

Síntesis y actividad biológica de análogos espirostánicos de brasinoesteroides a partir de la 9(11)-deshidrohecogenina

Caridad Robaina Rodríguez, Ileana Ramírez Angulo, Azahalia Pascual Sánchez, Francisco Coll Manchado, Carlos Pérez Martínez y Deysma Coll Herrera.

Laboratorio de Productos Naturales, Facultad de Química, Universidad de la Habana, Calzada de Zapata y Calle G, El Vedado, Código Postal 10400, Ciudad de La Habana, Cuba

Recibido: 29 de octubre de 2001. Aceptado: 22 de julio de 2002.

Palabras clave: 9(11)-deshidrohecogenina, sapogeninas esteroidales, análogos espirostánicos de brasinoesteroides, actividad biológica.
Key words: 9(11)-dehidrohecogenin, steroidal sapogenin, brassinosteroid analogs, biological activity.

RESUMEN. Se reporta la síntesis, caracterización espectroscópica y evaluación preliminar de la actividad biológica *in vitro* de tres análogos espirostánicos de brasinoesteroides [(25R)-3 β -acetoxi-9 α ,11 α -epoxi-5 α -espirostan-12-ona (**3**), (25R)-3 β -hidroxi-9 α ,11 α -epoxi-5 α -espirostan-12-ona (**5**) y (25R)-3 β -acetoxi-9 α ,11 α -epoxi-C-homo-11a-oxa-5 α -espirostan-12-ona (**4**)] a partir de la 9(11)-deshidrohecogenina (**1**). El sustrato de partida, la cetona α,β -insaturada (**1**), fue acetilado en la posición 3 y a continuación, este derivado acetilado (**2**) se oxidó con ácido *m*-cloroperbenzoico. Se obtuvo como producto principal de la reacción la epoxicetona (**3**) y como producto colateral la epoxilactona (**4**). La hidrólisis del compuesto **3** en medio básico dio lugar al compuesto **5**. La actividad biológica de los compuestos sintetizados se evaluó en los bioensayos del crecimiento de hipocótilos y expansión de cotiledones del rábano. Todos los compuestos sintetizados mostraron algún tipo de efecto sobre el crecimiento de hipocótilos del rábano.

ABSTRACT. The synthesis, spectroscopical characterization and preliminary evaluation of biological activity *in vitro*, with 9(11)-dehidrohecogenin (**1**) as starting material, of three spirostanic analogs of brassinosteroids [(25R)-3 β -acetoxy-9 α ,11 α -epoxy-5 α -spirostan-12-one (**3**), la (25R)-3 β -hydroxy-9 α ,11 α -epoxy-5 α -spirostan-12-one (**5**) y la (25R)-3 β -acetoxy-9 α ,11 α -epoxy-C-homo-11a-oxa-5 α -spirostan-12-one (**4**)] is reported. And successively following this acetyl derivative (**2**) was oxidated with *m*-chloroperbenzoic acid obtaining as principal product the epoxyketone (**3**) and as collateral product the epoxy lactone (**4**). Hydrolysis of compound **3** in basic medium led to compound **5**. The biological activity of the synthesized compounds was evaluated by means of hypocotyls elongation and cotyledon expansion of radish bioassays. All synthesized compounds showed some effect over elongation of hypocotyls on radish.

INTRODUCCION

Los brasinoesteroides (BR) constituyen una nueva familia de promotores del crecimiento vegetal de estructura esteroidea, que exhiben un amplio espectro de efectos biorreguladores y antiestrés, con amplias perspectivas de aplicación en los procesos biotecnológicos y en la agricultura.¹ Estudios encaminados al esclarecimiento de los mecanismos de acción y de la relación estructura-actividad

de estos compuestos han llevado a la síntesis de una gran variedad de análogos con modificaciones estructurales en el núcleo esteroideo y en la cadena lateral.²⁻⁸

Así, en estos estudios, se han reportado la síntesis de varios análogos espirostánicos de BR, que presentan las funciones oxigenadas características de los compuestos naturales o funciones precursoras de ellas en los anillos A y B o A y C del núcleo esteroideo, que muestran diferentes

efectos biorreguladores sobre el crecimiento y el desarrollo del vegetal en ensayos *in vitro* e *in vivo*.^{3,9-13} Sin embargo, los análogos espirostánicos de la 6-desoxocastasterona, en los cuales están ausentes las funciones oxigenadas en los anillos B o C, son inactivos.¹⁴

En los últimos años, se reportó,¹⁵⁻¹⁷ la síntesis y evaluación de la actividad biológica de varios análogos de BR con funciones oxigenadas en el anillo C, que muestran efectos biorreguladores de las fitohormonas clásicas del tipo "citoquininas", "auxinas" o "inhibidor" en diferentes bioensayos, lo cual se corresponde con otros resultados previamente reportados.⁹⁻¹¹

El presente trabajo tuvo como objetivo la obtención de análogos espirostánicos de BR con funciones oxigenadas en los anillos A y C del núcleo esteroideo con potencial actividad biológica a partir de la 9(11)-deshidrohecogenina (**1**).

MATERIALES Y METODOS

Las temperaturas de fusión se determinaron en un equipo de horno Electrothermal 9100 con capilar y no fueron corregidas.

Los espectros IR se realizaron en un espectrofotómetro Phillips Analytical PU 9600 FTIR en pastillas de KBr.

Los espectros de RMN-¹H y ¹³C se registraron en un espectrómetro Bruker ACF-250, a una frecuencia de resonancia de 250,13 y 62,9 MHz

respectivamente, utilizando como disolvente cloroformo deuterado. Como referencia interna se empleó tetrametilsilano (TMS) en los espectros de ^1H y en los espectros de ^{13}C la señal a 77 ppm correspondiente al disolvente. Los corrimientos químicos se registraron en la escala δ (ppm). Los valores de la constante de acoplamiento (J) se expresaron en Hertz. Los espectros de masa se realizaron por impacto electrónico a 70 eV en un espectrómetro JEOL JMS-DX-300.

Las purificaciones de los productos se realizaron mediante recristalizaciones o a través de cromatografía en columna (CC). Para las separaciones en CC se empleó gel de sílice (230-400 mesh, ASTM). Los disolventes de calidad técnica fueron secados y destilados antes de ser utilizados en la C.C. Los procesos de

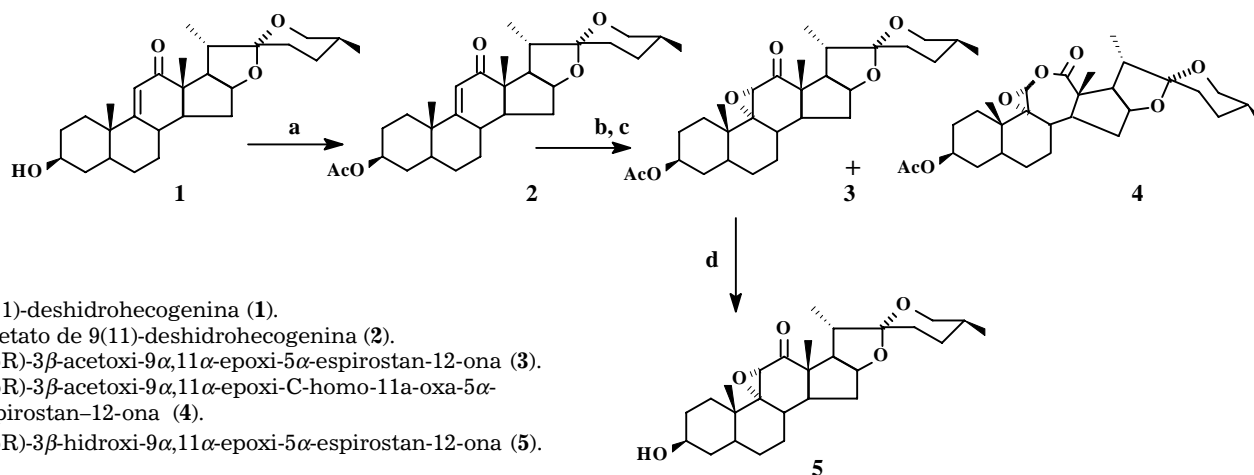
síntesis realizados se controlaron por cromatografía de capa delgada (CCD) empleando cromatoplasas de gel de sílice 60G de 0,25 mm de espesor y como revelador una disolución de vainillina 1 % en ácido perclórico al 50 %. La 9(11)-deshidrohecogenina utilizada fue producida por el Laboratorio Farmacéutico "Mario Muñoz" de la Industria Médico-Farmacéutica.

La actividad biológica tipo auxínica y citoquinínica se determinó mediante los bioensayos del crecimiento de hipocótilos y expansión de los cotiledones del rábano (*Raphanus sativus* L.) respectivamente.^{18,19} En el desarrollo de las pruebas biológicas se utilizaron semillas de rábano de la variedad comercial PS-9 procedente del banco del Instituto de Investigaciones Fundamentales

de la Agricultura Tropical y de la variedad YEM de la Estación de viandas y hortalizas "Liliana Dimitrova". Se prepararon cuatro concentraciones de cada uno de los compuestos sintetizados (10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} y 10^{-7} mg/mL) utilizando como control agua destilada. El procedimiento estadístico de los datos se realizó mediante la prueba de ANOVA de clasificación simple y en los casos que se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos [0 (control), 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} y 10^{-7} mg/mL del compuesto ensayado], se empleó la de rangos múltiples de Duncan para la comparación de sus medias correspondientes.²⁰

PARTE EXPERIMENTAL

La secuencia de reacciones empleadas en el trabajo se muestra en el esquema:



- 9(11)-deshidrohecogenina (1).
- Acetato de 9(11)-deshidrohecogenina (2).
- (25R)-3 β -acetoxi-9 α ,11 α -epoxi-5 α -espirostan-12-ona (3).
- (25R)-3 β -acetoxi-9 α ,11 α -epoxi-C-homo-11a-oxa-5 α -espirostan-12-ona (4).
- (25R)-3 β -hidroxi-9 α ,11 α -epoxi-5 α -espirostan-12-ona (5).

Esquema.

Secuencia de síntesis empleada en la obtención de los análogos esteroídicos de BR 3, 4 y 5 a partir de la 9(11)-deshidrohecogenina (1).

- a) Anhídrido acético -piridina. b) Acido metacloroperbenzoico-diclorometano. c) CC con gel de sílice-n-hexano-acetato de etilo (24:1,v:v). d) Carbonato de potasio-metanol-reflujo.

Síntesis del acetato de 9(11)-deshidrohecogenina (2)

A una disolución de la 9(11)-deshidrohecogenina (1) (10 g, 23,36 mmol) en piridina anhidra (100 mL), se le adicionan 100 mL anhídrido acético recientemente destilado. La mezcla de reacción se mantiene a temperatura ambiente durante 48 h. Al concluir la reacción, lo cual se verifica por CCD, la mezcla de reacción se vierte sobre agua fría con agitación vigorosa, y el sólido que precipita se filtra a presión reducida y se lava con abundante agua (aproximadamente 1000 mL). Posteriormente, el producto obtenido se disuelve en cloroformo,

se lava con disolución acuosa de ácido clorhídrico 5% (3 x 60 mL) y a continuación, con disolución saturada de cloruro de sodio (2 x 60 mL). La fase orgánica se seca sobre sulfato de sodio anhidro. El disolvente se evapora a presión reducida y el sólido obtenido se recristaliza de acetona.

(Rendimiento: 10,1 g; 21,49 mmol; 92 %).

Rf: 0,46 [n-hexano-acetato de etilo (4:1, v/v)].

Temperatura de fusión: 167,0-167,8 °C (cristalizado de acetona).

IR (v, cm⁻¹) (KBr): 2 931 y 2 869 (CH), 1 737 (C=O), 1 675 (C=C), 1 248

y 1 049 (C-O), 982, 919, 900 (sistema esteroídico).

RMN- ^1H (δ , ppm): 0,79 (d, J = 6,3; CH₃-27), 0,92 (s, CH₃-18), 1,09 (s, CH₃-19), 1,11 (d, J = 6,9; CH₃-21), 2,03 (s, CH₃-AcO), 3,35 (t, J = 10,7; H-26a), 3,48 (m, H-26e), 4,4 (m, H-16ca), 4,7 (m, H-3a), 5,7 (d, J = 1,9; H-11).

RMN- ^{13}C (δ , ppm): 13,2 (C₂₁), 15,1 (C₁₈), 17,2 (C₂₇), 18,5 (C₁₉), 21,4 (CH₃-AcO), 27,3 (C₂), 27,6 (C₆), 28,9 (C₂₄), 30,3 (C₂₅), 31,5 (C₂₃), 31,6 (C₁₅), 32,5 (C₇), 33,9 (C₄), 34,6 (C₁), 36,9 (C₈), 39,3 (C₁₀), 42,5 (C₅), 42,6 (C₂₀), 51,1 (C₁₃), 52,5 (C₁₇), 53,9 (C₁₄), 67,0 (C₂₆), 72,7 (C₃), 79,8 (C₁₆), 109,5 (C₂₂), 120,2 (C₁₁), 170,6 (C₉), 170,6 (C=O, AcO), 204,8 (C₁₂).

Síntesis de la (25R)-3 β -acetoxi-9 α ,11 α -epoxi-5 α -espirostan-12-ona (3) y de la (25R)-3 β -acetoxi-9 α ,11 α -epoxi-C-homo-11a-oxa-5 α -espirostan-12-ona (4)

A una disolución del compuesto **2** (2,20 g, 4,68 mmol) en diclorometano anhidro (22 mL), se le adicionan 2,20 g (12,17 mmol) de ácido metacloroperbenzoico. La mezcla de reacción se mantiene a temperatura ambiente, sin agitación, en ausencia de luz, durante 24 h. Posteriormente, a la mezcla de reacción, se le adicionan 20 mL de diclorometano, se lava con disolución de carbonato de sodio 10 % (3 x 10 mL) y a continuación, con disolución saturada de cloruro de sodio (3 x 10 mL). La fase orgánica se seca sobre sulfato de sodio anhidro y se concentra a presión reducida. El crudo obtenido se purifica por CC empleando como eluyente la mezcla de n-hexano-acetato de etilo 24:1 (v/v). Se obtiene en primer lugar el compuesto **3** y posteriormente, el **4**.

(25R)-3 β -acetoxi-9 α ,11 α -epoxi-5 α -espirostan-12-ona (3)

(Rendimiento: 1,02 g; 2,1 mmol; 44,9%)

Rf: 0,52 [n-hexano-acetato de etilo (4:1, v/v)].

Temperatura de fusión: 176,3-176,8 °C (cristalizado de acetona).

IR (v, cm⁻¹) (KBr): 2 952, 2 932 y 2 869 (CH), 1 728 y 1 715 (C=O), 1 455 y 1 374 (δ_{CH}), 1 244 y 1 052 (C-O), 978, 897 (sistema espirocetálico).

RMN-¹H (δ , ppm): 0,79 (d, J = 6,4; CH₃-27), 0,92 (s, CH₃-18), 1,06 (d, J = 6,9; CH₃-21), 1,15 (s, CH₃-19), 2,01 (s, CH₃-AcO), 3,16 (s, H-11), 3,33 (t, J = 10,8; H-26a), 3,48 (ddd, ¹J = 11,1; ²J = 4,1; ³J = 1,9; H-26e), 4,35 (m, H-16ca), 4,64 (m, H-3a).

RMN-¹³C (δ , ppm): 13,0 (C₂₁), 14,9 (C₁₈), 15,5 (C₁₉), 17,1 (C₂₇), 21,3 (CH₃-AcO), 26,6 (C₂), 28,1 (C₇), 28,7 (C₆, C₂₄ y C₁), 30,2 (C₂₅), 30,7 (C₁₅), 31,3 (C₂₃), 33,2 (C₈), 33,5 (C₄), 36,7 (C₁₀), 40,5 (C₃), 42,6 (C₂₀), 43,4 (C₁₄), 52,4 (C₁₃), 53,3 (C₁₇), 55,6 (C₁₁), 67,0 (C₂₆), 69,2 (C₉), 72,5 (C₃), 79,7 (C₁₆), 109,3 (C₂₂), 170,4 (C=O, AcO), 206,4 (C₁₂).

EM-IE, m/z (%): 486 [M⁺ (2,6), 414 (13,2), 139 (100), 126 (69,7)]

(25R)-3 β -acetoxi-9 α ,11 α -epoxi-C-homo-11a-oxa-5 α -espirostan-12-ona (4)

(Rendimiento: 0,22 g; 0,44 mmol; 9,4 %)

Rf: 0,42 n-hexano-acetato de etilo (4:1, v/v).

Temperatura de fusión: 224-226 °C (cristalizado de acetona).

IR (v, cm⁻¹) (KBr): 2 955 y 2 934 (CH), 1 738 (C=O), 1 375 (δ_{CH}), 1 240 y 1 047 (C-O), 978, 920, 900 y 860 (sistema espirocetálico).

RMN-¹H (δ , ppm) (KBr): 0,78 (d, J = 6,2; CH₃-27), 1,04 (d, J=6,6; CH₃-21), 1,15 (s, CH₃-18), 1,18 (s, CH₃-19), 2,01 (s, CH₃-AcO), 3,33 (t, J=10,9; H-26a), 3,48 (m, H-26e), 4,30 (m, H-16ca), 4,61 (m, H-3a), 5,03 (s, H-11).

RMN-¹³C (δ , ppm): 13,4 (C₂₁), 15,4 (C₁₈), 15,9 (C₁₉), 17,1 (C₂₇), 21,3 (CH₃-Acetato de etilo), 26,8 (C₂), 28,5 (C₁), 28,7 (C₂₄), 29,6 (C₆ y C₇), 30,2 (C₂₅), 31,4 (C₂₃), 33,2 (C₄), 35,7 (C₁₅), 36,3 (C₈), 38,2 (C₁₀), 38,4 (C₁₄), 43,5 (C₃), 43,6 (C₂₀), 52,0 (C₁₃), 58,1 (C₁₇), 67,1 (C₂₆), 71,1 (C₉), 72,1 (C₃), 77,5 (C₁₆), 82,0 (C₁₁), 108,8 (C₂₂), 170,4 (C=O, AcO), 175,2 (C₁₂).

EM-IE, m/z (%): 502 [M⁺ (1,3), 139 (100), 126 (76,0)].

Síntesis de la (25R)-3 β -hidroxi-9 α ,11 α -epoxi-5 α -espirostan-12-ona (5)

A una disolución del compuesto **3** de (100 mg, 0,21 mmol) en MeOH (10 mL) se le adicionan 0,5 mL de disolución de carbonato de potasio al 10 %. La mezcla de reacción se somete a reflujo durante 30 min y a continuación se evapora el disolvente a presión reducida. El residuo obtenido se extrae con diclorometano (3 x 30 mL) y la fase orgánica se lava con agua hasta pH neutro, se seca sobre sulfato de sodio anhidro y posteriormente, el disolvente se evapora a presión reducida. El sólido obtenido se recristaliza con metanol (Rendimiento: 90,2 mg; 0,20 mmol; 98,8 %).

Rf: 0,49 n-hexano-acetato de etilo (1:1, v/v).

Temperatura de fusión: 234,7-235,0 °C (cristalizado de MeOH).

IR(v, cm⁻¹) (KBr): 3 474 (OH), 2 930 y 2 869 (CH), 1 713 (C=O), 1 455 y 1 377 (δ_{CH}), 1049 (C-O), 980, 900 (sistema espirocetálico).

RMN-¹H (δ , ppm): 0,79 (d, J = 6,3; CH₃-27), 0,92 (s, CH₃-18), 1,07 (d, J = 6,9; CH₃-21), 1,14 (s, CH₃-19), 3,16 (s, H-11), 3,33 (t, J = 10,8; H-26a), 3,48 (m, H-26e), 3,58 (m, H-3a), 4,35 (m, H-16ca),

RMN-¹³C (δ , ppm): 13,0 (C₂₁), 14,9 (C₁₈), 15,6 (C₁₉), 17,1 (C₂₇), 28,2 (C₇), 28,7 (C₂₄), 28,8 (C₁ y C₆), 30,2 (C₂₅), 30,6 (C₂), 30,8 (C₁₅), 31,3 (C₂₃), 33,5 (C₃), 36,8 (C₁₀), 37,5 (C₄), 40,6 (C₃), 42,6 (C₂₀), 43,5 (C₁₄), 52,4 (C₁₃), 53,3 (C₁₇), 55,7 (C₁₁), 67,0 (C₂₆), 69,3 (C₉), 70,3 (C₃), 79,7 (C₁₆), 109 (C₂₂), 206,5 (C₁₂).

EM-IE, m/z (%): 444 [M⁺ (3,4), 139 (100), 126 (71,2)].

Los bioensayos empleados para evaluar la actividad biológica de los compuestos sintetiza-

dos se realizaron de la forma siguiente:

Se colocaron las semillas de rábano a germinar sobre algodón en una bandeja en ausencia de luz durante 48 h.

Transcurrido ese tiempo, se separaron manualmente los hipocótilos.

Se colocaron los hipocótilos en placas Petri de 10 cm de diámetro sobre papel de filtro humedecido con 5 mL de las diferentes concentraciones preparadas para cada uno de los compuestos sintetizados.

Se colocaron 10 hipocótilos por placa y se realizaron tres réplicas por tratamiento.

Se separaron los cotiledones y se trataron de la misma forma que los hipocótilos.

Se empleó agua destilada como control para ambos bioensayos.

Las placas se taparon sin sellarlas y se colocaron en condiciones de luz artificial y a (25 ± 1) °C.

El peso de los cotiledones se determinó en balanza analítica con un error de ± 0,1 mg.

El crecimiento de los hipocótilos (longitud) se evaluó con un error de ± 1 mm.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El acetato de la 9(11)-deshidrohecogenina (**2**) se obtuvo mediante el procedimiento convencional con anhídrido acético y piridina a temperatura ambiente.²¹ El derivado acetilado (**2**) fue oxidado con ácido metacloroperbenzoico. Se obtuvo como producto principal de esta reacción, después de la purificación por columna cromatográfica, la epoxicetona (**3**) con un 44,9 % de rendimiento y como producto colateral la epoxilactona (**4**) con un 9,4 % de rendimiento. La formación del compuesto **4** podría ser explicada mediante la reacción de Baeyer Villiger con migración vinílica previa a la epoxidación, lo cual ha sido reportado para otras cetonas esteroidales α,β -insaturadas con sistemas homonucleares.²² Sin embargo, en las condiciones en que fue realizada esta reacción (tiempo: 24 h) no se detectó por CCD la formación de la 13-oxalactona, lo cual se reporta como el producto fundamental de este tipo de reacción en compuestos 12-ceto funcionalizados de acuerdo con el mecanismo planteado para la reacción de oxidación de Baeyer Villiger, al emplear tiempos superiores a las 48 h.^{22,23} En ambos compuestos **3** y **4** la reacción de epoxidación se llevó a

cabo estereoselectivamente por la cara α de la molécula debido al impedimento estérico producido por los metilos angulares 18 y 19 presentes en la cara β del núcleo esteroidal. La hidrólisis del grupo acetato en la posición 3 de la epoxicetona (**3**) con disolución de carbonato de potasio en metanol dio lugar al compuesto desacetilado (**4**) con un 98,8% de rendimiento.

Los datos espectroscópicos reportados en el presente trabajo para los compuestos sintetizados se encuentran en concordancia con las estructuras planteadas. La formación de la epoxicetona (**3**) y la epoxilactona (**4**) a partir de la cetona α,β -insaturada (**2**) se corrobora fácilmente a partir del análisis de los espectros de RMN y EM. En los primeros de RMN- ^1H , la señal del protón H-11 se blindó al pasar del compuesto olefínico **2** a la epoxicetona (**3**) de 5,7 a 3,16 ppm respectivamente, mientras que en el de RMN- ^{13}C , las señales de los carbonos 9 y 11 se blindan al pasar del compuesto **2** al **3** (170,97 y 120,2 a 69,2 y 55,6 ppm respectivamente) al cambiar la hibridación de esos carbonos. A su vez, al comparar los datos espectroscópicos de la epoxicetona (**3**) y la epoxilactona (**4**), se observa que la señal de los protones H-11 se desblindan en aproximadamente 1,8 ppm debido al efecto -I del oxígeno del éster, mientras en el espectro de RMN- ^{13}C , la señal del carbonilo lactónico (176,2 ppm) sustituye al cetónico (206,4 ppm), lo cual provoca que se desblindé fuertemente el carbono 11 (hasta 82 ppm) por este mismo efecto.

Se observó (Tabla 1) que la epoxicetona (**3**) a las concentraciones de 10^{-5} , 10^{-6} y 10^{-7} mg/mL mostró un efecto estimulador del "tipo citoquinínico" en el bioensayo de expansión de cotiledones del rábano y que la epoxilactona (**4**) a concentraciones de 10^{-5} mg/mL mostró un efecto del "tipo auxínico" en el bioensayo de crecimiento de hipocótilos del rábano, mientras que en este último bioensayo las epoxicetonas (**3**) y (**5**) mostraron efectos inhibidores a las concentraciones de 10^{-7} y 10^{-5} mg/mL respectivamente.

Al comparar los resultados obtenidos para la actividad biológica de las epoxicetonas (**3**) y (**5**) con los reportados para la hecogenina [(25R)-3 β -hidroxi-5 α -espirostan-12-ona]^{9,10} y los análogos espiroestánicos de la 6-desoxocastasterona (que no presentan funciones oxigenadas en los anillo B o C),¹⁴ se observa que la introducción de una función epoxídica

en el anillo C produce efectos estimulatorios o inhibidores en los bioensayos empleados, mientras que la hecogenina y los análogos espiroestánicos de la 6-desoxocastasterona se comportan de manera similar al control con agua destilada en ambos bioensayos. Sin embargo, el efecto obtenido por la introducción del anillo oxirano con estereoquímica α en las posiciones 9 y 11 del núcleo esteroidal dependen del tipo de función que se encuentre en el carbono 3 (Tabla 1, compuestos **3** y **5**), lo cual se encuentra en correspondencia con los reportado previamente para otros análogos de BR.⁵ Por otra parte, en los estudios de actividad biológica realizados a una serie de análogos de BR monofuncionalizados en el anillo A y con diferentes funciones oxigenadas en el anillo C se reporta,¹⁵ que la función 11a-oxalactona muestra un efecto "tipo citoquinínico" en el bioensayo de expansión de cotiledones del rábano y no muestra efecto estadísticamente significativo en el bioensayo del crecimiento de hipocótilos del rábano, mientras que la 9 α ,11 α -epoxi-11a-oxalactona (**5**) muestra el efecto inverso (Tabla 1). Estos resultados, unidos a las investigaciones previamente reportadas,^{9-11,14-17} confirman que la presencia de diferentes funciones oxigenadas en el anillo C influyen en la actividad biológica de estos compuestos y sugieren la necesidad de continuar profundizando en los estudios de relación estructura-actividad de esta familia, ya que compuestos con modificaciones estructurales drásticas en relación a los BR naturales muestran efectos biorregulatorios en los bioensayos estudiados.

CONCLUSIONES

Se sintetizaron y caracterizaron, mediante métodos espectroscópicos, tres análogos espiroestánicos de

brasinoesteroides a partir de la 9(11)-deshidrohecogenina, los cuales mostraron actividad biológica. La (25R)-3 β -acetoxi-9 α ,11 α -epoxi-5 α -espirostan-12-ona (**3**) mostró efecto inhibidor antiauxínico a la concentración de 10^{-7} mg/mL y una respuesta positiva "tipo citoquinina" a las concentraciones de 10^{-5} , 10^{-6} y 10^{-7} mg/mL, mientras que la (25R)-3 β -acetoxi-9 α ,11 α -epoxi-C-homo-11a-oxa-5 α -espirostan-12-ona (**4**) mostró actividad estimuladora "tipo auxina" a la concentración de 10^{-4} mg/mL. La (25R)-3 β -hidroxi-9 α ,11 α -epoxi-5 α -espirostan-12-ona (**5**) mostró efectos inhibidores en los bioensayos realizados.

AGRADECIMIENTOS

Se agradece el apoyo financiero brindado por proyecto Alma Mater 1999, de la Universidad de la Habana para la realización de este trabajo.

BIBLIOGRAFIA

- Adam G. and Petzold U. Brassinosteroids: a new phytohormone group? *Naturwissenschaften* **81**, 210-217, 1994.
- Pérez R., *et al.* Synthesis of Analogues of Brassinosteroids from Chenodeoxycholic Acid. *Eur. J. Org. Chem.*, 2405-2407, 1998.
- Iglesias M., Pérez R., Leleibre V., Pérez C., Coll F. Synthesis and Biological Activity of (22R, 25R)-5 α -furostan,2 α ,3 α ,26-triol. *J. Chem. Research (S)*, 504-505, 1996.
- Mola J., Magalhães G. Síntese de análogo de brasinoesteroides a partir de vespertilina. *Química Nova*, **21**, 6, 726-730, 1998.
- Ramírez J.A., Teme C.O., Gros E.G., Galagovsky L. Synthesis and bioactivity evaluation of brassinosteroid analogs. *Steroids*, **65**, 329-337, 2000.
- Brosa C., *et al.* New Synthetic Brassinosteroids: A 5 α -hydroxy 6-analog with strong Plant Growth Promoting Activity. *Tetrahedron*, **54**, 12337-12348, 1998.

Tabla 1. Resultados de la evaluación de la actividad biológica de los compuestos sintetizados en los bioensayos del crecimiento de hipocótilos y expansión de los cotiledones del rábano.

Compuesto	PC		LH	
	Efecto	Concentración (mg/mL)	Efecto	Concentración (mg/mL)
3	Estimulador	10^{-5} , 10^{-6} y 10^{-7}	Inhibidor	10^{-7}
4	Sin respuesta	-	Estimulador	10^{-5}
5	Inhibidor	10^{-5}	Inhibidor	10^{-4}

LH Longitud del hipocótilo en milímetros. PC Peso del cotiledón (mg). Concentración a la cual se obtuvo respuesta estadísticamente significativa en relación con el control agua.

7. Kohout I., Strnad M. Brassinosteroid analogs without a side chain. **Collect Czech. Chem. Commun.**, **54**, 1019-1027, 1989.
8. Anaya H., Tacoronte J., Cabrera M., Pérez C., Enríquez M. Síntesis de A-secoestirostanos a partir de diosgenina en condiciones de catálisis por transferencia de fases. **Revista CENIC Ciencias Químicas**, **31**, **2**, 119-121, 2000.
9. Robaina C., Coll F., Pérez C., Jomarrón I., Reyes M. Reacción de Prévost - Woodward con el (25R)-5 α -2-espirostenos. **Química & Industria** **2**, 19-23, 1995.
10. Robaina C., Alonso E., Coll F., Pérez C., Reyes M. Síntesis, caracterización y actividad biológica de la 3-epihecogenina y la 2 α -hidroxi-3-epihecogenina. **Química & Industria** **1/2**, 25-27, 1996.
11. Robaina C., Coll F., Seoane R., Jomarrón I. Espirobrasinoesteroides 12 cetofuncionalizados y su procedimiento de obtención. Patente CU 22715 A1 Int. C: C07J73/00, 1995.
12. Núñez M. y Robaina C. Brasinoesteroides. Nuevos reguladores del crecimiento vegetal con amplias perspectivas para la agricultura. Ed. IAC-68, Campinas, Brasil, 83 p, 2000.
13. Coll F. *et al.* Polyhydroxyspirostanones as plant growth regulators. **PCT. C07 Int. Appl. WO** **13**, 780, 1995.
14. Coll F., Alonso E., Iglesias M., Marquardt V., Adam G. Síntesis de análogos espiroestánicos de brasinoesteroides. **Revista Cubana de Química**, **6**, 1-7, 1992.
15. Espinosa L., *et al.* Synthesis and Plant Growth - Activity of three new brassinosteroid analogues. **Synthetic Commun.**, **30**, 1963 - 1974, 2000.
16. Iglesias M., *et al.* Synthesis and characterization of (25R)-2 α ,3 α -epoxy-5 α -spirostan-12,23-dione. **Synthetic Commun.**, **29**, 1811-1818, 1999.
17. González S., *et al.* Actividad biológica de nuevos biorreguladores de las Plantas. **Revista Biología** **12**, 28-34, 1998.
18. Letham, D.S. New cytokinin bioassay and the naturally occurring cytokinin complex. **Biochemistry and Physiology of Plant Growth Substances**. Ed. F. Wightman and G. Setterfield, Runge Press, Ottawa, 19-30, 1968.
19. Abreu C., Coll D. y González S. Actividad biológica de brasinoesteroides sintéticos I. Serie D y CR. Seminario Científico del Instituto de Ciencias Agrícolas. TB-E.16, 156, 1996.
20. Sigarrosa A. Biometría y Diseño Experimental, Ed. Pueblo y Educación. La Habana, 734, 1985.
21. Bowers *et al.* Steroids CLXXXVII Trasanular mechanism in saturated carbon atoms Pat 2. **J. Org. Chemistry**, **27**, 1862-1867, 1962.
22. Krow G.R. The B. V. oxidation of ketones and aldehydes. J.N. Paquette *et al.* Ed. Organic Reactions. Chapter 3, 280, 1993.
23. Robaina C. *et al.* Síntesis y caracterización espectroscópica de la (25R)-2 β ,3 α -dihidroxi-5 α -espirostan-12-ona y su 12 α -oxalactona. **Revista CENIC Ciencias Químicas**, **30**, 107-109, 1999.



PUBLICACIONES CIENTIFICAS DESTACADAS
MINISTERIO DE EDUCACION SUPERIOR DE CUBA

MARCADORES MOLECULARES: NUEVOS HORIZONTES EN LA GENETICA Y LA SELECCION DE PLANTAS

Dpto. de Bioplantas, Centro Nacional de Investigaciones Científicas, Dpto. de Biología Vegetal, Facultad de Biología, Universidad de la Habana, Dpto. de Genética, Instituto Nacional de Investigaciones de la Caña de Azúcar, MINAZ e Instituto de Cibernética, Matemática y Física, CITMA.

Las técnicas de marcadores moleculares han dado un vuelco al conocimiento genético de las especies vegetales y han permitido localizar genes y marcarlos aumentando la eficiencia de la selección, por lo que tales marcadores constituyen una alternativa para obtener nuevas variedades por métodos biotecnológicos.

El libro, cuyo título encabeza esta reseña, resulta de gran utilidad para los investigadores relacionados con esta temática y para la realización de actividades académicas, en especial, estudios de postgrado.

En sus trece capítulos se revisan y actualizan los conocimientos relacionados con los avances más importantes de la genética vegetal, en este sentido, el primer capítulo aborda los principales tipos de marcadores de ácidos nucleicos y las técnicas analíticas que se utilizan para su determinación; el segundo se refiere a los primeros marcadores moleculares utilizados en plantas, los marcadores bioquímicos y en especial la realización de estudios isoenzimáticos en plantas. El tercero profundiza en la utilización de los marcadores citogenéticos para la caracterización de la variabilidad genética en plantas; mientras, el cuarto ofrece una actualización de las principales aplicaciones de los marcadores moleculares.

El quinto capítulo trata la temática relacionada con la medida de la variabilidad genética en poblaciones naturales y el sexto resume los métodos más utilizados en el procesamiento estadístico e interpretación del polimorfismo.

Más adelante en el capítulo siete, se abordan los últimos avances en el uso de los descriptores moleculares para la identificación de genotipos y progenitores, mientras que en el capítulo ocho, se brindan los métodos más utilizados en la construcción de árboles filogenéticos mediante datos discretos.

En los cinco capítulos finales se ofrece una actualización de las metodologías y técnicas más utilizadas en la construcción de mapas genéticos vegetales.

Por último, es necesario resaltar que los ejemplos utilizados para ilustrar los temas moleculares que se abordan, constituyen resultados alcanzados en Cuba en caña de azúcar y resumen el trabajo realizado en los últimos años por un grupo multidisciplinario formado por investigadores del Centro Nacional de Investigaciones Científicas, Facultad de Biología de la Universidad de la Habana, Instituto Nacional de Investigaciones de la Caña de Azúcar del MINAZ y del Centro de Matemática y Física Teórica del CITMA.