

FACULTAD DE FARMACIA
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS



ESTUDIO FITOQUÍMICO DE LOS COMPONENTES DE
RHIGOZUM MADAGASCARIENSIS

TESIS DOCTORAL

SOBINSON ARSÈNE MANANANDRO

2016

UNIVERSIDAD DE SALAMANCA
FACULTAD DE FARMACIA
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS



Memoria de Tesis Doctoral para optar al
Grado de Doctor en Farmacia, presentada por:

Sobinson Arsène Manandro

Vº Bº

Prof. Dr. Manuel Medarde Agustín
Director del Departamento de
Ciencias Farmacéuticas

Los Dres. **Esther del Olmo Fernández, Arturo San Feliciano Martín, José Luis López Pérez y Ricardo Escarcena Romero** del Departamento de Ciencias Farmacéuticas Farmacéutica, de la Facultad de Farmacia, de la Universidad de Salamanca,

CERTIFICAN:

Que el Licenciado en Farmacia por la Universidad Central "Marta Abreu" de Las Villas, Santa Clara, Cuba, **D. Sobinson Arsène Mananandro** ha realizado en este Departamento, bajo su dirección, la tesis titulada **"Estudio fitoquímico de los componentes de *Rhigozum madagascariensis*"**, para optar al Grado de Doctor en Farmacia por la Universidad de Salamanca.

Para que así conste, firman el presente en Salamanca a 11 de Julio de 2016

Esther del Olmo

Arturo San Feliciano

José Luis López

Ricardo Escarcena

Parte del presente trabajo de Tesis Doctoral ha sido realizado gracias a la concesión de una beca de la Agencia Española de Cooperación internacional –AECID- (2008-2010) .

El trabajo que se presenta en esta memoria ha formado parte de proyectos de investigación y cooperación financiados por:

- Junta de Castilla y León -SA221U13- (2013-2016)
- Proyecto CYTED X.11-PIBATUB (2004-2008)
- Red RICET-ISCIH. RD06-0021/0022 y RD12/0018/0002 (2008-2016).

Ha sido divulgado parcialmente a través de las publicaciones y comunicaciones a congresos siguientes:

Publicación:

Syntesis and *in vitro* leishmanicidal activity of imidazo[2,1-a]isoindol-5-ol derivatives. Arsène S, del Olmo E, Abengózar MÁ, García-Hernández R, Escarcena R, Fernández de Palencia P, Castanys S, Gamarro F, López-Pérez J.L., San Feliciano A, Rivas L *Eur. J. Med. Chem.*, **2016**, *in press*.

Congresos

1- Global Challenges In Neglected Tropical Diseases

Comunicación Poster

Título: **Antileishmanial activity of imidazoisoindol derivatives.**

Autores: R. Escarcena, V. Gómez-Pérez , E. del Olmo, R. García-Hernández, **S. Arsène Mananandro**, F. Gamarro, A. San Feliciano

Fecha: 13 al 15 de Julio de 2016, León, España.

2- 62nd International Congress and Annual Meeting of the Society for Medicinal Plant and Natural Product Research - GA2014

Comunicación Poster

Título: Secondary metabolites isolated from *Rhigozum madagascariensis* rhizome with antituberculosis properties.

Autores: **S. Arsène Mananandro**, E. del Olmo, A. San Feliciano

Fecha: 31 Agosto al 4 de Septiembre de 2014, Guimarães, Portugal]

3- 10 Reunión Internacional de Investigación en Productos Naturales

Comunicación Poster

Título: Bioactividad of some secondary metabolites isolated from *Rhigozum madagascariensis* rhizome.

Autores: **S. Arsène Mananandro**, E. del Olmo, B. Alanís, E. Garza, N. Waksman de Torres.

Fecha: 21 al 24 de Mayo de 2014, Mérida, México.

- 4- XVII National Meeting. Advances in Drug Discovery: Successes, Trends and Future Challenges. XVII Congreso de la Sociedad Española de Química Terapéutica

Comunicación Poster

Título: Synthesis and *in vitro* evaluation of imidazoisoindol derivatives against *strongyloides venezuelensis* female larvae.

Autores: A.L. Legarda, E. del Olmo, R. Escarcena, **S. Arsène Mananandro**, J. L. López-Pérez, A. San Feliciano

Fecha: 2 al 4 de Octubre de 2013, Madrid, España.

- 5- 4th Spanish-Moroccan Symposium on Organic Chemistry (SMSOC-4). 7th Andalusian-Moroccan Meeting on Natural Products Chemistry

Comunicación Poster

Título: Secondary Metabolites from *Rhigozum madagascariensis* rhizome.

Autores: E. del Olmo, **S. Arsène Mananandro**, Ph. Rasonaivo, J.L. López-Pérez, A. San Feliciano

Fecha: 20 al 22 de Septiembre de 2012, Almería, España.

- 6- XV Congreso Colombiano de Parasitología y Medicina Tropical

Comunicación Poster

Título: Evaluación *in vitro* de compuestos heterocíclicos fusionados frente a epimastigotes *Trypanosoma cruzi*.

Autores: A. Legarda-Ceballos, E. del Olmo, R. Escarcena, **S. Arsène Mananandro**, A. Muro, J.C. Dib, A. San Feliciano.

Fecha: 27 de Septiembre al 1 de Octubre de 2011, Cartagena de Indias, Colombia.

- 7- VII Congreso de la Sociedad Española de Medicina Tropical y Salud Internacional (SEM-TSI)

Comunicación Oral

Título: Derivados heterofusionados de isoindol activos frente a *Plasmodium spp*

Autores: E. del Olmo, **S. Arsène Mananandro**, L.D. Chiaradia, J.L. López-Pérez, R.N. García, D. González-Pacanowska, L.M. Ruiz-Pérez, A. San Feliciano.

Fecha: 2 al 5 de Marzo de 2010, Salamanca, España.

- 8- Plataforma Ibérica de Malaria

Comunicación Oral

Título: New imidazoisoindole derivatives as antimalarial compounds.

Autores: E. del Olmo, **S. Arsène Mananandro**, L. Domeneghini, A. San Feliciano, L.M. Ruiz-Pérez, D. González-Pacanowska, J. Carrero, M. Kaiser.

Fecha: 17 al 18 de Diciembre de 2009, Tres Cantos (Madrid), España.

AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer a mis directores de Tesis la inestimable ayuda que me han brindado para realizar este trabajo: al Prof. Dr. José Luis López Pérez, al Prof. Dr. Arturo San Feliciano; y en especial a la Profa. Dra. Esther del Olmo Fernández, que además de ser mi maestra, ha sido para mí como una madre y una hermana de corazón: sus enseñanzas y su cariño franco y sincero serán algo que siempre valoraré a lo largo de mi vida, y llevaré siempre en mi corazón hasta el final de mi vida.

Agradezco a mis directores el permitirme y facilitarme la labor de investigación en el Departamento de Ciencias Farmacéuticas; al personal de Administración y Servicio del Departamento por su colaboración en los aspectos administrativos y técnicos; a todos los miembros del Departamento por el buen trato recibido durante mi larga estancia en el Departamento.

Mi agradecimiento a la Agencia Española de la Cooperación Internacional para el Desarrollo (AECID), por la concesión de la beca que me abrió las puertas a la investigación, facilitando mi “sueño” y objetivo, ser Doctor en Farmacia; y por ello doy gracias también al Gobierno de España. Me siento afortunado por haber podido seguir mi formación en este hermoso país, y me comprometo, si Dios el Todo Poderoso me lo permite en el futuro, establecer una relación bilateral entre España y Madagascar en el ámbito académico para el fortalecimiento de ambos países.

Mi agradecimiento al “Institut Malgache de Recherches appliquées (IMRA)” en especial al Dr Philippe Rasoanaivo, ex-director del centro, por proporcionarme el material vegetal objeto de este estudio. Madagascar es uno de los países del mundo que cuenta con una flora y fauna endémica de valor científico incalculable.

Agradezco al Prof. Dr. Cipriano J. del Valle Gutiérrez del Departamento de Botánica por la ayuda prestada en el descripción botánica de la planta. Al Prof Dr. Francisco Javier Burguillo Muñoz del Departamento de Química Física por la enorme y desinteresada ayuda que me ha brindado. Los recordaré siempre con mucho cariño.

Agradecer también al personal de limpieza, de conserjería, al personal de cafetería de la Facultad de Farmacia de la USAL, y a otros miembros de la Universidad de Salamanca por la amistad brindada durante mi estancia en esta Universidad.

Mi especial agradecimiento a mis hermanos y hermanas, a las personas que han estado cerca de mí, que me han apoyado en todo momento en la lejanía y me han dado valiosos consejos, para alentarme y llegar a ser hombre luchador.

No olvido nunca a mi preciosa hija, por aguantar el sufrimiento que mi ausencia le ha causado durante estos años. ¡Muchísimas gracias hija!

Por último, doy gracias a todas las personas que me han ayudado en distintos momentos durante mi estancia en España, por estar ahí en lo bueno y en las situaciones difíciles y complicadas por las que he pasado. A esas personas, si llegan a leer esto, les digo que tienen amigo de verdad, y les deseo mucha salud y éxitos en la vida, de todo corazón.

*Y por supuesto, a el más grande de todo, a Dios el Todo Poderoso, Creador de este Universo, quien me ha dado la salud día a día; y me ha dado sabiduría y oportunidad para vivir y luchar hasta ahora; según decía el rey David: **“Pero Dios es mi socorro, el Señor es quien me sostiene”**.*

¡Muchísimas gracias a todos!

A mi hija Pelamijoro Volataratra Sobinson

A la memoria de mis padres

ÍNDICE

LISTA DE ABREVIATURAS	13
RESUMEN	15
I. INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES	17
I.1. La familia Bignoniaceae y el Género <i>Rhigozum</i>	21
I.1.1 Descripción botánica de <i>Rhigozum madagasacriensis Drake</i>	23
I.2. Actividades de la familia Bignoniaceae	24
II. OBJETIVOS Y PLANTEAMIENTO	31
- Objetivos	33
- Planteamiento y Justificación	35
III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	35
FITOQUÍMICA	37
III.1. Recolección de la planta, extracción y Fraccionamiento	39
III.2. Estudio de la Fracción soluble-3	40
III.2.A Estudio mediante cromatografía de gases - espectrometría de masas	41
III.2.B Compuestos aislados de la fracción soluble-3	52
QUÍMICA	82
III.3. Obtención de Tecomaquinona I	82
III.3.1 Método A	82
III.3.2 Método B	86
IV. PARTE EXPERIMENTAL	91
IV.1. Técnicas Generales	93
Experimental Fitoquímica	
IV.2. Estudio Fitoquímico de <i>Rhigozum madagascariensis</i>	95
- <i>Recolección del material vegetal</i>	95
- <i>Secado del material vegetal</i>	95
- <i>Extracción y fraccionamiento</i>	95
- <i>Estudio de la fracción soluble-3</i>	96
IV.3. Obtención de Tecomaquinona I	92
- <i>Método A</i>	116
- <i>Método B</i>	122
V. CONCLUSIONES	127
VI. ANEXO – TABLAS	131
VII. ANEXO – ESPECTROS	139

LISTA DE ABREVIATURAS

A		F	
Ac	ácido	Fig.	Figura
AcOEt	Acetato de Etilo	FT	Fourrier Transformer (Transformada de Fourier)
AcOH	Acido acético		
ADN	Acido DesoxirriboNucléico		
AG	Acido Graso		
Ar	Aromático		
B		G	
Bidim.	Bidimensional	g	gramo
B3LYP			
C		H	
c	Concentración	Hex	<i>n</i> -Hexano
°C	grado Celsius	HMBC	Heteronuclear Multiple- Bond Correlation spectroscopy (espectroscopia de correlación heteronuclear a varios enlaces)
CCF	Cromatografía de Capa Fina	HMQC	Heteronuclear Multiple- Quantum Correlation spectroscopy (espectroscopía de correlación heteronuclear múltiple cuántica)
CDCl ₃	Cloroformo Deuterado	HPLC	High Pressure Liquid Chromatography (cromatografía de líquido de alta presión)
Cl ₅₀	Concentración Inhibitoria 50	HREIMS	High REsolution Ionic Mass Spectrometry (espectrometría de masas de alta resolución)
CG-EM	Cromatografía de Gases- Espectroscopía de Masas	HSQC	Heteronuclear Single- Quantum Correlation spectroscopy (espectroscopia de correlación heteronuclear individual)
Crist	Cristales		
<i>col.</i>	colaboradores		
COSY	COrrrelation SpectroscopY		
D		I	
δ	desplazamiento químico	IMRA	Institut Malgache de Recherches Appliqueés (Instituto malgache de investigaciones aplicadas)
<i>d</i>	doblete	INS	Insoluble
<i>dd</i>	doble doblete	IR	infrarrojo
<i>ddd</i>	doble doblete		
Di	Diterpeno		
DMAP	4-Dimetilaminopiridina		
<i>dq</i>	doble quartete		
E			
Ed.	Editorial		
EDDA	EtilenDiaminoDiAcético		
EM	Espectrometría de Masas		
Est	Esterol		
EtOH	Etanol		
Et ₃ N	trietilamina		

J		R	
<i>J</i>	constante de acoplamiento	Rh	Rhizozum
M		RMN	Resonancia Magnética Nuclear
<i>m</i>	multiplete	ROESY	Rotating frame nuclear Overhauser Effect Spectroscopy
M ⁺	Ión molecular	%Rel	porcentaje Relativo
M	Mol	S	
MC	Mezcla compleja	<i>s</i>	singlete
MCP	Mezcla Compleja Polar	<i>sa</i>	singlete ancho
MeOD	Metanol Deuterado	Sol	Soluble
MeOH	Metanol	sp.	Species (especie)
MeO ⁻ Na ⁺	Metóxido de sodio	Sq	Sesquiterpenoides
mm	milimol	T	
ml	mililitro	<i>t</i>	triplete
mmol	milimol(es)	TIC	
MHz	Mega Hertzio	TBDMS	<i>tert</i> -butildimetilsililo
<i>m/z</i>	relación masa/carga	TBDMSCl	cloruro de <i>tert</i> -butildimetilsililo
Mo	Monoterpenoide	TNF-α	Tumor Necrosis Factor (factor de necrosis tumoral)
N		Tr	Triterpenoides
NO	Oxido Nítrico	Tr	Tiempo de Retención
NOESY	Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy	THF	Tetrahidrofurano
P		TMS	Tetrametilsilano
pág.	página	U	
Pf	Punto de fusión	UV-Vis	Ultravioleta-Visible
PR	Poder Rotatorio		
Q			
<i>q</i>	cuarteto		
Q	Quinona		

Además, aparecen en el texto las abreviaturas de las revistas científicas que publican los artículos científicos citados, y otras no generales asociadas a su propia definición..

RESUMEN

La realización de este proyecto pretende buscar nuevos prototipos de fármacos mediante el estudio fitoquímico de especies vegetales procedentes de la flora de Madagascar. El trabajo se ha dividido en tres partes: Estudio fitoquímico de *Rhigozum madagascariensis*, evaluación de la actividad biológica de extractos, fracciones y productos puros y puestas a punto del proceso sintético de obtención del compuesto mayoritario del extracto, la tecomaquinona I. La selección de la especie (*Rhigozum madagascariensis*) se realizó en base a la novedad (no hay estudios previos de la especie, ni del género) y a estudios preliminares de bioactividad en células tumorales de leucemia (P-388). El estudio fitoquímico ha conducido al aislamiento, la purificación de los componentes del extracto de hexano y su caracterización estructural. El aislamiento y purificación se ha realizado mediante procesos cromatográficos y la elucidación estructural por métodos físicos y de Resonancia Magnética Nuclear de carbono y de protón (RMN ^{13}C y ^1H) mono- y bidimensional. Se llevaron a cabo ensayos de actividad biológica por los grupos de investigación con los que se ha colaborado, así, se han realizado ensayos frente a células tumorales leucémicas en el IMRA de Antananarivo (Madagacascar), frente a *Plasmodium falciparum* en la UCM de Madrid (España) y frente a *Mycobacterium tuberculosis* en la UANL de Monterrey (México). En la tercera parte, partiendo de 1,4-naftoquinona se pusieron a punto dos métodos de obtención de tecomaquinona I, los productos de reacción fueron purificados y posteriormente caracterizados mediante técnicas espectroscópicas, los intermedios de reacción fueron enviados para la realización de ensayos biológicos.

I. INTRODUCCIÓN

I- INTRODUCCIÓN

El uso de plantas para el tratamiento de diferentes dolencias tanto en el ser humano como en animales es conocido desde la antigüedad, constituyendo la base de la Medicina Tradicional y jugando un papel muy importante en la Salud Humana; en principio se basaba en conocimientos empíricos o folclóricos y más tarde, sobre la base de los conocimientos científicos¹. En la actualidad, tanto en las empresas farmacéuticas como los laboratorio académicos² se utilizan diversas herramientas para el diseño y la modificación estructural, con el fin de optimizar la actividad de agentes terapéuticos de origen natural, entre las que se encuentran: (i) estudios de relación entre la estructura y la actividad, (ii) mecanismos de acción, que incluyen las interacciones fármaco-diana, (iii) estudios de metabolismo de fármacos, (iv) identificación de metabolitos bioactivos y bloqueo de la inactivación metabólica, (v) estudios de modelado molecular y determinación de grupos farmacóforos y (vi) diseño basado en las estructura de las dianas.

A continuación se presenta una breve descripción de la familia Bignoniaceae, familia a la que pertenece la planta objeto de este estudio fitoquímico, con enumeración de sus géneros y especies más relevantes y actividades reconocidas.

I.1- LA FAMILIA BIGNONIACEAE Y EL GÉNERO RHIGOZUM

La familia Bignoniaceae es una familia de plantas con flor que pertenece al orden Lamiales³, también se la denomina familia de plantas florecientes o familia de trompeta trepadora, entre los que se encuentran los géneros *Jacaranda*, *Bignonia*, *Catalpa*⁴. Está compuesta fundamentalmente por árboles, arbustos, lianas, y algunas hierbas. Los miembros de la familia están ampliamente distribuidos, tanto en el *viejo continente* como en el *nuevo continente*, distribuidos mayoritariamente en los trópicos y subtrópicos, pero además se

¹ Newman, D.J.; Cragg, G.M. *J. Nat Prod.* **2016**, *79*, 629-61.

² Itokawa, H.; Morris-Natschke, S.L.; Akiyama, T.; Lee, K.H. Plant-derived natural product research aimed at new drug discovery. *J Nat Med.* **2008**, *62*, 263-80.

³ Olmstead, R. G.; Bremer, B.; Scott, K.; Palmer, J. D. *Ann. Miss. Bot. Gard.* **1993**, *80*, 700-722. Angiosperm Phylogeny Group II. *Bot. J. Linn. Soc.* **2003**, *141*, 399-436.

⁴ Rahmatullah, M.; Samarrai, W.; Jahan, R.; Rahman, S.; Sharmin, N.; Miajee, Ullah Emdad, Z. U. M.; Chowdhury, H. M.; Bari, S.; Jamal, F.; Bashar Anwarul, A. B. M.; Azad, A. K.; Ahsan, S. *Adv. in Nat. Sci.* **2010**, *4*, 236-253.

encuentran varias especies de zonas templadas. En una clasificación reciente de Bignoniaceae realizada por Fischer y col⁵ reconocía siete de las ocho tribus propuestas por Gentry en 1980⁶, Bignonieae, Coleeae, Crescentieae, Eccremocarpeae, Oroxyleae, Tecomeae y Tourrettieae, excluyendo de la clasificación a la tribu Schlegelieae⁷.

Según un estudio filogenético molecular de clasificación de la familia Bignoniaceae realizado por Lohmann y Ulloa en el año 2007⁸, la familia incluye 82 géneros y 827 especies. Aproximadamente, la mitad de géneros y especies pertenecen a la tribu Bignonieae que es endémica del *nuevo mundo*, y comprende a la mayoría de las lianas tropicales. Bignoniaceae es una familia predominantemente neotropical, muy abundante en los bosques neotropicales y con menores contribución en los bosques tropicales africanos, incluyendo a los de Madagascar y del sureste de Asia. La mayoría de las especies son arbustos y árboles leñosos, incluyendo a los árboles de la sabana y del dosel del bosque tropical, si bien, tres grupos han adoptado un hábito herbáceo, como son los géneros presentes en el pico de Himalaya (*Incarvillea*) y de los Andes (*Argylia*, *Tourretia*).

Teniendo en cuenta el estudio de Lohmann y Ulloa⁸, y considerando los dos volúmenes de monografías de Bignoniaceae de Gentry^{6,9}, los representantes de la familia menos conocidos son los grupos Africanos y Asiáticos, que incluyen aproximadamente 29 géneros y unas 115 especies. Con la realización de los estudios filogenéticos sobre la familia se ha podido clasificar correctamente prácticamente todas las especies, a excepción de *Amphitecna latifolia*, *Mansoa difficilis*, *Ophiocolea sp.*, *Pachyptera aromática*, *P. kerere*, *Rhigozum madagascariensis* y *Tecomella undulata*⁸.

El género *Rhigozum* fue descrito por William J. Burchell¹⁰ y comprende nueve especies de árboles de pequeño porte, presentes únicamente en África y en Madagascar, *Rh. angolense* P. Bamps (ubicado en Angola), *Rh. brachiatum*, *Rh. brevispinosum* O. Kuntze, también denominada *Rh. linifolium* S. Moore o *Rh. spinosum* Burchell (Angola, Botswana, Zambia, Rhodesia, y Suroeste de África.); *Rh. madagascariense* Drake (Madagascar), *Rh. obovatum* (presente en el Suroeste de África y en la República Sudafricana), *Rh. somalense* (Somalia y territorio francés de los Afares y de los Issas), *Rh. trichotomum* Burchell (Angola, Suroeste de

⁵ Fischer, E.; Theisen, I.; Lohmann, L. G. Bignoniaceae. In J.W. Kadereit, [ed.], The families and genera of vascular plants, **2004**, vol.VII, Lamiales, 9 – 38. Springer-Verlag, Berlin, Germany.

⁶ Gentry, A. H. 1980. Bignoniaceae. Part I. Tribes Crescentieae and Tourrettieae. Flora Neotropica Monograph, **1980**, 25, 1 – 131.

⁷ Reveal, J. L. Newly required suprageneric names in Magnoliophyta. Phytologia, **1996**, 79, 68 – 76.

⁸ Lohmann, L. G.; C. U. Ulloa. Bignoniaceae in iPlants prototype checklist [online]. **2007**, Website <http://www.iplants.org> [accessed 20 July 2009].

⁹ Gentry, A. H.. Bignoniaceae. Part II. (Tribe Tecomeae). Flora Neotropica Monograph, **1992**, 25, 1 – 370

¹⁰ Burchell, W.J. Travels in the interior of South Africa. *Tropicos org.* **1822**, 1, 299.

África, República sudafricana, y Mozambique)), *Rh. virgatum* Merxm & Schreiber (Angola, Suroeste de África), *Rh. zambesiicum* Baker (en Rhodesia, Mozambique y República sudafricana).

El *Rhigozum madagascariensis* Drake¹¹ es una especie que se encuentra *a caballo* entre las tribus Coleeae (endémica de Madagascar y de las islas cercanas) y Tecomeae. Debido a la dificultad de clasificar correctamente las especies y géneros de la familia Bignoniaceae, se recurre a estudios de las secuencias cloroplastos, así, *Rh. madagascariensis* se incluye dentro del grupo denominado “Paleotropical clade” por la secuencias encontradas de *rbcL*, *ndhF*, *trnL-F*.

Algunas plantas de la familia Bignoniaceae muestran interés desde el punto de vista económico, como son especies de los géneros *Bignonia*, *Campsis*, *Catalpa*, *Jacaranda*, *Spathodea*, y *Tabebuia* que se utilizan en horticultura en las regiones tropicales y templadas, y numerosas especies han sido utilizadas por los pueblos indígenas como alimentos, materiales de construcción, para la fabricación de recipiente, con fines medicinales, así como para rituales religiosos¹².

I.1.1- Descripción botánica de *Rhigozum madagascariensis* Drake

El *Rh. madagascariense* Drake es un arbusto lampiño, de hojas simples obovado-cuneadas (1 x 0,5 cm) con flores fasciculadas en nódulos (fig. 1). Flores cortamente pedunculadas, cáliz oblongo, hendido en dos labios, cortado en la base después de la floración. Tiene corola amarillo-anaranjada, bilabiada, con lóbulos redondeados; y cápsula oblonga (2 cm)¹³. Esta especie se parece por su tallo y su follaje a *Rh. obovatum* Burch; pero se diferencia de todas las especies del género por su cáliz dividido en dos labios. Esta característica sería suficiente para separarla genéricamente.

¹¹ Perrier de la Bathie, H. Bignoniacées. Flore de Madagascar et des Comores (Plantes Vasculaires). **1938**, 178, 1-91. Typographie Firmin-Didot et Cie., Paris.

¹² Gentry, A. H. A synopsis of Bignoniaceae ethnobotany and economic botany. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, **1992**, 79, 53 – 64.

¹³ Drake del Castillo, M.E. *Bull. Mus. Hist. Nat. (Paris)* **1903**, 98.



Figura 1. Parte aérea, tallos, flores y hojas de *Rhigozum madagascariensis* Drake

I.2- ACTIVIDADES DE LA FAMILIA BIGNONIACEAE

Especies de la familia Bignoniácea han sido utilizadas ampliamente en la medicina tradicional de varios países para el tratamiento de diversas enfermedades y dolencias, utilizándose tanto la planta entera como algunas de sus partes, hojas, tallos, cortezas, raíces, frutos, y flores).

En Asia

Particularmente en la Medicina Tradicional en Bangladesh¹⁴ se utilizan siete especies de la familia Bignoniaceae, *Crescentia cujete*, *Heterophragma adenophyllum*, *Oroxylum indicum*, *Stereospermum suaveolens*, *Tabebuia argentea*, *Tecoma gaudichaudi* y *Tecoma stans* para

¹⁴ Martin, G.J. Ethnobotany: a "People and Plants" Conservation Manual, Chapman and Hall, London, 268.

tratamiento de determinados cánceres, mordeduras de serpiente, enfermedades de la piel, enfermedades gastrointestinales, enfermedades del tracto respiratorio, ginecológicas, hepáticas, la epilepsia, el cólera, dolores y dolencias urinarias, la malaria, enfermedades cardiovasculares o para el tratamiento de enfermedades de transmisión sexual.

Catalpa ovata es un árbol ampliamente distribuido en Corea, China y Japón, se ha usado la corteza de la raíz y del tallo para el tratamiento de diversas enfermedades inflamatorias. Los frutos han sido usados como diuréticos, para tratar la nefritis crónica y edemas¹⁵. Extractos crudos de la corteza del tallo han mostrado efectos inhibidores sobre el TNF- α y a la producción de óxido nítrico (NO)^{15,16}.

Stereospermum chelonoides DC. (Sin. *S. suaveolens*) es un árbol de tamaño medio distribuido en India central, Birmania y Bangladesh, muy conocido por sus propiedades antipiréticas; para calmar la sed excesiva, la tos y el asma¹⁷.

En África

Concretamente en el oeste de Camerún se utiliza la corteza del tallo de *Kigelia africana* en forma de infusión, decocción o mezclada con aceite de palma para tratar la malaria y enfermedades inflamatorias¹⁸.

En la región sur-oeste de Uganda, los indígenas *kihoma* utilizan el zumo de las hojas de *Markhamia lutea* (Benth.) mezclado con agua para tratar la malaria, el asma y la sífilis¹⁹.

En Sudáfrica (en sureste de Karoo), se maceran en agua las raíces de *Rhigozum obovatum* Burch, y se toma una cucharada sopera del jugo resultante, antes de una comida, para tratar la ictericia²⁰.

En suroeste de Nigeria, se utiliza la corteza del tallo *Spathodea campanulata* en forma de decocción para tratar la malaria²¹. En la región central Nigeria se utiliza las hojas y raíces de *Newboldia laevis* Seem para curar el paludismo¹⁵.

¹⁵ Park, B. M.; Hong, S. S.; Lee, C.; Lee, M. S.; Kang, S. J.; Shin, Y. S.; Jung, J-K.; Hong, J. T.; Kim, Y.; Lee, M. K.; Hwang, B. Y. *Arch. Pharm. Res.* **2010**, *33*, 381-385.

¹⁶ Pae, H. O.; Oh, G. S.; Choi, B. M.; Shin, S.; Chai, K. Y.; Oh, H.; Kim, J. M.; Kim, H. J.; Jang, S. I.; Chung, H. T. *J. Ethnopharmacol.* **2003**, *88*, 281-291.

¹⁷ Haque, M. R.; Rahman, K. M.; Iskander, M. N.; Hasan, C. M.; Rashid, M. A. *Phytochem.* **2006**, *67*, 2663-2665.

¹⁸ Zofou, D.; Tene, M.; Tane, P.; Titanji, V.P.K. *Parasitol. Res.* **2012**, *110*, 539-544.

¹⁹ Lacroix, D.; Prado, S.; Kamoga, D.; kasenene, J.; Namukobe, J.; Krief, S.; Dumontet, V.; Mouray, E.; Bodo, B.; Brunois, F. *J. Ethnopharmacol.* **2011**, *133*, 850-855.

²⁰ Van Wyk, B. E.; de Wet, H.; Van Heerden, F. R. *South Afr. J. Bot.* **2008**, *74*, 696-704.

²¹ Adebayo, J. O.; Krettli, A.U. *J. Ethnopharm.* **2011**, *133*, 289-302.

En América

Se utiliza la corteza del tallo de “lapacho” (*Tabebuia spp.*) en la medicina tradicional de Paraguay para tratar lesiones gástricas, así como agente anti-inflamatorio²².

Jacaranda cuspidifolia Mart., es un árbol ornamental de hojas y flores muy atractivas, comúnmente cultivado en jardines, y conocido en Brasil como *jacaranda*, *caroba* o *bolacheira*. Esta especie se utiliza en medicina tradicional brasileña para el tratamiento de la sífilis, la gonorrea y contra las úlceras de la piel; también se usa como remedio para combatir los problemas de pecho y la fatiga^{23,24}.

Weniger y col. en el 2001 indicaron que *Jacaranda caucana* y otras especies del género de Colombia servían para combatir el reumatismo, el resfriado y enfermedades de la piel²⁵.

Se han utilizado algunas especies de Bignoniaceae como alimento, así, las hojas y tallos de *Oroxylum indicum* son comestibles, para la que se han descrito actividades anti-oxidante y anti-mutagénica^{24,26}. Los frutos de la *Parmentiera edulis* son comestible y de sabor agradable, en México se utiliza por sus propiedades agente anti-diabéticas^{24,27}.

En las tablas siguientes (**Tablas 1a-1d**) se resumen las actividades de las especies más relevantes usadas en la medicina tradicional a nivel mundial.

²² Theoduloz, C.; Carrión, I. B.; Pertino, M. W.; Valenzuela, D.; Schmeda-Hirschmann, G. *Planta Med.* **2012**, *78*, 1807-1812.

²³ Prakash, L.; Garg, G. *Pharmazie* **1980**, *35*, 649-652.

²⁴ Arruda, A. L. A.; Vieira, C. J. B.; Sousa, D. G.; Oliveira, R. F.; Castilho, R. O. *J. Med. Food* **2011**, *14*, 1604-1608.

²⁵ Gachet, M. S.; Schühly, W. J. *Ethnopharm.* **2009**, *121*, 14-27.

²⁶ Yang, R. Y.; Tsou, S. C. S.; Lee, T. C., y col. *J. Sci. Food Agric.* **2006**, *86*, 2395-2403.

²⁷ Perez, R. M.; Perez, C.; Zavala, M. A., y col. *J. Ethnopharmacol.* **2000**, *71*, 391-394.

Tabla 1a: Especies de la familia Bignoniáceas, componentes y actividad biológica

Nombre Botánico	Extractos utilizados en Etnomedicina Metabolitos secundarios descritos	Actividad farmacológica descrita
<i>Catalpa ovata</i> G. Don.	De la <i>corteza del tronco</i> se aislaron: 8-metoxideshidroiso- α -lapachona, 9-metoxi-4-oxo- α -lapachona, (4 <i>S</i> ,4 <i>αR</i> ,10 <i>R</i> ,10 <i>αR</i>)-4,10-dihidroxi-2,2-dimetil-2,3,4,4 <i>α</i> ,10,10 <i>α</i> -hexahidrobenczo[g]cromen-5-ona, 3-hidroxideshidroiso- α -lapachona, 4,9-dihidroxi- α -lapachona, 4-hidroxi- α -lapachona, 9-metoxi- α -lapachona, y catalpalactona.	Actividad frente al virus Epstein-Barr en la activación temprana del antígeno en células Raji ²⁸ .
	Del <i>extracto de la corteza</i> soluble en diclorometano, se aislaron: 4-hidroxi-2-(2-metoxi-3-hidroxi-3-metil-but-1-enil)-4-hidro-1 <i>H</i> -naftalen-1-ona, catalponol, catalponona, catalpalactona, α -lapachona, 9-hidroxi- α -lapachona, 4,9-dihidroxi- α -lapachona, 9-metoxi- α -lapachona, 4-oxo- α -lapachona, 9-metoxi-4-oxo- α -lapachona.	Efectos inhibitorios de catalpalactona, 9-hidroxi- α -lapachona, y de 4,9-dihidroxi- α -lapachona sobre síntesis de NO inducido por lipopolisacárido en células de tipo RAW 264.7 ¹⁵ .
<i>Crescentia cujete</i> L.	(2 <i>S</i> ,3 <i>S</i>)-3-hidroxi-5,6-dimetoxideshidroiso- α -lapachona, (2 <i>R</i>)-5,6-dimetoxideshidroiso- α -lapachona, (2 <i>R</i>)-5-metoxideshidro- α -lapachona, 2-(1-hidroxi-etil)nafto[2,3- <i>b</i>]furan-4,9-diona, 5-hidroxi-2-(1-hidroxi-etil)nafto[2,3- <i>b</i>]furan-4,9-diona, 2-isopropenilnafto[2,3- <i>b</i>]furan-4,9-diona, 5-hidroxideshidroiso- α -lapachona.	Actividad sobre la reparación del ADN deficiente en levaduras mutadas ²⁹ .
<i>Cybistax antispyhilitica</i> (Mart.) Mart.	Del <i>extracto de hexano de la corteza de la planta</i> se aisló lapachol.	Larvicida frente a la larva de <i>Aedes aegypti</i> ³⁰ .
<i>Dolichandrona falcata</i> (Wall. Ex DC.) Seem.	Del <i>extracto de acetato de etilo de duramen de la planta</i> se aisló: dolichandrosida-A, α -lapachona, lapachol, aloesaponarin II, 8-hidroxideshidro- α -lapachona, β -sistosterol, 3,8-dihidroxideshidro- α -lapachona y verbascósido.	Dolichandrosida-A, verbascosida y aloesaponarina II presentan actividad inhibitoria sobre la α -glucosidasa. Además se observó actividad de captación de radicales libres en dolichandrosida-A ³¹
<i>Jacaranda caucana</i> Pittier.	<i>Extracto metanólico de las hojas</i> de la planta.	Actividades frente a cepas sensibles y resistentes a la cloroquina de <i>Plasmodium falciparum</i> ³²

²⁸ Fujiwara, A.; Mori, T.; Iida, A.; Ueda, S.; Hano, Y.; Nomura, T.; Tokuda, H.; Nishino, H. *J. Nat. Prod.* **1998**, *61*, 629-632.

²⁹ Hetzel, C. E.; Gunatilaka, A. A.; Glass, T. E.; Kingston, D. G.; Hoffmann, G.; Johnson, R. K. *J. Nat. Prod.* **1993**, *56*, 1500-1505.

³⁰ Rodrigues, A. M.; de Paula, J. E.; Roblot, F.; Fournet, A.; Espíndola, L. S. *Fitoter.* **2005**, *76*, 755-757.

³¹ Aparna, P.; Tiwari, A. K.; Srinivas, P.V.; Ali, A. Z.; Anuradha, V.; Rao, J. M. *Phytoter. Res.* **2009**, *23*, 591-596

³² Weniger, B.; Robledo, S.; Arango, G. J.; Deharo, E.; Aragón, R.; Muñoz, V.; Callapa, J.; Lobstein, A.; Anton, R. *J. Ethnopharm.* **2001**, *78*, 193-200.

Tabla 1b: Especies de la familia Bignoniáceas, componentes y actividad biológica

Nombre Botánico	Extractos utilizados en Etnomedicina Metabolitos secundarios descritos	Actividad farmacológica descrita
<i>Jacaranda copaia</i> (Aubl.) D. Don.	<i>Extracto etanólico de la planta.</i>	Buena actividad frente a cepas resistente a la cloroquina de <i>P. falciparum</i> ³² .
	<i>De la corteza de la planta.</i>	En el tratamiento de la leishmaniasis (en América del Sur) ³³
<i>Jacaranda cuspidifolia</i> Martius ex. DC.	<i>De las hojas de la planta.</i>	Tratamiento frente a leishmaniasis (para los Chinane y colones) ³⁴
<i>Jacaranda filicifolia</i> D. Don.	<i>Extracto de diclorometano de la corteza del tallo.</i>	Actividad antifúngica frente a <i>Coriolus versicolor</i> , <i>Gloeophyllum trabeum</i> y <i>Bostryodiplodia theobromae</i> ³⁵
<i>Jacaranda puberula</i> Cham.	<i>Extracto metanólico de las hojas de la planta.</i>	Actividad anti-leishmania frente a promastigotes de <i>Leishmania amazonensis</i> ³⁶
<i>Jacaranda glabra</i> (D. C.) Bureau & K. Schumann.	<i>La planta entera.</i>	Tratamiento de la leishmaniasis (para los indios bolivianos, y kichwas de la amazonía ecuatoriana) ³⁷
<i>Jacaranda hesperia</i> Dugand.	<i>La planta entera.</i>	Tratamiento de la leishmaniasis (en la región de Chocó de Colombia) ²⁷
<i>Kigelia pinnata</i> (Jacq.) D. C.	<i>De las raíces y de las semillas de la planta se aisló: kigelinona, isopinnatal, deshidro-α-lapachona, lapachol, fenilpropanoides, ácido p-cumárico, ácido ferúlico y ácido cafeico.</i>	Tratamiento frente a bacterias y hongos ³⁸
<i>Macfadyena unguis-cati</i> L.	<i>La planta entera.</i>	Acción anti-inflamatoria y antimalárica (en medicina tradicional de Brasil) ³⁹
	<i>De las hojas y tallos se aisló: corymbósido, vicerina-2, quercitrina, ácido clorogénico, ácido isoclorogénico, lupeol, β-sitosterol, β-sitosterol-glucopiranosido, allantoina y lapachol.</i>	Actividades anti-tumorales y anti-tripanosoma ²⁹

³³ Roth, I.; Lindorf, H. "South American Medicinal Plants". Springer, New York. **2002**, pp. 45-46, 122.

³⁴ Fournet, A.; Barrios, A. A.; Muñoz, V. J. *Ethnopharm.* **1994**, *41*, 19-37.

³⁵ Ali, R. M.; Houghton, P. J.; Hoo, T. S. *Phytoter. Res.* **1998**, *12*, 331-334.

³⁶ Passero, L. F.; Castro, A. A.; Tomokane, T. Y.; Kato, M. J.; Paulinetti, T. F.; Corbett, C. E.; Laurenti, M. D. *Parasit. Res.* **2007**, *101*, 677-680.

³⁷ Gachet, M. S.; Schühly, W. J. *Ethnopharm.* **2009**, *121*, 14-27.

³⁸ Binutu, O. A.; Adesogan, K.E.; Okogun, J. I. *Planta Med.* **1996**, *62*, 352-353.

³⁹ Duarte, D. S.; Dolabela, M. F.; Salas, C. E.; Raslan, D. S.; Oliveiras, A. B.; Nenninger, A.; Wiwdemann, B.; Wagner, H.; Lombardi, J.; Lopes, M. T. *J. pharm. y pharmacol.* **2000**, *52*, 347-352.

Tabla 1c: Especies de la familia Bignoniáceas, componentes y actividad biológica

Nombre Botánico	Extractos utilizados en Etnomedicina Metabolitos secundarios descritos	Actividad farmacológica o terapéuticas descrita
<i>Markhamia tomentosa</i> (Benth.) K. Schum.	Del extracto del acetato de etilo de las cortezas del tallo se aisló: 2-acetilnafto[2,3-b]furano-4,9-diona, 2-acetil-6-metoxinafto[2,3-b]furano-4,9-diona, ác. oleánico, ácido pomólico, ác. 3-acetilpomólico, ác. torméntico, β -sitosterol, β -sitosterol-glucopiranosido.	Actividad antiprotozoaria de dos quinonas, junto a toxicidad muy elevada frente en la línea celular (L-6) de mamífero ⁴⁰
<i>Melloa quadrivalvis</i> (Jacq).	De la corteza del tallo se aisló: 5-hidroxi-6-metoxi- α -lapachona, 5,6-dihidroxi- α -lapachona, 4,5-dihidroxi-6-metoxi- α -lapachona, lapachol, 5,5-dihidroxi-3,4,7-trimetoxiflavanona.	Actividad inhibitoria del crecimiento de células Hep2 y NCIH-292 de 5-hidroxi-6-metoxi- α -lapachona ⁴¹
<i>Newbouldia laevis</i> P. Beauv.	De las raíces se aislaron: 6-hidroxideshidroiso- α -lapachona, 7-hidroxideshidroiso- α -lapachona, 5,7-dihroxideshidroiso- α -lapachona, 3-hidroxi-5-metoxideshidroiso- α -lapachona.	Actividad anti-fúngica frente a <i>Cladosporium cucumerinum</i> y <i>Candida albicans</i> y actividad antibacteriana frente a <i>Bacillus subtilis</i> y <i>Escherichia coli</i> ⁴²
	De las raíces se aisló: newbouldiaquinona A, apigenina, crisoeriol, newbouldiaquinona, lapachol, 2-metiltraquinona, 2-acetilfuro-1,4-naftoquinona, 2,3-dimetoxi-1,4-benzoquinona, ác. oleanólico, ác. canthico, 2-(4-hidroxifenil)etiltriacontanoato, newbouldiamida, 5,7-dihroxideshidroiso- α -lapachona, β -sitosterol-glucopiranosido.	Newbouldiaquinona A, actividad anti-malárica frente a <i>P. falciparum</i> y una potente actividad anti-microbiana frente a <i>Candida gabrata</i> y <i>Enterobacter aerogens</i> ⁴³
<i>Stereospermum zenkeri</i> K. Schum. ex De Wild.	De la corteza del tallo se aislaron: antraquinonas tipo zenkequinonas A y B, esterequinona F, ác. <i>p</i> -cumárico, β -sitosterol-glucopiranosido.	Buena actividad anti-bacteriana de zenkequinona B frente a <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ⁴⁴

⁴⁰ Tantangmo, F.; Laenta, B. N.; Boyon, F. F.; Ngouela, S.; Kaiser, M.; Tsamo, E.; Weniger, B.; Rosenthal, P. J.; Vonthron-Sénécheau. *Ann. Trop. Med. and Parasit.* **2010**, *104*, 391-362.

⁴¹ Lima, C. S.; De Amorim, E. L.; Nascimento, S. C.; Araújo, C. F.; Agra, M. F.; Barbosa-Filho, J. M.; Silva, M. S.; Da-Cunha, E. V.; Vieira, I. J.; Braz-Filho, R. *Nat. Prod. Res.* **2005**, *19*, 217-222.

⁴² Gafner, S.; Wolfender, J. L.; Nianga, M.; Stoekli-Evans, H.; Hostettmann, K. *Phytochem.* **1996**, *42*, 1315-1320.

⁴³ Eyong, K. O.; Folefoc, G. N.; Kuete, V.; Beng, V. P.; Krohn, K.; Hussain, H.; Nkengfack, A.E.; Saefel, M.; Sarite, S. R.; Hoerauf, A. *Phytochem.* **2006**, *67*, 605-609.

⁴⁴ Lenta, B. N.; Weniger, B.; Antheaume, C.; Nougoué, D. T.; Ngouela, S.; Assob, J. C.; Vonthron-Sénécheau, C.; Fokou, P. A.; Devkota, K. P.; Tsamo, E.; Sewald, N. *Phytochem.* **2007**, *68*, 1595-1599.

1d: Especies de la familia Bignoniáceas, componentes y actividad biológica

Nombre Botánico	Extractos utilizados en Etnomedicina Metabolitos secundarios descritos	Actividad farmacológica o terapéutica descrita
<i>Tabebuia avellanedae</i> Lorentz ex Griseb.	De la <i>corteza</i> se aislaron: β -lapachona, 3-hidroxi- β -lapachona, α -lapachona	Actividad de lapachona sobre la inhibición del crecimiento de células de carcinoma del pulmón (A549), por inducción de apoptosis e inhibición de la actividad de telomerasas ⁴⁵ Actividad anti-bacteriana frente a cepas de <i>Staphylococcus</i> resistentes a la metilicina ⁴⁶
	Del <i>interior de la corteza</i> se aislaron naftoquinonas, como el (-)-5-hidroxi-2-(1-hidroxietil)nafto[2,3-b]furan-4,9-diona y (-)-8-hidroxi-2-(1-hidroxietil)nafto[2,3-b]furan-4,9-diona.	Potente efecto anti-proliferativo frente a células tumorales humanas encontrado en la primera molécula; y actividades anti-fúngicas y anti-bacterianas, frente bacteria Gram (+), para ambas moléculas ⁴⁷
<i>Tabebuia impetiginosa</i> Martius ex D. C.	Del el <i>interior de la corteza</i> se aislaron: 2-(hidroximetil)antraquinona, ác antraquinonil-2-carboxílico y lapachol.	Fuerte actividad inhibitoria del crecimiento de <i>Clostridium paraputrificum</i> en los dos últimos compuestos ⁴⁸ y actividad frente a <i>Helicobacter pylori</i> ATCC 4350487 en ⁴⁹

No se ha encontrado ningún estudio fitoquímico previo sobre *Rhigozum madagascariensis*, ni tampoco sobre otras especies del género, siendo por tanto este el primer estudio.

⁴⁵ Woo, H. J.; Choi, Y. H. *Int. J. Onc.* **2005**, *26*, 1017-1023.

⁴⁶ Pereira, E. M.; Tde Machado, B.; Leal, I. C.; Jesus, D. M.; Damaso, C. R.; Pinto, A. V.; Giambiagi-deMarval, M.; Kuster, R. M.; Santos, K. R. *Ann. Clin. Microbio. and Antimicrob.* **2006**, *5*, 5.

⁴⁷ Yamashita, M.; Kaneko, M.; Tokuda, H.; Nishimura, K.; Kumeda, Y.; Lida, A. *Bio. Med. Chem.* **2009**, *17*, 6286-6291.

⁴⁸ Park, B. S.; Kim, J. R.; Lee, S. E.; Kim, K. S.; Takeoka, G. R.; Wong, R. Y.; Ahn, Y. J.; Kim, J. H. *J. Agric. Food Chem.* **2005**, *53*, 1152-1157.

⁴⁹ Park, B. S.; Lee, H. K.; Lee, S. E.; Piao, X. L.; Takeoka, G. R.; Wong, R. Y.; Ahn, Y. J.; Kim, J. H. *J. Ethnopharm.* **2006**, *105*, 255-262.

II. OBJETIVOS Y PLANTEAMIENTO

II- OBJETIVOS Y PLANTEAMIENTO

II.1- OBJETIVOS

El objetivo principal de este trabajo de Tesis Doctoral trata de la búsqueda de nuevos prototipos estructurales a partir de fuentes naturales y más concretamente de plantas, mediante el estudio fitoquímico de especies vegetales procedentes, en este caso concreto, del continente africano, y más precisamente de Madagascar. Se pretende aislar los principios responsables de las actividades y establecer relaciones entre la estructura y una actividad determinada.

Los objetivos específicos de este trabajo pueden quedar resumidos en los siguientes puntos.

- Aislamiento y purificación de los componentes de *Rhigozum madagascariensis*.
- Caracterización química de cada uno de los compuestos obtenidos.
- Estudios de modelo molecular.
- Evaluación de la actividad del extracto, fracciones y compuestos puros.
- Análisis de relaciones entre la estructura de los compuestos y la actividad que manifiestan.
- Síntesis del compuesto mayoritario presente en el extracto, la Tecomaquinona I.

II.2- PLANTEAMIENTO Y JUSTIFICACIÓN

Para el desarrollo del estudio fitoquímico, se ha seleccionado la especie *Rhigozum madagascariensis* Drake, por ser una planta procedente del país de origen del estudiante y endémica de su región natal. No existe ningún estudio fitoquímico de la especie, ni tampoco del género, y se habían realizado estudios previos de bioactividad del extracto en células tumorales P-388 y en *Plasmodium falciparum* encontrándose buenos indicios de actividad, por lo que se decidió trabajar esta planta.

Estudios fitoquímicos realizados sobre géneros y especies próximos en la filogenia como son *Tecomella undulata* y *Spathodea campanulata* indicaban la presencia de compuestos con

estructura de flavonoide, iridoide, triterpénica y de tipo quinónico fundamentalmente, por lo que se esperaba, en principio, encontrar compuestos de estos tipos.

En el estudio fitoquímico sobre *Rh. madagascariensis* se han encontrado quinonas diméricas fundamentalmente, siendo la mayoritaria Tecomaquinona I, por lo que se decidió realizar la síntesis de este compuesto. Para ello se plantearon dos rutas sintéticas diferentes **A** y **B** que partían de 1,4-naftoquinona, ambas rutas convergen en hemitectol que evoluciona directamente a Tectol y este se transforma en Tecomaquinona I.

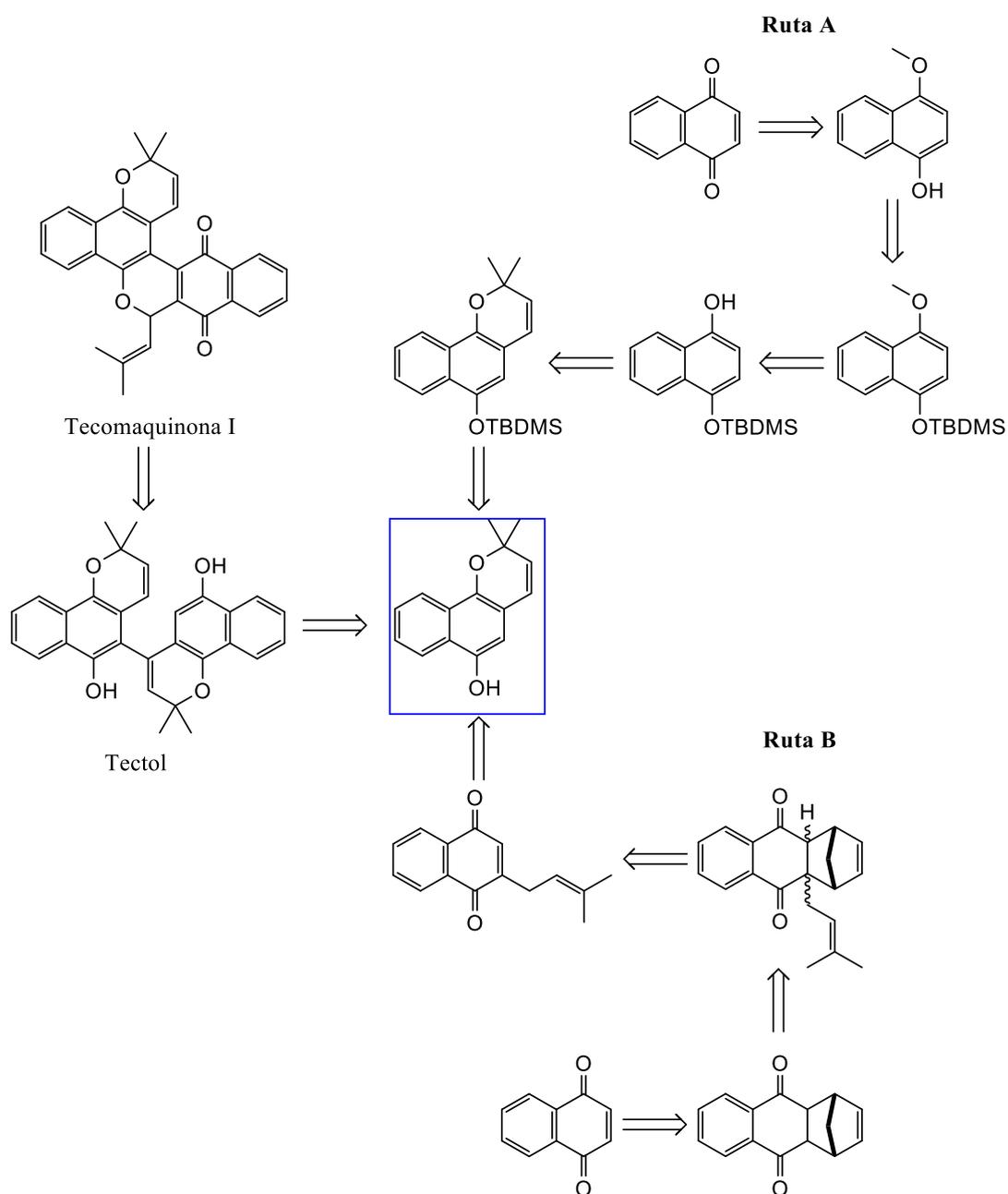


Figura 2. Ruta A y B de obtención de Tecomaquinona I

Estudios de Bioactividad

Se pretende llevar a cabo un estudio bioguiado del extracto de *Rhigozum madagascariensis*. Se realizaron chequeos de bioactividad del extracto, sus fracciones y compuestos puros frente a células tumorales P-388, *Plasmodium falciparum* y *Mycobacterium tuberculosis*.

III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

RESULTADOS Y DISCUSIÓN - FITOQUÍMICA

III.1. RECOLECCIÓN DE LA PLANTA, EXTRACCIÓN Y FRACCIONAMIENTO

Las raíces de *Rhigozum madagascariensis* fueron recolectadas por el Prof. Philippe Rasonaivo e identificadas por el botánico Dr. Armand Rakotozafy del "Institut Malgache de Recherches Appliquées (IMRA)-Antananarivo (Madagascar)", en la provincia de Toliara (Madagascar) en enero de 2006. Muestras de la planta se conservan en el Departamento de Botánica del Parque Botánico de Tsimbazaza-Antananarivo (Madagascar), y en el Herbario del IMRA-Antananarivo (Madagascar).

Las raíces se secaron a temperatura ambiente y en la oscuridad; se trituraron y se extrajeron con hexano en Soxhlet, obteniéndose 12,94 g de extracto crudo (0,6% con respecto al peso de raíz seca). El espectro de RMN de protón (RMN ^1H) del extracto (**Fig. 3**) mostró señales características de compuestos lineales (1,25 ppm), de metilos sobre sistemas saturados (0,84-1,12 ppm) y no saturados (1,50-1,82 ppm), de protones sobre sistemas olefínicos (5,10-5,29 ppm) y señales correspondientes a sistemas aromáticos sustituidos (7,30-8,10 ppm).

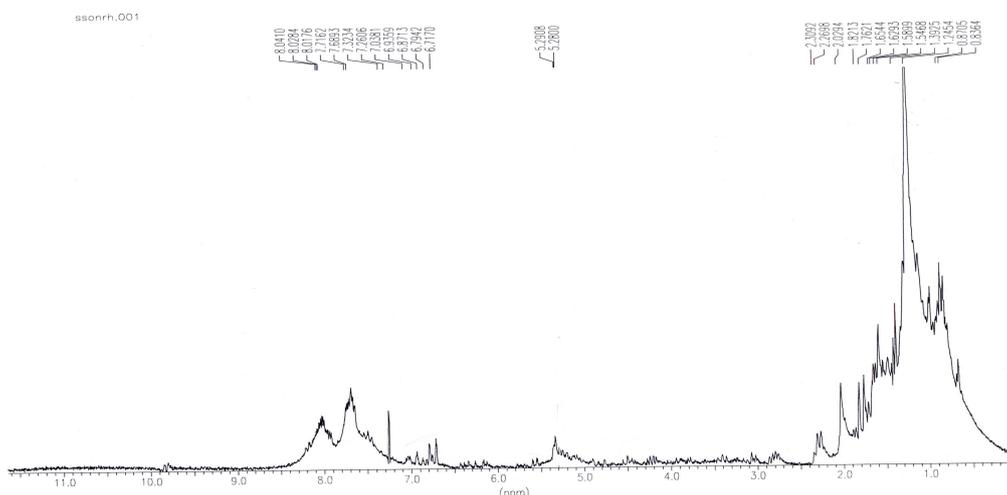
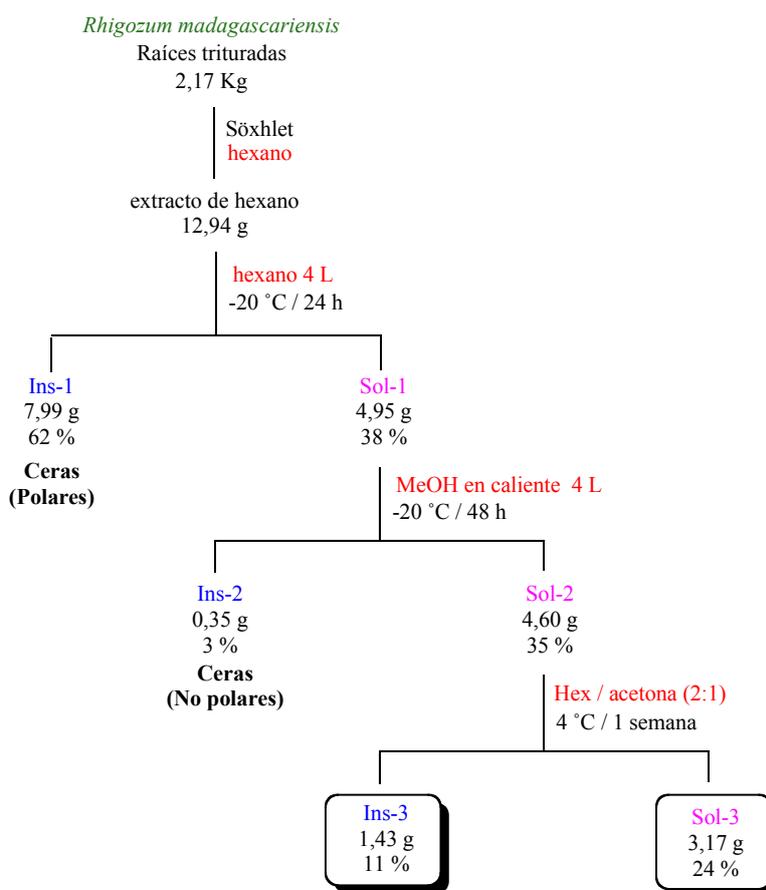


Figura 3. Espectro de RMN ^1H del extracto de hexano

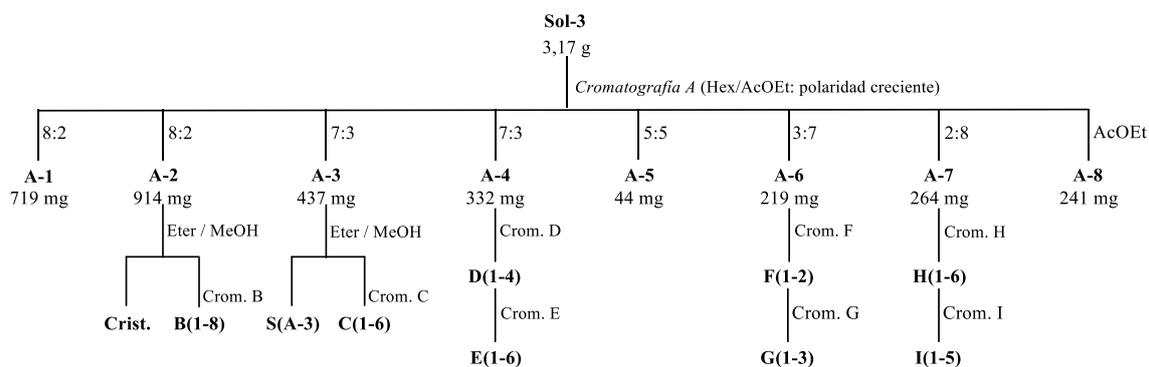
El extracto crudo se sometió a un proceso para eliminar los compuestos lineales primero y las clorofilas después, según procedimientos establecidos. De esta manera se separó una fracción insoluble (Ins-3 = 1,43 g, 11% sobre el extracto de hexano), de una soluble (Sol-3 = 3,17 g, 24% sobre el extracto de hexano), **Esquema 1**.



Esquema 1. Fraccionamiento del extracto de hexano de *Rhigozum madagascariensis*

III.2 ESTUDIO DE LA FRACCIÓN SOLUBLE-3

La fracción Sol-3 se sometió a una cromatografía inicial sobre gel de sílice, que permitió separar ocho fracciones según se indica en el **Esquema 2**.



Esquema 2. Fracciones cromatográficas obtenidas de la fracción soluble-3 de *Rh. madagascariensis*

El estudio de las nuevas fracciones se abordó bien mediante cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas, o bien por cromatografía en columna sobre gel de sílice. En este último caso se repitió tantas veces como fue necesario, incrementando la cantidad de soporte y

ajustando las proporciones de los eluyentes; incluso se llevaron a cabo cristalizaciones para purificar los compuestos, o se utilizó cromatografía de líquidos de alta presión.

Con el fin de facilitar la discusión, los compuestos se han etiquetado con letras mayúsculas, y en algún caso con una letra mayúscula seguida de minúsculas (iniciales de nombres), que hacen referencia al tipo estructural. Así por ejemplo, **AG** = ácido graso, **Ar** = compuesto aromático, **Di**= diterpenoide, **Est**= esterol, **Mo**= monoterpenoide, **Q**= quinona, **Sq**= sesquiterpenoide, **Tr**= triterpenoide; seguido de un número en orden creciente que hace referencia al orden de elución en la columna.

III.2.A ESTUDIO MEDIANTE CROMATOGRAFÍA DE GASES Y ESPECTROMETRÍA DE MASAS (CG-EM)

Las fracciones **A-1**, **B-1**, **B-6**, **B-7**, **S(A-3)**, **C-4**, **C-5**, **D-2**, **D-4**, **A-5**, **F-2**, **H-2**, **H-3**, y **H-5**, todas ellas de naturaleza oleosa excepto la **S(A-3)** que es de naturaleza sólida, fueron estudiadas mediante Cromatografía de Gases-Espectrometría de Masas (CG-EM), utilizando columnas capilares y en condiciones adecuadas de flujo portador y temperatura, con el fin de optimizar la resolución. La naturaleza de las columnas utilizadas y las condiciones de experimentación se describen en la Parte Experimental-Fitoquímica, dentro del apartado Técnicas Generales-Instrumentación (Espectros de Gases-Masas).

Este estudio permitió verificar la presencia en la planta estudiada de monoterpenoides, sesquiterpenoides, diterpenoides, triterpenoides, esteroides, y ácidos grasos.

La identificación de estas sustancias se llevó a cabo mediante el estudio de sus espectros de masas y por la comparación de éstos con los existentes en las bases de Datos: Wiley 275.1, y W9N08 disponibles en el aparato de CG-EM, y en los diccionarios de compuestos orgánicos, escritos por Buckingham, J. y col. "*Dictionary of Organic Compounds, 7 vol. 5th ed. 1982*. Publicado por Chapman and Hall. 733, Third Avenue, New York, NY 10017", y en los diccionarios de terpenoides escritos por Connolly, J. D. y Hill, R. A. "*Dictionary of Terpenoides, 3 vol.1st ed. 1991*. Publicado por Chapman and Hall. 2-6 Boundary Row, London SE1 8HN.

A continuación se muestran los cromatogramas de cada una de las fracciones y su análisis. Mediante esta técnica, se han podido identificar con una fiabilidad igual o superior al 90% diversos metabolitos secundarios cuyos espectros de masas aparecen recogidos en el Anexo de Espectros de masas identificados por CG-EM.

El estudio del cromatograma de la fracción **A-1** (**Fig. 4**) permitió identificar 6 compuestos (5 sesquiterpenos y 1 diterpeno), con fiabilidad superior o igual a 90%, cuyas estructuras aparecen

en la **Tabla 2**, junto con su porcentaje en la fracción. Las condiciones de experimentación son las que se encuentran recogidas en el apartado Parte Experimental Fitoquímica.

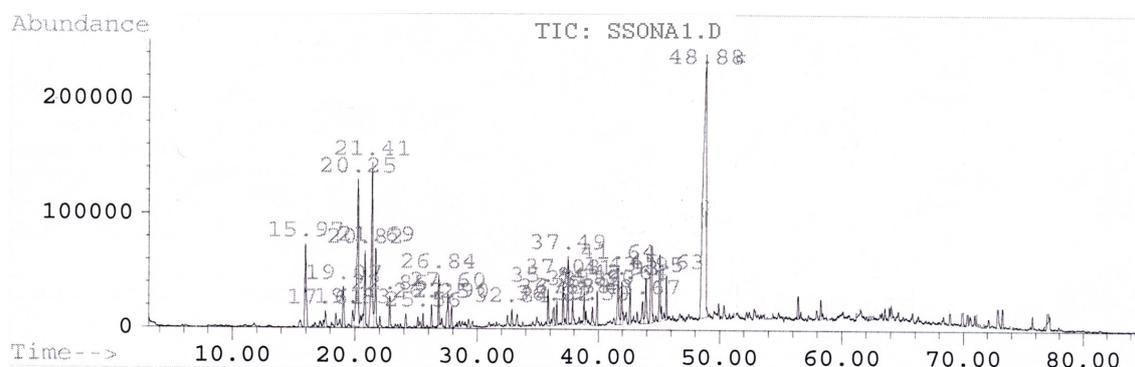


Figura 4. Cromatograma de la fracción A-1

Tabla 2: Compuestos mayoritarios de la fracción A-1 identificados por CG-EM

Tiempo de Retención (min.)	%	Compuesto	M ⁺ m/z	Estructura
15,97	7,8	α -Copaeno (Sq-1)	204	
20,25	13,9	Valenceno (Sq-2)	204	
21,41	17,4	β -Bisaboleno (Sq-3)	204	
21,69	2,0	δ -Cadineno (Sq-4)	204	
26,57	2,7	α -Gurjuneno (Sq-5)	204	
37,49	6,1	Traquilobano (Di-1)	272	

% Rel. en la fracción estudiada

El pico con tiempo de retención (T_R) a 48,88 min corresponde a un compuesto lineal, nonadecano (M^+ , $m/z=324$) es el más abundante y representa el 30,1% del total de la fracción.

Mediante el estudio del cromatograma de la fracción **B-1** (**Fig. 5**) se identificaron tres compuestos, cuyas estructuras y porcentajes en peso aparecen recogidos en la **Tabla 3**. Con una fiabilidad igual o superior al 90%. Así, se identificaron dos sesquiterpenos, cadaleno y δ -guaieno; y un cromeno, la evodiona. El pico mayoritario del cromatograma a 35,82 min de $M^+ m/z = 278$ corresponde a ftalatos.

Las condiciones de experimentación en este caso fueron diferentes a los anteriores según se indica en el apartado “Parte Experimental-Fitoquímica (Cristalización y Cromatografía B).

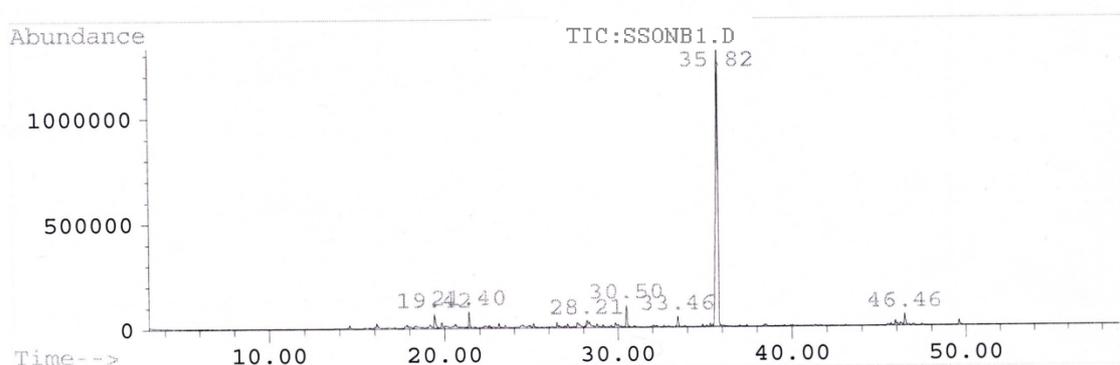


Figura 5. Cromatograma de la fracción B-1

Tabla 3: Compuestos mayoritarios de la fracción B-1 identificados por CG-EM

Tiempo de Retención (min.)	%	Compuesto	$M^+ m/z$	Estructura
19,42	3,0	Cadaleno (Sq-6)	198	
21,39	2,0	δ -Guaieno (Sq-7)	204	
30,50	4,0	Evodiona (Cro-1)	292	

% Rel. en la fracción estudiada

El estudio del cromatograma de **B-6** (**Fig. 6**) permitió identificar otros cuatro sesquiterpenoides: viridiflorol, α -cubebeno; calareno, (+)-aromadendreno, como compuestos

mayoritarios de la fracción, con una fiabilidad superior o igual a 85%. Sus estructuras y porcentajes en peso aparecen recogidos en la **Tabla 4**.

Las condiciones de experimentación fueron idénticas a las aplicadas en el estudio de la fracción **B-1**.

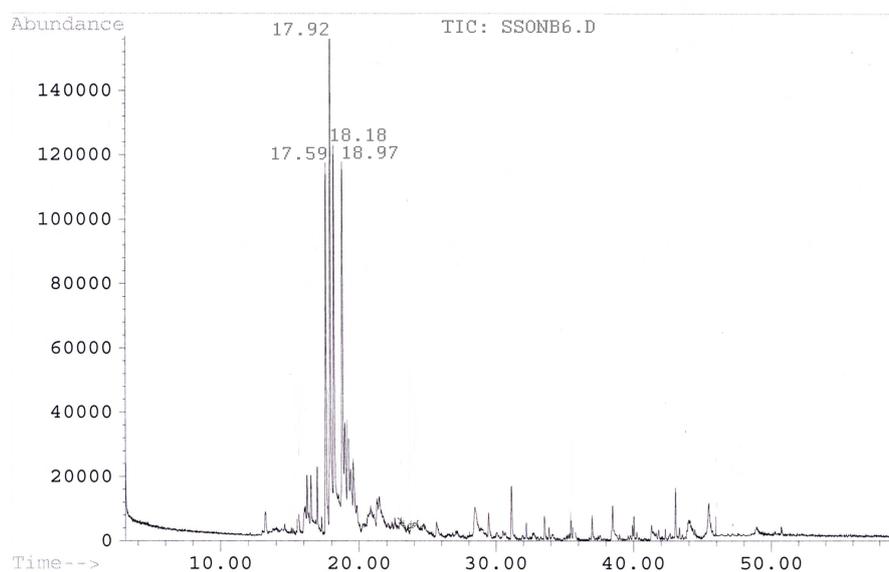
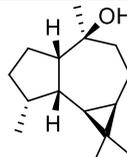
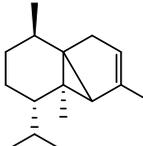
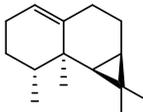
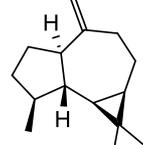


Figura 6. Cromatograma de la fracción B-6

Tabla 4: Compuestos mayoritarios de la fracción B-6 identificados por CG-EM

Tiempo de Retención (min.)	%	Compuesto	M ⁺ m/z	Estructura
17,59	15,4	Viridiflorol (Sq-8)	222	
17,92	18,5	α-Cubebeno (Sq-9)	204	
18,18	15,6	Calareno (Sq-10)	204	
18,97	15,4	(+)-Aromadendreno (Sq-11)	204	

% Rel. en la fracción estudiada

Mediante el estudio del cromatograma de **B-7** (**Fig. 7**) se identificaron cinco ácidos grasos: ácido palmítico (16,8%), ácido margárico (3,5%), ácido oleico (49,2%), ácido esteárico (19,1%), y

ácido araquídico (9,7%) como compuestos mayoritarios de la fracción, con fiabilidad superior o igual a 86%. Sus estructuras y porcentajes aparecen recogidos en la **Tabla 5**.

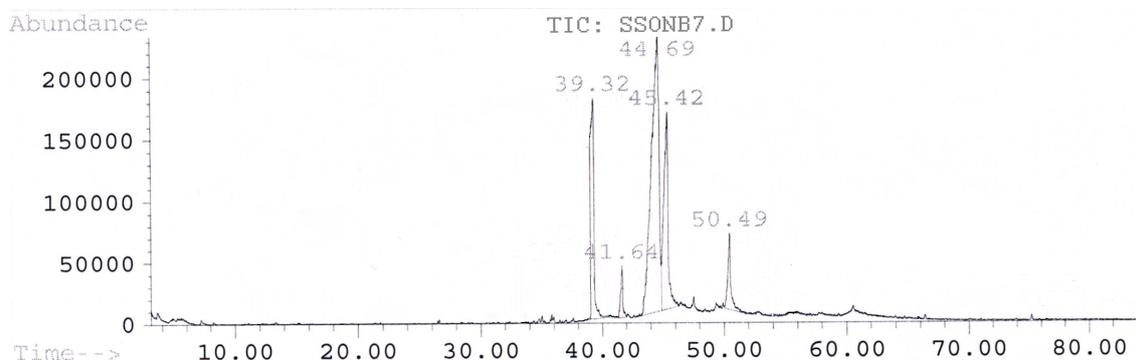


Figura 7. Cromatograma de la fracción B-7

Tabla 5: Compuestos mayoritarios de la fracción B-7 identificados por CG-EM

Tiempo de Retención (min.)	%	Compuesto	M ⁺ m/z	Estructura
39,32	16,8	Ácido palmítico (AG-1)	256	
41,64	3,5	Ácido margárico (AG-2)	270	
44,69	49,2	Ácido oleico (AG-3)	282	
45,42	19,1	Ácido esteárico (AG-4)	284	
50,49	9,7	Ácido araquídico (AG-5)	312	

% Rel. en la fracción estudiada

La fracción A-3 (437 mg) se disolvió en una mezcla de éter/metanol precipitando un sólido (85 mg) denominado (**S-A3**) de color blanco amarillento que fue estudiado posteriormente mediante CG-EM (**Fig. 8**), mostrando la existencia de mezclas de esteroides como compuestos mayoritarios, con fiabilidad superior o igual a 90%. Sus estructuras y porcentajes aparecen recogidos en la **Tabla 6**. Los esteroides predominantes en esta fracción fueron el estigmasta-5,23*E*-dien-3β-ol (44,6%), y el clionasterol (46,8%).

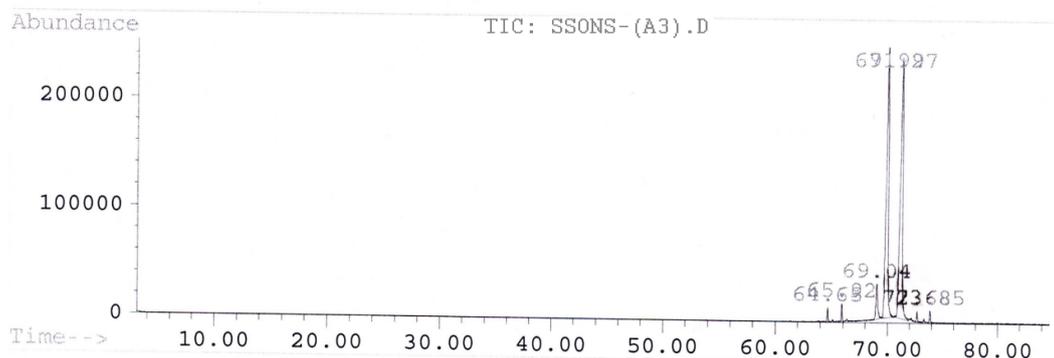


Figura 8. Cromatograma de (S-A3)

Tabla 6: Compuestos mayoritarios de los sólidos (S-A-3) identificados por CG-EM

Tiempo de Retención (min.)	%	Compuesto	M ⁺ m/z	Estructura
69,04	4,7	δ^5 -Ergosterol (Est-1)	400	
69,99	44,6	Estigmasta-5,23E-dien-3 β -ol (Est-2)	412	
71,27	46,8	Clionasterol (Est-3)	414	

% Rel. en la fracción estudiada

Mediante el estudio del cromatograma de la fracción **C-4** (**Fig. 9**) se identificaron dos esteroides como compuestos mayoritarios (fiabilidad superior o igual a 93%), con predominancia del clionasterol (**Est-3**) en un 41,0%, además de un nuevo esteroide, el estigmasta-5,22E-dien-3 β -ol (**Est-4**) en un 21,0%, según se indica en la **Tabla 7**.

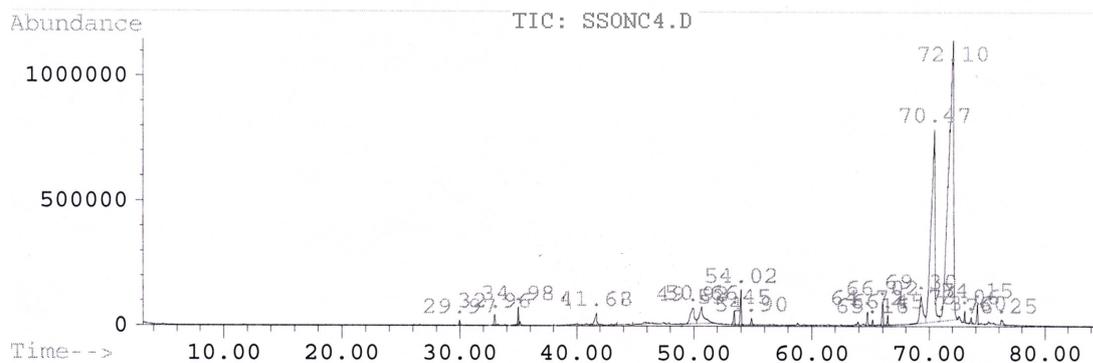
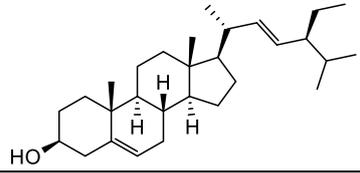
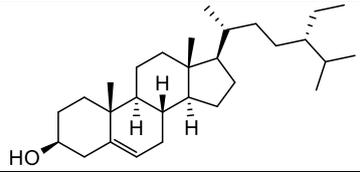


Figura 9. Cromatograma de la fracción C-4

Tabla 7: Compuestos mayoritarios de la fracción C-4 identificados por CG-EM

Tiempo de Retención (min.)	%	Compuesto	M ⁺ m/z	Estructura
70,47	43,0	Estigmasta-5,22E-dien-3β-ol (Est-4)	412	
72,10	49,0	Clionasterol (Est-3)	414	

% Rel. en la fracción estudiada

Del estudio del cromatograma de la fracción C-5 (Fig. 10) se deduce la presencia de ácidos grasos (AG) como compuestos mayoritarios de la fracción con fiabilidad superior o igual a 90%. Además del ac. palmítico (AG-1) y ac. oleico (AG-3), se identificó el ácido linoléico (AG-6), que es el componente mayoritario de la fracción con un 45,0%, según se indica en la Tabla 8.

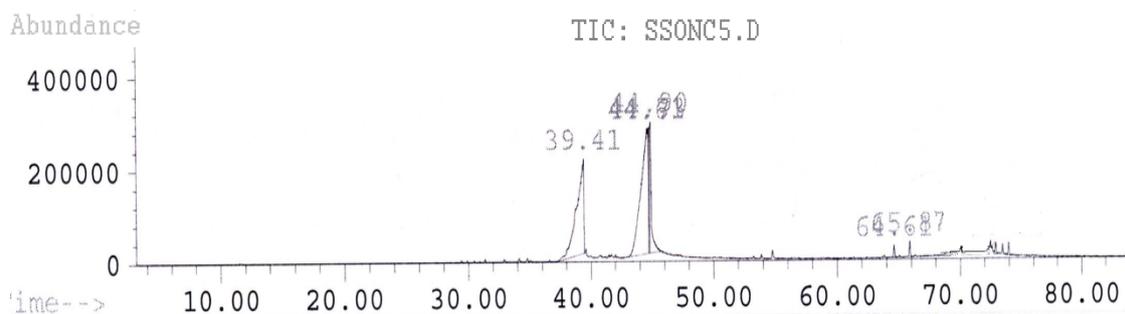
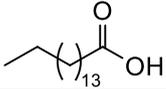
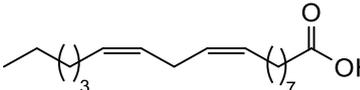
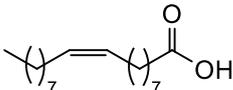


Figura 10. Cromatograma de la fracción C-5

Tabla 8: Compuestos mayoritarios identificados de la fracción C-5 por CG-EM

Tiempo de Retención (min)	%	Compuesto	M ⁺ m/z	Estructura
39,41	40,0	Ácido palmítico (AG-1)	256	
44,73	45,0	Ácido linoléico (AG-6)	280	
44,90	10,0	Ácido oleico (AG-3)	282	

% Rel. en la fracción estudiada

Del análisis del cromatograma de la fracción **D-2** (**Fig. 11**) se deduce la presencia de esteroides (**Est**) como compuestos mayoritarios con una fiabilidad superior o igual a 87%. Además de estigmasta-5,22*E*-dien-3 β -ol (**Est-4**) y clionasterol (**Est-3**) ya mencionados anteriormente, se identificó otro esteroide, el ergosterol (**Est-5**) que representa un 5,0% del total de esta fracción (**Tabla 9**).

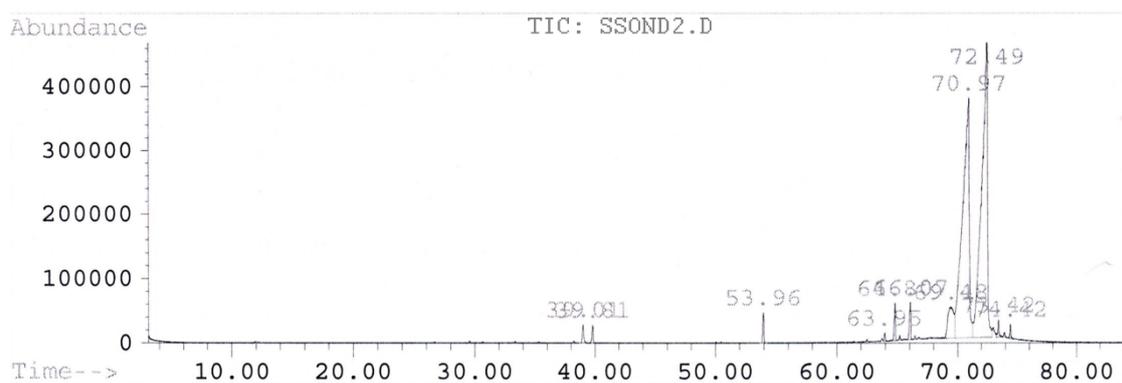


Figura 11. Cromatograma de la fracción D-2

Tabla 9: Compuestos mayoritarios identificados de la fracción D-2 por CG-EM

Tiempo de Retención (min)	%	Compuesto	M ⁺ m/z	Estructura
69,48	5,0	Ergosterol (Est-5)	382	
70,97	43,6	Estigmasta-5,22 <i>E</i> -dien-3 β -ol (Est-4)	412	
72,49	45,4	Clionasterol (Est-3)	414	

% Rel. en la fracción estudiada

Del estudio de las fracciones **D-4**, **A-5**, **F-2** se deduce la presencia de los mismos compuestos presentes en la fracción **C-5**, pero en proporciones diferentes. A continuación, se indica las proporciones en cada fracción.

- En **D-4**: ácido palmítico (**AG-1**; 54,0%), ácido linoléico (**AG-6**; 3,0%), ácido oleico (**AG-3**; 38,0%).

- En **A-5**: ácido palmítico (**AG-1**; 19,0%); ácido linoléico (**AG-6**; 46,0%).
- En **F-2**: ácido palmítico (**AG-1**; 85,0%).

El estudio del cromatograma de la fracción **H-2** (**Fig. 12**) permitió identificar un compuesto aromático (**Ar-1**), el 3,4,5-trimetoxibenzaldehído, con una fiabilidad del 96%, cuya estructura y porcentaje se indica en la **Tabla 10**. El pico con tiempo de retención igual a 53,96 min corresponde a un ftalato ($M^+ m/z = 278$) con fiabilidad superior a 90%.

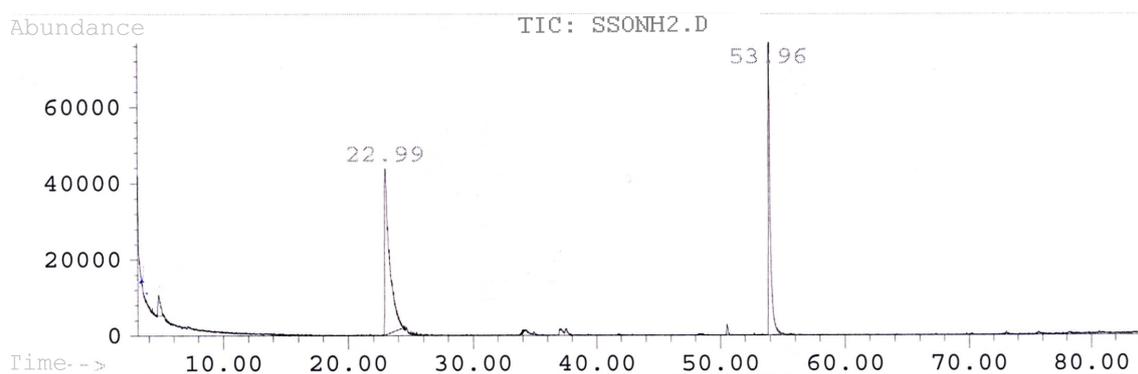
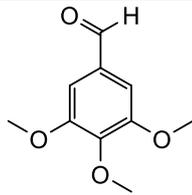


Figura 12. Cromatograma de la fracción H-2

Tabla 10: Compuestos mayoritarios identificados de la fracción H-2 por CG-EM

Tiempo de Retención (min)	%	Compuesto	$M^+ m/z$	Estructura
22,99	54,5	3,4,5-Trimetoxibenzaldehído (Ar-1)	196	

% Rel. en la fracción estudiada

El estudio del cromatograma de la fracción **H-3** (**Fig. 13**) permitió identificar, además de los ácidos grasos **AG-1**, **AG-6**, **AG-3**, **AG-4** ya indicados, otro compuesto aromático, la vainillina (**Ar-2**) que representaba el 3% de la fracción. Sus estructuras y porcentajes se indican en la **Tabla 11**.

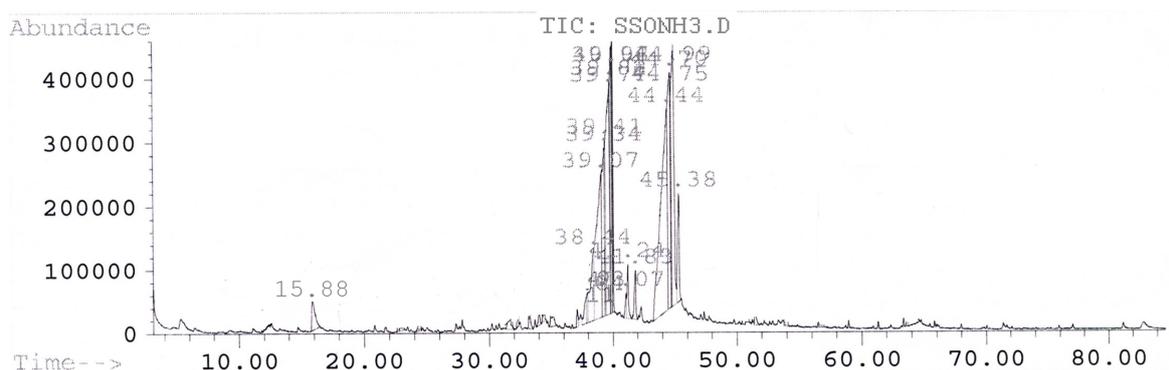


Figura 13. Cromatograma de la fracción H-3

Tabla 11: Compuestos mayoritarios identificados de la fracción H-3 por CG-EM

Tiempo de Retención (min)	%	Compuesto	M ⁺ m/z	Estructura
15,88	3,0	Vainillina (Ar-2)	152	
39,41	10,0	Ácido palmítico (AG-1)	256	
44,75	18,5	Ácido linoléico (AG-6)	280	
44,90	17,0	Ácido oleico (AG-3)	282	
45,38	8,5	Ácido esteárico (AG-4)	284	

% Rel. en la fracción estudiada

El estudio del cromatograma de la fracción **H-5** (Fig. 14), permitió identificar un monoterpenoide y varios sesquiterpenoides, según se indica en la **Tabla 12** con una fiabilidad superior o igual a 90%.

Desafortunadamente, no se aportan en el **anexo de** los espectros de masas los espectros de estos compuestos, porque se dañó el archivo en la fecha de impresión de los mismos, sin embargo, sí fueron analizados y estudiados en la pantalla del equipo de masas en la fecha de inyección en el equipo y realización de la CG-EM.

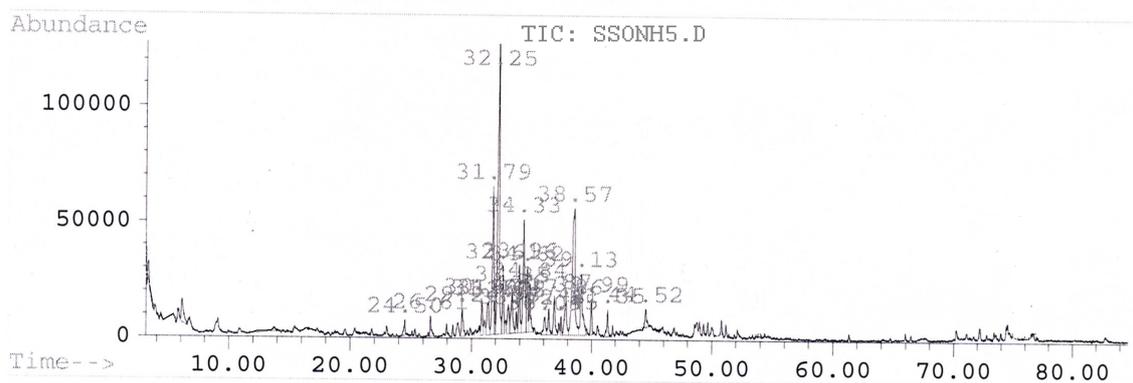


Figura 14. Cromatograma de la fracción H-5

Tabla 12: Compuestos mayoritarios de los sólidos H-5 identificados por CG-EM

Tiempo de Retención (min.)	%	Compuesto	M ⁺ m/z	Estructura
32,25	35,0	α -Terpineol (Mo-1)	154	
32,61	2,0	Cedrol (Sq-12)	222	
33,04	3,0	Epoxi-aromadendreno (Sq-13)	220	
34,62	4,0	α -Bisabolol (Sq-14)	222	

% Rel. en la fracción estudiada

III.2.B COMPUESTOS AISLADOS DE LA FRACCIÓN SOL-3

Compuesto Q-1

El compuesto **Q-1** se aisló de la fracción **A-2** cristales y de la fracción **B-4** en forma de polvo de color verde azulado y fue recrystalizado en éter/MeOH, separándose unos cristales verde-azulados de punto de fusión 187-188 °C.

Su espectro de infrarrojo mostró bandas de absorción a 1668 y 1650 cm^{-1} de carbonilos conjugados, bandas a 1596, 1549, 767, 707, y 668 cm^{-1} de enlaces sp^2 de anillos aromáticos, junto con bandas a 1278 y 1247 cm^{-1} de enlace C-O y 1394, 1345 cm^{-1} de *gem*-dimetilo. Su espectro de masas de alta resolución presentaba un ión molecular $[\text{M}+\text{Na}]^+$ m/z a 471,1619 coincidente con la fórmula $\text{C}_{30}\text{H}_{24}\text{O}_4\text{Na}$, que indicaba la existencia de diecinueve insaturaciones y ciclos.

El espectro de RMN ^{13}C a 100 MHz mostraba 30 señales, cuatro correspondientes a grupos metilo a 18,93; 25,37; 26,00 y 28,66 ppm, doce metinos, uno de ellos unido a oxígeno a 67,79 ppm y el resto de metinos sp^2 a 117,46; 122,26; 123,07; 123,90; 125,17; 125,91; 126,38; 126,69; 128,04 y 133,56 ppm (esta última correspondiente a dos carbonos) y catorce de carbonos no protonados, uno de carbono oxigenado sp^3 a 75,75 ppm, y el resto sp^2 a 111,23; 112,67; 125,70; 127,60; 131,90; 133,07; 135,64; 136,48; 141,93 ppm, junto a dos carbonos unidos a oxígeno sobre anillos aromáticos (C-O) a 143,46; 147,96 ppm, y dos carbonos carbonilos a 182,23 y 183,51 ppm.

Su espectro de RMN ^1H a 400 MHz muestra señales correspondientes a ocho protones aromáticos. Los de las señales más desapantalladas (a 8,21; 8,17 ppm) resuenan como dobletes con constantes de acoplamiento de 8,3 y 8,4 Hz respectivamente; los dos siguientes (8,14 y 8,10 ppm) resuenan como multipletes; otros dos protones aromáticos a 7,74 ppm resuenan como multipletes, y finalmente, otros dos a 7,55 y a 7,47 ppm resuenan con sendos dobles dobletes con constantes de acoplamientos de $J_1= 8,3$ Hz; $J_2= 8,0$ Hz y $J_1= 8,4$ Hz; $J_2= 8,0$ Hz respectivamente. Adicionalmente se pueden apreciar otras cuatro señales a 6,42; 6,16; 5,59; y 5,45 ppm, con constantes de acoplamientos 9,2; 9,6; 9,6 Hz y la última $J_1= 9,2$ Hz; $J_2= 1,3$ Hz. Finalmente, en el espectro se observan otras cuatro señales de protones metílicos que resuenan como singletes a 2,05; 1,66; 1,64 y 1,60 ppm.

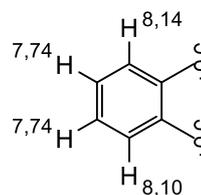
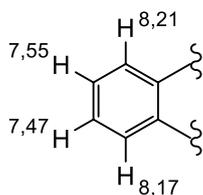
Se realizaron experimentos bidimensionales de correlación mononuclear ^1H - ^1H (COSY) y heteronuclear ^1H - ^{13}C a uno (HMQC) y a varios enlaces (HMBC).

Del experimento HMQC se establecieron las correlaciones entre cada carbono y su protón o protones que aparecen reflejados en la **Tabla 13**.

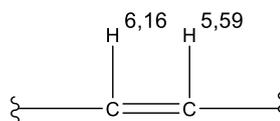
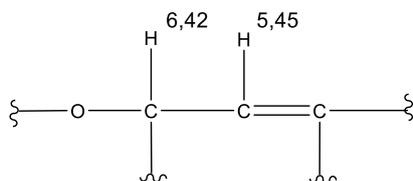
Tabla 13. Correlaciones ^{13}C - ^1H a un enlace para el compuesto Q-1 (HMQC)

HMQC		
Tipo	RMN ^{13}C en δ ppm	RMN ^1H en δ ppm
CH	133,56 (2)	7,74 (2)
CH	128,04	7,55
CH	126,69	8,14
CH	126,38	7,47
CH	125,91	8,10
CH	125,17	5,59
CH	123,90	6,16
CH	123,07	8,17
CH	122,26	8,21
CH	117,46	5,45
CH	67,79	6,42
CH ₃	28,66	1,66
CH ₃	26,00	1,60
CH ₃	25,37	1,64
CH ₃	18,93	2,05

El experimento COSY permitió establecer las conexiones entre los protones vecinales. Así, los protones aromáticos a 8,21 y 8,17 ppm correlacionaban con los protones a 7,55 y 7,47 ppm, respectivamente y los dos últimos entre sí. Los protones a 8,14 y 8,10 ppm correlacionaban los protones a 7,74 ppm.



Además se establecieron las conexiones entre el metino oxigenado a 6,42 ppm y el protón olefínico a 5,45 ppm; y entre los protones olefínicos a 6,16 y 5,59 ppm.



La determinación de los fragmentos de la figura unidos a los datos de desplazamiento de dos carbonilos a 183,51 y 182,23 ppm en su espectro de RMN ^{13}C nos permitió detectar la existencia de 12 insaturaciones y ciclos quedando asignado un fragmento $\text{C}_{18}\text{H}_{12}\text{O}_3$ faltando aún por definir el fragmento $\text{C}_{12}\text{H}_{12}\text{O}$ y siete insaturaciones.

Tabla 14. Correlaciones ^{13}C - ^1H a dos o a varios enlaces para el compuesto Q-1 (HMBC)

Tipo	RMN ^{13}C en δ ppm	HMBC ^1H en δ ppm(n° enlace)
C	143,46	8,21 (3); 6,16 (3)
C	112,67	5,59 (3)
C	11,23	6,16 (3)
C	147,96	8,17 (3); 6,42 (3)
CH	123,07	7,55 (3)
CH	126,38	8,21 (3)
CH	128,04	8,17 (3)
CH	122,26	7,47 (3)
C	127,60	8,17 (3)
C	125,70	7,47 (3)
CH	123,90	1,66 (4); 1,64 (4)
CH	125,17	1,66 (3); 1,64 (3)
C	75,75	6,16 (3); 5,59 (2); 1,66 (2); 1,64 (2)
CH ₃	25,37	1,66 (3)
CH ₃	28,66	5,59 (3); 1,64 (3)
C	182,23	6,42 (3)
C	136,48	6,42 (2)
C	135,64	-
C	183,51	8,14 (3)
CH	126,69	-
CH	133,56	8,10 (3)
CH	133,56	8,14 (3)
CH	125,91	7,74 (2 y 3)
C	133,07	8,14 (3)
C	131,90	8,10 (3)
CH	67,79	-
CH	117,46	6,42 (2); 2,05 (3); 1,60 (3)
C	141,93	6,42 (3); 2,05 (2); 1,60(2)
CH ₃	26,00	5,45 (3); 2,05 (3)
CH ₃	18,93	5,45 (3)

El experimento HMBC (**Tabla 14**) permitió establecer las conexiones entre las señales correspondientes a los protones a 8,17 y 8,21 ppm con los carbonos a 147,96 y 143,46 ppm, respectivamente. A su vez el protón a 6,42 ppm presentaba correlaciones con el carbonilo a 182,23 ppm, el carbono oxigenado a 147,96 ppm, el carbono olefinico no protonado a 141,93 ppm, el carbono a 136,48 ppm, y el carbono metínico a 117,46 ppm. Como ya se ha indicado,

en el experimento COSY se establecía la correlación entre la señal del protón a 6,42 ppm y el protón olefínico a 5,45 ppm, el cual resonaba en RMN ^{13}C a 117,46 ppm. Los metilos a 2,05 y 1,60 ppm correlacionaban con los carbonos a 141,93 ppm y 117,46 ppm, por lo que se puede establecer el fragmento representado en la **Figura 15**.

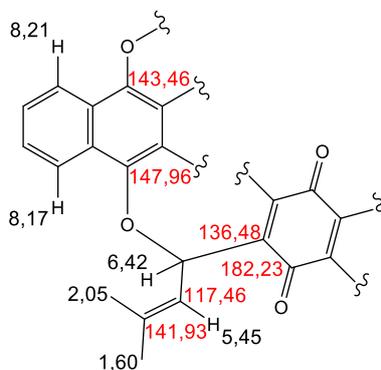


Figura 15

Por otro lado, del estudio del experimento COSY, se deduce que los protones olefínicos a 6,16 y 5,59 ppm correlacionan entre sí. Además, el primero correlaciona a larga distancia con tres carbonos cuaternarios, dos de ellos oxigenados a 143,46 ppm y 75,75 ppm y otro a 111,23 ppm. El segundo protón muestra correlaciones a larga distancia con los carbonos no protonados a 112,67 y 75,75 ppm y con el carbono metílico a 28,66 ppm, que en protón resuena a 1,66 ppm. A su vez, los metilos a 1,66 ppm y 1,64 ppm muestran correlaciones con el carbono a 75,75 ppm y el carbono metínico a 125,17 ppm. De estos datos se deduce la localización de los 4 oxígenos que presenta la molécula, sin embargo, existen dos posibilidades de unión al carbono oxigenado a 143,46 ppm que aparecen representadas en la **Figura 16**. En la opción **I**, el protón a 6,16 ppm quedaría a cuatro enlaces del carbono a 143,46 ppm, mientras que la opción **II** quedaría a tres enlaces; así mismo en la opción **I** los metilos a 1,66 ppm y 1,64 ppm quedan a cuatro enlaces del carbono a 125,17 ppm, mientras que en la opción **II** quedan a tres enlaces, por lo que parece más probable la opción representada en **II**.

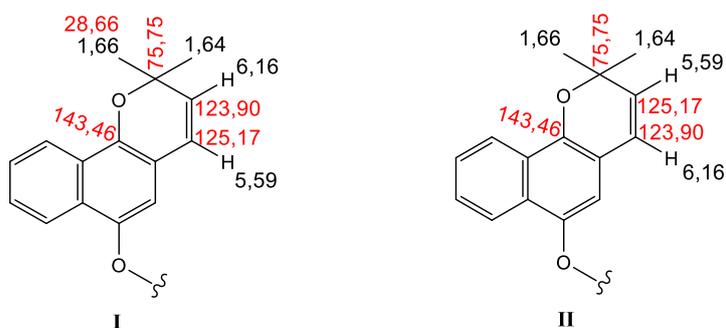


Figura 16

Por todo ello se deduce la presencia del fragmento **III** ($C_{26}H_{20}O_4$) en la molécula y quedaría por ubicar un fragmento de C_4H_4 de un anillo aromático y cuatro insaturaciones/ciclaciones. En el experimento HMBC se observaba una correlación entre el carbono a 183,51 ppm y el protón aromático a 8,14 ppm, por lo que debe de tratarse de un fragmento naftoquinónico, y la estructura para esta sustancia corresponderá a dos unidades de $C_{15}H_{12}O_2$ como la indicada en **IV**, que presenta 18 insaturaciones y ciclos, quedando por tanto una más por establecer; lo que indicaría que los extremos **a/a'** estarían unidos para dar un anillo de seis eslabones, según se indica la estructura **V** (Figura 17).

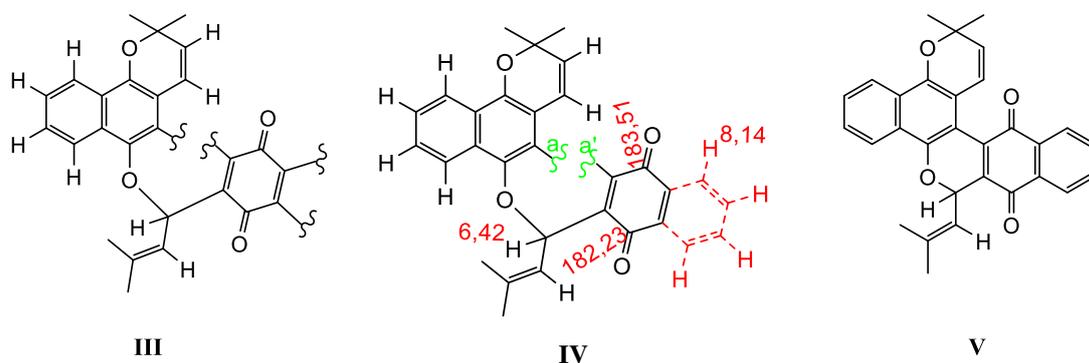


Figura 17

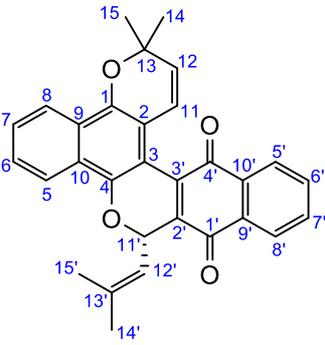
Consultada la bibliografía no se ha encontrado ningún trabajo sobre estudios fitoquímicos del género *Rhigozum*. En una revisión bibliográfica sobre la presencia de naftoquinonas en la familia de Bignoniaceae, se encontraron siete referencias correspondientes a estudios fitoquímicos realizados sobre *Tecoma pentaphylla* y *T. undulada*; *Tabebuia pentaphylla*, *T. incana* y *T. rosea*; *Heterophragma adenophyllum* y *Kigelia pinnata*, donde se describía un compuesto denominado **Tecomaquinona I** de estructura idéntica a la discutida previamente y representada en **V**. Esta sustancia se aisló por primera vez del extracto bencénico de la corteza de *Tecomella pentaphylla*⁵⁰, junto a otro muy próximo estructuralmente denominado **Tecomaquinona II**. En otro estudio llevado a cabo por Sharma *et al.*⁵¹ en 1988 se describió otro análogo denominado **Tecomaquinona III** que fue, también aislado de *Tabebuia rosea* en el año 2008 por Khandelwal *et al.*⁵².

⁵⁰ Rohatgi, B. K.; Gupta, R. B.; Roy, D.; Khanna, R. N. *Indian J Chem, Sect B.* **1983**, 22B, 886-9

⁵¹ Sharma, P. K.; Khanna, R. N.; Rohatgi, B. K.; Thomson, R. H. *Phytochemistry.* **1988**, 27, 632-3

⁵² Khandelwal, P.; Singh, P. *J Indian Chem Soc.* **2008**, 85, 310-312

Tabla 15. Datos RMN ^1H y RMN ^{13}C de Tecomaquinona I encontrados en la literatura⁵³ y experimentales de Q-1

					
CARBONO		LITERATURA ⁵³		ENCONTRADOS	
Nº	Tipo	δ ppm (^{13}C)	δ ppm (^1H)	δ ppm (^{13}C)	δ ppm (^1H)
1	C	143,57	-	143,46	-
2	C	112,76	-	112,67	-
3	C	111,34	-	111,23	-
4	C	148,05	-	147,96	-
5	CH	123,14	8,15 (<i>d</i> , $J=8,3$ Hz)	123,07	8,17 (<i>d</i> , $J=8,4$ Hz)
6	CH	126,41	7,45 (<i>t</i> , $J=8,3$ Hz)	126,38	7,47 (<i>dd</i> , $J_1=8,4$ Hz, $J_2=8,0$ Hz)
7	CH	128,07	7,53 (<i>t</i> , $J=8,3$ Hz)	128,04	7,55 (<i>dd</i> , $J_1=8,3$ Hz, $J_2=8,0$ Hz)
8	CH	122,33	8,18 (<i>d</i> , $J=8,3$ Hz)	122,26	8,21 (<i>d</i> , $J=8,3$ Hz)
9	C	127,72	-	127,60	-
10	C	125,82	-	125,70	-
11	CH	123,97	6,13 (<i>d</i> , $J=9,6$ Hz)	123,90	6,16 (<i>d</i> , $J=9,6$ Hz)
12	CH	125,25	5,56 (<i>d</i> , $J=9,6$ Hz)	125,17	5,59 (<i>d</i> , $J=9,6$ Hz)
13	C	75,83	-	75,75	-
14	CH ₃	25,49	1,59 (<i>s</i>)	25,37	1,64 (<i>s</i>)
15	CH ₃	28,73	1,62 (<i>s</i>)	28,66	1,66 (<i>s</i>)
1'	C	183,53	-	182,23	-
2'	C	137,77	-	136,48	-
3'	C	136,60	-	135,64	-
4'	C	182,26	-	183,51	-
5'	CH	126,74	8,10 (<i>m</i>)	126,69	8,14 (<i>m</i>)
6'	CH	133,54	7,62 (<i>m</i>)	133,56	7,74 (<i>m</i>)
7'	CH	133,54	7,68 (<i>m</i>)	133,56	7,74 (<i>m</i>)
8'	CH	125,97	8,09 (<i>m</i>)	125,91	8,10 (<i>m</i>)
9'	C	133,23	-	133,07	-
10'	C	132,06	-	131,90	-
11'	CH	67,91	6,40 (<i>d</i> , $J=9,3$ Hz)	67,79	6,42 (<i>d</i> , $J=9,2$ Hz)
12'	CH	117,66	5,43 (<i>d</i> , $J=9,3$ Hz)	117,46	5,45 (<i>dq</i> , $J_1=9,2$ Hz, $J_2=1,3$ Hz)
13'	C	141,95	-	141,93	-
14'	CH ₃	26,01	1,55 (<i>s</i>)	26,00	1,60 (<i>s</i>)
15'	CH ₃	18,97	2,03 (<i>s</i>)	18,93	2,05 (<i>s</i>)

⁵³ Lemos, T. L. G.; Costa, S. M. O.; Pessoa, O. D. L.; Braz-Filho, R. *Magn Reson Chem.* **1999**, 37, 908-911

Tecomaquinona I también ha sido aislado de distintas especies de la familia Verbenaceae, como *Lippia microphylla*⁵⁴ y *L. sideoide*^{55,56} y de *Tectona grandis*^{57,58} perteneciente a la familia Lamiaceae. Su estructura, debido a su complejidad estructural fue revisada varias veces y finalmente corregida por Braz-Filho y col. en el 1999⁵³.

Los datos espectroscópicos aportados en la bibliografía⁵³ son totalmente coincidentes con los encontrados en este trabajo, diferenciándose solo en la asignación invertida de los desplazamientos en RMN ¹³C de los carbonilos cetónicos, y que ha podido ser corregida debido a la presencia de la correlación entre el protón a 6,42 ppm y el carbonilo a 182,23 ppm (**Tabla 15**).

La obtención de monocristales de color verde azulado y su posterior difracción ha permitido la corroboración de la estructura asignada previamente. Esta molécula cristaliza en el grupo espacial P21/c (centro simétrico) y los datos parecen indicar la coexistencia de ambos enantiómeros, quedando la estructura definida como la indicada en la **Figura 18**.

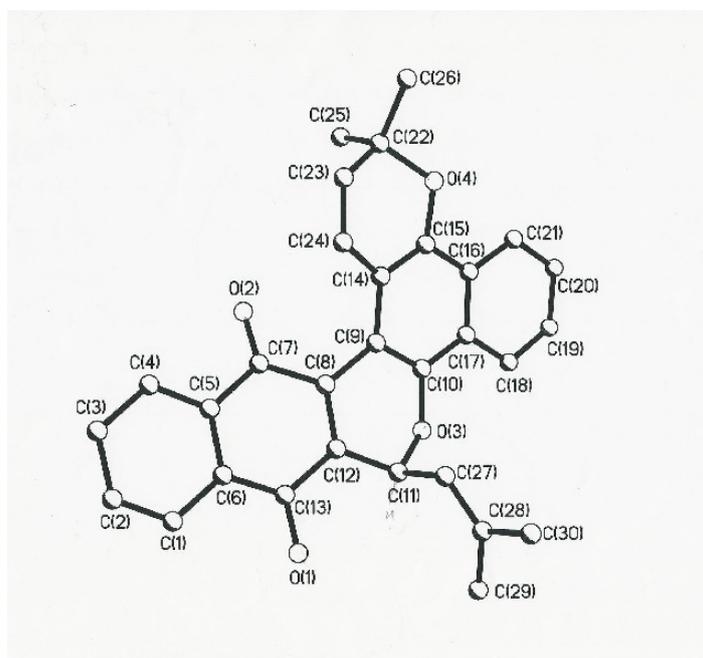


Figura 18. Difracción de Rayo X de Q-1

⁵⁴ Santos, H. S.; Costa, S. M. O.; Pessoa, O. D. L.; Moraes, M. O.; Pessoa, C.; Fortier, S.; Silveira, E. R.; Lemos, T. L. G. *Z Naturforsch., C: J Biosci.* **2003**, 58, 517-520

⁵⁵ de Almeida, M.; Cleane S.; Alves, L. A.; Souza, L. G. d. S.; Machado, L. L.; de Matos, M. C.; Conceicao, d. O.; Lemos, T. L. G.; Braz-Filho, R. *Quim Nova.* **2010**, 33, 1877-1881

⁵⁶ Costa, S. M. O.; Lemos, T. L. G.; Pessoa, O. D. L.; Pessoa, C.; Montenegro, R. C.; Braz-Filho, R. *J Nat Prod.* **2001**, 64, 792-795

⁵⁷ Singh, P.; Jain, S.; Bhargava, S. *Phytochemistry.* **1989**, 28, 1258-9

⁵⁸ Singh, P.; Pandey, D.; Mathur, J.; Singh, L. P. *J Indian Chem Soc.* **2008**, 85, 1060-1063

El espectro de UV-Vis en EtOH mostraba máximos de absorción a 264, 340, 417, y 582 nm. El poder rotatorio era coincidente con el encontrado en la literatura¹ a $[\alpha]_D^{20} = -15,2$ ($c = 1,05 \times 10^{-3}$ g/ml, CHCl_3).

Se ha realizado un estudio conformacional de la quinona **Q-1**, observándose que el fragmento de isopropenilo adopta una disposición ecuatorial, con un ángulo diedro entre el protón 11' y el 12' de aproximadamente 170° lo que está de acuerdo con la constante de acoplamiento encontrada de 9,3 Hz. Además el protón 12' y el metilo 14' se encuentran en el mismo plano, como indica el modelo de escisión del protón metínico 12', doble quartete, estableciendo un efecto *gamma-gauche*⁵⁹.

Queda de esta manera establecida la estructura como **Tecomaquinona I (Fig. 19)**, idéntica a la encontrada en la literatura⁵³.

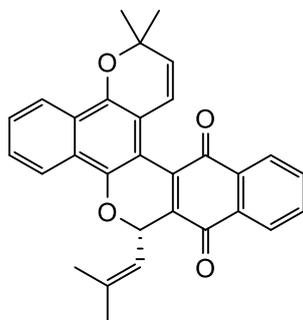


Figura 19. Tecomaquinona I (Q-1)

Compuesto Q-2

El compuesto **Q-2** se aisló de las aguas madre de la fracción **A-2** después de realizar varias cromatografías de columna (ver parte Experimental. Fitoquímica). Es un aceite viscoso de color verde oliva; muestra un ión molecular $[\text{M} + \text{Na}]^+$ a $m/z = 487,1507$ que corresponde con la fórmula molecular $\text{C}_{30}\text{H}_{24}\text{O}_5\text{Na}$, y por tanto posee un oxígeno más que la **Q-1** ya descrita y el mismo número de insaturaciones. Su espectro IR mostraba bandas de absorciones a 3500 cm^{-1} de O-H (anchas), 2925 y 2835 cm^{-1} de C-H, 1663 , 1625 de C=O y 1546 cm^{-1} de C=C, 1363 y 1320 de *gem*-dimetilo, 1247 cm^{-1} de C-O y a 1023 , 769 cm^{-1} bandas de flexión de C-H.

⁵⁹ Rahman, A. In *Nuclear Magnetic Resonance. Basic Principles* Chemical Shifts and Spin-Spin Coupling in ¹³C-NMR Spectroscopy. Springer-Verlag: New York, 1986; pp 143-144, 149.

Su espectro RMN ^1H (400MHz) muestra una gran semejanza con el de Tecomaquinona I (**Q-1**), observándose como diferencias más significativas, una señal de un protón que resuena como un singlete a 12,03 ppm, que debido a su desapantallamiento junto con la presencia de una banda de absorción a 3500 cm^{-1} en IR, indica que se trata de un grupo hidroxilo que se encontrará formando un enlace por puente de hidrógeno intermolecular con un grupo carbonilo. Entre 7,61-7,68 ppm se observaban dos señales de dos protones aromáticos y a 7,28 ppm coincidiendo con la señal correspondiente a los protones del cloroformo, aparece una señal, que según se observaba en el experimento de correlación homonuclear COSY (Ver anexo, **Tabla 20**) está asociada a la del protón a 7,61 ppm y esta última con la señal del protón a 7,68 ppm (**Fig. 20**).

El espectro de RMN ^{13}C (Ver anexo, tabla) del compuesto **Q-2** resulta también muy semejante al de Tecomaquinona I, pero se observa un desapantallamiento ($\sim 3\text{ ppm}$) de uno de los carbonilos. En su espectro de HMBC, se apreciaba una correlación entre este carbonilo y el protón a 6,39 ppm, por lo que ha de corresponder al carbono C-1'. El carbonilo a 182,88 ppm correlaciona con el protón a 7,68 ppm. En el experimento HMBC (Ver anexo, tabla) se observa una correlación entre la señal de un carbono no protonado a 160,96 ppm, que ha de ser del carbono que soporta el grupo hidroxilo, y los protones a 7,61 y 7,28 ppm.

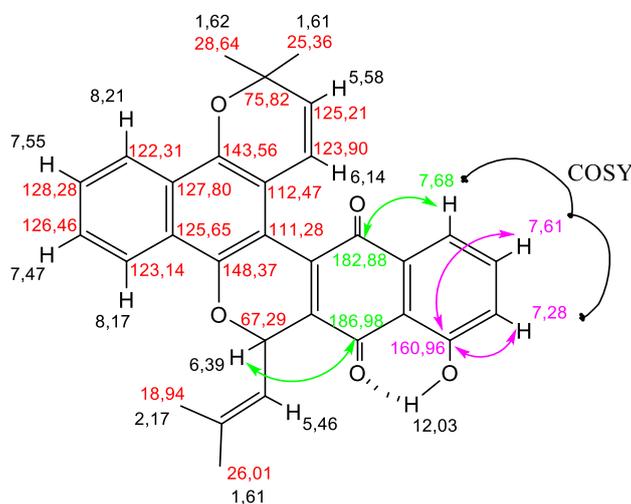


Figura 20. Señales del compuesto **Q-2** asignadas por comparación con el espectro de **Q-1** (en negro y rojo) y estudio de su HMBC (en verde y morado)

Se observaban además en el experimento HMBC correlaciones entre el protón a 7,61 ppm y el carbono no protonado a 133,09 ppm y entre el protón a 7,68 ppm y el carbono a 130,85 ppm, pudiendo asignar de forma inequívoca estas señales de carbono a C-10' y C-9', respectivamente. Además se aprecia una correlación entre la señal del protón a 6,39 ppm y la

del carbono a 136,66 ppm, que ha de ser del carbono C-2'. La señal del carbono C-3' parece corresponder con la señal a 135,97 ppm (**Fig. 21**)

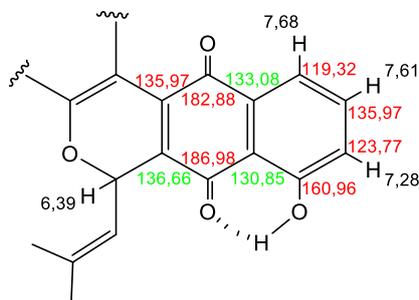


Figura 21

Por todos estos datos se identifica a **Q-2**, como **8'-hidroxitecomaquinona I (Fig. 22)**. Búsquedas bibliográficas llevadas a cabo sobre esta estructura no proporcionaron ningún resultado, siendo por tanto la primera vez que se describe esta sustancia.

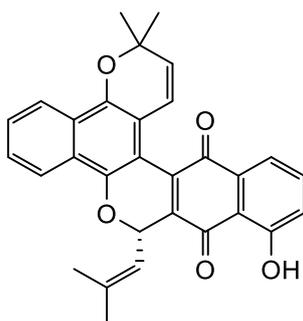


Figura 22. 8'-hidroxitecomaquinona I (Q-2)

Compuesto Q-16

La sustancia **Q-16** fue aislada de la fracción **A-7** mediante sucesivas cromatografías en columna, tal y como se describe en la parte Experimental en el apartado Fitoquímica.

Se aisló en forma de aceite viscoso de color verde-azulado, con una rotación específica $[\alpha]_D^{25} = -39,5^\circ$ ($c = 0,076$ mg/ml, CHCl_3). Su espectro de infrarrojo presentaba bandas características de anillos aromáticos (1596 , 1552 y 768 cm^{-1}), de carbonilos conjugados (1658 cm^{-1}), de hidroxilos (3433 y 1250 cm^{-1}) y de enlaces C-O (1130 y 1066 cm^{-1}). Su espectro de masas muestra un ión molecular $[\text{M}+\text{Na}]^+$ a m/z 489,1672 que corresponde con la fórmula molecular $\text{C}_{30}\text{H}_{26}\text{O}_5\text{Na}$, y por tanto presenta una molécula de agua adicional con respecto a la quinona **Q-1**.

Su espectro RMN ^1H (anexo) a 400MHz, es casi idéntico al de la quinona **Q-1**, pero con diferencias en los desplazamientos de las señales a 6,42; 5,45; 1,60 y 2,05 ppm que aparecen ahora a 6,16; 2,23 y 1,61; y 1,35 y 1,35 ppm, respectivamente. El espectro de RMN ^{13}C (anexo), de 100 MHz, también es muy semejante al de la quinona **Q-1**, observándose la desaparición de dos señales de carbonos olefinicos, una de metino a 117,46 ppm y otra de un carbono cuaternario a 141,93 ppm, apareciendo en su lugar una señal de un carbono metilénico a 41,95 ppm y otra de un carbono no protonado oxigenado a 70,43 ppm.

Esta información junto a la presencia de bandas de absorción en su espectro de IR a 3433 y 1250 cm^{-1} junto a la diferencia en su espectro de masas, indica la presencia de un grupo hidroxilo sobre el carbono C-13' de la quinona dimérica. El análisis del desplazamiento y modelo de escisión en RMN ^1H del metileno 12', como señales independientes centradas a 2,23 y 1,61 ppm, que resuenan como doblete de dobletes con constantes de acoplamiento $J_1 = 15,0$ Hz; $J_2 = 9,4$ Hz y $J_1 = 15,0$ Hz; $J_2 = 2,8$ Hz, respectivamente, indica la existencia de un puente de hidrógeno intramolecular entre el hidroxilo en C-13' y el oxígeno del carbonilo cetónico C-1'. Con el fin de verificar estos datos y determinar la disposición espacial de esta sustancia se realizó un análisis conformacional según se describe en la parte experimental, encontrándose dos conformaciones principales, una con la agrupación 2-metilpropan-2-ol en disposición axial (**Fig. 23-a**) y otra ecuatorial (**Fig. 23-b**), además de otros rotámeros en torno a esta agrupación para establecer un enlace por puente de hidrógeno con el carbonilo próximo desde distintas orientaciones que fueron optimizadas mediante Mecánica Cuántica a nivel DFT B3LYP/6-31+g. La conformación termodinámica más favorable corresponde a la que posee la agrupación en disposición axial, lo que se justifica ya que en esta disposición el enlace mediante puente de hidrógeno es más direccional formando un ángulo de 166,2° frente a los 154,4° que presenta en la disposición ecuatorial. Además, las constantes de acoplamiento teóricas en la conformación más estable, correspondientes a los protones de la cadena de 11,1 y 3,0 Hz están en concordancia con las constantes experimentales de 9,4 y 2,8 Hz y de 15,0 Hz. Esta última debido al acoplamiento geminal.

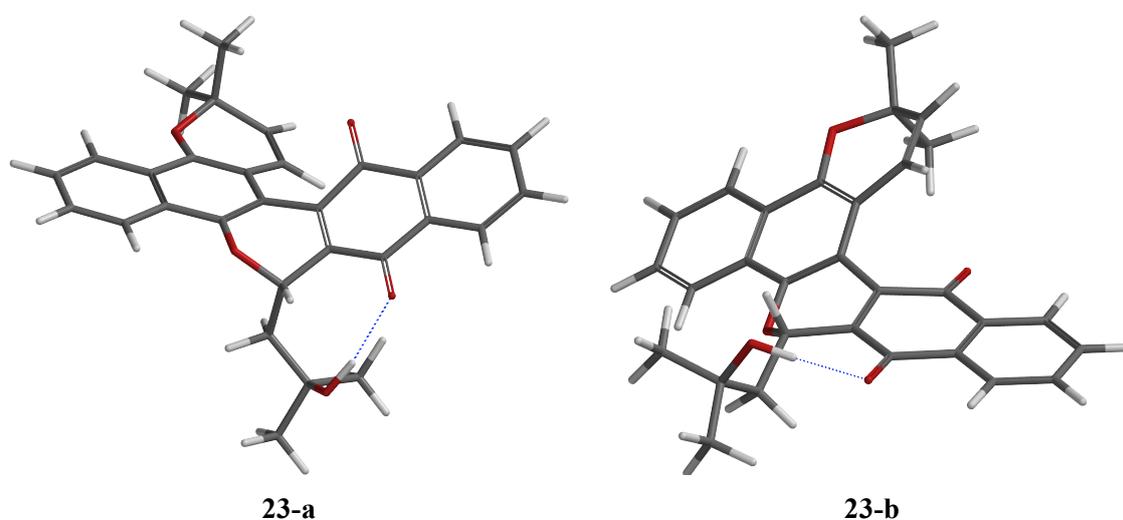


Figura 23. Análisis conformacionales de Q-16

Mediante una búsqueda bibliográfica de sustancias estructuralmente relacionadas con **Q-16** se ha encontrado una naftoquinona dimérica denominada **Tecomaquinona III** de fórmula molecular $C_{30}H_{26}O_5$ aislada de *Tabebuia pentaphylla*⁵¹ y *T. rosea*⁵², pero con diferente sistema de dimerización con respecto a **Q-16**. En la **Figura 24** se indican las diferencias espectroscópicas más significativas entre ambas moléculas, que explican claramente el diferente modelo de unión de ambos fragmentos naftoquinónicos. Los carbonos carbonílicos cetónicos en **Tecomaquinona III** aparecen a 178,18 y 185,80 ppm, frente a 183,09 y 181,98 ppm en **Q-16**, debido a la presencia del átomo de oxígeno en C-3' que produce un apantallamiento de 4,9 ppm en C-4' y un desapantallamiento de 3,82 ppm en C-1'.

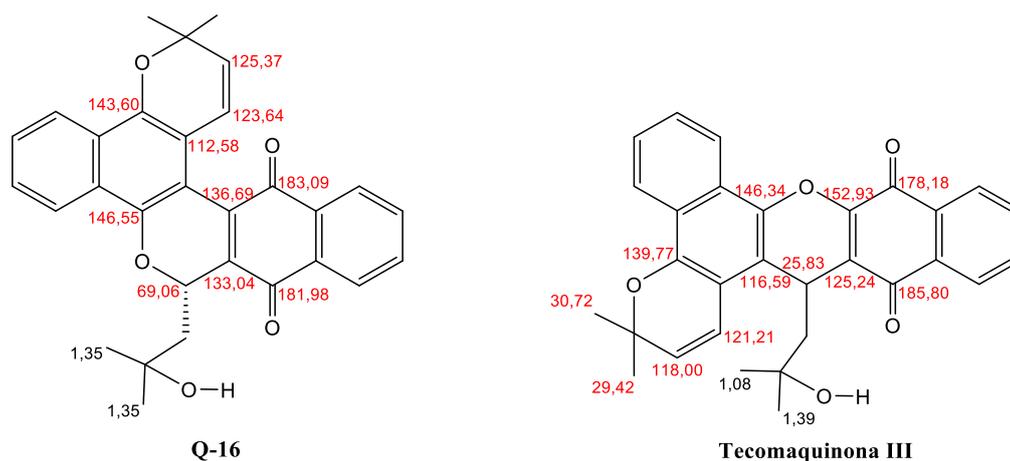


Figura 24. Diferencias espectroscópicas entre Q-16 y Tecomaquinona III

Con toda esta información se asigna para **Q-16** la estructura de **13'-hidroxi-12',13'-dihidrotecomaquinona I** (**Fig. 25**), y se trata de un nuevo producto natural.

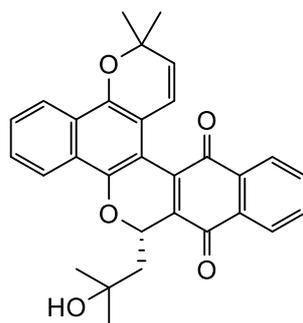


Figura 25. 13'-hidroxi-12',13'-dihidrotecomaquinona I (Q-16)

Compuesto Q-8

La quinona **Q-8** se aisló de la fracción **A-4** mediante sucesivas cromatografías de columna, y finalmente fue purificada por HPLC (Ver parte experimental. Fitoquímica).

Se aisló en forma de aceite viscoso de color rojo intenso. Su espectro de infrarrojo mostraba bandas de absorción a 3586 cm^{-1} (aguda) y 3380 cm^{-1} (ancha) características de grupo hidroxilo que se encuentra formando puentes de hidrógeno, a 1668 y 1660 cm^{-1} de carbonilos conjugados, bandas a 1596 , 1550 y 766 cm^{-1} de enlace sp^2 de anillos aromáticos, juntos con bandas a 1244 y 1156 cm^{-1} de enlaces C-O y 1430 , 1389 cm^{-1} de *gem*-dimetilo. Su espectro de masas de alta resolución mostraba un ión molecular a $503,1463$, coincidente con la fórmula $\text{C}_{30}\text{H}_{24}\text{O}_6\text{Na}$ que indicaba la existencia de diecinueve insaturaciones y ciclos.

Su espectro de RMN ^{13}C (150 MHz) es muy semejante al de la Tecomaquinona I, apreciándose dos señales de carbonos carbonílicos a $182,1$ y $183,5\text{ ppm}$ y una de cetona conjugada a $191,5\text{ ppm}$. Mientras que en el espectro de RMN ^{13}C de la Tecomaquinona I se observan once señales de carbonos sp^2 de metinos aromáticos y olefínicos, en **Q-8** se observaban solo nueve señales desde $117,6$ a $133,3\text{ ppm}$. También se observan diferencias con respecto a las señales de los metinos oxigenados, apareciendo uno en Tecomaquinona I a $67,8\text{ ppm}$ y dos en **Q-8** a $68,6$ y $76,52\text{ ppm}$. Las señales correspondientes a los cuatro metilos son prácticamente coincidentes de $16,8$ a $26,7\text{ ppm}$. Además se observan 11 señales correspondientes a carbonos no protonados, de las que diez son de carbonos sp^2 y dos de ellas a $154,06$ y $148,82\text{ ppm}$, soportan sendos oxígenos; finalmente se observa una señal de un carbono sp^3 oxigenado a $82,9\text{ ppm}$.

El espectro RMN ^1H de 600 MHz (anexo) es muy parecido al de Tecomaquinona I, apreciándose señales de cuatro protones metílicos que resuena como singletes a $1,56$ - $1,99\text{ ppm}$,

señales de dos dobletes a 5,44 y 6,42 ppm correspondientes a dos protones y señales de ocho protones aromáticos desde 7,66 a 8,29 ppm. No se observaban las señales de los dos protones olefinicos de 5,59 y 6,16 ppm, y en su lugar se observa una señal singlete de un protón a 4,20 ppm, y otra señal ancha de un protón de alcohol a 3,50 ppm, por lo que la diferencia con respecto a Tecomaquinona I ha de estar sobre el anillo de pirano dimetilado, de manera que el doble enlace C₁₁-C₁₂ ha sido reemplazado por un metino oxigenado y un carbonilo (**Fig. 26**).

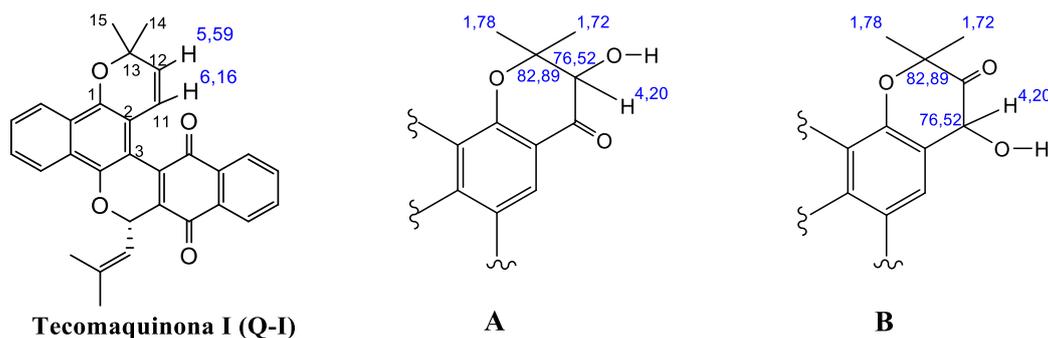


Figura 26

Los resultados de los experimentos bidimensionales homonucleares (COSY) y heteronucleares a uno y varios enlaces (HMQC y HMBC) realizados sobre **Q-8** aparecen recogidos y sus espectros en el apartado de anexos.

Entre las correlaciones del experimento HMBC, son de destacar la del carbono no protonado sp³ oxigenado a 82,89 ppm con los metilos a 1,78 y 1,72 ppm y con el metino a 4,20 ppm; así mismo se observaba una correlación del carbono metínico a 76,52 ppm con los protones metílicos a 1,78 y 1,72 ppm. Con estos datos cabrían dos posibilidades de localización de las funciones anteriormente mencionadas, representadas en la **Figura 26 (A y B)**. De las dos opciones, parece que la más indicada sería la **A** con correlaciones a dos y tres enlaces respectivamente; frente a dos y cuatro enlaces en la opción **B**. La ubicación del carbono carbonílico en C-11 en **A** produciría un desapantallamiento sobre el carbono oxigenado en C-1 tal y como se observa en su espectro de RMN ¹³C (anexo) que resuena a 154,06 ppm frente a 143,46 ppm en Tecomaquinona I (anexo).

Su espectro de UV-Vis (EtOH) muestra bandas de absorción a 208, 268, 388, y 494 nm; y su poder rotatorio negativo $[\alpha]_D^{20} = -25$ ($c = 0.08 \times 10^{-3}$ g/ml) es semejante al que muestra Tecomaquinona I.

Queda por establecer la estereoquímica del carbono C-12. El espectro de IR mostraba una banda ancha a 3380 cm⁻¹ de hidroxilo formando puente de hidrógeno, esto sólo es posible si el hidroxilo se encuentra en disposición ecuatorial formando un puente de hidrógeno con el carbonilo en C-11

Con toda esta información se identifica a **Q-8** como **12-hidroxi-11-oxo-11,12-dihidrotecomaquinona I** que aparece representada en la **figura 27**

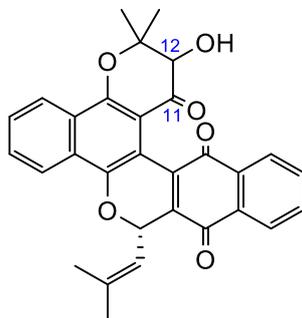


Figura 27. 12-hidroxi-11-oxo-11,12-dihidrotecomaquinona I (Q-8)

Compuesto Q-4

De la fracción **B-4** se aislaron e identificaron, después de varias cromatografías y purificación por cristalización en Hex/AcOEt, 6 mg de un sólido blanco, de punto de fusión 195-196 °C.

Su espectro de IR mostraba bandas de absorción a 3433 cm^{-1} de OH, bandas a 1645, 1586, 889, 764 y 689 cm^{-1} de enlaces sp^2 de anillos aromáticos, junto con bandas a 1222, 1181 y 1133 cm^{-1} de enlaces C-O y 1369, 1350 cm^{-1} de *gem*-dimetilo. Su espectro de masas de alta resolución mostraba un ión molecular $[\text{M}+\text{H}]^+$, m/z a 451,1905 coincidente con la fórmula molecular $\text{C}_{30}\text{H}_{26}\text{O}_4$.

Su espectro RMN ^1H de 400 MHz mostraba señales de trece protones. A 8,23 ppm señales de dos protones aromáticos que resonaban como multipletes, junto a otro a 7,57 ppm de dos protones aromáticos que igualmente resonaba como multipletes; a 5,94 ppm una señal de un protón, que aparecía como doblete con constante de acoplamiento de $J= 9,8$ Hz, que estaba asociada con otra señal doblete de igual constante de acoplamiento a 5,54 ppm. A 5,07 ppm aparecía una señal singlete de un protón intercambiable con agua deuterada y a 1,53 ppm una señal singlete de seis protones. Teniendo en cuenta la fórmula molecular del compuesto, que indica la existencia de 26 protones, ha de tratarse de una molécula totalmente simétrica.

Al realizar el espectro de RMN ^{13}C (100 MHz) precipitaba el compuesto en el tubo, por lo que hubo que realizarlo muy diluido. Los datos espectroscópicos eran coincidentes con los encontrados en la literatura⁵³ para el dímero **Tectol**, así como las propiedades físico-químicas.

La quinona **Q-4**, **Tectol (Fig. 28)**, fue aislada por primera vez de la madera de *Tectona grandis* (Lamiaceae) por Sandermann, W., y col.^{60,61} También se aisló posteriormente de la raíz de *T. grandis* por Joshi, K. C., y col.⁶², y por Dayal, R., y col.⁶³; de la corteza del tallo de la misma planta por Jos, A., y col.⁶⁴. Además se ha encontrado en Bignoniáceas: se extrajo del duramen de *Phyllarthron comorense*⁶⁵, del duramen de *Tabebuia guayacan*⁶⁶, de la raíz (ref. 36)⁶⁷, del duramen^{68,69} de las hojas y de la corteza⁶⁹ de *Tecomella undulata*, del duramen de *Markhamia stipulata*⁷⁰, del duramen de *Halophragma adenophyllum*⁷¹, de la corteza del tallo de *Dolichandrone crispera* Seem⁷². Además de las dos familias mencionadas, otra familia como la Verbenácea también contiene tectol: se lo había aislado de la raíz de *Lippia origanoides* H. B. K.⁷³.

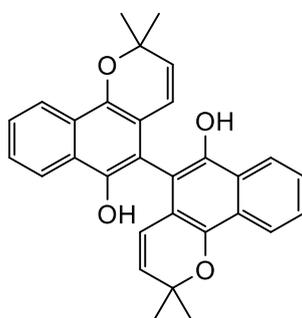


Figura 28. Tectol (Q-4)

Compuesto Q-12

El compuesto **Q-12** también era una quinona dimérica de color marrón que se aislaba en forma de aceite y mostraba un ión molecular $[M + Na]^+$ a 489,1683 coincidente con la fórmula molecular $C_{30}H_{26}O_5Na$. Es decir, presentaba una molécula de agua más que Tecomaquinona I y una insaturación menos (dieciocho insaturaciones).

⁶⁰ Sandermann, W.; Dietrichs, H. H. *Holzforchung*. **1959**, 13, 137-48

⁶¹ Sandermann, W.; Simatupang, M. H. *Chem Ber*. **1964**, 97, 588-97

⁶² Joshi, K. C.; Singh, P.; Pardasani, R. T. *Planta Med*. **1977**, 32, 71-5

⁶³ Dayal, R.; Seshadri, T. R. *J Indian Chem Soc*. **1979**, 56, 940-1

⁶⁴ Jos, A.; Bhohe, M.; Pednekar, A. *Am J Pharm Health Res*. **2013**, 1, 27-37, 11 pp.

⁶⁵ Joshi, K. C.; Prakash, L.; Singh, P. *Phytochemistry*. **1973**, 12, 469-70

⁶⁶ Manners, G. D.; Jurd, L.; Wong, R.; Palmer, K. *Tetrahedron*. **1975**, 31, 3019-24

⁶⁷ Joshi, K. C.; Singh, P.; Pardasani, R. T. *Planta Med*. **1977**, 31, 14-16

⁶⁸ Joshi, K. C.; Sharma, A. K.; Singh, P. *Planta Med*. **1986**, 71-2

⁶⁹ Rohilla, R.; Garg, M. *Int J Green Pharm*. **2014**, 8, 1-6

⁷⁰ Joshi, K. C.; Singh, P.; Pardasani, R. T. *Planta Med*. **1978**, 34, 219-21

⁷¹ Joshi, K. C.; Singh, P.; Pardasani, R. T.; Singh, G. *Planta Med*. **1979**, 37, 60-3

⁷² Prakash, L.; Singh, R. *Pharmazie*. **1980**, 35, 122-3

⁷³ Brieskorn, C. H.; Poehlmann, R. *Arch Pharm (Weinheim, Ger)*. **1976**, 309, 829-36

Su espectro de IR (Anexo.) además de las absorciones correspondientes a los anillos aromáticos, enlaces C-O y *gem*-dimetilos, presentaba una banda ancha a 3506 cm^{-1} de un alcohol que se encuentre formando puente de hidrógeno intramolecular con un carbonilo.

Su espectro de RMN ^{13}C a 100 MHz (Anexo) indicaba la presencia de señales correspondientes a 30 átomos de carbono. Cuatro señales de grupos metilos (24,25; 25,79; 27,30 y 27,63 ppm), dos de metinos a 41,85 y 96,43 ppm, este último unido a oxígeno, una de carbono cuaternario a 73,09 ppm y junto a señales de carbonos sp^2 11 metinos (de 119,25 a 134,41 ppm), 10 de carbonos no protonados (de 111,83 a 152,13 ppm) y 2 carbonilos cetónicos a 184,82 y 185,23 ppm.

Su espectro de RMN ^1H a 400 MHz (Anexo) era muy semejante al de Tecomaquinona I, observándose aquí que las señales correspondientes a los cuatro metilos que aparecen muy próximas de 1,29 a 1,48 ppm. En la zona correspondiente al desplazamiento de señales de protones olefínicos, se observaban dos dobletes a 4,52 y 5,09 ppm con constante de acoplamiento pequeña de 4,3 Hz, dos señales equivalentes a las de los protones H-11 y H-12 de Tecomaquinona I y una señal singlete a 6,47 ppm. En la zona de aromáticos de 7,45 a 8,19 ppm se observaban señales de ocho protones.

Teniendo en cuenta la estructura y desplazamiento de Tecomaquinona I, el cambio ha de estar en la zona marcada en la **Figura 29**. No habiendo metilos sobre doble enlace y una molécula de agua adicional, cambio presente en la quinona **Q-16**, pero presente en este caso el cambio generado desaparece en aproximadamente 2 ppm a los carbonilos.

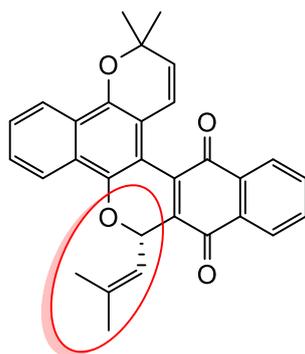


Figura 29

El experimento HSQC (Anexo) permitía establecer las correlaciones entre cada carbono con sus protones asociados. Adicionalmente, se hizo un experimento de correlación heteronuclear a varios enlaces HMBC, pero debido a la pequeña cantidad de compuesto aislado no se podían apreciar correctamente las correlaciones por lo que se repitió el experimento en un aparato de 600 MHz y tubos de 20 cm (**Fig. 30**). Ello permitió establecer las correlaciones indicadas en la **Tabla** del anexo. En dicho experimento se establecían claramente las

correlaciones indicadas en la **Figura 30-A**. El carbono a 96,43 ppm correlacionaba con las señales de los metilos a 1,34 y 1,29 ppm, por lo que lo más probable es que se encuentre cerrado el anillo de pirano por el fragmento $C(CH_3)_2$.

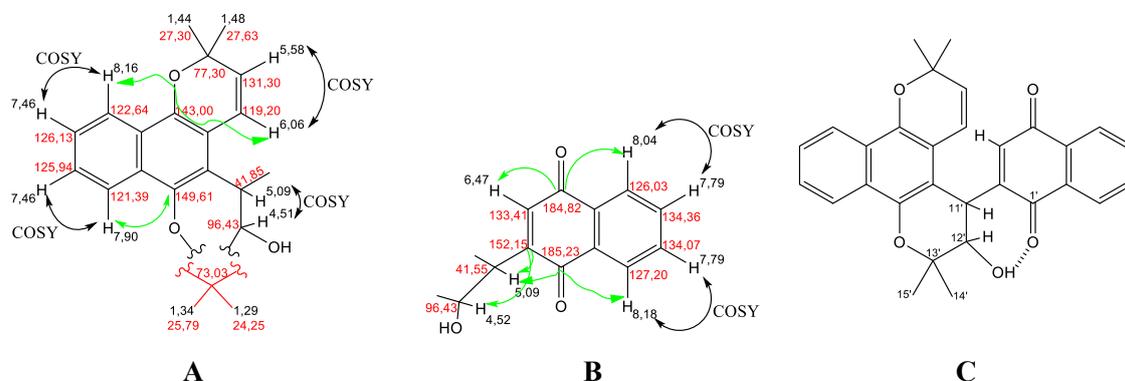


Figura 30

Además se encontraban las conexiones indicadas en el fragmento **B (Fig. 30-B)** el carbonilo cetónico a 185,23 ppm mostraba correlaciones con los protones a 8,18 y 5,09 ppm y el carbonilo a 184,89 con los protones a 8,04 y 6,47 ppm; el carbono no protonado a 152,15 correlacionaba con las señales de los protones a 5,09 y 4,22 ppm. El carbono metínico a 137,41 ppm correlaciona con la señal del protón a 5,07 ppm.

La unión de los fragmentos **A** y **B**, proporcionaría la molécula indicada en **Figura 30-C**, donde el hidroxilo sobre el carbono en 12' se encontraría formando un enlace por puente de hidrógeno con el carbono C-1'.

Queda por establecer la estereoquímica de los carbonos C-11' y C-12', para ello se realizaron análisis conformacionales y de mecánica molecular de la molécula, construyendo las cuatro parejas de diastereoisómeros $11'R, 12'R$; $11'S, 12'R$; $11'R, 12'S$; $11'S, 12'S$. La constante de acoplamiento entre ambos hidrógenos es de 4,3 Hz, lo que indica un ángulo entre ambos de 40-45°, que se encontraba en las parejas $11'R, 12'S$ y $11'S, 12'R$; mientras que para las parejas $11'S, 12'S$ y $11'R, 12'R$ se encontraba un ángulo de aproximadamente 153 y 130°, respectivamente que daría lugar a constante de acoplamiento mayores, superior a 7 Hz.

El protón del grupo hidroxilo en C-12' se encuentra a una distancia aproximada de 2,3 Å tanto para la pareja $11'S, 12'R$ como para la $11'R, 12'S$, sin embargo; energéticamente es mucho más estable la primera que la segunda.

Fig JL

Queda por tanto la estructura de la quinona **Q-12** establecida como la representada en la **Figura 31** siendo la primera vez que se describe el compuesto, y se llamaba **Rhigozona IV**

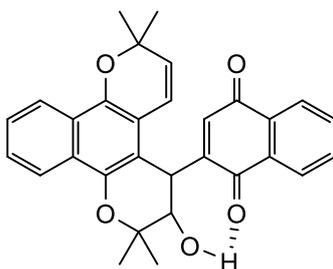


Figura 31. Rhigozona IV

Compuesto Q-6

La quinona **Q-6**, se aisló en forma de agujas de color naranja y presentaba un ión a M^+ a 240 coincidente con la fórmula $C_{15}H_{12}O_3$, por lo tanto no se trataba de un dímero como en las quinonas anteriores. Su espectro de IR mostraba bandas de absorción a 1678 cm^{-1} de anillo conjugado y $1592, 1543, 769, 703$ y 653 cm^{-1} de anillo aromático y 1277 y 1261 cm^{-1} de enlace C-O y $1376, 1322\text{ cm}^{-1}$ de *gem*-dimetilo.

Su espectro de RMN ^{13}C (100 MHz) mostraba doce señales, dos de carbonos carbonílicos a $181,87$ y $179,87\text{ ppm}$, una de carbono no protonado oxigenado a $152,41\text{ ppm}$, cinco de metinos aromáticos y olefínicos a $133,95; 133,18; 130,86; 126,21$ (de 2 carbonos) y una a $115,43\text{ ppm}$, cuatro de carbonos no protonados a $131,53; 131,45; 117,83$ y $80,42$; las tres primeras de carbonos aromáticos y la última de un carbono alifático y una de dos metilos a $28,33\text{ ppm}$.

Su espectro RMN ^1H (400 MHz) mostraba sus señales a $8,09$ y $8,08\text{ ppm}$ que resonaban como multipletes de dos protones aromáticos, una a $7,69\text{ ppm}$ de dos protones aromáticos que resonaban como multipletes, una a $6,65\text{ ppm}$ que aparecía como un doblete con constante de acoplamiento de $J= 10,0\text{ Hz}$, otra a $5,72\text{ ppm}$ doblete con la misma constante de acoplamiento de $10,0\text{ Hz}$ y una a $1,56\text{ ppm}$ que aparecía como singlete y correspondía a dos metilos.

Se hicieron experimentos bidimensionales de correlación COSY, HMQC y HMBC. En el experimento COSY (ver anexo **Fig.**, **Tabla**) se observaban las correlaciones entre las señales de protones aromáticos a $8,09$ y $8,08\text{ ppm}$ con las de los protones aromáticos a $7,70$ y $7,68\text{ ppm}$, y las de los protones olefínicos a $6,65\text{ ppm}$ y $5,57\text{ ppm}$.

Del experimento HMQC (anexo **Fig.**, **Tabla**) se establecen las conexiones entre cada carbono y sus protones asociados y finalmente con el experimento HMBC se asignan de manera inequívoca los carbonos no protonados. Queda la molécula establecida como la indicada en la **Figura 32**, la pirano-naftoquinona, 12,13-deshidrolapachona o deshidro- α -lapachona aislado de

las plantas de la familia Bignoniaceae, primeramente del duramen de *Tabebuia avellanedae*⁷⁴. Posteriormente del tronco de la madera de *Zeyhera tuberculosa* (Vell) Bur⁷⁵, del duramen de *Markhamia stipulata*²¹, de los extractos metanólicos de raíz y frutos de *Kigelia pinnata* D.C.⁷⁶, de raíces de *Newboldia leavis* (Beaur) Seem ex Bureau⁷⁷, del tallo de *Catalpa Ovata*⁷⁸, entre otras^{13,16,18,21,22,23}, y de plantas de otra familia, de la raíz de *Tectona grandis* L.^{13,79}, de la corteza de la raíz de *Caryopteris clandonensis* Simmonds⁸⁰. que pertenecen ambos a la familia Lamiaceae.

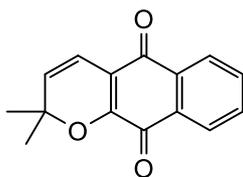


Figura 32. Deshidro- α -lapachona (Q-6)

Q-17

La quinona **Q-17**, una molécula en forma de aceite y tiene color anarajado, presentaba un ión molecular $[M^+ + Na^+]$, $m/z = 489,1689$ coincidiendo con la fórmula $C_{30}H_{26}O_5Na$, que indica la existencia de 18 insaturaciones y ciclos. Su espectro de IR mostraba bandas de absorción a 3500 cm^{-1} de O-H

En el espectro de RMN ^{13}C se observaban señales de 30 átomos de carbono, cuatro de ellas a 186,30-184,65 ppm, lo que indica que la molécula presenta cuatro carbonilos de cetona, además se observan 3 carbonos no protonados a 151,71; 150,00 y 141,55 ppm junto con otros cuatro a 132,22-131,74 ppm y uno a 44,60 ppm. Se observan además 10 señales de carbonos metínicos aromático de 135,39-133,70 y 127,04-125,97 ppm junto a otras 4 señales de carbonos metínicos alifáticos, y de ellas una unido a oxígeno a 85,69 ppm, señal de un carbono metilénico olefinico a 111,90 ppm y de 3 metilos a 24,22 y 23,99 ppm. Teniendo en cuenta las estructuras de las quinonas anteriores, se tratará de dos unidades de naftalenquinona (**Fig. 33**)

⁷⁴ Burnett, A. R.; Thomson, R. H. *J Chem Soc C*. **1967**, 2100-4

⁷⁵ Duarte Weinberg, M., de L.; Gottlieb, O. R.; De Oliveira, G. G. *Phytochemistry*. **1976**, 15, 570

⁷⁶ Binutu, O. A.; Adesogan, K. E.; Okogun, J. I. *Planta Med*. **1996**, 62, 352-353

⁷⁷ Gafner, S.; Wolfender, J.; Nianga, M.; Stoeckli-Evans, H.; Hostetmann, K. *Phytochemistry*. **1996**, 42, 1315-1320

⁷⁸ Cho, J. Y.; Kim, H. Y.; Choi, G. J.; Jang, K. S.; Lim, H. K.; Lim, C. H.; Cho, K. Y.; Kim, J. *Pest Manage Sci*. **2006**, 62, 414-418

⁷⁹ Khan, R. M.; Mlungwana, S. M. *Phytochemistry*. **1998**, 50, 439-442

⁸⁰ Hannedouche, S.; Souchard, J. P.; Jacquemond-Collet, I.; Moulis, C. *Fitoterapia*. **2002**, 73, 520-522

preñiladas, lo que supondría 16 insaturaciones, junto al metileno terminal hacen 17 insaturaciones y la última se deberá a un ciclo.

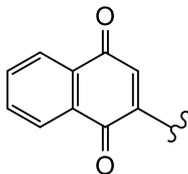


Figura 33

El experimento de RMN ^1H indica la existencia de una señal de 4 protones aromáticos a 8,03 ppm, otra señal de otros 4 protones aromáticos a 7,70 ppm dos señales aromáticas, singlete a 7,06 y 6,94 ppm, dos señales de protón olefinicos singletes a 4,92 y 4,78 ppm, señales de 4 metinos que resuenan como triplete, doble, doble doble y doblete a 3,97; 3,79; 3,27 y 2,86 ppm, respectivamente, junto a señales de 3 metilos singletes a 1,73; 1,21 y 1,01 ppm, respectivamente.

El experimento de correlaciones heteronucleares HSQC se establecía las conexiones en los protones y sus carbonos específicos. Del experimento COSY, se establecen las conexiones entre protones vecinos. Así mismo, en el experimento COSY se establecen las uniones entre las señales a 3,97 ppm con las señales a 2,86 y 3,27 ppm y la señal 3,27 ppm con 3,79 ppm que es el que soporta el grupo hidroxilo y este fragmento (**Fig. 34**) ha de estar constituyendo un ciclo.

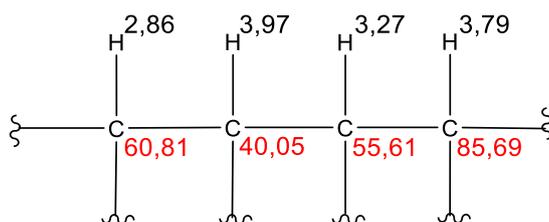


Figura 34

En el experimento HMBC se observaba las correlaciones entre el carbonilo a 186,30 ppm y las señales de protón a 8,03; 7,06 y 3,27 ppm, por otro lado se aprecian las conexiones entre el carbonilo a 184,80 y las señales a 6,94 y 3,97 ppm, por lo que puede establecer el fragmento representado en la **Figura 35**

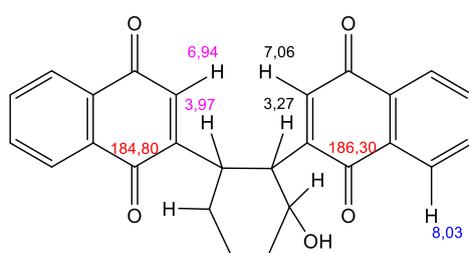


Figura 35

El carbono oxigenado a 85,69 ppm daba correlaciones con la señal del metino a 3,27 ppm y las de los metilos singletes a 1,21 y 1,01 ppm, y la señal del carbono a 60,81 ppm daba correlaciones con las del metileno olefínico a 4,92 y 4,78 ppm, las del metilo sobre doble enlace a 1,73 y las de metilos singletes a 1,21 y 1,01 ppm, por lo que el anillo adicional estará ubicado entre dichos carbonos, donde además se ubicaron los metilos singletes a 1,21 y 1,01 ppm. Sobre carbono metínico a 2,86 ppm estará el fragmento 1-metil-etileno (**Fig. 36**)

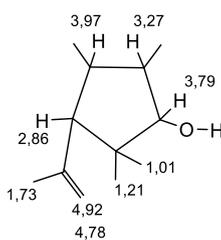


Figura 36

Las señales de los carbonos no protonados a 151,71 y 150,00 ppm correlacionaban con las señales de protón a 6,94; 3,97; 3,27 y 2,86 ppm el primero y 7,06; 3,97; 3,79 y 7,37 el segundo asignándose los carbonos en C-2 y C-2' respectivamente. Además se observaban las correlaciones entre las señales del carbono a 131,87 ppm con el protón a 7,06 ppm y del carbono a 131,74 y el protón a 6,94 ppm ubicándose así los carbonos en C-10' y C-10, respectivamente (**Fig. 37**). El resto de las señales se asigna de manera arbitraria, ya que no es posible decidir a qué carbono correspondan con exactitud debido a la similitud entre ambos fragmentos.

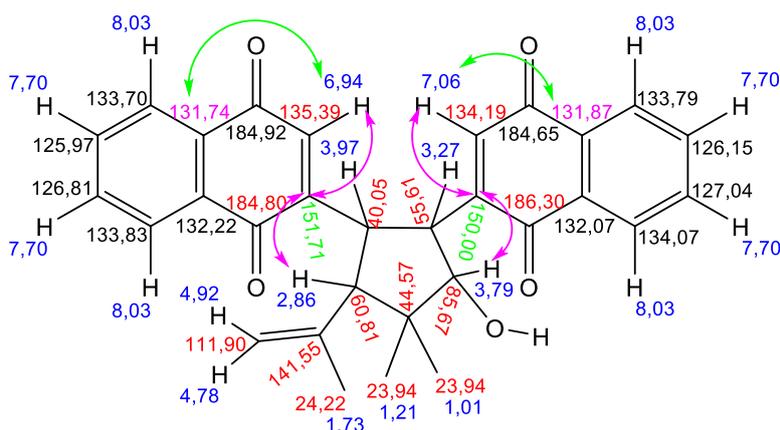


Figura 37

Queda por tanto la quinona **Q-17** identificada como **2,2'-(3-hidroxi-4,4-dimetil-5-(prop-1-en-2-il)-ciclopentan-1,2-diil) bis (naftalen-1,4-diona)**, que llamamos **Rhigozona V** y representada en la **figura 38**

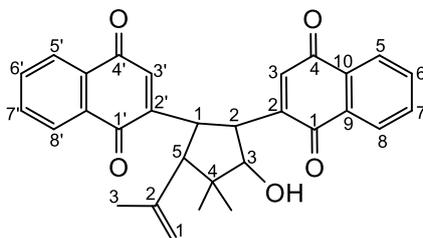


Figura 38. Rhigozona V

No se ha encontrado ningún compuesto idéntico a esta quinona **Q-17** en la literatura.

Compuesto Q-18

Compuestos con ión molecular $m/z = 489,1700$ de $[M + Na]^+$ correspondiente con la fórmula molecular $C_{30}H_{26}O_5$.

Su espectro de RMN ^{13}C presenta señales correspondientes a once carbonos sp^2 , cuatro de ellos de carbonílico a 194,75; 194,13; 184,01; 183,54 ppm; y otros siete a 152,38; 135,78; 135,14; 134,57; 134,35; 126,25; 126,77 ppm, más una de carbono cuaternario sp^3 unido a oxígeno a 62,73 ppm. Se observan además catorce carbonos metínicos a 141,20; 138,45;

134,82; 134,78; 134,46; 134,16; 127,47; 127,42; 127,29; 127,07; 120,52; 59,29; 56,58 y 55,22 ppm juntos a cuatro carbonos de metilos a 27,26; 24,28; 19,19; 19,01 ppm.

En su espectro de RMN ^1H se observan señales de ocho protones aromáticos a 8,22 ppm (1H, *dd*, $J_1 = 7.9$ Hz y $J_2 = 1,8$ Hz); 8,20 ppm (1H, *dd*, $J_1 = 8,2$ Hz y $J_2 = 1,4$ Hz); 7,95 ppm (1H, *dd*, $J_1 = 7,9$ Hz y $J_2 = 1,4$ Hz); 7,94 ppm (1H, *dd*, $J_1 = 8,2$ y $J_2 = 1,8$ Hz) y de 7,78 – 7,74 ppm (4H, *m*), a 7,71 ppm señal de un protón que resuena como doblete con constante de acoplamiento igual a 12,7 Hz, a 6,61 ppm (1H, *d*, $J = 8,7$ Hz); a 5,73 ppm (1H, *d*, $J = 12,7$), a 4,29 ppm y a 4,22 ppm dos protones con constantes de acoplamiento 9,1 Hz, que aparecen como sistema AB, a 3,03 ppm señal de un protón doblete con constante de acoplamiento 8,7 Hz y señales de cuatro protones metílicos que resuenan como singletes a 1,91 ppm; 1,86 ppm; 1,39 y 1,24 ppm.

El análisis de su espectro bidimensional $^1\text{H} - ^1\text{H}$ (COSY) indicaba las correlaciones recogidas en la **Tabla 15**.

Tabla 15. Correlaciones $^1\text{H} - ^1\text{H}$ para el compuesto Q-18 (COSY)

^1H (δppm)	^1H (δppm) correlación
8,22	7,78
8,20	7,73
7,95	7,75
7,94	7,74
7,71	5,73
6,61	3,03

Se realizaron experimentos bidimensionales de correlación de protón y carbón a uno (HSQC) y varios enlaces (HMBC – CIGAR): en la **Tabla 16** se indica la correlación de cada protón con su carbono y las observaciones a varios enlaces.

Tabla 16. Correlaciones ^{13}C - ^1H a uno o varios enlaces para el compuesto Q-18

HSQC			HMBC
Tipo	RMN ^{13}C (δ ppm)	RMN ^1H (δ ppm)	RMN ^1H (δ ppm)
C=O	194,75	-	4,29; 7,94
C=O	194,13	-	4,22; 7,95
C=O	184,09	-	4,22
C=O	183,54	-	4,29; 6,61; 8,20
C	152,38		7,71; 1,91; 1,86
CH	141,20	6,61	4,29; 3,03
CH	138,45	7,71	4,22; 1,91; 1,86
C	135,78	-	4,22
C	135,14	-	4,29; 6,61; 3,03
CH	134,82	-	-
CH	134,78	-	-
C	134,57	-	7,95; 8,20
CH	134,46	-	-
C	134,25	-	7,94
CH	134,16	-	-
CH	127,47	8,22	-
CH	127,42	8,20	-
CH	127,29	7,95	-
CH	127,07	7,94	-
C	126,85	-	4,29
C	126,77	-	4,22
CH	120,51	5,73	1,91; 1,86 [A]
C-O	62,73	-	3,03; 1,39; 1,24 [C]
CH	59,29	3,03	1,39; 1,24 [B]
CH	56,58	4,22	7,71; 4,29
CH	55,22	4,29	4,22
CH ₃	27,26	1,91	1,86
CH ₃	24,48	1,39	1,24

CH ₃	19,19	1,86	1,91
CH ₃	19,01	1,24	1,39

Del experimento COSY se puede establecer el fragmento **A** (**Fig. 39**), que teniendo en cuenta su desplazamiento en RMN ¹³C se trata de protones olefinicos. El carbono cuaternario unido al protón a 5,73 ppm está unido a dos metilos, según se deduce de las correlaciones HMBC [A] 120,51 ppm // 1,91 y 1,86 ppm, fragmento ya observado en Tecomaquinona I.

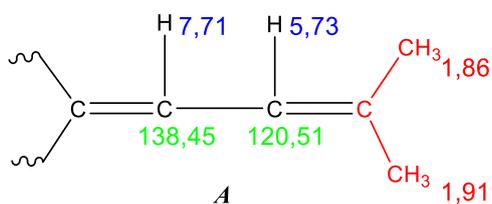


Figura 39

Análogamente se puede establecer el fragmento **B** (**Fig.40**), H a 6,61 ppm relacionado con H a 3,03 ppm, el primero de ellos es un protón olefinicos (δ RMN ¹³C a 141,20 ppm) y el segundo está unido a un carbono cuaternario que soporta dos metilos y un oxigeno según se deduce de experimentos HMBC. No se observan señales por encima de 3000 cm⁻¹ en el espectro IR, que unido al desplazamiento del carbono a 59,29 ppm del protón a 3,03 ppm, hace pensar que se trata de un oxirano.

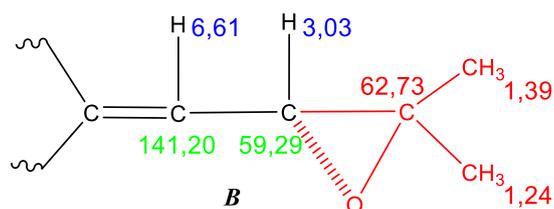


Figura 40

La mayoría de los compuestos encontrados en esta planta poseen una estructura de naftoquinona dimérica (C₃₀H_xO_y) que también parece encontrarse aquí, según se desprende del espectro de masas y desplazamientos en RMN ¹³C y RMN ¹H. Las cuatro señales en RMN ¹³C a 194,75; 194,13; 184,09; 183,54 indican la existencia de cuatro carbonos carbonílicos: los dos primeros, por su mayor desapantallamiento, denota la existencia de posiciones hidrogenadas en

alfa. Por lo que se podría tener una naftoquinona (I) más una hidronaftoquinona (II), ó bien dos semi-hidronaftoquinonas (III) (**Fig. 41**).

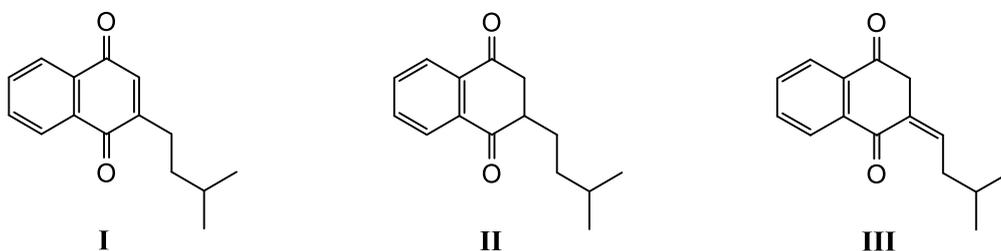


Figura 41

Los protones a 4,29 y 4,22 ppm, con constante de acoplamiento 9,1 Hz, ocupan posiciones centrales y relevantes en la molécula, con numerosas correlaciones con los cuatro carbonilos, los metinos de los fragmentos de isoprenilo a 141,20 y 138,45 ppm. La unión de un fragmento I y II generaría una estructura tipo IV donde no podrían encajarse los fragmentos A y B ya indicados, además H_a y H_b generarían correlaciones con los carbonos 1, 4 y 4' (ese último sólo con H_a) pero quedan demasiado lejos del carbono 1'. La unión de los fragmentos tipo III generaría una estructura como la representada en V, donde encajan perfectamente los fragmentos A y B, y donde los protones H_a y H_b generarían correlaciones con los cuatro carbonilos (**Fig. 42**).

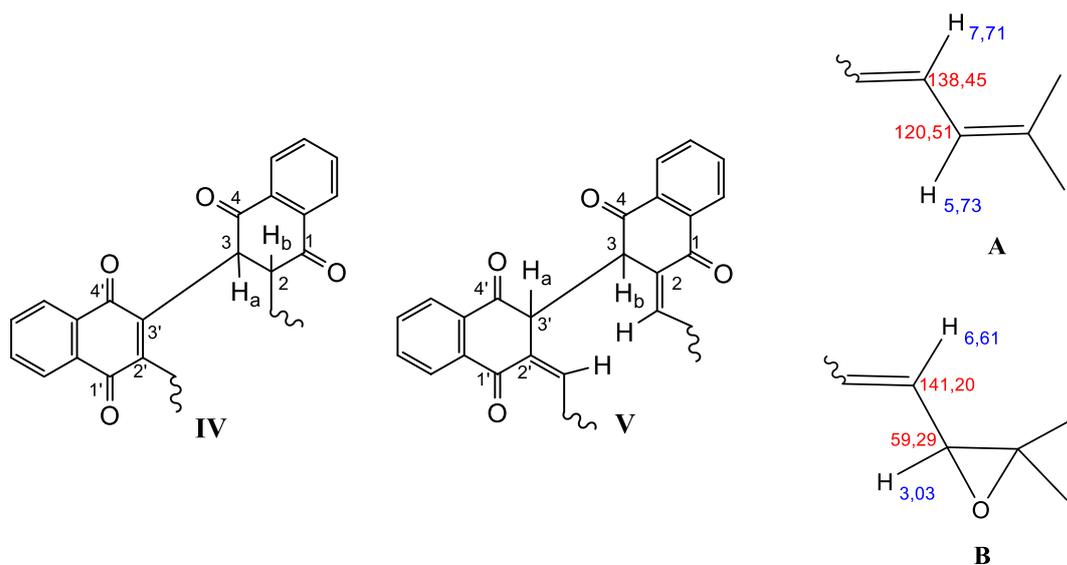


Figura 42

El carbono a 138,45 ppm da una correlación con el protón a 4,22 ppm (es decir el H_a), y el carbono a 141,20 ppm con el protón a 4,29 (H_b). Además se observan correlaciones del carbono a 138,45 ppm con los metilos a 1,91 y 1,86 ppm. El carbono cuaternario a 152,38 ppm da correlaciones con el protón a 7,71 ppm y los metilos a 1,91 y 1,86 ppm, siendo por tanto el carbono 13' (**Figura 43**).

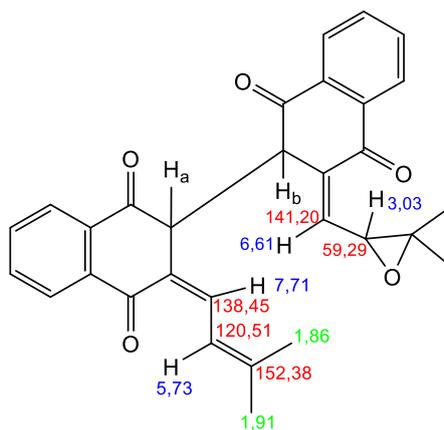


Figura 43

El protón a 4,22 ppm (H-3') muestra correlaciones con el carbonilo 194,13 ppm (C-4), el carbonilo a 184,09 ppm (C-1'), 138,45 ppm (C-11'), 126,77 ppm (C-10') y 55,22 ppm (C-3), esa última a dos enlaces en lugar de a tres. El protón a 4,29 ppm (H-3) muestra correlaciones con el carbonilo a 194,75 ppm (C-4'); el carbonilo a 183,54 ppm (C-1), el carbono a 141,20 ppm (C-11), el carbono a 126,85 ppm (C-10) y el carbono a 56,58 ppm (C-3'), esta última a dos enlaces (**Figura 44**).

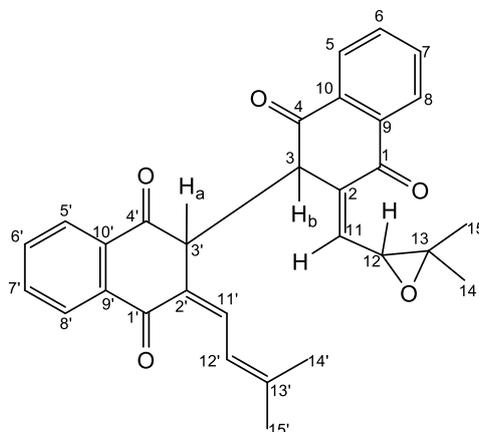


Figura 44

El carbonilo a 194,13 ppm correlaciona con el protón a 7,95 ppm (H-5') y el de 194,13 ppm con el protón a 7,95 ppm (H-5). El carbonilo a 183,54 ppm correlaciona con el protón a 6,61 ppm (H-11) y con el protón a 8,20 ppm (H-8); por tanto el protón a 8,22 ppm será el de la posición H-8'. El carbono no protonado a 134,57 ppm correlaciona con el protón a 7,95 ppm (H-5) y con el protón a 8,20 ppm (H-8), correspondiendo por tanto al carbono C-9. El carbono a 134,25 ppm correlaciona con el protón a 7,94 ppm, siendo por tanto el C-9'. El carbono no protonado a 135,14 ppm correlaciona con el protón a 4,29 ppm (H-3), el protón a 6,61 ppm (H-11) y el protón a 3,03 ppm (H-12), quedando asignado por tanto al C-2. El carbono a 135,78 correlaciona con el H_a 4,22 ppm, siendo por tanto el desplazamiento del carbono C-2' (**Figura 45**).

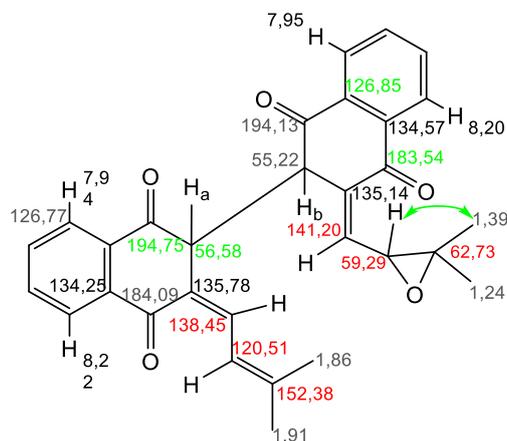


Figura 45

Los protones H-6, H-7, H-6' y H-7' resuenan a 7,74; 7,75; 7,73 y 7,78 ppm y sus carbonos a 132,82; 134,78; 134,46 y 134,16 ppm. Del experimento Cosy se pueden establecer las correlaciones entre los protones 8,22 – 7,75; 8,20 – 7,73; 7,95 – 7,75 y 7,94 – 7,74 ppm. Dada la proximidad de los señales, es difícil establecer con precisión la relación entre cada protón y su carbono correspondiente. Queda por último establecer la estereoquímica de los centros asimétricos (**Figura 46**).

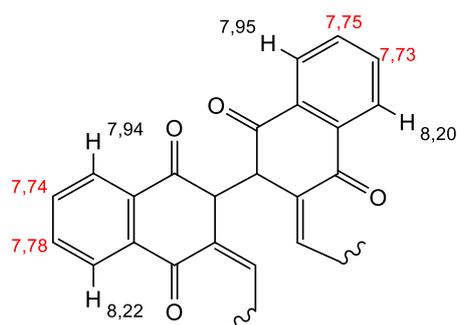


Figura 46

En el experimento ROESY (Fig. 47; Tabla 17) se observan las correlaciones entre los protones 4,22 y 4,29 ppm con el protón olefinico a 5,73 ppm y el metino a 3,03 ppm. Los protones olefinicos a 7,71 ppm y 5,73 ppm correlacionan con los metilos a 1,86 y 1,91 ppm respectivamente y el metino a 3,03 ppm con el metilo a 1,39 ppm. Queda por tanto la quinona Q-18 asignada como la representada en la Figura 48.

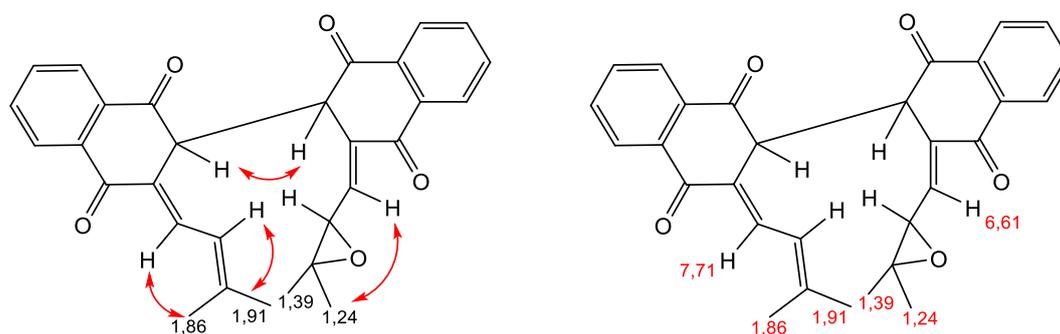


Figura 47. Correlaciones ROESY para el compuesto Q-18

Tabla 17. Correlaciones ROESY de Q-18

^1H (δ ppm)	^1H (δ ppm) correlación
8,22 y 8,20	7,70
7,94 y 7,96	7,77
7,71	1,86
6,61	(1,24)
5,73	4,29; 4,22; 1,86; (1,91)
4,29	5,73; 3,03; (1,91)

4,22	5,73; 3,03; (1,91); (1,24)
3,03	4,29; 4,22; 1,39; (1,91); (1,24)

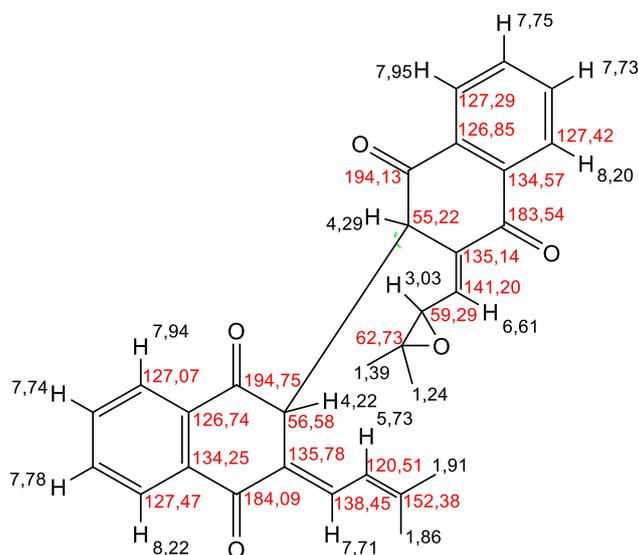


Figura 48. Rhigozona VI (Q-18)

RESULTADOS Y DISCUSIÓN - QUÍMICA

III.3 OBTENCIÓN DE TECOMAQUINONA I

Se abordó el proceso sintético de obtención de la quinona predominante en el extracto, la Tecomaquinona I, Q-I, mediante dos rutas distintas, partiendo en ambas de la 1,4-naftoquinona.

III.3.1- MÉTODO A

La ruta A implica la realización de 6 pasos sintéticos con unos rendimientos globales muy buenos del 76-81% de paso 2 al 5, y excelente el 6 con un rendimiento del 100%, a excepción del primer paso que se obtuvo con un rendimiento del 29%. El compuesto **1B**, 4-metoxi-1-naftol, puede adquirirse comercialmente. Del paso dos a seis el rendimiento global de reacción es del 38% y si se tiene en cuenta el paso uno el rendimiento baja al 11%.

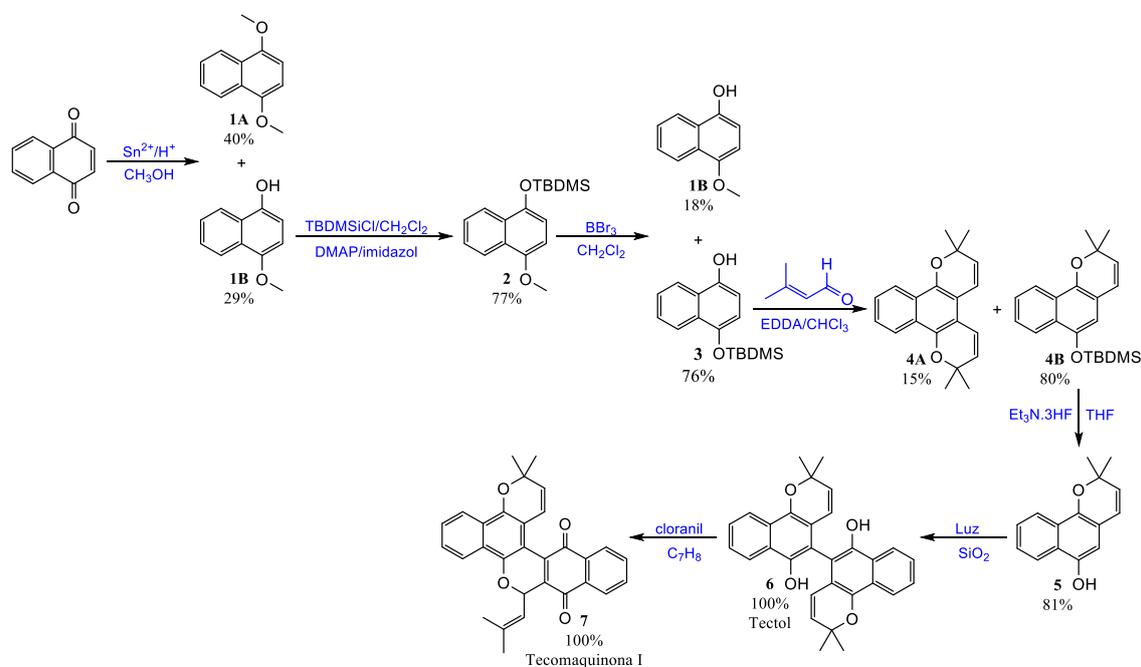


Figura 49. Ruta sintética A

En esta ruta sintética en primer lugar se realiza la transformación de la cetona en su forma enólica, con metanol en medio ácido y en presencia de cloruro de estaño (II), obteniéndose el 4-metoxi-1-naftol (**1B**), posteriormente el grupo hidroxilo se protege en forma de terbutildimetilsililo y en el siguiente paso se retira el grupo metilo con tribromuro de boro. El 4-terbutildimetilsililo-1-naftol (**3**) se trata con crotonaldehído para obtener el cromeno **4B**, se retira el grupo sililo protector con una disolución de fluoruro de hidrógeno en trietilamina para dar el hemitectol (**5**), compuesto muy inestable que en presencia de luz ó al contacto con SiO_2 evoluciona a su derivado dimérico Tectol (**6**). La isomerización y oxidación de tectol a tecomaquinona I se realizó con cloranil en tolueno, obteniendo la Tecomaquinona I con un rendimiento de 100%.

El primer paso de reacción obtención de la forma enólica de la 1,4-naftoquinona y protección del hidroxilo en forma de éter metílico, condujo fundamentalmente al derivado dimetilado. El proceso será optimizado en próximos estudios variando la proporción de moles de catalizador y ml de ácido para mejorar el rendimiento en **1B** (Fig. 50)

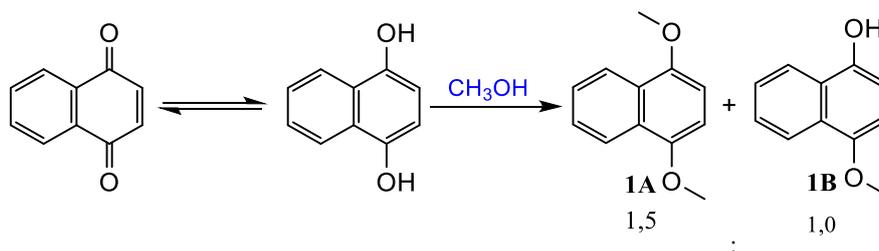


Figura 50

Todos los compuestos obtenidos fueron convenientemente caracterizados según sus propiedades espectroscópicas. Así, el espectro de IR de **1B** mostraba una banda de absorción debido al enlace de tensión O-H, que no se encontraba en el compuesto **1A**.

El espectro de RMN ¹H de **1B** mostraba una señal a 3,96 ppm de tres protones que resonaba como singlete correspondientes a metilo unido a oxígeno; mientras que en el **1A** la señal equivalente, a 4,00 ppm, integraba para seis protones. Estas señales resonaban en RMN ¹³C a 55,79 y 55,70 ppm para **1B** y **1A**, respectivamente.

La protección del hidroxilo en el 4-metoxi-1-naftol (**1B**) se realizó con cloruro de terbutildimetilsililo en presencia de imidazol y DMAP como catalizador. El compuesto **2** no mostraba bandas de absorción por encima de 3000 cm⁻¹ en su espectro de IR y en su espectro de RMN ¹H se observaban señales singletes a 0,28 ppm (de seis protones) y 1,12 ppm (que integraba para nueve protones), y en RMN ¹³C a 4,29 y 25,93 ppm junto con 18,41 ppm correspondientes a grupo sililo.

La retirada del metilo del metoxilo en el compuesto **2** CON tribromuro de boro, no sólo condujo al compuesto **3** esperado, sino también a la retirada del grupo sililo para obtener de nuevo el compuesto **1B** en un 18%, frente a un 76% del compuesto **3**. El compuesto **3** presentaba una banda de absorción en IR a 3272 cm⁻¹ correspondiente al enlace O-H; y en RMN ¹H se observaba una señal ancha a 5,44 ppm correspondiente al proton del grupo hidroxilo.

Se trató el compuesto **3** con crotonaldehído en presencia de etilendiaminodiacético (EDDA), que fue convenientemente obtenido en el laboratorio, para obtener el cromenol protegido **4B** con un 80% de rendimiento. Además, se obtuvo en pequeña proporción, 15%, un derivado menos polar **4A**, que correspondía con la entrada de dos moléculas de crotonaldehído y la retirada del grupo sililo protector. Su espectro de masas de alta resolución indicaba la presencia de un compuesto de fórmula C₂₀H₂₁O₂ [M+H]⁺, m/z= 293,1533. El espectro de RMN

^1H del compuesto **4B** mostraba una señal que aparecía como singlete a 6,61 ppm y correspondía al protón H-3, que en RMN ^{13}C resonaba a 110,93 ppm.

La retirada del grupo sililo protector se realizó con una disolución de fluoruro de hidrógeno en trietilamina durante una hora. Se realizó el espectro de RMN ^1H del crudo de reacción, apreciándose los señales correspondientes al producto esperado **5**, hemitectol. Después se realizó la purificación por cromatografía en columna, obteniéndose el compuesto **5** puro en un 81% de rendimiento, pudo hacerse el protón, pero al realizar el espectro RMN ^{13}C en el tubo mismo de RMN se aparecían señales correspondientes a la mezcla de hemitectol y tectol. El espectro de RMN ^1H del compuesto **5**, hemitectol, mostraba una señal a 6,54 ppm que aparecía como singlete y correspondía al protón H-3; su espectro de masas de alta resolución presentaba un pico a $m/z= 227,1073$ coincidente con la fórmula $\text{C}_{15}\text{H}_{15}\text{O}_2 [\text{M}+\text{H}]^+$. De los primeros tubos de la cromatografía también se aisló una pequeña cantidad de tectol.

La mezcla de tectol, hemitectol se puso por una columna de SiO_2 consiguiendo la total evolución a tectol. Se realizó el espectro de masas de alta resolución y su espectro de RMN ^1H , siendo totalmente coincidente con el componente aislado de la planta, **Q-4**.

El tratamiento de tectol con cloranil, en tolueno y a reflujo durante 12 horas produce la **isomerización y oxidación de la molécula, para dar compuesto de color verde azulado con un rendimiento a 100% (Fig. 51)**

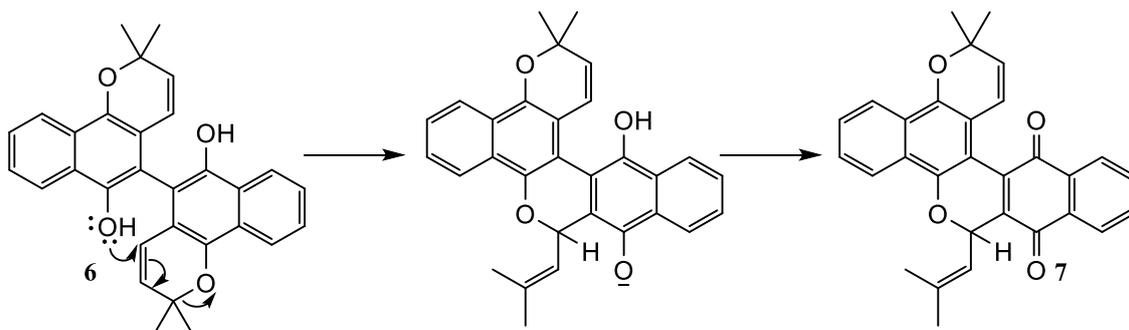


Figura 51

El IR de **7** no mostraba bandas de absorción por encima de 3000 cm^{-1} , y su espectro de masas de alta resolución y RMN ^1H eran totalmente coincidente con los con los de Tecomaquinona I (**Q-1**). Se intentó cristalizar el compuesto, de la misma manera que se hizo en la parte fitoquímica, y las propiedades fisico-químicas de los cristales en ambas partes son coincidentes.

Este proceso sintético había sido puesto a punto por cadalis y *col.* [synlett 2012, 23, 2939], ellos partían de 4-metil-1-naftol y obtenían un rendimiento global en Tecomaquinona del 33%. En nuestro caso, los rendimientos de cada uno de los pasos son más o menos parecidos y se observa una discrepancia en la obtención del compuesto **4A**, que ellos lo obtienen en el proceso de retirada del grupo sililo protector junto con hemitectol y tectol, que no parece muy razonable, y lo más lógico es que se obtenga en el previo paso de introducción del crotonaldehído sobre el compuesto **1B**, ya que se utiliza el doble número de moles de crotonaldehído que de **1B** y que en las condiciones de reacción se produzca la retirada del sililo protección y la introducción de una molécula adicional de crotonaldehído.

Se buscó una ruta alternativa que fuera más corta y mejoraron el rendimiento de reacción, de esta manera como ruta alternativa.

III.3.2 MÉTODO B

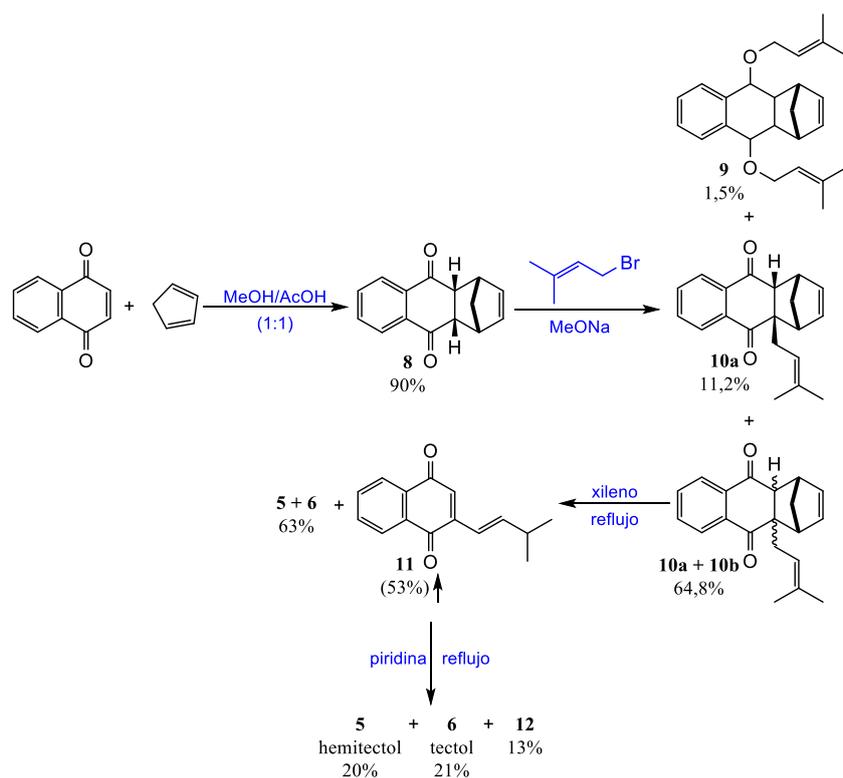


Figura 52. Ruta sintética B

Se plantó la ruta B que implica un paso menos de reacción, los pasos 1, 2, y 5 se obtuvieron con rendimientos de muy buenos a excelentes, el 3 moderado (63%), siendo en este

caso el paso 4 el crucial con un rendimiento del 41%. El rendimiento global de los cinco pasos para la obtención de Tecomaquinona I es de aproximadamente 18%. No mejorándose considerablemente el rendimiento del proceso anterior.

Comienza el proceso con una adición diels-alder de ciclopentadieno sobre la 1,4-naftoquinona, generándose el compuesto tetraciclo **8** con un rendimiento del 90%.

Posteriormente, se introduce un fragmento de isoprenilo (3-metil-buten-2-ilo) en alfa de las cetonas por abstracción de un protón con metóxido sódico y tratamiento con bromuro de isoprenilo, obteniéndose la mezcla de diastereoisómeros **10a** y **10b** (Fig. 53). En el proceso de purificación en columna se logra aislar e identificar espectroscópicamente uno de ellos, compuesto **10a**, en pequeña proporción (11,5%), y el resto se aísla en forma de mezcla **10a** + **10b** en proporción 1:1, aproximadamente. El espectro de RMN ^{13}C de **10a** y **10b** mostraba mostraban la presencia de dos señales centradas a 200 y 198 ppm (201,45 y 197,86 ppm para **10a** y 201,54 y 198,39 para **10b**) de dos carbonilos cetónicos, se observaba cinco señales adicionales frente al carbono del compuesto **8** de desplazamiento de un carbono olefínico no protonado a ~136 ppm de un metino olefínico a 119 ppm de un metileno a 38 ppm y de dos metilos a 25 y 17 ppm.

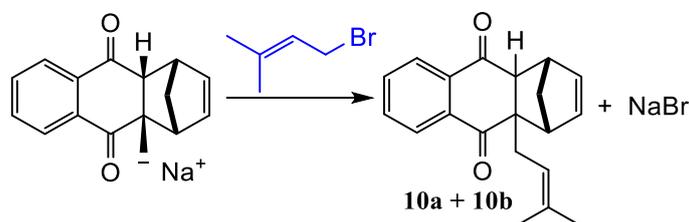


Figura 53

Además se aislaba un compuesto en muy pequeña proporción (1,5%) que no presentaba carbono carbonílico, según se deduce de su espectro de RMN ^{13}C y que su espectro de masas $[\text{M} + \text{H}^+]$, $m/z = 361,2162$ correspondía con la fórmula $\text{C}_{25}\text{H}_{29}\text{O}_2$, es decir presentaba 10 carbonos más que el compuesto **8**, que indicaba la introducción de dos fragmentos de isoprenilo. La quinona **8** evolucionaría a su forma enólica, formándose los enolatos sódicos que con el bromuro de isoprenilo daría lugar al compuesto **9** (Fig. 54).

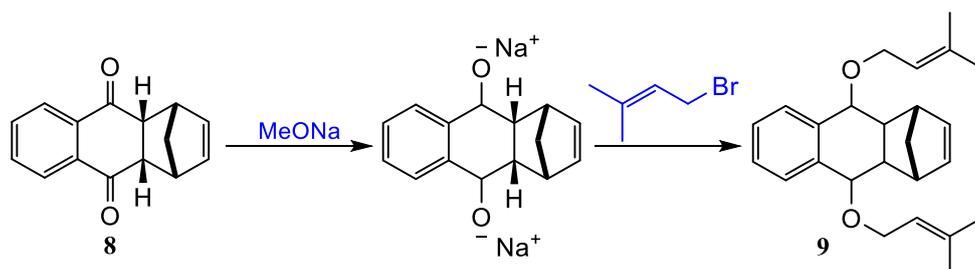


Figura 54

La mezcla de quinona **10a** y **10b** se reflujo con xileno durante 4 horas generando la pérdida del fragmento de ciclopentadieno y aromatización de la quinona para dar la quinona **11** con rendimiento del 63%, compuesto que presenta un ión en un espectro de masas de alta resolución a $m/z = 227,1066$ coincidente con la fórmula $C_{15}H_{15}O_2$. En RMN 1H muestra una señal singlete a 6,75 ppm del protón H-3, una señal a 5,21 ppm aparece como triplete con constante de acoplamiento de 7,2 Hz del H-12 y una señal a 3,27 ppm que aparece como doblete con idéntica constante de acoplamiento de 7,2 Hz del H-11, entre otras señales. Se separaban además otros dos compuestos, que analizados sus espectros de RMN 1H eran idénticos a los encontrados para hemitectol (**5**) y tectol (**6**), en un 20 y 14%, respectivamente. Ello indica que en las elevadas temperaturas de reacción se produce el ataque de uno de los oxígenos cetónicos al carbono cuaternario del fragmento isoprenilo, generado la especie cetónica **4**, que evolucionaría al hemitectol **5**, compuesto muy inestable como ya se ha indicado que evolucionaría a su derivado dimérico, el tectol **6** (Fig. 55).

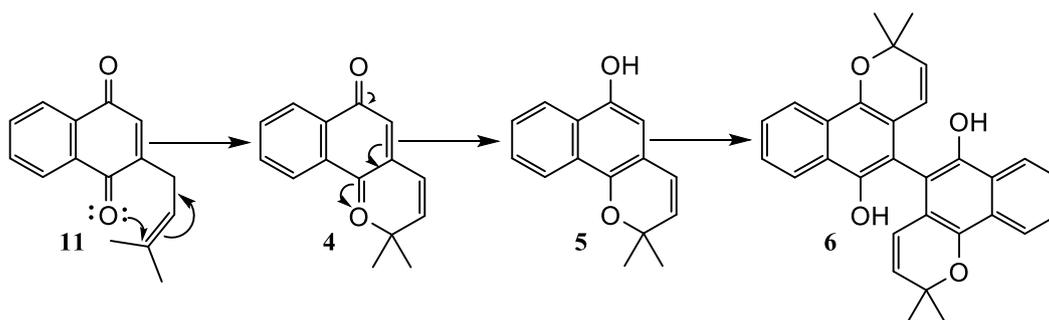


Figura 55

El tratamiento de la quinona **11** con piridina a reflujo igualmente genera hemitectol y tectol en proporción (1:1) aproximadamente. Además de la fracción intermedia en polaridad de la columna se aislaba un compuesto que presentaba en su espectro de masas de alta resolución idéntica masa al Tectol. Su espectro de RMN 1H presentaba señales en la zona de protones olefínicos a 6,23 y 5,54 pp que resonaban como dobletes con constantes de acoplamientos de

9,6 Hz y dos señales que aparecían como singletes a 6,17 y 5,82 ppm, además se apreciaban dos señales singletes, una ancha a 4,71 y otra fina a 5,28 ppm de dos protones de dos grupos hidroxilos, en la zona de protones aromáticos se apreciaban cuatro señales dobletes por encima de 8,00 ppm y una señal multiplete de cuatro protones a 7,48-7,51 ppm. En su espectro de RMN ^{13}C no se observaban señales a 180 ppm y si 145,17 ppm. El compuesto debe presentar una estructura muy próxima a tectol, pero no es una molécula simétrica, las posibilidades de organización y unión de las moléculas de hemitectol, para generar dos protones dos protones singletes están representadas en **I** y **II**, en la primera no se observan efectos de diferencia de NOE entre ellos y en la representada en **II** (Fig. 56)

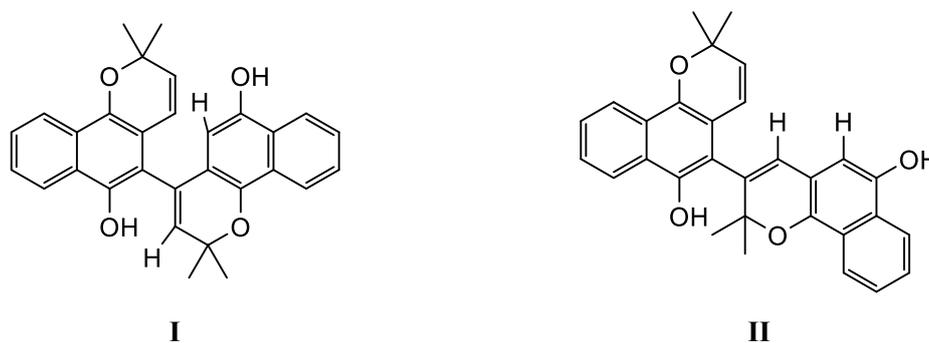


Figura 56

No se realizó en esta vía la transformación del Tectol en Tecomaquinona I, indicada en la ruta A, pero su rendimiento habría de ser también del 100%.

Como ya se ha indicado los rendimientos globales de obtención de **Q-I** por las rutas A y B no son muy elevados, por lo que se trabajará en un futuro en una ruta más rentable, pero la utilización de la ruta A ha servido para hacer algunas correcciones sobre el proceso indicado por Cadelis *y col.* y la utilización de la ruta B para una puntualización sobre el proceso de aislamiento e identificado el compuesto **9** y un isómero de Tectol, el compuesto 12.

IV. PARTE EXPERIMENTAL

IV.1 TÉCNICAS GENERALES

INSTRUMENTACIÓN

PUNTOS DE FUSIÓN

Se determinaron de forma automática en los aparatos MPM-HV2 y GALLEN CAMP, y no fueron corregidos.

ESPECTROS DE RMN ^1H Y ^{13}C

Se determinaron en espectrofotómetros BRUKER AC 200 (200 MHz), Varian Mercury (400 MHz), BRUKER DRX 400 (400 MHz) y 600 MHz, utilizando cloroformo deuterado (CDCl_3) como disolvente u otro como metanol deuterado (MeOD) en caso de indicación particular, y TMS como referencia interna. Los valores de desplazamiento químico (δ) se expresan en ppm y los constantes de acoplamiento (J) en Hz.

ESPECTROS DE GASES-MASAS

Se determinaron en un sistema de cromatógrafo de gases Hewlett Packard 5890 serie II acoplado con un espectrómetro de masas que dispone de un detector de masa Hewlett-Packard 5971, en modo de Impacto Electrónico (IE), dotado de una columna SPB-1 de dimetilsilicona de 12 m de longitud, 0,2 mm de diámetro interno, con un espesor de pared de 0,33 μm .

Las condiciones de experimentación utilizadas son las siguientes: Primero se disolvían una pequeña cantidad de las muestras en CH_2Cl_2 o en CHCl_3 . Después se coge 1 μl de la disolución preparada y se inyecta en el sistema. Una vez inyectada la muestra, el detector se mantiene a 70°C durante 3 mn y después se programa un gradiente de 3°C/mn hasta alcanzar la temperatura máxima de 300°C, temperatura a la cual se mantiene durante 5mn. En caso de cambio de condiciones de experimentación, se precisará en la misma experimentación.

ESPECTROS DE MASAS

Se determinaron en un Espectrómetro de masas: "Applied biosystems QSTAR" híbrido de cuádruplo-tiempo de vuelo (Q-ToF), acoplado con un cromatógrafo de "HPLC Agilent 1100", determinándose la masa exacta.

ESPECTROS DE IR

Se determinaron en un espectrofotómetro FT-IR, en película de pastilla de KBr al 1%, o bien en disolución clorofórmica puesta o no sobre una pastilla de cloruro de sodio. Los valores de la frecuencia de absorción se expresan en cm^{-1} .

PODERES ROTATORIOS ESPECÍFICOS

Se determinaron en un polarímetro digital PERKIN-ELMER, mod 241, en tubos de 1 dm de longitud, en disolución de cloroformo.

TÉCNICAS CROMATOGRÁFICAS

CROMATOGRAFÍA DE CAPA FINA

Se utilizaron láminas de poliéster prefabricadas POLYCHROM SIF₂₅₄ de 0,25 mm de espesor. En ciertas ocasiones se utilizaron una disolución de ácido sulfúrico al 10% en etanol como revelador, con posterior calentamiento durante algunos minutos. Tras eluir y revelar la placa (en caso de que se haya utilizado el revelador), se la mira bajo una lámpara UV que tiene una longitud de onda 254-366 nm para determinar la evolución del trabajo de aislamiento de compuestos y/o de las reacciones.

CROMATOGRAFÍA EN COLUMNA

Se utilizaron sílica gel de la marca MERCK 60 (0,63-0,2nm), la mayoría de las veces en una proporción entre 40 a 60 g de sílice por cada gramo de sustancia a cromatografiar.

CROMATOGRAFÍA DE "FLASH"

Se utilizaron en columnas normales utilizando bomba a presión. La sílica gel utilizada fue de la marca MERCK 60 (0,040-0,0063 nm), en proporción de 40 a 60 g de sílice por cada gramo de sustancia a cromatografiar.

PARTE EXPERIMENTAL FITOQUÍMICA

IV.2 ESTUDIO FITOQUÍMICO DE *RHIGOZUM MADAGASCARIENSIS*

RECOLECCION DEL MATERIAL VEGETAL

Las raíces de *Rhigozum madagascariensis* fueron recolectadas a Andatabo, provincia de Toliara (Madagascar), a un altitud de 15 metros sobre el mar, el 15 de enero de 2006, por el Profesor Philippe Rasoanaivo. Se recolectaron 2,17 Kg de raíces; y una muestra botánica (*specimen voucher n° MAD-JN/0215*) se encuentra depositada en el Herbario del “Institut Malgache de Recherches Appliquées (IMRA)”, Antananarivo la capital de Madagascar; que fue identificada por el Dr. Armand Rakotozafy por comparación con una muestra autentica del Departamento de Botánica del Parque Botánico de Tsimbazaza, Antananarivo (Madagascar).

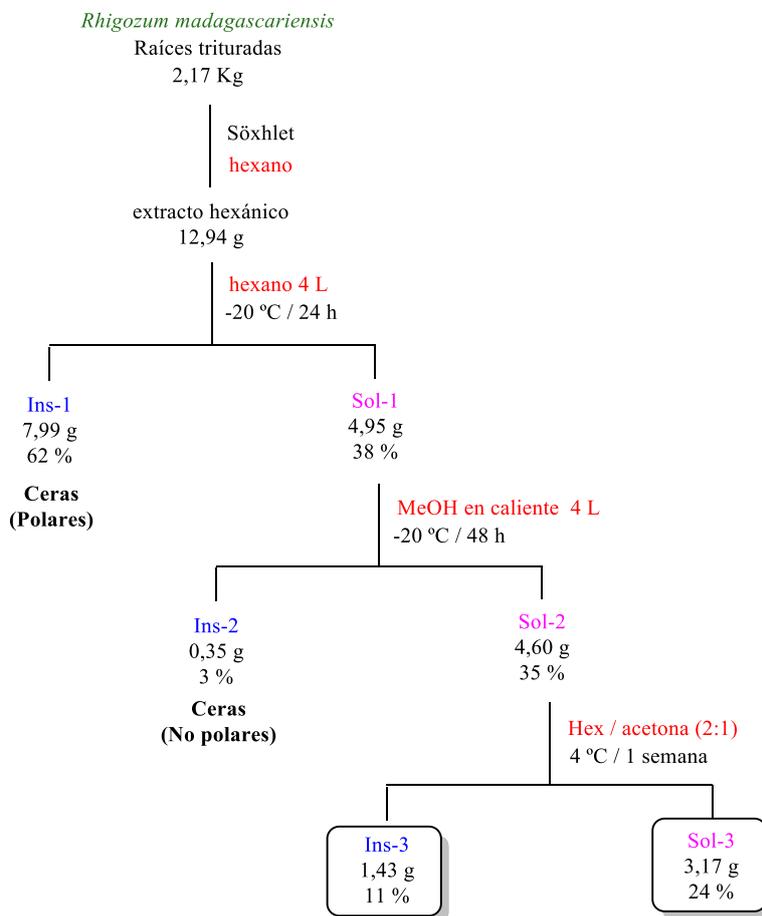
SECADO DEL MATERIAL VEGETAL

Las raíces se secaron a temperatura ambiente, en la oscuridad, durante una semana. Una vez secas, se trituraron obteniéndose 2,17 Kg de polvo, que fue extraído y fraccionado adecuadamente.

EXTRACCIÓN Y FRACCIONAMIENTO

2,17 Kg de raíces trituradas de *Rhigozum madagascariensis* se extrajeron con 4 L de hexano en Söxhlet durante 9 horas (5 cartuchos de 434 g, aproximadamente). Por eliminación del disolvente en rotavapor se obtuvieron 12,94 g de un extracto bruto, que representaba el 0,6 % sobre el peso de raíz seca (**Esquema 1**). El extracto bruto se redisolvió en 4 L de hexano y se llevó a -20 °C durante 24 h, separándose una fracción insoluble (**Ins-1**, 7,99 g, 62 % sobre el extracto hexánico) que contenía ceras polares, según indicaba el espectro de RMN ¹H. Se llevó a sequedad en rotavapor la parte soluble en hexano (**Sol-1**, 4,95 g, 38 % sobre el extracto hexánico), y posteriormente fue redisuelta en 4 L de MeOH en caliente y llevada de nuevo a -20 °C durante 48 h, para separar una fracción insoluble (**Ins-2**, 350 mg, 3%) que contenía ceras no polares. La fracción soluble en metanol y en hexano (**Sol-2**, 4,60 g, 35%) contenía clorofilas en abundancia; con el fin de separarlas, se trató con una mezcla de hexano/acetona (2:1) 3 L a 4 °C

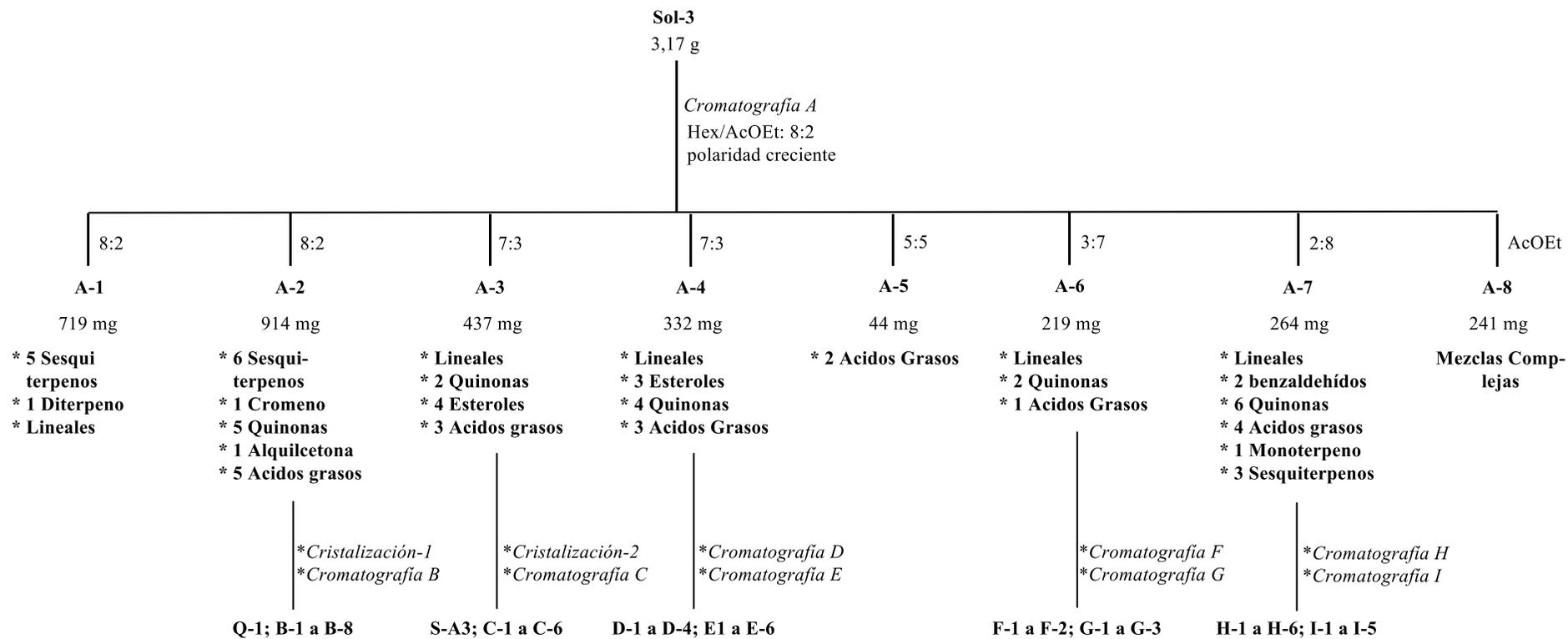
durante 1 semana, separándose 1,43 g (11%) de una fracción insoluble (**Ins-3**) de otra soluble (**Sol-3**), que pesa 3,17 g (24%) (**Esquema 3**).



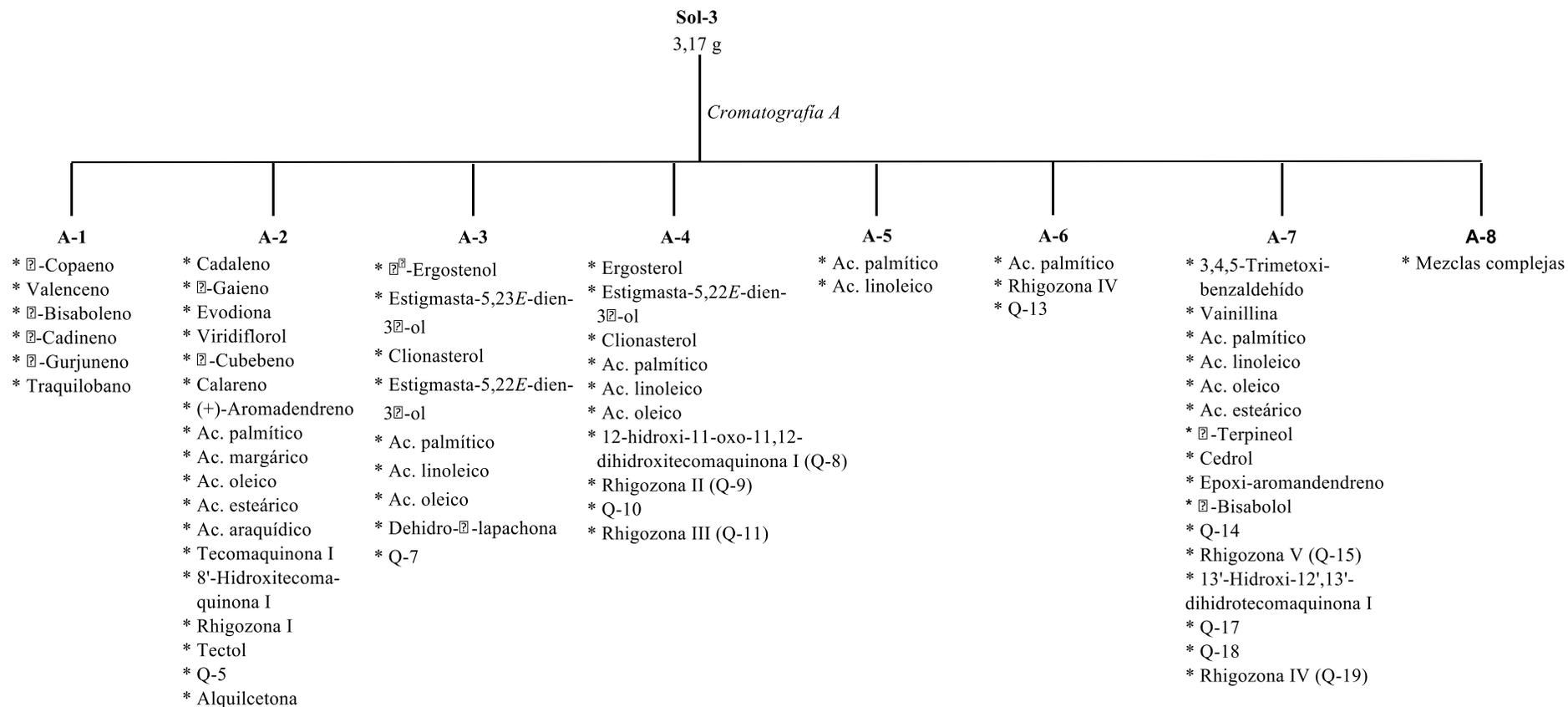
Esquema 3. Fraccionamiento del extracto hexánico de *Rhigozum madagascariensis*

ESTUDIO DE LA FRACCIÓN SOLUBLE-3 (SOL-3)

Los 3,17 g de la fracción soluble-3 fueron cromatografiados en columna sobre gel de sílice (**Cromatografía A**), utilizando como eluyente hexano/acetato de etilo (Hex/AcOEt) 8:2, aumentando la polaridad hasta acetato de etilo a 100% (**Esquema 4**).



Esquema 4. Fracciones cromatográficas obtenidas del soluble-3 de *Rh. Madagascariensis*



Esquema 5. Compuestos identificados y aislados de *Rh. Madagascariensis*

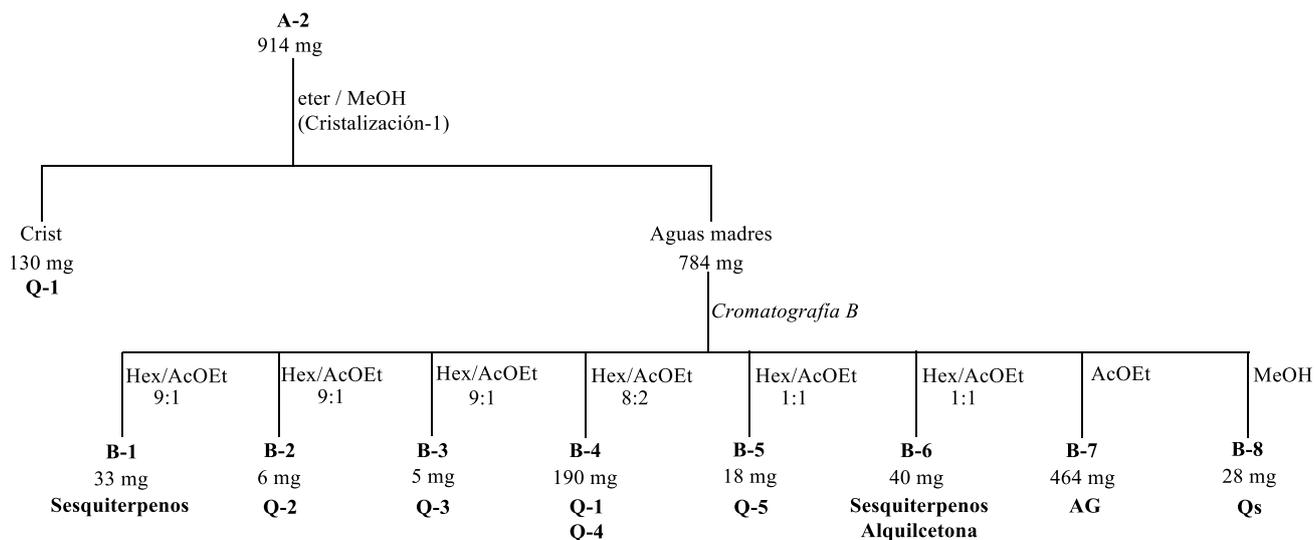
A-1

La fracción **A-1**, 719 mg, fue analizada por RMN ^1H y una muestra fue inyectada en un sistema de CG-EM. Se analizó el cromatograma, y los espectros de masas correspondientes de cada una de los picos cromatográficos que fueron comparados con los disponibles en las Bases de Datos de Espectros de Masas.

La columna utilizada y las condiciones del experimento se indican en la sección III.1 de Técnicas Generales (Espectros de Gases-Masas). En esta fracción se pudieron identificar 5 sesquiterpenos (α -copaeno, valenceno, β -bisaboleno, δ -cadineno, α -gurjuneno) y un diterpeno (traquilobano) cuyas descripciones se encuentran en la sección de Resultados y discusión-Fitoquímica.

A-2

914 mg de la fracción **A-2** se purificaron por cristalización (**Cristalización-1**) con éter/MeOH separándose 130 mg cristales, de 784 mg de aguas madres (**Esquema 6**).



Esquema 6. Cristalización de A-2 y Fraccionamiento de sus aguas madres

Los cristales presentaban un color verde-azulado y las siguientes propiedades físico-químicas:

Pf: 187-188 °C.

$[\alpha]_D^{20} = -15,2$ ($c = 1,05 \times 10^{-3}$ g/ml, CHCl_3)

UV-Vis λ_{max} (EtOH): 264, 340, 471, 582 nm

IR $_{\text{vmax}}$ (KBr): 1668, 1650, 1596, 1549, 1394, 1345, 1278, 1247, 767, 707, 668 cm^{-1} .

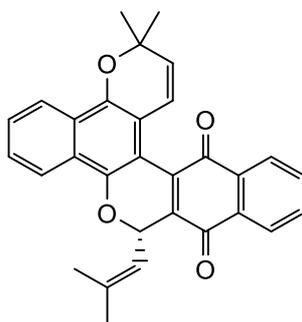
RMN ^{13}C : (ver anexo).

Bidim. : (ver anexo).

HREIMS: Calculado para $\text{C}_{30}\text{H}_{24}\text{O}_4\text{Na}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$, $m/z = 471,1600$; Encontrado para $\text{C}_{30}\text{H}_{24}\text{O}_4\text{Na}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$, $m/z = 471,1619$

Rayos X: (ver anexo)

El compuesto fue identificado como **Tecomaquinona I**, y era coincidente con la información encontrada en la literatura.



Tecomaquinona I (Q-1)

Las aguas madres, 784 mg, se purificaron por cromatografía en columna sobre gel de sílice (**Cromatografía B**), utilizando como eluyente Hex/AcOEt 9:1; Hex/AcOEt 1:1; AcOEt y MeOH, recogiéndose las fracciones: **B-1**, **B-2**, **B-3**, **B-4**, **B-5**, **B-6**, **B-7** y **B-8**.

La fracción **B-1** fue inyectada en un sistema CG-EM. Una vez registrados los cromatogramas, los espectros de masas de cada una de los picos fueron comparados con los disponibles en las Bases de Datos de Espectros de Masas. Identificándose 2 sesquiterpenos (cadaleno y δ -guaieno) y un cromeno (la evodiona), cuyas descripciones se encuentran en el apartado de Resultados y Discusión-Fitoquímica. En esta fracción, las condiciones de experimentación fueron diferentes de las indicadas en el apartado III.1 de Técnicas generales (Espectros de Gases-Masas), en este caso se mantuvo la temperatura a 70°C durante 3 min y después se programó un incremento de temperatura a $5^\circ\text{C}/\text{min}$ hasta alcanzar la temperatura máxima de 300°C , manteniéndose durante 10 minutos.

De la fracción **B-2** se aislaron e identificaron 6 mg de la quinona-2 (**Q-2**); compuesto viscoso de color verde oliva, que mostraba las siguientes propiedades físico-químicas.

$[\alpha]_D^{20} = -76,92$ ($c = 0,000078$, CHCl_3)

UV- λ_{max} (EtOH): 269, 379, 438 nm

IR v_{max} (sobre pastilla de NaCl): 3500, 2925, 2835, 1663, 1625, 1546, 1363, 1320, 1276, 1247, 1023, 769 cm^{-1} .

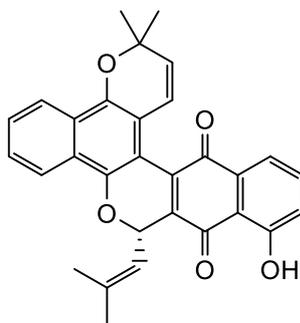
RMN ^1H : (ver anexo).

RMN ^{13}C : (ver anexo).

Bidim. : (ver anexo)

HREIMS: Calculado para $\text{C}_{30}\text{H}_{24}\text{O}_5\text{Na}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$, $m/z = 487,1624$; Encontrado para $\text{C}_{30}\text{H}_{24}\text{O}_5\text{Na}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$, $m/z = 487,1507$

El compuesto fue identificado como **8'-hidroxitecomaquinona I**.



8'-hidroxitecomaquinona I (Q-2)

De la fracción **B-3** se aislaron e identificaron 5 mg de la quinona-3 (**Q-3**); compuesto viscoso de color marrón, que mostraba las siguientes características:

$[\alpha]_D^{20} = -20,2$ ($c = 3,05 \times 10^{-3}$ g/ml, CHCl_3)

IR v_{max} (KBr): 2925, 1731, 1649, 1595, 1553, 1377, 1263, 1041, 739, 725 cm^{-1} .

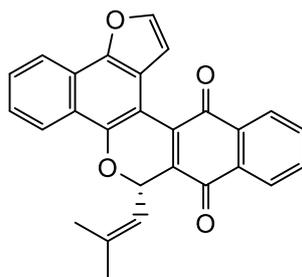
RMN ^1H : (ver anexo).

RMN ^{13}C : (ver anexo).

Bidim. :(ver anexo)

HREIMS: Calculado para $\text{C}_{27}\text{H}_{22}\text{O}_4\text{Na}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$, $m/z = 429,1205$; Encontrado para $\text{C}_{27}\text{H}_{22}\text{O}_4\text{Na}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$, $m/z = 429,2403$

El compuesto fue identificado como **Rhigozona I**:



Rhigozona I (Q-3)

De la fracción **B-4**, 190 mg: se separaron por sucesivas cromatografías 184 mg de la quinona **Q-1**, y 6 mg de un sólido blanco **Q-4**, que presenta las siguientes características.

Pf: 206-207 °C

[α]_D= -2,0 (c= 0,001 mg/ml, AcOH)

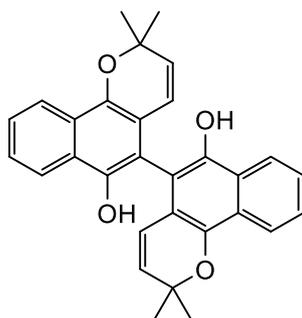
IR_{vmax} (KBr): 3433, 2971, 1645, 1585, 1403, 1369, 1350, 1222, 1181, 1133, 889, 764, 689 cm⁻¹.

RMN ¹H: (ver anexo).

RMN ¹³C: (ver anexo).

HREIMS: Calculado para C₃₀H₂₇O₄Na [M+H]⁺, m/z = 451,1831; Encontrado para C₃₀H₂₇O₄Na [M+H]⁺, m/z = 451,1905

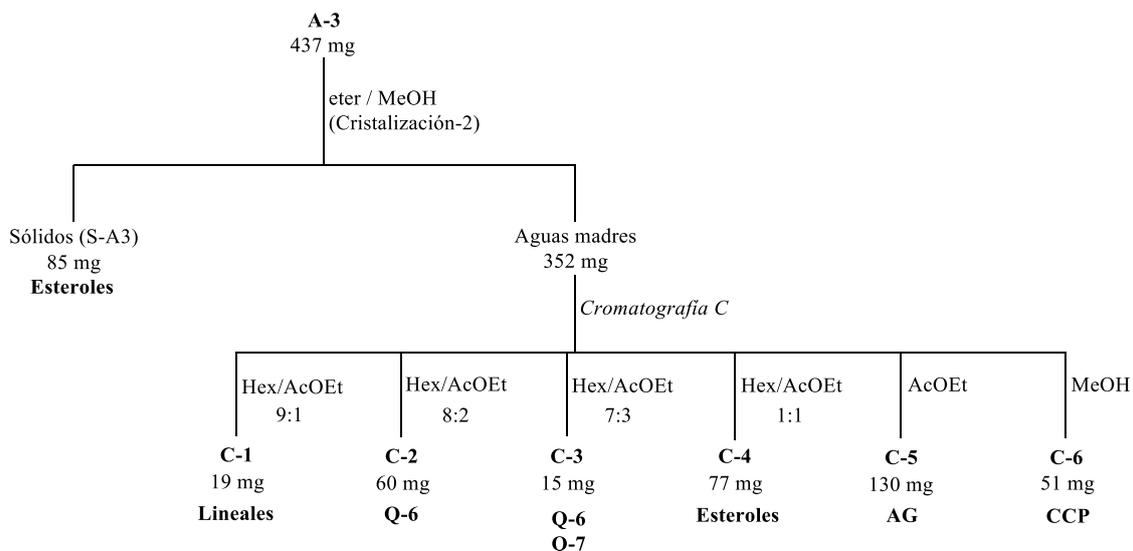
El compuesto fue identificado como **Tectol** y sus propiedades espectroscópicas eran totalmente coincidentes con las encontradas en la literatura¹.



Tectol (Q-4)

De la fracción **B-5** se pudieron aislar e identificar 18 mg de la quinona-5 (**Q-5**). No se pudo identificar la **Q-5** por su inestabilidad excesiva, que después de hacer protón se ha degradado por completo.

¹ Lemos, T. L. G.; Costa, S. M. O.; Pessoa, O. D. L.; Braz-Filho, R. *Magn Reson Chem.* **1999**, 37, 908-911



Esquema 7. Cristalización de A-3 y Fraccionamiento de sus aguas madres

El sólido blanco-amarillento (**S-A3**) fue inyectado en el aparato de CG-EM; analizado su cromatograma y espectros de masas, se pudieron identificar tres nuevos compuestos de tipo esteroles (δ^5 -ergostenol, estigmasta-5,23*E*-dien-3 β -ol, y el clionasterol), que se describen en el apartado Resultados y Discusión-Fitoquímica.

Los 352 mg de las aguas madres fueron purificados por cromatografía en columna sobre gel de sílice (**Cromatografía C**), utilizando como eluyente Hex/AcOEt 9:1; Hex/AcOEt 8:2; Hex/AcOEt 7:3, Hex/AcOEt 1:1, AcOEt y MeOH (**Esquema 5**), separándose las fracciones: **C-1**, **C-2**, **C-3**, **C-4**, **C-5** y **C-6**.

El análisis del espectro RMN ^1H de la fracción **C-1**, 19 mg, indicaba la presencia de compuestos lineales.

De la fracción **C-2** se obtuvieron 60 mg de un agujá de color naranja (**Q-6**), que presentaba las siguientes características fisico-químicas:

Pf: 142-143 °C.

UV- λ_{max} (EtOH): 267, 276 (agudo), 333, 434 nm.

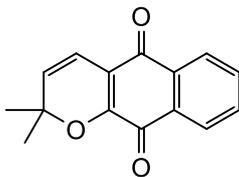
IR $_{\text{vmax}}$ (KBr): 1678, 1592, 1543, 1376, 1322, 1277, 1261, 769, 703 y 653 cm^{-1} .

RMN ^1H : (ver anexo).

RMN ^{13}C : (ver anexo).

EM m/z (intensidad relativa en %) (Fig.): 240 (18) [$\text{M}^+ \text{C}_{15}\text{H}_{12}\text{O}_3$]; 225 (100) [$\text{M}^+ - \text{CH}_3$]; 211 (4) [$\text{M}^+ - \text{C}_2\text{H}_5$]; 197 (40) [$\text{M}^+ - \text{C}_2\text{H}_2 + \text{OH}$]

El compuesto fue identificado como **dehidro- α -lapachona**, cuyas propiedades físico-químicas eran coincidentes con las encontradas en la literatura.

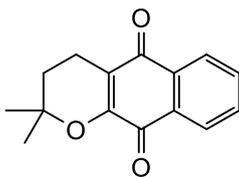


Dehidro- β -lapachona (Q-6)

La fracción **C-3**, 15 mg, contenía la quinona **Q-6** y su isómero **Q-7**, en proporción 2:1, que fue identificado por RMN ^1H comparándolo con el espectro de la **Q-6** puro. La **Q-7** es un compuesto aceitoso de color amarillento, con siguiente característica:

RMN ^1H : Fig. XX1. Tabla XX1 (ver anexo).

El compuesto fue llamado **α -lapachona (Q-7)**.



β -lapachona (Q-7)

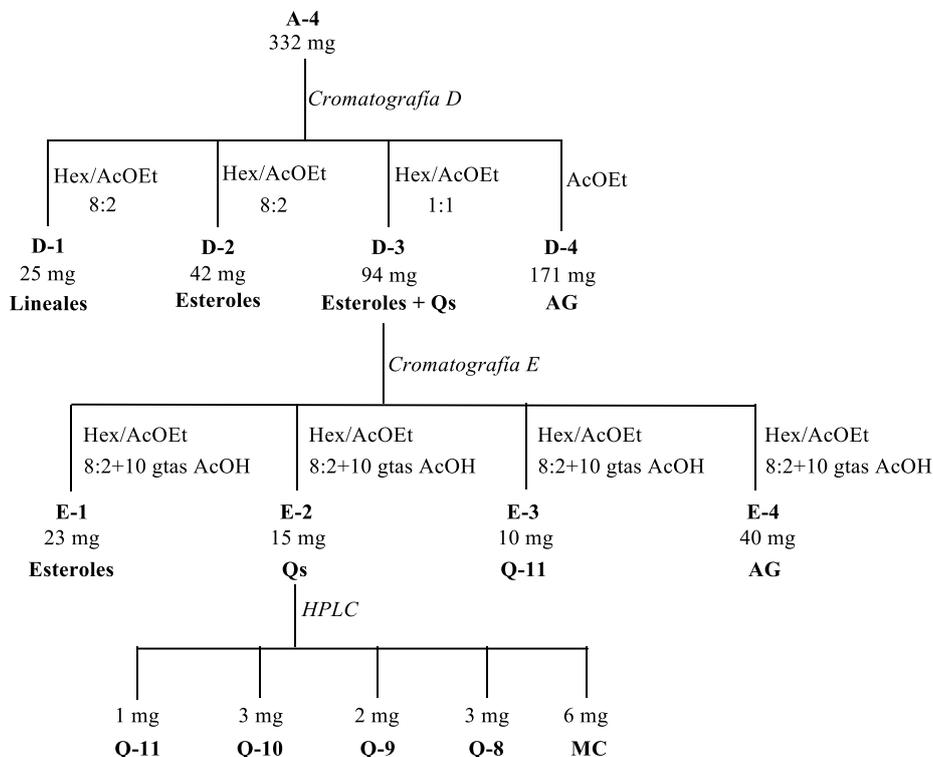
La inyección de una pequeña cantidad de la fracción **C-4**, que pesaba 77 mg, en el aparato de CG-EM demostraba que la fracción contenía fundamentalmente mezcla de 2 esteroides (el clionasterol, y un nuevo esteroide: estigmasta-5,22*E*-dien-3 β -ol) que se describen en el apartado Resultados y Discusión-Fitoquímica

La fracción **C-5**, 130 mg, contenía una mezcla de ácidos grasos (el ac. palmítico, el ac. oleico, junto con otro nuevo el ac. linoléico), según deduce del estudio que se ha hecho en CG-EM. Los detalles del estudio se encuentran en Resultados y Discusión-Fitoquímica.

La fracción **C-6**, que pesa 51 mg, contenía una mezcla de compuestos complejos y polares (**CCP**) de difícil resolución.

A-4

A la fracción **A-4** (332 mg) se la cromatografió en columna flash sobre gel de sílice (**Cromatografía D**), usando como eluyente Hex/AcOEt: 8:2; Hex/AcOEt: 1/1; AcOEt a 100% y recogiendo las fracciones **D-1**, **D-2**, **D-3**, **D-4** (**Esquema 8**).



Esquema 8. Cromatografías de la fracción A-4 y de la fracción D-3

El espectro RMN ^1H , la fracción **D-1**, 25 mg, se indicaba la presencia de compuestos **lineales**.

Se inyectó en CG-EM una pequeña cantidad de la fracción **D-2**, que pesaba 42 mg. Como componentes mayoritarios se pudieron identificar 3 esteroides, dos de ellos encontrados en la fracción anterior (el estigmasta-5,22E-dien-3 β -ol, y el clionasterol) y un nuevo, el ergosterol, cuyo estudio se detalla en dos encontrados en el apartado Resultados y Discusión-Fitoquímica.

El análisis del espectro de RMN ^1H de la fracción **D-3**, 94 mg, indicaba la presencia de esteroides y de quinonas, por lo que fue recromatografiado en columna flash sobre gel de sílice (**Cromatografía E**); utilizando como eluyente Hex/AcOEt: 8:2 + 10 gotas de ácido acético (AcOH) para separarse 5 fracciones que son: **E-1**, **E-2**, **E-3**, **E-4** (**Esquema 8**).

La fracción **E-1**, 23 mg, contenía una mezcla de **esteroides**, según se deduce de su espectro RMN ^1H , que es idéntico es al espectro de RMN ^1H de la fracción **D-2**.

De la fracción **E-2**, 15 mg (**Qs**), se purificó por cromatografía en líquido de alta presión (HPLC), aislando 1 mg de un compuesto **Q-11**, 3 mg de **Q-10**, 2 mg de **Q-9**, 3 mg de **Q-8** y 6 mg de una mezcla compleja (**MC**) de difícil resolución. Las condiciones de separación se mencionan en el apartado IV. 1. Técnicas generales (Cromatografía por HPLC).

El compuesto **Q-8** se aisló en forma de aceite viscoso, de color rojo intenso; y presentaba las siguientes características físico-químicas.

$$[\alpha]_D = -25 \text{ (} c = 0.08 \times 10^{-3} \text{ g/ml)}$$

UV- Vis λ_{\max} (EtOH): 208, 268, 388, 494 nm

IR v_{\max} (sobre pastilla de NaCl): 3586, 3380, 1668, 1660, 1596, 1550, 1430, 1389, 1244, 1156, 766 cm^{-1}

RMN ^1H : (ver anexo)

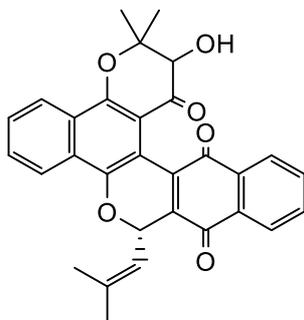
RMN ^{13}C : (ver anexo)

Bidim. : (ver anexo)

HREIMS: Calculado para $\text{C}_{30}\text{H}_{24}\text{O}_6\text{Na}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$, $m/z = 503,1573$; Encontrado para $\text{C}_{30}\text{H}_{24}\text{O}_6\text{Na}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$, $m/z = 503,1463$

El compuesto fue identificado como **12-hidroxi-11-oxo-11,12-dihidrotecaquinona I**

I.



12-hidroxi-11-oxo-11,12-dihidrotecaquinona I (Q-8)

El compuesto **Q-9**, que es un aceite de color azul, tiene las siguientes características físico-químicas.

UV- λ_{\max} (EtOH): (ver anexo)

IR v_{\max} (KBr): (ver anexo)

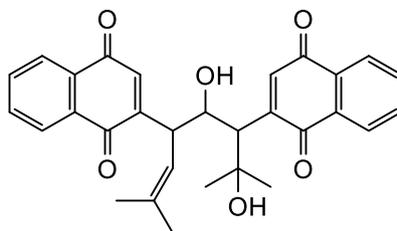
RMN ^1H : Fig. (ver anexo)

RMN ^{13}C : (ver anexo)

Bidim. : (ver anexo)

HREIMS: Calculado para $C_{30}H_{28}O_6Na$ $[M+Na]^+$, $m/z = 507,1886$; Encontrado para $C_{30}H_{28}O_6Na$ $[M+Na]^+$, $m/z = xxxxxxxxxxxxxxx$

El compuesto fue llamado **Rhigozona II:**



Rhigozona II (Q-9)

El **Q-10** es un compuesto pastoso, de color marrón, que sus características físico-químicas no se podía estudiar por su rápida degradación.

De la fracción **E-3**, se aislaron 10 mg de un compuesto **Q-11** en forma de aceite, de color xxxxx, que tiene las siguientes características:

UV- λ_{max} (EtOH): (ver anexo)

IR v_{max} (KBr): (ver anexo)

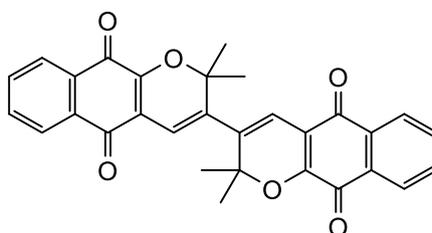
RMN 1H : (ver anexo)

RMN ^{13}C :(ver anexo)

Bidim. : (ver anexo)

HREIMS: Calculado para $C_{30}H_{28}O_6Na$ $[M+Na]^+$, $m/z = 507,1886$; Encontrado para $C_{30}H_{28}O_6Na$ $[M+Na]^+$, $m/z = 507,1980$

El compuesto fue llamado **Rhigozona III**



Rhigozona III (Q-11)

La fracción **E-4**, 40 mg, era una mezcla de ácidos grasos (**AG**) cuyo espectro RMN 1H era totalmente coincidente con el de la fracción **D-4**.

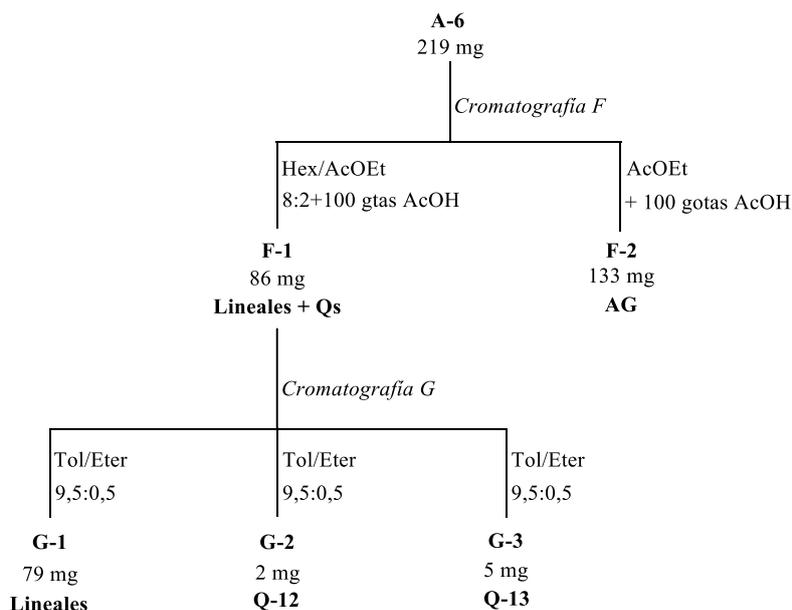
Los compuestos mayoritarios encontrados en la fracción **D-4** que pesaba 171 mg, después de haber inyectado una pequeña cantidad de ella en CG-EM, son iguales a los que tenía la fracción **C-5** pero en diferentes proporciones (Resultados y Discusión-Fitoquímica).

A-5

En la fracción **A-5** (44 mg), contenía una mezcla de dos ácidos grasos, ac. palmítico y ac. linoléico, identificados por CG-EM, según se detalla en el apartado Resultados y Discusión-Fitoquímica.

A-6

La fracción **A-6** de peso 219 mg, se cromatógrafió en columna flash sobre gel de sílice (**Cromatografía F**), utilizando como eluyente Hex/AcOEt: 8:2 + 100 gotas de AcOH, y AcOEt a 100% + 100 gotas de AcOH separándose las fracciones **F-1** y **F-2** (**Esquema 9**)



Esquema 9. Cromatografías de la fracción A-6 y de la fracción F-1

La fracción **F-1**, 86 mg, contenía una mezcla de compuestos lineales y quinons según el estudio de su espectro de RMN ^1H , por lo que se recromatógrafió (**Cromatografía G**) cambiando el eluyente a Tolueno/Eter (Tol/Eter): 9,5:0,5; obteniéndose las fracciones **G-1**, **G-2**, **G-3** (**Esquema 9**).

La fracción **G-1**, 79 mg, contenía únicamente compuestos **lineales** según se desprende de su espectro de RMN ^1H .

La fracción **G-2**, 2 mg, era un compuesto quinónico que se denomina **Q-12**; un compuesto aceitoso,, de color rojo, con las siguientes características:

$$[\alpha]_D^{25} = -40^\circ (c= 0,1, \text{CHCl}_3)$$

UV- λ_{max} (EtOH): (ver anexo)

IR $_{\text{vmax}}$ (KBr): (ver anexo)

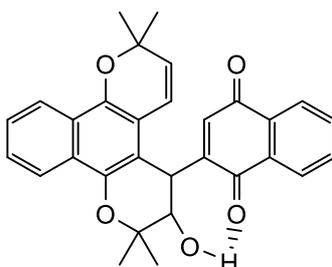
RMN ^1H : (ver anexo)

RMN ^{13}C : (ver anexo)

Bidim. : (ver anexo)

HREIMS: Calculado para $\text{C}_{30}\text{H}_{26}\text{O}_5\text{Na}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$, $m/z = 489,1780$; Encontrado para $\text{C}_{30}\text{H}_{26}\text{O}_5\text{Na}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$, $m/z = 489,2001$

El compuesto fue llamado **Rhigozona IV**.



Rhigozona IV (Q-12)

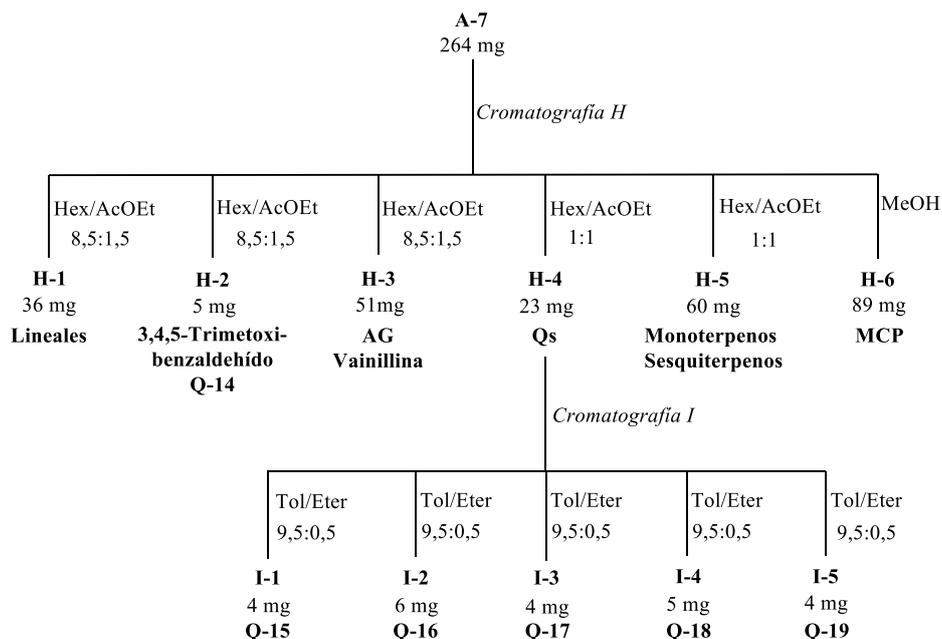
La fracción **G-3**, de peso 5 mg, también era una quinona, que se denominó quinona-13 (**Q-13**) (**CJ-6**). Es un compuesto aceitoso, cuyo color es verde oscuro, que no se podía estudiar a fondo por su fácil degradación

RMN ^1H : (ver anexo)

La fracción **F-2**, de peso 133 mg, fue analizada de la misma manera que las fracciones anteriores en CG-EM. Se mostraba que tenía fundamentalmente un ácido graso (ac. palmítico) que ya había sido identificado en la fracción **C-5** (Resultados y Discusión-Fitoquímica).

A-7

La fracción de **A-7** (264 mg) se cromatografió en columna flash sobre gel de sílice (**Cromatografía H**), utilizando como eluyente Hex/AcOEt: 8,5:1,5, Hex/AcOEt: 1:1, y MeOH a 100% para dar las fracciones **H-1**, **H-2**, **H-3**, **H-4**, **H-5**, **H-6**, según se indica en el **Esquema 10**:



Esquema 10. Fraccionamiento Cromatográfico de las fracciones A-7 y H-4

La fracción **H-1**, 36 mg, contenía compuestos lineales, según se deduce de su espectro RMN ¹H.

La fracción **H-2**, de peso 5 mg, después de una percolación en Tolueno, daba una sub-fracción que pesa 1 mg, y otra sub-fracción de 4 mg de pesos.

La sub-fracción, que pesaba 1 mg, fue estudiada en CG-EM, de la misma manera que las fracciones anteriores. Se identificaron un compuesto de tipo benzaldehído (3,4,5-trimetoxi-benzaldehído), cuya la descripción se encuentra en la parte Resultados y Discusión-Fitoquímica.

La otra sub-fracción (4 mg) era una quinona, que se denominaba quinona-14 (**Q-14**) (**CG-5**). La **Q-14** era un compuesto en forma de pasta, de color verde, que se ha degradado con facilidad.

RMN ¹H: (ver anexo)

Una pequeña parte de la fracción **H-3** (51 mg) fue inyectada en CG-EM para su estudio. Se han identificado como compuestos mayoritarios una mezcla de ácidos grasos (ac. palmítico, ac. linoléico, ac. oleico, ac. esteárico) y otro derivado de benzaldehído (vainillina). Los detalles de este estudio se encuentra en el apartado Resultados y Discusión-Fitoquímica.

En la fracción **H-4**, 23 mg, se han separado e identificado cuatros nuevos quinonas, tras recromatografiarla en columna flash sobre gel de sílice cambiando el eluyente a Tolueno/Eter (Tol/Et): 9,5:0,5 (**Cromatografía I**), recogándose las fracciones **I-1**, **I-2**, **I-3**, **I-4**, **I-5** (**Esquema 10**).

La fracción **I-1**, 4 mg, era un compuesto en forma de pasta, de color blanco. Era un compuesto quinónico denominado **Q-15**, que tenía las siguientes características:

UV- λ_{\max} (EtOH): (ver anexo)

IR v_{\max} (KBr): (ver anexo)

RMN ^1H : (ver anexo)

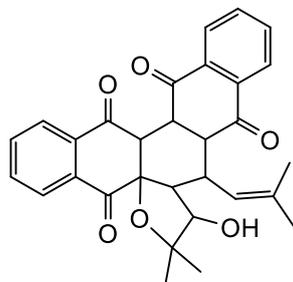
RMN ^{13}C : (ver anexo)

Bidim. : (ver anexo)

HREIMS: Calculado para $\text{C}_{30}\text{H}_{26}\text{O}_5\text{Na}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$, $m/z = 489,1780$; Encontrado para $\text{C}_{30}\text{H}_{26}\text{O}_5\text{Na}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$, $m/z = 489,1560$

Bidim. : Fig.XX1 (ver anexo)

El compuesto fue llamado **Rhigozona V**.



Rhigozona V (Q-15)

La fracción **I-2**, 6 mg, contenía un compuesto quinónico aceitoso y viscoso, de color verde-azulado. Se le denominó quinona **Q-16**, que presentaba propiedades fisico-químicas:

$[\alpha]_D^{25}$ = $-39,5^\circ$ ($c = 0,076$ mg/ml, CHCl_3)

UV- Vis λ_{\max} (EtOH): 264, 340, 471, 582 nm

IR v_{\max} (KBr): 3433, 1658, 1596, 1552, 1250, 1130, 1066, 768 cm^{-1} .

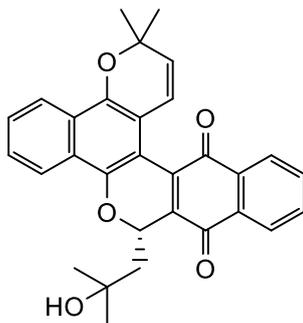
RMN ^1H : Fig. (ver anexo)

RMN ^{13}C : (ver anexo)

Bidim. : (ver anexo)

HREIMS: Calculado para $\text{C}_{30}\text{H}_{26}\text{O}_5\text{Na}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$, $m/z = 489,1780$; Encontrado para $\text{C}_{30}\text{H}_{26}\text{O}_5\text{Na}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$, $m/z = 489,1672$

El compuesto fue llamado: **13'-hidroxi-12',13'-dihidrotecomaquinona I**



13'-hidroxi-12',13'-dihidro-tecomaquinona I (Q-16)

La fracción **I-3**, 4 mg, era un compuesto quinónico aceitoso, de color verde claro. denominado **Q-17**, que tenía las siguientes características.

UV- λ_{\max} (EtOH): (ver anexo)

IR v_{\max} (KBr): (ver anexo)

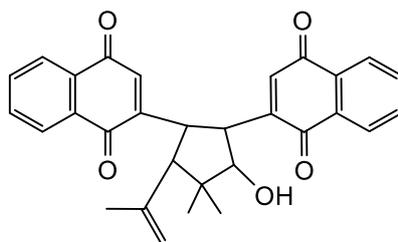
RMN ^1H : Fig. (ver anexo)

RMN ^{13}C : Fig. (ver anexo)

Bidim. : (ver anexo)

HREIMS: Calculado para $\text{C}_{15}\text{H}_{12}\text{O}_3\text{Na}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$, $m/z = 489,1780$; Encontrado para $\text{C}_{15}\text{H}_{12}\text{O}_3\text{Na}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$, $m/z = 489,1689$

El compuesto fue llamado **Rhigozona V (Q-17)**



Rhigozona V (Q-17)

La fracción **I-4**, 5 mg, era un compuesto quinónico aceitoso, de color blanco-amarillento denominado **Q-18** con las siguientes características:

UV- λ_{\max} (EtOH): (ver anexo)

IR v_{\max} (KBr): (ver anexo)

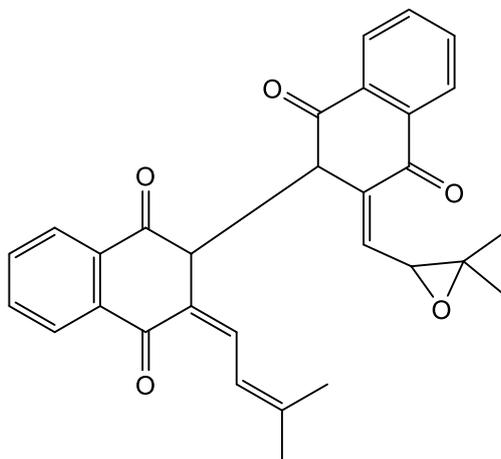
RMN ^1H : (ver anexo)

RMN ^{13}C : (ver anexo)

Bidim. : (ver anexo)

HREIMS: Calculado para $C_{15}H_{12}O_3Na$ $[M+Na]^+$, $m/z = 489,1780$ Encontrado para $C_{15}H_{12}O_3Na$ $[M+Na]^+$, $m/z = 489,1700$

El compuesto fue llamado xxxxxxxxx (**Q-18**).



Rhigozona VI (Q-18)

La fracción **I-5**, 4 mg, era un compuesto aceitoso, de color marrón. Era una quinona, que se denominaba **Q-19** con las siguientes características:

UV- λ_{max} (EtOH): (ver anexo)

IR $_{v_{max}}$ (KBr): (ver anexo)

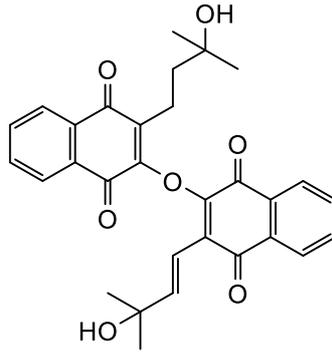
RMN 1H : (ver anexo)

RMN ^{13}C : (ver anexo)

Bidim. : (ver anexo)

HREIMS: Calculado para $C_{15}H_{12}O_3Na$ $[M+Na]^+$, $m/z = 523,1835$; Encontrado para $C_{15}H_{12}O_3Na$ $[M+Na]^+$, $m/z = 523,1815$

El compuesto fue llamado **Rhigozona VII (Q-19)**.



Rhigozona VII (Q-19)

Identificada por CG-EM, la fracción **H-5** (60 mg) mostraba que contenía fundamentalmente una mezcla de monoterpeno (α -terpineol), y tres nuevos sesquiterpenos (cedrol, epoxi-aromadendreno, α -bisabolol). Los estudios hechos de esta fracción se encuentran en el apartado Resultados y Discusion-Fitoquímica.

La fracción **H-6**, cuyo peso era 89 mg, era una mezcla complejo y polar (**MCP**) de difícil resolución.

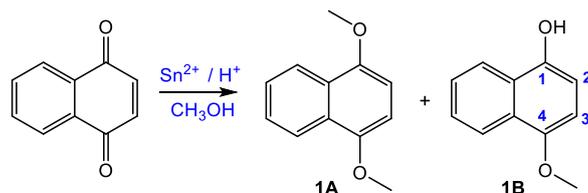
A-8

La fracción **A-8**, de peso 241 mg, contenía una mezcla commpleja de difícil resolución.

IV.3 OBTENCIÓN DE TECOMAQUINONA

MÉTODO A

A.1- OBTENCIÓN DE 4-METOXI-NAFTOL (1B)



A una disolución de 1,4-naftoquinona (3,16g, 20 mmol) en 40 mL de MeOH y con agitación magnética se añade una disolución de $\text{SnCl}_2 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ (13,3 g, 60 mmol) en HCl 12 M (14 mL), gota a gota, desde un embudo de adición durante 20 minutos.

Finalizada la reacción se adapta un refrigerante de bolas y se mantiene a reflujo durante tres horas, controlando la reacción por CCF. Se deja enfriar a temperatura ambiente y se reduce el metanol a la quinta parte, aproximadamente, en rotavapor. Se vierte sobre una mezcla de agua/hielo apareciendo un precipitado que se filtra en Büchner. El sólido se disuelve en diclorometano y se seca sobre Na_2SO_4 anhidro. Por eliminación del disolvente aparece un residuo sólido de color marrón que se purifica por cromatografía en columna, eluyendo con hex/AcOEt, con incremento de polaridad (95:5; 8:2 y AcOEt) separándose dos compuestos en proporciones 1.5:1.0.

El compuesto menos polar se identificó como 1,4-dimetoxinaftaleno (**1A**), del que se separaron 1,5 g (7,98 mmol, 40%), después se aisló 1,0 g (5,74 mmol, 29%) de 4-metoxi-1-naftol (**1B**).

El 1,4-dimetoxinaftaleno (**1A**), se separó en forma de sólido blanco y presentaba las propiedades fisicoquímicas:

Pf: 90-91 °C.

IR ν_{max} (KBr): 2941, 2838 (C-H), 1630, 1595 (C=C), 1465, 1273 (C-O), 1087, 809 y 764 cm^{-1} .

RMN ^1H : Fig. 1. Tabla X1 (ver anexo).

RMN ^{13}C : Fig. 1. Tabla X2 (ver anexo).

HREIMS: Calculado para $\text{C}_{12}\text{H}_{12}\text{O}_2$ $[\text{M}]^+$, $m/z = 188,0837$; Encontrado $[\text{M}]^+ = 188,0841$.

El 4-metoxi-1-naftol (**1B**), se aisló en forma de sólido marrón con las siguientes propiedades fisicoquímicas:

Pf: 129-130 °C.

IR ν_{\max} (KBr): 3275 (O-H), 2900, 2834 (C-H), 1635, 1597 (C=C) 1236 (C-O), 1152 (C-O), 975, 815 y 731 cm^{-1} .

RMN ^1H : Fig. 1. Tabla X1 (ver anexo).

RMN ^{13}C : Fig. 1. Tabla X2 (ver anexo).

HREIMS: Calculado para $\text{C}_{11}\text{H}_{10}\text{O}_2\text{Na}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$, $m/z = 197,0579$; Encontrado $[\text{M}+\text{Na}]^+ = 197,0579$.

A.2- OBTENCIÓN DE 1-*TERT*-BUTILDIMETILSILILOXI-4-METOXI-NAFTALENO

(2)



Sobre una disolución del compuesto **1B** (320 mg, 1,84 mmol) en 20 mL de diclorometano y con agitación, se añaden 313 mg (4,6 mmol) de imidazol, 495 mg (3,3 mmol) de TBDMSiCl (495 mg, 3,3 mmol) y 10 mg (0,09 mmol) de DMAP. Manteniendo la reacción a temperatura ambiente y atmósfera inerte durante 20 horas. Se controla la evolución por CCF.

Finalizada la reacción se extrae en embudo de decantación con CH₂Cl₂, se lava con agua y con una disolución saturada de NaCl. Se seca la fase orgánica con Na₂SO₄ anhidro, filtra y evapora, obteniéndose un crudo de reacción de 527 mg, que se purifica por cromatografía en columna, eluyendo con hex/AcOEt con incremento de polaridad (99:1; 95:5 y AcOEt), obteniéndose 410 mg (1,42 mmol 77%) de un sólido blanco, 1-*tert*-butildimetilsililoxi-4-metoxi-naftaleno (**2**), con las siguientes propiedades fisicoquímicas:

Pf: 129-130 °C.

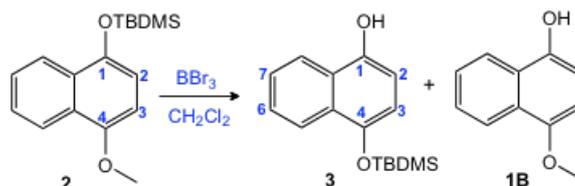
IR ν_{\max} (KBr): 2955, 2930, 2858, 1625, 1594, 1463, 1271, 1096, 839 y 764 cm^{-1} .

RMN ^1H : Fig. 1. Tabla X1 (ver anexo).

RMN ^{13}C : Fig. 1. Tabla X2 (ver anexo).

HREIMS: Calculado para $\text{C}_{17}\text{H}_{25}\text{O}_2\text{Si}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$, $m/z = 289,1546$; Encontrado $[\text{M}+\text{H}]^+ = 289,1614$

A.3- OBTENCIÓN DE 4-*TERT*-BUTILDIMETILSILILOXI-NAFTOL (3)



Sobre una disolución del compuesto **2** (356 mg, 1,23 mmol) en 5 mL de CH_2Cl_2 y con agitación, se añaden 1,23 mL de una disolución de $\text{BBr}_3 \cdot \text{CH}_2\text{Cl}_2$ (1M). Manteniendo la mezcla de reacción a 0°C y en atmósfera inerte durante 4 horas. Controlando la evolución por CCF.

Finalizada la reacción se extrae en embudo de decantación con AcOEt, se lava con agua y con una disolución saturada de NaCl. Se seca la fase orgánica con Na_2SO_4 anhidro, filtra y evapora, obteniéndose 350 mg de un crudo de reacción, que se purifica por cromatografía en columna, eluyendo con hex/AcOEt con incremento de polaridad (98:2; 95:5 y 9:1), obteniéndose 256 mg (0,93 mmol, 76%) de 4-*tert*-butildimetilsililoxi-naftol (**3**) y 42 mg (0,23 mmol, 18%) del compuesto **1B**. El compuesto **3** era un sólido blanco con las siguientes propiedades físicoquímicas:

Pf: 75-76 $^\circ\text{C}$.

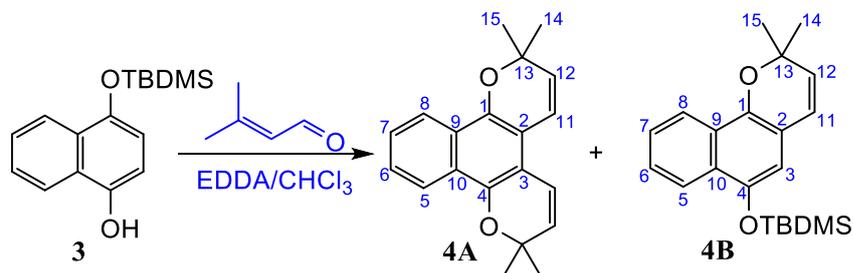
IR ν_{max} (KBr): 3272 (O-H), 2928, 2856 (C-H), 1660 (C=C), 1595, 1267 (C-O), 1070, 871, 839 y 765 cm^{-1} .

RMN ^1H : Fig. 1. Tabla X1 (ver anexo).

RMN ^{13}C : Fig. 1. Tabla X2 (ver anexo).

HREIMS: Calculado para $\text{C}_{16}\text{H}_{23}\text{O}_2\text{Si}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$, $m/z = 275,1389$; Encontrado $[\text{M}+\text{H}]^+ = 275,1460$.

A.4- OBTENCIÓN DEL SILIL DERIVADO 4B



A una disolución del compuesto **3** (150 mg, 0,54 mmol) en 7 mL CHCl_3 en agitación magnética y a temperatura ambiente, se añaden 103 μL (1,08 mmol) crotonaldehído y 18 mg (0,11 mmol) de EDDA. Después se lleva la mezcla a reflujo y se mantiene en atmósfera inerte durante 24 horas. Se controla la reacción mediante CCF.

Se evapora el disolvente, obteniéndose un crudo de reacción que se purifica por cromatografía en columna, eluyendo con hex/AcOEt con incremento de polaridad (99:1; 95:5 y 9:1), obteniéndose 26 mg (0,08 mmol, 15%) del compuesto **4A** y 146 mg (0,43 mmol, 80 %) del compuesto **4B**.

El compuesto **4A** se aisló en forma de aceite amarillento y presentaba las siguientes propiedades espectroscópicas:

IR ν_{max} (NaCl): 2975, 1404, 1361, 1287, 1122, 1024 y 766 cm^{-1} .

RMN ^1H : Fig. 1. Tabla X1 (ver anexo).

RMN ^{13}C : Fig. 1. Tabla X2 (ver anexo).

HREIMS: Calculado para $\text{C}_{20}\text{H}_{21}\text{O}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$, $m/z = 293,1563$; Encontrado $[\text{M}+\text{H}]^+ = 293,1533$.

El compuesto **4B**, 6-*tert*-butildimetilsililoxi-2,2-dimetil-2*H*-benzo [h]cromeno, se aislaba en forma de aceite amarillo claro con las siguientes propiedades espectroscópicas:

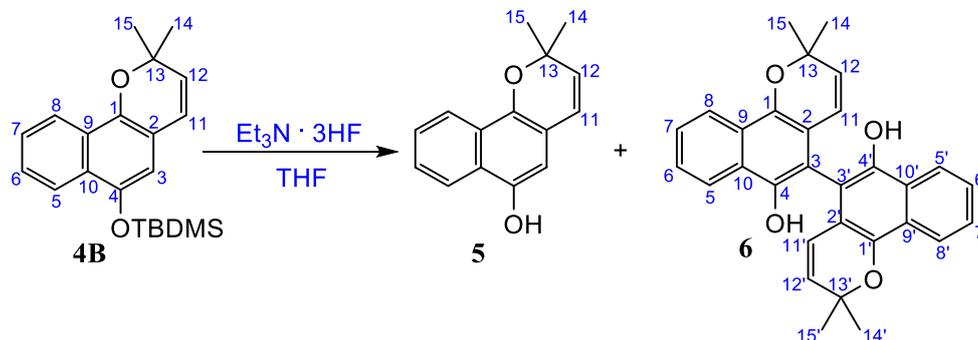
IR ν_{max} (NaCl): 2957, 2929 (C-H), 1643 (C=C), 1596, 1410, 1254 (C-O), 868, 838 y 767 cm^{-1} .

RMN ^1H : Fig. 1. Tabla X1 (ver anexo).

RMN ^{13}C : Fig. 1. Tabla X2 (ver anexo).

HREIMS: Calculado para $\text{C}_{21}\text{H}_{29}\text{O}_2\text{Si}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$, $m/z = 341,1859$; Encontrado $[\text{M}+\text{H}]^+ = 341,1927$.

A.5- OBTENCIÓN DE HEMITECTOL (5) Y TECTOL (6)



Sobre una disolución del compuesto **4B** (126 mg, 0,37 mmol) en 5mL de THF, en agitación magnética y a temperatura ambiente, se añaden 339 μL (1,85 mmol) de $\text{Et}_3\text{N} \cdot 3\text{HF}$. La reacción se mantiene en atmósfera inerte y se controla mediante CCF.

Finalizada la reacción se evapora el disolvente, obteniéndose un crudo de reacción que se purifica por cromatografía en columna, eluyendo con hex/AcOEt con incremento de polaridad (99:1; 95:5; 8:2 y AcOEt), obteniéndose 69 mg (0,30 mmol, 81%) del compuesto **5**, que evoluciona rápidamente al derivado dimérico **6**.

El compuesto **5** se aisló en forma de aceite amarillento con las siguientes propiedades fisicoquímicas:

IR ν_{max} (NaCl): 3435 (O-H), 2974 (C-H), 1645, 1597 (C=C), 1370, 1344, 1070, 903, 813 y 764 cm^{-1} .

RMN ^1H : Fig. 1. Tabla X1 (ver anexo).

RMN ^{13}C : Fig. 1. Tabla X2 (ver anexo).

HREIMS: Calculado para $\text{C}_{15}\text{H}_{15}\text{O}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$, $m/z = 227,1073$; Encontrado $[\text{M}+\text{H}]^+ = 227,1075$.

El compuesto **6**, se obtuvo como un sólido de color blanco y presentaba las idénticas propiedades fisicoquímicas que la quinona **Q-4**.

Pf: 206-207 $^{\circ}\text{C}$.

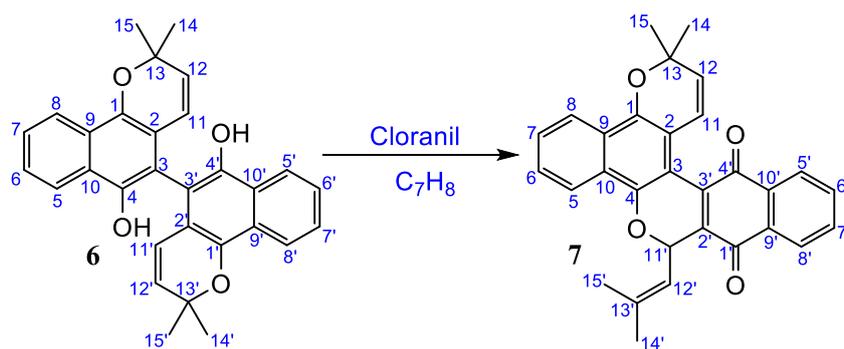
IR ν_{max} (NaCl): 3435 (O-H), 2974 (C-H), 1645, 1597 (C=C), 1370, 1345, 1070, 903, 885 y 764 cm^{-1} .

RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3): Ver anexo. $\delta = 8,26$ (da, $J = 7,6$ Hz, 2H, H-5, H-5'); $\delta = 8,21$ (dd, $J_1 = 8,1$ Hz, $J_2 = 1,2$ Hz, 2H, H-8, H-8'); $\delta = 7,57-7,55$ (m, 4H, H-7, H-7'); H-6,

H-6'); $\delta = 5,94$ (*d*, $J = 9,8$ Hz, 2H, H-11, H-11'); $\delta = 5,54$ (*d*, $J = 9,8$ Hz, 2H, H-12, H-12'); $\delta = 5,07$ (*s*, 2-OH, OH-4, OH-4'); $\delta = 1,52$ (*s*, 12H, H-14, H-14', H-15, H-15').

HREIMS: Calculado para $C_{30}H_{26}O_4Na$ $[M+Na]^+$, $m/z = 473,2104$; Encontrado $[M+Na]^+ = 473,2103$.

A.6- OBTENCIÓN DE TECOMAQUINONA I (7)



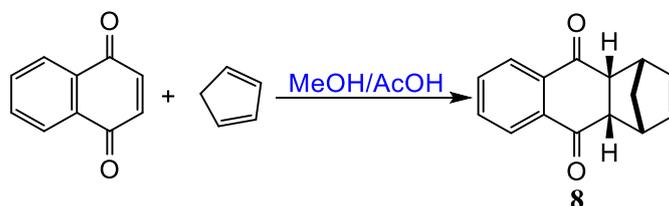
Se disolvió el compuesto **6** (42 mg, 0,09 mmol) en 7 mL de tolueno, añadiendo seguidamente 44mg (0,18mmol) de cloranil, llevando la mezcla a reflujo durante 12 horas, se controla la reacción por CCF. Una vez finalizada se evapora el disolvente y el crudo de reacción se purifica por cromatografía en columna, eluyendo con hex/AcOEt con incremento de polaridad (95:5, 9:1 y 8:2), para dar 43 mg (0,09 mmol, 100%) de un sólido verde-azulado, compuesto **7**, cuyas propiedades espectroscópicas eran totalmente coincidentes con las de Tecomaquinona-I (**Q-1**):

Pf: 186-188 °C.

IR ν_{max} (KBr): 2972, 2925, 1690, 1679, 1666, 1650, 1594, 1571, 1368, 1345, 1247, 1111, 905, 753 y 711 cm^{-1} .

RMN 1H (400 MHz, $CDCl_3$): Ver anexo. $\delta = 8,21$ (*d*, $J = 8,3$ Hz, 1H, H-8); $\delta = 8,17$ (*d*, $J = 8,4$ Hz 1H, H-5); $\delta = 8,14-8,10$ (*m*, 2H, H-5', H-8'); $\delta = 7,74$ (*m*, 2H, H-6', H-7'); $\delta = 7,55$ (*dd*, $J_1 = 8,3$ Hz, $J_2 = 8,0$ Hz, 1H, H-7); $\delta = 7,47$ (*dd*, $J_1 = 8,4$ Hz, $J_2 = 8,0$ Hz, 1H, H-6); $\delta = 6,42$ (*d*, $J = 9,2$ Hz, 1H, H-11'); $\delta = 6,16$ (*d*, $J = 9,6$ Hz, 1H, H-11);. $\delta = 5,59$ (*d*, $J = 9,6$ Hz, 1H, H-12); $\delta = 5,45$ (*dq*, $J_1 = 9,2$ Hz, $J_2 = 1,3$ Hz, 1H, H-12'); $\delta = 2,05$ (*s*, 3H, H-15'); $\delta = 1,66$ (*s*, 3H, H-15); $\delta = 1,64$ (*s*, 3H, H-14); $\delta = 1,60$ (*s*, 3H, H-14').

HREIMS: Calculado para $C_{30}H_{25}O_4$ $[M+H]^+$, $m/z = 449,1747$; Encontrado $[M+H]^+ = 449,1748$.

MÉTODO B**B.1- OBTENCIÓN DEL DERIVADO NAFTOQUINÓNICO 8**

A una solución de 1,4-naftoquinona (2.34 g, 14.8 mmol) en 14 mL de MeOH/AcOH (1:1), atmósfera inerte y temperatura ambiente, se añaden 2,5 mL (1,95 g, 29,6 mmol) de ciclopentadieno, gota a gota con jeringa. Acabada la adición, se deja evolucionar durante 2 horas y después se lleva a 0 °C con baño de agua/hielo y se añaden 25 mL de NaHCO₃ (5%). Se extrae la mezcla con benceno (3x50 mL). La fase orgánica se lava con agua saturada con NaCl y se seca con Na₂SO₄ anhidro obteniéndose un crudo de reacción de 3,22 g, que se cromatógrafió sobre gel de sílice, utilizando como eluyente una mezcla de Hex/AcOEt (9:1) para dar 3,0 g (13,4 mmol, 90%) de un sólido amarillento, compuesto **8**, que presentaba las siguientes propiedades físico químicas.

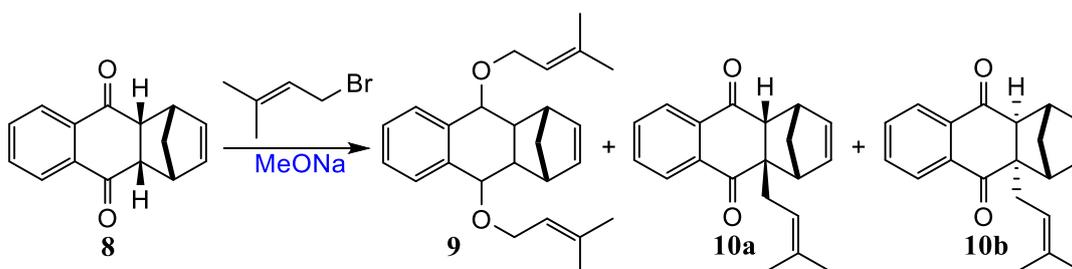
Pf: 100-101 °C

IR ν_{\max} (KBr): 3065, 2972, 1678, 1592, 1453, 1376, 1322, 1277, 1261, 741 cm⁻¹.

RMN ¹H: (ver anexo).

RMN ¹³C: (ver anexo).

HREIMS: Calculado para C₁₅H₁₂O₂Na [M+Na]⁺, $m/z = 247.0727$; Encontrado [M+Na]⁺ = 247.0733

2- OBTENCIÓN DE LOS ISÓMEROS 10a y 10b

Sobre una solución del compuesto **8** (2,80 g, 12,5 mmol) en 50 mL de THF, a 0 °C y en atmósfera inerte se añadieron, lentamente desde un embudo de adición, una solución de MeONa

(517 mg de Na en 5 mL de MeOH) en 20 mL de THF, manteniéndola durante 1 hora a 0 °C. Después se añadieron 1,61 mL (14 mmol) de bromuro de 3-metil-buten-2-ilo en 25 mL de THF a 0 °C. Se controla la reacción por CCF, observándose la total evolución a las 2 horas. A continuación se añadieron 25 mL de HCl (1M) extrayéndose con benceno (2x25 mL). La fase orgánica se lavó con agua saturada de NaCl y se seco sobre Na₂SO₄ anhidro. Se filtró y evaporó, obteniéndose 3,2 g de un crudo de reacción que se purificó por cromatografía de columna utilizando como eluyente Hex/AcOEt (98:2), para separar 66 mg (0,18 mmol, 1,5%) del compuesto **9**, 820 mg (2,80 mmol, 22 %) del compuesto **10a** y 2.56 g (8.7 mmol, 70%) de la mezcla de isómeros **10a** y **10b** en proporción (1:1).

El compuesto **9**, se aisló en forma de aceite amarillento y presentaba las siguientes propiedades espectroscópicas.

IR ν_{\max} (KBr): 2970, 2931, 1646, 1449, 1376, 1346, 1274, 1080, 994, 766, 728 cm⁻¹.

RMN ¹H: (ver anexo).

RMN ¹³C: (ver anexo).

HREIMS: Calculado para C₂₅H₂₉O₂ [M+H]⁺, m/z = 361,2162; Encontrado [M+H]⁺ = 361,2161.

El compuesto **10a**, se aisló en forma de aceite amarillo-marrón y presentaba las siguientes propiedades espectroscópicas.

IR ν_{\max} (KBr): 3065, 2972, 2930, 2866, 1681, 1592, 1453, 1376, 1254, 1024, 741 cm⁻¹.

RMN ¹H: (ver anexo).

RMN ¹³C: (ver anexo).

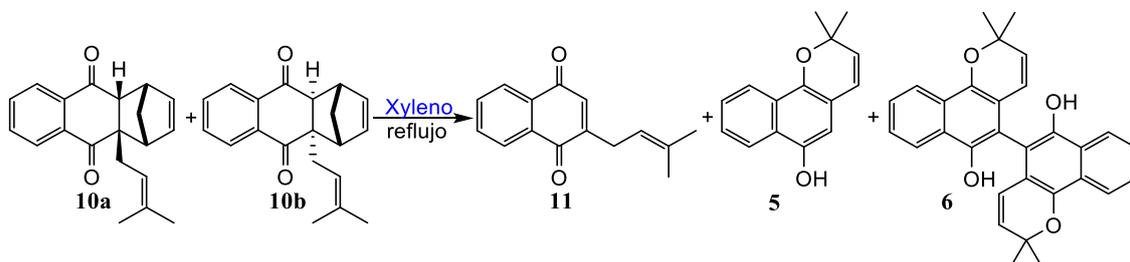
HREIMS: Calculado para C₂₀H₂₁O₂ [M+H]⁺, m/z = 293.1536; Encontrado [M+H]⁺ = 293.1540

El compuesto **10b**, se identifica a partir de la mezcla por comparación con los espectros de **10a** y presentaba las siguientes propiedades espectroscópicas.

RMN ¹H: (ver anexo).

RMN ¹³C: (ver anexo).

3- OBTENCIÓN DE 2-(3-METIL-2-BUTENIL)-1,4-NAFTALENDIONA (11), (DEOXILAPACHOL)



La mezcla de isómeros **10a** y **10b** (2,37g, 8,1 mmol) se disolvió en 90 mL de xileno y se llevó a reflujo en atmósfera de N₂. Finalizada la reacción al cabo de 4 horas, se llevó a temperatura ambiente y se eliminó el xileno a alto vacío. El crudo de reacción 1,5 g, se purificó por cromatografía en columna, utilizando como eluyente hex/AcOEt (15:1) para separar 1,34 g mg (5,9 mmol, 73%) de la quinona **11** y 378 mg de la mezcla hemitectol/tectol en proporción (1:1).

El compuesto **11**, se aislaba como un sólido de color marrón y presentaba las siguientes propiedades físico-químicas.

Pf: 75-76 °C.

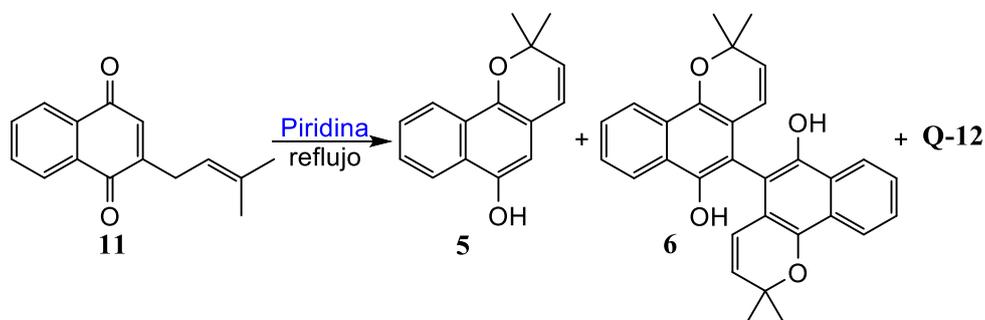
IR ν_{\max} (KBr): 2972, 2914, 1664, 1619, 1594, 1449, 1376, 1329, 1300, 1266, 781 cm⁻¹.

RMN ¹H: (ver anexo).

RMN ¹³C: (ver anexo).

HREIMS: Calculado para para C₁₅H₁₅O₂ [M+H]⁺, m/z = 227.1066; Encontrado [M+H]⁺= 227.1076.

4- OBTENCIÓN DE HEMITECTOL (5) Y TECTOL (6)



El compuesto **11** (195 mg, 0.86 mmol) se disolvió en 4mL de piridina y se mantuvo a reflujo durante 24h. Se eliminó la piridina a alto vacío y el crudo de reacción se purificó por

cromatografía sobre gel de sílice, utilizando como eluyente con hex/AcOEt (95:5), para dar 76 mg (0.17 mmol, 20%) del tectol (**6**), 34 (0,07 mmol, 8%) de la quinona 12mg y 42 mg (0.18 mmol, 21%) del hemitectol (**5**).

Los espectros de RMN ¹H y masas de los compuestos **5** y **6** eran idénticos a los indicados en el apartado A-5 y A-6.

V. CONCLUSIONES

Las conclusiones del “**Estudio fitoquímico de los componentes de *Rhigozum madagascariensis***” pueden quedar resumidas en los siguientes puntos:

1. El extracto de hexano de las raíces de *Rhigozum madagascariensis*, representa en 0,60 % del peso de raíz seca.
2. El fraccionamiento del extracto de hexano para separar las ceras polares (62%) y no polares (3%), proporcionó una fracción soluble-3 que representaba el 24% del peso del extracto de hexano.
3. El estudio mediante técnicas cromatográficas (cromatografía de gases-espectrometría de masas “CG-EM”, cromatografía de columna y HPLC) de la fracción soluble-3 permitió,
 - Identificar por CG-EM: 1 Monoterpeno, 14 sesquiterpenos, 1 diterpeno, 1 derivado de cromano, 5 ácidos grasos, 5 esteroides y 2 compuestos aromáticos. Todos ellos conocidos.
 - Separar e identificar 10 derivados quinónicos, todos estructura dimérica menos la α -deshidrolapachona. 8 de los derivados quinónicos eran compuestos nuevos, menos tecomaquinona-1 y la α -deshidrolapachona.
4. Tecomaquinona-1 constituía el componente mayoritario del extracto de hexano con un 5,2%.
5. Se ha puesto a punto el proceso sintético de obtención de Tecomaquinona-1 por dos rutas A y B. Ambas rutas parten de 1,4-naftoquinona, el rendimiento global de la ruta A es del 12% y de la ruta B del 18%.
6. El extracto de hexano, fracciones y productos puros fueron ensayados en la línea tumoral P-388 (leucemia de ratón), en *Plasmodium falciparum* y en *Mycobacterium tuberculosis*. Siendo la más potente Tecomaquinona-1

VI. TABLAS

Tabla 1. Datos de RMN ¹H de las quinonas Q-1, Q-2, Q-16, Q-8

¹ H	δ ppm (<i>m</i> ; <i>J</i>)	δ ppm (<i>m</i> ; <i>J</i>)	δ ppm (<i>m</i> ; <i>J</i>)	δ ppm (<i>m</i> ; <i>J</i>)
H-5	8,17 (<i>d</i> ; <i>J</i> = 8,4 Hz)	8,18 (<i>d</i> ; <i>J</i> = 8,0 Hz)	8,14 (<i>d</i> ; <i>J</i> = 8,2 Hz)	8,25 (<i>d</i> ; <i>J</i> = 7,8 Hz)
H-6	7,47 (<i>dd</i> ; <i>J</i> ₁ = 8,4 Hz, <i>J</i> ₂ = 8,0 Hz)	7,48 (<i>t</i> ; <i>J</i> = 8,0 Hz)	7,46 (<i>t</i> ; <i>J</i> = 8,2 Hz)	7,71 (<i>t</i> ; <i>J</i> = 7,8 Hz)
H-7	7,55 (<i>dd</i> ; <i>J</i> ₁ = 8,3 Hz, <i>J</i> ₂ = 8,0 Hz)	7,55 (<i>t</i> ; <i>J</i> = 8,0 Hz)	7,56 (<i>t</i> ; <i>J</i> = 8,2 Hz)	7,69 (<i>t</i> ; <i>J</i> = 7,8 Hz)
H-8	8,21 (<i>d</i> ; <i>J</i> = 8,3 Hz)	8,21 (<i>d</i> ; <i>J</i> = 8,0 Hz)	8,22 (<i>d</i> ; <i>J</i> = 8,2 Hz)	8,36 (<i>d</i> ; <i>J</i> = 7,8 Hz)
H-11	6,16 (<i>d</i> ; <i>J</i> = 9,6 Hz)	6,14 (<i>d</i> ; <i>J</i> = 9,6 Hz)	6,14 (<i>d</i> ; <i>J</i> = 9,6 Hz)	-
H-12	5,59 (<i>d</i> ; <i>J</i> = 9,6 Hz)	5,58 (<i>d</i> ; <i>J</i> = 9,6 Hz)	5,59 (<i>d</i> ; <i>J</i> = 9,6 Hz)	4,20 (<i>s</i>)
H-14	1,64 (<i>s</i>)	1,61 (<i>s</i>)	1,64 (<i>s</i>)	1,78 (<i>s</i>)
H-15	1,66 (<i>s</i>)	1,62 (<i>s</i>)	1,66 (<i>s</i>)	1,72 (<i>s</i>)
H-5'	8,14 (<i>m</i>)	7,68 (<i>m</i>)	8,13 (<i>m</i>)	8,09 (<i>d</i> ; <i>J</i> = 7,8 Hz)
H-6'	7,74 (<i>m</i>)	7,61 (<i>m</i>)	7,79 (<i>m</i>)	7,75 (<i>t</i> ; <i>J</i> = 7,8 Hz)
H-7'	7,74 (<i>m</i>)	7,28 (<i>m</i>)	7,77 (<i>m</i>)	7,74 (<i>t</i> ; <i>J</i> = 7,8 Hz)
H-8'	8,10 (<i>m</i>)	- / 12,00 (<i>s</i>)	8,09 (<i>m</i>)	8,07 (<i>d</i> ; <i>J</i> = 7,8 Hz)
H-11'	6,42 (<i>d</i> ; <i>J</i> = 9,2 Hz)	6,39 (<i>d</i> ; <i>J</i> = 9,3 Hz)	6,16 (<i>dd</i> ; <i>J</i> ₁ = 9,4 Hz; <i>J</i> ₂ = 2,8 Hz)	6,48 (<i>d</i> ; <i>J</i> = 9,3 Hz)
H-12'	5,45 (<i>dq</i> ; <i>J</i> ₁ = 9,2 Hz; <i>J</i> ₂ = 1,3 Hz)	5,46 (<i>d</i> ; <i>J</i> = 9,3 Hz)	2,23 (<i>dd</i> ; <i>J</i> ₁ = 15,0 Hz; <i>J</i> ₂ = 9,4 Hz) ¹ 1,61 (<i>dd</i> ; <i>J</i> ₁ = 15,0 Hz; <i>J</i> ₂ = 2,8 Hz) ²	5,50 (<i>d</i> ; <i>J</i> = 9,3 Hz)
H-14'	1,60 (<i>s</i>)	1,61 (<i>s</i>)	1,35 (<i>s</i>)	1,62 (<i>s</i>)
H-15'	2,05 (<i>s</i>)	2,17 (<i>s</i>)	1,35 (<i>s</i>)	2,06 (<i>s</i>)

400 MHz; CDCl₃; 1: H12'A; 2: H12'B; *m*= multiplicidad; *J*= constante de acoplamiento.

Tabla 2. Datos de RMN ¹H de las quinonas Q-3, Q-4, Q-12, Q-6

¹ H	Q-3	Q-4	Q-12	Q-6
	δ ppm (<i>m</i> ; <i>J</i>)*	δ ppm (<i>m</i> ; <i>J</i>)	δ ppm (<i>m</i> ; <i>J</i>)*	δ ppm (<i>m</i> ; <i>J</i>)
OH-4	-	5,07 (<i>s</i>)	-	-
H-5	8,19 (<i>d</i> ; <i>J</i> = 8,0 Hz)	8,26 (<i>da</i> ; <i>J</i> = 7,6 Hz)	7,90(<i>m</i>)	8,09 (<i>m</i>)
H-6	7,44 (<i>t</i> ; <i>J</i> ₁ = 8,0 Hz; <i>J</i> ₂ = 4,0 Hz)	7,55 (<i>m</i>)	7,46 (<i>m</i>)	7,68 (<i>m</i>)
H-7	7,60 (<i>t</i> ; <i>J</i> ₁ = 8,0 Hz; <i>J</i> ₂ = 4,0 Hz)	7,57 (<i>m</i>)	7,46 (<i>m</i>)	7,70 (<i>m</i>)
H-8	8,25 (<i>d</i> ; <i>J</i> = 8,0 Hz)	8,21 (<i>dd</i> ; <i>J</i> ₁ = 8,1 Hz; <i>J</i> ₂ = 1,2 Hz)	8,16 (<i>m</i>)	8,08 (<i>m</i>)
H-11	6,91 (<i>sa</i>)	5,94 (<i>d</i> ; <i>J</i> = 9,8 Hz)	6,06 (<i>d</i> ; <i>J</i> = 9,8 Hz)	-
H-12	7,71 (<i>sa</i>)	5,54 (<i>d</i> ; <i>J</i> = 9,8 Hz)	5,58 (<i>d</i> ; <i>J</i> = 9,8 Hz)	5,72 (<i>d</i> ; <i>J</i> = 10,0 Hz)
H-13	-	-	-	6,65 (<i>d</i> ; <i>J</i> = 10,0 Hz)
H-14	-	1,52 (<i>s</i>)	1,48 (<i>s</i>)	1,56 (<i>s</i>)
H-15	-	1,52 (<i>s</i>)	1,44 (<i>s</i>)	1,56 (<i>s</i>)
H-3'	-	-	6,47 (<i>s</i>)	-
OH-4'	-	5,07 (<i>s</i>)	-	-
H-5'	8,15 (<i>d</i> ; <i>J</i> = 4,0 Hz)	8,26 (<i>da</i> ; <i>J</i> = 7,6 Hz)	8,04 (<i>m</i>)	-
H-6'	7,71 (<i>m</i>)	7,55 (<i>m</i>)	7,79 (<i>m</i>)	-
H-7'	7,71 (<i>m</i>)	7,57 (<i>m</i>)	7,79 (<i>m</i>)	-
H-8'	8,05 (<i>d</i> ; <i>J</i> = 4,0 Hz)	8,21 (<i>dd</i> ; <i>J</i> ₁ = 8,1 Hz; <i>J</i> ₂ = 1,2 Hz)	8,18 (<i>m</i>)	-
H-11'	6,41 (<i>d</i> ; <i>J</i> = 4,0 Hz)	5,94 (<i>d</i> ; <i>J</i> = 9,8 Hz)	5,09 (<i>d</i> ; <i>J</i> = 4,3 Hz)	-
H-12'	5,35 (<i>d</i> ; <i>J</i> = 8,0 Hz)	5,54 (<i>d</i> ; <i>J</i> = 9,8 Hz)	4,51 (<i>d</i> ; <i>J</i> = 4,3 Hz)	-
H-14'	1,52 (<i>s</i>)	1,52 (<i>s</i>)	1,29 (<i>s</i>)	-
H-15'	2,01 (<i>s</i>)	1,52 (<i>s</i>)	1,34 (<i>s</i>)	-

400 MHz; *600 MHz; CDCl₃; *m*= multiplicidad; *J*= constante de acoplamiento.

Tabla 2. Datos de RMN ¹³C de las quinonas Q-1, Q-2, Q-16, Q-8, Q-3, Q-4, Q-12, Q-6

¹³ C	Tipo	Q-1	Q-2	Q-16	Q-8	Q-3	Q-4	Q-12	Q-6
		δ ppm	δ ppm	δ ppm	δ ppm	δ ppm*	δ ppm	δ ppm	δ ppm
C-1	C	143,46	143,56	143,60	154,06	146,37	142,61	143,00	179,87
C-2	C	112,67	112,47	112,58	109,74	119,97	114,82	111,83	152,41
C-3	C	111,23	111,28	111,17	108,04	107,85	108,49	115,76	117,83
C-4	C	147,96	148,37	146,55	148,82	150,24	143,65	149,61	181,87
C-5	CH	123,07	123,14	126,78	123,44	124,19	122,56	121,39	126,21
C-6	CH	126,38	126,46	126,68	130,29	125,30	126,13	125,94	133,95
C-7	CH	128,04	128,28	128,14	128,74	128,99	126,69	126,13	131,18
C-8	CH	122,26	122,31	122,58	124,23	120,10	121,96	122,64	126,21
C-9	C	127,60	127,80	125,41	127,36	123,99	126,12	120,10	131,53
C-10	C	125,70	125,65	126,98	129,48	123,59	124,35	125,76	131,45
C-11	CH	123,90	123,93	123,64	191,53 ^A	110,17	120,33	119,26	80,42 ^A
C-12	CH	125,17	125,21	125,37	76,52	143,37	130,56	131,35	130,86
C-13	C	75,75	75,82	75,84	82,89	-	75,99	77,30	115,43 ^C
C-14	CH ₃	25,37	25,36	25,46	26,72	-	25,54	27,63	28,33
C-15	CH ₃	28,66	28,64	28,63	16,77	-	25,49	27,30	28,33
C-1'	C	182,23	186,98	181,98	182,09	182,45	142,61	185,23	-
C-2'	C	136,48	136,66	133,04	132,28	135,35	114,82	152,15	-
C-3'	C	135,64	135,97	136,69	138,90	136,22	108,49	137,41 ^C	-
C-4'	C	183,51	182,88	183,09	183,47	183,57	143,65	184,82	-
C-5'	CH	126,69	119,32	122,41	125,93	126,76	122,56	126,35	-
C-6'	CH	133,56	135,97	133,67	133,20	133,69	126,13	134,36	-
C-7'	CH	133,56	123,77	133,75	133,55	133,69	126,69	134,07	-
C-8'	CH	125,91	160,96 ^A	125,95	126,64	125,93	121,96	127,12	-
C-9'	C	133,07	130,86	131,79	133,29	133,18	126,12	132,08	-
C-10'	C	131,90	133,09	127,83	134,01	131,95	124,35	132,08	-
C-11'	CH	67,79	67,29	69,06	68,56	68,14	120,33	41,85	-
C-12'	CH	117,46	117,32	41,95 ^B	117,60	117,72	130,56	96,43	-
C-13'	C	141,93	142,32	70,43	142,37	141,99	75,99	73,09	-
C-14'	CH ₃	26,00	26,01	29,51	25,96	25,99	25,54	24,25	-
C-15'	CH ₃	18,93	18,94	30,14	18,94	19,01	25,49	25,79	-

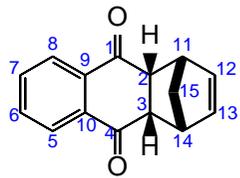
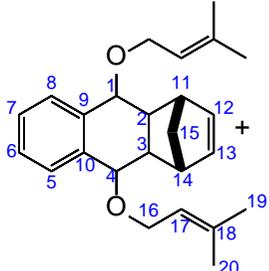
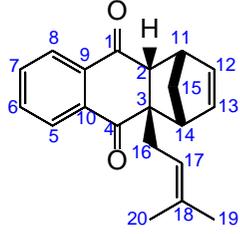
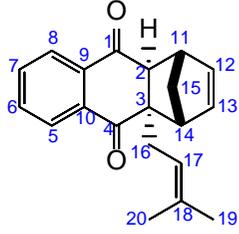
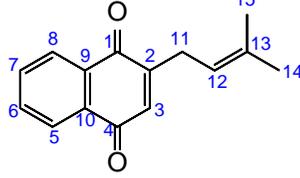
100 MHz; * 150 MHz; CDCl₃; ^A: Tipo C; ^B: Tipo CH₂; ^C: Tipo CH

Tabla 1. Datos de RMN ^1H de los compuestos sintetizados 1A, 1B, 2, 3, 4A, 4B, 5

^1H	δ ppm (<i>m</i> ; <i>J</i>)						
H-2	6,73 (<i>s</i>)	6,70 (<i>d</i> ; <i>J</i> = 8,1 Hz)	6,79 (<i>d</i> ; <i>J</i> = 8,2 Hz)	6,71 (<i>d</i> ; <i>J</i> = 8,0 Hz)	-	-	-
H-3	6,73 (<i>s</i>)	6,60 (<i>d</i> ; <i>J</i> = 8,1 Hz)	6,67 (<i>d</i> ; <i>J</i> = 8,2 Hz)	6,68 (<i>d</i> ; <i>J</i> = 8,0 Hz)	-	6,61 (<i>s</i>)	6,54 (<i>s</i>)
H-5	8,33 (<i>m</i>)	8,23 (<i>m</i>)	8,24 (<i>m</i>)	8,16 (<i>m</i>)	8,03 (<i>m</i>)	8,12 (<i>m</i>)	8,04 (<i>d</i> ; <i>J</i> = 7,2 Hz)
H-6	7,60 (<i>m</i>)	7,51 (<i>m</i>)	7,51 (<i>m</i>)	7,51 (<i>m</i>)	7,32 (<i>m</i>)	7,48 (<i>m</i>)	7,45 (<i>m</i>)
H-7	7,60 (<i>m</i>)	7,51 (<i>m</i>)	7,51 (<i>m</i>)	7,51 (<i>m</i>)	7,32 (<i>m</i>)	7,48 (<i>m</i>)	7,45 (<i>m</i>)
H-8	8,33 (<i>m</i>)	8,13 (<i>m</i>)	8,15 (<i>m</i>)	8,16 (<i>m</i>)	8,03 (<i>m</i> -)	8,22 (<i>m</i>)	8,15 (<i>d</i> ; <i>J</i> = 7,2 Hz)
H-11	-	-	-	-	6,55 (<i>d</i> ; <i>J</i> = 9,6 Hz)	6,40 (<i>d</i> ; <i>J</i> = 9,6 Hz)	6,34 (<i>d</i> ; <i>J</i> = 9,6 Hz)
H-12					5,63 (<i>d</i> ; <i>J</i> = 9,6 Hz)	5,67 (<i>d</i> ; <i>J</i> = 9,6 Hz)	5,65 (<i>d</i> ; <i>J</i> = 9,6 Hz)
H-14					1,54 (<i>s</i>)	1,54 (<i>s</i>)	1,54 (<i>s</i>)
H-15					1,54 (<i>s</i>)	1,54 (<i>s</i>)	1,54 (<i>s</i>)
OMe	4,00 (<i>s</i>)	3,96 (<i>s</i>)	3,97 (<i>s</i>)		--	-	-
Si(Me) ₂			0,28 (<i>s</i>)	0,27 (<i>s</i>)	--	0,31 (<i>s</i>)	-
SiC(Me) ₃			1,12 (<i>s</i>)	1,12 (<i>s</i>)	--	1,15 (<i>s</i>)	-

400 MHz CDCl₃

Tabla 3. Datos de RMN ¹H de los compuestos sintetizados 8, 9, 10A, 10B, 11

¹ H	8	9	10A	10B	11
					
¹ H	δ ppm (<i>m</i> ; <i>J</i>)	δ ppm (<i>m</i> ; <i>J</i>)	δ ppm (<i>m</i> ; <i>J</i>)	δ ppm (<i>m</i> ; <i>J</i>)	δ ppm (<i>m</i> ; <i>J</i>)
H-2	3,45 (<i>dd</i> ; $J_1=2,8$ Hz, $J_2=1,6$ Hz)	-	3,21 (<i>s</i>)	3,21 (<i>s</i>)	-
H-3	3,45 (<i>dd</i> ; $J_1=2,8$ Hz, $J_2=1,6$ Hz)	-	-	-	6,75 (<i>s</i>)
H-5	8,01 (<i>m</i>)	8,09 (<i>m</i>)	8,03 (<i>m</i>)	7,98 (<i>m</i>)	8,04 (<i>m</i>)
H-6	7,68 (<i>m</i>)	7,43 (<i>m</i>)	7,67 (<i>m</i>)	7,63 (<i>m</i>)	7,71 (<i>m</i>)
H-7	7,68 (<i>m</i>)	7,43 (<i>m</i>)	7,69 (<i>m</i>)	7,65 (<i>m</i>)	7,71 (<i>m</i>)
H-8	8,01 (<i>m</i>)	8,09 (<i>m</i>)	8,05 (<i>m</i>)	7,95 (<i>m</i>)	8,09 (<i>m</i>)
H-11	3,65 (<i>q</i> ; $J=2,0$ Hz)	4,29 (<i>t</i> ; $J=1,6$ Hz)	2,37 (<i>s</i>)	3,11 (<i>s</i>)	3,27 (<i>d</i> ; $J=7,2$ Hz)
H-12	5,97 (<i>dd</i> ; $J_1=2,0$ Hz, $J_2=1,6$ Hz)	6,76 (<i>dd</i> ; $J_1=2,0$ Hz, $J_2=1,6$ Hz)	6,26 (<i>dd</i> ; $J_1=5,6$ Hz, $J_2=2,8$ Hz)	5,85 (<i>dd</i> ; $J_1=6,0$ Hz, $J_2=3,2$ Hz)	5,21 (<i>t</i> ; $J=7,2$ Hz)
H-13	5,97 (<i>dd</i> ; $J_1=2,0$ Hz, $J_2=1,6$ Hz)	6,76 (<i>dd</i> ; $J_1=2,0$ Hz, $J_2=1,6$ Hz)	6,48 (<i>dd</i> ; $J_1=5,6$ Hz, $J_2=2,8$ Hz)	6,03 (<i>dd</i> ; $J_1=6,0$ Hz, $J_2=3,2$ Hz)	-
H-14	3,65 (<i>q</i> ; $J=2,0$ Hz)	4,29 (<i>t</i> ; $J=1,6$ Hz)	3,34 (<i>s</i>)	3,50 (<i>s</i>)	1,66 (<i>s</i>)
H-15	1,56 (<i>dd</i> ; $J_1=8,8$ Hz, $J_2=1,6$ Hz) 1,52 (<i>dd</i> ; $J_1=8,8$ Hz, $J_2=1,6$ Hz)	2,27 (<i>dt</i> ; $J_1=7,2$ Hz, $J_2=1,6$ Hz) 2,16 (<i>d</i> ; $J=7,2$ Hz)	1,32 (<i>dd</i> ; $J_1=9,2$ Hz, $J_2=2,8$ Hz) 1,19 (<i>d</i> ; $J=9,2$ Hz)	1,75 (<i>d</i> ; $J=9,2$ Hz) 1,54 (<i>d</i> ; $J=9,2$ Hz)	1,66 (<i>s</i>)
H-16	-	4,60 (<i>dd</i> ; $J_1=11,2$ Hz, $J_2=7,2$ Hz) 4,54 (<i>dd</i> ; $J_1=11,2$ Hz, $J_2=7,2$ Hz)	2,71 (<i>dd</i> ; $J_1=13,6$ Hz, $J_2=7,2$ Hz) 1,78 (<i>dd</i> ; $J_1=13,6$ Hz, $J_2=7,2$ Hz)	2,95 (<i>dd</i> ; $J_1=14,0$ Hz, $J_2=7,2$ Hz) 2,27 (<i>dd</i> ; $J_1=14,0$ Hz, $J_2=7,2$ Hz)	-
H-17	-	6,67 (<i>t</i> ; $J=7,2$ Hz)	4,74 (<i>t</i> ; $J=7,2$ Hz)	4,84 (<i>t</i> ; $J=7,2$ Hz)	-
H-19	-	1,68 (<i>s</i>)	1,34 (<i>s</i>)	1,44 (<i>s</i>)	-
H-20	-	1,82 (<i>s</i>)	1,42 (<i>s</i>)	1,54 (<i>s</i>)	-

400 MHz CDCl₃

Tabla 2. Datos de RMN ^{13}C de los compuestos sintetizados 1A, 1B, 2, 3, 4A, 4B, 5

		1A	1B	2	3	4A	4B	5
^{13}C	Tipo	δ ppm	δ ppm	δ ppm				
C-1	C	149,54	145,04	145,14	145,49	ζ ?	144,86	144,96
C-2	CH	103,24	107,98	111,80	112,10	ζ ? ^A	115,06 ^A	115,06 ^A
C-3	CH	103,23	103,56	103,43	108,32	ζ ?	110,93	107,06
C-4	C	149,54	149,69	149,83	145,49	ζ ?	142,39	142,53
C-5	CH	121,87	121,96	122,40	122,65	ζ ?	122,51	130,17
C-6	CH	125,92	125,75	125,69	125,65	ζ ?	125,55	122,66
C-7	CH	125,92	125,87	126,46	125,45	ζ ?	125,34	122,66
C-8	CH	121,87	121,41	121,84	121,55	ζ ?	121,83	130,17
C-9	C	126,42	125,29	128,50	128,52	ζ ?	128,30	125,79
C-10	C	126,42	126,28	126,49	125,53	ζ ?	129,06	126,24
C-11	CH	-	-	-	-	ζ ?	122,91	120,39
C-12	CH	-	-	-	-	ζ ?	129,89	130,17
C-13	C	-	-	-	-	ζ ?	77,20	76,22
C-14	CH ₃	-	-	-	-	ζ ?	27,62	27,31
C-15	CH ₃	-	-	-	-	ζ ?	27,62	27,31
OCH ₃	CH ₃	55,70	55,79	55,63	-	-	-	-
Si(CH ₃) ₂	CH ₃	-	-	-4,29	4,29	-	4,22	-
SiC(CH ₃) ₃	CH ₃	-	-	25,93	25,95	-	25,96	-
SiC(CH ₃) ₃	C	-	-	18,41	18,50	-	18,42	-

400 MHz CDCl₃; ^A: Tipo C

Tabla 4. Datos de RMN ^{13}C de los compuestos sintetizados

		8	9	10A	10B	11
^{13}C	Tipo	δ ppm				
C-1	C	147,64	143,16	197,86	198,39	185,17
C-2	C	49,43	135,90	50,49	49,77	150,69
C-3	C	49,43	135,90	58,41	58,67	134,52 ^C
C-4	C	197,64	143,16	201,45	201,54	185,17
C-5	CH	126,72	121,24	126,74	126,42	125,96
C-6	CH	133,98	124,18	133,87	133,69	133,50
C-7	CH	133,98	124,18	134,16	134,15	133,56
C-8	CH	126,72	121,24	127,02	126,15	126,43
C-9	C	135,69	127,35	134,81	135,07	136,30
C-10	C	135,69	127,35	134,63	134,90	132,04
C-11	CH	49,12	46,10	55,35	55,91	27,95 ^B
C-12	CH	135,46	140,68	135,33	138,09	118,21
C-13	CH	135,46	140,68	139,21	138,09	132,24 ^A
C-14	CH	49,12	46,10	52,88	53,70	25,75 ^D
C-15	CH	49,41	70,12	46,93	47,00	17,76 ^D
C-16	CH ₂	-	64,32	38,79	38,81	-
C-17	CH	-	119,82	119,09	119,12	-
C-18	C	-	137,00	136,51	136,61	-
C-19	CH ₃	-	24,94	25,59	25,66	-
C-20	CH ₃	-	17,13	17,78	17,95	-

400 MHz; CDCl₃; ^A: Tipo C; ^B: Tipo CH₂; ^C: Tipo CH; ^D: Tipo CH₃

VII. ESPECTROS

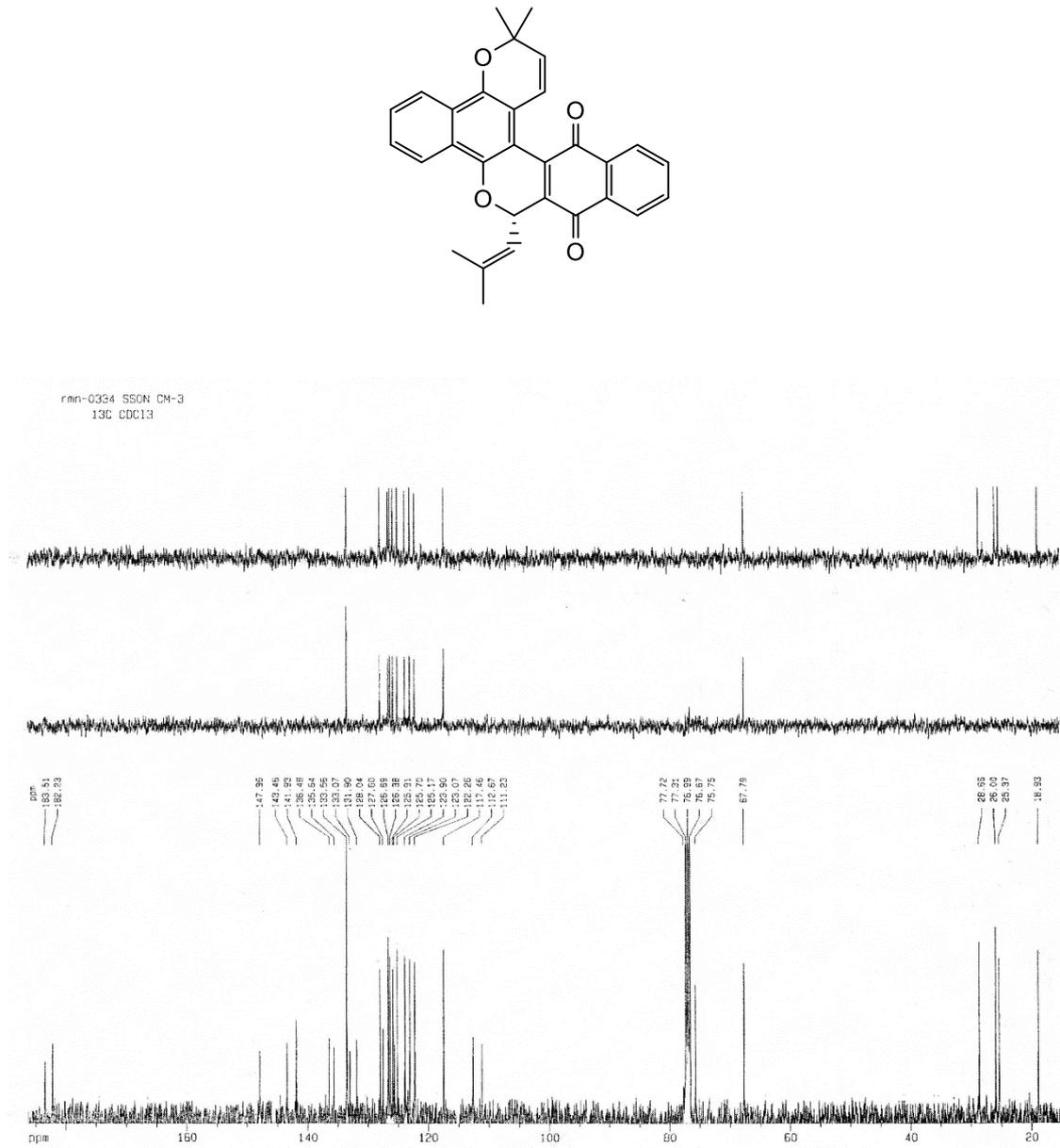


Figura 58. Espectro de RMN ^{13}C (100MHz) de Tecomaquinona I (Q-1) en CDCl_3

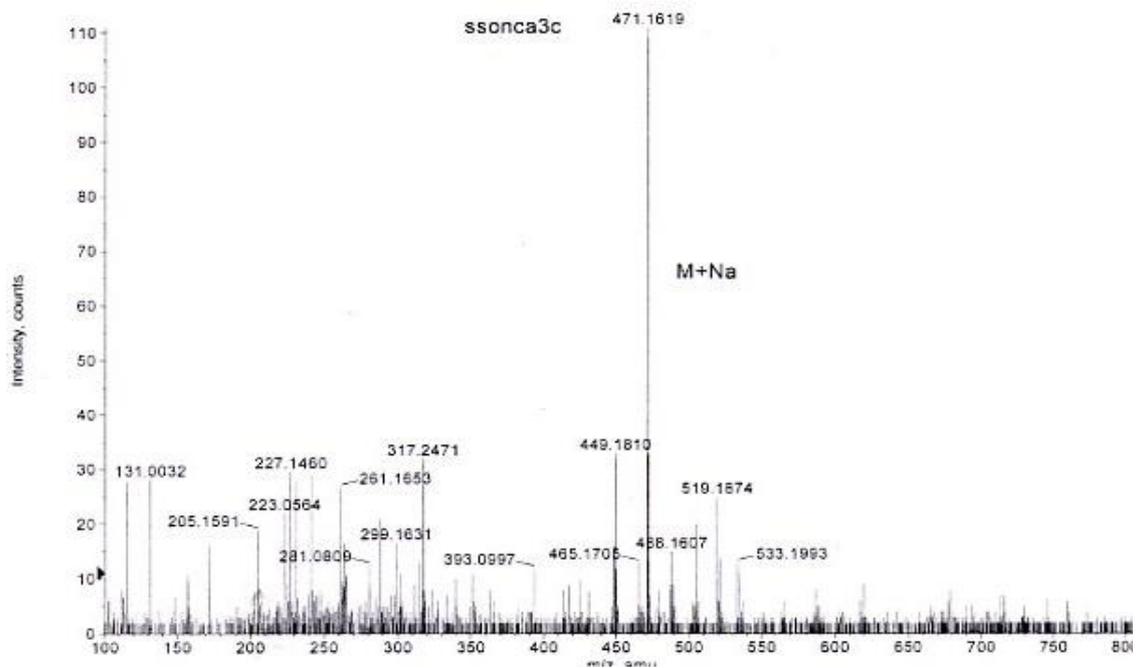
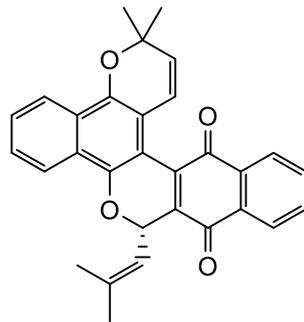
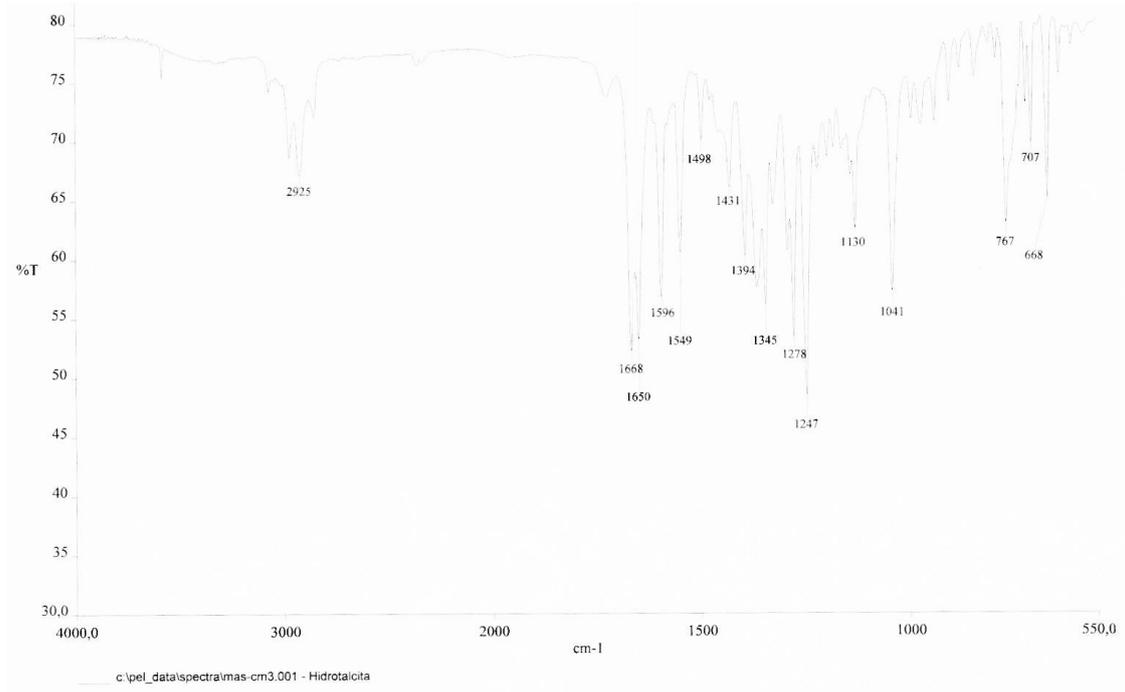


Figura 59. Espectros de infrarrojo y de masas exacta de Tecomaquinona I (Q-1)

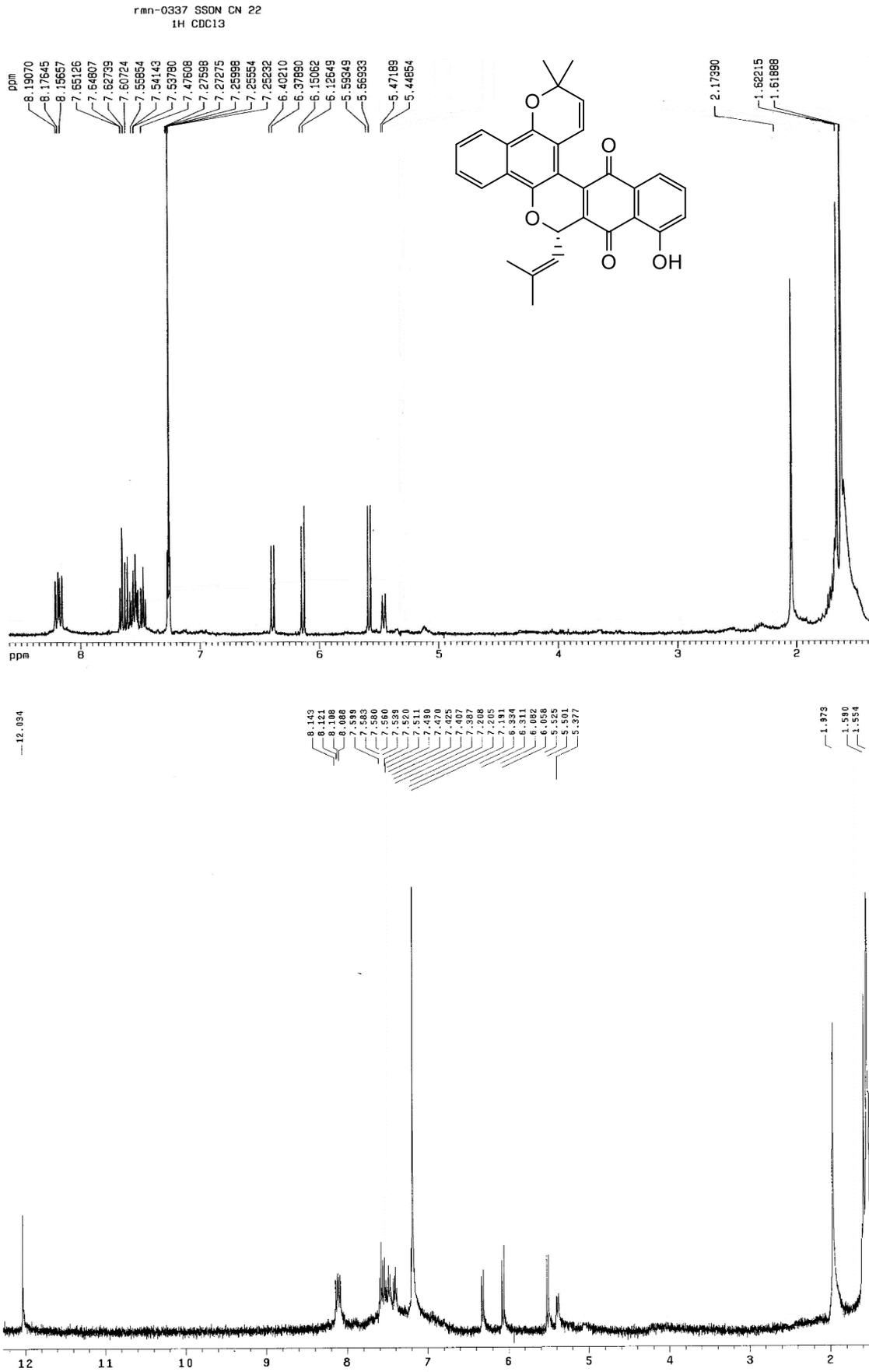


Figura 60. Espectros de RMN ¹H (400MHz) de 8'-hidroxitecomaquinona I (Q-2) en CDCl₃

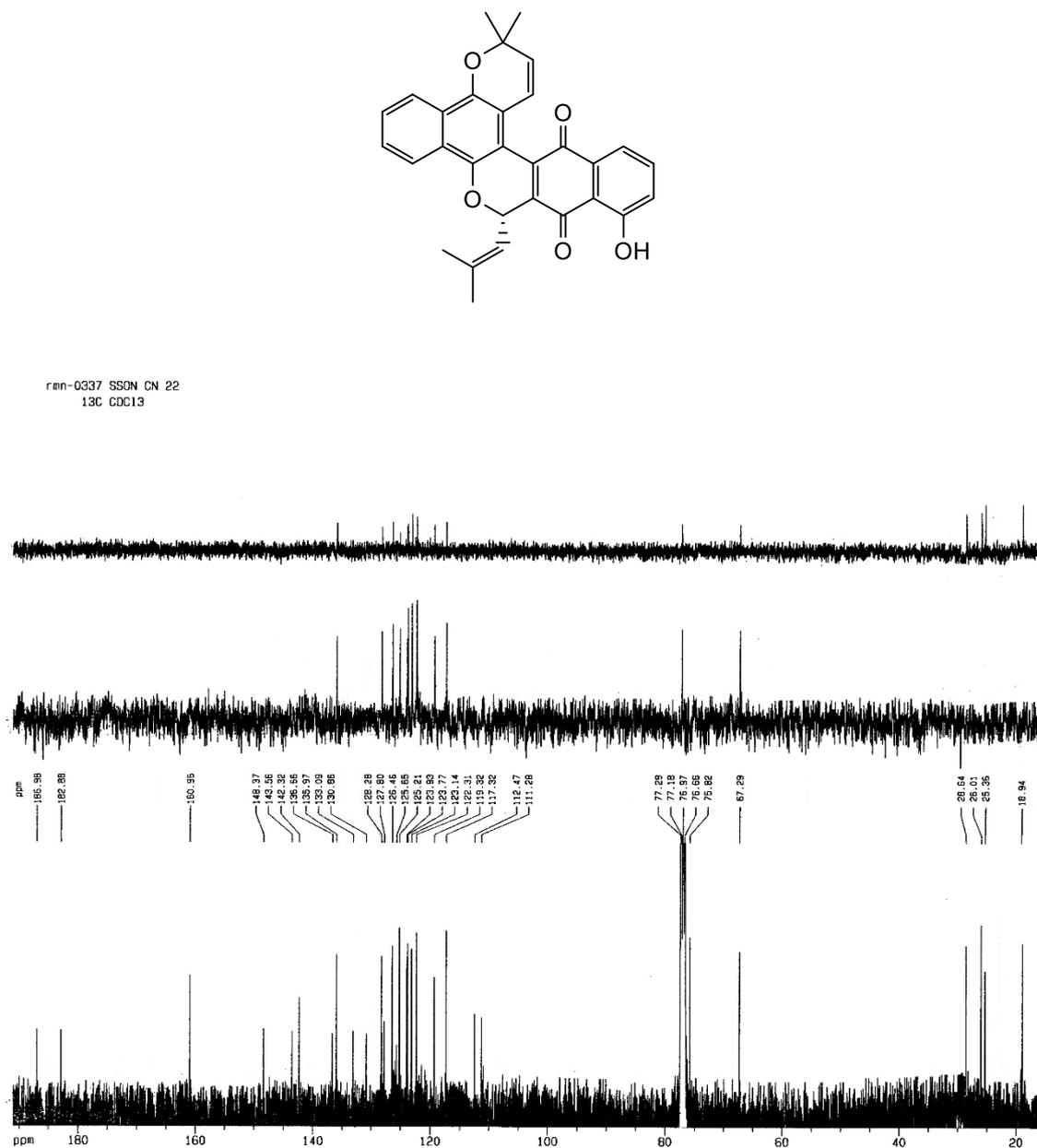


Figura 61. Espectros de RMN ¹³C (100MHz) de 8'-hidroxitecomaquinona I (Q-2) en CDCl₃

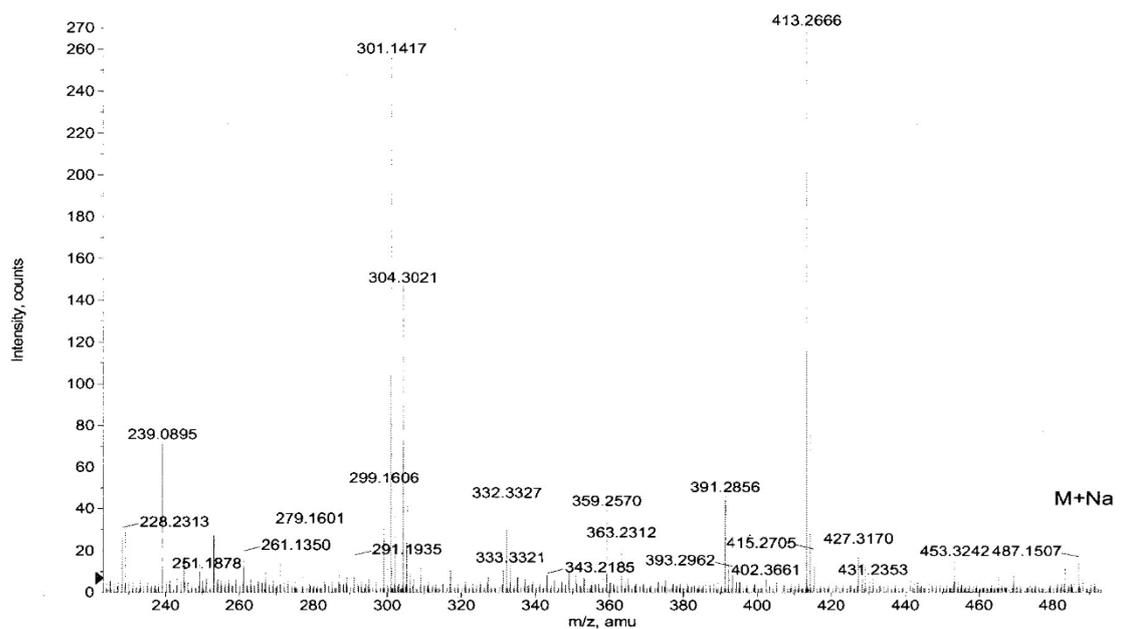
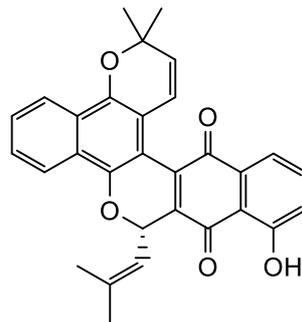
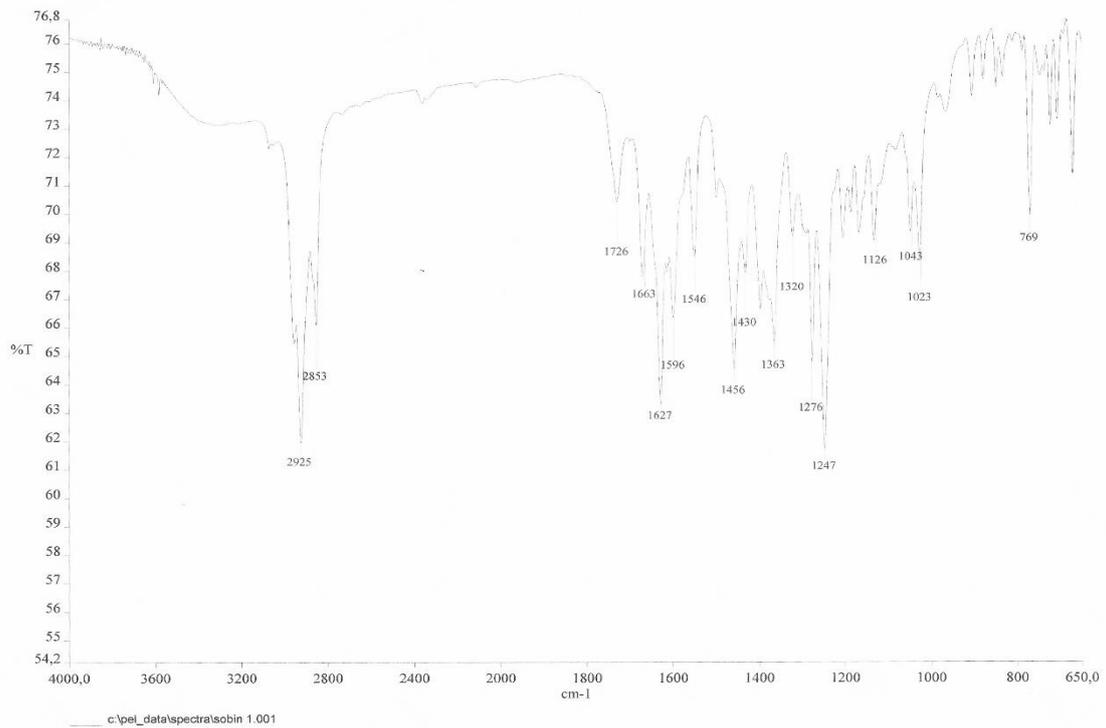


Figura 62. Espectros de infrarrojo y de masas exacta de 8'-hidroxitecomaquinona I (Q-2)

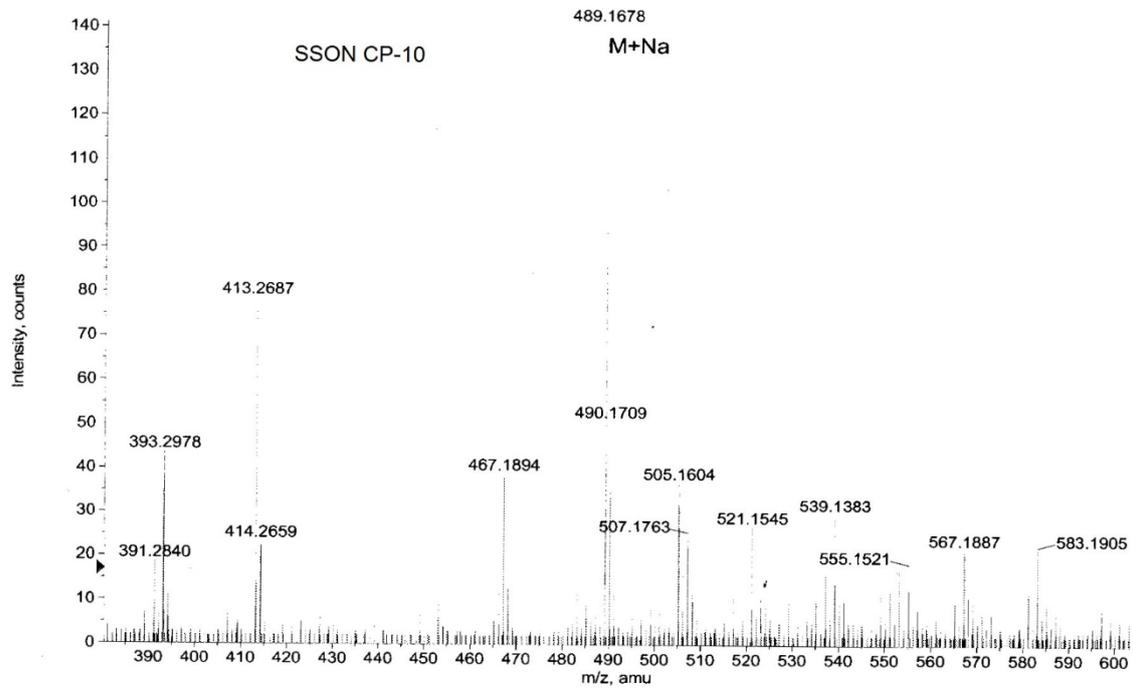
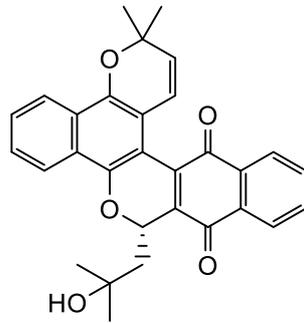
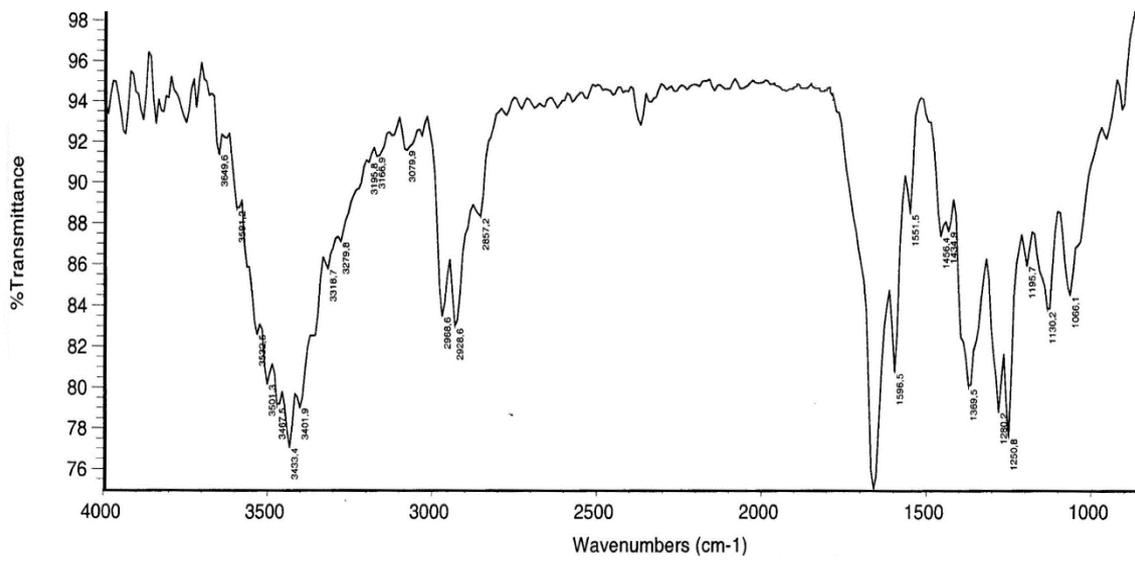


Figura 64. Espetros de infrarrojo y de masas exacta de 13'-hidroxi-12',13'-dihidrotecomaquinona I (Q-16)

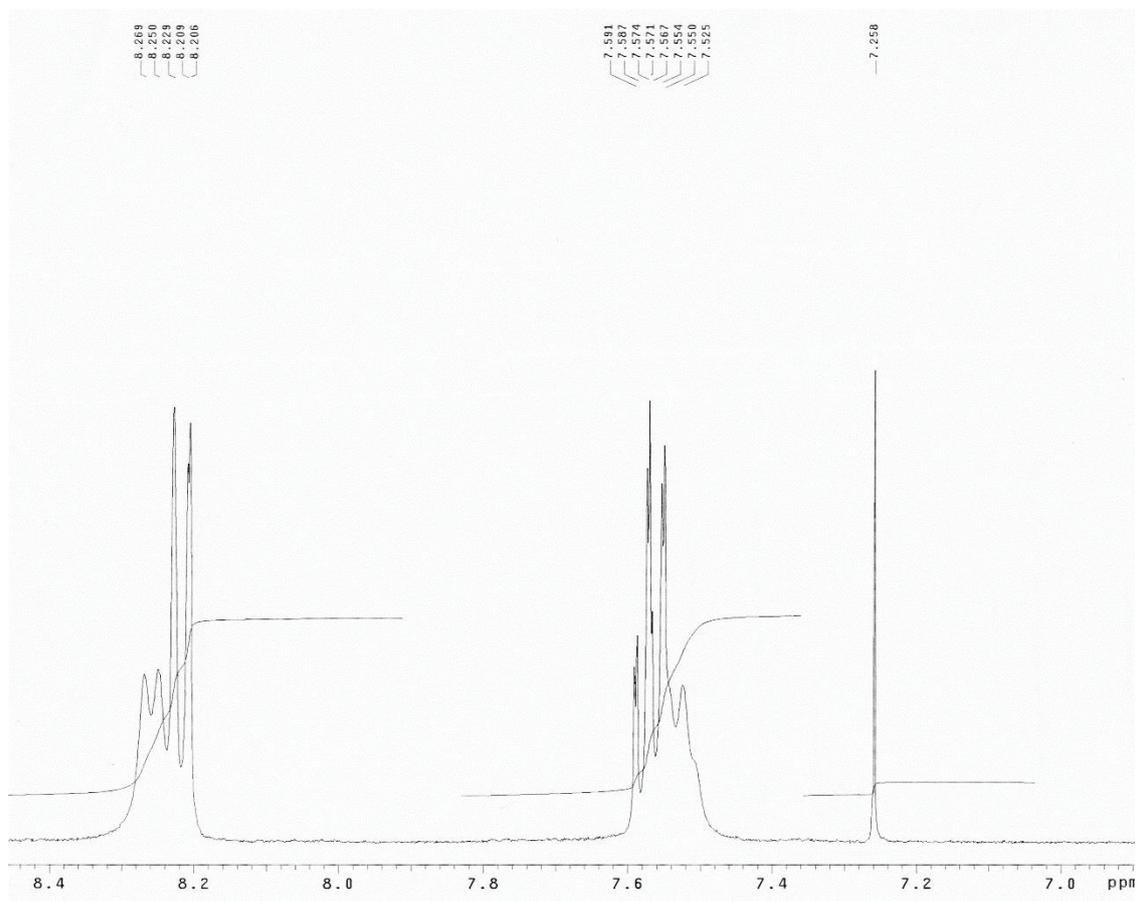
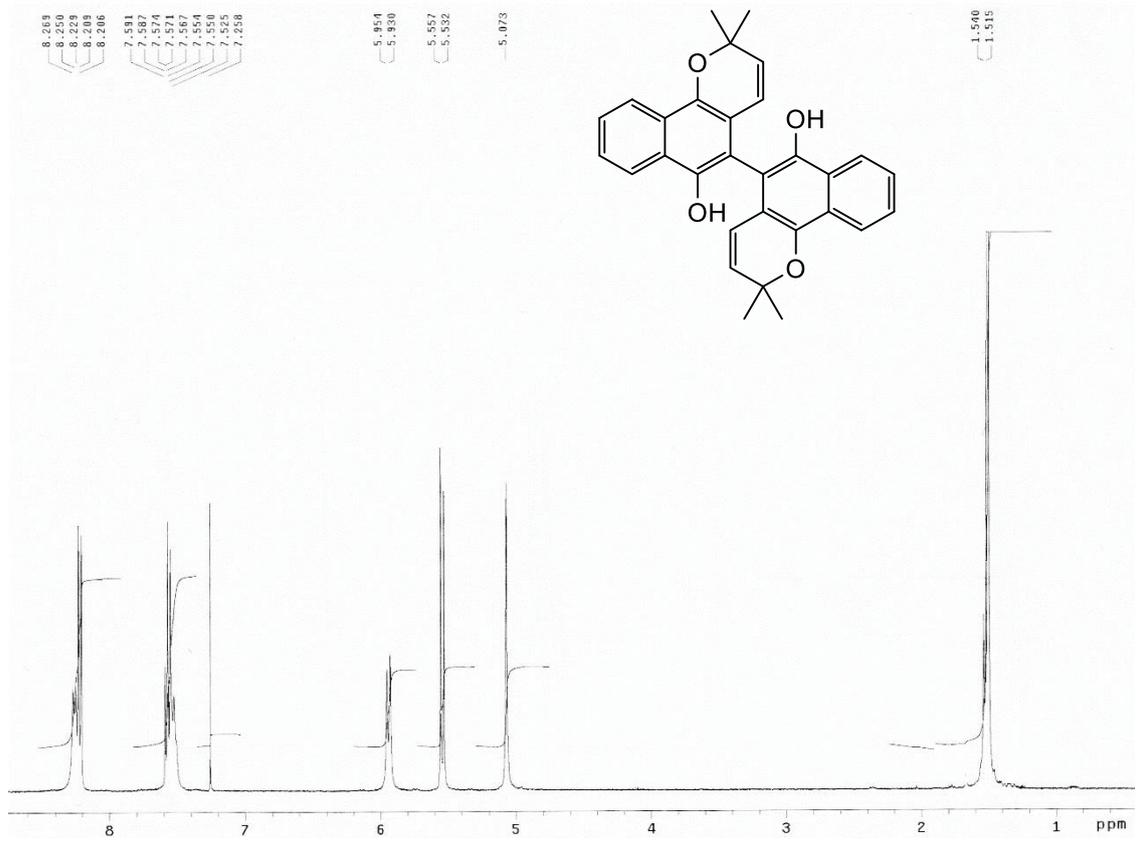


Figura 65. Espectros de RMN ^1H (400MHz) de Tectol (Q-4) y una ampliación

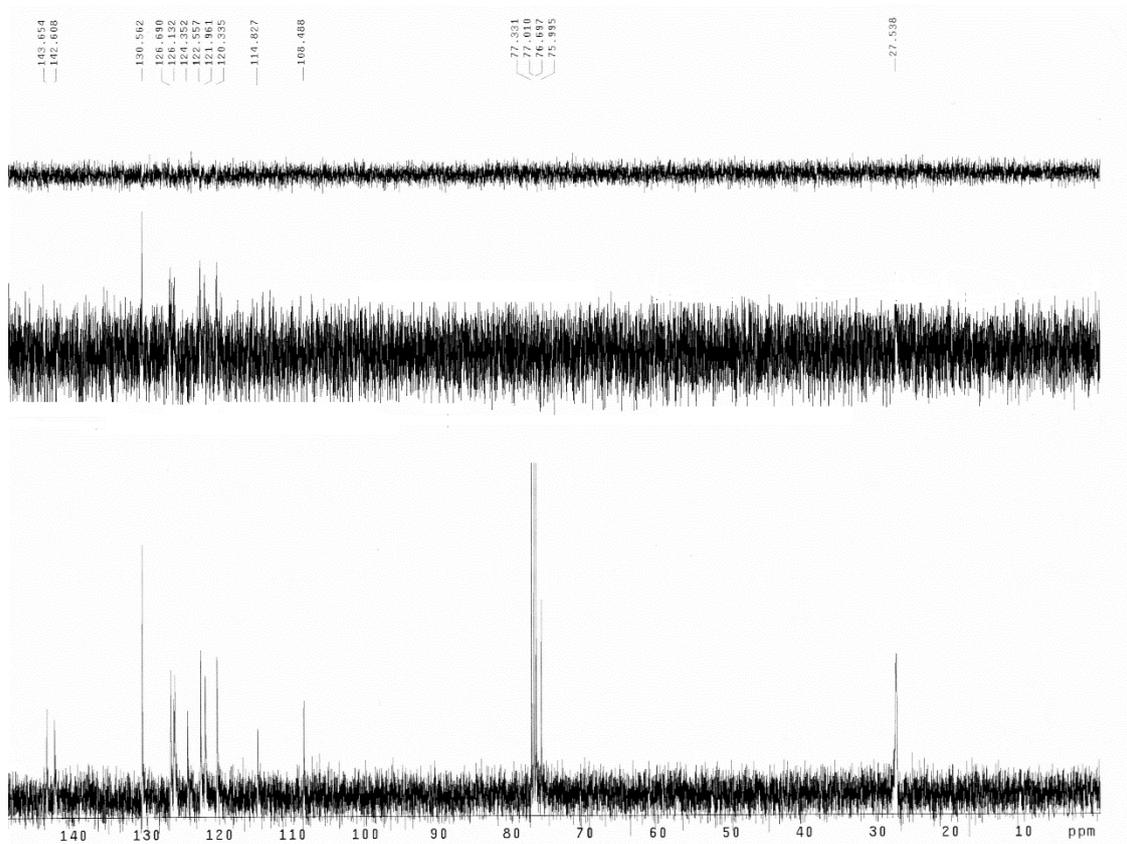
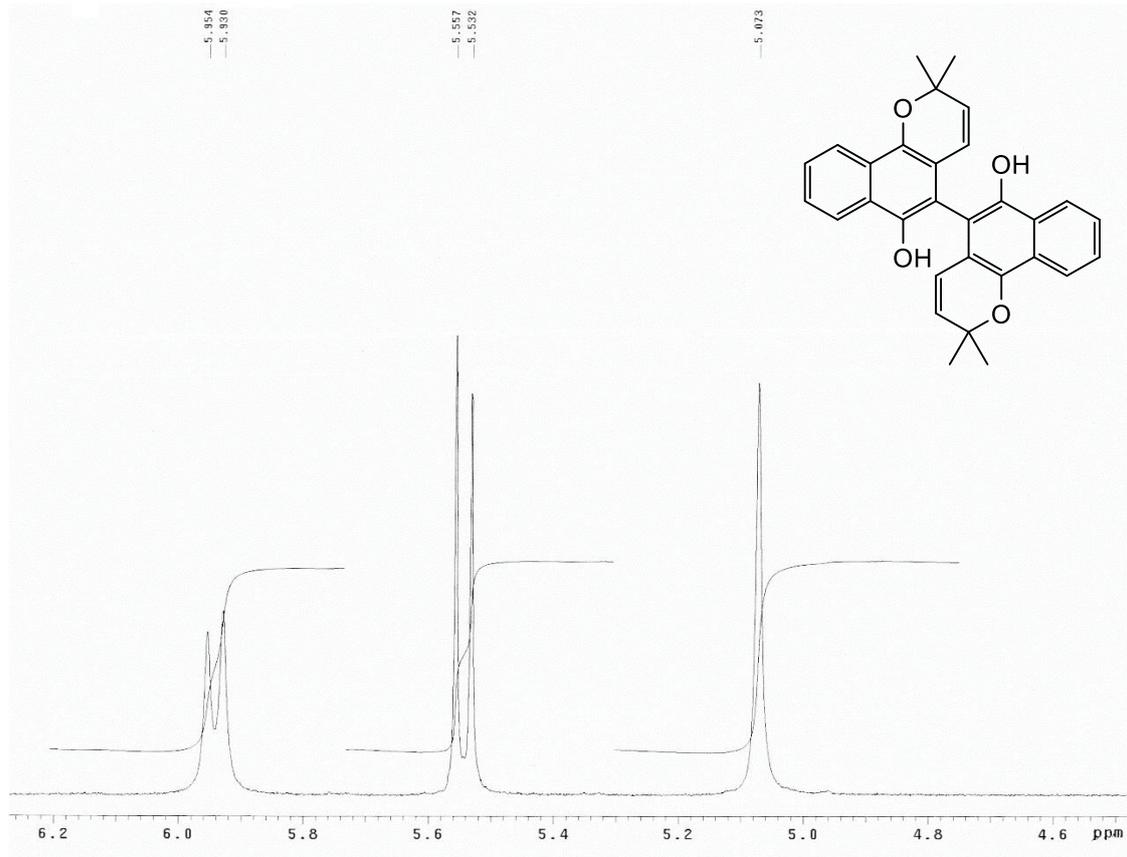


Figura 66. Espectros de RMN ¹H (400MHz) otra ampliación y de ¹³C (100 MHz) Tectol (Q-4)

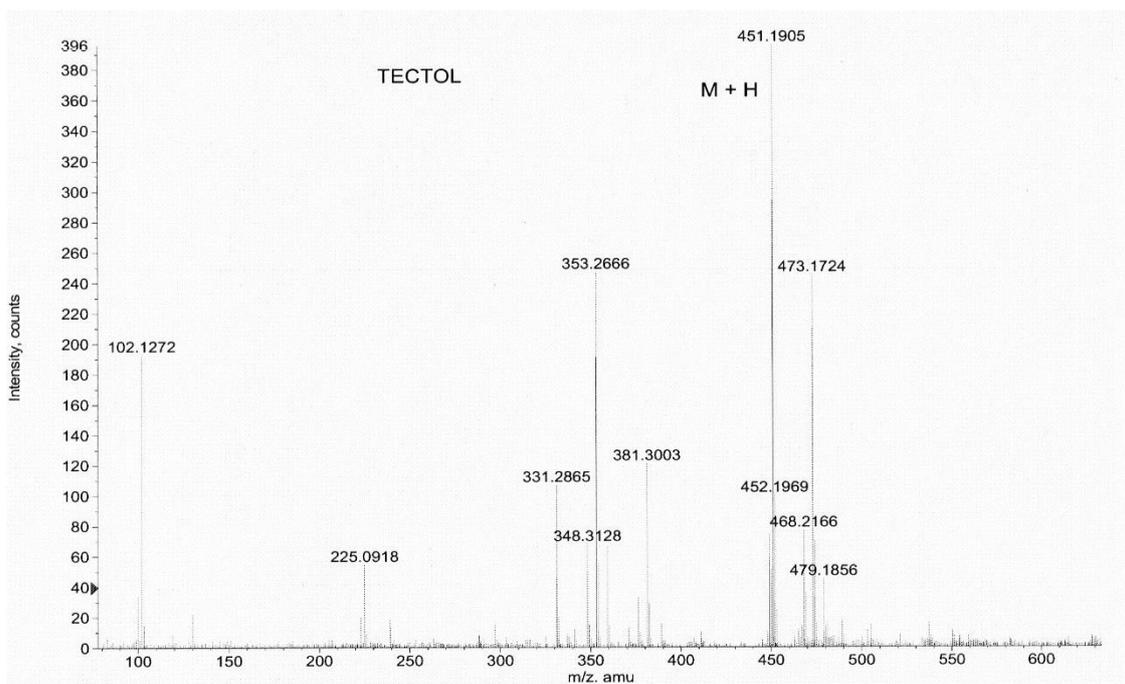
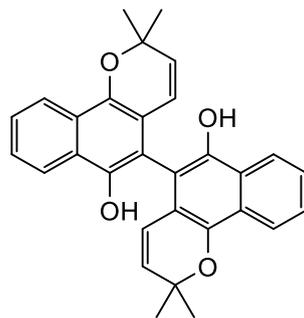
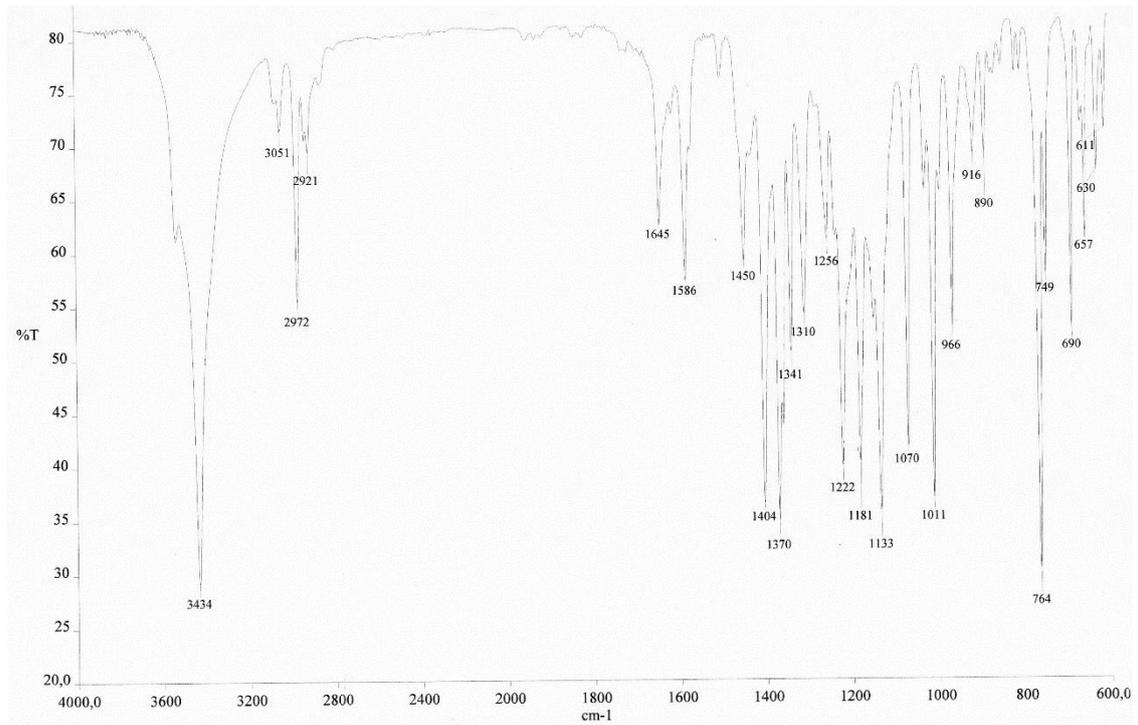


Figura 67. Espectros de infrarrojo y de masas exacta de Tectol (Q-4)

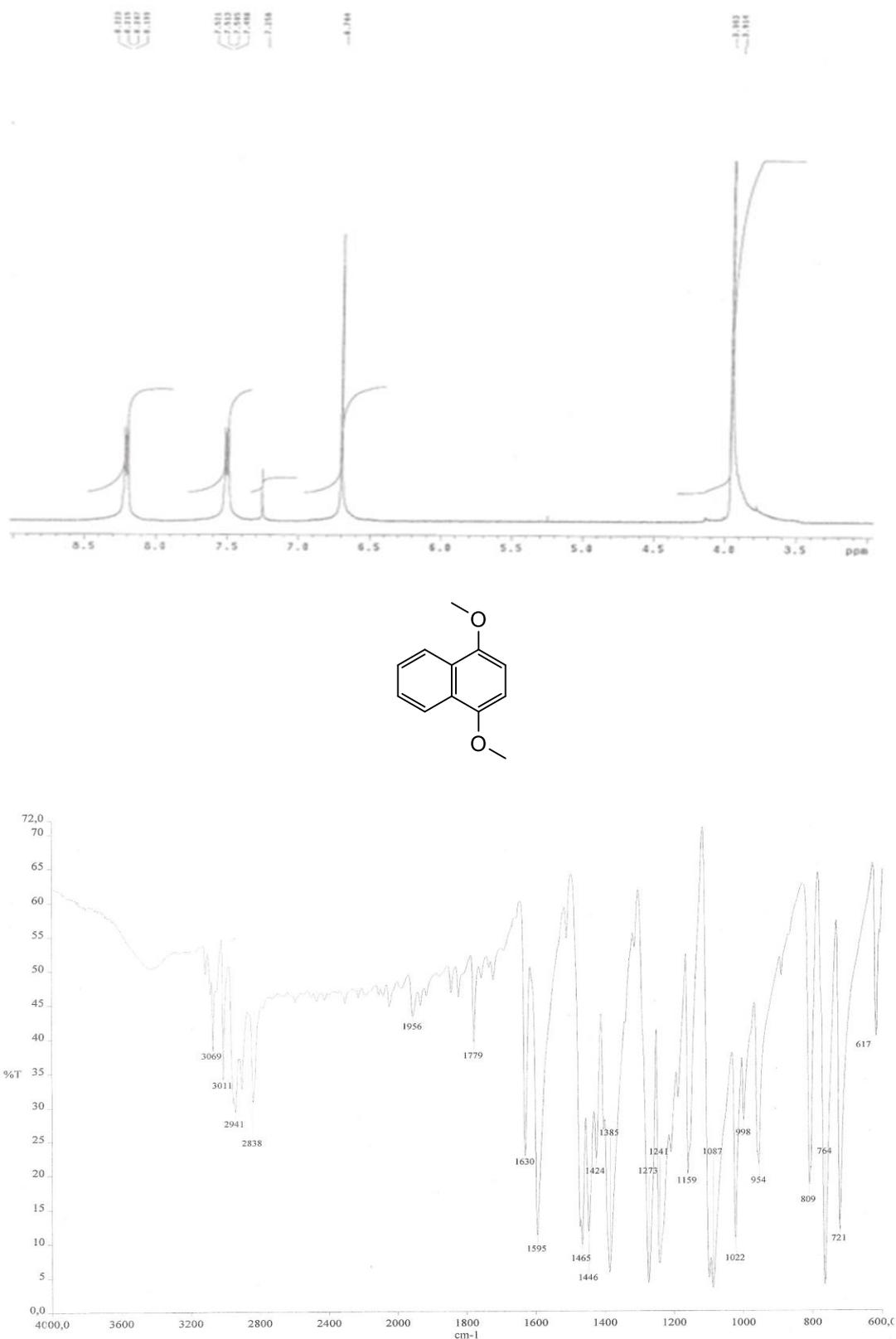


Figura 68. Espectros de RMN ¹H (400 MHz) y de infrarrojo del compuesto 1-A

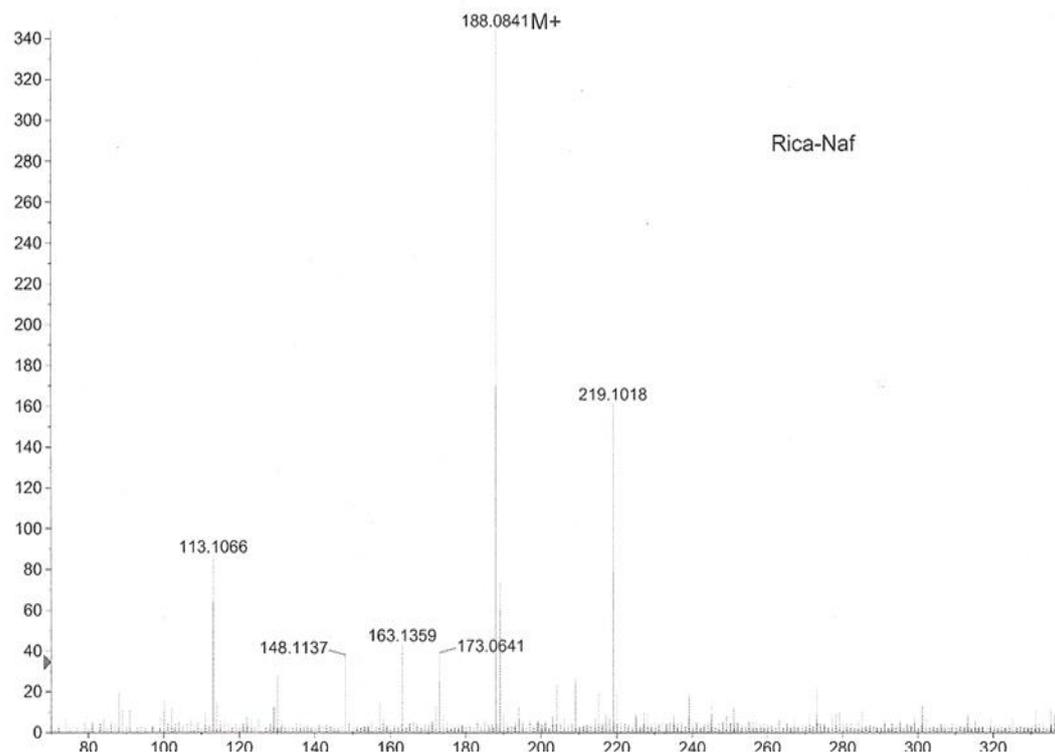
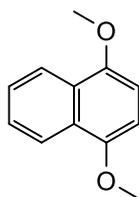


Figura 69. Espectros de masas del compuesto 1-A

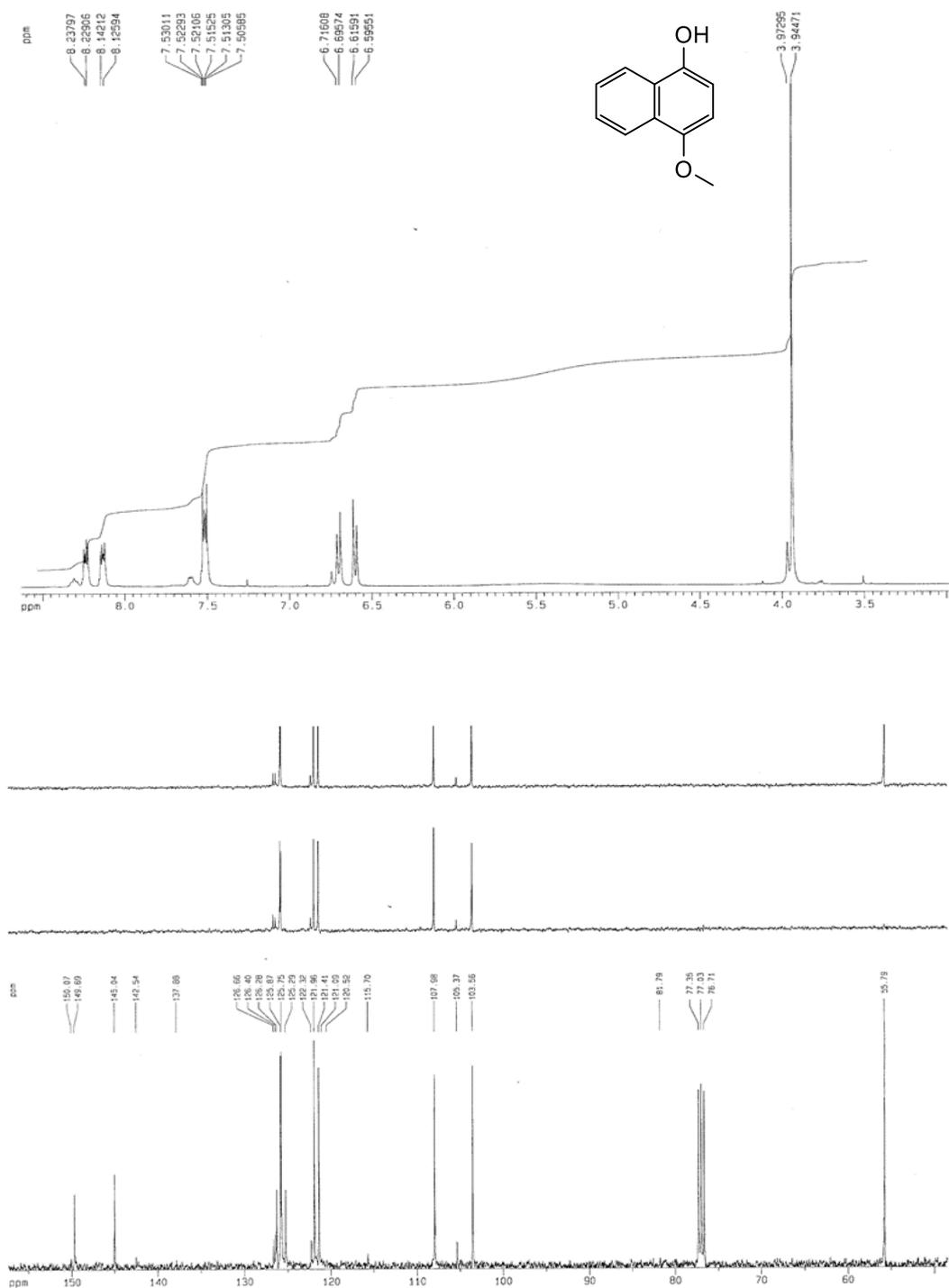


Figura 70. Espectros de RMN ¹H (400MHz) y de ¹³C (100 MHz) del compuesto 1-B

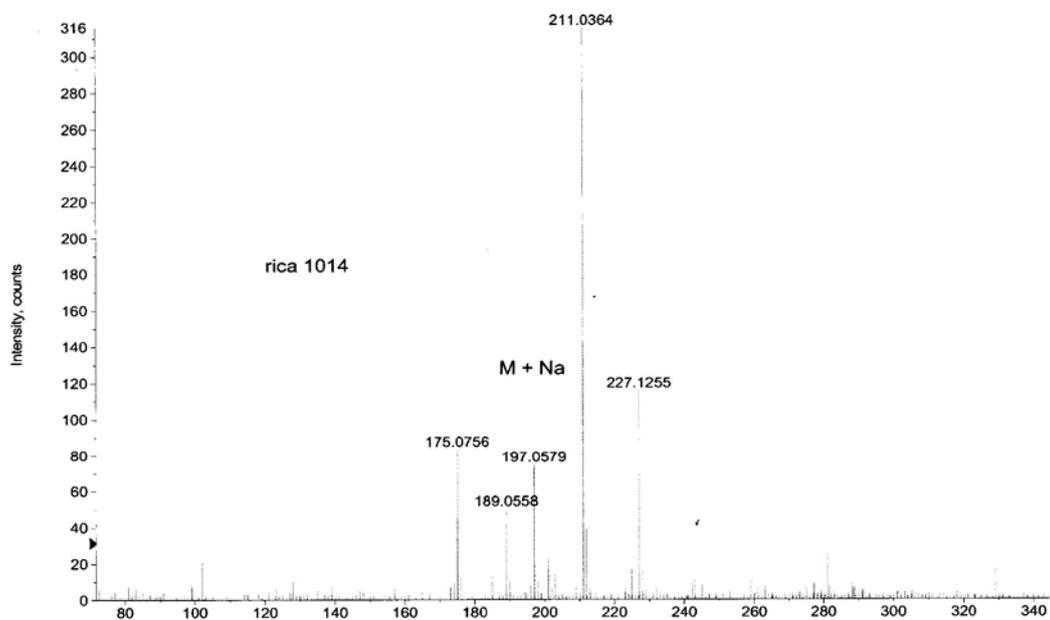
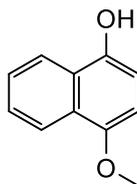
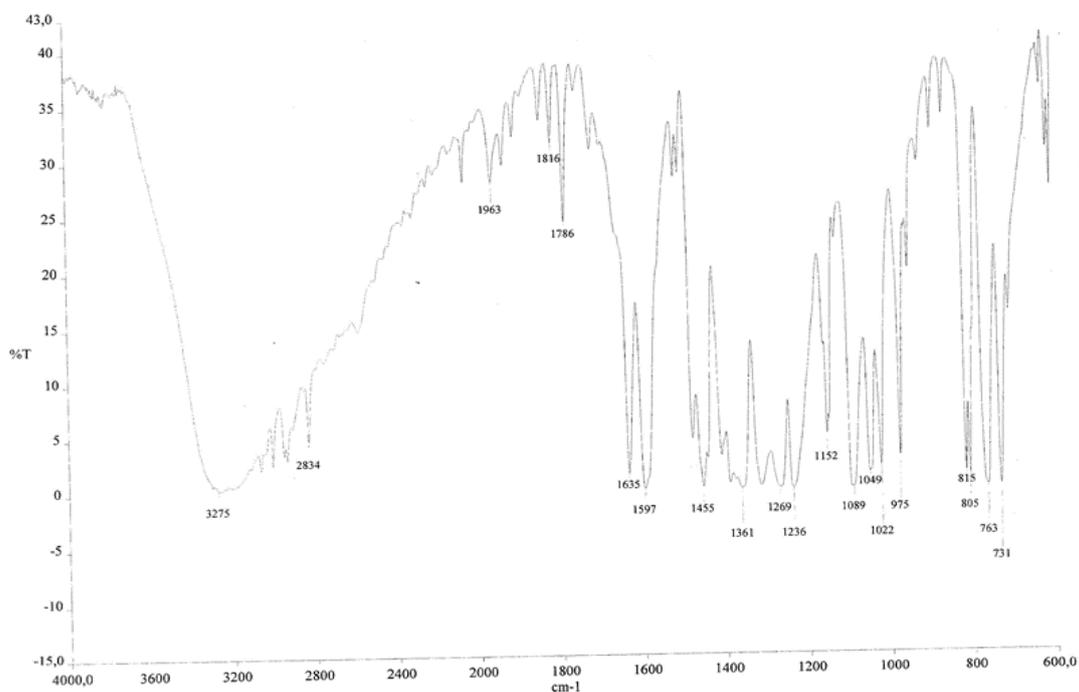


Figura 71. Espectros de infrarrojo y de masas exacta del compuesto 1-B

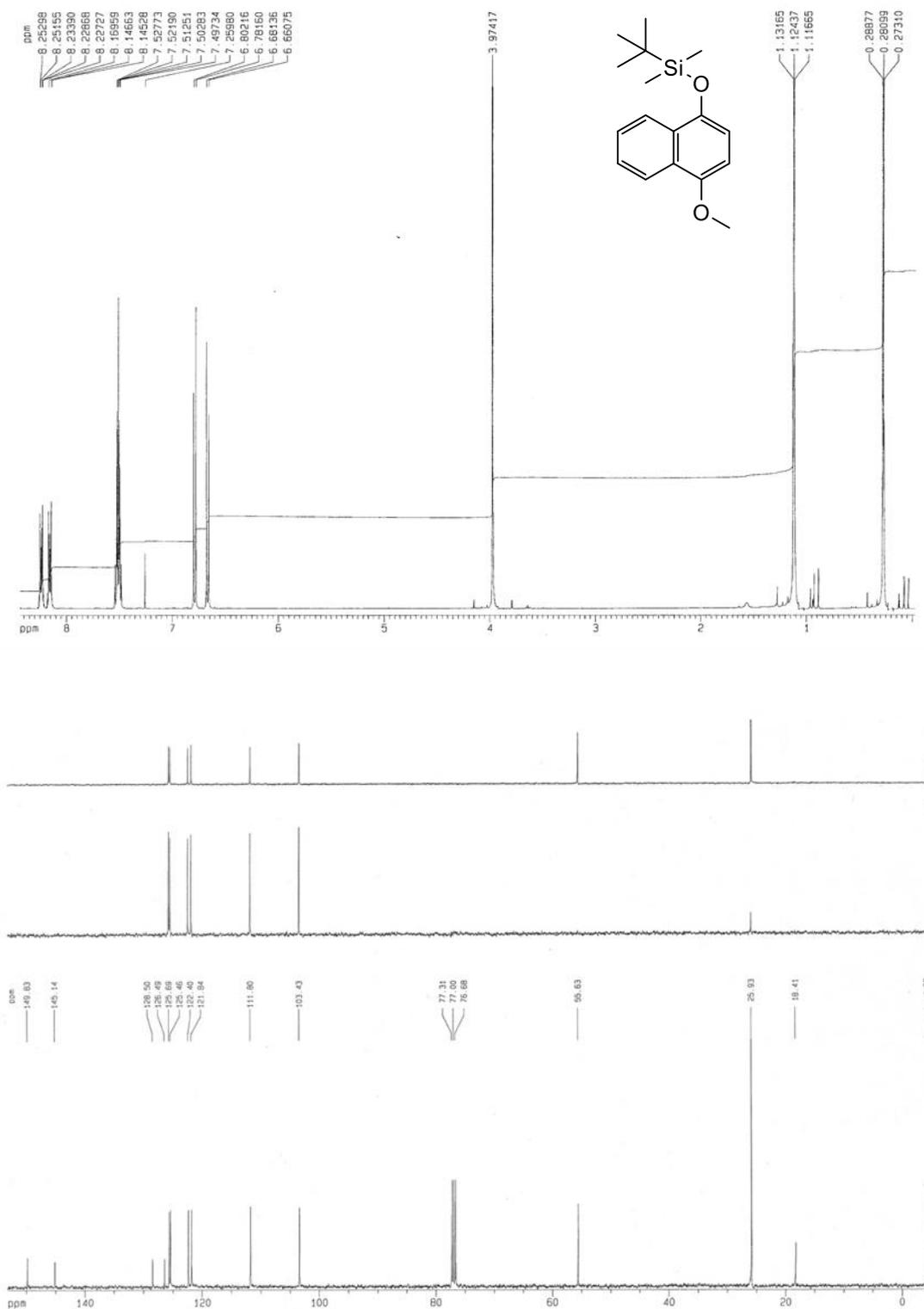


Figura 72. Espectros de RMN ^1H (400MHz) y de ^{13}C (100 MHz) del compuesto 2

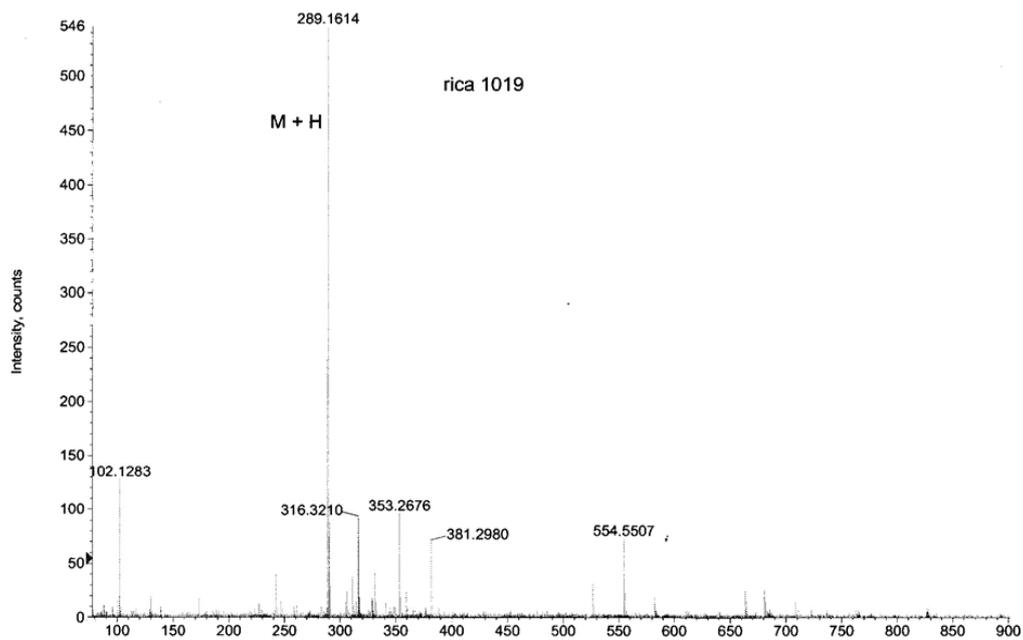
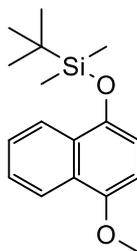
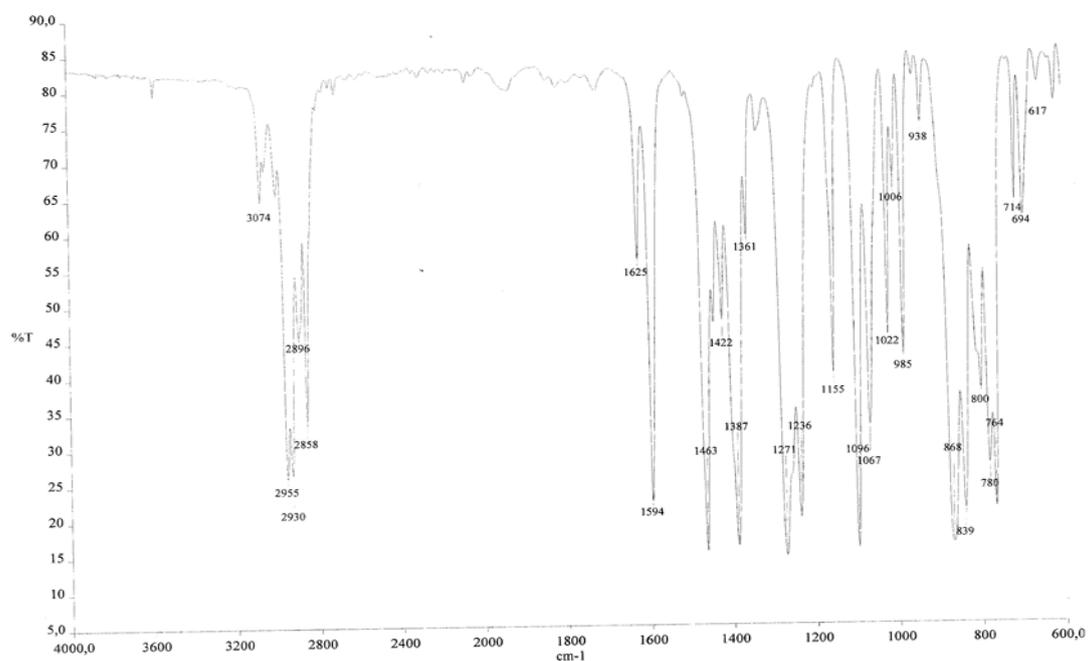


Figura 73. Espectros de infrarrojo y de masas exacta del compuesto 2

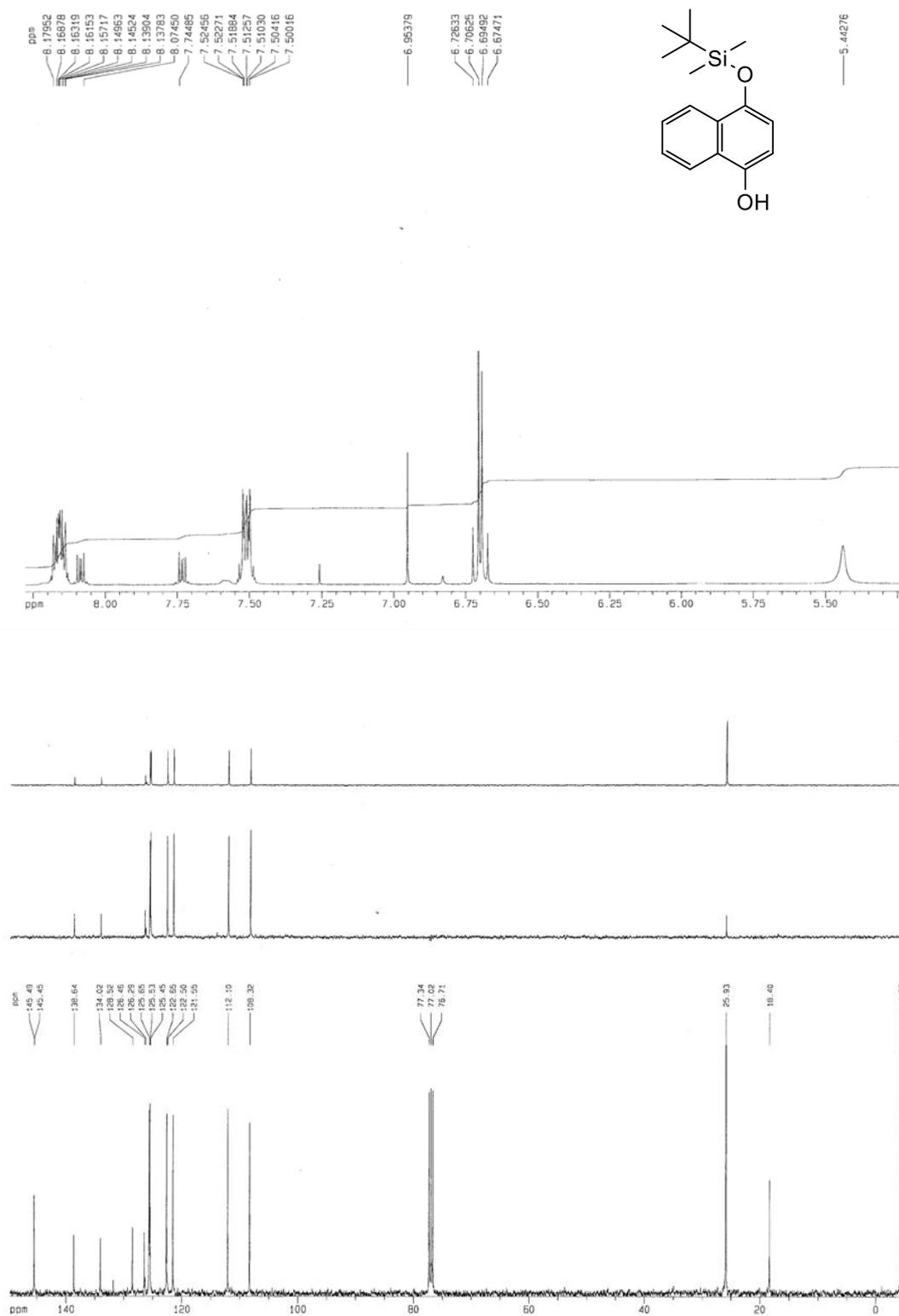


Figura 74. Espectros de RMN ¹H (400MHz) y de ¹³C (100 MHz) del compuesto 3

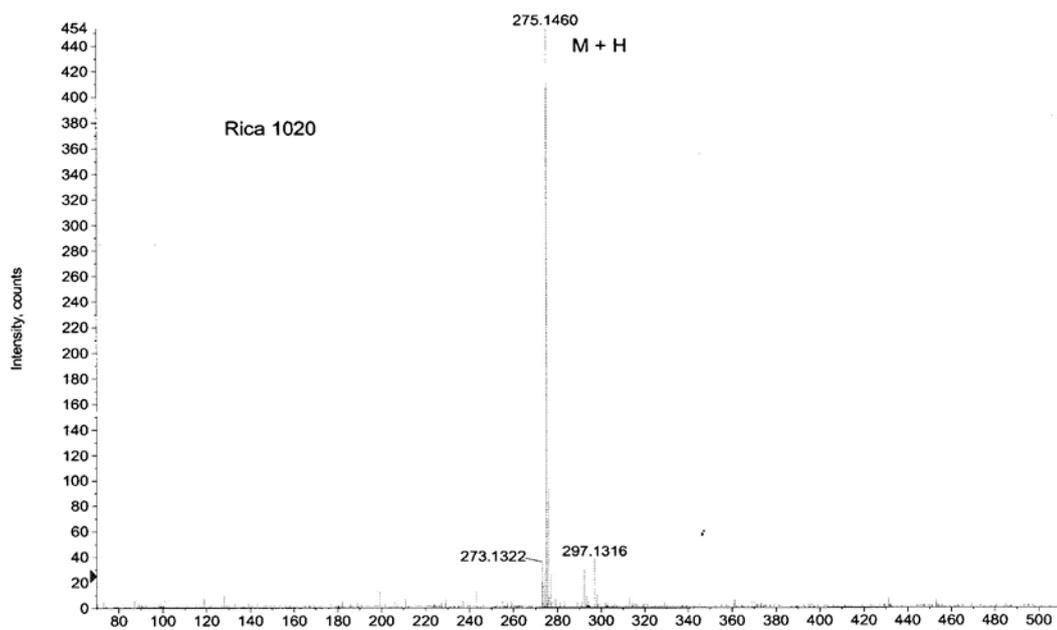
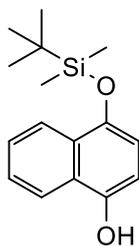
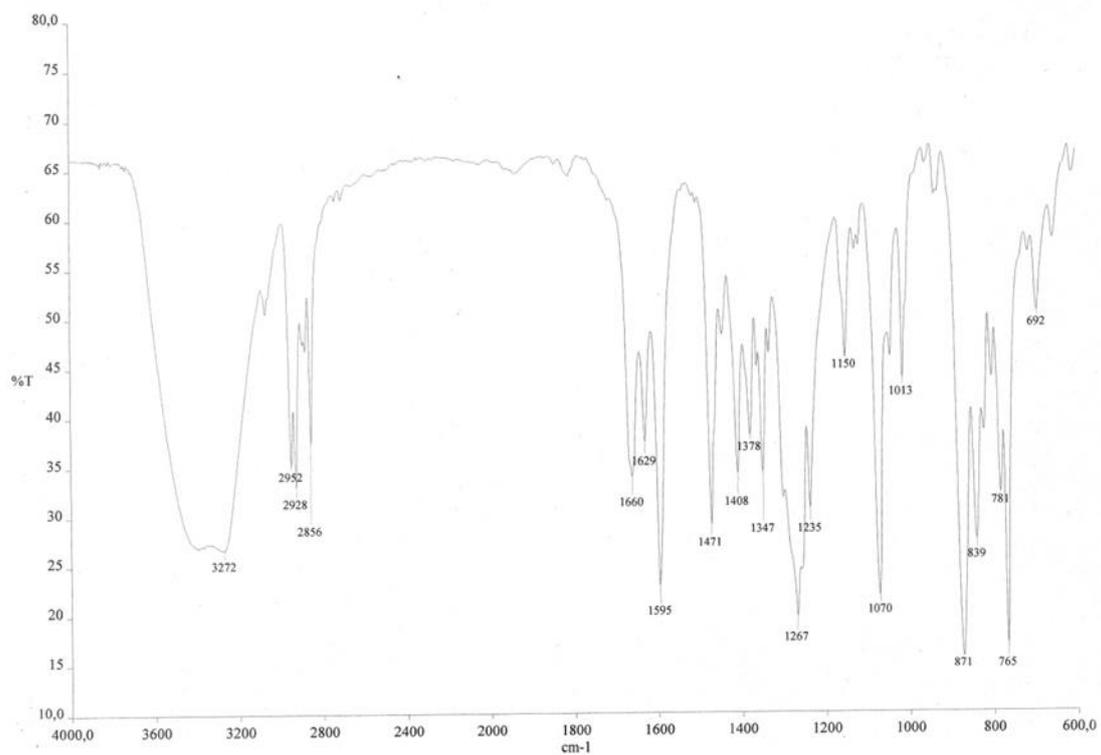


Figura 75. Espectros de infrarrojo y de masas exacta del compuesto 3

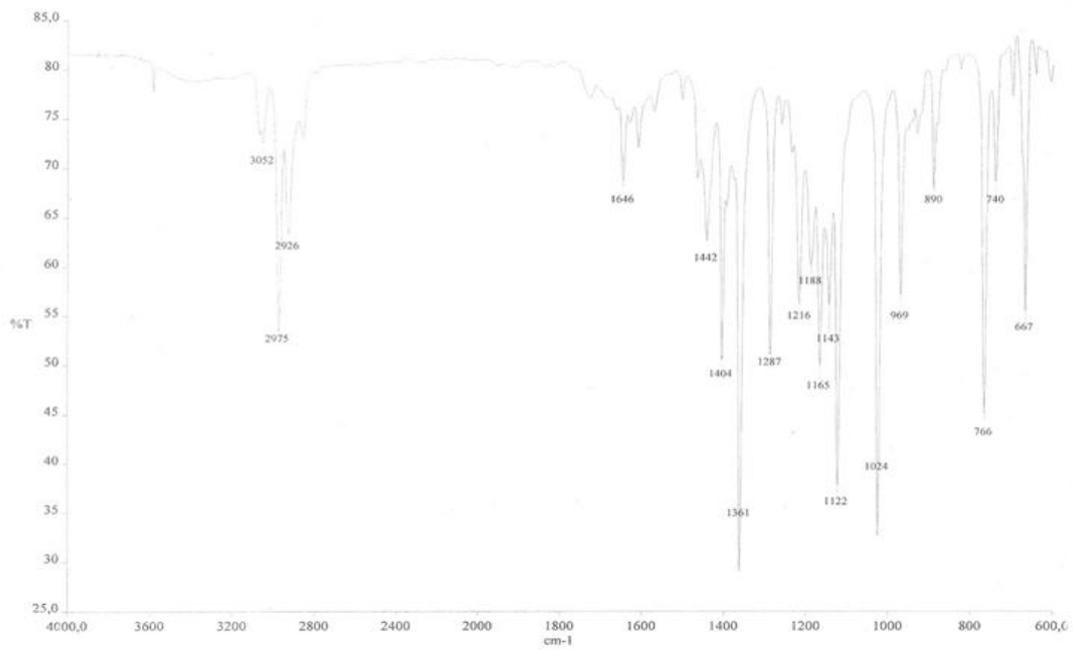
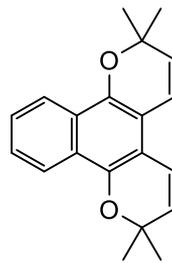
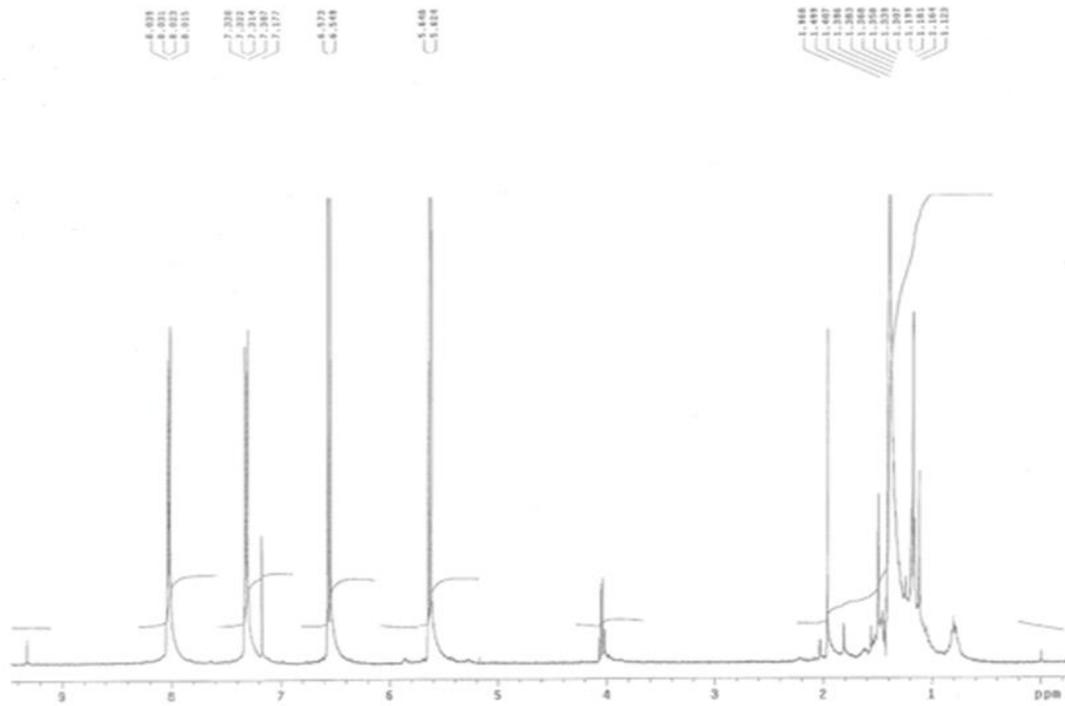


Figura 76. Espectros de RMN ^1H (400 MHz) y de infrarrojo del compuesto 4-A

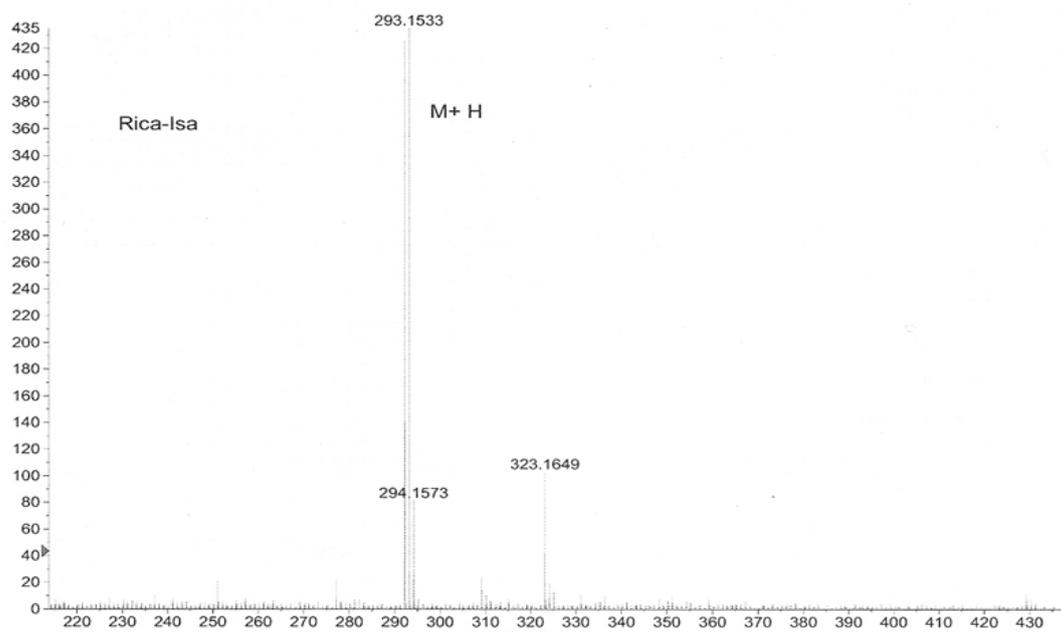
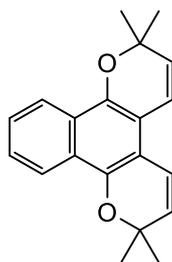


Figura 77. Espectros de masas del compuesto 4-A

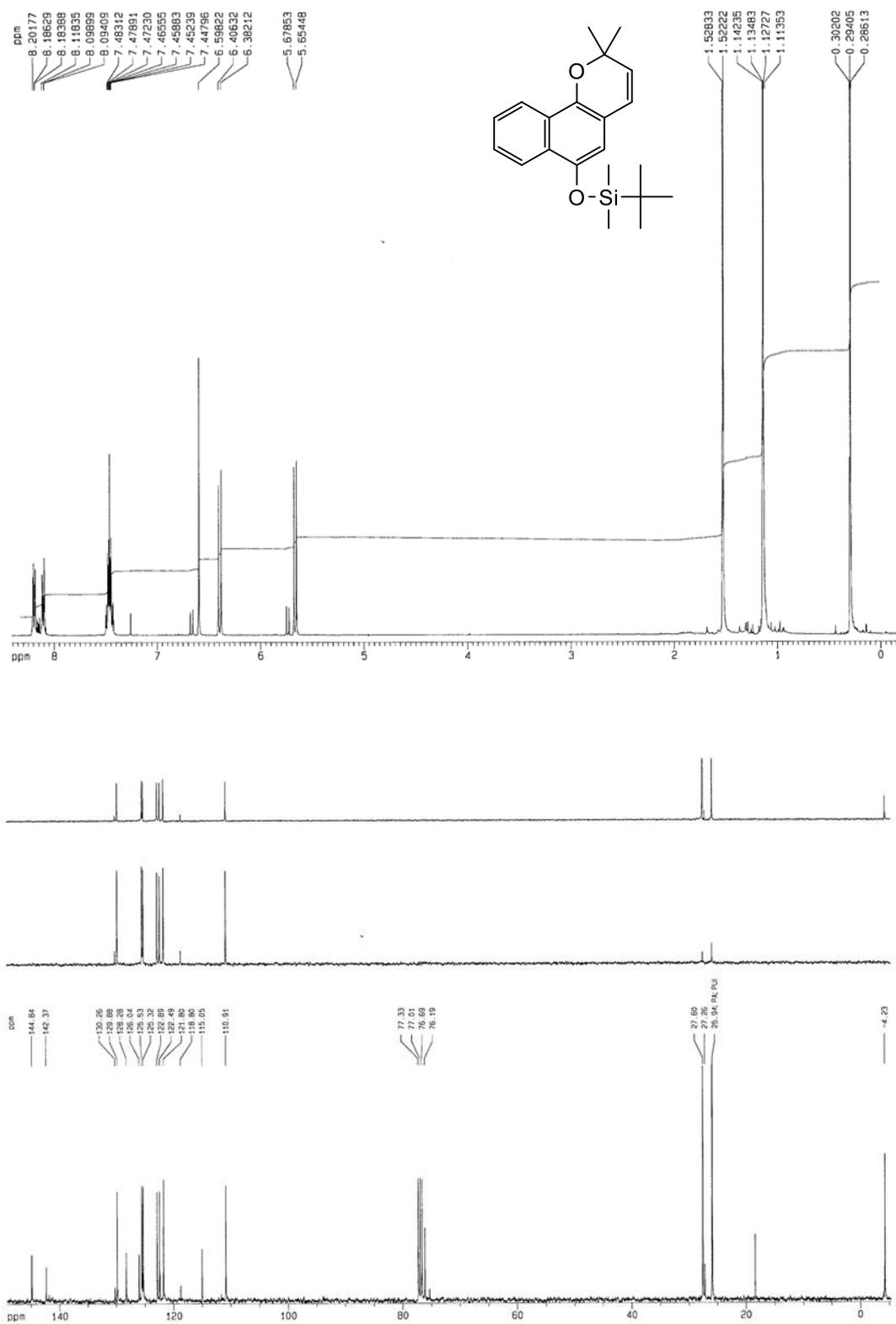


Figura 78. Espectros de RMN ¹H (400MHz) y de ¹³C (100 MHz) del compuesto 4-B

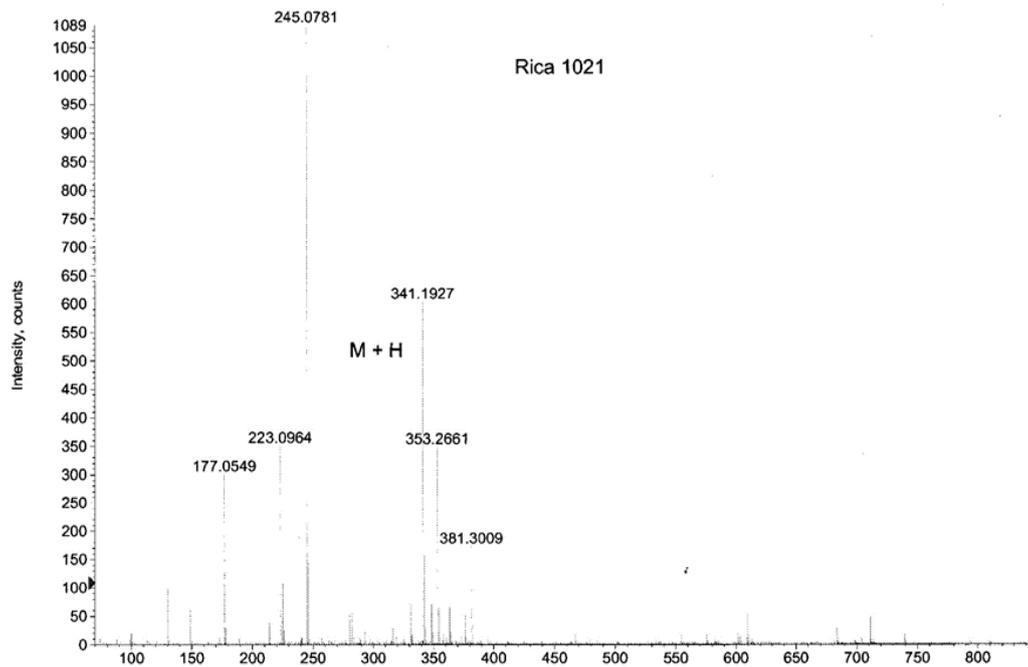
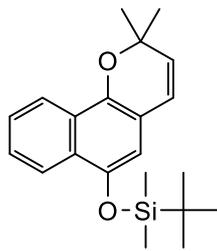
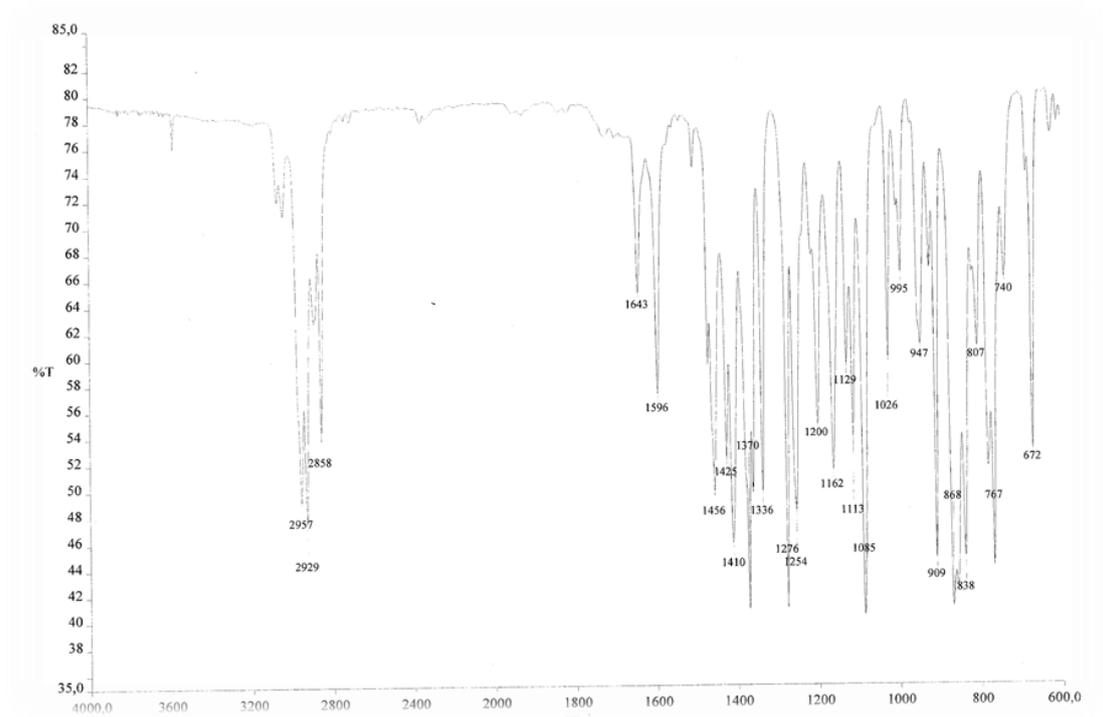


Figura 79. Espectros de infrarrojo y de masas exacta del compuesto 4-B

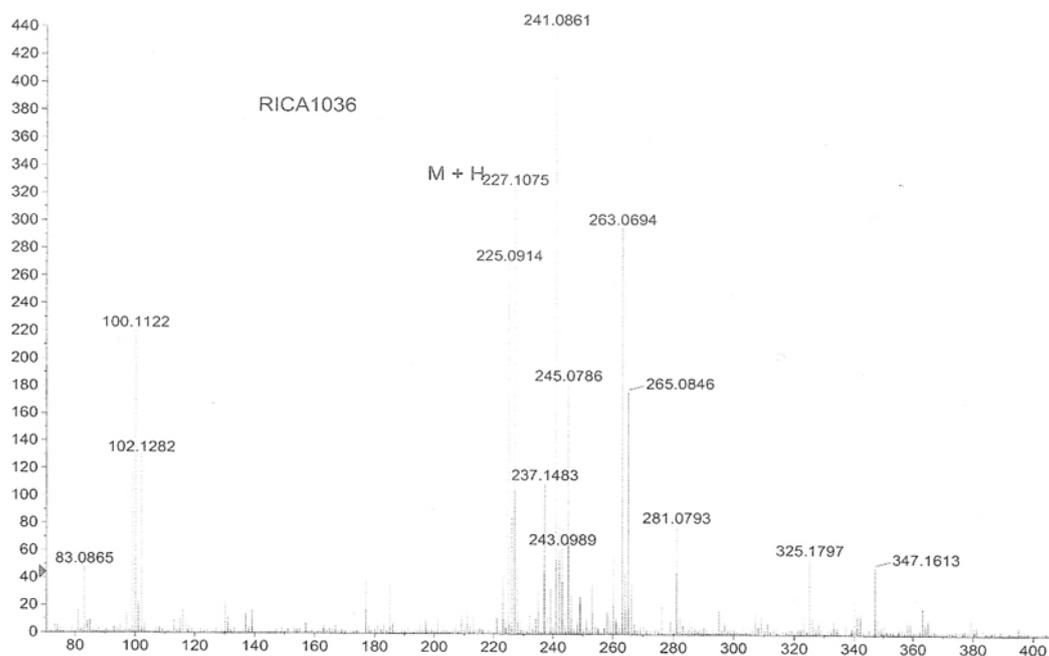
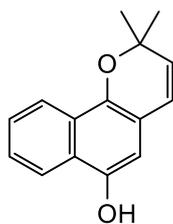


Figura 81. Espectros de masas del compuesto 5