Si bien el licoperseno reproduce el sistema insaturado del escualeno, aquél no es el precursor de los carotenoides coloreados los cuales se generan a expensas del fitoeno. Aparentemente, el licoperseno y el fitoeno se forman independientemente a partir del pre-fitoeno.

En la molécula de fitoeno los dobles enlaces se alternan con dos grupos metileno por lo que se requiere de la des-saturación para generar el sistema conjugado típico de los carotenoides. Uno de los hechos difíciles de explicar es que el fitoeno en tomates, zanahorias y hongos es el isómero 15-cis, mientras que en los carotenoides de las mismas fuentes más abundantes licopeno o β -caroteno todos los dobles enlaces son trans. Se sugiere que aunque el isómero cis predomina en el fitoeno, coexiste con una pequeña cantidad de todo trans-fitoeno el cual se forma a partir del 15-cis y es este último el precursor de los carotenoides más conjugados.

En la formación de los nuevos dobles enlaces los hidrógenos que se pierden deben estar trans, según experimentos con marcaje isotópico

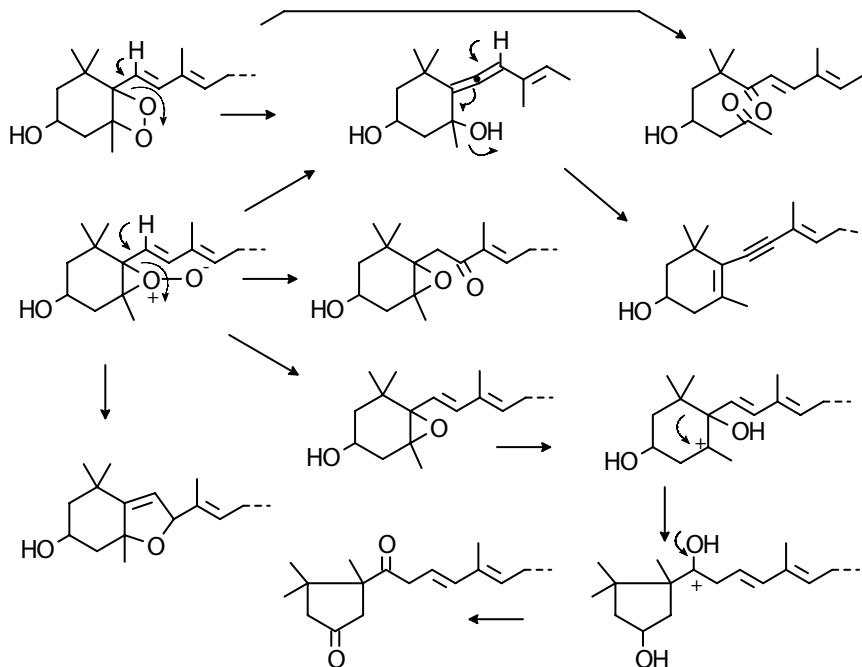
En la bioformación de los anillos terminales de las estructuras como β -caroteno o astaxantina es necesario un electrófilo (oxígeno, hidrógeno) que inicie la ciclación de manera análoga a la formación de los esqueletos triterpenoidales.



Terpenos

En la ciclación se genera un carbocatión intermediario el cual, de acuerdo al átomo de H que se pierda origina carotenoides de la serie beta o de la serie alfa (también llamada serie E, o más frecuentemente ϵ , ver nomenclatura más adelante). Experimentos con marcaje isotópico indican que no hay interconversión de anillos de las series β a α (E), o viceversa. Para la formación de los anillos de la serie E se pierde el H pro-S y un hecho aceptado es que la desaturación del enlace 7-8 ó 7'-8' (en el otro extremo de la molécula) tiene lugar previo a la ciclación (no hay carotenoides cíclicos que contengan esos enlaces saturados) y además la inhibición de la ciclación del licopeno, inducida por nicotina, no previene la desaturación.

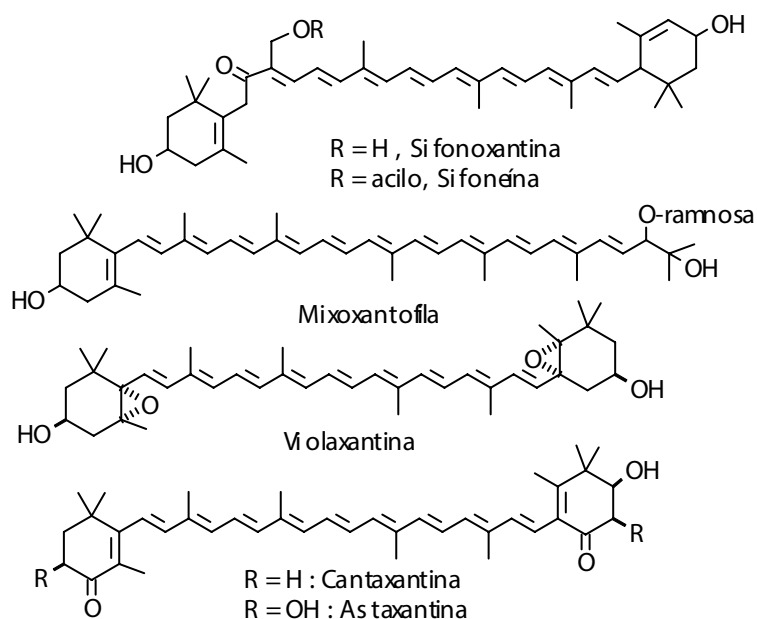
La hidroxilación en C-3 típica de zeaxantina (3β), luteína (3α), etc., ocurren en las últimas fases de la biosíntesis, una vez formado el (o los) anillo(s) terminales. Por su parte se presume que la hidroxilación en C-2 ocurre vía epoxidación del doble enlace con la ciclación concurrente Δ^2 -C-6. La oxigenación en los metilos de la cadena lateral puede tener lugar por oxidación alílica. Los epóxidos están ampliamente distribuidos en estas estructuras y generalmente ocupan las posiciones 5-6. La oxidación tiene lugar con oxígeno molecular.



Los enlaces alénicos y acetilénicos, típicos de carotenoides aislados de algas, se forman a expensas del sistema polienoy se ubican cerca de los anillos terminales por lo que se asumen la intervención de un anillo oxigenado (epóxido o peróxido) en su formación. Los peróxidos también se pueden generar una estructura abierta como en la semi- β -carotenona (a partir de β -caroteno) que pertenece al grupo conocido como "seco-carotenoide". El anillo ciclopentanose forma por contracción de uno de los terminales (ej. capsantina), en lo cual también interviene un epóxido.

4.12.2. Estructuras principales y nomenclatura

De los más de 300 carotenoides naturales sólo unos 40 son hidrocarburos, el resto tienen al menos una función oxigenada y se conocen como xantofilas. Como se indicó antes, la característica estructural común es la de un polieno insaturado y metilado, puede presentar funciones oxigenadas: OH, epóxidos, éteres, aldehídos, cetonas, ácidos y ésteres, generalmente ubicados en los extremos de la cadena, donde son frecuentes los anillos de cinco o seis miembros, algunas veces aromáticos; pueden estar incluidos sistemas alénicos y acetilénicos o restos glicosídicos y/o de isoprenilo.



Terpenos

En la naturaleza los carotenoides son frecuentemente esterificados. Por ejemplo la sifonoxantina es un éster del alcohol primario de la sifonoxantina.

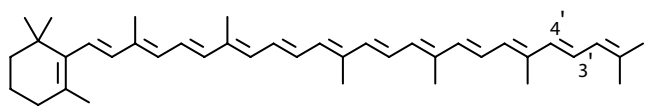
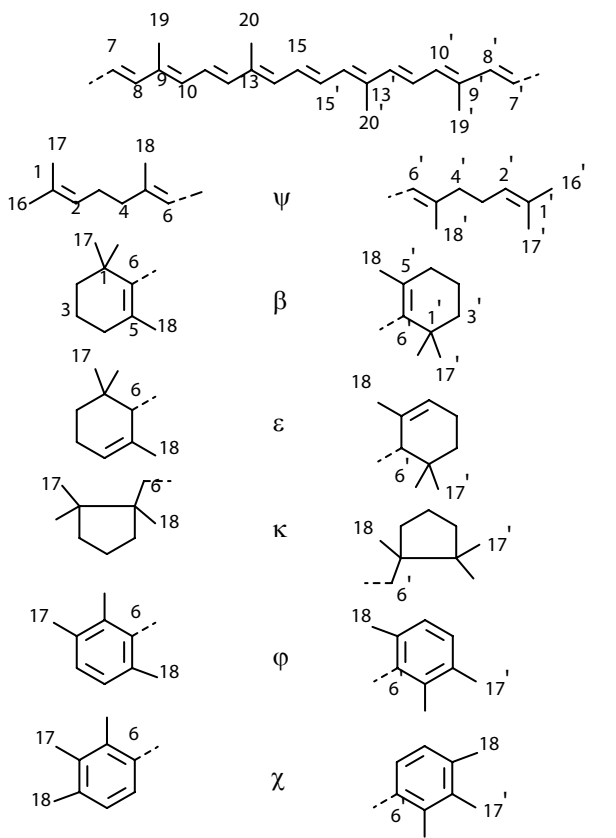
Muchos carotenoides tienen un OH en C-3 formando un éster con diferentes ácidos grasos, como en las xantofilas. A veces integran proteínas aunque la manera de unirse a ellas no está determinada. Para estos compuestos se ha sugerido un peso molecular de hasta un millón, encontrándose una proporción de 25000 daltones por unidad de carotenoides en el caso de crustacianinas (pigmentos proteicos de crustáceos, cuyos carotenoides son la astaxantina y cantaxantina). Las bacterias y las algas azules muestran muchas semejanzas una de ellas es la presencia de glicósidos cuyas agliconas son carotenoides. Tal es el caso de la mixoxantofila: 2-O-ramnósido del mixol. Las xantofilas de las algas verdes-azules y la mixobactina, presentes en varias especies de myxobacterias, son monoéteres del inositol.

En la nomenclatura sistemática que retiene la raíz "caroten", se indican las diferentes formas de los terminales y su numeración (ver cuadro 4-16). En las estructuras se asumen una simetría por lo cual en la rama izquierda la numeración refleja la de la rama derecha y se indentifican como número ordinales primos (2', 3'...etc.). La naturaleza de los extremos se identifica con una letra griega como se indica en el cuadro 4-16. A algunos ejemplos se ilustran en la figura a continuación del cuadro.

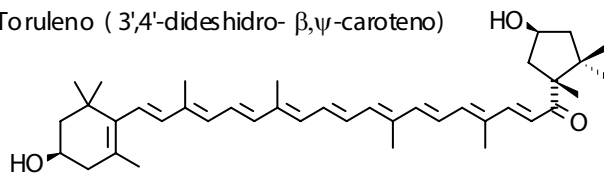
El término "nor" designa carotenoides que le falta átomo de carbono en el esqueleto de C_{40} y al término le precede el numeral correspondiente al carbono (o a los carbonos) faltante. "Seco" indica la fisión de un enlace diferente de C-1-C-6, en el ciclo terminal. Le precede el número de los carbonos por donde se ha roto el enlace. El prefijo "apo" señala que la cadena ha sido recortada en uno o ambos terminales y se indica con un número el sitio de rotura. El nivel de hidrogenación se expresa con los prefijos "deshido" e "hidro" y el prefijo "retro" indica la alteración de la posición de los dobles enlaces dobles y simples en el sistema conjugado. Las funciones oxigenadas se ubican con la numeración respectiva en el sufijo que las define y los centros asimétricos se indican con la nomenclatura R ó S*.

*J. C. Bauernfeind (Ed). "Carotenoids as colorants and vitamin A precursors", Academic Press, 1981.

Cuadro 4-16. Nomenclatura de los esqueletos principales de los carotenoides.

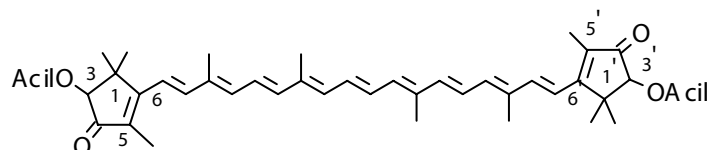


Toruleno (3',4'-dideshidro-β,ψ-caroteno)

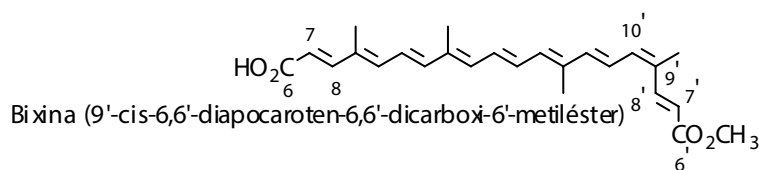


Capsantina (3R,3'S,5'R)-3,3'-dihidroxi-β,κ-caroten-6'-ona)

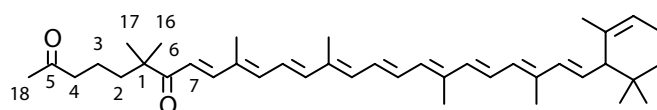
Terpenos



Actinoeritrina (3,3'-dihidroxi-2,3'-dinor- β,β -caroteno-4,4'-diona-3,3'-diéster)



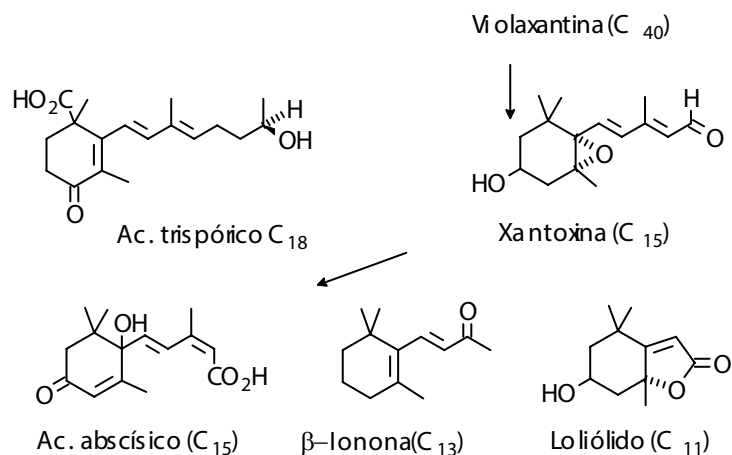
Bixina (9'-cis-6,6'-diapocaroten-6,6'-dicarboxi-6'-metiléster)



Semi- α -carotenona(5,6-seco- β,ϵ -caroteno-5,6-diona)

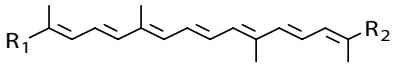
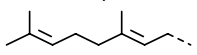
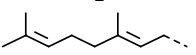
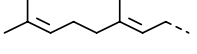
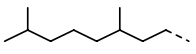
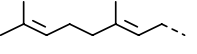
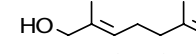
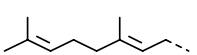
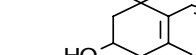

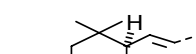
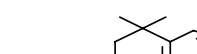
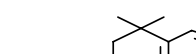
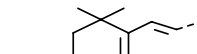
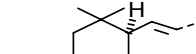
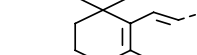
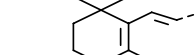
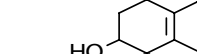
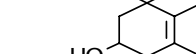
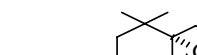

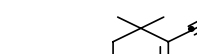
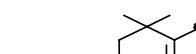
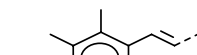
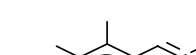
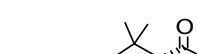

La degradación de la cadena poliénica conduce a estructuras más simples, por ejemplo el retinal (C_{20}), los ácidos trispórico (C_{18}), abscísico (C_{15}), la β -ionona (C_{13}) y el loliólido (C_{11}).

El ácido trispórico regula la reproducción sexual de ciertos hongos y el ácido abscísico, una fitohormona, se relaciona a la violaxantina a través de degradaciones, el intermediario de las cuales es la xantoxina, otro carotenoide.



En el cuadro 4-17 se indican algunas estructuras frecuentes.

Cuadro 4-17. Carotenoides más abundantes

		
R ₁	R ₂	Nombre
		Lycopeno
		Tetrahidrolicopeno
		Licoxantina
		Rubixantina
		γ-Caroteno
		Zeaxantina
		α-Caroteno
		β-Caroteno
		Crustaxantina, (típica de crustáceos)
		Fucoxantina (típica de algas, uno de los más abundantes)
		Alloxantina (típica de flagelados Cryptophyceae)
		Isorenierateno (en esponjas, Reniera japónica)
		Capsorubina (típica del pimenton rojo, Capsicum annuum)

CAPÍTULO 5

ALCALOIDES

5.1. Introducción

Son bases orgánicas que se aíslan principalmente de las plantas superiores y se han encontrado en más de 100 familias de Fanerógamas, en menor proporción en Criptógamas (licopodios), microorganismos (ergot) y animales (peces, sapos). Su actividad fisiológica, principalmente a nivel de sistema nervioso, fue el motor de las primeras investigaciones en productos naturales. A algunos se han manifestado como altamente tóxicos, y otros en dosis apropiadas, son drogas comúnmente usadas en medicina (ej. morfina). El interés en estos compuestos nunca ha decaído por cuanto, aunque ha estado parcialmente dirigido hacia sus aplicaciones farmacológicas, ha conllevado una serie de problemas fascinantes para un químico como son la determinación de estructuras, la estereoquímica y la síntesis. Estos compuestos son casi siempre incoloros (berberina es amarillo y sanguinarina es rojo), sólidos cristalinos (los alcaloides de tabaco son líquidos), ópticamente activos, generalmente levorrotatorios (cinchonina y laudanosina son dextrorrotatorios) y el nitrógeno, casi siempre, forma parte de uno o varios ciclos.

La variedad estructural es muy grande, tanto en su esqueleto carbonado como en el tipo y número de sustituyentes. El nitrógeno, que debe estar presente para que una molécula sea catalogada como alcaloide, puede estar como una amina primaria, secundaria, terciaria, o sal cuaternaria de

Alcaloides

amonio, amida y N-óxidos, o puede haber más de un nitrógeno con diferente funcionalidad en la misma molécula. Los aminoácidos no son alcaloides, pero son sus precursores.

La clasificación también excluye aminas simples, purinas, pirimidinas, y betaínas de aminoácidos. Su utilidad en los organismos productores es poco clara. Debido a su sabor amargo y su actividad biológica pueden actuar como material químico de defensa. Se ha encontrado en algunas especies que ciertos metabolitos secundarios se acumulan en los órganos de mayor actividad durante algunas etapas de la vida del vegetal, o en sitios más expuestos al ataque de otros organismos. También se ha propuesto su utilización por parte del vegetal como reserva de nitrógeno y en la fijación de ciertos metales, gracias a su poder quelante.

Aun siendo considerados bases, es difícil hacer una clasificación de los alcaloides de acuerdo a su pKa ya que no todos son básicos. A veces se incluye protoalcaloides (aminas pequeñas derivadas de la descarboxilación de los aminoácidos). La agrupación de acuerdo a sus núcleos estructurales, que a su vez representan en cierto modo, su origen biogénico, es decir, su precursor químico, también confronta varias superposiciones inevitables. Si se usa el ordenamiento que adopta la Chemical Society se tendrá:

1. Anillos sencillos, derivados de piridina, pirrolidina y piperidina.
2. Compuestos bicíclicos derivados de tropano.
3. Pirrolizidinas, indolizidinas y quinolizidinas.
4. Isoquinolinas, alcaloides bencilisoquinolínicos, de eritrina, de Amaryllidáceas, alcaloides quinolínicos.
5. Indoles, incluye betaínas.
6. Alcaloides esteroideos y terpenoidales.

Esta clasificación se seguirá en este texto.

5.2. Reacciones comunes en la biosíntesis de los alcaloides

Los aminoácidos como precursores de los alcaloides, sufren una serie de transformaciones típicas que pueden resumirse como:

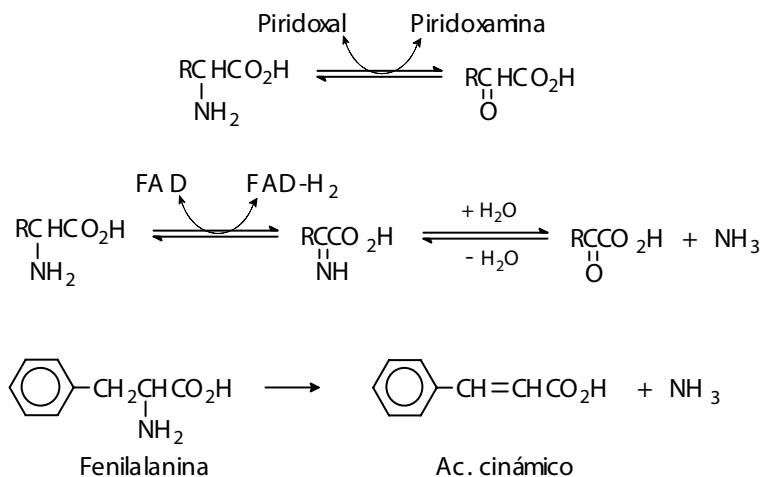
1. Formación de bases de Schiff (genera enlaces C=N).

2. Condensación de Mannich (genera enlaces C-C-N), una variante de esta reacción es la de Pictet-Spengler que forma heterociclos.
3. Isomerización.
4. Hidrogenación del grupo imino y deshidrogenación del grupo amino.
5. Oxidación a carbinolamino o a amidas.
6. Acoplamiento oxidativo C-C y C-O.

Le siguen además reacciones de condensación aldólica, de Claisen y de Michael que conducen a la formación del esqueleto carbonado o parte de él.

La reacción de transaminación de los aminoácidos precursores procura parte del esqueleto y se resume en la figura que sigue; la coenzima responsable se presenta en sus dos formas activas: fosfato de piridoxal y piridoxamina. Una segunda manera de transformación de aminoácidos α -cetoácidos lo constituye la deshidrogenación seguida por hidrólisis del grupo imino y el sistema enzimático responsable es la flavina-adenina dinucleótido: FAD. También pueden ocurrir desaminaciones no oxidativas, tal es el caso de la transformación de la fenilalanina en ácido cinámico.

Transaminación y desaminación



Generalmente estas reacciones se refieren a α -aminoácidos que pueden encontrarse libres o unidos a otros compuestos. Hasta la fecha se han aislado unos 180 y se han encontrado en el torrente circulatorio de animales,

formando parte de antibióticos, de proteínas y como intermediarios de procesos metabólicos en animales y vegetales. Sólo unos 20 se han obtenido por hidrólisis de las proteínas y se los conoce como aminoácidos fundamentales; todos tienen la configuración L en el carbono alfa, a excepción de la glicina. En algunos casos el grupo amino está alejado dos o tres carbonos del grupo carboxilo por ejemplo, GABA: ácido γ -aminobutírico, y la β -fenil- β -alanina. Estos aminoácidos "no esenciales" presentan una distribución aleatoria y en algunas ocasiones son utilizados como marcadores químicos para estudios biosistemáticos.

El origen del esqueleto carbonado de los aminoácidos fundamentales se resume en el cuadro 5-1.

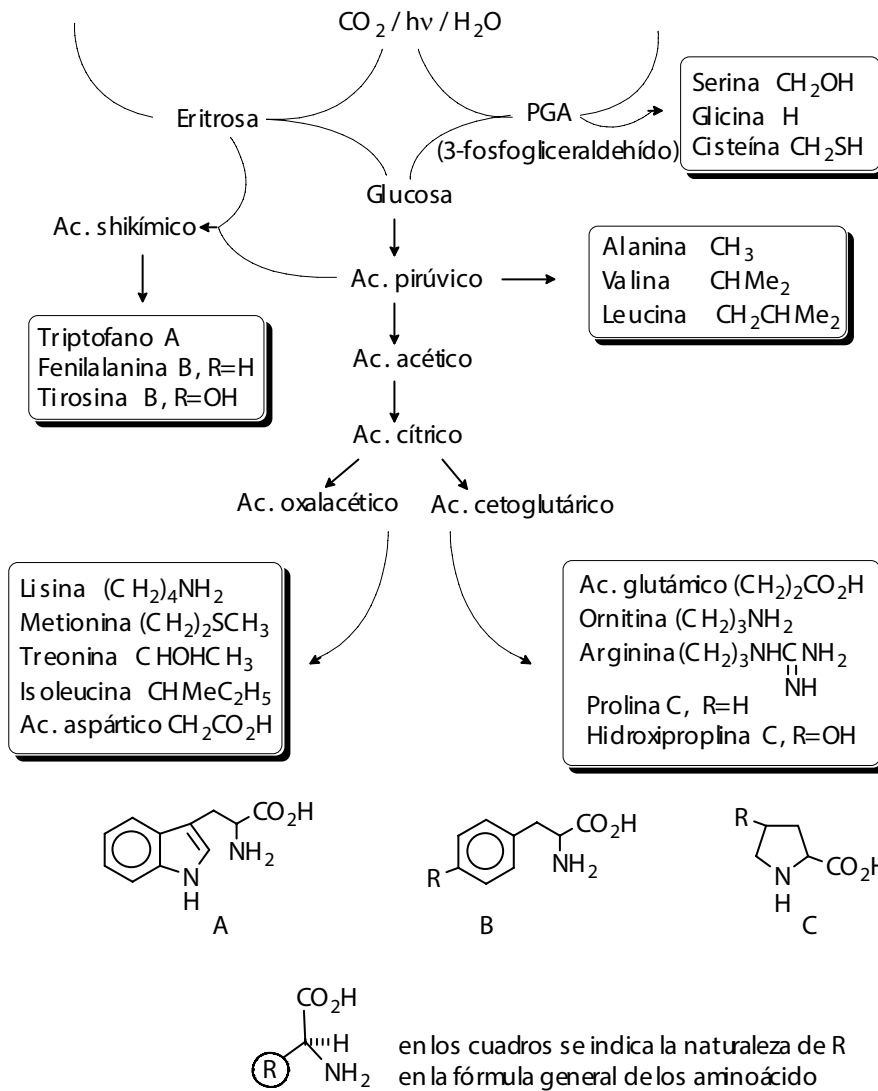
Los aminoácidos más representativos para la bioformación de alcaloides son: ornitina, lisina (alcaloides alifáticos), triptofano, fenilalanina y tirosina (alcaloides aromáticos). Otros fragmentos que intervienen en la biosíntesis de los alcaloides, agrupados de acuerdo a su precursor primario son:

- a. ácido acético \square policétidos
- b. ácido mevalónico \square unidades de prenilo
- c. bases purínicas y pirimidínicas
- d. azúcares

5.3. Detección de alcaloides

Los alcaloides abundan en los tejidos de intensa actividad celular, hojas, raíces, semillas, pero hay variaciones en cuanto a su concentración y naturaleza, de acuerdo a factores como madurez, suelo, método de cultivo, variaciones estacionales, etc. Las especies de una misma familia generalmente producen alcaloides estructuralmente similares, por ello el conocimiento botánico de la planta es de utilidad para predecir los posibles tipos presentes. Ocurren ocasionalmente como sales de ácidos comunes en plantas (cloruros, oxalatos), aunque a veces un ácido específico puede asociarse con ciertos alcaloides; por ejemplo, el ácido quínico que se relaciona con aquellos de cinchona. Unos pocos están como bases libres, por ejemplo narcotina, probablemente debido a su baja basicidad, y otros se presentan como glicósidos, tal es el caso de los alcaloides de *Solanum* (ej. tomatina).

Cuadro 5-1. Formación de los aminoácidos fundamentales



Generalmente la presencia de alcaloides se determina mediante pruebas químicas sobre los extractos ácidos de las plantas; esto se hace tanto en ensayos de campo como en los preliminares de laboratorio. Para ello, aproxima-

Alcaloides

damente un gramo de material vegetal se digesta con HCl diluido (5 -10 ml) el filtrado se prueba con reactivos que pueden ser usados tanto para la detección de alcaloides por reacciones de color, como para precipitarlos y recuperarlos a partir de una solución diluida. Los reactivos más frecuentes son:

Dragendorff. Se prepara mezclando 8 g de nitrato de bismuto pentahidratado en 20 ml de ácido nítrico al 30% con una solución de 27.2 g de yoduro de potasio en 50 ml de agua. Se deja reposar por 24 h, se decanta y se afora a 100 ml. La presencia de alcaloides se detecta al producirse una coloración naranja rojiza cuando el papel impregnado con este reactivo (de color amarillo) se pone en contacto con la solución ácida de alcaloides. Cuando se usa como reactivo de precipitación las bases precipitan como sólidos marrones y, de los precipitados lavados, pueden recuperarse los alcaloides con una solución saturada de carbonato de sodio.

Wagner. 1,27 g de yodo y 2 g de yoduro de potasio se disuelven en 20 ml de agua. La detección y precipitación proceden como en el experimento anterior.

Sonnenschein. (ácido fosfomolibdico). Una solución saturada de molibdato de amonio se mezcla con una solución saturada de fosfato monoácido de sodio a 40°C. El precipitado se filtra, se lava con carbonato de sodio y se calienta hasta que todo el amoníaco se haya desprendido. El residuo se humedece con ácido nítrico y se vuelve a llevar a sequedad. El sólido se disuelve en ácido nítrico al 10%. La detección se cumple con la aparición de manchas amarillas sobre papel humedecido con el reactivo y la recuperación de los alcaloides precipitados se hace descomponiendo el complejo con hidróxido de amonio.

Acido yodoplatínico. Una solución al 3 % de ácido cloroplatínico (H_2PtCl_6) en agua se mezcla con igual volumen de una solución de KI al 6%. Este reactivo de detección produce coloraciones moradas sobre el fondo rosa del papel impregnado con él.

Meyer. 1.3 g de bicloruro de mercurio en 60 ml de agua y 5 g de yoduro de potasio se afora a 100 ml. Los alcaloides se detectan como un precipitado blanco que es soluble en ácido acético y etanol.

Acido pícrico. Solución saturada de ácido pícrico en agua. Es un reactivo de precipitación. Los picratos se pueden cristalizar y ello permite purificar

la fracción alcaloidal. Los picratos se transforman en otras sales: cloruros, sulfatos, etc., mediante resinas de intercambio aniónico. Los picratos se disuelven en acetona-agua. El ácido stífnico (2,4,6-trinitroresorcinol) opera de la misma manera.

Reineckato de amonio. Una solución acuosa al 4% de reineckato de amonio ($\text{NH}_4 [\text{Cr}(\text{NH}_3)_2(\text{SCN})_4] \cdot \text{H}_2\text{O}$) se acidula ligeramente con HCl y se trata con 0.1% p/v de clorhidrato de hidroxilamina. La solución debe ser preferentemente recién preparada y mantenida a 5°C. Los alcaloides dan precipitados rosados que pueden ser cristalizados en acetona al 50%. Para recuperar los alcaloides puede utilizarse resinas de intercambio iónico o una corriente de sulfuro de hidrógeno pasada a través de la solución.

5.4. Extracción y aislamiento de alcaloides

No existe un método único para extraer y aislar alcaloides, pues éste depende tanto de la naturaleza del material a procesar como de las estructuras químicas y por ende, de las propiedades físicas, de los alcaloides presentes o que se desean separar del material biológico. Sin embargo, gracias a su basicidad puede proponerse un proceso general de separación que se ilustra en el cuadro 5-2, el cual se puede aprovechar a conveniencia, todo o sólo una parte

Frecuentemente el material seco y molido se lava con éter de petróleo para eliminar compuestos grasos antes de proceder a la extracción de los alcaloides que, por estar casi siempre en forma de sales, son solubles en agua. Pueden también utilizarse solventes orgánicos si los alcaloides son transformados a sus bases libres por alcalinización del material vegetal antes de la extracción. Las bases cuaternarias son casi siempre solubles en agua y debe recurrirse a su precipitación por formación de complejos con bicloruro de mercurio, ácido pícrico, sal de Reinecke u otros. Los precipitados disueltos en volúmenes manejables de etanol-agua o acetona-agua se descomponen como se indicó antes y los alcaloides son así regenerados como sales solubles, generalmente cloruros o nitratos.

Las extracciones más usuales son:

Extracción en medio ácido. La percolación se emplea con ácido

Alcaloides

diluido a temperatura ambiente. Para fraccionar el crudo total de alcaloides de nuevo se referirá al cuadro 5-2.

Extracción en medio básico. El material se pulveriza con óxido de calcio o en presencia de hidróxido de amonio, se extrae con metanol cloroformo y se fracciona de acuerdo al cuadro 5-2.

Extracción con solventes orgánicos. La planta seca y molida puede extraerse con solventes inmiscibles con el agua (cloroformo, diclorometano, benceno, acetato de etilo) o con mezclas de solventes más polares: butanol agua, metanol-agua, dependiendo de la naturaleza de las bases que se desea extraer. El solvente se evapora y la pasta resultante se desgrasa con éter de petróleo o hexano, se suspende en agua acidulada y se sigue el cuadro 5-2.

La extracción con solventes orgánicos aumenta la concentración de materiales colorados y grasas pero se arrastran pocos azúcares y otras sustancias hidrosolubles. Por el contrario, los ácidos diluidos, preferentemente inorgánicos y no oxidantes, extraen pocos compuestos liposolubles, pero muchos azúcares, polifenoles y materiales peptídicos, que tienden a complicar el manejo. Los péptidos y compuestos fenólicos pueden ser separados por precipitación con tetra-acetato de plomo. La extracción mediante solventes inmiscibles con el agua y ácidos diluidos puede repetirse varias veces; en todo caso es aconsejable no usar un ácido orgánico pues el mismo puede ser soluble en el solvente orgánico.

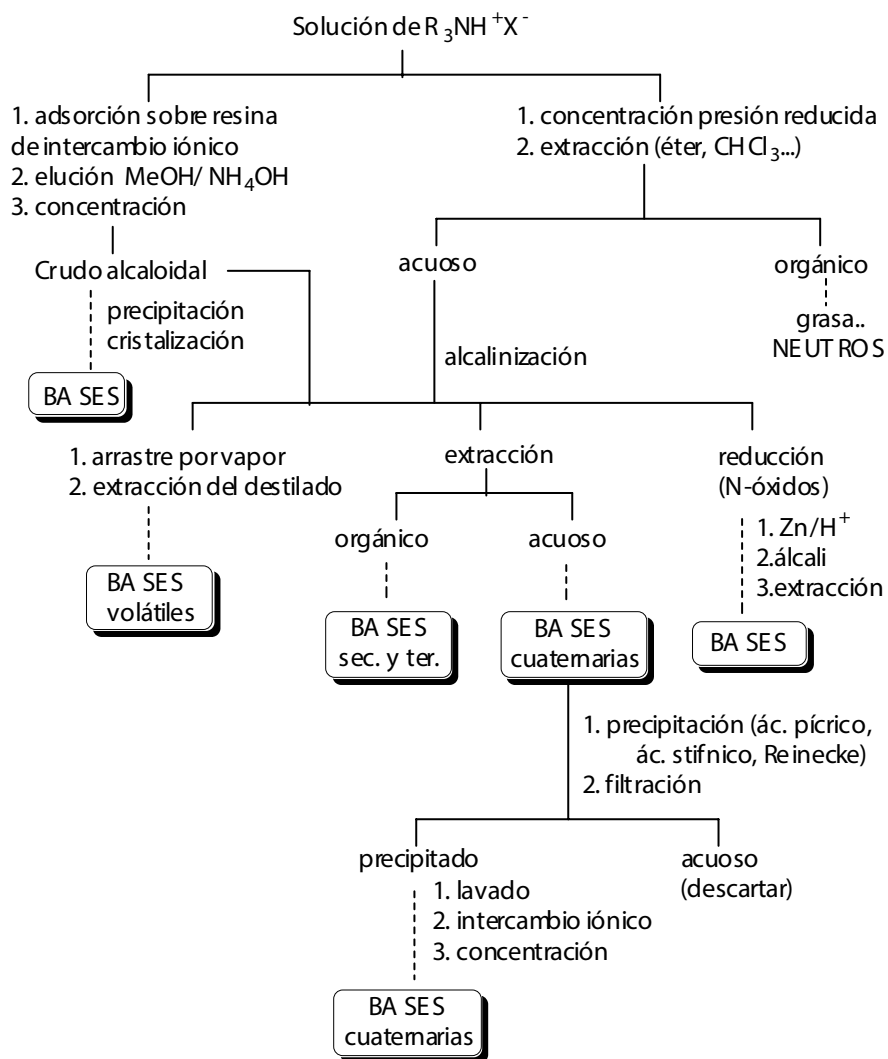
Una vez obtenidos los crudos de la fracción básica, éstos pueden separarse mediante: a) métodos cromatográficos, b) preparación de derivados cristalinos seguidos de recristalizaciones o de cromatografía, c) cristalización fraccionada, d) separación por distribución contracorriente utilizando como fase acuosa buffers de diferente pH, e) arrastre por vapor, para los volátiles.

No es aconsejable utilizar acetona como solvente de extracción si se sospecha de la presencia de bases primarias o secundarias por cuanto pueden formarse productos de condensación (carbinolaminas, bases de Schiff) en los grupos amino. A algunas bases cuaternarias si están bajo la forma de cloruro y a pH neutro, se pueden recuperar de la solución acuosa con n-butanol o n-pentanol.

Los métodos cromatográficos recomendados son: papel (analítica), capa fina (analítica y preparativa) y columnas en fase normal (sílica gel o alúmina), en fase reversa (RP-8 y RP-18) y de intercambio iónico para la concentración

y la purificación de los extractos o como intercambiadoras de aniones. E sto último se aprovecha para la obtención de sales fácilmente cristalizables como cloruros y sulfatos.

Cuadro 5-2. Aislamiento y purificación de alcaloides.



El eluyente clásico para la cromatografía analítica es butanol-ácido acético-agua 20:20:1. También se emplean varios otros solventes como mezclas en diferente proporción de piridina-acetato de etilo-agua, metilacetona amoníaco-metanol etc. Muchos alcaloides son visibles bajo luz ultravioleta, pero además pueden usarse reactivos de detección como los señalados antes. En la cromatografía de partición es conveniente alterar la fase estacionaria agua, con:

- a. Buffer de fosfato ácido de potasio, pH 6.5; se deja secar el papel (u otra fase estacionaria) después de impregnarlo en el buffer, esto mejora la separación de las bases libres.
- b. Impregnar la fase estacionaria con dimetilformamida, si se desea separar los alcaloides bajo la forma de sus sales.

Para la cromatografía de gases o de columna es conveniente disminuir la polaridad de la muestra mediante metilación de los OH libres, con diazometano y yoduro de metilo, o utilizando la acetilación de OH y de NHR. Con los derivados de trimetilsililo se aumenta la volatilidad de las bases cuando se usa cromatografía de gases, especialmente para fines analíticos.

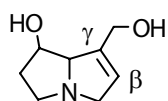
5.5. Determinación de estructuras alcaloidales

En la determinación de estructuras de alcaloides, como para cualquier compuesto orgánico, se utiliza la información espectroscópica y de reacciones químicas. Las últimas fueron de mayor relevancia hace algunos años pero la automatización de los métodos espectroscópicos permite hoy día disponer de un gran número de datos, inclusive en sistemas computarizados, que facilitan la elucidación rápida de las estructuras, tanto probables como definitivas, si se trata de compuestos conocidos, o al menos suministran cierta información para los compuestos nuevos.

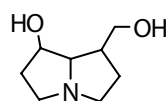
La espectroscopía ultravioleta se encuentra entre los primeros métodos físicos utilizados y de acuerdo a la absorción de la muestra se pueden considerar tres grandes clases de alcaloides: a) aquellos que presentan absorción de debajo de 220 nm: son alifáticos saturados, piperidinas y pirrolidinas. b) aquellos con absorbancia mediana entre 230 y 300 nm: tienen cromóforos aromáticos sencillos tales como fenilo o piridina y c) compuestos con cromóforos complejos, núcleos aromáticos conjugados o sistemas aromáticos policíclicos

cuyas absorciones máximas están dispersas en un gran intervalo, incluyendo la región visible.

Las medidas polarográficas que permitieron determinar el pKa fueron de gran ayuda en la elucidación de estructuras. Así, la posición alfa-beta o beta-gamma de un doble enlace con respecto al nitrógeno, puede postularse por comparación con los valores de pK de los análogos saturados. Este fue el caso de la retronecina una base más débil (pKa 8.94) que la saturada platynecina (pKa 10.22) y esto es compatible con insaturaciones beta-gamma más que con alfa-beta que debería aumentar la basicidad de la amina insaturada con respecto a la saturada. La diferencia en basicidad permite a su vez, lograr la separación mediante la distribución contracorriente, en la cual la fase acuosa está constituida por una serie de buffers de diferentes pH.



Retronecina (pKa 8,94)



Platynecina (pKa 10,22)

La espectroscopía infrarroja suministra información sobre los grupos funcionales presentes y los espectros de RMN tanto de protones como de carbono-13, hacen referencia de la relación que guardan los átomos de hidrógeno y carbono en la molécula y cobran día a día más importancia; hay una vasta colección de datos agrupados por familias de alcaloides.

La espectrometría de masas (EM), aparte de dar información sobre el peso y la fórmula molecular, en algunos casos permite, a través de los patrones de fragmentación, determinar tipos de esqueletos y ubicar grupos funcionales. La fórmula condensada puede establecerse por EM de alta resolución y/o el análisis elemental combinado con el peso molecular. Le siguen el análisis de las funciones oxigenadas y nitrogenadas (generalmente mediante métodos espectroscópicos). Los grupos funcionales más frecuentes son: OH, OMe, OCH₂O, COOH, acetatos, benzoatos, CO y otros. Los grupos fenólicos se detectan por reacciones de color, los grupos carboxilo por la solubilidad en bases débiles. Pueden cuantificarse los C-Me, OAc y OMe por espectroscopía de RMN. Los últimos se evaluaban originalmente por el método de Zeisel (que consiste en tratar la muestra con HI y calor lo que provoca el desprendimiento

cuantitativo de Mel que es valorado por titulación) y los acetatos, por hidrólisis.

5.6. Reacciones de degradación

Los primeros procedimientos para determinar estructuras orgánicas utilizaron reacciones de degradación que las transforman en moléculas más pequeñas, las cuales son identificadas por comparación con estructuras conocidas y, en su conjunto, ofrecen información sobre la estructura de la molécula de la cual provienen. Hoy día gracias a la ayuda de los métodos espectroscópicos el número de reacciones para este fin se ha reducido porque existe un cúmulo apreciable de información que permite interrelacionar estructuras sin recurrir a procesos degradativos; sin embargo, aún siguen siendo útiles en algunos casos. Para los alcaloides pueden enumerarse las siguientes

Oxidación. Generalmente aplicable para alcaloides con anillos aromáticos, por ejemplo isoquinolinas, ya que mantienen intactos estos núcleos y permiten definir los sitios de unión de las cadenas alifáticas de acuerdo a la función oxidada que se introduce. La oxidación puede llevarse a cabo en varios niveles: débil (agua oxigenada, yodo, oxígeno molecular), moderada (trióxido de cromo en ácidos diluidos) o fuerte (trióxido de cromo en ácido sulfúrico, ácido nítrico concentrado, permanganato de potasio). De existir OH fenólicos éstos deben ser protegidos por metilación, etilación o preferentemente, trimetilsililación. Esto permite además, localizar los OH libres en la estructura original.

Degradación de Hofmann. Es una eliminación pirolítica de sales de amonio cuaternarias, y permite definir la secuencia de los átomos de carbono en la estructura original, mediante el análisis de las olefinas resultantes. Como en cualquier eliminación de control termodinámico (las reacciones se llevan a cabo a altas temperaturas) predomina el producto más estable, para aquellos sustratos que pueden formar más de una olefina. Generalmente se acostumbra realizar varias eliminaciones sucesivas y con ello se logra un producto sin nitrógeno. La reacción se lleva a cabo preparándose la sal cuaternaria de amonio (reflujo con MeI) y descomponiéndola con una base (KOH, Ag_2O) en reflujo a altas temperaturas (dióxido de carbono, etilén glicol, como solventes). Es conveniente usar bases de plata por cuanto desplazan la reacción debido a la precipitación del yoduro de plata.

Las reacciones de sustitución compiten con la eliminación especialmente cuando no hay hidrógeno sobre los carbonos beta al nitrógeno, en este caso procede la formación de éteres y de alcoholes. También pueden tener lugar reacciones anormales que involucran carbonos alejados del átomo de nitrógeno. Los óxidos de aminas sufren eliminaciones de Hofmann por simple calentamiento.

Degradación de Emde. La reducción catalítica o con metales (sodio en amoníaco líquido o Na-Hg) de las sales cuaternarias de amonio las transforma en aminas terciarias y finalmente en olefinas, como en el caso de la degradación de Hofmann.

Degradación de von Braun. Consiste en tratar una amina terciaria con BrCN en un solvente inerte (diclorometano, cloroformo). Generalmente el enlace C-N que se rompe con preferencia es aquel que genera el fragmento halogenado más pequeño. Esto representa un método útil para desmetilar el nitrógeno, especialmente cuando hay grupos OMe en la molécula que pueden competir en otras condiciones de degradación (por ejemplo HI: reacción de Zeisel).

Destilación sobre metales. S, Se y Pd, producen deshidrogenación y todos los grupos periféricos (OR, C) son eliminados, originando a veces, una fracción volátil que contiene el nitrógeno como una amina pequeña; ésta es recogida sobre una solución de ácido pícrico. El picrato de la amina precipita y es fácilmente purificado y analizado (ésta es una práctica común también en otras reacciones de degradación). La rutina consiste en mezclar el alcaloide con el metal en una relación 1 a 10 y calentar bajo varias condiciones: a) presión reducida, b) corriente de nitrógeno y c) tubo sellado.

Sales de alcaloides. El método normal consiste en añadir un ácido con el anión deseado, pero a veces resulta demasiado violento o de difícil manipuleo al tratar de recuperar los alcaloides de la solución acuosa. Hay varias alternativas:

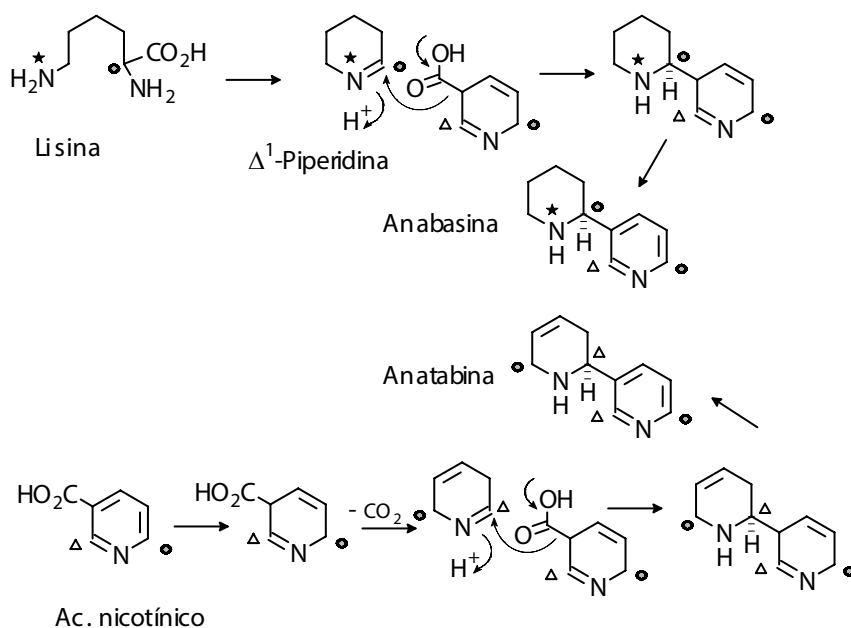
1. Para obtener cloruros, a una solución de bases terciarias o secundarias se le hace burbujear HCl gas, o se la agita violentamente con HCl concentrado.
2. Si las sales son insolubles en medio acuoso la solución metanólica de las bases se trata con una solución metanólica acuosa del anión correspondiente. Este es generalmente el caso en la preparación de picratos.

3. Las sales de ácidos oxidantes, como sulfatos o nitratos se preparan por columnas de intercambio iónico a partir de los clorhidratos.

Además de las reacciones indicadas antes, se emplean el intercambio de grupos funcionales y reacciones específicas para cada caso. Por último, la síntesis total establecerá inequívocamente la estructura del compuesto

5.7. Alcaloides piperidínicos

Como se mencionó, los aminoácidos alifáticos lisina y ornitina se encuentran más frecuentemente involucrados en los procesos biosintéticos que conducen a los alcaloides con núcleos piperidínicos y pirrolidínicos. Sin embargo, es aventurado proponer pasos biosintéticos iguales para compuestos que difieren muy poco en sus estructuras. Es el caso de anatabina y anabasina, ambos encontrados en *Nicotiana* sp. En la anabasina el anillo piperidínico proviene del intermediario Δ^1 -piperidina, formado a partir de lisina, mientras que en la anatabina el intermediario se origina a partir del ácido nicotínico. Varios experimentos con sustratos marcados proporcionan evidencias para las secuencias que se ilustran.

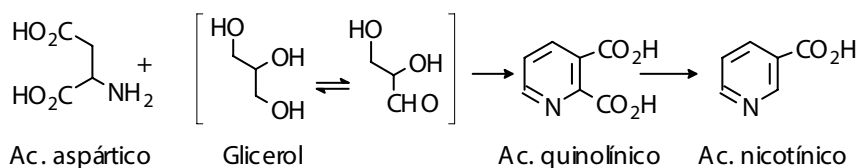


Fitoquímica Orgánica

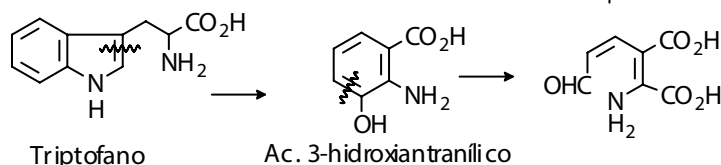
Se acepta entonces, que el anillo piperidínico tiene al menos dos orígenes: a) ácido nicotínico y b) Δ^1 -piperidina. Por su parte, se ha encontrado que el ácido nicotínico se forma a partir de a) glicerol y ácido aspártico, en vegetales superiores y b) triptofano, en animales y microorganismos.

Origen del ácido nicotínico

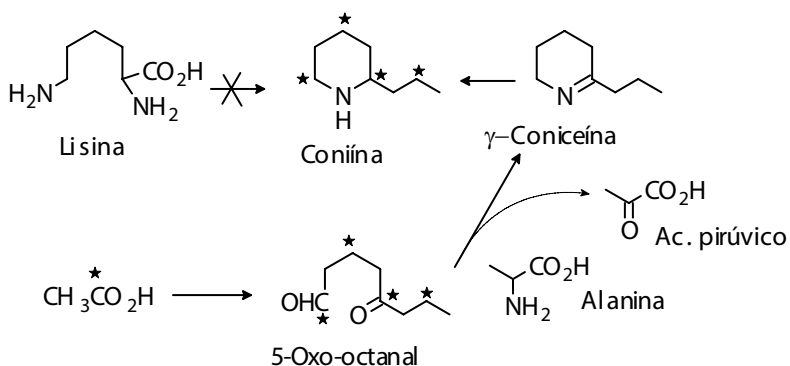
a) Plantas superiores



b) Animales y microorganismos

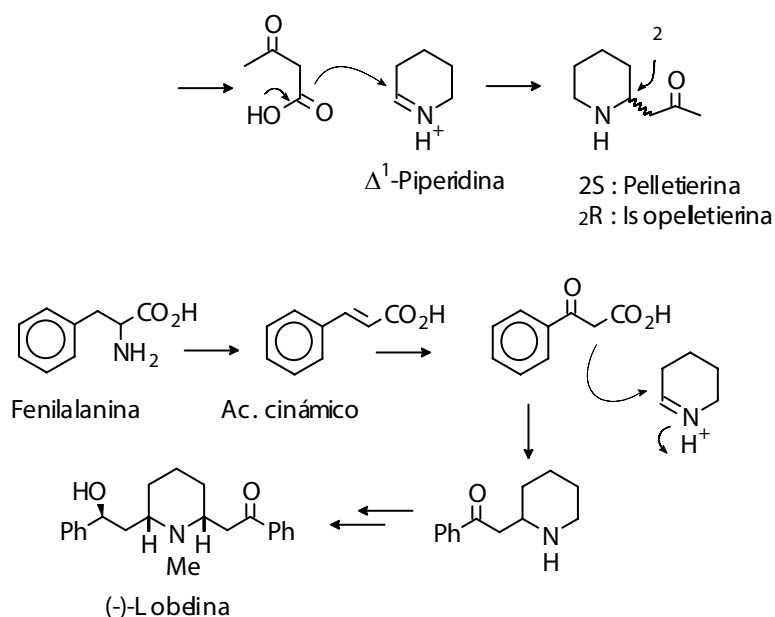


En algunas especies se ha encontrado que tanto la L-lisina como la D-lisina se incorporan en los alcaloides de *Nicotiana* sp. En los alcaloides de cicuta, *Conium maculatum* (Umbellíferas): coniina (el primer alcaloide sintetizado en 1886 por Liebig) y γ -coniceína, el anillo piperidínico tiene origen policétido, o al menos, la cadena carbonada se construye a partir de un ácido graso, lo que se demostró con experimentos de marcaje isotópico.



Alcaloides

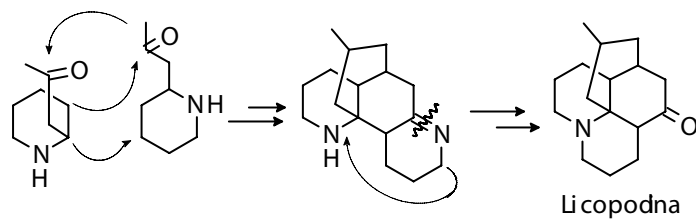
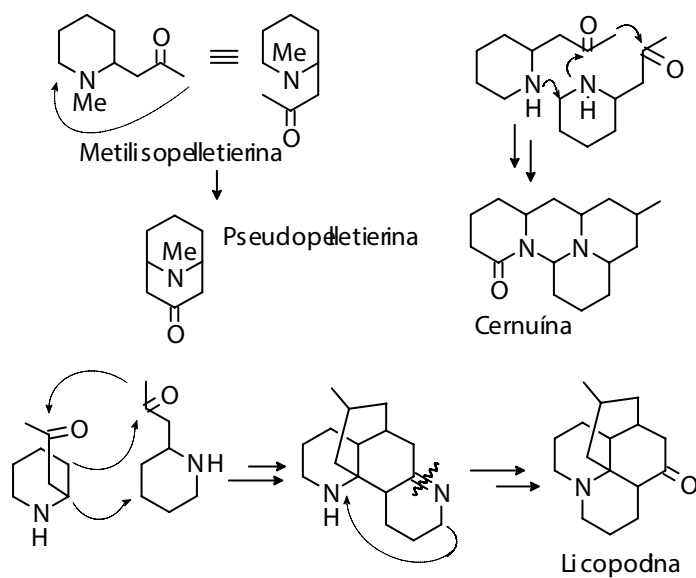
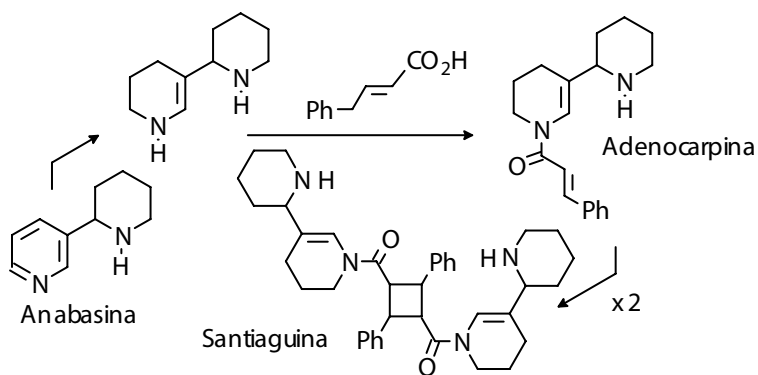
La cadena lateral en el caso de alcaloides de Sedum, Crassuláceas (sedamina) y de Lobelia, Lobeliáceas (lobelina) se forma a partir de la fenilalanina, vía ácido cinámico y a partir del ácido acético, como en el caso de pelletierina, alcaloide aislado de la corteza de la raíz del árbol del granado (Punica granatum, Punicáceas), la cual era usada para expulsar solitarias y otros helmintos.



La lobelina, es el alcaloide más abundante de Lobelia longiflora, conocida como "mata caballo" o "revienta caballo" y de Lobelia inflata, una hierba usada como emético, broncodilatador y en preparaciones para dejar de fumar.

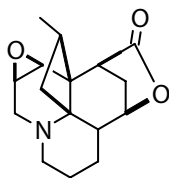
Entre los alcaloides de este grupo existen dímeros como por ejemplo la santiaguina, proveniente de dos unidades de tetrahydroanabasina estructuras bicíclicas, como la tropina y su análoga pseudopelletierina que se forman por ciclación de la cadena lateral y se conocen como los alcaloides de "tropano" (ver más adelante) y compuestos policíclicos como la licopodina y la cernuina, en cuya biosíntesis intervienen dos unidades de pelletierina. Seguido, se presenta esquemáticamente la formación de estos esqueletos. La unidad de tetrahydroanabasina presente en adenocarpina y santiaguina (ambos

aislados de *Adenocarpus foliosus*) tiene su origen en lisina.

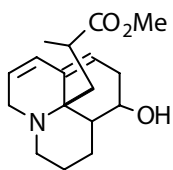


La licopodina, la cernuina, y esqueletos análogos, como los de anotinina, liconnotina y serratinina, son estructuras típicas de los alcaloides de los licopodios: *Lycopodium* sp., (Lycopodiáceas), los cuales se conocieron desde 1881 (Bodecker aisló la licopodina por primera vez en ese año), pero sus estructuras fueron establecidas a partir de 1960. El esqueleto de la licopodina es el más representativo entre los alcaloides de este grupo.

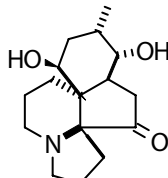
Alcaloides



Anotinina



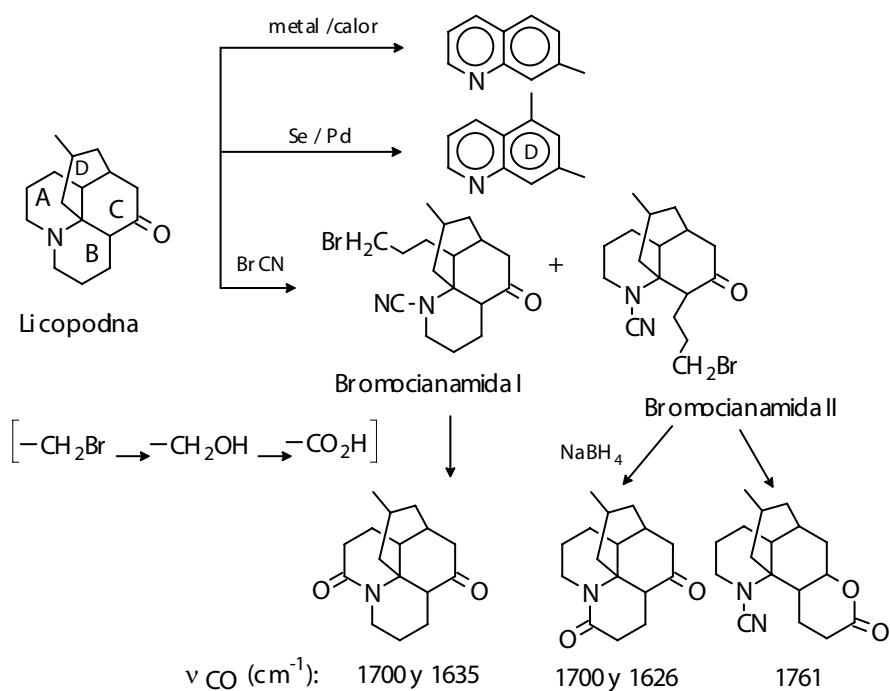
Liconnotina



Serratinina

Los estudios estructurales se hicieron principalmente, con base a reacciones de degradación, las cuales se resumen en cuadro 5-3.

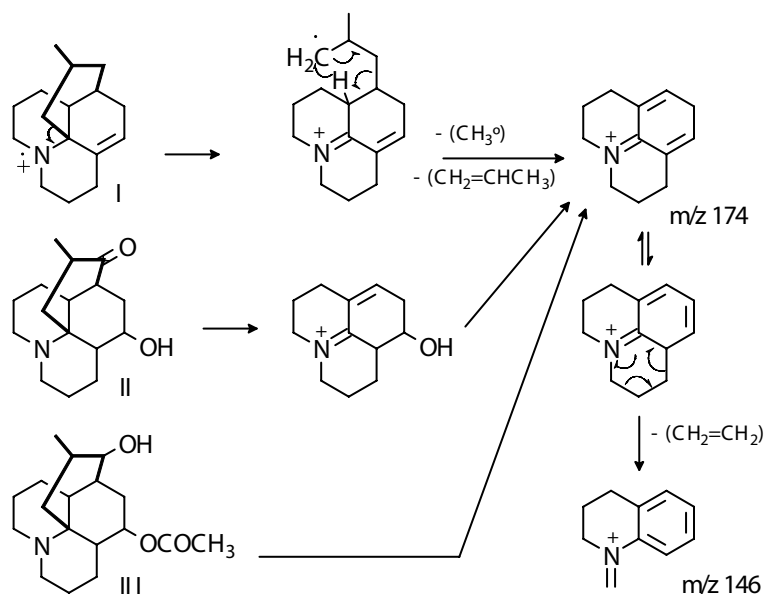
Cuadro 5-3. Degradación de la licopodina



Licopodina: $C_{16}H_{25}NO$, no tiene O-Me ni N-Me, presenta un grupo C=O en anillo saturado de seis miembros (1693 cm^{-1}) y su reducción con $LiAlH_4$ produce dihidrolicopodina (C=O \rightarrow CHOH). La destilación sobre metales origina 7-metilquinolinay la fusión con Se/Pd da 5,7-dimetilquinolina. En la degradación von Braun se forman dos bromocianamidas isoméricas I y II. Las transformaciones de I y II a la lactama (la primera) y a las lactamay lactona (la segunda), junto con otras reacciones permitieron establecer el sistema anular periférico, la ubicación del grupo carbonilo y del puente isobutilo.

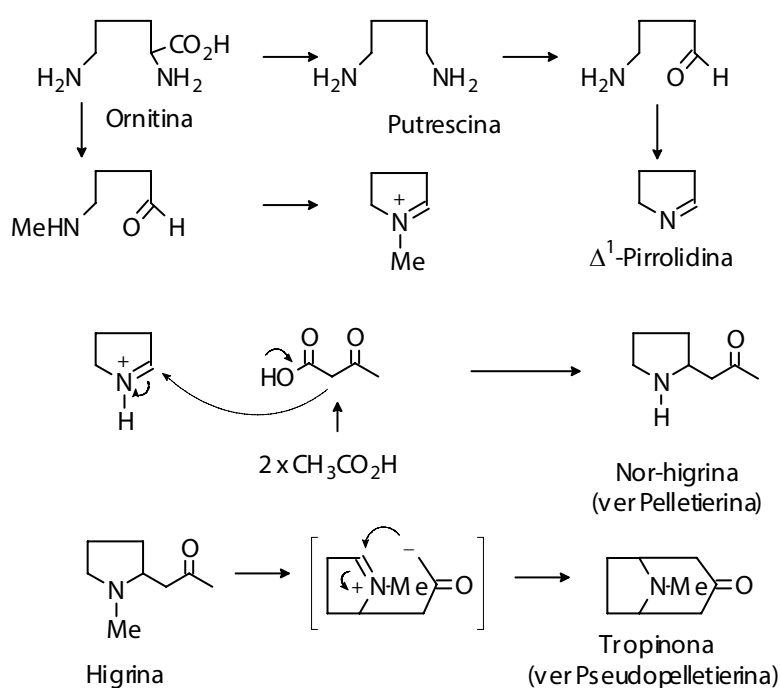
El espectro de masas de los alcaloides con el esqueleto de la licopodina muestra el mismo patrón de fragmentación que la ciclohexilamina (considérese la porción indicada en trazo oscuro como ciclohexilamina). La pérdida de ese anillo origina un fragmento de 174 u que representa el pico base de estos compuestos. El segundo pico en importancia siempre se encuentra a 146 u corresponde a la pérdida de etileno a través de un rompimiento retro-Diels-Alder del fragmento anterior. Las sustituciones no alteran la secuencia de la rotura, pues los mismos picos se observan en anhidrodihidrolicopodina (I), dihidroacrifolina (II) y lofolina (III).

Fragmentación en espectrometría de masas de los alcaloides con el esqueleto de la licopodina.

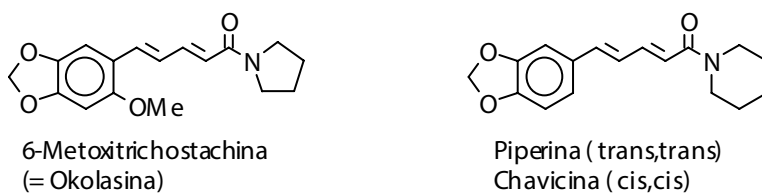
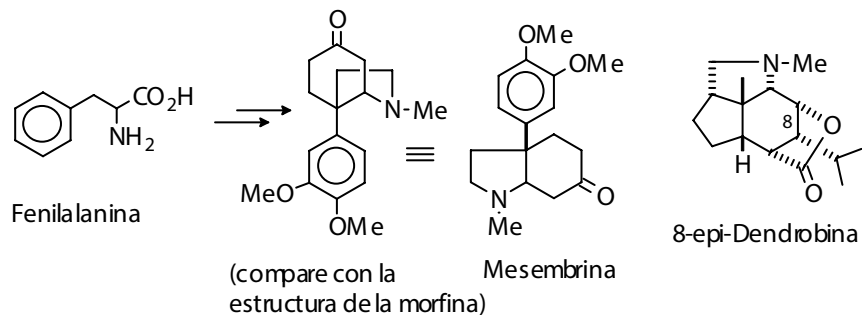


5.8. Alcaloides pirrolidínicos

Este grupo, menos frecuentes que los análogos piperidínicos, tienen como precursor común el aminoácido ornitina el cual forma un derivado Δ^1 -pirrolidínico que adiciona las cadenas laterales formadas a partir del ácido acético. La nor-higrina, homólogo inferior de la pelletierina, es la estructura representativa. De los derivados bicíclicos, los de tropano son los más conocidos; un ejemplo es la tropinona, homólogo inferior de la pseudopelletierina.

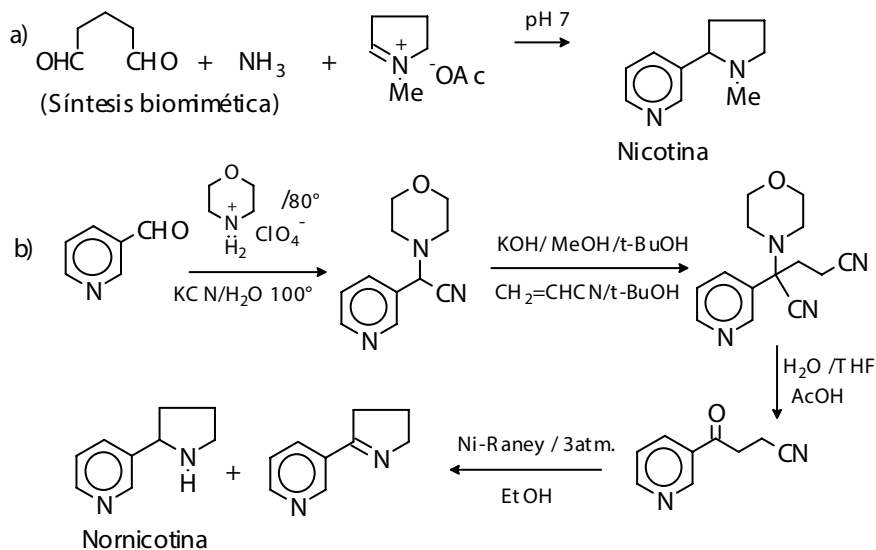


Existen otras estructuras más elaboradas, con el esqueleto de pirrolidina el cual no se deriva de aminoácidos alifáticos. Un ejemplo clásico es la mesembrina, encontrada en Amaryllidáceas. En ella el precursor del anillo pirrolidínico es fenilalanina (note la similitud con el esqueleto de morfina). Además, en la bioformación de la 8-epi-dendrobina, una base aislada de orquídeas, interviene el ácido mevalónico. A veces el nitrógeno pirrolidínico forma una amida, como en el caso de ciertos alcaloides aislados de la pimienta y su origen es policétido (piperina, chavicina, okolasina).



Tal vez el representante de los alcaloides pirrolidínicos más conocido es la nicotina, cuyo anillo piridínico se origina del ácido nicotínico, como en el caso de anabasinay anatabina(ver secciones 1.6.2.3 y 5.7). Su síntesis

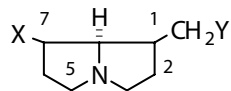
Síntesis de la nicotina



se ha intentado por varias vías y una de ellas (Leete, 1972) se basa en evidencias biogénicas (síntesis biomimética), mientras que otras utilizan caminos menos "naturales", pero con mejores rendimientos. En la síntesis de Leete el intermediario N-metil- Δ^1 -pirrolidina es suministrado como sustrato

5.9. Alcaloides pirrolizidínicos

Aunque éstos se encuentran en muchas familias botánicas, son estructuras típicas de los alcaloides del género Senecio, plantas conocidas como "cinerarias", de las más abundantes en la familia Compuestas (Asteráceas). Se localizan además en las Boragináceas y en las Leguminosas. Estos alcaloides son conocidos por producir, en el ganado que ingiere las plantas que los contienen, afecciones del hígado y del sistema nervioso central e inducir tumores. Se denominan "bases necinas" y tienen la estructura general indicada. Pueden formar parte de compuestos sencillos, como es el caso de los "alcaloides de Senecio", por ejemplo la echiumina. Generalmente están esterificados con ácido angélico y otros ácidos polihidroxilados, y/o presentan ciclos entre las cadenas sustituyentes. Estas bases se han detectado en los pelos de ciertas polillas y mariposas que se alimentan en campos donde abundan los heliotropos de los cuales aparentemente provienen los alcaloides. Heliotridina es uno de ellos.

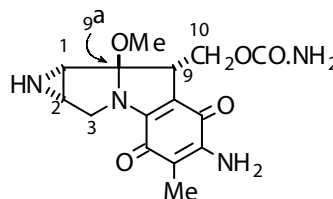


Bases Necinas

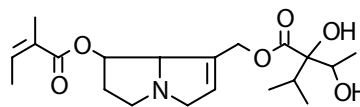
X = β -OH, Y = OH : Platinecina

X = β -OH, Y = OH, Δ^1 : Retronecina

X = α -OH, Y = OH, Δ^1 : Heliotridina



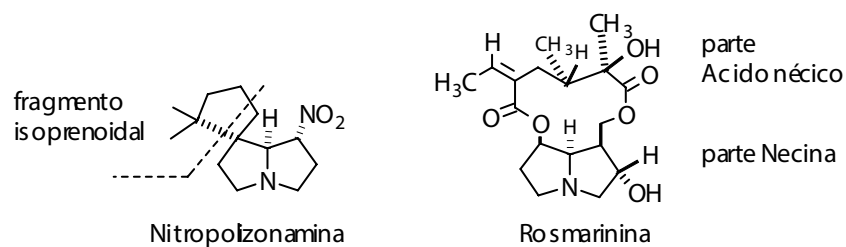
Mitomicina C



Echiumina

El anillo pirrolizidínico puede conformar moléculas más complejas como las de los antibióticos "mitomicinas". En este caso los estudios

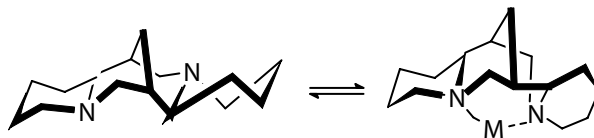
biosintéticos indican que los carbonos 1,2,3,9,9a y 10 provienen de glucosamina, a diferencia de los alcaloides simples que son derivados de ornitina. Otras estructuras de este grupo son las de rosmarinina, y análogos: ototensina y senecipillina aislados de *Senecio lorentzii*^{*}, que presentan un anillo macrocíclico cuyo precursor es isoleucina. Se ha detectado propiedades inhibitorias de carcinomas en estructuras análogas. La unidad de isopreno interviene en la bioformación de nitropolizonamina, un componente de la secreción de defensa del ciempiés



5.10. Alcaloides quinolizidínicos

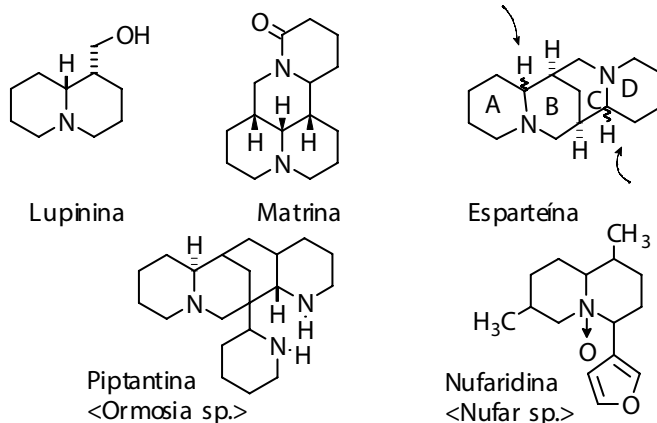
Se localizan principalmente en las Leguminosas, y su precursor común es el aminoácido lisina. Hay varios tipos estructurales: a) lupinina, común en plantas de lupinos; b) esparteína, de los cuales hay tres estereoisómeros aislados: los H, indicados en la fórmula, son ambos alfa, son ambos beta, uno H es alfa y otro H es beta; c) matrina; d) alcaloides de ormosia y e) alcaloides de nufar, encontrados en nenúfares.

En los alcaloides de "ormosia" se encuentran estructuras epiméricas en los seis centros quirales así como aromatización del anillo piperidínico. La flexibilidad de la porción de los anillos C y D, le confiere a la esparteína la facilidad de formar quelatos con metales, que comprometer a ambos nitrógenos.

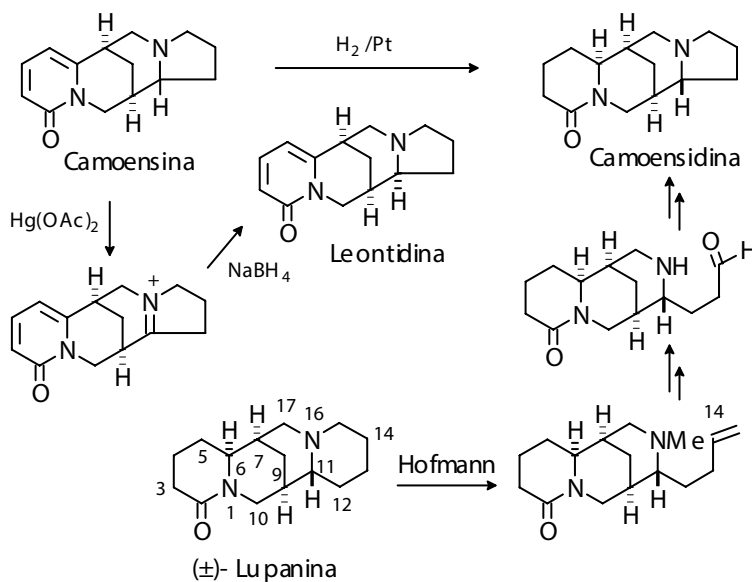


*M. Noorwala, F. Mohamed, V.U. Ahmed, b. Sener, F. Ergun y D. Deliorman, "Pyrrolizidine Alkaloids from *Senecio lorentzii*", *Fitoterapia*, 71, 618, 2000.

Alcaloides



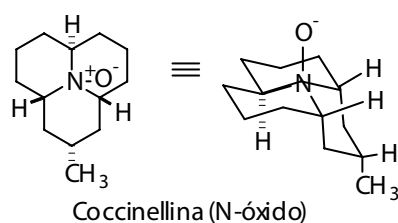
Los esqueletos indicados aparecen con más frecuencia, pero no exclusivamente, en un género particular. Por ejemplo de *Ormosia wayana* se aísla (-)-3β-hidroxi-13α-tigloxilupanina que posee el esqueleto de esparteína*.



*M. Olivier, J-H. Renault, B. Richard, C. Moretti y M. Zeches-Harnot, "Constituents of the stem bark of *Ormosia wayana*", *Fitoterapia*, 72, 583, 2001.

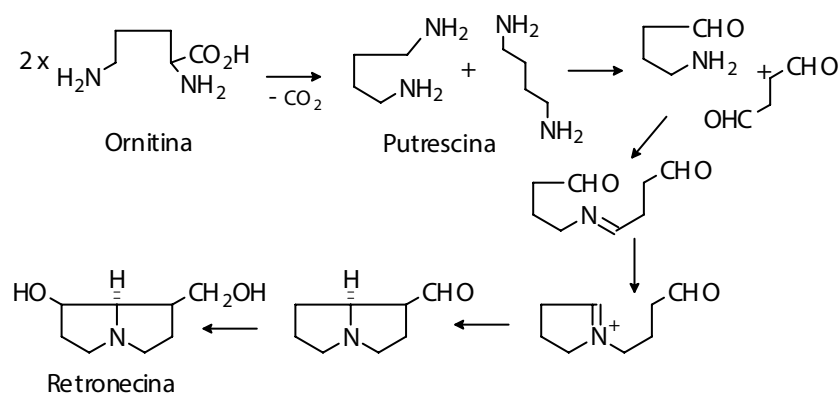
En este grupo hay homólogos inferiores a la esparteína como los alcaloides aislados de *Camoensia maxima*: camoensina, leontidina y camoensidina. La transformación de lupanina en camoensidina, se empleó para probar la relación estereoquímica de H-6 y H-7.

Un grupo especial de derivados de quinolizidina lo constituyen los azafalenos, cuyo representante: el N-óxido de coccinellina, es secretado por coquitos (*Coccinellides*) como feromona de defensa.

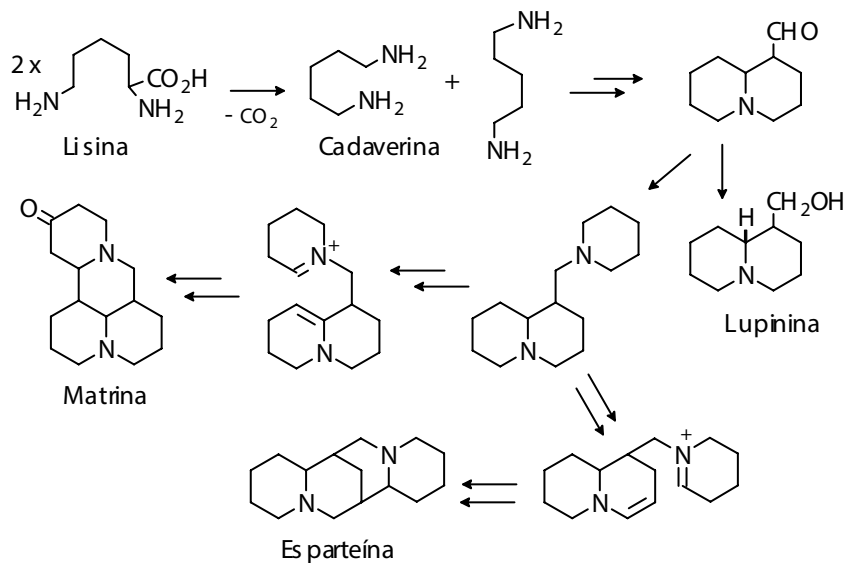


La bioformación de los sistemas pirrolizidínicos y quinolizidínicos parece proceder con la transformación previa de los aminoácidos ornitina y lisina, a las aminas correspondientes. Se propone la intervención de un aminoaldehído y un dialdehído provenientes de la transaminación de la diamina, como especies que originan los anillos pirrolizidínicos y quinolizidínicos, según se ilustra.

Biósíntesis de pirrolizidinas y quinolizidinas

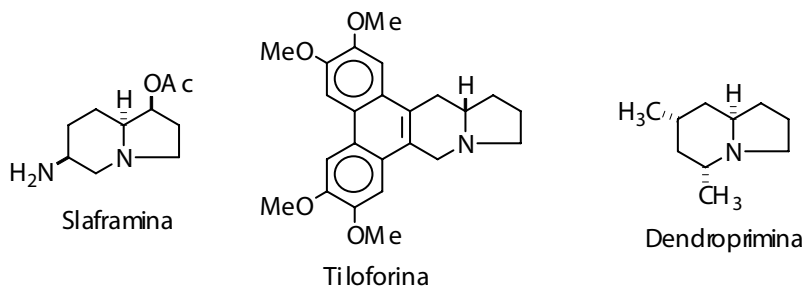


Alcaloides



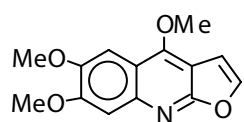
5.11. Alcaloides indolizidínicos

Son estructuralmente típicas de alcaloides de ipomeas (campanillas azules y rojas, muy frecuentes, llamadas también Don Diego o maravilla). Se encuentran también en el hongo *Rhizoctonia leguminicola* y su constituyente: slaframina, es el responsable de la salivación excesiva del ganado cuando come pasto contaminado con el hongo. El mayor número de representantes pertenece al grupo de la tilofoarina, altamente citotóxico. Uno de los más sencillos es la dendroprimina, aislado de *Dendrobium primulinum* (una orquídea) que, por degradación de Hofmann seguida de hidrogenación produce (S)-4-metilnonano.

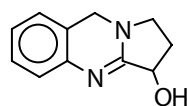


5.12. Alcaloides quinolínicos

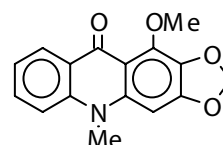
Se encuentran algunas variedades estructurales y son frecuentes tanto en microorganismos (e.g. *Penicillium cyclopium*) como en vegetales superiores. Estructuras como la kokusagina son conocidas como furoquinolinas y de éstas la más frecuente es la dictamnina. Dentro de este grupo se encuentran las quinolinas preniladas que conforman un grupo grande y muy variado. Entre las más sencillas se encuentra la N-metil-4-hidroxi-3-[2',3'-epoxi-3'-metil]-butil-2-quinolona, activas contra *Mycobacterium tuberculosis*, y que se aísla de la corteza de angostura (*Galipea officinalis*)*, tradicionalmente utilizada en la preparación del "amargo de angostura". También, dentro de este grupo se ubican las quinazolininas y las acridonas que son alcaloides típicos de Rutáceas.



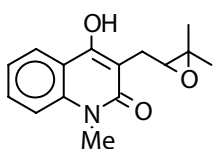
furoquinolina
Kokusagina



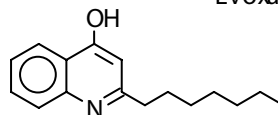
quinazolina
Peganina



acridona
Evoxantina



"prenilquinolona"
<*Galipea officinalis*>



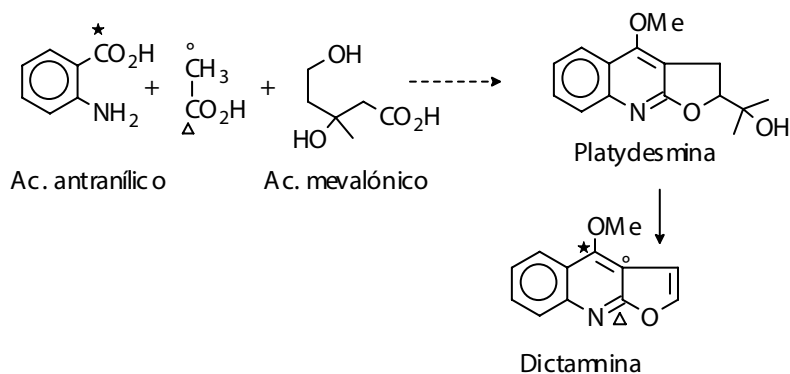
"pseudano"
<*Pseudomonas aeruginosa*>

En la bioformación de las quinolinas no hay evidencia de la intervención de aminoácidos alifáticos, pero sí de al menos, dos precursores aromáticos: el triptofano y el ácido antranílico, el cual junto con una unidad de acetato produce el anillo quinolínico, según se demostró con experimentos de marcaje isotópico (ver abajo). El ácido mevalónico es precursor de la cadena

*J. Jacquemond-Collet, S. Hannedouche, I. Fourasté y C. Moulis "Novel quinoline alkaloid from trunk bark of *Galipea officinalis*" *Fitoterapia*, 71, 605, 2000.

Alcaloides

lateral de 3-prenilquinolinas y en consecuencia, del anillo furánico en furoquinolinas. Se ha detectado asistencia de acetato-malonato en la formación del anillo quinolínico y de la cadena lateral de estructuras conocidas como "pseudanos", metabolitos de *Pseudomonas aeruginosa*.



Como se indicó antes, entre los alcaloides quinolínicos se encuentran varios tipos de sustituyentes. Las estructuras más frecuentes poseen una unidad de prenilo completa o parte de ella: el anillo furánico de las furoquinolinas. Existe una vasta información sintética, espectroscópica y en relación a su actividad biológica. Así, hay vasodilatadores, depresivos, inhibidores del crecimiento de las plantas, etc.

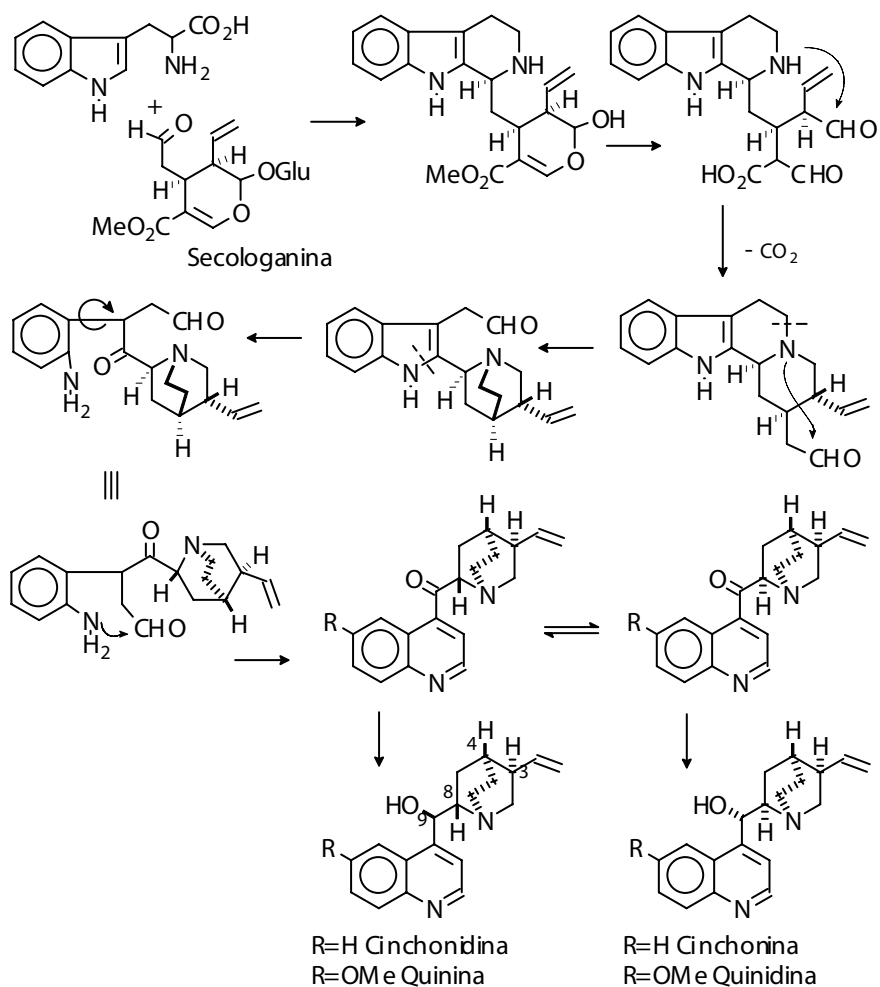
5.12.1. Alcaloides de cinchona

Un grupo de alcaloides muy bien conocido que presentan el núcleo de quinolina lo conforman aquellos de cinchona, de los cuales la quinina es el más representativo. Esos alcaloides se encuentran principalmente en Rubiáceas en los géneros Cinchona y Remijia. La corteza molida de estos arbustos fue muy apreciada en Europa desde 1600 cuando se supo que era usada por la condesa de Chinchón (de allí el nombre de cinchona), esposa del Virrey del Perú en el tratamiento de las "fiebres terciarias" (malaria). En esa época el arbusto fue llevado a la India y Java, pero su cultivo sistemático sólo se inició en Java en 1880 y desde 1942 este país es el productor mundial de la fuente de quinina; hoy día se sustituye por productos sintéticos de efectos prolongados.

A diferencia de otros alcaloides quinolínicos, los de cinchona (en castellano suele también utilizarse los términos "chinchona" o "cincona" y

sus derivados: "chinchonina" o "cinconina", "chinchonidina" o "cinconidina", para designar estos alcaloides) tienen origen indólico: provienen del triptofano y contienen una unidad monoterpénica del tipo iridoide, conocida como secologanina. El intermediario de estos alcaloides presenta el esqueleto de corynanté (ver alcaloides indólicos), el cual sufre una serie de rompimientos y ciclaciones que conducen finalmente, a los derivados quinolínicos (ver sección 5.17.2.).

Bi formación de los alcaloides de cinchona



Alcaloides

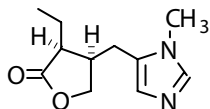
Estas estructuras presentan cinco centros asimétricos de los cuales dos están involucrados en un sistema bicíclico lo que reduce a 16 posibles estereoisómeros arreglados en ocho pares de enantiómeros. Sin embargo, todos los alcaloides naturales de cinchona tienen la misma configuración en C-3 y C-4 pero varían C-8 y C-9. La estereoquímica de C-8 define las series de cinchonina (alcaloides dextrorrotatorios) que tienen los sustituyentes cis en C-3 y C-8 y de cinchonidina (levorrotatorios) donde los sustituyentes están trans.

La configuración de C-9 tipifica las series "normal" (configuración de C-8 y C-9 son contrarias) y "epi" (igual configuración). Abajo se resumen las características estereoquímicas del par cinchonina- cinchonidina. La quinidina y quinina guardan la misma relación.

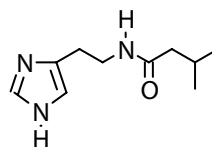
alcaloide	C-8	C-9
Cinchonina	R	S
Cinchonidina	S	R
Epicinchonina	R	R
Epicinchonidina	S	S

5.13. Alcaloides de imidazol

Se relacionan al aminoácido histidina. Pilocarpina es un ejemplo típico y se aísla de las semillas y hojas de especies de *Pilocarpus* conocidas como "jaborandi". Es un estimulante del sistema parasimpático (que controla la musculatura lisa) y se usa internamente como diaforético (induce sudoración) en el tratamiento de nefritis y en clínica para medicación del glaucoma. En algunos cactos también se encuentran alcaloides relacionados como lo es la dolicothelina, en cuyo origen intervienen histidina y leucina.



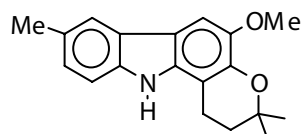
Pilocarpina



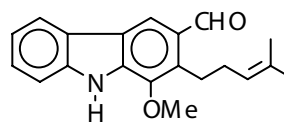
Dolicothelina

5.14. Alcaloides de carbazol

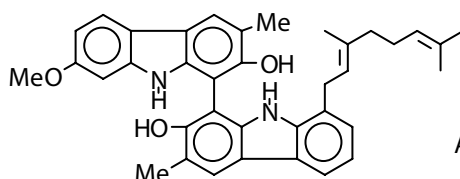
Un grupo reducido de alcaloides son los derivados de carbazol presentes en la familia de las Rutáceas. Del género *Clausena* se aíslan los monómeros heptazolidina e indizolina, y en *Murraya koenigii*, dímeros prenilados.



Heptazolidina



Indizolina



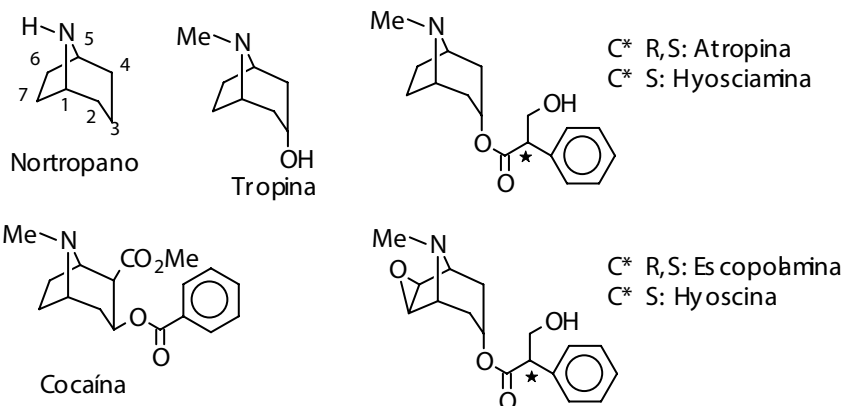
A <*Murraya koenigii*>

5.15. Alcaloides de tropano

Estos alcaloides fueron los primeros en ser detectados en la naturaleza, son estructuras pertenecientes a sustancias muy conocidas, por ejemplo la atropina (aislada de *Atropa belladonna*) usada en tinturas como calmante de dolores abdominales y en oftalmología por su acción midriática, la cocaína (aislada de *Erythroxylum coca* y otros *Erythroxylum*): euforizante, anestésico, la escopolamina (aislada de *Datura innoxia*: ñongué, de *D. stramonium* y otras especies del género *Datura*) con propiedades alucinógenas. La intensidad de la acción depende de la estereoquímica de la molécula y ello ha promovido el interés en su estudio. Notese que tanto atropina como escopolamina son mezclas de compuestos epiméricos en el carbono alfa del éster.

En estos alcaloides el esqueleto conocido como tropano tiene un grupo OH en C-3, el cual puede estar libre o esterificado, algunos presentan epóxidos y generalmente un grupo metilo sobre el nitrógeno.

Alcaloides



5.15.1. Estereoquímica

Dos alcaloides isoméricos: la tropina y la pseudotropina presentaron dudas sobre su configuración relativa. Se había establecido su naturaleza química, la secuencia de los enlaces y los grupos funcionales, pero no se conocía la estereoquímica en C-3. De los varios estudios tendientes a establecerla se extraen los más contundentes. A sí, se observaron los siguientes hechos experimentales:

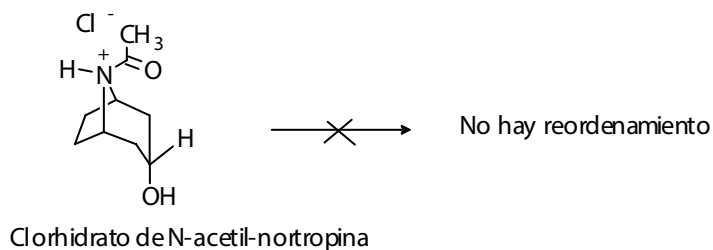
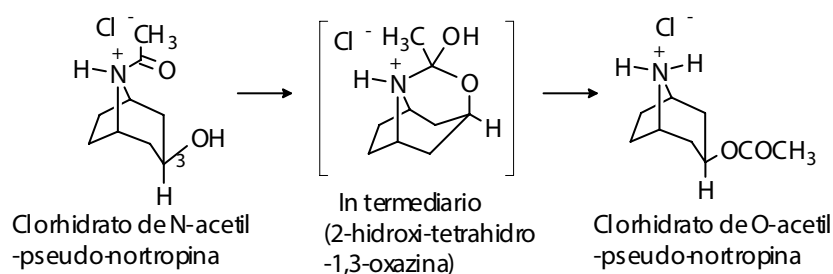
- La velocidad de hidrólisis de los benzoatos y de los *o*-nitrobenzoatos de tropina y del yoduro de su N-metil derivado es menor que la de los análogos de pseudo-tropina.
- La N-acetil-nortropina no sufre reordenamiento a O-acetil-nortropina, mientras que el análogo de la pseudo-tropina reacciona en las mismas condiciones.

Del último hecho se puede concluir que la pseudo-nortropina y por tanto la pseudo-tropina tienen el OH beta en C-3 que permite el rearreglo, a través de la conformación bote del anillo de seis miembros, mientras que en la tropina que tiene el OH orientado alfa no se llega a la formación del intermediario cíclico.

De la primera observación podría derivarse la conclusión contraria en cuanto a la estereoquímica de C-3, si el anillo de seis miembros adopta la conformación bote, pues la hidrólisis del benzoato de tropina debe proceder más rápidamente por estar menos impedido al ataque. Sin embargo, esta observación

no es válida si se considera la conformación silla en cuyo caso el benzoato de tropina adopta la posición endo, más impedida para el ataque y por tanto, la hidrólisis será más lenta. La conformación bote, necesaria para el reordenamiento, es un arreglo transitorio, cuya población dependerá de la energía en el medio de la reacción.

Reordenamiento de la N-acetil-pseudo-nortropina

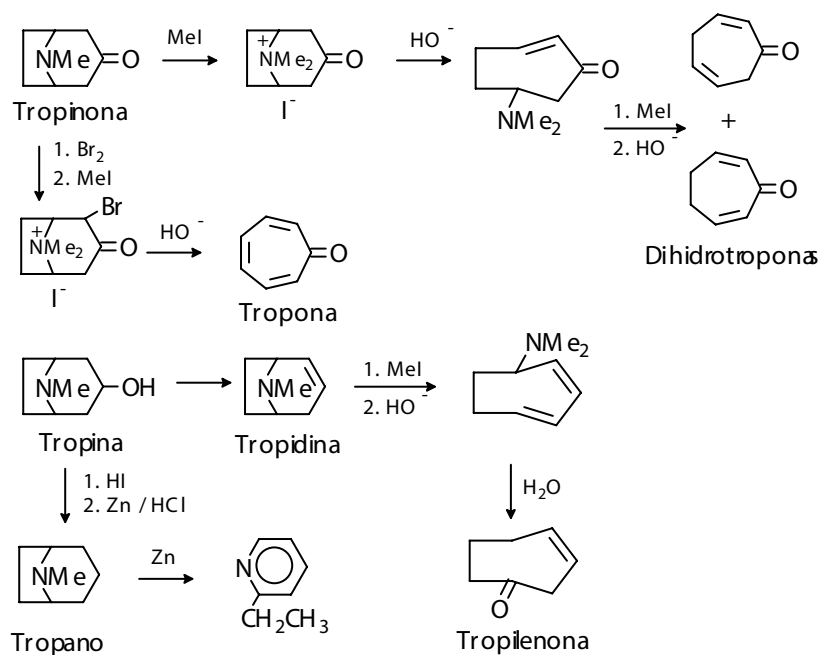


5.15.2. Cocaína y pseudococaína. Su relación con tropina

La secuencia de las reacciones en el esquema que sigue muestra la interrelación de las estructuras del título. Nótese que la facilidad de formación del producto de condensación con benzaldehído, benzilidenacetil, indica que el OH y CH₂OH (y por tanto el COOMe y OBz en cocaína) están del mismo lado: cis. Además, en el éster etílico de la N-acetil-pseudo-norecgonina (A) la migración N → O ocurre reversiblemente mientras que en el derivado de N-acetil-norecgonina (B) el intercambio es lento y ello puede ser el resultado de impedimento que ofrece el éster en C-2. Todo ello implica que la cocaína presenta los sustituyentes en C-2 y C-3, ambos beta.

La conversión de los esqueletos de tropano, por ejemplo el yoduro de la N-metil-tropinona en tropona e hidrotroponas, a través de degradaciones de Hofmann, permitió determinar la secuencia de los átomos de carbono. El anillo de siete miembros también se genera por degradación de Hofmann del producto de deshidratación de la tropina y la 2-etilpiridina se forma por destilación sobre polvo de Zn del tropano, producto del tratamiento de la tropina con HI y Zn. La secuencia de las reacciones se ilustra en el esquema.

Reacciones de degradación de los alcaloides de tropano

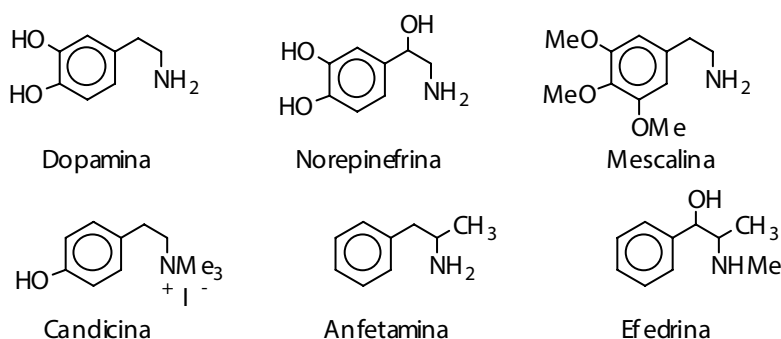


5.16. Alcaloides derivados de feniletilamina

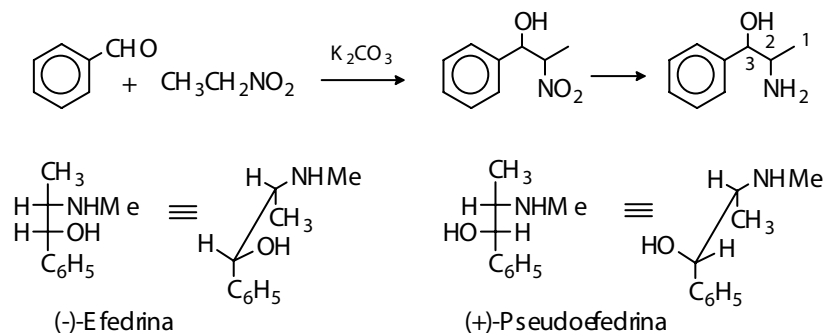
Los alcaloides más ampliamente distribuidos son los derivados de feniletilamina, conocidos también como alcaloides de "fenetilamina". Son casi siempre estructuras muy sencillas conocidas como catecolaminas: dopamina, norepinefrina, trimetoxifeniletilamina, que presentan diferente grado de

Alcaloides

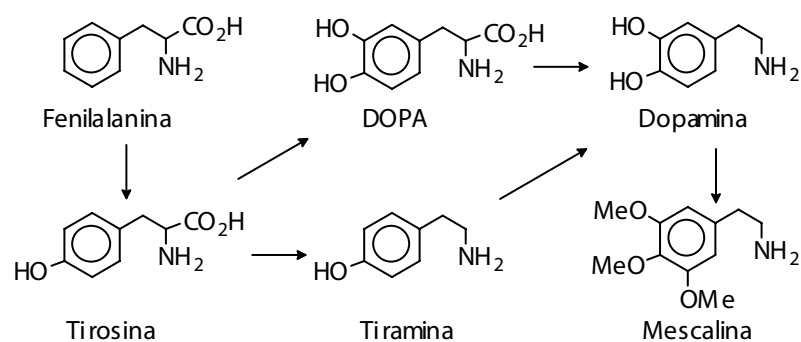
metilación en el átomo de nitrógeno. Estos son típicos de cactus: mescalina, y el constituyente principal de *Lophophora williamsii*, peyote, un alucinógeno usado desde épocas precolombinas por los aztecas. Estas estructuras se conocen como anfetaminas; aquellas que poseen un grupo OH en el carbonobencílico, por ejemplo efedrina, son propios del género *Ephedra*. Algunas de estas estructuras se han detectado en la corteza de cítricos y bananos. La farmacología de los halucinógenos como mescalina y bases relacionadas, sus aplicaciones presentes y futuras, está bien documentada.



Debido a la aplicación que tienen las anfetaminas, éstas han sido objeto de varios estudios sintéticos; comercialmente se las prepara por condensación del benzaldehído con nitroetano, seguido por la resolución de la mezcla de diastereoisómeros. Corresponde la configuración eritro a los derivados de efedrina y treo a los de pseudoefedrina, que son epímeros en C-3. Como dato curioso, las 2R y 2S anfetaminas pueden distinguirse en RMN por el desplazamiento (unos 0.7 ppm) del hidrógeno en C-2, en presencia de agentes de desplazamiento como las sales de Eu^{III} .

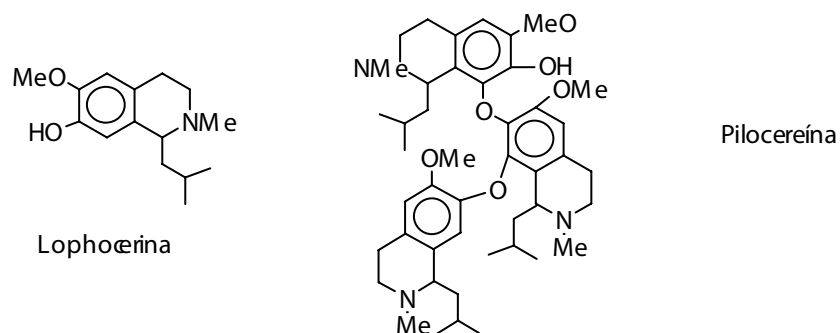


Los aminoácidos que intervienen en su formación a través de transaminación- descarboxilación son tirosina, fenilalanina y DOPA.



5.16.1. Alcaloides isoquinolínicos

Las isoquinolinas son los alcaloides más abundantes no sólo en cuanto a la variedad estructural sino también por su distribución. Hay estructuras sencillas, tetrahydroisoquinolinas monómeros (ej. lophocerina, aislada del peyote, su derivado 6-metoxi-7,8-metilendioxi: lophorina, un vasodilatador) o polímeros (pilocerina, utilizada como antiespasmódico)

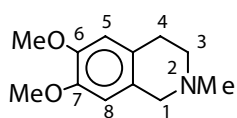


Las isoquinolinas presentan generalmente una cadena carbonada en C-1 del sistema isoquinolínico, que puede ser un metilo (salsolidina), iso-butilo (lophocerina), o más frecuentemente, un grupo bencilo que conforma la mayoría

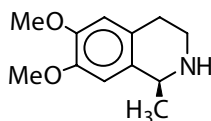
Alcaloides

de esta clase de alcaloides: las bencilisoquinolinas. Estas pueden ser estructuras monoméricas (reticulina) o diméricas (tubocurarina)

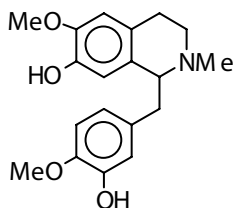
Si el sustituyente en C-1 es una cadena alifática son compuestos típicos de cactus, mientras que las bencilisoquinolinas se encuentran distribuidas en Papaveráceas, Rutáceas, Menispermáceas y menos frecuentemente en Lauráceas, Hernandiáceas y Annonáceas. En el cuadro 5-4 se ilustran los esqueletos más representativos de estos alcaloides y su interrelación.



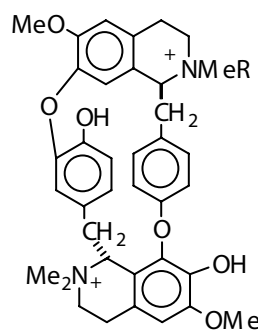
N-Metilcorpallina



Salsolidina



Reticulina



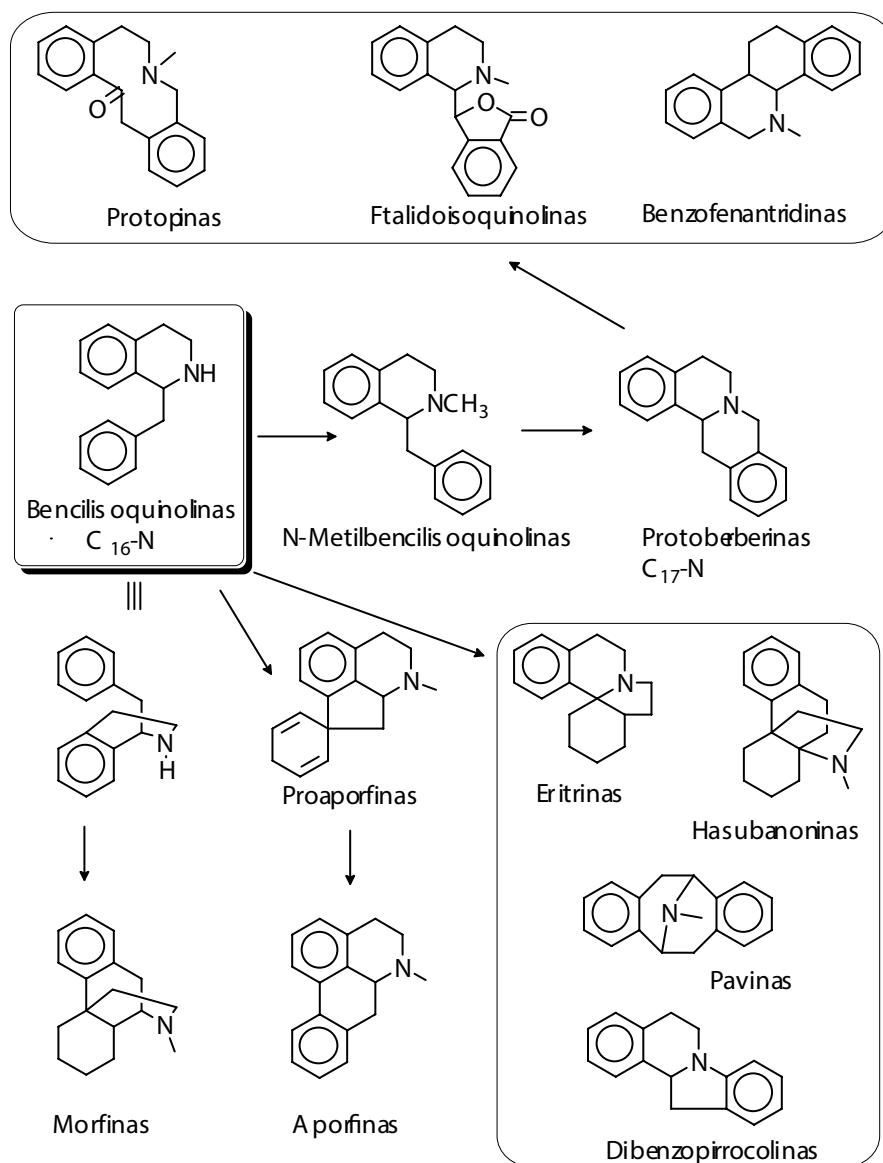
R = H, (+)-Tubocurarina
R = Me, (+)-Chondocararina.

5.16.2. Bencilisoquinolinas de cadena abierta

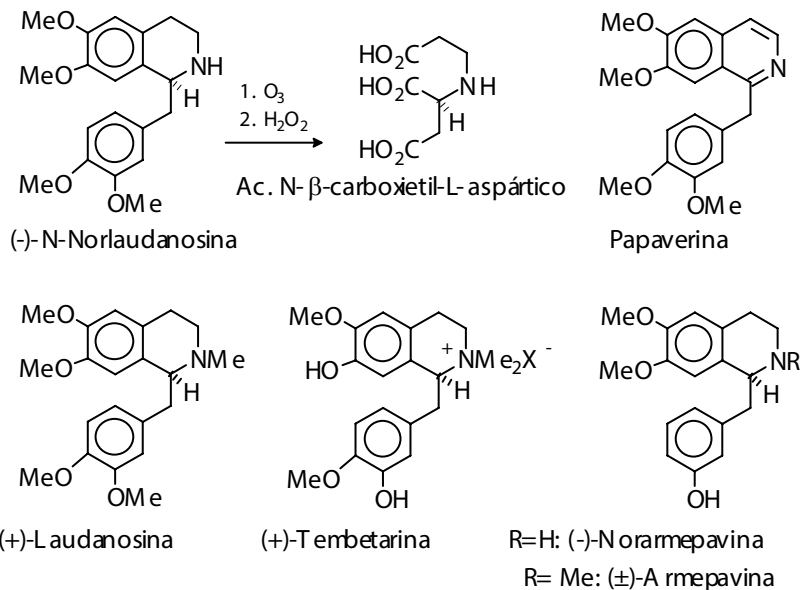
Los alcaloides de este tipo son considerados precursores de las demás bencilisoquinolinas. La estereoquímica del centro quiral C-1 de los derivados saturados en el anillo heterocíclico se estableció para la (-)-N-norlaudanosina mediante ozonólisis, lo que produjo el ácido N β -carboxietil-L-aspartico, cuya configuración absoluta era conocida.

La configuración de C-1 de otros alcaloides bencilisoquinolínicos se determinó por comparación con la N-norlaudanosina. (La laudanosina es el principio activo de las hojas de láudano, utilizado desde hace mucho tiempo como sedante). Nótese que la N-metilación cambia el signo de la rotación óptica.

Cuadro 5-4. Esqueletos derivados de bencilisoquinolina.



Alcaloides



Los alcaloides tetrahidroisoquinolínicos ocurren naturalmente como ambos epímeros en C-1, aunque no necesariamente ellos se presentan en la misma fuente. Por ejemplo (+)-norarmepavina se obtuvo de *Magnolia kachirachirai* y el enantiómero de *Nelumbolutea* y de otras especies. También se localizan ambos enantiómeros en la misma planta; por ejemplo, armepavina que se aisló como una racemato, de *Nelumbonucifera*.

La bioformación de las bencilisoquinolinas procede por condensación de Mannich entre derivados de feniletilamina y los aldehídos provenientes de la transaminación y descarboxilación de los aminoácidos precursores de aquellos: fenilalanina, DOPA y tirosina*.

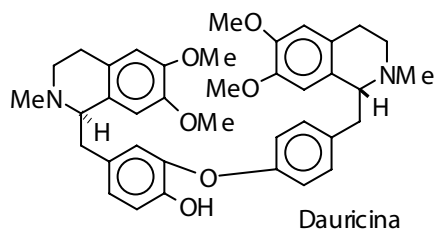
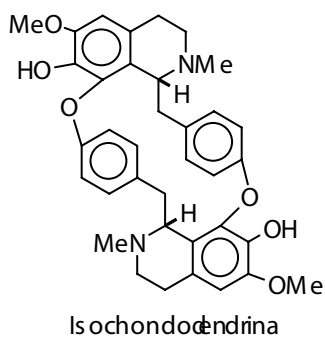
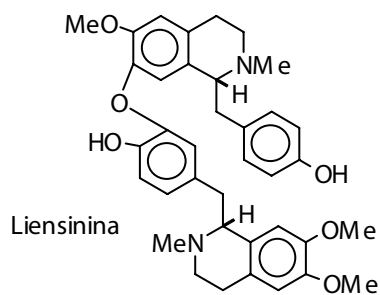
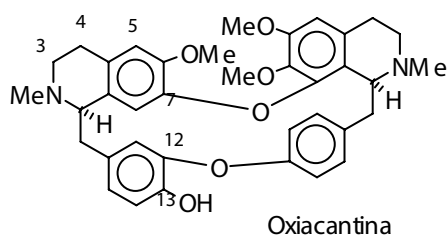
5.16.3. Bis-bencilisoquinolinas

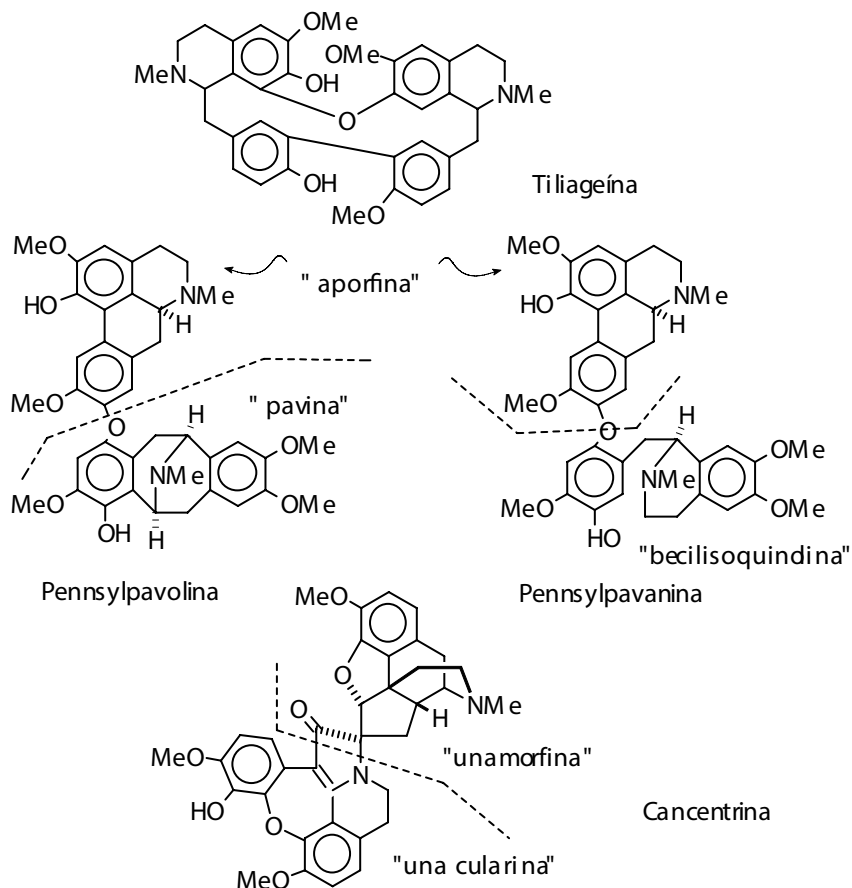
Se localizan principalmente en las familias Menispermáceas y Ranunculáceas, son alcaloides de curare: *Chondodendron tomentosum* L as uniones, una, dos o tres, tienen lugar entre dos unidades de bencilisoquinolinas

T.M. Kutchan "Molecular genetics of plant alkaloid biosynthesis" en G. Cordell (ed), *The Alkaloids* Vol. 50, 257, Academic Press, 1998.

a través de éteres (acoplamiento oxidativo C-O). Los sitios más frecuentes de acoplamiento son los carbonos 7, 8, 12, 13, y a veces, C-5 ó C-11. Hay ejemplos de unión C-O y C-C como en el caso de tiliageína. Los acoplamientos pueden ser cola-cola o cabeza-cola. En el primer grupo se encuentran oxiacantina y dauricina, y en el segundo, tubocurarina, liensinina e isochondodendrina.

Las dos unidades no son necesariamente iguales, como tampoco la estereoquímica de los centros quirales. Las más frecuentes son unidades de bencilisoquinolina, pero también se encuentran otras: aporfina, morfina, etc. Así, cancentrina contiene una unidad de "morfina" y una de "cularina", pennsylvavolina, presenta los núcleos de aporfina y pavina, mientras que pennsylvavanina tiene los núcleos de aporfina y bencilisoquinolina. Nótese la similitud estructural entre las dos últimas. Los dímeros de aporfina y bencilisoquinolina se conocen como la serie de thalicarpamina y son típicos del género *Thalictrum*.



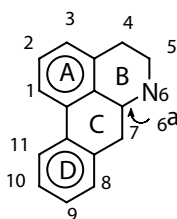


La acción biológica más conocida de estos alcaloides es la parálisis de la musculatura (acción curarizante), que termina en muerte por asfixia. También se ha citado actividad anti-inflamatoria y tuberculostática.

5.16.4. Aporfinas

Las aporfina son tal vez las estructuras mejor conocidas gracias a su sencillez esquelética. Están registrados alrededor de unos 100 compuestos siendo los sustituyentes grupos OH, dioximetileno, OMe. Generalmente presentan los anillos A y D aromáticos y algunos tienen dobles enlaces entre 6 y 6a

y/o 4 y 5. Los sitios de oxigenación más frecuentes son 1 y 2, le siguen 9, 10 y 11, y luego 3, 4, 7 y 8. Casi siempre son tetra-oxigenados y el nitrógeno puede ser secundario, terciario o cuaternario.



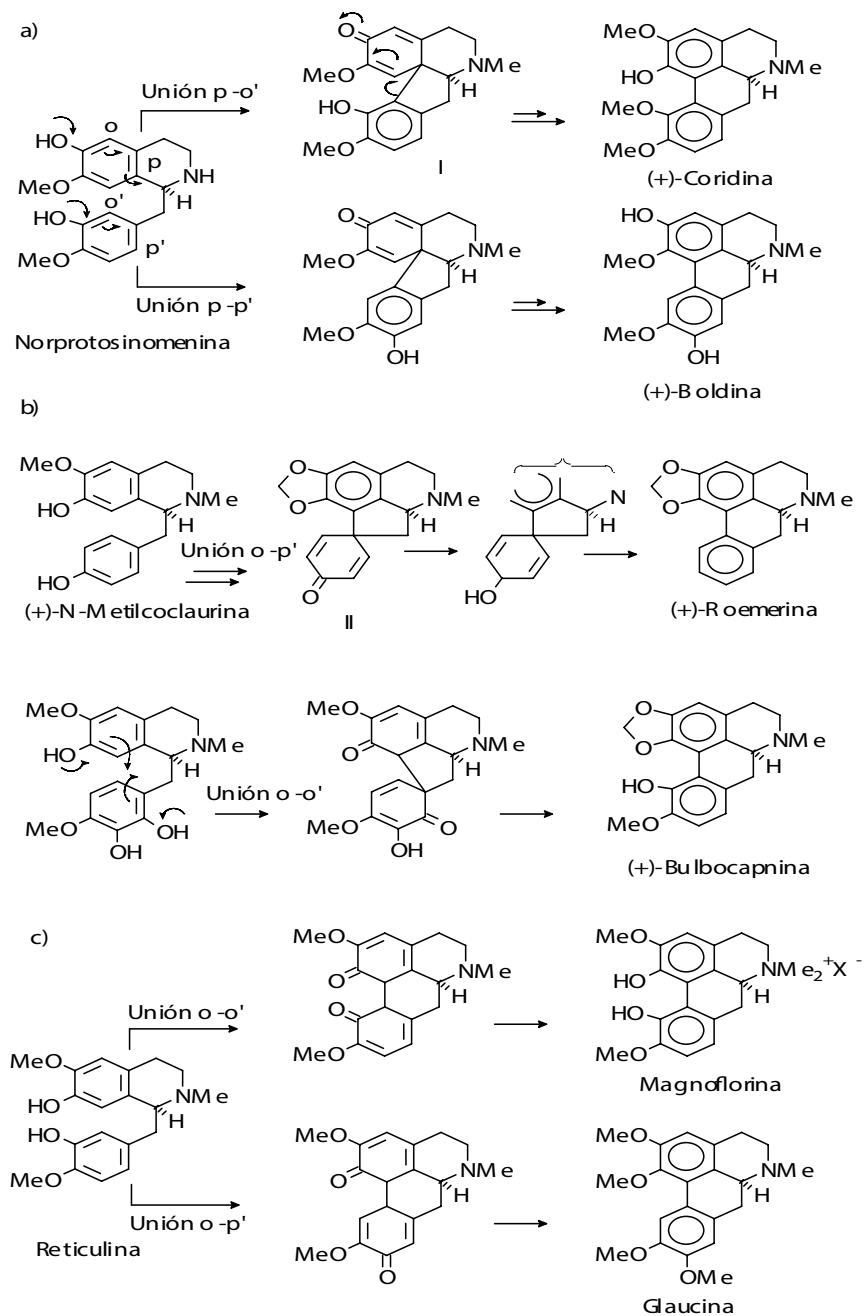
La formación del núcleo porfínico a partir de las benzilisoquinolinas sigue un camino de acoplamiento C-C, el cual tiene lugar a través de un intermediario espiro-quinoideo. Para ello son necesarios átomos de oxígeno (OH, OMe) en posiciones conjugadas al sitio de unión. Se han propuesto dos diferentes estructuras quinoideas las cuales, dependiendo del acoplamiento orto-orto, orto-para o para-para, conducirán a diferentes patrones de oxigenación en las aporfinas resultantes. (Ver cuadro 5-5).

Existen evidencias experimentales para los intermediarios quinoideos. Por ejemplo, la dienona formada en el anillo superior (I, caso a) conocida con el nombre genérico de "neo-proaporfina", se ha sintetizado en el laboratorio mediante fotólisis de un derivado halogenado de una benzilisoquinolina. El intermediario I, a su vez, se convierte en aporfina mediante un rearrreglo fotolítico. Este tipo de intermediarios parece operar en aquellos precursores benzilisoquinolínicos en los cuales el anillo bencílico posee un grupo metoxilo en posición para a la cadena alifática, y por ello no se alcanza la estructura quinoidea, como en el caso de la transformación de la nor-protosinomenina a (+)-coridina y (+)-boldina en *Dicentra eximia*.

Más frecuentemente se considera la estructura quinónica en el anillo bencílico y los núcleos son conocidos como "proaporfinas", (II, caso b). Arreglos de este tipo se han aislado de fuentes naturales y un ejemplo de éstos es la mecambрина (II) (de *Papaver fugax*) que es el intermediario de la transformación de (+)-N-metilcoclaurina a (+)-roemerina. Nótese que en este caso procede la eliminación del oxígeno quinónico, previa reducción del carbonilo, en la proaporfina resultante. Las 9 ó 10-hidroxiaporfinas pueden obtenerse por enolización del sistema quinoideo de un intermediario como II, dependiendo del enlace migrante en el ciclopentano. Este modo de ciclación es también

Alcaloides

Cuadro 5-5. Formación del núcleoaporfínico.

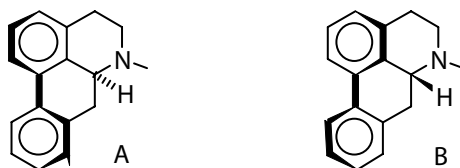


orto-orto' u orto-para', pero en este caso el carbono aromático de la unidad bencílica involucrado en la ciclación es el que tiene el CH_2 . Estas proaporfinas se encuentran en especies del género *Croton*.

Aun existe una tercera vía de acoplamiento orto-orto' u orto-para', por el cual las bencilisoquinolinas pasan directamente a aporfinas. Este último fue el camino sugerido para la bioformación de magnoflorina (caso c).

5.16.4.1. Ester eoquímica de las aporfinas

Las aporfinas no son moléculas planas; pueden existir en dos arreglos estereoquímicos (M.A. Shamma, *Experientia*, 16, 484, 1960). El problema de la configuración absoluta se clarificó mediante varios métodos. Así, la transformación de (+)-laudanosina en (+)-glaucina indica que la estereoquímica del carbono quiral es la misma, pues ese cambio no lo afecta. La rotación óptica es un dato útil para la determinación de la estereoquímica de las aporfinas. Si la orientación del H-6a es alfa, el alcaloide es dextrorrotatorio y viceversa. El efecto Cotton para las moléculas de configuraciones absolutas como A es positivo a 235-245 nm y negativo para configuraciones como B, independientemente de los sustituyentes. Generalmente las aporfinas son dextrorrotatorias, presentando el arreglo A. Recientemente los datos de RMN han ayudado a esclarecer la estereoquímica de estos compuestos.



5.16.4.2. Reacciones de las aporfinas

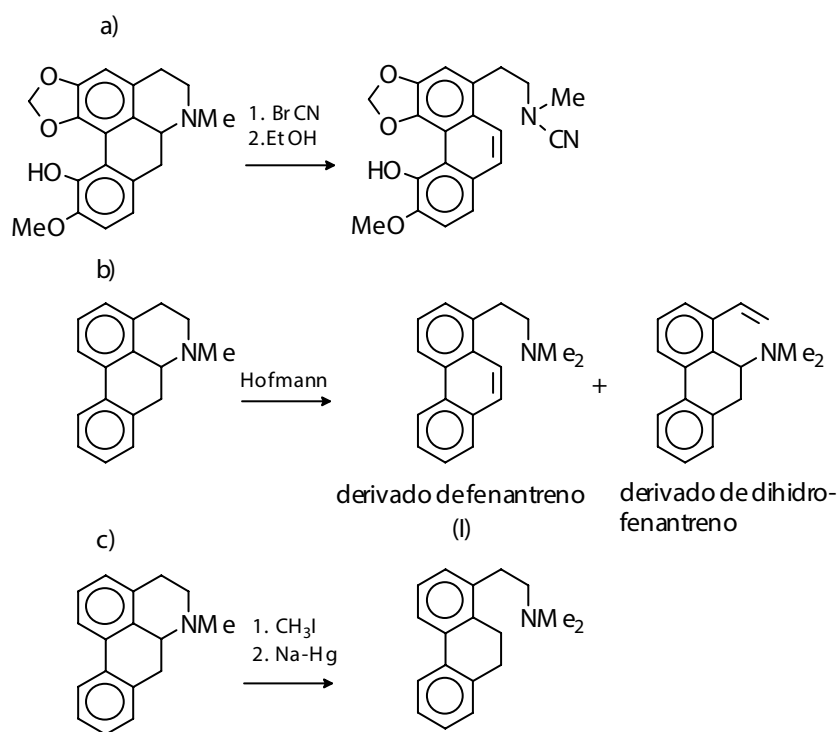
Las aporfinas N-metiladas tienden a formar derivados del fenantreno bajo varias condiciones experimentales:

a. El tratamiento con BrCN no conduce al producto de N-desmetilación, en contraste al caso usual de la reacción de von Braun; la desmetilación tiene lugar si se emplea un nucleófilo más fuerte: anión tiofenolato.

b. La degradación Hofmann produce derivados de fenantreno y de dihidrofenantreno cuya proporción depende de los sustituyentes en los anillos aromáticos.

c. La degradación de Emde (Na-Hg) origina preferentemente dihidrofenantrenos

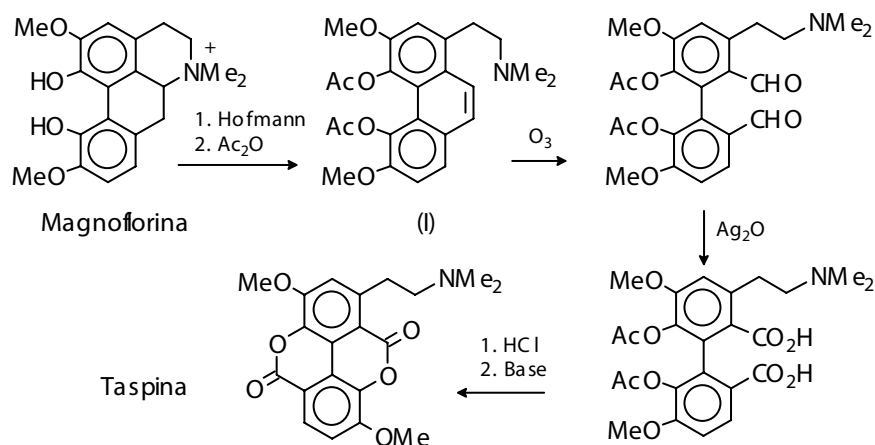
Reacciones de degradación de las aporfinas



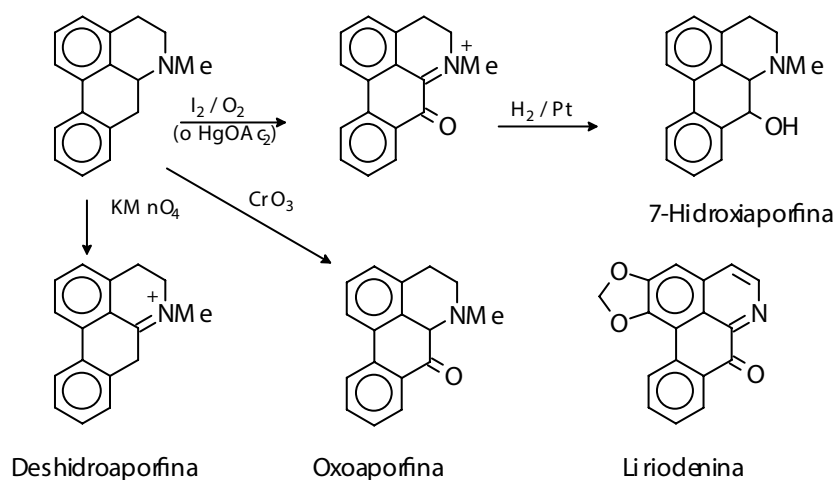
La ozonólisis de derivados de fenantreno (I) procede con la formación de derivados de bifenilo. Tal es la conversión de magnoflorina a taspina, ambos alcaloides ocurren naturalmente y se cree que esta secuencia tenga lugar in vivo.

La O-desmetilación se logra con tribromuro de boro o diclorometano o con diborano-yodo. Los grupos estéricamente más impedidos se eliminan con mayor facilidad.

Conversión de magnoflorina a taspina

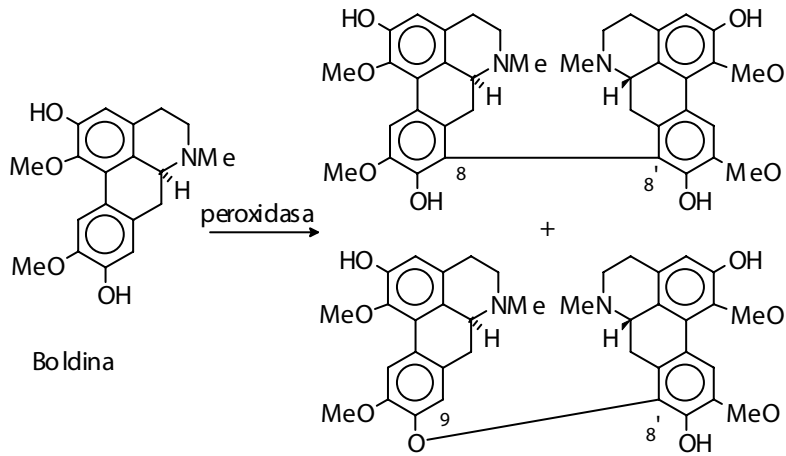


La oxidación origina diferentes compuestos según las condiciones; así, KMnO_4 produce deshidroaporfina, mientras que CrO_3 origina oxoaporfina en bajo rendimiento y la oxidación con oxígeno del aire (I_2 / O_2) o acetato de mercurio origina las cetonas conjugadas que por reducción catalítica forman las 7-hidroxiaporfina. La oxidación con peróxidos puede conducir a la dimerización: boldina forma el dímero C-C (8,8') y el dímero C-O (9,8'). Hay 7-oxo-aporfina naturales (liriodenina) y se encuentran en Annonáceas, Menispermáceas, Lauráceas.



Alcaloides

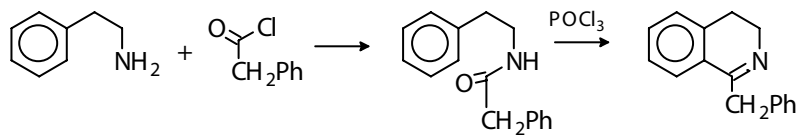
Formación de dímeros



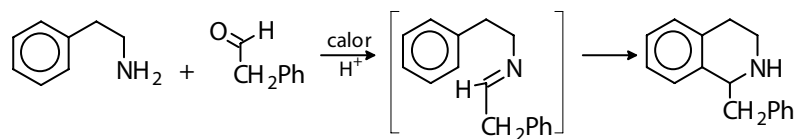
La síntesis de aporfina fue objeto de un excelente trabajo de revisión, así como las rotaciones específicas, las configuraciones absolutas y las relaciones estructurales de las diferentes aporfina. La síntesis comienza con la formación de la bencilisoquinolina oxigenada.

Síntesis de bencilisoquinolinas

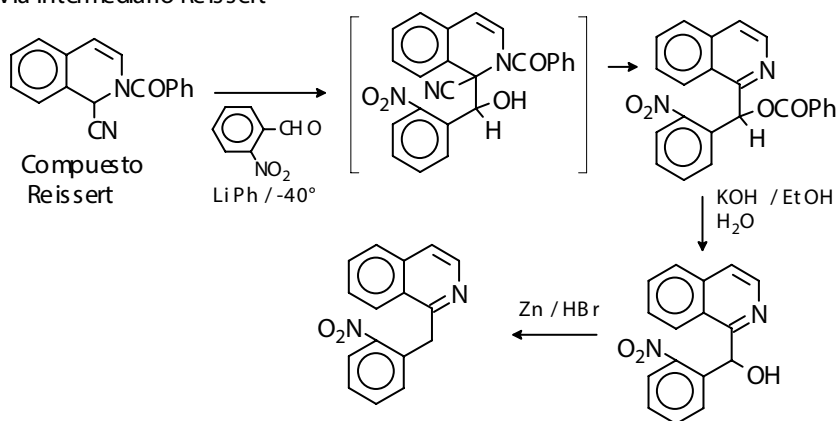
a) Bischler-Napieralsky



b) Pictet-Spengler



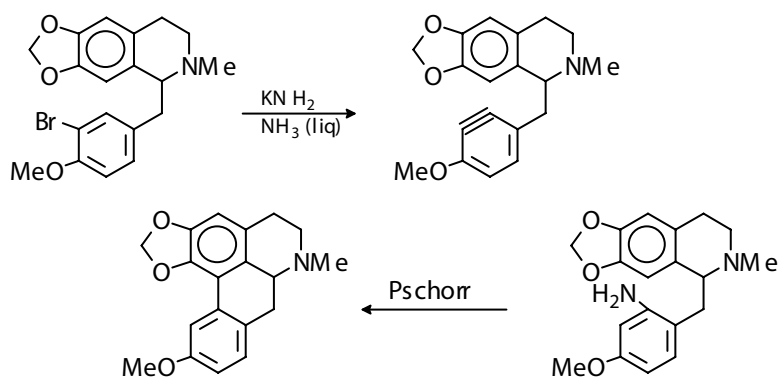
c) Vía intermediario Reissert



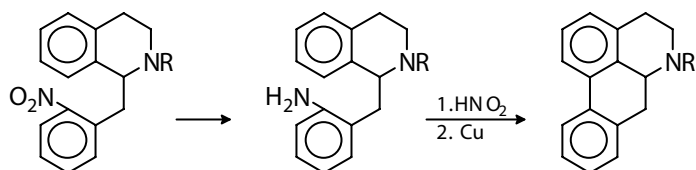
En esta primera etapa los métodos más frecuentemente empleados son las reacciones de Bischler-Napieralsky, de Pictet-Spengler y el uso de compuestos de Reissert. La conversión a aporfinas implica el cierre del anillo C y ello se logra a través de ciclaciones de Pschorr, o de intermediarios bencínicos, por fotociclación de halocompuestos y por ciclación oxidativa, la cual es considerada una síntesis biomimética. A continuación se ilustran las reacciones.

Conversión de bencilisoquinolinas a aporfinas

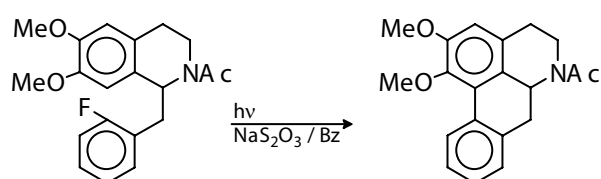
a) Vía intermediario bencino



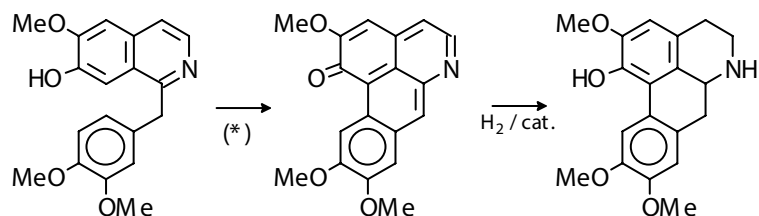
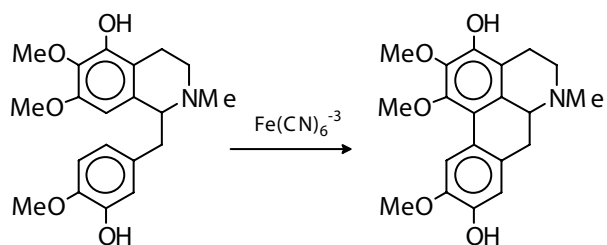
b) Ciclación de Pschorr



c) Fotociclación



d) Ciclación oxidativa (ver bioformación de aporfinas)



(*): $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2 / \text{H}_2\text{SO}_4$ ó $\text{VOF}_3 / \text{CF}_3\text{CO}_2\text{H}$

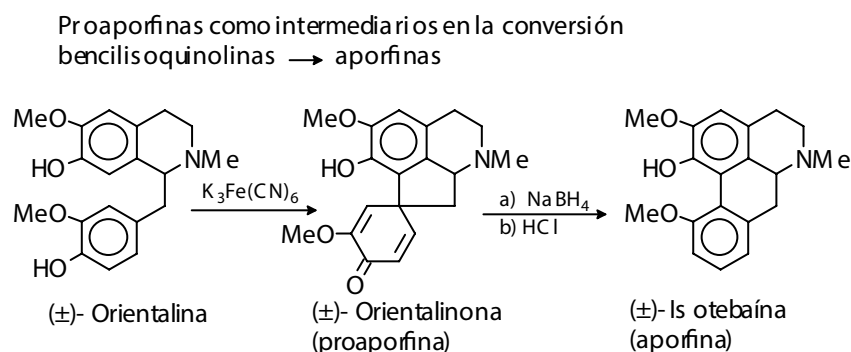
Los estudios de la actividad farmacológica de algunas de estas bases se dirigen principalmente a la apomorfina, un producto natural derivado del reordenamiento catalizado por ácido de la morfina (ver más adelante). La apomorfina se usaba como emético poderoso y en grandes cantidades tiene efectos hipnóticos, controla los movimientos involuntarios, reduce los niveles

de noradrenalina en el cerebro. Ejerce efectos antagónicos a la acción sedante de la reserpina. Otras aporfinas (por ejemplo, las sales cuaternarias de N-metilglaucina) decrecen la movilidad, dificultan la respiración, son relajantes musculares. Algunos poseen propiedad antifibrilatoria. Existe una revisión reciente sobre este tema*.

5.16.5. Proaporfinas

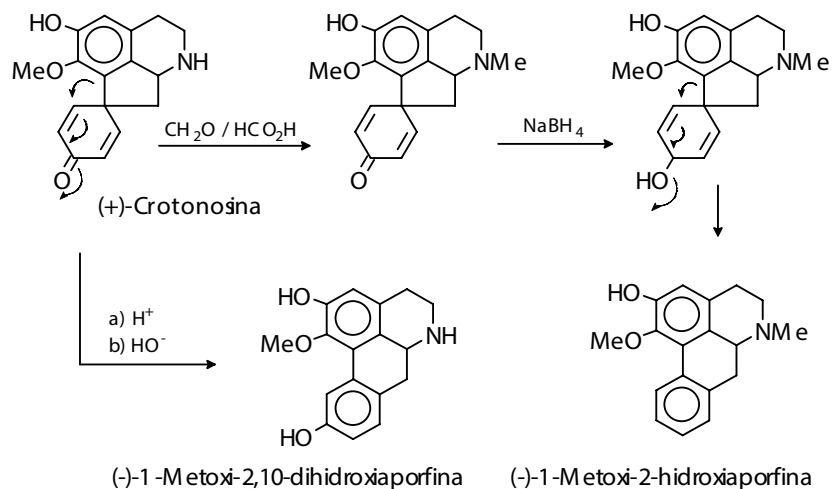
Barton fue el primero que sugirió que las proaporfinas serían precursores de las aporfinas y de hecho, es posible seguir en el laboratorio, las transformaciones: bencilisoquinolina \rightarrow proaporfina \rightarrow aporfina, usando sistemas oxidantes-reductores. En la figura que sigue se ilustra la transformación de orientalina (una bencilisoquinolina) a isotebaína (una aporfina) a través del intermediario proaporfínico, orientalínona.

El patrón de oxigenación del anillo D en la aporfina dependerá sólo del sitio de oxigenación de los precursores (bencilisoquinolina y proaporfina) sino también del estado de oxidación de C-4 del futuro anillo D. Así una cetona en esa posición originará 10-hidroxi-derivados, mientras que un grupo hidroxilo inducirá la formación de una aporfina no sustituida en ese carbono. Véase por ejemplo la transformación de (+)-crotonosina en (-)-1-metoxi-2,10-dihidroxi-aporfina y a (-)-1-metoxi-2-hidroxi-aporfina.



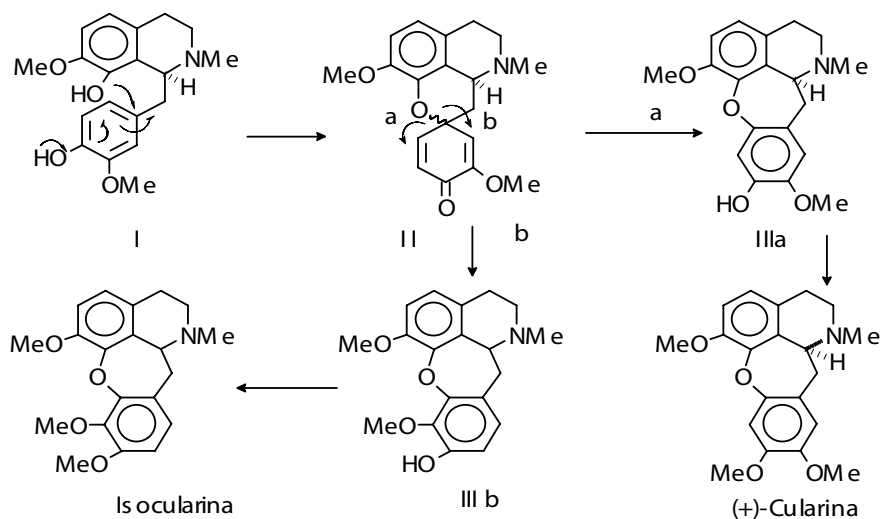
*J.L. Rios, S. Mañez, R.M. Giner, M.C. Recio, "Biological aspects of aporphinoid alkaloids", en G.A. Cordell (ed.), *The Alkaloids*, vol 53, 57, Academic Press, 2000.

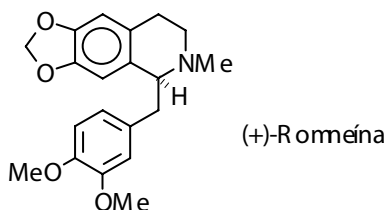
Alcaloides



5.16.6. Cularinas

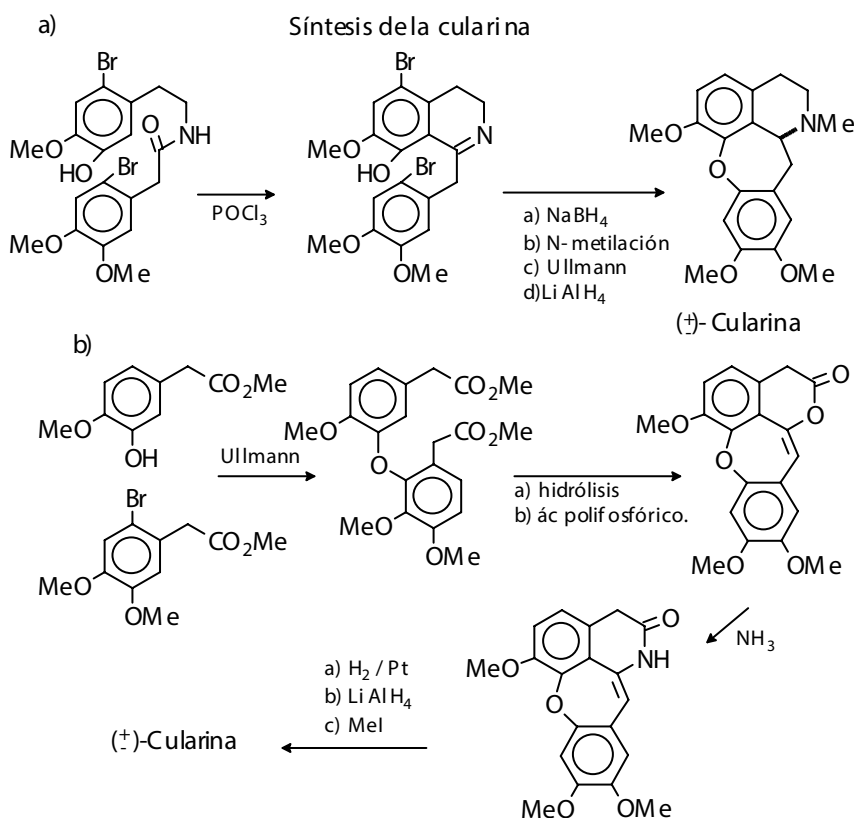
Se han aislado unos pocos alcaloides naturales con este esqueleto. Son típicos de los géneros *Dicentra* y *Corydalis* (Papaveráceas), su estructura presenta un anillo oxigenado de siete miembros que se forma por acoplamiento oxidativo C-O, a través de un intermediario espiránico II.



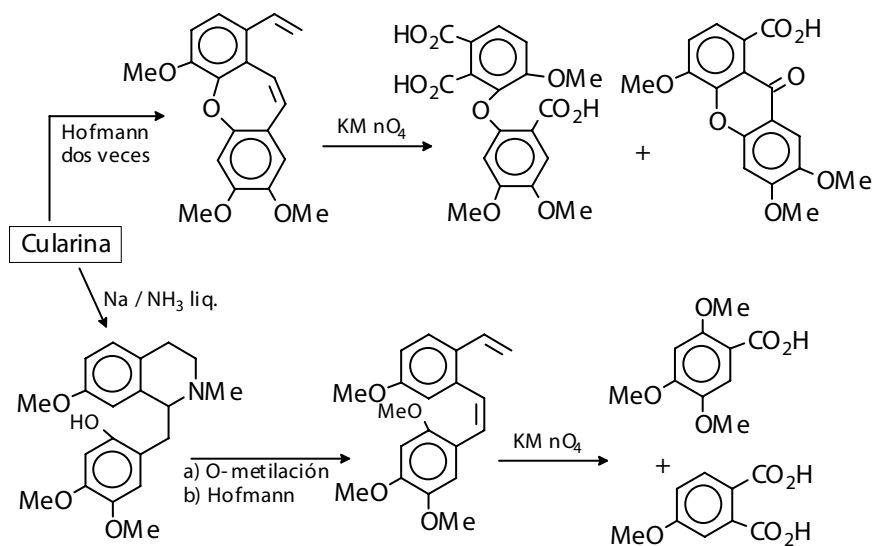


El intermediario II se genera también *in vitro* por oxidación con ferricianuro de la benzilisoquinolina I. Los sitios de oxigenación (IIIa, IIIb) dependerán de la estereoquímica del espiroátomo en la dienona. II. IIIa y IIIb, por metilación (diazometano), producen cularina y su isómero, respectivamente.

La estereoquímica de (+)-cularina, alcaloide prototipo de este grupo, fue establecida por comparación con (+)-romneína. Las reacciones de degradación de cularina y su síntesis, por dos rutas oxidativas diferentes, en las cuales el paso clave es la reacción de Ullmann, se ilustran a continuación.

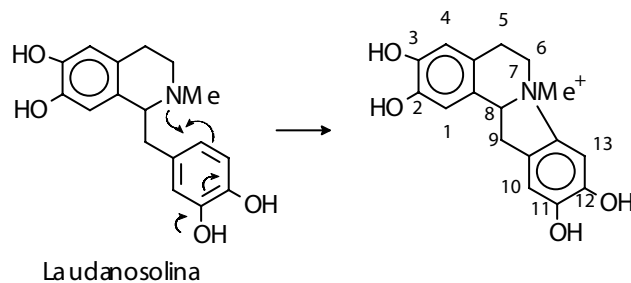


Degradación de la cularina



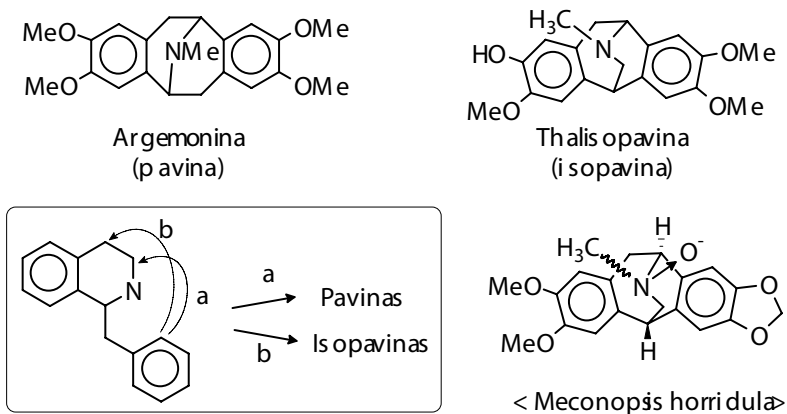
5.16.7. Dibenzopirrolinas

Las dibenzopirrolinas se forman gracias a otro acoplamiento entre el nitrógeno y el anillo aromático inferior. El sistema fue obtenido sintéticamente por Robinson y Schoepf (1932) cuando trataban de ciclar laudanosolinas para obtener porfinas. Unos 20 años después se aisló un alcaloide de *Cryptocaria bowiei* (Lauráceas) que tenía este esqueleto: la criptaustolina (3,11,12-tri-OMe, 2-OH). La estereoquímica de C-8 se determinó por comparación con laudanosolina.



5.16.8. Pavinas e isopavinas

La estructura básica se indica en la figura. Se encuentran solos: argemonina, o formando dímeros como pennsylvavolina (sección 5.16.3), que son esqueletos típicos de los alcaloides de *Thalictrum* sp. Se encuentran también en *Argemone gracilentia* y en otras especies del género *Argemone* (Al "cardo santo", nombre popular de *A. mexicana*, ampliamente distribuido en los países tropicales, le son atribuidas propiedades antineoplásicas). En la bioformación de estos esqueletos se sospecha la intervención de una 4-hidroxibencilisoquinolina, en el acoplamiento con el anillo heterocíclico, como se indica en la figura. Se han aislado también N-óxidos, aquellos de *Meconopsis horridula* (Papaveráceas) usada desde hace siglos por el pueblo tibetano por su acción analgésica que se encuentra en ambas formas epiméricas*.



5.16.9. Alcaloides de eritrina

La primera cita de los alcaloides de eritrina se debe a Folkers y Koniuszy (1937) que los aislaron de unas 50 especies de *Erythrina* y desde entonces han aparecido muy pocas estructuras nuevas. Aproximadamente en 1950 se retomaron los estudios estructurales (Prelog en Zurich y Boekelheide en Rochester, U.K.) y más tarde Barton (U.K.) se dedicó a ciertas partes de la

*H. Xie, J. Xu, R. Teng, B. Li, D. Wang, Ch. Yang, "Two new epimeric isopavine N-oxides from *Meconopsis horridula*, var. *Racemosa*", *Fitoterapia*, 72, 120, 2001.

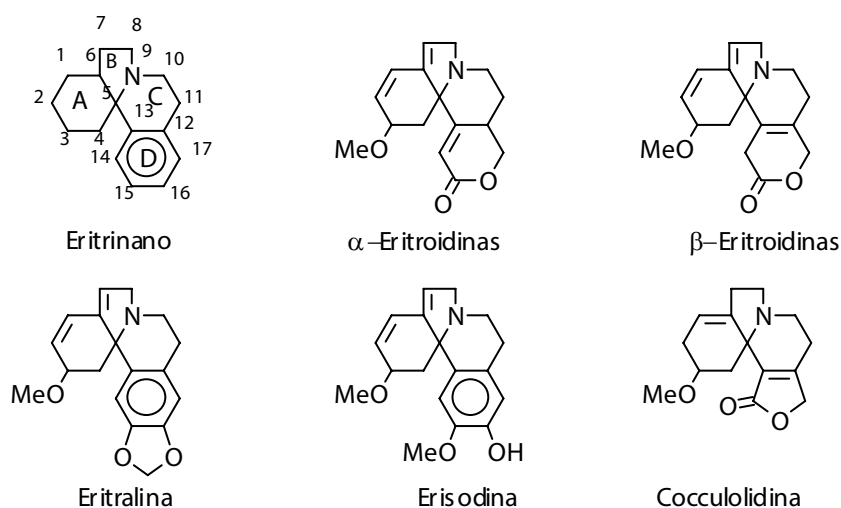
Alcaloides

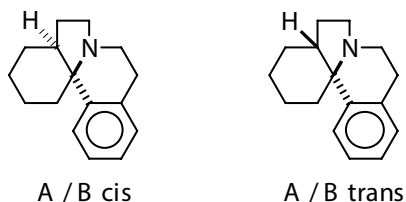
biosíntesis. El interés fundamental desde el punto de vista químico está enfocado hacia la estereoquímica.

Estos alcaloides se encuentran casi exclusivamente en las semillas de las especies de *Erythrina* (fam. Leguminosae, subfam. Papilionoideae), su ingestión produce parálisis de la musculatura lisa (efectos parecidos al curare); esa actividad desaparece si las bases son cuaternizadas.

El esqueleto de eritrinano, con el anillo D aromático es propio de los alcaloides del tipo eritralina, mientras que los del tipo eritroidina (alcaloides minoritarios), presentan el anillo D como una lactona insaturada, proveniente de la oxidación degradativa del anillo aromático. El anillo lactónico puede ser aún más pequeño, como por ejemplo en la cocculolidina (con actividad insecticida).

Los alcaloides pueden ser extraídos directamente de la planta con agua, pues generalmente se encuentran bajo la forma de ésteres sulfoacéticos o como glicósidos, en cuyo caso deben ser hidrolizados para obtener las bases libres que son extraíbles con solventes poco polares. El esqueleto puede presentar unión *cis* o *trans* A/B y los sitios más frecuentes de oxigenación son 3, 15 y 16. En el núcleo de las eritroidinas se conocen isómeros α y β . El primero tiene el doble enlace conjugado con el C=O de la lactona y es menos estable que el segundo, donde el doble enlace es tetrasustituido (C-12, C-13).

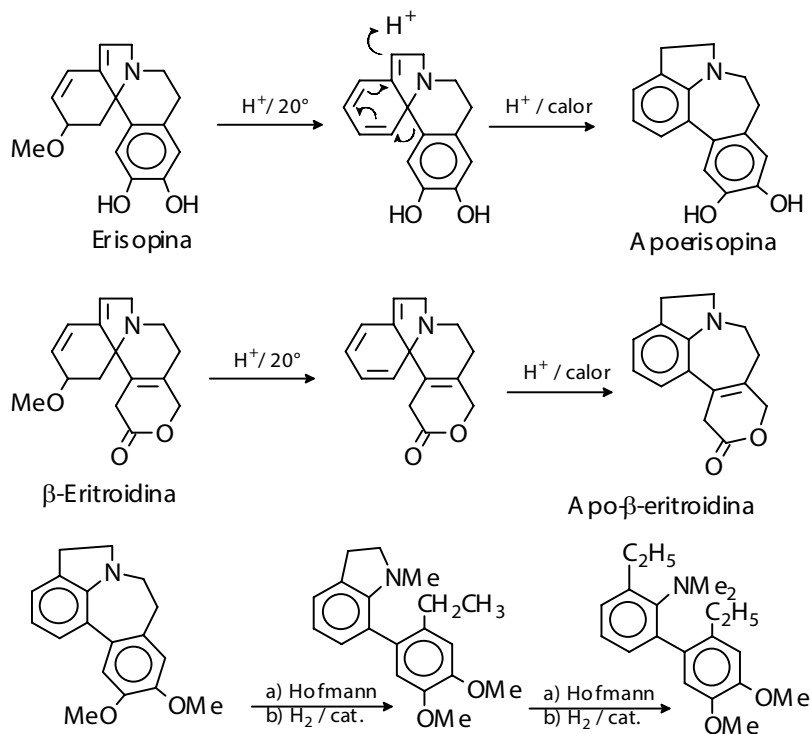




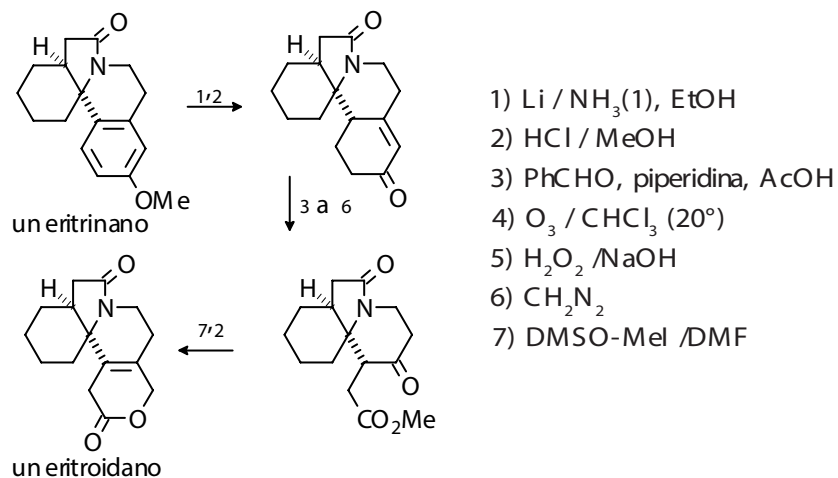
5.16.9.1. Reacciones típicas de las eritriinas

La degradación de Hofmann viene acompañada por reordenamientos moleculares, el más representativo es conocido como reordenamiento "APO" en el cual el anillo C se amplía, y se aromatiza el anillo A. Esta reacción se ha observado tanto en eritriinas como en β -eritroidanos, cuando se calientan en medio ácido. Los derivados APO pueden ser degradados por reacción de Hofmann. Una reacción interesante es la conversión de eritriinas a eritroidanos la cual se resume en la figura.

Reacciones de los alcaloides de eritrina

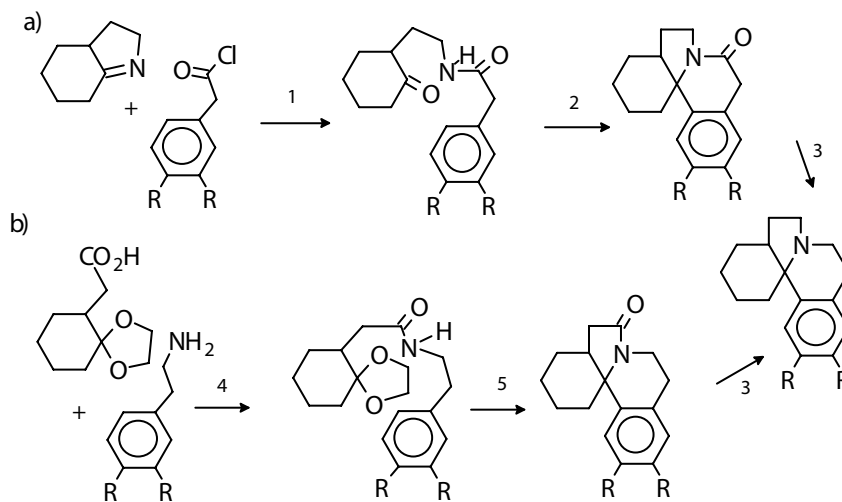


Conversión de eritranos a eritroidanos

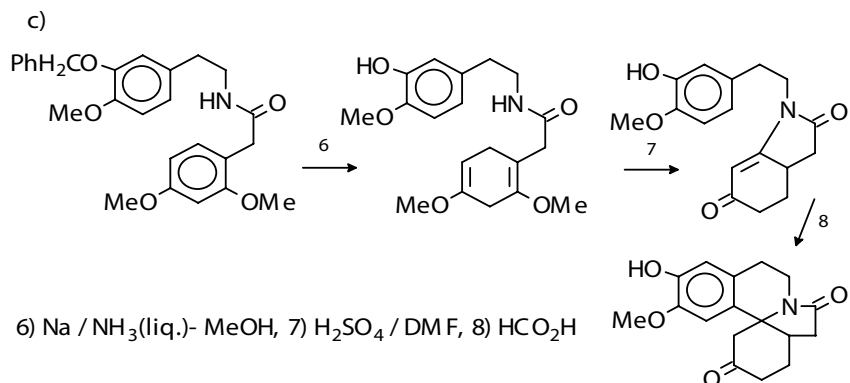


El método general de síntesis consiste en la ciclación simultánea y formación de los anillos B y C, que se ilustra esquemáticamente en la figura que sigue.

Síntesis de los alcaloides de eritrina



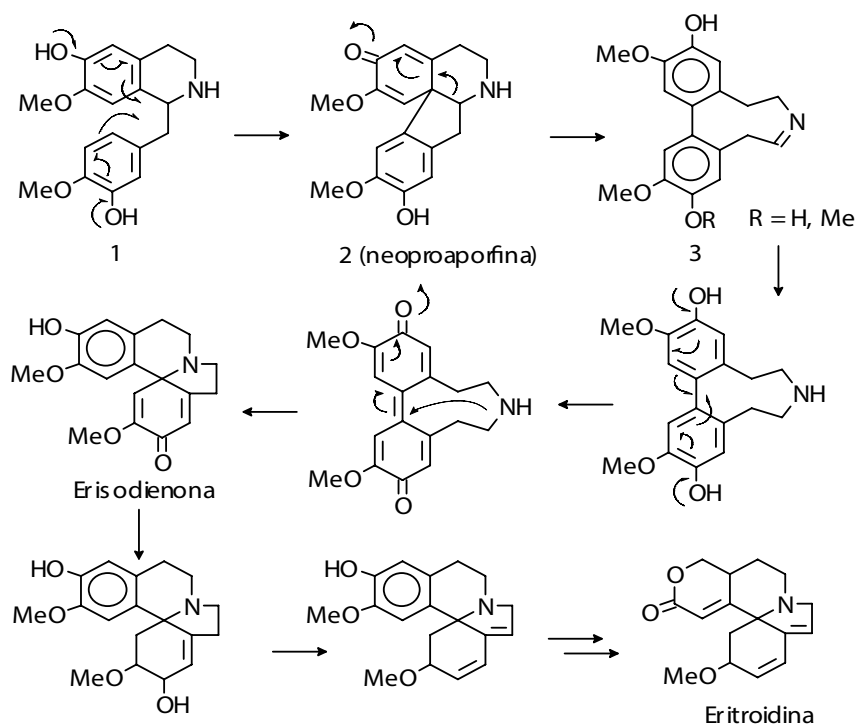
1) Schotten-Baumann, 2) ác. polifosfórico, 3) LiAlH₄, 4) 180°, 5) H⁺,



5.16.9.2. Biosíntesis de las eritridinas

Como otras bencilisoquinolinas, los alcaloides de eritrina provienen de un precursorabierto(1), en el cual se pierde la asimetría de C-1 al formarse,

Bi o formación de los alcaloides de eritrina



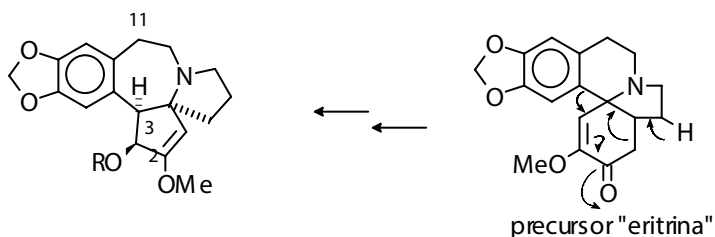
Alcaloides

a partir de un intermediario neoproaporfínico (2), estructuras con un anillo heterocíclico de nueve miembros (3). Estructuras como 3 están representadas en eribidina (3, R=Me y saturado en el anillo heterocíclico). En la figura anterior se ilustra la secuencia biosintética para la formación de eritranos dioxigenados en el anillo aromático.

Los alcaloides aislados del género *Cephalotaxus* (Taxáceas), plantas empleadas como cercas vivas, cuyo prototipo es la cephalotaxina, son relacionadas a los de eritrina. Entre los alcaloides de *cephalotaxus* se encuentra la harringtonina y sus derivados que muestran una potente actividad antileucémica, en especial aquellas estructuras que presentan ésteres complejos (desoxiharringtonina y otros derivados).

Su esqueleto comprende un anillo de siete miembros unido a dos de cinco. Frecuentemente están oxigenados en C-2 y C-3 y a veces en C-11; las oxigenaciones pueden presentarse como grupos hidróxilo libres y/o esterificados, o como cetonas y sus derivados (enol éteres o cetales). Sus características espectrales (EM y RMN) están bien documentadas así como sus síntesis y transformaciones.

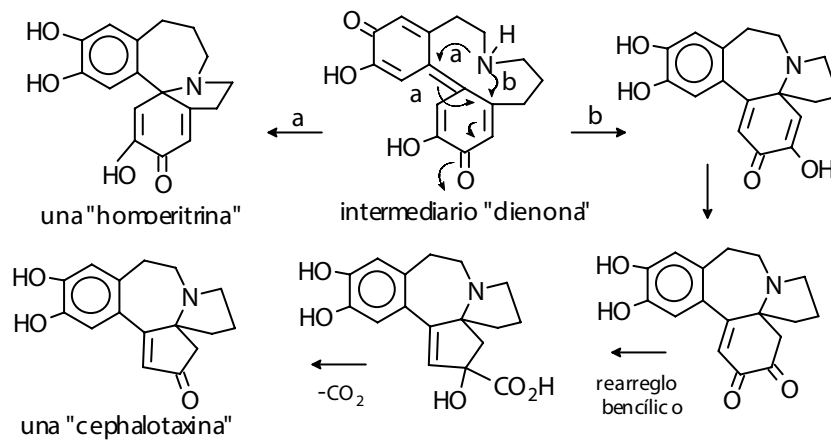
Para la bioformación de estos compuestos se sugiere un reordenamiento del esqueleto eritraniano. Sin embargo la co-ocurrencia de alcaloides de homoeritrina y cephalotaxina en *Cephalotaxus harringtoniana*, supone un precursor "dienona" común a ambas estructuras, que evoluciona por la vía a o por la b. En esta última que genera el esqueleto de cephalotaxinas se requiere de un rearrreglo bencílico y descarboxilación, según se indica.



Cephalotaxina R = H

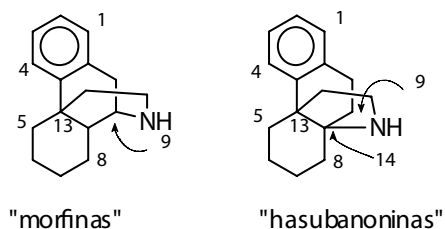
Harringtonina R = COC(OH)[CH₂CO₂Me]CH₂CH₂C(OH)Me₂

Desoxiharringtonina R = COC(OH)[CH₂CO₂Me]CH₂CH₂CHMe₂



5.16.10. Morfinanos

El alcaloide que los identifica, la morfina, cuyo nombre reproduce sus características narcóticas (Morfeo: dios del sueño), fue el primer alcaloide en ser aislado a partir del opio, por el alemán Friedreich Sertürner. Debido a sus propiedades químicas y farmacológicas los derivados de morfina son tal vez los más estudiados, a pesar que la variedad y el número de estructuras es bastante menor que en el caso de las aporfinas. Los derivados del precursor común: reticulina, pueden clasificarse en dos subgrupos: a) derivados de morfina y b) derivados de hasubanonina. Los primeros son aislados principalmente de Papaveráceas y los segundos son típicos de *Stephania japonica* (Menispermáceas). La diferencia estructural entre estos dos grupos es la ubicación del puente nitrogenado. En los derivados de morfina (morfinanos, propiamente dichos) el puente forma un anillo de seis miembros con C-13 y C-9 del sistema "hidrofenantrénico", mientras que en los de hasubanonina (hasubananos) el anillo es de cinco miembros e involucra C-13 y C-14.



5.16.10.1. Derivados del tipo morfina

La morfina es el alcaloide representativo de este grupo. Son analgésicos muy activos y la intensidad de su acción depende de pequeñas modificaciones. La morfina es el material de partida para el desarrollo de nuevas drogas más potentes y/o con menos efectos colaterales. Por ejemplo, la metilación del OH fenólico produce codeína, menos analgésico que la morfina, que se usa en preparaciones antitusivas, mientras que la etilación del mismo OH origina un compuesto más potente que la codeína y de aplicación en oftalmología.

La heroína con una fuerte acción euforizante cuando se suministra en inyecciones endovenosas, es el diacetato de la morfina. Si el grupo metilo sobre el nitrógeno se sustituye por un grupo alilo se obtiene la orfina (ver fórmula en la página 444), una droga con un perfil farmacológico marcadamente diferente, pues aunque posee algún efecto analgésico, se usa como antagonista del efecto narcótico de la morfina, previniendo la depresión respiratoria, euforia, náuseas y otros síntomas de intoxicación.

5.16.10.2. Reacciones de los derivados del tipo morfina

Las degradaciones sobre este esqueleto ocurren con la salida del puente alifático $\text{CH}_2\text{-CH}_2$ que contiene el nitrógeno, produciendo derivados de fenantreno. También puede tener lugar la migración de esa cadena.

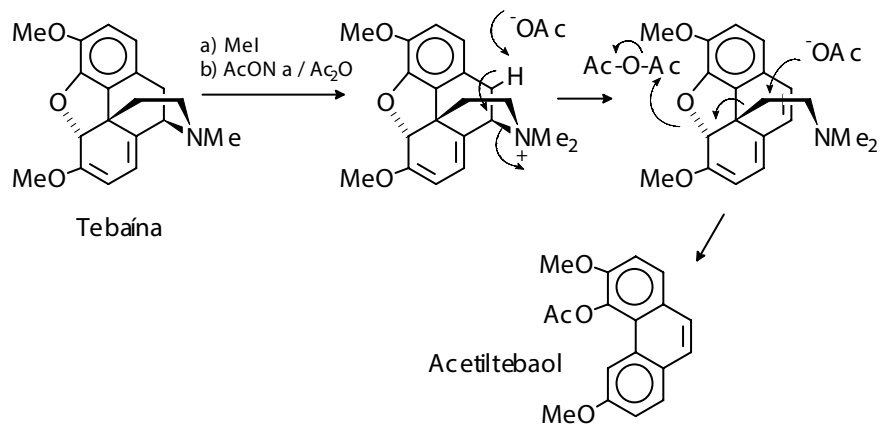
Como reacciones clásicas vemos la transformación de la tebaína a acetiltebaol, la degradación Hofmann de los derivados de codeína, la deshidratación y reordenamiento de morfina a apomorfina y el reordenamiento de tebaína por tratamiento con ácido diluido.

La tebaína sufre reacciones de Diels-Alder. El sistema dieno de esta molécula es un sustrato apropiado para tales reacciones, algunas de las cuales ocurren con reordenamiento posterior; por ejemplo, la condensación de tebaína con benzoquinona origina flavotebaína.

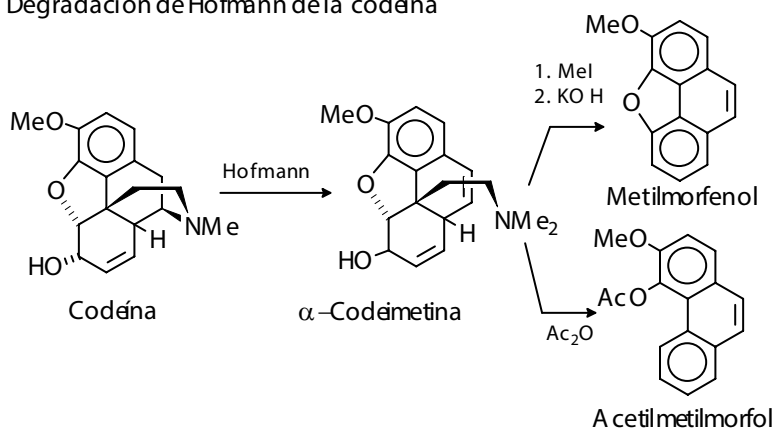
Los aductos también pueden sufrir otros reordenamientos tal es el caso del aducto tebaína-acetilendicarboxilato de metilo.

Reacciones de los derivados de morfina

a) Degradación de tebaína a acetiltebaol

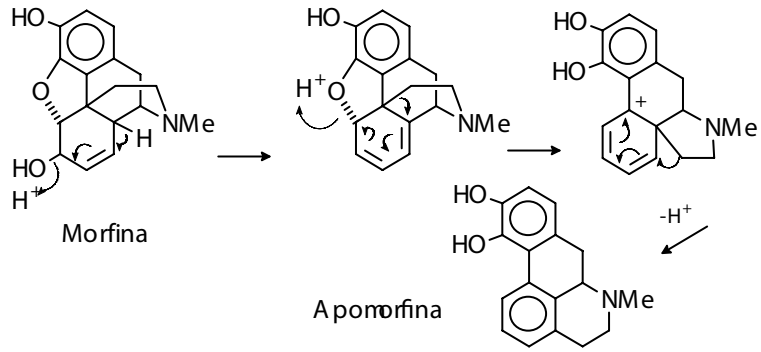


b) Degradación de Hofmann de la codéina

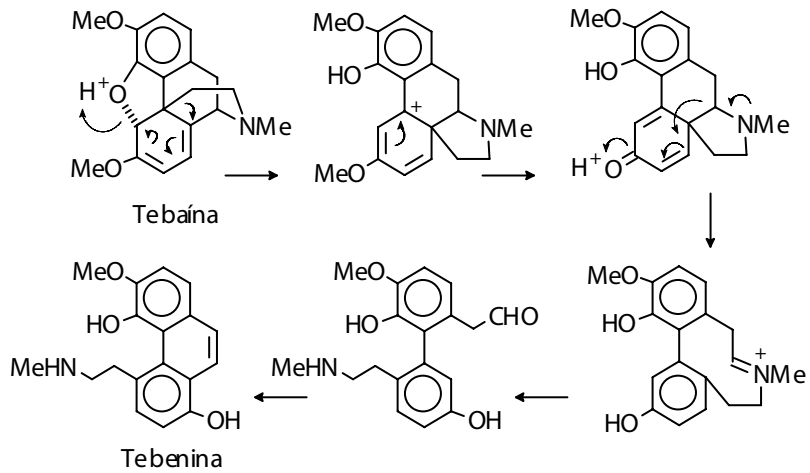


Alcaloides

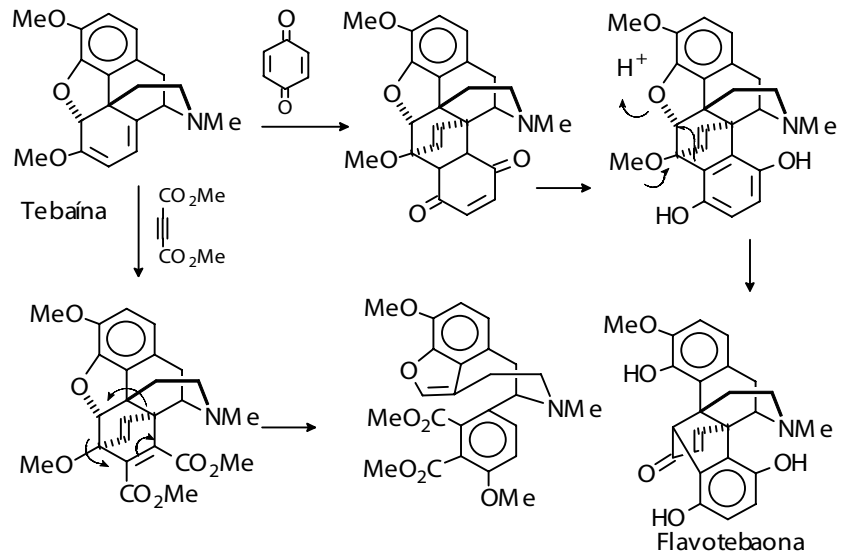
c) Conversión de morfina a apomorfina (HCl conc.)



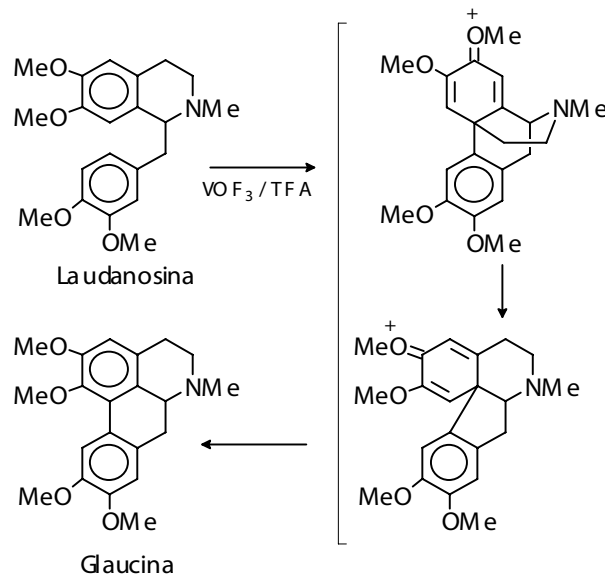
d) Conversión de tebaína a tebenina (HCl dil.)



e) Transformación de tebaína a flavotebaona



Los derivados de morfina, se transforman a aporfina bajo condiciones ácidas, a través de neo-proaporfina.

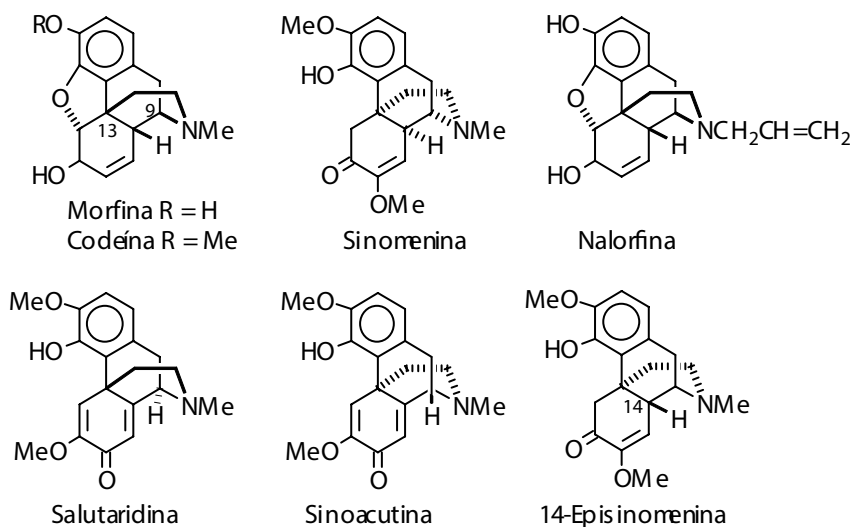


Alcaloides

Esta reacción ilustra el papel de "estructuras intermedias" que tienen esos esqueletos, en la ciclación de las bencilisoquinolinasa aporfina. De esta manera la glaucinase obtiene por oxidación con VOF_3 en TFA d e la laudanosina.

5.16.10.3. Ester eoquímica de las morfina

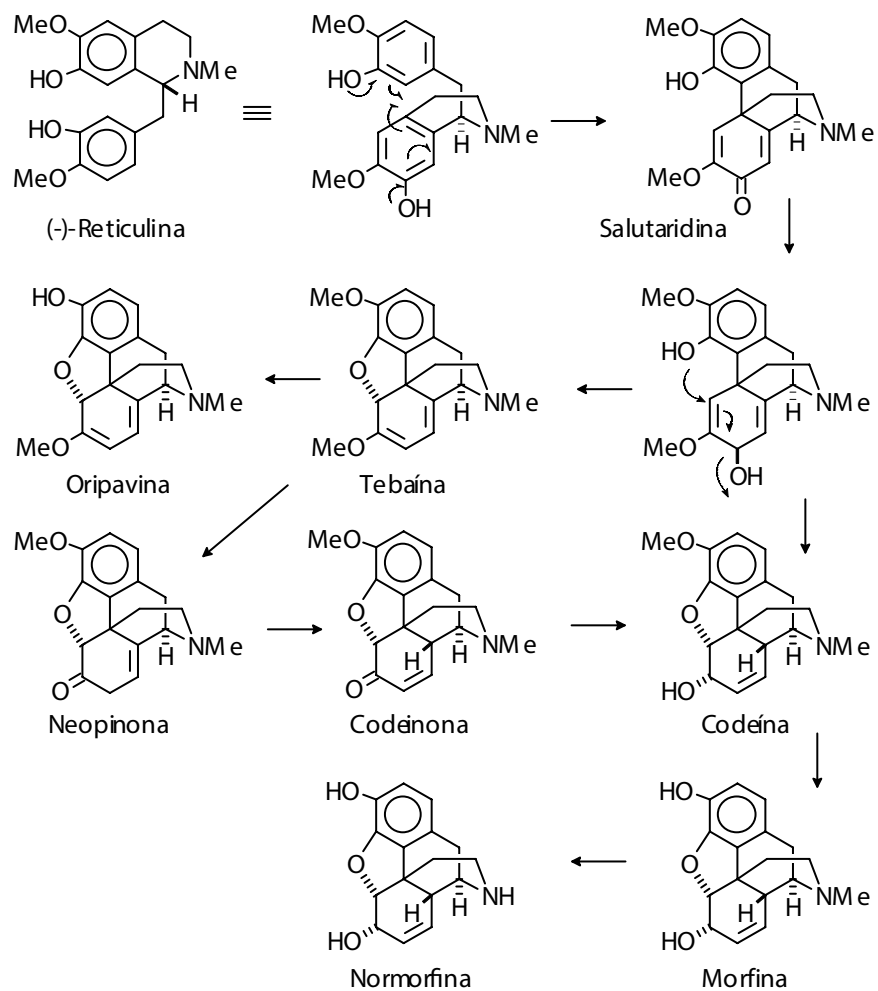
La morfina tiene 5 centros asimétricos y ya que las posiciones 9 y 13 tienen un puente de nitrógeno la unión debe ser *cis* y ello reduce a los 16 arreglos posibles, en ocho pares de enantiómeros. Han habido muchos intentos de demostrar la estereoquímica por medios químicos, sin embargo las conclusiones finales sólo se alcanzaron por difracción de rayos X y la estereoquímica correcta para el alcaloide natural está indicada en la figura. Hay varios alcaloides naturales con el esqueleto antipodal de la morfina, en éstos el puente alifático está orientado alfa y son conocidos como derivados de la sinomenina. Se han aislado de varios géneros pertenecientes a diferentes familias. En ocasiones se encuentran naturalmente ambos enantiómeros como sinoacutinay salutaridina, aislados de especies de los géneros *Papaver* y *Croton* y/o epímeros en C-14, ej. 14-episinomenina.



5.16.10.4. Biosíntesis de las morfina

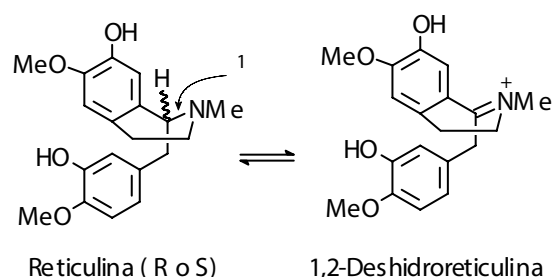
La biosíntesis de la morfina se ha seguido a través de experimentos de marcaje isotópico y se esquematiza a continuación, partiendo del precursor (-)-reticulina, que justificaría la estereoquímica de C-1 y del puente $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ en la morfina y sus derivados.

Biosíntesis de los alcaloides de morfina



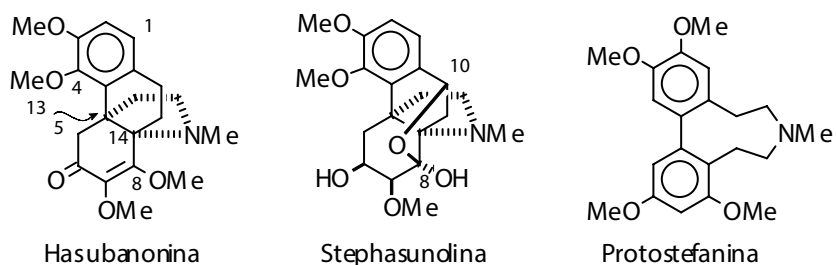
Alcaloides

Sin embargo ambos enantiómeros de reticulina se incorporan en morfina y además en ambos casos se observa una pérdida considerable de tritio cuando se usa (R)- ó (S)-I-T-reticulina. Ello es consistente con un pre-equilibrio entre reticulina y la sal cuaternaria 1,2-deshidroreticulina.

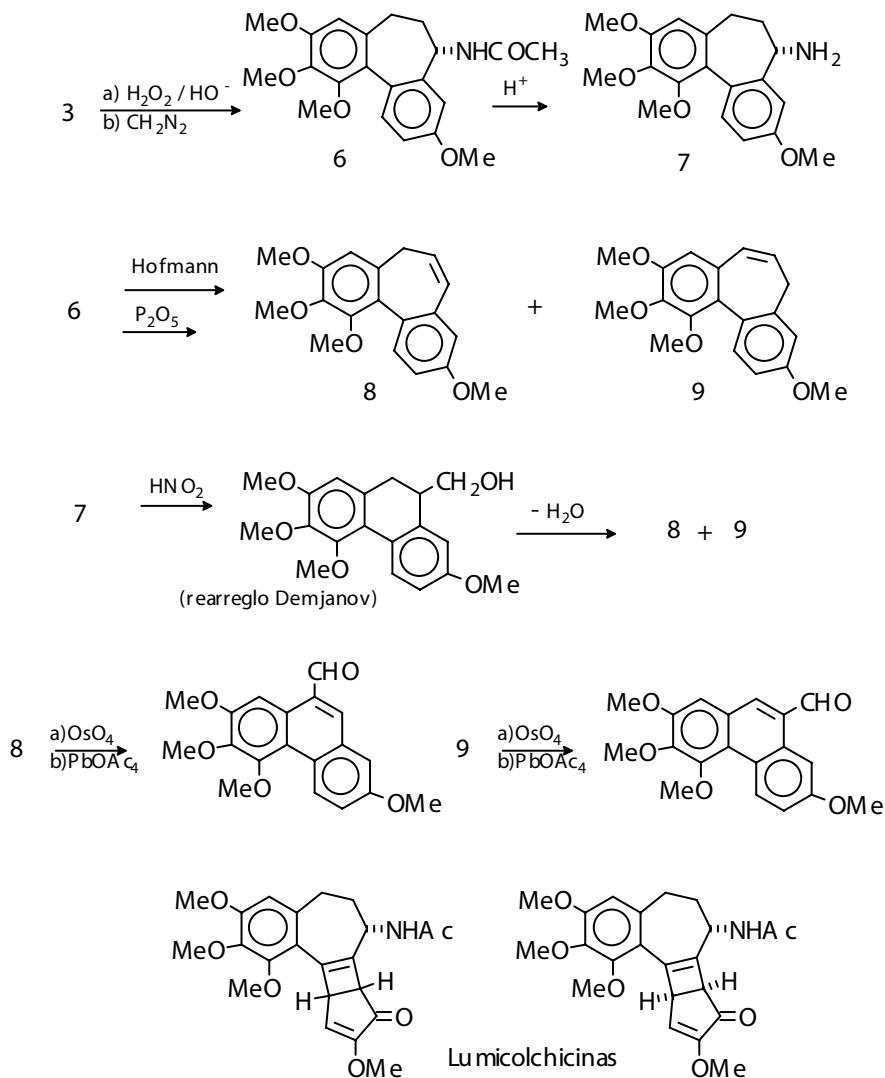


5.16.11. Derivados del tipo hasubanona

El esqueleto hasubano caracteriza a estos alcaloides en los cuales el puente alifático está generalmente (no exclusivamente) orientado alfa y comprende el átomo de nitrógeno, C-13 y C-14. No tienen el éter entre C-4 y C-5 y en algunos se encuentra un enlace hemiacetalico que une C-8 y C-10, como en el caso de la stephasundina. Desde hace algún tiempo se ha tratado de determinar sin éxito, la génesis de estos compuestos y aunque por sus características estructurales puede inferirse que son esqueletos derivados de morfina, el aislamiento de protostefanina a partir de la misma fuente de stephasundina, podría sugerir vías alternas para la bioformación de hasubanonas.



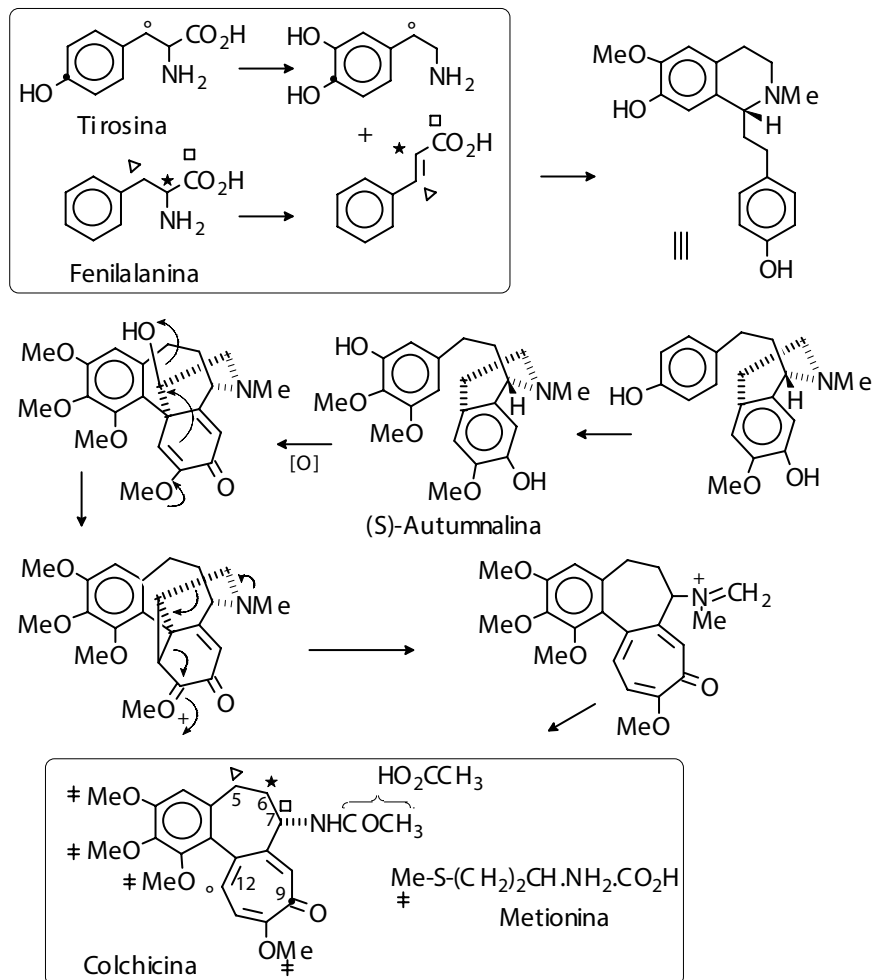
Alcaloides



Biogénicamente la colchicina se deriva de feniletilisoquinolina. Mediante estudios con trazadores radiactivos se determinó que tanto la fenilalanina, como el ácido cinámico y la tirosina son sus precursores. El anillo de tropolonase forma a partir de tirosina, a diferencia de lo que ocurre en tropolonas provenientes de hongos, las cuales son biosintetizadas a partir

del ácido acético. En la secuencia intervienen estructuras homólogas a la laudanosolina (e.g. autumnalina) que cicla de una manera similar a la formación de morfinanos (ver Sección 5.16.10.4)

Bi osíntesis de la colchicina

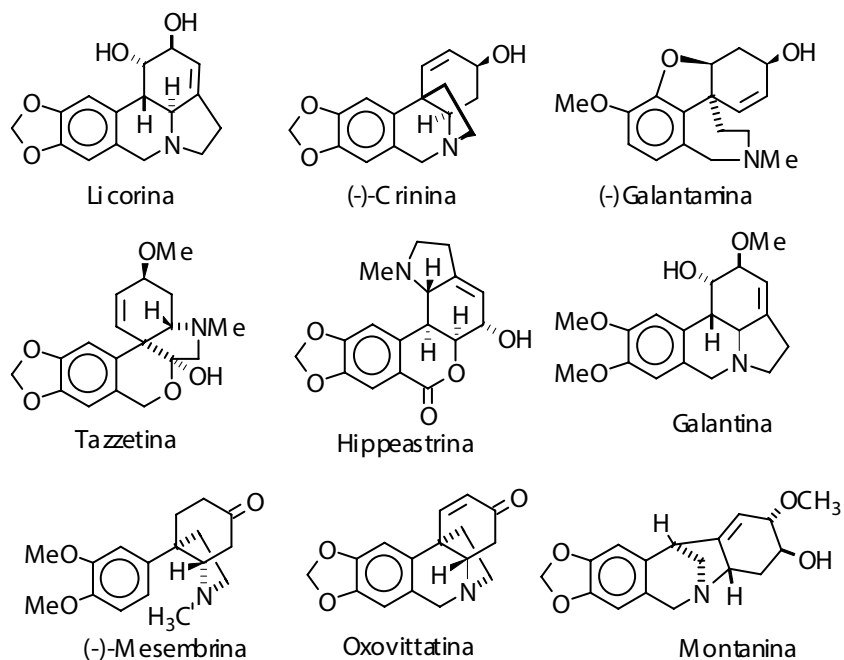


5.16.13. Alcaloides de Amaryllidáceas y estructuras relacionadas

La familia Amarillidáceas comprende un grupo de lirios de los cuales se ha aislado más de 100 diferentes alcaloides, la mayoría entre 1960 y

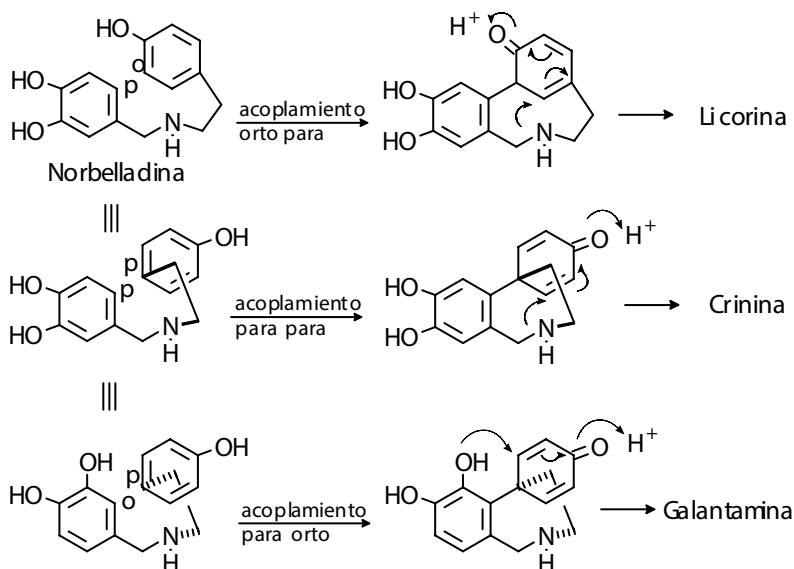
Alcaloides

1970, que son estructuralment relacionados y típicos de esta familia. El gran número de estos compuestos se atribuye a variaciones pequeñas, tanto esqueléticas como en los sustituyentes oxigenados, número y tipo de oxigenación, frecuencia de antípodas ópticos y centros quirales epiméricos así como a la variación en el grado de hidrogenación de los anillos. Se los encuentra en los bulbos en proporción del 1 al 2%. Estos alcaloides tienen gran interés farmacológico, por ejemplo, la galantamina es un potente analgésico. Los diferentes esqueletos se ilustran a continuación siendo los compuestos más frecuentes: galantamina, licorina y crinina. Con el esqueleto de crinina se presentan series enantioméricas constituidas por crinina: (-)-crinidina y vittatina: (+)-crinidina). Estas series no son interconvertibles. En la figura se ilustra oxovittatina



Otro núcleo de este grupo lo conforman los alcaloides con el esqueleto de (-)-mesembrina del cual la mesembrina es el representante típico. Este alcaloide es estimulante del sistema nervioso central y ello ha incidido en el trabajo sintético de los núcleos de mesembrina. Se ha logrado la preparación de la (+)-mesembrina, enantiómero de la natural.

Correlación biogénica de los alcaloides de Amaryllidáceas



En la biosíntesis de estos alcaloides, el precursor abierto: norbelladina sufre acoplamiento *o/p*, *p/p* y *p/o*, que generan los tres núcleos principales, licorina, crinina y galantamina, respectivamente. El aldehído protocatecuico (3,4-dihidroxibenzaldehído) es el precursor de la unidad C_6-C_1 en la norbelladina. Otros núcleos como los mostrados en la figura anterior se forman por rompimiento y reciclación de los núcleos principales. Así del núcleo de crinina se pueden generar los núcleos de montanina y tazzetina y del arreglo del esqueleto de licorina, se deriva hippeastrina.

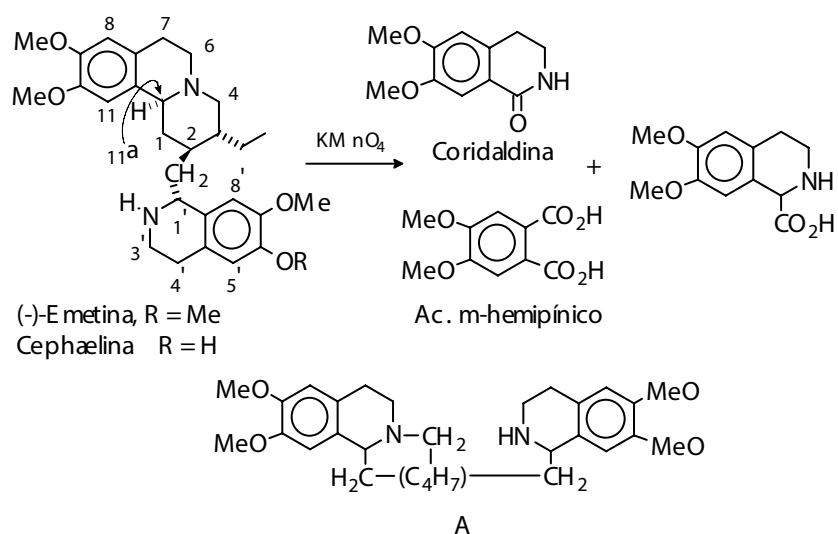
5.16.14. Alcaloides de ipecacuana

Las raíces de ipecacuana, un arbusto de la familia Rubiáceas, típico de los bosques tropicales lluviosos de Brasil, Venezuela, Colombia y Centro América, causan vómitos (emético) y son utilizadas en infusiones contra la disentería amibiana. El alcaloide principal de estos arbustos del género *Psychotria* o *Cephaelis* (*Uragoga*) *ipecacuanha* es la emetina que fue aislada como una mezcla en 1817, sólo en 1898 se purificó y la fórmula se estableció en 1914. En 1957-1959 van Tamelen y Battersby determinaron su

Alcaloides

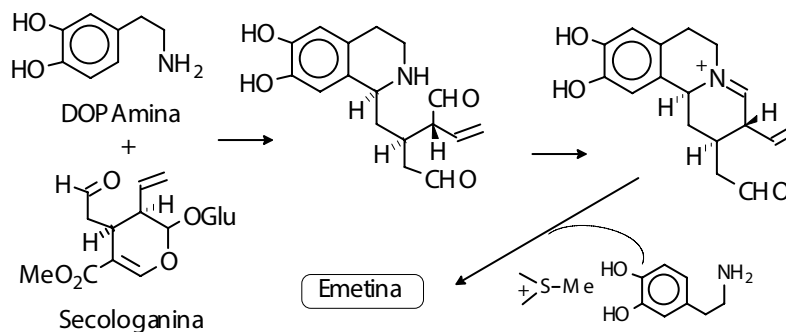
estereoquímica. En el análisis químico, el papel preponderante tuvo la oxidación (con permanganato de potasio o con trióxido de cromo) que produjo los derivados de 6,7-dimetoxi-isoquinolina: coridaldina y ácido 6,7-dimetoxi-isoquinolicarboxílico además de ácido m-hemipínico. Estas tres moléculas son indicio de una secuencia en los átomos del esqueleto de emetina como la indicada en la representación "A". Análogo a la emetina es la cephaelina también aislada de *Cephaelis*.

Degradación de la emetina

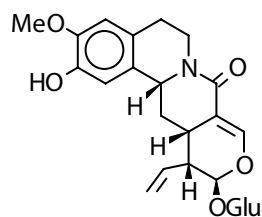


Los estudios biosintéticos ayudaron a establecer inequívocamente la estructura de este alcaloide y el origen terpenoidal de la porción alifática, formada a partir de la secologanina

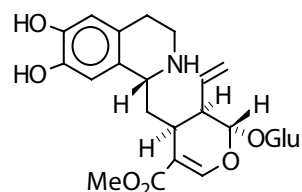
Biosíntesis de la emetina



La intervención de la unidad de secologanina quedó demostrada cuando está se encuentra en dos glucoalcaloides naturales: (-)-alangísido y en desacetilipecósido.



(-)-Alangísido



Desacetilipecósido

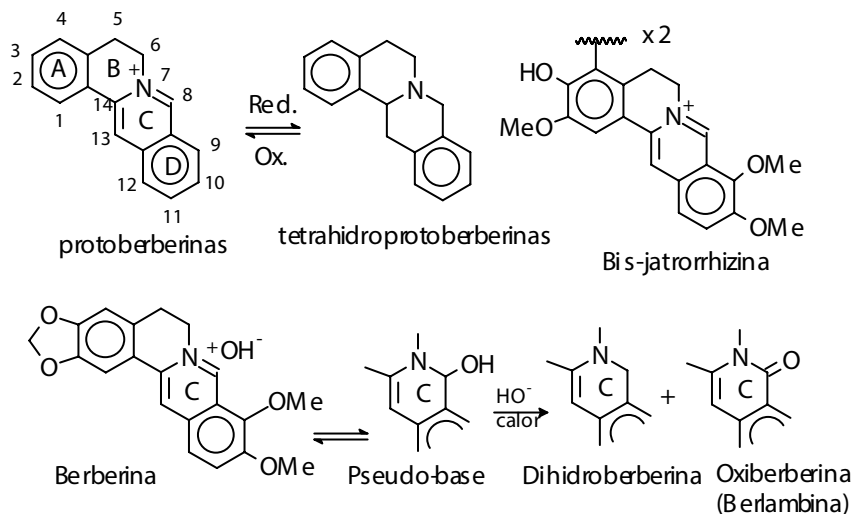
5.16.15. Protoberberinas

Se han aislados varias decenas de estos alcaloides principalmente de Papaveráceas, Rutáceas, Menispermáceas, Berberidáceas, Ranunculáceas, entre otras familias. El prototipo es la berberina (2,3-metilendioxi-9,10-di-OMe), una base cuaternaria cuyo sulfato es usado en colirios. A algunos alcaloides con este esqueleto han mostrado actividad antibiótica, antineoplásica y fitotóxica sobre las plántulas de varias especies maderables. La tetrahydroberberina se ha detectado en la orina de pacientes que han recibido DOPA en la terapia del mal de Parkinson. De hecho, las protoberberinas parecen ser drogas potenciales para los tratamientos de los males de Parkinson y de Alzheimer.

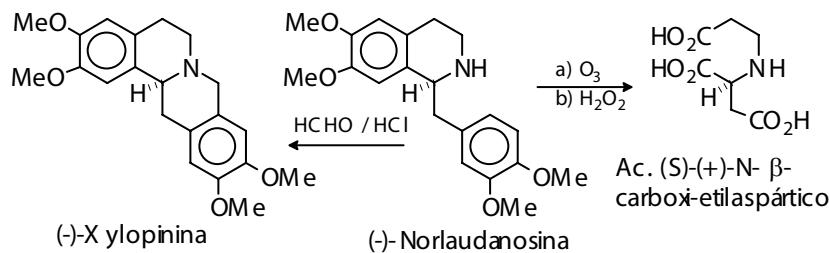
Incluyen estructuras tetracíclicas con el esqueleto indicado y de nuevo, los sustituyentes principales son grupos hidroxilo, metilendioxi y metoxi; pueden contener insaturaciones e inclusive, aromático(s) uno o ambos anillos centrales; cuando ello ocurre el nitrógeno debe ser cuaternario. Se reducen fácilmente con Zn/HCl, hidruros metálicos o hidrogenación catalítica. Existe un equilibrio entre las protoberberinas cuaternarias y las "pseudo-bases" correspondientes. Si se calientan con álcali concentrado sufren una especie de reacción de Cannizzaro, según se ilustra. Hay ejemplos naturales de bis-protoberberinas como la bis-jatrorrhizina aislada de Jatrorrhiza palmata (Menispermácea)*. Este compuesto fue también sintetizado por dimerización oxidativa de jatrorrhizina (PtO₂).

*M.L. Carvalhas, " Bisjatrorrhizine, a new dimeric protoberberine alkaloid from Jatrorrhiza palmata Lam. Miers" J.Chem. Soc. Perkin I, 1972, 327.

Alcaloides



La sustitución más frecuente es en las posiciones 2,3 y le sigue 10,11 y 9,10. Algunos presentan grupos metilo adicionales, por ejemplo en C-13 (corydalina: 13a-metil-2,3,9,10-tetrametoxi-tetrahydroprotoberberina) grupos hidroxilo en ese carbono (ophiocarpina: 13-hidroxi-tetrahydroberberina). Todas las sales cuaternarias son coloradas y la intensidad del color es un indicio de la posición y naturaleza de los sustituyentes. En las bases terciarias la configuración absoluta del C-14 se estableció por comparación con la (-)-norlaudanosina. La tetrahydroprotoberberinas sin sustituyente en C-13 que tienen la misma configuración absoluta de la xylopinina, son levorrotatorias.



Está citada la obtención de ambos enantiómeros (epímeros en C-14)

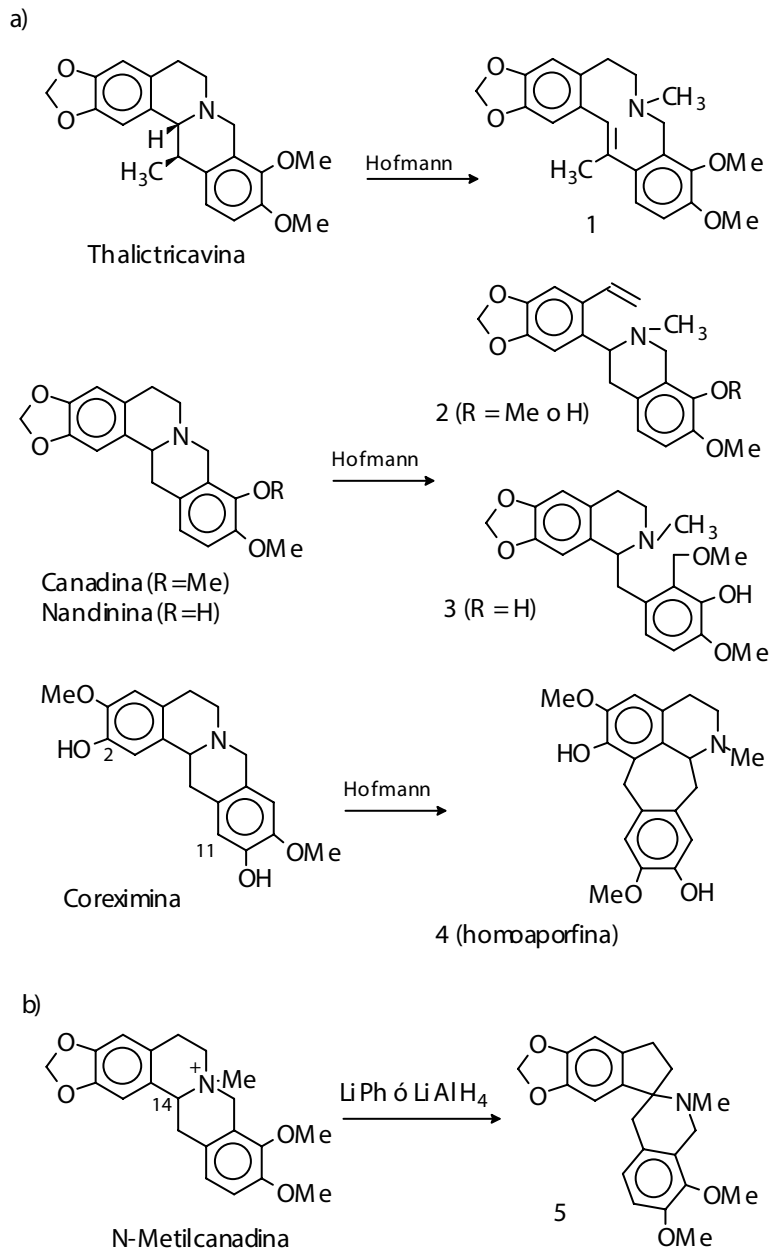
de corypalmina, de canadina y otros, inclusive a partir de la misma fuente. En estos casos pareciera no operar la estereoselectividad de las reacciones enzimáticas; sin embargo, es también posible que la existencia de equilibrios con estructuras abiertas o con estructuras cuaternizadas, durante la fase del aislamiento cause la epimerización de C-14.

La conformación de las tetrahidroprotoberberinas es tal que los anillos B y C se disponen como "medias sillas" y el sistema completo de quinolizidina que conforman los dos anillos centrales puede equilibrarse en dos formas cis y una trans. Corydalina y su epímero en C-13: mesocorydalina, son 13-metil tetrahidroprotoberberinas en las cuales el equilibrio conformacional se desplaza hacia formas cis pura y trans pura, respectivamente, como fue demostrado por espectroscopía IR, ^1H y ^{13}C RMN. La diferencia en desplazamientos químicos permitió distinguir entre las conformaciones cis y trans de 13-metil tetrahidroprotoberberina. La disposición axial de metilo en C-13 evita las interacciones estéricas con los anillos aromáticos que se presentarían en los conformeros trans y cis de corydalina y mesocorydalina, respectivamente. Otros equilibrios conformacionales que incluyen 8-metil tetrahidroprotoberberinas, así como las sales cuaternarias, por ejemplo N-metil thalictrina y su epímero en C-13: mesothalictrina, también se han estudiado por RMN* .

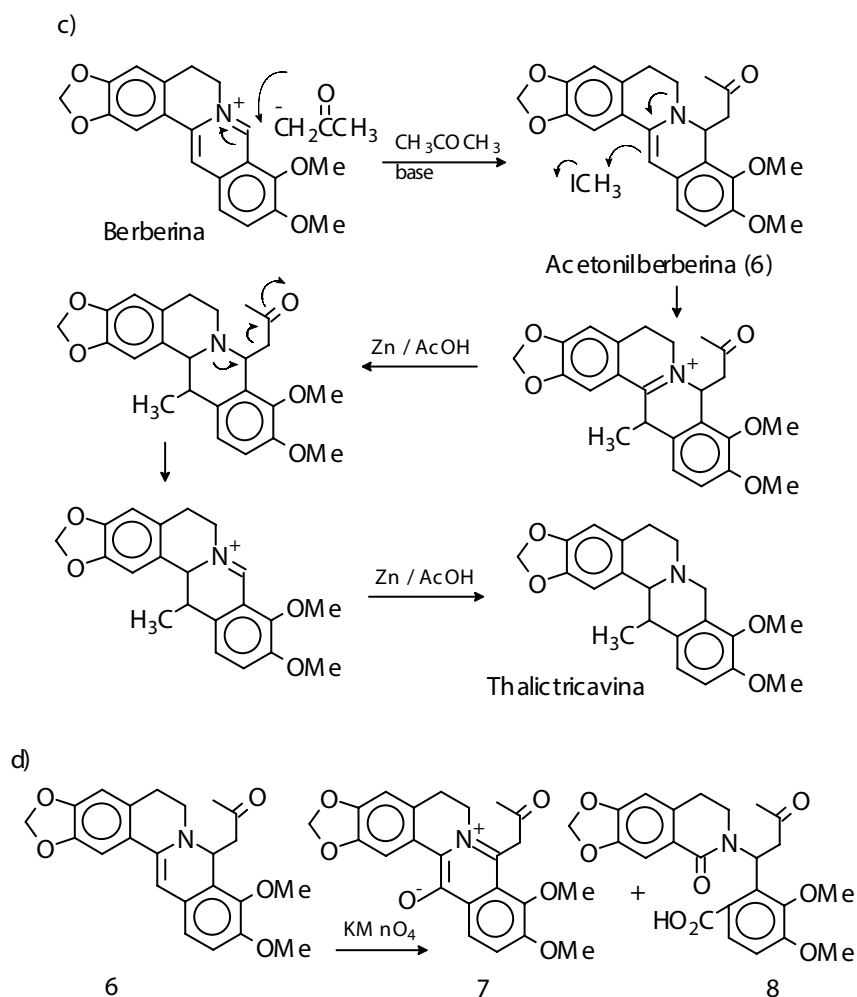
5.16.15.1. Reacciones de las protoberberinas

Las protoberberinas sufren una serie de reacciones interesantes. Por ejemplo, las tetrahidroprotoberberinas generan varios productos cuando son sometidas a condiciones de degradación de Hofmann (reacción a). Las sales cuaternarias de estos derivados sin OH libre en C-9 (canadina), producen principalmente la base metina 2 mientras que si tienen el grupo fenólico libre (nandinina) originan además, el compuesto 3. Si en C-2 y C-11 existen OH libres (coreximina) se aísla la homoaporfina 4. La formación de espiro-compuestos se logra bajo condiciones básicas: fenil-litio o hidruro de aluminio y litio que promueven la salida del protón en C-14 (reacción b).

*D. W. Hughes y D.B. Maclean, The ^{13}C -NMR Spectra of isoquinoline alkaloids, en R.H.F. Manske, The Alkaloids, vol XVIII, Academic Press, 1981.

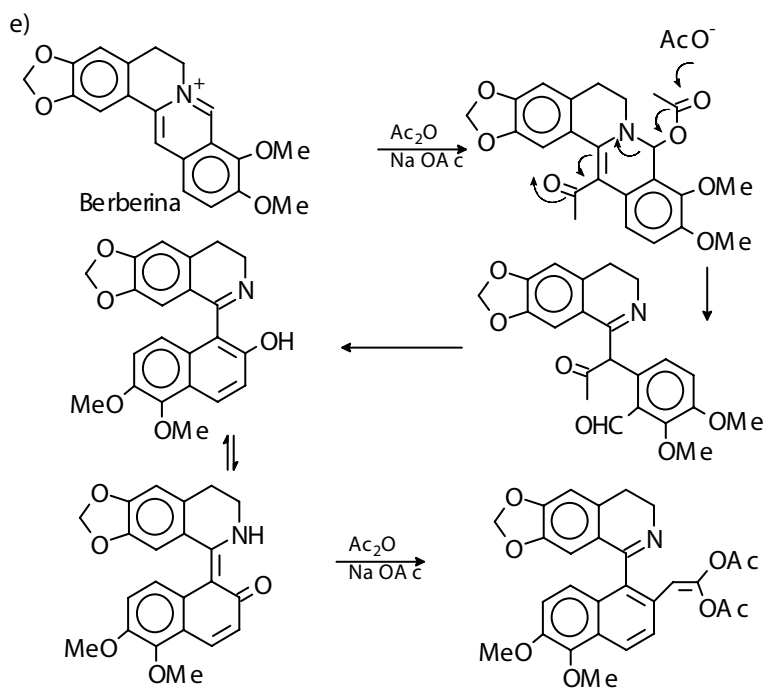


El derivado acetono 6 (acetoniiberberina) que se produce por reacción de las bases cuaternarias insaturadas con acetona es un sustrato apropiado para la alquilación del C-13. Este es el camino sintético para obtener tetrahidroprotoberberinas sustituidas en C-13 como la thalictricavina (reacción c). El derivado acetono 6, se oxida con KMnO_4 originando varios productos, en la ecuación (reacción d) se indican los más abundantes: 7 y 8. El primero es precursor inmediato de 13-oxo-dihidroberberina el cual por reducción y desacetoniación (Zn/AcOH , como en la reacción c) produce ophiocarpina (13-hidroxitetrahidroberberina).

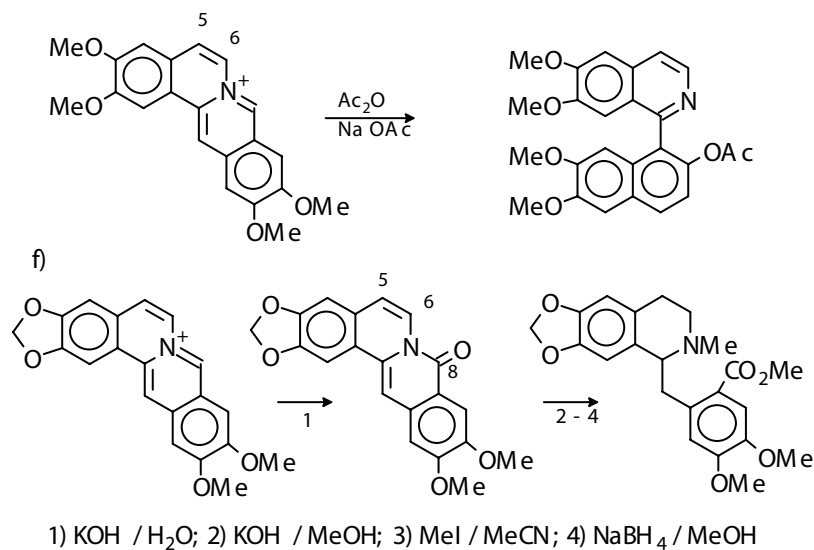


Alcaloides

Una de las reacciones clásicas de estos compuestos es la formación de 8-oxoderivados cuando se tratan las sales cuaternarias con HO^- , los cuales son estables en condiciones básicas para sistemas saturados C-5, C-6. Las sales de las bases cuaternarias, a través de sus productos de adición con anhídrido acético, originan otras aperturas de anillos y se pueden producir derivados bis-naftalénicos por rompimiento del enlace 7-8, cuando se tratan con exceso de anhídrido acético (reacción e). Bajo las mismas condiciones, si hay un doble enlace entre C-5 y C-6 sólo se genera el derivado acetilado ya que la presencia de la olefina en el anillo B induce inmediatamente la aromatización del producto. La fragilidad del enlace 7-8 se manifiesta en la pseudobase bajo la forma de 8-oxoberberina, lo que produce un seco-derivado estable (reacción f)*.



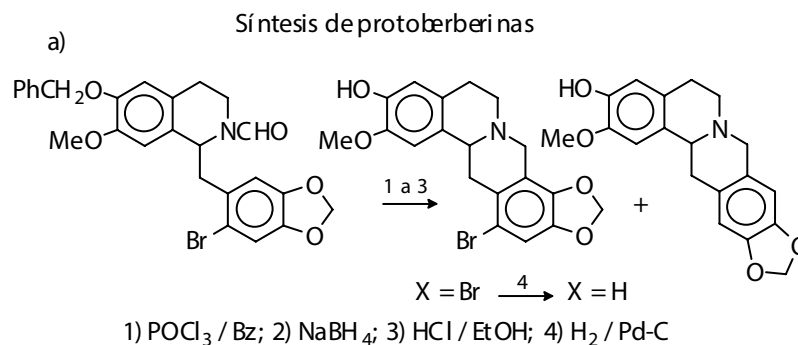
*J.Chem.Soc. Specialist Periodical Reports, The Alkaloids, vol 7. Ed. M.F. Grundon, 1977.



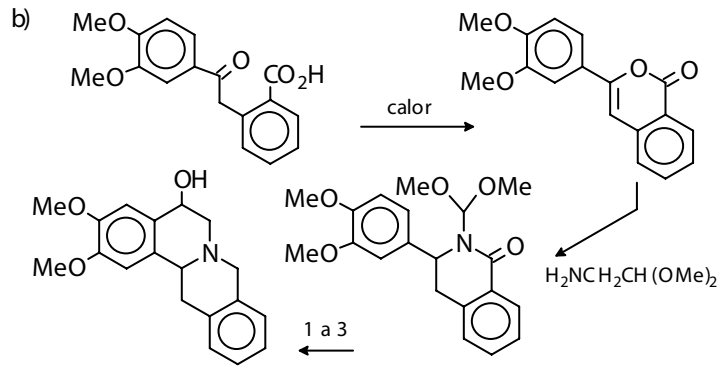
5.16.15.2. Síntesis de las protoberberinas

Existen varios métodos de síntesis y se resumen como:

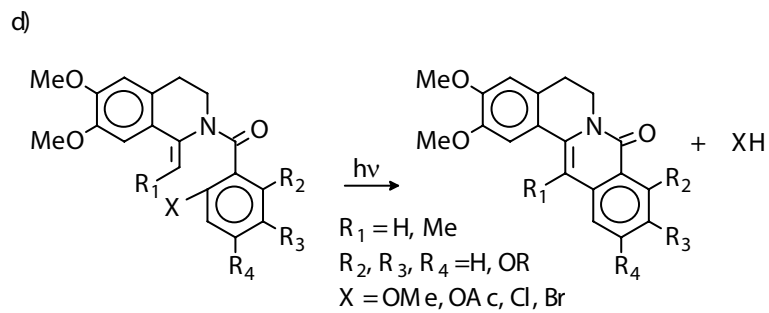
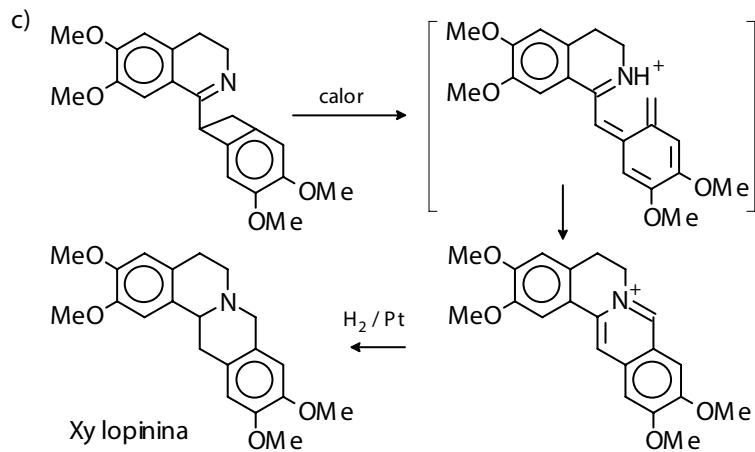
- Aquellos que involucran el cierre del anillo C.
- Aquellos que involucran la formación del anillo C y cierre posterior del anillo B; son los más abundantes. Ambos, de naturaleza iónica, representan una variante de la condensación de Mannich, los rendimientos son bastante buenos y la condensación puede tener lugar orto o para en cuyo caso se obtienen isómeros oxigenados 9, 10 ó 10, 11.
- Reacciones de termólisis y de fotociclación.



Alcaloides



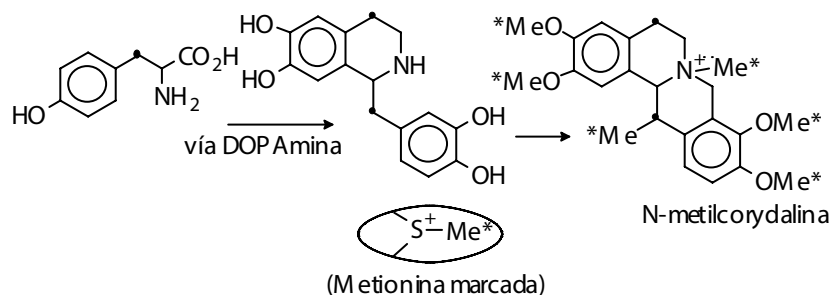
1) LiAlH_4 ; 2) NaBH_4 ; 3) Ciclación Pomeranz- Fritsch ($\text{HCl } 6\text{N}$)



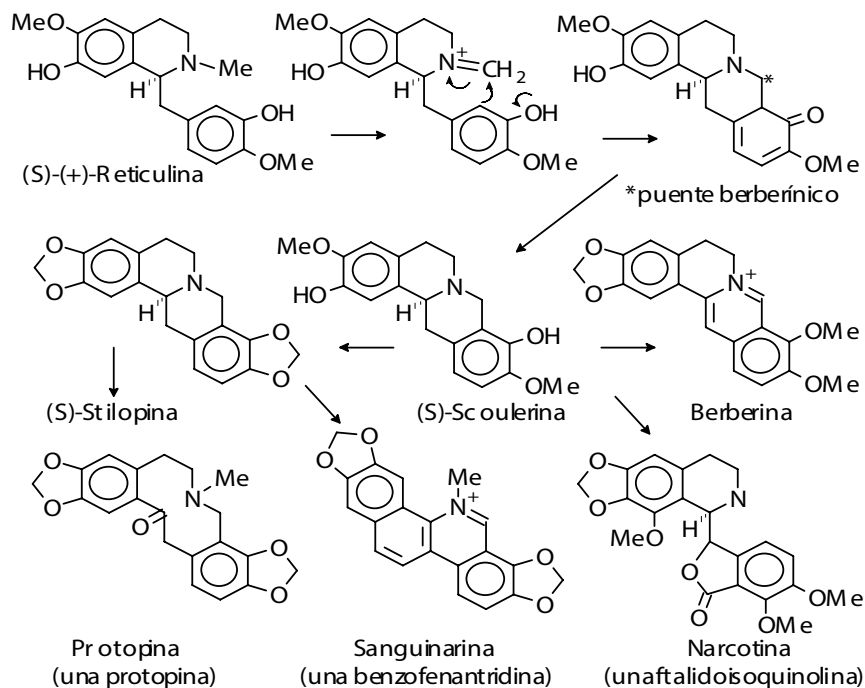
5.16.15.3. Biosíntesis y transformaciones en otros núcleos

Las reacciones sintéticas ilustradas antes son un buen indicio de la bioformación de las protoberberinas. Si se considera una bencilisoquinolina

se observa la necesidad de un carbono adicional (el C-8) conocido como "berberine bridge" (puente berberínico). Este carbono se origina de la metionina, así como el metilo en C-13 de la corydalina y ello se ha comprobado por experimentos de marcaje isotópico. El carbono 5 y el carbono 13 de la N-metilcorydalina se encuentran marcados cuando se incorpora tirosina marcada en el carbono 3.

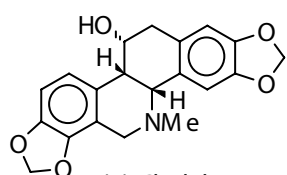


Varios esqueletos derivados de las protoberberinas se indican a continuación. Dentro de éstos pueden considerarse las benzofenantridinas, ftalidoisquinolinas, protopinas, espiro-bencilisoquinolinas y rhoeadinas, algunas están indicadas abajo.

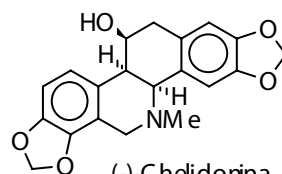


a) Benzofenantridinas

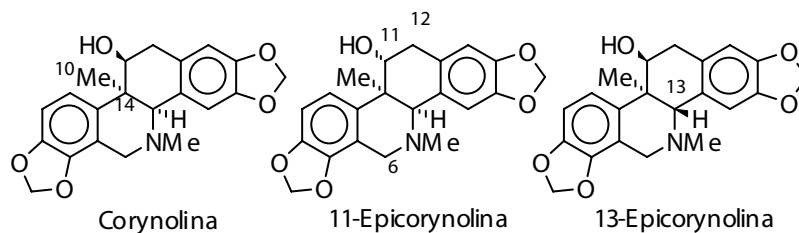
Se presentan en Rutáceas y Papaveráceas y como ejemplo tenemos la sanguinarina (rojo), la chelitrina (amarillo), que tienen todos los núcleos aromáticos y la chelidonina (incolores) cuyos anillos centrales son alifáticos. En aquellas bases que tienen los anillos centrales alifáticos se han encontrado ambos epimeros en la fusión de esos anillos, así como metilación en C-14 e hidroxilación en C-11. Algunas presentan un éter entre C-11 y C-6 como la corynoxina, con el esqueleto de la corynolina, ambos compuestos aislados de *Corydalis incisa*. Varias especies del género *Corydalis* han sido estudiadas por sus propiedades fungitóxicas y de ellas se han aislado junto con benzofenantridinas otros alcaloides benzilisoquinolínicos: aporfinas, protoberberinas, protopinas, etc.*.



(+)-Chelidonina
pf 135-6°C
[α]_D +115° (EtOH)



(-)-Chelidonina
pf 135-6°C
[α]_D -112° (EtOH)



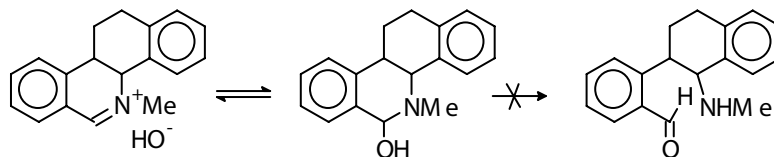
Corynolina

11-Epicorynolina

13-Epicorynolina

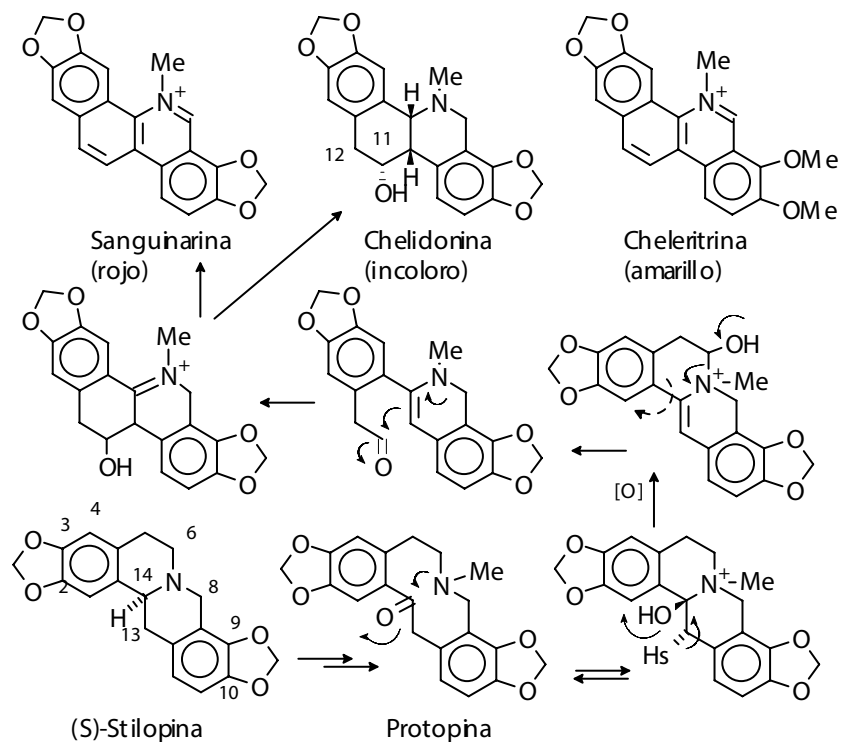
Nótese que la numeración de este esqueleto no tiene relación con aquella de la protoberberina. Como ocurre en las protoberberinas, las benzofenantridinas cuaternarias en solución básica están en equilibrio con las carbinolaminas, pero a diferencia de las protoberberinas, no se ha detectado para estas estructuras la apertura del anillo heterocíclico.

*W. G. Ma, Y. Fukushi y S. Tahara, " Fungitoxic alkaloids from Hokkaido *Corydalis* species", *Fitoterapia*, 70, 258, 1999.



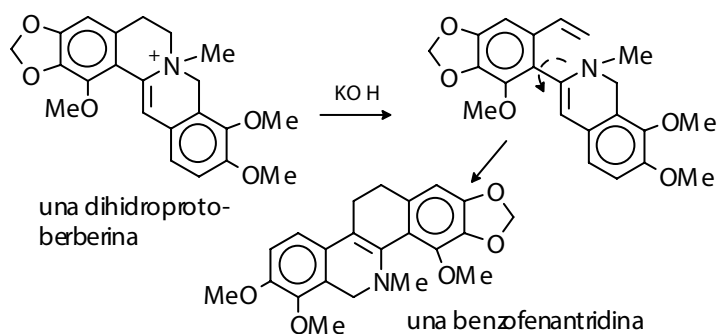
En la biogénesis de benzofenantridinas se ha comprobado la intervención de una protopina, la cual a su vez surge del rompimiento del enlace N-C-14 en la protoberberina. Tal es la transformación de la (S)-stilopina a sanguinarina y a chelidorina. En esta secuencia es necesaria la oxidación de C-6 que promueve el rompimiento C-6-N y en la estructura abierta la rotación del enlace entre el anillo A y C-14 dispone la molécula para la formación del esqueleto benzofenantridínico.

Transformación de protoberberinas a benzofenantridinas



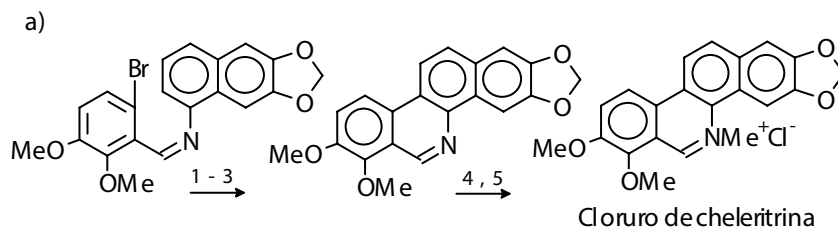
Alcaloides

La obtención de benzofenantridinas por acción del KOH sobre las sales cuaternarias de las dihidroprotoberberinas simula la ruta biosintética.

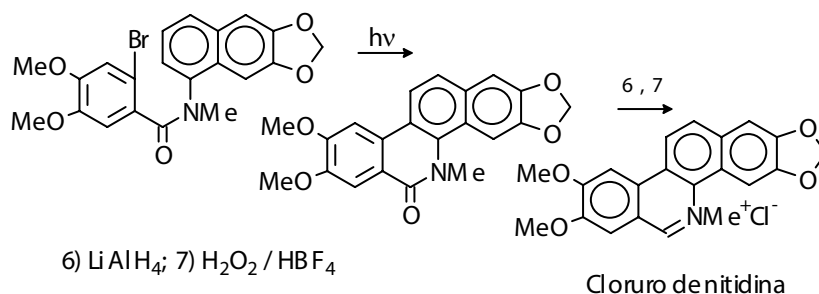


El método clásico de síntesis es la ciclación (iónica o fotoquímica: reacción a) de un bromocompuesto a través de una condensación de Mannich reacción b.

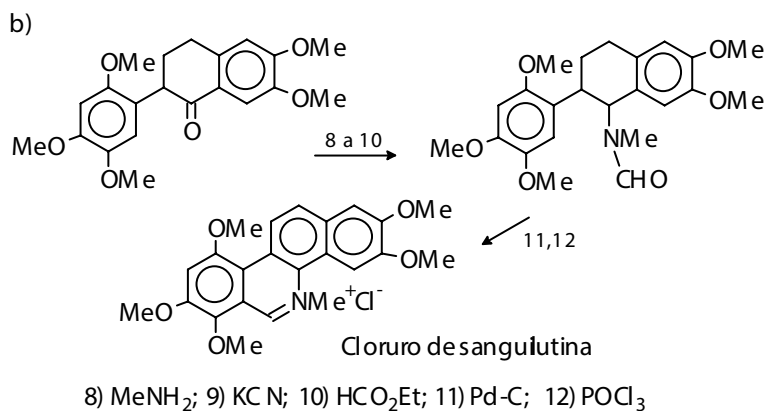
Síntesis de benzofenantridinas



1) NaBH_4 ; 2) $\text{KNH}_2 / \text{NH}_3(\text{l})$; 3) $\text{MnO}_2 / \text{CHCl}_3$; 4) Me_2SO_4 ; 5) HCl

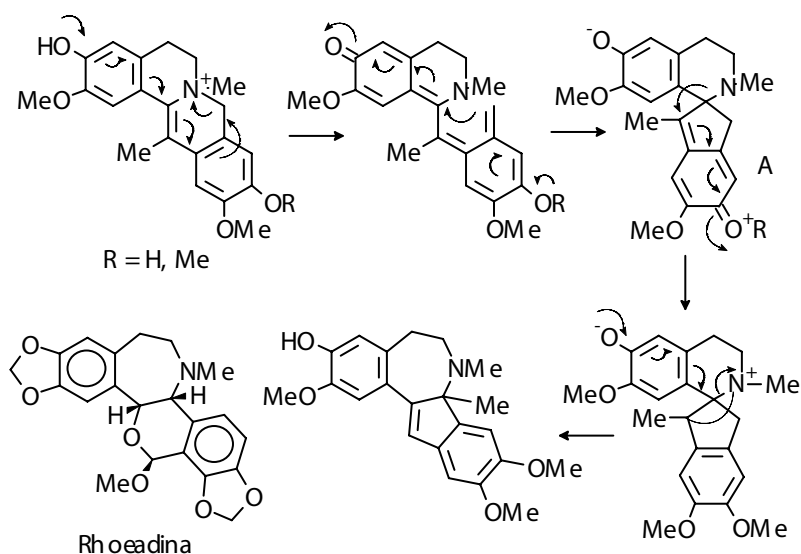


6) LiAlH_4 ; 7) $\text{H}_2\text{O}_2 / \text{HBF}_4$



b) E spiro-bencilisoquinolinas y rhoeadinas

Su síntesis se basa en reacciones que involucran equilibrios de estructuras quinoides. Estas se llevan a cabo en medio básico y en caliente. Si una función fenólica está presente (R = H) la reacción se detiene en el compuesto espiro-bencilisoquinolina "A". Si R = Me, el grupo OMe no puede satisfacer estructuras quinónicas como "A" y se genera un nuevo esqueleto: dibenzociclopent-b-azepinay de allí a los representantes naturales conocidos como derivados de rhoeadinas y son típicas, no exclusivas, de género Papaver.

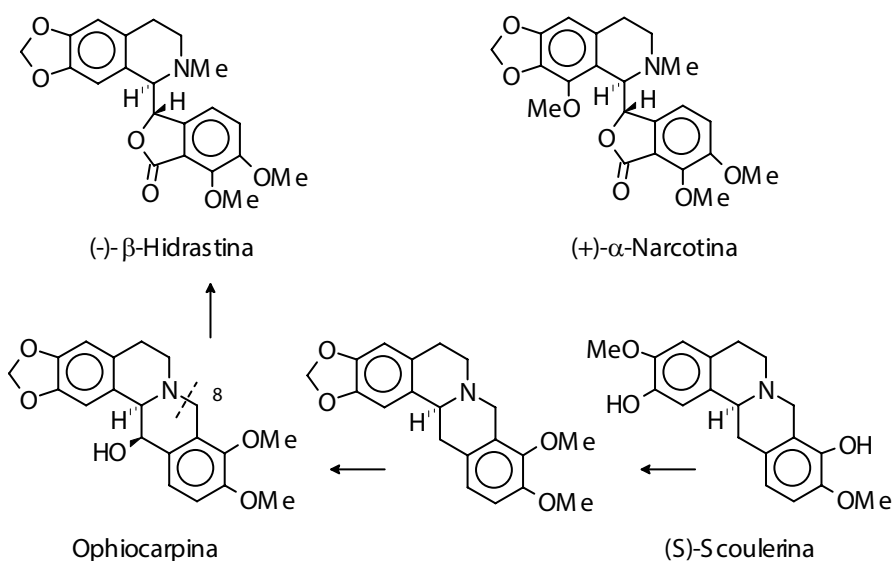


Alcaloides

La estructura espiro-bencilisoquinolina se identifica con el esqueleto de "ochotensano" que puede no presentar un grupo metilo en el anillo de cinco miembros como el indicado en A, o estar oxigenado en esa posición. Los ochotensanos se aíslan de los géneros *Fumaria* y *Corydalis*.

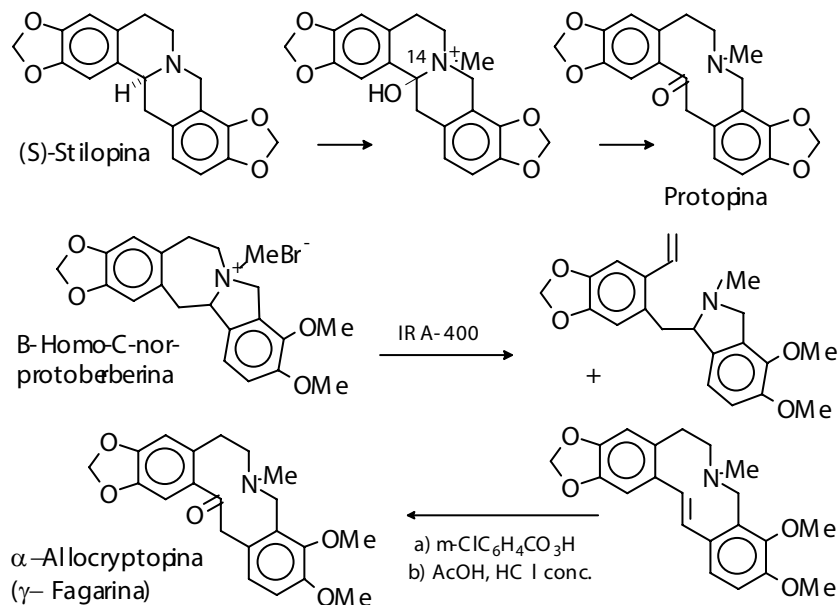
c) Ftalidoisoquinolinas

Ejemplos de éstos se encuentran en narcotina e hidrastina. Aunque no se proponen pasos individuales para su bioformación, debe romperse el enlace N-C-8. Son alcaloides típicos de *Hidrastris canadensis* cuyas raíces y rizomas, amarillos y largos, son usados como antisépticos genitourinarios y como control de hemorragias uterinas.

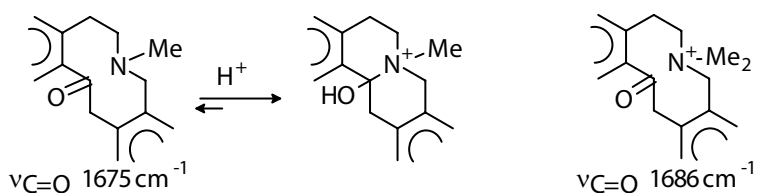


d) Protopinas

Su formación requiere de la presencia de un OH en C-14. Son típicos del género *Corydalis*, aunque también se encuentran en otros géneros. Es interesante la transformación de homoprotoberberina en allocryptopina, que tiene lugar por simple contacto con resinas de intercambio iónico (Amberlita IRA-400), actuando como bases de una eliminación Hofmann. La característica de estas estructuras es la reacción transanular del N y el grupo C=O con



formación de la carbinolamina interna; eso se evidencia de la frecuencia en IR del grupo carbonilo: 1675 cm^{-1} en lugar de 1690 cm^{-1} esperada para una benzilacetofenona. Por otra parte, el derivado cuaternario N-dimetílico presenta la absorción a 1686 cm^{-1} y las sales de las aminas terciarias no tienen bandas de grupo carbonilo. Ello se explica si se presume un equilibrio como el indicado, que se desplaza a la derecha en presencia de ácido.



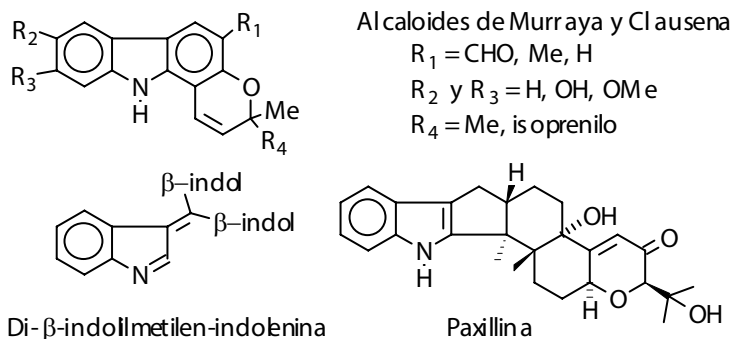
5.17. Alcaloides indólicos

En los últimos años ha habido un gran interés en las bases que contienen el núcleo indólico, no solamente desde el punto de vista químico, sino también farmacológico, a raíz del descubrimiento de la actividad alucinógena del LSD y la sedante y antihipertensiva de la reserpina, el principio activo del

Alcaloides

género *Rauwolfia*. El apogeo de los estudios fitoquímicos ocurrió en la década de los 60 y estaba dedicado principalmente al análisis químico de la familia Apocynáceas, especialmente del género *Vinca*, que entre otras bases presenta vincalocoblastina (VLB) y vincalococristina (VCR) utilizadas en el tratamiento del mal de Hodgkin y en la quimioterapia del cáncer. Existen unos 800 alcaloides de este grupo y se los encuentran principalmente en los géneros *Rauwolfia*, *Aspidosperma*, *Strychnos*, y *Vinca*; menos frecuentemente en hongos y vegetales superiores pertenecientes a las familias Leguminosas, Malpighiáceas, Rubiáceas y Rutáceas. En las últimas los alcaloides presentan el fragmento indólico formando parte de estructuras sencillas.

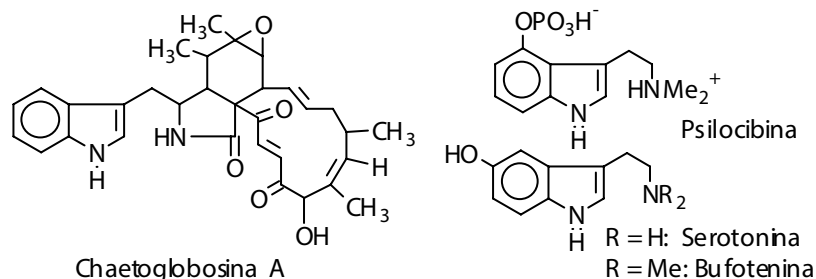
El triptofano es el aminoácido precursor de estos alcaloides los cuales se pueden clasificar en dos grandes grupos: a) Triptaminas-isoprenoides y b) Triptaminas no-isoprenoides, de acuerdo al fragmento unido al resto de triptamina que se origina por descarboxilación del triptofano. Existe además, un pequeño grupo de alcaloides indólicos, no derivados de ese aminoácido, los cuales son conocidos como no-triptaminas. Son generalmente derivados de carbazol y se aíslan de los géneros *Murraya* y *Clausena*. También se encuentran sustancias muy sencillas en hongos como la di- β -indolilmetilindolenina, aislado de *Saccharomyces cerevisiae* y paxillina de *Penicillium paxilli*, de los cuales se sospecha que tienen un origen terpenoidal y producen temblores severos en ratones, pero su toxicidad es relativamente baja, en contraste con otros metabolitos tremogénicos.



5.17.1. Triptaminas no isoprenoides

Hay una buena variedad tanto en la complejidad de las estructuras de estos alcaloides como en la fuente de producción. Como ejemplo, se tiene la

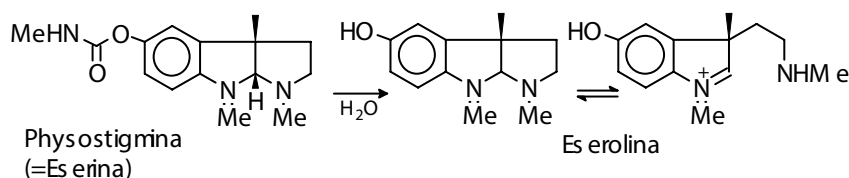
chaetoglobosina-A, una sustancia amarilla aislada de *Chaetomium globosum* o bien sustancias más sencillas como serotonina, que juega un papel importante en la actividad neuronal. Se encuentra tanto en vegetales como en animales (el pericarpio del banano que contiene serotonina, secado y fumado, se usa como alucinógeno ligero). Su N,N-dimetil derivado, la bufotenina, es el veneno de las glándulas parótidas del sapo común, *Bufo vulgaris* y también está presente en un árbol del Amazonas, *Piptadenia (Anadenanthera) peregrina*, cuyas semillas son usadas en la elaboración del yopo. El yopo es un polvo cenizo el cual es inhalado a través de un junquillo, casi inmediatamente se presentan los efectos: visiones, alucinaciones, aumento de la presión sanguínea y estimulación transitoria de la respiración. Sus ingredientes, junto al anterior, son corteza y resina de *Virola theiodora* (Myristicáceas), ricas ambas en triptaminas, además de *Justicia pectoralis* (Acantháceas) y corteza de *Elizabetha princeps* (Leguminosas); la última no parece contener alcaloides.



La psilocibina es el principio activo del hongo *Psilocybes* ("teonacatl" o "carne de dioses") considerado sagrado en Centro-América, cuya utilización oral para las comunicaciones transpersonales en rituales mágicos data de unos 1700 años y todavía hoy día se consume como alucinógeno. Al ingerirlo el individuo se torna indiferente al tiempo y al espacio, pero sigue consciente, lo acompaña sensaciones auditivas, visiones, relajación muscular, depresiones y euforias alternadas.

También se incluyen estructuras un poco más complejas como la physostigmina y eserolina, que tienen un carbono adicional en el esqueleto de triptamina. Se encuentran en *Physostigma venenosum* (Leguminosas), una liana herbácea que crece en los pantanos de Guinea y Gabón (el antiguo Calabar) y produce una vaina gigante con 2 ó 3 semillas de 2 a 3 cm de longitud, conocidas como "habas de calabar" y utilizadas en África en ordalías y como

alucinógenos. Su ingestión produce una sed intensa, hipersecreción de la saliva, sudor, lágrimas y orina, trastornos de la visión, temblor y contracciones. La muerte sobreviene por paro cardíaco. La hidrólisis de physostigmina origina derivados de serotonina.

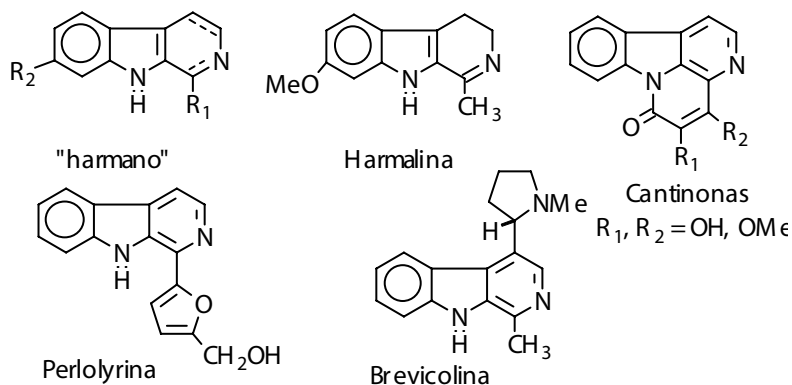


5.17.1.1. Bases de harmala

Se conocen con este nombre los compuestos tríclicos que tienen el esqueleto del harmano. El anillo piridínico puede o no estar saturado, R_2 puede ser H, OH, OMe y R_1 va desde Me como en la harmalina, usada en el tratamiento del mal de Parkinson, hasta una cadena de tres carbonos. Se encuentran abundantemente en *Peganum harmala* (Zygophylláceas) y menos frecuentemente en las familias Rutáceas, Leguminosas, Rubiáceas y en el género *Passiflora* (Passifloráceas).

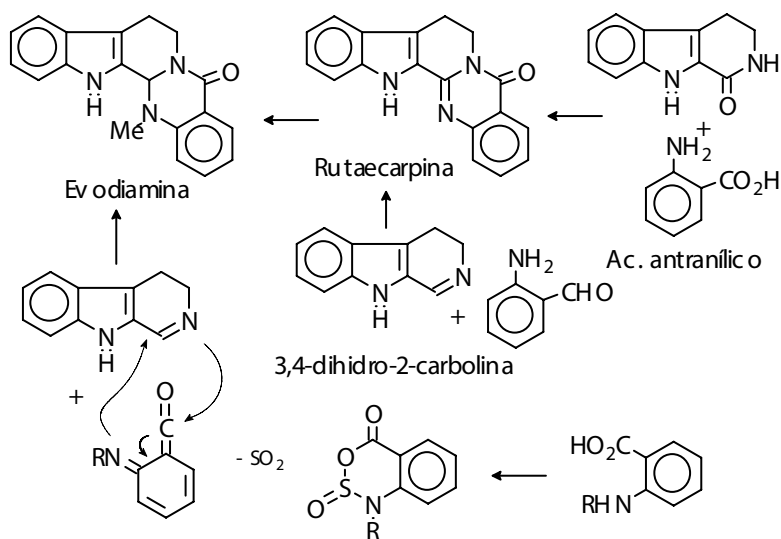
Son derivados de β -carbolinas y son abundantes en *Banisteriopsis caapi* (Malpighiáceas) cuya corteza es usada por los indios del Orinoco para preparar una bebida caapi, yaje o ayahuasca que tiene propiedades narcóticas y se emplea en cultos adivinatorios y en la iniciación del joven en la vida de adulto. Otros derivados de bases de harmala son las cantinonas con grupos sustituyentes en R_1 y R_2 : H, OH, OMe, SMe y otras cadenas más largas con azufre. Presentan propiedades antimicrobianas y se aíslan del género *Fagara* o *Zanthoxylum* (Rutáceas).

También se encuentran otras β -carbolinas con sustituyentes heterocíclicos, tal es el caso de perlolyrina (de *Lolium perenne*, centeno) y brevicolina (de *Car ex brevicollis*).



5.17.1.2. Rutaecarpina y evodiamina

Estos derivados de harmala contienen una unidad adicional de ácido antranílico; es posible sintetizarlos a partir de un β-carbolina y ácido antranílico o un derivado de éste. Ambos alcaloides están presentes en la fruta de Evodia rutaecarpa, usada desde hace muchos años por los chinos y conocida como "Won Chou-yu (Wu zhu yu)", por su acción analgésica, antibacteriana y estimulante. Estos mismos alcaloides se han aislado de varias especies del género Fagara. La síntesis de evodiamina utiliza una cetinina preparada in situ a partir de un anhídrido mixto. Se ilustran algunas maneras de preparar estos compuestos.

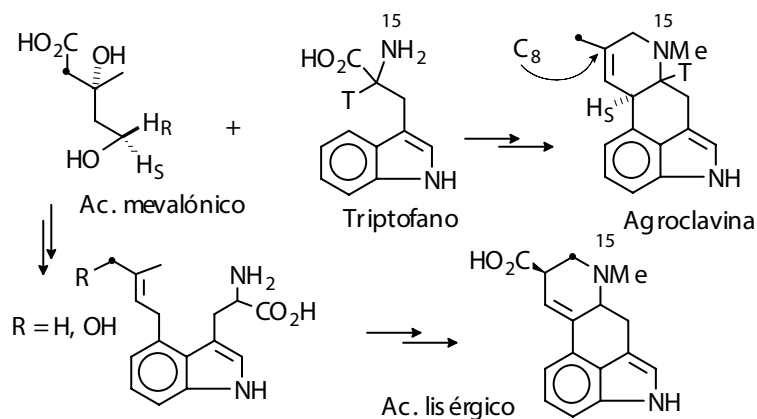


5.17.1.3. Ergolinas

Este es el nombre genérico de la unidad estructural de los alcaloides del ergot: *Claviceps purpurea*, un hongo conocido como "cornezuelo del centeno". Un derivado sintético de ergolina es la amida del ácido lisérgico: LSD, halucinógeno cuya popularidad marcó los años 60. También se encuentran en *Rivea corymbosa*, sus semillas ("ololiuqui") se usan como alucinógenos, así como en campanillas: *Ipomoea tricolor*. La mayoría de las especies de *Ipomoea* contienen derivados de ergolina y en algunas están en gran número. Tal es el caso de *I. muelleri*, una variedad tóxica australiana que contiene no menos de 39 ergolinas de las cuales unas 20 han sido identificadas.

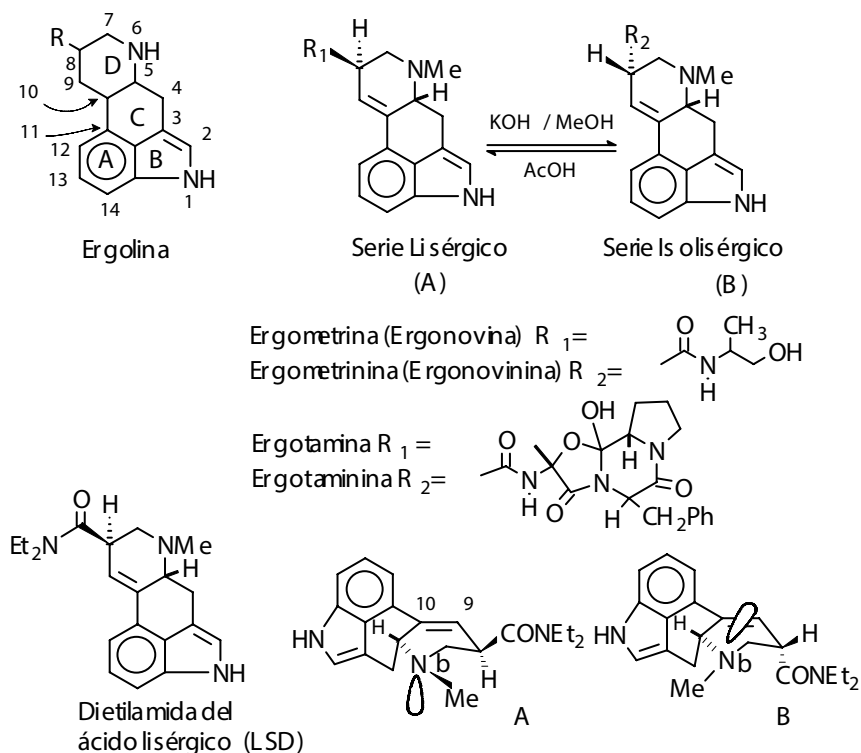
Todas las ergolinas naturales presentan un sustituyente en C-8 y la razón de ello es que en su biosíntesis intervienen una unidad de triptofano y una de ácido mevalónico. Estrictamente hablando se deberían incluir las ergolinas entre el grupo de triptaminas isoprenoideas, pero se reserva esta última denominación para aquellas bases que contienen un fragmento monoterpénico (C₁₀) en sus estructuras.

Por conveniencia, los alcaloides del ergot se dividen en dos grandes grupos: los "derivados del ácido lisérgico", con un grupo carboxilato en C-8 y las "clavinas" en las cuales el grupo carboxílico está sustituido por un metilo o un hidroximetileno. Además, algunos alcaloides naturales pueden presentar residuos peptídicos unidos al grupo carboxilato.



En la biosíntesis de las ergolinas se ha demostrado que el dimetilalilriptofano precursor se propone el alcohol como sustrato de la transformacional sistema cíclico del ácido lisérgico.

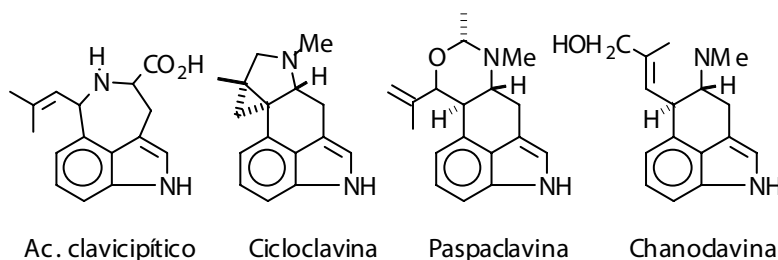
El interés por estos alcaloides surgió de su actividad simpaticolítica, la cual varía desde estimulación con ergometrina hasta inhibición para los miembros más complejos. Estas bases ocurren en la naturaleza, casi siempre, conjugadas con un péptido y debido a la actividad de estos compuestos se han preparado numerosos derivados para evaluación farmacológica que comprenden tanto modificaciones en el núcleo ergolina como en la región peptídica. Por otra parte, se ha desarrollado un gran interés en la producción natural de estos alcaloides (a través de cultivos de *Claviceps purpurea*) para la industria farmacéutica. La ergotamina y la ergometrina (ergonovina) contraen los vasos sanguíneos y se utilizan en tratamientos de migraña y en obstetricia, para provocar la contracción uterina post parto.



Alcaloides

Los tres centros asimétricos (5, 8 y 10) del esqueleto de la ergolina, asumiendo que la rápida interconversión del átomo de nitrógeno no introduce otro centro asimétrico neto, producen cuatro pares de isómeros ópticos. Sin embargo, los esqueletos más representativos son aquellos que poseen un doble enlace 9,10 lo cual limita al núcleo ergolina a dos pares de enantiómeros representados en dos series: lisérgico (A) donde los hidrógenos en C-5 y C-8 están trans, e isolisérgico (B), para el isómero cis.

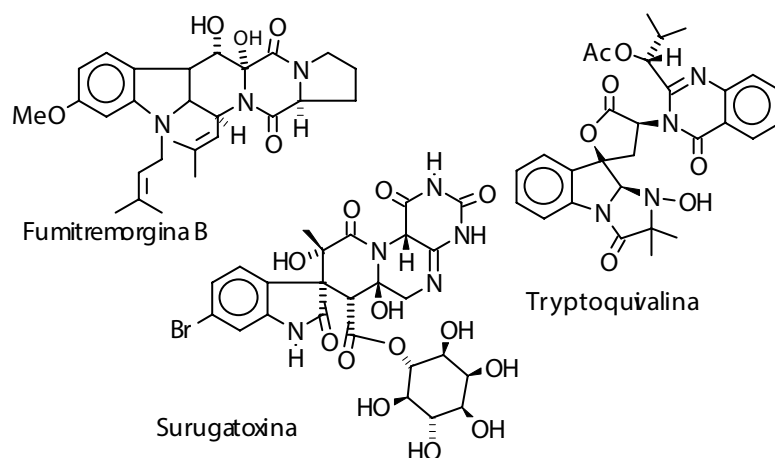
En el caso de los enantiómeros D de ambas series, la conformación preferida para cada uno se ilustra en A y B (figura anterior). En los dos casos el metilo sobre el nitrógeno es siempre pseudoecuatorial. Existe la hipótesis de que la marcada diferencia en actividad biológica entre los epímeros lisérgico e isolisérgico (la ergotamina es uno de los más potentes y tiene un resto de L-lisérgico) se deba a la orientación del par de electrones del N-b que se disponen alfa en el primero (A) y beta en el segundo (B). Ambos epímeros son fácilmente interconvertibles como se ilustra para la ergotamina y ergotaminina (la terminación inina se aplica a los derivados del ácido lisérgico y la inina a los del isolisérgico). Existen variedades estructurales que incluyen anillos ciclopropílicos y rotura del enlace 5,10; véase por ejemplo ácido clavicipítico, cicloclavina, paspaclavina y chanoclavina.



5.17.1.4. Otros alcaloides

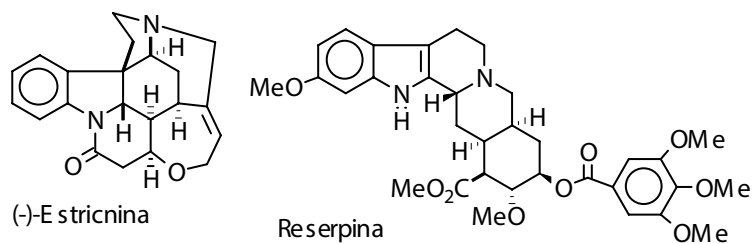
Hay un grupo de sustancias derivadas de β -carbolina biosintetizadas por hongos que son en general particularmente tóxicas como por ejemplo fumitremogina B (de *Aspergillus fumigatus*) que tienen propiedades tremogénicas y que presentan grupos peptídicos de diferente naturaleza. Un ejemplo curioso lo constituye la surugatoxina, un potente midriático, que se presenta en el intestino del gasterópodo *Babylonia japónica*, pero sólo en

aquellos especímenes que se encuentran en la bahía de Suruga, cerca del monte Fuji, en Japón. Otro metabolito tremogénico es la tryptoquivalina que tiene una unidad tetrapeptídica y está formado por triptofano, ácido antranílico, valina y metilalanina.

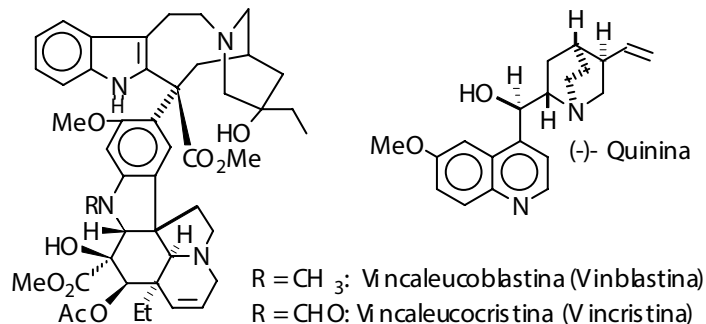


5.17.2. Triptaminas isoprenoides

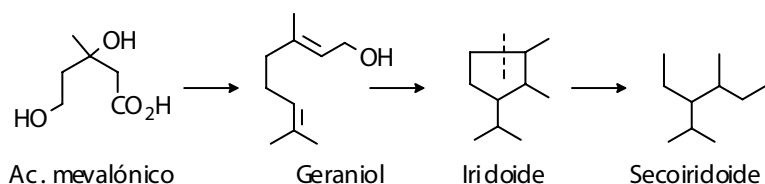
Este grupo de alcaloides indólicos presenta la mayor y más compleja variación estructural. Se aíslan principalmente de las familias Apocynáceas, Loganiáceas y Rubiáceas; poseen además marcada actividad biológica. Estricina y quinina (ya considerada en la sección de alcaloides quinolínicos) son tal vez los más conocidos, pero otros representantes son igualmente importantes, como reserpina, vincalocoblastina y vincalococristina. Debido a la variedad de estructuras, estos alcaloides se han agrupado de acuerdo a la secuencia de los átomos de carbono en la unidad isoprenoide.



Alcaloides



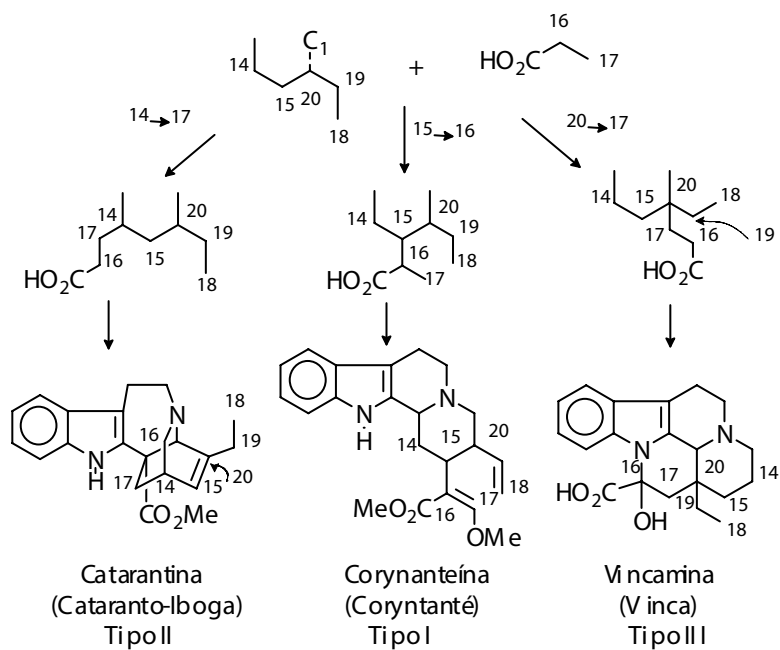
Mediante experimentos biosintéticos pudo determinarse el origen (ácido mevalónico) del fragmento alquílico unido a la triptamina. Este grupo alquílico de 9 ó 10 átomos sugiere una unidad monoterpénica que no posee la secuencia normal del geraniol, sino una estructura de "seco-iridoide".



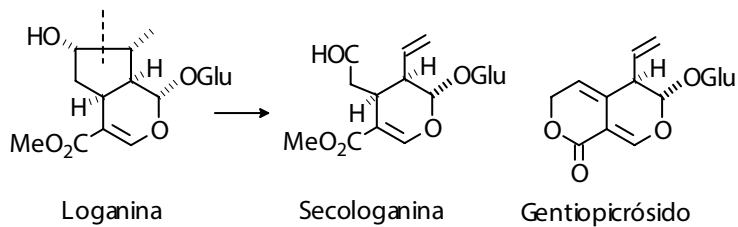
Este fragmento puede, a su vez, considerarse arbitrariamente dividido en una cadena lineal de 6 carbonos con una ramificación unido a 3 átomos (o a 2, si uno se pierde como en los fragmentos de 9 carbonos). Existen así, tres tipos de fragmentos: Tipo I (idéntico al seco-iridoide) que da origen a los alcaloides de corynanthé, Tipo II que produce alcaloides de atarantó (iboga) y Tipo III que origina los alcaloides de vinca. (Cuadro 5-6).

Dentro de estos grandes grupos se tienen subdivisiones de acuerdo a las modificaciones menores del resto monoterpénico: sitio de unión con el fragmento de triptamina, rotura de enlaces C-C, seco-derivados y adición o eliminación de átomos de carbono.

Cuadro 5-6. Esqueletos tipo de las triptaminas isoprenoides.



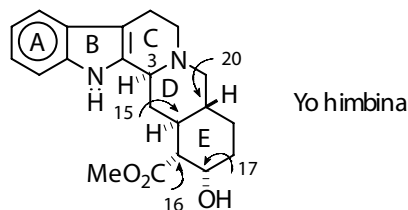
Nótese que las unidades de iridoide y de secoiridoide, se encuentran intactas en loganina, secologanina, y gentiopicrósido y en algunos alcaloides, véase el fragmento correspondiente en seco-derivados (Sección 5.17.2.1.1.).



Alcaloides

5.17.2.1. Alcaloides indólicos con el precursor Tipo I

Los alcaloides del Tipo I tienen su estructura básica representada por la yohimbina, aislada de *Corynanthe yohimbe* (Rubiáceas). Este alcaloide se encuentra también en los géneros de la familia Apocynáceas y ha sido usado por mucho tiempo como afrodisíaco. Está relacionado a la reserpina que biológicamente es más importante y es la responsable del gran desarrollo de la síntesis de drogas que actúan sobre el sistema nervioso central, lo que abrió las investigaciones neurofarmacológicas. Tiene efectos sedantes e hipnóticos diferentes a los producidos por drogas del tipo fenobarbital.



Hay dos aspectos importantes en la química de estos compuestos:

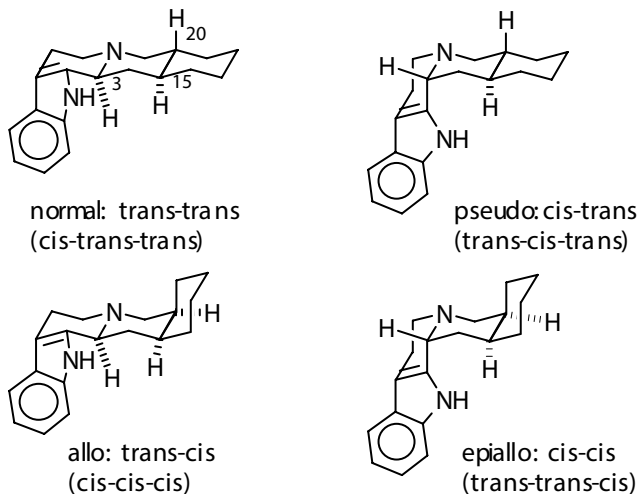
1. La estereoquímica en C-3, C-15 y C-20 que define el núcleo y la conformación del sistema anular.
2. La naturaleza del anillo E, sustituyentes y estereoquímica.

Sin entrar en detalles en cuanto a los sustituyentes, la configuración de los estereoisómeros del esqueleto yohimbina se resume en la tabla 5-1 y a continuación se ilustran.

Tabla 5-1. Configuraciones en el esqueleto de yohimbina.

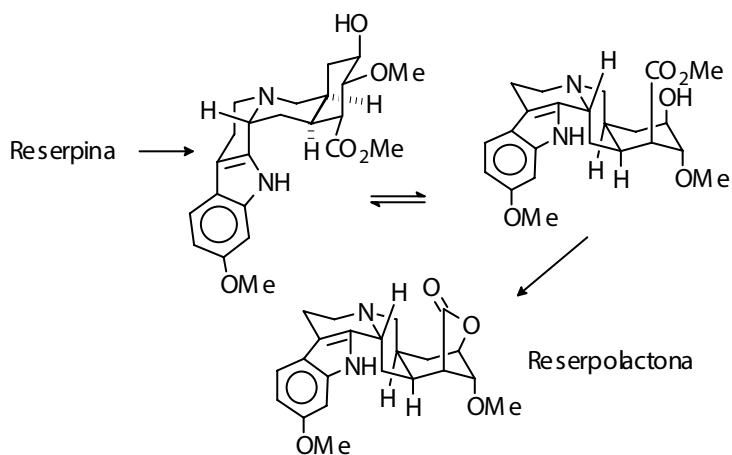
Alcaloide	núcleo*	configuración	
		C-16 (COOMe)	C-17 (OH)
yohimbina	normal	alfa	alfa
corynantina	normal	beta	alfa
beta-yohimbina	normal	alfa	beta
pseudo-yohimbina	pseudo	alfa	alfa
allo-yohimbina	allo	alfa	alfa
alfa-allo-yohimbina	allo	beta	alfa
3-epi-allo-yohimbina	epiallo	alfa	alfa

* Se refiere a la fusión de los anillos C/D/E.



En paréntesis se indica la relación de los hidrógenos 3,15; 3,20 y 15,20; en ese orden.

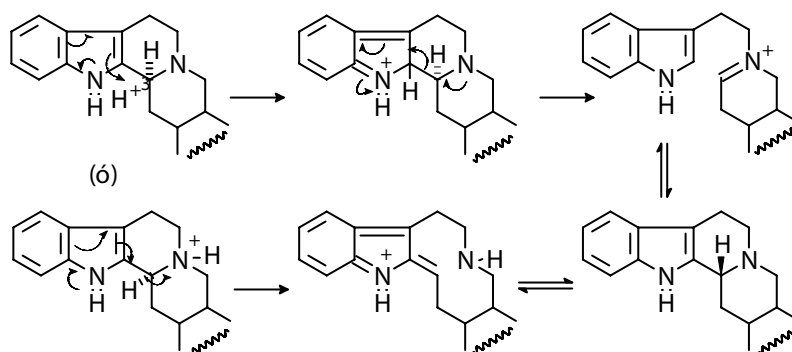
La rigidez de la unión trans-decalina implica un solo conformero para el sistema normal, pero la mayor flexibilidad del pseudo, allo y epi-allo, entre C/D, D/E y C/D-D/E, respectivamente se manifiesta en la formación de otras uniones como por ejemplo la reserpolactona, en la cual la fusión cis-cis de los anillos C/D y D/E permite cambios conformacionales de la reserpina y la formación del anillo lactónico (reserpolactona)



Alcaloides

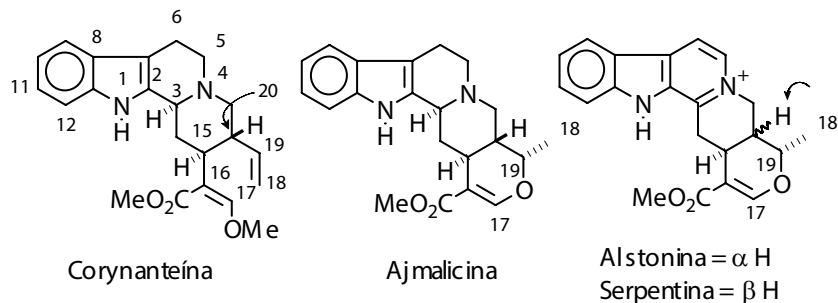
Estos sistemas sufren una serie de reordenamientos fáciles que conducen a la epimerización de los centros asimétricos, especialmente C-3.

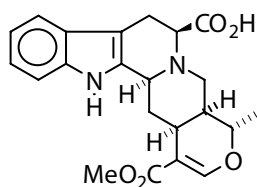
Epimerización de C-3



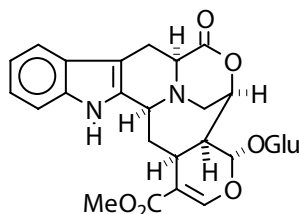
5.17.2.1.1. Seco-derivados

A partir del mismo precursor del Tipo I se encuentran alcaloides cuyas estructuras tienen el enlace 17,18 interrumpido. Estos se conocen como seco-compuestos. El anillo E puede estar formado con la inclusión de un heteroátomo (O, N) y en este caso se los denomina con el término genérico de "heteroyohimbina". Tal es el caso de ajmalicina. Si el anillo E no está formado, por ejemplo en el esqueleto de corynanteína, el más sencillo, se tienen varias posibilidades originadas de modificaciones posteriores.



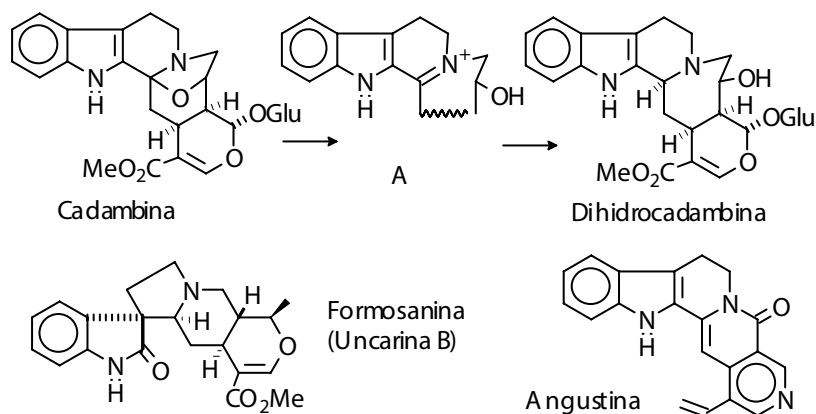


5β-Carboxitetrahydroalstonina



Rubenina

Entre las heteroyohimbinas hay variantes estructurales que incluyen bases cuaternarias por aromatización del anillo C. Como ejemplo tenemos la serpentina aislada de *Rauwolfia serpentina* que corresponde a C-deshidroajmalicina, su epímero en C-20 se conoce como alstonina. Algunas heteroyohimbinas incluyen carbonos adicionales, tal es el caso de 5β-carboxitetrahydroalstonina (que tiene un grupo carboxilato en C-5). Esta estructura puede considerarse precursora de la rubenina. Para este último alcaloide se impone una modificación ulterior del fragmento isoprenoide: C-18 y C-19 forman ahora parte del anillo D. El mismo sistema se encuentra en cadambina y dihidrocadambina, cuya interconversión tiene lugar por la rotura del éter y la formación del cromóforo A. Los espiro-derivados como formosanina también comprenden este grupo. En este último compuesto se rompe el enlace C-2, C-3. Compuestos con el anillo E nitrogenado están representados por angustina, aislado de *Strychnos angustifolia*. El nitrógeno probablemente se ha incorporado a través de la enamina del aldehído potencial que está representado por el enol-éter del anillo E de la ajmalicina.

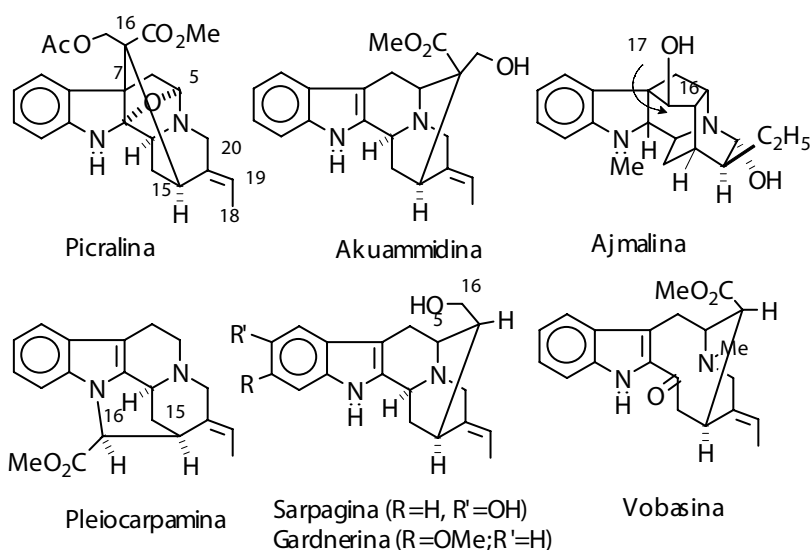


Alcaloides

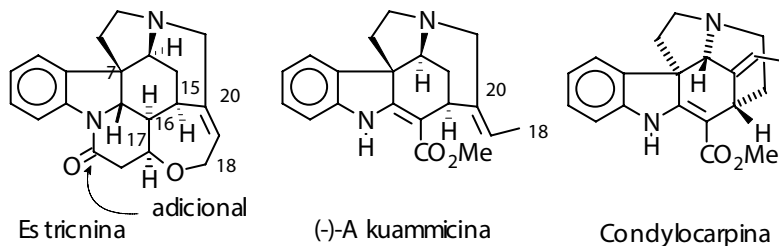
En los 17,18-seco compuestos puede originarse un puente entre C-16 y C-7 (picralina), C-16 y N-indólico (pleiocarpamina), C-16 y C-5 (akuammidina) y sarpagina: 10-hidroxi-16-descarbometoxi-akuammidina) compuestos doblemente enlazados (ajmalina). La rotura adicional del enlace C-3,N-4 origina nuevos seco-derivados como vobasina.

La interrelación entre los núcleos puede verse en la conversión química de la gardnerina al esqueleto de vobasina. Los alcaloides anteriores conforman el sub-grupo sarpagina-ajmalina-picralina.

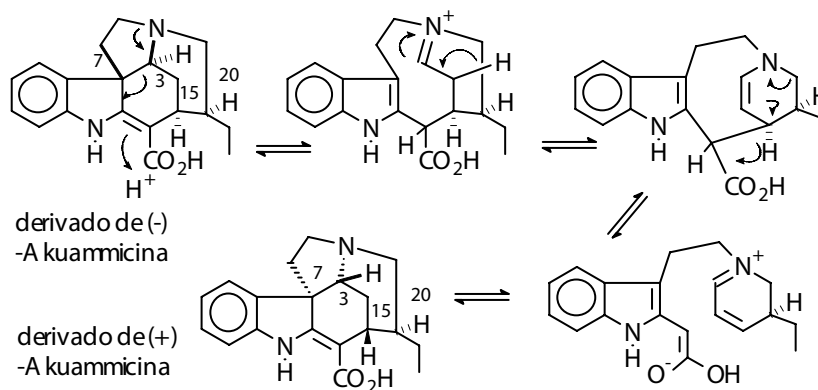
Seco-derivados de los alcaloides indólicos del Tipo I



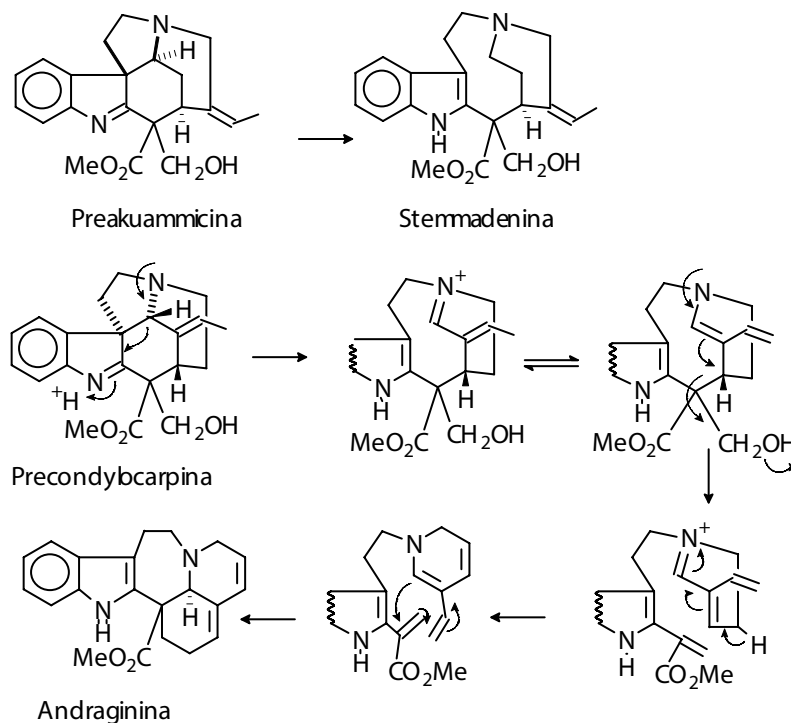
En analogía, existe otro sub-grupo para seco derivados con el precursor del Tipo I: estricnina-akuammicina-condylocarpina. Para la estricnina se requiere una unidad adicional de dos carbonos. Un alcaloide relacionado a la estricnina: brucina (10,11-dimetoxiestricnina) es un reactivo de resolución de mezclas racémicas de ácidos carboxílicos.



La akuammicina se presenta en la naturaleza en sus dos formas enantioméricas ($7\beta,3\alpha\text{-H},15\alpha\text{-H}$: (-)-akuammicina, y $7\alpha,3\beta\text{-H},15\beta\text{-H}$, (+)-akuammicina). La estereoquímica de los centros asimétricos es interconvertible, aun bajo condiciones de laboratorio (calentamiento en solución metanólica en tubo sellado) pero no altera la configuración absoluta en C-20 de los derivados saturados entre C-19 y C-20.



La epimerización de los derivados saturados 19-20 de akuammicina (o la racemización de akuammicina) involucra la rotura inicial del enlace C-3,C-7. Existen otros ejemplos de co-ocurrencia de ambas formas enantioméricas para este tipo de estructuras con enlace olefínico C-19-C-20.

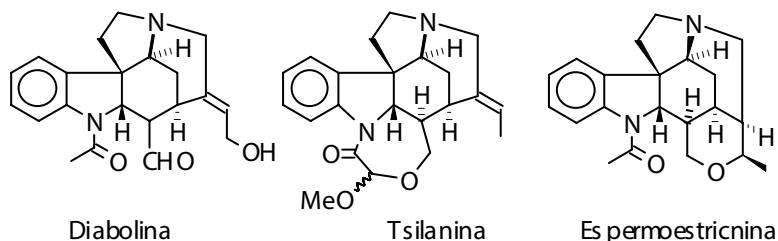


El esqueleto isomérico de condylocarpina se abre de manera similar pero en este caso el enlace que se rompe es el C-7,C-21; considerando la numeración de la unidad de secologanina se tiene C-21 unido a C-7 (del resto indólico) y C-16 unido a C-2 (del resto indólico). La analogía se muestra en preakuammicina y precondylocarpina.

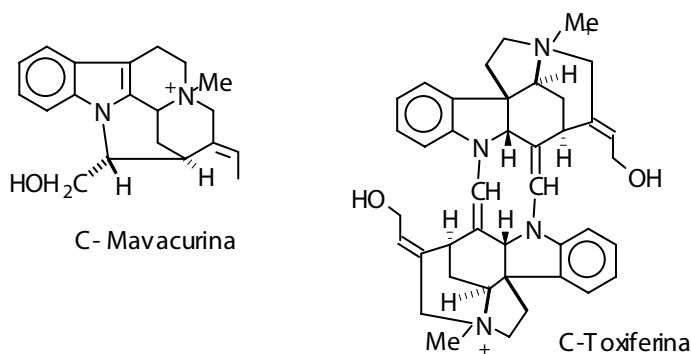
Las estructuras abiertas pueden representar productos finales (por ejemplo la transformación de preakuammicina a stemmadenina) o intermediarios de otros esqueletos (conversión de precondylocarpina a andraginina).

Los alcaloides del tipo estricnina presentan 7 posibles centros asimétricos. La configuración de C-3, C-7 y C-15 es la misma de la (-)-akuammicina, además en los compuestos naturales C-2, C-16 y C-17 presentan los H orientados beta-alfa-alfa, respectivamente. Como representante de estas estructuras con dos carbonos adicionales se encuentra a diabolina que puede considerarse precursor biogénico de la estricnina y de otros compuestos.

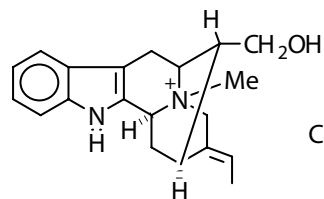
que presentan un anillo heterocíclico formado: tsilanina y espermoestrictina.



Estos tipos estructurales son propios del género *Strychnos* (Loganiáceas). En las especies suramericanas se presentan además de los monómeros que se encuentran en las especies africanas, dímeros cuyas unidades que pueden no ser idénticas. Estos alcaloides son algunos de los principios activos del curare, venenos de flechas utilizados por los indios de la región amazónica. Hay que hacer una distinción entre los tipos de curare, aquel empaquetado en tallos de bambú, conocido como tubocurare, que contiene alcaloides bis-bencilisoquinolínicos, de los cuales la tubocurarina es el componente principal y se produce con especies del género *Chondrodendron* (Menispermáceas) y el curare almacenado en taparitas conocido como calabash curare, que se prepara con especies del género *Strychnos*. Los alcaloides de este último género, se agrupan en: monoméricos (C_{20}) y diméricos (C_{40}), que son los más activos. Mediante cromatografía sobre celulosa se pudo separar de una sola especie de *S. toxifera*, más de 40 diferentes alcaloides puros. Entre éstos se pueden distinguir varias modificaciones: C-mavacurina, C-fluorocurina, macusina B y C-toxiferina. Este último se usa en el tratamiento de tétanos y como anestésico en casos de cirugía menor.

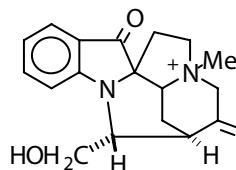


Alcaloides



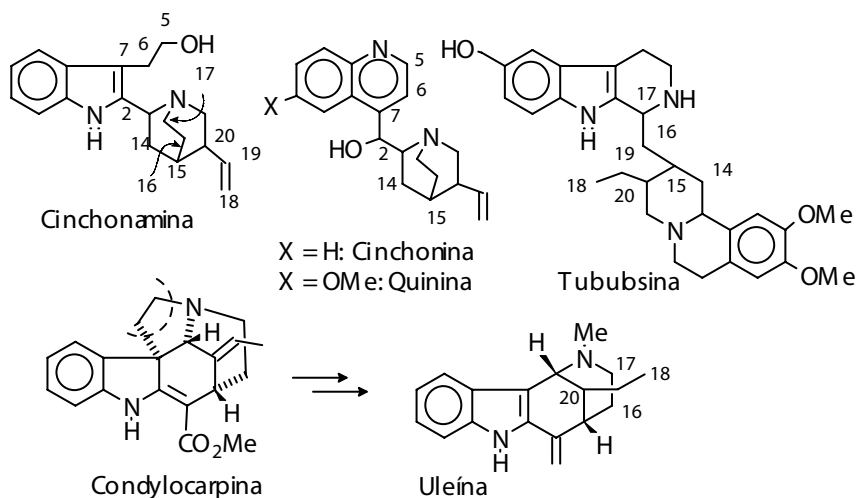
Macusina B

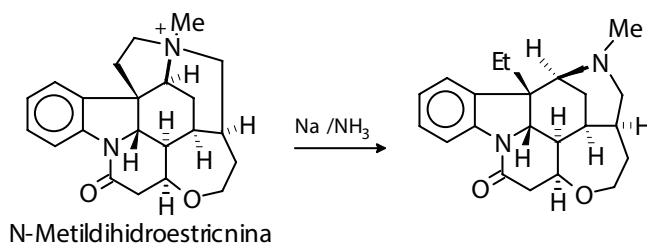
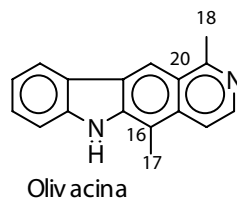
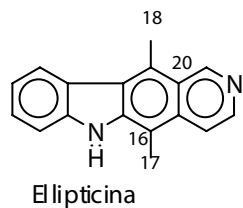
C-Fluorocurina



Otros derivados del precursor del Tipo I son cinchonina y quinina, contemplados antes. Estas bases aunque estructuralmente tienen el esqueleto de la quinolina, biogénicamente provienen del triptófano. Nótese la similitud de la cinchonamina con el aldehído intermediario propuesto en la biosíntesis de los alcaloides de cinchona (sección 5.12.1).

Con el núcleo indólico intacto se encuentran tubulosina, uleína, ellipticina, olivacina y compuestos relacionados. En estos esqueletos falta el grupo COOH unido a C-16 y/o el carbono 17. Estructuras como uleína y ellipticina provienen de reordenamientos esqueléticos que son tal vez, los más complejos encontrados en los alcaloides. El ejemplo más directo puede observarse si se comparan los esqueletos de condylocarpina y uleína.





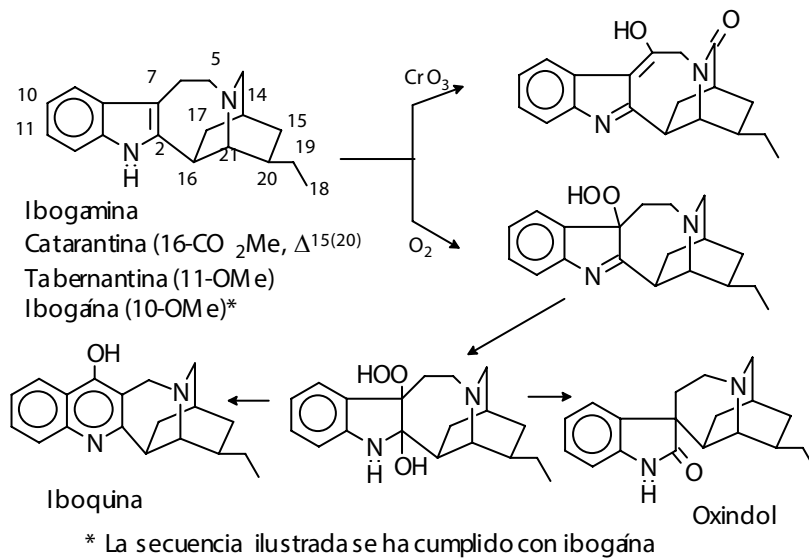
El último, como en el caso de ellipticina y olivacina, no presenta la secuencia del fragmento indolamínico correspondiente. Ello puede originarse por la pérdida del anillo superior (C-5 y C-6) de las estructuras como condylocarpina, en una reacción análoga a la degradación que sufre el sulfato de N-metildihidroestricnina con sodamida. Recientemente uleine se aisló de *Plumeria lancifolia* (Apocynáceas) utilizada como febrífugo y purgante*.

5.17.2.2. Alcaloides indólicos con el precursor Tipo II

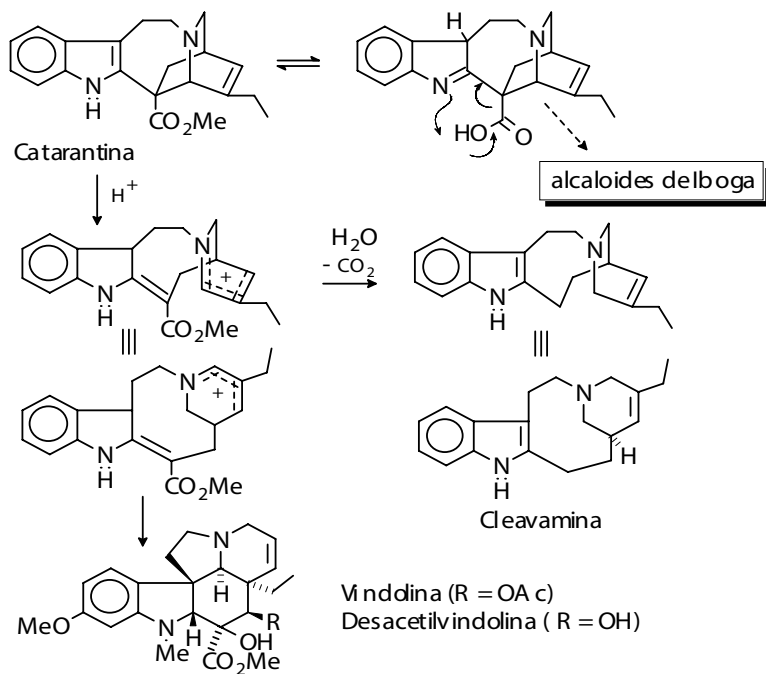
Son conocidos como alcaloides del tipo iboga, el primer representante fue aislado de la planta africana *Tabernanthe iboga* (Apocynáceas), un arbusto del África Ecuatorial Francesa usado para combatir el hambre y el sueño. Estos alcaloides, a diferencia del tipo corynanté, se oxidan muy fácilmente, sufren degradación y dan derivados de 4-hidroxiquinolina y oxindoles. El proceso se ilustra en la transformación de ibogamina a iboquina, en la cual el sistema indólico se convierte en quinolínico, por tanto el aislamiento de alcaloides análogos a iboquina y de oxindoles no puede usarse como criterio inequívoco de su presencia natural.

*O.O. Franca, R.T. Brown y C.A. M. Santos, "Uleine and demethoxyaspidospermin from the bark of *Plumeria lancifolia*" *Fitoterapia*, 71, 208, 2000.

Alcaloides



La diferencia entre los esqueletos de catarantoy de iboga es la presencia del grupo carbometoxi en C-16, de modo que la catarantina se transforma en Δ¹⁵⁽²⁰⁾-ibogamina, por descarboxilación.



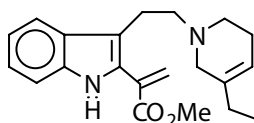
El reordenamiento en medio ácido de la catarantina origina secocompuestos como cleavamina y desacetilvindolina, que estructuralmente pertenecen al grupo con precursor Tipo III. El dímero del derivado de cleavamina y de vindolina se conoce como vincalécoblastina (VLB) que junto con catarantina y vincamina (un alcaloide con el precursor Tipo III) son los constituyentes principales de Vinca rosea (Apocynáceas) y han encontrado gran utilidad en el tratamiento del cáncer linfático.

5.17.2.3. Alcaloides indólicos con el precursor Tipo III

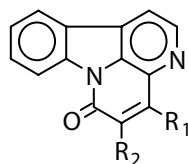
Son aquellos del grupo de la aspidospermina (el N-b es común a un anillo de cinco miembros a uno de seis, o sistemas análogos en los cuales el enlace C-3, C-7 no está formado) y de la eburnamina (el N-b: nitrógeno indólico, conformados anillos de seis miembros). Se conocen los enantiómeros D y L y los racematos.

En el cuadro 5-7 se ilustran las diferentes estructuras. En este grupo de alcaloides el carbometoxi en C-16 puede o no estar presente. En el esqueleto de la eburnamina C-16 se une al nitrógeno indólico, mientras que en aspidospermina C-16 se une a C-2.

Son típicos de Apocynáceas, particularmente, son abundantes en el género *Aspidosperma*. Pueden encontrarse varias modificaciones entre ellas, seco-derivados como en secodina. Dentro de este grupo pueden considerarse las cantin-6-onas (véase bases de harmala, sección 5.17.1.1) pues de hecho, eburnamina se degrada a estas últimas.



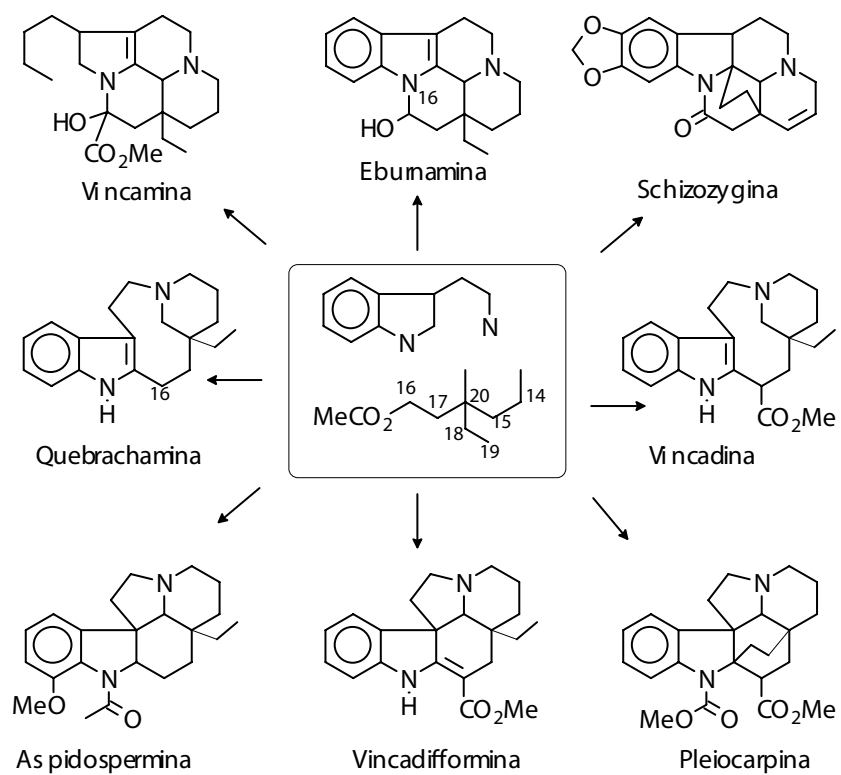
Secodina



Cantin-6-onas

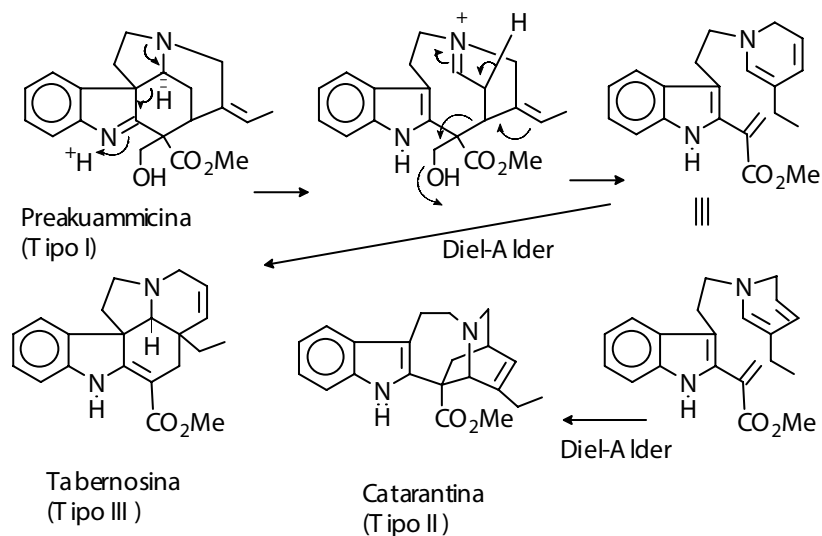
$R_1, R_2 = H, OH, OMe, SMe, Salquilo$

Cuadro 5.7. Triptaminasisoprenoideasdel tipo III.



5.17.3. Reordenamientos de los núcleos indólicos

Los reordenamientos de estas estructuras no solamente originan otros alcaloides dentro del mismo grupo sino también aquellos de otros grupos. A manera de ilustración se muestra la transformación de preakummicina (Tipo I) a catarantina (Tipo II) y a tabersonina (Tipo III), a través de reacciones de Diels-Alder.

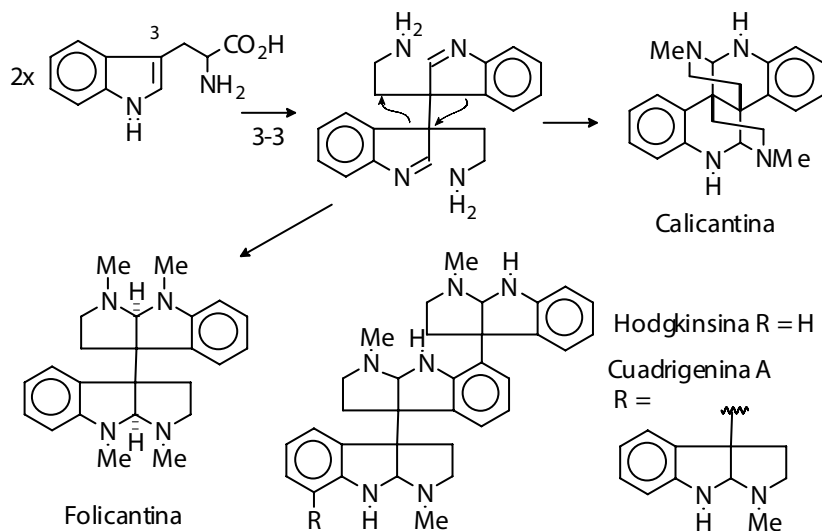


5.17.4. Alcaloides bis-indólicos

Un grupo relativamente nuevo de alcaloides es el llamado "bis-indólicos" o "diméricos". Podemos clasificarlo en dos grandes subgrupos: aquél cuyas unidades se repiten y aquél de bases pertenecientes a diferentes tipos estructurales. En estos alcaloides no necesariamente las dos unidades monoméricas que los conforman se unen de manera simétrica, ni presentan los mismos sustituyentes. Es más, existen polímeros superiores que se incluyen dentro de este grupo. A continuación se indican algunos ejemplos. Es evidente que cuando se trata de estructuras con esqueletos mixtos es posible clasificarlas dentro de más de un grupo.

a. Calicantina y análogos. Se encuentran en la familia Calycantháceas. Deben considerarse como verdaderos dimeros. Aunque la calicantina no presenta el esqueleto indólico, es derivado biogénicamente de él. Folicantina sí presenta el núcleo indólico y de este grupo hay varios representantes que difieren en la estereoquímica de la unión de los anillos y de las unidades monoméricas entre sí. Existen también trímeros: hodgkinsina, tetrámeros: cuadrigeninay aún pentámeros, como el análogo aislado de *Psychotria beccainoide*

Alcaloides

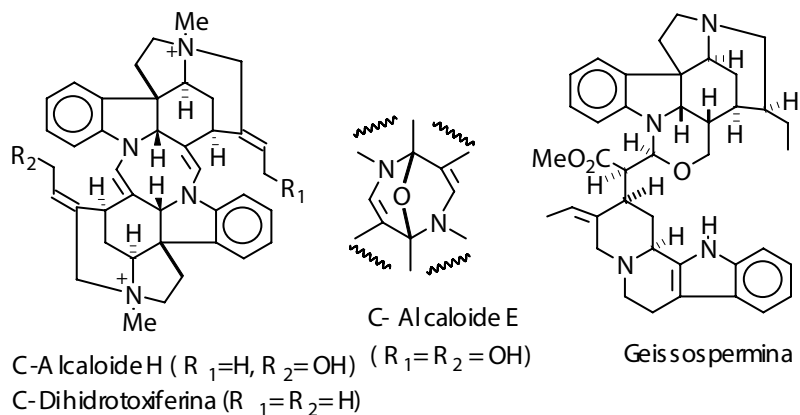


b. Alcaloides con la unidad akuammicina . Se aíslan de las especies suramericanas del género *Strychnos* . Entre éstos se encuentran los alcaloides de "calabash-curare" y son verdaderos dímeros (C-toxiferina, C-alcaloide H). Hay unas 15 bases de este tipo y se las agrupa de acuerdo a los sustituyentes R_1 y R_2 .

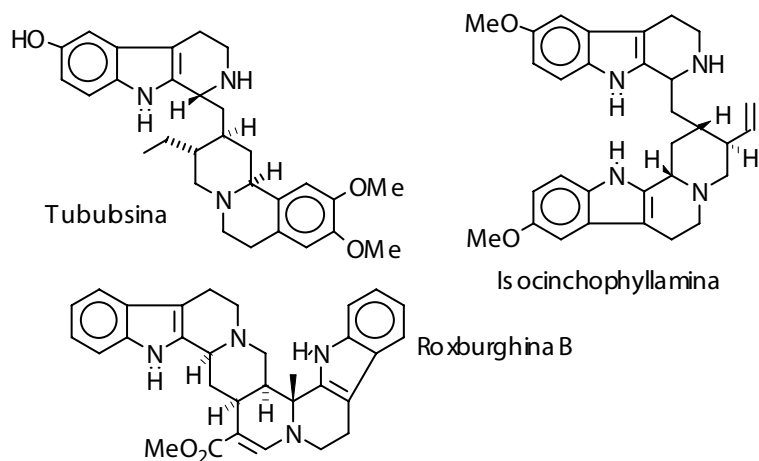
El anillo central puede sufrir modificaciones: hidrogenaciones, nuevos enlaces C-C, C-O y otros, además de interconversiones y reordenamientos. El prefijo C indica que se aislaron de calabash-curare.

La actividad paralizante de estos alcaloides es mayor que la de cualquier agente bloqueador neuromuscular conocido. Uno de los más potentes es el "C-alcaloide E", su actividad es 100 veces mayor que la de tubocurarina, pero no altera la presión sanguínea ni tampoco presenta otros efectos colaterales por lo que puede ser usado como anestésico.

Otro alcaloide dimérico con una unidad de akuammicina lo constituye la geissospermina, siendo el otro monómero una unidad de corynantheína.



c. Alcaloides con unidades de harmano. Una unidad de harmano se encuentra en tubulosina aislada de *Pogonopus tubulosus* (Rubiáceas), la otra mitad es protoemetina. La isocinchophyllamina, aislada de *Cinchona ledgeriana* y la roxburghina B aislada de *Uncaria gambir* (Rubiáceas), tienen una unidad de corynanté, por lo que pudiera incluirse dentro del grupo, ver abajo. Se ilustran los tres prototipos.



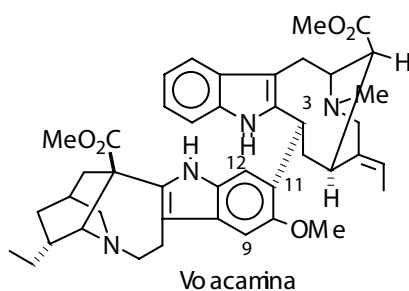
d. Alcaloides con unidades de catarantina. Este grupo es numeroso en representantes y son típicos de la familia Apocynáceas. Dependiendo de

Alcaloides

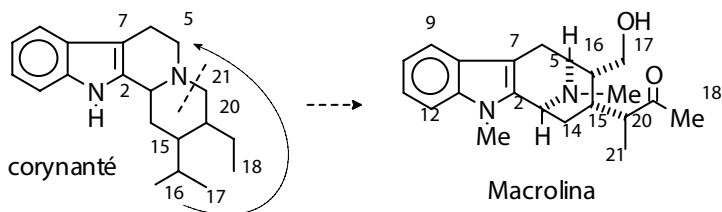
la segunda unidad se encuentran.

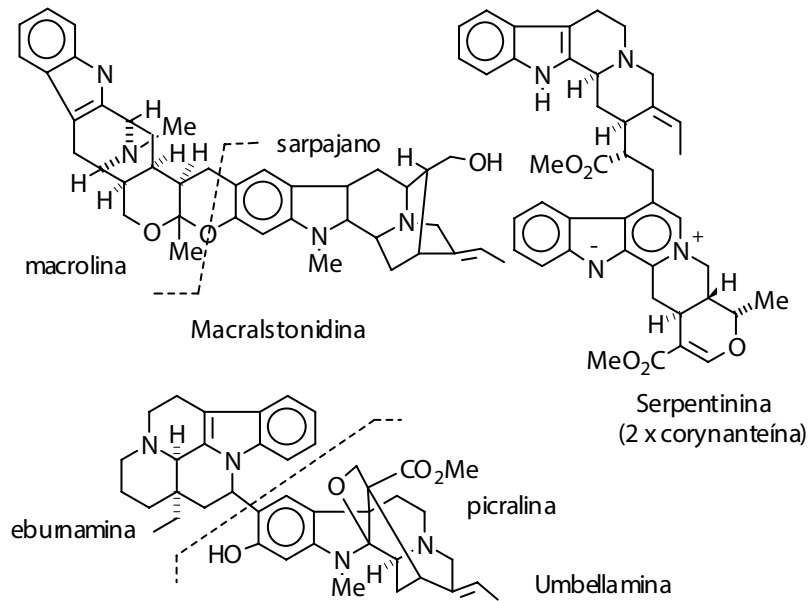
d-1. Con el núcleo sarpajano: voacamina, es el prototipo. La unidad vobasina (seco-sarpajano) se une generalmente por C-3, y el núcleo cataranto por C-9, C-11 ó C-12.

d-2. Con el núcleo vindolina de los cuales vincalécoblastina (página 448) es el principal; la unidad de catarantina está representada por 16,21-secoatarantina (ver fórmulas en sección 5.17.2.2).

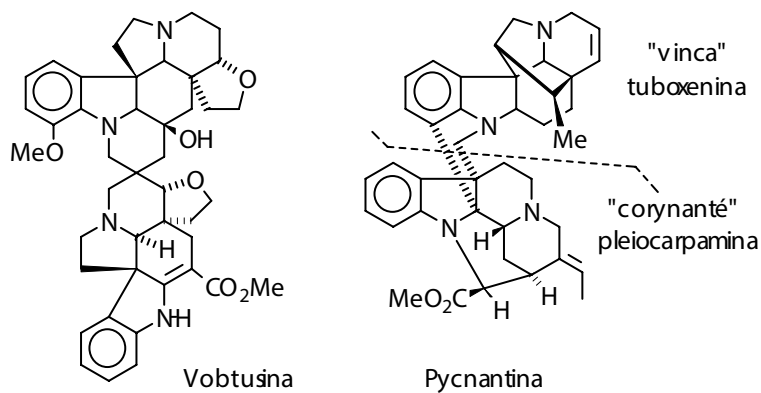


e. Alcaloides con la unidad de corynanté. La unidad de corynanté y sus derivados provenientes de nuevas ciclaciones (véase seco-derivados de alcaloides Tipo I, sección 5.17.2.1.) está presente en serpentinina, una base amarilla asilada de *Rauwolfia serpentina* con dos unidades de corynantéina, en pycnantina formado por una unidad de tuboxenina, con esqueleto de los alcaloides de vinca, y una de pleiocarpamina. Umbellamina presenta una unidad de picralina y una de eburnamina. Los alcaloides diméricos típicos del género *Alstonia* (Apocynácea) (malcrastonidina) contienen unidades de sarpagina y macrolina. En esta última se origina de la rotura N-C-21 y reciclación C-16-C-5.





Las dimerizaciones ocurren en muchos otros esqueletos por ejemplo, los de vinca, tal es el caso de vobtusina, aislado de Apocynáceas, derivado de unidades de vincadifformina.



El origen de los alcaloides bis-indólicos no está claro; el hecho de que muchos de estos dímeros pueden sintetizarse in vitro bajo condiciones

suaves, puede sugerir que se trata de artificios. No existen estudios inequívocos que determinen su bioformación en las especies de las cuales son aislados.

5.18. Alcaloides terpenoidales y esteroidales

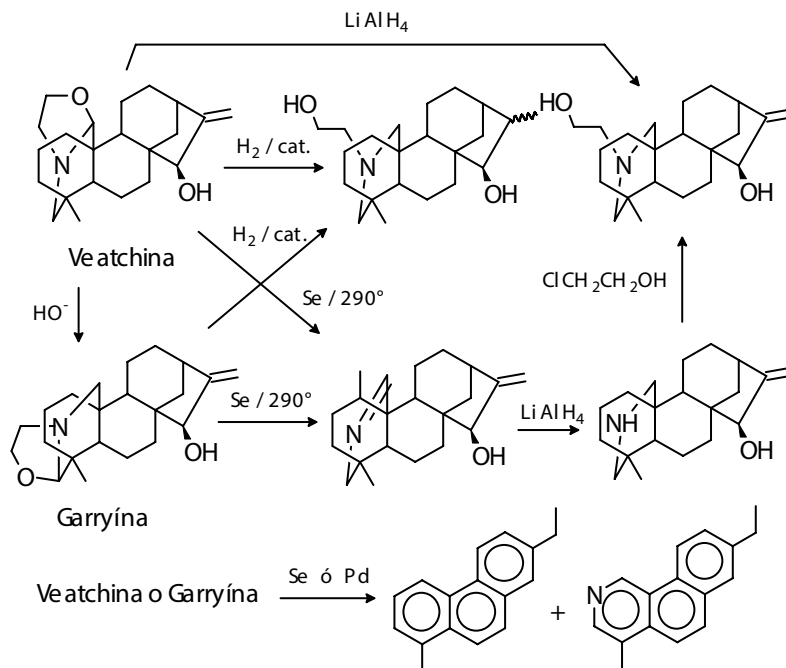
Las bases orgánicas que en su esqueleto poseen unidades estructurales de isopreno se las puede clasificar como alcaloides terpenoidales y esteroidales. Su génesis es fundamentalmente aquella de los esqueletos terpenoidales y no será considerada aquí. Los alcaloides con fragmentos monoterpénicos están incluidos en los alcaloides indólicos. Lo más distintivo del presente grupo son las unidades diterpénicas y triterpénicas y el nitrógeno aparece como un sustituyente. Las unidades terpénicas presentan un número menor de átomos de carbono. Entre los diterpénicos tenemos los alcaloides de atisina (C_{20}) y los de aconito (C_{19}); los triterpénicos poseen un número variable de átomos de carbono (entre 20 y 30) dependiendo de la magnitud de la degradación que ha sufrido el esqueleto carbonado. Se los conoce como alcaloides esteroidales

5.18.1. Alcaloides diterpénicos

Se los encuentran en las especies del género *Aconitum*, *Delphinium* (ambas Ranunculáceas) y *Garrya* (Garryáceas); menos frecuentemente en especies de las familias Compuestas y Rosáceas. Sus estructuras complejas pueden relacionarse a los esqueletos de kaurano, atisano, aconano y heteroatisano (véase Sección 4.9).

5.18.1.1. Alcaloides C_{20}

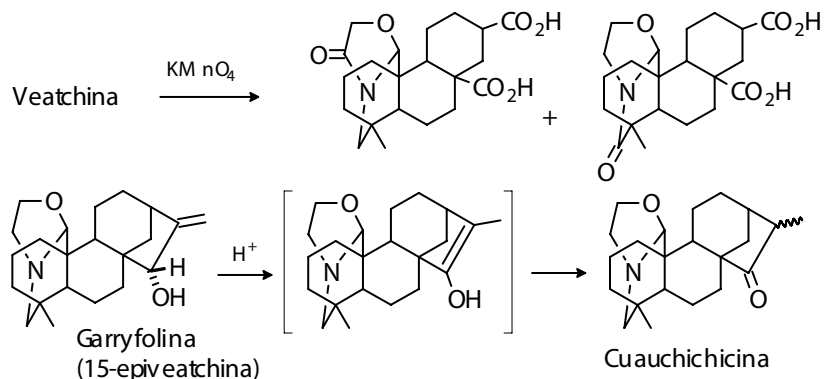
Como representantes típicos se tiene la veatchina con el esqueleto del kaurano y atisina con el de atisano, conforman un grupo de alcaloides poco tóxicos que se caracterizan por generar derivados de fenantreno a través de deshidrogenación. Algunos poseen una función éster (acetato, benzoato) y son generalmente poco oxigenados. Ejemplo de estas bases ocurren en el género *Garrya*, una trepadora usada en decoraciones de exteriores.



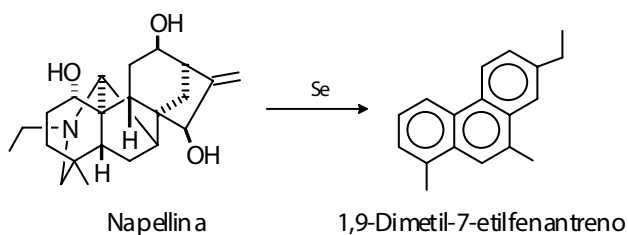
En el esqueleto de kaurano de estos alcaloides se presenta un anillo heterocíclico diferente para cada uno pero que involucra los mismos carbonos del kaurano y por supuesto, que al abrirse originan los mismos compuestos. Este comportamiento se observa por ejemplo, en la hidrogenólisis y en la deshidrogenación con Se o Pd , que producen derivados de 7-etilfenantreno, lo que indica que el anillo adicional (anillo D) debe unirse en C-13 y en cualquier otro carbono trisustituido. Dependiendo de la fragmentación inicial en el anillo A o en el anillo heterocíclico se pueden tener dos compuestos aromáticos uno de los cuales contiene el nitrógeno.

También, tanto la veatchina como la garryína dan lugar a un mismo compuesto cuando son independientemente sometidas a pirólisis controlada. A sí, se genera una imina en el anillo A la cual es reducida a la amina secundaria. La oxidación con permanganato de veatchina produce las lactamas indicadas además de la rotura del anillo D con formación del diácido. La isomerización de veatchina a garryína tiene lugar en medio alcalino, mientras que en medio ácido se isomeriza el anillo D.

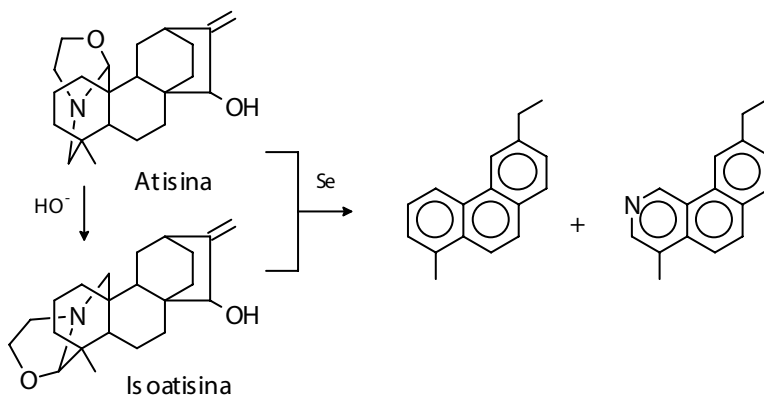
Alcaloides



Napellina (de *Aconitum napellus*), alcaloide usado en inyecciones subcutáneas para el tratamiento de desintoxicación de morfinómanos, presenta un anillo no heterocíclico adicional sobre el mismo esqueleto. La unión con el carbono 7 se determinó con base al producto de deshidrogenación: 1,9-dimetil-7-etilfenantreno (compare con los resultados obtenidos con veatchina y garryína).

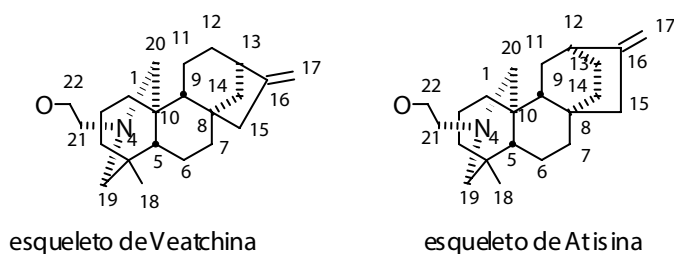


El esqueleto de atisano está presente en otro grupo de alcaloides de C_{20} que se aíslan de *Aconitum heterophyllum*. Atisina y su análogo isatisina, guardan la misma relación que veatchina y garryína; las secuencias de los átomos que conforman sus esqueletos fueron determinadas a partir de los productos fenantrénicos obtenidos cuando los alcaloides se fundieron con Se, indicando la unión del anillo D en C-12 en lugar de C-13. El anillo A sufre los mismos reordenamientos que en el caso de los alcaloides de Garrya al igual que la isomerización del anillo E, en su comportamiento frente a oxidantes y la hidrogenólisis y tratamiento con base.

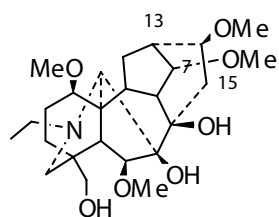


Estereoquímica

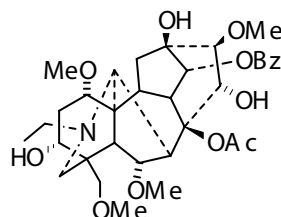
Los alcaloides de los tipos kaurano y atisano, presentan la estereoquímica antipodala la esteroidal en la unión de los anillos, es decir, todos tienen la fusión *trans*, pero contraria a la de los esteroides. El anillo nitrogenado E, está debajo del plano y el anillo D, arriba del plano. Son derivados del ent-labdano. La numeración de los carbonos y la estereoquímica se ilustra para los esqueletos de veatchina y atisina. La misma estereoquímica presenta el núcleo de atisano y hetisano: ajaconina y hetisina.



Las hetisinas que tienen un puente entre C-20 y C-14, son en general altamente oxigenadas (OH, C=O, OCOR) como se observa en glandulina y sus análogos aislados de *Consolida glandulosa*.

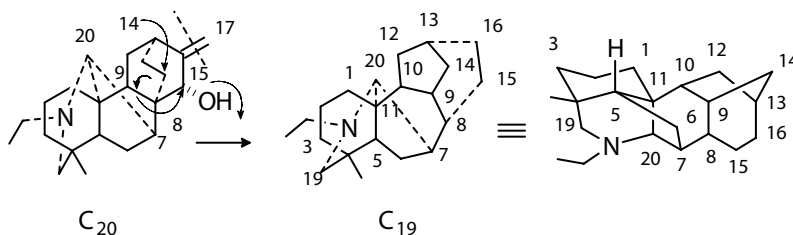


Lycoctonina



Acontina

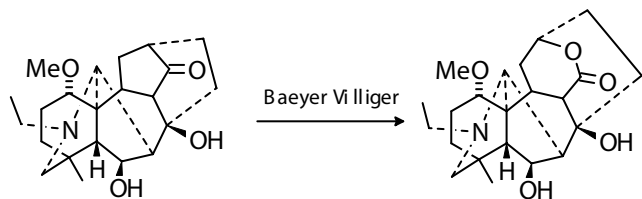
El fragmento de alcalina se origina aparentemente del esqueleto de C_{20} por pérdida de C-17 y reordenamiento del tipo Wagner-Meerwein con migración del enlace C-8, C-9 a C-15, lo cual es facilitado probablemente por la presencia de un OH ecuatorial en esta posición. La numeración indicada en la figura corresponde a los esqueletos de C_{19} .



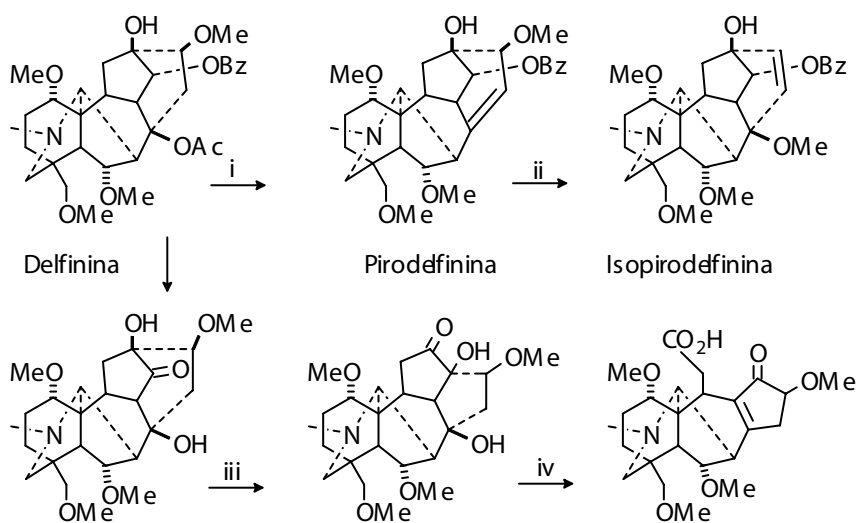
Debido al alto número de sitios oxigenados, la mayoría de las reacciones involucran el rompimiento del esqueleto y reordenamiento del mismo. En los derivados de la pirólisis con doble enlace en cabeza de puente y sin OH en C-15, ocurre el llamado reordenamiento iso-piö. Los rearrreglos acilónicos también son frecuentes. En la figura se ilustran algunas reacciones de la delfinina. Nótese que delfinina tiene un grupo N-metilo y no N-etilo como es la característica general de estos alcaloides. La oxidación Baeyer-Villiger de 14-oxo-derivados, produce un nuevo núcleo conocido como de "heteroatisano"*.

*Atta-ur Rahman y M.T. Choudhary "Diterpenoids and steroidal alkaloids". Nat. Prod. Rep. 16, 619, 1999.

Alcaloides



Heteratisina (heteroatisanos)

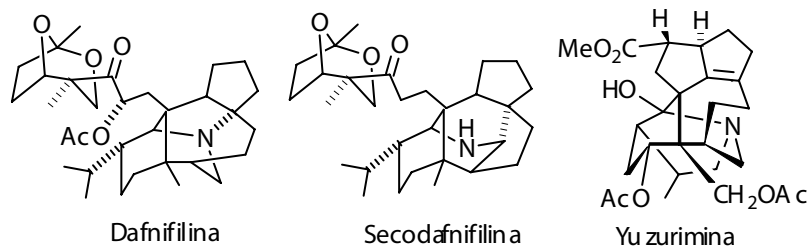


i) pirólisis; ii) H^+ (reordenamiento "iso-piro"); iii) alúmina o base (reordenamiento aciloínico); iv) HIO_4 .

5.18.1.3. Alcaloides de *Daphniphyllum*

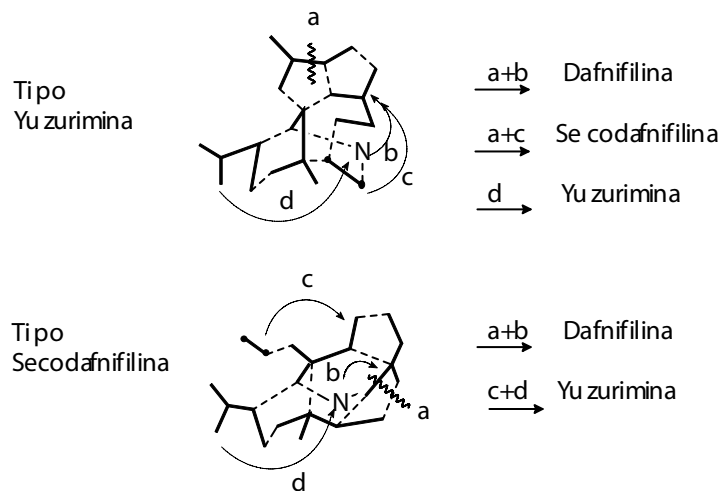
Las especies del género *Daphniphyllum* (*D. macropodium*, arbusto muy popular en Japón, utilizado en decocciones como vermífugo y en el tratamiento del asma) son productoras de un grupo de alcaloides que presentan un sistema policíclico bastante complejo. Sus estructuras, incluyendo la estereoquímica absoluta, han sido determinadas con la ayuda de cristalografía de rayos X. Entre estos alcaloides hay tres esqueletos N-heterocíclicos princi

pales representados por dafnifilina, secodafnifilina y yuzurimina. Los dos primeros generalmente presentan también un heterociclo adicional (cetal, lactona, etc.) formando parte de la cadena lateral.



Para la biogénesis de estos alcaloides se plantea la intervención de cuatro unidades de isopreno, una de acetato, pero no hay experimentos concluyentes que permitan sugerir inequívocamente la secuencia de los eventos. De hecho, se han propuesto estructuras como yuzurimina precursoras de dafnifilina y secodafnifilina, mientras que otros autores prefieren este último esqueleto como precursor de los dos primeros, más complejos.

Posibles vías de formación de alcaloides de *Daphniphyllum**



(*) El modo de unión de las unidades de isopreno se indica punteado

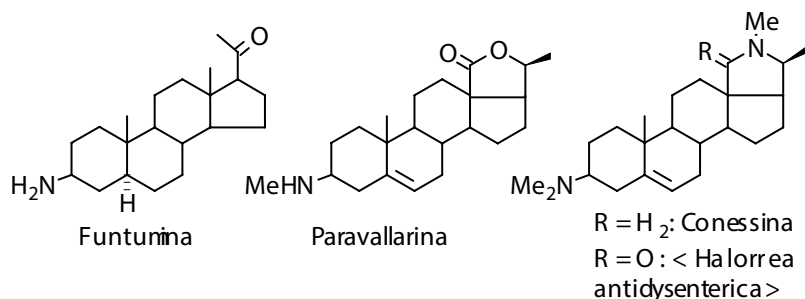
5.18.2. Alcaloides esteroidales

Se los encuentra distribuidos tanto en animales como en vegetales y se pueden clasificar en tres grandes grupos:

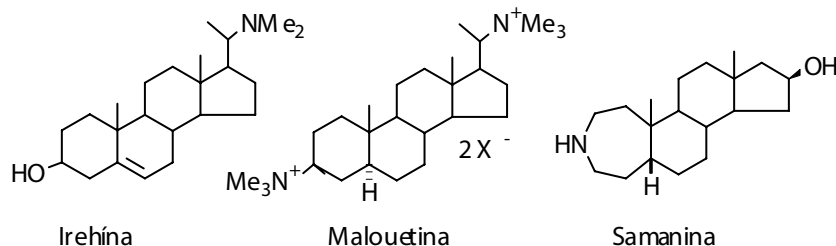
1. Aminopregnanos
2. 20-Piperidilpregnanos.
3. Alcaloides esteroidales con esqueleto anómalo.

5.18.2.1. Aminopregnanos

Se encuentran generalmente en Apocynáceas, pueden poseer la cadena lateral abierta constituida por los carbonos 20 y 21, como en funtumina, o formando una lactona con C-18 como en paravallarina. El nitrógeno puede localizarse en C-3 y/o en C-20 y también presentan diferente grado de sustitución, incluyendo dos nitrógenos cuaternarios como en el caso de malouetina. Estos alcaloides son característicos del género *Pachysandra* (Buxáceas), algunos 20-aminopregnanos se encuentran en el género *Buxus* (Buxáceas), como irehina. El nitrógeno puede también formar parte de una lactama, amida o amina cíclica. Un ejemplo de ello son las bases de 3-aminoconanina, como conessina y sus derivados. En este caso el metilo 18 está unido al nitrógeno en C-20; se conocen como alcaloides de halorrea y funtumia. De Halorrea antidisenterica, cuyas semillas son usadas en la India para tratar disentería amibiana, se ha aislado 3β-dimetilaminoconen-5-enin-18-ona*. Algunos contienen el nitrógeno incorporado al anillo A formando esqueletos derivados de A-aza-esteroides, como los alcaloides de salamandra: samanina, con el esqueleto de A-homoandrostano.

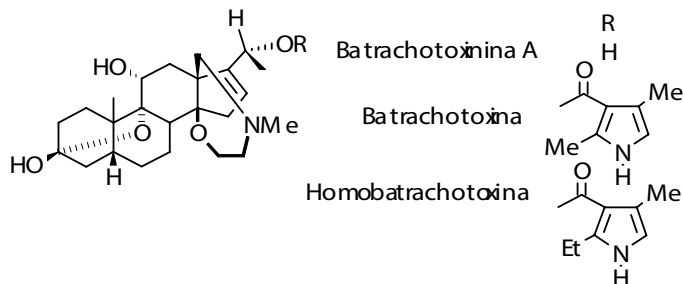


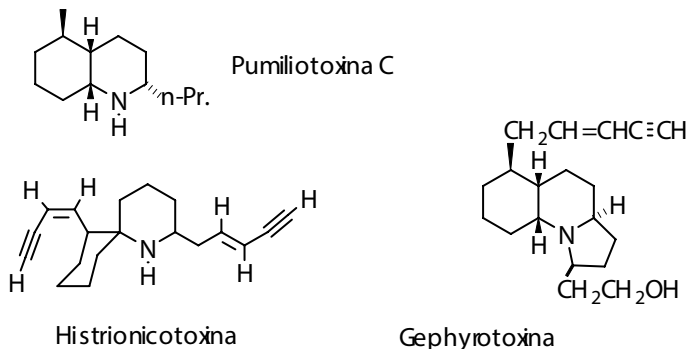
*A. Kumar, M. Ali, " A new steroidal alkaloid from the seeds of Halorrea antidisenterica" *Fitoterapia*, 71, 101, 2000.



Entre los alcaloides de origen animal se encuentran las batrachotoxinas, que se aíslan de la piel de ciertos sapos tropicales (de la familia Dendrobatidae) de colores muy brillantes y que habitan en las selvas lluviosas de Venezuela y el oeste de Colombia. La secreción de una piel es suficiente para envenenar por lo menos 20 dardos y esto es usado por los indios desde épocas precolombinas. Aparentemente su actividad farmacológica es una derivación del sistema químico de defensa. La piel almacena los alcaloides en glándulas subcutáneas y éstos son secretados al ser atacado el sapo. Su concentración en la piel es muy baja, sólo unos pocos microgramos se aislaron de 330 pieles, sin embargo son de las sustancias más tóxicas conocidas por el hombre. Se estima que la dosis letal para un adulto es algo menos que 200 microgramos.

Se conocen tres tipos: batrachotoxina, batrachotoxina-A y homobatrachotoxina que varían en sus sustituyentes sobre C-20, según se ilustra. Las batrachotoxinas sólo se encuentran en el género *Phyllobates*, mientras que la secreción cutánea del género *Dendrobates* contiene aminas más sencillas: pumiliotoxinas, histrionicotoxinas y gephyrotoxinas relativamente no tóxicas. Las histrionicotoxinas tienen efectos citotóxicos sobre el corazón, producen arritmia y paro cardíaco y son considerados compuestos de primordial importancia en los estudios mecanísticos de los canales de sodio.





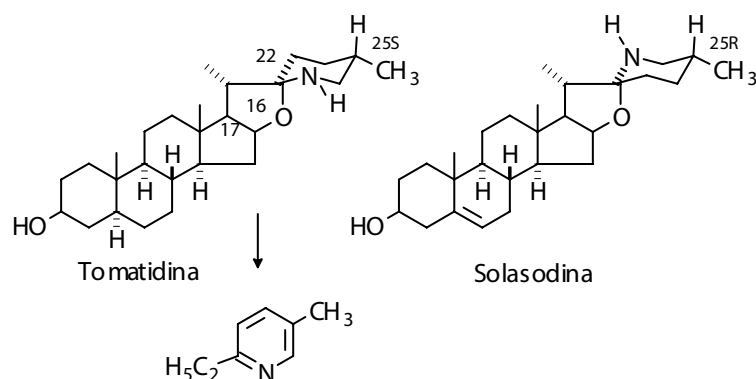
5.18.2.2. 20-Piperidilpregnanos

Son típicos de Solanáceas y se encuentran como glicósidos en *Solanum tuberosum* (papa), *S. lycopersicum* (tomate) y otras especies relacionadas. Su esqueleto presenta 27 átomos de carbono, un átomo de nitrógeno y al menos un grupo OH en C-3 el cual está enlazado a un resto de azúcar. El primer glicósido de este grupo fue aislado en 1921 de *S. nigrum* y es conocido como solanina; es un tríosido cuyos monosacáridos son: glucosa, galactosa y ramosa y la aglicona tiene el esqueleto solanidano (ver más adelante). La misma triosa se encuentran en otros glicósidos esteroidales. Las agliconas se pueden agrupar en grandes grupos: aquellas que tienen al menos seis anillos condensados espirosolanos, soladinanos y solanocapsinas y aquellas con cinco anillos: piperidilpregnanos sencillos.

a. Espirosolanos

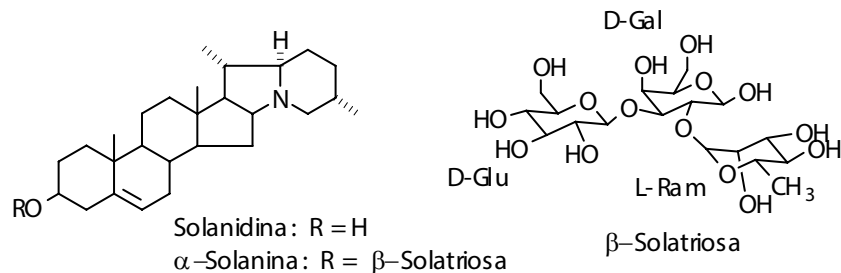
La tomatidina y la solasodina son los alcaloides más frecuentes que poseen este esqueleto y se conocen como "bases tomatininas". El glicósido (en C-3) de la primera es la tomatina, se encuentra en gran número de tomate silvestres. El azúcar está formado por una molécula de glucosa, una de xilosa y una de galactosa. La solasodina presenta dos glicósidos importantes: la solamargina y la solasonina, además de otros especialmente de prominencia microbiana y son los causantes de la toxicidad de los brotes de las papas germinadas. Las reacciones características involucran la rotura del sistema espiro, bajo condiciones ácidas. La deshidrogenación produce 2-etil-5-metilpiridina, que se origina a partir del sistema espirano. Esta estructura sugiere a un esteroide

probablemente colesterol, como precursor biogénico de estos alcaloides. La estereoquímica del esqueleto de ciclopentanoperhidrofenantreno es la misma de las hormonas naturales (trans-anti-trans-anti-trans) siendo los sustituyentes en C-16 y C-17 cis β . En los alcaloides mencionados la configuración en C-22 y C-25 es contraria, solasodina (25R:22- α -N-espirosolano) y tomatidina (25S:22- β -N-espirosolano).

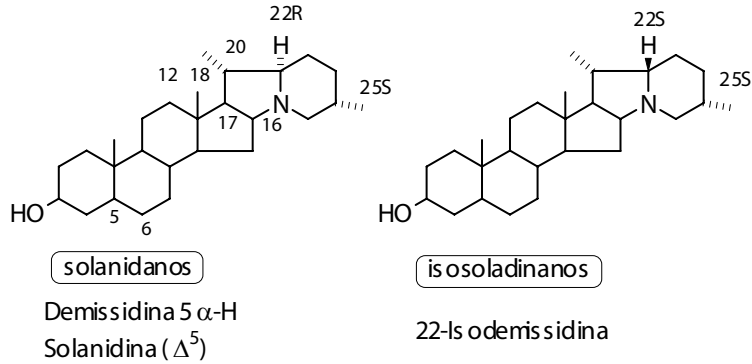


b. Solanidanos

El glicoalcaloide principal solanina, produce por hidrólisis ácida la solanidina. Sin contar los centros asimétricos en el sistema cíclico, los de C-16 y C-17 (β, β) y el metilo orientado a en C-20; se pueden presentar 8 estereoisómeros posibles que involucran el nitrógeno, C-22 y C-25. Dos estereoisómeros se encuentran en la naturaleza: los 22R:N5:25S, que se denominan solanidanos, mientras que los 22S:NR:25S son llamados isosolanidanos. Los primeros son más abundantes y pertenecen a ellos la solanidina, demissidina, leptinidina, rubijervina e isorubijervina. Los tres últimos tienen un doble enlace entre 5 y 6 y un hidroxilo adicional en C-23, C-12 y C-18, respectivamente. Se los aísla de los géneros Solanum y Veratrum.

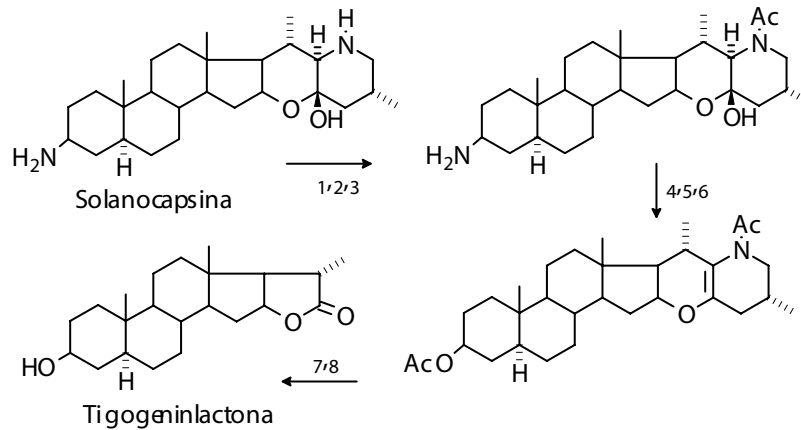


Alcaloides



c. Solanocapsinas

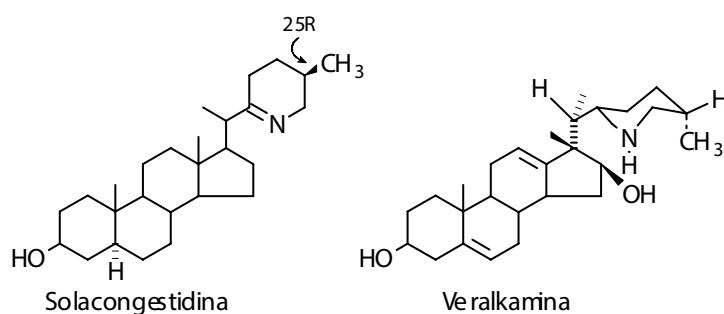
Tienen estructura análoga a los espirosolanos de los cuales pueden considerarse derivados. Presentan un grupo amino en C-3. La unión hemiacetal se descompone con relativa facilidad por oxidación del N-acetil-derivado. La lactona que se forma: tigogenin lactona, también se obtiene por oxidación de la tomatidina diacetilada.



- 1) salicilaldehído; 2) acetilación; 3) H₂O / H⁺; 4) HNO₂;
5) acetilación; 6) AcOH / calor; 7) CrO₃; 8) H₂O / H⁺

d. 20-Piperidilpregnanos sencillos

Son menos frecuentes y presentan la piperidina como sustituyente en la cadena lateral del pregnano. Ejemplo de este tipo son solacongestidina y veralkamina, aislados de *Solanum congestiflorum* y *Veratrum album*, respectivamente. Biogénicamente pueden considerarse como intermediarios de otro alcaloides más complejos provenientes de los mismos géneros.



5.18.2.3. Alcaloides esteroideos con esqueletos anormales

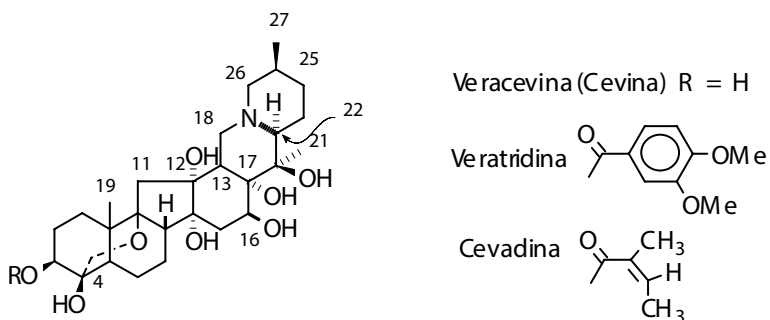
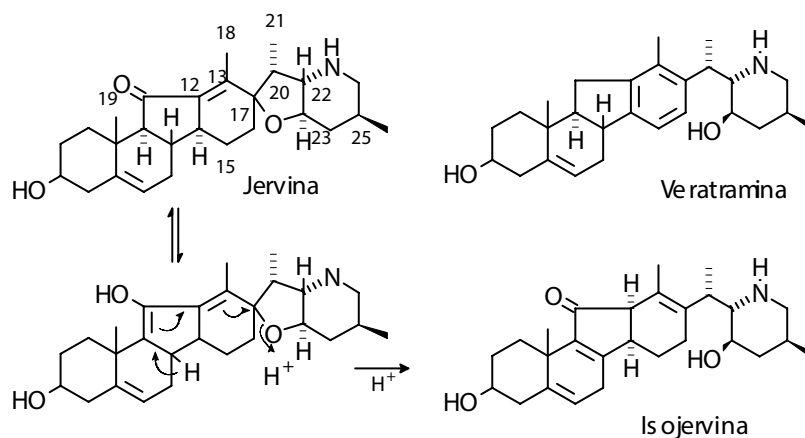
Los alcaloides esteroideos con alteraciones en el esqueleto se clasifican en a) C-nor-D-homo esteroideos o alcaloides de *Veratrum* y b) *Buxus*, que contienen un anillo ciclopropanico y sus derivados.

a. Alcaloides de *Veratrum*

Poseen la estructura general indicada abajo, con 27 átomos de carbono y varias funciones oxigenadas. De acuerdo a la estructura del resto nitrogenado se tienen dos clases: jerveratrum y ceveratrum. Algunos poseen actividad cardiotónica muy marcada. El grupo de jerveratrum presenta un éter entre C-17 y C-23; en caso de no tenerlo, un grupo OH está en C-23, como en la jervina o veratramina, respectivamente. Los alcaloides de ceveratrum tienen el esqueleto de cevano que cicla C-18 y N, son altamente oxigenados y como los de jerveratrum, se presentan naturalmente como glicósidos. En el anillo poseen casi siempre una unión hemiacetal entre C-4 y C-9, orientada alfa, un triol 16, 17, 20, dos vic-dioles: C-3, C-4 y C-12, C-14. Las posiciones oxigenadas

Alcaloides

varían. Los alcaloides con el esqueleto de cevano tienen mayor actividad hipotensora que aquellos de veratrum. La veratridina es cevina esterificada en C-3 con y la cevadina lo está con ácido angélico. La veratridina ejerce una fuerte acción despolarizante de la membrana de nervios y músculos.

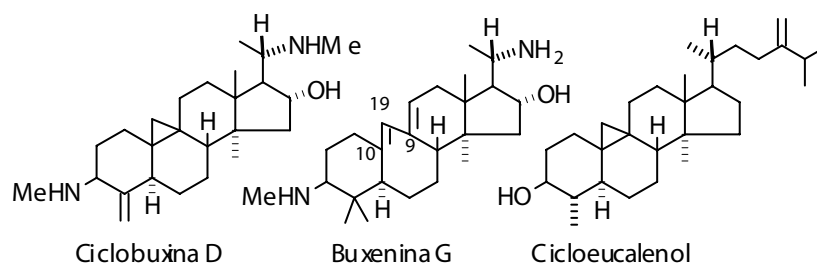


b. Alcaloides de Buxus

Las plantas del género *Buxus*, arbustos ornamentales muy frecuentes en Europa, se han usado en medicina folklórica desde la antigua Grecia hasta la época moderna en el tratamiento de rabia, dermatitis, sífilis y tuberculosis. En ciertas especies de este género se encuentran alcaloides esteroidales, cuya investigación química comenzó en 1830 pero las estructuras

fueron masivamente elucidadas entre los años 1960 y 1970. El amplio espectro de su actividad farmacológica sugiere su posible provecho en preparaciones farmacéuticas.

Estructuralmente tienen la característica de poseer un anillo ciclopropano entre C-9, C-10 y C-19; están relacionados al triterpenoide cicloeucalenol, aislado de eucaliptos. Tienen la fusión normal de los anillos esteroidales y presentando grupos amino, en C-3 y en C-20. Hay algunos casos de abeo(10-19)-pregnanos como lo es la buxenina G. (Para la nomenclatura, ver Capítulo 4).



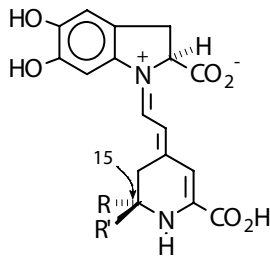
5.19. Betalainas

Es el término genérico de una clase de compuestos nitrogenados que son los pigmentos responsables de la coloración amarilla y rojo violeta de flores, frutos y hojas de las plantas de una diez familias perteneciente al orden Centrospermales. Como unidad estructural común presentan un grupo 2,6-dicarboxidihidropiridina que forma parte del cromóforo, el cual está a su vez, unido a un fragmento 2-carboxindólico y se conocen como betacianinas, (pigmentos de la remolacha: *Beta vulgaris*) o unido a cualquier otra amina y se les identifica en este caso como betaxantinas (pigmentos amarillos de las flores de cactus).

Se presentan en general como O-glicósidos de los OH fenólicos conocidos con el nombre genérico de betaínas. La unidad de azúcar está conformada por monosacáridos (generalmente glucosa y ácido glucorónico) o los

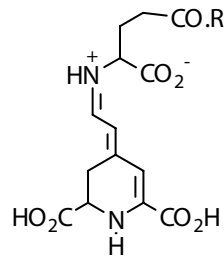
Alcaloides

disacáridos correspondientes. La estereoquímica de C-15 define las series normal (α -CO₂H, β -H) e iso (β -CO₂H, α -H).



Betacianinas

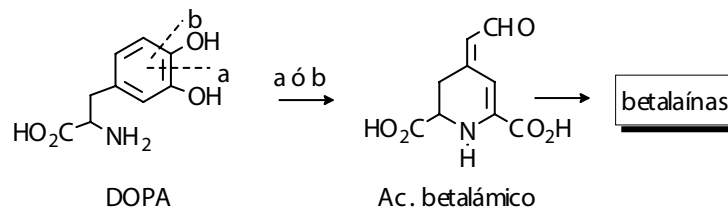
R = CO₂H, R' = H, Betanidina
R = H, R' = CO₂H, Isobetanidina



Betaxantinas

R = OH Vu lgaxantina I
R = NH₂ Vu lgaxantina II

La porción de dihidropiridina se origina de DOPA a través del rompimiento en el enlace entre los grupos hidroxilo (o adyacente a uno de ellos) del anillo aromático lo cual produce el ácido betalámico. Este ácido ha sido aislado de especies productoras de betalaínas como *Portulaca grandiflora*.



Las betalaínas son solubles en agua y están en la planta como zwitteriones, además de presentarse como O-glicósidos (la porción de azúcar se une a un OH fenólico), se encuentran ambos estereoisómeros en C-15, al punto que muchas investigaciones estructurales se efectuaron con la mezcla de epímeros.

La función de las betalaínas en las plantas no está clara, sin embargo, cuando se presentan en las flores y frutos puede interpretarse que juegan un papel de atracción de pájaros e insectos que actúan como agentes de

polinización y dispersores de semillas. La presencia en otras partes de la planta, por ejemplo en las hojas de otoño, raíces o tallos, es más difícil de explicar. Pero la formación de betalainas en tejidos dañados, normalmente no pigmentados, implica posiblemente un mecanismo de defensa contra infecciones virales; de hecho, se sabe que estos pigmentos inhiben la reproducción viral*.

*M. Piatelli, "Betalains" en "Chemistry and biochemistry of plant pigments", Vol 1, T.W. Goodwin, Ed. Academic Press, 1976.

CAPÍTULO 6

ANTIBIÓTICOS

6.1. Introducción

Se definen como antibióticos aquellos metabolitos secundarios producidos por ciertos microorganismos que son capaces de inhibir el crecimiento de otros microorganismos, o aún de destruirlos. El descubrimiento accidental de la penicilina, el primer antibiótico aislado de *Penicillium notatum* por el bacteriólogo inglés Alexander Fleming (1929), no llamó la atención hasta el año 1940, cuando se abrió el camino para la búsqueda de nuevos antibióticos; tres años más tarde se estableció la producción industrial de la penicilina. Desde entonces se ha descubierto más de 5.000 antibióticos diferentes de los cuales aproximadamente sólo el 1 % está en uso práctico en las áreas de medicina, agricultura y veterinaria.

Las propiedades que debe poseer un antibiótico ideal pueden resumirse como:

1. Solubilidad en agua
2. No debe ser tóxico
3. Ser activo en el medio común de las enfermedades infecciosas
4. Amplio espectro antibacteriano
5. Activo a pH neutro
6. No proteico
7. No debe inducir resistencia en los microorganismos infecciosos.

Antibióticos

Los modos de acción de los antibióticos son muy diferentes, en líneas generales actúan como:

- * Inhibidores de la síntesis proteica
- * Inhibidores de la síntesis de ácidos nucleicos
- * Inhibidores de la síntesis de mucopéptidos
- * Alterando las estructuras de las membranas lipoproteicas
- * Como desacopladores energéticos.

Es obvio pensar que para cada acción existen causas diferentes. Por ejemplo, para suprimir la función genética deben interferir la traducción del mensaje genético y por lo tanto inhibir la síntesis de las proteínas, bien sea por terminación prematura de la cadena proteica (por ejemplo para el caso de puromicina que se adiciona al término de la cadena deteniendo su crecimiento) o inhibiendo la iniciación de la cadena peptídica, tal es el caso de estreptomicina, ampliamente utilizada como droga antitubercular

Las sustancias antimicrobiales que inhiben la síntesis de ácidos nucleicos son utilizadas generalmente en la quimioterapia del cáncer. Su uso clínico tiene bastante riesgo por cuanto, en general, estos antibióticos no distinguen entre la síntesis de los ácidos nucleicos del huésped del organismo infectante. La inhibición puede ocurrir a nivel de biosíntesis de los nucleótidos o bien intervenir en la etapa de polimerización en la cual pueden actuar como:

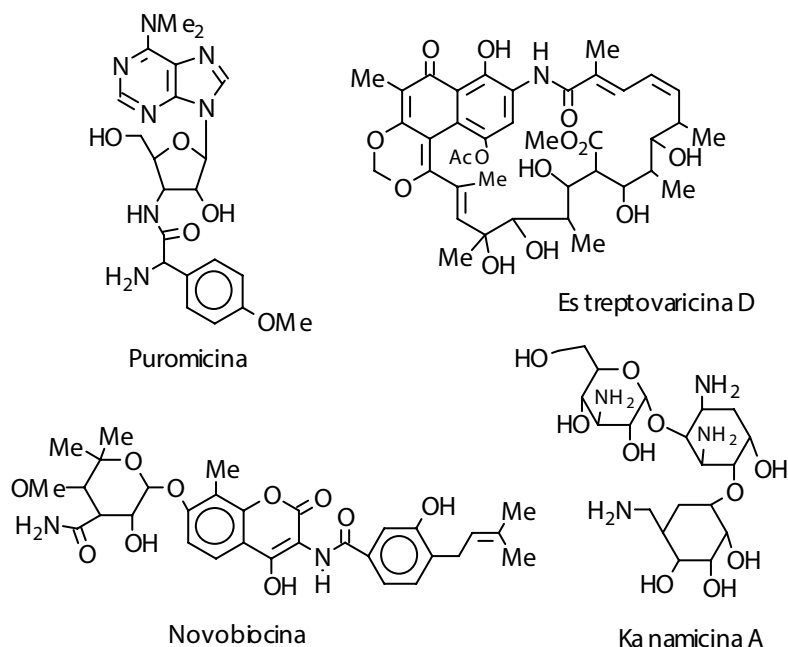
- * Compuestos intercalantes, el carácter planar de estas moléculas permite la intercalación entre pares de bases de la doble hélice, produciendo cambios físicos en el DNA. En este grupo se encuentra la actinomicina.
- * Compuestos que forman enlaces covalentes entre las hebras de la doble hélice, este es el caso de la mitomicina.
- * Inhibidores de RNA-polimerasa, por ejemplo las rifamicinas y estreptovaricina, que sólo actúan sobre los ácidos nucleicos microbiales pero no tienen efectos sobre los correspondientes de los mamíferos.
- * Inhibidores de DNA-polimerasa, como lo es la novobiocina.

El desarrollo de drogas antimicrobiales revolucionó la medicina, sin embargo la evolución natural de los organismos vivos provoca la adaptación de los microorganismos a condiciones adversas con el desarrollo concurrente de la resistencia a las drogas. Ehrlich en 1907, fue el primero en citar con detalles, este fenómeno que constituye el problema siempre presente en el tra-

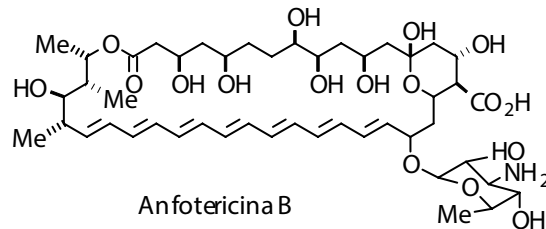
Fitoquímica Orgánica

tamiento exitoso de una enfermedad infecciosa. Hay varios mecanismos bioquímicos por los cuales una droga puede inactivarse y ellos son provocados por el organismo que crea resistencia. Los más frecuentes son:

1. Conversión de una droga activa a un derivado inactivo. Este es el caso de las penicilinas y cefalosporinas que son inactivadas por las bacterias productoras de β -lactamasa, enzima que destruye el anillo lactámico. También es el caso de la inactivación que sufre el cloramfenicol por acetilación, o la inactivación enzimática de la estreptomicina y de la kanamicina, por adenilación.
2. Aumento en la producción de la enzima que inhibe la droga. Este efecto se ha encontrado en ensayos de laboratorio, pero no se conoce la magnitud del mismo en casos clínicos.
3. Aumento en la producción de un metabolito que antagoniza la droga.
4. Producción de sistemas enzimáticos alternos por parte del microorganismo que le permitan escapar de la acción de la droga.
5. Pérdida de la permeabilidad celular a la droga, por ejemplo asociada con los cambios específicos en el componente polisacárido de la membrana celular, o bien por suprimirse parcial o totalmente el transporte. Este es el caso de la resistencia que desarrolla *S. aureus* a la tetraciclina.



Antibióticos



La naturaleza química de los antibióticos es muy diversa, pero se los puede agrupar de acuerdo a sus semejanzas estructurales que implican similitud en su bioformación. De esta manera pueden clasificarse como:

- * Derivados de aminoácidos (antibióticos peptídicos, penicilinas, cefalosporinas).
- * Derivados de acetato o propionato (tetraciclinas, macrólidos, polienos, etc).
- * Derivados de azúcares simples (estreptomina, neomicina, etc).
- * Otros derivados, como terpenoides, alcaloides, o compuestos de origen mixto (son los menos abundantes)

6.2. Derivados de aminoácidos

6.2.1. Antibióticos polipéptidos

Hay un cierto número de compuestos antibióticos formados por aminoácidos y son producidos por especies de los géneros *Bacillus* y *Streptomyces* generalmente poseen una estructura cíclica y son más pequeños que las proteínas (PM 600 - 2000 Da). Contienen ambos enantiómeros D y L de los mismos aminoácidos que se encuentran en las proteínas además de aminoácidos no esenciales (o modificados por hidroxilación, metilación y otros procesos más complejos), ácidos grasos, nucleósidos, aminos y aminoazúcares.

Nota. El origen de los D-aminoácidos ha sido objeto de numerosos trabajos. Se supone que los L-aminoácidos son sus precursores. El hecho que éstos sean bien incorporados en la cadena del polipéptido, mientras que sus epímeros D no lo hacen, puede ser resultado de la impermeabilidad de la mem-

branacelular a los D-aminoácidos. La manera de epimerización de C-2 de un aminoácido no está clara todavía, puesto que el nitrógeno del L-aminoácido en el C α se preserva durante la inversión, por ello se descarta la transaminación como posible ruta (L-aminoácido \rightleftharpoons cetoácido \rightleftharpoons D-aminoácido).

Los L-aminoácidos que poseen más de un centro asimétrico y se incorporan al polipéptido en su forma D, lo hacen invirtiendo solamente la configuración en el carbono α (como diastereoisómero y no como su enantiómero).

La biosíntesis de polipéptidos no se altera por inhibidores de la síntesis de proteínas, que se forman con mayor reproductibilidad que aquellos. En algunos casos, como en la gramicidina y tyrocidina hay evidencias experimentales que la construcción de la cadena de aminoácidos tiene lugar en el sistema enzimático soluble. A continuación se resume las diferencias generales biogénicas más importantes entre polipéptidos y proteínas.

Polipéptidos	Proteínas
20 a.a. naturales + 50 L y D no naturales	20 a.a. naturales solo L
sistema de multienzimas baja especificidad	RNA alta especificidad.

La mayoría de los antibióticos polipéptidos son antibacteriales, pocos son antivirales o antineoplásicos, producen efectos secundarios que limitan su empleo.

Se han hecho varios intentos para agruparlos, así se conocen como:

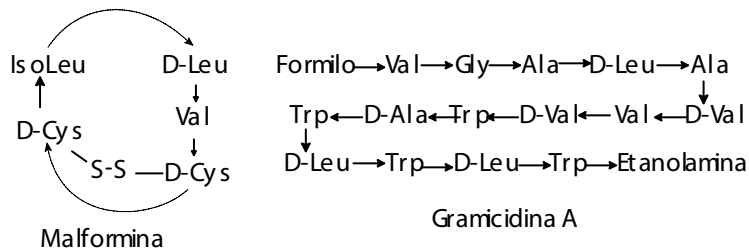
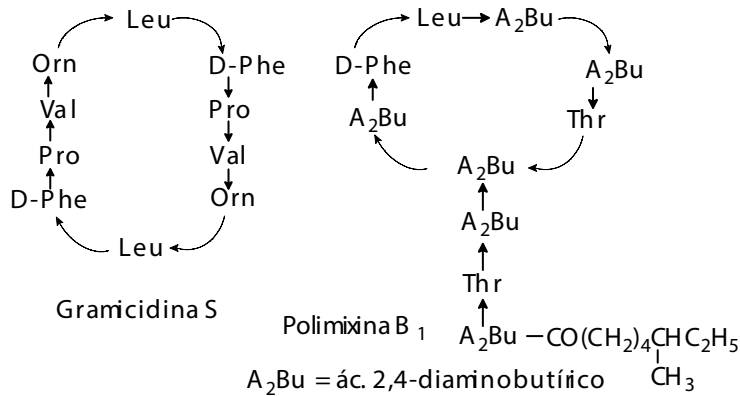
a) Homeoméricos, aquellos que sólo contienen aminoácidos, tal es el caso de gramicidina-S y malformina.

b) Heteroméricos, los que contienen además otros fragmentos que pueden tener estructuras cíclicas como polimixina B-1 (utilizada sistemáticamente en las infecciones de *Pseudomonas* sp.), o lineales como gramicidina-A, para la cual se sospecha una estructura helicoidal que actúa como ligando en el transporte de iones potasio a través de la membrana celular (ver más adelante: antibióticos ionóforos).

Las estructuras cíclicas pueden o no presentar ramificaciones (ej. polimixina B-1) con restos de aminoácidos a veces unidos a otras moléculas

Antibióticos

La bacitracina, un antibiótico de amplio uso, producido por *Bacillus licheniformis*, pertenece a las estructuras cíclicas ramificadas con un resto peptídico enlazado a una unidad de tiazolidina

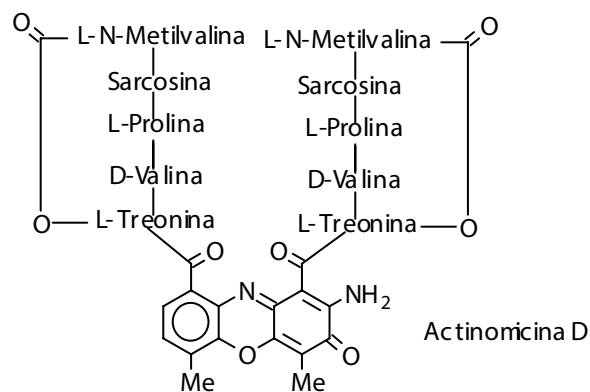


Nota: Las flechas indican la dirección de las uniones peptídicas o ésteres: -CO-NH- ó -CO-O-. Sólo se indica la configuración D para los aminoácidos correspondientes, los restantes tienen configuración L

La importancia de las estructuras cíclicas para la actividad de esta clase de antibióticos quedó demostrada al comparar la actividad de la gramicidina-S con la de un compuesto acíclico con la misma secuencia de aminoácidos. Este último sólo presenta una ligera acción antibacteriana. Una posible explicación es que la estructura cíclica permite mantener en solución, la conformación y geometría molecular. La conformación está determinada por las asociaciones lipofílicas entre las cadenas no polares de los aminoácidos y por los puentes de hidrógeno de la unión peptídica, todo lo cual conforma una topografía particular.

Fitoquímica Orgánica

Si las estructuras sólo poseen uniones peptídicas se conocen como homodéticas y heterodéticas si además presentan otras (ésteres, éteres, tioéteres etc); como peptidolactonas si sólo se encuentra presente un enlace lactónico y ciclodepsipéptidos cuando se alternan las uniones peptídicas y éster en forma regular. Un ejemplo de peptidolactona es la actinomicina-D. La actividad antimicrobial primaria de estos antibióticos es ejercida a través de su unión con la membrana plasmática, alterando así su funcionamiento.



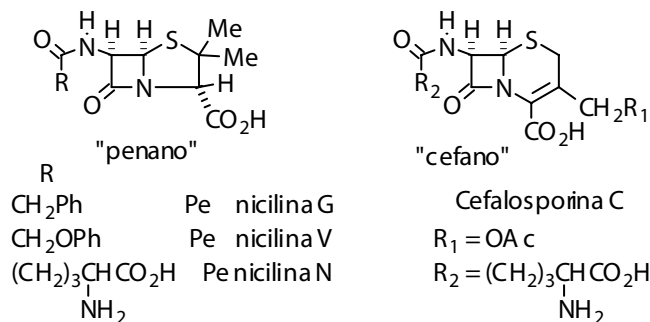
En actinomicina es posible seleccionar la composición de la cadena peptídica mediante la incubación, con diferentes especies de *Streptomyces* en medios enriquecidos con los aminoácidos que se desea incorporar.

6.2.2. Penicilinas y cefalosporinas

Entre los primeros compuestos reconocidos como antibióticos están aquellos derivados del esqueleto del penano: las penicilinas y del cefano: las cefalosporinas. Ambos contienen una unidad de β -lactama unida a un anillo de tiazolidina y dihidrotiazina, respectivamente. Las naturales contienen un fragmento de D- α -aminoadipato en el nitrógeno de la cadena lateral, el cual es cis al azufre del segundo anillo.

El modo de acción de las penicilinas es la de prevenir la formación de la pared celular de las bacterias, específicamente de la red glicopeptídica.

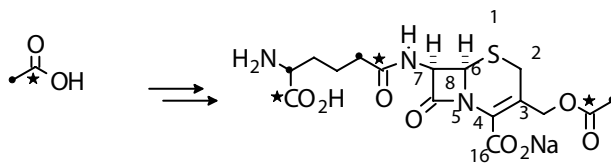
Antibióticos



Las modificaciones sintéticas incluyen cambios en la cadena lateral sobre el nitrógeno y en el alcohol primario de las cefalosporinas. Así se cuenta con la penicilina-V de uso oral y la penicilina-G, la más popular por su bajo costo y estabilidad. Las variedades sintéticas se prepararon con el fin de hacerlas resistentes a la β-lactamasa que descompone el anillo lactámico inactivando el antibiótico.

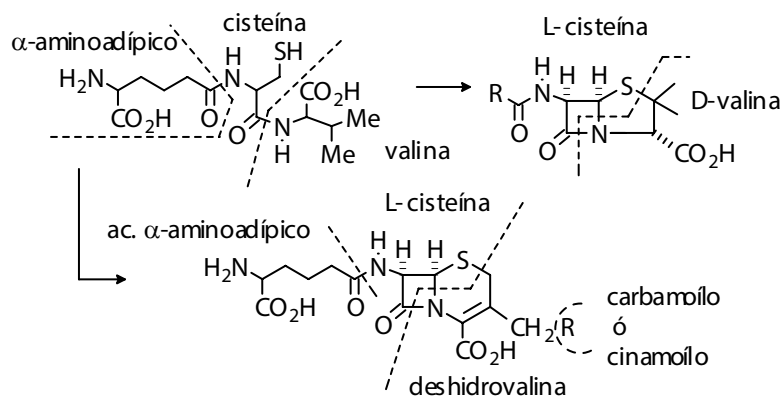
Aunque se han establecido los precursores biogénicos con relativa facilidad, el mecanismo por el cual éstos se incorporan en el sistema anular es bastante complejo y no está del todo claro. Para ello se empleó la técnica de RMN de ¹³C y mutantes de *Penicillium chrysogenum* (para penicilinas) y de *Cephalosporium acremonium* (para cefalosporinas).

El patrón de marcaje isotópico encontrado en el esqueleto de cefalosporina (ver figura) al incubar acetato doblemente marcado, indican que C-8 y C-16 no provienen de acetato. La L-cisteína, como precursor de ambos antibióticos, se incorpora intacta.

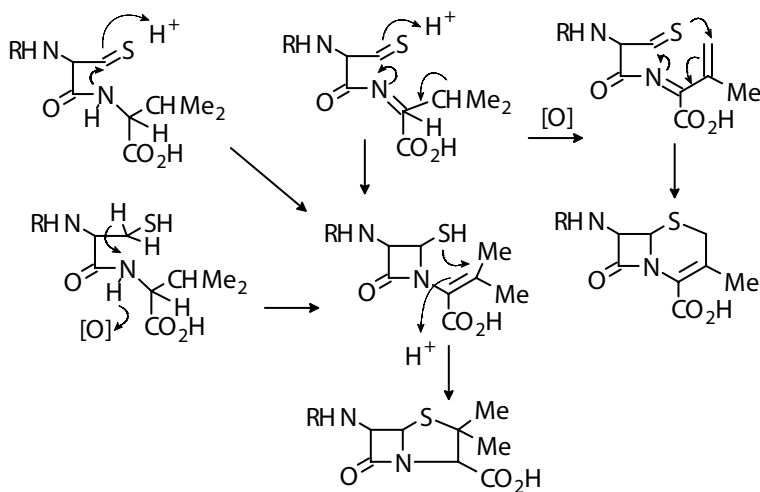


El suministro de precursores particulares a los cultivos de, por ejemplo, *P. chrysogenum* induce la formación de penicilinas con cadenas laterales particulares, y éste es el método de producción industrial de tales antibióticos. Las estructuras cíclicas de las penicilinas pueden ser divididas sobre el papel, en residuos que contienen ácido acético monosustituido, L-cisteína, y D-valina,

mientras que aquellas de las cefalosporinas incluyen residuos de D- α -aminoadípico, L-cisteína, α,β -deshidrovalinay para la cadenalateral, un fragmento carbamoilo o cinamoilo.



Se considera, sin evidencias concluyentes, que el precursor de estos antibióticos es un péptido acíclico (aislado de *P. chrysogenum* y de *C. acremonium*) que contiene tres unidades de aminoácidos. Se han propuesto varios mecanismos para cerrar el anillo lactámico como se ilustra a continuación.

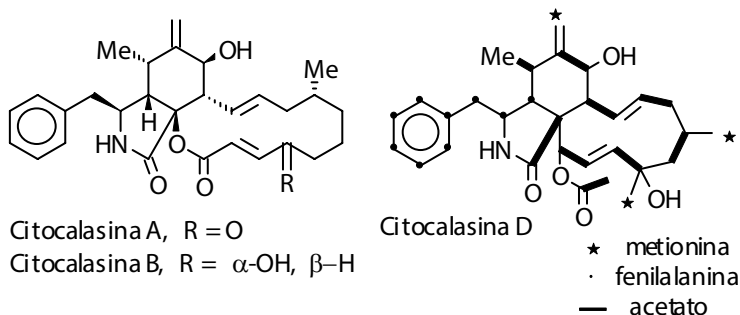


6.3. Derivados de acetato

6.3.1. Citocalasinas

Son policétidos no aromáticos producidos por varios microorganismos (*Phoma* sp. y *Zygosporium masoni*) que se caracterizan por presentar un grupo isoindólico hidrogenado, fusionado con un macrociclo y un sustituyente aromático. Su configuración absoluta es conocida para la mayoría de los representantes de este grupo (unos 22). Actúan inhibiendo la fisión citoplasmática, lo que produce células polinucleares, y suprimen el movimiento celular.

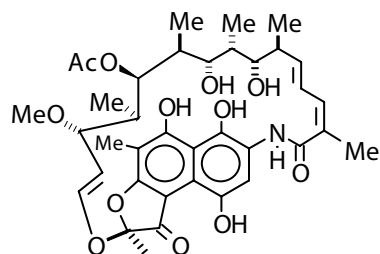
En la biogénesis de las citocalasinas (estudiada tanto con la ayuda de isótopos radiactivos: ^{14}C y T , como estables: ^{13}C y ^{15}N) intervienen además del acetato-malonato, un aminoácido aromático: fenilalanina o triptofano, que conforma una parte del anillo γ -lactámico. Algunos autores los consideran derivados de ácidos grasos saturados por cuanto durante los estudios biosintéticos se ha encontrado la incorporación del ácido mirístico y del ácido palmítico. En el esquema se indican sobre la fórmula de citocalasina-D, sus precursores biogénéticos.



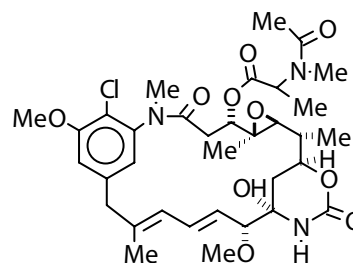
6.3.2. Ansamicinas

Son una clase de antibióticos caracterizados por poseer un puente alifático que une dos posiciones no adyacentes de un núcleo aromático bencénico o naftalénico. Las rifamicinas, con el núcleo naftalénico, son utilizadas en el tratamiento de la tuberculosis, mientras que la maitansina, con el núcleo bencénico (aislada de *Maytenus ovatus*, un vegetal superior) es un agente antitumoral potente. Aunque el origen del puente alifático es

conocido (acetato-malonato), no es así para el fragmento aromático. Las ansamicinas que actúan inhibiendo la dependencia DNA-RNA en la formación de virus y tumores, son principalmente metabolitos de *Streptomyces mediterranei*



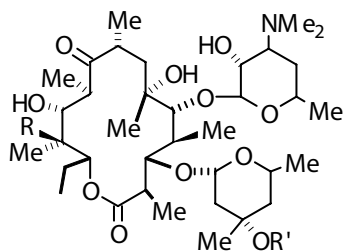
Rifamicina SV



Maitansina

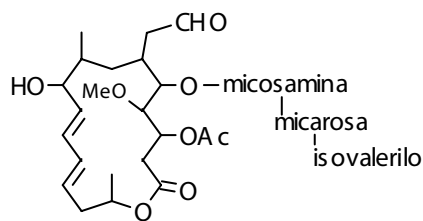
6.3.3. Macrólidos

Son lactonas macrocíclicas y actúan como bloqueadores de t-RNA. El ciclo puede estar conformado por un polieno o ser saturado y presentar grupos hidroxílicos los cuales generalmente forman uniones glicosídicas con diversos azúcares y/o aminoazúcares. Como ejemplo típico tenemos las eritromicinas, metabolitos de *Streptomyces erythreus* y otras especies del mismo género (*frodiae*, *kitasatoensis*, *platensis*, etc). La aglicona, sistema anular proveniente de unidades de acetato, propionato o butirato, se conoce como eritronólido y puede presentar diferentes estados de oxidación. También se encuentran otros macrólidos, por ejemplo la leucomicina, con ciclos mayores (16 miembros).



Eritromicinas

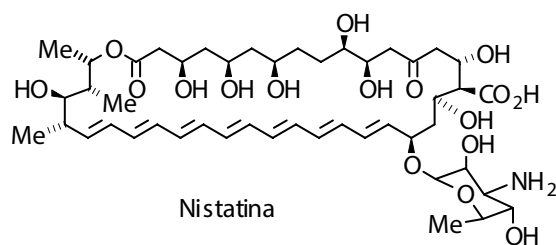
R = H, OH
R' = H, Me



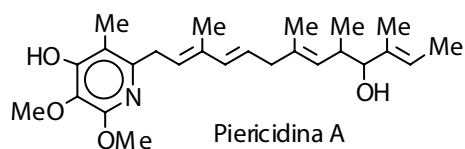
Leucomicina

Antibióticos

La nistatina y anfotericina-B son otros ejemplos de estas estructuras y se les conoce a veces como antibióticos poliénicos. El macrociclo tiene una parte hidrofóbica (conformada por la parte poliénica) y un área hidrofílica. Se usan frecuentemente en medicina como antimicóticos, no son absorbidos por el tracto intestinal por lo cual son suministrados oralmente para el tratamiento de infecciones fúngicas en los intestinos. Los antibióticos poliénicos actúan exclusivamente sobre células que tienen esteroides en su membrana citoplasmática, por lo que son inactivos frente a la mayoría de las bacterias. Se unen específicamente con los esteroides que tienen un β -OH en C-3, como por ejemplo el colesterol, y por ello resultan tóxicos para células animales. La acción de estos compuestos es la de aumentar la permeabilidad de la membrana, lo que provoca la fuga de los componentes citoplasmáticos.



Otro grupo de antibióticos poliénicos lo conforman las piericidinas que presentan un núcleo de piridina totalmente sustituido; son producidas por *Streptomyces mobaraensis* y *S. pactum*, su biosíntesis (vía acetato-malonato) fue estudiada por RMN de ^{13}C . La piericidina-A actúa como insecticida.

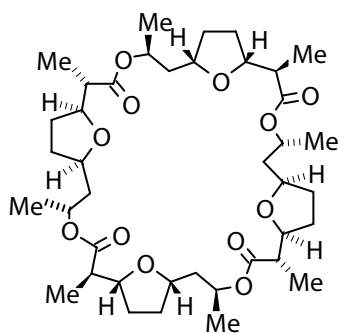


6.3.4. Poliéteres

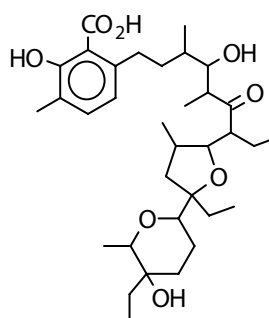
Se encuentran principalmente en las especies del género *Streptomyces* y tienen la propiedad de formar complejos con iones metálicos. Biogénicamente están conformados por unidades de acetato y propionato.

algunos, como X-537-A y A-23187, presentan anillos aromáticos. Monensina (ver página 500), tóxico para humanos, fue el primer ejemplo de esta serie en aislarse y hoy día se usa como suplemento alimenticio para pollos, en la profilaxis de la coccidiosis.

Existe un grupo de poliéteres cíclicos conocidos como macrotetrólidos y de éstos, nonactina es el prototipo (ha sido sintetizada en 1976). Estos son compuestos notables no solamente por su actividad antibacteriana y citostática, sino por su estereoquímica. Nonactina por ejemplo, es ópticamente inactiva aunque posee 16 centros quirales. En esta estructura hay que considerar la simetría molecular; presenta un eje impropio de simetría S_4 .



Nonactina



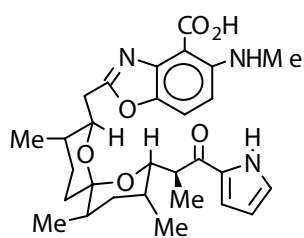
Antibiótico 537-A

Nonactina forma parte de los llamados antibióticos ionofóricos, cuya propiedad común es la de facilitar el paso de cationes inorgánicos (potasio, en este caso) a través de la membrana celular mediante la formación de complejos hidrofóbicos. Son poco específicos pues no distinguen entre membranas de las células invasoras y las del huésped por lo tanto pueden resultar tóxicos. La estructura cíclica permite la formación de complejos donde el metal (potasio) es incorporado en una caja de 8 átomos de oxígeno (de los grupos carbonilo y de los núcleos de tetrahidrofurano), el resto de la molécula conforma un escudo lipofílico.

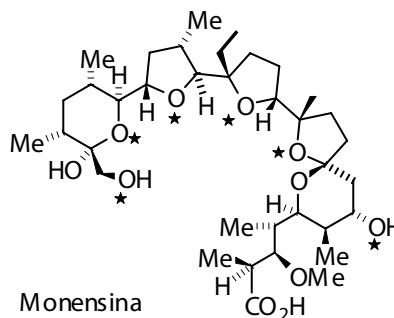
Este tipo de complejos se forman también con compuestos acíclicos por ejemplo en monensina, cuya cadena puede doblarse de manera de acomodar cationes (sodio en este caso), con 6 sitios de coordinación, indicados con asterisco (*) en la fórmula. La presencia de un grupo COOH promueve el

Antibióticos

intercambiocación (protón a través de la membrana sin cambio neto de la carga. Esto lo diferencia de nonactina pues en ésta el complejo metálico lleva la carga positiva del ion K^+ . Existen algunos ionóforos capaces de transportar metales bivalentes. Tal es el caso de A-23187 que forma complejos 2:1 con Ca^{+2} y actúa provocando la liberación progresiva de Mg^{+2} , desacoplando la fosforilación oxidativa al inhibir la acción de la adenosin trifosfatasa en las mitocondrias suspendidas en los medios libres de magnesio.



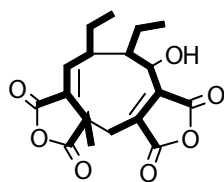
A-23187



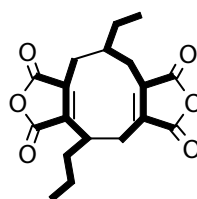
Monensina

6.3.5. Nonáridos

Se caracterizan por tener un anillo central de nueve miembros y contienen dos unidades de anhídrido maleico. Del examen de las estructuras se intuye que existen al menos dos formas diferentes de dimerización las que originan el ácido glaucónico y el ácido byssoclámico. La secuencia de las cadenas se indica en trazos gruesos.

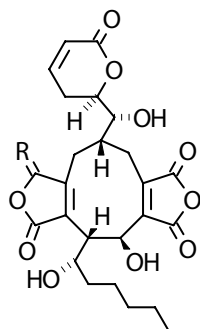


Ac. glaucónico



Ac. byssoclámico

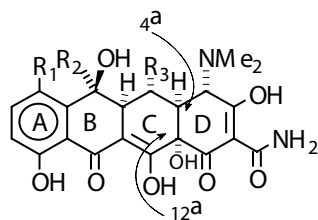
Se ha encontrado al menos ocho estructuras relacionadas a nonáridos y son toxinas generadas por *Penicillium rubrum* de las cuales las más interesantes son las rubratoxinas A y B, responsables de la muerte del ganado y de pollos alimentados con cereales infectados con ese microorganismo.



Ru bratoxina A (R = H, OH)
Ru bratoxina B (R = O)

6.3.6. Tetraciclinas

Son decacétidos aromáticos (ver Capítulo 3). La primera tetraciclina: aureomicina, fue aislada en 1948, de *Streptomyces aureofaciens* y le siguieron otras tres aisladas entre 1952 y 1953. Hay cuatro modificaciones naturales y varias sintéticas. La determinación de las estructuras de aureomicina y terramicina se debe a R.B. Woodward.



	R ₁	R ₂	R ₃
Aureomicina	Cl	Me	H
Terramicina	H	Me	OH
Tetraciclina	H	Me	H
Ledemicina	Cl	H	H

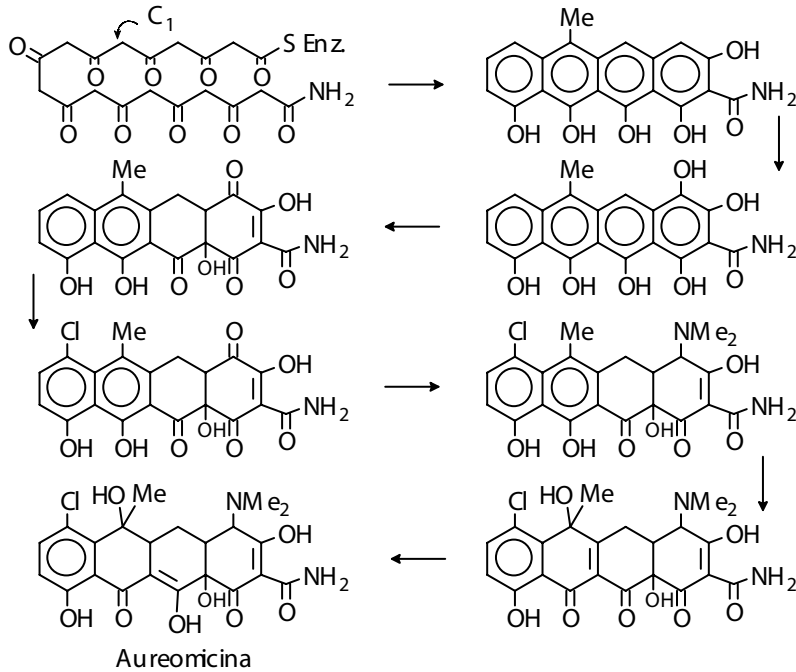
Las tetraciclinas inhiben la síntesis de proteínas impidiendo el enlazamiento del aminoacil-t-RNA al sitio acepto del ribosoma.

Han surgido varias teorías para la biogénesis de estos compuestos. En 1961 Miller y Gatenbeck asignaron el origen de cada carbono y propusieron una secuencia como la indicada en el esquema que sigue, considerando que la introducción del metilo ocurre previo a la ciclación, mientras que la desoxigenación, reducción e introducción del cloro tienen lugar después de haberse formado el sistema anular.

Antibióticos

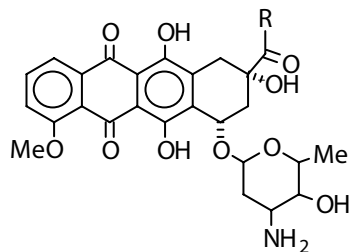
Los requerimientos estructurales para la actividad son un sistema cetónico de los anillos A, B, C y D, un grupo básico en el anillo A y la configuración cis (α para los sustituyentes) en las posiciones 4, 4a, y 12a.

Biosíntesis de tetraciclinas



6.3.7. Antraciclina

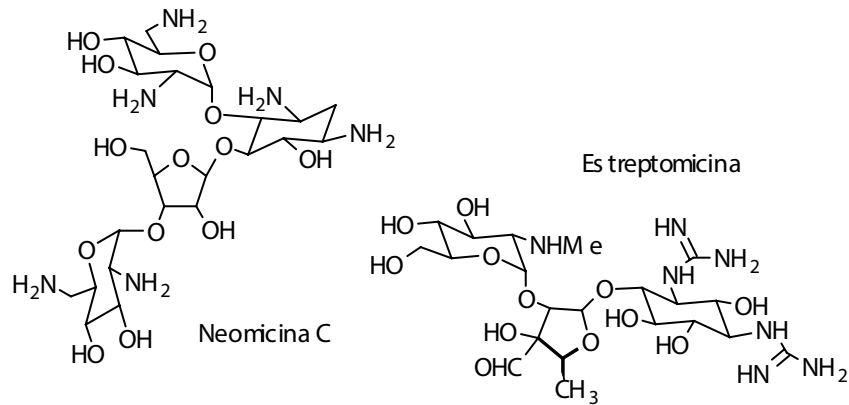
Son glicósidos de un derivado decacétido tetracíclico, sin nitrógeno relacionados a las tetraciclinas. Estos antibióticos parecen tener gran importancia en el tratamiento de leucemia, cáncer mamario y vesical. La adriamicina se usa a nivel clínico.



Daunomicina (R = CH₃)
Adriamicina (R = CH₂OH)

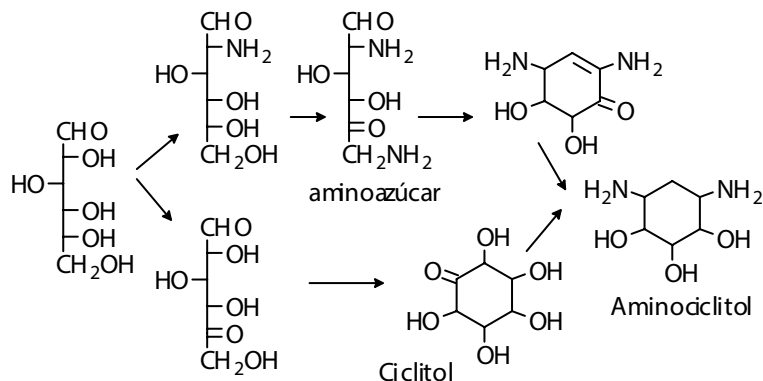
Antibióticos

sordera permanente El problema de ototoxicidades común también en otros antibióticos de esta clase.



Estos antibióticos inhiben la síntesis proteica interfiriendo en la iniciación y elongación de la cadena del polipéptido.

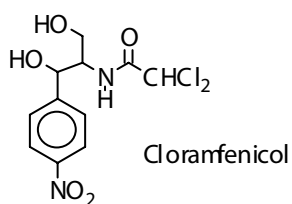
Para la génesis del aminociclitol (anillo deciclohexanopolioxygenado y nitrogenado) se proponen al menos dos rutas: la primera indica la formación del aminoazúcar a partir de éste el aminociclitol, mientras que la segunda prefiere la formación del ciclitol antes de interconvertir los grupos OH en NH₂. La biosíntesis de la neomicina fue seguida mediante RMN de ¹³C y con estos estudios se demostró que los carbonos 1 y 6 de la glucosa y de glucosamina eran convertidos en el C-1 y C-6 del ciclitol.



6.5. Otros derivados

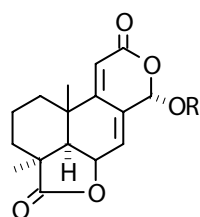
6.5.1. Derivados de shikimato

El ejemplo clásico lo constituye el cloramfenicol aislado por Ehrlich en 1947 a partir de cultivos de *Streptomyces venezuelae* que tiene un espectro antibiótico similar al de las tetraciclinas y es quizás el de mayor utilidad en el tratamiento de la fiebre tifoidea. Hoy día se utiliza el producto sintético. El mecanismo de acción es el de inhibir la síntesis proteica a nivel de ribosomas.



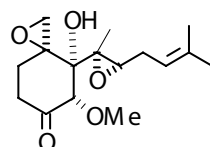
6.5.2. Derivados de terpenos

En el Capítulo 4 se hizo mención de la actividad antibiótica de algunos de esos compuestos. Así, se vio que hay diferentes representantes mono, sesqui di y triterpenoides como lo son: ovalicina (sesquiterpeno), LL-Z1271 γ y LL-Z1271 α (diterpenos), ácido fusídico (triterpeno). Este último inhibe el crecimiento de las bacterias gram-positivas pero no de las gram-negativas, debido a que no puede alcanzar sus ribosomas. El ácido fusídico no es tóxico para los mamíferos.

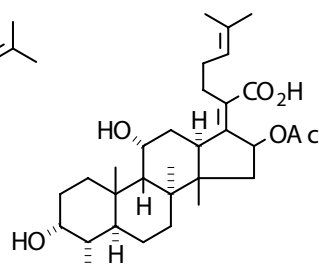


LL- z 1271 γ (R= H)

LL- z 1271 α (R= Me)



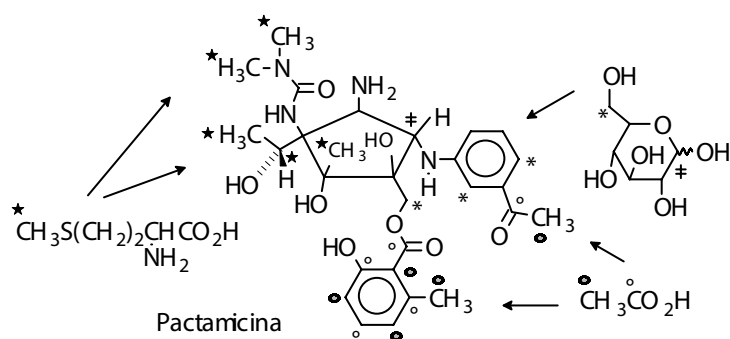
Ovalicina



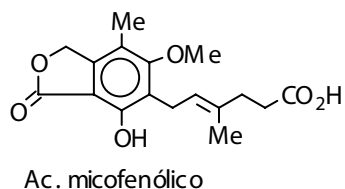
Ac. fusídico

6.6. Antibióticos de origen mixto

Hay varios ejemplos de antibióticos de origen mixto y ellos incluyen diferentes fragmentos. Por ejemplo pactamicina (aislada de *Streptomyces pactum* var. *pactum*) tiene como precursores glucosa que forma el anillo de aminociclitol, el ácido acético que conforma el núcleo aromático del ácido 6-metilsalicílico y la metionina (ver figura).

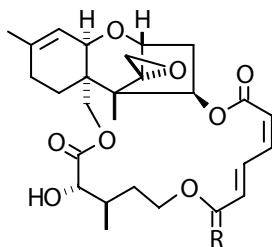


El ácido micofenólico está formado por un policétido aromático y una cadena poliprenoide. Es un antibiótico de origen fungal aislado de varias especies del género *Penicillium* y conocido desde hace algún tiempo. Aunque su actividad antibacteriana es bastante limitada, es muy activo frente a varios hongos. Es excelente para vencer tumores experimentales en ratones, pero es inactivo en humanos porque es metabolizado muy rápido. Actúa inhibiendo la síntesis de ácidos nucleicos. En vista de las posibles propiedades anticáncer del ácido micofenólico se han hecho esfuerzos considerables para la obtención de análogos sintéticos con mejores o variadas actividades biológicas. En estos estudios se han combinado métodos químicos y enzimáticos.



Fitoquímica Orgánica

Estructuras como verrucarina y roridina comprenden un núcleo sesquiterpénico derivado del tricotecano y una cadena formando un anillo polilactónico derivado de acetato. Se aíslan de hongos imperfectos (*Myrothecium verrucaria* y *M. roridum*), tienen alta actividad citostática y fungistática.



Roridina A R = CH(OH)CH₃, H

Verrucarina A R = O

Muchas estructuras mencionadas a lo largo de la obra y otras no mencionadas poseen actividad antibiótica, al menos a nivel de laboratorio; sin embargo, son muy pocas cuya actividad pueda resultar, al momento, rentable.

REFERENCIAS GENERALES

CAPÍTULO 1

Fitoquímica

- Albornoz, A., "Productos naturales. Sustancias y drogas extraídas de las plantas", Publicaciones de la Universidad Central de Venezuela, Caracas, 1980.
- Apsimon, J., Ed. "The total synthesis of natural products", Vols. 1-3, Wiley-Interscience, 1973-1977.
- Devon, T.K. y Scott, A.I., "Handbook of naturally occurring compounds", Vols. 1 y 2. Academic Press, 1972 y 1975.
- Dominguez, X.A., "Métodos de investigación fitoquímica", Limusa, México, 1973.
- Farnsworth, N.R., "Biological and phytochemical screening of plants", J. Pharm. Sci., 55, 225, 1966.
- Herz, W., Grisebach, H. y Kirby, G.W. Eds., "Progress in the chemistry of organic natural products", Vols. 1-44. Springer-Verlag, 1938-1984.
- Ikan, R., "Natural products. A laboratory guide", Academic Press, 1969.
- Klyne, W. y Buckingham, J., "Atlas of stereochemistry Absolute configurations of organic molecules", Vols. 1 y 2., 2nd ed., Chapman and Hall, 1978.
- Lock O. "Investigación fitoquímica", Fondo Editorial de la Pontificia Universidad Católica del Perú, 1994.
- Miller, L.P., Ed., "Phytochemistry", Vols. 1 - 3, Van Nostrand- Reinhold, 1973.
- Nakanishi, K., Goto, T., Ito, S., Natori, S. y Nozoe, S., "Natural products chemistry". Vols. 1 y 2, Kodansha-Academic Press, 1974-1975.
- Peach, K. y Tracey, M.V., Eds., "Modern methods of plant analysis", Vols. 1 - 7, Springer-Verlag, 1955 - 1964.
- Robison, T., "The organic constituents of higher plants", 2nd ed., Burgess Pub. Co., 1967.
- Scheuer, P.J., "Chemistry of marine natural products", Vols. 1 y 2, Academic Press, 1973 y 1978.
- Scheuer, P.J., Tetrahedron Symposia-in-print, "The organic chemistry of marine natural products", Tetrahedron, 41, 979, 1985.

Referencias Generales

- Sim, S.M., "Medicinal plant glycosides", University of Toronto Press, 1967.
- Wagner, H. y Wolff, P., Eds., "New natural products and plant drugs with pharmacological, biological or therapeutic activity", Springer-Verlag, 1977.

Plantas útiles

- BIOZULUA, Base de datos de Fundación para el desarrollo de Ciencias Físicas Matemáticas y Naturales – FUDECI – de la Academia Nacional de Ciencias Físicas, Matemáticas y Naturales de Venezuela.
- Blohm, H., "Poisonous plants of Venezuela", Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft MBH, Stuttgart, 1962.
- Bunney, S., Ed. "The illustrated encyclopedia of herbs, their medicinal and culinary uses", Barnes and Nobles, 1994.
- "Comprendre la toxicomanie les moyens d'y faire face", Ed. Impact Science et Société n° 133, UNESCO, 1984.
- Correa, E. y Bernal, H., Eds. "Especies vegetales promisorias de los países del Convenio Andrés Bello", 12 volúmenes, Ediciones SECAB, 1989-1993.
- Delascio Chitty, F., "Algunas plantas usadas en medicina empírica venezolana", Jardín Botánico-IMPARQUES, Caracas, 1985.
- Ernst, A. "Obras completas", Compilación de B. Bruni Celli. Fundación Venezolana para la Salud y Educación, Caracas, 1976.
- Font Quer, P., "Plantas medicinales. El Dioscórides renovado", Labor S.A., Barcelona 1982.
- Grievess, M., "A modern herbal", Dorset Press, 1992.
- Les substances naturelles et notre vie quotidienne", Ed. Impact, Science et Société n° 136, UNESCO, 1984.
- Mabey, R., Ed. "The new age herbalist", Macmillan Publ. Co, 1988.
- Nuñez Melendez, E. "Plantas medicinales de Costa Rica y su folclore", Ediciones Universidad de Costa Rica, 1978.
- Ody, P. "The complete medicinal herbal", Dorling Kindersley, 1993.
- Pittier, H., "Manual de las plantas usuales de Venezuela", Litografía del Comercio, Caracas, 1926.
- Pittier, H., "Manual de las plantas usuales de Venezuela y su suplemento", Fundación Eugenio Mendoza, Caracas, 1978.
- Rodríguez, P., "Plantas de la medicina popular venezolana de venta en herbolarios", Sociedad Venezolana de Ciencias Naturales", Caracas, 1983.
- Schnee, L., "Plantas comunes de Venezuela", 3ª ed., Ediciones de la Biblioteca de la Universidad Central de Venezuela, Caracas, 1984.
- Seaforth, C.E. "Natural products in Caribbean folk medicine", University

- of West Indies, 1991.
- Simposio internacional sobre la medicina indígena de América Latina, Instituto Italo Latino Americano, Roma, 1977.
- Vander A. "Plantas medicinales", Editorial Sintet, Barcelona, 1987.
- Velez-Salas, F., "Plantas medicinales de Venezuela", Las Novedades, Caracas, 1959.

Biosíntesis

- Bernfeld, P., Ed., "Biogenesis of natural compounds", Pergamon Press, 1967.
- Bu'Lock, J.D., "The biosynthesis of natural products", McGraw-Hill, 1965.
- Cornforth, J.W. y Ryback, G., "The stereospecificity of enzymatic reactions", Chem. Soc. Ann. Rep., 429, 1965.
- Geissman, T.A. y Crout, D.H.G., "Organic chemistry of secondary plant metabolism", Freeman Cooper Co., 1969.
- Hendrickson, J.B., "The molecules of nature", W.A. Benjamin, 1973.
- Hebert, R.H., "The biosynthesis of secondary metabolites", Chapman and Hall, 1981.
- Hess, D., "Plant Physiology", Springer International Student Edition, 1975.
- Pridham, J.B. y Swain, T., "Biosynthetic pathways in higher plants", Academic Press, 1965.
- Ranganathan, R. y Ranganathan, S., "Art in biosynthesis, the synthetic chemist's challenge", Vol 1, Academic Press, 1976.
- Simpson, T.J., "C-13 Nuclear magnetic resonance in biosynthetic studies", Chem. Soc. Rev., 4, 497, 1975.
- Specialist Periodical Reports, "Biosynthesis", Vols. 1-5, Chemical Society, 1970-1977.
- Tedder, J.M., Nechvatal, A., Murray, W.A., y Carnduff, J., "Basic Organic Chemistry, Part 4", John Wiley and Sons, 1972.
- Tetrahedron Symposia-in-print n° 11, "New spectroscopic techniques for studying metabolic processes", Scott, A.I., Ed., Tetrahedron, 39, 3441, 1983.

Quimiotaxonomía

- Harborne, J.B., Boulter, D. y Turner, B.L., Eds., "Chemotaxonomy of the Leguminosae", Academic Press, 1971.
- Swain, T., Ed., "Comparative phytochemistry", Academic Press, 1966.
- Mabry, T.J. y Mears, J.A., "Alkaloids and plant systematics" en "Chemistry of the alkaloids", Pelletier, S.W., Ed., Van Nostrand - Reinhold, 1970.

Referencias Generales

Cromatografía

- "Affinity chromatography principles and methods", Pharmacia Fine Chemicals Ed., 1979.
- B rowning, D.R., Ed., "Chromatography", McGraw-Hill, 1969.
- "Dyeing reagents for thin layer and paper chromatography" E. Merck, Ed., Darmstadt, Alemania, 1971.
- G uilford, H. "Chemical aspects of affinity chromatography", Chem. Soc. Rep., 2, 249, 1973.
- H eftmann, E., "Chromatography of steroids", Journal of chromatography library, Vol. 18, Elsevier, 1976.
- "Ion exchange chromatography principles and methods", Pharmacia Fine Chemicals, Ed., 1980.
- M a, T.S. y Ladas, A.S., "Organic functional group analysis by gas chromatography", Academic Press, 1976.
- M arston, A. y H ostettman, K., "Modern separation methods", Nat. Prod. Reports, 1991, 391.
- M ikes, O., Ed., "Laboratory handbook of chromatographic and allied methods", Ellis Horwood Ltd., 1979.
- P arris, N.A., "Instrumental liquid chromatography" Elsevier Sci. Pub. Co., 1976.
- S impson, C.F., "Practical high performance liquid chromatography" Heyden, 1976.
- S mith, L., "Chromatographic and electrophoretic techniques", 3rd ed., Pitman Press, 1969.
- S nyder, L.R. y K irkland, J.J., "Introduction to modern liquid chromatography" 2nd ed., John Wiley and Sons, 1979.
- S tahl, E., Ed., "Thin layer chromatography" Springer-Verlag, 1969.
- L inskens, H.F., Jackson, J.F. Eds., "Modern methods of plants analysis", Vols., 3 y 5, Springer-Verlag, 1987.
- W agner, H., Bladt, S. y Z gainski, E.M., "Plant drug analysis. A thin layer chromatography atlas", Springer-Verlag, N.Y. 1984.

Métodos espectroscópicos

- B entley, K. W. y K irby, G.W., Eds., "Elucidation of organic structures by physical methods" 2nd ed., Vol. 4, partes 2 y 3, Wiley-Interscience, 1972.
- B eynon, J.H., "Mass spectrometry and its application to organic chemistry", Elsevier, 1960.
- B hacca, W.S. y W illiams, D.H., "Application of NMR spectroscopy in organic chemistry", Holden-Day 1964.

- Budzikiewicz, H., Djerassi, C. y Williams, D.H., "Structure elucidation of natural products by mass spectrometry", Vols. 1 y 2, Holden-Day, 1964.
- Highet, R.J. y Sokoloski, E.A., "Structural investigation of natural products by newer methods of NMR spectroscopy", en Progress in the chemistry of organic natural products, Herz, W., Grisebach, H. y Kirby, G.W., Eds., 32, 119, Springer-Verlag, 1975.
- McLafferty, F.W., "Mass spectrometry of organic ions", Academic Press, 1963.
- Porter, Q.N. y Baldas, J., "Mass spectrometry of heterocyclic compounds", Wiley-Interscience, 1971.
- Scope, P.M., "Application of the chiroptical techniques to the study of natural products", en Progress in the chemistry of organic natural products, Herz, W. Grisebach, H. y Kirby, G.W., Eds., 32, 167, Springer-Verlag, 1975.
- Scott, A.I., "Interpretation of the ultraviolet spectra of natural products", Pergamon Press, 1964.
- Silverstein, R.M., Bassler, G.C. y Morrill, T.C., "Spectrometric identification of organic compounds", 4th ed., Wiley, 1981.
- Williams, D.H. y Fleming, I., "Spectroscopic methods in organic chemistry", McGraw-Hill, 1966.
- Wehrli, F.W., "The use of carbon-13 nuclear magnetic resonance spectroscopy in natural products chemistry", en Progress in the chemistry of organic natural products, Herz, W., Grisebach, H. y Kirby, G.W., Eds., 37, 2, Springer-Verlag, 1979.
- Yamaguchi, K., "Spectral data of natural products", Elsevier Publ. and Co., 1970.

CAPÍTULO 2

- Baker, R. y Evans, D.A., "Biological chemistry part I. Insect chemistry", Chem. Soc. Ann. Rep., B. 72, 347, 1975.
- Baker, R. y Evans, D.A., "Biological chemistry part II. Insect chemistry", Chem. Soc. Ann. Rep., B. 74, 367, 1977.
- Bohlmann, F., Burkhardt, T. y Zdero, C., "Naturally occurring acetylenes", Academic Press, 1973.
- Brown, K.S., Jr., "The chemistry of aphids and scale insects", Chem. Soc. Rev., 4, 263, 1975.
- Caldicott, A.B. y Eglington, G., "Surface waxes", en Phytochemistry, Vol. 3,

Referencias Generales

- 162, Miller, L.P., Ed., Van Nostrand- Reinhold, 1973.
- Crabbé, P., Ed., "Prostaglandins Research", Organic chemistry a series of monographs, Vol. 36, Academic Press, 1977.
 - Curtis-Prior, P.B. "Prostaglandins, An introduction to their biochemistry physiology and pharmacology", North-Holland, 1976.
 - Evans, D.A. y Green, C.L., "Insect attractants of natural origin", Chem. Soc. Rev., 2, 75, 1973.
 - Eyjólfsson, R., "Recent advances in the chemistry of cyanogenic glycosides", en Progress in the chemistry of organic natural products, Herz, W., Grisebach, H. y Kirby, G.W., Eds., 28, 74, Springer-Verlag, 1970.
 - Gibson, K.H., "Prostaglandins, thromboxanes, PGX: biosynthetic products from arachidonic acid", Chem. Soc. Rev., 6, 489, 1977.
 - Horton, E.W., "Prostaglandins. Tomorrow's drugs", Chem. Soc. Rev., 4, 589, 1975.
 - Orth, D y Radunz H-E., "Synthesis and activity of heteroprostanoids" en Topics in current chemistry- medicinal chemistry-, Springer-Verlag, 1977.
 - Jack, R.C., "Lipids", en Phytochemistry Ed. Miller, L.P., Vol. 2, 27, Van Nostrand-Reinhold, 1973.
 - Jones, E.R.H., Tetrahedron Report n° 148, "Leukotrienes", Tetrahedron, 39, 1687, 1983.
 - Nakanishi, K., Goto, T., Ito, S., Natory, S. y Nozoe, S., Eds., "Natural product chemistry", Vol. 2, Kodansha Scientific Ltd., 1975.
 - Nelson, N.A., Kelly, R.C. y Johnson, R.A., "Prostaglandins and the arachidonic acid cascade", Chem. Eng., Special Report, Aug. 16, 30, 1982.
 - Pike, J.E., "Total synthesis of prostaglandins", en Progress in the chemistry of organic natural products, Eds. Herz, W., Grisebach, H., Scott, A.I., Eds., 28, 313, Springer-Verlag, 1970.
 - Richmond, D.V., "Sulfur compounds", en Phytochemistry Ed. Miller, J. Vol. 3, Van Nostrand-Reinhold, 1973.
 - Specialist Periodical Reports, "Biosynthesis", Chemical. Society, Vols. 2,4,5, 1977.

CAPÍTULO 3

- Bohm, B.A., "Introduction to Flavonoids", Serie: Chemistry and Biochemistry of Natural Products. Harwood Academic Publ., 1998.

- Brouillard, R., "The in vivo expression of anthocyanin colour in plants", *Phytochemistry*, 22, 1311, 1983.
- Crammer, R. e Ikan, R., "Properties and synthesis of sweetening agents", *Chem. Soc. Rev.*, 6, 431, 1977.
- Cooke, R. G. y Edwards, J.M., "Naturally occurring phenalenone and related compounds", en *Progress in the chemistry of organic natural products*, Eds. Herz, W., Grisebach, H. y Kirby, G.W., 40, 153, Springer-Verlag, 1981.
- Farkas, L., Gabor, M., Fallay L., "Favonoids and biflavonoids current research trends", Elsevier, 1977.
- Geissman, T.A., Ed., "The chemistry of flavonoid compounds", The MacMillan Co., 1962.
- Goodwin, T.W., Ed., "Chemistry and biochemistry of plant pigments", Vols. 1 y 2, 1976.
- Gottlieb, O.R. y Yoshida, M., "Lignoides. Com atengaoá química das neolignanas", *Quimica nova*, 7, 250, 1984.
- Grossert, J.S., "Natural products from echinoderms", *Chem. Soc. Rev.*, 1, 1, 1972.
- Harborne, J.B. y Mabry, T.J., Eds., "The flavonoid, advances in research", Chapman and Hall, 1982.
- Harborne, J.B., "Biochemistry of phenolic compounds", Academic Press, 1964.
- Harris, Th. M., Harris, C.M. y Hindley, K.B., "Biogenetic type of synthesis of the polyketide metabolites", en *Progress in the chemistry of organic natural products*, Eds. Herz, W., Grisebach, H. y Kirby, G.W., 31, 217, Springer-Verlag, 1974.
- Haslam, E., "The metabolism of gallic acid and hexahydroxydifenic acids in higher plants", *ibid*, 41, 1, 1982.
- Heller, W. y Tamm, Ch., "Homoisoflavanones and biological related compounds", *ibid*, 40, 105, 1981.
- Hopkinson, S.M., "The chemistry and biochemistry of phenolic glycosides", *Quart. Rev.*, 23, 98, 1969.
- Ingham, J.L., "Naturally occurring isoflavonoids", en *Progress in the chemistry of organic natural products*, Eds. Herz, W., Grisebach, H. y Kirby, G.W., 43, 1, Springer-Verlag, 1983.
- Jacobucci, G.A. y Sweeny, J.G., "Tetrahedron report n° 154", *Tetrahedron*, 39, 3005, 1983.
- Locksley, H.D., "The chemistry of biflavonoid compounds", en *Progress in the chemistry of organic natural products*, Eds. Herz, W. Grisebach, H. y Kirby, G.W., Eds., 30, 207, Springer-Verlag, 1973.

Referencias Generales

- Mabry, T.J., Markham, K.R. y Thomas, M.B., "The systematic identification of flavonoids", Springer-Verlag, 1970.
- Markakis, P., "Anthocyanins as food colors", Academic Press, 1982.
- Martin, J.T., "Cutins and suberins", *Phytochemistry*, Miller, L.P., Ed., Vol 3, 154, Van Nostrand- Reinhold, 1973.
- Mechoulam, R. y Gaoni, Y., "Recent advances in the chemistry of hashish", en *Progress in the chemistry of organic natural products*, Eds. Herz, W., Grisebach, H. y Kirby, G.W., 25, 175, Springer-Verlag, 1967.
- *Proceeding of the 7th Hungarian bioflavonoid symposium, Szeged, Hungría, Mayo 1985, "Flavonoids and bioflavonoids- 1985"*, Ed., Farkas, L, Gsabor, M. Kalla y, F., 1986.
- Roberts, J.C., "Aflatoxins and sterigmatocystins", en *Progress in the chemistry of organic natural products*, Herz, W., Grisebach, H y Kirby, G.W., Eds., 31, 119, Springer-Verlag, 1974.
- Roux, D.G y Ferreira, D., "The direct biomimetic synthesis, structure and absolute configuration of angular and lineal condensed tanins", *ibid*, 41, 47, 1982.
- Schubert, W.J., "Lignin", en *Phytochemistry*, Ed., Miller, L.P., Vol 3, 132, Van Nostrand Reinhold, 1973.
- Swan, G.A., "Structure, chemistry and biosynthesis of melanins", en *Progress in the chemistry of organic natural products*, Herz, W., Grisebach, H. y Kirby, G.W., Eds., 31, 521, Springer-Verlag, 1974.
- *Tetrahedron Symposia-in-print n° 17, "Recent aspects in anthracyclinone chemistry"*, Ed. Ross Kelly, T., *Tetrahedron*, 40, 4537, 1984.
- Turner, W.S., "Fungal metabolites", Academic Press, 1971.
- Vanék, Z. y Hostálek, Z., Eds., "The biogenesis of antibiotic substances", Academic Press, 1965.
- Wong, E., "Structural and biogenetic relationship of isoflavonoids", en *Progress in the chemistry of organic natural products*, Herz, W., Grisebach, H. y Kirby, G.W., Eds., 28, 1, Springer-Verlag, 1970.

CAPÍTULO 4

- Bauernfeind, J.C., Ed. "Carotenoids as colorants and vitamin A precursors", Academic Press, 1981.
- Coate, R.M., "Biogenetic-type rearrangements of terpenes", en *Progress in the chemistry of organic natural products*, Herz, W., Grisebach, H. y Kirby, G.W., Eds., 33, 73, Springer-Verlag, 1976.

Fitoquímica Orgánica

- Devon, T.K. y Scott, A.I., "Handbook of naturally occurring compounds", Vol 1. Academic Press, 1972.
- Djerassi, C., "Steroid reactions, an outline for organic chemistry", Holden Day Inc., 1963.
- Dreyer, D.L., "Limonoid bitter principles", en Progress in the chemistry of organic natural products, Herz, W., Grisebach, H. y Kirby G.W., Eds., 26, 190, Springer-Verlag, 1968.
- Ernst-Joachim Brunke, Ed, "Proceedings in the essential oil research", en Progress in essential oil research, Holzminden/Neuhaus Alemania, 1986.
- Fieser, L. y Fieser, M., "Steroids", Reinhold Publ., 1950.
- Fried, J. y Edwards, I.A., "Organic reactions in steroid chemistry", Van Nostrand-Reinhold, 1972.
- Goldsmith, L., "Biogenetic-type synthesis of terpenoid systems", en Progress in the chemistry of organic natural products, Herz, W., Grisebach, H. y Kirby, G.W., Eds., 29, 363, Springer-Verlag, 1971.
- Goodwin, T.W., "Carotenoids", en Phytochemistry Miller, L.P., Ed., Vol. 1, 112, Van Nostrand-Reinhold, 1973.
- Goodwin, T.W., Ed., "Chemistry and biochemistry of plant pigments", Vol. 1, Academic Press, 1976.
- Guenther E. "The essential oils", Van-Nostrand, 1948.
- Hanson, J.R., "The tetracyclic diterpenes", Pergamon Press, 1968.
- Hanson, J.R., "The biosynthesis of diterpenes" en Progress in the chemistry of organic natural products, Herz, W. Grisebach, W. y Kirby, G.W., Eds., 29, 395, Springer-Verlag, 1971.
- Hecker, E. y Schmitz, R., "Phorbol esters, the irritants and cocarcinogens of *Croton tiglium*", *ibid*, 31, 521, 1974.
- Hikino, H. e Hikino, Y., "Arthropod molting hormones", *ibid*, 28, 256, 1970.
- Hough, C.A.M., Parker, K.J. y Vitlits, A.J., Eds. "Developments in sweeteners-1" en Development Series, Applied Science Publishers, 1979.
- Johns, F.W., Ed., "Steroids", Organic chemistry, series two, Vol. 8, Butterworths, 1976.
- King, J.F., y de Mayo, P., "Terpenoid rearrangements", en Molecular rearrangements Ed. de Mayo, P., parte 2, 771, Interscience Publ., 1964.
- Kirk, N.D. y Hartshorn, M.P., "Steroid reaction mechanisms", Elsevier Publ., 1968.
- Lavie, D. y Goltter, E., "The cucurbitane group of tetracyclic triterpenes", en Progress in the chemistry of organic natural products, Herz, W., Grisebach, H y Kirby, G.W., Eds., 29, 307, Springer-Verlag, 1971.

Referencias Generales

- Lederer, E., "Some problems concerning biological C-alkylation reactions and phytosterol biosynthesis", *Quart. Rev.*, 23, 453, 1969.
- L iaaen-Jensen, S., "Stereochemistry of naturally occurring carotenoids", en *Progress in the chemistry of organic natural products*, Herz, W., Grisebach, H. y Kirby , G.W., Eds., 39, 127, Springer-Verlag, 1980.
- De Mayo, P., "Mono and sesquiterpenoids" en *The chemistry of natural products*, Bentley, K.W., Ed., Interscience Publ., 1959.
- Marshall, J.A., "The chemistry of spiro[4.5]decane sesquiterpenes", en *Progress in the chemistry of organic natural products*, Herz, W., Grisebach, H. y Kirby , G.W., Eds., 31, 283, Springer-Verlag, 1974.
- Mellor, J.M., y Munavalli, S., "Synthesis of sesquiterpenes", *Quart. Rev.*, 18, 271, 1964.
- Minale, L., Cimino, G., De Stefano, S. y Sodano, G., "Natural products from Porifera", en *Progress in the chemistry of organic natural products*, Herz, W., Grisebach, W. y Kirby, G.W., Eds., 33, 1, Springer-Verlag, 1976.
- Mulheir L.J. y Ramm, P.J., "The biosynthesis of sterols", *Chem. Soc. Rev.*, 1, 259, 1972.
- Neuman, A.A., Ed., "Chemistry of terpenes and steroids", Academic Press, 1972.
- Nicholas, H.J., "Miscellaneous volatile products", en *Phytochemistry* Miller, L.P., Ed., 2, 381, Van Nostrand-Reinhold, 1973.
- Ohloff, G., "Recent developments in the field of naturally occurring aroma compounds", en *Progress in the chemistry of organic natural products*, Herz, W. Grisebach, W. y Kirby, G.W., Eds., 35, Springer-Verlag, 1978.
- Ourisson, G., Crabbé, P. y Rodig. O.R., "Tetracyclic triterpenes", Hermann Publ., 1964.
- Ourisson, G., Munavalli, S. y Ehret, C. "Selected constants of sesquiterpenoids: Tables of constants and numerical data", Pergamon Press, 1976.
- Parker, W., Roberts, J.S. y Ramage, R., "Sesquiterpene biogenesis", *Quart. Rev.*, 21, 331, 1967.
- Polonsky, J., "Quassinoid bitter principles", en *Progress in the chemistry of organic natural products*, Herz, W, Grisebach, H. y Kirby , W.G., Eds., 30, 101, Springer Verlag, 1973.
- Poucher, W.A., "Perfumes, cosmetics and soaps", Vol. 1, de la Serie. The raw material of perfumery, Chapman and Hall, 1979.
- Premuzic, E., "Chemistry of natural products derived from marine source" en *Progress in the chemistry of organic natural products*, Herz, W.,

- Grisebach, H. y Kirby, W.G., Eds., 29, 417, Springer-Verlag, 1971.
- Romo, J. y Romo de Viar, A. "The pseudoguaianolides" en Progress in the chemistry of organic natural products, Herz, W., Grisebach, H. y Kirby, G.W., Eds., 25, 90, Springer-Verlag, 1967.
 - Scheuer, P.J., "Chemistry of marine natural products", Vol 1, Academic Press, 1973.
 - Scheuer, P.J., Ed., "Marine natural products, chemical and biological perspectives", Academic Press, 1978.
 - Simonsen, J.L. y Ross, W.C.J. Eds., "The Terpenes", Vols. 1-5, Cambridge University Press, 1957.
 - Specialist Periodical Reports, "Terpenoids and Steroids", Chemical Society, Vols. 1-10, 1970-1981.
 - Sukh Dev, "The chemistry of longifolene and its derivatives", en Progress in the chemistry of organic natural products, Herz, W. Grisebach, H. y Kirby, G.W., Eds., 40, 49, Springer-Verlag, 1981.
 - Wain, R.L., "Chemicals which control plant growth", Chem. Soc. Rev., 6, 261, 1977.
 - Wagner, H. y Wolf, P. Eds., "New natural products and plant drugs with pharmacological, biological or therapeutic activity", Springer-Verlag, 1977.
 - Weedon, B.C.L., "Spectroscopic method for elucidating the structures of carotenoids", en Progress in the chemistry of organic natural products, Herz, W., Grisebach, H. y Kirby, G.W., Eds., 27, 81, Springer-Verlag, 1969.
 - Weinheimer, A.J., Chang, C.W. J. y Matson, J.A., "Naturally occurring cembranes", *ibid*, 36, 285, 1979.
 - Wendler, N.L., "Rearrangements in steroids", en Molecular rearrangements, de Mayo, P., Ed., parte 2, 1019, Wiley-Interscience, 1962.

CAPÍTULO 5

- Bentley, K.W., "The isoquinoline alkaloids", Pergamon Press, 1965.
- Bentley, K.W., "The alkaloids", en The chemistry of natural products, Bentley, K.W., Ed. Partes 1 y 2, Interscience Publ., 1957 y 1965.
- Duly, J.W., "Alkaloids of neotropical poison frogs", en Progress in the chemistry of organic natural products, Herz, W., Grisebach, H. y Kirby, G.W., Eds., 41, 206, Springer-Verlag, 1982.
- Guinaudeau, H., Leboeuf, M. y Cave, A., "Apo fine alkaloids", *Lloydia*, 38, 275, 1975.

Referencias Generales

- Guinaudeau, H., Leboeuf, M. y Cave, A. "Aporfine alkaloids II", *J. Nat. Products* 42, 325, 1979.
- Guinaudeau, H., "Aporfinoid alkaloids III", *ibid*, 46, 761, 1983.
- Ginsburg, D., "The opium alkaloids", *Interscience Publ.*, 1962.
- Henry, T. A., "The plant alkaloids", *J.A. Churchill Ltd.*, 1949.
- Hey, D.H. y Wiesner, K. E ds., "Alkaloids", *Organic Chemistry Series Two*, Vol. 9, *Buttersworths*, 1976.
- Holubeck, J. y Strouf, O., "Spectral data and physical constants of alkaloids", *Heyden and Sons, Ltd.*, 1965.
- Kametani, T., "The chemistry of isoquinoline alkaloids", *Elsevier*, 1969.
- Koskinen, A. y Lounasmaa, M., "The sarpagine- ajmaline group of indole alkaloids", en *Progress in the chemistry of organic natural products*, Herz, W., Grisebach, H. y Kirby, G. W., Eds., 43, 267, *Springer-Verlag*, 1983.
- Manske, R. F. H., Ed., "The alkaloids", 23 volúmenes, *Academic Press*.
- Morrison, G. A., "Conformational analyses of some alkaloids", en *Progress in the chemistry of organic natural products*, Herz, W., Grisebach, H. y Kirby, G. W., Eds., 25, 267, *Springer-Verlag*, 1967.
- Nunes, F., "LSD, an historical reevaluation", *Report of the New England Association of Chemistry Teachers*, *J. Chem. Ed.*, 45, 688, 1968.
- Pelletier, S. W., "The chemistry of the C-20 alkaloids", *Quart. Rev.*, 21, 525, 1967.
- Pelletier, S. W., Ed., "Chemistry of the alkaloids", *Van Nostrand- Reinhold Co*, 1970.
- Raffauf, R. F., "A handbook of alkaloids and alkaloid containing plants", *Wiley Interscience*, 1970.
- Robinson, D. J., "The pyrrolizidine alkaloids", en *Progress in the chemistry of organic natural products*, Herz, W., Grisebach, H. y Kirby, G. M., Eds., 41, 115, *Springer-Verlag*, 1982.
- Sangster, A. W., "Determination of alkaloid structures", Partes 1 y 2, *J. Chem. Ed.*, 37, 454, 1960.
- *Specialist Periodical Reports*, "The alkaloids", *Chemical Society*, Vols. 1-10, 1970-1981.
- Taylor, W. I., "Indole alkaloids, an introduction to the enamine chemistry of natural products", *Pergamon Press*, 1966.
- *Tetrahedron Symposia-in-print*, "New developments in indole alkaloids", Kuehne, M. E., Ed., *Tetrahedron* 39, 3627, 1983.
- Warhoff, E. W., "Rearrangements in the chemistry of alkaloids" en *Molecular rearrangements* de Mayo, P., Ed., parte 2, 841, *John Wiley*, 1962.

- ° Wiesner, K., "Systematic development of strategy in the synthesis of polycyclic polysubstituted natural products: the aconite alkaloids", Chem Soc. Rep. 4, 414, 1977.

CAPÍTULO 6

- ° Frank, R.W., "The mitomycin antibiotics", en Progress in the chemistry of organic natural products, Herz, W., Grisebach, H y Kirby, G.W., Eds. 38, 216, Springer-Verlag, 1979.
- ° Franklin, T. y Snow, G.A., "Biochemistry of antimicrobial action", Chapman and Hall, 1981.
- ° McGregor, D.N., "Recent developments in the chemistry of penicillins", en Progress in the chemistry of organic natural products, Herz, W., Grisebach, H. y Kirby, G.W., Eds., 31, 1, Springer-Verlag, 1974.
- ° Morin, R.B. y Jackson, B.G., "Cephalosporin antibiotics", ibid. 28, 343, 1970.
- ° Pettit, G.R., "Biosynthetic products for cancer chemotherapy", Vol. 1. Plenum Press, 1977.
- ° Rinehart, K.L., Jr. y Shield, L.S., "Chemistry of the ansamycin antibiotics", en Progress in the chemistry of organic natural products, Herz, W., Grisebach, H. y Kirby, G.W., Eds., 33, 231 Springer-Verlag, 1976.
- ° Specialist Periodical Reports, Biosynthesis, Chemical Society, Vols 2-5, 1970-1977.
- ° Tamm, Ch. "The antibiotic complex of verrucarins and roridins", ibid, 31, 63, 1974.
- ° Sutherland, J.K., "The nonadrides", ibid, 25, 131, 1967.
- ° Tetrahedron Symposia-in-print, nº 10, "Recent aspects of the chemistry of β -lactams", Baldwin, J.E., Ed., Tetrahedron, 39, 2445, 1983.
- ° Vanék, Z. y Hostálek, Z., Eds., "The biogenesis of antibiotic substances", Academic Press, 1965.
- ° Wagner, H. y Wolff, P., "New natural products and plant drugs with pharmacological, biological or therapeutic activity", Springer-Verlag, 1977.
- ° Werly, W. "Ansamycins, chemistry, biosynthesis and biological activity" en Topics in current chemistry - medicinal chemistry, Springer-Verlag, 1977.

ÍNDICE DE GÉNEROS

A

Abies balsamea 390
A. mariesii 328, 355
Acacia 175
Acantomoebas 95
Achras sapota 248
Aconitum 496, 500
A. heterophyllum 498
A. napellus 498
Agave americana 99
A. sisalana 347
Ajuga pseudoivaleaves 300
Aleurites fordii 311
Allium cepa 114
A. sativum 115
Allomyces 273
Alstonia 494
Amanita muscaria 208, 232
Ammi visnaga 222
Anadenanthera peregrina 469
Andiantum venustum 325, 330
Aneura pinguis 267
Angelica 218
A. arcangelica 275
Annona 109
A. glabra 307
A. squamosa 111
A. muricata 111
Aphanamixis polistacha 360
Aphis fabae 216
Aplysia californica 253
Arctostaphylos uva-ursi 180
Argemone gracilentia 433
A. mexicana 433
Armitermes excellens 52
Arnica longifolia 283

Artemia salina 56
Artemisia 253, 266
A. capillaris 221
Asimina 109
Aspergillus 344
A. flavum 219
A. fumigatum 207, 474
A. oryzae 221
A. terreus 207
A. versicolor 219
Aspidosperma 468, 489
Atropa belladonna 409
Axinyssa 266

B

Babylonia japonica 474
Bacillus 518
B. licheniformis 520
Banisteropsis caapi 470
Basidiomycetes 100
Beta vulgaris 511
Betula platyphylla 356
Bidens 173
B. ferulaefolia 173
B. tripartita 173
Blattella germanica 100, 291
Bupleurum falcatum 368
Brassica campestris 113
B. napus 113
B. nigra 113
B. oleracea 114
Bufo 352
B. vulgaris 469
Buxus 504, 510

Índice de Géneros

C

Cajanus cajan 173, 189
Calathea lutea 98
Calluna 178
Calophyllum inophyllum 220
Camellia sinensis 180
Camoensia maxima 403
Canella winterana 287
Cannabis sativa 222
Capnella imbricata 279
Capparis salicifolia 113
Capsicum annum 112, 376
Cardiospermumhirsutum 116
Carduus micropterus 230
Carex brevicollis 470
Carica papaya 35
Cassia angustifolia 213
Caulerpa 295
Cedrela odorata 361
Cephaelis 451, 452
C. (Uragoga) ipecacuanha 451
Cephalosporium 96
C. acremonium 522
C. aphidicola 305
Cephalotaxus 438
C. harringtoniana 438
Ceratitis capitata 275
Ceroplastes albolinatus 315
Chaetomiumglobosum 469
Chamaecyparis nootkatensis 303
Chelidoniummajus 221
Chenopodiumambrosioides var.
antihelminticum 260
Chondrodendron 485
C. tomentosum 418
Chrysanthemum 253, 288
C. cinerariaefolium 255
Cinchona 406
C. ledgeriana 493
Cinnamomumcamphora 260
C. cassia 259

Citrus limos 260
Clausena 409, 468
Claviceps purpurea 228, 472, 473
Clitocybe illudens 278
Clitoria fairchildiana 193, 194
Clostridium botulinum 219
Colchicum autumnale 447
Commelia communis 171
Conium maculatum 393
Consolida glandulosa 499
Copernicia cerifera 98
Corydalis 430, 462, 466
C. incisa 462
Corynanthe yohimbe 478
Corynebacterium cyclohexanicum 125
Croton 423, 444
C. sublyratus 295
C. tiglium 311
Cryptocaria bowiei 432
Cryptomeria japonica 307
Curcuma tinctorum 137
Cymbopogonwinterianus 260

D

Dactylopius coccus 118, 213
Daemnoopus draco 186
Dalbergia assamica 192
D. odorifera 199
Daphniphyllum 502
D. macropodium 502
Datura 53, 409
D. innoxia 49, 409
D. stramonium 409
Delphinium 496, 500
Dendrobates 505
Dendrobiumprimulinum 404
Derris elliptica 192
D. negrensis 192
D. obtusa 159
Dicentra 430
D. eximia 421
Dictyota dichotoma 312

Fitoquímica Orgánica

- Digitalis 352, 355, 363
D. purpurea 363
Dioscorea 363
D. mexicana 347
Diploptera punctata 207
Disepalum 109
Dispyros villosiuscula 212
Dodonaea viscosa 233
Dollabella californica 313
- E**
- Echinodorus grandiflorus 300
Echinotrix calamaris 211
E. diadema 211
Elephantopus elatus 285
Elizabetha princeps 469
Ephedra 414
Erica 180
Erythrina 433, 434
Erythroxylum 409
E. coca 409
Escherichia coli 211
Eucalyptus globulus 262
Eugenia caryophyllata 259, 260, 277
Eunicea mammosa 310
Euphorbia 310
E. antisiphylitica 98
E. peplus 311
Evodia rutaecarpa 471
- F**
- Fagara 470, 471
Ferula 218
Fraxinus ornus 259
Frullaria 288
Fumaria 466
Fusarium solani 265
- G**
- Galipea officinalis 405
Garcinia hermonii 227
G. mangostana 224
Gardenia jazminoides 253
Garrya 496, 498
Gascardia madagascariensis 315
Gibberella fujikuroi 308
Ginkgo biloba 243
Glycine max 127, 196
Glycyrrhiza glabra 189, 367
G. uralensis 367
Goniothalamus 109
Gracilaria andersoniana 295
- H**
- Haematoxylum campechianum 220
Haloragis antidysenterica 504
Hamamelis jeffersonii 238
Helenium 286
H. amarum 288
Helianthus tuberosus 286
Helichrysum cymosum 158
Helicobasidium mompa 208
Heliothis zea 174
Heracleum 218
Hevea brasiliensis 248
Hidradia canadensis 466
Homalomena aromatica 273
Hyalophora cecropia 289
Hydrangea serrata 221
Hymenoxys odorata 288
Hypericum 215
- I**
- Inula sp 286
I. viscosa 286
Ipomoea 472
I. muelleri 472
I. tricolor 472
Ircinia oras 315
Iridomyrmex detectus 257
Iris japonica 189

Índice de Géneros

J

Jasminum grandiflorum 260
Jatropha gossypifolia 311
J. macrorrhiza 311
Jatrorrhiza palmata 453
Juniperus thurifera 271
Justicia neesi 230
J. pectoralis 469

K

Kadsura lancilimba 355
Kalmia 307
Kermococcus illicis 213
Koeleria paniculata 116

L

Lactobacillus arabinosus 96
Lampteromyces japonicus 278
Lantana camara 180, 328
Laurus nobilis 288
Lavandula vera 260, 263
L. officinalis 263
Ledum palustre 281
Lemna minor 56
Lespedeza cyrtobotrya 158
L. homoloba 191, 196
Letrinas 54
Ligia oceanica 99
Lilium makinoi 253
Lithospermum erythrorhizon 210
Lobaria retigera 315
Lobelia 394
L. inflata 394
L. longiflora 394
Lolium perenne 470
Lophophora williamsii 414
Lucius fuliginosus 265
Lumbriconereis impatiens 202
Lycopodium 395
L. clavatum 329

M

Magnolia kachirachirai 418
M. obtata 259
Mangifera indica 224
Manihot esculenta 115
Marasmius conigenus 278
Marrubium vulgare 298, 299
Martensia 54
Maytenus 326
M. canariensis 326
M. ovatus 524
M. scutellariae 326
Meconopsis horridula 433
Medicago sativa 211
Melia azadirachta 349, 358, 360
Melissa officinalis 159
Melophysis 366
Mentha piperita 260
Menyanthes trifoliata 257
Micropolyspora venezuelensis 97
Mikania monagansensis 286
Miliusa velutina 110
Mimusops balata 248
Murraya 468
M. koenigii 218, 409
Musca autumnalis 100
Mustela 54
M. erminea 54
M. putorius 54
M. putorius-fur 54
M. vison 54
Mycobacterium tuberculosis 98, 303
M. tuberculosis var. hominis 96
Myrica gale 158
Myrothecium roridum 535
M. verrucaria 535

N

Nardostachys chinensis 287
Nasturtium officinale 113

Fitoquímica Orgánica

- Nelumbolutea 418
N. nucífera 418
Neorautanenia amboensis 191, 192
Nicotiana 53, 392, 393
N. tabacum 49
Nitrosoma europaea 327
Noditermeswasambricus 54
Nufar 402
- O
- Ochromonas 344
Ononis spinosa 329
Ophiobolus miyabeanus 315
Ormosia wayana 402
Ornithogalum sandersiae 366
Oryza sativa 286
- P
- Pachysandra 504
Paeonia albiflora 238
Paepalanthus 221
Papaver 444, 465
P. fugax 421
Parthenium argentatum 248
P. hysterophorus 288
Passiflora 470
Peganum harmala 470
Penicillium 120, 213, 534
P. chrysogenum 522
P. clavariaeformis 215
P. cyclopium 405
P. griseofulvum 227
P. islandicum 215
P. notatum 515
P. paxilli 468
P. puberulum 288, 289
P. rubrum 528
P. stipitatum 235
P. urticae 227
P. wortmanni 337
Periplaneta americana 99, 290
- Phaseolus vulgaris 196
Phoma 524
Phyllobates 505
Physenia madagascarensis 328
Physeter catodom 98
P. macrocephalus 98
Physostigma venenosum 469
Picea abies 298
P. jezoensis 329
P. pungens 135
Picrasma 359
Pilocarpus 408
Pimenta officinalis 259
Pimpinella anisum 259
Pinus sp 260
Piper methysticum 216
P. nigrum 112
Piptadenia (Adenanthera) peregrina 469
Piscidia erythrina 190
Pisum sativum 196
Pityrogramma 160
Plagiomnium acutum 271
Plasmodium 287
Platycodon grandiflorum 368
Plexaura homomalla 104
Plocamium coccineum 253
Plumeria lancifolia 487
Podocarpus ferruginea 303
Podophyllum 230
Pogonopustubulosus 493
Polygonum orientale 130
Pongamia glabra 158
Porella 267
Portulaca grandiflora 512
Prorhinotermes simplex 54
Prunus 115, 153
P. puddum 153
Pseudomonas 156, 519
P. aeruginosa 405, 406
Psilocybes 469

Índice de Géneros

- Psychotria 451
P. beccainoide 491
Pteridium aquilinum 278
Pueraria lobata 189
Punica granatum 394
Pyrrhocosis apterus 290
- Q
- Quassia amara 359
- R
- Radix sarsaparrillae 363
Ranunculus fluitans 362
Raphanus sativus 113
Raspaila sp 300
Rauwolfia 29, 468
R. serpentina 481, 494
Remijia 406
Reniera japonica 376
Rhizoctonia leguminicola 404
Rhizopus 346
Rhododendron 180, 307
Rhus semialata 178
Ricinus comunis 311
Rivea corymbosa 472
Rollinia 109
Rosa centifolia 260
R. damascena 260
Rubia 212
R. tinctorum 202
Ruta 218
R. graveolens 218
- S
- Succharomyces 344
S. cereviceae 468
Samadera indica 361
Santolina 253
Schistosoma 212
Schizaphis graminum 292
Scilla maritima 353
Scutellaria 300
- Sedum 394
Senecio lorenthii 401
S. selloi 332
Silybum marianum 174, 232
Simarouba 359
S. amora 359
Simmondsiachinensis 98
Sinapis alba 113
Smilax 363
Solanum 53, 363, 382, 507
S. congestiflorum 509
S. lycopersicum 506
S. nigrum 506
S. tuberosum 506
Solidago 299
Spartium junceani 367
Spedopteralittoralis 300
Spirodela polyrhiza 130
Spirostreptus castaneus 207
Spodopteralitura 361
Staphylococcus aureus 217
Stephania japonica 439
Stereum hirsutum 278
Stevia rebaudiana 305
Stilpnophytum linifolium 266
Streptococcus 185
Streptomyces 97, 518, 521, 526
S. aureofaciens 529
S. erythreus 525
S. mediterranei 525
S. mobaraensis 526
S. pactum 526
S. pactum var. pactum 534
S. venezuelæ 534
Strophanthus 352
Strychnos 468, 485
S. angustifolia 481
S. nux-vomica 257
S. toxifera 485
Swietenia mahogani 334
Syagrus coronata 98

Fitoquímica Orgánica

T

Tabernantheiboga 487
Tagete patula 238
Taxodiumdistichium 303
Taxus 54, 313
Taxus baccata 313
Tecoma 210
Tenebrio molitor 300
Tephrosia 160
T. villosa 195
Teucrium 300
Thalictrum 419, 433
Thevetia peruviana 334
Trachylobiumverrucosum 157
Tragoderma glabrum 100
Trichoteciumroseum 271, 303
Trillium erectum 363

U

Uncaria gambir 493
U. tomentosa 328
Unona lawii 160
Urginea marítima 164, 353
Uvaria 109

V

Valeriana officinalis 263
Veratrum 507
V. album 509
Vernonia hymenolepsis 285
Vetiveria zizanoides 260
Vinca 468
V. rosea 257, 489
Virola theiodora 469

W

Weddelia paludosa 307

X

Xanthochymusindica 227
Xylopia 109

Z

Zanthoxylum 470
Z. piperitum 112
Zingiber officinale 112
Zizyphusjujuba 368
Zygosporiummasonii 524
Morus macroura 228

ÍNDICE ALFABÉTICO

A

- A-23187 527
- A23187 528
- abeo- 294
- abeo-kauranos 307
- abietanos 296, 302
- acción auxínica 293
- aceite alcanforado 260
 - de clavo 135, 260
 - de espermade ballena 99
 - de eucalipto 262, 263
 - de jazmín 260, 292
 - de jojoba 98, 99
 - de junípero 263
 - de limón 260
 - de mandarina 259
 - de mostaza 113
 - de pasote 263
 - de pino 250
 - de rosa 260
 - de valeriana 247
- aceites esenciales 54, 259
 - - actividad biológica 262
 - - comunes 260
 - - obtención y análisis 261
 - secantes 91
- acetato de bencilo 260
 - de bornilo 263
 - de hecogenina 347
 - de linailo 260
- acetato-malonato 89
- acetato-mevalonato 50
- acetil-CoA 89, 93, 121
- N-acetil-nortropina 410
- N-acetil-pseudo-norecgonina 411
- acetilfloroglucinol 123
- acetilmorfol 441
- acetiltebaol 440, 441
- acetoacetilCoA 240
- acetofenona 134, 135
- acetogeninas alifáticas 34, 89, 109
- acetogeninas aromáticas 34, 119
- acetoniilberberina 457
- 11 α -acetoxischillarina 353
- ácido abiético 302
 - abscísico 266, 376
 - acético 34
 - angélico 400
 - antranílico 124
 - araquidónico 92, 106, 108
 - aspártico 385, 393
 - astérico 229
 - benzoico 128, 134, 156
 - betalámico 512
 - bishomolinolénico 106
 - bórico 71
 - byssoclámico 528
 - cafeico 124, 129, 134
 - 3-cafeoilquinico, 129
 - caprílico 259
 - carmínico 118, 213
 - ceroplastérico 315
 - chelidónico 221
 - chendesoxicólico 351
 - chorísmico 124, 125, 126
 - cinámico 126, 128, 134, 135, 156, 230
 - cistodioico 300
 - cítrico 34
 - clavicipítico 474
 - colánico 351
 - cólico 351
 - comúnico 343

Índice Alfabético

- crepenynico 101
- crisantémico 252, 254, 255, 290
- cumárico 171
- o-cumárico 134, 217
- p-cumárico 125, 126, 134
- deshidrocrepenynico 101
- deshidroquímico 123
- deshidroshikínico 123
- desoxicólico 347, 351
- ecbálico 334
- eicosapentenoico 106
- elágico 135, 178, 179
- eperuico 298
- esteárico 92
- estipitático 235
- estipitatónico 235
- fenilacético 156
- fenilpirúvico 124
- ferúlico 124, 134
- fitánico 96
- floribúndico 300
- fusídico 321, 331, 533
- galacturónico 129
- gálico 124, 134, 135, 178, 180
- gambógico 225
- gascárdico 315
- biosíntesis 316
- glaucónico 528
- 3-O-glucosilcafeíco 129
- glucurónico 129
- glycyrrhético 367
- guaiarético 233
- hardwíckiico 299
- helvólico 331, 333
- hemipínico 452
- hormoniólico 227
- hormoniónico 227
- hexahidroxidifénico 179
- 3-hidroxiantranílico 393
- p-hidroxibenzoico 125, 134, 210
- p-hidroxicinámico 124
- m-hidroxifenilacrílico 156
- m-hidroxifeniletilpropiónico 156
- p-hidroxifenilpirúvico 124
- hidroxihipúrico 156
- 3-hidroxi-13, 17-seco-1,3,5,13-
estratetraen-17-oico 342
- 3 α -hidroxitirucala-7,24-dien-21-oico
357
- hirsútico 278
- homomevalónico 289
- 3-indolacético 287
- isolisérgico 473
- isopimárico 301, 302
- isoúsnico 234
- isovalérico 247, 259
- kermésico 213
- kójico 221
- kolavénico 299
- labdanólico 298
- lactobacílico 95, 96
- lecanórico 234
- levopimárico 303
- linoleico 92, 101
- linolénico 106, 362
- liratólico 254
- lisérgico 219, 472
- derivados 472
- marásmico 278
- mecónico 221
- 6-metilsalicílico (6MSA) 119, 120,
126, 534
- meváldico 242
- mevalónico 34, 50, 117,
240, 241, 476
- micofenólico 534
- mirtenoico 250
- neoabiético 302
- nicotínico 48, 392
- nor-dihidroguaiarético 230
- octadecanoico 99
- oleanólico 362, 367
- oleico 92, 101, 106
- orselínico 119, 122, 123, 234

Fitoquímica Orgánica

- oxalacético 156
- 4-oxociclohexanocarboxílico 125
- 9-oxo-2-decenoico 291
- 2-oxoglutarico 209, 210
- 6-oxoursólico 328
- palmítico 92, 106
- penicílico 234
- pícrico 384
- picrocrocínico 253
- picrolíquénico 234
- pimárico 301, 302
- pinsélico 229
- pipecólico 43
- pirétrico 254
- pirúvico 34, 393
- podocárpico 303
- poligalácico 367
- prefénico 34, 124, 126, 135
- pristánico 96
- prostanoico 104
- protocatecuico 123, 134, 135
- puberúlico 235
- puberulónico 235
- quínico 123, 129, 134, 178
- quinolínico 393
- retigeránico 315
- S-(+)-N - β -carboxi-etilaspártico 454
- salicílico 125, 223
- sapiético 302, 303
- shikímico 119, 123, 134, 135, 178
- - bioformación 123
- - derivados 123
- sinápico 134
- siríngico 134, 135, 167
- sulfanílico 133
- tarírico 101
- taurocólico 351
- terreico 207
- 2,4,6,8-tetrametildecenoico 95
- 2,4,6-trihidroxifenilacético 167
- trispórico 376
- tropínico 412
- tuberculoesteárico 95
- úsnico 234
- vanílico 134, 135
- variolárico 234
- vinhaticoico 303
- yodoplatínico 58, 384
- ácidos biliares 339, 351
- cassaicos 303
- clorogénicos 128, 181
- cólicos 330, 335, 337, 338, 346, 351
- grasos 34, 89
- - biosíntesis 93
- - modificaciones 99
- - nomenclatura 92
- - ramificaciones 95
- grasos-sintetasa 93
- micólicos 96
- aconanos 296, 307,
- aconitina 500
- aconito 496
- acoradieno 243
- acoranos 269, 270
- ACP 93
- acridonas 405
- actinioeritrina 376
- actinomicina 516
- actinomicina-D 521
- actividad feromonal 292
- adenocarpina 394
- adriamicina 530
- adsorbentes comerciales 70
- aerogeles 77
- aervanona 173
- afinas 215
- aflatoxinas 219, 234
- biosíntesis 219
- agarosa 77
- agroclavina 472
- ajaconina 499
- ajmalicina 480, 481
- ajmalina 482
- akuammicina 482, 483

Índice Alfabético

- epimerización 483
- akuammidina 482
- alángsido 453
- alanina 393
- alantolactona 286
- alcaloides 34, 53, 124, 379
- aislamiento 385
- biosíntesis 380
- bis-indólicos 491
- C₁₉ 500
- C₂₀ 496
- clasificación 380
- con unidadakuammicina 492
- con unidadcorynanté 494
- con unidadescatarantina 493
- con unidadesde hermano 493
- determinaciónde estructuras 388
- de aconito 307
- de amaryllidáceas 449
- de buxus 510
- de carbazol 409
- de cataranto 476
- de cicuta 44
- de cinchona 406
- de corynanté 476
- de daphniphyllum 502
- de eritrina 433
- de funtumia 504
- de garrya 307
- de halorrea 504
- iboga 487
- de imidazol 408
- de ipecacuana 451
- de nufar 401
- de ormosia 401
- de senecio 400
- de tropano 394, 409
- - estereoquímica 410
- de veratrum 509
- de vinca 476
- degradaciónde Emde 391
- degradaciónde Hofmann 390
- degradaciónde von Braun 391
- derivadosde feniletilamina 413
- - de shikimato 533
- - de terpenos 533
- destilaciónsobremetales 391
- detección 382
- diterpénicos 496
- - estereoquímica 499
- esteroidales 504
- - con esqueletosnormales 504, 509
- indólicos 257, 467
- - precursorTipo I 478
- - precursorTipo II 487
- - precursorTipo III 489
- - reordenamiento 490
- - seco-derivados 480
- indolizidínicos 404
- isoquinolínicos 415
- oxidación 390
- piperidínicos 392
- pirrolidínicos 398
- pirrolizidínicos 400
- quinolínicos 405
- quinolizidínicos 401
- reacciones 380
- - de degradación 390
- terpenoidalesy esteroidales 496
- alcanfor 251, 260, 261, 263
- alcohol cinámico 230
- crisantémico 319
- santolínico 253
- alcoholes biliares 351
- aldehído protocatecuico 451
- aldosterona 346
- alelopatía 174
- alizarina 202
- alkanina 209
- allamandina 257
- allicina 259
- alliína 115
- α - allocriptopina 466, 467
- allohimachol 275

Fitoquímica Orgánica

- alloxantiletina 218
- alloxantina 377
- aloe-emodina 212
- alquilflavonas naturales 160
- alstonina 480, 481
- alternariol 121, 227
- amargode angostura 405
- ambanol 191
- ambranos 329
- ambreína 329
- amigdalina 115
- aminoácidos fundamentales 34, 383
 - no proteicos 53
- D-aminoácidos 518
- aminociclitol 532
- 3-aminoconanina 504
- aminopregnanos 504
- amorfanos 273
- amorfigenina 193
- amorfilo 274
- amorfinina 194
- anabasina 392, 395
- análisis de las muestras 58
- análisis espectroscópico 80
- anatabina 392
- andiantanoleanona 325
- andiantulanostenol 330
- andirobina 360
- andraginina 484
- andrógenos 349
- andrografólido 298
- androstano 335, 336, 341
- 17-androsterona 336, 340
- anetol 259, 261
- anfetaminas 414
- anfotericina B 518, 526
- angelicina 217
- angolensatol de metilo 338
- angustina 481
- anhidrobase 152
- anhidrohidrolipodina 397
- anhidroecgonina 412
- anillo espiroestereoisomérica 365
- anoninas 111
- anotinina 395
- ansamicinas 524
- antheridiol 355
- antibióticos 515
 - clasificación 518
 - de origen mixto 534
 - derivados de acetato 524
 - derivados de azúcares 531
 - ionofóricos 519, 527
 - poliénicos 526
 - poliéteres 526
 - polipéptidos 518
- antioxidantes 138
- antocianidina-sintetasa 154
- antocianidinas 128
 - aislamiento e identificación 166
 - estabilidad 168
 - estructuras conjugadas 168
 - marcadores genéticos 164
 - oxidaciones y reducciones 168
 - reacciones 167
- antocianinas 128, 154, 163
 - biosíntesis 155
- antracilinas 530
- antraoles 212
- antraquinonas 212
 - UV 205
- antronas 212
- aparato de Craig 73
- aphidicolan-1 β -ol 306
- aphidicolano 305
- aphidicolina 305
- apiforol 155
- apigenidina 155, 164
- apigenina 130, 148, 155, 159, 185
- apiína 159
- apo- β -eritroidina 435
- apo-eufanos 322, 338, 356
- apoerisopina 435
- apollinina 161

Índice Alfabético

- apomorfinina 428, 440, 443
aporfinas 417, 420, 432, 439
- estereoquímica 423
- formación 422
- reacciones 423
- síntesis 426
apotirucalol bis-lactona 359
3-O-arabinokanferol 131
árbol del Tung 311
árbol Dragón 186
arboranos 324
arbutina 128
Arcano de la Quina 30
arctiína 230
argemonina 433
arilcromanos, 220
aristolanos 281, 287
armepavina 418
aromadendranos 281
aromadendrina 154, 155
artemisia cetona 254
artemisia-alcohol 254
artemisiatrieno 254
artemisilo 252, 253
ascaridol 250, 260, 263
asperlina 531
asperulósido 53
aspidospermina 489, 490
astaxantina 371, 373
asterratode metilo 229
atisano 296, 304, 308, 496, 498, 499
atisina 496, 499
ATP/ADP 137
atropina 409
atropisomerismo 233
aurapteno 218
aureomicina 121, 529
aureotina 531
auronas 139, 151, 157
autumnalina 449
auxinas 287
averufina 119, 120
awobanina 171
ayahuasca 470
17a-aza-D-homoandrost-5eno342
azadiradiona 358
azadirona 358
azafenalenos 403
azamilida 312
azulenos 264
- ### B
- baccatina-III 313
bacitracina 520
balatá 248
bálsamo de Tolú 356
Barton, 340
bases de harmala 470
- necinas 400
- tomatininas 506
Bate-Smith 52
batrachotoxina 505
baueranos 323
bencilisoquinolinas 416
- de cadena abierta 416
- esqueletos 417
benorterona 350
benzalacetona 138
benzo- γ -pirona 222
benzofenantridinas 417, 461, 462
benzopirano 222
benzoquinonas 118, 207
- preniladas. 208
berberina 379, 453, 461
berberinebridge 461
bergamoteno 272
 α -bergamoteno 271
berlambina 454
betacianinas 511
betaínas 511
betalaínas 53, 511
betanidina 512
betaxantinas 33, 511
betulafolienotriol 356

Fitoquímica Orgánica

- beyerano 293, 304, 308
- bi-isoflavonoides 199
- biapigenina 185
- biflavanonas 185
- biflavonas 185
- biflavonoides 169, 185
 - nomenclatura 185
 - RMN 148
- biochanina-A 189
- bioensayos 56
- biotina 35, 93
- Birch 89
- bis-flavonos 169
- bis-bencilisoquinolinas 418
- bis-antraquinonas 213
- bis-jatrorrhizina 453
- bis-naftoquinonas 212
- bis-protoberberinas 453
- bisabolanos 283
- bisaboleno 269
 - γ - bisaboleno 271
- bisabolilo A 271
- bixina 376
- Bloch 89, 340
- Blohm 30
- bolasterona 350
- boldina 421, 425
- bornano 250
- borneol 251, 271
- bornilo 263
- botulina 219
- bovoquinonas 208
- bowdichiona 200
- brazilina 220
- brevicolina 470
- bromurode cetiltrimetilamonio 80
- brucina 482
- bryaquinona 200
- bufadienólidos 216, 353
- bufalitoxina 353
- bufanólidos 335, 337, 340, 353
- bufotenina 469
- bulbocapnina 422
- bulgaranos 273
- buteína 159
- butenólido 283
- butetrina 256
- buxeninaG 511
- C
- C-alcaloide E 492
- C-alcaloide H 492
- C-dihidrotoxiferina 493
- C-fluorocurina 485
- C-mavacurina 485
- C-toxiferina 485, 492
- C-glicosación 130
- caapi 470
- cadaleno 264, 173
- cadambina 481
- cadaverina 43, 404
- cadena de ácidos grasos, construcción 94
- cadinano 273
- cadinanos 273
- cadineno 264
- α -cadinol 273
- cadlinaldano 316
- cadlinaldehído 316
- 1-cafeoilglucosa 129
- cafeoil-CoA 138
- cafestol 305
- cajaflavona 173
- cajaisoflavona 189, 199
- calabash curare 485
- calicantina y análogos 491
- calofloide 220
- camoensidina 402
- camoensina 402
- canabinoides 222
- canabinol 223
- canadina 455
- candicina 414
- canfano 250, 370

Índice Alfabético

- canfeno 251, 252, 271
- canferenol 271, 272
- cantaxantina 373
- cantin-6-onas 489
- cantinonas 470
- capillarina 221
- capnellano 279
- capsaicina 112
- capsantina 375
- capsorubina 377
- caracteresquimiotaxonómicos 53
- caranos 250, 251
- β -carbolina 470, 471
- derivados 474
- carbón activado 63
- Δ^1 -carboxipiperidina 43
- 5β -carboxitetrahidroalstonina 481
- cardanólidos 335, 337, 340, 353
- cardenólido 353, 355
- cardiospermina 116
- cardo santo 433
- carenos 251
- cariaquito 328
- cariofileno 275, 277
- cariolanol 278
- carotano 273
- α -caroteno 377
- β -caroteno 238, 369, 371, 377
- γ -caroteno 377
- carotenoides 245, 318, 369
- nomenclatura 373
- carotol 273
- carvacrol 263
- caryoptinol 300
- casbanos 312
- casbeno 309, 311
- cassano 296, 302, 303
- catarantina 477, 488, 489, 490, 494
- catecol 180
- catecolaminas 413
- catenarina 214
- catequina 152, 156, 176, 181
- epimerización 177
- cación bisabolilo 269
- cation γ -bisabolilo 270
- caulerpol 295, 312
- CCC 66, 74
- CD 85
- cederodarina 174
- cedranos 269, 270
- 2-epi- α -cedren-3ona 271
- 2-epi- β -cedren-3ona 271
- α -cedreno 271
- β -cedreno 271
- cefalosporina-P 331
- cefalosporina-C 522
- cefalosporinas 333, 517, 521
- celita 71
- cembranólidos 309
- cembranos 312
- cembreno 309
- cembrenólidos 312
- cephaelina 452
- cephalotaxina 438
- cera candelilla 98
- cera carnauba 98
- ceras 97
- comerciales 98
- superficiales 99
- cernuina 394
- ceroplastol 315
- cevadina 510
- ceveratrum 509
- cevina 510
- CGL 6 6
- chaetoglobosina-A 469
- chalcona 138, 139, 157, 190
- ciclación 151, 154
- isomerasa 154
- sintetasa 154
- chamigranos 269, 270
- chanoclavina 474
- chavicina 398
- cheleritina 462

Fitoquímica Orgánica

- chelidonina 462, 463
- Chevreul 339
- chicle 247
- chinchonidina 407
- chinchonina 407
- chondocurarina 416
- cianidina 164, 181
- cianolípidos 115
- cicloartanos 321, 334
- cicloartenol 321, 338
- ciclobuxina D 511
- cicloclavina 474
- ciclopepsipéptidos 521
- cicloeucaleanol 511
- ciclofarnesenos 266
- ciclolaudenol 333
- ciclopentanodiona 259
- cifenotrina 256
- cinamaldehído 259, 261
- cinamato-4-hidroxilasa 135
- cinamóidos 266, 287
- cinchonamina 486
- cinchonidina 408
- cinchonina 379, 408, 486
- cinconidina 407
- cinconina 407
- cineol 260, 262, 263
- 1,4-cineol 251
- cinerarias 400
- cinerina 255
- ciperanos 281
- cisteína 97
- citocalasina-A 524
- citocalasina-D 524
- citocalasinas 524
- biogénesis 524
- citoquininas 287
- citral 223, 251, 260, 261, 263
- citroviridina 531
- citronela 260
- citronelal 261, 263
- citronelol 251, 262, 263
- clausenano 253
- claussequinona 200
- clavinas 472
- cleavamina 488, 489
- cleomisconinas 233
- clerodano 298, 303
- clitoriacetal 195
- cloramfenicol 517, 533
- cloveno 278
- Coa-ehe 305
- cocaína 409, 411, 412
- coccinellina N-óxido 403
- cocculodina 434
- α -codeimetina 441
- codeína 440, 444
- codeinona 445
- Codex Vegetabilis 30
- Codice Badiano 30
- coeficiente de distribución 73
- coenzimas 35
- coenzima Q 208
- colano 341
- colchicina 235, 447
- biosíntesis 448
- reacciones 447
- cólchicum 447
- colestano 341
- colestanol 339
- 5 β -colestanol 343
- colesterol 237, 333, 342, 346, 355
- configuración 339
- colina 93, 107
- color de las flores 170
- columnas, llenado 64
- commelinina 171
- compuestotrimerico-31 187
- compuestosalifaticos 89
- compuestosaromatico 117
- - aislamiento e identificación 131
- - biosíntesis 119
- - ciclaciones para su formación 122
- azufrados 114

Índice Alfabético

- de Reissert 427
- fenólicos sencillos 134
- condiciones supercríticas 261
- condylocarpina 482, 484, 486
- conessina 504
- configuración absoluta "esteroidal" 297
- γ -coniceína 44, 393
- coniferina 134
- coniferol 124
- coniina 44, 393
- constituyentes de las grasas naturales 90
- copaano 274
- copabornilo 274
- copacanfeno 274
- β -copaeno 275
- copalano 297
- copalilo 297
- copigmentación intramolecular 172
- copigmentos 171
- coprostanol 343
- coreximina 455
- coridina 421
- corilagina 178
- Cornforth 340
- cortexona 346
- corydalina 455, 461
- corynanteína 477, 480, 492
- corynolina 462
- corynoloxina 462
- corypalmina 455
- costunólido 288
- COX-1 106
- COX-2 106
- p-cresol 118
- crinina 450, 451
- criptaustolina 432
- criptona 252
- crisantemilo 252, 254
- crisofanol 212
- cromanos 221, 222
- cromatofolios 71
- cromatografía 61
 - análisis frontal 76
 - en fase normal 65
 - en fase reversa 62
 - centrifuga en capa fina 72
 - contracorriente 72
 - contracorriente a la gota 66, 74
 - contracorriente centrífuga 66, 74
 - contracorriente de rotación locular 74
 - de adsorción 62
 - de bioafinidad 62, 78
 - de gel 77
 - de interambio iónico 62, 75
 - - orden de elución 76
 - de partición 62
 - de permeabilidad de gel 62
 - en capa fina 69
 - en papel 66
 - - elución 67
 - "Flash" 63
 - gas-líquido 66
 - instantánea 65
 - tipos de 62
- cromeno 197
- cromonas 221, 222
- cromosorb WAW DMCS 142
- crotonosina 429, 430
- crown gall 56
- crustaxantina 377
- cuadrigenina 491
- cuauchichicina 498
- cubebano 274
- cucurbitacina-E 331, 334
- cucurbitacinas 330, 334, 338
- cucurbitanos 321
- cularinas 430
 - degradación 432
 - síntesis 431
- culumbiametina 217
- cumarano 195
- cumarano-cromona 190

Fitoquímica Orgánica

- cumarato-CoA ligasa 135
cumaril-CoA 135, 138, 154, 155
cumarina 196, 217
- preniladas 217
cumestanos 196, 198, 201
cuparanos 269, 270
cuprenanos 271
curare 485
cúrcuma 137
curcumina 137
- D**
- D-1 161
dafnifilina 503
daizdeína 189, 199
dalbergina 220
dalbinol 192
dammaranodiol 356
dammaranos 322, 331, 338
daucano 273
daunomicina 530
dauricina 419
DCC 66, 74, 133
decacétidos 121
decametrina 256
delfinidina 164, 181
delfinina 501, 502
demissidina 507
dendrolasina 265
dendroprimina 404
depsidonas 234
dépsidos 126, 234
depsonas 234
derivados de dammarano-eufano 356
- del ácido lisérgico 472
- - shikímico 124
derrano 193
derranona 193
derrusnina 200
desacetilpecósido 453
desacetilvindolina 488, 489
11-desacetoxiwortmannina 337
desclorogeodina 229
deshidroaporfinas 425
deshidrocicloguanandina 224, 225
deshidromatricarianol 101
1,2-deshidroreticulina 446
deshidrorotenoide 192, 193
1-desoxi-xylulosa-5-fosfato 242
3-desoxi-D-arabinoheptalusonato-7-
fosfato (DAPH) 123
desoxibenzoína 190
desoxiharringtonina 438
dexametasona 348
dhurrina 115
di- β -indolilmetilenindolenina 468
diabetes de la floretina 158
diabolina 484
1 α ,7 α -diacetoxiapoeuf-14-eno-
3 α ,21,22 ξ ,24 ξ ,25-pentaol 357
(I-3 γ , II-6)-diapigenina 148
dibenzo- γ -pironas 223
dibenzopirrocólinas 417, 432
dictamnina 406
dictyol 312
dicumarol 219
digitogenina 364
digitonina. 364
digitoxigenina 353
digitoxina 353
digoxigenina 353
digoxina 353
3,4-dihidro-2-carbolina 471
dihidroacrifolina 397
dihidroberberina 454
dihidrocadambina 481
dihidrochalconas 158
dihidroflavonol-reductasa 154
dihidroilludina 279
dihidrolapachol 210
5,6-dihidrometisticina 216
dihidropironas 138
dihidrotiazina 521
dihidrotroponas 413

Índice Alfabético

- dimetilalilpirofosfato (DMAPF) 239,
240, 242, 318
dimetilaliltriptofano 473
dioscina 364
Dioscórides Renovado 30
diosgenina 346, 364, 366
diosindigo A 211
3,21-dioxotirucala-7,24-dieno 357
distribución contracorriente 72
diterpenos 54, 245, 292
- bicíclicos 297
- biosíntesis 295
- macrocíclicos 309
- policíclicos 304
- tricíclicos 301
Djerassi 340
doble marcaje 50
dodecilsulfato de sodio 80
dolicothelina 408
dolibelladieno 313
DOPA 315, 453
dopamina 413
dracorrubina 187
drimenina 266
duprezienano 270
 α -duprezienano 271
 β -duprezienano 271
- E
- eburnamina 489, 494
ecdisonas 289, 290, 317
ecdysis 289
ecgonina 412
ecgoninona 412
echinocromos 211
echiumina 400
efectividad del precursor 47
efedrina 414
egonol 200
Ehrlich 516, 533
eicosanoides 102, 108
- nomenclatura 104
- elagitanino 178
electroforesis 78
- capilar 80
- continua 80
elefantopina 283, 285
elemano 281
elemanolido 283, 285
eliptona 193
elípticina 486
elongatólido-A 299
elución continua 68
- múltiple 68
elvirol 273
EM 85
embelina 206
emetina 451
- biosíntesis 452
- degradación 452
emodina 212
endocrocina 121
endoperóxido 107, 109
enlace interflavano 182
ent-beyereno 293
ent-isopimarilo 304
ent-labdanilo 304
ent-labdano 297, 499
epi- β -cedreno 271
epi- β -santaleno 271, 272
8-epi-dendrobina 398
13-epi-pimara-8,15-dieno 302
epicatequina 152, 176, 181
epicinchonidina 408
epicinchonina 408
13-epicorynolina 462
episamarcandina 217
14-episinomenina 444
15-epiveatchina 498
epoxiazadiradiona 358
equinocromos 118
equol 199
erbunamina 490
eremofilanos 281

Fitoquímica Orgánica

- ergocalciferol 352
- ergocromos 228
- ergolinas 472, 473
- ergometrina 473
- ergometrinina 473
- ergonovina 473
- ergostano 341
- ergosterol 241, 351
- ergosterol-D 346
- ergot 472
- ergotamina 473, 474
- ergotaminina 473
- eribidina 438
- eriocitrina 173
- eriodictina 173
- eriodictiol 173, 174
- erisodienona 437
- erisodina 434
- erisopina 435
- eritralina 434
- eritrinano 434, 435
- eritricinas 417, 433
 - biosíntesis 437
 - reacciones 435
 - síntesis 436
- eritroafina-fb 215
- β -eritroidanos 435
- eritroidina 434
- eritromicinas 95, 525
- eritronólido 525
- eritroxidiol-Y 303
- escopolamina 49, 409
- escualeno 245, 318, 370
 - biosíntesis 318
 - ciclación sbsb 321
 - ciclación sbss 324
 - ciclación sssb 322
 - ciclación ssss 324
 - ciclaciones de 320
 - otras ciclaciones 328
- esculetina 218
- esencia de eucalipto 247
 - de gaulteria 135
- eserina 470
- eserolina 469
- esparteína 401, 402, 404
- espermaceti 98
- espermoestricina 485
- espinocromos, 118, 211
- espiro-bencilisoquinolinas 465, 471
- espirodienonas 227
- espirosolanos 506
- espirostanos 337, 341
- esqueletode cevano 509
 - de tropanoreacciones 413
 - diterpenoidales 296
 - triterpénicos 319
- esquizandrina 230, 232
- éster de deshidromatricaria 101
- estereopteno 259
- esteroides 34, 319, 330, 338, 339
 - cadenaslaterales 341
 - estructuraslactónicas 355
 - nomenclatura 340
- esteroles 319, 335, 338, 339
- estigmastano 341
- estigmasterol 346
- estilbenos 226, 228
- estradiol 118, 349
- estranos 335, 336
- estreptomycinina 516, 517, 531
- estricina 475, 482, 484
- estriol 118, 349
- estrógenos 349
- estrona 118, 349
- estudiofitoquímico 54
- etanolamina 107
- éter davana 266
- etnobotánica 30
- eucaliptol 262
- eudesmano 281
- eudesmanólido 286
- eufanos 322, 327, 331, 332
- eufol 322

Índice Alfabético

- euforbol 333
eugenol 134, 135, 259, 260
eunicina 310
eupatundina 285
evodiamina 471
evodulona 360
evoxantina 405
- F
- factor papel 290
 γ -fagarina 467
falcarinona 102
farneseno 265, 291
farnesilo 223
farnesilpirofosfato (FPF) 240, 245, 265, 268
fase enlazada 64
- estacionaria 62
- móvil 62, 68
- reversa 63
faseolina 196
felinina 247
felandreno 252, 253
fenchol 252
fenetilamina 412
 α -fenilalanina 124, 135, 382, 398, 415
 β -fenil- β -alanina 382
fenilalanina amonioliasa 135
fenilcumalina 216
fenilisoserina 314
fenilpropanoides 119, 126, 134, 135, 230
fenoles, prueba para 132
fenotrina 256
fenvalerato 256
fernanos 324
feromonas 290
ferruginol 303
Fieser 340
filicanos 324
fillodulcina 221
floquinona 211
filtración de gel 77
findlissol 357
fitoalexinas 174, 196
fitoecdisonas 317
fitoeno 245, 318, 370
fitoesteroles 237
fitohormonas 286
fitol 292, 295
flavan-3-oles 176
flavan-3,4-dioles 175
flavan-2-eno 152
flavan-3-ol 182
flavan-3,4-dioles 152, 154
flavanodioles. 172
flavanoles 139, 175
flavanona-3-hidroxilasa 154
flavanona-4-reductasa 155
flavononas 172
- acción biológica 174
flavanonoles 151, 172
flavanos 169
flaven-4-oles 152
flavenos 169
flaviolina 209
flavocommelinina 171
flavolignano 174, 232
flavona-sintetasa 156
flavonas 151
flavonoide-isoflavonoide, conversión 152
flavonoides 117, 126, 137, 226
- biosíntesis 153
- cromatografía 140
- EM 143
- espectroscopía ultravioleta 143
- función de 137
- metabolismo 156
- métodos espectroscópicos 142
- poliméricos 177
- reacciones típicas 148
- reducción 152

Fitoquímica Orgánica

- RMN 145
 - secuencia evolutiva 155
 - TLC 141
 - UV 143
 - UV-VIS 145
 - aislamiento e identificación 140
 - flavonol-sintetasa 156
 - flavonoles 151
 - flavonoles y flavonas, espectroscopía 162
 - - separación e identificación 161
 - flavotebaona 440, 443
 - Fleming A. 515
 - flexibileno 312
 - flobafenos 178
 - floretina 158
 - florina 128
 - florizina 158
 - floroglucinol 128, 134
 - 9 α -fluorocortisol 348
 - folicantina 491
 - forboles 309, 311, 312
 - formononetina 189
 - formosanina 481
 - fosfatidilcolina 93
 - fosfatidiletanolamina 93
 - fosfatidilserina 93
 - fosfolipasa 107
 - fosfolípidos 93
 - freelingnita 266
 - friedelanos 323
 - Friedo- 294
 - friedo-pimaranos 303
 - ftalidoisoquinolinas 417, 461, 466
 - fucoxantina 377
 - fumigatina 307
 - fumitremorgina B 474
 - funtumina 504
 - furanoaurona«A» 159
 - furocumarinas 218
 - furoquinolinas 406
 - furostanos 337, 341, 365
- G**
- GABA 382
 - galantamina 450, 451
 - galantina 450
 - galocatequina 181
 - galotanino 178
 - gammaceranos 324
 - gardnerina 482
 - garryfolina 498
 - garryína 497, 498
 - Gatenbeck 529
 - GB-1 186
 - gedunina 358
 - geissospermina 492
 - geninas 246, 331
 - genisteína 189
 - genkwanina 153
 - gentiopicrósido 257, 477
 - gentiósido 224
 - geodina 229
 - geodoxina 229
 - gephyrotoxinas 505
 - geranil-linaloilisonitrilo 295
 - geranil-linalool 292
 - geranilcitronelol 292
 - geranilfarnesilpirofosfato (GFPP) 245, 315
 - geranilfarnesol 315
 - geranilgeranilpirofosfato (GGPF) 245, 292, 295
 - geranilgeraniol 292
 - geranilo 223
 - geranilpirofosfato (GPF) 245, 258, 251, 265
 - geraniol 251, 260, 263, 476
 - germacrano 281, 290
 - germacranólido 283, 285, 286
 - germacranos, conformaciones 281
 - germacreno-A 281
 - germanicano 323, 325
 - gestágenos 349

Índice Alfabético

- gibbanos 296, 307
gibberellinas 287, 293, 305
- biosíntesis 308
gibbereno 308
gigagenina 110
gingerona 112
gingólidos 243
ginseng 356, 368
ginsenósidoRb-1 367
ginsenósidoRo 367
gitoxigenina 353
gitoxina 353
glandulina 499
glaucina 422, 423, 443
glicósidos cardiotónicos
216, 340, 352
- cianogénicos 115
- fenólicos 127
glucodistylina 174
gluconapina 113
gluconorcappasalina 113
glucorafenina 113
glucosamina 532
 β -glucosidasa 130
glucósidos cardiotónicos 338
glucosilmircenol 238
glucosinolatos 113
- bioformación de 113
glutaconilCoA 240
glutinanos 323, 326
glyceolin 196
glycirrina 200
glycyrrhizina 367
goitrina 114
goma 247
gomaabga 299
gonanos 335
goniothalamusin 110
gossipol 264
Goto 171
Gottlieb 52
gramicidina-A 519
gramicidina-S 520
grandisol 252
grasa natural 91
grayanos 296, 307
grayanotoxinas 307
Greshoff 51
griseofulvinas 227
gruposionogénicos 75
guaiazuleno 264
guaiol 264
guayano 281, 287
guayanólidos 54, 283, 285
guayule 247
gutapercha 247
- ### H
- habas de calabar 469
hallocromo 302
harmalina 470
harmano 471
harringtonina 438
Harshbergers, J. 30
hasubananos 439
hasubanonina 417, 439, 446
hedycariol 282
helenalina 286
heliangina 286
heliangólidos 282
helicobasidina, 208
heliotridina 400
hellebrigenina 354
hematina 220
hematoxilina 220
hemiterpenos 246
Hendrickson 94
hepática 267
heptacétidos 121
heptanal 259
heptazolidina 409
heroína 440
hesperetina 173, 174
hesperidina 173

Fitoquímica Orgánica

- HETE 207
heteratisina 502
heteroatisano 496, 501
heterodéticos 521
heterolignanos 232
heteroméricos 519
heteroyohimbinas 480
hetisano 499
hetisina 499
hibano 304
14 α -hibol 302
hidrastina 466
hidroquinona 128, 134
3 β -hidroxi-13 α -tigloxilupanina 402
hidroxi-2-feniletilglucosinolato 113
7-hidroxi-2-metilsoflavona 189
3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA 240
2-hidroxi-alkanina 210
3 β -hidroxi-5 α -androstan-17ona 342
hidroxiaporfinas 421, 425
4-hidroxiflavanol 155
3 β -hidroxiflavanonas 154
15-hidroxiklaineana 360
5-hidroxiperezona 206
6 α -hidroxipterocarpanos 198, 201
4-hidroxiquinolina 487
12 α -hidroxirotenoide 192, 193
11 α -hidroxischillarina 353
13-hidroxitetrahydroberberina 457
higrina 398
himachol 275
himenoxina 288
hipericina 215
hipericismo 215
Hipócrates 29
hippeastrina 450, 451
hirsutanos 280
hirsutidina 164
histidina 408
Historia Natural 29
histrionicotoxinas 505
HJ 289
HMG-CoA 241
hodgkinsina 491
homeoméricos 519
hominomicolatode metilo 96
homo- 294
5 α -D-homandrostan-11-ona 342
homobatrachotoxina 505
homodéticos 521
homoeritrina 438
homoprotoberberina 466
hopanos 324, 325, 327
hordatina 230, 232
hormonas adrenocorticales 345
- - síntesis 347
- esteroidales 345
- juveniles 289
- sexuales 349
HPETE 105
HPLC 62, 133
HPTLC 71
hultenina 174
humuleno 275, 277
- conformaciones 279
humulona 247
hyosciamina 410
hyoscina 410

I
iboga 476
ibogaína 488
ibogamina 487, 488
iboquina 487, 488
illudanos 278, 280
illudina 278
indizolina 409
infuscatrienol 312
inhibición suicida 51
inhibidor específico 45, 51
inositol 107
insaturaciones en ácidos grasos 95
ionona 370, 376
ipomeamarona 265

Índice Alfabético

- IPPF 239, 240, 242, 317
IR 83
ircininas 315
irehína 507
iridoides 52, 253, 256, 407, 476
- biologicamenteactivos 258
- y seco-iridoides, biosíntesis 257
iridomirmecina 253, 257
islandicina 121, 212
iso-okanina 173
isoartemisia cetona 253
isoatisina 498
isobetanidina 512
isobeyerano 304
isocanfano 252
isochamigranos 269
isochondodendrina 419
isocinchophyllamina 493
isocularinas 430
Isocumarinas 221
isofitol 292
isoflavanol 201
Isoflavanonas 191, 201
Isoflavanos 198, 201
isoflavenos 198, 201
isoflavonas 139, 187, 201
isoflavonoides 128
- biosíntesis 200
- degradación 190
- derivadosquinónicos 199
- síntesis 190
- UV 188
isomelacacidina 175
isonardoperóxido 287
isopavinas 433
isopelletierina 394
isopentenilo 241
isopentenilpirofosfato(IPPF) 50, 239,
240, 242, 244, 245
isopirodelfnina 502
isopreno 238
- activo 240
- - biosíntesis 240
isorenierateno 377
isorubijervina 507
isosalipurpol 155
isosapogeninas 365
isosolanidanos 507
isostachano 304
isosteganol 233
isosteganona 233
isosteviol 305
isotebaína 429
isotiocianatode alilo 259
isótoposestables 49
- J
- jasmolina 255
jatropanos 309, 310, 312
jatrophatriona 311
jatrophona 311
jatrorrhizina 453
jengibre 137
jerveratrum 509
jervina 509
jujubogenina 367
jujubósido 367
juvabiona 290
- K
- K-strofantósido 353
kanamicina 517, 531
kanferol 127, 155, 159
kanferol-3-O- β -D-glucósido 128
karahanaenona 253
kauranos 296, 304, 496
kaureno 304
kawaína 216
Kendall, 340
khellin 222
khivorina 360
kikio 368
Koep 93
kukosaginina 405

Fitoquímica Orgánica

- kynurenato 241
- L
- L-fenilalanina 106
- L-isoileucina 106
- L-lisina 43
- L-tirosina 106
- L-valina 106
- labdanilo 296, 297, 304
- labdanilpirofosfato 306
- labdano 297, 298, 304
- β -lactamasa 517
- lactonas sesquiterpénicas 52, 283
- - actividad biológica 284
- lancilactona A 355
- lanostanos 321, 331, 332
- lanosterol 321, 330, 338, 343, 355
- lapachol 210, 212
- lasiocoryina 298, 299
- Laszlo 30
- látex 247
- latia-luciferina 266
- latinina 53
- laudosina
- 379, 416, 418, 423, 443, 444
- laudosolina 432
- laureanos 269, 270
- lavanda 260
- lavandulilo 252, 253, 254
- lavandulol 253
- Lavie 52
- lecitina 93
- ledermicina 529
- leiocarpina 198
- leiocina 198
- leontidina 402
- leptinidina 507
- leptomicinaB 97
- lespedeol-B 191
- lespeína 196
- lespeol 158
- leucina 240, 408
- leucoantocianidinas 53, 176
- leucoantocianinas 53
- leucofisetinidina 175
- leucomicina 525
- leucotrienos 102, 105, 107
- Library of Medicinal Plants 30
- licarina-A 230, 232
- liconnotina 395
- licopeno 371, 377
- licoperseno 371
- licopodina 394
- degradación 396
- EM 397
- licorina 450, 451
- licoxantina 377
- Liebermann-Burchard 58
- liensinina 419
- lignanos 34, 124, 230
- ligninas 117, 124, 132, 135
- lignoides 126, 137, 230
- limoneno 251, 260, 263
- limonina 338, 358
- limonoides 330, 335, 338, 356
- linalool 243, 251, 260, 263
- linamarina 105
- lipólisis 92
- liratol 254
- liriodenina 425
- lisetina 190
- lisina 393, 404
- LL-Z1271 α 533
- LL-Z1271 γ 533
- lobelina 394
- lofolina 397
- loganina 477
- loliólido 370, 376
- longibornano 276
- longicanfano 276
- longifolanilo 276
- longifolano 276
- longipinano 276
- lophocerina 415

Índice Alfabético

- lophorina 415
LPLC 63
LSD 467
luciferina 118
lumicolchicinas 447
lupanina 402
lupano 323, 324, 325, 327
lupinina 401, 404
luteína 372
luteolina 159
luteona 316
luteoskirina 214
lycoctonina 500
- M**
- maackiaina 196
maalianos 281
maaliona 282
macrólidos 525
macrolina 494
macrotetrólidos 527
macusinaB 485
magnesol 141
magnoflorina 422, 423, 424
magnolol 230, 232, 259, 261
mahuaninaB 181
maitansina 524
maitaresinol 230
malabaricanos 329
malcrastonidina 494
malformina 520
malonil-CoA 89, 93, 121, 154,
155, 241
malouetina 504
malvidina 164
malvina: 167
malvona: 167
mangiferina 224
mangostina 224
manool 296, 299, 302
marasmanos 280
marcadoisotópico 46
maritimeína 159
maritimetina 159
marrubiína 243, 298
marrubio 243
Materia Medica 29
matrina 401, 404
McLaughlin 56
McNair 51
mecambrina 421
medicarpina 196
melacacidina 175
melampóridos 282
melanina 118, 135
meliacinas 335, 338, 356
melianodiol 357, 359
menadiona 211
menaquinona 211
menaquinonas 209, 210
menta 260
mentanos 250, 251
mentol 251, 260
merogeduninol 358
merolimonol 358
meroterpenoides 247
mesaquinonas 207
mescalina 414, 415
mesembrano 450
mesembrina 398, 450
mesocorydalina 455
mesothalictricavina 455
metabolitosecundario 32
N-metilbencilisoquinolinas 417
N-metilcoclorina 421
N-metilcoripallina 416
N-metilcorydalina 461
metilcrotonato 241
3-metilcrotonil-CoA 240
N-metildihidroestricina 487
N-metilglaucina 429
metilisopelletierina 395
7-metiljuglona 209
metilmorfol 441

Fitoquímica Orgánica

- 2-metilnaftoquinona 211
 - N-metilpelletierina 44
 - 17 α -metiltestosterona 350
 - metiltetrahidroprotoberberinas 455
 - N-metilthalictricavina 455
 - metionina 196
 - metisticina 216
 - métodobiológico 46
 - biosintético 43
 - del trazado isotópico 46
 - métodos cromatográficos
 - contracorriente 73
 - de extracción y fraccionamiento 60
 - 6-metoxitrichostachina 399
 - mevalonolactona 50
 - mexicanólido 360
 - micotoxinas 215
 - mikanólido 286
 - Miller 529
 - mirceno 251
 - miristicina 134, 135
 - mirtenal 250
 - mirtenol 250
 - mitomicinas 400, 516
 - mioxantofila 373
 - mollisacacidina 175
 - mompáina 209
 - monensina 527
 - monoterpenos 245, 248
 - esqueletos irregulares 249
 - esqueletos regulares 249
 - montanina 450, 451
 - morellina 225
 - morfina 398, 428
 - morfinaos 439
 - morfina 417
 - biosíntesis 445
 - estereoquímica 444
 - reacciones 440
 - movimiento electroforético 78
 - muestretestigo 55
 - mulberranol 161
 - munduserona 193
 - munjistina 213
 - muscarufina 208
 - mutante 45, 51
 - muurolanilo 274
 - muurolanos 273
- ### N
- naftoquinonas 209
 - nalorfina 440, 444
 - nandinina 455
 - napellina 498
 - narcotina 461
 - α -narcotina 466
 - nardoperóxido 287
 - nardosina 287
 - naringenina 154, 155, 173, 174, 185
 - narirutina 173
 - Naturstoffreagenz 162
 - neo-prooporfina 421
 - neoabiético 302
 - neolignanós 230
 - neomicina-C 531
 - neopinona 445
 - neoprooporfina 437
 - nepetaefolina 299
 - nepetalactona 258
 - nerilpírofosfato (NPF) 248, 251, 265
 - nerol 249
 - nicotina 48
 - síntesis 399
 - nimbólido 360
 - nistatina 526
 - p-nitroanilina 133
 - nitropolizonamina 401
 - no saponificable 246
 - no-triptaminas 468
 - nonactina 527
 - nonádridos 528
 - nor- 294
 - A-nor-5 α -colestano 342
 - A-nor-D-bishomo-5 β -pregnano 342

Índice Alfabético

- 19-nor-clerodanos 300
nor-higrina 398
nor-illudanos 278
nor-lupano 325
nor-oleanano 325
nor-protosinomenina 421
nor-triterpenoides interconversión de
 núcleos 360
nor-triterpenos 325
noradrenalina 429
norarmepavina 418
norbelladina 451
norcapilleno 53
nordracorrubina 187
norepinefrina 413
noretindrona 350
N-norlaudanosina 416, 418, 454
30-normetil-lupan-20-ona 326
normorfina 445
nortropano 409
novobiocina 218, 516
núcleo aporfínico 421
- cataranto 494
- ergolina 474
- flavano. 138
- sarpajano 494
- taxano 54, 314
- vindolina 494
núcleos indólicos reordenamientos 490
nufaridina 402
- O**
- O-metilvitexina 131
7 α -obacunol 360
obacunona 358
ochotensano 466
ocimeno 251
octacétidos 121
- naturales 229
octanal 259
20R,24 ξ -octotillona 356
odoratona 357
- ofiobolinas 315
oganina 257
okolasina 398
oleanano 324, 325, 327
oleopteno 259
ólido 283
olivacina 486
olivetol 223
ololiuqui 472
onoceranos 329, 331
 β -onocerina 329
onotina 278
oosponol 221
ophiocarpina 466
opsina 369
orcinol 119, 122
ORD 85
órganos de muda 317
orientalina 429
orientalinona 429
oripavina 445
ornitina 398, 403
oroxylina-A 161
oryzalexina S 305
osthenol 217
ototensina 401
ovalicin 533
- biosíntesis de 50
oxiacantina 419
oxiberberina 454
N-óxido de coccinellina 403
óxido de fumigatina 207
óxidos de manoílo 298
oxindoles 487
9-oxo-2-decenoico 291
oxo-aporfinas 425
13-oxo-dihidroberberina 457
6-oxo-tingenol 326
oxovittatina 450
- P**
- Paclitaxel 314

Fitoquímica Orgánica

- pactamicina 534
- padmakasteína 153
- paeoniflorina 238
- palo campeche 220
- palustrol 221
- panax 356
- panaxadiol 356
- papaverina 418
- paracotoína 138
- paracotoína, 216
- paravallarina 504
- partenina 288
- pasote 260
- paspaclavina 474
- patulina 234
- pavinas 433
- paxillina 468
- peganina 405
- pelargonidina 155, 164
- pelletierina 394, 398
- penano 521
- penicilina-G 522
- penicilina-N 522
- penicilina-V 522
- penicilinas 517, 521
- penicillopsina 215
- pennsylvavanina 419
- pennsylvavolina 419, 433
- pentaeicosenos 99
- peonidina 164
- peptidolactonas 521
- periplanona B 290
- Perkin 128
- perlolyrina 470
- PGEI 104
- PGF1a 104
- PGF2a 105
- PGG2 107
- phyllanthanos 323
- phyllocladano 304
- phyllocladeno 304
- physostigmina 469, 470
- picralina 482, 494
- piericidina-A 526
- pigmentos del ergot 229
- pilocarpina 408
- pilocereína 415
- pimarano-rosano 303
- pimaranos 296
- pimarilo 304
- pinano 250, 251, 270
- pineno 251, 260, 271
- α -pineno 250, 251, 260
- β -pineno 251, 260
- pinguisano 267
- pinocarveol 250
- 20-piperidilpregnanos 504, 506
- piperidilpregnanos α -enol 509
- Δ^1 -piperidina 43, 392
- piperina 112, 398
- piptandina 402
- piretrina 255
- piretroides 255
- piretrosina 288
- pirodelfinina 502
- pironas 126
- α -pironas 216
- γ -pironas 221
- pirrolizidinas y quinolizidinas
 - biosíntesis 403
- pisatina 196, 199
- Pittier, H. 30
- placas analíticas, preparación 70
- plastoquinonas 125, 208
- platycodina 367
- platydesmina 406
- platynecina 389
- plaunotol 295
- PLC 69, 72
- pleiocarpamina 482, 494, 495
- pleiocarpina 490
- Plinio 29
- plumericina 257
- podocarpanos 296, 302

Índice Alfabético

- podofilotoxina 230
poli-isopreno 247
poliacetilenos 52, 53, 89, 100
- bioformación 103
poliamida 63
policétidos 34, 89, 117
- aromáticos 119
polidextran, 77
polihidroxicompuestos 71
polímeros fenólicos. 136
polimixina B-1 519
poliprenilo 223
poliprenoles 245, 247
polistachina 161
pongachalcona 158
pongaglabrol 160
Popjak 340
praecansonaB 160
pre-fitoeno 370
pre-escualeno 370
pre-escualenol 318
pre-marrubiína 299
preakuammicina 484, 490
precondylocarpina 484
precursores, detección de 46
prednisolona 348
2 β ,3 β ,4 β -pregnan-16-ona 348
pregnanos 335, 341
5 β -pregnano 354
 $\Delta^9(11)$ -pregnen-3 α ,6 β -dihidroxi-20-ona
345
pregnenolona 355
pregnolona 336
prenilación 243
prenoles 249
principios cianogénicos 115
pristimerina 326
pro-vitamina A 369
pro-vitamina D 351
proantocianidinas 177, 180, 181
- acción biológica 184
proaporfinas 417, 421, 429
procesos de la visión 369
procianidinas 132, 170, 181
prodelphinidinas. 181
prodigiosina 531
productos naturales 32
progesterona 347, 349, 355, 364
progoitrina 114
propenil-L-cisteína-S-óxido 114
proscillaridina 353, 354
prostaciclina 102, 104
prostaglandinas 89, 102, 104, 107
- biosíntesis 106
prostanoide 104
- aplicaciones de 109
proteínas 34
protoafina-fb 216
protoarboranos 324
protoberberinas 417, 453, 463
- biosíntesis 460
- reacciones 455
- síntesis 459
- transformaciones en otros núcleos
460
protoemetina 493
protohipericina 215
protoilludanos 279, 280
20-protopanaxadiol 367
protopina 461, 463, 467
protopinas 417, 461, 466
protostanol 321
protostanos 321, 331, 338
protostephanina 446
protosterol 331
prueba de Legal 284
pruebas de actividad biológica 55
- químicas de campo 57
- químicas de laboratorio 57
prunasina 115
prunetina 153
pseudano 405
pseudobase 154, 453
pseudococaína 411, 412

Fitoquímica Orgánica

pseudoefedrina 414
pseudoguayanos 281
pseudoguayanólido 286
pseudonortropina 410
pseudopelletierina 394, 398
pseudotropina 410
psilocibina 469
psilostachina 283
psoralen 217
ptaquilósido 278
pterocarpanos 196, 201
- fotólisis 197
pterocarpenos 198
pterosina 278
puenteberberínico 461
pumiliotoxinas 505
pungenina 134, 135
puntoisoelectrico 78
puromicina 516
purpurina 213
putrescina 48, 398, 403
PVP-Polycar AT 166
pyncantina 494, 495

Q

quassina 359
quassinoides 338, 356
quebrachamina 490
quercetina 118, 127, 159
quercitrina 53, 118
quimiotaxonomía 51
quinidina 407
quinina 407, 475, 486
quinonas 126, 202
quinonas, aislamiento e identificación
203
- color 204
- E M 207
- extendidas 215
- RMN 205

R

reacción de hidroxamato 284
reacción "ISO" 366
reactivo de Dragendoff 58, 384
- de Meyer 58, 384
- de Sonnenschein 384
- de Wagner 384
regiones de muda 317
regla del isopreno 238, 243
reglas de Rowe 293
Reichstein 340
reineckato de amonio 385
remangilona 226
reordenamiento "APO" 435
- Claisen 126
- iso-piro 501
reserpina 429, 467, 475, 479
reserpolactona 479
resina Dammar 356
resinas ácidas 293
- anfotérica 75
- aniónicas 75
- catiónicas 75
- de intercambio iónico 75
reticulina 416, 422, 445, 461
retinal 369, 376
retinol 295, 369
retronecina 389, 400, 403
rheína 212, 214
rheadinas 461, 465
rhusflavona 186
rifamicinas 516, 524
Rilling y Popjak 319
rimuranos 296, 302, 303
RMN 81
RMN-1D 82
RMN-2D 83
Robinson, R. 89, 171, 340
robustaflavona, 148
rodopsina 369
roemerina 421

Índice Alfabético

- romneína 431
roridina 535
rosefurano 253
rosenonolactona 303
rosinidina 164
rosmarinina 401
rotenoides 192, 193, 201
rotenona 192
rotenonona 192
rotoxeno 192
roxburghina B 493
RP-8 y RP-18 63, 133
rubenina 481
rubiadina 213
rubijervina 507
rubixantina 377
rubratoxinas 528
rubroskirina 214
rutaecarpina 471
rutina 159
rutinosilo 173
Ruzicka y Butenandt 340
- S
- sabineno 251
safrol 259, 260
saikosaponinas 367
sakuranetina 153
sal de flavilio 152
salanina 338
sales de alcaloides 391
salicilato de metilo 134, 135
salicina 135
salsolidina 415
salutaridina 444
samanina 504, 505
sandaraco 301
sanguilutina 465
sanguinarina 379, 461, 462, 463
sanshool, α y β 112
santaleno 272
 β -santaleno 271
- santiaguina 394
santolina-alcohol 254
santolinatrieno 254
santolinilo 252, 253
 α -santonina 53
sapogeninas 361
- esteroidales 363
- - reacciones 363
saponarina 131
saponarina 131
saponina OSW-1 366
saponinas 318, 330, 361
- esteroidales 363
- triterpenoidales 367
sarsinósidos 366
sarkomicina 285
sarpagina 482, 494
sarsasapogenina 364
sativeno 274
schizozygina 490
Schnee, L 30
schymnol 351
scillarina 353
scoulerina 461, 466
seco- 294
seco-carotenoide 373
seco-iridoide 257
seco-pseudoguayanólido 283
secocatarantina 494
secodafnifilina 503
secodina 489
secologanina 257, 407, 452, 477, 484
sedamina 43, 394
semi- α -carotenona 376
semiglabrina 161
senecipillina 401
sennósido 213
Sephadex LH-20 77, 133
sepiol 199
serie isolisérgico 474
serie lisérgico 474
serina 107

Fitoquímica Orgánica

- serotonina 469, 470
 - serpentina 480
 - serpentinina 494
 - serratanos 329
 - serratendiol 329
 - serratinina 395
 - sesamina 230
 - sesquicanfano 270
 - sesquicaranos 273
 - sesquipinano 270
 - sesquisabineno 269, 270
 - sesquiterpenlactona 53
 - sesquiterpenos 245, 264
 - bioformación 265
 - cationes precursores 268
 - cíclicos 266
 - sesquitujanos 269, 270
 - sesterterpenos 245, 315
 - biosíntesis 316
 - sfenolobano 312
 - shikonina 209, 210
 - shogaol 112
 - sifoneína 373
 - sifonoxantina 373
 - silybina 232
 - silydianina 232
 - silymarina 232
 - silycristina 174, 232
 - simarólidos 338, 359
 - simarubálidos 338, 356
 - sinalbina 113
 - sinigrina 113
 - sinoacutina 444
 - sinomenina 444
 - sirenina 273
 - β -sitosterol 333, 334
 - skirina 214
 - slaframina 404
 - β -snyderol 266
 - solacongestidina 509
 - soladinanos 506
 - solamargina 506
 - solanidanos 507
 - solanidina 507
 - solanina 363, 507
 - solanocapsinas 506, 508
 - solasodina 506, 507
 - solasonina 363, 506
 - solucrina 234
 - sophoronol 174
 - SP-3243 256
 - spinulosa 207
 - stachano 304
 - steganona 233
 - stemarano 305
 - stemmadenina 484
 - stemmarf13-eno 306
 - stemonacetal 195
 - stephasunolina 446
 - steviol 305
 - steviósido 305
 - stilopina 461, 463, 467
 - strofantidina 353
 - suberilarginina 353
 - suberosina 218, 246
 - succedaneaflavona 185
 - sulfato cérico 72, 246
 - sulfuretina 159
 - sulocrina 229
 - surinamensina 230, 232
 - surugatoxina 474
 - swerósido 257
- ### T
- T-muurolol 273
 - tabernanteína 488
 - tabersonina 490
 - TAL 120
 - taninochino 178
 - condensado 177, 178, 181
 - - degradación 182
 - hidrolizable 178, 179
 - taninos 117, 124, 126, 132, 135, 177
 - del té 180

Índice Alfabético

- taratanino 178
taraxasteranos 323, 325
taraxeranos 323
taspina 424
taucvina 300
taxadieno 309
taxanos 312, 313
taxifilina 115
taxifolina 153, 174
taxina 313
taxodiona 303
taxodona 303
taxoides 314
taxol 314
taxostere 314
tayunina 286
tazzetina 450, 451
té negro 180
té verde 180
tebaína 440, 443, 445
tebenina 443
técnicas de elución 67
tembetarina 418
tenulina 288
teogalina 181
teonacatl 469
terpenoide 33, 238, 252
terpenos 34, 54, 237
- aislamiento y purificación 245
- biosíntesis 239, 243
terpinen-4-ol 251
 α -terpineno 250
terramicina 529
terremutina 207
testosterona 349
TET AL 123
tetra-nor-triterpenoides 356
tetracétido 119
tetraciclina 121, 517, 529
- bioformación 530
tetrahidroanabasina 394
tetrahidroberberina 453
 Δ^1 -tetrahidrocanabinol 223
tetrahidroisoquinolinas 418
tetrahidrolicopeno 377
tetrahimanol 324
tetrahimanos 324
tetraterpenos 369
- biosíntesis 370
tetrenolina 97
teuflidina 300
thalicarpamina 419
thalisopavina 433
tiazolidina 521
tierra de diatomeas 71
tigogeninlactona 508
tiliageína 419, 420
tiloforina 404
timol 263
tingenona 326
tiramina 415
tirosina 124, 415
tirucalano 322, 331, 332, 356
tirucalol 322
TLC 69, 71
tocoferoles 222
tomatidina 507
tomatina 363, 506
toruleno 375
totaranos 296, 302, 303
totarol 303
trachylobanos 296
Transformadas de Fourier 81
trapezifolixantona 224, 225
trementina 260, 261
tri-O-metilfloroglucinol 131
trichotecanos 269, 271
trichotecina 272
Z-9-trieicoseno 291
trifarina 295
2,4,4'-trihidroxichalcona 201
trillina 364
1,3,3-trimetilciclohexano 266
trimetoxifeniletilamina 413

Fitoquímica Orgánica

- triptaminasisoprenoides 468, 472, 477
triptaminasno-isoprenoides 468
triptofano 124, 383, 393
triterpenoides 320
triterpenos 317
- tetracíclicos 320, 330
- - cadenalateral 332
- - sistemaanular 335
tromboxanos 102, 104, 107, 109
tropano 398
2-tropeno 412
tropidina 412, 413
tropilenona 413
tropina 394, 412, 413
tropinona 398, 412, 413
tropolonas 235
- biosíntesis 235
tryptoquivalina 475
tsilanina 485
tubocurare 485
tubocurarina 416, 419, 485, 492
tuboxenina 494, 495
tubulosina 486, 493
tujano 250, 270
tujopsanos 269, 270
tulipalina 286
turraeanteína 357
- U
- ubiquinonas 125, 208
uleína 486
umbellamina 494
umbelliferona 217, 218
umbelliprenina 218
uña de gato 328
uncarinaB 481
unión cabeza-cola 243, 245
unión cola-cola 245
unonal 160
uridina-difosfato 129
ursanos 323, 324, 325, 327
utilina 361
- UV/VIS 84
uvaretina 173, 174
- V
- vainilla 259
valepotriatos 257
valina 240
vanillina 134
VCR 468
veatchina 497, 498, 499
vepésido 230
veralkamina 509
veratramina 509
veratridina 510
verbascósido 180
verbenenol 257
verbenol 250
verbenona 250
vernolepina 283, 285
verrucarina 535
vetivenol 260
vetiver 260
vetivona 260
vibsanina B 312, 313
villinol 195
vinblastina 476
vincadiformina 490, 495
vincadina 490
vincaleucoblastina
468, 475, 483, 494
vincaleucocristina 468, 475
vincamina 477, 489, 490
vincristina 476
vindolina 488
vinilbenzofuranona 195
vinilcumaranonona 195
violaxantina 373, 376
vitamina E 222
- K 210, 211
vitexina 128, 130
vittatina 450
VLB 468

Índice Alfabético

voacamina 494
vobasina 482, 494
vobtusina 495
von Euler 104
vulgaxantina 512

W

wagonina 161
widdranos 269, 270
Wieland 339
wighteona 189
Willstätter, R. 170
Windaus 339
Wintersteiner 340
withaferinaA 53
withanólidos 53, 355
Wöhler 31
WoodwardR.B. 340, 529
wortmannina 337

X

X-537-A 527
xanthochymol 227
xantiletina 218
xantofilas 374
xantomatina 118
xantonas 221, 223, 224
- biogénesis 225
xantoxina 376
xerogeles 77
xylopinina 454

Y

yaje 470
yamogenina 366
yangonina 137, 138, 216
ylangano 274
ylangenilo 274
 α -ylangeno 275
 β -ylangeno 275
yohimbina 478

- configuraciones 478
- epimerización 480
yomogi-alcohol 254
yopo 469
yuzurimina 503

Z

zeatina 287
zeaxantina 370, 371, 377
zeyherina 186
zingerona 112, 137