



UNIVERSIDAD MICHOACANA
DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO



INSTITUTO DE INVESTIGACIONES QUÍMICO BIOLÓGICAS

ESTUDIO FITOQUÍMICO DE *Pistacia mexicana*

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE

MAESTRO EN CIENCIAS QUÍMICAS

PRESENTA: I.I.A. FIDEL RODRÍGUEZ LÓPEZ

DIRECTOR: D. C. HUGO ALEJANDRO GARCÍA GUTIÉRREZ

Febrero de 2020, Morelia, Michoacán

EL PRESENTE TRABAJO SE LLEVÓ A CABO EN EL LABORATORIO DE QUÍMICA MEDICINAL DEL INSTITUTO DE INVESTIGACIONES QUÍMICO-BIOLÓGICAS DE LA UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO, BAJO LA DIRECCIÓN DEL D.C. HUGO ALEJANDRO GARCÍA GUTIÉRREZ. PROYECTO REALIZADO CON APOYO ECONÓMICO OTORGADO POR CIC-UMNSH Y CONACYT CIENCIA BÁSICA (A1-5-47325).

*Nothing in life is to be feared,
it is only to be understood.
Now is the time to understand more,
so, that we may fear less.*

– Marie Curie

*The good thing about science is that
it's true whether or not you believe in it*

– Neil deGrasse Tyson

*En la vida no basta nacer con alas, si no tienes buenos maestros que te enseñen a volar con ellas... Para mí, esos maestros son mis padres **Alicia** y **Salvador**, y mis hermanos **Felipe** y **Salvador**, y es por eso que a ellos les dedico este trabajo con todo el amor y admiración del mundo.*

Gracias por ser las maravillosas personas que han sido conmigo, siempre apoyándome en los buenos y en los malos momentos, por enseñarme que con esfuerzo, dedicación y paciencia se pueden cumplir los sueños. Este logro no hubiera podido ser posible sin ustedes.

AGRADECIMIENTOS

A mis amigos incondicionales, **Itze** y **Juan Manuel**, la vida nos ha distanciado un poco, pero les agradezco infinitamente que siguen estando pendientes de mi trayectoria, dándome ánimos, regaños y todo el cariño del mundo.

A mis compañeros de laboratorio, **Luis Javier, David, Luis Prado, Francisco, Marili, Gregorio, Martín, Angélica, Karen, Alex, Gaby, Nereyda** y **Yareli**, gracias por brindarme su amistad; junto a ustedes he aprendido y compartido grandes momentos y el trabajo siempre fue ameno dado que nunca faltaban las risas y el buen compañerismo.

A mis compañeros de generación, **Gaby, Doris, Toño, Perla** y **Kary**. Ustedes en verdad son unos amigos maravillosos, siempre atesoraré el conocimiento que de ustedes he adquirido y las aventuras que juntos pasamos.

A **Miriam**, por brindarme tu amistad cuando llegué al laboratorio y haberme tenido paciencia para enseñarme a dar mis primeros pasos en el área de productos naturales.

A **Charly**, que en muy poco tiempo se convirtió en un excelente amigo, gracias por brindarme tu amistad y hacer amena mi estancia en Guanajuato. Siempre voy a recordar todas las aventuras y desventuras que pasamos.

A **Sandy** y **Chino**, gracias por ayudarme a incursionar en el mundo de las RMC, de ustedes aprendí muchísimo, y contar con su amistad es algo que aprecio enormemente.

A los chicos del laboratorio de la UG, **Bere, Diana** y **Fer**, los momentos que pasé con ustedes siempre fueron amenos y divertidos, y su amistad es preciosa para mí.

Al **D. C. Hugo A. García Gutiérrez**, gracias por brindarme la oportunidad de pertenecer a su grupo de trabajo, por el conocimiento que aportó para mi crecimiento profesional y sobre todo por la calidez que mostró como persona durante mi formación.

A la **D. C. Lidia Beiza Granados**, gracias por permitirme trabajar a su lado, por los conocimientos que me transmitió y sobre todo por las enseñanzas de vida.

A la **D. C. Ma. del Rocío Gámez Montaña**, gracias por permitirme integrarme a su grupo de trabajo durante mi estancia de investigación y por las enseñanzas que me brindó.

A la **D. C. Judit A. Aviña Verduzco**, gracias por acompañarme durante mi trayectoria con el programa de tutorías, las charlas que tuvimos siempre fueron enriquecedoras.

A mis revisores, **D. C. Pedro Navarro Santos, D. C. Alejandra Ochoa Zarzosa, D. C. Rafael Herrera Bucio** y **D. C. Carlos Martín Cerda-García-Rojas**, por los conocimientos que aportaron durante la realización del presente trabajo con el fin de enriquecerlo.

PRESENTACIONES

Parte del presente trabajo se presentó en los siguientes eventos académicos:

Fidel Rodríguez-López, Lidia Beiza-Granados, Pedro Navarro-Santos, Alejandra Ochoa-Zarzosa, Hugo A. García-Gutiérrez. Fitoquímica preliminar de los extractos orgánicos de *Pistacia mexicana*. Presentado en el 2do Foro del Posgrado en Ciencias Químicas del Instituto de Investigaciones Químico Biológicas. Celebrado del 2 al 6 de julio de 2018 en Morelia, Michoacán, México.

Fidel Rodríguez-López, Rocío Gámez-Montaña, Lidia Beiza-Granados, Rafael Herrera-Bucio, Alejandra Ochoa-Zarzosa, Hugo A. García-Gutiérrez. Funcionalización de triterpenos vía la reacción de multicomponentes de Passerini. Presentado en el 3er Foro del Posgrado de Ciencias Químicas del Instituto de Investigaciones Químico Biológicas. Celebrado del 1 al 5 de Julio de 2019 en Morelia, Michoacán, México.

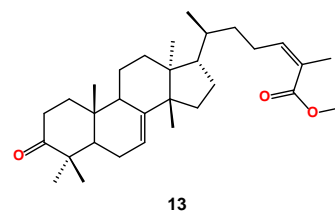
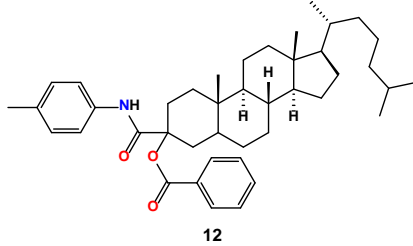
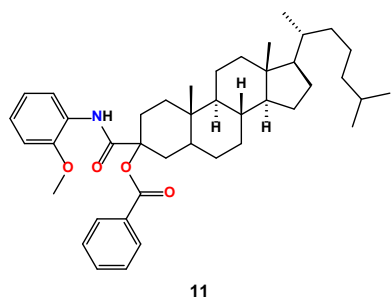
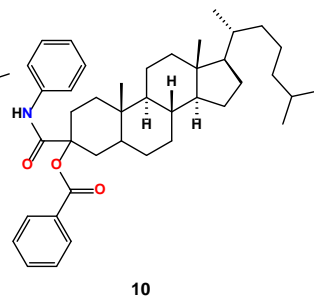
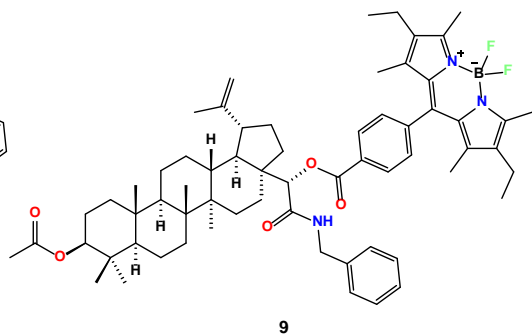
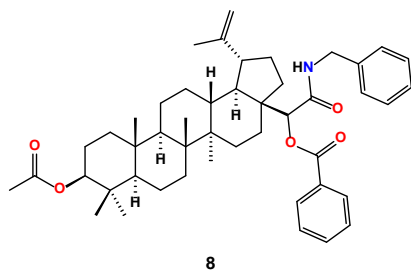
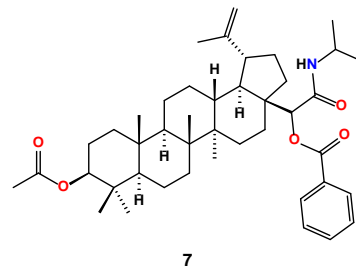
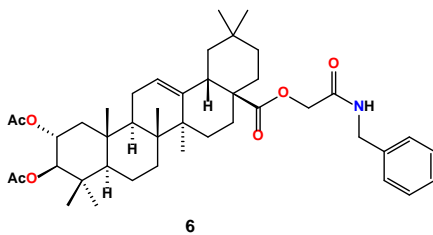
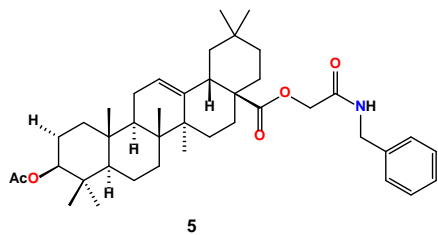
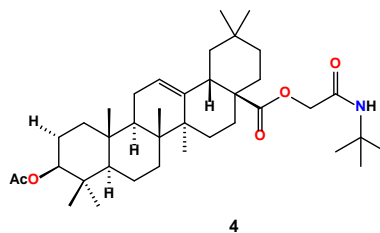
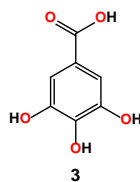
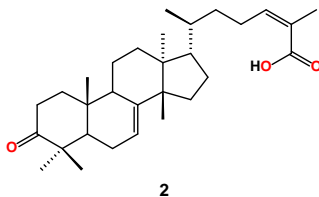
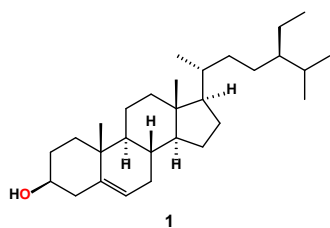
ÍNDICE GENERAL

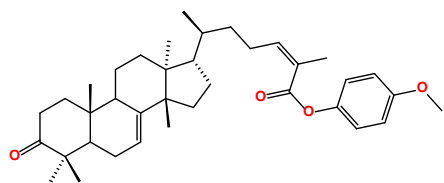
I.	ÍNDICE DE ESTRUCTURAS	ix
II.	ÍNDICE DE FIGURAS	xi
III.	ÍNDICE DE ESQUEMAS	xiii
IV.	SÍMBOLOS, ABREVIATURAS Y ACRÓNIMOS	xiv
V.	RESUMEN	xv
VI.	ABSTRACT	xvi
1.	INTRODUCCIÓN	1
1.1.	Terpenos	1
1.1.1.	Triterpenos	3
1.1.2.	Actividad biológica de los triterpenos	5
1.2.	Reacciones multicomponentes	6
2.	ANTECEDENTES	8
2.1.	Familia Anacardiaceae	8
2.2.	Género <i>Pistacia</i>	8
2.2.1.	<i>Pistacia mexicana</i>	9
2.3.	Estudios fitoquímicos descritos del género <i>Pistacia</i>	11
2.3.1.	<i>Pistacia vera</i>	11
2.3.2.	<i>Pistacia atlantica</i>	12
2.3.3.	<i>Pistacia terebinthus</i>	13
2.3.4.	<i>Pistacia lentiscus</i>	14
2.3.5.	<i>Pistacia mexicana</i>	15
2.4.	Reacciones multicomponentes con productos naturales	16
3.	JUSTIFICACIÓN	19
4.	OBJETIVOS	19
4.1.	General	19
4.2.	Específicos	19

5.	DISCUSIÓN DE RESULTADOS	20
5.1.	Análisis preliminar de los extractos hexánicos	20
5.2.	Análisis preliminar de los extractos diclorometánicos	22
5.3.	Análisis preliminar de los extractos metanólicos	24
5.4.	Obtención del β -sitosterol (1)	27
5.5.	Obtención del ácido masticadienónico (2)	29
5.6.	Derivados del ácido masticadienónico (2)	32
5.6.1.	Metil 3-oxotirucala-7,24-dien-26-oato (13)	32
5.6.2.	4-metoxifenil 3-oxotirucala-7,24-dien-26-oato (14)	35
5.6.3.	Ácido 3-hidroxitirucala-7,24-dien-26-oico (15)	38
5.6.4.	Metil 3-hidroxitirucala-7,24-dien-26-oato (16)	41
5.6.5.	Ácido 3-acetoxitirucala-7,24-dien-26-oico (17)	44
5.6.6.	Ácido 3-cinamoiloxitirucala-7,24-dien-26-oico (18)	47
5.6.7.	2-(t-butilamino)-1-(4-nitrofenil)-2-oxoetil 3-oxotirucala-7,24-dien-26-oato (19)	50
5.6.8.	2-(t-butilamino)-1-(4-clorofenil)-2-oxoetil 3-oxotirucala-7,24-dien-26-oato (20)	53
5.6.9.	1-(t-butilamino)-1-oxooctan-2-il 3-oxotirucala-7,24-dien-26-oato (21)	56
5.6.10.	2-(t-butilamino)-1-(4-metoxifenil)-2-oxoetil 3-oxotirucala-7,24-dien-26-oato (22)	59
6.	CONCLUSIONES	61
7.	PARTE EXPERIMENTAL	62
7.1.	Generalidades	62
7.2.	Metodología para la obtención de los compuestos 1 y 2	62
7.3.	Preparación de ésteres metílicos	63
7.4.	Preparación de ésteres empleando CDI	63
7.5.	Reducción con NaBH ₄	64
7.6.	Preparación de acetatos	64
7.7.	Preparación de cinamatos	65
7.8.	Preparación de aductos de Passerini	65

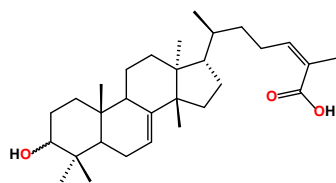
7.9.	Datos físicos y espectroscópicos	66
7.9.1.	β -sitosterol (1)	66
7.9.2.	Ácido masticadienónico (2)	66
7.9.3.	Metil 3-oxotirucala-7,24-dien-26-oato (13)	67
7.9.4.	4-metoxifenil 3-oxotirucala-7,24-dien-26-oato (14)	68
7.9.5.	Ácido 3-hidroxitirucala-7,24-dien-26-oico (15)	68
7.9.6.	Metil 3-hidroxitirucala-7,24-dien-26-oato (16)	69
7.9.7.	Ácido 3-acetoxitirucala-7,24-dien-26-oico (17)	70
7.9.8.	Ácido 3-cinamoiloxitirucala-7,24-dien-26-oico (18)	71
7.9.9.	2-(t-butilamino)-1-(4-nitrofenil)-2-oxoetil 3-oxotirucala-7,24-dien-26-oato (19)	72
7.9.10.	2-(t-butilamino)-1-(4-clorofenil)-2-oxoetil 3-oxotirucala-7,24-dien-26-oato (20)	73
7.9.11.	1-(t-butilamino)-1-oxooctan-2-il 3-oxotirucala-7,24-dien-26-oato (21)	74
7.9.12.	2-(t-butilamino)-1-(4-metoxifenil)-2-oxoetil 3-oxotirucala-7,24-dien-26-oato (22)	75
8.	BIBLIOGRAFÍA	77

I. ÍNDICE DE ESTRUCTURAS

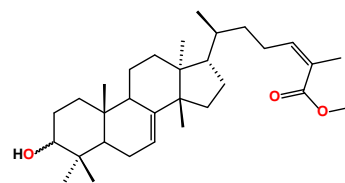




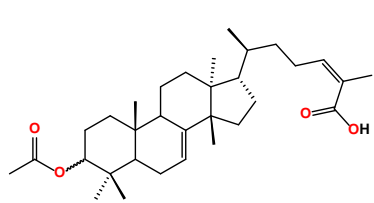
14



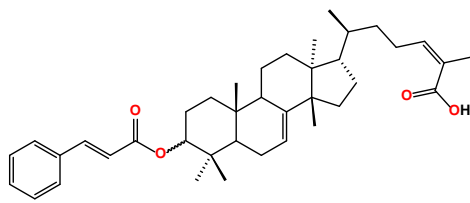
15



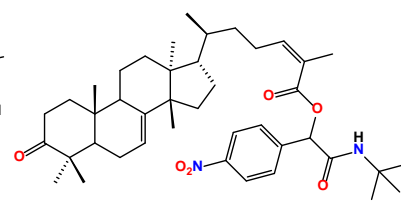
16



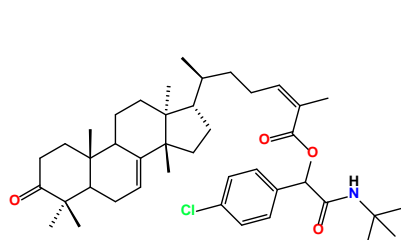
17



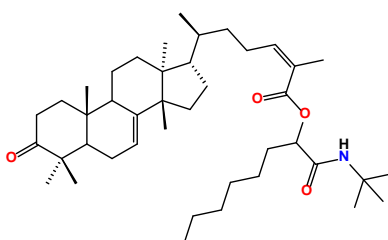
18



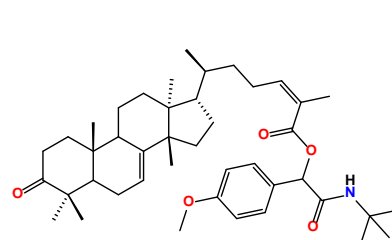
19



20



21



22

II. ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.	Vista esquemática de la biosíntesis de los terpenos	2
Figura 2.	Clasificación de los terpenos y ejemplos	3
Figura 3.	Clasificación de los triterpenos conforme al número de anillos y ejemplos.	4
Figura 4.	Triterpenos con actividad citotóxica reportada	5
Figura 5.	Reacciones multicomponentes más importantes y sus productos	6
Figura 6.	RMC basadas en isonitrilos más importantes	7
Figura 7.	Distribución del género <i>Pistacia</i>	9
Figura 8.	Distribución geográfica de la especie <i>P. mexicana</i>	10
Figura 9.	Fotografías de <i>Pistacia mexicana</i> tomadas en el sitio de colecta	11
Figura 10.	Detalle del fruto inmaduro y hojas de <i>P. vera</i>	12
Figura 11.	Detalle de los frutos y hojas de <i>P. atlantica</i>	13
Figura 12.	Frutos y hojas de <i>P. terebinthus</i>	14
Figura 13.	Frutos y hojas de <i>P. lentiscus</i>	15
Figura 14.	Estructuras de metabolitos secundarios aislados de <i>P. mexicana</i>	15
Figura 15.	Aductos de Passerini sintetizados por Wiemann y cols	16
Figura 16.	Aductos derivados de la betulina sintetizados por Gurrapu y colaboradores	17
Figura 17.	Aductos esteroidales sintetizados por Baker y colaboradores	18
Figura 18.	Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) en CDCl_3 del extracto hexánico de tallos de <i>P. mexicana</i> .	21
Figura 19.	Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) en CDCl_3 del extracto hexánico de frutos de <i>P. mexicana</i> .	21
Figura 20.	Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) en CDCl_3 del extracto hexánico de hojas de <i>P. mexicana</i> .	22
Figura 21.	Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) en CDCl_3 del extracto diclorometánico de tallos de <i>P. mexicana</i> .	23
Figura 22.	Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) en CDCl_3 del extracto diclorometánico de frutos de <i>P. mexicana</i> .	23
Figura 23.	Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) en CDCl_3 del extracto diclorometánico de hojas de <i>P. mexicana</i> .	24
Figura 24.	Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) en CD_3OD del extracto metanólico de tallos de <i>P. mexicana</i>	25
Figura 25.	Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) en CD_3OD del extracto metanólico de frutos de <i>P. mexicana</i>	25

Figura 26.	Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) en CD_3OD del extracto metanólico de hojas de <i>P. mexicana</i>	26
Figura 27.	Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) en CDCl_3 del β -sitosterol (1)	28
Figura 28.	Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) en CDCl_3 del ácido masticadienónico (2)	30
Figura 29.	Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz) en CDCl_3 del ácido masticadienónico (2)	31
Figura 30.	Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) en CDCl_3 del metil 3-oxotirucala-7,24-dien-26-oato (13)	33
Figura 31.	Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz) en CDCl_3 del metil 3-oxotirucala-7,24-dien-26-oato (13)	34
Figura 32.	Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) en CDCl_3 del metil 3-oxotirucala-7,24-dien-26-oato (14)	36
Figura 33.	Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz) en CDCl_3 del metil 3-oxotirucala-7,24-dien-26-oato (14)	37
Figura 34.	Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) en DMSO-d_6 del Ácido 3-hidroxitirucala-7,24-dien-26-oico (15)	39
Figura 35.	Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz) en DMSO-d_6 del Ácido 3-hidroxitirucala-7,24-dien-26-oico (15)	40
Figura 36.	Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) en CDCl_3 del metil 3-hidroxitirucala-7,24-dien-26-oico (16)	42
Figura 37.	Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz) en CDCl_3 del metil hidroxitirucala-7,24-dien-26-oato (16)	43
Figura 38.	Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) en CDCl_3 del ácido 3-acetoxitirucala-7,24-dien-26-oico (17)	45
Figura 39.	Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz) en CDCl_3 del ácido 3-acetoxitirucala-7,24-dien-26-oico (17)	46
Figura 40.	Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) en CDCl_3 del ácido 3-cinamoiloxitirucala-7,24-dien-26-oico (18)	48
Figura 41.	Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz) en CDCl_3 del ácido 3-cinamoiloxitirucala-7,24-dien-26-oico (18)	49
Figura 42.	Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) en CDCl_3 del 2-(<i>t</i> -butilamino)-1-(4-nitrofenil)-2-oxoetil 3-oxotirucala-7,24-dien-26-oato (19)	51
Figura 43.	Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz) en CDCl_3 del 2-(<i>t</i> -butilamino)-1-(4-nitrofenil)-2-oxoetil 3-oxotirucala-7,24-dien-26-oato (19)	52
Figura 44.	Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) en CDCl_3 del 2-(<i>t</i> -butilamino)-1-(4-clorofenil)-2-oxoetil 3-oxotirucala-7,24-dien-26-oato (20)	54
Figura 45.	Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz) en CDCl_3 del 2-(<i>t</i> -butilamino)-1-(4-clorofenil)-2-oxoetil 3-oxotirucala-7,24-dien-26-oato (20)	55
Figura 46.	Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) en CDCl_3 del 1-(<i>t</i> -butilamino)-1-oxooctan-2-il 3-oxotirucala-7,24-dien-26-oato (21)	57
Figura 47.	Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz) en CDCl_3 del 1-(<i>t</i> -butilamino)-1-oxooctan-2-il 3-oxotirucala-7,24-dien-26-oato (21)	58
Figura 48.	Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) en CDCl_3 del 2-(<i>t</i> -butilamino)-1-(4-metoxifenil)-2-oxoetil 3-oxotirucala-7,24-dien-26-oato (22)	60

III. ÍNDICE DE ESQUEMAS

Esquema 1.	Reactivos y condiciones: diazometano, Et ₂ O, 4 °C, 2 h.	32
Esquema 2.	Reactivos y condiciones: i) CDI, THF, N ₂ ,)), 2 h. ii) 4-metoxifenol,)), 2 h	35
Esquema 3.	Reactivos y condiciones: i) NaBH ₄ , EtOH, t.a., 1 h	38
Esquema 4.	Reactivos y condiciones: i) NaBH ₄ , EtOH, t.a., 1 h	41
Esquema 5.	Reactivos y condiciones: i) Ac ₂ O, piridina, baño de vapor, 4 h	44
Esquema 6.	Reactivos y condiciones: i) cloruro de cinamoilo, piridina, b.v., 8 h	47
Esquema 7.	Reactivos y condiciones: i) DCM, 4-nitrobenzaldehído, <i>t</i> -butilisonitrilo, t.a	50
Esquema 8.	Reactivos y condiciones: i) DCM, 4-clorobenzaldehído, <i>t</i> -butilisonitrilo, t.a	53
Esquema 9.	Reactivos y condiciones: i) DCM, n-heptaldehído, <i>t</i> -butilisonitrilo, t.a	56
Esquema 10.	Reactivos y condiciones: i) DCM, anisaldehído, <i>t</i> -butilisonitrilo, t.a	59

IV. SÍMBOLOS, ABREVIATURAS Y ACRÓNIMOS

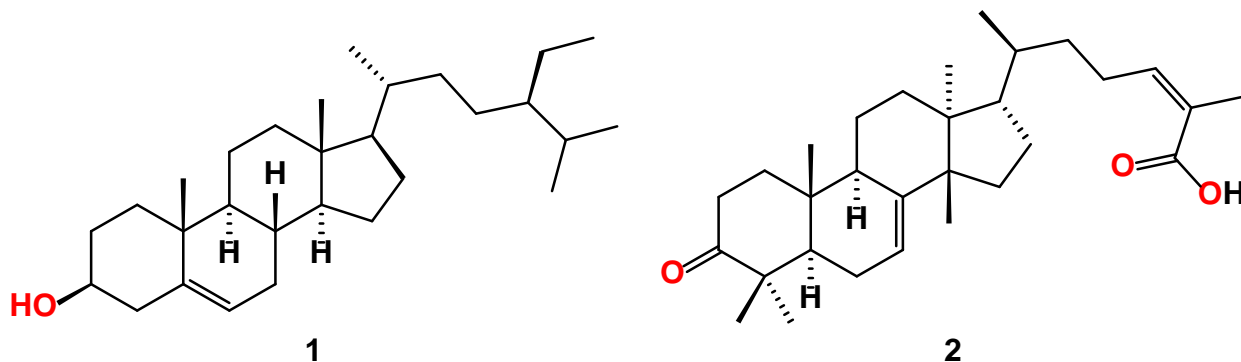
°C	Grados Celsius
b.v.	Baño de vapor
CD ₃ OD	Metanol deuterado
CDCl ₃	Cloroformo deuterado
CDI	<i>N,N'</i> -carbonildiimidazol
DCM	Diclorometano
DMSO-d ₆	Dimetilsulfóxido deuterado
g	Gramo
h	Hora
IR	Espectroscopia de infrarrojo
Hz	Hertz
<i>J</i>	Constante de acoplamiento
kg	Kilogramo
MeO	Metoxilo
mg	Miligramo
MHz	Megahertz
mL	Mililitro
MS	Espectrometría de masas
N ₂	Nitrógeno
p. f.	Punto de fusión
ppm	Partes por millón
RMC	Reacciones multicomponentes
RMN	Resonancia magnética nuclear
THF	Tetrahidrofurano
t.a.	Temperatura ambiente
UV	Espectroscopia Ultravioleta-Visible

V. RESUMEN

A partir de los frutos y tallos de *Pistacia mexicana* se obtuvieron los extractos hexánicos, de los cuales se logró el aislamiento del β -sitosterol (**1**) y el ácido masticadienónico (**2**) logrando obtener este último en cantidades significativas.

Utilizando **2** como materia prima, se sintetizaron los ésteres **13** y **14** utilizando diazometano y la activación de grupos carbonilo con CDI, respectivamente. Se prepararon también los derivados **15** y **16**, mediante la reducción con NaBH_4 de **2** y **13** y se obtuvieron derivados **17** y **18**, mediante acilaciones del grupo hidroxilo en C-3 con anhídridos de ácido y cloruros de ácido respectivamente.

Finalmente, empleando **2** como componente ácido de la reacción de multicomponentes de Passerini, se lograron sintetizar las α -aciloxiamidas **19**, **20**, **21** y **22**, utilizando como reactivos *t*-butilisonitrilo y una serie de aldehídos alifáticos y aromáticos con grupos electroattractores y electrodonadores.



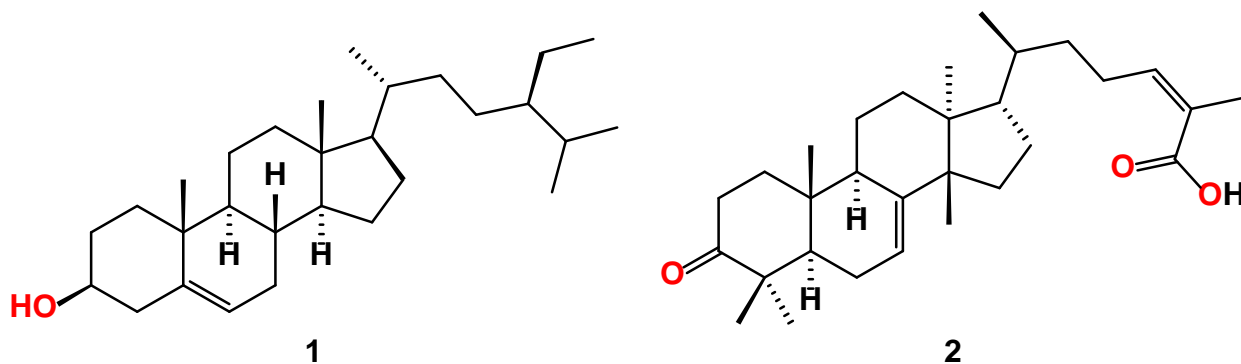
Palabras clave: *Pistacia mexicana*, triterpeno, CDI, RMC, Passerini, α -aciloxiamida,

VI. ABSTRACT

Hexane extracts were obtained from the fruits and stems of *Pistacia mexicana*, from which β -sitosterol (**1**) and masticadienonic acid (**2**) were isolated, obtaining the latter in significant quantities.

Using **2** as starting material, esters **13** and **14** were synthesized, using diazomethane and CDI as a reagent for carbonyl group activation, respectively. Derivatives **15** and **16** were also prepared by a reductive treatment of **2** and **13** with NaBH₄. From **15**, derivatives **17** and **18** were prepared by acylation of the hydroxyl group in C-3 with acid anhydrides and acid chlorides respectively.

Finally, α -acyloxyamides **19-22** were synthesized using **2** as the acid component of Passerini multicomponent reaction, and *t*-butylisocyanide and aliphatic and aromatic aldehydes with electron donor and withdrawing groups as the other two components of the reaction.



Keywords: *Pistacia mexicana*, triterpene, CDI, MCR, Passerini, α -acyloxyamide.

1. INTRODUCCIÓN

El estudio de las propiedades terapéuticas de las plantas para el tratamiento de diversas enfermedades ha estado presente a lo largo de la historia. Trabajos importantes como el aislamiento de la morfina por Wilhelm A. Serturmer y de la quinina por Pierre J. Pelletier y Joseph Caventou, incentivaron los trabajos de purificación y caracterización de los componentes de los extractos crudos de plantas utilizadas en la medicina tradicional.

De esta forma, se sentaron las bases del campo de la fitoquímica moderna, que se constituyó como la ciencia encargada del aislamiento, purificación y elucidación estructural de los metabolitos secundarios que forman parte de la composición química de las plantas, así como sus posibles aplicaciones biológicas.^{1,2}

Esta disciplina ha sido de gran importancia para el descubrimiento de compuestos con valor comercial para diferentes áreas de la industria, como la alimenticia, cosmética, agrícola y especialmente, la farmacéutica, dado que se ha reportado que para principios del s. XXI, el 11% de los 252 medicamentos considerados como básicos y esenciales por la Organización Mundial de la Salud, son exclusivamente de origen vegetal.^{3,4}

Debido a la gran diversidad y complejidad estructural exhibida por los componentes químicos de las plantas, estos fueron clasificados de acuerdo con la ruta biosintética por la que son sintetizados, dando lugar a cuatro grupos que varían en cuanto a función y estructura: alcaloides, policétidos, fenilpropanoides y terpenos.⁵

1.1. Terpenos

Se trata del grupo más numeroso y estructuralmente diverso dentro de los metabolitos secundarios, englobando más de 40,000 compuestos que derivan de la condensación del isopreno, producidos por dos rutas metabólicas: la vía del mevalonato (**MVA**), y la ruta del metil eritritol fosfato (**MEP**), ilustradas en la Figura 1.⁶

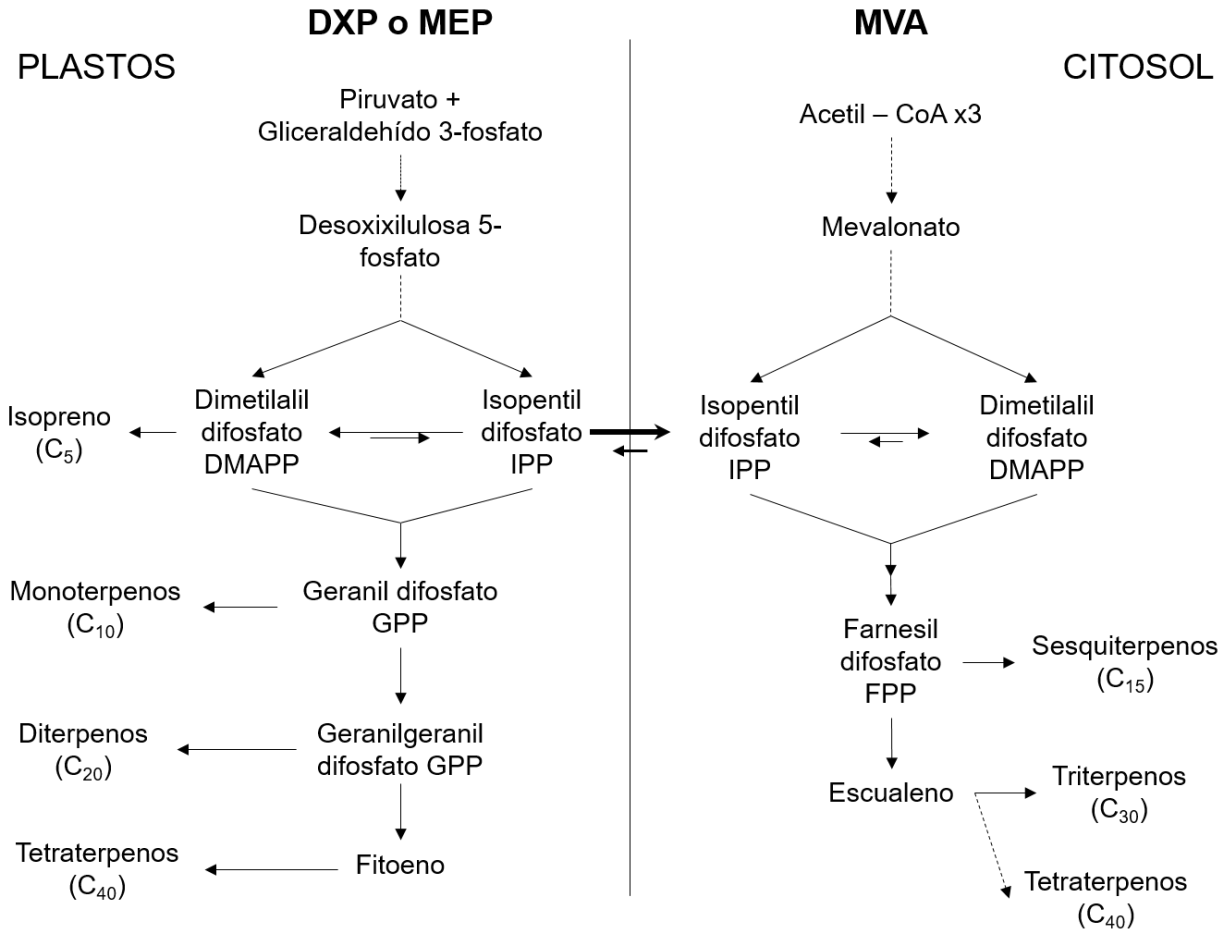


Figura 1. Vista esquemática de la biosíntesis de los terpenos.

En su mayoría son hidrocarburos saturados o insaturados, los cuales pueden presentar grupos funcionales oxigenados, encontrándose así compuestos de tipo alcohol, aldehído, cetona y ácido carboxílico. En la naturaleza, estos compuestos pueden presentarse libres o en forma de derivados como glúcidos, éteres y una diversidad de ésteres.

Los terpenos se clasifican de acuerdo a criterios como el número de unidades de isopreno que conforman su esqueleto base, como se ilustra en la Figura 2.⁷

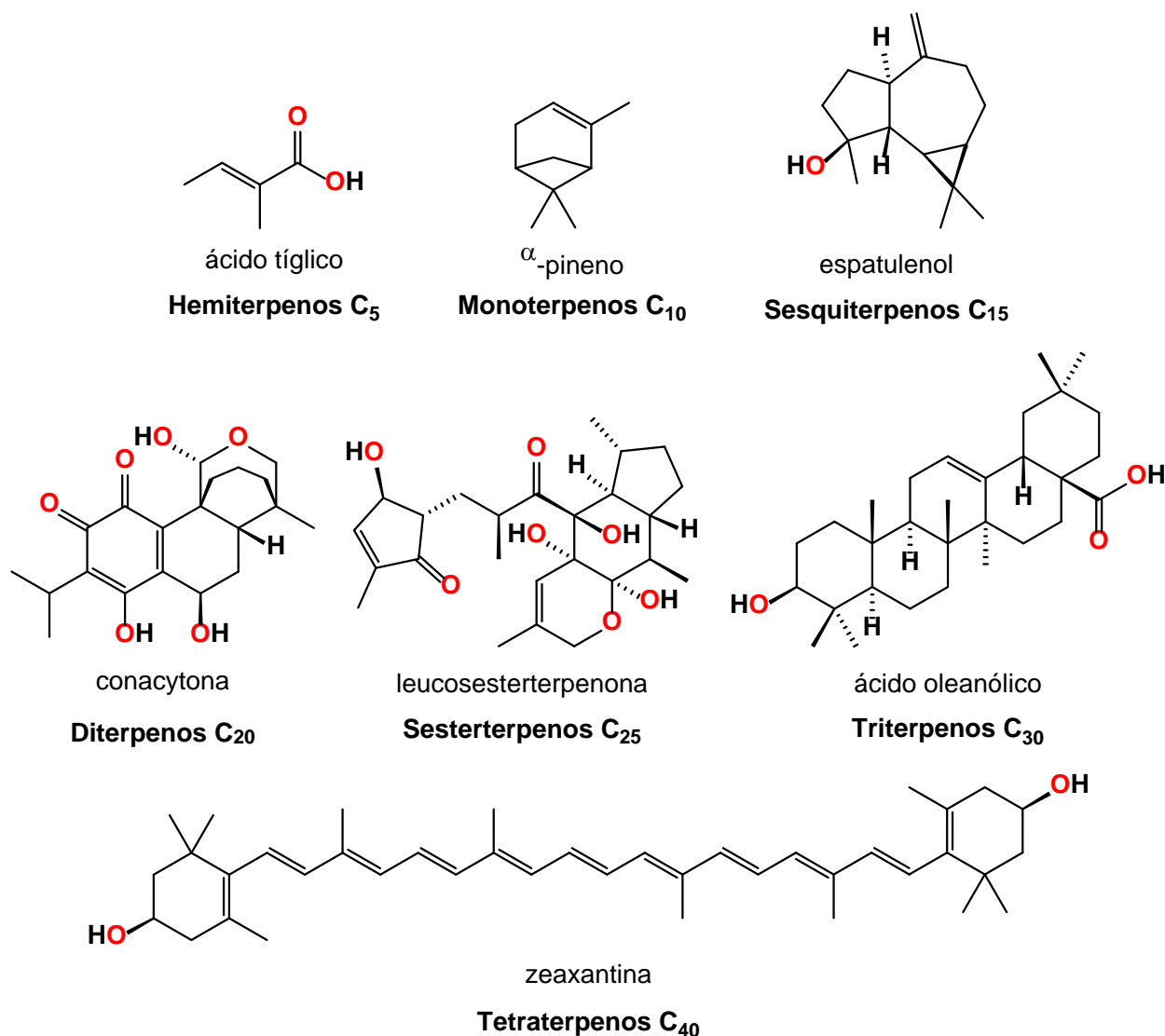


Figura 2. Clasificación de los terpenos y ejemplos.

1.1.1. Triterpenos

Son terpenos conformados por la unión de 6 unidades de isopreno, que presentan una amplia variedad estructural derivada de acilaciones, alquilaciones, reordenamientos o degradaciones catabólicas. Estos pueden clasificarse en términos del número de anillos presentes en su estructura, o agruparse en familias con esqueletos base con una estructura y estereoquímica definida.⁸

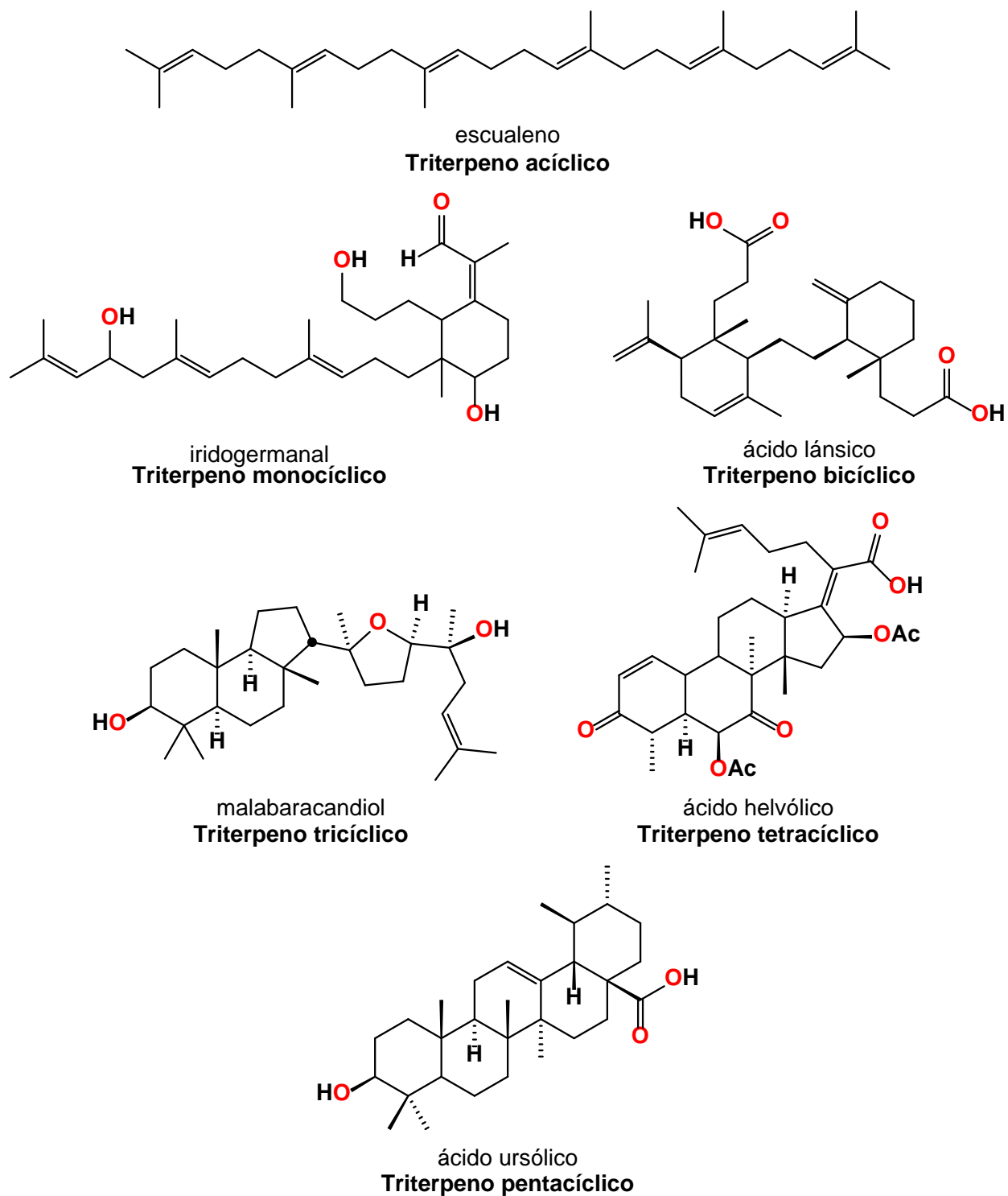


Figura 3. Clasificación de los triterpenos conforme al número de anillos y ejemplos.

Los triterpenos se encuentran ampliamente distribuidos en el reino vegetal, pudiéndose aislar del material vegetal de miembros de las familias Apocinaceae, Betulaceae,

Cucurbitaceae y Myrtaceae, así como de las resinas de Anacardiaceae, Burseraceae y el látex de Euphorbiaceae.⁷

1.1.2. Actividad biológica de los triterpenos

Los triterpenos son un grupo destacados dentro de los productos naturales, dado que exhiben una amplia variedad de actividades biológicas importantes como antioxidantes, anti-inflamatorios, antivirales, antibacteriales, antifúngicos y citotóxicas.

La citotoxicidad de estos compuestos ha recibido una especial atención en años recientes, dado que se observó que algunos presentan un efecto antineoplásico selectivo, teniendo un bajo impacto en las células normales.

La búsqueda de triterpenos con actividad citotóxica ha conducido al estudio fitoquímico de plantas que no habían sido estudiadas previamente, a la reevaluación de las plantas analizadas con anterioridad y al mejoramiento de los compuestos ya conocidos mediante modificaciones químicas aprovechando su alto nivel de funcionalización.⁹⁻¹³

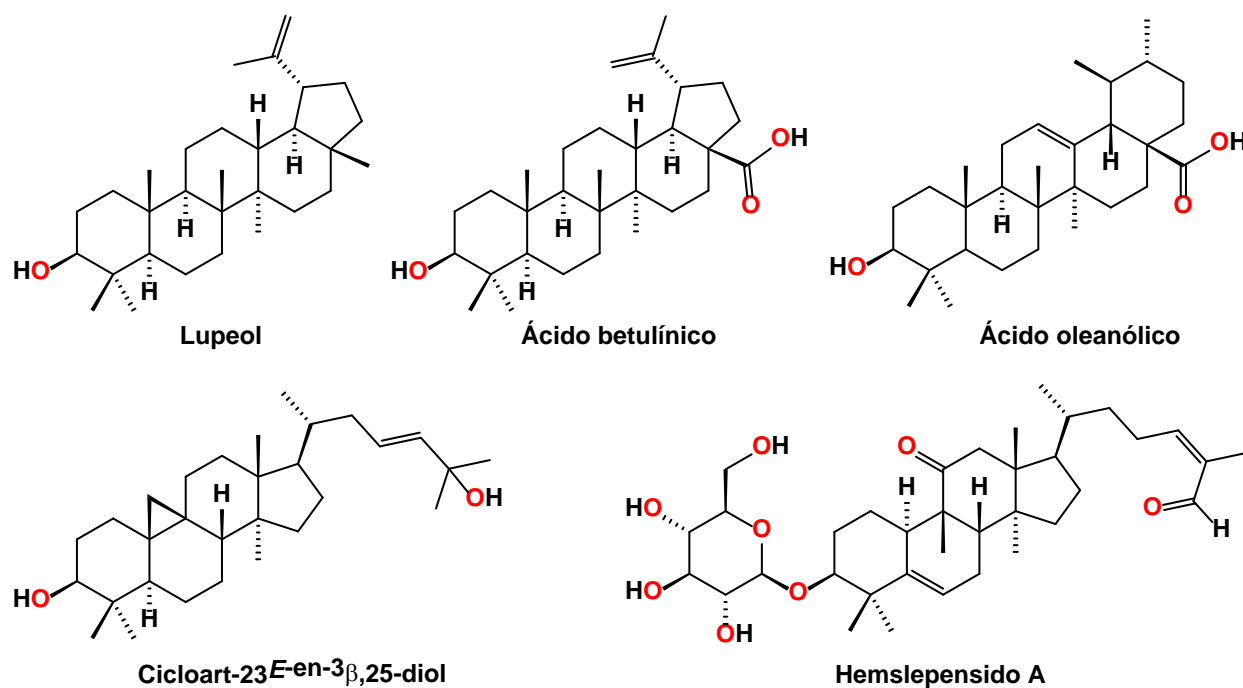


Figura 4. Triterpenos con actividad citotóxica reportada.

1.2. Reacciones Multicomponentes

Se trata de procedimientos sintéticos donde varias sustancias reaccionan para formar un producto estructuralmente complejo, que se caracteriza por contener en su estructura la mayoría o la totalidad de los átomos de los materiales de partida. Estos transcurren mediante una secuencia de transformaciones químicas que suceden sin la necesidad de cambiar el medio o las condiciones de reacción, proceso conocido como *one-pot*.¹⁴

Las reacciones multicomponentes (RMC) destacan por presentar una serie de ventajas sobre las síntesis convencionales como ser experimentalmente sencillas de realizar, no necesitar de condiciones especiales como medios anhidros o atmósferas inertes, presentar una alta economía atómica, proporcionar rendimientos globales elevados y requerir menores tiempos de trabajo.¹⁵

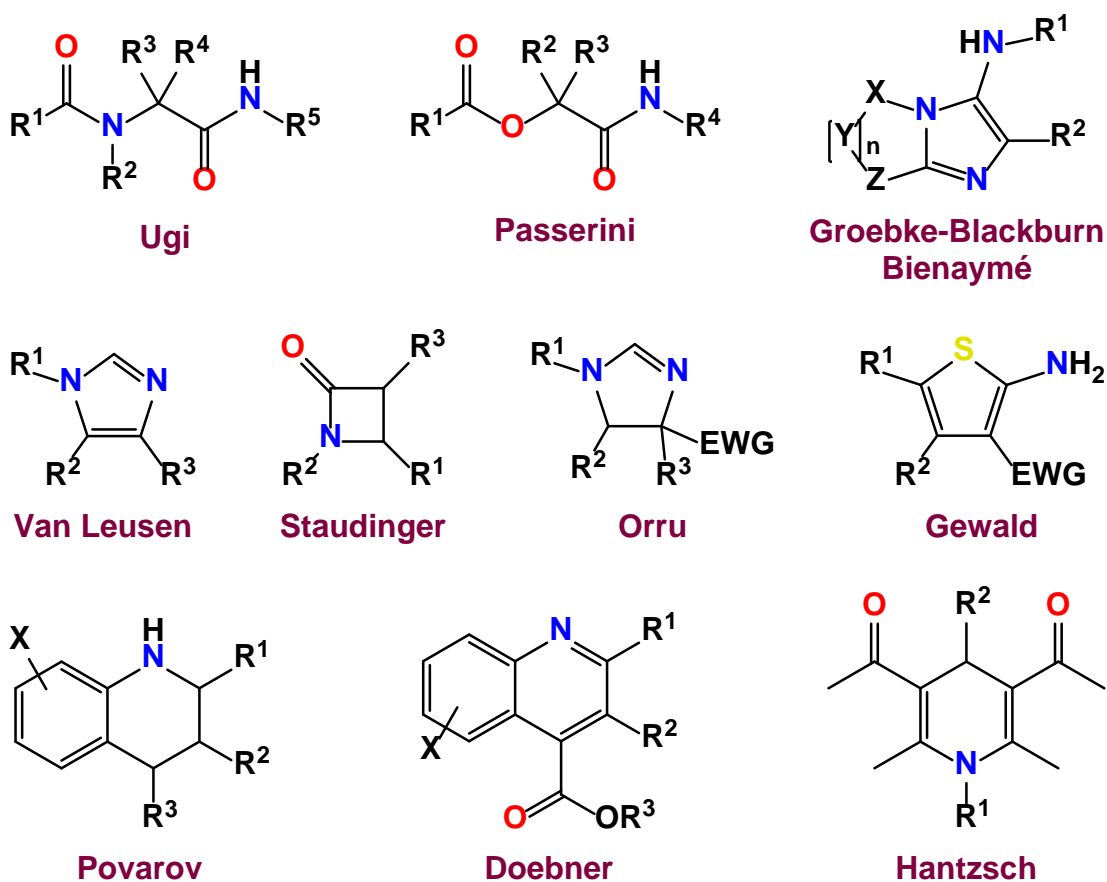


Figura 5. Reacciones multicomponentes más importantes y sus productos.

A pesar de estar presentes desde los comienzos de la química, las RMC cobraron importancia cuando el químico estonio-alemán Karl Ivar Ugi publicó su condensación de cuatro componentes, sentando las bases de este campo, que en la actualidad incluye una gran variedad representantes.

Uno de los grupos más importantes son las RMC basadas en isonitrilos, que aprovecha la capacidad de estos compuestos de reaccionar con electrófilos y nucleófilos en un mismo centro, para incorporarlos como componente de reacción.^{16,17}

Los representantes clásicos de este grupo de RMC son la reacción de Ugi y Passerini, de las cuales se han desarrollado una gran cantidad de variantes que permiten la obtención de una amplia diversidad de esqueletos. Otros ejemplos importantes son Ugi-Azida, Ugi-Smiles, Van Leusen y Groebke-Blackburn-Bienaymé.^{18,19}

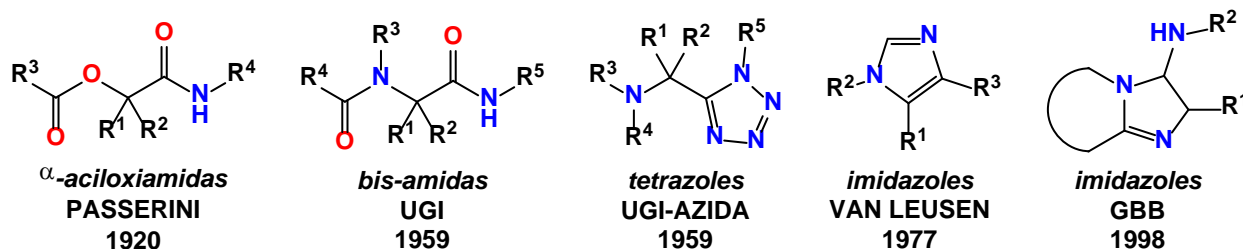


Figura 6. RMC basadas en isonitrilos más importantes.

En los últimos años, ha crecido considerablemente el interés por el uso de las RMC para la derivatización de biomoléculas en busca de compuestos con posibles aplicaciones medicinales y en química supramolecular. Uno de los grupos más estudiados son los esteroides, dada la importancia que estos presentan en los organismos vivos, donde exhiben una gran variedad de funciones.

Por otro lado, los triterpenos, naturalmente funcionalizados o sintéticamente preparados, han sido utilizados como sustratos para diversas RMC con el objetivo de descubrir librerías diversas de productos estructuralmente variados con potencial farmacológico.²⁰

2. ANTECEDENTES

2.1. Familia Anacardiaceae

La familia Anacardiaceae está compuesta por 73 géneros y más de 600 especies, que comprenden principalmente árboles caducifolios tropicales y subtropicales, algunas de las cuales presentan importancia económica como el pistacho (*Pistacia vera* L.), el anacardo (*Anacardium occidentale* L.) y el mango (*Mangifera indica* L.).²¹

Incluye plantas leñosas, en raras ocasiones trepadoras, que suelen ser dióicas, monóicas o polígamo-dióicas. Su corteza es generalmente resinosa y provista de líquido oleífero causantes de reacciones alérgicas. Presentan hojas alternas o rara vez opuestas, comúnmente desprovistas de estípulas, trifolioladas o pinadas.

Las inflorescencias se agrupan en forma de panículas terminales y/o axilares que contienen flores generalmente unisexuales, pequeñas y actinomorfas, que presentan un cáliz con 3 a 5 segmentos, a veces ausentes, de 3 a 5 pétalos y con 5 estambres típicamente, aunque pueden presentar 10 en algunas ocasiones, en forma de filamentos libres, insertados en la base.

Las anteras presentan dehiscencia longitudinal y el ovario súpero, con frecuencia tricarpelar y unilocular, presentando de 3 a 3 estilos. El fruto es usualmente drupáceo e indehiscente, con mesocarpio resinoso, ceroso u oleífero; la semilla tiene un endospermo escaso o ausente, con cotiledones expandidos y embrión curvado.^{22,23}

2.2. Género *Pistacia*

El género *Pistacia* está englobado dentro de la familia Anacardiaceae, e incluye alrededor de 20 especies, las cuales pueden ser encontradas en distintas partes del mundo, como el Mediterráneo, norte de África, Asia central, Norte y Centroamérica.

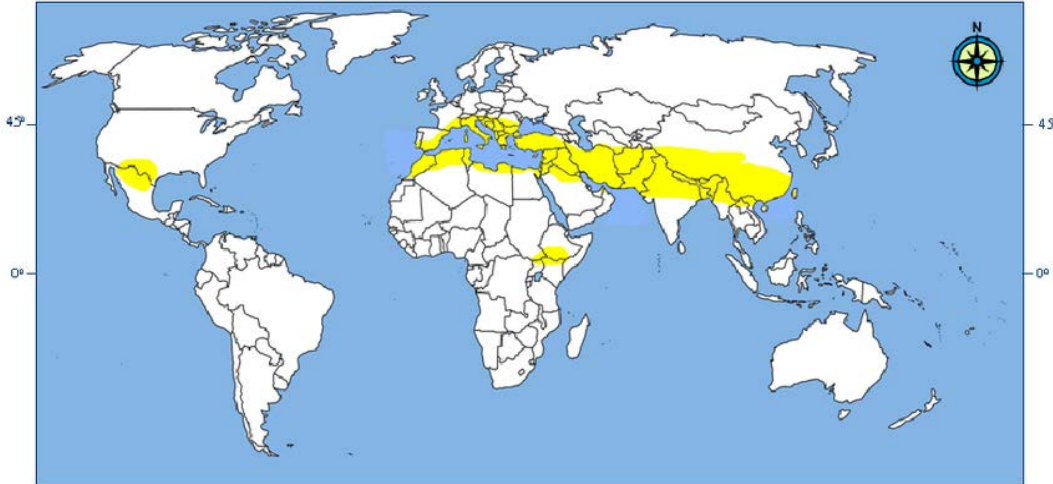


Figura 7. Distribución del género *Pistacia*.

Se trata de un género dioico, que presenta las inflorescencias masculinas y femeninas, en individuos independientes; pueden ser árboles o arbustos perennifolios o caducifolios, que crecen entre 8 y 10 metros de altura.²⁴

El pistachero (*Pistacia vera* L.) y el lentisco (*Pistacia lentiscus*) son los miembros más destacados de este género, siendo cultivados comercialmente para la producción de pistaches y almáciga, respectivamente. Las demás especies, son usadas generalmente como portainjertos para *P. vera*.

Muchas especies son utilizadas en la medicina tradicional de algunos países de Medio Oriente, África y Europa, por lo que especies pertenecientes a estas regiones han sido estudiadas por sus efectos antisépticos, astringentes, analgésico y antidiabético.^{25,26}

2.2.1. *Pistacia mexicana*

Conocida comúnmente como lantrisco o pistache cimarrón, esta especie es nativa de México, Guatemala y Honduras, y se localiza en terrenos secos, montañosos o formaciones rocosas entre 500 y 2500 msnm. Aún en estas regiones, es poco usual encontrarla, dado que su población va en decremento, como consecuencia de la pérdida de su hábitat debido a la expansión de los terrenos para la agricultura y al pastoreo.



Figura 8. Distribución geográfica de la especie *P. mexicana*.

Debido a lo anterior, esta especie está catalogada como especie amenazada, dentro de la Lista Roja de Especies Amenazadas de la International Union for Conservation of Nature (IUCN).²⁷

Se trata de un árbol semi-deciduo; sus hojas tienden a agruparse en el ápice de las ramas y miden alrededor de 15 cm de largo, presentado de 9 a 11 folíolos de 1 a 2.5 cm de largo por 0.5 a 1 cm de ancho. Las inflorescencias masculinas se encuentran en forma de panículas de ramas espiciformes, muy compactadas, con flores muy pequeñas rodeadas de una bráctea amplia.

Las inflorescencias femeninas se forman en panículas o espigas aisladas. Conforme los frutos van madurando, las ramas laterales de la panícula se van alargando de tal manera que las infrutescencias se muestran mucho más largas y amplias que las inflorescencias. Los frutos maduros son de color azul o violeta.²³



Figura 9. Fotografías de *Pistacia mexicana* tomadas en el sitio de colecta.

2.3. Estudios fitoquímicos descritos de especies del género *Pistacia*

Se han realizado una serie de análisis de los constituyentes fitoquímicos de distintas especies del género *Pistacia*, identificándose principalmente monoterpenos, sesquiterpenos, triterpenos compuestos fenólicos, ácidos grasos y fitoesteroles, aislados a partir de las hojas, resinas, frutos, agallas, tallos y flores.

2.3.1. *Pistacia vera*

En el aceite esencial de *P. vera*, obtenido por hidrodestilación, se han identificado 54 compuestos mayoritarios, de los cuales, el 90% está representado por monoterpenos alifáticos y un 8% por monoterpenos oxigenados. Los compuestos encontrados en mayor porcentaje fueron el α -pineno, β -pineno, *trans*-verbenol, canfeno, *trans*-pinocarveol y limoneno.^{13,28}

Los aceites esenciales del fruto inmaduro y las hojas, obtenidos por hidrodestilación, fueron analizados por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas. En el caso del fruto se identificaron como componentes mayoritarios al α -pineno, terpinoleno, Δ^3 -careno, limoneno, β -pineno, β -mirceno y α -terpineno. En las hojas, los

compuestos encontrados en mayor abundancia fueron el α -pineno, terpinoleno, canfeno, limoneno, Δ^3 -careno, β -pineno, linalool, nonanal y tricicleno.²⁸



Figura 10. Detalle del fruto inmaduro y hojas de *P. vera*.

2.3.2. *Pistacia atlantica*

En estudios de la composición del aceite esencial de las hojas secas *P. atlantica* obtenido por hidrodestilación, utilizando cromatografía de gases acoplada a masas, se han identificado 47 compuestos diferentes, siendo mayoritariamente monoterpenos y sesquiterpenos oxigenados, de entre los cuales destacaron el α -pineno, α -thujeno, espatulenol, canfeno, terpinen-4-ol, β -pineno y *p*-cimeno.

En el aceite esencial de los frutos maduros de la subespecie *mutica*, obtenido por hidrodestilación y analizado por GC-MS, presentó un total de 63 compuestos diferentes, donde se encontraron en mayor proporción el α -pineno, canfeno, β -mirceno, limoneno, *cis*-ocimeno y *trans*-ocimeno.²⁹

El aceite esencial fue sometido también a pruebas de actividad antioxidante como DPPH y BCB, donde mostró una capacidad moderada para secuestrar radicales libres. Al mismo tiempo, demostró tener un ligero efecto antimicrobiano en una prueba de inhibición del crecimiento del *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*.³⁰



Figura 11. Detalle de los frutos y hojas de *P. atlantica*.

2.3.3. *Pistacia terebinthus*

En el aceite esencial de los brotes jóvenes, flores y frutos inmaduros y maduros de esta especie, obtenidos por hidrodestilación, fueron encontrados principalmente *p*-cimeno, *trans*-verbenol, bornil acetato, terpinen-4-ol, germacreno-D, α - y β -pineno, terpinoleno y α -felandreno.³¹

El análisis de hojas y tallos de la especie, mostró un alto contenido de α - y β -pineno, α -terpineol, *trans*-verbenol, isocariofileno y α -humuleno.³²

Estudios sobre la composición del aceite esencial de los frutos, permitieron la identificación de compuestos mayoritarios al α -pineno, sabineno, canfeno, mirceno, limoneno, *Z*- β -ocimeno, *Z*-cariofileno, *p*-cimen-8-ol y bornil acetato.³³



Figura 12. Frutos y hojas de *P. terebinthus*.

En la resina de esta especie, fueron descritos también triterpenos tetra y pentacíclicos como el ácido oleanólico, masticadienólico, isomasticadienólico, oleanónico, 3-*epi*-masticadienólico, masticadienólico, e isomasticadienólico para la fracción ácida. Por otro lado, se identificaron β -amirina, tirucalol, dipterocarpol, tirucalona, eritrodiol y β -amirona en la fracción neutra.³⁴

2.3.4. *Pistacia lentiscus*

De los aceites esenciales de las hojas de *P. lentiscus* proveniente de Túnez, obtenido por hidrodestilación, se identificaron como compuestos mayoritarios el α -pineno, limoneno, β -felandreno, terpinen-4-ol, β -cariofileno, germacreno-D y δ -cadineno, sabineno y canfeno.³⁵

A diferencia de la mayoría de las especies de *Pistacia*, donde los monoterpenos representan más del 90% de la composición de los aceites esenciales, en esta especie se encuentran en concentraciones entre 9-65%. Cabe mencionar, que los sesquiterpenos, que en otras especies difícilmente superan el 10% en abundancia con respecto a los aceites esenciales, se obtuvieron en esta especie en concentraciones entre 23-70%.³⁶



Figura 13. Frutos y hojas de *P. lentiscus*.

El análisis de la fracción ácida de la resina, permitió la identificación de triterpenos como el ácido oleanónico, masticadienónico, isomasticadienónico, morónico, masticádienólico y oleanólico. En la fracción neutra, se encontraron β -amirina, tirucalol, lupeol, β -amirona, aldehído oleanólico, germanicol, damaradienona, *nor*- β -amirona y *nor*-lupenona.³⁷

2.3.5. *Pistacia mexicana*

Del extracto obtenido de la maceración de 2 kg de corteza seca con éter de petróleo, se obtuvieron diversos compuestos, destacando el β -sitosterol (**1**), un ácido triterpénico, con punto de fusión de 176-177 °C, y fórmula molecular $C_{30}H_{46}O_3$, identificado como ácido masticadienónico (**1**) por sus espectros de IR, UV, RMN y MS, y el ácido gálico (**3**).³⁸

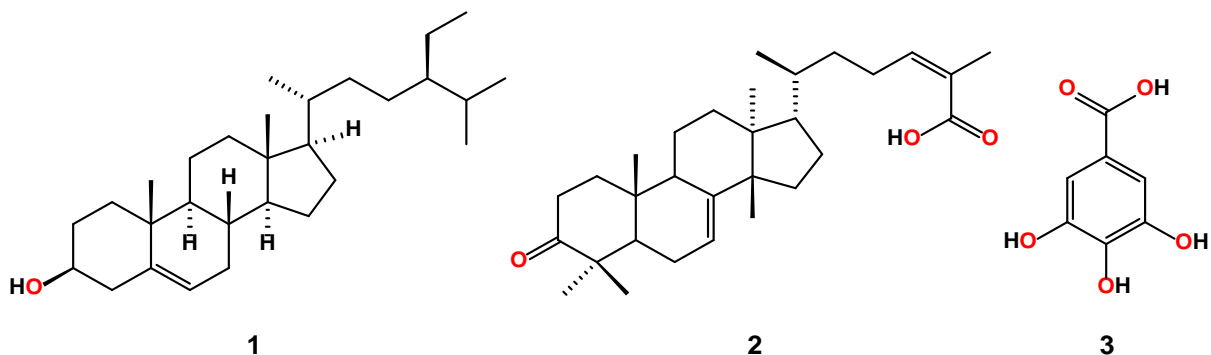


Figura 14. Estructuras de metabolitos secundarios aislados de *P. mexicana*.

2.4. Reacciones multicomponentes con productos naturales

Se han reportado diversos estudios de derivatización de productos naturales mediante RMCs, siendo los esteroides uno de los grupos con un mayor número de reportes, especialmente mediante las reacciones de Ugi y Passerini.³⁹

El grupo de trabajo de Wiemann presentó la utilización del ácido olenólico acetilado y el ácido maslínico di-acetilado como componente de la reacción de Passerini, utilizando diclorometano como disolvente, a temperatura ambiente durante 24 h, obteniendo los aductos **4-6**.

Los autores evaluaron la citotoxicidad de estos compuestos sobre líneas celulares de cáncer: melanoma, carcinoma de ovario, carcinoma colorectal, cáncer de mama, adenocarcinoma de pulmón, carcinoma de tiroides y fibroblastos no malignos de ratón.

En general, estos mostraron una actividad citotóxica moderada sobre la mayoría de las líneas celulares evaluadas.²⁰

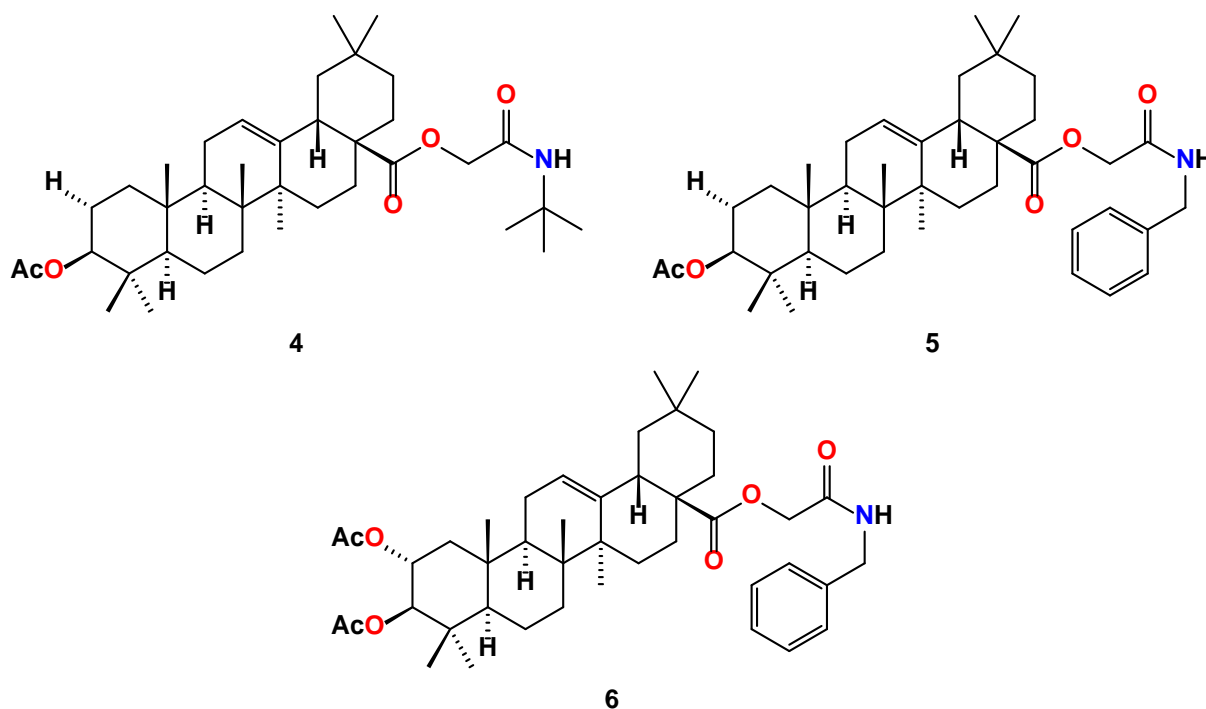


Figura 15. Aductos de Passerini sintetizados por Wiemann y cols.

Gurrapu y colaboradores reportaron la síntesis de los aductos **7-9** a partir de un aldehído sintetizado a partir de la betulina, en combinación con distintos ácidos carboxílicos, utilizando THF como disolvente por un periodo de 72 h a temperatura ambiente.⁴⁰

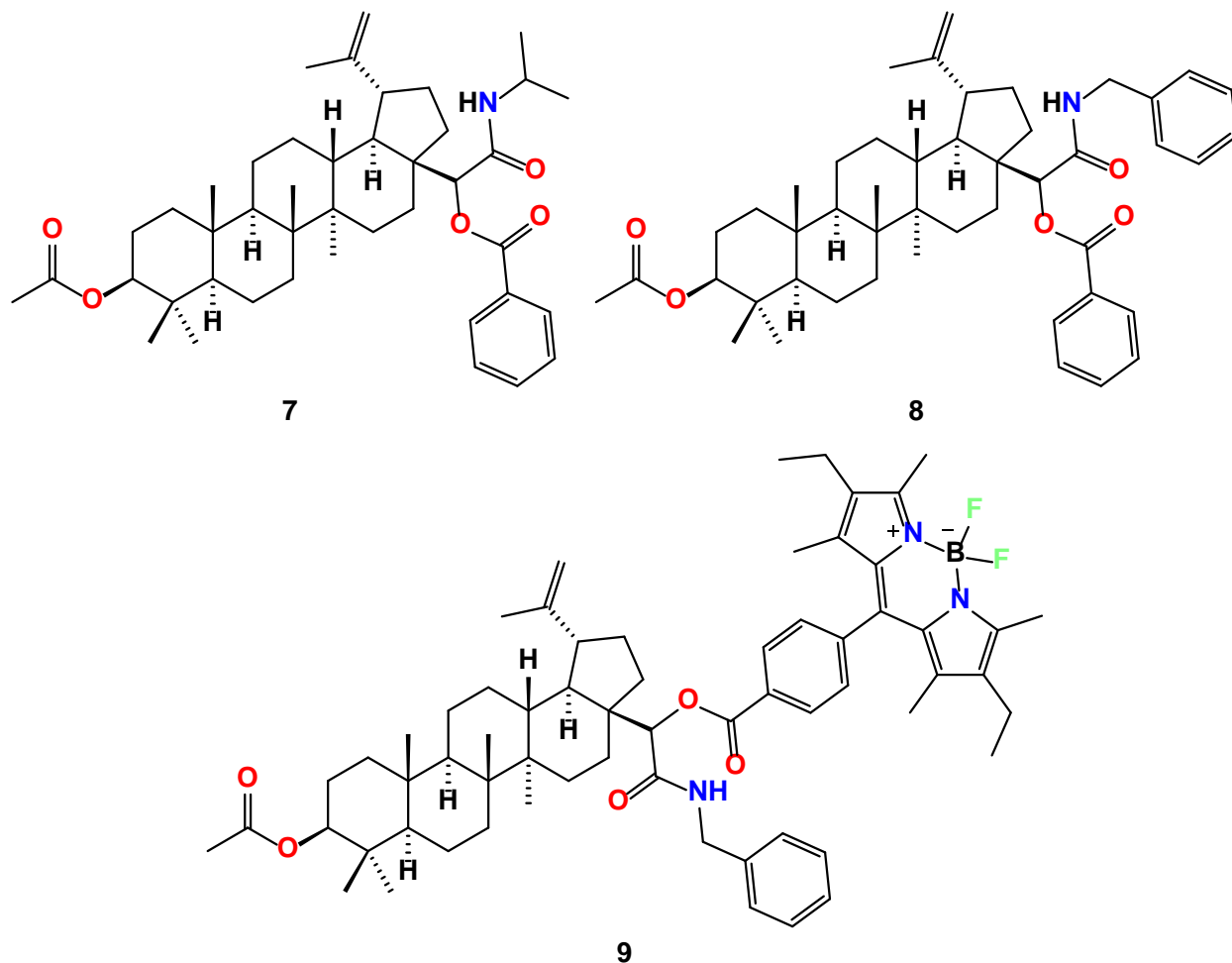


Figura 16. Aduetos derivados de la betulina sintetizados por Gurrapu y colaboradores.

Finalmente, Baker y Schlesinger publicaron en 1945 un trabajo sobre la utilización de la colestán-3-ona, una cetona esteroidea, como componente para la síntesis de los aductos de Passerini **10-12**.⁴¹

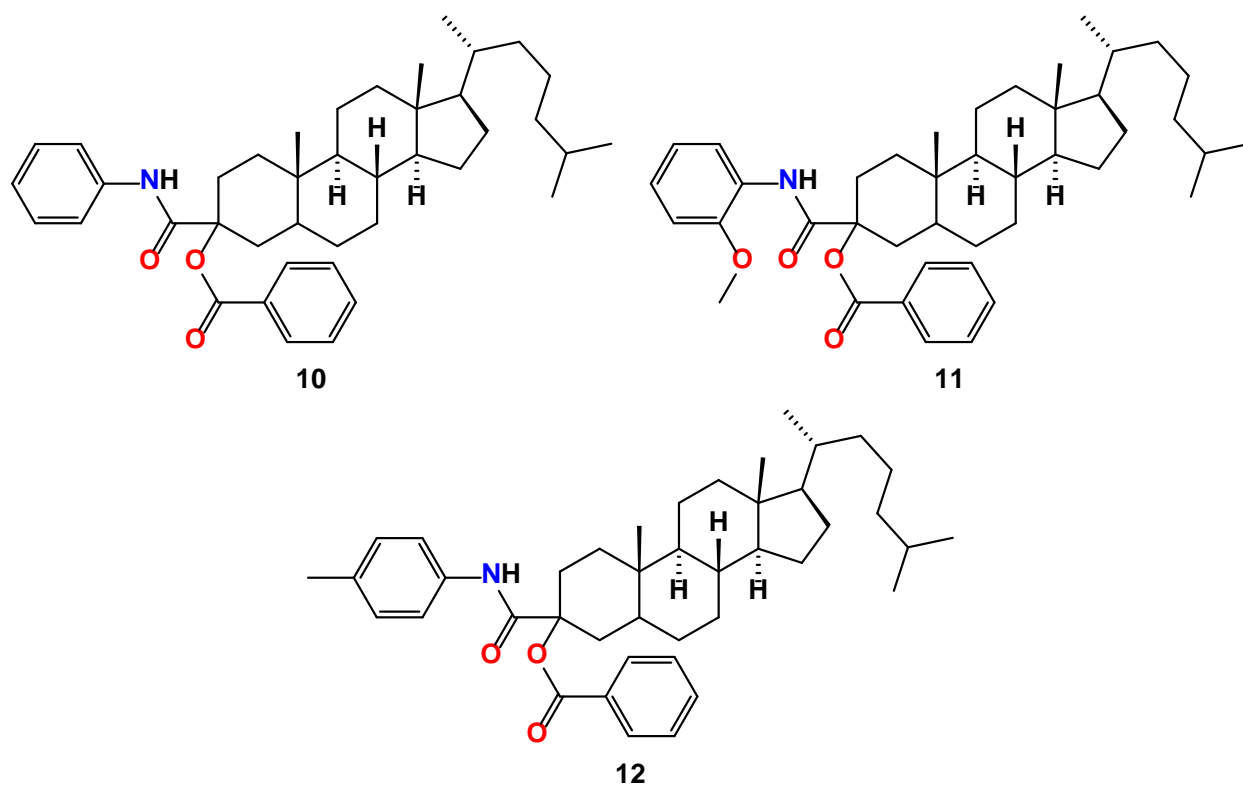


Figura 17. Aduetos esteroidales sintetizados por Baker y colaboradores.

3. JUSTIFICACIÓN

A partir de varias especies del género *Pistacia* se han identificado una serie de triterpenos con posibles aplicaciones como: antimicrobianos, antifúngicos, antidiabéticos e incluso propiedades anticancerosas, por lo que es importante realizar un estudio exhaustivo de la especie *Pistacia mexicana* para conocer su composición fitoquímica e identificar metabolitos con potenciales aplicaciones biológicas.

Así mismo, resulta importante contribuir con los resultados de la investigación a proteger la especie e incentivar su preservación y propagación para cambiar su estatus como especie amenazada.

4. OBJETIVOS

4.1. General

Realizar el estudio fitoquímico de las partes aéreas de *Pistacia mexicana*, empleando extracciones con disolventes orgánicos y técnicas cromatográficas.

4.2. Específicos

Recolectar las partes aéreas de *Pistacia mexicana* y separarlas en sus distintas partes.

Obtener los extractos de las distintas partes aéreas de la planta utilizando disolventes en orden ascendente de polaridad.

Separar los extractos obtenidos mediante técnicas cromatográficas para el aislamiento de los metabolitos secundarios.

Caracterizar los metabolitos obtenidos mediante técnicas espectroscópicas y espectrométricas.

Preparar, purificar y caracterizar derivados a partir de los compuestos aislados.

5. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

El material vegetal fue tratado de acuerdo a lo descrito en la sección 7.2, para la obtención de los extractos descritos en la Tabla 1, los cuales fueron analizados mediante RMN de ^1H para la identificación preliminar de los compuestos presentes.

Tabla 1. Extractos de *Pistacia mexicana*.

Material vegetal	Muestra (g)	Peso de los extractos (g)			Rendimiento (%)		
		Hexano	CH_2Cl_2	Metanol	Hexano	CH_2Cl_2	Metanol
Tallo	476	1.955	3.593	25.70	0.41	0.75	5.39
Hojas	110	1.514	1.549	14.95	1.38	1.40	13.59
Fruto	290	0.587	0.660	12.099	0.20	0.22	4.17

5.1. Análisis preliminar de los extractos hexánicos

Una alícuota de los extractos hexánicos de tallos, frutos y hojas de *Pistacia mexicana* se analizó mediante RMN de ^1H (400 MHz) en CDCl_3 , y cuyos espectros se muestran en las Figuras 18-20, respectivamente.

En los espectros de tallos (Figura 18) y frutos (Figura 19), se puede observar la presencia de señales importantes en las regiones de los protones vinílicos, así como varias señales simples, las cuales indican la presencia de triterpenos en dichos extractos. Por otro lado, el espectro del extracto de hojas (Figura 20) muestra señales importantes en la región de los protones aromáticos, vinílicos, base de heteroátomo y protones alifáticos.

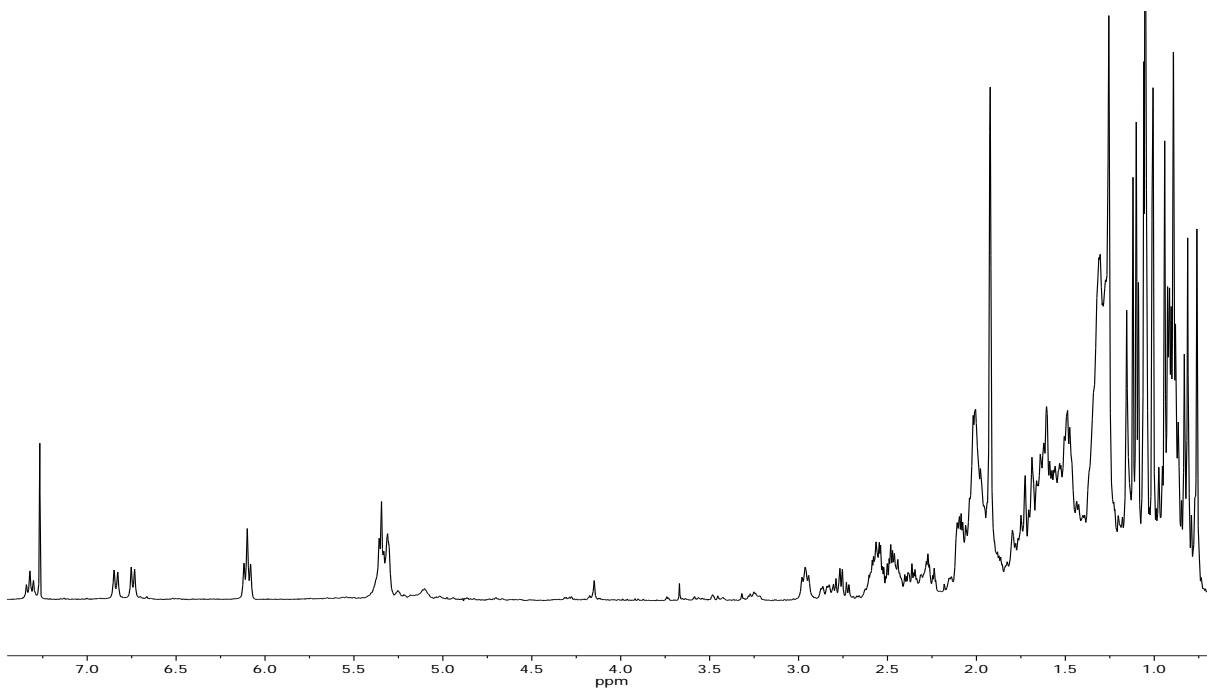


Figura 18. Espectro de RMN de ¹H (400 MHz) en CDCl₃ del extracto hexánico de tallos de *P. mexicana*.

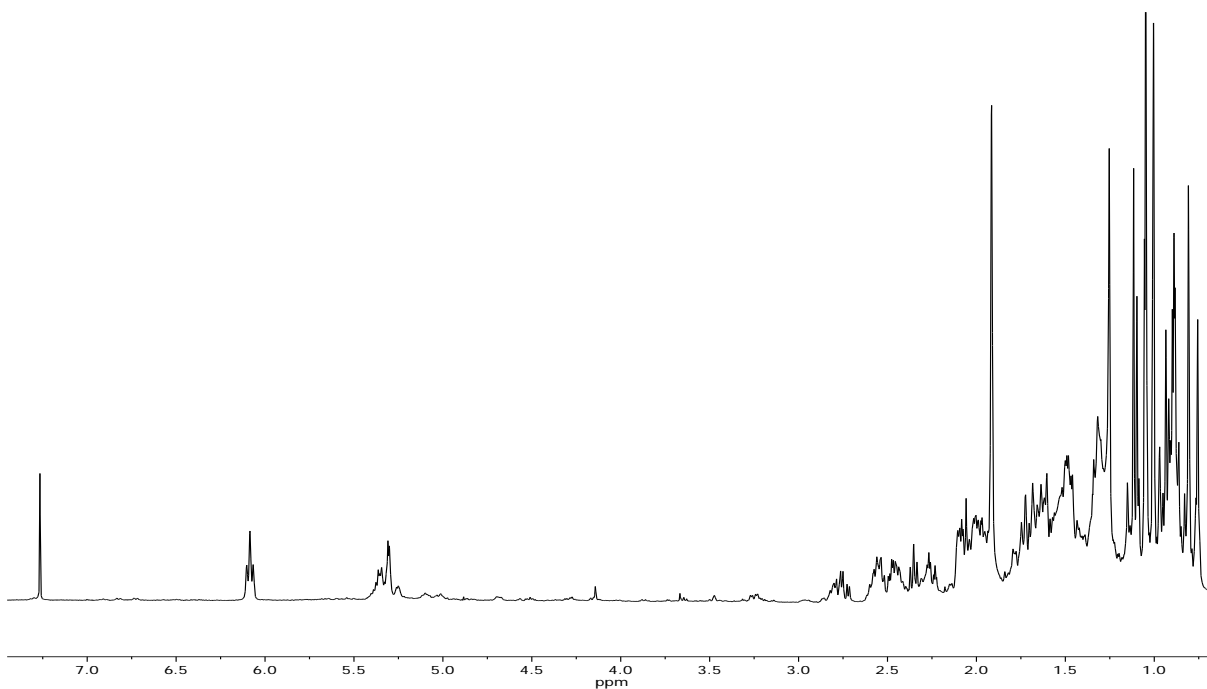


Figura 19. Espectro de RMN de ¹H (400 MHz) en CDCl₃ del extracto hexánico de frutos de *P. mexicana*.

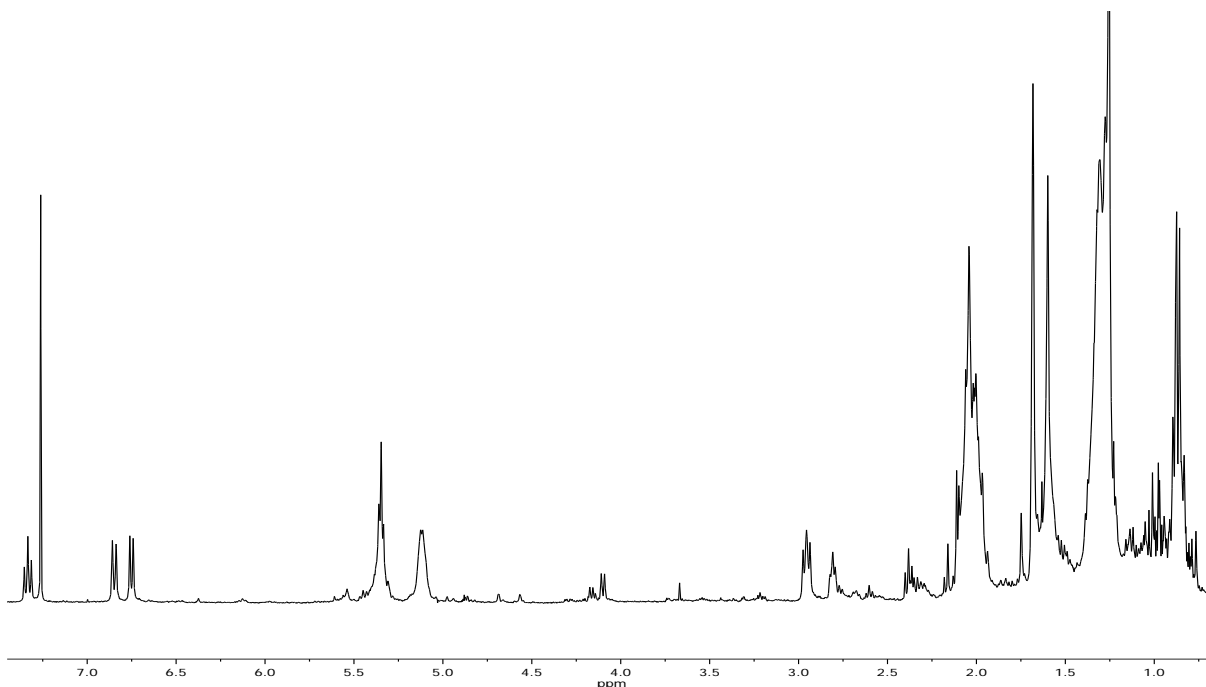


Figura 20. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) en CDCl_3 del extracto hexánico de hojas de *P. mexicana*.

5.2. Análisis preliminar de los extractos diclorometánicos

Una alícuota de los extractos diclorometánicos de tallos, frutos y hojas de *Pistacia mexicana* se analizó mediante RMN de ^1H (400 MHz) en CDCl_3 , y cuyos espectros se muestran en las Figuras 21-23, respectivamente.

En los espectros de tallos y frutos mostrados en las Figuras 21 y 22, respectivamente, se pueden observar distintas señales de importancia en las regiones de los protones vinílicos y base de heteroátomo, así como diversas señales simples en la región de los protones alifáticas, que corresponden a señales de metilos de triterpenos.

En el espectro del extracto diclorometánico de hojas, mostrado en la Figura 23, destacan señales importantes en las regiones de los protones vinílicos, base de heteroátomo y protones alifáticos.

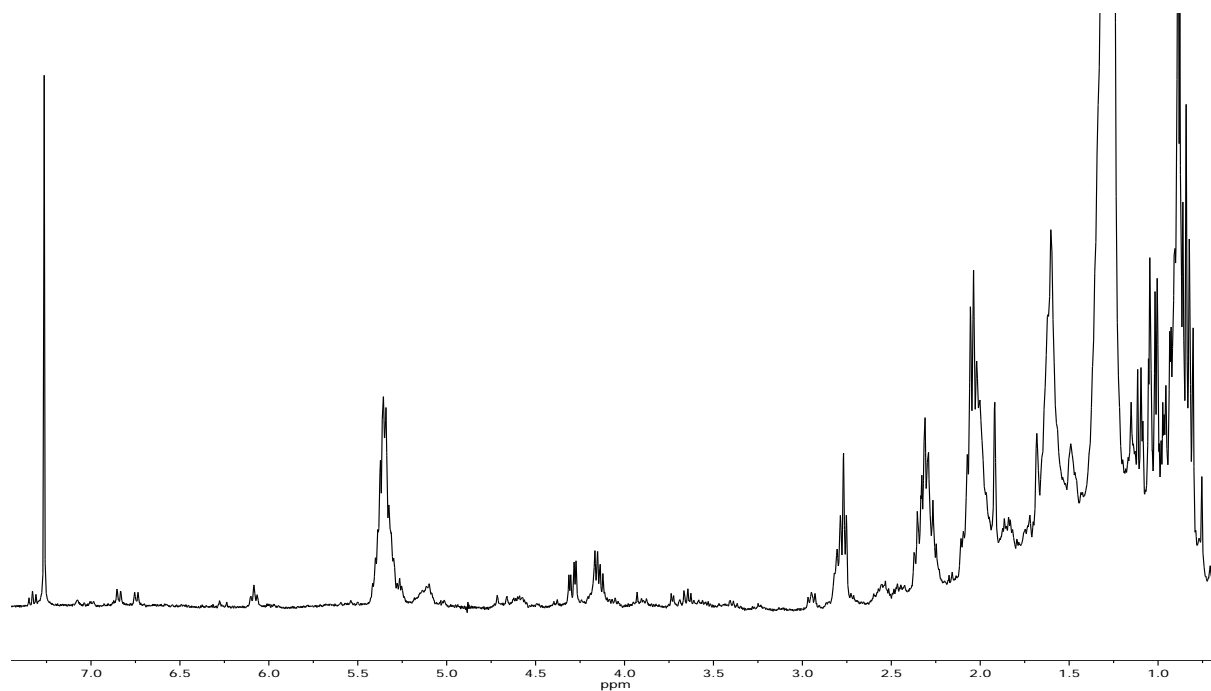


Figura 21. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) en CDCl_3 del extracto diclorometánico de tallos de *P. mexicana*.

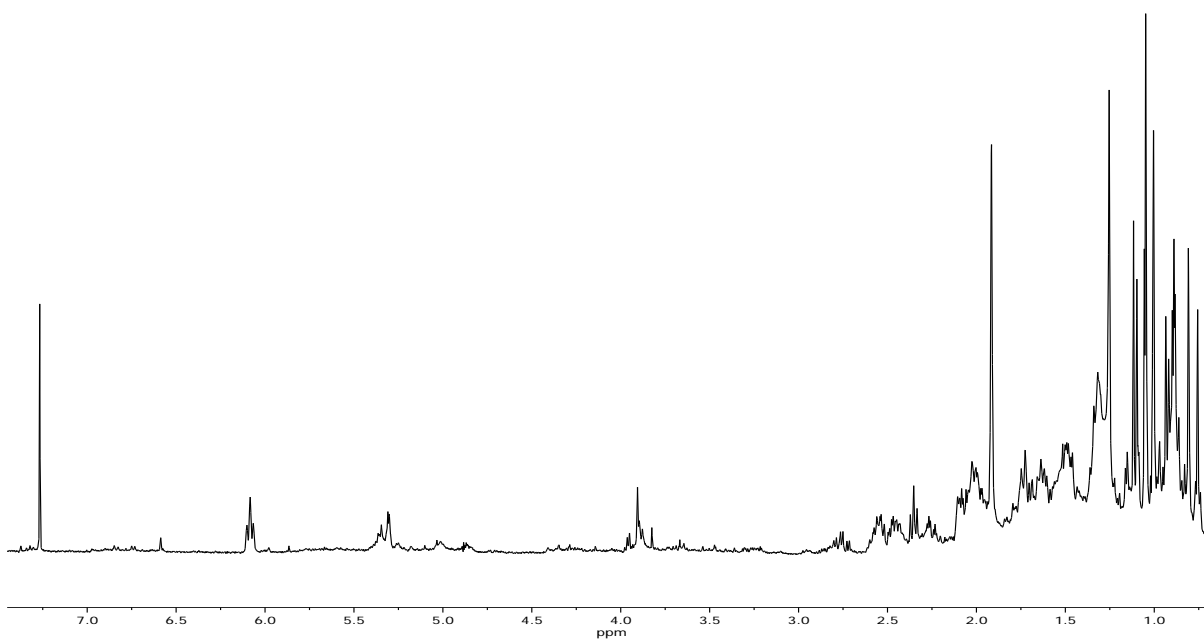


Figura 22. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) en CDCl_3 del extracto diclorometánico de frutos de *P. mexicana*.

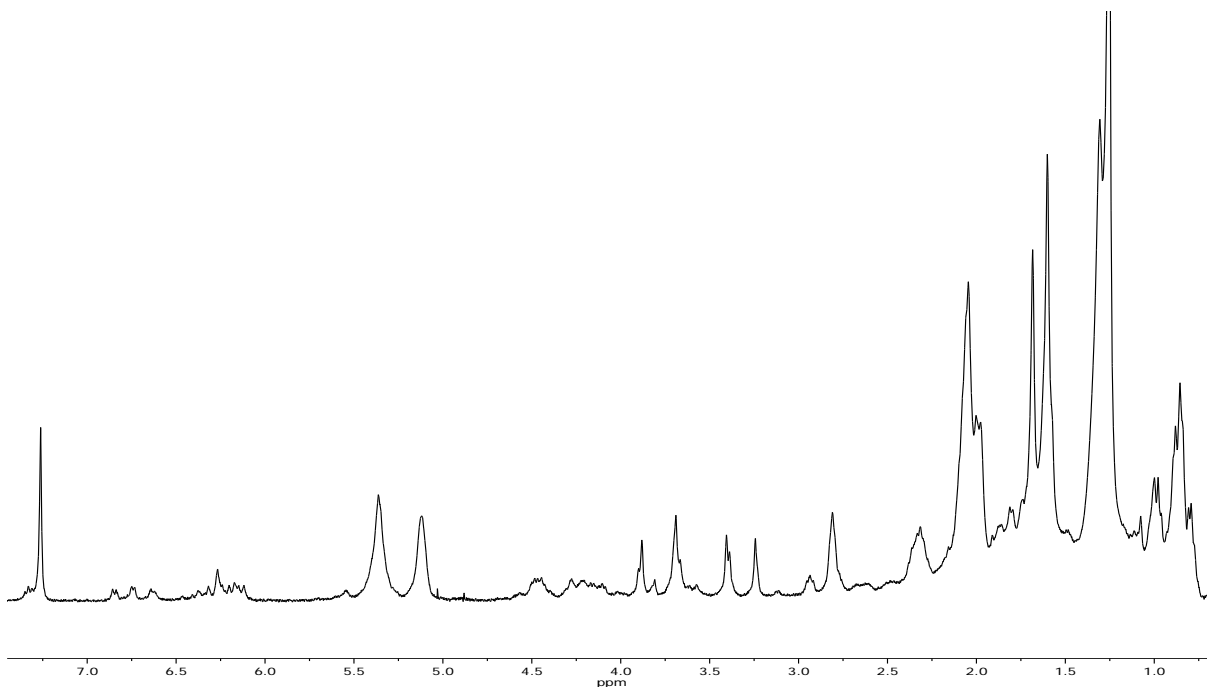


Figura 23. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) en CDCl_3 del extracto diclorometánico de hojas de *P. mexicana*.

5.3. Análisis preliminar de los extractos metanólicos

Una alícuota de los extractos metanólicos de tallos, frutos y hojas de *Pistacia mexicana* se analizó mediante RMN de ^1H (400 MHz) en CD_3OD , y cuyos espectros se muestran en las Figuras 24-26, respectivamente.

En los tres espectros se pueden observar señales importantes en las regiones de los hidrógenos aromáticos, hidrógenos vinílicos, base de heteroátomo y algunas señales en la región de los hidrógenos alifáticos.

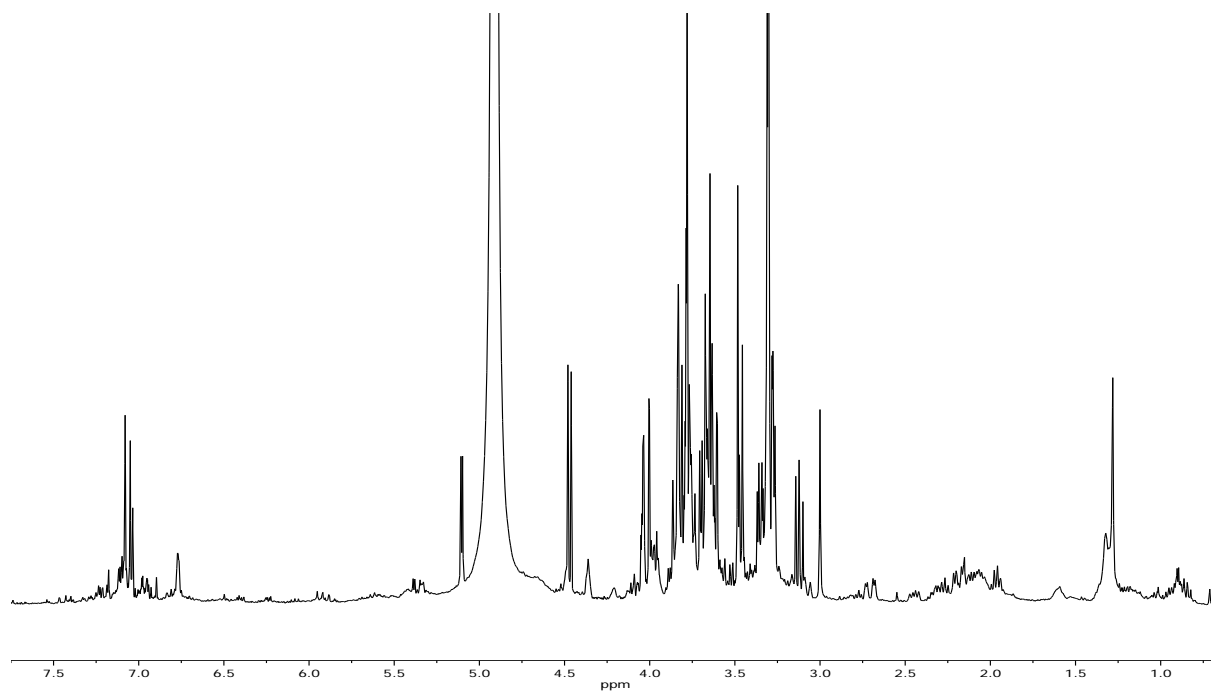


Figura 24. Espectro de RMN de ¹H (400 MHz) en CD₃OD del extracto metanólico de tallos de *P. mexicana*.

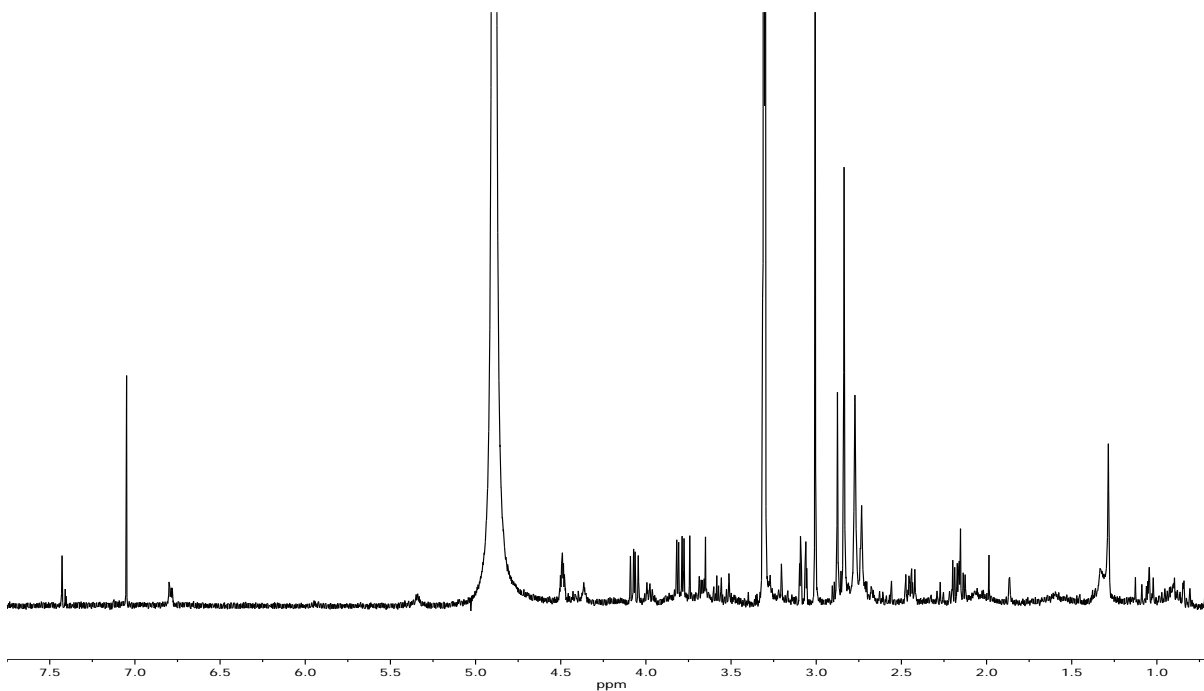


Figura 25. Espectro de RMN de ¹H (400 MHz) en CD₃OD del extracto metanólico de frutos de *P. mexicana*.

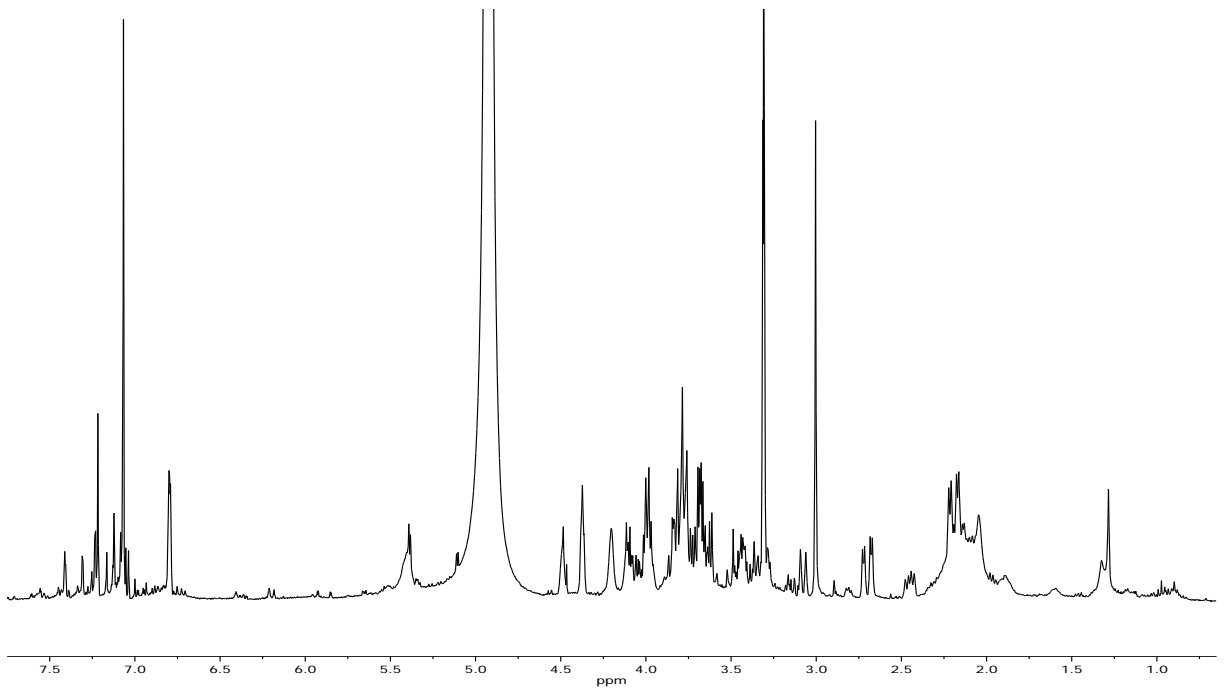


Figura 26. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) en CD_3OD del extracto metanólico de hojas de *P. mexicana*.

5.4. Obtención del β -sitosterol (1)

El β -sitosterol (**1**) se aisló de las fracciones eluídas con 10% de acetato de etilo en hexanos, obtenidas de la cromatografía en columna abierta de la fracción gruesa obtenida eluyendo el extracto hexánico de frutos de *Pistacia mexicana* con 300 mL de 10% de acetato de etilo en hexanos.

Se obtuvieron 8 mg de un sólido blanco soluble en cloroformo, que fue analizado mediante RMN de ^1H , confirmando la identidad de dicho compuesto por comparación con la bibliografía y antecedentes del grupo de trabajo.^{42,43}

En el espectro de RMN ^1H de **1** (Figura 27), se pueden observar las señales clave del sistema: en 5.35 ppm una señal doble ($J = 5.3$ Hz) correspondiente al H-6 del doble enlace del ciclo B, en 3.53 ppm una señal múltiple para el H-3, base del hidroxilo, en 1.01 ppm y 0.68 ppm, dos señales simples correspondientes a los metilos 19 y 18 respectivamente, y finalmente dos señales dobles en 0.91 ppm ($J = 6.2$ Hz) y 0.81 ppm ($J = 6.8$ Hz) asignadas a los metilos 27 y 26, respectivamente.

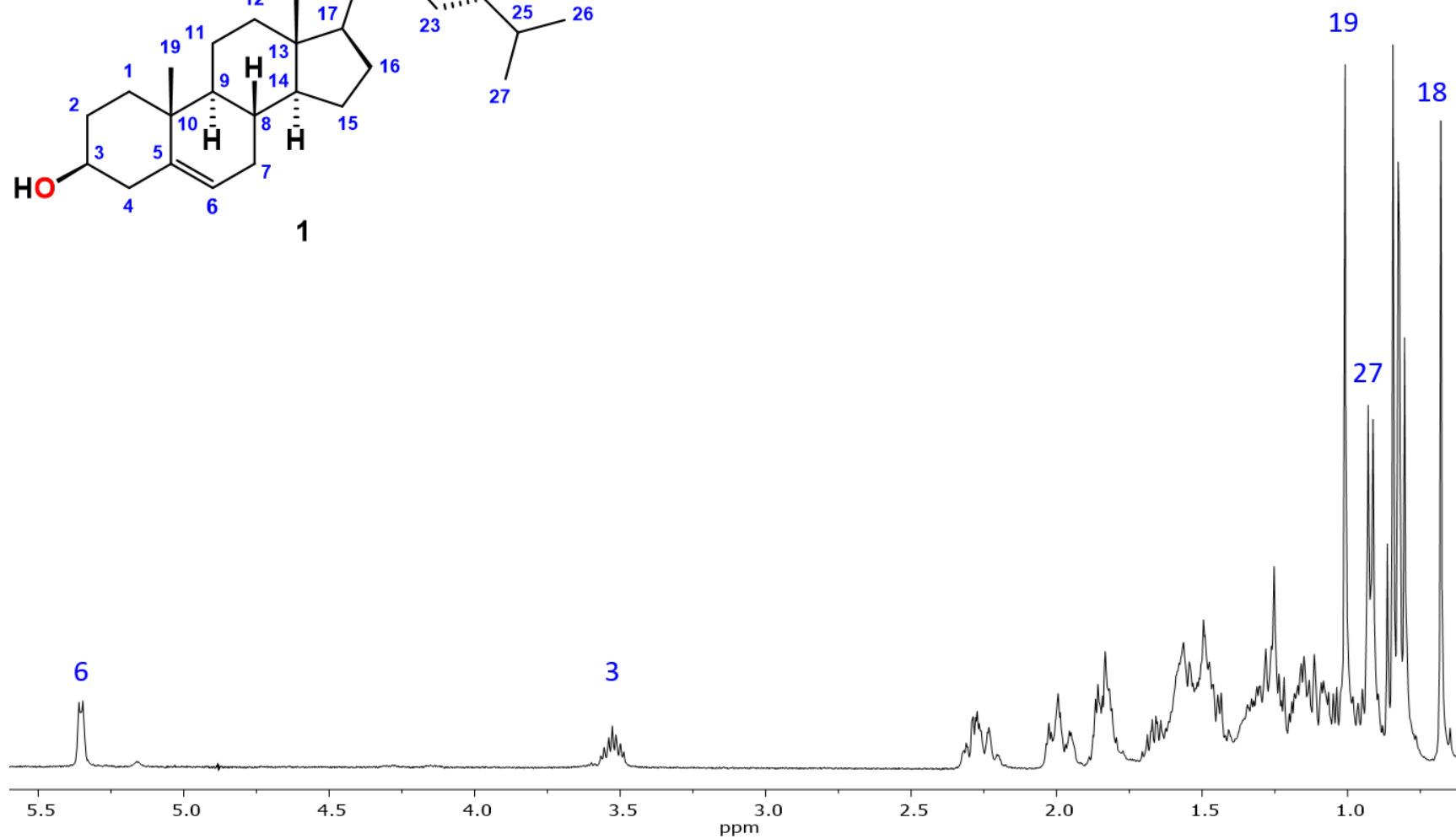
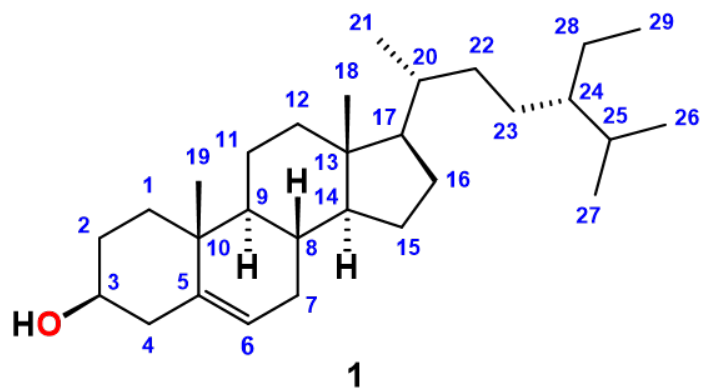


Figura 27. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) en CDCl_3 del β -sitosterol (1).

5.5. Obtención del ácido masticadienónico (**2**)

El ácido masticadienónico (**2**) se aisló de las fracciones eluídas con 40% de acetato de etilo en hexanos a partir de la fracción gruesa obtenida eluyendo el extracto hexánico de frutos con 30% de acetato de etilo en hexanos. Se obtuvo en forma de cristales incoloros, solubles en diclorometano, cloroformo y acetona, y parcialmente soluble en metanol y etanol. Se analizó mediante RMN de ^1H , ^{13}C y experimentos en 2D, y se confirmó su identidad mediante comparación con los datos descritos en la literatura.^{12,37,43–45}

En el espectro de RMN de ^1H de **2** (Figura 28) se pueden observar las señales características del sistema triterpénico. En 6.09 ppm una señal triple de dobles ($J = 7.4, 1.6$ Hz) que corresponde al hidrógeno vinílico H-24; en 5.31 ppm una señal doble de dobles ($J = 6.1, 3.3$ Hz) asignada al hidrógeno vinílico H-6; en 1.92 ppm una señal doble ($J = 1.4$ Hz) correspondiente al metilo vinílico Me-27; en 0.89 ppm una señal doble ($J = 6.2$ Hz) que se asigna al metilo Me-21, y finalmente, en 1.12, 1.05, 1.01, 1.00 y 0.81 ppm se observaron cinco señales simples que integraron para tres hidrógenos cada una, correspondientes a los metilos Me-29, Me-28, Me-19, Me-30 y Me-18, respectivamente.

En el espectro de RMN de ^{13}C de **2** (Figura 29) se observaron 30 señales correspondientes a los carbonos de la estructura triterpénica. Como señales destacadas podemos observar aquellas correspondientes a los carbonos de las funciones químicas presentes en la estructura: en 217.0 ppm la señal correspondiente al carbonilo de cetona C-3, en 173.4 ppm la señal del carbono de ácido carboxílico C-26 y en 147.3, 145.9, 125.8 y 117.7 ppm las señales que corresponden a los carbonos metilénicos C-24, C-8, C-25 y C-7, respectivamente.

Adicionalmente, este compuesto se obtuvo mediante cristalizaciones subsecuentes a partir de un precipitado obtenido del extracto hexánico de tallos, siguiendo la metodología descrita en la sección 7.2.

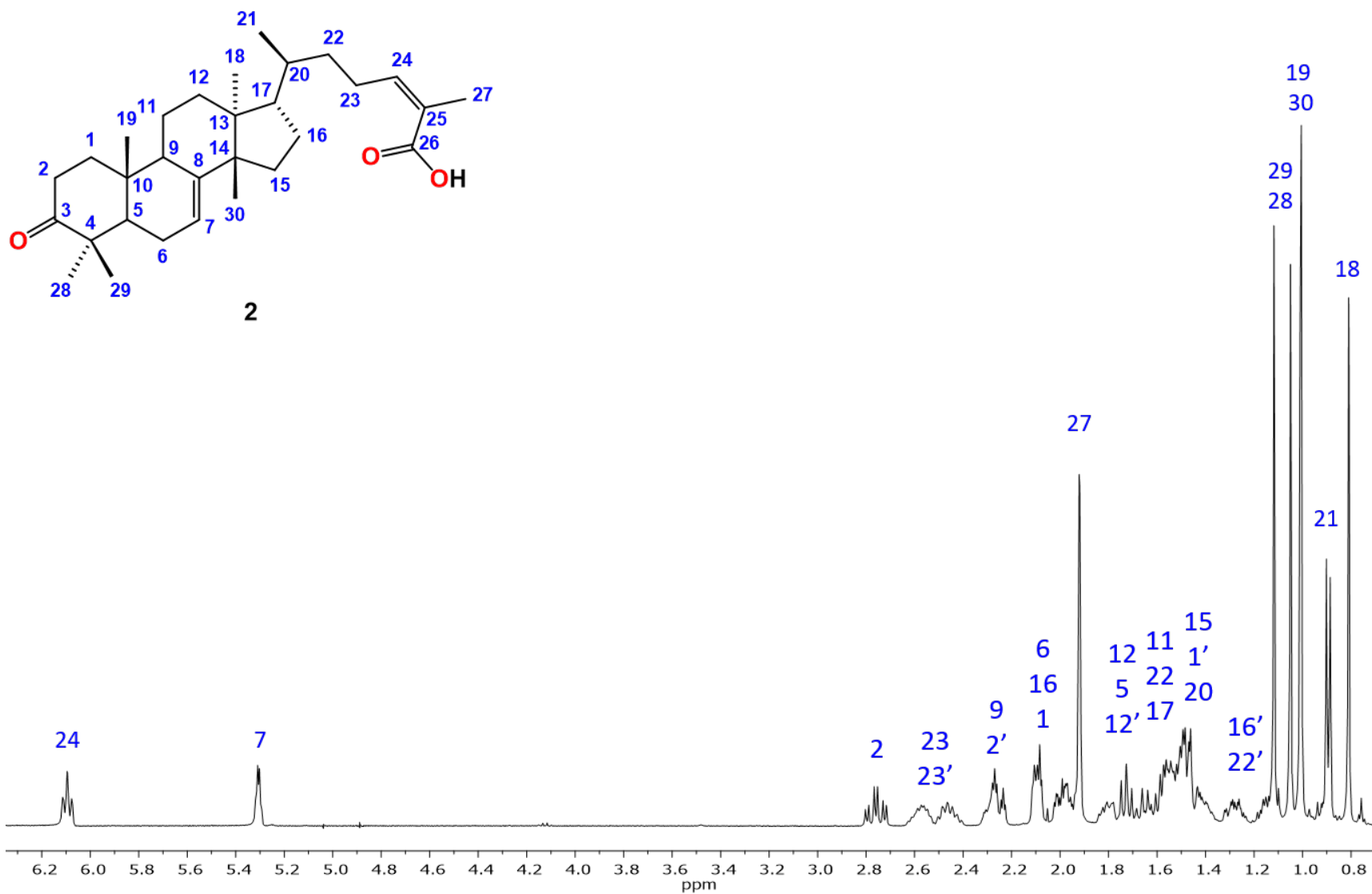


Figura 28. Espectro de RMN de ¹H (400 MHz) en CDCl₃ del ácido masticadienónico (2).

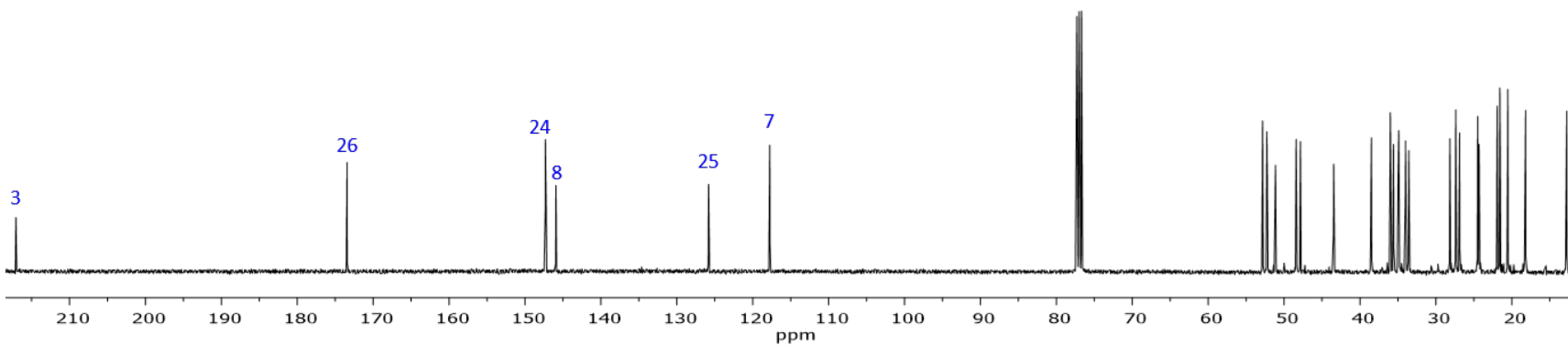
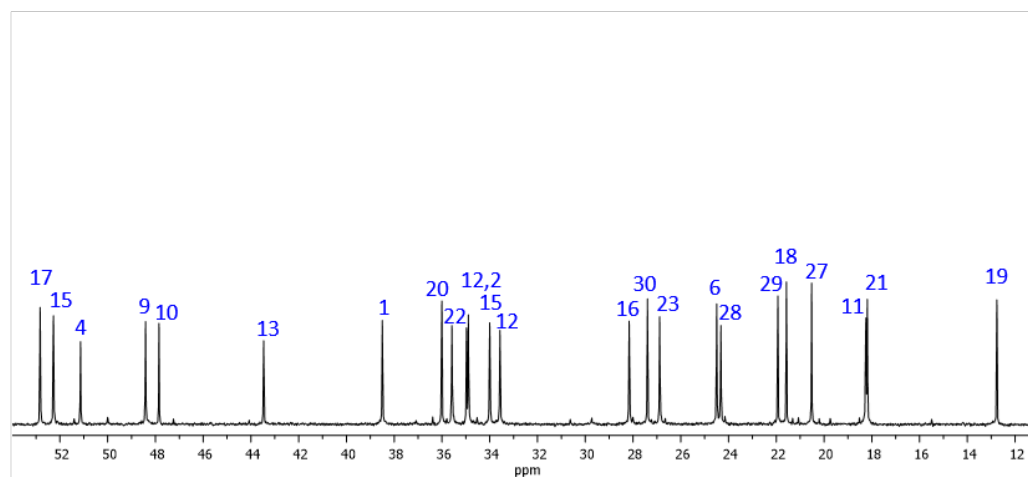
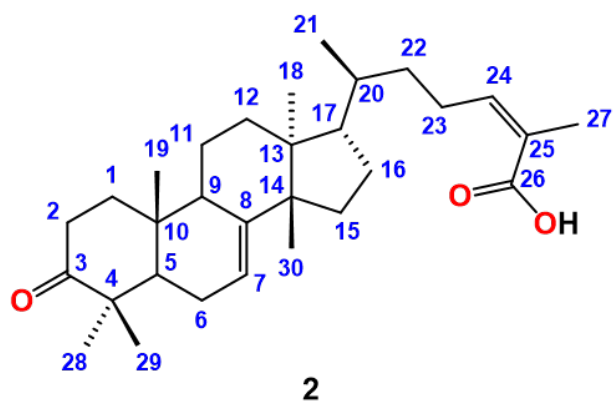
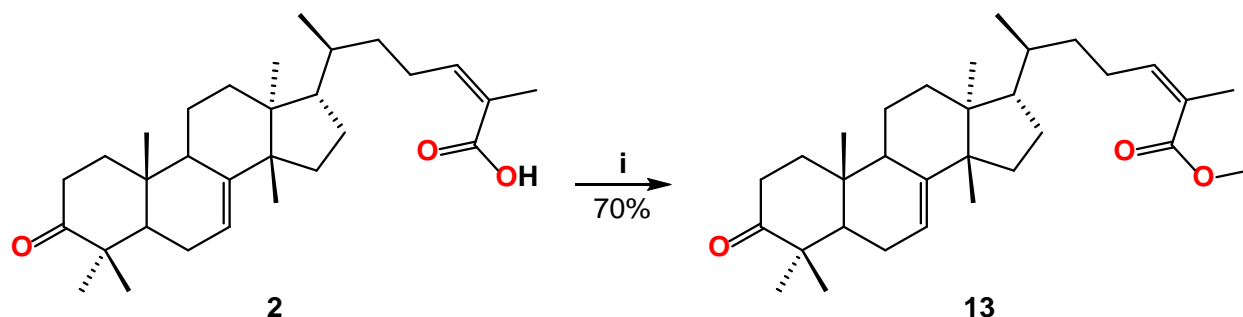


Figura 29. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz) en CDCl_3 del ácido masticadienónico (2).

5.6. Derivados del ácido masticadienónico (2)

5.6.1. Metil 3-oxotirucala-7,24-dien-26-oato (13)

Utilizando **2** como materia prima, se preparó el derivado tipo éster **13** empleando diazometano como reactivo, siguiendo la metodología descrita en la sección 7.3. El producto obtenido fue caracterizado mediante sus espectros de RMN de ^1H y ^{13}C .



Esquema 1. Reactivos y condiciones: diazometano, Et_2O , $4\text{ }^\circ\text{C}$, 2 h.

En el espectro de RMN de ^1H de **13** (Figura 30) se observan las señales representativas del sistema triterpénico y los correspondientes a las modificaciones químicas realizadas. En 5.93 ppm (td, $J = 7.5, 1.4\text{ Hz}$) y 5.31 ppm (dd, $J = 6.4, 3.4\text{ Hz}$) se pueden observar dos señales correspondientes a los hidrógenos vinílicos H-24 y H-7 respectivamente. En 3.74 ppm se puede observar una señal simple intensa, que integra para 3 hidrógenos, y corresponde al Me-31 del éster. En 2.50 y 2.46 se observan dos señales múltiples que integran para un hidrógeno y que corresponden a los hidrógenos diastereotópicos H-23 y H-23'. Se aprecian dos señales dobles en 1.90 ppm ($J = 1.2\text{ Hz}$) y 0.89 ppm ($J = 6.3\text{ Hz}$) que integran para tres hidrógenos y se asignan a los metilos Me-27 y Me-21. Finalmente se pueden observar cinco señales simples en 1.12, 1.05, 1.01, 1.00 y 0.81 ppm asignadas a los metilos Me-29, Me-28, Me-19, Me-30 y Me-18.

En el espectro de RMN de ^{13}C de **13** (Figura 31) se observaron 31 señales. En 217.0 y 173.4 las señales correspondientes a los carbonilos C-3 y C-26. En 147.3, 145.9, 125.8 y 117.7 ppm se aprecian las señales de los carbonos vinílicos C-24, C-8, C-25 y C-7. Finalmente, en 51.19 se observa la señal del carbono del metilo del éster C-31.

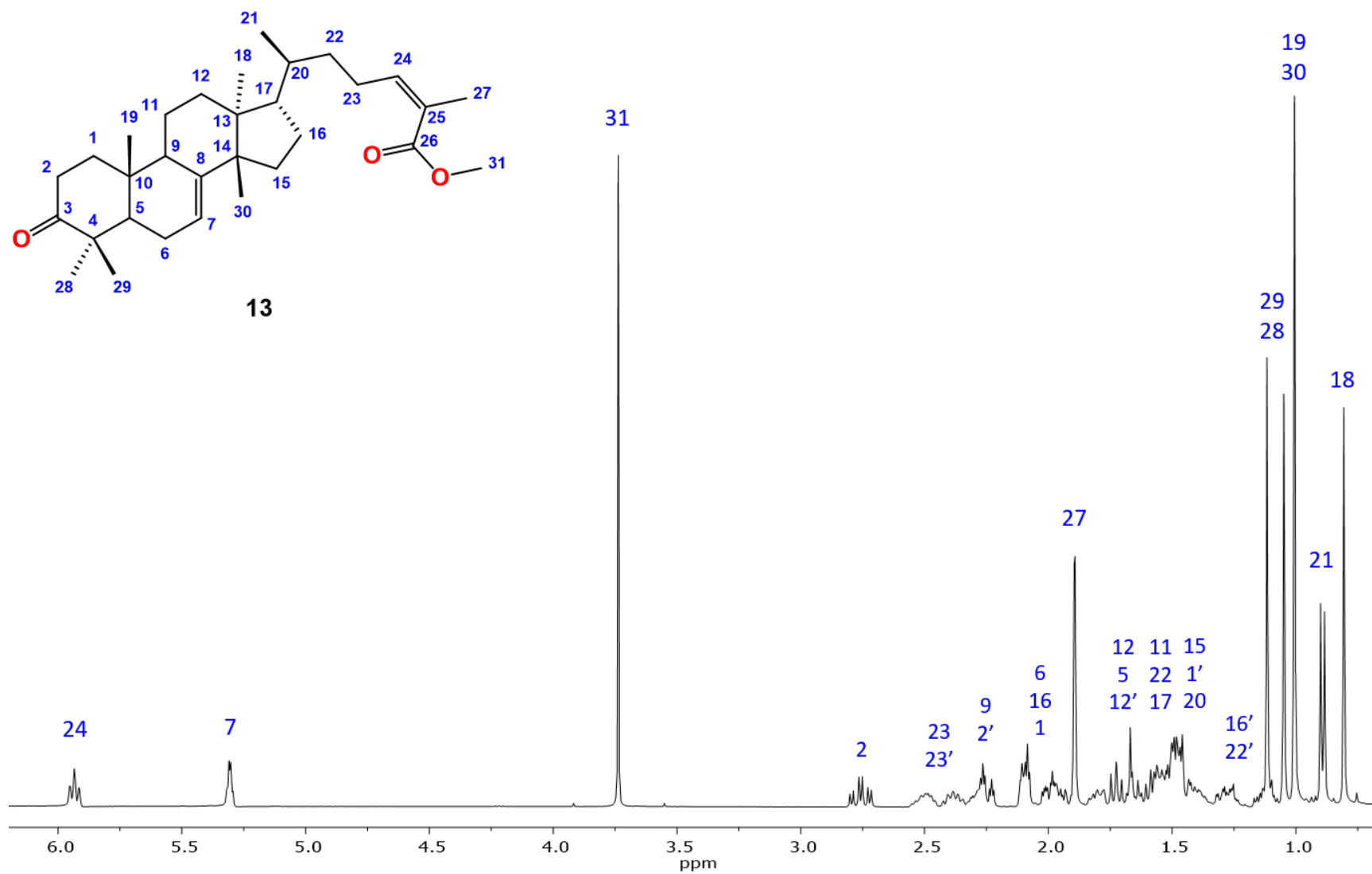


Figura 30. Espectro de RMN de ¹H (400 MHz) en CDCl₃ del metil 3-oxotirucala-7,24-dien-26-oato (**13**).

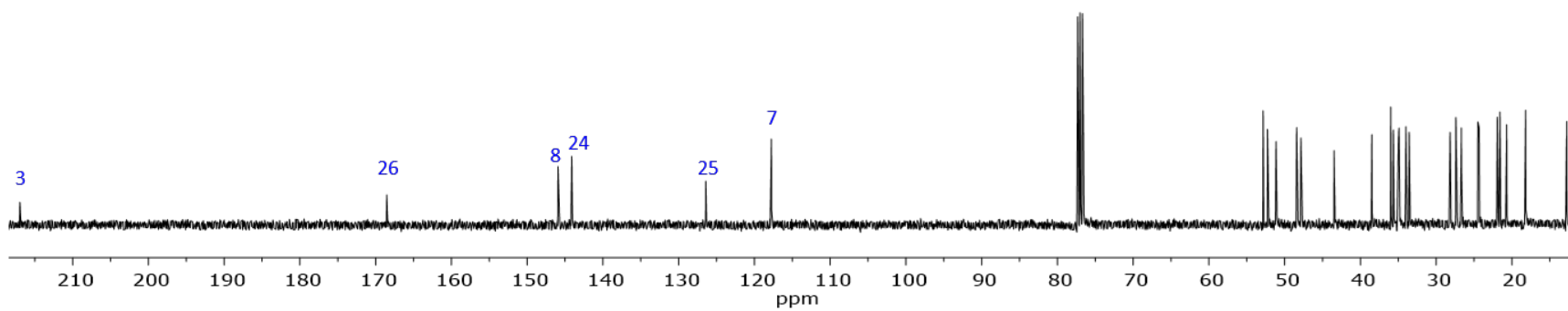
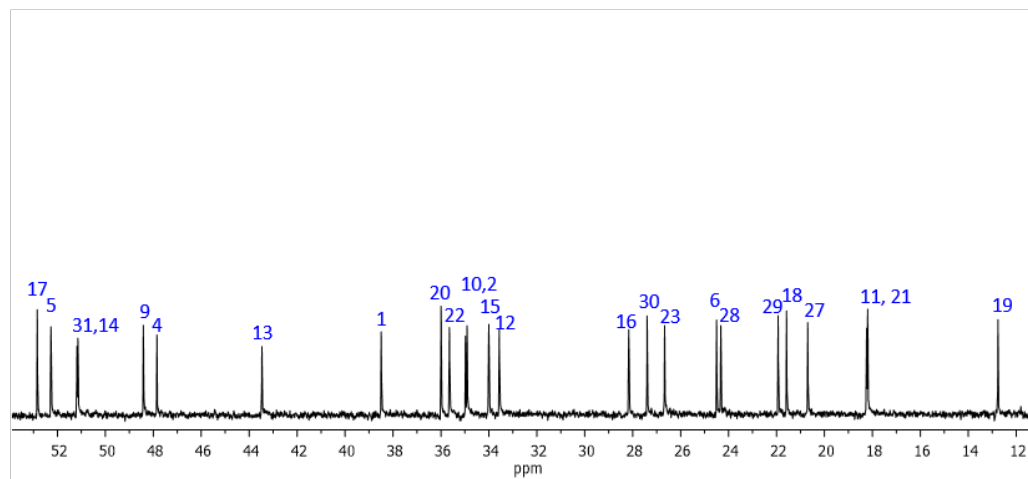
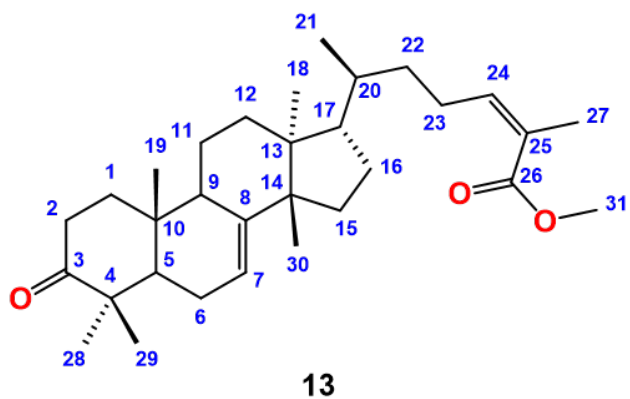
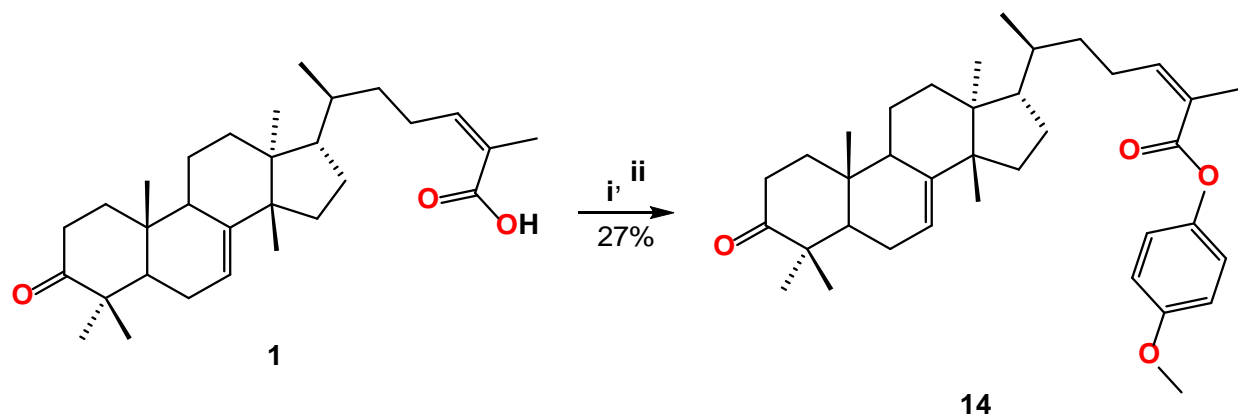


Figura 31. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz) en CDCl_3 del metil 3-oxotirucala-7,24-dien-26-oato (**13**).

5.6.2. 4-metoxifenil 3-oxotirucala-7,24-dien-26-oato (**14**)

El derivado tipo éster **14** se obtuvo siguiendo la metodología descrita en la sección 7.4, mediante la activación del grupo carboxilo con CDI, utilizando 4-metoxifenol como reactivo. Se obtuvo el producto como una miel y se caracterizó por RMN de ^1H y ^{13}C .



Esquema 2. Reactivos y condiciones: **i)** CDI, THF, N_2 , N_2 , N_2), 2 h. **ii)** 4-metoxifenol, N_2 , N_2 , N_2), 2 h.

En el espectro de RMN de ^1H de **14** (Figura 32) muestra las señales del sistema triterpénico y la fracción del éster aromático. En 7.03 y 6.9 ppm se identificaron dos señales múltiples correspondientes a los hidrógenos H-32, H-32', H-33 y H-33'. En 6.10 ppm (td, $J = 7.6, 1.7$ Hz) y 5.31 ppm (dd, $J = 6.0, 3.3$ Hz) dos señales asignadas para los hidrógenos vinílicos H-24 y H-7. En 3.80 una señal simple intensa que corresponde al metoxilo Me-35. En 1.90 ppm ($J = 1.3$ Hz) y 0.88 ppm ($J = 6.2$ Hz) se aprecian dos señales identificadas como los metilos Me-27 y Me-21. Por último, se observaron cinco señales simples en 1.11, 1.04, 0.99, 0.98 y 0.79 ppm que corresponden a los metilos Me-29, Me-28, Me-19, Me-30 y Me-18.

En el espectro de RMN de ^{13}C de **14** (Figura 33) se aprecian 35 señales, destacando en 216.9 y 166.6 ppm las señales de los carbonilos C-3 y C-26. En 146.4, 145.9, 125.9 y 117.1 ppm, se muestran las señales correspondientes a los carbonos vinílicos C-24, C-8, C-25 y C-7. En 157.0, 144.1, 122.4 y 114.4 se identificaron las señales de los carbonos aromáticos C-34, C-31, C-32 y C-33, respectivamente. Finalmente, en 55.5 ppm se observó la señal que corresponde al metilo C-35.

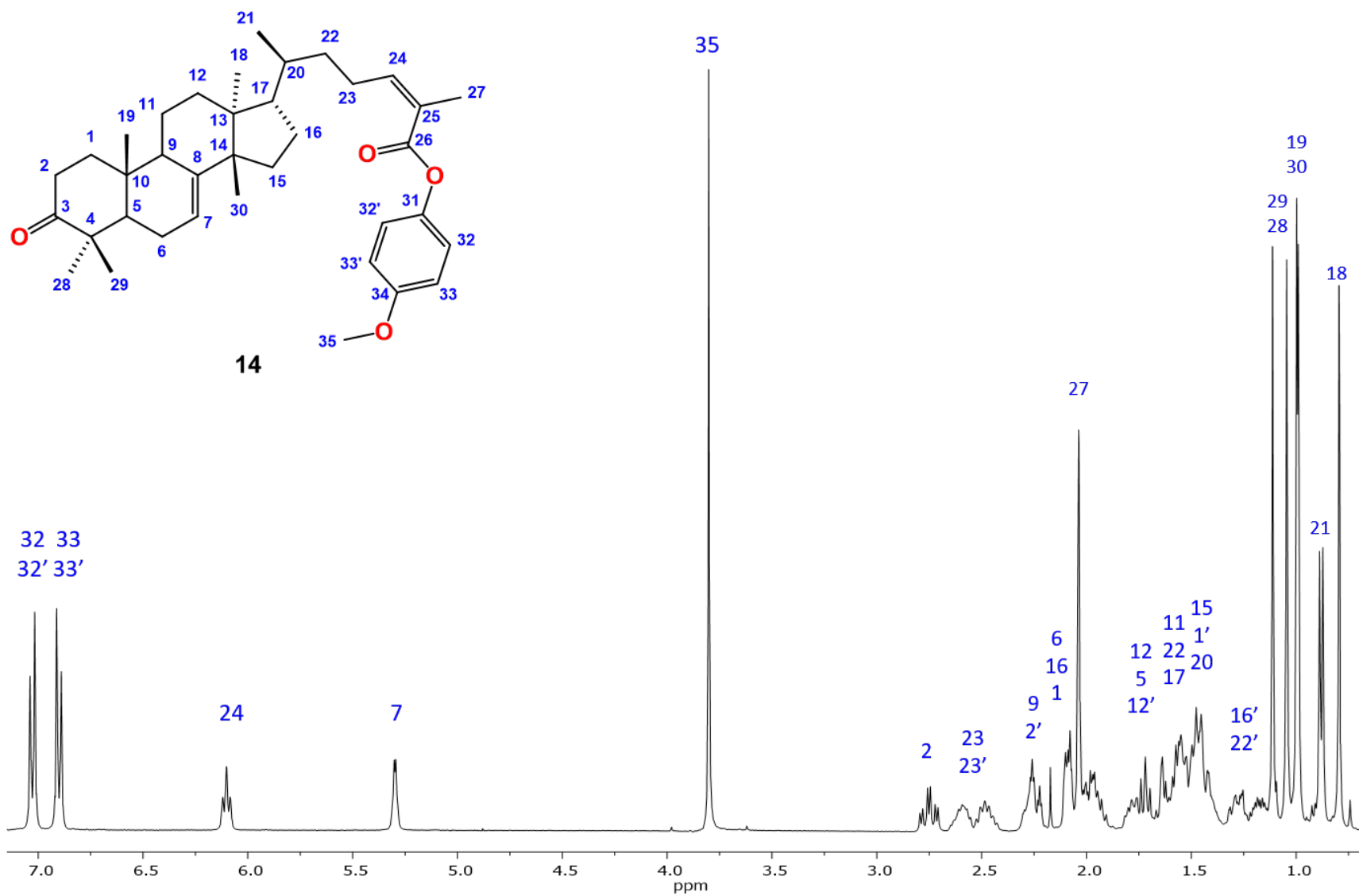
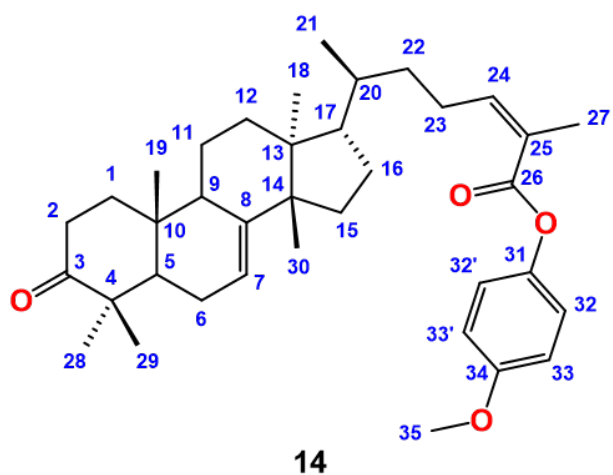


Figura 32. Espectro de RMN de ¹H (400 MHz) en CDCl₃ del metil 3-oxotirucala-7,24-dien-26-oato (14).



14

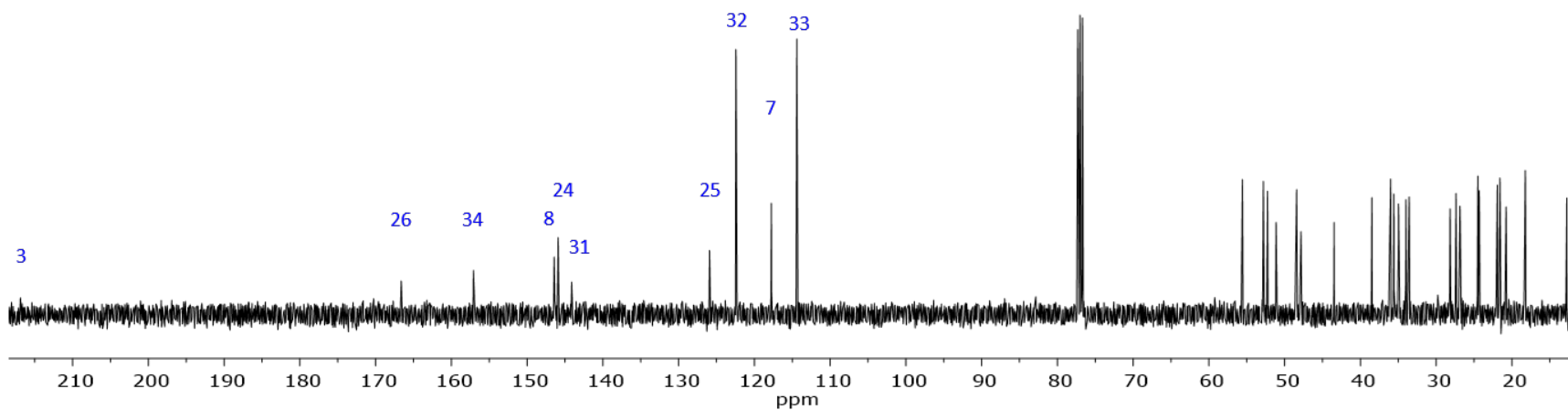
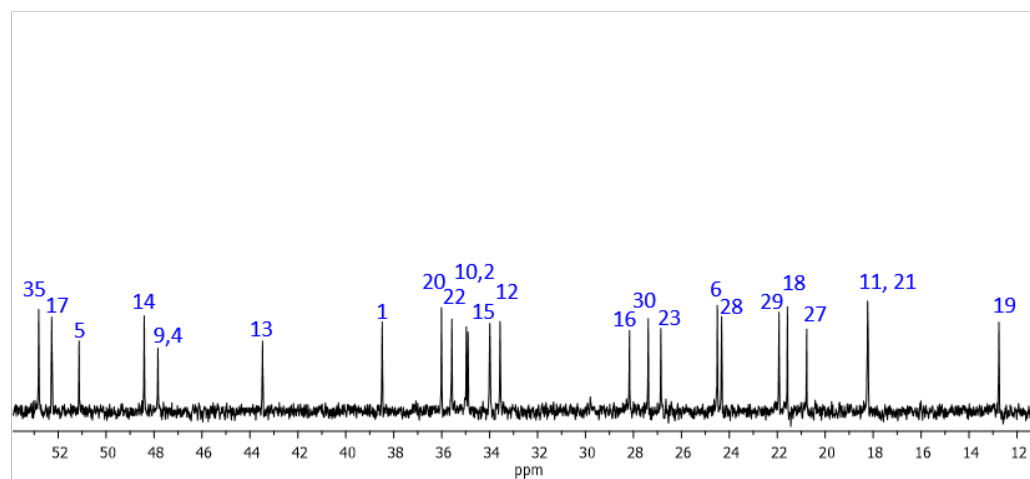
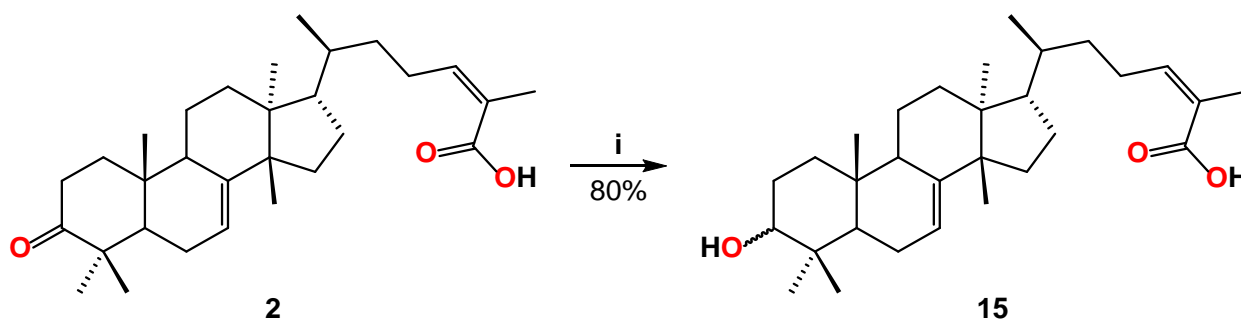


Figura 33. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz) en CDCl_3 del metil 3-oxotirucala-7,24-dien-26-oato (**14**).

5.6.3. Ácido 3-hidroxitirucala-7,24-dien-26-oico (**15**)

El derivado **15** fue preparado a partir de **2**, mediante la reducción del carbonilo de cetona con borohidruro de sodio, aplicando la metodología que se describe en la sección 7.5. El producto se obtuvo como un sólido amorfo de color blanco y se caracterizó mediante sus espectros de RMN de ^1H y ^{13}C .



Esquema 3. Reactivos y condiciones: i) NaBH_4 , EtOH, t.a., 1 h.

Se puede observar en el espectro de RMN de ^1H de **15** (Figura 34) dos señales en 5.89 ppm ($J = 7.2, 1.3$ Hz) y 5.22 ppm ($J = 6.0, 3.3$ Hz) que corresponden a los hidrógenos vinílicos H-24 y H-7. En 3.03 ppm (dd, $J = 9.5, 3.3$ Hz) una señal asignada al hidrógeno H-3 base del hidroxilo. Para los metilos Me-21 y Me-27 se pueden apreciar dos señales dobles en 1.79 ppm ($J = 1.2$ Hz) y 0.85 ppm ($J = 6.4$ Hz), respectivamente. Finalmente, en 0.93, 0.87, 0.76, 0.75 y 0.68 ppm, se encuentran cinco señales simples que integran para los hidrógenos de los metilos Me-29, Me-28, Me-19, Me-30 y Me-18.

En el espectro de RMN de ^{13}C de **15** (Figura 35) se pueden observar 30 señales correspondientes a los carbonos de dicho compuesto. Se observa una señal en 169.9 ppm correspondiente con el carbonilo de ácido carboxílico C-26. En 145.4, 141.7, 127.2 y 117.5 ppm se identificaron las señales de los carbonos vinílicos C-24, C-8, C-25 y C-7. Finalmente, se puede apreciar el desplazamiento del carbono C-3, ahora base de hidroxilo, que ahora se encuentra en 76.9 ppm.

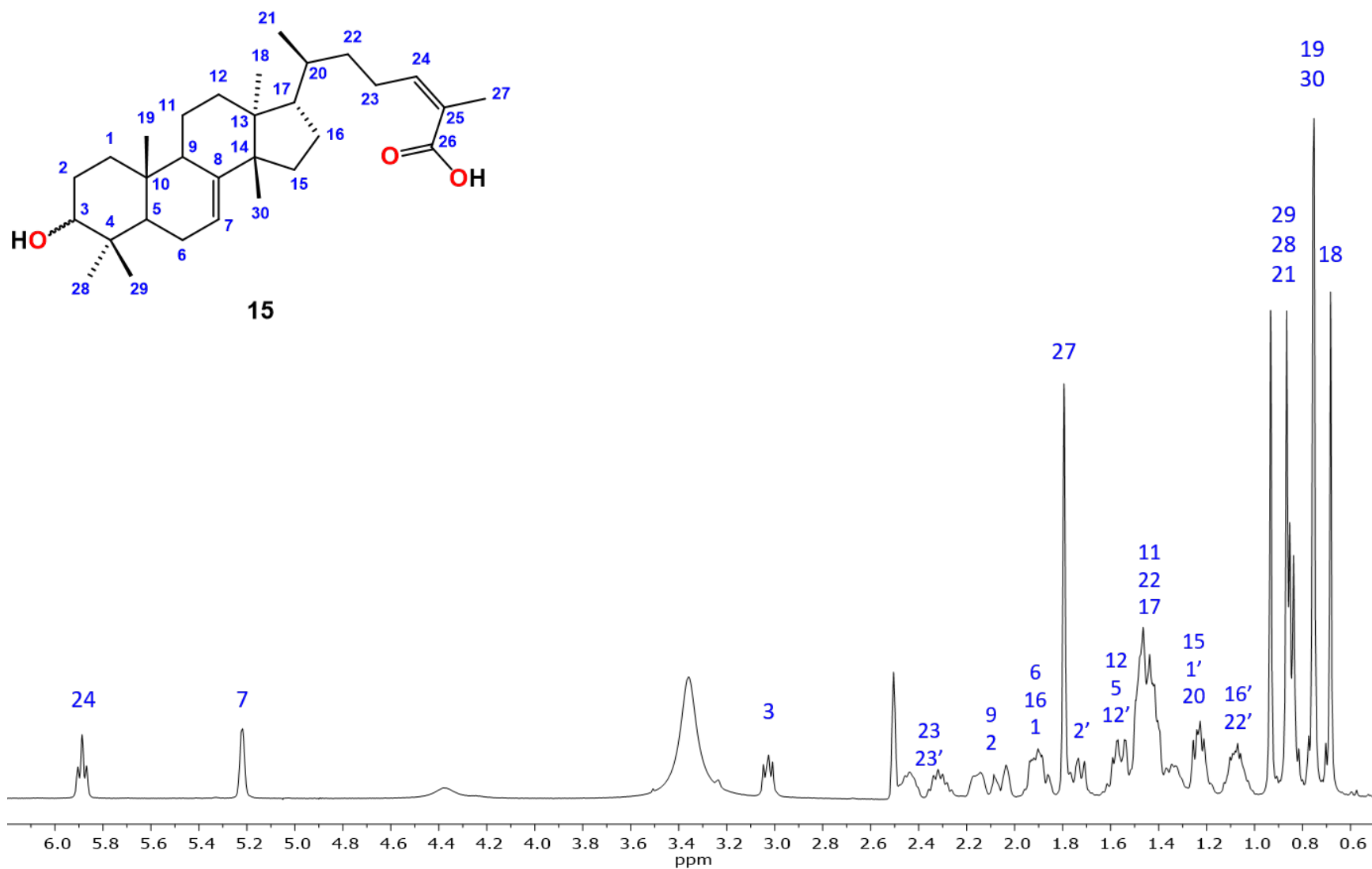


Figura 34. Espectro de RMN de ¹H (400 MHz) en DMSO-d₆ del Ácido 3-hidroxitirucala-7,24-dien-26-oico (15).

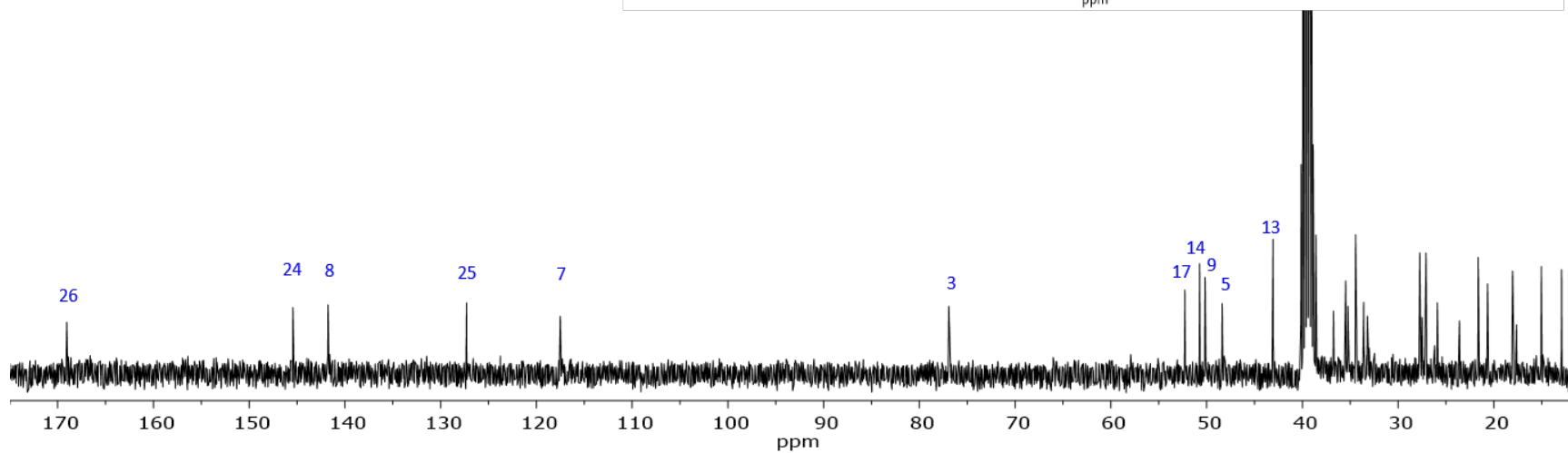
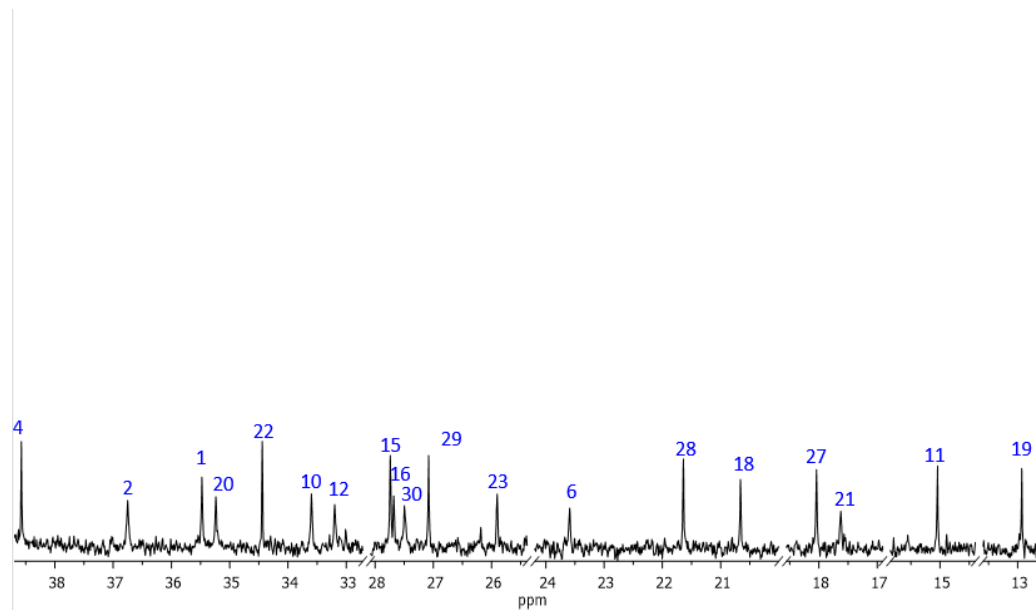
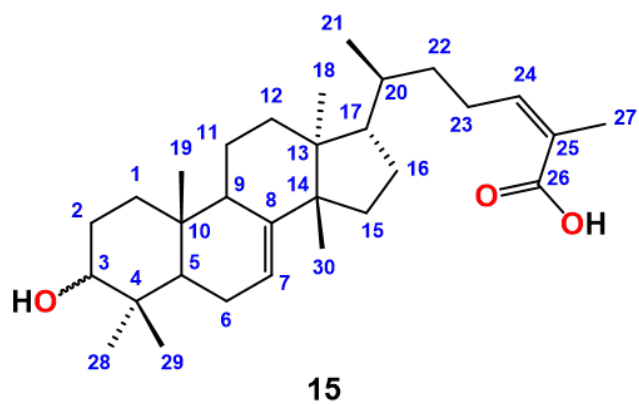
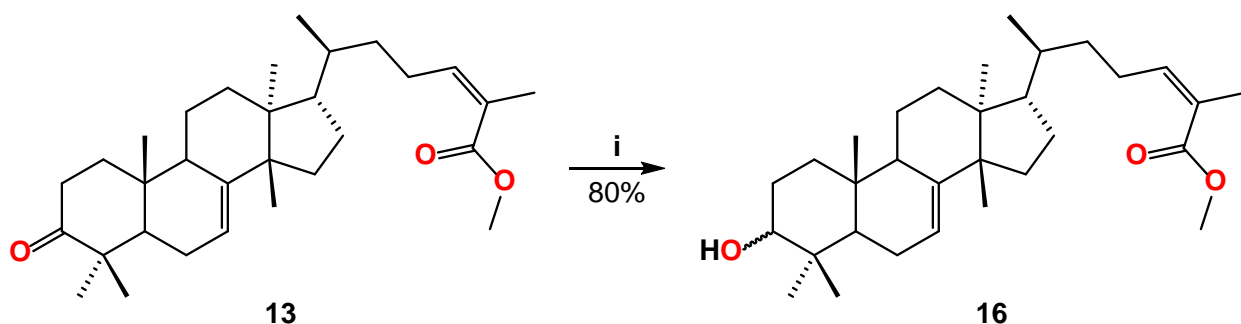


Figura 35. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz) en DMSO-d_6 del Ácido 3-hidroxitirucala-7,24-dien-26-oico (**15**).

5.6.4. Metil 3-hidroxitirucala-7,24-dien-26-oato (**16**)

Utilizando **13** como material de partida se preparó el derivado **16**, mediante la reducción del carbonilo C-3 utilizando con borohidruro de sodio, siguiendo la metodología descrita en la sección 7.5. Se obtuvo el producto como un sólido blanco, caracterizado mediante espectroscopia de RMN de ^1H y ^{13}C .



Esquema 4. Reactivos y condiciones: i) NaBH₄, EtOH, t.a., 1 h.

El espectro de RMN de ^1H de **16** (Figura 36) muestra las señales características del sistema triterpénico y de las modificaciones realizadas. En 5.93 ppm (td, $J = 7.4, 1.6$ Hz) y 5.26 ppm (dd, $J = 5.9, 3.2$ Hz) dos señales que corresponden a los hidrógenos vinílicos H-24 y H-7. Se puede apreciar también en 3.24 ppm (dd, $J = 11.1, 4.2$ Hz) una señal que corresponde al hidrógeno base del hidroxilo H-3. Por último, se identificaron las señales correspondientes a los metilos Me-27, Me-19, Me-30, Me-29, Me-28, Me-18 y Me-21.

En el espectro de RMN de ^{13}C de **16** (Figura 37) se identificaron 31 señales correspondientes a los de la estructura de dicho derivado. En 168.5 ppm se observa la señal correspondiente al carbono C-26 del éster metílico. Se aprecian en 145.8, 144.1, 126.4 y 117.8 ppm las señales pertenecientes a los carbonos vinílicos C-8, C-24, C-25 y C-7. Se observa el carbono C-3, ahora base de hidroxilo en 79.2 ppm. Finalmente, entre 52.8 y 13.0 ppm se encuentran las señales para el resto de los carbonos de la estructura, destacando el carbono C-31 en 51.19 ppm.

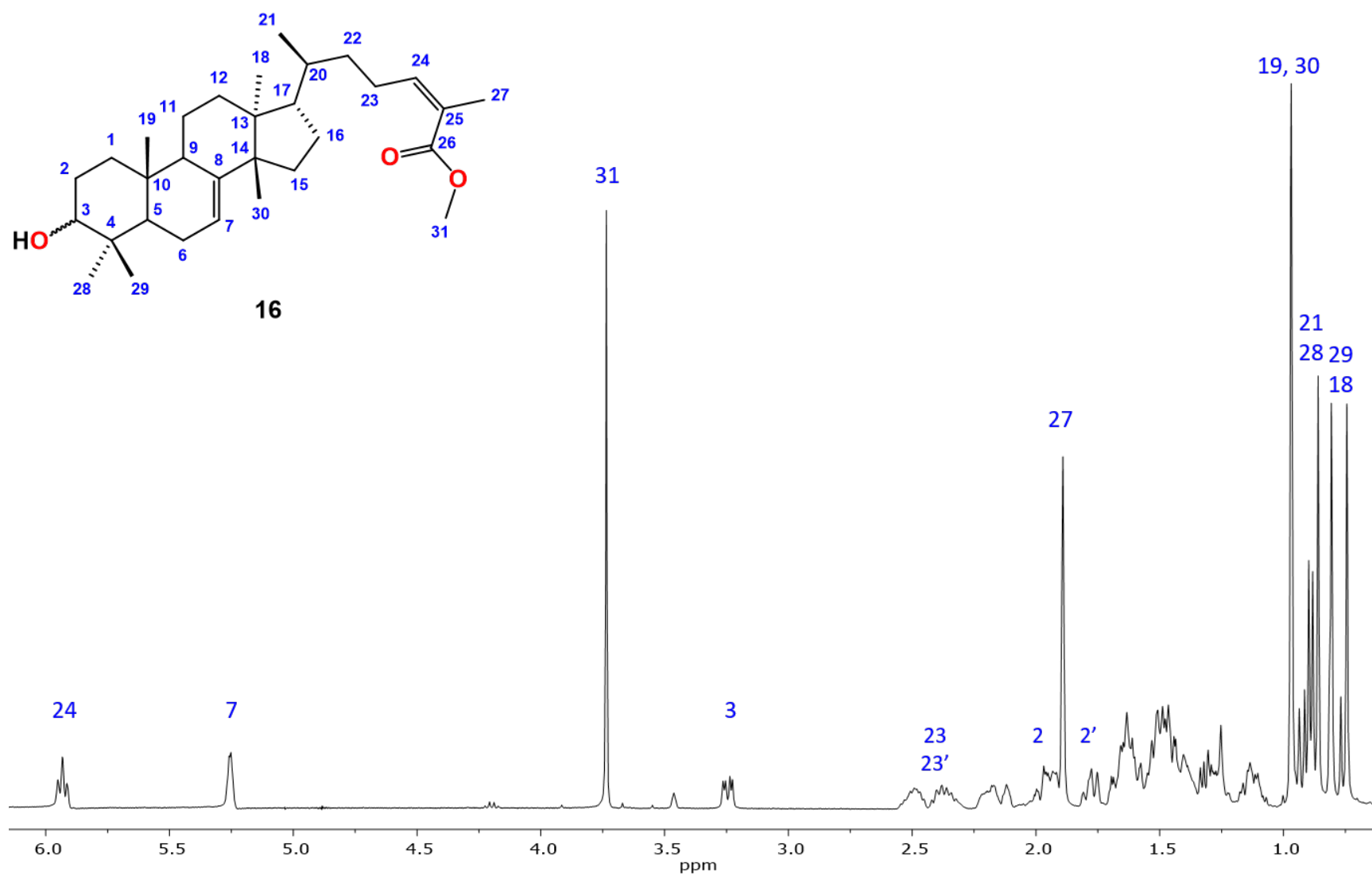


Figura 36. Espectro de RMN de ¹H (400 MHz) en CDCl₃ del metil 3-hidroxitirucala-7,24-dien-26-oico (16).

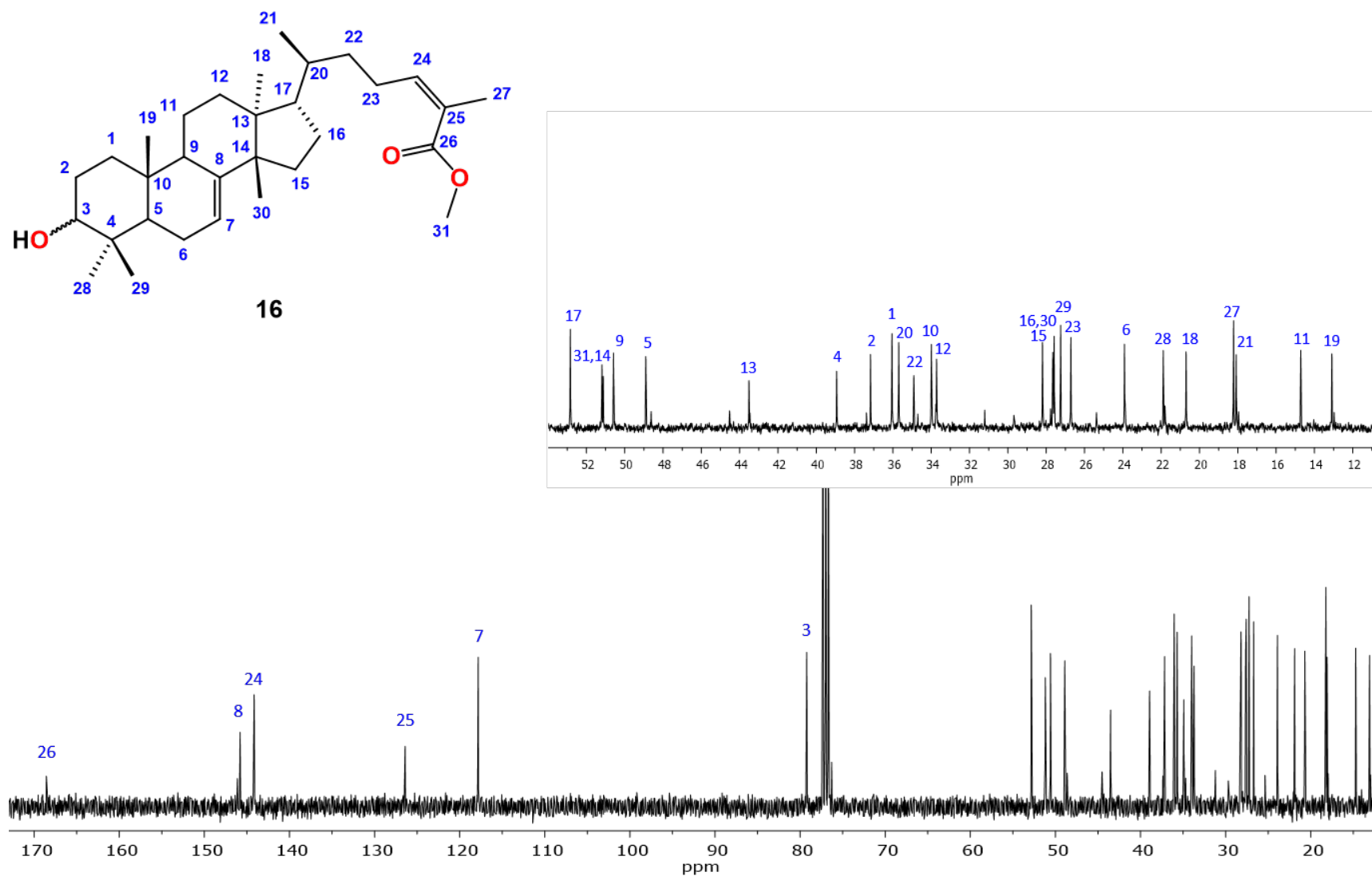
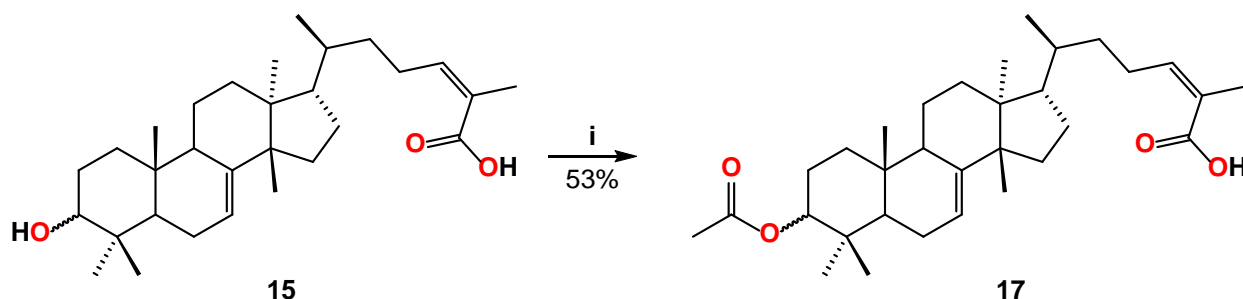


Figura 37. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz) en CDCl_3 del metil hidroxiterucala-7,24-dien-26-oato (16).

5.6.5. Ácido 3-acetoxitirucala-7,24-dien-26-oico (**17**)

A partir de **15** se preparó el derivado **17**, bajo las condiciones de acetilación estándar descritas en la sección 7.6, empleando anhídrido acético como reactivo y piridina como disolvente. Se logró obtener de esta forma, el derivado ya mencionado como una miel, que fue caracterizado mediante sus espectros de RMN de ^1H y ^{13}C .



Esquema 5. Reactivos y condiciones: **i)** Ac_2O , piridina, baño de vapor, 4 h.

En el espectro de RMN de ^1H de **17** (Figura 38) se pueden apreciar las señales correspondientes a este derivado. En 6.91 ppm (td, $J = 7.5, 1.7$ Hz) y 5.25 ppm (dd, $J = 6.1, 2.8$ Hz) se identificaron dos señales que integran para los hidrógenos vinílicos H-24 y H-7. En 4.52 ppm se observa una señal doble de dobles ($J = 11.3, 4.3$ Hz) que corresponde al hidrógeno H-3, base del acetoxilo. Por otra parte, en 2.06 ppm se identificó una señal simple que se asignó al metilo Me-32. Finalmente, en los desplazamientos 1.84, 0.97, 0.93, 0.91, 0.85, 0.81 y 0.77 ppm, se pueden observar las señales correspondientes a los metilos Me-27, Me-19, Me-30, Me-21, Me-18, Me-29 y Me-28, respectivamente.

En el espectro de RMN de ^{13}C de **17** (Figura 39) se observaron 32 señales correspondientes a este derivado. Como señales importantes destacan: en 173.2 y 171.0 ppm se observan las señales correspondientes a los carbonilos de ácido carboxílico C-26 y C-31, respectivamente. En los desplazamientos 145.7, 145.7, 126.6 y 117.7 ppm se observan las señales pertenecientes a los carbonos vinílicos C-8, C-25, C-24 y C-7. Finalmente, en 81.12 y 34.6 ppm se aprecian las señales correspondientes a los carbonos C-3, base del acetoxilo, y C-32 del metilo del acetoxilo.

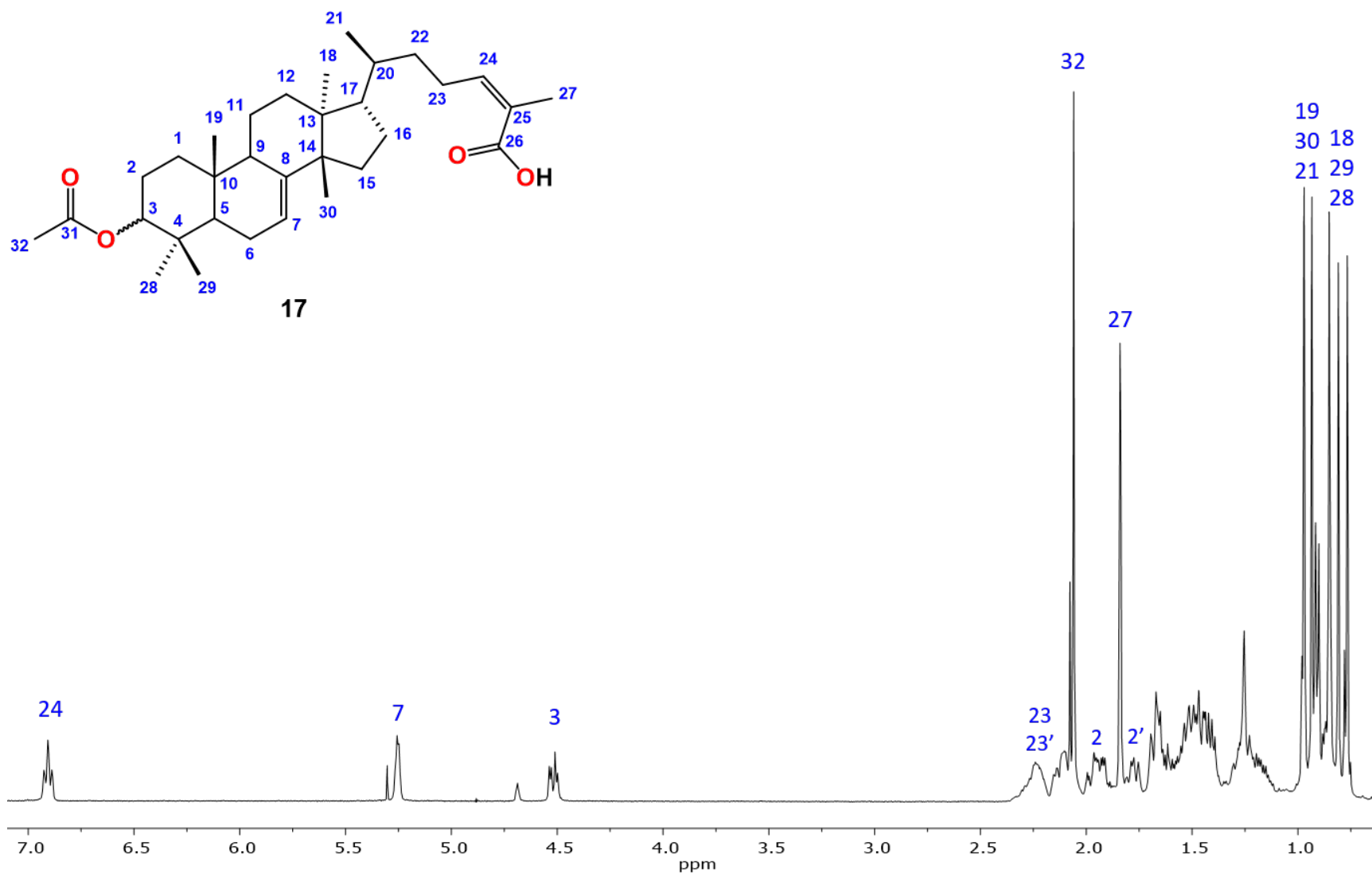


Figura 38. Espectro de RMN de ¹H (400 MHz) en CDCl₃ del ácido 3-acetoxitirucala-7,24-dien-26-oico (17).

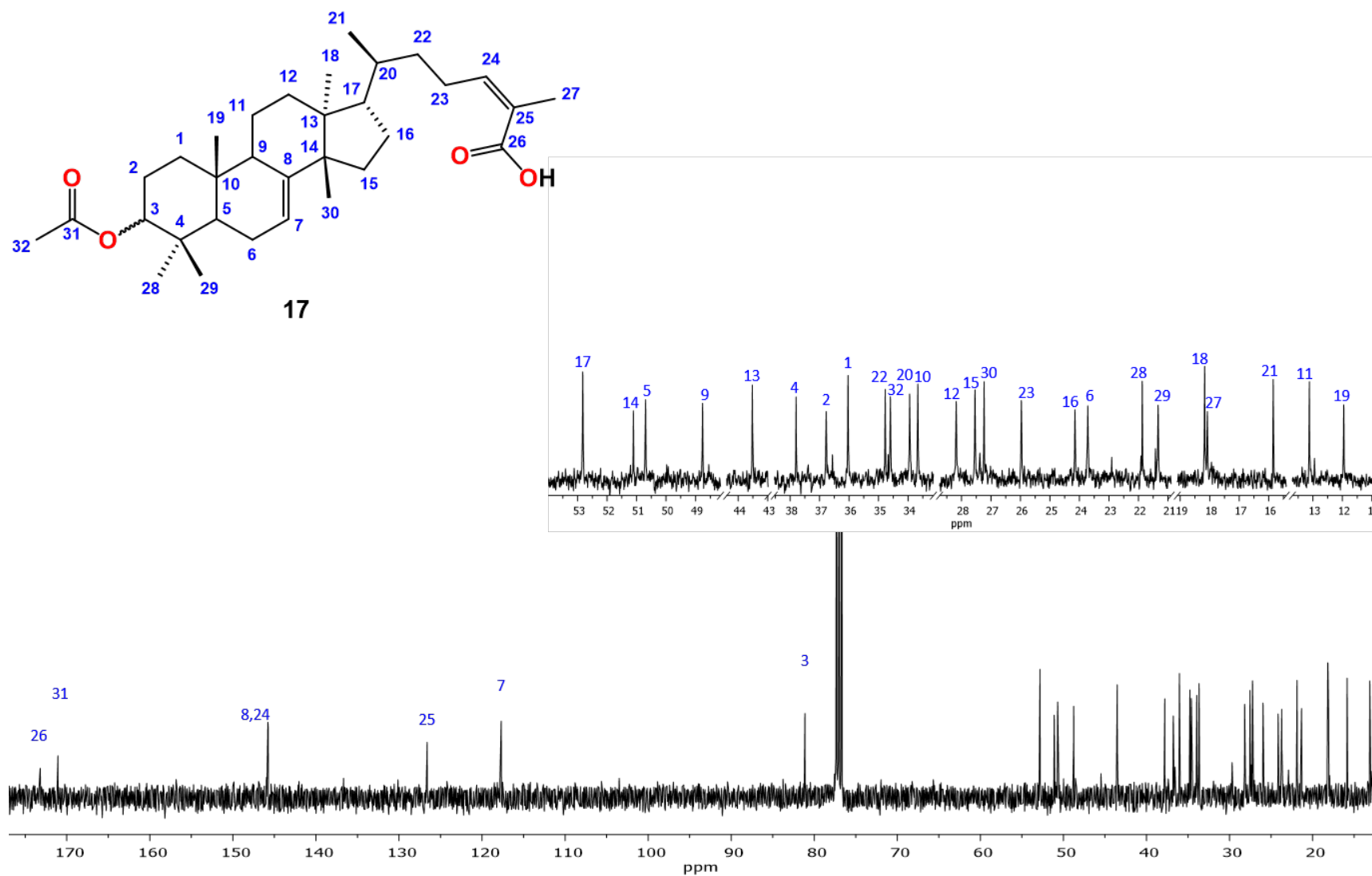
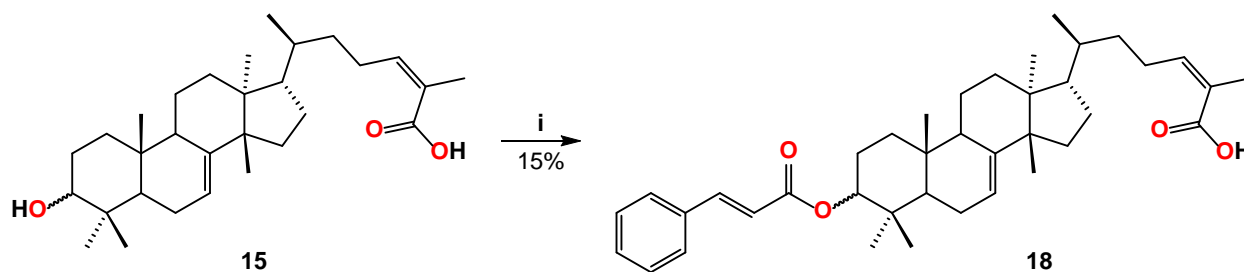


Figura 39. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz) en CDCl_3 del ácido 3-acetoxitirucala-7,24-dien-26-oico (17).

5.6.6. Ácido 3-cinamoiloxitirucala-7,24-dien-26-oico (**18**)

Partiendo de **15** como materia prima, se preparó el derivado **18** siguiendo la metodología descrita en la sección 7.7, utilizando cloruro de cinamoílo como reactivo. El producto se obtuvo como un sólido blanco y fue analizado mediante RMN de ^1H y ^{13}C .



Esquema 6. Reactivos y condiciones: **i)** cloruro de cinamoílo, piridina, b.v., 8 h.

En el espectro de RMN de ^1H de **18** (Figura 40) se observan las señales correspondientes a dicho derivado: en 7.67 y 6.46 ppm, se identificaron dos señales dobles ($J = 16.0$ Hz) para los hidrógenos vinílicos H-33 y H-32 de la fracción del cinamato. En 7.54 ppm se observa una señal doble de dobles ($J = 6.8, 2.9$ Hz) que corresponde a los hidrógenos aromáticos H-35. Entre 7.43 y 7.35 ppm se observan dos señales múltiples traslapadas que integran para tres hidrógenos y corresponden a los hidrógenos aromáticos H-36 y H-37. De igual forma, se aprecian dos señales en 6.89 ppm (td, $J = 7.8, 1.6$ Hz) y 5.27 (dd, $J = 5.8, 3.3$ Hz) correspondientes a los hidrógenos vinílicos H-24 y H-7. Se observa también en 4.67 ppm una señal doble de dobles ($J = 10.8, 4.6$ Hz) que se asignó al hidrógeno base del cinamato H-3. Finalmente, se aprecian entre 1.85 y 0.80 ppm las señales correspondientes a los metilos Me-27, Me-19, Me-30, Me-18, Me-29 y Me-28.

Se puede observar en el espectro de RMN de ^{13}C de **18** (Figura 41) las señales correspondientes a los 37 carbonos de este compuesto. Destacan las señales en 172.25 y 166.8 ppm, asignadas a C-26 y C-31. En 145.8 se observa una señal traslapada asignada a los carbonos vinílicos C-33 y C-8, así como señales en 144.3, 126.5, 117.8 y 117.7 para los carbonos vinílicos C-24, C-25, C-32 y C-7. Se aprecian también las señales para los carbonos aromáticos C-34, C-37, C-35 y C-36 en 134.5, 130.1, 128.8 y 128.0 ppm. Finalmente, en 81.1 se aprecia la señal de C-3, base del cinamato y entre 52.8 y 13.0 las señales asignadas al resto de carbonos del compuesto.

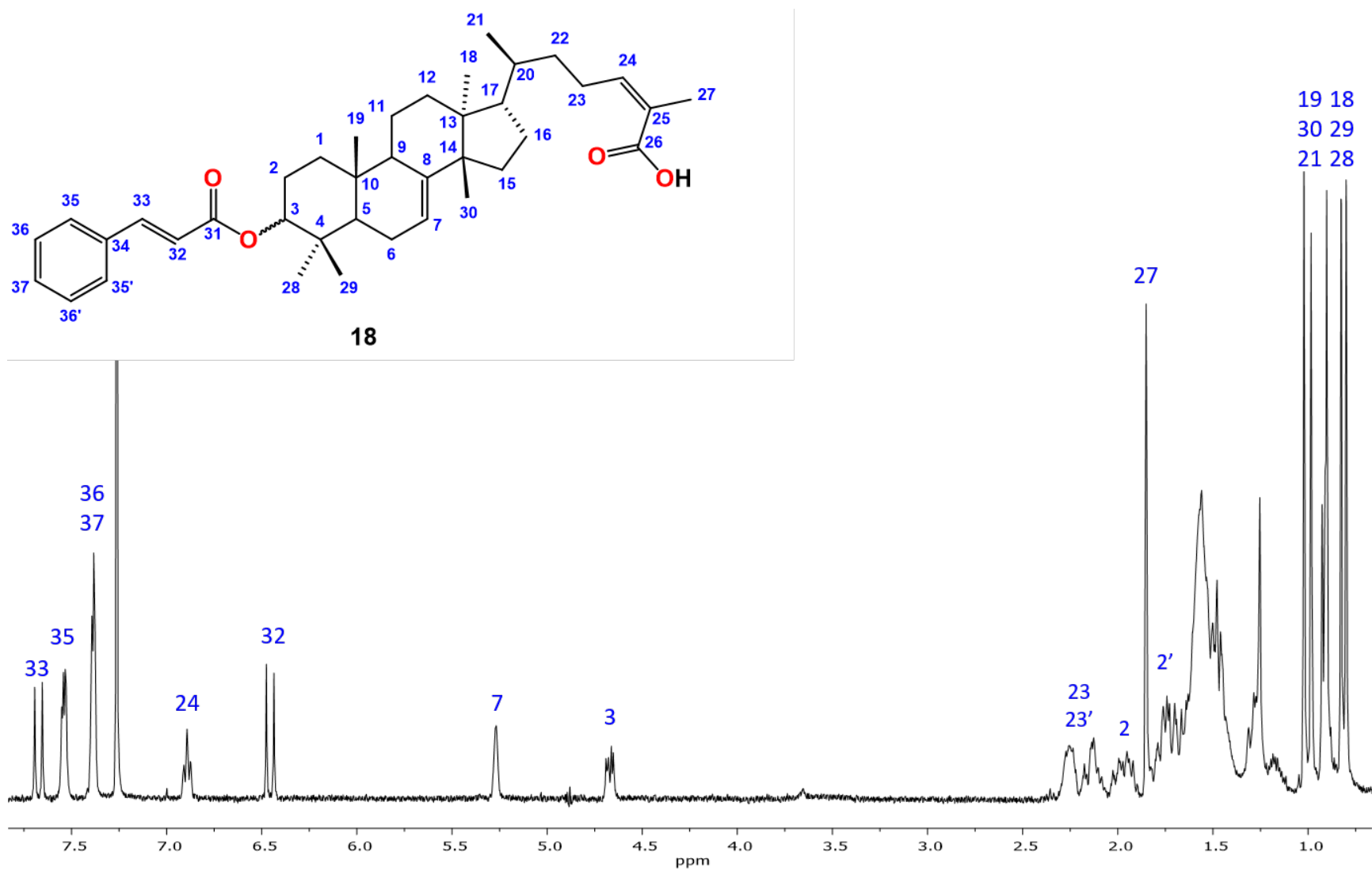


Figura 40. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) en CDCl_3 del ácido 3-cinamoiloxitirucala-7,24-dien-26-oico (**18**).

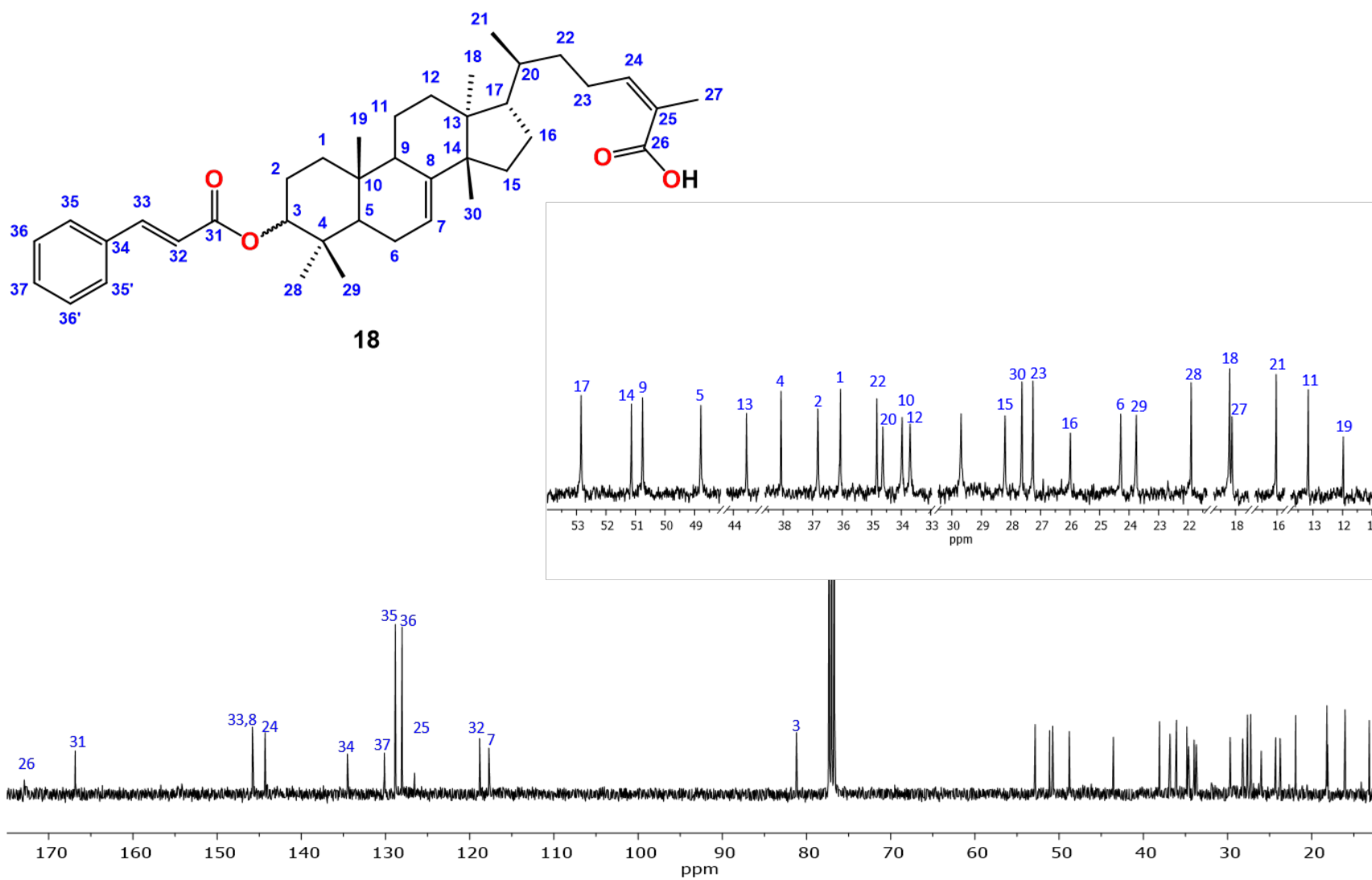
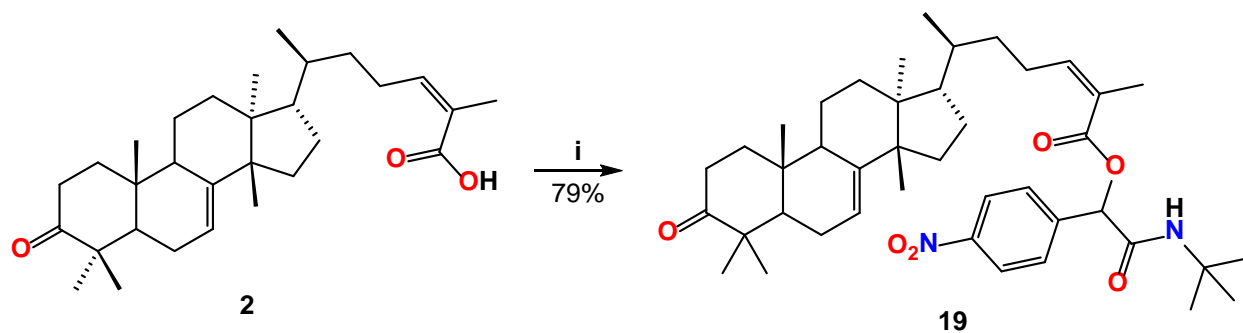


Figura 41. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz) en CDCl_3 del ácido 3-cinamoiloxitirucala-7,24-dien-26-oico (**18**).

5.6.7. 2-(*t*-butilamino)-1-(4-nitrofenil)-2-oxoetil 3-oxotirucala-7,24-dien-26-oato (**19**)

Partiendo de **2** como materia prima, se preparó el aducto **19**, aplicando la reacción de Passerini descrita en la sección 7.8, empleando como reactivos 4-nitrobenzaldehído y *t*-butilisonitrilo, obteniendo una miel que fue caracterizada mediante RMN de ^1H y ^{13}C .



Esquema 7. Reactivos y condiciones: **i)** DCM, 4-nitrobenzaldehído, *t*-butilisonitrilo, t.a.

En el espectro de RMN de ^1H de **19** (Figura 42) se observan las señales para los hidrógenos triterpénicos y de las fracciones incorporadas. Se aprecian dos señales múltiples en 8.23 y 7.63 ppm, que se asignaron a los hidrógenos aromáticos H-37 y H-36. En 6.18 ppm se observa una señal simple para el hidrógeno de amida y en 6.13 ppm (td, $J = 7.3, 1.5$ Hz) la señal del hidrógeno vinílico H-24. Se identificó una señal en 6.09 ppm (d, $J = 1.8$ Hz) asignada al hidrógeno H-31. La señal correspondiente al hidrógeno H-7 se observó en 5.30 ppm (dd, $J = 6.1, 3.2$ Hz). Finalmente, en 1.36 ppm, se muestra una señal simple que integra para nueve hidrógenos y se asignó a H-34, H-34' y H-34''.

En el espectro de RMN de ^{13}C de **19** (Figura 43) se observan las señales correspondientes a los treinta y ocho carbonos de la estructura. Destacan las señales en 216.9, 166.2 y 165.0 correspondientes a los carbonilos C-3, C-26 y C-32, así como las pertenecientes a los carbonos aromáticos C-38, C-35, C-36 y C-37, identificadas en 148.2, 143.2, 127.9 y 123.7 ppm. Las señales para los carbonos vinílicos C-24, C-8, C-25 y C-7 de la fracción del triterpeno se observan en 147.0, 145.8, 125.1 y 117.8 pm. Finalmente, las señales para C-31, C -33 y C-34 se identificaron en 74.6, 51.5 y 28.6 ppm respectivamente.

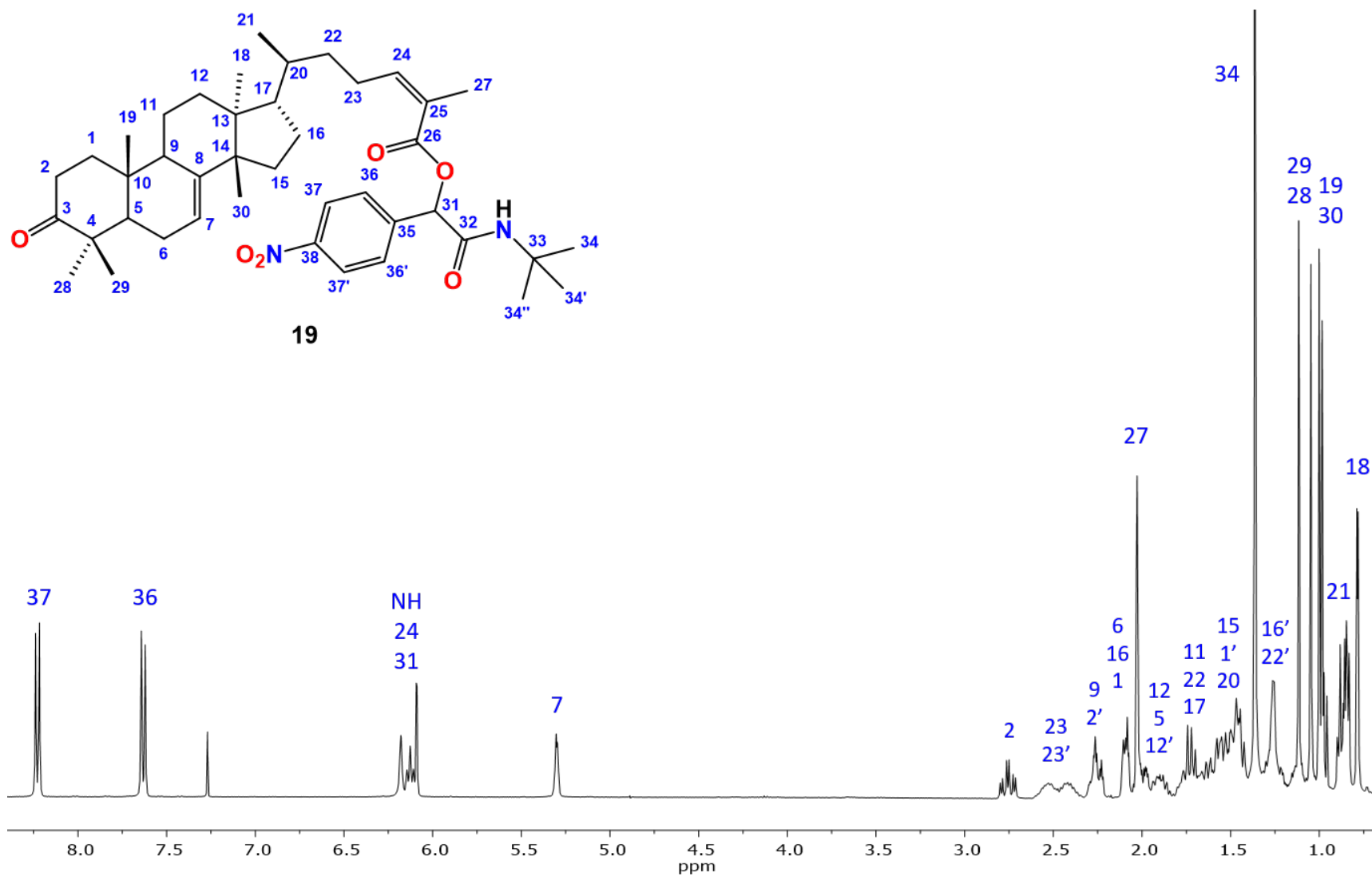


Figura 42. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) en CDCl_3 del 2-(*t*-butilamino)-1-(4-nitrofenil)-2-oxoetil 3-oxotirucala-7,24-dien-26-oato (**19**).

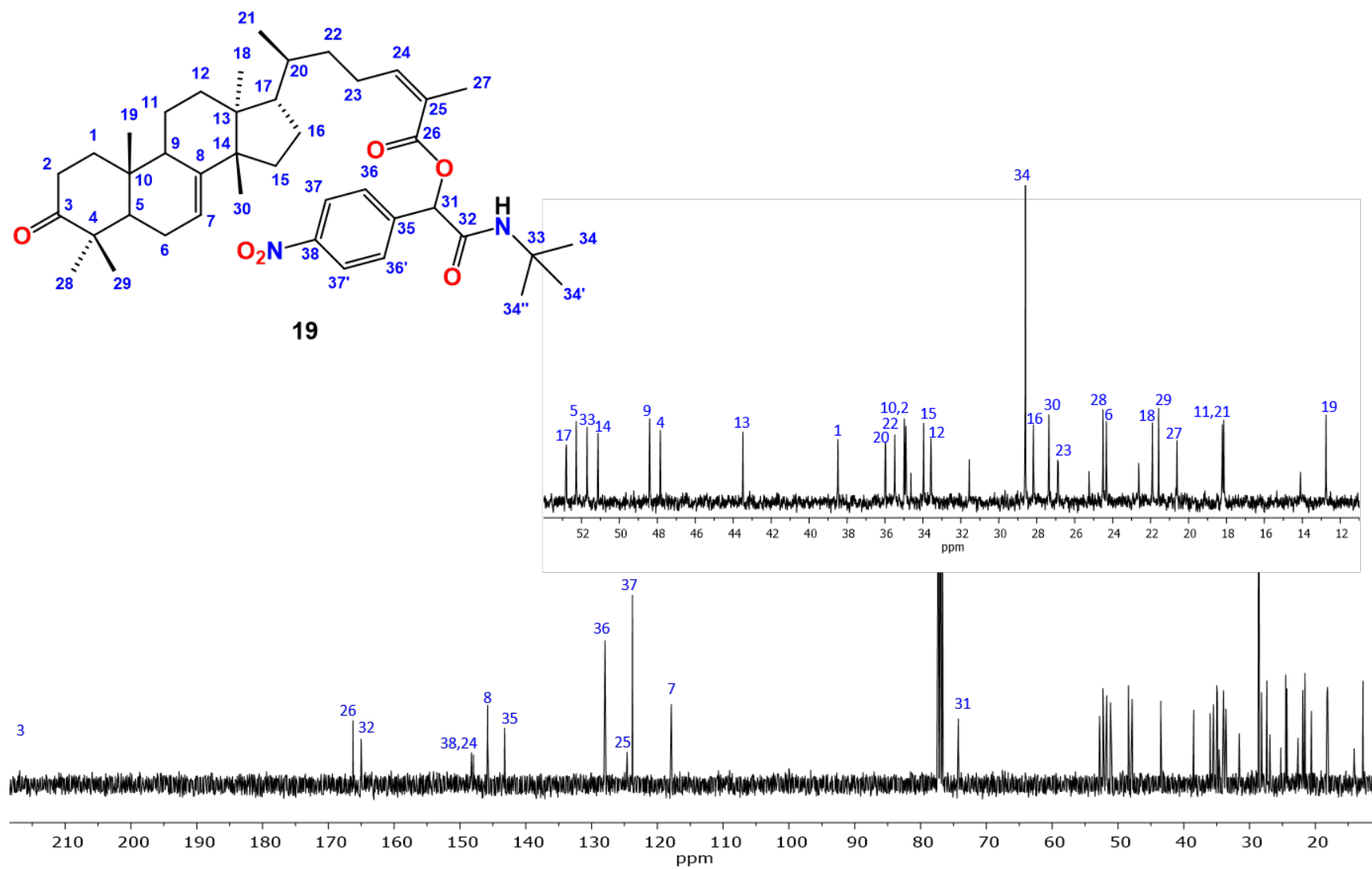
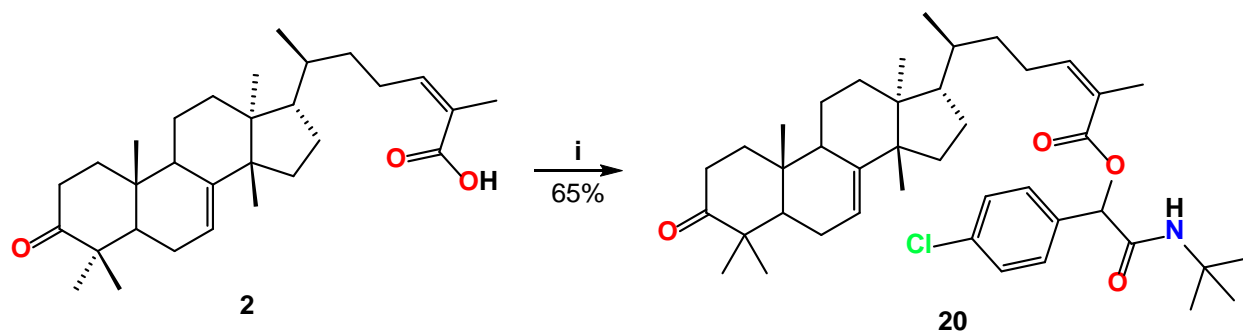


Figura 43. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz) en CDCl_3 del 2-(*t*-butilamino)-1-(4-nitrofenil)-2-oxoetil 3-oxotirucala-7,24-dien-26-oato (**19**).

5.6.8. 2-(*t*-butilamino)-1-(4-clorofenil)-2-oxoetil 3-oxotirucala-7,24-dien-26-oato (20)

Utilizando **2** como materia prima se sintetizó el aducto **20** empleando la reacción de Passerini descrita en la sección 7.8 y como reactivos 4-clorobenzaldehído y *t*-butilisonitrilo, resultando en una miel, que fue analizada mediante RMN de ^1H y ^{13}C .



Esquema 8. Reactivos y condiciones: i) DCM, 4-clorobenzaldehído, *t*-butilisonitrilo, t.a.

En el espectro de RMN de ^1H de **20** (Figura 44) se observan las señales del triterpeno y las fracciones adicionadas mediante la RMC. En 7.38 ppm (d, $J = 8.6$ Hz) y 7.33 ppm (d, $J = 8.7$ Hz) se identificaron dos señales pertenecientes a los hidrógenos aromáticos H-37 y H-36. Entre 6.10 y 6.05 ppm se encuentran dos señales múltiples traslapadas que integran para dos hidrógenos y se asignaron al hidrógeno de la amida y a H-24. En 5.99 ppm (d, $J = 2.6$ Hz) se observa una señal para H-31. Se puede observar en 5.30 ppm (dd, $J = 6.0, 3.2$ Hz) asignada al hidrógeno vinílico H-7. Finalmente, destaca en 1.36 una señal simple que integra para nueve hidrógenos y se asigna a Me-34, Me-34' y Me-34''.

Se observaron las 38 señales de la estructura de **20** en su espectro de RMN de ^{13}C (Figura 45) que corresponden a los carbonos de la fracción triterpénica y los de las fracciones incorporadas. Se identificaron las señales para los carbonilos C-3, C-26 y C-32 en 216.9, 167.1 y 165.4 ppm. Las señales correspondientes a los carbonos aromáticos C-35, C-38, C-36 y C-37 en 134.7, 134.6, 128.8 y 128.7 ppm. Se asignaron las señales en 147.0, 145.8, 125.1 y 117.8 a los carbonos vinílicos C-24, C-8, C25 y C-7. Por último, se observaron las señales para C-31, C-33 y C-34 en 74.6, 51.5 y 28.6 ppm.

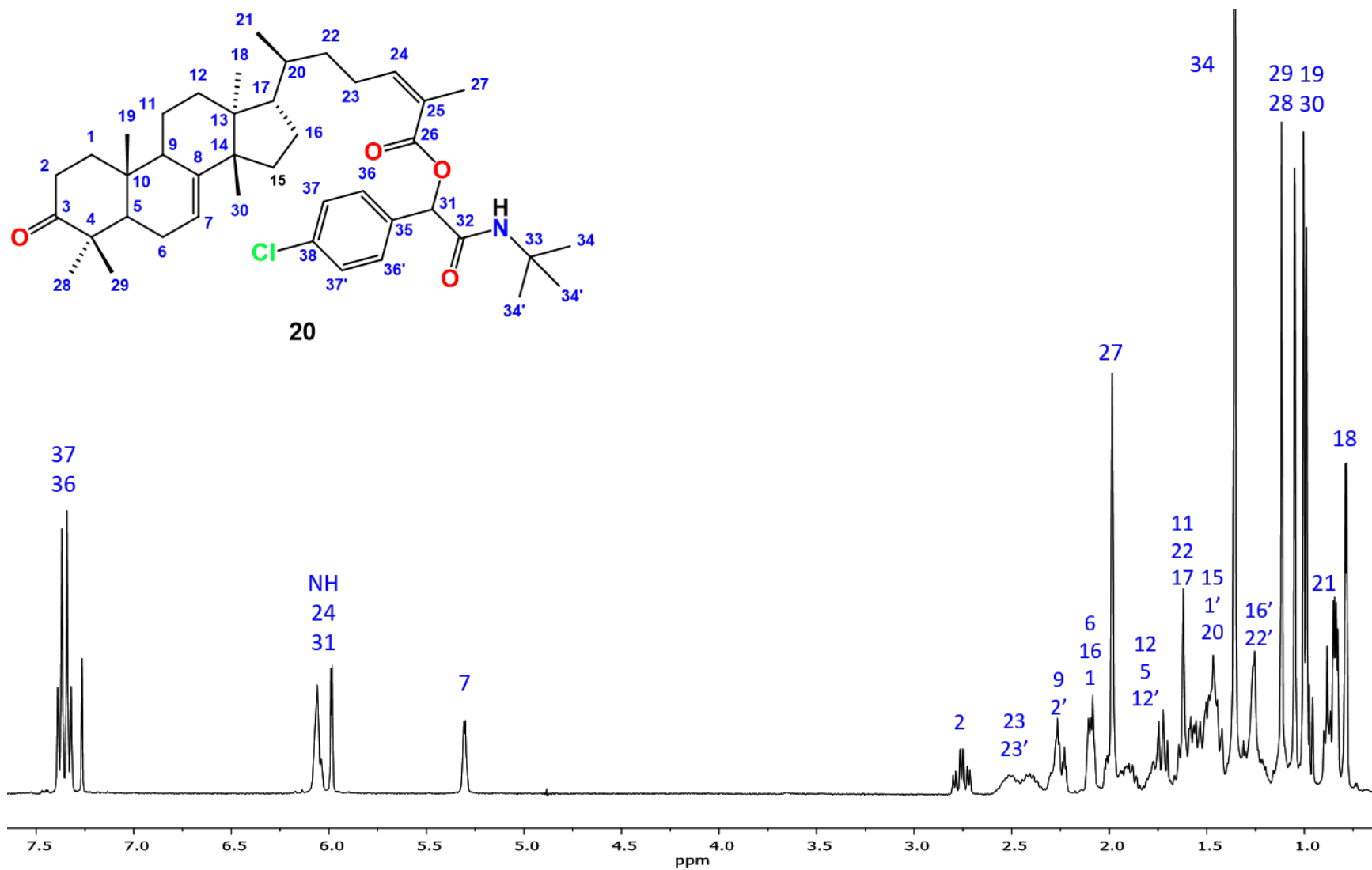


Figura 44. Espectro de RMN de ¹H (400 MHz) en CDCl₃ del 2-(*t*-butilamino)-1-(4-clorofenil)-2-oxoetil 3-oxotirucala-7,24-dien-26-oato (**20**).

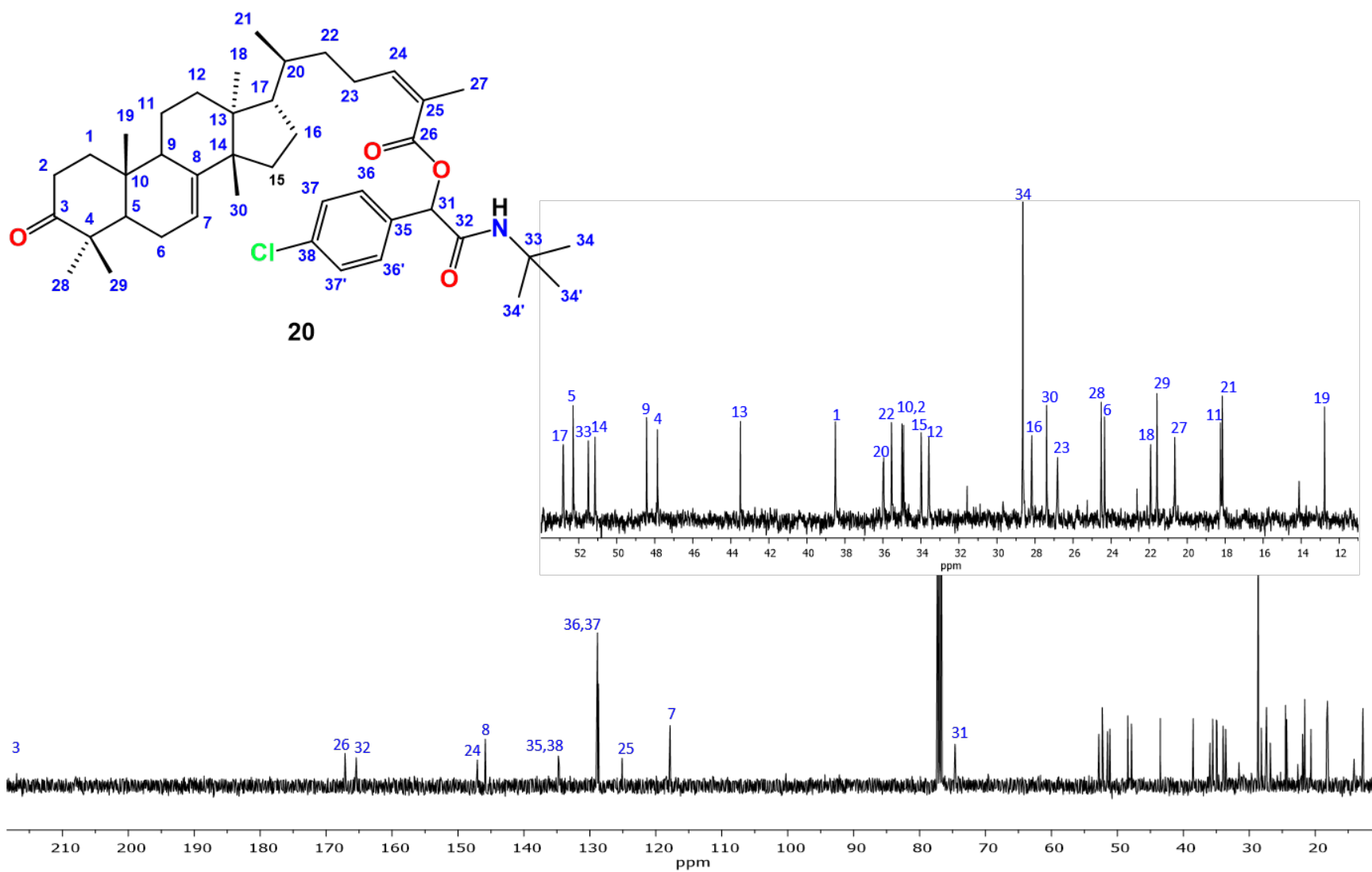
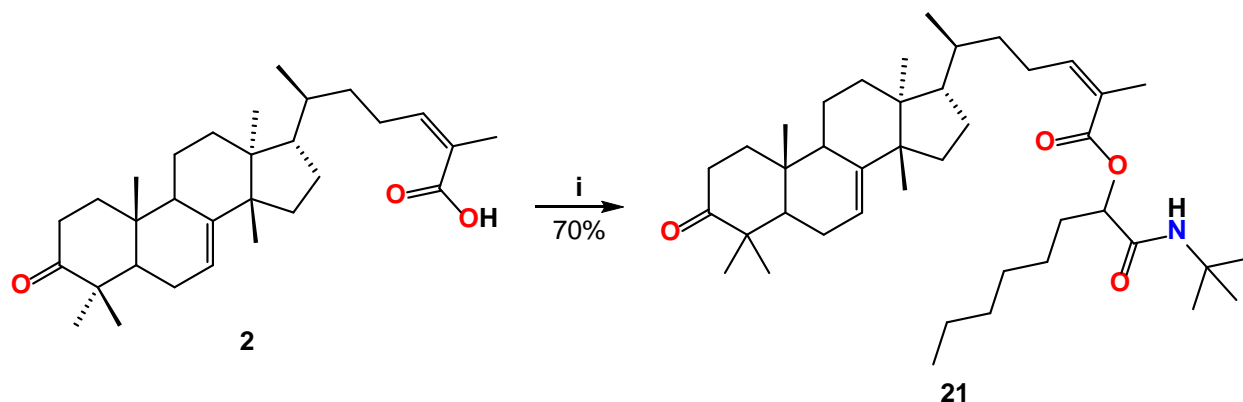


Figura 45. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz) en CDCl_3 del 2-(*t*-butilamino)-1-(4-clorofenil)-2-oxoetil 3-oxotirucala-7,24-dien-26-oato (**20**).

5.6.9. 1-(*t*-butilamino)-1-oxooctan-2-il 3-oxotirucala-7,24-dien-26-oato (21)

Utilizando **2** como reactivo, se aplicó la metodología de multicomponentes de Passerini descrita en la sección 7.8 para la síntesis del aducto **21**, empleando *n*-heptaldehído y *t*-butilisonitrilo, obteniendo una miel que fue caracterizada mediante RMN de ^1H y ^{13}C .



Esquema 9. Reactivos y condiciones: i) DCM, *n*-heptaldehído, *t*-butilisonitrilo, t.a.

El espectro de RMN de ^1H de **21** (Figura 46) muestra las señales de la aciloxiamida y el sistema triterpénico. En 6.02 ppm (dd, $J = 7.3, 1.8$ Hz) y 5.31 ppm (dd, $J = 6.0, 3.4$ Hz) se observan las señales correspondientes a los hidrógenos vinílicos H-24 y H-7. En 5.89 ppm se identificó la señal del hidrógeno de la amida, como una señal simple ancha. Por otra parte, en 5.13 (ddd, $J = 6.5, 5.0, 1.3$ Hz) se encuentra la señal asignada al hidrógeno H-31. Finalmente, en 0.88 se observó una señal triple que integra para tres hidrógenos y que se determinó como el metilo Me-40.

Se observó en el espectro de RMN de ^{13}C de **20** (Figura 47) las señales correspondientes a los 40 átomos de carbono de dicho derivado. En 216.9, 169.1 y 166.2 ppm se identificaron las señales pertenecientes a los carbonilos de cetona, ácido carboxílico y amida C-3, C-26 y C-32, respectivamente. Los carbonos vinílicos C-8, C-24, C-25 y C-7 se observaron en los desplazamientos 145.8, 145.7, 124.5 y 117.8 ppm. La señal correspondiente al carbono C-31 se identificó en 74.0 ppm, mientras que las señales para los carbonos alifáticos C-33, C-35, C-38, C-7, C-39, C-36 y C-40 se observaron en los desplazamientos 51.0, 31.7, 31.6, 28.9, 24.6, 22.5 y 14.0. Finalmente, en 28.6 ppm se observó la señal correspondiente a los metilos equivalentes C-34, C-34' y C-34''.

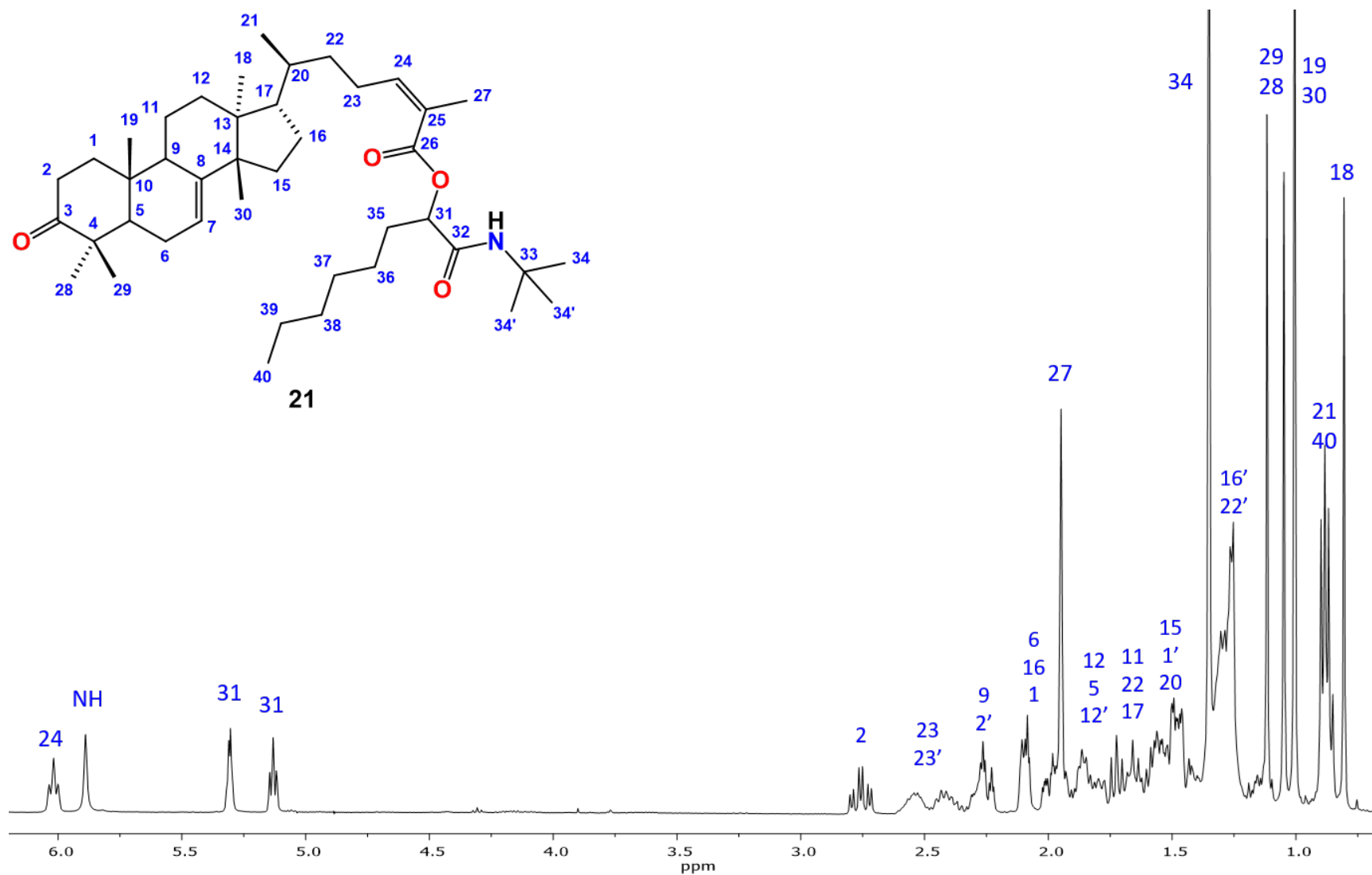


Figura 46. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz) en CDCl_3 del 1-(*t*-butilamino)-1-oxooctan-2-il 3-oxotirucala-7,24-dien-26-oato (**21**).

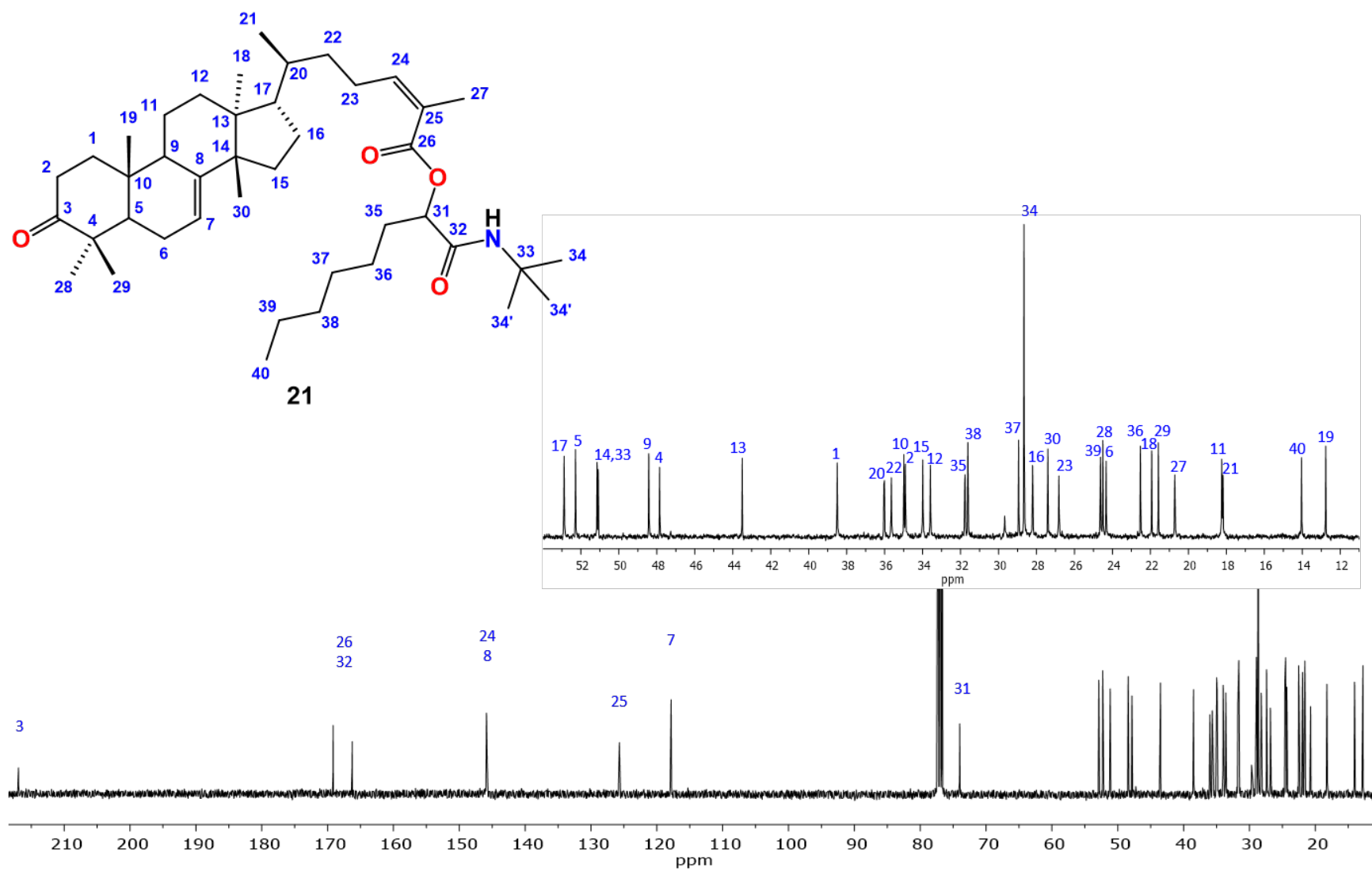
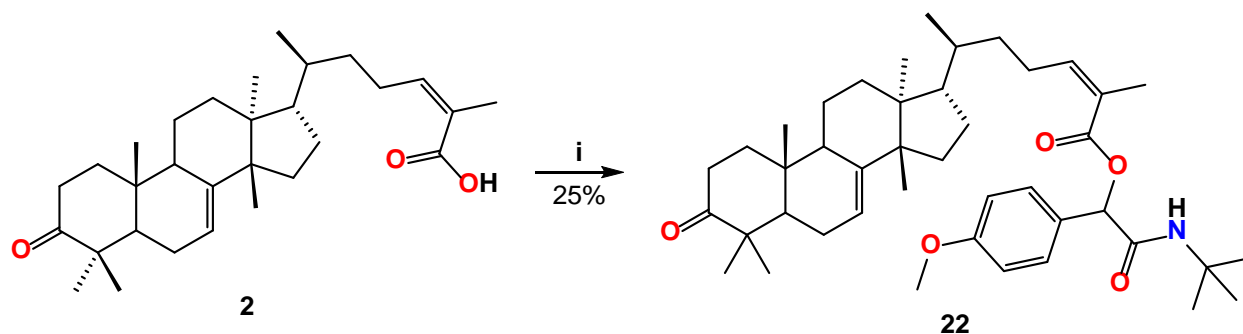


Figura 47. Espectro de RMN de ¹³C (100 MHz) en CDCl₃ del 1-(*t*-butilamino)-1-oxooctan-2-il 3-oxotirucala-7,24-dien-26-oato (**21**).

5.6.10. 2-(*t*-butilamino)-1-(4-metoxifenil)-2-oxoetil 3-oxotirucala-7,24-dien-26-oato (22)

Utilizando **2** como componente de la reacción de multicomponentes de Passerini descrita en la sección 7.8, se sintetizó el aducto **22**, empleando 4-metoxibenzaldehído y *t*-butilisonitrilo, obteniendo una miel que fue caracterizada mediante RMN de ^1H y ^{13}C .



Esquema 10. Reactivos y condiciones: **i)** DCM, 4-metoxibenzaldehído, *t*-butilisonitrilo, t.a.

En el espectro de RMN de ^1H de **22** (Figura 48) se observan las señales pertenecientes al sistema triterpénico y a la fracción de la aciloxiamida. En 7.36 y 6.88 ppm se observan dos señales múltiples asignadas a los hidrógenos aromáticos H-37 y H-36. Se observan también tres señales en 6.07 ppm (dd, $J = 7.5, 1.2$ Hz), 6.01 (s) y 5.99 (d, $J = 2.9$ Hz), correspondientes a los hidrógenos H-24, NH y H-31. En 5.30 se observa una señal doble de dobles ($J = 6.1, 3.4$ Hz) asignada al hidrógeno vinílico H-7. Finalmente, en 3.80 y 1.36 ppm se observan dos señales simples que pertenecen al metilo Me-39 y a los metilos Me-34, Me-34' y Me-34''.

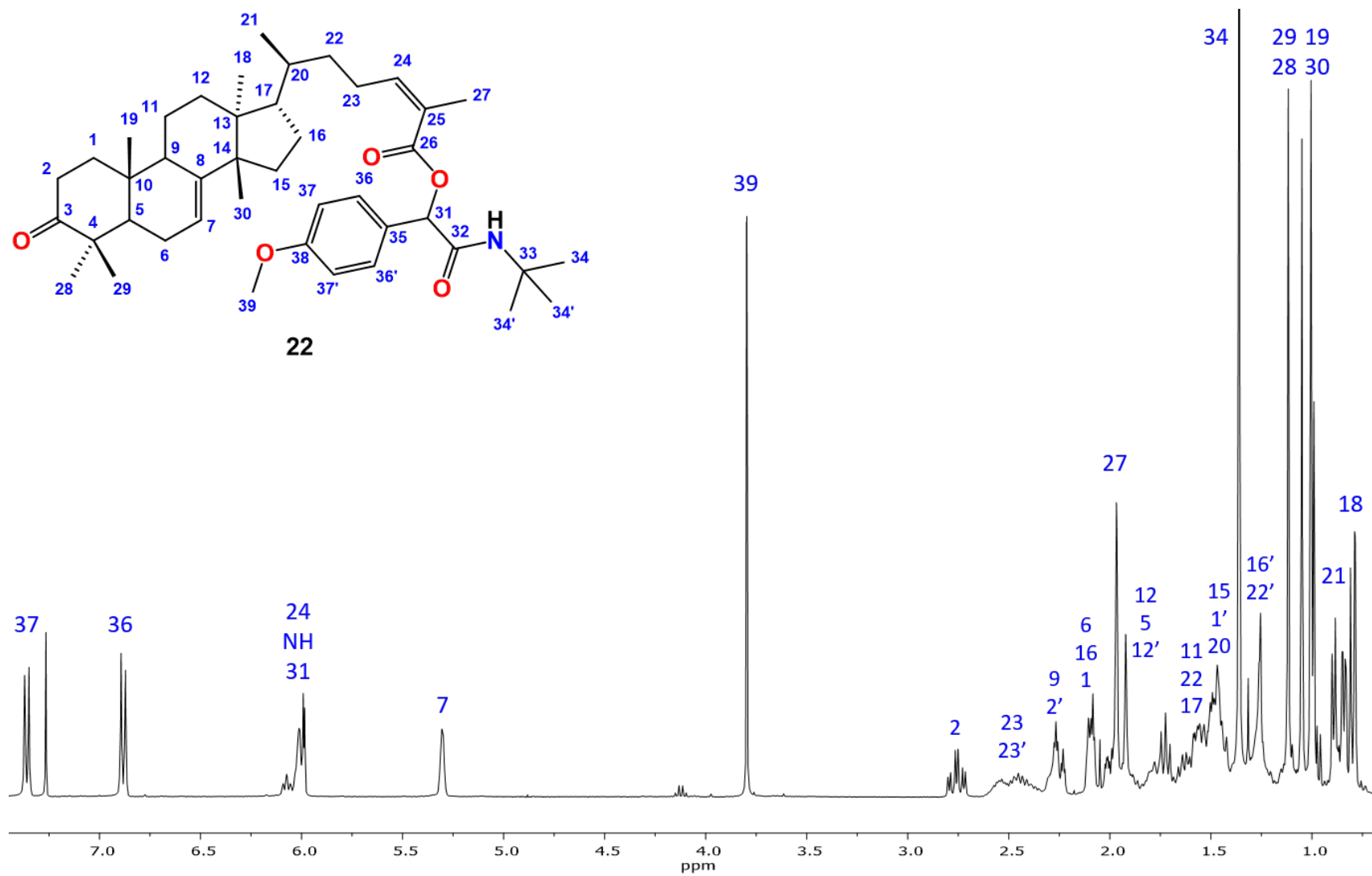


Figura 48. Espectro de RMN de ¹H (400 MHz) en CDCl₃ del 2-(*t*-butilamino)-1-(4-metoxifenil)-2-oxoetil 3-oxotirucala-7,24-dien-26-oato (**22**).

6. CONCLUSIONES

A partir de los extractos hexánicos de frutos y tallos *Pistacia mexicana* se logró aislar el ácido masticadienónico (**2**) en cantidades significativas, lo que corresponde con los datos reportados en la bibliografía para las especies de este género, lo que es indicativo de que se pueden encontrar otro tipo de triterpenos con el esqueleto de tirucalano, al continuar con el análisis exhaustivo de los extractos de dicha planta.

Utilizando **2** como componente ácido de la reacción de Passerini, se lograron obtener las α -aciloxiamidas **19-21** en combinación con *t*-butilisonitrilo y diferentes aldehídos alifáticos y aldehídos aromáticos con grupos electroattractores. Se observó que, con este tipo de aldehídos, la reacción proporciona los derivados en buenos rendimientos, lo que sería un precedente para futuras derivatizaciones con esta metodología, buscando incorporar fracciones que pudiesen potenciar la actividad biológica de estos derivados.

Para la síntesis de **22** mediante la reacción de Passerini se utilizó el anisaldehído, un aldehído con un grupo electrodonador, obteniéndose el producto en rendimientos menores, lo que indica que la reactividad frente a este tipo de compuestos es diferente y se debe analizar a profundidad, comparando con otros aldehídos del mismo carácter.

Adicionalmente se prepararon derivados tipo éster **13** y **14** a partir de **2**, empleando diazometano y CDI como activador de grupo carboxilo, observando que estas metodologías son aptas para la preparación de derivados de este tipo con carboxilo α , β -insaturados, obteniendo los productos en buenos rendimientos.

Finalmente, a partir de **2** se preparó el derivado **15**, el cual se hizo reaccionar con anhídridos de ácido y cloruros de ácido para la obtención de los derivados **16** y **17**, por lo que se concluyó que estas metodologías también son viables para la obtención de derivados de esta familia de triterpenos con posible aplicación biológica.

7. PARTE EXPERIMENTAL

7.1. Generalidades

Las separaciones cromatográficas en columna abierta se realizaron empleando gel de sílice de malla 70-230 y 230-400 como fase estacionaria, acorde a las necesidades. La fase móvil utilizada consistió en mezclas de disolventes orgánicos, típicamente hexanos y acetato de etilo, en orden ascendente de polaridad de acuerdo a las características de cada compuesto. El procedimiento fue monitoreado mediante cromatografía en capa fina, las cuales fueron observadas bajo luz UV, y reveladas con sulfato cérico amoniacal y yodo para la identificación preliminar de los compuestos.

Los espectros de Resonancia Magnética Nuclear de ^1H a 400 MHz y de ^{13}C a 100 MHz se determinaron en un espectrómetro Varian Mercury Plus 400. Empleando como disolventes cloroformo (CDCl_3), metanol (CD_3OD) y dimetilsulfóxido (DMSO-d_6) deuterados y como referencia tetrametilsilano (TMS).

7.2. Metodología para la obtención del β -sitosterol (1) y el ácido masticadienónico (2)

Pistacia mexicana fue colectada en el Cerro de Camatarán, ubicado entre los municipios de José Sixto Verduzco y Puruándiro, cerca de las comunidades de San Martín y Janambó, ($20^\circ 12' 12.80'' \text{ N}$, $101^\circ 34' 44-64'' \text{ W}$). Posteriormente se separó en sus distintas partes: tallos, hojas y frutos, y estas fueron secadas a la sombra, y sometidas a molienda para facilitar la extracción.

El material triturado (Tabla 1) fue sometido a extracción por reflujo por 4 horas por triplicado, utilizando disolventes en orden ascendente de polaridad (hexanos, diclorometano y metanol). Los extractos resultantes fueron concentrados a presión reducida y redissueltos en metanol y/o acetona para remover las grasas.

Los extractos fueron impregnados en gel de sílice de malla 70-230 para la obtención de fracciones gruesas, las cuales fueron recromatografiadas en lotes de 500 mg para la

obtención de los distintos metabolitos, empleando gel de sílice de malla 230-400. Para ambos procedimientos, se utilizaron mezclas de hexano y acetato de etilo en orden ascendente de polaridad.

Para la obtención del ácido masticadienónico (**2**) a partir del precipitado obtenido del extracto hexánico de tallos, los 22 g obtenidos fueron redisolueltos en acetona, y filtrado para remover las grasas. El sólido obtenido fue sometido a cristalizaciones subsecuentes utilizando acetona y etanol al 25% hasta obtener 12 g de cristales transparentes que cual fue identificado mediante sus espectros de RMN de ^1H y ^{13}C , así como por la medición de su punto de fusión, obteniendo un valor de 176-178 °C.

7.3 Preparación de ésteres metílicos

La preparación de ésteres metílicos se realizó empleando diazometano *in situ*. Para su preparación, se disolvieron 3 equivalentes *N*-nitroso-*N*-metilurea en una mezcla de éter etílico anhidro y KOH al 40% p/v. La fase orgánica se separó mediante un embudo de separación y se añadió a la muestra previamente disuelta en éter etílico anhidro. La mezcla se dejó reaccionar durante 2 h a 4 °C, siendo monitoreada por cromatografía en capa fina hasta que se completó.

Al finalizar el tiempo de reacción, se extrajo con cloroformo y se lavó con solución saturada de NaHCO_3 y agua. Posteriormente, se secó la fase orgánica con Na_2SO_4 anhidro y se evaporó bajo presión reducida. El residuo obtenido se sometió a purificación en columna en gel de sílice de 230-400 mallas con mezcla de hexano y acetato de etilo en polaridad ascendente.

7.4. Preparación de ésteres empleando CDI

El compuesto a reaccionar se disolvió en THF anhidro, y se adicionaron 2.5 equivalentes de CDI bajo atmósfera de nitrógeno. La muestra se lleva a reaccionar en un baño ultrasónico durante 4-6 h para generar el intermediario acil imidazol. Posteriormente, se

adiciona el reactivo correspondiente, para este caso un alcohol, y se deja reaccionar nuevamente en el baño ultrasónico por 4-6 h.

Una vez completada la reacción, lo cual fue verificado por TLC, se extrajo con cloroformo. La fase orgánica fue secada con Na_2SO_4 anhidro y concentrada bajo presión reducida, para posteriormente ser impregnada en gel de sílice de malla 230-400 para su purificación en columna abierta.

7.5. Reducción de carbonilos empleando NaBH_4

El compuesto a reaccionar se disuelve en etanol, y posteriormente se agregan 2 equivalentes de NaBH_4 . La mezcla se coloca en agitación durante 1 hora hasta finalizar la emisión de gases, y se monitorea mediante TLC para comprobar la finalización.

El crudo de reacción se evapora bajo presión reducida y se disuelve con acetato de tilo para realizar la extracción, lavando la fase orgánica con agua y secándose con Na_2SO_4 anhidro para posteriormente ser concentrada a presión reducida e impregnada en gel de sílice de malla 230-400, para su purificación empleando mezclas de hexano y acetato de etilo en orden ascendente de polaridad.

7.6. Preparación de acetatos

Se disuelve la muestra a reaccionar en un volumen mínimo de piridina, y se agregan 5 equivalentes de anhídrido acético. La mezcla resultante se calienta en baño de vapor y se deja reaccionar durante 1.5 h hasta la finalización, corroborada por TLC.

El crudo de reacción se extrae con acetato de etilo y se realizan lavados con solución de HCl al 10% y agua destilada hasta pH neutro, secando posteriormente la fase orgánica obtenida con Na_2SO_4 anhidro y concentrando a presión reducida, hasta la obtención de un residuo que se somete a cromatografía en columna de gel de sílice de 230-400 mallas con disolventes en mezcla de polaridad ascendente.

7.7. Preparación de cinamatos

La muestra a reaccionar se disuelve en una cantidad mínima de piridina y se adicionan 2 equivalentes del reactivo cloruro de cinamoílo. La mezcla de reacción fue colocada en baño de vapor durante 3 horas hasta su finalización, verificada mediante TLC.

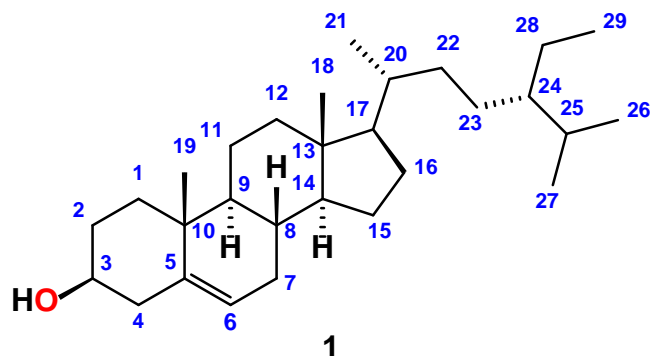
Posteriormente el crudo de reacción se extrajo con acetato de etilo, realizando lavados con HCl al 10% y agua destilada hasta pH neutro. La fase orgánica secó con Na₂SO₄ anhidro y se evaporó bajo presión reducida, siendo finalmente impregnada el gel de sílice de 230-400 mallas con disolventes en mezcla ascendente de polaridad.

7.8. Preparación de aductos de Passerini

A una solución del correspondiente aldehído en DCM (0.5 M), se agregó 1 equivalente del ácido masticadienónico (**2**), y se dejó en agitación por 15 minutos. Posteriormente se agregó 1 equivalente de *t*-butilisonitrilo, y se dejó reaccionar por 24 h a temperatura ambiente. Transcurrido el tiempo de reacción, la muestra se secó bajo corriente de aire para eliminar el isonitrilo restante, se disolvió en DCM y se impregnó en gel de sílice de 230-400 mallas y se sometió a purificación en columna cromatográfica con disolventes en mezcla de polaridad ascendente.

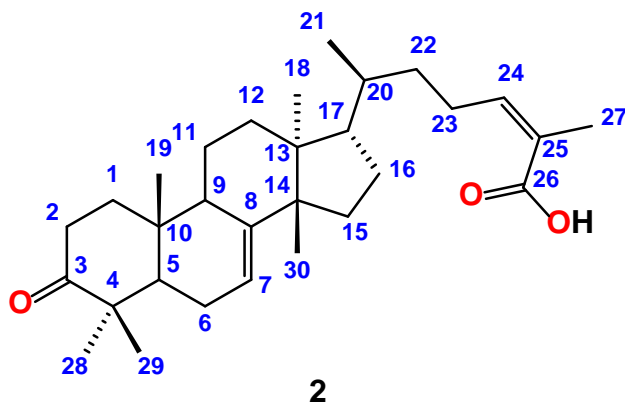
7.9. Datos físicos y espectroscópicos

7.9.1. β -Sitosterol (1)



Sólido blanco amorfo con p.f 137-138 °C, RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3): δ 5.36 (1H, d, $J = 5.6$ Hz, H-6), 3.50 (1H, m, H-3), 1.00 (3H, s, H-28), 0.92 (3H, d, $J = 6.4$ Hz, H-19), 0.84 (3H, d, $J = 2.8$ Hz H-27), 0.82 (3H, d, $J = 2.0$ Hz, H-26), 0.68 (3H, s, H-29).

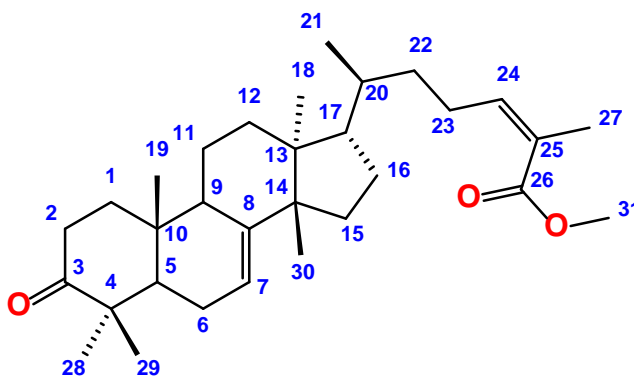
7.9.2. Ácido masticadienónico (2)



Cristales incoloros con p. f. de 176-178 °C. RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3): δ 6.09 (dt, $J = 7.6, 1.6$ Hz, H-24), 5.31 (dd, $J = 6.1, 3.4$ Hz, H-7), 2.76 (td, $J = 14.5, 5.4$ Hz, H-2), 2.59 (m, H-23), 2.45 (m, H-23'), 2.28 (dt, $J = 14.1, 3.8$, H-9), 2.25 (m, H-2'), 2.10 (m, H-6), 1.98 (m, H-16'), 1.99 (m, H-1), 1.92 (d, $J = 1.4$ Hz, H-27), 1.81 (m, H-12), 1.73 (t, $J = 8.7$ Hz, H-5), 1.64 (m, H-12'), 1.56 (m, H-11), 1.53 (m, H-22), 1.49 (m, H-17), 1.48 (m, H-15), 1.48 (m, H-1'), 1.40 (m, H-20), 1.28 (m, H-16'), 1.14 (m, H-22'), 1.12 (s, H-29), 1.05 (s, H-28), 1.01 (s, H-19), 1.01 (s, H-30), 0.89 (d, $J = 6.2$ Hz, H-21), 0.81 (s, H-18).

RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3): δ 217.0 (C-3), 173.4 (C-26), 147.3 (C-24), 145.9 (C-8), 125.8 (C-25), 117.7 (C-7), 52.8 (C-17), 52.2 (C-5), 51.1 (C-14), 48.4 (C-9), 47.8 (C-4), 43.4 (C-13), 38.5 (C-1), 36.0 (C-20), 35.5 (C-22), 34.9 (C-10), 34.8 (C-2), 34.0 (C-15), 33.5 (C-12), 28.1 (C-16), 27.3 (C-30), 26.8 (C-23), 24.5 (C-28), 24.3 (C-6), 21.9 (C-18), 21.5 (C-29), 20.5 (C-27), 18.2 (C-11), 18.1 (C-21), 12.7 (C-19).

7.9.3. Metil 3-oxotirucala-7,24-dien-26-oato (**13**)

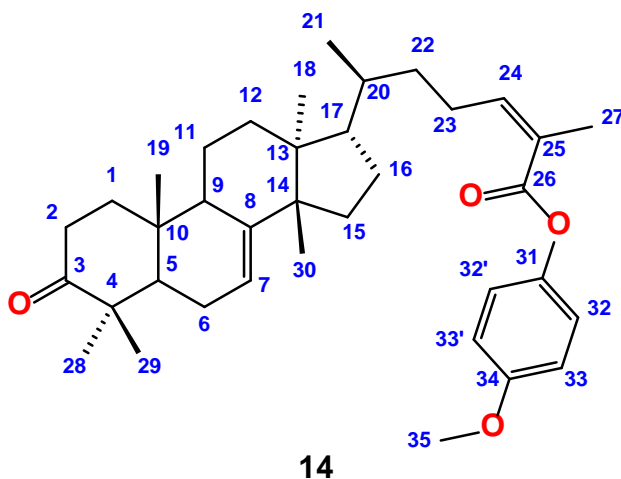


13

Agujas blancas con p. f. de 124-126 °C. RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3): δ 5.93 (td, $J = 7.4, 1.5$ Hz, H-24), 5.31 (dd, $J = 6.1, 3.2$ Hz, H-7), 2.76 (td, $J = 14.5, 5.5$ Hz, H-2), 2.50 (m, H-23), 2.38 (m, H-23'), 2.28 (dt, $J = 14.1, 3.8$, H-9), 2.25 (m, H-2'), 2.10 (m, H-6), 1.98 (m, H-16'), 1.99 (m, H-1), 1.89 (d, $J = 1.4$ Hz, H-27), 1.81 (m, H-12), 1.73 (t, $J = 8.7$ Hz, H-5), 1.64 (m, H-12'), 1.56 (m, H-11), 1.53 (m, H-22), 1.49 (m, H-17), 1.48 (m, H-15), 1.48 (m, H-1'), 1.40 (m, H-20), 1.28 (m, H-16'), 1.14 (m, H-22'), 1.12 (s, H-29), 1.05 (s, H-28), 1.01 (s, H-19), 1.01 (s, H-30), 0.89 (d, $J = 6.3$ Hz, H-21), 0.81 (s, H-18).

RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3): δ 216.9 (C-3), 168.5 (C-26), 145.9 (C-24), 144.1 (C-8), 126.4 (C-25), 117.7 (C-78), 52.8 (C-18), 52.2 (C-5), 51.1 (C-31), 51.1 (C-14), 48.4 (C-9), 47.8 (C-4), 43.4 (C-13), 38.4 (C-1), 35.9 (C-20), 35.6 (C-22), 34.9 (C-10), 34.9 (C-2), 34.0 (C-15), 33.5 (C-16), 28.1 (C-16), 27.4 (C-30), 26.6 (C-23), 24.5 (C-28), 24.3 (C-6), 21.9 (C-18), 21.5 (C-29), 20.7 (C-27), 18.2 (C-11), 18.2 (C-21), 12.7 (C-19).

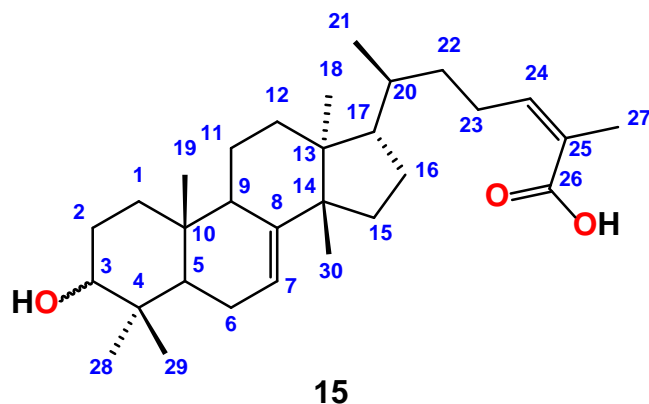
7.9.4. 4-metoxifenil 3-oxotirucala-7,24-dien-26-oato (14)



Miel amarilla. RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3): δ 7.0 (m, H-32), 6.90 (m, H-33), 6.10 (dt, $J = 7.6, 1.7$ Hz, H-24), 5.30 (dd, $J = 6.0, 3.3$ Hz, H-7), 2.75 (td, $J = 14.5, 5.5$ Hz, H-2), 2.59 (m, H-23), 2.48 (m, O-23'H), 2.28 (dt, $J = 14.1, 3.8$ Hz, H-9), 2.25 (m, H-2'), 2.10 (m, H-6), 1.98 (m, H-16'), 1.99 (m, H-1), 2.04 (d, $J = 1.3$ Hz, H-27), 1.81 (m, H-12), 1.73 (t, $J = 8.7$ Hz, H-5), 1.64 (m, H-12'), 1.56 (m, H-11), 1.53 (m, H-22), 1.49 (m, H-17), 1.48 (m, H-15), 1.48 (m, H-1'), 1.40 (m, H-20), 1.28 (m, H-16'), 1.14 (m, H-22'), 1.12 (s, H-29), 1.05 (s, H-28), 1.01 (s, H-19), 1.01 (s, H-30), 0.88 (d, $J = 6.2$ Hz, H-21), 0.81 (s, H-18).

RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3): δ 216.9 (C-3), 166.6 (C-26), 157.0 (C-34), 146.4 (C-24), 145.9 (C-8), 144.1 (C-31), 125.9 (C-25), 122.4 (C-32), 117.7 (C-7), 114.4 (C-33), 55.5 (C-35), 52.8 (C-17), 52.2 (C-5), 51.1 (C-14), 48.4 (C-9), 47.8 (C-4), 43.4 (C-13), 38.4 (C-1), 36.0 (C-20), 35.5 (C-22), 34.9 (C-10), 34.9 (C-2), 33.9 (C-15), 33.5 (C-12), 28.1 (C-16), 27.3 (C-30), 26.8 (C-23), 24.5 (C-28), 24.3 (C-6), 21.93, 21.5 (C-18), 20.7 (C-27), 18.2 (C-11), 18.2 (C-21), 12.7 (C-19).

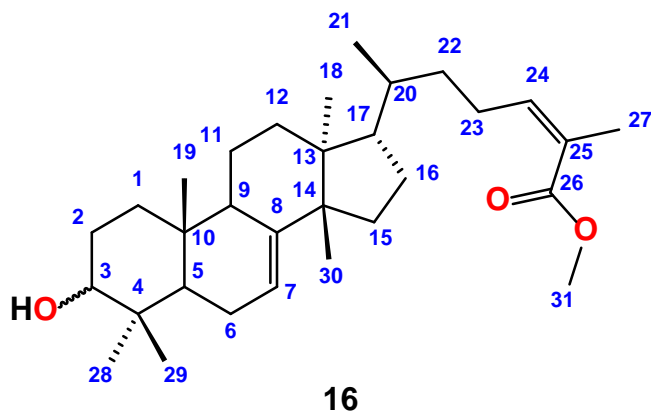
7.9.5. Ácido 3-hidroxitirucala-7,24-dien-26-oico (15)



Sólido blanco. RMN de ^1H (400 MHz, DMSO-d_6): δ 5.89 (td, $J = 7.2, 1.3$ Hz, H-24), 5.22 (dd, $J = 6.0, 3.3$ Hz, H-7), 3.03 (dd, $J = 9.5, 6.0$ Hz), 2.48 (m, H-23), 2.32 (m, H-23'), 2.28 (dt, $J = 14.1, 3.8$, H-9), 2.25 (m, H-2'), 2.10 (m, H-6), 1.98 (m, H-16'), 1.99 (m, H-1), 1.81 (m, H-12), 1.79 (d, $J = 1.2$ Hz, H-27) 1.73 (t, $J = 8.7$ Hz, H-5), 1.64 (m, H-12'), 1.56 (m, H-11), 1.53 (m, H-22), 1.49 (m, H-17), 1.48 (m, H-15), 1.48 (m, H-1'), 1.40 (m, H-20), 1.28 (m, H-16'), 1.14 (m, H-22'), 0.93 (s, H-29), 0.87 (s, H-28), 0.85 (d, $J = 6.4$ Hz, H-21), 0.76 (s, H-19), 0.75 (s, H-30), 0.68 (s, H-18).

RMN de ^{13}C (100 MHz, DMSO-d_6): δ 169.0 (C-26), 145.4 (C-8), 141.7 (C-24), 127.2 (C-25), 117.5 (C-7), 76.9 (C-8), 52.2 (C-17), 50.7 (C-14), 50.1 (C-9), 48.3 (C-5), 43.0 (C-13), 38.5 (C-4), 36.7 (C-2), 35.4 (C-1), 35.2 (C-20), 34.4 (C-22), 33.6 (C-10), 33.2 (C-12), 27.7 (C-15), 27.6 (C-16), 27.5 (C-30), 27.0 (C-29), 25.9 (C-26), 23.5 (C-6), 21.6 (C-28), 20.6 (C-18), 18.0 (C-27), 17.6 (C-21), 15.0 (C-11), 12.9 (C-19).

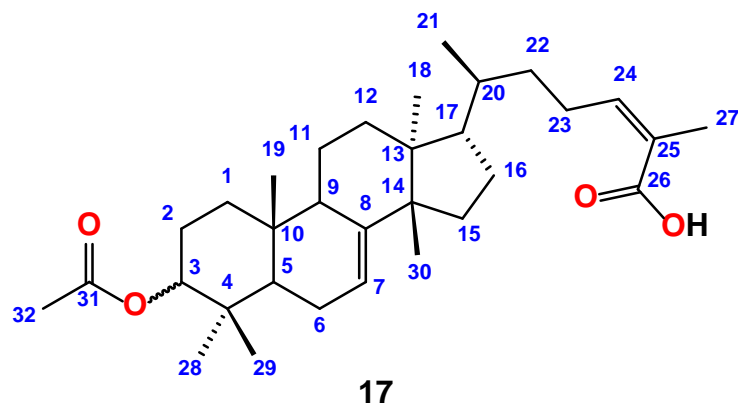
7.9.6. Metil 3-hidroxitirucala-7,24-dien-26-oato (16)



Sólido blanco. RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3): δ 5.93 (td, $J = 7.4, 1.6$ Hz, H-24), 5.26 (dd, $J = 5.9, 3.2$ Hz, H-7), 3.74, (s, Me-31), 3.24 (dd, $J = 11.1, 4.2$ Hz, H-3), 2.59 (m, H-23), 2.45 (m, O-23'H), 2.28 (dt, $J = 14.1, 3.8$, H-9), 2.25 (m, H-2'), 2.10 (m, H-6), 1.98 (m, H-16'), 1.99 (m, H-1), 1.95 (td, $J = 14.4, 5.5$ Hz, H-2), 1.89 (d, $J = 1.6$ Hz, H-27), 1.84 (m, H-2') 1.81 (m, H-12), 1.73 (t, $J = 8.7$ Hz, H-5), 1.64 (m, H-12'), 1.56 (m, H-11), 1.53 (m, H-22), 1.49 (m, H-17), 1.48 (m, H-15), 1.48 (m, H-1'), 1.40 (m, H-20), 1.28 (m, H-16'), 1.14 (m, H-22'), 0.97, (s, H-19, H-30), 0.89 (d, $J = 6.3$ Hz, H-21), 0.86 (s, H-28), 0.81 (s, H-29), 0.74 (s, H-18)

RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3): δ 168.5 (C-26), 145.8 (C-8), 144.1 (C-24), 126.4 (C-25), 117.8 (C-7), 79.2 (C-3), 52.8 (C-17), 51.1 (C-31), 51.1 (C-14), 50.5 (C-9), 48.9 (C-5), 43.5 (C-13), 38.9 (C-4), 37.1 (C-2), 36.0 (C-1), 35.6 (C-20), 34.9 (C-22), 33.9 (C-10), 33.7 (C-12), 28.1 (C-15), 27.6 (C-16), 27.5 (C-30), 27.2 (C-29), 26.7 (C-23), 23.9 (C-6), 21.8 (C-28), 20.7 (C-18), 18.2 (C-27), 18.0 (C-21), 14.7 (C-11), 13.0 (C-19).

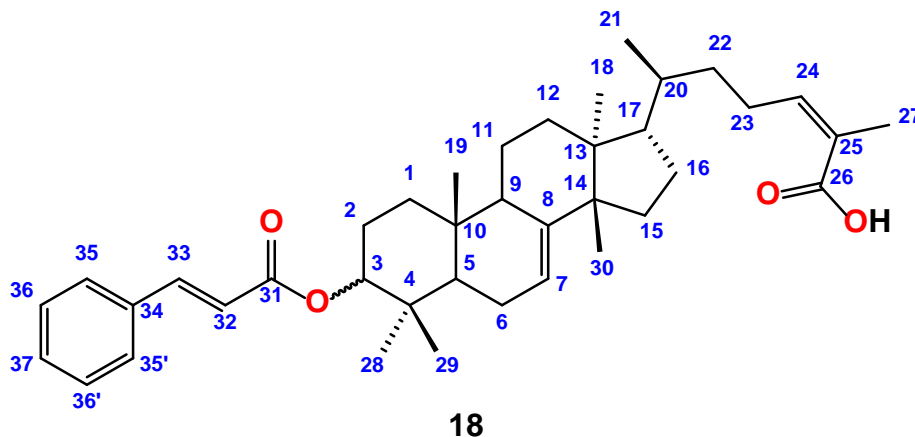
7.9.7. Ácido 3-acetoxitirucala-7,24-dien-26-oico (17)



Sólido blanco. RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3): δ 6.91 (td, $J = 7.5, 1.7$ Hz, H-24), 5.25 (dd, $J = 6.1, 2.8$ Hz, H-7), 4.52 (dd, $J = 11.3, 4.3$ Hz), 2.25 (m, H-23), 2.18 (m, 0-23'H), 2.16 (dt, $J = 14.1, 3.8$, H-9), 2.10 (m, H-6), 2.06 (s, H-32), 1.98 (m, H-16'), 1.94 (m, H-1), 1.92 (m, H-27), 1.84 (td, $J = 14.5, 5.4$ Hz, H-2), 1.81 (m, H-12), 1.78 (m, H-2'), 1.73 (t, $J = 8.7$ Hz, H-5), 1.64 (m, H-12'), 1.56 (m, H-11), 1.53 (m, H-22), 1.49 (m, H-17), 1.48 (m, H-15), 1.48 (m, H-1'), 1.40 (m, H-20), 1.28 (m, H-16'), 1.14 (m, H-22'), 1.12 (s, H-29), 1.05 (s, H-28), 1.01 (s, H-19), 1.01 (s, H-30), 0.89 (d, $J = 6.2$ Hz, H-21), 0.81 (s, H-18).

RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3): δ 173.2 (C-26), 171.0 (C-31), 145.7 (C-8), 145.7 (C-24), 126.6 (C-25), 117.7 (C-7), 81.1 (C-3), 52.8 (C-17), 51.1 (C-14), 50.6 (C-5), 48.7 (C-9), 43.5 (C-13), 37.7 (C-13), 36.7 (C-4), 36.0 (C-2), 34.7 (C-22), 34.6 (C-32), 33.9 (C-20), 33.6 (C-10), 28.1 (C-12), 27.5 (C-15), 27.2 (C-30), 25.9 (C-23), 24.1 (C-16), 23.7 (C-6), 21.8 (C-29), 21.3 (C-29), 18.1 (C-18), 18.0 (C-27), 15.8 (C-21), 13.1 (C-11), 11.9 (C-19).

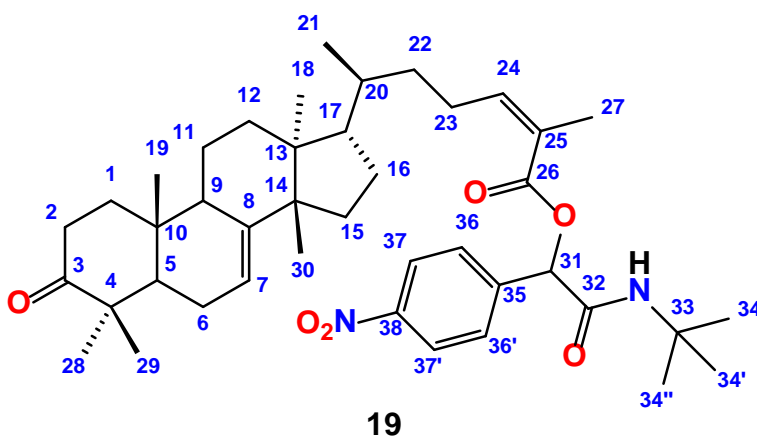
7.9.8. Ácido 3-cinamoiloxitirucala-7,24-dien-26-oico (**18**)



Sólido blanco. RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3): δ 7.67 (d, $J = 16.0$ Hz, H-33), 7.54 (dd, $J = 6.8, 2.9$, H-35), 7.38 (m, H-36, H-37), 6.89 (td, $J = 6.8, 2.9$ Hz, H-24), 6.46 (d, $J = 16.0$ Hz, H-32), 5.27 (dd, $J = 5.8, 3.3$ Hz, H-7), 4.67 (dd, $J = 10.8, 4.6$ Hz, H-3), 2.59 (m, H-23), 2.45 (m, 0-23'H), 2.28 (dt, $J = 14.1, 3.8$, H-9), 2.10 (m, H-6), 1.99 (td, $J = 14.5, 5.4$ Hz, H-2) 1.98 (m, H-16'), 1.99 (m, H-1), 1.85 (d, $J = 1.3$ Hz, H-27), 1.83 (m, H-2'), 1.81 (m, H-12), 1.73 (t, $J = 8.7$ Hz, H-5), 1.64 (m, H-12'), 1.56 (m, H-11), 1.53 (m, H-22), 1.49 (m, H-17), 1.48 (m, H-15), 1.48 (m, H-1'), 1.40 (m, H-20), 1.28 (m, H-16'), 1.14 (m, H-22'), 1.02 (s, H-19), 0.98 (s, H-30), 0.92 (d, $J = 6.2$ Hz, H-21), 0.90 (s, H-18), 0.83 (s, H-29), 0.80 (s, H-28).

RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3): δ 172.9 (C-26), 166.8 (C-31), 145.8 (C-34, C-8), 144.3 (C-24), 134.5 (C-34), 130.1 (C-7), 128.8 (C-35), 128.0 (C-36), 126.5 (C-25), 118.8 (C-32), 117.7 (C-7), 81.1 (C-3), 52.8 (C-17), 51.1 (C-14), 50.7 (C-9), 48.7 (C-5), 43.5 (C-13), 38.0 (C-4), 36.8 (C-2), 36.0 (C-1), 34.8 (C-22), 34.6 (C-20), 33.9 (C-10), 33.7 (C-12), 28.2 (C-15), 27.6 (C-30), 27.2 (C-23), 25.9 (C-16), 24.2 (C-6), 23.7 (C-29), 21.9 (C-28), 18.1 (C-18), 18.1 (C-27), 16.0 (C-21), 13.1 (C-11), 11.9 (C-19).

7.9.9. 2-(*t*-butilamino)-1-(4-nitrofenil)-2-oxoetil 3-oxotirucala-7,24-dien-26-oato (**19**)

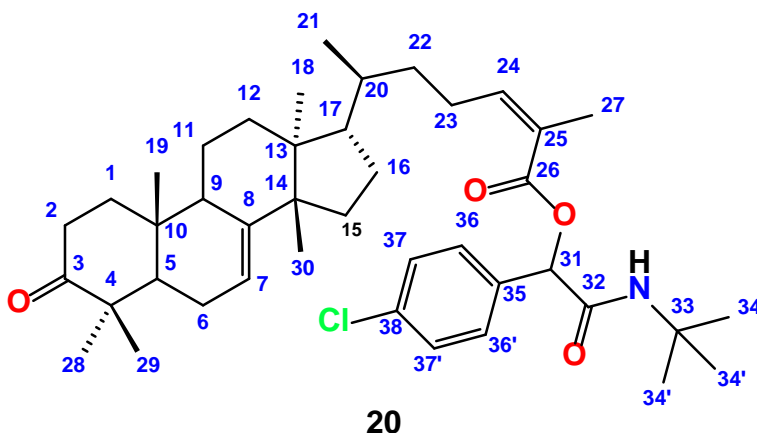


Sólido blanco. RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3): δ 8.23 (m, H-37), 7.63 (m, H-36), 6.18 (sa, NH), 6.13 (td, $J = 7.6, 1.6$ Hz, H-24), 6.09 (d, $J = 1.8$ Hz), 5.30 (dd, $J = 6.1, 3.2$ Hz, H-7), 2.76 (td, $J = 14.5, 5.4$ Hz, H-2), 2.59 (m, H-23), 2.45 (m, 0-23'H), 2.28 (dt, $J = 14.1, 3.8$, H-9), 2.25 (m, H-2'), 2.10 (m, H-6), 2.07 (d, $J = 1.5$ Hz, H-27), 1.98 (m, H-16'), 1.99 (m,

H-1), 1.81 (m, H-12), 1.73 (t, $J = 8.7$ Hz, H-5), 1.64 (m, H-12'), 1.56 (m, H-11), 1.53 (m, H-22), 1.49 (m, H-17), 1.48 (m, H-15), 1.48 (m, H-1'), 1.40 (m, H-20), 1.36 (s, H-34, H-34', H-34''), 1.28 (m, H-16'), 1.14 (m, H-22'), 1.12 (s, H-29), 1.05 (s, H-28), 1.01 (s, H-19), 1.01 (s, H-30), 0.89 (d, $J = 6.2$ Hz, H-21), 0.81 (s, H-18).

RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3): δ 216.9 (C-3), 166.2 (C-26), 165.0 (C-32), 148.9 (C-38), 147.9 (C-24), 145.7 (C-8), 143.2 (C-35), 127.9 (C-35), 124.5 (C-25), 123.7 (C-37), 117.8 (C-7), 74.2 (C-31), 52.8 (C-17), 52.2 (C-5), 51.7 (C-33), 51.1 (C-14), 48.4 (C-9), 47.8 (C-4), 43.4 (C-13), 38.4 (C-1), 35.9 (C-20), 35.4 (C-22), 34.9 (C-10), 34.9 (C-2), 33.9 (C-15), 33.5 (C-12), 28.1 (C-16), 27.3 (C-30), 26.9 (C-23), 24.5 (C-28), 24.3 (C-6), 21.9 (C-18), 21.5 (C-29), 20.6 (C-27), 18.2 (C-11), 18.1 (C-21), 12.7 (C-19).

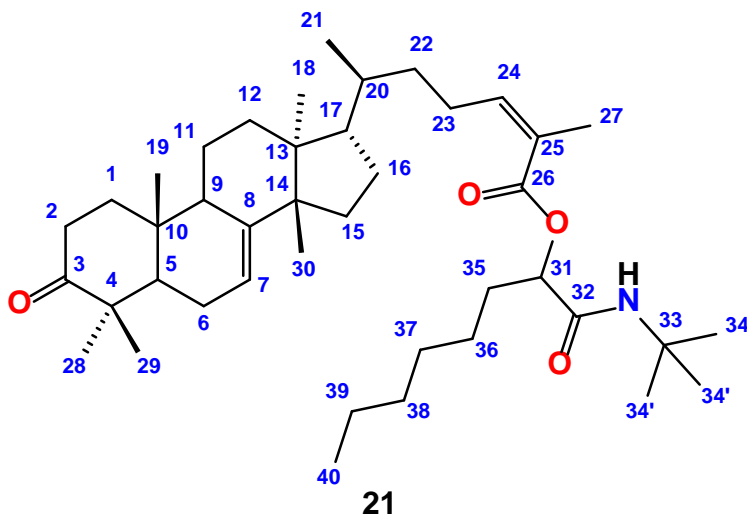
7.9.10 2-(t-butilamino)-1-(4-clorofenil)-2-oxoetil 3-oxotirucala-7,24-dien-26-oato (**20**)



Miel transparente. RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3): δ 7.38 (m, H-37), 7.33 (m, H-36), 6.07 (sa, NH), 6.05 (dt, $J = 7.6, 1.6$ Hz, H-24), 5.99 (d, $J = 2.6$ Hz), 5.30 (dd, $J = 6.0, 3.2$ Hz, H-7), 2.76 (td, $J = 14.5, 5.4$ Hz, H-2), 2.59 (m, H-23), 2.45 (m, 0-23'H), 2.28 (dt, $J = 14.1, 3.8$, H-9), 2.25 (m, H-2'), 2.10 (m, H-6), 1.98 (m, H-16'), 1.99 (m, H-1), 1.98 (d, $J = 1.6$ Hz, H-27), 1.81 (m, H-12), 1.73 (t, $J = 8.7$ Hz, H-5), 1.64 (m, H-12'), 1.56 (m, H-11), 1.53 (m, H-22), 1.49 (m, H-17), 1.48 (m, H-15), 1.48 (m, H-1'), 1.40 (m, H-20), 1.28 (m, H-16'), 1.14 (m, H-22'), 1.12 (s, H-29), 1.05 (s, H-28), 1.01 (s, H-19), 1.01 (s, H-30), 0.89 (d, $J = 6.2$ Hz, H-21), 0.80 (s, H-18).

RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3): δ 216.9 (C-3), 167.1 (C-26), 165.4 (C-32), 147.0 (C-24), 145.8 (C-8), 134.7 (C-35), 134.6 (C-38), 128.8 (C-36), 128.7 (C-37), 125.1 (C-25), 117.8 (C-7), 74.6 (C-31), 52.8 (C-7), 52.2 (C-5), 51.5 (C-33), 51.1 (C-14), 48.4 (C-9), 47.8 (C-4), 43.4 (C-13), 38.5 (C-1), 35.9 (C-20), 35.5 (C-22), 35.0 (C-10), 34.9 (C-2), 33.9 (C-15), 33.5 (C-12), 28.6 (C-34), 28.1 (C-16), 27.3 (C-30), 26.8 (C-23), 24.5 (C-28), 24.3 (C-6), 21.9 (C-18), 21.5 (C-29), 20.6 (C-27), 18.2 (C-11), 18.1 (C-21), 12.7 (C-19).

7.9.11 1-(t-butilamino)-1-oxooctan-2-il 3-oxotirucala-7,24-dien-26-oato (21)

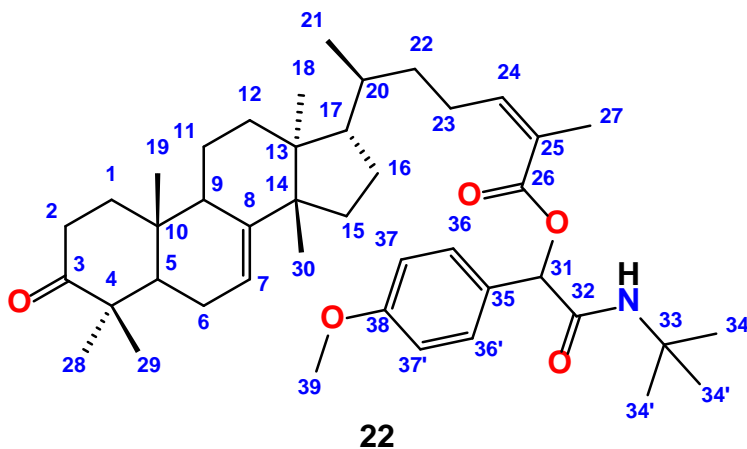


Miel transparente. RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3): δ 6.02 (dt, $J = 7.3, 1.8$ Hz, H-24), 5.89 (s, NH), 5.31 (dd, $J = 6.1, 3.4$ Hz, H-7), 5.13 (dd, 6.5, 5.0 Hz), 2.76 (td, $J = 14.5, 5.4$ Hz, H-2), 2.59 (m, H-23), 2.45 (m, 0-23'H), 2.28 (dt, $J = 14.1, 3.8$, H-9), 2.25 (m, H-2'), 2.10 (m, H-6), 1.98 (m, H-16'), 1.99 (m, H-1), 1.92 (d, $J = 1.4$ Hz, H-27), 1.81 (m, H-12), 1.73 (t, $J = 8.7$ Hz, H-5), 1.64 (m, H-12'), 1.56 (m, H-11), 1.53 (m, H-22), 1.49 (m, H-17), 1.48 (m, H-15), 1.48 (m, H-1'), 1.40 (m, H-20), 1.28 (m, H-16'), 1.14 (m, H-22'), 1.12 (s, H-29), 1.05 (s, H-28), 1.01 (s, H-19), 1.01 (s, H-30), 0.90 (d, $J = 6.1$ Hz, H-21), 0.88, (t, $J = 6.7$ Hz), 0.81 (s, H-18).

RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3): δ 216.9 (C-3), 169.1 (C-26), 166.2 (C-32), 145.8 (C-8), 145.7 (C-24), 125.6 (C-25), 117.8 (C-7), 74.0 (C-31), 52.8 (C-17), 52.2 (C-5), 51.1 (C-14), 51.0 (C-33), 48.4 (C-9), 47.8 (C-4), 43.5 (C-13), 38.5 (C-1), 36.0 (C-20), 35.6 (C-22), 34.9 (C-2), 33.9 (C-15), 33.5 (C-12), 31.7 (C-35), 31.6 (C-38), 28.9 (C-37), 28.6 (C-34), 28.2,

(C-16) 27.4 (C-30), 26.8 (C-23), 24.6 (C-39), 24.5 (C-28), 24.3 (C-6), 22.5 (C-36), 21.9 (C-18), 21.5 (C-29), 20.7 (C-27), 18.2 (C-21), 18.1 (C-21), 14.0 (C-40), 12.7 (C-19).

7.9.1. 2-(*t*-butilamino)-1-(4-metoxifenil)-2-oxoetil 3-oxotirucala-7,24-dien-26-oato
(22)



Miel amarilla. RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3): δ 7.36 (m, H-37), 6.88 (m, H-36), 6.08 (dt, $J = 7.5, 1.2$ Hz, H-24), 6.01 (m, NH), 5.99 (d, $J = 2.9$ Hz, H-31), 5.3 (dd, $J = 6.1, 3.4$ Hz, H-7), 3.80 (s, Me-39), 2.73 (td, $J = 14.5, 5.4$ Hz, H-2), 2.59 (m, H-23), 2.45 (m, O-23'H), 2.28 (dt, $J = 14.1, 3.8$, H-9), 2.25 (m, H-2'), 2.10 (m, H-6), 1.98 (m, H-16'), 1.99 (m, H-1), 1.97 (d, $J = 1.5$ Hz, H-27), 1.81 (m, H-12), 1.73 (t, $J = 8.7$ Hz, H-5), 1.64 (m, H-12'), 1.56 (m, H-11), 1.53 (m, H-22), 1.49 (m, H-17), 1.48 (m, H-15), 1.48 (m, H-1'), 1.40 (m, H-20), 1.36 (s, Me-34, Me-34', Me-34''), 1.28 (m, H-16'), 1.14 (m, H-22'), 1.12 (s, H-29), 1.05 (s, H-28), 1.01 (s, H-19), 1.01 (s, H-30), 0.89 (d, $J = 6.2$ Hz, H-21), 0.81 (s, H-18).

8. BIBLIOGRAFÍA

- (1) Egbuna, C.; Ifemeje, J. C.; Udedi, S. C.; Kumar, S. *Phytochemistry Volume 1: Fundamentals, Modern Techniques and Applications*; Oakville, 2019.
- (2) Egbuna, C.; Kumar, S.; Ifemeje, J. C.; Kurhekar, J. V. *Phytochemistry Volume 2: Pharmacognosy, Nanomedicine y Problemas Contemporáneos*; 2019.
- (3) Badal, S.; Delgoda, R. *Pharmacognosy: Fundamentals, Applications and Strategy*; Elsevier: Oxford, UK, 2017.
- (4) Fabricant, D. S.; Farnsworth, N. R. The Value of Plants Used in Traditional Medicine for Drug Discovery. *Environ. Health Perspect.* **2001**, *109* (suppl 1), 69–75. <https://doi.org/10.1289/ehp.01109s169>.
- (5) Osbourn, A. E.; Lanzotti, V. *Plant-Derived Natural Products: Synthesis, Function and Application*; Springer: New York, USA., 2009. <https://doi.org/10.1007/978-0-387-85498-4>.
- (6) Talapatra, S. K.; Talapatra, B. *Chemistry of Natural Products: Stereochemistry, Conformation, Synthesis, Biology and Medicine*; Springer: New York, USA, 2015. <https://doi.org/10.1007/978-3-642-45410-3>.
- (7) Connolly, J. D.; Hill, R. A. *Dictionary of Terpenoids Volume 2: Di- and Higher Terpenoids*; 1991.
- (8) Dev, S.; Nagasampagi, B. A. *Handbook of Terpenoides Volume I: Triterpenoids, Acyclic, Monocyclic, Bicyclic, Tricyclic and Tetracyclic Terpenoids*; Dev, S., Ed.; Taylor & Francis: Boca Raton, FL, 1989.
- (9) Battineni, J. K.; Koneti, P. K.; Bakshi, V.; Boggula, N. Triterpenoids : A Review. **2018**, 91–96.
- (10) Chudzik, M.; Korzonek-Szlacheta, I.; Król, W. Triterpenes as Potentially Cytotoxic Compounds. *Molecules* **2015**, *20* (1), 1610–1625. <https://doi.org/10.3390/molecules20011610>.

- (11) Giner-Larza, E. M.; Mañez, S.; Giner, R. M.; Recio, M. C.; Cerda-Nicolas, M.; Rios, J. L. Anti-Inflammatory Triterpenes from *Pistacia terebinthus* galls. *Planta Med.* **2002**, *68*, 311–315.
- (12) Oviedo-Chavez, I.; Ramirez-Apan, T.; Martinez-Vazquez, M. Cytotoxic Activity and Effect on Nitric Oxide Production of Tirucallane-Type Triterpenes. *J. Pharm. Pharmacol.* **2005**, *57* (9), 1087–1091. <https://doi.org/10.1211/jpp.57.9.0003>.
- (13) Alma, M. H.; Nitz, S.; Kollmannsberger, H.; Digrak, M.; Efe, F. T.; Yilmaz, N. Chemical Composition and Antimicrobial Activity of the Essential Oils from the Gum of Turkish Pistachio (*Pistacia vera* L.). *J. Agric. Food Chem.* **2004**, *52* (12), 3911–3914. <https://doi.org/10.1021/jf040014e>.
- (14) Herrera, R. P.; Marques-Lopez, E. *Multicomponent Reactions: Concepts and Applications for Design and Synthesis*; Hoboken, NJ, 2015.
- (15) Bienayme, H.; Zhu, J. *Multicomponent Reactions*, 1st ed.; Wiley-VCH: Weinheim, Germany, 2005.
- (16) Zhu, J.; Wang, Q.; Wang, M.-X. *Multicomponent Reactions in Organic Synthesis*; Wiley, Ed.; Weinheim, Germany, 2015. <https://doi.org/10.1063/1.1752287>.
- (17) Mironov, M. A. General Aspects of Isocyanide Reactivity. *Isocyanide Chemistry*. August 23, 2012, pp 35–73. <https://doi.org/doi:10.1002/9783527652532.ch2>.
- (18) Dömling, A.; Wang, W.; Wang, K. Chemistry and Biology Of Multicomponent Reactions. *Chem. Rev.* **2012**, *112* (6), 3083–3135. <https://doi.org/10.1021/cr100233r>.
- (19) Boltjes, A.; Dömling, A. The Groebke-Blackburn-Bienaymé Reaction. *European J. Org. Chem.* **2019**, *2019* (42), 7007–7049. <https://doi.org/10.1002/ejoc.201901124>.
- (20) Wiemann, J.; Heller, L.; Csuk, R. An Access to a Library of Novel Triterpene Derivatives with a Promising Pharmacological Potential by Ugi and Passerini Multicomponent Reactions. *Eur. J. Med. Chem.* **2018**, *150*, 176–194. <https://doi.org/10.1016/J.EJMECH.2018.02.060>.

- (21) Ahuja, M. R.; Mohan Jain, S. *Biodiversity and Conservation of Woody Plants*; Ramawat, K. G., Ed.; Springer: Cham, Suiza, 2017; Vol. 17.
- (22) Moyo, M.; Van Staden, J. *Micropropagation of Anacardiaceae Species of Economic Importance: Advances and Future Prospects*; 2013; Vol. 49. <https://doi.org/10.1007/s11627-012-9483-7>.
- (23) Rzedowski, J.; Calderon, G. *Flora Del Bajío y Regiones Adyacentes: Anacardiaceae*; 1999.
- (24) AL-Saghir, M. G.; Porter, D. M. Taxonomic Revision of the Genus *Pistacia* L. (Anacardiaceae). *Am. J. Plant Sci.* **2012**, 03 (01), 21. <https://doi.org/10.4236/ajps.2012.31002>.
- (25) Golan-Goldhirsh, A. Bridging the Gap between Ethnobotany and Biotechnology of *Pistacia*. *Isr. J. Plant Sci.* **2009**, 57 (1–2), 65–78. <https://doi.org/10.1560/IJPS.57.1-2.65>.
- (26) Rauf, A.; Patel, S.; Uddin, G.; Siddiqui, B. S.; Ahmad, B.; Muhammad, N.; Mabkhot, Y. N.; Hadda, T. Ben. Phytochemical, Ethnomedicinal Uses and Pharmacological Profile of Genus *Pistacia*. *Biomed. Pharmacother.* **2017**, 86, 393–404. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.biopha.2016.12.017>.
- (27) Maxted, N.; Rhodes, L. *Pistacia mexicana* <http://www.iucnredlist.org/details/38923/0>. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2016-3.RLTS.T38923A61524679.en>.
- (28) Tsokou, A.; Georgopoulou, K.; Melliou, E.; Magiatis, P.; Tsitsa, E. Composition and Enantiomeric Analysis of the Essential Oil of the Fruits and the Leaves of *Pistacia vera* from Greece. *Molecules* **2007**, 12 (6), 1233.
- (29) Gourine, N.; Yousfi, M.; Bombarda, I.; Nadjemi, B.; Stocker, P.; Gaydou, E. M. Antioxidant Activities and Chemical Composition of Essential Oil of *Pistacia atlantica* from Algeria. *Ind. Crops Prod.* **2010**, 31 (2), 203–208. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2009.10.003>.

- (30) Rezaie, M.; Farhoosh, R.; Sharif, A.; Asili, J.; Iranshahi, M. Chemical Composition, Antioxidant and Antibacterial Properties of Bene (*Pistacia atlantica* Subsp. *mutica*) Hull Essential Oil. *J. Food Sci. Technol.* **2015**, *52* (10), 6784–6790. <https://doi.org/10.1007/s13197-015-1789-0>.
- (31) Couladis, M.; Özcan, M.; Tzakou, O.; Akgül, A. Comparative Essential Oil Composition of Various Parts of the Turpentine Tree (*Pistacia terebinthus* L) Growing Wild in Turkey. *J. Sci. Food Agric.* **2003**, *83* (2), 136–138. <https://doi.org/doi:10.1002/jsfa.1295>.
- (32) Usai, M.; Pintore, G.; Chessa, M.; Tirillini, B. Essential Oil Composition of Different Aerial Parts of *Pistacia terebinthus* L. Growing Wild in Sardinia. *J. Essent. Oil Res.* **2006**, *18* (4), 383–385. <https://doi.org/10.1080/10412905.2006.9699121>.
- (33) Özcan, M. M.; Tzakou, O.; Couladis, M. Essential Oil Composition of the Turpentine Tree (*Pistacia terebinthus* L.) Fruits Growing Wild in Turkey. *Food Chem.* **2009**, *114* (1), 282–285. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.08.094>.
- (34) Assimopoulou, A. N.; Papageorgiou, V. P. GC-MS Analysis of Penta- and Tetracyclic Triterpenes from Resins of *Pistacia* Species. Part II. *Pistacia terebinthus* Var. *Chia*. *Biomed. Chromatogr.* **2005**, *19* (8), 586–605. <https://doi.org/doi:10.1002/bmc.484>.
- (35) Ben, D. F.; Nawel, H.; Leila, C.; Mohamed, H.; Kamel, G.; Anne-Marie, M.; Marie-Geneviève, D. New Study of the Essential Oil from Leaves of *Pistacia lentiscus* L. (Anacardiaceae) from Tunisia. *Flavour Fragr. J.* **2005**, *20* (4), 410–414. <https://doi.org/doi:10.1002/ffj.1445>.
- (36) Aissi, O.; Boussaid, M.; Messaoud, C. Essential Oil Composition in Natural Populations of *Pistacia lentiscus* L. from Tunisia: Effect of Ecological Factors and Incidence on Antioxidant and Antiacetylcholinesterase Activities. *Ind. Crops Prod.* **2016**, *91*, 56–65. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.06.025>.
- (37) Assimopoulou, A. N.; Papageorgiou, V. P. GC-MS Analysis of Penta- and Tetra-

- cyclic Triterpenes from Resins of *Pistacia* Species. Part I. *Pistacia lentiscus* Var. *Chia*. *Biomed. Chromatogr.* **2005**, *19* (4), 285–311. <https://doi.org/doi:10.1002/bmc.454>.
- (38) Dominguez, X. A.; Soriano, M.; Vera-Loza, C.; Butruille, D. L'acide Masticadienonique de *Pistacia mexicana*. *Phytochemistry* **1974**, *13*, 656.
- (39) Reguera, L.; Attorresi, C. I.; Ramírez, J. A.; Rivera, D. G. Steroid Diversification by Multicomponent Reactions. *Beilstein J. Org. Chem.* **2019**, *15*, 1236–1256.
- (40) Gurrapu, S.; Walsh, W. J.; Brooks, J. M.; Jonnalagadda, S. C.; Mereddy, V. R. Synthesis of Lupane Triterpenoid Derivatives. *Nat. Prod. Indian J.* **2012**, *8* (3), 115–120.
- (41) Baker, R. H.; Schlesinger, A. H. The Application of the Passerini Reaction to Steroid Ketones. *J. Am. Chem. Soc.* **1945**, *67* (9), 1499–1500. <https://doi.org/10.1021/ja01225a027>.
- (42) Ahmad, F.; Ali, M.; Alam, P. New Phytoconstituents from the Stem Bark of *Tinospora cordifolia* Miers. *Nat. Prod. Res.* **2010**, *24* (10), 926–934. <https://doi.org/10.1080/14786410802435679>.
- (43) Makino, M.; Motegi, T.; Fujimoto, Y. Tirucallane-Type Triterpenes from *Juliania adstringens*. *Phytochemistry* **2004**, *65* (7), 891–896. <https://doi.org/10.1016/J.PHYTOCHEM.2003.12.012>.
- (44) Morais, T.; da Costa-Silva, T.; Tempone, A.; Borborema, S.; Scotti, M.; de Sousa, R.; Araujo, A.; de Oliveira, A.; de Morais, S.; Sartorelli, P.; et al. Antiparasitic Activity of Natural and Semi-Synthetic Tirucallane Triterpenoids from *Schinus terebinthifolius* (Anacardiaceae): Structure/Activity Relationships. *Molecules* **2014**, *19* (5), 5761–5776. <https://doi.org/10.3390/molecules19055761>.
- (45) Mulholland, D. A.; Nair, J. J. Triterpenoids from *Dysoxylum pettigrewianum*. *Phytochemistry* **1994**, *37* (5), 1409–1411. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)90421-7](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)90421-7).